

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6842127号
(P6842127)

(45) 発行日 令和3年3月17日 (2021.3.17)

(24) 登録日 令和3年2月24日 (2021.2.24)

(51) Int. Cl. F I
C O 7 K 19/00 (2006.01) C O 7 K 19/00
C O 7 K 7/06 (2006.01) C O 7 K 7/06
C O 7 K 7/08 (2006.01) C O 7 K 7/08
C O 7 K 16/18 (2006.01) C O 7 K 16/18
C O 7 K 5/065 (2006.01) C O 7 K 5/065

請求項の数 14 (全 167 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2019-95746 (P2019-95746)
 (22) 出願日 令和1年5月22日 (2019.5.22)
 (62) 分割の表示 特願2017-57224 (P2017-57224)
 の分割
 原出願日 平成24年7月12日 (2012.7.12)
 (65) 公開番号 特開2019-167359 (P2019-167359A)
 (43) 公開日 令和1年10月3日 (2019.10.3)
 審査請求日 令和1年6月21日 (2019.6.21)

(73) 特許権者 515009974
 ハンデョウ ディーエイシー バイオテック
 カンパニー リミテッド
 中華人民共和国 310018 浙江省
 ハンデョウシティ 杭州経済技術開発区
 シックスズストリートナンバー452
 ビルディング2ルームB2001-B2019
 Room B2001-B2019, B
 uilding 2. No. 452
 Sixth Street, HEDA,
 Hangzhou City, Zhe
 jiang Province, 310
 018 (CN)

最終頁に続く

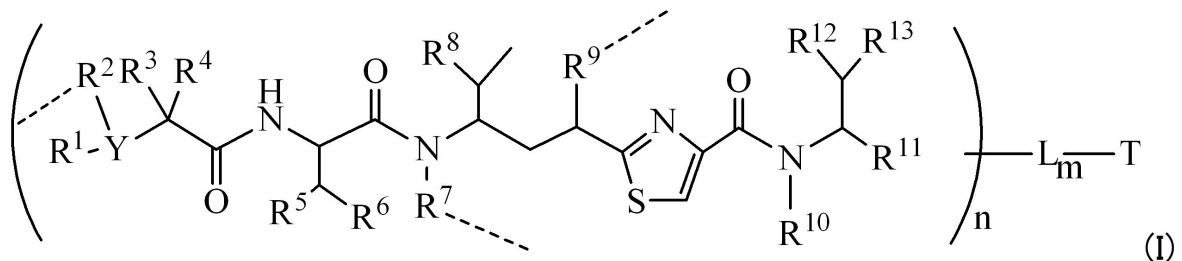
(54) 【発明の名称】 細胞毒性剤と細胞結合受容体との共役体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

構造式 (I) で示される構造を有する共役体又はその薬学的に許容される塩若しくは溶媒化物。

【化 1】



10

(ただし、ここで、

T は、抗体、一本鎖抗体、標的細胞と結合可能な抗体断片、モノクローナル抗体、単鎖モノクローナル抗体、標的細胞と結合可能な単鎖モノクローナル抗体断片、キメラ抗体、標的細胞と結合可能なキメラ抗体断片、ドメイン抗体、標的細胞と結合可能なドメイン抗体断片、抗体に類似するアドネクチン、D A R P i n (設計アンキリンリピートタンパク質)、リンホカイン、ホルモン、ビタミン、成長因子、コロニー刺激因子、栄養素輸送分子 (トランスフェリン)、結合ペプチド、タンパク質、アルブミンに取り付けられた小分子、高分子重合体、人工合成高分子、リポソーム、ナノ粒子、ベシクル、(ウイルスの)

20

カプシドから選ばれる、細胞結合リガンドであり、

Lは、

【化2】

$-Ww-(Aa)_r-Vv-$

(ただし、Wは拡張単位であり、Aaが存在する場合、Wは括弧内構造の分子をアミノ酸単位(Aa)に接続させ、又は、Aaが存在しない場合、WはV単位に接続され、Wは、独立して、1つの自壊性スペーサー、1つのペプチドベース単位、1つのヒドラゾン、1つのジスルフィド結合、1つのチオエーテル結合、1つのエステルまたは1つのアミド結合を含有していてもよく、wは0又は1であってもよく、

10

Aaは独立して1つの天然又は非天然のアミノ酸単位を示し、rは独立して0～12の整数を示し、 $(Aa)_r$ は天然又は非天然のアミノ酸、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、ペンタペプチド、ヘキサペプチド、ヘプタペプチド、オクタペプチド、ノナペプチド、デカペプチド、ウンデカペプチドまたはドデカペプチドを示し、

Vは、間隔単位であり、独立して、H、O、NH、S、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_2 \sim C_8$ ヘテロアルキル、 $C_2 \sim C_8$ アルケニル、 $C_2 \sim C_8$ アルキニル、 $C_3 \sim C_8$ アリール、 $C_3 \sim C_8$ 複素環、 $C_3 \sim C_8$ 炭素環、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ アルキルシクロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ ヘテロアリール、 $C_3 \sim C_8$ ヘテロアラルキル、 $C_3 \sim C_8$ ヘテロアルキルシクロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ アルキルカルボニル、 $(CH_2CH_2O)_k$ (kは0～12の整数)、又は1～4個のアミノ酸単位を示し、vは0、1又は2である。)

20

という式を有する解離可能なリンカーであり、

【化3】

はLが独立して括弧内構造における分子と接続するリンク結合であり、

nは1～20、mは1～10であり、

R^1 、 R^3 、 R^4 は、独立して、水素、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_2 \sim C_8$ ヘテロアルキル、 $C_2 \sim C_8$ ヘテロ環、 $C_3 \sim C_8$ 炭素環、 $C_3 \sim C_8$ アルキルシクロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ 複素環アルキル、 $C_3 \sim C_8$ アリール、 $C_3 \sim C_8$ アラルキル、 $C_3 \sim C_8$ ヘテロアルキルシクロアルキル、又は $C_3 \sim C_8$ アルキルカルボニルであり、 R^2 は、独立して、欠如しているか、又は、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_2 \sim C_8$ ヘテロアルキル、 $C_2 \sim C_8$ ヘテロ環、 $C_3 \sim C_8$ 炭素環、 $C_3 \sim C_8$ アルキルシクロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ 複素環アルキル、 $C_3 \sim C_8$ アリール、 $C_3 \sim C_8$ アラルキル、 $C_3 \sim C_8$ ヘテロアルキルシクロアルキル、又は $C_3 \sim C_8$ アルキルカルボニルであり、又は、 R^1R^2 、 R^1R^3 、 R^2R^3 、又は R^3R^4 が、炭素数3～7の、炭素環式、シクロアルキル、複素環式、又はヘテロシクロアルキルの環系を形成し、

30

YがNまたはCHであり、

R^5 、 R^6 、 R^8 、 R^{10} は、それぞれ、独立して、H、 $C_1 \sim C_4$ アルキル、又は $C_1 \sim C_4$ ヘテロアルキルであり、又は、 R^5R^6 が、炭素数3～7の、炭素環式、シクロアルキル、複素環式、又はヘテロシクロアルキルの環系を形成し、

40

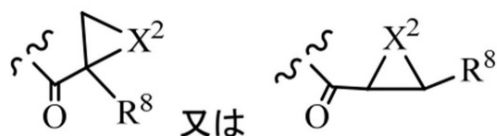
R^7 は、独立して、H、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)X^1R^{15}$ 、 $-R^{14}C(=O)X^1R^{15}-$ 、 $-R^{14}X^1R^{15}$ 、又は $-R^{14}X^1R^{15}-$ であり、 X^1 はO、S、S-S、NH、又は NR^{14} であり、

R^9 は、独立して、欠如しているか、又は、H、 $-OH$ 、 $-O-$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-OR^{14}-$ 、 $-OC(=O)R^{14}$ 、 $-OC(=O)NHR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}SSR^{15}$ 、 $-OP(=O)(OR^{14})-$ 、 $-OP(=O)(OR^{14})O-$ 、 $-OP(=O)(OR^{14})_2$ 、又は $OR^{14}OP(=O)(OR^{15})_2$ であり、

R^{11} は、H、 $-OH$ 、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)R^{16}$ 、 $-R^{14}X^2R^{16}$ 、又は $-R^{14}C(=O)NHR^{14}$ であり、そのうち、 X^2 は、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-N(R^{14})-$ 、 $-O-R^{14}$ 、 $-S-R^{14}$ 、又は $-S(=O)-R^{14}$ であ

50

(i i) R^{11} が下記の基である場合、 R^{12} は H であり、
【化 5】



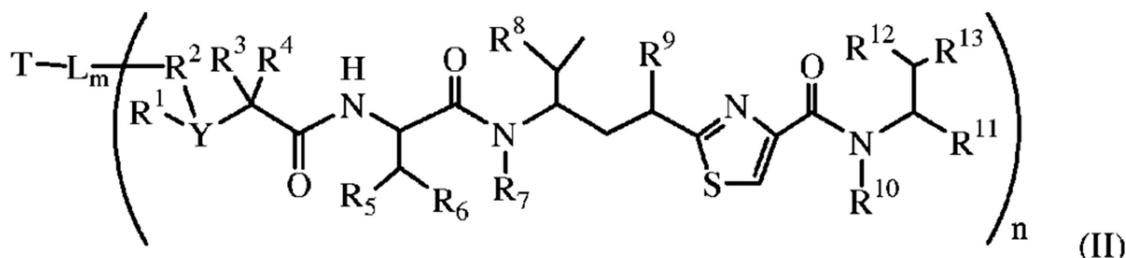
X^2 は、O、S、N - R^8 であり、 R^8 は、H、 $C_1 \sim C_6$ アルキル又は $C_1 \sim C_6$ ヘテロアルキルである。))

【請求項 2】

構造式 (I I) で示される構造を有する請求項 1 に記載の共役体又はその薬学的に許容される塩若しくは溶媒化物。

10

【化 6】



20

(ただし、ここで、

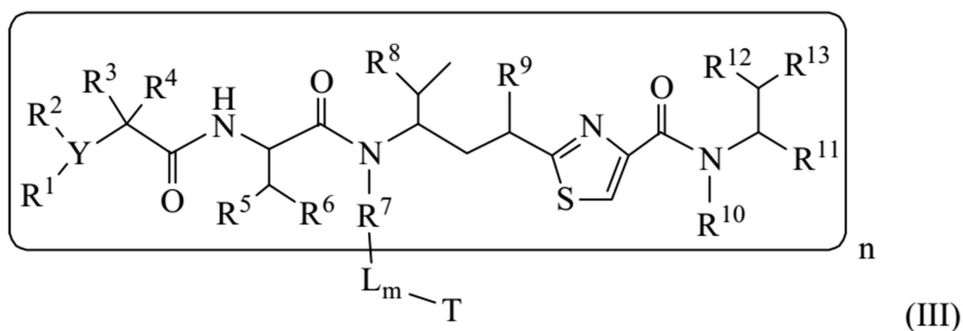
R^7 は、独立して、H、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)X^1R^{15}$ 、又は $-R^{14}X^1R^{15}$ であり、

R^9 は、独立して、H、 $-OH$ 、 $-OR^{14}$ 、 $OP(=O)(OR^{14})_2$ 、又は $OR^{14}OP(=O)(OR^{15})_2$ である。))

【請求項 3】

構造式 (I I I) で示される構造を有する請求項 1 に記載の共役体又はその薬学的に許容される塩若しくは溶媒化物。

【化 7】



30

(ただし、ここで、

R^7 は、独立して、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)X^1R^{15}$ 、又は $-R^{14}X^1R^{15}$ であり、ここで、 R^{14} 、 R^{15} は、それぞれ、独立して、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_1 \sim C_8$ ヘテロアルキル、 $C_2 \sim C_8$ アルケニル、 $C_2 \sim C_8$ アルキニル、 $C_2 \sim C_8$ 複素環、 $C_3 \sim C_8$ アリール、 $C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ ヘテロアルキルシクロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ ヘテロアラルキル、 $C_3 \sim C_8$ 炭素環、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、又は $C_3 \sim C_8$ アルキルカルボニルであり、 X^1 は O、S、S - S、NH、又は NR^{14} であり、

40

R^9 は、独立して、H、 $-OH$ 、 $-OR^{14}$ 、 $OP(=O)(OR^{14})_2$ 、又は $OR^{14}OP(=O)(OR^{15})_2$ である。))

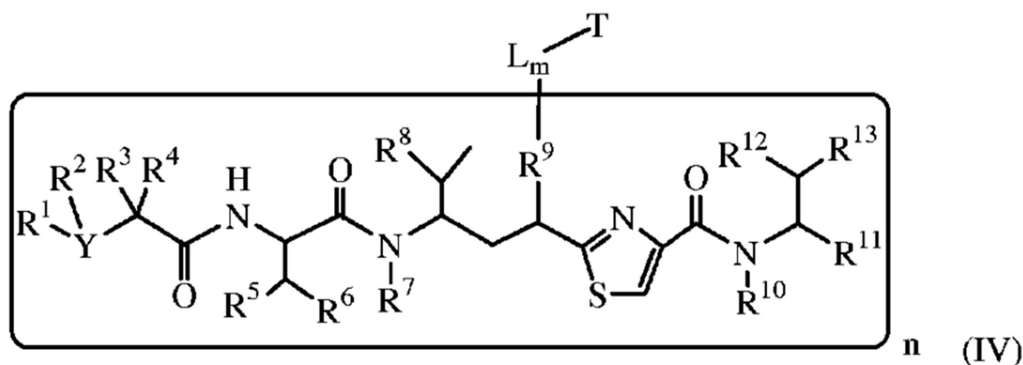
【請求項 4】

構造式 (I V) で示される構造を有する請求項 1 に記載の共役体又はその薬学的に許容

50

される塩若しくは溶媒化物。

【化 8】



10

(ただし、ここで、

R^7 は、独立して、 H 、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)X^1R^{15}$ 、又は $-R^{14}X^1R^{15}$ であり、

R^9 は、上述の選択肢の代わりに、独立して、欠如しているか、又は、 $-O-$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}$ 、 $-OC(=O)NHR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}SSR^{15}$ 、又は $OP(=O)(OR^{14})O-$ であり、ここで、 R^{14} 、 R^{15} は、それぞれ、独立して、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_1 \sim C_8$ ヘテロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ アリール、 $C_3 \sim C_8$ ヘテロアリール、 $C_3 \sim C_8$ 複素環、 $C_3 \sim C_8$ 炭素環、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ アルキルシクロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ ヘテロアルキルシクロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ ヘテロアラルキル、又は $C_3 \sim C_8$ アルキルカルボニルであり、

20

(i) R^{13} が請求項 1 の化 4 の基である場合、 $R^1 R^3$ 及び $R^2 R^3$ は上述の選択肢の代わりに $C_3 \sim C_7$ の複素環又はヘテロシクロアルキルであってもよく、

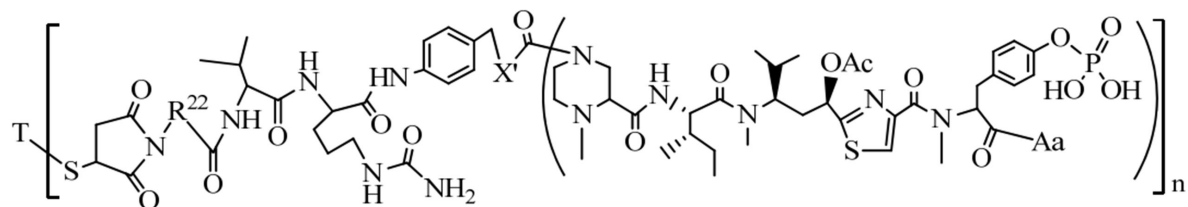
(ii) R^{11} が請求項 1 の化 5 の基である場合、 $R^1 R^3$ 及び $R^2 R^3$ は上述の選択肢の代わりに $C_3 \sim C_7$ の複素環又はヘテロシクロアルキルであってもよい。))

【請求項 5】

以下のいずれかの構造式で示される構造を有する共役体又はその薬学的に許容される塩若しくは溶媒化物。

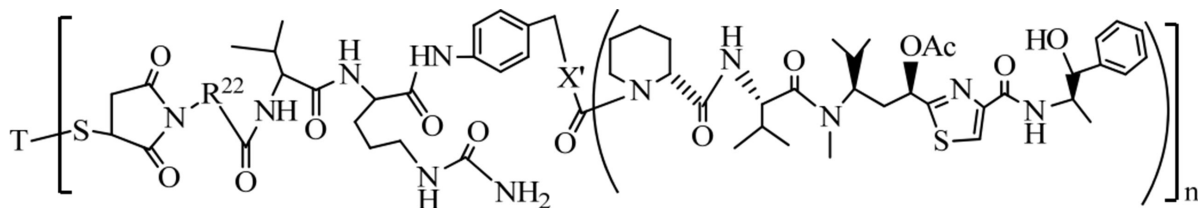
30

【化 9】



IIa

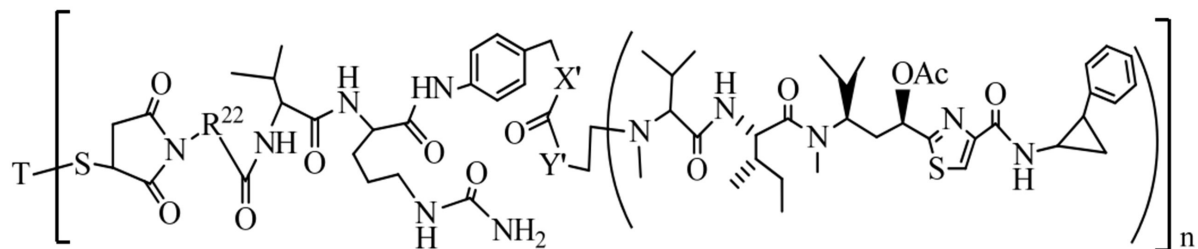
【化 10】



IIb

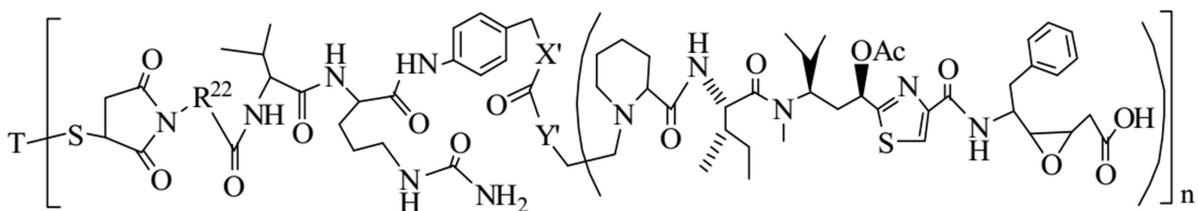
40

【化 1 1】



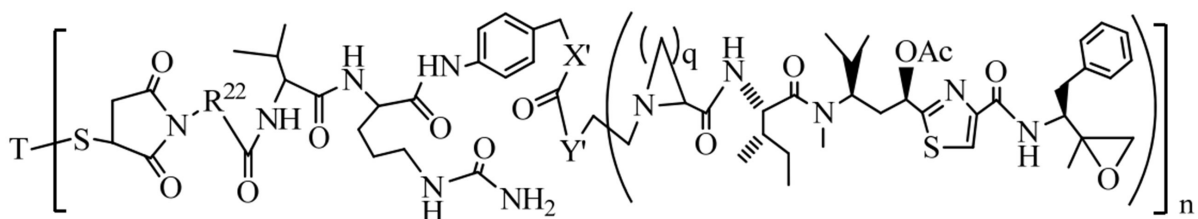
IIc

【化 1 2】



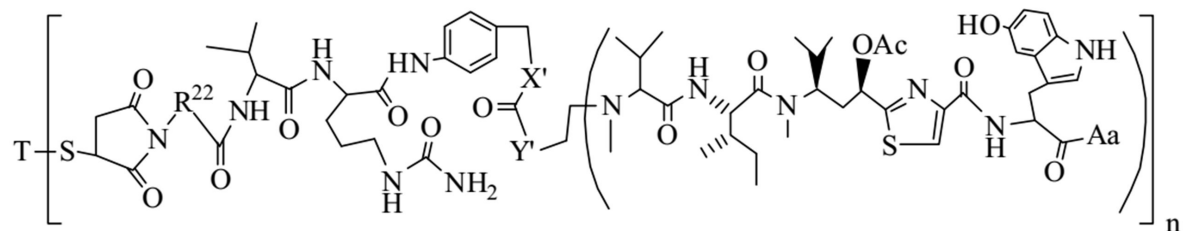
IIId

【化 1 3】



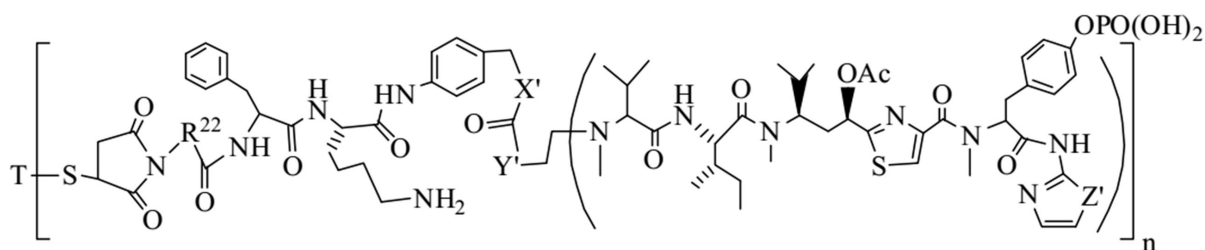
IIe

【化 1 4】



IIIf

【化 1 5】



IIg

10

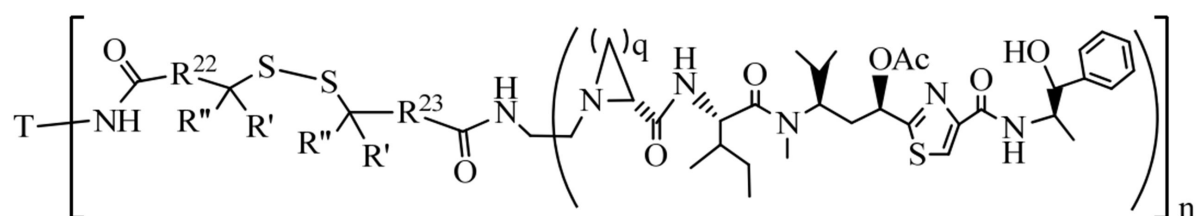
20

30

40

[illegible]

【化 1 7】



10

[illegible]

20

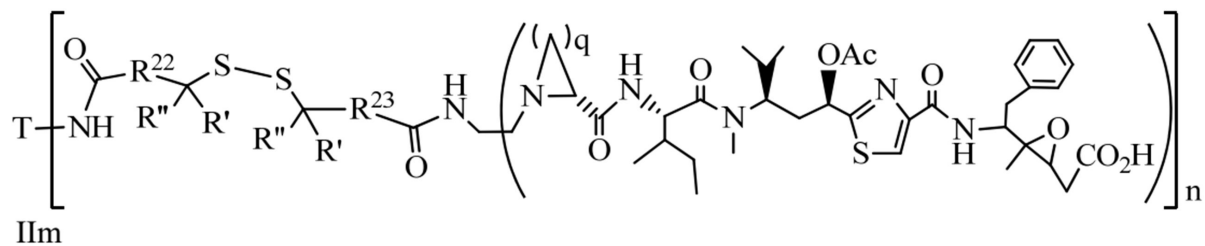
[illegible]

30

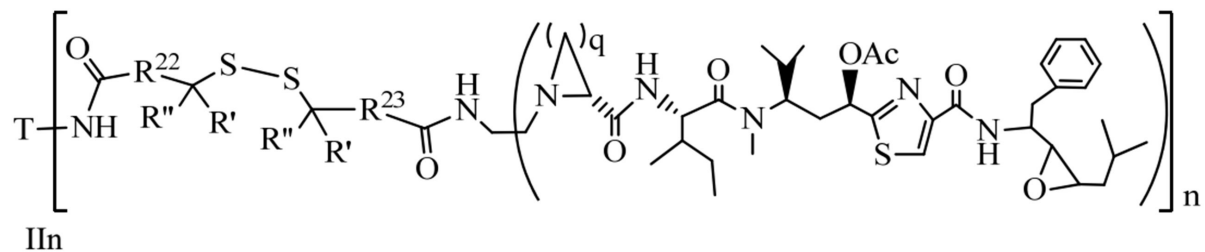
$$\text{T}-\left[\text{NH}-\text{C}(=\text{O})-\text{C}(\text{R}')(\text{R}'')-\text{S}-\text{S}-\text{C}(\text{R}')(\text{R}'')-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\left(\text{N} \begin{array}{c} \text{---} \text{---} \text{---} \end{array} \right)_q \text{---} \text{N} \begin{array}{c} \text{---} \text{---} \text{---} \end{array} \text{C}(=\text{O})-\text{N} \begin{array}{c} \text{---} \text{---} \text{---} \end{array} \text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{CH}(\text{OAc})-\text{C}_4\text{H}_3\text{N}_2-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}-\text{C}_2\text{H}_4\text{O} \right]_n$$

40

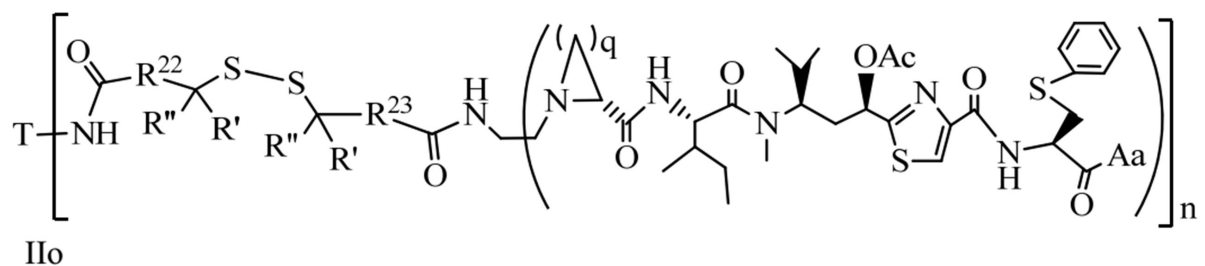
【化 2 1】



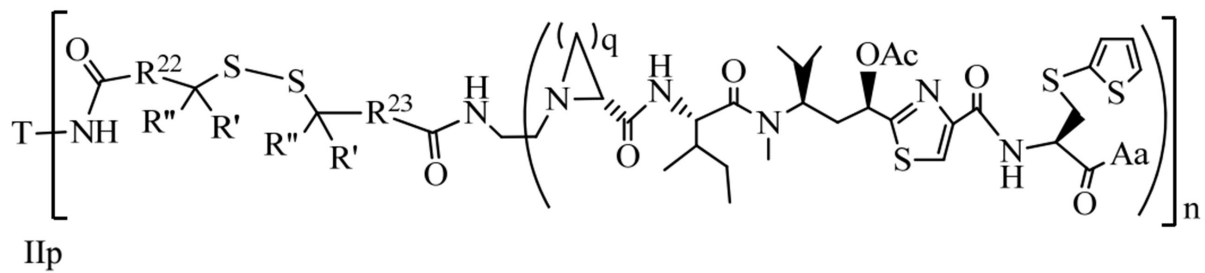
【化 2 2】



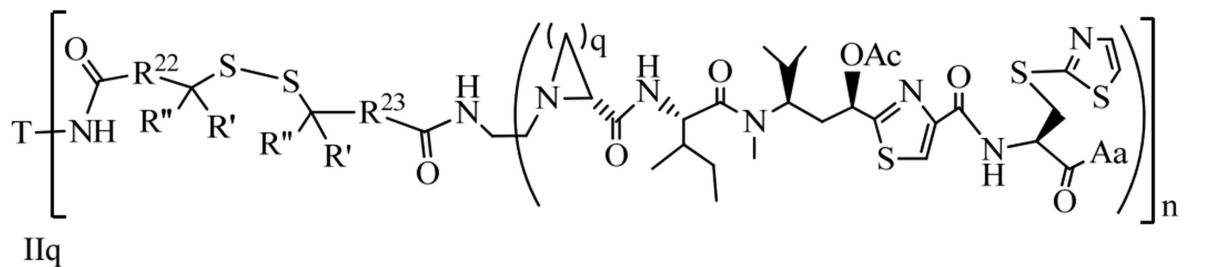
【化 2 3】



【化 2 4】

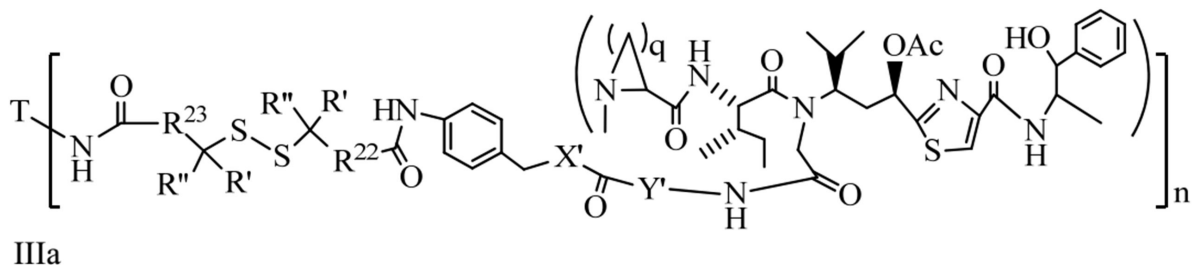


【化 2 5】

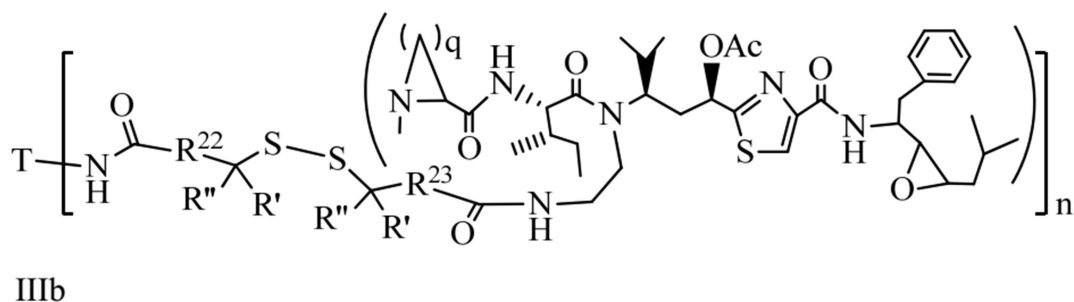


[illegible]

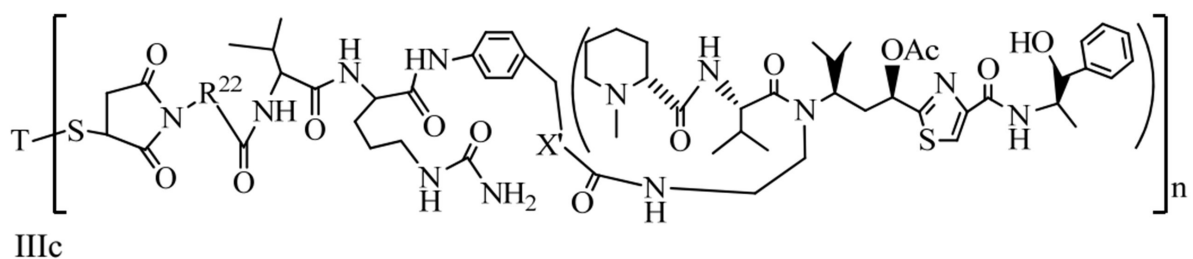
10



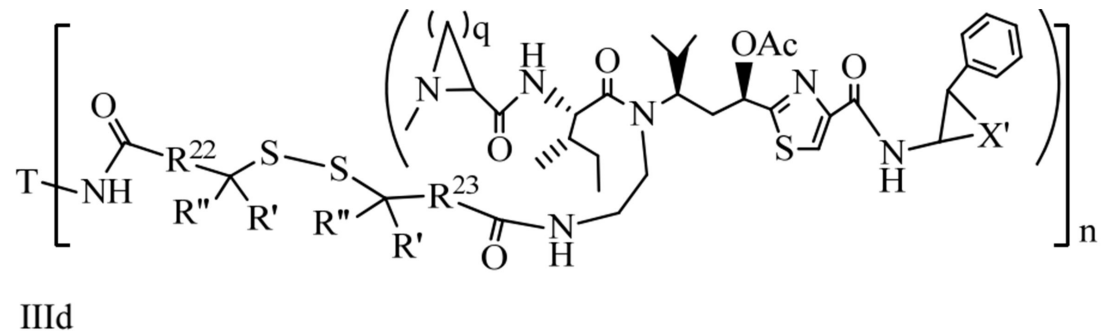
20



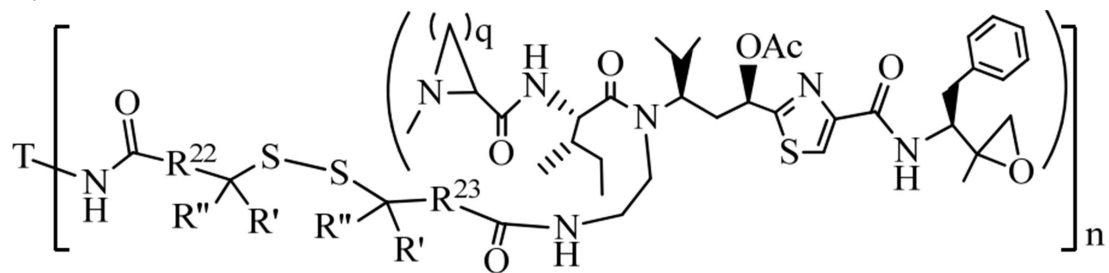
30



40



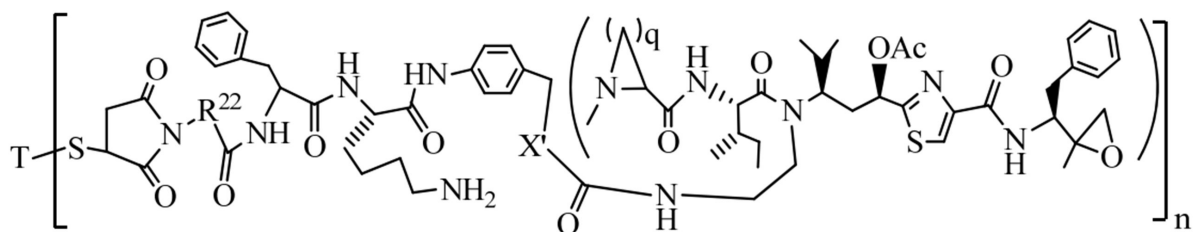
【化 3 1】



IIIe

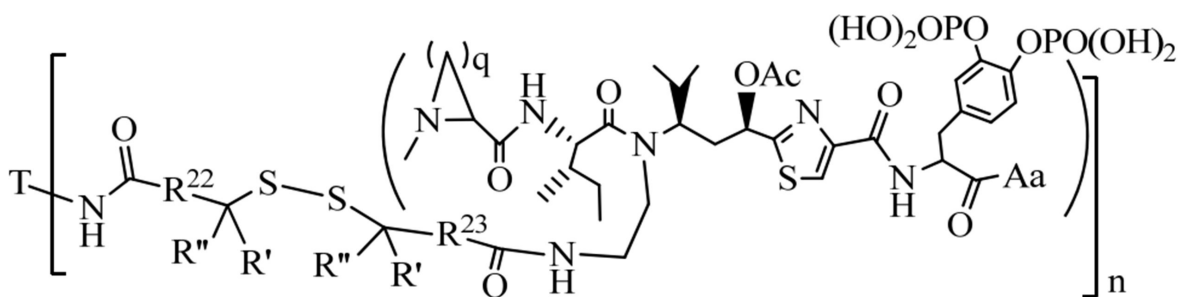
10

【化 3 2】



IIIf

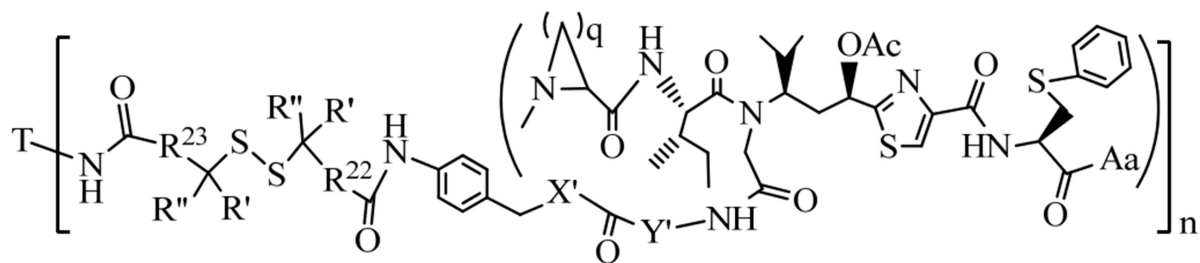
【化 3 3】



IIIg

30

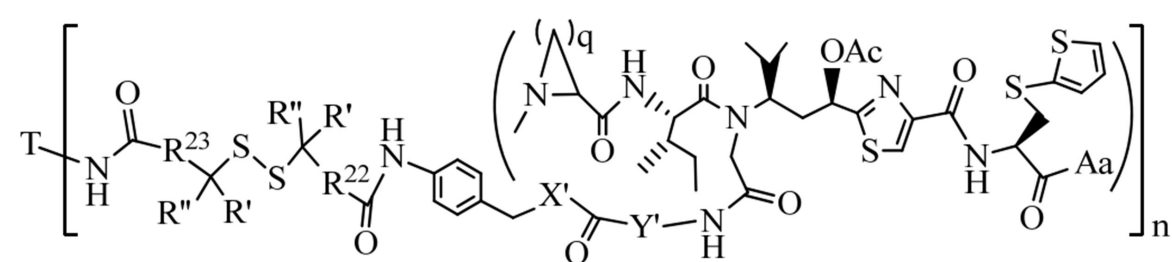
【化 3 4】



IIIh

40

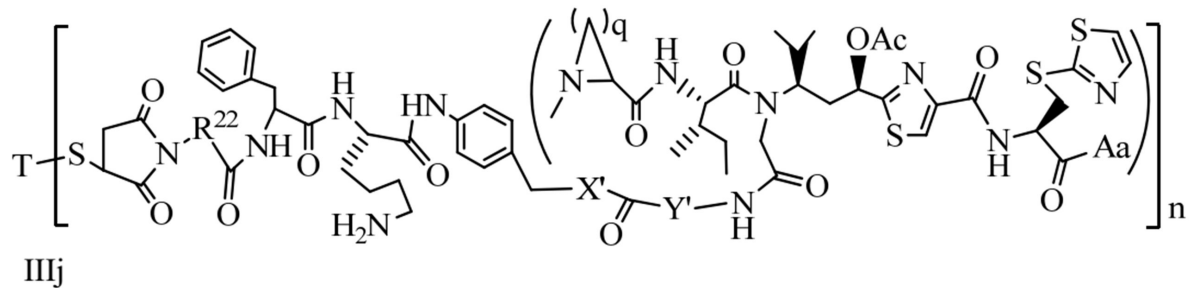
【化 3 5】



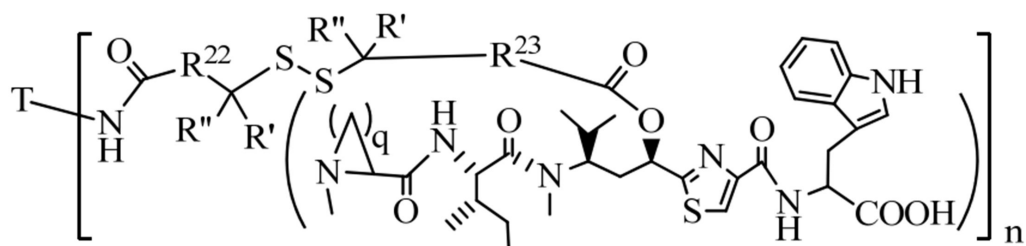
IIIi

50

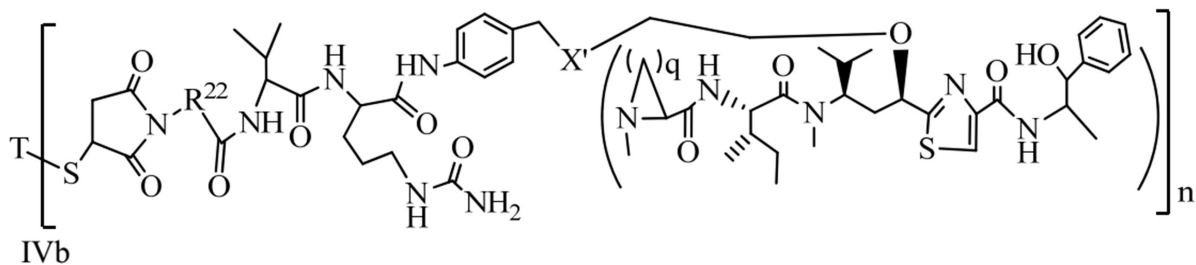
【化 3 6】



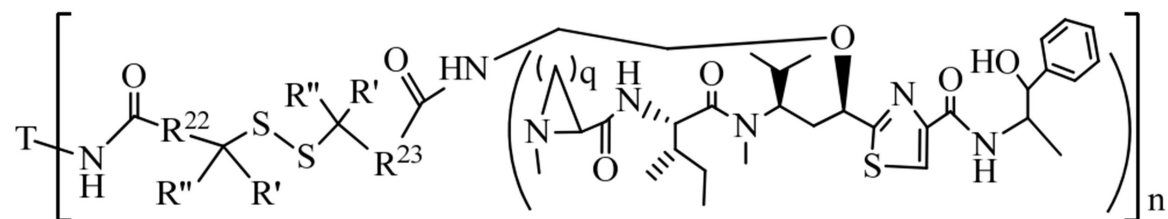
【化 3 7】



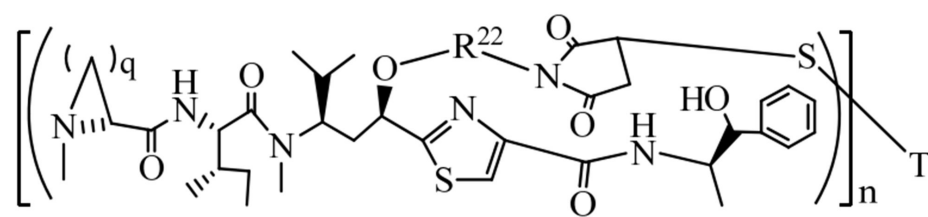
【化 3 8】



【化 3 9】



【化 4 0】



10

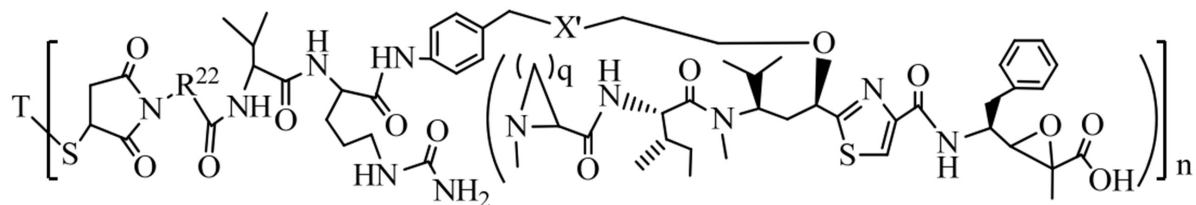
20

30

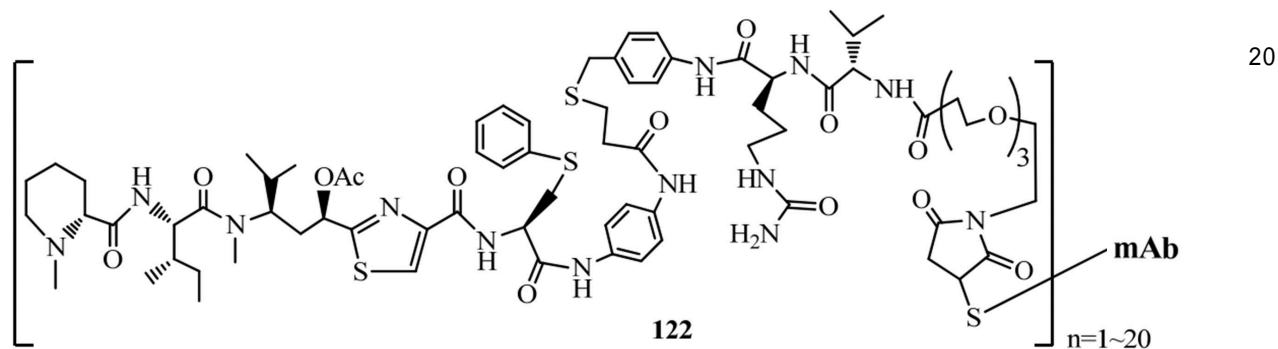
40

[illegible]

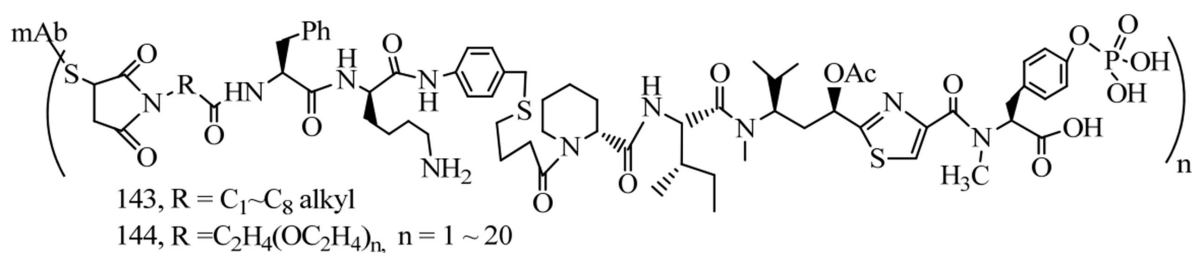
10



【化 4 3】



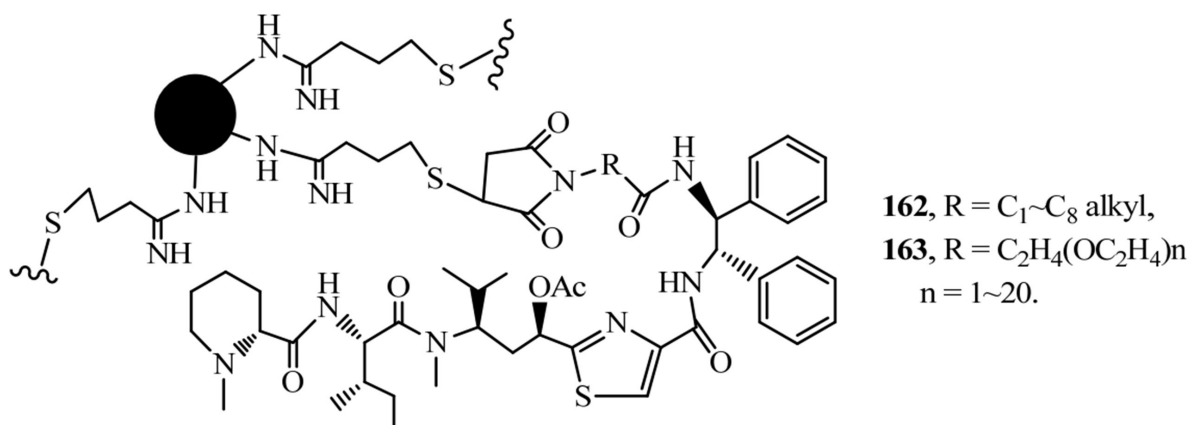
30

CN(C)C[C@H](C)[C@@H](C(=O)NC[C@H](C)[C@@H](C)C(=O)N[C@@H](C)[C@H](OC(=O)c1csc([C@@H]2C[C@@H](C)[C@H](C)[C@H]2COP(=O)(O)Oc3ccccc3)nc1=O)CCSC4C(=O)N(R)C(=O)N4)CCC
[]_{3~8} mAb

152, R = C₁~C₈ alkyl; **153**, R = C₂H₄(OC₂H₄)_n, n = 1~20.

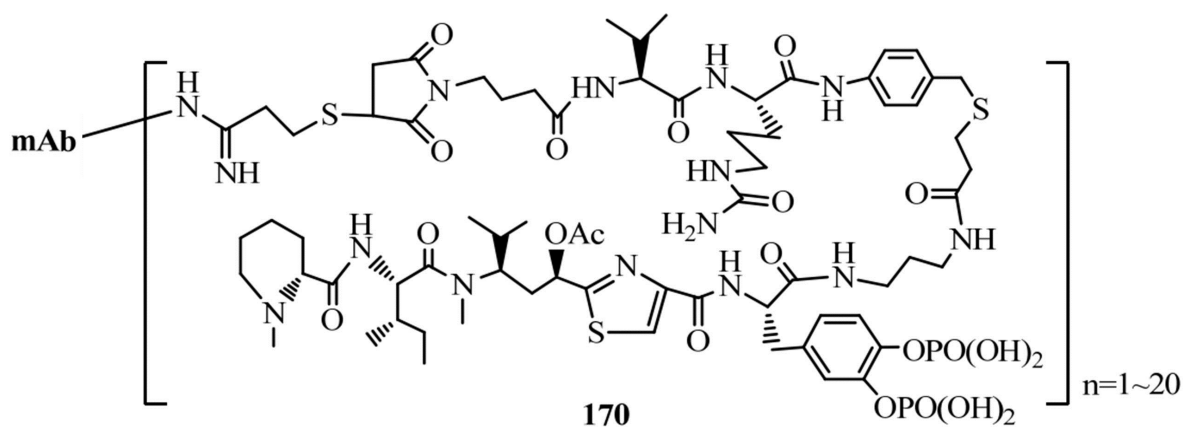
40

【化 4 6】



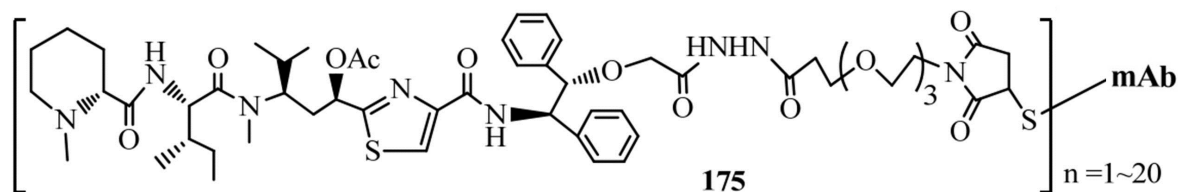
10

【化 4 7】



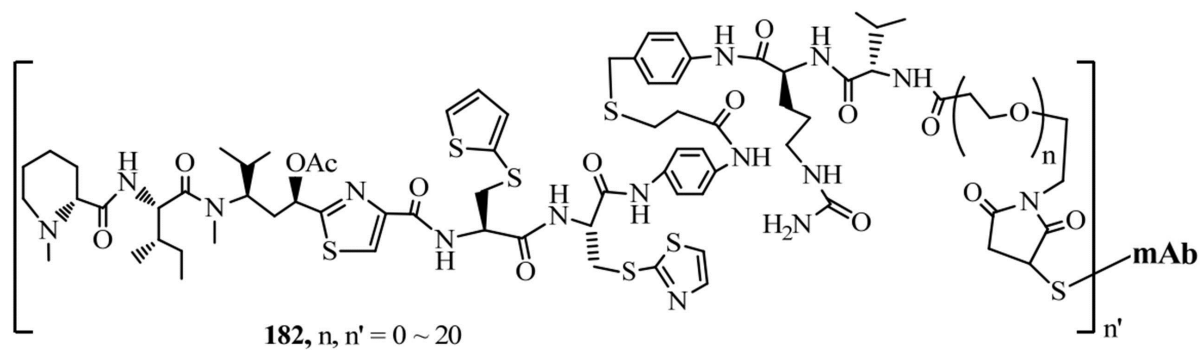
20

【化 4 8】



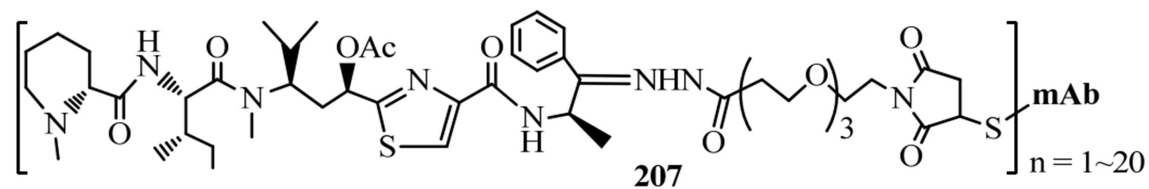
30

【化 4 9】

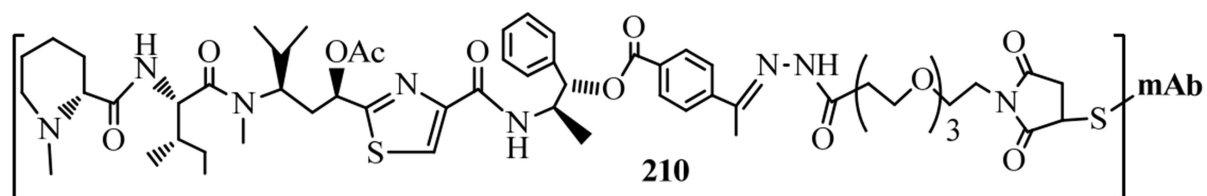


40

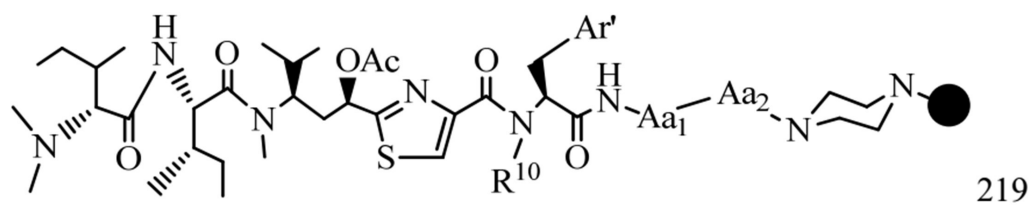
【化 5 0】



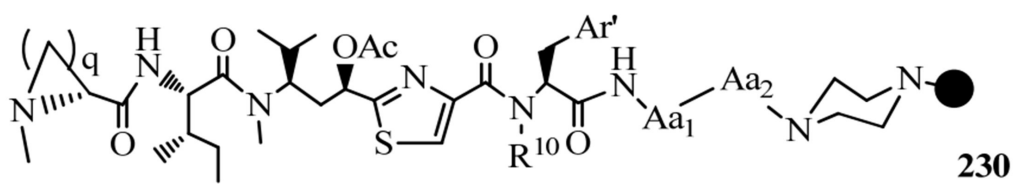
【化 5 1】



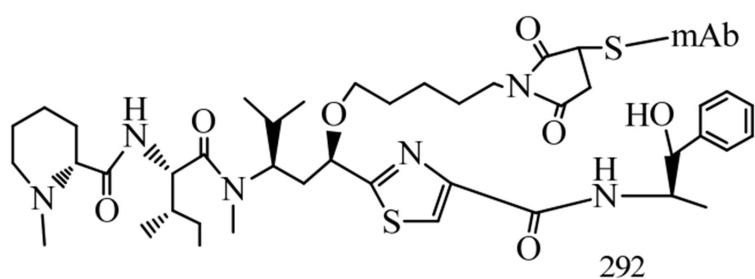
【化 5 2】



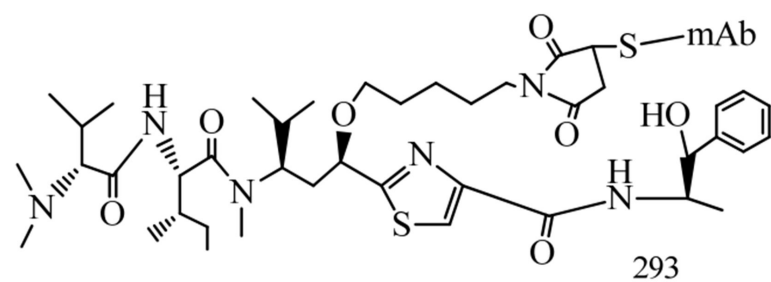
【化 5 3】



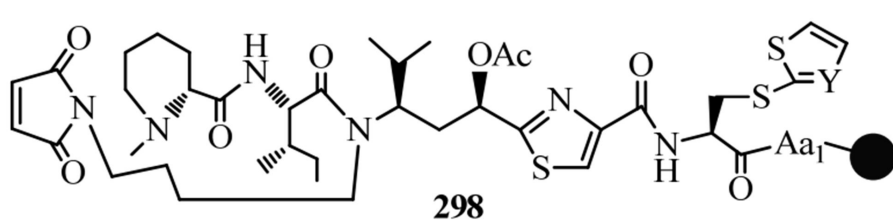
【化 5 4】



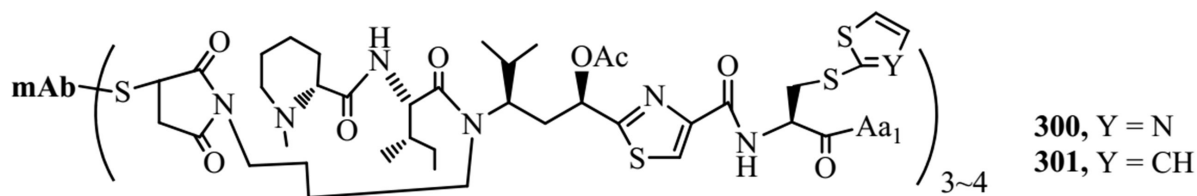
【化 5 5】



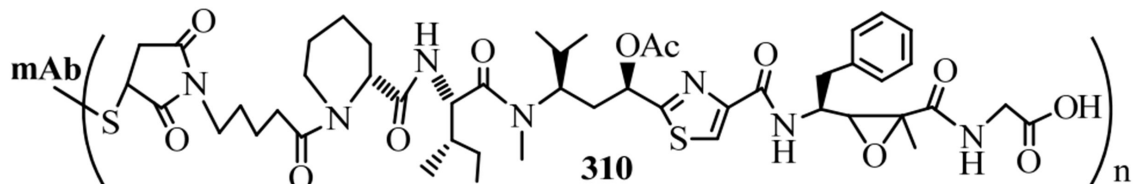
【化 5 6】



【化 5 7】

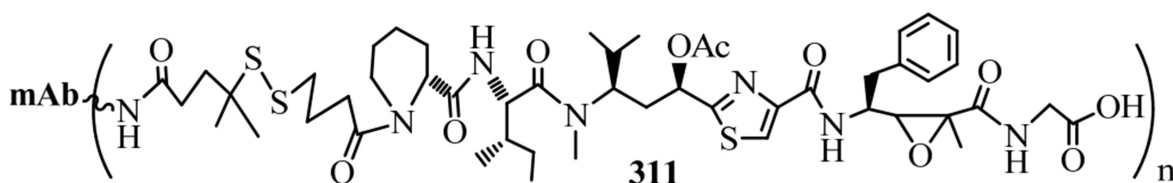


【化 5 8】



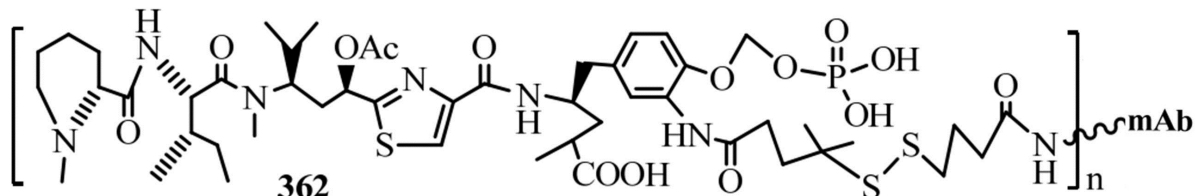
10

【化 5 9】

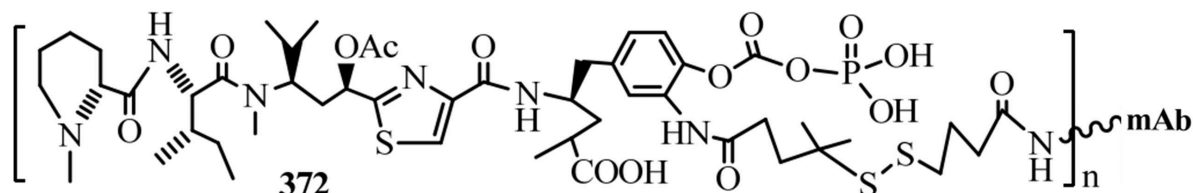


20

【化 6 0】



【化 6 1】



30

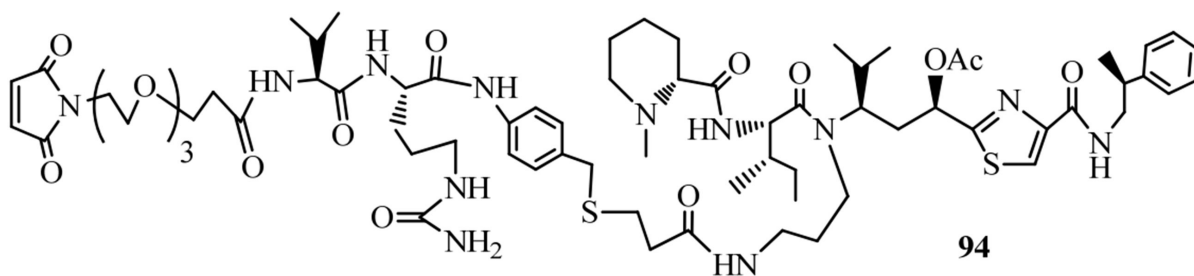
(ここで、Tは細胞結合リガンド、nは1 - 20であり、mAbは抗体、Aaは、天然あるいは非天然アミノ酸であり、Ar'はアリールであり、qは1 - 5であり、X'、Y'、Z'は、それぞれ、CH、O、S、NH、又はNR^{2 2}であり、R^{2 2}、R^{2 3}は、それぞれ、C₁ ~ C₈アルキル、C₂ ~ C₈アルケニル、C₂ ~ C₈アルキニル、C₂ ~ C₈ヘテロアルキル、C₃ ~ C₈アリール、C₃ ~ C₈複素環、C₃ ~ C₈炭素環、C₃ ~ C₈アルキルシクロアルキル、C₃ ~ C₈ヘテロシクロアルキル、C₃ ~ C₈アラルキル、C₃ ~ C₈ヘテロアルキルシクロアルキル、C₃ ~ C₈ヘテロアラルキル、又は、-(OCH₂CH₂)_m-であり、R'、R'は、それぞれ、H又はCH₃である。)

40

【請求項 6】

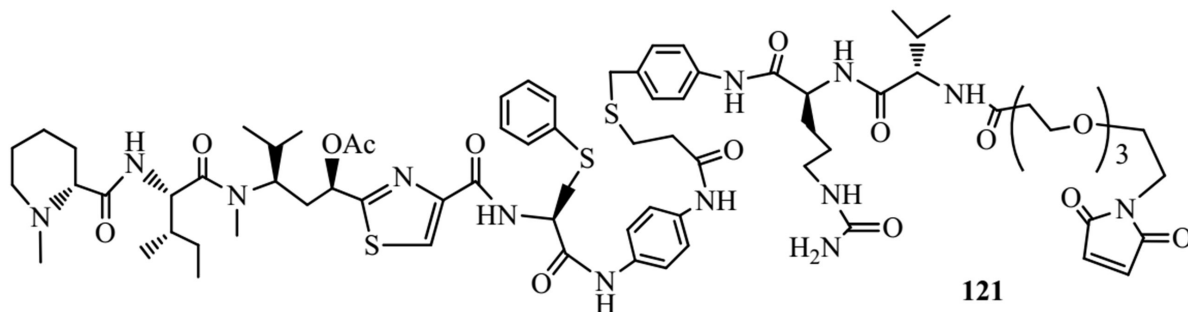
細胞結合リガンドと、以下のいずれかの構造式で示される構造を有する化合物とを反応させることを含む、共役体又はその薬学的に許容される塩若しくは溶媒化物の調整方法。

【化 6 2】



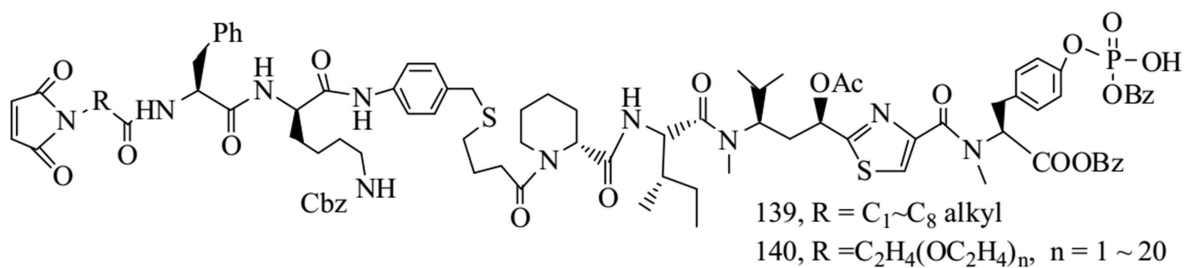
【化 6 3】

10



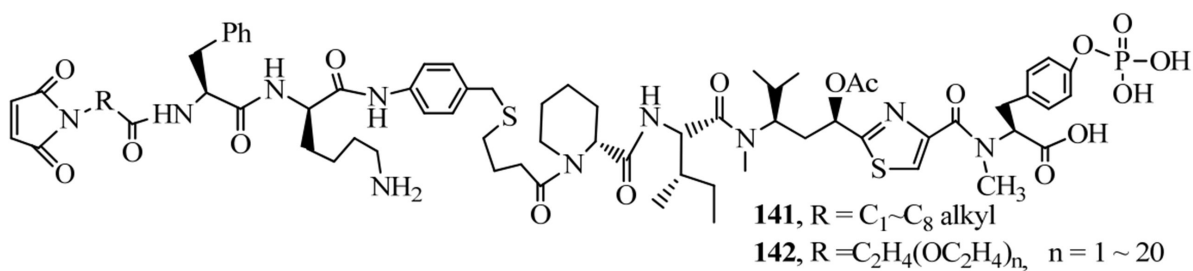
【化 6 4】

20



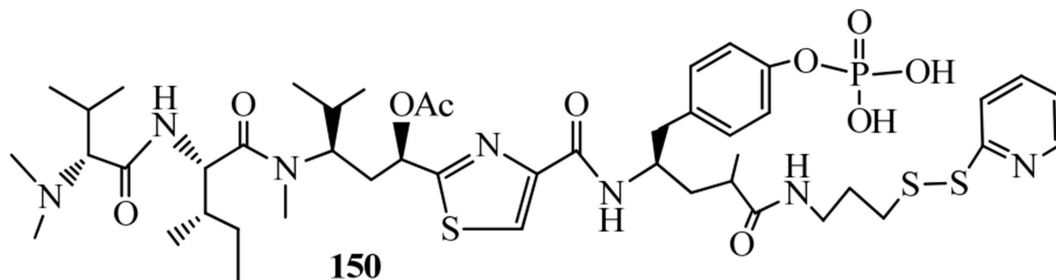
【化 6 5】

30

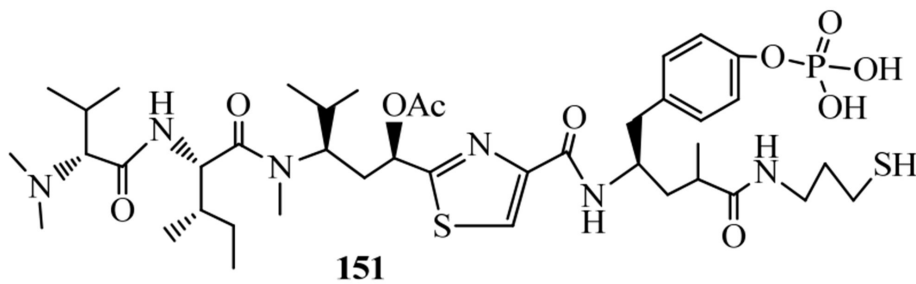


【化 6 6】

40

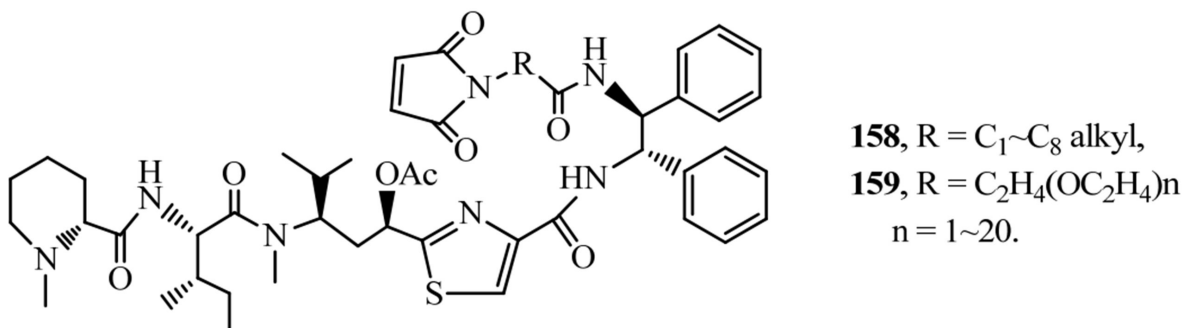


【化 6 7】



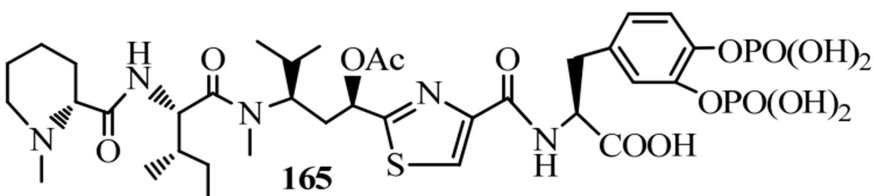
【化 6 8】

10



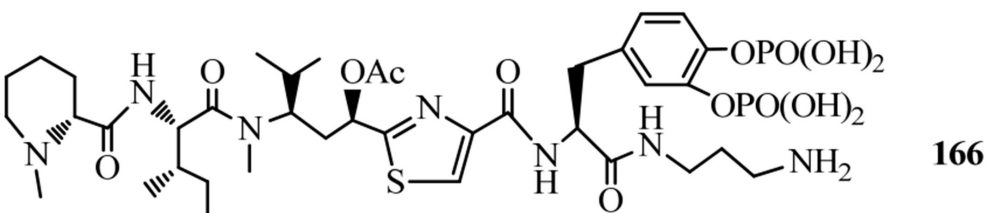
【化 6 9】

20



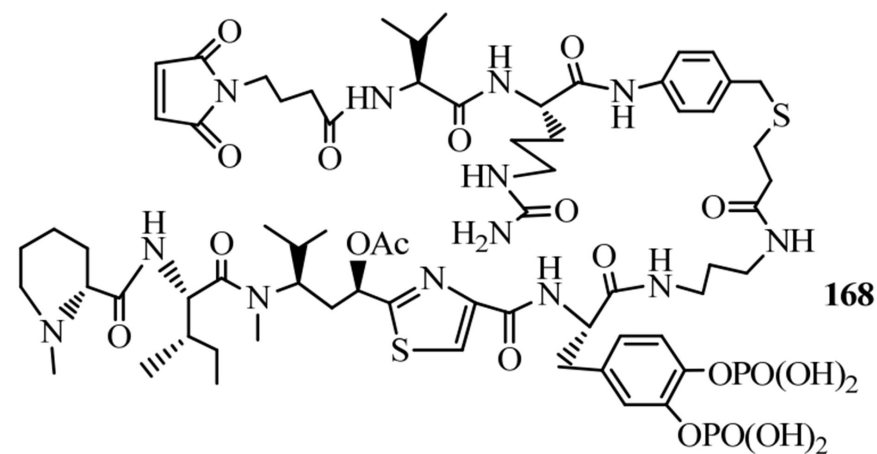
【化 7 0】

30

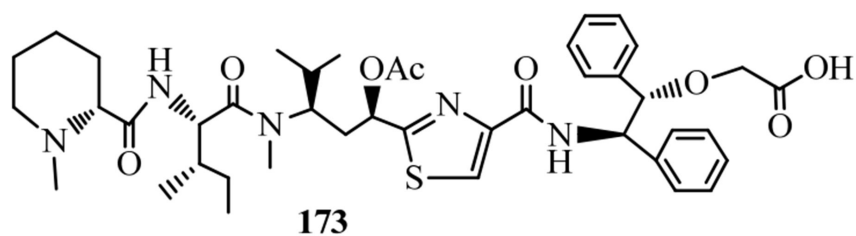


【化 7 1】

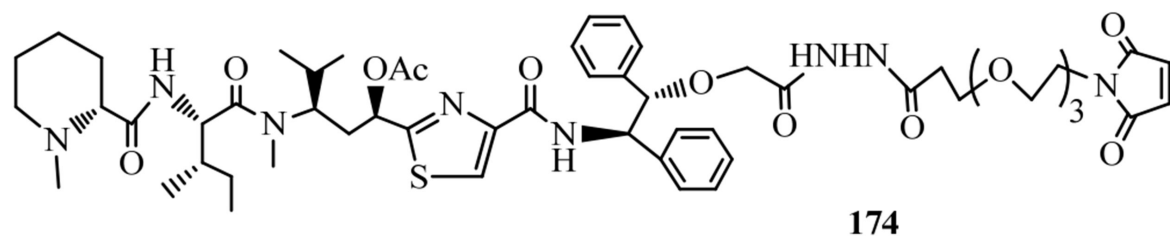
40



【化 7 2】

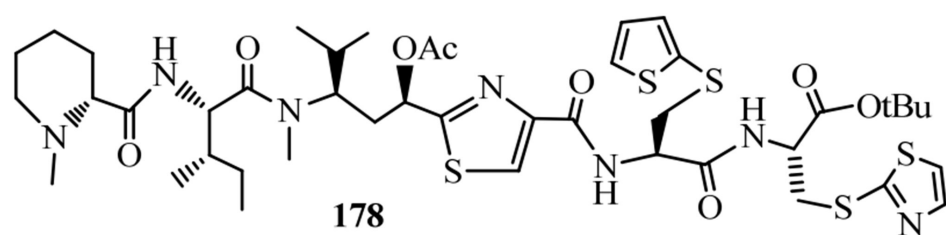


【化 7 3】



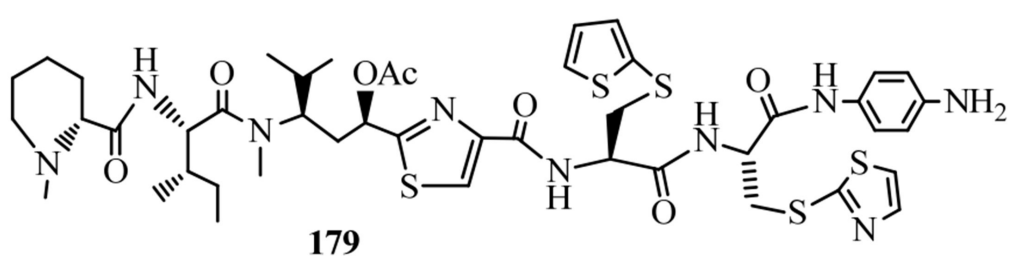
10

【化 7 4】



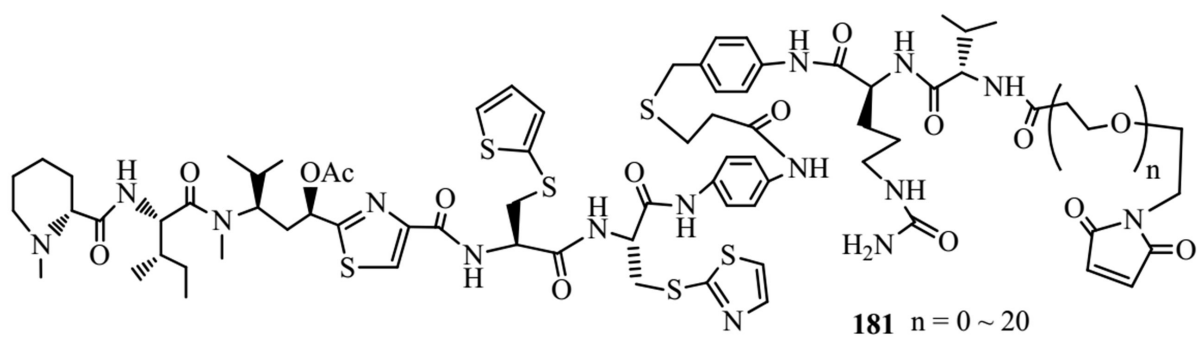
20

【化 7 5】



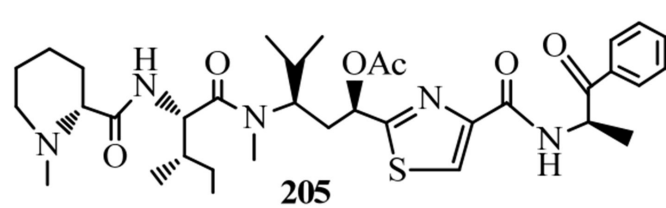
30

【化 7 6】

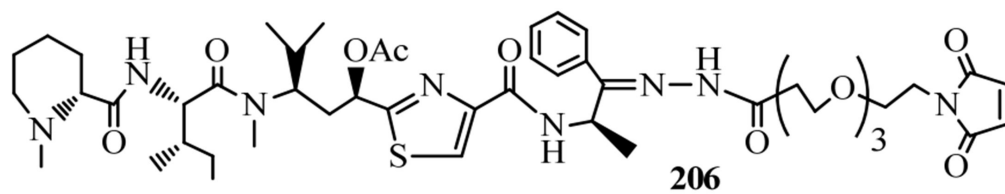


40

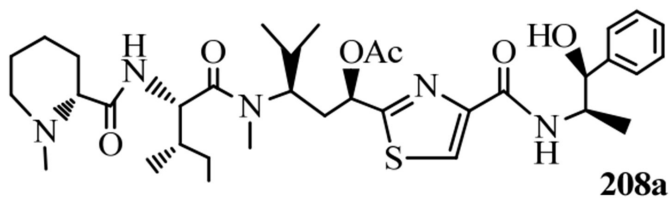
【化 7 7】



【化 7 8】

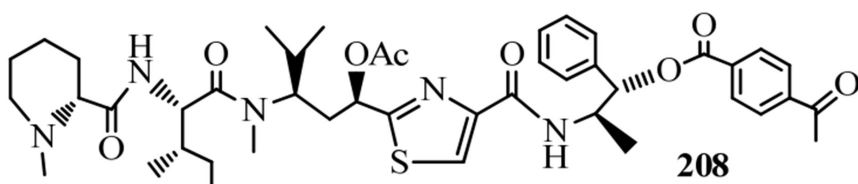


【化 7 9】



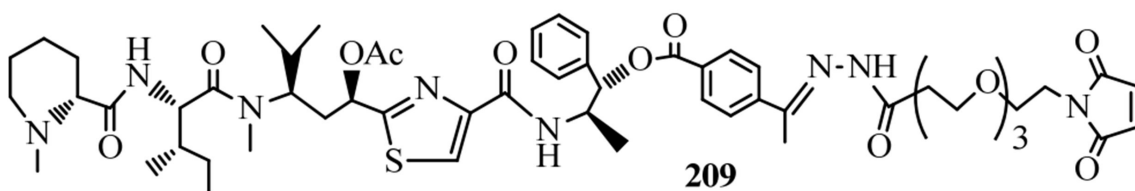
10

【化 8 0】

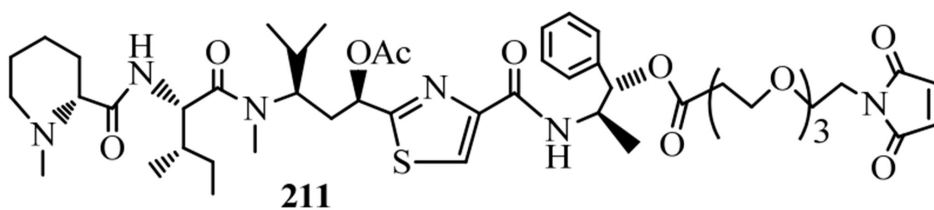


20

【化 8 1】

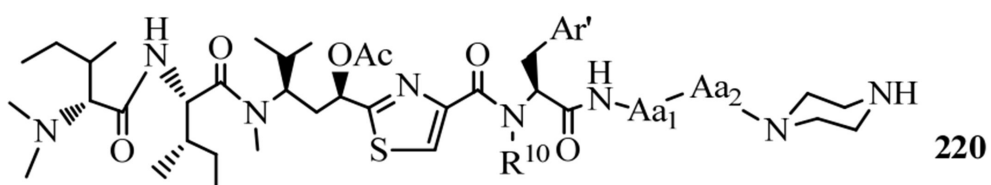


【化 8 2】



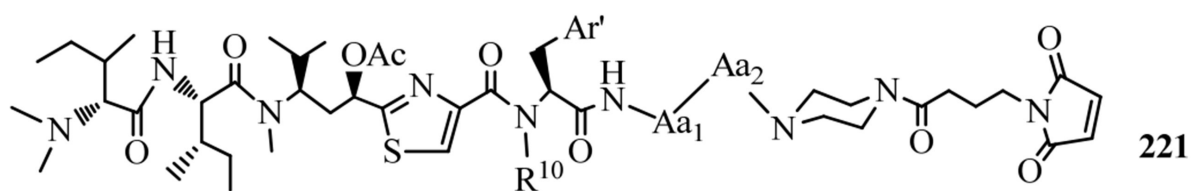
30

【化 8 3】

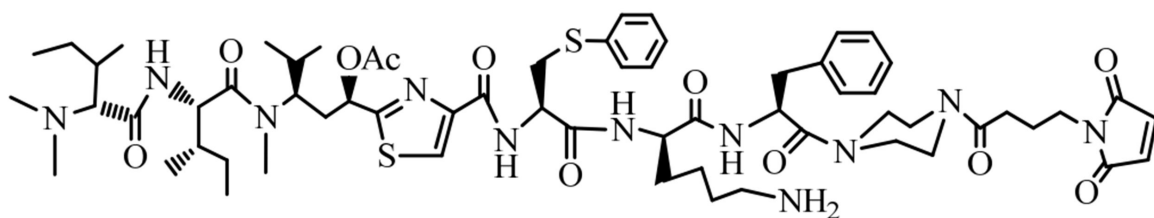


40

【化 8 4】

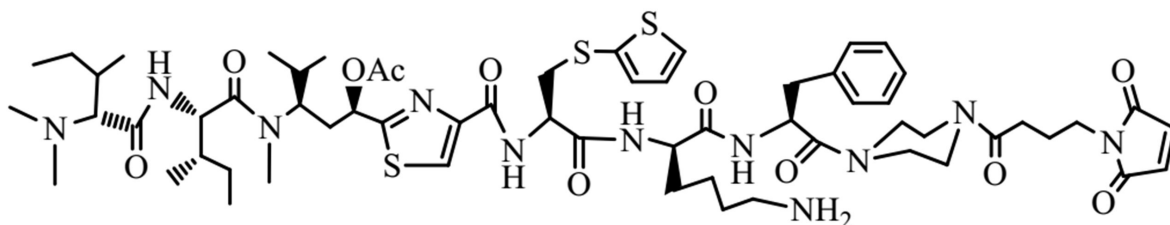


【化 8 5】



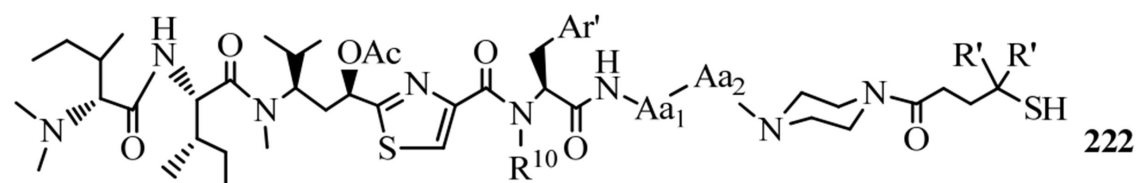
221a

【化 8 6】



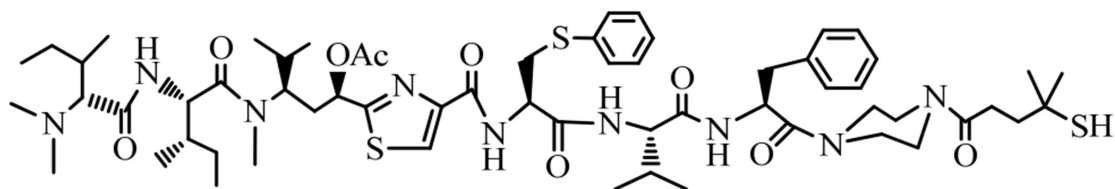
221b

【化 8 7】



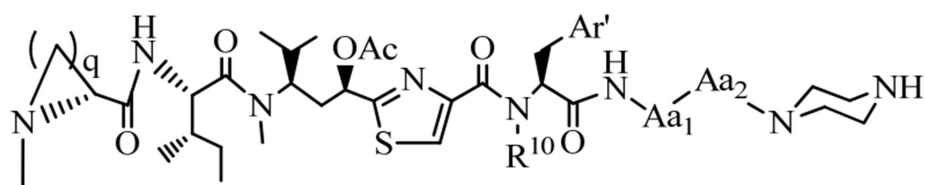
222

【化 8 8】



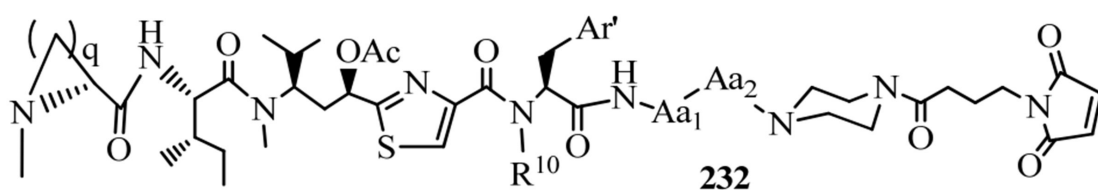
222a

【化 8 9】



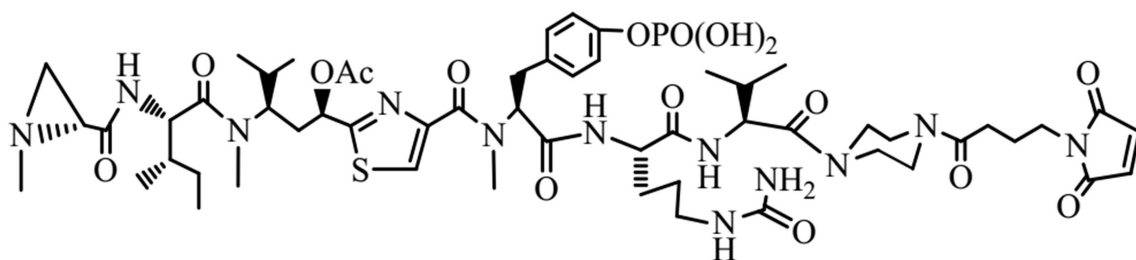
231

【化 9 0】



232

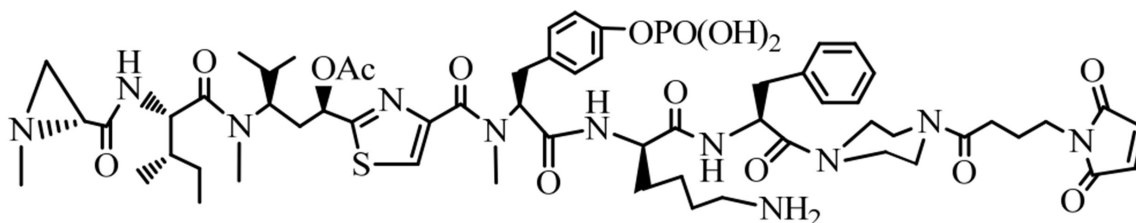
【化 9 1】



232a

10

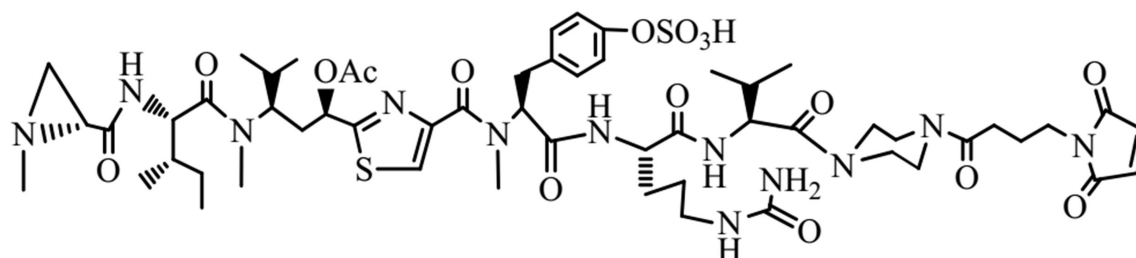
【化 9 2】



232b

【化 9 3】

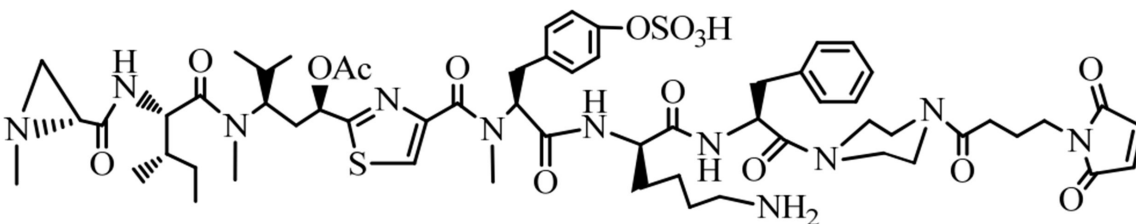
20



232c

【化 9 4】

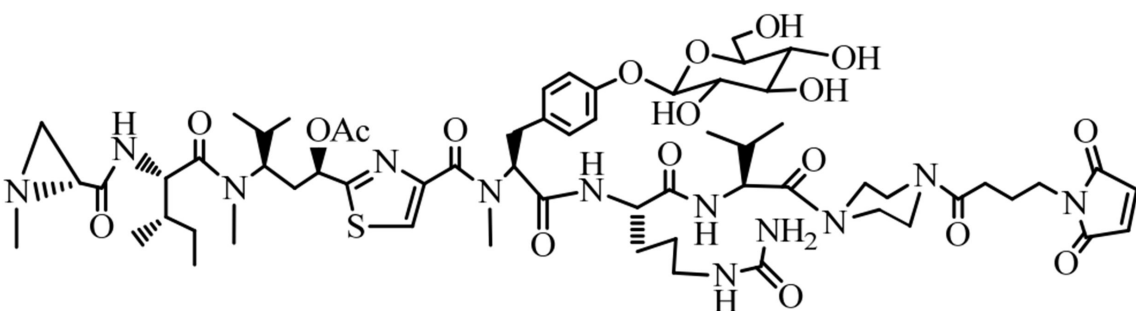
30



232d

【化 9 5】

40



232e

232f

10

232g

20

232h

30

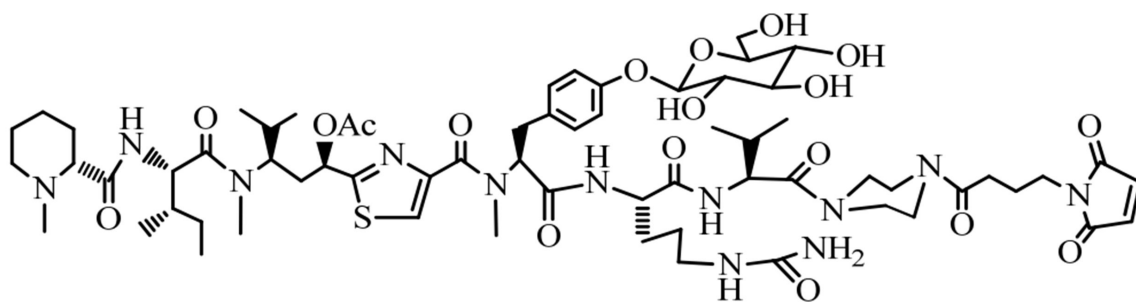
232i

40

【化 1 0 0】

232j

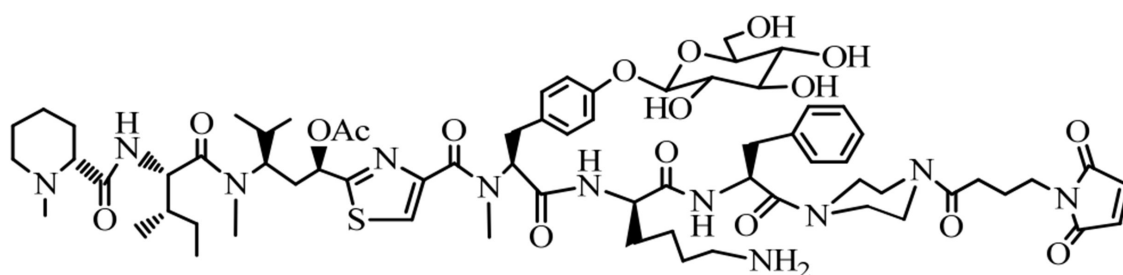
【化 1 0 1】



232k

10

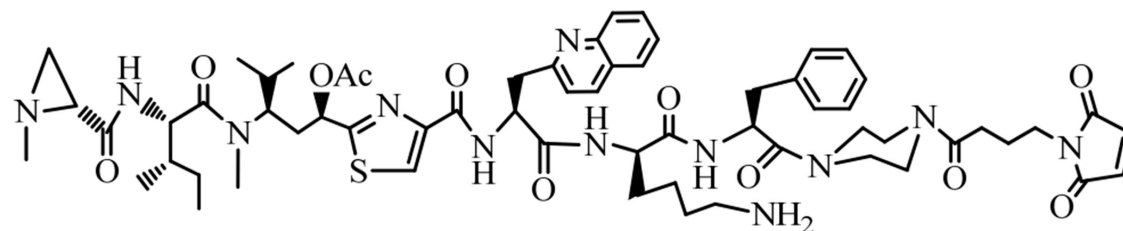
【化 1 0 2】



232l

20

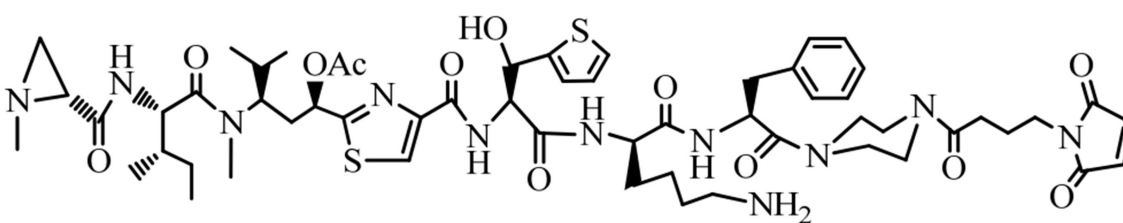
【化 1 0 3】



232m

30

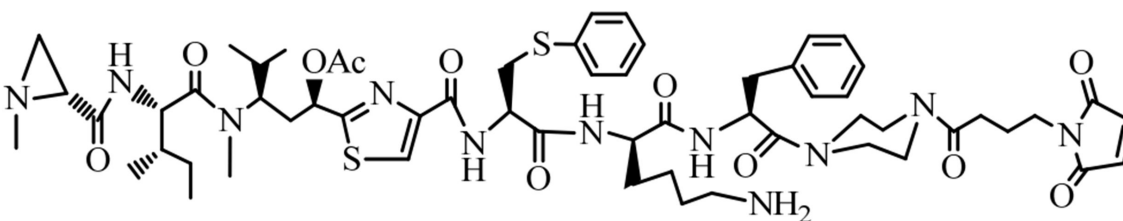
【化 1 0 4】



232n

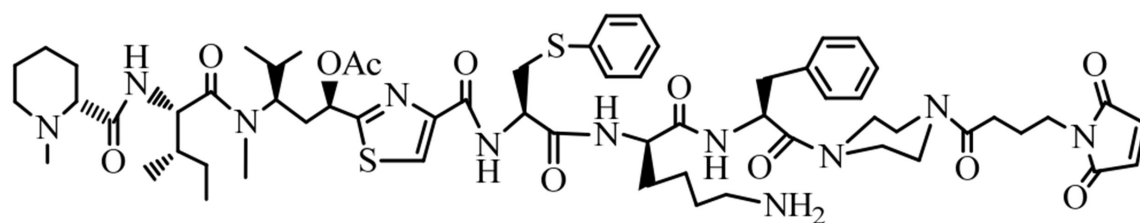
40

【化 1 0 5】



232o

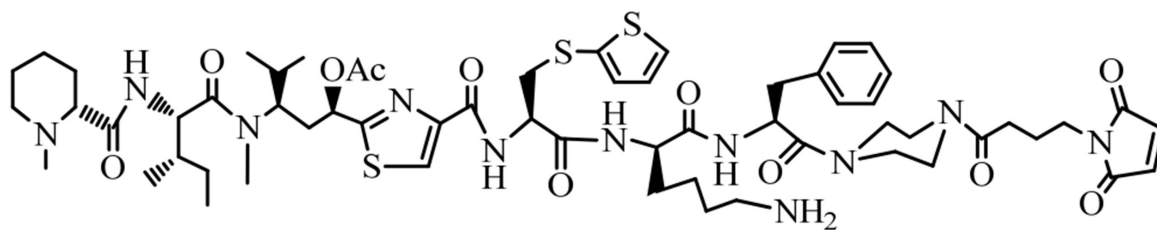
【化 1 0 6】



232p

【化 1 0 7】

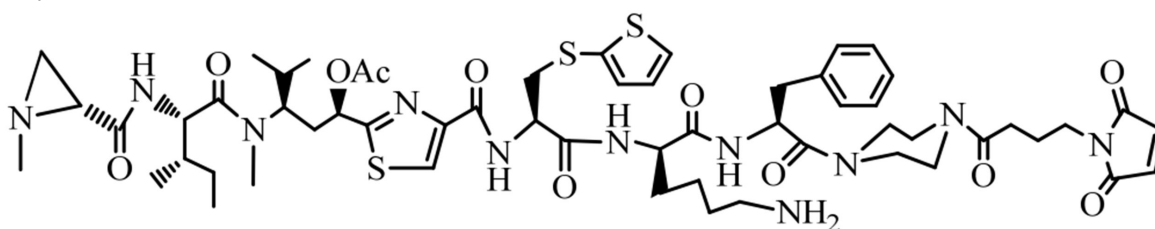
10



232q

【化 1 0 8】

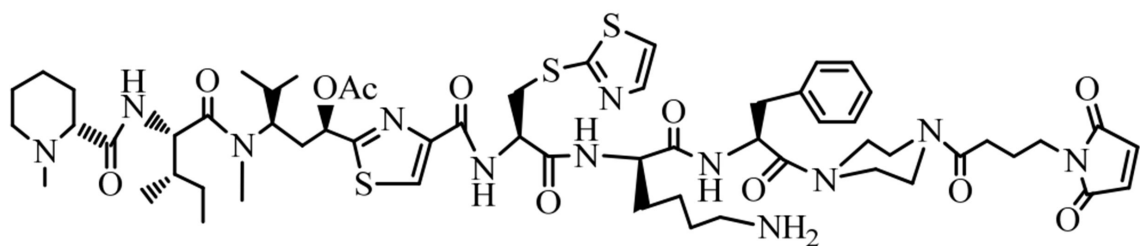
20



232r

【化 1 0 9】

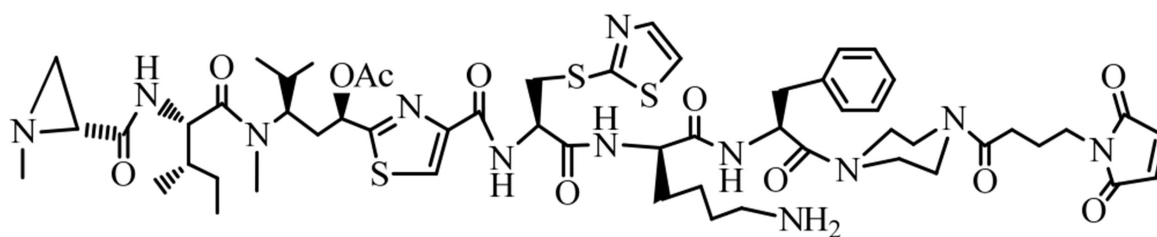
30



232s

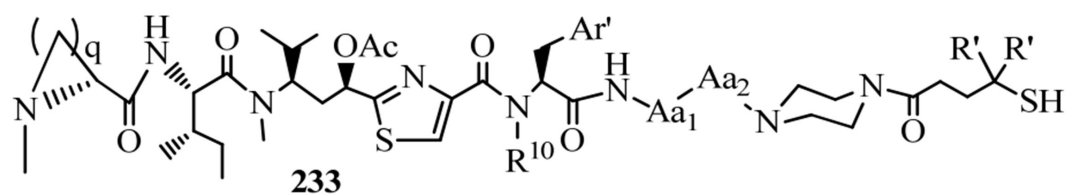
【化 1 1 0】

40

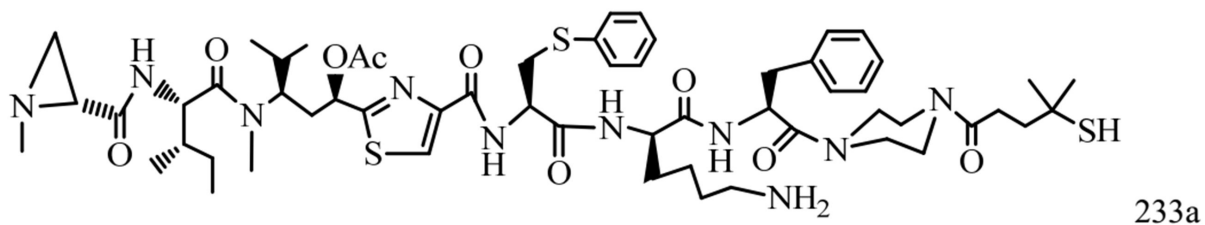


232t

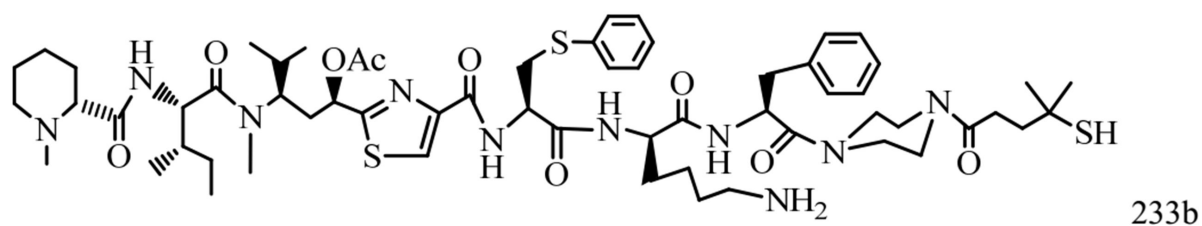
【化 1 1 1】



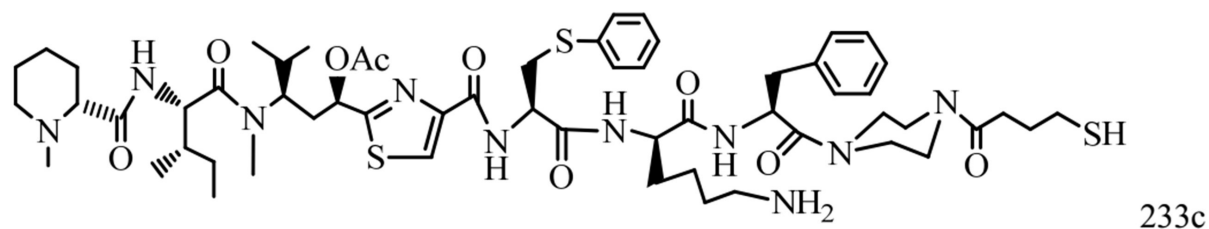
【化 1 1 2】



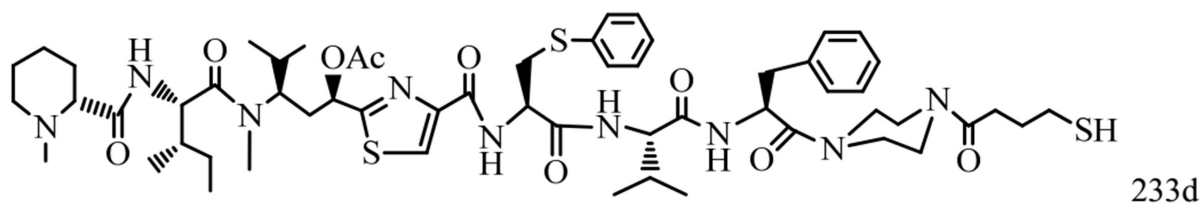
【化 1 1 3】



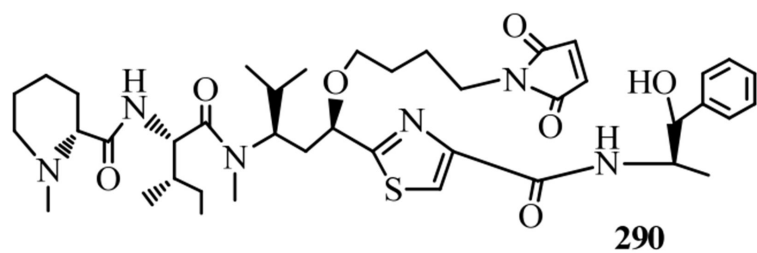
【化 1 1 4】



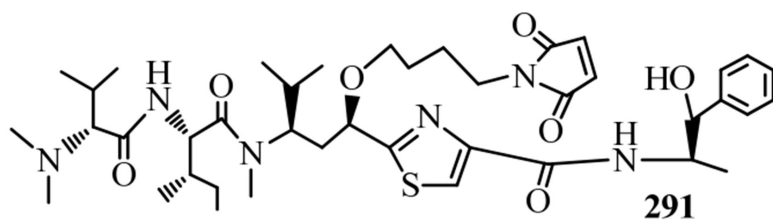
【化 1 1 5】



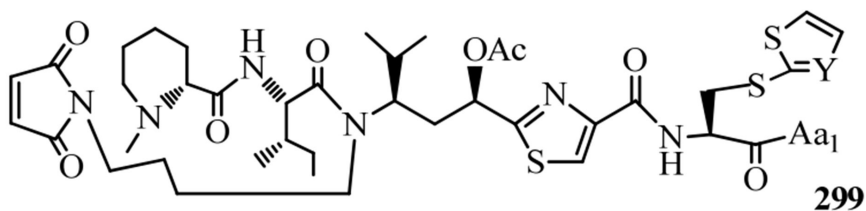
【化 1 1 6】



【化 1 1 7】

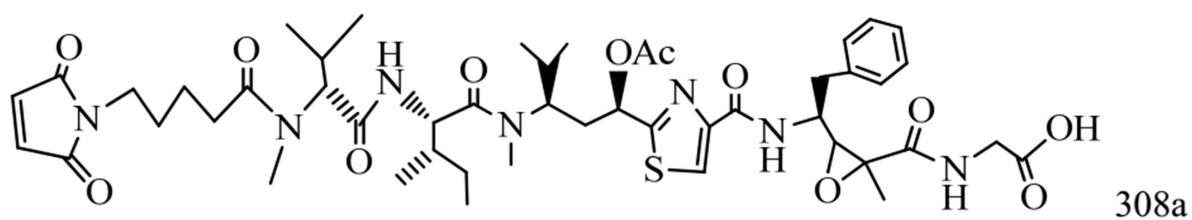


【化 1 1 8】



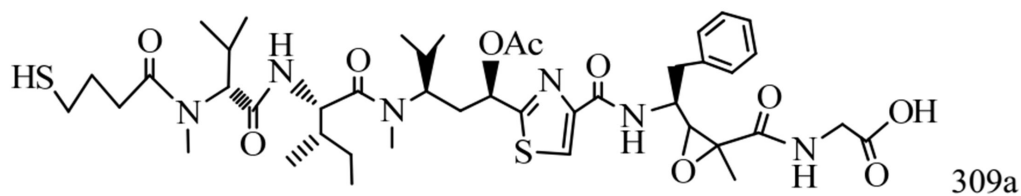
10

【化 1 1 9】



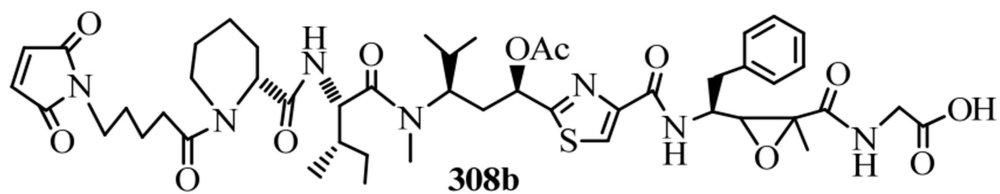
20

【化 1 2 0】

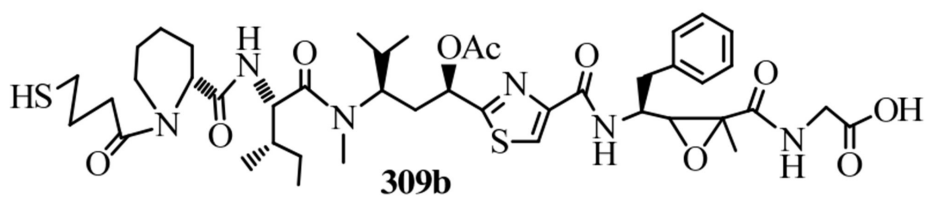


30

【化 1 2 1】

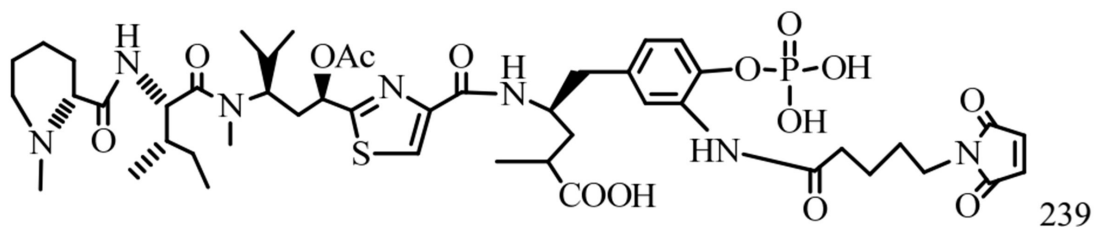


【化 1 2 2】

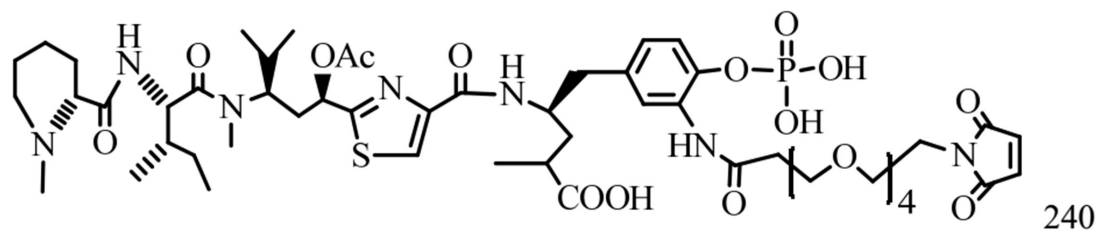


40

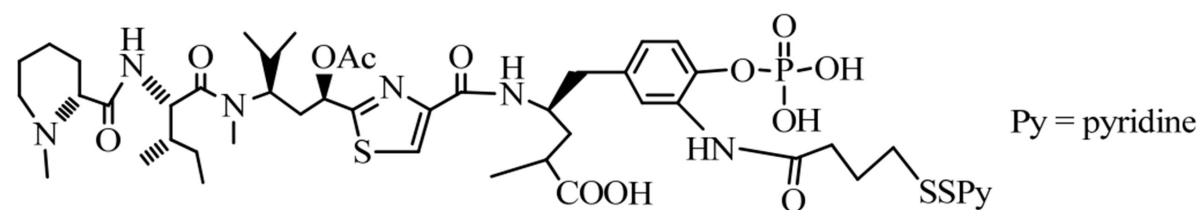
【化 1 2 3】



【化 1 2 4】

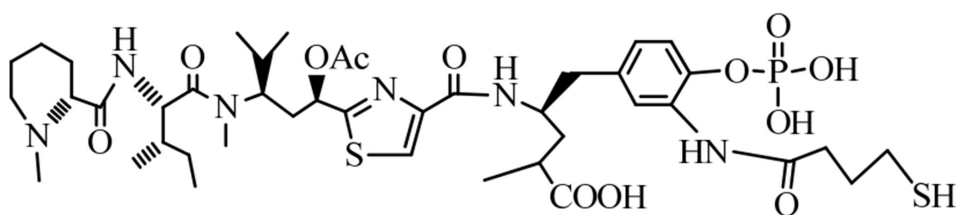


【化 1 2 5】



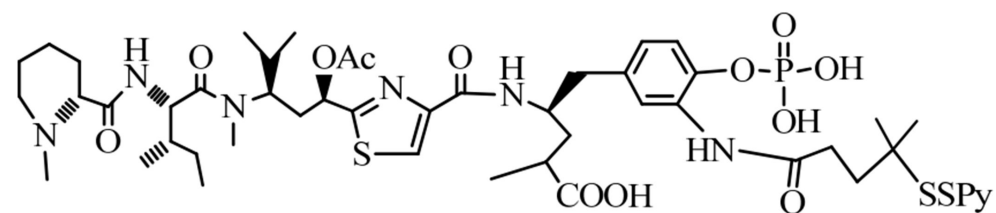
248

【化 1 2 6】



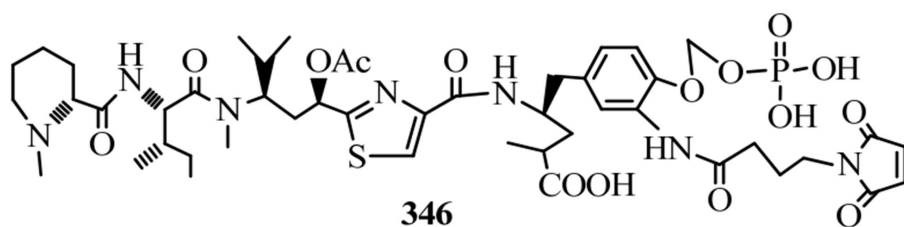
248b

【化 1 2 7】

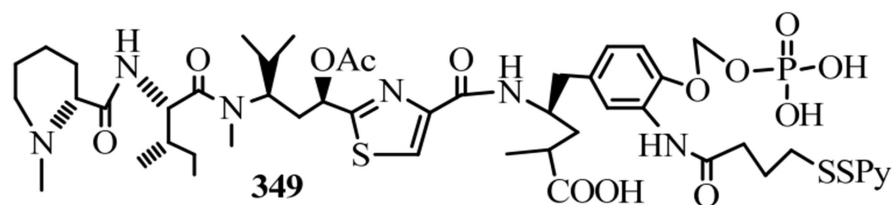


249

【化 1 2 8】

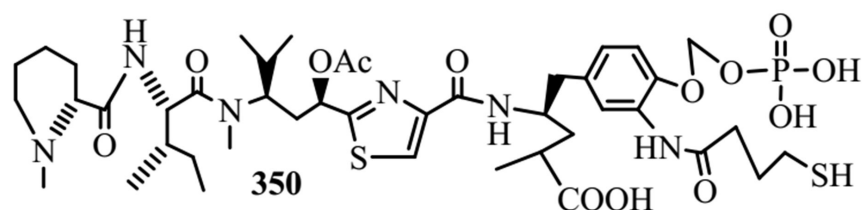


【化 1 2 9】



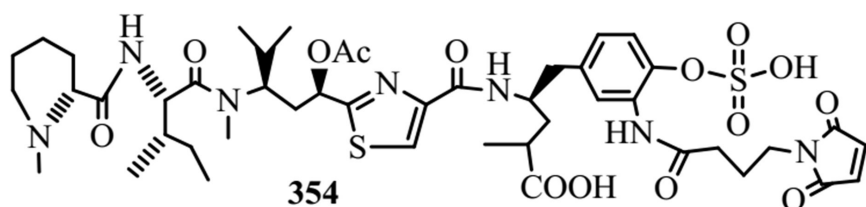
10

【化 1 3 0】



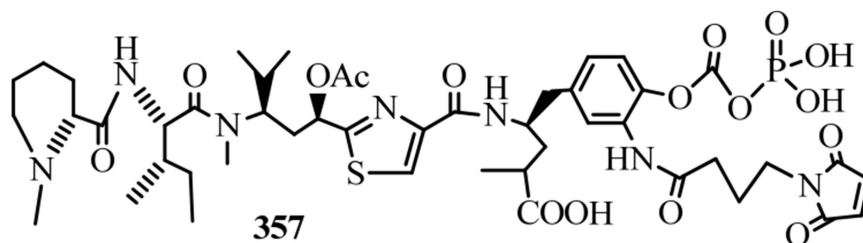
20

【化 1 3 1】

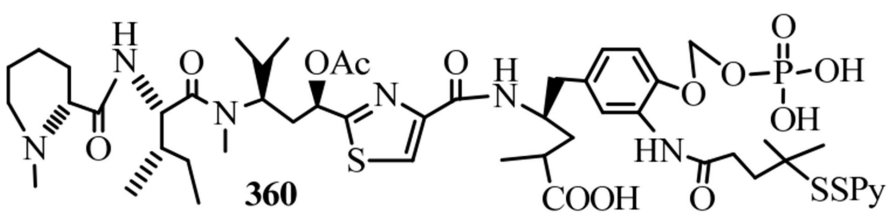


30

【化 1 3 2】

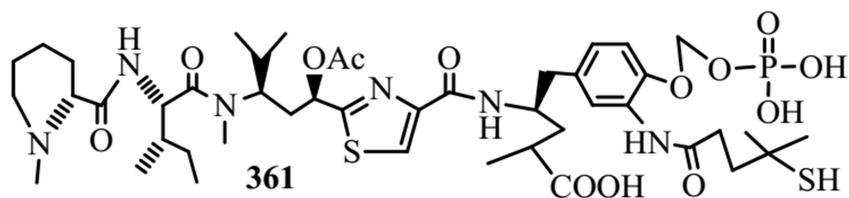


【化 1 3 3】

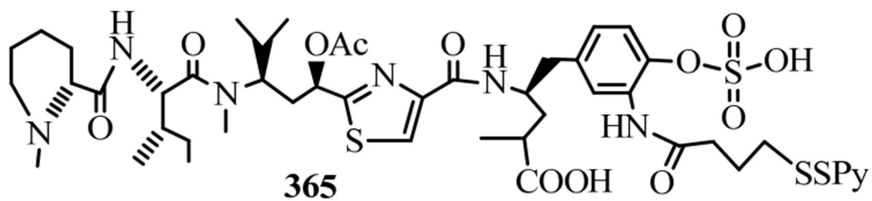


40

【化 1 3 4】

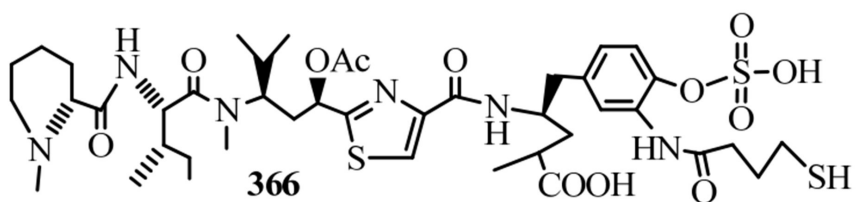


【化 1 3 5】



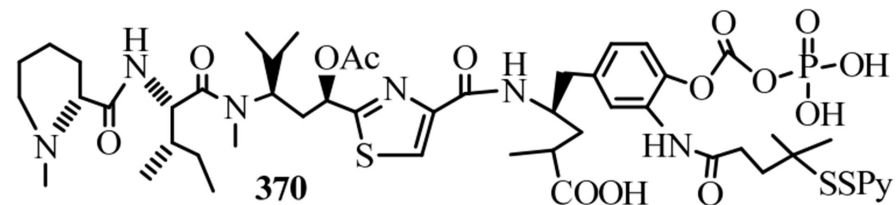
10

【化 1 3 6】

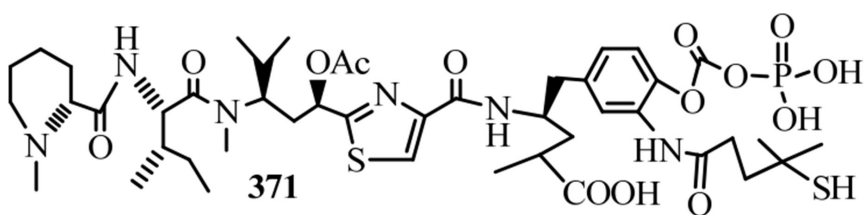


20

【化 1 3 7】

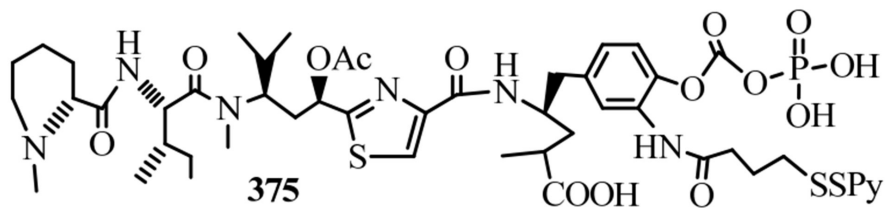


【化 1 3 8】



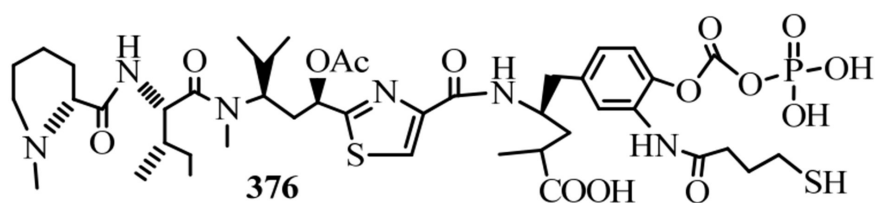
30

【化 1 3 9】



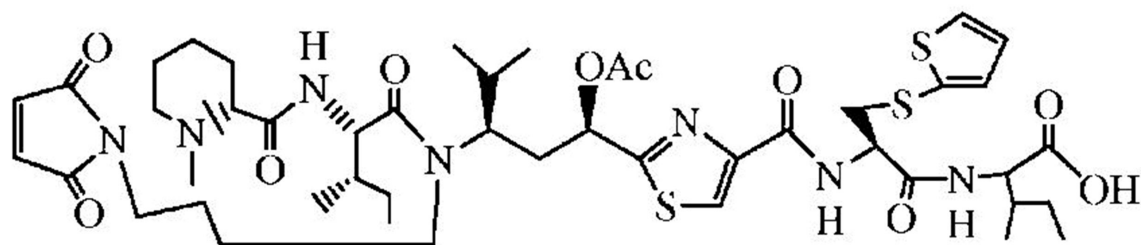
40

【化 1 4 0】



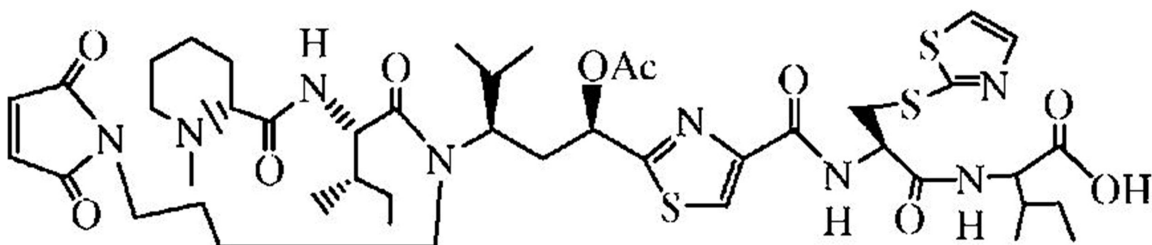
50

【化 1 4 1】



299a

【化 1 4 2】



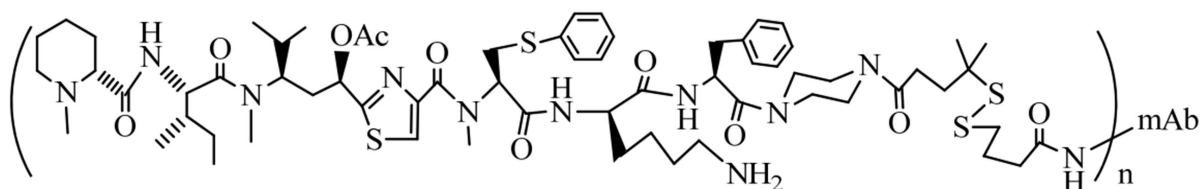
299b

(ここで、A a 1、A a 2 は、天然あるいは非天然アミノ酸であり、A r ' はアリールであり、q は 1 - 5 であり、R '、R ' ' は、それぞれ、H 又は C H₃ である。)

【請求項 7】

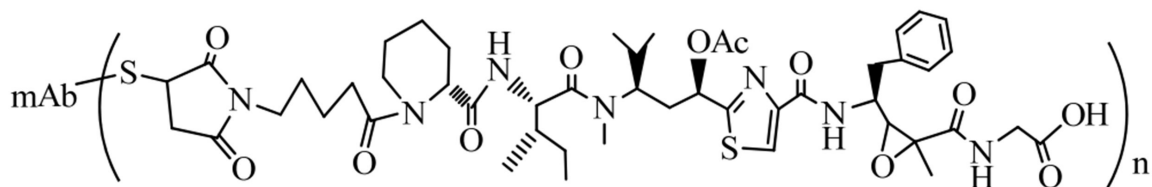
以下のいずれかの構造式で示される構造を有する共役体又はその薬学的に許容される塩若しくは溶媒化物。

【化 1 4 3】



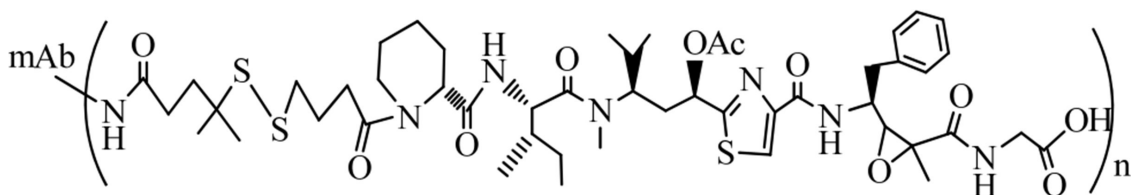
mAb-TZ01

【化 1 4 4】



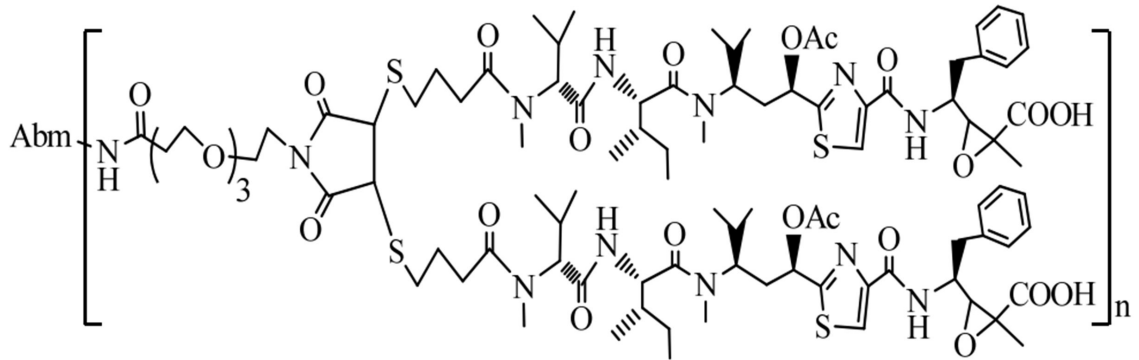
mAb-TZ02

【化 1 4 5】



mAb-TZ03

【化 1 4 7】



10

20

[illegible]

30

*[S]1C(=O)N(CCCNC(=O)C[C@H](C)C(=O)N[C@@H](Cc2ccc(cc2)SCCC(=O)N3CCCCC3C(=O)N[C@@H](C)C(=O)N[C@@H](C)C(=O)N[C@@H](Cc4cnc(s4)C(=O)N[C@@H](Cc5ccccc5)C(=O)N6C=NC=N6)C(=O)N7C=NC=N7)C1=O

40

【請求項 8】

Apo2、アネキシンA1、ASLG659、BAFF-R、BMPR1B(骨形成タンパク質)、IGF-IR、CA125、CA19-9、CanAg、E16、EGFR、EphA2受容体、Erbb2、インターロイキン、MUC1、MUC16、Napli

50

3 b、VEGF、TF、MY9、anti-B4、EPCAM、FcRH2、CD242、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD11、CD11a、CD13、CD18、CD19、CD20、CD21、CD22、CD26、CD30、CD33、CD37、CD38、CD40、CD44、CD52、CD56、CD70、CD72、CD74、CD79、CD79a、CD79b、CD90、CD105、CD125、CD138、CD184、CD276、CEACAM、CRIPTO、DLL4、エンドセリンB受容体(ETBR)、EPCAM、EphA受容体、EphB受容体、EGFRvIII、エンドグリン、FCRH1、FOLR、GD2ガングリオシド、G-28、HER2、HER2/neu、HER3、HLA-DOB(MHCI分子Ia抗原)、インテグリン、IRTA2、ルイスY、MPF、GEDA、メソテリン、Sema5b、PSCA、PSMA、STEAP1(前立腺の6膜貫通上皮抗原)、STEAP2抗原、TNFRSF10B、TRAIL-R1、TRP-2の1つ以上を発現する細胞、

10

インスリン様成長因子受容体を発現する細胞、及び

葉酸受容体を発現する細胞、

からなる群より選択される、

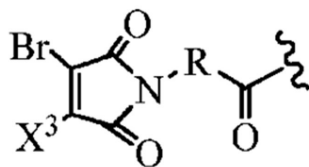
請求項1に記載の共役体又はその薬学的に許容される塩若しくは溶媒化物。

【請求項9】

2つの細胞毒素剤が1つのリンカーと接合する場合、当該リンカーは下記の3-プロモ-マレイミド基、または3,4-ジプロモ-マレイミド基の構造を末端に有する、請求項1に記載の共役体又はその薬学的に許容される塩若しくは溶媒化物。

20

【化150】



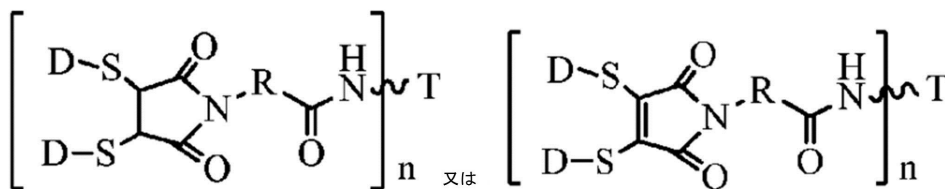
(ただし、RはC₁~C₈アルキル又はC₂H₄(OC₂H₄)_m、mは1~20であり、X³はH又はBrである。)

【請求項10】

2つの細胞毒素剤が1つのリンカーと接合する場合、下記の構造を有する、請求項1に記載の共役体又はその薬学的に許容される塩若しくは溶媒化物。

30

【化151】



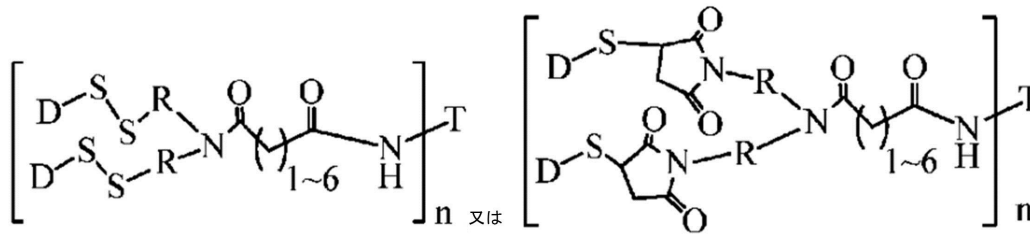
(ここで、RはC₁~C₈アルキル又はC₂H₄(OC₂H₄)_m、mは1~20であり、Dは細胞毒素剤であり、Dの少なくとも一方は、構造式(I)の括弧内の部分である細胞毒素剤であり、Tは細胞結合リガンドであり、nは1~20である。)

40

【請求項11】

2つの細胞毒素剤が1つのリンカーと接合する場合、下記の構造を有する、請求項1に記載の共役体又はその薬学的に許容される塩若しくは溶媒化物。

【化 1 5 2】



(ここで、RはC₁～C₈アルキル又はC₂H₄(OC₂H₄)_m、mは1～20であり、Dは細胞毒素剤であり、Dの少なくとも一方は、構造式(I)の括弧内の部分である細胞毒素剤であり、Tは細胞結合リガンドであり、nは1～20である。)

10

【請求項 1 2】

Dの一方が、カリケマイシン、オーリスタチン(auristatins)、メイタンシノイド、ドラスタチン、CC-1065アナログ、ドキシソルピシン、タキサン、ピロロベンゾジアゼピン二量体、siRNA、及びこれらの組み合わせ、並びに、これらの薬学的に許容される塩、酸、及び誘導体からなる群より選択される、

請求項10又は11に記載の共役体又はその薬学的に許容される塩若しくは溶媒化物。

【請求項 1 3】

治療有効量の請求項1に記載の共役体又はその薬学的に許容される塩若しくは溶媒化物と、担体、希釈剤、又は賦形剤とを含む、医薬組成物。

20

【請求項 1 4】

癌、自己免疫疾患、もしくは感染症の治療もしくは予防のため医薬組成物であり、

癌、自己免疫疾患、もしくは感染症の治療もしくは予防に相乗的に働く有効量である、化学療法、放射線療法、免疫薬、抗自己免疫疾患剤、及び抗感染剤からなる群より選択される他の治療薬剤と併用される、

請求項13に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、標的治療のための、強力な細胞毒性剤と細胞表面受容体結合分子との共役体及びその合成方法、並びに、当該共役体含有構造物のがん治療、自己免疫疾患及び感染性疾患における使用に関する。

30

【背景技術】

【0002】

多くの文献には、細胞表面受容体結合分子と細胞毒素分子の共役結合によって、がん細胞のような各種病原細胞を標的に攻めることが報道されている。報道された細胞表面受容体結合分子は、抗体(Sela et al, in Immunconjugates 189-216 (C. Vogel, ed. 1987); Ghose et al, in Targeted Drugs 1-22 (E. Goldberg, ed. 1983); Diener et al, in Antibody mediated delivery systems 1-23 (J. RODWELL, ED. 1988); Silverstein, Nat. Immunol. 2004, 5, 1211-7; Fanning et al, Clin. Immunol. Immunopathol. 1996, 79, 1-14; Ricart A.D., et al., Nature Clinical Practice Oncology 2007, 4, 245-255; Singh R. et Rickson H.K., Therapeutic Antibodies: Methods and Protocols, 2009, 525, 445-467)、葉酸(Sudimack, J. et al, Adv. Drug Delivery Rev. 2000, 41, 147-162; Reddy, et al, Mol. Pharm. 2009, 6, 1518-25); 前立腺特異的膜抗原(PMSA)結合リガンド(Low, et a

40

50

1, WO 2009/026177 A1); アルブミンペプチド(Temming, et al, Bioconjugate Chem. 2006, 17, 1385-1394); コバラミンとタンパク質(Gupta, et al, Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Syst. 2008, 25, 347-79; Petrus, et al, Angew. Chem. Int. Ed. 2009, 48, 1022-8); 糖類分子(Darbre, et al, Curr. Top. Med. Chem. . 2008, 8, 1286-93); 生物活性高分子(Dhar, et al, Proc. Natl. Acad. Sci. 2008, 105, 17356-61); 樹状ポリマー(Lee, et al, Nat. Biotechnol. 2005, 23, 1517-26; Almutairi, et al; Proc. Natl. Acad. Sci. 2009, 106, 685-90); 結合配位子と接合するナノ粒子(Liong, et al, ACS Nano, 2008, 19, 1309-12; Medarova, et al, Nat. Med. 2007, 13, 372-7; Javier, et al, Bioconjugate Chem. 2008, 19, 1309-12); リポソーム(Medinai, et al, Curr. Phar. Des. 2004, 10, 2981-9); ウイルス性カプシッド(Flenniken, et al, Viruses Nanotechnol. 2009, 327, 71-93), などを含む。

【0003】

たくさんの種類の細胞毒素は、特に抗体のような細胞結合体と共に、抗体薬物共役体の形成に用いられている(Wu, et al, Nat. Biotechnol. 2005, 23, 1137-1146. Ricart, et al, Nat. Clin. Pract. Oncol. 2007, 4, 245-255)。これら細胞毒素には、カリケアマイシン誘導体(Giles, et al Cancer 2003, 98, 2095-104; Hamann, et al, Bioconjug Chem 2002, 13, 47-58)、メイタンシン誘導体(Widdison, et al, J Med Chem 2006, 49, 4392-408; Ikeda, et al, Clin Cancer Res 2009, 15, 4028-37; Xie, et al, Expert Opin Biol Ther 2006, 6, 281-91)、オーリスタチン(Sutherland, et al, J Biol Chem 2006, 281, 10540-7; Doronina, et al, Bioconjug Chem 2006, 17, 114-24)、タキサン誘導体(Miller, et al, J Med Chem 2004, 47, 4802-5; WO 06061258)、レプトマイシン誘導体(WO 07144709)、CC-1065及びその同族体(Suzawa, et al, J Control Release 2002, 79, 229-42; Suzawa, et al, Bioorg Med Chem 2000, 8, 2175-84; WO 2007102069)、アドリアマイシン(Trail, et al, Science 1993, 261, 212-5; Saleh et al, J Clin Oncol 2000, 18, 2282-92)、並びにアメソプテリン、ピンクリスチン、ピンブラスチン、ダウノルビシン、マイトマイシンC、アルケラン及びクロランブシル誘導体を含む。

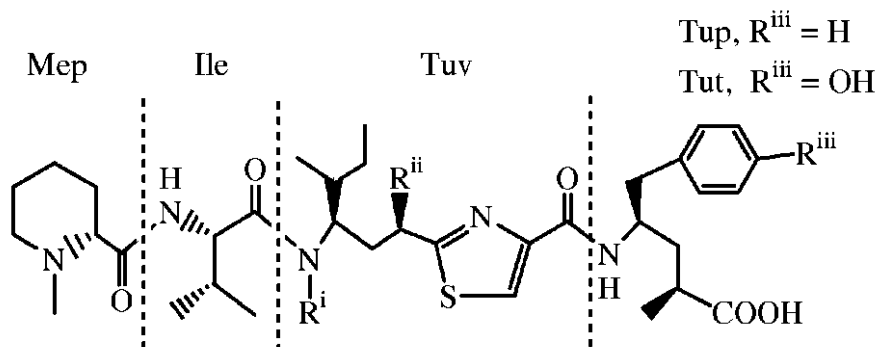
【0004】

細胞表面受容体結合分子、特に、細胞表面抗原に結合可能な指向性の抗体によって、毒素分子を病原細胞表面又はその近くに直接に伝送することができる。そのため、毒素分子の作用効果を向上させるとともに、このような毒素分子による副作用を最大限に抑える。現在、自然界から生物活性を持ついくつかの短鎖ペプチド化合物を分離した。そのうち、チューブリシン(下記図に構造を示す)を含む。チューブリシンは、最初、HofleとReichenbach(GBF Braunschweig)によってArchangium gephyraの粘液細菌の培養基から単離されたものである(F. Sasse et al. J. Antibiot. 2000, 53, 879-885; WO9813375)。チューブリシンは、細胞分裂過程でチューブリンの重合を抑制できるため細胞アポトーシスを誘発する抗有糸分裂のペプチドである。チューブリシンは、その活性がピン

プラスチン、タキソール及びエポチロンよりも明らかに優れたため、標的治療用の潜在力がある先導化合物であると考えられている(Wipf, et al, Org. Lett. 2004, 6, 4057-60; Peltier, et al, J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 16018-9; Wipf, et al, Org. Lett., 2007, 9, 1605-1607; Wang, et al, Chem. Biol. Drug Des. 2007, 70, 75-86; Pando, et al, Org. Lett. 2009, 11, 5567-9)。構造から見れば、チューブリシンは、N末端のN-メチルピペコリン酸(Mep)と、2個目のアミノ酸であるイソロイシン(Ile)と、3個目のアミノ酸である固有チアゾール含有ツブバリン(Tuv)と、二種のC末端に位置可能なアミノ酸(ツブチロシン(Tut)又はツブフェニルアラニン(Tup))とを含む。近年、いくつかのチューブリシンは合成されたが、治療効果を達成するのに必要な投与量で、明らかな毒性作用(>15%の体重の損失)が生じてしまった(US patent appl. 2010/0048490)。われわれは、チューブリシンを利用する抗体薬物共役体のような抗体薬物共役体を鋭意に検討しており、必要な治療効果を達すると共に、あるべきでない毒副作用を避けることを目標としている。しかし、チューブリシンは緩衝液に殆ど溶けず、チューブリシンと共役化すると抗体の凝集が相当量生じてしまう。また、構造が少し簡単なチューブリシン同族物、例えば、TupとTutの代わりにフェニルアラニン(Phe)とチロシン(Tyr)をそれぞれ用いたものが抗体と形成した共役体は、いずれも、動物内の血中循環でPhe及びTyrの加水分解が起こり、活性の弱い(チューブリシンA及びDの活性よりも200倍弱い)Mep-Ile-Tub部分ができる。本明細書では、細胞表面結合リガンドと水溶性及び安定性を備え全身毒性がより低いチューブリシン誘導体との共役体、並びに、このような共役体の、癌疾患及び免疫疾患の標的治療における応用について開示する。

【0005】

【化1】



【0006】

10

20

30

【表 1】

チューブリシン	R ⁱ	R ⁱⁱ	R ⁱⁱⁱ
A	CH ₂ OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂	OCOCH ₃	OH
B	CH ₂ OCOCH ₂ CH ₂ CH ₃	OCOCH ₃	OH
C	CH ₂ OCOCH ₂ CH ₃	OCOCH ₃	OH
D	CH ₂ OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂	OCOCH ₃	H
E	CH ₂ OCOCH ₂ CH ₂ CH ₃	OCOCH ₃	H
F	CH ₂ OCOCH ₂ CH ₃	OCOCH ₃	H
G	CH ₂ OCOCH=CH ₂	OCOCH ₃	OH
H	CH ₂ OCOCH ₃	OCOCH ₃	H
I	CH ₂ OCOCH ₃	OCOCH ₃	OH
U	H	OCOCH ₃	H
V	H	OH	H
Z	H	OH	OH
プレツブリシン	CH ₃	H	H

(既知のチューブリシン化合物の構造式)

【発明の概要】

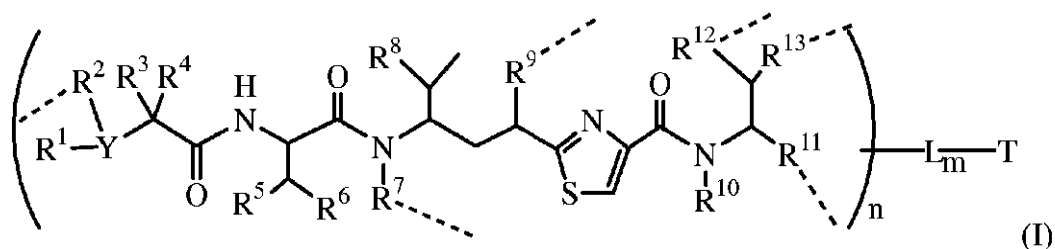
【課題を解決するための手段】

【 0 0 0 7 】

本発明の抗体薬物共役体は構造式 (I) を有する共役体及び薬用可能なその塩と溶媒化合物である。

【 0 0 0 8 】

【化 2】



【 0 0 0 9 】

ここで、T は標的又は結合リガンド、L は解離可能なリンカー、

【化 3】

は L が括弧内構造における原子と接続するリンク結合、n は 1 ~ 20、m は 1 ~ 10 である。

【 0 0 1 0 】

括弧内の構造体が効果的な抗有糸分裂剤であり、そのうち、R¹、R²、R³とR⁴がC₁ ~ C₈ (炭素数 1 ~ 8) のアルキル、ヘテロアルキル、C₂ ~ C₈ (炭素数 2 ~ 8) のヘテロ環、炭素環、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、複素環アルキル、C₃ ~ C₈ (炭素数 3 ~ 8) のアリール、アラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキル

カルボニル、又は2つのR基（例えば、 $R^1 R^2$ 、 $R^2 R^3$ 、 $R^3 R^4$ 、 $R^5 R^6$ 、 $R^1 R^2 R^3$ という各組合せが C_3 - C_7 （炭素数3～7）の炭素環基、シクロアルキル、複素環基とヘテロシクロアルキルなど環係基であってもいい）をそれぞれ表し、YがNまたはCHである。また、 R^1 、 R^3 と R^4 はHであってもよく、かつ、 R^2 は欠如していてもよい。

【0011】

R^5 、 R^6 、 R^8 と R^{10} はそれぞれ、H又は $C_1 \sim C_4$ （炭素数1～4）のアルキルまたはヘテロアルキルである。

【0012】

R^7 は独立してH、 R^{14} 、あるいは $-R^{14}C(=O)X^1R^{15}$ 又は $-R^{14}X^1R^{15}$ から選択できる。そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、シクロアルカン、又は $C_3 \sim C_8$ アリール、複素環アルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルであり、 X^1 はO、S、S-S、NH又は NR^{14} である。

10

【0013】

R^9 はH、 $-O-$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}$ 、 $-OC(=O)NHR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}SSR^{15}$ 、 $OP(=O)(OR^{14})$ または $OR^{14}OP(=O)(OR^{15})$ である。そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルである。

20

【0014】

R^{11} はH、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)R^{16}$ 、 $-R^{14}X^2R^{16}$ 、 $-R^{14}C(=O)X^2$ である。そのうち、 X^2 は $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-N(R^{14})-$ 、 $-O-R^{14}$ 、 $-S-R^{14}$ 、 $-S(=O)-R^{14}$ または $-NHR^{14}$ である。 R^{14} は $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルである。 R^{16} はH、OH、 R^{14} 又は1～4つのアミノ酸単位である。

30

【0015】

R^{12} は R^{14} 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NH_2$ 、 $=NH$ 、 $=NNH_2$ 、 $-NH(R^{14})$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-COR^{16}$ 、 $-COOR^{14}$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $C(O)NHR^{14}$ 、 $-SR^{14}$ 、 $-S(=O)R^{14}$ 、 $-P(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-OP(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-CH_2OP(=O)(OR^{16})_2$ 、又は $-SO_2R^{16}$ である。 R^{14} は $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルである。 R^{16} はH、OH、 R^{14} 又は1～4つのアミノ酸単位である。

40

【0016】

R^{13} は $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、ヘテロアルキル、アルキル酸、アルキルアミド、アルキルアミン又はアリールArである。そのうち、Arとは、1員環又は複数員環からなる芳香族環又は複素芳香族環であり、芳香族環又は複素芳香族環ごとに4～10個の炭素原子を含み、最も好ましくは4～6つの炭素原子を含む。複素芳香族環とは、1つ又はいくつかの炭素原子がヘテロ原子によって置換された芳香族環を意味し、最も好ましくは、1つ、2つ又は3つの炭素原子がO、N、Si、Se、PまたはS原子によって置換され、最も好ましくは、O、S、またはN原子によって置換される。アリールArとは、1つ又はいくつかの水素原子が置換された芳香族環又は複素芳香族環を意味する。水素原子を置換するこれらの基は、 R^{17} 、F、Cl、Br、I、 OR^{16} 、 SR^{16} 、 NR^{16} 、 R^{17} 、 $N=NR^{16}$ 、 $N=R^{16}$ 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 NO_2 、 $SOR^{16}R^{17}$ 、 SO_2R

50

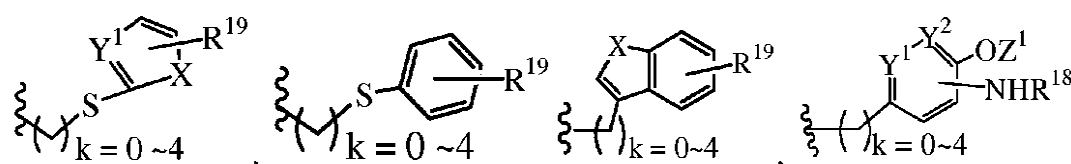
16 、 SO_3R^{16} 、 $\text{OSO}_3\text{R}^{16}$ 、 $\text{PR}^{16}\text{R}^{17}$ 、 $\text{POR}^{16}\text{R}^{17}$ 、 $\text{PO}_2\text{R}^{16}\text{R}^{17}$ 、 $\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{17})_2$ 、 $\text{OCH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{17})_2$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{17})_2$ 、 $\text{PO}(\text{OR}^{16})(\text{OR}^{17})$ 、 $\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{17})\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{17})_2$ 、 $\text{OC}(\text{O})\text{R}^{17}$ または $\text{OC}(\text{O})\text{NHR}^{17}$ を含む。そのうち、 R^{16} と R^{17} はそれぞれ、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $\text{C}_2 \sim \text{C}_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $\text{C}_3 \sim \text{C}_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラールキル、アルキルカルボニル或いは $\text{C}_4 \sim \text{C}_{12}$ グリコシド又は薬用可能な塩である。

【0017】

また、 R^{10} が H でない場合、或いは、 R^{13} が下記の基である場合、 R^{12} は H であってもよい。

【0018】

【化4】



【0019】

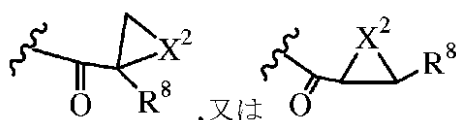
ここで、 Z^1 は H、 $\text{CH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{18})_2$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{18})_2$ 、 $\text{PO}(\text{OR}^{18})_2$ 、 $\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{18})\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{18})_2$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{R}^{18}$ 、 $\text{C}(\text{O})\text{NHR}^{18}$ 、 $\text{SO}_2(\text{OR}^{18})$ 、 $\text{C}_4 \sim \text{C}_{12}$ (炭素数 4 ~ 12 を含む) のグリコシド、又は、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_8$ のアルキル、カルボキシアルキル基、複素環である。 R^{18} は、H、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_8$ のアルキル、カルボキシアルキル基、ヘテロアルキル、 $\text{C}_2 \sim \text{C}_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、又は、 $\text{C}_3 \sim \text{C}_8$ のアリール、アルキルカルボニルである。 R^{19} は H、OH、 NH_2 、 $\text{OSO}_2(\text{OR}^{18})$ 、 $\text{XCH}_2\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{18})_2$ 、 $\text{XPO}(\text{OR}^{18})_2$ 、 $\text{XC}(\text{O})\text{OP}(\text{O})(\text{OR}^{18})_2$ 、 $\text{XC}(\text{O})\text{R}^{18}$ 、 $\text{XC}(\text{O})\text{NHR}^{18}$ 、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_8$ のアルキル、カルボキシアルキル、カルボン酸誘導体、 $\text{C}_2 \sim \text{C}_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、 $\text{C}_3 \sim \text{C}_8$ のアリール、アルキルカルボニル又は薬用可能な塩である。X は O、S、又は NH である。 Y^1 と Y^2 はそれぞれ N 又は CH である。

【0020】

或いは、 R^{11} が下記の基である場合、 R^{12} は H であってもよい。

【0021】

【化5】



【0022】

X^2 が O、S、N- R^8 であり、 R^8 が H、 $\text{C}_1 \sim \text{C}_6$ のアルキル又はヘテロアルキルである。

【0023】

もう一つの実施例では、抗有糸分裂剤と細胞結合体をリンクするためのリンカーの構造式は、 $-\text{Ww}-(\text{Aa})_r-\text{Vv}-$ であり、そのうち、 $-\text{W}-$ は拡張体であり、w は 0 又は 1 である。 $-(\text{Aa})-$ の一つ一つは、独立してアミノ酸単位であり、r はそれぞれ 0 から 12 である。 $-\text{V}-$ は間隔体であり、v は 0、1 または 2 である。拡張体 W は独立して、自己分解可能な間隔体、ペプチド、ヒドラゾン結合、ジスルフィド結合又はチオエーテル結合を含んでもいい。

【0024】

10

20

30

40

50

もう一つの実施例では、細胞結合体Tはいかなる形の細胞結合体、たとえば、ペプチドまたは非ペプチド構造であってもよい。一般的に、Tは抗体、単鎖抗体、ターゲット細胞と結合可能な抗体断片、モノクローナル抗体、単鎖モノクローナル抗体、ターゲット細胞と結合可能なモノクローナル抗体断片、キメラ抗体、ターゲット細胞と結合可能なキメラ抗体断片、機能区抗体、ターゲット細胞と結合可能な機能区抗体断片、ミミック抗体の遺伝子工程タンパク質（たとえば、フィブロネクチンタンパク結合体adnectin）、設計されたアンキリンの繰り返しタンパク質（DARPin、designed ankyrin repeat proteins）、リンパ因子、ホルモン、ビタミン、成長因子、コロニー刺激因子、栄養伝送分子（トランスフェリン）又は、アルブミン、高分子、枝状高分子、リポソーム、ナノ粒子、小囊または（ウイルス）キャプシドと結合なペプチド、タンパク質、抗体又は小分子である。細胞結合体Tはモノクローナル抗体であることが最も好ましい。

10

【0025】

本発明の別の態様において、構造式I-VIIを有する共役体、それらの薬用塩又は溶剤化物は人またはほかの動物の癌、自己免疫疾患又は伝染性疾病を治療するために使用される。

【図面の簡単な説明】

【0026】

【図1】図1は分枝鎖状リンカーを使用した細胞毒素と細胞結合体の共役体の合成を示す。

【図2】図2はマレイミドリンカーの合成及びその抗体薬物共役体における使用を示す。

20

【図3】図3はプロモマレイミドとジプロモマレイミドリンカーの合成及びその抗体薬物共役体における使用を示す。

【図4】図4はVal-Citアミノ酸リンカーの合成及びその抗体薬物共役体における使用を示す。

【図5】図5は抗有糸分裂剤Tuv成分の合成を示す。

【図6】図6は抗有糸分裂剤Tuv成分の合成を示す。

【図7】図7はBoc-Tuv断片と、共役体に用いられる共役体の抗有糸分裂剤の合成を示す。

【図8】図8は抗有糸分裂剤Tuv、Ile-Tuv及びMep-Ile-Tuv断片の合成を示す。

【図9】図9は抗有糸分裂剤Ile-Tuv、Mep-Ile-Tuv、Val-Ile-Tuv及びVal-Ile-Tuv (O-alkyl)断片の合成を示す。

30

【図10】図10は抗有糸分裂剤の合成及びそれと一つの抗体の共役接合を示す。

【図11】図11はPhe-(D)Lysアミノ酸リンカーの合成を示す。

【図12】図12は抗体-抗有糸分裂剤共役体の合成を示す。

【図13】図13は抗体-抗有糸分裂剤共役体の合成を示す。

【図14】図14は細胞結合体-抗有糸分裂剤共役体の合成を示す。

【図15】図15は一つの細胞結合体-抗有糸分裂剤共役体の合成を示す。

【図16】図16は一つの抗体-抗有糸分裂剤共役体の合成を示す。

【図17】図17は一つの抗体-抗有糸分裂剤共役体の合成を示す。

【図18】図18は親水性抗有糸分裂剤（リン酸塩前薬）を合成するための親水性Tut類似物の合成を示す。

40

【図19】図19は一つの抗体-抗有糸分裂剤共役体の合成を示す。

【図20】図20は一つの共役結合を形成可能な抗有糸分裂剤のBoc方式固相合成を示す。

【図21】図21は一つの共役結合を形成可能な抗有糸分裂剤のFmoc基方式固相合成を示す。

【図22】図22は一つの親水性抗有糸分裂剤の合成及び他に抗体との共役接合を示す。

【図23】図23はTuv誘導体の合成並びにMep-Ile-Tuv及びNMe2-Val-Ile-Tuv断片の固相合成を示す。

【図24】図24は抗有糸分裂剤の合成及びそれらと抗体の共役接合を示す。

50

【図 2 5】図 2 5 は抗有糸分裂剤の固相合成及びそれらと抗体の共役接合を示す。

【図 2 6 - 1】図 2 6 - 1 は抗有糸分裂剤の固相合成及びそれらと抗体の共役接合を示す。

【図 2 6 - 2】図 2 6 - 2 は図 2 6 - 1 の続きである。

【図 2 7】図 2 7 は *trans*-2-アリールシクロプロピルアミン、*trans*-2-アリールプロパンカルボン酸及び *trans*-2-アリールエチルエポキシカルボン酸の合成を示す。

【図 2 8】図 2 8 はビニルアミノ酸とアルキルエポキシアミノ酸の合成を示す。

【図 2 9】図 2 9 は親水性抗有糸分裂剤前薬の親水性Tut類似物の合成を示す。

【図 3 0】図 3 0 は細胞結合剤と共役接合する親水性抗有糸分裂剤前薬の合成を示す。

【図 3 1】図 3 1 は抗体と共役接合する親水性抗有糸分裂剤前薬の合成を示す。

【図 3 2】図 3 2 は抗体と共役接合する親水性抗有糸分裂剤前薬の合成を示す。

【図 3 3】図 3 3 は体外テスト中で抗CD22抗体-抗有糸分裂剤TZ01~TZ09の共役体（薬物/抗体モル比DAR=3.0-4.3）のRamos（Burkittリンパ腫細胞）に対する毒作用を示す。共役体と細胞の作用時間は5日、半致死量 IC_{50} は図面に示す。

【図 3 4】図 3 4 はトラスツズマブ-抗有糸分裂剤（TZ03, TZ04及びTZ07）の共役体（薬物/抗体モル比DAR=3.5-4.0）のKPL-4（乳がん細胞）に対する毒作用を示す。図面から分かるように、非共役のトラスツズマブが存在しない場合、トラスツズマブ-TZ03共役体は癌細胞の増殖を抑える作用を有し、その半致死量 IC_{50} が90 pMである。非共役のトラスツズマブが存在する場合（抗原の結合点を飽和させるよう1 mmolのトラスツズマブを含む）、相応の半致死量 IC_{50} が20 nMよりも大きい。よって、当該共役体の特効性比は222よりも大きい（ $IC_{50}=20\text{nM}/IC_{50}=0.09\text{nM}$ ）。

【図 3 5】図 3 5 は抗CD22抗体-抗有糸分裂剤（TZ03、TZ04及びTZ07）共役体（薬物/抗体モル比DAR=3.8-4.2）及び非共役CD22抗体とCD20抗体（リツキシマブ）のBJAB細胞（Burkittリンパ腫細胞）に対する毒作用を示す。図面から分かるように、共役体の抗体は非共役体よりも、もっと強い癌細胞増殖の抑制作用を有する（共役体の半致死量 $IC_{50}=5-19$ pM、非共役体の半致死量 $IC_{50}>20$ nM）。濃度1 mmolの非共役抗体CD22で抗原の結合点を飽和させた場合、huCD22-TZ03共役体の特効性比は660よりも大きく（ $IC_{50}=3.3$ nM / $IC_{50}=0.005$ nM）、huCD-TZ07共役体の特効性比は790よりも大きい（ $IC_{50}=15$ nM / $IC_{50}=0.019$ nM）。

【発明を実施するための形態】

【0027】

定義

アルキルとは、炭素数1~8のチェーン状または環状の直鎖状または分岐脂肪族炭化水素を意味する。分岐とは、チェーン状のアルキル基に1つ又は複数の低級アルキルを有することを指し、たとえばメチル、エチルまたはプロピルと結合する。アルキルの具体例としては、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、ブチル、*t*-ブチル、*n*-ペンチル、3-ペンチル、オクチル、ノニル、デシル、シクロペンチル、シクロヘキシル、2,2-ジメチルブチル、2,3-ジメチルブチル、2,2-ジメチルペンチル、2,3-ジメチルペンチル、3,3-ジメチルペンチル、2,3,4-トリメチルペンチル、3-メチルヘキシル、2,2-ジメチルヘキシル、2,4-ジメチルヘキシル、2,5-ジメチルヘキシル、3,5-ジメチルヘキシル、2,4-ジメチルペンチル、2-メチルヘブチル、3-メチルヘブチル、*n*-ヘブチル、イソヘブチル、オクチル、イソオクチルを含む。 $C_1 \sim C_8$ のアルキルは未置換のものでも置換基（ただし、次の置換基の一つまたは複数に制限されない）で置換されたものでもいい、すなわち、前記置換基としては、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、 $C_1 \sim C_8$ のアルコキシ、アリール、アシル、アシロキシ、エステル基、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR'$ 、 $-C(O)N(R')_2$ 、 $-NHC(O)R'$ 、 $-S(O)_2R'$ 、 $-S(O)R'$ 、 $-OH$ 、ハロゲン（ $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ 、 $-I$ ）、 $-N^3$ 、 $-NH_2$ 、 $-NHR'$ 、 $-N(R')_2$ および $-CN$ が挙げられる。なお、 R' とは $C_1 \sim C_8$ のアルキル又はアリールを指

す。

【 0 0 2 8 】

C₃-C₈の炭素環とは、3、4、5、6、7又は8つの炭素原子を有する飽和または不飽和芳香族炭化水素炭素環状化合物を指す。典型的なC₃-C₈炭素環としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロペンタジエニル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、1,3-シクロヘジエン基、1,4-シクロヘジエン、シクロヘプチル、1,3-シクロヘプジエン基、1,3,5-シクロヘプタトリエン基、シクロオクチル及びシクロオクタジエンを含むが、これらに制限されるものではない。C₃-C₈の炭素環は未置換のものでも置換基（ただし、次の置換基の一つまたは複数に制限されない）で置換されたものでもいい。すなわち、前記置換基としては、C₁ ~ C₈のアルキル、C₁ ~ C₈のアルコキシ、アリール、アシル、アシロキシ、エステル基、-C(O)NH₂、-C(O)NHR', -C(O)N(R')₂、-NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH、ハロゲン(-F, -Cl, -Br, -I)、-N₃、-NH₂、-NHR', -N(R')₂及び-CNが挙げられる。なお、R'とはC₁ ~ C₈のアルキル又はアリールを指す。

10

【 0 0 2 9 】

C₃-C₈の炭素環基とは、前記C₃-C₈の炭素環における1つの水素原子が化学結合によって置換された基を指す。

【 0 0 3 0 】

アルケニル基とは、炭素-炭素二重結合を含む直鎖または分岐状の脂肪族炭化水素基を意味し、炭素鎖に2~8つの炭素原子を有する。アルケニル基の具体例としては、ビニル、プロペニル、n-ブテニル、イソブテニル、3-メチル-2-ブテニル、n-ペンテニル、ヘキセニル、ヘプセニル及びオクテニルを含む。

20

【 0 0 3 1 】

アルキニル基とは、炭素-炭素三重結合を含む直鎖または分岐状の脂肪族炭化水素基を意味し、炭素鎖に2~8つの炭素原子を有する。アルキニル基の具体例としては、エチニル、プロピニル、n-ブチニル、2-ブチニル、3-メチルブチニル、n-ペンチニル、ヘキシニル、ヘプチニル、オクチニルを含む。

【 0 0 3 2 】

ヘテロアルキルとは、2~8つの炭素原子を有し、且つ、1~4つの炭素原子がO、S又はNによって置換されたアルキルを指す。

30

【 0 0 3 3 】

アリール基又は芳香族基とは、1つまたは複数のリングを含む3~14の炭素原子（多くの場合は6~10個の炭素原子）から構成された芳香族炭化水素又はヘテロ芳香族炭化水素基を指す。ヘテロ芳香族炭化水素基とは、1つまたは複数の炭素原子（多くの場合は1つ、2つ、3つ又は4つの炭素原子）がO、N、Si、Se、P又はS（最も好ましくは、O、S、N）で置換された芳香族炭化水素基を指す。アリール基又は芳香族基とは、1つまたは複数の水素原子が置換された芳香族炭化水素基をも指す。これら置換基としては、R¹³, F, Cl, Br, I, OR¹³, SR¹³, NR¹³R¹⁴, N=NR¹³, N=R¹³, NR¹³R¹⁴, NO₂, SOR¹³R¹⁴, SO₂R¹³, SO₃R¹³, OSO₃R¹³, PR¹³R¹⁴, POR¹³R¹⁴, PO₂R¹³R¹⁴, OPO₃R¹³R¹⁴又はPO₃R¹³R¹⁴を含む。そのうち、R¹³とR¹⁴はそれぞれ独立して、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、アリール、アラルキル、カルボニルまたは薬用可能な塩である。

40

【 0 0 3 4 】

ハロゲン原子とは、フッ素、塩素、臭素、ヨウ素原子を指し、フッ素、塩素原子が好ましい。

【 0 0 3 5 】

複素環とは、炭素数2~8の芳香族環、非芳香族環又は複素環の1つ~4つの炭素原子がヘテロ原子によって置換されたものを指す。これらヘテロ原子はO、N、S、Se及びPであり、好ましくはO、N及びSである。使用可能な複素環としては、《The Ha

50

ndbook of Chemistry and Physics》, 第78版, CRC Press, 1997-1998, 第225~226頁を参照してもいい。適切な非複素アリールとしては、エポキシ、環窒素エチル、環硫黄エチル、ピロリジニル、ピラゾールアルキル基、イミダゾリジニル、エポキシエチル、テトラヒドロフラン基、ジオキサラン-基、テトラヒドロピラニル、二酸素ヘテロシクロヘキサニル基、ピペリジノ、ピペラジニル、モルホリノ、ピラニル、イミダゾリン基、ピラゾリン基、ピラゾールンチアゾールアルキル基、テトラヒドロ硫黄ピラニル、ジチアニル、硫黄モルホリノ、ジヒドロピラニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロピリジル、ジヒドロピリジル、エクトイン基、二水素硫黄ピラニル、窒素ヘテロシクロヘプチル及び、これらの基とフェニルにより生じた縮合環を含むが、これらの基に制限されない。

10

【0036】

ヘテロアリールとは、5~14個（好ましくは5~10個）原子を含有する芳香族複素1員環化合物、2員環化合物又は複数員環構造を指す。たとえば、ピロリル、ピリジル、ピラゾリル、チエニル、ピリミジニル、ピラジニル、テトラゾリル、インドリル、キノリニル、プリン基、イミダゾリル、チエニル、チアゾリル、ベンゾチアゾリル、フラニル、ベンゾフラニル、1,2,4-チアジアゾリル、イソチアゾール、トリアゾール、テトラゾリル、イソキノリル、ベンゾチエニル、イソベンゾフリル、ピラゾリル、カルバゾリル、ベンゾイミダゾリル、イソオキサゾール、ピリジル-N-酸化物、及び、これらの基とフェニルにより生じた縮合環を含む。

【0037】

20

アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、複素環基とは、対応する炭化水素から2つの水素原子を失うことによって得られたアルキレン、シクロアルキレン、アルケニレン、アルキニレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、複素重環などを指す。

【0038】

「薬用」または「薬用可能な」とは、対応する化合物又は化合物組成物が動物又は人間に対し、有害でアレルギーまたは他の有害反応を生じないことを指す。

【0039】

薬学的に許容される補助材料は、すべての担体、希釈剤、助剤又は成形剤を含み、たとえば、防腐剤、抗酸化剤、充填剤、崩壊剤、湿潤剤、乳化剤、懸濁剤、溶剤、分散性媒質、コーティング、抗菌剤、抗真菌剤、等張剤、吸収遅延剤などを含む。医薬分野において、活性を有する薬物成分にこれら補助材料を加えるというやり方は一般的なやり方である。補助材料が薬物活性成分と相容しない場合を除き、薬物成分において補助材料を使用することは妥当であると言える。良好な結果を得るために、活性を有する補助材料を薬物成分に追加してもいい。

30

【0040】

本願発明において、薬用可能な塩とは、本発明化合物の塩類誘導物を指す。適当な修飾により、本願発明に係る化合物が相応の酸塩又はアルカリ塩に形成され得る。薬用可能な塩としては、常用の無毒の塩又は第四級アンモニウムを含み、これら塩は、本願発明に係る化合物と相応の無毒の無機酸又は有機酸によって調製され得る。たとえば、無機酸としては、塩酸、臭化水素酸、硫酸、アミノスルホン酸、リン酸及び硝酸などを含み、有機酸としては、酢酸、プロピオ酸、こはく酸、酒石酸、クエン酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、グルクロン酸、グルタミン酸、安息香酸、サリチル酸、トルエンスルホン酸、蔞酸、フマル酸、及び乳酸などを含み、これら酸は薬学的に許容される塩に用いることが可能である。他の塩としては、トロメタモール、メグルミン、ピロールエタノールなどのアンモニウム塩、及びナトリウム、カリウム、カルシウム、亜鉛、マグネシウムなどの金属塩を含む。

40

【0041】

本願発明において、薬用可能な塩は常用の学方法によって製造され得る。一般的に、これら塩は、本願発明に係る化合物の遊離酸又はアルカリの水溶液又は有機溶液又は両者の

50

混合溶液に他の適当な等当量アルカリ又は酸を加えることによって得られる。非水相の反応溶媒は一般的に、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール又はアセトニトリルである。適用され得る塩のリストとしては、<Remington's Pharmaceutical Sciences>, 第17版, Mack Publishing Company, Easton, PA, 1985, 第1418頁を参照することができる。

【0042】

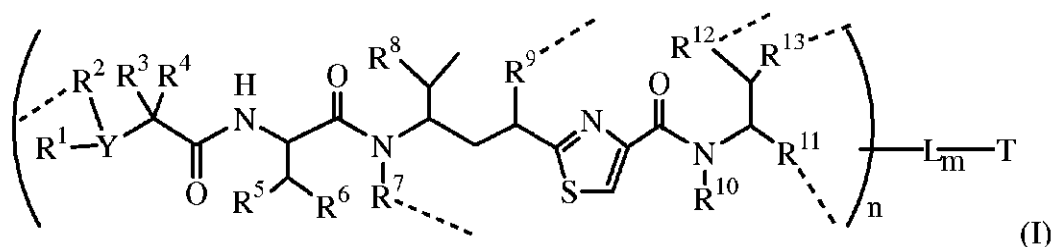
薬物 - リンカー - 細胞結合受容体分子の共役体構造

上述のように、本願発明は、構造式(I)で示される抗体薬物共役体及びその薬用可能な塩並びに溶剤化物を開示している。

10

【0043】

【化6】



【0044】

ここで、Tは標的又は結合リガンド、Lは解離可能なリンカー、

20

【化7】

はLが括弧内構造における原子と接続するリンク結合、nは1~20、Mは1~10である。

【0045】

括弧内の構造体が効果的な抗有糸分裂剤であり、そのうち、R¹、R²、R³とR⁴がC₁~C₈(炭素数1~8を含む)のアルキル、ヘテロアルキル、C₂~C₈(炭素数2~8を含む)のヘテロ環、炭素環、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、複素環アルキル、C₃~C₈(炭素数3~8を含む)のアリール、アラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニル、又は2つのR基(例えば、R¹R²、R²R³、R³R⁴、R⁵R⁶、R¹²R¹³という各組合せがC₃-C₇(炭素数3~7含む)の炭素環基、シクロアルキル、複素環基とヘテロシクロアルキルなど環係基であってもいい)をそれぞれ表し、YがNまたはCHである。また、R¹、R³とR⁴はHであってもよく、かつ、R²は欠如していてもよい。

30

【0046】

R⁵、R⁶、R⁸とR¹⁰はそれぞれ、独立してH又はC₁~C₄(炭素数1~4を含む)のアルキルまたはヘテロアルキルである。

【0047】

R⁷は独立してH、R¹⁴、あるいは-R¹⁴C(=O)X¹R¹⁵又は-R¹⁴X¹R¹⁵から選択される。そのうち、R¹⁴とR¹⁵はそれぞれC₁~C₈のアルキル、ヘテロアルキル、C₂~C₈のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、シクロアルカン、又はC₃~C₈アリール、複素環アルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルであり、X¹はO、S、S-S、NH又はNR¹⁴である。

40

【0048】

R⁹はH、-O-、-OR¹⁴、-OC(=O)R¹⁴、-OC(=O)NHR¹⁴、-OC(=O)R¹⁴SSR¹⁵、OP(=O)(OR¹⁴)-またはOR¹⁴OP(=O)(OR¹⁵)である。そのうち、R¹⁴とR¹⁵はそれぞれC₁~C₈の

50

アルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 - C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $C_3 - C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルである。

【0049】

R^{11} はH、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)R^{16}$ 、 $-R^{14}X^2R^{16}$ 、 $-R^{14}C(=O)X^2$ である。そのうち、 X^2 は $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-N(R^{14})-$ 、 $-O-R^{14}-$ 、 $-S-R^{14}-$ 、 $-S(=O)-R^{14}-$ または $-NHR^{14}-$ である。 R^{14} は $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 - C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $C_3 - C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルである。 R^{16} はH、OH、 R^{14} 又は1~4つのアミノ酸単位である。

10

【0050】

R^{12} は R^{14} 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NH_2$ 、 $=NH$ 、 $=NNH_2$ 、 $-NH(R^{14})$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-COR^{16}$ 、 $-COOR^{14}$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $C(O)NHR^{14}$ 、 $-SR^{14}$ 、 $-S(=O)R^{14}$ 、 $-P(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-OP(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-CH_2OP(=O)(OR^{16})_2$ 、又は $-SO_2R^{16}$ である。 R^{14} は $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 - C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $C_3 - C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルである。 R^{16} はH、OH、 R^{14} 又は1~4つのアミノ酸単位である。

20

【0051】

R^{13} は $C_1 - C_{10}$ アルキル、ヘテロアルキル、アルキル酸、アルキルアミド、アルキルアミン又はアリールArである。そのうち、Arとは、1員環又は複数員環からなる芳香族環又は複素芳香族環であり、芳香族環又は複素芳香族環ごとに4~10個の炭素原子を含み、最も好ましくは4~6つの炭素原子を含む。複素芳香族環とは、1つ又はいくつかの炭素原子がヘテロ原子によって置換された芳香族環を意味し、最も好ましくは、1つ、2つ又は3つの炭素原子がO、N、Si、Se、P またはSによって置換し、最も好ましくは、O、S、またはNによって置換する。アリールArとは、1つ又はいくつかの水素原子が置換された芳香族環又は複素芳香族環を意味する。水素原子を置換するこれらの基は、 R^{17} 、F、Cl、Br、I、 OR^{16} 、 SR^{16} 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 $N=NR^{16}$ 、 $N=NR^{16}$ 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 NO_2 、 $SOR^{16}R^{17}$ 、 SO_2R^{16} 、 SO_3R^{16} 、 OSO_3R^{16} 、 $PR^{16}R^{17}$ 、 $POR^{16}R^{17}$ 、 $PO_2R^{16}R^{17}$ 、 $OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OCH_2OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $PO(OR^{16})(OR^{17})$ 、 $OP(O)(OR^{17})OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)R^{17}$ または $OC(O)NHR^{17}$ を含む。そのうち、 R^{16} と R^{17} はそれぞれ、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 - C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $C_3 - C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニル或いは $C_4 - C_{12}$ グリコシド又は薬用可能な塩である。

30

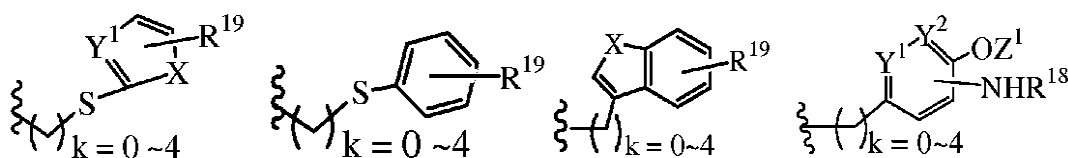
【0052】

また、 R^{10} がHでない場合、或いは、 R^{13} が下記の基である場合、 R^{12} はHであってもよい。

40

【0053】

【化8】



【0054】

50

10

或いは、 $R^{1\ 1}$ が下記の基である場合、 $R^{1\ 2}$ はHであってもよい。

【化 9】



X² が O、S、N - R⁸ であり、R⁸ が H、C₁ ~ C₆ のアルキル又はヘテロアルキルである。

本願発明の抗有糸分裂剤共役体は、構造式（II）で示される構造を含有し得る。

【化 1 0】



Tは標的又は結合リガンド、Lは解離可能なリンカー、nは1～20、Mは1～10である。

40

50

【0063】

R^7 はH、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)X^1R^{15}$ 又は $-R^{14}X^1R^{15}$ から選択される。そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 - C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、シクロアルキル、又は $C_3 - C_8$ アリール、複素環アルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルであり、 X^1 はO、S、S-S、NH又は NR^{14} である。

【0064】

R^9 はH、 $-OH-$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}$ 、 $-OC(=O)NHR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}SSR^{15}$ 、 $OP(=O)(OR^{14})$ または $OR^{14}OP(=O)(OR^{15})_2$ である。そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 - C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $C_3 - C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルである。

10

【0065】

R^{11} はH、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)R^{16}$ 、 $-R^{14}X^2R^{16}$ 、 $-R^{14}C(=O)X^2$ である。そのうち、 X^2 は $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-N(R^{14})-$ 、 $-N(R^{14})_2-$ 、 $-O-R^{14}$ 、 $-S-R^{14}$ 、 $-S(=O)-R^{14}$ または $-NHR^{14}$ である。 R^{14} は $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 - C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $C_3 - C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルである。 R^{16} は H、OH、 R^{14} 又は1~4つのアミノ酸単位である。

20

【0066】

R^{12} は R^{14} 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NH_2$ 、 $=NH$ 、 $=NNH_2$ 、 $-NH(R^{14})$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-COR^{16}$ 、 $-COOR^{14}$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR^{14}$ 、 $-C(O)N(R^{14})(R^{16})$ 、 $-SR^{14}$ 、 $-S(=O)R^{14}$ 、 $-P(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-OP(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-CH_2OP(=O)(OR^{16})_2$ 、又は $-SO_2R^{16}$ である。 R^{14} は $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 - C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $C_3 - C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルである。 R^{16} は H、OH、 R^{14} 又は1~4つのアミノ酸単位である。

30

【0067】

R^{13} は $C_1 - C_{10}$ アルキル、ヘテロアルキル、アルキル酸、アルキルアミド、アルキルアミン又はアリールArである。そのうち、Arとは、1員環又は複数員環からなる芳香族環又は複素芳香族環であり、芳香族環又は複素芳香族環ごとに4~10個の炭素原子を含み、最も好ましくは4~6つの炭素原子を含む。複素芳香族環とは、1つ又はいくつかの炭素原子がヘテロ原子によって置換された芳香族環を意味し、最も好ましくは、1つ、2つ又は3つの炭素原子がO、N、Si、Se、P またはSによって置換され、最も好ましくは、O、S、またはN原子によって置換される。アリールArとは、1つ又はいくつかの水素原子が置換された芳香族環又は複素芳香族環を意味する。水素原子を置換するこれらの基は、 R^{17} 、F、Cl、Br、I、 OR^{16} 、 SR^{16} 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 $N=NR^{16}$ 、 $N=R^{16}$ 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 NO_2 、 $SOR^{16}R^{17}$ 、 SO_2R^{16} 、 SO_3R^{16} 、 OSO_3R^{16} 、 $PR^{16}R^{17}$ 、 $POR^{16}R^{17}$ 、 $PO_2R^{16}R^{17}$ 、 $OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OCH_2OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $PO(OR^{16})(OR^{17})$ 、 $OP(O)(OR^{17})OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)R^{17}$ または $OC(O)NHR^{17}$ を含む。そのうち、 R^{16} と R^{17} はそれぞれ、H、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 - C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $C_3 - C_8$ アリール、シクロアルキル

40

50

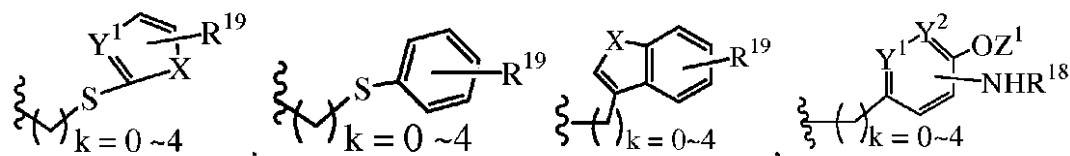
、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアルキル、アルキルカルボニル或いは $C_4 - C_{12}$ グリコシド又は薬用可能な塩である。

【0068】

また、 R^{10} がHでない場合、或いは、 R^{13} が下記の基である場合、 R^{12} はHであってもよい。

【0069】

【化11】



10

【0070】

ここで、 Z^1 はH、 $CH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $PO(OR^{18})_2$ 、 $C(O)R^{18}$ 、 $P(O)(OR^{18})OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)NHR^{18}$ 、 $SO_2(OR^{18})$ 、 $C_4 - C_{12}$ (炭素数4~12を含む)のグリコシド、又は、 $C_1 - C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル基、複素環である。 R^{18} は、H、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル基、ヘテロアルキル、 $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、又は、 $C_3 \sim C_8$ のアリール、アルキルカルボニルである。 R^{19} はH、OH、 NH_2 、 $OSO_2(OR^{18})$ 、 $XCH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XC(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XC(O)R^{18}$ 、 $XC(O)NHR^{18}$ 、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル、カルボン酸誘導体、 $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、 $C_3 \sim C_8$ のアリール、アルキルカルボニル又は薬用可能な塩である。XはO、S、又はNHである。 Y^1 と Y^2 はそれぞれN又はCHである。

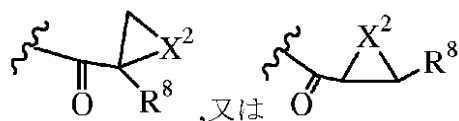
20

【0071】

或いは、 R^{11} が下記の基である場合、 R^{12} はHであってもよい。

【0072】

【化12】



30

【0073】

X^2 がO、S、N- R^8 であり、 R^8 がH、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル又はヘテロアルキルである。

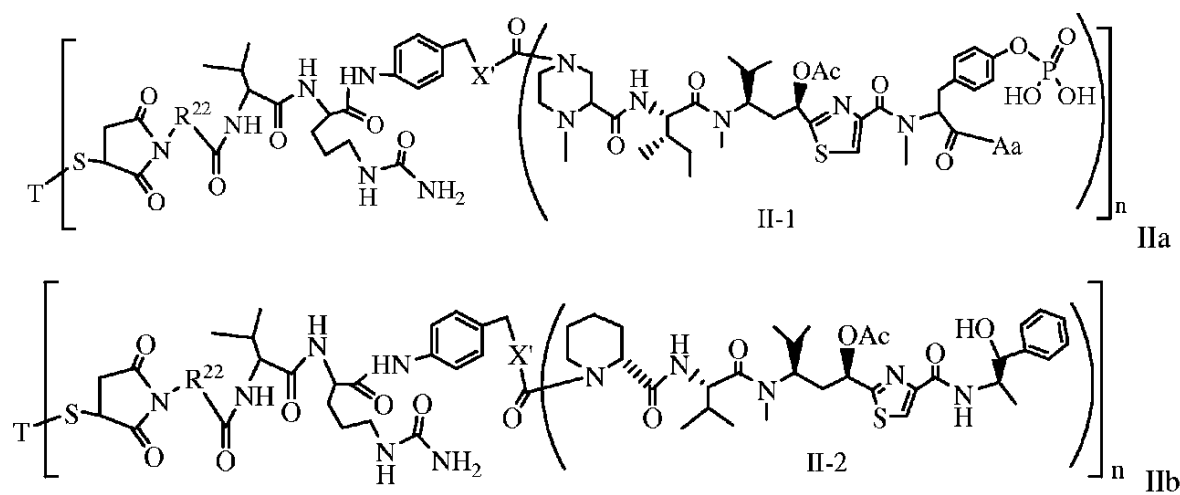
【0074】

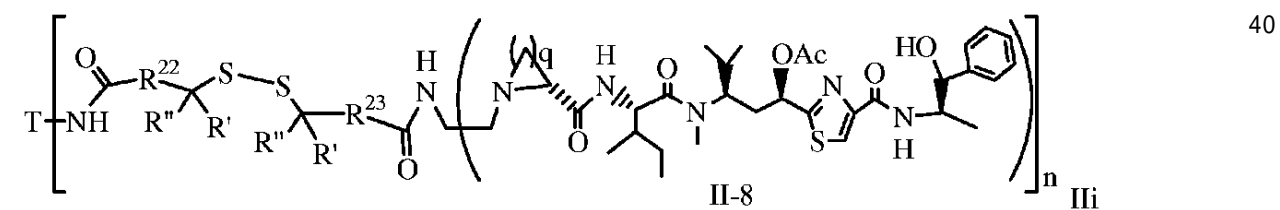
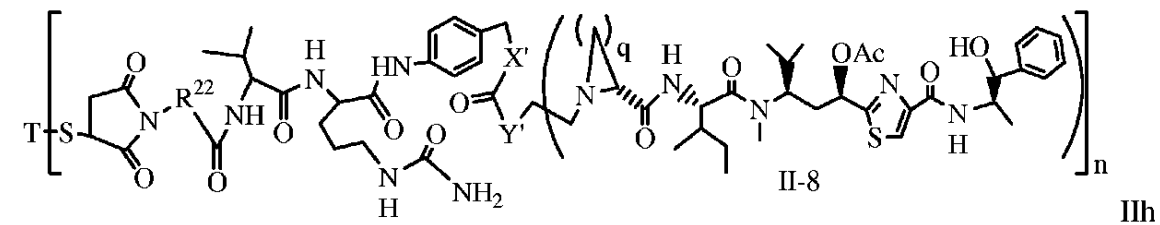
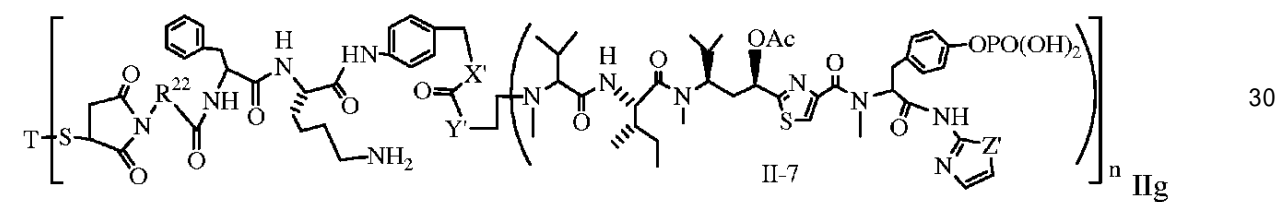
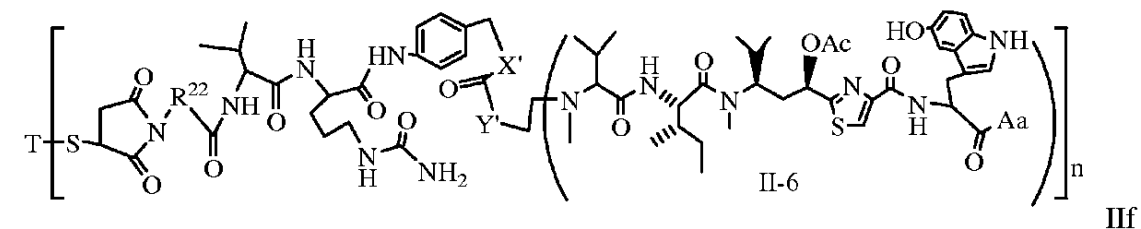
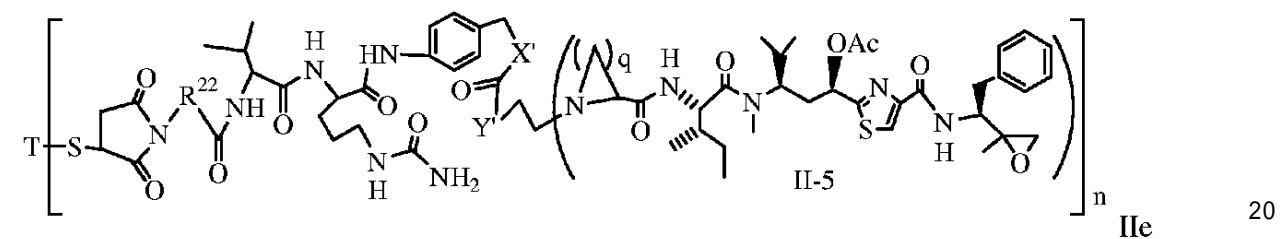
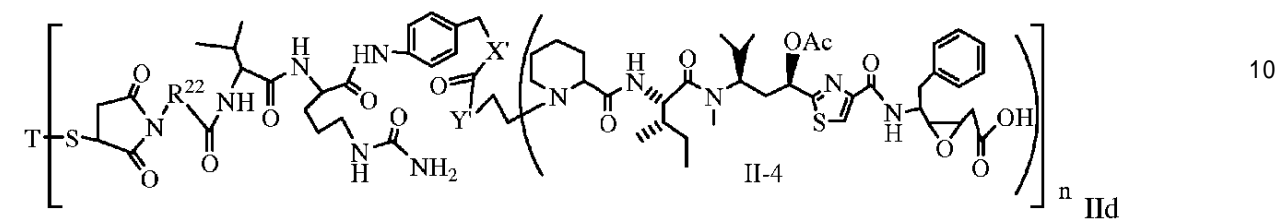
構造式(II)で示されるいくつかの具体例は下記のとおりである。

【0075】

40

【化 1 3】



$$\text{T} \left[\begin{array}{c} \text{S} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{N}(\text{R}^{22}) - \text{C}(=\text{O}) - \text{NH} - \text{CH}(\text{CH}_3) - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH}(\text{CONH}_2) - \text{CH}_2 - \text{C}(=\text{O}) - \text{NH} - \text{CH}(\text{X}') - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{Y}' \\ \text{II-3} \end{array} \right]_n \quad \text{IIc}$$


【化 1 5】

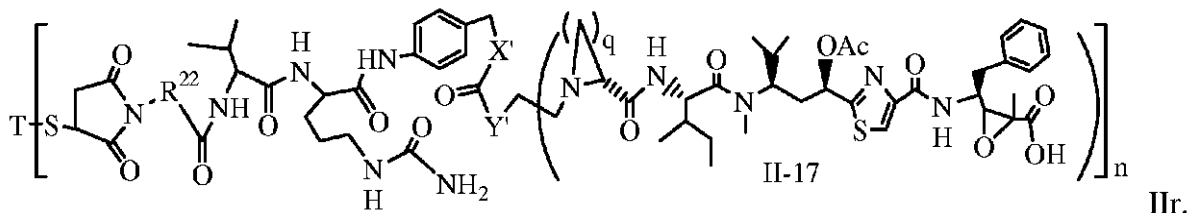


20

30

40

【化 16】



【0076】

なお、Aaとは、天然あるいは非天然アミノ酸を指し、 n は1 - 20、 q は1 - 5、 X' 、 Y' と Z' はそれぞれ、CH、O、S、NH又は NR^{22} であり、 R^{22} と R^{23} はそれぞれ、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、 $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ のアリール、複素環、炭素環、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、アラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、又は $-(OCH_2CH_2)-$ であり、 R' と R'' はそれぞれH又は CH_3 である。括弧内におけるものは抗有糸分裂剤、角括弧内におけるものは抗有糸分裂剤及び接続するリンカーである。

10

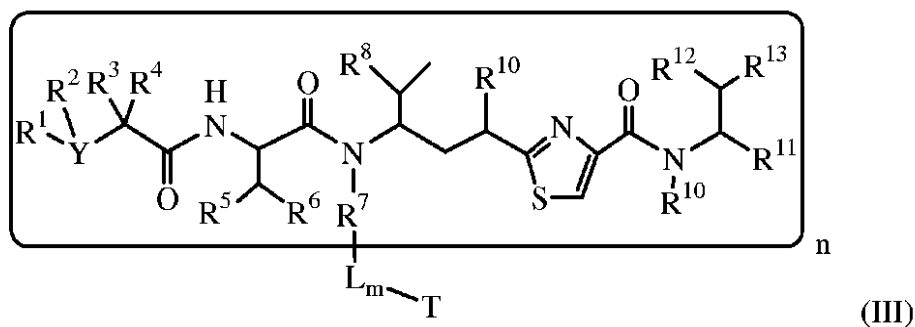
【0077】

本願発明に係る細胞結合体 - 抗有糸分裂剤共役体は、構造式(III)で示される構造をも含有し得る。

20

【0078】

【化 17】



30

【0079】

なお、T、L、m、Y、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、 R^{12} 、 R^{13} と n の定義は構造式(II)と同じである。

【0080】

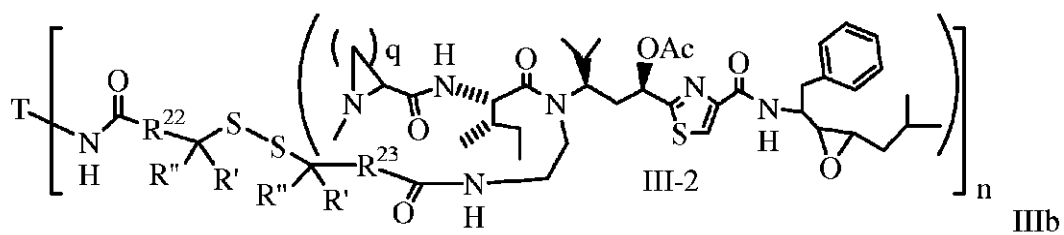
R^7 は R^{14} 、 $-R^{14}C(O)X^1R^{15}$ - 又は $-R^{14}X^1R^{15}$ - から選択される。 R^{14} と R^{15} はそれぞれ $C_1 \sim C_8$ のアルキル又はヘテロアルキル、 $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、シクロアルカン、 $C_3 \sim C_8$ のアリール、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、又はカルボニルアルキルであり、 X^1 はO、S、S-S、NH又は NR^{14} である。

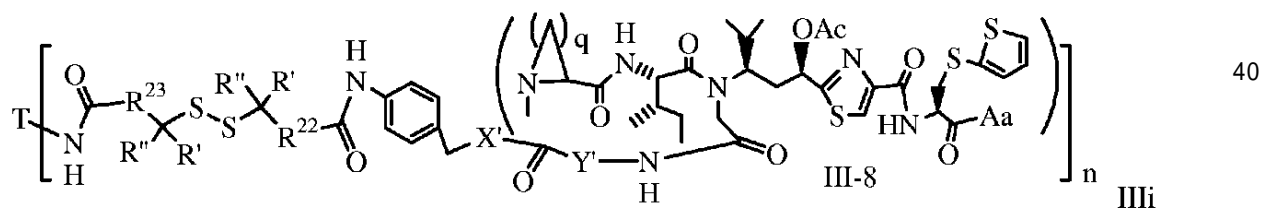
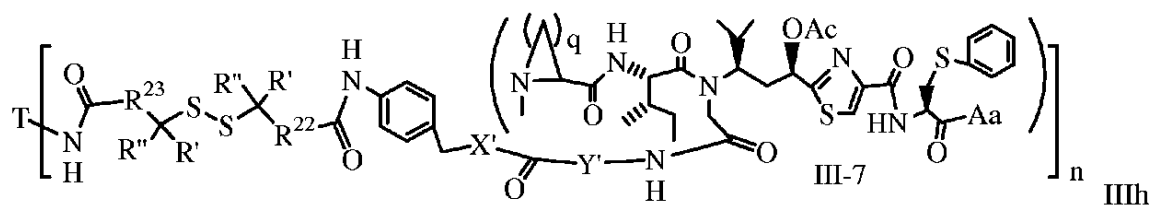
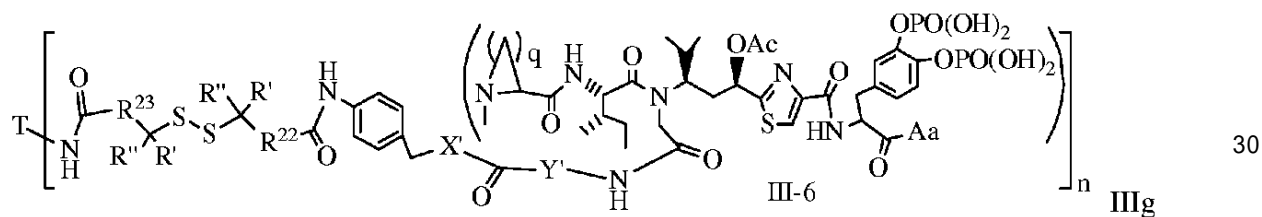
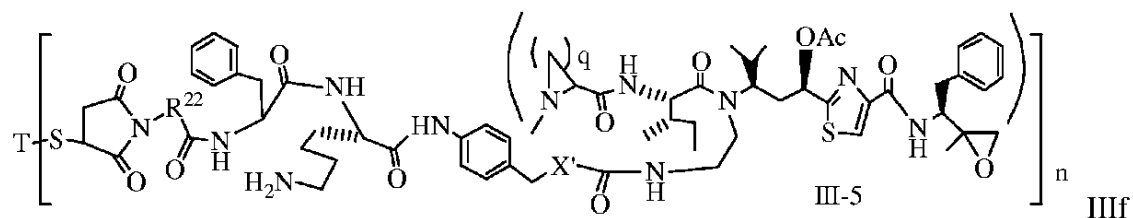
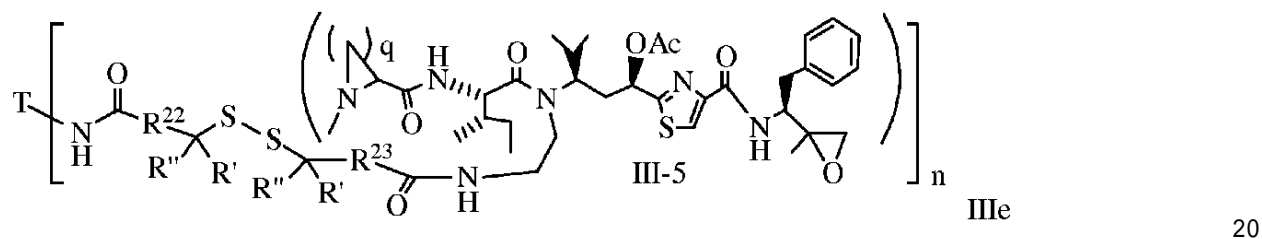
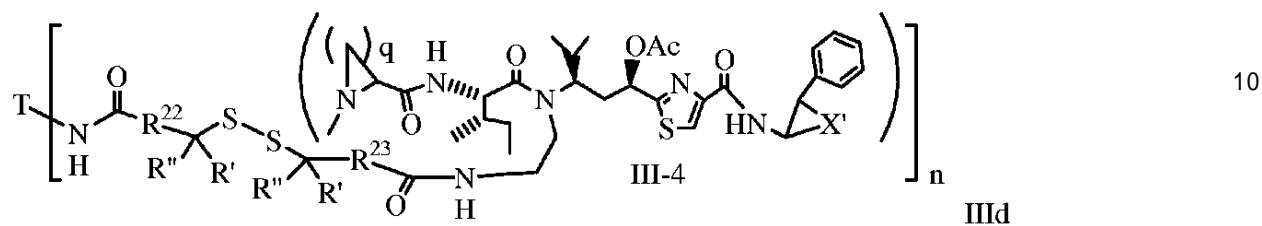
40

【0081】

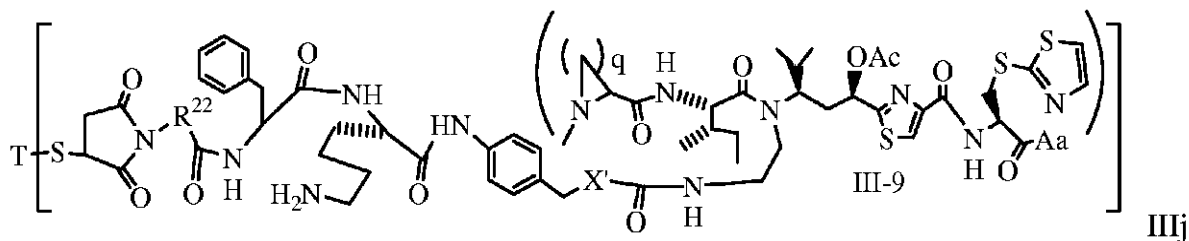
構造式(III)を有するいくつかの化合物の具体例を下記の図面に示す。

【0082】

[illegible]

$$\text{T} \left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{S} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{N} - \text{R}^{22} - \text{NH} - \text{C}(=\text{O}) - \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \\ \parallel \\ \text{O} \end{array} \right]_n \quad \text{IIIc}$$


【化 20】



【0083】

なお、Ar、n、q、X'、Y'、Z'、R²²、R²³、R'とR''の定義は化合物 I Ia - I Irにおける定義と同じである。

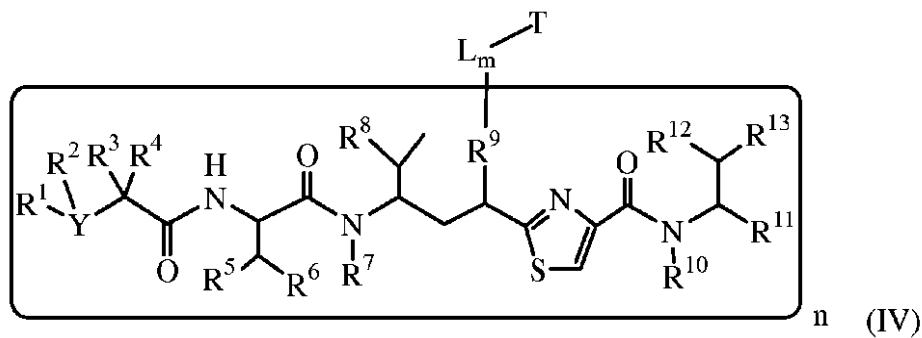
10

【0084】

本願発明に係る細胞結合体 - 抗有糸分裂剤共役体は構造式 (IV) で示される構造をも含有し得る。

【0085】

【化 21】



20

【0086】

なお、T、L、m、Y、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R¹⁰、R¹¹、R¹²、R¹³とnの定義は構造式 (I I) と同じである。

【0087】

R⁹は - O - , - OR¹⁴ , - OC(O)R¹⁴ , - OC(O)NHR¹⁴ , - OC(O)R¹⁴SSR¹⁵、または - OP(O)(OR¹⁴)O - であり、そのうち、R¹⁴とR¹⁵はそれぞれ、C₁~C₈アルキル又はヘテロアルキル、C₃~C₈アリール、ヘテロアリール、複素環基、炭素環基、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、複素環アルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアルキル、カルボンアルキル又は薬物塩である。また、R⁹は欠如していてもよい。

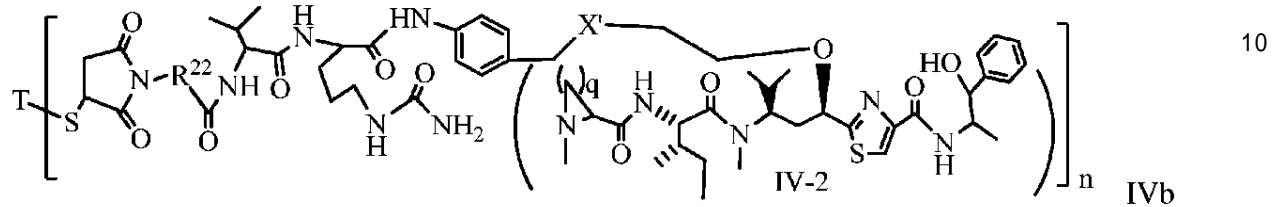
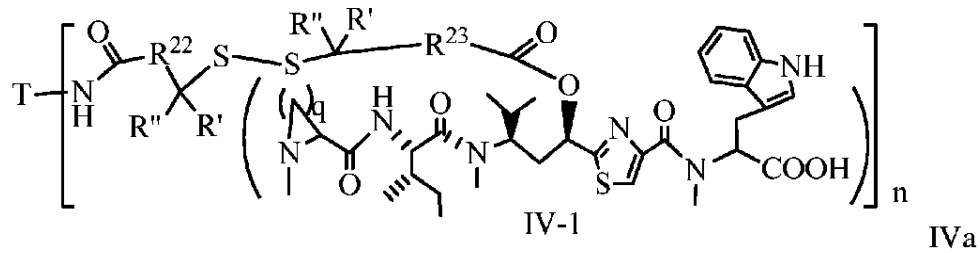
30

【0088】

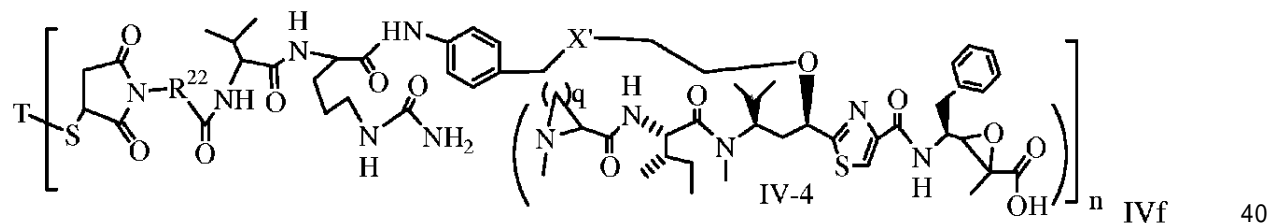
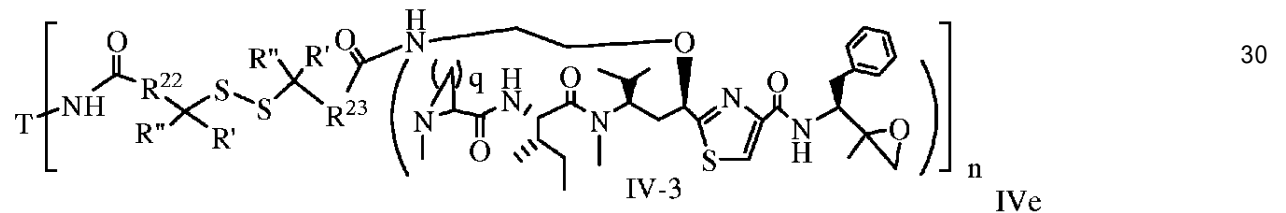
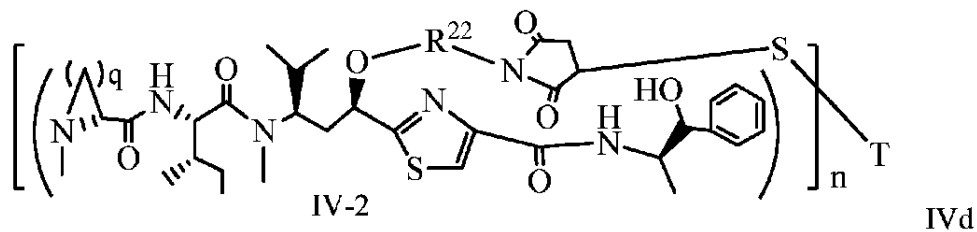
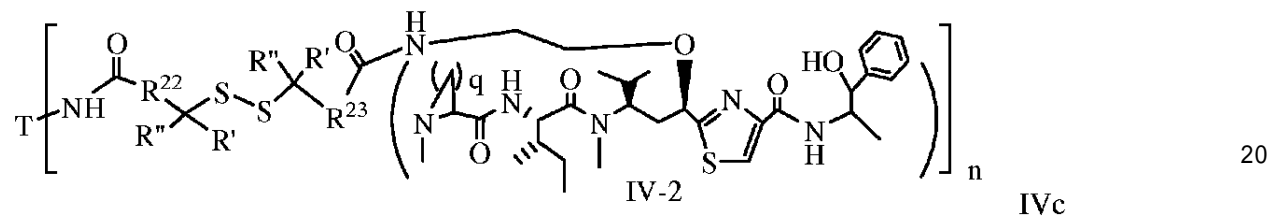
構造式 (IV) を有するいくつかの化合物の具体例を下記の図面に示す。

【0089】

【化 2 2】



【化 2 3】



【0090】

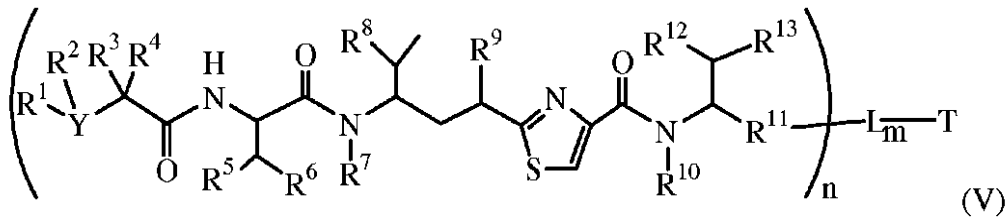
なお、Ar、Aa、n、q、X'、Y'、R²²、R²³、R'とR''の定義は化合物IIa - IIrにおける定義と同じである。

【0091】

本願発明に係る細胞結合体 - 抗有糸分裂剤共役体は構造式(V)で示される構造をも含有し得る。

【0092】

【化 2 4】



【0093】

なお、T、L、m、Y、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹⁰、R¹²、R¹³とnの定義は構造式(II)と同じである。 10

【0094】

R¹¹はR¹⁴、-R¹⁴C(=O)R¹⁷-、-R¹⁴X²R¹⁷-、-R¹⁴X²R¹⁷-、-R¹⁴C(=O)X²-であり、そのうち、R¹⁷はH、OH、C₁-C₈のアルキル、C₂-C₈のアルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル、C₃-C₈のアリール、アリーレン、複素環基、炭素環基、ヘテロシクロアルキル又は一つや二つのアミノ酸単位であり、X²は-O-、-S-、-NH-、-NR¹⁴-、-OR¹⁴-、-SR¹⁴-、S(=O)R¹⁴-又は-NHR¹⁴であり、R¹⁴はC₁-C₈アルキル、ヘテロアルキル、C₂-C₈のアルケニル、アルキニル、C₃-C₈のアリール、複素環基、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラ 20

【0095】

構造式(V)を有するいくつかの化合物の具体例を下記の図に示す。

【0096】

[illegible]
$$\left[\begin{array}{c} (\text{HO})_2\text{OP-O-Ph} \\ | \\ \text{(CH}_2)_q\text{-N(CH}_3\text{)-C(=O)-NH-[CH}_2\text{(Me)-C(=O)-N(Me)]-CH(OAc)-CH(S-C}_6\text{H}_4\text{-CO-NH-Aa)} \\ | \\ \text{V-2} \end{array} \right]_{\text{n}} - \text{NH-C(=O)-R}^{\text{R}'\text{R}''}\text{-S-S-R}^{\text{R}'\text{R}''}\text{-C(=O)-NH-T}$$
$$\left[\begin{array}{c} \text{(N)}^q \\ | \\ \text{---} \end{array} \right]_n$$
$$\left[\begin{array}{c} \text{(N)}_q \\ \text{H} \\ \text{O} \\ \text{NH} \\ \text{OAc} \\ \text{S} \\ \text{Aa} \\ \text{R}^{22} \end{array} \right]_n \quad \text{Vd}$$
$$\left[\left(\text{N} \begin{array}{c} \diagup \text{CH}_2 \diagdown \\ \diagdown \text{CH}_2 \diagup \end{array} \right)_q \text{C}(=\text{O}) \text{NH} \begin{array}{c} \diagup \text{CH}_2 \diagdown \\ \diagdown \text{CH}_2 \diagup \end{array} \text{C}(=\text{O}) \text{N} \begin{array}{c} \diagup \text{CH}_2 \diagdown \\ \diagdown \text{CH}_2 \diagup \end{array} \text{C}(=\text{O}) \text{CH}(\text{CH}_3) \text{CH}_2 \text{CH}(\text{OAc}) \text{C}(=\text{S}) \text{N} \begin{array}{c} \diagup \text{CH}_2 \diagdown \\ \diagdown \text{CH}_2 \diagup \end{array} \text{C}(=\text{O}) \text{N} \begin{array}{c} \diagup \text{CH}_2 \diagdown \\ \diagdown \text{CH}_2 \diagup \end{array} \text{C}(=\text{O}) \text{CH}(\text{Aa}) \text{N} \begin{array}{c} \diagup \text{CH}_2 \diagdown \\ \diagdown \text{CH}_2 \diagup \end{array} \text{C}(=\text{O}) \text{NH} \text{R}^{22} \text{C}(=\text{O}) \text{CH}_2 \text{C}(=\text{O}) \text{CH}_2 \text{S} \begin{array}{c} \diagup \text{CH}_2 \diagdown \\ \diagdown \text{CH}_2 \diagup \end{array} \right)_n \text{Ve}$$
[illegible][illegible]
$$\left[\begin{array}{c} \text{(N-methyl-2-pyrrolidone)}_q \\ \text{V-8} \\ \text{Amino acid derivative} \end{array} \right]_n \text{Vh}$$

50

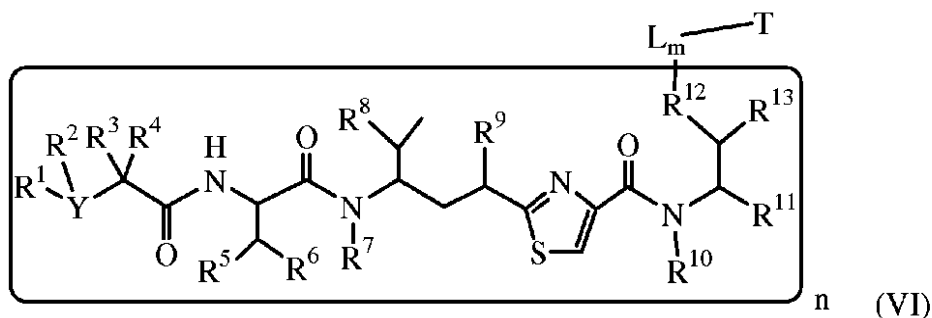
なお、Ar、Aa、n、q、X'、R²²、R²³、R'及びR''の定義は化合物I Ia - I Irにおける定義と同じである。

【0098】

本願発明に係る細胞結合体 - 抗有糸分裂剤共役体は構造式(VI)で示される構造をも含有し得る。

【0099】

【化26】



10

【0100】

なお、T、L、m、R¹、R²、R³、R⁴、R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、R⁹、R¹¹、R¹³とnの定義は構造式(II)と同じである。

【0101】

R¹²はR¹⁴、-O-、-S-、-NH-、=N-、=NNH-、-N(R¹⁴)-、-OR¹⁴-、C(O)O-、C(O)NH-、C(O)NR¹⁴-、-SR¹⁴、-S(O)R¹⁴、-NHR¹⁴、-CH₂OP(=O)(OR¹⁵)-、-P(=O)(OR¹⁵)-、-OP(=O)(OR¹⁵)O-、又は-SO₂R¹⁴である。R¹⁴及びR¹⁵はそれぞれ、C₁-C₈のアルキル、ヘテロアルキル、C₂-C₈のアルケニル、アルキニル、又はC₃-C₈のアリール、複素環基、炭素環基、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル又はアルキルカルボニルである。

【0102】

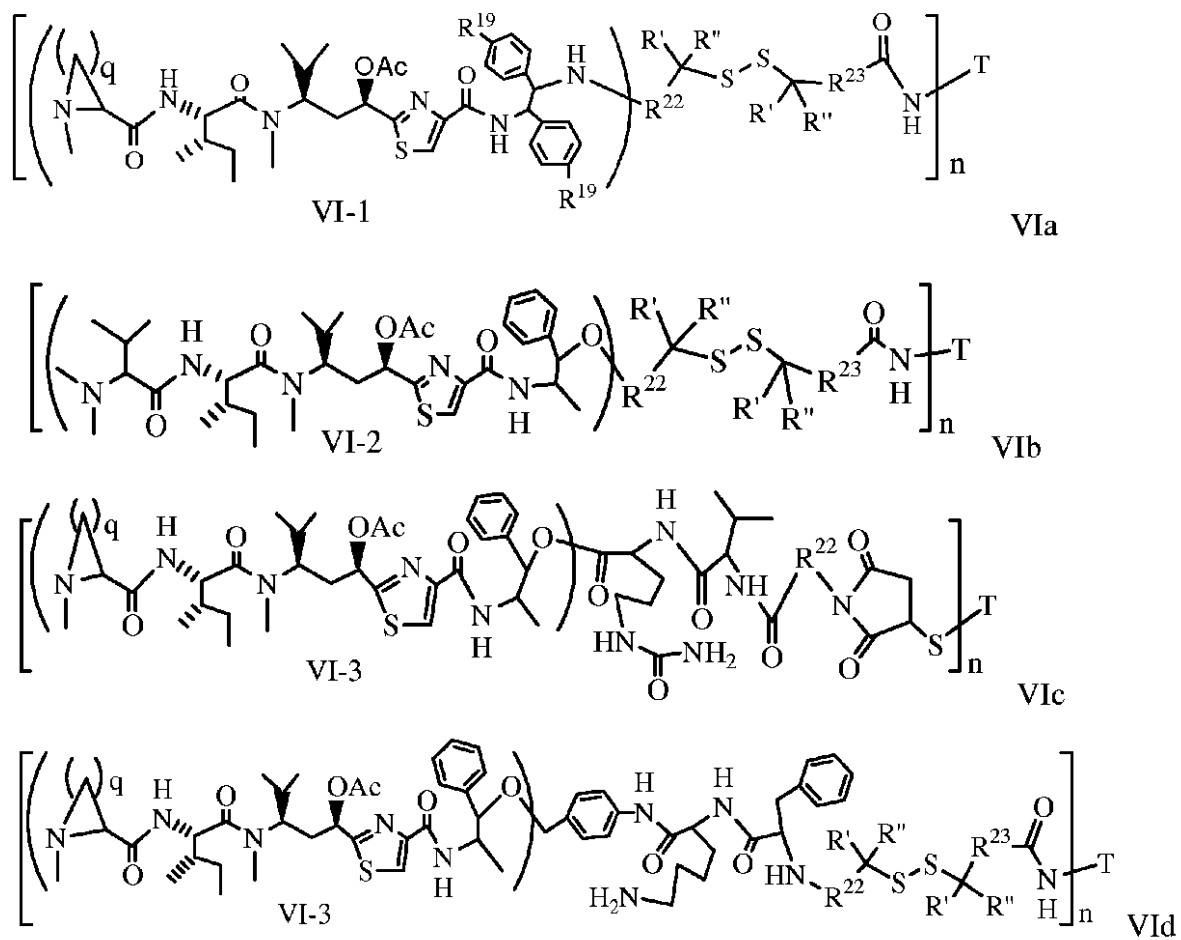
構造式(VI)を有するいくつかの化合物の具体例は下記のとおりである。

【0103】

20

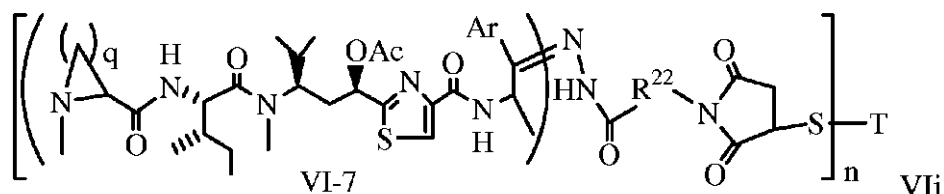
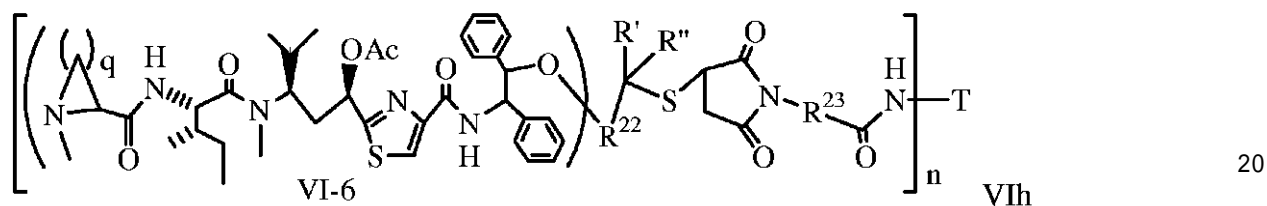
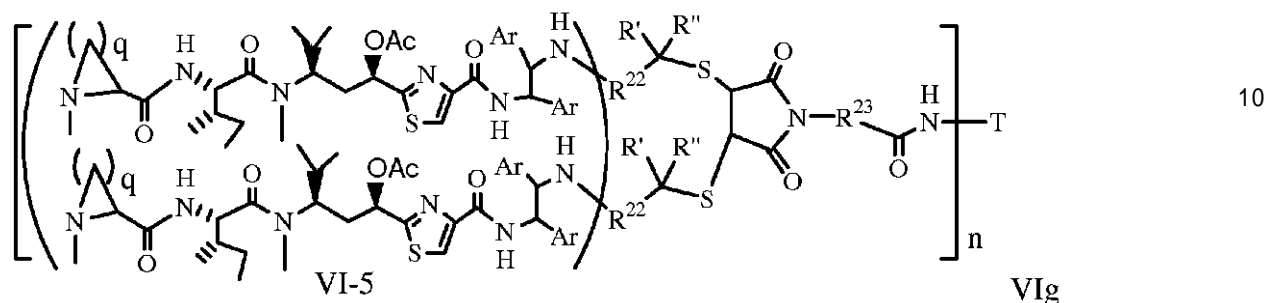
30

【化 2 7】



10

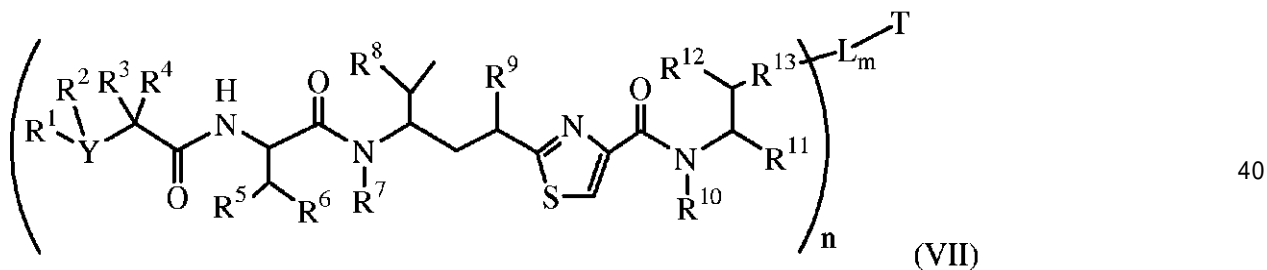
20

[illegible]

なお、Ar、Aa、n、q、X'、R^{2 2}、R^{2 3}、R' 及び R'' の定義は化合物 I Ia - II r における定義と同じである。

本願発明に係る細胞結合体 - 抗有糸分裂剤共役体は構造式 (V I I) で示される構造をも含有し得る。

【化 2 9】



なお、 T 、 L 、 m 、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{11} 、 R^{12} 、及び n の定義は構造式(II)と同じである。

R¹⁻³はC₁-C₁₀のアルキル、ヘテロアルキル、アルキル酸、アルキルアミド、アルキルアミン又はアリールである。そのうち、アリールとは、1員環又は複数員環からなる芳香族環又は複素芳香族環であり、芳香族環又は複素芳香族環ごとに4～10個の炭素

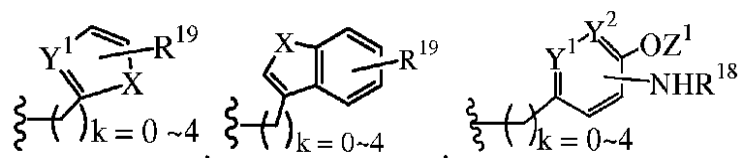
原子を含み、最も好ましくは4～6つの炭素原子を含む。複素芳香族環とは、1つ又はいくつかの炭素原子がヘテロ原子によって置換された芳香族環を意味し、好ましくは、1つ、2つ又は3つの炭素原子がO、N、Si、Se、P またはSによって置換され、最も好ましくはO、S又はNによって置換される。アリアルArとは、1つ又はいくつかの水素原子が置換された芳香族環又は複素芳香族環を意味する。水素原子を置換するこれらの基は、 R^{17} 、F、Cl、Br、I、 OR^{16} 、 SR^{16} 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 $N=NR^{16}$ 、 $N=R^{16}$ 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 NO_2 、 $SOR^{16}R^{17}$ 、 SO_2R^{16} 、 SO_3R^{16} 、 OSO_3R^{16} 、 $PR^{16}R^{17}$ 、 $POR^{16}R^{17}$ 、 $PO_2R^{16}R^{17}$ 、 $OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OCH_2OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $PO(OR^{16})(OR^{17})$ 、 $OP(O)(OR^{17})OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)R^{17}$ または $OC(O)NHR^{17}$ を含む。そのうち、 R^{16} と R^{17} はそれぞれ、H、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $C_3 \sim C_8$ のアリアル、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニル或いは $C_4 \sim C_{12}$ グリコシド又は医薬可能な塩である。

【0109】

また、 R^{10} がHでない場合、或いは、 R^{13} が下記の基である場合、 R^{12} はHであってもよい。

【0110】

【化30】



【0111】

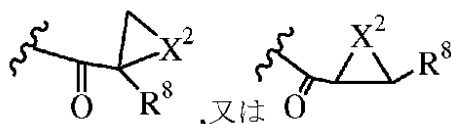
ここで、 Z^1 はH、 $CH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $PO(OR^{18})_2$ 、 $C(O)R^{18}$ 、 $P(O)(OR^{18})OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)NHR^{18}$ 、 $SO_2(OR^{18})$ 、 $C_4 \sim C_{12}$ (炭素数4～12を含む)のグリコシド、又は、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル基、複素環である。 R^{18} は、H、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル基、ヘテロアルキル、 $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、又は、 $C_3 \sim C_8$ のアリアル、アルキルカルボニルである。 R^{19} はH、OH、 NH_2 、 $OSO_2(OR^{18})$ 、 $XCH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XPO(OR^{18})_2$ 、 $XC(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XC(O)R^{18}$ 、 $XC(O)NHR^{18}$ 、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル、カルボン酸誘導体、 $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、 $C_3 \sim C_8$ のアリアル、アルキルカルボニル又は医薬用可能な塩である。XはO、S、又はNHである。Y¹とY²はそれぞれN又はCHである。

【0112】

或いは、 R^{11} が下記の基である場合、 R^{12} はHであってもよい。

【0113】

【化31】



【0114】

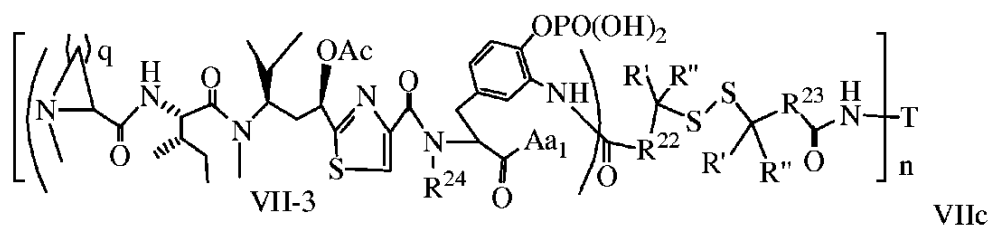
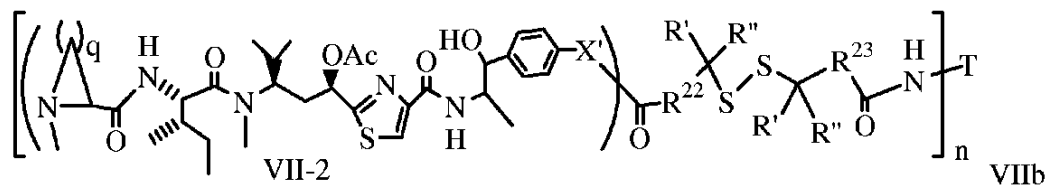
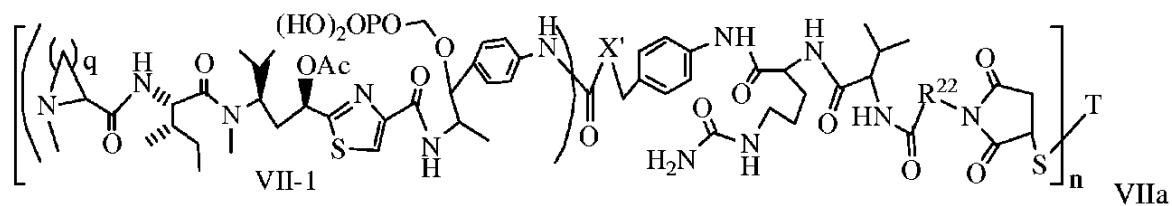
X^2 がO、S、N- R^8 であり、 R^8 がH、 $C_1 \sim C_4$ のアルキル又はヘテロアルキルである。

【0115】

構造式 (VII) を有するいくつかの化合物の具体例を下記の図に示す。

【 0 1 1 6 】

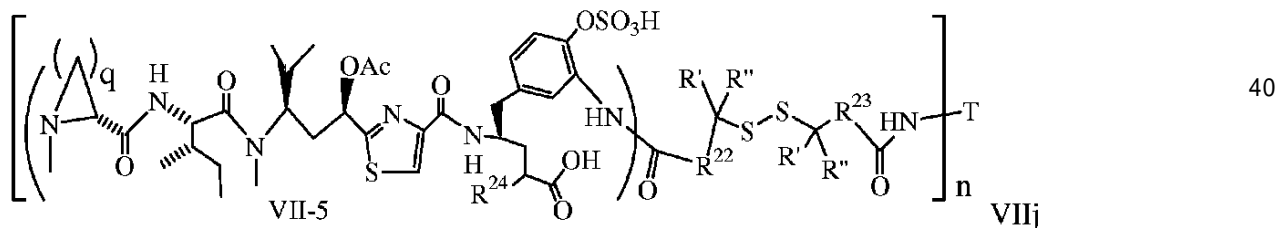
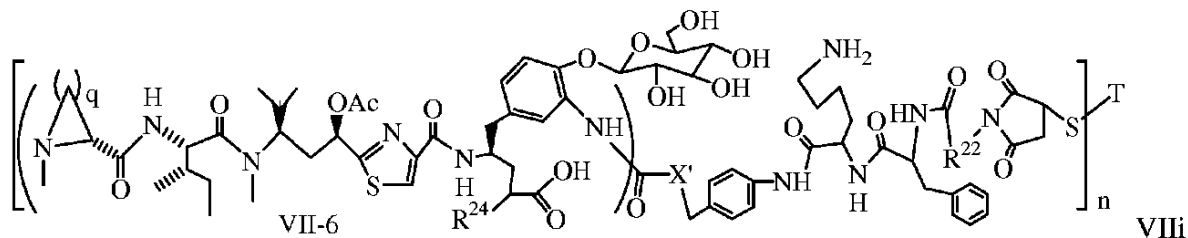
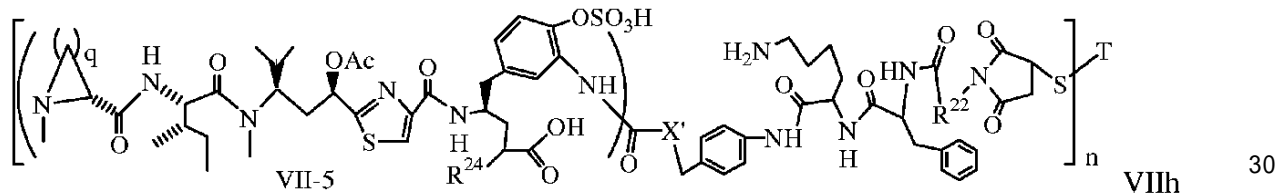
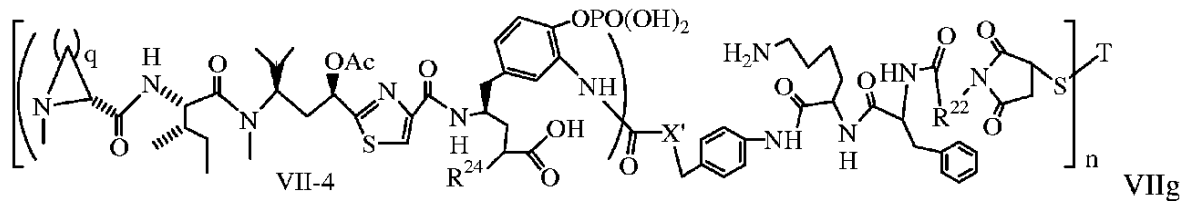
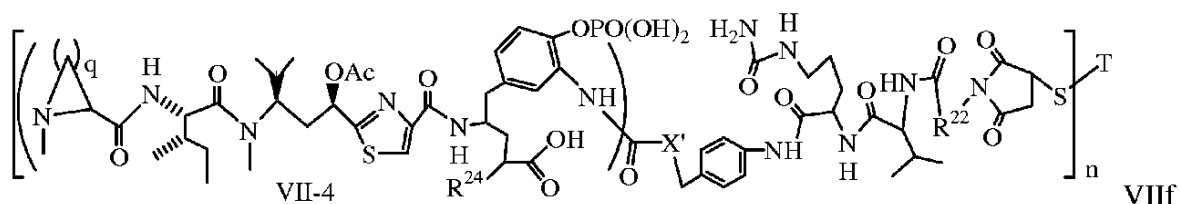
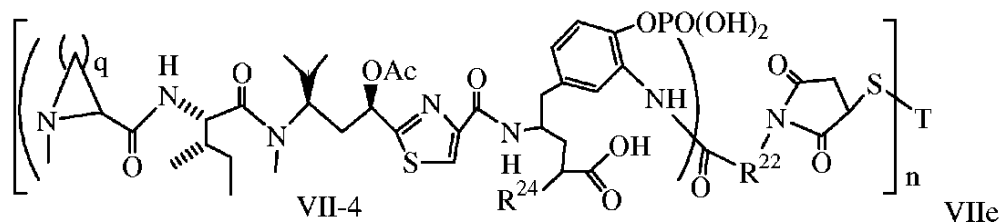
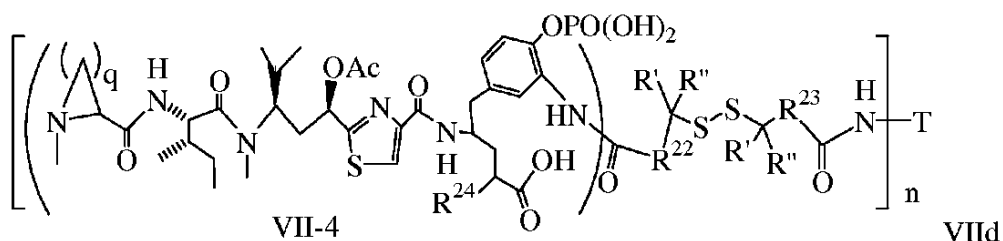
【 化 3 2 】



10

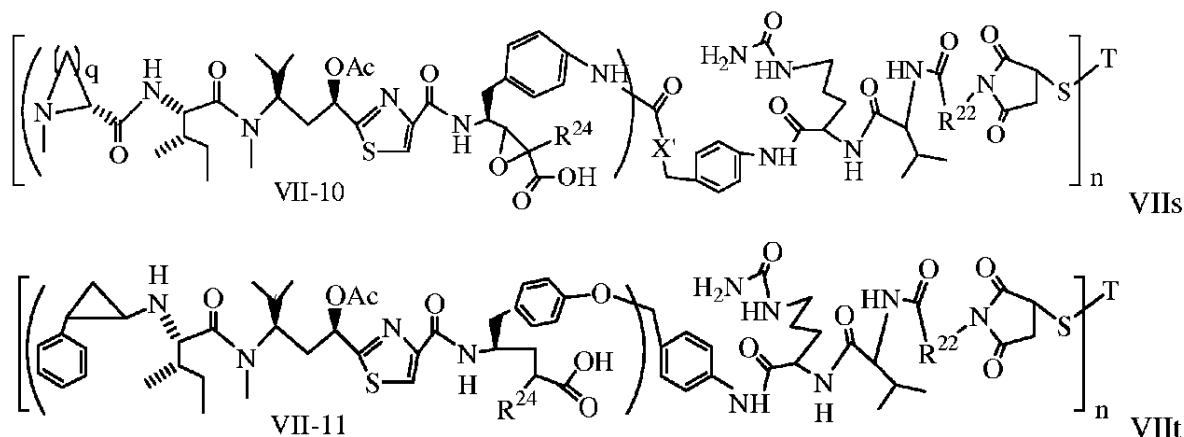
20

【化 3 3】



VII-6
VIIIk
VIII
VIIm
VIIIn
VIIIo
VIIIj

【化 3 5】



【0117】

なお、 Ar 、 Aa 、 n 、 q 、 X' 、 R^{22} 、 R^{23} 、 R' 及び R'' の定義は化合物 I Ia - I Ir における定義と同じである、 R^{24} はHまたは CH_3 。

【0118】

例としては、これらには限られない。本願発明の抗有糸分裂剤の合成及びそれらと本願発明の細胞結合体によって形成される共役体は図面 1 - 32 を参照する。

【0119】

本願発明に係る具体的な共役接合としては、解離可能なリンカー（L）がC、N、O、S、Si又はP原子を有する化学鎖である。共役体において、当該化学鎖の一端が細胞結合体（T）と共有結合を介して接続しながら、もう一端が抗有糸分裂剤と共有結合を介して接続する。リンカーは異なる長さを有していてもよく、たとえば、2～100個の原子からなる長さでもよい。リンカー上の全ての原子は各種の適当な化学方法によって接続され得る。たとえば、アルケン、アルケレン、アセチレン、エーテル、ポリアルキレンオキシド、エステル、アミン、イミン、ポリアミン、ヒドラジン、ヒドラゾン、アミド、尿素、アミノ尿素、ジヒドラジincarボン、アルコキシアミン、尿素エタン、アミノ酸、アシルオキシアミン又はヒドロキサム酸を形成するという接合方式などがある。なお、これら解離可能なリンカー上の原子は飽和でも非飽和でもよく、ラジカルでも互いに環化して二価の環構造を形成してなるものでもよく、例えばシクロパラフィン、シクロエーテル、シクロアミン、アリーレン又はヘテロアリーレンなどがある。

【0120】

解離可能なリンカーとは、生理条件で解離される化学結合を少なくとも1つ含有するものを指す。たとえば、pHに敏感で、酸に不安定で、アルカリに不安定で、酸化されやすく、代謝されやすく、バイオに不安定で、あるいは酵素に分解されやすい化学結合を指す。なお、このような化学結合断裂の生理条件は必ずしも生物又は代謝過程ではなく、加水分解又は置換反応という常軌の化学過程でも実現することができる。核内は細胞溶質よりも、pHが低いため、酸性条件下で加水分解可能な化学結合は良い選択である。同じ理由により、腫瘍細胞内グルタチオン濃度がミリモルレベルまでに達することから、メルカプトとジスルフィド結合の交換反応も実行可能なものである。

【0121】

本発明の解離可能なリンカーLの構造は、 $-Ww-(Aa)_r-Vv-$ で示される。ただし、 W は拡張体、 w は0又は1、 $-Aa-$ はアミノ酸単位、 r は0～12の整数、 $-V-$ はスペーサ、 v は1又は2である。

【0122】

拡張体-Wが存在する場合、それは、細胞結合体（T）とアミノ酸単位-Aa-又はスペーサ-V-（-Aa-が存在しない場合）を接続する働きをする。拡張体Wは、自己分解可能なスペーサ、ポリペプチド単位、ヒドラゾン結合、ジスルフィド結合またはチオエーテル結合を一つ含んでもいい。細胞結合体（T）は拡張体における相応の機能基と結合可能な

10

Tに接続するいくつかのWの具体例を下記の図に示す。

【化 3 6】



30

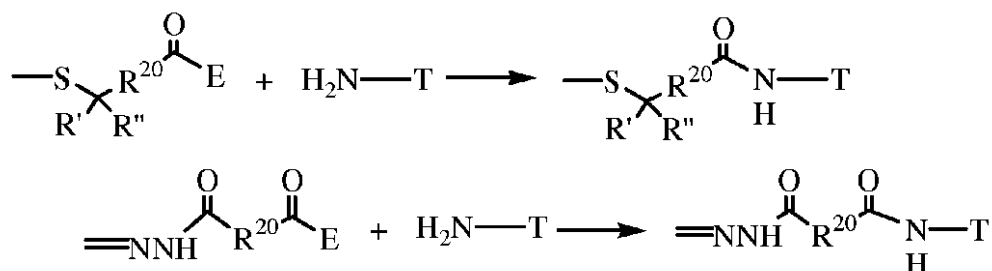
[illegible]

ここで、 R^{20} 、 R^{21} は、 $-C_1 \sim C_9$ アルキレン-、 $-C_1 \sim C_7$ カルボシクリル-、 $-O-(-(C_1 \sim C_8$ アルキル)-、 $-アリーレン-$ 、 $-C_1 \sim C_9$ アルキレン-アリーレン-、 $-アリーレン-$ 、 $-C_1 \sim C_9$ アルキレン、 $-C_1 \sim C_9$ アルキレン- $(C_1 \sim C_8$ カルボシクリル)-、 $-(C_3 \sim C_8$ カルボシクリル)- $C_1 \sim C_9$ アルキレン-、 $-C_3 \sim C_8$ 複素環基-、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン- $(C_3 \sim C_8$ 複素環基)-、 $-(C_3 \sim C_8$ 複素環基)- $C_1 \sim C_9$ アルキレン-、 $-(CH_2CH_2O)_k-$ 、 $-(CH(CH_3)CH_2O)_k-$ 及び $-(CH_2CH_2O)_k-CH_2-$ から選ばれ、 k は1～20の整数、 R' 及び R'' はそれぞれH又は CH_3 である。

前記WとTの共有結合は各種化学反応によって実現することができる。

例えば、アミド結合の形成：

【化38】



【0128】

10

そのうち、拡張体単位は一つの活性反応性基Eを含み、Eは細胞結合体上の第一級または第二級アミンとアミド結合を生成することができる。利用可能な活性反応部位Eはヒドロキシスクシンイミドエステル（NHSおよびS-NHSなど）、4-ニトロフェニルエステル、ペンタフルオロフェニルエステル、テトラフルオロフェニルエステル（S-テトラフルオロフェニルエステルを含む）、酸無水物、酸塩化物、スルホンアミド酸塩化物、イソシアネートおよびイソチオシアネート、などを含むが、これらに制限されない。

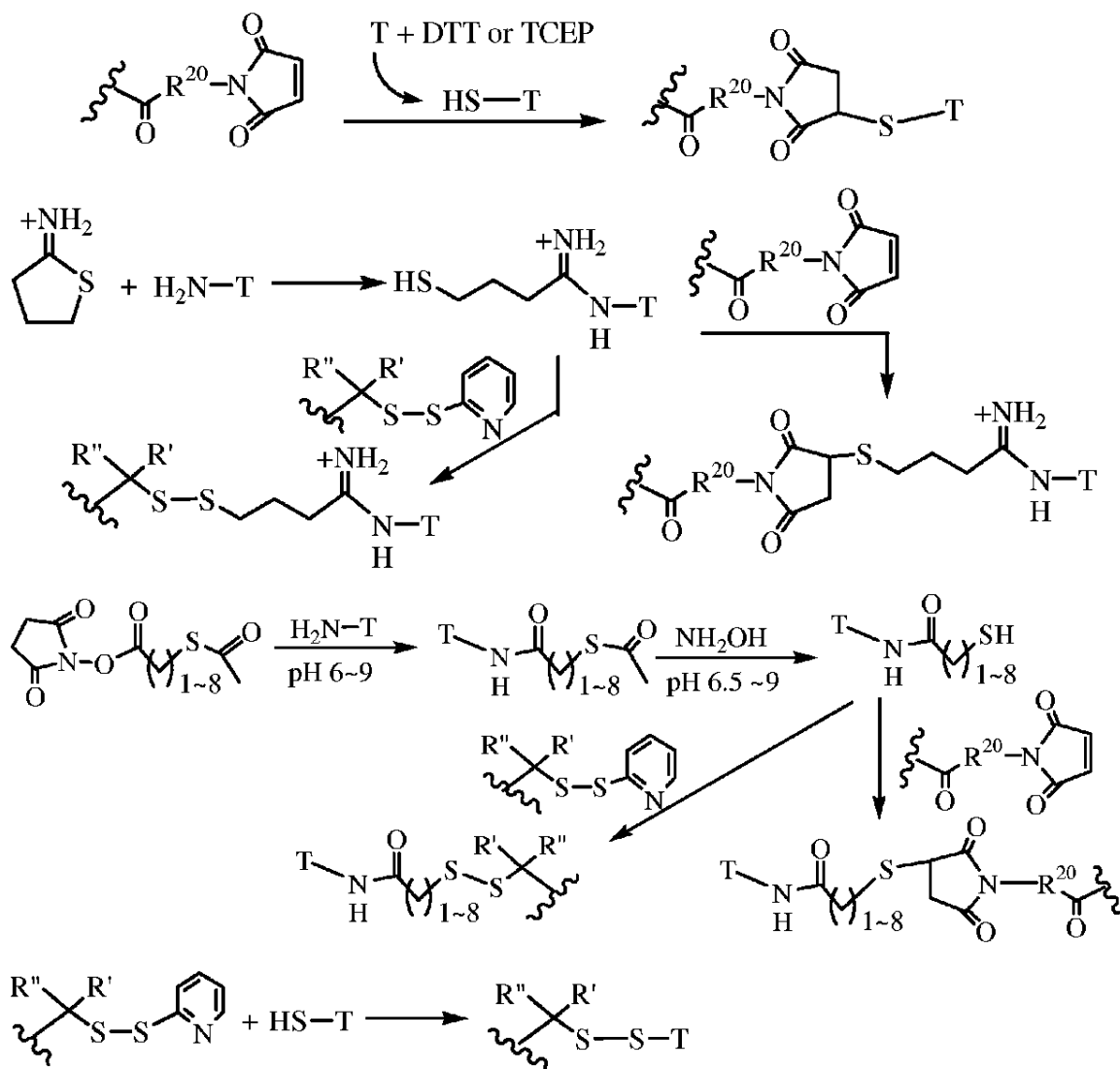
【0129】

スルホエーテル又はジスルフィド結合で接続する具体例は下記のとおりである。

【0130】

【化39】

20



30

40

【0131】

50

そのうち、拡張体単位は反応に参加できるメルカプトを1つ含有し、細胞結合体Tとチオエーテルまたはジスルフィド結合を形成することができる。ジスルフィド結合を形成するために、細胞結合体T上のメルカプトは、細胞結合体Tにおける分子内二重結合を還元したり、他の化学過程によって細胞結合体Tを修飾したりすることで形成されるものであってもいい。

【0132】

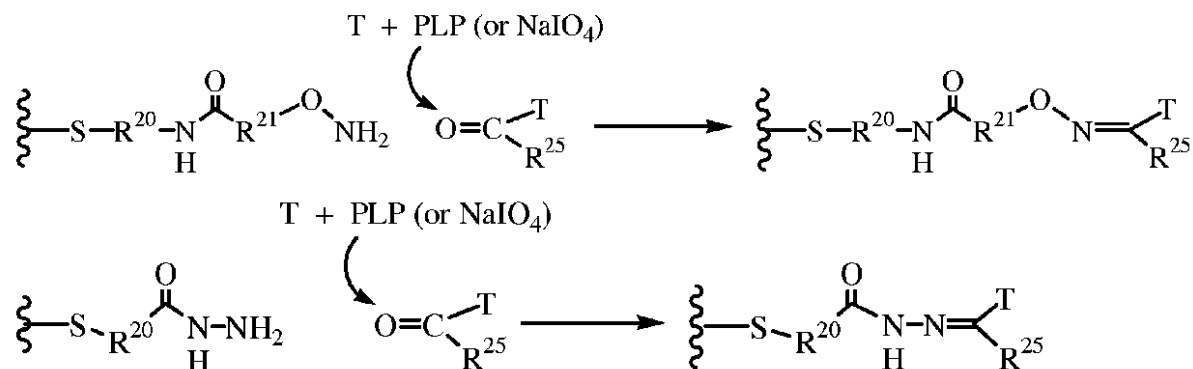
拡張体には、アルデヒドまたはケトン基と反応し得る活性基を1つ有してもいい。適当な化学修飾により、このようなアルデヒドまたはケトン基は細胞結合体Tの適当な位置に導入され得る。たとえば、細胞結合体Tの糖において、過ヨウ素酸ナトリウムのような酸化剤の酸化によってアルデヒドまたはケトン基を形成することができる。さらに、たとえば、ケトン基は、抗体（又はタンパク質又はポリペプチド）のN末端アミノ酸におけるアミン基と5-リン酸ピリドキサル（PLP）を反応させることによって導入され得る。これらアルデヒドまたはケトン基（ $-C=O$ ）は、たとえば、ヒドラジド、オキシム、第一級または第二級アミン、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレートまたはアリールヒドラジンなど、拡張体における活性反応性基と反応し得る。これによって、両者を接続させる。

【0133】

ヒドラゾン、オキシムまたはイミンによる接続の具体例は下記のとおりである。

【0134】

【化40】



【0135】

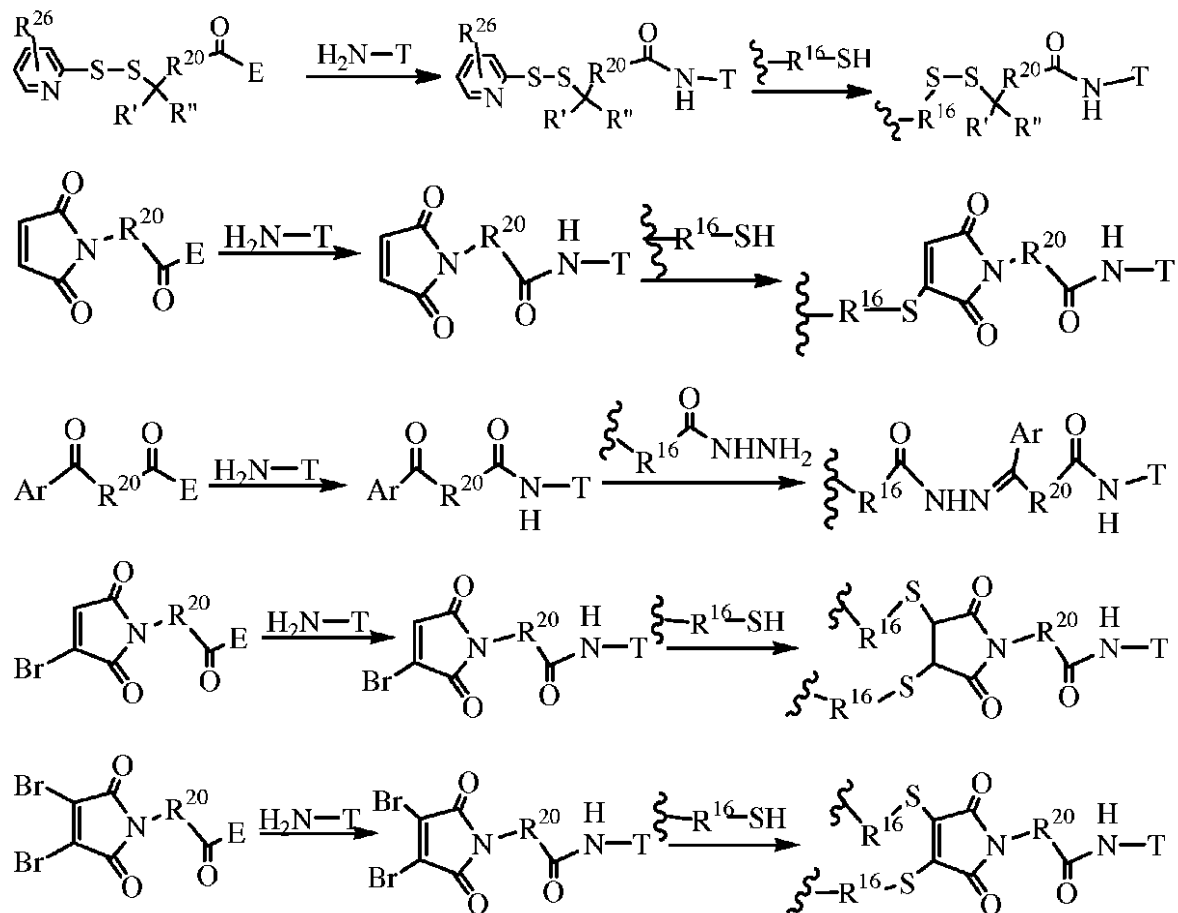
そのうち、 R^{20} 及び R^{21} の定義は上述のとおりであり、 R^{25} はアミノ酸の有機置換物である。

【0136】

拡張体（スパーサーV及び/又はアミノ酸を1つ含有していてもよい）は、細胞結合体Tと接合した後、この細胞結合体-拡張体断片と抗有糸分裂剤を共役接続させ、接続処理は、緩衝水溶液中で行うことができる。この方式のように二段階で共役接合を行ういくつかの具体例（ R^{16} に接続された毒素分子を省略）は下記のとおりである。

【0137】

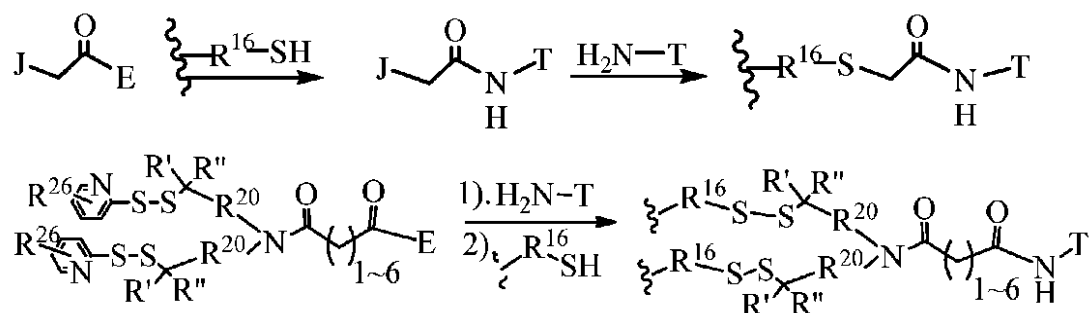
【化 4 1】



10

20

【化 4 2】



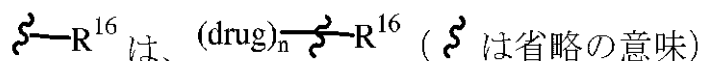
30

【0138】

そのうち、Eは、ヒドロキシスクシンイミドエステル（NHS及びS-NHS等）、4-ニトロフェニルエステル、ペンタフルオロフェニルエステル、テトラフルオロフェニルエステル（S-テトラフルオロフェニルエステルを含む）、酸無水物、酸塩化物、スルホンアミド酸塩化物、イソシアネートおよびイソチオシアネート等を含むが、これらに制限されない。R'及びR''はそれぞれH又はCH₃であり、R²⁰、R¹⁶及びArの定義は前述と同じであり、R²⁶はH、F又はNO₂であり、JはF、Cl、Br、I、トシレート（TSO）、またはメシレート（MSO）である。なお、前記構造において、

40

【化 4 3】



のような構造を有する抗有糸分裂剤又は他の薬剤を少なくとも一つ含有する。

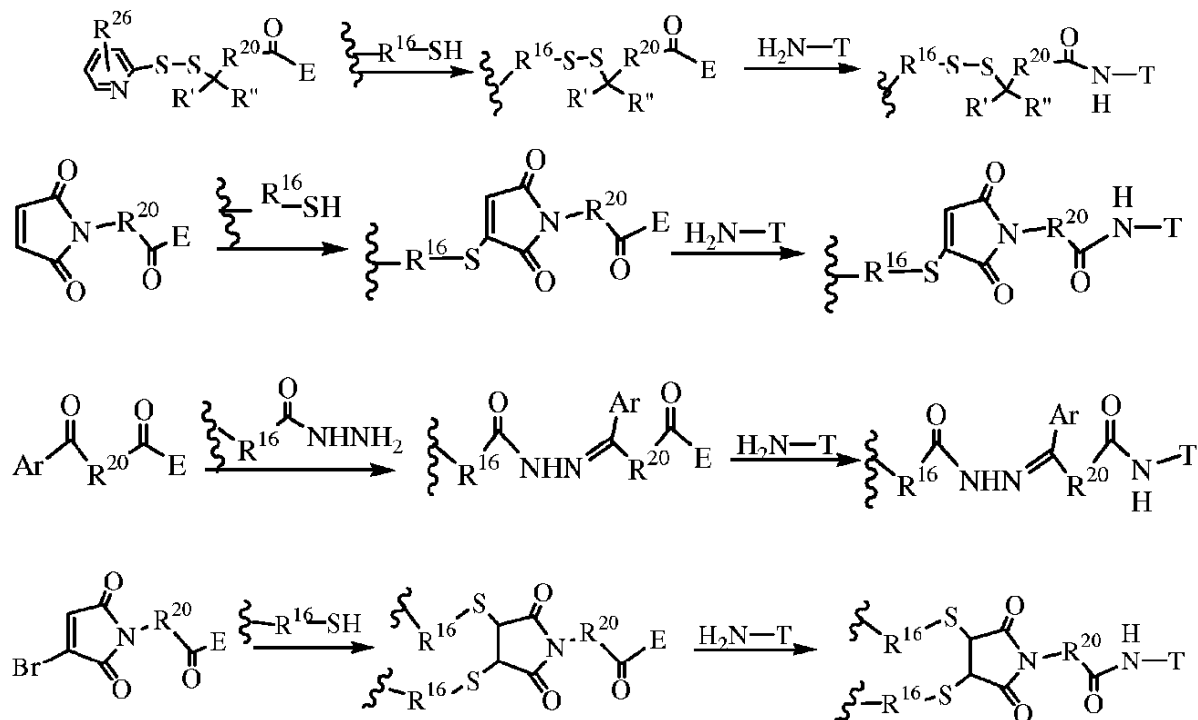
【0139】

50

拡張体は、まず、抗有糸分裂剤と接続してから、pH 3 ~ 10（好ましくは5 ~ 8.5）の水溶液（上限が50%の有機溶剤を含有し得る）で細胞結合体Tと共役接合を行ってもよい。この方式のように二段階で共役接合を行ういくつかの具体例は下記のとおりである。

【0140】

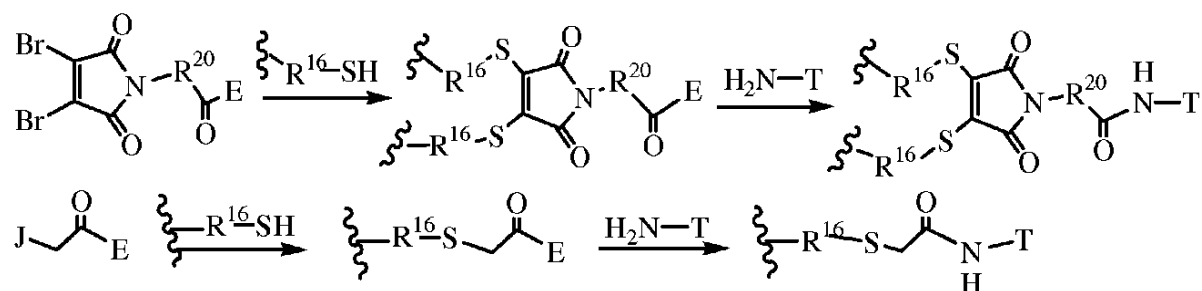
【化44】



10

20

【化45】



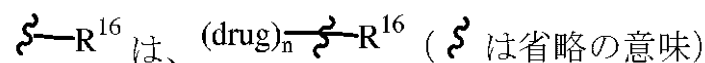
30

【0141】

そのうち、Eは、ヒドロキシスクシンイミドエステル（NH S及びS - NH S等）、4-ニトロフェニルエステル、ペンタフルオロフェニルエステル、テトラフルオロフェニルエステル（S-テトラフルオロフェニルエステルを含む）、酸無水物、酸塩化物、スルホンアミド酸塩化物、イソシアネートおよびイソチオシアネート等を含むが、これらに制限されない。R'及びR''はそれぞれH又はCH₃であり、R²⁰、R¹⁶及びArの定義は前述と同じであり、R²⁶はH、F又はNO₂であり、JはF、Cl、Br、I、トシレート（TsO）、またはメシレート（MsO）である。なお、前記構造において、

40

【化46】



のような構造を有する抗有糸分裂剤又は他の薬剤を少なくとも一つ含有する。

【0142】

アミノ酸単位（--Aa--）が存在する場合、それは拡張体とスペーサを接続する。スペーサが欠如する場合、それは拡張体と抗有糸分裂剤を連続する。拡張体及びスペーサが共

50

に欠如する場合、それは、細胞結合体 T と抗有糸分裂剤を直接に接続する。--(Aa)r- は、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、ペンタペプチド、ヘキサペプチド、ヘプタペプチド、オクタペプチド、ノナペプチド、デカペプチド、ウンデカペプチドまたはドデカペプチド単位のような天然又は非天然アミノ酸であってもよく、r は 0~12 の整数である。ここで、アミノ酸とは、一括してアミノアルキルカルボン酸を指す。そのうち、アルキルとは、例えば、アルキル、アシル、ヒドロキシアルキル、メルカプトアルキル、アミノアルキルまたはカルボキシアルキルなどの基で置換されたアルキルであってもよい。天然及び非天然アミノ酸及びポリペプチドの構造は、著作者である G. C. Barrett 及び D. T. Elmore の「Amino Acid and Peptides」(Cambridge University Press, 2004) に、詳しい説明がある。

また、アミノ酸とは、ベータアミノ酸、ガンマアミノ酸、及び、分子内にメチル、ベンジル、ヒドロキシメチル、チオメチル、カルボキシル、カルボキシメチルまたはグアニジノプロピル等を有する長鎖アミノ酸も指す。最も好ましいアミノ酸は、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、シトルリン、システイン、グリシン、グルタミン酸、ロイシン、リジン、グルタミン、セリン、オルニチン、フェニルアラニンアンモニア酸、トレオニン、チロシン、およびバリンなどである。

【0143】

本発明のアミノ酸単位は、例えば腫瘍に存在しているタンパク質分解酵素など、1 種又は複数の酵素による分解によって、抗有糸分裂剤を遊離させることができる。実施形態の説明において、それは最初、生体内でプロトン化された後、プロトン化抗有糸分裂剤になる。

【0144】

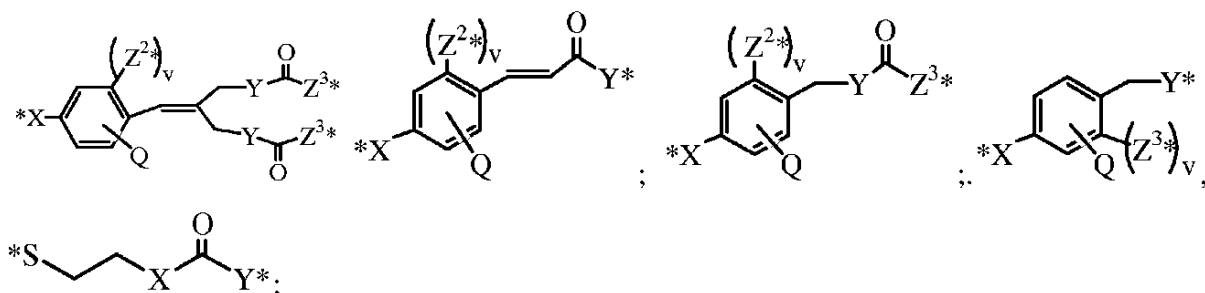
スペーサ (-V-) が存在する場合、それはアミノ酸単位と抗有糸分裂剤を接続する。アミノ酸単位が欠如する場合、それは拡張体と抗有糸分裂剤を接続する。アミノ酸単位と拡張体が共に欠如する場合、スペーサは抗有糸分裂剤と細胞結合体 T を接続する。スペーサは、いくつかの機能基を含有し得、これら機能基により、共役体の水溶性、生物学的な伝送、適切な腎クリアランス、摂取、吸収、生体内分布、および生物学的利用能を改善することができる。スペーサは、自己破壊型及び非自己破壊型という 2 つのタイプに大別される。非自己破壊型とは、抗有糸分裂剤 - リンカー - 細胞結合体または抗有糸分裂剤 - リンカーから 1 つのアミノ酸単位が切り離され、特に酵素による分解をされた後、一部又は全部のスペーサが依然として抗有糸分裂剤に接続していることを指す。

【0145】

自己破壊型スペーサのいくつかの具体例は、下記のとおりである。

【0146】

【化 47】



【0147】

そのうち、(*) でマークされた原子はスペーサ、解離可能なリンカー、抗有糸分裂剤又は細胞結合体の T アクセスポイントである。X、Y 及び Z³ は、それぞれ NH、O 又は S であり；Z² は H、NH、O 又は S である。v は 0 又は 1 であり；Q は、H、OH、C₁~C₆ アルキル基、(OCH₂CH₂)_n であり、F、Cl、Br、I、OR¹⁷、または SR¹⁷、NR¹⁷R¹⁸、N=NR¹⁷、N=R¹⁷、NR¹⁷R¹⁸、NO₂、SOR¹⁷R¹⁸、SO₂R¹⁷、SO₃R¹⁷、OSO₃R¹⁷、PR¹⁷R¹⁸、P

10

20

30

40

50

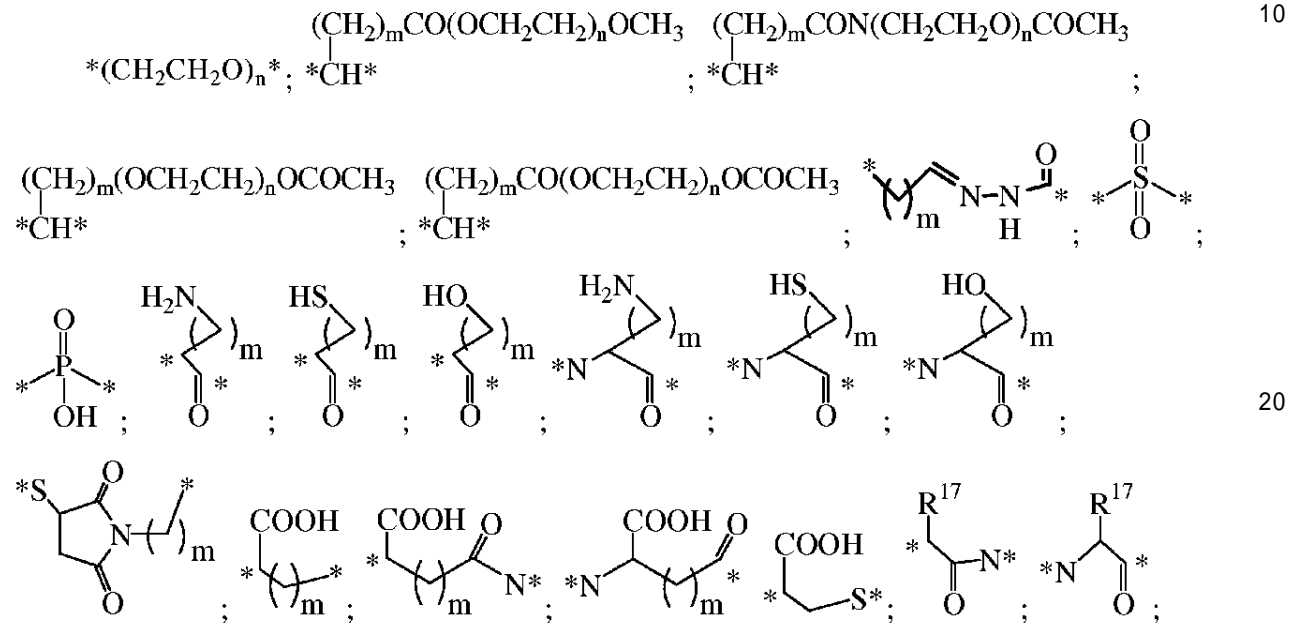
OR¹⁷R¹⁸、PO₂R¹⁷R¹⁸、OPO(OR¹⁷)(OR¹⁸)、OCH₂PO(OR¹⁷)(OR¹⁸)またはグリコシドであり、なお、R¹⁷及びR¹⁸は、H、C₁-C₈アルキル、C₂-C₈アルキレン基、アルキニル、ヘテロアルキル、C₃-C₈アリール基、ヘテロ環基、炭素環式基、シクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、アルキルカルボニル、または薬学的に許容されるカチオン塩である。

【0148】

非自己破壊型スペーサのいくつかの具体例は、下記のとおりである。

【0149】

【化48】

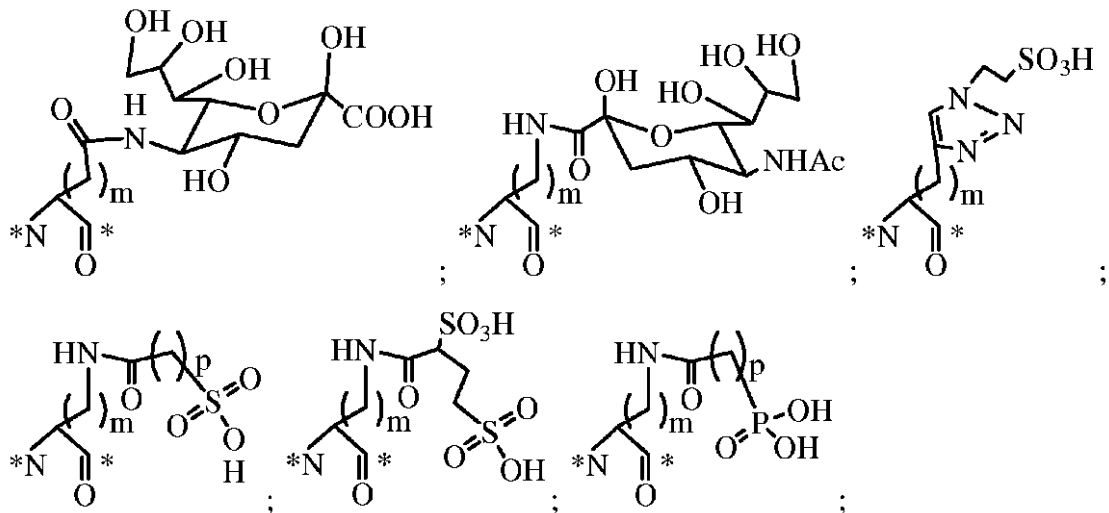


10

20

[illegible]

【化50】



10

【0150】

そのうち、(*)でマークされた原子はスペーサ、解離可能なリンカー、抗有糸分裂剤又は細胞結合体のアクセスポイントである。Qは前述どおり、mは1~10、nは1~20である。

【0151】

20

細胞結合体Tは、ターゲット細胞上の、治療又は変性に用いられる断片と結合・錯体形成・反応しうる任意の既知の一つの分子であってもよい。特定のターゲット細胞との作用により、細胞結合体は、抗有糸分裂剤をこのようなターゲット細胞に伝達する働きをしている。

【0152】

細胞結合体は、高分子量タンパク質、例えば、抗体全体（ポリクローナルまたはモノクローナル）；一本鎖抗体；抗体断片、例えば、Fab, Fab', F(ab')₂, Fv [Parham, J. Immunol. 131, 2895-2902 (1983)]、Fab発現ライブラリによって生じた断片、抗イディオタイプの抗体 (anti-Id)、CDR's、癌細胞のエピトープ、ウイルスのエピトープまたは微生物のエピトープに特異的に結合し得る任意の前記物の断片；インターフェロン (I, II, III型)；ポリペプチド；リンホカイン、例えば、IL-2、IL-3、IL-4、IL-6、GM-CSF、またはIFN- γ ；ホルモン、例えば、インスリン、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (TRH)、メラニン細胞刺激ホルモン (MSH)、アンドロゲン、エストロゲン、またはメラニン細胞刺激ホルモン (MSH) というステロイド・ホルモン；成長因子およびコロニー刺激因子、例えば、上皮成長因子 (EGF)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF)；トランスフォーミング増殖因子 (TGF)、例えば、TGF α , TGF β ；インスリンおよびインスリン様成長因子 (IGF-I, IGF-II) G-CSF, M-CSF及びGM-CSF [Burgess, Immunology Today, 5, 155-158 (1984)]など；ワクチン増殖因子 (VGF)；線維芽細胞増殖因子 (FGF)；小分子量のタンパク質、ポリペプチド、ペプチドおよびペプチドホルモン、例えば、ボンベシン、ガストリンおよびガストリン放出ペプチド；血小板由来増殖因子；インターロイキンおよびサイトカイン、例えば、インターロイキン-2 (IL-2)、インターロイキン-6 (IL-6)、白血病阻害因子、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) 及び、葉酸のようなビタミン；アポタンパク質および糖タンパク質、例えば、トランスフェリン [O'Keefe et al, J. Bio. Chem. 260, 932-927 (1985)]；糖結合タンパク質又はリポタンパク、例えば、レクチン；細胞の栄養伝達分子；および小分子阻害剤、例えば、前立腺特異的膜抗原 (PSMA) の阻害剤、小分子チロシナーゼ阻害剤 (TKI)、非ペプチド、または他の細胞結合分子または物質、例えば、生体活性ポリマー (Dhar, et al, Proc. Natl. Acad. Sci. 2008, 105, 17356-61

30

40

50

)、デンドリマー (Lee, et al, Nat. Biotechnol. 2005, 23, 1517-26; Almutairi, et al; Proc. Natl. Acad. Sci. 2009, 106, 685-90)、ナノ粒子 (Liong, et al, ACS Nano, 2008, 19, 1309-12; Medarova, et al, Nat. Med. 2007, 13, 372-7; Javier, et al, Bioconjugate Chem. 2008, 19, 1309-12)、リポソーム (Medinai, et al, Curr. Phar. Des. 2004, 10, 2981-9)、ウイルスキャプ (Flenniken, et al, Viruses Nanotechnol. 2009, 327, 71-93) を含むが、これらに限定されない。一般的に、適当なモノクローナル抗体があると、モノクローナル抗体は最も好ましい細胞結合体である。

10

【0153】

抗有糸分裂剤と共役結合する前に、二官能基含有架橋剤にて修飾することにより、あらかじめ細胞結合体に特定のポリペプチド、タンパク、薬物分子又は他の機能性分子を接続しておいてもいい。これら二官能基含有架橋剤は、アミン - 非選択的官能性架橋剤 (スクシンイミド (NHS) - 二室素環プロピレン (SDA)、スクシンイミジルエステル - アジド)、アミン - スルフヒドリル架橋剤 (NHSエステル - ママレイミド、NHSエステル - ピリジンジメルカプト、NHSエステル - ハロアセチル)、メルカプト - 砂糖架橋剤 (マレイミド - ヒドラジド、ピリジンジメルカプト - ヒドラジド)、ヒドロキシ - メルカプト架橋剤 (イソシアネート - マレイミド)、アミン - DNA 架橋剤 (NHSエステル/ソラレン) およびアミン - カルボキシ架橋剤 (カルボジイミド) などであってもよい。

20

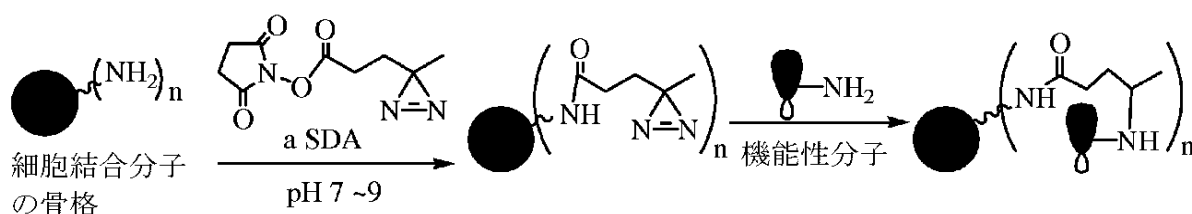
【0154】

スクシンイミド (NHS) - 二室素環プロピレン (SDA) 架橋剤による修飾方法では、架橋剤における NHS エステルはまず、細胞結合体骨格上のアミン基と反応することで (pH 6 ~ 9 の緩衝溶液で)、安定のアミド結合を形成し、その後、波長 330 ~ 370 nm の長波に曝して、SDA が活性化され、カルベン反応性中間体を生成することができる。当該中間体の特異性ポリペプチド、タンパク又は他の機能性分子上のアミン基と反応した後、接続が完了する。この二段階の順序は下記のとおり変えることもできる。まず、機能性分子上のアミン及び架橋剤上の NHS エステルを反応させた後、光 (330 ~ 370 nm) に曝して、細胞結合体と化学反応を行う。スクシンイミド (NHS) - 二室素環プロピレン (SDA) 架橋剤も解離可能なものである (分子内にジスルフィド結合が存在する SDA D 架橋剤と一緒に)。

30

【0155】

【化51】



40

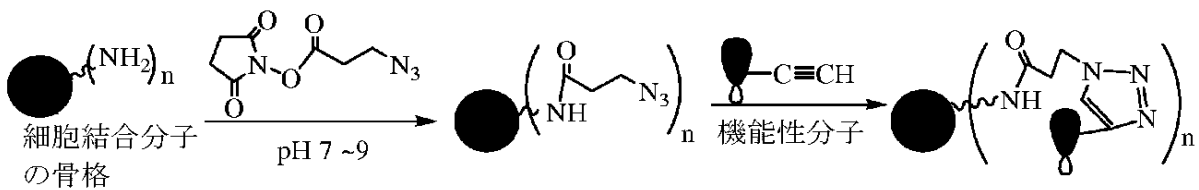
【0156】

NHS のエステル - アジド架橋剤による修飾方法では、架橋剤における NHS エステルはまず、細胞結合体骨格上のアミン基と反応させることで (pH 6 ~ 9 の緩衝溶液で)、安定のアミド結合を形成し、その後、Huisgen アジド - アルキンリング付加反応によって、特定のポリペプチド、タンパク質または他の機能性分子アルキニルと架橋剤のもう一つの末端のアジドを反応させ、1,2,3-トリアゾールリンカーを形成することができる。また、この架橋剤の NHS エステルは機能性分子上のアミンと安定のアミド結合を形成し (pH 6 ~ 9 の緩衝溶液で)、その後、結合体上のアルキニルを架橋剤のもう一つの末端のアジドと Huisgen アジド - アルキンリング付加反応を行うことにより、1,2,3-トリアゾールリンカーを形成することもできる。

50

【 0 1 5 7 】

【 化 5 2 】

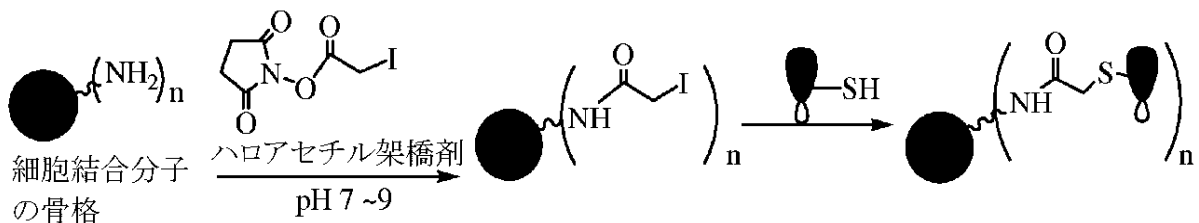


【 0 1 5 8 】

アミンメルカプト架橋剤による修飾方法では、架橋剤におけるNHSエステルはまず、細胞結合体骨格上のアミン基と反応させて（pH 6 ~ 9の緩衝溶液で）、安定のアミド結合を形成し、その後、pH 4.5 ~ 8.5の条件下で、特定のポリペプチド、タンパク質または他の機能性分子のメルカプトと架橋剤のもう一つの末端のマレイミド、ピリジリジチオールまたはハロアセチルを反応させ、チオエーテルまたはジスルフィド結合を形成することができる。この架橋反応の順序は場合に応じて変えることができる。例えば、機能性分子におけるアミノ基はまず、架橋剤と反応させてアミド結合を形成し、その後、細胞結合体上のメルカプトと反応させることもできる。また、例えば、pH 4.5 ~ 7の条件下で、機能性分子上のメルカプトはまず、架橋剤と反応させてチオエーテルまたはジスルフィド結合を形成し、その後、pH 6 ~ 9の条件下で、細胞結合体上のアミノ基と反応させてアミド結合を形成することができる。

【 0 1 5 9 】

【 化 5 3 】

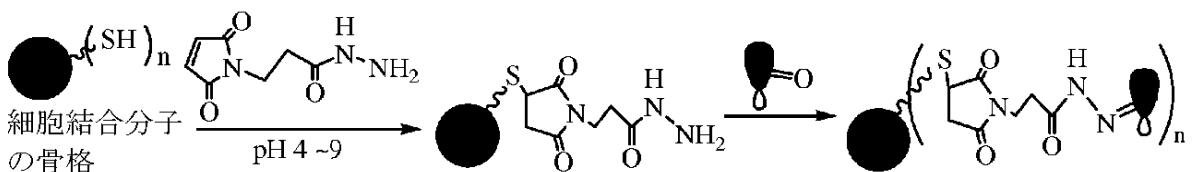


【 0 1 6 0 】

メルカプト糖架橋剤による修飾方法では、pH 4.5 ~ 8の条件下で、細胞結合体におけるメルカプトが架橋剤におけるマレイミドまたはピリジンジメルカプトと反応させてチオエーテルまたはジスルフィド結合を生成して、その後、機能性分子におけるカルボニル（アルデヒドまたはケトン）がさらにヒドラジドと反応させてヒドラゾン結合を形成することができる。これ以外に、pH 4.5 ~ 8の条件下で、機能性分子におけるメルカプトが架橋剤と反応させてチオエーテルまたはジスルフィド結合を生成して、その後、細胞結合体における糖、酸化糖またはカルボニル（アルデヒドまたはケトン）と反応させてヒドラゾン結合を形成することができる。

【 0 1 6 1 】

【 化 5 4 】



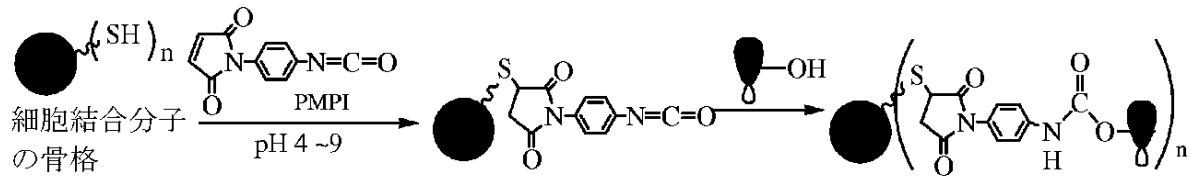
【 0 1 6 2 】

水酸基メルカプト架橋剤による修飾方法では、pH 6 ~ 8の条件下で、細胞結合体上のメルカプトがまず、架橋剤におけるマレイミドまたはピリジンジメルカプトと反応させてチオエーテルまたはジスルフィド結合を生成、その後、pH 8 ~ 9の条件下で、機能性分子における水酸基と架橋剤におけるイソシアネートを反応させて、カルバミン酸エステ

ルを生成することができる。また、機能性分子におけるメルカプトはまず、pH 6 ~ 8 の条件下で、架橋剤と反応させてチオエーテルまたはジスルフィド結合を生成して、その後、pH 8 ~ 9 の条件下で、細胞結合体上の水酸基と反応させて、カルバミン酸エステルを生成することができる。

【0163】

【化55】



10

【0164】

本発明の別の態様は、抗体の産生である。そのうち、*in vivo*、*in vitro*での生成プロセスまたはプロセスの組み合わせを含む。抗受容体ペプチドポリクローナル抗体の調製方法は周知である。例えば、米国特許番号4,493,795(Nestor等)がある。モノクローナル抗体を調製するための典型な方法は、特定の抗原免疫化マウスから単離したマウス脾臓細胞と骨髓腫細胞を融合させる方法である(Kohler, G; Milstein, C. 1975. Nature 256:495-497)。詳しい操作プロセスに関して、Antibodies - A Laboratory Manual, Harlow and Lane, eds., cold spring harbor laboratory press, new York(1988)を参照する。当該方法は本願で引用するために文献に援用されている。特に、目的抗原でマウス、ラット、ハムスター、または他の哺乳動物を免疫させる方法により、特殊なモノクローナル抗体を獲得することができる。そのうち、目的抗原は、無傷の細胞、細胞から単離された抗原、全ウイルス、弱体化した全ウイルス及びウイルスタンパク質を含む。PEG 6000を用いて脾臓細胞とミエロマ細胞を融合させる。融合後得られたハイブリドーマについて、HATに対する感度を利用して、スクリーニングする。ハイブリドーマ細胞により生じたモノクローナル抗体は、特定の標的細胞受容体との免疫反応又は受容体活性の抑制を行う。これは本願発明の実施において有用である。

20

【0165】

融合後得られたモノクローナルハイブリドーマ細胞は特定の抗原に対する抗体を分泌することができる。現在、発明に用いるモノクローナル抗体は、栄養豊富な培地でモノクローナルハイブリドーマ細胞を培養することによって、抗体を豊かにする。培養条件は、生じた抗体をハイブリドーマ細胞が培養培地中に分泌するのに十分な時間があることを確保する必要がある。抗体含有培地の上澄みを収集した後、よく知られている技術により抗体を精製する。単離する方法は、プロテインAアフィニティークロマトグラフィー、陰イオン交換クロマトグラフィー、陽イオン交換クロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、及び分子篩クロマトグラフィー(特に抗原架橋プロテインAを用いたアフィニティークロマトグラフィー及び分子篩クロマトグラフィーはよく用いられている)、遠心分離、沈殿法又は他の標準的な精製方法を含む。

40

【0166】

ハイブリドーマ培養に必要な培地及び人工合成培地は技術合成又は商業ルートを介して獲得することができる。そのうち、典型的な人工合成培地は、DMEM(DulbeccoなどVirrol 8:396(1959))に、4.5mg/Lのグルコース、20mMのグルタミン、20%のFBS及び消泡剤(例えばポリオキシエチレンポリオキシプロピレン共重合体)を加えたものである。

【0167】

細胞融合技術以外、下記の方法も抗体を生成するための細胞株を構築し得る。たとえば、腫瘍の免疫原性DNAをBリンパ球に直接にトランスフェクションする方法、又は、発癌性ウイルス遺伝子(例えば、HHV-4としても知られているEBVまたはKSHV)

50

をBリンパ球に導入する方法がある（詳しくは、米国特許番号4341761；4399121；4427783；4444887；4451570；4466917；4472500；4491632；4493890を参照）。モノクローナル抗体は、抗受容体ポリペプチド、または末端カルボキシル基含有ポリペプチドにより調製することができる（詳しくは、Niman等Proc.Natl.Acad.Sci.USA,80:4949-4953(1983);Geysen等Proc.Natl.Acad.Sci.USA,82:178-182(1985);Lei等Biochemistry34(20):6675-6688(1995)を参照）。通常、抗受容体ポリペプチドまたはポリペプチド類似体は、モノクローナル抗体の抗受容体ポリペプチドを調製するための免疫原として、単独で、または架橋免疫原性担体に使用することができる。

10

【0168】

本発明では、結合分子の抗体としては、他の常用の製造方法もある。そのうち、特に注目されたのは、完全ヒト抗体の製造方法である。ファージディスプレイ技術は、親和性選択によって完全ヒト抗体ライブラリーから、既知の抗原に特異的結合する完全ヒト抗体を得られる。文献には、ファージディスプレイ技術そのもの、ベクトルの構築、及びライブラリーのスクリーニングについて詳しい記載がある。詳しくは、Dente等Gene.148(1):7-13(1994);Little等Biotechnol Adv.12(3):539-55(1994);Clackson等Nature352:264-628(1991);Huse等Science246:1275-1281(1989)を参照する。

20

【0169】

ハイブリドーマ技術を用いて他の種（例：マウス）によって得られたモノクローナル抗体について、ヒト化する変性の必要がある。変性された抗体は、人体に対する異種抗体の免疫副作用を大幅に低減することができる。そのうち、抗体のヒト化に関してよく知られている方法は、相補性決定領域の移植及びリモデリングである。詳しくは、米国特許番号5859205及び6797492;Liu等,Immunol Rev.222:9-27(2008);Almagro等,Front Biosci.1;13:1619-33(2008);Lazar等Mol Immunol.44(8):1986-98(2007);Li等Proc.Natl.Acad.Sci.USA.103(10):3557-62(2006)を参照する。前記文献は参考文献として本願に援用されている。完全ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリン軽鎖および重鎖を大量に保有するトランスジェニックマウス、ウサギ、サルその他の哺乳動物に対し抗原免疫を行うことにより調製することができる。マウスの例に、Xenomouse(Abgenix,Inc.),HuMab-Mouse(Medarex/BMS),VelociMouse(Regeneron)がある。詳しくは、米国特許番号6596541,6207418,6150584,6111166,6075181,5922545,5661016,5545806,5436149及び5569825を参照する。ヒトの治療の過程では、マウス抗体可変領域遺伝子及びヒト抗体定常領域遺伝子を統合して構築されたキメラ抗体がヒトの体内で産生する反応性は、マウス抗体よりもはるかに低くなる(Kipriyanov等,Mol Biotechnol.26:39-60(2004);Houdebine,Curr Opin Biotechnol.13:625-9(2002))。前記文献は参考文献として本願に援用されている。さらに、抗体可変領域の部位に特異的突然変異誘発をすることで抗体親和性および特異性を向上させることができる(Brannigan等,Nat Rev Mol Cell Biol.3:964-70(2002);Adams等,J Immunol Methods.231:249-60(1999))。抗体の定常領域を部分的に置き換えることで免疫エフェクター細胞との親和性を効果的に促進することによって、細胞毒性効果を増強することができる。

30

40

【0170】

悪性細胞抗原に対する免疫特異的抗体は、商業ルート又はいくつかの常用の技術方法を通して獲得することができ、たとえば、化学合成または組換え発現技術が挙げられる。こ

50

のような抗体のコード遺伝子は同様に、GenBankデータベースまたは他の類似のデータベースといういくつか商業ルート、出版文献、又は常軌のクローニング配列測定法により得られる。

【0171】

抗体以外に、ポリペプチドまたはタンパク質は同様に結合分子として、標的細胞表面の対応する受容体又はエピトープと結合、ブロック、攻撃または他の手段によって相互作用する。これらのペプチドまたはタンパク質がエピトープまたはその対応する受容体に特異的に結合できる限り、それらは免疫グロブリンファミリーに属している必要がない。これらのポリペプチドも、ファージディスプレイ抗体と類似の技術により単離される (Szardenings, J Recept Signal Transduct Res. 2003; 23(4):307-49)。ランダムペプチドライブラリーから得られたペプチド断片は抗体及び抗体断片の応用と類似のものである。ポリペプチドまたはタンパク質分子が、結合分子を介していくつかの巨大分子又は媒体と接続することによってその抗原結合特異性を維持する。これら巨大分子は、アルブミン、ポリマー、リボソーム、ナノ粒子またはデンドリマーを含む。

【0172】

癌、自己免疫疾患および感染性疾患の治療において、抗有糸分裂剤のコンジュゲートのための抗体としては、3F8 (抗GD2抗体)、アバゴボマブ (抗CA-125抗体)、アブシキシマブ (抗CD41抗体 (インテグリン α IIb))、アダリムマブ (抗-TNF- α 抗体)、アダリムマブ (抗-EpCAM抗体、CD326)、アフエリモマブ (抗-TNFの α)、アフツズマブ (抗-CD20抗体)、アラシズマブ ペグオル (Alacizumab pegol) (抗VEGFR2抗体)、ALD518 (抗-IL6抗体)、アレムツズマブ (別名: Campath、マブカムパス (MabCampath)、キャンパス、抗CD52抗体)、アルツモマブ (抗CEA抗体)、アナツモマブ (Anatumomab) (抗-tag-72抗体)、アンルキンズマブ (Anrukizumab) (別名: IMA-638、抗-IL-13抗体)、アポリズマブ (抗-HLA-DR抗体)、アルシツモマブ (抗CEA抗体)、アゼリナタリズマブ (抗-L-セレクチン (CD62L) 抗体)、アトリズマブ (Atlizumab) (別名: トシリズマブ、アクテムラ、RoACTEMRAの、抗-IL-6受容体抗体)、アトロリムマブ (Atrolimumab) (抗アカゲザル因子抗体)、パピネオズマブ (抗- α ミロイド抗体)、バシリキシマブ (バシリキシマブ、antiCD25 (IL-2受容体 鎖) 抗体、Baviインフリキシマブ (抗ホスファチジルセリン抗体)、バヒツシマブ (bavituximab) (別名: LymphoScan、抗-CD22抗体)、ベイリーアダリムマブ (別名: BENLYSTA、LymphoStat-B、抗BAFF抗体)、Benralizumab (抗CD125抗体)、ベルチリムマブ (抗CCL11 (好酸球走化性因子-1) 抗体)、ベシレソマブ (別名: Scintimun、抗CEA - 関連抗原抗体)、ベバシズマブ (別名: アバスチン、抗VEGF-抗体)、ビシロマブ (別名: FibriScint、抗フィブリンII鎖抗体)、ピヴァツツマブ (抗CD44 v6抗体)、ブリナツモマブ (blinatumomab) (別名: BiTE, 抗CD19抗体)、Brentuximab (CAC10、抗-CD30 TNFRSF8抗体)、ブリアキヌマブ (Briakinumab) (抗-IL-12、IL-23抗体)、カナキヌマブ (別名: Ilaris、抗-IL-1抗体)、カンツズマブ (別名: C242、抗CanAg抗体)、カプロマブ (Capromab)、カツマキソマブ (別名: removab、抗EpCAM、抗-CD3抗体)、CC49 (抗-TAG-72抗体)、セデリズマブ (Cedelizumab) (抗CD4抗体)、レーストラスツズマブ (抗体 別名CIMZIA抗TNF- α)、セツキシマブ (別名: エルピタックス、IMC-C225、抗-EGFR抗体)、シタツズマブ (抗-EpCAM抗体)、シクスツムバム (Cixutumumab) (抗-IGF-1抗体)、ケリキシマブ (抗CD4抗体)、スリハツズマブ (Clivatuzumab) (抗MUC1抗体)、コナツムマブ (Conatumumab) (抗-TRAIL-R2抗体)、CR6261 (抗A型インフルエンザ赤血球凝集素抗体)、ダセツズマブ (Dacetuzumab) (抗-CD40抗体)、ダクリズマブ (別名: ダクリズマブ、抗CD25 (IL-2 鎖受容体) 抗体)、ダラツムマブ (Daratumumab) (抗-CD38 (ADPリボースヒドロラーゼ環化) 抗体)、デノスマブ (別名: プロリア、抗RANKL抗体)、デツモマブ抗体に対する (抗B-リンパ腫細胞抗体)、ドルリモマブ、ドリキシズマブ (Dorlixizumab)、エクロメキシマブ (Ecromeximab) (抗-GD3ガングリオシド抗体)、エクリズマブ抗体 (別名: Soliris、抗-C5抗体)、エイバルモノクローナル抗体 (抗エンドトキシン抗体)

、エドレコロマブ（別名：パノレックス、Mab17-1A、抗-EpCAM抗体）、エファリズマブ（別名：ラプティバ（Raptiva）、抗LFA-1（CD11aの）抗体）、イヴ古代モノクローナル抗体（別名：Mycograb、抗Hsp90抗体）、エロツズマブ（Elotuzumab）（抗SLAMF7抗体）、イスラムリモネ（抗IL-6抗体）、エンモノクローナル抗体（抗ICAM-1（CD54）抗体）、エピツモマブ（Epitumomab）（抗エピシアリン抗体）、エブラツズマブ抗体（抗-CD22抗体）、Erlizumab（抗ITGB2（CD18）抗体）、エルツマキシマブ（Ertumaxomab）（別名：Rexomun、抗HER2/neuの、CD3抗体）、エトラシズマブ抗体（別名：Abegrin、抗インテグリン $\alpha_3\beta_1$ ）、エクシビビルマブ抗体（抗B型肝炎表面抗原抗体（HBs抗体））、ファノレスマブ抗体（Fanolesomab）（別名：NeutroSpec、抗CD15抗体）、ファラリモマブ抗体（faralimomab）（抗インターフェロン受容体抗体）、ファルレツズマブ（Farletuzumab）（抗葉酸受容体1抗体）、呼吸器合胞体ウイルスに対するフェルビズマブ（Felvizumab）（抗体）、フェザキヌマブ（Fezakinumab）（抗IL-22抗体）、フィギツムマブ（Figitumumab）（抗IGF-1受容体抗体）、フォントリズマブ（Fontolizumab）（抗IFN- γ 抗体）、フォラビルマブ（Foravirumab）（抗狂犬病ウイルス糖タンパク質抗体）、フレソリムマブ（Fresolimumab）（抗TGF- β 抗体）、ガリキシマブ（Galiximab）（抗CD80抗体）、ガンテネルマブ（Gantenerumab）（抗アミロイド抗体）、ガビリモマブ（Gavilimumab）（抗-CD147（basigin）抗体）、ゲムツズマブ（抗CD33抗体）、ギレンツシキマブ（Girentuximab）（抗炭酸脱水酵素9抗体）、グレムバツムマブ（Glembatumumab）（別名：CR011、抗GPNMB抗体）、ゴリムマブ（別名：SIMPONI、抗TNF- α 抗体）、ゴミリキシマブ（Gomiliximab）（抗CD23（IgEレセプター）抗体）、イバリズマブ（Ibalizumab）（抗CD4抗体）、イブリツモマブ（Ibritumomab）イブリ（抗CD20抗体）、イゴボマブ（Igovomab）抗体（別名：Indimacis-125、抗CA-125抗体）、イムシロマブ（imciromab）（別名：Myoscint、抗心筋ミオシン抗体）、インフリキシマブ（別名：Remicade、抗TNF- α 抗体）、インテツムマブ（Intetumumab）（抗CD51抗体）、イノリモマブ（Inolimomab）抗体（抗CD25（IL-2受容体鎖）抗体）、イノリモマブ（Inotuzumab）（抗CD22抗体）、イピリムマブ（抗CD152抗体）、イラツムマブ（Iratumumab）（抗CD30（TNFRSF8）抗体）、Keliximab（抗CD4抗体）、ラベツズマブ（別名：CEA-ジデ、抗CEA抗体）、Lebrikizumab（抗IL-13抗体）、レマレスマブ（Lemalesomab）（抗NCA-90（顆粒球抗原）抗体）、レルデリムマブ（Lerdelimumab）（抗TGF- β 2抗体）レクサツムマブ（Lexatumumab）抗体（抗TRAIL-R2抗体）、Libivirumab抗体（抗B型肝炎表面抗原-抗体）、リントラスツズマブ（抗CD33抗体）抗体、ルカツムマブ（Lucatumumab）（抗CD40抗体）、ルミリキシマブ（Lumiliximab）（抗CD23（IgEレセプター）抗体）、マバツムマブ（抗TRAIL-R1抗体）、マスリモマブ（Maslimomab）抗体（抗T細胞受容体抗体）、マツズマブ（Matuzumab）抗体（抗-EGFR抗体）、メボリズマブ（別名：Bosatria、抗IL-5抗体）、メテリムマブ（Metelimumab）（抗TGF- β 1抗体）、ミラツズマブ（Milatuzumab）（抗CD74抗体）、ミンレツモマブ（Minretumomab）（抗TAG-72抗体）、ミツモマブ（Mitumomab）抗体（別名BEC-2、抗ガングリオシド抗体-GD3）、モロリムマブ（Morolimubab）（抗アカゲザル因子抗体）、モタビズマブ（Motavizumab）（別名：NUMAX、呼吸器合胞体ウイルスに対する抗体）、ムロモンアンブ（Muromonab）-CD3（別名：OKT3 ORTHOCLONE、抗CD3抗体）、ナコロマブ（Nacolomab）抗体（抗C242抗体）、ナプツモマブ（Naptumomab）抗体（抗5T4抗体）、ナタリズマブ（別名：タイサブリ、抗インテグリン $\alpha_4\beta_1$ 抗体）、ネバクマブ（Nebacumab）抗体（抗エンドトキシン抗体）、ネシツムマブ（Necitumumab）の（抗EGFR抗体）、ネレリモマブ（Nerelimomab）（抗TNF- α 抗体）、ニモツズマブ（別名：Theracim、Theraloc、抗EGFR抗体）、ノフェツモマブ（Nofetumomab）、オクレリズマブ（抗CD20抗体）、オデュリマブ（Afolimumab、抗-LFA-1（CD11a））、オフアツムマブ（別名：Arzerra、抗CD20抗体）、オララツマブ（Olaratumab）（抗PDGF-Rの抗体）、オマリズマブ（Omalizumab）（別名：ゾレア、抗体の抗IgE Fc領域）、オポルツズマブ（Opportuzumab）（抗EpCAM抗体）、オレゴフマブ（Oregovomab）抗体（別名：OvaRex、CA-125抗体）、オテリキシズマブ（Otelixizumab）（抗CD3抗体）、Pagibaximab抗体（抗LTA抗体）、パリビズマブ（別名：シナジス、アブボシナジス（Abbosynagis）、呼吸器合胞体ウイルスに対する抗体）、パニツムマブ（別名

10

20

30

40

50

:ベクティビックス、ABX-EGF、抗-EGFR抗体)、パナバクマブ(Panobacumab)(緑膿菌に対する抗体)、パスコリズマブ(Pascalizumab)(抗IL-4抗体)、ペムツモマブ(Pemtumomab)(別名:Theragyn、抗MUC1抗体)、ペルツズマブ(別名:OMNITARG、2C4、抗HER2/neu抗体)、ペックナタリズマブ(抗C5抗体)、ピンツモマブ(Pintumomab)(抗腺癌抗原抗体)、プリリキシマブ(Priliximab)(抗CD4抗体)、プリツムマブ(pritumumab)(抗ビメンチン抗体)、PRO140(抗CCR5抗体)、ラコツモマブ(racotumomab)(別名:1E10、抗-(N-N-グリコリルノイラミン酸(NeuGc、NGNA)-ガングリオシドGM3)抗体)、ラフィビルマブ(Rafivirumab)(抗狂犬病ウイルス糖タンパク抗体)、ラムシルマブ(Ramucirumab)(抗VEGFR2抗体)、ラニビズマブ(別名:ルセンティス、抗VEGF-A抗体)、ラキシバクマブ(Raxibacumab)(抗炭疽菌毒素、防御抗原抗体)、レガビルマブ(Regavirumab)(抗CMV糖タンパク質B抗体)、レスリズマブ(reslizumab)(抗IL-5抗体)、リロツムマブ(rilotumumab)(抗HGF抗体)、リツキシマブ(別名:MabThera、Rituxanmab、抗CD20抗体)、ロバツムマブ(Robatumumab)(抗IGF-1受容体抗体)、ロンタリズマブ(Rontalizumab)(抗IFN- γ 抗体)、レベリズマブ(roveilizumab)(別名:LeukArrest、抗CD11、CD18抗体)、ルブリズマブ(Ruplizumab)(別名:Antova、抗CD154(CD40L)抗体)、サツモマブ(Satumomab)(抗TAG-72抗体)、セビルマブ(Sevirumab)(抗CMV抗体)、シプロツズマブ(抗FAP抗体)、シファリムマブ(Sifalimumab)(抗IFN- γ 抗体)、シルツキシマブ(Siltuximab)(抗IL-6抗体)、シブリズマブ(抗CD2抗体)、(スマート)MI95(抗CD33抗体)、ソラネツマブ(solanezumab)(抗-Aミロイド抗体)、ソネブシズマブ(Sonepcizumab)(抗スフィンゴシン-1-リン酸抗体)、ソンツズマブ(sontuzumab)(抗エピシヤリン抗体)、スタムルマブ(Stamulumab)(抗ミオスタチン抗体)、スレソマブ(sulesomab(別名:LeukoScan、(抗-NCA-90(顆粒球抗原)抗体))、タカツズマブ(Tacatuzumab)(抗-フェトプロテイン抗体)、タドシズマブ(tadocizumab)(抗インテグリン α IIb β 3抗体)、タリズマブ(抗IgE抗体)、タネズマブ(tanezumab)(抗NGF抗体)、タブリツモマブ(taplitumomab)(抗CD19抗体)、テフィバズマブ(Tefibazumab)(別名:Aurexis、抗クランピング因子A抗体)、テリモマブ(telimomab)、テナツモマブ(Tenatumomab)(抗テネイシンC抗体)、テネリキシマブ(teneliximab)(抗CD40抗体)、テブリズマブ(Teplizumab)(抗CD3抗体)、TGN1412(抗CD28抗体)、チシリムマブ(別名:トレメリムマブ(tremelimumab)(抗CTLA-4抗体)、ティガツズマブ(Tigatuzumab)(抗TRAIL-R2抗体)、TNX-650(抗IL-13抗体)、トシリズマブ(別名:Atlizumab、アクテムラ、RoActemra、(抗IL-6受容体抗体)、トラリズマブ(toralizumab)(抗CD154(CD40L)抗体)、トシツモマブ(抗CD20抗体)、トラスツズマブ(ハーセプチン(抗HER2/neu抗体)、トレメリムマブ(tremelimumab)(抗CTLA-4抗体)、ツコツズマブセルモロイキン(Tucotuzumab celmoleukin)(抗EpCAM抗体)、ツビルマブ(tuvirumab)(抗B型肝炎抗体)、ウルトキサズマブ(Urtoxazumab)(大腸菌に対する抗体)、ウステキヌマブ(Ustekinumab)(別名:Stelara、抗IL-12、IL-23抗体)、バパリキシマブ(Vapaliximab)(抗AOC3(VAP-1)抗体)、ベドリズマブ(Vedolizumab)、(抗インテグリン α 4 β 7抗体)、ペルツズマブ(抗CD20抗体)、ベパリモマブ(Vepalimomab)(抗AOC3(VAP-1)抗体)、ビシリズマブ(visilizumab)(別名:Nuvion、抗CD3抗体)、ピタキシシン(抗血管新生インテグリン α v β 3抗体)、ボロシキシマブ(Volociximab)(抗インテグリン α 5 β 1)、ボツムマブ(votumumab)(別名:HumaSPECT、腫瘍抗原に対するCTAA16.88抗体)、ザルツムマブ(別名:HuMax-EGFr、(抗EGFR抗体)、ザノリムマブ(別名:HuMax-CD4、抗CD4抗体)、ジラリムマブ(ziralimumab)(抗CD147(基本免疫グロブリン)抗体)、ゾリモマブ(zolimomab)(抗CD5抗体)、エタネルセプト(エンブレルR)、アレファセプト(Alefcept)(AmeviveR)、アバタセプト(オレンシアR)、リロナセプト(Rilonacept)(Arcalyst)、14F7[抗IRP-2(鉄調節タンパク質

10

20

30

40

50

2) 抗体]、Nat. Cancer Instから黒色腫および固形腫瘍治療のための14G2a(抗ガングリオシドGD2抗体)、前立腺癌を治療するためJ591(抗PSMA抗体、ワイルコーネル医科大学)、225.28S[抗HMW-MAA(高分子量黒色腫関連抗原)抗体、ソリンRadiofarmaci SRL(ミラノ、イタリア)黒色腫の治療における]、COL-1(Nat. Cancer Instから、大腸の治療癌および胃癌治療のための抗CEACAM3抗体、CGM1、)、CYT-356(OncolttadR、前立腺癌の治療)、HNK20(OraVax会社から呼吸器合胞体ウイルスの治療のために)、ImmuRAIT(IMMUNOMEDICS処理から非ホジキンリンパ腫の治療のため)、Lym-1(抗HLA-DR10抗体、腫瘍治療のためのペレグリン薬物(Peregrine Pharm))、MAK-195F(敗血症、毒素ショックの治療のためのAbbott/Knollから抗TNF抗体(腫瘍壊死因子、TNFA、腫瘍壊死因子-、TNFSF2))、MEDI-500[別名:T10B9、抗CD3抗体、TR (T細胞受容体 /)、メディミュン社から移植片対宿主病の治療のための複合材料]、RING SCAN[Neoprobe社から乳癌、結腸癌および結腸直腸癌の治療のための抗TAG72(72腫瘍関連糖タンパク質抗体)]、Avicidin(抗-EPCAM抗体(上皮細胞接着分子)、抗TACSTD1抗体(腫瘍関連カルシウムシグナル伝達1)、抗GA733-2(胃腸腫瘍関連タンパク質2)、抗EGP-2抗体(上皮糖タンパク質2))、抗KSA抗体、KS1/4抗原、M4S、腫瘍抗原17-1A、結腸癌、卵巣癌、前立腺癌、および非ホジキンリンパ腫の治療のためのNeoRx社からCD326; LYMPHOCIDE(IMMUNOMEDICS社、NJ)、スマートID10(Protein Design Labs)、Oncolym(Tecnichlone社、カリフォルニア州)、Allomune(BioTransplant、CA)、抗VEGF抗体(ジェネンテック社、CA); CEAcide(IMMUNOMEDICS社、NJ)、IMC-1C11(イムクロン、NJ)およびセツキシマブ(インクローン会社、ニュージャージー州)を含むが、これらに限定

10

20

【0173】

抗原と結合するためのほかの抗体としては、アミノペプチダーゼN(CD13)、アネキシンA1、B7-H3(CD276、さまざまな癌)、CA125、CA15-3(がんしゅ)、CA19-9(がんしゅ)、L6(がんしゅ)、ルイスY(がんしゅ)、ルイスX(がんしゅ)、-フェトプロテイン(がんしゅ)、CA242、胎盤アルカリホスファターゼ(がんしゅ)、前立腺特異抗原(前立腺)、前立腺酸性ホスファターゼ(前立腺)、上皮成長因子(がんしゅ)、CD2(ホジキン病、NHLリンパ腫、多発性骨髄腫)、のCD3(T細胞リンパ腫、肺癌、乳癌、胃癌、卵巣癌、自己免疫疾患、悪性腹水)、CD19(B細胞悪性腫瘍)、CD20(NHL)、CD22(白血病、リンパ腫、多発性骨髄腫、全身性エリテマトーデス)、CD30、CD33、CD38(多発性骨髄腫)、CD40(リンパ腫、多発性骨髄腫、白血病)、CD51(転移性黒色腫、肉腫)、CD52、CD56(小細胞肺癌、卵巣癌、メルケル細胞癌、および液性腫瘍、多発性骨髄腫)、CD66e(癌)、CD70(転移性腎細胞癌および非ホジキンリンパ腫瘍)、CD74(多発性骨髄腫)、CD80(リンパ腫)、CD98(癌)、ムチン(がんしゅ)、CD221(固形腫瘍)、CD227(乳癌、卵巣癌)、CD262(非小細胞肺癌および他の癌)、CD309(卵巣癌)、CD326(固形腫瘍)、CEACAM3(結腸直腸癌、胃癌)、CEACAM5(癌胎児性抗原、CEA、CD66e)(乳癌、結腸直腸癌および肺癌)、DLL4(-like-4)、EGFR(上皮成長因子受容体、種々の癌)、CTLA4(黒色腫)、CXCR4(CD184、ヘルペス腫瘍、固形腫瘍)、エンドグリン(CD105、固形腫瘍)、EPCAM(上皮細胞接着分子、膀胱、頭部、頸部、結腸癌、NHL前立腺癌、および卵巣癌)、ERBB2(上皮成長因子受容体2;肺癌、乳癌、前立腺癌)、FCGR1(自己免疫疾患)、FOLR(葉酸受容体、卵巣癌)、GD2ガングリオシド(癌)、G-28(細胞表面抗原糖脂質、黒色腫)、イディオタイプGD3(癌)、熱ショックタンパク質(癌)、HER1(肺癌、胃癌)、HER2(乳癌、肺癌および卵巣癌)、HLA-DR10(NHL)、HLA-DRB(NHL、B細胞白血病)、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(がんしゅ)、IGF1R(インスリン様成長因子-1受容体、固形腫瘍、血液癌)、IL-2受容体(インターロイキン-2受容体、T細胞白血病およびリンパ腫)、IL-6R(インターロイキン6受容体、多発性骨髄腫、RA、キャッスルマン病、IL6依存性腫瘍)、インテグリン(V₃、5₁、6₄、11₃、5₅、V₅様々な癌)、MAGE-1(がんしゅ)、MAGE-2(がんしゅ)、MAGE-3(がんしゅ)、MAGE-4(がんしゅ)、抗トランスフェリン受容体(がんしゅ)、P97(黒色腫)、MS4A1(膜貫通ドメイン4亜科Aメンバー、非ホジキンB細胞リンパ腫、白血病)、MUC1またはMUC1-KLH(乳癌、

30

40

50

卵巣癌、子宮頸癌、気管支および胃腸癌)、MUC16(CA125)(卵巣癌)、CEA(結腸)、g
 p100(黒色腫)、MART1(黒色腫)、MPG(黒色腫)、MS4A1(膜貫通ドメイン4亜科A、小
 細胞肺癌、NHL)、核小体、神経癌遺伝子産物(がんしゅ)、P21(がんしゅ)、抗(N-ヒ
 ドロキシアセチルノイラミン酸、乳癌、黒色腫癌)、PLAP様精巣アルカリホスファターゼ
 (卵巣癌、精巣癌)、PSMA(前立腺癌)、PSA(前立腺)、ROBO4、TAG72(腫瘍関連糖タ
 ンパク質72、白血病(AML)、胃癌、結腸直腸癌、卵巣癌)、T細胞の膜貫通タンパク質(癌
)、タイ(CD202b)、TNFRSF10B(腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー10B、
 癌)、TNFRSF13B(腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーメンバー13B、多発性骨髄腫、
 NHL、他の癌、RAおよびSLE)、TPBG(栄養膜糖タンパク質、腎細胞癌)、TRAIL-R1(TNF
 関連アポトーシスリガンド受容体1、リンパ腫、NHL、結腸直腸癌、肺癌)、VCAM-1(CD10
 6、黒色腫)、VEGF、VEGF-A、VEGF-2(CD309)(種々の癌)を含むが、これらに限定
 されない。抗体により識別されたほかの腫瘍関連抗原は開示されている(Gerber等, mAbs
 1:3, 247-253(2009); Novellino等, cancer immunol immunother. 54(3),
 187-207(2005) Franke等, cancer biother radiopharm. 2000, 15, 459-76
)。ほかの多くの抗原としては、その他の異なるクラスタ(CD4、CD5、CD6、CD7
 、CD8、CD9、CD10、CD11a、CD11b、CD11c、CD12w、CD14、CD15、CD16
 、CDw17、CD18、CD21、CD23、CD24、CD25、CD26、CD27、CD28、CD29、
 CD31、CD32、CD34、CD35、CD36、CD37、CD41、CD42、CD43、CD44、C
 D45、CD46、CD47、CD48、CD49b、CD49c、CD53、CD54、CD55、CD58、
 CD59、CD61、CD62E、CD62L、CD62P、CD63、CD68、CD69、CD71、CD72
 、CD79、CD79a、CD79b、CD81、CD82、CD83、CD86、CD87、CD88、CD89、
 CD90、CD91、CD95、CD96、CD100、CD103、CD105、CD106、CD109、CD117
 、CD120、CD127、CD133、CD134、CD135、CD138、CD141、CD142、CD143
 、CD144、CD147、CD151、CD152、CD154、CD156、CD158、CD163、CD16
 6、CD168、CD184、CDw186、CD195、CD202(a、b)、CD209、CD235a、
 CD271、CD303、CD304)、Apo2、ASLG659、BMPRII(骨形成タンパク質受容体)、CRIP
 TO、アネキシンA1、核小体、エンドグリン(CD105)、ROBO4、アミノペプチダーゼN、
 様4(DLL4)、VEGFR-2(CD309)、CXCR4 9CD184)、Tie2、B7-H3、WT1、MUC1、LMP2、HP
 V E6 E7、EGFRvIII、HER-2/neu、イディオタイプ、MAGE A3、P53非変異体、NY-ESO-1、GD
 2、CEA、MelanA/MART1、Napi3b(NAPI-3B、NPTIIB、SLC34A2、溶質キャリアファミリー-34
 、メンバー2、II型ナトリウム依存性リン酸トランスポーター3b)、ras変異体、gp100、p
 53変異体、プロテインナーゼ3(PR1)、bcr-abl、奇形由来増殖因子)、EphA受容体、EphB
 受容体、EGFr、EGFRvIII、ETBR(エンドセリン)、HER2/neu、HER3、HLA-DOB(MHC II分
 子IA抗原)、インテグリン、IRTA2、MPF(MPF、MSLN、SMR、巨核球強化因子、メソセリン
)、cripto、Sema 5b(FLJ10372、KIAA1445、Mm42015、SEMA5B、5EMAG、セマフォリン5 b
 Hlog、sdemaドメイン、7血小板繰り返し配列、細胞質ドメイン)、PSCA、STEAP1(前立腺
 の6膜貫通上皮抗原)、及びSTEAP2(HGNC8639、IPCA-1、PCANP1、STAMP1、STEAP2、STM
 P、前立腺)チロシナーゼ、サバイピン、hTERT、肉腫転座切断点、EphA2、PAP、ML-IAP、
 AFP、EpCAM、ERG(TMPSR2 ETS融合遺伝子)、NA17、PAX3、ALK、アンドロゲン受容体、
 サイクリンB1、ポリシアル酸、MYCN、RhoC、TRP-2、GD3、フコースGM1、メソテリン、PSC
 A、MAGE A1、sLe(a)、CYP1B1、PLAC1、GM3、BORIS、Tn、GloboH、ETV6-AML、NY-BR-1
 、RGS5、SART3、STn、炭酸脱水酵素IX、PAX5、OY-TES1、精子タンパク質17、LCK、HMMWAA
 、AKAP-4、SSX2、XAGE1、B7H3、レグマイン(legumain)、ネクタイ2、ページ
 4(Page4)、VEGFR2、MAD-CT-1、FAP、PDGFR-、MAD-CT-2、Fos蛋白関連抗原1がある。

【0174】

異なる組合せや方法によって本発明における抗有糸分裂分子-結合分子の共役体(コン
 ジュゲート物)ががん治療に適用することができる。これら癌としては、副腎皮質癌、肛
 門癌、膀胱癌、脳腫瘍(成人、脳幹グリオーマ、子供、小脳星状細胞腫、脳星状細胞腫、
 上衣腫、髄芽腫、テント上原始神経外胚葉性および松果体腫瘍、視覚路および視床下部膠
 腫)、乳癌、カルチノイド腫瘍、胃腸、原発不明がんしゅ、子宮頸がんしゅ、大腸がんし

10

20

30

40

50

ゆ、子宮内膜癌、食道癌、肝外胆管癌、ユーイング・ファミリー腫瘍（PNET）、頭蓋外悪性胚細胞腫瘍、眼癌、眼内黒色腫、胆嚢癌、胃癌（胃）、胚細胞腫瘍、性腺外、妊娠栄養膜腫瘍、頭頸部癌、下咽頭癌、膵島細胞がんしゅ、腎臓癌（腎細胞癌）、喉頭がんしゅ、白血病（急性リンパ芽球性、急性骨髄性、慢性リンパ性、慢性骨髄性、毛様細胞）、口唇および口腔癌、肝臓癌、肺癌（非小細胞、小細胞、リンパ腫（AIDS関連、中枢神経系、皮膚T細胞、ホジキン病、非ホジキン病、悪性中皮腫、黒色腫、メルケル細胞がんしゅ、原発不明の転移性扁平首癌、多発性骨髄腫及びその他の形質細胞腫瘍、菌状息肉腫、骨髄異形成症候群、骨髄増殖症候群、鼻咽頭癌、神経芽細胞腫、口腔癌、咽頭癌、骨肉腫、卵巣癌（上皮、生殖細胞腫瘍、低悪性ポテンシャル腫瘍）、膵臓癌（外分泌腺、膵島細胞癌）、副鼻腔および鼻腔癌、副甲状腺癌、陰茎癌、褐色細胞腫瘍、下垂体癌、形質細胞腫、前立腺癌、横紋筋肉腫、直腸癌、腎細胞癌（腎癌）、腎盂及び尿管（移行細胞）、唾液腺癌、セザリー症候群、皮膚癌、皮膚癌（皮膚様T細胞リンパ腫、カボジ肉腫、黒色腫）、小腸癌、軟部組織肉腫、胃癌、精巣癌、胸腺腫（悪性）、甲状腺癌、尿道癌、子宮癌（肉腫）、子供の異常な癌、膣癌、外陰癌、ウィルムス腫瘍を含むが、これらに限定されない。

【0175】

異なる組合せや方法によって本発明における抗有糸分裂分子 - 結合分子の共役体（コンジュゲート物）が自己免疫疾患の予防および治療に適用することができる。自己免疫疾患としては、自身免疫性胃酸缺乏慢性活動性肝炎、急性散在性脳脊髄炎、急性出血性白質脳炎、アジソン病、無ガンマグロブリン血症、円形脱毛症、筋萎縮性側索硬化症、強直性脊椎炎、アンチ糸球体基底膜/管状の基底膜腎炎、抗リン脂質症候群、抗シンセターゼ症候群、関節炎、アトピー性アレルギー、アトピー性皮膚炎、自己免疫性再生不良性貧血、自己免疫性心筋症、自己免疫性溶血性貧血、自己免疫性肝炎、自己免疫性内耳疾患、自己免疫性リンパ球増殖症候群、自己免疫性末梢神経系疾患、自己免疫性膵炎、複数の自己免疫性内分泌障害I、II、III型、自己免疫性プロゲステロン皮膚炎、自己免疫性血小板減少性紫斑病、自己免疫性ブドウ膜炎、バーロー病/バーロー同心性硬化症、ベーチェット病、Berger病、Bickerstaffの脳炎、Blau症候群、水疱性類天疱瘡、キャッスルマン病、シャーガス病、慢性疲労性免疫機能障害症候群、慢性炎症性脱髄性多発神経障害、慢性再発性多病巣性骨髄炎、慢性ライム病、慢性閉塞性肺疾患、アレルギー性肉芽腫性血管炎、癰痕性類天疱瘡、セリアック病、コーガン症候群、寒冷凝集素症、補体成分C2欠損症、頭部動脈炎、クレスト症候群、クローン病（特発性炎症性腸疾患）、クッシング症候群、皮膚白血球破碎性血管炎、悪性萎縮性丘疹症、有痛脂肪症、疱疹状皮膚炎、皮膚筋炎、1型糖尿病、びまん性皮膚強皮症、心筋梗塞症、円板状紅斑性狼瘡、湿疹、子宮内膜症、付着部炎関連関節炎、好酸球性筋膜炎、後天性表皮水疱症、結節性紅斑、特発性混合クリオグロブリン血症、エバンス症候群、進行性骨化性線維形成異常症、線維筋痛症、線維筋炎、線維化性肺胞隔炎、胃炎、消化管類天疱瘡、巨細胞性動脈炎、腎球体腎炎、グッドパスチャー症候群、バセドウ病、ギラン・バレー症候群、橋本脳症、橋本甲状腺炎、溶血性貧血、アレルギー性紫斑病、妊娠性疱疹、化膿性汗腺炎、ヒューズ症候群（抗リン脂質抗体症候群）、低ガンマグロブリン血症、特発性炎症性脱髄疾患、特発性肺線維症、特発性血小板減少性紫斑病（自己免疫性血小板減少性紫斑病）、IgA腎症（Berger病）、封入体筋炎、炎症性脱髄性多発性神経障害、間質性膀胱炎、過敏性腸症候群、若年性特発性関節炎、若年性関節リウマチ、皮膚粘膜リンパ節症候群、ランバート・イートン筋無力症候群、白血球破壊性血管炎、扁平苔癬、硬化性苔癬、リニアIgAの疾患（LAD）、ルー・ゲーリック病（筋萎縮性側索硬化症）、狼瘡様肝炎、紅斑性狼瘡、ブラウ症候群、メニエール病、顕微鏡的多発血管炎、ミラー・フィッシャー症候群、混合結合組織病、強皮症、ミュシャ・ヤコブ病、マックル・ウェルズ症候群、多発性骨髄腫、多発性硬化症、重症筋無力症、筋炎、ナルコレプシー、視神経脊髄炎（デビック病）、神経性筋、眼癰痕性類天疱瘡、オプソクローヌス・ミオクローヌス症候群、オード甲状腺炎、回帰性リウマチ、パンダ症候群（合併連鎖球菌感染症の児童自己免疫神経精神障害）、腫瘍小脳変性症、発作性夜間血色素尿症、進行性半側顔面萎縮、パキスタン・ジョージア症候群、扁平部炎症、天疱瘡、尋常性天疱瘡、悪性貧血、静脈周囲性脳脊髄炎、POEMS症候群、結節性多発動脈炎、リウマ

10

20

30

40

50

チ性多発筋痛、多発性筋炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎、進行性炎症性神経障害、乾癬、乾癬性関節炎、壊疽性膿皮症、純赤血球無形成性貧血、ラスムッセン脳炎、レイノー病、再発性多発性軟骨炎、ライター症候群、下肢静止不能症候群、後腹膜線維症、関節リウマチ、リウマチ熱、サルコイドーシス、統合失調症、シュミット症候群、シュニッツラー症候群、強膜炎、強皮症、シェーグレン症候群、脊椎関節症、粘着性血症候群、スティル病、スティッフマン症候群はだ、亜急性細菌性心内膜炎、スザック症候群、急性熱性好中球皮膚病、シデナム舞踏病、交感性眼炎、高安動脈炎、側頭動脈炎（巨細胞性動脈炎）、トロサ・ハント症候群、横断性脊髄炎、潰瘍性大腸炎（特発性炎症性腸疾患）、未分化結合組織病、未分化脊椎関節症、血管炎、白斑、ウェゲナー肉芽腫症、ウィルソン症候群、ブルック・ウェストコット - アルドリッチ症候群を含むが、これらに限定

10

【0176】

もう一つの具体的な実施形態において、自己免疫疾患の治療または予防のための、コンジュゲートのための結合分子としては、抗エラスチン抗体；Abys抗上皮細胞抗体；抗基底膜のIV型コラーゲン蛋白抗体、抗核抗体、抗二本鎖DNA抗体、抗一本鎖DNA抗体、抗カルジオリピン抗体IgM、IgG；抗セリアック抗体；抗リン脂質抗体IgK、IgG；抗SM抗体；抗ミトコンドリア抗体；甲状腺抗体；微粒体抗体、T-細胞抗体、サイログロブリン抗体、抗強皮症-70抗体（anti-SCl-70）；抗ジョー抗体（anti-Jo）、抗U1RNP抗体（Anti-U.sub.1RNP）；抗La/SSB抗体；抗SSA抗体；抗SSB抗体；壁細胞抗体；抗ヒストン抗体；抗RNP抗体；C-ANCA；P-ANCA；抗セントロメア抗体；抗フィブリン抗体、抗GBM抗体、抗

20

【0177】

いくつかの好ましい実施形態において、本願発明中の共役コンジュゲートに用いる結合分子は、自己免疫疾患に関連する活性化リンパ球によって発現された受容体又は受容体複合体と結合することができる。受容体又は受容体複合体は、たとえば、免疫グロブリン遺伝子スーパーファミリーのメンバー（例えば、CD2、CD3、CD4、CD8、CD19、CD22、CD28、CD79、CD90、CD152/CTLA-4、PD-1、又はICOS）、TNF受容体スーパーファミリー（例えば、CD27、CD40、CD95/Fas、CD134/OX40、CD137/4-1BB、INF-R1、TNFR-2、RANK、TACI、BCMA、オステオプロテゲリン、Apo2/TRAIL-R1、TRAIL-R2、TRAIL-R3、TRAIL-R4及び30APO-3）、インテグリンタンパク質、サイトカイン受容体、ケモカイン受容体、主要組織適合性タンパク質、レクチン（C型、S型或I型）、または補体調節たんぱく質が挙げられる。

30

【0178】

もう一つの具体的な実施形態において、ウイルス類抗原または細菌類抗原に対して免疫的特異性を有する有用な結合体はヒト化又はヒトモノクローナル抗体である。本文に用いられている用語の「ウイルス類抗原」には、免疫応答を誘発し得るいかなるウイルスペプチド、ポリペプチドタンパク質（例えば、HIVgp120、HIVnef、RSVF糖タンパク質、インフルエンザウイルスノイラミニダーゼ、インフルエンザウイルス血球凝集素、HTLVtax、単純ヘルペスウイルス糖タンパク質（例えば、gB、gC、gD及びgE）、及びB型肝炎表面抗原）を含むが、これらに限定されない。本文に用いられている用語の「細菌類抗原」には、免疫応答を誘発し得るいかなる微生物ペプチド、ポリペプチド、タンパク質、炭水化物、多糖、脂質分子（例えば、細菌、真菌、病原性原生動物、酵母ポリペプチド（例えば、LPSおよび莢膜多糖5/8など））を含むが、これらに限定されない。ウイルスまたは細菌感染症の治療に有用なI型抗体には、パリピズマブ（RVS感染の治療に用いるヒト抗呼吸器合胞体ウイルスモノクローナル抗体）、PRO542（HIV感染の治療に用いるCD4融合抗体）、Ostavir（B型肝炎ウイルス

40

50

の治療に用いるヒト抗体)、PROTVIR(サイトメガロウイルスの治療に用いるヒト抗体IgG.su.b.1抗体)、アンチリポ多糖(anti-LPS)抗体を含むが、これらに限定されない。

【0179】

本願発明の結合分子-抗有糸分裂剤コンジュゲート物は、感染症の治療に用いられている。これら感染症としては、アシネトバクター感染症、放線菌症、アフリカ睡眠病(アフリカトリパノソーマ症)、エイズ(後天性免疫不全症候群)、アメーバ症、アナプラズマ、炭疽菌、細菌結核感染、溶血秘密アルゼンチン出血熱、回虫症、アスペルギルス症、アストロウイルス感染症、パベシア症、セレウス菌感染症、細菌性肺炎、細菌性膣炎、バクテロイデス感染、バランチジウム症、ベイリー線虫回虫感染症、BKウイルス感染、黒色砂毛、プラストシスホミニス感染症、プラストミセス、ボリビア出血熱、ボレリア感染症、ボツリヌス中毒(および乳児ボツリヌス症)、ブラジル出血熱、ブルセラ症、Bohuoerde結核感染、ブルーリ潰瘍、感染カリシウイルス(ノロウイルス、サボウイルス)、カンピロバクター感染症、カンジダ感染症(カンジダ症、鰐口瘡)、キャット・スクラッチ病、蜂巣炎、シャーガス病(アメリカトリパノソーマ症)、軟下疳、水痘、衣原体、肺炎衣原体感染、霍乱、着色真菌症、肝吸虫病、クロストリジウム・ディフィシル感染症、コクシジオイデス症、コロラドダニ熱、風邪(急性ウイルス性鼻咽頭炎、急性鼻炎)、クロイツフェルト・ヤコブ病、クリミア-コンゴ出血熱、クリプトコッカス、クリプトスポリジウム、皮膚幼虫移行、シクロスポラ感染症、囊虫症、サイトメガロウイルス感染、デング熱、二核アメーバ症、ジフテリア、裂頭条虫症、メジナ虫症、エボラ出血熱、包虫症、エールリヒア症、蟯虫(蟯虫感染症)、腸球菌感染症、エンテロ・ウイルス感染症、発疹チフス、伝染性紅斑(第五病)、子供急性発疹、肥大吸虫病、片吸虫病、致死性家族性不眠症、フィラリア症、ウェルシュ菌によって引き起こされる食中毒、非寄生アメーバ感染症、フゾバクテリウム感染症、ガス壊疽(クロストリジウム筋壊死)、ジオトリクム症、ゲルストマン・ストロイスラー・シャインカー症候群、ランブル鞭毛虫症、鼻疽、顎口虫症、淋病、単径部肉芽腫(ドノヴァン症)、A群連鎖球菌感染症、B群連鎖球菌感染症、インフルエンザ菌感染症、手足口病(HFMD)、ハンタウイルス肺症候群、ヘリコバクターピロリ感染、溶血性尿毒症症候群、腎症候性出血熱、A型肝炎、B型肝炎、C型肝炎、D型肝炎、E型肝炎、単純ヘルペス、ヒストプラズマ症、鉤虫感染、人間バルカンウイルス感染、人間エールリヒア症エバンズ、ヒト顆粒球アナプラズマ症、ヒト・メタニューモウイルス感染症、ヒト単球性エー・リキア症、ヒト乳頭腫ウイルス感染、ヒトパラインフルエンザウイルス感染、小形条虫症、インフルエンザ、イソスポラ症、川崎病、単核(球)症、キム菌感染、クーラー、ラッサ熱、レジオネラ症(在郷軍人症)、レジオネラ症(ポンティアック熱)、リーシュマニア症、ハンセン病、レプトスピラ症、リステリア症、ライム病(ライムボレリア)、リンパフィラリア症(象皮病)、リンパ球性脈絡髄膜炎、マラリア、マールブルグ出血熱、麻疹、類鼻疽(ホイットモア病)、髄膜炎、髄膜炎菌性疾患、メタゴニムス症、微孢子虫症、伝染性軟属腫、流行性耳下腺炎、発疹チフス(風土病発疹チフス)、マイコプラズマ肺炎、菌腫、ハエ病、新生児結膜炎(新生児眼炎)、クロイツフェルト・ヤコブ病(vCJD, nvCJD)、ノカルジア症、オンコセルカ症(失明性のフィラリア症)、副コクシジオイデス症(南米プラストミセス)、肺吸虫病、パスツレラ病、アタマジラミ(アタマジラミ)、ボディシラミ病(ボディシラミ)、ケジラミ病(ケジラミ、Crab lice)、骨盤内炎症性疾患、百日咳(Wooping cough)、疫病、肺炎球菌感染症、カリニ肺炎、肺炎、ポリオ、プレボテラ感染症、PAME、進行性多巣性白質脳症、オウム病、Q熱、狂犬病、ラット咬傷発熱、呼吸器合胞体ウイルス感染、ライノウイルス感染、リケッチア感染症、リケッチア、リフトバレー熱、ロッキー山紅斑熱、ロタウイルス感染症、風疹、サルモネラ症、SARS(重症急性呼吸器症候群)、疥癬、住血吸虫病、敗血症、下痢(赤痢)、带状疱疹(Herpes zoster)、天然痘、スポロトリクム、ブドウ球菌食中毒、ブドウ球菌感染、線虫、梅毒、条虫症、破傷風(開口障害)、白癬性毛瘡(Barber's itch)、手部白癬、黒色ひこう疹、足部白癬、爪白癬、癩風、トキシカラ症(眼幼虫移行症)、トキシカラ症(内臓幼虫移行症)、

10

20

30

40

50

トキソプラズマ症、旋毛虫、トリコモナス症、クリプトスピオシス（鞭虫感染症）、肺結核症、野兔病、尿素分解尿素マイコプラズマ感染、ベネズエラウマ脳炎、ベネズエラ出血熱、ウイルス性肺炎、ウエストナイル熱、白髪根粒菌病、偽結核菌感染症、エルシニア症、黄熱病、接合菌症を含むが、これらに限定されない。

【 0 1 8 0 】

本願明細書前文に記載された結合分子、好ましくは、抗体は、下記の抗病原性株に用いられることが可能である。抗病原性株としては、アシネトバクター・バウマニ、イスラエル放線菌、アクチノマイセス・オドントリチカス(*Actinomyces odontolyticus*)と放線菌ピオニプロピオン酸、トリパノソーマ・ブルーセイ、H I V（ヒト免疫不全ウイルス）、赤痢アメーバ、アナプラズマ属、炭疽菌、メチルスヘモリティクム(*Arcanobacterium hae* 10 *molyticum*)、フニンウイルス、回虫、アスペルギルス、アストロウイルス科、パベシア属、セレウス菌細菌属、マルチブル・バクテリア、バクテロイデス属、結腸ポーチ繊毛虫、ベイリー回虫線虫属、BKウイルス、ピエドラリア・ホルタエ(*P i e d r a i a h o r t a e*)、プラストシステイス・ホミニス、皮炎芽生菌病、マクボ・ウイルス、ボレリア属、ボツリヌス菌、サビア、ブルセラ属、通常バークホルデリア・セパシアと他のバークホルデリア種、マイコバクテリウム・ウルセランス、カリシウイルス科ファミリー、カンピロバクター菌、通常カンジダ・アルビカンスと他のカンジダ種、バルトネラ・ヘンセラ菌（英:*Bartonella henselae*）、A群連鎖球菌及びブドウ球菌、クルーズトリパノソーマ、軟性下疳菌、水痘带状疱疹ウイルス（VZV）、クラミジア・トラコマチス、クラミジア・ニューモニエ、コレラ菌、フォンセカエ・ペドロソイ、肝吸虫症、クロストリジウム・ 20 *ディフィシレ*、コクシジオイデス・イミティス、コクシジオイデス・ボサダシ、コロラダニ熱ウイルス、ライノウイルス、コロナウイルス、クロイツフェルト・ヤコブ病・プリオン、クリミア - コンゴ出血熱ウイルス、クリプトコックス・ネオフォルマンس、クリプトスポリジウム属、猫鉤虫、共寄生虫、シクロスポラ、有鉤条虫、サイトメガロウイルス、デング熱ウイルス（DEN-1，DEN-2，DEN-3とDEN-4）-フラビウイルス、脆弱なデュアルコアアメーバ、コリネバクテリウム・ジフテリア、裂頭条虫属、メジナ虫(*D r a c u n c u l u s m e d i n e n s i s*)、エボラウイルス、エキノコックス属、エーリキア属、蟻虫、エンテロコッカス属、エンテロウイルス属、発疹チフス・リケッチア、パルボウイルスB19、ヒトヘルペスウイルス6型、ヒトヘルペスウイルス7型、肥大吸虫、肝蛭と巨大肝蛭、FFIプリオン、フィラリアヘッド上科、ウェルシュ菌、フソバクテリウム、 30 *ウェルシュ菌*、他のクロストリジウム属、ゲオトリクム カンジドウム、GSSプリオン、ランブル鞭毛虫(*Giardia lamblia*)、バークホルデリア鼻疽菌、顎口顎線虫、剛棘顎口虫、淋菌、肉芽腫菌、化膿連鎖球菌、ストレプトコッカス・アガラクティエ、インフルエンザ菌、腸内ウイルス、ほとんどのコクサッキーA型ウイルス、腸内ウイルス71型、シンノブルウイルス、ヘリコバクター・ピロリ、大腸菌O157:H7、ブニヤウイルス科、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、D型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス、単純ヘルペスウイルス1型、単純ヘルペスウイルス2型、ヒストプラスマ・カプスラーツム、十二指腸鉤虫、アメリカ鉤虫、インフルエンザ菌、ボカ人間ウイルス、エーリキア・エウ 40 *インギ*(*Ehrlichia ewingii*)、アナプラズマ・ファゴサイトフィルム、ヒトメタニューモウイルス、エールリッヒア・シャフェンシス、ヒトパピローマウイルス、ヒトパラインフルエンザウイルス、矮小条虫、縮小条虫、エプスタイン・バー・ウイルス、オルトミクソウイルス科、イソスポーラ・ベリ(*Isospora belli*)、キングラ・キング(*Kingella kingae*)、肺炎桿菌、クレブシエラオツェーナ、クレブシエラリノシェレロモーティス(*K l e b s i e l l a r h i n o s c l e r o m o t i s*)、クーループリオン、ラッサ熱ウイルス、レジオネラ・ニューモフィラ、レジオネラ・ニューモフィラ、リーシュマニア、ハンセン菌とマイコバクテリウム・レプロマトーシス(*Mycobacterium lepromatosis*)、レプトスピラ属、リステリア菌、ボレリア病と他のボレリア種、バンクロフト系状虫とマレー系状虫、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）、プラスモジウム属(*P l a s m o d i u m g e n u s*)、マールブルグウイルス、麻疹ウイルス、偽鼻疽菌(*Burkhold* 50 *eria pseudomallei*)、髄膜炎菌、横川吸虫、微孢子虫門、伝染性軟属腫ウイルス（MCV）

、ムンプスウイルス、リケッチア・チフィ、マイコプラズマ・ニューモニエ、種々の細菌（アクチノミセトーマ）および真菌（真菌性菌腫）、寄生ハエの幼虫の双翅目、クラミジア・トラコマチスや淋菌、vCJDプリオン、ノカルジア・アステロイデスおよび他のノカルジア種、回旋糸状虫、ブラジルブラストミセス、肺吸虫およびその他の肺吸虫属、パスツレラ属、アタマジラミ、コロモジラミ、フチルス・プビス（*Phthirus pubis*）、百日咳菌、ペスト菌、肺炎球菌、ニューモシスチス嚢虫症、ポリオウイルス、プレボテラ属、ネグレリアのアメーバ、JCウイルス、オウム病クラミジア、コクシエラ・バーネッティ、狂犬病ウイルス、ビーズチェーン大腸菌およびラット咬傷発熱スピロヘータ、呼吸器RSウイルス、シベリア鼻ブム、ライノウイルス、リケッチア属、リケッチアダニ、ロッキー山紅斑熱リケッチア、リケッチアリケッチア、ロタウイルス、風疹ウイルス、サルモネラ属、非定型肺炎コロナウイルス、疥癬ダニ、住血吸虫属、赤痢菌、水痘带状疱疹ウイルス、大痘瘡や小痘瘡、スポロトリクスのシェンキー、ブドウ球菌属、黄色ブドウ球菌、化膿連鎖球菌、糞線虫、梅毒スピロヘータ、条虫属、破傷風菌、白癬、トリコフィトン・トンズランス、白癬、エピデルモフィトン・フロココスム、紅色白癬菌及び毛瘡白癬菌、紅色白癬菌、ホルテア・ウェルネッキ、白癬、マラセチア属、イヌ回虫や猫回虫、トキソプラズマ、旋毛虫、膾トリコモナス、鞭虫、結核菌、トゥーラホットフランシス細菌、ウレアプラズマ・ウレアリティカム、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、コレラ菌、グアナリトウイルス、西ナイルウイルス、白髪胞子菌、仮性結核菌、腸炎エルシニア、黄熱病ウイルス、ケカピ目（ムコール症）と昆虫メッシュカピ（エントモフトラ症）、緑膿菌、カンピロバクター胎児（ビブリオ）、アエロモナス細菌、エドワードシエラ属、タルダ、ペスト菌、志賀赤痢菌、赤痢菌、赤痢ソネ、ネズミチフス菌、トレポネーマ・ペルテヌエ、トレポネーマカラテネウム、フェンセンブルグドルフェリ、ボレリア・ブルグドルフェリ、レプトスピラ出血性黄疸、ニューモシスチスカリニ、ウシ流産菌、ブタ流産菌、マルタ熱菌、マイコプラズマ属、発疹チフスリケッチア、リケッチアツツツガムシ、クラミジア属、病原性真菌（アスペルギルス・フミガーツス、カンジダ・アルビカンズ、ヒストプラズマカプスラーツム）；原虫（赤痢アメーバ、膾トリコモナス、人トリコモナス、トリパノソーマガンビエンス、ローデシアトリパノソーマ、ドノバンリーシュマニア、リーシュマニア熱帯、リーシュマニアブラジル、ニューモシスチスカリニ肺炎、三日熱マラリア原虫、熱帯熱マラリア原虫、悪性マラリア）；または蠕虫（日本住血吸虫、マンソン住血吸虫、ビルハルツ住血吸虫と鉤虫）を含むが、これらに限定されない。

【0181】

他の抗体は、本願発明の結合リガンドとして下記のウイルス性疾患の治療に用いられる。これら病原性ウイルス抗原としては、ポックスウイルス科（*Poxviridae*）、ヘルペスウイルス科、アデノウイルス科、パポバウイルス科、エンテロウイルス科、小さなRNAウイルス科、パルボウイルス、レオウイルス、レトロウイルスファミリー、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、流行性耳下腺炎、麻疹、呼吸器合胞体ウイルス、風疹、アルボウイルス、ラブドウイルス、アレナウイルス科、非A/非B型肝炎ウイルス、ライノウイルス、コロナウイルス、ロタウイルス、腫瘍ウイルス[例えば、HBV（肝細胞癌）、HPV（子宮頸癌、肛門癌）、カボジ肉腫関連ヘルペスウイルス（カボジ肉腫）、EBウイルス（鼻咽頭癌、パーキットリンパ腫、原発性中枢神経系リンパ腫）、MCPyV（メルケル細胞癌）、SV40（シミアンウイルス40）、HCV（肝細胞癌）、HTLV-I（成人T細胞白血病/リンパ腫）]；ウイルスによって引き起こされる免疫疾患：[例えば、ヒト免疫不全ウイルス（AIDS）]、CNSウイルス：[例えば、JCV（進行性多巣性白質脳症）、MeV（亜急性硬化性全脳炎）、LCV（リンパ球性脈絡髄膜炎）、アルボウイルス脳炎、オルトミクソウイルスウイルス科（おそらく）（嗜眠性脳炎）、RV（狂犬病）、水疱性口内炎、ヘルペスウイルス性髄膜炎、ラムゼイ・ハント症候群II型；ポリオウイルス（急性灰白髄炎、ポリオ後症候群）、HTLV-I（熱帯性痙攣性麻痺）]；サイトメガロウイルス（CMV網膜炎、HSV（ヘルペス性角膜炎））；心血管病ウイルス[例えばCBV（心膜炎、心筋炎）]；呼吸器系/急性鼻咽頭炎/ウイルス性肺炎：[EBウイルス（EBV感染症/伝染性単核球症）、サイトメガロウイルス、SARSコロナウイルス（重症急性呼吸器系症候群）、オルトミクソウイル

スウイルス科：インフルエンザウイルスA/ B/ C（インフルエンザ/鳥インフルエンザ）、パラミクソウイルス：ヒトパラインフルエンザウイルス（パラインフルエンザ）、RSV（ヒト呼吸器合胞体ウイルス）、hMPV];消化系ウイルス[MuV（流行性耳下腺炎）、サイトメガロウイルス（CMV性食道炎）];アデノウイルス（アデノウイルス感染）;ロタウイルス、ノロウイルス、アストロウイルス、コロナウイルス、HBV（B型肝炎ウイルス）、CBV、HAV（A型肝炎ウイルス）、HCV（C型肝炎ウイルス）、HDV（D型肝炎ウイルス）、HEV（E型肝炎ウイルス）、HGV（G型肝炎ウイルス）];泌尿生殖器系ウイルス[例えば、BKウイルス、MuV（流行性耳下腺炎）]を含むが、これらに限定されない。

【0182】

更なる目標によれば、本願発明は、前記共役薬物成分を他の利用可能な薬物担体と結合させたものを癌及び自己免疫疾患の治療薬物とすることをも含んでいる。本願発明において、癌及び自己免疫疾患を治療するための方法には、インビトロ、インビボまたはエキソビボ療法が含まれている。インビトロ療法の適用例としては、インビトロ培養細胞を薬物で処理することによって、目標抗原を表現しない細胞以外のすべての細胞を殺すか、または、所望でない抗原を表現する細胞を殺すという例がある。エキソビボ療法の治療法の一例としては、インビトロで造血幹細胞を処理することによって、患部または悪性細胞を殺した後、患者の体内に戻させるという例がある。例えば、臨床の場合、エキソビボ療法によって骨髄またはリンパ球中の腫瘍細胞を排除した後、元患者の体内に戻させることで癌及び自己免疫疾患を治療するか、又は、移植前に骨髄中のT細胞及び他のリンパ細胞を除去することによって、移植物の免疫拮抗反応を防ぐ。実施方法は下記のとおりである。患者又は他の個体から骨髄細胞を獲得した後、本願発明の共役薬物を加えた血清含有培地で37℃培養する。薬物濃度範囲は1pM～0.1mM、培養時間は約30分間～約48時間である。薬物の具体的な濃度および時間は、経験豊富な臨床医によって決められるものである。培養終了後、骨髄細胞を血清含有培地で洗浄した後、静脈内注射によって人体内に注入する。骨髄細胞の獲得又は再注入治療の前に、患者に他の治療（例えば、アブレーション放射線療法または全身化学療法）が必要である場合、処理後の骨髄細胞を、標準的な液体室素医療デバイスに格納することができる。

【0183】

体内臨床応用において、本願発明の共役薬物は、溶液の形式、又は滅菌水に溶解した後、に注射可能な凍結乾燥固体の形式で提供されている。適切な共役薬物の投与方法の例は下記のとおりである。共役薬物を毎週に静脈を介して一回注入することを、8週続けることになる。単回投与量を50～500mLの生理食塩液に溶解させ、生理食塩液にヒト血清アルブミンを加えることができる（例えば、0.5ml～1mlの100mg/mLの濃縮ヒト血清アルブミン）。薬剤投与量は大体、週に50μg～20mg/体重1キログラム当たりであり、静脈注射（毎回の注射量が10μg～200mg/kg体重）である。8週の治療が終了後、患者は、新ラウンドの治療を受けることができます。投与経路、賦形剤、希釈剤、投与量、治療期間を含め、詳細な治療方法は、経験豊富な臨床医によって決められることになります。

【0184】

インビボまたはex vivo法によって細胞群を選択的に死滅させることで疾患を治療する例としては、いずれかの種類の癌、自己免疫疾患、移植拒絶反応、および（ウイルス、細菌または寄生虫を含む）感染がある。

【0185】

理想の生物学効果に必要な共役薬物の量は複数の要素によって異なっている。これらの要素は、化合物の性質特徴、有効性及び共役薬物の生物利用度、疾患の種類、患者の人種、患者の病的状態、投与の経路を含み、これら要素は共同して、投与スケジュールおよび投与経路を決めることになる。

【0186】

要約すると、本願発明の共役薬物は、体積比0.1～10質量%で生理的緩衝液に溶解した、非経口投与のためののものであってもよい。典型的な用量は、1μg～0.1g/1日あたり体重1kgあたりとする。推薦された薬物投与量の範囲は0.01mg～20mg/1日あたり

体重1kgあたり、または、等価線量の児童用量である。推薦された薬物投与量は、下記の変数にかかるものである。例えば、投与の選択されたモードにおける疾患または障害のタイプ、個々の患者の全体的な健康状態、共役薬物の相対的な生物学的活性、化合物の剤形、投与様式（静脈内、筋肉内、またはその他）、薬物動態学的特性、ならびに投与速度（単回注射または連続注入）および投与スケジュール（一定時間内に投与の頻度）が含まれている。

【0187】

本発明の共役薬剤は、単位剤量で投与することができる。ここで、「単位剤量」とは、一人の患者に投与される一回の用量を意味する。薬剤の単位剤量は、簡単で便利なパッケージングで使用する事ができ、単位剤量の薬剤は、物理的および化学的に安定な活性を維持するために、共役薬物自体、または後述の薬学的に許容される混合物である。典型的な一日投与量は、体重1キログラム当たり0.01~100mgの範囲である。一般に、単位剤量は、1~3000mgの一日の範囲である。推薦される単位剤量は1日4回、1mg~500mg；または、10mg~500mgを1日1回投与する。本発明の共役薬剤は、医薬製剤に、1種以上の薬学的に許容される賦形剤を添加することによって調製することができる。単位剤量の薬剤は、経口投与のために、錠剤、単純カプセルまたは軟カプセルとして；鼻腔内投与のために、粉末、点鼻剤、またはエアロゾルとして；または、皮膚投与のために、例えば軟膏、クリーム、ローション、ゲルまたはスプレーまたは皮膚パッチとして投与され得る。薬剤は、好都合には単位剤形で投与することができ、薬学の任意の公知の方法で調製することができる。例えば、「Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21th ed.; Lip

【0188】

本願発明の化合物を含んだ薬物剤型は、医薬物組成物を含み、経口または腸管外の投与が好ましい。例えば、錠剤、粉末、カプセル、錠剤（糖衣錠）など経口投与の薬物剤型は、以下の原料または類似の性質を有する他の化合物を1つ以上含むことができる。例えば、微結晶性セルロース、またはトラガカントゴムなどの結合剤；デンプンもしくはラクトースなどの希釈剤；分散剤、例えば、デンプン、セルロース誘導体など；滑沢剤、例えばステアリン酸マグネシウムなど；コロイダルシリカ等の流動促進剤本体；スクロースまたはサッカリンのような甘味剤；ペパーミントやサリチル酸メチルなどの着香剤がある。カプセルは、硬質または軟質の形式で、ゼラチンの混合物により、選択によって可塑剤と混合で得られ、同じようにデンプンカプセルは得られる。さらに、投与単位の物理的形態は、例えば、糖衣、シュラックまたは腸溶剤など様々な異なる材料に変える追加することができる。シロップまたはエリキシル剤のような他の経口剤形は、甘味剤、保存剤、顔料、着色剤および調味剤を含むことができる。さらに、活性化合物は、別の処理及び製剤で速溶性剤形、徐放性または持続放出剤形を製造することができ、好ましくは、剤形が持続放出剤形である。好ましい錠剤製剤は、混合物で、ラクトース、コーンスターチ、ケイ酸マグネシウム、クロスカルメロースナトリウム、ポビドン、ステアリン酸マグネシウム、タルクなどを含有する。

【0189】

腸管外の投与用の液体製剤は、無菌の水性または非水性溶液、懸濁液およびエマルジョンが挙げられる。液体薬剤は、結合剤、緩衝剤、防腐剤、キレート剤、甘味剤、香味剤および着色剤などを含有してもよい。非水性溶媒は、エタノール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、およびオレイン酸エチルなどの有機脂質を含む。水性溶媒は、水、エタノール、緩衝剤および塩の混合物を含む。特に、生体適合性、生分解性ラクチドポリマー、ラクチド/グリコライドコポリマー、またはポリエチレングリコール/ポリグリセリンコポリマーは、活性薬剤の放出制御賦形剤として使用することができる。静脈注射のために賦形剤は、液体および栄養補充液、電解質補充及びリンゲルデキストロース（Ringer's dextrose）に基づく賦形剤、および類似の材料を含むことができる。本発明の活性剤のための他の可能な腸管外を送達系は、エチレン - 酢酸ビニルコポリマー粒子、移植可能な浸透圧ポンプ、およびリポソームを含む。

【 0 1 9 0 】

投与の他の可能なモードは、吸入剤を含み、吸入剤は乾燥粉末、エアロゾルおよび滴剤を含む。吸入剤は、例えば、ポリオキシエチレン-9-ラウリルエーテル、グリココール酸塩、デオキシコール酸塩または油性溶液が含まれてもよく、点鼻薬により、コロイドで鼻腔内投与する。トローチ剤が錠剤、キャンディのような錠剤などを含み、スクロース、アラビアゴムなど、グリココール酸塩のような他のアクセサリーなどの香味剤を含有することができる。単位剤形に適した坐剤は、例えば、ココアバターのような固体担体に、サリチル酸を添加してもよい。皮膚局所用製剤は、プラスター、エマルジョン、ローション、パッチ、ゲル、スプレー、エアロゾルまたはオイルの製剤が好ましい。ワセリン、ラノリン、ポリエチレングリコール、アルコール、およびそれらの混合物は薬物担体として使用することができる。皮膚投与形態は、パッチ、エマルジョン、緩衝液、ポリマーまたは接着剤に溶解または分散することができる。

10

【 0 1 9 1 】

特に、本発明の共役薬物は、他の知られる薬物、たとえば、化学療法、放射線療法薬、免疫療法薬、自己免疫疾患治療薬、抗感染薬、または他の抗体の薬物など、または未知の薬物と併用することができ、相乗効果を達成する。相乗薬または放射線療法は、本発明の共役薬物の前にまたは後に、薬物投与または施行することができ、1時間、12時間、1日、1週間、1ヶ月間本発明の共役薬物の前または後に投与することができるが、数ヶ月であってもよい。

【 0 1 9 2 】

20

他の実施形態において、相乗効果を奏する薬物は、下記のものを含むが、これらに限定されない。

【 0 1 9 3 】

1) 化学療法薬：アルキル化剤：a). 例えば、[ナイトロジェンマスタード：(クロランブシル、シクロホスファミド、イホスファミド、メクロレタミン、メルファラン、トロホスファミド)；ニトロソ尿素化合物：(カルムスチン、ロムスチン)；アルキルスルホネート(ブスルファン、トレオスルファン)；トリアゼン(ダカルバジン)；白金含有化合物：(カルボプラチン、シスプラチン、オキサリプラチン)]；b) 植物アルカロイド：例えば[ピンカアルカロイド：(ピンクリスチン、ピンブラスチン、ピンデシン、ピノレルピン)；タキソイド類化合物：(パクリタキセル、ドセタキセル)]；c). DNAトポイソメラーゼ阻害剤：例えば、[エピボドフィリン：(9-アミノカンブトテシン、カンブトテシン、クリスナトール、エトボシド、リン酸エトボシド、イリノテカン、テニボシド、トポテカン)；マイトマイシン：(マイトマイシンC)]；d). 代謝拮抗剤：例えば、{[抗葉酸：ジヒドロ葉酸レダクターゼ阻害剤：(メトトレキサート、トリメトレキサート)；IMPデヒドロゲナーゼ阻害剤(ミコフェノール酸、チアゾプリン、リバピリン、EICAR)；リボヌクレオチド還元酵素阻害薬(ヒドロキシカルバミド、デフェロキサミン)]；ピリミジン類似体：ウラシル類似体(5-フルオロウラシル、ドキシフルリジン、ラルチトレキセド(トミュデックス))；シトシンアナログ：(シタラビン、シタラビン、フルダラビン)；プリン類似体：(アザチオプリン、メルカプトプリン、チオグアニン)]}；e) ホルモン：例えば、{受容体拮抗薬：[抗エストロゲン：(メゲストロール、ラロキシフェン、タモキシフェン)；LHRHアゴニスト：(ゴセレリン、酢酸リュープロリド)；抗アンドロゲン：(ビカルタミド、フルタミド)]；レチノイド/三角筋：[ビタミンD3類似体(CB1093、EB1089 KH1060、コレカルシフェロール、ビタミンD2)、光線力学的治療法：(ベルテボルフィン、PC4、デメトキシヒポクレリン)；サイトカイン：(インターフェロン-、インターフェロン-、腫瘍壊死因子(TNF)、ヒトタンパク質含有TNFドメイン)]}；f) キナーゼ阻害剤：例えば、bibw 2992(抗EGFR/ Erb2)、イマチニブ、ゲフィチニブ、ペガブタニブ、ソラフェニブ、ダサチニブ、スニチニブ、エルロチニブ、ニロチニブ、ラパチニブ、アキシチニブ、パゾパニブ。バンデタニブ、e7080(抗VEGFR2)、ムブリチニブ、ボナチニブ、パフェチニブ(ap24534)、HQP1351、パフェチニブ(INNO-406)、ボスチニブ(SKI-606)、スニチニブ、カボザンチニブ、Volitinib、ビスモデギブ、イニバリブ、ルキシソリチニ

30

40

50

ブ、CYT387、アクシチニブ、チボザニブ、ベバシズマブ、ソラフェニブ、トラスツズマブ、セツキシマブ、ラニビズマブ、パニツムマブ、イスピネシブ；g) その他のカテゴリー：例えば、ゲムシタピン、エボキシオミシン（例えば、レナリドミド）、ボルテゾミブ、サリドマイド、レナリドミド、ポマリドマイド、トセドスタット、ザイブレスタット、PLX 4032、Sta-9090、Stimuvax、アロベクチン-7、ザイゲバ、プロベンジ、エルボイ、イソブレレン阻害剤（例えば、ロバスタチン）、ドーパミン作動性神経毒（例えば、1-メチル-4-フェニルピリジンイオン）、細胞周期阻害剤（例えば、スタウロスポリン）、ダクチノマイシン（例えば、ダクチノマイシンD、コスメゲン）、ブレオマイシン（例えば、ブレオマイシンブレオマイシンA2、B2、ペプロマイシン）、アントラサイクリン（例えば、ダウノマイシン、ドキシソルピシン（アドリアマイシン）、イダルピシン、エピルピシン、ピラルピシン、ゾルピシン、ミトキサントロン、MDR阻害剤（例えばベラパミル）、 Ca^{2+} ATP阻害剤（タブシガルギン）、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤（ポリノスタット、ロミデプシン、パノビノスタット、バルプロ酸、モセチノスタット（MGCD0103）、ベリノスタット、PCI-24781、エンチノスタット、SB939、レスミノスタット、ギビノスタット、AR-42、スルフォラファン、トリコスタチンA）；タブシガルギン、セレコキシブ、グリタゾン、エピガロカテキンガレート、ジスルフィラム、サリノスポラミドA。

【0194】

2) 抗自己免疫疾患薬：シクロスポリン、シクロスポリンA、アザチオプリン、アミノカプロン酸、プロモクリプチン、クロラムブシル、クロロキン、シクロホスファミド、コルチコイド（例えば、ホルモン剤、ベタメタゾン、ブデソニド、フルニソリド、フルチカゾンプロピオン酸エステル、ヒドロコルチゾン、デキサメタゾン、フルオコルトダナゾール、トリアムシノロンアセトニド、ジプロピオン酸ベクロメタゾン）、デヒドロイソアンドロステロン、エタネルセプト、ヒドロキシクロロキン、インフリキシマブ、メロキシカム、メトトレキサート、ミコフェノール酸モフェチル、シロリムス、タクロリムス、プレドニゾンを含むが、これらに限定されない。

【0195】

3). 抗感染薬：アミノグリコシド：アミカシン、アストロマイシン、ゲンタマイシン（ネチルマイシン、シソマイシン、イセパマイシン）、ハイグロマイシン、カナマイシン（アミカシン、アルベカシン、アミノデオキシカナマイシン、ジベカシン、トブラマイシン）、ネオマイシン（ネオマイシンB、パロモマイシン、リボスタマイシン）、ネチルマイシン、スペクチノマイシン、ストレプトマイシン、トブラマイシン、ベルダミシン；b). アンフェニコール：アジダムフェニコール、クロラムフェニコール、フロルフェニコール、チアンフェニコール；c). アンサマイシン：ゲルダナマイシン、ハービマイシン；d) カルバペネム：ピアペネム、ドリペネム、エルタペネム、イミペネム/シラスタチン、メロペネム、パニペネム；e). セフェム：カルバセフェム（ロラカルベフ）、セファセトリル、セファクロル、セフラジン、セファドロキシル、セファロニウム、セファロリジン、セファロチンまたはセファロスポリン、セファレキシン、セファログリシン、セファマンドール、セファピリン、セファトリジン、セファザフル、セファゼドン、セファゾリン、セフペラゾン、セフカペン、セフダロキシム、セフェピム、セフミノックス、セフォキシチン、セフプロジル、セファロスポリン、セフテゾル、セフロキシム、セフィキシム、セフジニル、セフジトレン、セフェピム、セフェタメト、セフメノキシム、セフォジジム、セフォニシド、セフォペラゾン、セホラニド、セフォタキシム、セフォチアム、セフォゾプラン、セファレキシン、セフピミゾール、セフピラミド、セフピロム、セフボドキシム、セフプロジル、セフキノム、セフスロジン、セフタジジム、セフテラム、セフチブテン、セフチオレン、セフチゾキシム、セフタジジム、セフトリアキソン、セフロキシム、セファゾリンフラン、セファマイシン（セフォキシチン、セフォテタン、セフメタゾール）、オキサセフェム（フロモキセフ、ラタモキセフ）；f). 糖ペプチド：ブレオマイシン、バンコマイシン（オリタバンシン、テラバンシン）、テイコブラニン（ダルババンシン）、ラモブラニン、キューピシン；g). グリシルサイクリン：例えば、チゲサイクリン；h). -ラクタマーゼ阻害剤：ペナム（スルバクタム、タゾバクタム）、クラバム（クラ

10

20

30

40

50

ブラン酸) ; i). リンコサミド : クリンダマイシン、リンコマイシン ; j). リポペプチド : ダプトマイシン、A54145、カルシウム依存性抗生物質 (CDA) ; k). マクロライド : アジスロマイシン、セスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、エリスロマイシン、フルリスロマイシン、ジョサマイシン、ケトライド (テリスロマイシン、エセスロマイシン)、ミデカマイシン、ミオカマイシン、オレアンドマイシン、リファマイシン (リファンピシリン、リファンピン、リファブチン、リファペンチン)、ロキタマイシン、ロキシスロマイシン、スペクチノマイシン、スピラマイシン、タクロリムス (FK506)、トロレアンドマイシン、テリスロマイシン ; l). シングルリング - ラクタム系抗生物質 : アズトレオナム、チゲモナム ; m). オキサゾリジノン : リネゾリド ; n). ペニシリン : アモキシシリン、アンピシリン (ピバンピシリン、ヘタシリン、バカンピシリン、メタンピシリン、タランピシリン)、アジドシリン、アズロシリン、ペニシリン、ベンザチンペニシリン、フェノキシベンザチンペニシリン、クロメトシリン、プロカインペニシリン、カルペニシリン (カリンダシリン)、クロキサシリン、ジクロキサシリン、セファロスポリン、フルクロキサシリン、メシリナム (ピブメシリナム)、メズロシリン、メチシリン、ナフシリン、オキサシリンナトリウム、フェネチシリン、ペニシリン、フェネチシリン、ペニシリン、ピペラシリン、プロピシリン、スルペニシリン、テモシリン、チカルシリン ; o). ポリペプチド : バシトラシン、ポリミキシンE、ポリミキシンB ; p). キノロン : アラトロフロキサシン、パロフロキサシン、シプロフロキサシン、クリナフロキサシン、ダノフロキサシン、ジフロキサシン、エノキサシン、エンロフロキサシン、オフロキサシン、ガレノキサシン、ガチフロキサシン、ゲミフロキサシン、グレパフロキサシン、Ka noトロバフロキサシン、レボフロキサシン、ロメフロキサシン、マルボフロキサシン、モキシフロキサシン、ナジフロキサシン、ノルフロキサシン、オルビフロキサシン、オフロキサシン、ペフロキサシン、トロバフロキサシン、グレパフロキサシン、シタフロキサシン、スパルフロキサシン、テマフロキサシン、トスフロキサシン、トロバフロキサシン ; q). ストレプトゾトシン : プリスチナマイシン、キヌプリスチン/ダルホプリスチン ; r). スルホンアミド類 : マフェニド、プロントジル、スルファセタミド、スルファメトキサゾール、スルファニルアミド、スルファサラジン、スルファフラゾール、トリメトプリム、トリメトプリム - スルファメトキサゾール (コトリモキサゾール) ; s). ステロイドの抗菌薬 : 例えば、フシジン酸 ; t). テトラサイクリン : ドキシサイクリン、クロルテトラサイクリン、クロモサイクリン、デメクロサイクリン、リメサイクリン、メクロサイクリン、メタサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、ペニメピサイクリン、ロリテトラサイクリン、テトラサイクリン、グリシルサイクリン (例えば、チゲサイクリン) ; ; u). 抗生物質の他のタイプ : アンノナシン、アルスフェナミン、バクトプレノール阻害剤 (バシトラシン)、DADAL/AR阻害剤 (サイクロセリン)、ジクチオスタチン、ディスコデルモライド、エレウテロピン、エポチロン、エタンブトール、エトポシド、ファロベナム、フシジン酸、フラゾリドン、イソニアジド、ラウリマリド、メトロニダゾール、ムピロシン、マイコラクトン、NAM合成阻害剤 (例えば、ホスホマイシン)、ニトロフラントイン、パクリタキセル、プラテンシマイシン、ピラジナミド、キヌプリスチン/ダルホプリスチン、リファンピン (リファンピシン)、タゾバクタムチニダゾール、ウバリシンを含むが、これらに限定されない。

【 0 1 9 6 】

4). 抗ウイルス薬 : a). 侵入/融合阻害剤 : アブラビロック、マラビロク、ピクリビロック、g p41 (エンフビルチド)、PRO140、CD4 (イバリズマブ) ; b). インテグラーゼ阻害剤 : ラルテグラビル、エルビテグラビル、グロボイドナンA ; c). 成熟阻害剤 : ベビリマット、ヴィヴィコン ; d). ノイラミニダーゼ阻害剤 : オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル ; e). ヌクレオシドおよびヌクレオチド : アバカビル、アシクロビル、アデフォビル、アムドキシビル、アブリシタピン、プリブジン、シドフォビル、クレブジン、デキセルブシタピン、ジダノシン (DDI)、エルブシタピン、エムトリシタピン (FTC)、エンテカビル、ファムシクロビル、フルオロウラシル (5-FU)、3'-フルオロ置換2', 3'-デオキシヌクレオシド類似体 (例えば、3'-フルオロ-2', 3'-ジデオキシチミジン (FLT) お

10

20

30

40

50

よび3'-フルオロ-2', 3'-ジデオキシグアノシン (FLG)、ホミビルセン、ガンシクロビル、イドクスウリジン、ラミブジン (3TC)、L-ヌクレオシド (例えば、-L-チミジン、-L-2'-デオキシシチジン)、ペンシクロビル、ラシビル、リバビリン、スタンピジン、スタブジンセット (d4T)、タリバビリン (ピラミジン)、テルビブジン、テノホビル、トリフルリジン、バラシクロビル、バルガンシクロビル、ザルシタピン (ddC)、ジドブジン (AZT) ; f). 非ヌクレオシド : アマンタジン、アテビリジン、カブラビリン、ジアリールピリミジン (エトラビリン、リルピビリン)、デラビルジン、ドコサノール、エミビリン、エファビレンツ、ホスカルネット (ホスホリルギ酸)、イミキモド、インターフェロン、ロピリド、ロデノシン、メチサゾン、ネビラピン、NOV-205、ペグインターフェロン、ボドフィロトキシン、リファンピシン、リマンタジン、レシキモド (R-848)、トロマンタジン ; g). プロテアーゼ阻害剤 : アンブレナビル、アタザナビル、ボセプレビル、ダルナビル、ホスアンブレナビル、インジナビル、ロピナビル、ネルフィナビル、プレコナリル、リトナビル、サキナビル、テラプレビル (VX-950)、チプラナビル ; H) 抗ウイルス薬の他のタイプ : アブザイム、アルビドール、カラノリドA、セラゲニン、シアノビリン-N、DAPY、没食子酸エピガロカテキン (EGCG)、ホスカルネット、グリフィスシン、タリバビリン (ピラミジン)、ヒドロキシカルバミド、KP-1461、プレコナリル、ポートマントー阻害剤、リバビリン、セリシクリブ。

【0197】

5). 他の免疫治療薬物 : 例えば、イミキモド、インターフェロン (例えば、 α 、 β)、顆粒球コロニー刺激因子、サイトカイン、インターロイキン (IL-1~IL-35)、抗体 (例えば、トラスツズマブ、ペルツズマブ、ベパシズマブ、セツキシマブ、パニツムマブ、インフリキシマブ、アダリムマブ、バシリキシマブ、ダクリズマブ、オマリズマブ)、タンパク質結合薬 (たとえば、アブラキサン)、抗体結合剤は、カリケアマイシン誘導体、メイタンシン誘導体 (DM1及びDM4)、CC-1065およびデュオカルマイシン小溝結合剤、効果的なパクリタキセル誘導体、ドキシソルピシン、アリストアチン有糸分裂阻害薬 (例えば、トラスツズマブ-DM1、Inotuzumabモノクローナル抗体、ブレンツキシマブ ベドチン、グレンバツムマブベドチン、ロルボツズマブメルタンシン、AN-152 LMB2、TP-38、VB4-845、カンツズマブメルタンシン、AVE9633、SAR3419、CAT-8015 (抗-CD22)、IMGN388、IMGN529、IMGN853、ミラツズマブ-ドキシソルピシン、SGN-75 (抗CD70)、抗-CD22-MCC-DM1) から選択される。

【0198】

本発明はまた、抗体薬物結合体を調製するための方法に関し、本発明のさらなる目的である。本発明の共役体は、当技術分野で公知の様々な方法によって調製することができ、例えば、本発明は、抗有糸分裂剤の共役体は、以下の方法で合成するか、または以下のように変形することが可能である。当該分野の専門家にとって、これらの改良された方法は、よく知られている、非常に明白な科学文献から容易に入手可能である。特に、これらの方法は、「Comprehensive Organic Transformations」(R.C. Larock著作、1999、Wiley-VCH 出版、第2版) という本に詳しく紹介されている。

【0199】

本明細書に記載の反応の間、副反応を避けるために、例えば、ヒドロキシ、アミノ、イミノ、メルカプト基及びカルボキシル基等の反応に関与し得る反応性官能基を保護する必要があるかもしれない。官能基の従来の保護に関して、P. G. WutsとT.W. Greene が著作者である「Greene's Protective Groups in Organic Synthesis」(2006年、Wiley-Interscience 出版、第4版)を参照する。いくつかの反応は、適当な酸または塩基を含む溶液で行うことができる。反応で酸、塩基及び溶媒は特に悪影響を与えないものであれば、任意の従来の酸、塩基および溶媒を本明細書で使用する事ができ、限定されるものではない。また、これらの反応は、広い温度範囲にわたって実施することができる。しかしながら、一般に、反応温度が-80 ~ 150 °Cの間 (室温 ~ 100 °Cがより良い) で動作することが通常は比較的容易である。反応に必要な時間もまた、多くの要因、特に反応温度および溶媒の性質に依存して、大きく変化し得る。一般的に、理想的な反応のため、反

応時間3～20時間がより適切である。

【0200】

反応が完了した後、操作処理は、従来の手段によって行うことができる。例えば、溶媒を反応系から留去することにより反応生成物を回収してもよい。あるいは、必要に応じて溶媒を留去した後、残留物を水に注ぎ入れ、水と混ざらない有機溶媒で抽出してもよく、抽出溶媒を留去した後、最終的に、反応生成物を得ることができる。より高い純度が必要とされている場合に加えて、さらに、再結晶、沈殿法または各種クロマトグラフィーなどの一般的な方法により、様々な精製をすることができる。一般に、カラムクロマトグラフィー、分取薄層クロマトグラフィー法は、より一般的に使用される。本発明の抗有糸分裂剤およびそのコンジュゲートの合成は、図1-28に示されている。

10

【0201】

以下の実施例では、細胞結合体 有糸分裂阻害剤共役体をさらに具体的に説明する。もちろん、本発明は以下の実施例に限定されるものではない

【0202】

実施例

質量分析データはBruker Esquire 3000システムに由来するものであり、核磁気データはBruker AVANCE300分光計に由来するものであった。化学変位精確は百万分の一までに精確し、テトラメチルシランを内標準とした。紫外線スペクトルデータはHitachi U1200分光光度計に由来するものであった。高性能液体クロマトグラフィーデータは、留分コレクター及び可変波長探査機付きのAgilent 1100 HPLCシステムに由来するものであった。薄板クロマトグラフィーはAnaltech GFシリカゲルとTLC薄層クロマトグラフィー板を使用した。アミノ酸及びその誘導体、並びにプレロード済の樹脂は、MerckChemicals International社、Synthetech社、Peptides International社、ChembridgeInternational社又はSigma-Aldrich社から購入したものであった。一部の架橋剤、例えば、NHSエステル/マレイミド(AMAS, BMPS, GMBS, MBS, SMCC, EMCSまたはSulfo-EMCS, SMPB, SMPH, LC-SMCC, Sulfo-KMUS, SM(PEG)4, SM(PEG)6, SM(PEG)8, SM(PEG)12, SM(PEG)24)、NHSエステル/ピリジンジメルカプト(SPDP, LC-SPDPまたはSulfo-LC-SPDP, SMPT, Sulfo-LC-SMPT); NHSエステル/ハロゲン化アセチル(SIA, SBAP, SIAB または Sulfo-SIAB)、NHSエステル/ジアジリン(SD AまたはSulfo-SDA, LC-SDAまたはSulfo-LC-SDA, SDAD or Sulfo-SDAD)、マレイミド/ヒドラジド(BMPH, EMCH, MPBH, KMH)、ピリジンジメルカプト/ヒドラジド(PDPH)、及びイソシアネート/マレイミド(PMPI)は、Thermo Fisher Scientific社から購入したものであった。SPDBとSPPは、文献(Cumber, A. et al, Bioconjugate Chem., 1992, 3, 397-401)に従い調製されたものであった。ヒトanti-CD22抗体はSanta Cruz Biotechnology社から購入したものであった。トラスツズマブモノクローナル抗体はGenentech社から購入したものであった。他の化学試薬及び無水溶媒の全てはSigma-Aldrich International社から購入したものであった。

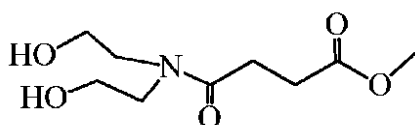
20

30

【0203】

例1 ビス(2-ヒドロキシエチル)アミノ-4-オキソブタン酸メチル(3)

【化56】



40

【0204】

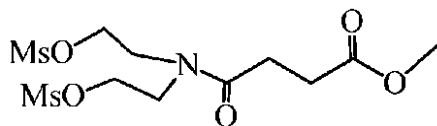
コハク酸ジメチル(20.0 g, 136.9 mmol)とジヒドロキシエチルアミン(7.20 g, 68.7 mmol)を無水トルエン(500 ml)とピリジン(50 ml)の混合溶液に溶解させて、150°Cで28時間還流した。混合溶液を濃縮した後、SiO₂カラムで精製して(EtOAc/DCM = 5%-25%からEtOAc)、標題化合物(12.5 g, 83%)を得た。ESI MS m/z+イオンピーク: C₉H₁₇NaO₅ (M + Na)、計算値: 242.2、実験値: 242.4。

【0205】

50

例2 ビス(2-(メチルスルホニルオキシ)エチル)アミノ-4-オキソブタン酸メチル(4)

【化57】



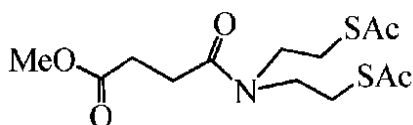
【0206】

ビス(2-ヒドロキシエチル)アミノ-4-オキソブタン酸メチル(12.0 g, 49.56 mmol)を無水ピリジン(350 ml)に溶解させて、メタンスルホニルクロリド(20.0 g, 175.4 mmol)を加えた。一夜の反応後、溶液を濃縮し、その後、EtOAc(350 ml)で希釈し、冷却済の1M NaH₂PO₄溶液(2x 300ml)で洗浄し、MgSO₄で乾燥し、濾過・スピン乾燥後粗製品(18.8 g, 101%)を得た。当該粗製品は精製なしで次の反応ステップに用いられた。ESI MS m/z+イオンピーク: C₁₁H₂₁NaNO₉S₂ (M + Na)、計算値: 398.2、実験値: 398.4。

【0207】

例3 ビス(2-(チオアセチル)エチル)アミノ-4-オキソブタン酸メチル(5)

【化58】



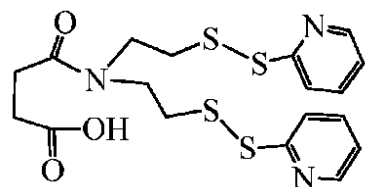
【0208】

ビス(2-(メチルスルホニルオキシ)エチル)アミノ-4-オキソブタン酸メチル(新制、90%純度、8.5 g、約20 mmol)をDMA(350 ml)に溶解させて、トリエチルアミン(30 ml, 215 mmol)とチオ酢酸(10 ml, 134 mmol)を0°Cで順に加えた。室温で一夜の攪拌をして濃縮し、EtOAc(350 ml)で希釈後、NaHCO₃飽和溶液(300 ml)、NaCl飽和溶液(300 ml)及び1 M NaH₂PO₄溶液(300 ml)で順に洗浄した。その後、有機相をNa₂SO₄で乾燥し、濾過・スピン乾燥後、SiO₂カラムで精製して(EtOAc/ヘキサン(10%-25% EtOAc))、標題化合物(5.1 g, 76%)を得た。ESI MS m/z+イオンピーク: C₁₃H₂₁NaNO₅S₂ (M + Na)、計算値: 358.1、実験値: 358.2。

【0209】

例4 4-(ビス(2-ピリジン-2-イル-ジスルファニル)アミノ)-4-オキソブタン酸(6)

【化59】



【0210】

ビス(2-(チオアセチル)エチル)アミノ-4-オキソブタン酸メチル(5.0 g, 4.9 mmol)をTHF(150 ml)に溶解させて、NaOH(5.0 g, 125 mmol)の水溶液(100 ml)を加えた。室温で35分攪拌した後、H₃PO₄でpH 7までに中和した。その後、1,2-ジピリジンジスルフィドのエーテル(Aldrithiol-2, 26.0 g, 118 mmol)のTHF(100 ml)溶液を加えて、4時間攪拌した。濃縮後、SiO₂カラムで精製して(MeOH/DCM/HOAc(1:20/1%))、標題化合物(5.8 g, 85.6%)を得た。ESI MS m/z+イオンピーク: C₁₈H₂₁NaN₃O₃S₄ (M + Na)、計算値: 478.0、実験値: 478.2。

【0211】

例5 2,5-ジオキソピロリジン-1-イル-4-ビス(2-(ピリジン-2-イル-ジ

10

20

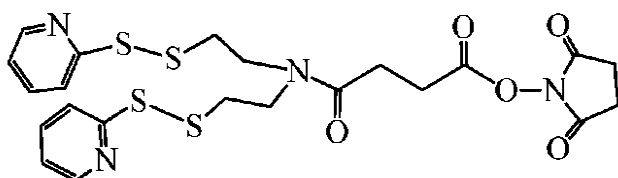
30

40

50

スルファニル)エチル)アミノ-4-オキソブタン酸エステル(7)

【化60】



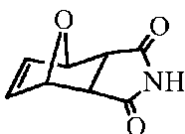
【0212】

4-((bis(2-pyridin-2-ylthio)ethyl)amino)-4-oxobutanoic acid (5.2 g, 11.5 mmol)をDMA (100 ml)に溶解させて、NHS(1.6 g, 13.9 mmol)とEDC(5.0 g, 26.1 mmol)を加えた。一夜攪拌し、スピン乾燥後、SiO₂カラムで精製して(EtOAc/DCM = 5%-15%からEtOAc)、標題化合物(5.8 g, 85.6%)を得た。ESI MS m/z+イオンピーク: C₂₂H₂₄NaN₄O₅S₄ (M + Na)、計算値: 575.1、実験値: 575.2。

【0213】

例6 エンドオキソ-3,6-エポキシ- -テトラヒドロフタルイミド(12)

【化61】



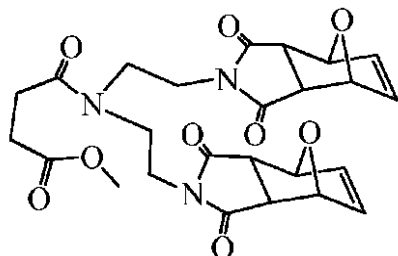
【0214】

マレイミド(10.0 g, 103.0 mmol)のトルエン(200 ml)溶液にフラン(10.0 ml, 137.4 mmol)を添加した後、混合溶液を1Lのオートクレーブに置いて100°Cに加熱し、8時間反応を行った。室温までに冷却後、オートクレーブ内の固体をメタノールで洗浄し、濃縮後、酢酸エチルとノルマルヘキサンとの混合溶液中で再結晶させて、標題化合物を得た(16.7 g, 99%)。¹H NMR (CDCl₃): 11.12 (s, 1H) (NH), 6.68-6.64 (m, 2H), 5.18-5.13 (m, 2H), 2.97-2.92 (m, 2H)。MS m/z+イオンピーク: C₈H₇NaNO₃ (M + Na)、計算値: 188.04、実験値: 188.04。

【0215】

例7 4-((2-((3aR,4R,7S,7aS)-1,3-ジオキソ3a,4,7,7a-テトラヒドロ-1H-4,7-エポキシイソインドール-3H)-イル)エチル)(2-((4R,7S,7aS)-1,3-ジオキソ-3a,4,7,7a-テトラヒドロ-1H-4,7-エポキシイソインドール-2(3H)-イル)エチル)アミノ)-4-オキソブタン酸メチルエステル(13)

【化62】



【0216】

4-((bis(2-(methylsulfonyl)oxy)ethyl)amino)-4-oxobutanoic acid methyl ester(4、新制、90%純度、8.5 g、~20 mmol)をDMA (350 mL)に溶解させて、3,6-エンドオキソ- -テトラヒドロフタルイミド(10.2 g, 61.8 mmol)、炭酸ナトリウム(8.0 g, 75.5 mmol)及びヨウ化ナトリウム(0.3 g, 2.0 mmol)を順に加えた。反応混合液を室温で一夜攪拌した。反応液を濃縮後、酢酸エチル(350 mL)を加入して、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(300 mL)、飽和食塩水(300 mL)と1M NaH₂PO₄(300 mL)で順に洗浄し

10

20

30

40

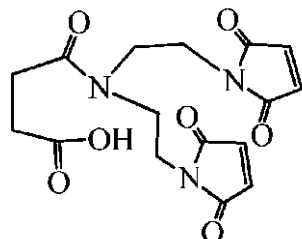
50

た。有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥させてろ過し、ろ液を濃縮させた。得られた生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し（10%～30%酢酸エチル/ノルマルヘキサン）、純化後、目的化合物を得た（7.9 g, 77%）。ESI MS m/z : $C_{25}H_{27}NaN_3O_9$ (M+Na)、計算値：536.2、実験値：536.4。

【0217】

例8 4 - (ビス(2 - (2,5-ジオキソ - 2,5-ジヒドロ-1H-ピロリジン)エチルアミン-4-オキソブタン酸(14)

【化63】



10

【0218】

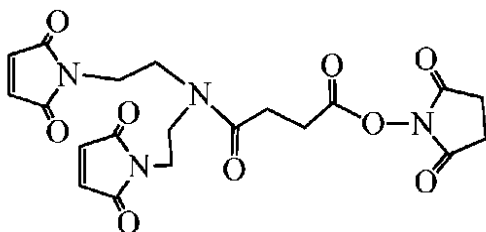
化合物13 (3.0 g, 5.8 mmol) とトリメチル水酸化錫 (4.8 g, 26.4 mmol) を1,2 -ジクロロエタン (150 mL) に溶解させて、80 で8時間還流した。室温までに冷却し、反応液をシリカゲルでろ過し、ジクロロメタン/メタノールで洗浄することで残りのトリメチル水酸化錫を除去した。ろ液を合併し、減圧濃縮後、N,N-ジメチルアセトアミドとトルエンを加入し、120 で還流し、一夜攪拌した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し（5%～10%メタノール/ジクロロメタン）、目的化合物を得た（1.62 g, 76%）。ESI MS m/z : $C_{16}H_{17}NaN_3O_9$ (M+Na)、計算値：386.1、実験値：386.2。

20

【0219】

例9 2,5-ジオキソピロリジン - 1 - イル - 4 - (ビス(2 - (2,5 - ジオキシ ジヒドロ-1H-ピロリジン)エチルアミン-4-オキソブタン酸

【化64】



30

【0220】

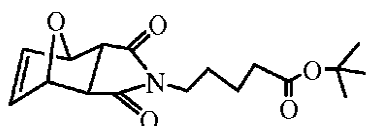
化合物14 (16.0 g, 4.4 mmol) をDMA (100 mL) に溶解させて、NHS (0.76 g, 6.61 mmol) とEDC (1.70 g, 8.90 mmol) を加入した。反応混合液を室温で一夜攪拌した。その後、反応液を濃縮させて、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し（5%～15%酢酸エチル/ジクロロメタン）、目的化合物を得た（1.72 g, 85.0%）。ESI MS m/z : $C_{20}H_{20}NaN_4O_9$ (M+Na)、計算値：483.1、実験値：483.2。

40

【0221】

例10 5 - (3', 6' - エンドオキソ - -テトラヒドロフタルイミド) t - ブチルペンタノエート

【化65】



【0222】

5 - ヒドロキシ吉草酸 t - ブチル (10.0 g, 57.4 mmol) をピリジン (60 mL) に溶解さ

50

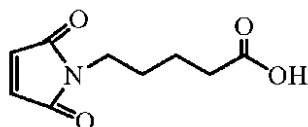
せて、メタンスルホニルクロリド (8.0 mL, 103.3 mmol) を加入した。反応混合液を室温で6時間攪拌した。反応液を濃縮後、酢酸エチルで希釈し、冷却済みの1M NaH₂PO₄ (pH 6) 溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させて、ろ過し、母液を減圧濃縮して、メシレートを得た。得られたメシレートを化合物 1 2 (9.90 g, 60.0 mmol) とNa₂CO₃ (8.5 g, 80.1 mmol) のDMF (80 mL) 溶液に加えた。混合反応液を室温で一夜攪拌した。反応液を濃縮後、酢酸エチルを加入し、飽和食塩水と1M NaH₂PO₄ (pH 6) 溶液で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させて、ろ過し、母液を濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離精製し (酢酸エチル/ジクロロメタン=1:12)、目的化合物を得た (14.01 g, 76%)。ESI MS m/z+ C₁₇H₂₃NaNO₅ (M+Na)、計算値: 344.16、実験値: 344.16。

【0223】

10

例 1 1 5-マレイミドペンタン酸 (21b)

【化66】



【0224】

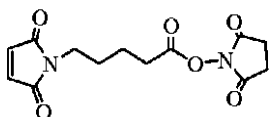
化合物 1 7 (5.0 g, 15.57 mmol) を1,4-ジオキサン (40 mL) に溶解させた後、4 で濃塩酸 (10 mL) を加入し、反応混合液を室温で30分攪拌した。反応液を濃縮乾固後、5-(3'-6'-エンドオキソ--テトラヒドロフタルイミド)吉草酸 (4.08 g, 99%) を得た。前記化合物をN,N-ジメチルアセトアミド/トルエン (1:1, 40 mL) に溶解させて6時間還流反応を行った。反応液を濃縮後、エタノール/エーテル/ノルマルヘキサンで再結晶して、目的化合物 (2.76 g, 90%) を得た。ESI MS m/z+ C₉H₁₂NO₄ (M+H)、計算値: 198.07、実験値: 198.07。

20

【0225】

例 1 2 5-(マレイミド)スクシンイミジルペンタノエート (23b) (DMPs linker)

【化67】



30

【0226】

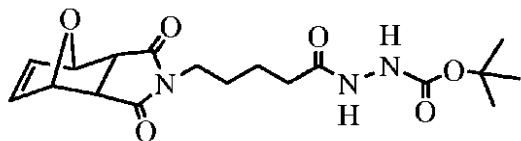
5-マレイミドペンタン酸21b (2.0 g, 10.1 mL) をジクロロメタン (20 mL) に溶解させた後、NHS (1.50 g, 13.0 mmol) とEDC (7.0 g, 36.4 mmol) を加入し、反応混合液を室温で一夜攪拌した。反応液を濃縮乾固後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し (酢酸エチル/ジクロロメタン=1:10)、目的化合物 2 3 bを得た (2.43 g, 82%)。ESI MS m/z+ C₁₃H₁₄NaN₂O₆ (M+Na): 計算値: 317.09、実験値: 317.09。

【0227】

例 1 3 5-(3', 6'-エンドオキソ--テトラヒドロフタルイミド)ペンタノイルヒドラジン蟻酸 t-ブチル (25a-a)

40

【化68】



【0228】

5-(3'-6'-エンドオキソ--テトラヒドロフタルイミド)吉草酸 (1.0 g, 3.77 mmol) をDMF (30 mL) に溶解させた後、t-ブチルカーバメート (0.60 g, 4.53 mmol) とEDC (2.0 g, 10.4 mmol) を加入し、反応混合液を室温で一夜攪拌した。反応液を濃縮乾固

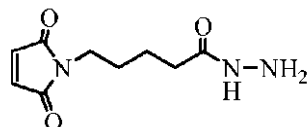
50

後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し（酢酸エチル/ジクロロメタン=1:10）、目的化合物を得た（1.18 g, 83%）。ESI MS m/z + $C_{18}H_{25}NaN_3O_6$ (M+Na): 計算値: 402.17; 実験値: 402.18。

【0229】

例14 5-(マレイミド)吉草酸ヒドラジド(25a-b)

【化69】



10

【0230】

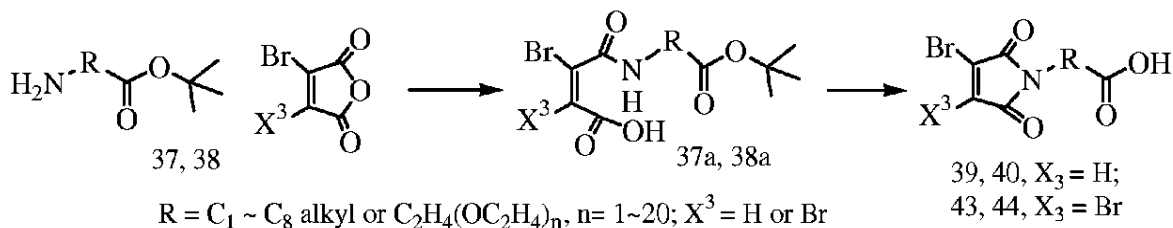
化合物25a-a (1.18 g, 3.11 mmol) をN,N-ジメチルホルムアミド/トルエン (1:1, 20 mL) に溶解させて、6時間還流反応を行った。反応液を濃縮し、1,4-ジオキサン (20 mL) を加入した後、4 でHCl (5 mL, 36%)を加入し、30分間攪拌した。反応液を濃縮乾固後、エタノール/エーテル/ノルマルヘキサンで再結晶させて、目的化合物を得た (577 mg, 88%)。ESI MS m/z + $C_9H_{14}N_3O_3$ (M+H): 計算値: 212.10; 実験値: 212.10。

【0231】

例15 3'-ブromo マレイミド化合物39、40、及び3',4'-ジブromo マレイミド化合物43、44

【化70】

20



【0232】

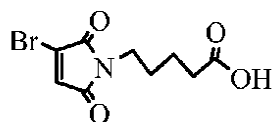
化合物37又は38 (~6 g) をDMF (60 mL) に溶解させた後、ブromoマレイン酸無水物 (1 eq) 又は2,3-ジブromo マレイン酸無水物 (1 eq) を加入し、反応混合液を一夜攪拌した。反応液を濃縮乾固後、純粋なトランス酸を得た。前記トランス酸に酢酸 (~50 mL) と酢酸無水物 (2~4 g) を加入し、反応混合液を120 で6~12時間還流した。反応液を濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し（酢酸エチル/ジクロロメタン=1:10~1:1）、3'-ブromo マレイミド化合物39、40を得た。同じ製法により、3', 4'-ジブromo マレイミド化合物43、44を得た (61%~87%)。

30

【0233】

5-(3'-ブromo-2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)吉草酸

【化71】



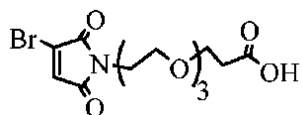
40

ESI MS m/z + $C_9H_{11}BrNO_4$ (M+H): 計算値: 275.98; 実験値: 275.98。

【0234】

3-(2-(2-(2-(3'-ブromo-2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)エトキシ)エトキシ)エトキシ)プロピオ酸。

【化 7 2】

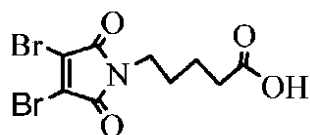


ESI MS m/z + $C_{13}H_{19}BrNO_7$ (M+H): 計算値: 380.03; 実験値: 380.03。

【0 2 3 5】

5-(3,4-ジブロモ-2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)吉草酸

【化 7 3】

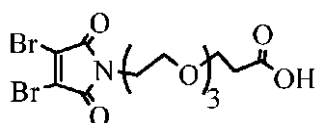


ESI MS m/z + $C_9H_{10}Br_2NO_4$ (M+H): 計算値: 353.89; 実験値: 353.89。

【0 2 3 6】

3-(2-(2-(2-(3,4-ジブロモ-2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)エトキシ)エトキシ)エトキシ)プロピオ酸

【化 7 4】

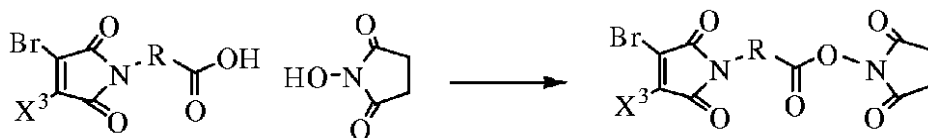


ESI MS m/z + $C_{13}H_{18}Br_2NO_7$ (M+H): 計算値: 457.94; 実験値: 457.94。

【0 2 3 7】

例 1 6 3'-プロモ-マレイミドのN-ヒドロキシスクシンイミドエーテル化合物 4 1、4 2、及び、3',4'-ジブロモ-マレイミドのN-ヒドロキシスクシンイミドエーテル化合物 4 5、4 6

【化 7 5】



$R = C_1 \sim C_8$ alkyl or $C_2H_4(OC_2H_4)_n$, $n = 1 \sim 20$; $X^3 = H$ or Br 41, 42, $X^3 = H$; 45, 46, $X^3 = Br$

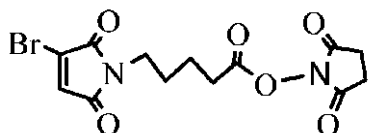
【0 2 3 8】

3'-プロモ-マレイミド化合物 3 9、4 0 (1 eq) または 3',4'-ジブロモ-マレイミド 4 3、4 4 を DMA (~0.15 ml) に溶解させた後、NHS (1.1 eq) と EDC (2~4 eq) を加入し、反応混合液を一夜攪拌した。反応液を濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し (酢酸エチル/ジクロロメタン=1:20~1:5)、3'-プロモ-マレイミドのN-ヒドロキシスクシンイミドエーテル化合物 4 1、4 2、及び、3',4'-ジブロモ-マレイミドのN-ヒドロキシスクシンイミドエーテル化合物 4 5、4 6 を得た (70%~93%)。

【0 2 3 9】

2,5-ジオキソピロリジン-1-イル5-(3-プロモ-2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ペンタノエイト

【化 7 6】



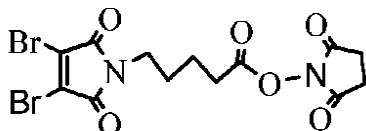
ESI MS m/z $C_{13}H_{13}BrN_2NaO_7$ (M+Na) : 計算値 : 395.00 ; 実験値 : 395.00。

【 0 2 4 0】

2,5 - ジオキソピロリジン-1 -イル5-(3,4 - ジブromo - 2,5 - ジオキソ-2,5 - ジヒドロ-1H-ピロール-1 - イル) ペンタノエイト)

10

【化 7 7】



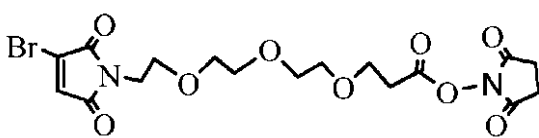
ESI MS m/z $C_{13}H_{12}Br_2N_2NaO_6$ (M+Na) : 計算値 : 472.91 ; 実験値 : 472.91。

【 0 2 4 1】

2,5 - ジオキソピロリジン-1-イル3-(2-(2-(2-(3-ブromo-2,5 -ジオキソ-2,5 -ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル) エトキシ) エトキシ) エトキシ) プロピオ酸エステル

20

【化 7 8】



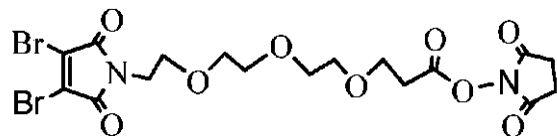
ESI MS m/z $C_{17}H_{21}BrN_2NaO_9$ (M+Na) : 計算値 : 499.04 ; 実験値 : 499.04。

【 0 2 4 2】

2,5 - ジオキソピロリジン-1-イル-3-(2-(2-(2-(3,4 -ジブromo-2,5 -ジオキソ-2,5 -ジヒドロ-1H-ピロール-1 - イル) エトキシ) エトキシ) エトキシ) プロピオ酸エステル

30

【化 7 9】



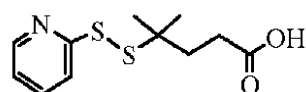
ESI MS m/z $C_{17}H_{20}Br_2N_2NaO_9$ (M+Na) : 計算値 : 576.95 ; 実験値 : 576.95。

【 0 2 4 3】

例 1 7 4-(2-ピリジルジスルフィド) -4-メチル吉草酸

40

【化 8 0】



【 0 2 4 4】

4-メルカプト-4-メチル吉草酸 (Goff, D. など, Bioconjugate Chem. 1990, 1, 381-386) (4.67 g, 31.5 mmol) をメタノール (15 mL) に溶解させた後、2,2'-ジスルフィドジピリジン (30.0 g, 136.2 mmol) のメタノール溶液 (80 mL) と100 mMのリン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.5, 70 mL) を加入し、反応液を6時間攪拌した。反応液を濃縮後、酢酸エチル/ノルマルヘキサン (1:1) で抽出し、その後、水層を1 M HClでpH 3に調整し、次

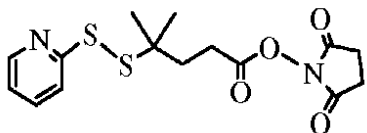
50

に、酢酸エチル (3 × 100 mL) で抽出した。有機相を合併し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過濃縮を行った。シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し (MeOH/ジクロロメタン/酢酸=1:15:0.01)、目的化合物を得た (7.05 g, 87%)。ESI MS m/z $C_{11}H_{16}NO_2S_2$ (M+H): 計算値: 258.05; 実験値: 258.05。

【0245】

例18 4-(2-ピリジジスルフィド)-4-メチル吉草酸スクシンイミドエステル (243) (SMDP linker)

【化81】



10

【0246】

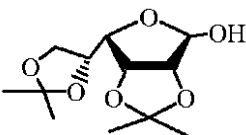
4-(2-ピリジジスルフィド)-4-メチル吉草酸 (2.0 g, 7.78 mmol) をジクロロメタン (20 mL) に溶解させた後、NHS (1.10 g, 9.56 mmol) と EDC (4.0 g, 20.8 mmol) を加入し、反応混合液を一夜攪拌した。反応液を濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し (酢酸エチル/ジクロロメタン=1:10)、目的化合物を得た (2.48 g, 90%)。ESI MS m/z $C_{15}H_{18}NaN_2O_4S_2$ (M+Na): 計算値: 377.07; 実験値: 377.08。

【0247】

例19 (3aR,4R,6S,6aR)-6-((R)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン)-2,2-ジメチルテトラヒドロフラン[3,4-d][1,3]ジオキソール-4-オール (62)

20

【化82】



【0248】

化合物D-グルコン酸ラクトン (20.01 g, 112.37 mmol) と無水硫酸銅 (25.0 g, 157.22 mmol) を乾燥のアセトン (450 mL) に溶解させた後、濃硫酸 (1.6 mL) を加入し、反応混合液を室温で24時間攪拌した。反応液を水酸化カルシウムでpH7に調整し、懸濁液をろ過し、母液を濃縮させ、淡黄色のシロップ状のジアセトンを得、精製する必要がなく、そのまま次の反応ステップに用いられることが可能であった。上記得られたジアセトンをTHF (300 mL) に溶解させて、-78 に冷却した後、1 M DIBAL-Hのトルエン溶液 (180 mL, 180 mM) をゆっくり垂らし、反応混合液を-78 で1時間攪拌した。反応液を水 (50 mL) で消した後に、濾過し、有機層を分離し、無水硫酸ナトリウムで乾燥して、ろ過濃縮した。シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し (ノルマルヘキサン/酢酸エチル=5:1)、無色で形態シロップ状の目的化合物を得た (25.27 mmol、二歩総収率83%)。ESI MS m/z $C_{12}H_{20}NaN_2O_6S$ (M+Na): 計算値: 283.12; 実験値: 283.12。

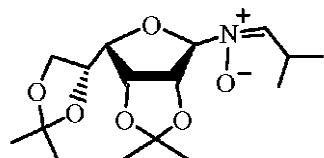
30

【0249】

例20 (3aR,4R,6S,6aR)-6-((R)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン)-2,2-ジメチルN-(2-メチルプロピレン)テトラヒドロフラン[3,4-d][1,3]ジオキソール-4-酸化アンモニウム (64)

40

【化83】



【0250】

50

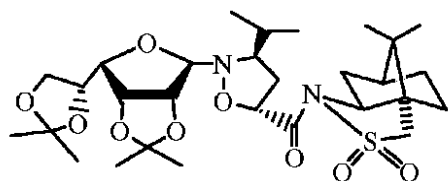
化合物 6 2 (10.0 g, 38.4 mmol) と塩酸ヒドロキシルアミン (25.01 g, 360.87 mmol) をピリジン (150 mL) に溶解させて、反応混合液を室温で 1 時間撹拌した。反応液を濃縮させ、水 (250 mL) を入れ、ジクロロメタンで抽出し、有機層を合併し、飽和食塩水で洗浄した後、無水硫酸マグネシウムで乾燥させて、ろ過濃縮し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し (酢酸エチル)、無色でガラス状の化合物 2,3:5,6-O-ジプロピル-D- グロースオキシム (63) (10.34 g, 98%, 精製する必要がなくて、直接に次反応に使用可能である)。得られたオキシム (10.30 g, 37.43 mmol)、イソブチルアルデヒド (3.00 g, 41.66 mmol)、硫酸マグネシウム (3 g, 25 mmol) を室温で一晩撹拌した。反応液を濾過し、母液を濃縮させた後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し (酢酸エチル)、白色の固体化合物 (11.57 g, 94%) を得た。ESI MS $m/z + C_{16}H_{27}NO_6$ (M+H): 計算値: 329.18; 実験値: 329.18。

10

【 0 2 5 1 】

例 2 1 (3R,5R)-2-((3aR,4R,6S,6aR)-6-((R)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキサラン)-2,2-ジメチルN-(2-メチルプロピレン)テトラヒドロフラン[3,4-d][1,3]ジオキソシクロペンタセン)-3-((-)-10',2'-カンフル素(camphorsultam)]-N-プロピルイソオキサゾール-5-カルボキサミド (65)

【化 8 4】



20

【 0 2 5 2 】

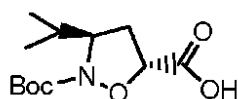
(3aR,4R,6S,6aR,Z)-6-((R)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキサラン)-2,2-ジメチルN-(2-メチルプロピレン)テトラヒドロフラン[3,4-d][1,3]ジオキソシクロペンタセン-4-アミン (6.00 g, 18.22 mmol) と (2R)-N-(アクリロイル)ボルナン-10,2-スルタム (5.10 g, 18.95 mmol) をジクロロメタン (50 mL) に溶解させた後、37 時間加熱還流した。反応液を濃縮させ、エタノール (30 mL) で再結晶後目的化合物 (8.72 g, 80%) を得た。再結晶後の母液を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し (ノルマルヘキサン/酢酸エチル=7:3)、もっと多い目的化合物 (0.47 g, 4%) を得た。ESI MS $m/z + C_{29}H_{46}N_2NaO_9S$ (M+Na): 計算値: 621.28; 実験値: 621.28。

30

【 0 2 5 3 】

例 2 2 (3R,5R)-2-(tert-ブトキシカルボニル)-3-イソプロピルイソオキサゾリン-5-ホルムアミド酸 (67)

【化 8 5】



40

【 0 2 5 4 】

(3R,5R)-2-((3aR,4R,6S,6aR)-6-((R)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキサラン-4-イル)-2,2-ジメチルテトラヒドロフラン[3,4-d][1,3]ジオキソシクロペンタセン-4-イル)-3-((-)-10',2'-カンフル素]-N-イソプロピルオキサゾール-5-ホルムアミド (30.0 g, 48.2 mmol) を THF (100 mL) とメタノール (60 mL) に溶解させた後、45 で水酸化リチウム (5.0 g, 208.7 mmol) の水溶液 (60 mL) を加入し、1 時間撹拌した後、混合液を濃縮させ、水 (150 mL) を加入し、4M の HCl で pH を 9 に調節し、酢酸エチルで抽出した後、水層の pH を 4M の HCl で 3 に調節し、水層について酢酸エチルで抽出して有機相と合併し、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過濃縮した。得られた生成物をノルマルヘキサンで撹拌洗浄した後、(3R,5R)-2-((3aR,4R,6S,6aR)-6-((R)-2,2-ジメチル-1,3

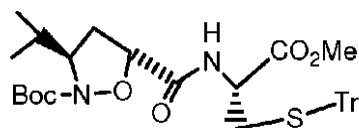
50

-ジオキソラン)-2,2-ジメチルテトラヒドロフラン[3,4-d,1,3] ジオキソシクロペンタセン-3-イソプロピルオキサゾール-5-ホルムアミド酸(66a)(17.1 g, 88%)を得た。精製する必要がなくて、そのまま次反応に用いることが可能であった。ESI MS m/z + $C_{19}H_{31}NNaO_8$ (M+Na): 424.19。上記得られた化合物(8.0 g, 19.95 mmol)をアセトニトリル(80 mL)に溶解させた後、45 で60% $HClO_4$ 水溶液(6.0 mL, 35.77 mmol)添加し、反応混合液を室温で1時間撹拌した。反応液を濃縮後、1,4-ジオキサン(40 mL)に溶解させた後、4 で $NaHCO_3$ (25 g, 297 mmol)の水溶液(32 mL)と Boc_2O (4.80 g, 22.00 mmol)を加し、反応混合液を室温で4時間撹拌した。反応液を濃縮後、水と酢酸エチル/ノルマルヘキサン(1:1)を入れて分層させて、水層のpHを4M HClで3に調節して、酢酸エチルで抽出し、有機相と合併した後、飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過・濃縮後、ノルマルヘキサンで撹拌洗浄して、(3R,5R)-2-(*t*-ブトキシカルボニル)-3-イソプロピルオキサゾール-5-ホルムアミド酸(4.91 g, 95%)を得た。ESI MS m/z + $C_{12}H_{21}NNaO_5$ (M+Na): 計算値: 282.13; 実験値: 282.13。

【0255】

例23 (R)-2-[(3R,5R)-2-(*t*-ブトキシカルボニル)-3-イソプロピルオキサゾール-5-ホルムアミド酸]-3-(トリフェニル)プロピオ酸メチル(68)

【化86】



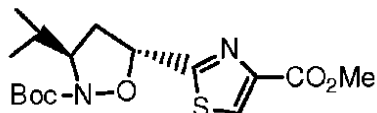
【0256】

(3R,5R)-2-(*t*-ブトキシカルボニル)-3-イソプロピルオキサゾール-5-ホルムアミド酸(1.01 g, 3.89 mmol)と1-(S)-Tr-システインメチル塩酸塩(1.76 g, 4.27 mmol)をジクロロメタン(15 mL)に溶解させ、4 で iPr_2NEt (0.75 mL, 4.31 mmol)とTBTU(2.50 g, 7.78 mmol)を加し、反応混合液を室温で一晩撹拌した。反応液を $NaHCO_3$ 水溶液に入れて、ジクロロメタンで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過濃縮を行った。シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し(ノルマルヘキサン/酢酸エチル=1:2)、目的化合物(2.10 g, 87%)を得た。ESI MS m/z + $C_{35}H_{42}N_2NaO_6S$ (M+Na): 計算値: 641.27; 実験値: 641.26。

【0257】

例24 (3R,5R)-*t*-ブチル-3-イソプロピル-3,4-(メトキシカルボニル)チアゾール)イソプロピルオキサゾール-2 蟻酸メチル(69)

【化87】



【0258】

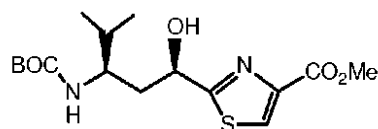
$Ph_3P=O$ (4.10 g, 14.74 mmol)をジクロロメタン(40 mL)に溶解させ、 Tf_2O (2.0 mL, 12.0 mmol)を加し、反応混合液を-10 で1時間撹拌し、当該温度下で(R)-2-[(3R,5R)-2-(*t*-ブトキシカルボニル)-3-イソプロピルオキサゾール-5-ホルムアミド酸]-3-(トリフェニル)プロピオ酸メチル(68)(4.00 g, 6.47 mmol)のジクロロメタン(20 mL)溶液を加し、反応混合液を室温で6時間撹拌した。その後、反応液を4 で飽和 $NaHCO_3$ 水溶液に入れて、ジクロロメタンで抽出し、有機相を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過濃縮を行った。シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し(ノルマルヘキサン/酢酸エチル=3:2)、対応のチアゾリジンを得た。上記得られた化合物をジクロロメタン(60 mL)に溶解させ、 MnO_2 (5.80 g, 66.7 mmol)を加し、反応混合液を室温で24時間撹拌した。反応液を濾過濃縮後、シリカゲルカ

ラムクロマトグラフィーで分離し（ノルマルヘキサン/酢酸エチル=3:2）、目的化合物（69）（1.75 g, 75%）を得た。ESI MS m/z + $C_{16}H_{24}N_2NaO_5S$ (M+Na)：計算値：379.13；実験値：379.14。

【0259】

例25 2-((1R,3R-3-(t-ブトキシカルボニル)-1-水素-4-メチルアミン)チアゾール-4-メチル)ヒ酸メチル(70)

【化88】



10

【0260】

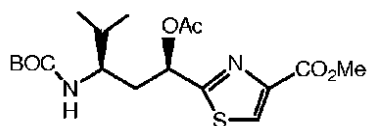
(3R,5R)-t-ブチル-3-イソプロピル-3-4-(メトキシカルボニル)チアゾール)イソプロピルオキサゾール-2-ヒ酸メチル(69)(1.00 g, 2.81 mmol)をアセトニトリル(20 mL)と H_2O (2 mL)に溶解させ、 $Mo(CO)_6$ (1.10 g, 3.12 mmol)を加入し、反応混合液を70℃で16時間撹拌した。反応液を濃縮後、酢酸エチル(50 mL)と10%クエン酸水溶液(50 mL)を入れ、さらに、水層が透明になるまでに $NaIO_4$ を入れて、酢酸エチルで抽出した。有機相を $Na_2S_2O_3$ 水溶液(10%)と飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過濃縮を行った。シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し（ノルマルヘキサン/酢酸エチル=3:2）、無色で固体化合物を得た(906 mg, 90%)。ESI MS m/z + $C_{16}H_{26}N_2NaO_5S$ (M+Na)：計算値：381.14；実験値：381.14。

20

【0261】

例26 2-((1R,3R-1-アセトキシル-3-(t-ブトキシ-メチルアミン-4-ペンチル)チアゾール-4-メチル)ヒ酸メチル(71)

【化89】



【0262】

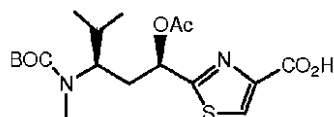
化合物70(900 mg, 2.51 mmol)をピリジン(15 mL)に溶解させ、酢酸無水物(0.5 mL, 5.29 mmol)を入れて、一夜撹拌後濃縮させた。シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し（ノルマルヘキサン/酢酸エチル=4:1）、無色で固体化合物を得た(950 mg, 95%)。ESI MS m/z + $C_{18}H_{28}N_2NaO_6S$ (M+Na)：計算値：423.15；実験値：423.16。

30

【0263】

例27 2-((1R,3R-1-アセトキシル-3-(t-ブトキシ-メチルアミン-4-ペンチル)チアゾール-4-メチル)ヒ酸(72)

【化90】



40

【0264】

化合物71(940 mg, 2.35 mmol)をTHF(15 mL)に溶解させ、4℃でNaH(120 mg, 3.0 mmol, 60%)を加入し、反応混合液を2時間撹拌した後、 CH_3I (0.155 mL, 2.49 mmol)を加入し、反応混合液を一夜撹拌した。反応液を濃縮後、酢酸エチルに溶解させ、ろ過、濃縮乾固を行い、純度の2-((1R,3R-1-アセトキシル-3-(t-ブトキシ-メチルアミン-4-ペンチル)チアゾール-4-メチル)ヒ酸メチル(73a)を得た。上記得られた化合物(73a)を1,2-ジクロロエタン(20 mL)に溶解させ、トリメチル水酸化錫(620 mg, 3.43 mmol)を加入し、反応混合液を80℃で一夜撹拌した。反応液を濃縮後、エタノール/ジクロ

50

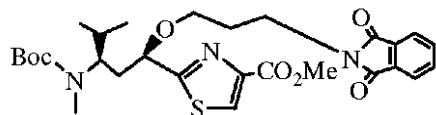
ロメタン/酢酸 (1:5:0.01, 20 mL) に溶解させ、ろ過濃縮を行い、母液にトルエンを入れて再び濃縮させ、乾燥の化合物を得た。その後、上記得られた化合物をピリジン (15 mL) に溶解させ、酢酸無水物 (0.4 mL, 4.23 mmol) を加入し、反応混合液を一夜撹拌した。反応液を濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し (メタノール/ジクロロロメタン/酢酸=1:10:0.01)、無水の固体化合物 (735 mg, 78%) を得た。ESI MS m/z $C_{18}H_{28}N_2NaO_6S$ (M+Na): 計算値: 423.15; 実験値: 423.16。

【0265】

例 282 - ((1R,3R - 3 - (t - ブトキシ (メタ) アミン - 1 - (3 - 1,3 - ジオキソイソインドーリン) - 4 - メチルアミン - ペンチル) チアゾール - 4 - - 蟻酸メチル (86)

【化91】

10



【0266】

化合物 70 (850 mg, 2.37 mmol) を THF (15 mL) に溶解させ、-20 で NaH (100 mg, 2.5 mmol, 60%) を加入し、当該温度下で 20 分間撹拌してから、N - (3 - プロモプロピル) フタルイミド (655 mg, 2.4 mmol) を加入し、上記反応混合液を -20 下 30 分間撹拌した後、室温に昇温して 4 時間反応させた。反応液にメタノール (0.5 mL) を入れて反応を停止させ、ジクロロメタン (60 mL) を加入し、ろ過・濃縮を行い、2 - (1R,3R - 3 - (t - ブトキシ - メチルアミン - 1 - (3 - (1,3 - ジオキソイソインドーリン - 2 - プロキシ - 4 - - ペンチル) チアゾール - 4 - 蟻酸メチル 85) を得た。得られた化合物は精製する必要がなく、そのまま次の反応ステップに用いることが可能であった。上記得られた化合物 85 を THF (10 mL) に溶解させた後、室温で NaH (170 mg, 4.25 mmol, 60%) を加入し、45 分間撹拌し、CH₃I (0.20 mL, 3.21 mmol) を加入し、反応液を室温で一夜撹拌した。反応液に対し、NaH₂PO₄ (2.0 M, 2 mL) で反応を停止させ、その後、DMA (5 mL) を加入し、減圧濃縮を行い、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し (酢酸エチル/ジクロロロメタン=1:10 ~ 1:4)、目的化合物を得た (921 mg, 69%)。ESI MS m/z $C_{28}H_{37}N_3NaO_7S$ (M+Na): 計算値: 582.22; 実験値: 582.22。

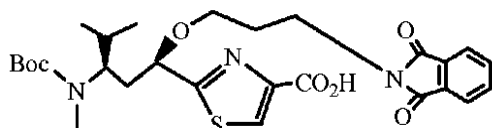
20

【0267】

30

例 292 - ((1R,3R - 3 - (t - ブトキシ (メタ) アミン - 1 - (3 - 1,3 - ジオキソイソインドーリン) - 4 - メチルアミン - ペンチル) チアゾール - 4 - - 蟻酸 (87)

【化92】



【0268】

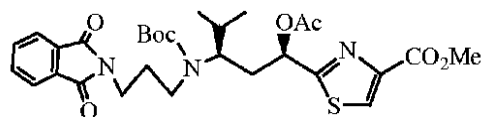
乾燥の化合物 86 (910 mg, 1.63 mmol) を 1,2-ジクロロエタン (20 mL) に溶解させ、トリメチル水酸化錫 (400 mg, 2.21 mmol) を加入し、反応混合液を 80 下で一夜撹拌した。反応液を濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し (メタノール/ジクロロロメタン/酢酸=1:10:0.01)、目的化合物 (756 mg, 85%) を得た。ESI MS m/z $C_{27}H_{37}N_3O_7S$ (M+H): 計算値: 546.22; 実験値: 546.22。

40

【0269】

例 302 - ((1R,3R - 1 - アセトキシ - 3 - (t - ブトキシ (3 - 1,3 - ジオキソイソインドーリン - 2 - ペンタミン) - 4 - メチルアミン - 4 - ペンチル) チアゾール - 4 - - 蟻酸メチル (89)

【化 9 3】



【0 2 7 0】

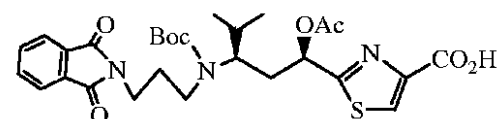
化合物 71 (800 mg, 2.00 mmol) を THF (30 mL) に溶解させ、室温で NaH (150 mg, 3.75 mmol, 60%) を加入し、45 分間撹拌してから、N-(3-ブロモプロピル)フタルイミド (655 mg, 2.4 mmol) を加入した。反応混合液を室温で一夜撹拌した。反応液に対し、 NaH_2PO_4 (2.0 M, 2 mL) で反応を停止させ、その後、DMA (5 mL) を加入し、減圧濃縮を
10

行い、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し(酢酸エチル/ジクロロメタン=1:10~1:4)、目的化合物を得た(971 mg, 82%)。ESI MS m/z + $\text{C}_{29}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{NaO}_8\text{S}$ (M+Na): 計算値: 610.22; 実験値: 610.22。

【0 2 7 1】

例 3 1 2-((1R,3R-1-アセトキシ-3-(t-ブトキシ(3-1,3-ジオキソイソインドーリン-2-ペンタミン)-4-メチルアミン-4-ペンチル)チアゾール-4-)-蟻酸(90)

【化 9 4】



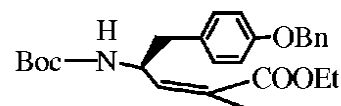
【0 2 7 2】

乾燥の化合物 89 (900 mg, 1.53 mmol) を 1,2-ジクロロエタン (35 mL) に溶解させ、トリメチル水酸化錫 (400 mg, 2.21 mmol) を加入し、反応混合液を 80 °C で一夜撹拌した。反応液を濃縮後、得られた生成物をピリジン (20 mL) に溶解させて、酢酸無水物 (3 mL) を加入し、反応混合液を一夜撹拌した。反応液を濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離し(メタノール/ジクロロメタン/酢酸=1:10:0.01)、目的化合物 (755 mg, 86%) を得た。ESI MS m/z + $\text{C}_{28}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{NaO}_8\text{S}$ (M+Na): 計算値: 596.20; 実験値: 596.20。
30

【0 2 7 3】

例 3 2 (S)-5-4-(ベンジルオキシ)フェニル-4-(t-ブトキシカルボニルアミノ)-2-メチルペンテニン酸エチル (185)

【化 9 5】



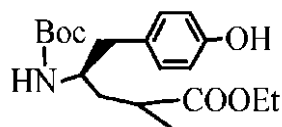
【0 2 7 4】

-78 °C で、ジイソブチル水素化アルミニウム (40 mL, 40 mmol, 1.0 M) を (S)-3-4-(ベンジルオキシ)フェニル-4-(t-ブトキシカルボニルアミノ)プロピオ酸メチル 84 (8.00 g, 20.76 mmol) の DCM (250 mL) 溶液にゆっくり加入し、2 時間反応後、MeOH (5 mL) で反応を停止させた。反応混合物が室温になった後、1 M HCl で pH を 4 に調整し、分液を行った。水層を DCM (2 x 150 mL) で抽出し、有機層を水で洗浄し、有機層を合併し、無水 Na_2SO_4 で乾燥させ、ろ過・濃縮をし、アルデヒド基中間体の初産物を得た。当該初産物を DCM に溶解させ、室温で 1-(1-エトキシカルボニルエチル)トリフェニル臭化ホスフィン (18.0 g, 40.64 mmol) と KOtBu (5.00 g, 44.64 mmol) のジクロロメタン (80 mL) 溶液によって合成されたイリド溶液を加入し、混合物を一夜反応させた後、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(酢酸エチル/ノルマルヘキサン=1:8-1:4)、目的生成物 (185) (6.90 g, 76%) を得た。ESI: m/z : [M+Na]⁺, イオンピーク: $\text{C}_{26}\text{H}_{33}\text{NNaO}_5$, 462.22, 実験値, 462.22。
40
50

【 0 2 7 5 】

例 3 3 (4R) - 4 - (t - ブトキシカルボニルアミノ - 5 - 4 - ヒドロキシフェニル) - 2 - メチル吉草酸エチル (186)

【 化 9 6 】



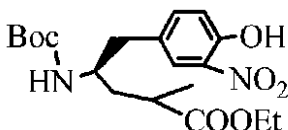
【 0 2 7 6 】

水素反応瓶に (S) - 5 - 4 - (ベンジルオキシ)フェニル) - 4 - (t - ブトキシカルボニルアミノ) - 2 - メチルペンテニン酸エチル (185) (6.70g, 15.26mmol) と、メタノール (150ml) と、10%Pd/C(0.3g)とを入れて、30 psi水素ガスの雰囲気中で6時間反応させて、珪藻土でろ過濃縮を行い、エタノール/ノルマルヘキサンで再結晶させて目的生成物(186) (4.61g, 86%) を得た。ESI: m/z: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₁₉H₂₉NNaO₅, 374.20, 実験値, 374.30。

【 0 2 7 7 】

例 3 4 (4R) - 4 - (t - ブトキシカルボニルアミノ - 5 - 4 - ヒドロキシ - 3 - ニトロフェニル) - 2 - メチル吉草酸エチル (187)

【 化 9 7 】



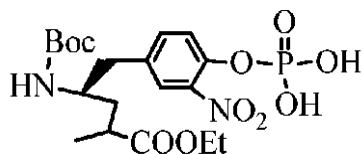
【 0 2 7 8 】

化合物 (186) (4.50g, 12.81mmol) の無水CH₂Cl₂ (200 ml) 溶液にAc₂O (2ml, 21.16mmol) と発煙硝酸(0.65ml, 14.07mmol)を加入し、室温で4時間攪拌し、水(150ml)で希釈し、分離し、水相を酢酸エチルで抽出した。有機層を合併し、無水Na₂SO₄で乾燥させ、ろ過濃縮を行い、カラムクロマトグラフィーで分離し(酢酸エチル/ジクロロメタン=1:10)、目的生成物(187) (4.21g, 83%) を得た。ESI: m/z: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₁₉H₂₈N₂NaO₇, 419.19, 実験値, 419.20。

【 0 2 7 9 】

例 3 5 4 - (t - ブトキシカルボニルアミノ) - 2 - メチル - 5 - (3 - ニトロ - 4 - ホスホオキシフェニル) 吉草酸エチル (188)

【 化 9 8 】



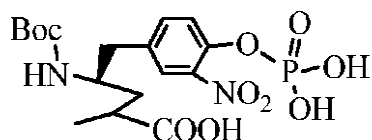
【 0 2 8 0 】

化合物 (187) (4.00g, 10.09mmol) をアセトニトリル (70ml) とN,N - ジメチルアセトアミド (30ml) に溶解させ、0°Cに冷却後、N,N- ジイソプロピルエチラミン (4.00ml, 23.00mmol) を加入し、2分間後、オキシ塩化りん (2.00ml, 21.45mmol) を入れた。室温で8時間攪拌し、0°Cに冷却後、炭酸水素ナトリウム (3.5g, 41.60mmol) と水 (20ml) からなる溶液をゆっくり加入し、0 で一夜攪拌を続け、濃縮させ、C-18カラム (20 x 4cm) で精製し、勾配溶離条件: 25ml/min, A: 0.5%酢酸、B: メタノール。100%Aで10分間洗浄した後、45分間を経て75% A と25% B (メタノール) になった。目標成分を収集し、濃縮後、目的化合物 (188) (3.89g, 81%) を得た。ESI: m/z: [M-H]⁻, イオンピーク: C₁₉H₂₈N₂O₁₀P, 475.16, 実験値, 475.20。

【 0 2 8 1 】

例 3 6 (4R) - 4 - (t - ブトキシカルボニルアミノ) - 2 - メチル - 5 - (3 - ニトロ - 4 - ホスホノオキシフェニル) 吉草酸 (85)

【化 9 9】



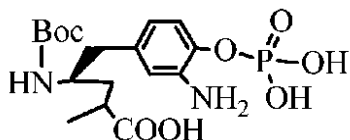
【 0 2 8 2 】

化合物 (188) (3.75g, 7.87mmol) の THF (100ml) 溶液に水酸化リチウム (5.0 g, 208.7 mmol) の水 (60ml) 溶液を入れて、0℃で 4 時間反応させ、4Mの塩酸でpH6に調整し、濃縮させ、C-18カラムで精製し、勾配溶離を行い、すなわち、25ml/minの速度で100%A (0.5%の酢酸) を 1 0 分間保持してから、4 5 分間を経て75% A と25% B (メタノール) になった。目標成分を収集し、目的化合物 (189) (2.82 g, 80%)を得た。ESI: m/z: [M-H]⁻, イオンピーク: C₁₇H₂₄N₂O₁₀P, 447.12, 実験値, 447.20。

【 0 2 8 3 】

例 3 7 (4R) - 5 - (3 - アミノ - 4 - ホスホノオキシフェニル) - 4 - (t - ブトキシカルボニルアミノ) - 2 - メチル吉草酸 (190)

【化 1 0 0】



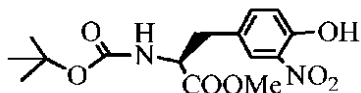
【 0 2 8 4 】

水素反応瓶に化合物 (189) (2.6g, 5.80mmol)、メタノール(80ml)、10%Pd/C (0.2 g) を順に加入した。35 psiの水素ガスの圧力で 6 時間反応させた。混合物を珪藻土でろ過濃縮し、組製品 (190) (2.18 g, 90%)を得た。精製する必要がなくて、そのまま次の反応ステップに用いることが可能であった。ESI: m/z: [M-H]⁻, イオンピーク: C₁₇H₂₆N₂O₈P, 417.15, 実験値, 417.15。

【 0 2 8 5 】

例 3 8 (S) - 2 - (t - ブトキシカルボニルアミノ - 3 - (4 - ヒドロキシ - 3 - ニトロフェニル) - プロピオ酸メチル (1 9 6)

【化 1 0 1】



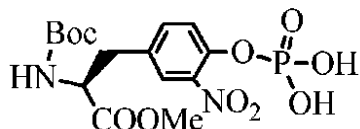
【 0 2 8 6 】

(S) - 2 - (t - ブトキシカルボニルアミノ - 3 - (4 - ヒドロキシフェニル) - プロピオ酸メチル (195) (4.5 g, 15.24 mmol) の無水ジクロロメタン (240 ml) 溶液に酢酸無水物 (4 ml, 42.32 mmol) と発煙硝酸 (0.85 ml, 18.40 mmol) を入れた。室温で 4 時間攪拌後、水 (150ml) で希釈し、分離し、水相を酢酸エチルで抽出した。有機層を合併し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過・濃縮を行い、カラムクロマトグラフィーで分離し (酢酸エチル/ジクロロメタン=1:10)、目的生成物 (196) (4.30 g, 83%)を得た。ESI: m/z: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₁₅H₂₀N₂NaO₇, 363.13, 実験値, 363.20。

【 0 2 8 7 】

例 3 9 (S) - 2 - (t - ブトキシカルボニルアミノ) - 3 - (3 - ニトロ - 4 - ホスホノオキシフェニル) - プロピオ酸メチル (197)

【化 1 0 2】



【 0 2 8 8】

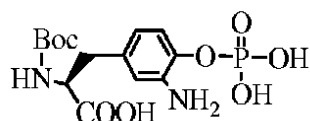
0°Cで、化合物(196) (4.10 g, 12.05 mmol)のアセトニトリル (90 ml) 溶液にN,N'-ジイソプロピルエチルアミン (4.00 ml, 23.00 mmol)を入れて、2分間攪拌した後、塩化ホスホリル (2.00 ml, 21.45 mmol)を加し、反応混合物を室温で8時間攪拌した後、0°Cまでに冷却し、炭酸水素ナトリウム (3.5g, 41.60mmol) と水 (20ml) からなる溶液をゆっくり入れて、0°Cで一晩攪拌を続け、その後、濃縮させ、C-18カラム (20 x4cm) で精製し、勾配溶離を行い、すなわち、25ml/minの速度で100%A (0.5%の酢酸) を10分間保持してから、45分間を経て75% A と25% B (メタノール) になった。目標成分を収集濃縮し、目的化合物 (197) (4.20 g, 83%)を得た。ESI: m/z: [M-H]⁻, イオンピーク: C₁₅H₂₀N₂O₁₀P, 419.08, 実験値, 419.10。

10

【 0 2 8 9】

例 4 0 3 - (3 - アミノ - 4 - ホスホノオキシフェニル) - (2R) - 2 - (t - ブトキシカルボニルアミノ) - プロピオ酸 (198)

【化 1 0 3】



20

【 0 2 9 0】

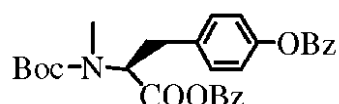
乾燥済の化合物(197) (4.0 g, 9.52 mmol)を1,2-ジクロロエタン (50 ml) とN,N -ジメチルアセトアミド (60 ml) からなる混合溶媒に溶解させた溶液に、トリメチル水酸化錫 (4.00 g, 22.1 mmol)を入れた。混合物を80°Cで6時間反応させて濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し (水/アセトニトリル=1:4)、目標成分を収集し、濃縮させ、(S) - 2 - (t - ブトキシカルボニルアミノ) - 3 - (3 - ニトロ - 4 - ホスホノオキシフェニル) - プロピオ酸を得た。得られた化合物とN,N-ジメチルアセトアミド (70 ml) と10%Pd/C (0.3 g)を併せて水素反応瓶に入れた。35 psiの水素ガスの圧力で6時間反応させた。混合物を珪藻土でろ過し、濃縮させ、再結晶後目的生成物 (198) (2.86 g, 80%)を得た。更なる精製が必要でなく、そのまま次の反応ステップに用いることが可能であった。ESI: m/z: [M-H]⁻, イオンピーク: C₁₄H₂₀N₂O₈P, 375.10, 実験値, 375.10。

30

【 0 2 9 1】

例 4 1 3 - (4 - ベンジルオキシフェニル) - (2R) - 2 - [(t - ブトキシカルボニル) - アミノメチル] - プロピオ酸ベンジル (200)

【化 1 0 4】



40

【 0 2 9 2】

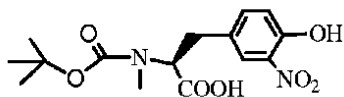
3 - (4 - ベンジルオキシフェニル) - (2R) - 2 - (t - ブトキシカルボニルアミノ) - プロピオ酸ベンジル (4.0 g, 8.67 mmol) のテトラヒドロフラン (60 ml) 溶液に水素化ナトリウム (430 mg, 10.75 mmol, 60%オイルコンパウンド)を入れて、室温で1時間攪拌した後、ヨウ素メタン (1.82 g, 12.82 mmol)を加し、混合液を一晩攪拌し、メタノール (0.5 ml)で反応を停止させ、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し (酢酸エチル/ジクロロメタン=1:10)、目的生成物 (200) (3.83 g, 93%)を得た。MS ESI: m/z: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₂₉H₃₃NNaO₅, 498.24, 実験値, 498.24。

50

【 0 2 9 3 】

例 4 2 (2R) - 2 - [(t - ブトキシカルボニル) - メチルアミノ] - 3 - (4 - ヒドロキシ - 2 - ニトロフェニル) プロピオ酸 (201)

【 化 1 0 5 】



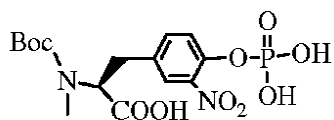
【 0 2 9 4 】

水素反応瓶に化合物 (200) (3.8g, 8.00mmol)、メタノール(80ml)、10%Pd/C (0.3 g) を順に加入した。35 psiの水素ガスの圧力で6時間反応させて、珪藻土でろ過し、濃縮させ、粗生成物である (2R) - 2 - [(t - ブトキシカルボニル) - メチルアミノ] - 3 - (4 - ヒドロキシフェニル) プロピオ酸 (201 a) を得た。当該化合物は精製する必要がなく、-25 の温度下で、化合物 (201 a) の無水ジクロロメタン (240ml) 溶液に、四塩化スズ(1.5 ml, 12.75 mmol)と発煙硝酸(0.60 ml, 12.98 mmol)のジクロロメタン(40 ml)を加入し、混合物を-25 で75分間攪拌し、飽和炭酸水素ナトリウムで反応を停止させ、pHを3~4に調整し、水層を酢酸エチルで抽出し、有機層を合併し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過濃縮を行い、カラムクロマトグラフィーで分離し(MeOH/DCM/HOAc 1:8:0.01)、目的化合物 (201) (1.98 g, 73%)を得た。ESI: m/z: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₁₅H₂₀N₂NaO₇, 363.13, 実験値, 363.13。

【 0 2 9 5 】

例 4 3 (2R) - 2 - [(t - ブトキシカルボニル) - メチルアミノ] - 3 - (3 - ニトロ - 4 - ホスホノオキシフェニル) プロピオ酸 (202)

【 化 1 0 6 】



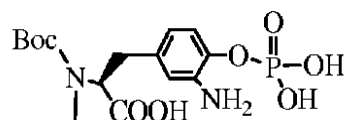
【 0 2 9 6 】

化合物 (201) (1.98 g, 5.82 mmol) をアセトニトリル (30ml) と N, N - ジメチルアセトアミド (30ml) に溶解させた溶液に、0 °C で N, N' - ジイソプロピルエチルアミン (2.00 ml, 11.50 mmol)) を入れて、当該温度下で2分間反応させた後、塩化ホスホリル (1.10 ml, 11.79 mmol) を入れた。反応混合液を室温で8時間攪拌した後、0 °C までに冷却し、炭酸水素ナトリウム (2.0 g, 23.80 mmol) と水 (10ml) からなる溶液をゆっくり加入し、0 °C で一夜攪拌を続け、混合物を濃縮させ、C-18カラム (20 x4cm) で精製し、勾配分離を行い、25ml/minの速度で100%A (0.5%の酢酸) を10分間保持してから、45分間を経て75% A と25% B (メタノール) になった。目標成分を収集し、濃縮させ、目的化合物 (202) (1.96, 80%)を得た。ESI: m/z: [M-H]⁻, イオンピーク: C₁₅H₂₀N₂O₁₀P, 419.09, 実験値, 419.09。

【 0 2 9 7 】

例 4 4 3 - (3 - アミノ - 4 - ホスホノオキシフェニル) - (2R) - 2 - [(t - ブトキシカルボニル) - メチルアミノ] プロピオ酸 (203)

【 化 1 0 7 】



【 0 2 9 8 】

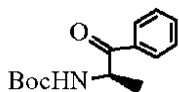
水素反応瓶に化合物 (202) (1.96 g, 4.67 mmol)、N, N - ジメチルアセトアミン (60ml)、10%Pd/C (0.2 g) を順に入れた。30 psiの水素ガスの圧力で6時間反応させた。混合物

を珪藻土でろ過し、濃縮させ、粗生成物(203)(1.74 g, 95%)を得た。当該粗生成物は精製する必要がなくて、そのまま次の反応ステップに用いることが可能であった。ESI: m/z : $[M-H]^-$, $C_{15}H_{22}N_2O_8P$, 理論値、389.12; 実験値、389.12。

【0299】

例45 フェニル-2-(2R)-t-ブトキシカルボニルアミノ-1-アセトン(204)

【化108】



10

【0300】

(1S,2R)-(+)-ノルエフェドリン(7.0 g, 46.29 mmol)をテトラヒドロフラン(40 ml)と1M炭酸水素ナトリウム(100 ml)の混合溶液に入れて、4の温度下で、45分間内に二炭酸ジ-t-ブチル(10.15 g, 46.53 mmol)のテトラヒドロフラン(60 ml)溶液をゆっくり加入し、反応混合物を室温で6時間撹拌した後、濃縮させ、酢酸エチルで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(EtOAc/Hexane 1:2)、目標成分を収集し、濃縮させ、粗生成物である(1S)-フェニル-2-(2R)-t-ブトキシカルボニルアミノ-1-プロパノール(204b)(10.81, 93%)を得た。当該粗生成物は精製する必要がなくて、MS ESI: m/z : $[M+Na]^+$, イオンピーク: $C_{14}H_{21}NaNO_3$, 274.15, 実験値, 274.15。化合物(204b)のジクロロエタン(50 ml)溶液に、デス-マーティン試薬のジクロロメタン(180 ml, 0.3 M)溶液を入れて、1時間撹拌した後、混合物に冷凍済の水酸化ナトリウム溶液(1M, 100 ml)を入れて分離し、有機層のpHを1Mリン酸二水素ナトリウム(100 ml)で6に調整し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(EtOAc/ヘキサン1:5)、目的生成物204(9.34 g, 81%、2つのステップで)を得た。MS ESI: m/z : $[M+Na]^+$, イオンピーク: $C_{14}H_{19}NaNO_3$, 272.14, 実験値, 272.14。

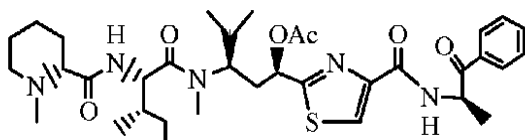
20

【0301】

例46 (1R,3R)-3-((2S,3S)-N-メチル-3-メチル-2-(R)-1-メチルピペリジン-2-ホルムアミド)-ペンタアミノ-4-メチル-1-4-(1-オキソ-1-フェニルプロピル-2-イル)カルバモイル)チアゾール-2-イル)-吉草酸エチル(205)

30

【化109】



【0302】

4の温度下で、化合物204(180 mg, 0.722 mmol)の1,4-ジオキサン(4 ml)溶液に濃塩酸(1.0 ml, 37%)を加え、混合物を室温で40分間撹拌した後、濃縮させ、トルエンを加えて濃縮乾固を行った。乾燥後の固体をN,N-ジメチルアセトアミン(7ml)に溶解させ、当該溶液に化合物106(251 mg, 0.466 mmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチル炭素ジイミン塩酸塩(305 mg, 1.56 mmol)、N,N'-ジイソプロピルエチルアミン(0.13 ml, 0.747 mmol)を順に加入し、反応混合液を8時間撹拌し、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(EtOAc/CH₂Cl₂=1:4)、目的生成物205(255.3 mg, 82%)を得た。ESI: m/z : $[M+Na]^+$, イオンピーク: $C_{35}H_{51}NaN_5O_6S$, 692.36, 実験値, 692.36。

40

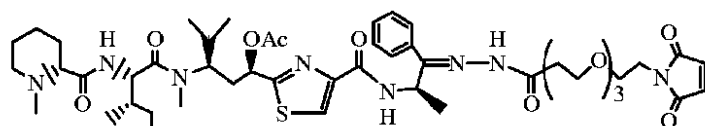
【0303】

例47 (1R,3R)-3-((2S,3S)-N,3-ジメチル-2-(R)-1-メチルピペリジン-2-ホルムアミド)-ペンタノイルアミノ-1-(4-((R)-1-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-12-オキソ-15-フェニル-3,6,9-トリオキサ-13,14-ジアザヘプタデシル-14-アルケニル)-16-カルバモイル)チアゾール-2

50

-イル)-4-メチル吉草酸エチル(206)

【化110】



【0304】

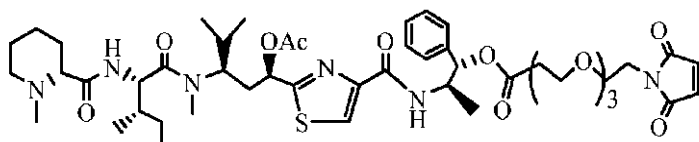
化合物205 (75 mg, 0.112 mmol)のメタノール(5 ml)溶液に化合物12 (50 mg HCl塩, 0.126 mmol)と酢酸(3 μ l, 0.052 mmol)を入れて、混合物を一夜反応させた後、N,N'-ジイソプロピルエチルアミン(23 μ l, 0.132 mmol)を加入して中和させ、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(EtOAc/CH₂Cl₂ = 1:4-1:3)、目的化合物206 (79.3 mg, 70%)を得た。MS ESI: m/z+: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₅₀H₇₄NaN₈O₁₂S, 1033.51, 実験値, 1033.50。

10

【0305】

例48 (1S,2R)-2-(2-((1R,3R)-1-アセトキシル-3-((2S,3S)-N,3-ジメチル-2-((R)-1-メチルピペリジン-2-ホルムアミド)ペンタノイルアミノ)-4-メチルアミル)チアゾール-4-ホルムアミド基)-1-フェニルプロピル-3-(2-(2-(2-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)エトキシ)エトキシ)エトキシ)プロピオ酸エチル(211)

【化111】



20

【0306】

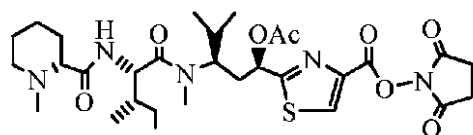
化合物208a(95 mg, 0.141 mmol)と3-(2-(2-(2-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)エトキシ)エトキシ)エトキシ)プロピオ酸(55 mg, 0.182 mmol)のジクロロエタン(5 ml)溶液に、ジシクロヘキシルカルボジイミド(122 mg, 0.591 mmol)と2,2-ジメチロールプロピオン酸(25 mg, 0.204 mmol)を加入し、混合物を一夜攪拌した後、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(EtOAc/CH₂Cl₂ = 1:3)、目的化合物211 (95.1 mg, 71%)を得た。MS ESI: m/z+: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₄₈H₇₀NaN₆O₁₂S, 977.47, 実験値, 977.47。

30

【0307】

例49 2,5-ジオキソピロリジン-1-イル-2-((1R,3R)-1-アセトキシル-3-((2S,3S)-N,3-ジメチル-2-((R)-1-メチルピペリジン-2-ホルムアミド)ペンタノイルアミノ)-4-メチルアミル)チアゾール-4-カルボン酸エチル(234)

【化112】



40

【0308】

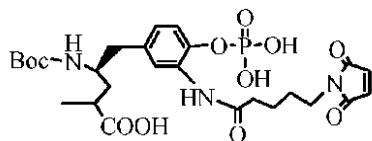
化合物106 (788.1 mg, 1.464 mmol)のN,N'-ジメチルホルムアミド(10 ml)溶液にN-ヒドロキシスクシンイミド(202.0 mg, 1.756 mmol)、1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩(980 mg, 5.104 mmol)を加入し、混合物を一夜攪拌した後、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(EtOAc/CH₂Cl₂ = 1:3)、目的化合物234 (762.8 mg, 82%)を得た。MS ESI: m/z+: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₃₀H₄₅NaN₅O₈S, 658.30, 実験値, 658.30。

【0309】

50

例 5 0 (4R) - 4 - (t - ブトキシカルボニルアミノ) - 5 - (3 - (5 - (2,5 - ジオキソ - 2,5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) ペンタノイルアミノ - 4 - (ホスホノオキシ) フェニル) - 2 - メチル吉草酸 (235)

【化 1 1 3】



【 0 3 1 0】

10

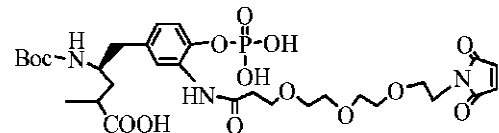
化合物190 (825.1 mg, 1.973 mmol)のN, N' -ジメチルホルムアミド(7 ml)溶液に2,5 - ジオキソピロリジン - 1 - イル - 5 - (2,5 - ジオキソ - 2,5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) 吉草酸エチル (23d) (711 mg, 2.417 mmol)、N,N' -ジイソプロピルエチルアミン(0.250 ml, 1.438 mmol)を加入し、混合物を一夜撹拌した後、濃縮させ、C-18カラムクロマトグラフィーで分離し(4x25 cm, $v = 15$ ml/min, 45 min 内に100%の1% HOAc から75%の1% HOAc/25% MeOH)、目的化合物235 (895.7 mg, 76%)を得た。MS ESI: m/z - : $[M-H]^-$, イオンピーク: $C_{26}H_{35}N_3O_{11}P$, 596.21, 実験値, 596.21。

【 0 3 1 1】

例 5 1 (4R) - 4 - (t - ブトキシカルボニルアミノ) - 5 - (3 - (3 - (2 - (2 - (2 - (2,5 - ジオキソ - 2,5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) エトキシ) エトキシ) エトキシ) プロピオンアミド - 4 - (ホスホノオキシ) フェニル) - 2 - メチル吉草酸 (236)

20

【化 1 1 4】



【 0 3 1 2】

化合物190 (632.5 mg, 1.512 mmol)のN, N' -ジメチルホルムアミド(7 ml)溶液に2,5 - ジオキソピロリジン - 1 - イル - 3 - (2 - (2 - (2 - (2,5 - ジオキソ - 2,5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) エトキシ) エトキシ) エトキシ) プロピオン酸エチル (24c) (727 mg, 1.826 mmol)とN,N' -ジイソプロピルエチルアミン(0.250 ml, 1.438 mmol)を加入し、混合物を一夜撹拌した後、濃縮させ、C-18カラムクロマトグラフィーで分離し(4x25 cm, $v = 15$ ml/min, 45 min 内に100%の1% HOAc から75%の1% HOAc/25% MeOH)、目的化合物236 (763.2 mg, 72%)を得た。MS ESI: m/z - : $[M-H]^-$, イオンピーク: $C_{30}H_{44}N_3O_{14}P$, 700.25, 実験値, 700.25。

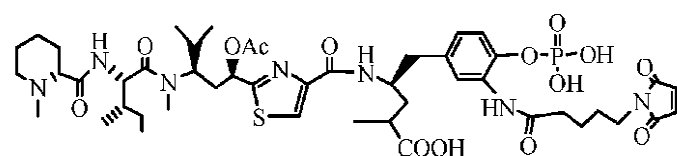
30

【 0 3 1 3】

例 5 2 (4R) - 4 - (2 - ((1R,3 R) - 1 - アセトキシル - 3 - ((2S,3 S) - N,3 - ジメチル - 2 - ((R) - 1 - メチルピペリジン - 2 - ホルムアミド) ペンタノイルアミノ - 4 - メチルペンチル) チアゾール - 4 - ホルムアミド基) - 5 - (3 - (5 - (2,5 - ジオキソ - 2,5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) ペンタノイルアミノ - 4 - (ホスホノオキシ) フェニル) - 2 - メチル吉草酸 (239)

40

【化 1 1 5】



【 0 3 1 4】

化合物235 (102 mg, 0.171 mmol)の1, 4-ジオキサン(4 ml)溶液に濃塩酸(1.0 ml, 37%)

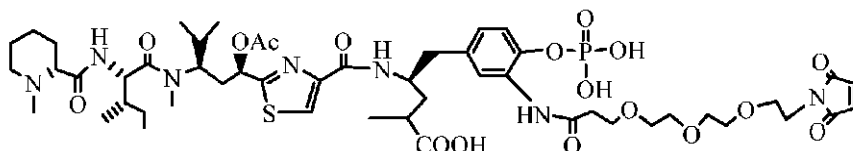
50

を加入し、混合物を30分間撹拌した後、濃縮乾固を行い、粗生成物(237)を得た。粗生成物(237)をN,N-ジメチルアセトアミン(5ml)に溶解させた溶液に、化合物234(110 mg, 0.173 mmol)、N,N'-ジイソプロピルエチルアミン(30 μ l, 0.172 mmol)を順に加入し、混合物を一夜撹拌した後、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(1% HOAc含有水/アセトン, 1:9 - 1:4)、目的化合物239(123.2 mg, 71%)を得た。MS ESI: m/z-: [M-H]⁻, イオンピーク: C₄₇H₆₇N₇O₁₄PS, 1016.42, 実験値, 1016.42。

【0315】

例53 (4R)-4-(2-((1R,3R)-1-アセトキシル-3-((2S,3S)-N,3-ジメチル-2-((R)-1-メチルピペリジン-2-ホルムアミド)ペンタノイルアミノ)-4-メチルペンチル)チアゾール-4-ホルムアミド基)-3-(3-(2-(2-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)エトキシ)エトキシ)エトキシ)プロピオンアミド-4-(ホスホノオキシ)フェニル)-2-メチル吉草酸(240)

【化116】



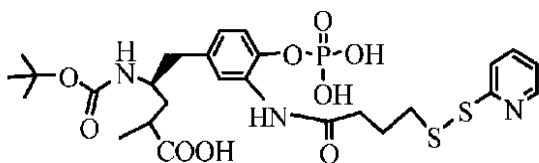
【0316】

化合物236(108 mg, 0.154 mmol)の1,4-ジオキサン(4 ml)溶液に濃塩酸(1.0 ml, 37%)を加入し、混合物を30分間撹拌した後、濃縮乾固を行い、粗生成物(238)を得た。粗生成物(238)をN,N-ジメチルアセトアミン(5ml)に溶解させた溶液に、化合物234(110 mg, 0.173 mmol)、N,N'-ジイソプロピルエチルアミン(30 μ l, 0.172 mmol)を順に加入し、混合物を一夜撹拌した後、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(1% HOAc含有水/アセトン, 1:9 - 1:4)、目的化合物240(131.2 mg, 76%)を得た。MS ESI: m/z-: [M-H]⁻, イオンピーク: C₅₁H₇₅N₇O₁₇PS, 1120.47, 実験値, 1120.48。

【0317】

例54 (4R)-4-(t-ブトキシカルボニルアミノ)-2-メチル-5-(4-(ホスホノオキシ)-3-(4-(ピリジン-2-ジスルフィド)ブチリルアミノ)フェニル)吉草酸(244)

【化117】



【0318】

化合物190(548.3 mg, 1.311 mmol)のN,N'-ジメチルホルムアミド(10 ml)溶液にスクシンイミジル4-(ピリジン-2-ジメルカプト)酪酸(550.2mg, 1.687 mmol)とN,N'-ジイソプロピルエチルアミン(0.18 ml, 1.03 mmol)を加入し、混合物を一夜撹拌した後、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(1% HOAc含有水/アセトン, 1:9 - 1:4)、目的化合物244(660.2 mg, 80%)を得た。MS ESI: m/z-: [M-H]⁻, イオンピーク: C₂₆H₃₅N₃O₉PS₂, 628.16, 実験値, 628.16。

【0319】

例55 (4R)-4-(2-((1R,3R)-1-アセトキシル-3-((2S,3S)-N,3-ジメチル-2-((R)-1-メチルピペリジン-2-ホルムアミド)ペンタノイルアミノ)-4-メチルペンチル)チアゾール-4-ホルムアミド基)-2-メチル-5-(4-(ホスホノオキシ)-3-(4-(ピリジン-2-ジスルフィド)ブチリルアミノ)フェニル)吉草酸(248)

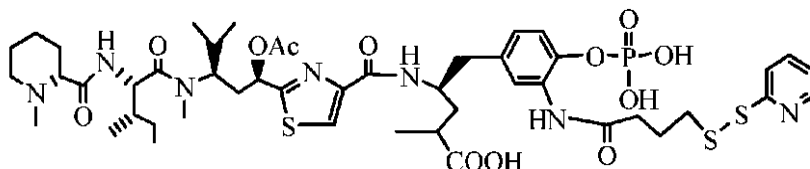
10

20

30

40

【化 1 1 8】



【 0 3 2 0】

4 の室温下で、化合物244 (110.5 mg, 0.175 mmol)の1, 4-ジオキサン(4 ml)溶液に濃塩酸(1.0 ml, 37%)を加入し、混合物を30分間撹拌した後、濃縮乾固を行い、粗生成物(246)を得た。粗生成物(246)をN, N-ジメチルアセトアミン(5ml)に溶解させた溶液に、化合物234(110 mg, 0.173 mmol)、N,N'-ジイソプロピルエチルアミン(30 μ l, 0.172 mmol)を順に加入し、混合物を一夜撹拌した後、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(1% HOAc含有水/アセトン, 1:9 - 1:4)、目的化合物248 (129.1 mg, 71%)を得た。MS ESI: m/z-: [M-H]⁻, イオンピーク: C₄₇H₆₇N₇O₁₂PS₃, 1048.38, 実験値, 1048.38。

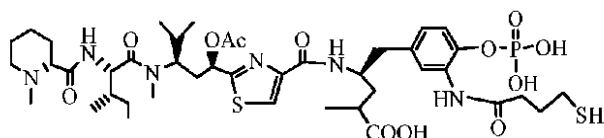
10

【 0 3 2 1】

例56 (4R)-4-(2-((1R,3R)-1-アセトキシル-3-((2S,3S)-N,3-ジメチル-2-((R)-1-メチルピペリジン-2-ホルムアミド)ペンタノイルアミノ)-4-メチルペンチル)チアゾール-4-ホルムアミド基)-5-(3-(4-メルカプトブチルアミド基)-4-(ホスホノオキシ)フェニル)-2-メチル吉草酸(248b)

【化 1 1 9】

20



【 0 3 2 2】

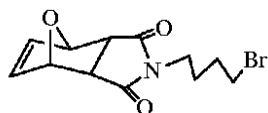
化合物248 (30 mg, 0.0285 mmol)をN, N-ジメチルアセトアミン(2 ml)とリン酸二水素ナトリウム(0.1 M, pH 7)に加入した混合液に、ジチオトレイトール(20 mg, 0.129 mmol)を加えた。混合物を2時間撹拌した後、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(1% HOAc含有水/MeCN, 1:9 - 1:4)、目的化合物248b (22 mg, 85%)を得た。MS ESI: m/z-: [M-H]⁻, イオンピーク: C₄₂H₆₄N₆O₁₂PS₂, 939.38, 実験値, 939.38。

30

【 0 3 2 3】

例57 4-(4-臭素ブチル)-10-オキサ-4-アザトリシクロ[5.2.1.0^{2,6}]デク-8-エン-3,5-ジオン(271)

【化 1 2 0】



【 0 3 2 4】

40

10-オキサ-4-アザトリシクロ[5.2.1.0^{2,6}]デク-8-エン-3,5-ジオン(6.0 g, 36.35 mmol)と水素化ナトリウム(60%オイル状物, 1.50 g, 37.50 mmol)をN, N-ジメチルアセトアミン(60 ml)に加入し、1時間撹拌した後、1, 4-ジブロモブタン(35.0 g, 162.10 mmol)とヨウ化ナトリウム(0.50 g, 3.33 mmol)を加入した。混合物を一夜撹拌した後、メタノール(0.5 ml)で反応を停止させ、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(EtOAc/ヘキサン = 1:8)、目的化合物271 (9.34 g, 86%)を得た。MS ESI: m/z+: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₁₂H₁₄BrNaNO₃, 322.02, 実験値, 322.02。

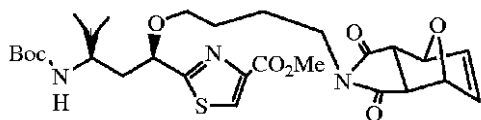
【 0 3 2 5】

例58 メチル-2-((1R,3R)-3-(t-ブトキシカルボニルアミノ)-1-[4'-(3', 6'-エンドキソ-テトラヒドロフタルアシルアミノ)ブトキシ]-4-メチルアミル

50

) チアゾール- 4 -カルボン酸メチル (272)

【化 1 2 1】



【 0 3 2 6 】

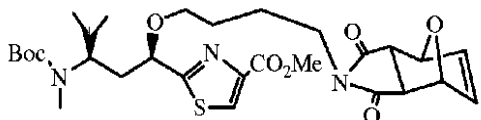
メチル-2 - ((1R,3 R) - 3 - (t - ブトキシカルボニルアミノ) - 1 - ヒドロキシ - 4 -
メチルアミル) チアゾール- 4 -カルボン酸メチル(70)(1.0 g, 2.79 mmol)と水素化ナト
リウム(120 mg, 3.00 mmol, 60%オイル状物)をテトラヒドロフラン(30 ml)に加入し、3
0 分間撹拌した後、化合物271 (1.00 g, 3.34 mmol)とヨウ化ナトリウム(50 mg, 0.33 mm
ol)を加入した。混合物を一夜撹拌した後、メタノール(0.5 ml)で反応を停止させ、濃縮
させ、カラムクロマトグラフィーで分離し (EtOAc/CH₂Cl₂ = 1:10)、目的化合物272 (1.3
6 g, 84%)を得た。MS ESI: m/z+: [M+Na]⁺, イオンピーク : C₂₈H₃₉NaN₃O₈S, 600.25, 実
験値, 600.25。

10

【 0 3 2 7 】

例 5 9 メチル2 - ((1R,3 R) - 3 - (N, N - t - ブトキシカルボニルメチルアミノ) - 1
- [4 ' - (3 ' ' , 6 ' ' - エンドキソ-テトラヒドロフタルアシルアミノ) ブトキシ] - 4 -
メチルアミル) チアゾール- 4 -カルボン酸メチル(273)

【化 1 2 2】



20

【 0 3 2 8 】

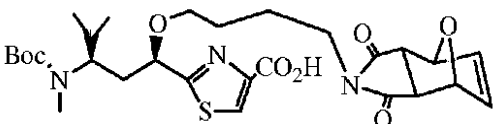
化合物272 (1.30 g, 2.25 mmol)と水素化ナトリウム(108 mg, 2.70 mmol, 60%オイル状
物)をN, N-ジメチルホルムアミン(80 ml)に加入し、1 時間撹拌した後、ヨウ素メタン(46
0 mg, 3.24 mmol)を加入した。混合物を一夜撹拌した後、濃縮させ、カラムクロマトグラ
フィーで分離し (EtOAc/CH₂Cl₂ = 1:12 - 1:8)、目的化合物273 (1.01 g, 76%)を得た。M
S ESI: m/z+: [M+Na]⁺, イオンピーク : C₂₉H₄₁NaN₃O₈S, 614.26, Found, 614.26。

30

【 0 3 2 9 】

例 6 0 2-((1R, 3R)-3-(N, N- t - ブトキシカルボニルメチルアミノ) - 1 - [4 ' - (3 ' ' , 6 ' ' - エンドキソ-テトラヒドロフタルアシルアミノ) ブトキシ] - 4 -メチルアミル)
チアゾール- 4 -カルボン酸 (274)

【化 1 2 3】



【 0 3 3 0 】

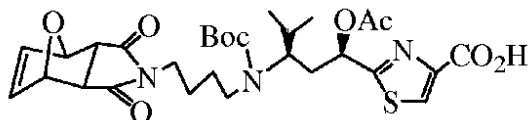
乾燥後の化合物273(900 mg, 1.52 mmol)を1, 2-ジクロロエタン(30 ml)とトルエンから
なる混合溶媒に溶解させ、トリメチル水酸化錫(400 mg, 2.21 mmol)を加入した。混合物
を 1 0 0 で一夜撹拌し、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し (MeOH/CH₂Cl₂/
HOAc = 1:10:0.01)、目的化合物274 (730 mg, 94%)を得た。ESI: m/z:[M+Na]⁺, イオンピ
ーク : C₂₈H₃₉N₃NaO₈S, 600.22, 実験値, 600.22。

40

【 0 3 3 1 】

例 6 1 メチル2 - ((1R,3 R) - 1 - アセトキシル- 3 - (N, N - (t - ブトキシカルボニ
ル) (4 ' - (3 ' ' , 6 ' ' - エンドキソ- -テトラヒドロ) ブチル) アミノ) - 4 -メチル
ペンチル) チアゾール- 4 -カルボン酸 (275)

【化 1 2 4】



【0 3 3 2】

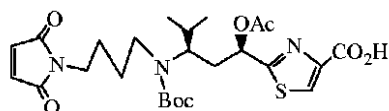
化合物71 (1.50 g, 3.74 mmol)と水素化ナトリウム(180 mg, 4.50 mmol, 60%オイル状物)をN, N-ジメチルホルムアミド(80 ml)に加入し、1時間撹拌した後、化合物271 (1.48 g, 4.94 mmol)とヨウ素メタン(70 mg, 0.467mmol)を加入した。混合物を一夜撹拌し、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(EtOAc/CH₂Cl₂ = 1:10 - 1:6)、目的化合物 275 (1.60 g, 69%)を得た。MS ESI: m/z+: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₃₀H₄₁NaN₃O₉S, 642.26, 実験値, 642.26。

10

【0 3 3 3】

例 6 2 2 - ((1R,3R) - 1 - アセトキシル - 3 - (N,N - (t - ブトキシカルボニル) (4' - マレイミドブチル) アミノ) - 4 - メチルペンチル) - チアゾール - 4 - カルボン酸 (276)

【化 1 2 5】



20

【0 3 3 4】

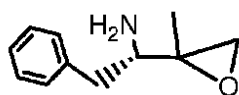
乾燥後の化合物275 (800 mg, 1.29 mmol)を1, 2-ジクロロエタン(40 ml)とトルエンの混合溶媒に溶解させ、トリメチル水酸化錫(400 mg, 2.21 mmol)を加入した。混合物を一夜撹拌した後、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(MeOH/CH₂Cl₂/HOAc = 1:5:0.01)、組成分を収集し、濃縮乾燥を行った。得られた粗生成物をピリジン(15 ml)に溶解させ、0 で当該溶液に酢酸無水物(0.3 ml, 3.17 mmol)を加入し、混合物を室温で一夜撹拌し、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(MeOH/CH₂Cl₂/HOAc = 1:10:0.01)、目的化合物276 (578.4 mg, 74%)を得た。ESI: m/z: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₂₉H₃₉N₃NaO₉S, 628.24, 実験値, 628.24。

30

【0 3 3 5】

例 6 3 1 - (2 - メチル - 2 - エポキシエチル) - 2 - フェニルエチルアミン

【化 1 2 6】



【0 3 3 6】

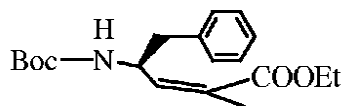
0 の温度で、1 - (2 - メチル - 2 - エポキシエチル) - 2 - フェニルエチル) アミノ蟻酸叔ブチル(Sun, L. et al, J. Mol. Catalysis A: Chem., 2005, 234 (1-2), 29-34)(300 mg, 1.08 mmol)の1, 4-ジオキサン(8 mL)溶液に濃塩酸(37%, 2 mL)を加入し、当該温度下で、TLCが発効物質なしを示すまでに1時間撹拌を続けた。得られた混合液をトルエン(10 ml)で希釈し、濃縮させ、EtOH/ヘキサンで再結晶させた後、目的化合物である塩酸塩(201 mg, 87%)を得た。ESI: m/z: [M+H]⁺, イオンピーク: C₁₁H₁₆NO, 178.12, 実験値, 178.12。

40

【0 3 3 7】

例 6 4 (S, E) エチル - 5 - フェニル - 4 - (t - ブトキシカルボニルアミノ) - 2 - メチル - 2 - ペンテン酸 (327)

【化 1 2 7】



【 0 3 3 8】

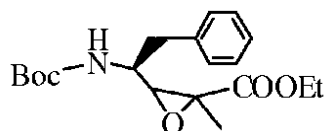
-78 の温度下で、ジイソブチル水素化アルミニウム(40ml, 40mmol, 1.0M)を(S)-3-フェニル-2-(t-ブトキシカルボニルアミノ)-プロピオ酸メチル326 (5.60 g, 20.05 mmol)のCH₂Cl₂ (80ml)溶液に加入し、45分間反応させた後、当該温度下で1-(1-エトキシカルボニルエチル)トリフェニル臭化ホスフィン(18.0g, 40.64mmol)とKOtBu(5.00 g, 44.64mmol)のジクロロメタン(80 ml)溶液によって形成されたイルド溶液を加入し、混合物を-78 で反応させた後、室温で一夜攪拌し、次に、当該混合物に1Lのリン酸二水素ナトリウム溶液を加入し、激しく攪拌し、分液し、水相をジクロロメタンで抽出し、有機層を合併し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(酢酸エチル/ノルマルヘキサン = 1:7-1:5)、目的生成物327 (5.50 g, 83%)を得た。ESI: m/z: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₁₉H₂₇NNaO₄, 356.19, 実験値, 356.20。

10

【 0 3 3 9】

例 6 5 (S)-5-フェニル-4-(t-ブトキシカルボニルアミノ)-2,3-エポキシエチル-2-メチル吉草酸エチル(328)

【化 1 2 8】



20

【 0 3 4 0】

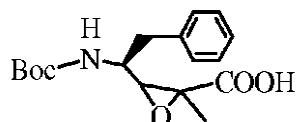
化合物327 (5.0 g, 15.0 mmol)のジクロロメタン(80 ml)溶液に3-クロロ過安息香酸(5.5 g, 22.3 mmol)を加入し、混合物を一夜攪拌した後、炭酸水素ナトリウム(25 ml, sat.)溶液で希釈し、分液し、水相をジクロロメタンで抽出し、有機層を合併し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(酢酸エチル/ノルマルヘキサン=1:4)、目的化合物328 (4.71 g, 90%)を得た。ESI: m/z: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₁₉H₂₇NNaO₅, 372.19, 実験値, 372.20。

30

【 0 3 4 1】

例 6 6 (S)-5-フェニル-4-(t-ブトキシカルボニルアミノ)-2,3-エポキシエチル-2-メチル吉草酸(329)

【化 1 2 9】



【 0 3 4 2】

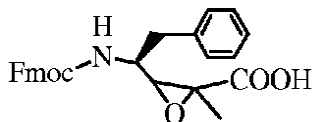
水酸化リチウム(5.0 g, 208.7 mmol)の水溶液(60 mL)に化合物328 (4.70 g, 13.45 mmol)のテトラヒドロフラン(100 ml)溶液を加入し、1時間攪拌した後、濃縮させ、水(150 mL)を加入し、4Mの塩酸でpH4に調節した。混合液を酢酸エチルで抽出し、有機層を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(MeOH/DCM/HOAc = 1:10:0.01)、目的化合物329 (3.97 g, 92%)を得た。ESI: m/z: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₁₇H₂₃NNaO₅, 344.16, Found 344.16。

40

【 0 3 4 3】

例 6 7 (S)-5-フェニル-4-(9-フルオレンメトキシカルボニルアミノ)-2,3-エポキシエチル-2-メチル吉草酸(331)

【化 1 3 0】



【 0 3 4 4】

0 の温度下で、化合物(329)(3.90g, 12.14 mmol)のジクロロメタン溶液にトリフルオロ酢酸(10 ml)を加入し、当該温度下で30分間攪拌し、トルエンで希釈し、濃縮乾燥を行い、粗生成物であるトリフルオロ酢酸塩330を得た。炭酸ナトリウム(5.0 g, 47.16 mmol)を水(60 mL)とエタノール(60 mL)の混合溶媒に加入し、当該溶液に化合物330と9-フルオレンイルメトキシカルボニルクロリド(Fmoc-Cl)(3.70 g, 14.30 mmol)を加入した。6時間攪拌した後、濃縮させ、水(150 mL)を加入し、4Mの塩酸でpH4に調整した。混合液を酢酸エチルで抽出し、有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(MeOH/DCM/HOAc=1:10:0.01)、目的化合物(3.87 g, 72%, 二段の生成率)を得た。ESI: m/z: [M+Na]⁺, イオンピーク: C₂₇H₂₅NNaO₅, 466.17, Found 466.17。

10

【 0 3 4 5】

例 6 8 ポリペプチド縮合の一般的な手順;

アミンの塩酸塩をジクロロメタンまたはN, N-ジメチルホルムアミド(0.2 M)に溶解させ、氷水浴で4℃に冷却し、t-ブトキシカルボニルで保護されたアミノ酸(1.3 eq)、EDC (2 eq)、又はTBTU (2 eq)、又はPyBrOP (2 eq)、HOBt (1.5 eq)、DIPEA (3.5 eq)を順に加入した。温度をゆっくり室温までに昇温した後、かき混ぜながら15時間反応を続け、酢酸エチルで希釈した直後に、1M塩酸水溶液、飽和炭酸水素ナトリウム、水と飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄した。有機相を合併し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、ろ過し、減圧濃縮させ、カラムクロマトグラフィーで分離し(0%-20% MeOH:CH₂Cl₂)、t-ブトキシカルボニルで保護されたポリペプチドを得た。

20

【 0 3 4 6】

例 6 9 t-ブトキシカルボニル脱保護の一般的な手順;

t-ブトキシカルボニルで保護されたアミノ酸を20%トリフルオロ酢酸含有ジクロロメタン溶液又は4M塩酸含有1, 4-ジオキサン溶液に溶解させ、30分間攪拌し、または、反応が完了かどうかをTLC追従によって判断した。減圧濃縮によって、相応のトリフルオロ酢酸塩または塩酸塩ポリペプチド化合物を得た。トリフルオロ酢酸塩含有ポリペプチドを2%塩酸含有ジクロロメタン/トルエン溶液で3~4回濃縮させることによって、相応の塩酸塩を獲得してもいい。

30

【 0 3 4 7】

例 7 0 固相ペプチド(SPPS)合成の一般的な手順;

t-ブトキシカルボニルで保護されたSPPSに用いられるのは、Merrifield樹脂或いは、変性されたPAM樹脂又はMBHA樹脂であった。9-フルオレンメトキシカルボニルで保護されたSPPSに用いられるのは、Wang樹脂、又は、2-クロロトリフェニルメチル塩素樹脂、或いは、HMPB、MBHA樹脂であった。樹脂メーカーの操作指南に従い、樹脂に対し、前処理(プリ膨張)とアミノ化合物の搭載を行った。樹脂におけるt-ブトキシカルボニルで保護されたアミノ酸を20%トリフルオロ酢酸のジクロロメタン溶液又は4M塩酸含有1,4-ジオキサン溶液で脱保護し(30分間攪拌すればいい)、その後、N, N-ジメチルホルムアミド、メタノール、50%N, N-ジイソプロピルエチルアミンのジクロロメタンと純のジクロロメタンを順に洗浄した。複数の遊離アミンに関わる脱保護工程に関して、反応の完全性のために、当該工程はアシル化の前に一度繰り返す必要があった。遊離アミンを、保護されたアミノ酸(遊離アミンの3当量)と、TBTU 又は PyBrOP(遊離アミンの3当量)と、N, N-ジイソプロピルエチルアミン(遊離アミンの5当量)とからなる溶液に懸濁させ、混合液を4時間反応させた後、N, N-ジメチルホルムアミド、メタノール及びジクロロメタンを順に洗浄した。多くの遊離アミンに係るアシル化の反応に関して、反応の完

40

50

全性のため、脱保護前のコンジュゲートステップを一度繰り返した。必要なペプチドを合成するまでにこれらステップを繰り返すのが一般的である。

【0348】

例71 Wang樹脂又は2-クロロトリフェニル塩素樹脂からペプチドを切り離す一般的な手順

ペプチドが結合されたWang樹脂と50%トリフルオロ酢酸含有ジクロロメタン及びトリイソプロピルシラン(1-5%)を混合し、又は、2-クロロトリフェニル塩素樹脂が結合したペプチドと1%トリフルオロ酢酸含有ジクロロメタンを混合して、2時間後ろ過し、ジクロロメタン(3x30 ml)、メタノール(3x30 ml)で順に溶離し、ろ液を合併し、濃縮させ、乾燥後、冷たいエーテルを加入し、得られた沈殿物は脱保護すべきペプチドであった。

10

【0349】

例72 Merrifield樹脂、変性PAM樹脂又はMBHA樹脂からペプチドを切り離す一般的な手順

ペプチドが結合された樹脂とHF/Me₂S/アニソール(10:1:1)又はCH₃SO₃H/Me₂S/アニソール(20:1:1)を混合し(システイン含有ペプチドにとっては、HF/アニソール/Me₂S/p-チオクレゾール(10:1:1:0.2)と混合すべきである)、2時間後、窒素ガスの雰囲気中で濃縮させ、トリフルオロ酢酸で希釈し、ろ過した。その後、樹脂をジクロロメタン(3x30 ml)とメタノール(3x30 ml)で順に溶離し、ろ液を合併し、濃縮させ、乾燥後、冷たいエーテルを加入し、得られた沈殿物は脱保護すべきペプチドであった。

【0350】

例73 クロマトグラフィーによる精製

20

粗生成物であるポリペプチド混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し(10%~25%のメタノール:ジクロロメタンで溶離)、又は、RP HPLCで精製し(0%~70%メタノール水溶液(最も好ましくは1%酢酸)で勾配溶離)、1時間内反応を終了させた後、目的成分を混合し、蒸発後サンプルを収集した。

【0351】

例74 共役体(カップリング剤)の調製

一類の結合分子として、抗体はアミド、硫黄エーテル又はジスルフィド結合を介して分裂抑制剤とコンジュゲートすることができる。50mMホウ酸ナトリウム含有PBS緩衝液(pH8.0)で抗体を希釈し(<5 mg/mL)、ジチオトレイトール(最終濃度10mM)を入れ、35°Cで30分間処理し、抗体が遊離メルカプトを遊離させることができた。G-25カラムでゲル濾過クロマトグラフィー(PBS緩衝液に1mM EDTAを添加)を行い、その後、Ellman試薬[5,5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸)]によって測定し、抗体ごとに約8つのメルカプトがコンジュゲートされた。抗体とTraut's試薬(2-イミンチオフェン)(Jue, R., et al. Biochem. 1978, 17 (25): 5399-5405)はメルカプトを放出することができ、或いは、pH7~8の条件下で、SATP(N-スクシンイミジルS-アセチルチオプロピオネート)やSAT(PEG)4など異なる連結物と反応して、ヒドロキシルアミンの働きでメルカプトを形成した(Duncan, R, et al, Anal. Biochem. 1983, 132, 68-73, Fuji, N. et al, Chem. Pharm. Bull. 1985, 33, 362-367)。基本的に、抗体ごとに約5~8つのメルカプトが結合された。

30

【0352】

4°Cの条件下で、冷たい自由メルカプトに接続の抗体のジメチルアセトアミド(DMA)(2~20% v/v)にマレイミドや臭素アセトアミド基を含む(0.5Mのホウ酸ナトリウム溶液(pH9)が抗体と臭素アセトアミドのアルキル化を促進するために必要)薬(接続の薬物とメルカプトのモル比は1:2~1:5)を加入した。1~2時間後、システインを過剰添加することで反応を終了し、コンジュゲート産物を限外濾過し、ゲルクロマトグラフィー(G-25限外、緩衝液をPBS)を行い、無菌ろ過して濃縮のコンジュゲート産物を得る。コンジュゲート産物の280nmと252nm先の吸光度によりタンパク質の濃度と抗体ごとにをつなぐ薬物の数を測定した。分子ふるいクロマトグラフィー-HPLCで接続物の単体形式の比重を測定することができる。0.5%を下回る未結合の薬物をRP-HPLCで測定した。硫黄エーテルキーに接続形成の単体薬については、抗体ごとに小さい分子の有糸分裂の抑制剤に平均3.2-4.2分子接続した。

40

50

【 0 3 5 3 】

コンジュゲートは次のようなリンカにより接続させた：DMPS、SMDP、SMPT、SPP、SPDP、SPDB、SMCCまたはSM(PEG)_nなど。抗体 (< 5 mg / mL) を緩衝液 (pH 6.5 ~ 7.5、5 mM PBS、50 mM NaCl、1 mM EDTA) で希釈し、反応とリンク2時間、リンカと抗体のモル比は6 ~ 10倍以上である。反応混合物をSephadex G25ゲルクロマトグラフィー分離し、その分子量の低い分子が除去された (リンカーがピリジンチオールを含む場合、抗体の濃度を分光光度法測定した。抗体280nm先の消光係数が2067550 M⁻¹ cm⁻¹である。修飾された抗体の過剰ジチオスレイトール (20倍以上当量) 処理後、遊離2-ピリジンチオールを測定し、343、280nm先の消光係数はそれぞれ8080と5100 M⁻¹ cm⁻¹であった)。修飾された抗体の中に1.2 ~ 1.5当量メルカプト基を帯びる有糸分裂の抑制剤分子を加入した。この反応は室温で5 ~ 18時間行った。反応混合物から未接続の薬やその他の低分子量の物質をSephadex G25ゲルクロマトグラフィーで除いた。また、接続成品の濃度を280nmと252nm先の吸光度により測定した。得られたコンジュゲートは単体で、抗体分子ごとに平均3.2 ~ 4.5の個薬物分子を含んだ。

10

【 0 3 5 4 】

例 7 5 体外毒性試験

BJAB (バーキットリンパ腫細胞)、BT-474 (乳がん細胞)、Namalwa (ヒトバーキットリンパ腫細胞)、Ramos (ヒトバーキットリンパ腫細胞)、COLO 205 (ヒト結腸腺がん細胞)、A375 (ヒト悪性黒色腫細胞) はいずれも、ATCCから購入した。乳がん細胞系KPL-4はJ. Kurebayashi博士から入手したものであった (Kurebayashi, J. et al. Br J Cancer 1999; 79: 707-17)。上記細胞は、いずれも、10% FBS含有RPMI 1640培地で成長し、37 °C、6% CO₂の培養器を培養条件とした。クローン形成実験を検出の毒性試験方法とすることが可能であり、文献 (Franken, et al, Nature Protocols 1, 2315 - 2319 (2006)) を参照する。テスト用細胞は、ウェルごとに5000個の細胞を6ウェル板に接種し、1 pM ~ 50 nM勾配希釈済の薬物 (有糸分裂の抑制剤又はカプラー) を加入し、72時間インキュベートした。もとの培地を置き換えて、細胞を引き続き培養し、7 ~ 10日後コロニーを形成した。細胞を固定し、その後、0.2%ゲンチアナバイオレット (10%ホルマリン又はPBSに希釈) で染色して、細胞コロニーを計数した。未処理の細胞 (培地のみ) の数に対し、ウェルに形成されたコロニーによって測定した。細胞の生存率は薬物で処理後の群と対照群 (薬物未処理) 穴で形成されたコロニー数の比率によって計算された。

20

30

【 0 3 5 5 】

参考文献:

- Zanda, M.; et al, Can. Pat. Appl. CA 2710693 (2011).
 Chai, Y.; et al. Eur. Pat. Appl. 2174947 (2010), PCT WO 2010034724.
 Leamon, C.; et al, PCT WO 2010033733, WO 2009002993..
 Ellman, J.; et al, PCT WO 2009134279; PCT WO 2009012958
 Matschiner, G.; et al, PCT WO 2009095447.
 Vlahov, I.; et al, PCT WO 2009055562, WO 2008112873.
 Low, P.; et al, PCT WO 2009026177.
 Richter, W., PCT WO 2008138561.
 Kjems, J.; et al, PCT WO 2008125116.
 Davis, M.; et al, PCT WO 2008076333.
 Diener, J.; et al, U.S. Pat. Appl. 20070041901, WO 2006096754
 Matschiner, G.; et al, PCT WO 2006056464.
 Vaghefi, F.; et al, 5 PCT WO 2006033913
 Doemling, A., Ger. Offen. DE 102004030227; PCT WO 2004005327; WO 2004005326; WO2004005269.
 Stanton, M.; et al, U.S. Pat. Appl. Publ. 20040249130.
 Hoefle, G.; et al, Ger. Offen. DE 10254439 ; DE 10241152; DE 10008089.
 Leung, D.; et al, PCT WO 2002077036.

40

50

- Reichenbach, H.; et al, Ger. Offen. DE 19638870
- Shibue, T., et al., Bioorg Med Chem Lett, 2011. 21(1): p. 431-4.
- Floyd, W.C., 3rd, et al., ChemMedChem, 2011. 6(1): p. 49-53.
- Shibue, T., et al., Total Syntheses of Tubulysins. Chemistry, 2010.
- Kubicek, K., et al., Angew Chem Int Ed Engl, 2010. 49(28): p. 4809-12.
- Chai, Y., et al., Chem Biol, 2010. 17(3): p. 296-309.
- Chandrasekhar, S., et al, J Org Chem, 2009. 74(24): p. 9531-4.
- Pando, O., et al., Org Lett, 2009. 11(24): p. 5567-9.
- Reddy, J.A., Mol Pharm, 2009. 6(5): p. 1518-25.
- Ullrich, A., et al., Angew Chem Int Ed Engl, 2009. 48(24): p. 4422-5. 10
- Ullrich, A.; et al, European J. Org. Chem. 2009, 36, 6367-6378
- Schluep, T., et al., Clin Cancer Res, 2009. 15(1): p. 181-9.
- Balasubramanian, R., et al., J Med Chem, 2009. 52(2): p. 238-40.
- Leamon, C.P., et al., Cancer Res, 2008. 68(23): p. 9839-44.
- Vlahov, I.R., et al., Bioorg Med Chem Lett, 2008. 18(16): p. 4558-61.
- Patterson, A.W., et al, J Org Chem, 2008. 73(12): p. 4362-9.
- Balasubramanian, R., et al., Bioorg Med Chem Lett, 2008. 18(9): p. 2996-9.
- Raghavan, B., et al., J Med Chem, 2008. 51(6): p. 1530-3.
- Richter, C.D., et al., Nat Chem Biol, 2008. 4(1): p. 75-81.
- Patterson, A.W., et al., Chemistry, 2007. 13(34): p. 9534-41. 20
- Wang, Z., et al., Chem Biol Drug Des, 2007. 70(2): p. 75-86.
- Sani, M., et al., Angew Chem Int Ed Engl, 2007. 46(19): p. 3526-9.
- Wipf, P. et al, Org Lett, 2007. 9(8): p. 1605-7.
- Sasse, F., et al, Nat Chem Biol, 2007. 3(2): p. 87-9.
- Peltier, H.M., et al., J Am Chem Soc, 2006. 128(50): p. 16018-9.
- Domling, A., et al., Angew Chem Int Ed Engl, 2006. 45(43): p. 7235-9.
- Khalil, M.W., et al., Chembiochem, 2006. 7(4): p. 678-83.
- Kaur, G., et al., Biochem J, 2006. 396(2): p. 235-42.
- Wipf, P., et al, Org Lett, 2004. 6(22): p. 4057-60.
- Steinmetz, H., et al., Angew Chem Int Ed Engl, 2004. 43(5 37): p. 4888-92. 30
- Friestad, G.K., et al, Org Lett, 2004. 6(19): p. 3249-52.
- Sandmann, A., et al, Chem Biol, 2004. 11(8): p. 1071-9.
- Sasse, F., et al., J Antibiot (Tokyo), 2000. 53(9): p. 879-85.

【 0 3 5 6 】

図 1 薬物を細胞結合剤に結合させるための分岐リンカーの合成

図 2 マレイミドリンカーの合成及びその薬物結合分子連結における使用

図 3 プロモマレイミド及びジプロモマレイミドリンカーの合成及びそれらの薬物結合分子連結における使用

図 4 抗有糸分裂剤と細胞結合分子の結合のためのアミノ酸 (Val - Cit) リンカーの合成 40

図 5 抗有糸分裂剤の T u v 成分の合成 条件: a): CuSO₄, H₂SO₄, アセトン, 95%; b): DIBAL-H, THF/Tol, -78 °C, 95%; c): NH₂OH, NaHCO₃, CH₃OH/H₂O; d): イソブチルアルデヒド, MgSO₄, CH₂Cl₂, 85% (2ステップ); e): (2R)-N-(アクリロイル)ボルナン-10,2-スルタム(74), 40 °C, 48h, CH₂Cl₂ 83%; f): LiOH, THF/ H₂O, 86%; g): HClO₄, CH₃CN/H₂O, 98%; h): BOC₂O, Na₂CO₃, THF/H₂O, 95%; i): L-(S)-Tr-システインメチルエステル, EDC, CH₂Cl₂, 85%; j): Ph₃P=O, Tf₂O, CH₂Cl₂; k): MnO₂, CH₂Cl₂, 76% (2ステップ); l): Mo(CO)₆, CH₃CN/H₂O, 87%; m): Ac₂O, Pyr., 95%; n): 1). NaH, THF, CH₃I, 85%; 2). HOSnMe₃, ClCH₂CH₂Cl, 80 °C, 95%, 3). Ac₂O/Pyr, 86%.

図 6 抗有糸分裂剤の T u v 成分の合成 条件: o): Fmoc-Cl, NaHCO₃, THF/H₂O, 95%; p): L-(S)-Tr-システインメチルエステル, EDC, CH₂Cl₂, 87%; q): Ph₃P=O, Tf₂O, CH₂C 50

l₂; r): MnO₂, CH₂Cl₂, 76% (2 ステップ); s): Mo(CO)₆, CH₃CN/H₂O, 87%; t): TES-Cl, Pyr., 95%; u): NaH, THF, CH₃I, 90%; v): NaH, THF, BrCH₂COOtBu, 0°C, 87%; w): HO SnMe₃, ClCH₂CH₂Cl, 80°C, ~90%; x): Bu₄NF, THF; y): Ac₂O, Pyr. 81%。

図7 一部の B o c - T u v 及び接合可能な抗有糸分裂剤の合成 条件: a): NaH, THF, N-(4-ブロモブチル) フタルイミド, NaI, ~83%; b): NaH, DMF, CH₃I, 90%; c): HO SnMe₃, ClCH₂CH₂Cl, 80°C, ~85%; d): Ac₂O, Pyr.; e): (R)-(+)-b-メチルフェネチルアミン, EDC, DMA, 85%; f): 4M HCl, ジオキサン; g): Boc-Ile-OH, PyBroP, DMAP, DMA, 78%; h): D-Mep, PyBroP/CH₂Cl₂, 81%; i): NH₂NH₂, DMA; j): 58 (n=3), EDC, DMA, k): Ac₂O, Pyr. 56%。

図8 抗有糸分裂剤の T u v、I l e - T u v 及び M e p - I l e の一部の合成

10

図9 抗有糸分裂剤の I l e - T u v、M e p - L e u - T u v、V a l - I l e - T u v 及び V a l - I l e - T u v (O-アルキル) の一部の合成

図10 結合可能な抗有糸分裂剤の合成、及び、抗体との結合

図11 抗有糸分裂剤の結合のためのアミノ酸 (P h e - (D) L y s) リンカーの合成

図12 抗体 抗有糸分裂剤共役体の合成

図13 抗体 抗有糸分裂剤共役体の合成

図14 結合分子 抗有糸分裂剤共役体の合成

図15 結合分子 (抗体) 抗有糸分裂剤共役体の合成

図16 抗体 抗有糸分裂剤共役体の合成

20

図17 抗体 抗有糸分裂剤共役体の合成

図18 親水性 (リン酸塩プロドラッグ) 抗有糸分裂剤の合成のための親水性 T u t 類似体の合成

図19 抗有糸分裂剤と抗体の共役体の合成

図20 結合可能な抗有糸分裂剤の B O C 固相合成 条件: a): ピペラジン (5 ~ 20 eq), CH₂Cl₂, 4h; b): Boc-Aa₂-OH (2 ~ 5 eq), PyBroP (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; c): 4M HCl/ジオキサン, 0.5h; 次にDIPEA (2 ~ 3eq)、DMFで洗浄; d): Boc-Aa1-OH (2 ~ 5 eq), TBTU (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; e): BocNMe-Phe-OH, 又は Boc-Trp-OH, 又は BocNMe-Tyr(P(OBz)OH)-OH (2 ~ 5 eq), 又は BocNMe-(Pyr)Ala-OH, 又は Boc-(チエニル)Ser-OH, 又はBoc-(チアゾリル)-Ala-OH, PyBroP (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; f): Boc-N(Me)-Tuv-OH (1.5 ~ 3 eq), PyBroP (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 2 h; g): Boc-Ile-OH (2 ~ 5 eq), PyBroP (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 3 h; h): NMe₂-Ile-OH, TBTU (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 2h; i): TFA, アニソール; j): 4-マレイミドブタン酸NHS エステル (1.5 ~ 2 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 2 h; k): 4-(メチルジスルファニル)ブタン酸 NHS エステル (1.5 ~ 2 eq), 又は 4,4-ジメチル 4-(メチルジスルファニル)-ブタン酸 NHS エステル (1.5 ~ 2 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 2 h; l): TCEP (3 ~ 10 eq), ジオキサン/バッファpH 7.0, その後固体支持されたグアニジン。

30

図21 結合可能な抗有糸分裂剤のFmoc固相合成 条件: a): (MeNCH₂)₂ (5 ~ 20 eq), DCM, 4h; b): Fmoc-Aa₂-OH (2 ~ 5 eq), PyBroP (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; c): 20% ピペリジン, DMF, 2h; d): Fmoc-Aa1-OH (2 ~ 5 eq), TBTU (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; e): (2 ~ 5 eq) FmocNMe-Tyr(SO₃H)-OH, 又はFmoc-TrpOH-OH, 又はFmocNMe-Tyr(P(OBz)-OH)-OH 又は FmocNMe₂-Tyr(グルコース)-OH, 又は Boc-(キノリル)Ala-OH, 又は Fmoc-(チエニル)Ser-OH, (フェニル)-Cys-OH, PyBroP (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; f): Fmoc-N(Me)-Tuv-OH (1.5 ~ 3 eq), PyBroP (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; g): Fmoc-Ile-OH (2 ~ 5 eq), PyBroP (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; h): Mep-OH (2 ~ 4 eq), 又は (R)-1-メチルアジリジン-2-カルボキシレト、TBTU (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 2h; i): TFA, DCM, アニソール; j): 4-マレイミドブタン酸 NHS エステル (1.5 ~ 2 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; k): 20% TFA, DCM; l): 4-(メチルジスル

40

50

アニル)ブタン酸 NHS エステル (1.5 ~ 2 eq), 又は 4,4-ジメチル 4-(メチルジスルファニル)-ブタン酸 NHS エステル (1.5 ~ 2 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; m): TCEP (8 eq), ジオキサン, バッファ pH 7.0, その後固体支持されたグアニジン。

図 2 2 親水性抗有糸分裂剤及び抗体との共役体の合成

図 2 3 T u v 誘導体の合成、及び M e p - I l e - T u v と N M e ₂ - V a l - I l e - T u v の成分の合成 条件: a): 化合物 72, DIPEA, CsI, DMF, 2 h; b): 20% TFA/DCM, 0.5 h, その後、DIPEA, MeOH, DCMで洗浄; c): Boc-Ile-OH (3 ~ 5 eq), PyBroP (3 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 6 h; d): Mep-OH (2 ~ 4 eq), 又は NMe₂-Leu-OH, TBTU (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 6 h; e): 95%TFA/アニソール/DCM。

図 2 4 抗有糸分裂剤及びそのと抗体の共役体の合成 条件: a): (COCl)₂ 6 eq, DMF (cat), DCM, 1h; b): D-(+)-Boc-ノルエフェドリン 4 eq, DIPEA, DCM, 4 h; c): 20% TFA/DCM, 0.5 h,その後、DIPEA, MeOHで洗浄, DCM; d): 化合物274 (1.2 eq), TBTU (5 eq), DMF, 6 h; e): Boc-Ile-OH (3 ~ 5 eq), PyBroP (3 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; f): Mep-OH (2 ~ 4 eq), 又はNMe₂-Leu-OH, TBTU (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 2h; g): HOSnMe₃, ClCH₂CH₂Cl, 80°C, 8h。

図 2 5 抗有糸分裂剤及びそのと抗体の共役体の固相合成 条件: a): 20% TFA/DCM, 0.5 h, その後、DIPEA, MeOH, DCMで洗浄; b): Boc-チアゾリル-Ala-OH (2 eq), 2-チエニル-L-Cys-OH (2eq) PyBroP (4 eq), DIPEA (4 eq), DMF, 6 h; c): 化合物 276, TBTU (4 eq), DIPEA (4 eq), DMF, 6 h; d): Boc-Ile-OH (4 eq), PyBroP (4 eq), DIPEA (4 eq), DMF, 6 h; 条件: e): Mep-OH (2 ~ 4 eq), 又は NMe₂-Leu-OH, TBTU (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 2h; f): TFA/DCM/アニソール/p-チオクレゾール (95:4:0.5:0.5)。

図 2 6 抗有糸分裂剤及びその抗体の共役体の固相合成 条件: a: DMF/ピペリジン (4:1); b: 331/DMF/PyBroP (2~5 eq); c: Fmoc-Tuv-OH (1.2 eq), TBTU (5 eq), DMF; d: Fmoc-Ile-OH (4 eq), PyBroP (4 eq), DIPEA (4 eq), DMF; e: N, N (メチル, マレイミド-ペンタン酸)-Val-OH (2 eq), TBTU, DMF; f: N,N-(メチル, 2'-ピリジニル-ジスルファニルブタン酸)-Val-OH, TBTU (4 eq), DMF; g: 5%TFA/DCM/1%TIS; i: DTT/pH 7.0 PBS バッファ/DMF, その後、HPLC; j: N, N (メチル, マレイミド-ペンタン酸)-Mep-OH (2 eq), TBTU, DMF; k: N,N-(メチル, 2'-ピリジニル-ジスルファニルブタン酸)-Mep-OH, TBTU (4 eq), DMF。

図 2 7 トランス 2-アリアルシクロプロピルアミン、トランス 2-アリアルシクロプロピルカルボン酸、及び、トランス 2-アリアルエチルエポキシカルボン酸の合成

図 2 8 アルケンアミノ酸及びアルキルエポキシアミノ酸の合成

図 2 9 抗有糸分裂剤の親水性プロドラッグの合成のための親水性 T u t 類似体の合成

図 3 0 細胞結合剤と共役結合する抗有糸分裂剤の親水性プロドラッグの合成

図 3 1 細胞結合剤と共役結合する抗有糸分裂剤の親水性プロドラッグの合成

図 3 2 抗体と共役結合する抗有糸分裂剤の親水性プロドラッグの合成

図 3 3 薬物/抗体比 (D/A) が3.0~4.3の抗 C D 2 2 抗体 抗有糸分裂剤 (T Z 0 1 ~ T Z 0 9) 共役体の、ラモス (パーキットリンパ腫細胞株) に対する細胞毒性効果を示す。当該細胞は共役体の存在下で5日間インキュベートされた。I C ₅₀ 値は図に示す。

図 3 4 は、薬物/抗体比 (D A R) が3.5~4.0のトラスツズマブ 抗有糸分裂剤 (T Z 0 3、T Z 0 4 及び T Z 0 7) 共役体の、K P L - 4 (乳癌細胞株) に対する細胞毒性効果を示す。トラスツズマブ T Z 0 3 は特に強力な抗増殖力があり、それぞれ、非共役のトラスツズマブが不在の場合、I C ₅₀ = 90 pM; 1ミクロモルのトラスツズマブ (抗原の結合を飽和させるため) が存在の場合、I C ₅₀ > 20 nM、。特殊な窓は 2 2 2 (I C ₅₀ > 20 nM/ I C ₅₀ = 0.09nM) を超える。

図 3 5 は薬物/抗体比 (D/A) が3.8~4.2の抗 C D 2 2 抗体 抗有糸分裂剤 (T Z 0 3、T Z 0 4 及び T Z 0 7) 共役体および非共役 C D 2 2 抗体及び C D 2 0 抗体 (リツキシマブ) の、B J A B (パーキットリンパ腫細胞株) に対する細胞毒性効果を示す。共役体 (I C ₅₀ = 5 ~ 19 pM) は、非共役 C D 2 2 抗体と比べて、抗増殖力が強力である。

非共役体 ($IC_{50} > 20 \text{ nM}$) と比べて、抗増殖力が強力である。1マイクロモルの非共役 CD22 抗体で抗原結合を飽和させる場合、huCD22-TZ03共役のための特殊な窓は 660 を超え ($IC_{50} = 3.3 \text{ nM} / IC_{50} = 0.005 \text{ nM}$)、huCD22-TZ07共役のための特殊な窓は 660 を超える ($IC_{50} = 15 \text{ nM} / IC_{50} = 0.019 \text{ nM}$)。

表 2 - 1 ~ 2 - 9 は固相合成によって製造された抗有糸分裂薬物の構造及びそれら質量分析のイオンピーク並びに体外でテストでそれらのRamos細胞 (ATCC、ヒトBurkittリンパ腫細胞) に対する毒作用 (IC_{50}) の値を示す。

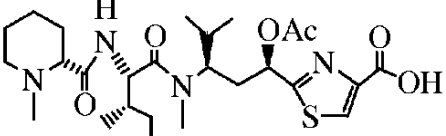
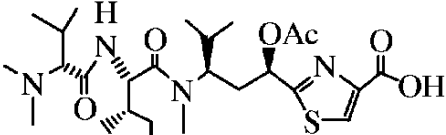
表 3 - 1 ~ 3 - 4 はいくつかの抗体 - 抗有糸分裂剤共役体の構造式を示す。

【 0 3 5 7 】

【表 2 - 1】

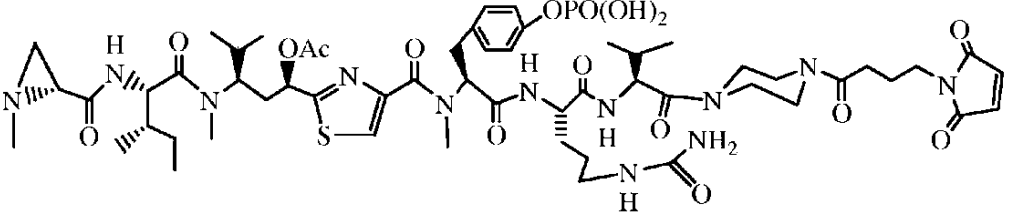
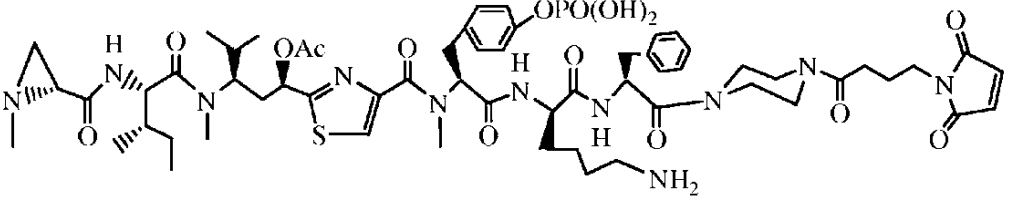
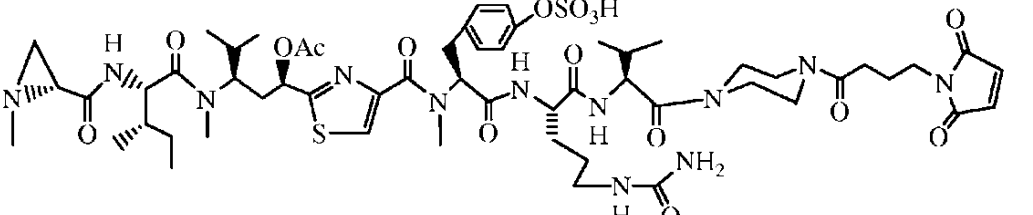
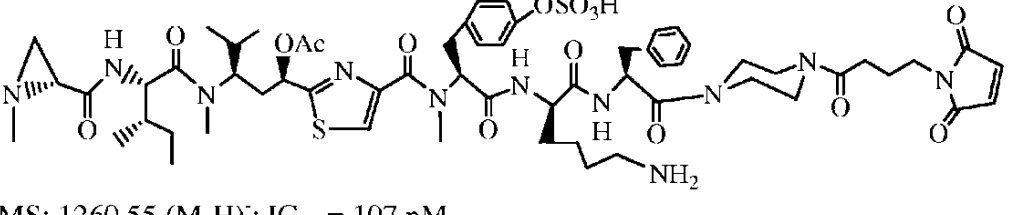
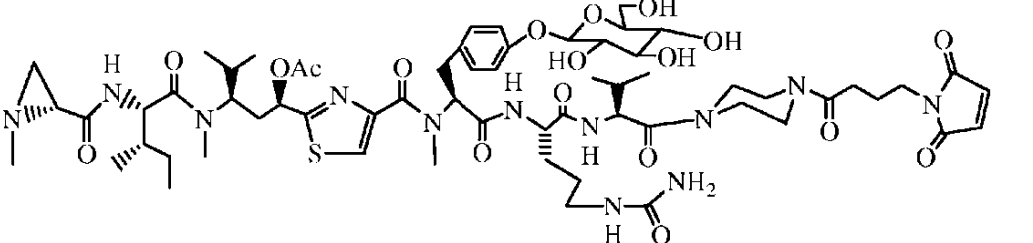
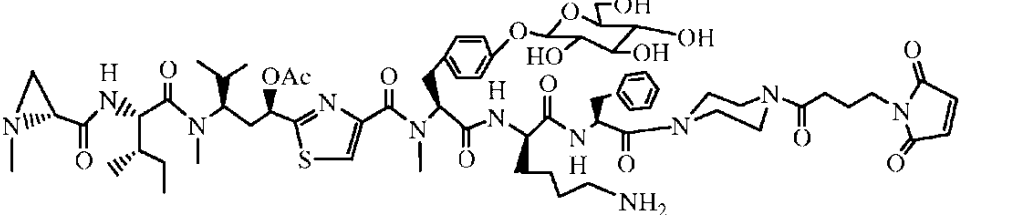
10

固相合成により生成した抗有糸分裂剤の構造及びそれらのマスペクトルイオンピーク、並びに、*in vitro* 試験におけるRamos細胞 (ATCC、ヒトバーキットリンパ腫細胞) に対する細胞毒性効果

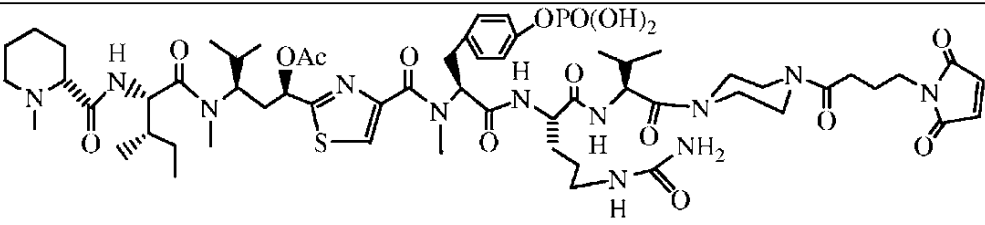
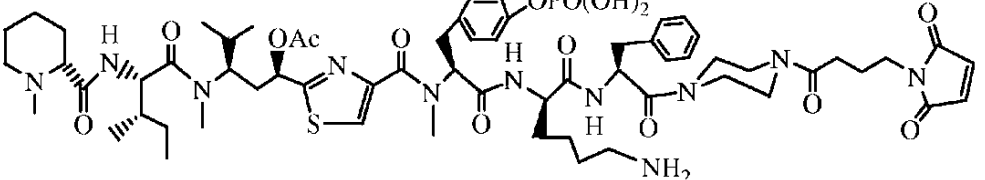
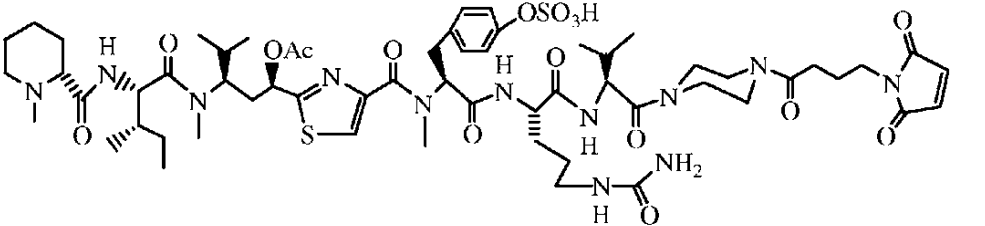
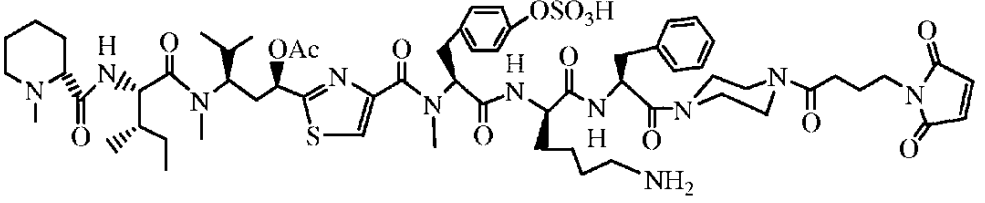
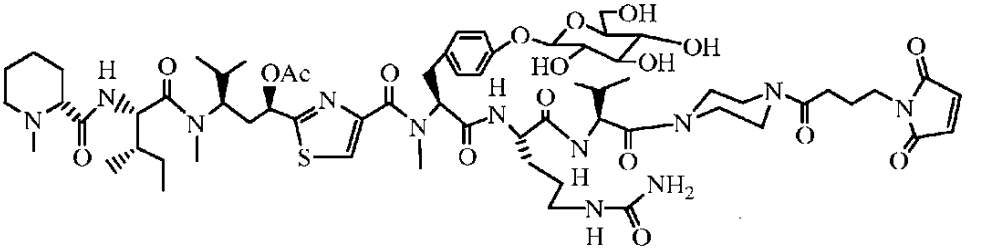
106	 MS 537.28 (M-H) ⁻ $IC_{50} > 500 \text{ nM}$
283	 MS 539.30 (M-H) ⁻ ; $IC_{50} > 500 \text{ nM}$

20

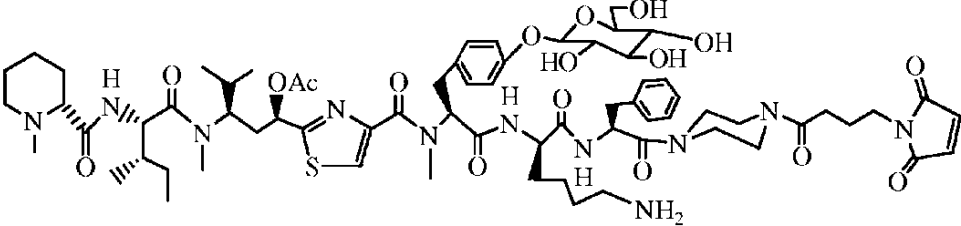
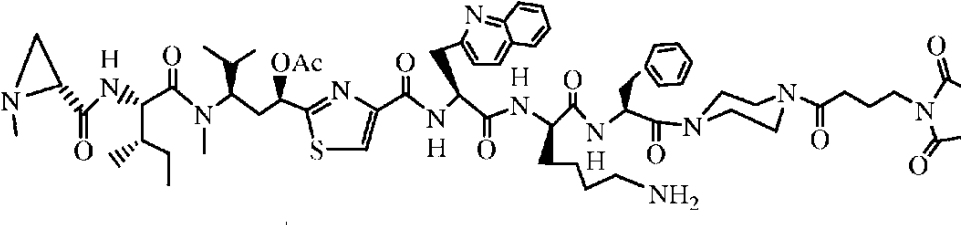
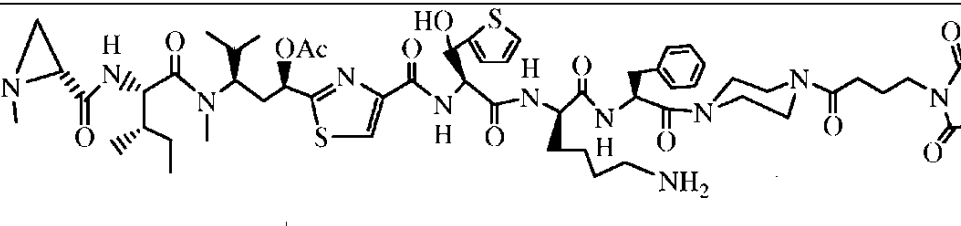
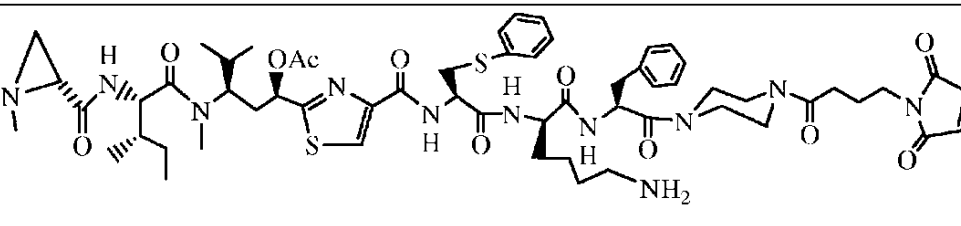
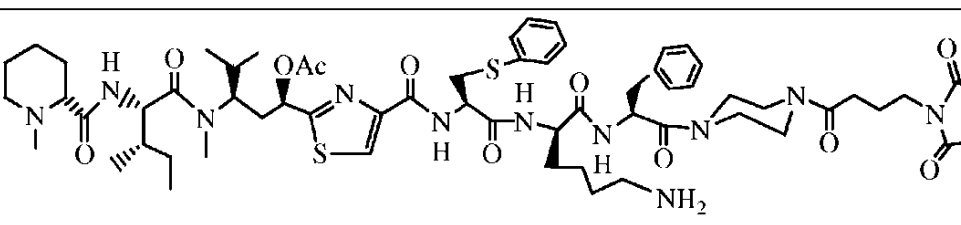
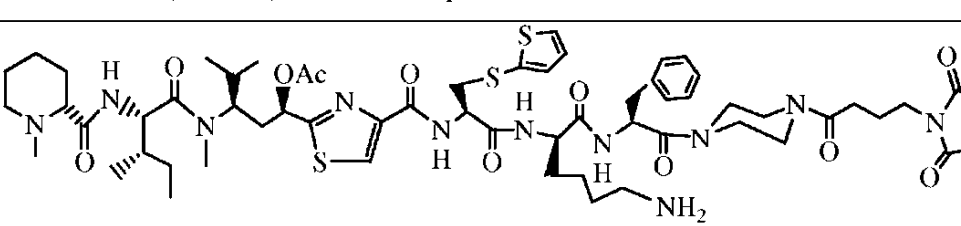
【表 2 - 2】

232a	 <p>MS: 1241.55 (M-H)⁻; IC₅₀ = 27 nM, 又は 321 pM (1単位の酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	10
232b	 <p>MS: 1260.56 (M-H)⁻; IC₅₀ = 47 nM, 又は 375 pM (1単位の酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	20
232c	 <p>MS: 1241.54 (M-H)⁻; IC₅₀ = 90 nM.</p>	30
232d	 <p>MS: 1260.55 (M-H)⁻; IC₅₀ = 107 nM</p>	40
232e	 <p>MS: 1347.64 (M+Na)⁺; IC₅₀ = 77 nM, 又は 121 pM (1単位のグルコシダーゼを含有する場合)</p>	40
232f		

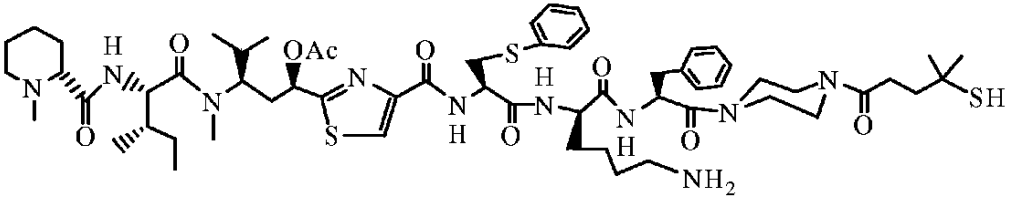
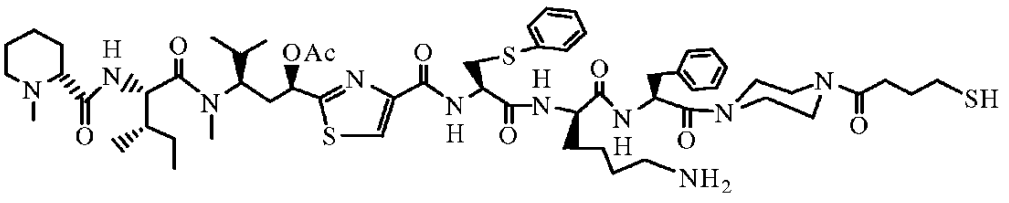
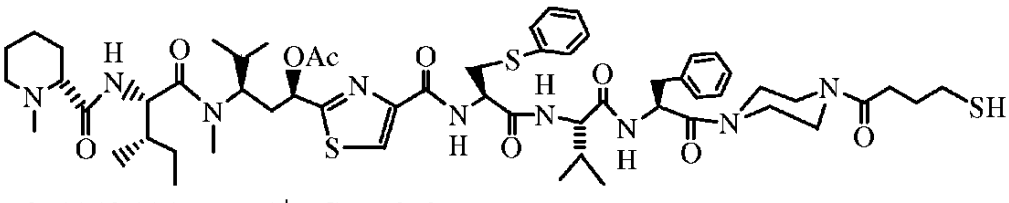
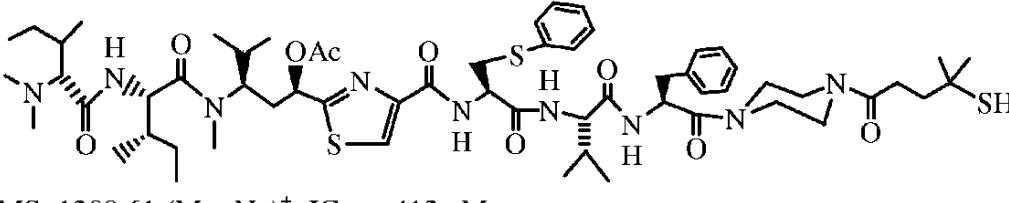
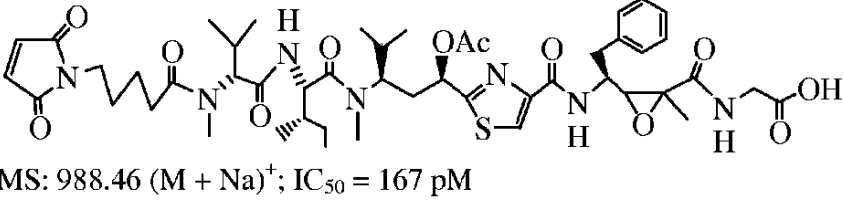
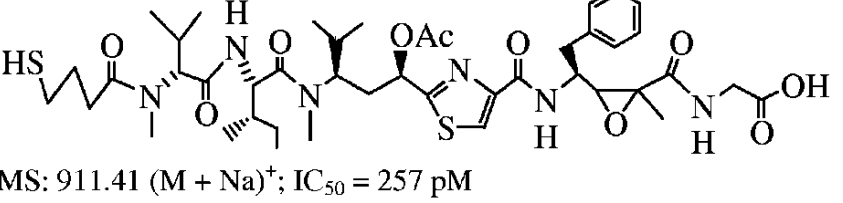
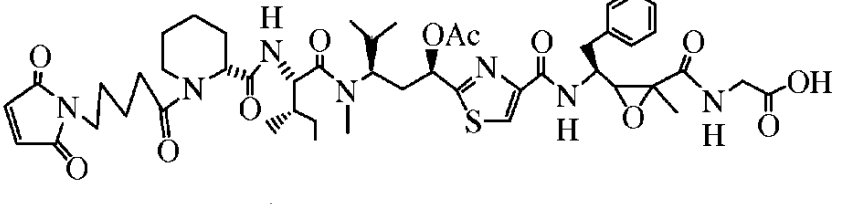
【表 2 - 3】

	MS: 1366.65 (M+Na) ⁺ ; IC ₅₀ = 99 nM, 又は 115 pM (1単位のグルコシダーゼを含有する場合)	
232g	 <p>MS: 1283.60 (M-H)⁻; IC₅₀ = 37 nM, 又は 101 pM (1単位の酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	10
232h	 <p>MS: 1302.61 (M-H)⁻; IC₅₀ = 56 nM, 又は 116 pM (1単位の酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	20
232i	 <p>MS: 1283.59 (M-H)⁻; IC₅₀ = 7.4 nM,</p>	
232j	 <p>MS: 1302.60 (M-H)⁻; IC₅₀ = 9.7 nM,</p>	30
232k	 <p>MS: 1389.68 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 7.9 nM, 又は 161 pM (1単位のグルコシダーゼを含有する場合)</p>	40

【表 2 - 4】

232l	 <p>MS: 1408.69 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 7.1 nM, 又は 142 pM (1単位のグリコシダーゼを含有する場合)</p>	10
232m	 <p>MS: 1225.59 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 1.1 nM</p>	
232n	 <p>MS: 1196.54 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 1.6 nM</p>	20
232o	 <p>MS: 1206.56 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 127 pM</p>	30
232p	 <p>MS: 1248.60 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 191 pM</p>	
232q	 <p>MS: 1254.56 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 387 pM</p>	40

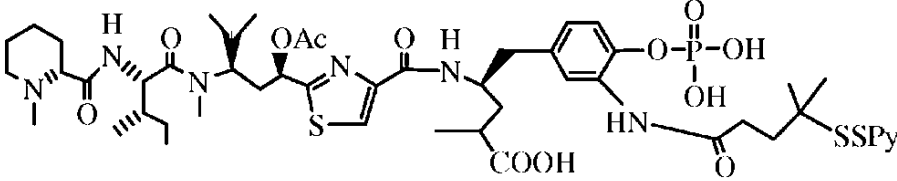
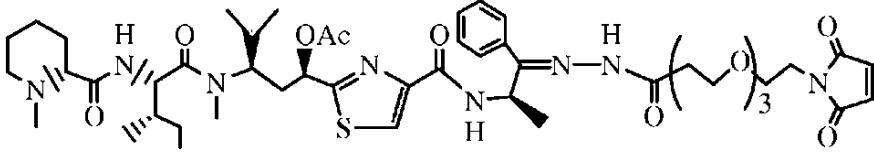
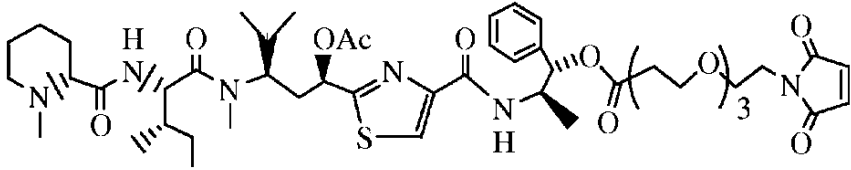
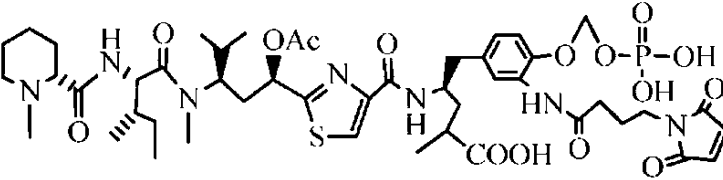
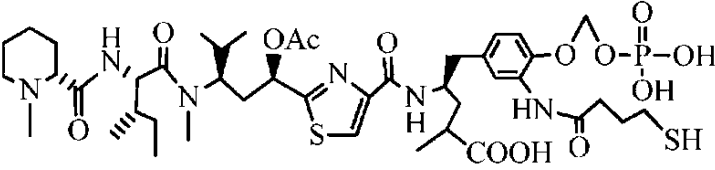
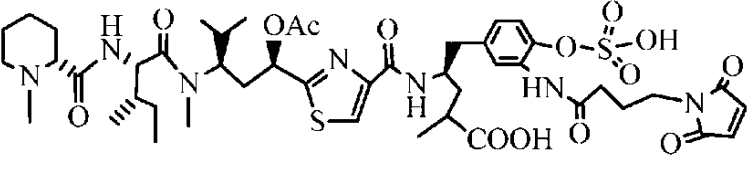
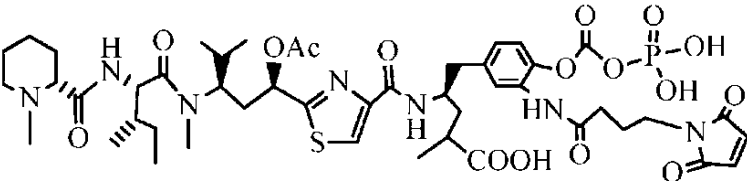
【表 2 - 6】

233b	 <p>MS: 1213.61 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 236 pM</p>	
233c	 <p>MS: 1185.57 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 337 pM</p>	10
233d	 <p>MS: 1156.55 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 310 pM</p>	20
222a	 <p>MS: 1200.61 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 412 pM</p>	
308a	 <p>MS: 988.46 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 167 pM</p>	30
309a	 <p>MS: 911.41 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 257 pM</p>	
308b	 <p>MS: 986.44 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 19 pM</p>	40

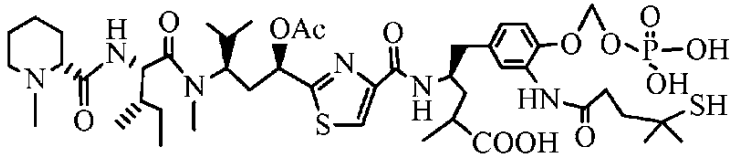
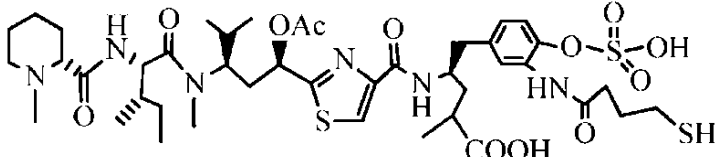
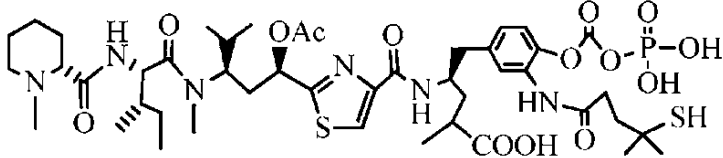
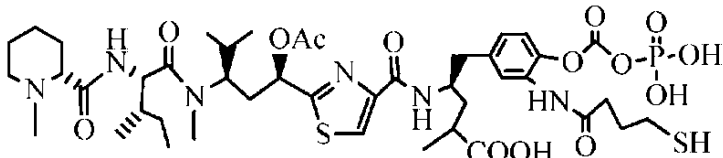
【表 2 - 7】

309b	<p>MS: 909.40 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 119 pM</p>	
290	<p>MS: 817.44 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 0.62 nM</p>	10
299a	<p>MS: 996.41 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 1.1 nM</p>	20
299b	<p>MS: 997.41 (M + Na)⁺; IC₅₀ = 637 pM</p>	
241	<p>MS: 1017.43 (M-H)⁻; IC₅₀ = 0.8 nM, 又は 21 pM (1単位の酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	30
242	<p>MS: 1164.50 (M-H)⁻; IC₅₀ = 1.5 nM, 又は 78 pM (1単位の酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	40
247	<p>MS: 1048.38 (M-H)⁻; IC₅₀ = 1.1 nM, 又は 68 pM (1単位の酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	

【表 2 - 8】

248	 <p>MS: 1076.40 (M-H)⁻; IC₅₀ = 1.0 nM, 又は 19 pM (1単位の酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	
206	 <p>MS: 1033.50 (M+Na)⁺, IC₅₀ = 307 pM</p>	10
211	 <p>MS: 977.47 (M+Na)⁺, IC₅₀ = 201 pM</p>	20
346	 <p>MS: 1032.42 (M - H)⁻, IC₅₀ = 1.0 nM, 又は 28 pM (酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	
350	 <p>MS: 969.40 (M - H)⁻, IC₅₀ = 1.8 nM, 又は 110 pM (酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	30
354	 <p>MS: 1002.40 (M - H)⁻, IC₅₀ = 2.6 nM,</p>	40
357	 <p>MS: 1046.40 (M - H)⁻, IC₅₀ = 1.3 nM, 又は 98 pM (酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	

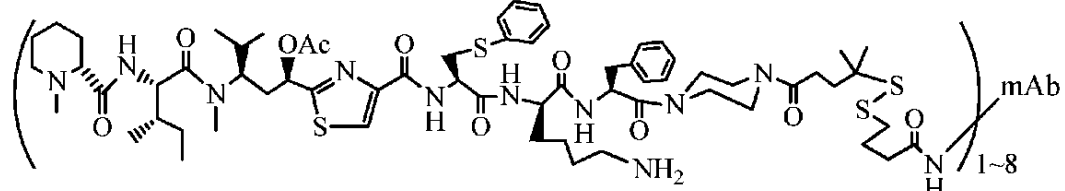
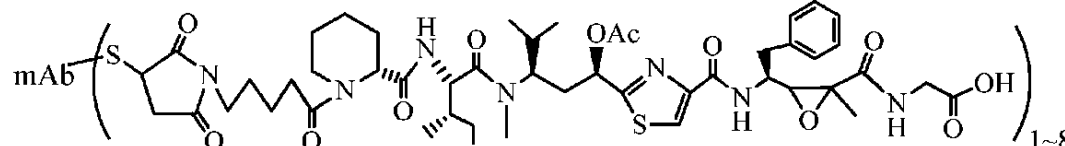
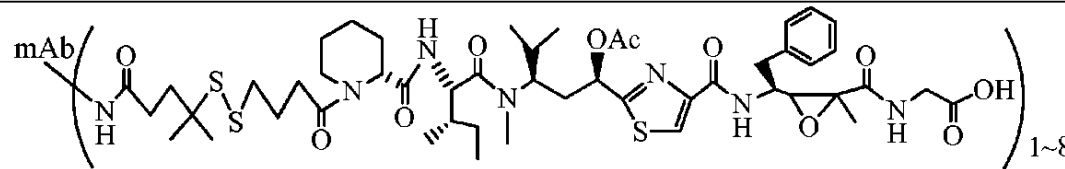
【表 2 - 9】

361	 <p>MS: 997.43 (M - H)⁻, IC₅₀ = 1.5 nM, 又は 142 pM (酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	
366	 <p>MS: 939.37 (M - H)⁻, IC₅₀ = 1.9 nM</p>	10
371	 <p>MS: 1011.41 (M - H)⁻, IC₅₀ = 1.4 nM, 又は 95 pM (酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	20
376	 <p>MS: 983.37 (M - H)⁻, IC₅₀ = 1.5 nM, 又は 191 pM (酸性ホスファターゼを含有する場合)</p>	

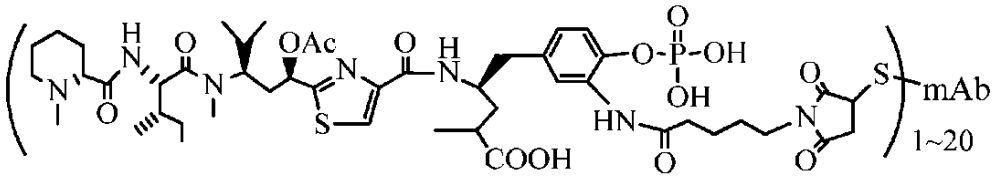
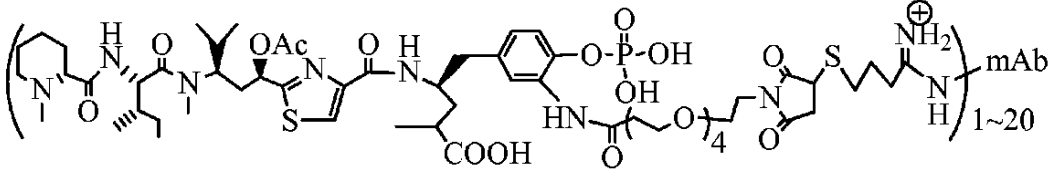
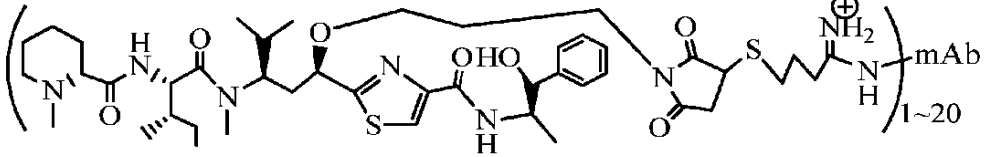
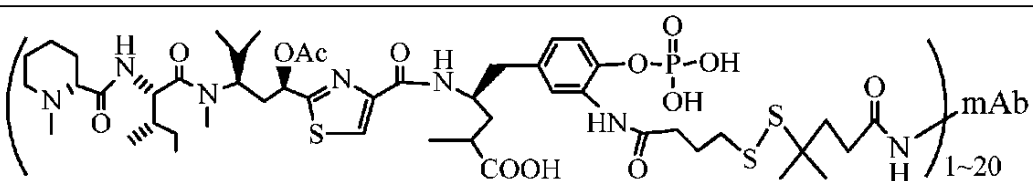
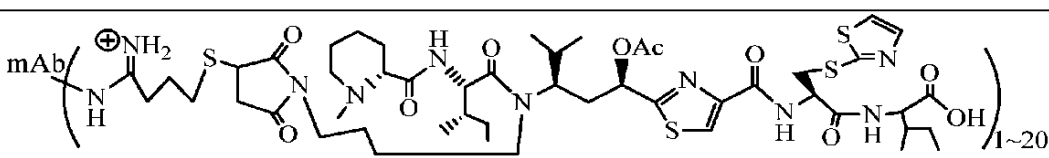
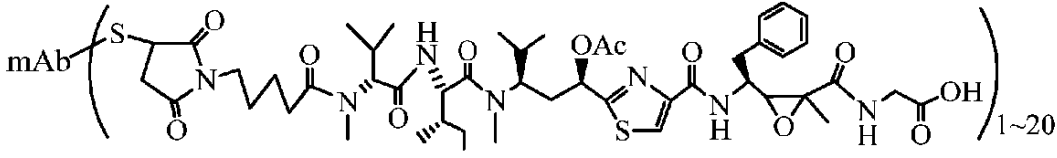
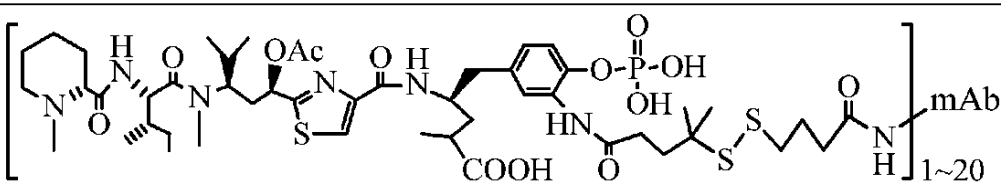
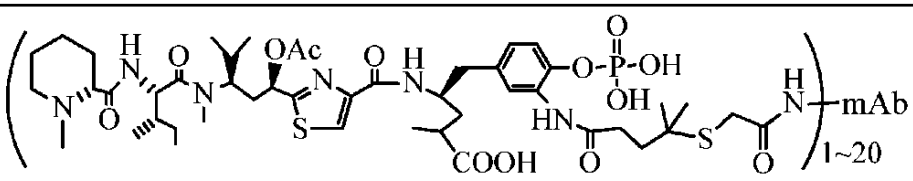
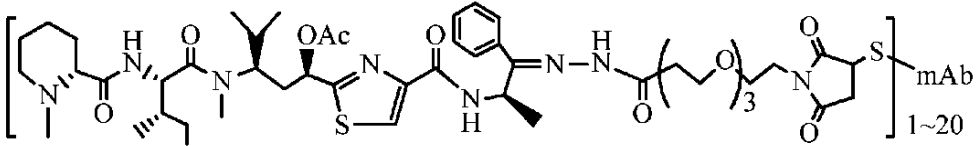
【 0 3 5 8 】

【表 3 - 1】

いくつかの実験した抗体-抗有糸分裂剤の共役体の構造式

mAb-TZ01		30
mAb-TZ02		40
mAb-TZ03		

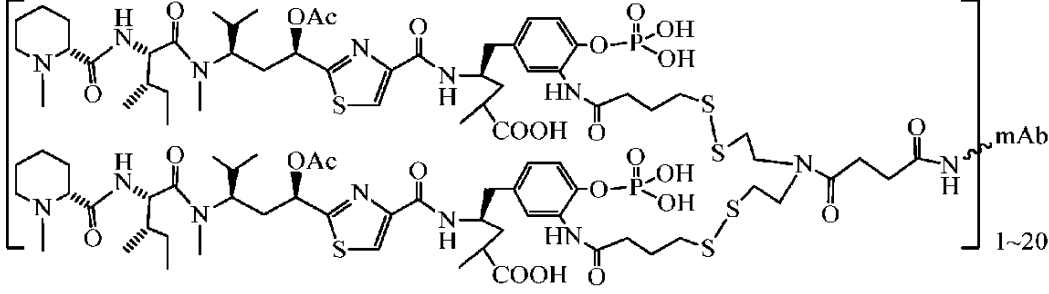
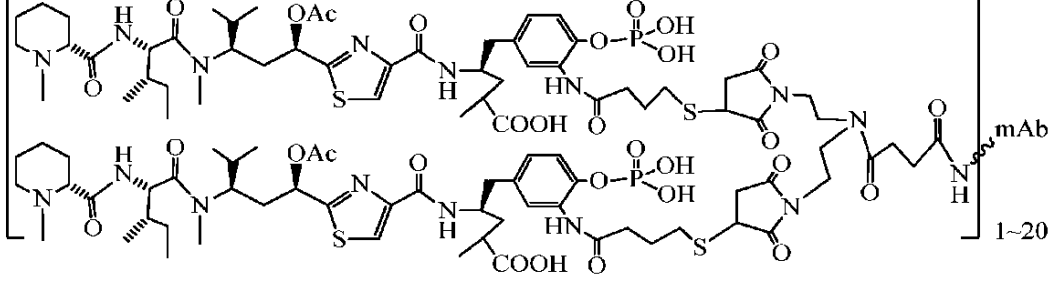
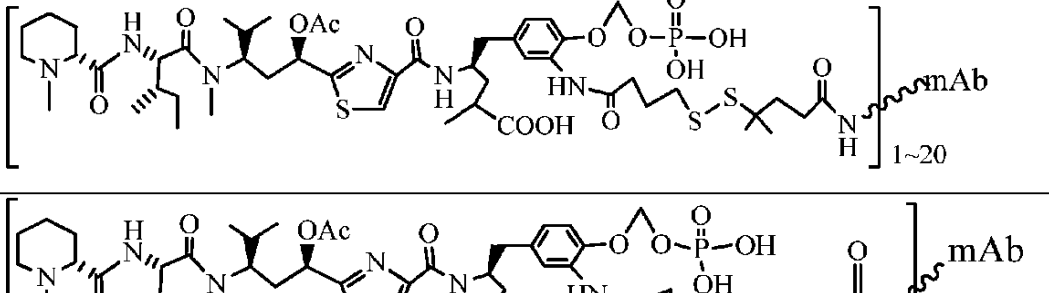
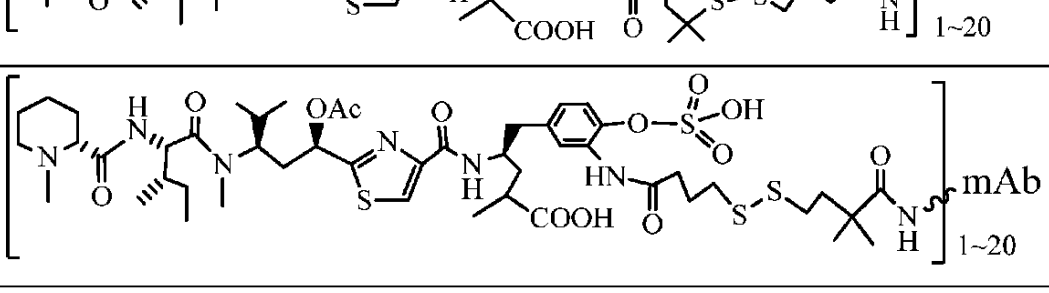
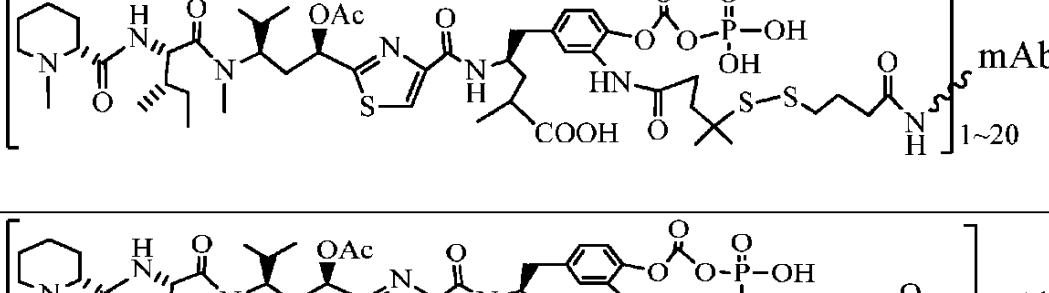
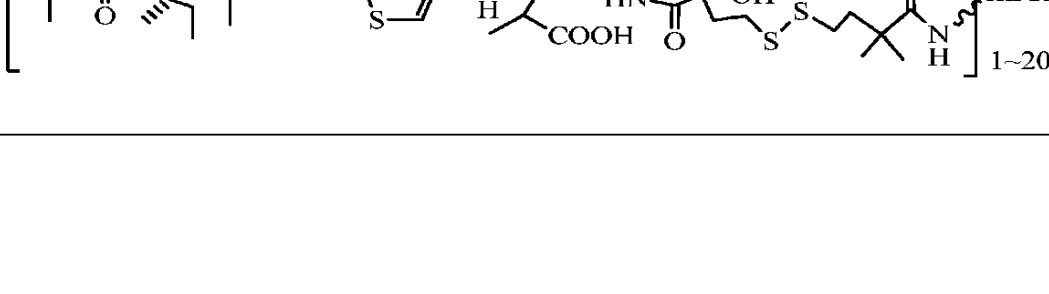

【表 3 - 2】

mAb-TZ04		
mAb-TZ05		10
mAb-TZ06		
mAb-TZ07		20
mAb-TZ08		
mAb-TZ09		30
mAb-TZ10 (a)		
mAb-TZ10 (b)		40
mAb-TZ11		

【表 3 - 3】

mAb-TZ12		
mAb-TZ13		10
mAb-TZ14		20
mAb-TZ15		30
mAb-TZ16		40
mAb-TZ17		
mAb-TZ18		

【表 3 - 4】

mAb-TZ19		10
mAb-TZ20		20
mAb-TZ21		30
mAb-TZ22		40
mAb-TZ23		
mAb-TZ24		
mAb-TZ25		

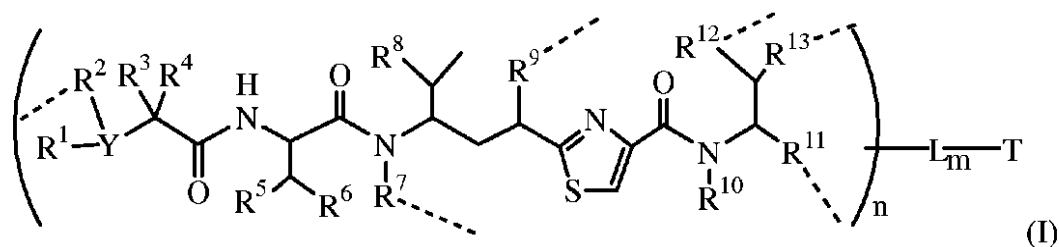
【 0 3 5 9 】

(付 記)

(付 記 1)

構造式 (I) で示される構造を有する共役体及び薬学的に許容される塩並びに溶媒化物

。【化 1 3 1】



(ただし、ここで、Tは標的又は結合リガンド、Lは解離可能なリンカー、
【化 1 3 2】

はLが独立して括弧内構造における分子と接続するリンク結合、nは1～20、mは1～10であり；

括弧内の構造体が効果的な抗有糸分裂剤・薬物であり、そのうち、 R^1 、 R^2 、 R^3 と R^4 が独立して、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のヘテロ環、炭素環、アルキルシクロアルキル、複素環アルキル、 $C_3 \sim C_8$ のアリール、アラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニル；又は2つのR基（例えば、 $R^1 R^2$ 、 $R^2 R^3$ 、 $R^3 R^4$ 、 $R^5 R^6$ 、 $R^{12} R^{13}$ という各組合せが炭素数3～7の炭素環基、シクロアルキル、または複素環基とヘテロシクロアルキルなど環係基であってもいい）をそれぞれ表し、YがNまたはCHであり；また、 R^1 、 R^3 と R^4 はHであってもよく、かつ、 R^2 は欠如していてもよく；

R^5 、 R^6 、 R^8 と R^{10} はそれぞれ、独立してH又は $C_1 \sim C_4$ のアルキルまたはヘテロアルキルであり；

R^7 は独立してH、 R^{14} 、あるいは $-R^{14}C(=O)X^1R^{15}$ 又は $-R^{14}X^1R^{15}$ から選択され；そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ独立して $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル；複素環、炭素環、シクロアルカン； $C_3 \sim C_8$ アリール、複素環アルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり、 X^1 はO、S、S-S、NH又はNR¹⁴であり；

R^9 は独立してH、 $-O-$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}$ 、 $-OC(=O)NHR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}SSR^{15}$ 、 $OP(=O)(OR^{14})$ または $OR^{14}OP(=O)(OR^{15})$ であり、そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ独立して $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環；又は $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルであり；

R^{11} はH、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)R^{16}$ 、 $-R^{14}X^2R^{16}$ 、 $-R^{14}C(=O)X^2$ であり、そのうち、 X^2 は $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-N(R^{14})-$ 、 $-O-R^{14}$ 、 $-S-R^{14}$ 、 $-S(=O)-R^{14}$ または $-NHR^{14}$ であり； R^{14} は $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル、 $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、又は $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルであり； R^{16} はH、OH、 R^{14} 又は1～4つのアミノ酸単位であり；

R^{12} は独立して R^{14} 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-N-$ 、 $=N-$ 、 $=NNH-$ 、 $-NH(R^{14})$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-C(O)O-C(O)O-R^{16}$ 、 $C(O)NH-$ 、 $C(O)NHR^{14}$ 、 $-SR^{14}$ 、 $-S(=O)R^{14}$ 、 $-P(=O)(OR^{16})$ 、 $-OP(=O)(OR^{16})$ 、 $-CH_2OP(=O)(OR^{16})$ 、 $-C(O)OP(=O)(OR^{16})$ 、又は $-SO_2R^{16}$ であり； R^{14} は独立して $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロ

10

20

30

40

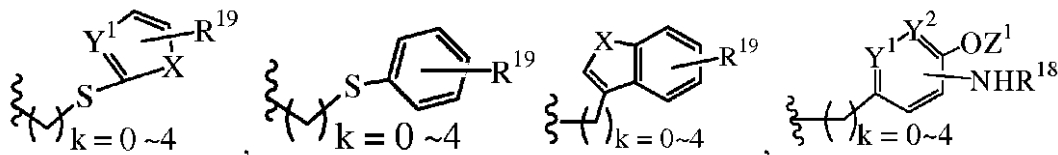
50

アルキル； $C_2 - C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環；又は $C_3 - C_8$ アリアル、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり、 R^{16} はH、OH、 R^{14} 又は1～4つのアミノ酸単位であり；

R^{13} は $C_1 - C_{10}$ アルキル、ヘテロアルキル、アルキル酸、アルキルアミド、アルキルアミン又はArであり、そのうち、Arとは、1員環又は複数員環からなる芳香族環又は複素芳香族環であり、芳香族環又は複素芳香族環が4～10個の炭素原子を含み、最も好ましくは4～6個の炭素原子を含み、複素芳香族環とは、1つ又はいくつかの炭素原子が他の原子によって置換された芳香族環を意味し、最も好ましくは、1つ、2つ又は3つの炭素原子がO、N、Si、Se、PまたはSによって置換され、最も好ましくはO、S、Nによって置換され；アリアルまたはArとは、1つ又はいくつかの水素原子が置換された芳香族環を意味し、水素原子を置換するこれらの基は、 R^{17} 、F、Cl、Br、I、 OR^{16} 、 SR^{16} 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 $N=NR^{16}$ 、 $N=R^{16}$ 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 NO_2 、 $SOR^{16}R^{17}$ 、 SO_2R^{16} 、 SO_3R^{16} 、 OSO_3R^{16} 、 $PR^{16}R^{17}$ 、 $POR^{16}R^{17}$ 、 $PO_2R^{16}R^{17}$ 、 $OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OCH_2OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $PO(OR^{16})(OR^{17})$ 、 $OP(O)(OR^{17})OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)R^{17}$ または $OC(O)NHR^{17}$ を含み、そのうち、 R^{16} と R^{17} はそれぞれ、独立してH-、 $C_1 - C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 - C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環；又は $C_3 - C_8$ アリアル、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニル或いは $C_4 - C_{12}$ グリコシド又は医薬用塩であり；

また、 R^{10} がHでない場合、或いは、 R^{13} が下記の基である場合、 R^{12} はHであってもよく；

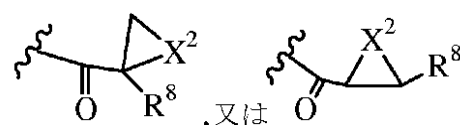
【化133】



ここで、 Z^1 はH、 $CH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $PO(OR^{18})_2$ 、 $P(O)(OR^{18})OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)R^{18}$ 、 $C(O)NHR^{18}$ 、 $SO_2(OR^{18})$ 、 $C_4 - C_{12}$ のグリコシド、又は、 $C_1 - C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル基、複素環であり； R^{18} は、H、 $C_1 - C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル基、ヘテロアルキル； $C_2 - C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環；又は、 $C_3 - C_8$ のアリアル、アルキルカルボニルであり； R^{19} はH、OH、 NH_2 、 $OSO_2(OR^{18})$ 、 $XCH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XPO(OR^{18})_2$ 、 $XC(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XC(O)R^{18}$ 、 $XC(O)NHR^{18}$ 、 $C_1 - C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル、カルボン酸誘導体； $C_2 - C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環； $C_3 - C_8$ のアリアル、アルキルカルボニル；又は医薬用塩であり；XはO、S、又はNHであり； Y^1 と Y^2 はそれぞれN又はCHであり；

或いは、 R^{11} が下記の基である場合、 R^{12} はHであってもよく；

【化134】



X^2 がO、S、N- R^8 であり、 R^8 がH、 $C_1 - C_6$ のアルキル又はヘテロアルキルである。）

【0360】

10

20

30

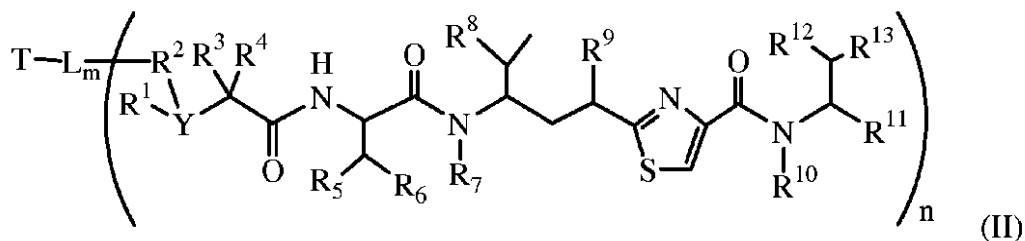
40

50

(付記2)

構造式(II)で示される構造を有する、付記1に記載の共役体及び薬学的に許容される塩並びに溶媒化物。

【化135】



10

(ただし、ここで、Tは標的又は結合リガンド、Lは解離可能なリンカー、
【化136】

はLが独立して括弧内構造における分子と接続するリンク結合、nは1~20、mは1~10であり；

括弧内の構造体が効果的な抗有糸分裂剤・薬物であり、そのうち、R¹、R²、R³とR⁴がC₁~C₈のアルキル、ヘテロアルキル；C₂~C₈のヘテロ環、炭素環、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、C₃~C₈のアリール、アラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニル；又は2つのR¹基（例えば、R¹R²、R²R³、R³R⁴、R⁵R⁶、R¹²R¹³という各組合せが炭素数3~7の炭素環基、シクロアルキル、あるいは複素環基とヘテロシクロアルキルなど環係基であってもいい）をそれぞれ表し、YがNまたはCHであり；また、R¹、R³とR⁴はHであってもよく、かつ、R²は欠如していてもよく、

20

R⁵、R⁶、R⁸とR¹⁰はそれぞれ、独立してH又はC₁~C₄（炭素数1~4）のアルキルまたはヘテロアルキルであり；

R⁷は独立してH、R¹⁴、あるいは-R¹⁴C(=O)X¹R¹⁵又は-R¹⁴X¹R¹⁵から選択され、そのうち、R¹⁴とR¹⁵はそれぞれ独立してC₁~C₈のアルキル、ヘテロアルキル；C₂~C₈のアルケニル、アルキニル；複素環、炭素環、シクロアルカン；又はC₃~C₈アリール、複素環アルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり、X¹はO、S、S-S、NH又はNR¹⁴であり；

30

R⁹は独立してH、-O-、-OR¹⁴、-OC(=O)R¹⁴、-OC(=O)NHR¹⁴、-OC(=O)R¹⁴SSR¹⁵、OP(=O)(OR¹⁴)-またはOR¹⁴OP(=O)(OR¹⁵)であり；そのうち、R¹⁴とR¹⁵はそれぞれ独立してC₁~C₈のアルキル、ヘテロアルキル；C₂~C₈のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環；又はC₃~C₈アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルであり；

40

R¹¹は独立してH、R¹⁴、-R¹⁴C(=O)R¹⁶、-R¹⁴X²R¹⁶、-R¹⁴C(=O)X²であり；そのうち、X²は-O-、-S-、-NH-、-N(R¹⁴)-、-O-R¹⁴、-S-R¹⁴、-S(=O)-R¹⁴または-NHR¹⁴であり；R¹⁴はC₁~C₈のアルキル、ヘテロアルキル；C₂~C₈のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環；又はC₃~C₈アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルであり；R¹⁶はH、OH、R¹⁴又は1~4つのアミノ酸単位であり；

R¹²は独立してR¹⁴、-OH、-SH、-NH₂、=NH、=NNH₂、-NH(

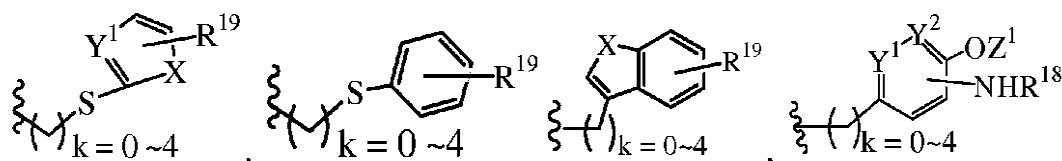
50

R^{14})、 $-OR^{14}$ 、 $-COR^{16}$ 、 $-COOR^{14}$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR^{14}$ 、 $-SR^{14}$ 、 $-S(=O)R^{14}$ 、 $-P(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-OP(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-CH_2OP(=O)(OR^{16})_2$ 、又は $-SO_2R^{16}$ であり； R^{14} は $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環；又は $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり； R^{16} はH、OH、 R^{14} 又は1～4つのアミノ酸単位であり；

R^{13} は $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、ヘテロアルキル、アルキル酸、アルキルアミド、アルキルアミン又はArであり；そのうち、Arとは、1員環又は複数名環からなる芳香族環又は複素芳香族環であり、芳香族環又は複素芳香族環ごとに4～10個の炭素原子を含み、最も好ましくは4～6つの炭素原子を含み；複素芳香族環とは、1つ又はいくつかの炭素原子が他の原子によって置換された芳香族環を意味し、最も好ましくは、1つ、2つ又は3つの炭素原子がO、N、Si、Se、PまたはSによって置換され、最も好ましくは、O、S、Nによって置換され；アリールまたはArとは、1つ又はいくつかの水素原子が置換された芳香族環を意味し、水素原子を置換するこれらの基は、 R^{17} 、F、Cl、Br、I、 OR^{16} 、 SR^{16} 、 NR^{16} 、 R^{17} 、 $N=NR^{16}$ 、 $N=R^{16}$ 、 NR^{16} 、 R^{17} 、 NO_2 、 SOR^{16} 、 R^{17} 、 SO_2R^{16} 、 SO_3R^{16} 、 OSO_3R^{16} 、 PR^{16} 、 R^{17} 、 POR^{16} 、 R^{17} 、 PO_2R^{16} 、 R^{17} 、 $OP(O)(OR^{17})_2$ 、 OC 、 $H_2OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $PO(OR^{16})(OR^{17})$ 、 $OP(O)(OR^{17})OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)R^{17}$ 、
20
または $OC(O)NHR^{17}$ を含み、そのうち、 R^{16} と R^{17} はそれぞれ、独立してH、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環；又は $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニル或いは $C_4 \sim C_{12}$ グリコシド又は医薬用塩であり；

また、 R^{10} がHでない場合、或いは、 R^{13} が下記の基である場合、 R^{12} はHであってもよく、

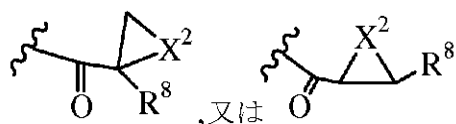
【化137】



ここで、 Z^1 はH、 $CH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $PO(OR^{18})_2$ 、 $P(O)(OR^{18})OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)R^{18}$ 、 $C(O)NHR^{18}$ 、 $SO_2(OR^{18})$ 、 $C_4 \sim C_{12}$ のグリコシド、又は、アルキル、カルボキシアルキル基、複素環であり； R^{18} は、H、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル基、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環；又は、 $C_3 \sim C_8$ のアリール、アルキルカルボニルであり； R^{19} はH、OH、 NH_2 、 $OSO_2(OR^{18})$ 、 $XCH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XPO(OR^{18})_2$ 、 $XC(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XC(O)R^{18}$ 、 $XC(O)NHR^{18}$ 、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル、カルボン酸誘導体； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環； $C_3 \sim C_8$ のアリール、アルキルカルボニル又は医薬用塩であり；XはO、S、又はNHであり； Y^1 と Y^2 はそれぞれN又はCHであり；

或いは、 R^{11} が下記の基である場合、 R^{12} はHであってもよく、

【化138】



10

20

30

40

50

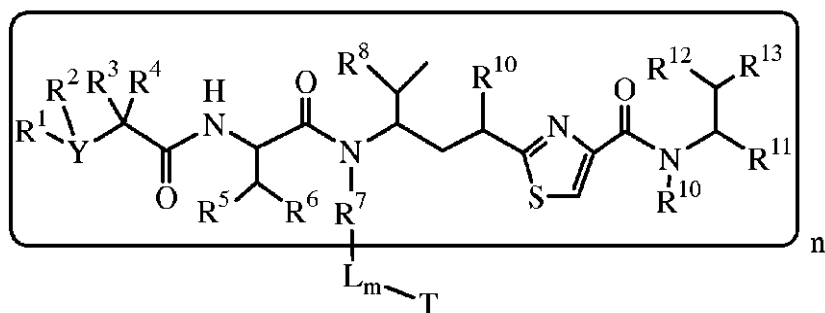
X^2 が O、S、N - R^8 であり、 R^8 が H、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル又はヘテロアルキルである。）

【0361】

(付記3)

構造式(III)で示される構造を有する、付記1に記載の共役体及び薬学的に許容される塩並びに溶媒化物。

【化139】



(III)

(ただし、ここで、Tは標的又は結合リガンド、Lは解離可能なリンカー、

【化140】

はLが独立して括弧内構造における分子と接続するリンク結合、nは1~20、mは1~10であり；

括弧内の構造体が効果的な抗有糸分裂剤・薬物であり、そのうち、 R^1 、 R^2 、 R^3 と R^4 が独立して $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のヘテロ環、炭素環、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、 $C_3 \sim C_8$ のアリール、アラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニル、又は2つのR基（例えば、 $R^1 R^2$ 、 $R^2 R^3$ 、 $R^3 R^4$ 、 $R^5 R^6$ 、 $R^1 R^2 R^3$ という各組合せが炭素数3~7の炭素環基、シクロアルキル、または複素環基とヘテロシクロアルキルなど環係基であってもいい）をそれぞれ表し、YがNまたはCHであり；また、 R^1 、 R^3 と R^4 はHであってもよく、かつ、 R^2 は欠如していてもよく、

R^5 、 R^6 、 R^8 と R^{10} はそれぞれ、独立してH又は $C_1 \sim C_4$ のアルキルまたはヘテロアルキルであり；

R^7 は独立して R^{14} 、あるいは $-R^{14}C(=O)X^1R^{15}$ 又は $-R^{14}X^1R^{15}$ から選択され、そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ、独立して $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、シクロアルカン；又は $C_3 \sim C_8$ アリール、複素環アルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり、 X^1 はO、S、S-S、NH又は NR^{14} であり；

R^9 は独立してH、 $-O-$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}$ 、 $-OC(=O)NHR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}SSR^{15}$ 、 $OP(=O)(OR^{14})-$ または $OR^{14}OP(=O)(OR^{15})$ であり；そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環；又は $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルであり；

R^{11} は独立して、H、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)R^{16}$ 、 $-R^{14}X^2R^{16}$ 、 $-R^{14}C(=O)X^2$ であり；そのうち、 X^2 は $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-N(R^{14})-$ 、 $-O-R^{14}$ 、 $-S-R^{14}$ 、 $-S(=O)-R^{14}$ または $-NHR^{14}$ であり； R^{14} は $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環； $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、

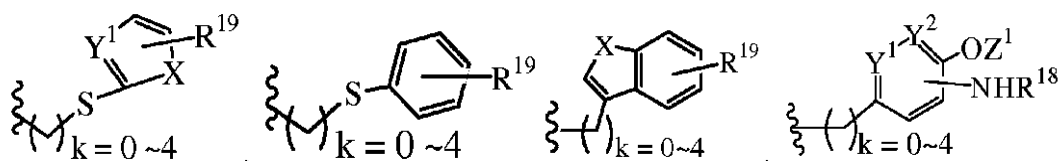
アルキルカルボニルであり； R^{16} はH、OH、 R^{14} 又は1～4つのアミノ酸単位であり；

R^{12} は独立して、 R^{14} 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NH_2$ 、 $=NH$ 、 $=NNH_2$ 、 $-NH(R^{14})$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-COR^{16}$ 、 $-COOR^{14}$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR^{14}$ 、 $-SR^{14}$ 、 $-S(=O)R^{14}$ 、 $-P(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-OP(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-CH_2OP(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-SO_2R^{16}$ であり； R^{14} は独立して $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環； $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり； R^{16} はH、OH、 R^{14} 又は1～4つのアミノ酸単位であり；

R^{13} は $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、ヘテロアルキル、アルキル酸、アルキルアミド、アルキルアミン又はArであり；そのうち、Arとは、1員環又は複数員環からなる芳香族環又は複素芳香族環であり、芳香族環又は複素芳香族環ごとに4～10個の炭素原子を含み、最も好ましくは4～6つの炭素原子を含み、複素芳香族環とは、1つ又はいくつかの炭素原子が他の原子によって置換された芳香族環を意味し、最も好ましくは、1つ、2つ又は3つの炭素原子がO、N、Si、Se、PまたはSによって置換され、最も好ましくは、O、S、Nによって置換され；アリールまたはArとは、1つ又はいくつかの水素原子が置換された芳香族環を意味し、水素原子を置換するこれらの基は、独立して R^{17} 、F、Cl、Br、I、 OR^{16} 、 SR^{16} 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 $N=NR^{16}$ 、 $N=R^{16}$ 、 $PR^{16}R^{17}$ 、 $POR^{16}R^{17}$ 、 $PO_2R^{16}R^{17}$ 、 $OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OCH_2OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $PO(OR^{16})(OR^{17})$ 、 $OP(O)(OR^{17})OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)R^{17}$ または $OC(O)NHR^{17}$ を含み、そのうち、 R^{16} と R^{17} はそれぞれ、独立してH、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環； $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニル或いは $C_4 \sim C_{12}$ グリコシド又は医薬用塩であり；

また、 R^{10} がHでない場合、或いは、 R^{13} が下記の基である場合、 R^{12} はHであってもよく、

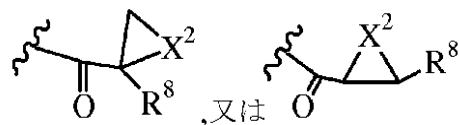
【化141】



ここで、 Z^1 はH、 $CH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $PO(OR^{18})_2$ 、 $P(O)(OR^{18})OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)R^{18}$ 、 $C(O)NHR^{18}$ 、 $SO_2(OR^{18})$ 、 $C_4 \sim C_{12}$ のグリコシド、又は、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル基、複素環であり； R^{18} は、H、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル基、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環； $C_3 \sim C_8$ のアリール、アルキルカルボニルであり； R^{19} はH、OH、 NH_2 、 $OSO_2(OR^{18})$ 、 $XCH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XPO(OR^{18})_2$ 、 $XC(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XC(O)R^{18}$ 、 $XC(O)NHR^{18}$ 、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル、カルボン酸誘導体； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環； $C_3 \sim C_8$ のアリール、アルキルカルボニル；又は医薬用塩であり；XはO、S、NHであり； Y^1 と Y^2 はそれぞれN又はCHであり；

或いは、 R^{11} が下記の基である場合、 R^{12} はHであってもよく、

【化 1 4 2】



X^2 が O、S、N - R^8 であり、 R^8 が H、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル又はヘテロアルキルである。)

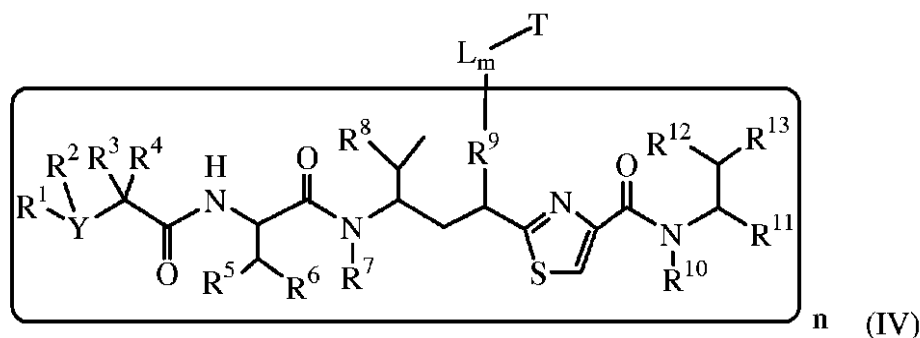
【 0 3 6 2】

(付記 4)

構造式 (I V) で示される構造を有する、付記 1 に記載の共役体及び薬学的に許容される塩並びに溶媒化物。

10

【化 1 4 3】



20

(ただし、ここで、Tは標的又は結合リガンド、Lは解離可能なリンカー、

【化 1 4 4】

は L が括弧内構造における分子と接続するリンク結合、n は 1 ~ 20、m は 1 ~ 10 であり；

括弧内の構造体が効果的な抗有糸分裂剤・薬物であり、そのうち、 R^1 、 R^2 、 R^3 と R^4 が独立して、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ ヘテロ環、炭素環、アルキルシクロアルキル、複素環アルキル； $C_3 \sim C_8$ のアリール、アラールキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニル；2つのR基（例えば、 $R^1 R^2$ 、 $R^2 R^3$ 、 $R^3 R^4$ 、 $R^5 R^6$ 、 $R^1 R^2 R^3$ という各組合せが炭素数 3 ~ 7 の炭素環基、シクロアルキル、または複素環基とヘテロシクロアルキルなど環係基であってもいい）をそれぞれ表し；Y が N または CH であり；また、 R^1 、 R^3 と R^4 は H であってもよく、かつ、 R^2 は欠如していてもよく、

30

R^5 、 R^6 、 R^8 と R^{10} はそれぞれ、独立して H 又は $C_1 \sim C_4$ のアルキルまたはヘテロアルキルであり；

R^7 は独立して H、 R^{14} 、あるいは $-R^{14}C(=O)X^1R^{15}$ 又は $-R^{14}X^1R^{15}$ から選択され、そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル；複素環、炭素環、シクロアルカン；又は $C_3 \sim C_8$ アリール、複素環アルキル、ヘテロアラールキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり； X^1 は O、S、S - S、NH 又は NR^{14} であり；

40

R^9 は独立して、 $-O-$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}$ 、 $-OC(=O)NH$ 、 R^{14} 、 $-OC(=O)R^{14}SSR^{15}$ 、 $OP(=O)(OR^{14})-$ であり、そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル；又は $C_3 \sim C_8$ アリール、ヘテロアリール、複素環、炭素環、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラールキル、アルキルカルボニルであり；

R^{11} は独立して、H、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)R^{16}$ 、 $-R^{14}X^2R^{16}$ 、-

50

$R^{14}C(=O)X^2$ であり；そのうち、 X^2 は $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-N(R^{14})-$ 、 $-O-R^{14}-$ 、 $-S-R^{14}-$ 、 $-S(=O)-R^{14}-$ または $-NHR^{14}-$ であり； R^{14} は $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環； $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルであり； R^{16} は H 、 OH 、 R^{14} 又は 1～4 つのアミノ酸単位であり；

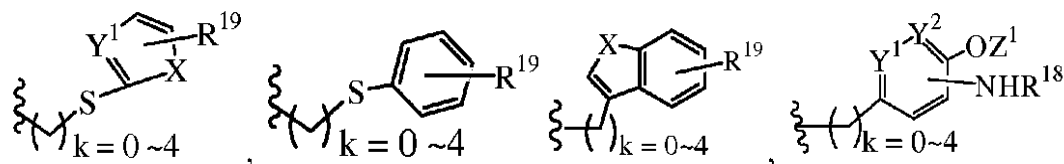
R^{12} は独立して、 R^{14} 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NH_2$ 、 $=NH$ 、 $=NNH_2$ 、 $-NH(R^{14})$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-COR^{16}$ 、 $-COOR^{14}$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $C(O)NHR^{14}$ 、 $-SR^{14}$ 、 $-S(=O)R^{14}$ 、 $-P(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-OP(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-CH_2OP(=O)(OR^{16})_2$ 、又は $-SO_2R^{16}$ であり； R^{14} は独立して、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環； $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり； R^{16} は H 、 OH 、 R^{14} 又は 1～4 つのアミノ酸単位であり；

R^{13} は $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、ヘテロアルキル、アルキル酸、アルキルアミド、アルキルアミン又は Ar であり；そのうち、 Ar とは、1 員環又は複数員環からなる芳香族環又は複素芳香族環であり、芳香族環又は複素芳香族環ごとに 4～10 個の炭素原子を含み、最も好ましくは 4～6 個の炭素原子を含み、複素芳香族環とは、1 つ又はいくつかの炭素原子が他の原子によって置換された芳香族環を意味し、最も好ましくは、1 つ、2 つ又は 3 つの炭素原子が O 、 N 、 Si 、 Se 、 P または S によって置換され、最も好ましくは、 O 、 S 、 N によって置換され；アリールまたは Ar とは、1 つ又はいくつかの水素原子が置換された芳香族環を意味し、水素原子を置換するこれらの基は、 R^{17} 、 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 OR^{16} 、 SR^{16} 、 NR^{16} 、 R^{17} 、 $N=NR^{16}$ 、 $N=R^{16}$ 、 NR^{16} 、 R^{17} 、 NO_2 、 SOR^{16} 、 R^{17} 、 SO_2R^{16} 、 SO_3R^{16} 、 OSO_3R^{16} 、 PR^{16} 、 R^{17} 、 POR^{16} 、 R^{17} 、 PO_2R^{16} 、 R^{17} 、 $OP(O)(OR^{17})_2$ 、 OC 、 $H_2OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $PO(OR^{16})(OR^{17})$ 、 $OP(O)(OR^{17})OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)R^{17}$ 、

または $OC(O)NHR^{17}$ を含み；そのうち、 R^{16} と R^{17} はそれぞれ、独立して $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環； $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニル或いは $C_4 \sim C_{12}$ グリコシド又は医薬用塩であり；

また、 R^{10} が H でない場合、或いは、 R^{13} が下記の基である場合、 R^{12} は H であってもよく、

【化 145】

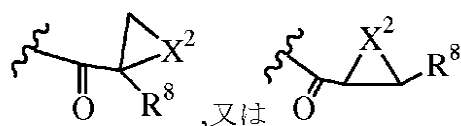


ここで、 Z^1 は H 、 $CH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $PO(OR^{18})_2$ 、 $C(O)R^{18}$ 、 $C(O)NHR^{18}$ 、 $SO_2(OR^{18})$ 、 $C_4 \sim C_{12}$ のグリコシド、又は、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル基、複素環であり； R^{18} は、 H 、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環； $C_3 \sim C_8$ のアリール、アルキルカルボニルであり； R^{19} は H 、 OH 、 NH_2 、 $OSO_2(OR^{18})$ 、 $XCH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XC(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XPO(OR^{18})_2$ 、 $XC(O)R^{18}$ 、 $XC(O)NHR^{18}$ 、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル、カルボン酸誘導体； $C_2 \sim$

C₈ のアルケニル、アルキニル、複素環；C₃ ~ C₈ のアリール、アルキルカルボニル又は医薬用塩であり；X は O、S、又は NH であり；Y¹ と Y² はそれぞれ N 又は CH であり；

或いは、R^{1 1} が下記の基である場合、R^{1 2} は H であってもよく、

【化 1 4 6】



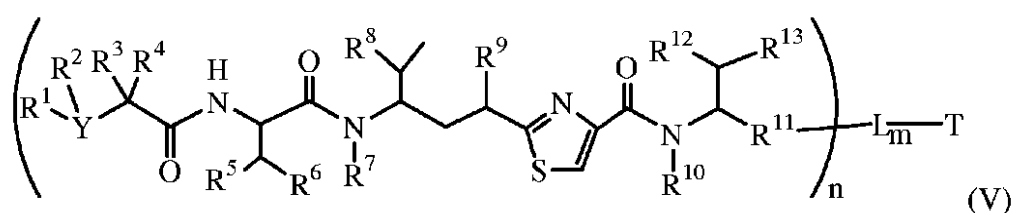
X² が O、S、N - R⁸ であり、R⁸ が H、C₁ ~ C₆ のアルキル又はヘテロアルキルである。) 10

【0 3 6 3】

(付記 5)

構造式 (V) で示される構造を有する、付記 1 に記載の共役体及び薬学的に許容される塩並びに溶媒化物。

【化 1 4 7】



20

(ただし、ここで、T は標的又は結合リガンド、L は解離可能なリンカー、

【化 1 4 8】

は L が独立して括弧内構造における分子と接続するリンク結合、n は 1 ~ 20、m は 1 ~ 10 であり；

括弧内の構造体が効果的な抗有糸分裂剤・薬物であり、そのうち、R¹、R²、R³と R⁴ が独立して C₁ ~ C₈ のアルキル、ヘテロアルキル；C₂ ~ C₈ のヘテロ環、炭素環、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル；C₃ ~ C₈ のアリール、アラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニル；2 つの R 基（例えば、R¹ R²、R² R³、R³ R⁴、R⁵ R⁶、R^{1 2} R^{1 3} という各組合せが炭素数 3 ~ 7 の炭素環基、シクロアルキル、複素環基とヘテロシクロアルキルなど環係基であってもいい）をそれぞれ表し、Y が N または CH であり；また、R¹、R³ と R⁴ は H であってもよく、かつ、R² は欠如していてもよく、

R⁵、R⁶、R⁸ と R^{1 0} はそれぞれ、独立して H 又は C₁ ~ C₄ のアルキルまたはヘテロアルキルであり；

R⁷ は独立して H、R^{1 4}、あるいは - R^{1 4} C(=O) X¹ R^{1 5} 又は - R^{1 4} X¹ R^{1 5} から選択され、そのうち、R^{1 4} と R^{1 5} はそれぞれ、独立して C₁ ~ C₈ のアルキル、ヘテロアルキル；C₂ - C₈ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、シクロアルカン；C₃ - C₈ アリール、複素環アルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり、X¹ は O、S、S - S、NH 又は NR^{1 4} であり；

R⁹ は独立して H、- O -、- OR^{1 4}、- OC(=O) R^{1 4} -、- OC(=O) NHR^{1 4} -、- OC(=O) R^{1 4} S S R^{1 5}、OP(=O)(OR^{1 4}) - または OR^{1 4} OP(=O)(OR^{1 5}) であり；そのうち、R^{1 4} と R^{1 5} はそれぞれ、独立して C₁ ~ C₈ のアルキル、ヘテロアルキル；C₂ - C₈ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環；C₃ - C₈ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロ 50

アルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルであり；

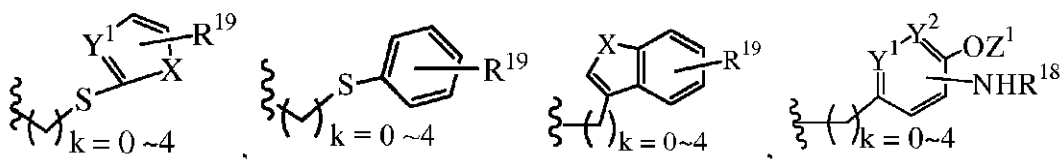
R^{11} は独立して $-R^{14}$ 、 $-R^{14}C(=O)R^{17}$ 、 $-R^{14}X^2R^{17}$ 、 $-R^{14}C(=O)X^2$ であり；そのうち、 R^{17} は独立して H、OH、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル； $C_3 \sim C_8$ アリール、アリレン、複素環、炭素環、ヘテロシクロシクロアルキル；または 1 つあるいは二つのアミノ酸単位であり； R^{14} は 1 ～ 4 つのアミノ酸単位であり； X^2 は $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-N(R^{14})-$ 、 $-O-R^{14}-$ 、 $-S-R^{14}-$ 、 $-S(=O)-R^{14}-$ または $-NHR^{14}-$ であり； R^{14} は $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル； $C_3 \sim C_8$ アリール、複素環、炭素環、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルであり；

R^{12} は独立して R^{14} 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NH_2$ 、 $=NH$ 、 $=NNH_2$ 、 $-NH(R^{14})$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-COR^{16}$ 、 $-COOR^{14}$ 、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NHR^{14}$ 、 $-SR^{14}$ 、 $-S(=O)R^{14}$ 、 $-P(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-OP(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-CH_2OP(=O)(OR^{16})_2$ 、又は $-SO_2R^{16}$ であり； R^{14} は独立して $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環； $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり； R^{16} は H、OH、 R^{14} は 1 ～ 4 つのアミノ酸単位であり；

R^{13} は $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、ヘテロアルキル、アルキル酸、アルキルアミド、アルキルアミン又は Ar であり；そのうち、Ar とは、1 員環又は複数員環からなる芳香族環又は複素芳香族環であり、芳香族環又は複素芳香族環ごとに 4 ～ 10 個の炭素原子を含み、最も好ましくは 4 ～ 6 つの炭素原子を含み；複素芳香族環とは、1 つ又はいくつかの炭素原子が他の原子によって置換された芳香族環を意味し、最も好ましくは、1 つ、2 つ又は 3 つの炭素原子が O、N、Si、Se、P または S によって置換され、最も好ましくは、O、S、N によって置換され；アリールまたは Ar とは、1 つ又はいくつかの水素原子が置換された芳香族環を意味し、水素原子を置換するこれらの基は、独立して R^{17} 、F、Cl、Br、I、 OR^{16} 、 SR^{16} 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 $N=NR^{16}$ 、 $N=R^{16}$ 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 NO_2 、 $SOR^{16}R^{17}$ 、 SO_2R^{16} 、 SO_3R^{16} 、 OSO_3R^{16} 、 $PR^{16}R^{17}$ 、 $POR^{16}R^{17}$ 、 $PO_2R^{16}R^{17}$ 、 $OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OCH_2OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $PO(OR^{16})(OR^{17})$ 、 $OP(O)(OR^{17})OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)R^{17}$ または $OC(O)NHR^{17}$ を含み；そのうち、 R^{16} と R^{17} はそれぞれ、独立して $C_1 \sim C_8$ の H、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環； $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニル或いは $C_4 \sim C_{12}$ グリコシド又は医薬用塩であり；

また、 R^{10} が H でない場合、或いは、 R^{13} が下記の基である場合、 R^{12} は H であってもよく、

【化 149】

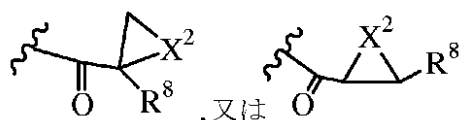


ここで、 Z^1 は H、 $CH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $PO(OR^{18})_2$ 、 $P(O)(OR^{18})OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)R^{18}$ 、 $C(O)NHR^{18}$ 、 $SO_2(OR^{18})$ 、 $C_4 \sim C_{12}$ のグリコシド、又は、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル基、複素環であり； R^{18} は、H、 $C_1 \sim C_8$

のアルキル、カルボキシアルキル基、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環；又は、 $C_3 \sim C_8$ のアリール、アルキルカルボニルであり； R^{19} はH、OH、 NH_2 、 $OSO_2(OR^{18})$ 、 $XCH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XPO(OOR^{18})_2$ 、 $XC(O)OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $XC(O)R^{18}$ 、 $XC(O)NHR^{18}$ 、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、カルボキシアルキル、カルボン酸誘導体； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、 $C_3 \sim C_8$ のアリール、アルキルカルボニル又は医薬用塩であり；XはO、S、又はNHであり； Y^1 と Y^2 はそれぞれN又はCHであり；

或いは、 R^{11} が下記の基である場合、 R^{12} はHであってもよく、

【化150】



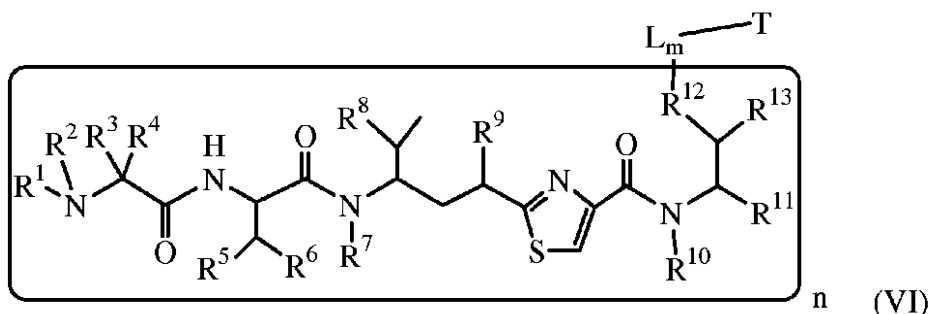
X^2 がO、S、N- R^8 であり； R^8 がH、 $C_1 \sim C_6$ のアルキル又はヘテロアルキルである。）

【0364】

(付記6)

構造式(VI)で示される構造を有する、付記1に記載の共役体及び薬学的に許容される塩並びに溶媒化物。

【化151】



(ただし、ここで、Tは標的又は結合リガンド、Lは解離可能なリンカー、

【化152】

はLが独立して括弧内構造における分子と接続するリンク結合、nは1~20、mは1~10であり；

括弧内の構造体が効果的な抗有糸分裂剤・薬物であり、そのうち、 R^1 、 R^2 、 R^3 と R^4 が $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のヘテロ環、炭素環、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル； $C_3 \sim C_8$ のアリール、アラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニル；2つのR基（例えば、 R^1R^2 、 R^2R^3 、 R^3R^4 、 R^5R^6 、 $R^{12}R^{13}$ という各組合せが炭素数3~7の炭素環基、シクロアルキル、複素環基とヘテロシクロアルキルなど環係基であってもいい）をそれぞれ表し；YがNまたはCHであり；また、 R^1 、 R^3 と R^4 はHであってもよく、かつ、 R^2 は欠如していてもよく、

R^5 、 R^6 、 R^8 と R^{10} はそれぞれ、独立してH又は $C_1 \sim C_4$ のアルキルまたはヘテロアルキルであり；

R^7 は独立してH、 R^{14} 、あるいは $-R^{14}C(=O)X^1R^{15}$ 又は $-R^{14}X^1R^{15}$ から選択され；そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ、独立して $C_1 \sim C_8$ のアルキル又はヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル；複素環、炭素環、シクロアルカン； $C_3 \sim C_8$ アリール、複素環アルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり； X^1 はO、S、S-S、NH又はNR

10

20

30

40

50

1^4 であり；

R^9 は独立して H 、 $-O-$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}$ 、 $-OC(=O)NHR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}SSR^{15}$ 、 $OP(=O)(OR^{14})$ - または $OR^{14}OP(=O)(OR^{15})$ であり；そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ、独立して $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環； $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルであり；

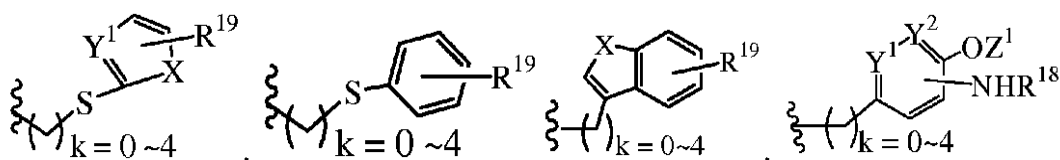
R^{11} は独立して H 、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)R^{16}$ 、 $-R^{14}X^2R^{16}$ 、 $-R^{14}C(=O)X^2$ であり；そのうち、 X^2 は $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-N(R^{14})-$ 、 $-O-R^{14}$ 、 $-S-R^{14}$ 、 $-S(=O)-R^{14}$ - または $-NHR^{14}$ - であり； R^{14} は $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環； $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニルであり； R^{16} は H 、 OH 、 R^{14} 又は 1 ~ 4 つのアミノ酸単位であり；

R^{12} は独立して R^{14} 、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $=N-$ 、 $=NNH-$ 、 $-N(R^{14})-$ 、 $-OR^{14}$ 、 $C(O)O-$ 、 $C(O)NH-$ 、 $C(O)NR^{14}$ 、 $-SR^{14}$ 、 $-S(=O)R^{14}$ 、 NHR^{14} 、 $-CH_2OP(=O)(OR^{15})-$ 、 $-P(=O)(OR^{15})$ 、 $-C(O)OP(=O)(OR^{15})-$ 、 $-OP(=O)(OR^{15})O$ 、 $-SO_2R^{14}$ であり； R^{14} 、 R^{15} は独立して、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル； $C_3 \sim C_8$ アリール、複素環、炭素環、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり；

R^{13} は $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、ヘテロアルキル、アルキル酸、アルキルアミド、アルキルアミン又は Ar であり；そのうち、 Ar とは、1 員環又は複数員環からなる芳香族環又は複素芳香族環であり、芳香族環又は複素芳香族環ごとに 4 ~ 10 個の炭素原子を含み、最も好ましくは 4 ~ 6 つの炭素原子を含み、複素芳香族環とは、1 つ又はいくつかの炭素原子が他の原子によって置換された芳香族環を意味し、最も好ましくは、1 つ、2 つ又は 3 つの炭素原子が O 、 N 、 Si 、 Se 、 P または S によって置換され、最も好ましくは、 O 、 S 、 N によって置換され；アリールまたは Ar とは、1 つ又はいくつかの水素原子が置換された芳香族環を意味し、水素原子を置換するこれらの基は、 R^{17} 、 F 、 Cl 、 Br 、 I 、 OR^{16} 、 SR^{16} 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 $N=NR^{16}$ 、 $N=R^{16}$ 、 $NR^{16}R^{17}$ 、 NO_2 、 $SOR^{16}R^{17}$ 、 SO_2R^{16} 、 SO_3R^{16} 、 OSO_3R^{16} 、 $PR^{16}R^{17}$ 、 $POR^{16}R^{17}$ 、 $PO_2R^{16}R^{17}$ 、 $OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(H_2)OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $PO(OR^{16})(OR^{17})$ 、 $OC(O)OP(O)(OR^{17})_2$ 、 $OC(O)R^{17}$ または $OC(O)NHR^{17}$ を含み；そのうち、 R^{16} と R^{17} はそれぞれ、独立して H 、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環； $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアラルキル、アルキルカルボニル或いは $C_4 \sim C_{12}$ グリコシド又は医薬用塩であり；

また、 R^{10} が H でない場合、或いは、 R^{13} が下記の基である場合、 R^{12} は H であってもよく、

【化 153】



ここで、 Z^1 は H 、 $CH_2OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)OP(O)(OR^{18})_2$

10

20

30

40

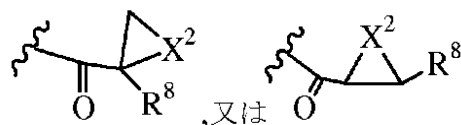
50

)₂、PO(OR¹⁸)₂、P(O)(OR¹⁸)OP(O)(OR¹⁸)₂、C(O)R¹⁸、C(O)NHR¹⁸、SO₂(OR¹⁸)、C₄-C₁₂のグリコシド、C₁~C₈のアルキル、カルボキシアルキル基、複素環であり；R¹⁸は、H、C₁~C₈のアルキル、カルボキシアルキル基、ヘテロアルキル；C₂~C₈のアルケニル、アルキニル、複素環；C₃~C₈のアリール、アルキルカルボニルであり；R¹⁹はH、OH、NH₂、OSO₂(OR¹⁸)、XCH₂OP(O)(OR¹⁸)₂、XPO(OR¹⁸)₂、XC(O)OP(O)(OR¹⁸)₂、XC(O)R¹⁸、XC(O)NHR¹⁸、C₁~C₈のアルキル、カルボキシアルキル、カルボン酸誘導体；C₂~C₈のアルケニル、アルキニル、複素環；C₃~C₈のアリール、アルキルカルボニル；または医薬用塩であり；XはO、S、又はNHであり；Y¹とY²はそれぞれN又はCHであり；

10

或いは、R¹¹が下記の基である場合、R¹²はHであってもよく、

【化154】



X²がO、S、N-R⁸であり、R⁸がH、C₁~C₆のアルキル又はヘテロアルキルであり；

R¹²は独立してR¹⁴、-O-、-S-、-NH-、=N-、=NNH、-N(R¹⁴)-、-OR¹⁴、C(O)O-、-COR¹⁶、-COOR¹⁴、C(O)NH-、C(O)NR¹⁴、-SR¹⁴、-S(=O)R¹⁴、-P(=O)(OR¹⁶)、-OP(=O)(OR¹⁶)、OP(=O)(OR¹⁶)O、-CH₂OP(=O)(OR¹⁶)、-CH₂OP(=O)(OR¹⁶)O、-SO₂R¹⁴であり；R¹⁴は独立して、C₁~C₈のアルキル、ヘテロアルキル；C₂~C₈のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環；C₃~C₈アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり；R¹⁶はH、OH、R¹⁴又は1~4つのアミノ酸単位である。）

20

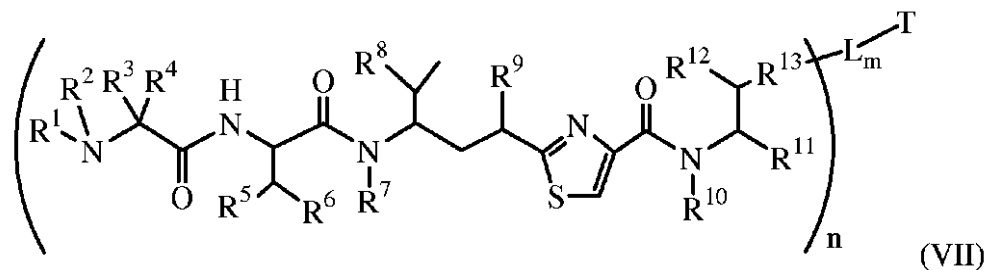
【0365】

(付記7)

構造式(VII)で示される構造を有する、付記1に記載の共役体及び薬学的に許容される塩並びに溶媒化物。

30

【化155】



(VII)

40

(ただし、ここで、Tは標的又は結合リガンド、Lは解離可能なリンカー、

【化156】

はLが独立して括弧内構造における分子と接続するリンク結合、nは1~20、mは1~10であり；

括弧内の構造体が効果的な抗有糸分裂剤・薬物であり、そのうち、R¹、R²、R³とR⁴が独立してC₁~C₈のアルキル、ヘテロアルキル；C₂~C₈のヘテロ環、炭素環、アルキルシクロアルキル、複素環アルキル、C₃~C₈のアリール、アラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニル；又は2つのR基(例えば、R¹R²、R²

50

R^3 、 $R^3 R^4$ 、 $R^5 R^6$ 、 $R^{12} R^{13}$ という各組合せが炭素数 3 ~ 7 の炭素環基、シクロアルキル、または複素環基とヘテロシクロアルキルなど環係基であってもいい) をそれぞれ表し、Y が N または CH であり; また、 R^1 、 R^3 と R^4 は H であってもよく、かつ、 R^2 は欠如していてもよく、

R^5 、 R^6 、 R^8 と R^{10} はそれぞれ、独立して H 又は $C_1 \sim C_4$ のアルキルまたはヘテロアルキルであり;

R^7 は独立して独立して H、 R^{14} 、あるいは $-R^{14}C(=O)X^1R^{15}$ 又は $-R^{14}X^1R^{15}$ から選択され; そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ独立して $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル; $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環、シクロアルカン; $C_3 \sim C_8$ アリール、複素環アルキル、ヘテロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり; X^1 は O、S、S-S、NH 又は N R^{14} であり;

R^9 は独立して H、 $-O-$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}$ 、 $-OC(=O)NHR^{14}$ 、 $-OC(=O)R^{14}SSR^{15}$ 、 $OP(=O)(OR^{14})$ - または $OR^{14}OP(=O)(OR^{15})$ であり; そのうち、 R^{14} と R^{15} はそれぞれ、独立して $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル; $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環; $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアルキル、アルキルカルボニルであり;

R^{11} は独立して H、 R^{14} 、 $-R^{14}C(=O)R^{16}$ 、 $-R^{14}X^2R^{16}$ 、 $-R^{14}C(=O)X^2$ であり; そのうち、 X^2 は $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NH-$ 、 $-N(R^{14})-$ 、 $-O-R^{14}$ 、 $-S-R^{14}$ 、 $-S(=O)-R^{14}$ - または $-NHR^{14}$ - であり; R^{14} は $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル; $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環; $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、ヘテロアルキル、アルキルカルボニルであり; R^{16} は H、OH、 R^{14} 又は 1 ~ 4 つのアミノ酸単位であり;

R^{12} は独立して R^{14} 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NH_2$ 、 $=NH$ 、 $=NNH_2$ 、 $-NH(R^{14})$ 、 $-OR^{14}$ 、 $-COR^{16}$ 、 $-COOR^{14}$ 、 $C(O)NH_2$ 、 $C(O)NHR^{14}$ 、 $-SR^{14}$ 、 $-S(=O)R^{14}$ 、 $-P(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-OP(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-CH_2OP(=O)(OR^{16})_2$ 、 $-C(O)OP(=O)(OR^{16})_2$ 、又は $-SO_2R^{16}$ であり; R^{14} は独立して $C_1 \sim C_8$ のアルキル、ヘテロアルキル; $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、複素環、炭素環; 又は $C_3 \sim C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニルであり; R^{16} は H、OH、 R^{14} 又は 1 ~ 4 つのアミノ酸単位であり;

R^{13} は $C_1 \sim C_{10}$ アルキル、ヘテロアルキル、アルキル酸、アルキルアミド、アルキルアミン又は Ar であり; そのうち、Ar とは、1 員環又は複数員環からなる芳香族環又は複素芳香族環であり、芳香族環又は複素芳香族環ごとに 4 ~ 10 個の炭素原子を含み、最も好ましくは 4 ~ 6 つの炭素原子を含み、複素芳香族環とは、1 つ又はいくつかの炭素原子が他の原子によって置換された芳香族環を意味し、最も好ましくは、1 つ、2 つ又は 3 つの炭素原子が O、N、Si、Se、P または S によって置換され、最も好ましくは、O、S、N によって置換され; アリールまたは Ar とは、1 つ又はいくつかの水素原子が置換された芳香族環を意味し、水素原子を置換するこれらの基は、 R^{18} 、F、Cl、Br、I、 OR^{16} 、 SR^{16} 、 $NR^{16}R^{18}$ 、 $N=NR^{16}$ 、 $N=R^{16}$ 、 $NR^{16}R^{18}$ 、 NO_2 、 $SOR^{16}R^{18}$ 、 SO_2R^{16} 、 SO_3R^{16} 、 OSO_3R^{16} 、 $PR^{16}R^{18}$ 、 $POR^{16}R^{18}$ 、 $PO_2R^{16}R^{18}$ 、 $OPO_3R^{16}R^{18}$ 、 $CH_2OPO_3R^{16}R^{18}$ 、 $OP(O)(OR^{16})OP(O)(OR^{18})_2$ 、 $C(O)OPO_3R^{16}R^{18}$ または $PO_3R^{16}R^{18}$ を含み、そのうち、 R^{16} と R^{18} はそれぞれ、独立して H、 $C_1 \sim C_8$ のアルキル; $C_2 \sim C_8$ のアルケニル、アルキニル、ヘテロアルキル; C_3

10

20

30

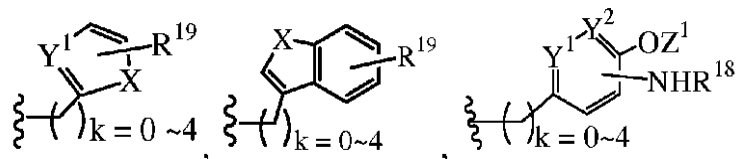
40

50

- C₈ アリール、複素環、炭素環、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアラルキル、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニル
 或いは C₄ - C₁₂ グリコシド又は医薬用塩であり；

また、R¹⁰ が H でない場合、或いは、R¹³ が下記の基である場合、R¹² は H であ
 ってもよく、

【化 157】



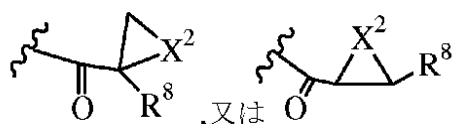
10

ここで、Z¹ は H、CH₂OP(O)(OR¹⁸)₂、PO(OR¹⁸)₂、C(O)
 OP(O)(OR¹⁸)₂、P(O)(OR¹⁸)OP(O)(OR¹⁸)₂、C(O)
 R¹⁸、C(O)NHR¹⁸、SO₂(OR¹⁸)、C₄ - C₁₂ のグリコシド、又は、C₁ ~ C₈
 のアルキル、カルボキシアルキル基、複素環であり；R¹⁸ は、H、C₁ ~ C₈
 のアルキル、カルボキシアルキル基、ヘテロアルキル；C₂ ~ C₈ のアルケニル、アルキ
 ニル、複素環；C₃ ~ C₈ のアリール、アルキルカルボニルであり；R¹⁹ は H、OH、
 NH₂、OSO₂(OR¹⁸)、XCH₂OP(O)(OR¹⁸)₂、XC(O)OP(O)
 (OR¹⁸)₂、XPO(OR¹⁸)₂、XC(O)R¹⁸、XC(O)NHR¹⁸
 、C₁ ~ C₈ のアルキル、カルボキシアルキル、カルボン酸誘導体；C₂ ~ C₈ のアルケ
 ニル、アルキニル、複素環；C₃ ~ C₈ のアリール、アルキルカルボニル又は医薬用塩で
 あり；X は O、S、又は NH であり；Y¹ と Y² はそれぞれ N 又は CH であり；

20

或いは、R¹¹ が下記の基である場合、R¹² は H であってもよく、

【化 158】



X² が O、S、N - R⁸ であり；R⁸ が H、C₁ ~ C₆ のアルキル又はヘテロアルキル
 である。）

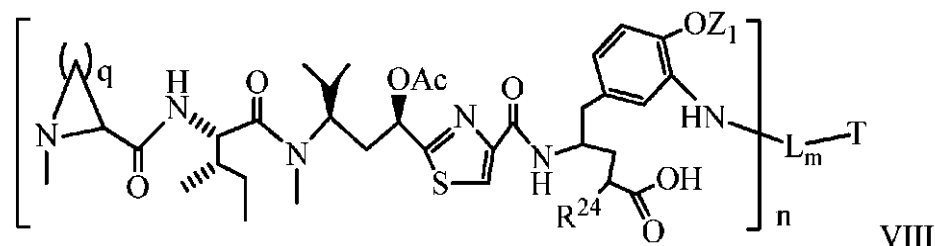
30

【0366】

(付記 8)

最も好ましくは、構造式 (VIIII) で示される構造を有する、付記 7 に記載の共役体
 及び薬学的に許容される塩並びに溶媒化物。

【化 159】



40

(ただし、ここで、T は標的又は結合リガンド、L は解離可能なリンカー、

【化 160】

は L が独立して括弧内構造における分子と接続するリンク結合、n は 1 ~ 20、m は 1 ~
 10、q は 1 ~ 5 であり；Z¹ は H、CH₂OP(O)(OR¹⁸)₂、PO(OR¹⁸)₂、C(O)OP(O)(OR¹⁸)₂、P
 (O)(OR¹⁸)OP(O)(OR¹⁸)₂、C(O)R¹⁸、C(O)NHR¹⁸、SO₂(OR¹⁸)、C₄ - C₁₂ グリコシド、または C

50

$_1 - C_8$ アルキル基、カルボキシアルキル基、複素環基； R^{18} は、H、 $C_1 - C_8$ アルキル、カルボキシアルキル、ヘテロアルキル； $C_2 - C_8$ アルケニル基、アルキニル基、複素環基； $C_3 - C_8$ のアリール基、アルキルカルボニル基； R^{24} はHまたは CH_3 である。）

【0367】

(付記9)

下記の分子式を有する、付記1～8のいずれか一項に記載のリンカーL。

【化161】

-Ww—(Aa)_r-Vv-

(ただし、-W-は拡張単位であり、Aaが存在する場合、1つの目標分子単位(T)を1つのアミノ酸単位(Aa)に接続させ、又は、Aaが存在しない場合、WはV単位に接続され；Wは独立して1つの自己絶滅間隔単位、1つのペプチドベース単位、1つのヒドラゾン、1つのジスルフィド結合、1つのチオエーテル結合、1つのエステルまたは1つのアミド結合を含有していてもよく、wは0又は1であってもよく；Aaは1つの天然又は非天然のアミノ酸単位を単独で示し、rは0～12の整数を単独で示し、(Aa)_rは天然又は非天然のアミノ酸、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、ペンタペプチド、ヘキサペプチド、ヘプタペプチド、オクタペプチド、ノナペプチド、デカペプチド、ウンデカペプチドまたはドデカペプチドを示し、

Vは間隔単位であり、H、O、NH、S、 $C_1 - C_8$ アルキル又はヘテロアルキル、 $C_2 - C_8$ アルケニル、アルキニル、複素環、炭素環； $C_3 - C_8$ アリール、シクロアルキル、アルキルシクロアルキル基、ヘテロシクロアルキル、ヘテロアリール、ヘテロアルキルシクロアルキル、アルキルカルボニル、又は1～4個のアミノ酸単位を単独で示し；vは0、1又は2である。）

【0368】

(付記10)

細胞結合体Tが、抗体、一本鎖抗体または標的細胞と結合可能な抗体断片、モノクローナル抗体、単鎖モノクローナル抗体、標的細胞と結合可能な単鎖モノクローナル抗体断片、キメラ抗体、標的細胞と結合可能なキメラ抗体断片、ドメイン抗体、標的細胞と結合可能なドメイン抗体断片、類似体抗体(アドネクチン)、DAPRins(設計されたアンキリンリピートタンパク質)、リンホカイン、ホルモン、ビタミン、成長因子、コロニー刺激因子、栄養素輸送分子(トランスフェリン)、結合ペプチド、タンパク質、アルブミンに取り付けられた小分子、高分子重合体、人工合成高分子、リポソーム、ナノ粒子、ベシクル、(ウイルスの)カプシドから選ばれる、付記1～8のいずれか一項に記載の共役体。

【0369】

(付記11)

抗有糸分裂剤共役体の構造式が、IIa, IIb, IIc, IId, IIe, II_f, IIg, IIh, IIi, IIj, IIk, IIl, II_m, II_n, IIo, IIp, IIq, IIr, IIIa, IIIb, IIIc, IIId, IIIe, III_f, IIlg, IIIh, IIIi, IIIj, IVa, IVb, IVc, IVd, IVe, IV_f, Va, Vb, Vc, Vd, Ve, Vf, Vg, Vh, VIa, VIb, VIc, Vle, VI_f, VIg, VIh, VIIi, VIIa, VIIb, VIIc, VIId, VIIe, VII_f, VIIg, VIIh, VIIi, VIIj, VIIk, VIII, VIIm, VIIn, VIIo, VIIp, VIIr, VIIs, 及び VIItで示される、付記1に記載の共役体。

【0370】

(付記12)

共役体を構成する抗有糸分裂剤分子の構造式が、232a, 232b, 232c, 232d, 232e, 232_f, 232g, 232h, 232i, 232j, 232k, 232l, 232m, 232n, 232o, 232p, 232q, 232r, 232s, 232t, 221a, 221b, 233a, 233b, 233c, 233d, 222a, 308a, 308b, 309a, 309b, 290, 299a, 299b, 241, 242, 247, 248, 206, 211, 346, 350, 354, 357, 361, 366, 371及び376で示される、付記1～8のいずれか一項に記載の共役体。

【0371】

(付記13)

10

20

30

40

50

抗有糸分裂剤がコンジュゲートされた抗体の構造式が、mAb-TZ01, mAb-TZ02, mAb-TZ03, mAb-TZ04, mAb-TZ05, mAb-TZ06, mAb-TZ07, mAb-TZ08, mAb-TZ09, mAb-TZ10a, mAb-TZ10b, mAb-TZ11, mAb-TZ12, mAb-TZ13, mAb-TZ14, mAb-TZ15, mAb-TZ16, mAb-TZ17, mAb-TZ18, mAb-TZ19, mAb-TZ20, mAb-TZ21, mAb-TZ22, mAb-TZ23, mAb-TZ24, 及びmAb-TZ25で示される、付記 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の共役体。

【 0 3 7 2 】

(付記 1 4)

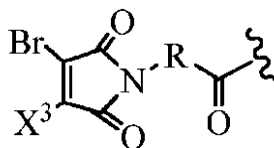
細胞表面結合体 T と結合する標的細胞が、腫瘍細胞、ウイルス感染細胞、微生物感染細胞、寄生虫感染細胞、自己免疫細胞、活性化細胞、骨髄細胞、活性化T細胞およびB細胞、またはメラニン細胞 ; Apo2、ASLG659、BAFF-R、BMPR1B (骨形成タンパク質)、IGF-1R、C A125、CanAg、E16、EGFR、EphA2受容体 ; ErbB2、MUC1、MUC16、NaPi3b (同義語 : NAPI-3B、NPT11b、SLC34A2、溶質キャリアファミリー-34のII、IIタイプナトリウム依存性リン酸輸送体3B)、VEGF、TF、MY9、antiB4、EpCAM、FcRH2、C242、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD11、CD 11a、CD18、CD19、CD20、CD21、CD22、CD26、CD30、CD33、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD72、CD79、CD79a、CD79b、CD105、CD138、CRIPTO (CR、CR1、CRGF、CRIPTO、CXCR5、LY64、TDGF1、奇形腫由来増殖因子)、EphA受容体、EphB受容体、EGFR、EGFRvIII、ETBR (ET)、FCRH1、HER2/ neu、HER3、HLA - DOB (MHC I I 分子のIa抗原)、インテグリン、IRTA2、MPF (MPF、MSLN、SMR、巨核球増強因子、メソテリン)、GEDA、セマ5B (FLJ10372、KIAA1445、Mm42015、SEMA5B、5EMAG、セマフォリン5 bHlog (semaphoring 5 bHlog)、セマドメイン (sema domain)、7トロンボスポンジン反復と細胞質ドメインを含む)、PSCA、STEAP1 (前立腺1の6膜貫通上皮抗原)、とSTEAP2 (、HGNC 8639、IPCA-1、PCANP1、STAMP1、STEAP2、STMP、前立腺)抗原の 1 つまたは 1 つ以上を表現する細胞 ; およびインスリン様成長因子、上皮増殖因子、または葉酸受容体を表現する細胞を含む、付記 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の抗体薬物共役体。

【 0 3 7 3 】

(付記 1 5)

共役体の 1 つのリンカーが 2 つの細胞毒素分子と結合する場合、下記の3-プロモ-マレイミド基、または3,4-ジプロモ-マレイミド基の構造を有する、付記 9 に記載のリンカー

【 化 1 6 2 】



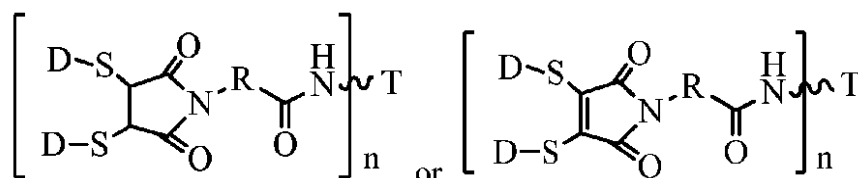
(ただし、RはC₁ - C₈ アルキル又はC₂H₄(OC₂H₄)_n、nは1~20であり ; X³はH又はBrである。)

【 0 3 7 4 】

(付記 1 6)

共役体における 2 つの細胞毒素が 1 つのリンカーと接合する場合、細胞毒素分子と結合する共役体が下記の構造を有する、付記 1 ~ 8 のいずれか一項に記載の共役体及び薬学的に許容される塩並びに溶媒化物。

【 化 1 6 3 】



(ここで、RはC₁ ~ C₈ アルキル又はC₂H₄(OC₂H₄)_n、nは1~20であり ; Dは細胞毒素分子 /

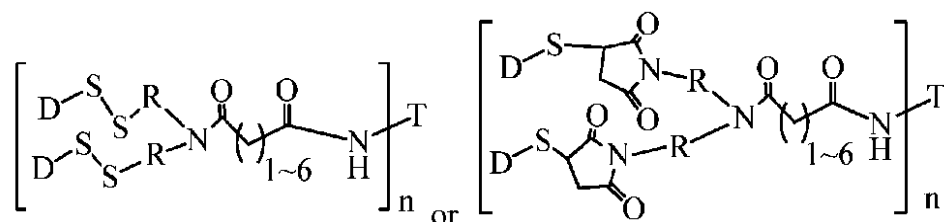
薬物，Tは細胞結合分子である。）

【 0 3 7 5 】

（付記 1 7）

共役体における 2 つの細胞毒素が 1 つのリンカーと接合する場合、細胞毒素分子と結合する共役体が下記の構造を有する、付記 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の共役体及び薬学的に許容される塩並びに溶媒化物。

【 化 1 6 4 】



10

（ここで、RはC₁～C₈ アルキル又はC₂H₄(OC₂H₄)_n，nは1～20であり；Dは細胞毒素分子/薬物，Tは細胞結合分子である。）

【 0 3 7 6 】

（付記 1 8）

細胞毒性を有する薬物Dが、カリケアマイシン、オーリスタチン（auristatins）、メイタンシノイド、ドラスタチン、CC-1065アナログ、ドキソルビシン、タキサン、ロロベンゾジアゼピン二量体、siRNA又はこれらの分子の混合物などの薬学的に許容されるこれらのいずれかの塩、酸または誘導体から選ばれる、付記 1 6 又は 1 7 に記載の共役体。

【 0 3 7 7 】

（付記 1 9）

癌、自己免疫疾患または感染症の治療又は予防ために、治療効果がある用量で、付記 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の抗有糸分裂剤がコンジュゲートされた共役体（コンジュゲート）、又は相応の薬学的に許容される塩類、担体、希釈剤、賦形剤、またはこれらの混合物を含有すること、を特徴とする薬物組成物。

【 0 3 7 8 】

（付記 2 0）

癌、自己免疫疾患または感染症の相乗的に有効な治療又は予防における使用のために、治療効果がある用量で、付記 1 ～ 8 のいずれか一項に記載の共役体を、他の薬物（例えば化学療法、放射線療法、免疫薬、抗自己免疫疾患剤、抗感染剤、または他の抗体-薬物共役体）と併用した薬物成分を含有すること、を特徴とする薬物組成物。

20

30

【 図 1 】

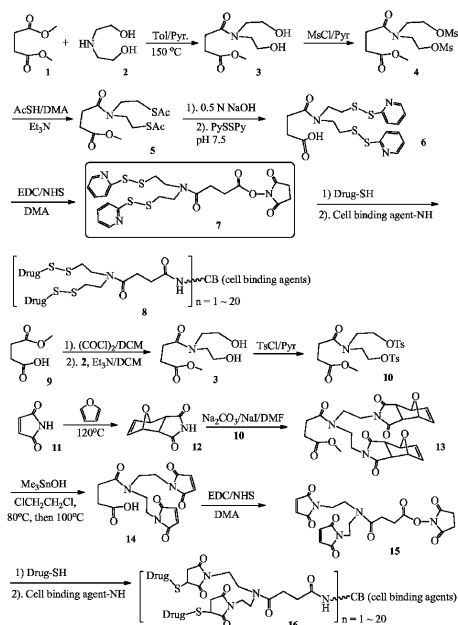


Figure 1. The synthesis of branched linkers for conjugation of drugs to cell binding agents.

【 図 2 】

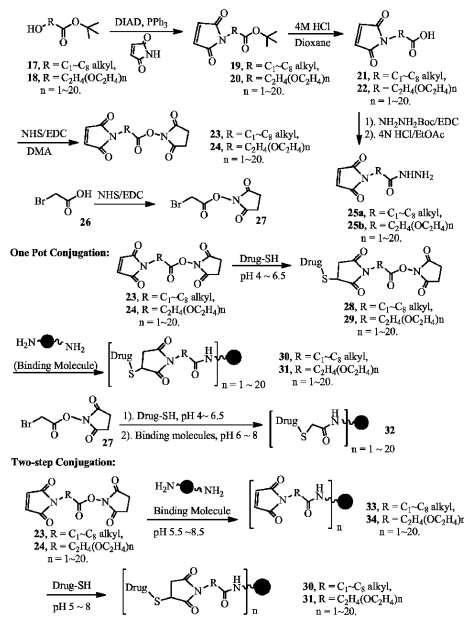


Figure 2. The synthesis of maleimido linkers and their use for the drug-binding molecule conjugation.

【 図 3 】

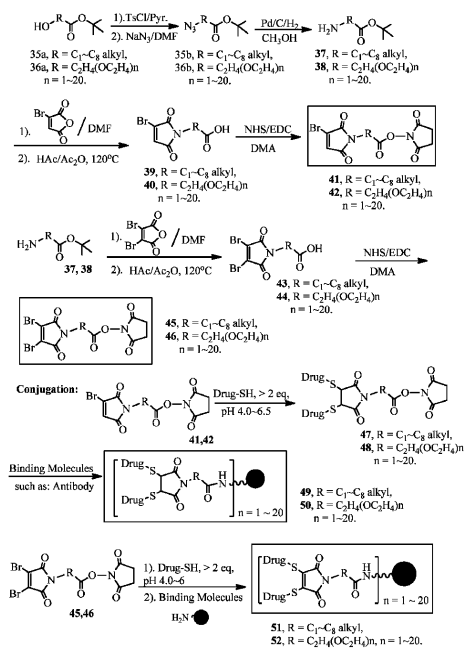


Figure 3. The synthesis of bromomaleimido and dibromomaleimido linkers and their use for the drug-binding molecule conjugation.

【 図 4 】

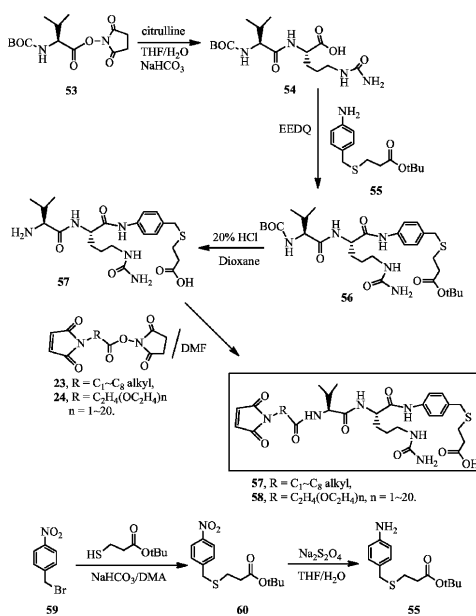


Figure 4. The synthesis of amino acid (Val-Cit) linkers for the conjugation of antimetabolic agents with a cell binding molecule.

【図 5】

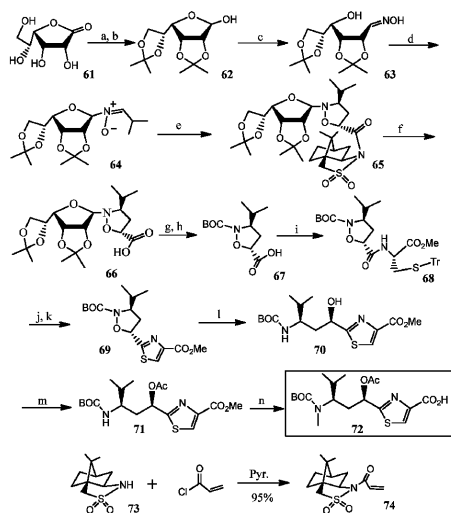


Figure 5. The synthesis of Tuv component of the antimitotic agents. Conditions: a. CuSO_4 , H_2SO_4 , Acetone, 95%; b. DIBAL-H, THF/Tol., -78°C, 95%; c. NH_2OH , NaHCO_3 , $\text{CH}_3\text{OH}/\text{H}_2\text{O}$; d. isobutyraldehyde, MgSO_4 , CH_2Cl_2 , 85% (2 steps); e. (2R)-N-(acryloyl)bornane-10,2-sultams (74), 40°C, 48h, CH_2Cl_2 , 83%; f. LiOH , THF/ H_2O , 86%; g. HClO_4 , $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 98%; h. BOC-N , Na_2CO_3 , THF/ H_2O , 95%; i. L-(S)-Tr-cysteine methyl ester, EDC, CH_2Cl_2 , 85%; j. $\text{Ph}_3\text{P=O}$, Ti_2O_3 , CH_2Cl_2 ; k. MnO_2 , CH_2Cl_2 , 76% (2 steps); l. Mo(CO)_6 , $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 87%; m. Ac_2O , Pyr., 95%; n. 1). NaH , THF, CH_3I , 85%; 2). HOSnMe_3 , $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$, 80°C, 95%, 3). $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Pyr}$, 86%.

【図 6】

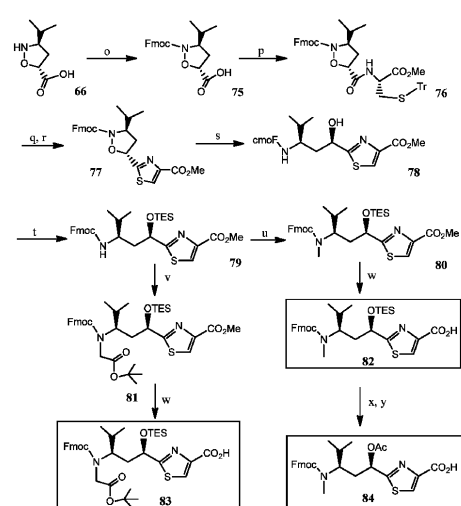


Figure 6. The synthesis of Tuv components of the antimitotic agents. Conditions: o). Fmoc-Cl, NaHCO_3 , THF/ H_2O , 95%; p). L-(S)-Tr-cysteine methyl ester, EDC, CH_2Cl_2 , 87%; q). PhIP=O , Ti_2O_3 , CH_2Cl_2 ; r). MnO_2 , CH_2Cl_2 , 76% (2 steps); s). Mo(CO)_6 , $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$, 87%; t). TES-Cl, Pyr., 95%; u). NaH , THF, CH_3I , 90%; v). NaH , THF, $\text{BrCH}_2\text{COO}t\text{Bu}$, 0°C, 87%; w). HOSnMe_3 , $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$, 80°C, -90%; x). Bu_4NF , THF; y). Ac_2O , Pyr., 81%.

【図 7】

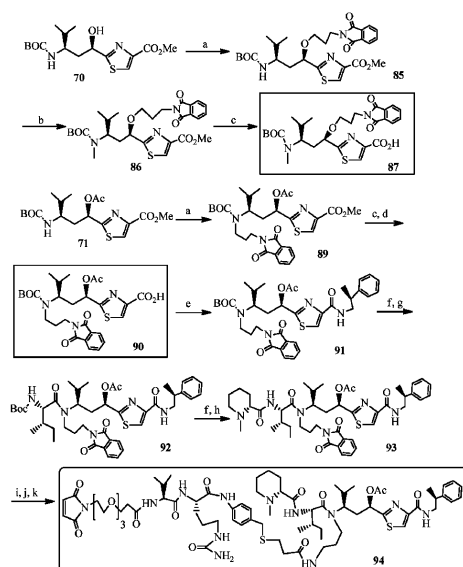


Figure 7. The synthesis of Boc-Tuv moieties and a conjugatable antimitotic agent. Conditions: a). NaH , THF, N-(4-Bromobutyl)phthalimide, NaH , -83%; b). NaH , DMF, CH_3I , 90%; c). HOSnMe_3 , $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$, 80°C, -85%; d). Ac_2O , Pyr.; e). (R)-(+)-b-Methylphenethylamine, EDC, DMA, 85%; f). 4M HCl, dioxane; g). Boc-Ile-OH, PyBroP, DMAP, DMA, 78%; h). D-Mep, PyBroP/ CH_2Cl_2 , 81%; i). NH_2NH_2 , DMA; j). **58** (n=3), EDC, DMA, k). Ac_2O , Pyr., 56%.

【図 8】

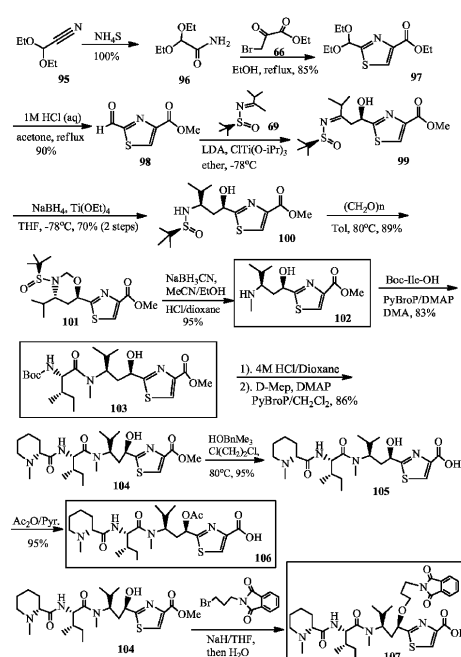


Figure 8. The synthesis of Tuv, Ile-Tuv and Mep-Ile-Tuv moieties of the antimitotic agents.

【 图 10 】

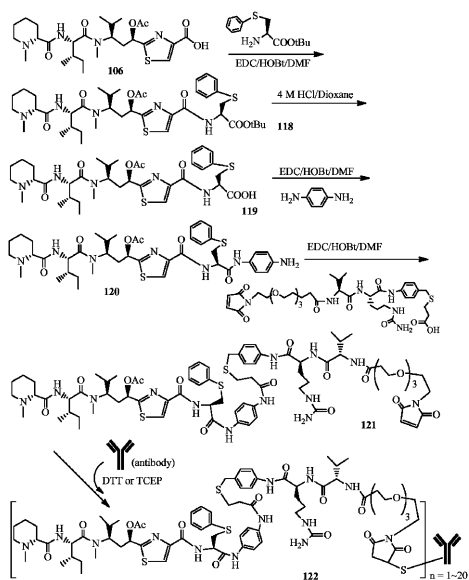


Figure 9. The synthesis of Ile-Tuv, Mep-Leu-Tuv, Val-Ile-Tuv and Val-Ile-Tuv (O-alkyl) moieties of the antimitotic agents.

【 図 1 2 】

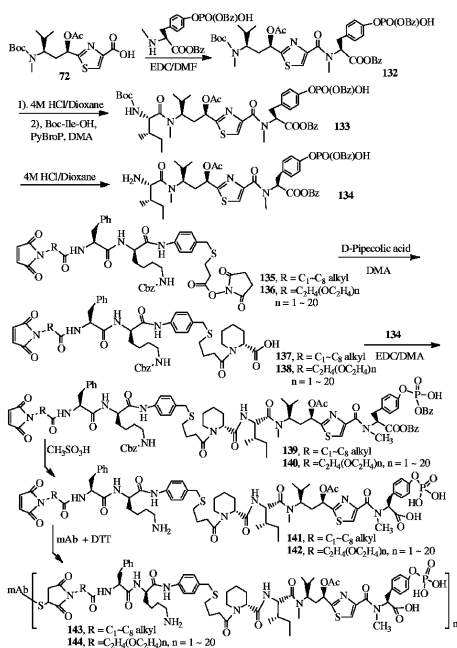


Figure 12. The synthesis of antibody-antimitotic agent conjugates.

【 図 13 】

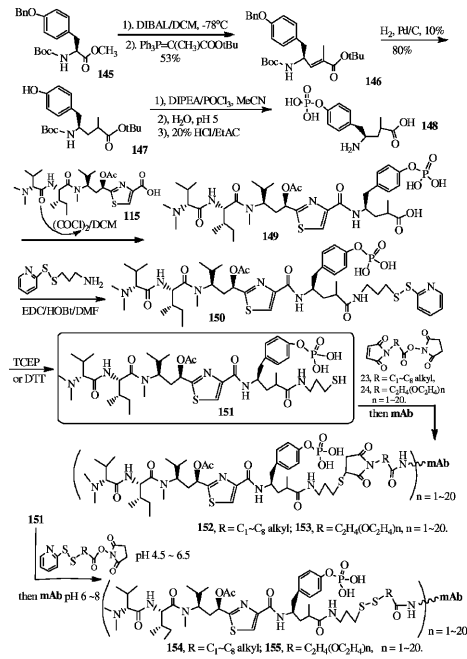


Figure 13. The synthesis of antibody-antimitotic agent conjugates.

【 図 14 】

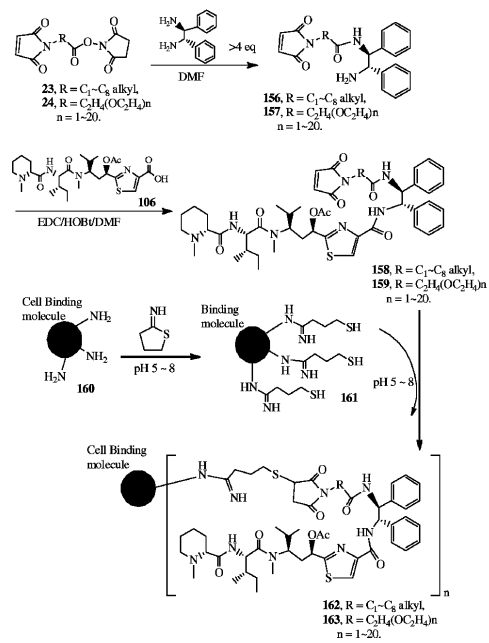


Figure 14. The synthesis of the binding molecule-antimitotic agent conjugates.

【 図 15 】

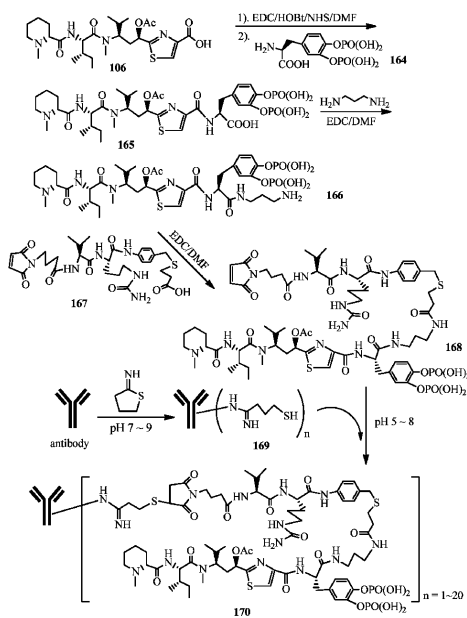


Figure 15. The synthesis of a binding molecule (antibody)-antimitotic agent conjugate.

【 図 16 】

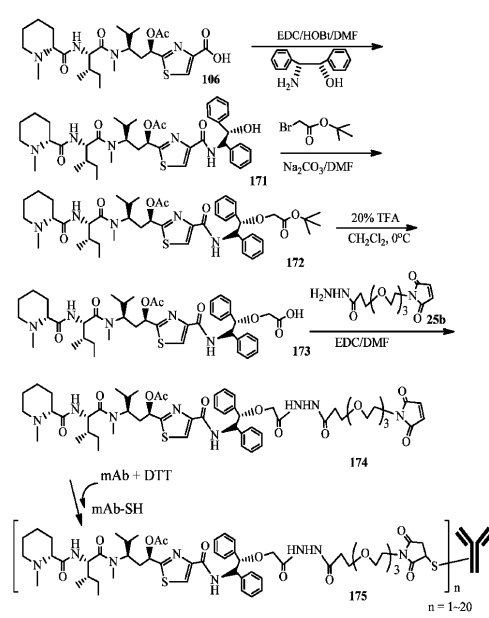


Figure 16. The synthesis of antibody-antimitotic agent conjugates.

【図 17】

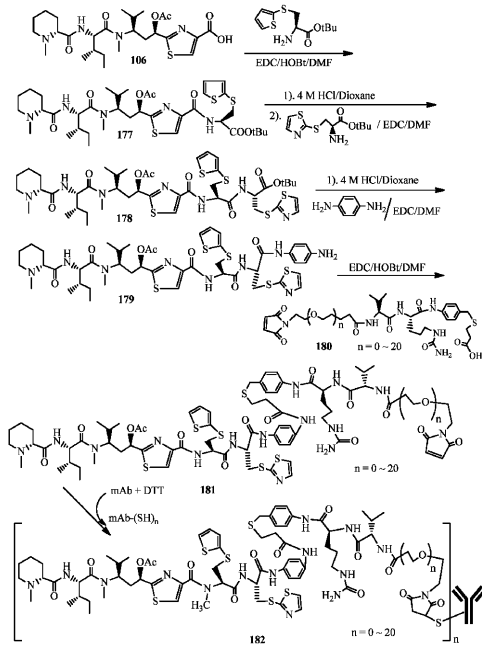


Figure 17. The synthesis of an antibody-antimimetic agent conjugates.

【図 18】

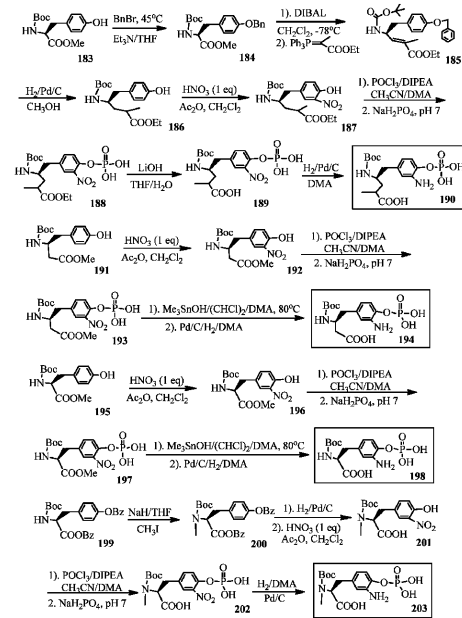


Figure 18. Synthesis of hydrophilic Tut analogs for the synthesis of the hydrophilic (phosphate prodrug of) antimimetic agents

【図 19】

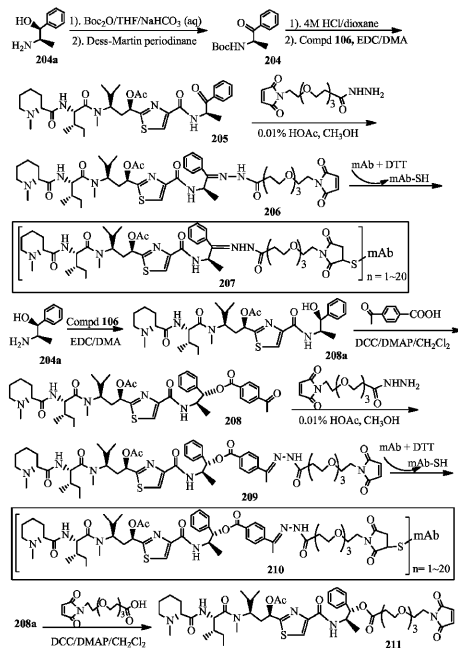
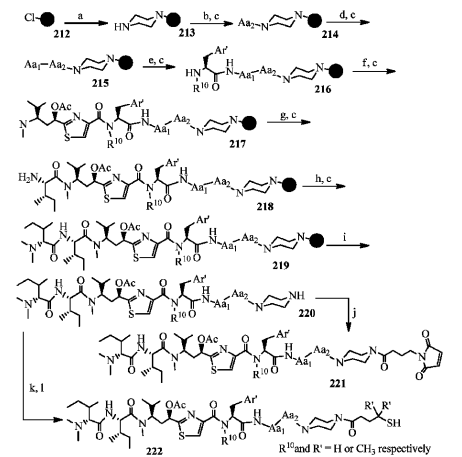


Figure 19. The synthesis of the conjugates of the antimimetic agents with an antibody.

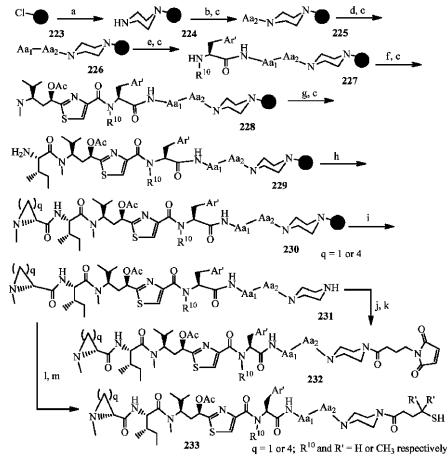
【図 20】



Conditions: a): Piperazine (5 ~ 20 eq), CH₂Cl₂, 4h; b): Boc-Aa2-OH (2 ~ 5 eq), PyBrop (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; c): 4 M HCl/Dioxane, 0.5h; then washed with DIPEA (2 ~ 3eq), DMF; d): Boc-Aa1-OH (2 ~ 5 eq), TBUTU (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; e): (2 ~ 5 eq) BocNMe-Phe-OH, or Boc-Trp-OH, or BocNMe-Tyr(PO(OEt)₂OH)-OH, or BocNMe-(Pyr)Ala-OH, or Boc-(Thienyl)-Ser-OH, or Boc-(Thiazolyl)-Ala-OH, Boc-Hyp-OH, PyBrop (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 4 h; f): Boc-N(Me)-Tyr-OH (1.5 ~ 3 eq), PyBrop (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 2 h; g): Boc-Ile-OH (2 ~ 5 eq), PyBrop (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 3 h; h): NMe₂-Ile-OH, TBUTU (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 2h; i): TFA, anisole; j): 4-maleimido butyric acid NHS ester (1.5 ~ 2 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 2 h; k): 4-(methylsulfonyl)butanoic acid NHS ester (1.5 ~ 2 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 2 h; l): TCEP (3 ~ 10 eq), Dioxane/buffer pH 7.0, then solid supported guanidine.

Figure 20. BOC Solid-phase synthesis of the conjugate antimimetic agents

【 2 1 】



Conditions: a) (MeNCH₂)₂ (5–20 eq), DCM, 4h; b) Fmoc-Aa2-OH (2–5 eq), PyBroP (2–5 eq), DIPEA (3–10 eq), DMF, 4h; c) 20% piperidine, DMF, 2h; d) Fmoc-Aa1-OH (2–5 eq), TBUT (2–5 eq), DIPEA (3–10 eq), DMF, 4h; e) (2–5 eq) Fmoc-NMe-Tyr(SO₃H)-OH, or Fmoc-TipOH-OH, or Fmoc-NMe-Tyr(PO(OBz)-OH)-OH, or Fmoc-NMe-Tyr(Glucose)-OH, or Boc-(quinolyl)Ala-OH, or Fmoc-(thienyl)Ser-OH, (Phenyl)-Cys-OH, PyBroP (2–5 eq), DIPEA (3–10 eq), DMF, 4h; f) Fmoc-N(Me)-Tuv-OH (1.5–3 eq), PyBroP (2–5 eq), DIPEA (3–10 eq), DMF, 4h; g) Fmoc-Ile-OH (2–5 eq), PyBroP (2–5 eq), DIPEA (3–10 eq), DMF, 4h; h) Mep-OH (2–4 eq), or (R)-1-methylaziridine-2-carboxylate, TBUT (2–5 eq), DIPEA (3–10 eq), DMF, 2h; i) TFA, DCM, anisole; j) 4-maleimido butyric acid NHS ester (1.5–2 eq), DIPEA (3–10 eq), DMF, 4h; k) 20% TFA, DCM; l) 4-(methyl disulfany)butanoic acid NHS ester (1.5–2 eq), or 4,4-dimethyl 4-(methyl disulfany)-butanoic acid NHS ester (1.5–2 eq), DIPEA (3–10 eq), DMF, 4h; m) TCEP (8 eq), Dioxane, buffer pH 7.0, then solid supported guanidine.

Figure 21. Fmoc solid-phase synthesis of the conjugatable antimetabolic agents.

【 2 2 】

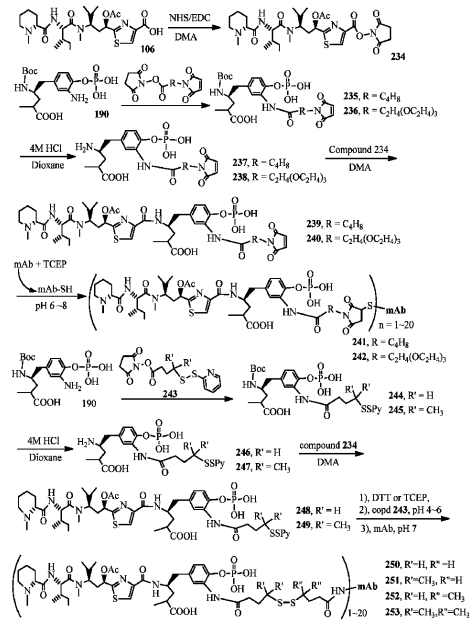
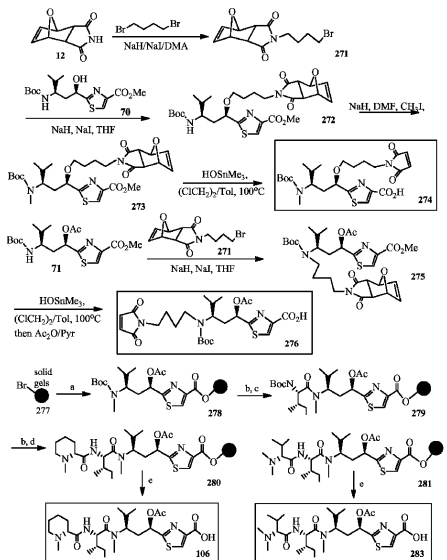


Figure 22. The synthesis of the hydrophilic antimetabolic drugs and their conjugates with an antibody.

【 2 3 】



Conditions: a) compound 72, DIPEA, CsI, DMF, 2 h; b) 20% TFA/DCM, 0.5 h, then washed with DIPEA, MeOH, DCM; c) Boc-Ile-OH (3–5 eq), PyBroP (3–5 eq), DIPEA (3–10 eq), DMF, 6 h; d) Mep-OH (2–4 eq), or NMe₂-Leu-OH, TBUT (2–5 eq), DIPEA (3–10 eq), DMF, 6 h; e) 95% TFA/anisole/DCM.

Figure 23. The synthesis of Tuv derivatives and the solid phase synthesis of components of Mep-Ile-Tuv and NMe₂-Val-Ile-Tuv.

【 2 4 】

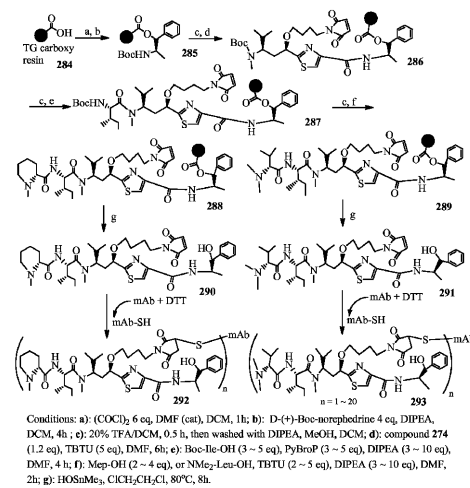
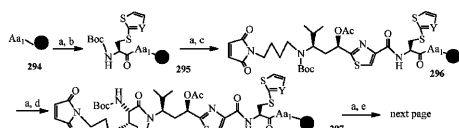
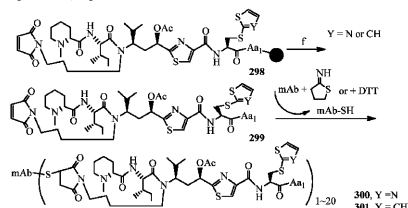


Figure 24. The synthesis of the antimetabolic agents and their conjugation with an antibody.

【 図 25 】



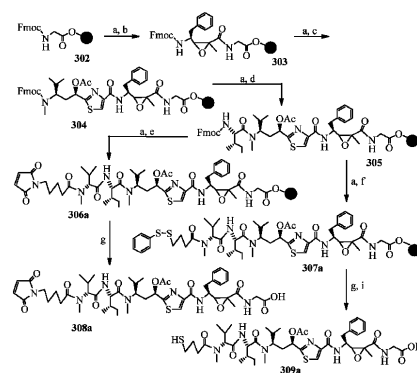
Conditions: a): 20% TFA/DCM, 0.5 h, then washed with DIPEA, MeOH, DCM; b): Boc-(2-thiazolyl)-Cys-OH (2 eq), or 2-Thienyl-L-Cys-OH (2 eq) PyBroP (4 eq), DIPEA (4 eq), DMF, 6 h; c): compound 276, TBUTU (4 eq), DIPEA (4 eq), DMF, 6 h; d): Boc-Ile-OH (4 eq), PyBroP (4 eq), DIPEA (4 eq), DMF, 6 h;



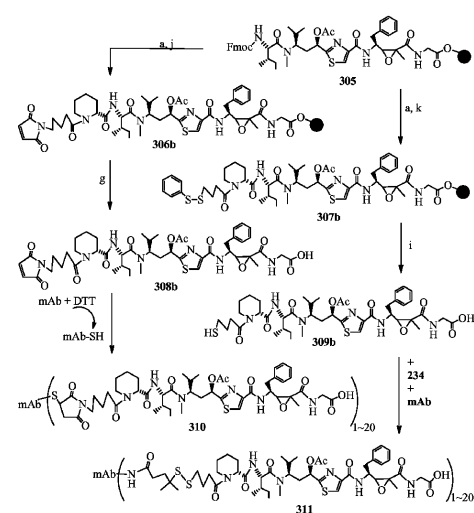
Conditions: e): Mep-OH (2 ~ 4 eq), or NMe₂-Leu-OH, TBUTU (2 ~ 5 eq), DIPEA (3 ~ 10 eq), DMF, 2 h; f): TFA/DCM/anisole/p-thiophenol (95:4:0.5:0.5)

Figure 25 The solid phase synthesis of an antitumor agent and its conjugate with an antibody.

【 図 26 - 1 】



【 図 26 - 2 】



Conditions: a): DMF/piperidine (4:1); b): 331/DMF/PyBroP (2~5 eq); c): Fmoc-Tuv-OH (1.2 eq), TBUTU (5 eq), DMF; d): Fmoc-Ile-OH (4 eq), PyBroP (4 eq), DIPEA (4 eq), DMF; e): N, N (methyl, Maleimido-pentanoic)-Val-OH (2 eq), TBUTU, DMF; f): N, N (methyl, 2'-pyridinyl-disufanybutyric)-Val-OH, TBUTU (4 eq), DMF; g): 5% TFA/DCM/1%TIS; i) DTT/pH 7.0 PBS buffer/DMF, then HPLC; j): N, N (methyl, Maleimido-pentanoic)-Mep-OH (2 eq), TBUTU, DMF; f): N, N (methyl, 2'-pyridinyl-disufanybutyric)-Mep-OH, TBUTU (4 eq), DMF;

Figure 26. Solid-phase synthesis of antitumor drugs and their conjugates with an antibody.

【 図 27 】

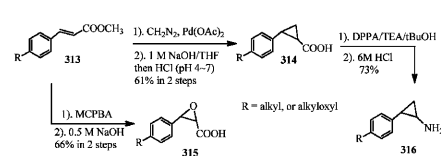


Figure 27. The synthesis of *trans*-2-arylcyclopropylamines, *trans*-2-arylcyclopropylcarboxylic acids and *trans*-2-arylethylepoxyl carboxylic acids.

【 図 28 】

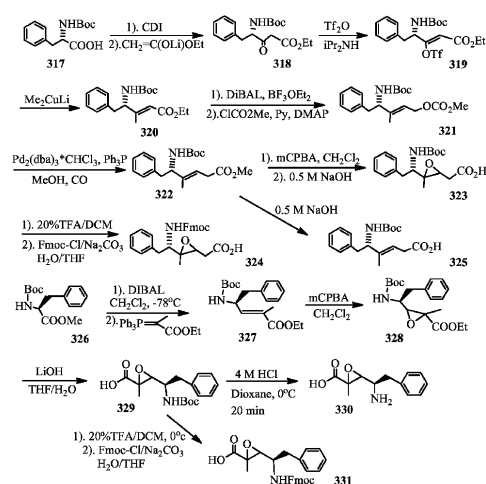


Figure 28. The synthesis of alkene amino acids and alkyl epoxyl amino acids.

【 図 3 0 】

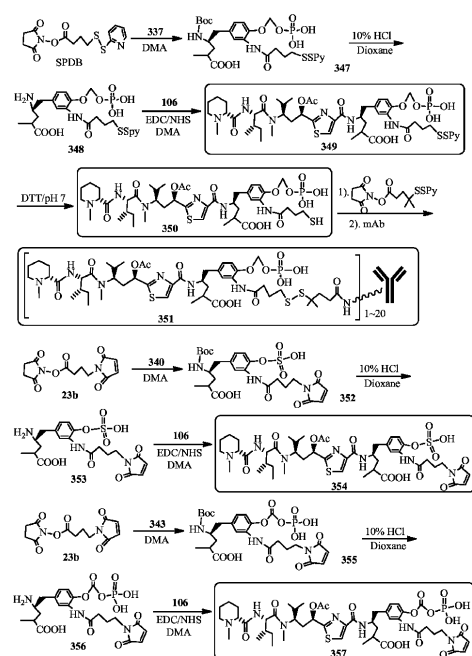


Fig. 30. Synthesis of the hydrophilic prodrugs of antimitotic agents for the conjugation with a cell binding agent.

【 図 3 2 】

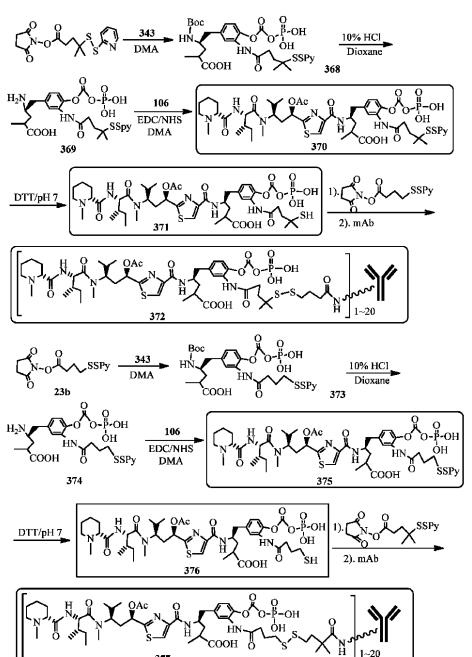


Figure 32. The synthesis of the hydrophilic prodrugs of antimitotic agents for the conjugation with an antibody.

【 3 3 】

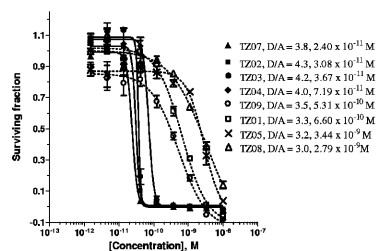


Figure 33. Cytotoxic effects of antiCD22 antibody-antimitotic agent (TZ01-TZ09) conjugates with drug/antibody ratio (D/A) 3.0 ~ 4.3 on Ramos (Burkitt lymphoma cell line). The cells were incubated with the conjugates for 5 days and the IC_{50} values are indicated on the figure.

【 3 4 】

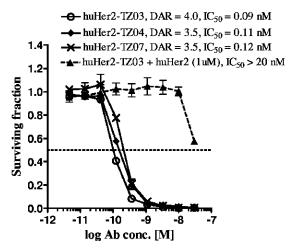


Figure 34. Cytotoxic effects of Trastuzumab-antimitotic agent (TZ03, TZ04, and TZ07) conjugates with drug/antibody ratio (DAR) 3.5 ~ 4.0 on KPL-4 (breast cancer cell line). It also shows that Trastuzumab-TZ03 conjugate induces a specifically potent antiproliferative effect – with $IC_{50} = 90$ pM in the absence of unconjugated Trastuzumab and $IC_{50} > 20$ nM in the presence of 1 micromole concentration of Trastuzumab (to saturate the antigen binding) respectively. The specificity window is > 222 ($IC_{50} > 20$ nM/ $IC_{50} = 0.09$ nM).

【 3 5 】

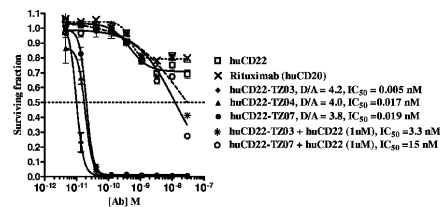


Figure 35. Cytotoxic effects of antiCD22 antibody-antimitotic agent (TZ03, TZ04, and TZ07) conjugates with drug/antibody ratio (D/A) 3.8 ~ 4.2 and of unconjugated CD22 antibody as well as of CD20 antibody (Rituximab) on BJAB (Burkitt lymphoma cell line). It shows that the conjugate induces much more potent antiproliferative effect – with $IC_{50} = 5$ ~ 19 pM than the unconjugated antibodies with $IC_{50} > 20$ nM. The specificity windows when used 1 micromole concentration of unconjugated CD22 antibody to saturate the antigen binding are > 660 ($IC_{50} = 3.3$ nM/ $IC_{50} = 0.005$ nM) for huCD22-TZ03 conjugate and > 790 ($IC_{50} = 15$ nM/ $IC_{50} = 0.019$ nM) for huCD-TZ07 conjugate.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K 47/68	(2017.01)	A 6 1 K 47/68
A 6 1 K 38/05	(2006.01)	A 6 1 K 38/05
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 37/02	(2006.01)	A 6 1 P 37/02
A 6 1 P 31/00	(2006.01)	A 6 1 P 31/00

(74)代理人 100095407

弁理士 木村 満

(74)代理人 100132883

弁理士 森川 泰司

(74)代理人 100148633

弁理士 桜田 圭

(74)代理人 100147924

弁理士 美恵 英樹

(72)発明者 ジャオ、アール ヨンシン

中華人民共和国 4 5 0 0 0 2 河南省 チェンジョウシティー ウェンフアロードナンバー 7 8
ビルディング 2 アパートメント 2 9

(72)発明者 ジャン、ユエ

中華人民共和国 5 1 8 0 5 7 広東省 シェンチェンシティー ナンシャンドistrict ツ
ァイホンズィアン ガオシンナンフアロード 3 6 1 5 Aビルディング 9

(72)発明者 マ、ヨウラン

中華人民共和国 4 5 0 0 0 2 河南省 チェンジョウシティー ウェンフアロードナンバー 5 0
アンタイウェンユアン ビルディング 1 9 ユニット 1 シックスズフロアナンバー 1 2

審査官 濱田 光浩

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 1 / 0 1 7 2 4 9 (WO, A 1)

国際公開第 2 0 0 8 / 1 1 2 8 7 3 (WO, A 1)

BALASUBRAMANIAN, R. et al, Total synthesis and biological evaluation of tubulysin U, t
ubulysin V, and their analogues, J. Med. Chem., 2 0 0 9 年, Vol. 52, p. 238-240

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 K 5 / 0 0

C 0 7 K 1 9 / 0 0

C 0 7 K 7 / 0 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)

W P I D S (S T N)