

(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2017-533887

(P2017-533887A)

(43) 公表日 平成29年11月16日 (2017. 11. 16)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07D 519/00 (2006.01)	C O 7 D 519/00 3 1 1	4 C O 7 2
C07K 16/18 (2006.01)	C O 7 D 519/00 C S P	4 C O 7 6
C07K 14/705 (2006.01)	C O 7 K 16/18 Z N A	4 C O 8 4
A61K 31/5517 (2006.01)	C O 7 K 14/705	4 C O 8 5
A61K 47/68 (2017.01)	A 6 1 K 31/5517	4 C O 8 6
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 107 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2017-514845 (P2017-514845)
 (86) (22) 出願日 平成27年9月17日 (2015. 9. 17)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年3月16日 (2017. 3. 16)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2015/050634
 (87) 国際公開番号 W02016/044560
 (87) 国際公開日 平成28年3月24日 (2016. 3. 24)
 (31) 優先権主張番号 62/051, 387
 (32) 優先日 平成26年9月17日 (2014. 9. 17)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 509012625
 ジェネンテック, インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サウス
 サンフランシスコ ディーエヌエー
 ウェイ 1
 (74) 代理人 110000523
 アクシス国際特許業務法人
 (72) 発明者 ジョン・エイ・フライゲア
 アメリカ合衆国 94080-4990 カリ
 フォルニア州 サウス・サン・フランシスコ
 ・ディーエヌエー・ウェイ 1、シー/オー
 ・ジェネンテック・インコーポレイテッド

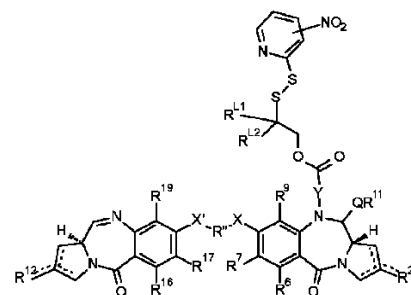
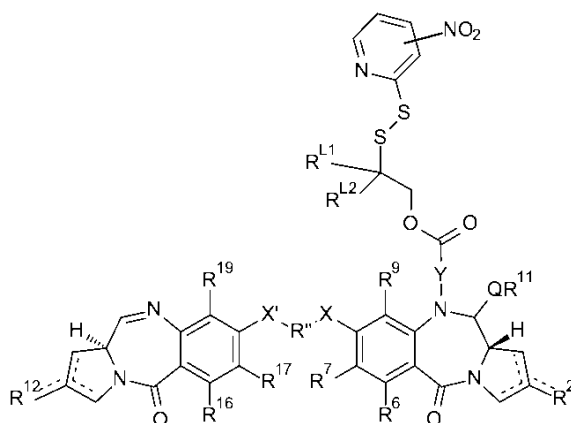
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ピロロベンゾジアゼピン類及びその抗体ジスルフィドコンジュゲート

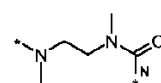
(57) 【要約】

式 (I) :

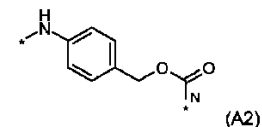
(I)



(I)



(A1)



(A2)

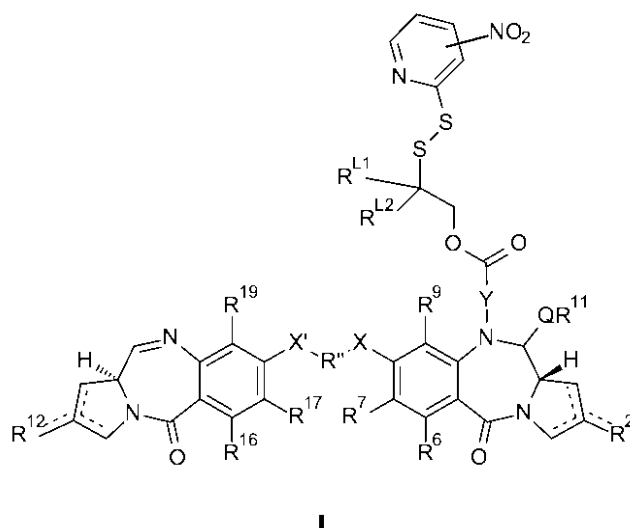
の化合物であって、

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I :

【化 1】



10

の化合物であって、

20

式中、点線は、C 1 及び C 2 または C 2 及び C 3 の間の二重結合の任意での存在を示し；
 R^2 は、H、OH、=O、=CH₂、CN、R、OR、=CH-R^D、=C(R^D)₂、O-SO₂-R、CO₂R 及び COR から独立して選択され、任意でハロまたはジハロからさらに選択され；

ここで R^D は、R、CO₂R、COR、CHO、CO₂H、及びハロから独立して選択され；

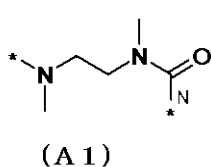
R^6 及び R^9 は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、NO₂、Me₃Sn 及びハロから独立して選択され；

R^7 は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、NO₂、Me₃Sn 及びハロから独立して選択され；

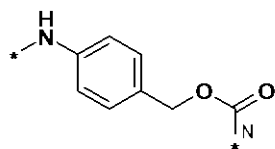
30

Y は、単結合、及び式 A 1 または A 2 の基：

【化 2】



(A 1)



(A 2)

から選択され、

40

ここで、N は、前記基が前記 PBD 部分の N 10 に結合する場所を示し；

R^{L1} 及び R^{L2} は、H 及びメチルから独立して選択されるか、またはそれらが結合する炭素原子と共にシクロプロピレン基を形成し；

Q は、O、S 及び NH から独立して選択され；

R^{11} は、H もしくは R のいずれか、または、Q が O の場合、SO₃M であり、ここで M は金属カチオンであり；

R 及び R' はそれぞれ、任意に置換された C₁₋₁₂ アルキル、C₃₋₂₀ ヘテロシクリル及び C₅₋₂₀ アリール基から独立して選択され、任意に基 NRR' に関し、R 及び R' はそれらが結合している窒素原子と共に、任意に置換された 4、5、6 または 7 員複素環を形成し；

式中、 R^{12} 、 R^{16} 、 R^{19} 及び R^{17} は、それぞれ R^2 、 R^6 、 R^9 及び R^7 で定義した通りであ

50

り；

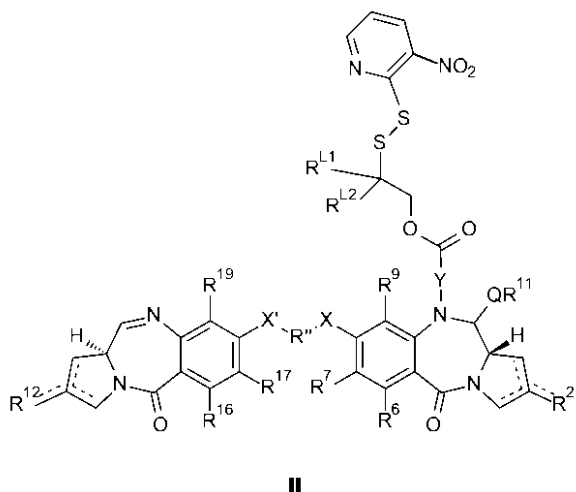
式中、R^{''}は、C₃₋₁₂アルキレン基であり、その鎖は、1つもしくは複数のヘテロ原子、例えば、O、S、N(H)、NMe及び／またはその環が任意に置換されている芳香族環、例えば、ベンゼンまたはピリジンによって割り込まれてよく；

X及びX'は、O、S及びN(H)から独立して選択される、前記化合物。

【請求項2】

式I I：

【化3】



10

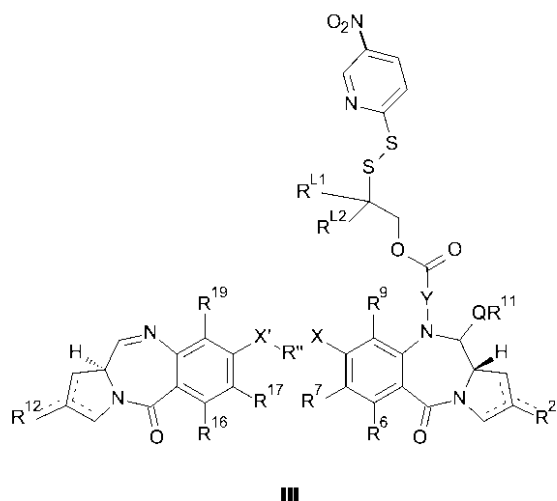
20

のものである、請求項1に記載の化合物。

【請求項3】

式I I I：

【化4】



30

40

のものである、請求項1に記載の化合物。

【請求項4】

R^{L1}及びR^{L2}が、両方ともHである、請求項1～3のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項5】

R^{L1}及びR^{L2}が、両方ともメチルである、請求項1～3のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項6】

R^{L1}及びR^{L2}の一方がHであり、他方がメチルである、請求項1～3のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項7】

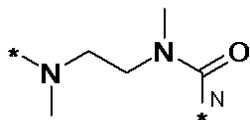
50

Yが、単結合である、請求項1～6のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項8】

Yが：

【化5】

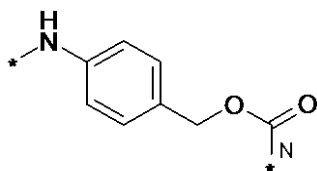


(A1)である、請求項1～6のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項9】

Yが：

【化6】



(A2)である、請求項1～6のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項10】

R⁹及びR¹⁹が、Hである、請求項1～9のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項11】

R⁶及びR¹⁶が、Hである、請求項1～10のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項12】

R⁷がR¹⁷が、両方ともOR^{7A}であり、ここでR^{7A}は、任意に置換されたC₁₋₄アルキルである、請求項1～11のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項13】

R^{7A}が、Meである、請求項12に記載の化合物。

【請求項14】

Xが、Oである、請求項1～13のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項15】

R¹¹が、Hである、請求項1～14のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項16】

各モノマー単位でC2及びC3の間に二重結合がある、請求項1～15のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項17】

R²及びR¹²が、H及びRから独立して選択される、請求項16に記載の化合物。

【請求項18】

R²及びR¹²が、独立してRである、請求項17に記載の化合物。

【請求項19】

R²及びR¹²が、独立して任意に置換されたC₅₋₂₀アリールである、請求項18に記載の化合物。

【請求項20】

R²及びR¹²が、=O、=CH₂、=CH-R^D、及び=C(R^D)₂から独立して選択される、請求項1～15のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項21】

R²及びR¹²が、=CH₂である、請求項20に記載の化合物。

【請求項22】

R^{''}が、C₃アルキレン基またはC₅アルキレン基である、請求項1～21のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項23】

10

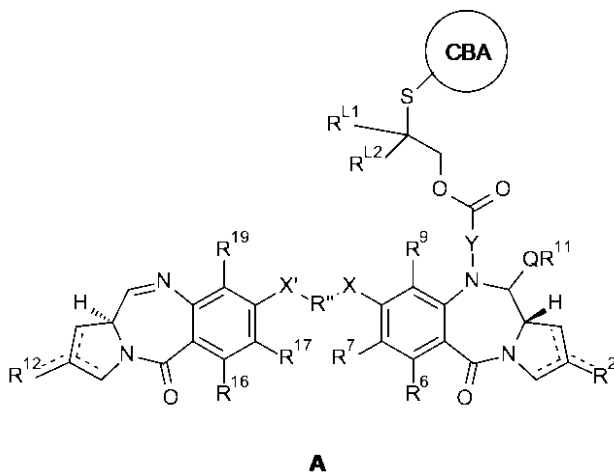
20

30

40

50

式 A :
【化 7】



10

のコンジュゲートを作製する方法であって、

式中、点線は、C 1 及び C 2 または C 2 及び C 3 の間の二重結合の任意での存在を示し；

C B A は、細胞結合剤を表し；

請求項 1 ～ 2 2 のいずれか一項に記載の化合物を細胞結合剤と反応させることにより前記
コンジュゲートを作製し、

20

前記基 Y、R^{L1}、R^{L2}、R²、R⁶、R⁷、R⁹、Q、R¹¹、X、X'、R''、R¹²、R¹⁶、
R¹⁹は、請求項 1 ～ 2 2 のいずれか一項に定義した通りである、前記方法。

【請求項 2 4】

前記細胞結合剤が、抗体またはその活性断片である、請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記抗体または抗体断片が、腫瘍関連抗原に対する抗体または抗体断片である、請求項
2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記抗体または抗体断片が、(1) - (53)：

30

(1) B M P R 1 B (骨成形タンパク質受容体 I B 型)；

(2) E 1 6 (L A T 1、S L C 7 A 5)；

(3) S T E A P 1 (前立腺の 6 回膜貫通上皮抗原)；

(4) O 7 7 2 P (C A 1 2 5、M U C 1 6)；

(5) M P F (M P F、M S L N、S M R、巨核球増強因子、メソテリン)；

(6) N a p i 3 b (N A P I - 3 B、N P T I I b、S L C 3 4 A 2、溶質担体ファミ
リー 3 4 (リン酸ナトリウム)、メンバー 2、I I 型ナトリウム依存性リン酸トランスポ
ーター 3 b)；

(7) S e m a 5 b (F L J 1 0 3 7 2、K I A A 1 4 4 5、M m. 4 2 0 1 5、S E
M A 5 B、S E M A G、セマフォリン 5 b H l o g、セマドメイン、7 トロンボスポン
ジンリピート (1 型及び 1 型様)、膜貫通ドメイン (T M) 及び短細胞質ドメイン、(セ
マフォリン) 5 B)；

40

(8) P S C A h l g (2 7 0 0 0 5 0 C 1 2 R i k、C 5 3 0 0 0 8 O 1 6 R i k、
R I K E N c D N A 2 7 0 0 0 5 0 C 1 2、R I K E N c D N A 2 7 0 0 0 5 0
C 1 2 遺伝子)；

(9) E T B R (エンドセリン B 型受容体)；

(10) M S G 7 8 3 (R N F 1 2 4、仮想タンパク質 F L J 2 0 3 1 5)；

(11) S T E A P 2 (H G N C _ 8 6 3 9、I P C A - 1、P C A N A P 1、S T A M
P 1、S T E A P 2、S T M P、前立腺癌関連遺伝子 1、前立腺癌関連タンパク質 1、前
立腺の 6 回膜貫通上皮抗原 2、6 回膜貫通前立腺タンパク質)；

(12) T r p M 4 (B R 2 2 4 5 0、F L J 2 0 0 4 1、T R P M 4、T R P M 4 B、

50

一過性受容器電位カチオンチャネル、サブファミリーM、メンバー4)；

(13) CRIPTO (CR、CR1、CRGF、CRIPTO、TDGF1、奇形癌腫由来成長因子)；

(14) CD21 (CR2 (補体受容体2) またはC3DR (C3d/エプスタインバーウイルス受容体) またはHs 73792)；

(15) CD79b (CD79B、CD79β、IGb (免疫グロブリン関連ベータ)、B29)；

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

(17) HER2；

(18) NCA；

(19) MDP；

(20) IL20Rα；

(21) プレビカン；

(22) EphB2R；

(23) ASLG659；

(24) PSCA；

(25) GEDA；

(26) BAFR (B細胞活性化因子受容体、BlyS受容体3、BR3)；

(27) CD22 (B細胞受容体CD22-Bアイソフォーム)；

(28) CD79a (CD79A、CD79α、免疫グロブリン関連アルファ)；

(29) CXCR5 (パーキットリンパ腫受容体1)；

(30) HLA-DOB (MHCクラスII分子 (Ia抗原) のベータサブユニット)；

(31) P2X5 (プリン作動性受容体P2Xリガンド開口型イオンチャネル5)；

(32) CD72 (B細胞分化抗原CD72、Lyb-2)；

(33) LY64 (リンパ球抗原64 (RP105)、ロイシンリッチリピート (LRR) ファミリーのI型膜タンパク質)；

(34) FcRH1 (Fc受容体様タンパク質1)；

(35) IRTA2 (免疫グロブリンスーパーファミリー受容体転座関連2)；及び

(36) TENB2 (推定膜貫通プロテオグリカン)

(37) PMEL17 (シルバーホモログ；SILV；D12S53E；PMEL17；SI；SIL)；

(38) TMEFF1 (EGF様及び2つのフォリスタチン様ドメインを有する膜貫通タンパク質1；トモレグリン-1)；

(39) GDNFRα1 (GDNFファミリー受容体アルファ1；GFRA1；GDNFR；GDNFRA；RETL1；TRNR1；RET1L；GDNFR-アルファ1；GFR-アルファ-1)；

(40) Ly6E (リンパ球抗原6複合体、遺伝子座E；Ly67、RIG-E、SCA-2、TSA-1)；

(41) TMEM46 (shisaホモログ2 (アフリカツメガエル)；SHISA2)；

(42) Ly6G6D (リンパ球抗原6複合体、遺伝子座G6D；Ly6-D、MEGT1)；

(43) LGR5 (ロイシンリッチリピート含有Gタンパク質共役型受容体5；GPR49、GPR67)；

(44) RET (ret原癌遺伝子；MEN2A；HSCR1；MEN2B；MTC1；PTC；CDHF12；Hs. 168114；RET51；RET-ELE1)；

(45) LY6K (リンパ球抗原6複合体、遺伝子座K；LY6K；HSJ001348；FLJ35226)；

(46) GPR19 (Gタンパク質共役型受容体19；Mm. 4787)；

10

20

30

40

50

- (47) G P R 5 4 (K I S S 1 受容体 ; K I S S 1 R ; G P R 5 4 ; H O T 7 T 1 7 5 ; A X O R 1 2) ;
- (48) A S P H D 1 (アスパラギン酸ベーターヒドロキシラーゼドメイン含有 1 ; L O C 2 5 3 9 8 2) ;
- (49) チロシナーゼ (T Y R ; O C A I A ; O C A 1 A ; チロシナーゼ ; S H E P 3) ;
- (50) T M E M 1 1 8 (r i n g フィンガータンパク質、膜貫通 2 ; R N F T 2 ; F L J 1 4 6 2 7) ;
- (51) G P R 1 7 2 A (G タンパク質共役型受容体 1 7 2 A ; G P C R 4 1 ; F L J 1 1 8 5 6 ; D 1 5 E r t d 7 4 7 e) ;
- (52) C D 3 3 ; 及び
- (53) C L L - 1

10

から選択される 1 つまたは複数の腫瘍関連抗原または細胞表面受容体に結合する抗体である、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記抗体または抗体断片が、システイン操作抗体である、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 8】

A b が、抗 H E R 2 4 D 5、抗 C D 2 2、抗 C D 3 3、抗 N a p i 3 b、抗 H E R 2 7 C 2、または抗 C L L - 1 抗体である、請求項 2 4 または請求項 2 7 のいずれかに記載の方法。

20

【請求項 2 9】

抗体 (A b) に対する薬物 (D) の薬物負荷 (p) が、1 ~ 約 8 の整数である、請求項 2 4 に記載の方法。

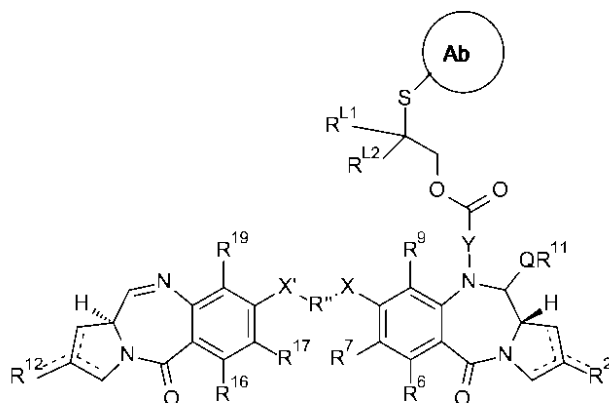
【請求項 3 0】

p が、1、2、3、または 4 である、請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

式 A 1 :

【化 8】



30

A1

40

のコンジュゲートであって、

式中、点線は、C 1 及び C 2 または C 2 及び C 3 の間の二重結合の任意での存在を示し；
A b は、

- (a) L C K 1 4 9 C システイン操作抗体変異体 (T H I O M A B (商標)) ;
- (b) H C A 1 4 0 C システイン操作抗体変異体 (T H I O M A B (商標)) ;
- (c) L C V 2 0 5 C システイン操作抗体変異体 (T H I O M A B (商標)) ; 及び
- (d) H C S 2 3 9 C システイン操作抗体変異体 (T H I O M A B (商標)) からなる群より選択されるシステイン操作抗体変異体 (T H I O M A B (商標)) を表し；
- ここで、前記基 Y、R^{L1}、R^{L2}、R²、R⁶、R⁷、R⁹、Q、R¹¹、X、X'、R''、R¹²

50

、 R^{16} 、 R^{19} は、請求項1～22のいずれか一項に定義した通りである、前記コンジュゲート。

【請求項32】

前記抗体変異体が、腫瘍関連抗原に対する抗体である、請求項31に記載のコンジュゲート。

【請求項33】

前記抗体変異体が、(1)－(53)：

- (1) BMPR1B (骨成形タンパク質受容体IB型)；
- (2) E16 (LAT1、SLC7A5)；
- (3) STEAP1 (前立腺の6回膜貫通上皮抗原)； 10
- (4) O772P (CA125、MUC16)；
- (5) MPF (MPF、MSLN、SMR、巨核球増強因子、メソテリン)；
- (6) Nap13b (NAPI-3B、NPT11b、SLC34A2、溶質担体ファミリー34 (リン酸ナトリウム)、メンバー2、II型ナトリウム依存性リン酸トランスポーター3b)；
- (7) Sema5b (FLJ10372、KIAA1445、Mm. 42015、SEMA5B、SEMA6、セマフォリン5b Hlog、セマドメイン、7トロンボスポンジンリピート (1型及び1型様)、膜貫通ドメイン (TM) 及び短細胞質ドメイン、(セマフォリン) 5B)；
- (8) PSCA hlg (2700050C12Rik、C530008O16Rik、RIKEN cDNA 2700050C12、RIKEN cDNA 2700050C12遺伝子)； 20
- (9) ETBR (エンドセリンB型受容体)；
- (10) MSG783 (RNF124、仮想タンパク質FLJ20315)；
- (11) STEAP2 (HGNC_8639、IPCA-1、PCANAP1、STAMP1、STEAP2、STMP、前立腺癌関連遺伝子1、前立腺癌関連タンパク質1、前立腺の6回膜貫通上皮抗原2、6回膜貫通前立腺タンパク質)；
- (12) TrpM4 (BR22450、FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、一過性受容器電位カチオンチャネル、サブファミリーM、メンバー4)；
- (13) CRIPTO (CR、CR1、CRGF、CRIPTO、TDGF1、奇形癌腫由来成長因子)； 30
- (14) CD21 (CR2 (補体受容体2) またはC3DR (C3d/エプスタインバーウイルス受容体) またはHs 73792)；
- (15) CD79b (CD79B、CD79β、IGb (免疫グロブリン関連ベータ)、B29)；
- (16) FcRH2 (IFGP4、IRTA4、SPAP1A (SH2ドメイン含有ホスファターゼアンカータンパク質1a)、SPAP1B、SPAP1C)；
- (17) HER2；
- (18) NCA；
- (19) MDP； 40
- (20) IL20Rα；
- (21) プレビカン；
- (22) EphB2R；
- (23) ASLG659；
- (24) PSCA；
- (25) GEDA；
- (26) BAFR (B細胞活性化因子受容体、BlyS受容体3、BR3)；
- (27) CD22 (B細胞受容体CD22-Bアイソフォーム)；
- (28) CD79a (CD79A、CD79α、免疫グロブリン関連アルファ)；
- (29) CXCR5 (パーキットリンパ腫受容体1)； 50

- (30) H L A - D O B (M H C クラス I I 分子 (I a 抗原) のベータサブユニット) ;
 (31) P 2 X 5 (プリン作動性受容体 P 2 X リガンド開閉型イオンチャネル 5) ;
 (32) C D 7 2 (B 細胞分化抗原 C D 7 2、L y b - 2) ;
 (33) L Y 6 4 (リンパ球抗原 6 4 (R P 1 0 5)、ロイシンリッチリピート (L R R) ファミリーの I 型膜タンパク質) ;
 (34) F c R H 1 (F c 受容体様タンパク質 1) ;
 (35) I R T A 2 (免疫グロブリンスーパーファミリー受容体転座関連 2) ; 及び
 (36) T E N B 2 (推定膜貫通プロテオグリカン)
 (37) P M E L 1 7 (シルバーホモログ; S I L V ; D 1 2 S 5 3 E ; P M E L 1 7 ; S I ; S I L) ;
 (38) T M E F F 1 (E G F 様及び 2 つのフォリスタチン様ドメインを有する膜貫通タンパク質 1 ; トモレグリン - 1) ;
 (39) G D N F - R a 1 (G D N F ファミリー受容体アルファ 1 ; G F R A 1 ; G D N F R ; G D N F R A ; R E T L 1 ; T R N R 1 ; R E T 1 L ; G D N F R - アルファ 1 ; G F R - アルファ - 1) ;
 (40) L y 6 E (リンパ球抗原 6 複合体、遺伝子座 E ; L y 6 7、R I G - E、S C A - 2、T S A - 1) ;
 (41) T M E M 4 6 (s h i s a ホモログ 2 (アフリカツメガエル) ; S H I S A 2) ;
 (42) L y 6 G 6 D (リンパ球抗原 6 複合体、遺伝子座 G 6 D ; L y 6 - D、M E G T 1) ;
 (43) L G R 5 (ロイシンリッチリピート含有 G タンパク質共役型受容体 5 ; G P R 4 9、G P R 6 7) ;
 (44) R E T (r e t 原癌遺伝子; M E N 2 A ; H S C R 1 ; M E N 2 B ; M T C 1 ; P T C ; C D H F 1 2 ; H s . 1 6 8 1 1 4 ; R E T 5 1 ; R E T - E L E 1) ;
 (45) L Y 6 K (リンパ球抗原 6 複合体、遺伝子座 K ; L Y 6 K ; H S J 0 0 1 3 4 8 ; F L J 3 5 2 2 6) ;
 (46) G P R 1 9 (G タンパク質共役型受容体 1 9 ; M m . 4 7 8 7) ;
 (47) G P R 5 4 (K I S S 1 受容体; K I S S 1 R ; G P R 5 4 ; H O T 7 T 1 7 5 ; A X O R 1 2) ;
 (48) A S P H D 1 (アスパラギン酸ベーターヒドロキシラーゼドメイン含有 1 ; L O C 2 5 3 9 8 2) ;
 (49) チロシナーゼ (T Y R ; O C A I A ; O C A 1 A ; チロシナーゼ; S H E P 3) ;
 (50) T M E M 1 1 8 (r i n g フィンガータンパク質、膜貫通 2 ; R N F T 2 ; F L J 1 4 6 2 7) ;
 (51) G P R 1 7 2 A (G タンパク質共役型受容体 1 7 2 A ; G P C R 4 1 ; F L J 1 1 8 5 6 ; D 1 5 E r t d 7 4 7 e) ;
 (52) C D 3 3 ; 及び
 (53) C L L - 1

から選択された 1 つまたは複数の腫瘍関連抗原または細胞表面受容体に結合する抗体である、請求項 3 2 に記載のコンジュゲート。

【請求項 3 4】

前記抗体変異体が、抗 H E R 2 4 D 5、抗 C D 2 2、抗 C D 3 3、抗 N a p i 3 b、抗 H E R 2 7 C 2、または抗 C L L - 1 抗体である抗体である、請求項 3 3 または請求項 3 4 のいずれかに記載のコンジュゲート。

【請求項 3 5】

抗体 (A b) に対する薬物 (D) の薬物負荷 (p) が、1 ~ 約 8 の整数である、請求項 3 1 に記載のコンジュゲート。

【請求項 3 6】

10

20

30

40

50

p が、1、2、3、または4である、請求項35に記載のコンジュゲート。

【請求項37】

請求項31～36のいずれか一項に記載の抗体－薬物コンジュゲート化合物の混合物を含む組成物であって、抗体－薬物コンジュゲート化合物の前記混合物中の抗体あたりの平均薬物負荷が、約2～約5である、前記組成物。

【請求項38】

治療において使用するための、請求項31～36のいずれか一項に記載のコンジュゲートまたは請求項37に記載の組成物。

【請求項39】

対象における増殖性疾患の処置において使用するための、請求項31～36のいずれか一項に記載のコンジュゲートまたは請求項37に記載の組成物。

【請求項40】

前記疾患が、癌である、請求項39に記載のコンジュゲートまたは組成物。

【請求項41】

請求項31～36のいずれか一項に記載のコンジュゲートまたは請求項37に記載の組成物、及び医薬的に許容され得る希釈剤、担体または賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項42】

治療有効量の化学療法剤をさらに含む、請求項41に記載の医薬組成物。

【請求項43】

対象における増殖性疾患の処置において使用するための医薬品の調製における請求項31～36のいずれか一項に記載のコンジュゲートまたは請求項37に記載の組成物の使用。

【請求項44】

患者に請求項43に記載の医薬組成物を投与することを含む癌を処置する方法。

【請求項45】

前記患者が、化学療法剤を、前記コンジュゲートまたは組成物と組み合わせて投与される、請求項44に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ピロロベンゾジアゼピン（PBD）類、具体的には、細胞結合剤に対するリンカーを形成するのに好適な、易動性N10保護基を有するピロロベンゾジアゼピン類に関する。本発明は、これらのPBDから作製されたある特定のコンジュゲートにも関する。

【背景技術】

【0002】

ピロロベンゾジアゼピン類

いくつかのピロロベンゾジアゼピン（PBD）類は、DNAの特定の配列を認識し、これに結合する能力を有し、好ましい配列は、PuG Puである。最初のPBD抗腫瘍抗生物質である、アントラマイシンは、1965（Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5793-5795（1965）；Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5791-5793（1965））において発見された。それ以来、多数の天然に存在するPBD類が報告されており、様々な類似体への10を超える合成経路が開発されている（Thurston, et al., Chem. Rev. 1994, 433-465（1994）；Antonow, D. and Thurston, D. E., Chem. Rev. 2011 111（4）, 2815-2864）。ファミリーメンバーには、アッペイマイシン（Hochlowski, et al., J. Antibiotics, 40, 145-148（1987））、チカマイシン（Konishi, et al., J. Antibiotics, 37, 200-206（1984））、DC-81（日本特許第58-180487号

10

20

30

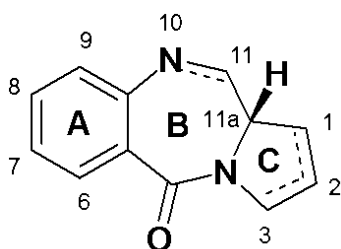
40

50

;Thurston, et al., Chem. Brit., 26, 767-772 (1990);Bose, et al., Tetrahedron, 48, 751-758 (1992))、マゼトラマイシン(Kuminoto, et al., J. Antibiotics, 33, 665-667 (1980))、ネオトラマイシンA及びB(Takouchi, et al., J. Antibiotics, 29, 93-96 (1976))、ポロトラマイシン(Tsunakawa, et al., J. Antibiotics, 41, 1366-1373 (1988))、プロトラカルシン(Shimizu, et al., J. Antibiotics, 29, 2492-2503 (1982);Langley and Thurston, J. Org. Chem., 52, 91-97 (1987))、シバノマイシン(DC-102)(Hara, et al., J. Antibiotics, 41, 702-704 (1988);Itoh, et al., J. Antibiotics, 41, 1281-1284 (1988))、シビロマイシン(Leber, et al., J. Am. Chem. Soc., 110, 2992-2993 (1988))及びトママイシン(Arima, et al., J. Antibiotics, 25, 437-444 (1972))が含まれる。PBDは一般構造：

10

【化1】



20

のものである。

【0003】

PBDは、その芳香A環及びピロロC環の両方で、置換基の個数、種類、及び位置が異なるとともに、C環の飽和度も異なる。B環では、N10-C11の位置が、イミン(N=C)、カルビノールアミン(NH-CH(OH))、またはカルビノールアミンメチルエーテル(NH-CH(OMe))のいずれかになっており、ここがDNAアルキル化の原因となる求電子中心である。既知の天然産物はすべて、キラルC11a位に(S)-立体配置を有し、C環からA環に向かって見たときに、右巻きになっている。このことが、PBDに、B型DNAの副溝とのイソらせん性(isohelicity)に適切な三次元形状を与え、結合部位でのぴったりとした一致をもたらす(Kohn, In Antibiotics III. Springer-Verlag, New York, pp. 3-11 (1975);Hurley and Needham-Vandevanter, Acc. Chem. Res., 19, 230-237 (1986))。副溝内に付加体を形成するその能力により、DNAプロセッシングに干渉することができ、それゆえ、抗腫瘍薬として使用することが可能になる。

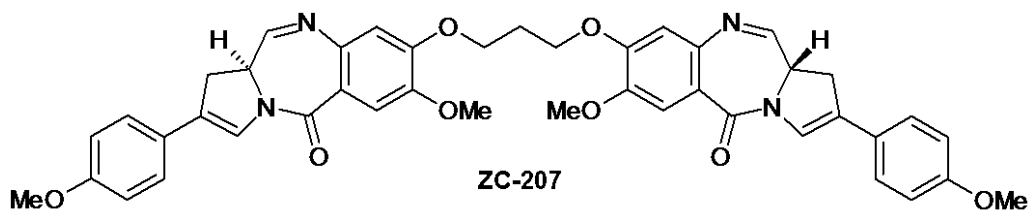
30

【0004】

C2アリール置換基を有する二量体PBD化合物は、WO2005/085251に開示されており、例えば、

40

【化2】



である。

【0005】

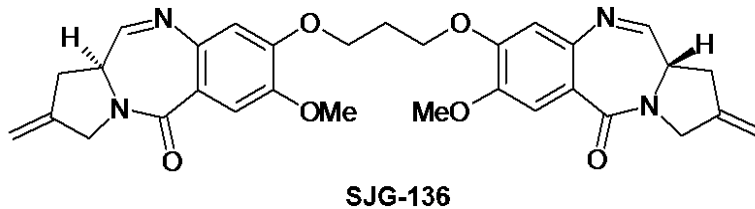
50

これらの化合物は、非常に有用な細胞毒性剤として示されている。

【0006】

特に有利なピロロベンゾジアゼピン化合物は、Gregson et al (Chem. Commun. 1999, 797-798) によって化合物1として記載され、Gregson et al (J. Med. Chem. 2001, 44, 1161-1174) によって化合物4aとして記載されている。この化合物は、SJG-136としても知られており、以下に示される。

【化3】



10

【0007】

抗体-薬物コンジュゲート

抗体療法は、癌、免疫障害及び血管新生障害を有する患者の標的化処置に関して確立されている (Carter, P. (2006) Nature Reviews Immunology 6:343-357)。細胞毒性または細胞分裂阻害剤、すなわち癌の処置において腫瘍細胞を死滅または阻害するための薬物、の局所送達のための抗体-薬物コンジュゲート (ADC)、すなわち免疫コンジュゲートの使用は、腫瘍への薬物部分の送達、及びそこでの細胞内蓄積を目的とし、一方で、コンジュゲートを形成していないこれらの薬剤の全身投与は、許容不可能なレベルの毒性を排除したい腫瘍細胞のみならず正常細胞にもたらす可能性がある (Xie et al (2006) Expert Opin. Biol. Ther. 6 (3):281-291; Kovtun et al (2006) Cancer Res. 66 (6):3214-3121; Law et al (2006) Cancer Res. 66 (4):2328-2337; Wu et al (2005) Nature Biotech. 23 (9):1137-1145; Lambert J. (2005) Current Opin. in Pharmacol. 5:543-549; Hamann P. (2005) Expert Opin. Ther. Patents 15 (9):1087-1103; Payne, G. (2003) Cancer Cell 3:207-212; Trail et al (2003) Cancer Immunol. Immunother. 52:328-337; Syrigos and Epenetos (1999) Anticancer Research 19:605-614)。

20

30

【0008】

それにより、最小限の毒性で最大限の有効性が求められている。ADCを設計及び改良するための努力が、モノクローナル抗体 (mAb) の選択性、ならびに薬物の作用機序、薬物結合、薬物/抗体比率 (負荷)、及び薬物放出特性に集中されてきた (Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26 (8):925-932; Dornan et al (2009) Blood 114 (13):2721-2729; US7521541; US7723485; WO2009/052249; McDonagh (2006) Protein Eng. Design & Sel. 19 (7):299-307; Doronina et al (2006) Biocconj. Chem. 17:114-124; Erickson et al (2006) Cancer Res. 66 (8):1-8; Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11:843-852; Jeffrey et al (2005) J. Med. Chem. 48:1344-1358; Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070)。薬物部分は、チューブリン結合、DNA結合、またはトポイソメラーゼ阻害を含む機構

40

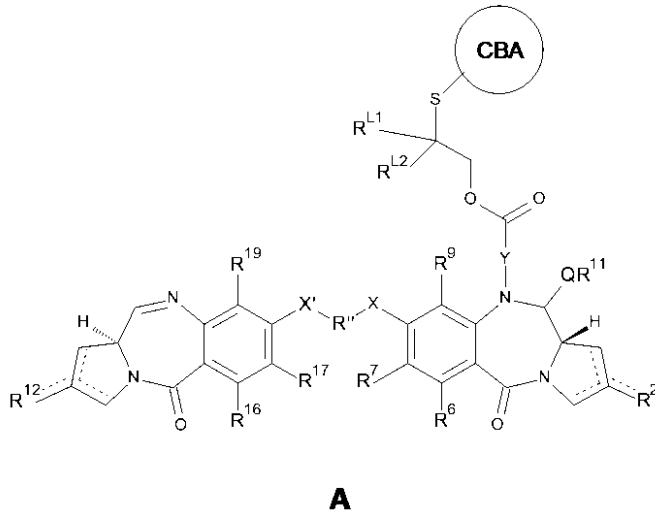
50

によりそれらの細胞毒性及び細胞分裂阻害作用を与え得る。いくつかの細胞毒性薬物は、巨大抗体またはタンパク質受容体リガンドとコンジュゲートしたときに、不活性または低活性になる傾向がある。

【0009】

WO2013/055987は、細胞結合剤への特異的な硫黄リンカーを介してN10位を通して接続されるPBD二量体化合物を含むコンジュゲートを開示し、それは、一般式A：

【化4】



を有する。

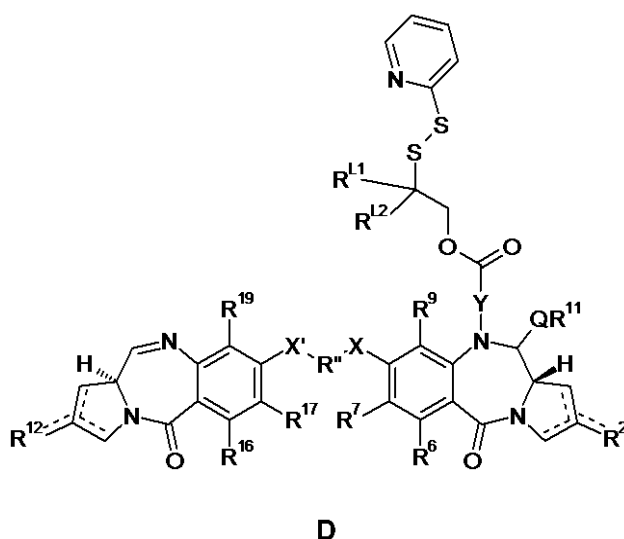
【0010】

これらのコンジュゲートは、A118Cシステイン操作抗体変異体（THIOMAB（商標））を用いて例示された。

【0011】

式D：

【化5】



の薬物リンカーは、このようなコンジュゲートの調製において有用であるとして開示された。

【0012】

本発明者は、WO2013/055987に開示されたコンジュゲート化合物の合成において有用である、さらなる薬物リンカーを開発した。

【発明の概要】

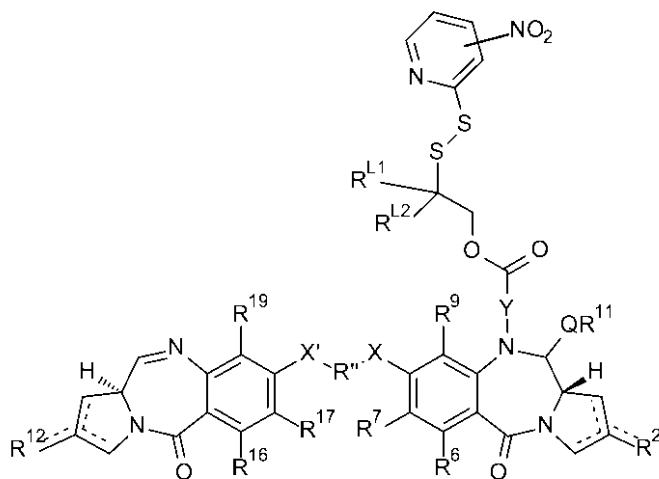
【0013】

一般的な態様では、本発明は、コンジュゲートの調製において有用である薬物リンカー化合物である、ニトロピリジル基への特異的な硫黄リンカーを介してN10位を通して接続されるPBD二量体化合物を含む薬物リンカー、及び薬物リンカー化合物を使用してコンジュゲートを調製する方法を提供する。

【0014】

第一の態様では、本発明は、式I：

【化6】



I

の化合物ならびにその塩及び溶媒和物であって、式中

点線は、C1及びC2またはC2及びC3の間の二重結合の任意での存在を示し；

R²は、H、OH、=O、=CH₂、CN、R、OR、=CH-R^D、=C(R^D)₂、O-SO₂-R、CO₂R及びCORから独立して選択され、任意でハロまたはジハロからさらに選択され；

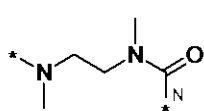
ここでR^Dは、R、CO₂R、COR、CHO、CO₂H、及びハロから独立して選択され；

R⁶及びR⁹は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、NO₂、Me₃Sn及びハロから独立して選択され；

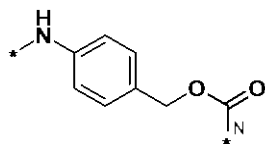
R⁷は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、NO₂、Me₃Sn及びハロから独立して選択され；

Yは、単結合、及び式A1またはA2の基：

【化7】



(A1)



(A2)

から選択され、

ここで、Nは、前記基が前記PBD部分のN10に結合する場所を示し；

R^{L1}及びR^{L2}は、H及びメチルから独立して選択されるか、またはそれらが結合する炭素原子と共にシクロプロピレン基を形成し；

Qは、O、S及びNHから独立して選択され；

R¹¹は、HもしくはRのいずれか、または、QがOの場合、SO₃Mであり、ここでMは金属カチオンであり；

R 及び R' はそれぞれ、任意に置換された C₁₋₁₂アルキル、C₃₋₂₀ヘテロシクリル及び C₅₋₂₀アリール基から独立して選択され、任意に基 NRR' に関し、R 及び R' はそれらが結合している窒素原子と共に、任意に置換された 4、5、6 または 7 員複素環を形成し；式中、R¹²、R¹⁶、R¹⁹ 及び R¹⁷ は、R²、R⁶、R⁹ 及び R⁷ でそれぞれ定義した通りであり；

式中 R'' は、C₃₋₁₂アルキレン基であり、その鎖は、1 つもしくは複数のヘテロ原子、例えば、O、S、N(H)、NMe 及び／またはその環が任意に置換されている芳香族環、例えば、ベンゼンまたはピリジンによって割り込まれてよく；

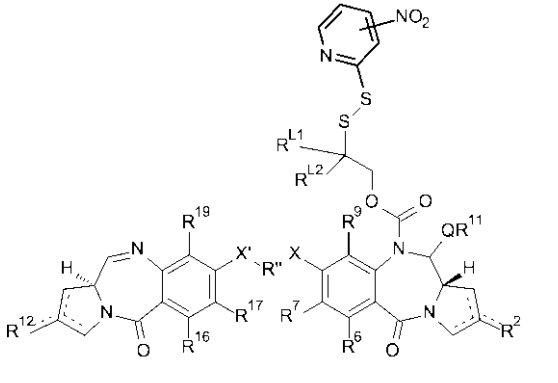
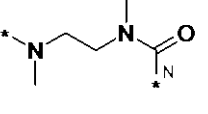
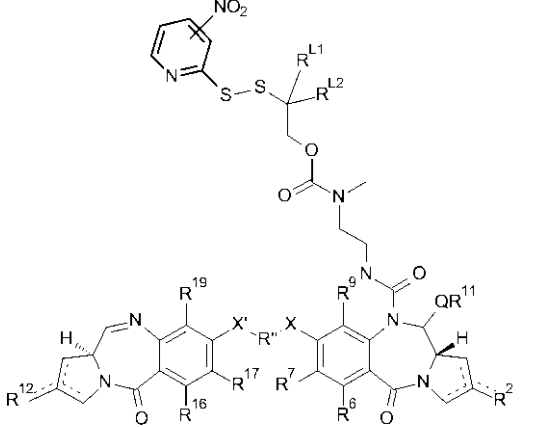
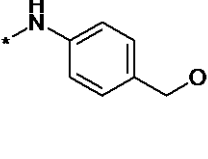
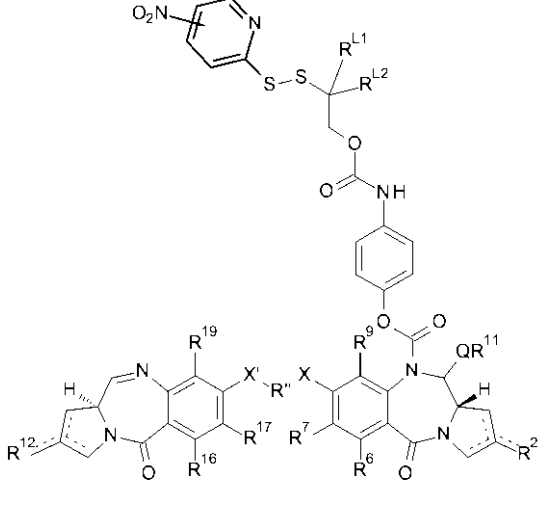
X 及び X' は、O、S 及び N(H) から独立して選択される、前記化合物ならびにその塩及び溶媒和物を提供する。

10

【0015】

ゆえに、式 I は、Y に応じて以下の式 I a、I b 及び I c から選択される。

【表 1】

Y	I
単結合	 Ia
 (A 1)	 Ib
 (A 2)	 Ic

10

20

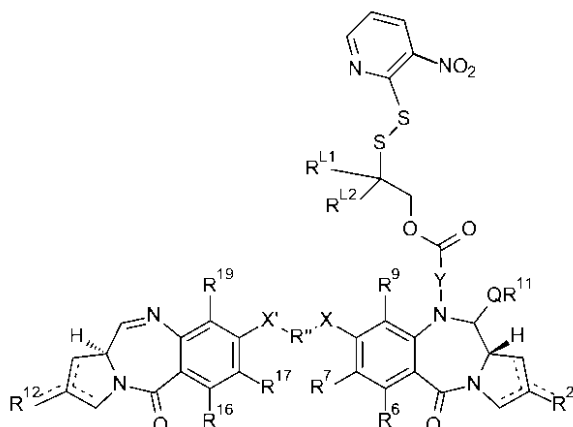
30

40

【0016】

一実施形態では、本発明は、式 I I :

【化 8】



11

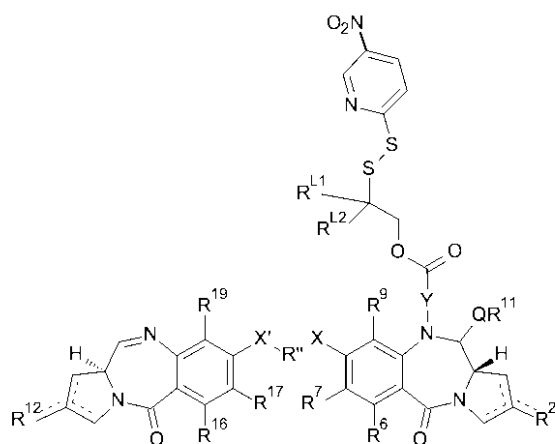
の化合物ならびにその塩及び溶媒和物であって、式中、点線は、C 1 及び C 2 または C 2 及び C 3 の間の二重結合の任意での存在を示し；

すべての置換基は、上に定義した通りである、前記化合物ならびにその塩及び溶媒和物を提供する。

【 0 0 1 7 】

別の実施形態では、本発明は、式 I I I :

【化 9】



III

の新規化合物ならびにその塩及び溶媒和物であって、式中、点線は、C 1 及び C 2 または C 2 及び C 3 の間の二重結合の任意での存在を示し；

すべての置換基は、上に定義した通りである、前記化合物ならびにその塩及び溶媒和物を提供する。

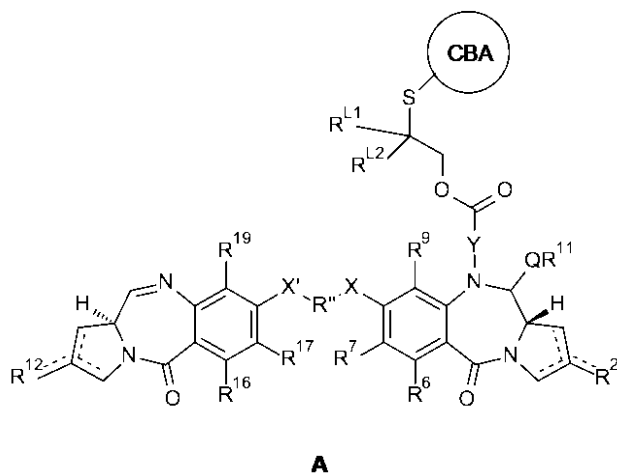
【 0 0 1 8 】

これらの薬物リンカーは、細胞結合剤にコンジュゲートすることがより容易であるなど、WO 2013/055987に開示のものより様々な利点を呈し得る。そのようなコンジュゲーションの容易性は、より迅速で高い収率と関連することができる。特定の機構または効果に縛られることなく、式I化合物のピリジル環上のニトロ基は、システイン操作抗体のシステインチオールとの反応を加速させる電子求引性効果を提供する。システインチオールが、抗体上の阻害されたまたは低反応性の部位に導入されている場合、式Iの化合物は、式Iの化合物の対応する非置換ピリジル類似体に対し、より効率的なコンジュゲーションを提供する。

【 0 0 1 9 】

第二の態様では、本発明は、本発明の第一の態様の化合物を細胞結合剤と反応させることにより、本発明の第一の態様の薬物リンカーから式 A のコンジュゲート化合物を作製する方法であって、式 A が、

【化 1 0】



10

であり、

点線は、C 1 及び C 2 または C 2 及び C 3 の間の二重結合の任意での存在を示し；

C B A は、細胞結合剤を表し；

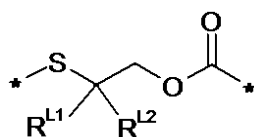
残りの基は、本発明の第一の態様において定義した通りである、前記方法を提供する。

20

【0 0 2 0】

式 A の化合物では、

【化 1 1】

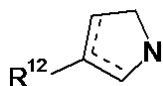


は、硫黄連結基である。

【0 0 2 1】

上記化合物では、5 員環は、

【化 1 2】



及び

【化 1 3】

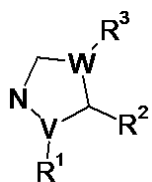


40

により表され、以下：

(a)

【化 1 4】



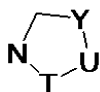
(E)、ここで、R¹またはR³のいずれかを伴うR²は、それらが結合しているC環の炭素原子と共に、任意に置換されたベンゼン環を形成し；

50

V及びWはそれぞれ、 $(CH_2)_n$ 、O、S、NR、CHR、及びCRR'から選択され、ここでnは、1、2または3であり、ただし、 R^1 及び R^2 が、それらが結合しているC環の炭素原子と共に、任意に置換されたベンゼン環を形成する時、VはCであり、 R^3 及び R^2 が、それらが結合しているC環の炭素原子と共に、任意に置換されたベンゼン環を形成する時、WはCである；及び

(b)

【化15】



10

(F)、ここでTは、 CH_2 、NR、CO、BH、SO、及び SO_2 から選択され；

Uは、 CH_2 、NR、O及びSから選択され；

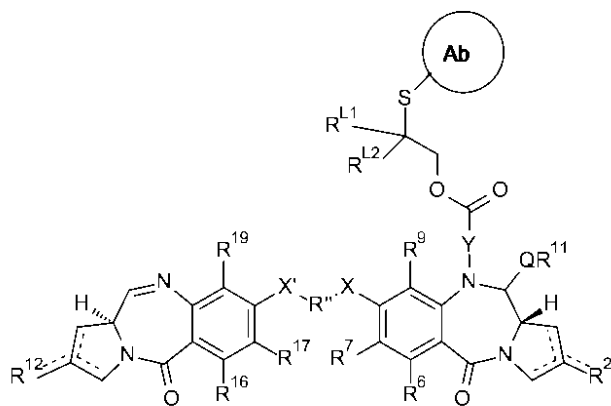
Yは、 $(CH_2)_n$ であり、ここでnは、1、2、3または4であり；

ただし、T、U及びYは、すべてが CH_2 というわけではない、から選択される環によって置き換えられてよい。

【0022】

本発明の第三の態様は、式A1：

【化16】



20

A1

30

のコンジュゲートを提供し、

点線は、C1及びC2またはC2及びC3の間の二重結合の任意での存在を示し；

Abは、

(a) LC K149Cシステイン操作抗体変異体 (THIOMAB (商標))；

(b) HC A140Cシステイン操作抗体変異体 (THIOMAB (商標))；

(c) LC V205Cシステイン操作抗体変異体 (THIOMAB (商標))；及び

(d) HC S239Cシステイン操作抗体変異体 (THIOMAB (商標))；

からなる群より選択されたシステイン操作抗体変異体 (THIOMAB (商標)) を表し

40

、
残りの基は、本発明の第一の態様で定義した通りである。

【0023】

本発明の第四の態様は、医学的処置の方法における本発明の第一の態様のコンジュゲートの使用を提供する。第四の態様は、第一の態様のコンジュゲートを含む医薬組成物及び医薬的に許容され得る賦形剤を提供する。

【0024】

本発明の第五の態様は、増殖性疾患を処置する方法において使用するための本発明の第一の態様のコンジュゲートまたは本発明の第四の態様の医薬組成物を提供する。第五の態様は、有効量の第一の態様のコンジュゲートまたは第四の態様の医薬組成物を投与することを含む、増殖性疾患を処置するための医薬品を製造する方法、及び増殖性疾患を有する

50

哺乳類を処置する方法における第一の態様のコンジュゲートの使用も提供する。

【図面の簡単な説明】

【0025】

【図1a】図1aは、変異残基（太字かつ下線）が5つのアミノ酸を前後に有して示されている例示的な配列を示す。

【図1b】図1bは、変異残基（太字かつ下線）が5つのアミノ酸を前後に有して示されている例示的な配列を示す。

【図1c】図1cは、変異残基（太字かつ下線）が5つのアミノ酸を前後に有して示されている例示的な配列を示す。

【図1d】図1dは、変異残基（太字かつ下線）が5つのアミノ酸を前後に有して示されている例示的な配列を示す。

10

【発明を実施するための形態】

【0026】

本発明は、脱離基に特定されたリンカーを介してPBD部分のうちの1つの上にあるN10位を通して接続されたPBD二量体を含む化合物（薬物リンカー）であって、ピリジン環がニトロ基で置換されている前記化合物を提供する。

【0027】

本発明は、薬物リンカー化合物からコンジュゲートを調製する方法であって、細胞結合剤を薬物リンカー化合物と反応させるステップを含む、前記方法も提供する。いくつかの実施形態では、細胞結合剤は、抗体である。

20

【0028】

そのように形成されたコンジュゲートは、PBD化合物を対象の好ましい部位に送達することができる。コンジュゲートは、リンカーのいずれの部分も保持しない活性PBD化合物の放出を可能にする。PBD化合物の反応性に影響し得る部分は存在しない。

【0029】

優先事項

以下の優先事項は、上述のように本発明のすべての態様に適用されてよい、または単一の態様に関連してよい。優先事項は、任意の組み合わせで一つに組み合わされてよい。

【0030】

好ましい薬物リンカー

30

第一の態様では、本発明は、本明細書に記載のコンジュゲート化合物の調製において使用するための薬物リンカー（*drug linkers*）を提供する。

【0031】

好ましい中間体は以下に記載され、本明細書に記載の好ましいコンジュゲートと密接に対応する。

【0032】

一実施形態では、化合物は、PBD部分がそれぞれC2メチレン基を有する、すなわち、各R²が、=CH₂である、二量体である。

【0033】

別の実施形態では、化合物は、単量体がそれぞれC2アリール基を有する、すなわち各R²が、任意に置換されたC₅₋₂₀アリールであり、各PBD部分のC2及びC3の間に二重結合がある、二量体である。

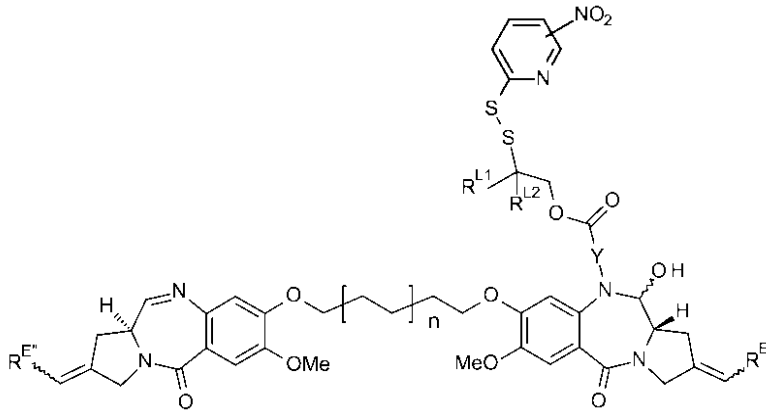
40

【0034】

C2アルキレン

一実施形態では、化合物は：

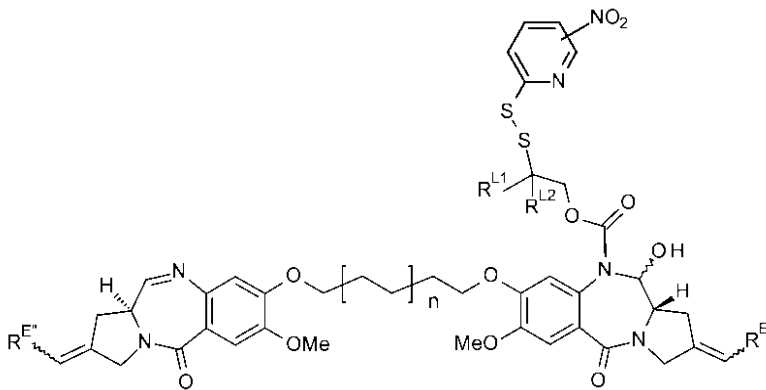
【化 17】



10

であり、
より好ましくは：

【化 18】



20

であり、
ここで n は、0 または 1 であり；
 Y 、 R^{L1} 及び R^{L2} は、以前に定義した通りであり、 R^E 及び $R^{E''}$ はそれぞれ、 H または R^D から独立して選択される。 30

【0035】

上記の化合物のそれぞれについて、適切な場合、以下の優先事項が適用され得る：

- n は、0 である；
- n は、1 である；
- R^E は、 H である；
- R^E は、 R^D であり、ここで R^D は、任意に置換されたアルキルである；
- R^E は、 R^D であり、ここで R^D は、メチルである；
- R^{L1} 及び R^{L2} は、 H である；
- R^{L1} 及び R^{L2} は、 Me である。

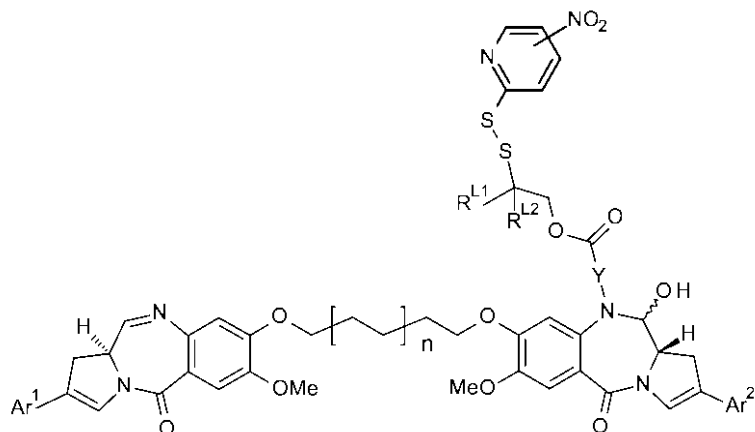
40

【0036】

C2 アリール

一実施形態では、化合物は：

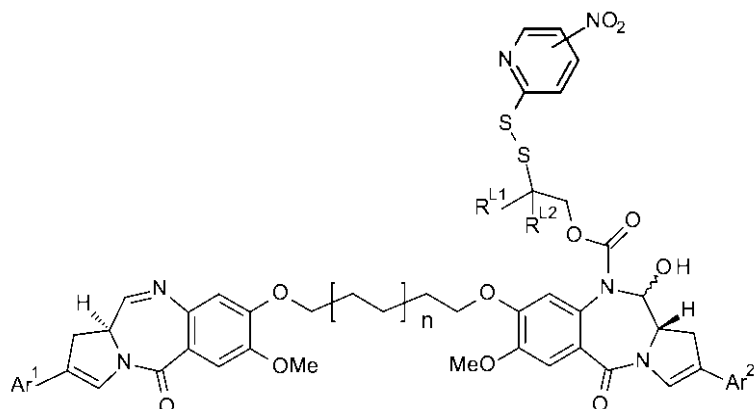
【化 19】



10

であり、
より好ましくは：

【化 20】



20

であり、

式中、Y、R^{L1}及びR^{L2}は、以前に定義した通りであり；

Ar¹及びAr²はそれぞれ、独立して任意に置換されたC₅₋₂₀アリールであり、

nは、0または1である。Ar¹及びAr²は、同一であるかまたは異なってよい。

30

【0037】

一実施形態では、上記実施形態のそれぞれにおけるAr¹及びAr²はそれぞれ、任意に置換されたフェニル、フラニル、チオフェニル及びピリジルから独立して選択される。

【0038】

一実施形態では、上記実施形態のそれぞれにおけるAr¹及びAr²は、任意に置換されたフェニルである。

【0039】

一実施形態では、上記実施形態のそれぞれにおけるAr¹及びAr²は、任意に置換されたチエン-2-イルまたはチエン-3-イルである。

40

【0040】

一実施形態では、上記実施形態のそれぞれにおけるAr¹及びAr²は、任意に置換されたキノリニルまたはイソキノリニルである。

【0041】

キノリニルまたはイソキノリニル基は、任意の利用可能な環位を通してPBDコアに結合され得る。例えば、キノリニルは、キノリン-2-イル、キノリン-3-イル、キノリン-4-イル、キノリン-5-イル、キノリン-6-イル、キノリン-7-イル及びキノリン-8-イルであってよい。これらのうち、キノリン-3-イル及びキノリン-6-イルが、好ましくあり得る。イソキノリニルは、イソキノリン-1-イル、イソキノリン-3

50

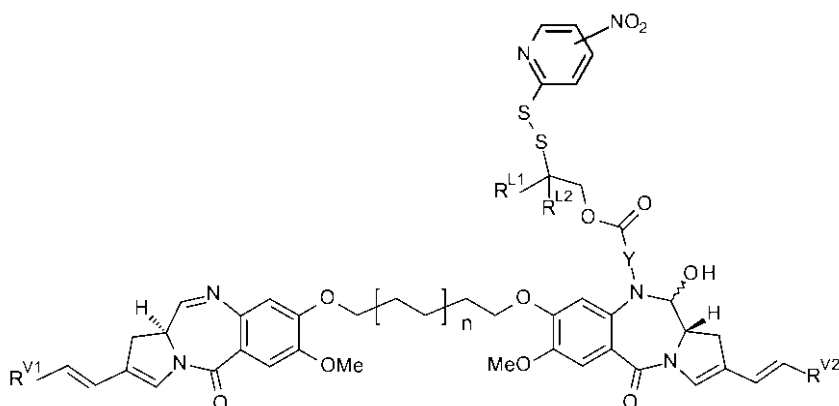
－イル、イソキノリン－4イル、イソキノリン－5－イル、イソキノリン－6－イル、イソキノリン－7－イル及びイソキノリン－8－イルであってよい。これらのうち、イソキノリン－3－イル及びイソキノリン－6－イルが好ましくあり得る。

【0042】

C2ビニル

一実施形態では、化合物は：

【化21】

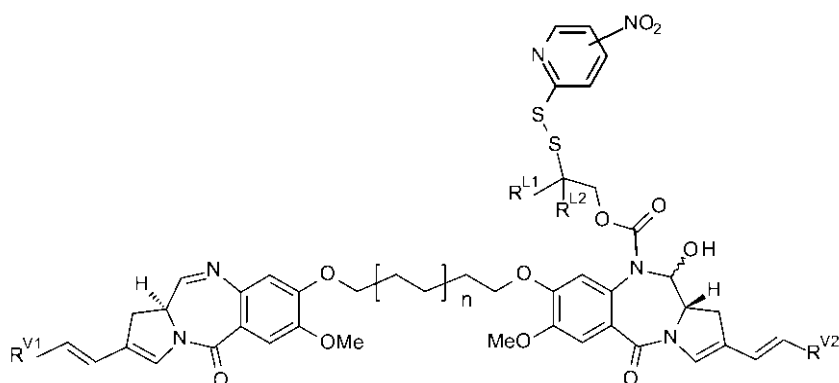


10

であり、

より好ましくは：

【化22】



30

であり、

式中、Y、R^{L1}及びR^{L2}は、以前に定義した通りであり、R^{V1}及びR^{V2}は、H、メチル、エチル及びフェニル（フェニルは、具体的には4位において、フルオロで任意に置換されてよい）及びC₅₋₆ヘテロシクリルから独立して選択され、nは、0または1である。R^{V1}及びR^{V2}は、同一であるかまたは異なってよい。

【0043】

上記実施形態のいくつかでは、R^{V1}及びR^{V2}は、H、フェニル、及び4-フルオロフェニルから独立して選択される。

40

【0044】

上記実施形態のいくつかでは、ピリジル環は、-NO₂で3位にてモノ置換されている（ジスルフィドに対してメタ）。

【0045】

上記実施形態のいくつかでは、ピリジル環は、-NO₂で5位にてモノ置換されている（ジスルフィドに対してパラ）。

【0046】

本発明の第一の態様は、2-メルカプトピリジン脱離基を含む式(D)の化合物を提供する。脱離基のピリジン環は、1つまたは複数の位置にてニトロ基で置換されている。コンジュゲートは、対応する非置換中間体と比較して、ニトロ置換ピリジルを有する中間体

50

からより効率的に産生される。

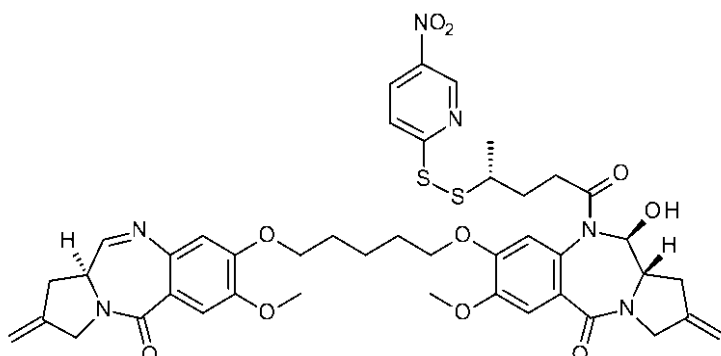
【0047】

ニトロ置換基は、抗体－薬物コンジュゲートをより効率的に調製することが求められる中間体の反応性の向上の提供において特に効率的であることが観察されている。

【0048】

一実施形態では、環は、例えば、以下の化合物：

【化23】



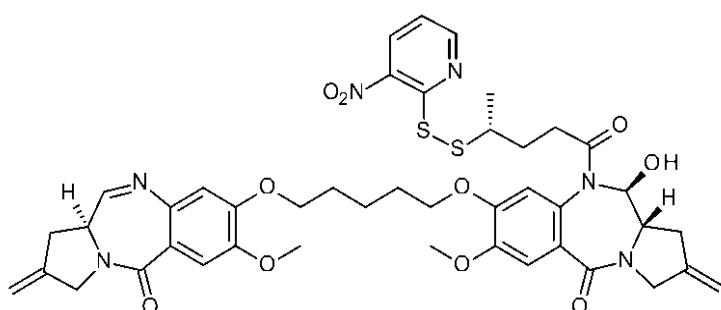
10

のように-NO₂で5位にてモノ置換されている（ジスルフィドに対してパラ）。

【0049】

別の実施形態では、環は、例えば、以下の化合物：

【化24】



30

のように-NO₂で3位にてモノ置換されている（ジスルフィドに対してメタ）。

【0050】

他の実施形態では、環は、ニトロ基でポリ置換されている。例えば、3及び5位の両方にて-NO₂置換基があってよい（すなわち、ジスルフィドに対して両メタ及びパラ置換）。

【0051】

二重結合

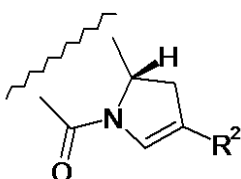
一実施形態では、C1及びC2、ならびにC2及びC3の間に二重結合は存在しない。

【0052】

一実施形態では、点線は、以下に示すように、C2及びC3の間の二重結合の任意での存在を示す。

40

【化25】



【0053】

一実施形態では、二重結合は、R²が、C₅₋₂₀アリールまたはC₁₋₁₂アルキルであると

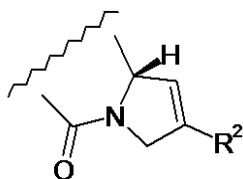
50

き、C 2 及び C 3 の間に存在する。

【0054】

一実施形態では、点線は、以下に示すように、C 1 及び C 2 の間の二重結合の任意での存在を示す。

【化 2 6】



10

【0055】

一実施形態では、二重結合は、R²が、C₅₋₂₀アリールまたはC₁₋₁₂アルキルであるとき、C 1 及び C 2 の間に存在する。

【0056】

R²

一実施形態では、R²は、H、OH、=O、=CH₂、CN、R、OR、=CH-R^D、=C(R^D)₂、O-SO₂-R、CO₂R 及び COR から独立して選択され、任意でハロまたはジハロからさらに選択される。

【0057】

20

一実施形態では、R²は、H、OH、=O、=CH₂、CN、R、OR、=CH-R^D、=C(R^D)₂、O-SO₂-R、CO₂R 及び COR から独立して選択される。

【0058】

一実施形態では、R²は、H、=O、=CH₂、R、=CH-R^D、及び=C(R^D)₂ から独立して選択される。

【0059】

一実施形態では、R²は、独立してHである。

【0060】

一実施形態では、R²は、独立して=Oである。

【0061】

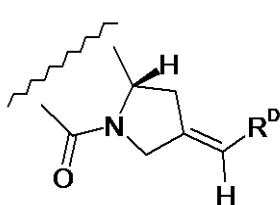
30

一実施形態では、R²は、独立して=CH₂である。

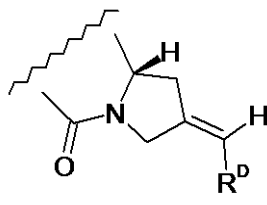
【0062】

一実施形態では、R²は、独立して=CH-R^Dである。PBD化合物内では、基=CH-R^Dは、以下に示す立体配置のいずれかを有してよい。

【化 2 7】



(I)



(II)

40

【0063】

一実施形態では、立体配置は、立体配置 (I) である。

【0064】

一実施形態では、R²は、独立して=C(R^D)₂である。

【0065】

一実施形態では、R²は、独立して=CF₂である。

【0066】

50

一実施形態では、 R^2 は、独立してRである。

【0067】

一実施形態では、 R^2 は、独立して任意に置換された C_{5-20} アリールである。

【0068】

一実施形態では、 R^2 は、独立して任意に置換された C_{1-12} アルキルである。

【0069】

一実施形態では、 R^2 は、独立して任意に置換された C_{5-20} アリールである。

【0070】

一実施形態では、 R^2 は、独立して任意に置換された C_{5-7} アリールである。

【0071】

一実施形態では、 R^2 は、独立して任意に置換された C_{8-10} アリールである。

【0072】

一実施形態では、 R^2 は、独立して任意に置換されたフェニルである。

【0073】

一実施形態では、 R^2 は、独立して任意に置換されたチエニルである。

【0074】

一実施形態では、 R^2 は、独立して任意に置換されたナフチルである。

【0075】

一実施形態では、 R^2 は、独立して任意に置換されたピリジルである。

【0076】

一実施形態では、 R^2 は、独立して任意に置換されたキノリニルまたはイソキノリニルである。

【0077】

一実施形態では、 R^2 は、1～3個の置換基を有し、1及び2個がより好ましく、単一の置換基が最も好ましい。置換基は、任意の位置でよい。

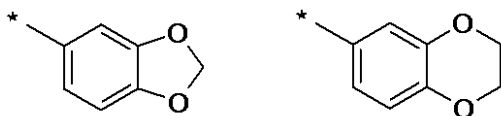
【0078】

R^2 が C_{5-7} アリール基である場合、単一置換基は好ましくは化合物の残部への結合に隣接していない環原子の上にある、すなわち化合物の残部への結合に対して β または γ であるのが好ましい。それゆえ、 C_{5-7} アリール基がフェニルである場合、置換基は好ましくはメタ位またはパラ位にあり、より好ましくはパラ位にある。

【0079】

一実施形態では、 R^2 は、

【化28】



から選択され、

ここでアスタリスクは結合点を示す。

【0080】

R^2 が C_{8-10} アリール基、例えば、キノリニルまたはイソキノリニルである場合、それは、キノリンまたはイソキノリン環の任意の位置で任意の数の置換基を有してよい。いくつかの実施形態では、それは、1、2または3個の置換基を有し、これらは近位環及び遠位環のいずれかまたは両方（1個より多い置換基の場合）の上にあってよい。

【0081】

一実施形態では、 R^2 が任意に置換されている場合、置換基は、下記の置換基の項において与えられる置換基から選択される。

【0082】

Rが任意に置換されている場合、置換基は好ましくは：

ハロ、ヒドロキシル、エーテル、ホルミル、アシル、カルボキシ、エステル、アシルオキ

10

20

30

40

50

シ、アミノ、アミド、アシルアミド、アミノカルボニルオキシ、ウレイド、ニトロ、シアノ及びチオエーテルから選択される。

【0083】

一実施形態では、 R または R^2 が任意に置換されている場合、置換基は、 R 、 OR 、 SR 、 NRR' 、 NO_2 、ハロ、 CO_2R 、 COR 、 $CONH_2$ 、 $CONHR$ 、及び $CONRR'$ からなる群より選択される。

【0084】

R^2 が C_{1-12} アルキルである場合、任意での置換基は、 C_{3-20} ヘテロシクリル及び C_{5-20} アリール基を加えて含んでよい。

【0085】

R^2 が C_{3-20} ヘテロシクリルである場合、任意での置換基は、 C_{1-12} アルキル及び C_{5-20} アリール基を加えて含んでよい。

【0086】

R^2 が C_{5-20} アリール基である場合、任意での置換基は、 C_{3-20} ヘテロシクリル及び C_{1-12} アルキル基を加えて含んでよい。

【0087】

「アルキル」という用語は、サブクラスアルケニル及びアルキニルならびにシクロアルキル包含することが理解される。ゆえに、 R^2 が任意に置換された C_{1-12} アルキルである場合、アルキル基が、コンジュゲート系の一部を形成し得る1つまたは複数の炭素-炭素二重または三重結合を任意に含有することが理解される。一実施形態では、任意に置換された C_{1-12} アルキル基は、少なくとも1つの炭素-炭素二重または三重結合を含有し、この結合は、 $C1$ 及び $C2$ 、または $C2$ 及び $C3$ の間に存在する二重結合とコンジュゲートされる。一実施形態では、 C_{1-12} アルキル基は、飽和 C_{1-12} アルキル、 C_{2-12} アルケニル、 C_{2-12} アルキニル及び C_{3-12} シクロアルキルから選択される基である。

【0088】

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

【0089】

R^2 上の置換基がエーテルである場合、いくつかの実施形態では、それはアルコキシ基、例えば、 C_{1-7} アルコキシ基（例えば、メトキシ、エトキシ）であってよい。またはいくつかの実施形態では、それは C_{5-7} アリールオキシ基（例えば、フェノキシ、ピリジリオキシ、フラニルオキシ）であってよい。

【0090】

R^2 上の置換基が C_{1-7} アルキルである場合、それは好ましくは C_{1-4} アルキル基（例えば、メチル、エチル、プロピル、ブチル）である。

【0091】

R^2 上の置換基が C_{3-7} ヘテロシクリルである場合、いくつかの実施形態では、それはヘテロシクリル基を含有する C_6 窒素、例えば、モルフォリノ、チオモルフォリノ、ピペリジニル、ピペラジニルであってよい。これらの基は、窒素原子を介してPBD部分の残部に結合してよい。これらの基は、例えば、 C_{1-4} アルキル基によってさらに置換されてよい。

【0092】

R^2 上の置換基がビス-オキシ- C_{1-3} アルキレンである場合、これは好ましくはビス-オキシ-メチレンまたはビス-オキシ-エチレンである。

【0093】

R^2 に特に好ましい置換基には、メトキシ、エトキシ、フルオロ、クロロ、シアノ、ビス-オキシ-メチレン、メチルーピペラジニル、モルフォリノ及びメチルーチエニルが含まれる。

【0094】

特に好ましい置換 R^2 基には、これらに限定されないが、4-メトキシフェニル、3

10

20

30

40

50

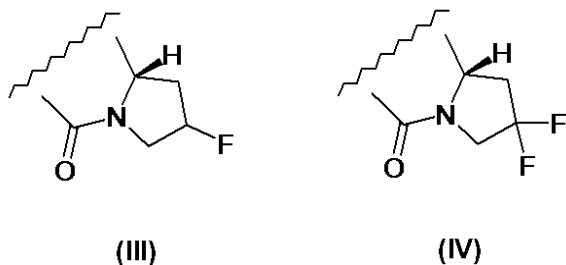
ーメトキシフェニル、4-エトキシフェニル、3-エトキシフェニル、4-メチルフェニル、4-フルオロフェニル、4-クロロフェニル、3,4-ビスオキシメチレンフェニル、4-メチルチエニル、4-シアノフェニル、4-フェノキシフェニル、キノリン-3-イル及びキノリン-6-イル、イソキノリン-3-イル及びイソキノリン-6-イル、2-チエニル、2-フラニル、メトキシナフチル、及びナフチルが含まれる。

【0095】

一実施形態では、 R^2 は、ハロまたはジハロである。一実施形態では、 R^2 は、 $-F$ または $-F_2$ であり、その置換基は、それぞれ (I I I) 及び (I V) として下記に示される。

【化29】

10



【0096】

いくつかの実施形態では、C 2 及び C 3 の間に二重結合があるかまたは C 2 置換基が二重結合によって PBD 環に結合している (すなわち、C 2 の C 原子が sp^2 中心である) ことが好ましい。

20

【0097】

R^D

一実施形態では、 R^D は、 R 、 CO_2R 、 COR 、 CHO 、 CO_2H 、及びハロから独立して選択される。

【0098】

一実施形態では、 R^D は、独立して R である。

【0099】

一実施形態では、 R^D は、独立してハロである。

30

【0100】

R^6

一実施形態では、 R^6 は、 H 、 R 、 OH 、 OR 、 SH 、 SR 、 NH_2 、 NHR 、 NRR' 、 NO_2 、 Me_3Sn- 及びハロから独立して選択される。

【0101】

一実施形態では、 R^6 は、 H 、 OH 、 OR 、 SH 、 NH_2 、 NO_2 及びハロから独立して選択される。

【0102】

一実施形態では、 R^6 は、 H 及びハロから独立して選択される。

【0103】

一実施形態では、 R^6 は、独立して H である。

40

【0104】

一実施形態では、 R^6 及び R^7 は一緒になって、基 $-O-(CH_2)_p-O-$ を形成し、ここで p は、1 または 2 である。

【0105】

R^7

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

【0106】

一実施形態では、 R^7 は、独立して OR である。

50

【0107】

一実施形態では、 R^7 は、独立して OR^{7A} であり、ここで R^{7A} は、独立して任意に置換された C_{1-6} アルキルである。

【0108】

一実施形態では、 R^{7A} は、独立して任意に置換された飽和 C_{1-6} アルキルである。

【0109】

一実施形態では、 R^{7A} は、独立して任意に置換された C_{2-4} アルケニルである。

【0110】

一実施形態では、 R^{7A} は、独立してMeである。

【0111】

一実施形態では、 R^{7A} は、独立して CH_2Ph である。

【0112】

一実施形態では、 R^{7A} は、独立してアリルである。

【0113】

R^9

一実施形態では、 R^9 は、H、R、OH、OR、SH、SR、 NH_2 、NHR、 NRR' 、 NO_2 、 Me_3Sn- 及びハロから独立して選択される。

【0114】

一実施形態では、 R^9 は、独立してHである。

【0115】

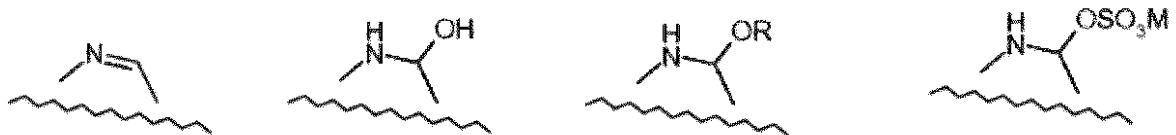
一実施形態では、 R^9 は、独立してRまたはORである。

【0116】

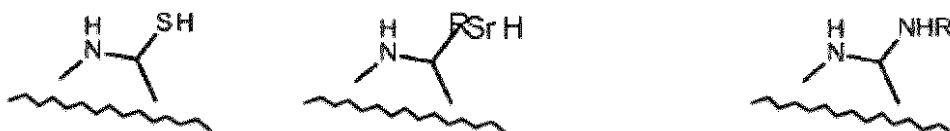
連結基

連結基は、N10-C11イミン結合、カルビノールアミン、置換カルビノールアミンを残すように、式Aのコンジュゲート内のPBD部分のN10位から除去可能であり、ここで QR^{11} は、以下に示すような、 OSO_3M 、亜硫酸水素塩付加体、チオカルビノールアミン、置換チオカルビノールアミン、置換カルビナルアミン(carbinal amine)であり：

【化30】



N10-11イミンカルビノールアミン 置換カルビノールアミン 亜硫酸水素塩付加体



チオカルビノールアミン 置換チオカルビノールアミン 置換カルビナルアミン

ここでR及びMは、本発明のコンジュゲートに関して定義されている通りである。

【0117】

一実施形態では、連結基は、N10-C11イミン結合を残すようにPBD部分のN10位から除去可能である。

【0118】

本発明における、PBD二量体及び細胞結合剤、例えば、抗体、の間の特定化された連結は、好ましくは細胞外で安定している。細胞内に輸送または送達する前に、抗体-薬物

10

20

30

40

50

コンジュゲート（ADC）は、好ましくは安定であり、インタクトなままである、すなわち、抗体は薬物部分に連結されたままである。リンカーは、標的細胞の外側では安定であり、細胞の内側では有効速度で切断され得る。有効なリンカーは、（i）抗体の特異的結合特性を維持し；（ii）コンジュゲートまたは薬物部分の細胞内送達を可能にし；（iii）コンジュゲートがその標的とする部位に送達または輸送されるまで、安定及びインタクトなままである、すなわち切断されず；（iv）PBD薬物部分の細胞毒性、細胞殺傷効果または細胞分裂阻害効果を維持するだろう。ADCの安定性は、質量分析、HPLC、及び分離／分析技術LC／MSなどの標準的な分析技術によって測定することができる。

【0119】

10

PBD化合物の送達は、連結基上の酵素の作用により式Aのコンジュゲートの脱位した（desited）活性化部位で達成される。式AのコンジュゲートのSは、細胞結合剤上の遊離S（活性チオール）へのジスルフィド結合によって連結される。

【0120】

連結基は、酵素の作用によって切断可能であってよい。一実施形態では、酵素は、チオレダクターゼである。

【0121】

ある特定の抗体は、還元可能な鎖間ジスルフィド、即ちシステイン架橋を有する。抗体は、DTT（ジチオスレイトール）などの還元剤で処理することにより、抗体を反応性にして、リンカー試薬とコンジュゲートさせることができる。各システイン架橋は、したがって、理論的には2つの反応性チオール求核体を形成するだろう。リシンを2-イミノチオラン（トラウト試薬）と反応させて、アミンをチオールに転化することにより、追加の求核基を抗体に導入することができる。反応性チオール基は、1つ、2つ、3つ、4つまたはそれより多いシステイン残基を導入する（例えば、1つまたは複数の非天然システインアミノ酸残基を含む変異体抗体を調製する）ことによって、抗体（またはその断片）に導入することができる。US7521541は、反応性システインアミノ酸の導入によって抗体を操作することを教示している。

20

【0122】

R^{L1} 及び R^{L2} は、H及びメチルから選択されるか、またはそれらが結合する炭素原子と一緒にシクロプロピレン基を形成する。いくつかの実施形態では、両方ともHである。他の実施形態では、両方ともメチルである。さらなる実施形態では、一方はHであり、他方はメチルである；これらの実施形態では、それらが結合する炭素原子は、キラル中心である。

30

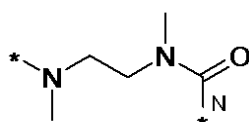
【0123】

いくつかの実施形態では、Yは、単結合である。

【0124】

他の実施形態では、Yは、

【化31】



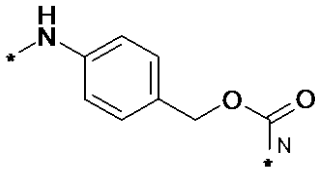
40

（A1）である。

【0125】

さらなる実施形態では、Yは、

【化 3 2】



(A 2) である。

【0 1 2 6】

Q

一実施形態では、Qは、O、S、またはN (H) から選択される。

10

【0 1 2 7】

好ましくは、Qは、Oである。

【0 1 2 8】

R¹¹

一実施形態では、R¹¹は、H、もしくはRのいずれか、または、QがOの場合、SO₃Mであり、ここでMは金属カチオンである。

【0 1 2 9】

一実施形態では、R¹¹は、Hである。

【0 1 3 0】

一実施形態では、R¹¹は、Rである。

20

【0 1 3 1】

一実施形態では、QがOの場合、R¹¹は、SO₃Mであり、そこでMは金属カチオンである。カチオンは、Na⁺であってよい。

【0 1 3 2】

細胞結合剤

本発明の第一の態様の化合物は、コンジュゲート化合物を産生するための細胞結合剤との反応について有用である。本発明の第二の態様の方法は、第一の態様の化合物と細胞結合剤の反応を含む。

【0 1 3 3】

細胞結合剤は、任意の種類でよく、ペプチド及び非ペプチドを含む。これらは、抗体もしくは少なくとも1つの結合部位を含有する抗体の断片、リンホカイン、ホルモン、成長因子、栄養素輸送分子、または任意の他の細胞結合分子もしくは物質を含むことができる。

30

【0 1 3 4】

「抗体」という用語は、本明細書において、それらが所望の生物活性を呈する限り、最も広範な意味で使用され、具体的には、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、二量体、多量体、多重特異性抗体（例えば、二重特異性抗体）及び抗体断片を含む（Miller et al (2003) Jour. of Immunology 170:4854-4861）。抗体は、マウス、ヒト、ヒト化、キメラであってよく、または他の種に由来してよい。抗体は、特定の抗原を認識してそれに結合することができる、免疫系によって生成されるタンパク質である（Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) Immunobiology, 5th Ed., Garland Publishing, New York）。標的抗原は、一般に、複数の抗体上のCDRによって認識される、エピトープとも呼ばれる多数の結合部位を有する。異なるエピトープに特異的に結合する抗体はそれぞれ、異なる構造を有する。ゆえに、1つの抗原は、1つより多い対応する抗体を有し得る。抗体には、全長免疫グロブリン分子または全長免疫グロブリン分子の免疫学的に活性な部分、すなわち、対象となる標的の抗原またはその一部と免疫特異的に結合する抗原結合部位を含有する分子が含まれ、このような標的としては、癌細胞または自己免疫疾患と関連する自己免疫抗体を産生する細胞が挙げられるが、これらに限定されない。免疫グロブリンは、免疫グロ

40

50

ブリン分子の任意の型（例えば、I g G、I g E、I g M、I g D及びI g A）、クラス（例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A 1及びI g A 2）、またはサブクラスであることができる。免疫グロブリンは、ヒト、マウスまたはウサギ起源を含む、任意の種に由来することができる。

【0135】

「抗体断片」は、全長抗体の一部、概してその抗原結合領域または可変領域を含む。抗体断片の例としては、F a b、F a b'、F (a b')₂及びF v断片；ダイアボディ；線状抗体；F a b発現ライブラリによって産生される断片、抗イディオタイプ（抗I d）抗体、C D R（相補性決定領域）、及び癌細胞抗原、ウイルス性抗原または微生物抗原、に免疫特異的に結合する上記のいずれかのエピトープ結合断片、単鎖抗体分子；ならびに抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられる。

10

【0136】

「モノクローナル抗体」という用語は、本発明で用いるとき、実質的に同種の抗体の集団から得た抗体を指す、すなわち、集団を構成する個々の抗体が、天然に生じる可能性のある変異を除いて同一であり、そのような変異が存在したとしても少量である集団から得られる抗体を指す。モノクローナル抗体は、特異性が高く、単一の抗原部位に向けられている。さらには、異なる決定基（エピトープ）に向けられた異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の単一の決定基に向けられている。モノクローナル抗体は、その特異性に加えて、他の抗体が混入することなく合成され得る点で有利である。「モノクローナル」という修飾語は、抗体が実質的に同種の抗体集団から得られたものであるという特徴を示し、抗体の産生がいずれか特定の方法による必要があるとして解釈されない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、K o h l e r e t a l (1975) N a t u r e 256:495によって最初に記載されたハイブリドーマ法によって作製されてよく、または組換えDNA法（U S 4 8 1 6 5 6 7を参照されたい）によって作製されてよい。モノクローナル抗体は、C l a c k s o n e t a l (1991) N a t u r e , 352:624-628; M a r k s e t a l (1991) J. M o l. B i o l. , 222:581-597に記載されている技術を使用してファージ抗体ライブラリから単離してもよい。

20

【0137】

本明細書のモノクローナル抗体は、具体的には、重鎖及び／もしくは軽鎖の一部が特定の種に由来するまたは特定の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一もしくは相同であり、一方で鎖（複数可）の残部が別の種に由来するまたは別の抗体クラスもしくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一もしくは相同である「キメラ」抗体、ならびにこのような抗体の断片を、それらが所望の生物活性を呈する限り含む（U S 4 8 1 6 5 6 7；及びM o r r i s o n e t a l (1984) P r o c . N a t l. A c a d. S c i. U S A , 81:6851-6855）。キメラ抗体としては、非ヒト霊長類（例えば、旧世界サルまたは類人猿）に由来する可変ドメイン抗原結合性配列及びヒト定常領域配列を含む「霊長類化」抗体が挙げられる。

30

【0138】

本明細書の「インタクト抗体」は、V Lドメイン及びV Hドメイン、ならびに軽鎖定常ドメイン（C L）及び重鎖定常ドメイン、C H 1、C H 2及びC H 3を含む抗体である。定常ドメインは、未変性配列定常ドメイン（例えば、ヒト未変性配列定常ドメイン）またはそのアミノ酸配列変異体であってよい。インタクト抗体は、抗体のF c領域（未変性配列F c領域またはアミノ酸配列変異体F c領域）に起因し得るこれらの生物活性を指す、1つまたは複数の「エフェクター機能」を有してよい。抗体エフェクター機能の例としては、C 1 q結合；補体依存性細胞毒性；F c受容体結合；抗体依存性細胞媒介細胞毒性（A D C C）；ファゴサイトーシス；ならびにB細胞受容体及びB C Rなどの細胞表面受容体の下方制御が挙げられる。

40

【0139】

インタクト抗体は、その重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に従って、異なる「クラス

50

」に割り当てることができる。インタクト抗体には5つの主要なクラス：I g A、I g D、I g E、I g G及びI g Mがあり、これらのいくつかは、さらに「サブクラス」（アイソタイプ）、例えば、I g G 1、I g G 2、I g G 3、I g G 4、I g A及びI g A 2に分けられ得る。異なる抗体のクラスに対応する重鎖定常ドメインは、それぞれ α 、 δ 、 ϵ 、 γ 及び μ と呼ばれる。免疫グロブリンの異なるクラスのサブユニット構造及び三次元立体配置が周知である。

【0140】

細胞結合剤の例としては、本明細書に組み込まれるWO 2007/085930にて使用について記載された薬剤が含まれる。

【0141】

細胞結合剤は、ポリペプチドであってよい、またはポリペプチドを含んでよい。ポリペプチドは、環状ポリペプチドであってよい。細胞結合剤は、抗体であってよい。ゆえに、一実施形態では、本発明の方法は、抗体-薬物コンジュゲート（ADC）を提供する。

【0142】

薬物負荷

薬物負荷は、抗体あたりのPBD薬物の平均数である。薬物負荷は、抗体（Ab）あたり1～8個の薬物（D）の範囲であってよく、すなわち、1、2、3、4、5、6、7及び8個の薬物部分が抗体に共有結合的に結合している。ADCの組成物には、1～8個の範囲の薬物とコンジュゲートされた抗体の集合体が含まれる。コンジュゲーション反応からのADCの調製物における抗体あたりの薬物の平均数は、従来の手段、例えば、質量分析、ELISAアッセイ、電気泳動法及びHPLCによって特徴付けてよい。pに関するADCの定量的分布も決定してよい。ELISAによって、ADCの特定の調製物におけるpの平均値を決定し得る（Hamblett et al（2004）Clin. Cancer Res. 10:7063-7070；Sanderson et al（2005）Clin. Cancer Res. 11:843-852）。しかしながら、p（薬物）値の分布は、抗体-抗原結合及びELISAの検出限界によって識別不可能である。また、抗体-薬物コンジュゲートを検出するためのELISAアッセイは、薬物部分が抗体のどこに、例えば、重鎖もしくは軽鎖の断片、または特定のアミノ酸残基に結合されているかを決定しない。いくつかの例では、pがある特定の値である均一なADCを、薬物負荷量が異なるADCから分離、精製及び特徴付けすることは、逆相HPLCまたは電気泳動などの手段により達成され得る。

【0143】

いくつかの抗体-薬物コンジュゲートについて、pは、抗体にある結合部位の数により制限され得る。例えば、抗体は、1個のみもしくは複数のシステインチオール基を有してよく、またはリンカーがそれを通じて結合し得る1個のみもしくは複数の十分に反応性のチオール基を有してよい。薬物負荷が高くなれば、例えば、5を超えるpは、ある特定の抗体-薬物コンジュゲートに、凝集、不溶性、毒性、または細胞透過性の低下を引き起こすことがある。

【0144】

典型的には、最大理論値より少ない薬物部分が、コンジュゲーション反応中に抗体にコンジュゲートされる。抗体は、例えば、薬物-リンカー中間体（D-L）またはリンカー試薬と反応しない多くのリシン残基を含有し得る。最も反応性の高いリシン基のみが、アミン反応性リンカー試薬と反応し得る。また、最も反応性の高いシステインチオール基のみが、チオール反応性リンカー試薬と反応し得る。一般に、抗体は、薬物部分と連結し得る遊離反応性システインチオール基を含有するとしても、多くは含有していない。化合物の抗体にある大半のシステインチオール残基は、ジスルフィド架橋として存在し、部分または完全還元条件下にてジチオスレイトール（DTT）またはTCEPなどの還元剤で還元しなければならない。ADCの負荷（薬物/抗体比）は、（i）抗体に対する薬物-リンカー中間体（D-L）またはリンカー試薬のモル過剰を制限すること、（ii）コンジュゲーション反応の時間または温度を制限すること、及び（iii）システインチオール

を修飾するための部分または制限還元的条件を含む、いくつかの異なる様式にて制御されてよい。

【0145】

システインアミノ酸は、抗体中の反応性部位で操作してよく、それは鎖内または分子間のジスルフィド連結を形成しない (Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26 (8): 925-932; Dornan et al (2009) Blood 114 (13): 2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO 2009/052249、Shen et al (2012) Nature Biotech., 30 (2): 184-191; Junutula et al (2008) Jour of Immun. Methods 332: 41-52)。操作されたシステインチオールは、リンカー試薬、またはマレイミドもしくはアルファーハロアミドなどのチオール反応性求電子基を有する本発明の薬物-リンカー試薬と反応して、システイン操作抗体 (THIOMAB (商標)) 及びPBD薬物部分を有するADCを形成し得る。ゆえに、薬物部分の位置を設計、制御及び認知することができる。操作されたシステインチオール基が典型的に、チオール反応性リンカー試薬または薬物-リンカー試薬と高収率で反応するため、薬物負荷を制御することができる。重鎖または軽鎖上の単一部位での置換によって、IgG抗体を操作してシステインアミノ酸を導入することで、対称抗体上に2個の新規のシステインを与える。2に近い薬物負荷を達成することができ、それはコンジュゲーション生成物ADCの均一性に近い。

【0146】

抗体の1つより多い求核基または求電子基が、薬物リンカー中間体、またはリンカー試薬に続いて薬物部分試薬と反応する場合、結果生じる生成物は、例えば、1、2、3等、抗体に結合する薬物部分の分布を有するADC化合物の混合物である。ポリマー逆相 (PLRP) 及び疎水性相互作用 (HIC) などの液体クロマトグラフィー法は、薬物負荷値によって混合物中の化合物を分離し得る。単一の薬物負荷値 (p) を有するADCの調製物は単離され得るが、しかしながら、これらの単一負荷値ADCは、薬物部分がリンカーを介して抗体上の異なる部位で結合する可能性があるため、依然として不均一混合物であり得る。

【0147】

ゆえに、本発明に記載の抗体-薬物コンジュゲート組成物には、抗体が一つまたは複数のPBD薬物部分を有し、薬物部分が様々なアミノ酸残基で抗体に結合し得る抗体-薬物コンジュゲート化合物の混合物が含まれる。

【0148】

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

【0149】

いくつかの実施形態では、細胞結合剤あたり、1つの二量体ピロロベンゾジアゼピン基がある。

【0150】

システイン操作抗体変異体 (THIOMAB (商標)) は、参照により本明細書に組み込まれる、WO 2006/034488 及び WO 2011/156328 に記載されている。

【0151】

LC K149C システイン操作抗体変異体 (THIOMAB (商標))

LC K149C システイン操作抗体変異体は、概してWO 2006/034488 に記載されており、具体的には、WO 2011/156328 の頁57にある配列番号133に記載されている。K149C 変異体は、WO 2013/093809 及び US 2013/0066054 にも記載されている。

【0152】

一態様では、L C K 1 4 9 C システイン操作抗体変異体は、K a b a t ナンバリングに従い、アミノ酸置換 K 1 4 9 C を含む、C λ ポリペプチド、またはその一部を含む。

【0153】

図 1 a は、変異残基（太字かつ下線）が 5 つのアミノ酸を前後に有して示されている例示的な配列を示す。

【0154】

L C V 2 0 5 C システイン操作抗体変異体（T H I O M A B（商標））

L C V 2 0 5 C システイン操作抗体変異体は、概して W O 2 0 0 6 / 0 3 4 4 8 8 に記載されており、具体的には、W O 2 0 1 1 / 1 5 6 3 2 8 の頁 5 7 にある配列番号 1 4 5 に記載されている。V 2 0 5 C 変異体は、W O 2 0 1 3 / 0 9 3 8 0 9 及び U S 2 0 1 3 / 0 0 6 6 0 5 4 にも記載されている。

10

【0155】

一態様では、L C V 2 0 5 C システイン操作抗体変異体は、K a b a t ナンバリングに従い、アミノ酸置換 V 2 0 5 C を含む、C λ ポリペプチド、またはその一部を含む。

【0156】

図 1 b は、変異残基（太字かつ下線）が 5 つのアミノ酸を前後に有して示されている例示的な配列を示す。

【0157】

H C A 1 4 0 C システイン操作抗体変異体（T H I O M A B（商標））

一態様では、H C 1 4 0 C システイン操作抗体変異体は、K a b a t の E U 指数に従い、アミノ酸置換 A 1 4 0 C を含む、C γ ポリペプチド、またはその一部を含む。

20

【0158】

図 1 c は、変異残基（太字かつ下線）が 5 つのアミノ酸を前後に有して示されている例示的な配列を示す。

【0159】

H C S 2 3 9 C システイン操作抗体変異体（T H I O M A B（商標））

一態様では、H C S 2 3 9 C システイン操作抗体変異体は、K a b a t の E U 指数に従い、アミノ酸置換 S 2 3 9 C を含む、C γ ポリペプチド、またはその一部を含む。

【0160】

図 1 d は、変異残基（太字かつ下線）が 5 つのアミノ酸を前後に有して示されている例示的な配列を示す。

30

【0161】

ペプチド

一実施形態では、細胞結合剤は、4～20、好ましくは6～20個の、連続アミノ酸残基を含む線状または環状ペプチドである。この実施形態では、1つの細胞結合剤が1つの単量体または二量体ピロロベンゾジアゼピン化合物に連結していることが好ましい。

【0162】

一実施形態では、細胞結合剤は、インテグリン α_v β₆ と結合するペプチドを含む。ペプチドは、X Y S よりも α_v β₆ に対して選択的であり得る。

【0163】

一実施形態では、細胞結合剤は、A 2 0 F M D V - C y s ポリペプチドを含む。A 2 0 F M D V - C y s は、配列：N A V P N L R G D L Q V L A Q K V A R T C [配列番号 5] を有する。あるいは、A 2 0 F M D V - C y s 配列の変異体を使用してよく、ここで、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 個のアミノ酸残基は別のアミノ酸残基で置換されている。

40

【0164】

一実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体；キメラ抗体；ヒト化抗体；完全ヒト抗体；または単鎖抗体である。一実施形態、抗体は、生物活性を有するこれらの抗体のうちの 1 つの断片である。そのような断片の例には、F a b、F a b'、F (a b')₂ 及び F v 断片が含まれる。

50

【0165】

これらの実施形態では、各抗体は、1つまたはいくつかの二量体ピロロベンゾジアゼピン基に連結され得る。細胞結合剤に対するピロロベンゾジアゼピンの好ましい比率は上記している。

【0166】

抗体は、ドメイン抗体（DAB）であってよい。

【0167】

一実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体である。

【0168】

本発明の方法において使用するための抗体は、本明細書に組み込まれるWO2005/082023に記載の抗体を含む。特に好ましい抗体は、腫瘍関連抗原に対する抗体である。当該分野で既知であるこれらの抗原の例には、WO2005/082023に述べられる腫瘍関連抗原が挙げられるが、これらに限定されない。例えば、頁41-55を参照されたい。

10

【0169】

本明細書に記載のコンジュゲートは、腫瘍細胞をそれらの細胞表面抗原を介して標的とするように設計されている。抗原は、通常は、過剰発現されたまたは異常な回数で発現されたかのいずれかの正常細胞表面抗原である。理想的には、標的抗原は、増殖性細胞（好ましくは腫瘍細胞）でのみ発現されるが、しかし、これは実際にはほとんど観察されない。結果として、標的抗原は、通常、増殖性組織と健常組織との間の発現差異に基づいて選

20

【0170】

抗体は、C r i p t o、CD30、CD19、CD33、糖タンパク質NMB、Can Ag、Her2（ErbB2/Neu）、CD56（NCAM）、CD22（Siglec2）、CD33（Siglec3）、CD79、CD138、PSCA、PSMA（前立腺特異的膜抗原）、BCMA、CD20、CD70、E-セレクトイン、EphB2、メラントランスフェリン、Muc16及びTMEFF2を含む特定の腫瘍関連抗原を標的とするように作られている。

【0171】

腫瘍関連抗原（TAA）は、当該分野で既知であり、当該分野で周知である方法及び情報を使用して抗体の産生に使用するために調製することができる。癌診断及び治療のために有効な細胞標的を発見しようと試みて、研究者達は、1つまたは複数の正常な非癌性細胞（複数可）上と比較して、1つまたは複数の特定の型（複数可）の癌細胞の表面上に特異的に発現される膜貫通型またそうでなければ他の腫瘍関連ポリペプチドの同定を探索している。しばしば、そのような腫瘍関連ポリペプチドは、非癌性細胞の表面上と比較して癌細胞の表面上により多量に発現される。そのような腫瘍関連細胞表面抗原ポリペプチドの同定は、抗体をベースとする治療を介して破壊するための、癌細胞を特異的に標的とする能力を上昇させている。

30

【0172】

TAAの例としては、下に列挙するTAA（1）-（53）を含むが、これらに限定されない。便宜上、そのすべてが当該分野で既知であるこれらの抗原に関連する情報は、下に列挙され、国立生物工学情報センター（NCBI）の核酸及びタンパク質配列同定規約に従った、名称、代替名、GenBankアクセッション番号及び主要引例（複数可）を含む。TAA（1）-（53）に対応する核酸及びタンパク質配列は、GenBankなどの公開データベースにおいて入手可能である。抗体が標的とする腫瘍関連抗原は、引用文献において同定された配列に対して少なくとも約70%、80%、85%、90%、または95%配列同一性を有するか、または引用文献に見いだされた配列を有するTAAと実質的に同じ生物学的特性または特徴を呈するすべてのアミノ酸配列変異体及びアイソフォームを含む。例えば、変異体配列を有するTAAは、概して、列挙した対応配列を有するTAAに特異的に結合する抗体に特異的に結合することができる。本明細書で具体的に

40

50

引用された参考文献中の配列及び開示は、参照により明示的に本明細書に組み込まれる。

【0173】

腫瘍関連抗原(1)－(53)：

(1) BMPR1B (骨成形タンパク質受容体IB型、Genbankアクセッション番号NM_001203) ten Dijke, P., et al Science 264 (5155) : 101-104 (1994)、Oncogene 14 (11) : 1377-1382 (1997) ; WO2004/063362 (請求項2) ; WO2003/042661 (請求項12) ; US2003/134790-A1 (頁38-39) ; WO2002/102235 (請求項13 ; 頁296) ; WO2003/055443 (頁91-92) ; WO2002/99122 (実施例2 ; 頁528-530) ; WO2003/029421 (請求項6) ; WO2003/024392 (請求項2 ; 図112) ; WO2002/98358 (請求項1 ; 頁183) ; WO2002/54940 (頁100-101) ; WO2002/59377 (頁349-350) ; WO2002/30268 (請求項27 ; 頁376) ; WO2001/48204 (実施例 ; 図4) ; NP_001194 骨成形タンパク質受容体、IB型 / pid=NP_001194.1. 相互参照 : MIM : 603248 ; NP_001194.1 ; AY065994

10

【0174】

(2) E16 (LAT1、SLC7A5、Genbankアクセッション番号NM_003486) Biochem. Biophys. Res. Commun. 255 (2), 283-288 (1999)、Nature 395 (6699) : 288-291 (1998)、Gaugitsch, H. W., et al (1992) J. Biol. Chem. 267 (16) : 11267-11273 ; WO2004/048938 (実施例2) ; WO2004/032842 (実施例IV) ; WO2003/042661 (請求項12) ; WO2003/016475 (請求項1) ; WO2002/78524 (実施例2) ; WO2002/99074 (請求項19 ; 頁127-129) ; WO2002/86443 (請求項27 ; 頁222、393) ; WO2003/003906 (請求項10 ; 頁293) ; WO2002/64798 (請求項33 ; 頁93-95) ; WO2000/14228 (請求項5 ; 頁133-136) ; US2003/224454 (図3) ; WO2003/025138 (請求項12 ; 頁150) ; NP_003477 溶質担体ファミリー7 (カチオン性アミノ酸輸送体、y+系)、メンバー5 / pid=NP_003477.3-ホモ・サピエンス ; 相互参照 : MIM : 600182 ; NP_003477.3 ; NM_015923 ; NM_003486_1

20

30

【0175】

(3) STEAP1 (前立腺の6回膜貫通上皮抗原、Genbankアクセッション番号NM_012449) ; Cancer Res. 61 (15), 5857-5860 (2001)、Hubert, R. S., et al (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 96 (25) : 14523-14528 ; WO2004/065577 (請求項6) ; WO2004/027049 (図1L) ; EP1394274 (実施例11) ; WO2004/016225 (請求項2) ; WO2003/042661 (請求項12) ; US2003/157089 (実施例5) ; US2003/185830 (実施例5) ; US2003/064397 (図2) ; WO2002/89747 (実施例5 ; 頁618-619) ; WO2003/022995 (実施例9 ; 図13A、実施例53 ; 頁173、実施例2 ; 図2A) ; NP_036581 前立腺の6回膜貫通上皮抗原 ; 相互参照 : MIM : 604415 ; NP_036581.1 ; NM_012449_1

40

【0176】

(4) O772P (CA125、MUC16、Genbankアクセッション番号AF361486) ; J. Biol. Chem. 276 (29) : 27371-27375 (2001) ; WO2004/045553 (請求項14) ; WO2002/92836 (請求項6 ; 図12) ; WO2002/83866 (請求項15 ; 頁116-121) ;

50

US 2003/124140 (実施例16) ; 相互参照 : GI : 34501467 ; AA
K74120. 3 ; AF361486__1

【0177】

(5) MPF (MPF、MSLN、SMR、巨核球増強因子、メソテリン、Genbank
アクセッション番号NM_005823) Yamaguchi, N., et al
Biol. Chem. 269 (2), 805-808 (1994)、Proc. Natl
. Acad. Sci. U. S. A. 96 (20) : 11531-11536 (1999)
、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 93 (1) : 136-140 (1996)、J. Biol. Chem. 270 (37) : 21984-21990 (1995) ; WO2003/101283 (請求項14) ; (WO2002/102235
(請求項13 ; 頁287-288) ; WO2002/101075 (請求項4 ; 頁308
-309) ; WO2002/71928 (頁320-321) ; WO94/10312 (頁52-57) ; 相互参照 : MIM : 601051 ; NP_005814. 2 ; NM_005823__1

10

【0178】

(6) Napi3b (NAPI-3B、NPT11b、SLC34A2、溶質担体ファミ
リリー34 (リン酸ナトリウム)、メンバー2、II型ナトリウム依存性リン酸トランス
ポーター3b、Genbankアクセッション番号NM_006424) J. Biol.
Chem. 277 (22) : 19665-19672 (2002)、Genomics
62 (2) : 281-284 (1999)、Feild, J. A., et al (1999)
Biochem. Biophys. Res. Commun. 258 (3) : 578-582 ; WO2004/022778 (請求項2) ; EP1394274 (実施例11)
 ; WO2002/102235 (請求項13 ; 頁326) ; EP0875569 (請求
項1 ; 頁17-19) ; WO2001/57188 (請求項20 ; 頁329) ; WO2004/032842 (実施例IV) ; WO2001/75177 (請求項24 ; 頁139
-140) ; 相互参照 : MIM : 604217 ; NP_006415. 1 ; NM_006424__1

20

【0179】

(7) Sema 5b (FLJ10372、KIAA1445、Mm. 42015、S
EMA5B、SEMA5G、セマフォリン5b Hlog、セマドメイン、7トロンボス
ポンジンリピーター (1型及び1型様)、膜貫通ドメイン (TM) 及び短細胞質ドメイン、(セマフォリン) 5B、Genbankアクセッション番号AB040878) ; Na
gase T., et al (2000) DNA Res. 7 (2) : 143-150 ; W
O2004/000997 (請求項1) ; WO2003/003984 (請求項1) ; W
O2002/06339 (請求項1 ; 頁50) ; WO2001/88133 (請求項1 ;
頁41-43、48-58) ; WO2003/054152 (請求項20) ; WO2003/101400 (請求項11) ; アクセッション : Q9P283 ; EMBL ; AB040878 ; BAA95969. 1. Genew ; HGNC : 10737

30

【0180】

(8) PSCA hlg (2700050C12Rik、C530008O16Rik
、RIKEN cDNA 2700050C12、RIKEN cDNA 2700050C12遺伝子、Genbankアクセッション番号AY358628) ; Ross e
t al (2002) Cancer Res. 62 : 2546-2553 ; US2003/129192 (請求項2) ; US2004/044180 (請求項12) ; US2004/044179 (請求項11) ; US2003/096961 (請求項11) ; US2003/232056 (実施例5) ; WO2003/105758 (請求項12) ; US2003/206918 (実施例5) ; EP1347046 (請求項1) ; WO2003/025148 (請求項20) ; 相互参照 : GI : 37182378 ; AAQ88991. 1 ; AY358628__1

40

【0181】

50

(9) ETBR (エンドセリンB型受容体、Genbankアクセッション番号AY275463); Nakamuta M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 177, 34-39, 1991; Ogawa Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 248-255, 1991; Arai H., et al Jpn. Circ. J. 56, 1303-1307, 1992; Arai H., et al J. Biol. Chem. 268, 3463-3470, 1993; Sakamoto A., Yanagisawa M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 656-663, 1991; Elshourbagy N. A., et al J. Biol. Chem. 268, 3873-3879, 1993; Haendler B., et al J. Cardiovasc. Pharmacol. 20, s1-S4, 1992; Tsutsumi M., et al Gene 228, 43-49, 1999; Strausberg R. L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99, 16899-16903, 2002; Bourgeois C., et al J. Clin. Endocrinol. Metab. 82, 3116-3123, 1997; Okamoto Y., et al Biol. Chem. 272, 21589-21596, 1997; Verheij J. B., et al Am. J. Med. Genet. 108, 223-225, 2002; Hofstra R. M. W., et al Eur. J. Hum. Genet. 5, 180-185, 1997; Puffenberger E. G., et al Cell 79, 1257-1266, 1994; Attie T., et al, Hum. Mol. Genet. 4, 2407-2409, 1995; Auricchio A., et al Hum. Mol. Genet. 5:351-354, 1996; Amiel J., et al Hum. Mol. Genet. 5, 355-357, 1996; Hofstra R. M. W., et al Nat. Genet. 12, 445-447, 1996; Svensson P. J., et al Hum. Genet. 103, 145-148, 1998; Fuchs S., et al Mol. Med. 7, 115-124, 2001; Pingault V., et al (2002) Hum. Genet. 111, 198-206; WO2004/045516 (請求項1); WO2004/048938 (実施例2); WO2004/040000 (請求項151); WO2003/087768 (請求項1); WO2003/016475 (請求項1); WO2003/016475 (請求項1); WO2002/61087 (図1); WO2003/016494 (図6); WO2003/025138 (請求項12; 頁144); WO2001/98351 (請求項1; 頁124-125); EP0522868 (請求項8; 図2); WO2001/77172 (請求項1; 頁297-299); US2003/109676; US6518404 (図3); US5773223 (請求項1a; 欄31-34); WO2004/001004

【0182】

(10) MSG783 (RNF124、仮想タンパク質FLJ20315、Genbankアクセッション番号NM_017763); WO2003/104275 (請求項1); WO2004/046342 (実施例2); WO2003/042661 (請求項12); WO2003/083074 (請求項14; 頁61); WO2003/018621 (請求項1); WO2003/024392 (請求項2; 図93); WO2001/66689 (実施例6); 相互参照: Locus ID: 54894; NP_060233.2; NM_017763_1

【0183】

(11) STEAP2 (HGNC_8639、IPCA-1、PCANAP1、STAMP1、STEAP2、STMP、前立腺癌関連遺伝子1、前立腺癌関連タンパク質1、前立腺の6回膜貫通上皮抗原2、6回膜貫通前立腺タンパク質、Genbankアクセッション番号AF455138); Lab. Invest. 82(11):1573-15

82 (2002)) ; WO2003/087306 ; US2003/064397 (請求項1 ; 図1) ; WO2002/72596 (請求項13 ; 頁54-55) ; WO2001/72962 (請求項1 ; 図4B) ; WO2003/104270 (請求項11) ; WO2003/104270 (請求項16) ; US2004/005598 (請求項22) ; WO2003/042661 (請求項12) ; US2003/060612 (請求項12 ; 図10) ; WO2002/26822 (請求項23 ; 図2) ; WO2002/16429 (請求項12 ; 図10) ; 相互参照 : GI : 22655488 ; AAN04080.1 ; AF455138_1

【0184】

(12) TrpM4 (BR22450、FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、一過性受容器電位カチオンチャネル、サブファミリーM、メンバー4、Genbankアクセッション番号NM_017636) ; Xu, X. Z., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98 (19) : 10692-10697 (2001)、Cell 109 (3) : 397-407 (2002)、J. Biol. Chem. 278 (33) : 30813-30820 (2003) ; US2003/143557 (請求項4) ; WO2000/40614 (請求項14 ; 頁100-103) ; WO2002/10382 (請求項1 ; 図9A) ; WO2003/042661 (請求項12) ; WO2002/30268 (請求項27 ; 頁391) ; US2003/219806 (請求項4) ; WO2001/62794 (請求項14 ; 図1A-D) ; 相互参照 : MIM : 606936 ; NP_060106.2 ; NM_017636_1

【0185】

(13) CRIPTO (CR、CR1、CRGF、CRIPTO、TDGF1、奇形癌腫由来成長因子、Genbankアクセッション番号NP_003203またはNM_003212) ; Ciccociolla, A., et al EMBO J. 8 (7) : 1987-1991 (1989)、Am. J. Hum. Genet. 49 (3) : 555-565 (1991) ; US2003/224411 (請求項1) ; WO2003/083041 (実施例1) ; WO2003/034984 (請求項12) ; WO2002/88170 (請求項2 ; 頁52-53) ; WO2003/024392 (請求項2 ; 図58) ; WO2002/16413 (請求項1 ; 頁94-95、105) ; WO2002/22808 (請求項2 ; 図1) ; US5854399 (実施例2 ; 欄17-18) ; US5792616 (図2) ; 相互参照 : MIM : 187395 ; NP_003203.1 ; NM_003212_1

【0186】

(14) CD21 (CR2 (補体受容体2) またはC3DR (C3d/エプスタインバーウイルス受容体) またはHs. 73792 Genbankアクセッション番号M26004) ; Fujisaku et al (1989) J. Biol. Chem. 264 (4) : 2118-2125 ; Weis J. J., et al J. Exp. Med. 167, 1047-1066, 1988 ; Moore M., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 84, 9194-9198, 1987 ; Barel M., et al Mol. Immunol. 35, 1025-1031, 1998 ; Weis J. J., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 83, 5639-5643, 1986 ; Sinha S. K., et al (1993) J. Immunol. 150, 5311-5320 ; WO2004/045520 (実施例4) ; US2004/005538 (実施例1) ; WO2003/062401 (請求項9) ; WO2004/045520 (実施例4) ; WO91/02536 (図9. 1-9. 9) ; WO2004/020595 (請求項1) ; アクセッション : P20023 ; Q13866 ; Q14212 ; EMBL ; M26004 ; AAA35786.1

【0187】

(15) CD79b (CD79B、CD79β、IGb (免疫グロブリン関連ペータ)

、B29、Genbankアクセッション番号NM_000626または11038674) ; Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. (2003) 100 (7) : 4126-4131、Blood (2002) 100 (9) : 3068-3076、Muller et al (1992) Eur. J. Immunol. 22 (6) : 1621-1625) ; WO2004/016225 (請求項2、図140) ; WO2003/087768、US2004/101874 (請求項1、頁102) ; WO2003/062401 (請求項9) ; WO2002/78524 (実施例2) ; US2002/150573 (請求項5、頁15) ; US5644033 ; WO2003/048202 (請求項1、頁306及び309) ; WO99/58658、US6534482 (請求項13、図17A/B) ; WO2000/55351 (請求項11、頁1145-1146) ; 相互参照 : MIM : 147245 ; NP_000617. 1 ; NM_000626_1【0188】

10

(16) FcRH2 (IFGP4、IRTA4、SPAP1A (SH2ドメイン含有ホスファターゼアンカータンパク質1a)、SPAP1B、SPAP1C、Genbankアクセッション番号NM_030764、AY358130) ; Genome Res. 13 (10) : 2265-2270 (2003)、Immunogenetics 54 (2) : 87-95 (2002)、Blood 99 (8) : 2662-2669 (2002)、Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98 (17) : 9772-9777 (2001)、Xu, M. J., et al (2001) Biochem. Biophys. Res. Commun. 280 (3) : 768-775 ; WO2004/016225 (請求項2) ; WO2003/077836 ; WO2001/38490 (請求項5 ; 図18D-1-18D-2) ; WO2003/097803 (請求項12) ; WO2003/089624 (請求項25) ; 相互参照 : MIM : 606509 ; NP_110391. 2 ; NM_030764_1【0189】

20

(17) HER2 (ErbB2、Genbankアクセッション番号M11730) ; Coussens L., et al Science (1985) 230 (4730) : 1132-1139) ; Yamamoto T., et al Nature 319, 230-234, 1986 ; Semba K., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 82, 6497-6501, 1985 ; Swiercz J. M., et al J. Cell Biol. 165, 869-880, 2004 ; Kuhns J. J., et al J. Biol. Chem. 274, 36422-36427, 1999 ; Cho H.-S., et al Nature 421, 756-760, 2003 ; Ehsani A., et al (1993) Genomics 15, 426-429 ; WO2004/048938 (実施例2) ; WO2004/027049 (図1I) ; WO2004/009622 ; WO2003/081210 ; WO2003/089904 (請求項9) ; WO2003/016475 (請求項1) ; US2003/118592 ; WO2003/008537 (請求項1) ; WO2003/055439 (請求項29 ; 図1A-B) ; WO2003/025228 (請求項37 ; 図5C) ; WO2002/22636 (実施例13 ; 頁95-107) ; WO2002/12341 (請求項68 ; 図7) ; WO2002/13847 (頁71-74) ; WO2002/14503 (頁114-117) ; WO2001/53463 (請求項2 ; 頁41-46) ; WO2001/41787 (頁15) ; WO2000/44899 (請求項52 ; 図7) ; WO2000/20579 (請求項3 ; 図2) ; US5869445 (請求項3 ; 欄31-38) ; WO9630514 (請求項2 ; 頁56-61) ; EP1439393 (請求項7) ; WO2004/043361 (請求項7) ; WO2004/022709 ; WO2001/00244 (実施例3 ; 図4) ; アクセッション : P04626 ; EMBL ; M11767 ; AAA35808. 1. EMBL ; M11761 ; AAA35808. 1【0190】

30

40

50

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

10

【0191】

(19) MDP (DPEP1、Genbankアクセッション番号BC017023)
; Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99(26):16899-16903 (2002); WO2003/016475 (請求項1); WO2002/64798 (請求項33; 頁85-87); JP05003790 (図6-8); WO99/46284 (図9); 相互参照: MIM: 179780; AAH17023. 1; BC017023_1

【0192】

(20) IL20Rα (IL20Ra、ZCYTOR7、Genbankアクセッション番号AF184971); Clark H. F., et al Genome Res. 13, 2265-2270, 2003; Mungall A. J., et al Nature 425, 805-811, 2003; Blumberg H., et al Cell 104, 9-19, 2001; Dumoutier L., et al J. Immunol. 167, 3545-3549, 2001; Parrish-Novak J., et al J. Biol. Chem. 277, 47517-47523, 2002; Pletnev S., et al (2003) Biochemistry 42:12617-12624; Sheikh F., et al (2004) J. Immunol. 172, 2006-2010; EP1394274 (実施例11); US2004/005320 (実施例5); WO2003/029262 (頁74-75); WO2003/002717 (請求項2; 頁63); WO2002/22153 (頁45-47); US2002/042366 (頁20-21); WO2001/46261 (頁57-59); WO2001/46232 (頁63-65); WO98/37193 (請求項1; 頁55-59); アクセッション: Q9UHF4; Q6UWA9; Q96SH8; EMBL; AF184971; AAF01320. 1.

20

30

【0193】

(21) プレビカン (BCAN、BEHAB、Genbankアクセッション番号AF229053); Gary S. C., et al Gene 256, 139-147, 2000; Clark H. F., et al Genome Res. 13, 2265-2270, 2003; Strausberg R. L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99, 16899-16903, 2002; US2003/186372 (請求項11); US2003/186373 (請求項11); US2003/119131 (請求項1; 図52); US2003/119122 (請求項1; 図52); US2003/119126 (請求項1); US2003/119121 (請求項1; 図52); US2003/119129 (請求項1); US2003/119130 (請求項1); US2003/119128 (請求項1; 図52); US2003/119125 (請求項1); WO2003/016475 (請求項1); WO2002/02634 (請求項1)

40

【0194】

(22) EphB2R (DRT、ERK、Hek5、EPHT3、Tyro5、Gen

50

bankアクセッション番号NM_004442) ; Chan, J. and Watt, V. M., *Oncogene* 6 (6), 1057-1061 (1991) *Oncogene* 10 (5) : 897-905 (1995), *Annu. Rev. Neurosci.* 21 : 309-345 (1998), *Int. Rev. Cytol.* 196 : 177-244 (2000) ; WO2003042661 (請求項12) ; WO200053216 (請求項1 ; 頁41) ; WO2004065576 (請求項1) ; WO2004020583 (請求項9) ; WO2003004529 (頁128-132) ; WO200053216 (請求項1 ; 頁42) ; 相互参照 : MIM : 600997 ; NP_004433. 2 ; NM_004442_1

【0195】

10

(23) ASLG659 (B7h、Genbankアクセッション番号AX092328) ; US2004/0101899 (請求項2) ; WO2003104399 (請求項11) ; WO2004000221 (図3) ; US2003/165504 (請求項1) ; US2003/124140 (実施例2) ; US2003/065143 (図60) ; WO2002/102235 (請求項13 ; 頁299) ; US2003/091580 (実施例2) ; WO2002/10187 (請求項6 ; 図10) ; WO2001/94641 (請求項12 ; 図7b) ; WO2002/02624 (請求項13 ; 図1A-1B) ; US2002/034749 (請求項54 ; 頁45-46) ; WO2002/06317 (実施例2 ; 頁320-321、請求項34 ; 頁321-322) ; WO2002/71928 (頁468-469) ; WO2002/02587 (実施例1 ; 図1) ; WO2001/40269 (実施例3 ; 頁190-192) ; WO2000/36107 (実施例2 ; 頁205-207) ; WO2004/053079 (請求項12) ; WO2003/004989 (請求項1) ; WO2002/71928 (頁233-234、452-453) ; WO01/16318

20

【0196】

(24) PSCA (前立腺幹細胞抗原前駆体、Genbankアクセッション番号AJ297436) ; Reiter R. E., et al *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95, 1735-1740, 1998 ; Gu Z., et al *Oncogene* 19, 1288-1296, 2000 ; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2000) 275 (3) : 783-788 ; WO2004/022709 ; EP1394274 (実施例11) ; US2004/018553 (請求項17) ; WO2003/008537 (請求項1) ; WO2002/81646 (請求項1 ; 頁164) ; WO2003/003906 (請求項10 ; 頁288) ; WO2001/40309 (実施例1 ; 図17) ; US2001/055751 (実施例1 ; 図1b) ; WO2000/32752 (請求項18 ; 図1) ; WO98/51805 (請求項17 ; 頁97) ; WO98/51824 (請求項10 ; 頁94) ; WO98/40403 (請求項2 ; 図1B) ; アクセッション : O43653 ; EMBL ; AF043498 ; AAC39607. 1

30

【0197】

(25) GEDA (Genbankアクセッション番号AY260763) ; AAP14954 脂肪腫HMGIC融合パートナー様タンパク質 / pid = AAP14954. 1 - ホモ・サピエンス (ヒト) ; WO2003/054152 (請求項20) ; WO2003/000842 (請求項1) ; WO2003/023013 (実施例3、請求項20) ; US2003/194704 (請求項45) ; 相互参照 : GI : 30102449 ; AAP14954. 1 ; AY260763_1

40

【0198】

(26) BAFR (B細胞活性化因子受容体、BLyS受容体3、BR3、Genbankアクセッション番号AF116456) ; BAFR受容体 / pid = NP_443177. 1 - ホモ・サピエンス : Thompson, J. S., et al *Science* 293 (5537), 2108-2111 (2001) ; WO2004/058

50

309; WO2004/011611; WO2003/045422 (実施例; 頁32-33); WO2003/014294 (請求項35; 図6B); WO2003/035846 (請求項70; 頁615-616); WO2002/94852 (欄136-137); WO2002/38766 (請求項3; 頁133); WO2002/24909 (実施例3; 図3); 相互参照: MIM: 606269; NP_443177. 1; NM_052945_1; AF132600

【0199】

(27) CD22 (B細胞受容体CD22-Bアイソフォーム、BL-CAM、L y b-8、L y b8、S I G L E C-2、F L J 2 2 8 1 4、G e n b a n k アクセション番号AK026467); W i l s o n e t a l (1991) J. E x p. M e d. 173: 137-146; WO2003/072036 (請求項1; 図1); 相互参照: MIM: 107266; NP_001762. 1; NM_001771_1

10

【0200】

(28) CD79a (CD79A、CD79α、免疫グロブリン関連アルファ、I g ベータ (CD79B) と共有結合的に相互作用して、表面でI g M分子と複合体を形成し、B細胞分化に関与するシグナルを伝達する、B細胞特異的タンパク質)、p I : 4. 84、MW: 25028 TM: 2 [P] 遺伝子染色体: 19q13. 2、G e n b a n k アクセション番号NP_001774. 10); WO2003/088808、US2003/0228319; WO2003/062401 (請求項9); US2002/150573 (請求項4、頁13-14); WO99/58658 (請求項13、図16); WO92/07574 (図1); US5644033; H a e t a l (1992) J. I m m u n o l. 148 (5): 1526-1531; M u l l e r e t a l (1992) E u r. J. I m m u n o l. 22: 1621-1625; H a s h i m o t o e t a l (1994) I m m u n o g e n e t i c s 40 (4): 287-295; P r e u d ' h o m m e e t a l (1992) C l i n. E x p. I m m u n o l. 90 (1): 141-146; Y u e t a l (1992) J. I m m u n o l. 148 (2): 633-637; S a k a g u c h i e t a l (1988) E M B O J. 7 (11): 3457-3464

20

【0201】

(29) CXCR5 (パーキットリンパ腫受容体1、CXCL13ケモカインによって活性化され、リンパ球遊走及び体液性防御において機能し、H I V-2 感染及びおそらくA I D S、リンパ腫、骨髄腫及び白血病の発症において役割を果たす、Gタンパク質共役受容体); 372aa、p I : 8. 54 MW: 41959 TM: 7 [P] 遺伝子染色体: 11q23. 3、G e n b a n k アクセション番号NP_001707. 1); WO2004/040000; WO2004/015426; US2003/105292 (実施例2); US6555339 (実施例2); WO2002/61087 (図1); WO2001/57188 (請求項20、頁269); WO2001/72830 (頁12-13); WO2000/22129 (実施例1、頁152-153、実施例2、頁254-256); WO99/28468 (請求項1、頁38); US5440021 (実施例2、欄49-52); WO94/28931 (頁56-58); WO92/17497 (請求項7、図5); D o b n e r e t a l (1992) E u r. J. I m m u n o l. 22: 2795-2799; B a r e l l a e t a l (1995) B i o c h e m. J. 309: 773-779

30

40

【0202】

(30) H L A-D O B (ペプチドと結合して、それらをC D 4+Tリンパ球に提示するM H CクラスII分子 (I a 抗原) のベータサブユニット); 273aa、p I : 6. 56, MW: 30820. TM: 1 [P] 遺伝子染色体: 6p21. 3、G e n b a n k アクセション番号NP_002111. 1); T o n n e l l e e t a l (1985) E M B O J. 4 (11): 2839-2847; J o n s s o n e t a l (1989) I m m u n o g e n e t i c s 29 (6): 411-413; B e c k e t

50

al (1992) J. Mol. Biol. 228:433-441; Strausberg et al (2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA 99:16899-16903; Servenius et al (1987) J. Biol. Chem. 262:8759-8766; Beck et al (1996) J. Mol. Biol. 255:1-13; Naruse et al (2002) Tissue Antigens 59:512-519; WO99/58658 (請求項13、図15); US6153408 (欄35-38); US5976551 (欄168-170); US6011146 (欄145-146); Kasahara et al (1989) Immunogenetics 30(1):66-68; Larhammar et al (1985) J. Biol. Chem. 260(26):14111-14119

【0203】

(31) P2X5 (細胞外ATPによって開閉するイオンチャネルである、プリン作動性受容体P2Xリガンド開口型イオンチャネル5は、シナプス伝達及びニューロン新生に関与することがあり、この欠乏が、特発性排尿筋不安定の病態の一因となることがある); 422aa、pI:7.63、MW:47206 TM:1 [P] 遺伝子染色体:17p13.3、Genbankアクセッション番号NP_002552.2); Lee et al (1997) FEBS Lett. 418(1-2):195-199; WO2004/047749; WO2003/072035 (請求項10); Touchman et al (2000) Genome Res. 10:165-173; WO2002/22660 (請求項20); WO2003/093444 (請求項1); WO2003/087768 (請求項1); WO2003/029277 (頁82)

【0204】

(32) CD72 (B細胞分化抗原CD72、Lyb-2); 359aa、pI:8.66、MW:40225、TM:1 [P] 遺伝子染色体:9p13.3、Genbankアクセッション番号NP_001773.1); WO2004042346 (請求項65); WO2003/026493 (頁51-52、57-58); WO2000/75655 (頁105-106); Von Hoegen et al (1990) J. Immunol. 144(12):4870-4877; Strausberg et al (2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA 99:16899-16903。

【0205】

(33) LY64 (ロイシンリッチリピート (LRR) ファミリーのI型膜タンパク質である、リンパ球抗原64 (RP105) は、B細胞活性化及びアポトーシスを制御し、機能の喪失は、全身性紅斑性狼瘡患者における疾患活性の増加に関連する); 661aa、pI:6.20、MW:74147 TM:1 [P] 遺伝子染色体:5q12、Genbankアクセッション番号NP_005573.1); US2002/193567; WO97/07198 (請求項11、頁39-42); Miura et al (1996) Genomics 38(3):299-304; Miura et al (1998) Blood 92:2815-2822; WO2003/083047; WO97/44452 (請求項8、頁57-61); WO2000/12130 (頁24-26)

【0206】

(34) FcRH1 (C2型Ig様ドメイン及びITAMドメインを含有する免疫グロブリンFcドメインに対する推定受容体である、Fc受容体様タンパク質1は、Bリンパ球分化において役割を有し得る); 429aa、pI:5.28、MW:46925 TM:1 [P] 遺伝子染色体:1q21-1q22、Genbankアクセッション番号NP_443170.1); WO2003/077836; WO2001/38490 (請求項6、図18E-1-18-E-2); Davis et al (2001) Proc. Natl. Acad. Sci USA 98(17):9772-9777; WO2003/089624 (請求項8); EP1347046 (請求項1); WO2003/089624 (請求項7)

【0207】

(35) IRTA2 (B細胞発達及びリンパ腫形成で役割を担う可能性がある推定免疫受容体である、免疫グロブリンスーパーファミリー受容体転座関連2；転座による遺伝子の脱制御が、一部のB細胞悪性腫瘍において生じる)；977aa、pI：6.88、MW：106468、TM：1[P] 遺伝子染色体：1q21、Genbankアクセッション番号ヒト：AF343662、AF343663、AF343664、AF343665、AF369794、AF397453、AK090423、AK090475、AL834187、AY358085；マウス：AK089756、AY158090、AY506558；NP_112571.1；WO2003/024392 (請求項2、図97)；Nakayama et al (2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. 277 (1)：124-127；WO2003/077836；WO2001/38490 (請求項3、図18B-1-18B-2)

10

【0208】

(36) TENB2 (TMEFF2、トモレグリン、TPEF、HPP1、TR、推定膜貫通プロテオグリカン、成長因子及びフォリスタチンのEGF/ヘレグリンファミリーに関連する)；374aa、NCBIアクセッション：AAD55776、AAF91397、AAG49451、NCBI RefSeq：NP_057276；NCBI遺伝子：23671；OMIM：605734；SwissProt Q9UIK5；Genbankアクセッション番号AF179274；AY358907、CAF85723、CQ782436；WO2004/074320；JP2004113151；WO2003/042661；WO2003/009814；EP1295944 (頁69-70)；WO2002/30268 (頁329)；WO2001/90304；US2004/249130；US2004/022727；WO2004/063355；US2004/197325；US2003/232350；US2004/005563；US2003/124579；Horie et al (2000) Genomics 67：146-152；Uchida et al (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 266：593-602；Liang et al (2000) Cancer Res. 60：4907-12；Glynn-Jones et al (2001) Int J Cancer. Oct 15；94 (2)：178-84。

20

30

【0209】

(37) PMEL17 (シルバーホモログ；SILV；D12S53E；PMEL17；SI；SIL)；ME20；gp100) BC001414；BT007202；M32295；M77348；NM_006928；McGlinchey, R. P. et al (2009) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 106 (33)，13731-13736；Kummer, M. P. et al (2009) J. Biol. Chem. 284 (4)，2296-2306；

【0210】

(38) TMEFF1 (EGF様及び2つのフォリスタチン様ドメインを有する膜貫通タンパク質1；トモレグリン-1)；H7365；C9orf2；C9ORF2；U19878；X83961；NM_080655；NM_003692；Harms, P. W. (2003) Gene Dev. 17 (21)，2624-2629；Gery, S. et al (2003) Oncogene 22 (18)：2723-2727；

40

【0211】

(39) GDNF-Ra1 (GDNFファミリー受容体アルファ1；GFRA1；GDNFR；GDNFRA；RETL1；TRNR1；RET1L；GDNFR-アルファ1；GFR-アルファ-1)；U95847；BC014962；NM_145793 NM_005264；Kim, M. H. et al (2009) Mol. Cell. Biol. 29 (8)，2264-2277；Treanor, J. J. et al (1996) Nature 382 (6586)：80-83；

50

【0212】

(40) Ly6E (リンパ球抗原6複合体、遺伝子座E; Ly67、RIG-E、SCA-2、TSA-1); NP_002337.1; NM_002346.2; de Nooij-van Dalen, A. G. et al (2003) Int. J. Cancer 103 (6), 768-774; Zammitt, D. J. et al (2002) Mol. Cell. Biol. 22 (3): 946-952;

【0213】

(41) TMEM46 (shisaホモログ2 (アフリカツメガエル); SHISA2); NP_001007539.1; NM_001007538.1; Furushima, K. et al (2007) Dev. Biol. 306 (2), 480-492; Clark, H. F. et al (2003) Genome Res. 13 (10): 2265-2270;

10

【0214】

(42) Ly6G6D (リンパ球抗原6複合体、遺伝子座G6D; Ly6-D、MEGT1); NP_067079.2; NM_021246.2; Malliya, M. et al (2002) Genomics 80 (1): 113-123; Ribas, G. et al (1999) J. Immunol. 163 (1): 278-287;

【0215】

(43) LGR5 (ロイシンリッチリピート含有Gタンパク質共役型受容体5; GPR49、GPR67); NP_003658.1; NM_003667.2; Salanti, G. et al (2009) Am. J. Epidemiol. 170 (5): 537-545; Yamamoto, Y. et al (2003) Hepatology 37 (3): 528-533;

20

【0216】

(44) RET (ret原癌遺伝子; MEN2A; HSCR1; MEN2B; MTC1; PTC; CDHF12; Hs. 168114; RET51; RET-ELE1); NP_066124.1; NM_020975.4; Tsukamoto, H. et al (2009) Cancer Sci. 100 (10): 1895-1901; Narita, N. et al (2009) Oncogene 28 (34): 3058-3068;

【0217】

(45) LY6K (リンパ球抗原6複合体、遺伝子座K; LY6K; HSJ001348; FLJ35226); NP_059997.3; NM_017527.3; Ishikawa, N. et al (2007) Cancer Res. 67 (24): 11601-11611; de Nooij-van Dalen, A. G. et al (2003) Int. J. Cancer 103 (6): 768-774;

30

【0218】

(46) GPR19 (Gタンパク質共役型受容体19; Mm. 4787); NP_006134.1; NM_006143.2; Montpetit, A. and Sinnett, D. (1999) Hum. Genet. 105 (1-2): 162-164; O'Dowd, B. F. et al (1996) FEBS Lett. 394 (3): 325-329;

40

【0219】

(47) GPR54 (KISS1受容体; KISS1R; GPR54; HOT7T175; AXOR12); NP_115940.2; NM_032551.4; Navenot, J. M. et al (2009) Mol. Pharmacol. 75 (6): 1300-1306; Hata, K. et al (2009) Anticancer Res. 29 (2): 617-623;

【0220】

(48) ASPHD1 (アスパラギン酸ベーターヒドロキシラーゼドメイン含有1; LOC253982); NP_859069.2; NM_181718.3; Gerhar

50

d, D. S. et al (2004) *Genome Res.* 14 (10B) : 2121-2127;

【0221】

(49) チロシナーゼ (TYR; OCA1A; OCA1A; チロシナーゼ; SHEP3); NP_000363.1; NM_000372.4; Bishop, D. T. et al (2009) *Nat. Genet.* 41 (8) : 920-925; Nan, H. et al (2009) *Int. J. Cancer* 125 (4) : 909-917;

【0222】

(50) TMEM118 (ringフィンガータンパク質、膜貫通2; RNFT2; FLJ14627); NP_001103373.1; NM_001109903.1; Clark, H. F. et al (2003) *Genome Res.* 13 (10) : 2265-2270; Scherer, S. E. et al (2006) *Nature* 440 (7082) : 346-351

10

【0223】

(51) GPR172A (Gタンパク質共役型受容体172A; GPCR41; FLJ11856; D15Ert d747e); NP_078807.1; NM_024531.3; Ericsson, T. A. et al (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100 (11) : 6759-6764; Takeda, S. et al (2002) *FEBS Lett.* 520 (1-3) : 97-101.

【0224】

(52) CD33は、シアル酸結合性の、免疫グロブリン様レクチンファミリーのメンバーであり、67kDaのグリコシル化膜貫通タンパク質である。CD33は、委任骨髓単球細胞及び赤血球前駆細胞に加えて、ほとんどの骨髓性及び単球性白血病細胞上で発現される。それは、初期の多能性幹細胞、成熟顆粒球、リンパ球細胞、または非造血性細胞上ではみられない (Sabbath et al., (1985) *J. Clin. Invest.* 75 : 756-56; Andrews et al., (1986) *Blood* 68 : 1030-5)。CD33は、その細胞質側末端上に2つのチロシン残基を含有し、そのそれぞれの後に、多くの抑制性受容体においてみられる免疫受容抑制性チロシンモチーフ (ITIM) に類似する疎水性残基が続く。

20

【0225】

(53) CLL-1 (CLEC12A、MICL、及びDCAL2)は、C型レクチン/C型レクチン様ドメイン (CTL/CTLD) スーパーファミリーのメンバーをコードする。このファミリーのメンバーは、共通のタンパク質フォールドを共有し、多様な機能、例えば、細胞接着、細胞-細胞シグナル伝達、糖タンパク質代謝、ならびに炎症及び免疫反応における役割を有する。この遺伝子によってコードされるタンパク質は、顆粒球及び単球機能の負の制御因子である。この遺伝子のいくつかの選択的スプライシング転写変異体が記載されているが、これらの変異体のいくつかの全長での特質は決定されていない。この遺伝子は、染色体12p13上のナチュラルキラー遺伝子複合体領域において他のCTL/CTLDスーパーファミリーメンバーと密接に連結している (Drickamer K (1999) *Curr. Opin. Struct. Biol.* 9 (5) : 585-90; van Rhenen A, et al., (2007) *Blood* 110 (7) : 2659-66; Chen CH, et al. (2006) *Blood* 107 (4) : 1459-67; Marshall AS, et al. (2006) *Eur. J. Immunol.* 36 (8) : 2159-69; Bakker AB, et al (2005) *Cancer Res.* 64 (22) : 8443-50; Marshall AS, et al (2004) *J. Biol. Chem.* 279 (15) : 14792-802)。CLL-1は、単一のC型レクチン様ドメイン (カルシウムまたは糖のいずれにも結合すると予測されない)、茎領域、膜貫通ドメイン及びITIMモチーフを含有する短い細胞質側末端を含むII型膜貫通受容体であると示されている。

30

40

【0226】

50

親抗体は、アルブミン結合ペプチド (A B P) 配列を含む融合タンパク質であってもよい (Dennis et al. (2002) "Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins" J Biol Chem. 277:35035-35043; WO01/45746)。本発明の抗体には、(i) Dennis et al (2002) J Biol Chem. 277:35035-35043、表 I I I 及び I V、頁 35038; (ii) US2004/0001827、[0076]; ならびに (iii) WO01/45746、頁 12-13 によって教示されている A B P 配列を有する融合タンパク質が含まれ、これらのすべては参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0227】

一実施形態では、抗体は、腫瘍関連抗原 $\alpha_v\beta_6$ を特異的に標的とするように作成されている。

【0228】

ある特定の実施形態では、本発明の A D C は、抗 H E R 2 抗体を含む。本発明の一実施形態では、本発明の A D C の抗 H E R 2 抗体は、ヒト化抗 H E R 2 抗体、例えば、h u M A b 4 D 5 - 1、h u M A b 4 D 5 - 2、h u M A b 4 D 5 - 3、h u M A b 4 D 5 - 4、h u M A b 4 D 5 - 5、h u M A b 4 D 5 - 6、h u M A b 4 D 5 - 7 及び h u M A b 4 D 5 - 8 を、U S 5 8 2 1 3 3 7 の表 3 に記載のように含む。これらの抗体は、H E R 2 に結合するマウス抗体 (4 D 5) の相補決定領域と共にヒトフレームワーク領域を含有する。ヒト化抗体 h u M A b 4 D 5 - 8 は、H E R C E P T I N (登録商標) として市販されている、トラスツズマブとも称される。本発明の別の実施形態では、本発明の A D C の抗 H E R 2 抗体は、ヒト化抗 H E R 2 抗体、例えば、ヒト化 2 C 4、を、U S 7 8 6 2 8 1 7 に記載のように含む。例示的なヒト化 2 C 4 抗体は、P E R J E T A (登録商標) として市販されている、ペルツズマブである。

20

【0229】

本発明の別の実施形態では、本発明の A D C の抗 H E R 2 抗体は、7 C 2 であるヒト化抗 H E R 2 抗体を含む。

【0230】

いくつかの実施形態では、システイン操作 T H I O M A B (商標) 抗体は、K a b a t ナンバリングに従い、軽鎖の 1 4 9 - リシン部位 (L C K 1 4 9 C) に導入されたシステイン残基を有する。

30

【0231】

他の実施形態では、システイン操作 T H I O M A B (商標) 抗体は、K a b a t ナンバリングに従い、軽鎖の 2 0 5 - バリン部位 (L C V 2 0 5 C) に導入されたシステイン残基を有する。

【0232】

他の実施形態では、システイン操作 T H I O M A B (商標) 抗体は、重鎖の 1 1 8 - アラニン部位 (E U ナンバリング) (H C A 1 1 8 C) で導入されたシステイン残基を有する。この部位は、あるいは、順次ナンバリングでは 1 2 1 番または K a b a t ナンバリングでは 1 1 4 番である。

40

【0233】

他の実施形態では、システイン操作 T H I O M A B (商標) 抗体は、重鎖の 1 4 0 - アラニン部位 (E U ナンバリング) (H C A 1 4 0 C) で導入されたシステイン残基を有する。この部位は、あるいは、順次ナンバリングでは 1 4 3 または K a b a t ナンバリングでは 1 3 6 である。

【0234】

他の実施形態では、システイン操作 T H I O M A B (商標) 抗体は、重鎖の 2 3 9 - セリン部位 (E U ナンバリング) (H C S 2 3 9 C) で導入されたシステイン残基を有する。この部位は、あるいは、順次ナンバリングでは 2 4 2 または K a b a t ナンバリン

50

グでは 2 3 5 である。

【0 2 3 5】

細胞結合剤は、例えば、薬剤の検出または精製を援助するために、コンジュゲートとして、またはコンジュゲートの一部として組み込む前に標識してよい。標識はビオチン標識であってよい。別の実施形態では、細胞結合剤は、放射性同位体で標識してよい。

【0 2 3 6】

R 及び R '

一実施形態では、R は、任意に置換された C₁₋₁₂ アルキル、C₃₋₂₀ ヘテロシクリル及び C₅₋₂₀ アリール基から独立して選択される。これらの基は、それぞれ下記の置換基の項において定義される。

【0 2 3 7】

一実施形態では、R は独立して任意に置換された C₁₋₁₂ アルキルである。

【0 2 3 8】

一実施形態では、R は独立して任意に置換された C₃₋₂₀ ヘテロシクリルである。

【0 2 3 9】

一実施形態では、R は独立して任意に置換された C₅₋₂₀ アリールである。

【0 2 4 0】

一実施形態では、R は独立して任意に置換された C₁₋₁₂ アルキルである。

【0 2 4 1】

好ましいアルキル及びアリール基に関連する様々な実施形態ならびに任意の置換基の同一性及び数を R² に関連して上に記載した。それが R に適用されるとき、R² に関して述べた優先事項は、適切な場合、例えば、R⁶、R⁷、R⁸ または R⁹ が R である場合、すべての他の基 R に適用可能である

【0 2 4 2】

R に対する優先事項は R ' にも適用される。

【0 2 4 3】

本発明のいくつかの実施形態では、置換基 -N R R ' を有する化合物が提供される。一実施形態では、R 及び R ' はそれらが結合している窒素原子と共に、任意に置換された 4、5、6 または 7 員複素環を形成する。環は、さらにヘテロ原子、例えば、N、O または S を含有してよい。

【0 2 4 4】

一実施形態では、複素環は、それ自体が基 R で置換されている。さらに N ヘテロ原子が存在する場合、置換基は、N ヘテロ原子上にあってよい。

【0 2 4 5】

R "

R " は、C₃₋₁₂ アルキレン基であり、その鎖は、1 つもしくは複数のヘテロ原子、例えば、O、S、N (H)、NMe 及び / またはその環が任意に置換されている芳香族環、例えば、ベンゼンまたはピリジン、によって割り込まれてよい。

【0 2 4 6】

一実施形態では、R " は、C₃₋₁₂ アルキレン基であり、その鎖は、1 つもしくは複数のヘテロ原子及び / または芳香族環、例えば、ベンゼンまたはピリジンによって割り込まれてよい。

【0 2 4 7】

一実施形態では、アルキレン基は、O、S、及び NMe から選択された 1 つもしくは複数のヘテロ原子及び / またはその環が任意に置換されている芳香族環に任意によって割り込まれてよい。

【0 2 4 8】

一実施形態では、芳香族環は、C₅₋₂₀ アリーレン基であり、ここでアリーレンは、芳香族化合物の 2 つの芳香族環原子から 2 つの水素原子を除去することにより得た二価部分に関し、その部分は 5 ~ 20 個の環原子を有する。

10

20

30

40

50

【0249】

一実施形態では、 R'' は、 C_{3-12} アルキレン基であり、その鎖は、1つもしくは複数のヘテロ原子、例えば、O、S、N(H)、NMe及び／またはその環が NH_2 によって任意に置換されている芳香族環、例えば、ベンゼンまたはピリジン、によって割り込まれてよい。

【0250】

一実施形態では、 R'' は、 C_{3-12} アルキレン基である。

【0251】

一実施形態では、 R'' は、 C_3 、 C_5 、 C_7 、 C_9 及び C_{11} アルキレン基から選択される。

【0252】

一実施形態では、 R'' は、 C_3 、 C_5 及び C_7 アルキレン基から選択される。

【0253】

一実施形態では、 R'' は、 C_3 及び C_5 アルキレン基から選択される。

【0254】

一実施形態では、 R'' は、 C_3 アルキレン基である。

【0255】

一実施形態では、 R'' は、 C_5 アルキレン基である。

【0256】

上に列挙するアルキレン基は、1つもしくは複数のヘテロ原子及び／またはその環が任意に置換されている芳香族環、例えば、ベンゼンまたはピリジン、によって任意に割り込まれてよい。

【0257】

上に列挙するアルキレン基は、1つもしくは複数のヘテロ原子及び／または芳香族環、例えば、ベンゼンまたはピリジンによって任意に割り込まれてよい。

【0258】

上に列挙するアルキレン基は、非置換直鎖脂肪族アルキレン基であってよい。

【0259】

X

一実施形態では、Xは、O、S、またはN(H)から選択される。

【0260】

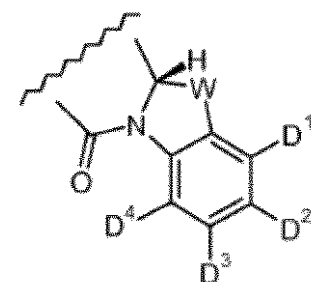
好ましくは、Xは、Oである。

【0261】

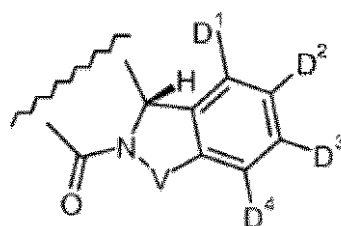
E

1つまたは両方のC環が式Eの環で置換されている場合、化合物は、それらが結合しているC環の炭素原子と共に、任意に置換されてベンゼン環を形成する、 R^1 または R^3 のいずれかを有する基 R^2 を有する。任意に置換されたベンゼン環は、ピロロベンゾジアゼピンのC環に縮合しているとみなされ得る。縮合ベンゼン環は、D環と称してよい。縮合環の構造を下記に示し：

【化33】



R^1 及び R^2



R^3 及び R^2

10

20

30

40

50

ここで D^1 、 D^2 、 D^3 及び D^4 のそれぞれは、H または置換基を表す。

【0262】

一実施形態では、ベンゼン環は、非置換である。

【0263】

一実施形態では、ベンゼン環は、OH、CN、R、OR、O-SO₂-R、CO₂R、COR、SH、SR、NH₂、NHR、NRR'、NO₂、Me₃Sn 及びハロから選択される4つの基の1、2、3つで任意に置換されている。

【0264】

一実施形態では、ベンゼン環は、単一置換されている。単一置換基は、 D^1 、 D^2 、 D^3 または D^4 のいずれか一つであってよい（残りはHである）。一実施形態では、ベンゼン環は、 D^2 で置換され、 D^1 、 D^3 及び D^4 はそれぞれHである。一実施形態では、ベンゼン環は、 D^3 で置換され、 D^1 、 D^2 及び D^4 はそれぞれHである。

10

【0265】

一実施形態では、 R^1 を有する R^2 は、それらが付着しているC環の炭素原子と共に、任意に置換されたベンゼン環を形成する。

【0266】

V 及び W に関する優先事項を下に述べる。

【0267】

F

1 つまたは両方のC環が式Fの環によって置換される化合物では：

20

【0268】

一実施形態では、T が、NR、BH、SO、またはSO₂ であるとき、U は、CH₂ である。

【0269】

一実施形態では、U が NR、O または S であるとき、T は、CH₂ または CO である。

【0270】

一実施形態では、T は、CH₂ 及び CO から選択される。

【0271】

一実施形態では、U は、NR、O 及び S から選択される。

【0272】

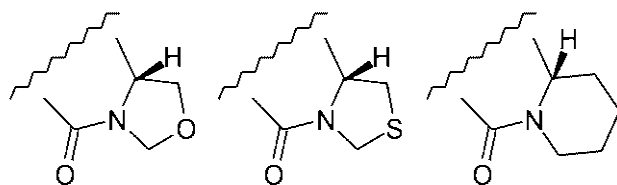
一実施形態では、Y は、(CH₂)_n であり、ここで n は、1 または 2 である。

30

【0273】

一実施形態では、化合物 A-B の C 環は、下記に示すものから選択される構造を有する。

【化34】



40

【0274】

V 及び W

V 及び W は、それぞれ、(CH₂)_n、O、S、NR、CHR、及び CRR' から選択され、ここで n は、2、3 または 4 であり、ただし、 R^1 及び R^2 が、それらが結合しているC環の炭素原子と共に、任意に置換されたベンゼン環を形成する時、V は C であり、 R^3 及び R^2 が、それらが結合しているC環の炭素原子と共に、任意に置換されたベンゼン環を形成する時、W は C である。

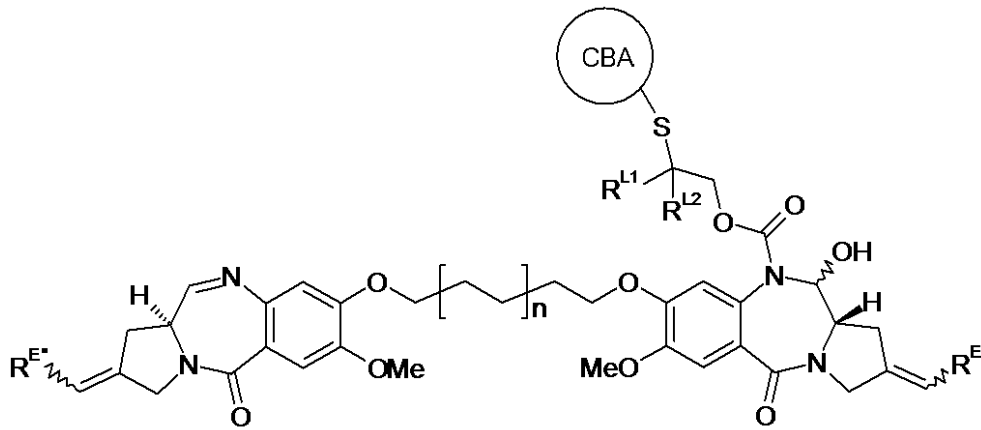
【0275】

一実施形態では、V 及び W の一方が C であるとき、V 及び W の他方は、CH₂ 及び NR から選択される。

50

であり、
より好ましくは：

【化 3 6】



10

であり、

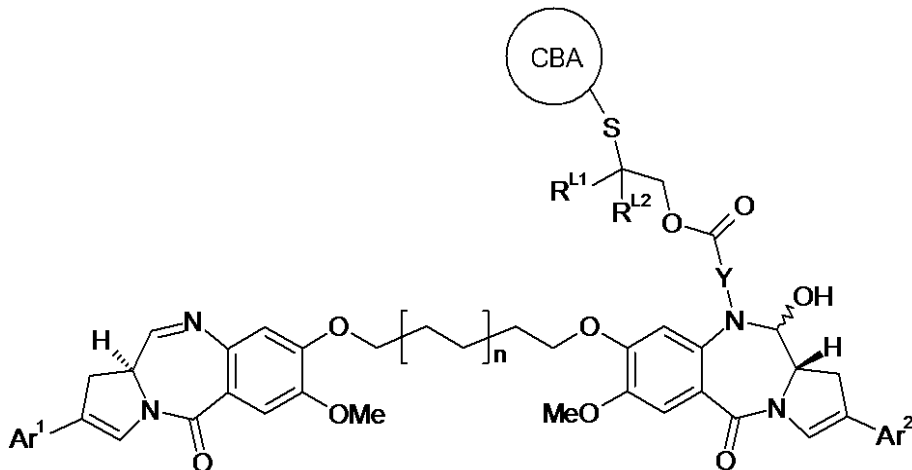
式中、C B Aは、抗体または環状もしくは線状ペプチドなどの細胞結合剤であり、 n は、0または1である。 Y 、 R^{L1} 及び R^{L2} は、以前に定義した通りであり、 R^E 及び R^E は、それぞれHまたは R^D から独立して選択される。

【0 2 8 1】

C 2 アリール

一実施形態では、コンジュゲートは、化合物：

【化 3 7】

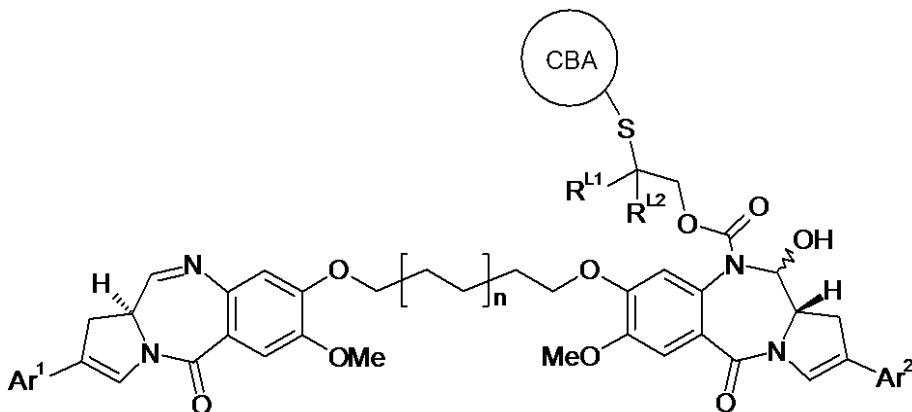


30

であり、

より好ましくは：

【化 3 8】



40

であり、

式中、C B Aは、抗体または環状もしくは線状ペプチドなどの細胞結合剤であり、 Y 、 R

50

L^1 及び R^{L2} は、以前に定義した通りであり； $A r^1$ 及び $A r^2$ はそれぞれ、独立して任意に置換された C_{5-20} アリールであり、 n は、0 または 1 である。 $A r^1$ 及び $A r^2$ は、同一であるかまたは異なってよい。

【0282】

一実施形態では、上の実施形態のそれぞれにおける $A r^1$ 及び $A r^2$ はそれぞれ、任意に置換されたフェニル、フラニル、チオフェニル及びピリジルから独立して選択される。

【0283】

一実施形態では、上の実施形態のそれぞれにおける $A r^1$ 及び $A r^2$ は、任意に置換されたフェニルである。

【0284】

一実施形態では、上の実施形態のそれぞれにおける $A r^1$ 及び $A r^2$ は、任意に置換されたチエン-2-イルまたはチエン-3-イルである。

【0285】

一実施形態では、上の実施形態のそれぞれにおける $A r^1$ 及び $A r^2$ は、任意に置換されたキノリニルまたはイソキノリニルである。

【0286】

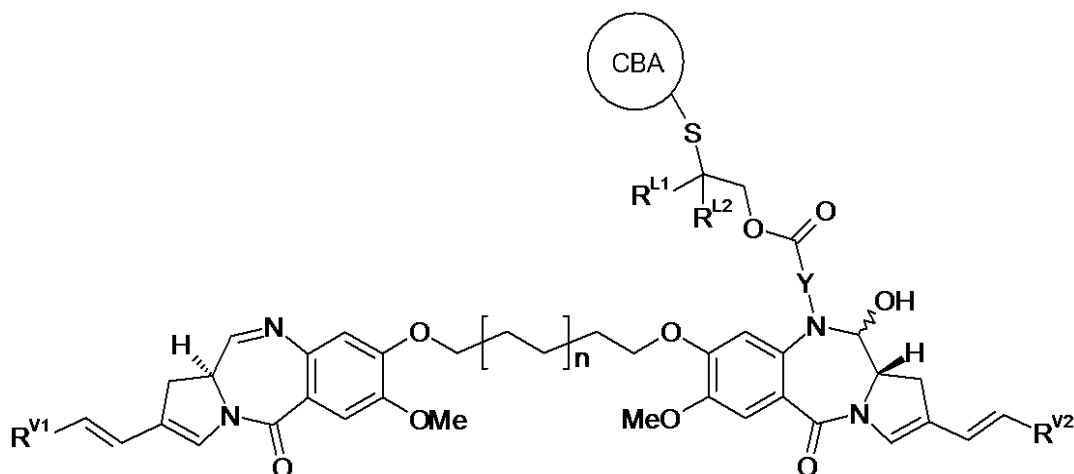
キノリニルまたはイソキノリニル基は、任意の利用可能な環位を通して PBD コアに結合してよい。例えば、キノリニルは、キノリン-2-イル、キノリン-3-イル、キノリン-4-イル、キノリン-5-イル、キノリン-6-イル、キノリン-7-イル及びキノリン-8-イルであってよい。これらのうち、キノリン-3-イル及びキノリン-6-イルが好ましくあり得る。イソキノリニルは、イソキノリン-1-イル、イソキノリン-3-イル、イソキノリン-4-イル、イソキノリン-5-イル、イソキノリン-6-イル、イソキノリン-7-イル及びイソキノリン-8-イルであってよい。これらのうち、イソキノリン-3-イル及びイソキノリン-6-イルが好ましくあり得る。

【0287】

C2 ビニル

一実施形態では、コンジュゲートは、化合物：

【化39】



であり、
より好ましくは：

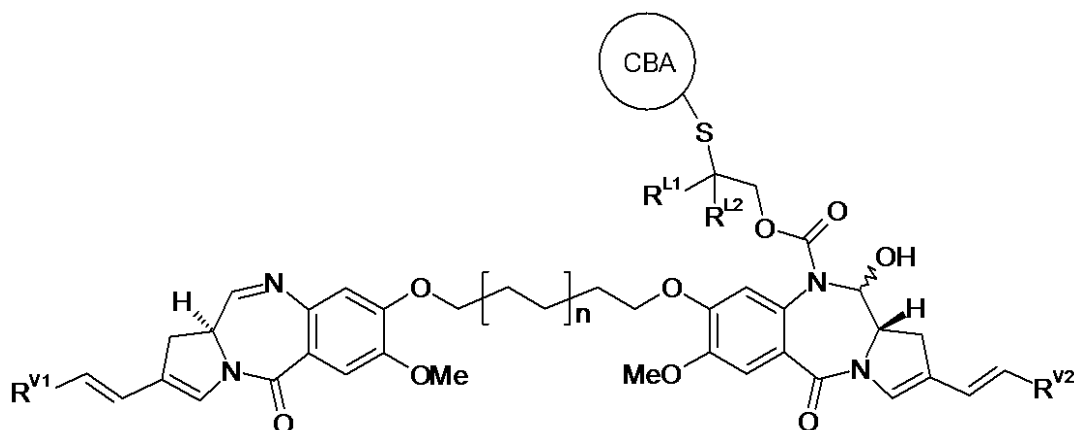
10

20

30

40

【化 40】



10

であり、

式中、CBAは、抗体または環状もしくは線状ペプチドなどの細胞結合剤であり、Y、 R^{L1} 及び R^{L2} は、以前に定義した通りであり、 R^{V1} 及び R^{V2} は、H、メチル、エチル及びフェニル（このフェニルは、具体的には4位で、フルオロで任意に置換されてよい）及びC₅₋₆ヘテロシクリルから独立して選択され、nは、0または1である。 R^{V1} 及び R^{V2} は、同一であるかまたは異なってよい。

20

【0288】

上記実施形態のいくつかでは、 R^{V1} 及び R^{V2} は、H、フェニル、及び4-フルオロフェニルから独立して選択されてよい。

【0289】

上記化合物のそれぞれについて、適切な場合、以下の優先事項が適用され得る：

nは、0である；

nは、1である；

R^E は、Hである；

R^E は、 R^D であり、ここで R^D は任意に置換されたアルキルである；

R^E は、 R^D であり、ここで R^D はメチルである；

CBAは、抗体、具体的には、LC K149C、LC V205C、HC A140C、またはHC S239Cシステイン操作抗体変異体（THIOMAB（商標））である；

30

CBAは、環状ペプチドである；

R^{L1} 及び R^{L2} は、Hである；

R^{L1} 及び R^{L2} は、Meである。

【0290】

置換基

「任意に置換された」という句は、本明細書で用いるとき、非置換であってよいまたは置換されていてよい親基に関する。

【0291】

40

別途指定しない限り、「置換された」という用語は、本明細書で用いるとき、1つまたは複数の置換基を保有する親基に関する。「置換基」という用語は、本明細書において従来の意味で使用され、親基に共有結合的に結合しているか、または適切な場合には親基に縮合されている化学的部分を指す。多種多様な置換基が周知であり、それらの形成及び様々な親基への導入のための方法も周知である。

【0292】

好ましい実施形態では、本明細書に記載の置換基（任意での置換基を含む）は、細胞結合剤に対して反応性でない基に限定される。本事例における細胞結合剤への連結は、細胞結合剤へのリンカー基（例えば、 L^1 、 L^2 及びAを含む）を通してPBD化合物のN10位から形成される。PBD構造の他の部分に位置する反応性官能基は、細胞結合剤への追

50

加の結合を形成する（これは架橋と称してもよい）ことができる場合がある。これらの追加の結合は、コンジュゲートの輸送及び生物活性を変え得る。ゆえに、いくつかの実施形態では、追加の置換基は、反応性官能性を欠くものに限定される。

【0293】

一実施形態では、置換基は、R、OR、SR、NRR'、NO₂、ハロ、CO₂R、COR、CONH₂、CONHR、及びCONRR'からなる群より選択される。

【0294】

一実施形態では、置換基は、R、OR、SR、NRR'、NO₂、CO₂R、COR、CONH₂、CONHR、及びCONRR'からなる群より選択される。

【0295】

一実施形態では、置換基は、R、OR、SR、NRR'、NO₂、及びハロからなる群より選択される。

【0296】

一実施形態では、置換基は、R、OR、SR、NRR'、及びNO₂からなる群より選択される。

【0297】

上述の実施形態のいずれか1つは、本明細書に記載の置換基のいずれか1つに適用されてよい。あるいは、置換基は、以下に列挙する基のうちの1つまたは複数から選択されてよい。

【0298】

置換基の例を以下により詳細に説明する。

【0299】

C₁₋₁₂アルキル：「C₁₋₁₂アルキル」という用語は、本明細書で用いるとき、脂肪族または脂環式であってよく、飽和または不飽和（例えば、部分的な飽和、完全な飽和）であってよい、1～12個の炭素原子を有する炭化水素化合物の炭素原子から水素原子を除去することによって得られる一価部分に関する。ゆえに、「アルキル」という用語は、下で論じるサブクラスのアルケニル、アルキニル、シクロアルキル等を含む。

【0300】

飽和アルキル基の例としては、メチル（C₁）、エチル（C₂）、プロピル（C₃）、ブチル（C₄）、ペンチル（C₅）、ヘキシル（C₆）、及びヘプチル（C₇）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0301】

飽和直鎖アルキル基の例としては、メチル（C₁）、エチル（C₂）、n-プロピル（C₃）、n-ブチル（C₄）、n-ペンチル（アミル）（C₅）、n-ヘキシル（C₆）、及びn-ヘプチル（C₇）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0302】

飽和分枝アルキル基の例としては、イソプロピル（C₃）、イソブチル（C₄）、sec-ブチル（C₄）、tert-ブチル（C₄）、イソペンチル（C₅）、及びネオペンチル（C₅）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0303】

アルキル基は、O、N（H）、及びSから選択される1つまたは複数のヘテロ原子によって任意に割り込まれてよい。このような基は、「ヘテロアルキル」と称してよい。

【0304】

C₂₋₂₀ヘテロアルキル：「C₂₋₁₂ヘテロアルキル」という用語は、本明細書で用いるとき、2～12個の炭素原子、ならびにO、N（H）及びS、好ましくはO及びSから選択される1つまたは複数のヘテロ原子を有する炭化水素化合物の炭素原子から水素原子を除去することによって得られる一価部分に関する。

【0305】

ヘテロアルキル基の例としては、-（OCH₂CH₂）-型の1つまたは複数のエチレングリコール単位を含むものが挙げられるが、これらに限定されない。ヘテロアルキル基の

10

20

30

40

50

末端は、ヘテロ原子の主な形態、例えば、 $-OH$ 、 $-SH$ または $-NH_2$ であってよい。
好ましい実施形態では、末端は $-CH_3$ である。

【0306】

C_{2-12} アルケニル：「 C_{2-12} アルケニル」という用語は、本明細書で用いるとき、1つまたは複数の炭素-炭素二重結合を有するアルキル基に関する。

【0307】

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

10

【0308】

C_{2-12} アルキニル：「 C_{2-12} アルキニル」という用語は、本明細書で用いるとき、1つまたは複数の炭素-炭素三重結合を有するアルキル基に関する。

【0309】

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

【0310】

C_{3-12} シクロアルキル：「 C_{3-12} シクロアルキル」という用語は、本明細書で用いるとき、シクリル基でもあるアルキル基；つまり、環式炭化水素（炭素環）化合物の脂環原子から水素原子を除去することによって得られる一価部分に関し、この部分は、3～7個の環原子を含めて、3～7個の炭素原子を有する。

20

【0311】

シクロアルキル基の例としては、
飽和単環式炭化水素化合物：

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

不飽和単環式炭化水素化合物：

30

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

ならびに飽和多環式炭化水素化合物：

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

から誘導されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0312】

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

40

【0313】

この文脈において、接頭辞（例えば、 C_{3-20} 、 C_{3-7} 、 C_{5-6} 等）は、炭素原子またはヘテロ原子にかかわらず、環原子の数、または環原子の数の範囲を示す。例えば、「 C_{5-6} ヘテロシクリル」という用語は、本発明で用いるとき、5個または6個の環原子を有するヘテロシクリル基に関する。

【0314】

単環式ヘテロシクリル基の例としては、

50

N_1 : アジリジン (C_3)、アゼチジン (C_4)、ピロリジン (テトラヒドロピロール) (C_5)、ピロリン (例えば、3-ピロリン、2, 5-ジヒドロピロール) (C_5)、2H-ピロールまたは3H-ピロール (イソピロール、イソアゾール) (C_5)、ピペリジン (C_6)、ジヒドロピリジン (C_6)、テトラヒドロピリジン (C_6)、アゼピン (C_7) ;

O_1 : オキシラン (C_3)、オキセタン (C_4)、オキソラン (テトラヒドロフラン) (C_5)、オキソール (ジヒドロフラン) (C_5)、オキサン (テトラヒドロピラン) (C_6)、ジヒドロピラン (C_6)、ピラン (C_6)、オキセピン (C_7) ;

S_1 : チイラン (C_3)、チエタン (C_4)、チオラン (テトラヒドロチオフェン) (C_5)、チアン (テトラヒドロチオピラン) (C_6)、チエパン (C_7) ;

O_2 : ジオキソラン (C_5)、ジオキサン (C_6)、及びジオキセパン (C_7) ;

O_3 : トリオキサン (C_6) ;

N_2 : イミダゾリジン (C_5)、ピラゾリジン (ジアゾリジン) (C_5)、イミダゾリン (C_5)、ピラゾリン (ジヒドロピラゾール) (C_5)、ピペラジン (C_6) ;

N_1O_1 : テトラヒドロオキサゾール (C_5)、ジヒドロオキサゾール (C_5)、テトラヒドロイソオキサゾール (C_5)、ジヒドロイソオキサゾール (C_5)、モルホリン (C_6)、テトラヒドロオキサジン (C_6)、ジヒドロオキサジン (C_6)、オキサジン (C_6) ;

N_1S_1 : チアゾリン (C_5)、チアゾリジン (C_5)、チオモルホリン (C_6) ;

N_2O_1 : オキサジアジン (C_6) ;

O_1S_1 : オキサチオール (C_5)、及びオキサチアン (チオキサン) (C_6) ; ならびに

$N_1O_1S_1$: オキサチアジン (C_6) から誘導されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

【0315】

置換単環式ヘテロシクリル基の例としては、環状形態の糖類、例えば、フラノース (C_5)、例えば、アラビノフラノース、リキソフラノース、リボフラノース、及びキシロフラノースならびにピラノース (C_6)、例えば、アロピラノース、アルトロピラノース、グルコピラノース、マンノピラノース、グロピラノース、イドピラノース、ガラクトピラノース、及びタロピラノースから誘導されるものが挙げられる。

【0316】

C_{5-20} アリール: 「 C_{5-20} アリール」という用語は、本明細書で用いるとき、芳香族化合物の芳香族環原子から水素原子を除去することによって得られる一価部分に関し、この部分は3~20個の環原子を有する。好ましくは、各環は、5~7個の環原子を有する。

30

【0317】

この文脈において、接頭辞 (例えば、 C_{3-20} 、 C_{5-7} 、 C_{5-6} 等) は、炭素原子またはヘテロ原子にかかわらず、環原子の数、または環原子の数の範囲を示す。例えば、「 C_{5-6} アリール」という用語は、本明細書で用いるとき、5個または6個の環原子を有するアリール基に関する。

【0318】

環原子は、「カルボアリール基」におけるように、すべて炭素原子であってよい。

【0319】

カルボアリール基の例としては、ベンゼン (すなわちフェニル) (C_6)、ナフタレン (C_{10})、アズレン (C_{10})、アントラセン (C_{14})、フェナントレン (C_{14})、ナフタセン (C_{18})、及びピレン (C_{16}) から誘導される基が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0320】

縮合環を含み、その少なくとも1つが芳香族環であるアリール基の例としては、インダン (例えば、2, 3-ジヒドロ-1H-インデン) (C_9)、インデン (C_9)、イソインデン (C_9)、テトラリン (1, 2, 3, 4-テトラヒドロナフタレン) (C_{10})、アセナフテン (C_{12})、フルオレン (C_{13})、フェナレン (C_{13})、アセフェナントレン (C_{15})、及びアセアントレン (C_{16}) から誘導される基が挙げられるが、これらに限定されない。

50

【0321】

あるいは、環原子には、「ヘテロアリール基」におけるように、1つまたは複数のヘテロ原子が含まれてよい。単環式ヘテロアリール基の例としては、

N_1 : ピロール (アゾール) (C_5)、ピリジン (アジン) (C_6) ;

O_1 : フラン (オキソール) (C_5) ;

S_1 : チオフエン (チオール) (C_5) ;

N_1O_1 : オキサゾール (C_5)、イソオキサゾール (C_5)、イソキサジン (C_6) ;

N_2O_1 : オキサジアゾール (フラザン) (C_5) ;

N_3O_1 : オキサトリアゾール (C_5) ;

N_1S_1 : チアゾール (C_5)、イソチアゾール (C_5) ;

N_2 : イミダゾール (1, 3-ジアゾール) (C_5)、ピラゾール (1, 2-ジアゾール) (C_5)、ピリダジン (1, 2-ジアジン) (C_6)、ピリミジン (1, 3-ジアジン) (C_6) (例えば、シトシン、チミン、ウラシル)、ピラジン (1, 4-ジアジン) (C_6) ;

N_3 : トリアゾール (C_5)、トリアジン (C_6) ;、及び

N_4 : テトラゾール (C_5)

から誘導される基が挙げられるが、これらに限定されない。

【0322】

縮合環を含むヘテロアリールの例としては：

ベンゾフラン (O_1)、イソベンゾフラン (O_1)、インドール (N_1)、イソインドール (N_1)、インドリジン (N_1)、インドリン (N_1)、イソインドリン (N_1)、プリン (N_4) (例えば、アデニン、グアニン)、ベンゾイミダゾール (N_2)、インダゾール (N_2)、ベンゾオキサゾール (N_1O_1)、ベンゾイソオキサゾール (N_1O_1)、ベンゾジオキサソール (O_2)、ベンゾフラザン (N_2O_1)、ベンゾトリアゾール (N_3)、ベンゾチオフラン (S_1)、ベンゾチアゾール (N_1S_1)、ベンゾチアジアゾール (N_2S) から誘導される C_9 (2個の縮合環を有する) ;

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

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

カルバゾール (N_1)、ジベンゾフラン (O_1)、ジベンゾチオフエン (S_1)、カルボリン (N_2)、ペリミジン (N_2)、ピリドインドール (N_2) から誘導される C_{13} (3個の縮合環を有する) ;、及び

アクリジン (N_1)、キサンテン (O_1)、チオキサンテン (S_1)、オキサントレン (O_2)、フェノキサチン (O_1S_1)、フェナジン (N_2)、フェノキサジン (N_1O_1)、フェノチアジン (N_1S_1)、チアントレン (S_2)、フェナントリジン (N_1)、フェナントロリン (N_2)、フェナジン (N_2) から誘導される C_{14} (3個の縮合環を有する) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0323】

上記の基は、単独であるかまたは別の置換基の一部であるかにかかわらず、それら自体及び以下に列挙した追加の置換基から選択される1つまたは複数の基でそれら自体が任意に置換されていてよい。

【0324】

ハロ：-F、-Cl、-Br、及び-I。

【0325】

ヒドロキシ：-OH。

【0326】

エーテル：-OR、式中、Rはエーテル置換基、例えば、 C_{1-7} アルキル基 (下で論じ

10

20

30

40

50

る、 C_{1-7} アルコキシ基とも称される)、 C_{3-20} ヘテロシクリル基 (C_{3-20} ヘテロシクリルオキシ基とも称される) または C_{5-20} アリール基 (C_{5-20} アリールオキシ基とも称される) であり、好ましくは C_{1-7} アルキル基である。

【0327】

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

【0328】

10

アセタール： $-CH(OR^1)(OR^2)$ 、式中、 R^1 及び R^2 は、独立してアセタール置換基、例えば、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基もしくは C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基であるか、または「環式」アセタール基の場合、 R^1 及び R^2 は、それらが結合している2個の酸素原子、及びそれらが結合している炭素原子と一緒に、4～8個の環原子を有する複素環を形成する。アセタール基の例としては、 $-CH(OMe)_2$ 、 $-CH(OEt)_2$ 、及び $-CH(OMe)(OEt)$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0329】

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

20

【0330】

ケタール： $-CR(OR^1)(OR^2)$ 、式中、 R^1 及び R^2 は、アセタールで定義した通りであり、 R は、水素以外のケタール置換基、例えば、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である。ケタール基の例としては、 $-C(Me)(OMe)_2$ 、 $-C(Me)(OEt)_2$ 、 $-C(Me)(OMe)(OEt)$ 、 $-C(Et)(OMe)_2$ 、 $-C(Et)(OEt)_2$ 、及び $-C(Et)(OMe)(OEt)$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0331】

30

ヘミケタール： $-CR(OH)(OR^1)$ 、式中、 R^1 はヘミアセタールで定義した通りであり、 R は、水素以外のヘミケタール置換基、例えば、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である。ヘミアセタール基の例としては、 $-C(Me)(OH)(OMe)$ 、 $-C(Et)(OH)(OMe)$ 、 $-C(Me)(OH)(OEt)$ 、及び $-C(Et)(OH)(OEt)$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0332】

オキソ (ケト、-オン) : $=O$ 。

【0333】

チオン (チオケトン) : $=S$ 。

40

【0334】

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

【0335】

ホルミル (カルバルデヒド、カルボキシアルデヒド) : $-C(=O)H$ 。

【0336】

アシル (ケト) : $-C(=O)R$ 、式中、 R はアシル置換基、例えば、 C_{1-7} アルキル基 (C_{1-7} アルキルアシルまたは C_{1-7} アルカノイルとも称される)、 C_{3-20} ヘテロシクリ

50

ル基 (C_{3-20} ヘテロシクリルアシルとも称される)、または C_{5-20} アリール基 (C_{5-20} アリールアシルとも称される)、好ましくは C_{1-7} アルキル基である。アシル基の例としては、 $-C(=O)CH_3$ (アセチル)、 $-C(=O)CH_2CH_3$ (プロピオニル)、 $-C(=O)C(CH_3)_3$ (t-ブチリル)、及び $-C(=O)Ph$ (ベンゾイル、フェノン) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0337】

カルボキシ (カルボン酸) : $-C(=O)OH$ 。

【0338】

チオカルボキシ (チオカルボン酸) : $-C(=S)SH$ 。

【0339】

チオロカルボキシ (チオロカルボン酸) : $-C(=O)SH$ 。

【0340】

チオノカルボキシ (チオノカルボン酸) : $-C(=S)OH$ 。

【0341】

イミド酸 : $-C(=NH)OH$ 。

【0342】

ヒドロキサム酸 : $-C(=NOH)OH$ 。

【0343】

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

【0344】

アシルオキシ (逆エステル) : $-OC(=O)R$ 、式中、Rはアシルオキシ置換基、例えば、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である。アシルオキシ基の例としては、 $-OC(=O)CH_3$ (アセトキシ)、 $-OC(=O)CH_2CH_3$ 、 $-OC(=O)C(CH_3)_3$ 、 $-OC(=O)Ph$ 、及び $-OC(=O)CH_2Ph$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0345】

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

【0346】

アミノ : $-NR^1R^2$ 、式中、 R^1 及び R^2 は独立して、アミノ置換基、例えば、水素、 C_{1-7} アルキル基 (C_{1-7} アルキルアミノまたはジ- C_{1-7} アルキルアミノとも称される)、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、もしくは C_{5-20} アリール基、好ましくはHもしくは C_{1-7} アルキル基であるか、または「環式」アミノ基の場合、 R^1 及び R^2 は、それらが結合している窒素原子と一緒に、4~8個の環原子を有する複素環を形成する。アミノ基は、1級 ($-NH_2$)、2級 ($-NHR^1$) または 3級 ($-NHR^1R^2$) であってよく、カチオン形態において、4級 ($-^+NR^1R^2R^3$) であってよい。アミノ基の例としては、 $-NH_2$ 、 $-NHCH_3$ 、 $-NHC(CH_3)_2$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-N(CH_2CH_3)_2$ 、及び $-NHPh$ が挙げられるが、これらに限定されない。環式アミノ基の例としては、アジリジノ、アゼチジノ、ピロリジノ、ピペリジノ、ピペラジノ、モルフォリノ、及びチオモルフォリノが挙げられるが、これらに限定されない。

【0347】

アミド (カルバモイル、カルバミル、アミノカルボニル、カルボキサミド) : $-C(=O)NR^1R^2$ 、式中、 R^1 及び R^2 は独立して、アミノ基で定義した通りのアミノ置換基で

10

20

30

40

50

ある。アミド基の例としては、 $-C(=O)NH_2$ 、 $-C(=O)NHCH_3$ 、 $-C(=O)N(CH_3)_2$ 、 $-C(=O)NHCH_2CH_3$ 、及び $-C(=O)N(CH_2CH_3)_2$ 、ならびに R^1 及び R^2 が、それらが結合している窒素原子と一緒にあって、例えば、ピペリジノカルボニル、モルフォリノカルボニル、チオモルフォリノカルボニル、及びピペラジノカルボニルにおけるような複素環構造を形成するアミド基が挙げられるが、これらに限定されない。

【0348】

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

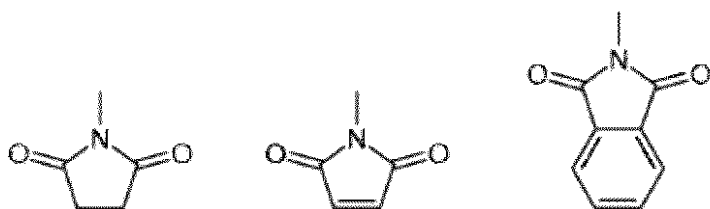
10

【0349】

アシルアミド（アシルアミノ）： $-NR^1C(=O)R^2$ 、式中、 R^1 はアミド置換基、例えば、水素、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくは水素または C_{1-7} アルキル基であり、 R^2 はアシル置換基、例えば、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくは水素または C_{1-7} アルキル基である。アシルアミド基の例としては、 $-NHC(=O)CH_3$ 、 $-NHC(=O)CH_2CH_3$ 、及び $-NHC(=O)Ph$ が挙げられるが、これらに限定されない。 R^1 及び R^2 は一緒にあって、例えば、スクシンイミジル、マレイミジル、及びフタルイミジルにおけるような環構造を形成し得る：

20

【化41】



スクシンイミジル マレイミジル フタルイミジル

【0350】

30

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

【0351】

ウレイド： $-N(R^1)CONR^2R^3$ 、式中、 R^2 及び R^3 は独立して、アミノ基で定義した通りのアミノ置換基であり、 R^1 はウレイド置換基、例えば、水素、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくは水素または C_{1-7} アルキル基である。ウレイド基の例としては、 $-NHCONH_2$ 、 $-NHCONHMe$ 、 $-NHCONHEt$ 、 $-NHCONMe_2$ 、 $-NHCONEt_2$ 、 $-NMeCONH_2$ 、 $-NMeCONHMe$ 、 $-NMeCONHEt$ 、 $-NMeCONMe_2$ 、及び $-NMeCONEt_2$ が挙げられるが、これらに限定されない。

40

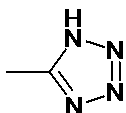
【0352】

グアニジノ： $-NH-C(=NH)NH_2$ 。

【0353】

テトラゾリル：4個の窒素原子及び1個の炭素原子を有する5員芳香族環。

【化 4 2】



【0 3 5 4】

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

10

【0 3 5 5】

アミジン（アミジノ）： $-C(=NR)NR_2$ 、式中、各Rはアミジン置換基、例えば、水素、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくはHまたは C_{1-7} アルキル基である。アミジン基の例としては、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(=NH)NMe_2$ 、及び $-C(=NMe)NMe_2$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0 3 5 6】

ニトロ： $-NO_2$ 。

【0 3 5 7】

ニトロソ： $-NO$ 。

20

【0 3 5 8】

アジド： $-N_3$ 。

【0 3 5 9】

シアノ（ニトリル、カルボニトリル）： $-CN$ 。

【0 3 6 0】

イソシアノ： $-NC$ 。

【0 3 6 1】

シアナト： $-OCN$ 。

【0 3 6 2】

イソシアナト： $-NCO$ 。

30

【0 3 6 3】

チオシアノ（チオシアナト）： $-SCN$ 。

【0 3 6 4】

イソチオシアノ（イソチオシアナト）： $-NCS$ 。

【0 3 6 5】

スルフヒドリル（チオール、メルカプト）： $-SH$ 。

【0 3 6 6】

チオエーテル（スルフィド）： $-SR$ 、式中、Rはチオエーテル置換基、例えば、 C_{1-7} アルキル基（ C_{1-7} アルキルチオ基とも称される）、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である。 C_{1-7} アルキルチオ基の例としては、 $-SCH_3$ 、及び $-SCH_2CH_3$ が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0 3 6 7】

ジスルフィド： $-SS-R$ 、式中、Rはジスルフィド置換基、例えば、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基（本明細書で C_{1-7} アルキルジスルフィドとも称される）。 C_{1-7} アルキルジスルフィド基の例としては、 $-SSCH_3$ 及び $-SSCH_2CH_3$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0 3 6 8】

スルフィン（スルフィニル、スルホキシド）： $-S(=O)R$ 、式中、Rはスルフィン置換基、例えば、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基

50

、好ましくは C_{1-7} アルキル基である。スルフィン基の例としては、 $-S(=O)CH_3$ 及び $-S(=O)CH_2CH_3$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0369】

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

10

【0370】

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

【0371】

スルホン酸（スルホ）： $-S(=O)_2OH$ 、 $-SO_3H$ 。

【0372】

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

20

【0373】

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

30

【0374】

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

【0375】

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

40

【0376】

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

【0377】

スルファミル（スルファミイル；スルフィン酸アミド；スルフィンアミド）： $-S(=O)NR^1R^2$ 、式中、 R^1 及び R^2 は独立して、アミノ基で定義した通りのアミノ置換基で

50

ある。スルファミル基の例としては、 $-S(=O)NH_2$ 、 $-S(=O)NH(CH_3)$ 、 $-S(=O)N(CH_3)_2$ 、 $-S(=O)NH(CH_2CH_3)$ 、 $-S(=O)N(CH_2CH_3)_2$ 、及び $-S(=O)NHPh$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0378】

スルホンアミド（スルフィナモイル；スルホン酸アミド；スルホンアミド）： $-S(=O)_2NR^1R^2$ 、式中、 R^1 及び R^2 は独立して、アミノ基で定義した通りのアミノ置換基である。スルホンアミド基の例としては、 $-S(=O)_2NH_2$ 、 $-S(=O)_2NH(CH_3)$ 、 $-S(=O)_2N(CH_3)_2$ 、 $-S(=O)_2NH(CH_2CH_3)$ 、 $-S(=O)_2N(CH_2CH_3)_2$ 、及び $-S(=O)_2NHPh$ が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0379】

スルファミノ： $-NR^1S(=O)_2OH$ 、式中、 R^1 は、アミノ基で定義した通りのアミノ置換基である。スルファミノ基の例としては、 $-NHS(=O)_2OH$ 、及び $-N(CH_3)S(=O)_2OH$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0380】

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

20

【0381】

スルフィンアミノ： $-NR^1S(=O)R$ 、式中、 R^1 は、アミノ基で定義した通りのアミノ置換基であり、 R はスルフィンアミノ置換基、例えば、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくは C_{1-7} アルキル基である。スルフィンアミノ基の例としては、 $-NHS(=O)CH_3$ 、及び $-N(CH_3)S(=O)C_6H_5$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0382】

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

30

【0383】

ホスホ： $-P(=O)_2$ 。

【0384】

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

40

【0385】

ホスホン酸（ホスホノ）： $-P(=O)(OH)_2$ 。

【0386】

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

【0387】

50

リン酸（ホスホノオキシ）： $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OH})_2$ 。

【0388】

ホスフェート（ホスホノオキシエステル）： $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OR})_2$ 、式中、Rはホスフェート置換基、例えば、 $-\text{H}$ 、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくは $-\text{H}$ 、 C_{1-7} アルキル基、または C_{5-20} アリール基である。ホスフェート基の例としては、 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_3)_2$ 、 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{O}-t-\text{Bu})_2$ 、及び $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OPh})_2$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0389】

亜リン酸： $-\text{OP}(\text{OH})_2$ 。

10

【0390】

ホスファイト： $-\text{OP}(\text{OR})_2$ 、式中、Rはホスファイト置換基、例えば、 $-\text{H}$ 、 C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくは $-\text{H}$ 、 C_{1-7} アルキル基、または C_{5-20} アリール基である。ホスファイト基の例としては、 $-\text{OP}(\text{OCH}_3)_2$ 、 $-\text{OP}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{OP}(\text{O}-t-\text{Bu})_2$ 、及び $-\text{OP}(\text{OPh})_2$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0391】

ホスホラミダイト： $-\text{OP}(\text{OR}^1)-\text{NR}^2_2$ 、式中、 R^1 及び R^2 はホスホラミダイト置換基、例えば、 $-\text{H}$ 、（任意に置換された） C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくは $-\text{H}$ 、 C_{1-7} アルキル基、または C_{5-20} アリール基である。ホスホラミダイト基の例としては、 $-\text{OP}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{OP}(\text{OCH}_2\text{CH}_3)-\text{N}(i-\text{Pr})_2$ 、及び $-\text{OP}(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN})-\text{N}(i-\text{Pr})_2$ が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0392】

ホスホルアミデート： $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OR}^1)-\text{NR}^2_2$ 、式中、 R^1 及び R^2 はホスホルアミデート置換基、例えば、 $-\text{H}$ 、（任意に置換された） C_{1-7} アルキル基、 C_{3-20} ヘテロシクリル基、または C_{5-20} アリール基、好ましくは $-\text{H}$ 、 C_{1-7} アルキル基、または C_{5-20} アリール基である。ホスホルアミデート基の例としては、 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_3)-\text{N}(i-\text{Pr})_2$ 、及び $-\text{OP}(=\text{O})(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN})-\text{N}(i-\text{Pr})_2$ が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0393】

アルキレン

C_{3-12} アルキレン：「 C_{3-12} アルキレン」という用語は、本発明で用いるとき、脂肪族または脂環式であってよく、飽和、部分不飽和または完全不飽和であってよい、3～12個の炭素原子（別途指定しない限り）を有する炭化水素化合物の、両方とも同じ炭素原子からまたは1個ずつ2個の異なる炭素原子それぞれから、2個の水素原子を除去することによって得られる二座部分に関する。ゆえに、「アルキレン」という用語は、下で論じるサブクラスのアルケニレン、アルキニレン、シクロアルキレン等を含む。

【0394】

直鎖飽和 C_{3-12} アルキレン基の例としては、nが3～12の整数である $-(\text{CH}_2)_n-$ 、例えば、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ （プロピレン）、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ （ブチレン）、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ （ペンチレン）、及び $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ （ヘプチレン）が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0395】

分枝飽和 C_{3-12} アルキレン基の例としては、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-$ 、 $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ 、及び $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ が挙げられるが、これらに限定されない。

50

【0396】

直鎖部分不飽和 C_{3-12} アルキレン基 (C_{3-12} アルケニレン、及びアルキニレン基) の例としては、 $-CH=CH-CH_2-$ 、 $-CH_2-CH=CH_2-$ 、 $-CH=CH-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH=CH-CH_2-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH=CH-CH=CH-$ 、 $-CH=CH-CH=CH-CH_2-$ 、 $-CH=CH-CH=CH-CH_2-CH_2-$ 、 $-CH=CH-CH_2-CH=CH-$ 、 $-CH=CH-CH_2-CH_2-CH=CH-$ 、及び $-CH_2-C\equiv C-CH_2-$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0397】

分枝部分不飽和 C_{3-12} アルキレン基 (C_{3-12} アルケニレン、及びアルキニレン基) の例としては、 $-C(CH_3)=CH-$ 、 $-C(CH_3)=CH-CH_2-$ 、 $-CH=CH-C(CH_3)-$ 、及び $-C\equiv C-CH(CH_3)-$ が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0398】

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

【0399】

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

20

【0400】

他の形態を含む

別途指定しない限り、上記に含まれるのは、これらの置換基の周知のイオン性、塩、溶媒和物及び保護形態である。例えば、カルボン酸 ($-COOH$) に言及すると、そのアニオン性 (カルボキシレート) 形態 ($-COO^-$)、塩または溶媒和物、ならびに従来の保護形態も含まれる。同様に、アミノ基に言及すると、アミノ基のプロトン化形態 ($-NH^+HR^1R^2$)、塩または溶媒和物、例えば、塩酸塩、ならびにアミノ基の従来の保護形態が含まれる。同様に、ヒドロキシル基に言及すると、そのアニオン性形態 ($-O^-$)、塩または溶媒和物、ならびに従来の保護形態も含まれる。

30

【0401】

塩

薬物リンカー化合物の対応する塩、例えば、医薬的に許容され得る塩を調製、精製、及び／または取り扱うことが好都合であるまたは望ましいことがある。医薬的に許容され得る塩の例は、Berge, et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977) で論じられている。

【0402】

例えば、化合物がアニオン性である、またはアニオン性であってよい官能基を有する (例えば、 $-COOH$ は COO^- であってよい) 場合、塩は、好適なカチオンと共に形成され得る。好適な無機カチオンの例としては、 Na^+ 及び K^+ などのアルカリ金属イオン、 Ca^{2+} 及び Mg^{2+} などのアルカリ土類カチオンならびに Al^{3+} などの他のカチオンが挙げられるが、これらに限定されない。好適な有機カチオンの例としては、アンモニウムイオン (すなわち、 NH_4^+) 及び置換アンモニウムイオン (例えば、 NH_3R^+ 、 $NH_2R_2^+$ 、 NHR_3^+ 、 NR_4^+) が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの好適な置換アンモニウムイオンの例は、エチルアミン、ジエチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、トリエチルアミン、ブチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジン、ベンジルアミン、フェニルベンジルアミン、コリン、メグルミン及びトロメタミン、ならびにリシン及びアルギニンなどのアミノ酸から誘導されるものである。通常の第4級アンモニウムイオンの一例は、 $N(CH_3)_4^+$ である。

40

50

【0403】

化合物がカチオン性である、またはカチオン性であってよい官能基を有する場合（例えば、 $-\text{NH}_2$ は $-\text{NH}_3^+$ であってよい）、塩は、好適なアニオンと共に形成され得る。好適な無機アニオンの例としては、以下の無機酸：塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、亜硫酸、硝酸、亜硝酸、リン酸及び亜リン酸から誘導されるものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0404】

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

【0405】

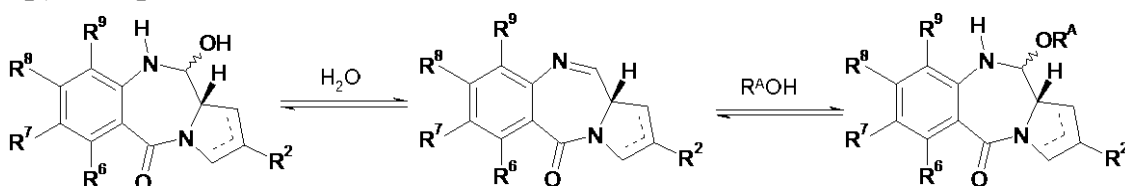
溶媒和物

薬物リンカー化合物の対応する溶媒和物を調製、精製及び／または取り扱うことが好都合であるまたは望ましいことがある。「溶媒和物」という用語は、本明細書において、溶質（例えば、活性化合物、活性化合物の塩）及び溶媒の複合体を指す従来の意味で使用される。溶媒が水である場合、溶媒和物は、好都合には水和物、例えば、一水和物、二水和物、三水和物等と称してよい。

【0406】

本発明は、以下に示す、PBD部分のイミン結合にまたがって溶媒が付加する化合物を含み、式中、溶媒は、水またはアルコール（ R^AOH 、式中、 R^A は C_{1-4} アルキルである）である。

【化43】



【0407】

これらの形態は、（上記の R^{10} に関連する項に記載されている通り）PBDのカルビノールアミン型及びカルビノールアミンエーテル型と呼ぶことができる。これらの平衡の均衡点は、化合物が見出される条件ならびにPBD部分自体の性質に依存する。

【0408】

これらの特定の化合物は、例えば、凍結乾燥によって固形で単離されてよい。

【0409】

異性体

本発明のある特定の化合物は、1種または複数の特定の幾何異性体、光学異性体、鏡像異性体、ジアステレオ異性体、エピマー異性体、アトロプ異性体、立体異性体、互変異性体、配座異性体、またはアノマー異性体の形で存在することができ、そのような異性体として以下が挙げられるが、それらに限定されない：cis型及びtrans型；E型及びZ型；c型、t型、及びr型；エンド型及びエキソ型；R型、S型、及びメソ型；D型及びL型；d型及びl型；（+）型及び（-）型；ケト型、エノール型、及びエノラート型；シン型及びアンチ型；シンクリナル型及びアンチクリナル型； α 型及び β 型；アキシヤ

ル型及びエクアトリアル型；船型、椅子型、ねじれ型、封筒型、及び半椅子型；ならびにそれらの組み合わせ。本明細書中以下、これらをまとめて「異性体」（または「異性体型」）と称する。

【0410】

「キラル」という用語は、鏡像の相手と重ね合わせることができない性質を有する分子を示し、一方「アキラル」という用語は、鏡像の相手と重ね合わせることができる分子を示す。

【0411】

「立体異性体」という用語は、同一の化学構成を有するが、原子または基の空間配置に関して異なる化合物を示す。

【0412】

「ジアステレオマー」は2つ以上のキラル中心を持つものを示し、それらの分子は、お互いの鏡像ではない、立体異性体を指す。ジアステレオマーは、異なる物性、例えば、融点、沸点、スペクトル特性、及び反応性を有する。ジアステレオマーの混合物は、電気泳動及びクロマトグラフィーなどの高分解能分析手法の下で分離され得る。

【0413】

「鏡像異性体」は、1つの化合物の2つの立体異性体を示し、これらは互いに重なり合わない鏡像である。

【0414】

本明細書において用いる立体化学の定義及び観念は、概して、S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; 及び Eliel, E. and Wilen, S., "Stereochemistry of Organic Compounds", John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994 に従う。本発明の化合物は、不斉中心またはキラル中心を含有し得、したがって、異なる立体異性体型で存在し得る。ジアステレオマー、鏡像異性体及びアトロプ異性体、ならびにラセミ混合物などのそれらの混合物を含むが、これらに限定されない、本発明の化合物のすべての立体異性体型は、本発明の一部を形成することが意図される。多くの有機化合物は、光学活性形態で存在する、すなわち、それらは平面偏光を旋回させる能力を有する。光学活性化合物を説明する際、D 及び L、または R 及び S という接頭辞は、そのキラル中心（複数可）に対する分子の絶対配置を表すために使用する。d 及び l または (+) 及び (-) という接頭辞は、化合物による平面偏光の旋回の符号を示すために用いられ、(-) または l は、化合物が左旋性であることを意味する。(+) または d を接頭辞として伴う化合物は、右旋性である。所与の化学構造について、これらの立体異性体は、互いに鏡像であることを除いて同一である。特定の立体異性体は、鏡像異性体と称されることもあり、こうした異性体の混合物は、しばしば鏡像異性体混合物と呼ばれる。鏡像異性体の 50 : 50 の混合物は、ラセミ混合物またはラセミ体と称され、これは化学反応または化学プロセスにおいて立体選択性または立体特異性がない場合に生じ得る。「ラセミ混合物」及び「ラセミ体」という用語は、光学活性を欠いている2つの鏡像異性体種の等モル混合物を示す。

【0415】

なお、以下で記載されるような互変異性体型を除き、本明細書で用いるとき、「異性体」という用語から具体的に除外されるのは、構造（または構成的）異性体（すなわち、単に空間での原子の位置が異なるというより、むしろ原子間の結合が異なる異性体）である。例えば、メトキシ基、 $-OCH_3$ に言及する場合、その構造異性体であるヒドロキシメチル基、 $-CH_2OH$ を指すと解釈されるべきではない。同様に、オルトクロロフェニルに言及する場合、その構造異性体であるメタクロロフェニルを指すと解釈されるべきではない。しかしながら、あるクラスの構造に言及する場合、そのクラスに含まれる構造異性体型を十分に含み得る（例えば、 C_{1-7} アルキルは、*n*-プロピル及びイソプロピルを含み；ブチルは、*n*-、イソ-、*sec*-及び*tert*-ブチルを含み；メトキシフェ

10

20

30

40

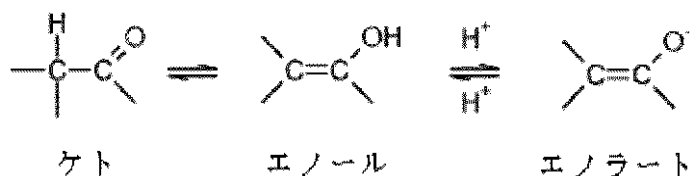
50

ニルは、オルトー、メター及びパラメトキシフェニルを含む)。

【0416】

上記の除外は、例えば、以下の互変異性対：ケト／エノール（以下に図示）、イミン／エナミン、アミド／イミノアルコール、アミジン／アミジン、ニトロソ／オキシム、チオケトン／エンチオール、N-ニトロソ／ヒドロキシアゾ、及びニトロ／a c i-ニトロにおけるような、互変異性体型、例えば、ケト型、エノール型及びエノラート型に関するものではない。

【化44】



10

【0417】

「互変異性体」または「互変異性型」という用語は、低いエネルギー障壁を介して相互変換可能である異なるエネルギーの構造異性体を示す。例えばプロトン互変異性体（プロトトロピー互変異性体としても知られる）は、ケト-エノール及びイミン-エナミン異性化などプロトンの移動を介する相互変換を含む。原子価互変異性体は、結合性電子の一部の再編成による相互変換を含む。

20

【0418】

なお、1つまたは複数の同位体置換がなされている化合物も、「異性体」という用語に具体的に含まれる。例えば、Hは、 ^1H 、 ^2H (D)、及び ^3H (T)を含むいずれの同位体型でもよく；Cは、 ^{12}C 、 ^{13}C 、及び ^{14}C を含むいずれの同位体型でもよく；Oは、 ^{16}O 及び ^{18}O を含むいずれの同位体型でもよい等である。

【0419】

本発明の化合物に組み込むことができる同位体の例として、水素、炭素、窒素、酸素、リン、フッ素、及び塩素の同位体、例えば、 ^2H (重水素、D)、 ^3H (トリチウム)、 ^{11}C 、 ^{13}C 、 ^{14}C 、 ^{15}N 、 ^{18}F 、 ^{31}P 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、及び ^{125}I が挙げられるが、これらに限定されない。本発明の化合物を様々に同位体標識したもの、例えば、 ^3H 、 ^{13}C 、及び ^{14}C などの放射性同位元素を組み込んだもの。そのような同位体標識した化合物は、薬物もしくは基質の組織分布アッセイを含む、代謝研究、反応速度研究、検出もしくは画像化技術、例えば、陽電子放射断層撮影 (PET) もしくは単光子放射型コンピュータ断層撮影法 (SPECT) において、または患者の放射性治療において、有用である可能性がある。重水素で標識または置換した本発明の治療化合物は、分布、代謝、及び排出 (ADME) に関連する DMPK (薬物代謝及び薬物動態) 特性が改善される可能性がある。重水素などのより重い同位体での置換は、代謝安定性の増加、例えば、in vivo 半減期の増加または投薬必要量の低下からもたらされる、ある治療上の利点を提供し得る。 ^{18}F 標識化合物は、PET または SPECT 試験に有用であり得る。同位体標識した本発明の化合物及びそのプロドラッグは、一般に、以下に記載されるスキームまたは実施例及び調製例に開示される手順を、非同位体標識化試薬を容易に入手可能な同位体標識化試薬に置き換えることにより実施することで、調製することができる。さらに、より重い同位体、特に重水素（すなわち、 ^2H または D）での置換は、代謝安定性の増加、例えば、in vivo 半減期の増加または投薬必要量の低下または治療指数の改善からもたらされる、ある治療上の利点を提供する可能性がある。当然のことながら、本文脈における重水素は、置換基と見なされる。そのような重い同位体、特に重水素の濃度は、同位体濃縮係数により定義してよい。本発明の化合物において、特定の同位体として具体的に指定されていない原子はいずれも、その原子の任意の安定同位体を表すものとする。

30

40

【0420】

別途指定しない限り、特定の化合物への言及は、異性体型の（完全または部分）ラセミ

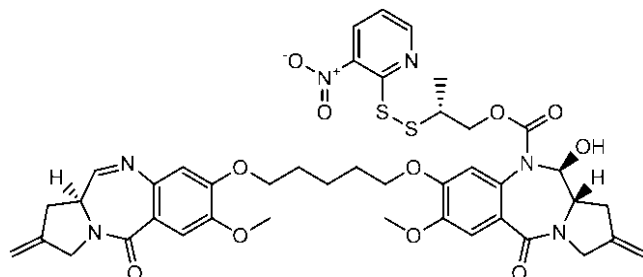
50

混合物及び他の混合物も含めて、すべてのそのような異性体を含む。そのような異性体を調製（例えば、不斉合成）及び分離（例えば、分別結晶及びクロマトグラフィー手段）する方法は、当該分野で既知であるか、あるいは本明細書中で教示される方法または既知の方法を既知の様式で適合させることにより容易に得られる。

【0421】

例示的な式 I の薬物リンカー化合物には、以下が含まれる。

【化 45】

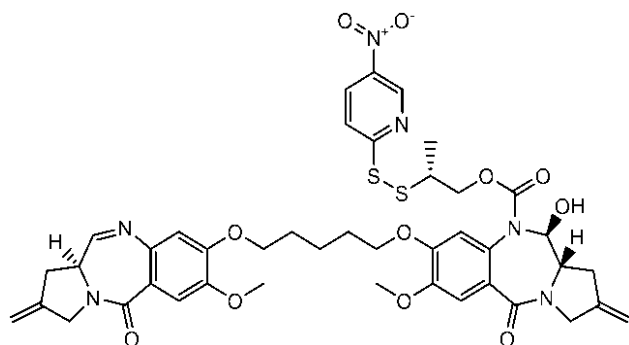


10

(11S, 11aS) - ((R) - 2 - ((3-ニトロピリジン-2-イル) ジスルファニル) プロピル) 11-ヒドロキシ-7-メトキシ-8-(5-((S)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2, 3, 5, 11a-テトラヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1, 2-a][1, 4]ジアゼピン-8-イルオキシ)ペンチルオキシ)-2-メチレン-5-オキソ-2, 3, 11, 11a-テトラヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1, 2-a][1, 4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート

20

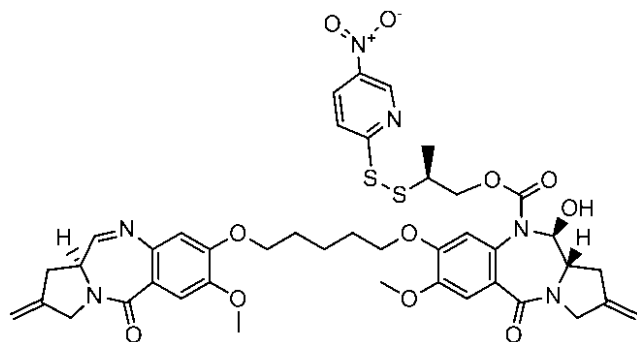
【化 46】



30

(11S, 11aS) - ((R) - 2 - ((5-ニトロピリジン-2-イル) ジスルファニル) プロピル) 11-ヒドロキシ-7-メトキシ-8-(5-((S)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2, 3, 5, 11a-テトラヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1, 2-a][1, 4]ジアゼピン-8-イルオキシ)ペンチルオキシ)-2-メチレン-5-オキソ-2, 3, 11, 11a-テトラヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1, 2-a][1, 4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート

【化 47】

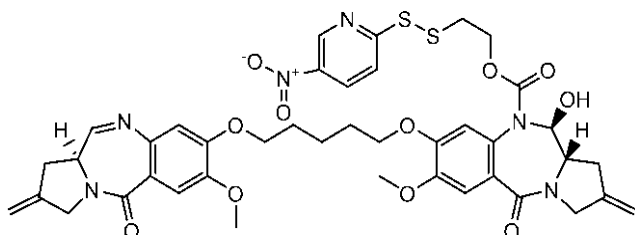


40

(11S, 11aS) - ((S) - 2 - ((5-ニトロピリジン-2-イル) ジスルファニル) プロピル) 11-ヒドロキシ-7-メトキシ-8-(5-((S)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2, 3, 5, 11a-テトラヒドロ-1H-ベンゾ[e]

50

ピロロ [1, 2-a] [1, 4] ジアゼピン-8-イルオキシ) ペンチルオキシ) -2-
メチレン-5-オキソ-2, 3, 11, 11a-テトラヒドロ-1H-ベンゾ [e] ピロ
ロ [1, 2-a] [1, 4] ジアゼピン-10 (5H) -カルボキシレート
【化 4 8】



10

(11S, 11aS) -2-((5-ニトロピリジン-2-イル) ジスルファニル) エチ
ル 11-ヒドロキシ-7-メトキシ-8-(5-((S)-7-メトキシ-2-メチレン
-5-オキソ-2, 3, 5, 11a-テトラヒドロ-1H-ベンゾ [e] ピロロ [1, 2
-a] [1, 4] ジアゼピン-8-イルオキシ) ペンチルオキシ) -2-メチレン-5-
オキソ-2, 3, 11, 11a-テトラヒドロ-1H-ベンゾ [e] ピロロ [1, 2-a
] [1, 4] ジアゼピン-10 (5H) -カルボキシレート

【0422】

生物活性

In vitro 細胞増殖アッセイ

20

一般に、抗体-薬物コンジュゲート (ADC) の細胞傷害活性または細胞分裂阻害活性は、以下により測定される：受容体タンパク質、例えば、HER2、を有する哺乳類細胞を、細胞培養培地中で、ADCの抗体に曝露させること；約6時間～約5日間の期間にわたって細胞を培養すること；及び細胞生存度を測定すること。細胞に基づく in vitro アッセイは、本発明のADCの生存度（増殖度）、細胞毒性、及びアポトーシス誘導（カスパーゼ活性化）を測定するのに用いられる。

【0423】

抗体-薬物コンジュゲートの in vitro 作用強度は、細胞増殖アッセイにより測定することができる。Cell Titer-Glo（登録商標）発光細胞生存度アッセイは、市販されている（Promega Corp.、ウィスコンシン州マディソン）、甲虫ルシフェラーゼの組換え発現に基づく均一アッセイ方法である（米国特許第5583024号；同第5674713号及び同第5700670号）。この細胞増殖アッセイは、存在するATPを定量することに基づき、代謝活性な細胞の指標である、培養物中の生存細胞の数を決定する（Crouch et al (1993) J. Immunol. Meth. 160:81-88; US6602677）。Cell Titer-Glo（登録商標）アッセイは、96ウェル形式で行われ、このため自動化された高処理スクリーニング系（HTS）に変更することができる（Cree et al (1995) Anti Cancer Drugs 6:398-404）。均一アッセイ手順は、単一試薬（Cell Titer-Glo（登録商標）試薬）を、血清補充培地で培養されている細胞に直接添加することを含む。細胞洗浄、培地の除去、及び複数回のピペット操作工程は必要としない。このシステムは、試薬を添加して混合した後10分で、384ウェル形式において、15個の細胞／ウェルほどの少数でも検出する。細胞は、ADCで処理され続けてもよく、または処理してADCから分離されてもよい。一般に、手短に、すなわち3時間ほど処理された細胞は、処理され続けた細胞と同じ作用強度を示した。

30

40

【0424】

均一な「添加混合測定」形式は、細胞溶解及びATP存在量に比例する発光信号の発生をもたらす。ATPの量は、培養物中に存在する細胞の数と直接比例する。Cell Titer-Glo（登録商標）アッセイは、ルシフェラーゼ反応により作り出される「グロー型」発光信号を発生させ、この信号は、用いる細胞の型及び培地に依存するが、一般に5時間より長い半減期を有する。生存細胞は、相対発光単位（RLU）に反映される。基

50

質である、甲虫ルシフェリンは、A T PからA M Pへの変換及び光子の発生を伴いながら、組換えホタルルシフェラーゼにより酸化的に脱カルボン酸化される。

【0425】

*in vivo*有効性

本発明の抗体-薬物コンジュゲート (ADC) の *in vivo*有効性は、マウスでの腫瘍異種移植片試験により測定することができる。例えば、本発明の抗HER2 ADCの *in vivo*有効性は、高発現性HER2遺伝子導入外植片マウスモデルにより測定することができる。同種移植片は、F05mmtv遺伝子導入マウスから増殖されるが、この移植片は、HERCEPTIN (登録商標) 治療に応答しない、または応答が不十分である。対象を、ある特定の用量レベル (mg/kg) のADC及びPBD薬物曝露 ($\mu\text{g}/\text{m}^2$) で、ならびにプラセボ緩衝剤対照 (ビヒクル) で、1回処置し、2週間以上にわたり観察して、腫瘍倍加の時間、細胞殺傷の対数、及び腫瘍縮小を測定することができる。

10

【0426】

使用

本明細書に記載のコンジュゲートは、PBD化合物を標的位置に提供するために使用してよい。

【0427】

標的位置は、好ましくは増殖性細胞集団である。抗体は、増殖性細胞集団中に存在する抗原に対する抗体である。

20

【0428】

一実施形態では、抗原は非増殖性細胞集団に、存在しないか、または増殖性細胞集団、例えば、腫瘍細胞集団に存在する抗原の量と比較して低いレベルで存在する。

【0429】

リンカーは、標的位置に存在する酵素によって切断されてよい。

【0430】

標的位置は、*in vitro*、*in vivo*または*ex vivo*であってよい。

【0431】

本明細書に記載の抗体-薬物コンジュゲート (ADC) 化合物には、抗癌活性に有用性を有するものが含まれる。具体的には、本化合物は、PBD薬物部分、すなわち毒素と、リンカーによりコンジュゲートした、すなわち共有結合的に結合した抗体を含む。薬物が抗体とコンジュゲートしていない場合、PBD薬物は細胞毒性効果を有する。ゆえに、PBD薬物部分の生物活性は、抗体とのコンジュゲーションによって調節される。本発明の抗体-薬物コンジュゲート (ADC) は、有効量の細胞毒性剤を腫瘍組織に選択的に送達し、それにより、より高い選択性、すなわちより低い有効用量を達成し得る。

30

【0432】

このため、治療において使用するためのコンジュゲート化合物を本明細書に記載する。

【0433】

増殖性疾患の処置において使用するためのコンジュゲート化合物も本明細書に記載する。増殖性疾患を処置するための医薬品の製造におけるコンジュゲート化合物の使用も本明細書に記載する。

40

【0434】

当業者は、候補コンジュゲートが任意の特定の細胞型に対する増殖性状態を処置するかどうかを容易に判定できる。例えば、特定の化合物によってもたらされた活性を評価するために好都合に使用され得るアッセイが、下の実施例に記載されている。

【0435】

「増殖性疾患」という用語は、過剰細胞または異常細胞の望ましくないまたは無秩序な細胞増殖に関係し、そのような増殖は、*in vitro*または*in vivo*にかかわらず、所望でない、例えば、新生物性または過形成性の成長である。

【0436】

50

増殖性状態の例としては、新生物及び腫瘍（例えば、組織球腫、神経膠腫、星状細胞腫、骨腫）、癌（例えば、肺癌、小細胞肺癌、消化管癌、腸癌、結腸癌、乳癌、卵巢癌、前立腺癌、精巣癌、肝臓癌、腎臓癌、膀胱癌、膵臓癌、脳腫瘍、肉腫、骨肉腫、カボジ肉腫、メラノーマ）、白血病、乾癬、骨疾患、（例えば、結合組織の）線維増殖性障害ならびにアテローム性動脈硬化を含むが、これに限定されない良性、前悪性及び悪性の細胞増殖が挙げられるが、これに限定されない。特に対象となる癌としては、白血病及び卵巢癌が挙げられるが、これに限定されない。

【0437】

肺、胃腸管（例えば、腸、結腸を含む）、胸部（乳房）、卵巢、前立腺、肝臓（肝性）、腎臓（腎性）、膀胱、膵臓、脳及び皮膚を含むが、これらに限定されない、任意の型の細胞が処置されてよい。

【0438】

一実施形態では、処置は、膵臓癌の処置である。

【0439】

一実施形態では、処置は、細胞の表面上に $\alpha_v\beta_6$ インテグリンを有する腫瘍の処置である。

【0440】

本明細書に記載の抗体-薬物コンジュゲート（ADC）は、例えば、腫瘍抗原の過剰発現を特徴とする様々な疾患または障害の処置に使用してよいと企図される。例示的な状態または過剰増殖性障害には、良性または悪性腫瘍；白血病、血液系及びリンパ系悪性腫瘍が含まれる。他には、ニューロン、グリア、星状細胞、視床下部、腺性、マクロファージ、上皮、ストロマ、胞胚腔、炎症性、血管新生、及び自己免疫を含む免疫性の障害が挙げられる。

【0441】

一般に、処置される疾患または障害は、癌などの過剰増殖性疾患である。本明細書で処置される癌の例としては、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫及び白血病またはリンパ系悪性腫瘍が挙げられるが、これらに限定されない。このような癌のより具体的な例としては、扁平細胞癌（例えば、上皮扁平細胞癌）、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌及び肺の扁平癌腫を含む肺癌、腹膜の癌、肝細胞癌、消化管癌を含む胃性癌または胃癌、膵臓癌、神経膠芽腫、子宮頸癌、卵巢癌、肝臓癌、膀胱癌、肝細胞腫、乳癌、結腸癌、直腸癌、直腸結腸癌、子宮内膜癌腫または子宮癌腫、唾液腺癌腫、腎臓癌または腎性癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝臓癌腫、肛門癌腫、陰茎癌腫ならびに頭頸部癌が挙げられる。

【0442】

ADC化合物が処置に使用され得る自己免疫疾患としては、リウマチ障害（例えば、関節リウマチ、シェーグレン症候群、強皮症、SLE及びループス腎炎などのループス、多発性筋炎／皮膚筋炎、クリオグロブリン血症、抗リン脂質抗体症候群及び乾癬性関節炎など）、骨関節炎、自己免疫性の胃腸及び肝臓障害（例えば、炎症性腸疾患（例えば、潰瘍性大腸炎及びクローン病）、自己免疫性の胃炎及び悪性貧血、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎及びセリアック病など）、血管炎（例えば、チャーグストラウス血管炎を含むANCA関連血管炎、ウェゲナー肉芽腫症及び多発動脈炎など）、自己免疫性神経障害（例えば、多発性硬化症、眼球クローンヌスミオクローンヌス症候群、重症筋無力症、視神経脊髄炎、パーキンソン病、アルツハイマー病及び自己免疫性多発ニューロパチーなど）、腎臓障害（例えば、糸球体腎炎、グッドパスチャー症候群及びベルジェ病など）、自己免疫性皮膚障害（例えば、乾癬、蕁麻疹、発疹、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡及び皮膚エリテマトーデス）、血液障害（例えば、血小板減少性紫斑病、血栓性血小板減少性紫斑病、輸血後紫斑病及び自己免疫性溶血性貧血など）、アテローム性動脈硬化、ぶどう膜炎、自己免疫性聴覚疾患（例えば、内耳疾患及び難聴など）、ベーチェット病、レイノー症候群、臓器移植ならびに自己免疫性内分泌障害（例えば、インスリン依存性真性糖尿病（IDDM）などの糖尿病関連自己免疫疾患、アジソン病及び自己免疫性甲状腺疾患（例えば、グレーブス病及び甲状腺炎）など）が挙げられる。より好ましいこ

のような疾患としては、例えば、関節リウマチ、潰瘍性大腸炎、ANCA関連血管炎、ループス、多発性硬化症、シェーグレン症候群、グレーブス病、IDDM、悪性貧血、甲状腺炎、及び糸球体腎炎が挙げられる。

【0443】

処置方法

本明細書に記載のコンジュゲートは、治療方法で使用してよい。処置を必要とする対象に治療有効量の本明細書に記載のコンジュゲート化合物を投与することを含む、処置方法も提供される。「治療有効量」という用語は、患者に対する利益を示すのに十分な量である。このような利益は、少なくとも1つの症状の少なくとも寛解であり得る。投与される実際の量ならびに投与の速度及び時間経過は、処置されているものの特性及び重篤度に依存するだろう。処置の処方、例えば、投薬量の決定は、一般の専門医及び他の医師の責任の範囲内である。

10

【0444】

化合物は、処置される病状に応じて、単独でまたは他の処置と組み合わせて、同時または順次のいずれかで投与してよい。処置及び治療の例としては、化学療法（例えば、化学療法薬などの薬物を含む、活性剤の投与）；外科手術；及び放射線療法が挙げられるが、これらに限定されない。

【0445】

「化学療法剤」は、その作用機序にかかわらず、癌の処置に有用な化学化合物である。化学療法剤のクラスとしては、アルキル化剤、代謝拮抗剤、紡錘体毒植物アルカロイド、細胞毒性／抗腫瘍性抗生物質、トポイソメラーゼ阻害剤、抗体、光感受性物質及びキナーゼ阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。化学療法剤には、「標的療法」及び従来の化学療法に使用される化合物が含まれる。

20

【0446】

化学療法剤の例としては、エルロチニブ（TARCEVA（登録商標）、Genentech／OSI Pharm.）、ドセタキセル（TAXOTERE（登録商標）、Sanofi-Aventis）、5-FU（フルオロウラシル、5-フルオロウラシル、CAS番号51-21-8）、ゲムシタビン（GEMZAR（登録商標）、Lilly）、PD-0325901（CAS番号391210-10-9、Pfizer）、シスプラチン（シス-ジアミン、ジクロロ白金（II）、CAS番号15663-27-1）、カルボプラチン（CAS番号41575-94-4）、パクリタキセル（TAXOL（登録商標）、Bristol-Myers Squibb Oncology、ニュージャージー州プリンストン）、トラスツズマブ（HERCEPTIN（登録商標）、Genentech）、テモゾロミド（4-メチル-5-オキソ-2, 3, 4, 6, 8-ペンタアザビシクロ[4. 3. 0]ノナ-2, 7, 9-トリエン-9-カルボキサミド、CAS番号85622-93-1、TEMODAR（登録商標）、TEMODAL（登録商標）、Schering Plough）、タモキシフェン（（Z）-2-[4-（1, 2-ジフェニルブター1-エニル）フェノキシ]-N, N-ジメチルエタンアミン、NOLVADEX（登録商標）、ISTUBAL（登録商標）、VALODEX（登録商標））、及びドキシソルピシン（ADRIAMYCIN（登録商標））、Akti-1/2、HPPD、及びラパマイシンが挙げられる。

30

40

【0447】

化学療法剤の更なる例としては、オキサリプラチン（ELOXATIN（登録商標）、Sanofi）、ボルテゾミブ（VELCADE（登録商標）、Millennium Pharm.）、スーテント（SUNITINIB（登録商標）、SU11248、Pfizer）、レトロゾール（FEMARA（登録商標）、Novartis）、イマチニブメシレート（GLEEVEC（登録商標）、Novartis）、XL-518（Meck阻害剤、Exelixis、WO2007/044515）、ARRY-886（Meck阻害剤、AZD6244、Array BioPharma、Astra Zeneca）、SF-1126（PI3K阻害剤、Semafore Pharmaceutical

50

als)、BEZ-235 (PI3K阻害剤、Novartis)、XL-147 (PI3K阻害剤、Exelixis)、PTK787/ZK 222584 (Novartis)、フルベストラント (FASLODEX (登録商標)、AstraZeneca)、ロイコボリン (フォリン酸)、ラパマイシン (シロリムス、RAPAMUNE (登録商標)、Wyeth)、ラパチニブ (TYKERB (登録商標)、GSK572016、Glaxo Smith Kline)、ロナファルニブ (SARASAR (商標)、SCH 66336、Schering Plough)、ソラフェニブ (NEXAVAR (登録商標)、BAY43-9006、Bayer Labs)、ゲフィチニブ (IRESSA (登録商標)、AstraZeneca)、イリノテカン (CAMPTOSAR (登録商標)、CPT-11、Pfizer)、チピファルニブ (ZARNESTRA (商標)、Johnson & Johnson)、ABRAXANE (商標) (クレモホール不含)、パクリタキセルのアルブミン操作ナノ粒子製剤 (American Pharmaceutical Partners、イリノイ州シャンバーグ)、バンデタニブ (rINN、ZD6474、ZACTIMA (登録商標)、AstraZeneca)、クロラムブシル、AG1478、AG1571 (SU5271; Sugen)、テムシロリムス (TORISEL (登録商標)、Wyeth)、パゾパニブ (GlaxoSmithKline)、カンフォスファミド (TELCYTA (登録商標)、Telik)、チオテパ及びシクロスホスファミド (CYTOXAN (登録商標)、NEOSAR (登録商標)) ; ブスルファン、インプロスルファン及びピボスルファンなどのアルキルスルホネート ; ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ及びウレドーパなどのアジリジン ; アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド及びトリメチロメラミンを含む、エチレンイミン及びメチルアメラミン ; アセトゲニン (特にプラタシン及びプラタシノン) ; カンプトテシン (合成類似体トポテカンを含む) ; ブリオスタチン ; カリスタチン ; CC-1065 (そのアドゼレシン、カルゼレシン及びビゼレシン合成類似体を含む) ; クリプトフィシン (特にクリプトフィシン1及びクリプトフィシン8) ; ドラスタチン ; デュオカルマイシン (合成類似体、KW-2189及びCB1-TM1を含む) ; エリュテロビン ; パンクラチスタチン ; サルコジクチン ; スポングスタチン ; ナイトロジェンマスタード、例えば、クロラムブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノブエンビキン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード ; ニトロソ尿素、例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロリムスチン、ニムスチン及びラニムスチン (ranimustine) ; 抗生物質、例えば、エンジイン抗生物質 (例えば、カリケアマイシン、カリケアマイシガンマ1I、カリケアマイシンオメガ11 (Angew Chem. Intl. Ed. Engl. (1994) 33:183-186) ; ジネミシン、ジネミシンA ; ビスフォスフォネート、例えば、クロドロネート ; エスペラマイシン ; ならびにネオカルジノスタチン発色団及び関連する色素タンパク質エンジイン抗生物質発色団)、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アウトラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシニス (chromomycinis)、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、モルフォリノードキソルビシン、シアノモルフォリノードキソルビシン、2-ピロリノードキソルビシン及びデオキシドキソルビシン)、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、ネモルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシンCなどのマイトマイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポルフィロマイシン、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン ; 代謝拮抗剤、例えば、メトトレキセート及び5-フルオロウラシル (5-FU) ; 葉酸類似体、例えば、デノブテリン、メトトレキセート、プテロプテリン、トリメトトレキセート ; プリン類似体、例えば、フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン ; ピリミジン類似体、例えば、アンシタビ

ン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクシウリジン；アンドロゲン、例えば、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン；抗副腎剤、例えば、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン；葉酸補充剤、例えば、フロリン酸；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ビスアントレン；エダトラキサート（edatraxate）；デフォファミン；デメコルシン；ジアジクオン；エルフォルニチン（elfornithine）；酢酸エリプチニウム；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシウレア；レンチナン；ロニダイニン；メイタンシノイド、例えば、マイタンシン及びアンサマイトシン；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール（mopidanmol）；ニトラエリン（nitraerine）；ペントスタチン；フェナメット；ピラルピシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK（登録商標）多糖類複合体（JHS Natural Products、オレゴン州ユージーン）；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン（特に、T-2トキシン、ベラキュリン（verracurin）A、ロリジンA及びアングイジン）；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン；アラビノシド（「Ara-C」）；シクロホスファミド；チオテパ；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトトレキセート；白金類似体、例えば、シスプラチン及びカルボプラチン；ビンブラスチン；エトポシド（VP-16）；イホスファミド；ミトキサントロン；ピンクリスチン；ピノレルビン（NAVELBINE（登録商標））；ノバントロン；テニポシド；エダトレキサート；ダウノマイシン；アミノプテリン；カペシタビン（XELODA（登録商標）、Roche）；イバンドロネート；CPT-11；トポイソメラーゼ阻害剤RFS 2000；ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；レチノイド、例えば、レチノイン酸；ならびに上記のいずれかの医薬的に許容され得る塩、酸及び誘導体が挙げられる。

【0448】

同じく「化学療法剤」の定義に含まれるのは、(i) 例えば、タモキシフェン（NOLVADEX（登録商標）；クエン酸タモキシフェンを含む）、ラロキシフェン、ドロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン、及びFARESTON（登録商標）（クエン酸トレミフィン（toremifine））を含む、抗エストロゲン及び選択的エストロゲン受容体モジュレーター（SERM）などの、腫瘍に対するホルモン作用を制御または阻害するように作用する抗ホルモン剤；(ii) 例えば、4（5）-イミダゾール、アミノグルテチミド、MEGASE（登録商標）（酢酸メゲストロール）、AROMASIN（登録商標）（エキセメスタン；Pfizer）、ホルメスタン（formestane）、ファドロゾール、RIVISOR（登録商標）（ボロゾール）、FEMARA（登録商標）（レトロゾール；Novartis）及びARIMIDEX（登録商標）（アナストロゾール；AstraZeneca）などの、副腎におけるエストロゲン産生を制御する酵素であるアロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤；(iii) 例えば、フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド及びゴセレリン；ならびにトロキサシタビン（1, 3-ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体）などの、抗アンドロゲン；(iv) MEK阻害剤（WO2007/044515）などのタンパク質キナーゼ阻害剤；(v) 脂質キナーゼ阻害剤；(vi) アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に異常細胞増殖に関与するシグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するもの、例えば、PKC-αアルファ、Raf及びH-Ras、例えば、オブリメルセン（GENASENSE（登録商標）、Genta Inc.）；(vii) リボザイム、例えばVEGF発現阻害剤（例えば、ANGIOZYME（登録商標））及びHER2発現阻害剤；(viii) 遺伝子治療ワクチンなどのワクチン、例えば、ALLOVECTIN（登録商標）、LEUVECTIN（

10

20

30

40

50

登録商標)、及びVAXID(登録商標);PROLEUKIN(登録商標)rIL-2;
LURTOTECAN(登録商標)などのトポイソメラーゼ1阻害剤;ABARELIX
(登録商標)rmRH;(ix)ベバシズマブ(AVASTIN(登録商標)、Gen
entech)などの抗血管新生剤;ならびに上記のいずれかの医薬的に許容され得る塩
、酸及び誘導体である。

【0449】

同じく「化学療法剤」の定義に含まれるのは、治療用抗体、例えば、アレムツズマブ(Cam
p a t h)、ベバシズマブ(AVASTIN(登録商標)、Genentech);セツキシマブ(ERBITUX(登録商標)、Im
c l o n e);パニツムマブ(V
E C T I B I X(登録商標)、Amgen)、リツキシマブ((RITUXAN(登録商標
)、Genentech/Biogen Id
e c)、ペルツズマブ(OMNITARG
(商標)、2C4、Genentech)、トラスツズマブ(HERCEPTIN(登録
商標)、Genentech)、トシツモマブ(ベキサール、Corixia)、及び抗
体薬物コンジュゲート、ゲムツズマブオゾガマイシン(MYLOTARG(登録商標)、
W y e t h)である。

【0450】

本発明のコンジュゲートと組み合わせた化学療法剤として治療的可能性を有するヒト化
モノクローナル抗体としては、アレムツズマブ、アポリズマブ、アセリズマブ、アトリズ
マブ、バピネオズマブ、ベバシズマブ、ビバツズマブメルタンシン、カンツズマブメルタ
ンシン、セデリズマブ、セルトリズマブペゴル、シドフシツズマブ、シドツズマブ、ダク
リズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、エピラツズマブ、エルリズマブ、フェルビズ
マブ、フォントリズマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、イノツズマブオゾガマイシン、
イピリムマブ、ラベツズマブ、リンツズマブ、マツズマブ、メポリズマブ、モタビズマブ
、モトビズマブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、ノロビズマブ、ヌマビズマブ、オクレリ
ズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、パスコリズマブ、ペクフシツズマブ、ペクツズマ
ブ、ペルツズマブ、パキセリズマブ、ラリビズマブ、ラニビズマブ、レスリビズマブ、レ
スリズマブ、レシビズマブ、ロベリズマブ、ルプリズマブ、シプロツズマブ、シプリズマ
ブ、ソンツズマブ、タカツズマブテトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、テフィバ
ズマブ、トシリズマブ、トラリズマブ、トラスツズマブ、ツコツズマブセルモロイキン、
ツクシツズマブ、ウマビズマブ、ウルトキサズマブ及びビシリズマブが挙げられる。

【0451】

本明細書に記載の医薬組成物、及び本明細書に記載のような使用のための医薬組成物は
、活性成分、すなわち、コンジュゲート化合物に加えて、医薬的に許容され得る賦形剤、
担体、緩衝剤、安定剤または当業者に周知の他の材料を含んでよい。そのような材料は非
毒性であるべきであり、活性成分の有効性を妨げるべきではない。担体または他の材料の
正確な性質は、投与経路に依存するだろう。投与経路は経口であってよいか、または例え
ば、経皮、皮下もしくはは静脈内注射によってよい。

【0452】

経口投与用の医薬組成物は、錠剤、カプセル、粉末または液体の形態であってよい。錠
剤は、固形担体または補助剤を含んでよい。液体医薬組成物は、一般に水、石油、動物性
油または植物性油、鉱油または合成油などの液体担体を含む。生理的食塩水溶液、デキス
トロースもしくは他の多糖類溶液、またはエチレングリコール、プロピレングリコールも
しくはポリエチレングリコールなどのグリコールが含まれてよい。カプセルは、ゼラチン
などの固形担体を含んでよい。

【0453】

静脈内、経皮もしくは皮下注射、または罹患部位での注射に関しては、活性成分は、発
熱物質を含まず、好適なpH、等張性及び安定性を有する非経口的に許容され得る水溶液
の形態であるだろう。当業者は、例えば、塩化ナトリウム注射用液、リンゲル注射用液、
乳酸リンゲル注射用液などの等張ビヒクルを使用して好適な溶液を調製することが十分に
できる。保存剤、安定剤、緩衝剤、抗酸化剤及び/または他の添加剤は、必要に応じて、

含まれてよい。

【0454】

製剤

コンジュゲート化合物を単独で使用する（例えば、投与する）ことが可能である一方、該化合物を組成物または製剤として提示することが好ましい場合が多い。

【0455】

一実施形態では、組成物は、本明細書に記載のようなコンジュゲート化合物、及び医薬的に許容され得る担体、希釈剤、または賦形剤を含む医薬組成物（例えば、製剤、調製物、医薬品）である。

【0456】

一実施形態では、組成物は、本明細書に記載のような少なくとも1つのコンジュゲート化合物を、医薬的に許容され得る担体、希釈剤、賦形剤、補助剤、充填剤、緩衝剤、保存剤、抗酸化剤、潤滑剤、安定剤、可溶化剤、界面活性剤（例えば、湿潤剤）、マスキング剤、着色剤、香味剤及び甘味剤を含むが、これらに限定されない、当業者に周知の1つまたは複数の他の医薬的に許容され得る成分と共に含む医薬組成物である。

【0457】

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

【0458】

好適な担体、希釈剤、賦形剤等は、標準医薬文書に見出すことができる。例えば、Handbook of Pharmaceutical Additives, 第二版 (eds. M. Ash and I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA)、Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; 及び Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd edition, 1994を参照されたい。

【0459】

本明細書に定義する、少なくとも1つの [^{11}C] 放射標識コンジュゲートまたはコンジュゲート様化合物を、当業者に周知の1つまたは複数の他の医薬的に許容され得る成分、例えば、担体、希釈剤、賦形剤等と共に、混和することを含む、医薬組成物を作製する方法も本明細書に記載する。個別の単位（例えば、錠剤等）として製剤化される場合、各単位は、所定量（投薬量）の活性化合物を含有する。

【0460】

「医薬的に許容され得る」という用語は、本明細書で用いるとき、健全な医学的判断の範囲内において、過剰な毒性、刺激、アレルギー応答または他の問題もしくは合併症を伴わずに、対象となる対象（例えば、ヒト）の組織と接触して使用するのに好適であり、合理的な利益／リスク比に相応する、化合物、成分、材料、組成物、剤形等に関する。各担体、希釈剤、賦形剤等も、製剤の他の成分と相容性であるという意味において、「許容され得」なければならない。

【0461】

製剤は、製薬の技術分野において周知の任意の方法によって調製してよい。このような方法は、活性化合物を1つまたは複数の副成分を構成する担体と会合させるステップを含む。一般に、製剤は、活性化合物を担体（例えば、液体担体、微粉化固形担体等）と均質及び密接に会合させて、次いで必要に応じて、生成物を成形することによって調製される。

【0462】

製剤は、急速放出もしくは緩徐放出；即時放出、遅延放出、時限放出もしくは持続放出；またはそれらの組み合わせを提供するように調製してよい。

【0463】

非経口投与（例えば、注射による）に好適な製剤としては、水性または非水性の等張の発熱物質を含まない無菌液体（例えば、溶液、懸濁液）が挙げられ、その中に活性成分が溶解、懸濁またはそれ以外の様式で（例えば、リポソームまたは他の微粒子で）提供されている。このような液体は、他の医薬的に許容され得る成分、例えば、抗酸化剤、緩衝剤、保存剤、安定剤、静菌薬、懸濁化剤、増粘剤、及び意図するレシピエントの血液（または他の関連する体液）と製剤を等張にする溶質をさらに含有してよい。賦形剤の例としては、例えば、水、アルコール、ポリオール、グリセロール、植物油等が挙げられる。このような製剤で使用するための好適な等張性担体の例としては、塩化ナトリウム注射液、リンゲル液または乳酸リンゲル注射液が挙げられる。典型的には、液体における活性成分の濃度は、約 1 ng/ml ～ 約 $10 \mu\text{g/ml}$ 、例えば、約 10 ng/ml ～ 約 $1 \mu\text{g/ml}$ である。製剤は、単位用量または複数回用量の密閉容器、例えば、アンプル及びバイアルにて提供してよく、使用直前に注射の滅菌液体担体、例えば、水の添加だけを必要とするフリーズドライ（凍結乾燥）状態で保管されてよい。即時注射溶液及び懸濁液は、滅菌粉末、顆粒及び錠剤から調製してよい。

10

【0464】

投薬量

コンジュゲート化合物、及びコンジュゲート化合物を含む組成物の適切な投薬量が患者によって変動し得ることは、当業者によって理解されるであろう。最適な投薬量の決定には、一般に何らかのリスクまたは有毒な副作用に対する治療的利益のレベルのバランスをとることを伴うだろう。選択された投薬量レベルは、特定の化合物の活性、投与経路、投与時間、化合物の排出速度、処置の持続期間、組み合わせて使用される他の薬物、化合物及び／または材料、状態の重篤度ならびに患者の人種、性別、年齢、体重、状態、全身健康状態及び既往歴を含むが、これらに限定されない、様々な因子に依存するであろう。一般に投薬量は、実質的に有害または有毒な副作用を引き起こさずに所望の効果を達成する局所濃度を作用部位にて達成するように選択されるが、化合物の量及び投与経路は、最終的に、医師、獣医または臨床医の裁量によるだろう。

20

【0465】

投与は、処置の過程全体を通して、連続的にまたは間欠的に（例えば、分割用量にて適切な間隔で）、1回の用量で成立することができる。投与の最も有効な手段及び投薬量を決定する方法は当業者に周知であり、治療に使用される製剤、治療の目的、処置される標的細胞（複数可）、及び処置される対象によって変動するだろう。単回または複数回の投与は、処置を行う医師、獣医または臨床医によって選択される用量レベル及びパターンで実施することができる。

30

【0466】

一般に、活性化合物の好適な用量は、1日につき、対象の体重1キログラムあたり約 100 ng ～ 約 25 mg （より典型的には、約 $1 \mu\text{g}$ ～ 約 10 mg ）の範囲である。活性化合物が塩、エステル、アミドまたはプロドラッグ等である場合、投与される量は親化合物に基づいて算出されるため、使用される実際の重量は比例して増加する。

【0467】

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

40

【0468】

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

【0469】

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

【0470】

しかしながら、一実施形態では、コンジュゲート化合物は、以下の投薬計画に従って、ヒト患者に投与される：約 50 mg または 約 75 mg 、1日3回または4回。

50

【0471】

一実施形態では、コンジュゲート化合物は、以下の投薬計画に従って、ヒト患者に投与される：約100mgまたは約125mg、1日2回。

【0472】

上に記載した投薬量は、コンジュゲート（PBD部分及び抗体へのリンカーを含む）または提供されるPBD化合物の有効量、例えば、リンカーの切断後に放出可能な化合物の量に適用してよい。

【0473】

疾患の予防または処置について、本発明のADCの適切な投薬量は、上記で定義されている、処置される疾患の型、疾患の重篤度及び経過、分子の投与の目的が予防なのか治療なのか、以前の治療法、患者の臨床歴及び抗体に対する応答、ならびに主治医の裁量に依存するだろう。分子は、1回でまたは一連の処置にわたって、患者に好適に投与される。疾患の型及び重篤度に応じて、約 $1\mu\text{g}/\text{kg} \sim 15\text{mg}/\text{kg}$ （例えば、 $0.1 \sim 20\text{mg}/\text{kg}$ ）の分子が、患者へ投与する最初の候補投薬量であり、例えば、1回の投与によるかもしくは複数の別々の投与によるか、または連続注入によるかにかかわらない。典型的な1日投薬量は、上述した要因に応じて、約 $1\mu\text{g}/\text{kg} \sim 100\text{mg}/\text{kg}$ またはそれを超える範囲に及ぶことがある。患者に投与されるADCの例示的な投薬量は、患者の体重1kgあたり約 $0.1\text{mg} \sim 10\text{mg}$ の範囲である。数日間またはそれより長期にわたる反復投与については、病状に応じて、疾患症状の所望の抑制が生じるまで処置が持続される。例示的な投与計画は、ADCの約 $4\text{mg}/\text{kg}$ の初期負荷用量、続いて追加の用量を毎週、2週間毎または3週間毎に投与する過程を含む。他の投薬計画も有用であり得る。この治療の進捗は、従来技術及びアッセイによって容易にモニタリングされる。

【0474】

処置

「処置」という用語は、本明細書で用いるとき、病状を処置するという文脈において、一般に、ヒトまたは動物（例えば、獣医学用途で）にかかわらず、いくつかの所望の治療的効果、例えば、病状の進行の阻害が達成される処置及び治療に関し、進行の速度の低減、進行の速度の停止、病状の後退、病状の寛解及び病状の治療を含む。予防的措置（すなわち予防、防止）としての処置も含まれる。

【0475】

「治療有効量」という用語は、本明細書で用いるとき、所望の処置計画に従って投与される場合に、合理的な利益／リスク比に相応する、いくつかの所望の治療効果を生み出すのに有効である、活性化合物、または活性化合物を含む材料、組成物もしくは剤形（*dose form*）のその量に関する。

【0476】

同様に、「予防有効量」という用語は、本明細書で用いるとき、所望の処置計画に従って投与される場合に、合理的な利益／リスク比に相応する、いくつかの所望の予防効果を生み出すのに有効である、活性化合物、または活性化合物を含む材料、組成物もしくは剤形（*dose form*）のその量に関する。

【0477】

抗体－薬物コンジュゲートの調製

本発明の第二の態様は、細胞結合剤を本発明の薬物リンカー化合物、例えば、式I化合物と反応させるステップを含む、コンジュゲートを調製する方法に関する。

【0478】

抗体－薬物コンジュゲートは、（1）共有結合を介する抗体－リンカー中間体A-b-Lを形成するための抗体の求核基と二価のリンカー試薬との反応、続いて活性化薬物部分試薬との反応；及び（2）共有結合を介する薬物－リンカー試薬D-Lを形成するための薬物部分試薬とリンカー試薬との反応、続いて抗体の求核基との反応を含む、当業者に既知の有機化学反応、条件及び試薬を採用して、いくつかの経路によって調製してよい。本発明に従い、コンジュゲーション法（2）は、種々の抗体及びリンカーと共に採用されて、

本明細書に記載の抗体－薬物コンジュゲートを調製し得る。

【0479】

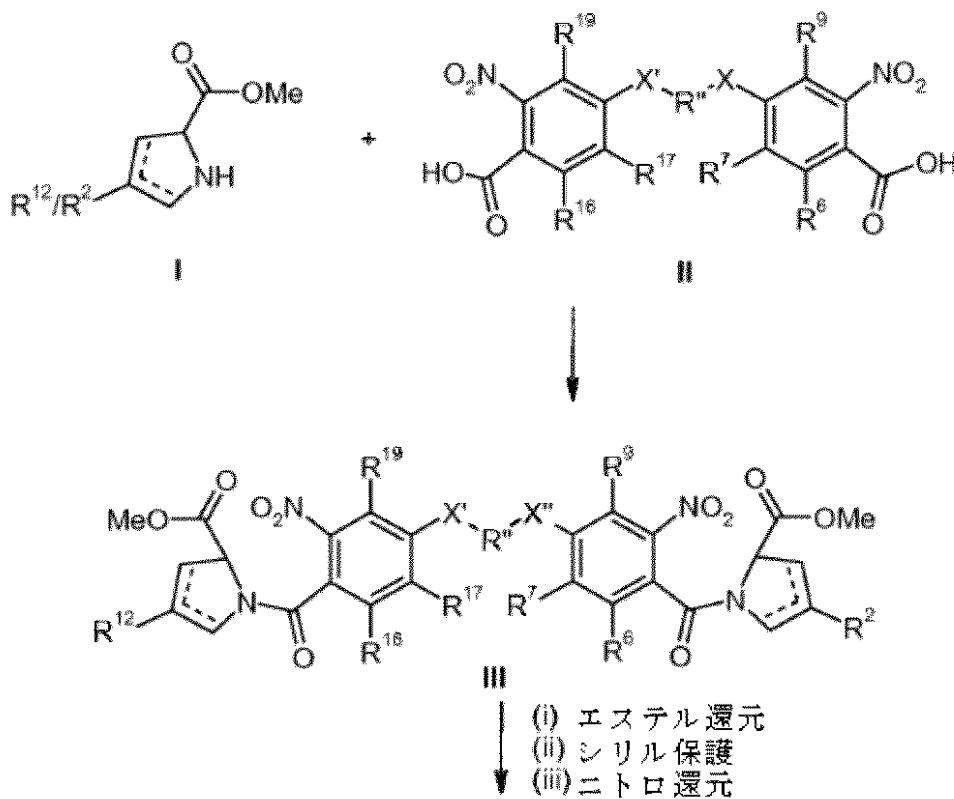
抗体上の求核基としては、側鎖チオール基、例えばシステインが挙げられるが、これに限定されない。チオール基は、求核性であり、反応して、本発明のリンカー部分などのリンカー部分上に求電子基との共有結合を形成することができる。ある特定の抗体は、還元性鎖間ジスルフィド、すなわちシステイン架橋を有する。抗体は、還元剤、例えば、DTT（クリーランド試薬、ジチオスレイトール）またはTCEP（トリス（2－カルボキシエチル）ホスフィン塩酸塩；Getz et al (1999) Anal. Biochem. Vol 273: 73–80; Soltec Ventures, Beverly, MA)を用いた処理によって、リンカー試薬とコンジュゲートするために反応性にされてよい。各システインジスルフィド架橋はこのため、理論的には、2つの反応性チオール求核体を形成するだろう。追加の求核基を、リシンと2－イミノチオラン（トラウト試薬）との反応を通じて抗体に導入して、アミンのチオールへの変換を生じることができる。

【0480】

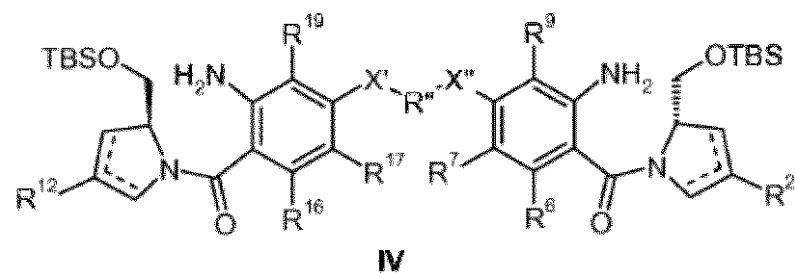
合成

式V I I Iの二量体中間体への1つの起こり得る合成経路を以下に示す：

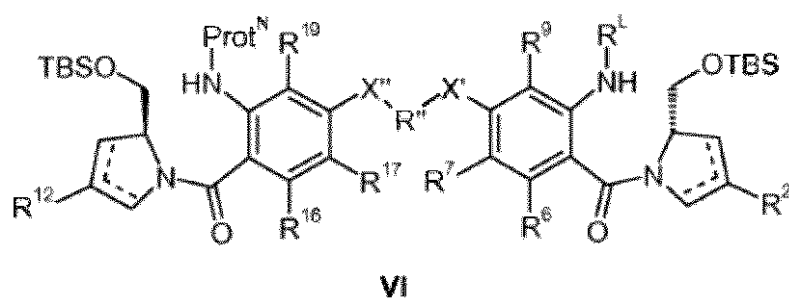
【化49】



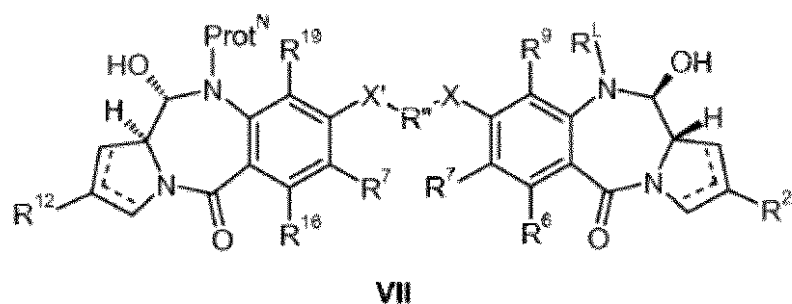
【化 5 0】



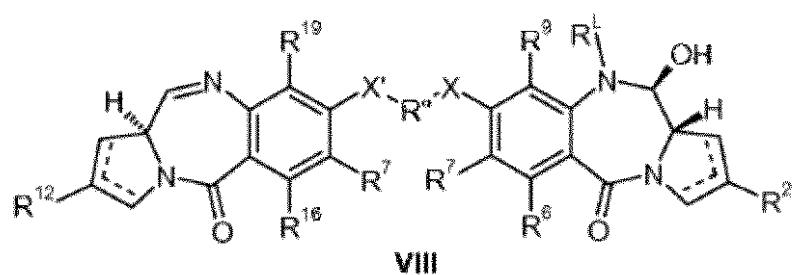
(i) N 1 O 保護
(ii) イソシアネート媒介性リンカー付加



(i) シリル脱保護
(ii) 環化

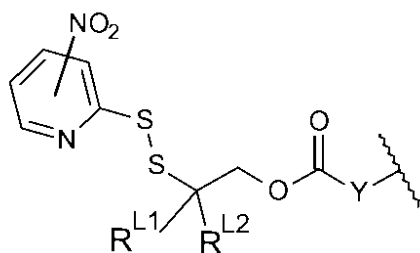


(i) N 1 O 脱保護



上記スキームでは、 R^L は、

【化 5 1】



を表す。

10

【0481】

一般に、非対称二量体は、それらのN10-C11結合に関して、分子の対称性を壊すために、式IVのビス-アミノ化合物を、一当量の市販の（または容易に調製される）クロロホルメート試薬で処理することにより調製されてよい。次いで、残りの遊離アミンは、独立して官能化されて、連結基前駆体（ R^L ）を導入することができる。さらなる官能基操作によりPBD-B環を閉じ、保護基を除去して標的分子を得る。

【0482】

式IVの化合物は、典型的には好適に官能化されたC環断片（I）を、式IIの二量体コアを含有するA環にカップリングすることにより調製される。C環断片は、既知のカルバメート保護メチル4-オキソプロリネート構成ブロックから調製してよい。ウィッティヒまたはホーナー・エモンズ条件下でのオレフィン化を採用して、エンドーまたはエキソ-不飽和アルケンを備えることができる。C環及びA環の断片は、標準条件下にてトリエチルアミンの存在下でA環断片の酸塩化物誘導体を使用してカップリングすることで、式IIIの分子を得ることができる。対称性は、異なるC環を導入することによりこの段階で壊され得る。III型の化合物を、エンドーまたはエキソ-C環不飽和に影響することなく、酢酸またはギ酸中の亜鉛で還元することで、式IVの分子を得ることができる。

20

【0483】

あるいは、好適な4-ヒドロキシピロリジン構成ブロックを、式IIの二量体コアにカップリングしてよい。ヒドロキシル基は、ケトンへと酸化、次いでエノールトリフラートへと変換することができる。鈴木カップリングを使用して、プロC2置換基（例えば、アリール、アルケニル等）を導入することができる。次いで、ニトロ基は、アミンに還元することができる。1つのアミンは保護され、他方はリンカー基を有するように遊離される。

30

【0484】

VI型の非対称カルバメートは、IV型のビス-アミンを単一当量の市販（または容易に調製される）クロロホルメートで、ピリジンまたはトリエチルアミンの存在下で処理することによって調製することができる。クロロホルメートを選択して、適切なカルバメート系窒素保護基（ $Prot^N$ ）を得てよく、これは、プロ-リンカー基（ R^L ）において使用するものに直交する。 R^L カルバメートは、残りのアミノ基をイソシアネートに変換すること、及びそれを R^L アルコールでクエンチすることにより導入され得る。あるいは、 R^L アルコールは、クロロホルメートまたは官能性等価物（フルオロホルメート、p-ニトロカーボネート、ペンタフルオロカーボネートまたはヒドロキシベンゾトリアゾールカーボネート）へと変換することができる。最終的に、残りのアミノ基は、反応性p-ニトロカルバメート、ペンタフルオロカルバメートまたはヒドロキシベンゾトリアゾールカルバメートへと変換ことができ、これを R^L アルコールと取り替えることで、式VIの分子を得ることができる。

40

【0485】

式VIIの分子は、例えば、酢酸水溶液でシリル保護基を除去することにより式VIの分子から調製することができる。デスマーチンペルヨージナンでの酸化（またあるいはTPAP/NMO、PDCまたはスワン条件下）で、閉環生成物が得られる。

【0486】

50

式Vのコンジュゲートは、カルバメート系窒素保護基の除去により式V I Iの分子から調製されてよい。

【0487】

化合物 I I

式 I Iの化合物の合成は、WO2006/111759に記載され、Gregson et al. (J. Med. Chem. 2001, 44, 1161-1174)にも記載されている。そこに記載されているような化合物 (I I)の調製は、具体的に、参照により本明細書に組み込まれる。

【0488】

Antonow, D. and Thurston, D. E., Chem. Rev. 2011 111 (4), 2815-2864に概説されているものを含む、PBD二量体を合成する既知の方法も参照されたい。

【0489】

さらに関連する開示が、WO2010/091150において見出され得る。WO2010/091150に記載されている中間体化合物も、上述の方法において採用されてよい。

【0490】

例えば、段落 [164]において示す二量体化合物 (15)は、上のスキーム Iにおける化合物 I I Iとして使用されてよい。このこと、及びさらなる適応は、当業者に明らかであるだろう。

【実施例】

【0491】

一般情報

反応の進捗は、蛍光指示薬をアルミニウムプレート上で用いて、Merck Kieselgel 60 F254シリカゲルを使用して薄層クロマトグラフィー (TLC)によって観察した。TLCの視覚化は、別段の記述がない限り、UV光またヨウ素蒸気で達成した。フラッシュクロマトグラフィーを、フラッシュクロマトグラフィー用のVWRシリカゲルを用いて行った。抽出及びクロマトグラフィー溶媒は、Fisher Scientific、英国から購入し、さらなる精製を行わずに使用した。すべてのファインケミカルは、別段の記述がない限り、Sigma-AldrichまたはTCI Europeから購入した。

【0492】

^1H 及び ^{13}C NMRスペクトルは、Bruker Avance (登録商標) 400分光計で得た。カップリング定数は、ヘルツ (Hz)で示す。化学シフトは、テトラメチルシランから百万分率 (ppm) 低磁場において記録する。スピン多重度は、s (一重項)、bs (ブロード一重項)、d (二重項)、t (三重項)、q (四重項)、p (五重項) 及びm (多重項)と記載する。

【0493】

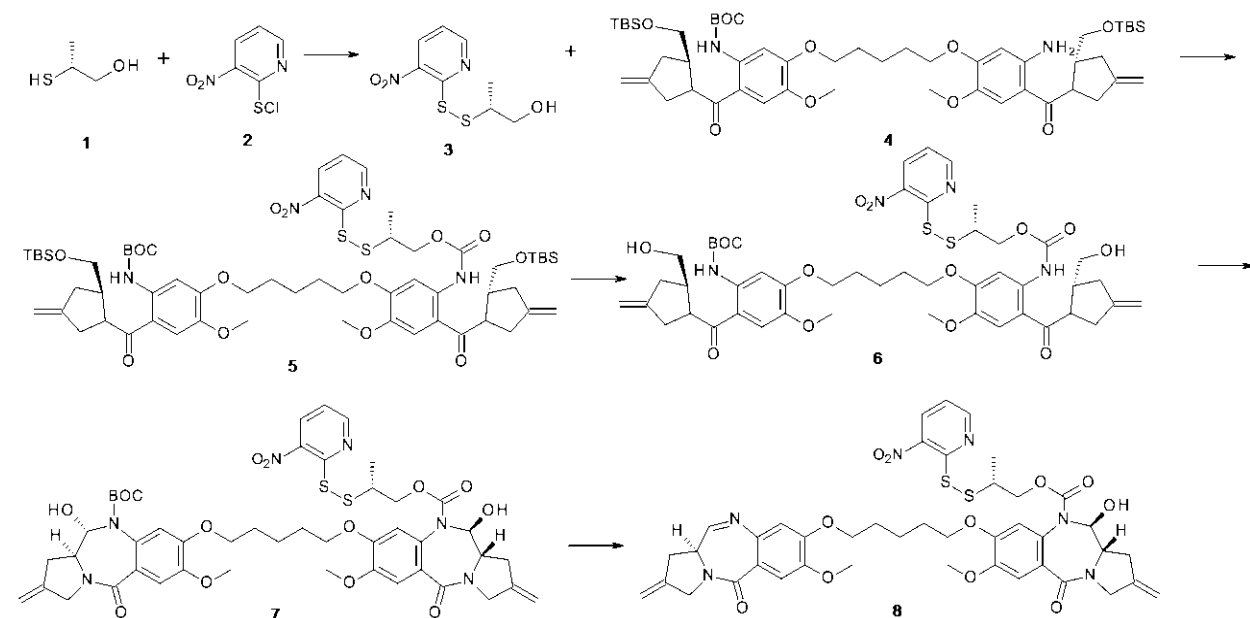
分析用のLC/MS条件は、以下の通りである：ポジティブモードエレクトロスプレー質量分析を、Shimadzu Nexera (登録商標)/Prominence (登録商標) LCMS-2020を使用して行った。使用した移動相は、溶媒A (0.1%ギ酸を含む H_2O) 及び溶媒B (0.1%ギ酸を含む CH_3CN)とした。定期的な3分間実行での勾配：初期組成の5%Bを0.25分間保持し、次いで5%Bから100%Bに2分間かけて増加させた。組成を、0.50分間にわたって100%Bに保持し、次いで5%Bへと0.05分間で戻し、そこに0.05分間保持した。勾配実行の合計期間は、3.0分間であった。15分間実行での勾配：初期組成の5%Bを1分間保持し、次いで、5%Bから100%Bへと10分間かけて増加させた。組成を、2分間100%Bで保持し、次いで5%Bへと0.1分間で戻し、そこに2.9分間保持した。勾配実行の合計期間は、15.0分間であった。流速は、0.8 mL/分及び0.6 mL/分 (15分間実行)であった。検出は、214及び254 nmとした。カラム：Waters Acqu

ity UPLC (登録商標) BEH Shield RP18 1.7 μ m、2.1 $\times$ 50 mm、50 $^{\circ}$ C、Waters Acquity UPLC (登録商標) BEH Shield RP18 Vanguard プレカラムを装備、130 A、1.7 μ m、2.1 mm $\times$ 5 mm (定期的な3分間実行) ; 及び Phenomenex (登録商標) Gemini (登録商標) 3 μ m NX-C18 110 $\text{\AA}$ 、LC カラム 100 $\times$ 2 mm (15分間実行)。

【0494】

実施例 1

【化52】



(a) (R)-2-((3-nitro-2-pyridylthio)ethyl)propan-1-ol (3)

乾燥 DCM (14 mL) 中の (R)-2-メルカプトプロパン-1-オール 1 (0.4 g、4.35 mmol、1.0 当量) の溶液を、乾燥 DCM (40 mL) 中の 3-ニトロ
 ピリジン-2-イルハイポクロチオイト (hypochlorothioite) 2
 (1.0 g 5.22 mmol、1.2 当量) の溶液に、アルゴン雰囲気下、0 $^{\circ}$ C で攪拌
 しながら滴加した。混合物を室温で3時間攪拌した。反応混合物を減圧下で蒸発させて、
 黄色ゴム状物を得た。該ゴム状物を水中に再溶解し、溶液を水酸化アンモニウム溶液 (pH 12) で塩基性に変化させ、DCM (4 $\times$ 50 mL) で抽出し、合一した抽出物を飽和
 ブライン (100 mL) で洗浄し、乾燥させ (MgSO₄)、蒸発させて、橙色の油状物
 / 固体の混合物を得た。フラッシュカラムクロマトグラフィー [勾配溶出 DCM / MeOH 0% ~ 1%] による精製で、生成物を黄色の半固体 (0.745 g、70%) として
 得た。分析データ: RT 1.41 分; MS (ES⁺) m/z (相対強度) 247 ([M + H]⁺, 100)。

【0495】

(b) tert-ブチル (2-((S)-2-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)メチル)-4-メチレンピロリジン-1-カルボニル)-5-((5-((S)-2-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)メチル)-4-メチレンピロリジン-1-カルボニル)-2-メトキシ-5-(((R)-2-((3-ニトロピリジン-2-イル)ジスルファニル)プロボキシ)カルボニル)アミノ)フェノキシ)ペンチル)オキシ)-4-メトキシフェニル)カルバメート (5)

トリエチルアミン (0.25 g、0.34 mL、2.5 mmol、2.2 当量) を、乾燥 THF (15 mL) 中のモノ-boc 保護ビス-アニリン 4 (106 g、1.11 mmol、1.0 当量) 及びトリホスゲン (0.12 g、0.4 mmol、0.36 当量) の

攪拌溶液にアルゴン雰囲気下、室温で加えた。反応混合物を、40℃まで加熱し、5分後に試料をメタノールで処理し、LCMSによりメチルカルバメートとして分析した。

【0496】

乾燥THF (15 mL) 中の(R)-2-((3-ニトロピリジン-2-イル)ジスルファニル)プロパン-1-オール3 (0.334 g、1.36 mmol、1.5当量) 及びトリエチルアミン (0.17 g、0.23 mL、1.67 mmol、1.5当量) の溶液を、新鮮に調製されたイソシアネートに滴加した。反応混合物を40℃で4時間加熱し、次いで、室温で18時間攪拌した。反応混合物を濾過して、トリエチルアミン塩酸塩を除去し、濾過物を蒸発乾固して、粗生成物を得た。フラッシュカラムクロマトグラフィー [55% n-ヘキサン/45%] による精製で、所望の生成物を黄色泡状物 (0.44 g、32%) として得た。分析データ: RT 2.42分; MS (ES⁺) m/z (相対強度) 1225 ([M+H]⁺, 70)、1247 ([M+Na]⁺, 100)。

10

【0497】

(c) tert-ブチル(2-((S)-2-(ヒドロキシメチル)-4-メチレンピロリジン-1-カルボニル)-5-((5-(4-((S)-2-(ヒドロキシメチル)-4-メチレンピロリジン-1-カルボニル)-2-メトキシ-5-(((R)-2-((3-ニトロピリジン-2-イル)ジスルファニル)プロボキシ)カルボニル)アミノ)フェノキシ)ペンチル)オキシ)-4-メトキシフェニル)カルバメート(6)

酢酸/H₂O (3/1、16 mL) を、THF (4 mL) 中のビス-シリルエーテル5 (0.41 g、0.33 mmol、1.0当量) の溶液に加えた。結果得られた溶液を、室温で6.5時間攪拌した。反応混合物を飽和炭酸水素ナトリウム溶液でpH8まで塩基性に変化させた。混合物を酢酸エチル (4×100 mL) で抽出し、合一した抽出物を飽和炭酸水素ナトリウム溶液 (2×200 mL)、水 (200 mL)、飽和ブライン (200 mL) で洗浄し、乾燥させ (MgSO₄)、減圧下で蒸発させた。フラッシュカラムクロマトグラフィー [EtOAc] による精製で、生成物を黄色泡状物 (0.235 g、71%) として得た。分析データ: RT 1.8分; MS (ES⁺) m/z (相対強度) 997 ([M+H]⁺, 100)。

20

【0498】

(d) tert-ブチル(11S, 11aS)-11-ヒドロキシ-8-((5-((11S, 11aS)-11-ヒドロキシ-7-メトキシ-2-メチレン-10-(((R)-2-((3-ニトロピリジン-2-イル)ジスルファニル)プロボキシ)カルボニル)-5-オキソ-2, 3, 5, 10, 11, 11a-ヘキサヒドロ-1H-ピロロ[2, 1-c][1, 4]ベンゾジアゼピン-8-イル)オキシ)ペンチル)オキシ)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2, 3, 11, 11a-テトラヒドロ-1H-ピロロ[2, 1-c][1, 4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート(7)

30

乾燥DCM (5 mL) 中の乾燥DMSO (79 mg、72 μL、1.01 mmol、4.4当量) の溶液を、無水DCM (5 mL) 中の塩化オキサリル (2.0Mを含むDCM、276 μL、0.55 mmol、2.4当量) の溶液に-40℃、アルゴン雰囲気下で滴加した。溶液を、-40℃で15分間攪拌した。乾燥DCM (10 mL) 中のビス-アルコール6 (0.23 g、0.23 mmol、1.0当量) の溶液を滴加し、結果得られた混合物を-40℃で45分間攪拌した。この時間中、温度を、自然に-25℃まで到達させた。温度を、-40℃まで下げて、トリエチルアミン (0.23 g、0.32 mL、2.3 mmol、10当量) を滴加した。5分後、温度を自然に室温まで到達させた。さらに30分後、反応混合物を、DCM (50 mL) で希釈し、1Mクエン酸溶液 (2×100 mL)、飽和炭酸水素ナトリウム溶液 (200 mL)、水 (200 mL)、ブライン (200 mL) で抽出し、乾燥させ (MgSO₄)、減圧下で蒸発させて、黄色泡状物を得た。フラッシュカラムクロマトグラフィー [クロロホルム/メタノール0%~2%、0.5%単位で増加] による精製で、生成物を白色泡状物 (0.085 g、37%) として得た。分析データ: RT 1.69分; MS (ES⁺) m/z (相対強度) 993 ([M+H]⁺, 60)。

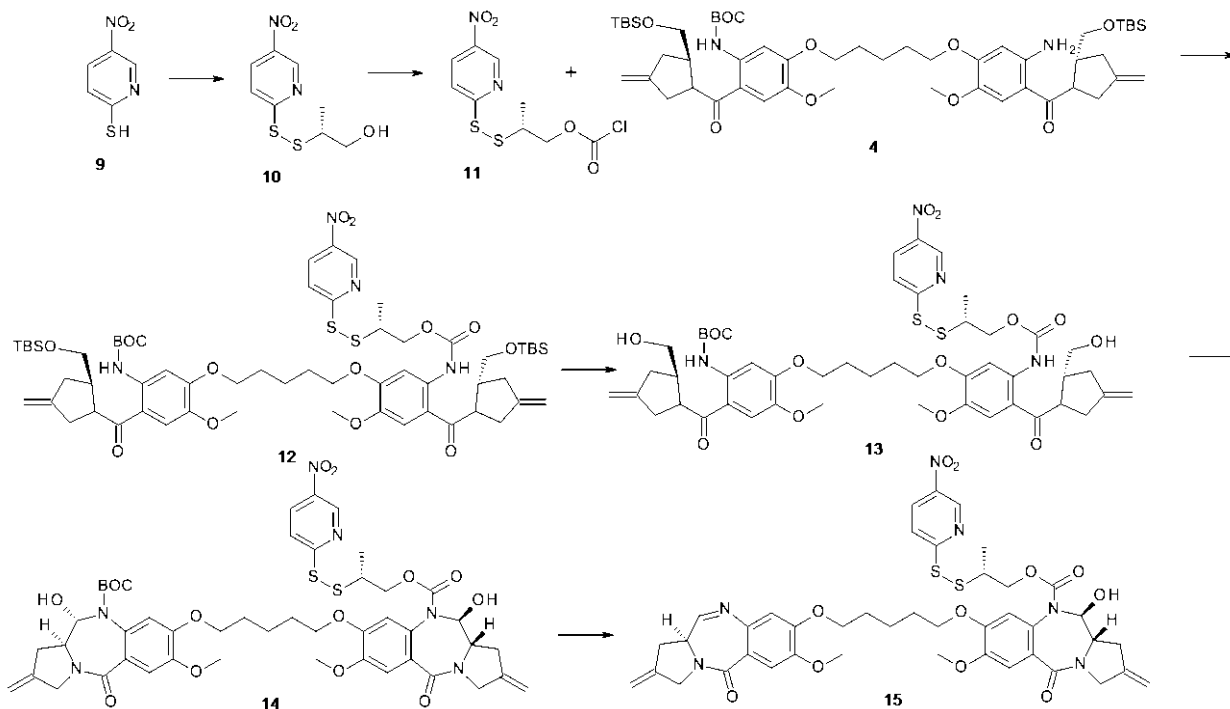
40

50

【0499】

実施例 2

【化53】



10

20

(a) (R)-2-((5-ニトロピリジン-2-イル)ジスルファニル)プロパン-1-オール (10)

塩化スルフルル (2.35 mL の 1.0 M の DCM 溶液、2.35 mmol) を、乾燥 DCM (7.5 mL) 中の 5-ニトロピリジン-2-チオール 9 (334 mg、2.14 mmol) の攪拌懸濁液に 0℃ (氷/アセトン)、アルゴン雰囲気下で、滴加した。反応混合物は、黄色懸濁液から黄色溶液に変わり、室温まで放温し、次いで、2 時間攪拌し、その時間の後、溶媒を真空蒸発して除去して黄色固体を得た。固体を、DCM (15 mL) 中に再溶解し、乾燥 DCM (7.5 mL) 中の (R)-2-メルカプトプロパン-1-オール (213 mg、2.31 mmol) の溶液と共に、0℃、アルゴン雰囲気下で、滴下処理した。反応混合物を、室温まで放温し、20 時間攪拌し、その時点で LC/MS による解析により、実質的な生成物形成が明らかになり、保持時間は、1.41 分 (ES+) m/z 247 ($[M+H]^+$ 、約 100% 相対強度) であった。沈殿物を、ろ過により除去し、濾過物を真空蒸発して、橙色の固体を得た。それを H₂O (20 mL) で処理し、水酸化アンモニウム溶液で塩基性に変化させた。混合物を DCM (3×25 mL) で抽出し、合一した抽出物を H₂O (20 mL)、ブライン (20 mL) で洗浄し、乾燥させ (MgSO₄)、濾過し、真空蒸発して粗生成物を得た。フラッシュクロマトグラフィー (勾配溶出、1% 単位で増加: 100% DCM ~ 98:2 v/v DCM/MeOH) による精製で、ジスルフィド 10 を油状物 (111 mg、21% 収率) として得た。

30

40

【0500】

(b) (R)-2-((5-ニトロピリジン-2-イル)ジスルファニル)プロピルカルボノクロリダート (11)

トリホスゲン (48 mg、0.16 mmol) を、乾燥 DCM (5 mL) 中の (R)-2-((5-ニトロピリジン-2-イル)ジスルファニル)プロパン-1-オール 10 (111 mg、0.45 mmol) 及びピリジン (34 μL、33.5 mg、0.42 mmol) の攪拌溶液に加えた。反応混合物を、アルゴン雰囲気下で 45 分間攪拌させて、その時間の後、溶媒を真空蒸発により除去して、粗クロロホルメート 11 を黄色の膜状物として得た。生成物を精製または分析を行わずに次のステップに移行させた。

【0501】

50

(c) tert-ブチル(2-((S)-2-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)メチル)-4-メチレンピロリジン-1-カルボニル)-5-((5-(4-((S)-2-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)メチル)-4-メチレンピロリジン-1-カルボニル)-2-メトキシ-5-(((R)-2-((5-ニトロピリジン-2-イル)ジスルファニル)プロボキシ)カルボニル)アミノ)フェノキシ)ペンチル)オキシ)-4-メトキシフェニル)カルバメート(12)

乾燥DCM(5mL)中の11(約139mg、0.45mmol)の溶液を、乾燥DCM(12mL)中のアニリン4(430mg、約0.45mmol)及びピリジン(40μL、39mg、0.49mmol)の攪拌溶液に室温で滴加した。反応混合物をアルゴン雰囲気中で2.5時間攪拌させて、その時点でLC/MSによる解析により、実質的な生成物形成が明らかになり、保持時間は、2.42分(ES+)m/z1226([M+H]⁺、約20%相対強度)、1248([M+Na]⁺、約60%相対強度)であった。混合物をDCM(20mL)で希釈し、SiO₂で処理し、溶媒を真空蒸発により除去した。結果得られた残渣をフラッシュクロマトグラフィー(勾配溶出、10%単位で増加:80:20v/vヘキサン/EtOAc~70:30v/vヘキサン/EtOAc)による精製に供して、純カルバメート12を黄色泡状物(419mg、76%収率)として得た。

【0502】

(d) tert-ブチル(2-((S)-2-(ヒドロキシメチル)-4-メチレンピロリジン-1-カルボニル)-5-((5-(4-((S)-2-(ヒドロキシメチル)-4-メチレンピロリジン-1-カルボニル)-2-メトキシ-5-(((R)-2-((5-ニトロピリジン-2-イル)ジスルファニル)プロボキシ)カルボニル)アミノ)フェノキシ)ペンチル)オキシ)-4-メトキシフェニル)カルバメート(13)

氷酢酸(24mL)を、TBS保護化合物12(419mg、0.34mmol)を含むTHF(8mL)及びH₂O(8mL)の攪拌溶液に加えた。反応混合物を16時間攪拌させて、その時点でLC/MSによる解析により、反応完了が明らかになり、所望の生成物は、保持時間1.82分(ES+)m/z997([M+H]⁺、約100%相対強度)、1019([M+Na]⁺、約45%相対強度)で観察された。反応混合物を、冷却した(0~5℃)NaHCO₃飽和水溶液(400mL)に滴加した。中性溶液を室温まで放温し、EtOAc(4×100mL)で抽出し、合一した有機層をH₂O(80mL)、ブライン(100mL)で洗浄し、乾燥させ(MgSO₄)、濾過し、真空蒸発させて、粗生成物を得た。フラッシュクロマトグラフィー(勾配溶出、1%単位で増加:100%DCM~98:2v/vDCM/MeOH)による精製で、ビス-アルコール13を黄色がかった泡状物(341mg、100%収率)として得た。

【0503】

(e) tert-ブチル(11S,11aS)-11-ヒドロキシ-8-((5-((11S,11aS)-11-ヒドロキシ-7-メトキシ-2-メチレン-10-((R)-2-((5-ニトロピリジン-2-イル)ジスルファニル)プロボキシ)カルボニル)-5-オキソ-2,3,5,10,11,11a-ヘキサヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル)オキシ)ペンチル)オキシ)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,11,11a-テトラヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート(14)

乾燥DCM(7.5mL)中の無水DMSO(107μL、188mg、1.50mmol)の溶液を、乾燥DCM(7.5mL)中の塩化オキサリル(410μLの2.0MのDCM溶液、0.82mmol)の攪拌溶液に-45℃(ドライアイス/CH₃CN)、アルゴン雰囲気中で滴加した。15分間、-45℃で攪拌した後、反応混合物を乾燥DCM(15mL)中のビス-アルコール13(341mg、0.34mmol)の溶液で滴下処理した。-45℃でさらに1時間攪拌した後、反応混合物を乾燥DCM(7.5mL)中のTEA(476μL、342mg、3.42mmol)の溶液で滴下処理した。反

10

20

30

40

50

応混合物を1.5時間の期間をかけて室温まで放温し、DCM(50 mL)で希釈し、次いで飽和NH₄Cl(15 mL)、飽和NaHCO₃(15 mL)、ブライン(15 mL)で洗浄し、乾燥させ(MgSO₄)、濾過し、真空蒸発させて、粗生成物を得た。フラッシュクロマトグラフィー(勾配溶出、0.4%単位で増加:100%DCM~98.4:1.6 v/v DCM/MeOH)による精製で、環化化合物14を黄色がかった泡状物(227 mg、67%収率)として得た:LC/MS 14 保持時間1.69分(ES+) m/z 993 ([M+H]⁺、約80%相対強度)、1015 ([M+Na]⁺、約20%相対強度)。

【0504】

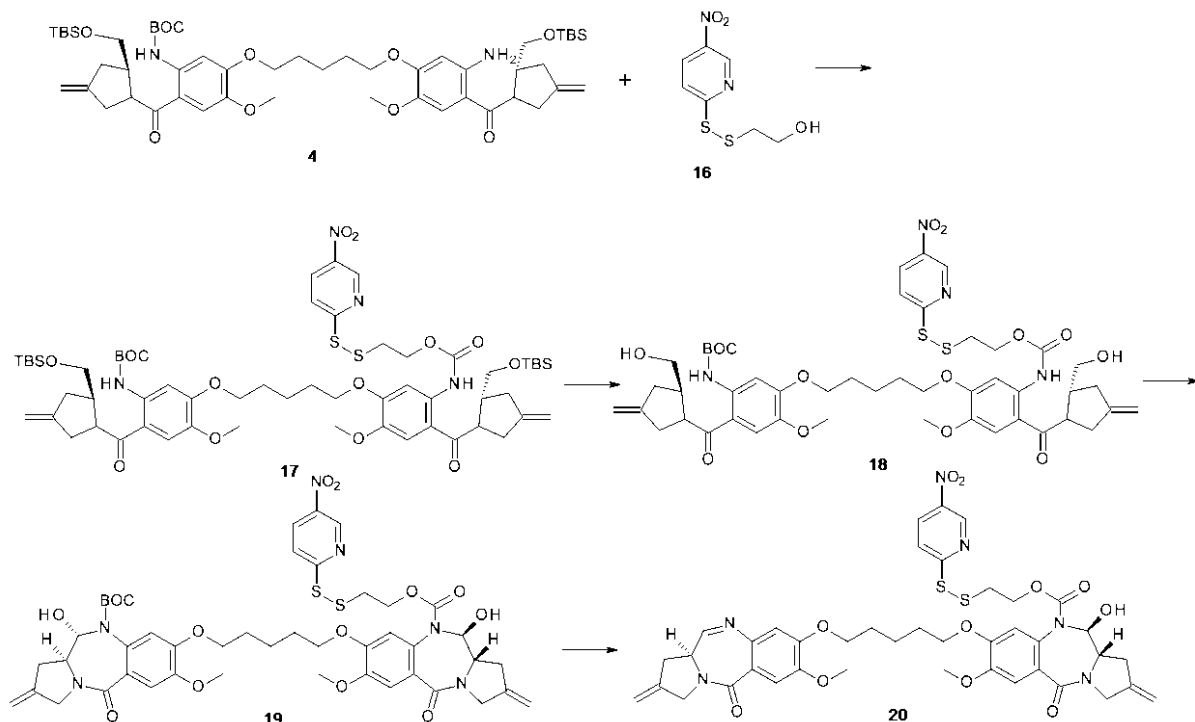
(f) (R)-2-((5-ニトロピリジン-2-イル)ジスルファニル)プロピル(11S, 11aS)-11-ヒドロキシ-7-メトキシ-8-((5-((S)-7-メトキシ-2-メチレン-5-オキソ-2,3,5,11a-テトラヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-8-イル)オキシ)ペンチル)オキシ)-2-メチレン-5-オキソ-2,3,11,11a-テトラヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート(15)

95:5 v/v TFA/H₂O(4 mL)の溶液をBoc/THP保護化合物14(216 mg、0.22 mmol)の粗試料に0℃(氷/アセトン)で加えた。0℃で30分間攪拌した後、反応はLC/MSにより判断されて完了したとみなされ、所望の生成物ピークは、保持時間1.60分(ES+) m/z 875 ([M+H]⁺、約100%相対強度)であった。反応混合物を、冷たく保ち、冷却したNaHCO₃飽和水溶液(100 mL)に滴加した。混合物をDCM(3×30 mL)で抽出し、合一した有機層をブライン(50 mL)で洗浄し、乾燥させ(MgSO₄)、濾過し、真空蒸発させて、粗生成物を得た。フラッシュクロマトグラフィー(勾配溶出、0.4%単位で増加:100%CHCl₃~98.4:1.6 v/v CHCl₃/MeOH)による精製で、15を黄色泡状物(127 mg、66%収率)として得た:LC/MS (15分間実行)、保持時間6.18分(ES+) m/z 875 ([M+H]⁺、約100%相対強度); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.21 (s, 1H), 8.30 (d, 1H, J = 8.8 Hz), 7.69 (d, 1H, J = 4.5 Hz), 7.62 (d, 1H, J = 8.9 Hz), 7.49 (s, 1H), 7.25 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 5.58 (dd, 1H, J = 4.4, 9.8 Hz), 5.22-5.10 (m, 4H), 4.43 (d, 1H, J = 3.7 Hz), 4.33-4.25 (m, 4H), 4.15-3.98 (m, 5H), 3.95-3.80 (m, 7H), 3.68-3.59 (m, 1H), 3.20-3.07 (m, 2H), 2.99-2.87 (m, 2H), 2.76-2.68 (m, 2H), 1.99-1.83 (m, 4H), 1.72-1.57 (m, 2H), 1.19 (d, 3H, J = 6.6 Hz)。

【0505】

実施例 3

【化 5 4】



10

20

30

40

50

(a) 乾燥 THF (30.0 mL) 中のトリホスゲン (210 mg、0.71 mmol) の溶液を、乾燥 THF (5.0 mL) 中の化合物 4 (1.5 g、1.57 mmol) 及び Et_3N (475 mg、4.69 mmol) の溶液に、氷浴中で滴下して加えた。それを 20℃で 1.0 時間、 N_2 下で撹拌した。反応混合物の試料を MeOH で処理し、LCMS により解析し、メチルカルバメートを検出した。次いで、THF (5.0 mL) 中の化合物 16 (401 mg、1.73 mmol) 及び Et_3N (436 mg、4.31 mmol) の溶液を新鮮に調製されたイソシアネートに加えた。混合物を 40℃で 1.5 時間撹拌し、エクストラトリホスゲン (93 mg、0.31 mmol) を加えた。30 分後、反応混合物を室温まで冷却し、濾過してトリエチルアミン塩酸塩を除去し、濾過物を EtOAc (3×200 mL) で抽出した。合一した有機層を Na_2SO_4 で乾燥させ、濃縮して、フラッシュカラムクロマトグラフィー (PE: EtOAc = 1:1) で精製して、所望の生成物 17 を黄色油状物 (810 mg 収率: 43%) として得た。LCMS: (10–80、AB、1.5 分)、RT = 1.20 分、 m/z = 1212.3 $[\text{M}+1]^+$ 。

【0506】

(b) HOAc 及び H_2O (3/1) (12.0 mL) の混合物を THF (4.5 mL) 中の化合物 17 (810 mg、0.67 mmol) の溶液に加えた。溶液を 20℃で 18.0 時間撹拌した。反応混合物の pH を飽和 NaHCO_3 溶液で pH = 8.0 に調整した。混合物を EtOAc (3×100 mL) で抽出し、合一した抽出物を飽和 NaHCO_3 溶液 (100 mL)、水 (100 mL)、ブライン (100 mL) で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥させ、減圧下で濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー (DCM: MeOH = 15:1) により精製して、所望の生成物 18 を黄色固体 (410 mg、62.3%) として得た。LCMS: (10–80、AB、1.5 分)、RT = 0.867 分、 m/z = 983.2 $[\text{M}+1]^+$ 。

【0507】

(c) DCM (20.0 mL) 中の化合物 18 (130 mg、0.13 mmol) の溶液に DMP (224 mg、0.53 mmol) を加えた。混合物を 20℃で 2.0 時間撹拌した。LCMS は、約 57% の所望の生成物を示した。混合物を濾過し、濾過物を水 (2×15 mL) で洗浄し、 MgSO_4 で乾燥させ、濃縮した。それを、分取 TLC (DCM: MeOH = 20:1) によって精製して、所望の生成物 19 を黄色固体 (70 mg、54%) として得た。LCMS: (10–80、AB、1.5 分)、RT = 0.811 分

、 $m/z = 1002.2 [M+23]^+$ 。

【0508】

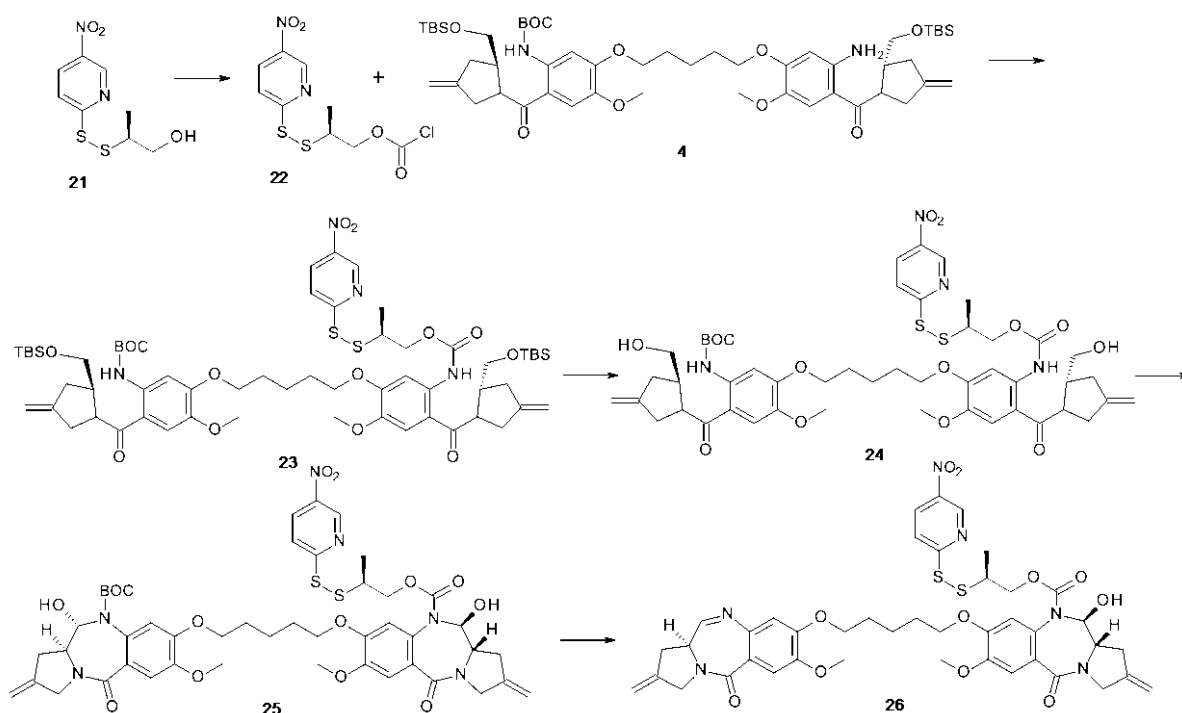
(d) TFA (3.0 mL) を、化合物 19 (100 mg、0.1 mmol) に 0℃で滴加し、混合物を 0℃で 20 分間攪拌した。混合物を飽和 NaHCO₃ 溶液に 0℃で加え、DCM (3×100 mL) で抽出した。有機層を Na₂SO₄ で乾燥させ、濃縮し、分取 TLC (DCM:MeOH=16:1) によって精製して、所望の生成物 20 を白色固体 (70 mg、収率:80%) として得た。LCMS: (10–80、AB、1.5 分)、RT=0.715 分、 $m/z = 861.2 [M+1]^+$; ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.16 (s, 1H), 8.25–8.23 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.63–7.62 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 7.56–7.54 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.71 (s, 1H), 6.64 (s, 1H), 5.51–5.49 (d, J = 10 Hz, 1H), 5.23 (s, 1H), 5.14–5.08 (m, 3H), 4.33–4.0 (m, 9H), 3.98–3.85 (m, 9H), 3.10–2.64 (m, 7H), 1.85–1.84 (m, 6H)。

10

【0509】

実施例 4

【化 55】



20

30

(a) トリホスゲン (72.29 mg、0.243 mmol) を DCM (5 mL) 中の化合物 21 (150 mg、0.609 mmol) 及びピリジン (45.76 mg、0.577 mmol) の攪拌溶液に 20℃で加えた。反応混合物を 20℃で 40 分間攪拌した。溶媒を除去し、残渣を次のステップで直接使用した。

40

【0510】

(b) DCM (5 mL) 中の化合物 22 (168 mg、0.545 mmol) の溶液を DCM (5 mL) 中の化合物 4 (400 mg、0.419 mmol) 及びピリジン (43 mg、0.545 mmol) の溶液に 20℃で滴加した。反応混合物を 20℃で 2 時間攪拌した。溶媒を除去し、残渣を分取 TLC (PE:EtOAc=3:2) により精製して、所望の生成物 23 (160 mg、31%) を黄色固体として得た。LCMS: (5–95、AB、1.5 分)、1.199 分、 $m/z = 1225.4 (M+1)$ 。

【0511】

(c) THF/H₂O (3 mL/3 mL) 中の化合物 23 (160 mg、0.13 mmol)

50

o 1) の溶液に H O A c (5 m L) を 2 0 ° C で加えた。反応混合物を 2 0 ° C で 1 6 時間攪拌した。反応混合物を E t O A c (2 0 m L) で希釈し、水 (2 × 1 0 m L) 、 N a H C O ₃ 飽和水溶液 (2 × 1 0 m L) 及びブライン (1 0 m L) で洗浄した。それを乾燥させ、濃縮して、粗生成物を得た。それを分取 T L C (D C M : M e O H = 1 5 : 1) によって精製して純粋な所望の生成物 2 4 (1 1 0 m g 、 8 5 %) を黄色泡状物として得た。

【 0 5 1 2 】

(d) D C M (5 m L) 中の化合物 2 4 (1 1 0 m g 、 0 . 1 1 m m o l) の溶液に D M P (1 8 7 m g 、 0 . 4 4 1 m m o l) を 0 ° C で加えた。反応混合物を 2 0 ° C で 2 時間攪拌した後、それを N a H C O ₃ / N a ₂ S O ₃ 飽和水溶液 (5 m L / 5 m L) でクエンチし、D C M (3 × 1 0 m L) で抽出した。合一した有機層を N a H C O ₃ / N a ₂ S O ₃ 溶

10

液 (5 m L / 5 m L) 、ブライン (1 0 m L) で洗浄し、乾燥させ、濃縮した。残渣を分取 T L C (D C M : M e O H = 1 5 : 1) によって精製して、所望の生成物 2 5 (6 5 m g 、 5 9 %) を黄色泡状物として得た。

L C M S : (5 - 9 5 、 A B 、 1 . 5 分) 、 0 . 7 7 2 分、 m / z = 1 0 1 5 . 4 (M + 2 3) 。

【 0 5 1 3 】

(e) 低温 T F A (1 0 m L) を化合物 2 5 (6 5 m g 、 0 . 0 6 5 m m o l) に 0 ° C で加えた。反応混合物を 0 ° C で 3 0 分間攪拌した後、それを低温 N a H C O ₃ 飽和水溶液 (2 0 m L) に 0 ° C で滴加し、D C M (4 × 2 0 m L) で抽出した。合一した有機層をブライン (3 0 m L) で洗浄し、乾燥させ、濃縮して、粗生成物を得た。これを分取 T L C (D C M : M e O H = 1 5 : 1) によって精製して、純粋な所望の生成物 2 6 (3 2 m g 、 5 5 . 8 8 %) を黄色泡状物として得た。L C M S : (5 - 9 5 、 A B 、 1 . 5 分) 、 0 . 8 7 7 分、 m / z = 8 7 5 . 4 (M + 1) ; ¹ H N M R (4 0 0 M H z , C D C l ₃) δ 9 . 1 9 (s , 1 H) , 8 . 3 2 (d , J = 8 . 8 H z , 1 H) , 7 . 6 7 (d , J = 4 . 4 H z , 1 H) , 7 . 5 5 (d , J = 8 . 8 H z , 1 H) , 7 . 4 7 (s , 1 H) , 6 . 7 7 (s , 1 H) , 6 . 6 9 (s , 1 H) , 5 . 5 7 (d , J = 9 . 6 H z , 1 H) , 5 . 1 9 - 5 . 1 3 (m , 4 H) , 4 . 4 0 - 4 . 2 0 (m , 4 H) , 4 . 1 5 - 3 . 9 0 (m , 1 4 H) , 3 . 6 1 (m , 1 H) , 3 . 4 7 (s , 1 H) , 3 . 2 0 - 2 . 6 3 (m , 4 H) , 1 . 8 9 (t , J = 6 . 8 H z , 2 H) , 1 . 7 1 - 1 . 5 0 (m , 4 H) , 1 . 2 5 - 1 . 2 1 (m , 3 H) 。

20

30

【 0 5 1 4 】

コンジュゲーションのためのシステイン操作抗体変異体 (T H I O M A B (商標)) の還元／酸化

完全長の、C H O 細胞中で発現したシステイン操作モノクローナル抗体 (システイン操作抗体変異体 (T H I O M A B (商標)) - J u n u t u l a , e t a l . , 2 0 0 8 b N a t u r e B i o t e c h . , 2 6 (8) : 9 2 5 - 9 3 2 ; D o r n a n e t a l (2 0 0 9) B l o o d 1 1 4 (1 3) : 2 7 2 1 - 2 7 2 9 ; U S 7 5 2 1 5 4 1 ; U S 7 7 2 3 4 8 5 ; W O 2 0 0 9 / 0 5 2 2 4 9 、 S h e n e t a l (2 0 1 2) N a t u r e B i o t e c h . , 3 0 (2) : 1 8 4 - 1 9 1 ; J u n u t u l a e t a l (2 0 0 8) J o u r o f I m m u n . M e t h o d s 3 3 2 : 4 1 - 5 2) を、約 2 0 ~ 4 0 倍過剰の T C E P (トリス (2 - カルボキシエチル) ホスフィン塩酸塩または D T T (ジチオトレイトール) で、2 m M E D T A 含む 5 0 m M トリス p H 7 . 5 中で、3 時間 3 7 ° C でまたは一晩室温で還元した。(G e t z e t a l (1 9 9 9) A n a l . B i o c h e m . V o l 2 7 3 : 7 3 - 8 0 ; S o l t e c V e n t u r e s , B e v e r l y , M A) 。還元したシステイン操作抗体変異体 (T H I O M A B (商標)) を希釈し、1 0 m M 酢酸ナトリウム、p H 5 にて、H i T r a p S (登録商標) カラムに充填し、0 . 3 M 塩化ナトリウムを含有する P B S で溶出した。あるいは、抗体を 1 / 2 0 の容量の 1 0 % 酢酸を加えることにより酸性化し、1 0 m M コハク酸塩 p H 5 で希釈し、カラムに充填し、次いで、1 0 カラム容量のコハク酸塩緩衝

40

50

液で洗浄した。カラムを50 mM トリス pH 7.5、2 mM EDTA で溶出した。

【0515】

溶出した還元システイン操作抗体変異体 (THIO MAB (商標)) を15 倍モル過剰の DHA A (デヒドロアスコルビン酸) または200 nM 硫酸銅水溶液 (CuSO_4) で処理した。鎖間ジスルフィド結合の酸化を約3 時間またはそれ以上で完了させた。周囲空気による酸化も有効であった。再酸化した抗体を20 mM ナトリウムコハク酸塩 pH 5、150 mM NaCl、2 mM EDTA へと透析して、 -20°C で凍結保存した。

【0516】

抗体-薬物コンジュゲートを調製するための化合物とシステイン操作抗体のコンジュゲーション

10

脱ブロックし、再酸化したチオ抗体 (システイン操作抗体変異体 (THIO MAB (商標))) を、6~8 倍モル過剰の上記の化合物 (20 mM の濃度の DMSO 原液から) と、50 mM トリス、pH 8 中で、反応混合物の LC-MS 分析により反応が完了したと決定されるまで (16~24 時間) 反応させた。

【0517】

粗抗体-薬物コンジュゲート (ADC) を、次いで、20 mM ナトリウムコハク酸塩、pH 5 で希釈してから陽イオン交換カラムに適用した。カラムを少なくとも10 カラム容量の20 mM ナトリウムコハク酸塩、pH 5 で洗浄し、抗体を PBS で溶出した。抗体薬物コンジュゲートを、240 mM スクロースを含む20 mM His/酢酸塩、pH 5 へと、ゲルろ過カラムを使用して製剤化した。抗体-薬物コンジュゲートを、タンパク質濃度を決定するための UV 分光法、凝集分析のための分析 SEC (サイズ排除クロマトグラフィー)、及びリシン C エンドペプチダーゼでの処理前後の LC-MS によって特徴付けた。

20

【0518】

サイズ排除クロマトグラフィーを、Shodex KW802.5 カラムを使用して0.25 mM 塩化カリウム及び15% IPA を伴う0.2 M リン酸カリウム pH 6.2 中、0.75 ml/分の流速で行った。コンジュゲートの凝集状態を280 nm での溶出ピーク面積吸光度の積分によって決定した。

【0519】

LC-MS 分析を、Agilent QTOF 6520 ESI 装置を使用して行った。一例として、この化学作用を使用して生成された抗体-薬物コンジュゲートを、1:500 w/w エンドプロテイナーゼ Lys C (Promega) でトリス、pH 7.5 中で、30 分間 37°C で処理した。結果得られた切断断片を 80°C に加熱した1000 A、8 μm PLRP-S カラムへと充填し、5 分で30% B から40% B の勾配で溶出した。移動相 A は、0.05% TFA を含む H_2O であり、移動相 B は、0.04% TFA を含むアセトニトリルであった。流速は、0.5 ml/分であった。タンパク質溶出を280 nm での UV 吸光度検出で観察してからエレクトロスプレーイオン化及び MS 分析を行った。未コンジュゲート Fc 断片、残留未コンジュゲート Fab 及び薬物結合 Fab のクロマトグラフ分離が通常達成された。得られた m/z スペクトルを Mass Hunter (商標) ソフトウェア (Agilent Technologies) を使用して畳み込みを解いて、抗体断片の質量を算出した。

30

40

【0520】

【表 2 - 1】

	ADC	抗原	リンカ ー薬物 SG	DAR
101	チオHu抗Her2 7C2 HC A118C	Her2 7C2	8	1.9
102	チオHu抗Her2 7C2 LC K149C	Her2 7C2	8	
103	チオHu抗CD33 HC A118C	CD33	8	1.9
104	チオHu抗CD33 LC K149C	CD33	8	
105	チオHu抗Her2 7C2 LC K149C	Her2 7C2	15	1.8
106	チオHu抗CD33 LC K149C	CD33	15	1.8
107	チオHu抗CD33 HC A118C	CD33	8	1.8
108	チオHu抗CD33 LC K149C	CD33	15	1.9
109	チオHu抗CLL-1 HC A118C	CLL-1	8	
110	チオHu抗CLL-1 HC A118C	CLL-1	8	
111	チオHu抗CLL-1 LC K149C	CLL-1	15	
112	チオHu抗CLL-1 LC K149C	CLL-1	15	1.9
113	チオHu抗Her2 4D5 LC K149C	Her2 4D5 (トラスツズマブ)	15	1.7
114	チオHu抗Her2 4D5 HC A140C	Her2 4D5 (トラスツズマブ)	15	1.7
115	チオHu抗CD33 HC A140C	CD33	15	1.9
116	チオHu抗NaPi2b L C V205C	NaPi2b	15	1.8
117	チオHu抗Her2 7C2 LC K149C	Her2 7C2	15	1.84
118	チオHu抗CD33 HC S239C	CD33	15	1.8

【表 2 - 2】

119	チオHu抗CD33 S23 9C	CD33	15	1.7
120	チオHu抗CLL-1 LC K149C	CLL-1	15	2.0
121	チオHu抗CD22 LC K149C	CD22	15	1.8
122	チオHu抗gD 5B6 L C K149C	gD	15	1.9
123	チオHu抗CD33 LC	CD33	15	1.9
124	チオHu抗Her2 4D5 LC K149C	Her2 4D5 (トラスツズマブ)	15	1.7
125	チオHu抗Nap i 3b L C K149C	Nap i 3b	15	1.9
126	チオHu抗CLL-1 LC K149C	CLL-1	15	
127	チオ抗Her2 7C2 L C K149C	Her2 7C2	20	
128	チオ抗Her2 7C2 L C K149C	Her2 7C2	26	

10

20

【0522】

以下の *in vitro* アッセイは、Phillips et al (2008) Cancer Res. 68 (22) : 9280-9290 においても記載されている。

【0523】

30

In vitro 細胞増殖アッセイ

ADCの有効性を、細胞増殖アッセイによって、以下のプロトコルを用いて測定した (Cell Titer Glo (登録商標) 発光細胞生存度アッセイ、Promega Corp. 技術告示TB288; Mendoza et al (2002) Cancer Res. 62 : 5485-5488)。すべての細胞系統は、アメリカ合衆国培養細胞系統保存機関より入手した：

1. 約 10^4 個の細胞 (例えば、KPL-4、ヒト乳癌細胞系統、Kurebayashi et al (1999) Brit. Jour. Cancer 79 (5-6) : 707-717)、SKBR-3、またはMCF7) を培地中に含有する細胞培養物の 100μ l の一定分量を、96ウェルの不透明壁プレートの各ウェルに静置した。
2. 対照ウェルを、培地を含有して細胞を含まないように調製した。
3. ADCを、実験ウェルに加え、3～5日間インキュベートした。
4. プレートをおおよそ30分間室温に平衡化した。
5. 各ウェル中に存在する細胞培養培地の容量に等しい容量のCell Titer-Glo試薬を加えた。
6. オービタルシェーカー上で内容物を2分間混合して、細胞溶解を誘導した。
7. プレートを室温で10分間インキュベートして、発光シグナルを安定化させた。
8. 発光を記録し、RLU=相対発光単位としてグラフに報告した。

40

【0524】

ある特定の細胞を、1000～2000/ウェルまたは2000～3000/ウェルで

50

、96ウェルプレート中に、50 μ L/ウェルで播種する。1日または2日後、ADCを50 μ L容量で加えて、9000、3000、1000、333、111、37、12.4、4.1、または1.4 ng/mLの最終濃度とし、「ADC無し」対照ウェルは培地のみを受ける。条件は2重または3重とする。3～5日後、100 μ L/ウェルのCell Titer Glo LIを加え（ルシフェラーゼをベースとするアッセイ；増殖をATPレベルにより測定）、細胞数を、ルミノメーターを使用して決定する。データを、標準偏差エラーバーを伴って、複製物の各セットについての発光の平均でプロットする。プロトコルは、Cell Titer Glo発光細胞生存度アッセイ（Promega）を改変したものである：

1. 1000細胞/ウェルを50 μ L/ウェルのFBS/グルタミン培地に播く。細胞を一晩付着させる。
2. ADCを、培地中で1：3に連続的に希釈し、作業濃度18 μ g/mLで開始する（これは、9 μ g/mLの最終濃度をもたらす）。50 μ Lの希釈したADCを50 μ Lの細胞を加え、培地はすでにウェル中にある。
3. 72～96時間インキュベートする（標準は72時間だが、0 μ g/mL濃度を見て、細胞が85～95%コンフルエントであるときにアッセイを停止する）。
4. 100 μ L/ウェルのPromega Cell Titer Glo試薬を加え、3分間振とうし、ルミノメーターで読み取る。

【0525】

結果

抗体－薬物コンジュゲート、チオHu抗Her2 7C2 HC A118C-8（101）、チオHu抗CD33 15G15.3 HC A118C-8（103）、チオHu抗Her2 7C2 LC K149C-15（105）、チオHu抗CD33 15G15.3 LC K149C-15（106）を、SK-BR-3（Levenson et al（1997）Cancer Res. 57（15）：3071-3078）細胞に対して試験して、5日間の試験でのin vitro細胞生存度を測定した。SK-BR-3細胞は、HER2＋発現性である。101及び105は両方とも、これらの細胞に対して活性であり、一方で103及び106は両方とも、有効に不活性であった。

【表3】

CNJ	IC ₅₀ (ng/mL) SK-BR-3
101	5.9
103	1900
105	5.5
106	3000

【0526】

同じ4つのコンジュゲートを、EOL1及びHL-60 Levenson et al（1997）Cancer Res. 57（15）：3071-3078）細胞に対して試験して、5日間の試験でのin vitro細胞生存度を測定した。EOL1及びHL-60細胞は、CD33発現性である。103及び106は両方とも、これらの細胞に対して活性であり、一方で101及び105は両方とも有効に不活性であった。

【表 4】

CN J	I C ₅₀ (μ g/mL) EOL 1	I C ₅₀ (μ g/mL) HL-60
103	0.7	6.3
101	28.9	196
106	2.8	18.6
105	44.8	271

【0527】

10

併用では、これらは、コンジュゲート101、103、105及び106が標的細胞死滅を呈する結果をもたらした。

【0528】

抗体-薬物コンジュゲートチオHu抗Her2 7C2 LC K149C-15 (105)、チオHu抗Her2 7C2 LC K149C-15 (117)、チオ抗Her2 7C2 LC K149C-20 (127)、及びチオ抗Her2 7C2 LC K149C-26 (128)も、SK-BR-3 (Levenson et al (1997) Cancer Res. 57 (15): 3071-3078)細胞に対して試験して、5日間の試験でのin vitro細胞生存度を測定した。SK-BR-3細胞は、HER2+発現性である。

20

【表 5】

CN J	I C ₅₀ (ng/mL) SK-BR-3
105	1.4
117	2.0
127	20.0
128	2.5

【0529】

30

遺伝子導入外移片マウスにおける腫瘍増殖阻害、in vivo有効性

本発明のコンジュゲートは、適切なin vivoモデルで検査され、活性であるとしてされた。適切なin vivoアッセイは、Phillips et al (2008) Cancer Res. 68 (22): 9280-9290に記載されている。

【0530】

略語

Ac アセチル

Acm アセトアミドメチル

Alloc アリルオキシカルボニル

Boc ジカルボン酸ジ-tert-ブチル

t-Bu tert-ブチル

Bzl ベンジル、ただしBzl-OMeはメトキシベンジルであり、Bzl-Meはメチルベンゼンである

CbzまたはZ ベンジルオキシカルボニル、ただし、Z-Cl及びZ-Brは、それぞれ、クロロ-及びブロモベンジルオキシカルボニルである

DMF N,N-ジメチルホルムアミド

Dnp ジニトロフェニル

DTT ジチオスレイトール

Fmoc 9H-フルオレン-9-イルメトキシカルボニル

imp N-10イミン保護基: 3-(2-メトキシエトキシ)プロパノエート-Val

50

－ A l a － P A B
M C － O S u マレイミドカプロイル－O－N－スクシンイミド
M o c メトキシカルボニル
M P マレイミドプロパンアミド
M t r 4－メトキシ－2, 3, 6－トリメチルベンゼンスルホニル
P A B パラ－アミノベンジルオキシカルボニル
P E G エチレンオキシ
P N Z p－ニトロベンジルカルバメート
P s e c 2－（フェニルスルホニル）エトキシカルボニル
T B D M S t e r t－ブチルジメチルシリル
T B D P S t e r t－ブチルジフェニルシリル
T e o c 2－（トリメチルシリル）エトキシカルボニル
T o s トシル
T r o c 2, 2, 2－トリクロロエトキシカルボニルクロリド
T r t トリチル
X a n キサンチル

10

【図 1 a】

LC K149C...AKVQWCVDNAL... [配列番号:1]

【図 1 b】

LC V205C...GLSSPCTKSFN... [配列番号:2]

【図 1 c】

HC A140C...TSGGTCALGCL... [配列番号:3]

【図 1 d】

HC S239C...LLGGPCVFLFP... [配列番号:4]

【配列表】

2017533887000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/050634

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D487/04 A61K39/44 A61P35/00
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2013/055987 A1 (SPIROGEN SARL [CH]; GENENTECH INC [US]) 18 April 2013 (2013-04-18) cited in the application Preparation of compounds; page 91 - page 92; claim 45 Intermediates - Schemes in pages 84 and 88; claims 42-44; compounds 14, 22 Antibody conjugates - claims 1-38 and tables of page 93; claims 1-38 ----- -/--	1-45

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 January 2016

Date of mailing of the international search report

29/01/2016

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Sotoca Usina, E

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2015/050634

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2014/011518 A1 (GENENTECH INC [US]; SPIROGEN SARL [CH]; POLAKIS PAUL [US]; POLSON ANDR) 16 January 2014 (2014-01-16) Scheme on page 110 compound 14 Scheme on page 114 compound 22; pages 95-97, paragraph A claims 1-14, 20, 21, 27, 29-45 -----	1-45
A	WO 2013/177481 A1 (IMMUNOGEN INC [US]) 28 November 2013 (2013-11-28) the whole document -----	1-45

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2015/050634

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2013055987 A1	18-04-2013	AU 2012322607 A1 CA 2850371 A1 CN 103987407 A DK 2750713 T3 EA 201490580 A1 EP 2750713 A1 ES 2556584 T3 HR P20151374 T1 JP 2014534199 A KR 20140078735 A SG 11201401406Y A US 2013266595 A1 WO 2013055987 A1	29-05-2014 18-04-2013 13-08-2014 21-12-2015 28-11-2014 09-07-2014 19-01-2016 15-01-2016 18-12-2014 25-06-2014 29-05-2014 10-10-2013 18-04-2013
WO 2014011518 A1	16-01-2014	AR 091703 A1 AU 2013288929 A1 CA 2873889 A1 CN 104540524 A CR 20150048 A EA 201590174 A1 EP 2869849 A1 JP 2015527318 A KR 20150027829 A PE 06152015 A1 PH 12014502797 A1 TW 201406785 A US 2014030279 A1 WO 2014011518 A1	25-02-2015 04-12-2014 16-01-2014 22-04-2015 14-04-2015 30-09-2015 13-05-2015 17-09-2015 12-03-2015 28-05-2015 09-02-2015 16-02-2014 30-01-2014 16-01-2014
WO 2013177481 A1	28-11-2013	US 2015209444 A1 WO 2013177481 A1	30-07-2015 28-11-2013

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2015/050634

Box No. 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 No. 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 additional fees.

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 and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2015/050634

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. claims: 1-30

Preparation of conjugates of formula A and intermediates of the preparation

2. claims: 31-45

Conjugates of formula A1

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 47/68	4 H 0 4 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 L	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 C	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 T	
	A 6 1 K 39/395 E	
	A 6 1 P 35/00	
	A 6 1 K 45/00	
	A 6 1 P 43/00 1 2 1	

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

(72)発明者 トーマス・エイチ・ピロー

アメリカ合衆国 9 4 0 8 0 - 4 9 9 0 カリフォルニア州サウス・サン・フランシスコ、ディーエヌ
エー・ウェイ 1、シー／オー・ジェネンテック・インコーポレイテッド

Fターム(参考) 4C072 MM01

4C076 AA95 CC27 EE59 FF70

4C084 AA19 MA16 MA35 MA37 MA43 MA52 MA55 MA63 MA65 MA66

NA05 NA13 NA14 ZB261 ZB262 ZC751

4C085 AA23 AA26 BB01 BB11 CC21 GG02 GG04 GG08 GG10

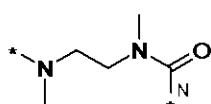
4C086 AA01 AA02 AA03 AA10 CB11 MA01 MA02 MA03 MA04 MA05

NA05 NA13 NA14 ZB26 ZC75

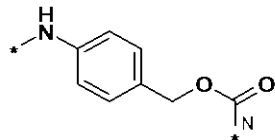
4H045 AA11 AA30 BA10 BA51 CA40 DA75 EA20

【要約の続き】

式中、Yは、単結合、及び式(A 1)または(A 2)の基：



(A 1)



(A 2)

から選択され、ここでNは、前記基が前記PBD部分のN10に結合する場所を示す、前記化合物。