

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-537244

(P2007-537244A)

(43) 公表日 平成19年12月20日(2007.12.20)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C O 7 D 491/22 (2006.01)	C O 7 D 491/22 C S P	4 C O 5 0
A 6 1 K 31/4745 (2006.01)	A 6 1 K 31/4745	4 C O 8 4
A 6 1 K 31/5377 (2006.01)	A 6 1 K 31/5377	4 C O 8 6
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	4 H O 4 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 26 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2007-512735 (P2007-512735)
 (86) (22) 出願日 平成17年5月4日 (2005.5.4)
 (85) 翻訳文提出日 平成19年1月12日 (2007.1.12)
 (86) 国際出願番号 PCT/IT2005/000261
 (87) 国際公開番号 W02005/110487
 (87) 国際公開日 平成17年11月24日 (2005.11.24)
 (31) 優先権主張番号 RM2004A000241
 (32) 優先日 平成16年5月13日 (2004.5.13)
 (33) 優先権主張国 イタリア (IT)

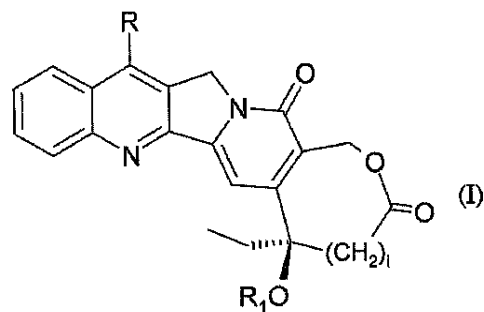
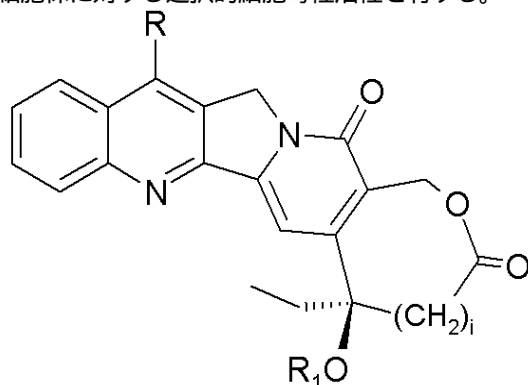
(71) 出願人 591043248
 シグマータウ・インドゥストリエ・ファル
 マチュウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル
 ・アチオニ
 SIGMA-TAU INDUSTRIE
 FARMACEUTICHE RIUN
 ITE SOCIETA PER AZI
 ONI
 イタリア00144ローマ、ピアレ・シャ
 ケスベアレ47番

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 20位にてインテグリンアンタゴニストと接合したカンプトテシン誘導体

(57) 【要約】

式(1)の化合物が記載され、式中、RおよびR₁基は明細書に定義の通りであり、カンプトテシン分子の20位においてRGD配列を含むシクロペプチドとの縮合を含む。該化合物は、インテグリン受容体 $\alpha_v\beta_3$ および $\alpha_v\beta_5$ に対して高い親和性を有し、マイクロモル濃度でのヒト腫瘍細胞株に対する選択的細胞毒性活性を有する。



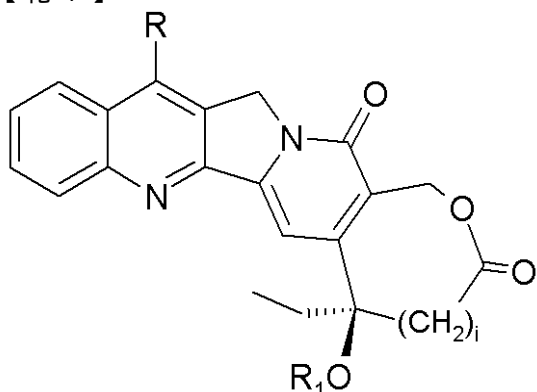
(1)

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の式 I の化合物、 N_1 -オキシド、ラセミ混合物、その単一エナンチオマー、その単一ジアステレオアイソマー、EおよびZ形態、それらの混合物、医薬上許容される塩：

【化 1】



10

(1)

[式中：

 i は、0または1； R は、 $-\text{CH}=\text{N}-(\text{O})_m-\text{R}_2$ 基； R_1 は、 $\text{U}-\text{X}-\text{Y}$ 基；ここで、 m は、0または1；

R_2 は、以下からなる群から選択される：飽和または不飽和、直鎖状または分枝状 C_1-C_7 アルキル、ただし、 i が0の場合、 R_2 は t -ブチルではない；飽和または不飽和 C_3-C_{10} シクロアルキル； C_6-C_{14} アリール、O、N、Sからなる群から選択される少なくとも1つのヘテロ原子を含む芳香族または非芳香族 C_3-C_{14} 複素環基；飽和または不飽和 C_3-C_{10} シクロアルキルで置換された、飽和または不飽和、直鎖状または分枝状 C_1-C_7 アルキル； C_6-C_{14} アリール、O、N、Sからなる群から選択される少なくとも1つのヘテロ原子を含む芳香族または非芳香族 C_3-C_{14} 複素環基；式： $-(\text{CH}_2)_{m_1}-\text{NR}_8-(\text{CH}_2)_{n_1}-\text{NR}_9-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NR}_9)_{p_1}-\text{H}$ のポリアミノアルキル、ここで、 m_1 および n_1 は同一であっても異なってもよく、2～6の整数であり、 p_1 は0～3の整数であり、 R_8 および R_9 は同一であっても異なってもよく、以下からなる群から選択される：H、直鎖状または分枝状 C_1-C_6 アルキル、Boc、Cbz、単糖類、例えば、6-D-ガラクトシル または 6-D-グルコシル；上記の各基は以下からなる群から選択される1以上の基によって置換されていてもよい： $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{COO}-(\text{アルキル})(\text{C}_1-\text{C}_5)$ 、 $-\text{CONH}-(\text{アルキル})(\text{C}_1-\text{C}_5)$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ ； $-\text{SO}_3-(\text{アルキル})(\text{C}_1-\text{C}_5)$ 、ここでアルキル基は直鎖状または分枝状；ハロゲン原子；

20

30

U は、非存在 または 以下の基の1つ： $-\text{COCHR}_{10}\text{NH}-$ または $\text{CON}[(\text{CH}_2)_{n_2}\text{NHR}_7]-\text{CH}_2-$ 、ここで、 R_{10} は、H または、以下からなる群から選択される： C_6-C_{14} アリールにより置換されていてもよい直鎖状または分枝状 C_1-C_4 アルキル、またはアミノ-アルキル C_1-C_4 ； R_7 は、H または 直鎖状または分枝状 C_1-C_4 アルキル； n_2 は2～6の整数；

40

 X は、非存在 またはH または以下から選択される基：

$-\text{COCHR}_3\text{NH}-$ 、 $-\text{COCHR}_6(\text{CH}_2)_{n_3}\text{R}_4-$ 、 $-\text{R}_4-\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_{n_4}\text{OCH}_2\text{R}_4-$ 、 $-\text{R}_4(\text{Q})\text{R}_4-$ 、 $-\text{R}_5[\text{Arg}-\text{NH}(\text{CH}_2)_{n_5}\text{CO}]_{n_6}\text{R}_5-$ 、 $-\text{R}_5-[\text{N}-\text{グアニジノプロピル}-\text{Gly}]_{n_6}\text{R}_5-$ 、ここで、 n_3 は0～5の整数、 n_4 は0～50の整数、 n_5 は2～6の整数、 n_6 は2～7の整数；

R_3 は、H または $-\text{COOH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 、 $-\text{NH}_2$ または $-\text{OH}$ により置換されていてもよい 直鎖状または分枝状 C_1-C_4 アルキル；

 R_4 は、以下からなる群から選択される： $-\text{NH}-$ 、 $-\text{CO}-$ 、 $-\text{CONH}-$ 、 $-\text{NHCO}-$ ； R_5 は、非存在 または基 $-\text{R}_4(\text{Q})\text{R}_4-$ ； R_6 は、H または NH_2 ； Q は、以下からなる群から選択される：直鎖状または分枝状 C_1-C_6 アルキレン；直鎖

50

状または分枝状 C_3-C_{10} シクロアルキレン；直鎖状または分枝状 C_2-C_6 アルケニレン；直鎖状または分枝状 C_3-C_{10} シクロ-アルケニレン； C_6-C_{14} アリーレン；アリーレン (C_6-C_{14})-アルキレン；(C_1-C_6), アルキレン (C_1-C_6)-アリーレン (C_6-C_{14})；O、N、S からなる群から選択される少なくとも1つのヘテロ原子を含む芳香族または非芳香族 複素環 (C_3-C_{14})；

Yは、非存在 または H または以下の基：c(Arg-Gly-Asp-AA₁-AA₂)、

ここで：

cは、環状を意味する；

AA₁ は、以下からなる群から選択される：(D)-Phe、(D)-Trp、(D)-Tyr、(D)-2-ナフチルAla、(D)-4-terブチル-Phe、(D)-4,4'-ビフェニル-Ala、(D)-4-CF₃-Phe、(D)-4-アセチルアミン-Phe；

AA₂ は、以下からなる群から選択される：NW-CH[(CH₂)_{n7}-CO]-CO、NW-CH[(CH₂)_{n7}-NH]-CO、NW-[4-(CH₂)_{n7}-CO]-Phe、NW-[4-(CH₂)_{n7}-NH]-Phe、[NW]-Gly、NW-Val、ここでWは、H、直鎖状または分枝状 C_1-C_6 アルキル、-(CH₂)_{n7}-COOHから選択され、ここでn₇は0~5の整数、4-カルボキシベンジル、4-アミノメチルベンジル；

ただし、X および Yが共に非存在であることはない]。

【請求項 2】

mが1である、請求項 1の化合物。

【請求項 3】

R₂が飽和または不飽和、直鎖状または分枝状 C_1-C_3 アルキルである、請求項 2の化合物。

【請求項 4】

以下のいずれか1つの反応 スキームによる、請求項1~ 3のいずれかの化合物の調製方法：

7-R-CP + U₁-X₁-Y₁ または

7-R-CP + U₁ + X₁ + Y₁ または

7-R-CP-U₁ + X₁-Y₁ または

7-R-CP-U₁ + X₁ + Y₁ または

7-R-CP-U₁-X₁ + Y₁；

ここで、7-R-CPは7-置換カンプトテシンまたはそのアナログを表し、ここでR は式 (I)における定義と同義であり、U₁、X₁ および Y₁はそれぞれ最終的に適当に官能化および保護される式 (I)において定義した基U、X および Yを表す。

【請求項 5】

少なくとも1つの医薬上許容される賦形剤および/または媒体と混合して、活性成分として請求項1-2のいずれかの少なくとも1つの化合物を含む医薬組成物。

【請求項 6】

医薬の調製のための請求項1-2の化合物の使用。

【請求項 7】

トポイソメラーゼ1 阻害活性を有する医薬の調製のための請求項1-2の化合物の使用。

【請求項 8】

抗癌活性を有する医薬の調製のための請求項7の使用。

【請求項 9】

該医薬が非小細胞および小細胞肺癌、結腸直腸腫瘍、前立腺癌、神経膠芽腫 および神経芽細胞腫、子宮頸癌、卵巣癌、消化器癌、肝臓癌、カポジ肉腫、腎臓癌、肉腫および骨肉腫、精巣癌、乳癌、膵臓癌、黒色腫、膀胱癌および頭頸部癌の治療に有用である請求項8の使用。

【請求項 10】

転移形態の予防または治療に有用な医薬の調製のための請求項1-2の化合物の使用。

【請求項 11】

抗寄生虫活性を有する医薬の調製のための請求項7の使用。

10

20

30

40

50

【請求項 12】

抗ウイルス活性を有する医薬の調製のための請求項7の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、カンプトテシン誘導体に接合したRGD配列を含むシクロペプチドからなる、細胞毒性活性を有する化合物、その調製方法、その医薬としての使用およびそれを含む組成物に関する。

【0002】

特に、本発明に記載する化合物は、インテグリン $\alpha_v\beta_3$ および $\alpha_v\beta_5$ に対する高親和性と、マイクロモル濃度でのヒト細胞株に対する選択的細胞毒性活性との両方を備えている。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

化学療法用抗癌薬は、治療濃度域が非常に制限された薬剤である。実際、それらの細胞毒性活性は非選択的であるため、それらはそれらが接触した体の細胞のすべてに無差別に損傷を与え得る。

【0004】

現在、薬剤の活性を健康な周囲組織の細胞には損傷を与えずに発揮させ、あるいは少なくとも可能な限り損傷を制限する、選択的に腫瘍細胞に向かわせる細胞毒性薬の問題が存在している。

【0005】

文献によると、選択的シクロペプチドの使用により（その参照化合物はシクロペンタペプチド c(Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val)とされている）(JACS 1997、119、1328-35; 国際特許出願 WO 97/06791)、あるいはモノクローナル抗体の使用により(Cell、1994、79、1157-64)、インテグリン $\alpha_v\beta_3$ および $\alpha_v\beta_5$ をブロックすることにより、血管新生が阻害され、腫瘍増殖が低減されることが報告されている。さらに、抗転移作用も観察されている(J. Clin. Invest.、1995、96、1815)。Brooks et al.(Science、1994、264、569-71)は、腫瘍脈管構造の内皮細胞および腫瘍細胞自体が、正常組織の静止状態の細胞と比較してインテグリン $\alpha_v\beta_3$ を優先的に発現することを報告している。臨床開発の発展段階にある化合物のなかで、本発明者らは、c(Arg-Gly-Asp-D-Phe-MeVal)、またはEMD121974またはシレンギチド(cilengitide)に言及する。

【0006】

Ruoslatiおよびその同僚ら(Current Opinion in Oncology、1998、10、560-5)は、腫瘍内皮に結合するRGDアナログは、細胞毒性薬であるドキソルビシンと一度接合すると、ドキソルビシンのみよりもより有効かつ低毒性の化合物を形成することを示した。かかる著者らは、結合が遊離のペプチド自体によりアンタゴナイズされるため、合理的疑いの余地無く、その効果はRGDとの接合に起因することを示した(Arap、Pasqualini and Ruoslati、Science、1998、279、377-380)。後に、同著者らはアポトーシス促進性ペプチド配列のRGDアナログへの化学的結合についての別の実験を行い、その新規化合物が血管新生内皮細胞に対して選択的に毒性であり、マウスにおいて抗癌活性を有することを示した(Ruoslati、Nature Medicine、1999、5、1032-8)。

【0007】

Marcus et al.は国際特許出願 WO 01/17563において、1以上のアミノ酸からなるペプターによって、インテグリン $\alpha_v\beta_3$ および $\alpha_v\beta_5$ の非ペプチド性阻害剤アンタゴニストに接合したカンプトテシンなどの細胞毒性薬についての特異的抗癌活性について記載している。

【0008】

10

20

30

40

50

Aoki et al.は、Cancer Gene Therapy、2001、8、783-787において、RGD 配列に接合したヒスチジル化(histidylated)オリゴリシンの特異的抗癌活性について記載しており、マウスにおける腫瘍に対するホーミング(homing)効果を明らかにした。

【0009】

インテグリンにより媒介される細胞表面での結合の概念は遺伝子輸送に関して提案されている(Hart、et al.、J. Biol. Chem.、1994、269、12468-12474)。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

このたび、任意に好適なスペーサーによって、RGD 配列を含むシクロペプチド誘導体に20位にて接合した7-イミノメチルまたは7-オキシメチルカンプトテシン誘導体が強い選択的な抗癌活性を有しており、腫瘍の治療のための医薬の調製に有利なことに使用できることが見いだされた。

【0011】

腫瘍細胞に対する選択的細胞毒性活性のため、本発明による化合物により、副作用が少ないか、あるいは重篤ではない医薬が提供される。

【課題を解決するための手段】

【0012】

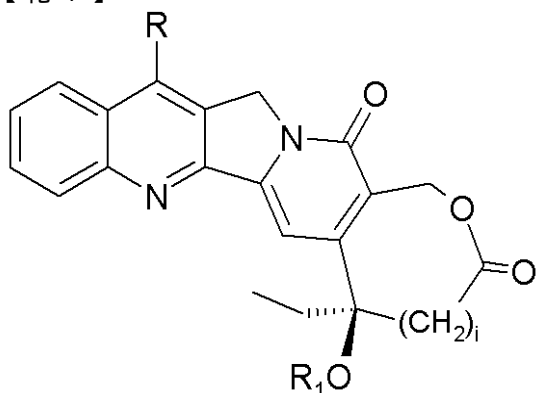
発明の説明

本発明の対象は、RGD配列を含むシクロペプチド誘導体に接合したカンプトテシン誘導体である。その結果得られる分子は、元のカンプトテシンの細胞毒性と、非接合シクロペプチドについて観察されるものと匹敵する親和性を有するインテグリン結合特性の、両方を変化させずに保持している。この組合せの結果は、 v_3 および v_5 型のインテグリンを大量に発現する細胞に細胞毒性薬を集中させやすい(ホーミング(homing))。この細胞毒性薬は酵素または加水分解作用を介して接合形態および/または遊離形態においてその細胞内活性を発揮する。

【0013】

本発明の主な目的は以下の式 Iの化合物、そのN₁-オキシド、ラセミ混合物、その単一エナンチオマー、その単一ジアステレオアイソマー、EおよびZ形態、それらの混合物、医薬上許容される塩である：

【化1】



[式中：

iは、0または1；

Rは、-CH=N-(O)_m-R₂ 基；

R₁は、U-X-Y 基；

ここで、mは、0または1；

R₂は、以下からなる群から選択される：飽和または不飽和、直鎖状または分枝状 C₁-C₇ アルキル、ただし、iが0の場合、R₂ はt-ブチルではない；飽和または不飽和 C₃-C₁₀ シクロアルキル；C₆-C₁₄ アリール、O、N、Sからなる群から選択される少なくとも1つのヘ

10

20

30

40

50

テロ原子を含む芳香族または非芳香族 C_3-C_{14} 複素環基；飽和または不飽和 C_3-C_{10} シクロアルキルで置換された飽和または不飽和、直鎖状または分枝状 C_1-C_7 アルキル； C_6-C_{14} アリール、O、N、Sからなる群から選択される少なくとも1つのヘテロ原子を含む芳香族または非芳香族 C_3-C_{14} 複素環基；式： $(CH_2)_{m_1}-NR_8-(CH_2)_{n_1}-NR_9-(CH_2-CH_2-CH_2-NR_9)_{p_1}-H$ のポリアミノアルキル、ここで、 m_1 および n_1 は同一であっても異なってもよく、2～6の整数であり、 p_1 は、0～3の整数であり、そして R_8 および R_9 は同一であっても異なってもよく、以下からなる群から選択される：H、直鎖状または分枝状 C_1-C_6 アルキル、Boc、Cbz、単糖類、例えば、6-D-ガラクトシルまたは6-D-グルコシル；上記基のそれぞれは、以下からなる群から選択される1以上の基によって置換されていてもよい： $-CN$ 、 $-NO_2$ 、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-COOH$ 、 $-COO-(アルキル)(C_1-C_5)$ 、 $-CONH-(アルキル)(C_1-C_5)$ 、 $-SO_3H$ 、 $-SO_3-(アルキル)(C_1-C_5)$ 、ここで、アルキル基は直鎖状または分枝状；ハロゲン原子；

Uは、非存在または以下の基の1つ： $-COCHR_{10}NH-$ または $CON[(CH_2)_{n_2}NHR_7]-CH_2-$ 、ここで、 R_{10} は、Hまたは、以下からなる群から選択される： C_6-C_{14} アリールにより置換されていてもよい直鎖状または分枝状 C_1-C_4 アルキル、またはアミノ-アルキル C_1-C_4 ； R_7 は、Hまたは直鎖状または分枝状 C_1-C_4 アルキル； n_2 は、2～6の整数；

Xは、非存在またはHまたは以下から選択される基：
 $-COCHR_3NH-$ 、 $-COCHR_6(CH_2)_{n_3}R_4-$ 、 $-R_4-CH_2(OCH_2CH_2)_{n_4}OCH_2R_4-$ 、 $-R_4(Q)R_4-$ 、 $-R_5[Arg-NH(CH_2)_{n_5}CO]_{n_6}R_5-$ 、 $-R_5-[N-グアニジノプロピル-Gly]_{n_6}R_5-$ 、ここで、 n_3 は、0～5の整数、 n_4 は、0～50の整数、 n_5 は、2～6の整数、 n_6 は、2～7の整数；

R_3 は、Hまたは $-COOH$ 、 $-CONH_2$ 、 $-NH_2$ または $-OH$ により置換されていてもよい直鎖状または分枝状 C_1-C_4 アルキル；

R_4 は、以下からなる群から選択される： $-NH-$ 、 $-CO-$ 、 $-CONH-$ 、 $-NHCO-$ ；

R_5 は、非存在または基 $-R_4(Q)R_4-$ ；

R_6 は、Hまたは NH_2 ；

Qは、以下からなる群から選択される：直鎖状または分枝状 C_1-C_6 アルキレン；直鎖状または分枝状 C_3-C_{10} シクロアルキレン；直鎖状または分枝状 C_2-C_6 アルケニレン；直鎖状または分枝状 C_3-C_{10} シクロ-アルケニレン； C_6-C_{14} アリーレン；アリーレン (C_6-C_{14})-アルキレン；(C_1-C_6),アルキレン (C_1-C_6)-アリーレン (C_6-C_{14})；O、N、Sからなる群から選択される少なくとも1つのヘテロ原子を含む芳香族または非芳香族複素環 (C_3-C_{14})；

Yは、非存在またはHまたは以下の基：

$c(Arg-Gly-Asp-AA_1-AA_2)$ 、

ここで：

cは環状を意味する；

AA_1 は、以下からなる群から選択される：(D)-Phe、(D)-Trp、(D)-Tyr、(D)-2-ナフチルAla、(D)-4-terブチル-Phe、(D)-4,4'-ビフェニル-Ala、(D)-4-CF₃-Phe、(D)-4-アセチルアミノ-Phe；

AA_2 は、以下からなる群から選択される： $NW-CH[(CH_2)_{n_7}-CO]-CO$ 、 $NW-CH[(CH_2)_{n_7}-NH]-CO$ 、 $NW-[4-(CH_2)_{n_7}-CO]-Phe$ 、 $NW-[4-(CH_2)_{n_7}-NH]-Phe$ 、 $[NW]-Gly$ 、 $NW-Val$ 、ここで、Wは、H、直鎖状または分枝状 C_1-C_6 アルキル、 $-(CH_2)_{n_7}-COOH$ から選択され、ここで n_7 は0～5の整数、4-カルボキシベンジル、4-アミノメチルベンジル；

ただし、XおよびYが両方非存在であることはない]。

【発明を実施するための最良の形態】

【0014】

式(1)の化合物は、以下に記載され、本発明による好ましい化合物について例示されている方法によって調製することが出来る。この方法は、本発明のさらなる対象を構成する。

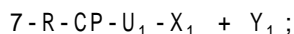
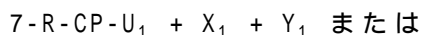
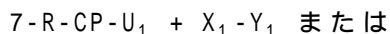
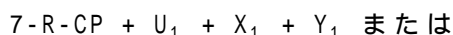
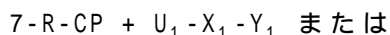
【0015】

基本的には、本発明の目的である式(1)の化合物は、好適な架橋(「 U_1-X_1 」と示す)を介

して官能化されていてもよい7-置換カンプトテシンまたはそのアナログ(「7-R-CP」と示す)とシクロペプチド誘導体(「Y₁」と示す)との縮合によって調製される。

【0016】

縮合反応は、以下の反応スキームのいずれかによって行うことが出来る：



ここで、7-R-CPは7-置換カンプトテシンまたはアナログを表し、ここで、Rは式(1)における定義と同義であり、U₁、X₁およびY₁はそれぞれ式(1)にて定義した基、U、XおよびYを表し、式(1)の接合化合物が得られるように所望により適宜官能化および保護されていてもよい。

10

【0017】

U、XまたはYが非存在である式(1)の化合物もまた、抗増殖薬または細胞毒性薬として活性であり、それゆえ本発明の一部とみなされることに注意しなければならない。

【0018】

かかる反応は常套方法、例えば、Journal of Controlled Release 2003、91、61-73; S.S. Dharap et al.; Journal of Medicinal Chem. 2003、46、190-3、R.Bhattに記載の方法を用いて実施される。

20

【0019】

修飾ラクトン環(i=1)を有するカンプトテシンは本出願人が出願した特許 W02003/101995に記載の方法にしたがって調製することが出来る。

【0020】

シクロペプチドY₁は、実施例4~6に記載のように常套のペプチド合成技術にしたがって調製することが出来る。ペプチド合成は固相または溶液中のいずれにおいても達成できる。

【0021】

所望のシクロペプチドが得られると、それは保護形態において縮合反応に用いられ、保護基は最終化合物が得られた後に除去する。脱保護は、公知方法、例えば、純粋なトリフルオロ酢酸の使用による酸性条件または塩素化有機溶媒の存在下で行われる。

30

【0022】

カンプトテシン誘導体は当業者の周知技術である方法を用いて得られる。

【0023】

本発明に記載される化合物は、トポイソメラーゼI阻害剤であり、それゆえ医薬、特に該トポイソメラーゼの阻害により恩恵を受ける疾患の治療用医薬として有用である。特に、本発明による化合物は抗増殖活性を示し、それゆえその治療特性のために使用され、そして医薬組成物における製剤のために好適なものとする物理化学的特性を有する。

【0024】

医薬組成物は、例えば、有意な治療効果をもたらす量の少なくとも1つの式(1)の化合物を活性成分として含む。本発明による組成物は完全に常套のものであり、医薬業界において慣行である方法を用いて得られる。選択した投与経路に応じて、組成物は経口、非経口または静脈内投与に好適な固体または液体形態であろう。本発明による組成物は、活性成分とともに、少なくとも1つの医薬上許容される媒体または賦形剤を含む。特に有用なものは、製剤補助剤、例えば、可溶化剤、分散剤、懸濁剤または乳化剤であり得る。

40

【0025】

式(1)の化合物は、抗癌薬または抗寄生虫または抗ウイルス活性を有するその他の薬物などのその他の活性成分と組み合わせて、別々の形態および単一用量形態で用いることが出来る。

【0026】

50

本発明による化合物は例えば以下において、抗癌活性を有する医薬として有用である：非小細胞癌(non-microcytoma)および小細胞肺癌、または結腸直腸癌または前立腺癌、神経膠芽腫および神経芽細胞腫、子宮頸癌、卵巣癌、消化器癌、肝臓癌、カポジ肉腫、腎臓癌、肉腫および骨肉腫、精巣癌、乳癌、膵臓癌、黒色腫、膀胱癌および頭頸部癌。本発明による化合物により得られる利益の1つは、分子のカンプトテシン部分に固有の抗トポイソメラーゼ活性と、分子のシクロペプチド部分によって提供されるインテグリン阻害活性の組合せである。その結果、本発明による化合物により可能な組合せ作用は、腫瘍学分野における当業者に有益であると認識される。実際、Arg-Gly-Asp 配列を含むシクロペプチド部分は、分子をインテグリンを発現する腫瘍に向かわせるだけでなく、いったん標的に到達すると、分子の細胞毒性部分のインターナリゼーションからインテグリン阻害活性に及ぶ多様な機能を発揮することが出来、その結果、特に腫瘍血管新生の阻害に関する利益がもたらされる。シクロペプチド部分も、いったんカンプトテシン部分と離れると、腫瘍部位から離れた部位にて作用を発揮することが出来、それゆえ本発明による化合物は、転移形態の予防または治療において有用である。

10

【0027】

本発明の対象である医薬はまた、寄生虫疾患の治療においても有用であり得る。

【0028】

以下の実施例により本発明をさらに説明する。

使用した略語は以下の通りである：

Aad (アミノアジピン酸)；

Amb (アミノメチルベンジル)；

Amp (アミノメチルフェニルアラニン)；

Boc (ter-ブトキシカルボニル)；

CSA (カンファースルホン酸)；

CTH (触媒的移動水素化)；

DCC (ジシクロヘキシルカルボジイミド)；

DCM (ジクロロメタン)；

DIEA (ジイソプロピルエチルアミン)；

DMF (ジメチルホルムアミド)；

Dy(OTf)₃ ジスプロシウムトリフラート；

Fmoc (9-フルオレニルメチルオキシカルボニル)；

HOBt (ヒドロキシベンゾトリアゾール)；

NMP (N-メチル-ピロリドン)；

Pht (フタロイル)；

Pmc (ペンタメチルクロマン-6-スルホニル)；

TBTU(テトラフルオロボラート-0-ベンゾトリアゾール-1-イル-テトラメチルウロニウム)；

TFA (トリフルオロ酢酸)。

20

30

【実施例】

【0029】

実施例 1

c(Arg(Pmc)-Gly-Asp(OTBu)-D-Phe-Amp) (保護された ST2581) の合成

1.587 mmolの Fmoc-Gly-Res (Res = Sasrin 樹脂(登録商標)、Bachem)を30分間撹拌しながら75 mlの DMFに懸濁し、その後 18 mlの ピペリジンを添加しさらに30分間撹拌を続けた。ろ過し、DMFで洗浄した樹脂を、50 mlの NMP (N-メチル-ピロリドン)に15分間懸濁した。その後 Fmoc-Arg(Pmc)-OH、HOBt、TBTU および DIEAを添加した(各3.174 mmol)；2時間の撹拌の後、懸濁液をろ過し、DMFで洗浄した。ピペリジンによる脱保護の後、連続してそれぞれ上記のように行う次のアミノ酸とのカップリングを繰り返した。即ち：Fmoc-Amp(Cbz)-OH、Fmoc-D-Phe-OH、および Fmoc-Asp(OTBu)-OH。Fmoc-N-末端の最後の脱保護の後、直鎖状ペプチドをDCM中の45 mlの 1% TFAを用いて樹脂から遊離させた。これをおよそ 1 lのCH₃CNに溶解し、4.761 mmolの HOBt および TBTU および 10 ml

40

50

の DIEA を添加した ; 溶液を 30 分間撹拌しながら維持し、溶媒を蒸発させて少容量とし、生成物の沈降を水を用いて完了した。ろ過した粗生成物を 27 ml の MeOH および DMF の 1:1 混合物に溶解した ; 5 mmol のアンモニウムホルミエート および 0.55 g の 10% Pd/C を添加し、室温で 30 分間撹拌しながら放置した。懸濁液をセライトでろ過し、乾燥させた。残渣を分取 RP-HPLC (カラム : Alltima (登録商標) C-18、Alltech ; 移動相水中 50% CH₃CN + 0.1% TFA ; 保持時間 (Rt) = 9.13 分間) により精製した。483 mg の白色粉末を得た。

【 0 0 3 0 】

¹H-NMR (DMSO-d₆) 8.3、8.07、8.04、7.90、7.80、7.33、7.15、7.07、4.62、4.50、4.35、4.12、4.01、3.15、3.03、2.96-2.65、2.58、2.48、2.32、2.02、1.75、1.50、1.35、1.23 10

分子量 (Maldi-Tof) : 973

【 0 0 3 1 】

実施例 2

c(Arg(Pmc)-Gly-Asp(OtBu)-D-Phe-Aad) (保護された ST2650) の合成

0.69 mmol の Fmoc-Gly-Res を実施例 1 に記載のようにして処理し、ただしこの場合、第 3 および第 4 アミノ酸をジペプチド Fmoc-D-Phe-Aad(OBzl)-OH の形態で添加した。CTH による脱保護、および粗生成物の分取 RP-HPLC (移動相 : 水中 66% CH₃CN + 0.1% TFA ; Rt = 17.29 分間) による精製の後、187 mg の純粋なペプチドを得た。

【 0 0 3 2 】

¹H-NMR (DMSO-d₆) 7.23、4.58、4.20-3.90、3.28、3.05、2.99、2.85、2.74-2.35、2.15、2.05、1.85-1.25 20

分子量 (Maldi-Tof) : 940

【 0 0 3 3 】

実施例 3

c(Arg(Pmc)-Gly-Asp(OtBu)-D-Phe-N-Me-Amp) (保護された ST2700) の合成

還流している無水トルエン中の Fmoc-Phe(4-Pht-N-CH₂)-COOH の懸濁液に、2 当量の CSA および 20 当量のパラホルムアルデヒドを添加し、15 分の間隔で 4 部に分けた。混合物を放置して冷却し、120 ml のトルエンで希釈し、5% NaHCO₃ および水で洗浄した。溶媒の蒸発後、残渣を 15 ml の CHCl₃ + 15 ml の TFA + 700 μl の Et₃SiH に溶解した ; 混合物を暗所で 42 時間放置して撹拌した。溶媒の蒸発後、残渣をシリカゲルでのろ過により精製した。総収率 : 90% 30

【 0 0 3 4 】

直鎖状ペプチドを実施例 1 に記載のように入相で合成し、上記のように入調製した第 3 アミノ酸としての Fmoc-N-Me-Phe-(4-Pht-N-CH₂)-COOH を挿入した。この場合は樹脂での N-Fmoc-末端の脱保護を DMF 中の溶液中の 30% ジイソプロピルアミン (300 当量) を用いて行った (フタルイミドが存在したため)。閉環後、500 mg のペプチドを 10 ml の熱い無水 EtOH に溶解し、それに、エタノール中の 0.9 ml の NH₂-NH₂ · H₂O 1 M 溶液を添加した。還流しながら 2 時間加熱した後、溶媒を蒸発させ、残渣を 10 ml の DCM + 10 ml の Na₂CO₃ 溶液で激しく撹拌しながら処理した。粗最終生成物を有機相から回収し、蒸発後、分取 RP-HP 40 LC (移動相 : 水中 52% CH₃CN + 0.1% TFA ; Rt = 10 分間) により精製した。

【 0 0 3 5 】

¹H-NMR (CDCl₃) 8.29-7.66、7.38-7.07、4.95-4.77、4.09、3.41、3.05-2.81、2.51、2.05、1.74、1.40、1.26

分子量 (Maldi-Tof) : 987

【 0 0 3 6 】

実施例 4

c[Arg(Pmc)-Gly-Asp(OtBu)-D-Phe-Amp(CO-(CH₂)₂-COOH)] (保護された ST2649) の合成

120 mg のシクロペプチド c[Arg(Pmc)-Gly-Asp(OtBu)-D-Phe-Amp] · TFA (実施例 1 に記載のように入調製) を 3.6 ml の DCM-DMF の 2:1 混合物に、化学量論の TEA および 無水コハク 50

酸とともに溶解した。1 時間後、反応混合物を 30 ml の DCM で希釈し、水で洗浄した。有機相を、乾燥させ濃縮し、100 mg の 純粋な生成物の残渣を得た。

【0037】

分析 RP-HPLC: カラム: Purosphere STAR (登録商標)、Merck; 移動相: 水中 45% CH₃CN + 0.1% TFA; Rt = 13.17 分間

¹H-NMR(DMSO-d₆) 8.20-7.75、7.19-7.02、4.58、4.45、4.36、4.30、4.20、4.05、3.00、2.97-2.57、1.83、1.62、1.32

分子量 (Maldi-Tof): 1073

【0038】

実施例 5

c(Arg(Pmc)-Gly-Asp(OtBu)-D-Phe-N-Amb-Gly) (保護された ST2701) の合成

6 ml の THF 中の 1.22 mmol の Boc-一保護 p-キシリレンジアミンの溶液に、1.83 mmol の TEA を添加し、2 ml の THF 中の 1.22 mmol の ベンジル プロモアセテートの溶液を滴下した。混合物を撈拌しながら一晩放置し、その後、溶媒を蒸発させ、残渣をフラッシュカラム (CHCl₃-EtOAc、9:1) で精製した。0.69 mmol の N-(4-Boc-NH-CH₂-ベンジル)-グリシン ベンジルエステルを得た。

【0039】

250 mg の Fmoc-D-Phe-OH を 27 ml の DCM に溶解し、40 μl の ジホスゲン および 230 μl の sym-コリジンを添加した; 15 分後、190 mg の先に調製したエステルを添加し、3 ml の DCM に溶解した。3 時間後、80 μl の N-Me-ピペラジンを反応混合物に添加し、10 分間撈拌し、その後混合物を 10 ml の DCM で希釈し、抽出を水、HCl 0.5N、水、5% NaHCO₃ および 水により行った。溶媒の蒸発後、残渣をシリカゲルでのフラッシュクロマトグラフィ (DCM-EtOAc、9:1) により精製した。収率: 80%

【0040】

こうして得た 6 ml の MeOH に溶解した 100 mg の生成物に、76 μl の AcOH および 42 mg の HCOONH₄ を添加し、混合物を 0 °C に冷却し、50 mg の 10% Pd/C を添加した。30 分後、反応混合物をセライトでろ過した。ろ液を乾燥させ、フラッシュカラム (CHCl₃-MeOH 9:1) で精製した。収率: 90%

【0041】

こうして得た 190 mg の生成物を 1.2 ml の TFA に溶解し、乾燥させた (Boc の脱保護); 残渣を 9 ml の 10% Na₂CO₃ + 6 ml の ジオキサンに再溶解し、0 °C に冷却し、3 ml の ジオキサンで希釈した 120 μl の ベンジルオキシカルボニルクロリド溶液を滴下した。室温で 1 時間撈拌後、減圧下で蒸発を行い、少容量とし、その後混合物を水で希釈し、pH を HCl により 1 に下げ、抽出を EtOAc により行った。溶媒の蒸発後、残渣をシリカゲルでのろ過により精製し、CHCl₃-MeOH (8:2) で洗浄した。純粋なジペプチド収率: 82%

【0042】

0.69 mmol の Fmoc-Gly-Res を実施例 1 に記載のように処理し、Arg の後、先に調製したジペプチド Fmoc-D-Phe-N(4-Cbz-NH-CH₂-ベンジル)-GI を順に添加した。CTH による Cbz の脱保護の後、粗生成物 c(Arg(Pmc)-Gly-Asp(OtBu)-D-Phe-N-Amp-Gly) を分取 RP-HPLC (移動相: 水中 50% CH₃CN + 0.1% TFA; Rt = 10.5 分間) により精製した。

【0043】

¹H-NMR (DMSO-d₆) 8.29-7.66、7.44-6.90、5.15、4.72-4.18、4.20、4.05-3.32、3.15、3.06、2.70、2.51、2.49、2.01、1.80-1.35、1.49、1.35、1.23

分子量 (Maldi-Tof): 973

【0044】

実施例 6

c(Arg(Pmc)-Gly-Asp(OtBu)-D-Phe-Amp(CO-CH₂-(OCH₂CH₂)_n-O-CH₂-COOH)) の合成

4 ml の 3:1 DCM-DMF 混合物中の 200 mg の c(Arg(Pmc)-Gly-Asp(OtBu)-D-Phe-Amp)・TFA (実施例 1 に記載のように得た) の溶液に、実質的に過剰のグリコールジ酸を添加した。DIEA (3 当量) および DCC (2 当量) を同溶液に添加した。混合物を一晩撈拌しながら放置

10

20

30

40

50

し、その後DCMで希釈し、水で洗浄した。

【0045】

粗生成物を有機相の蒸発により回収し、フラッシュクロマトグラフィー（移動相：CHCl₃-MeOH 7:3 + 1% AcOH）により精製した；生成物を含むフラクションをプールし、水で洗浄し、脱水し、乾燥させ、157 mgの純粋な生成物の残渣を得た。

【0046】

分析 RP-HPLC: (カラム: Purosphere STAR (登録商標)、Merck; 移動相: 水中50% CH₃CN 50% + 0.1% TFA; R_t = 10.96)

¹H-NMR (DMSO-d₆) 8.35-7.92、7.20-7.00、4.65、4.50、3.94、3.60-3.45、3.00-2.60、2.55、2.45、2.30、2.00、1.70、1.50、1.30、1.20

10

分子量 (Maldi-Tof): 様々な分子量の様々な使用したグリコール類に対応

【0047】

カンプトテシン誘導体 式 (I) の化合物の合成

実施例 7

7-R-CP (20-0-Val) の合成

1mmolの 7-R-CP、0.6 mmolの Dy(OTf)₃、3 mmolの ジメチルアミノピリジン および 3 mmolの Boc-Val-OHを15 mlの無水 CH₂Cl₂に懸濁し、-10 にした；30 分後、3.1 mmolの DCCを添加し、さらに-10 で30 分後、反応混合物を室温にした。2 時間後、反応をさらに20 mlの CH₂Cl₂で希釈し、1N HCl、NaHCO₃で洗浄し、Na₂SO₄ で乾燥させた。粗生成物をCH₂Cl₂/MeOH 97:3を用いるSiO₂でのクロマトグラフィーにより精製した。

20

【0048】

中間生成物 [N-Boc] をDCM /TFA (75/25) 中で 0 で脱保護したところ、定量的収率であった。このようにして得た化合物を直接シクロペプチド Y₁に結合させるか、またはさらなる中間体として、第2の残基との結合に用いた（実施例8-9参照）。

【0049】

実施例 7の2

7-[CH=N-O-CH₂CH₂-(N)-モルホリン]-CP (20-0-Val) (ST2896) の合成

上記とまったく同様にして実施例 7 を行い、R が基 -CH=N-OCH₂CH₂-モルホリンであり（即ち、mが0であり R₂がエチレン(N)モルホリンである）、iが0であり、R₁がValである、式 (I)の化合物を得た。中間体 [N-Boc]-保護生成物は以下の実験データを示した：

30

【0050】

¹H-NMR (CDCl₃) 9.09、8.20-8.25、7.81-7.88、7.68-7.75、7.32、5.65-5.74、5.38-5.47、5.41、5.00-5.04、4.57-4.59、4.31-4.38、3.77-3.81、2.89-2.94、2.66-2.71、2.14-2.38、1.54、0.92-1.07

分子量 (ESI⁺): 702.5 (M-1)

【0051】

この中間体をDCM /TFA (75/25) 中0 で脱保護し、定量的収率にてST2896 を得た。

【0052】

¹H-NMR (CDCl₃) 9.09、8.20-8.25、7.81-7.88、7.68-7.75、7.32、5.65-5.74、5.38-5.47、5.41、5.00-5.04、4.57-4.59、4.31-4.38、3.77-3.81、2.89-2.94、2.66-2.71、2.14-2.38、0.92-1.07

40

分子量 (ESI⁺): 604.7 (M+1)

【0053】

実施例 8

7-R-CP (20-0-Val-Asp) の合成

1mmolの実施例 7で得た化合物および 3.7 mmolの DIPEAをこの順番で、DMF中0 の1.2 mmolの好適に保護されたアスパラギン酸、1.8 mmolの HOBT および 1.4 mmolの EDCの溶液に添加した。反応混合物を一晩室温で放置した後、水およびジクロロメタンに分配し、このようにして得た粗生成物をCH₂Cl₂/MeOH 96:4を用いるSiO₂でのクロマトグラフィーにより精製し、生成物を黄色固体として収率66%にて得た。

50

【 0 0 5 4 】

カルボキシ基の脱保護

ベンジルエステルを H_2 / 10% Pd-Cにより 20 psiにて水素化し、 CH_2Cl_2 / MeOH 94:6による精製後、収率は70%であった。

【 0 0 5 5 】

実施例 8の27-[CH=N-O-CH₂CH₂-モルホリン]-CP (20-O-Val-Asp) (ST3240) の合成

実施例 8を上記とまったく同様に行い、Rが基 -CH=N-OCH₂CH₂-モルホリンであり(即ち、mが0でありR₂がエチレン(N)モルホリンである)、iが0でありR₁がVal-Aspである式(1)の化合物を得た。中間体 [N-Boc]-保護生成物は以下の実験データを示した:

10

【 0 0 5 6 】

¹H-NMR (CDCl₃) 9.09、8.18-8.30、7.66-7.83、7.24-7.37、7.19、5.72-5.91、5.63-5.72、5.38-5.46、5.40、4.70-4.72、4.49-4.59、3.75-3.80、3.10-3.21、2.82-2.87、2.58-2.66、2.11-2.39、1.74-1.88、0.92-1.06

分子量 (ESI⁻): 641.6 (M-1)

【 0 0 5 7 】

この中間体をDCM / TFA (75/25) 中0 で脱保護し、ST3240を定量的収率にて得た。

【 0 0 5 8 】

¹H-NMR (CDCl₃) 9.09、8.18-8.30、7.66-7.83、7.24-7.37、7.19、5.72-5.91、5.63-5.72、5.38-5.46、5.40、4.70-4.72、4.49-4.59、3.75-3.80、3.10-3.21、2.82-2.87、2.58-2.66、2.11-2.39、1.74-1.88、0.92-1.06

20

分子量 (ESI⁺): 543.7 (M+1)

【 0 0 5 9 】

実施例 97-R-CP (20-O-Val-COCH₂CH₂COOH) の合成

実施例 7で得た1mmolの 脱保護化合物を10 mlの 無水ピリジンに溶解し、溶液を0 にした後、2.5 mmolの 無水コハク酸を添加した: 混合物を室温で1 時間回復させた(restored)。溶媒を除去し、残渣をCH₂Cl₂で処理し、有機相を0.5N HClで洗浄した。粗生成物をCH₂Cl₂ / MeOH 95:5を用いるSiO₂でのクロマトグラフィーにより精製し、目的生成物を黄色固体として収率90%にて得た。

30

【 0 0 6 0 】

シクロペプチドに接合したカンプトテシン誘導体 - 式 (1)の化合物の合成実施例 1020-O-(7-R-CP)-c(Arg(Pmc)-Gly-Asp(OtBu)-D-Phe-Amp) 接合体の合成

0 に冷却した無水 DMF中の実施例8または9にて得た1.2 mmolの化合物の溶液に、2.1 mmolの HOBt および 1.4 mmolの EDCを添加し、その結果得られた混合物を30 分間撹拌した後、実施例 1にて調製した1 mmolの 保護された ST2581および DIPEAを順に添加した。一晩放置した後、混合物を水およびジクロロメタンに分配し、次いで有機相をNa₂SO₄で乾燥させ、粗生成物をCH₂Cl₂ / MeOH 92:8を用いるSiO₂でのクロマトグラフィーにより精製し、目的生成物を収率55% ~ 65%にて得た。

40

【 0 0 6 1 】

接合生成物の脱保護

最後の脱保護をCH₂Cl₂ / TFA 1:1により2 時間行い、混合物を0 から室温とした; この操作の後、1 ステップイオン交換樹脂により、生成物をヒドロクロリドとして得た。

【 0 0 6 2 】

実施例 10の220-O-[7-(CH=N-O-CH₂CH₂-モルホリン)]-CP)-c(Arg(Pmc)-Gly-Asp(OtBu)-D-Phe-Amp) 接合体 (ST3241) の合成

実施例 10を上記と全く同様に行い、保護された ST2581と実施例 8の2で調製したカンプトテシン誘導体 ST3240の接合により、以下の特性を有するST3241と称する化合物を得

50

た：

【 0 0 6 3 】

分子量 (ESI⁺): 1367.5 (M+1)

【 0 0 6 4 】

実施例 11

生物学的結果

インテグリン $\alpha_v\beta_3$ 受容体への結合

精製した $\alpha_v\beta_3$ 受容体 (Chemicon、カタログ番号CC1020)をバッファー (20 mM Tris、pH 7.4、150 mM NaCl、2 mM CaCl₂、1 mM MgCl₂、1 mM MnCl₂)に希釈して濃度0.5 μg/mlとした。100 μlのアリコットを96-ウェルプレートに添加し、一晚+4 でインキュベートした。プレートを1回バッファー (50 mM Tris、pH 7.4、100 mM NaCl、2 mM CaCl₂、1 mM MgCl₂、1 mM MnCl₂、1% ウシ血清アルブミン)で洗浄し、次いでさらに2 時間室温でインキュベートした。プレートを同じバッファーで2回洗浄し、3 時間 室温で放射性リガンド [¹²⁵I]エキスタチン0.05 nM(Amersham Pharmacia Biotech)とともに競合リガンドの存在下でインキュベートした。インキュベーションの最後に、ウェルを洗浄し、放射能をガンマカウンター (Packard)を用いて測定した。リガンドの非特異的結合は過剰の非放射性エキスタチン(1 μM)の存在下で測定した。

【 0 0 6 5 】

インテグリン $\alpha_v\beta_5$ 受容体への結合

精製した $\alpha_v\beta_5$ 受容体 (Chemicon、カタログ番号CC1020)をバッファー (20 mM Tris、pH 7.4、150 mM NaCl、2 mM CaCl₂、1 mM MgCl₂、1 mM MnCl₂)に希釈して濃度1 μg/mlとした。100 μlのアリコットを96-ウェルプレートに添加し、一晚+4 でインキュベートした。プレートを1回バッファー (50 mM Tris、pH 7.4、100 mM NaCl、2 mM CaCl₂、1 mM MgCl₂、1 mM MnCl₂、1% ウシ血清アルブミン) で洗浄し、次いでさらに2 時間 室温でインキュベートした。プレートを同じバッファーで2回洗浄し、3 時間室温で放射性リガンド [¹²⁵I]エキスタチン0.15 nM (Amersham Pharmacia Biotech) とともに競合リガンドの存在下でインキュベートした。インキュベーションの最後に、ウェルを洗浄し、放射能をガンマカウンター (Packard) を用いて測定した。非特異的リガンド結合は過剰の非放射性エキスタチン(1 μM) の存在下で測定した。

【 0 0 6 6 】

IC₅₀ パラメーターの評価

ビトロネクチン受容体に対する生成物の親和性を、IC₅₀ 値 ±SD、即ち、特異的放射性リガンド-受容体結合の50%を阻害することが出来る濃度として表した。IC₅₀ パラメーターは「ALLFIT」 ソフトウェアを用いて算出した。

【 0 0 6 7 】

結果

調べたすべてのRGD ペプチドは $\alpha_v\beta_3$ および $\alpha_v\beta_5$ インテグリン受容体に対する有意な親和性を示し、そのIC₅₀ 値はナノモルのオーダーであった。特に、エキスタチンの $\alpha_v\beta_3$ インテグリンへの結合の阻害においてもっとも活性が高かったのはST2581 (IC₅₀ = 1.7 nM)であった。

【 0 0 6 8 】

表 1

ビトロネクチン $\alpha_v\beta_3$ および $\alpha_v\beta_5$ 受容体に対するRGD ペプチドの親和性

【表 1】

化合物	$\alpha_v\beta_3$ IC ₅₀ ± SD (nM)	$\alpha_v\beta_5$
ST2581	1.7±0.1	3.4±0.1

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IT2005/000261

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K47/48 A61P35/00 A61P35/04 A61P33/00 A61P31/12		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS, DISSERTATION ABS, PASCAL, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>LERCHEN H -G ET AL: "alphavbeta3-Integrin targeted camptothecin conjugates: Configuration-dependent integrin binding and cleavage by tumor-associated enzymes and its impact on the biological activity." ONKOLOGIE, vol. 26, no. 4, August 2003 (2003-08), page 385, ABSTRACT L11, XP002408620 & SYMPOSIUM ON NOVEL APPROACHES FOR THE DISCOVERY OF ANTICANCER AGENTS; FREIBURG, DE; 18-21 JUNE 2003 ISSN: 0378-584X the whole document</p> <p style="text-align: center;">----- -/-</p>	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 November 2006		Date of mailing of the international search report 13/12/2006
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Dullaart, Anwyn

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

60700240021



page 1 of 8

19.4.2007

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IT2005/000261

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DE 198 15 812 A1 (BAYER AG [DE]) 14 October 1999 (1999-10-14) examples claims	1-7
X	WO 01/17563 A2 (BAYER AG [DE]; LERCHEN HANS GEORG [DE]; BAUMGARTEN JOERG [DE]; BRUEGGE) 15 March 2001 (2001-03-15) cited in the application page 130 - page 132 page 151 - page 152 page 189 - page 195; examples 3.18-3.23 page 201 - page 203	1-10
Y	DHARAP S S ET AL: "Molecular targeting of drug delivery systems to ovarian cancer by BH3 and LHRH peptides" JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, vol. 91, no. 1-2, 28 August 2003 (2003-08-28), pages 61-73, XP004447892 ISSN: 0168-3659 the whole document	1-10
Y	BHATT R ET AL: "Synthesis and in vivo antitumor activity of poly(l-glutamic acid) conjugates of 20(S)-camptothecin" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 46, 2003, pages 190-193, XP002252921 ISSN: 0022-2623 abstract page 191	1-10
Y	SCHIFFELERS R M ET AL: "Anti-tumor efficacy of tumor vasculature-targeted liposomal doxorubicin" JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, vol. 91, no. 1-2, 28 August 2003 (2003-08-28), pages 115-122, XP004447897 ISSN: 0168-3659 abstract page 117; figure 1 page 119, paragraph 3.2 - page 121, left-hand column, line 5	1-10

-/-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IT2005/000261

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SU Z I-F ET AL: "In vitro cell studies of technetium-99m labeled RGD-HYNIC peptide, a comparison of tricine and EDDA as co-ligands" NUCLEAR MEDICINE AND BIOLOGY, vol. 30, no. 2, February 2003 (2003-02), pages 141-149, XP004413115 ISSN: 0969-8051 abstract page 143 - page 145	1-10
Y	BOTURYN D ET AL: "A convenient access to alphaVbeta3/alphaVbeta5 integrin ligand conjugates: regioselective solid-phase functionalisation of an RGD based peptide" TETRAHEDRON LETTERS, vol. 42, no. 15, 9 April 2001 (2001-04-09), pages 2787-2790, XP004232317 ISSN: 0040-4039 abstract page 2788	1-10
Y	NISHIKAWA N ET AL: "Synthesis and Biological Properties of Partially Modified Retro and Retro-inverso Pseudo Peptides of Arg-Gly-Asp (RGD)" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, vol. 6, no. 22, 19 November 1996 (1996-11-19), pages 2725-2728, XP004135884 ISSN: 0960-894X abstract page 2725	1-10
Y	ARAP W ET AL: "CHEMOTHERAPY TARGETED TO TUMOR VASCULATURE" CURRENT OPINION IN ONCOLOGY, vol. 10, 1998, pages 560-565, XP009052240 ISSN: 1040-8746 page 562	1-10
Y	WERMUTH J ET AL: "Stereoisomerism and biological activity of the selective and superactive [alpha](v)[beta]3 integrin inhibitor cyclo(-RGDFV-) and its retro-inverso peptide" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 119, no. 6, 1997, pages 1328-1335, XP002390682 ISSN: 0002-7863 cited in the application the whole document	1-10
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IT2005/000261

C(Continuation), DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	PETRANGOLINI G ET AL: "ANTIANGIOGENIC EFFECTS OF THE NOVEL CAMPTOTHECIN ST1481 (GIMATECAN) IN HUMAN TUMOR XENOGRAFTS" MOLECULAR CANCER RESEARCH, vol. 1, no. 12, October 2003 (2003-10), pages 863-870, XP008059627 ISSN: 1541-7786 abstract page 864 - page 865 -----	1-10
Y	EP 1 044 977 A1 (SIGMA TAU IND FARMACEUTI [IT]; IST NAZ STUD CURA DEI TUMORI [IT] SIGMA) 18 October 2000 (2000-10-18) cited in the application example 2 claim 8 -----	1-10
Y	QUAISSI A ET AL: "Some aspects of protozoan parasite-host cell interactions with special reference to RGD-mediated recognition process." MICROBIAL PATHOGENESIS, vol. 6, no. 1, January 1989 (1989-01), pages 1-5, XP000983539 ISSN: 0882-4010 abstract figure 1 -----	1-7,11
Y	SHAW M K: "Characterization of the parasite-host cell interactions involved in Theileria parva sporozoite invasion of bovine lymphocytes." PARASITOLOGY, vol. 113 (Pt 3), September 1996 (1996-09), pages 267-277, XP008071438 ISSN: 0031-1820 abstract page 270, left-hand column, last paragraph; table 1 -----	1-7,11
Y	QUAISSI M A ET AL: "FLUORESCENCE-ACTIVATED CELL-SORTING ANALYSIS OF FIBRONECTIN PEPTIDES BINDING TO TRYPANOSOMA-CRUZI TRYPOMASTIGOTES" JOURNAL OF PROTOZOOLOGY, vol. 35, no. 1, 1988, pages 111-114, XP008071436 ISSN: 0022-3921 abstract ----- -/--	1-7,11

5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No
 PCT/IT2005/000261

G(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	SOTERIADOU K P ET AL: "The Ser-Arg-Tyr-Asp region of the major surface glycoprotein of Leishmania mimics the Arg-Gly-Asp-Ser cell attachment region of fibronectin" JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 267, no. 20, 1992, pages 13980-13985, XP002407936 ISSN: 0021-9258 abstract figures; table 1	1-7,11
Y	OUAISSI M A ET AL: "TRYPANOSOMA-CRUZI INFECTION INHIBITED BY PEPTIDES MODELED FROM A FIBRONECTIN CELL ATTACHMENT DOMAIN" SCIENCE, vol. 234, no. 4776, 1986, pages 603-607, XP002407937 ISSN: 0036-8075 abstract figures; tables	1-7,11
Y	PROULX MARIE-EVE ET AL: "Treatment of visceral leishmaniasis with sterically stabilized liposomes containing camptothecin" ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, vol. 45, no. 9, September 2001 (2001-09), pages 2623-2627, XP008071335 ISSN: 0066-4804 abstract table 1	1-7,11
Y	ZHANG XUEFENG ET AL: "Kaposi's sarcoma associated virus envelope glycoprotein B induces endothelial cell migration and proliferation by activation of VEGFR-3 through integrin alpha3beta1." [Online] 8 December 2003 (2003-12-08), page ABSTRACT NO. 417, XP002407938 Retrieved from the Internet: URL: http://www.abstracts2view.com/hem/view.php?nu=HEM3L1_2861 the whole document -/--	1-7,12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No
 PCT/IT2005/000261

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	& ZHANG XUEFENG ET AL: "Kaposi's sarcoma associated virus envelope glycoprotein B induces endothelial cell migration and proliferation by activation of VEGFR-3 through integrin alpha3beta1." BLOOD, vol. 102, no. 11, 16 November 2003 (2003-11-16), pages 122a-123a, & 45TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY; SAN DIEGO, CA, USA; DECEMBER 06-09, 2003 ISSN: 0006-4971 -----	
Y	ZHANG XUEFENG ET AL: "The VEGFR-3 receptor participates in Kaposi's Sarcoma associated virus (KSHV)/human herpes virus 8 (HHV-8) infection of endothelial cells." [Online] 6 December 2003 (2003-12-06), page ABSTRACT NO. 993, XP002407939 Retrieved from the Internet: URL: http://www.abstracts2view.com/hem/view.php?nu=HEM3L1_2600 the whole document & ZHANG XUEFENG ET AL: "The VEGFR-3 receptor participates in Kaposi's Sarcoma associated virus (KSHV)/human herpes virus 8 (HHV-8) infection of endothelial cells." BLOOD, vol. 102, no. 11, 16 November 2003 (2003-11-16), page 279a, & 45TH ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY; SAN DIEGO, CA, USA; DECEMBER 06-09, 2003 ISSN: 0006-4971 -----	1-7,12
Y	NELSEN-SALZ B ET AL: "Integrin [alpha](v)[beta]3 (vitronectin receptor) is a candidate receptor for the virulent echovirus 9 strain Barty" JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY, vol. 80, no. 9, 1999, pages 2311-2313, XP002407940 ISSN: 0022-1317 abstract page 2311, right-hand column - page 2312, right-hand column ----- -/--	1-7,12

7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IT2005/000261

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	LEIPPERT M ET AL: "Point mutations within the [beta]G-[beta]H loop of foot-and-mouth disease virus 01K affect virus attachment to target cells" JOURNAL OF VIROLOGY, vol. 71, no. 2, 1997, pages 1046-1051, XP002407943 ISSN: 0022-538X abstract	1-7,12
Y	BRATA DAS B ET AL: "Reconstitution and functional characterization of the unusual bi-subunit type I DNA topoisomerase from Leishmania donovani" FEBS LETTERS, vol. 565, no. 1-3, 7 May 2004 (2004-05-07), pages 81-88, XP004507683 ISSN: 0014-5793 abstract figures	1-7,11
Y	TAKIMOTO C H ET AL: "Clinical applications of the camptothecins" BIOCHIMICA ET BIOPHYSICA ACTA . GENE STRUCTURE AND EXPRESSION, vol. 1400, no. 1-3, 1 October 1998 (1998-10-01), pages 107-119, XP004275390 ISSN: 0167-4781 abstract page 108, right-hand column, last paragraph - page 109, left-hand column, line 9	1-7,12
Y	PRIEL E ET AL: "Inhibition of retrovirus-induced disease in mice by camptothecin" JOURNAL OF VIROLOGY, vol. 67, no. 6, June 1993 (1993-06), pages 3624-3629, XP002408102 ISSN: 0022-538X abstract tables figures page 3627, right-hand column - page 3628, left-hand column	1-7,12

-/--

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IT2005/000261

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>PRIEL E ET AL: "The topoisomerase I inhibitor, camptothecin, inhibits equine infectious anemia virus replication in chronically infected CF2Th cells" JOURNAL OF VIROLOGY, vol. 65, no. 8, 1991, pages 4137-4141, XP002408103 ISSN: 0022-538X abstract page 4138, right-hand column, paragraph RESULTS - page 4139, left-hand column page 4140, left-hand column -----</p>	1-7,12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IT2005/000261**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/IT2005/000261

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-7 in part, and 8-10

Conjugate as defined in claims 1-3, its preparation,
pharmaceutical compositions containing it, and their use for
the preparation of a medicament with anticancer activity.

2. claims: 1-7 in part, and 11

Use of a conjugate as defined in claims 1-3 for the
preparation of a medicament with antiparasite activity.

3. claims: 1-7 in part, and 12

Use of a conjugate as defined in claims 1-3 for the
preparation of a medicament with antiviral activity.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IT2005/000261

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 19815812	A1	14-10-1999	NONE
WO 0117563	A2	15-03-2001	AU 773781 B2 03-06-2004
		AU 7648700 A 10-04-2001	
		BR 0013883 A 07-05-2002	
		CA 2383981 A1 15-03-2001	
		CN 1402643 A 12-03-2003	
		EP 1235595 A2 04-09-2002	
		HU 0203899 A2 28-02-2003	
		JP 2003508497 T 04-03-2003	
		MX PA02002488 A 12-08-2002	
		NZ 517620 A 27-02-2004	
		PL 354268 A1 29-12-2003	
		US 2006189544 A1 24-08-2006	
EP 1044977	A1	18-10-2000	AT 216998 T 15-05-2002
		AU 774174 B2 17-06-2004	
		AU 3160400 A 28-09-2000	
		BG 105810 A 28-06-2002	
		BR 0008840 A 08-01-2002	
		CA 2362760 A1 14-09-2000	
		CN 1343209 A 03-04-2002	
		CZ 20013077 A3 16-01-2002	
		DE 69901379 D1 06-06-2002	
		DE 69901379 T2 07-11-2002	
		DK 1044977 T3 08-07-2002	
		EA 3605 B1 26-06-2003	
		EE 200100466 A 16-12-2002	
		WO 0053607 A1 14-09-2000	
		ES 2175919 T3 16-11-2002	
		HK 1031222 A1 09-05-2003	
		HR 20010667 A2 31-08-2002	
		HU 0200210 A2 29-05-2002	
		IS 6031 A 31-07-2001	
		JP 2002539128 T 19-11-2002	
		MX PA01009081 A 30-08-2002	
		NO 20014128 A 24-08-2001	
		NZ 513393 A 29-04-2003	
		PL 355094 A1 22-03-2004	
		PT 1044977 T 30-09-2002	
		SI 1044977 T1 31-08-2002	
		SK 11642001 A3 07-01-2002	
		TR 200102603 T2 21-01-2002	
		US 6242457 B1 05-06-2001	
		ZA 200107408 A 12-03-2002	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P 35/04	
A 6 1 P 33/00 (2006.01)	A 6 1 P 33/00	
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
C 0 7 K 5/12 (2006.01)	C 0 7 K 5/12	
C 1 2 N 9/99 (2006.01)	C 1 2 N 9/99	

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

(71)出願人 591030835

イスティトゥト ナツィオナーレ ペル ロ ストゥディオ エ ラ クラ デイ トゥモリ
ISTITUTO NAZIONALE PER LO STUDIO E LA CURA D
EI TUMORI
イタリア共和国, ミラノ, ヴィア ヴェネジアン 1 番地

(74)代理人 100081422

弁理士 田中 光雄

(74)代理人 100084146

弁理士 山崎 宏

(74)代理人 100106518

弁理士 松谷 道子

(74)代理人 100127638

弁理士 志賀 美苗

(72)発明者 アルマ・ダル・ボッツォ

イタリア、イ - 2 0 1 3 3 ミラノ、ヴィア・ジ・コロンボ 8 1 番、イスティトゥト・ディ・リチェ
ルケ・キミケ・エ・ピオキミケ・“ジ・ロンツォーニ”内

(72)発明者 セルジョ・ペンコ

イタリア、イ - 2 0 1 5 3 ミラノ、ヴィア・ミリー・カルラ・ミニョーネ 5 番

(72)発明者 ルーチョ・メルリーニ

イタリア、イ - 2 0 1 2 2 ミラノ、ヴィア・クリヴェッリ 1 4 番

(72)発明者 ジュゼッペ・ジャンニーニ

イタリア、イ - 0 0 0 4 0 ボメツィア、ヴィア・ポンティーナ、キロメトロ 3 0 , 4 0 0、シグマ
- タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内

(72)発明者 マリア・オルネッラ・ティンティ

イタリア、イ - 0 0 0 4 0 ボメツィア、ヴィア・ポンティーナ、キロメトロ 3 0 , 4 0 0、シグマ
- タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内

(72)発明者 クラウディオ・ピサーノ

イタリア、イ - 0 0 0 4 0 ローマ、ボメツィア、ヴィア・ポンティーナ、キロメトロ 3 0 , 4 0 0
、シグマ - タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ
内

(72)発明者 フランコ・ツニーノ

イタリア、イ - 2 0 1 3 3 ミラノ、ヴィア・ヴェネツィアン 1 番、イスティトゥト・ナツィオナー
レ・ペル・ロ・ストゥディオ・エ・ラ・クラ・デイ・トゥモリ内

(72)発明者 ドメニコ・アッロアッティ
イタリア、イ - 0 0 0 4 0 ボメツィア、ヴィア・ポンティーナ、キロメトロ 3 0 , 4 0 0、シグマ
- タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内

(72)発明者 ロレダナ・ヴェシ
イタリア、イ - 0 0 0 4 0 ボメツィア、ヴィア・ポンティーナ、キロメトロ 3 0 , 4 0 0、シグマ
- タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内

(72)発明者 サブリナ・ダッラヴァッレ
イタリア、イ - 2 0 0 5 9 ヴィメルカーテ、ヴィア・モンテ・ネロ 9 番

(72)発明者 ミン・ホン・ニ
イタリア、イ - 2 0 1 3 3 ミラノ、ヴィア・ジ・コロンボ 8 1 番、イステイトウト・ディ・リチェ
ルケ・キミケ・エ・ピオキミケ・“ ジ・ロンツォーニ ” 内

F ターム(参考) 4C050 AA01 AA07 BB04 CC07 DD02 EE02 FF02 GG03
4C084 AA02 AA07 BA01 BA09 BA14 BA16 BA32 MA01 NA14 ZB262
ZB332 ZB372 ZC202
4C086 AA01 AA02 AA03 CB22 MA01 MA04 NA14 ZB26 ZB33 ZB37
ZC20
4H045 AA10 AA30 BA12 BA13 BA51 DA55 EA28 FA58 GA25