

(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2013-523895

(P2013-523895A)

(43) 公表日 平成25年6月17日(2013.6.17)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 39/395 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/395 M	4 C 0 7 6
<b>A 6 1 K 47/42 (2006.01)</b>	A 6 1 K 47/42	4 C 0 8 5
<b>A 6 1 K 47/48 (2006.01)</b>	A 6 1 K 47/48	4 C 0 8 6
<b>A 6 1 P 35/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 35/00	
<b>A 6 1 K 31/551 (2006.01)</b>	A 6 1 K 39/395 L	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 204 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2013-505167 (P2013-505167)	(71) 出願人	512264541
(86) (22) 出願日	平成23年4月15日 (2011.4.15)		スピロゲン ディベロップメンツ エスア
(85) 翻訳文提出日	平成24年12月6日 (2012.12.6)		ーエールエル
(86) 国際出願番号	PCT/US2011/032632		スイス国 ツェーハー 1806 サン
(87) 国際公開番号	W02011/130598		レジエーシエサ, ミシェル フォーラー,
(87) 国際公開日	平成23年10月20日 (2011.10.20)		シュマン デ ラ パコッタ 1
(31) 優先権主張番号	1016802.9	(74) 代理人	100091096
(32) 優先日	平成22年10月6日 (2010.10.6)		弁理士 平木 祐輔
(33) 優先権主張国	英国 (GB)	(74) 代理人	100118773
(31) 優先権主張番号	1006341.0		弁理士 藤田 節
(32) 優先日	平成22年4月15日 (2010.4.15)	(74) 代理人	100122389
(33) 優先権主張国	英国 (GB)		弁理士 新井 栄一
		(74) 代理人	100111741
			弁理士 田中 夏夫
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 ピロロベンゾジアゼピン及びそれらのコンジュゲート

## (57) 【要約】

N10位を介して連結されているPBD分子であるコンジュゲート及びコンジュゲートを作製するための化合物が、癌を含めた増殖性疾患を治療するためのコンジュゲートの使用とともに開示される。

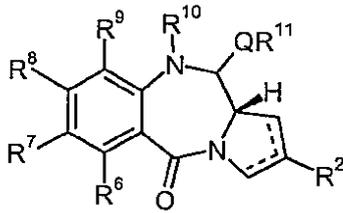
【選択図】なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

式(A)のコンジュゲート、並びにその塩及び溶媒和物

## 【化 1】



A

[式中、

点線は、C1とC2との間又はC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し、

R<sup>2</sup>は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択され、ハロ又はジハロからさらに選択されてもよく、

ここで、R<sup>D</sup>は、R、CO<sub>2</sub>R、COR、CHO、CO<sub>2</sub>H及びハロから独立して選択され、

R<sup>6</sup>及びR<sup>9</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>7</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>8</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>10</sup>は、細胞結合剤に接続されているリンカーであり、

Qは、O、S及びNHから独立して選択され、

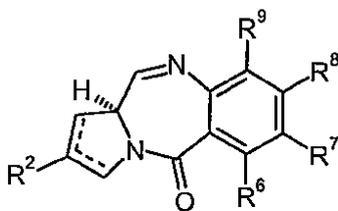
R<sup>11</sup>は、H若しくはRのいずれかであるか、又はQがOである場合にはSO<sub>3</sub>Mであり、ここで、Mは金属カチオンであり、

R及びR'は、置換されていてもよいC<sub>1</sub>-<sub>12</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル基及びC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリール基からそれぞれ独立して選択され、場合によりNRR'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、置換されていてもよい4員、5員、6員又は7員の複素環を形成し、

又はR<sup>6</sup>からR<sup>9</sup>の隣接基の任意のペアと一緒に、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-基を形成し、ここで、pは1又は2であり、

又は前記化合物は、各単量体が式(A)であるか、又は一方の単量体が式(A)であり、他方が式(B)である二量体であり

## 【化 2】



B

(式中、R<sup>2</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>7</sup>、及びR<sup>8</sup>は、式(A)の化合物に従って定義されている通りであり、各単量体のR<sup>7</sup>基又はR<sup>8</sup>基は、単量体を連結する式-X-R"-X-を有する二量体架橋を一緒に形成し、

ここで、R"はC<sub>3</sub>-<sub>12</sub>アルキレン基であり、その鎖は1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環がNH<sub>2</sub>によって置換されていてもよい芳香環、例えばベ

ンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、  
各XはO、S又はN(H)である)、

ここで、前記化合物が、各単量体が式(A)である二量体である場合、単量体の一方のR<sup>10</sup>基はキャッピング基R<sup>C</sup>であるか、若しくは細胞結合剤に接続されているリンカーであるかのいずれかである]。

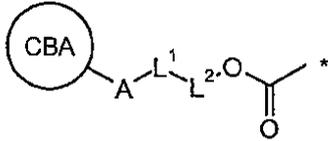
【請求項2】

R<sup>10</sup>が、N10-C11イミン結合を残すようにN10位から除去可能である、請求項1に記載のコンジュゲート。

【請求項3】

R<sup>10</sup>が以下の基である、請求項1又は請求項2のいずれか一項に記載のコンジュゲート

【化3】



[式中、アスタリスクはN10位への結合点を示し、CBAは細胞結合剤であり、L<sup>1</sup>は切断可能なリンカーであり、AはL<sup>1</sup>を細胞結合剤に接続する接続基であり、L<sup>2</sup>は共有結合であるか、又は-OC(=O)-と一緒に自己犠牲リンカーを形成する]。

【請求項4】

L<sup>1</sup>が酵素で切断可能である、請求項5に記載のコンジュゲート。

【請求項5】

L<sup>1</sup>がアミノ酸の連続配列を含む、請求項3又は請求項4に記載のコンジュゲート。

【請求項6】

L<sup>1</sup>がジペプチドを含み、ジペプチド-NH-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-CO-中の-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-基が、

- Phe-Lys-
- Val-Ala-
- 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5に記載のコンジュゲート。

【請求項7】

ジペプチド-NH-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-CO-中の-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-基が、

- Phe-Lys-
- Val-Ala-
- Val-Lys-
- Ala-Lys-
- Val-Cit-

から選択される、請求項6に記載のコンジュゲート。

【請求項8】

ジペプチド-NH-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-CO-中の-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-基が、-Phe-Lys-、-Val-Ala-又は-Val-Cit-である、請求項7に記載のコンジュゲート。

【請求項9】

X<sub>2</sub>-CO-基がL<sup>2</sup>に接続されている、請求項6から8のいずれか一項に記載のコンジュゲート

。

10

20

30

40

50

## 【請求項10】

NH-X<sub>1</sub>基がAに接続されている、請求項6から9のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

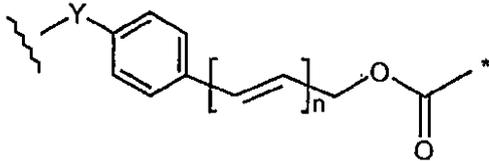
## 【請求項11】

L<sup>2</sup>がOC(=O)と一緒に自己犠牲リンカーを形成する、請求項6から10のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項12】

C(=O)O及びL<sup>2</sup>と一緒に以下の基を形成する、請求項11に記載のコンジュゲート

## 【化4】



10

[式中、アスタリスクはN10位への結合点を示し、波線はリンカー-L<sup>1</sup>への結合点を示し、YはNH、O、C(=O)NH又はC(=O)Oであり、nは0から3である]。

## 【請求項13】

YがNHである、請求項12に記載のコンジュゲート。

## 【請求項14】

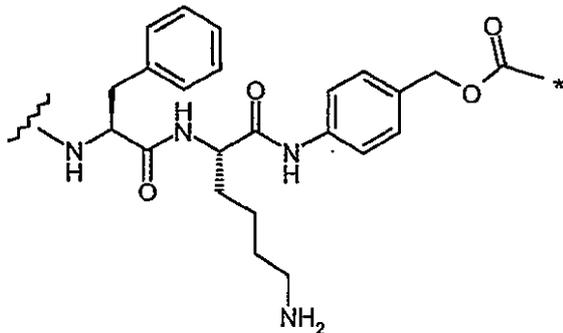
nが0である、請求項12又は請求項13に記載のコンジュゲート。

## 【請求項15】

L<sup>1</sup>及びL<sup>2</sup>が-OC(=O)-と一緒に、

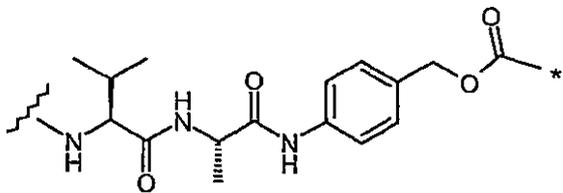
20

## 【化5】



30

又は



[式中、アスタリスクはN10位への結合点を示し、波線はリンカー-L<sup>1</sup>の残りの部分への結合点又はAへの結合点を示す]

40

から選択される基を含む、請求項3に記載のコンジュゲート。

## 【請求項16】

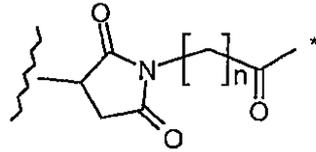
波線がAへの結合点を示す、請求項15に記載のコンジュゲート。

## 【請求項17】

Aが、

## 【化6】

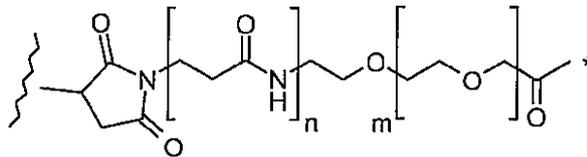
(i)



【式中、アスタリスクはL<sup>1</sup>への結合点を示し、波線は細胞結合剤への結合点を示し、nは0から6である】、又は

## 【化7】

(ii)



【式中、アスタリスクはL<sup>1</sup>への結合点を示し、波線は細胞結合剤への結合点を示し、nは0又は1であり、mは0から30である】

である、請求項3から16のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項18】

細胞結合剤が、細胞結合剤のシステインチオール残基及びAのマレミド(maleimide)基から形成されるチオエーテル結合を介してAに接続されている、請求項3から17のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項19】

R<sup>10</sup>の細胞結合剤が抗体又はその活性断片である、請求項1から18のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項20】

抗体又は抗体断片が腫瘍関連抗原に対する抗体又は抗体断片である、請求項19に記載のコンジュゲート。

## 【請求項21】

R<sup>9</sup>が独立してHである、請求項1から20のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項22】

R<sup>6</sup>が独立してHである、請求項1から21のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項23】

R<sup>7</sup>が独立してOR<sup>7A</sup>であり、ここでR<sup>7A</sup>が独立して、置換されていてもよいC<sub>1</sub>-<sub>4</sub>アルキルである、請求項1から22のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項24】

R<sup>7A</sup>がMeである、請求項23に記載のコンジュゲート。

## 【請求項25】

XがOである、請求項1から24のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項26】

R<sup>11</sup>がHである、請求項1から25のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項27】

点線がC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示す、請求項1から26のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項28】

R<sup>2</sup>がH、=O、=CH<sub>2</sub>、R、=CH-R<sup>D</sup>及び=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>から独立して選択される、請求項1から27のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項29】

10

20

30

40

50

$R^2$ が独立して $=CH_2$ である、請求項28のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項30】

$R^2$ が独立してRである、請求項28のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項31】

$R^2$ が独立して、置換されていてもよい $C_5 - 20$ アリールである、請求項30のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項32】

コンジュゲートが二量体であり、各単量体の $R^8$ 基が二量体架橋を一緒に形成する、請求項1から31のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

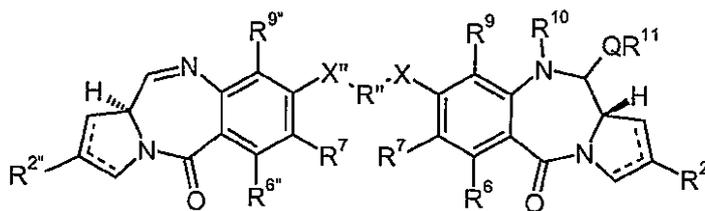
【請求項33】

$R''$ が $C_3$ アルキレン基又は $C_5$ アルキレン基である、請求項32に記載のコンジュゲート。

【請求項34】

コンジュゲートが、一方の単量体が式(A)であり、他方が式(B)である二量体であり、前記化合物が下記に示される構造を有する、請求項32又は請求項33に記載のコンジュゲート

【化8】



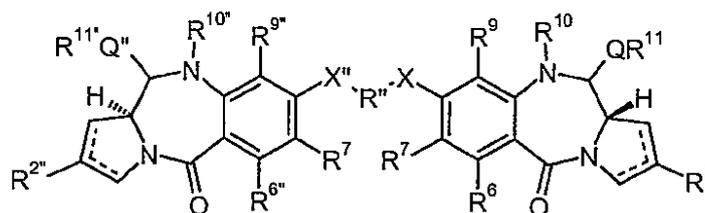
AC

[式中、 $R^{2''}$ 、 $R^{6''}$ 、 $R^{7''}$ 、 $R^{9''}$ 、 $X''$ 及び $R^{11''}$ は、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $X$ 及び $R^{11}$ に従って定義されている通りである]。

【請求項35】

コンジュゲートが、各単量体が式(A)である二量体であり、前記化合物が下記に示される構造を有する、請求項32又は請求項33に記載のコンジュゲート

【化9】



AA

[式中、 $R^{2''}$ 、 $R^{6''}$ 、 $R^{7''}$ 、 $R^{9''}$ 、 $R^{10''}$ 、 $X''$ 、 $Q''$ 及び $R^{11''}$ は、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $R^{10}$ 、 $X$ 及び $R^{11}$ に従って定義されている通りである]。

【請求項36】

コンジュゲートが、各単量体が式(A)である二量体であり、前記化合物が下記に示される構造を有する、請求項32又は請求項33に記載のコンジュゲート

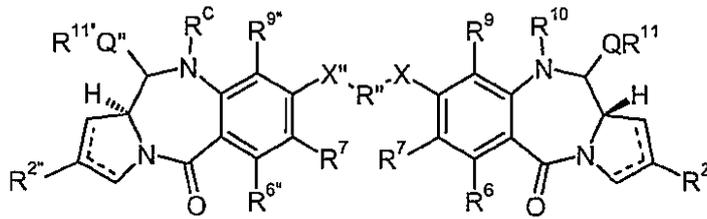
10

20

30

40

## 【化 1 0】



## AB

【式中、 $R^{2''}$ 、 $R^{6''}$ 、 $R^{7''}$ 、 $R^{9''}$ 、 $X''$ 、 $Q''$ 及び $R^{11''}$ は、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $X$ 、及び $R^{11}$ に従って定義されている通りであり、 $R^C$ はキャッピング基である】。 10

## 【請求項 3 7】

$R^C$ が、N10-C11イミン結合を残すようにN10位から除去可能である、請求項36に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 3 8】

$R^C$ が

Alloc  
Fmoc  
Boc  
Troc  
Teoc  
Psec  
Cbz  
PNZ

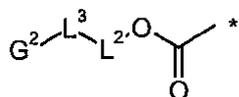
20

から選択されるカルバメート保護基である、請求項37に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 3 9】

$R^C$ が以下の基である、請求項37に記載のコンジュゲート

## 【化 1 1】



30

【式中、アスタリスクはN10位への結合点を示し、 $G^2$ は終端基であり、 $L^3$ 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 $OC(=O)$ と一緒に自己犠牲リンカーを形成する】。

## 【請求項 4 0】

$L^3$ が切断可能なリンカー $L^1$ であり、請求項4から9のいずれか一項で定義されている、請求項39に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 4 1】

$L^2$ が $OC(=O)$ と一緒に自己犠牲リンカーを形成し、自己犠牲リンカーが請求項12から14のいずれか一項で定義されている通りである、請求項39又は請求項40に記載のコンジュゲート。 40

## 【請求項 4 2】

$G^2$ がAc又はMocであるか、又は

Alloc  
Fmoc  
Boc  
Troc  
Teoc  
Psec  
Cbz

50

PNZ

から選択されるカルバメート保護基である、請求項39から41のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 4 3】

治療における使用のための、請求項1から42のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 4 4】

対象における増殖性疾患の治療における使用のための、請求項1から42のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 4 5】

前記疾患が癌である、請求項44に記載のコンジュゲート。

10

【請求項 4 6】

式

Ab-(L-D)<sub>p</sub>

[式中、Abは、リンカー部分(L)によって式(A)PBD薬物部分(D)に結合されている抗体であり、pは1から約8の整数である]

を有する、請求項1から45のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 4 7】

Abが、以下の(1)～(36)から選択される一つ又は複数の腫瘍関連抗原又は細胞表面受容体に結合する抗体である、請求項46に記載のコンジュゲート:

(1) BMPR1B (骨形成タンパク質受容体1B型)、

20

(2) E16 (LAT1、SLC7A5)、

(3) STEAP1 (前立腺の6回膜貫通上皮抗原)、

(4) 0772P (CA125、MUC16)、

(5) MPF (MPF、MSLN、SMR、巨核球増強因子、メソテリン)、

(6) Napi3b (NAPI-3B、NPT11b、SLC34A2、溶質担体ファミリー-34 (リン酸ナトリウム)、メンバー-2、II型ナトリウム依存性リン酸輸送体3b)、

(7) Sema 5b (FLJ10372、KIAA1445、Mm.42015、SEMA5B、SEMAG、セマフォリン5b H10g、セマドメイン、7回トロンボスポンジン反復(1型及び1型様)、膜貫通ドメイン(TM)及び短い細胞質ドメイン、(セマフォリン) 5B)、

(8) PSCA hlg (2700050C12Rik、C530008016Rik、RIKEN cDNA 2700050C12、RIKEN cDNA 2700050C12遺伝子)、

30

(9) ETBR (エンドセリンB型受容体)、

(10) MSG783 (RNF124、仮想タンパク質FLJ20315)、

(11) STEAP2 (HGNC\_8639、IPCA-1、PCANAP1、STAMP1、STEAP2、STMP、前立腺癌関連遺伝子1、前立腺癌関連タンパク質1、前立腺の6回膜貫通上皮抗原2、6回膜貫通前立腺タンパク質)、

(12) TrpM4 (BR22450、FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、一過性受容体電位カチオンチャンネル、サブファミリーM、メンバー4)、

(13) CRIPTO (CR、CR1、CRGF、CRIPTO、TDGF1、奇形癌腫誘導成長因子)、

(14) CD21 (CR2 (補体受容体2)又はC3DR (C3d/Epstein Barrウイルス受容体)又はHs 73792)、

40

(15) CD79b (CD79B、CD79、IgG (免疫グロブリン関連ベータ)、B29)、

(16) FcRH2 (IFGP4、IRTA4、SPAP1A (ホスファターゼアンカータンパク質1aを含有するSH2ドメイン)、SPAP1B、SPAP1C)、

(17) HER2、

(18) NCA、

(19) MDP、

(20) IL20R、

(21) プレピカン、

(22) EphB2R、

50

- (23) ASLG659、
- (24) PSCA、
- (25) GEDA、
- (26) BAFF-R (B細胞活性化因子受容体、BLyS受容体3、BR3)、
- (27) CD22 (B細胞受容体CD22-Bアイソフォーム)、
- (28) CD79a (CD79A、CD79、免疫グロブリン関連アルファ)、
- (29) CXCR5 (パーキットリンパ腫受容体1)、
- (30) HLA-DOB (MHCクラスII分子のベータサブユニット(Ia抗原))、
- (31) P2X5 (プリン受容体P2Xリガンド開口型イオンチャネル5)、
- (32) CD72 (B細胞分化抗原CD72、Lyb-2)、
- (33) LY64 (リンパ球抗原64 (RP105)、ロイシンリッチリピート(LRR)ファミリーのI型膜タンパク質)、
- (34) FcRH1 (Fc受容体様タンパク質1)、
- (35) IRTA2 (免疫グロブリンスーパーファミリー受容体転座関連2)、及び
- (36) TENB2 (推定膜貫通プロテオグリカン)。

10

## 【請求項48】

Abがシステイン操作抗体である、請求項46に記載のコンジュゲート。

## 【請求項49】

AbがErbB受容体に結合する抗体である、請求項46又は請求項47のいずれかに記載のコンジュゲート。

20

## 【請求項50】

Abがトラスツマブである、請求項49に記載のコンジュゲート。

## 【請求項51】

Abが抗HER2、抗Steap1又は抗CD22抗体である、請求項46又は請求項47のいずれかに記載のコンジュゲート。

## 【請求項52】

pが1、2、3又は4である、請求項46から51のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項53】

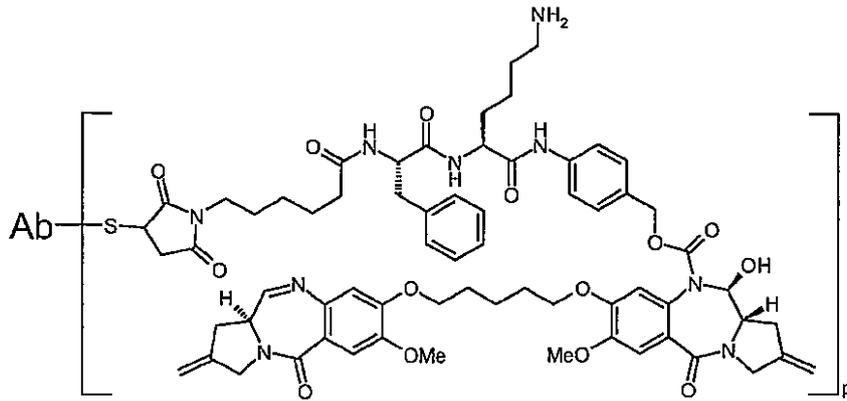
抗体-薬物コンジュゲート化合物の混合物を含み、前記抗体-薬物コンジュゲート化合物の混合物中の1抗体当たりの平均薬物負荷が約2から約5である、請求項46から52のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

30

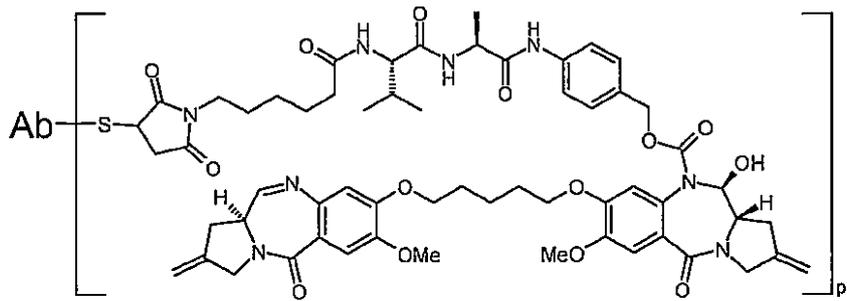
## 【請求項54】

以下から選択される式を有する、請求項46から53のいずれか一項に記載のコンジュゲート

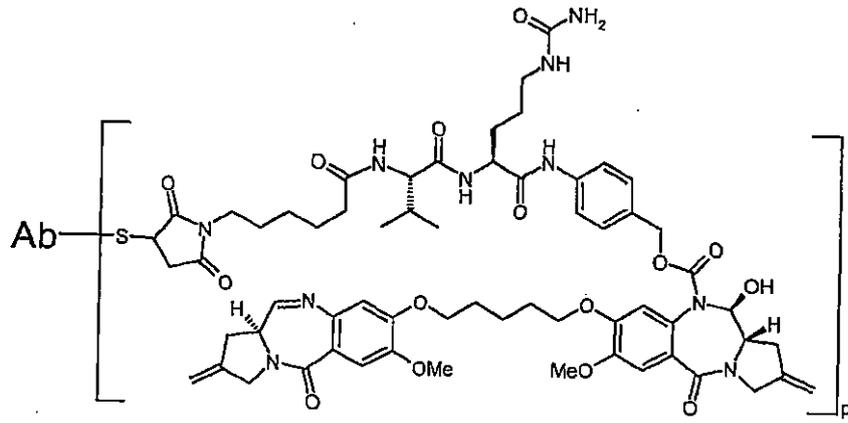
【化 1 2】



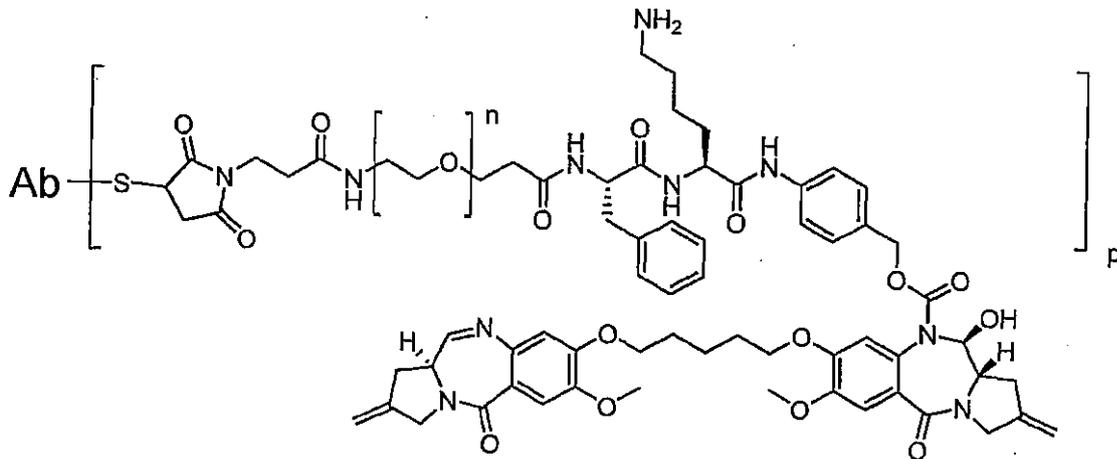
10



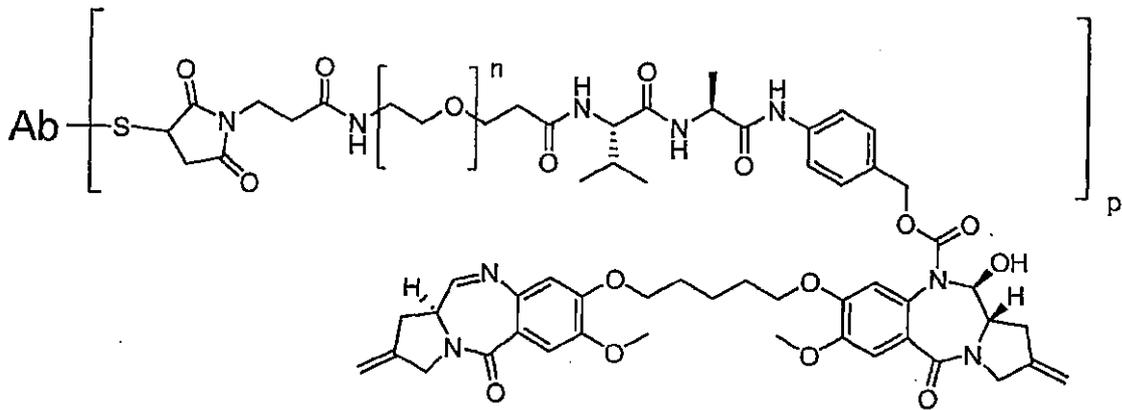
20



10

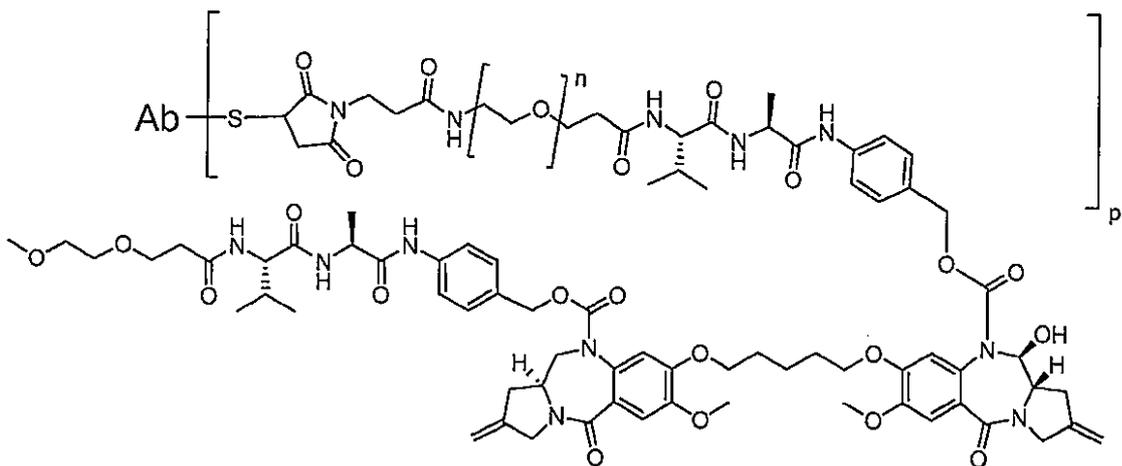


20



30

及び



40

50

[式中、nは1から24の整数である]。

【請求項55】

nが1から12の整数である、請求項54に記載のコンジュゲート。

【請求項56】

nが4又は8である、請求項55に記載のコンジュゲート。

【請求項57】

請求項1から56のいずれか一項に記載のコンジュゲート、薬学的に許容される希釈剤、担体又は賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項58】

治療有効量の化学療法剤をさらに含む、請求項57に記載の医薬組成物。

10

【請求項59】

対象における増殖性疾患の治療に使用するための薬物の調製における、請求項1から56のいずれか一項に記載のコンジュゲートの使用。

【請求項60】

請求項57に記載の医薬組成物を患者に投与するステップを含む、癌を治療する方法。

【請求項61】

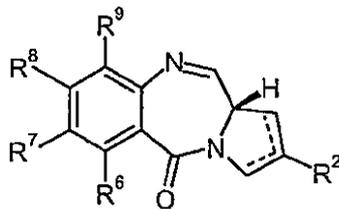
患者が、前記コンジュゲートと組み合わせて化学療法剤を投与される、請求項60に記載の方法。

【請求項62】

標的位置で式(C)の化合物を提供するための、請求項1から56のいずれか一項に記載のコンジュゲート並びにその塩及び溶媒和物の使用

20

【化13】



C

30

[式中、

点線は、C1とC2との間又はC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し、

R<sup>2</sup>は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択され、ハロ又はジハロからさらに選択されてもよく、

ここで、R<sup>D</sup>は、R、CO<sub>2</sub>R、COR、CHO、CO<sub>2</sub>H及びハロから独立して選択され、

R<sup>6</sup>及びR<sup>9</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>7</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>8</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

40

R及びR'は、置換されていてもよいC<sub>1</sub>-<sub>12</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル基及びC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリアル基からそれぞれ独立して選択され、場合によりNRR'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、置換されていてもよい4員、5員、6員又は7員の複素環を形成し、

又はR<sup>6</sup>からR<sup>9</sup>の隣接基の任意のペアと一緒に、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-基を形成し、ここで、pは1又は2であり、

又は前記化合物は、各単量体が式(C)である二量体であり、各単量体のR<sup>7</sup>基又はR<sup>8</sup>基は、単量体を連結する式-X-R"-X-を有する二量体架橋と一緒に形成し、

ここで、R"はC<sub>3</sub>-<sub>12</sub>アルキレン基であり、この鎖は1個又は複数のヘテロ原子、例え

50

ばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環がNH<sub>2</sub>によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、各XはO、S又はN(H)である]。

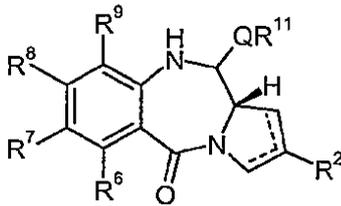
【請求項63】

標的位置が増殖性細胞集団である、請求項62に記載の使用。

【請求項64】

標的位置で式(D)の化合物を提供する、請求項1から56のいずれか一項に記載のコンジュゲート並びにその塩及び溶媒和物の使用

【化14】



D

[式中、

点線は、C1とC2との間又はC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し、

R<sup>2</sup>は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択され、八口又はジ八口からさらに選択されてもよく、

ここで、R<sup>D</sup>は、R、CO<sub>2</sub>R、COR、CHO、CO<sub>2</sub>H及び八口から独立して選択され、

R<sup>6</sup>及びR<sup>9</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及び八口から独立して選択され、

R<sup>7</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及び八口から独立して選択され、

R<sup>8</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及び八口から独立して選択され、

Qは、O、S及びNHから独立して選択され、

R<sup>11</sup>はH若しくはRのいずれかであるか、又はQがOである場合にはR<sup>11</sup>はSO<sub>3</sub>Mであり、ここで、Mは金属カチオンであり、

R及びR'は、置換されていてもよいC<sub>1</sub>-<sub>12</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル基及びC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリール基からそれぞれ独立して選択され、場合によりNRR'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、置換されていてもよい4員、5員、6員又は7員の複素環を形成し、

又は化合物は、各単量体が式(D)であるか、又は一方の単量体が式(D)であり、他方が式(C)である二量体であり、

各単量体のR<sup>7</sup>基又はR<sup>8</sup>基は、単量体を連結する式-X-R"-X-を有する二量体架橋を一緒に形成し、

ここで、R"はC<sub>3</sub>-<sub>12</sub>アルキレン基であり、その鎖は1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環がNH<sub>2</sub>によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、

各XはO、S又はN(H)であり、

又はR<sup>6</sup>からR<sup>9</sup>の隣接基の任意のペアと一緒に、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-基を形成し、ここで、pは1又は2であり、

ここで、式(C)の単量体単位は、請求項58で定義されている通りである]。

【請求項65】

式(E)の化合物、並びにその塩及び溶媒和物

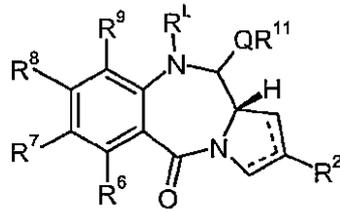
10

20

30

40

## 【化15】



E

10

[式中、

点線は、C1とC2との間又はC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し、

R<sup>2</sup>は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択され、ハロ又はジハロからさらに選択されてもよく、ここで、R<sup>D</sup>は、R、CO<sub>2</sub>R、COR、CHO、CO<sub>2</sub>H及びハロから独立して選択され、R<sup>6</sup>及びR<sup>9</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、R<sup>7</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、R<sup>8</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

20

R<sup>L</sup>は、細胞結合剤への接続のためのリンカーであり、

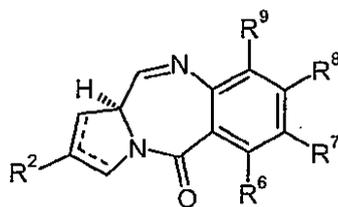
Qは、O、S及びNHから独立して選択され、

R<sup>11</sup>はH若しくはRのいずれかであるか、又はQがOである場合にはR<sup>11</sup>はSO<sub>3</sub>Mであり、ここで、Mは金属カチオンであり、R及びR'は、置換されていてもよいC<sub>1</sub>-<sub>12</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル基及びC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリール基からそれぞれ独立して選択され、場合によりNRR'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、置換されていてもよい4員、5員、6員又は7員の複素環を形成し、又はR<sup>6</sup>からR<sup>9</sup>の隣接基の任意のペアと一緒に、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-基を形成し、ここで、p

30

は1又は2であり、  
又は前記化合物は、各単量体が式(E)であるか、又は一方の単量体が式(E)であり、他方が式(B)である二量体であり

## 【化16】



B

40

(式中、R<sup>2</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>7</sup>、及びR<sup>8</sup>は、式(A)の化合物に従って定義されている通りであり、各単量体のR<sup>7</sup>基又はR<sup>8</sup>基は、単量体を連結する式-X-R"-X-を有する二量体架橋を一緒に形成し、ここで、R"はC<sub>3</sub>-<sub>12</sub>アルキレン基であり、この鎖は1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環がNH<sub>2</sub>によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてもよく、各XはO、S又はN(H)である)、

ここで、前記化合物が、各単量体が式(E)である二量体である場合、単量体の一方のR

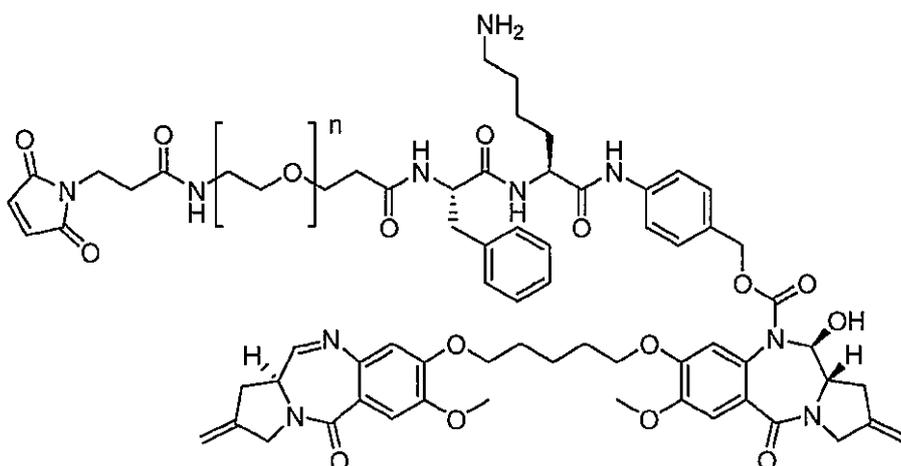
50

〔基はキャッピング基 $R^C$ であるか、又は細胞結合剤への接続のためのリンカーであるかのいずれかである〕。

【請求項66】

以下の構造を有する請求項65に記載の化合物

【化17】



10

[式中、nは1から24の整数である]。

【請求項67】

nが1から12の整数である、請求項66に記載の化合物。

20

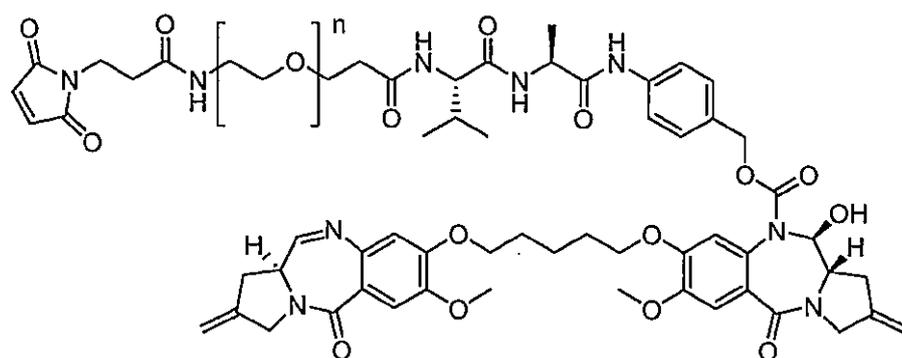
【請求項68】

nが4又は8である、請求項67に記載の化合物。

【請求項69】

以下の構造を有する、請求項65に記載の化合物

【化18】



30

[式中、nは1から24の整数である]。

【請求項70】

nが1から12の整数である、請求項69に記載の化合物。

40

【請求項71】

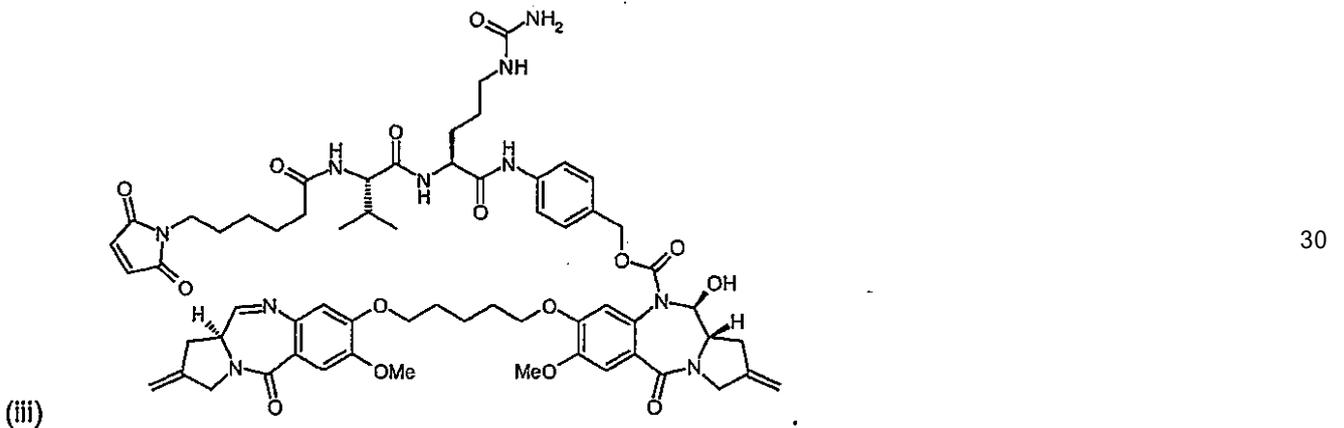
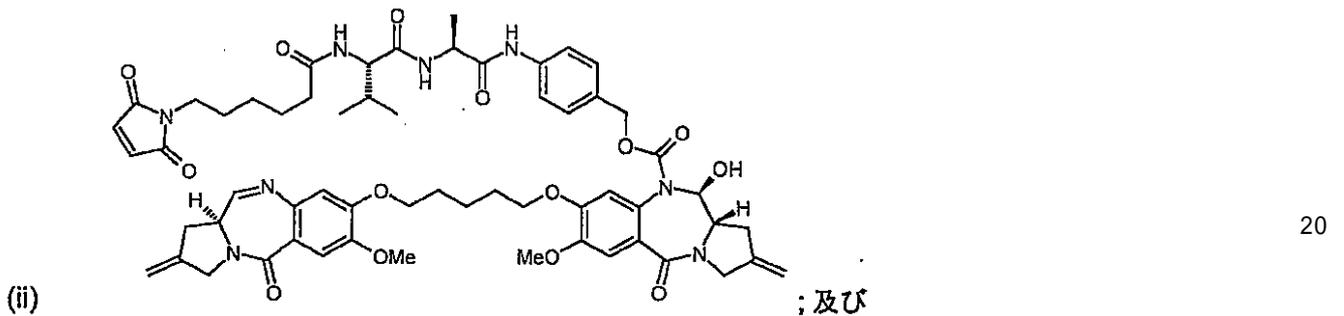
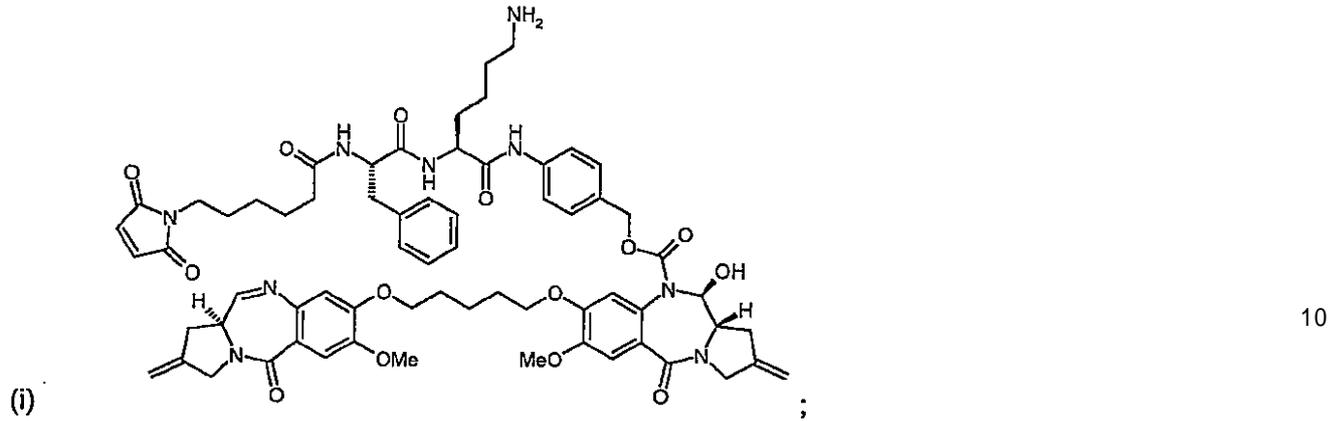
nが4又は8である、請求項70に記載の化合物。

【請求項72】

以下の構造を有する、請求項65に記載の化合物



【化 2 0】



【請求項 7 6】

細胞結合剤を、請求項65から75のいずれか一項に記載の化合物(E)と反応させるステップを含む、請求項1から56のいずれか一項に記載のコンジュゲートを調製する方法。

【請求項 7 7】

請求項57に記載の医薬組成物、容器、及び前記医薬組成物が癌を治療するために使用され得ることを示す添付文書又はラベルを含む製造品。

40

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ピロロベンゾジアゼピン(PBD)、特に、細胞結合剤へのリンカーの形態における、不安定なN10保護基を有するピロロベンゾジアゼピンに関する。

【背景技術】

【0002】

ピロロベンゾジアゼピン

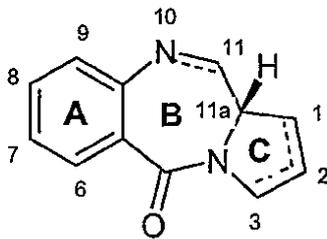
一部のピロロベンゾジアゼピン(PBD)は、DNAの特異的配列を認識して結合する能力を有

50

し、好ましい配列はPuGPuである。最初のPBD抗腫瘍抗生物質アントラマイシンは、1965年に見出された(Leimgruberら、J. Am. Chem. Soc., 87, 5793~5795 (1965); Leimgruberら、J. Am. Chem. Soc., 87, 5791~5793 (1965))。それ以来、いくつかの自然発生的なPBDが報告され、10を超える合成経路が様々な類似体に対して開発された(Thurstonら、Chem. Rev. 1994, 433~465 (1994))。ファミリーメンバーには、アッペイマイシン(abbeymycin) (Hochlowskiら、J. Antibiotics, 40, 145~148 (1987))、チカマイシン(Konishiら、J. Antibiotics, 37, 200~206(1984))、DC-81(日本特許第58180487号; Thurstonら、Chem. Brit., 26, 767~772 (1990); Boseら、Tetrahedron, 48, 751~758 (1992))、マゼトラマイシン(Kuminotoら、J. Antibiotics, 33, 665~667 (1980))、ネオトラマイシンA及びB(Takeuchiら、J. Antibiotics, 29, 93~96 (1976))、ポロスラマイシン(Tsunakawaら、J. Antibiotics, 41, 1366~1373 (1988))、プロトラカルシン(Shimizuら、J. Antibiotics, 29, 2492~2503 (1982); Langley及びThurston、J. Org. Chem., 52, 91~97 (1987))、シバノミシン(DC-102) (Haraら、J. Antibiotics, 41, 702~704 (1988); Itohら、J. Antibiotics, 41, 1281~1284 (1988))、シピロマイシン(Leberら、J. Am. Chem. Soc., 110, 2992~2993 (1988))及びトマイシン(Arimaら、J. Antibiotics, 25, 437~444 (1972))が含まれる。PBDは以下の一般構造である。

10

## 【化1】



20

## 【0003】

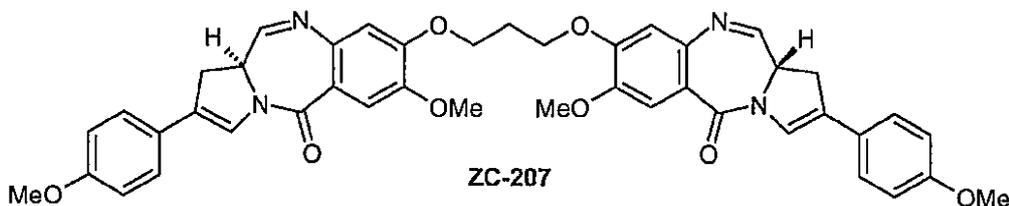
それらは、置換基の数、型及び位置において、それらの芳香族A環及びピロロC環の両方において、並びにC環の飽和度において異なる。B環中において、DNAのアルキル化に関与する求電子中心であるN10-C11位に、イミン(N=C)、カルピノールアミン(NH-CH(OH))又はカルピノールアミンメチルエーテル(NH-CH(OMe))のいずれかがある。公知の天然生成物の全てがキラルC11a位に(S)配置を有し、これでそれらに、C環からA環に向かって見た場合に右回りのねじれがもたらされる。これは、B形DNAの副溝との等螺旋性のための適切な三次元の形状をそれらに与え、結合部位でぴったりと嵌合することになる(Kohn、In Antibiotics III, Springer-Verlag, New York, 3~11頁(1975); Hurley及びNeedham-VanDevanter、Acc. Chem. Res., 19, 230~237 (1986))。副溝において付加物を形成するそれらの能力は、それらがDNAプロセッシングに干渉するのを可能にし、よって抗腫瘍薬剤としてのそれらの使用を可能にする。

30

## 【0004】

本発明者らは、WO 2005/085251において、

## 【化2】



40

## 【0005】

など、C2アリール置換基を保有する二量体PBD化合物を以前に開示した。

## 【0006】

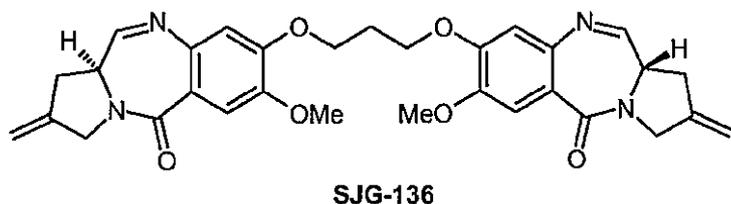
これらの化合物は、非常に有用な細胞毒性剤であることが示された。

## 【0007】

50

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) によって化合物1として、及びGregsonら (J. Med. Chem. 2001、44、1161～1174) によって化合物4aとして記載されている。SJG-136としても知られているこの化合物を下記に示す。

【化3】

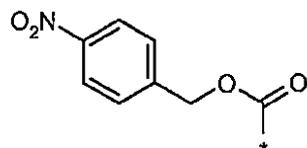


10

【0008】

本発明者らは、PBD化合物が、インビボにおいて除去可能である窒素保護基を用いてN10位でそれらを保護することによって、プロドラッグとして利用され得ることを以前に開示した(WO00/12507)。これらの保護基の多くはカルバメートであり、例えば、以下の構造であり、

【化4】



20

【0009】

ここで、アスタリスク(\*)はPBDのN10原子の結合点を示す。

【0010】

本発明者らは、窒素カルバメート保護基をN10位に有するPBD化合物の調製も記載した(WO2005/023814)。該保護基は、N10-C11イミン結合から脱離するためにPBD部分のN10位から除去可能である。酵素の作用によって切断することができる基を含めて、保護基の範囲が記載されている

30

WO2007/085930は、抗体などの細胞結合剤への接続のためのリンカー基を有する二量体PBD化合物の調製を記載している。リンカーは、二量体の単量体PBD単位を連結させる架橋に存在する。

【0011】

抗体-薬物コンジュゲート

抗体治療法は、癌、免疫及び血管新生の障害を有する患者の標的化治療のために確立された(Carter, P. (2006) Nature Reviews Immunology 6:343～357)。細胞毒性剤又は細胞分裂阻害剤、即ち癌の治療において腫瘍細胞を死滅又は阻害するための薬物の局所送達用の抗体-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、及びそこにおける細胞内蓄積を標的とする一方で、これらの非コンジュゲート薬物薬剤の全身投与は、正常細胞、並びに排除しようとする腫瘍細胞に対する毒性の許容不可能なレベルをもたらすことがある(Xieら(2006) Expert. Opin. Biol. Ther. 6(3):281～291; Kovtunら(2006) Cancer Res. 66(6):3214～3217; Lawら(2006)Cancer Res. 66(4):2328～2337; Wuら(2005)Nature Biotech. 23(9):1137～1145; Lambert J. (2005) Current Opin. in 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) Cancer Immunol. Immunother. 52:328～337; Syrigos及びEpenetos (1999) Anticancer Research 19:605～614)。

40

【0012】

それによって最小の毒性で最大の効力が探求される。ADCを設計及び精製するための努

50

力が、単クローン抗体(mAb)の選択性、並びに薬物の作用機序、薬物連結、薬物/抗体比(負荷)、及び薬物放出特性に向けられた(Junutulaら、2008b Nature Biotech., 26(8):925~932; Dornanら、(2009) Blood 114(13):2721~2729; US 7,521,541; US 7,723,485; WO 2009/052249; McDonagh (2006) Protein Eng. Design & Sel. 19(7): 299~307; Doronin aら、(2006) Bioconj. Chem. 17:114~124; Ericksonら、(2006) Cancer Res. 66(8):1~8; Sandersonら、(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)。薬物部分は、チューブリン結合、DNA結合又はトポイソメラーゼ阻害を含める機序によるそれらの細胞毒性効果及び細胞分裂停止効果を付与し得る。一部の細胞毒性薬は、大きな抗体又はタンパク質受容体リガンドにコンジュゲートされている場合、不活性又は活性低下の傾向がある。

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0013】

本発明者らは、細胞結合剤とのPBDコンジュゲート、及び特にPBD抗体コンジュゲートを形成するための新規な手法を開発した。

【課題を解決するための手段】

【0014】

一般の態様において、本発明は、N10位を通りリンカーを介して細胞結合剤に接続されているPBD化合物を含むコンジュゲートを提供する。該リンカーは不安定リンカーであり、酵素不安定リンカーであり得る。該細胞結合剤は、好ましくは抗体である。

20

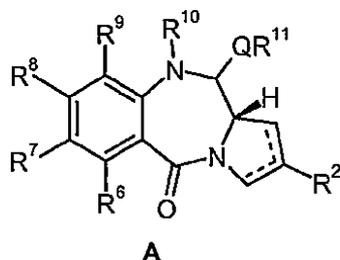
【0015】

一実施形態において、コンジュゲートは、スペーサーに接続されている細胞結合剤、トリガーに接続されているスペーサー、自己犠牲リンカーに接続されているトリガー、及びPBD化合物のN10位に接続されている自己犠牲リンカーを含む。

【0016】

第一態様において、本発明は、以下の式(A)の新規なコンジュゲート化合物並びにそれらの塩及び溶媒和物を提供し、

【化5】



30

【0017】

式中、

点線は、C1とC2との間又はC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し、

R<sup>2</sup>は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択され、ハロ又はジハロからさらに選択されていてもよく、

40

ここで、R<sup>D</sup>は、R、CO<sub>2</sub>R、COR、CHO、CO<sub>2</sub>H及びハロから独立して選択され、

R<sup>6</sup>及びR<sup>9</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>7</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>8</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>10</sup>は、細胞結合剤に接続されているリンカーであり、

50

Qは、O、S及びNHから独立して選択され、

R<sup>11</sup>は、H若しくはRのいずれかであるか、又はQがOである場合にはSO<sub>3</sub>Mであり、ここで、Mは金属カチオンであり、

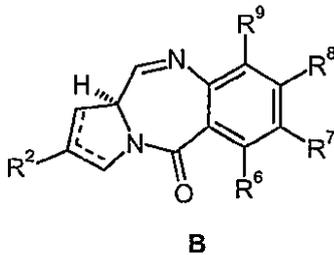
R及びR'は、置換されていてもよいC<sub>1</sub>-<sub>12</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル基及びC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリアル基からそれぞれ独立して選択され、任意選択によりNRR'基に関連して、R及びR'は、それらが結合している窒素原子と一緒に、置換されていてもよい4員、5員、6員又は7員の複素環を形成し、

又はR<sup>6</sup>からR<sup>9</sup>の隣接基の任意のペアと一緒に、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-基を形成し、ここで、pは1又は2であり、

又は前記化合物は、各単量体が式(A)であるか、又は一方の単量体が式(A)であり、他方が式(B)である二量体であり

10

【化6】



20

【0018】

(式中、R<sup>2</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>7</sup>、及びR<sup>8</sup>は、式(A)の化合物に従って定義されている通りであり、各単量体のR<sup>7</sup>基又はR<sup>8</sup>基は、単量体を連結する式-X-R"-X-を有する二量体架橋を一緒に形成し、

ここで、R"はC<sub>3</sub>-<sub>12</sub>アルキレン基であり、その鎖は1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環が置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、

各XはO、S又はN(H)である)、

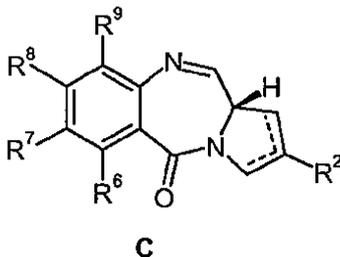
ここで、前記化合物が、各単量体が式(A)である二量体である場合、単量体の一方のR<sup>10</sup>基はキャッピング基R<sup>C</sup>であるか、又は細胞結合剤に接続されているリンカーであるかのいずれかである。誤解を回避するため、該細胞結合剤はR<sup>10</sup>基の一部である。

30

【0019】

本発明は、標的位置における、以下の式(C)の化合物並びにその塩及び溶媒和物を提供するためのコンジュゲートの使用にも関し、

【化7】



40

【0020】

式中、

点線は、C1とC2との間又はC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し、

R<sup>2</sup>は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択され、ハロ又はジハロからさらに選択されていてもよく、

ここで、R<sup>D</sup>は、R、CO<sub>2</sub>R、COR、CHO、CO<sub>2</sub>H及びハロから独立して選択され、

R<sup>6</sup>及びR<sup>9</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

50

R<sup>7</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>8</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R及びR'は、置換されていてもよいC<sub>1</sub> - <sub>12</sub>アルキル基、C<sub>3</sub> - <sub>20</sub>ヘテロシクリル基及びC<sub>5</sub> - <sub>20</sub>アリアル基から独立して選択され、任意選択によりNRR'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、置換されていてもよい4員、5員、6員又は7員の複素環を形成し、

又はR<sup>6</sup>からR<sup>9</sup>の隣接基の任意のペアと一緒に、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-基を形成し、ここで、pは1又は2であり、

又は前記化合物は、各単量体が式(C)である二量体であり、各単量体のR<sup>7</sup>基又はR<sup>8</sup>基が、単量体を連結する式-X-R"-X-を有する二量体架橋と一緒に形成し、

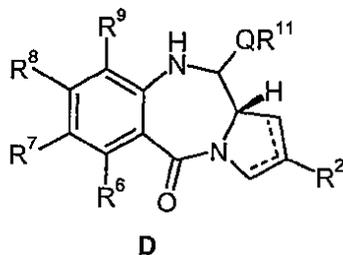
ここで、R"はC<sub>3</sub> - <sub>12</sub>アルキレン基であり、この鎖は1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環がNH<sub>2</sub>によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、

各XはO、S又はN(H)である。

【0021】

本発明は、標的位置における、以下の式(D)の化合物並びにその塩及び溶媒和物を提供するためのコンジュゲートの使用にも関し、

【化8】



D

【0022】

式中、

点線は、C1とC2との間又はC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し、

R<sup>2</sup>は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択され、ハロ又はジハロからさらに選択されていてよく、

ここで、R<sup>D</sup>は、R、CO<sub>2</sub>R、COR、CHO、CO<sub>2</sub>H及びハロから独立して選択され、

R<sup>6</sup>及びR<sup>9</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>7</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>8</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

Qは、O、S及びNHから独立して選択され、

R<sup>11</sup>はH若しくはRのいずれかであるか、又はQがOである場合にはR<sup>11</sup>はSO<sub>3</sub>Mであり、ここで、Mは金属カチオンであり、

R及びR'は、置換されていてもよいC<sub>1</sub> - <sub>12</sub>アルキル基、C<sub>3</sub> - <sub>20</sub>ヘテロシクリル基及びC<sub>5</sub> - <sub>20</sub>アリアル基からそれぞれ独立して選択され、任意選択によりNRR'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、置換されていてもよい4員、5員、6員又は7員の複素環を形成し、

又はR<sup>6</sup>からR<sup>9</sup>の隣接基の任意のペアと一緒に、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-基を形成し、ここで、pは1又は2であり、

又は前記化合物は、各単量体が式(D)であるか、又は一方の単量体が式(D)であり、他方が式(C)である二量体であり、

10

20

30

40

50

各単量体のR<sup>7</sup>基又はR<sup>8</sup>基は、単量体を連結する式-X-R"-X-を有する二量体架橋を一緒に形成し、

ここで、R"はC<sub>3</sub>-<sub>12</sub>アルキレン基であり、その鎖は1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環がNH<sub>2</sub>によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、  
各XはO、S又はN(H)であり、

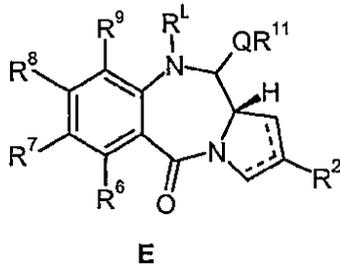
ここで、式(C)の単量体単位は、上記で定義されている通りである。

【0023】

本発明は、本発明のコンジュゲート化合物の調製における使用のための、以下の式(E)の化合物並びにそれらの塩及び溶媒和物にも関し、

10

【化9】



【0024】

20

式中、

点線は、C1とC2との間又はC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し、

R<sup>2</sup>は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択され、ハロ又はジハロからさらに選択されていてもよく、

ここで、R<sup>D</sup>は、R、CO<sub>2</sub>R、COR、CHO、CO<sub>2</sub>H及びハロから独立して選択され、

R<sup>6</sup>及びR<sup>9</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>7</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>8</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

30

R<sup>L</sup>は、細胞結合剤への接続のためのリンカーであり、

Qは、O、S及びNHから独立して選択され、

R<sup>11</sup>はH若しくはRのいずれかであるか、又はQがOである場合にはR<sup>11</sup>はSO<sub>3</sub>Mであり、ここで、Mは金属カチオンであり、

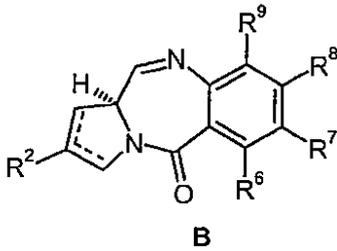
R及びR'は、置換されていてもよいC<sub>1</sub>-<sub>12</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル基及びC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリール基からそれぞれ独立して選択され、任意選択によりNRR'基に関連して、R及びR'は、それらが結合している窒素原子と一緒に、置換されていてもよい4員、5員、6員又は7員の複素環を形成し、

又はR<sup>6</sup>からR<sup>9</sup>の隣接基の任意のペアと一緒に、-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-基を形成し、ここで、pは1又は2であり、

40

又は前記化合物は、各単量体が式(E)であるか、又は一方の単量体が式(E)であり、他方が式(B)である二量体であり

## 【化10】



## 【0025】

(式中、 $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^9$ 、 $R^7$ 、及び $R^8$ は、式(A)の化合物に従って定義されている通りであり、各単量体の $R^7$ 基又は $R^8$ 基は、単量体を連結する式-X-R"-X-を有する二量体架橋を一緒に形成し、

10

ここで、 $R''$ は $C_3 - 12$ アルキレン基であり、この鎖は1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環が $NH_2$ によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、各XはO、S又はN(H)である)、

ここで、前記化合物が、各単量体が式(E)である二量体である場合、単量体の一方の $R^L$ 基がキャッピング基 $R^C$ であるか、又は細胞結合剤への接続のためのリンカーであるかのいずれかである。

## 【0026】

20

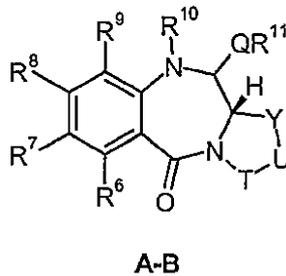
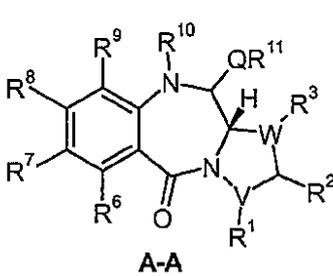
別法として、一実施形態において、 $R''$ は $C_3 - 12$ アルキレン基であり、この鎖は、1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環が $NH_2$ によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよい。

## 【0027】

別法として、新規なコンジュゲート化合物は、上記した通りの式(A)及び(A-1)の化合物から選択することができ、

ここで、(A-1)は、以下の(A-A)及び(A-B)並びにそれらの塩及び溶媒和物から選択され、

## 【化11】



30

## 【0028】

式中、

$R^6$ 、 $R^9$ 、 $R^{10}$ 、Q、 $R^{11}$ 、R及び $R^1$ は、式(A)の化合物に従って定義されている通りであり、

40

$R^7$ は、H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、 $NRR^1$ 、 $NO_2$ 、 $Me_3Sn$ 及び八口から独立して選択され、

$R^8$ は、H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、 $NRR^1$ 、 $NO_2$ 、 $Me_3Sn$ 及び八口から独立して選択され、

或いは $R^6$ から $R^9$ の隣接基の任意のペアは、一緒に $-O-(CH_2)_p-O-$ 基を形成し、ここで、pは1又は2であり、

$R^1$ 又は $R^3$ のいずれかと一緒に $R^2$ は、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成し、

V及びWは、 $(CH_2)_n$ 、O、S、NR、CHR、及び $CRR^1$ からそれぞれ選択され、ここで、nは1

50

、2又は3であり、ただし、 $R^1$ 及び $R^2$ が、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成する場合にはVがCであることを除き、並びに $R^3$ 及び $R^2$ が、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成する場合にはWがCであることを除き、

Tは、 $CH_2$ 、NR、CO、BH、SO及び $SO_2$ から選択され、

Uは、 $CH_2$ 、NR、O及びSから選択され、

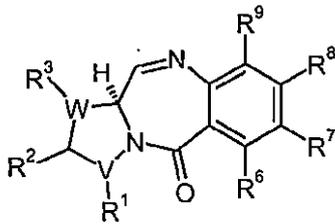
Yは $(CH_2)_n$ であり、ここで、nは1、2、3又は4であり、

ただし、T、U及びYが全て $CH_2$ でないことを除き、

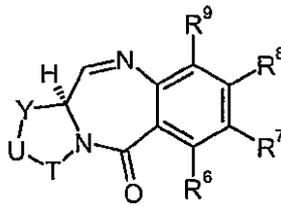
又は該化合物は、各単量体が式(A)であるか、各単量体が式(A-1)であるか、一方の単量体が式(A)であり、他方が上記した通りの式(B)若しくは(B-1)であるか、又は一方の単量体が式(A-1)であり、他方が式(B)又は(B-1)であり、(B-1)が、以下の(B-A)及び(B-B)から選択される二量体であり、

10

【化12】



B-A



B-B

20

【0029】

式中、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$ 、 $R^6$ 、 $R^9$ 、 $R^7$ 及び $R^8$ は、式(A-1)の化合物に従って定義されている通りであり、各単量体の $R^7$ 基又は $R^8$ 基は、該単量体を連結する式-X-R"-X-を有する二量体架橋を一緒に形成し、

ここで、 $R''$ は $C_3 - 12$ アルキレン基であり、この鎖は、1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環が $NH_2$ によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、

各XはO、S又はN(H)であり、

ここで、該化合物が、各単量体が式(A-1)及び/又は式(A)である二量体である場合、該単量体の一方における $R^{10}$ 基は、キャッピング基 $R^C$ であるか、又は細胞結合剤に接続されているリンカーであるかのいずれかである。

30

【0030】

便宜上、Aに対する全ての言及は、A-1(並びにA-A及びA-B)に適用することができ、Bに対する全ての言及は、B-1(並びにB-A及びB-B)に適用することができる。C、D及びEに対する同様の言及も、必要に応じて、(C-1)、(D-1)及び(E-1)に関する。

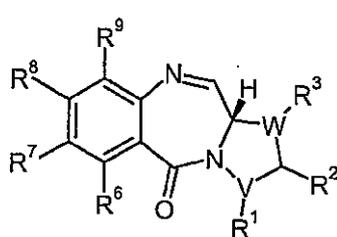
【0031】

別法として、コンジュゲートを使用することで、標的位置に化合物を提供することができ、ここで、該化合物は、上記した通りの式(C)、又は(C-1)の化合物であり、

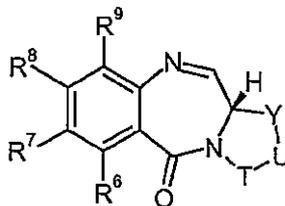
ここで、(C-1)は、以下の(C-A)及び(C-B)並びにその塩及び溶媒和物から選択され、

40

【化13】



C-A



C-B

【0032】

50

式中、

$R^6$ 、 $R^9$ 、 $R$ 及び $R'$ は、式(C)の化合物に従って定義されている通りであり、

$R^7$ は、H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、NRR'、 $NO_2$ 、 $Me_3Sn$ 及び八口から独立して選択され、

$R^8$ は、H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、NRR'、 $NO_2$ 、 $Me_3Sn$ 及び八口から独立して選択され、

又は $R^6$ から $R^9$ の隣接基の任意のペアは、一緒に $-O-(CH_2)_p-O-$ 基を形成し、ここで、 $p$ は1又は2であり、

$R^1$ 又は $R^3$ のいずれかと一緒に $R^2$ は、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成し、

V及びWは、 $(CH_2)_n$ 、O、S、NR、CHR、及びCRR'からそれぞれ選択され、ここで、 $n$ は1、2又は3であり、ただし、 $R^1$ 及び $R^2$ が、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成する場合にはVがCであることを除き、並びに $R^3$ 及び $R^2$ が、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成する場合にはWがCであることを除き、

Tは、 $CH_2$ 、NR、CO、BH、SO及び $SO_2$ から選択され、

Uは、 $CH_2$ 、NR、O及びSから選択され、

Yは $(CH_2)_n$ であり、ここで、 $n$ は1、2、3又は4であり、

ただし、T、U及びYが全て $CH_2$ でないことを除き、

又は該化合物は、各単量体が式(C)であるか、各単量体が式(C-1)であるか、又は一方の単量体が式(C)であり、他方が式(C-1)である二量体であり、各単量体の $R^7$ 基又は $R^8$ 基は、単量体を連結する式 $-X-R''-X-$ を有する二量体架橋と一緒に形成し、

ここで、 $R''$ は $C_3 - 12$ アルキレン基であり、この鎖は、1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環が $NH_2$ によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、

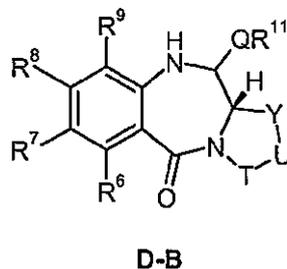
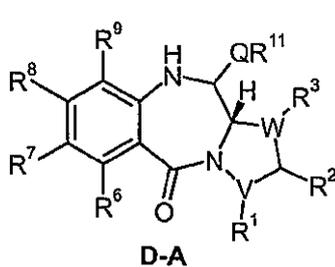
各Xは、O、S又はN(H)である。

#### 【0033】

本発明は、標的位置に化合物を提供するためのコンジュゲートの使用にも関し、ここで、該化合物は、上記した通りの式(D)、又は式(D-1)の化合物であり、

ここで、(D-1)は、以下の(D-A)及び(D-B)並びにその塩及び溶媒和物から選択され、

#### 【化14】



#### 【0034】

式中、

$R^6$ 、 $R^9$ 、 $R$ 及び $R'$ は、式(D)の化合物に従って定義されている通りであり、

$R^7$ は、H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、NRR'、 $NO_2$ 、 $Me_3Sn$ 及び八口から独立して選択され、

$R^8$ は、H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、NRR'、 $NO_2$ 、 $Me_3Sn$ 及び八口から独立して選択され、

又は $R^6$ から $R^9$ の隣接基の任意のペアは、一緒に $-O-(CH_2)_p-O-$ 基を形成し、ここで、 $p$ は1又は2であり、

Qは、O、S及びNHから独立して選択され、

$R^{11}$ は、H若しくはRのいずれかであるか、又はQがOである場合には $SO_3M$ であり、こ

で、Mは金属カチオンであり、

R<sup>1</sup>又はR<sup>3</sup>のいずれかと一緒にR<sup>2</sup>は、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成し、

V及びWは、(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>、O、S、NR、CHR、及びCRR'からそれぞれ選択され、ここで、nは1、2又は3であり、ただし、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>が、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成する場合にはVがCであることを除き、並びにR<sup>3</sup>及びR<sup>2</sup>が、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成する場合にはWがCであることを除き、

Tは、CH<sub>2</sub>、NR、CO、BH、SO及びSO<sub>2</sub>から選択され、

Uは、CH<sub>2</sub>、NR、O及びSから選択され、

Yは(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>であり、ここで、nは1、2、3又は4であり、

ただし、T、U及びYが全てCH<sub>2</sub>でないことを除き、

又は前記化合物は、各単量体が式(D)であるか、各単量体が式(D-1)であるか、又は一方の単量体が式(D)であり、他方が式(D-1)である二量体であり、各単量体のR<sup>7</sup>基又はR<sup>8</sup>基は、該単量体を連結する式-X-R"-X-を有する二量体架橋と一緒に形成し、

ここで、R"はC<sub>3-12</sub>アルキレン基であり、この鎖は、1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環がNH<sub>2</sub>によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、

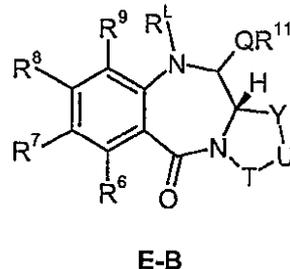
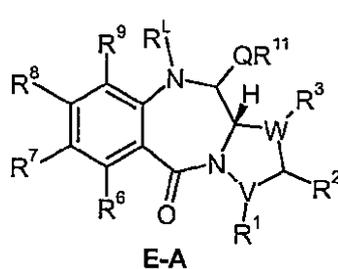
各XはO、S又はN(H)である。

#### 【0035】

別法として、本発明は、本発明のコンジュゲート化合物の調製に使用するための、上記した通りの式(E)、及び(E-1)の化合物も提供し、

ここで、(E-1)は、以下の(E-A)及び(E-B)並びにそれらの塩及び溶媒和物から選択され、

#### 【化15】



#### 【0036】

式中、

R<sup>6</sup>、R<sup>9</sup>、R及びR'は、式(D)の化合物に従って定義されている通りであり、

R<sup>7</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>8</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

又はR<sup>6</sup>からR<sup>9</sup>の隣接基の任意のペアは、一緒に-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-O-基を形成し、ここで、pは1又は2であり、

R<sup>1</sup>は、細胞結合剤への接続のためのリンカーであり、

Qは、O、S及びNHから独立して選択され、

R<sup>11</sup>はH若しくはRのいずれかであるか、又はQがOである場合にはSO<sub>3</sub>Mであり、ここで、Mは金属カチオンであり、

R<sup>1</sup>又はR<sup>3</sup>のいずれかと一緒にR<sup>2</sup>は、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成し、

V及びWは、(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>、O、S、NR、CHR、及びCRR'からそれぞれ選択され、ここで、nは1、2又は3であり、ただし、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>が、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、

10

20

30

40

50

置換されていてもよいベンゼン環を形成する場合にはVがCであることを除き、並びにR<sup>3</sup>及びR<sup>2</sup>が、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成する場合にはWがCであることを除き、

Tは、CH<sub>2</sub>、NR、CO、BH、SO及びSO<sub>2</sub>から選択され、

Uは、CH<sub>2</sub>、NR、O及びSから選択され、

Yは(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>であり、ここで、nは1、2、3又は4であり、

ただし、T、U及びYが全てCH<sub>2</sub>でないことを除き、

又は前記化合物は、各単量体が式(E)であるか、各単量体が式(E-1)であるか、又は一方の単量体が式(E)又は(E-1)であり、他方が式(E)、(E-1)、(B)又は(B-1)である二量体であり、

各単量体のR<sup>7</sup>基又はR<sup>8</sup>基は、該単量体を連結する式-X-R"-X-を有する二量体架橋と一緒に形成し、

ここで、R"はC<sub>3</sub>-<sub>12</sub>アルキレン基であり、この鎖は、1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環がNH<sub>2</sub>によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、

各XはO、S又はN(H)である。

【図面の簡単な説明】

【0037】

【図1a】本発明の特定の実施形態を示す図である。

【図1b】本発明の特定の実施形態を示す図である。

【図2】本発明の特定の実施形態における生物試験の結果を示す図である。

【図3】本発明の特定の実施形態における生物試験の結果を示す図である。

【図4】本発明の特定の実施形態における生物試験の結果を示す図である。

【図5】本発明の特定の実施形態における生物試験の結果を示す図である。

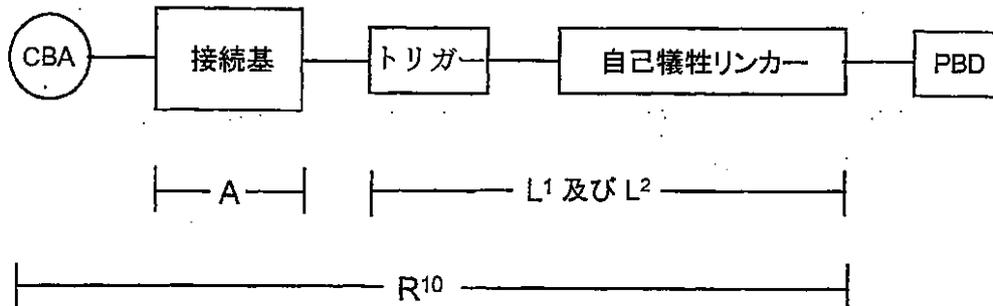
【図6】本発明の特定の実施形態における生物試験の結果を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0038】

本発明は、N10位を通りリンカーを介して細胞結合剤に接続されているPBD化合物を含むコンジュゲートを提供する。一実施形態において、コンジュゲートは、スペーサー接続基に接続されている細胞結合剤、トリガーに接続されているスペーサー、自己犠牲リンカーに接続されているトリガー、及びPBD化合物のN10位に接続されている自己犠牲リンカーを含む。こうしたコンジュゲートを下記に例示する。

【化16】



【0039】

ここで、本明細書に記載されている場合、CBAは細胞結合剤であり、PBDはピロロベンゾジアゼピン化合物である。該例示は、本発明の特定の実施形態におけるR<sup>10</sup>、A、L<sup>1</sup>及びL<sup>2</sup>に対応する部分を示す。

【0040】

本発明は、対象における好ましい部位にPBD化合物を提供する際の使用に相当である。好ましい実施形態において、コンジュゲートは、リンカーのいかなる部分も保持しない活性PBD化合物の放出を可能にする。PBD化合物の反応性に影響し得る切り残りの部分は存在

10

20

30

40

50

しない。

【0041】

特定の実施形態において、本発明は、細胞結合剤に接続されているリンカーを有するPB  
D二量体基を含むコンジュゲートを提供する。本発明者らは、こうした二量体コンジュゲ  
ートが新規なPBD非対称化技術の使用によって調製されることを可能にする方法を本明細  
書に記載している。

【0042】

優先

以下の優先は、上記した通りの本発明の全ての態様に当てはまり得るか、又は単一の態  
様に関連し得る。該優先は、任意の組合せにおいて、一緒に組み合わせることができる。

10

【0043】

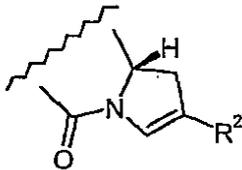
二重結合

一実施形態において、C1とC2との間及びC2とC3との間に二重結合は存在しない。

【0044】

一実施形態において、点線は、下記に示されている通り、C2とC3との間における二重結  
合の任意の存在を示す。

【化17】



20

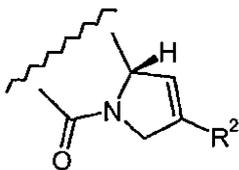
【0045】

一実施形態において、二重結合は、R<sup>2</sup>がC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリール又はC<sub>1</sub>-<sub>12</sub>アルキルである場合  
、C2とC3との間に存在する。

【0046】

一実施形態において、点線は、下記に示されている通り、C1とC2との間における二重結  
合の任意の存在を示す。

【化18】



30

【0047】

一実施形態において、二重結合は、R<sup>2</sup>がC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリール又はC<sub>1</sub>-<sub>12</sub>アルキルである場合  
、C1とC2との間に存在する。

【0048】

R<sup>2</sup>

一実施形態において、R<sup>2</sup>は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R  
、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択され、さらに八口又はジハ口から選択されていてもよい  
。

40

【0049】

一実施形態において、R<sup>2</sup>は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R  
、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択される。

【0050】

一実施形態において、R<sup>2</sup>は、H、=O、=CH<sub>2</sub>、R、=CH-R<sup>D</sup>及び=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>から独立して選択さ  
れる。

【0051】

50

一実施形態において、 $R^2$ は独立してHである。

【0052】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して=Oである。

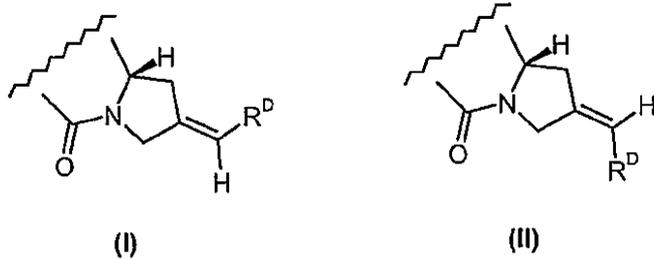
【0053】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して= $CH_2$ である。

【0054】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して= $CH-R^D$ である。PBD化合物中において、= $CH-R^D$ 基は、下記に示されているいずれかの配置を有することができる。

【化19】



10

【0055】

一実施形態において、該配置は配置(I)である。

【0056】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して= $C(R^D)_2$ である。

20

【0057】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して= $CF_2$ である。

【0058】

一実施形態において、 $R^2$ は独立してRである。

【0059】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して、置換されていてもよい $C_5 - 20$ アリールである。

【0060】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して、置換されていてもよい $C_1 - 12$ アルキルである。

【0061】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して、置換されていてもよい $C_5 - 20$ アリールである。

30

【0062】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して、置換されていてもよい $C_5 - 7$ アリールである。

【0063】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して、置換されていてもよい $C_8 - 10$ アリールである。

【0064】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して、置換されていてもよいフェニルである。

【0065】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して、置換されていてもよいナフチルである。

【0066】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して、置換されていてもよいピリジルである。

40

【0067】

一実施形態において、 $R^2$ は独立して、置換されていてもよいキノリニル又はイソキノリニルである。

【0068】

一実施形態において、 $R^2$ は1個から3個の置換基を保有し、1個及び2個がより好ましく、単置換されている基が最も好ましい。置換基は、任意の位置であってよい。

【0069】

$R^2$ が $C_5 - 7$ アリール基である場合、単一置換基は、好ましくは、化合物の残部への結合に隣接していない環原子にあり、即ちそれは、好ましくは、化合物の残部への結合に対し

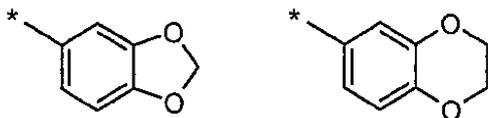
50

て又はである。したがって、 $C_5 \sim 7$ 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。

【0070】

一実施形態において、 $R^2$ は以下から選択され、

【化20】



【0071】

ここで、アスタリスクは結合点を示す。

【0072】

$R^2$ が $C_8 \sim 10$ 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、キノリン環又はイソキノリン環の任意の位置で任意の数の置換基を保有してよい。一部の実施形態において、それは1個、2個又は3個の置換基を保有し、これらは、近位環及び遠位環のいずれか又は両方(1個より多い置換基の場合)の上にあつてよい。

【0073】

一実施形態において、 $R^2$ が置換されていてもよい場合、置換基は、下記の置換基の項に示されている置換基から選択される。

【0074】

$R$ が置換されていてもよい場合、置換基は、好ましくは以下から選択される。

【0075】

ハロ、ヒドロキシル、エーテル、ホルミル、アシル、カルボキシ、エステル、アシルオキシ、アミノ、アミド、アシルアミド、アミノカルボニルオキシ、ウレイド、ニトロ、シアノ及びチオエーテル。

【0076】

一実施形態において、 $R$ 又は $R^2$ が置換されていてもよい場合、置換基は、 $R$ 、 $OR$ 、 $SR$ 、 $NR$ 、 $R'$ 、 $NO_2$ 、ハロ、 $CO_2R$ 、 $COR$ 、 $CONH_2$ 、 $CONHR$ 及び $CONRR'$ からなる群から選択される。

【0077】

$R^2$ が $C_1 \sim 12$ アルキルである場合、任意の置換基には、追加として、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基及び $C_5 \sim 20$ アリール基が含まれることができる。

【0078】

$R^2$ が $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリルである場合、任意の置換基には、追加として、 $C_1 \sim 12$ アルキル基及び $C_5 \sim 20$ アリール基が含まれることができる。

【0079】

$R^2$ が $C_5 \sim 20$ アリール基である場合、任意の置換基には、追加として、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基及び $C_1 \sim 12$ アルキル基が含まれることができる。

【0080】

「アルキル」という用語は、下位部類のアルケニル及びアルキニル、並びにシクロアルキルを包含すると理解される。したがって、 $R^2$ が置換されていてもよい $C_1 \sim 12$ アルキルである場合、アルキル基は、共役系の一部を形成することができる1個又は複数の炭素-炭素二重結合又は三重結合を含有していてもよいと理解される。一実施形態において、置換されていてもよい $C_1 \sim 12$ アルキル基は、少なくとも1個の炭素-炭素二重結合又は三重結合を含有し、この結合は、 $C1$ と $C2$ との間又は $C2$ と $C3$ との間に存在する二重結合と共役されている。一実施形態において、 $C_1 \sim 12$ アルキル基は、飽和されている $C_1 \sim 12$ アルキル、 $C_2 \sim 12$ アルケニル、 $C_2 \sim 12$ アルキニル及び $C_3 \sim 12$ シクロアルキルから選択される基である。

【0081】

$R^2$ 上の置換基がハロである場合、それは好ましくは $F$ 又は $Cl$ であり、より好ましくは $Cl$ である。

【0082】

10

20

30

40

50

R<sup>2</sup>上の置換基がエーテルである場合、それは一部の実施形態においてアルコキシ基、例えば、C<sub>1</sub> - <sub>7</sub>アルコキシ基(例えばメトキシ、エトキシ)であってよいが、又はそれは一部の実施形態においてC<sub>5</sub> - <sub>7</sub>アリアルオキシ基(例えばフェノキシ、ピリジルオキシ、フリルオキシ)であってよい。

【0083】

R<sup>2</sup>上の置換基がC<sub>1</sub> - <sub>7</sub>アルキルである場合、それは好ましくはC<sub>1</sub> - <sub>4</sub>アルキル基(例えばメチル、エチル、プロピル、ブチル)であってよい。

【0084】

R<sup>2</sup>上の置換基がC<sub>3</sub> - <sub>7</sub>ヘテロシクリルである場合、それは一部の実施形態においてヘテロシクリル基、例えばモルホリノ、チオモルホリノ、ピペリジニル、ピペラジニルを含有するC<sub>6</sub>窒素であってよい。これらの基は、窒素原子を介してPBD部分の残部に結合されていてよい。これらの基は、例えばC<sub>1</sub> - <sub>4</sub>アルキル基によってさらに置換されていてよい。

10

【0085】

R<sup>2</sup>上の置換基がビス-オキシ-C<sub>1</sub> - <sub>3</sub>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-エチレンである。

【0086】

R<sup>2</sup>のための特に好ましい置換基には、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-チエニルが含まれる。

【0087】

特に好ましいR<sup>2</sup>置換基には、これらに限定されないが、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-メチルチエニル、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、メトキシナフチル並びにナフチルが含まれる。

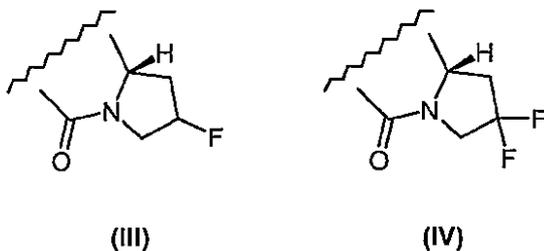
20

【0088】

一実施形態において、R<sup>2</sup>は八口又はジ八口である。一実施形態において、R<sup>2</sup>は-F又は-F<sub>2</sub>であり、この置換基を、それぞれ(III)及び(IV)として、下記に例示する。

【化21】

30



【0089】

R<sup>D</sup>

一実施形態において、R<sup>D</sup>は、R、CO<sub>2</sub>R、COR、CHO、CO<sub>2</sub>H及び八口から独立して選択される。

40

【0090】

一実施形態において、R<sup>D</sup>は独立してRである。

【0091】

一実施形態において、R<sup>D</sup>は独立して八口である。

【0092】

R<sup>6</sup>

一実施形態において、R<sup>6</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及び八口から独立して選択される。

50

## 【0093】

一実施形態において、 $R^6$ は、H、OH、OR、SH、 $NH_2$ 、 $NO_2$ 及びハロゲンから独立して選択される。

## 【0094】

一実施形態において、 $R^6$ は、H及びハロゲンから独立して選択される。

## 【0095】

一実施形態において、 $R^6$ は、独立してHである。

## 【0096】

一実施形態において、 $R^6$ 及び $R^7$ は一緒に $-O-(CH_2)_p-O-$ 基を形成し、ここで、 $p$ は1又は2である。

## 【0097】

$R^7$

$R^7$ は、H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、 $NRR'$ 、 $NO_2$ 、 $Me_3Sn$ 及びハロゲンから独立して選択される。

## 【0098】

一実施形態において、 $R^7$ は独立してORである。

## 【0099】

一実施形態において、 $R^7$ は独立して $OR^{7A}$ であり、ここで、 $R^{7A}$ は独立して、置換されていてもよい $C_{1-6}$ アルキルである。

## 【0100】

一実施形態において、 $R^{7A}$ は独立して、置換されていてもよい飽和 $C_{1-6}$ アルキルである。

## 【0101】

一実施形態において、 $R^{7A}$ は独立して、置換されていてもよい $C_{2-4}$ アルケニルである。

## 【0102】

一実施形態において、 $R^{7A}$ は独立してMeである。

## 【0103】

一実施形態において、 $R^{7A}$ は独立して $CH_2Ph$ である。

## 【0104】

一実施形態において、 $R^{7A}$ は独立してアリルである。

## 【0105】

一実施形態において、該化合物は、各単量体の $R^7$ 基が単量体を連結する式 $X-R''-X$ を有する二量体架橋を一緒に形成する二量体である。

## 【0106】

$R^8$

一実施形態において、該化合物は、各単量体の $R^8$ 基が単量体を連結する式 $X-R''-X$ を有する二量体架橋を一緒に形成する二量体である。

## 【0107】

一実施形態において、 $R^8$ は独立して $OR^{8A}$ であり、ここで、 $R^{8A}$ は独立して、置換されていてもよい $C_{1-4}$ アルキルである。

## 【0108】

一実施形態において、 $R^{8A}$ は独立して、置換されていてもよい飽和 $C_{1-6}$ アルキル又は置換されていてもよい飽和 $C_{2-4}$ アルケニルである。

## 【0109】

一実施形態において、 $R^{8A}$ は独立してMeである。

## 【0110】

一実施形態において、 $R^{8A}$ は独立して $CH_2Ph$ である。

## 【0111】

一実施形態において、 $R^{8A}$ は独立してアリルである。

## 【0112】

10

20

30

40

50

一実施形態において、 $R^8$ 及び $R^7$ は一緒に $-O-(CH_2)_p-O-$ 基を形成し、ここで、 $p$ は1又は2である。

【0113】

一実施形態において、 $R^8$ 及び $R^9$ は一緒に $-O-(CH_2)_p-O-$ 基を形成し、ここで、 $p$ は1又は2である。

【0114】

$R^9$

一実施形態において、 $R^9$ は、H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、 $NRR'$ 、 $NO_2$ 、 $Me_3Sn$ 及びハロゲンから独立して選択される。

【0115】

一実施形態において、 $R^9$ は独立してHである。

【0116】

一実施形態において、 $R^9$ は独立してR又はORである。

【0117】

$R^{10}$

誤解を回避するため、 $R^{10}$ が細胞結合剤に接続されているリンカーである場合、細胞結合剤は $R^{10}$ 基の一部である。

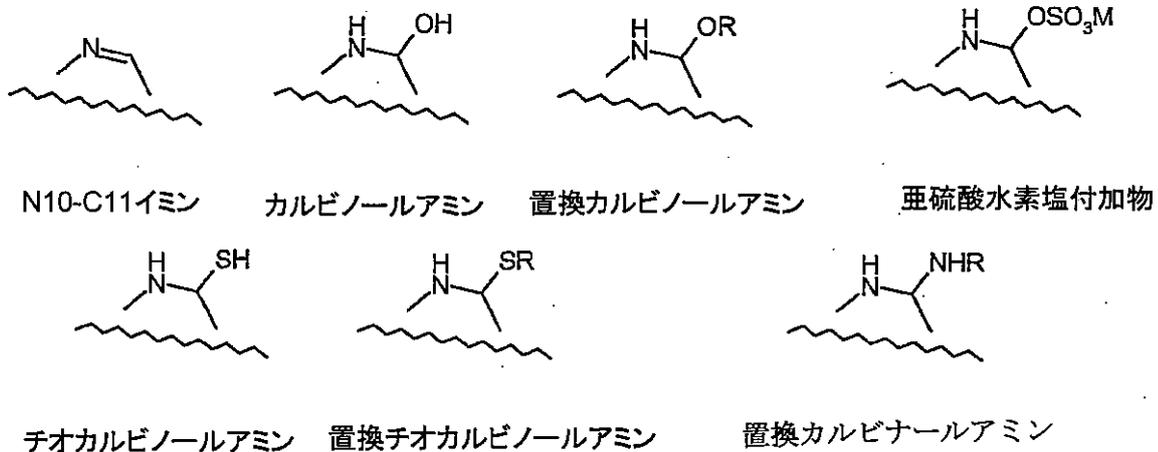
【0118】

本発明の特定の実施形態において、コンジュゲートが二個の単量体Aを含む二量体である場合、一方の単量体は、細胞結合剤に接続されているリンカーである $R^{10}$ 基を有し、他方の単量体は、細胞結合剤又はキャッピング基 $R^C$ に接続されているリンカーである基 $R^{10}$ を有する。好ましくは、他方の単量体は、キャッピング基 $R^C$ である $R^{10}$ 基を有する。したがって、この好ましい実施形態において、細胞結合剤への単一連結だけがある。

【0119】

一実施形態において、 $R^{10}$ 基は、下記に例示されている通りのN10-C11イミン結合、カルビノールアミン、置換カルビノールアミン、 $QR^{11}$ が $OSO_3M$ である場合の亜硫酸水素塩付加物、チオカルビノールアミン、置換チオカルビノールアミン又は置換カルビノールアミンを残すように、PBD部分のN10位から除去可能である。

【化22】



【0120】

ここで、R及びMは、本発明のコンジュゲートに関して定義されている通りである。

【0121】

一実施形態において、 $R^{10}$ 基が、N10-C11イミン結合を残すように、PBD部分のN10位から除去可能である。

【0122】

一部の実施形態において、本発明のコンジュゲートは、式(A)の単量体及び式(B)の単量体を含む二量体化合物である。この実施形態において、単量体(B)が生物活性のためN10位

10

20

30

40

50

及びC11位において適当な官能性を有するので、R<sup>10</sup>基がN10位から除去可能である必要がない。

【0123】

しかし、R<sup>10</sup>基が除去可能であり、それによって、両方の単量体単位のN10位及びC11位において適当な官能性を有する二量体を提供するのが好ましい。こうした官能性は、PBD二量体の架橋活性を可能にするために必要であると考えられる。

【0124】

この出願は特に、N10位へのカルバメート連結を有するR<sup>10</sup>基に関する。

【0125】

該リンカーは、細胞結合剤(CBA)、例えば抗体を、共有結合(単数又は複数)を介してPBD薬物部分Dに結合する。該リンカーは、一つ又は複数の薬物部分(D)及び抗体単位(Ab)を連結することで抗体-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の部分である。リンカー(L)は細胞の外側、即ち細胞外で安定であり得るか、又はそれは酵素活性、加水分解若しく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、好都合にも、薬物部分及び抗体に結合するための反応性官能性を有するリンカーを使用して調製することができる。抗体(Ab)のシステインチオール、又はアミン、例えばN末端又はリシンなどのアミノ酸側鎖は、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)の官能基と結合を形成することができる。

10

【0126】

PBD部分のN10位に結合されているリンカー上の多くの官能基は、細胞結合剤と反応するのに有用であり得る。例えば、エステル、チオエステル、アミド、チオアミド、カルバメート、チオカルバメート、尿素、チオ尿素、エーテル、チオエーテル又はジスルフィドの連結は、リンカー-PBD薬物中間体及び細胞結合剤の反応から形成することができる。

20

【0127】

ADCのリンカーは、好ましくはADC分子の凝集を防止し、水性媒体中及び単量体状態でADCを溶けやすい状態に保つ。

【0128】

ADCのリンカーは、好ましくは細胞外で安定である。細胞中に輸送又は送達する前に、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)は、好ましくは安定であり、無傷のままであり、即ち該抗体は薬物部分に連結されているままである。該リンカーは標的細胞の外側で安定であり、特定の効果的割合にて細胞の内側で切断することができる。有効なリンカーは、(i)抗体の特異的結合特性を維持し、(ii)コンジュゲート又は薬物部分の細胞内送達を可能にし、(iii)コンジュゲートがその標的化部位に送達又は輸送されるまで、安定及び無傷のままであり、即ち切断されてなく、(iv) PBD薬物部分の細胞毒性細胞死滅効果又は細胞分裂停止効果を維持する。ADCの安定性は、質量分析、HPLC、及び分離/分析技術LC/MSなどの標準的な分析技術によって測定することができる。

30

【0129】

抗体及び薬物部分の共有結合は、リンカーが二個の反応性官能基を有すること、即ち反応性の意味において二価性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、及びレポーター基など二つ以上の官能性又は生物活性のある部分を結合するのに有用である二価のリンカー試薬は知られており、それらの結果として生じるコンジュゲートに関する方法は記載されている(Hermanson, G.T. (1996) Bioconjugate Techniques; Academic Press: New York, 234 ~ 242頁)。

40

【0130】

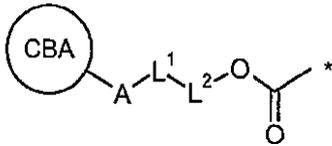
別の実施形態において、該リンカーは、凝集、溶解性又は反応性をモジュレートする基で置換されていてよい。例えば、スルホネート置換基は、試薬の水溶性を増加させることができ、リンカー試薬と抗体若しくは薬物部分とのカップリング反応を促進させるか、又はADCを調製するのに用いられる合成経路に依存して、Ab-LとDとの、若しくはD-LとAbとのカップリング反応を促進させることができる。

50

## 【0131】

一実施形態において、 $R^{10}$ は以下の基であり、

## 【化23】



## 【0132】

ここで、アスタリスクはN10位への結合点を示し、CBAは細胞結合剤であり、 $L^1$ はリンカーであり、Aは $L^1$ を細胞結合剤に接続させる接続基であり、 $L^2$ は共有結合であるか、又は-OC(=O)-と一緒に自己犠牲リンカーを形成し、 $L^1$ 又は $L^2$ は切断可能なリンカーである。

10

## 【0133】

$L^1$ は、好ましくは切断可能なリンカーであり、切断用リンカーの活性化用トリガーと称することができる。

## 【0134】

$L^1$ 及び $L^2$ の性質は、存在する場合、非常に異なることがある。これらの基は、コンジュゲートが送達される部位での条件によって定められ得るそれらの切断特徴に基づいて選択される。酵素の作用によって切断されるリンカーが好ましいが、pH(例えば酸不安定又は塩基不安定)、温度における変化により又は照射時(例えば感光性)に切断可能であるリンカーも使用することができる。還元条件又は酸化条件下で切断可能であるリンカーも本発明に使用され得る。

20

## 【0135】

$L^1$ は、アミノ酸の連続配列を含むことができる。該アミノ酸配列は、酵素的切断のための標的基質であることがあり、それによってN10位からの $R^{10}$ の放出が可能となる。

## 【0136】

一実施形態において、 $L^1$ は酵素の作用によって切断可能である。一実施形態において、該酵素はエステラーゼ又はペプチダーゼである。

## 【0137】

一実施形態において、 $L^2$ が存在し、-C(=O)O-と一緒に自己犠牲リンカーを形成する。一実施形態において、 $L^2$ は酵素活性のための基質であり、それによってN10位からの $R^{10}$ の放出が可能となる。

30

## 【0138】

一実施形態において、 $L^1$ が酵素の作用によって切断可能であり、 $L^2$ が存在する場合、酵素が $L^1$ と $L^2$ との間の結合を切断する。

## 【0139】

$L^1$ 及び $L^2$ は、存在する場合、

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

40

から選択される結合によって接続されていてよい。

## 【0140】

$L^2$ に接続する $L^1$ のアミノ基はアミノ酸のN末端であってよいが、又はアミノ酸側鎖、例えばリシンアミノ酸側鎖のアミノ基から誘導することができる。

## 【0141】

50

L<sup>2</sup>に接続するL<sup>1</sup>のカルボキシル基はアミノ酸のC末端であってよいが、又はアミノ酸側鎖、例えばグルタミン酸アミノ酸側鎖のカルボキシル基から誘導することができる。

【0142】

L<sup>2</sup>に接続するL<sup>1</sup>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から誘導することができる。

【0143】

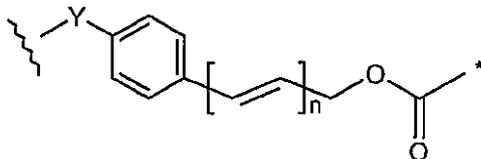
「アミノ酸側鎖」という用語には、(i)アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、トレオニン、トリプトファン、チロシン及びバリンなどの天然アミノ酸、(ii)オルニチン及びシトルリンなどの主要でないアミノ酸、(iii)非天然アミノ酸、ベータ-アミノ酸、天然アミノ酸の合成類似体及び誘導體、並びに(iv)それらの全てのエナンチオマー、ジアステレオマー、異性体濃縮形態、同位体標識形態(例えば<sup>2</sup>H、<sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C、<sup>15</sup>N)、保護形態、及びラセミ混合物に見られる基が含まれる。

10

【0144】

一実施形態において、-C(=O)O-及びL<sup>2</sup>は一緒に以下の基を形成し、

【化24】



20

【0145】

ここで、アスタリスクはN10位への結合点を示し、波線はリンカー-L<sup>1</sup>への結合点を示し、Yは-N(H)-、-O-、-C(=O)N(H)-又は-C(=O)O-であり、nは0から3である。フェニレン環は、本明細書に記載されている通りの1個、2個又は3個の置換基で置換されていてもよい。一実施形態において、フェニレン基は、ハロ、NO<sub>2</sub>、R又はORで置換されていてもよい。

【0146】

一実施形態において、YはNHである。

【0147】

一実施形態において、nは0又は1である。好ましくは、nは0である。

30

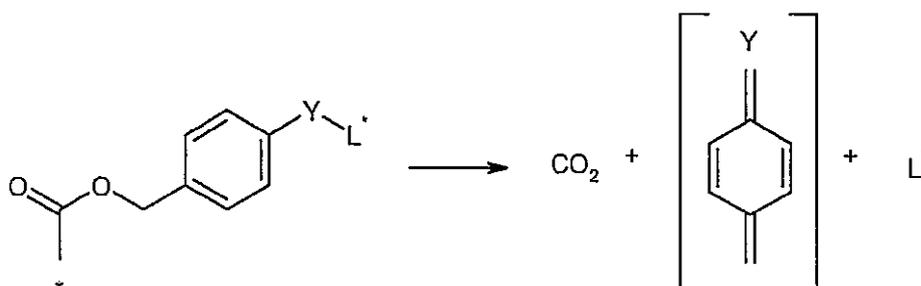
【0148】

YがNHであり、nが0である場合、自己犠牲リンカーをp-アミノベンジルカルボニルリンカー(PABC)と称することがある。

【0149】

自己犠牲リンカーは、遠隔部位が活性化されると、下記に示される線図(n=0に関する)に沿って進行し、保護化合物の放出を可能にし、

【化25】



40

【0150】

ここで、L\*は、リンカーの残りの部分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の部位を分離させる利点を有する。上記した通り、該フェニレン

50

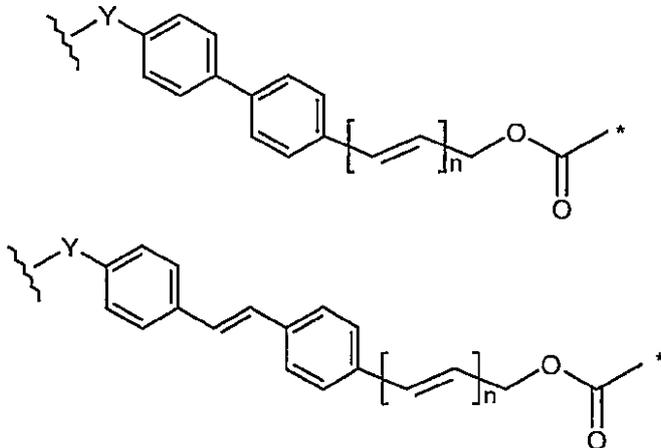
基は置換されていてもよい。

【0151】

本明細書に記載されている一実施形態において、L<sup>\*</sup>基は、本明細書に記載されている通りのリンカー-L<sup>1</sup>であり、これにはジペプチド基が含まれることができる。

【0152】

別の実施形態において、-C(=O)O-及びL<sup>2</sup>は一緒に、以下から選択される基を形成し、



10

20

【0153】

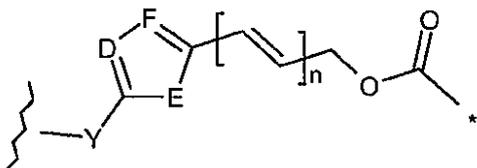
ここで、アスタリスク、波線、Y及びnは、上記で定義されている通りである。各フェニレン環は、本明細書に記載されている通りの1個、2個又は3個の置換基で置換されていてもよい。一実施形態において、Y置換基を有するフェニレン環は置換されていてもよく、Y置換基を有していないフェニレン環は非置換である。一実施形態において、Y置換基を有するフェニレン環は非置換であり、Y置換基を有していないフェニレン環は置換されていてもよい。

【0154】

別の実施形態において、-C(=O)O-及びL<sup>2</sup>は一緒に、以下から選択される基を形成し、

【化27】

30



【0155】

ここで、アスタリスク、波線、Y、及びnは、上記で定義されている通りであり、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。

【0156】

一実施形態において、DはNである。

40

【0157】

一実施形態において、DはCHである。

【0158】

一実施形態において、EはO又はSである。

【0159】

一実施形態において、FはCHである。

【0160】

好ましい実施形態において、リンカーはカテプシン不安定リンカーである。

【0161】

一実施形態において、L<sup>1</sup>はジペプチドを含む。ジペプチドは-NH-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-CO-として表す

50

ことができ、ここで、-NH-及び-CO-は、それぞれアミノ酸基 $X_1$ 及び $X_2$ のN末端及びC末端を表す。ジペプチドにおけるアミノ酸は、天然アミノ酸の任意の組合せであってよい。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切断のための作用部位であり得る。

【0162】

追加として、カルボキシル又はアミノ側鎖官能性を有するアミノ酸基、例えばそれぞれGlu及びLysに関して、CO及びNHが、その側鎖官能性を表すことがある。

【0163】

一実施形態において、ジペプチドである-NH- $X_1$ - $X_2$ -CO-における- $X_1$ - $X_2$ -基は、

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

10

から選択され、

20

ここで、Citはシトルリンである。

【0164】

好ましくは、ジペプチドである-NH- $X_1$ - $X_2$ -CO-における- $X_1$ - $X_2$ -基は、

-Phe-Lys-、  
-Val-Ala-、  
-Val-Lys-、  
-Ala-Lys-、  
-Val-Cit-

から選択される。

30

【0165】

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

【0166】

参照により本明細書に組み込まれるDubowchikら、Bioconjugate Chemistry、2002、13、855～869によって記載されているものを含めて、他のジペプチド組合せを使用することができる。

【0167】

一実施形態において、アミノ酸側鎖は、適切な場合には誘導体化される。例えば、アミノ酸側鎖のアミノ基又はカルボキシ基は、誘導体化することができる。

【0168】

一実施形態において、リシンなどの側鎖アミノ酸のアミノ基 $NH_2$ は、NHR及びNRR'からなる群から選択される誘導体化形態である。

40

【0169】

一実施形態において、アスパラギン酸などの側鎖アミノ酸のカルボキシ基COOHは、COOR、CONH<sub>2</sub>、CONHR及びCONRR'からなる群から選択される誘導体化形態である。

【0170】

一実施形態において、アミノ酸側鎖は、適切な場合には化学的に保護される。側鎖保護基は、R<sup>t</sup>基に関連して下記に考察されている通りの基であってよい。本発明者らは、保護アミノ酸配列が酵素によって切断可能であることを確認した。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ことを確認した。

50

## 【0171】

アミノ酸の側鎖のための保護基は当技術分野においてよく知られており、Novabiochem Catalogに記載されている。追加の保護基戦略は、Protective Groups in Organic Synthesis、Greene及びWutsに提示されている。

## 【0172】

反応性側鎖官能性を有するアミノ酸のための可能な側鎖保護基を下記に示す。

## 【0173】

Arg: Z、Mtr、Tos、  
 Asn: Trt、Xan、  
 Asp: Bzl、t-Bu、  
 Cys: Acn、Bzl、Bzl-OMe、Bzl-Me、Trt、  
 Glu: Bzl、t-Bu、  
 Gln: Trt、Xan、  
 His: Boc、Dnp、Tos、Trt、  
 Lys: Boc、Z-Cl、Fmoc、Z、Alloc、  
 Ser: Bzl、TBDMS、TBDPS、  
 Thr: Bz、  
 Trp: Boc、  
 Tyr: Bzl、Z、Z-Br

10

一実施形態において、側鎖保護は、存在する場合のキャッピング基として又はその一部として提供される基に直交であるように選択される。したがって、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性を除去しない。

20

## 【0174】

本発明の他の実施形態において、選択されるアミノ酸は、反応性側鎖官能性を有していないものである。例えば、アミノ酸は、Ala、Gly、Ile、Leu、Met、Phe、Pro及びValから選択することができる。

## 【0175】

一実施形態において、ジペプチドは、自己犠牲リンカーと組み合わせて使用される。自己犠牲リンカーは-X<sub>2</sub>-に接続されていてよい。

## 【0176】

自己犠牲リンカーが存在する場合、-X<sub>2</sub>-は自己犠牲リンカーに直接接続されている。好ましくは、-X<sub>2</sub>-CO-基は、YがNHである場合、Yに接続されており、それによって-X<sub>2</sub>-CO-NH-基を形成する。

30

## 【0177】

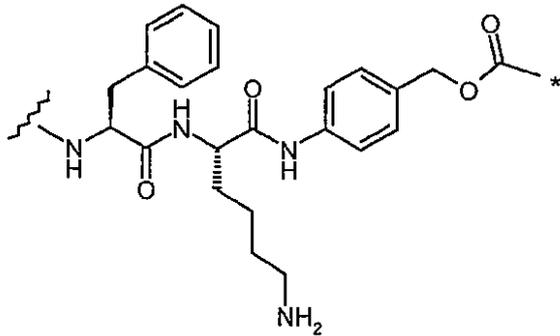
-NH-X<sub>1</sub>-は、Aに直接接続されている。Aは、官能性-CO-を含むことで、それによってアミド連結を-X<sub>1</sub>-と形成することができる。

## 【0178】

一実施形態において、L<sup>1</sup>及びL<sup>2</sup>は-OC(=O)-と一緒に、NH-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-CO-PABC-基を含む。PABC基はN10位に直接接続されている。好ましくは、自己犠牲リンカー及びジペプチドと一緒に、下記に例示される-NH-Phe-Lys-CO-NH-PABC-基を形成し、

40

## 【化28】



10

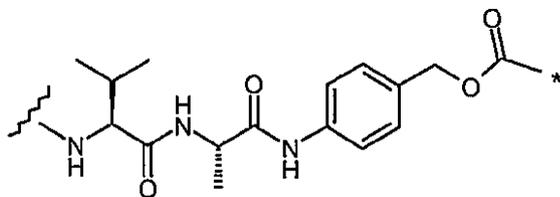
## 【0179】

ここで、アスタリスクはN10位への結合点を示し、波線はリンカー-L<sup>1</sup>の残りの部分への結合点、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。Lysアミノ酸の側鎖は、例えば、上記した通りBoc、Fmoc又はAllocで保護することができる。

## 【0180】

別法として、自己犠牲リンカー及びジペプチドと一緒に、下記に例示されている-NH-Val-Ala-CO-NH-PABC-基を形成し、

## 【化29】



20

## 【0181】

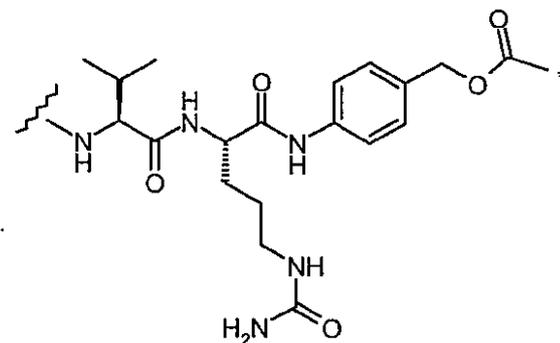
ここで、アスタリスク及び波線は、上記で定義されている通りである。

## 【0182】

別法として、自己犠牲リンカー及びジペプチドと一緒に、下記に例示されている-NH-Val-Cit-CO-NH-PABC-基を形成し、

30

## 【化30】



40

## 【0183】

ここで、アスタリスク及び波線は、上記で定義されている通りである。

## 【0184】

本発明の一部の実施形態において、PBD/薬物部分が非保護イミン結合を含有するならば、例えばB部分が存在するならば、リンカーは遊離アミノ(H<sub>2</sub>N-)基を含有しないのが好ましいことがある。したがってリンカーが-A-L<sup>1</sup>-L<sup>2</sup>-構造を有する場合は、これは、好ましくは遊離アミノ基を含有しない。この優先度は、リンカーが例えばL<sup>1</sup>としてジペプチドを含有する場合に特に関係する。この実施形態において、二種のアミノ酸の一種がリシンから選択されていないことが好ましい。

50

## 【 0 1 8 5 】

理論によって束縛されることを望むことなく、本発明者らは、薬物部分中の非保護イミン結合及びリンカー中の遊離アミノ基の組合せが、こうした薬物-リンカー部分と抗体とのコンジュゲーションを干渉し得る薬物-リンカー部分の二量化を引き起こすことができることを見出した。これらの基の交差反応は、強酸(例えばTFA)が遊離アミノ基を脱保護するために使用された場合など、遊離アミノ基がアンモニウムイオン( $H_3N^+$ )として存在する場合に加速することができる。

## 【 0 1 8 6 】

一実施形態において、Aは共有結合である。したがって、 $L^1$ 及び細胞結合剤は直接接続されている。例えば、 $L^1$ が近接のアミノ酸配列を含む場合、配列のN末端は細胞結合剤に直接接続し得る。

10

## 【 0 1 8 7 】

したがって、Aが共有結合である場合、細胞結合剤と $L^1$ との間の接続は、

-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-、  
 -CH<sub>2</sub>C(=O)-、及び  
 =N-NH-

20

から選択することができる。

## 【 0 1 8 8 】

細胞結合剤に接続する $L^1$ のアミノ基は、アミノ酸のN末端であってよいか、又はアミノ酸側鎖、例えばリシンアミノ酸側鎖のアミノ基から誘導することができる。

30

## 【 0 1 8 9 】

細胞結合剤に接続する $L^1$ のカルボキシル基は、アミノ酸のC末端であってよいか、又はアミノ酸側鎖、例えばグルタミン酸アミノ酸側鎖のカルボキシル基から誘導することができる。

## 【 0 1 9 0 】

細胞結合剤に接続する $L^1$ 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から誘導することができる。

## 【 0 1 9 1 】

細胞結合剤に接続する $L^1$ のチオール基は、アミノ酸側鎖、例えばセリンアミノ酸側鎖のチオール基から誘導することができる。

40

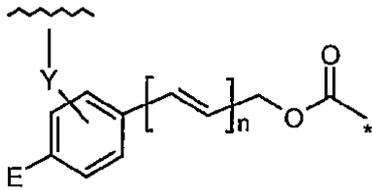
## 【 0 1 9 2 】

$L^1$ のアミノ基、カルボキシル基、ヒドロキシル基及びチオール基に関連する上記の注釈は、細胞結合剤にも当てはまる。

## 【 0 1 9 3 】

一実施形態において、 $L^2$ は-OC(=O)-と一緒に

## 【化31】



## 【0194】

を表し、

ここで、アスタリスクはN10位への結合点を示し、波線はL<sup>1</sup>への結合点を示し、nは0から3であり、Yは共有結合又は官能基であり、Eは例えば酵素作用又は光によって活性化可能な基であり、それによって自己犠牲の単位を発生させる。フェニレン環は、本明細書に記載されている通りの1個、2個又は3個の置換基でさらに置換されていてもよい。一実施形態において、フェニレン基は、ハロ、NO<sub>2</sub>、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、最も好ましくは0である。

10

## 【0195】

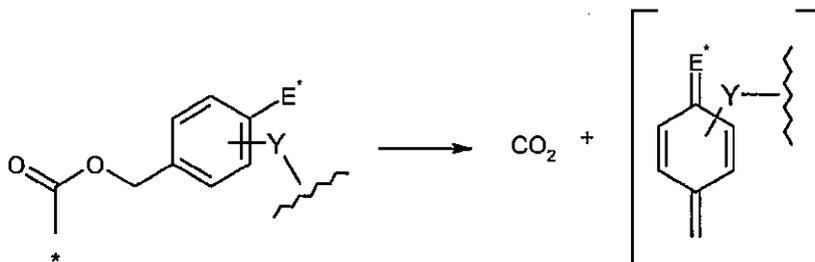
Eは、該基が例えば光による又は酵素の作用による活性化を受けやすいように選択される。Eは-NO<sub>2</sub>又はグルクロン酸であってよい。前者はニトロレダクターゼの作用を受けやすいことがあり、後者は -グルコロニダーゼ (glucuronidase) の作用を受けやすいことがある。

20

## 【0196】

この実施形態において、自己犠牲リンカーは、Eが活性化されると、下記に示される線図(n=0に関する)に沿って進行し、保護化合物の放出を可能にさせ、

## 【化32】



30

## 【0197】

ここで、アスタリスクはN10位への結合点を示し、E\*はEの活性化形態であり、Yは上記した通りである。これらの基は、保護されている化合物から活性化の部位を分離させる利点を有する。上記した通り、フェニレン基はさらに置換されていてもよい。

## 【0198】

Y基は、L<sup>1</sup>への共有結合であってよい。

## 【0199】

Y基は、

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

40

50

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

から選択される官能基であってよい。

【0200】

L<sup>1</sup>がジペプチドである場合、Yは-NH-又は-C(=O)-であり、それによってL<sup>1</sup>とYとの間にアミド結合を形成することが好ましい。この実施形態において、ジペプチド配列は、酵素活性のための基質である必要はない。

【0201】

別の実施形態において、Aはスペーサー基である。したがって、L<sup>1</sup>及び細胞結合剤は間接的に接続されている。

【0202】

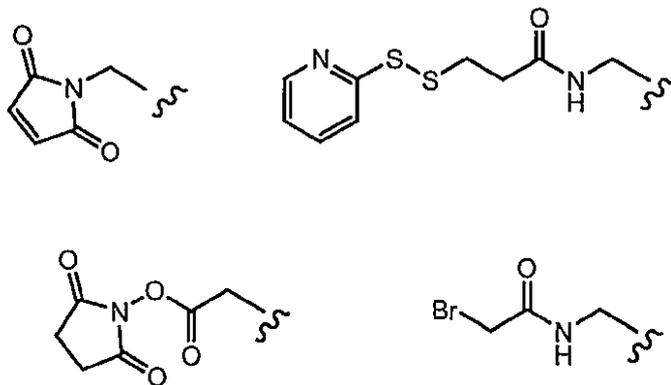
L<sup>1</sup>及びAは、  
 -C(=O)NH-、  
 -C(=O)O-、  
 -NHC(=O)-、  
 -OC(=O)-、  
 -OC(=O)O-、  
 -NHC(=O)O-、  
 -OC(=O)NH-、及び  
 -NHC(=O)NH-

から選択される結合によって接続されていてよい。

【0203】

好ましくは、該リンカーは、細胞結合剤上の求核性官能基との反応のための求電子性官能基を含有する。抗体上の求核基には、これらに限定されないが、(i) N末端アミン基、(ii) 側鎖アミン基、例えばリシン、(iii) 側鎖チオール基、例えばシステイン、及び(iv) 抗体がグリコシル化される場合の糖ヒドロキシル基又は糖アミノ基が含まれる。アミン基、チオール基及びヒドロキシル基は求核性であり、反応することで、(i) マレイミド基、(ii) 活性化ジスルフィド、(iii) NHS(N-ヒドロキシスクシンイミド)エステル、HOBt(N-ヒドロキシベンゾトリアゾール)エステルなどの活性エステル、ハロホルメート及び酸ハロゲン化物、(iv) ハロアセトアミドなどのアルキル及びベンジルのハロゲン化物、並びに(v) アルデヒド、ケトン、カルボキシルを含めて、リンカー部分及びリンカー試薬上の求電子基と共有結合を形成する能力があり、それらの一部を以下の通りに例示する。

【化33】



【0204】

特定の抗体は、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)などの還元剤を用いる処理によってリンカー試薬とのコンジュゲーション用に反応性とすることができる。各システイン架橋は、したがって、理論的に

10

20

30

40

50

二種の反応性チオール求核試薬を形成する。追加の求核基は、リシンと2-イミノチオラン(トラウト試薬)との反応を介して抗体に導入することができ、チオールへのアミンの変換をもたらす。反応性チオール基は、1個、2個、3個、4個又はそれより多いシステイン残基を導入する(例えば、1個又は複数の非天然システインアミノ酸残基を含む突然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。US 7,521,541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。

## 【0205】

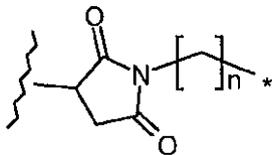
一部の実施形態において、リンカーは、抗体上に存在する求電子基と反応性である反応性求核基を有する。抗体上の有用な求電子基には、これらに限定されないが、アルデヒド基及びケトンカルボニル基が含まれる。リンカーの求核基のヘテロ原子は、抗体上の求電子基と反応し、抗体単位上に共有結合を形成することができる。リンカー上の有用な求核基には、これらに限定されないが、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドロキシル、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート及びアリアルヒドラジドが含まれる。抗体上の求電子基は、リンカーへの結合のための好都合な部位を提供する。

10

## 【0206】

一実施形態において、A基は、

## 【化34】



20

## 【0207】

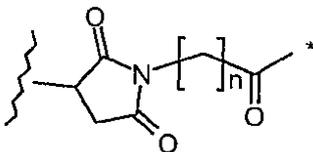
であり、

ここで、アスタリスクはL<sup>1</sup>への結合点を示し、波線は細胞結合剤への結合点を示し、nは0から6である。一実施形態において、nは5である。

## 【0208】

一実施形態において、A基は、

## 【化35】



30

## 【0209】

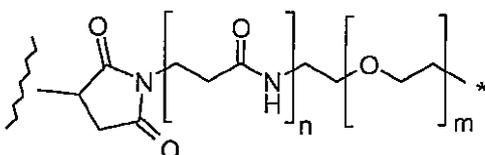
であり、

ここで、アスタリスクはL<sup>1</sup>への結合点を示し、波線は細胞結合剤への結合点を示し、nは0から6である。一実施形態において、nは5である。

## 【0210】

一実施形態において、A基は、

## 【化36】



40

## 【0211】

であり、

ここで、アスタリスクはL<sup>1</sup>への結合点を示し、波線は細胞結合剤への結合点を示し、nは0又は1であり、mは0から30である。好ましい実施形態において、nは1であり、mは0か

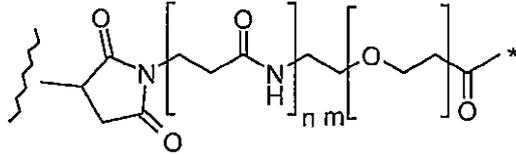
50

ら10、1から8、好ましくは4から8、及び最も好ましくは4又は8である。別の実施形態において、mは10から30、及び好ましくは20から30である。別法として、mは0から50である。この実施形態において、mは好ましくは10~40であり、nは1である。

【0212】

一実施形態において、A基は、

【化37】



10

【0213】

であり、

ここで、アスタリスクはL<sup>1</sup>への結合点を示し、波線は細胞結合剤への結合点を示し、nは0又は1であり、mは0から30である。好ましい実施形態において、nは1であり、mは0から10、1から8、好ましくは4から8、及び最も好ましくは4又は8である。別の実施形態において、mは10から30、及び好ましくは20から30である。別法として、mは0から50である。この実施形態において、mは好ましくは10~40であり、nは1である。

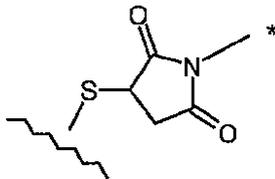
【0214】

一実施形態において、細胞結合剤とAとの間の接続は、細胞結合剤のチオール残基及びAのマレイミド基を介する。 20

【0215】

一実施形態において、細胞結合剤とAとの間の接続は、

【化38】



30

【0216】

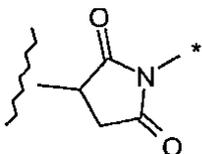
であり、

ここで、アスタリスクはAの残りの部分への結合点を示し、波線は細胞結合剤の残りの部分への結合点を示す。この実施形態において、S原子は通常細胞結合剤から誘導される。

【0217】

上記実施形態のそれぞれにおいて、下記に示されるマレイミド誘導基の代わりに代替官能性基を使用することができ、

【化39】



40

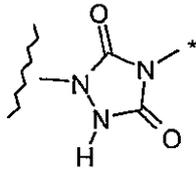
【0218】

ここで、波線は前の通りに細胞結合剤への結合点を示し、アスタリスクはA基の残りの部分への結合を示す。

【0219】

一実施形態において、マレイミド誘導基は、以下の基と置き換えられ、

## 【化40】



## 【0220】

ここで、波線は細胞結合剤への結合点を示し、アスタリスクはA基の残りの部分への結合を示す。

## 【0221】

一実施形態において、マレイミド誘導基は、任意選択により細胞結合剤と一緒に

- 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-
- CH<sub>2</sub>C(=O)-
- C(=O)CH<sub>2</sub>-
- =N-NH-、及び
- NH-N=

10

20

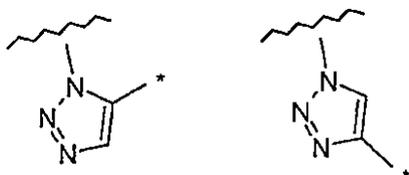
から選択される基と置き換えられる。

## 【0222】

一実施形態において、マレイミド誘導基は、任意選択により細胞結合剤と一緒に

30

## 【化41】



## 【0223】

から選択される基と置き換えられ、

ここで、波線は、細胞結合剤への結合点又はA基の残りの部分への結合のいずれかを示し、アスタリスクは、細胞結合剤への結合点又はA基の残りの部分の他方への結合を示す。

40

## 【0224】

L<sup>1</sup>を細胞結合剤に接続するのに適当な他の基は、WO 2005/082023に記載されている。

## 【0225】

R<sup>10</sup>基はR<sup>L</sup>基から誘導可能である。R<sup>L</sup>基は、細胞結合剤をR<sup>L</sup>の官能基に接続することによってR<sup>10</sup>基に変換することができる。R<sup>L</sup>をR<sup>10</sup>に変換するために他のステップをとることができる。これらのステップには、存在する場合に保護基の除去、又は適切な官能基を設けることが含まれ得る。

## 【0226】

50

Q

一実施形態において、Qは、O、S又はN(H)から選択される。

【0227】

好ましくは、QはOである。

【0228】

R<sup>11</sup>

一実施形態において、R<sup>11</sup>は、H若しくはR、又はQがOである場合にはSO<sub>3</sub>Mのいずれかであり、ここで、Mは金属カチオンである。

【0229】

一実施形態において、R<sup>11</sup>はHである。

10

【0230】

一実施形態において、R<sup>11</sup>はRである。

【0231】

一実施形態において、QがOである場合、R<sup>11</sup>はSO<sub>3</sub>Mであり、ここで、Mは金属カチオンである。該カチオンはNa<sup>+</sup>であってよい。

【0232】

R<sup>L</sup>

一実施形態において、R<sup>L</sup>は、細胞結合剤に接続するためのリンカーである。

【0233】

一実施形態において、リンカーには、細胞結合剤への接続を形成するための官能基が備わっている。この出願は、特に、N10位へのカルバメート連結を有するR<sup>L</sup>基に関する。上記のR<sup>10</sup>における連結基の考察は、本明細書におけるそれらの直前の前駆体にも関係する。

20

【0234】

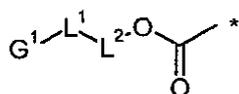
R<sup>L</sup>は、細胞結合剤との反応に適当でないR<sup>C</sup>と異なる。しかし、一部の実施形態において、R<sup>C</sup>は、例えば保護基、及びR<sup>C</sup>であるか又はその一部を形成する他の官能性基を適切に操作することによって、R<sup>L</sup>基に変換することができる。

【0235】

一実施形態において、R<sup>L</sup>は以下の基であり、

【化42】

30



【0236】

ここで、アスタリスクはN10位への結合点を示し、G<sup>1</sup>は細胞結合剤への接続を形成するための官能基であり、L<sup>1</sup>はリンカーであり、L<sup>2</sup>は共有結合であるか、又は-OC(=O)-と一緒に自己犠牲リンカーを形成し、L<sup>1</sup>又はL<sup>2</sup>は切断可能なリンカーである。

【0237】

L<sup>1</sup>及びL<sup>2</sup>は、R<sup>10</sup>に関連して上記で定義されている通りである。Aへの接続に対する言及は、本明細書において、G<sup>1</sup>への接続に対する言及の通りであると解釈することができる。

40

【0238】

一実施形態において、L<sup>1</sup>がアミノ酸を含む場合、そのアミノ酸の側鎖は保護することができる。任意の適当な保護基を使用することができる。一実施形態において、側鎖保護基は、存在する場合、該化合物の他の保護基を用いて除去可能である。他の実施形態において、該保護基は、存在する場合、該分子における他の保護基と直交であってよい。

【0239】

アミノ酸側鎖に適当な保護基には、Novabiochem Catalog 2006/2007に記載されている基が含まれる。カテプシン不安定リンカーに使用するための保護基は、Dubowchikらにおいても考察されている。

【0240】

50

本発明の特定の実施形態において、L<sup>1</sup>基には、Lysアミノ酸残基が含まれる。このアミノ酸の側鎖は、Boc又はAlloc保護基で保護することができる。Boc保護基が最も好ましい。

【0241】

官能基G<sup>1</sup>は、細胞結合剤と反応すると直ぐに接続基Aを形成する。

【0242】

一実施形態において、官能基G<sup>1</sup>は細胞結合剤上の適切な基と反応するためのアミノ基、カルボン酸基、ヒドロキシル基、チオール基又はマレイミド基であるか、又はこれらを含む。好ましい実施形態において、G<sup>1</sup>はマレイミド基を含む。

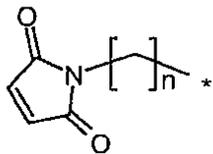
【0243】

一実施形態において、G<sup>1</sup>基はアルキルマレイミド基である。この基は、細胞結合剤中、例えば抗体中に存在するチオール基、特にシステインチオール基との反応に適當である。

【0244】

一実施形態において、G<sup>1</sup>基は、

【化43】



10

20

【0245】

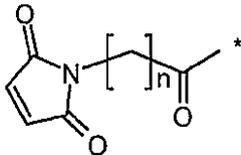
であり、

ここで、アスタリスクはL<sup>1</sup>への結合点を示し、nは0から6である。一実施形態において、nは5である。

【0246】

一実施形態において、G<sup>1</sup>基は、

【化44】



30

【0247】

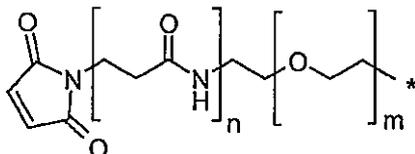
であり、

ここで、アスタリスクはL<sup>1</sup>への結合点を示し、nは0から6である。一実施形態において、nは5である。

【0248】

一実施形態において、G<sup>1</sup>基は、

【化45】



40

【0249】

であり、

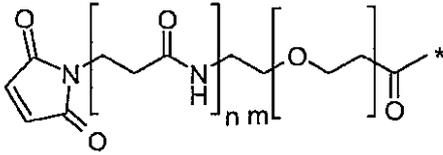
ここで、アスタリスクはL<sup>1</sup>への結合点を示し、nは0又は1であり、mは0から30である。好ましい実施形態において、nは1であり、mは0から10、1から2、好ましくは4から8、及び最も好ましくは4又は8である。別法として、mは0から50である。この実施形態において、mは好ましくは10~40であり、nは1である。

50

## 【0250】

一実施形態において、G<sup>1</sup>基は、

## 【化46】



## 【0251】

であり、

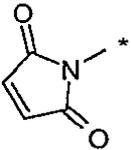
10

ここで、アスタリスクはL<sup>1</sup>への結合点を示し、nは0又は1であり、mは0から30である。好ましい実施形態において、nは1であり、mは0から10、1から8、好ましくは4から8、及び最も好ましくは4又は8である。別法として、mは0から50である。この実施形態において、mは好ましくは10~40であり、nは1である。

## 【0252】

上記実施形態のそれぞれにおいて、下記に示されるマレイミド基の代わりに、代替官能性基を使用することができ、

## 【化47】



20

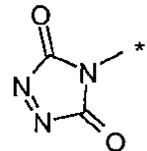
## 【0253】

ここで、アスタリスクは、G基の残りの部分への結合を示す。

## 【0254】

一実施形態において、マレイミド誘導基は、以下の基と置き換えられ、

## 【化48】



30

## 【0255】

ここで、アスタリスクはG基の残りの部分への結合を示す。

## 【0256】

一実施形態において、マレイミド基は、

-C(=O)OH、

-OH、

-NH<sub>2</sub>、

-SH、

-C(=O)CH<sub>2</sub>D、ここで、DはCl、Br又はIであり、

-CHO、

-NHNH<sub>2</sub>

-C CH、及び

-N<sub>3</sub>(アジ化物)

40

から選択される基と置き換えられる。

## 【0257】

一実施形態において、L<sup>1</sup>が存在する場合、G<sup>1</sup>は-NH<sub>2</sub>、-NHMe、-COOH、-OH又は-SHである。

50

## 【0258】

一実施形態において、 $L^1$ が存在する場合、 $G^1$ は $-NH_2$ 又は $-NHMe$ である。いずれか一方の基は、 $L^1$ アミノ酸配列のN末端であってよい。

## 【0259】

一実施形態において、 $L^1$ が存在する場合、 $G^1$ は $-NH_2$ であり、 $L^1$ は、 $R^{10}$ に関連して上記で定義されている通り、アミノ酸配列 $-X_1-X_2-$ である。

## 【0260】

一実施形態において、 $L^1$ が存在する場合、 $G^1$ は $COOH$ である。この基は、 $L^1$ アミノ酸配列のC末端であってよい。

## 【0261】

一実施形態において、 $L^1$ が存在する場合、 $G^1$ は $OH$ である。

10

## 【0262】

一実施形態において、 $L^1$ が存在する場合、 $G^1$ は $SH$ である。

## 【0263】

$G^1$ 基は、一種の官能基から別の官能基に変換可能であり得る。一実施形態において、 $L^1$ が存在する場合、 $G^1$ は $-NH_2$ である。この基は、マレイミド基を含む別の $G^1$ 基に変換可能である。例えば、 $-NH_2$ 基は、上記に示されているマレイミドを含む $G^1$ 基の酸又は活性酸(例えばN-スクシンイミド形態)と反応させることができる。

## 【0264】

$G^1$ 基はしたがって、細胞結合剤との反応により適切な官能基に変換することができる。

20

## 【0265】

他の実施形態において、 $R^L$ は、官能基が提供されているリンカーへの前駆体である基である。

## 【0266】

上記で留意されている通り、一実施形態において、 $L^1$ が存在する場合、 $G^1$ は $-NH_2$ 、 $-NHMe$ 、 $-COOH$ 、 $-OH$ 又は $-SH$ である。さらなる実施形態において、これらの基は、化学的に保護されている形態で提供される。化学的に保護されている形態は、したがって、官能基が提供されているリンカーへの前駆体である。

## 【0267】

一実施形態において、 $G^1$ は、化学的に保護されている形態における $-NH_2$ である。該基は、カルバメート保護基で保護することができる。カルバメート保護基は、

30

Alloc、Fmoc、Boc、Troc、Teoc、Cbz及びPNZ

からなる群から選択することができる。

## 【0268】

好ましくは、 $G^1$ が $-NH_2$ である場合、それはAlloc基又はFmoc基で保護されている。

## 【0269】

一実施形態において、 $G^1$ が $-NH_2$ である場合、それはFmoc基で保護されている。

## 【0270】

一実施形態において、保護基はキャッピング基のカルバメート保護基と同じである。

## 【0271】

一実施形態において、保護基は、キャッピング基のカルバメート保護基と同じではない。この実施形態において、保護基は、キャッピング基のカルバメート保護基を除去しない条件下において除去可能であることが好ましい。

40

## 【0272】

化学的保護基を除去することで、細胞結合剤への接続を形成するための官能基を提供することができる。任意選択により、この官能基は次いで、上記した通り別の官能基に変換することができる。

## 【0273】

一実施形態において、活性基はアミンである。このアミンは、好ましくはペプチドのN末端アミンであり、本発明の好ましいジペプチドのN末端アミンであり得る。

50

## 【0274】

該活性基を反応させることで、細胞結合剤への接続を形成することを意図されている官能基を得ることができる。

## 【0275】

他の実施形態において、リンカーは活性基を有するリンカーへの前駆体である。この実施形態において、リンカーは、保護基を手段として保護されている活性基を含む。該保護基を除去することで、活性基を有するリンカーを提供することができる。

## 【0276】

活性基がアミンである場合、保護基は、Green及びWutsに記載されているものなどのアミン保護基であってよい。

10

## 【0277】

保護基は、 $R^L$ 基において、存在する場合の他の保護基と直交であるのが好ましい。

## 【0278】

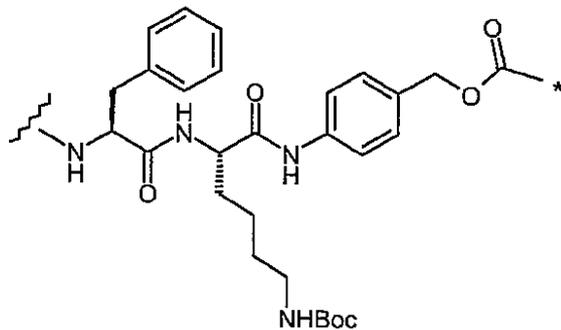
一実施形態において、保護基は、キャッピング基と直交である。したがって、該活性基保護基は、キャッピング基を保持しながら除去可能である。他の実施形態において、保護基及びキャッピング基は、キャッピング基を除去するために使用されるものと同じ条件下において除去可能である。

## 【0279】

一実施形態において、 $R^L$ は、

## 【化49】

20



## 【0280】

30

であり、

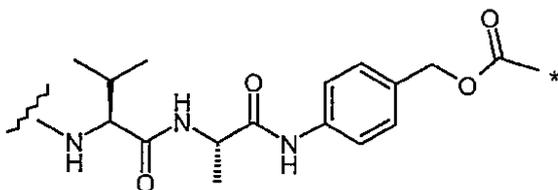
ここで、アスタリスクはN10位への結合点を示し、波線はリンカー- $L^1$ の残りの部分への結合点又は $G^1$ への結合点を示す。好ましくは、波線は $G^1$ への結合点を示す。

## 【0281】

一実施形態において、 $R^L$ は、

## 【化50】

40



## 【0282】

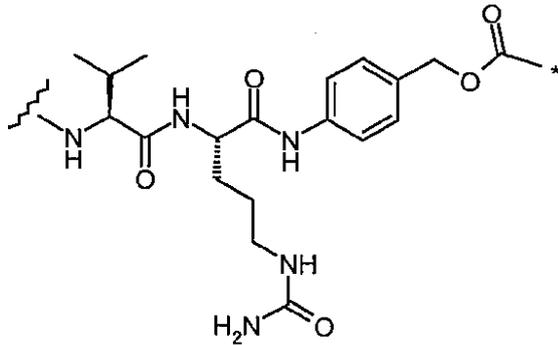
であり、

ここで、アスタリスク及び波線は、上記で定義されている通りである。

## 【0283】

一実施形態において、 $R^L$ は、

## 【化51】



10

## 【0284】

であり、

ここで、アスタリスク及び波線は、上記で定義されている通りである。

## 【0285】

L<sup>1</sup>と細胞結合剤との間の接続を形成するための使用に適当な他の官能基は、WO 2005/08 2023に記載されている。

## 【0286】

リンカーには、一種又は複数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性部分が含まれ得る。ペプチドリンカー試薬は、t-BOC化学(Geiserら、"Automation of solid-phase peptide synthesis" in *Macromolecular Sequencing and Synthesis*, Alan R. Liss, Inc., 1988, 199~218頁)及びFmoc/HBTU化学(Fields, G.及びNoble, R. (1990)「Solid phase peptide synthesis utilizing 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acids」, *Int. J. Peptide Protein Res.*35:161~214)を含めたペプチド化学の分野においてよく知られている固相又は液相合成方法(E. Schroder及びK. Lubke, *The Peptides*, 1巻、76~136頁(1965) Academic Press)によって、Rainin Symphony Peptide Synthesizer (Protein Technologies, Inc., Tucson, AZ)などの自動合成機、又はModel 433(Applied Biosystems, Foster City, CA)上で調製することができる。

20

## 【0287】

例示的なアミノ酸リンカーには、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド又はペプタペプチドが含まれる。例示的なジペプチドには、バリン-シトルリン(vc又はval-cit)、アラニン-フェニルアラニン(af又はala-phe)が含まれる。例示的なトリペプチドには、グリシン-バリン-シトルリン(gly-val-cit)及びグリシン-グリシン-グリシン(gly-gly-gly)が含まれる。アミノ酸リンカー構成成分を含むアミノ酸残基には、自然に発生するもの、並びに主要でないアミノ酸、及びシトルリンなどの非天然アミノ酸類似体が含まれる。アミノ酸リンカー構成成分は、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る酵素的切断に対するそれらの選択性において設計及び最適化することができる。

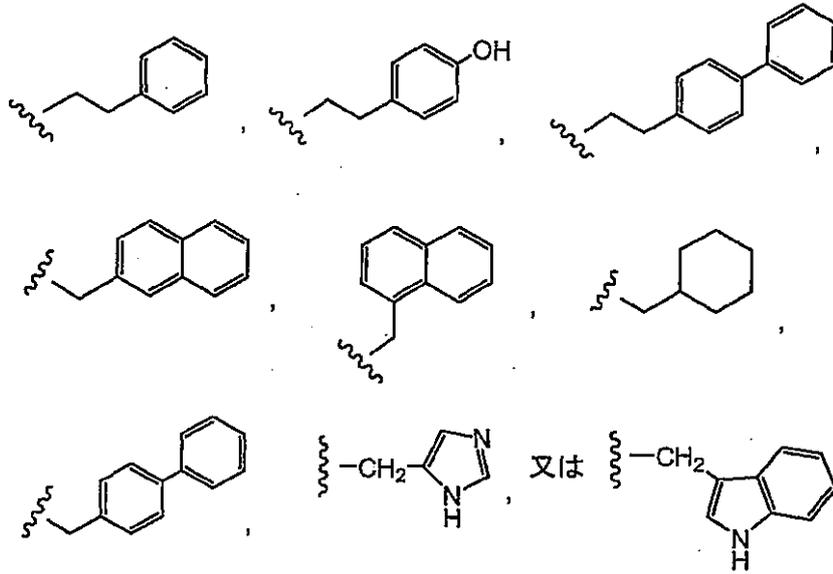
30

## 【0288】

アミノ酸側鎖には、自然に発生するもの、並びに主要でないアミノ酸、及びシトルリンなどの非天然アミノ酸類似体が含まれる。アミノ酸側鎖には、水素、メチル、イソプロピル、イソブチル、sec-ブチル、ベンジル、p-ヒドロキシベンジル、-CH<sub>2</sub>OH、-CH(OH)CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>COOH、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>COOH、-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCOCH<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCHO、-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCOCH<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCHO、-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHCONH<sub>2</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NHCONH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH(OH)CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、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、並びに以下の構造が含まれる。

40

## 【化52】



10

## 【0289】

アミノ酸側鎖に水素(グリシン)以外が含まれる場合、アミノ酸側鎖が結合されている炭素原子はキラルである。アミノ酸側鎖が結合されている各炭素原子は独立して、(S)若しくは(R)配置であるか、又はラセミ混合物である。薬物-リンカー試薬は、したがって、エナンチオマー的に純粋、ラセミ又はジアステレオマーであってよい。

20

## 【0290】

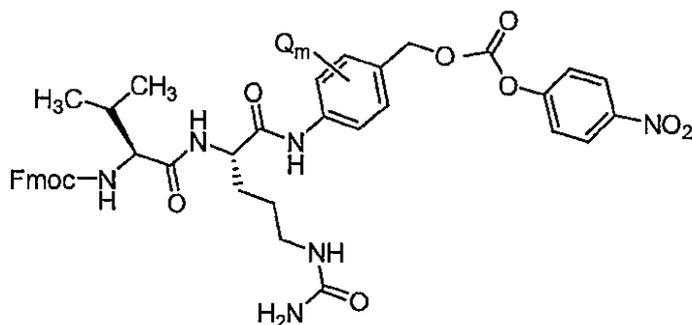
例示的な実施形態において、アミノ酸側鎖は、アラニン、2-アミノ-2-シクロヘキシル酢酸、2-アミノ-2-フェニル酢酸、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン、グルタミン酸、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リシン、メチオニン、ノルロイシン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、トレオニン、トリプトファン、チロシン、バリン、 $\alpha$ -アミノ酪酸、 $\beta$ -アミノ酪酸、 $\gamma$ -ジメチル  $\alpha$ -アミノ酪酸、 $\delta$ -ジメチル  $\alpha$ -アミノ酪酸、オルニチン、及びシトルリン(Cit)を含め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

30

## 【0291】

パラ-アミノベンジルカルバモイル(PAB)自己犠牲スペーサーを有する細胞結合剤、例えば抗体へのコンジュゲーションのためのリンカー-PBD薬物部分中間体を構成するのに有用な例示的なバリン-シトルリン(val-cit又はvc)ジペプチドリナー試薬は、以下の構造を有し、

## 【化53】



40

## 【0292】

ここで、Qは $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $-O-(C_1 \sim C_8$ アルキル)、 $-H$ 、 $-NO_2$ 又は $-CN$ であり、mは、0~4の範囲である整数である。

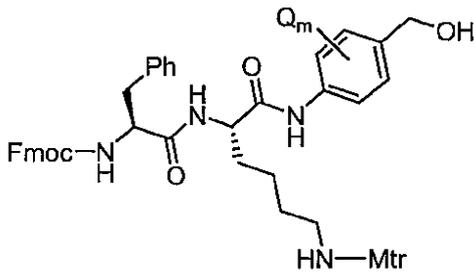
## 【0293】

p-アミノベンジル基を有する例示的なphe-lys(Mtr)ジペプチドリナー試薬は、Dubowc

50

hikら、(1997) Tetrahedron Letters、38:5257 ~ 60に従って調製することができ、以下の構造を有し、

【化54】



10

【0294】

ここで、Mtrはモノ-4-メトキシトリチルであり、Qは $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $-O-(C_1 \sim C_8$ アルキル)、 $-H$ 、 $-NO_2$ 又は $-CN$ であり、mは、0~4の範囲である整数である。

【0295】

「自己犠牲リンカー」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における抗体に薬物部分を結合する(Carlら、(1981) J. Med. Chem. 24:479 ~ 480; Chakravartyら、(1983) J. Med. Chem. 26:638 ~ 644; US 6,214,345; US20030130189; US20030096743; US6,759,509; US20040052793; US6,218,519; US6,835,807; US6,268,488; US20040018194; WO98/13059; US20040052793; US6,677,435; US5,621,002; US20040121940; WO2004/032828)。PAB以外の自己犠牲スペーサーの他の例には、これらに限定されないが、(i) 2-アミノイミダゾール-5-メタノール誘導体(Hayら、(1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237)、チアゾール(US7,375,078)、複数の伸長PAB単位(de Grootら、(2001) J. Org. Chem. 66:8815 ~ 8830)などのPAB基と電子工学的に同様である芳香族化合物;及びオルト又はパラ-アミノベンジルアセタール、並びに(ii)承認されているスチリルPAB類似体(US 7,223,837)が含まれる。置換及び非置換の4-アミノ酪酸アミド(Rodriguesら、(1995) Chemistry Biology 2:223)、適切に置換されているピシクロ[2.2.1]及びピシクロ[2.2.2]環系(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)など、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ているアミン含有薬物(Kingsburyら、(1984) J. Med. Chem. 27:1447)の排除も、ADCにおいて有用な自己犠牲スペーサーの例である。

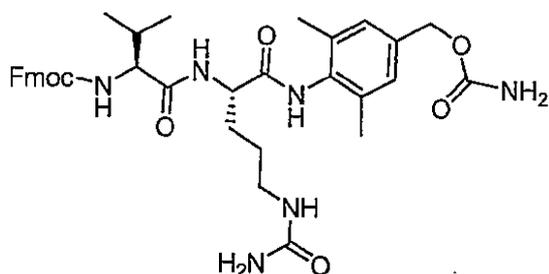
20

30

【0296】

一実施形態において、パリン-シトルリンジペプチドPAB類似体試薬は、2,6ジメチルフェニル基を有し、以下の構造を有する。

【化55】



40

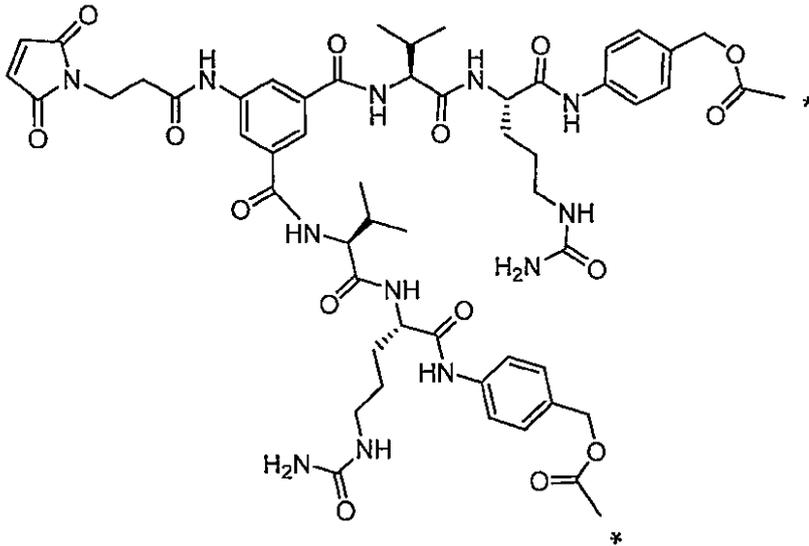
【0297】

本発明の抗体薬物コンジュゲートに有用なリンカー試薬には、これらに限定されないが、BMPEO、BMPS、EMCS、GMBS、HBVS、LC-SMCC、MBS、MPBH、SBAP、SIA、SIAB、SMCC、SMPB、SMPH、スルホ-EMCS、スルホ-GMBS、スルホ-KMUS、スルホ-MBS、スルホ-SIAB、スルホ-SMCC、及びスルホ-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)、並びにビス-マレイミド試薬:DTME、BMB、BMDB、BMH、BMOE、1,8-ビス-マレイミドジエ

50



## 【化57】



10

## 【0301】

ここで、アスタリスクは、PBD部分のN10位への結合点を示す。

## 【0302】

細胞結合剤

20

細胞結合剤は任意の種類であってよく、ペプチド及び非ペプチドが含まれる。これらには、抗体又は少なくとも一つの結合部位を含有する抗体の断片、リンホカイン、ホルモン、成長因子、栄養素輸送分子、又は任意の他の細胞結合性分子又は物質が含まれることができる。

## 【0303】

本明細書において「抗体」という用語は、それらが所望の生物活性を呈している限り、最も広範な意味で使用され、具体的には単クローン抗体、多クローン抗体、二量体、多量体、多特異性抗体(例えば、二重特異性抗体)及び抗体断片を包含する(Millerら、(2003) *Jour. of Immunology* 170:4854~4861)。抗体は、マウス、ヒト、ヒト化、キメラであってよく、又は他の種から誘導されてよい。抗体は、特異的抗原を認識及び結合する能力がある免疫系によって産生されるタンパク質である。(Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 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エピトープとも呼ばれている多数の結合部位を有する。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。したがって、一種の抗原は、一つより多い対応する抗体を有することがある。抗体には、全長免疫グロブリン分子又は全長免疫グロブリン分子の免疫学的活性部分、即ち、対象とする標的の抗原又はその一部を免疫特異的に結合させる抗原結合部位を含有する分子が含まれ、こうした標的には、これらに限定されないが、癌細胞、又は自己免疫疾患と関連する自己免疫抗体を産生する細胞が含まれる。免疫グロブリンは、任意の型(例えばIgG、IgE、IgM、IgD及びIgA)、クラス(例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2)、又は免疫グロブリン分子のサブクラスであり得る。免疫グロブリンは、ヒト、マウス又はウサギの由来を含めて、任意の種から誘導することができる。

30

40

## 【0304】

「抗体断片」は、全長抗体の一部、一般にその抗原結合又は可変領域を含む。抗体断片の例には、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>及びFvの断片;二特異性抗体;直鎖抗体; Fab発現ライブラリーによって産生される断片、抗イディオタイプ(抗Id)抗体、CDR(相補性決定領域)、及び癌細胞抗原、ウイルス性抗原又は微生物抗原、単鎖抗体分子に免疫特異的に結合する上記の任意のエピトープ結合断片;並びに抗体断片から形成される多特異性抗体が含まれる。

## 【0305】

50

「単クローン抗体」という用語は、本明細書で使用される場合、実質的に均一の抗体の集団から得られる抗体を指し、即ち該集団を含む個々の抗体は、少量で存在し得る可能な自然発生突然変異を除いて同一である。単クローン抗体は高特異的であり、単一の抗原部位を対象とする。さらに、異なる決定因子(エピトープ)を対象とする異なる抗体が含まれるポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各単クローン抗体は、抗原上の単一の決定因子を対象とする。それらの特異性に加えて、単クローン抗体は、他の抗体によって汚染されずに合成することができる点において有利である。修飾因子「単クローンの」は、抗体の実質的に均一の集団から得られた場合の抗体の特徴を示し、任意の特別な方法によって抗体の産生を必要とすると解釈されるべきではない。例えば、本発明に従って使用されるべき単クローン抗体は、Kohlerら、(1975)Nature256:495によって最初に記載されたハイブリドーマ方法によって作製することができるか、又は組換えDNA方法によって作製することができる(US4,816,567を参照のこと)。単クローン抗体は、Clacksonら、(1991) Nature、352:624~628; Marksら、(1991) J. Mol. Biol.、222:581~597に記載されている技術を使用してファージ抗体ライブラリーから単離することもできる。

10

20

30

40

50

#### 【0306】

本明細書における単クローン抗体には、具体的には、重鎖及び/又は軽鎖の一部が、特別の種から誘導された抗体又は特別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体において対応する配列と同一又は同族である一方、鎖(単数又は複数)の残部が、別の種から誘導された抗体又は別の抗体のクラス若しくはサブクラスに属する抗体において対応する配列と同一又は同族である「キメラ」抗体、並びにそれらが所望の生物活性を呈するかぎりこうした抗体の断片が含まれる(US 4,816,567;及びMorrisonら、(1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA、81:6851~6855)。キメラ抗体には、非ヒト霊長類から誘導される可変ドメイン抗原結合配列(例えば、Old World Monkey or Ape)、及びヒト不変領域配列を含む「霊長類化」抗体が含まれる。

#### 【0307】

本明細書における「無傷の抗体」は、VL及びVHのドメイン、並びに軽鎖不変ドメイン(CL)及び重鎖不変ドメイン、CH1、CH2及びCH3を含むものである。不変ドメインは、天然配列不変ドメイン(例えば、ヒト天然配列不変ドメイン)、又はそれらのアミノ酸配列変異体であってよい。無傷の抗体は、抗体のFc領域(天然配列Fc領域又はアミノ酸配列変異Fc領域)に起因しうる生物学的活性を指す一つ又は複数の「エフェクター機能」を有することがある。抗体エフェクター機能の例には、C1q結合、補体依存性細胞傷害、Fc受容体結合、抗体依存性細胞媒介細胞毒性(ADCC)、ファゴサイトーシス、並びにB細胞受容体及びBCRなどの細胞表面受容体の下方調節が含まれる。

#### 【0308】

無傷の抗体は、それらの重鎖の不変ドメインのアミノ酸配列に依存して、異なる「クラス」に帰属させることができる。無傷の抗体の五つの主要なクラス: IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMがあり、これらのいくつかは、さらに、「サブクラス」(イソタイプ)、例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA及びIgA2に分けることができる。異なるクラスの抗体に対応する重鎖不変ドメインは、それぞれ、 $\gamma$ 、 $\delta$ 、 $\epsilon$ 、 $\mu$ 及び $\mu$ と呼ばれる。免疫グロブリンの異なるクラスのサブユニット構造及び三次元立体配置がよく知られている。

#### 【0309】

細胞結合剤の例には、WO 2007/085930における使用のために記載されている薬剤が含まれ、これを本明細書に組み込む。

#### 【0310】

細胞結合剤は、ポリペプチドであるか、又はこれを含むことができる。ポリペプチドは環式ポリペプチドであってよい。細胞結合剤は抗体であってよい。したがって、一実施形態において、本発明は抗体-薬物コンジュゲート(ADC)を提供する。

#### 【0311】

薬物負荷

薬物負荷は、抗体当たりPBD薬物の平均数である。薬物負荷は、1抗体(Ab)当たり1個か

ら8個の薬物(D)の範囲であってよく、即ちここで、1、2、3、4、5、6、7及び8個の薬物部分が抗体に共有結合している。ADCの組成物には、1個から8個の薬物の範囲でコンジュゲートされる抗体の集まりが含まれる。コンジュゲーション反応からのADCの調製における1抗体当たりの薬物の平均数は、質量分析、ELISAアッセイ、電気泳動法及びHPLCなどの常法によって特徴づけることができる。pに関するADCの量的分布も決定することができる。ELISAによって、ADCの特定の調製物における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、p(薬物)値の分布は、抗体-抗原結合及びELISAの検出限界によって識別不可能である。その上、抗体-薬物コンジュゲートの検出のためのELISAアッセイは、薬物部分が重鎖若しくは軽鎖の断片、又は特別なアミノ酸残基などの抗体に結合されている場合には決定されない。一部の例において、他の薬物負荷とともにpがADCからの特定の値である均一のADCの分離、精製及び特徴づけは、逆相HPLC又は電気泳動法などの手段によって達成することができる。

10

#### 【0312】

一部の抗体-薬物コンジュゲートに関し、pは、抗体上の付加部位の数によって限定されることがある。例えば、抗体は、1個だけ若しくはいくつかのシステインチオール基を有することがあるか、リンカーが結合され得る1個だけ若しくはいくつかの十分な反応性のチオール基を有することがある。より高い薬物負荷、例えば $p > 5$ は、特定の抗体-薬物コンジュゲートの凝集、不溶性、毒性、又は細胞透過性の損失を引き起こすことがある。

#### 【0313】

通常、理論的 maximum より少ない薬物部分が、コンジュゲーション反応中に抗体にコンジュゲートされる。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シン残基を含有することがある。最も反応性のリシン基だけが、アミン反応性リンカー試薬と反応することができる。その上、最も反応性のシステインチオール基だけが、チオール反応性リンカー試薬と反応することができる。一般に、抗体は、薬物部分に連結され得る遊離及び反応性システインチオール基を含有するとしても、多くを含有することはない。該化合物の抗体中の最も多い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、部分的又は全体的な還元条件下にてジチオスレイトール(DTT)又はTCEPなどの還元剤で還元しなければならない。ADCの負荷(薬物/抗体比)は、(i)抗体に対する薬物-リンカー中間体(D-L)又はリンカー試薬のモル過剰を制限すること、(ii)コンジュゲーション反応の時間又は温度を限定すること、及び(iii)システインチオール修飾のための部分的又は限定的な還元的条件を含めて、いくつかの異なる方法において制御することができる。

20

30

#### 【0314】

システインアミノ酸は、抗体中の反応性部位で操作することができ、これは、鎖内又は分子間のジスルフィド連結を形成しない(Junutulaら、2008b Nature Biotech., 26(8):925~932; Dornanら、(2009) Blood 114(13):2721~2729; US 7,521,541; US 7,723,485; WO 2009/052249)。操作されたシステインチオールは、リンカー試薬、又はマレイミド若しくはアルファ-ハロアミドなどのチオール反応性求電子基を有する本発明の薬物-リンカー試薬と反応することで、システインを操作された抗体及びPBD薬物部分を有するADCを形成することができる。薬物部分の位置は、したがって、設計、制御、及び知ることができる。操作されたシステインチオール基が通常、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ため、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ってシステインアミノ酸を導入するためにIgG抗体を操作することで、対称抗体上に二個の新規のシステインを与える。2に近く、コンジュゲーション生成物ADCの均一性に近い薬物負荷を達成することができる。

40

#### 【0315】

抗体の1個より多い求核性基又は求電子基が、薬物-リンカー中間体又はリンカー試薬、続いて薬物部分試薬と反応する場合、生じる生成物は、例えば1、2、3など、抗体に結合されている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

50

疎水性相互作用(HIC)など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の調製物は単離することができるが、しかし、これらの単一負荷値ADCは、薬物部分がリンカーを介して抗体上の異なる部位で結合されていることがあるため、未だ不均一混合物であり得る。

【0316】

したがって本発明の抗体-薬物コンジュゲート組成物には、抗体が一つ又は複数のPBD薬物部分を有し、薬物部分が様々なアミノ酸残基で抗体に結合されていることがある抗体-薬物コンジュゲート化合物の混合物が含まれる。

【0317】

一実施形態において、1細胞結合剤当たりの単量体又は二量体ピロロベンゾジアゼピン基の平均数は、1から20の範囲である。一部の実施形態において、該範囲は1から8、2から8、2から6、2から4、及び4から8から選択される。

10

【0318】

一部の実施形態において、1細胞結合剤当たり1個の単量体又は二量体ピロロベンゾジアゼピン基がある。

【0319】

ペプチド

一実施形態において、細胞結合剤は、4~20個、好ましくは6~20個の近接アミノ酸残基を含む直鎖又は環式ペプチドである。この実施形態において、1個の細胞結合剤が1個の単量体又は二量体ピロロベンゾジアゼピン化合物に連結されていることが好ましい

20

一実施形態において、細胞結合剤は、インテグリン<sub>α<sub>5</sub>β<sub>1</sub></sub>を結合するペプチドを含む。該ペプチドは、XYS上の<sub>100</sub>に対して選択性であり得る。

【0320】

一実施形態において、細胞結合剤はA20FMDV-Cysポリペプチドを含む。A20FMDV-Cysは、配列:NAVPNLRGDLQVLAQKVARTCを有する。別法として、A20FMDV-Cys配列の変異体は、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個のアミノ酸残基が別のアミノ酸残基で置換されている場合に使用することができる。

【0321】

一実施形態において、抗体は単クローン抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、全ヒト抗体又は単鎖抗体である。一実施形態において、抗体は、生物活性を有するこれらの抗体の一種の断片である。こうした断片の例には、Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>及びFvの断片が含まれる。

30

【0322】

これらの実施形態において、各抗体は、1個又はいくつかの単量体又は二量体ピロロベンゾジアゼピン基に連結されていてよい。細胞結合剤に対するピロロベンゾジアゼピンの好ましい比率は上記に示されている。

【0323】

該抗体はドメイン抗体(DAB)であってよい。

【0324】

一実施形態において、抗体は単クローン抗体である。

【0325】

本発明における使用のための抗体には、本明細書に組み込まれるWO 2005/082023に記載されている抗体が含まれる。特に好ましいのは、腫瘍関連抗原に対する抗体である。当技術分野において知られている抗原の例には、これらに限定されないが、WO 2005/082023に提示されている腫瘍関連抗原が含まれる。例えば、41~55頁を参照されたい。

40

【0326】

本発明のコンジュゲートは、腫瘍細胞を、それらの細胞表面抗原を介して標的とするように設計されている。抗原は、通例、過剰発現されるか、又は異常回数で発現される正常細胞表面抗原である。理想的には、標的抗原は、増殖性細胞(好ましくは腫瘍細胞)上でのみ発現されるが、これは実際、観察されるのが稀である。結果として、標的抗原は、通例、増殖性組織と健常組織との間での示差的発現に基づいて選択される。

50

## 【0327】

抗体は、

Cripto、CD30、CD19、CD33、糖タンパク質NMB、CanAg、Her2 (ErbB2/Neu)、CD56 (NCAM)、CD22 (Siglec2)、CD33 (Siglec3)、CD79、CD138、PSCA、PSMA(前立腺特異的膜抗原)、BCMA、CD20、CD70、E-セレクトリン、EphB2、メラノトランスフェリン、Muc16及びTMEFF2を含めて、特異的腫瘍関連抗原を標的とするために産出されてきた。

## 【0328】

腫瘍関連抗原(TAA)は当技術分野において知られており、当技術分野においてよく知られている方法及び情報を使用して、抗体を発生させる際の使用のために調製することができる。癌の診断及び治療法に対する有効な細胞性標的を発見する試みにおいて、研究者らは、一種又は複数の正常な非癌性細胞(単数又は複数)上と比較して、癌細胞の一つ又は複数の特別な型(単数又は複数)の表面上で特異的に発現される膜貫通ポリペプチド、又はそれ以外では腫瘍関連ポリペプチドを同定することを探求した。しばしば、こうした腫瘍関連ポリペプチドは、非癌性細胞の表面上と比較して、癌細胞の表面上の方が豊富に発現される。こうした腫瘍関連細胞表面抗原ポリペプチドの同定は、抗体ベースの治療法を介して破壊するための癌細胞を特異的に標的とする能力を引き起こした。

## 【0329】

TAAの例には、これらに限定されないが、下記に列挙されているTAA(1)~(36)が含まれる。便宜上、全てが当技術分野において知られているこれらの抗原に関連する情報は下記に列挙されており、国立バイオテクノロジー情報センター(NCBI)の核酸及びタンパク質配列同定規約に従った名称、代替名、Genbank受入番号及び主要文献(単数又は複数)が含まれる。TAA(1)~(36)に対応する核酸及びタンパク質配列は、GenBankなどの公開データベースにおいて入手可能である。抗体によって標的とされる腫瘍関連抗原には、引用文献において同定されている配列に対して少なくとも約70%、80%、85%、90%又は95%の配列同一性を処理するか、又は引用文献において見出される配列を有するTAAと同じ生物学的特性若しくは特徴を実質的に呈する全てのアミノ酸配列変異体及びアイソフォームが含まれる。例えば、変異体配列を有するTAAは、一般に、列挙されている対応配列を有するTAAに特異的に結合する抗体に特異的に結合することができる。本明細書において具体的に挙げられている文献における配列及び開示内容は、参照により明確に組み込む。

## 【0330】

腫瘍関連抗原(1)~(36)

(1) BMPR1B (骨形成タンパク質受容体型IB、Genbank受入番号NM\_001203) ten Dijke, P.ら、Science 264 (5155):101~104 (1994)、Oncogene 14 (11):1377~1382 (1997)); WO2004/063362 (請求項2); WO2003/042661 (請求項12); US2003/134790-A1 (38~39頁); WO2002/102235 (請求項13; 296頁); WO2003/055443 (91~92頁); WO2002/99122 (実施例2; 528~530頁); WO2003/029421 (請求項6); WO2003/024392 (請求項2; 図112); WO2002/98358 (請求項1; 183頁); WO2002/54940 (100~101頁); WO2002/59377(349~350頁); WO2002/0268 (請求項27; 376頁); WO2001/48204 (Example; 図4); NP\_001194骨形成タンパク質受容体、IB型/pid=NP\_001194.1。相互参照: MIM:603248; NP\_001194.1; AY065994

(2) E16 (LAT1、SLC7A5、Genbank受入番号NM\_003486) Biochem. Biophys. Res. Commun. 255 (2)、283~288 (1999)、Nature 395 (6699):288~291 (1998)、Gaugitsch、H.W.ら、(1992) J. Biol. Chem. 267 (16):11267~11273); WO2004/048938 (実施例2); WO2004/032842 (実施例IV); WO2003/042661 (請求項12); WO2003/016475 (請求項1); WO2002/78524 (実施例2); WO2002/99074 (請求項19; 127~129頁); WO2002/86443 (請求項27; 222、393頁); WO2003/003906 (請求項10; 293頁); WO2002/64798 (請求項33; 93~95頁); WO2000/14228 (請求項5; 133~136頁); US2003/224454 (図3); WO2003/025138 (請求項12; 150頁); NP\_003477溶質担体ファミリー7 (カチオン性アミノ酸輸送体、y+系)、メンバー5 / pid=NP\_003477.3-ヒト;相互参照: MIM:600182; NP\_003477.3; NM\_015923; NM\_003486\_1

(3) STEAP1 (前立腺の6膜貫通上皮抗原、Genbank受入番号NM\_012449); Cancer Res. 61 (15)、5857~5860 (2001)、Hubert、R.S.ら、(1999) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 9

10

20

30

40

50

6 (25):14523 ~ 14528); WO2004/065577 (請求項6); WO2004/027049 (図1L); EP1394274 (実施例11); WO2004/016225 (請求項2); WO2003/042661 (請求項12); US2003/157089 (実施例5); US2003/185830 (実施例5); US2003/064397 (図2); WO2002/89747 (実施例5; 618 ~ 619頁); WO2003/022995 (実施例9; 図13A、実施例53; 173頁、実施例2; 図2A); NP\_036581前立腺の6膜貫通上皮抗原; 相互参照: MIM:604415; NP\_036581.1; NM\_012449\_1

(4) 0772P (CA125、MUC16、Genbank受入番号AF361486); J. Biol. Chem. 276 (29):27371 ~ 27375 (2001); WO2004/045553 (請求項14); WO2002/92836 (請求項6; 図12); WO2002/83866 (請求項15; 116 ~ 121頁); US2003/124140 (実施例16); 相互参照: GI:34501467; AAK74120.3; AF361486\_1

(5) MPF (MPF、MSLN、SMR、巨核球増強因子、メソテリン、Genbank受入番号NM\_005823) Yamaguchi, N. 5、Biol. Chem. 269 (2)、805 ~ 808 (1994)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96 (20):11531 ~ 11536 (1999)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93 (1):136 ~ 140 (1996)、J. Biol. Chem. 270 (37):21984 ~ 21990 (1995); WO2003/101283 (請求項14); (WO2002/102235 (請求項13; 287 ~ 288頁); WO2002/101075 (請求項4; 308 ~ 309頁); WO2002/71928 (320 ~ 321頁); WO94/10312 (52 ~ 57頁); 相互参照: MIM:601051; NP\_005814.2; NM\_005823\_1

(6) Napi3b (NAPI-3B、NPT11b、SLC34A2、溶質担体ファミリー-34 (リン酸ナトリウム)、メンバー-2、II型ナトリウム依存性リン酸輸送体3b、Genbank受入番号NM\_006424) J. Biol. Chem. 277 (22):19665 ~ 19672 (2002)、Genomics 62 (2):281 ~ 284 (1999)、Feild、J.A. 5、(1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 258 (3):578 ~ 582); WO2004/022778 (請求項2); EP1394274 (実施例11); WO2002/102235 (請求項13; 326頁); EP0875569 (請求項1; 17 ~ 19頁); WO2001/57188 (請求項20; 329頁); WO2004/032842 (実施例IV); WO2001/75177 (請求項24; 139 ~ 140頁); 相互参照: MIM:604217; NP\_006415.1; NM\_006424\_1

(7) Sema 5b (FLJ10372、KIAA1445、Mm.42015、SEMA5B、SEMAG、セマフォリン5b Hlog、セマドメイン、7トロンボスポンジン反復(1型及び1型様)、膜貫通ドメイン(商標)及び短い細胞質ドメイン、(セマフォリン) 5B、Genbank受入番号AB040878); Nagase T. 5、(2000) DNA Res. 7 (2):143 ~ 150); WO2004/000997 (請求項1); WO2003/003984 (請求項1); WO2002/06339 (請求項1; 50頁); WO2001/88133 (請求項1; 41 ~ 43、48 ~ 58頁); WO2003/054152 (請求項20); WO2003/101400 (請求項11); 受入: Q9P283; EMBL; AB040878; BAA95969.1. Genew; HGNC:10737

(8) PSCA hlg (2700050C12Rik、C530008016Rik、RIKEN cDNA 2700050C12、RIKEN cDNA 2700050C12遺伝子、Genbank受入番号AY358628); Ross 5、(2002) Cancer Res. 62:2546 ~ 2553; US2003/129192 (請求項2); US2004/044180 (請求項12); US2004/044179 (請求項11); US2003/096961 (請求項11); US2003/232056 (実施例5); WO2003/105758 (請求項12); US2003/206918 (実施例5); EP1347046 (請求項1); WO2003/025148 (請求項20); 相互参照: GI:37182378; AAQ88991.1; AY358628\_1

(9) ETBR (エンドセリンB型受容体、Genbank受入番号AY275463); Nakamuta M. 5、Biochem. Biophys. Res. Commun. 177、34 ~ 39、1991; Ogawa Y. 5、Biochem. Biophys. Res. Commun. 178、248 ~ 255、1991; Arai H. 5、Jpn. Circ. J. 56、1303 ~ 1307、1992; Arai H. 5、J. Biol. Chem. 268、3463 ~ 3470、1993; Sakamoto A.、Yanagisawa M. 5、Biochem. Biophys. Res. Commun. 178、656 ~ 663、1991; Elshourbagy N.A. 5、J. Biol. Chem. 268、3873 ~ 3879、1993; Haendler B. 5、J. Cardiovasc. Pharmacol. 20、s1-S4、1992; Tsutsumi M. 5、Gene 228、43 ~ 49、1999; Strausberg R.L. 5、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99、16899 ~ 16903、2002; Bourgeois C. 5、J. Clin. Endocrinol. Metab. 82、3116 ~ 3123、1997; Okamoto Y. 5、Biol. Chem. 272、21589 ~ 21596、1997; Verheij J.B. 5、Am. J. Med. Genet. 108、223 ~ 225、2002; Hofstra R.M.W. 5、Eur. J. Hum. Genet. 5、180 ~ 185、1997; Puffenberger E.G. 5、Cell 79、1257 ~ 1266、1994; Attie T. 5、Hum. Mol. Genet. 4、2407 ~ 2409、1995; Auricchio A. 5、Hum. Mol. Genet. 5:351 ~ 354、1996; Amiel J. 5、Hum. Mol. Genet. 5、355 ~ 357、1996; Hofstra R.M.W. 5、Nat. Genet. 12、445 ~ 447、1996; Svensson P.J. 5、Hum. Genet. 103、145 ~ 148、19

10

20

30

40

50

98; Fuchs S. 5、Mol. Med. 7、115 ~ 124、2001; Pingault V. 5、(2002) Hum. Genet. 11、198 ~ 206; WO2004/045516 (請求項1); WO2004/048938 (実施例2); WO2004/040000 (請求項151); WO2003/087768 (請求項1); WO2003/016475 (請求項1); WO2003/016475 (請求項1); WO2002/61087 (図1); WO2003/016494 (図6); WO2003/025138 (請求項12; 144頁); WO2001/98351 (請求項1; 124 ~ 125頁); EP0522868 (請求項8; 図2); WO2001/77172 (請求項1; 297 ~ 299頁); US2003/109676; US6,518,404 (図3); US5,773,223 (請求項1a; コラム31 ~ 34); WO2004/001004

(10) MSG783 (RNF124、仮想タンパク質FLJ20315、Genbank受入番号NM\_017763); WO2003/104275 (請求項1); WO2004/046342 (実施例2); WO2003/042661 (請求項12); WO2003/083074 (請求項14; 61頁); WO2003/018621 (請求項1); WO2003/024392 (請求項2; 図93); WO2001/66689 (実施例6); 相互参照: LocusID:54894; NP\_060233.2; NM\_017763\_1 10

(11) STEAP2 (HGNC\_8639、IPCA-1、PCANAP1、STAMP1、STEAP2、STMP、前立腺癌関連遺伝子1、前立腺癌関連タンパク質1、前立腺2の6膜貫通上皮抗原、6膜貫通前立腺タンパク質、Genbank受入番号AF455138); Lab. Invest. 82 (11):1573 ~ 1582 (2002); WO2003/087306; US2003/064397 (請求項1; 図1); WO2002/72596 (請求項13; 54 ~ 55頁); WO2001/72962 (請求項1; 図4B); WO2003/104270 (請求項11); WO2003/104270 (請求項16); US2004/005598 (請求項22); WO2003/042661 (請求項12); US2003/060612 (請求項12; 図10); WO2002/26822 (請求項23; 図2); WO2002/16429 (請求項12; 図10); 相互参照: GI:22655488; AAN04080.1; AF455138\_1

(12) TrpM4 (BR22450、FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、一過性受容体電位カチオンチャンネル、サブファミリーM、メンバー4、Genbank受入番号NM\_017636); Xu、X.Z. 5、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (19):10692 ~ 10697 (2001)、Cell 109 (3):397 ~ 407 (2002)、J. Biol. Chem. 278 (33):30813 ~ 30820 (2003); US2003/143557 (請求項4); WO2000/40614 (請求項14; 100 ~ 103頁); WO2002/10382 (請求項1; 図9A); WO2003/042661 (請求項12); WO2002/30268 (請求項27; 391頁); US2003/219806 (請求項4); WO2001/62794 (請求項14; 図1A ~ D); 相互参照: MIM:606936; NP\_060106.2; NM\_017636\_1 20

(13) CRIPTO (CR、CR1、CRGF、CRIPTO、TDGF1、奇形癌腫誘導成長因子、Genbank受入番号NP\_003203又はNM\_003212); Ciccodicola、A. 5、EMBO J. 8 (7):1987 ~ 1991 (1989)、Am. J. Hum. Genet. 49 (3):555 ~ 565 (1991); US2003/224411 (請求項1); WO2003/083041 (実施例1); WO2003/034984 (請求項12); WO2002/88170 (請求項2; 52 ~ 53頁); WO2003/024392 (請求項2; 図58); WO2002/16413 (請求項1; 94 ~ 95、105頁); WO2002/22808 (請求項2; 図1); US5,854,399 (実施例2; コラム17 ~ 18); US5,792,616 (図2); 相互参照: MIM:187395; NP\_003203.1; NM\_003212\_1 30

(14) CD21 (CR2 (補体受容体2)又はC3DR (C3d/Epstein Barrウイルス受容体)又はHs.73792 Genbank受入番号M26004); Fujisaku 5、(1989) J. Biol. Chem. 264 (4):2118 ~ 2125); Weis J.J. 5、J. Exp. Med. 167、1047 ~ 1066、1988; Moore M. 5、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84、9194 ~ 9198、1987; Barel M. 5、Mol. Immunol. 35、1025 ~ 1031、1998; Weis J.J. 5、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83、5639 ~ 5643、1986; Sinha S.K. 5、(1993) J. Immunol. 150、5311 ~ 5320; WO2004/045520 (実施例4); US2004/005538 (実施例1); WO2003/062401 (請求項9); WO2004/045520 (実施例4); WO91/02536 (図9.1 ~ 9.9); WO2004/020595 (請求項1); 受入: P20023; Q13866; Q14212; EMBL; M26004; AAA35786.1. 40

(15) CD79b (CD79B、CD79、IgB (免疫グロブリン関連ペータ)、B29、Genbank受入番号NM\_000626又は11038674); Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2003) 100 (7):4126 ~ 4131、Blood (2002) 100 (9):3068 ~ 3076、Muller 5、(1992) Eur. J. Immunol. 22 (6):1621 ~ 1625); WO2004/016225 (請求項2、図140); WO2003/087768、US2004/101874 (請求項1、102頁); WO2003/062401 (請求項9); WO2002/78524 (実施例2); US2002/150573 (請求項5、15頁); US5,644,033; WO2003/048202 (請求項1、306及び309頁); WO 99/58658、US6,534,482 (請求項13、図17A/B); WO2000/55351 (請求項11、1145 ~ 1146頁); 相互参照: MIM:147245; NP\_000617.1; NM\_000626\_1 40

(16) FcRH2 (IFGP4、IRTA4、SPAP1A (ホスファターゼアンカータンパク質1aを含有するSH2ドメイン)、SPAP1B、SPAP1C、Genbank受入番号NM\_030764、AY358130); Genome Res. 13 (10):2265 ~ 2270 (2003)、Immunogenetics 54 (2):87 ~ 95 (2002)、Blood 99 (8):2662 ~ 2669 (2002)、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (17):9772 ~ 9777 (2001)、Xu, M.J. ら、(2001) Biochem. Biophys. Res. Commun. 280 (3):768 ~ 775; WO2004/016225 (請求項2); WO2003/077836; WO2001/38490 (請求項5; 図18D-1 ~ 18D-2); WO2003/097803 (請求項12); WO2003/089624 (請求項25); 相互参照: MIM:606509; NP\_110391.2; NM\_030764\_1

(17) HER2 (ErbB2、Genbank受入番号M11730); Coussens L. ら、Science (1985) 230(4730):1132 ~ 1139); Yamamoto T. ら、Nature 319、230 ~ 234、1986; Semba K. ら、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82、6497 ~ 6501、1985; Swiercz J.M. ら、J. Cell Biol. 165、869 ~ 880、2004; Kuhns J.J. ら、J. Biol. Chem. 274、36422 ~ 36427、1999; Cho H.-S. ら、Nature 421、756 ~ 760、2003; Ehsani A. ら、(1993) Genomics 15、426 ~ 429; WO2004/048938 (実施例2); WO2004/027049 (図11); WO2004/009622; WO2003/081210; WO2003/089904 (請求項9); WO2003/016475 (請求項1); US2003/118592; WO2003/008537 (請求項1); WO2003/055439 (請求項29; 図1A ~ B); WO2003/025228 (請求項37; 図5C); WO2002/22636 (実施例13; 95 ~ 107頁); WO2002/12341 (請求項68; 図7); WO2002/13847 (71 ~ 74頁); WO2002/14503 (114 ~ 117頁); WO2001/53463 (請求項2; 41 ~ 46頁); WO2001/41787 (15頁); WO2000/44899 (請求項52; 図7); WO2000/20579 (請求項3; 図2); US5,869,445 (請求項3; コラム31 ~ 38); WO9630514 (請求項2; 56 ~ 61頁); EP1439393 (請求項7); WO2004/043361 (請求項7); WO2004/022709; WO2001/00244 (実施例3; 図4); 受入: P04626; EMBL; M11767; AA A35808.1. EMBL; M11761; AAA35808.1

(18) NCA (CEACAM6、Genbank受入番号M18728); Barnett T. ら、Genomics 3、59 ~ 66、1988; Tawaragi Y. ら、Biochem. Biophys. Res. Commun. 150、89 ~ 96、1988; Strausberg R.L. ら、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99:16899 ~ 16903、2002; WO2004/063709; EP1439393 (請求項7); WO2004/044178 (実施例4); WO2004/031238; WO2003/042661 (請求項12); WO2002/78524 (実施例2); WO2002/86443 (請求項27; 427頁); WO2002/60317 (請求項2); 受入: P40199; Q14920; EMBL; M29541; AAA59915.1. EMBL; M18728

(19) MDP (DPEP1、Genbank受入番号BC017023); Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 (26):16899 ~ 16903 (2002)); WO2003/016475 (請求項1); WO2002/64798 (請求項33; 85 ~ 87頁); JP05003790 (図6 ~ 8); WO99/46284 (図9); 相互参照: MIM:179780; AAH17023.1; BC017023\_1

(20) IL20R (IL20Ra、ZCYTOR7、Genbank受入番号AF184971); Clark H.F. ら、Genome Res. 13、2265 ~ 2270、2003; Mungall A.J. ら、Nature 425、805 ~ 811、2003; Blumberg H. ら、Cell 104、9 ~ 19、2001; Dumoutier L. ら、J. Immunol. 167、3545 ~ 3549、2001; Parrish-Novak J. ら、J. Biol. Chem. 277、47517 ~ 47523、2002; Pletnev S. ら、(2003) Biochemistry 42:12617 ~ 12624; Sheikh F. ら、(2004) J. Immunol. 172、2006 ~ 2010; EP1394274 (実施例11); US2004/005320 (実施例5); WO2003/029262 (74 ~ 75頁); WO2003/02717 (請求項2; 63頁); WO2002/22153 (45 ~ 47頁); US2002/042366 (20 ~ 21頁); WO2001/46261 (57 ~ 59頁); WO2001/46232 (63 ~ 65頁); WO98/37193 (請求項1; 55 ~ 59頁); 受入: Q9UHF4; Q6UWA9; Q96SH8; EMBL; AF184971; AAF01320.1.

(21) プレピカン (BCAN、BEHAB、Genbank受入番号AF229053); Gary S.C. ら、Gene 256、139 ~ 147、2000; Clark H.F. ら、Genome Res. 13、2265 ~ 2270、2003; Strausberg R.L. ら、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99、16899 ~ 16903、2002; US2003/186372 (請求項11); US2003/186373 (請求項11); US2003/119131 (請求項1; 図52); US2003/119122 (請求項1; 図52); US2003/119126 (請求項1); US2003/119121 (請求項1; 図52); US2003/119129 (請求項1); US2003/119130 (請求項1); US2003/119128 (請求項1; 図52); US2003/119125 (請求項1); WO2003/016475 (請求項1); WO2002/02634 (請求項1)

(22) EphB2R (DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5、Genbank受入番号NM\_004442); Chan, J. 及び Watt, V.M.、Oncogene 6 (6)、1057 ~ 1061 (1991) Oncogene 10 (5):897 ~ 905 (1995)、Annu. Rev. Neurosci. 21:309 ~ 345 (1998)、Int. Rev. Cytol. 196:177 ~ 244 (2000)

10

20

30

40

50

); WO2003042661 (請求項12); WO200053216 (請求項1; 41頁); WO2004065576 (請求項1); WO2004020583 (請求項9); WO2003004529 (128 ~ 132頁); WO200053216 (請求項1; 42頁); 相互参照: MIM:600997; NP\_004433.2; NM\_004442\_1

(23) ASLG659 (B7h、Genbank受入番号AX092328); US2004/0101899 (請求項2); WO2003104399 (請求項11); WO2004000221 (図3); US2003/165504 (請求項1); US2003/124140 (実施例2); US2003/065143 (図60); WO2002/102235 (請求項13; 299頁); US2003/091580 (実施例2); WO2002/10187 (請求項6; 図10); WO2001/94641 (請求項12; 図7b); WO2002/02624 (請求項13; 図1A ~ 1B); US2002/034749 (請求項54; 45 ~ 46頁); WO2002/06317 (実施例2; 320 ~ 321頁、請求項34; 321 ~ 322頁); WO2002/71928 (468 ~ 469頁); WO2002/02587 (実施例1; 図1); WO2001/40269 (実施例3; 190 ~ 192頁); WO2000/36107 (実施例2; 205 ~ 207頁); WO2004/053079 (請求項12); WO2003/004989 (請求項1); WO2002/71928 (233 ~ 234、452 ~ 453頁); WO 01/16318

(24) PSCA (前立腺幹細胞抗原前駆体、Genbank受入番号AJ297436); Reiter R.E. 5、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95、1735 ~ 1740、1998; Gu Z. 5、Oncogene 19、1288 ~ 1296、2000; Biochem. Biophys. Res. Commun. (2000) 275(3):783 ~ 788; WO2004/022709; EP1394274 (実施例11); US2004/018553 (請求項17); WO2003/008537 (請求項1); WO2002/81646 (請求項1; 164頁); WO2003/003906 (請求項10; 288頁); WO2001/40309 (実施例1; 図17); US2001/055751 (実施例1; 図1b); WO2000/32752 (請求項18; 図1); WO98/51805 (請求項17; 97頁); WO98/51824 (請求項10; 94頁); WO98/40403 (請求項2; 図1B); 受入: 043653; EMBL; AF043498; AAC39607.1

(25) GEDA (Genbank受入番号AY260763); AAP14954脂肪腫HMGIC融合パートナー様タンパク質/pid=AAP14954.1-ヒト(人間); WO2003/054152 (請求項20); WO2003/000842 (請求項1); WO2003/023013 (実施例3、請求項20); US2003/194704 (請求項45); 相互参照: GI:30102449; AAP14954.1; AY260763\_1

(26) BAFF-R (B細胞活性化因子受容体、BLyS受容体3、BR3、Genbank受入番号AF116456); BAFF受容体/pid=NP\_443177.1 -ヒト: Thompson、J.S. 5、Science 293 (5537)、2108 ~ 2111 (2001); WO2004/058309; WO2004/011611; WO2003/045422 (Example; 32 ~ 33頁); WO2003/014294 (請求項35; 図6B); WO2003/035846 (請求項70; 615 ~ 616頁); WO2002/94852 (コラム136 ~ 137); WO2002/38766 (請求項3; 133頁); WO2002/24909 (実施例3; 図3); 相互参照: MIM:606269; NP\_443177.1; NM\_052945\_1; AF132600

(27) CD22 (B細胞受容体CD22-Bアイソフォーム、BL-CAM、Lyb-8、Lyb8、SIGLEC-2、FLJ22814、Genbank受入番号AK026467); Wilson 5、(1991) J. Exp. Med. 173:137 ~ 146; WO2003/072036 (請求項1; 図1); 相互参照: MIM:107266; NP\_001762.1; NM\_001771\_1

(28) CD79a (CD79A、CD79、免疫グロブリン関連アルファ、Igベータ(CD79B)と共有結合的に相互作用して表面でIgM分子とともに錯体を形成し、B細胞分化に関するシグナルを形質導入するB細胞特異的タンパク質)、pI: 4.84、MW: 25028 TM: 2 [P] Gene Chromosome: 19q13.2、Genbank受入番号NP\_001774.10); WO2003/088808、US2003/0228319; WO2003/062401 (請求項9); US2002/150573 (請求項4、13 ~ 14頁); WO99/58658 (請求項13、図16); WO92/07574 (図1); US5,644,033; Ha 5、(1992) J. Immunol. 148(5):1526 ~ 1531; Muller 5、(1992) Eur. J. Immunol. 22:1621 ~ 1625; Hashimoto 5、(1994) Immunogenetics 40(4):287 ~ 295; Preud'homme 5、(1992) Clin. Exp. Immunol. 90(1):141 ~ 146; Yu 5、(1992) J. Immunol. 148(2) 633 ~ 637; Sakaguchi 5、(1988) EMBO J. 7(11):3457 ~ 3464

(29) CXCR5 (パーキットリンパ腫受容体1、CXCL13ケモカインによって活性化され、リンパ球の移動及び体液性防御において機能し、HIV-2感染及びAIDS、リンパ腫、骨髄腫及び白血病のおそらく発生において役割を果たすGタンパク質共役受容体); 372 aa、pI: 8.54 MW: 41959 TM: 7 [P] Gene Chromosome: 11q23.3、Genbank受入番号NP\_001707.1); WO2004/040000; WO2004/015426; US2003/105292 (実施例2); US6,555,339 (実施例2); WO2002/61087 (図1); WO2001/57188 (請求項20、269頁); WO2001/72830 (12 ~ 13頁); WO2000/22129 (実施例1、152 ~ 153頁、実施例2、254 ~ 256頁); WO99/28468 (請求項1、38頁); U

10

20

30

40

50

S5,440,021 (実施例2、コラム49~52); WO94/28931 (56~58頁); WO92/17497 (請求項7、図5); Dobnerら、(1992) Eur. J. Immunol. 22:2795~2799; Barellaら、(1995) Biochem. J. 309:773~779

(30) HLA-DOB (ペプチドを結合させ、それらをCD4+Tリンパ球に提示するMHCクラスII分子(Ia抗原)のベータサブユニット); 273 aa、pI: 6.56、MW: 30820.TM: 1 [P] Gene Chromosome: 6p21.3、Genbank受入番号NP\_002111.1); Tonnelleら、(1985) EMBO J. 4(11):2839~2847; Jonssonら、(1989) Immunogenetics 29(6):411~413; Beckら、(1992) J. Mol. Biol. 228:433~441; Strausbergら、(2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA 99:16899~16903; Sereniusら、(1987) J. Biol. Chem. 262:8759~8766; Beckら、(1996) J. Mol. Biol. 255:1~13; Naruseら、(2002) Tissue Antigens 59:512~519; WO99/58658 (請求項13、図15); US6,153,408 (コラム35~38); US5,976,551 (コラム168~170); US6,011,146 (コラム145~146); Kasaharaら、(1989) Immunogenetics 30(1):66~68; Larhammarら、(1985) J. Biol. Chem. 260(26):14111~14119

10

(31) P2X5 (プリン受容体P2Xリガンド開口型イオンチャンネル5、細胞外ATPによって開閉されるイオンチャンネルはシナプス伝達及びニューロン新生に関与することがあり、欠乏症は特発性排尿筋不安定の病態生理に寄与することがある); 422 aa、pI: 7.63、MW: 47206 TM: 1 [P] Gene Chromosome: 17p13.3、Genbank受入番号NP\_002552.2); Leら、(1997) FEBS Lett. 418(1-2):195~199; WO2004/047749; WO2003/072035 (請求項10); Touchmanら、(2000) Genome Res. 10:165~173; WO2002/22660 (請求項20); WO2003/093444 (請求項1); WO2003/087768 (請求項1); WO2003/029277 (82頁)

20

(32) CD72 (B細胞分化抗原CD72、Lyb-2); 359 aa、pI: 8.66、MW: 40225、TM: 1 [P] Gene Chromosome: 9p13.3、Genbank受入番号NP\_001773.1); WO2004042346 (請求項65); WO2003/026493 (51~52、57~58頁); WO2000/75655 (105~106頁); Von Hoegenら、(1990) J. Immunol. 144(12):4870~4877; Strausbergら、(2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA 99:16899~16903.

(33) LY64 (リンパ球抗原64 (RP105)、ロイシンリッチリピート(LRR)ファミリーのI型膜タンパク質は、B細胞活性化及びアポトーシスを調節し、機能の損失は全身性紅斑性狼瘡を有する患者における疾患活性の増加を伴う); 661 aa、pI: 6.20、MW: 74147 TM: 1 [P] Gene Chromosome: 5q12、Genbank受入番号NP\_005573.1); US2002/193567; WO97/07198 (請求項11、39~42頁); Miuraら、(1996) Genomics 38(3):299~304; Miuraら、(1998) Blood 92:2815~2822; WO2003/083047; WO97/44452 (請求項8、57~61頁); WO2000/12130 (24~26頁)

30

(34) FcRH1 (Fc受容体様タンパク質1、C2型Ig様ドメイン及びITAMドメインを含有する免疫グロブリンFcドメインに対する推定受容体はBリンパ球分化における役割を有することがある); 429 aa、pI: 5.28、MW: 46925 TM: 1 [P] Gene Chromosome: 1q21~1q22、Genbank受入番号NP\_443170.1); WO2003/077836; WO2001/38490 (請求項6、図18E-1~18-E-2); Davisら、(2001) Proc. Natl. Acad. Sci USA 98(17):9772~9777; WO2003/089624 (請求項8); EP1347046 (請求項1); WO2003/089624 (請求項7)

(35) IRTA2 (免疫グロブリンスーパーファミリー受容体転座関連2、B細胞発生及びリンパ腫発生における可能な役割を有する推定免疫受容体; 転座による遺伝子の調節解除は一部のB細胞悪性腫瘍において生じる); 977 aa、pI: 6.88、MW: 106468、TM: 1 [P] Gene Chromosome: 1q21、Genbank受入番号Human:AF343662、AF343663、AF343664、AF343665、AF369794、AF397453、AK090423、AK090475、AL834187、AY358085; Mouse:AK089756、AY158090、AY506558; NP\_112571.1; WO2003/024392 (請求項2、図97); Nakayamaら、(2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. 277(1):124~127; WO2003/077836; WO2001/38490 (請求項3、図18B-1~18B-2)

40

(36) TENB2 (TMEFF2、トモレグリン(tomoregulin)、TPEF、HPP1、TR、推定膜貫通プロテオグリカン、成長因子及びフォリスタチンのEGF/ヘレグリンファミリー関連); 374 aa、NCBI受入: AAD55776、AAF91397、AAG49451、NCBI RefSeq: NP\_057276; NCBI Gene: 23671; OMIM: 605734; SwissProt Q9UIK5; Genbank受入番号AF179274; AY358907、CAF85723

50

、CQ782436; WO2004/074320; JP2004113151; WO2003/042661; WO2003/009814; EP1295944 (69~70頁); WO2002/30268 (329頁); WO2001/90304; US2004/249130; US2004/022727; WO2004/063355; US2004/197325; US2003/232350; US2004/005563; US2003/124579; Horie ら、(2000) Genomics 67:146~152; Uchida ら、(1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 266:593~602; Liang ら、(2000) Cancer Res. 60:4907~12; Glynne-Jones ら、(2001) Int J Cancer. 10月15日; 94(2):178~84。

【0331】

親抗体は、アルブミン結合ペプチド(ABP)配列を含む融合タンパク質であってもよい(Dennis ら (2002) 「Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins」 J Biol Chem. 277:35035~35043; WO 01/45746)。本発明の抗体には、(i) Dennis ら、(2002) J Biol Chem. 277:35035~35043の表III及びIV、35038頁; (ii) US 2004/0001827の[0076];並びに(iii) WO 01/45746の12~13頁によって教示されているABP配列を有する融合タンパク質が含まれ、これらの全てを参照により本明細書に組み込む。

10

【0332】

一実施形態において、抗体は、腫瘍関連抗原 を特異的に標的とするように産生させた。

【0333】

細胞結合剤はリンカーに接続されている。一実施形態において、細胞結合剤は、存在する場合のリンカーのAに接続されている

20

一実施形態において、細胞結合剤とリンカーとの間の接続は、チオエーテル結合を介する。

【0334】

一実施形態において、細胞結合剤とリンカーとの間の接続は、ジスルフィド結合を介する。

【0335】

一実施形態において、細胞結合剤とリンカーとの間の接続は、アミド結合を介する。

【0336】

一実施形態において、細胞結合剤とリンカーとの間の接続は、エステル結合を介する。

【0337】

一実施形態において、細胞結合剤とリンカーとの間の接続は、細胞結合剤のシステイン残基のチオール基とリンカーのマレイミド基との間で形成される。

30

【0338】

細胞結合剤のシステイン残基は、接続を形成するためのR<sup>L</sup>の官能基との反応に利用可能であり得る。他の実施形態において、例えば細胞結合剤が抗体である場合、抗体のチオール基は、鎖間ジスルフィド結合に関与することができる。これらの鎖間結合は、例えばR<sup>L</sup>の官能基との反応前にDTTを用いる抗体の処理によって、遊離チオール基に変換することができる。

【0339】

細胞結合剤を標識することで、例えばコンジュゲート又はコンジュゲートの一部のいずれかとして取り込む前に、薬剤の検出又は精製を補助することができる。標識はビオチン標識であってもよい。別の実施形態において、細胞結合剤は、放射性同位体で標識することができる。

40

【0340】

R及びR'

一実施形態において、Rは、置換されていてもよいC<sub>1</sub>~<sub>12</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>~<sub>20</sub>ヘテロシクリル基及びC<sub>5</sub>~<sub>20</sub>アリール基から独立して選択される。これらの基は、下記置換基の項においてそれぞれ定義されている。

【0341】

一実施形態において、Rは独立して、置換されていてもよいC<sub>1</sub>~<sub>12</sub>アルキルである。

50

## 【0342】

一実施形態において、Rは独立して、置換されていてもよい $C_3 - 20$ ヘテロシクリルである。

## 【0343】

一実施形態において、Rは独立して、置換されていてもよい $C_5 - 20$ アリーールである。

## 【0344】

一実施形態において、Rは独立して、置換されていてもよい $C_1 - 12$ アルキルである。

## 【0345】

$R^2$ に関連して上に記載されているのは、好ましいアルキル基及びアリーール基に関連する各種実施形態、並びに任意の置換基の同一性及び数である。Rに適用する場合の $R^2$ に関して提示されている優先は、適切な場合、例えば $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^8$ 又は $R^9$ がRである場合の全ての他のR基に適用可能である。

10

## 【0346】

Rに関する優先はR'にも適用する。

## 【0347】

本発明の一部の実施形態において、-NRR'置換基を有する化合物が提供される。一実施形態において、R及びR'は、それらが結合している窒素原子と一緒に、置換されていてもよい4員、5員、6員又は7員の複素環を形成する。該環は、さらなるヘテロ原子、例えばN、O又はSを含有することができる。

## 【0348】

一実施形態において、複素環は、それ自体がR基で置換されている。さらなるNヘテロ原子が存在する場合、置換基はNヘテロ原子上であってよい。

20

## 【0349】

R"

R"は $C_3 - 12$ アルキレン基であり、この鎖は1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環が置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよい。

## 【0350】

一実施形態において、R"は $C_3 - 12$ アルキレン基であり、この鎖は1個又は複数のヘテロ原子、及び/又は芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよい。

30

## 【0351】

一実施形態において、該アルキレン基は、O、S及びNMeから選択される1個又は複数のヘテロ原子、並びに/又は環が置換されていてもよい芳香環によって、中断されていてよい。

## 【0352】

一実施形態において、芳香環は $C_5 - 20$ アリーレン基であり、ここでアリーレンは、芳香族化合物の二個の芳香環原子から二個の水素原子を除去することによって得られる2価の部分に付随し、この部分は5個から20個の環原子を有する。

## 【0353】

一実施形態において、R"は $C_3 - 12$ アルキレン基であり、この鎖は、1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は $NH_2$ によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよい。

40

## 【0354】

一実施形態において、R"は $C_3 - 12$ アルキレン基である。

## 【0355】

一実施形態において、R"は $C_3$ 、 $C_5$ 、 $C_7$ 、 $C_9$ 及び $C_{11}$ のアルキレン基から選択される。

## 【0356】

一実施形態において、R"は $C_3$ 、 $C_5$ 及び $C_7$ のアルキレン基から選択される。

## 【0357】

一実施形態において、R"は $C_3$ 及び $C_5$ のアルキレン基から選択される。

50

## 【0358】

一実施形態において、R"はC<sub>3</sub>アルキレン基である。

## 【0359】

一実施形態において、R"はC<sub>5</sub>アルキレン基である。

## 【0360】

上記に列挙されているアルキレン基は、1個又は複数のヘテロ原子、及び/又は環が置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって、中断されていてもよい。

## 【0361】

上記に列挙されているアルキレン基は、1個又は複数のヘテロ原子、及び/又は芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてもよい。

10

## 【0362】

上記に列挙されているアルキレン基は、非置換の直鎖脂肪族アルキレン基であってよい。

## 【0363】

X

一実施形態において、XはO、S又はN(H)から選択される。

## 【0364】

好ましくは、XはOである。

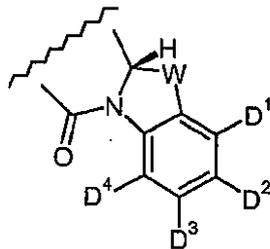
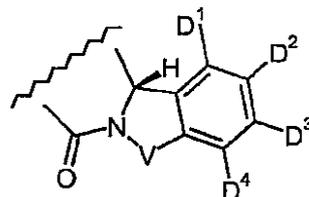
## 【0365】

20

A-A、B-A、C-A、D-A及びE-A

式A-A、B-A、C-A、D-A及びE-Aの化合物はR<sup>2</sup>基を有し、これはR<sup>1</sup>又はR<sup>3</sup>のいずれかとともに、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成する。置換されていてもよいベンゼン環は、ピロロベンゾジアゼピンのC環に縮合されていると見なすことができる。縮合ベンゼン環はD環と称することができる。該縮合環の構造を下記に例示し、

## 【化58】

R<sup>1</sup> 及び R<sup>2</sup>R<sup>3</sup> 及び R<sup>2</sup>

30

## 【0366】

ここで、D<sup>1</sup>、D<sup>2</sup>、D<sup>3</sup>及びD<sup>4</sup>のそれぞれは、H又は置換基を表す。

## 【0367】

一実施形態において、ベンゼン環は非置換である。

40

## 【0368】

一実施形態において、ベンゼン環は、OH、CN、R、OR、O-SO<sub>2</sub>-R、CO<sub>2</sub>R、COR、SH、SR、N H<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから選択される1個、2個、3個、4個の基で置換されていてもよい。

## 【0369】

一実施形態において、ベンゼン環はモノ置換されている。モノ置換基は、D<sup>1</sup>、D<sup>2</sup>、D<sup>3</sup>又はD<sup>4</sup>のいずれか1個(残りはHである)であってよい。一実施形態において、ベンゼン環はD<sup>2</sup>において置換されており、D<sup>1</sup>、D<sup>3</sup>及びD<sup>4</sup>はそれぞれHである。一実施形態において、ベンゼン環はD<sup>3</sup>において置換されており、D<sup>1</sup>、D<sup>2</sup>及びD<sup>4</sup>はそれぞれHである。

## 【0370】

50

一実施形態において、 $R^2$ は $R^1$ とともに、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成する。

【0371】

V及びWに関する優先を下記に提示する。

【0372】

A-B、B-B、C-B、D-B及びE-B

一実施形態において、Uは、TがNR、BH、SO又は $SO_2$ である場合、 $CH_2$ である。

【0373】

一実施形態において、Tは、UがNR、O又はSである場合、 $CH_2$ 又はCOである。

【0374】

一実施形態において、Tは、 $CH_2$ 及びCOから選択される。

【0375】

一実施形態において、Uは、NR、O及びSから選択される。

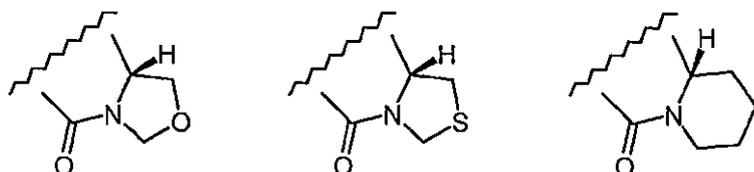
【0376】

一実施形態において、Yは $(CH_2)_n$ であり、ここでnは1又は2である。

【0377】

一実施形態において、化合物A-BのC環は、下記に示されるものから選択される構造を有する。

【化59】



【0378】

V及びW

V及びWは、 $(CH_2)_n$ 、O、S、NR、CHR、及び $CRR^1$ からそれぞれ選択され、ここでnは2、3又は4であり、ただし、 $R^1$ 及び $R^2$ が、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成する場合には、VがCであることを除き、 $R^3$ 及び $R^2$ が、それらが結合しているC環の炭素原子と一緒に、置換されていてもよいベンゼン環を形成する場合には、WがCであることを除く。

【0379】

一実施形態において、V及びWの一方がCである場合、V及びWの他方は $CH_2$ 及びNRから選択される。

【0380】

一実施形態において、V及びWの一方がCである場合、V及びWの他方は $CH_2$ である。

【0381】

二量体化合物

一実施形態において、本発明の第一態様のコンジュゲート、化合物C、化合物D及び化合物Eは、それぞれ二量体である。

【0382】

コンジュゲート

一実施形態において、コンジュゲートは、各単量体が式(A)である二量体である。

【0383】

一実施形態において、二量体化合物は、各単量体が式(A)であり、化合物が下記に示される構造を有する二量体であり、

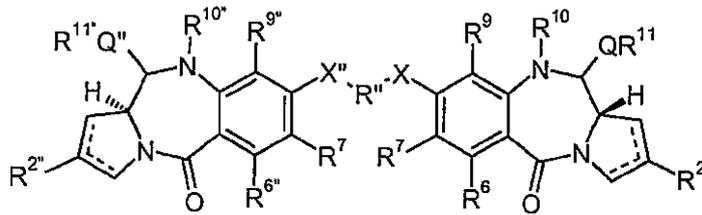
10

20

30

40

## 【化60】



AA

## 【0384】

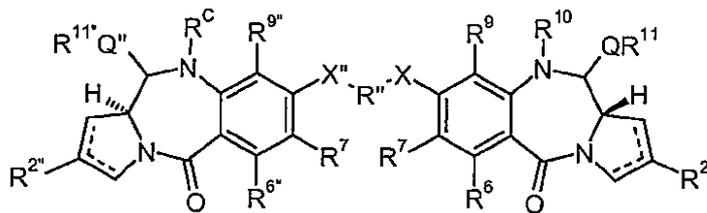
ここで、 $R^{2''}$ 、 $R^{6''}$ 、 $R^{7''}$ 、 $R^{9''}$ 、 $R^{10''}$ 、 $X''$ 、 $Q''$ 及び $R^{11''}$ は、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $R^{10}$ 、 $X$ 及び $R^{11}$ に従って定義されている通りである。

10

## 【0385】

一実施形態において、コンジュゲートは、各単量体が式(A)であり、化合物が下記に示される構造を有する二量体であり、

## 【化61】



AB

20

## 【0386】

ここで、 $R^{2''}$ 、 $R^{6''}$ 、 $R^{7''}$ 、 $R^{9''}$ 、 $X''$ 、 $Q''$ 及び $R^{11''}$ は、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $X$ 及び $R^{11}$ に従って定義されている通りであり、 $R^C$ はキャッピング基である。この実施形態において、各 $R^{10}$ 基は細胞結合剤に接続されているリンカーである。

## 【0387】

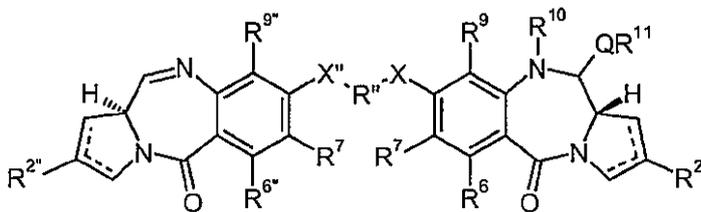
一実施形態において、コンジュゲートは、一方の単量体が式(A)であり、他方が式(B)である二量体である。

30

## 【0388】

一実施形態において、コンジュゲートは、一方の単量体が式(A)であり、他方が式(B)であり、化合物が下記に示される構造を有する二量体であり、

## 【化62】



AC

40

## 【0389】

ここで、 $R^{2''}$ 、 $R^{6''}$ 、 $R^{7''}$ 、 $R^{9''}$ 、 $X''$ 及び $R^{11''}$ は、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $X$ 、及び $R^{11}$ に従って定義されている通りである。

## 【0390】

一実施形態において、コンジュゲートは、各単量体が式(A)であり、 $R^2$ 基、 $R^6$ 基、 $R^9$ 基、 $X$ 基、 $R^{11}$ 基及び $R^7$ 基及び $R^8$ 基が、適切な場合には同じである二量体である。

## 【0391】

一実施形態において、該化合物は、各単量体が式(A)であり、 $R^2$ 基、 $R^6$ 基、 $R^9$ 基、 $X$ 基、 $R^{11}$ 基、 $R^{10}$ 基及び $R^7$ 基及び $R^8$ 基が、適切な場合には同じである二量体である。こうした化

50

化合物は対称二量体と称することができる。

【0392】

一実施形態において、コンジュゲートは、一方の単量体が式(A)であり、他方が式(B)であり、(A)の $R^2$ 基、 $R^6$ 基、 $R^9$ 基及び $R^7$ 基及び $R^8$ 基が、適切な場合には化合物(B)のそれらの基と同じである二量体である。

【0393】

上記の二量体化合物のそれぞれに関し、式(A)又は(B)の単量体は、本明細書に記載されている通りの式(A-1)又は(B-1)の単量体と置き換えることができる。

【0394】

化合物C

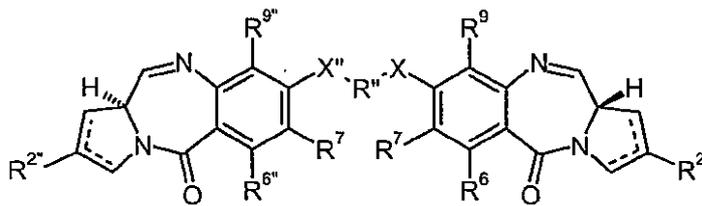
10

一実施形態において、化合物Cは二量体である。

【0395】

一実施形態において、化合物Cは、下記に示される構造を有し、

【化63】



CA

20

【0396】

ここで、 $R^{2'}$ 、 $R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^{9'}$ 及び $X''$ は、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 及び $X$ に従って定義されている通りである。

【0397】

化合物D

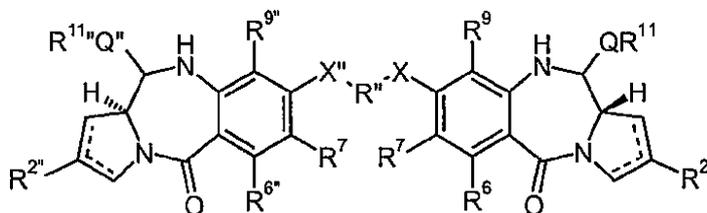
一実施形態において、化合物Dは二量体である。

【0398】

一実施形態において、化合物Dは、下記に示される構造を有し、

30

【化64】



DA

40

【0399】

ここで、 $R^{2'}$ 、 $R^{6'}$ 、 $R^{7'}$ 、 $R^{9'}$ 、 $Q''$ 、 $R^{11'}$ 及び $X''$ は、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $Q$ 、 $R^{11}$ 及び $X$ に従って定義されている通りである。

【0400】

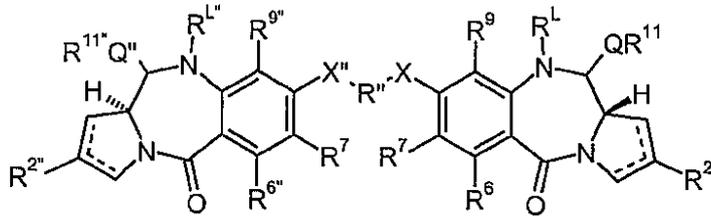
化合物E

一実施形態において、化合物Eは二量体である。

【0401】

一実施形態において、化合物Eは、下記に示される構造を有し、

## 【化65】



EA

## 【0402】

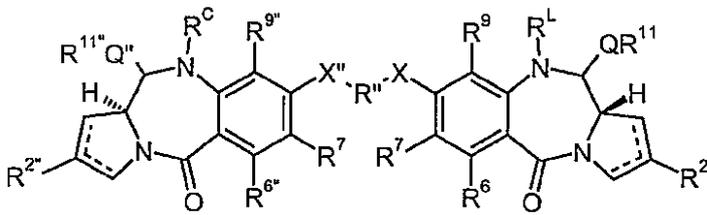
10

ここで、 $R^{2''}$ 、 $R^{6''}$ 、 $R^{7''}$ 、 $R^{9''}$ 、 $R^{11''}$ 、 $R^L$ 、 $Q$ 及び $X$ は、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $R^{11}$ 、 $R^L$ 及び $X$ に従って定義されている通りである。

## 【0403】

一実施形態において、化合物Eは、下記に示される構造を有し、

## 【化66】



EB

20

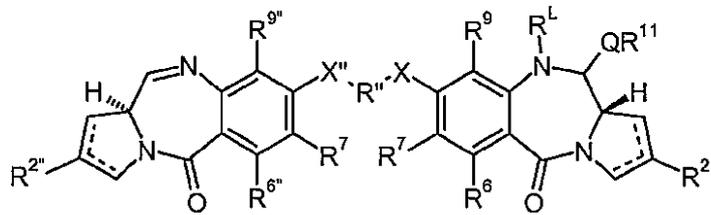
## 【0404】

ここで、 $R^{2''}$ 、 $R^{6''}$ 、 $R^{7''}$ 、 $R^{9''}$ 、 $R^{11''}$ 、 $Q$ 及び $X$ は、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $R^{11}$ 、及び $X$ に従って定義されている通りである。 $R^C$ はキャッピング基である。

## 【0405】

一実施形態において、化合物Eは、下記に示される構造を有し、

## 【化67】



EC

30

## 【0406】

ここで、 $R^{2''}$ 、 $R^{6''}$ 、 $R^{7''}$ 、 $R^{9''}$ 、及び $X$ は、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、及び $X$ に従って定義されている通りである。

40

## 【0407】

単量体化合物

一実施形態において、本発明の第一態様のコンジュゲート、化合物C、化合物D及び化合物Eは単量体である。

## 【0408】

一実施形態において、コンジュゲート、又は式(C)、(D)又は(E)の化合物は、本明細書に記載されている通りの式(A-1)、(C-1)、(D-1)又は(E-1)の単量体で置き換えることができる。

## 【0409】

$R^C$ 、キャッピング基

50

本発明の第一態様のコンジュゲートは、N10位にキャッピング基 $R^C$ を有する。化合物Eはキャッピング基 $R^C$ を有することができる。

【0410】

一実施形態において、コンジュゲートが、各単量体が式(A)である二量体である場合、単量体単位の一つにおける $R^{10}$ 基はキャッピング基 $R^C$ であるか、又は $R^{10}$ 基である。

【0411】

一実施形態において、コンジュゲートが、各単量体が式(A)である二量体である場合、単量体単位の一つにおける $R^{10}$ 基はキャッピング基 $R^C$ である。

【0412】

一実施形態において、化合物Eが、各単量体が式(E)である二量体である場合、単量体単位の一つにおける $R^L$ 基はキャッピング基 $R^C$ であるか、又は細胞結合剤への接続のためのリンカーである。

10

【0413】

一実施形態において、化合物Eが、各単量体が式(E)である二量体である場合、単量体単位的一方における $R^L$ 基は、キャッピング基 $R^C$ である。

【0414】

$R^C$ 基は、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、 $QR^{11}$ が $OSO_3M$ である場合の亜硫酸水素塩付加物、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を残すように、PBD部分のN10位から除去可能である。

【0415】

一実施形態において、 $R^C$ 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から、又は $QR^{11}$ が $OSO_3M$ である場合には亜硫酸水素塩付加物を残すように、除去可能である保護基である。一実施形態において、 $R^C$ は、N10-C11イミン結合を残すように、除去可能である保護基である。

20

【0416】

$R^C$ 基は、例えばN10-C11イミン結合、カルピノールアミンなどを得るために、 $R^{10}$ 基の除去に必要とされるものと同じ条件下で除去可能であることが意図されている。キャッピング基は、N10位における目的の官能性のための保護基として働く。キャッピング基は、細胞結合剤に対して反応性でないことが意図されている。例えば、 $R^C$ は $R^L$ と同じではない。

【0417】

キャッピング基を有する化合物は、イミン単量体を有する二量体の合成における中間体として使用することができる。別法として、キャッピング基を有する化合物は、コンジュゲートとして使用することができ、ここで、キャッピング基が標的位置で除去されることで、イミン、カルピノールアミン、置換カルピノールアミンなどが得られる。したがって、この実施形態において、キャッピング基は、本発明者らの先の出願WO 00/12507において定義されている通り、治療的に除去可能な窒素保護基と称することができる。

30

【0418】

一実施形態において、 $R^C$ 基は、 $R^{10}$ 基のリンカー $R^L$ を切断する条件下で除去可能である。したがって、一実施形態において、キャッピング基は、酵素の作用によって切断可能である。

40

【0419】

代替実施形態において、キャッピング基は、リンカー $R^L$ を細胞結合剤に接続する前に除去可能である。この実施形態において、キャッピング基は、リンカー $R^L$ を切断しない条件下で除去可能である。

【0420】

化合物に、細胞結合剤への接続を形成するための官能基 $G^1$ が含まれる場合、キャッピング基は、 $G^1$ の添加又はアンマスキングの前に除去可能である。

【0421】

キャッピング基は、二量体における単量体単位的一方だけが細胞結合剤に接続されることを確実にするための保護基戦略の一部として使用することができる。

50

## 【0422】

キャッピング基は、N10-C11イミン結合のためのマスクとして使用することができる。キャッピング基は、イミン官能性が化合物において必要とされるような時点で除去することができる。キャッピング基は、カルビノールアミン、置換カルビノールアミン、及び上記した通りの亜硫酸水素塩付加物のためのマスクであってもよい。

## 【0423】

R<sup>C</sup>は、本発明者らの先の出願、WO 00/12507に記載されている基などのN10保護基であってよい。一実施形態において、R<sup>C</sup>は、本発明者らの先の出願WO 00/12507に定義されている通りの治療的に除去可能な窒素保護基である。

## 【0424】

一実施形態において、R<sup>C</sup>は、カルバメート保護基である。

## 【0425】

一実施形態において、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。

## 【0426】

任意選択により、カルバメート保護基は、Mocからさらに選択される。

## 【0427】

一実施形態において、R<sup>C</sup>は、細胞結合剤への接続のための官能基が欠けているリンカー基R<sup>L</sup>である。

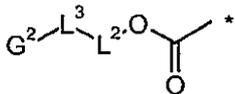
## 【0428】

この出願は、特に、カルバメートであるR<sup>C</sup>基に関する。

## 【0429】

一実施形態において、R<sup>C</sup>は以下の基であり、

## 【化68】



## 【0430】

ここで、アスタリスクはN10位への結合点を示し、G<sup>2</sup>は終端基であり、L<sup>3</sup>は共有結合又は切断可能なリンカー-L<sup>1</sup>であり、L<sup>2</sup>は共有結合であるか、又はOC(=O)と一緒に自己犠牲リンカーを形成する。

## 【0431】

L<sup>3</sup>及びL<sup>2</sup>がともに共有結合である場合、G<sup>2</sup>及びOC(=O)と一緒に、上記で定義されている通りのカルバメート保護基を形成する。

## 【0432】

L<sup>1</sup>は、R<sup>10</sup>に関連して上記で定義されている通りである。

## 【0433】

L<sup>2</sup>は、R<sup>10</sup>に関連して上記で定義されている通りである。

## 【0434】

様々な終端基は、よく知られている保護基に基づくものを含めて、下記に記載されている。

## 【0435】

一実施形態において、L<sup>3</sup>は切断可能なリンカー-L<sup>1</sup>であり、L<sup>2</sup>は、OC(=O)と一緒に、自己犠牲リンカーを形成する。この実施形態において、G<sup>2</sup>はAc(アセチル)若しくはMoc、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。

## 【0436】

任意選択により、カルバメート保護基はMocからさらに選択される。

## 【0437】

10

20

30

40

50

別の実施形態において、 $G^2$ はアシル基- $C(=O)G^3$ であり、ここで、 $G^3$ 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める)、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(carboaryl)を含める)から選択される。これらの基は置換されていてもよい。アシル基は $L^3$ 又は $L^2$ のアミノ基と一緒に、適切な場合、アミド結合を形成することができる。アシル基は $L^3$ 又は $L^2$ のヒドロキシ基と一緒に、適切な場合、エステル結合を形成することができる。

## 【0438】

一実施形態において、 $G^3$ 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などのヘテロ原子を有することができる、それによって、適切な場合には $L^3$ 基又は $L^2$ 基に存在するヘテロ原子とともに、適切な場合にはカルバメート基又はカーボネート基を形成する。

10

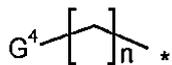
## 【0439】

一実施形態において、 $G^3$ 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。

## 【0440】

一実施形態において、 $G^2$ は以下の基であり、

## 【化69】



20

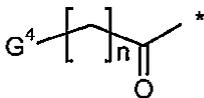
## 【0441】

ここで、アスタリスクは $L^3$ への結合点を示し、 $n$ は0から6であり、 $G^4$ は、OH、OR、SH、SR、COOR、 $CONH_2$ 、 $CONHR$ 、 $CONRR'$ 、 $NH_2$ 、 $NHR$ 、 $NRR'$ 、 $NO_2$ 及びハロゲンから選択される。OH基、SH基、 $NH_2$ 基及び $NHR$ 基は保護されている。一実施形態において、 $n$ は1から6であり、好ましくは $n$ は5である。一実施形態において、 $G^4$ はOR、SR、COOR、 $CONH_2$ 、 $CONHR$ 、 $CONRR'$ 及び $NRR'$ である。一実施形態において、 $G^4$ 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。最も好ましくは $G^4$ はOMeである。

## 【0442】

一実施形態において、 $G^2$ 基は、

## 【化70】



30

## 【0443】

であり、

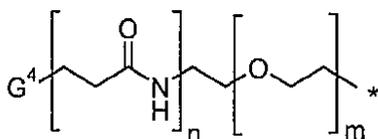
ここで、アスタリスクは $L^3$ への結合点を示し、 $n$ 及び $G^4$ は上記で定義されている通りである。

## 【0444】

一実施形態において、 $G^2$ 基は、

40

## 【化71】



## 【0445】

であり、

ここで、アスタリスクは $L^3$ への結合点を示し、 $n$ は0又は1であり、 $m$ は0から50であり、 $G^4$ は、OH、OR、SH、SR、COOR、 $CONH_2$ 、 $CONHR$ 、 $CONRR'$ 、 $NH_2$ 、 $NHR$ 、 $NRR'$ 、 $NO_2$ 及びハロ

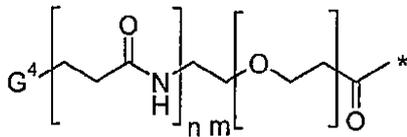
50

から選択される。好ましい実施形態において、nは1であり、mは0から10、1から2、好ましくは4から8、及び最も好ましくは4又は8である。別の実施形態において、nは1であり、mは10から50、好ましくは20から40である。OH基、SH基、NH<sub>2</sub>基及びNHR基は保護されている。一実施形態において、G<sup>4</sup>はOR、SR、COOR、CONH<sub>2</sub>、CONHR、CONRR'及びNRR'である。一実施形態において、G<sup>4</sup>はOR、SR及びNRR'である。好ましくはG<sup>4</sup>は、OR及びNRR'から選択され、最も好ましくはG<sup>4</sup>はORである。好ましくはG<sup>4</sup>はOMeである。

【0446】

一実施形態において、G<sup>2</sup>基は、

【化72】



10

【0447】

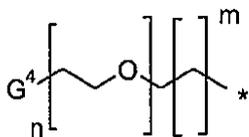
であり、

ここで、アスタリスクはL<sup>3</sup>への結合点を示し、n、m及びG<sup>4</sup>は上記で定義されている通りである。

【0448】

一実施形態において、G<sup>2</sup>基は、

【化73】



20

【0449】

であり、

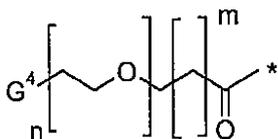
ここで、nは1~20であり、mは0~6であり、G<sup>4</sup>は、OH、OR、SH、SR、COOR、CONH<sub>2</sub>、CONHR、CONRR'、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>及びハロゲンから選択される。一実施形態において、nは1~10である。別の実施形態において、nは10から50、好ましくは20から40である。一実施形態において、nは1である。一実施形態において、mは1である。OH基、SH基、NH<sub>2</sub>基及びNHR基は保護されている。一実施形態において、G<sup>4</sup>はOR、SR、COOR、CONH<sub>2</sub>、CONHR、CONRR'及びNRR'である。一実施形態において、G<sup>4</sup>はOR、SR及びNRR'である。好ましくはG<sup>4</sup>は、OR及びNRR'から選択され、最も好ましくはG<sup>4</sup>はORである。好ましくはG<sup>4</sup>はOMeである。

30

【0450】

一実施形態において、G<sup>2</sup>基は、

【化74】



40

【0451】

であり、

ここで、アスタリスクはL<sup>3</sup>への結合点を示し、n、m及びG<sup>4</sup>は上記で定義されている通りである。

【0452】

上記実施形態のそれぞれにおいて、G<sup>4</sup>はOH、SH、NH<sub>2</sub>及びNHRであってよい。これらの基は、好ましくは保護されている。

50

## 【0453】

－実施形態において、OHは、Bzl、TBDMS、又はTBDPSで保護されている。

## 【0454】

－実施形態において、SHは、Acm、Bzl、Bzl-OMe、Bzl-Me又はTrtで保護されている。

## 【0455】

－実施形態において、NH<sub>2</sub>又はNHRは、Boc、Moc、Z-Cl、Fmoc、Z又はAllocで保護されている。

## 【0456】

－実施形態において、G<sup>2</sup>基は、ジペプチドであるL<sup>3</sup>基との組合せで存在する。

## 【0457】

キャッピング基は、細胞結合剤への接続を意図されていない。したがって、二量体に存在する他方の単量体は、リンカーを介する細胞結合剤への接続点として働く。すなわち、キャッピング基に存在する官能性が、細胞結合剤との反応に利用可能でないことが好ましい。したがって、OH、SH、NH<sub>2</sub>、COOHなどの反応性官能基は、避けることが好ましい。しかし、こうした官能性は、上記した通りに保護されているならば、キャッピング基に存在することができる。

10

## 【0458】

本発明の化合物の調製において、キャッピング基を使用することで、リンカーR<sup>L</sup>を調製することができる。

## 【0459】

抗体-薬物コンジュゲート(ADC)化合物の例示的な実施形態は、抗体(Ab)、及び抗体がリンカー部分(L)によってPBDに結合されているPBD薬物部分(PBD)を含み、該組成物は下記式を有し、

20



ここで、pは1から約8の整数であり、薬物負荷を表す。Abがシステイン操作抗体であるならば、チオール反応性リンカー部分を介して抗体分子にコンジュゲートすることができる薬物部分の数は、本明細書に記載されている方法によって導入されるシステイン残基の数によって限定される。例示的なADCは、したがって、1種、2種、3種又は4種の操作システインアミノ酸を有する抗体を含む。

## 【0460】

好ましい化合物

－実施形態において、コンジュゲートは、単量体のそれぞれがC2メチレン基を有し、即ち各R<sup>2</sup>が=CH<sub>2</sub>である二量体である。細胞結合剤は抗体であることが好ましい。

30

## 【0461】

別の実施形態において、コンジュゲートは、単量体のそれぞれがC2アリール基を有し、即ち各R<sup>2</sup>が、置換されていてもよいC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリールである二量体である。細胞結合剤は抗体であることが好ましい。

## 【0462】

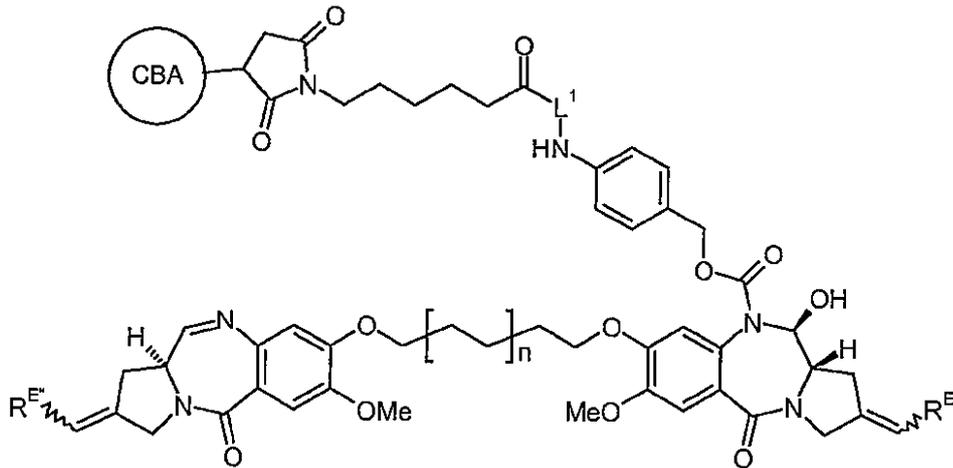
C2アルキレン

－実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

40



【化77】



10

【0467】

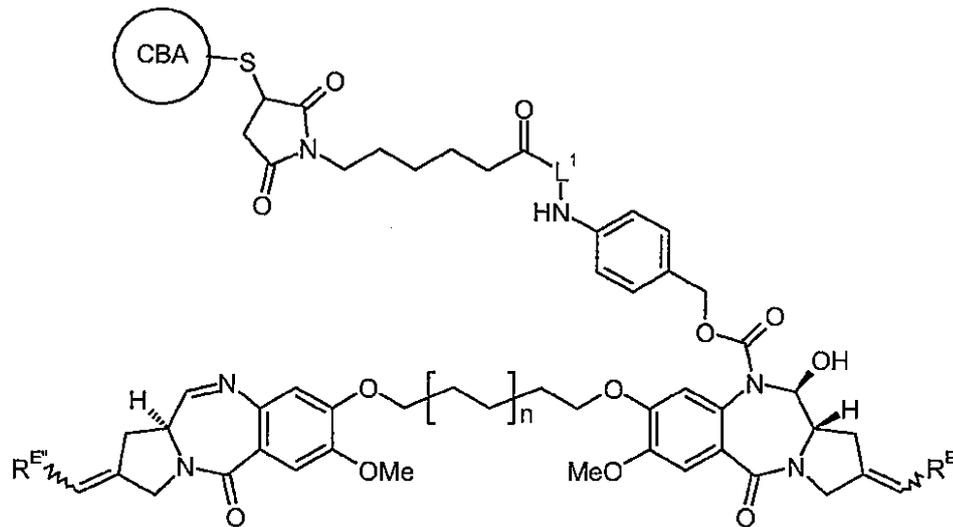
式中、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、 $n$ は0又は1である。 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $R^E$ 及び $R^{E'}$ は、H又は $R^D$ からそれぞれ独立して選択される。

【0468】

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

20

【化78】



30

【0469】

式中、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、 $n$ は0又は1である。 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $R^E$ 及び $R^{E'}$ は、H又は $R^D$ からそれぞれ独立して選択される。

40

【0470】

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、



$G^2$ は、Alloc、Fmoc、Boc、Troc、Teoc、Psec、Cbz及びPNZから選択される。

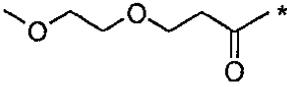
【0476】

以下の優先も、上記の優先に加えて適用することができる。

【0477】

$G^2$ は、

【化81】



10

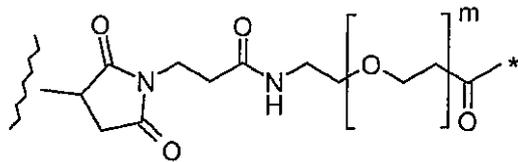
【0478】

であり、

ここで、アスタリスクは $L^1$ のN末端への結合点を示し、

Aは、

【化82】



20

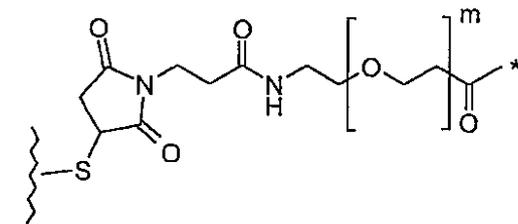
【0479】

であり、

ここで、アスタリスクは $L^1$ のN末端への結合点を示し、波線は細胞結合剤への結合点を示し、mは4又は8であり、

Aは、

【化83】



30

【0480】

であり、

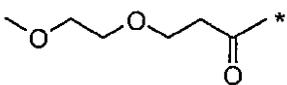
ここで、アスタリスクは $L^1$ のN末端への結合点を示し、波線は細胞結合剤への結合点を示し、mは4又は8である。

【0481】

特に好ましい実施形態において、nは1であり、 $R^E$ はHであり、CBAは抗体であり、 $L^1$ は $(H_2N)-Val-Ala-(CO)$ 又は $(H_2N)-Phe-Lys-(CO)$ であり、ここで $(H_2N)$ 及び $(CO)$ はそれぞれのN末端及びC末端を示し、 $L^2$ はp-アミノベンジレンであり、 $G^2$ は、

40

【化84】

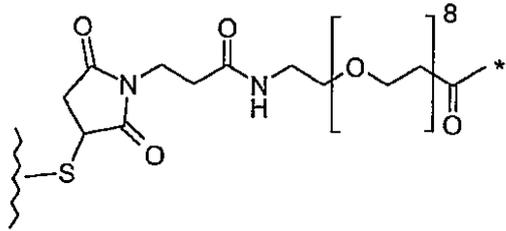


【0482】

であり、

ここで、アスタリスクは $L^1$ のN末端への結合点を示し、Aは、

## 【化 8 5】



## 【 0 4 8 3】

であり、

10

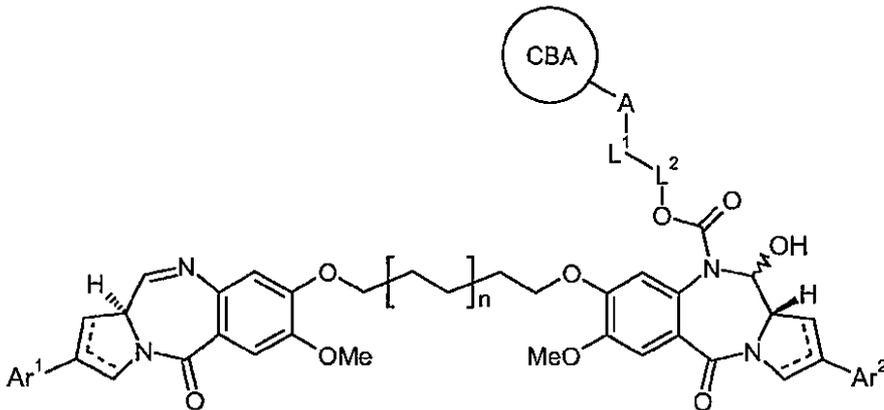
ここで、アスタリスクはL<sup>1</sup>のN末端への結合点を示し、波線は細胞結合剤への結合点を示す。

## 【 0 4 8 4】

C2アリアル

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

## 【化 8 6】



20

## 【 0 4 8 5】

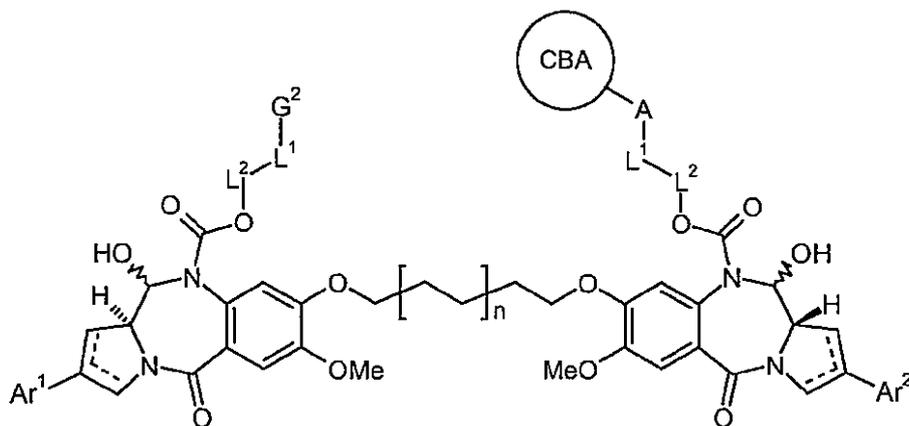
ここで、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、L<sup>1</sup>及びL<sup>2</sup>はすでに定義されている通りであり、Ar<sup>1</sup>及びAr<sup>2</sup>は、それぞれ独立して置換されていてもよいC<sub>5</sub>-20アリアルであり、nは0又は1である。Ar<sup>1</sup>及びAr<sup>2</sup>は同じであるか、又は異なっていてよい。

30

## 【 0 4 8 6】

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

## 【化 8 7】



40

## 【 0 4 8 7】

式中、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、L<sup>1</sup>、L

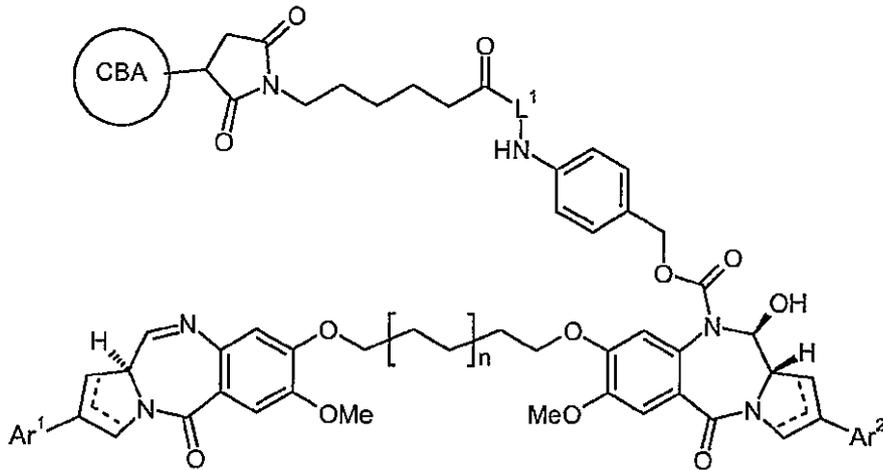
50

<sup>2</sup>及びG<sup>2</sup>はすでに定義されている通りであり、Ar<sup>1</sup>及びAr<sup>2</sup>は、それぞれ独立して置換されていてもよいC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリールであり、nは0又は1である。

【0488】

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

【化88】



10

【0489】

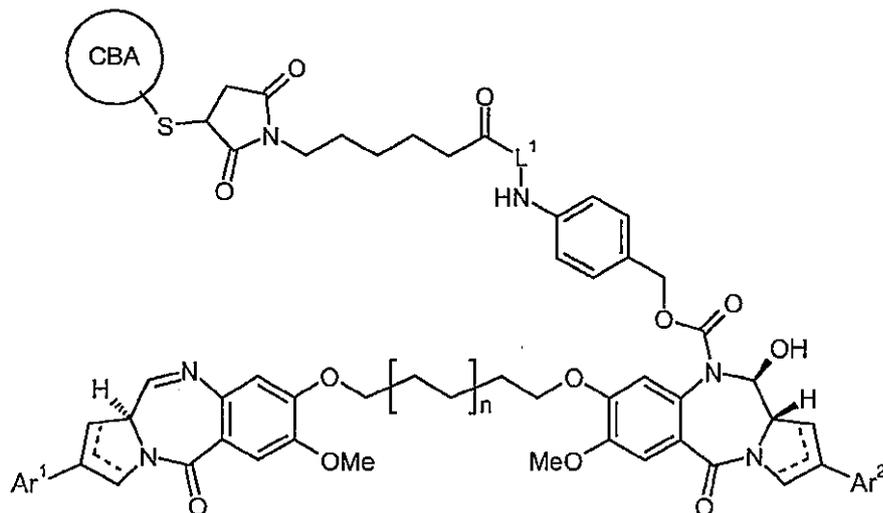
式中、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、L<sup>1</sup>はすでに定義されている通りであり、Ar<sup>1</sup>及びAr<sup>2</sup>は、それぞれ独立して置換されていてもよいC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリールであり、nは0又は1である。

20

【0490】

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

【化89】



30

【0491】

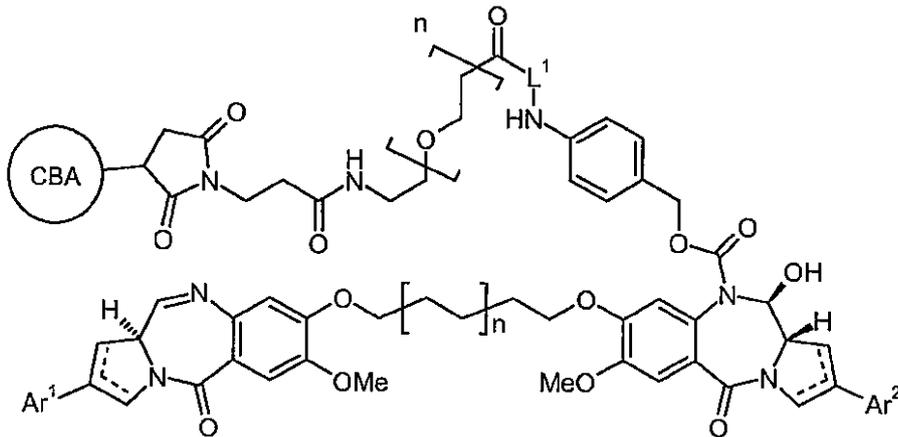
式中、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、L<sup>1</sup>はすでに定義されている通りであり、Ar<sup>1</sup>及びAr<sup>2</sup>は、それぞれ独立して置換されていてもよいC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリールであり、nは0又は1である。

40

【0492】

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

【化90】



10

【0493】

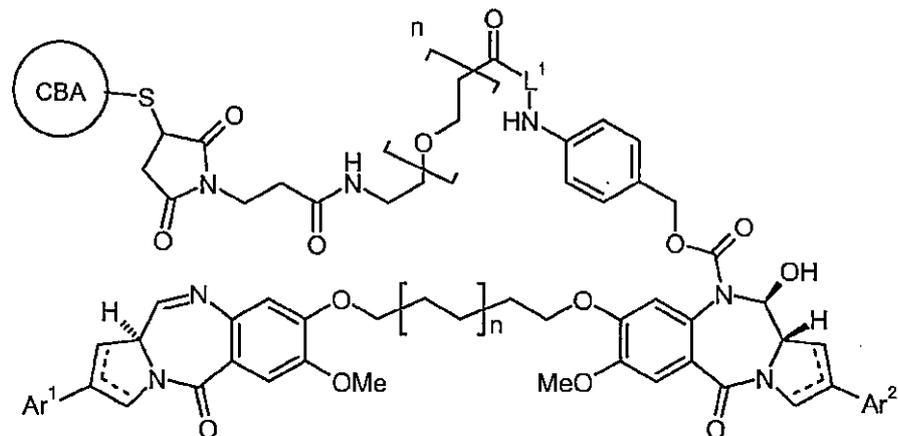
式中、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、 $n$ は0又は1である。 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $Ar^1$ 及び $Ar^2$ は、それぞれ独立して置換されていてもよい $C_5 - 20$ アリールであり、 $n$ は0又は1である。

【0494】

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

【化91】

20



30

【0495】

式中、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、 $n$ は0又は1である。 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $Ar^1$ 及び $Ar^2$ は、それぞれ独立して置換されていてもよい $C_5 - 20$ アリールであり、 $n$ は0又は1である。

【0496】

一実施形態において、上記実施形態のそれぞれにおける $Ar^1$ 及び $Ar^2$ は、置換されていてもよいフェニル、フラニル、チオフェニル及びピリジルからそれぞれ独立して選択される。

40

【0497】

一実施形態において、上記実施形態のそれぞれにおける $Ar^1$ 及び $Ar^2$ は、置換されていてもよいフェニルである。

【0498】

一実施形態において、上記実施形態のそれぞれにおける $Ar^1$ 及び $Ar^2$ は、置換されていてもよいチオフェン-2-イル又はチオフェン-3-イルである。

【0499】

一実施形態において、上記実施形態のそれぞれにおける $Ar^1$ 及び $Ar^2$ は、置換されていてもよいキノリニル又はイソキノリニルである。

【0500】

50

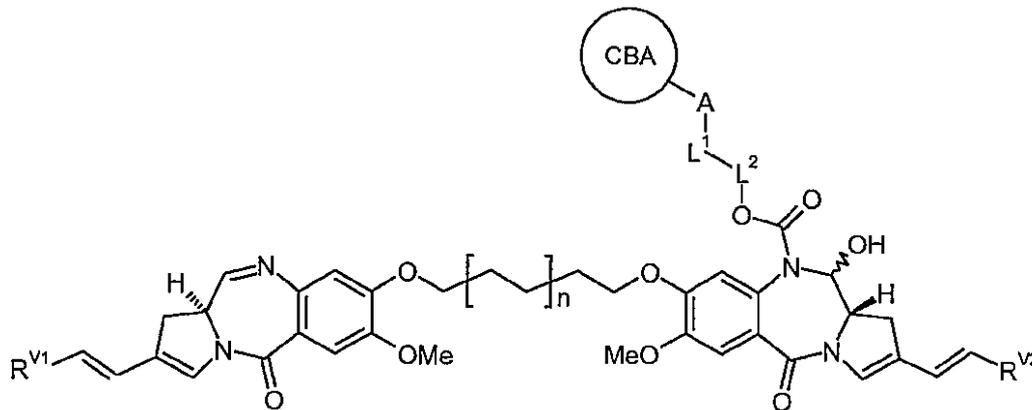
キノリニル基又はイソキノリニル基は、任意の利用可能な環位置を介してPBD核に結合されていてよい。例えば、キノリニルは、キノリン-2-イル、キノリン-3-イル、キノリン-4イル、キノリン-5-イル、キノリン-6-イル、キノリン-7-イル及びキノリン-8-イルであってよい。これらのうち、キノリン-3-イル及びキノリン-6-イルが好ましいことがある。イソキノリニルは、イソキノリン-1-イル、イソキノリン-3-イル、イソキノリン-4イル、イソキノリン-5-イル、イソキノリン-6-イル、イソキノリン-7-イル及びイソキノリン-8-イルであってよい。これらのうち、イソキノリン-3-イル及びイソキノリン-6-イルが好ましいことがある。

【0501】

C2ビニル

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

【化92】



10

20

30

40

50

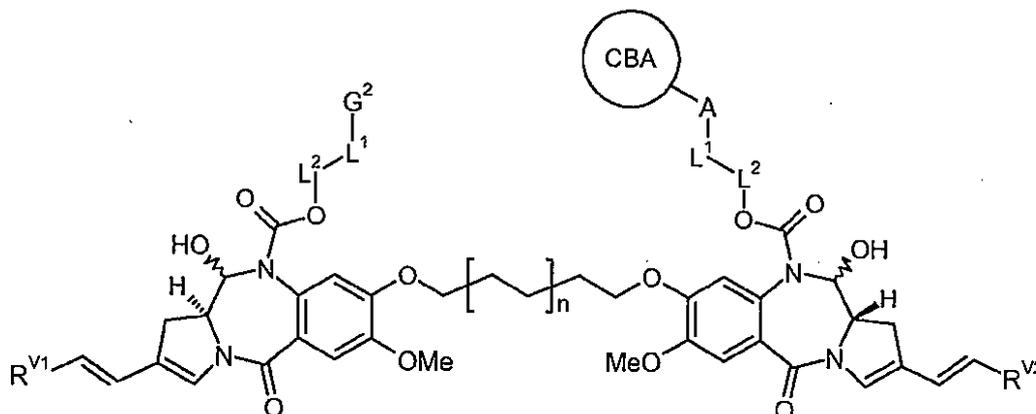
【0502】

式中、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、 $L^1$ 及び $L^2$ はすでに定義されている通りであり、 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は、H、メチル、エチル及びフェニル(このフェニルは、特に4位においてフルオロで置換されていてもよい)並びに $C_{5-6}$ ヘテロシクリルから独立して選択され、 $n$ は0又は1である。 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は同じであるか、又は異なっていてよい。

【0503】

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

【化93】



【0504】

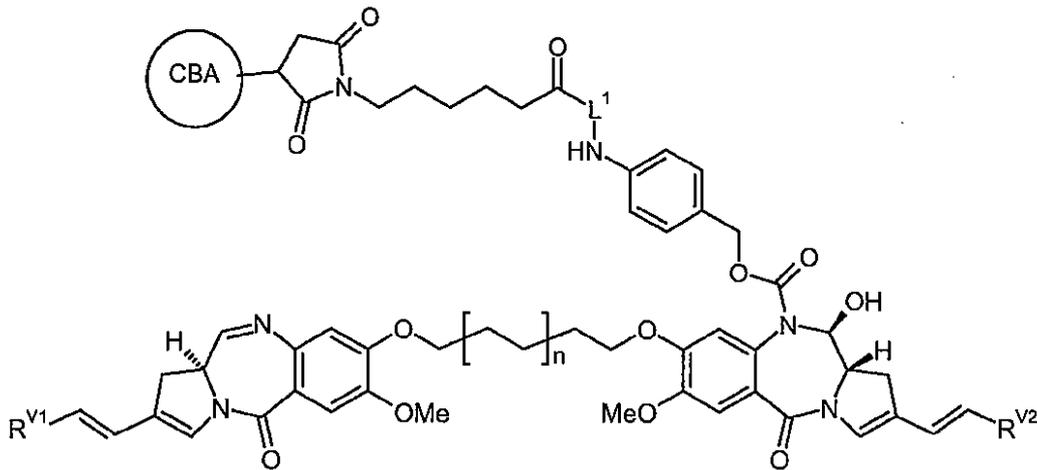
式中、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、 $L^1$ 、 $L^2$ 及び $G^2$ はすでに定義されている通りであり、 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は、H、メチル、エチル及びフェニル(このフェニルは、特に4位においてフルオロで置換されていてもよい)並びに $C_{5-6}$ ヘテロシクリルから独立して選択され、 $n$ は0又は1である。 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は同じであるか、又

は異なっていてよい。

【0505】

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

【化94】



10

【0506】

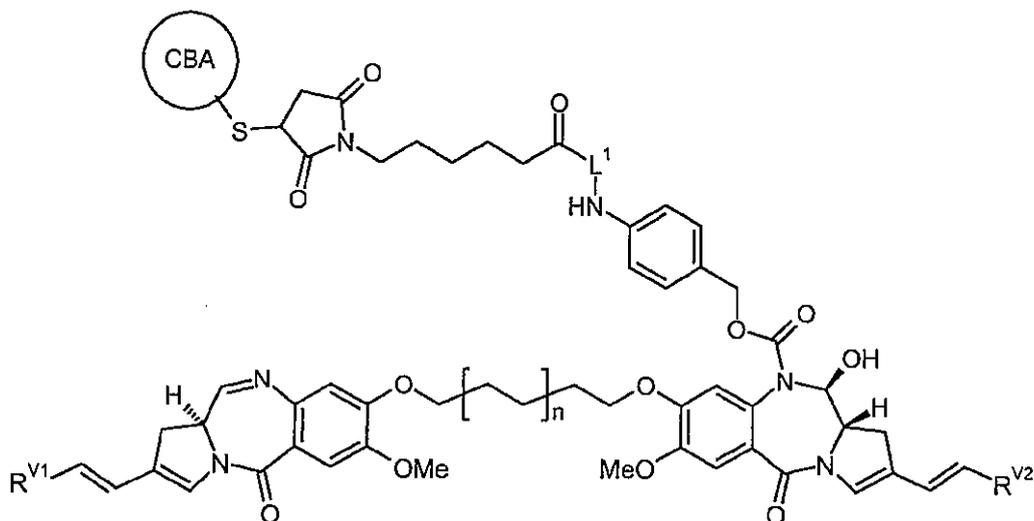
式中、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は、H、メチル、エチル及びフェニル(このフェニルは、特に4位においてフルオロで置換されていてもよい)並びに $C_5 - 6$ ヘテロシクリルから独立して選択され、 $n$ は0又は1である。 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は同じであるか、又は異なっていてよい。

20

【0507】

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

【化95】



30

【0508】

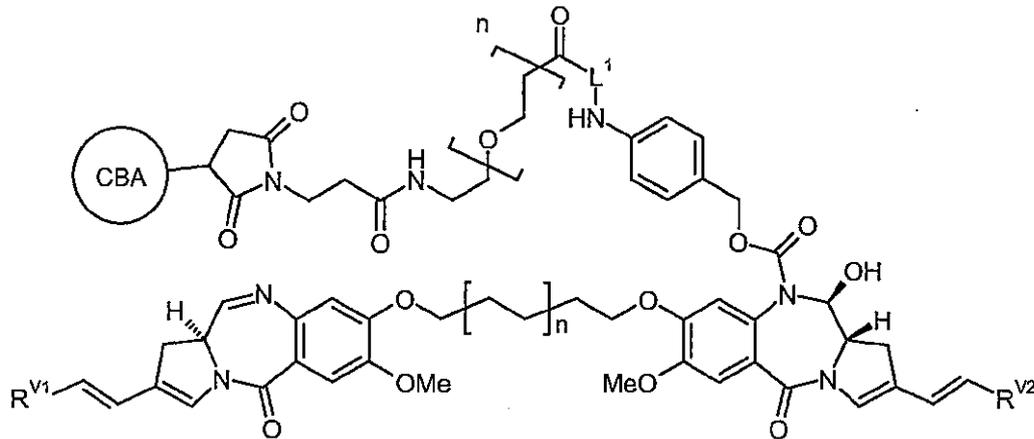
式中、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は、H、メチル、エチル及びフェニル(このフェニルは、特に4位においてフルオロで置換されていてもよい)並びに $C_5 - 6$ ヘテロシクリルから独立して選択され、 $n$ は0又は1である。 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は同じであるか、又は異なっていてよい。

40

【0509】

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

## 【化96】



10

## 【0510】

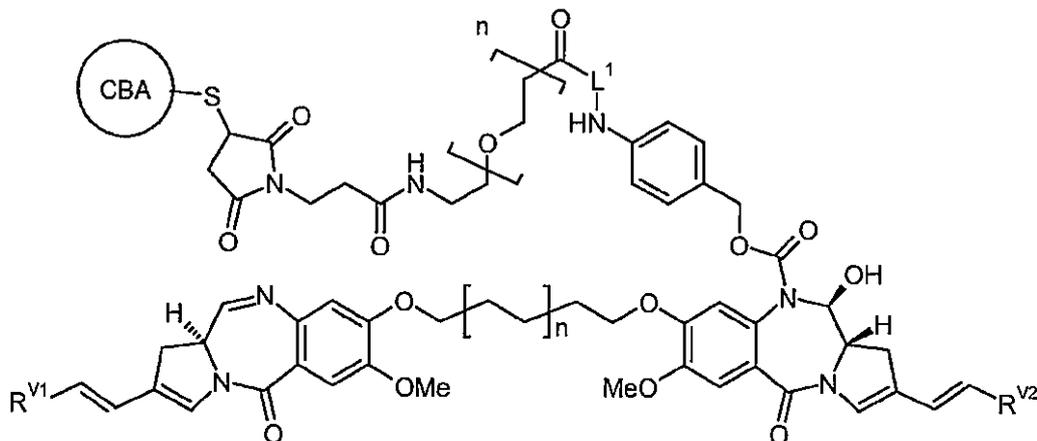
式中、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、 $n$ は0又は1である。 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は、H、メチル、エチル及びフェニル(このフェニルは、特に4位においてフルオロで置換されていてもよい)並びに $C_5$ - $C_6$ ヘテロシクリルから独立して選択され、 $n$ は0又は1である。 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は同じであるか、又は異なっていてよい。

## 【0511】

一実施形態において、コンジュゲートは以下の化合物であり、

20

## 【化97】



30

## 【0512】

式中、CBAは、抗体又は環式若しくは直鎖のペプチドなどの細胞結合剤であり、 $n$ は0又は1である。 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は、H、メチル、エチル及びフェニル(このフェニルは、特に4位においてフルオロで置換されていてもよい)並びに $C_5$ - $C_6$ ヘテロシクリルから独立して選択され、 $n$ は0又は1である。 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は同じであるか、又は異なっていてよい。

40

## 【0513】

上記実施形態の一部において、 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は、H、フェニル及び4-フルオロフェニルから独立して選択することができる。

## 【0514】

好ましい中間体

本発明は、本明細書に記載されているコンジュゲート化合物の調製における使用のための中間体も提供する。

## 【0515】

好ましい中間体は下に記載されており、上に記載されている好ましいコンジュゲートに

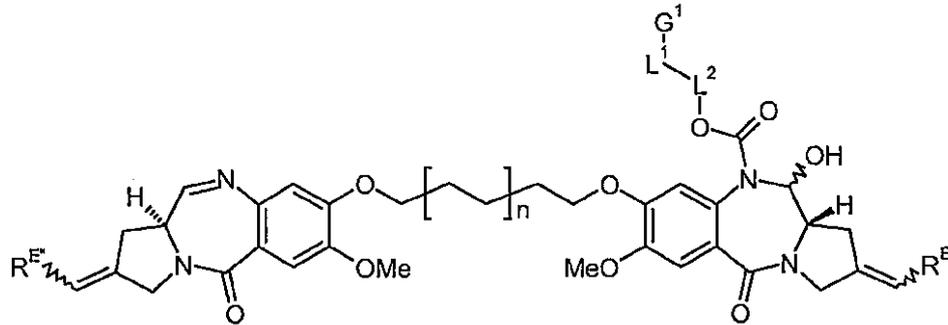
50

密接に対応する。

【0516】

一実施形態において、中間体は以下の化合物であり、

【化98】



10

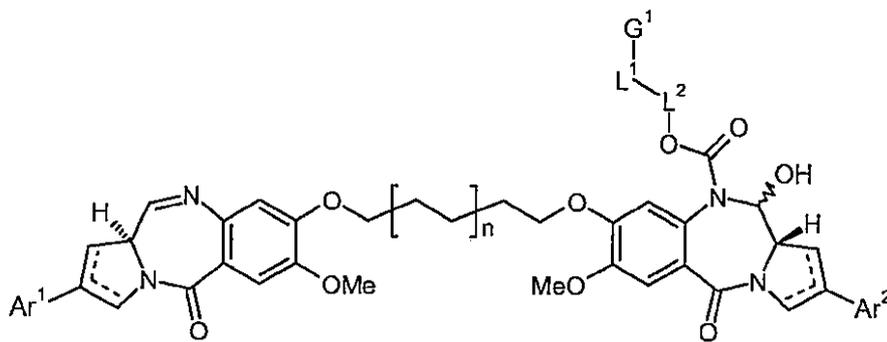
【0517】

式中、 $n$ は0又は1であり、 $G^1$ 、 $L^1$ 及び $L^2$ はすでに定義されている通りであり、 $R^E$ 及び $R^{E'}$ は、H又は $R^D$ からそれぞれ独立して選択される。

【0518】

一実施形態において、中間体は以下の化合物であり、

【化99】



20

【0519】

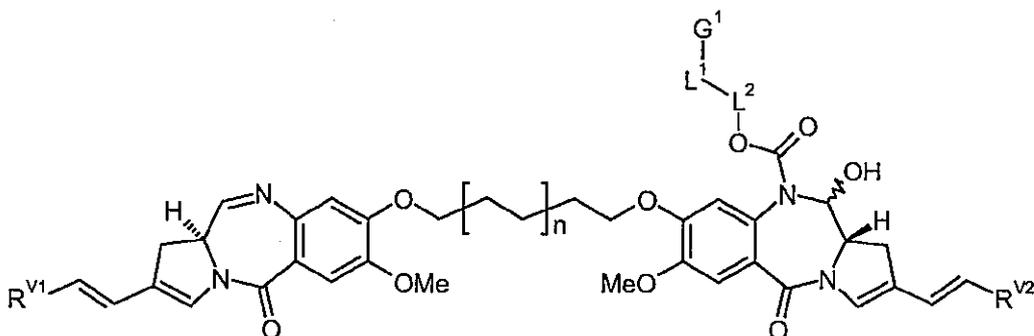
式中、 $G^1$ 、 $L^1$ 及び $L^2$ はすでに定義されている通りであり、 $Ar^1$ 及び $Ar^2$ は、それぞれ独立して置換されていてもよい $C_5-20$ アリールであり、 $n$ は0又は1である。 $Ar^1$ 及び $Ar^2$ は同じであるか、又は異なっていてよい。

30

【0520】

一実施形態において、中間体は以下の化合物であり、

【化100】



40

【0521】

式中、 $G^1$ 、 $L^1$ 及び $L^2$ はすでに定義されている通りであり、 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は、H、メチル、エチル及びフェニル(このフェニルは、特に4位においてフルオロで置換されていてもよい)並びに $C_5-6$ ヘテロシクリルから独立して選択され、 $n$ は0又は1である。 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は

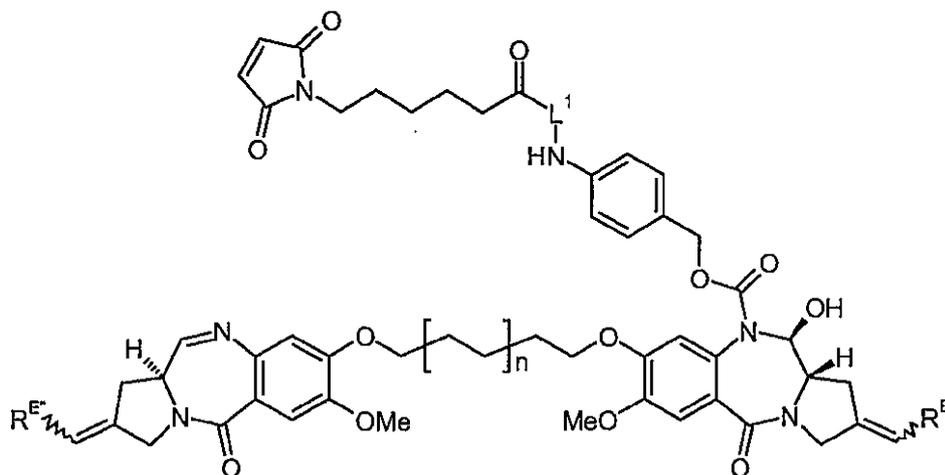
50

同じであるか、又は異なっていてよい。

【0522】

一実施形態において、中間体は以下の化合物であり、

【化101】



10

【0523】

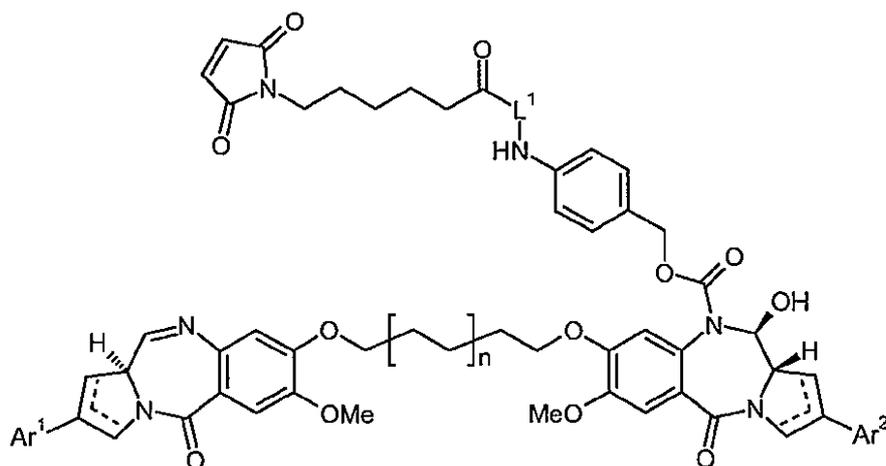
式中、 $n$ は0又は1であり、 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $R^E$ 及び $R^{E'}$ は、 $H$ 又は $R^D$ からそれぞれ独立して選択される。

20

【0524】

一実施形態において、中間体は以下の化合物であり、

【化102】



30

【0525】

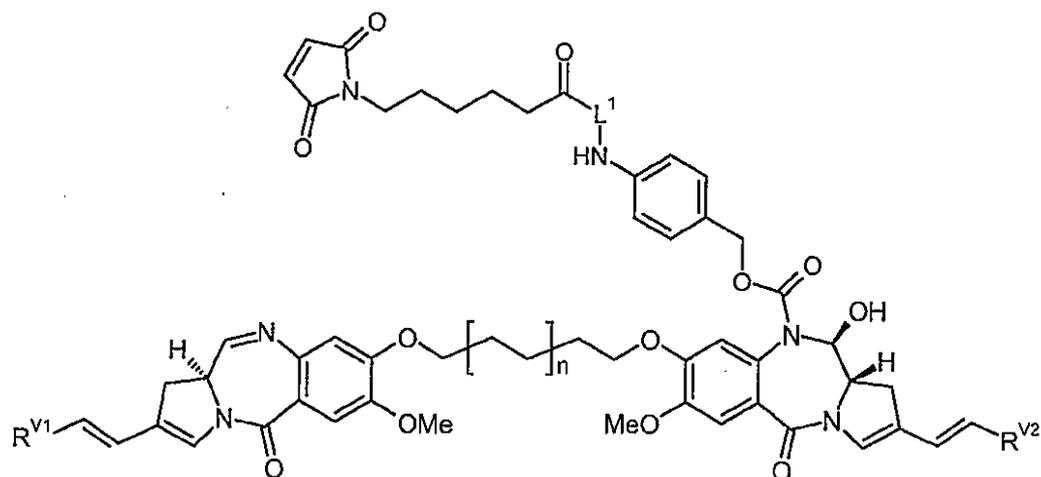
式中、 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $Ar^1$ 及び $Ar^2$ は、それぞれ独立して置換されていてもよい $C_5 - 20$ アリールであり、 $n$ は0又は1である。

【0526】

一実施形態において、中間体は以下の化合物であり、

40

【化103】



10

【0527】

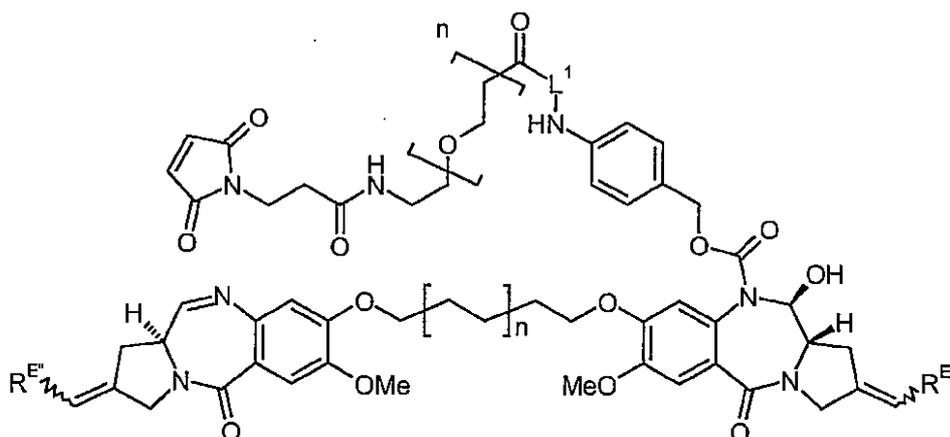
式中、 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は、H、メチル、エチル及びフェニル(このフェニルは、特に4位においてフルオロで置換されていてもよい)並びにC<sub>5-6</sub>ヘテロシクリルから独立して選択され、 $n$ は0又は1である。 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は同じであるか、又は異なっていてよい。

【0528】

一実施形態において、中間体は以下の化合物であり、

20

【化104】



30

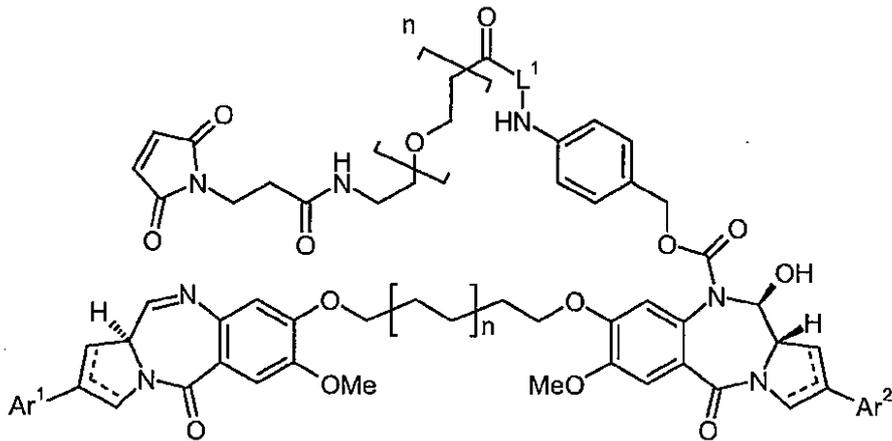
【0529】

式中、 $n$ は0又は1であり、 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $R^E$ 及び $R^{E'}$ は、H又は $R^D$ からそれぞれ独立して選択される。

【0530】

一実施形態において、中間体は以下の化合物であり、

## 【化105】



10

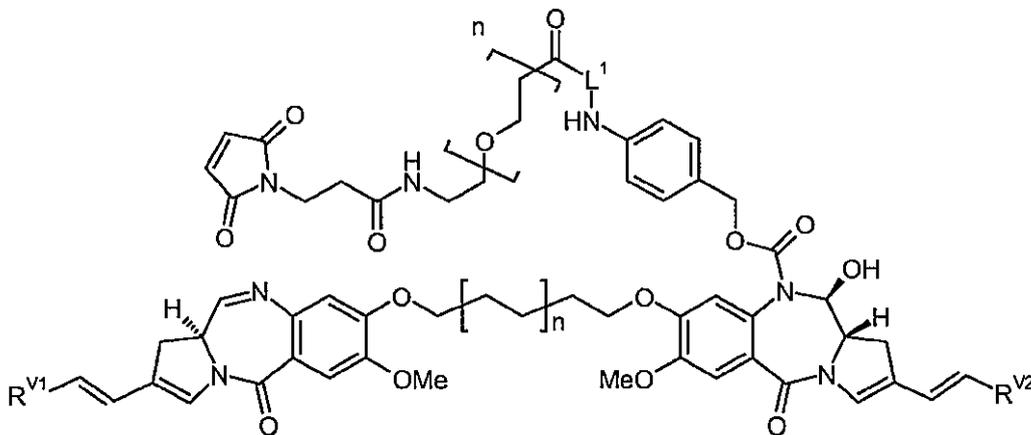
## 【0531】

式中、 $n$ は0又は1であり、 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $Ar^1$ 及び $Ar^2$ は、それぞれ独立して置換されていてもよい $C_{5-20}$ アリールであり、 $n$ は0又は1である。

## 【0532】

一実施形態において、中間体は以下の化合物であり、

## 【化106】



20

30

## 【0533】

式中、 $L^1$ はすでに定義されている通りであり、 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は、H、メチル、エチル及びフェニル(このフェニルは、特に4位においてフルオロで置換されていてもよい)並びに $C_{5-6}$ ヘテロシクリルから独立して選択され、 $n$ は0又は1である。 $R^{V1}$ 及び $R^{V2}$ は同じであるか、又は異なってもよい。

## 【0534】

置換基

「置換されていてもよい」という成句は、本明細書で使用される場合、非置換であってよいか又は置換されていてもよい親基に関する。

40

## 【0535】

別段の指定がない限り、「置換されている」という用語は、本明細書で使用される場合、1個又は複数の置換基を保有する親基に関する。「置換基」という用語は、本明細書において従来の意味で使用され、共有結合されているか又は適切な場合には親基に縮合されている化学成分を指す。多種多様な置換基がよく知られており、それらの形成及び様々な親基への導入のための方法もよく知られている。

## 【0536】

好ましい実施形態において、本明細書に記載されている置換基(これには任意の置換基が含まれる)は、細胞結合剤に反応性でない基に限定される。本事例における細胞結合剤への連結は、PBD化合物のN10位からリンカー基(例えば、 $L^1$ 、 $L^2$ 及びAを含む)を介して細

50

胞結合剤に形成される。PBD構造の他の部分に位置される反応性官能基は、細胞結合剤への追加の結合(これは架橋と称することができる)を形成する能力があり得る。これらの追加の結合は、コンジュゲートの輸送及び生物活性を変更することができる。したがって、一部の実施形態において、追加の置換基は、反応性官能性を欠くものに限定される。

【0537】

一実施形態において、置換基は、R、OR、SR、NRR'、NO<sub>2</sub>、ハロ、CO<sub>2</sub>R、COR、CONH<sub>2</sub>、CONHR及びCONRR'からなる群から選択される。

【0538】

一実施形態において、置換基は、R、OR、SR、NRR'、NO<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub>R、COR、CONH<sub>2</sub>、CONHR及びCONRR'からなる群から選択される。

10

【0539】

一実施形態において、置換基は、R、OR、SR、NRR'、NO<sub>2</sub>及びハロからなる群から選択される。

【0540】

一実施形態において、置換基は、R、OR、SR、NRR'及びNO<sub>2</sub>からなる群から選択される。

【0541】

上述されている実施形態の任意の一つは、本明細書に記載されている置換基の任意の一つに適用することができる。別法として、置換基は、下記に列挙されている基の一つ又は複数から選択することができる。

【0542】

置換基の例は、より詳細に下に記載されている。

20

【0543】

C<sub>1-12</sub>アルキル:「C<sub>1-12</sub>アルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、脂肪族又は脂環式であってよく、飽和又は不飽和であってよい(例えば部分的な不飽和、完全不飽和)1個から12個の炭素原子を有する炭化水素化合物の炭素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の部分に関する。したがって、「アルキル」という用語には、下記で考察されている下位部類のアルケニル、アルキニル、シクロアルキルなどが含まれる。

【0544】

飽和アルキル基の例には、これらに限定されないが、メチル(C<sub>1</sub>)、エチル(C<sub>2</sub>)、プロピル(C<sub>3</sub>)、ブチル(C<sub>4</sub>)、ペンチル(C<sub>5</sub>)、ヘキシル(C<sub>6</sub>)及びヘプチル(C<sub>7</sub>)が含まれる。

30

【0545】

飽和直鎖アルキル基の例には、これらに限定されないが、メチル(C<sub>1</sub>)、エチル(C<sub>2</sub>)、n-プロピル(C<sub>3</sub>)、n-ブチル(C<sub>4</sub>)、n-ペンチル(アミル)(C<sub>5</sub>)、n-ヘキシル(C<sub>6</sub>)及びn-ヘプチル(C<sub>7</sub>)が含まれる。

【0546】

飽和分枝アルキル基の例には、イソ-プロピル(C<sub>3</sub>)、イソ-ブチル(C<sub>4</sub>)、sec-ブチル(C<sub>4</sub>)、tert-ブチル(C<sub>4</sub>)、イソ-ペンチル(C<sub>5</sub>)、及びネオ-ペンチル(C<sub>5</sub>)が含まれる。

【0547】

アルキル基は、O、N(H)及びSから選択される1個又は複数のヘテロ原子によって、中断されていてもよい。こうした基は、「ヘテロアルキル」と称することができる。

40

【0548】

C<sub>2-20</sub>ヘテロアルキル:「C<sub>2-12</sub>ヘテロアルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、2個から12個の炭素原子、及びO、N(H)及びS、好ましくはO及びSから選択される1個又は複数のヘテロ原子を有する炭化水素化合物の炭素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の部分に関する。

【0549】

ヘテロアルキル基の例には、これらに限定されないが、-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)-型の一種又は複数のエチレングリコール単位を含むものが含まれる。ヘテロアルキル基の末端は、ヘテロ原子の主要形態、例えば-OH、-SH又は-NH<sub>2</sub>であってよい。好ましい実施形態において、末端

50

は-CH<sub>3</sub>である。

【0550】

C<sub>2</sub>-<sub>12</sub>アルケニル:「C<sub>2</sub>-<sub>12</sub>アルケニル」という用語は、本明細書で使用される場合、1個又は複数の炭素-炭素二重結合を有するアルキル基に関する。

【0551】

不飽和アルケニル基の例には、これらに限定されないが、エテニル(ビニル、-CH=CH<sub>2</sub>)、1-プロペニル(-CH=CH-CH<sub>3</sub>)、2-プロペニル(アリル、-CH=CH-CH<sub>2</sub>)、イソプロペニル(1-メチルビニル、-C(CH<sub>3</sub>)=CH<sub>2</sub>)、ブテニル(C<sub>4</sub>)、ペンテニル(C<sub>5</sub>)及びヘキセニル(C<sub>6</sub>)が含まれる。

【0552】

C<sub>2</sub>-<sub>12</sub>アルキニル:「C<sub>2</sub>-<sub>12</sub>アルキニル」という用語は、本明細書で使用される場合、1個又は複数の炭素-炭素三重結合を有するアルキル基に関する。

【0553】

不飽和アルキニル基の例には、これらに限定されないが、エチニル(-C≡CH)及び2-プロピニル(プロパルギル、-CH<sub>2</sub>-C≡CH)が含まれる。

【0554】

C<sub>3</sub>-<sub>12</sub>シクロアルキル:「C<sub>3</sub>-<sub>12</sub>シクロアルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、シクリル基でもあるアルキル基に関し、それは、環式炭化水素(炭素環)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の部分であり、この部分は、3個から7個の環原子を含めて、3個から7個の炭素原子を有する。

【0555】

シクロアルキル基の例には、これらに限定されないが、

飽和単環式炭化水素化合物:

シクロプロパン(C<sub>3</sub>)、シクロブタン(C<sub>4</sub>)、シクロペンタン(C<sub>5</sub>)、シクロヘキサン(C<sub>6</sub>)、シクロヘプタン(C<sub>7</sub>)、メチルシクロプロパン(C<sub>4</sub>)、ジメチルシクロプロパン(C<sub>5</sub>)、メチルシクロブタン(C<sub>5</sub>)、ジメチルシクロブタン(C<sub>6</sub>)、メチルシクロペンタン(C<sub>6</sub>)、ジメチルシクロペンタン(C<sub>7</sub>)及びメチルシクロヘキサン(C<sub>7</sub>)、

不飽和単環式炭化水素化合物:

シクロプロペン(C<sub>3</sub>)、シクロブテン(C<sub>4</sub>)、シクロペンテン(C<sub>5</sub>)、シクロヘキセン(C<sub>6</sub>)、メチルシクロプロペン(C<sub>4</sub>)、ジメチルシクロプロペン(C<sub>5</sub>)、メチルシクロブテン(C<sub>5</sub>)、ジメチルシクロブテン(C<sub>6</sub>)、メチルシクロペンテン(C<sub>6</sub>)、ジメチルシクロペンテン(C<sub>7</sub>)及びメチルシクロヘキセン(C<sub>7</sub>)、並びに

飽和多環式炭化水素化合物:

ノルカラン(C<sub>7</sub>)、ノルピナン(C<sub>7</sub>)、ノルボルナン(C<sub>7</sub>)から誘導されるものが含まれる。

【0556】

C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル:「C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル」という用語は、本明細書で使用される場合、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の部分に関し、この部分は、1個から10個が環ヘテロ原子である3個から20個の環原子を有する。好ましくは、各環は、1個から4個が環ヘテロ原子である3個から7個の環原子を有する。

【0557】

この文脈において、接頭辞(例えばC<sub>3</sub>-<sub>20</sub>、C<sub>3</sub>-<sub>7</sub>、C<sub>5</sub>-<sub>6</sub>など)は、炭素原子又はヘテロ原子のいずれであっても、環原子の数又は環原子の数の範囲を表す。例えば、「C<sub>5</sub>-<sub>6</sub>ヘテロシクリル」という用語は、本明細書で使用される場合、5個又は6個の環原子を有するヘテロシクリル基に関する。

【0558】

単環式ヘテロシクリル基の例には、これらに限定されないが、

N<sub>1</sub>:アジリジン(C<sub>3</sub>)、アゼチジン(C<sub>4</sub>)、ピロリジン(テトラヒドロピロール)(C<sub>5</sub>)、ピロリン(例えば、3-ピロリン、2,5-ジヒドロピロール)(C<sub>5</sub>)、2H-ピロール又は3H-ピロール(イソピロール、イソアゾール)(C<sub>5</sub>)、ピペリジン(C<sub>6</sub>)、ジヒドロピリジン(C<sub>6</sub>)、テトラヒド

10

20

30

40

50

ロピリジン(C<sub>6</sub>)、アゼピン(C<sub>7</sub>)、

O<sub>1</sub>: オキシラン(C<sub>3</sub>)、オキセタン(C<sub>4</sub>)、オキソラン(テトラヒドロフラン) (C<sub>5</sub>)、オキソール(ジヒドロフラン) (C<sub>5</sub>)、オキサン(テトラヒドロピラン) (C<sub>6</sub>)、ジヒドロピラン(C<sub>6</sub>)、ピラン(C<sub>6</sub>)、オキセピン(C<sub>7</sub>)、

S<sub>1</sub>: チイラン(C<sub>3</sub>)、チエタン(C<sub>4</sub>)、チオラン(テトラヒドロチオフェン) (C<sub>5</sub>)、チアン(テトラヒドロチオピラン) (C<sub>6</sub>)、チエパン(C<sub>7</sub>)、

O<sub>2</sub>: ジオキソラン(C<sub>5</sub>)、ジオキサン(C<sub>6</sub>)、及びジオキセパン(C<sub>7</sub>)、

O<sub>3</sub>: トリオキサン(C<sub>6</sub>)、

N<sub>2</sub>: イミダゾリジン(C<sub>5</sub>)、ピラゾリジン(ジアゾリジン) (C<sub>5</sub>)、イミダゾリン(C<sub>5</sub>)、ピラゾリン(ジヒドロピラゾール) (C<sub>5</sub>)、ピペラジン(C<sub>6</sub>)、

N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>: テトラヒドロオキサゾール(C<sub>5</sub>)、ジヒドロオキサゾール(C<sub>5</sub>)、テトラヒドロイソキサゾール(C<sub>5</sub>)、ジヒドロイソキサゾール(C<sub>5</sub>)、モルホリン(C<sub>6</sub>)、テトラヒドロオキサジン(C<sub>6</sub>)、ジヒドロオキサジン(C<sub>6</sub>)、オキサジン(C<sub>6</sub>)、

N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>: チアゾリン(C<sub>5</sub>)、チアゾリジン(C<sub>5</sub>)、チオモルホリン(C<sub>6</sub>)、

N<sub>2</sub>O<sub>1</sub>: オキサジアジン(C<sub>6</sub>)、

O<sub>1</sub>S<sub>1</sub>: オキサチオール(C<sub>5</sub>)及びオキサチアン(チオキサン) (C<sub>6</sub>)、及び、

N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>S<sub>1</sub>: オキサチアジン(C<sub>6</sub>)

から誘導されるものが含まれる。

#### 【0559】

置換単環式ヘテロシクリル基の例には、環状形態における糖類、例えば、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ノースなどのフラノース(C<sub>5</sub>)、並びにアロピラノース、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などのピラノース(C<sub>6</sub>)から誘導されるものが含まれる。

#### 【0560】

C<sub>5-20</sub>アリール: 「C<sub>5-20</sub>アリール」という用語は、本明細書で使用される場合、芳香族化合物の芳香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の部分に関し、この部分は3個から20個の環原子を有する。好ましくは、各環は5個から7個の環原子を有する。

#### 【0561】

この文脈において、接頭辞(例えばC<sub>3-20</sub>、C<sub>5-7</sub>、C<sub>5-6</sub>など)は、炭素原子又はヘテロ原子のいずれであっても、環原子の数又は環原子の数の範囲を表す。例えば、「C<sub>5-6</sub>アリール」という用語は、本明細書で使用される場合、5個又は6個の環原子を有するアリール基に関する。

#### 【0562】

環原子は、「カルボアリール基」におけるように、全て炭素原子であってよい。

#### 【0563】

カルボアリール基の例には、これらに限定されないが、ベンゼン(即ちフェニル) (C<sub>6</sub>)、ナフタレン(C<sub>10</sub>)、アズレン(C<sub>10</sub>)、アントラセン(C<sub>14</sub>)、フェナントレン(C<sub>14</sub>)、ナフタセン(C<sub>18</sub>)及びピレン(C<sub>16</sub>)から誘導されるものが含まれる。

#### 【0564】

少なくとも1個が芳香環である縮合環を含むアリール基の例には、これらに限定されないが、インダン(例えば2,3-ジヒドロ-1H-インデン) (C<sub>9</sub>)、インデン(C<sub>9</sub>)、イソインデン(C<sub>9</sub>)、テトラリン(1,2,3,4-テトラヒドロナフタレン(C<sub>10</sub>))、アセナフテン(C<sub>12</sub>)、フルオレン(C<sub>13</sub>)、フェナレン(C<sub>13</sub>)、アセフェナントレン(C<sub>15</sub>)、及びアセアントレン(C<sub>16</sub>)から誘導される基が含まれる。

#### 【0565】

別法として、環原子には、「ヘテロアリール基」におけるように、1個又は複数のヘテロ原子が含まれる。単環式ヘテロアリール基の例には、これらに限定されないが、

N<sub>1</sub>: ピロール(アゾール) (C<sub>5</sub>)、ピリジン(アジン) (C<sub>6</sub>)、

10

20

30

40

50

$O_1$ : フラン(オキサール) ( $C_5$ )、  
 $S_1$ : チオフエン(チオール) ( $C_5$ )、  
 $N_1O_1$ : オキサゾール( $C_5$ )、イソオキサゾール( $C_5$ )、イソキサジン( $C_6$ )、  
 $N_2O_1$ : オキサジアゾール(フラザン) ( $C_5$ )、  
 $N_3O_1$ : オキサトリアゾール( $C_5$ )、  
 $N_1S_1$ : チアゾール( $C_5$ )、イソチアゾール( $C_5$ )、  
 $N_2$ : イミダゾール(1,3-ジアゾール) ( $C_5$ )、ピラゾール(1,2-ジアゾール) ( $C_5$ )、ピリダジン(1,2-ジアジン) ( $C_6$ )、ピリミジン(1,3-ジアジン) ( $C_6$ ) (例えば、シトシン、チミン、ウラシル)、ピラジン(1,4-ジアジン) ( $C_6$ )、  
 $N_3$ : トリアゾール( $C_5$ )、トリアジン( $C_6$ )、及び  
 $N_4$ : テトラゾール( $C_5$ )  
 から誘導されるものが含まれる。

10

## 【0566】

縮合環を含むヘテロアリアル例には、これらに限定されないが、  
 ベンゾフラン( $O_1$ )、イソベンゾフラン( $O_1$ )、インドール( $N_1$ )、イソインドール( $N_1$ )、イン  
 ドリジン( $N_1$ )、インドリン( $N_1$ )、イソインドリン( $N_1$ )、プリン( $N_4$ ) (例えば、アデニン、  
 グアニン)、ベンズイミダゾール( $N_2$ )、インダゾール( $N_2$ )、ベンゾオキサゾール( $N_1O_1$ )、  
 ベンゾイソオキサゾール( $N_1O_1$ )、ベンゾジオキサール( $O_2$ )、ベンゾフラザン( $N_2O_1$ )、ベン  
 ゴトリアゾール( $N_3$ )、ベンゾチオフラン( $S_1$ )、ベンゾチアゾール( $N_1S_1$ )、ベンゾチアジ  
 ザール( $N_2S$ )から誘導される $C_9$  (2個の縮合環を有する);

20

クロメン( $O_1$ )、イソクロメン( $O_1$ )、クロマン( $O_1$ )、イソクロマン( $O_1$ )、ベンゾジオキサ  
 ン( $O_2$ )、キノリン( $N_1$ )、イソキノリン( $N_1$ )、キノリジン( $N_1$ )、ベンズオキサジン( $N_1O_1$ )、ベ  
 ンゾジアジン( $N_2$ )、ピリドピリジン( $N_2$ )、キノキサリン( $N_2$ )、キナゾリン( $N_2$ )、シンノリ  
 ン( $N_2$ )、フタラジン( $N_2$ )、ナフチリジン( $N_2$ )、プテリジン( $N_4$ )から誘導される $C_{10}$  (2個の  
 縮合環を有する);

ベンゾジアゼピン( $N_2$ )から誘導される $C_{11}$  (2個の縮合環を有する);

カルバゾール( $N_1$ )、ジベンゾフラン( $O_1$ )、ジベンゾチオフエン( $S_1$ )、カルボリン( $N_2$ )、ペ  
 リミジン( $N_2$ )、ピリドインドール( $N_2$ )から誘導される $C_{13}$  (3個の縮合環を有する);及び  
 アクリジン( $N_1$ )、キサンテン( $O_1$ )、チオキサンテン( $S_1$ )、オキサントレン( $O_2$ )、フェノキ  
 サチン( $O_1S_1$ )、フェナジン( $N_2$ )、フェノキサジン( $N_1O_1$ )、フェノチアジン( $N_1S_1$ )、チア  
 ントレン( $S_2$ )、フェナントリジン( $N_1$ )、フェナントロリン( $N_2$ )、フェナジン( $N_2$ )から誘導  
 される $C_{14}$  (3個の縮合環を有する)

30

が含まれる。

## 【0567】

上記の基は、単独又は別の置換基の一部のいずれであっても、それら自体及び下記に列  
 挙されている追加の置換基から選択される1個又は複数の基でそれら自体が置換されてい  
 てもよい。

## 【0568】

八口: F、-Cl、-Br及び-I。

## 【0569】

ヒドロキシ: OH。

40

## 【0570】

エーテル: OR、式中、Rはエーテル置換基、例えば、 $C_1 \sim 7$ アルキル基(下記で考察され  
 ている、 $C_1 \sim 7$ アルコキシ基とも称される)、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基( $C_3 \sim 20$ ヘテロシク  
 リルオキシ基とも称される)、又は $C_5 \sim 20$ アリール基( $C_5 \sim 20$ アリールオキシ基とも称され  
 る)、好ましくは $C_1 \sim 7$ アルキル基である。

## 【0571】

アルコキシ: OR、式中、Rはアルキル基、例えば、 $C_1 \sim 7$ アルキル基である。 $C_1 \sim 7$ アル  
 コキシ基の例には、これらに限定されないが、-OMe (メトキシ)、-OEt (エトキシ)、-O(n  
 Pr) (n-プロポキシ)、-O(iPr) (イソプロポキシ)、-O(nBu) (n-ブトキシ)、-O(sBu) (sec

50

-ブトキシ)、-O(iBu) (イソブトキシ)及び-O(tBu) (tert-ブトキシ)が含まれる。

【0572】

アセタール: CH(OR<sup>1</sup>)(OR<sup>2</sup>)、式中、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は独立して、アセタール置換基、例えば、C<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル基若しくはC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルキル基であるか、又は「環式」アセタール基の場合、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、それらが結合している二つ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あって、4個から8個の環原子を有する複素環を形成する。アセタール基の例には、これらに限定されないが、-CH(OMe)<sub>2</sub>、-CH(OEt)<sub>2</sub>及び-CH(OMe)(OEt)が含まれる。

【0573】

ヘミアセタール: CH(OH)(OR<sup>1</sup>)、式中、R<sup>1</sup>はヘミアセタール置換基、例えば、C<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルキル基である。ヘミアセタール基の例には、これらに限定されないが、-CH(OH)(OMe)及び-CH(OH)(OEt)が含まれる。

10

【0574】

ケタール: CR(OR<sup>1</sup>)(OR<sup>2</sup>)、ここで、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、アセタールに関して定義されている通りであり、Rは、水素以外のケタール置換基、例えば、C<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルキル基である。ケタール基の例には、これらに限定されないが、-C(Me)(OMe)<sub>2</sub>、-C(Me)(OEt)<sub>2</sub>、-C(Me)(OMe)(OEt)、-C(Et)(OMe)<sub>2</sub>、-C(Et)(OEt)<sub>2</sub>及び-C(Et)(OMe)(OEt)が含まれる。

20

【0575】

ヘミケタール: CR(OH)(OR<sup>1</sup>)、ここで、R<sup>1</sup>は、ヘミアセタールに関して定義されている通りであり、Rは、水素以外のヘミケタール置換基、例えば、C<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルキル基である。ヘミアセタール基の例には、これらに限定されないが、-C(Me)(OH)(OMe)、-C(Et)(OH)(OMe)、-C(Me)(OH)(OEt)及び-C(Et)(OH)(OEt)が含まれる。

【0576】

オキソ(ケト、-オン): =O。

【0577】

チオン(チオケトン): =S。

【0578】

イミノ(イミン): =NR、式中、Rはイミノ置換基、例えば、水素、C<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルキル基、C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリール基、好ましくは水素又はC<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルキル基である。エステル基の例には、これらに限定されないが、=NH、=NMe、=NEt及び=NPhが含まれる。

30

【0579】

ホルミル(カルバルデヒド、カルボキサリデヒド): C(=O)H。

【0580】

アシル(ケト): C(=O)R、式中、Rはアシル置換基、例えば、C<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルキル基(C<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルキルアシル又はC<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルカノイルとも称される)、C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリル基(C<sub>3</sub>-<sub>20</sub>ヘテロシクリルアシルとも称される)又はC<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリール基(C<sub>5</sub>-<sub>20</sub>アリールアシルとも称される)、好ましくはC<sub>1</sub>-<sub>7</sub>アルキル基である。アシル基の例には、これらに限定されないが、-C(=O)CH<sub>3</sub> (アセチル)、-C(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> (プロピオニル)、-C(=O)C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> (t-ブチリル)及び-C(=O)PH(ベンゾイル、フェノン)が含まれる。

40

【0581】

カルボキシ(カルボン酸): C(=O)OH。

【0582】

チオカルボキシ(チオカルボン酸): C(=S)SH。

【0583】

チオロカルボキシ(チオロカルボン酸): C(=O)SH。

【0584】

50

チオノカルボキシ(チオノカルボン酸):  $C(=S)OH$ 。

【0585】

イミド酸:  $C(=NH)OH$ 。

【0586】

ヒドロキサム酸:  $C(=NOH)OH$ 。

【0587】

エステル(カルボキシレート、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、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $C_1 \sim 7$ アルキル基である。エステル基の例には、これらに限定されないが、 $-C(=O)OCH_3$ 、 $-C(=O)OCH_2CH_3$ 、 $-C(=O)OC(CH_3)_3$ 及び $-C(=O)OPh$ が含まれる。

10

【0588】

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、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $C_1 \sim 7$ アルキル基である。アシルオキシ基の例には、これらに限定されないが、 $-OC(=O)CH_3$  (アセトキシ)、 $-OC(=O)CH_2CH_3$ 、 $-OC(=O)C(CH_3)_3$ 、 $-OC(=O)Ph$ 及び $-OC(=O)CH_2Ph$ が含まれる。

【0589】

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、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $C_1 \sim 7$ アルキル基である。エステル基の例には、これらに限定されないが、 $-OC(=O)OCH_3$ 、 $-OC(=O)OCH_2CH_3$ 、 $-OC(=O)OC(CH_3)_3$ 及び $-OC(=O)OPh$ が含まれる。

20

【0590】

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、 $C_1 \sim 7$ アルキル基( $C_1 \sim 7$ アルキルアミノ又はジ- $C_1 \sim 7$ アルキルアミノとも称される)、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基若しくは $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくはH又は $C_1 \sim 7$ アルキル基であるか、又は「環式」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、4個から8個の環原子を有する複素環を形成する。アミノ基は一級( $-NH_2$ )、二級( $-NHR^1$ )又は三級( $-NHR^1R^2$ )であってよく、カチオン形態において四級( $-^+NR^1R^2R^3$ )であってよい。アミノ基の例には、これらに限定されないが、 $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-NHC(CH_3)_2$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-N(CH_2CH_3)_2$ 及び $-NHPh$ が含まれる。環式アミノ基の例には、これらに限定されないが、アジリジノ、アゼチジノ、ピロリジノ、ピペリジノ、ピペラジノ、モルホリノ及びチオモルホリノが含まれる。

30

【0591】

アミド(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):  $-C(=O)NR^1R^2$ 、式中、 $R^1$ 及び $R^2$ は独立して、アミノ基に関して定義されている通りのアミノ置換基である。アミド基の例には、これらに限定されないが、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)NHCH_3$ 、 $-C(=O)N(CH_3)_2$ 、 $-C(=O)NHCH_2CH_3$ 及び $-C(=O)N(CH_2CH_3)_2$ 、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、例えばピ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におけるようなヘテロ環構造を形成するアミド基が含まれる。

【0592】

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、アミノ基に関して定義されている通りのアミノ置換基である。アミド基の例には、これらに限定されないが、 $-C(=S)NH_2$ 、 $-C(=S)NHCH_3$ 、 $-C(=S)N(CH_3)_2$ 及び $-C(=S)NHCH_2CH_3$ が含まれる。

40

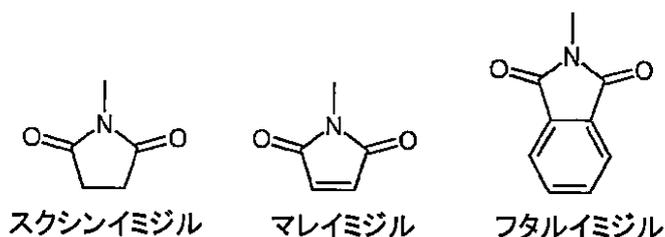
【0593】

アシルアミド(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、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは水素又は $C_1 \sim 7$ アルキル基であり、 $R^2$ はアシル置換基、例えば、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは水素又は $C_1 \sim 7$ アルキル基である。アシルアミド基の例には、これらに限定されないが、 $-NHC(=O)CH_3$ 、 $-NHC(=O)CH_2CH_3$ 及び $-NHC(=O)Ph$ が含まれる。 $R^1$ 及び $R^2$ は一緒に、例えば、スクシンイミジル、マレイミジル及びフタル

50

イミジルにおけるような環構造を形成することができる。

【化107】



【0594】

10

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、アミノ基に関して定義されている通りのアミノ置換基である。アミノカルボニルオキシ基の例には、これらに限定されないが、 $-OC(=O)NH_2$ 、 $-OC(=O)NHMe$ 、 $-OC(=O)NMe_2$ 及び $-OC(=O)NEt_2$ が含まれる。

【0595】

ウレイド:  $N(R^1)CONR^2R^3$ 、式中、 $R^2$ 及び $R^3$ は独立して、アミノ基に関して定義されている通りの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。ウレイド基の例には、これらに限定されないが、 $-NHCONH_2$ 、 $-NHCONHMe$ 、 $-NHCONHEt$ 、 $-NHCONMe_2$ 、 $-NHCONEt_2$ 、 $-NMeCONH_2$ 、 $-NMeCONHMe$ 、 $-NMeCONHEt$ 、 $-NMeCONMe_2$ 及び $-NMeCONEt_2$ が含まれる。

20

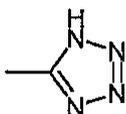
【0596】

グアニジノ:  $NH-C(=NH)NH_2$ 。

【0597】

テトラゾリル: 四個の窒素原子及び1個の炭素原子を有する五員芳香環。

【化108】



30

【0598】

イミノ:  $=NR$ 、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 $H$ 又は $C_1-7$ アルキル基である。イミノ基の例には、これらに限定されないが、 $=NH$ 、 $=NMe$ 及び $=NEt$ が含まれる。

【0599】

アミジン(アミジノ):  $-C(=NR)NR_2$ 、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 $H$ 又は $C_1-7$ アルキル基である。アミジン基の例には、これらに限定されないが、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(=NH)NMe_2$ 及び $-C(=NMe)NMe_2$ が含まれる。

40

【0600】

ニトロ:  $-NO_2$ 。

【0601】

ニトロソ:  $-NO$ 。

【0602】

アジド:  $-N_3$ 。

【0603】

シアノ(ニトリル、カルボニトリル):  $-CN$ 。

【0604】

イソシアノ:  $-NC$ 。

【0605】

50

シアナト:  $-\text{OCN}$ 。

【0606】

イソシアナート:  $-\text{NCO}$ 。

【0607】

チオシアノ(チオシアナト):  $-\text{SCN}$ 。

【0608】

イソチオシアノ(イソチオシアナト):  $-\text{NCS}$ 。

【0609】

スルフィドリル(チオール、メルカプト):  $-\text{SH}$ 。

【0610】

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、 $\text{C}_1 - 7$ アルキル基( $\text{C}_1 - 7$ アルキルチオ基とも称される)、 $\text{C}_3 - 20$ ヘテロシクリル基又は $\text{C}_5 - 20$ アリアル基、好ましくは $\text{C}_1 - 7$ アルキル基である。 $\text{C}_1 - 7$ アルキルチオ基の例には、これらに限定されないが、 $-\text{SCH}_3$ 及び $-\text{SCH}_2\text{CH}_3$ が含まれる。

10

【0611】

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、 $\text{C}_1 - 7$ アルキル基、 $\text{C}_3 - 20$ ヘテロシクリル基又は $\text{C}_5 - 20$ アリアル基、好ましくは $\text{C}_1 - 7$ アルキル基(本明細書において $\text{C}_1 - 7$ アルキルジスルフィドとも称される)である。 $\text{C}_1 - 7$ アルキルジスルフィド基の例には、これらに限定されないが、 $-\text{SSCH}_3$ 及び $-\text{SSCH}_2\text{CH}_3$ が含まれる。

【0612】

スルフィン(スルフィニル、スルホキシド):  $\text{S}(=\text{O})\text{R}$ 、式中、Rはスルフィン置換基、例えば、 $\text{C}_1 - 7$ アルキル基、 $\text{C}_3 - 20$ ヘテロシクリル基又は $\text{C}_5 - 20$ アリアル基、好ましくは $\text{C}_1 - 7$ アルキル基である。スルフィン基の例には、これらに限定されないが、 $-\text{S}(=\text{O})\text{CH}_3$ 及び $-\text{S}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$ が含まれる。

20

【0613】

スルホン(スルホニル):  $\text{S}(=\text{O})_2\text{R}$ 、式中、Rはスルホン置換基、例えば、 $\text{C}_1 - 7$ アルキル基、 $\text{C}_3 - 20$ ヘテロシクリル基又は $\text{C}_5 - 20$ アリアル基、好ましくは例えばフッ化又は過フッ素化 $\text{C}_1 - 7$ アルキル基を含めて $\text{C}_1 - 7$ アルキル基である。スルホン基の例には、これらに限定されないが、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{CH}_3$  (メタンスルホニル、メシル)、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{CF}_3$  (トリフリル)、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  (エシル)、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{C}_4\text{F}_9$  (ノナフリル)、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{CH}_2\text{CF}_3$  (トレシル)、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$  (タウリル)、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{Ph}$  (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)が含まれる。

30

【0614】

スルフィン酸(スルフィノ):  $\text{S}(=\text{O})\text{OH}$ 、 $-\text{SO}_2\text{H}$ 。

【0615】

スルホン酸(スルホ):  $\text{S}(=\text{O})_2\text{OH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 。

【0616】

スルフィネート(スルフィン酸エステル):  $\text{S}(=\text{O})\text{OR}$ 、式中、Rはスルフィネート置換基、例えば、 $\text{C}_1 - 7$ アルキル基、 $\text{C}_3 - 20$ ヘテロシクリル基又は $\text{C}_5 - 20$ アリアル基、好ましくは $\text{C}_1 - 7$ アルキル基である。スルフィネート基の例には、これらに限定されないが、 $-\text{S}(=\text{O})\text{OCH}_3$  (メトキシスルフィニル、スルフィン酸メチル)及び $-\text{S}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_3$  (エトキシスルフィニル、スルフィン酸エチル)が含まれる。

40

【0617】

スルホネート(スルホン酸エステル):  $\text{S}(=\text{O})_2\text{OR}$ 、式中、Rはスルホネート置換基、例えば、 $\text{C}_1 - 7$ アルキル基、 $\text{C}_3 - 20$ ヘテロシクリル基又は $\text{C}_5 - 20$ アリアル基、好ましくは $\text{C}_1 - 7$ アルキル基である。スルホネート基の例には、これらに限定されないが、 $-\text{S}(=\text{O})_2\text{OCH}_3$  (メトキシスルホニル、スルホン酸メチル)及び $-\text{S}(=\text{O})_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$  (エトキシスルホニル、スルホン酸エチル)が含まれる。

50

## 【0618】

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、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $C_1 \sim 7$ アルキル基である。スルフィニルオキシ基の例には、これらに限定されないが、 $-OS(=O)CH_3$ 及び $-S(=O)CH_2CH_3$ が含まれる。

## 【0619】

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、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $C_1 \sim 7$ アルキル基である。スルホニルオキシ基の例には、これらに限定されないが、 $-OS(=O)_2CH_3$  (メシレート)及び $-OS(=O)_2CH_2CH_3$  (エシレート)が含まれる。

10

## 【0620】

サルフェート:  $-OS(=O)_2OR$ 、式中、Rはサルフェート置換基、例えば、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $C_1 \sim 7$ アルキル基である。サルフェート基の例には、これらに限定されないが、 $-OS(=O)_2OCH_3$ 及び $-SO(=O)_2OCH_2CH_3$ が含まれる。

## 【0621】

スルファミル(スルファモイル、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、アミノ基に関して定義されている通りのアミノ置換基である。スルファミル基の例には、これらに限定されないが、 $-S(=O)NH_2$ 、 $-S(=O)NH(CH_3)$ 、 $-S(=O)N(CH_3)_2$ 、 $-S(=O)NH(CH_2CH_3)$ 、 $-S(=O)N(CH_2CH_3)_2$ 及び $-S(=O)NHPH$ が含まれる。

20

## 【0622】

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、アミノ基に関して定義されている通りのアミノ置換基である。スルホンアミド基の例には、これらに限定されないが、 $-S(=O)_2NH_2$ 、 $-S(=O)_2NH(CH_3)$ 、 $-S(=O)_2N(CH_3)_2$ 、 $-S(=O)_2NH(CH_2CH_3)$ 、 $-S(=O)_2N(CH_2CH_3)_2$ 及び $-S(=O)_2NHPH$ が含まれる。

## 【0623】

スルファミノ:  $-NR^1S(=O)_2OH$ 、式中、 $R^1$ は、アミノ基に関して定義されている通りのアミノ置換基である。スルファミノ基の例には、これらに限定されないが、 $-NHS(=O)_2OH$ 及び $-N(CH_3)S(=O)_2OH$ が含まれる。

30

## 【0624】

スルホンアミノ:  $-NR^1S(=O)_2R$ 、式中、 $R^1$ は、アミノ基に関して定義されている通りのアミノ置換基であり、Rはスルホンアミノ置換基、例えば、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $C_1 \sim 7$ アルキル基である。スルホンアミノ基の例には、これらに限定されないが、 $-NHS(=O)_2CH_3$ 及び $-N(CH_3)S(=O)_2C_6H_5$ が含まれる。

## 【0625】

スルフィンアミノ:  $-NR^1S(=O)R$ 、式中、 $R^1$ は、アミノ基に関して定義されている通りの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、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $C_1 \sim 7$ アルキル基である。スルフィンアミノ基の例には、これらに限定されないが、 $-NHS(=O)CH_3$ 及び $-N(CH_3)S(=O)C_6H_5$ が含まれる。

40

## 【0626】

ホスフィノ(ホスフィン):  $-PR_2$ 、式中、Rはホスフィノ置換基、例えば、 $-H$ 、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $-H$ 、 $C_1 \sim 7$ アルキル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基である。ホスフィノ基の例には、これらに限定されないが、 $-PH_2$ 、 $-P(CH_3)_2$ 、 $-P(CH_2CH_3)_2$ 、 $-P(t-Bu)_2$ 及び $-P(Ph)_2$ が含まれる。

## 【0627】

ホスホ:  $-P(=O)_2$ 。

## 【0628】

50

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、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $C_1 \sim 7$ アルキル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基である。ホスフィニル基の例には、これらに限定されないが、 $-P(=O)(CH_3)_2$ 、 $-P(=O)(CH_2CH_3)_2$ 、 $-P(=O)(t-Bu)_2$ 及び $-P(=O)(PH)_2$ が含まれる。

【0629】

ホスホン酸(ホスホノ):  $-P(=O)(OH)_2$ 。

【0630】

ホスホネート(ホスホノエステル):  $-P(=O)(OR)_2$ 、ここで、Rはホスホネート置換基、例えば、 $-H$ 、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $-H$ 、 $C_1 \sim 7$ アルキル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基である。ホスホネート基の例には、これらに限定されないが、 $-P(=O)(OCH_3)_2$ 、 $-P(=O)(OCH_2CH_3)_2$ 、 $-P(=O)(O-t-Bu)_2$ 及び $-P(=O)(OPh)_2$ が含まれる。

10

【0631】

リン酸(ホスホノオキシ):  $-OP(=O)(OH)_2$ 。

【0632】

ホスフェート(ホスホノオキシエステル):  $-OP(=O)(OR)_2$ 、ここで、Rはホスフェート置換基、例えば、 $-H$ 、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $-H$ 、 $C_1 \sim 7$ アルキル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基である。ホスフェート基の例には、これらに限定されないが、 $-OP(=O)(OCH_3)_2$ 、 $-OP(=O)(OCH_2CH_3)_2$ 、 $-OP(=O)(O-t-Bu)_2$ 及び $-OP(=O)(OPh)_2$ が含まれる。

20

【0633】

亜リン酸:  $-OP(OH)_2$ 。

【0634】

ホスファイト:  $-OP(OR)_2$ 、ここで、Rはホスファイト置換基、例えば、 $-H$ 、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $-H$ 、 $C_1 \sim 7$ アルキル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基である。ホスファイト基の例には、これらに限定されないが、 $-OP(OCH_3)_2$ 、 $-OP(OCH_2CH_3)_2$ 、 $-OP(O-t-Bu)_2$ 及び $-OP(OPh)_2$ が含まれる。

【0635】

ホスホラミダイト:  $-OP(OR^1)-NR^2_2$ 、ここで、 $R^1$ 及び $R^2$ はホスホラミダイト置換基、例えば、 $-H$ 、(置換されていてもよい) $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $-H$ 、 $C_1 \sim 7$ アルキル基、又は $C_5 \sim 20$ アリール基である。ホスホラミダイト基の例には、これらに限定されないが、 $-OP(OCH_2CH_3)-N(CH_3)_2$ 、 $-OP(OCH_2CH_3)-N(i-Pr)_2$ 及び $-OP(OCH_2CH_2CN)-N(i-Pr)_2$ が含まれる。

30

【0636】

ホスホルアミデート:  $-OP(=O)(OR^1)-NR^2_2$ 、ここで、 $R^1$ 及び $R^2$ はホスホルアミデート置換基、例えば、 $-H$ 、(置換されていてもよい) $C_1 \sim 7$ アルキル基、 $C_3 \sim 20$ ヘテロシクリル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基、好ましくは $-H$ 、 $C_1 \sim 7$ アルキル基又は $C_5 \sim 20$ アリール基である。ホスホルアミデート基の例には、これらに限定されないが、 $-OP(=O)(OCH_2CH_3)-N(CH_3)_2$ 、 $-OP(=O)(OCH_2CH_3)-N(i-Pr)_2$ 及び $-OP(=O)(OCH_2CH_2CN)-N(i-Pr)_2$ が含まれる。

40

【0637】

アルキレン

$C_3 \sim 12$ アルキレン: 「 $C_3 \sim 12$ アルキレン」という用語は、本明細書で使用される場合、脂肪族又は脂環式であってよく、飽和、部分不飽和又は完全不飽和であってよい3個から12個の炭素原子(別段の指定がない限り)を有する炭化水素化合物の二個の水素原子を、両方が同じ炭素原子から又は一方ずつが二個の異なる炭素原子のそれぞれから除去することによって得られる二座部分に関する。したがって、「アルキレン」という用語には、下記で考察されている下位部類のアルケニレン、アルキニレン、シクロアルキレンなどが含まれる。

【0638】

直鎖の飽和 $C_3 \sim 12$ アルキレン基の例には、これらに限定されないが、nが3から12の整数

50

である  $-(\text{CH}_2)_n-$ 、例えば、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$  (プロピレン)、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$  (ブチレン)、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$  (ペンチレン) 及び  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$  (ヘプチレン) が含まれる。

【0639】

分枝飽和  $\text{C}_3 \sim 12$  アルキレン基の例には、これらに限定されないが、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$  及び  $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$  が含まれる。

【0640】

直鎖の部分不飽和  $\text{C}_3 \sim 12$  アルキレン基 ( $\text{C}_3 \sim 12$  アルケニレン及びアルキニレン基) の例には、これらに限定されないが、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{C}_2\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$  及び  $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{C})-\text{CH}_2-$  が含まれる。

10

【0641】

分枝の部分不飽和  $\text{C}_3 \sim 12$  アルキレン基 ( $\text{C}_3 \sim 12$  アルケニレン及びアルキニレン基) の例には、これらに限定されないが、 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-$ 、 $-\text{C}(\text{CH}_3)=\text{CH}-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}(\text{CH}_3)-$  及び  $-\text{C}(\text{C})-\text{CH}(\text{CH}_3)-$  が含まれる。

【0642】

脂環式の飽和  $\text{C}_3 \sim 12$  アルキレン基 ( $\text{C}_3 \sim 12$  シクロアルキレン) の例には、これらに限定されないが、シクロペンチレン (例えばシクロペンタ-1,3-イルエン) 及びシクロヘキシレン (例えばシクロヘキサ-1,4-イルエン) が含まれる。

【0643】

脂環式の部分不飽和  $\text{C}_3 \sim 12$  アルキレン基 ( $\text{C}_3 \sim 12$  シクロアルキレン) の例には、これらに限定されないが、シクロペンテニレン (例えば4-シクロペンテン-1,3-イルエン)、シクロヘキセニレン (例えば2-シクロヘキセン-1,4-イルエン、3-シクロヘキセン-1,2-イルエン、2,5-シクロヘキサジエン-1,4-イルエン) が含まれる。

20

【0644】

他の形態が含まれる

別段の指定がない限り、上記に含まれるのは、これらの置換基のよく知られているイオン性形態、塩形態、溶媒和物形態及び保護形態である。例えば、カルボン酸 ( $-\text{COOH}$ ) への言及には、そのアニオン性 (カルボキシレート) 形態 ( $-\text{COO}^-$ )、塩又は溶媒和物、並びに従来の保護形態も含まれる。同様に、アミノ基への言及には、アミノ基のプロトン化形態 ( $-\text{N}^+\text{HR}^1\text{R}^2$ )、塩又は溶媒和物、例えば塩酸塩、並びにアミノ基の従来の保護形態が含まれる。同様に、ヒドロキシル基への言及には、そのアニオン性形態 ( $-\text{O}^-$ )、塩又は溶媒和物、並びに従来の保護形態も含まれる。

30

【0645】

塩

該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、精製及び/又は取り扱うことは好都合又は望ましくあり得る。薬学的に許容される塩の例は、Bergeら、J. Pharm. Sci., 66, 1~19 (1977) において考察されている。

【0646】

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 (例えば  $-\text{COOH}$  は  $-\text{COO}^-$  であり得る) 官能基を有するならば、適当なカチオンと塩を形成することができる。適当な無機カチオンの例には、これらに限定されないが、 $\text{Na}^+$  及び  $\text{K}^+$  などのアルカリ金属イオン、 $\text{Ca}^{2+}$  及び  $\text{Mg}^{2+}$  などのアルカリ土類カチオン、並びに  $\text{Al}^{3+}$  などの他のカチオンが含まれる。適当な有機カチオンの例には、これらに限定されないが、アンモニウムイオン (即ち  $\text{NH}_4^+$ ) 及び置換アンモニウムイオン (例えば  $\text{NH}_3\text{R}^+$ 、 $\text{NH}_2\text{R}_2^+$ 、 $\text{NHR}_3^+$ 、 $\text{NR}_4^+$ ) が含まれる。一部の適当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、並びにリシン及びアルギニンなどのアミノ酸から誘導されるものである。通常第4級アンモニウムイオンの一例は  $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$  である。

40

50

## 【0647】

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(例えば-NH<sub>2</sub>は-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>であり得る)官能基を有するならば、適当なアニオンと塩を形成することができる。適当な無機アニオンの例には、これらに限定されないが、以下の有機酸: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誘導されるものが含まれる。

## 【0648】

適当な有機アニオンの例には、これらに限定されないが、以下の有機酸: 2-アセチオキシ(acetyoxy)安息香酸、酢酸、アスコルビン酸、アスパラギン酸、安息香酸、カンファースルホン酸、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、グルコヘプタン酸、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、粘液酸、オレイン酸、シュウ酸、パルミチン酸、パモン酸、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、ピルピン酸、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含まれる。適当なポリマー有機アニオンの例には、これらに限定されないが、以下のポリマー酸: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含まれる。

10

## 【0649】

溶媒和物

20

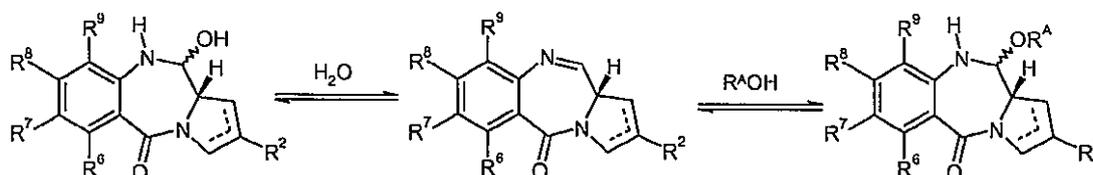
該活性化合物の対応する溶媒和物を調製、精製及び/又は取り扱うことは好都合又は望ましくあり得る。「溶媒和物」という用語は、本明細書において、溶質(例えば活性化合物、活性化合物の塩)及び溶媒の複合体を指す従来の意味で使用される。溶媒が水であるならば、溶媒和物は、好都合には水和物、例えば一水和物、二水和物、三水和物などと称することもできる。

## 【0650】

本発明には、溶媒がPBD部分のイミン結合を横切って加わる化合物が含まれ、これを下記に例示するが、ここで、溶媒は水又はアルコールである(R<sup>A</sup>がC<sub>1</sub>-<sub>4</sub>アルキルであるR<sup>A</sup>OH)。

30

## 【化109】



## 【0651】

これらの形態は、PBDのカルビノールアミン形態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(上記のR<sup>10</sup>に関連する項に記載されている通り)。これらの平衡のバランスは、化合物が見出される条件、並びに該部分自体の性質に依存する。

## 【0652】

40

これらの特別な化合物は、例えば凍結乾燥によって、固体形態に単離することができる。

## 【0653】

異性体

本発明の特定の化合物は、これらに限定されないが、以下「異性体」(又は「異性体形態」と称される、シス及びトランス形態、E及びZ形態、c、t及びr形態、エンド及びエキソ形態、R、S及びメソ形態、D及びL形態、d及びl形態、(+)及び(-)形態、ケト、エノール及びエノラート形態、syn及びanti形態、向斜及び背斜形態、及び形態、アキシアル及びエクアトリアル形態、舟、椅子、ねじれ、エンベロープ及び半椅子形態、並びにそれらの組合せを含めて、一種又は複数の特別な幾何形態、光学形態、エナンチオマー形態、

50

ジアステレオマー形態、エピマー形態、アトロプ(atropic)形態、立体異性体形態、互変異性体形態、立体配座形態又はアノマー形態で存在することができる。

【0654】

「キラル」という用語は、鏡像パートナーの重ねることができない特性を有する分子を指し、一方「アキラル」という用語は、鏡像パートナー上に重ねられる分子を指す。

【0655】

「立体異性体」という用語は、同一の化学構成を有するが、空間における原子又は基の配列に関して異なる化合物を指す。

【0656】

「ジアステレオマー」は、二つ以上のキラリティー中心を有し、この分子が互いの鏡像ではない立体異性体を指す。ジアステレオマーは、異なる物性、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、電気泳動法及びクロマトグラフィーなどの高分解能分析手順の下で分離することができる。

10

【0657】

「エナンチオマー」は、互いに重ねることができない鏡像化合物の二個の立体異性体を指す。

【0658】

本明細書において使用される立体化学的な定義及び慣例は、一般に、S. P. Parker、編集、McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; 並びに Eliel, E. 及び Wilen, S., 「Stereochemistry of Organic Compounds」、John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994 に従う。本発明の化合物は、不斉中心又はキラル中心を含有し、したがって異なる立体異性体形態で存在することができる。これらに限定されないが、ジアステレオマー、エナンチオマー及びアトロプ異性体、並びにラセミ混合物などのそれらの混合物を含めて、本発明の化合物の全ての立体異性体形態は、本発明の一部を形成することが意図されている。多くの有機化合物は光学活性形態で存在し、即ち、それらは平面偏光の平面を回転させる能力を有する。光学活性化合物を表す際、D 及び L、又は R 及び S という接頭辞は、そのキラル中心(単数又は複数)について分子の絶対配置を表すために使用される。d 及び l、又は (+) 及び (-) という接頭辞は、化合物が左旋性であることを意味する (-) 又は l で、該化合物による平面偏光の回転の徴候を指定するために用いられる。(+) 又は d を接頭辞として付けられた化合物は右旋性である。所与の化学構造に関し、これらの立体異性体は、互いの鏡像であることを除いて同一である。特異的立体異性体はエナンチオマーと称されることもあり、こうした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体と称され、これは、化学反応又は化学プロセスにおいて立体選択又は立体特異性がなかった場合に生じ得る。「ラセミ混合物」及び「ラセミ体」という用語は、光学活性を欠いている二つのエナンチオマー種の等モル混合物を指す。

20

30

【0659】

互変異性体形態に関して下記で考察されている場合を除き、本明細書で使用される通りの「異性体」という用語から特に除外されるのは、構造(又は構成)異性体であることに留意されたい(即ち、単に空間における原子の位置によるよりも、むしろ原子間の接続において異なる異性体)。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解釈されるべきではない。しかし、構造のクラスへの言及は、そのクラス内に入る構造異性体形態が当然含まれる(例えば  $C_1 - 7$  アルキルには n-プロピル及び iso-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)。

40

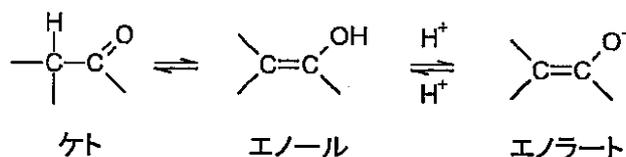
【0660】

上記の除外は、例えば以下の互変異性対: ケト/エノール(下記に例示されている)、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

50

ケトン/エンチオール、N-ニトロソ/ヒドロキシアゾ、及びニトロ/aci-ニトロにおけるような、互変異性体形態、例えばケト形態、エノール形態及びエノラート形態に関するものではない。

【化 1 1 0】



【 0 6 6 1】

10

「互変異性体」又は「互変異性体形態」という用語は、低エネルギー障壁を介して相互変換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(プロトトロピック(prototropic)互変異性体としても知られている)には、ケト-エノール及びイミン-エナミン異性化などプロトンの移動を介する相互変換が含まれる。原子価互変異性体には、結合性電子の一部の再編成による相互変換が含まれる。

【 0 6 6 2】

「異性体」という用語に特に含まれるのは、一つ又は複数の同位体置換を有する化合物であることに留意されたい。例えば、Hは、<sup>1</sup>H、<sup>2</sup>H (D)及び<sup>3</sup>H (T)を含めて、任意の同位体形態であってよく、Cは、<sup>12</sup>C、<sup>13</sup>C及び<sup>14</sup>Cを含めて、任意の同位体形態であってよく、Oは、<sup>16</sup>O及び<sup>18</sup>Oを含めて、任意の同位体形態であってよい、などである。

20

【 0 6 6 3】

本発明の化合物に組み込むことができる同位体の例には、これらに限定されないが、<sup>2</sup>H (重水素、D)、<sup>3</sup>H (トリチウム)、<sup>11</sup>C、<sup>13</sup>C、<sup>14</sup>C、<sup>15</sup>N、<sup>18</sup>F、<sup>31</sup>P、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S、<sup>36</sup>Cl及び<sup>125</sup>Iなど、水素、炭素、窒素、酸素、リン、フッ素及び塩素の同位体が含まれる。本発明の様々な同位体標識化合物、例えば<sup>3</sup>H、<sup>13</sup>C及び<sup>14</sup>Cなどの放射性同位元素が組み込まれているもの。こうした同位体標識化合物は、薬物若しくは基質組織分布アッセイを含めて、陽電子放射断層撮影法(ペット)若しくは単光子放射型コンピューター断層撮影法(SPECT)など、代謝研究、反応動態研究、検出技術若しくは造影技術において、又は患者の放射性治療において有用であり得る。本発明の重水素標識又は重水素置換された治療的化合物は、分布、代謝及び排出(ADME)に関連する改善されたDMPK(薬物代謝及び薬物動態)特性を有することができる。重水素など、より重い同位体での置換は、より大きな代謝的安定性、例えばインビボ半減期の増加又は投与量要求の低減から生じる特定の治療的利点を得ることができる。18F標識化合物は、PET又はSPECTの研究に有用であり得る。本発明の同位体標識化合物及びそれらのプロドラッグは、一般に、非同位体標識試薬の代わりに容易に利用可能な同位体標識試薬を代用することによる、下に記載されているスキーム、又は実施例及び調製において開示されてい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)での置換で、より大きな代謝的安定性、例えばインビボ半減期の増加又は投与量要求の低減又は治療指数の向上から生じる特定の治療的利点を得られることがある。重水素は、この文脈において、置換基とみなされると理解される。こうしたより重い同位体、特に重水素の濃度は、同位体濃縮因子によって定義することができる。本発明の化合物において、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と意味される。

30

40

【 0 6 6 4】

別段の指定がない限り、特定の化合物への言及には、(全体的に又は部分的に)そのラセミ混合物及び他の混合物を含めて、全てのこうした異性体形態が含まれる。こうした異性体形態の調製(例えば不斉合成)及び分離(例えば分別結晶及びクロマトグラフィーの手段)のための方法は、当技術分野において知られているか、又は本明細書において教示されている方法、若しくは公知の様式における公知の方法を適応することによって容易に得られるかのいずれかである。

【 0 6 6 5】

50

## 生物活性

## インビトロ細胞増殖アッセイ

一般に、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の細胞毒性活性又は細胞分裂停止活性は、受容体タンパク質、例えばHER2を有する哺乳動物細胞を、細胞培養培地におけるADCの抗体に曝露し、細胞を約6時間から約5日の期間培養し、細胞生存能を測定することによって測定される。細胞ベースのインビトロアッセイを使用することで、本発明のADCの生存能(増殖)、細胞毒性、及びアポトーシス(カスパーゼ活性化)の誘発を測定する。

## 【0666】

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。CellTiter-Glo (登録商標) Luminescent Cell Viability Assayは、鞘翅目ルシフェラーゼ(Coleoptera luciferase)の組換え発現に基づく市販(Promega Corp., Madison, WI)の均一アッセイ方法である(米国特許第5,583,024号、同5,674,713号及び同5,700,670号)。この細胞増殖アッセイは、存在するATPの定量化に基づく培養液中の生細胞の数、代謝的に活性な細胞の指標を決定する(Crouchら、(1993) J. Immunol. Meth. 160:81~88; US 6,602,677)。CellTiter-Glo (登録商標) Assayは、96ウェルのフォーマット中で行い、それを自動ハイスループットスクリーニング(HTS)に受け入れ可能にする(Creeら、(1995) AntiCancer Drugs 6:398~404)。均一アッセイ手順は、単一試薬(CellTiter-Glo (登録商標) Reagent)を、血清補充培地中で培養された細胞に直接添加することを伴う。細胞洗浄、培地の除去及び複数のピペティングステップは必要とされない。該系は、試薬を添加し、混合した後10分で384ウェルのフォーマット中にわずか15細胞/ウェルを検出する。該細胞はADCで連続的に処理することができるか、又はそれらは処理され、ADCから分離することができる。一般には、簡潔に、即ち3時間処理された細胞は、連続的に処理された細胞と同じ効力効果を示した。

10

20

## 【0667】

均一「添加-混合-測定」フォーマットは、細胞溶解、及び存在するATPの量に比例した発光シグナルの発生をもたらす。ATPの量は、培養液中に存在する細胞の数に直接比例する。CellTiter-Glo (登録商標)アッセイは、ルシフェラーゼ反応によって生成される「グロー型」発光シグナルを発生させ、これは、細胞型及び使用培地に依存して一般に五時間を超える半減期を有する。生細胞は相対発光単位(RLU)において反映される。該基質カプトムシルシフェリンは、AMPへのATPの同時変換及び光子の発生とともに、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る。

30

## 【0668】

## インビボ効力

本発明の抗体-薬物コンジュゲート(ADC)のインビボ効力は、マウスにおける腫瘍異種移植研究によって測定することができる。例えば、本発明の抗HER2 ADCのインビボ効力は、高発現性HER2トランスジェニック外植マウスモデルによって測定することができる。同種移植は、HERCEPTIN (登録商標)治療法に应答しないか、又は不十分に应答するFo5 mmtvトランスジェニックマウスから増殖させる。対象を、特定の用量レベル(mg/kg)でのADC、及びPBD薬物曝露( $\mu\text{g}/\text{m}^2$ )、並びにプラセボ緩衝剤対照(ビヒクル)で一度治療し、二週間以上モニタリングすることで、腫瘍倍増、対数細胞死滅及び腫瘍収縮への時間を測定した。

40

## 【0669】

## 使用

発明のコンジュゲートは、PBD化合物を標的位置で提供するために使用することができる。

## 【0670】

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に存在する抗原に対する抗体である。

## 【0671】

一実施形態において、抗原は存在しないか、又は増殖性細胞集団、例えば腫瘍細胞集団に存在する抗原の量と比較して、非増殖性細胞集団における低減されたレベルで存在する

50

。

## 【0672】

標的位置において、リンカーを切断することで、式(D)の化合物を放出することができる。したがって、コンジュゲートを使用することで、式(D)の化合物を標的位置に選択的に提供することができる。

## 【0673】

リンカーは、標的位置に存在する酵素によって切断することができる。

## 【0674】

標的位置はインビトロ、インビボで又はエックスビボであってよい。

## 【0675】

本発明の抗体-薬物コンジュゲート(ADC)化合物には、抗癌活性に有用性を持つものが含まれる。特に、該化合物には、リンカーによってPBD薬物部分、即ち毒素にコンジュゲートされており、即ち共有結合されている抗体が含まれる。薬物が抗体に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。PBD薬物部分の生物活性は、したがって、抗体へのコンジュゲーションによってモジュレートされる。本発明の抗体-薬物コンジュゲート(ADC)は、細胞毒性剤の有効量を腫瘍組織に選択的に送達し、それによって、より大きな選択性、即ちより低い有効用量を達成することができる。

10

## 【0676】

したがって、一態様において、本発明は、治療中に使用するための、本明細書に記載されている通りのコンジュゲート化合物を提供する。

20

## 【0677】

さらなる態様において、増殖性疾患の治療において使用するための、本明細書に記載されている通りのコンジュゲート化合物を提供する。本発明の第二態様は、増殖性疾患を治療するための薬物の製造におけるコンジュゲート化合物の使用を提供する。

## 【0678】

当業者は、候補コンジュゲートが任意の特定の細胞型に対する増殖状態を治療するか否かを容易に決定できる。例えば、特定の化合物によって提供された活性を評価するために好都合に使用することができるアッセイが、下記の実施例に記載されている。

## 【0679】

「増殖性疾患」という用語は、インビトロ又はインビボにかかわらず、腫瘍性又は過形成性の成長など所望されない過剰又は異常な細胞の望まれない又は未制御の細胞増殖に関する。

30

## 【0680】

増殖状態の例には、これらに限定されないが、新生物及び腫瘍(例えば、組織球腫、神経膠腫、星状細胞腫、骨腫)、癌(例えば肺癌、小細胞肺癌、消化管癌、腸癌、大腸癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、精巣癌、肝臓癌、腎臓癌、膀胱癌、膵臓癌、脳腫瘍、肉腫、骨肉腫、カポジ肉腫、メラノーマ)、白血病、乾癬、骨疾患、(例えば結合組織の)線維増殖性障害及びアテローム性動脈硬化を含めて、これらに限定されないが、良性、前悪性及び悪性の細胞増殖が含まれる。特に対象とする癌には、これらに限定されないが、白血病及び卵巣癌が含まれる。

40

## 【0681】

これらに限定されないが、肺、胃腸管(例えば腸、大腸を含める)、乳房(乳腺)、卵巣、前立腺、肝臓(肝性)、腎臓(腎性)、膀胱、膵臓、脳及び皮膚を含めて、任意の型の細胞を治療することができる。

## 【0682】

一実施形態において、治療は膵癌である。

## 【0683】

一実施形態において、治療は、細胞の表面上に 。インテグリンを有する腫瘍である。

## 【0684】

50

本発明の抗体-薬物コンジュゲート(ADC)は、例えば腫瘍抗原の過剰発現を特徴とする様々な疾患又は障害を治療するために使用することができると企図される。例示的狀態又は過剰増殖性障害には、良性又は悪性の腫瘍；白血病、血液系腫瘍及びリンパ系悪性腫瘍が含まれる。他には、ニューロン、グリア、星状細胞、視床下部、腺性、マクロファージ(macrophagal)、上皮、ストロマ、胞胚腔、炎症性、血管新生、及び自己免疫性を含めた免疫性の障害が含まれる。

【0685】

一般に、治療される疾患又は障害は、癌などの過剰増殖性疾患である。本発明において治療される癌の例には、これらに限定されないが、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫、及び白血病又はリンパ系悪性腫瘍が含まれる。こうした癌の、より特別な例には、扁平細胞癌(例えば上皮扁平細胞癌)、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌及び肺の扁平癌腫を含めた肺癌、腹膜の癌、肝細胞癌、消化管癌を含めた胃性癌又は胃癌、膵癌、神経膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、肝細胞腫、乳癌、大腸癌、直腸癌、直腸結腸癌、子宮内膜癌腫又は子宮癌腫、唾液腺癌腫、腎臓癌又は腎性癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝臓癌腫、肛門癌腫、陰茎癌腫、並びに頭頸部癌が含まれる。

10

【0686】

ADC化合物が治療に使用され得る自己免疫疾患には、リウマチ障害(例えば、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など)、骨関節炎、自己免疫性の胃腸及び肝臓障害(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)、自己免疫性の胃炎及び悪性貧血、自己免疫性肝炎、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など)、血管炎(例えば、チャーグストラウス血管炎を含めたANCA関連血管炎、ウェゲナー肉芽腫症及び多発動脈炎など)、自己免疫性神経障害(例えば、多発性硬化症、眼球クローヌ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ニューロパチーなど)、腎臓障害(例えば、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群及びベルジェ病など)、自己免疫性皮膚科障害(例えば、乾癬、蕁麻疹(urticaria)、じん麻疹(urticaria)、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡及び皮膚ループスエリテマトーデスなど)、血液障害(例えば、血小板減少性紫斑病、血栓性血小板減少性紫斑病、輸血後紫斑病及び自己免疫性溶血性貧血など)、アテローム性動脈硬化、ぶどう膜炎、自己免疫性聴覚疾患(例えば、内耳疾患及び難聴など)、ベーチェット病、レイノー症候群、臓器移植、並びに自己免疫性内分泌障害(例えば、インスリン依存性真性糖尿病(IDDM)などの糖尿病関連自己免疫疾患、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)など)が含まれる。より優先されるこうした疾患には、例えば、関節リウマチ、潰瘍性大腸炎、ANCA関連血管炎、ループス、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、及び糸球体腎炎が含まれる。

20

30

【0687】

治療の方法

本発明のコンジュゲートは、治療法の方法に使用することができる。治療の必要がある対象に治療有効量の本発明のコンジュゲート化合物を投与することを含む、治療の方法も提供される。「治療有効量」という用語は、患者に利益を示すのに十分な量である。こうした利益は、少なくとも一つの症状の少なくとも寛解であり得る。投与される実際の量並びに投与の速度及び時間経過は、治療されているものの性質及び重症度に依存する。治療の処方、例えば投与量の決定は、一般の開業医及び他の医師の責任の範囲内である。

40

【0688】

本発明の化合物は、単独で又は他の治療と組み合わせて、治療される状態に依存して同時又は逐次のいずれかで投与することができる。治療及び治療法の例には、これらに限定されないが、化学療法(化学療法薬などの例えば薬物を含めて、活性薬剤の投与)、外科手術及び放射線療法が含まれる。

【0689】

50

「化学療法剤」は、作用機序にかかわらず癌の治療に有用な化合物である。化学療法剤のクラスには、これらに限定されないが、アルキル化試薬、代謝拮抗剤、紡錘体毒植物アルカロイド、細胞毒性/抗腫瘍性抗生物質、トポイソメラーゼ阻害剤、抗体、光感受性物質及びキナーゼ阻害剤が含まれる。化学療法剤には、「標的とされる治療法」及び従来の化学療法に使用されている化合物が含まれる。

#### 【0690】

化学療法剤の例には、エルロチニブ(TARCEVA (登録商標)、Genentech/OSI Pharm.)、ドセタキセル(タキソテール(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番号51-21-8)、ゲムシタピン(GEMZAR (登録商標)、Lilly)、PD-0325901 (CAS番号391210-10-9、Pfizer)、シスプラチン(シス-ジアミン、ジクロロ白金(II)、CAS番号15663-27-1)、カルボプラチン(CAS番号41575-94-4)、パクリタキセル(タキソール(登録商標)、Bristol-Myers Squibb Oncology、Princeton、N.J.)、トラスツズマブ(HERCEPTIN (登録商標)、Genentech)、テモゾロマイド(4-メチル-5-オキソ-2,3,4,6,8-ペンタアザピシクロ[4.3.0]ノナ-2,7,9-トリエン-9-カルボキサミド、CAS番号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-ジメチルエタンアミン、NOLVADEX (登録商標)、ISTUBAL (登録商標)、VALODEX (登録商標))、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含まれる。

10

#### 【0691】

化学療法剤のさらなる例には、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)、イマチニブメシレート(GLEEVEC (登録商標)、Novartis)、XL-518 (Mek阻害剤、Exelixis、WO 2007/044515)、ARRY-886 (Mek阻害剤、AZD6244、Array BioPharma、Astra Zeneca)、SF-1126 (PI3K阻害剤、Semafore Pharmaceuticals)、BEZ-235 (PI3K阻害剤、Novartis)、XL-147 (PI3K阻害剤、Exelixis)、PTK787/ZK 222584 (Novartis)、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)、ロナファーニブ(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(イレッサ(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フリー)、パクリタキセルのアルブミン操作ナノ粒子処方物(American Pharmaceutical Partners、Schaumburg、IL)、パンドタニブ(rINN、ZD6474、ZACTIMA (登録商標)、AstraZeneca)、クロラムブシル、AG1478、AG1571 (SU 5271; Sugen)、テムシロリムス(TORISEL (登録商標)、Wyeth)、パゾパニブ(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スホスファミド(cyclophosphamide)(CYTOXAN (登録商標)、NEOSAR (登録商標));ブスルファン、インプロスルファン及びピボスルファンなどのアルキルスルホネート;ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ(meturedopa)及びウレドーパ(uredopa)などのアジリジン;アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド及びトリメチロメラミンを含めて、エチレンイミン及びメチルアメラミン(methylamelamines);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める);プリオスタチン;カリストアチン;CC-1065 (そのアドゼレシン、カルゼルシン及びビゼレシン合成類似体を含める);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を含める);エリユテロピン;パンクラチスタチン;サルコジクチン;スポンギスタチン;クロラムブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド、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ヒドロクロライド、メルファラン、ノブエンピキン、フェネスチリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード;カルムスチン、クロロ

20

30

40

50

ゾトシン、ホテムスチン、ロリムスチン、ニムスチン及びラニムスチン(ranimustine)などのニトロソ尿素;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. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183~186);ジネミシン、ジネミシンA;クロドロネートなどのビスフォスフォネート;エスペラマイシン;並びにネオカルチノスタチン発色団及び関連する色素タンパク質エンジン抗生物質発色団)、アクラシノマイシン(aclacinomysins)、アクチノマイシン、オートラマイシン(authramycin)、アザセリン、プレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン(carabicin)、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシニス(chromomycinis)、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-オキソ-L-ノルロイシン、モルホリノ-ドキシソルピシン、シアノモルホリノ-ドキシソルピシン、2-ピロリノ-ドキシソルピシン及びデオキシドキシソルピシン)、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、ネモルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシンCなどのマイトマイシン、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、クエラマイシン、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、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシンなどの抗生物質;メトトレキセート及び5-フルオロウラシル(5-FU)などの抗代謝物;デノプテリン、メトトレキセート、プテロプテリン、トリメトレキセートなどの葉酸類似体;フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体;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、フロクシウリジンなどのピリミジン類似体;カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン;アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗副腎剤;フォルリン酸などの葉酸補充液;アセグラトン;アルドホスファミドグリコシド;アミノレプリン酸;エニルウラシル;アムサクリン;ベストラブシル;ビスアントレン;エダトラキセート(edatraxate);デフォファミン(defofamine);デメコルシン;ジアジクオン;エルフォルニチ(elfornithine);酢酸エリプチニウム;エポチロン;エトグルシド;硝酸ガリウム;ヒドロキシ尿素;レンチナン;ロイダイニン(lonidainine);メイタンシン及びアンサマイトシンなどのメイタンシノイド;ミトグアゾン;ミトキサントロン;モピダンモール(mopidanmol);ニトラエリン(nitraerine);ペントスタチン;フェナメット;ピラルピシン;ロソキサントロン;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)多糖類複合体(JHS Natural Products、Eugene、OR);ラゾキサシ;リゾキシシ;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トキシシ、ベラクリン(verracurin) A、ロリジンA及びアングイジン);ウレタン;ピンデシン;ダカルバジン;マンノムスチン;ミトプロニトール;ミトラクトール;ピボプロマン;ガシトシン(gacytosine);アラビノシド(「Ara-C」);シクロホスファミド;チオテパ;6-チオグアニン;メルカプトプリン;メトトレキセート;シスプラチン及びカルボプラチンなどの白金類似体;ピンラスチン;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));ノバントロン;テニボシド;エダトレキセート;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);イバンドロネート;CPT-11;トポイソメラーゼ阻害剤RFS 2000;ジフロロメチルオルニチン(DMFO);レチノイン酸などのレチノイド;並びに上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸及び誘導体が含まれる。

10

20

30

40

#### 【0692】

「化学療法剤」の定義にさらに含まれるのは、(i)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める)、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) (クエン酸トレミフェン)を含めて、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)など、腫瘍に対するホルモン作用を調節又は阻害する作用をする抗ホルモン剤、(ii)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;

50

Pfizer)、ホルメスタニー(formestanie)、ファドロゾール、RIVISOR (登録商標) (ポロゾール)、FEMARA (登録商標) (レトロゾール; Novartis)及びARIMIDEX (登録商標) (アナストロゾール; AstraZeneca)など、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、(iii)フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、リュープロリド及びゴセレリン;並びにトロキサシタピン(1,3-ジオキサランヌクレオシドシトシン類似体)などの抗アンドロゲン、(iv) MEK阻害剤(WO 2007/044515)などのタンパク質キナーゼ阻害剤、(v)脂質キナーゼ阻害剤、(vi)アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、異所性細胞増殖に係るシグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するもの、例えば、オブリメルセン(GENASENSE (登録商標)、Genta Inc.)などのPKC-アルファ、Raf及びH-Ras、(vii) VEGF発現阻害剤(例えば、ANGIOZYME (登録商標))及びHER2発現阻害剤などのリボザイム、(viii)遺伝子治療ワクチンなどのワクチン、例えば、ALLOVECTIN (登録商標)、LEUVECTIN (登録商標)及びVAXID (登録商標); PROLEUKIN (登録商標) rIL-2;ラルトテカン(登録商標)などのトポイソメラーゼ1阻害剤;アパレリクス(登録商標) rmRH、(ix)ベバシズマブ(AVASTIN (登録商標)、Genentech)などの血管新生抑制物質;並びに上記の任意の薬学的に許容される塩、酸及び誘導体である。

#### 【0693】

「化学療法剤」の定義にさらに含まれるのは、アレムツズマブ(Campath)、ベバシズマブ(AVASTIN (登録商標)、Genentech);セツキシマブ(ERBITUX (登録商標)、Imclone);パニツムマブ(VECTIBIX (登録商標)、Amgen)、リツキシマブ(RITUXAN (登録商標)、Genentech/Biogen Idec)、ペルツズマブ(OMNITARG (商標)、2C4、Genentech)、トラスツズマブ(HERCEPTIN (登録商標)、Genentech)、トシツモマブ(Bexxar、Corixia)及び抗体薬物コンジュゲート、ゲムツズマブオゾガマイシン(MYLOTARG (登録商標)、Wyeth)などの治療的抗体である。

#### 【0694】

本発明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的可能性を有するヒト化単クローン抗体には、アレムツズマブ、アボリズマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、バピネオズマブ、ベバシズマブ、ピバツズマブメルタンシン、カンツズマブメルタンシン、セデリズマブ、セルトリズマブペゴール、シドフシツズマブ(cidfusituzumab)、シドツズマブ(cidtuzumab)、ダクリズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、エピラツズマブ、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、メボリズマブ、モタビズマブ、モトビズマブ(motovizumab)、ナタリズマブ、ニモツズマブ、ノロビズマブ(nolovizumab)、ヌマビズマブ(numavizumab)、オクレリズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、パスコリズマブ、ペクフシツズマブ(pecfusituzumab)、ペルツズマブ(pectuzumab)、ペルツズマブ、パキセリズマブ、ラリビズマブ(ralivizumab)、ラニビズマブ、レスリビズマブ(reslivizumab)、レスリズマブ、レシビズマブ(resyvizumab)、ロベリズマブ、ルプリズマブ、シプロツズマブ、シプリズマブ、ソソツズマブ(sontuzumab)、タカツズマブテトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ(talizumab)、テフィバズマブ、トシリズマブ、トラリズマブ、トラスツズマブ、ツコツズマブセルモロイキン、ツクシツズマブ(tucusituzumab)、ウマビズマブ(umavizumab)、ウルトキサズマブ及びビシリズマブが含まれる。

#### 【0695】

本発明による、及び本発明に従った使用のための医薬組成物は、該活性成分、即ちコンジュゲート化合物に加えて、薬学的に許容される賦形剤、担体、緩衝剤、安定剤、又は当業者によく知られている他の材料を含むことができる。こうした材料は非毒性であるべきであり、活性成分の効力を妨げるべきではない。担体又は他の材料の正確な性質は投与の経路に依存し、これは経口であるか、又は例えば皮膚、皮下若しくは静脈内の注入によるものであってよい。

#### 【0696】

経口投与のための医薬組成物は、錠剤、カプセル、粉末又は液状の形態であってよい。

10

20

30

40

50

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、動物油又は植物油、鉱油又は合成油などの液体担体を含む。生理的食塩水溶液、デキストロース若しくは他の多糖類溶液、又はエチレングリコール、プロピレングリコール若しくはポリエチレングリコールなどのグリコールが含まれ得る。カプセルは、ゼラチンなどの固体担体を含むことができる。

【0697】

静脈内、皮膚若しくは皮下の注入、又は苦痛部位での注入のために、該活性成分は、ピロゲンフリーであり、適当なpH、等張性及び安定性を有する非経口的に許容可能な水溶液の形態であってよい。当分野における関連技術者は、例えば塩化ナトリウム注射液、リンゲル注射液、乳酸リンゲル注射液などの等張ビヒクルを使用して適当な溶液を調製することが十分にできる。保存料、安定剤、緩衝剤、抗酸化剤及び/又は他の添加剤が、必要とされる場合には含まれることができる。

【0698】

処方物

コンジュゲート化合物を単独で使用する(例えば、投与する)ことが可能である場合、それを組成物又は処方物として提供することがしばしば好ましい。

【0699】

一実施形態において、該組成物は、本明細書に記載されている通り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、処方物、調製物、薬物)である。

【0700】

一実施形態において、該組成物は、これらに限定されないが、薬学的に許容される担体、希釈剤、賦形剤、アジュバント、充填剤、緩衝剤、保存料、酸化防止剤、潤滑剤、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、香味剤及び甘味剤を含めて、当業者によく知られている一種又は複数の他の薬学的に許容される成分と一緒に、本明細書に記載されている通りの少なくとも一種のコンジュゲート化合物を含む医薬組成物である。

【0701】

一実施形態において、該組成物は、他の活性薬剤、例えば他の治療的薬剤又は予防剤をさらに含む。

【0702】

適当な担体、希釈剤、賦形剤などは、標準的な医薬品テキストで見つけることができる。例えば、Handbook of Pharmaceutical Additives、第2版(編集者M. Ash及びI. Ash)、2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA)、Remington's Pharmaceutical Sciences、第20版、出版Lippincott, Williams & Wilkins、2000;及びHandbook of Pharmaceutical Excipients、第2版、1994を参照されたい。

【0703】

本発明の別の態様は、本明細書において定義されている通りの少なくとも一種の $[^{14}C]$ 放射標識コンジュゲート又はコンジュゲート様化合物を、当業者によく知られている一種又は複数の他の薬学的に許容される成分、例えば担体、希釈剤、賦形剤などと一緒に添加混合することを含む、医薬組成物を製造する方法に関する。個別の単位(例えば、錠剤など)として処方される場合、各単位は、該活性化合物の所定量(投与量)を含有する。

【0704】

「薬学的に許容される」という用語は、本明細書で使用される場合、過剰な毒性、刺激、アレルギー応答、又は妥当な利益/リスク比に相応する他の問題若しくは合併症がない、当該の対象(例えば、ヒト)の組織と接触して使用するのに健全な医学的判断の範囲内において適当である、化合物、成分、材料、組成物、剤形などに関する。それぞれの担体、希釈剤、賦形剤なども、処方物の他方の成分と相容性があるという意味において、「許容され」なければならない。

【0705】

10

20

30

40

50

該処方物は、製薬の当技術分野においてよく知られている任意の方法によって調製することができる。こうした方法には、一種又は複数の副成分を構成する担体と該活性化化合物を会合させるステップが含まれる。一般に、該処方物は、該活性化化合物を担体(例えば、液体担体、微粉化固体担体など)と均一及び密接に会合させ、次いで必要であれば該生成物を成形することによって調製される。

#### 【0706】

該処方物は、急速放出若しくは緩徐放出;即時放出、遅延放出、時限放出若しくは持続放出、又はそれらの組合せを提供するように調製することができる。

#### 【0707】

非経口投与(例えば、注入による)に適当な処方物には、水性又は非水性の等張のピロゲンフリー無菌液体(例えば、溶液、懸濁液)が含まれ、この中には、活性成分が溶解、懸濁、又はそれ以外では提供されている(例えば、リボソーム又は他の微粒子中)。こうした液体は、酸化防止剤、緩衝剤、保存料、安定剤、静菌薬、懸濁剤、増粘剤、及び目的とするレシピエントの血液(又は他の関連する体液)と処方物を等張にする溶質など、他の薬学的に許容される成分を追加として含有することができる。賦形剤の例には、例えば水、アルコール、ポリオール、グリセロール及び植物油などが含まれる。こうした処方物中に使用するための適当な等張担体の例には、塩化ナトリウム注射液、リンゲル液又は乳酸リンゲル注射液が含まれる。通常、該液体における活性成分の濃度は、約1ng/mlから約10µg/ml、例えば約10ng/mlから約1µg/mlである。該処方物は、単位用量又は多用量の密閉容器、例えばアンプル及びバイアル中に提供することができ、使用の直前に注入用の滅菌液体担体、例えば水の添加だけを必要とする凍結-乾燥した(凍結乾燥)状態で貯蔵することができる。即座の注入溶液及び懸濁液は、滅菌粉末、顆粒及び錠剤から調製することができる。

#### 【0708】

##### 投与量

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が患者によって様々であり得ることは、当分野の技術者によって理解されよう。最適な投与量を決定することは、一般に任意のリスク又は有害な副作用に対する治療的利益のレベルのバランスをとることを伴う。選択された投与量は、これらに限定されないが、特定の化合物の活性、投与の経路、投与の時間、化合物の排出速度、治療の持続期間、組み合わせで使用される他の薬物、化合物及び/又は材料、状態の重症度、並びに患者の種、性別、年齢、重量、状態、全般的な健康及び前病歴を含めて、様々な因子に依存する。一般に投与量は、実質的に危険又は有害な副作用を引き起こすことなく所望の効果を達成する局所濃度を作用の部位で達成するように選択されるが、化合物の量及び投与の経路は、最終的に、医師、獣医又は臨床医の裁量による。

#### 【0709】

投与は、治療の過程を通して、一用量にて連続的又は断続的に(例えば、分割用量にて適切な間隔で)実行することができる。投与の最も有効な手段及び投与量を決定する方法は当業者によく知られており、治療法に使用される処方物、治療法の目的、治療される標的細胞(単数又は複数)、及び治療される対象によって変動する。単一又は複数の投与は、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実施することができる。

#### 【0710】

一般に、活性化化合物の適当な用量は、1日当たり、対象の1キログラム体重当たり約100ngから約25mg(より通常には約1µgから約10mg)の範囲である。活性化化合物が塩、エステル、アミド又はプロドラッグなどである場合、投与される量は親化合物に基づいて算出され、それで、使用される実際の重量が比例して増加される。

#### 【0711】

一実施形態において、活性化化合物は、以下の投与量計画に従ってヒト患者に投与される。約100mg、一日3回。

10

20

30

40

50

## 【0712】

一実施形態において、活性化合物は、以下の投与量計画に従ってヒト患者に投与される。約150mg、一日2回。

## 【0713】

一実施形態において、活性化合物は、以下の投与量計画に従ってヒト患者に投与される。約200mg、一日2回。

## 【0714】

しかし一実施形態において、コンジュゲート化合物は、以下の投与量計画に従ってヒト患者に投与される。約50mg又は約75mg、一日3回又は4回。

## 【0715】

一実施形態において、コンジュゲート化合物は、以下の投与量計画に従ってヒト患者に投与される。約100mg又は約125mg、一日2回。

## 【0716】

上に記載されている投与量は、コンジュゲート(抗体へのPBD部分及びリンカーを含める)、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量に当てはまる。

## 【0717】

疾患の予防又は治療に関し、本発明のADCの適切な投与量は、上記で定義されている通りの治療される疾患の型、疾患の重症度及び過程、該分子が予防的目的のために投与されるのか又は治療的目的のために投与されるのか、以前の治療法、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する。該分子は、一回で又は一連の治療にわたって患者に適切に投与される。疾患の型及び重症度に依存して約1 $\mu$ g/kgから15mg/kg(例えば0.1~20mg/kg)の分子が、患者に投与するための初期候補投与量であり、例えば、一回又は複数の分離した投与によるか、又は持続注入によるかにかかわらない。典型的な一日投与量は、上述されている因子に依存して約1 $\mu$ g/kgから100mg/kg以上の範囲であり得る。患者に投与されるADCの例示的な投与量は、患者体重の約0.1mg/kgから約10mg/kgの範囲である。状態に依存して数日以上にわたる反復投与には、疾患症状の所望の抑制が生じるまで治療は持続される。例示的な投薬計画は、ADCの約4mg/kgの初期負荷用量、続いて追加の用量を毎週、二週間毎又は三週間毎に投与する過程を含む。他の投与量計画も有用であり得る。治療法の進行は、従来技術及びアッセイによって容易にモニタリングされる。

## 【0718】

## 治療

「治療」という用語は、状態を治療するという文脈において本明細書で使用される場合、一般に、一部の所望の治療的効果、例えば状態の進行の阻害が達成され、進行の速度における低減、進行の速度の停止、状態の後退、状態の寛解及び状態の治癒が含まれる、ヒト又は動物(例えば、獣医学用途で)にかかわらない治療及び治療法に関する。予防的処置(即ち、予防法、予防)としての治療も含まれる。

## 【0719】

「治療有効量」という用語は、本明細書で使用される場合、所望の治療計画に従って投与される場合に妥当な利益/リスク比に相応する一部の所望の治療的効果を生み出すのに有効である、活性化合物又は活性化合物を含む材料、組成物若しくは剤形のその量に関する。

## 【0720】

同様に、「予防有効量」という用語は、本明細書で使用される場合、所望の治療計画に従って投与される場合に妥当な利益/リスク比に相応する一部の所望の予防的効果を生み出すのに有効である、活性化合物又は活性化合物を含む材料、組成物若しくは剤形のその量に関する。

## 【0721】

## 抗体薬物コンジュゲートの調製

抗体薬物コンジュゲートは、(1)共有結合を介して抗体-リンカー中間体Ab-Lを形成する

10

20

30

40

50

ための抗体の求核基又は求電子基と二価のリンカー試薬との反応、続いて活性化薬物部分試薬との反応、及び(2)共有結合を介して薬物-リンカー試薬D-Lを形成するための薬物部分試薬とリンカー試薬との反応、続いて抗体の求核基又は求電子基との反応を含めて、当業者に知られている有機化学反応、条件及び試薬を用いるいくつかの経路によって調製することができる。コンジュゲーション方法(1)及び(2)を様々な抗体及びリンカーとともに用いることで、本発明の抗体-薬物コンジュゲートを調製することができる。

#### 【0722】

抗体上の求核基には、これらに限定されないが、(i) N末端アミン基、(ii)側鎖アミン基、例えばリシン、(iii)側鎖チオール基、例えばシステイン、及び(iv)抗体がグリコシル化されている糖ヒドロキシル基又はアミノ基が含まれる。アミン基、チオール基及びヒドロキシル基は求核性であり、反応することで、(i) NHSエステル、HOBtエステル、ハロホルメート及び酸ハロゲン化物などの活性エステル、(ii)ハロアセトアミドなどアルキル及びベンジルのハロゲン化物、(iii)アルデヒド基、ケトン基、カルボキシル基及びマレイミド基を含めて、リンカー部分及びリンカー試薬上の求電子基と、共有結合を形成する能力がある。特定の抗体は、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 (クリーランド試薬、ジチオスレイトール)又はTCEP (トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン塩酸塩などの還元剤を用いる処理によって、リンカー試薬とのコンジュゲーションのために反応性にすることができる;Getzら、(1999) Anal. Biochem. 273巻:73~80; Soltec Ventures, Beverly, MA)。各システインジスルフィド架橋はしたがって理論的に、二種の反応性チオール求核試薬を形成する。チオールへのアミンの変換を生じるリシンと2-イミノチオラン(トラウト試薬)との反応を介して、追加の求核基を抗体に導入することができる。

10

20

#### 【0723】

抗体-薬物コンジュゲートは、リンカー試薬上の求核性置換基と反応することができる求電子性部分を導入するための抗体の修飾によっても生成することができる。グリコシル化抗体の糖類は、例えばペリオデート酸化試薬で酸化されることで、リンカー試薬又は薬物部分のアミン基と反応することができるアルデヒド基又はケトン基を形成することができる。生じるイミンシッフ塩基は、安定な連鎖を形成することができるか、又は例えば水素化ホウ素試薬によって還元されることで、安定なアミン連結を形成することができる。一実施形態において、グリコシル化抗体の炭水化物部分とガラクトースオキシダーゼ又はメタ過ヨウ素酸ナトリウムのいずれかとの反応で、薬物上の適切な基と反応することができるタンパク質中のカルボニル(アルデヒド及びケトン)基を得ることができる(Hermanson, G.T. (1996) Bioconjugate Techniques; Academic Press: New York, 234~242頁)。別の実施形態において、N末端セリン残基又はトレオニン残基を含有するタンパク質は、メタ過ヨウ素酸ナトリウムと反応することができ、第一アミノ酸の代わりにアルデヒドの生成をもたらす(Geoghegan & Stroh, (1992) Bioconjugate Chem. 3:138~146; US 5,362,852)。こうしたアルデヒドは、薬物部分又はリンカー求核剤と反応することができる。

30

#### 【0724】

同様に、薬物部分上の求核基には、これらに限定されないが、(i) NHSエステル、HOBtエステル、ハロホルメート及び酸ハロゲン化物などの活性エステル、(ii)ハロアセトアミドなどアルキル及びベンジルのハロゲン化物、(iii)アルデヒド、ケトン、カルボキシル基及びマレイミド基を含めて、リンカー部分及びリンカー試薬の求電子基と共有結合を形成するために反応する能力があるアミン基、チオール基、ヒドロキシル基、ヒドラジド基、オキシム基、ヒドラジン基、チオセミカルバゾン基、ヒドラジンカルボキシレート基及びアリールヒドラジド基が含まれる。反応性求核基は、標準的な官能基相互変換によってアントラサイクリン誘導体化合物上に導入することができる。例えば、ヒドロキシル基は、光延型反応によってチオール基に変換することで、チオール修飾薬物化合物を形成することができる。

40

#### 【0725】

対象/患者

50

対象/患者は、動物、哺乳動物、胎盤哺乳動物、有袋類(例えば、カンガルー、ウォンバット)、単孔類(例えば、カモノハシ)、げっ歯類(例えば、モルモット、ハムスター、ラット、マウス)、ネズミ類(例えば、マウス)、ウサギ類(例えば、ウサギ)、トリ類(例えば、トリ)、イヌ類(例えば、イヌ)、ネコ類(例えば、ネコ)、ウマ類(例えば、ウマ)、ブタ類(例えば、ブタ)、ヒツジ類(例えば、ヒツジ)、ウシ類(例えば、雌ウシ)、霊長類、サル類(例えば、サル又は類人猿)、サル(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)、又はヒトであってよい。

【0726】

さらに、対象/患者は、その発生形態のいずれか、例えば、胎児であってよい。一つの好ましい実施形態において、対象/患者はヒトである。

【0727】

一実施形態において、患者は、各患者が細胞の表面上に<sub>6</sub>インテグリンを有する腫瘍を有する集団である。

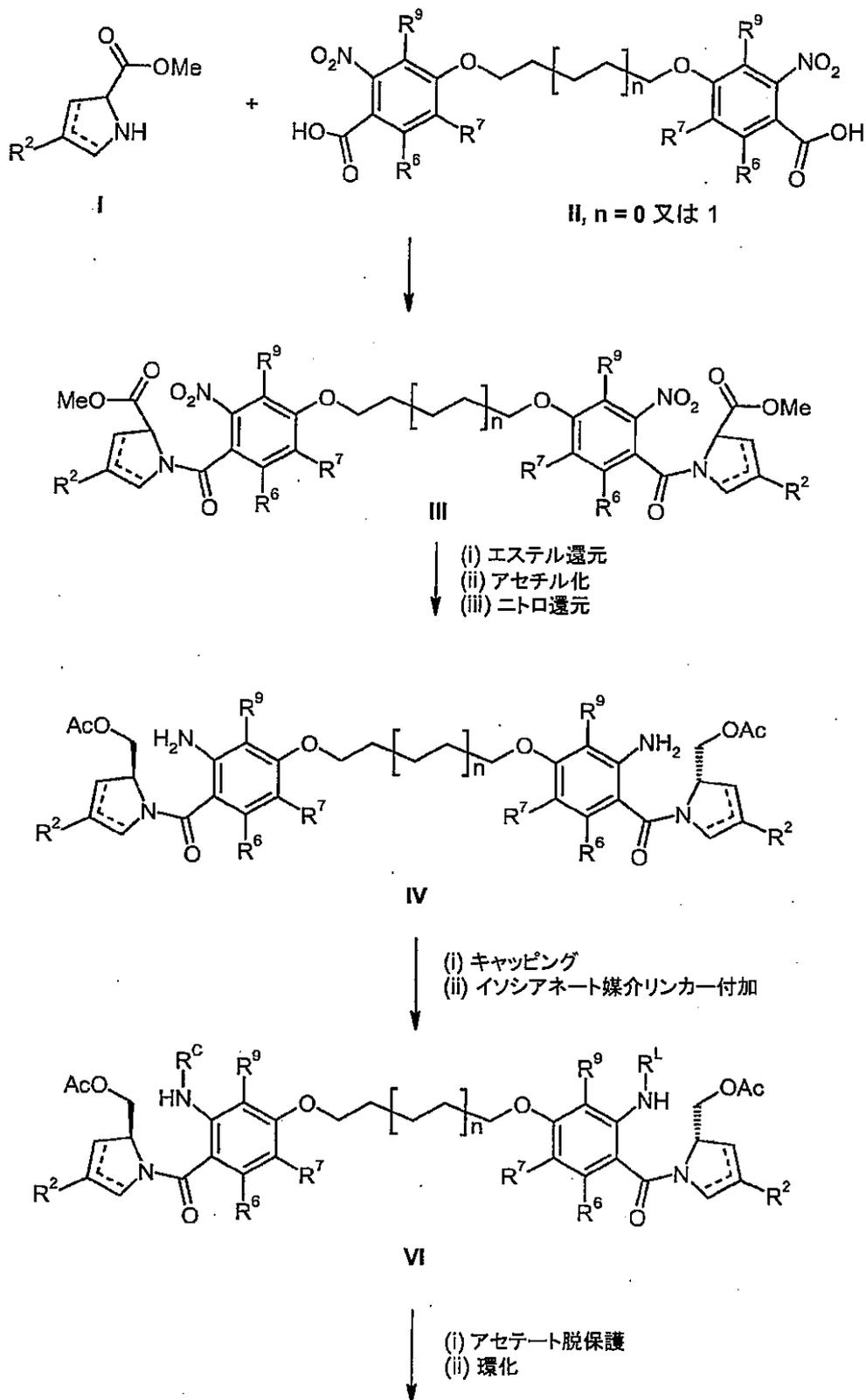
【0728】

合成

一実施形態において、式VIIIの二量体コンジュゲートは、スキーム1に示されている通り、化合物I及びIIから調製することができる。

【化111】

スキーム1



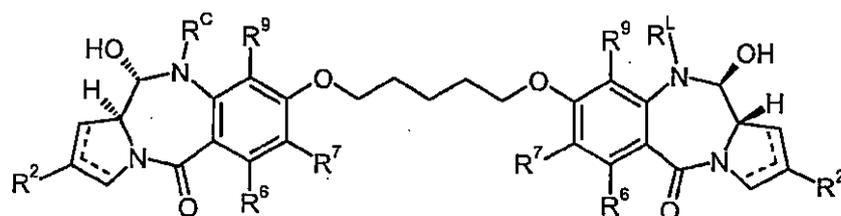
10

20

30

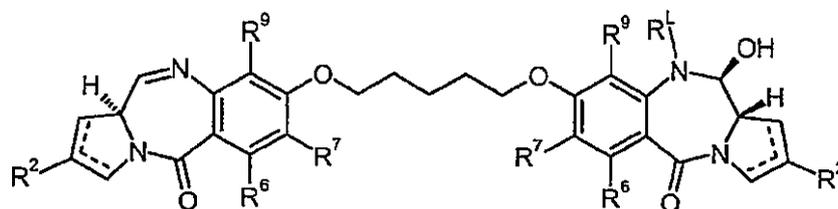
40

【0729】

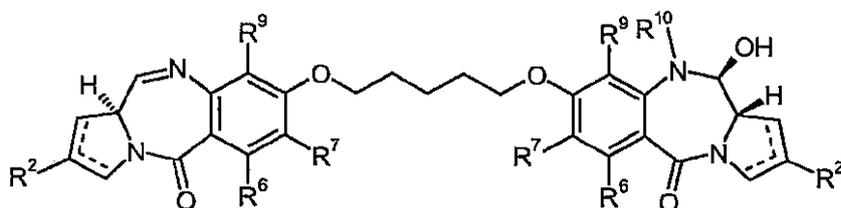


VII

(i) キャップ除去



V

(i) R<sup>L</sup>の任意選択の修飾  
(ii) 細胞結合剤へのカップリング

VIII

## 【0730】

一般に、非対称二量体は、分子の対称を壊すために、一当量の市販されている(又は容易に調製される)クロロホルメート試薬で式IVのビス-アミノ化合物を処理することによって調製することができる。残留遊離アミンを次いで独立して官能化することで、必要とされる治療的に不安定なプログループ(R<sup>L</sup>)を導入することができる。PBD B環を閉じ、保護基及びキャッピング基を除去し、抗体-連結官能基、例えばG<sup>1</sup>を導入するためのさらなる官能基操作で、標的分子が得られる。

## 【0731】

式IVの化合物は、通常、適切に官能化されたC環断片(I)を、式IIの二量体核を含有するA環にカップリングすることによって調製される。C環断片は、公知のカルバメート保護メチル4-オキソプロリネート構築ブロックから調製することができる。ウィッティヒ又はホーナー-エモンズ条件下でのオレフィン化を用いることで、エンド-又はエキソ-不飽和アルケンを備えることができる。別法として、タンデムトリフル化反応及び鈴木カップリング反応を使用することで、4-アリール置換3,4又は4,5-不飽和C環断片を得ることができる。C環及びA環の断片は、標準条件下にてトリエチルアミンの存在下でA環断片の酸塩化物誘導体を使用してカップリングすることで、式IIIの分子を得ることができる。III型の化合物を、エンド-又はエキソ-C環不飽和結合に影響することなく酢酸中の亜鉛で還元することで、式IVの分子を得ることができる。

## 【0732】

VI型の非対称カルバメートは、単一当量の市販されている(又は容易に調製される)クロロホルメートを用いて、ピリジン又はトリエチルアミンの存在下でIV型のビス-アミンを

10

20

30

40

50

処理することによって調製することができる。クロロホルメートが選択されることで、プログループ( $R^L$ )中に使用されるものと直交又は同一のいずれかであるカルバメートキャッピング単位( $R^C$ )を得ることができる。同一のカルバメートは両方の保護基の同時除去を可能にし、合成ステップを省く。しかし、キャッピングカルバメート( $R^C$ )の除去は、感受性なN10-C11イミン又はカルビノールアミンの部分の存在下で行われる抗体-連結官能性の付加を必要とする。必要であれば、この状況は、N10-C11カルビノールアミン部分を保護されている状態に保持しながら抗体-連結部分の付加を可能にする直交のカルバメート保護基の使用によって回避することができる。この戦略において、N10-C11部分は、抗体-連結部分の存在下でアンマスクしなければならず、使用される試薬は、この部分と相容性でなければならない。例えば、N10-C11イミンがマレイミド基の存在下でアンマスクすることになるならば、脱保護剤のCd/Pbカップル及びTBAFはマレイミド基に影響するべきではないので、Troc及びTeocが適当な $R^C$ 基である。ピロリジンなどの  $\beta$ -アリルスカベンジャーが1,4-様式でマレイミド基に付加することができるので、他方では、Alloc基は回避されるべきである。 $R^L$ カルバメートは、残留アミノ基をイソシアネートに変換すること及びそれを $R^L$ アルコールでクエンチすることによって導入することができる。別法として、 $R^L$ アルコールは、クロロホルメート又は官能性等価物(フルオロホルメート、p-ニトロカーボネート、ペンタフルオロカーボネート又はヒドロキシベンゾトリアゾールカーボネート)に変換することができる。最終的に、残留アミノ基は、反応性のp-ニトロカルバメート、ペンタフルオロカルバメート又はヒドロキシベンゾトリアゾールカルバメートに変換することができ、これを $R^L$ アルコールと取り替えることで、式VIの分子を得ることができる。

10

20

## 【0733】

式VIIの分子は、メタノール水溶液中の炭酸カリウムを用いて、又は $R^L$ 中のFmoc基の存在下にて水素化トリエチルホウ素リチウムを用いてアセテート保護基を除去することによって、式VIの分子から調製することができる。デス-マーチンペルヨージナンでの酸化(又は別法として、TPAP/NMO、PDC又はスワン条件下)で、閉環生成物が得られる。

## 【0734】

式Vのコンジュゲートは、キャッピング基 $R^C$ の除去、抗体などの細胞結合剤に標準条件下でコンジュゲートすることができる抗体-連結部分(例えばマレイミドカプロイル基)を含めるための $R^L$ の緻密化によって式VIIの分子から調製することができる(Dubowchikら、Bioconjugate Chemistry、2002、13,855~869を参照のこと)。 $R^L$ の緻密化には、細胞結合剤に接続する(それによってA基を形成する)ために次いで使用することができる $G^1$ 基などのスペーサー成分を含めるために、該基を伸長するステップが含まれる。

30

## 【0735】

単量体化合物及び対称二量体は、上記の非対称二量体と同様の様式にて調製することができる。

## 【0736】

別の実施形態において、式XVIIIのコンジュゲートは、スキーム2に示されている通り、化合物IXから調製することができる。

## 【0737】

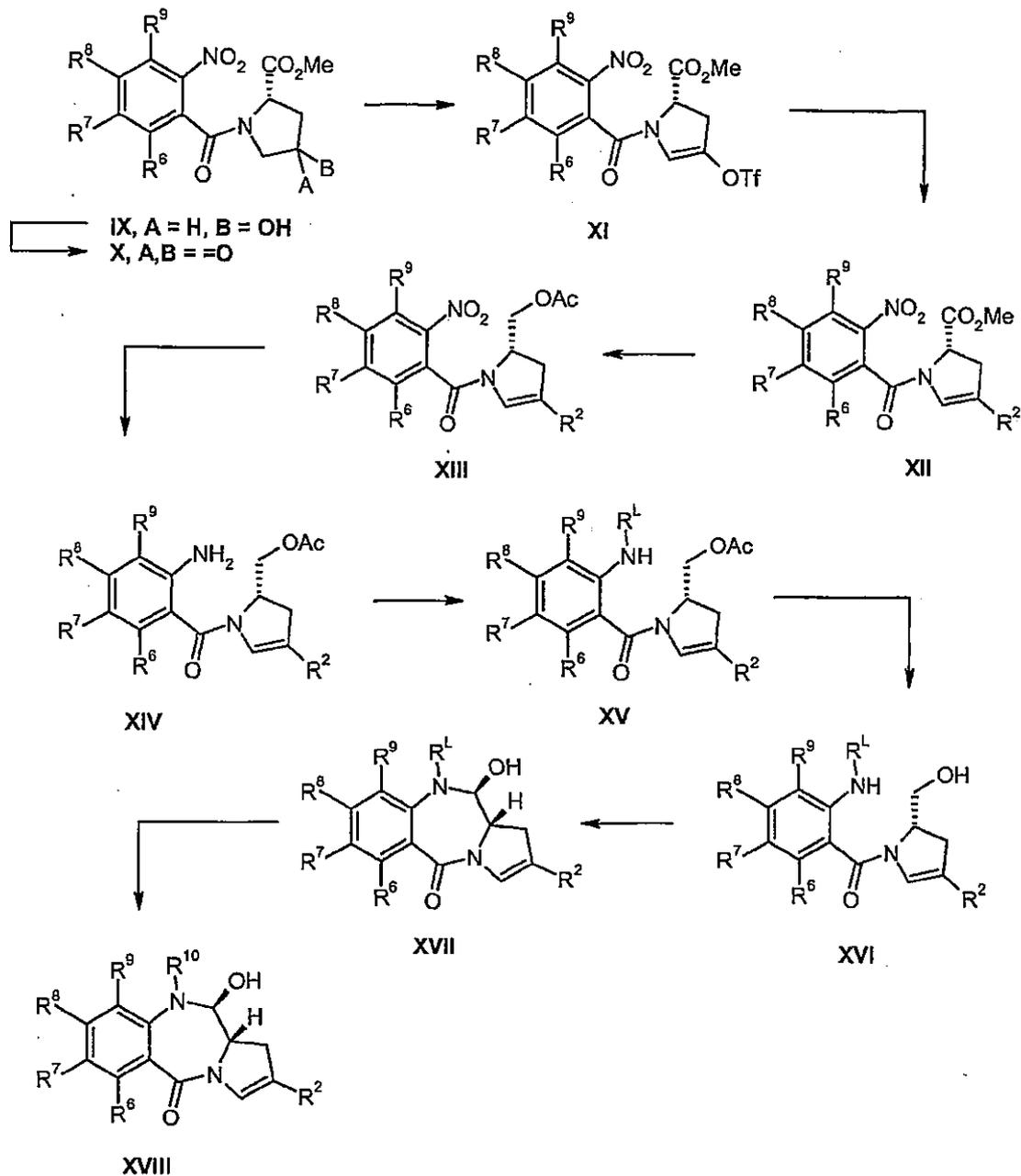
化合物II

40

式(II)の化合物の合成は、本出願人の以前の出願WO 2006/111759に記載されており、Gregsonら(J. Med. Chem. 2001、44、1161~1174)によっても記載されている。そこに記載されている通りの化合物(II)の調製を、参照により本明細書に明確に組み込む。化合物(IIa)は3個の炭素のリンカーを有する。化合物(IIb)は五個の炭素のリンカーを有する。

## 【化 1 1 2】

## スキーム2



10

20

30

## 【0738】

このスキームにおいて、 $R^2$ 基は $C_5 - 20$ アリール基である。式IXの化合物はWO 2004/0439 63に記載されている。

40

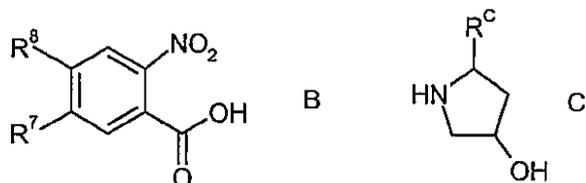
## 【0739】

式Xの化合物は、例えばTCCA及びTEMPO;BAIB及びTEMPO、TPAP、デス-マーチン条件、又はスワン条件を使用する酸化によって式IXの化合物から合成することができる。

## 【0740】

式IXの化合物は、式B及びCの適切な化合物、又はそれらの活性化誘導体をカップリングすることによって合成することができる。

## 【化 1 1 3】



## 【0 7 4 1】

式B及びCの化合物は一般に市販されているか、又は容易に合成可能である。化合物Bが二量体ならば、これは、WO 00/12508に記載されている通りに合成することができる。

10

## 【0 7 4 2】

式XIの化合物は、適切な無水物及び無水2,6-ルチジン又は無水2,6-tBu-ピリジンを用いて、 $-35$ 以下の温度で乾燥有機溶媒中にて不活性雰囲気下でXを処理することを含む方法で、式Xの化合物から調製することができる。XIには、C1~C2二重結合を有する化合物が実質的にない。

## 【0 7 4 3】

C1~C2二重結合を有する化合物の調製は、Kangら、Chem. Commun.、2003、1680~1689によって記載されていることに留意されたい。

## 【0 7 4 4】

式XIの化合物は、式XIIの化合物に変換することができる。変換(鈴木カップリング)は、XIと適切なアリールホウ素誘導体とのパラジウム触媒クロスカップリングによって実施される。パラジウム触媒は、任意の適当な触媒、例えば $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ 、 $\text{Pd}(\text{OCOCH}_3)_2$ 、 $\text{PdCl}_2$ 、 $\text{Pd}(\text{dba})_3$ であってよい。

20

## 【0 7 4 5】

式XIIの化合物は、化合物XIIIを介して式XIVの化合物に変換することができる。変換は、最初にエステルの還元、及びアセテート(又は代替的手法においてはシリルエーテル)としての再保護によって達成される。還元は、標準的手段によって、例えば $\text{LiAlH}_4$ 又は $\text{NaBH}_4$ を用いて達成することができる。アセテートとしての再保護は、例えば、塩化アセチルとの反応によって達成することができる(シリルエーテルとしての再保護は、例えば、適切な塩化シリルとの反応によって達成することができる)。ニトロ基の還元は、次いで、例えば酢酸中の亜鉛を使用して実施される。

30

## 【0 7 4 6】

式XIVの化合物は、式XVの化合物に変換することができる。この変換は、通例、イソシアネートを得るためのXIVとトリホスゲンとの反応、続いて $\text{R}^L\text{-OH}$ との反応によって達成される。この手法は、WO 2005/023814に記載されている。別法として、単純な窒素保護基も、クロロホルメート、フルオロホルメート又はアジドホルメートとして導入することができる。より複雑な窒素保護基、並びに単純な窒素保護基は、O-スクシンアミドカーボネート、O-ペンタフルオロフェニルカーボネート及びO-ニトロフェニルカーボネートとして導入することができる。

40

## 【0 7 4 7】

XVからXVIIへの変換は、メタノール水溶液中の炭酸カリウムを用いるか、又は水素化トリエチルホウ素リチウムを用いる、アセテート保護基の初期除去によって達成することができる。デス-マーチンペルヨージナン(又は別法として、TPAP/NMO、TFAA/DMSO、 $\text{SO}_3$ ・ピリジン錯体/DMSO、PDC、PCC、BAIB/TEMPO、又はスワン条件下)での酸化で、閉環生成物が得られる。シリルエーテルがアセテートの代わりに使用されるならば、XVからXVIIへの変換は、例えばTHF中のTBAF、THF水溶液中の酢酸、DMF中のCsF、又はピリジン中のHFを使用するシリルエーテル保護基の初期除去、続いて上記した通りの酸化によって達成することができる。

## 【0 7 4 8】

化合物XVIIIは、次いで、細胞結合剤に結合される。ステップの順序又はXVIIからXVIII

50

へのステップは、 $R^1$ の性質に依存する。この基を修飾し、次いで細胞結合剤に結合することで、本発明のコンジュゲートを形成することができる。例えば、保護基キャップを除去することで、細胞結合剤との反応に適当な官能性基を提供することができる。他のステップにおいて、この同じ官能性基を使用することで、 $G^1$ 基などのさらなるスペーサー成分に接続することができ、そのスペーサー成分は次いで、順じて細胞結合剤に接続することができる(それによってA基を形成する)。

【0749】

本発明の一部の実施形態において、式A-A及びA-Bの化合物を含めて、式A-Iの化合物が提供される。この型の化合物は、WO 2010/091150に記載されているものと同様の方法を使用して調製することができる。WO 2010/091150に記載されている中間体化合物も、上に記載されている方法に用いることができる。

10

【0750】

例えば、段落[164]に示されている二量体化合物(15)は、上記スキームIにおける化合物(III)として使用することができる。この型の単量体化合物は化合物(3)、(6)及び(9)として示されている。この適応物及びさらなる適応物は、当分野の技術者には明らかである。

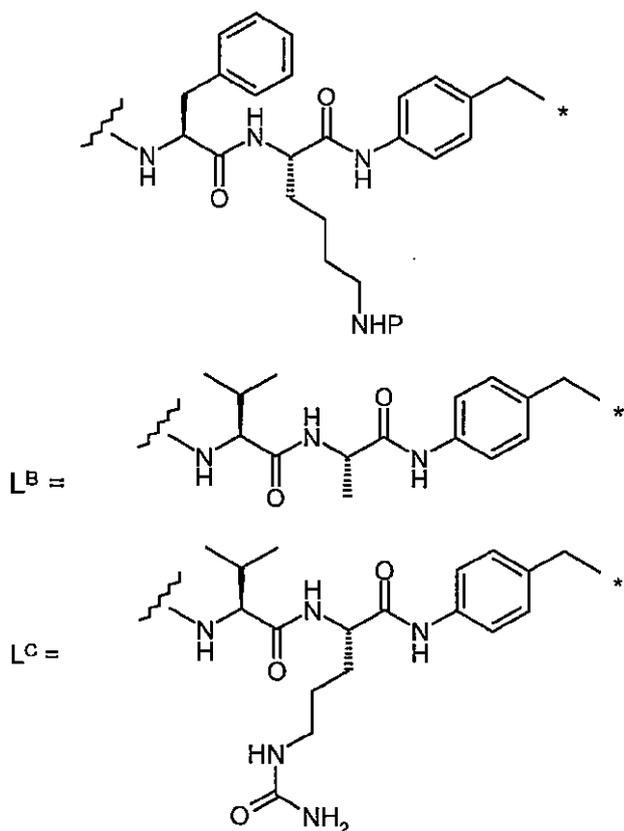
【0751】

好ましい合成

一実施形態において、コンジュゲートは化合物14であり、スキーム3に示されている通りに調製される。ジペプチド7a,b及び8は、下記の実験項に記載されている通りに調製される。そのスキームにおいて、リンカー部分 $L^1$ 及び $L^2$ は、以下の構造を有する。

20

【化114】

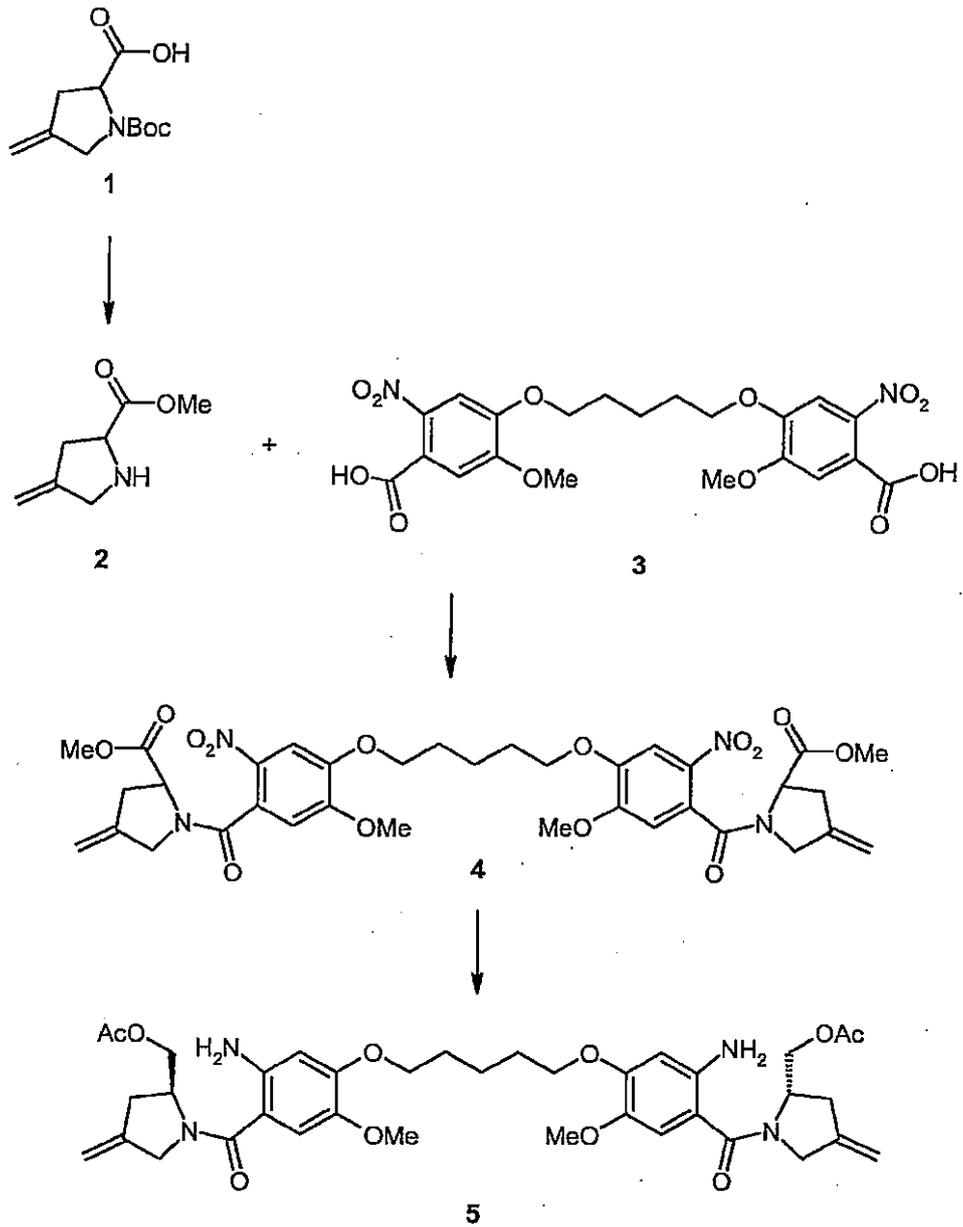


30

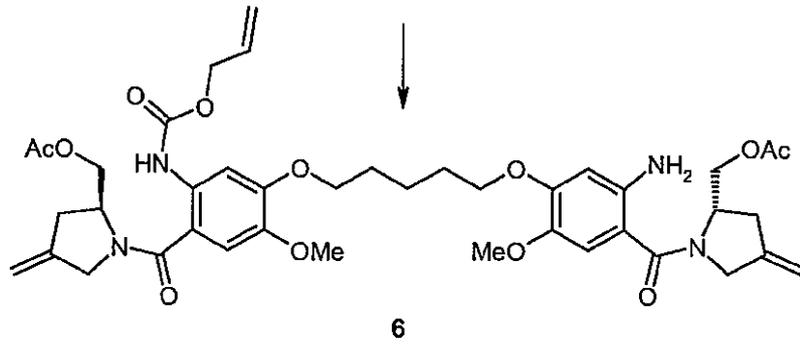
40

【化 1 1 5】

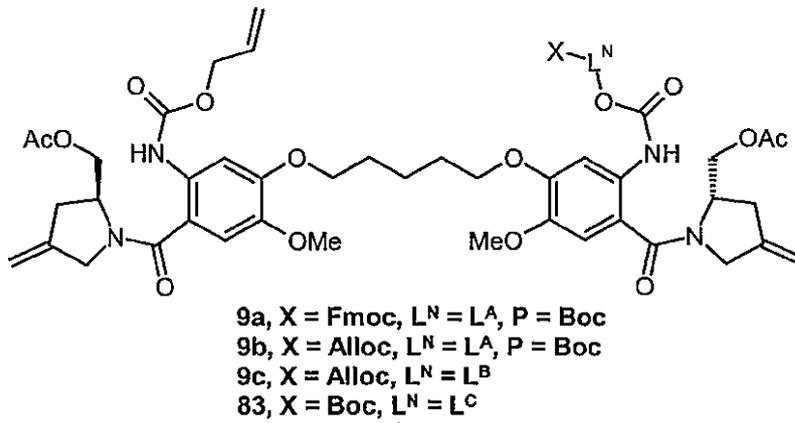
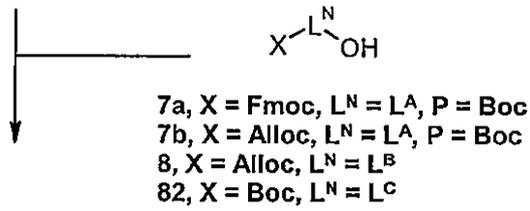
スキーム3



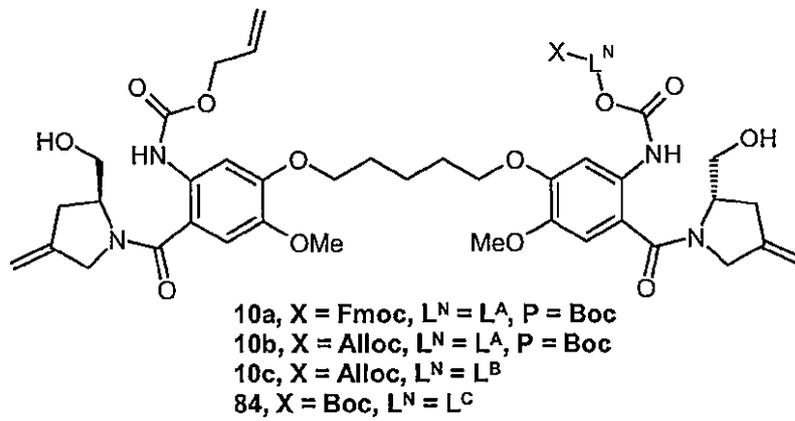
【 0 7 5 2 】



10



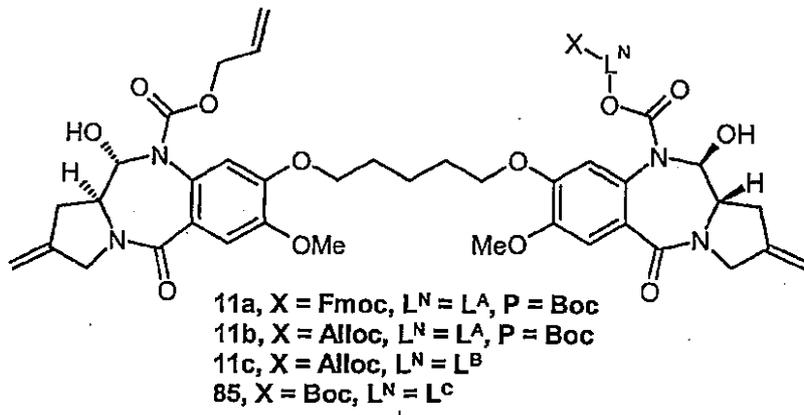
20



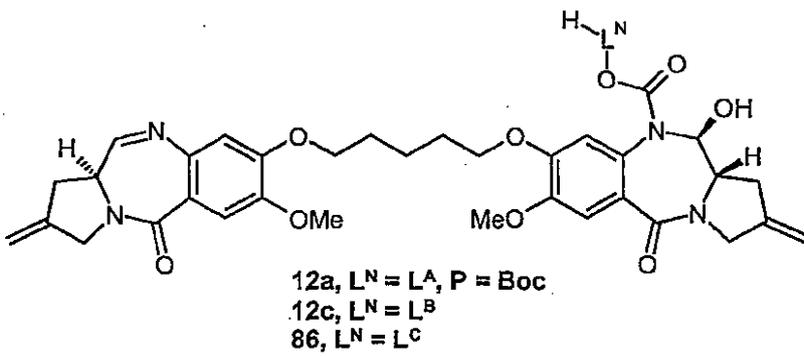
30

40

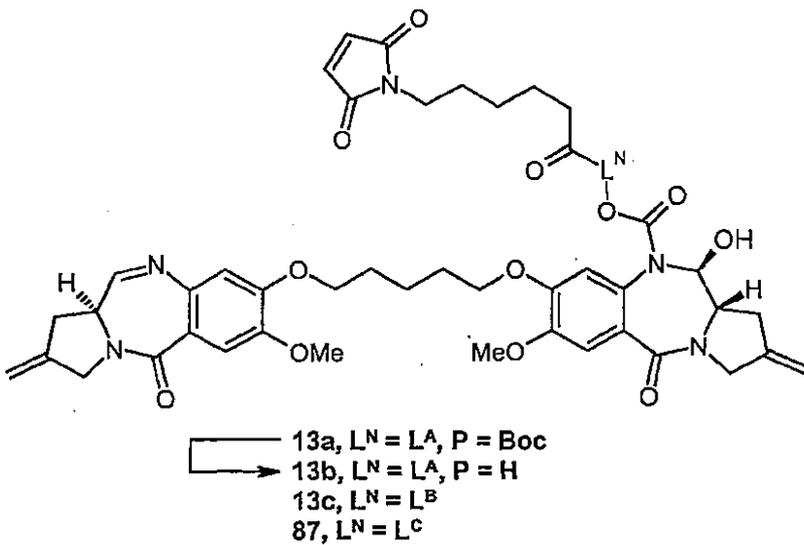
【 0 7 5 3 】



10



20



30

細胞結合剤

化合物 14a, L<sup>N</sup> = L<sup>A</sup>, P = H  
 化合物 14c, L<sup>N</sup> = L<sup>B</sup>  
 化合物 88, L<sup>N</sup> = L<sup>C</sup>

40

【 0 7 5 4 】

ジペプチドがL<sup>2</sup>に対応する化合物13cは、類似の方法によって12cから調製することができる。

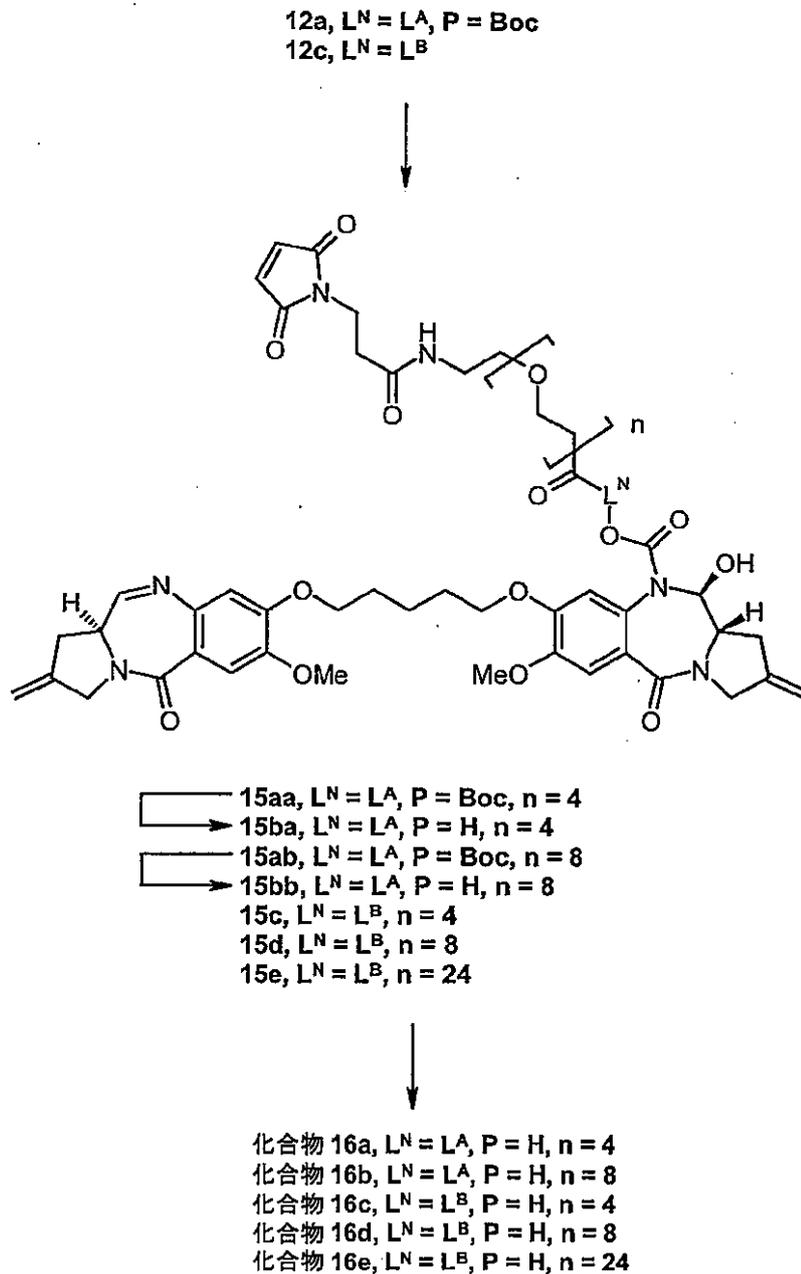
【 0 7 5 5 】

50

一実施形態において、コンジュゲートは化合物16a又は16bであり、該化合物は下記スキーム4に示されている通りに調製され、ここで、化合物12aは上記した通りに調製することができる。

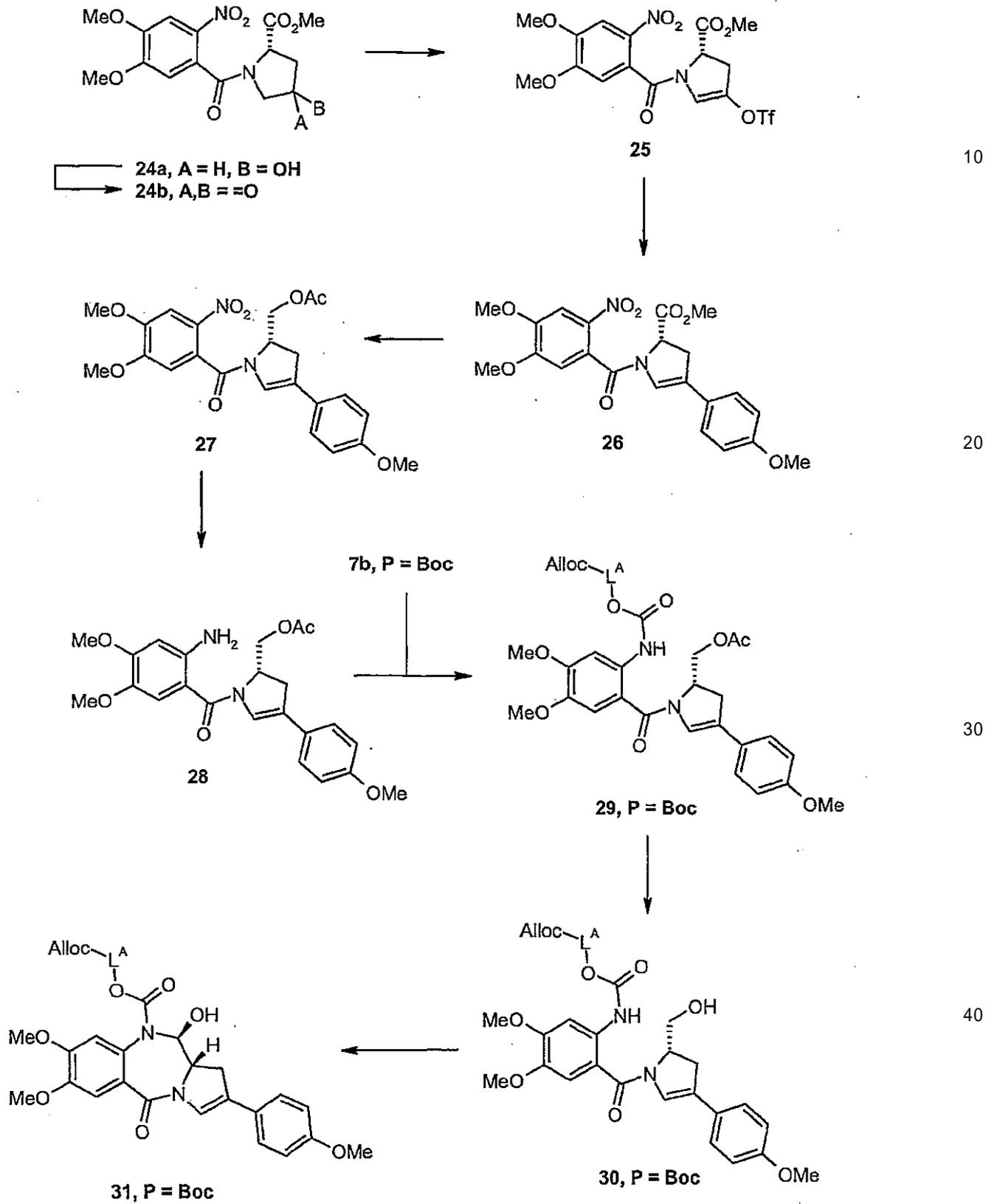
【化116】

スキーム4



【化 1 1 7】

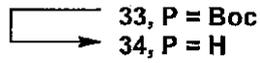
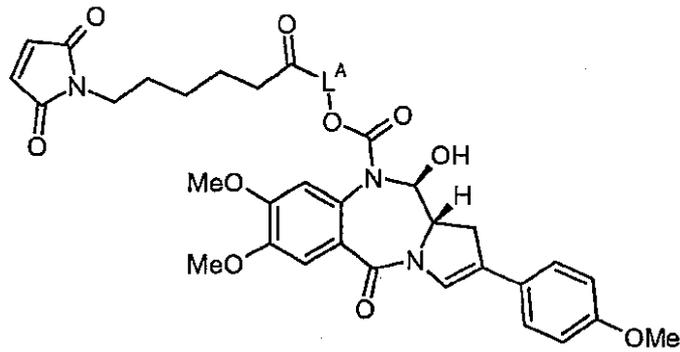
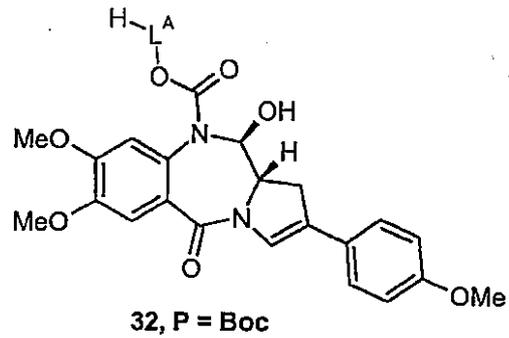
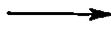
スキーム5



【化118】

スキーム6

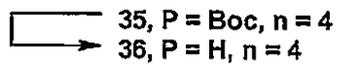
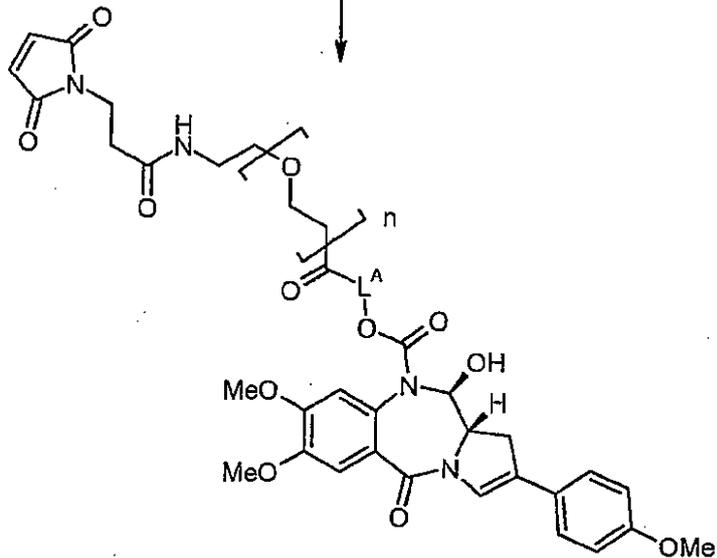
31, P = Boc



【化119】

スキーム7

32, P = Boc



10

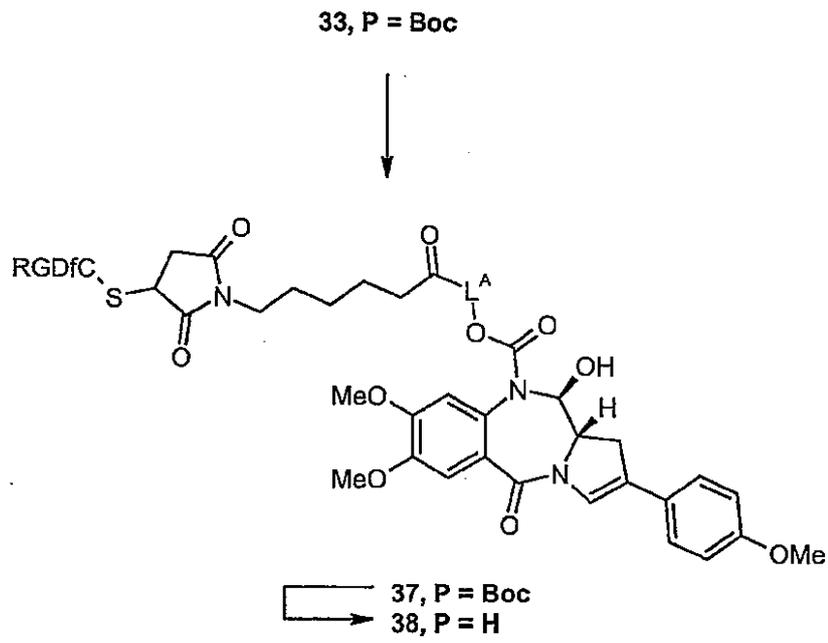
20

30

40

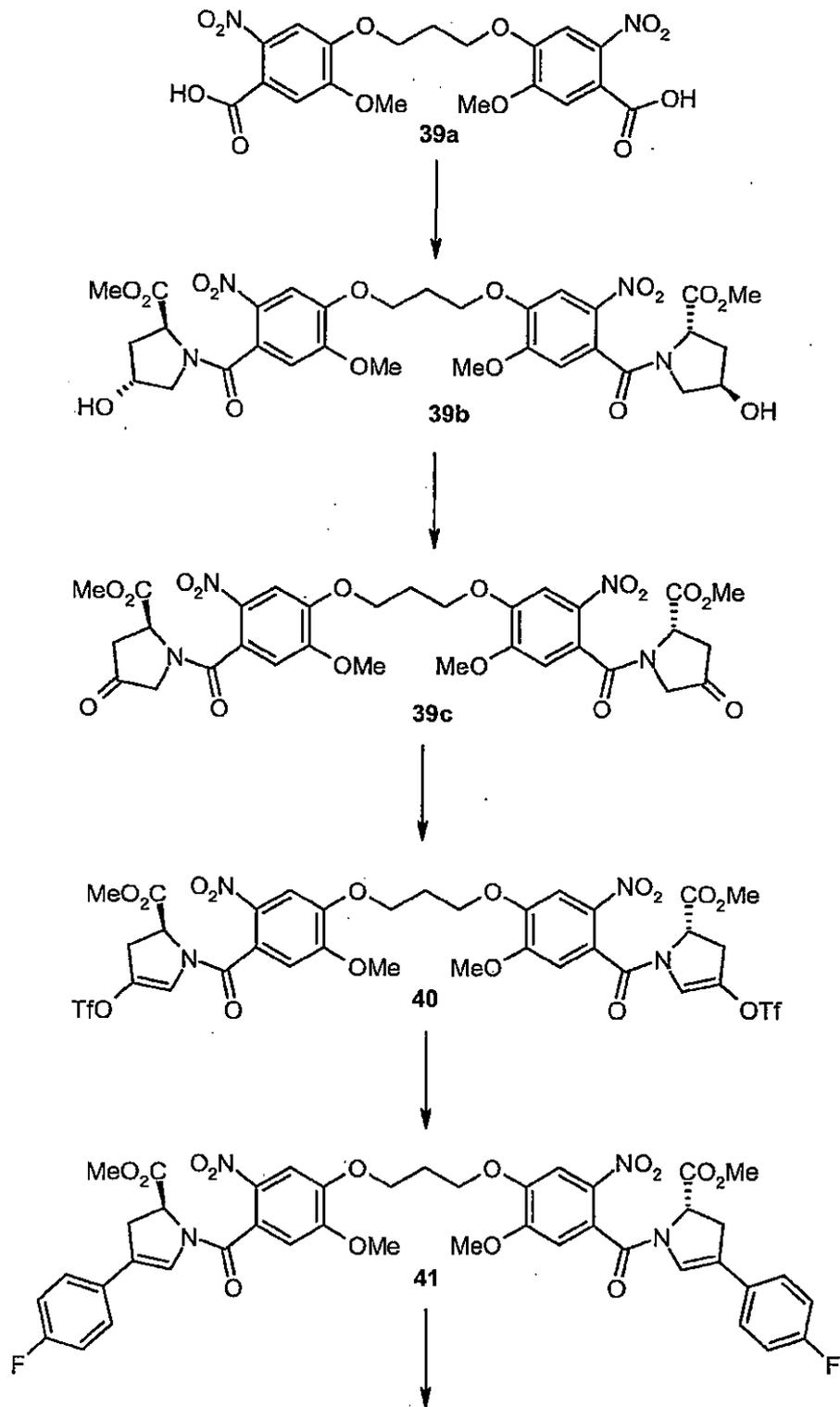
50

【化 1 2 0】  
スキーム 8



【化121】

スキーム9



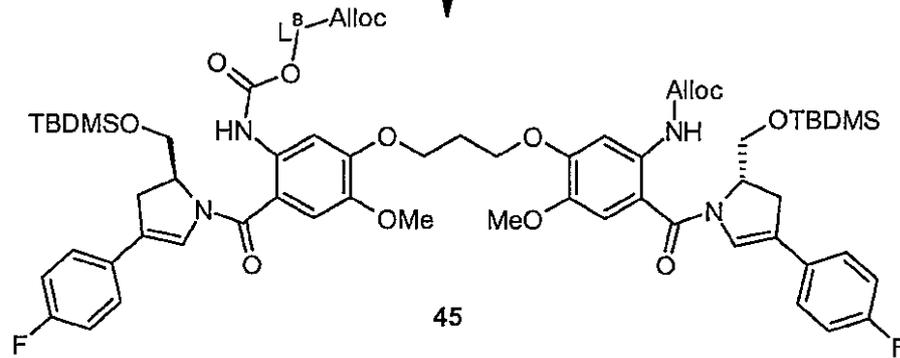
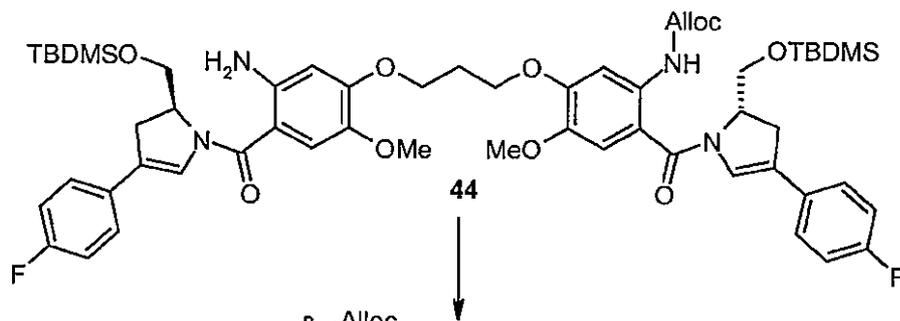
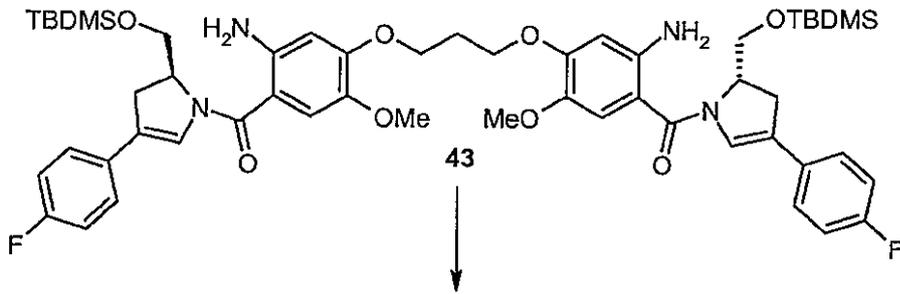
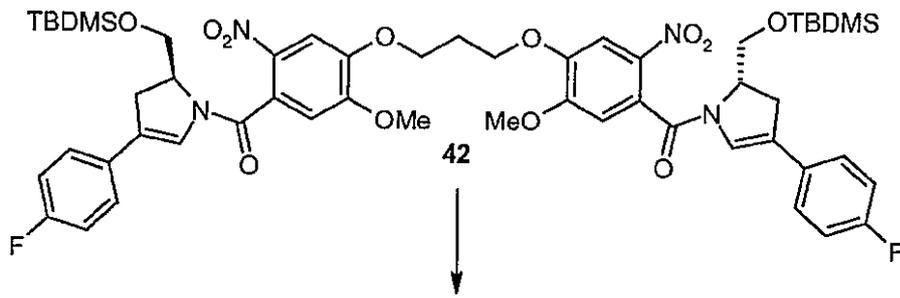
10

20

30

40

【0756】

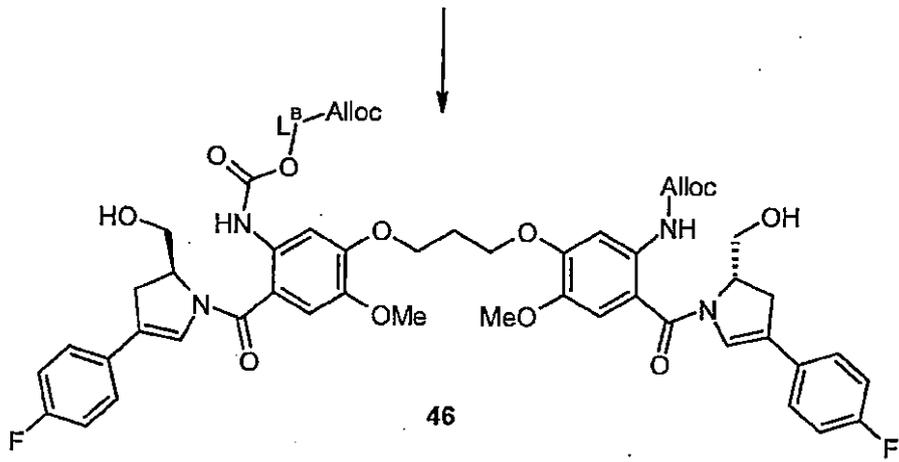


10

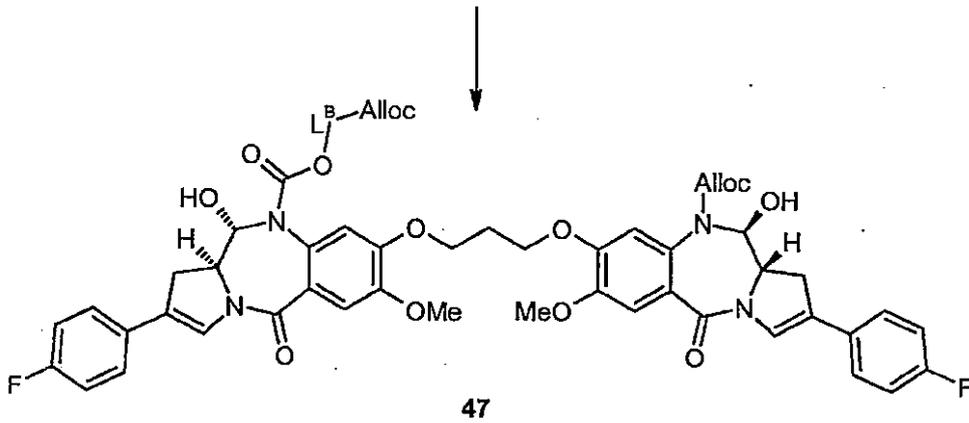
20

30

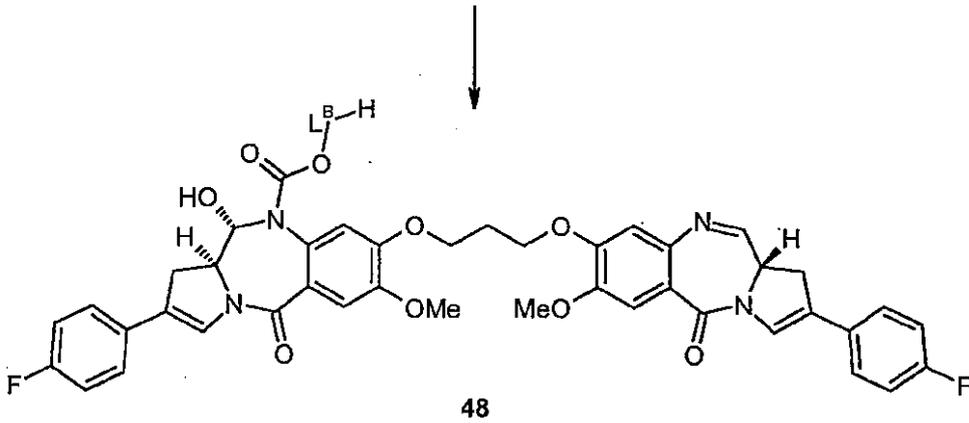
【 0 7 5 7 】



10



20

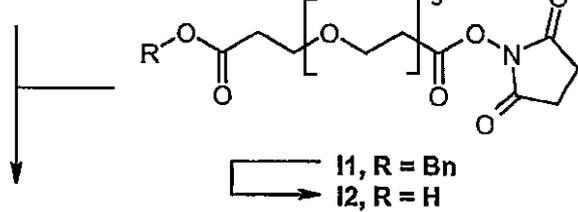


30

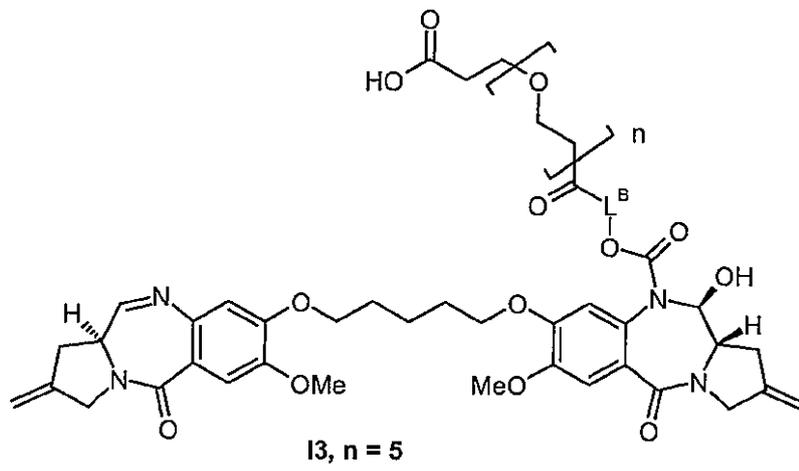
【化122】  
スキーム10

40

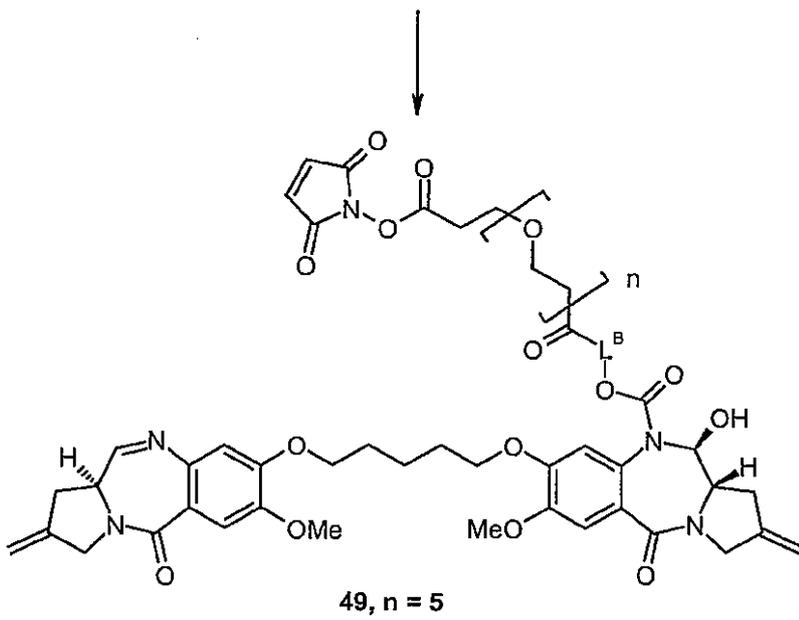
12c, L<sup>N</sup> = L<sup>B</sup>



【0758】



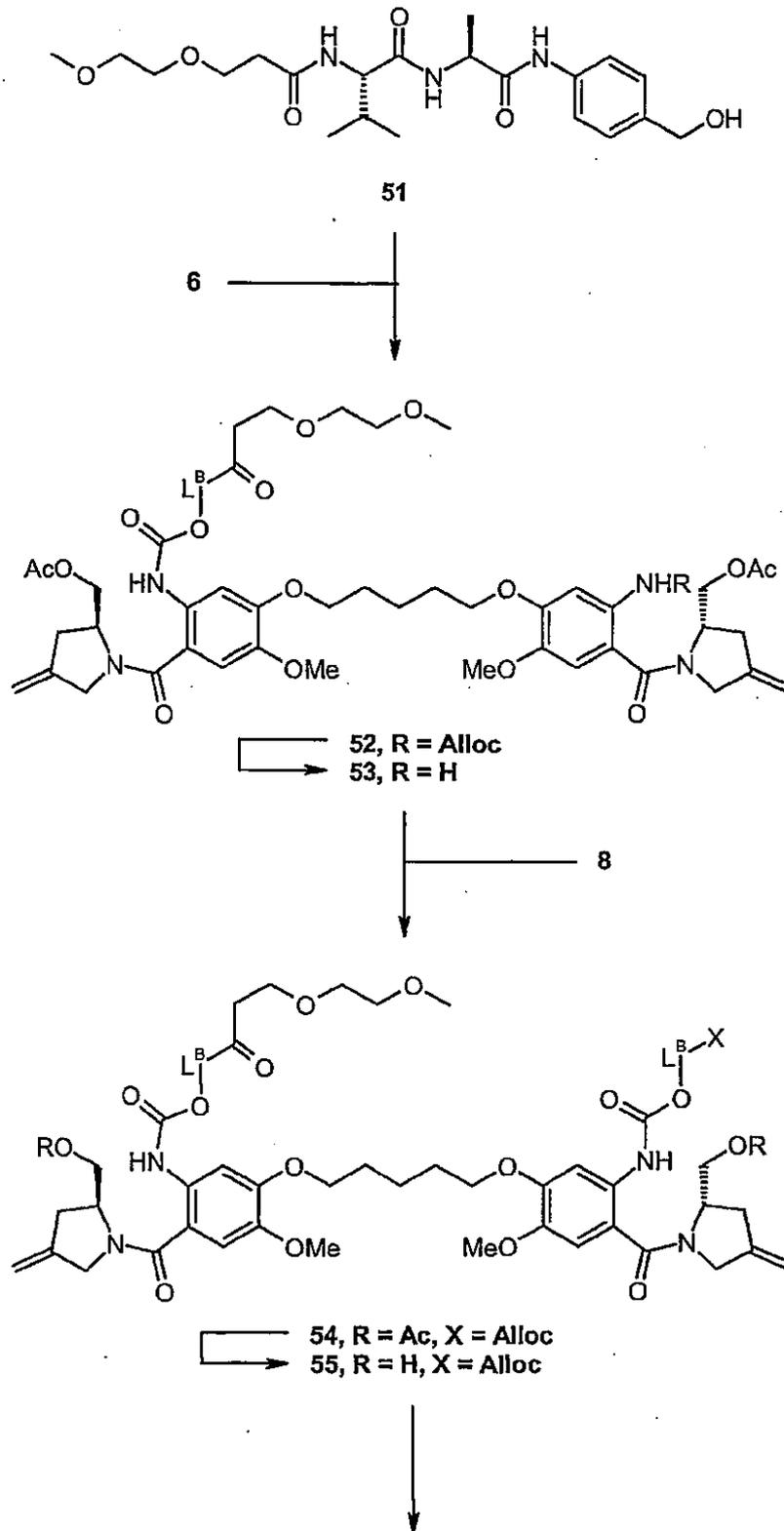
10



20

30

【化 1 2 3】  
スキーム11

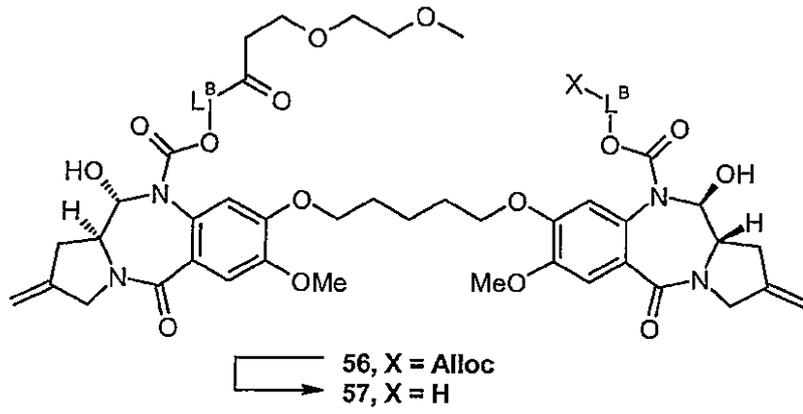


10

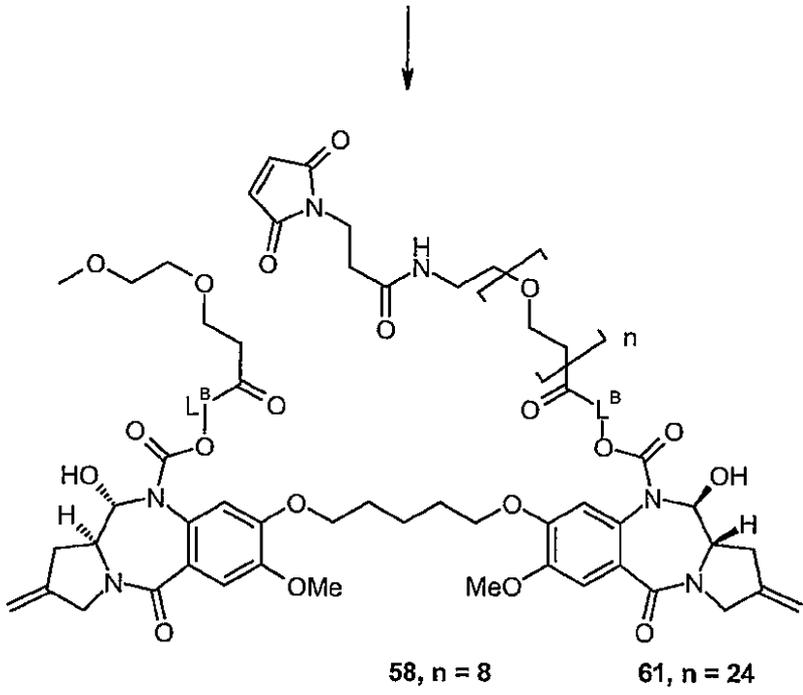
20

30

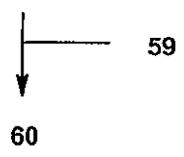
40



10



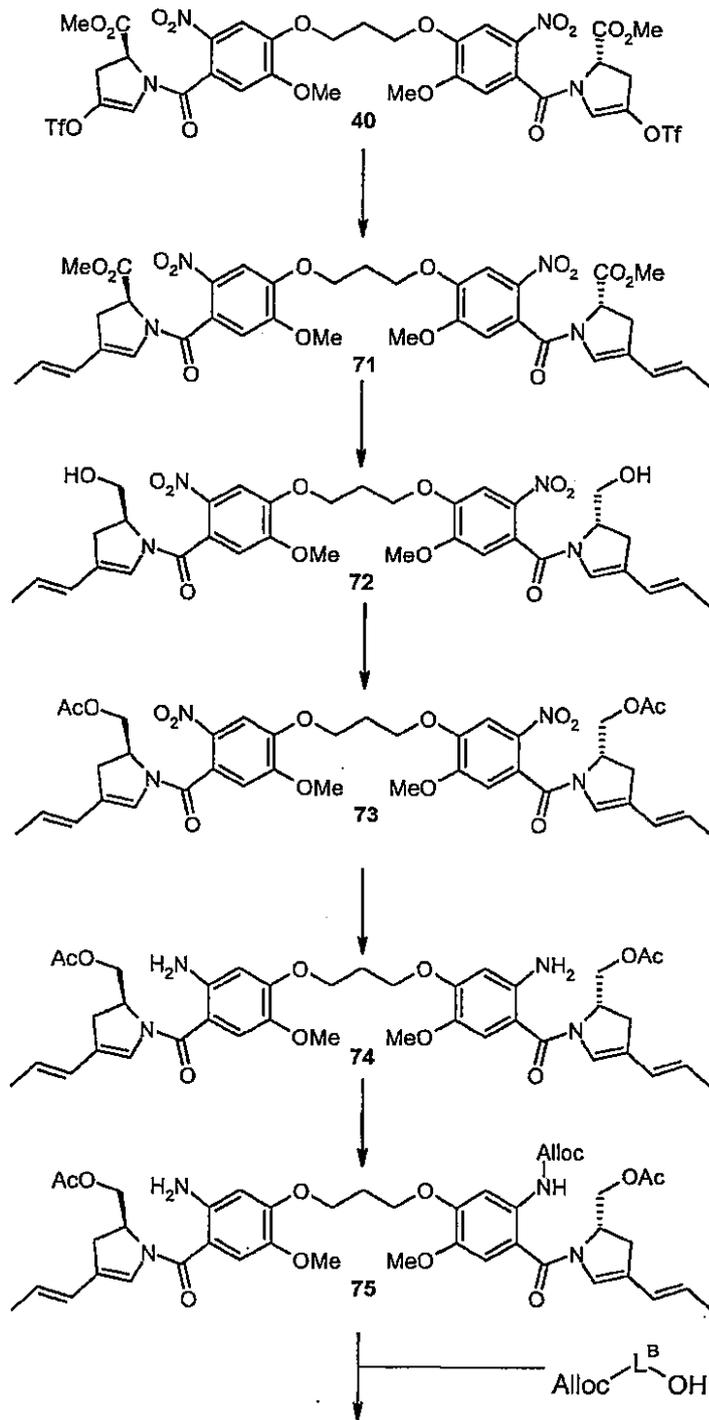
20



30

【化124】

スキーム15



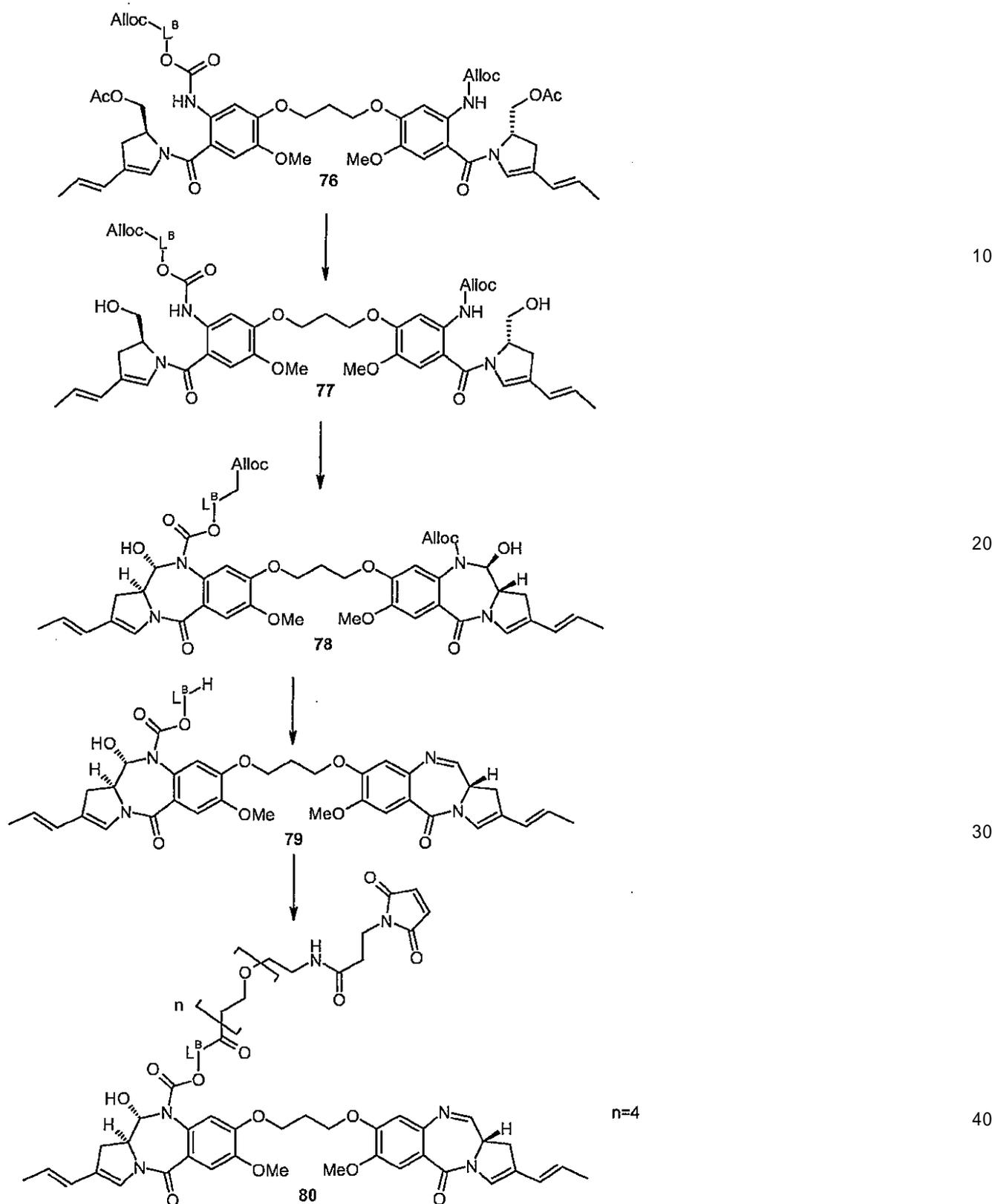
10

20

30

40

【0760】



## 【0761】

本発明をここで、以下の非限定的な例を参照にしてさらに記載する。当業者には、これらの観点における本発明の他の実施形態が考えられる。

## 【0762】

本明細書において引用されている全ての文献の開示内容は、本発明を実施するために当業者がそれを使用することができるように、本明細書によって相互参照により本明細書に

明確に組み込む。

【実施例】

【0763】

一般的情報

反応の進行は、アルミニウムプレート上に蛍光指標を乗せたMerck Kieselgel 60 F254 シリカゲルを使用する薄層クロマトグラフィー(TLC)によってモニタリングした。TLCの可視化は、別段の記述がない限り、UV光又はヨウ素蒸気で達成した。フラッシュクロマトグラフィーは、Merck Kieselgel 60 F254シリカゲルを使用して行った。抽出及びクロマトグラフィーの溶媒は、Fisher Scientific、U.Kから購入し、さらに精製することなく使用した。全ての化学薬品は、Aldrich、Lancaster又はBDHから購入した。

10

【0764】

LC/MS条件は以下の通りであった。HPLC (Waters Alliance 2695)は、水(A) (ギ酸0.1%)及びアセトニトリル(B) (ギ酸0.1%)の移動相を使用して実行した。勾配:初期組成1.0分かけて5% B、次いで3分以内で5% Bから95% B。該組成を0.5分間95% Bで保持し、次いで0.3分で5% Bに戻った。合計の勾配実行時間は5分に相当する。流量3.0mL/min、400 µLは、質量分析計に入るゼロデッド体積のT字片を介してスプリットした。波長検出範囲: 220nmから400nm。関数型:ダイオードアレイ(535スキャン)。カラム: Phenomene (登録商標) Onyx Monolithic C18 50 × 4.60mm。

【0765】

以下のセミ分取用HPLC方法が使用された。逆相高速液体クロマトグラフィー(HPLC)は、以下の寸法:分析には150 × 4.6mm、及び分取作業には250 × 9.4mmのZorbax Eclipse XDB C-18カラム上で実施した。全てのHPLC実験は、勾配条件:初期固定組成20分かけて5% Bから50% B、5分間50% Bで保持、次いで2分以内に50% Bから100% B、3分間100% Bで保持、2分で5% Bに戻り、3分間保持で行った。勾配実行の全持続期間は35分であった。使用された溶出液は、溶媒A (0.02% TFAとのH<sub>2</sub>O)及び溶媒B (0.02% TFAとのCH<sub>3</sub>CN)であった。使用された流量は、分析には1.20ml/min、及び分取用HPLCには5.00ml/minであった。

20

【0766】

化合物2-(S)-2-(メトキシカルボニル)-4-メチレンピロリジニウムクロライド

化合物2は、PBD化合物の調製においてWO 2007/085930での使用に関しても記載されている

30

化合物2は、本明細書によって参照により組み込むWO 2007/085930に記載されている通り、トランス-4-ヒドロキシ-プロリンから調製することができる。特に、化合物2のTFA塩の調製を記載している実施例13が特に関連している。

【0767】

別法として、化合物2は、下に記載されている通りの化合物1から調製することができる。

【0768】

(S)-1-tert-ブチル-2-メチル4-メチレンピロリジン-1,2-ジカルボキシレート

炭酸カリウム(19.92g、14mmol、3当量)を、DMF (270mL)中の化合物1 (10.92g、48mmol、1当量)の攪拌溶液に添加した。生じた白色懸濁液を室温で30分間攪拌し、この時点でヨードメタン(21.48g/9.5mL、151mmol、3.15当量)を添加した。反応混合物を室温で3日間攪拌するままにした。DMFを減圧下での回転蒸発によって除去することで、黄色残渣が得られ、これを酢酸エチルと水との間で分配した。有機層を分離し、水性相を酢酸エチルで抽出した。合わせた有機層を水、ブラインで洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。酢酸エチルを減圧下での回転蒸発によって除去することで、粗生成物を黄色の油として得た。粗生成物をフラッシュクロマトグラフィー[85% n-ヘキサン/15%酢酸エチル]によって精製することで、該生成物が無色の油として得られた(F Manfreら、J. Org. Chem. 1992、57、2060~2065も参照のこと)。

40

【0769】

(S)-2-(メトキシカルボニル)-4-メチレンピロリジニウムクロライド

50

ジオキサン中の塩酸の溶液(4M、63mL、254.4mmol、4.5当量)を、(S)-1-tert-ブチル2-メチル4-メチレンピロリジン-1,2-ジカルボキシレート(13.67g、56.6mmol、1当量)に室温で添加した。CO<sub>2</sub>の遊離及びBoc基の除去を示す泡立ちが観察された。該生成物が白色の固体として沈殿し、追加のジオキサンを添加することで攪拌を促進し、反応混合物を1時間攪拌するままにし、次いでエーテルで希釈した。沈殿した生成物を真空濾過によって回収し、追加のエーテルで洗浄した。空気乾燥で、所望の生成物2が白色の粉末として得られた(9.42g、94%) (P Herdwijnら、Canadian Journal of Chemistry. 1982、60、2903~7も参照のこと)。

【0770】

化合物3

化合物3は、WO 2006/111759及びGregsonらに記載されている通りに調製することができる。

【0771】

化合物4

化合物4は、化合物3及び化合物2から調製することができる。

【0772】

触媒的量の無水DMF (0.5mL)を、無水DCM (180mL)中の塩化オキサリル(9.1g、6.25mL、71.7mmol、3当量)及び化合物3 (11.82g、23.9mmol、1当量)の攪拌懸濁液に、室温で添加した。激しい泡立ちがDMFの添加後に観察され、反応混合物を、塩化カルシウム乾燥管が取り付けられている丸底フラスコ中で18時間攪拌するままにした。生じた澄明な液を減圧下で蒸発させ、固体をエーテルで粉碎した。固体生成物を真空濾過によって回収し、追加のエーテルで洗浄し、真空中にて40℃で1.5時間乾燥させた。この固体を次いで、TEA (12.08g、119.6mmol、5当量)及び乾燥DCM (110mL)中の化合物2 (9.35g、52.6mmol、2.2当量)の懸濁液に少量ずつ添加し、温度を-40から-50℃の間にドライアイス/アセトニトリル浴を用いて維持した。反応混合物を-40℃で1時間攪拌するままにし、次いで室温に温まるままにし、この時点で、LCMSは出発原料の完全な消費を示した。反応混合物を追加のDCMで希釈し、塩酸水溶液(1M、2×200mL)、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(2×250mL)、水(250mL)、ブライン(250mL)で順次洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。DCMを減圧下での回転蒸発によって除去することで、該生成物が黄色の気泡体として得られた(13.94g、79%)。分析データ:RT3.95分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 741 ([M+1]<sup>+</sup>、100)。

【0773】

化合物5

化合物5は、ビス-アルコール及びビス-アセテートを介する三つのステップにおいて化合物4から調製することができる。

【0774】

ビス-アルコール

固体水素化ホウ素リチウム(0.093g、4.3mmol、3当量)を、一度に、乾燥THF (10mL)中のエステル4 (1.05g、142mmol、1当量)の溶液に、窒素雰囲気下にて0℃(氷浴)で添加した。反応混合物を0℃で30分間攪拌するままにし、次いで室温に温まるままにし、この時点で、オレンジのガムの沈殿物が観察された。反応混合物を室温でさらに2時間攪拌するままにし、次いで氷浴中で冷却し、水(20mL)で処理することで、黄色懸濁液を得た。泡立ちが止まるまで、塩酸(1M)を慎重に添加した(激しい泡立ち!)。反応混合物を酢酸エチル(4×50mL)で抽出し、合わせた有機層を水(100mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。酢酸エチルを減圧下での回転蒸発によって除去することで、ビス-アルコール生成物を黄色の気泡体として得た(0.96g、99%)。該反応を12.4gスケールで反復することで、11.06gの該生成物(96%)を得た。分析データ: RT3.37分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 685 ([M+1]<sup>+</sup>、100)。

【0775】

ビス-アセテート

乾燥DCM (100mL)中の塩化アセチル(3.4g/3.1mL、43.5mmol、2.6当量)の溶液を、滴下に

10

20

30

40

50

より、乾燥DCM (200mL)中のビス-アルコール(11.46g、16.73mmol、1当量)及びトリエチルアミン(5.07g、6.98mL、50.2mmol、3当量)の攪拌溶液に、0 で窒素雰囲気下にて添加した。反応混合物を室温に温まるままにし、攪拌を一時間続けた。TLC及びLCMSは、反応が完了したことを明らかにした。反応混合物をブライン(200mL)で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。減圧下での回転蒸発によるDCMの除去で粗生成物を得た。フラッシュクロマトグラフィー[20% n-ヘキサン/80%酢酸エチルから10% n-ヘキサン/90%酢酸エチルの勾配溶出]で、純粋なビス-アセテートを黄色の気泡体として得た(10.8g、84%)。分析データ: RT3.35分; MS(ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 769 ([M+1]<sup>+</sup>、100)。

【0776】

化合物5

亜鉛粉末(14.2g、2.17mmol、30当量)を、エタノール(250mL)及び酢酸(65mL)中のビス-アセテート(5.56g、7.24mmol、1当量)の溶液に添加した。攪拌した反応混合物を還流で加熱し、黄色の溶液が無色になった(亜鉛凝集も観察されて、反応物を攪拌するのを困難にした)。反応を一時間続くままにし、この時点でLCMSは、反応が完了したことを示した。反応混合物を冷却するままにし、セライトに通して濾過し、フィルターパッドをDCMで洗浄した。濾液を水(3×500mL)、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(2×250mL)、ブライン(500mL)で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。減圧下での回転蒸発で、生成物5をオフホワイト気泡体として得た(4.71g、92%)。分析データ: RT 3.33分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 709 ([M+1]<sup>+</sup>、100)。

【0777】

化合物6

化合物6は、三つのステップにおいて化合物5から調製することができる。

【0778】

モノ-Alloc生成物

乾燥DCM (150mL)中のクロロギ酸アリル(0.634g/0.56mL、5.6mmol、0.9当量)の溶液を、滴下により、乾燥DCM (500mL)中の化合物5 (4.145g、5.8mmol、1当量)及びピリジン(0.106g/0.11mL、11.1mmol、1.9当量)の溶液に、-78 (ドライアイス/アセトン浴)で添加した。反応混合物を-78 で1時間攪拌し、次いで室温に達するままにした。反応混合物を飽和硫酸銅水溶液(2×300mL)、水(400mL)、ブライン(400mL)で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。減圧下での回転蒸発で、粗生成物が暗い気泡体として得られた。フラッシュクロマトグラフィー[40% n-ヘキサン/60%酢酸エチルから5%メタノール/95%酢酸エチル]による精製で、ビス-alloc生成物(0.84g)、所望のモノ-alloc生成物(1.94g、44%)及び回収ビス-アニリン(0.81g)を得た。

【0779】

分析データ: RT 3.32分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 793 ([M+1]<sup>+</sup>、100); MS (ES<sup>-</sup>) m/z (相対強度) 791 ([M-1]<sup>-</sup>、100)。

【0780】

イソシアネート

トリエチルアミン(0.018g/25 µL、0.18mmol、1.35当量)を、乾燥トルエン(5mL)中のモノ-alloc生成物(0.106g、0.134mmol、1当量)及びトリホスゲン(0.015g、4.8×10<sup>-2</sup>mmol、0.36当量)の攪拌溶液に、窒素雰囲気下にて-10 で添加した。1時間後、IR分光法はイソシアネートの伸展を2268cm<sup>-1</sup>で明らかにし、反応混合物を室温に達するままにした。

【0781】

化合物6

乾燥THF (5mL)中のアルコール6a (0.106g、0.15mmol、1.1当量)及びトリエチルアミン(0.018g、25 µL、0.18mmol、1.35当量)の溶液を、滴下により、新たに調製したイソシアネートに添加した。反応混合物を還流で4時間加熱し、この時、TLCが新規の生成物の形成を明らかにした。反応混合物を蒸発乾固させ、DCMと水との間で分配した。水層を分離し、有機相をブライン(100mL)で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。減圧下での回転蒸発で、粗生成物が黄色の油として得られ、これをフラッシュクロマトグラフィー[40% n

10

20

30

40

50

-ヘキサン/60%酢酸エチルから20% n-ヘキサン/80%酢酸エチル、酢酸エチル中5%ずつ増加の勾配溶出]によって精製することで、所望の生成物が白色の気泡体として得られた(0.092g、45%の収率)。

【0782】

分析データ: RT 4.05分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1540 ([M+2]<sup>+</sup>, 30); 1557 ([M+18]<sup>+</sup>, 50); MS (ES<sup>-</sup>) m/z (相対強度) 1585 ([M<sup>-</sup>+2Na]<sup>-</sup>, 50)。

【0783】

化合物7

化合物7は、二つのステップにおいて化合物6から調製することができる。

【0784】

ビス脱アセチル化生成物

THF (1M、0.35mL、0.35mmol、4当量)中のsuperhydride (商標)の溶液を、シリンジを介する滴下により、乾燥THF (7mL)中のアセテート6 (0.135g、 $8.8 \times 10^{-2}$ mmol、1当量)の攪拌溶液に、-78 (ドライアイス/アセトン)で添加した。反応混合物を-78 で一時間攪拌するままにし、この時、LCMSは出発原料が無いこと、並びにモノ及びビス脱アセチル化生成物に対応する二種の新規の化合物の形成を明らかにした。superhydride (商標)のさらなるアリコット(1M、0.35mL、0.35mmol、4当量)を反応混合物に添加し、攪拌をさらに一時間続けた。この時点でのLCMSは、ビス脱アセチル化生成物への完全な変換を明らかにした。クエン酸(1M、1mL)を反応混合物に添加し(激しい泡立ち!)、これを次いで室温に達するままにし、この時点で、クエン酸のさらなるアリコット(1M、1mL)を添加した。溶媒を減圧下での回転蒸発によって除去し、生じた残渣を酢酸エチル(25mL)と水(25mL)との間で分配した。水性相を分離し、酢酸エチル層を水(25mL)、ブライン(25mL)で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。減圧下での回転蒸発による溶媒の除去で、粗生成物が黄色の油として得られ、これを、フラッシュクロマトグラフィー[酢酸エチル 1%メタノール/99%酢酸エチルから2%メタノール98%酢酸エチルの勾配溶出]にかけることで、純粋な生成物が無色のガラスとして得られた(0.056g、44%)。分析データ: RT 3.78分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1456 ([M+1]<sup>+</sup>, 75)。

【0785】

化合物7

デス-マーチンペルヨージナン(0.026g、 $6.1 \times 10^{-5}$ mol、2.1当量)を、一度に、乾燥DCM (5mL)中のビス脱アセチル化生成物(0.042g、 $2.9 \times 10^{-5}$ mol、1当量)の溶液に、窒素雰囲気下で添加した。溶液を室温で4時間攪拌し、この時LCMSは、反応が完了したことを示した。濁った懸濁液を、DCM (20mL)で洗浄しながら濾過した。濾液を飽和炭酸水素ナトリウム溶液(25mL)、水(25mL)、ブライン(25mL)で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。溶媒を減圧下での回転蒸発によって除去することで、生成物7をオフホワイト気泡体として得た(0.035g、84%)。分析データ: RT 3.70分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1451 ([M+1]<sup>+</sup>, 30)。

【0786】

化合物14

化合物14a又は14bは、化合物8を介して化合物7から調製することができる。化合物7中のAlloc保護基は、適切な条件、例えばテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)下にてピロリジンの存在下で除去することができる。これらの条件下で、Fmoc保護基も除去される。別法として、Fmoc基は、別のステップにおいて、Alloc基の除去の前又は後のいずれかで、DMF中のピペリジンを使用して除去することができる。脱保護ステップの生成物は、一方のPBD単量体のN10-C11位にイミン官能性、及び他方の単量体のN10-C11位にカルピノールアミン官能性基を有するイミン-カルピノールアミン生成物であり、ここで、カルピノールアミンはN10位にリンカー-C(=O)-L<sup>1</sup>-NH<sub>2</sub>を有する。

【0787】

該イミン-カルピノールアミンを塩基の存在下でMC-OSuと反応させることで、化合物8を生成することができる。例えば、Dubowchikら、Bioconjugate Chem. 2002、13、855~869

10

20

30

40

50

を参照されたい。

【0788】

該アミノ酸側鎖保護基は、例えば酸性条件下で化合物8から除去することができる。生じた生成物を次いで、チオール官能性を保有する適切な抗体にコンジュゲートすることで、化合物9を得ることができる。

【0789】

一例において、抗体をDTTで処理することで、鎖間ジスルフィド結合を還元することができる。遊離チオール基を保有する生じた抗体を次いで、化合物8から誘導されるマレイミド含有化合物と反応させることで、化合物9を生成することができる。化合物9は、例えばダイアフィльтраーションによって精製することができる。例えば、Dubowchikら、Bioconjugate Chem. 2002、13、855~869を参照のこと。

10

【0790】

化合物18

ジシクロヘキシルカルボジイミド(2.46g、11.92mmol、1.05当量)を、乾燥DCM (120mL)中のN-ヒドロキシスクシンイミド(1.44g、12.5mmol、1.1当量)及びN-allocフェニルアラニン(17) (2.83g、11.35mmol、1当量)の懸濁液に、0 で添加した。混合物を0 で30分間、次いで室温で16時間攪拌した。反応混合物を濾過し、濾液を減圧下で蒸発させた。残渣をDCM (50mL)中に再溶解し、1時間静置するままにし、濾過することで、沈殿したジシクロヘキシル尿素を除去した。減圧下での蒸発で、該生成物を白色の固体として得た(3.91g、99%)。分析データ：RT 2.93分；MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 369 ([M+Na]<sup>+</sup>、50)。

20

【0791】

化合物20

THF (50mL)中のスクシンイミド(18) (3.91g、11.29mmol、1当量)の溶液を、THF (50mL)及びH<sub>2</sub>O (100mL)中のH-Lys(Boc)-OH (19) (2.92g、11.85mmol、1.05当量)及びNaHCO<sub>3</sub> (1.04g、12.42mmol、1.1当量)の溶液に添加した。混合物を室温で72時間攪拌し、THFを減圧下で蒸発させた。pHをクエン酸でpH 3~4に調節することで、白色ガムを沈殿させた。これを酢酸エチル(2×250mL)で抽出し、合わせた抽出物をH<sub>2</sub>O (200mL)、ブライン(200mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、減圧下で蒸発させることで、該生成物を白色の気泡体として得た(4.89g、91%)。分析データ：RT 3.03分；MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 478 ([M+1]<sup>+</sup>、80)。

30

【0792】

化合物7b

EEDQ (2.66g、10.75mmol、1.05当量)を、乾燥THF (75mL)中のp-アミノベンジルアルコール(21) (1.32g、10.75mmol、1.05当量)及びAlloc-Phe-Lys(Boc)-OH (4.89g、10.24mmol、1.0当量)の溶液に添加した。混合物を室温で18時間攪拌した。溶媒を減圧下で蒸発させることで、淡茶色の固体を得た。固体をジエチルエーテルで粉砕し、過剰なジエチルエーテルで洗浄しながら濾過した。これで、該生成物が白色の固体として得られた(4.54g、76%)。分析データ：RT 3.08分；MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 583.8 ([M+1]<sup>+</sup>、100)。

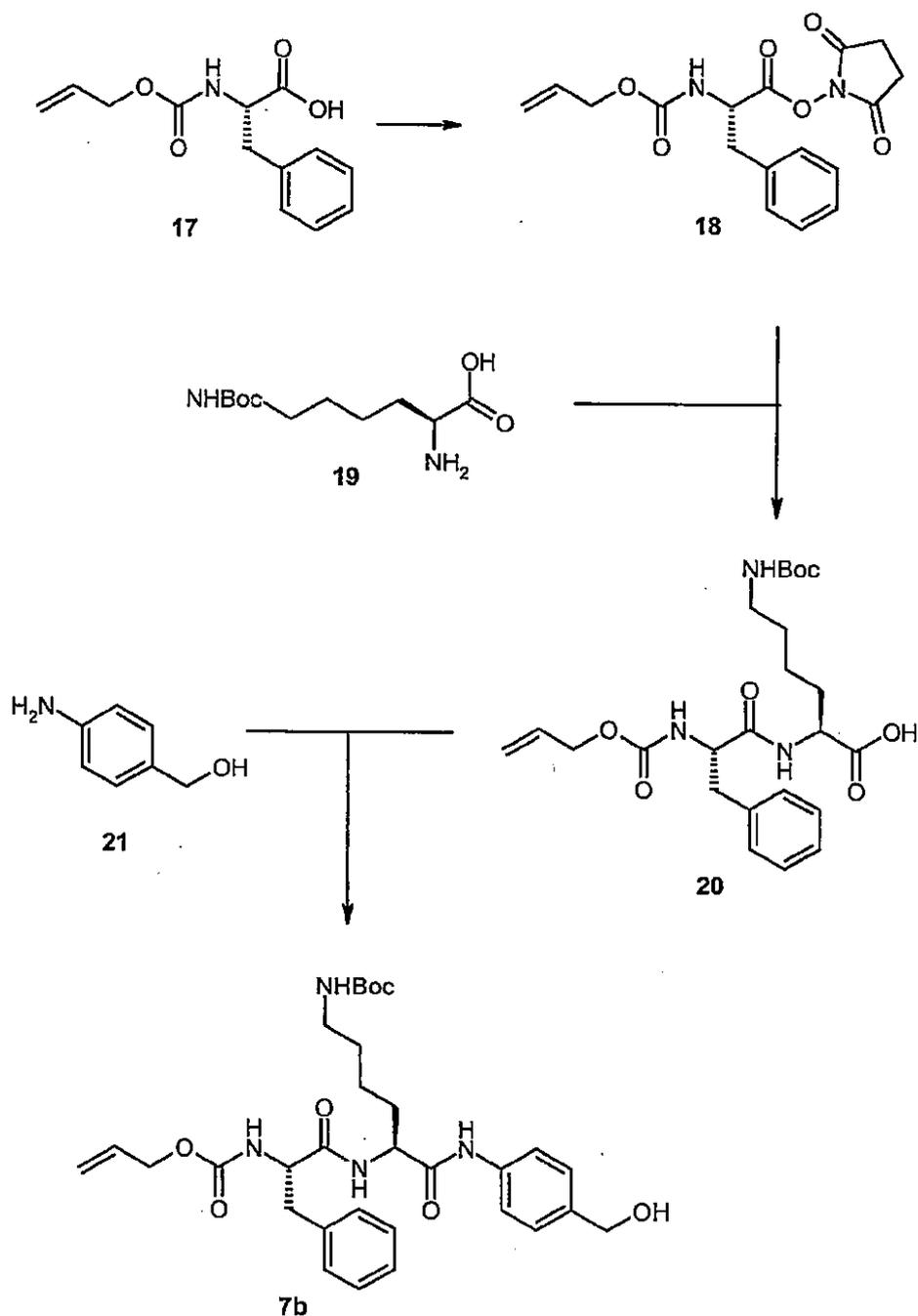
【0793】

7bの合成は、スキーム12において下に記載されている。

40

## 【化125】

## スキーム12



10

20

30

40

50

## 【0794】

## 化合物9b

トリエチルアミン(0.18g、0.25mL、1.79mmol、2.3当量)を、乾燥THF(5mL)中のモノ-*o*-al loc保護ビス-アニリン(6)(0.608g、0.77mmol、1.06当量)及びトリホスゲン(0.088g、0.3mmol、0.39当量)の攪拌溶液に、窒素雰囲気下にて-10 で添加した。反応混合物を室温に達するままにし、試料をメタノールで処理し、LCMSによってカルバミン酸メチルとして分析した。

## 【0795】

乾燥THF(20mL)中のベンジル-アルコール(7b)(0.422g、0.72mmol、1.0当量)及びトリエチルアミン(0.18g、0.25mL、1.79mmol、2.3当量)の溶液を、滴下により、新たに調製したイソシアネートに添加した。反応混合物を60~65 で4時間加熱し、次いで18時間室温で攪拌するままにし、この時、LCMSは新規の生成物の形成を明らかにした。反応混合物を

蒸発乾固させることで、粗生成物が黄色の油として得られ、これをフラッシュクロマトグラフィ- [50% n-ヘキサン/50%酢酸エチルから10% n-ヘキサン/90%酢酸エチルまで10%ずつ増加の勾配溶出] によって精製することで、所望の生成物を白色の気泡体として得た(0.385g、38%)。分析データ: RT 3.78分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1402.8 ([M+H]<sup>+</sup>、15)。

【0796】

化合物10b

H<sub>2</sub>O (1mL)中のK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.158g、1.15mmol、5当量)の溶液を、メタノール(6mL)中のアセテート(9b) (0.32g、0.23mmol、1当量)の溶液に添加した。反応混合物を室温で30分間撹拌した。メタノールを減圧下で蒸発させ、残渣をH<sub>2</sub>O (50mL)で希釈し、酢酸エチル(3×75mL)で抽出した。合わせた酢酸エチル抽出物をH<sub>2</sub>O (100mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、減圧下で蒸発させることで、該生成物を白色の気泡体として得た(0.292g、97%)。分析データ: RT 3.52分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1318.6 ([M+1]<sup>+</sup>、15)。

10

【0797】

化合物11b

デス-マーチンペルヨージナン(0.197g、0.465mmol、2.1当量)を、一度に、乾燥DCM (15mL)中のビス脱アセチル化生成物(10b) (0.292g、0.22mmol、1当量)の溶液に、窒素雰囲気下で添加した。溶液を室温で3.5時間撹拌し、この時LCMSは、反応が完了したことを示した。反応混合物をDCM (50mL)で希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム溶液(3×100mL)、水(100mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。溶媒を減圧下での回転蒸発によって除去することで、粗生成物を得た。フラッシュカラムクロマトグラフィ- [80%酢酸エチル/20% n-ヘキサンから100%酢酸エチルまで5%ずつ増加の勾配溶出] による精製で、生成物11bを黄色の気泡体として得た(0.235g、81%)。分析データ: RT 3.42分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1314.8 ([M+1]<sup>+</sup>、8)。

20

【0798】

化合物12a

Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (4mg、3.5×10<sup>-6</sup>mol、0.02当量)を、乾燥DCM (10mL)中のビス-alloc化合物(11b) (0.230g、0.175mmol、1当量)及びピロリジン(31mg、36μL、0.44mmol、2.5当量)の溶液に、窒素雰囲気下で添加した。溶液を室温で3時間撹拌し、この時点で、LCMSは未反応の(11b)が残っていることを示した。さらなる当量のピロリジン(31mg、36μL、0.44mmol、2.5当量)及びPd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (4mg、3.5×10<sup>-6</sup>mol、0.02当量)を添加し、反応物を室温でさらに18時間撹拌した。LCMSは、反応が完了したことを示した。反応混合物をDCM (40mL)で希釈し、飽和塩化アンモニウム水溶液(100mL)、水(100mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、減圧下で蒸発させることで、黄色の気泡体を得た。これをジエチルエーテルで粉砕することで該生成物を得られ(0.187g、95%)、これを、さらに精製することなく使用した。分析データ: RT 2.80分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1128.5 ([M+1]<sup>+</sup>、20)。

30

【0799】

化合物23

THF (50mL)中のAlloc-Val-OSu (22) ((RT 2.67分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 321.4 ([M+Na]<sup>+</sup>、57)、化合物(16)を調製するための方法に従って調製された)(11.67g、39.0mmol、1当量)の溶液を、THF (100mL)及びH<sub>2</sub>O (100mL)中のH-Ala-OH (3.66g、41.08mmol、1.05当量)及びNaHCO<sub>3</sub> (3.61g、43.03mmol、1.1当量)の溶液に添加した。混合物を室温で72時間撹拌し、THFを減圧下で蒸発させた。pHをクエン酸でpH 3~4に調節することで、白色ガムを沈殿させた。これを酢酸エチル(6×150mL)で抽出し、合わせた抽出物をH<sub>2</sub>O (200mL)、ブライン(200mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、減圧下で蒸発させることで、白色の固体を得た。ジエチルエーテル(過剰)を用いる倍散で、純粋な生成物23が白色の粉末として得られた(7.93g、74%)。

40

【0800】

分析データ: RT 2.17分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 295 ([M+Na]<sup>+</sup>、63)、273 ([M+1]<sup>+</sup>、60)。

50

## 【0801】

## 化合物8

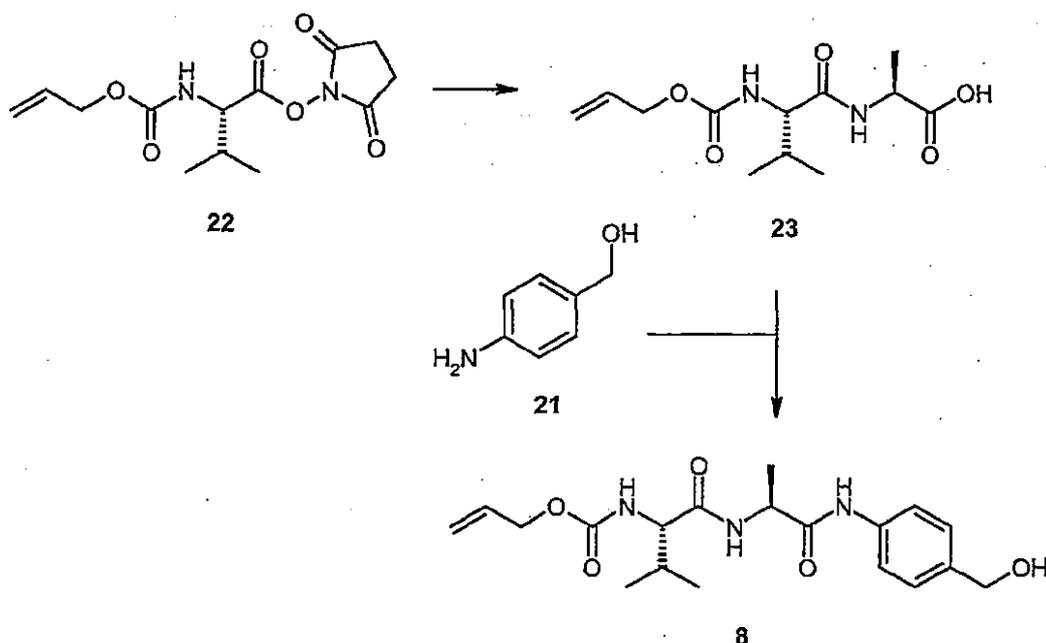
EEDQ (4.79g、19.3mmol、1.05当量)を、乾燥THF (100mL)中のp-アミノベンジルアルコール(21) (2.38g、19.3mmol、1.05当量)及びAlloc-Val-Ala-OH (5.02g、18.4mmol、1.0当量)の溶液に添加した。混合物を室温で72時間撹拌した。溶媒を減圧下で蒸発させることで、淡茶色の固体を得た。固体をジエチルエーテルで粉碎し、過剰なジエチルエーテルで洗浄しながら濾過した。これで、該生成物が白色の固体として得られた(6.2g、89%)。分析データ: RT 2.50分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 400.6 ([M+Na]<sup>+</sup>、50)、378.6 ([M+1]<sup>+</sup>、60)。

## 【0802】

8の合成はスキーム13において下記に示される。

## 【化126】

## スキーム13



## 【0803】

## 化合物9c

トリエチルアミン(0.16g、0.22mL1.59mmol、2.2当量)を、乾燥THF (20mL)中のモノ-alloc保護ビス-アニリン(6) (0.572g、0.72mmol、1当量)及びトリホスゲン(0.077g、0.26mmol、0.36当量)の撹拌溶液に、窒素雰囲気下にて室温で添加した。反応混合物を40 に加熱し、試料をメタノールで処理し、LCMSによってカルバミン酸メチルとして分析した。

## 【0804】

乾燥THF (20mL)中のベンジル-アルコール(8) (0.4g、1.06mmol、1.5当量)及びトリエチルアミン(0.109g、0.15mL、1.08mmol、1.5当量)の溶液を、滴下により、新たに調製したイソシアネートに添加した。反応混合物をLCMSによって30分間隔でモニタリングした。3時間後、LCMSは生成物への変換、カルバミン酸メチル及びモノ-alloc保護ビス-アニリン(6)の存在を示した。さらなる分量のトリホスゲン(0.038g、0.128mmol、0.18当量)を添加し、反応を40 でさらに18時間続けた。反応混合物を蒸発乾固させることで、粗生成物が黄色の油として得られ、これをフラッシュクロマトグラフィー[100%クロロホルムから97%クロロホルム/メタノール3%まで0.5%ずつ増加の勾配溶出]によって精製することで、所望の生成物を白色の気泡体として得た(0.59g、69%)。分析データ: RT 3.58分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1197 ([M+1]<sup>+</sup>、60)。

## 【0805】

## 化合物10c

10

20

30

40

50

H<sub>2</sub>O (1.4mL)中のK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.195g、1.41mmol、5当量)の溶液を、メタノール(8.5mL)中のアセテート(9c) (0.338g、0.282mmol、1当量)の溶液に添加した。反応混合物を室温で30分間攪拌した。メタノールを減圧下で蒸発させ、残渣をH<sub>2</sub>O (50mL)で希釈し、酢酸エチル(3×75mL)で抽出した。合わせた酢酸エチル抽出物をH<sub>2</sub>O (100mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、減圧下で蒸発させることで、生成物を白色の気泡体として得た(0.298g、95%)。分析データ: RT 3.28分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1113 ([M+1]<sup>+</sup>、40)。

【0806】

化合物11c

デス-マーチンペルヨージナン(0.312g、0.74mmol、2.1当量)を、一度に、乾燥DCM (20mL)中のビス脱アセチル化生成物(10c) (0.39g、0.35mmol1当量)の溶液に、窒素雰囲気下で添加した。溶液を室温で3.5時間攪拌し、この時LCMSは、反応が完了したことを示した。反応混合物をDCM (50mL)で希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム溶液(3×100mL)、水(100mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させた。溶媒を減圧下での回転蒸発によって除去することで、粗生成物を得た。フラッシュカラムクロマトグラフィー[100%クロロホルムから97%クロロホルム/3%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]による精製で、該生成物を白色の固体として得た(0.201g、52%)。分析データ: RT 3.15分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1109 ([M+1]<sup>+</sup>、30)、MS (ES<sup>-</sup>) m/z (相対強度) 1107 ([M-1]<sup>-</sup>、100)。

10

【0807】

化合物12c

Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (8mg、7×10<sup>-6</sup>mol、0.04当量)を、乾燥DCM (5mL)中のビス-alloc化合物(11c) (0.190g、0.17mmol、1.0当量)及びピロリジン(61mg、71μL、0.86mmol、5.0当量)の溶液に、窒素雰囲気下で添加した。溶液を室温で3時間攪拌することで、濁った懸濁液を得た。溶媒を減圧下で蒸発させ、残渣を酢酸エチルで粉碎することで、オフホワイトの固体が得られ、これを濾過によって回収することで、該生成物が得られ(0.13g、82%)、これを、さらに精製することなく使用した。分析データ: RT 2.55分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 922 ([M+1]<sup>+</sup>、52)。

20

【0808】

化合物13a

EEDQ (18.4mg、7.45×10<sup>-5</sup>mol、2.2当量)を、DCM (2mL)及びメタノール(1mL)中のアミンジペプチド(12a) (40mg、3.5×10<sup>-5</sup>mol、1.0当量)及びマレイミドカブロン酸(8.2mg、3.9×10<sup>-5</sup>mol、1.1当量)の溶液に添加した。溶液を40℃で72時間攪拌した。溶媒を減圧下で蒸発させた。残渣をDCM (50mL)中に溶解し、飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(2×50mL)、H<sub>2</sub>O (50mL)、ブライン(50mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、減圧下で蒸発させることで、白色の気泡体を得た。これをジエチルエーテルで粉碎し、過剰なジエチルエーテルで洗浄しながら濾過することで、該生成物が白色の固体として得られた(36mg、78%)。分析データ: RT 3.27分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1320 ([M+1]<sup>+</sup>、75)。

30

【0809】

化合物13b

冷トリフルオロ酢酸(13mL)を、マレイミド誘導体(13a) (65mg、4.9×10<sup>-5</sup>mol)に0℃で添加した。溶液をこの温度で30分間攪拌し、トリフルオロ酢酸を減圧下で蒸発させた。残渣を無水DCM (5mL)中に再溶解した。溶媒を蒸発させ、残渣をジエチルエーテルで粉碎し、結果として生じた黄色の固体を濾過によって回収し、真空下で乾燥させた(64mg、97%)。分析データ: RT 2.83分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1222 ([M+2]<sup>+</sup>、5)。

40

【0810】

マレイミド-PEG-スクシンイミド試薬と12a又は12bとのカップリングで、PBD薬物-リンカー-15を生成する。図1aは、PBD薬物-リンカー-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 15ba、MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 15bb及びMP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD 15dの構造を示し、ここで、PEGはエチレンオキシであり、PABはパラ-アミノベンジルオキシカルボニルである。

【0811】

化合物15aa

50

アミンジペプチド(12a) (83mg、 $7.4 \times 10^{-5}$  mol、1当量)を、乾燥10% DMF/DCM (2mL)の混合物中に溶解し、マレイミド-4Peg-スクシンイミド(乾燥DCM中の250mmol溶液353  $\mu$ L)、続いてN,N-ジイソプロピルエチルアミン(8.2mg、11  $\mu$ L、 $8.1 \times 10^{-5}$  mol、1.1当量)を添加した。溶液を室温で72時間、窒素雰囲気下で攪拌した。溶媒を減圧下で蒸発させた。フラッシュカラムクロマトグラフィー[100%クロロホルムから92%クロロホルム/8%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]による精製で、該生成物が黄色の気泡体として得られた(85mg、76%)。分析データ: RT 3.13分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1526 ([M+1]<sup>+</sup>、5)。

## 【0812】

## 化合物15ab

アミンジペプチド(12a) (70mg、 $76.2 \times 10^{-5}$  mol、1当量)を、乾燥10% DMF/DCM (2mL)の混合物中に溶解し、マレイミド-8 Peg-スクシンイミド(乾燥DCM中の250mmol溶液263  $\mu$ L)、続いてNN-ジイソプロピルエチルアミン(6.9mg、9.5  $\mu$ L、 $6.6 \times 10^{-5}$  mol、1.06当量)を添加した。溶液を室温で72時間、窒素雰囲気下で攪拌した。溶媒を減圧下で蒸発させた。フラッシュカラムクロマトグラフィー[100%クロロホルムから92%クロロホルム/8%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]による精製で、該生成物が茶色の気泡体として得られた(44 mg、41.5%)。分析データ: RT 3.20分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1703 ([M+2]<sup>+</sup>、5)。

10

## 【0813】

化合物15ba (MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD; (11S,11aS)-4-((2S,5S)-2-(4-アミノブチル)-5-ベンジル-25-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-4,7,23-トリオキソ-10,13,16,19-テトラオキサ-3,6,22-トリアザペンタコサンアミド)ベンジル11-ヒドロキシ-7-メトキシ-8-(5-((S)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,5,11a-テトラヒドロ-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イルオキシ)ペンチルオキシ)-2-メチレン-5-オキソ-2,3,11,11a-テトラヒドロ-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)

20

冷トリフルオロ酢酸(17mL)を、マレイミド誘導体(15aa) (85mg、 $5.6 \times 10^{-5}$  mol)に0 で添加した。溶液をこの温度で30分間攪拌し、トリフルオロ酢酸を減圧下で蒸発させた。残渣を無水DCM (5mL)中に再溶解した。溶媒を蒸発させ、残渣をジエチルエーテルで粉砕し、結果として生じた黄色の固体を濾過によって回収し、真空下で乾燥させた(70mg、81%)。分析データ: RT 2.78分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1444 ([M+2]<sup>+</sup>、1)。

## 【0814】

化合物15bb (MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD; (11S,11aS)-4-((2S,5S)-2-(5-アミノブチル)-5-ベンジル-37-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-4,7,35-トリオキソ-10,13,16,19,22,25,28,31-オクタオキサ-3,6,34-トリアザヘプタトリアコンタンアミド)ベンジル11-ヒドロキシ-7-メトキシ-8-(5-((S)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,5,11a-テトラヒドロ-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イルオキシ)ペンチルオキシ)-2-メチレン-5-オキソ-2,3,11,11a-テトラヒドロ-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)

30

冷トリフルオロ酢酸(9mL)を、マレイミド誘導体(15ab) (44mg、 $2.6 \times 10^{-5}$  mol)に0 で添加した。溶液をこの温度で30分間攪拌し、トリフルオロ酢酸を減圧下で蒸発させた。残渣を無水DCM (5mL)中に再溶解した。溶媒を蒸発させ、残渣をジエチルエーテルで粉砕し、結果として生じた黄色の固体を濾過によって回収し、真空下で乾燥させた(40mg、91%)

40

## 【0815】

分析データ: RT 2.80分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1603 ([M+2]<sup>+</sup>、1)。

## 【0816】

化合物15d (MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD; (11S,11aS)-4-((2S,5S)-37-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-5-イソプロピル-2-メチル-4,7,35-トリオキソ-10,13,16,19,22,25,28,31-オクタオキサ-3,6,34-トリアザヘプタトリアコンタンアミド)ベンジル11-ヒドロキシ-7-メトキシ-8-(5-((S)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,5,11a-テトラヒドロ-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イルオキシ)ペンチルオキシ)-2-メチレン-5-オキソ-2,3,11,11a-テトラヒドロ-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カ

50

ルボキシレート)

EEDQ (12mg、 $4.8 \times 10^{-5}$  mol、1.1当量)を、乾燥DCM (5mL)中のアミンジペプチド(12c) (40.3mg、 $4.4 \times 10^{-5}$  mol、1.0当量)及びマレイミド-8 Peg-酸(28mg、 $4.8 \times 10^{-5}$  mol、1.1当量)の懸濁液に添加した。乾燥ジメチルアセトアミド(0.05mL)を添加することで、淡黄色の溶液が得られ、これを室温で18時間攪拌した。溶媒を減圧下で蒸発させ、残渣をジエチルエーテルで粉碎した。結果として生じた固体生成物を、フラッシュカラムクロマトグラフィーによって精製した。分析データ: RT 2.90分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1496 ([M+H]<sup>+</sup>、40)。

【0817】

化合物15e

N,N-ジイソプロピルジエチルアミン(10.8 μL、8mg、 $7.6 \times 10^{-5}$  mol、2.2当量)を、乾燥DCM (5mL)中のアミンジペプチド(12c) (32mg、 $3.5 \times 10^{-5}$  mol、1.0当量)及びマレイミド-dPeg (登録商標) 24-NHSエステル(58mg、 $4.16 \times 10^{-5}$  mol、1.2当量)の溶液に添加した。溶液を室温で96時間攪拌した。反応混合物をDCM (15mL)で希釈し、飽和NaHCO<sub>3</sub> (25mL)、ブライン(25mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、減圧下で蒸発させることで、淡黄色のガラスを得た。フラッシュカラムクロマトグラフィー[100%クロロホルムから91%クロロホルム/9%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]による精製で、該生成物を粘稠な黄色のガムとして得た(17mg、22%)。

【0818】

化合物16d

多くの癌によって有意に上方調節されるインテグリン<sub>6</sub>に対して高選択的であるペプチドビオチン-A20FMDV-Cys (59)を、PBD-リンカー誘導体のコンジュゲーションのために選択した。

【0819】

1/1のアセトニトリル/水(2mL)中のペプチド(59) (11.3mg、 $4.35 \mu\text{mol}$ 、0.98当量)の溶液を、1/1のアセトニトリル/水(3mL)中の(15d) (6.91mg、 $4.62 \mu\text{mol}$ 、1.0当量)の溶液に添加した。溶液を室温で96時間攪拌した。アセトニトリルを減圧下で蒸発させ、水を凍結乾燥によって除去することで、白色の気泡体を得た。セミ分取用HPLCの精製、続いて凍結乾燥で、該生成物を白色の気泡体として得た(3.8mg、21%)。分析データ: MS (MaldiTOF) m/z (相対強度) 3991.1 ([M+H]<sup>+</sup>、100)。

【0820】

化合物24a

化合物24aは、WO 2004/043963の化合物3として開示されている。

【0821】

化合物24b

固体TCCA (18g、77.4mmol、1.1当量)を、少量ずつ、DCM (500mL)中のTEMPO (730mg、4.67mmol、0.07当量)及びアルコール24a (25g、70.5mmol、1当量)の溶液に、0 で添加した。わずかな発熱が観察された。反応は、30分後に、TLC (酢酸エチル)及びLC/MS (2.38分 (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 353.34 ([M+H]<sup>+</sup>、100))によって、完了したと見なされた。懸濁液をセライトに通して濾過し、DCMで洗浄した。濾液を亜硫酸水素ナトリウム水溶液、続いて飽和NaHCO<sub>3</sub> (激しい泡立ちに注意)、ブライン(100mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させた。真空中での溶媒の濾過及び蒸発で、粗生成物が得られ、フラッシュカラムクロマトグラフィー(溶出: 20:80 v/vのn-ヘキサン/EtOAc)によって精製することで、ケトン24bが白色の固体として得られた(20g、80%)。分析データ: [ ]<sup>26</sup><sub>D</sub>=15° (c=0.2、CHCl<sub>3</sub>); MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 353.34 ([M+H]<sup>+</sup>、100); IR (ATR、CHCl<sub>3</sub>) 1748、1642、1518、1425、1335、1222、1176、1063、1032、986、857、785、756 cm<sup>-1</sup>。

【0822】

化合物25

無水2,6-ルチジン(0.395mL、365mg、3.40mmol)を、一度に、乾燥DCM (10mL)中のケトン24b (200mg、0.57mmol)の激しく攪拌した溶液に、-45 (ドライアイス/アセトニトリル冷

10

20

30

40

50

却浴)で窒素雰囲気下にて注入した。新たに開封したアンプルから取り出した無水のトリフル酸無水物(477  $\mu$ L、800mg、2.83mmol)を、-40 以下で温度を維持しながら、急速に滴下により注入した。反応混合物を-45 で1時間攪拌するままにし、この時点で、TLC (50/50 v/vのn-ヘキサン/EtOAc)は出発原料の完全な消費を明らかにした。冷反応混合物を即時にDCM (20mL)で希釈し、激しく振盪し、水(1  $\times$  50mL)、5%クエン酸溶液(1  $\times$  50mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub> (50mL)、ブライン(30mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させた。真空中での溶媒の濾過及び蒸発で粗生成物が得られ、これをフラッシュカラムクロマトグラフィー(勾配溶出: 60:40 v/vのn-ヘキサン/EtOAcから50:50 v/vのn-ヘキサン/EtOAc)によって精製することで、トリプレート25が黄色の気泡体として得られた(151mg、55%)。

**【 0 8 2 3 】**

10

対応する1,2不飽和化合物は全く、NMRによって見る事ができなかった。分析データ: [  $\alpha$  ]<sup>28</sup><sub>D</sub> = -55° (c=0.2, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.75 (s, 1H), 6.92 (s, 1H), 6.25 (t, 1H, J=1.84Hz), 5.19 (dd, 1H, J=5.05, 11.93Hz), 4.03 (s, 6H), 3.90 (s, 3H), 3.50 (ddd, 1H, J=2.29, 11.96, 16.59Hz), 3.02 (ddd, 1H, J=1.60, 5.05, 16.58Hz); IR (ATR, CHCl<sub>3</sub>) 1748, 1653, 1577, 1522, 1415, 1335, 1276, 1205, 1130, 1061, 1024, 933, 908, 820, 783, 757, 663, cm<sup>-1</sup>; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 485.45 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)。

**【 0 8 2 4 】**

## 化合物26

Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (860mg、744  $\mu$ mol、0.04当量)を、エノールトリプレート25 (9.029g、18.6mmol、1当量)、4-メトキシフェニルボロン酸(3.67g、24.1mmol、1.3当量)、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5.13g、48.3mmol、2.6当量)、EtOH (45mL)、トルエン(90mL)及び水(45mL)の攪拌混合物に添加した。反応混合物を窒素雰囲気下にて終夜攪拌するままにし、この後、出発原料の完全な消費がTLC (60/40 EtOAc/ヘキサン)及びLC/MS (3.10分(ES+) m/z (相対強度) 443.38 ([M+H]<sup>+</sup>, 100))によって観察された。反応混合物をEtOAc (400mL)で希釈し、H<sub>2</sub>O (2  $\times$  300mL)、ブライン(200mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、濾過し、減圧下で蒸発させることで、粗生成物を生成した。フラッシュクロマトグラフィー(勾配溶出: 60:40 v/vのヘキサン/EtOAcから40:60 v/vのヘキサン/EtOAc)による精製で、C2-アリアル化合物26がオレンジの固体として得られた(7.0g、85%)。分析データ: [  $\alpha$  ]<sup>25</sup><sub>D</sub> = -122° (c=0.2, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.78 (s, 1H), 7.30 (d, 2H, J=8.81Hz), 6.95 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.83 (d, 2H, J=8.88Hz), 5.03 (dd, 1H, J=11.71, 5.28Hz), 3.95 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.48-3.43 (m, 1H), 2.99-2.93 (m, 1H), <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) 170.7, 162.5, 158.4, 153.9, 149.1, 137.9, 126.3, 125.6, 125.3, 122.9, 122.3, 113.8, 110.03, 107.6, 59.7, 57.9, 56.5, 56.2, 55.1, 54.9, 52.2, 33.9, 20.7, 14.0; IR (ATR, CHCl<sub>3</sub>) 1736, 1624, 1575, 1516, 1424, 1326, 1253, 1178, 1069, 1031, 863, 820, 803, 786, 757, 653, 617 cm<sup>-1</sup>; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 443.38 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)。

20

30

**【 0 8 2 5 】**

## 化合物27

LiBH<sub>4</sub> (464mg、21.3mmol、1.5当量)を、少量ずつ、無水THF (100mL)及びEtOH (120mL)中のエステル26 (6.28g、14.2mmol、1当量)の攪拌溶液に添加した。激しい泡立ちを伴う発熱が観察され、温度を、冷却浴(氷/水)を用いて15 から25 の間に保持した。反応混合物を1時間攪拌するままにし、この後、出発原料の完全な変換がTLC(酢酸エチル)によって直接観察された。反応混合物を酢酸エチル(500mL)で慎重に希釈し、過剰の水素化ホウ素を冷クエン酸水溶液で破壊した。有機層を1NのHCl水溶液(100mL)、続いて飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(100mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、濾過し、減圧下にて35 で蒸発させることで、中間体アルコールを生成し(4.50g、10.8mmol、76%の中間体収率)、これを即時に無水DCM (200mL)中に再溶解した。溶液を0 に冷却し、TEA (2.26mL、0.162mmol、1.5当量)、続いて無水DCM (30mL)中の塩化アセチル(1mL、14.0mmol、1.3当量)の溶液を添加した。反応混合物を最大室温まで温まるままにし、1時間反応するままにした。

40

50

完全な反応がTLC (EtOAc)によって観察された。溶液を2Nのクエン酸水溶液(50mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(50mL)、ブライン(50mL)で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(50/50から最大60/40までのEtOAc/ヘキサンの勾配)によって精製することで、2.65g (二つのステップで41%)の純粋な生成物をオレンジの固体として得た。分析データ:  $[\alpha]^{24}_D = -130^\circ$  (c=0.28, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.74 (s, 1H), 7.12 (d, 2H, J=8.84Hz), 6.91 (br s, 1H), 6.80 (d, 2H, J=8.88Hz), 6.15 (s, 1H), 5.04-5.00 (m, 1H), 4.61-4.42 (m, 2H), 4.01 (s, 6H), 3.78 (s, 3H), 3.35-3.25 (m, 1H), 2.85-2.79 (m, 1H), 2.06 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) 171.1, 159.1, 149.5, 126.1, 126.0, 114.1, 107.2, 56.8, 56.6, 55.3, 33.5, 20.9; IR (ATR, CHCl<sub>3</sub>) 1731, 1643, 1623, 1577, 1517, 1421, 1333, 1278, 1248, 1222, 1183, 1076, 1059, 1032, 864, 821, 802, 787, 756, 644, 619 cm<sup>-1</sup>; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 456.81 ([M+H]<sup>+</sup>, 100).

10

## 【0826】

## 化合物28

亜鉛粉塵(365mg、5.58mmol、15当量)を、エタノール(7.6mL)及び酢酸(1.97mL)中の化合物27 (170mg、0.372mmol、1当量)の溶液に添加した。混合物を激しく攪拌し、加熱還流した。TLCモニタリング(酢酸エチル)及びLC/MS (2.97分(ES+) m/z (相対強度) 427.57 ([M+H]<sup>+</sup>, 100))は、5分後に反応が完了したことを明らかにした。反応物を冷却するままにし、セライトに通して濾過し、DCM (50mL)で洗浄した。濾液を水(3×30mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub> (2×30mL)、ブライン(30mL)で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(60/40から最大80/20までのEtOAc/ヘキサンの勾配)によって精製することで、140mg (88%)の純粋な生成物を白色の気泡体として得た。分析データ:  $[\alpha]^{24}_D = -108^\circ$  (c=0.20, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.22 (d, 2H, J=8.80Hz), 6.89 (br s, 1H), 6.86 (d, 2H, J=8.82Hz), 6.80 (s, 1H), 6.29 (s, 1H), 5.02-4.96 (m, 1H), 4.50-4.40 (m, 4H), 3.89 (s, 3H), 3.82 (s, 3H), 3.81 (s, 1H), 3.30-3.25 (m, 1H), 2.85-2.79 (m, 1H), 2.06 (s, 3H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) 194.6, 171.1, 171.0, 170.4, 164.0, 160.8, 155.1, 149.5, 146.2, 143.6, 130.5, 129.2, 125.8, 115.5, 114.1, 107.6, 105.4, 100.9, 63.5, 60.4, 56.9, 56.3, 37.4, 21.0, 20.6, 14.2; IR (ATR, CHCl<sub>3</sub>) 1733, 1589, 1512, 1396, 1209, 1176, 1113, 1031, 823, 791, 762 cm<sup>-1</sup>; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 427.57 ([M+H]<sup>+</sup>, 100).

20

30

## 【0827】

## 化合物29

乾燥THF中のアミン28 (400mg、0.93mmol、1当量)及びTEA (350 μL、2.5mmol、2.6当量)の溶液を、滴下により、乾燥THF (4mL)中のトリホスゲン(125mg、0.42mmol、0.45当量)の新たに調製した溶液に、0 で添加した。白色の懸濁液を0 で10分間攪拌するままにした。乾燥THF (40mL)中のアルコール7b (Alloc-Phe-Lys(Boc)-PABOH、546mg、0.93mmol、1当量)及びTEA (350 μL、2.5mmol、2.6当量)の溶液を急速に添加した。白色の懸濁液を室温で15分間攪拌するままにし、次いで65 で2時間加熱し、次いで室温で終夜攪拌するままにした。白色のTEA塩を脱脂綿に通す濾過によって除去した。濾液を濃縮し、フラッシュクロマトグラフィー(クロロホルム中1% MeOHからクロロホルム中最大3% MeOHの勾配)によって精製することで、700mgの所望のカルバメート(72%)を得た。分析データ:  $[\alpha]^{24}_D = -30.2^\circ$  (c=0.18, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8.54 (s, 1H), 8.43 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 7.45 (d, 2H, J=8.43Hz), 7.23 (d, 2H, J=8.52Hz), 7.16-7.06 (m, 7H), 6.78-6.72 (m, 4H), 6.46 (d, 1H, J=7.84Hz), 5.82-5.73 (m, 1H), 5.30 (s, 1H), 5.19-5.06 (m, 2H), 5.03 (d, 1H, J=1.29Hz), 4.93-4.87 (m, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.47-4.28 (m, 6H), 3.87 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.72 (s, 1H), 3.16-3.09 (m, 1H), 3.07-2.95 (m, 4H), 2.72-2.67 (m, 1H), 1.95-1.83 (m, 1H), 1.60-1.51 (m, 1H), 1.43-1.39 (m, 2H), 1.35 (s, 9H), 1.28-1.19 (m, 2H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) 171.5, 171.1, 169.2, 165.8, 159.1, 156.2, 153.8, 151.6, 144.1, 137.8, 135.8, 132.2, 131.9, 129.1, 129.0, 128.9, 127.3, 126.2, 125.9, 123.5, 123.4, 119.9, 118.2, 114.2, 111.3, 66

40

50

.5, 66.2, 64.0, 56.5, 56.1, 55.3, 53.8, 33.1, 30.9, 29.4, 28.4, 22.6, 20.8; IR (ATR,  $\text{CHCl}_3$ ) 1697, 1652, 1604, 1516, 1456, 1418, 1245, 1225, 1177, 1115, 1033, 824,  $750\text{ cm}^{-1}$ ; MS ( $\text{ES}^+$ )  $m/z$  (相対強度) 1036.25 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100)。

## 【0828】

## 化合物30

炭酸カリウム(600mg、4.34mmol、5当量)の水溶液(3.3mL)を、メタノール(20mL)中のアセテートエステル29(920mg、0.89mmol、1当量)の溶液に添加した。反応混合物を室温で50分間攪拌するままにし、この時点でTLC(クロロホルム/メタノール、90/10)は完了を示した。混合物を水(150mL)とジクロロメタン(200mL)との間で分配した。有機相を1Nのクエン酸(50mL)、続いてブライン(50mL)で洗浄し、 $\text{MgSO}_4$ 上で乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させることで、所望のアルコール30を得た(700mg、79%)。分析データ:  $[\alpha]_D^{24} = -61^\circ$  ( $c=0.18$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 8.60 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.42 (d, 2H,  $J=8.38\text{Hz}$ ), 7.24-7.18 (m, 2H), 7.1-7.05 (m, 7H), 6.83-6.66 (m, 5H), 5.81-5.71 (m, 1H), 5.43 (s, 1H), 5.18-5.08 (m, 2H), 4.99 (s, 2H), 4.75-4.69 (m, 2H), 4.48-4.25 (m, 5H), 3.86 (s, 3H), 3.82-3.76 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.19-3.12 (m, 1H), 3.05-2.92 (m, 4H), 2.62-2.57 (m, 1H), 1.85-1.75 (m, 2H), 1.59-1.51 (m, 1H), 1.38-1.34 (m, 11H), 1.28-1.18 (m, 2H).  $^{13}\text{C NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 171.7, 169.5, 167.0, 159.2, 156.3, 153.9, 151.6, 144.4, 137.8, 135.9, 132.3, 131.9, 129.2, 128.8, 127.2, 126.0, 124.5, 123.3, 120.1, 118.1, 114.2, 111.3, 66.6, 66.1, 61.6, 56.5, 56.1, 55.3, 53.8, 39.9, 33.6, 31.1, 29.4, 28.4, 22.6; MS ( $\text{ES}^+$ )  $m/z$  (相対強度) 994.7 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100)。

10

20

## 【0829】

## 化合物31

アルコール30(500mg、0.503mmol、1当量)を、無水DCM(50mL)中に室温で溶解した。固体デス-マーチンペルヨージナン(300mg、0.707mmol、1.4当量)を混合物に添加し、続いてさらに75mgを1時間で、続いてさらに57mgを2時間で、及び31mgを5時間で添加し、デス-マーチンペルヨージナンの総質量を463mg(1.09mmol、2.17当量)にした。反応をTLC(クロロホルム/メタノール、95/5、二種類の溶出液)によって連続的にモニタリングした。6.5時間後、反応混合物をDCMと飽和 $\text{NaHSO}_3$ 水溶液との間で分配することによって反応の後処理をした。有機層を次いで、飽和 $\text{NaHCO}_3$ 水溶液、続いてブラインで洗浄し、 $\text{MgSO}_4$ 上で乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(0/100から最大2/98メタノール/クロロホルムの勾配)によって精製することで、259mg(52%)の純粋な生成物31を得た。分析データ:  $[\alpha]_D^{24} = +106^\circ$  ( $c=0.16$ ,  $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 8.68 (s, 1H), 7.54-7.46 (m, 2H), 7.36 (s, 1H), 7.31-7.16 (m, 8H), 6.89 (d, 2H,  $J=8.70\text{Hz}$ ), 6.75 (bs, 1H), 6.61 (s, 1H), 5.89-5.84 (m, 2H), 5.45 (d, 1H,  $J=4.80\text{Hz}$ ), 5.28-5.08 (m, 3H), 4.84-4.76 (m, 2H), 4.58-4.47 (m, 4H), 4.28 (bs, 1H), 4.02-3.95 (m, 1H), 3.92 (s, 3H), 3.83 (s, 3H), 3.74 (s, 2H), 3.41-3.32 (m, 1H), 3.16-3.02 (m, 5H), 2.03-1.83 (m, 1H), 1.68-1.61 (m, 1H), 1.55-1.39 (m, 11H), 1.36-1.28 (m, 2H).  $^{13}\text{C NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 171.7, 169.5, 163.2, 159.1, 156.3, 151.1, 148.6, 138.0, 135.9, 132.3, 129.2, 128.8, 127.2, 126.3, 126.2, 121.7, 120.0, 118.2, 114.2, 112.7, 110.7, 86.2, 79.3, 67.6, 66.2, 59.5, 56.4, 56.15, 56.1, 55.3, 53.8, 39.9, 38.1, 35.1, 31.0, 29.4, 28.4, 22.7; IR (ATR,  $\text{CHCl}_3$ ) 3313, 2935, 2356, 1691, 1603, 1512, 1431, 1253, 1177, 1119, 1033, 824,  $750$ ,  $698\text{ cm}^{-1}$ ; MS ( $\text{ES}^+$ )  $m/z$  (相対強度) 992.41 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100)。

30

40

## 【0830】

## 化合物32

固体 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (8mg、6.9 $\mu\text{mol}$ 、0.02当量)を、乾燥DCM(10mL)中の出発原料31(346mg、0.349mmol、1当量)及びピロリジン(43.3 $\mu\text{L}$ 、0.523mmol、1.5当量)の新たに調製した溶液に、不活性雰囲気下にて室温で添加した。TLC(90/10 v/vのクロロホルム/メタノール)及びLC/MS(2.93分( $\text{ES}^+$ )  $m/z$  (相対強度) 908.09 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100))によって示された通り

50

、反応は45分後に完了した。揮発性物質を減圧下での蒸発によって除去した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(2/98から最大5/95までのメタノール/クロロホルムの勾配)によって精製することで、298mg (94%)の純粋な生成物32を得た。分析データ:<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8.87 (s, 1H), 7.86 (d, 1H, J=8.06Hz), 7.51 (d, 2H, J=8.42Hz), 7.36-7.11 (m, 9H), 6.89 (d, 2H, J=8.73Hz), 6.58 (bs, 1H), 5.85 (d, 1H, J=9.47Hz), 5.32 (m, 1H), 4.83 (d, 1H, J=11.68Hz), 4.65 (m, 1H), 4.47 (q, 1H, J=6.14Hz), 4.03-3.97 (m, 1H), 3.94 (s, 3H), 3.84 (s, 3H), 3.74-3.69 (m, 4H), 3.39-3.33 (m, 1H), 3.26 (dd, 1H, J=13.73Hz, J=4.00Hz), 3.16-3.03 (m, 3H), 3.26 (dd, 1H, J=8.91Hz, J=13.74Hz), 2.05-1.96 (m, 1H), 1.78-1.49 (m, 3H), 1.48-1.42 (m, 9H), 1.42-1.24 (m, 2H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) 175.45, 163.2, 159.1, 156.2, 148.6, 137.3, 129.3, 128.8, 127.0, 126.2, 126.2, 121.7, 119.8, 114.2, 112.6, 56.2, 55.3, 40.7, 35.1, 30.5, 28.4, 22.8; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 908.09 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)。

10

20

30

40

50

## 【 0 8 3 1 】

## 化合物33

固体EEDQ (108mg、0.436mmol、2当量)を、DCM (6mL)及びメタノール(3mL)の混合物中のアミン32 (199mg、0.219mmol、1当量)及びマレイミドヘキサ酸(57mg、0.269、1.23当量)の溶液に添加した。溶液を室温で24時間攪拌するままにした。LC/MS (3.45分(ES+) m/z (相対強度) 1101.78 ([M+H]<sup>+</sup>, 100))によって、反応が完了していることがわかった。揮発性物質を減圧下での蒸発によって除去した。残渣をDCMと飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液との間で分配し、ブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(1/99から最大2.5/97.5までのメタノール/クロロホルムの勾配)によって精製することで、165mg (68%)の純粋な生成物33を得た。分析データ: [ ]<sup>24</sup><sub>D</sub>=+94° (c=0.09、CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8.62 (s, 1H), 7.46-7.39 (m, 2H), 7.27 (s, 1H), 7.22-7.06 (m, 9H), 6.79 (d, 2H, J=8.65Hz), 6.75 (bs, 1H), 6.57 (s, 2H), 6.52 (s, 1H), 6.28 (s, 1H), 5.77 (bs, 1H), 5.21 (s, 1H), 4.75-4.60 (m, 2H), 4.40 (q, 1H, J=5.54Hz), 3.93-3.86 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.73 (s, 3H), 3.65 (s, 2H), 3.36 (t, 2H, J=7.16Hz), 3.30-3.23 (m, 1H), 3.08-2.90 (m, 5H), 2.09 (t, 2H, J=7.14Hz), 1.93-1.75 (m, 1H), 1.62-1.31 (m, 17H), 1.30-1.04 (m, 6H). <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) 173.5, 170.9, 170.3, 169.6, 163.2, 159.1, 156.3, 151.1, 148.6, 136.1, 134.0, 129.1, 128.7, 127.2, 126.3, 126.2, 124.9, 123.3, 121.7, 120.0, 114.2, 112.7, 110.7, 86.1, 79.3, 67.6, 59.5, 56.2, 56.1, 55.3, 54.6, 53.9, 53.4, 37.8, 37.5, 36.7, 35.2, 31.0, 29.4, 28.5, 28.2, 26.2, 24.8, 22.7; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1101.78 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)。

## 【 0 8 3 2 】

## 化合物34

DCM (12mL)中の10% TFAの冷蔵溶液を、33 (75mg、0.068mmol、1当量)の冷蔵(-20 )試料に添加した。反応をLC/MS (2.87分(ES+) m/z (相対強度) 1001.13 ([M+H]<sup>+</sup>, 100))によってモニタリングした。副反応なく、温度が-10 の高さに達した。反応は4時間後に完了に達した。反応混合物を脱イオン化水(50mL)中に注ぎ、終夜凍結-乾燥させることで(液体窒素浴、補充なく蒸発するままにした)、純粋なTFA塩34を得た(75mg、99%)。分析データ: <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 9.05 (s, 1H), 7.87-7.62 (m, 4H), 7.35 (m, 2H), 7.24 (s, 1H), 7.16-7.11 (m, 2H), 7.10-6.96 (m, 8H), 6.92 (s, 1H), 6.82-6.66 (m, 3H), 6.63-6.42 (m, 3H), 5.75 (d, 1H, J=9.54Hz), 5.15-5.03 (m, 1H), 4.77-4.74 (m, 1H), 4.68-4.56 (m, 1H), 4.39 (s, 1H), 3.97-3.84 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 3.65 (s, 2H), 3.33-3.21 (m, 3H), 3.04-2.69 (m, 5H), 2.04 (m, 2H), 1.979-1.64 (m, 1H), 1.63-1.45 (m, 3H), 1.44-1.12 (m, 6H), 1.07-0.95 (m, 2H). MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1001.13 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)。

## 【 0 8 3 3 】

## 化合物35

アミン32 (99mg、0.109mmol、1当量)を、無水DCM (5mL)及びDMF (1mL)の混合物中のNHS

-PEG<sub>4</sub>-マレイミド(Thermo Scientific、61.6mg、0.120mmol、1.1当量)及びTEA (18.2 μL、0.130mmol、1.2当量)の溶液に添加した。反応物を室温で終夜撹拌するままにし、この時点で、LC/MS (3.27分(ES+) m/z (相対強度) 1307.55 ([M+H]<sup>+</sup>、100))によって、それがほぼ完了していることがわかった。揮発性物質を減圧下での蒸発によって除去した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(3/97から最大5/95までのメタノール/クロロホルムの勾配)によって精製することで、71mg (50%)の純粋な生成物35を得た。分析データ:<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8.58 (s, 1H), 7.50 (d, 2H, J=8.47Hz), 7.28 (s, 1H), 7.25-7.20 (m, 2H), 7.18-7.01 (m, 9H), 6.89 (d, 1H, J=7.58Hz), 6.79 (d, 2H, J=8.68Hz), 6.59 (s, 2H), 6.51 (s, 1H), 5.77 (d, 1H, J=6.42Hz), 5.25 (d, 1H, J=11.43Hz), 4.83-4.64 (m, 2H), 4.63-4.49 (m, 1H), 4.43-4.38 (m, 1H), 4.18 (s, 1H), 3.96-3.85 (m, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.76-3.56 (m, 9H), 3.57-3.34 (m, 15H), 3.34-3.20 (m, 3H), 3.15 (dd, 1H, J=14.22Hz, J=5.60Hz), 3.07-2.89 (m, 4H), 2.48-2.29 (m, 4H), 1.97-1.90 (m, 1H), 1.61-1.39 (m, 3H), 1.35 (s, 9H), 1.29-1.12 (m, 4H). MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1307.55 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)。

10

20

30

40

50

【 0 8 3 4 】

化合物36

DCM (10mL)中の10% TFAの冷蔵溶液を、35の冷蔵(-20 )試料(70mg、0.054mmol、1当量)に添加した。反応をLC/MS (2.77分(ES+) m/z (相対強度) 1206.94 ([M+H]<sup>+</sup>、100))によってモニタリングした。反応は18時間後に-25 で完了に達した。反応混合物を脱イオン化水(50mL)中に注ぎ、終夜凍結-乾燥させることで(液体窒素浴、補充なく蒸発するままにした)、純粋なTFA塩36を得た(75mg、99%)。

【 0 8 3 5 】

化合物37

メタノール(1.5mL)中の33(9.5mg、8.6 μmol、1当量)の溶液を、メタノール(2mL)及び水(1mL)の混合物中の環式チオペプチドc(RGDfC) (5mg、8.6 μmol、1当量、pepnet.comから)の溶液に添加した。反応混合物を1時間撹拌するままにした。生じた沈殿物を濾過によって回収し、メタノール及び水(0.6mL/0.4mL)の混合物で濯ぎ、真空吸引によって乾燥させることで、LC/MS (3.03分(ES+) m/z (相対強度) 1681.19 ([M+H]<sup>+</sup>、10)、790.85(100))によって示された通りの8mg(55%)の純粋な生成物を得た。

【 0 8 3 6 】

化合物38

化合物37 (7mg)を、DCM (1mL)中の10% TFAを用いて0 (氷浴)で2時間処理した。LC/MS (2.70分(ES+) m/z (相対強度) 791.44 ([M+2H]<sup>+</sup>/2, 100))によって示された通り、反応が完了していることがわかった。反応混合物を脱イオン化水(10mL)中に注ぎ、終夜凍結-乾燥させることで(液体窒素浴、補充なく蒸発するままにした)、純粋なTFA塩38を得た(7mg、定量的収量)。

【 0 8 3 7 】

化合物39a

化合物39a及びその合成は、WO 00/012508及びWO 2006/111759に開示されている。

【 0 8 3 8 】

化合物39b

方法I:触媒的量のDMF (2滴)を、乾燥THF (20mL)中のニトロ-酸39a (1.0g、2.15mmol)及び塩化オキサリル(0.95mL、1.36g、10.7mmol)の撹拌溶液に添加した(泡立ち!)。反応混合物を16時間室温で撹拌するままにし、溶媒を真空中での蒸発によって除去した。生じた残渣を乾燥THF (20mL)中に再溶解し、酸塩化物溶液を、滴下により、THF (10mL)中の(2S,4R)-メチル-4-ヒドロキシピロリジン-2-カルボキシレート塩酸塩(859mg、4.73mmol)及びTEA (6.6mL、4.79g、47.3mmol)の撹拌混合物に、-30 (ドライアイス/エチレングリコール)で窒素雰囲気下にて添加した。反応混合物を室温に温まるままにし、さらに3時間撹拌し、この後、TLC (95:5 v/vのCHCl<sub>3</sub>/MeOH)及びLC/MS (2.45分(ES+) m/z (相対強度) 721 ([M+H]<sup>+</sup>、20))は、生成物の形成を明らかにした。過剰のTHFを回転蒸発によって除去し、生

じた残渣をDCM (50mL)中に溶解した。有機層を1NのHCl (2×15mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub> (2×15mL)、H<sub>2</sub>O (20mL)、ブライン(30mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させた。溶媒の濾過及び蒸発で、粗生成物を暗色の油として得た。フラッシュクロマトグラフィー(勾配溶出:100% CHCl<sub>3</sub>から96:4 v/vのCHCl<sub>3</sub>/MeOH)による精製で、純粋なアミド39bをオレンジ色のガラスとして単離した(840mg、54%)。

#### 【0839】

方法II:塩化オキサリル(9.75mL、14.2g、111mmol)を、無水DCM (200mL)中のニトロ-酸39a (17.3g、37.1mmol)及びDMF (2mL)の攪拌懸濁液に添加した。初期泡立ちに続き、反応懸濁液は溶液になり、混合物を室温で16時間攪拌するままにした。酸塩化物の変換は、反応混合物の試料をMeOHで処理することによって確認し、生じたビス-メチルエステルをLC/MSによって観察した。溶媒の大部分を真空中での蒸発によって除去し、生じた濃縮溶液を最小量の乾燥DCM中に再溶解し、ジエチルエーテルで粉碎した。生じた黄色の沈殿物を濾過によって回収し、冷ジエチルエーテルで洗浄し、1時間真空炉内にて40℃で乾燥させた。固体酸塩化物を、少量ずつ25分の時間をかけて、DCM (150mL)中の(2S,4R)-メチル-4-ヒドロキシピロリジン-2-カルボキシレート塩酸塩(15.2g、84.0mmol)及びTEA (25.7mL、18.7g、185mmol)の攪拌懸濁液に、-40℃(ドライアイス/CH<sub>3</sub>CN)で添加した。即時に、LC/MS (2.47分(ES+) m/z (相対強度) 721 ([M+H]<sup>+</sup>, 100))によって判断された通り、反応が完了した。混合物をDCM (150mL)で希釈し、1NのHCl (300mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub> (300mL)、ブライン(300mL)で洗浄し、(相分離器に通して)濾過し、溶媒を真空中で蒸発させることで、純粋な生成物39bをオレンジの固体として得た(21.8g、82%)。分析データ: [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -46.1° (c = 0.47, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) (回転異性体) 7.63 (s, 2H), 6.82 (s, 2H), 4.79-4.72 (m, 2H), 4.49-4.28 (m, 6H), 3.96 (s, 6H), 3.79 (s, 6H), 3.46-3.38 (m, 2H), 3.02 (d, 2H, J=11.1Hz), 2.48-2.30 (m, 4H), 2.29-2.04 (m, 4H); <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) (回転異性体) 172.4, 166.7, 154.6, 148.4, 137.2, 127.0, 109.7, 108.2, 69.7, 65.1, 57.4, 57.0, 56.7, 52.4, 37.8, 29.0; IR (ATR, CHCl<sub>3</sub>) 3410 (br), 3010, 2953, 1741, 1622, 1577, 1519, 1455, 1429, 1334, 1274, 1211, 1177, 1072, 1050, 1008, 871 cm<sup>-1</sup>; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 721 ([M+H]<sup>+</sup>, 47), 388 (80); HRMS [M+H]<sup>+</sup> 理論値C<sub>31</sub>H<sub>36</sub>N<sub>4</sub>O<sub>16</sub> m/z 721.2199, 実測値(ES<sup>+</sup>) m/z 721.2227。

#### 【0840】

化合物39c

固体TCCA (32g、137mmol、2.2当量)を、少量ずつ、規定DCM (500mL)中のTEMPO (1g、6.4mmol、0.1当量)及びビス-アルコール18 (45g、62.5mmol、1当量)の溶液に、0℃で添加した。わずかな発熱が観察された。反応は、30分後に、TLC (酢酸エチル)及びLC/MS (2.95分(ES+) m/z (相対強度) 718.10 ([M+H]<sup>+</sup>, 100))によって、完了したと見なされた。懸濁液をセライトに通して濾過し、DCMで洗浄した。濾液を、亜硫酸水素ナトリウム水溶液、続いて飽和NaHCO<sub>3</sub> (激しい泡立ちに注意)、ブライン(200mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させた。真空中での溶媒の濾過及び蒸発で粗生成物が得られ、これをフラッシュカラムクロマトグラフィー(溶出:20:80 v/vのn-ヘキサン/EtOAc)によって精製することで、ケトン39cが白色の固体として得られた(28.23g、63%)。分析データ: [α]<sub>D</sub><sup>21</sup> = +18° (c=0.2, CHCl<sub>3</sub>); MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 718.10 ([M+H]<sup>+</sup>, 100); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)回転異性体混合物 7.70 (m, 2H), 6.79 (m, 2H), 5.27 (m, 1H), 4.44 (m, 1H), 4.30 (m, 4H), 3.93 (m, 6H), 3.81 (s, 3H), 3.75 (m, 1H), 3.63 (s, 2H), 3.58 (m, 1H), 3.09-2.89 (m, 2H), 2.74-2.53 (m, 2H), 2.40 (p, 2H, J=5.73Hz); <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>)回転異性体混合物 206.5, 206.4, 206.0, 205.9, 171.2, 171.1, 170.6, 167.0, 166.7, 155.0, 154.5, 148.8, 137.7, 137.3, 126.4, 125.4, 109.8, 109.1, 108.6, 108.4, 108.4, 65.7, 65.6, 65.5, 60.4, 57.9, 56.7, 56.7, 55.1, 53.6, 52.9, 52.9, 51.6, 41.2, 40.1, 28.7, 28.6, 21.0, 14.1; IR (ATR, CHCl<sub>3</sub>) 1764, 1650, 1578, 1518, 1415, 1333, 1274, 1217, 1060, 870, 824 759 cm<sup>-1</sup>。

#### 【0841】

化合物40

無水2,6-ルチジン(4.26mL、3.92g、36.6mmol)を、乾燥DCM(100mL)中のビス-ケトン39c(4.23g、5.90mmol)の激しく攪拌した溶液に、-45(ドライアイス/アセトニトリル冷却浴)で窒素雰囲気下にて注入した。新たに開封したアンプル(5.96mL、10g、35.4mmol)から取り出した無水トリフル酸無水物を、-40以下に温度を維持しながら、急速に滴下により注入した。反応混合物を-45で1時間攪拌するままにし、この時点で、TLC(50/50 v/vのn-ヘキサン/EtOAc)は、出発原料の完全な消費を明らかにした。冷反応混合物を即時にDCM(200mL)で希釈し、激しく振盪し、水(1×300mL)、5%クエン酸溶液(1×200mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub>(200mL)、ブライン(150mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させた。真空中での溶媒の濾過及び蒸発で粗生成物が得られ、これをフラッシュカラムクロマトグラフィー(勾配溶出: 70:30 v/vのn-ヘキサン/EtOAcから40:60 v/vのn-ヘキサン/EtOAc)によって精製することで、ビス-トリプレート40が黄色の気泡体として得られた(1.32g、23%)。分析データ: [α]<sub>D</sub><sup>25</sup> = -68° (c=0.2, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.73 (s, 2H), 6.85 (s, 2H), 6.20 (t, 2H, J=1.81Hz), 5.13 (dd, 2H, J=5.05, 11.93Hz), 4.33 (t, 4H, J=5.91Hz), 3.95 (s, 6H), 3.84 (s, 6H), 3.43 (ddd, 2H, J=2.28, 11.92, 16.59Hz), 2.96 (ddd, 2H, J=1.60, 5.05, 16.58Hz), 2.44 (p, 2H, J=5.79Hz); <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) 169.4, 164.1, 154.7, 149.2, 138.0, 135.2, 124.4, 121.1, 120.0, 116.8, 110.0, 108.4, 65.7, 65.6, 57.0, 56.8, 53.1, 33.3, 28.6; IR (ATR, CHCl<sub>3</sub>) 1749, 1654, 1576, 1522, 1418, 1337, 1277, 1207, 1131, 1061, 1023, 910, 821, 757 cm<sup>-1</sup>; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 981.86 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)。

10

20

## 【0842】

## 化合物41

Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(660mg、571 μmol、0.08当量)を、ビスエノールトリプレート40(7g、7.13mmol、1当量)、4-フルオロフェニルボロン酸(2.6g、18.5mmol、2.6当量)、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(3.93g、37.0mmol、5.2当量)、EtOH(25mL)、トルエン(50mL)及び水(25mL)の攪拌混合物に添加した。反応混合物を窒素雰囲気下にて終夜攪拌するままにし、この後、出発原料の完全な消費が、TLC(60/40のEtOAc/ヘキサン)及びLC/MS(3.68分(ES<sup>+</sup>) m/z(相対強度) 873.90([M+H]<sup>+</sup>, 100))によって観察された。反応混合物をEtOAc(300mL)で希釈し、H<sub>2</sub>O(2×200mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、濾過し、減圧下で蒸発させることで、粗生成物を生成した。フラッシュクロマトグラフィー(勾配溶出: 50:50 v/vのヘキサン/EtOAcから80:20 v/vのヘキサン/EtOAc)による精製で、ビスC2-アリアル化合物41がオレンジの固体として得られた(5.46g、88%)。分析データ: [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -107° (c=0.2, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.76 (s, 2H), 7.14-7.04 (m, 4H), 6.97-6.87 (m, 6H), 6.31 (s, 2H), 5.18 (dd, 2H, J=11.68, 5.03Hz), 4.36 (t, 4H, J=5.87Hz), 3.97 (s, 6H), 3.84 (s, 6H), 3.53-3.39 (m, 2H), 3.00 (ddd, 2H, J=1.22, 5.01, 16.28Hz), 2.46 (p, 2H, J=5.98Hz); <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) 171.0, 163.3, 148.9, 138.0, 128.1, 126.3, 126.2, 125.8, 123.1, 122.6, 115.7, 115.5, 110.3, 108.5, 65.7, 58.3, 56.8, 34.7, 28.7; IR (ATR, CHCl<sub>3</sub>) 1738, 1650, 1578, 1512, 1416, 1333, 1275, 1212, 1064, 1023, 869, 808, 758, 654, 613 cm<sup>-1</sup>; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 873.90 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)。

30

40

## 【0843】

## 化合物42

LiBH<sub>4</sub>(132mg、21.3mmol、3当量)を、一度に、無水THF(100mL)中のエステル41(5.30g、6.07mmol、1当量)の攪拌溶液に、0で添加した。反応混合物を最大室温まで温まるままにし、1時間攪拌するままにし、この後、出発原料の完全な変換が、LC/MS(3.42分(ES<sup>+</sup>) m/z(相対強度) 818.35([M+H]<sup>+</sup>, 100))によって直接観察された。反応混合物を酢酸エチル(500mL)で慎重に希釈し、過剰の水素化ホウ素を冷クエン酸水溶液で破壊した。有機層を1NのHCl水溶液(100mL)、続いて飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(100mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、濾過し、減圧下にて35で蒸発させることで、中間体アルコールを生成し、これを即時に、無水DCM(200mL)中に再溶解した。溶液を0に冷却し、イミダゾール(3.97g、58.0mmol、9.6当量)、続いてTBDMS-Cl(4.390g、29.1mmol、4.8当量)を添

50

加した。反応混合物を最大RTまで温まるままにし、2時間反応するままにした。完全な反応がTLC (EtOAc/ヘキサン、50/50)及びLC/MS (4.23分(ES+) m/z (相対強度) 1045.99 ([M+H]<sup>+</sup>、100))によって観察された。溶液を2Nのクエン酸水溶液(50mL)、飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(50mL)、ブライン(50mL)で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(80/20から最大60/40までのヘキサン/EtOAcの勾配)によって精製することで、2.45g (二つのステップで38.6%)の純粋な生成物をオレンジの固体として得た。分析データ: [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -123° (c=0.18, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)

7.76 (s, 2H), 7.17-7.06 (m, 4H), 6.96-6.87 (m, 4H), 6.81 (s, 2H), 6.17 (s, 2H), 4.84-4.72 (m, 2H), 4.35 (t, 4H, J=5.87Hz), 3.93 (s, 6H), 3.25-3.07 (m, 2H), 3.03-2.91 (m, 2H) 2.45 (p, 2H, J=5.92Hz), 0.84 (s, 18H), 0.07 (s, 12H); <sup>13</sup>C NMR (100MHz, CDCl<sub>3</sub>) 163.2, 160.7, 154.5, 148.6, 137.9, 130.1, 130.0, 126.7, 126.3, 126.2, 124.3, 123.0, 115.6, 115.4, 110.0, 108.5, 65.7, 60.4, 59.2, 56.7, 33.2, 28.7, 25.8, 25.7, 21.0, 18.2, 14.2, -5.3; IR (ATR, CHCl<sub>3</sub>) 2953, 1742, 1650, 1576, 1512, 1417, 1334, 1274, 1214, 1063, 1023, 869, 808, 759, 654, 612 cm<sup>-1</sup>; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1045.99 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)。

10

【0844】

化合物43

エタノール(5% v/v、100mL)中のギ酸の溶液を、エタノール(35mL)中のビス-ニトロ化合物42 (2.35g、2.25mmol、1当量)及び亜鉛粉塵(8.82g、0.135mmol、60当量)の懸濁液に添加した。反応混合物を室温で25分間攪拌するままにし、この時点で、TLC (メタノール/クロロホルム、2/98)及びLC/MS (4.23分(ES+) m/z (相対強度) 986.3 ([M+H]<sup>+</sup>、10)、493.9 ([M+2H]/2<sup>+</sup>、100))は、完全な反応を明らかにした。懸濁液を濾過し、濾液を酢酸エチル(400mL)と飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(200mL)との間で分配した。有機物をブライン(100mL)で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させることで、純粋なビス-アミンが得られ(2.20g、98%)、これを直接次のステップに移した。

20

【0845】

化合物44

乾燥DCM (50mL)中のクロロギ酸アリル(0.209mL、1.97mmol、0.9当量)の溶液を、滴下により、乾燥DCM (250mL)中のビス-アニリノ化合物43 (2.15g、2.18mmol、1当量)及びピリジン(0.335mL、4.14mmol、1.9当量)の溶液に、-78 で添加した。反応混合物を-78 で2時間攪拌するままにし、最大室温まで温まるままにした。溶液を飽和硫酸銅水溶液(2×50 mL)、水(250mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥させ、濾過し、減圧下で蒸発させた。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(70/30から最大30/70までのヘキサン/EtOAcの勾配)によって精製することで、LC/MS (4.45分(ES+) m/z (相対強度) 1154.32 ([M+H]<sup>+</sup>、100))によって示された通りの668mg (26.5%)のビス-Alloc保護化合物、及びわずかに汚染されている800mgの所望のモノ-alloc保護化合物(4.32分(ES+) m/z (相対強度) 1070.58 ([M+H]<sup>+</sup>、100))を得た。この化合物をさらに、フラッシュクロマトグラフィー(40/60から最大20/80までのヘキサン/ジエチルエーテルの勾配)によって精製することで、700mg (30%)の所望の純粋なモノ-alloc化合物を得た。分析データ: [α]<sub>D</sub><sup>22</sup> = -41° (c=0.16, CHCl<sub>3</sub>); <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8.72 (bs, 1H), 7.88 (s, 2H), 7.25-7.18 (m, 4H), 7.02-6.93 (m, 4H), 6.93-6.83 (m, 3H), 6.80 (s, 1H), 6.36 (s, 1H), 6.00-5.84 (m, 1H), 5.32 (dd, 1H, J=1.37, J=17.21Hz), 5.21 (dd, 1H, J=0.90, J=10.40Hz), 4.85-4.71 (m, 2H), 4.60 (dd, 2H, J=1.02, J=5.62Hz), 4.46 (s, 2H), 4.31 (t, 2H, J=5.96Hz), 4.25 (t, 2H, J=6.31Hz), 3.98 (m, 2H), 3.86 (m, 2H), 3.81 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.19-3.05 (m, 2H), 3.05-2.93 (m, 2H), 2.41 (p, 2H, J=6.16Hz), 0.84 (m, 18H), 0.05 (m, 12H); IR (ATR, CHCl<sub>3</sub>) 2952, 2359, 1732, 1652, 1601, 1507, 1472, 1406, 1225, 1119, 836, 777, 668 cm<sup>-1</sup>; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1070.58 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)。

30

40

【0846】

化合物45

乾燥THF中のアミン44 (650mg、0.607mmol、1当量)及びTEA (220 μL、1.58mmol、2.6当

50

量)の溶液を、滴下により、乾燥THF (4mL)中のトリホスゲン(81mg、0.273mmol、0.45当量)の新たに調製した溶液に、0 で添加した。白色の懸濁液を0 で10分間攪拌するままにした。乾燥THF (30mL)中のアルコール(Alloc-Val-Ala-PABOH、229mg、0.607mmol、1当量)及びTEA (220  $\mu$ L、1.58mmol、2.6当量)の溶液を急速に添加した。白色の懸濁液を室温で15分間攪拌するままにし、次いで65 で2時間加熱し、次いで室温で終夜攪拌するままにした。白色のTEA塩を脱脂綿に通す濾過によって除去した。濾液を濃縮し、フラッシュクロマトグラフィー(クロロホルム中0%のMeOHからクロロホルム中最大3%までのMeOHの勾配)によって精製することで、220mgの所望のカルバメートを得た(25%)。分析データ:  $[\ ]^{24}_D = -46.1^\circ$  ( $c=0.13$ 、 $\text{CHCl}_3$ );  $^1\text{H NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 8.70 (bs, 2H), 8.46 (s, 1H), 7.83 (s, 2H), 7.50 (m, 2H), 7.31 (d, 2H,  $J=8.50\text{Hz}$ ) 7.25-7.15 (m, 4H), 7.03-6.93 (m, 4H), 6.92-6.77 (m, 4H), 6.51 (d, 1H,  $J=7.48\text{Hz}$ ), 5.99-5.81 (m, 1H), 5.38-5.15 (m, 5H), 5.13-5.03 (m, 2H), 4.77 (bs, 2H), 4.66-4.53 (m, 5H), 4.38-4.22 (m, 4H), 4.08-3.94 (m, 3H), 3.93-3.81 (m, 2H), 3.79 (s, 6H), 3.20-3.05 (m, 2H), 3.05-2.94 (m, 2H), 2.41 (p, 2H,  $J=5.95\text{Hz}$ ), 2.22-2.08 (m, 1H), 1.45 (d, 3H,  $J=7.03\text{Hz}$ ), 0.94 (dd, 6H,  $J=6.81, 14.78\text{Hz}$ ), 0.84 (m, 18H), 0.14-0.02 (m, 12H);  $^{13}\text{C NMR}$  (100MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 171.7, 169.8, 165.9, 163.1, 153.6, 151.0, 144.3, 137.8, 132.4, 132.3, 132.0, 130.2, 129.2, 126.2, 126.1, 125.3, 123.3, 123.2, 119.8, 118.2, 118.0, 115.7, 115.5, 112.0, 106.0, 66.5, 66.2, 65.8, 65.4, 62.5, 60.4, 59.5, 56.6, 49.6, 30.8, 28.9, 25.7, 19.2, 18.2, 18.1, 17.7, 17.3, 14.2, -5.4; IR (ATR,  $\text{CHCl}_3$ ) 2950, 2356, 1725, 1691, 1602, 1512, 1408, 1201, 1109, 1023, 832, 774, 668  $\text{cm}^{-1}$ ; MS ( $\text{ES}^+$ )  $m/z$  (相対強度) 1473.43 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100)。

10

20

【0847】

化合物12

乾燥酢酸エチル(15mL)中の1-ベンジル19-(2,5-ジオキソピロリジン-1-イル)4,7,10,13,16-ペンタオキサノナデカン-1,19-ジオエート(11) (100mg、0.19mmol、1当量)を、30psiで10%炭素担持パラジウム(10mg、10wt%)上にて45分間水素化した。反応混合物を乾燥酢酸エチルで洗浄しながらセライトに通して濾過した。減圧下での蒸発で、生成物12を無色の油として得た(74mg、89%)。分析データ:  $R_T$  (LC上では見られない) MS ( $\text{ES}^+$ )  $m/z$  (相対強度) 458 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 55)、436 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 12)。

【0848】

化合物13

$N,N$ -ジイソプロピルジエチルアミン(8.4  $\mu$ L、6mg、 $5.97 \times 10^{-5}\text{mol}$ 、1.1当量)を、乾燥DCM (5mL)中のアミンジペプチド(12c) (50mg、 $5.42 \times 10^{-5}\text{mol}$ 、1.0当量)及び酸-dPeg (登録商標) 5-NHSエステル(12) (28mg、 $6.5 \times 10^{-5}\text{mol}$ 、1.2当量)の溶液に添加した。溶液を室温で24時間攪拌した。反応混合物を減圧下で蒸発させることで、淡黄色の油がえられた。フラッシュカラムクロマトグラフィー[96%クロロホルム/4%メタノールから92%クロロホルム/8%メタノールまで0.5%ずつ増加の勾配溶出]による精製で、生成物13を黄色のガラスとして得た(42mg、64%)。分析データ:  $R_T$  2.78分; MS ( $\text{ES}^+$ )  $m/z$  (相対強度) 1242 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 40)。

【0849】

化合物49

1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(9.1mg、 $4.76 \times 10^{-5}\text{mol}$ 、1.6当量)を、乾燥DCM (6mL)中の $N$ -ヒドロキシスクシンイミド(5.8mg、 $5.06 \times 10^{-5}\text{mol}$ 、1.7当量)及び酸(13)の溶液に、窒素雰囲気下で添加した。反応混合物を室温で48時間攪拌した。溶液をDCM (10mL)で洗浄しながら濾過した。DCM溶液を水(20mL)、ブライン(20mL)で洗浄し、乾燥( $\text{MgSO}_4$ )させ、減圧下で蒸発させた。生成物49 (32mg、80%)を、さらに精製することなく使用した。分析データ:  $R_T$  2.88分; MS ( $\text{ES}^+$ )  $m/z$  (相対強度)1339 ( $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 100)。

【0850】

化合物50

30

40

50

Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (61mg、0.053mmol、0.01当量)を、乾燥DCM中のalloc化合物(8) (2.0g、5.3mmol、1.0当量)及びピロリジン(0.47g、0.55mL、6.63mmol、1.25当量)の溶液に、窒素雰囲気下で添加した。溶液を室温で16時間撹拌した。LCMSは、未反応のalloc化合物の存在を示した。さらなる分量のピロリジン(0.38g、0.44mL、5.3mmol、1.0当量)及びPd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (61mg、0.053mmol、0.01当量)を添加し、反応をさらに30分間続けた。溶媒を減圧下で蒸発させた。フラッシュカラムクロマトグラフィー[100%クロロホルム、次いで98%クロロホルム/2%メタノールから90%クロロホルム/10%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]による精製で、生成物50を白色の粉末として得た(1.37g、88%)。分析データ: R<sub>T</sub> 0.33分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 294 ([M+H]<sup>+</sup>、60)、MS (ES<sup>-</sup>) m/z (相対強度) 292 ([M-H]<sup>-</sup>、100)。

【0851】

10

化合物51

EEDQ (1.22g、4.93mmol、1.05当量)を、乾燥THF (60mL)中のアミンジペプチド(50) (1.37g、4.69mmol、1当量)及びm-dPeg (登録商標) 2酸(0.73g、4.93mmol、1.05当量)の溶液に添加した。溶液を室温で5日間撹拌した。溶媒を減圧下で蒸発させた。残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー[100%クロロホルムから95%クロロホルム/5%メタノールまで1%ずつ]によって精製することで、生成物51を白色の固体として得た(1.46g、74%)。分析データ: R<sub>T</sub> 2.22分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 446 ([M+Na]<sup>+</sup>、80)、424 ([M+H]<sup>+</sup>、70)、MS (ES<sup>-</sup>) m/z (相対強度) 422 ([M-H]<sup>-</sup>、100)。

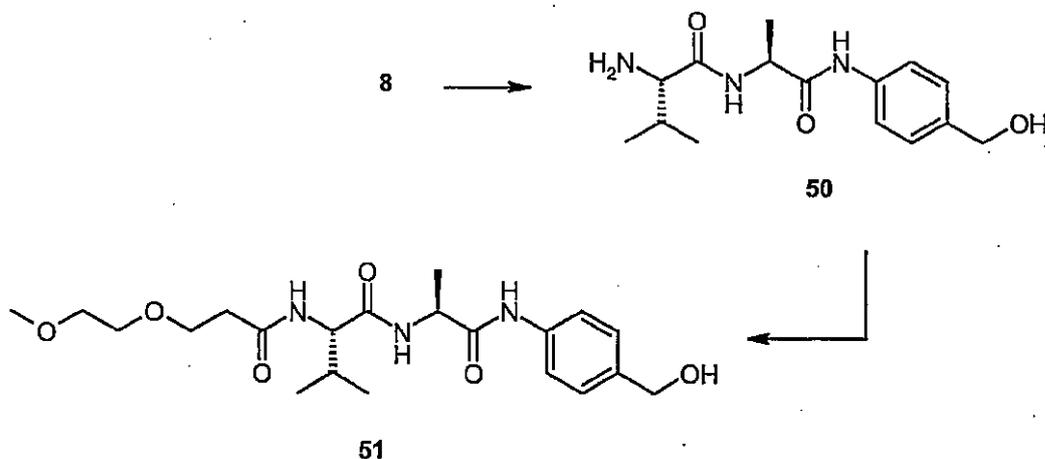
【0852】

20

51の合成は、スキーム14において下記に示される。

【化127】

スキーム14



30

【0853】

化合物52

トリエチルアミン(0.47g、0.65mL4.66mmol、2.2当量)を、乾燥THF (40mL)中のモノ-alloc保護ビス-アニリン(6) (1.68g、2.12mmol、1当量)及びトリホスゲン(0.226g、0.76mmol、0.36当量)の撹拌溶液に、窒素雰囲気下にて室温で添加した。反応混合物を40 に加熱し、試料をメタノールで処理し、LCMSによってカルバミン酸メチルとして分析した。

40

【0854】

乾燥THF (60mL)中のdPeg (登録商標) 2-ベンジル-アルコール(51) (1.35g、3.18mmol、1.5当量)及びトリエチルアミン(0.32g、0.44mL、3.18mmol、1.5当量)の溶液を、滴下により、新たに調製したイソシアネートに添加した。反応混合物をLCMSによって30分間隔でモニタリングした。3時間後、LC-MSは、生成物の変換、カルバミン酸メチル及びモノ-alloc保護ビス-アニリン(9)の存在を示した。さらなる分量のトリホスゲン(0.056g、0.19mmol、0.09当量)を添加し、反応を40 でさらに3時間続けた。反応混合物を蒸発乾固させることで、粗生成物が黄色の油として得られ、これをフラッシュクロマトグラフィー[100%クロロホルムから95%クロロホルム/5%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]によって精製

50

することで、所望の生成物52を黄色の気泡体として得た(1.91g、73%)。分析データ: R<sub>T</sub>分3.42分MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1243 ([M+H]<sup>+</sup>、50)、MS (ES<sup>-</sup>) m/z (相対強度) 1241 ([M-H]<sup>-</sup>、100)。

【0855】

化合物53

Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (35mg、3.0 × 10<sup>-5</sup> mol、0.02当量)を、乾燥DCM (30mL)中のalloc化合物(52) (1.87g、1.5mmol、1.0当量)及びピロリジン(0.27mg、310 μL、3.8mmol、2.5当量)の溶液に、窒素雰囲気下で添加した。溶液を室温で4時間攪拌した。溶媒を減圧下で蒸発させ、生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィー[100%クロロホルムから95%クロロホルム/5%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]によって精製することで、生成物53の黄色の気泡体を得た(1.57g、90%)。分析データ: R<sub>T</sub>分3.17分MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1159 ([M+H]<sup>+</sup>、65)。

10

【0856】

化合物54

トリエチルアミン(0.26g、0.36mL、2.6mmol、2.2当量)を、乾燥THF (40mL)中のモノ保護ビス-アニリン(53) (1.37g、1.18mmol、1当量)及びトリホスゲン(0.126g、0.43mmol、0.36当量)の攪拌溶液に、窒素雰囲気下にて室温で添加した。反応混合物を40℃に加熱し、試料をメタノールで処理し、LC-MSによってカルバミン酸メチルとして分析し、完全なイソシアネート形成を示した。

【0857】

20

乾燥THF (50mL)中のベンジルアルコール(8) (0.67g、1.8mmol、1.5当量)及びトリエチルアミン(0.18g、0.25mL、1.8mmol、1.5当量)の溶液を、滴下により、新たに調製したイソシアネートに添加した。反応混合物をLCMSによってモニタリングし、18時間後40℃で完了した。反応混合物を蒸発乾固させることで黄色の油が得られ、これをフラッシュクロマトグラフィー[95%酢酸エチル/5%メタノールから93%酢酸エチル/7%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]によって精製することで、所望の生成物54を白色の気泡体として得た(1.21g、66%)。分析データ: R<sub>T</sub>分3.42分MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1562 ([M+H]<sup>+</sup>、15)。

【0858】

化合物55

H<sub>2</sub>O (5.0mL)中のK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.522g、3.78mmol、5当量)の溶液を、メタノール(29mL)中のアセテート(54) (1.18g、0.756mmol、1当量)の溶液に添加した。反応混合物を室温で2時間攪拌した。メタノールを減圧下で蒸発させ、残渣をH<sub>2</sub>O (50mL)で希釈し、酢酸エチル(3 × 100mL)で抽出した。合わせた酢酸エチル抽出物をH<sub>2</sub>O (200mL)、ブライン(200mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、減圧下で蒸発させることで、生成物55を白色の気泡体として得た(1.052g、94%)。分析データ: R<sub>T</sub>分3.15分MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1478 ([M+H]<sup>+</sup>、5)、MS (ES<sup>-</sup>) m/z (相対強度) 1477 ([M-H]<sup>-</sup>、100)。

30

【0859】

化合物56

デス-マーチンペルヨージナン(0.152g、0.36mmol、2.1当量)を、一度に、乾燥DCM (5mL)中のビス脱アセチル化生成物(55) (0.252g、0.17mmol 1当量)の溶液に、窒素雰囲気下で添加した。溶液を室温で2時間攪拌し、この時LCMSは、反応が完了したこと示した。反応混合物をDCM (50mL)で希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム溶液(3 × 100mL)、水(100mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させた。溶媒を減圧下での回転蒸発によって除去することで、粗生成物を得た。フラッシュカラムクロマトグラフィー[100%クロロホルムから92%クロロホルム/8%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]による精製で、生成物56を白色の気泡体として得た(0.17g、68%)。分析データ: R<sub>T</sub>分6.17分MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1474 ([M+H]<sup>+</sup>、5)、MS (ES<sup>-</sup>) m/z (相対強度) 1472 ([M-H]<sup>-</sup>、100)。

40

【0860】

化合物57

Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (8mg、6.9 μmol、6.0当量)を、乾燥DCM (18mL)中のalloc化合物(56) (160mg

50

、0.108mmol、1.0当量)及びDCM中0.5Mピロリジン溶液(0.27mL、0.135mmol、1.25当量)の溶液に、窒素雰囲気下で添加した。溶液を室温で30分間攪拌した。溶媒を減圧下で蒸発させた。フラッシュカラムクロマトグラフィー[100%クロロホルムから91%クロロホルム/9%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]による精製で、生成物57を白色の粉末として得た(0.114g、74%)。分析データ:  $R_T$ 分2.60分MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1390 ([M+H]<sup>+</sup>, 5)。

#### 【0861】

マレイミド-PEG-スクシンイミド試薬と57とのカップリングで、PBD薬物-リンカー58を生成する。図1bは、PBD薬物-リンカーMP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 58の構造を示しており、ここで、MPはマレイミドプロパンアミドであり、PEGはエチレンオキシであり、PABはパラ-アミノベンジルオキシカルボニルであり、impはN-10イミン保護基: 3-(2-メトキシエトキシ)プロパノエート-Val-Ala-PABである。

10

#### 【0862】

化合物58 (MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD; (11S,11aS)-4-((2S,5S)-37-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-5-イソプロピル-2-メチル-4,7,35-トリオキソ-10,13,16,19,22,25,28,31-オクタオキサ-3,6,34-トリアザヘプタトリアコンタンアミド)ベンジル11-ヒドロキシ-8-(5-((11S,11aS)-11-ヒドロキシ-10-((4-((10S,13S)-10-イソプロピル-13-メチル-8,11-ジオキソ-2,5-ジオキサ-9,12-ジアザテトラデカンアミド)ベンジルオキシ)カルボニル)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,5,10,11,11a-ヘキサヒドロ-ピロロベンゾ[2,1-c][1,4]ジアゼピン-8-イルオキシ)ペンチルオキシ)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,11,11a-テトラヒドロ-ピロロベンゾ[2,1-c][1,4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)

20

乾燥DCM (176  $\mu$ L、 $8.8 \times 10^{-5}$ mol、2.2当量)中のN,N-ジイソプロピルジエチルアミンの0.5M溶液を、乾燥DCM (6mL)中のアミンジペプチド(57) (55mg、 $3.96 \times 10^{-5}$ mol、1.0当量)及びマレイミド-dPeg (登録商標) 8-NHSエステル(33mg、 $4.75 \times 10^{-5}$ mol、1.2当量)の溶液に添加した。溶液を室温で24時間攪拌した。反応混合物を減圧下で蒸発させ、残渣をDCM (50mL)中に再溶解した。DCM溶液を飽和炭酸水素ナトリウム(2 $\times$ 100mL)、水(100mL)、ブライン(100mL)で抽出し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、減圧下で蒸発させることで、黄色のガムを得た。フラッシュカラムクロマトグラフィー[クロロホルムから91%クロロホルム/9%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]による精製で、生成物58を白色の気泡体として得た(41mg、52%)。分析データ: RT分5.8分。MS (MaldiTOF) m/z (相対強度) 1987.9 ([M+Na]<sup>+</sup>, 100)。

30

#### 【0863】

##### コンジュゲート60

多くの癌によって有意に上方調節される、インテグリン<sub>6</sub>に対して高選択的であるペプチドピオチン-A20FMDV-Cys (59)を、PBD-リンカー誘導体のコンジュゲーションのために選択した。1/1のアセトニトリル/水(1mL)中のペプチド(59) (7.7mg、3.08  $\mu$ mol、1.2当量)の溶液を、1/1のアセトニトリル/水(2mL)中の(58) (5.05mg、2.57  $\mu$ mol、1.0当量)の溶液に添加した。溶液を室温で24時間攪拌した。アセトニトリルを減圧下で蒸発させ、水を凍結乾燥によって除去することで、生成物60の白色の気泡体を得た。セミ分取用HPLC、続いて凍結乾燥による精製で、生成物を白色の気泡体として得た(3.4mg、29%)。分析データ: MS (MaldiTOF) m/z (相対強度) 4458.3 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)。

40

#### 【0864】

化合物61 (MP-PEG24-Val-Ala-PAB-(imp)PBD; (11S,11aS)-4-((2S,5S)-16-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-5-イソプロピル-2-メチル-4,7,14-トリオキソ-10-オキサ-3,6,13-トリアザヘキサデカンアミド)ベンジル11-ヒドロキシ-8-(5-(((11S,11aS)-11-ヒドロキシ-10-(((4-((10S,13S)-10-イソプロピル-13-メチル-8,11-ジオキソ-2,5-ジオキサ-9,12-ジアザテトラデカンアミド)ベンジル)オキシ)カルボニル)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,5,10,11,11a-ヘキサヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル)オキシ)ペンチル)オキシ)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,11,11a-テトラヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10 (5H)-カルボキシレート)

50

NN-ジイソプロピルジエチルアミン(6  $\mu$ L、 $4.3 \times 10^{-5}$  mol、2.2当量)を、乾燥DCM (5mL) 中のアミンジペプチド(57) (27mg、 $1.94 \times 10^{-5}$  mol、1当量)及びマレイミド-dPeg (登録商標) 24-NHSエステル(30mg、 $2.13 \times 10^{-5}$  mol、1.1当量)の溶液に添加した。溶液を室温で24時間攪拌した。反応混合物を減圧下で蒸発させ、残渣をDCM (25mL)中に再溶解した。DCM溶液を飽和炭酸水素ナトリウム(2  $\times$  50mL)、水(50mL)、ブライン(50mL)で抽出し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、減圧下で蒸発させることで、黄色のガムを得た。フラッシュカラムクロマトグラフィー[クロロホルムから91%クロロホルム/9%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]による精製で、生成物を無色のガムとして得た(22mg、42%)。分析データ: MS (MaldiTOF) m/z (相対強度) 2691.8 ([M+H]<sup>+</sup>、100)。

## 【0865】

10

(2S,2'S,E)-ジメチル1,1'-(4,4'-(プロパン-1,3-ジイルビス(オキシ))ビス(5-メトキシ-2-ニトロベンゾイル))ビス(4-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-2-カルボキシレート) (71)

テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0) (21.6mg)を、トルエン(5mL)、エタノール(2.5mL)及び水(2.5mL)の混合物中のトリプレート40 (230mg)、トランス-プロペニルポロン酸(52.3mg)及び炭酸ナトリウム(129mg)に添加した。反応混合物を3時間アルゴン雰囲気下にて32 で攪拌するままにした。反応混合物を酢酸エチルで希釈し、水、ブラインで洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。濾過後、過剰の酢酸エチルを減圧下での回転蒸発によって除去した。粗製カップリング生成物をフラッシュカラムクロマトグラフィー(シリカゲル; 50%/50%の酢酸エチル/ヘキサンから80%/20%の酢酸エチル/ヘキサンの勾配)によって精製した。純粋な画分を合わせ、過剰の溶出液の除去で、純粋な生成物71がオレンジの固体として得られた(110mg、61.4%の収率、LC/MS 3.52分、m/z ES<sup>+</sup> 764.92)。反応を、より大きなスケールで反復することで、7.21gの鈴木カップリング生成物が得られた。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD). 7.78 (s, 2H) 6.92 (s, 2H), 5.98 (d, 2H), 5.89 (s, 2H), 5.46-5.55 (m, 2H), 5.10 (dd, 2H), 4.37 (t, 4H), 3.93-4.00 (m, 6H), 3.86 (s, 6H), 3.19-3.26 (m, 2H), 2.80 (dd, 2H), 2.45-2.51 (m, 2H), 1.77 (d, 6H OCH<sub>3</sub>)

20

## 【0866】

30

(S,E)-((プロパン-1,3-ジイルビス(オキシ))ビス(5-メトキシ-2-ニトロ-4,1-フェニレン))ビス(((S)-2-(ヒドロキシメチル)-4-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)メタノン) (72)

ビス-エステル71 (7.21g)を、固体として一度に、乾燥テトラヒドロフラン(300mL)中の水素化ホウ素リチウム(622mg)の溶液に、0 (氷浴)で添加した。氷浴を除去し、反応混合物を室温に達するままにした。1時間後、(酢酸エチル水でミニ後処理に続く) TLCは、反応が完了していないことを明らかにしたので、追加の水素化ホウ素リチウム(0.75当量)を添加した。反応混合物をさらに2.5時間攪拌するままにし、この時、(ミニ後処理に続く) TLCは、反応が完了していることを明らかにした。残留水素化ホウ素リチウムを大過剰の酢酸エチル(氷浴)でクエンチし、反応混合物を50分間攪拌するままにした。有機相を水、ブラインで洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。硫酸マグネシウムを真空濾過によって除去し、酢酸エチルを減圧下での回転蒸発によって除去することで、ジオール72が得られ(5.46g、82%の収率)、これを、さらに精製することなく次の反応に使用した(LC/MS 3.17分、m/z ES<sup>+</sup> 708.84)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD). 7.78 (s, 2H) 6.85 (s, 2H), 5.97 (d, 2H), 5.77 (s, 2H), 5.61-5.53 (m, 2H), 4.75-4.82 (m, 2H), 4.38 (t, 4H), 3.89-4.00 (m, 12H), 3.01-3.08 (m, 2H) 2.46-2.51 (m, 4H), 1.77 (d, 6H OCH<sub>3</sub>)。

40

## 【0867】

((2S,2'S,E)-1,1'-(4,4'-(プロパン-1,3-ジイルビス(オキシ))ビス(5-メトキシ-2-ニトロベンゾイル))ビス(4-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-2,1-ジイル))ビス(メチレン)ジアセテート (73)

乾燥ジクロロメタン(40mL)中の塩化アセチル(1.64mL)の溶液を、滴下により、ジクロロメタン(200mL)中のビスアルコール72 (6.2g)の溶液に、トリエチルアミン(3.68mL)の存在

50

下に0 で添加した。反応混合物を室温に温まるままにし、反応をTLC及びLC/MSによってモニタリングした。反応が完了した時、有機相を水、クエン酸(0.5N)、飽和炭酸水素ナトリウム及びブラインで順次に洗浄した。有機層を硫酸マグネシウム上で乾燥させ、濾過し、過剰ジクロロメタンを減圧下での回転蒸発によって除去した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル; 60%酢酸エチル/40%ヘキサンから70%酢酸エチル/30%ヘキサンの勾配)にかけた。純粋な画分を合わせ、過剰の溶出液の除去で、ビス-アセテート73が得られた(2.50g、36%の収率、LC/MS 3.60分、m/z ES<sup>+</sup> 792.63)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.77 (d, J=3.4Hz, 2H), 6.89 (s, 2H), 5.99 (d, J=15.2Hz, 2H), 5.78 (s, 2H), 5.65-5.45 (m, J=15.4, 6.8Hz, 2H), 5.02-4.86 (m, J=9.7, 5.5Hz, 2H), 4.57 (s, 2H), 4.37 (t, J=5.9Hz, 4H), 4.00 (s, 6H), 3.10-2.92 (m, J=10.7Hz, 2H), 2.60 (dd, J=16.3, 3.1Hz, 2H), 2.52-2.43 (m, 2H), 2.10 (s, 6H), 1.78 (d, J=6.7Hz, 4H)。

10

【 0 8 6 8 】

((2S,2'S,E)-1,1'-(4,4'-(プロパン-1,3-ジイルビス(オキシ))ビス(2-アミノ-5-メトキシベンゾイル))ビス(4-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-2,1-ジイル))ビス(メチレン)ジアセテート (74)

亜鉛粉末(10g)を、エタノール(20mL)及び酢酸エチル(20mL)中のビス-ニトロ化合物73 (2.5g)の溶液、続いてエタノール中のギ酸の溶液(5% v/v; 100mL)に添加した。反応は発熱性であり、温度が33 まで上昇し、温度を15 に氷浴で下げ、TLC及びLC/MSによって密接にモニタリングしながら、反応混合物を攪拌するままにした。30分後、痕跡量の出発原料が無いが、又は中間体が検出されたので、反応を完了したと見なした。混合物をデカントし、脱脂綿に通して濾過した。濾液を酢酸エチル(300mL)と飽和NaHCO<sub>3</sub>水溶液(300mL)との間で分配した。有機層をさらにブライン(200mL)で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥させた。過剰の溶媒を減圧下での回転蒸発によって除去することで、生成物74が得られた(2.09g; 90%の収率、LC/MS 3.35分、m/z ES<sup>+</sup> 732.06)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 6.76 (s, 2H), 6.45 (s, 2H), 6.33 (s, 2H), 6.12 (d, J=15.3Hz, 2H), 5.54 (dq, J=13.2, 6.6Hz, 2H), 4.90 (td, J=9.6, 4.5Hz, 2H), 4.48 (s, 4H), 4.42-4.33 (m, 4H), 4.23 (t, J=6.1Hz, 4H), 3.79 (s, 6H), 2.95 (dd, J=16.0, 10.4Hz, 2H), 2.55 (dd, J=16.2, 3.5Hz, 2H), 2.42-2.32 (m, 2H), 2.07 (s, 6H), 1.81 (d, J=6.6Hz, 6H)。

20

【 0 8 6 9 】

((S)-1-(4-(3-(4-((S)-2-(アセトキシメチル)-4-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-1-カルボニル)-5-(((アリルオキシ)カルボニル)アミノ)-2-メトキシフェノキシ)プロポキシ)-2-アミノ-5-メトキシベンゾイル)-4-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-2-イル)メチル (75)

30

乾燥ジクロロメタン中のクロロギ酸アリルの溶液を、滴下により、乾燥ジクロロメタン中のビス-アニリン74及びピリジンの溶液に、-78 で添加した。反応混合物を-78 で2時間攪拌するままにし、次いで室温に戻るままにした。反応混合物を硫酸銅II水溶液、水、飽和炭酸水素ナトリウム及びブラインで順次に洗浄した。有機層を硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空下で濾過し、過剰のジクロロメタンを減圧下での回転蒸発によって除去した。TLC及びLC/MSは、所望のモノAlloc生成物75及びビス-Alloc生成物の両方の存在を明らかにした。生成混合物をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル; 40%酢酸エチル/60%ヘキサンから70%酢酸エチル/40%ヘキサンの勾配)にかけた。所望のモノAlloc生成物75を含む純粋な画分を回収して合わせ、過剰の溶出液を減圧下での回転蒸発によって除去することで、生成物が得られた(580mL、25%の収率)。LC/MS 3.58分、ES<sup>+</sup> 817.02 <sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8.60 (s, 1H), 7.85 (s, 1H), 6.80 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.42 (s, 1H), 6.37 (s, 1H), 6.33 (s, 1H), 6.08 (dd, J=15.4, 6.1Hz, 2H), 6.00-5.87 (m, 1H), 5.62-5.44 (m, 2H), 5.34 (dd, J=17.2, 1.4Hz, 1H), 5.23 (dd, J=10.4, 1.2Hz, 1H), 4.88 (qd, J=9.5, 4.5Hz, 2H), 4.67-4.57 (m, 2H), 4.50-4.25 (m, 8H), 4.22 (t, J=6.3Hz, 2H), 3.82 (s, 3H), 3.76 (s, 3H), 3.00-2.85 (m, 2H), 2.58-2.47 (m, 2H), 2.37 (p, J=6.1Hz, 2H), 2.06 (s, 6H), 1.81-1.73 (m, 6H)。

40

【 0 8 7 0 】

50

((2S)-1-(4-(3-(4-((S)-2-(アセトキシメチル)-4-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-1-カルボニル)-5-(((4-(2-(2-((アリルオキシ)カルボニル)アミノ)-3-メチルブタンアミド)プロパンアミド)ベンジル)オキシ)カルボニル)アミノ)-2-メトキシフェノキシ)プロポキシ)-2-(((アリルオキシ)カルボニル)アミノ)-5-メトキシベンゾイル)-4-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-2-イル)メチルアセテート (76)

乾燥トリエチルアミン(0.206mL)を、乾燥テトラヒドロフラン(20mL)中のモノ-alloc保護ビス-アニリン75 (560mg)及びトリホスゲン(72mg)の攪拌溶液に、不活性雰囲気下で添加した。反応混合物を40 で加熱し、試料を除去し、メタノールで処理した。LC/MSは、遊離アミン基が反応性イソシアネート中間体に変換されるのが成功したことを示す、カルバミン酸メチルへの完全な変換を明らかにした。乾燥テトラヒドロフラン(20mL)中のalloc-val-ala-PABOH (381mg)及びトリエチルアミン(0.14mL)の溶液を、反応槽中に40 で急速に注入した。反応混合物を室温で終夜攪拌するままにし、この後、試料を除去し、メタノールで処理した。LC/MSは、全てのイソシアネートが消費されたことを示す、痕跡量のカルバミン酸メチルが無いことを明らかにした。反応混合物を蒸発乾固させることで、粗生成物が得られ、これをカラムクロマトグラフィー(シリカゲル;クロロホルムから2%メタノール/98%クロロホルムの勾配)によって精製した。純粋な画分を回収して合わせ、減圧下での回転蒸発による過剰の溶出液の除去で、純粋な生成物76が得られた(691mg、84%の収率)。LC/MS 3.73分、ES<sup>+</sup>1220.21。

10

【0871】

20

アリル4-(2-(2-(((アリルオキシ)カルボニル)アミノ)-3-メチルブタンアミド)プロパンアミド)ベンジル((S,E)-(プロパン-1,3-ジイルビス(オキシ))ビス(2-((S)-2-(ヒドロキシメチル)-4-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-1-カルボニル)-4-メトキシ-5,1-フェニレン))ジカルバメート (77)

炭酸カリウムの水溶液(4.8mLの水中770mg)を、メタノール(29mL)中のビス-アセテート76 (680mg)の溶液に、室温で添加した。脱アセチル化は、LC/MSによってモニタリングされた通り、30分以内に完了した。反応混合物をジクロロメタン(200mL)で希釈し、有機相をクエン酸(0.5N、100mL)、水(200mL)及びブライン(100mL)で順次に洗浄した。有機相を硫酸マグネシウム上で乾燥させ、懸濁液を濾過し(真空濾過)、過剰の溶媒を減圧下での回転蒸発によって除去した。残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル; 1.5%メタノール/98.5%クロロホルムから3.5%メタノール96.5%クロロホルムの勾配)にかけた。純粋な画分を合わせ、減圧下での回転蒸発による過剰の溶出液の除去で、ジオール77が得られた(530 mg、84%の収率)。LC/MS 3.40分、ES<sup>+</sup> 1136.49。

30

【0872】

(11S,11aS)-アリル8-(3-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-(((アリルオキシ)カルボニル)アミノ)-3-メチルブタンアミド)プロパンアミド)ベンジル)オキシ)カルボニル)-11-ヒドロキシ-7-メトキシ-5-オキソ-2-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-5,10,11,11a-テトラヒドロ-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル)オキシ)プロポキシ)-11-ヒドロキシ-7-メトキシ-5-オキソ-2-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-11,11a-ジヒドロ-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート (78)

40

デス-マーチンペルヨージナン(373mg、4当量)を、一度に、乾燥ジクロロメタン(10mL)中の77 (250mg)及びピリジン(0.36mL、20当量)の溶液に、室温で添加した。TLC (5%メタノール/クロロホルム)による綿密なモニタリングは、30分後に出発原料の消失を明らかにした。反応物を、メタ重亜硫酸ナトリウム及び炭酸水素ナトリウムの溶液、続いてブラインで後処理した。ジクロロメタン層を硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空濾過した。ジクロロメタン溶液を次いで、触媒的量のDMAP (c. 10mg)で処理し、TLC/LC/MSによって観察されるように主な生成物スポットを一つに合体させた。溶液を蒸発によって濾過し、ジクロロメタンを減圧下での回転によって除去した。生じた残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル; 1.5%メタノール/98.5%クロロホルムから3%メタノール/97%クロロホルムの勾配)にかけた。純粋な画分を回収し、減圧下での回転蒸発による溶出液の除去で、所

50

望の環化生成物78が得られた(62mg、25%の収率)。LC/MS 3.35分、ES<sup>+</sup>1132.19、ES<sup>-</sup>1130.25。

【0873】

(11S,11aS)-4-((S)-2-((S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド)プロパンアミド)ベンジル11-ヒドロキシ-7-メトキシ-8-(3-(((S)-7-メトキシ-5-オキソ-2-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-5,11a-ジヒドロ-ピロロ[2,1-c][1,4]dベンゾイアゼピン(benzotiazepin)-8-イル)オキシ)プロポキシ)-5-オキソ-2-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-11,11a-ジヒドロ-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート (79)

Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (1.9mg)を、乾燥DCM (3mL)中のalloc化合物(78) (62mg)及びピロリジン(22.6 μL)の溶液に、アルゴン雰囲気下で添加した。溶液を室温で1.5時間攪拌した。溶媒を減圧下で蒸発させた。フラッシュカラムクロマトグラフィー[3%メタノール/97%クロロホルムから/90%クロロホルム10%メタノールの勾配溶出]による精製で、生成物を白色の粉末として得た(26mg、50%)。LC/MS: RT 2.70分MS (ES<sup>+</sup>) 946.17。

10

【0874】

(11S,11aS)-4-((2S,5S)-25-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-5-イソプロピル-2-メチル-4,7,23-トリオキソ-10,13,16,19-テトラオキサ-3,6,22-トリアザペンタコサンアミド)ベンジル11-ヒドロキシ-7-メトキシ-8-(3-(((S)-7-メトキシ-5-オキソ-2-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-5,11a-ジヒドロ-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル)オキシ)プロポキシ)-5-オキソ-2-((E)-プロパ-1-エン-1-イル)-11,11a-ジヒドロ-ピロロ[2,1-c][1,4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート (80)

20

N,N-ジイソプロピルジエチルアミンi (2.6 μL)の溶液を、乾燥DCM (4mL)中のアミンジペプチド79 (13mg)及びマレイミド-dPeg (登録商標) 4-NHSエステル(8.5mg)の溶液に添加した。溶液を室温で24時間攪拌した。反応混合物を減圧下で蒸発させ、残渣をセミ分取用TLC (10%メタノール/90%クロロホルム)にかけることで、所望のマレイミド14の純粋な試料が得られた。LC-MS保持時間2.87分ES<sup>+</sup> 1344.29。

【0875】

Boc-Val-Cit-PABOH (82)

THF (50mL)中のBoc-Val-OSu (10.0g、31.8mmol、1当量)の溶液を、THF (50mL)及びH<sub>2</sub>O (100mL)中のH-Cit-OH (5.85g、33.4mmol、1.05当量)及びNaHCO<sub>3</sub> (2.94g、34.9mmol、1.1当量)の溶液に添加した。混合物を室温で72時間攪拌し、THFを減圧下で蒸発させた。pHを3にクエン酸で調節することで、白色のガムを沈殿させた。これを10% IPA/酢酸エチル(8 × 150mL)で抽出し、合わせた抽出物をブライン(300mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させた。減圧下での蒸発で白色の気泡体を得られ、これを減圧下で18時間乾燥させた。気泡体をエーテル中に超音波処理で懸濁し、続いて濾過することで、該生成物を微粒の白色粉末として得た(10.6g、89%)。DCM/MeOH (100mL/50mL)中の、一分量のこの材料(7.2g、19.2mmol、1当量)、p-アミノベンジルアルコール(2.6g、21.15mmol、1.1当量)及びEEDQ (9.5g、38.5mmol、2.0当量)を、室温で24時間攪拌した。溶媒を減圧下で蒸発させ、残留ガムをエーテルを用いて超音波処理で粉砕し、生じた生成物を濾過によって回収し、減圧下で乾燥させることで、生成物82を白色の固体として得た(6.6g、71%)。分析データ: RT 2.42分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 479.8 ([M+1]<sup>+</sup>、60)、MS (ES<sup>-</sup>) m/z (相対強度) 477.6 ([M-H]<sup>-</sup>、90)。

30

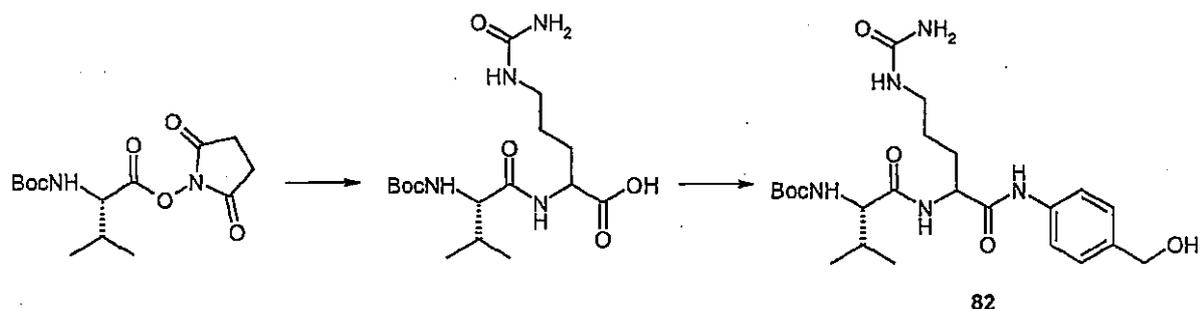
40

【0876】

化合物82の合成を下記スキーム16に示す。

## 【化128】

## スキーム16



10

## 【0877】

((S)-1-(4-((5-(4-((S)-2-(アセトキシメチル)-4-メチレンピロリジン-1-カルボニル)-5-(((4-((S)-2-((S)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジル)オキシ)カルボニル)アミノ)-2-メトキシフェノキシ)ペンチル)オキシ)-2-(((アリルオキシ)カルボニル)アミノ)-5-メトキシベンゾイル)-4-メチレンピロリジン-2-イル)メチルアセテート (83)

トリエチルアミン(0.14g、0.19mL、1.4mmol、2.2当量)を、乾燥THF(10mL)中のモノ-*al*loc保護ビス-アニリン(6)(0.505g、0.64mmol、1当量)及びトリホスゲン(0.068g、0.23mmol、0.36当量)の攪拌溶液に、アルゴン雰囲気下にて室温で添加した。反応混合物を40

20

## 【0878】

乾燥THF/DMF(20mL/1mL)中のベンジルアルコール(82)(0.46g、0.96mmol、1.5当量)及びトリエチルアミン(0.096g、0.13mL、0.96mmol、1.5当量)の溶液を、滴下により、新たに調製したイソシアネートに添加した。反応混合物をLC-MSによってモニタリングし、2時間後に40 で完了した。反応混合物を蒸発乾固させ、残渣を10% IPA/DCMと水との間で分配した。有機部分を分離し、水(100mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、減圧下で蒸発させることで、茶色の気泡体を得た。フラッシュカラムクロマトグラフィー[クロロホルムから93%クロロホルム/7%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]による精製

30

## 【0879】

アリル4-((S)-2-((S)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジル((S)-(ペンタン-1,5-ジイルビス(オキシ))ビス(2-((S)-2-(ヒドロキシメチル)-4-メチレンピロリジン-1-カルボニル)-4-メトキシ-5,1-フェニレン))ジカルバメート (84)

H<sub>2</sub>O(2mL)中のK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(0.28g、2.0mmol、5.4当量)の溶液を、メタノール(10mL)中のアセテート(83)(0.49g、0.4mmol、1当量)の溶液に添加した。反応混合物を室温で2時間攪拌した。メタノールを減圧下で蒸発させ、残渣をH<sub>2</sub>O(10mL)で希釈し、pH 3に1Mクエン酸で酸性化した。混合物をDCM(4×50mL)で抽出し、合わせた抽出物をブライン(100mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、減圧下で蒸発させることで、生成物を白色の気泡体として得た(0.43g、94%)。分析データ: RT 3.12分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1214 ([M+H]<sup>+</sup>, 100)、MS (ES<sup>-</sup>) m/z (相対強度) 1212 ([M-H]<sup>-</sup>, 100)。

40

## 【0880】

(11S,11aS)-アリル8-((5-(((11S,11aS)-10-(3-(4-((S)-2-((S)-2-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド)フェニル)プロパノイル)-11-ヒドロキシ-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,5,10,11,11a-ヘキサヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル)オキシ)ペンチル)オキシ)-11-ヒドロキシ-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,11,11a-テトラヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベ

50

ンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート (85)

安定化させた45wt%の2-ヨードキシ安息香酸 (IBX) (0.18g、0.29mmol、2.4当量)を、一度に、乾燥DMSO (4mL)中のビス脱アセチル化生成物(55) (0.147g、0.12mmol、1当量)の溶液に、窒素雰囲気下で添加した。溶液を室温で26時間攪拌した。さらに一分量のIBX (15mg、 $2.4 \times 10^{-5}$ 、0.2当量)を添加し、反応をさらに18時間続けた。反応混合物をH<sub>2</sub>O (10mL)で希釈し、10% MeOH/DCM (4 × 25mL)で抽出し、合わせた抽出物を飽和炭酸水素ナトリウム溶液(2 × 100mL)、水(100mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させた。溶媒を減圧下での回転蒸発によって除去することで、粗生成物を得た。フラッシュカラムクロマトグラフィー[100%ジクロロメタンから94%ジクロロメタン/6%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]による精製で、生成物85を白色の固体として得た(77mg、53%)。分析データ: RT 2.98分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1210 ([M+H]<sup>+</sup>、100)、MS (ES<sup>-</sup>) m/z (相対強度) 1208 ([M-H]<sup>-</sup>、100)。

【0881】

(11S,11aS)-アリル8-((5-(((11S,11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジル)オキシ)カルボニル)-11-ヒドロキシ-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,5,10,11,11a-ヘキサヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル)オキシ)ペンチル)オキシ)-11-ヒドロキシ-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,11,11a-テトラヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート (86)

冷トリフルオロ酢酸(3mL)を、Boc保護化合物(85) (72mg、 $6.0 \times 10^{-5}$ mol)に0 で添加した。溶液をこの温度で15分間攪拌した。反応混合物を氷上に注ぎ、pHを飽和NaHCO<sub>3</sub>溶液でpH 8に調節した。溶液をDCM (4 × 25mL)で抽出し、合わせた抽出物を飽和ブライン(100mL)で洗浄し、乾燥(MgSO<sub>4</sub>)させ、減圧下で蒸発させることで、生成物を白色の固体として得た(55mg、83%)。分析データ: RT 2.53分; MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1110 ([M+H]<sup>+</sup>、100)、MS (ES<sup>-</sup>) m/z (相対強度) 1108 ([M-H]<sup>-</sup>、100)。

【0882】

(11S,11aS)-4-((S)-2-((S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジル11-ヒドロキシ-7-メトキシ-8-((5-(((S)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,5,11a-テトラヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル)オキシ)ペンチル)オキシ)-2-メチレン-5-オキソ-2,3,11,11a-テトラヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート (86)

Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (2.7mg、2.3 μmol、0.03当量)を、乾燥DCM (3mL)中のalloc化合物(85) (80mg、72 μmol、1.0当量)及びピロリジン(30 μL、26mg、0.36mmol、5当量)の溶液に、窒素雰囲気下で添加した。溶液を室温で2時間攪拌し、溶媒を減圧下で蒸発させた。フラッシュカラムクロマトグラフィー[90%クロロホルム/10%メタノールから76%クロロホルム/24%メタノールの勾配溶出]による精製で、生成物を白色の粉末として得た(62.5g、86%)。分析データ: RT 2.45分MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1008 ([M+H]<sup>+</sup>、80)。

【0883】

(11S,11aS)-4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキササンアミド)-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジル11-ヒドロキシ-7-メトキシ-8-((5-(((S)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,5,11a-テトラヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル)オキシ)ペンチル)オキシ)-2-メチレン-5-オキソ-2,3,11,11a-テトラヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート (87)

N,N-ジイソプロピルジエチルアミン(12 μL、 $7.1 \times 10^{-5}$ mol、5.0当量)を、乾燥DCM/DMA (2mL/0.2mL)中のアミンジペプチド(86) (14.2mg、 $1.4 \times 10^{-5}$ mol、1当量)及び6-マレイミド-ヘキササン酸-NHSエステル(4.8mg、 $1.55 \times 10^{-5}$ mol、1.1当量)の溶液に、アルゴン雰囲気下で添加した。溶液を室温で72時間攪拌した。反応混合物を減圧下で蒸発させ、残渣をフラッシュカラムクロマトグラフィー[クロロホルムから93%クロロホルム/7%メタノールまで1%ずつ増加の勾配溶出]によって精製することで、該生成物をオフホワイトの気泡体と

10

20

30

40

50

して得た(5mg、29%)。分析データ: RT 2.83分MS (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1201 ([M+H]<sup>+</sup>、100)。

【0884】

コンジュゲーションのためのThioMabの還元/酸化

CHO細胞中に発現させた全長の、システイン操作した単クローン抗体(ThioMab)を、約20~40倍過剰のTCEP (トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン塩酸塩、又は2mMのEDTAとともに50mMのトリスpH7.5中のDTT (ジチオスレイトール)を用いて、3時間37℃で、又は終夜室温で還元した。(Getzら、(1999) Anal. Biochem. Vol 273:73~80; Soltec Ventures, Beverly, MA)。還元したThioMabを希釈し、10mMの酢酸ナトリウム、pH 5、中のHiTrap Sカラム上に負荷し、0.3Mの塩化ナトリウムを含有するPBSで溶出した。別法として、1/20の体積の10%酢酸を添加することによって抗体を酸性化し、10mMのスクシネートpH 5で希釈し、カラム上に負荷し、次いで10カラム体積のスクシネート緩衝剤で洗浄した。カラムを50mMトリスpH 7.5、2mMのEDTAで溶出した。

10

【0885】

溶出した還元化ThioMabを、200nMの硫酸銅水溶液(CuSO<sub>4</sub>)又は15倍モル過剰のDHAA (デヒドロアスコルビン酸)で処理した。鎖間ジスルフィド結合の酸化は、約三時間以上で完了した。周囲空気酸化も有効であった。再酸化した抗体を、20mMのコハク酸ナトリウムpH 5、150mMのNaCl、2mMのEDTAに透析分離し、-20℃で冷凍保存した。

【0886】

抗体-薬物コンジュゲートを調製するためのThioMabと薬物-リンカー化合物とのコンジュゲーション

20

上記した通りの再酸化ThioMabを、混合した2.5から10倍過剰の薬物-リンカー中間体(15ba、15bb、15d、58)と合わせ、約一時間室温で静置させることで、コンジュゲーションを遂行し、表1のThioMab抗体-薬物コンジュゲート101~115を形成した。コンジュゲーション混合物をゲル濾過、カチオン交換クロマトグラフィー又は透析によって精製することで、過剰の薬物-リンカー中間体及び他の不純物を除去した。

【表 1】

表 1

ADC	ADC (Ab-薬物/リンカー)	薬物-リンカー 化合物	DAR (抗体に対する 薬物の比率)	図
101	Tr-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD	15bb	1.3	2、3、4
102	抗 CD22-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD	15bb	1.2	2、3
103	Tr-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD	15ba	1.37	2、3、4
104	抗 CD22-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD	15ba	1.2	2、3
105	トラスツズマブ-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD	15bb	1	6
106	トラスツズマブ-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD	15ba	1.1	6
107	抗 Steap1-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD	15bb	0.5	4、6
108	抗 Steap1-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD	15ba	1.5	4、6
109	抗 Steap1-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD	58	1.75	5
110	抗 CD22-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD	58	1.8	5
111	抗 Steap1-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD	15d	1.8	
112	gD5B60-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD	15d	1.85	
113	gD5B60-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD	58	1.9	
114	トラスツズマブ-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD	15d	1.7	
115	トラスツズマブ-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD	58	1.8	

Tr =チオトラスツズマブ、抗 HER2、4D5 HC A118C (配列番号付け)、A114C (Kabat 番号付け)

imp = N-10 イミン保護: 3-(2-メトキシエトキシ)プロパノエート-Val-Ala-PAB-

【 0 8 8 7 】

特に、薬物-リンカー中間体15d (MW 1496.65)を、20mMの濃度までDMA(ジメチルアセト

10

20

30

40

50

アミド)に可溶化した。再酸化したシステイン操作H118Cトラスツズマブ抗体(Tr)を解凍し、3倍モル過剰の15dを添加した。実験が、より高いpHで抗体凝集の増加を示した後、反応をpH 5で実施した。薬物コンジュゲーションの程度をLC-MS分析によってモニタリングした。追加の1倍当量の15dを3時間後に添加し、反応を終夜4 で進行するままにすることで、粗製ADC114を得た。

【0888】

抗体-薬物コンジュゲート、トラスツズマブ-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD 114を次いで、スクシネートで希釈した後にカチオン交換カラムに適用し、少なくとも10カラム体積のスクシネートで洗浄し、PBS溶出した。抗体-薬物コンジュゲート114を、ゲル濾過カラムを使用して20mMのHis/アセテートpH 5、240mMのスクロース中に処方した。抗体-薬物コンジュゲート114を、タンパク質濃度を決定するためのUV分光法、凝集分析用の分析用SEC (サイズ除外クロマトグラフィー)、及び薬物負荷を決定するための還元の前後にLC-MSによって特徴づけた。

10

【0889】

サイズ排除クロマトグラフィーを、0.2Mのリン酸カリウムpH 6.2中のShodex KW802.5カラムを使用し、0.25mMの塩化カリウム及び15% IPAを用いて、0.75ml/minの流量で行った。コンジュゲートの凝集状態を、280nmにおける溶出ピーク面積吸光度の積分によって決定した。SEC分析は、8.08分での積分面積による4.1%の凝集ADC及び8.99分での95.9%の単量体ADC 11を示した。

20

【0890】

LC-MS分析を、Agilent QTOF 6520 ESI機器を使用して行った。一例として、114トラスツズマブ-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBDをDTT (ジチオスレイトール)で還元し、80 に加熱し、5分で30% Bから40% Bの勾配を用いて溶出される1000 、8  $\mu$ mのPLRP-Sカラム(Variant)上に負荷した。移動相Aは、0.05% TFAとのH<sub>2</sub>Oであり、移動相Bは、0.04% TFAとのアセトニトリルであった。流量は0.5ml/minであった。タンパク質溶出を、UV吸光度検出によってA 280nmで、エレクトロスプレーイオン化法及びTOF分析の前にモニタリングした。裸の軽鎖、残留性の裸の重鎖、及び薬物を入れた重鎖の基線クロマトグラフィー分離を達成した。得られたm/zスペクトルを、Agilent Mass Hunter (商標)ソフトウェアを使用して脱回旋することで、低減した抗体断片の質量を算出した。

30

【0891】

MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 58の分子量(MW) (図1)=1964ダルトン  
観察された脱回旋質量

23440ダルトンは、裸のLCのMWに対応する。

【0892】

50627ダルトンは、裸のHCのMWに対応する。

【0893】

52591ダルトンは、薬物を入れたHCのMWに対応する。

【0894】

したがって、52591ダルトンで観察されたピークは、一つの薬物部分、薬物-リンカー中間体58(1964ダルトン)を保有する予想の重鎖(HC)断片(50627ダルトン)に対応する。

40

【0895】

PBD薬物-リンカー中間体へのコンジュゲーションのための抗体がシステイン操作抗体でない場合、鎖間ジスルフィド結合は、2時間37 でホスフェートpH 7.5中の約2.2モル過剰のTCEPを添加することによって部分的に低減される。各当量のTCEPは、理論的に2種の反応性システインをもたらす。通常、約3.5の標的薬物/抗体比(DAR)のためには、1.8~2モル過剰のTCEPが添加される。還元続く精製ステップは通常必要とされない。反応性システインに対してわずかに過剰(1.2~1.5 X)の薬物-リンカー中間体、抗体に対して約8モル当量の薬物-リンカー中間体を添加し、反応を約1時間室温で実施する。精製は、ダイアフィльтраーション、イオン交換又はゲル濾過によって行うことができる。DARは、UV A280面積積分を使用して、低減コンジュゲートの疎水性相互作用クロマトグラフィー(HIC)、

50

又はLC-MSによって決定することができる。

【0896】

インビトロ細胞増殖アッセイ

ADCの効力を、以下のプロトコル(CellTiter Glo Luminescent Cell Viability Assay、Promega Corp. Technical Bulletin TB288; Mendozaら、(2002) Cancer Res. 62:5485~5488)を用いる細胞増殖アッセイによって測定した。

【0897】

1. 培地中の約 $10^4$ 細胞(例えば、KPL-4、ヒト乳癌細胞株、Kurebayashiら、(1999) Brit. J. our. Cancer 79(5-6):707~717)、SKBR-3、BT474、MCF7又はMDA-MB-468)を含有する細胞培養100 $\mu$ lのアリコットを、96ウェルの不透明な壁付きプレートの各ウェル中に沈着させた。

10

【0898】

2. 培地を含有し、細胞が無い対照ウェルを調製した。

【0899】

3. ADCを実験ウェルに添加し、3~5日間インキュベートした。

【0900】

4. プレートを室温におよそ30分間平衡化した。

【0901】

5. 各ウェルに存在する細胞培養培地の体積と同等の体積のCellTiter-Glo試薬を添加した。

20

【0902】

6. 含有物を2分間オービタルシェーカー上で混合することで、細胞溶解を誘発した。

【0903】

7. プレートを室温で10分間インキュベートすることで、発光シグナルを安定化した。

【0904】

8. 発光をRLU=関連発光単位としてグラフ中で記録及び報告した。

【0905】

特定の細胞を96ウェルプレート中に1000~2000/ウェル又は2000~3000/ウェル、50 $\mu$ L/ウェルで播種する。一日又は二日後、ADCを50 $\mu$ Lの体積で、9000、3000、1000、333、111、37、12.4、4.1又は1.4ng/mLの最終濃度まで添加し、「ADCが無い」対照ウェルは培地単独を受ける。条件は二通り又は三通りである。3~5日後、100 $\mu$ L/ウェルの細胞TiterGlo IIを添加し(ルシフェラーゼベースのアッセイ;増殖をATPレベルによって測定)、細胞数をルミノメーターを使用して決定する。データを標準偏差エラーバーで、同型の各セットに対する発光の平均値としてプロットする。該プロトコルは、以下のCellTiter Glo Luminescent Cell Viability Assay (Promega)の変更である。

30

【0906】

1. FBS/グルタミン培地の50 $\mu$ L/ウェル中に1000細胞/ウェルを平板培養する。細胞を終夜結合させる。

【0907】

2. ADCを、作業濃度18 $\mu$ g/ml (これは9 $\mu$ g/mlの最終濃度をもたらす)で始めて、培地中1:3に連続して希釈する。50 $\mu$ Lの希釈ADCを、既にウェル中にある50 $\mu$ Lの細胞及び培地に添加する。

40

【0908】

3. 72~96時間(標準は72時間であるが、細胞が85~95%コンフルエントである場合、0 $\mu$ g/mL濃度を監視してアッセイを中止する)インキュベートする。

【0909】

4. 100 $\mu$ L/ウェルのPromega Cell Titer Glo試薬を添加し、3分振盪し、ルミノメーター上で読み取る。

【0910】

結果

50

図2は、5日でのSK-BR-3インビトロ細胞生存能対、Tr-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 101 ( )、抗CD22-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 102 ( )、Tr-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 103 ( )及び抗CD22-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 104の濃度のプロットを示しており、ここで、Trは抗HER2チオトラスツマブ4D5 HC A118Cであり、重鎖システイン操作された抗体の突然変異体は、連続番号付け体系によって番号付けされている。

【0911】

HER2発現SK-BR-3細胞の増殖は、抗HER2抗体-薬物コンジュゲート101及び103によって選択的に阻害されるが、抗CD22抗体薬物コンジュゲート102及び104によって選択的に阻害されない。これらの結果は、PBD抗体-薬物コンジュゲートの、インビトロにおける標的依存性の選択的死滅効果を確認した。

10

【0912】

図3は、5日でのKPL-4インビトロ細胞生存能対、Tr-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 101 ( )、抗CD22-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 102 ( )、Tr-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 103 ( )及び抗CD22-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 104( )の濃度のプロットを示しており、ここで、Trは抗HER2チオトラスツマブ4D5 HC A118Cであり、重鎖システイン操作された抗体の突然変異体は、連続番号付け体系によって番号付けされている。

【0913】

抗体-薬物コンジュゲート、トラスツマブ-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD 114及びトラスツマブ-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 115を、SK-BR-3、KPL-4及びMCF-7 (Levensonら、(1997) *Cancer Res.* 57(15):3071~3078)の細胞に対して試験することで、五日間の研究におけるインビトロ細胞生存能を測定した。SK-BR-3に対する114の $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/mL}$ )値は17.2であり、KPL-4に対しては68.1であった。SK-BR-3に対する115の $IC_{50}$ 値は12.3であり、KPL-4に対しては50.7であった。114及び115の両方は、ヒト乳腺癌細胞株を発現しないHER2であるMCF-7に対して有効に不活性であった。したがって、コンジュゲート114及び115は、標的化細胞死滅効力を実証している。

20

【0914】

高発現性HER2トランスジェニック外植マウスにおける腫瘍成長阻害インビボ効力

トランスジェニック実験に適当な動物は、Taconic (Germantown, N.Y.)などの標準的な市販供給源から得ることができる。多くの系統が適当であるが、FVB雌性マウスが好ましいのは、腫瘍形成に対するそれらの高感受性による。FVB雄を交配のために使用し、精管切除されたCD.1繁殖用を使用することで偽妊娠を刺激した。精管切除されたマウスは、任意の市販供給者から得ることができる。FVBマウス又は129/BL6 x FVB p53ヘテロ接合体マウスのいずれかを用いて、初代を繁殖させた。腫瘍形成を潜在的に増加させるため、p53対立遺伝子にヘテロ接合性を有するマウスを使用した。しかし、これは必要ないと判明した。したがって、一部のF1腫瘍は混合株である。初代腫瘍はFVBだけである。六つの初代が得られ、一部が同腹仔を有することなく腫瘍を発生させた。

30

【0915】

(Fo5 mmtvトランスジェニックマウスから増殖させた同種移植片)を有する動物を、単一回又は複数回用量でADCのIV注入によって治療した。腫瘍体積を注入後の様々な時点で評価した。

40

【0916】

腫瘍は、HER2のラット相同体であるneuの変異的に活性化した形態を発現するトランスジェニックマウスにおいて容易に生じるが、ヒト乳癌において過剰発現されるHER2は突然変異せず、腫瘍形成は、非突然変異HER2 (Websterら、(1994) *Semin. Cancer Biol.* 5:69~76)を過剰発現させるトランスジェニックマウスにおいてずっと弱い。

【0917】

非突然変異HER2で腫瘍形成を改善するため、トランスジェニックマウスは、上流ATGを欠失させることで、こうした上流ATGコドンで翻訳の開始を妨げ、それ以外では、HER2の下流真正開始コドンからの翻訳開始の頻度を低減させるHER2 cDNAプラスミドを使用して産生した(例えば、Childら、(1999) *J. Biol. Chem.* 274: 24335~24341を参照のこと)。

50

追加として、キメライントロンを5'末端に付加し、これは、前に報告された通り、発現のレベルも増強するはずである(Neuberger and Williams (1988) *Nucleic Acids Res.* 16:6713; Buchman and Berg (1988) *Mol. Cell. Biol.* 8:4395; Brinsterら、(1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:836)。キメライントロンを、Promegaベクター、Pci-neo哺乳動物発現ベクター(bp 890-1022)から誘導した。cDNA3'-末端は、ヒト成長ホルモンエクソン4及び5、並びにポリアデニル化配列によって隣接されている。さらに、FVBマウスを使用したのは、この系統が腫瘍発生に対してより感受性であるからである。MMTV-LTRからのプロモーターを使用することで、乳腺における組織特異的HER2発現を確実にした。腫瘍形成に対する感受性を増加させるため、動物にAIN 76A食餌を与えた(Raoら、(1997) *Breast Cancer Res. and Treatment* 45:149~158)。

10

【0918】

## Fo5マウス乳腺腫瘍モデル

Fo5モデルは、ヒトHER2遺伝子が、マウス乳腺腫瘍ウイルスプロモーター(MMTV-HER2)の転写制御下で、乳腺上皮において過剰発現されるトランスジェニックマウスモデルである。過剰発現は、ヒトHER2受容体を過剰発現する乳腺腫瘍の自発的発生を引き起こす。初代動物(初代#5 [Fo5])の一つの乳腺腫瘍を、腫瘍断片の連続移植によってFVBマウスの後続世代で増殖した。インビボ効力研究のために使用する前に、MMTV-HER2 Fo5トランスジェニック乳腺腫瘍を、およそ2×2mmと測定した断片におけるnu/nuマウス(Charles River Laboratoriesから)の2/3番乳腺脂肪パッド中に外科的に移植した。腫瘍が所望の体積に達した時、腫瘍保有マウスをランダム化し、単回用量をADCのIV注入によって与えた。

20

【0919】

## 結果

図4は、(1)ピヒクル20mMのヒスチジンアセテート、pH 5.5、240mMのスクロース、(2) 10mg/kgで抗Steap1-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 107、(3) 10mg/kgで抗Steap1-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 108、(4) 10mg/kgでTr-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 101、及び(5) 10mg/kgでTr-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD 103を、0日目に単回iv投薬した後の、CRL nu/nuマウス中に接種された乳癌モデルMMTV-HER2 Fo5乳腺同種移植片腫瘍における、時間の経過によるインビボでの平均腫瘍体積変化のプロットを示す。

【0920】

該図における系統を以下の記号とともに示す。

30

【化129】

—×—ピヒクル  
 ~\*~107  
 ~\*~108  
 —○—101  
 —□—103

【0921】

抗HER2コンジュゲート101及び103は、標的特異性腫瘍成長阻害を示した。コンジュゲート101で治療された10匹の動物のうち、二匹が部分的応答を示した。コンジュゲート103で治療された10匹の動物のうち、三匹が部分的応答を示した。非標的対照ADC 107及び108は、腫瘍成長に対する効果が無かった。

40

【0922】

別の例示的な研究において、CRL nu/nuマウス中に接種された乳癌モデルMMTV-HER2 Fo5乳腺同種移植片腫瘍における、時間の経過によるインビボでの平均腫瘍体積変化を、(1)ピヒクル20mMのヒスチジンアセテート、pH5.5、240mMのスクロース、(2) 5mg/kg (ADC用量)、300 µg/m<sup>2</sup> (PBD薬物曝露)で112 gD5B60-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD、(3) 10mg/kg、600 µg/m<sup>2</sup>で112 gD5B60-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD、(4) 5mg/kg、284 µg/m<sup>2</sup>で114トラスツズマブ-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD、(5) 10mg/kg、569 µg/m<sup>2</sup>で114トラスツズマブ-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD、(6) 10mg/kg、807 µg/m<sup>2</sup>で113 gD5B60-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)P

50

BD、及び(7) 10mg/kg、790  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ で115トラスツズマブ-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBDを、0日目に単回iv投薬した後で測定した。腫瘍サイズを0日、3日、7日及び10日に測定した。10日後、(1)ビヒクルを投薬された動物は、10匹の動物群において、腫瘍サイズの増加を示し、腫瘍阻害を示さず、(2) 112は、10匹の動物群において、部分的又は完全な応答を示さず、(3) 112は、10匹の動物群において、部分的又は完全な応答を示さず、(4) 114は、10匹の動物群において、九個の部分的応答を示し、(5) 114は、10匹の動物群において、十個の部分的応答を示し、(6) 113は、10匹の動物群において、部分的又は完全な応答を示さず、(7) 115は、10匹の動物群において、十個の部分的応答を示した。したがって、抗HER2標的化ADC 114及び115が標的化腫瘍阻害を示す一方で、陰性対照ビヒクル及び非標的化ADC 112及び113は示さなかった。

10

## 【0923】

## LuCap35Vヒト前立腺腫瘍モデル

University of Washington (Seattle, WA)から得られたLuCap35Vは、LuCap35ヒト前立腺外植腫瘍モデルのアンドロゲン非依存性変異体である。(Corey E, Quinn JE, Buhler KRら、LuCap35:アンドロゲン非依存に対する前立腺癌進行の新規のモデル。The Prostate 2003;55:239~46)。LuCap35を樹立するために使用された組織を、転移性前立腺癌を含有する鼠径リンパ節の生検から単離し、引き続いてマウスの側腹部に移植した(Coreyら、2003)。LuCap35V外植モデルを、University of Washingtonで38継代のための去勢雄性C.B-17 Fox Chase SCIDマウスにおける、引き続いてGenentechで連続継代のための、Charles River Laboratoriesからの去勢雄性C.B-17 SCIDページマウスにおける連続移植によって保持した。インビボ効力研究のために使用する前に、LuCap35V腫瘍片(およそ20~30 $\text{mm}^3$ )を、去勢雄性C.B-17 SCIDページマウスの右側腹部に皮下移植した。動物を腫瘍移植の2週間前に去勢することで、残留テストステロン濃度がゼロに達するための時間を持たせた。腫瘍が所望の体積に達した時、腫瘍保有マウスをランダム化し、ADCのIV注入によって単回用量を与えた。

20

## 【0924】

## 結果

図5は、(1)ビヒクル20mMのヒスチジンアセテート、pH 5.5、240mMのスクロース( )、(2) 5mg/kgで抗CD22-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 110 ( )、及び(3) 5mg/kgで抗Steap1-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 109 ( )を、0日目に単回iv投薬した後の、去勢雄性SCIDページマウス中の前立腺癌モデルLuCap35V異種移植腫瘍における時間の経過によるインビボでの平均腫瘍体積変化のプロットを示す。

30

## 【0925】

図6は、(1)ビヒクル20mMのヒスチジンアセテート、pH 5.5、240mMのスクロース( )、(2) 107 抗Steap1-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD、9.8mg/kg、60  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  ( )、(3) 107 抗Steap1-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD、19.5mg/kg、120  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  ( )、(4) 108 抗Steap1-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD、3.3mg/kg、60  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  ( )、(5) 108 抗Steap1-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD、6.5mg/kg、120  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  ( )、(6) 105 トラスツズマブ-MP-PEG8-Phe-Lys-PAB-PBD 9.4mg/kg、120  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  ( )、及び(7) 106 トラスツズマブ-MP-PEG4-Phe-Lys-PAB-PBD、8.6mg/kg (ADC用量)、120  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  (PBD薬物曝露) (X)を、0日目に単回iv投薬した後の、去勢雄性SCIDページマウス中の前立腺癌モデルLuCap35V異種移植腫瘍における時間の経過によるインビボでの平均腫瘍体積変化のプロットを示す。

40

## 【0926】

別の例示的な研究において、去勢雄性SCIDページマウス中の前立腺癌モデルLuCap35V異種移植腫瘍における時間の経過によるインビボでの平均腫瘍体積変化を、(1)ビヒクル20mMヒスチジンアセテート、pH 5.5、240mMスクロース、(2) 112 gD5B60-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD、3mg/kg (ADC用量)、68.3  $\mu\text{g}/\text{m}^2$  (PBD薬物曝露)、(3) 111 抗Steap1-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD、1mg/kg、22.15  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 、(4) 111 抗Steap1-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-PBD、3mg/kg、66.4  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 、(5) 113 gD5B60-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD、3mg/kg、70.1  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 、及び(6) 109 抗Steap1-MP-PEG8-Val-Ala-PAB-(imp)PBD 3mg/kg、64.6  $\mu\text{g}/\text{m}^2$ を

50

、0日目に単回iv投薬した後に測定した。腫瘍サイズを4日毎に測定した。27日後、(1)ビヒクルを投薬された動物は、8匹の動物群において、腫瘍サイズの増加を示し、腫瘍阻害を示さず、(2)112は、8匹の動物群から1個の部分的応答を示し、(3)111は、6匹の動物群において四個の部分的応答及び四個の完全な応答を示し、(4)111は、5匹の動物群において五個の部分的応答及び3個の完全な応答を示し、(5)113は、8匹の動物群において部分的又は完全な応答を示さず、(6)109は、7匹の動物群において七個の部分的応答及び1個の完全な応答を示した。抗Steap1標的化ADC 109及び111が標的化腫瘍阻害を示す一方で、陰性対照ビヒクル及び非標的化ADC112及び113は示さなかった。

【 0 9 2 7 】

略語

10

Ac アセチル

Acm アセトアミドメチル

Alloc アリルオキシカルボニル

Boc ジ-tert-ブチルジカーボネート

t-Bu tert-ブチル

Bzl ベンジル、ここで、Bzl-OMeはメトキシベンジルであり、Bzl-Meはメチルベンゼンである

Cbz又はZ ベンジルオキシ-カルボニル、ここで、Z-Cl及びZ-Brは、それぞれクロロ-及びプロモベンジルオキシカルボニルである

DMF N,N-ジメチルホルムアミド

20

Dnp ジニトロフェニル

DTT ジチオスレイトール

Fmoc 9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニル

imp N-10イミン保護基: 3-(2-メトキシエトキシ)プロパノエート-Val-Ala-PAB

MC-OSu マレイミドカプロイル-O-N-スクシンイミド

Moc メトキシカルボニル

MP マレイミドプロパンアミド

Mtr 4-メトキシ-2,3,6-トリメチルベンゼンスルホニル

PAB パラ-アミノベンジルオキシカルボニル

PEG エチレンオキシ

30

PNZ p-ニトロベンジルカルバメート

Psec 2-(フェニルスルホニル)エトキシカルボニル

TBDMS tert-ブチルジメチルシリル

TBDPS tert-ブチルジフェニルシリル

Teoc 2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル

Tos トシル

Troc 2,2,2-トリクロルエトキシカルボニルクロライド

Trt トリチル

Xan キサンチル

40

参考文献

以下の文献は参照により、それらの全体を組み込む。

## 【表 2】

EP 0522868	
EP 0875569	
EP 1295944	
EP 1347046	
EP 1394274	
EP 1394274	
EP 1439393	
JP 05003790	
JP 2004113151	
JP 58180487	10
US 2001/055751	
US 2002/034749	
US 2002/042366	
US 2002/150573	
US 2002/193567	
US 2003/0228319	
US 2003/060612	
US 2003/064397	
US 2003/065143	
US 2003/091580	
US 2003/096961	
US 2003/105292	20
US 2003/109676	
US 2003/118592	
US 2003/119121	
US 2003/119122	
US 2003/119125	
US 2003/119126	
US 2003/119128	
US 2003/119129	
US 2003/119130	
US 2003/119131	
US 2003/124140	
US 2003/124579	30
US 2003/129192	
US 2003/134790-A1	
US 2003/143557	
US 2003/157089	
US 2003/165504	
US 2003/185830	
US 2003/186372	
US 2003/186373	
US 2003/194704	
US 2003/206918	
US 2003/219806	40
US 2003/224411	
US 2003/224454	
US 2003/232056	

US 2003/232350  
US 20030096743  
US 20030130189  
US 2003096743  
US 2003130189  
US 2004/0001827  
US 2004/005320  
US 2004/005538  
US 2004/005563  
US 2004/005598  
US 2004/0101899 10  
US 2004/018553  
US 2004/022727  
US 2004/044179  
US 2004/044180  
US 2004/101874  
US 2004/197325  
US 2004/249130  
US 20040018194  
US 20040052793  
US 20040052793  
US 20040121940 20  
US 2005/271615  
US 2006/116422  
US 4816567  
US 5362852  
US 5440021  
US 5583024  
US 5621002  
US 5644033  
US 5674713  
US 5700670  
US 5773223  
US 5792616  
US 5854399 30  
US 5869445  
US 5976551  
US 6011146  
US 6153408  
US 6214345  
US 6218519  
US 6268488  
US 6518404  
US 6534482  
US 6555339  
US 6602677 40  
US 6677435  
US 6759509  
US 6835807  
US 7223837  
US 7375078  
US 7521541  
US 7723485

WO 00/012508	
WO 00/12507	
WO 00/12508	
WO 01/16318	
WO 01/45746	
WO 02/088172	
WO 03/026577	
WO 03/043583	
WO 04/032828	
WO 2000/12130	
WO 2000/14228	10
WO 2000/20579	
WO 2000/22129	
WO 2000/32752	
WO 2000/36107	
WO 2000/40614	
WO 2000/44899	
WO 2000/55351	
WO 2000/75655	
WO 200053216	
WO 2001/00244	
WO 2001/38490	
WO 2001/40269	20
WO 2001/40309	
WO 2001/41787	
WO 2001/46232	
WO 2001/46261	
WO 2001/48204	
WO 2001/53463	
WO 2001/57188	
WO 2001/62794	
WO 2001/66689	
WO 2001/72830	
WO 2001/72962	
WO 2001/75177	30
WO 2001/77172	
WO 2001/88133	
WO 2001/90304	
WO 2001/94641	
WO 2001/98351	
WO 2002/02587	
WO 2002/02624	
WO 2002/06317	
WO 2002/06339	
WO 2002/101075	
WO 2002/10187	
WO 2002/102235	40
WO 2002/10382	
WO 2002/12341	
WO 2002/13847	
WO 2002/14503	
WO 2002/16413	
WO 2002/16429	

WO 2002/22153	
WO 2002/22636	
WO 2002/22660	
WO 2002/22808	
WO 2002/24909	
WO 2002/26822	
WO 2002/30268	
WO 2002/38766	
WO 2002/54940	
WO 2002/59377	
WO 2002/60317	10
WO 2002/61087;	
WO 2002/64798	
WO 2002/71928	
WO 2002/72596	
WO 2002/78524	
WO 2002/81646	
WO 2002/83866	
WO 2002/86443	
WO 2002/88170	
WO 2002/89747	
WO 2002/92836	
WO 2002/94852	20
WO 2002/98358	
WO 2002/99074	
WO 2002/99122	
WO 2003/000842	
WO 2003/002717	
WO 2003/003906	
WO 2003/003984	
WO 2003/004989	
WO 2003/008537	
WO 2003/009814	
WO 2003/014294	
WO 2003/016475	30
WO 2003/016494	
WO 2003/018621	
WO 2003/022995	
WO 2003/023013	
WO 2003/024392	
WO 2003/025138	
WO 2003/025148	
WO 2003/025228	
WO 2003/026493	
WO 2003/029262	
WO 2003/029277	40
WO 2003/029421	
WO 2003/034984	
WO 2003/035846	
WO 2003/042661	
WO 2003/045422	
WO 2003/048202	
WO 2003/054152	

WO 2003/055439	
WO 2003/055443	
WO 2003/062401	
WO 2003/062401	
WO 2003/072035	
WO 2003/072036	
WO 2003/077836	
WO 2003/081210	
WO 2003/083041	
WO 2003/083047	
WO 2003/083074	10
WO 2003/087306	
WO 2003/087768	
WO 2003/088808	
WO 2003/089624	
WO 2003/089904	
WO 2003/093444	
WO 2003/097803	
WO 2003/101283	
WO 2003/101400	
WO 2003/104270	
WO 2003/104275	
WO 2003/105758	20
WO 2003004529	
WO 2003042661	
WO 2003104399	
WO 2004/000997	
WO 2004/001004	
WO 2004/009622	
WO 2004/011611	
WO 2004/015426	
WO 2004/016225	
WO 2004/020595	
WO 2004/022709	
WO 2004/022778	30
WO 2004/027049	
WO 2004/031238	
WO 2004/032828	
WO 2004/032842	
WO 2004/040000	
WO 2004/043361	
WO 2004/043963	
WO 2004/044178	
WO 2004/045516	
WO 2004/045520	
WO 2004/045553	40
WO 2004/046342	
WO 2004/047749	
WO 2004/048938	
WO 2004/053079	
WO 2004/063355	
WO 2004/063362	
WO 2004/063709	

WO 2004/065577  
 WO 2004/074320  
 WO 2004000221  
 WO 2004020583  
 WO 2004042346  
 WO 2004065576  
 WO 2005/023814  
 WO 2005/082023  
 WO 2005/085251  
 WO 2006/111759  
 WO 2007/044515 10  
 WO 2007/085930  
 WO 2009/052249  
 WO 2010/091150  
 WO 91/02536  
 WO 92/07574  
 WO 92/17497  
 WO 94/10312  
 WO 94/28931  
 WO 9630514  
 WO 97/07198  
 WO 97/44452  
 WO 98/13059 20  
 WO 98/37193  
 WO 98/40403  
 WO 98/51805  
 WO 98/51824  
 WO 99/28468  
 WO 99/46284  
 WO 99/58658

Am. J. Hum. Genet. 49 (3):555-565 (1991)  
 Amiel J., et al Hum. Mol. Genet. 5, 355-357, 1996  
 Amir et al (2003) Angew. Chem. Int. Ed. 42:4494-4499 30  
 Amsberry, et al (1990) J. Org. Chem. 55:5867  
 Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186  
 Annu. Rev. Neurosci. 21:309-345 (1998)  
 Arai H., et al J. Biol. Chem. 268, 3463-3470, 1993  
 Arai H., et al Jpn. Circ. J. 56, 1303-1307, 1992  
 Arima, et al., J. Antibiotics, 25, 437-444 (1972)  
 Attie T., et al, Hum. Mol. Genet. 4, 2407-2409, 1995  
 Auricchio A., et al Hum. Mol. Genet. 5:351-354, 1996  
 Barel M., et al Mol. Immunol. 35, 1025-1031, 1998  
 Barella et al (1995) Biochem. J. 309:773-779  
 Barnett T., et al Genomics 3, 59-66, 1988  
 Beck et al (1992) J. Mol. Biol. 228:433-441 40  
 Beck et al (1996) J. Mol. Biol. 255:1-13  
 Berge, et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977)  
 Biochem. Biophys. Res. Commun. (2000) 275(3):783-788  
 Biochem. Biophys. Res. Commun. 255 (2), 283-288 (1999)  
 Blood (2002) 100 (9):3068-3076  
 Blood 99 (8):2662-2669 (2002)

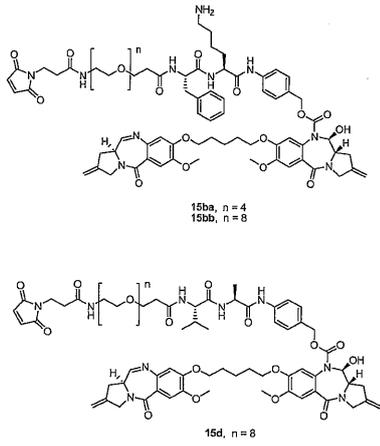
- Blumberg H., et al *Cell* 104, 9-19, 2001
- Bose, et al., *Tetrahedron*, 48, 751-758 (1992)
- Bourgeois C., et al *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 3116-3123, 1997
- Brinster et al (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:836
- Buchman and Berg (1988) *Mol. Cell. Biol.* 8:4395
- Cancer Res.* 61 (15), 5857-5860 (2001)
- Carl et al (1981) *J. Med. Chem.* 24:479-480
- Carlsson et al (1978) *Biochem. J.* 173:723-737
- Carter, P. (2006) *Nature Reviews Immunology* 6:343-357
- Cell* 109 (3):397-407 (2002)
- CellTiter Glo Luminescent Cell Viability Assay, Promega Corp. Technical Bulletin TB288 10
- Chakravarty et al (1983) *J. Med. Chem.* 26:638-644
- Chan, J. and Watt, V.M., *Oncogene* 6 (6), 1057-1061 (1991)
- Child et al (1999) *J. Biol. Chem.* 274: 24335-24341
- Cho H.-S., et al *Nature* 421, 756-760, 2003
- Ciccociola, A., et al *EMBO J.* 8(7):1987-1991 (1989)
- Clackson et al (1991) *Nature*, 352:624-628
- Clark H.F., et al *Genome Res.* 13, 2265-2270, 2003
- Corey E, Quinn JE, Buhler KR, et al. LuCap35: a new model of prostate cancer progression to androgen independence. *The Prostate* 2003;55:239-46
- Coussens L., et al *Science* (1985) 230(4730):1132-1139 20
- Cree et al (1995) *AntiCancer Drugs* 6:398-404
- Crouch et al (1993) *J. Immunol. Meth.* 160:81-88
- Davis et al (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 98(17):9772-9777
- de Groot et al (2001) *J. Org. Chem.* 66:8815-8830
- de Groot et al (2003) *Angew. Chem. Int. Ed.* 42:4490-4494
- Dennis et al. (2002) "Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins" *J Biol Chem.* 277:35035-35043
- Dobner et al (1992) *Eur. J. Immunol.* 22:2795-2799
- Dornan et al (2009) *Blood* 114(13):2721-2729
- Doronina et al (2006) *Bioconj. Chem.* 17:114-124
- Dubowchik et al. *Bioconjugate Chemistry*, 2002, 13,855-869
- Dubowchik, et al. (1997) *Tetrahedron Letters*, 38:5257-60 30
- Dumoutier L., et al *J. Immunol.* 167, 3545-3549, 2001
- E. Schröder and K. Lübke, *The Peptides*, volume 1, pp 76-136 (1965) Academic Press
- Ehsani A., et al (1993) *Genomics* 15, 426-429
- Elfiel, E. and Wilen, S., "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994
- Elshourbagy N.A., et al *J. Biol. Chem.* 268, 3873-3879, 1993
- Erickson et al (2006) *Cancer Res.* 66(8):1-8
- Feild, J.A., et al (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 258 (3):578-582
- Fields, G. and Noble, R. (1990) "Solid phase peptide synthesis utilizing 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acids", *Int. J. Peptide Protein Res.* 35:161-214
- Fuchs S., et al *Mol. Med.* 7, 115-124, 2001
- Fujisaku et al (1989) *J. Biol. Chem.* 264 (4):2118-2125 40
- Gary S.C., et al *Gene* 256, 139-147, 2000
- Gaugitsch, H.W., et al (1992) *J. Biol. Chem.* 267 (16):11267-11273
- Geiser et al "Automation of solid-phase peptide synthesis" in *Macromolecular Sequencing and Synthesis*, Alan R. Liss, Inc., 1988, pp. 199-218
- Genome Res.* 13 (10):2265-2270 (2003)
- Genomics* 62 (2):281-284 (1999)
- Geoghegan & Stroh, (1992) *Bioconjugate Chem.* 3:138-146

- Getz et al (1999) *Anal. Biochem.* Vol 273:73-80
- Glynn-Jones et al (2001) *Int J Cancer.* Oct 15; 94(2):178-84
- Gregson et al., *Chem. Commun.* 1999, 797-798
- Gregson et al., *J. Med. Chem.* 2001, 44, 1161-1174
- Gu Z., et al *Oncogene* 19, 1288-1296, 2000
- Ha et al (1992) *J. Immunol.* 148(5):1526-1531
- Haendler B., et al *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 20, s1-S4, 1992
- Hamann P. (2005) *Expert Opin. Ther. Patents* 15(9):1087-1103
- Hamblett et al (2004) *Clin. Cancer Res.* 10:7063-7070
- Handbook of Pharmaceutical Additives, 2nd Edition (eds. M. Ash and I. Ash), 2001  
(Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA) 10
- Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd edition, 1994
- Hara, et al., *J. Antibiotics*, 41, 702-704 (1988)
- Hashimoto et al (1994) *Immunogenetics* 40(4):287-295
- Hay et al. (1999) *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9:2237
- Herdwijn, P. et al., *Canadian Journal of Chemistry.* 1982, 60, 2903-7
- Hermanson, G.T. (1996) *Bioconjugate Techniques*; Academic Press: New York, p 234-242
- Hochlowski, et al., *J. Antibiotics*, 40, 145-148 (1987)
- Hofstra R.M.W., et al *Eur. J. Hum. Genet.* 5, 180-185, 1997
- Hofstra R.M.W., et al *Nat. Genet.* 12, 445-447, 1996
- Horie et al (2000) *Genomics* 67:146-152
- Hubert, R.S., et al (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 96 (25):14523-14528 20
- Hurley and Needham-VanDevanter, *Acc. Chem. Res.*, 19, 230-237 (1986)
- Immunogenetics* 54 (2):87-95 (2002)
- Int. Rev. Cytol.* 196:177-244 (2000)
- Itoh, et al., *J. Antibiotics*, 41, 1281-1284 (1988)
- J. Biol. Chem.* 270 (37):21984-21990 (1995)
- J. Biol. Chem.* 276 (29):27371-27375 (2001)
- J. Biol. Chem.* 277 (22):19665-19672 (2002)
- J. Biol. Chem.* 278 (33):30813-30820 (2003)
- Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York
- Jeffrey et al (2005) *J. Med. Chem.* 48:1344-1358
- Jonsson et al (1989) *Immunogenetics* 29(6):411-413 30
- Junutula, et al., 2008b *Nature Biotech.*, 26(8):925-932
- Kang, G-D., et al., *Chem. Commun.*, 2003, 1680-1689
- Kasahara et al (1989) *Immunogenetics* 30(1):66-68
- King et al (2002) *Tetrahedron Letters* 43:1987-1990
- Kingsbury et al (1984) *J. Med. Chem.* 27:1447
- Kohler et al (1975) *Nature* 256:495
- Kohn, in *Antibiotics III.* Springer-Verlag, New York, pp. 3-11 (1975).
- Konishi, et al., *J. Antibiotics*, 37, 200-206 (1984)
- Kovtun et al (2006) *Cancer Res.* 66(6):3214-3121
- Kuhns J.J., et al *J. Biol. Chem.* 274, 36422-36427, 1999
- Kuminoto, et al., *J. Antibiotics*, 33, 665-667 (1980)
- Kurebayashi et al (1999) *Brit. Jour. Cancer* 79(5-6):707-717 40
- Lab. Invest.* 82 (11):1573-1582 (2002)
- Lambert J. (2005) *Current Opin. in Pharmacol.* 5:543-549
- Langley and Thurston, *J. Org. Chem.*, 52, 91-97 (1987)
- Larhammar et al (1985) *J. Biol. Chem.* 260(26):14111-14119
- Law et al (2006) *Cancer Res.* 66(4):2328-2337
- Le et al (1997) *FEBS Lett.* 418(1-2):195-199

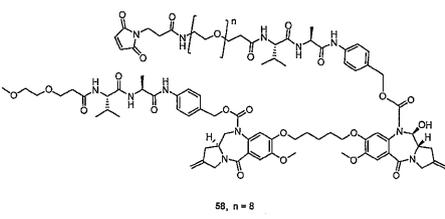
- Leber, et al., J. Am. Chem. Soc., 110, 2992-2993 (1988)
- Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5791-5793 (1965)
- Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5793-5795 (1965)
- Levenson et al (1997) Cancer Res. 57(15):3071-3078
- Liang et al (2000) Cancer Res. 60:4907-12
- Manfré, F. et al., J. Org. Chem. 1992, 57, 2060-2065
- Marks et al (1991) J. Mol. Biol., 222:581-597
- McDonagh (2006) Protein Eng. Design & Sel., 19(7): 299-307
- Mendoza et al (2002) Cancer Res. 62:5485-5488
- Miller et al (2003) Jour. of Immunology 170:4854-4861
- Miura et al (1996) Genomics 38(3):299-304 10
- Miura et al (1998) Blood 92:2815-2822
- Moore M., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 9194-9198, 1987
- Morrison et al (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81:6851-6855
- Muller et al (1992) Eur. J. Immunol. 22 (6):1621-1625
- Mungall A.J., et al Nature 425, 805-811, 2003
- Nagase T., et al (2000) DNA Res. 7 (2):143-150
- Nakamuta M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 177, 34-39, 1991
- Nakayama et al (2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. 277(1):124-127
- Naruse et al (2002) Tissue Antigens 59:512-519
- Nature 395 (6699):288-291 (1998)
- Neuberger and Williams (1988) Nucleic Acids Res. 16:6713
- Novabiochem Catalog 2006/2007 20
- Ogawa Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 248-255, 1991
- Okamoto Y., et al Biol. Chem. 272, 21589-21596, 1997
- Oncogene 10 (5):897-905 (1995)
- Oncogene 14(11):1377-1382 (1997)
- Parrish-Novak J., et al J. Biol. Chem. 277, 47517-47523, 2002
- Payne, G. (2003) Cancer Cell 3:207-212
- Pingault V., et al (2002) Hum. Genet. 111, 198-206
- Pletnev S., et al (2003) Biochemistry 42:12617-12624
- Preud'homme et al (1992) Clin. Exp. Immunol. 90(1):141-146
- Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. (2003) 100 (7):4126-4131
- Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 93 (1):136-140 (1996)
- Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98 (17):9772-9777 (2001) 30
- Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99 (26):16899-16903 (2002)
- Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96 (20):11531-11536 (1999)
- Protective Groups in Organic Synthesis, Greene and Wuts, 3<sup>rd</sup> Edition, 1999, John Wiley & Sons Inc.
- Puffenberger E.G., et al Cell 79, 1257-1266, 1994
- Rao et al (1997) Breast Cancer Res. and Treatment 45:149-158
- Reiter R.E., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 1735-1740, 1998
- Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000
- Rodrigues et al (1995) Chemistry Biology 2:223
- Ross et al (2002) Cancer Res. 62:2546-2553
- S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York 40
- Sakaguchi et al (1988) EMBO J. 7(11):3457-3464
- Sakamoto A., Yanagisawa M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 656-663, 1991
- Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852
- Semba K., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 82, 6497-6501, 1985

- Servenius et al (1987) *J. Biol. Chem.* 262:8759-8766
- Shamis et al (2004) *J. Am. Chem. Soc.* 126:1726-1731
- Sheikh F., et al (2004) *J. Immunol.* 172, 2006-2010
- Shimizu, et al, *J. Antibiotics*, 29, 2492-2503 (1982)
- Sinha S.K., et al (1993) *J. Immunol.* 150, 5311-5320
- Storm et al (1972) *J. Amer. Chem. Soc.* 94:5815
- Strausberg et al (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 99:16899-16903
- Sun et al (2002) *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 12:2213-2215
- Sun et al (2003) *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 11:1761-1768
- Svensson P.J., et al *Hum. Genet.* 103, 145-148, 1998
- Swiercz J.M., et al *J. Cell Biol.* 165, 869-880, 2004 10
- Syrigos and Epenetos (1999) *Anticancer Research* 19:605-614
- Takeuchi, et al., *J. Antibiotics*, 29, 93-96 (1976)
- Tawaragi Y., et al *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 150, 89-96, 1988
- ten Dijke, P., et al *Science* 264 (5155):101-104 (1994)
- Thompson, J.S., et al *Science* 293 (5537), 2108-2111 (2001) WO 2004/058309
- Thurston, et al., *Chem. Brit.*, 26, 767-772 (1990)
- Thurston, et al., *Chem. Rev.* 1994, 433-465 (1994)
- Toki et al (2002) *J. Org. Chem.* 67:1866-1872
- Tonnelle et al (1985) *EMBO J.* 4(11):2839-2847
- Touchman et al (2000) *Genome Res.* 10:165-173
- Trail et al (2003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52:328-337
- Tsunakawa, et al., *J. Antibiotics*, 41, 1366-1373 (1988) 20
- Tsutsumi M., et al *Gene* 228, 43-49, 1999
- Uchida et al (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266:593-602
- Verheij J.B., et al *Am. J. Med. Genet.* 108, 223-225, 2002
- Von Hoegen et al (1990) *J. Immunol.* 144(12):4870-4877
- Webster et al (1994) *Semin. Cancer Biol.* 5:69-76
- Weis J.J., et al *J. Exp. Med.* 167, 1047-1066, 1988
- Weis J.J., et al *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83, 5639-5643, 1986
- Wilson et al (1991) *J. Exp. Med.* 173:137-146
- Wu et al (2005) *Nature Biotech.* 23(9):1137-1145
- Xie et al (2006) *Expert. Opin. Biol. Ther.* 6(3):281-291
- Xu, M.J., et al (2001) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 280 (3):768-775 WO 2004/016225 30
- Xu, X.Z., et al *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98 (19):10692-10697 (2001)
- Yamaguchi, N., et al *Biol. Chem.* 269 (2), 805-808 (1994)
- Yamamoto T., et al *Nature* 319, 230-234, 1986
- Yu et al (1992) *J. Immunol.* 148(2) 633-637

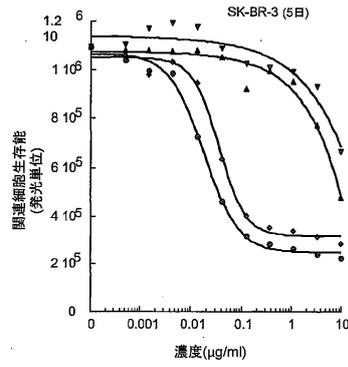
【 図 1 a 】



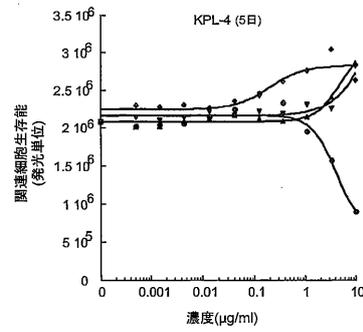
【 図 1 b 】



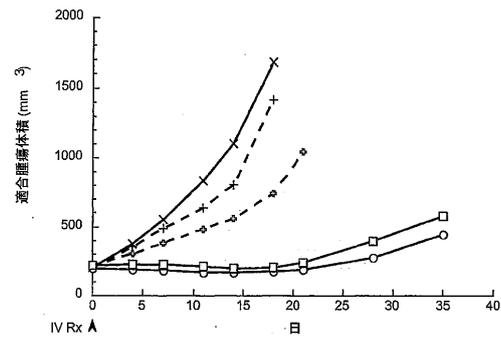
【 図 2 】



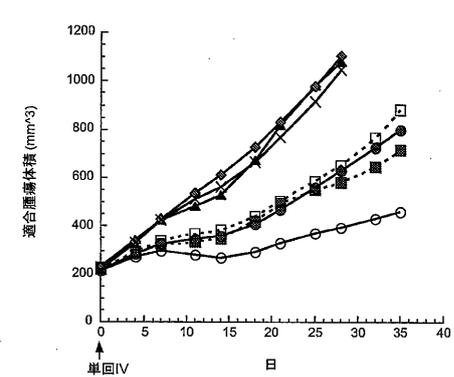
【 図 3 】



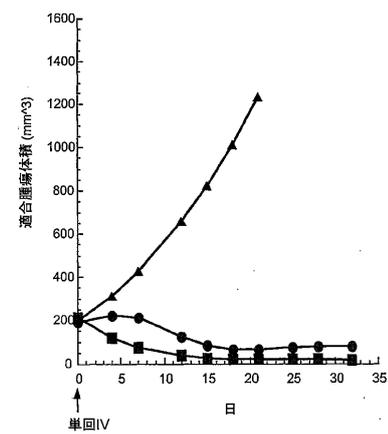
【 図 4 】



【 図 6 】



【 図 5 】



【手続補正書】

【提出日】平成24年6月21日(2012.6.21)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

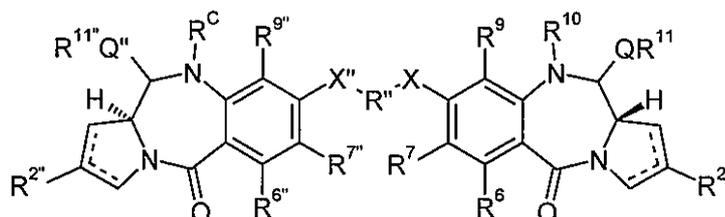
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

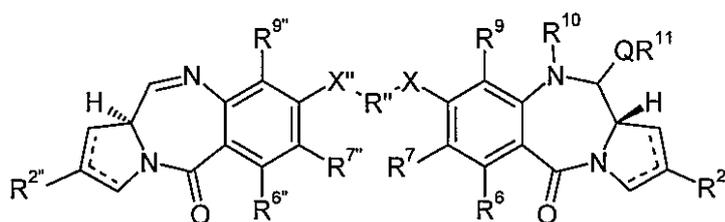
【請求項1】

式(AB)又は(AC)のコンジュゲート、並びにその塩及び溶媒和物

【化1】



AB



AC

[式中、

点線は、C1とC2との間又はC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し、

R<sup>2</sup>は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択され、ハロ又はジハロからさらに選択されてもよく、

ここで、R<sup>D</sup>は、R、CO<sub>2</sub>R、COR、CHO、CO<sub>2</sub>H及びハロから独立して選択され、

R<sup>6</sup>及びR<sup>9</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>7</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

R<sup>10</sup>は、抗体、少なくとも一つの結合部位を含有する抗体断片、及び環状ポリペプチドから選択される細胞結合剤に接続されているリンカーであり、

Qは、O、S及びNHから独立して選択され、

R<sup>11</sup>は、H若しくはRのいずれかであるか、又はQがOである場合にはSO<sub>3</sub>Mであり、ここで、Mは金属カチオンであり、

R及びR'は、置換されていてもよいC<sub>1</sub> - <sub>12</sub>アルキル基、C<sub>3</sub> - <sub>20</sub>ヘテロシクリル基及びC<sub>5</sub> - <sub>20</sub>アリアル基からそれぞれ独立して選択され、場合によりNRR'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、置換されていてもよい4員、5員、6員又は7員の複素環を形成し、

R<sup>2</sup>''、R<sup>6</sup>''、R<sup>7</sup>''、R<sup>9</sup>''、X''、Q''及びR<sup>11</sup>''は、それぞれR<sup>2</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>9</sup>、X、Q及びR<sup>11</sup>に従って定義されている通りであり、R<sup>C</sup>はキャッピング基である]

【請求項2】

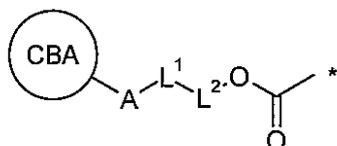
R<sup>10</sup>が、N10-C11イミン結合を残すようにN10位から除去可能である、請求項1に記載のコ

ンジュゲート。

【請求項 3】

R<sup>10</sup>が以下の基である、請求項1又は請求項2のいずれか一項に記載のコンジュゲート

【化 2】



[式中、アスタリスクはN10位への結合点を示し、CBAは細胞結合剤であり、L<sup>1</sup>は切断可能なリンカーであり、AはL<sup>1</sup>を細胞結合剤に接続する接続基であり、L<sup>2</sup>は共有結合であるか、又は-OC(=O)-と一緒に自己犠牲リンカーを形成する]。

【請求項 4】

L<sup>1</sup>が酵素で切断可能である、請求項3に記載のコンジュゲート。

【請求項 5】

L<sup>1</sup>がアミノ酸の連続配列を含む、請求項3又は請求項4に記載のコンジュゲート。

【請求項 6】

L<sup>1</sup>がジペプチドを含み、ジペプチド-NH-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-CO-中の-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-基が、

- Phe-Lys-
- Val-Ala-
- 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5に記載のコンジュゲート。

【請求項 7】

ジペプチド-NH-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-CO-中の-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-基が、

- Phe-Lys-
- Val-Ala-
- Val-Lys-
- Ala-Lys-
- Val-Cit-

から選択される、請求項6に記載のコンジュゲート。

【請求項 8】

ジペプチド-NH-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-CO-中の-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-基が、-Phe-Lys-、-Val-Ala-又は-Val-Cit-である、請求項7に記載のコンジュゲート。

【請求項 9】

X<sub>2</sub>-CO-基がL<sup>2</sup>に接続されている、請求項6から8のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 10】

NH-X<sub>1</sub>基がAに接続されている、請求項6から9のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

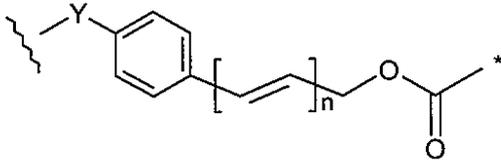
【請求項 11】

L<sup>2</sup>がOC(=O)と一緒に自己犠牲リンカーを形成する、請求項6から10のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 12】

C(=O)O及びL<sup>2</sup>と一緒に以下の基を形成する、請求項11に記載のコンジュゲート

## 【化3】



[式中、アスタリスクはN10位への結合点を示し、波線はリンカー-L<sup>1</sup>への結合点を示し、YはNH、O、C(=O)NH又はC(=O)Oであり、nは0から3である]。

## 【請求項13】

YがNHである、請求項12に記載のコンジュゲート。

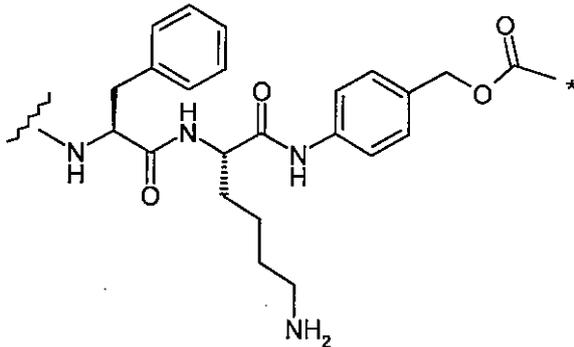
## 【請求項14】

nが0である、請求項12又は請求項13に記載のコンジュゲート。

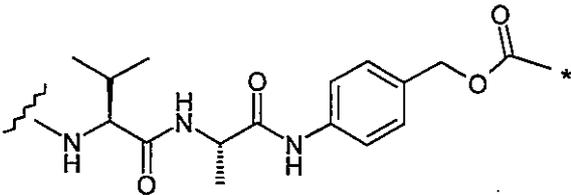
## 【請求項15】

L<sup>1</sup>及びL<sup>2</sup>が-OC(=O)-と一緒に、

## 【化4】



又は



[式中、アスタリスクはN10位への結合点を示し、波線はリンカー-L<sup>1</sup>の残りの部分への結合点又はAへの結合点を示す]

から選択される基を含む、請求項3に記載のコンジュゲート。

## 【請求項16】

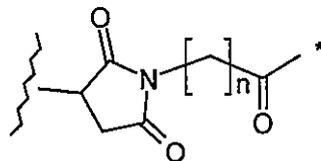
波線がAへの結合点を示す、請求項15に記載のコンジュゲート。

## 【請求項17】

Aが、

## 【化5】

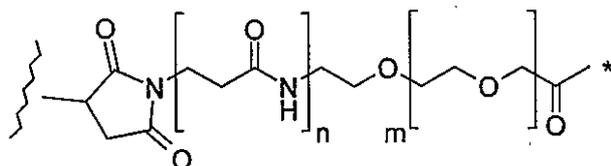
(i)



[式中、アスタリスクはL<sup>1</sup>への結合点を示し、波線は細胞結合剤への結合点を示し、nは0から6である]、又は

## 【化6】

(ii)



[式中、アスタリスクはL<sup>1</sup>への結合点を示し、波線は細胞結合剤への結合点を示し、nは0又は1であり、mは0から30である]

である、請求項3から16のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項18】

細胞結合剤が、細胞結合剤のシステインチオール残基及びAのマレミド(maleimide)基から形成されるチオエーテル結合を介してAに接続されている、請求項3から17のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項19】

R<sup>10</sup>の細胞結合剤が抗体又はその活性断片である、請求項1から18のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項20】

抗体又は抗体断片が腫瘍関連抗原に対する抗体又は抗体断片である、請求項19に記載のコンジュゲート。

## 【請求項21】

R<sup>9</sup>が独立してHである、請求項1から20のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項22】

R<sup>6</sup>が独立してHである、請求項1から21のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項23】

R<sup>7</sup>が独立してOR<sup>7A</sup>であり、ここでR<sup>7A</sup>が独立して、置換されていてもよいC<sub>1</sub> - <sub>4</sub>アルキルである、請求項1から22のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項24】

R<sup>7A</sup>がMeである、請求項23に記載のコンジュゲート。

## 【請求項25】

XがOである、請求項1から24のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項26】

R<sup>11</sup>がHである、請求項1から25のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項27】

点線がC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示す、請求項1から26のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項28】

R<sup>2</sup>がH、=O、=CH<sub>2</sub>、R、=CH-R<sup>D</sup>及び=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>から独立して選択される、請求項1から27のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項29】

R<sup>2</sup>が独立して=CH<sub>2</sub>である、請求項28のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項30】

R<sup>2</sup>が独立してRである、請求項28のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項31】

R<sup>2</sup>が独立して、置換されていてもよいC<sub>5</sub> - <sub>20</sub>アリールである、請求項30のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項32】

R<sup>2</sup>がC<sub>3</sub>アルキレン基又はC<sub>5</sub>アルキレン基である、請求項1から31のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 3 3】

R<sup>C</sup>が、N10-C11イミン結合を残すようにN10位から除去可能である、請求項1から32のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 3 4】

R<sup>C</sup>が

Alloc

Fmoc

Boc

Troc

Teoc

Psec

Cbz

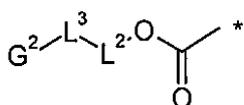
PNZ

から選択されるカルバメート保護基である、請求項33に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 3 5】

R<sup>C</sup>が以下の基である、請求項33に記載のコンジュゲート

## 【化 7】



[式中、アスタリスクはN10位への結合点を示し、G<sup>2</sup>は終端基であり、L<sup>3</sup>は共有結合又は切断可能なリンカー-L<sup>1</sup>であり、L<sup>2</sup>は共有結合であるか、又はOC(=O)と一緒に自己犠牲リンカーを形成する]。

## 【請求項 3 6】

L<sup>3</sup>が切断可能なリンカー-L<sup>1</sup>であり、請求項4から9のいずれか一項で定義されている、請求項35に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 3 7】

L<sup>2</sup>がOC(=O)と一緒に自己犠牲リンカーを形成し、自己犠牲リンカーが請求項12から14のいずれか一項で定義されている通りである、請求項35又は請求項36に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 3 8】

G<sup>2</sup>がAc又はMocであるか、又は

Alloc

Fmoc

Boc

Troc

Teoc

Psec

Cbz

PNZ

から選択されるカルバメート保護基である、請求項35から37のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 3 9】

治療における使用のための、請求項1から38のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 4 0】

対象における増殖性疾患の治療における使用のための、請求項1から38のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 4 1】

前記疾患が癌である、請求項40に記載のコンジュゲート。

## 【請求項42】

式

Ab-(L-D)<sub>p</sub>

[式中、Abは、リンカー部分(L)によって式(AB)又は(AC)PBD薬物部分(D)に結合されている抗体であり、pは1から約8の整数である]

を有する、請求項1から41のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項43】

Abが、以下の(1)～(36)から選択される一つ又は複数の腫瘍関連抗原又は細胞表面受容体に結合する抗体である、請求項42に記載のコンジュゲート:

- (1) BMPR1B (骨形成タンパク質受容体1B型)、
- (2) E16 (LAT1、SLC7A5)、
- (3) STEAP1 (前立腺の6回膜貫通上皮抗原)、
- (4) 0772P (CA125、MUC16)、
- (5) MPF (MPF、MSLN、SMR、巨核球増強因子、メソテリン)、
- (6) Napi3b (NAPI-3B、NPT11b、SLC34A2、溶質担体ファミリー34 (リン酸ナトリウム)、メンバー2、II型ナトリウム依存性リン酸輸送体3b)、
- (7) Sema 5b (FLJ10372、KIAA1445、Mm.42015、SEMA5B、SEMAG、セマフォリン5b Hlog、セマドメイン、7回トロンボスポンジン反復(1型及び1型様)、膜貫通ドメイン(TM)及び短い細胞質ドメイン、(セマフォリン) 5B)、
- (8) PSCA hlg (2700050C12Rik、C530008016Rik、RIKEN cDNA 2700050C12、RIKEN cDNA 2700050C12遺伝子)、
- (9) ETBR (エンドセリンB型受容体)、
- (10) MSG783 (RNF124、仮想タンパク質FLJ20315)、
- (11) STEAP2 (HGNC\_8639、IPCA-1、PCANAP1、STAMP1、STEAP2、STMP、前立腺癌関連遺伝子1、前立腺癌関連タンパク質1、前立腺の6回膜貫通上皮抗原2、6回膜貫通前立腺タンパク質)、
- (12) TrpM4 (BR22450、FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、一過性受容体電位カチオンチャネル、サブファミリーM、メンバー4)、
- (13) CRIPTO (CR、CR1、CRGF、CRIPTO、TDGF1、奇形癌腫誘導成長因子)、
- (14) CD21 (CR2 (補体受容体2)又はC3DR (C3d/Epstein Barrウイルス受容体)又はHs 73792)、
- (15) CD79b (CD79B、CD79、IgG (免疫グロブリン関連ベータ)、B29)、
- (16) FcRH2 (IFGP4、IRTA4、SPAP1A (ホスファターゼアンカータンパク質1aを含有するSH2ドメイン)、SPAP1B、SPAP1C)、
- (17) HER2、
- (18) NCA、
- (19) MDP、
- (20) IL20R、
- (21) プレビカン、
- (22) EphB2R、
- (23) ASLG659、
- (24) PSCA、
- (25) GEDA、
- (26) BAFF-R (B細胞活性化因子受容体、BLyS受容体3、BR3)、
- (27) CD22 (B細胞受容体CD22-Bアイソフォーム)、
- (28) CD79a (CD79A、CD79、免疫グロブリン関連アルファ)、
- (29) CXCR5 (パーキットリンパ腫受容体1)、
- (30) HLA-DOB (MHCクラスII分子のベータサブユニット(Ia抗原))、
- (31) P2X5 (プリン受容体P2Xリガンド開口型イオンチャネル5)、
- (32) CD72 (B細胞分化抗原CD72、Lyb-2)、

(33) LY64 (リンパ球抗原64 (RP105)、ロイシンリッチリピート(LRR)ファミリーのI型膜タンパク質)、

(34) FcRH1 (Fc受容体様タンパク質1)、

(35) IRTA2 (免疫グロブリンスーパーファミリー受容体転座関連2)、及び

(36) TENB2 (推定膜貫通プロテオグリカン)。

【請求項44】

Abがシステイン操作抗体である、請求項42に記載のコンジュゲート。

【請求項45】

AbがErbB受容体に結合する抗体である、請求項42又は請求項43のいずれかに記載のコンジュゲート。

【請求項46】

Abがトラスツマブである、請求項45に記載のコンジュゲート。

【請求項47】

Abが抗HER2、抗Steap1又は抗CD22抗体である、請求項42又は請求項43のいずれかに記載のコンジュゲート。

【請求項48】

pが1、2、3又は4である、請求項42から47のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

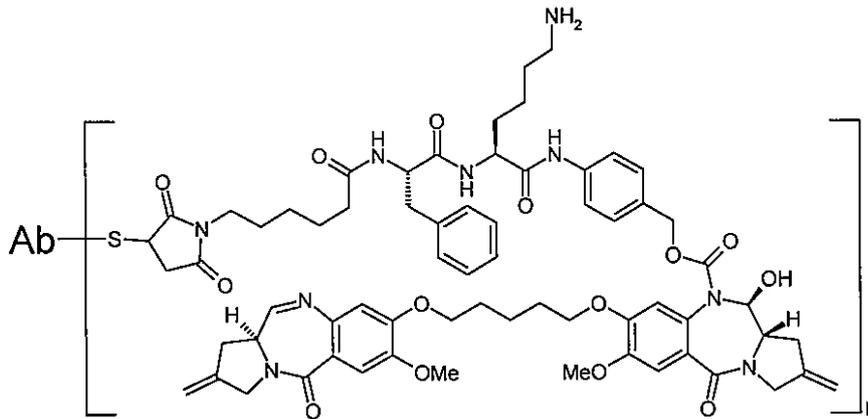
【請求項49】

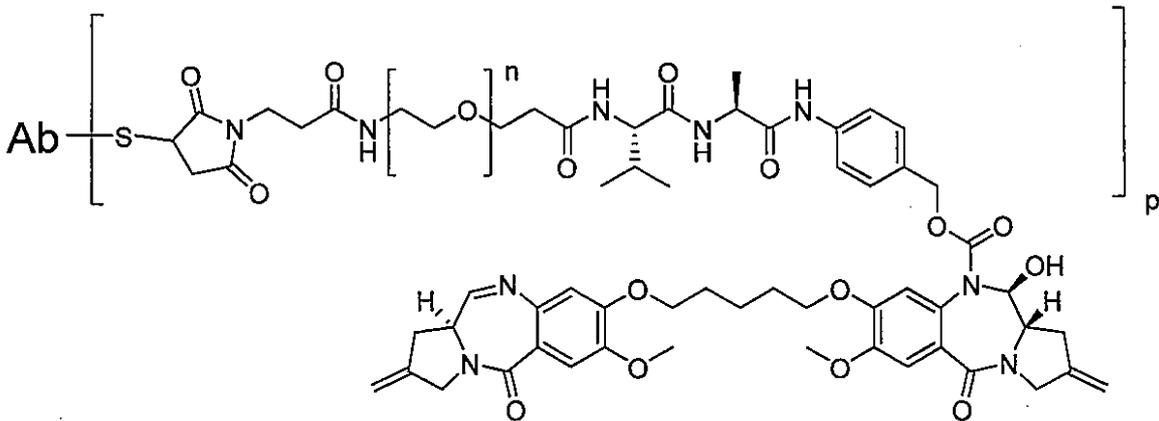
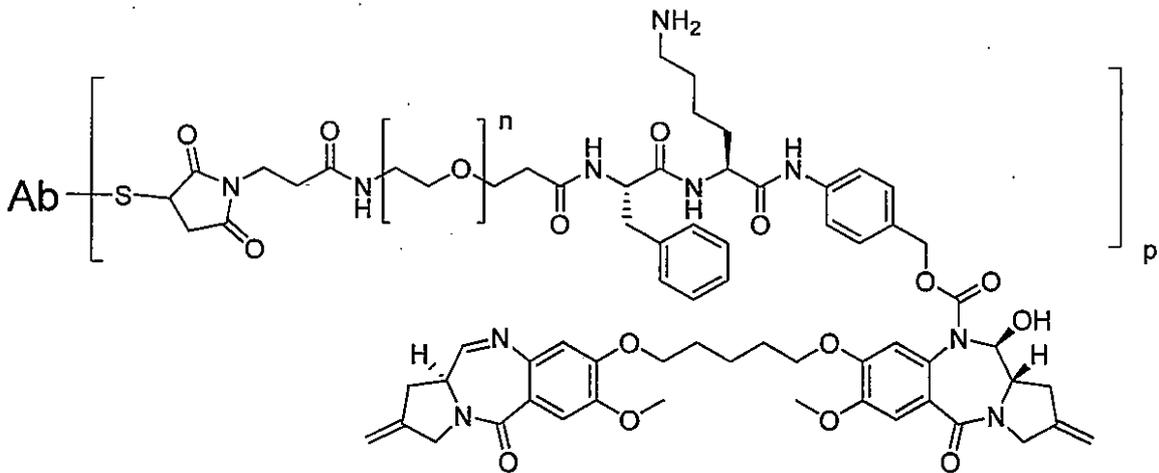
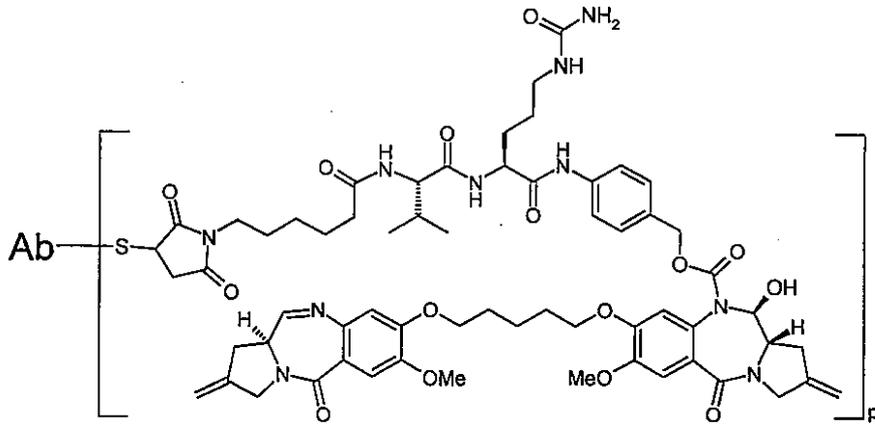
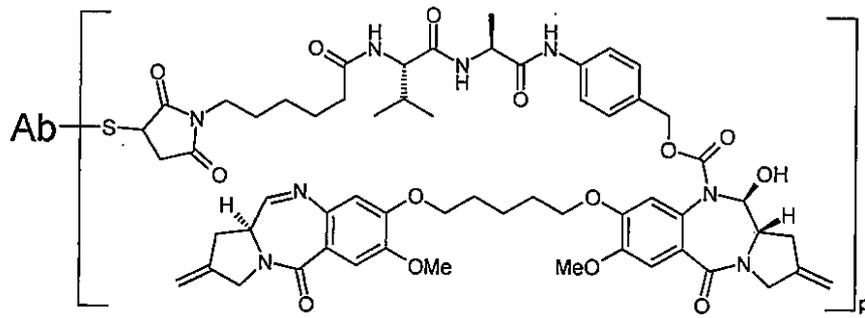
抗体-薬物コンジュゲート化合物の混合物を含み、前記抗体-薬物コンジュゲート化合物の混合物中の1抗体当たりの平均薬物負荷が約2から約5である、請求項42から48のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項50】

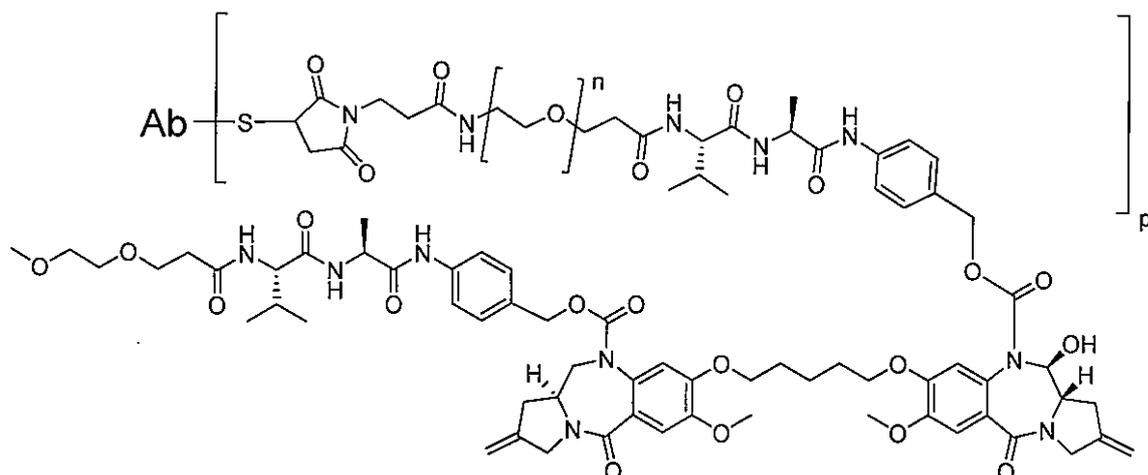
以下から選択される式を有する、請求項42から49のいずれか一項に記載のコンジュゲート

【化8】





及び



【式中、nは1から24の整数である】。

【請求項51】

nが1から12の整数である、請求項50に記載のコンジュゲート。

【請求項52】

nが4又は8である、請求項51に記載のコンジュゲート。

【請求項53】

請求項1から52のいずれか一項に記載のコンジュゲート、薬学的に許容される希釈剤、担体又は賦形剤を含む医薬組成物。

【請求項54】

治療有効量の化学療法剤をさらに含む、請求項53に記載の医薬組成物。

【請求項55】

対象における増殖性疾患の治療に使用するための薬物の調製における、請求項1から52のいずれか一項に記載のコンジュゲートの使用。

【請求項56】

請求項53に記載の医薬組成物を患者に投与するステップを含む、癌を治療する方法。

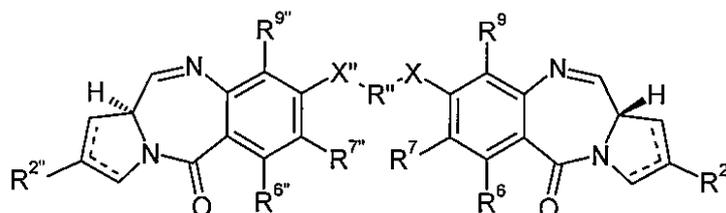
【請求項57】

患者が、前記コンジュゲートと組み合わせて化学療法剤を投与される、請求項56に記載の方法。

【請求項58】

標的位置で式(CA)の化合物を提供するための、請求項1から52のいずれか一項に記載のコンジュゲート並びにその塩及び溶媒和物の使用

【化9】



CA

【式中、

点線は、C1とC2との間又はC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し、

R<sup>2</sup>は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択され、ハロ又はジハロからさらに選択されてもよく、

ここで、R<sup>D</sup>は、R、CO<sub>2</sub>R、COR、CHO、CO<sub>2</sub>H及びハロから独立して選択され、

R<sup>6</sup>及びR<sup>9</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

$R^7$ は、H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、NRR'、 $NO_2$ 、 $Me_3Sn$ 及びハロから独立して選択され、

R及びR'は、置換されていてもよい $C_{1-12}$ アルキル基、 $C_{3-20}$ ヘテロシクリル基及び $C_{5-20}$ アリール基からそれぞれ独立して選択され、場合によりNRR'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、置換されていてもよい4員、5員、6員又は7員の複素環を形成し、

$R''$ は $C_{3-12}$ アルキレン基であり、この鎖は1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環が $NH_2$ によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、

各XはO、S又はN(H)であり、

$R^{2''}$ 、 $R^{6''}$ 、 $R^{7''}$ 、 $R^{9''}$ 、及び $X''$ は、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、及びXに従って定義されている通りである]。

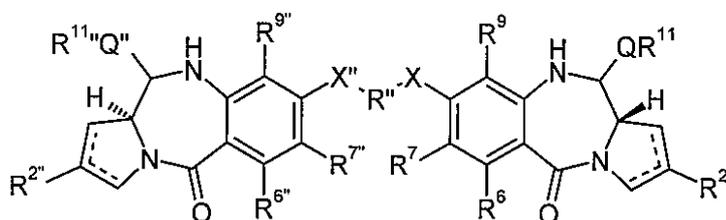
【請求項59】

標的位置が増殖性細胞集団である、請求項58に記載の使用。

【請求項60】

標的位置で式(DA)の化合物を提供する、請求項1から52のいずれか一項に記載のコンジュゲート並びにその塩及び溶媒和物の使用

【化10】



DA

[式中、

点線は、C1とC2との間又はC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し、

$R^2$ は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択され、ハロ又はジハロからさらに選択されてもよく、

ここで、R<sup>D</sup>は、R、CO<sub>2</sub>R、COR、CHO、CO<sub>2</sub>H及びハロから独立して選択され、

$R^6$ 及び $R^9$ は、H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、NRR'、 $NO_2$ 、 $Me_3Sn$ 及びハロから独立して選択され、

$R^7$ は、H、R、OH、OR、SH、SR、 $NH_2$ 、NHR、NRR'、 $NO_2$ 、 $Me_3Sn$ 及びハロから独立して選択され、

Qは、O、S及びNHから独立して選択され、

$R^{11}$ はH若しくはRのいずれかであるか、又はQがOである場合には $R^{11}$ はSO<sub>3</sub>Mであり、ここで、Mは金属カチオンであり、

R及びR'は、置換されていてもよい $C_{1-12}$ アルキル基、 $C_{3-20}$ ヘテロシクリル基及び $C_{5-20}$ アリール基からそれぞれ独立して選択され、場合によりNRR'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、置換されていてもよい4員、5員、6員又は7員の複素環を形成し、

$R''$ は $C_{3-12}$ アルキレン基であり、その鎖は1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環が $NH_2$ によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、

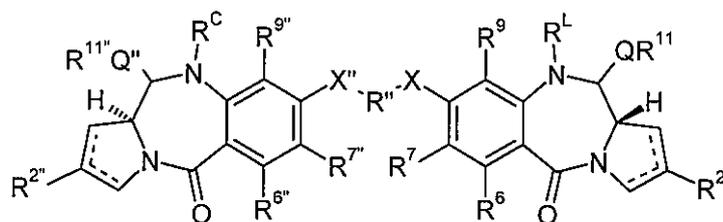
各XはO、S又はN(H)であり、

$R^{2''}$ 、 $R^{6''}$ 、 $R^{7''}$ 、 $R^{9''}$ 、Q、 $R^{11''}$ 、及び $X''$ は、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、Q、 $R^{11}$ 、及びXに従って定義されている通りである]。

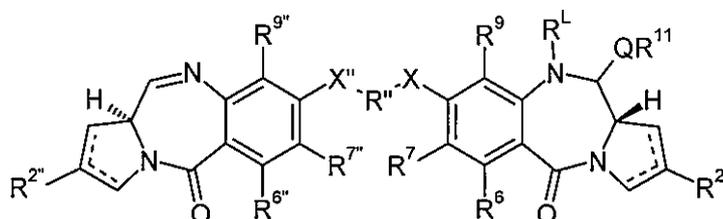
【請求項61】

式(EB)又は(EC)の化合物、並びにその塩及び溶媒和物

## 【化 1 1】



EB



EC

[式中、

点線は、C1とC2との間又はC2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し、

$R^2$  は、H、OH、=O、=CH<sub>2</sub>、CN、R、OR、=CH-R<sup>D</sup>、=C(R<sup>D</sup>)<sub>2</sub>、O-SO<sub>2</sub>-R、CO<sub>2</sub>R及びCORから独立して選択され、ハロ又はジハロからさらに選択されてもよく、

ここで、R<sup>D</sup>は、R、CO<sub>2</sub>R、COR、CHO、CO<sub>2</sub>H及びハロから独立して選択され、

$R^6$ 及び $R^9$ は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

$R^7$ は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され、

$R^L$ は、抗体、少なくとも一つの結合部位を含有する抗体断片、及び環状ポリペプチドから選択される細胞結合剤への接続のためのリンカーであり、

Qは、O、S及びNHから独立して選択され、

$R^{11}$ はH若しくはRのいずれかであるか、又はQがOである場合には $R^{11}$ はSO<sub>3</sub>Mであり、ここで、Mは金属カチオンであり、

R及びR'は、置換されていてもよいC<sub>1</sub> - <sub>12</sub>アルキル基、C<sub>3</sub> - <sub>20</sub>ヘテロシクリル基及びC<sub>5</sub> - <sub>20</sub>アリール基からそれぞれ独立して選択され、場合によりNRR'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、置換されていてもよい4員、5員、6員又は7員の複素環を形成し、

R''はC<sub>3</sub> - <sub>12</sub>アルキレン基であり、この鎖は1個又は複数のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、NMe、及び/又は環がNH<sub>2</sub>によって置換されていてもよい芳香環、例えばベンゼン又はピリジンによって中断されていてよく、

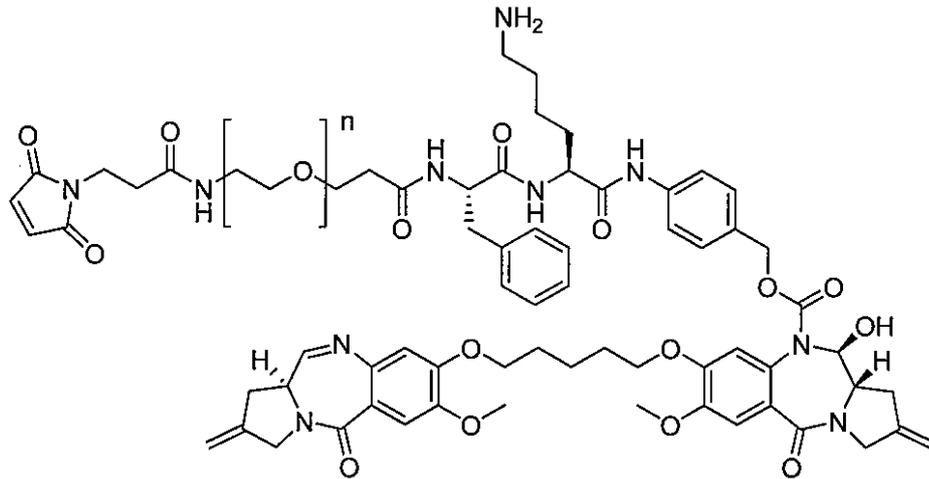
各XはO、S又はN(H)であり、

$R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $R^{11}$ 、Q、及びXは、それぞれ $R^2$ 、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $R^{11}$ 、Q、及びXに従って定義されている通りであり、 $R^C$ はキャッピング基である]。

## 【請求項 6 2】

以下の構造を有する請求項61に記載の化合物

## 【化 1 2】



[式中、nは1から24の整数である]。

## 【請求項 6 3】

nが1から12の整数である、請求項62に記載の化合物。

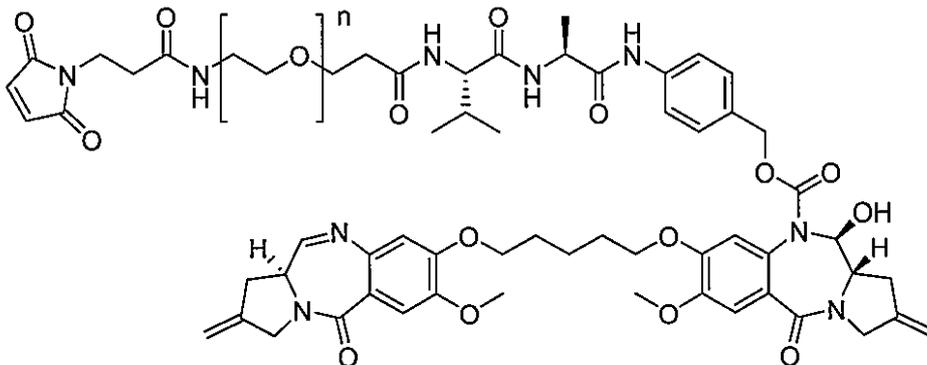
## 【請求項 6 4】

nが4又は8である、請求項63に記載の化合物。

## 【請求項 6 5】

以下の構造を有する、請求項61に記載の化合物

## 【化 1 3】



[式中、nは1から24の整数である]。

## 【請求項 6 6】

nが1から12の整数である、請求項65に記載の化合物。

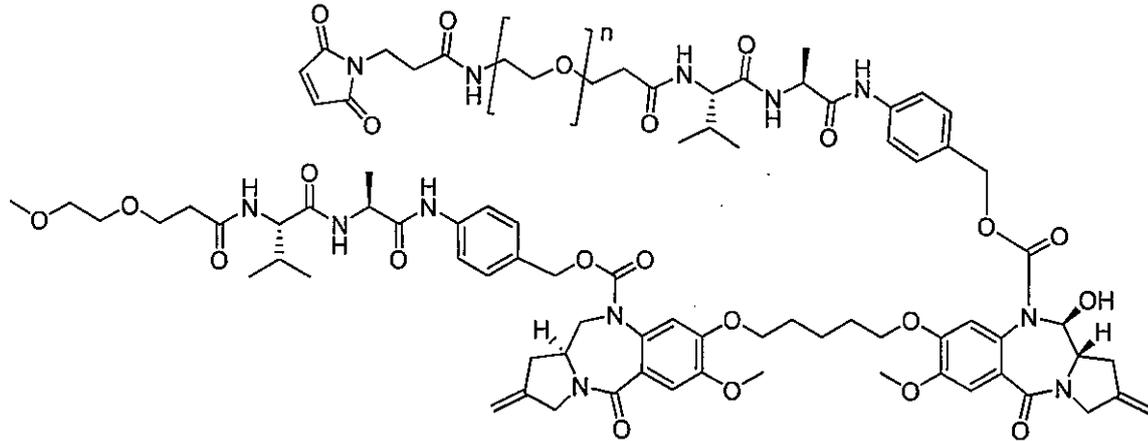
## 【請求項 6 7】

nが4又は8である、請求項66に記載の化合物。

## 【請求項 6 8】

以下の構造を有する、請求項61に記載の化合物

## 【化 1 4】



[式中、nは1から24の整数である]。

## 【請求項 6 9】

nが1から12の整数である、請求項68に記載の化合物。

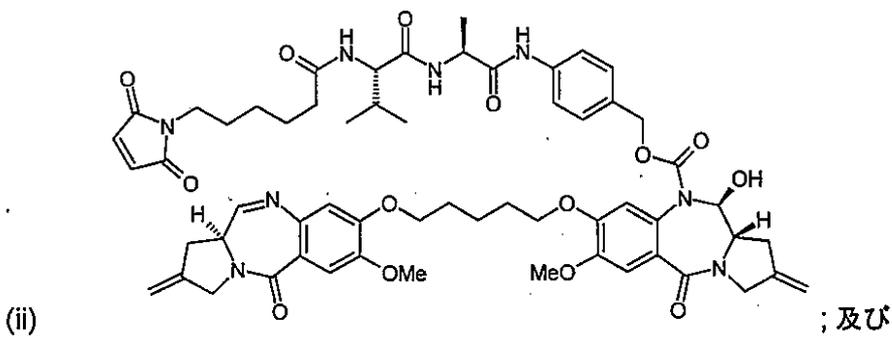
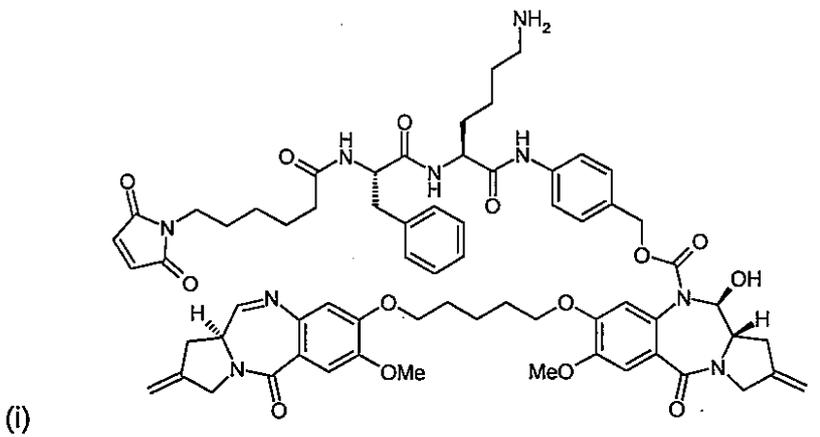
## 【請求項 7 0】

nが4又は8である、請求項69に記載の化合物。

## 【請求項 7 1】

以下から選択される、請求項61に記載の化合物。

## 【化 1 5】





## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2011/032632

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K47/48 C07D487/04 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 C07D		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, BEILSTEIN Data, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 00/12507 A2 (UNIV PORTSMOUTH [GB]; THURSTON DAVID EDWIN [GB]; HOWARD PHILIP WILSON) 9 March 2000 (2000-03-09) page 1, line 1 - page 16, line 23 -----	1-45, 55-65, 76,77
X	WO 2005/023814 A1 (SPIROGEN LTD [GB]; HOWARD PHILIP [GB]; MASTERSON LUKE [GB]) 17 March 2005 (2005-03-17) page 1, line 1 - page 17, line 7 ----- -/--	1-45, 55-65, 76,77
<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 document 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  20 July 2011		Date of mailing of the international search report  27/07/2011
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  Kukolka, Florian

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2011/032632
---------------------------------------------------

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KAMAL AHMED ET AL: "Development of pyrrolo[2,1-c][1,4]-benzodiazepine beta-galactoside prodrugs for selective therapy of cancer by ADEPT and PMT", CHEMMEDCHEM, vol. 3, no. 5, May 2008 (2008-05), pages 794-802, XP002651397, ISSN: 1860-7179 the whole document -----	1-45, 55-65, 76,77
Y	EP 1 813 614 A1 (SANOFI AVENTIS [FR]) 1 August 2007 (2007-08-01) claims 1-30 -----	1-77
Y	EP 2 019 104 A1 (SANOFI AVENTIS [FR]) 28 January 2009 (2009-01-28) claims 1-42 -----	1-77

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2011/032632

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0012507	A2	09-03-2000	AT 246687 T 15-08-2003
			AU 5526199 A 21-03-2000
			CA 2341968 A1 09-03-2000
			DE 69910227 D1 11-09-2003
			DE 69910227 T2 17-06-2004
			DK 1109811 T3 24-11-2003
			EP 1109811 A2 27-06-2001
			ES 2205872 T3 01-05-2004
			JP 4669611 B2 13-04-2011
			JP 2002525284 A 13-08-2002
			NZ 510492 A 29-08-2003
			PT 1109811 E 31-12-2003
			US 6562806 B1 13-05-2003
WO 2005023814	A1	17-03-2005	AT 452893 T 15-01-2010
			EP 1664049 A1 07-06-2006
			US 2006264622 A1 23-11-2006
EP 1813614	A1	01-08-2007	AR 059201 A1 19-03-2008
			AU 2007209072 A1 02-08-2007
			BR P10707264 A2 26-04-2011
			CA 2635482 A1 02-08-2007
			CN 101374846 A 25-02-2009
			DO P20070016 A 15-09-2007
			EA 200870193 A1 27-02-2009
			EC SP088632 A 29-08-2008
			EP 1981889 A1 22-10-2008
			WO 2007085930 A1 02-08-2007
			JP 2009524636 A 02-07-2009
			KR 20080097435 A 05-11-2008
			MA 30226 B1 02-02-2009
			PE 11102007 A1 21-12-2007
			US 2009036431 A1 05-02-2009
ZA 200805649 A 25-11-2009			
EP 2019104	A1	28-01-2009	AR 067575 A1 14-10-2009
			AU 2008281439 A1 05-02-2009
			CA 2693551 A1 05-02-2009
			CN 101784550 A 21-07-2010
			CR 11225 A 23-06-2010
			DO P2010000014 A 15-02-2010
			EA 201070163 A1 30-08-2010
			EC SP109875 A 26-02-2010
			EP 2170890 A2 07-04-2010
			WO 2009016516 A2 05-02-2009
			JP 2010533703 A 28-10-2010
			EP 2019104
MA 31617 B1 02-08-2010			
PA 8790201 A1 09-02-2009			
PE 08892009 A1 06-08-2009			
US 2010316656 A1 16-12-2010			

## 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 T  
 A 6 1 K 31/551

(81) 指定国 AP (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, T M), 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, R S, SE, SI, SK, SM, TR), OA (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, 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, I D, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO , NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 ハワード, フィリップ, ウィルソン  
 イギリス国 ダブリュシー 1 エヌ 1 エーエックス ロンドン, ブランスウィック スクエア 2  
 9 / 3 9, スクール オブ ファーマシー, スピロゲン リミテッド

(72) 発明者 マスターソン, ルーク  
 イギリス国 ダブリュシー 1 エヌ 1 エーエックス ロンドン, ブランスウィック スクエア 2  
 9 / 3 9, スクール オブ ファーマシー, スピロゲン リミテッド

(72) 発明者 ティベルギーン, アルノー  
 イギリス国 ダブリュシー 1 エヌ 1 エーエックス ロンドン, ブランスウィック スクエア 2  
 9 / 3 9, スクール オブ ファーマシー, スピロゲン リミテッド

(72) 発明者 フライゲア, ジョン, エー.  
 アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー  
 ウェイ 1, ジェネンテック, インコーポレーテッド

(72) 発明者 ガンツナー, ジャネット, エル.  
 アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー  
 ウェイ 1, ジェネンテック, インコーポレーテッド

(72) 発明者 ポラキス, ポール  
 アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー  
 ウェイ 1, ジェネンテック, インコーポレーテッド

(72) 発明者 ボルソン, アンドリュウ  
 アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー  
 ウェイ 1, ジェネンテック, インコーポレーテッド

(72) 発明者 ラーブ, ヘルガ, エー.  
 アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー  
 ウェイ 1, ジェネンテック, インコーポレーテッド

(72) 発明者 สเปนサー, スーザン, ディー.  
 アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 カリフォルニア州, サウス サンフランシスコ, ディーエヌエー  
 ウェイ 1, ジェネンテック, インコーポレーテッド

F ターム ( 参考 ) 4C076 CC27 CC41 EE41 EE59  
 4C085 AA14 AA23 AA26 CC31  
 4C086 AA01 AA02 CB11 MA02 MA05 NA03 NA12 NA13 ZB26