

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7327899号

(P7327899)

(45)発行日 令和5年8月16日(2023.8.16)

(24)登録日 令和5年8月7日(2023.8.7)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 47/51 (2017.01)

A 6 1 K 47/51

Z N A

A 6 1 K 31/5383(2006.01)

A 6 1 K 31/5383

A 6 1 K 31/5517(2006.01)

A 6 1 K 31/5517

A 6 1 K 38/05 (2006.01)

A 6 1 K 38/05

A 6 1 K 38/12 (2006.01)

A 6 1 K 38/12

請求項の数 42 (全280頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2017-563046(P2017-563046)

(86)(22)出願日 平成28年11月23日(2016.11.23)

(65)公表番号 特表2019-503981(P2019-503981 A)

(43)公表日 平成31年2月14日(2019.2.14)

(86)国際出願番号 PCT/IB2016/001811

(87)国際公開番号 WO2017/089895

(87)国際公開日 平成29年6月1日(2017.6.1)

審査請求日 令和1年11月25日(2019.11.25)

審判番号 不服2021-17933(P2021-17933/J 1)

審判請求日 令和3年12月24日(2021.12.24)

(31)優先権主張番号 62/260,006

(32)優先日 平成27年11月25日(2015.11.25)

(33)優先権主張国・地域又は機関

最終頁に続く

(73)特許権者 511071304

レゴケム バイオサイエンス, インク.
LEGO CHEM BIOSCIENC
ES, INC.大韓民国、デジョン、ユソング、グッ
ジェグアハク 10-ロ、10
10, Guk jegwahak 10-
ro, Yuseong-gu, Daej
eon 34002 Republic
of Korea

(74)代理人 110002572

弁理士法人平木国際特許事務所

(72)発明者 キム, ヨン ジュ

大韓民国 34302, デジョン, テド
クーグ ムンピョンセオーロ 8-26

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 分岐リンカーを含む抗体-薬物複合体及びそれらに関連する方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

リガンド、及びリガンドに共有結合で連結する分岐リンカーを含むリガンド-活性剤複合体であって、

前記分岐リンカーが、

i)一次リンカーによりリガンドに共有結合で連結する分岐ユニット、

ii)二次リンカー及び第1の切断基により分岐ユニットに共有結合で連結する第1の活性剤を含む第1の分岐、及び

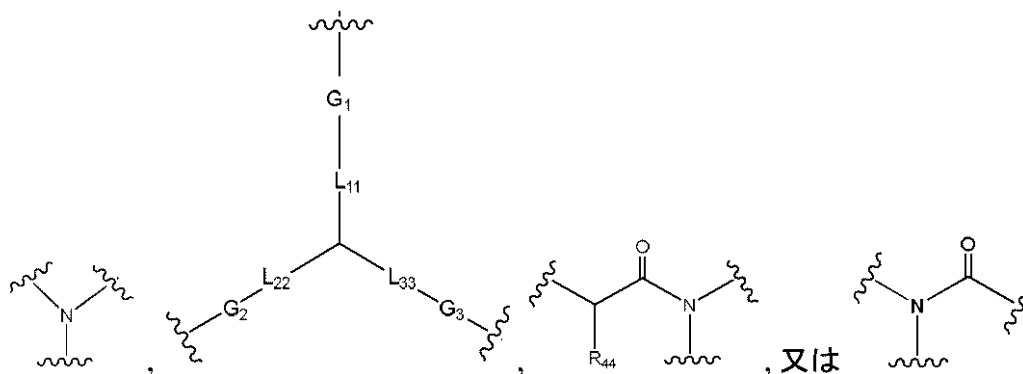
iii) a)二次リンカー及び第2の切断基により分岐ユニットに共有結合で連結する第2の活性剤、又は

b)分岐ユニットに共有結合で連結するポリエチレングリコール部分を含む第2の分岐

を含み、

一次リンカー及び二次リンカーが、それぞれ独立して、1から100個の炭素原子を有するアルキレンであり、又は、それぞれ独立して、i)1から100個の炭素原子を有するアルキレンが、少なくとも1つの不飽和結合を含む構造、ii)1から100個の炭素原子を有するアルキレンが、少なくとも1つのヘテロアリーレンを含む構造、iii)1から100個の炭素原子を有するアルキレンの少なくとも1つの炭素原子が、窒素(N)、酸素(O)及び硫黄(S)から選択されるヘテロ原子により置き換えられている構造、若しくはiv)1から100個の炭素原子を有するアルキレンが、1から20個の炭素原子を有する1つ以上のアルキルでさらに置換さ

れている構造であり、
分岐ユニットが、
【化 1】



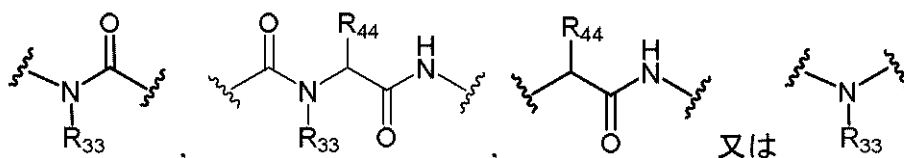
10

により表される構造を有し、

L_{11} 、 L_{22} 、及び L_{33} は、それぞれ独立して、結合又は $-C_nH_{2n}-$ であり、 n は1から30の整数であり、

G_1 、 G_2 、及び G_3 は、それぞれ独立して、結合、

【化 2】



20

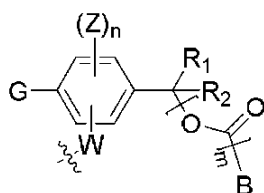
であり、

R_{33} は、水素又は $C_1 \sim C_{30}$ アルキルであり、及び

R_{44} は、水素又は $-L_4-COOR_5$ であり、 L_4 は、結合又は $-C_nH_{2n}-$ であり、 n は、1から10の整数であり、 R_5 は、水素又は $C_1 \sim C_{30}$ アルキルであり、及び

各切断基が、式：

【化 3】



30

を有し、

B は、第1の活性剤又は第2の活性剤を表し、

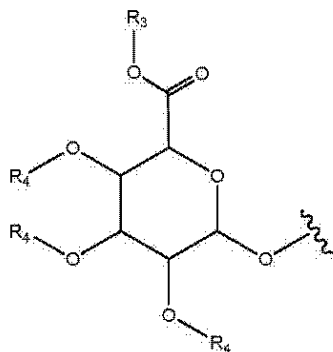
式中：

G が、

40

50

【化 4】



10

であり、

Wが、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'-$ 、 $-\text{P}(\text{O})\text{R}''\text{NR}'-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{NR}'-$ 又は $-\text{PO}_2\text{NR}'-$ を表し、各ケースでは、 $\text{C}(\text{O})$ 、S又はPがフェニル環に直接結合し、 R' 及び R'' が、それぞれ独立して、水素、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキル、モノ若しくはジカルボキシル $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキル、 $(\text{C}_3\sim\text{C}_8)$ シクロアルキル、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルコキシ、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキルチオ、モノ若しくはジ $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキルアミノ、 $(\text{C}_3\sim\text{C}_{20})$ ヘテロアリール又は $(\text{C}_6\sim\text{C}_{20})$ アリールであり、

20

各Zが、独立して、水素、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキル、アミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ又はニトロを表し、

nが1から3の整数であり、

mが0又は1であり、

R_1 及び R_2 が、それぞれ独立して、水素、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキル若しくは $(\text{C}_3\sim\text{C}_8)$ シクロアルキルであり、又は R_1 及び R_2 が、それらが結合する炭素原子と一緒に、 $(\text{C}_3\sim\text{C}_8)$ シクロアルキル環を形成し、

R_3 が、水素又はカルボキシル保護基であり、

各 R_4 が、独立して、水素又はヒドロキシル保護基であり、及び

【化 5】



30

が二次リンカーへの結合である、上記リガンド-活性剤複合体。

【請求項 2】

各Zが、独立して、水素、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロを表す、請求項1に記載の複合体。

【請求項 3】

Wが、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'-$ である、請求項1又は2に記載の複合体。

【請求項 4】

Wが、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'-$ を表し、Wの窒素が、アミノ酸の窒素である、請求項1～3のいずれか一項に記載の複合体。

40

【請求項 5】

R_3 及び各 R_4 が、水素である、請求項1から4のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 6】

一次リンカーが、

i) 1から100個の炭素原子を有するアルキレンが、少なくとも1つの不飽和結合を含む構造；

ii) 1から100個の炭素原子を有するアルキレンが、少なくとも1つのヘテロアリーレンを含む構造；

iii) 1から100個の炭素原子を有するアルキレンの少なくとも1つの炭素原子が、窒素(N)

50

、酸素(O)及び硫黄(S)から選択されるヘテロ原子により置き換えられている構造；又は
iv)1から100個の炭素原子を有するアルキレンが、1から20個の炭素原子を有する1つ以上のアルキルでさらに置換されている構造
を含む、請求項1から5のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項7】

iii)に記載されるアルキレンの少なくとも1個の炭素原子が、窒素により置き換えられている、請求項6に記載の複合体。

【請求項8】

一次リンカーが、アミノ酸を含み、アミノ酸が、水溶液中で、中性pHにおいて電荷を持つ部分を有する側鎖を含む、請求項1から7のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項9】

二次リンカーが、

i)1から100個の炭素原子を有するアルキレンが、少なくとも1つの不飽和結合を含む構造；

ii)1から100個の炭素原子を有するアルキレンが、少なくとも1つのヘテロアリーレンを含む構造；

iii)1から100個の炭素原子を有するアルキレンの少なくとも1つの炭素原子が、窒素(N)、酸素(O)及び硫黄(S)から選択されるヘテロ原子により置き換えられている構造；又は

iv)1から100個の炭素原子を有するアルキレンが、1から20個の炭素原子を有する1つ以上のアルキルでさらに置換されている構造
を含む、請求項1から8のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項10】

iii)に記載されるアルキレンの少なくとも1個の炭素原子が、窒素により置き換えられ、二次リンカーが、親水性アミノ酸の少なくとも2個の原子を含み、窒素が、親水性アミノ酸の骨格カルボニルとペプチド結合を形成する、請求項9に記載の複合体。

【請求項11】

二次リンカーが、アミノ酸を含み、アミノ酸が、水溶液中で、中性pHにおいて電荷を持つ部分を有する側鎖を含む、請求項1から10のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項12】

分岐ユニットが一次リンカーにアミド部分により連結し、一次リンカーがアミドのカルボニルを含む、請求項1から11のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項13】

分岐ユニットが一次リンカーにアミド部分により連結し、第1の分岐又は第2の分岐がアミドのカルボニルを含む、請求項1から11のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項14】

少なくとも1つの分岐ユニットが親水性アミノ酸である、請求項1から13のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項15】

親水性アミノ酸が、アルギニン、アスパルテート、アスパラギン、グルタメート、グルタミン、ヒスチジン、リシン、オルニチン、プロリン、セリン又はトレオニンである、請求項14に記載の複合体。

【請求項16】

2、3又は4つの分岐リンカーがリガンドに連結する、請求項1から15のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項17】

2つの分岐リンカーがリガンドに連結する、請求項1から15のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項18】

各分岐リンカーが1つの活性剤に連結する、請求項1から17のいずれか一項に記載の複合体。

10

20

30

40

50

【請求項 19】

少なくとも2つの異なる活性剤が、異なる分岐リンカーに連結する、請求項1から18のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 20】

一次リンカーが、チオエーテル結合によりリガンドに共有結合しており、チオエーテル結合が、リガンドのシステインの硫黄原子を含む、請求項1から19のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 21】

リガンドが、イソプレノイド転移酵素により認識されるアミノ酸モチーフを含み、チオエーテル結合が、アミノ酸モチーフのシステインの硫黄原子を含む、請求項20に記載の複合体。

【請求項 22】

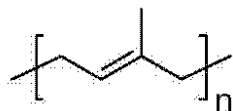
アミノ酸モチーフが、CYYXであり、さらに
Cがシステインを表し、
各Yが、それぞれ独立して、脂肪族アミノ酸であり、
Xが、グルタミン、グルタメート、セリン、システイン、メチオニン、アラニン又はロイシンであり、
チオエーテル結合が、アミノ酸モチーフのシステインの硫黄原子を含む、請求項21に記載の複合体。

【請求項 23】

アミノ酸モチーフが、CysValIleMet又はCysValLeuLeuである、請求項21に記載の複合体。

【請求項 24】

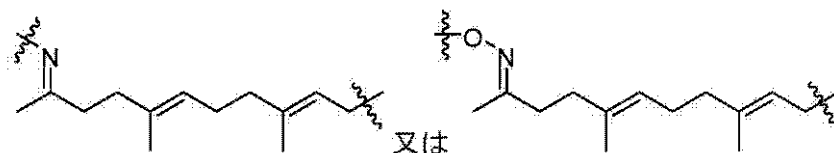
チオエーテル結合が、
【化6】



により表される少なくとも1個のイソプレニルユニットの炭素原子を含み、nが少なくとも2である、請求項20から23のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 25】

リンカーが：
【化7】



を含む、請求項1から24のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項 26】

一次リンカー、第1の分岐又はその両方が、 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q-$ 、 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qY-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q(CH_2)_r-$ 、 $-Y(((CH_2)_pV)_q)$ 又は $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qYCH_2-$ により表される接続ユニットを含み、

式中：

rが0から10の整数であり、

pが1から10の整数であり、

qが1から20の整数であり、

V及びYが、それぞれ独立して、単結合、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR_{21}-$ 、 $-C(O)NR_{22}-$ 、 $-NR_{23}C(O)$

)-, -NR₂₄SO₂-又は-SO₂NR₂₅-であり、

R₂₁からR₂₅が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₆)アルキル、(C₁~C₆)アルキル(C₆~C₂₀)アリール又は(C₁~C₆)アルキル(C₃~C₂₀)ヘテロアリールである、請求項1から25のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項27】

一次リンカー、第1の分岐又はその両方が、-((CH₂)_pV)_q-により表される接続ユニットを含む、請求項26に記載の複合体。

【請求項28】

V及びYが、それぞれ独立して、-O-である、請求項26又は27に記載の複合体。

【請求項29】

rが2であり、

pが2であり、

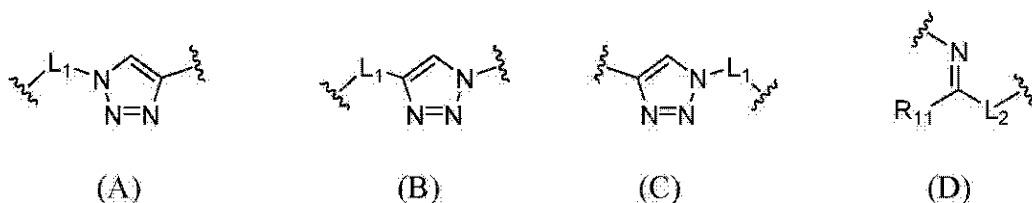
qが2、5又は11であり、

Vが-O-である、請求項26から28のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項30】

一次リンカーが、式A、B、C又はD:

【化8】



により表される結合ユニットを含み、式中:

L₁が、単結合、又は1から30個の炭素原子を有するアルキレンであり、

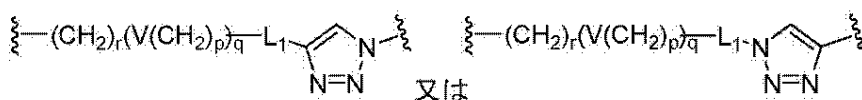
R₁₁が、水素、又は1から10個の炭素原子を有するアルキルであり、

L₂が、1から30個の炭素原子を有するアルキレンである、請求項1から29のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項31】

一次リンカーが、

【化9】



を含み、

Vが、単結合、-O-、-S-、-NR₂₁-、-C(O)NR₂₂-、-NR₂₃C(O)-、-NR₂₄SO₂-又は-SO₂NR₂₅-であり、

R₂₁からR₂₅が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₆)アルキル、(C₁~C₆)アルキル(C₆~C₂₀)アリール又は(C₁~C₆)アルキル(C₃~C₂₀)ヘテロアリールであり、

rが1から10の整数であり、

pが0から10の整数であり、

qが1から20の整数であり、

L₁が単結合である、請求項30に記載の複合体。

【請求項32】

一次リンカーがO-置換オキシムを含み、

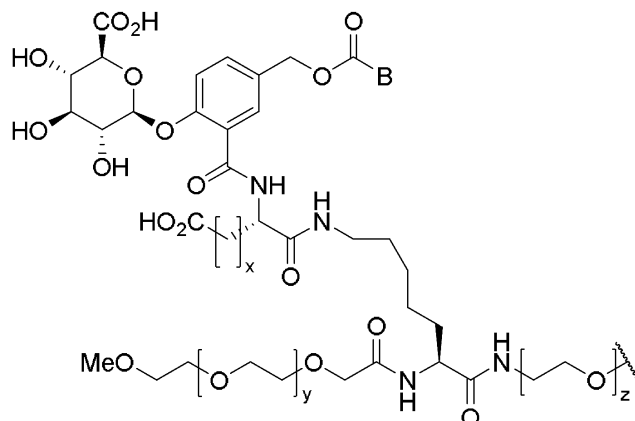
i) オキシムの酸素原子が、オキシムを活性剤に共有結合でつなげる基で置換され、オキシムの炭素原子が、オキシムをリガンドに共有結合でつなげる基で置換されている、又は

ii) オキシムの酸素原子が、オキシムをリガンドに共有結合でつなげる基で置換され、オキシムの炭素原子が、オキシムを活性剤に共有結合でつなげる基で置換されている、請求項1から31のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項33】

複合体が:

【化10】



10

により表される構造を有し、式中:

20

Bが活性剤を表し、

xが1から3の整数を表し、

yが0から20の整数を表し、

zが1から20の整数を表し、

波線が、リガンドへの連結を表す、請求項1に記載の複合体。

【請求項34】

リガンドが抗体である、1から33のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項35】

リガンドが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体断片、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、一本鎖Fv(「scFv」)、直鎖状抗体、二重特異性抗体、多重特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体又は抗体の抗原結合性部分を含む融合タンパク質である、請求項1から34のいずれか一項に記載の複合体。

30

【請求項36】

リガンドが、ムロモナブ-CD3 アブシキシマブ、リツキシマブ、ダクリズマブ、パリビズマブ、インフリキシマブ、トラスツズマブ、エタネルセプト、バシリキシマブ、ゲムツズマブ、アレムツズマブ、イブリツモマブ、アダリムマブ、アレファセプト、オマリズマブ、エファリズマブ、トシツモマブ、セツキシマブ、ABT-806、ベバシズマブ、ナタリズマブ、ラニビズマブ、パニツムマブ、エクリズマブ、リロナセプト、セルトリズマブ、ロミブロスチム、AMG-531、ゴリムマブ、ウステキヌマブ、ABT-874、ベラタセプト、ベリムマブ、アタシセプト、抗CD20抗体、カナキヌマブ、トシリズマブ、アトリズマブ、メポリズマブ、ペルツズマブ、HuMax CD20、トレメリムマブ、チシリムマブ、イピリムマブ、IDEC-114、イノツズマブ、HuMax EGFR、アフリベルセプト、HuMax-CD4、テプリズマブ、オテリキシズマブ、カツマキソマブ、抗EpCAM抗体IGN101、アデカツムマブ、オレゴボマブ、ジヌツキシマブ、ギレンツキシマブ、デノスマブ、バピネウズマブ、モタビズマブ、エファングマブ、ラキシバクマブ、LY2469298及びベルツズマブから選択される、請求項1から35のいずれか一項に記載の複合体。

40

【請求項37】

少なくとも1つの活性剤が、化学療法剤及び毒素から選択される、請求項1から36のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項38】

50

少なくとも1つの活性剤が:

- (a)エルロチニブ、ボルテゾミブ、フルベストラント、スーテント、レトロゾール、メシル酸イマチニブ、PTK787/ZK 222584、オキサリプラチン、5-フルオロウラシル、ロイコボリン、ラパマイシン、ラパチニブ、ロナファルニブ、ソラフェニブ、ゲフィチニブ、AG 1478、AG1571、チオテパ、シクロホスファミド、ブスルファン、インプロスルファン、ピボスルファン、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、ウレドーパ、エチレンイミン、アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、トリメチロールメラミン、ブラタシン、ブラタシノン、カンブトテシン、トポテカン、プリオスタチン、カリストアチン、CC-1065、アドゼレシン、カルゼルシン、ビゼレシン、クリプトフィシン1、クリプトフィシン8、ドラスタチン、デュオカルマイシン、KW-2189、CB1-TM1、エリユテロビン、パンクラチスタチン、サルコジクチン、スポンジスタチン、クロランブシル、クロルナファジン、コロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メルファラン、ノベンビチン、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、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチン、カリケアミシン、カリケアミシガンマ1、カリケアミシンオメガ1、ジネミシン、ジネミシンA、クロドロネート、エスペラミシン、ネオカルジノスタチンクロモフォア、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アンチマイシン、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、カルニノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルブシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ドキシソルビシン、モルホリノ-ドキシソルビシン、シアノモルホリノ-ドキシソルビシン、2-ピロリノ-ドキシソルビシン、リボソームドキシソルビシン、デオキシドキシソルビシン、エピルビシン、エソルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシンC、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、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、5-フルオロウラシル、デノブテリン、メトトレキサート、プテロブテリン、トリメトレキサート、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、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、フロキシウリジン、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、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン、フォリン酸、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、ピサントレン、エダトレキサート、デフォファミン、デメコルシン、ジアジコン、エフロルニチン、酢酸エリブチニウム、エトグルシド、硝酸ガリウム、ヒドロキシ尿素、レンチナン、ロニダイニン、メイタンシン、アンサミトシン、ミトグアゾン、ミトキサントロン、モビダンモール、ニトラリン、ペントスタチン、フェナメット、ピラルビシン、ロソキサントロン、2-エチルヒドラジド、プロカルバジン、ポリサッカリド-k、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、トリアジコン、2,2',2''-トリクロロトリエチルアミン、T-2毒素、ベラキュリン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、ミトブロニトール、ミトラクトール、ピボプロマン、ガシトシン、アラビノシド、シクロホスファミド、チオテパ、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン改変ナノ粒子製剤、ドセタキセル、クロランブシル、ゲムシタビン、6-チオグアニン、メルカプトプリン、シスプラチン、カルボプラチン、ビンブラスチン、白金、エトポシド、イホスファミド、ミトキサントロン、ピンクリスチン、ビノレルビン、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、ゼローダ、イバンドロネート、CPT-11、トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000、ジフルオロメチルオルニチン、レチノイン酸、カペシタビン又は先述のいずれかの薬学的に許容される塩、溶媒和物又は酸、
- (b)モノカイン、リンフォカイン、ポリペプチドホルモン、上皮小体ホルモン、チロキシン、リラキシン、プロリラキシン、糖タンパク質ホルモン、卵胞刺激ホルモン、甲状腺刺激

10

20

30

40

50

ホルモン、黄体形成ホルモン、肝細胞増殖因子、線維芽細胞増殖因子、プロラクチン、胎盤性ラクトゲン、腫瘍壊死因子- α 、腫瘍壊死因子- β 、ミューラー管阻害物質、マウスゴナドトロピン関連ペプチド、インヒビン、アクチビン、血管内皮増殖因子、トロンボポエチン、エリスロポエチン、骨誘導因子、インターフェロン、インターフェロン- α 、インターフェロン- β 、インターフェロン- γ 、コロニー刺激因子(「CSF」)、マクロファージ-CSF、顆粒球-マクロファージ-CSF、顆粒球-CSF、インターロイキン(「IL」)、IL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、腫瘍壊死因子、TNF- α 、TNF- β 、ポリペプチド因子、LIF、kitリガンド又は先述のいずれかの組合せ、

(c)ジフテリア毒素、ボツリヌス毒素、破傷風毒素、赤痢毒素、コレラ毒素、アマニチン、アマニチン誘導体、 α -アマニチン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン誘導体、テトロドトキシン、プレベトキシン、シガトキシン、リシン、AM毒素、チューブリシン、ゲルダナマイシン、メイタンシノイド、カリケアミシン、ダウノマイシン、ドキソルビシン、メトトレキサート、ビンデシン、SG2285、ドラスタチン、ドラスタチン類似体、オーリスタチン、クリプトフィシン、カンプトテシン、カンプトテシン誘導体及び代謝産物、リゾキシン、リゾキシン誘導体、CC-1065、CC-1065類似体若しくは誘導体、デュオカルマイシン、エンジイン抗生物質、エスペラミシン、エポチロン、アゾナフィド、アブリジン、トキシイド又は先述のいずれかの組合せ、

(d)親和性リガンドであって、基質、阻害剤、刺激剤、神経伝達物質、放射性同位体又は先述のいずれかの組合せである、親和性リガンド、

(e)放射性標識、 ^{32}P 、 ^{35}S 、蛍光色素、電子密度試薬、酵素、ビオチン、ストレプトアビジン、ジゴキシゲニン、ハプテン、免疫原性タンパク質、標的に相補的な配列を有する核酸分子、又は先述のいずれかの組合せ、

(f)免疫調節化合物、抗がん剤、抗ウイルス剤、抗細菌剤、抗菌剤及び抗寄生虫剤又は先述のいずれかの組合せ、

(g)タモキシフェン、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン又はトレミフェン、

(h)4(5)-イミダゾール、アミノグルテチミド、酢酸メゲストロール、エキセメスタン、レトロゾール又はアナストロゾール、

(i)フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、ゴセレリン又はトロキサシタビン、

(j)アロマターゼ阻害剤、

(k)タンパク質キナーゼ阻害剤、

(l)脂質キナーゼ阻害剤、

(m)アンチセンスオリゴヌクレオチド、

(n)リボザイム、

(o)ワクチン、並びに

(p)抗血管形成剤

から選択される、請求項1から37のいずれか一項に記載の複合体。

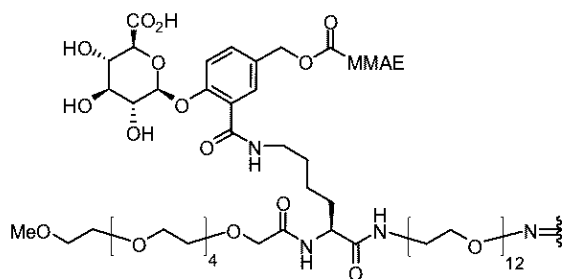
【請求項39】

少なくとも1つの活性剤が、アマニチン、オーリスタチン、カリケアミシン、カンプトテシン、クリプトフィシン、ダウノマイシン、ドラスタチン、ドキソルビシン、デュオカルマイシン、エポチロン、エスペラミシン、ゲルダナマイシン、メイタンシノイド、メトトレキサート、モノメチルオーリスタチンE(「MMAE」)、モノメチルオーリスタチンF(「MMAF」)、ピロロベンゾジアゼピン、リゾキシン、SG2285、チューブリシン、ビンデシン、トキシイド、又は先述のいずれか1つの誘導体である、請求項1から38のいずれか一項に記載の複合体。

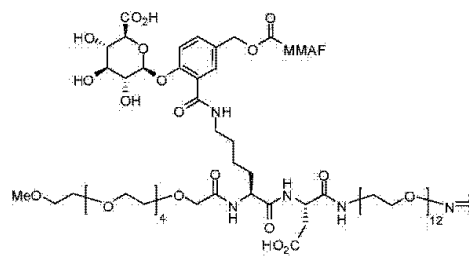
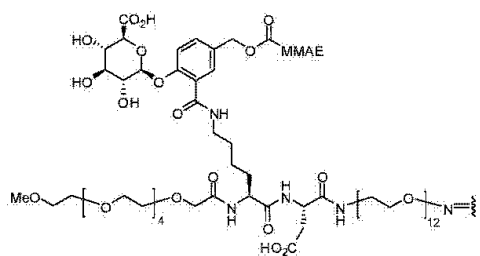
【請求項40】

複合体が：

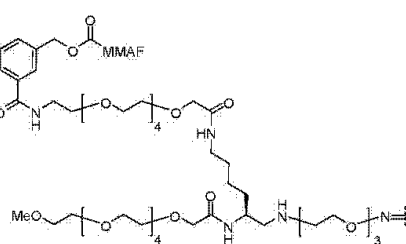
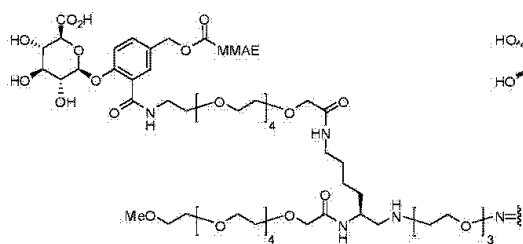
【化 1 1】



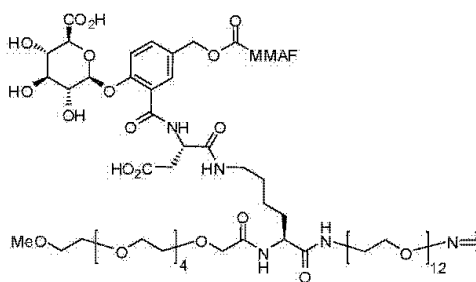
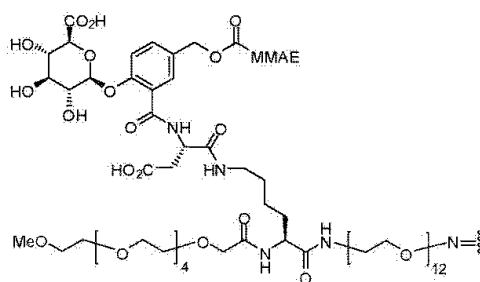
10



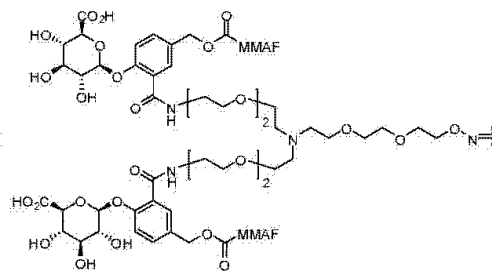
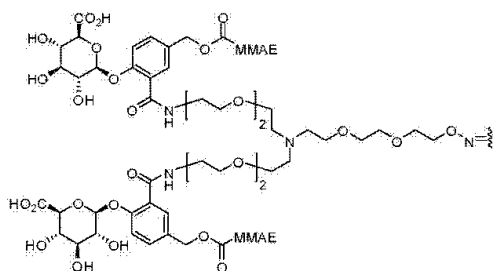
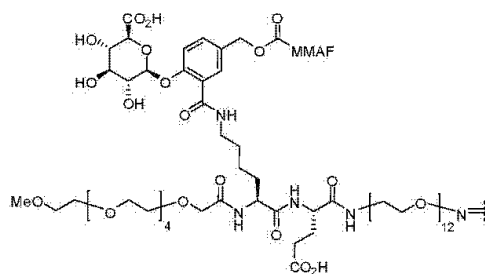
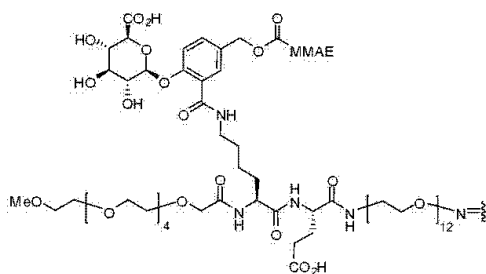
20



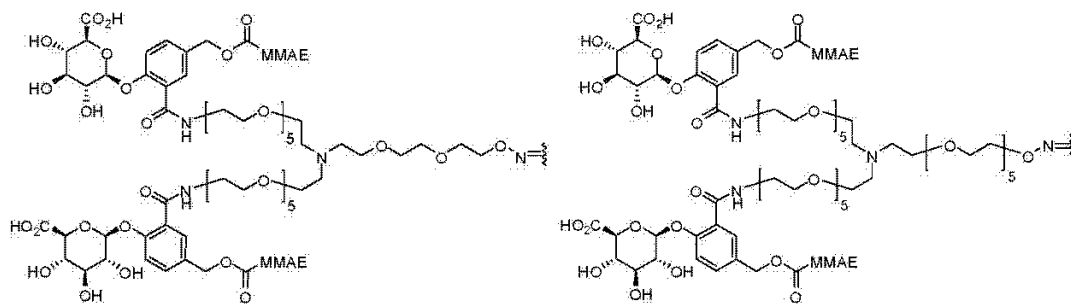
30



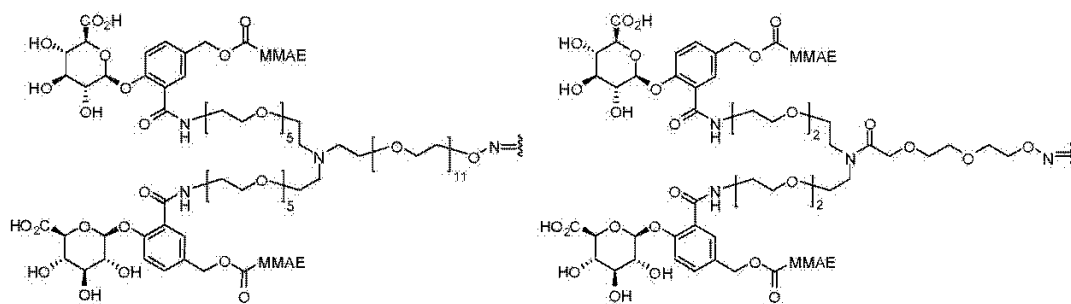
40



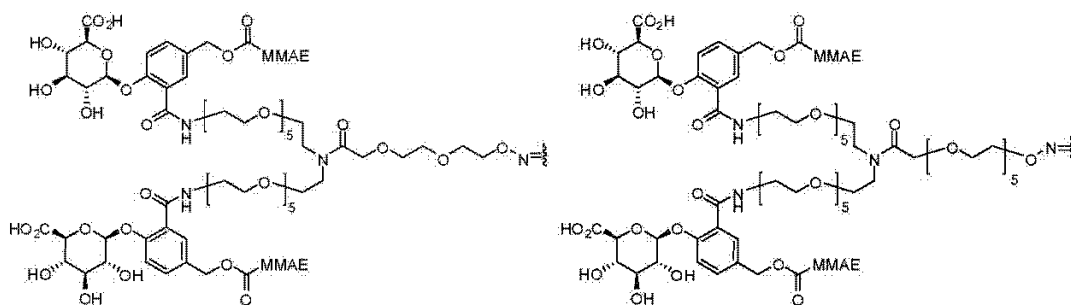
50



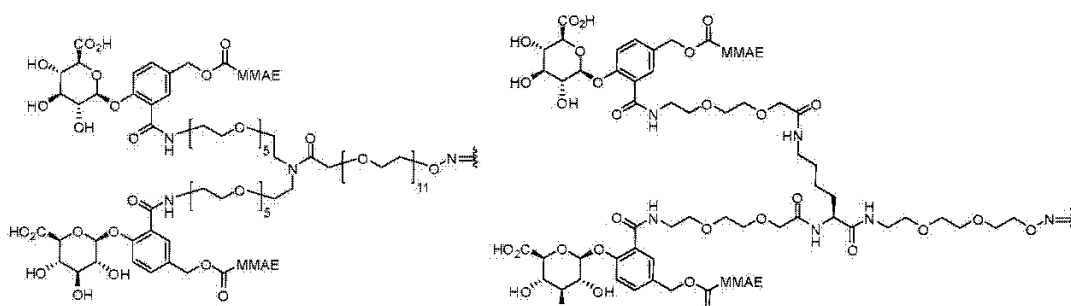
10



20

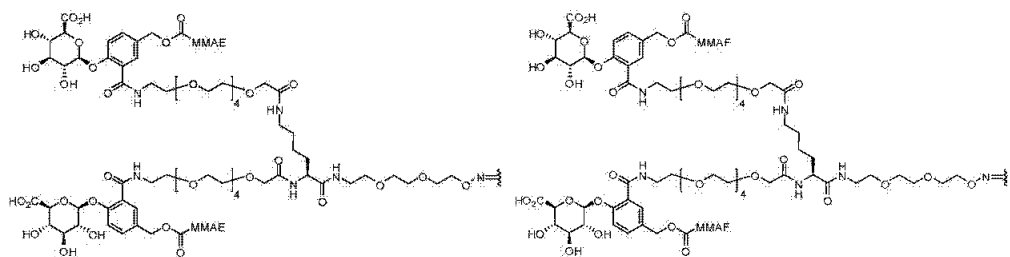


30

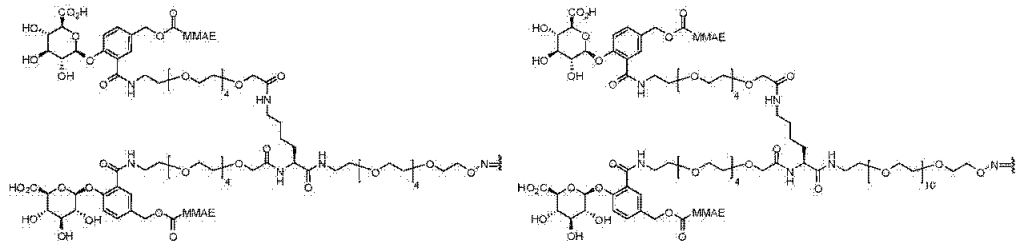


40

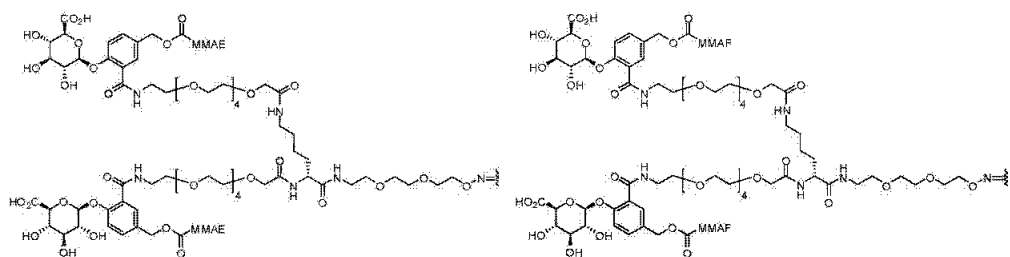
50



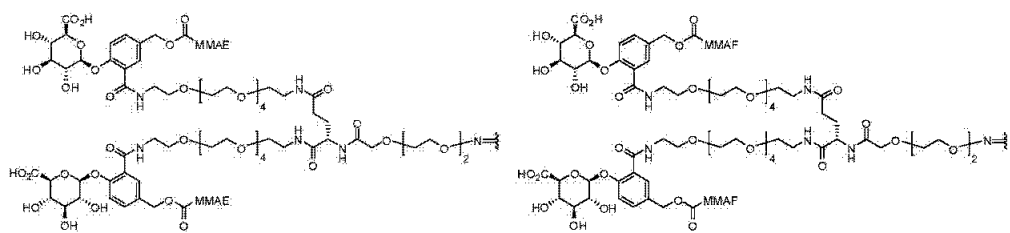
10



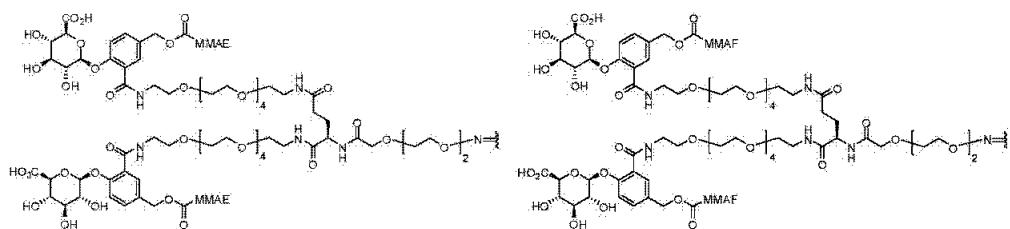
20



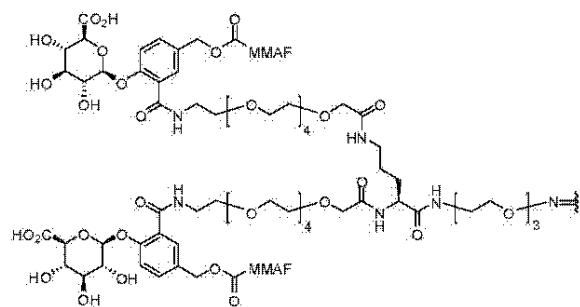
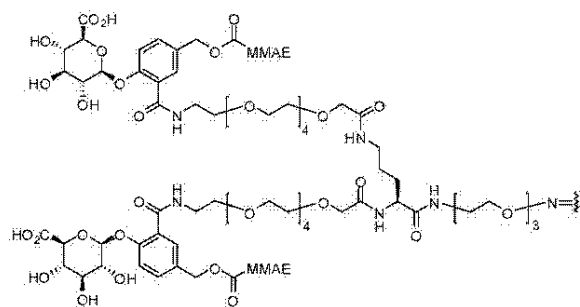
30



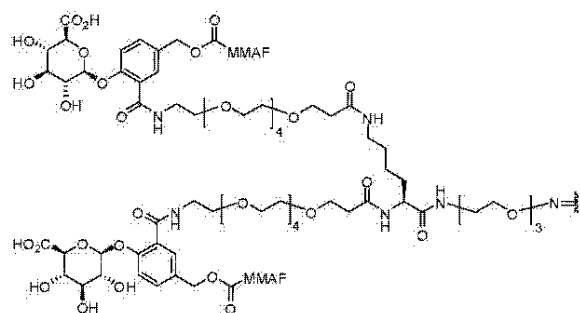
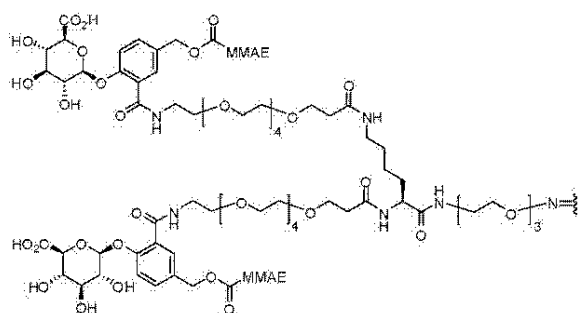
40



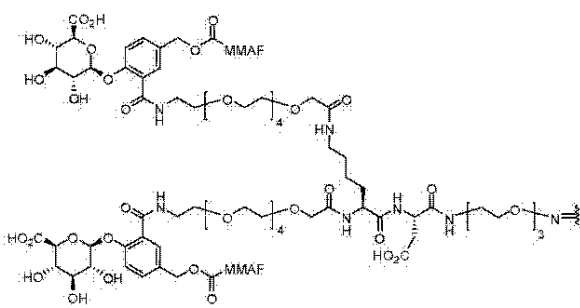
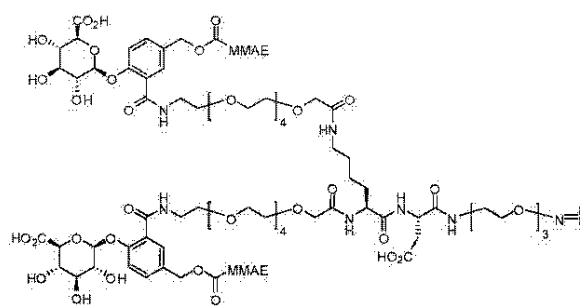
50



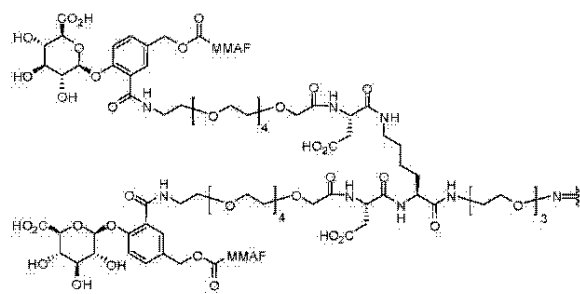
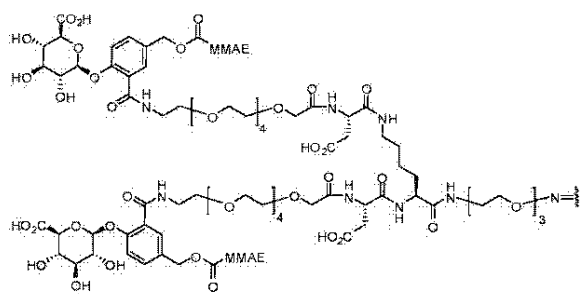
10



20

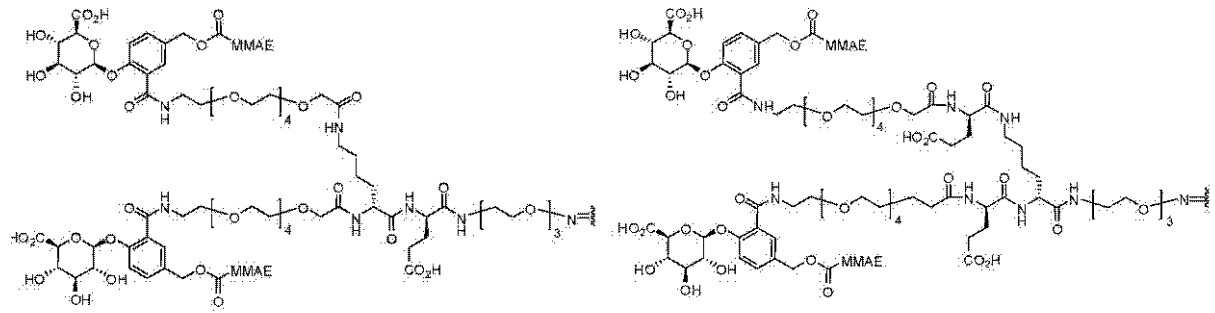


30

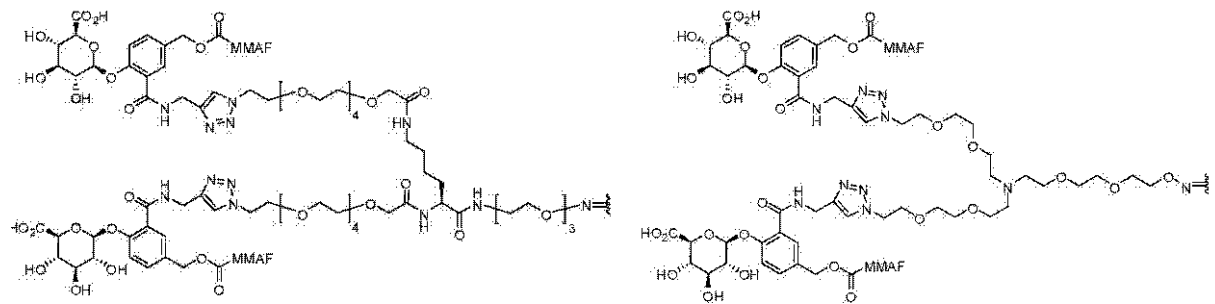


40

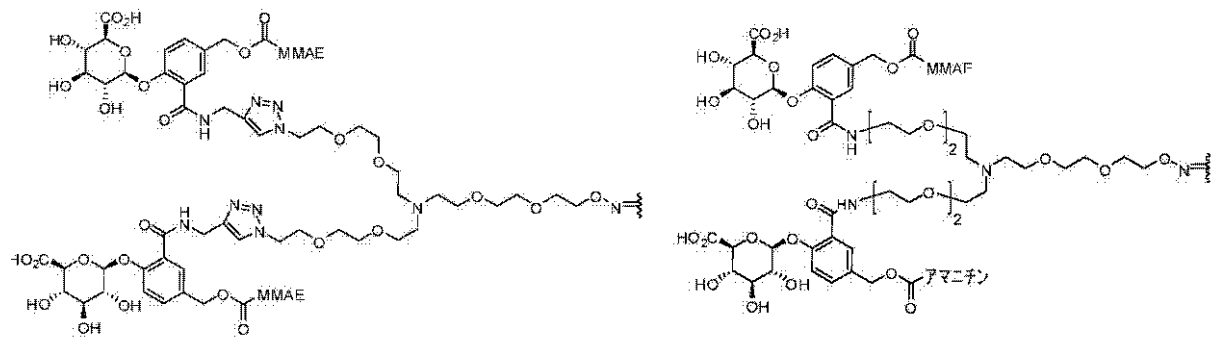
50



10



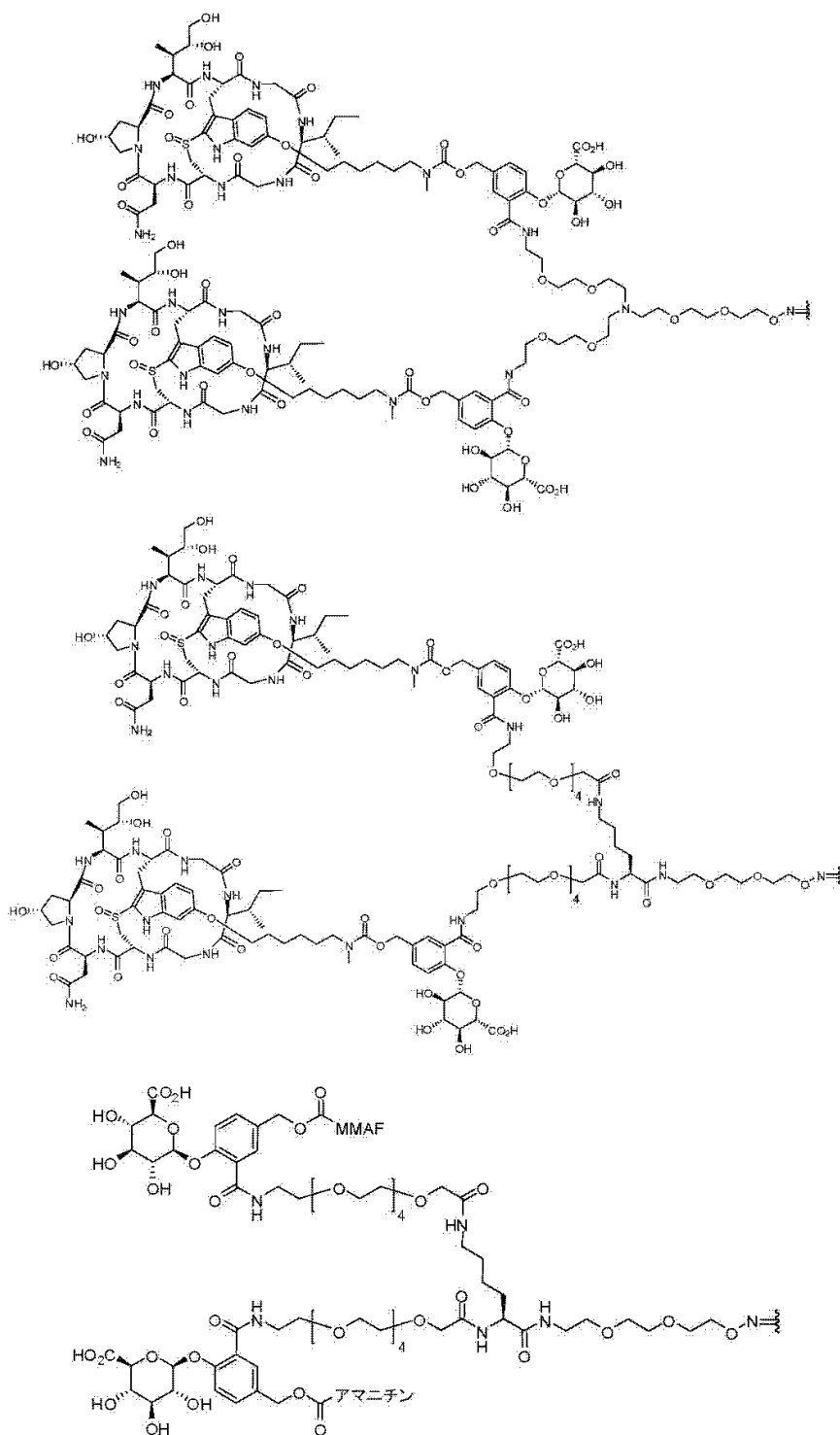
20



30

40

50



10

20

30

40

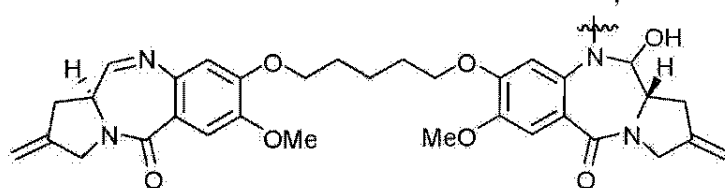
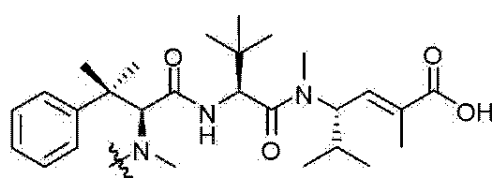
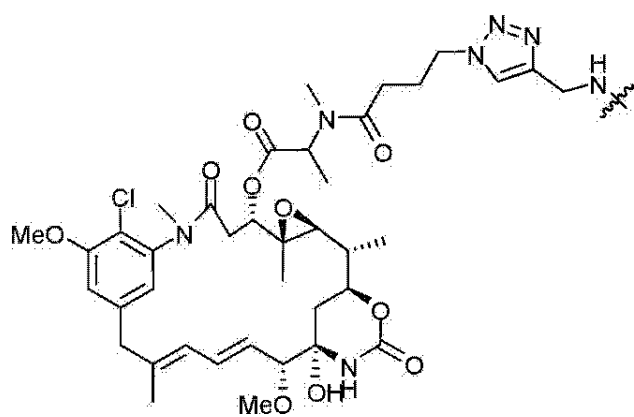
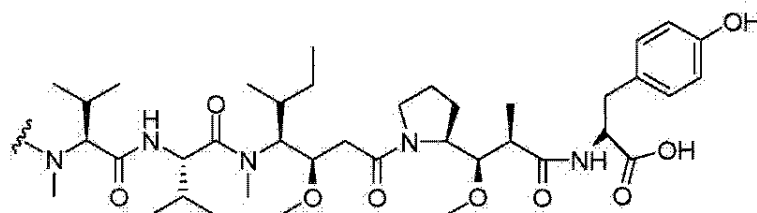
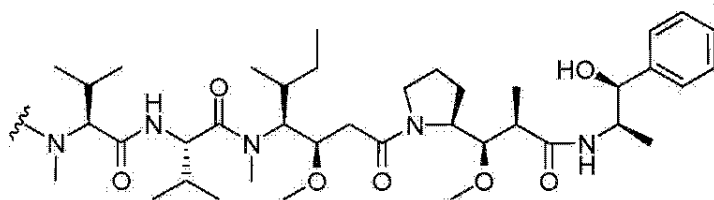
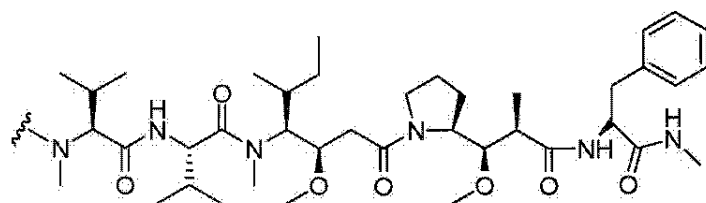
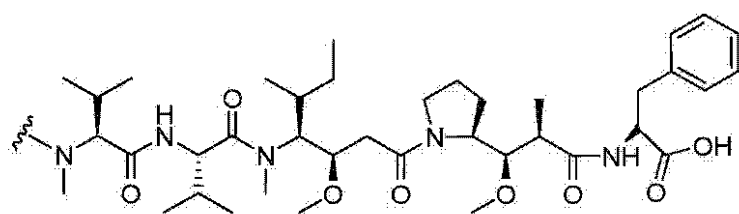
から選択される少なくとも1つの分岐リンカーを有し、波線はリガンドへの連結を表す、請求項1から37のいずれかに記載の複合体。

【請求項41】

活性剤が：

50

【化 1 2】



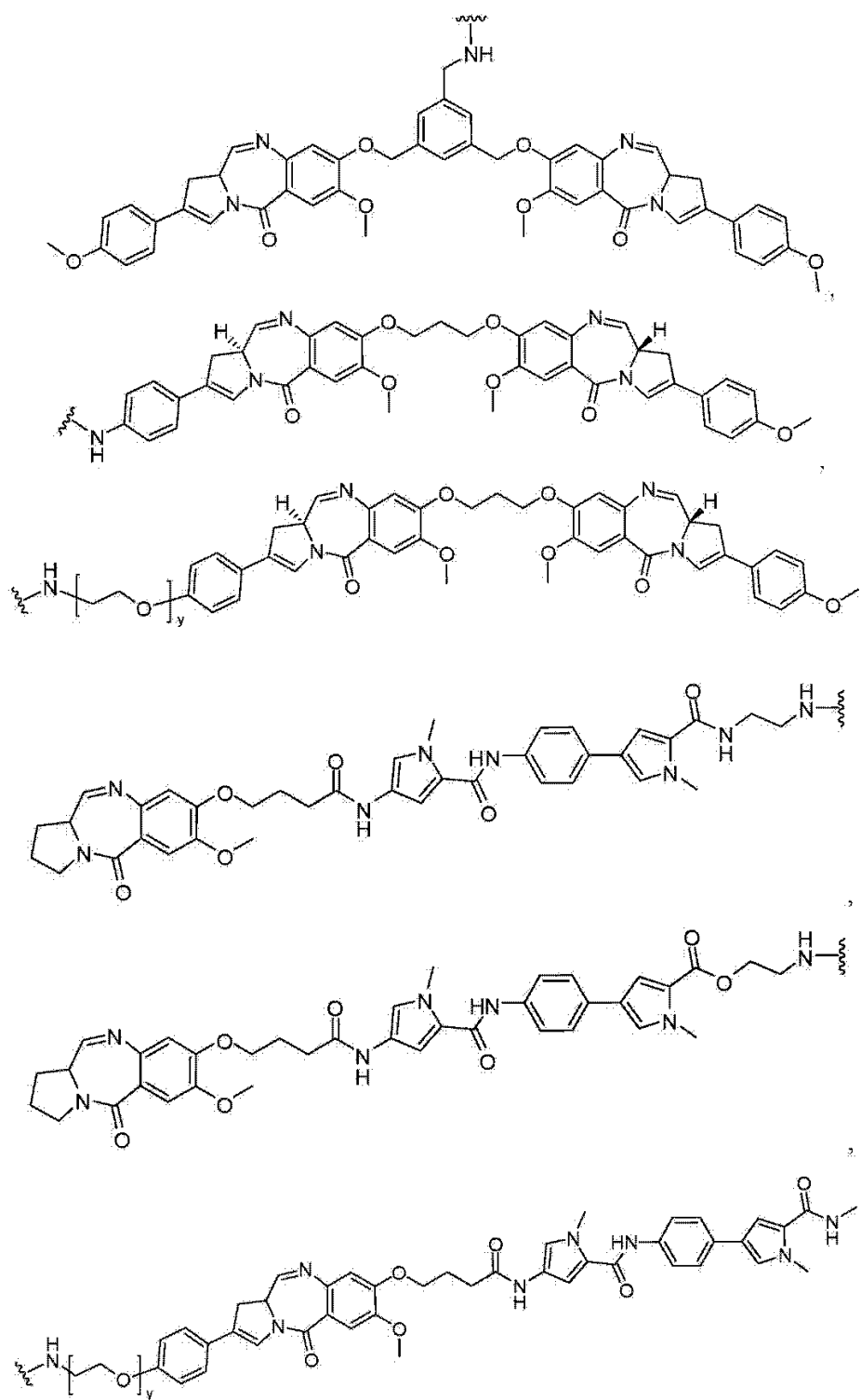
10

20

30

40

50



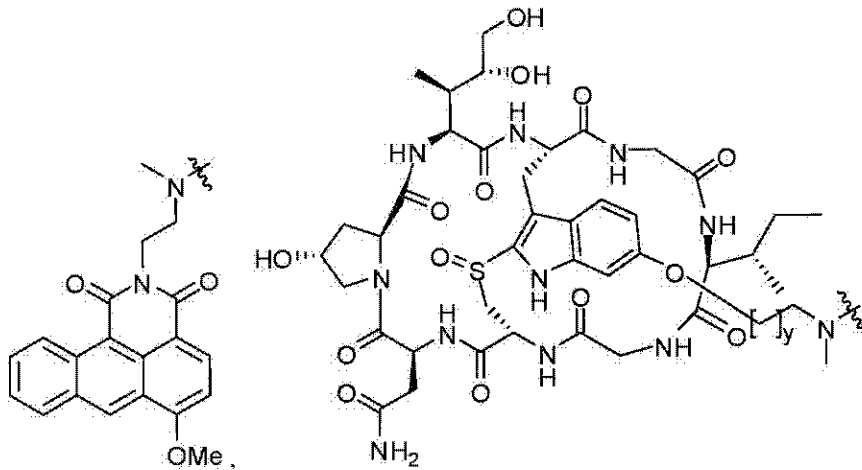
10

20

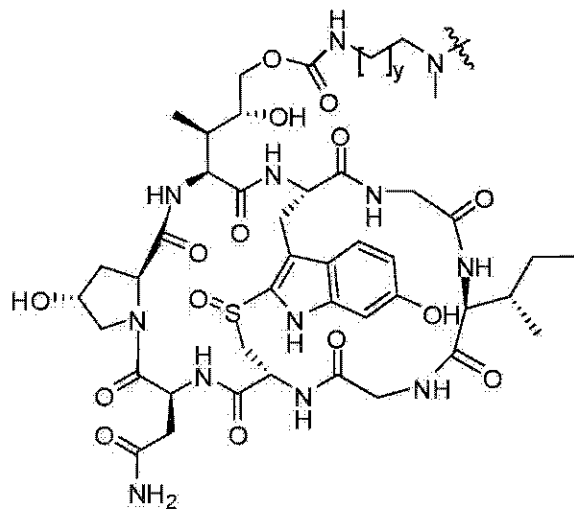
30

40

50



又は



であり、式中、 y が1から10の整数であり、波線はリガンドへの連結を表す、請求項1から39のいずれか一項に記載の複合体。

【請求項42】

請求項1から41のいずれか一項に記載の複合体、及び少なくとも1つの薬学的に許容される賦形剤を含む、がんの処置に使用するための医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2015年11月25日に出願されている米国仮出願第62/260,006号に対する優先権の利益を主張し、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0002】

抗体-薬物複合体(ADC)技術は、がん細胞を選択的に殺すこと、又はその増殖若しくは分裂を阻害することを可能にする、目標志向型の技術である。典型的には、抗体を使用してがん細胞を標的化し、次いで、毒性材料(すなわち薬物)を細胞中に放出することによりADCが機能し、それにより、細胞死を誘発させる。ADC技術は、標的がん細胞へと薬物を正確に送達し、特定の条件下で放出しつつ、健常な細胞への副次的な損傷を最小限に抑えることを可能にするので、ADC技術は、治療抗体の効き目を増進させ、副作用の危険性を低下させる。

【0003】

抗体-薬物複合体の基本構造は、「抗体-リンカー-低分子薬物(毒素)」である。リンカーは、理想的には、例えば、抗体から分離した後(例えば、酵素媒介性加水分解により)で、薬物が標的細胞に達した後で、薬物が、標的がん細胞に対する効果を呈することを可能にする。リンカーは、抗体及び薬物を接続することにより機能的役割も果たす。それにより、抗体-薬物複合体の効き目及び毒性は、リンカーの安定性に部分的に依存し、したがって、リンカーは、薬物の安全性に関して重要な役割を果たす。

【0004】

抗体-薬物複合体のリンカーは、切断不可能又は切断可能として大まかに分類できる。切断不可能なリンカーの多くは、抗体のシステインを含むチオエーテルを使用して抗体に結合している。ペンダント薬物は、一般的に、*in vivo*で抗体から解離できず、ADCの内在化が不調であれば、効き目のさらなる低下に直面する恐れがある。幅広く使用されるチオール-マレイミド法のケースでは、抗体-薬物複合体は不安定であり、このため、薬物が標的細胞に達する前後で、薬物の複合体からの解離が生じ得る。

【0005】

生理学的細胞外条件での安定性が限られる化学的に変化しやすいリンカー、例えばヒドラゾン及びジスルフィドをベースとしたリンカーの代わりに、生理学的細胞外条件において安定なリンカーが必要とされている。さらに、薬物は、薬物がつながるタンパク質により標的化される細胞内にのみ放出され、細胞の外側には放出されるべきではないので、治療の適用性を改善するために高い血漿安定性を有するリンカーも必要とされている。

【0006】

切断可能なリンカーは、例えば、リソソーム酵素により加水分解できる。切断可能なリンカーは、例えば、抗体のシステインを含むジスルフィド結合を含み得る。ジスルフィドリンカーは、チオール交換反応を経由した解離を可能にし、抗体-薬物複合体が標的細胞中へと取り込まれること、及び、ジスルフィドが、還元環境である細胞質基質に曝露することに、部分的に依存している。しかし、様々なタイプのチオール(例えば、アルブミン及びグルタチオン)が血液中に存在するので、薬物は、標的に達する前に抗体から解離する恐れがある。

【0007】

最近では、抗体-薬物複合体を作るための新たなアプローチは、C-末端アミノ酸配列のタンパク質のプレニル化を使用して、穏当かつ部位特異的な手段で、抗体に薬物又は他の活性剤の結合を可能にする、修飾イソプレノイドユニットを導入すると説明されている(例えば、米国特許公報第2012/0308584号を参照されたい)。さらなる改良が可能である。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0008】

【文献】米国特許公報第2012/0308584号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0009】

上述を踏まえると、抗体-薬物複合体のための改善されたリンカーが望ましい。

【課題を解決するための手段】

【0010】

一部の態様では、本発明は、抗体、抗体に共有結合で連結する少なくとも1つの分岐リンカー、及び分岐リンカーに共有結合で連結する少なくとも1つ又は2つの活性剤を含む抗体-薬物複合体(ADC)に関する。分岐リンカーは、分岐ユニットを含み得、少なくとも1つの薬物が、二次リンカーを介して分岐ユニットに連結し、分岐ユニットは、一次リンカーにより抗体に連結する。一次及び/又は二次リンカーは、少なくとも1個のポリエチレングリコールユニットを含み得る。

【0011】

一部の実施形態では、本発明は、リガンド、及びリガンドに共有結合で連結する1つ以上の分岐リンカーを含む、リガンド-薬物複合体に関し、

- i) 各分岐リンカーは、一次リンカー(PL)によりリガンドに共有結合で連結する分岐ユニット(BR)を含み、
 - ii) 各分岐リンカーは、第1の分岐(B1)を含み、第1の活性剤は、二次リンカー(SL)及び切断基(CG)により分岐ユニットに共有結合で連結し、
 - iii) 各分岐リンカーは、第2の分岐(B2)をさらに含み、a) 第2の活性剤は、二次リンカー(SL)及び切断基(CG)により分岐ユニットに共有結合で連結し、又はb) ポリエチレングリコール部分は、分岐ユニットに共有結合で連結し、
- 各切断基は、リガンド-薬物複合体から活性剤を放出するように、加水分解することができる。

10

【0012】

一部の実施形態では、本発明は、分岐リガンド-活性剤化合物に関し、

- i) 分岐リンカーは、一次リンカー(PL)により反応性部分に共有結合で連結する分岐ユニット(BR)を含み、
 - ii) 分岐ユニットは、第1の分岐(B1)に共有結合で連結し、これは、二次リンカー(SL)及び切断基(CG)に共有結合で連結する第1の活性剤を含み、
 - iii) 分岐ユニットは、第2の分岐(B2)に共有結合で連結し、これは、a) 二次リンカー(SL)及び切断基(CG)に共有結合で連結する第2の活性剤、又はb) ポリエチレングリコール部分を含み、
- 各切断基は、リガンド-活性剤化合物から活性剤を放出するように、加水分解することができる。

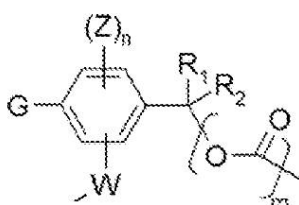
20

【0013】

一部の実施形態では、切断基は、式：

【0014】

【化1】



30

を有し、式中：

Gは、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、
 Wは、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、 $-P(O)R''NR'-$ 、 $-S(O)NR'-$ 又は $-PO_2NR'-$ を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に、好ましくは直接結合し、R'及びR''は、それぞれ独立して、水素、 (C_1-C_8) アルキル、モノ若しくはジカルボキシル (C_1-C_8) アルキル、 (C_3-C_8) シクロアルキル、 (C_1-C_8) アルコキシ、 (C_1-C_8) アルキルチオ、モノ若しくはジ (C_1-C_8) アルキルアミノ、 (C_3-C_{20}) ヘテロアリール又は (C_6-C_{20}) アリールであり、Wは、分岐ユニットに直接的又は間接的に連結し、
 各Zは、独立して、水素、 (C_1-C_8) アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 (C_1-C_8) アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

40

nは1から3の整数であり、

mは0又は1、好ましくは1であり、

R₁及びR₂は、それぞれ独立して、水素、 (C_1-C_8) アルキル若しくは (C_3-C_8) シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂は、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、 (C_3-C_8) シクロアルキル環を形成する。

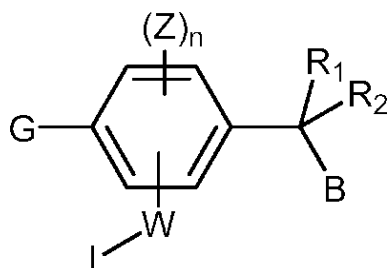
【0015】

50

一部の実施形態では、活性剤は、式：

【0016】

【化2】



10

を有する切断基、又は薬学的に許容されるその塩を介して第1の分岐に連結し、式中、
Gは、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、
Bは、活性剤に共有結合しているユニットであり、

Wは、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、 $-P(O)R''NR'-$ 、 $-S(O)NR'-$ 又は $-PO_2NR'-$ を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に直接結合し、R'及びR''は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_1\sim C_8)$ アルコキシ、 $(C_1\sim C_8)$ アルキルチオ、モノ若しくはジ $(C_1\sim C_8)$ アルキルアミノ、 $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリール又は $(C_6\sim C_{20})$ アリールであり、

20

各Zは、独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nは1から3の整数、好ましくは3であり、

Lは、リンカー又は分岐ユニットへの結合を表し、

R₁及びR₂は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル若しくは $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂は、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル環を形成する。

【0017】

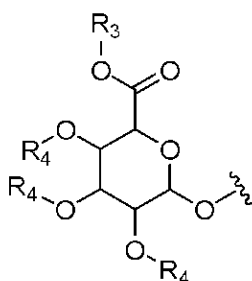
一部の実施形態では、糖又は糖酸は単糖である。一部の実施形態では、糖は、以下を含む：

30

Gは、

【0018】

【化3】



40

であり、

R₃は、水素又はカルボキシル保護基であり、

各R₄は、独立して、水素又はヒドロキシル保護基である。

【0019】

一部の実施形態では、一次又は二次リンカーは、構造 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q-$ 、 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qY-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q(CH_2)_r-$ 、 $-Y(((CH_2)_pV)_q)$ 又は $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qYCH_2-$ を有し、

50

式中:

r は0から10の整数であり、

p は1から10の整数であり、

q は1から20の整数であり、

V 及び Y は、それぞれ独立して、単結合、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR_{21}-$ 、 $-C(O)NR_{22}-$ 、 $-NR_{23}C(O)-$ 、 $-NR_{24}SO_2-$ 又は $-SO_2NR_{25}-$ であり、

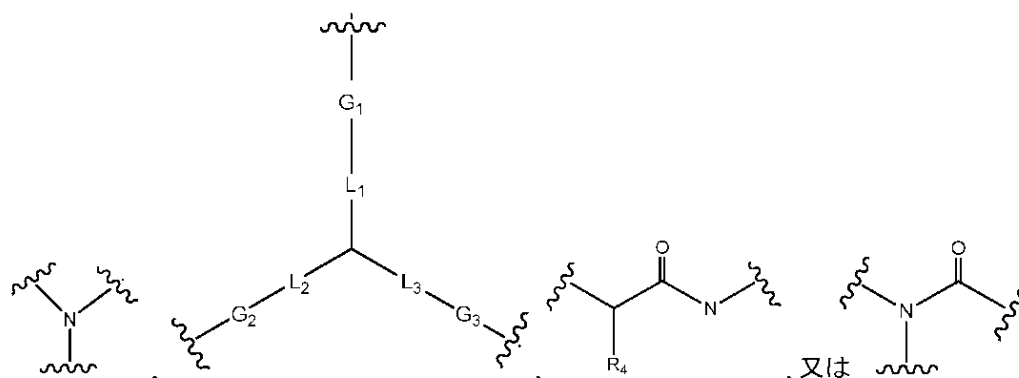
R_{21} から R_{25} は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_6 \sim C_{20})$ アリール又は $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_3 \sim C_{20})$ ヘテロアリールである。

【0020】

一部の実施形態では、少なくとも1個の分岐ユニットは、構造

【0021】

【化4】

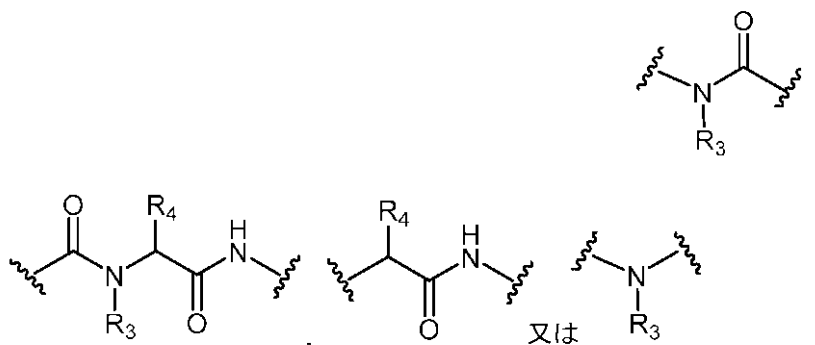


を有し、式中、 L_1 、 L_2 、 L_3 は、それぞれ独立して、直接結合又は $-C_nH_{2n}-$ であり、 n は1から30の整数であり、

G_1 、 G_2 、 G_3 は、それぞれ独立して、直接結合、

【0022】

【化5】



であり、 R_3 は、水素又は $C_1 \sim C_{30}$ アルキルであり、

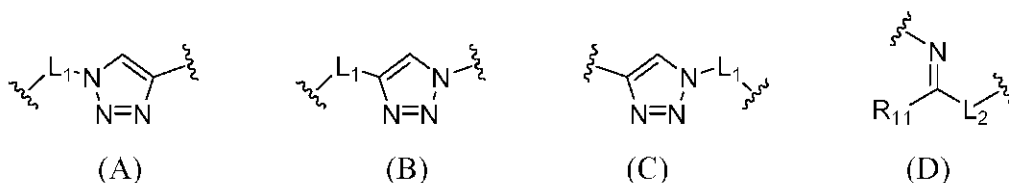
R_4 は、水素又は $-L_4-COOR_5$ であり、 L_4 は、直接結合又は $-C_nH_{2n}-$ であり、 n は、1から10の整数であり、 R_5 は、水素又は $C_1 \sim C_{30}$ アルキルである。

【0023】

(例えば、活性剤を分岐ユニットにつなげる)二次リンカーは、1,3-双極子環状付加反応、ヘテロ-ディールス-アルダー反応、求核置換反応、非アルドール型カルボニル反応、炭素-炭素多重結合への付加、酸化反応又はクリック反応により形成される結合ユニットを含み得る。結合ユニットは、アセチレンとアジドの間の反応、又は非アルドール型カルボニル反応、例えばアルデヒド若しくはケトン基とヒドラジン若しくはアルコキシアミンの間の反応、活性剤及び/若しくは切断基の分岐ユニットへの穏当な連結を可能にする反応により形成され得る。そのような結合ユニットは、式(A)、(B)、(C)又は(D)

【0024】

【化6】



により表され得る。

L_1 は、単結合、又は1から30個の炭素原子、好ましくは10、11、12、13、14、15又は16個の炭素原子を有するアルキレンであり、

R_{11} は、水素、又は1から10個の炭素原子を有するアルキル、好ましくはメチルであり、

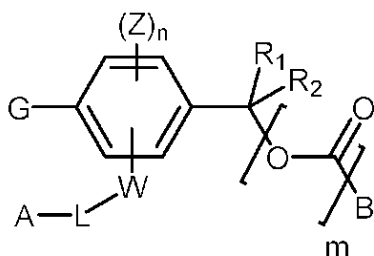
L_2 は、1から30個の炭素原子、好ましくは10、11、12、13、14、15又は16個の炭素原子を有するアルキレンである。

【0025】

一部の実施形態では、上に記載したリガンド-薬物複合体は、リガンド、リンカー及び活性剤を含み、式：

【0026】

【化7】



を有し、式中：

Gは、糖、糖酸又は修飾糖を表し、

Aはリガンドを表し、

Bは活性剤を表し、

Wは、 $-\text{C}(\text{O})-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'-$ 、 $-\text{C}(\text{O})\text{O}-$ 、 $-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}'-$ 、 $-\text{P}(\text{O})\text{R}''\text{NR}'-$ 、 $-\text{S}(\text{O})\text{NR}'-$ 又は $-\text{PO}_2\text{NR}'-$ を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に直接結合し、R'及びR''は、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、(C₁~C₈)アルキルチオ、モノ若しくはジ(C₁~C₈)アルキルアミノ、(C₃~C₂₀)ヘテロアリール又は(C₆~C₂₀)アリールであり、

各Zは、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nは1から3の整数、好ましくは3であり、

mは0又は1、好ましくは1であり、

Lは、少なくとも1個の分岐ユニット(BR)及び少なくとも1つの一次リンカー(PL)を含むリンカーであり、

R₁及びR₂は、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくは(C₃~C₈)シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂は、それらが結合する炭素原子と一緒に、(C₃~C₈)シクロアルキル環を形成する。

【0027】

本明細書で開示されているいずれかの実施形態では、リガンドは、好ましくは抗体であ

10

20

30

40

50

る。

【0028】

一部の実施形態では、本発明は、抗体、抗体に共有結合で連結する少なくとも1つの分岐リンカー、及び、分岐リンカーに共有結合で連結する少なくとも2つの活性剤を含む、抗体-薬物複合体に関する。好ましくは、少なくとも2つの分岐リンカーは、抗体に連結し、各分岐リンカーは、少なくとも2つの活性剤に連結する。3つ、又はさらには4つのそのような分岐リンカーが、抗体に連結し得る。一部の実施形態では、ちょうど1つの分岐リンカーが、抗体に連結する。ある特定の実施形態では、各分岐リンカーは、ちょうど2つの活性剤に連結する。一部の実施形態では、抗体-薬物複合体のすべての活性剤は、同一である。他の実施形態では、抗体-薬物複合体は、少なくとも2つの異なる活性剤を含む。そのような一部の実施形態では、少なくとも1つの分岐リンカーが、2つの異なる活性剤に連結する。

10

【0029】

一部の実施形態では、各活性剤は、切断(例えば、加水分解性)結合により、例えば自壊性基、例として、以下でより詳細に記載されている切断基を経由して、分岐リンカーに連結する。

【0030】

好ましい実施形態では、各分岐リンカーは、分岐ユニットを含み、各活性剤は、二次リンカーを介して分岐ユニットに連結し、分岐ユニットは、一次リンカーにより抗体に連結する。例えば、分岐ユニットは、例として、アミン又はアミドの窒素原子を含み得る。分岐ユニットがアミドである実施形態では、一次リンカーは、アミドのカルボニルを含み得、又は、二次リンカーは、アミドのカルボニルを含み得る。ある特定の好ましい実施形態では、分岐ユニットはアミンである。他の好ましい実施形態では、分岐ユニットは、リシンユニットであり、その結果、例えば、一方の二次リンカーは、 α -窒素から伸長し、他方の二次リンカーは、骨格窒素から伸長する。

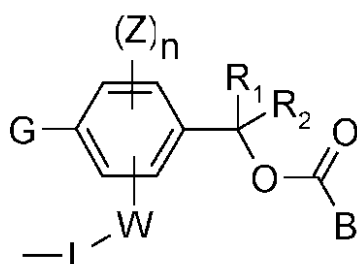
20

【0031】

一部の実施形態では、1つ以上の、又はそれを超える各活性剤は、式：

【0032】

【化8】



30

を有する切断基を介して分岐リンカーに連結し、式中：

Gは、糖又は糖酸、好ましくはグルクロン酸を表し、

Bは活性剤を表し、

40

Wは、電子求引性基、好ましくは $-C(O)NR'$ を表し、 $C(O)$ はフェニル環に結合しており、 NR' (アミノ酸、好ましくは親水性アミノ酸のアミノ基であってよい)は、Lに結合しており、

各Zは、独立して、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、nは1から3の整数であり、

Lは、抗体へのつながりを表し、

R_1 及び R_2 は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル若しくは $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、好ましくは水素であり、又は R_1 及び R_2 は、それらが結合する炭素原子と一緒になっ

50

て、(C₃~C₈)シクロアルキル環を形成する。

【0033】

代替切断基は、バリン-シトルリン-p-アミノベンジルカルバメート(VC-PABC)を含む。

【0034】

一部の実施形態では、Wは、-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-S(O)₂NR'-、-P(O)R''NR'-、-S(O)NR'-又は-PO₂NR'-であり、各ケースでは、C(O)、S又はPが好ましくはフェニル環に直接結合し、R'及びR''は、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、(C₁~C₈)アルキルチオ、モノ若しくはジ(C₁~C₈)アルキルアミノ、(C₃~C₂₀)ヘテロアリール又は(C₆~C₂₀)アリールである。ある特定の好ましい実施形態では、Wは、-C(O)NR'-を表し、Wの窒素は、アミノ酸、好ましくは親水性アミノ酸の窒素である。一部の実施形態では、Wは-C(O)NR'-であり、C(O)は、フェニル環に結合しており、NR'はLに結合している。

10

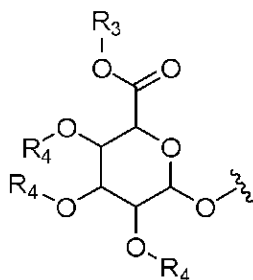
【0035】

一部の実施形態では、糖又は糖酸は単糖である。一部の実施形態では、糖は、以下を含む：

Gは

【0036】

【化9】



20

であり、

R₃は、水素又はカルボキシル保護基であり、

各R₄は、独立して、水素又はヒドロキシル保護基である。

30

【0037】

そのような一部の実施形態では、R₃は水素であり、各R₄は水素である。

【0038】

一部の実施形態では、各Zは水素を表し、nは3である。

【0039】

ある特定の好ましい実施形態では：

Gはグルクロン酸であり、

Wは-C(O)NR'-であり、C(O)は、フェニル環に結合しており、NR'はLに結合しており、

Zは水素を表し、

nは3であり、

40

R₁及びR₂は、それぞれ水素を表す。

【0040】

本発明の一部の実施形態では、抗体-薬物複合体の一次リンカーは、1から100個、好ましくは1~50個の炭素原子を有するアルキレンを含み：

アルキレンは、少なくとも1つの不飽和結合を含む、

アルキレンは、少なくとも1つのヘテロアリーレンを含む、

アルキレンの炭素原子は、窒素(N)、酸素(O)及び硫黄(S)から選択される1個以上のヘテロ原子により置き換えられている、又は、

アルキレンは、1から20個の炭素原子を有する1つ以上のアルキルでさらに置換されているのいずれかである。

50

【0041】

そのような一部の実施形態では、アルキレンの少なくとも1個の炭素原子は、窒素により置き換えられ、一次リンカーは、親水性アミノ酸の少なくとも2個の原子を含み、窒素は、親水性アミノ酸の骨格カルボニルとペプチド結合を形成する。親水性アミノ酸は、例えば、アルギニン、アスパルテート、アスパラギン、グルタメート、グルタミン、ヒスチジン、リシン、オルニチン、プロリン、セリン又はトレオニンであってよい。

【0042】

一部の実施形態では、抗体-薬物複合体の分岐リンカーは、水溶液中で、中性pHにおいて電荷を持つ部分を有する側鎖を有するアミノ酸、好ましくはアルギニン、アスパルテート、グルタメート、リシン又はオルニチンを含む。このアミノ酸は、分岐リンカーのどこにでも存在してよい。例えば、これは、分岐リンカーのオキシムを分岐リンカーのポリエチレングリコールユニットに共有結合でつなげることができる。あるいは、又はさらに、そのようなアミノ酸は、二次リンカーに、任意選択で各二次リンカーに存在し得る。

【0043】

ある特定の好ましい実施形態では、抗体-薬物複合体の分岐リンカーは、チオエーテル結合により抗体に共有結合し、チオエーテル結合は、抗体のシステイン、最も好ましくはC-末端システインの硫黄原子を含み、これは、イソプレノイド転移酵素により認識されるアミノ酸モチーフの一部になり得る。

【0044】

例えば、アミノ酸モチーフは、CXX、CXC、XCXC、XXCC及びCYYXから選択される配列であってよく、

Cはシステインを表し、

Yは、それぞれの発生に対して独立して、脂肪族アミノ酸を表し、

Xは、それぞれの発生に対して独立して、グルタミン、グルタメート、セリン、システイン、メチオニン、アラニン又はロイシンを表し、

チオエーテル結合は、アミノ酸モチーフのシステインの硫黄原子を含む。

【0045】

一部の実施形態では、アミノ酸モチーフは：

配列CYYXであり、

Yは、それぞれの発生に対して独立して、アラニン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン又はバリンを表す。

【0046】

ある特定の好ましい実施形態では、アミノ酸モチーフは、配列CVIM又はCVLLである。

【0047】

一部の実施形態では、アミノ酸モチーフに先行するアミノ酸7個の少なくとも1個は、グリシンである。一部の実施形態では、アミノ酸モチーフに先行するアミノ酸7個の少なくとも3個は、それぞれ独立して、グリシン及びプロリンから選択される。一部の実施形態では、アミノ酸モチーフに直接先行するアミノ酸1から10個は、グリシンである。ある特定の好ましい実施形態では、アミノ酸モチーフに直接先行するアミノ酸の少なくとも1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個は、グリシンであり、最も好ましくは少なくとも5個である。ある特定の好ましい実施形態では、アミノ酸モチーフに先行するアミノ酸1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個のそれぞれは、グリシンである。一部の実施形態では、抗体のC-末端は、アミノ酸配列GGGGGGGCVIMを含む。

【0048】

一部の実施形態では、上で記載されているチオエーテル結合は、

【0049】

10

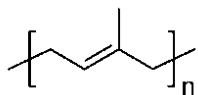
20

30

40

50

【化 1 0】



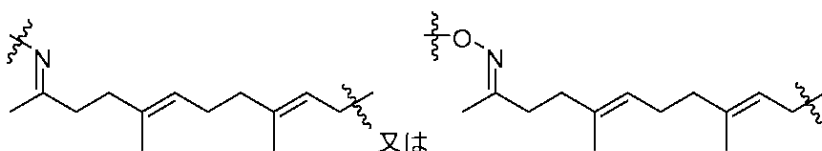
により表される少なくとも1個のイソプレニルユニットの炭素原子を含む。好ましい実施形態では、 n は1又は2、最も好ましく2である。

【0 0 5 0】

本発明の一部の実施形態では、分岐リンカーは、オキシムを含み、少なくとも1個のイソプレニルユニットは、オキシムを抗体に共有結合でつなげる。一部の実施形態では、分岐リンカーは：

【0 0 5 1】

【化 1 1】



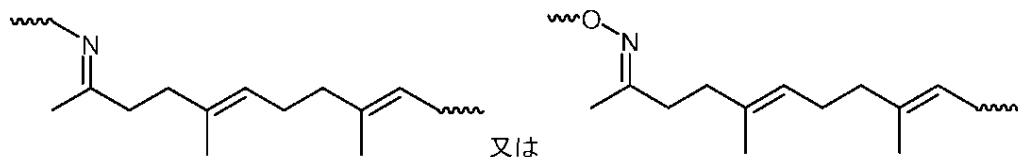
を含む。

【0 0 5 2】

一部の実施形態では、リンカーは、

【0 0 5 3】

【化 1 2】



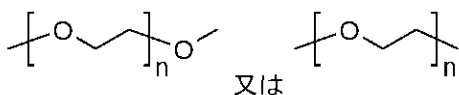
を含み得る。

【0 0 5 4】

本発明の一部の実施形態では、一次リンカー及び/又は二次リンカー(好ましくは各二次リンカー)は、

【0 0 5 5】

【化 1 3】



のいずれかにより表される少なくとも1個のポリエチレングリコールユニットを含む。ポリエチレングリコールユニットは、1から19個の $-OCH_2CH_2-$ ユニット、好ましくは4から20個の $-OCH_2CH_2-$ ユニットを含み得る。一部の好ましい実施形態では、リンカーは、1から20個の $-OCH_2CH_2-$ ユニットを含み得る。ある特定の好ましい実施形態では、リンカーは、1から12個の $-OCH_2CH_2-$ ユニットを含み得る。他の好ましい実施形態では、リンカーは、3から12個の $-OCH_2CH_2-$ ユニットを含み得る。一部の実施形態では、リンカーはオキシムを含み、少なくとも1個のポリエチレングリコールユニットは、オキシムをペプチドに共有結合でつなげる。

【0 0 5 6】

本発明の一部の実施形態では、一次リンカー、二次リンカー(好ましくは各二次リンカー

)、又はその両方は、 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$ により表される接続ユニットを含み、式中：
 r は1から10の整数、好ましくは2であり、
 p は0から12の整数、好ましくは2であり、
 q は1から20の整数であり、
 V は、単結合、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR_{21}-$ 、 $-C(O)NR_{22}-$ 、 $-NR_{23}C(O)-$ 、 $-NR_{24}SO_2-$ 又は $-SO_2NR_{25}-$ 、好ましくは $-O-$ であり、
 R_{21} から R_{25} は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_6\sim C_{20})$ アリール又は $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリールである。

【0057】

一部の実施形態では、一次リンカー、二次リンカー(好ましくは各二次リンカー)、又はその両方は、 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q-$ 、 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qY-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q(CH_2)_r-$ 、 $-Y(((CH_2)_pV)_q)$ 又は $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qYCH_2-$ により表される接続ユニットを含み、
 式中：

r は0から10の整数であり、
 p は1から10の整数であり、
 q は1から20の整数であり、
 V 及び Y は、それぞれ独立して、単結合、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR_{21}-$ 、 $-C(O)NR_{22}-$ 、 $-NR_{23}C(O)-$ 、 $-NR_{24}SO_2-$ 又は $-SO_2NR_{25}-$ であり、
 R_{21} から R_{25} は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_6\sim C_{20})$ アリール又は $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリールである。

【0058】

これらのリンカーの一部の実施形態では、 q は4から20の整数である。これらのリンカーの一部の実施形態では、 q は6から20の整数である。ある特定の好ましい実施形態では、 q は1から10の整数である。他の好ましい実施形態では、 q は、2、5又は11である。

【0059】

これらのリンカーの一部の実施形態では、 r は好ましくは2である。これらのリンカーの一部の実施形態では、 p は好ましくは2である。一部の実施形態では、 V 及び Y は、それぞれ独立して、 $-O-$ である。

【0060】

これらのリンカーの一部の実施形態では：

r は2であり、
 p は2であり、
 q は、2、5又は11であり、
 V は $-O-$ である。

【0061】

本発明の一部の実施形態では、一次リンカー、二次リンカー(好ましくは各二次リンカー)、又はその両方は、 $-(CH_2CH_2X)_w-$ により表される接続ユニットを含み、式中：

X は、 $-O-$ 、 $(C_1\sim C_8)$ アルキレン又は $-NR_{21}-$ 、好ましくは $-O-$ を表し、
 R_{21} は、水素、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_6\sim C_{20})$ アリール又は $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリール、好ましくは水素を表し、
 w は、1から12の整数、好ましくは1、3、6又は12である。

【0062】

一部の実施形態では、 X は $-O-$ であり、 w は6から12の整数である。

【0063】

本発明の一部の実施形態では、一次リンカーは、1,3-双極子環状付加反応、ヘテロ-ディールス-アルダー反応、求核置換反応、非アルドール型カルボニル反応、炭素-炭素多重結合への付加、酸化反応又はクリック反応により形成される結合ユニットを含む。一部の実施形態では、結合ユニットは、アセチレンとアジドの間の反応、又はアルデヒド若しくはケトン基とヒドラジン若しくはアルコキシアミンの間の反応により形成される。一部の実

10

20

30

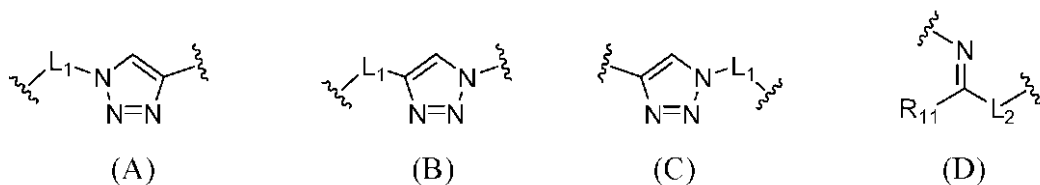
40

50

施形態では、結合ユニットは、式A、B、C又はDのいずれか1つ、好ましくはD:

【0064】

【化14】



により表され、式中:

L_1 は、単結合又は1から30個、好ましくは12個の炭素原子を有するアルキレンであり、

R_{11} は、水素、又は1から10個の炭素原子を有するアルキル、好ましくはメチルであり、

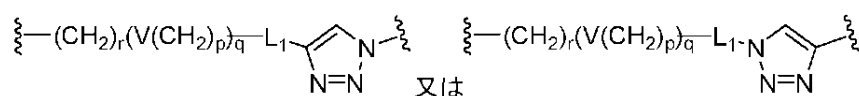
L_2 は、1から30個、好ましくは11個の炭素原子を有するアルキレンである。

【0065】

一部の実施形態では、一次リンカーは

【0066】

【化15】



を含み、

V は、単結合、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR_{21}-$ 、 $-C(O)NR_{22}-$ 、 $-NR_{23}C(O)-$ 、 $-NR_{24}SO_2-$ 又は $-SO_2NR_{25}-$ 、好ましくは $-O-$ であり、

R_{21} から R_{25} は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_6 \sim C_{20})$ アリール又は $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_3 \sim C_{20})$ ヘテロアリールであり、

r は1から10の整数、好ましくは2又は3であり、

p は0から10の整数、好ましくは1又は2であり、

q は1から20、好ましくは1から6の整数であり、

L_1 は単結合である。

【0067】

本発明の一部の実施形態では、分岐リンカーは、O-置換オキシムを含み、

a)オキシムの酸素原子は、オキシムを活性剤に共有結合で、例えば分岐ユニットを経由してつなげる基で置換され、

オキシムの炭素原子は、オキシムを抗体に共有結合でつなげる基で置換され、又は

b)オキシムの酸素原子は、オキシムを抗体に共有結合でつなげる基で置換され、

オキシムの炭素原子は、オキシムを活性剤に共有結合で、例えば分岐ユニットを経由してつなげる基で置換されている。

【0068】

一部の実施形態では、抗体-薬物複合体は、式II:

【0069】

10

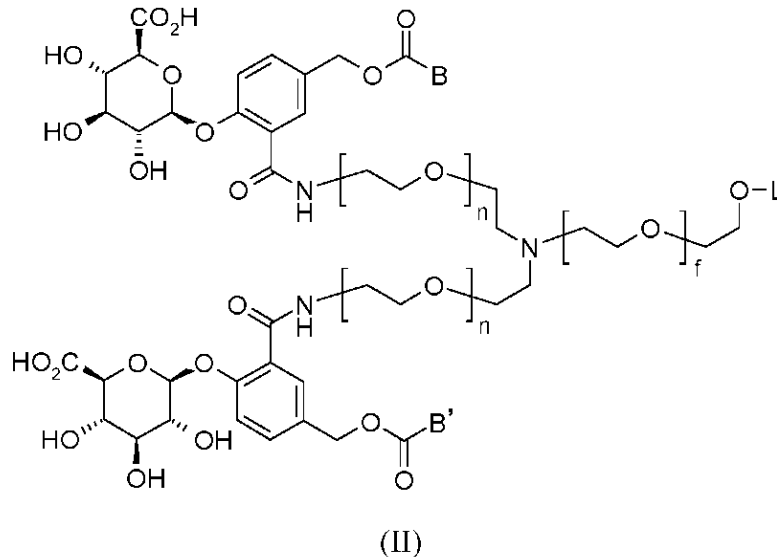
20

30

40

50

【化 16】



の構造を含み、式中：

B及びB'は、同一であっても、又は異なってもよい活性剤を表し、

nは、それぞれの発生に対して独立して、0から30の整数を表し、

fは、それぞれの発生に対して独立して、0から30の整数を表し、

Lは、抗体へのつながりを表す。

【0070】

一部の実施形態では、nは1から10の整数である。一部の実施形態では、nは4から20の整数である。一部の実施形態では、fは1から10の整数である。一部の実施形態では、fは4から20の整数である。好ましくはn及びfは、n+fが20未満、例えば、15未満になるように選択される。一部の実施形態では、リンカーはオキシムを含み、少なくとも1個のポリエチレングリコールユニットは、オキシムを活性剤に共有結合でつなげる。

【0071】

本発明の一部の実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体断片、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、一本鎖Fv(「scFv」)、二特异性抗体、直鎖状抗体、二重特异性抗体、多重特异性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、又は抗体の抗原結合性部分を含む融合タンパク質である。

【0072】

本発明の一部の実施形態では、抗体は、ムロモナブ-CD3 アブシキシマブ、リツキシマブ、ダクリズマブ、パリビズマブ、インフリキシマブ、トラスツズマブ、エタネルセプト、バシリキシマブ、ゲムツズマブ、アレムツズマブ、イブリツモマブ、アダリムマブ、アレファセプト、オマリズマブ、エファリズマブ、トシツモマブ、セツキシマブ、ABT-806、ベバシズマブ、ナタリズマブ、ラニビズマブ、パニツムマブ、エクリズマブ、リロナセプト、セルトリズマブ、ロミブロスチム、AMG-531、ゴリムマブ、ウステキヌマブ、ABT-874、ベラタセプト、ベリムマブ、アタシセプト、抗CD20抗体、カナキヌマブ、トシリズマブ、アトリズマブ、メボリズマブ、ペルツズマブ、HuMax CD20、トレメリムマブ、チシリムマブ、イピリムマブ、IDEC-114、イノツズマブ、HuMax EGFR、アフリベルセプト、HuMax-CD4、テプリズマブ、オテリキシズマブ、カツマキソマブ、抗EpCAM抗体IGN101、アデカツムマブ(adecatumomab)、オレゴボマブ、ジヌツキシマブ、ギレンツキシマブ、デノスマブ、バピネウズマブ(bapineuzumab)、モタビズマブ、エファンダマブ、ラキシバクマブ、LY2469298及びベルツズマブから選択される。

【0073】

本発明の一部の実施形態では、活性剤は、化学療法剤及び毒素から独立して選択される。

【0074】

本発明の一部の実施形態では、活性剤は:

(a) エルロチニブ、ボルテゾミブ、フルベストラント、スーテント、レトロゾール、メシル酸イマチニブ、PTK787/ZK 222584、オキサリプラチン、5-フルオロウラシル、ロイコボリン、ラパマイシン、ラパチニブ、ロナファルニブ、ソラフェニブ、ゲフィチニブ、AG1478、AG1571、チオテパ、シクロホスファミド、ブスルファン、インプロスルファン、ピボスルファン、ベンゾドローパ、カルボコン、メツレドローパ、ウレドローパ、エチレンイミン、アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、トリメチロールメラミン(trimethylolomelamine)、ブラタシン、ブラタシノン、カンプトテシン、カンプトテシン誘導体及び代謝産物(SN-38)、トポテカン、プリオスタチン、カリストアチン、CC-1065、アドゼレシン、カルゼルシン、ビゼレシン(bizelesin)、クリプトフィシン1、クリプトフィシン8、ドラスタチン、デュオカルマイシン、KW-2189、CB1-TM1、エリユテロピン、パンクラチスタチン、サルコジクチン、スポンジスタチン、クロランブシル、クロルナファジン、コロホスファミド(cholophosphamide)、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メルファラン、ノベンピチン、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、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチン(ranimustine)、カリケアミシン、カリケアミシガンマ1、カリケアミシンオメガ1、ジネミシン、ジネミシンA、クロドロネート(clodronate)、エスペラミシン、ネオカルジノスタチンクロモフォア、アクラシノマイシン(aclacinomycin)、アクチノマイシン、アンチマイシン(antrmycin)、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、カルニノマイシン(carninomycin)、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルブシン(detorubicin)、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ドキシソルビシン、モルホリノ-ドキシソルビシン、シアノモルホリノ-ドキシソルビシン、2-ピロリノ-ドキシソルビシン(doxorubicin)、リポソームドキシソルビシン、デオキシドキシソルビシン、エビルビシン、エソルビシン(esorubicin)、マルセロマイシン、マイトマイシンC、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、ロドルビシン、ストレプトニグリン(streptomycin)、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、5-フルオロウラシル、デノブテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトトレキサート、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(thioguanine)、アンシタピン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロキシウリジン、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、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン、フォルリン酸、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、ピサントレン、エダトレキサート(edatraxate)、デフォファミン、デメコルシン、ジアジコン、エフロルニチン(elfornithine)、酢酸エリプチニウム、エトグルシド、硝酸ガリウム、ヒドロキシ尿素、レンチナン、ロニダイニン、メイタンシン、アンサミトシン、ミトグアゾン、ミトキサントロン、モビダンモール、ニトラリン(nitracrine)、ペントスタチン、フェナメット、ピラルビシン、ロソキサントロン、2-エチルヒドラジド、プロカルバジン、ポリサッカリド-k、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、トリアジコン、2,2',2''-トリクロロトリエチルアミン、T-2毒素、ベラキユリン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、ミトブロニトール、ミトラクトール、ピボプロマン、ガシトシン、アラビノシド、シクロホスファミド、チオテパ、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン改変ナノ粒子製剤、ドセタキセル(doxetaxel)、クロランブシル、ゲムシタピン、6-チオグアニン、メルカプトプリン、シスプラチン、カルボプラチン、ビンブラスチン、白金、エトポシド、イホスファミド、ミトキサントロン、ピンクリスチン、ビノレルビン、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、ゼローダ、イバンドロネート、CPT-11、トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000、

10

20

30

40

50

ジフルオロメチルオルニチン、レチノイン酸、カペシタビン又は先述のいずれかの薬学的に許容される塩、溶媒和物又は酸、

(b)モノカイン、リンフォカイン、従来からのポリペプチドホルモン、上皮小体ホルモン、チロキシン、リラキシン、プロリラキシン、糖タンパク質ホルモン、卵胞刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、肝細胞増殖因子、線維芽細胞増殖因子、プロラクチン、胎盤性ラクトゲン、腫瘍壊死因子- α 、腫瘍壊死因子- β 、ミューラー管阻害物質、マウスゴナドトロピン関連ペプチド、インヒビン、アクチビン、血管内皮増殖因子、トロンボポエチン、エリスロポエチン、骨誘導因子、インターフェロン、インターフェロン- α 、インターフェロン- β 、インターフェロン- γ 、コロニー刺激因子(「CSF」)、マクロファージ-CSF、顆粒球-マクロファージ-CSF、顆粒球-CSF、インターロイキン(「IL」)、IL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、腫瘍壊死因子、TNF- α 、TNF- β 、ポリペプチド因子、LIF、kitリガンド又は先述のいずれかの組合せ、

10

(c)ジフテリア毒素、ボツリヌス(botulium)毒素、破傷風毒素、赤痢毒素、コレラ毒素、アマニチン、アマニチン誘導体、 α -アマニチン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン誘導体、テトロドトキシン、ブレベトキシン、シガトキシン、リシン、AM毒素、チューブリシン、ゲルダナマイシン、メイタンシノイド、カリケアミシン、ダウノマイシン、ドキソルビシン、メトトレキサート、ビンデシン、SG2285、ドラスタチン、ドラスタチン類似体、オーリスタチン、クリプトフィシン、カンプトテシン、カンプトテシン誘導体及び代謝産物(SN-38)、リゾキシシン、リゾキシシン誘導体、CC-1065、CC-1065類似体若しくは誘導体、デュオカルマイシン、エンジン抗生物質、エスペラミシン、エポチロン、アゾナフィド、アブリジン、トキシソイド又は先述のいずれかの組合せ、

20

(d)親和性リガンドであって、基質、阻害剤、刺激剤、神経伝達物質、放射性同位体又は先述のいずれかの組合せである、親和性リガンド、

(e)放射性標識、 ^{32}P 、 ^{35}S 、蛍光色素、電子密度試薬、酵素、ビオチン、ストレプトアビジン、ジゴキシゲニン(dioxigenin)、ハプテン、免疫原性タンパク質、標的に相補的な配列を有する核酸分子、又は先述のいずれかの組合せ、

(f)免疫調節化合物、抗がん剤、抗ウイルス剤、抗細菌剤、抗菌剤及び抗寄生虫剤又は先述のいずれかの組合せ、

(g)タモキシフェン、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン又はトレミフェン、

30

(h)4(5)-イミダゾール、アミノグルテチミド、酢酸メゲストロール、エキセメスタン、レトロゾール又はアナストロゾール、

(i)フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、ゴセレリン又はトロキサシタビン、

(j)アロマターゼ阻害剤、

(k)タンパク質キナーゼ阻害剤、

(l)脂質キナーゼ阻害剤、

(m)アンチセンスオリゴヌクレオチド、

(n)リボザイム、

40

(o)ワクチン、並びに

(p)抗血管形成剤から独立して選択される。

【0075】

本発明の一部の実施形態では、活性剤は、アマニチン、オーリスタチン、カリケアミシン、カンプトテシン、カンプトテシン誘導体及び代謝産物(SN-38)、クリプトフィシン、ダウノマイシン、ドラスタチン、ドキソルビシン、デュオカルマイシン、エポチロン、エスペラミシン、ゲルダナマイシン、メイタンシノイド、メトトレキサート、モノメチルオーリスタチンE(「MMAE」)、モノメチルオーリスタチンF(「MMAF」)、ピロロベンゾジアゼピン、リゾキシシン、SG2285、チューブリシン、ビンデシン、トキシソイド、又は先述のいずれか1つの誘導体である。一部の実施形態では、活性剤は、アマニチン、MMAE若

50

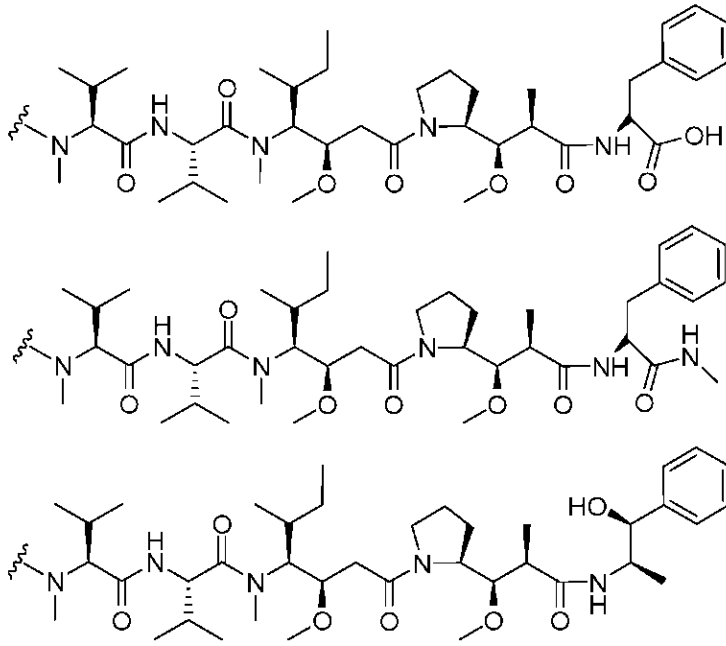
しくはMMAF、又は先述のいずれか1つの誘導体である。

【0076】

本発明の一部の実施形態では、活性剤は：

【0077】

【化17】



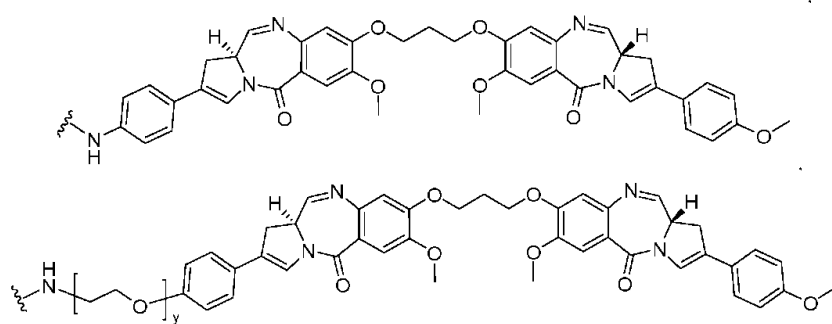
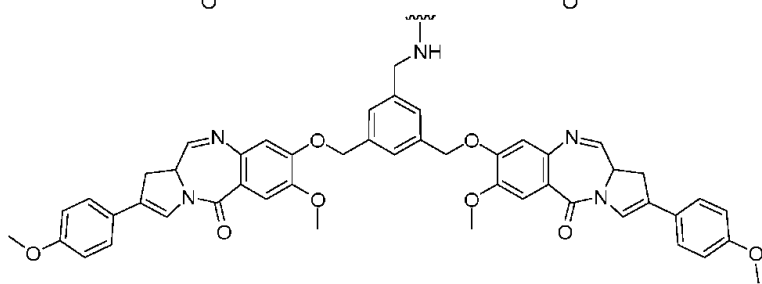
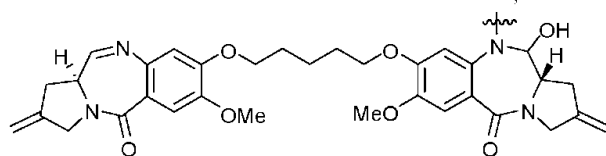
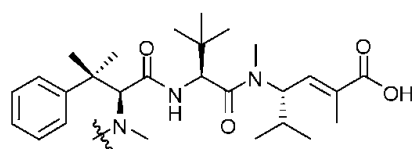
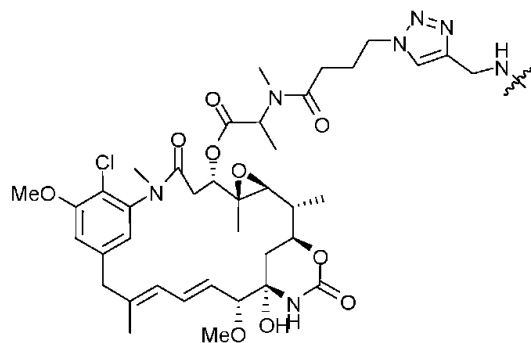
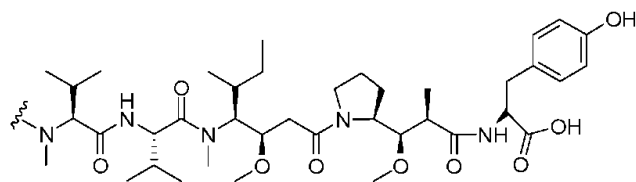
10

20

30

40

50



10

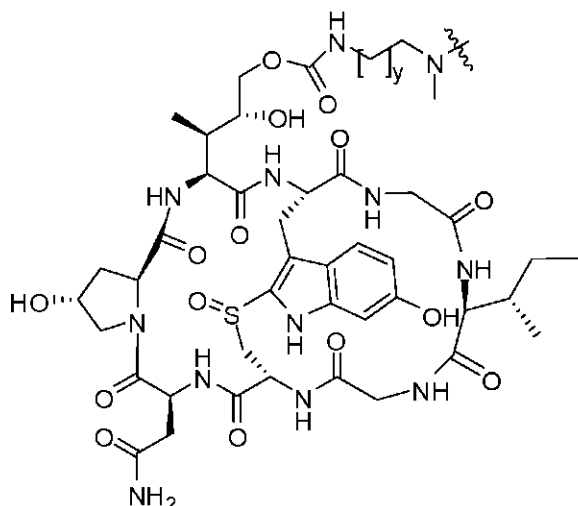
20

30

40

50





10

であり、式中、 y は1から10の整数である。

【0078】

関連した抗体-薬物複合体の構造及び成分は、PCT/KR2015/005299で開示されており、これは、詳細には、該明細書で開示されている抗体-薬物複合体の化学式及び包括的構造、その構成成分(例えばリンカー、切断基など)、並びにその調製及び使用について、参照することによりその全体が本明細書に組み込まれる。ある特定の好ましい実施形態では、本発明の様々な複合体及び他の態様は、PCT/KR2015/005299で開示されている様々な構造及び方法を明確に除外する。

20

【0079】

一部の実施形態では、本発明は、本明細書に記載されている抗体-薬物複合体を含む医薬組成物を示す。医薬組成物は、治療有効量の化学療法剤をさらに含み得る。一部の実施形態では、本発明は、そのような医薬組成物を対象に投与するステップを含む、対象におけるがんを処置する方法を示す。一部の実施形態では、対象は、例えば、げっ歯類、ウサギ、ネコ、イヌ、ブタ、ヒツジ、ウシ、ウマ及び霊長類から選択される哺乳動物である。一部の実施形態では、対象は、好ましくはヒトである。

30

【0080】

一部の実施形態では、本発明は、生体分子とプロドラッグを反応させるステップを含む、本明細書に記載されている抗体-薬物複合体を作るための方法を示し：

生体分子は、抗体、及びケトン又はアルデヒドを含み、

プロドラッグは、アルコキシアミンを含み、

反応により、オキシムが生成され、それにより、抗体をプロドラッグに共有結合でつなげる。

【0081】

一部の実施形態では、この方法は、抗体をイソプレニル化し、それにより、生体分子を生成するステップをさらに含み：

抗体は、イソプレニル化配列を含み、

抗体をイソプレニル化するステップは、抗体をイソプレノイド転移酵素及びイソプレノイド転移酵素基質とインキュベートするステップを含み、

基質は、ケトン又はアルデヒドを含む。

40

【0082】

一部の実施形態では、イソプレノイド転移酵素は、ファルネシル転移酵素又はゲラニルゲラニル転移酵素である。

【0083】

一部の実施形態では、本発明は、リガンドをイソプレニル化するステップを含む、本明

50

細書に記載されているリガンド-薬物複合体を作るための方法を示し、リガンドは、イソプレノイド転移酵素により認識されるアミノ酸モチーフを含み、リガンドをイソプレニル化するステップは、リガンドをイソプレノイド転移酵素及びイソプレノイド転移酵素基質とインキュベートするステップを含み、基質は活性剤を含む。

【0084】

一部の実施形態では、本発明は、リガンドをイソプレニル化するステップを含む、本明細書に記載されているリガンド-薬物複合体を作るための方法を示し、リガンドは、イソプレノイド転移酵素により認識されるアミノ酸モチーフを含み、リガンドをイソプレニル化するステップは、リガンドをイソプレノイド転移酵素及びイソプレノイド転移酵素基質とインキュベートするステップを含み、基質は活性剤を含む。

【0085】

他の実施形態では、本発明は、抗体を含む抗体-薬物複合体に関し、少なくとも1つの分岐リンカーは、抗体に共有結合で連結し、分岐ユニットを含む分岐リンカーは、一次リンカーにより抗体に共有結合で連結し、活性剤は、第1の分岐により分岐ユニットに共有結合で連結し、ポリエチレングリコール部分を含む第2の分岐は、分岐ユニットに共有結合で連結する。好ましくは、少なくとも2つの分岐リンカーは、抗体に連結し、各分岐リンカーは、ちょうど1つの活性剤に連結する。3つ、又はさらには4つのそのような分岐リンカーが、抗体に連結し得る。そのような一部の実施形態では、少なくとも2つの異なる活性剤は、異なる分岐リンカーに連結する。一部の実施形態では、1つのみの分岐リンカーが、抗体に連結する。ある特定の好ましい実施形態では、各分岐リンカーが、ちょうど1つの活性剤に連結する。

【0086】

一部の実施形態では、活性剤は、切断(例えば、加水分解性)結合により、例えば自壊性基、例として、以下でより詳細に記載されている切断基を経由して、第1の分岐に連結する。

【0087】

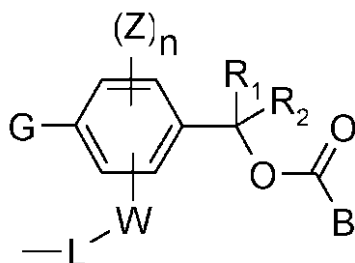
一部の実施形態では、分岐ユニットは、例えば、アミン又はアミドの窒素原子を含み得る。ある特定の好ましい実施形態では、分岐ユニットはアミンである。分岐ユニットがアミドである実施形態では、一次リンカーは、アミドのカルボニルを含み得る。分岐ユニットがアミドである一部の実施形態では、第1の分岐又は第2の分岐は、アミドのカルボニルを含み得る。他の好ましい実施形態では、分岐ユニットはリシンユニットである。

【0088】

一部の実施形態では、1つ以上の、又はそれを超える各活性剤は、式：

【0089】

【化18】



を有する切断基を介して第1の分岐に連結し、式中：

Gは、糖又は糖酸、好ましくはグルクロン酸を表し、

Bは活性剤を表し、

Wは、電子求引性基、好ましくは-C(O)NR'を表し、C(O)はフェニル環に結合しており、NR'(アミノ酸、好ましくは親水性アミノ酸のアミノ基であってよい)は、Lに結合しており、

各Zは、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸

、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、
 n は1から3の整数であり、

L は、抗体へのつながりを表し、

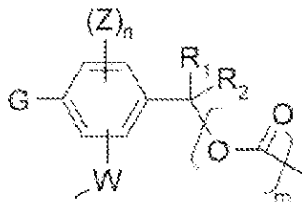
R_1 及び R_2 は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル若しくは $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、好ましくは水素であり、又は R_1 及び R_2 は、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル環を形成する。

【0090】

一部の実施形態では、活性剤は、式：

【0091】

【化19】



を有する切断基を介して第1の分岐に連結し、式中：

G は、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、
 W は、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、 $-P(O)R''NR'-$ 、 $-S(O)NR'-$ 又は $-PO_2NR'-$ を表し、各ケースでは、 $C(O)$ 、 S 又は P がフェニル環に、好ましくは直接結合し、 R' 及び R'' は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、モノ若しくはジカルボキシル $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_1 \sim C_8)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキルチオ、モノ若しくはジ $(C_1 \sim C_8)$ アルキルアミノ、 $(C_3 \sim C_{20})$ ヘテロアリール又は $(C_6 \sim C_{20})$ アリールであり、 W は、分岐ユニットに直接的又は間接的に連結し、

各 Z は、独立して、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

n は1から3の整数であり、

m は0又は1、好ましくは1であり、

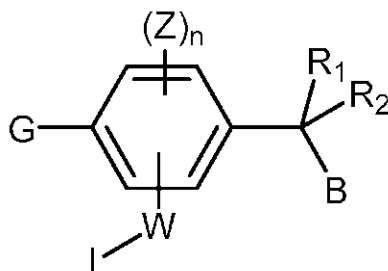
R_1 及び R_2 は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル若しくは $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、好ましくは水素であり、又は R_1 及び R_2 は、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル環を形成する。

【0092】

一部の実施形態では、活性剤は、式：

【0093】

【化20】



を有する切断基、又は薬学的に許容されるその塩を介して第1の分岐に連結し、式中、

G は、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、

B は、活性剤に共有結合しているユニットであり、

Wは、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、 $-P(O)R''NR'-$ 、 $-S(O)NR'-$ 又は $-PO_2NR'-$ を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に直接結合し、R'及びR''は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_1\sim C_8)$ アルコキシ、 $(C_1\sim C_8)$ アルキルチオ、モノ若しくはジ $(C_1\sim C_8)$ アルキルアミノ、 $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリール又は $(C_6\sim C_{20})$ アリールであり、

各Zは、独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nは1から3の整数、好ましくは3であり、

Lは、リンカー又は分岐ユニットへの結合を表し、

R₁及びR₂は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル若しくは $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂は、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル環を形成する。

【0094】

一部の実施形態では、Wは、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、 $-P(O)R''NR'-$ 、 $-S(O)NR'-$ 又は $-PO_2NR'-$ であり、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に、好ましくは直接結合し、R'及びR''は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_1\sim C_8)$ アルコキシ、 $(C_1\sim C_8)$ アルキルチオ、モノ若しくはジ $(C_1\sim C_8)$ アルキルアミノ、 $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリール又は $(C_6\sim C_{20})$ アリール、好ましくは水素である。ある特定の好ましい実施形態では、Wは、 $-C(O)NR'-$ を表し、Wの窒素は、アミノ酸、好ましくは親水性アミノ酸の窒素である。一部の実施形態では、Wは $-C(O)NR'-$ であり、C(O)は、フェニル環に結合しており、NR'はLに結合している。

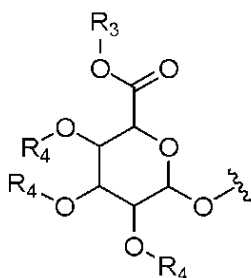
【0095】

一部の実施形態では、糖又は糖酸は、単糖である。一部の実施形態では、糖は以下を含む：

Gは、

【0096】

【化21】



であり、

R₃は、水素又はカルボキシル保護基であり、

各R₄は、独立して、水素又はヒドロキシル保護基である。

【0097】

そのような一部の実施形態では、R₃は水素であり、各R₄は水素である。

【0098】

一部の実施形態では、各Zは水素を表し、nは3である。

【0099】

ある特定の好ましい実施形態では：

Gはグルクロン酸であり、

Wは $-C(O)NR'-$ であり、C(O)は、フェニル環に結合しており、NR'はLに結合しており、

Zは水素を表し、

nは3であり、

R₁及びR₂は、それぞれ水素を表す。

【0100】

本発明の一部の実施形態では、抗体-薬物複合体の一次リンカーは、1から100個、好ましくは1〜50個の炭素原子を有するアルキレンを含み：

アルキレンは、少なくとも1つの不飽和結合を含む、

アルキレンは、少なくとも1つのヘテロアリーレンを含む、

アルキレンの炭素原子は、窒素(N)、酸素(O)及び硫黄(S)から選択される1個以上のヘテロ原子により置き換えられている、又は

アルキレンは、1から20個の炭素原子を有する1つ以上のアルキルでさらに置換されているのいずれかである。そのような一部の実施形態では、アルキレンの少なくとも1個の炭素原子は、窒素により置き換えられ、一次リンカーは、親水性アミノ酸の少なくとも2個の原子を含み、窒素は、親水性アミノ酸の骨格カルボニルとペプチド結合を形成する。親水性アミノ酸は、アルギニン、アスパルテート、アスパラギン、グルタメート、グルタミン、ヒスチジン、リシン、オルニチン、プロリン、セリン又はトレオニンである。

【0101】

一部の実施形態では、一次リンカーは、アミノ酸を含み、アミノ酸は、水溶液中で、中性pHにおいて電荷を持つ部分を有する側鎖を有するもの、好ましくはアルギニン、アスパルテート、グルタメート、リシン又はオルニチンを含む。このアミノ酸は、分岐リンカーのどこにでも存在してよい。例えば、これは、分岐リンカーのオキシムを分岐リンカーのポリエチレングリコールユニットに共有結合でつなげることができる。あるいは、又はさらに、そのようなアミノ酸は、第1の分岐に存在し得る。

【0102】

ある特定の好ましい実施形態では、抗体-薬物複合体の一次リンカーは、チオエーテル結合により抗体に共有結合し、チオエーテル結合は、抗体のシステイン、最も好ましくはC-末端システインの硫黄原子を含み、これは、イソプレノイド転移酵素により認識されるアミノ酸モチーフの一部になり得る。

【0103】

例えば、アミノ酸モチーフは、CXX、CXC、XCXC、XXCC及びCYYXから選択される配列であってよく、

Cはシステインを表し、

Yは、それぞれの発生に対して独立して、脂肪族アミノ酸を表し、

Xは、それぞれの発生に対して独立して、グルタミン、グルタメート、セリン、システイン、メチオニン、アラニン又はロイシンを表し、

チオエーテル結合は、アミノ酸モチーフのシステインの硫黄原子を含む。

【0104】

一部の実施形態では、アミノ酸モチーフは、

配列CYYXであり、

Yは、それぞれの発生に対して独立して、アラニン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン又はバリンを表す。

【0105】

ある特定の好ましい実施形態では、アミノ酸モチーフは、配列CVIM又はCVLLである。

【0106】

一部の実施形態では、アミノ酸モチーフに先行するアミノ酸7個の少なくとも1個は、グリシンである。一部の実施形態では、アミノ酸モチーフに先行するアミノ酸7個の少なくとも3個は、それぞれ独立して、グリシン及びプロリンから選択される。一部の実施形態では、アミノ酸モチーフに直接先行するアミノ酸1から10個は、グリシンである。ある特定の好ましい実施形態では、アミノ酸モチーフに直接先行するアミノ酸の少なくとも1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個は、グリシンであり、最も好ましくは少なくとも5個である。ある特定の好ましい実施形態では、アミノ酸モチーフに先行するアミノ酸1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個のそれぞれは

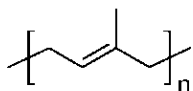
、グリシンである。一部の実施形態では、抗体のC-末端は、アミノ酸配列GGGGGGGCVIMを含む。

【 0 1 0 7 】

一部の実施形態では、上に記載されているチオエーテル結合は、

【 0 1 0 8 】

【化 2 2】



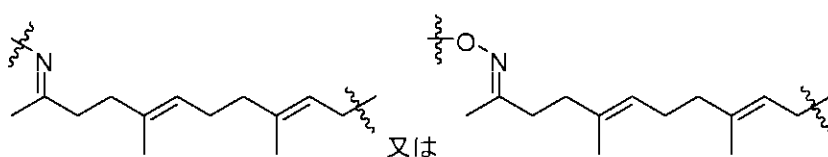
により表される少なくとも1個のイソプレニルユニットの炭素原子を含む。好ましい実施形態では、 n は1又は2、最も好ましく2である。

【 0 1 0 9 】

一部の実施形態では、一次リンカーはオキシムを含み、少なくとも1個のイソプレニルユニットは、オキシムを抗体に共有結合でつなげる。一部の実施形態では、リンカーは:

【 0 1 1 0 】

【化 2 3】



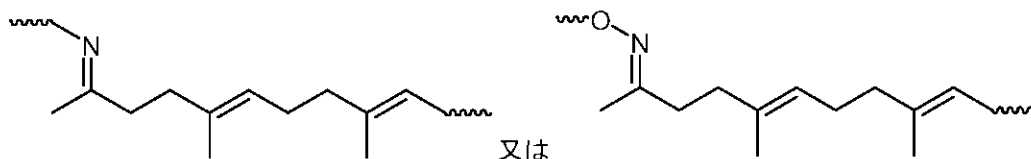
を含む。

【 0 1 1 1 】

一部の実施形態では、リンカーは、

【 0 1 1 2 】

【化 2 4】



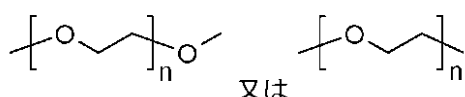
を含み得る。

【 0 1 1 3 】

一部の実施形態では、一次リンカー及び/又は第1の分岐は、

【 0 1 1 4 】

【化 2 5】



のいずれかにより表される少なくとも1個のポリエチレングリコールユニットを含む。ポリエチレングリコールユニットは、1から19個の $-OCH_2CH_2-$ ユニット、好ましくは4から20個の $-OCH_2CH_2-$ ユニットを含み得る。一部の好ましい実施形態では、リンカーは、1から20個の $-OCH_2CH_2-$ ユニットを含み得る。ある特定の好ましい実施形態では、リンカーは、1から12個の $-OCH_2CH_2-$ ユニットを含み得る。他の好ましい実施形態では、リンカーは、3から12個の $-OCH_2CH_2-$ ユニットを含み得る。一部の実施形態では、リンカーは、オキシムを含み、少なくとも1個のポリエチレングリコールユニットは、オキシムを

ペプチドに共有結合でつなげる。

【0115】

本発明の一部の実施形態では、一次リンカー、第1の分岐又はその両方は、 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$ により表される接続ユニットを含み、式中：

r は1から10の整数、好ましくは2であり、

p は0から12の整数、好ましくは2であり、

q は1から20の整数であり、

V は、単結合、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR_{21}-$ 、 $-C(O)NR_{22}-$ 、 $-NR_{23}C(O)-$ 、 $-NR_{24}SO_2-$ 又は $-SO_2NR_{25}-$ 、好ましくは $-O-$ であり、

R_{21} から R_{25} は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_6\sim C_{20})$ アリアル又は $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリアルである。

10

【0116】

ある特定の好ましい実施形態では、 q は1から10の整数である。他の好ましい実施形態では、 q は、2、5又は11である。

【0117】

本発明の一部の実施形態では、一次リンカー、第1の分岐又はその両方は、 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q-$ 、 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qY-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q(CH_2)_r-$ 、 $-Y(((CH_2)_pV)_q)$ 又は $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qYCH_2-$ により表される接続ユニットを含み、式中：

r は0から10の整数であり、

p は1から10の整数であり、

q は1から20の整数であり、

V 及び Y は、それぞれ独立して、単結合、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR_{21}-$ 、 $-C(O)NR_{22}-$ 、 $-NR_{23}C(O)-$ 、 $-NR_{24}SO_2-$ 又は $-SO_2NR_{25}-$ であり、

R_{21} から R_{25} は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_6\sim C_{20})$ アリアル又は $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリアルである。

20

【0118】

これらのリンカーのある特定の好ましい実施形態では、 q は4から20の整数である。一部の実施形態では、 q は6から20の整数である。他の好ましい実施形態では、 q は2から12の整数である。一部の実施形態では、 q は、2、5又は11である。

30

【0119】

これらのリンカーの一部の実施形態では、 r は好ましくは2である。これらのリンカーの一部の実施形態では、 p は好ましくは2である。これらのリンカーの一部の実施形態では、 q は6から20の整数である。一部の実施形態では、 V 及び Y は、それぞれ独立して、 $-O-$ である。

【0120】

一部の実施形態では：

r は2であり、

p は2であり、

q は、2、5又は11であり、

V は $-O-$ である。

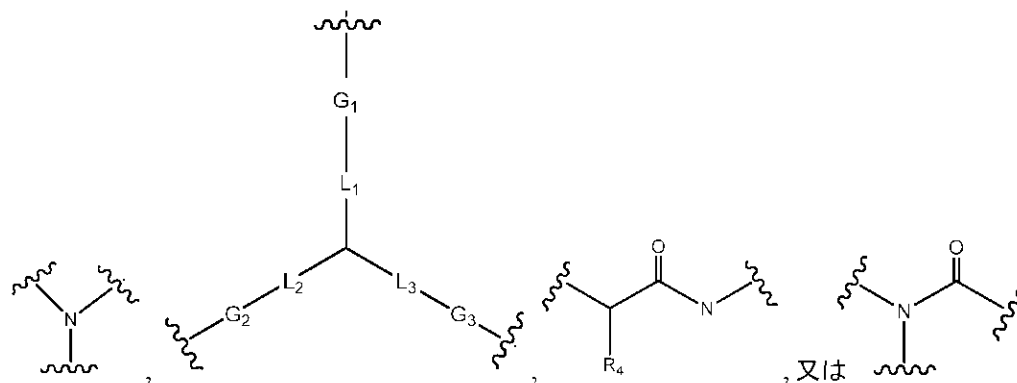
40

【0121】

本発明の一部の実施形態では、少なくとも1個の分岐ユニットは、

【0122】

【化 2 6】



10

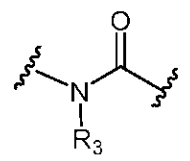
であり、

式中、 L_1 、 L_2 、 L_3 は、それぞれ独立して、直接結合又は $-C_nH_{2n}-$ であり、 n は1から30の整数であり、

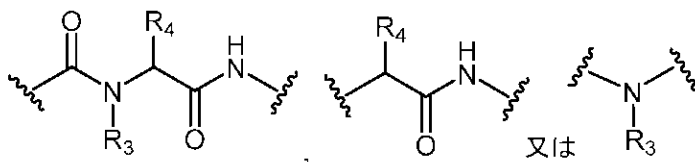
G_1 、 G_2 、 G_3 は、それぞれ独立して、直接結合、

【0 1 2 3】

【化 2 7】



20



であり、

R_3 は、水素又は $C_1 \sim C_{30}$ アルキルであり、

30

R_4 は、水素又は $-L_4-COOR_5$ であり、 L_4 は、直接結合又は $-C_nH_{2n}-$ であり、 n は、1から10の整数であり、 R_5 は、水素又は $C_1 \sim C_{30}$ アルキルである。

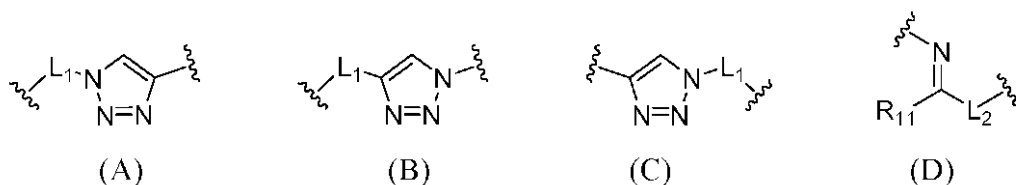
【0 1 2 4】

二次リンカー(例えば、活性剤を分岐ユニットにつなげる)は、1,3-双極子環状付加反応、ヘテロ-ディールス-アルダー反応、求核置換反応、非アルドール型カルボニル反応、炭素-炭素多重結合への付加、酸化反応又はクリック反応により形成される結合ユニットを含み得る。結合ユニットは、アセチレンとアジドの間の反応、又は非アルドール型カルボニル反応、例えばアルデヒド若しくはケトン基とヒドラジン若しくはアルコキシアミンの間の反応、活性剤及び/若しくは切断基の分岐ユニットへの穏当な連結を可能にする反応により形成され得る。そのような結合ユニットは、式(A)、(B)、(C)又は(D)により表され得る。

40

【0 1 2 5】

【化 2 8】



L_1 は、単結合、又は1から30個の炭素原子、好ましくは10、11、12、13、14、15又は

50

16個の炭素原子を有するアルキレンであり、

R_{11} は、水素、又は1から10個の炭素原子を有するアルキル、好ましくはメチルであり、

L_2 は、1から30個の炭素原子、好ましくは10、11、12、13、14、15又は16個の炭素原子を有するアルキレンである。

【0126】

本発明の一部の実施形態では、一次リンカー、第1の分岐又はその両方は、 $-(CH_2CH_2X)_w$ により表される接続ユニットを含み、式中：

X は、 $-O-$ 、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキレン又は $-NR_{21}-$ 、好ましくは $-O-$ を表し、

R_{21} は、水素、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_6 \sim C_{20})$ アリール又は $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_3 \sim C_{20})$ ヘテロアリール、好ましくは水素を表し、

w は、1から12の整数、好ましくは1、3、6又は12である。

【0127】

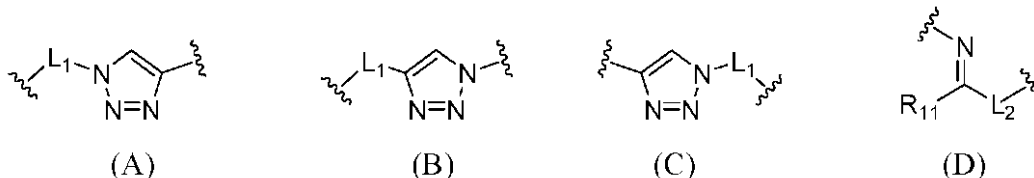
一部の実施形態では、 X は $-O-$ であり、 w は6から12の整数である。

【0128】

本発明の一部の実施形態では、一次リンカーは、1,3-双極子環状付加反応、ヘテロ-ディールス-アルダー反応、求核置換反応、非アルドール型カルボニル反応、炭素-炭素多重結合への付加、酸化反応又はクリック反応により形成される結合ユニットを含む。一部の実施形態では、結合ユニットは、アセチレンとアジドの間の反応、又はアルデヒド若しくはケトン基とヒドラジン若しくはアルコキシアミンの間の反応により形成される。一部の実施形態では、結合ユニットは、式A、B、C又はDのいずれか1個、好ましくはDにより表され：

【0129】

【化29】



式中：

L_1 は、単結合、又は1から30個、好ましくは12個の炭素原子を有するアルキレンであり、

R_{11} は、水素、又は1から10個の炭素原子を有するアルキル、好ましくはメチルであり、

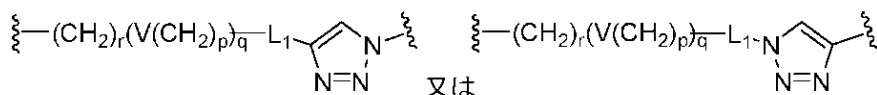
L_2 は、1から30個、好ましくは11個の炭素原子を有するアルキレンである。

【0130】

一部の実施形態では、一次リンカーは、

【0131】

【化30】



を含み、

V は、単結合、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR_{21}-$ 、 $-C(O)NR_{22}-$ 、 $-NR_{23}C(O)-$ 、 $-NR_{24}SO_2-$ 又は $-SO_2NR_{25}-$ 、好ましくは $-O-$ であり、

R_{21} から R_{25} は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_6 \sim C_{20})$ アリール又は $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_3 \sim C_{20})$ ヘテロアリールであり、

r は1から10の整数、好ましくは2又は3であり、

p は0から10の整数、好ましくは1又は2であり、

q は1から20、好ましくは1から6の整数であり、

L_1 は単結合である。

【0132】

一部の実施形態では、一次リンカーは、O-置換オキシムを含み、式中、

a) オキシムの酸素原子は、オキシムを活性剤に共有結合で、例えば分岐ユニットを経由してつなげる基で置換され、

オキシムの炭素原子は、オキシムを抗体に共有結合でつなげる基で置換され、又は

b) オキシムの酸素原子は、オキシムを抗体に共有結合でつなげる基で置換され、

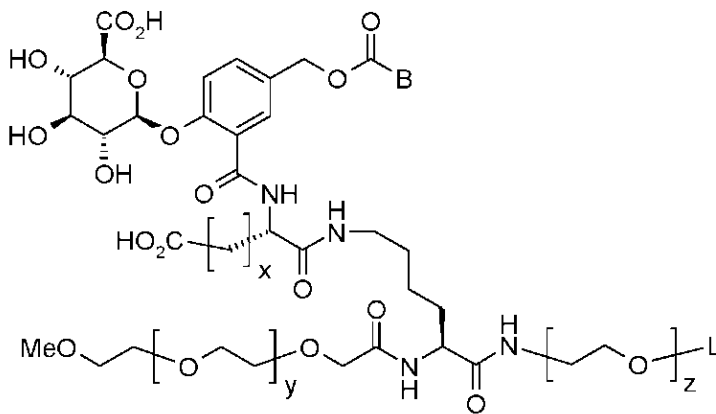
オキシムの炭素原子は、オキシムを活性剤に共有結合で、例えば分岐ユニットを経由してつなげる基で置換されている。

【0133】

一部の実施形態では、抗体-薬物複合体は、式III:

【0134】

【化31】



(III)

の構造を含み、式中:

Bは活性剤を表し、

xは1から3の整数を表し、

yは0から20の整数を表し、

zは1から20の整数を表し、

Lは、抗体へのつながりを表す。

【0135】

一部の実施形態では、y及びzは、独立して、1から20の整数を表す。他の実施形態では、y及びzは、独立して、2から20の整数を表す。ある特定の好ましい実施形態では、y及びzは、独立して、1から19、最も好ましくは4から20の整数を表す。ある特定の好ましい実施形態では、y及びzは、独立して、20以下の整数を表す。

【0136】

一部の実施形態では、一次リンカー及び/又は第1の分岐は、1から20個の-OCH₂CH₂-ユニット、好ましくは4から20個の-OCH₂CH₂-ユニットを含む、少なくとも1つのポリエチレングリコール部分を含む。一部の好ましい実施形態では、一次リンカー及び/又は第1の分岐は、3から12個の-OCH₂CH₂-ユニットを含む、少なくとも1つのポリエチレングリコール部分を含む。一部の実施形態では、ポリエチレングリコール部分は、ヒドロキシル部分、アミノ基又はアルキルエーテルで終了する。

【0137】

本発明の一部の実施形態では、抗体は、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体断片、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、一本鎖Fv(「scFv」)、二特异性抗体、直鎖状抗体、二重特异性抗体、多重特异性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、又は抗体の抗原結合性部分を含む融合タンパク質である。

【0138】

本発明の一部の実施形態では、抗体は、ムロモナブ-CD3 アブシキシマブ、リツキシマブ、ダクリズマブ、パリビズマブ、インフリキシマブ、トラスツズマブ、エタネルセプト、バシリキシマブ、ゲムツズマブ、アレムツズマブ、イブリツモマブ、アダリムマブ、アレファセプト、オマリズマブ、エファリズマブ、トシツモマブ、セツキシマブ、ABT-806、ベバシズマブ、ナタリズマブ、ラニビズマブ、パニツムマブ、エクリズマブ、リロナセプト、セルトリズマブ、ロミブロスチム、AMG-531、ゴリムマブ、ウステキヌマブ、ABT-874、ベラタセプト、ベリムマブ、アタシセプト、抗CD20抗体、カナキヌマブ、トシリズマブ、アトリズマブ、メボリズマブ、ペルツズマブ、HuMax CD20、トレメリムマブ、チシリムマブ、イピリムマブ、IDEC-114、イノツズマブ、HuMax EGFR、アフリベルセプト、HuMax-CD4、テブリズマブ、オテリキシズマブ、カツマキソマブ、抗EpCAM抗体IGN101、アデカツムマブ、オレゴボマブ、ジヌツキシマブ、ギレンツキシマブ、デノスマブ、バピネウズマブ(bapineuzumab)、モタビズマブ、エファングマブ、ラキシバクマブ、LY2469298及びベルツズマブから選択される。

【0139】

一部の実施形態では、ある活性剤は、化学療法剤及び毒素から選択される。

【0140】

一部の実施形態では、活性剤は：

(a) エルロチニブ、ボルテゾミブ、フルベストラント、スーテント、レトロゾール、メシル酸イマチニブ、PTK787/ZK 222584、オキサリプラチン、5-フルオロウラシル、ロイコボリン、ラパマイシン、ラパチニブ、ロナファルニブ、ソラフェニブ、ゲフィチニブ、AG1478、AG1571、チオテパ、シクロホスファミド、ブスルファン、インプロスルファン、ピボスルファン、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、ウレドーパ、エチレンイミン、アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、トリメチロールメラミン、プラタシン、プラタシノン、カンプトテシン、カンプトテシン誘導体及び代謝産物(SN-38)、トポテカン、プリオスタチン、カリスタチン、CC-1065、アドゼレシン、カルゼルシン、ビゼレシン(bizelesin)、クリプトフィシン1、クリプトフィシン8、ドラスタチン、デュオカルマイシン、KW-2189、CB1-TM1、エリユテロビン、パンクラチスタチン、サルコジクチン、スポンジスタチン、クロランブシル、クロルナファジン、コロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メルファラン、ノベンビチン、フェネステリン、ブレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチン、カリケアミシン、カリケアミシンガンマ1、カリケアミシンオメガ1、ジネミシン、ジネミシンA、クロドロネート(clodronate)、エスペラミシン、ネオカルジノスタチンクロモフォア、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アンチマイシン、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、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルブシン(detorubicin)、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ドキシソルビシン、モルホリノ-ドキシソルビシン、シアノモルホリノ-ドキシソルビシン、2-ピロリノ-ドキシソルビシン、リボソームドキシソルビシン、デオキシドキシソルビシン、エピルビシン、エソルビシン(esorubicin)、マルセロマイシン、マイトマイシンC、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、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、5-フルオロウラシル、デノブテリン、メトトレキサート、プテロブテリン、トリメトトレキサート、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、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、フロキシウリジン、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、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン、フォリン酸、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、ピサントレン、エダトレキサート、デフォファ

10

20

30

40

50

ミン、デメコルシン、ジアジコン、エフロルニチン、酢酸エリブチニウム、エトグルシド、硝酸ガリウム、ヒドロキシ尿素、レンチナン、ロニダイニン、メイタンシン、アンサミトシン、ミトグアゾン、ミトキサントロン、モピダンモール、ニトラリン、ペントスタチン、フェナメット、ピラルビシン、ロソキサントロン、2-エチルヒドラジド、プロカルバジン、ポリサッカリド-k、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、トリアジコン、2,2',2''-トリクロロトリエチルアミン、T-2毒素、ベラキュリン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、ミトブロニトール、ミトラクトール、ピポブロマン、ガシトシン、アラビノシド、シクロホスファミド、チオテパ、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン改変ナノ粒子製剤、ドセタキセル、クロランブシル、ゲムシタビン、6-チオグアニン、メルカ

10

プトプリン、シスプラチン、カルボプラチン、ビンブラスチン、白金、エトポシド、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、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、ゼローダ、イバンドロネート、CPT-11、トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000、ジフルオロメチルオルニチン、レチノイン酸、カベシタビン又は薬学的に許容される塩、溶媒和物又は先述のいずれかの酸、
(b)モノカイン、リンフォカイン、従来からのポリペプチドホルモン、上皮小体ホルモン、チロキシン、リラキシン、プロリラキシン、糖タンパク質ホルモン、卵胞刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、肝細胞増殖因子、線維芽細胞増殖因子、プロラクチン、胎盤性ラクトゲン、腫瘍壊死因子- α 、腫瘍壊死因子- β 、ミューラー管阻害物質、マウスゴナドトロピン関連ペプチド、インヒビン、アクチビン、血管内皮増殖因子、トロ

20

ンボポエチン、エリスロポエチン、骨誘導因子、インターフェロン、インターフェロン- α 、インターフェロン- β 、インターフェロン- γ 、コロニー刺激因子(「CSF」)、マクロファージ-CSF、顆粒球-マクロファージ-CSF、顆粒球-CSF、インターロイキン(「IL」)、IL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、腫瘍壊死因子、TNF- α 、TNF- β 、ポリペプチド因子、LIF、kitリガンド又は先述のいずれかの組合せ、
(c)ジフテリア毒素、ボツリヌス毒素、破傷風毒素、赤痢毒素、コレラ毒素、アマニチン、アマニチン誘導体、 α -アマニチン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン誘導体、テトロドトキシン、プレベトキシン、シガトキシン、リシン、AM毒素、チューブリ

30

シン、ゲルダナマイシン、メイタンシノイド、カリケアミシン、ダウノマイシン、ドキシソルピシン、メトトレキサート、ビンデシン、SG2285、ドラスタチン、ドラスタチン類似体、オーリスタチン、クリプトフィシン、カンプトテシン、カンプトテシン誘導体及び代謝産物(SN-38)、リゾキシン、リゾキシン誘導体、CC-1065、CC-1065類似体若しくは誘導体、デュオカルマイシン、エンジン抗生物質、エスペラミシン、エポチロン、アゾナフィド、アブリジン、トキシノイド又は先述のいずれかの組合せ、

(d)親和性リガンドであって、基質、阻害剤、刺激剤、神経伝達物質、放射性同位体又は先述のいずれかの組合せである、親和性リガンド、
(e)放射性標識、 ^{32}P 、 ^{35}S 、蛍光色素、電子密度試薬、酵素、ビオチン、ストレプトアビジン、ジゴキシゲニン、ハプテン、免疫原性タンパク質、標的に相補的な配列を有する核酸分子、又は先述のいずれかの組合せ、

40

(f)免疫調節化合物、抗がん剤、抗ウイルス剤、抗細菌剤、抗菌剤及び抗寄生虫剤又は先述のいずれかの組合せ、

(g)タモキシフェン、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン又はトレミフェン、

(h)4(5)-イミダゾール、アミノグルテチミド、酢酸メゲストロール、エキセメスタン、レトロゾール又はアナストロゾール、

(i)フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、ゴセレリン又はトロキサシタビン、

(j)アロマターゼ阻害剤、

(k)タンパク質キナーゼ阻害剤、

50

- (l)脂質キナーゼ阻害剤、
- (m)アンチセンスオリゴヌクレオチド、
- (n)リボザイム、
- (o)ワクチン、並びに
- (p)抗血管形成剤から選択される。

【0141】

一部の実施形態では、少なくとも1つの活性剤はタルトブリン又はアゾナフィドである。

【0142】

一部の実施形態では、活性剤は、アマニチン、オーリスタチン、カリケアミシン、カンプトテシン、カンプトテシン誘導体及び代謝産物(SN-38)、クリプトフィシン、ダウノマイシン、ドラスタチン、ドキソルビシン、デュオカルマイシン、エポチロン、エスペラミシン、ゲルダナマイシン、メイタンシノイド、メトトレキサート、モノメチルオーリスタチンE(「MMAE」)、モノメチルオーリスタチンF(「MMAF」)、ピロロベンゾジアゼピン、リゾキシシン、SG2285、チューブリシン、ビンデシン、トキシソイド、又は先述のいずれか1つの誘導体である。例えば、活性剤は、アマニチン、MMAE若しくはMMAF、又は先述のいずれか1つの誘導体であってよい。ある特定の実施形態では、活性剤は、アマニチン、MMAE若しくはMMAF、又は先述のいずれか1つの誘導体である。

【0143】

一部の実施形態では、複合体は:

【0144】

10

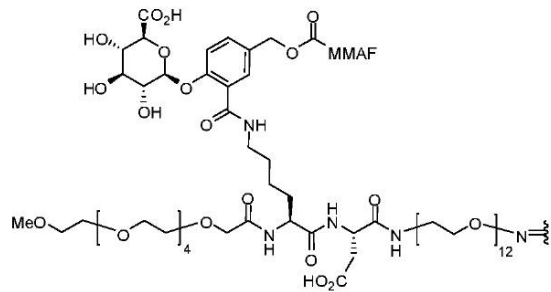
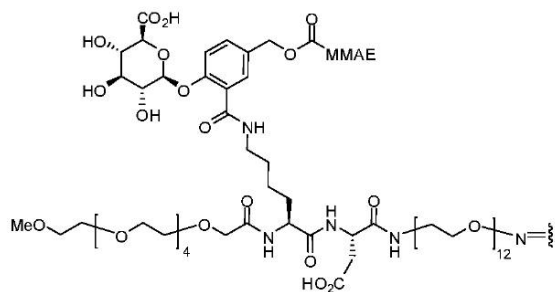
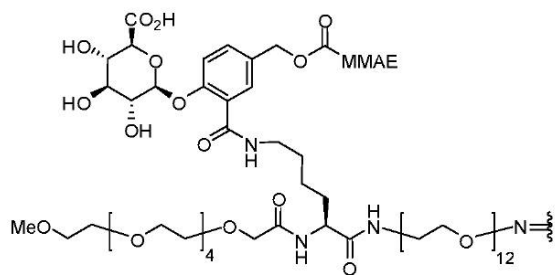
20

30

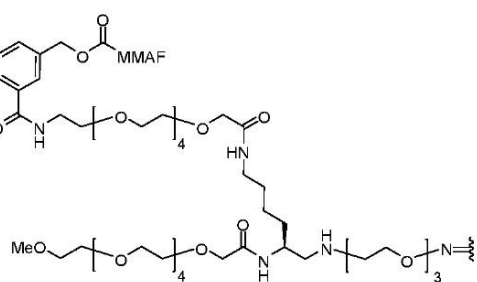
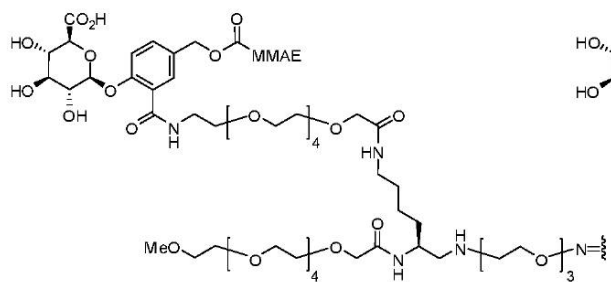
40

50

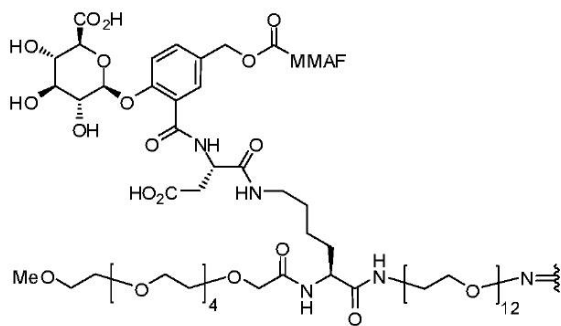
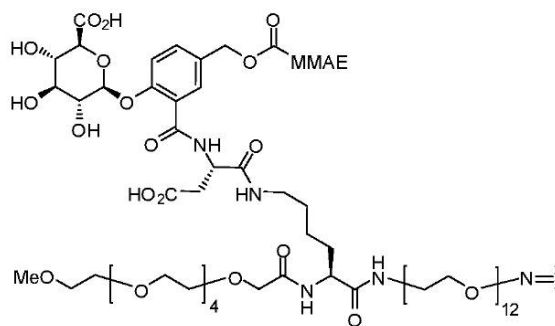
【化 3 2】



10



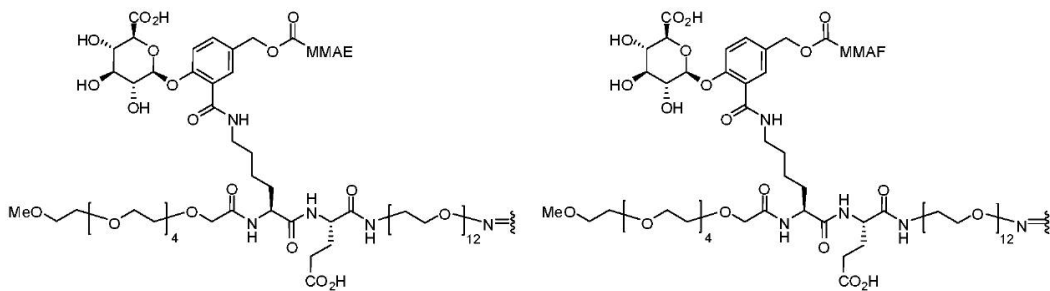
20



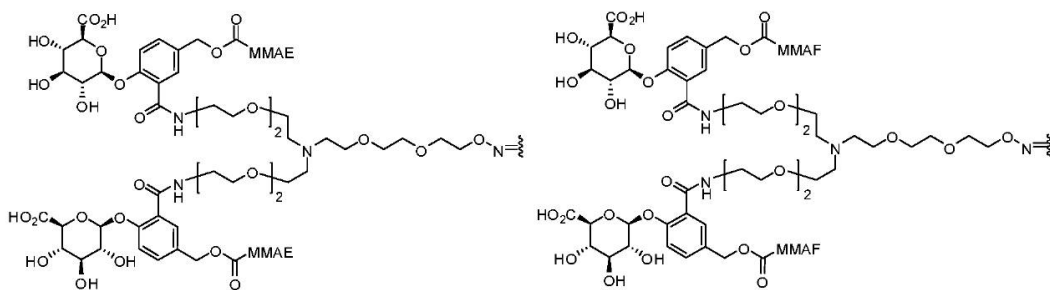
30

40

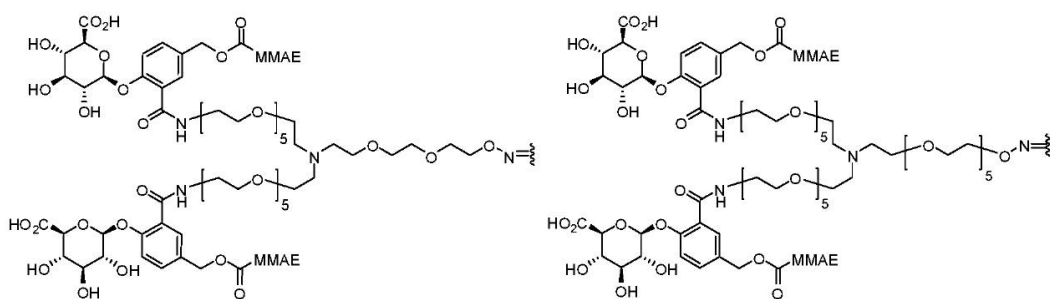
50



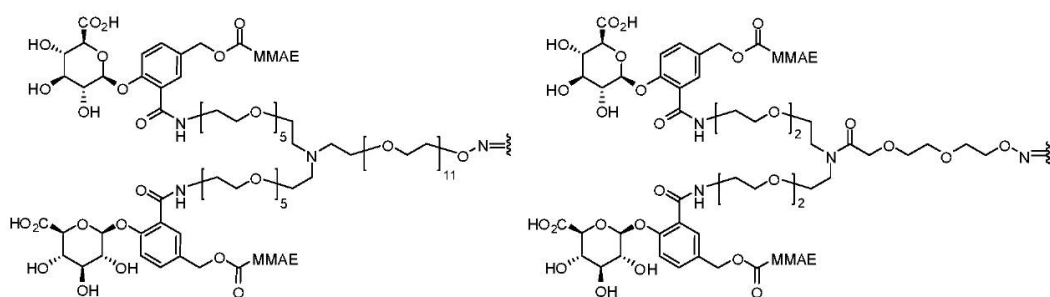
10



20

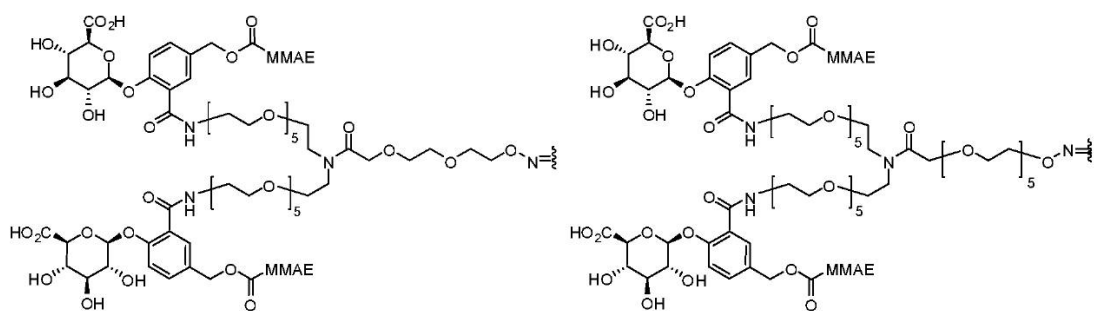


30

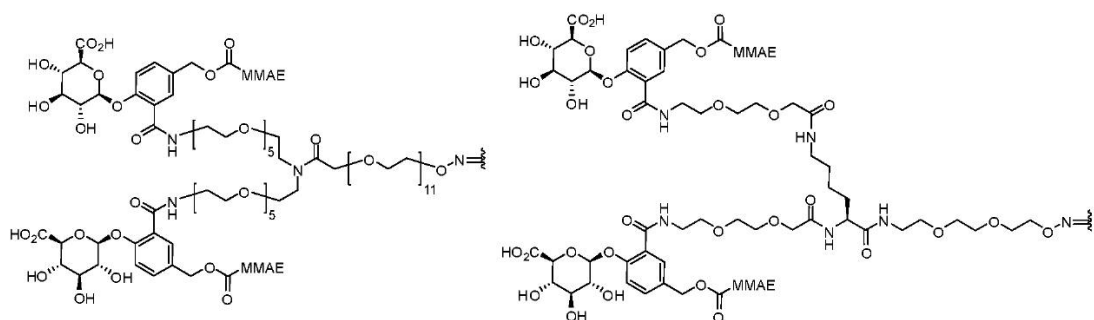


40

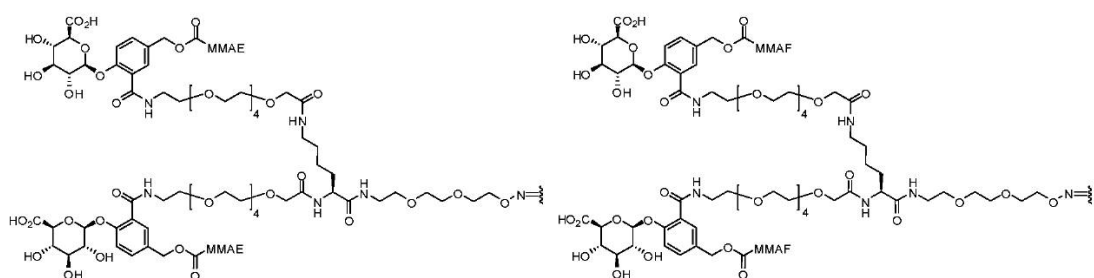
50



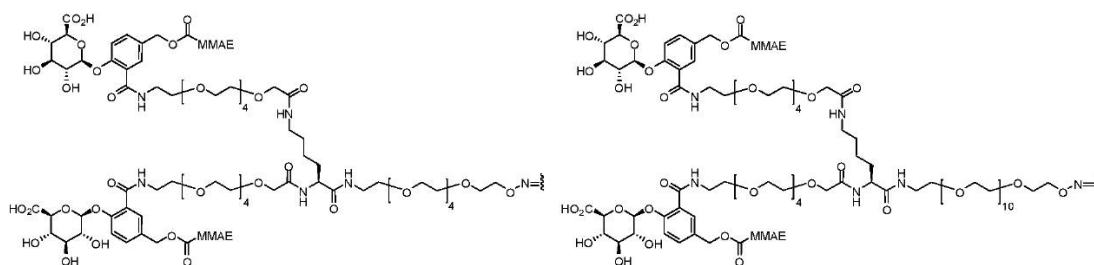
10



20

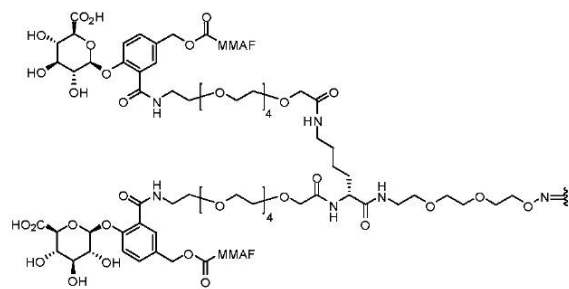
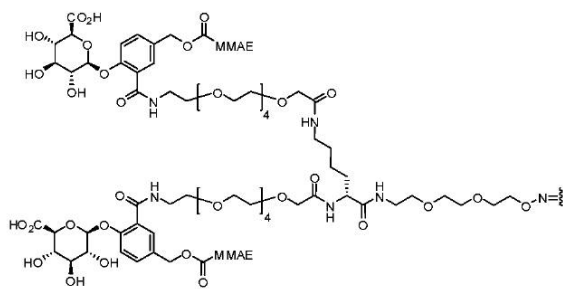


30

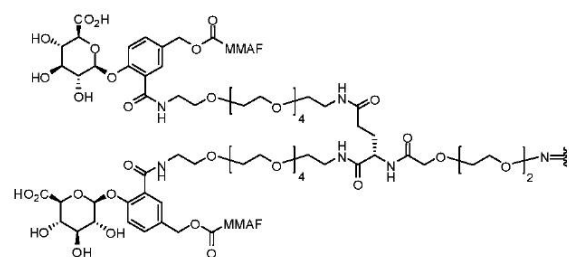
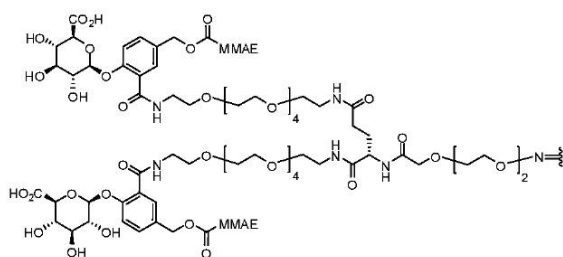


40

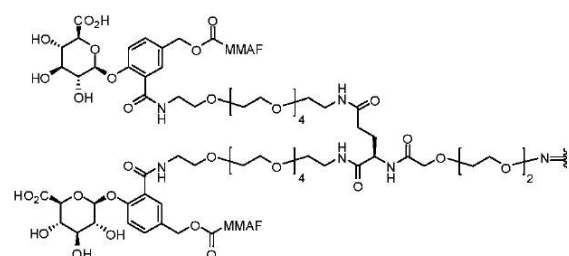
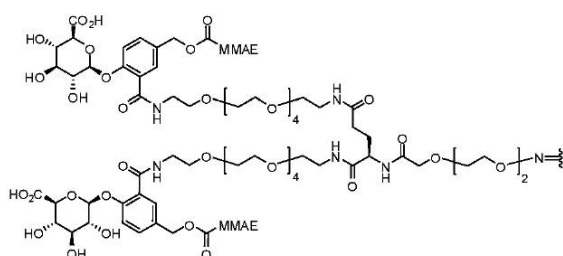
50



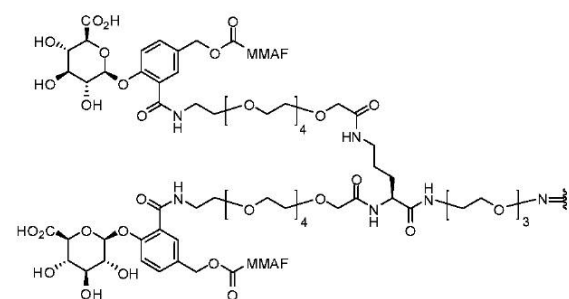
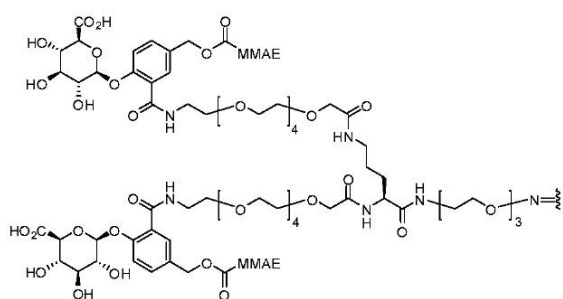
10



20

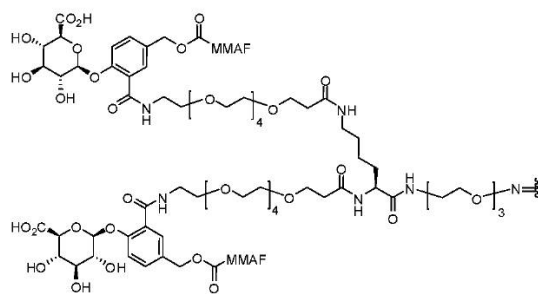
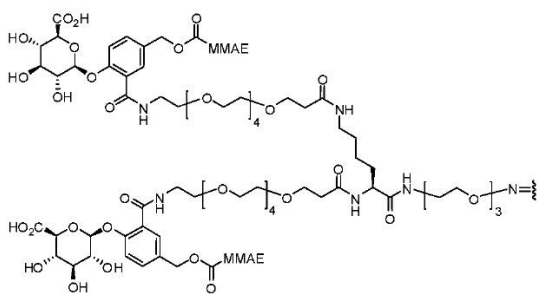


30

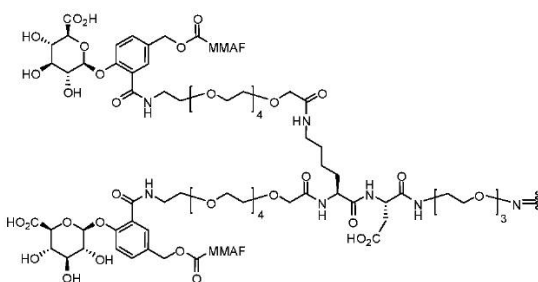
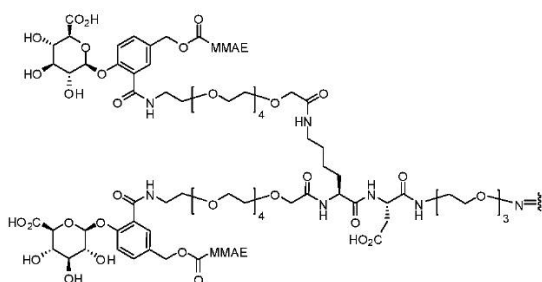


40

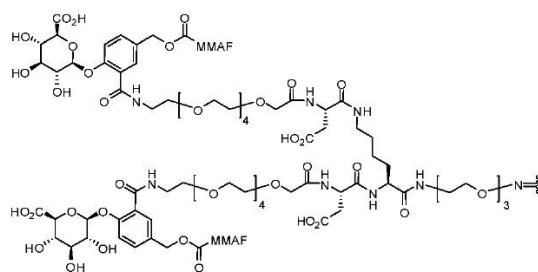
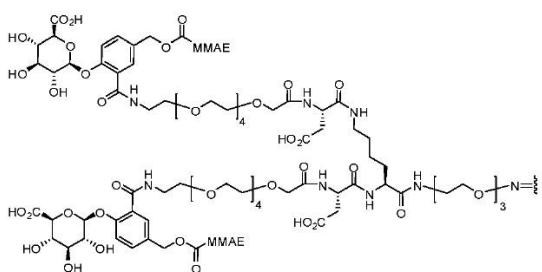
50



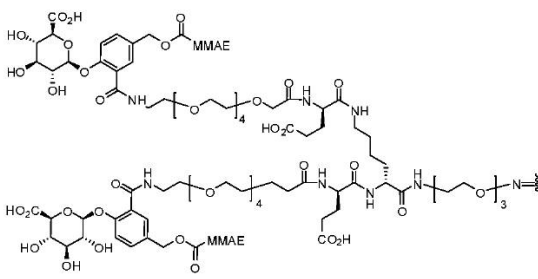
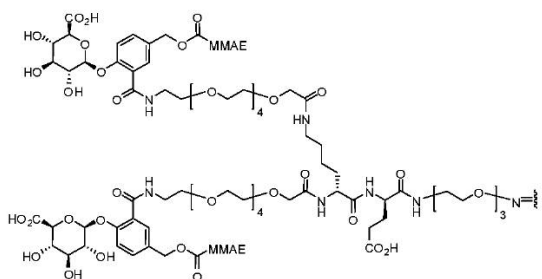
10



20

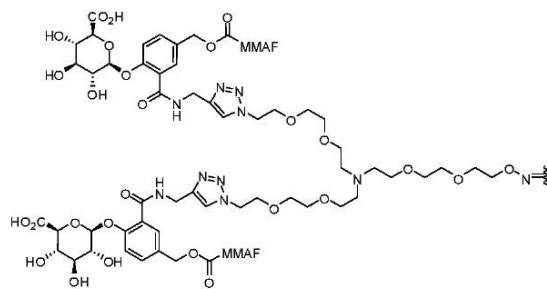
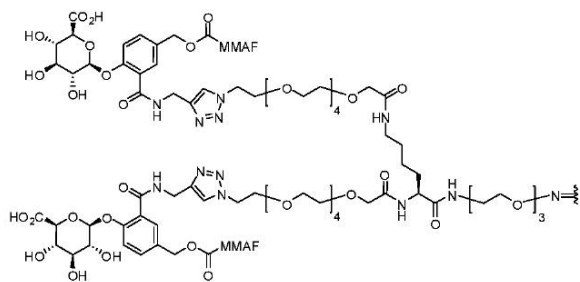


30

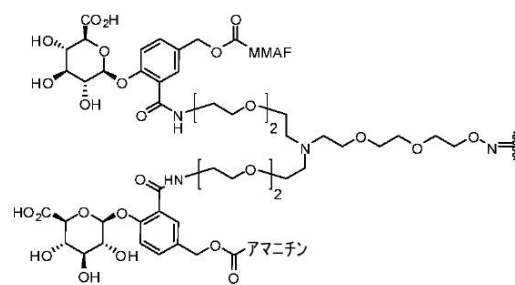
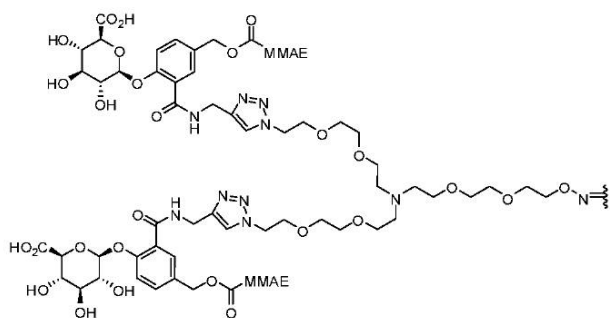


40

50



10

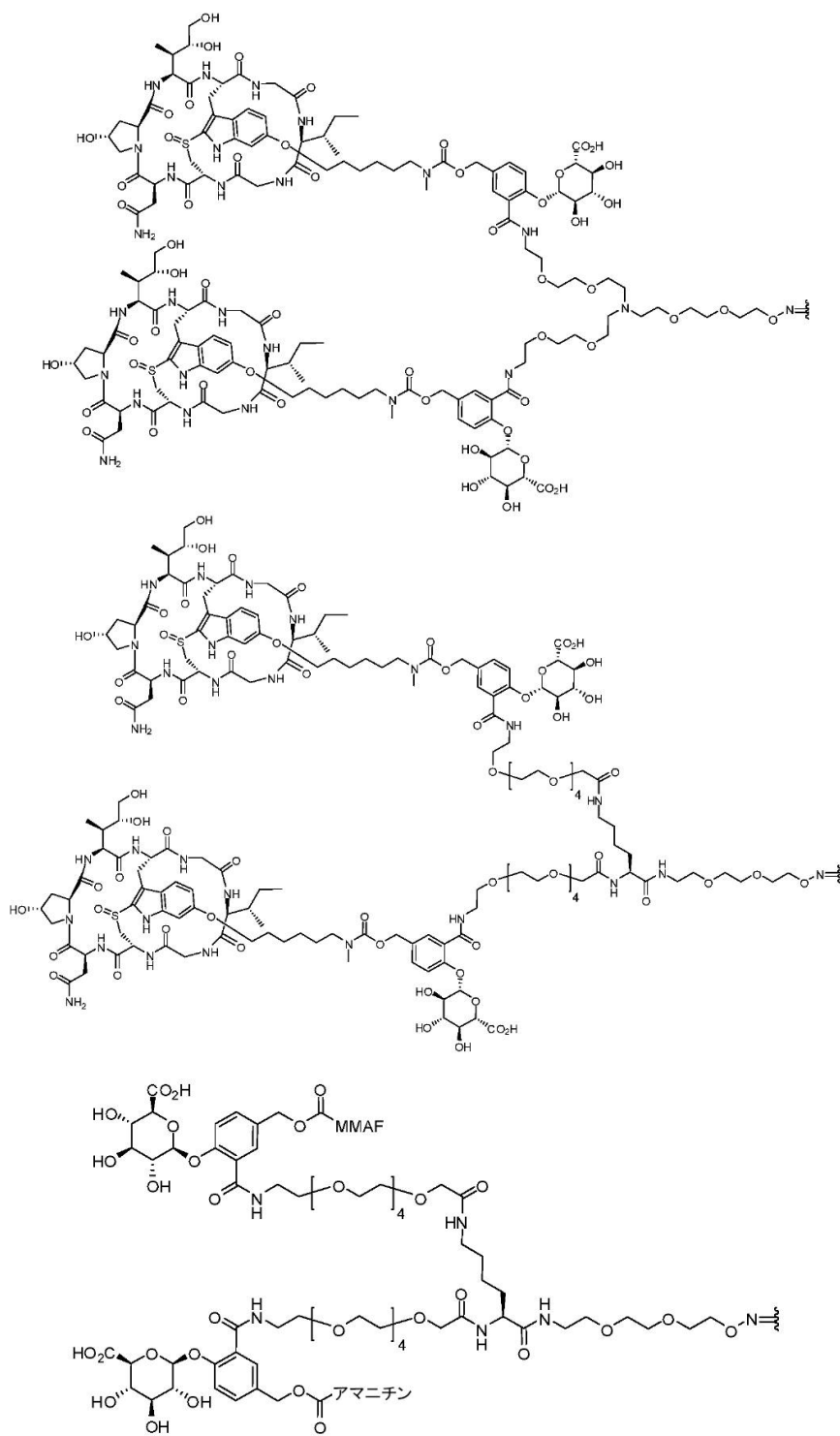


20

30

40

50



10

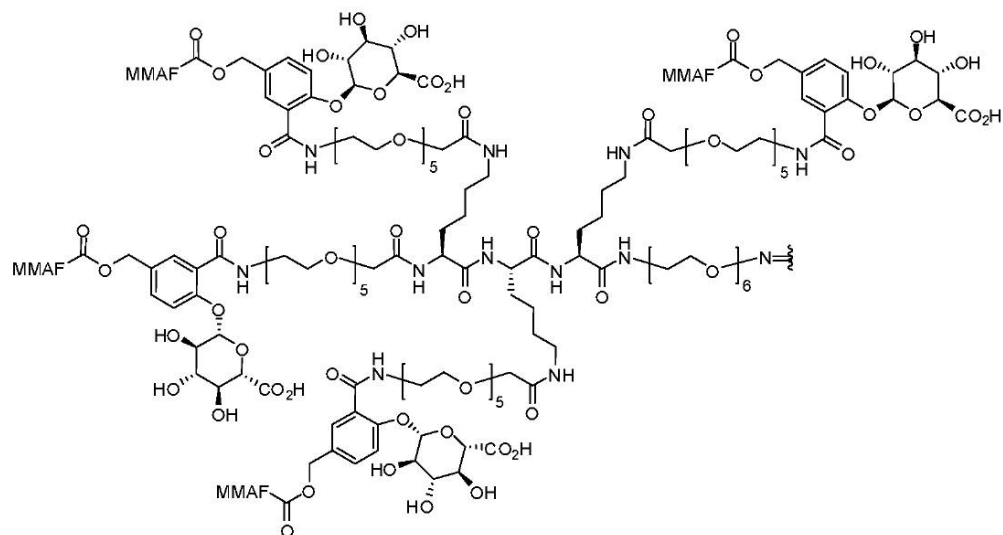
20

30

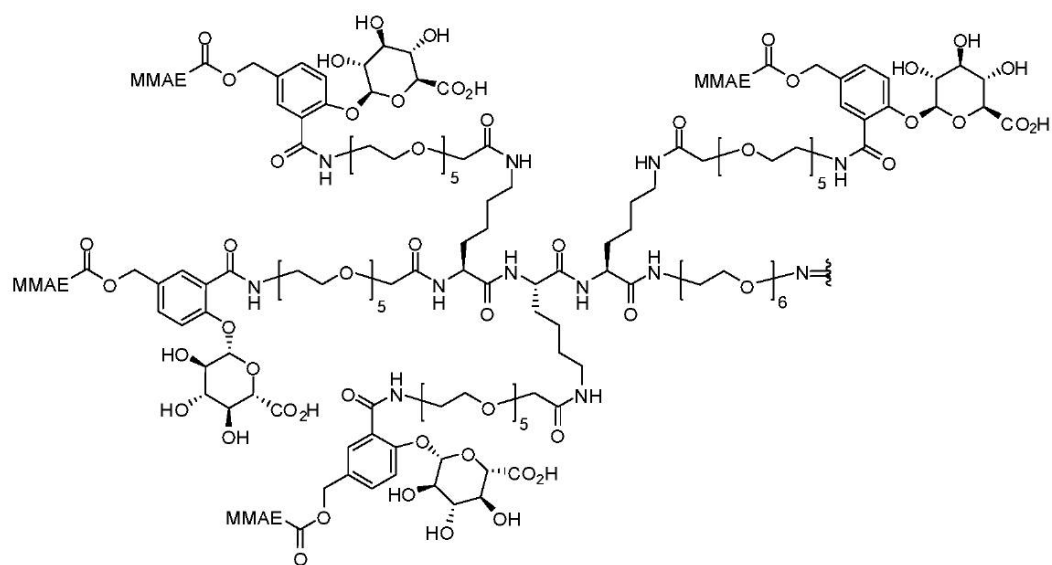
40

50

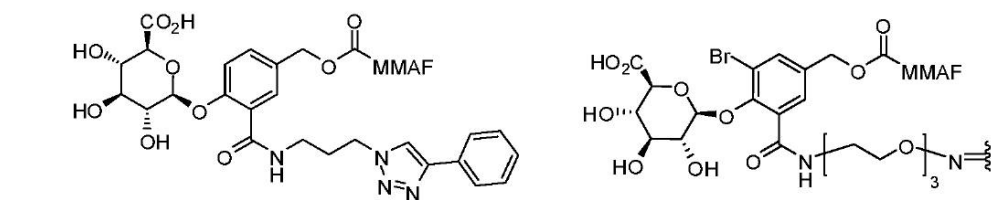




10

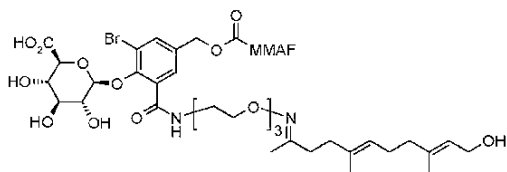
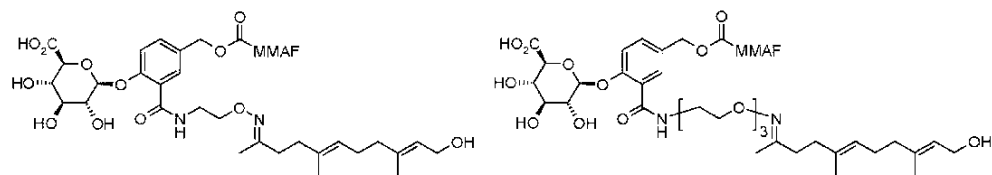


20

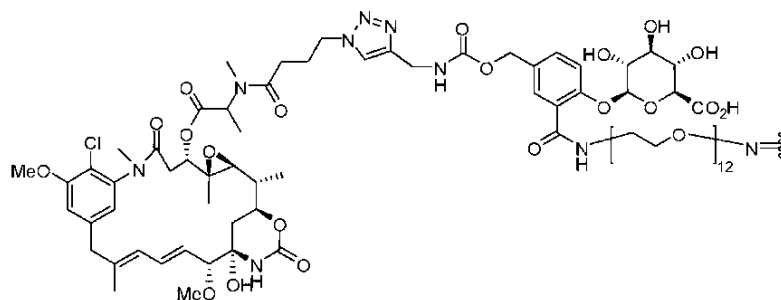


40

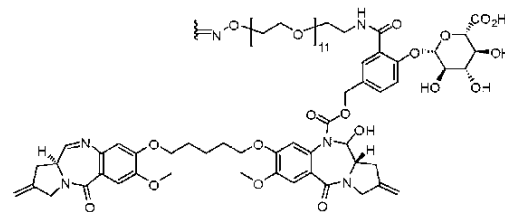
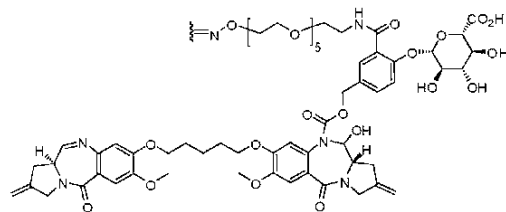
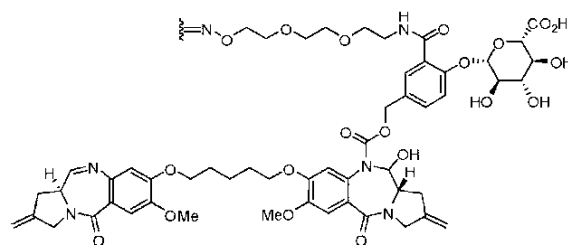
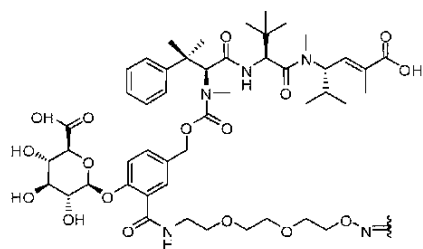
50



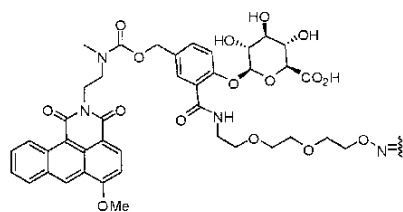
10



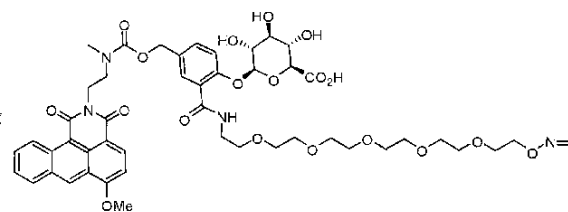
20



30



及



40

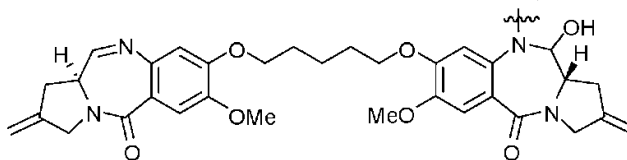
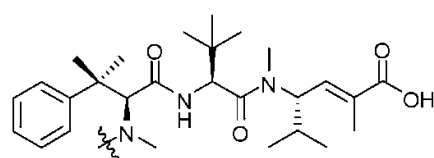
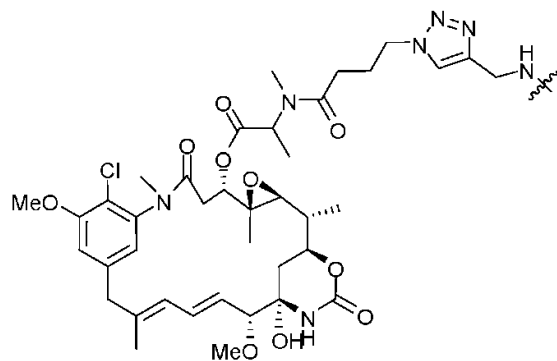
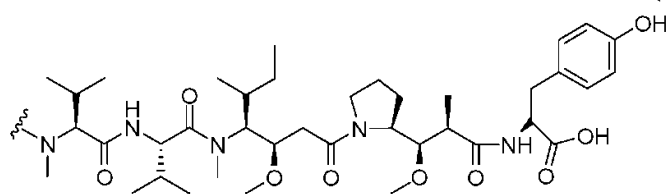
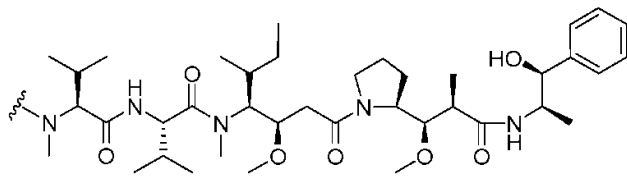
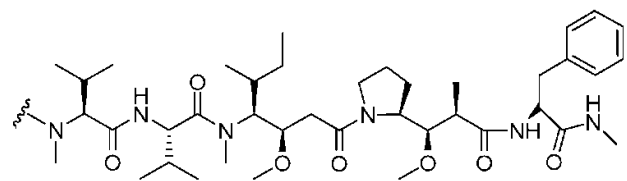
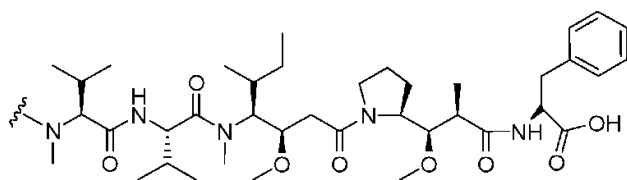
から選択される部分を含む、1つ以上の分岐リンカーを含む。

【0145】

一部の実施形態では、活性剤は：

【0146】

【化 3 3】



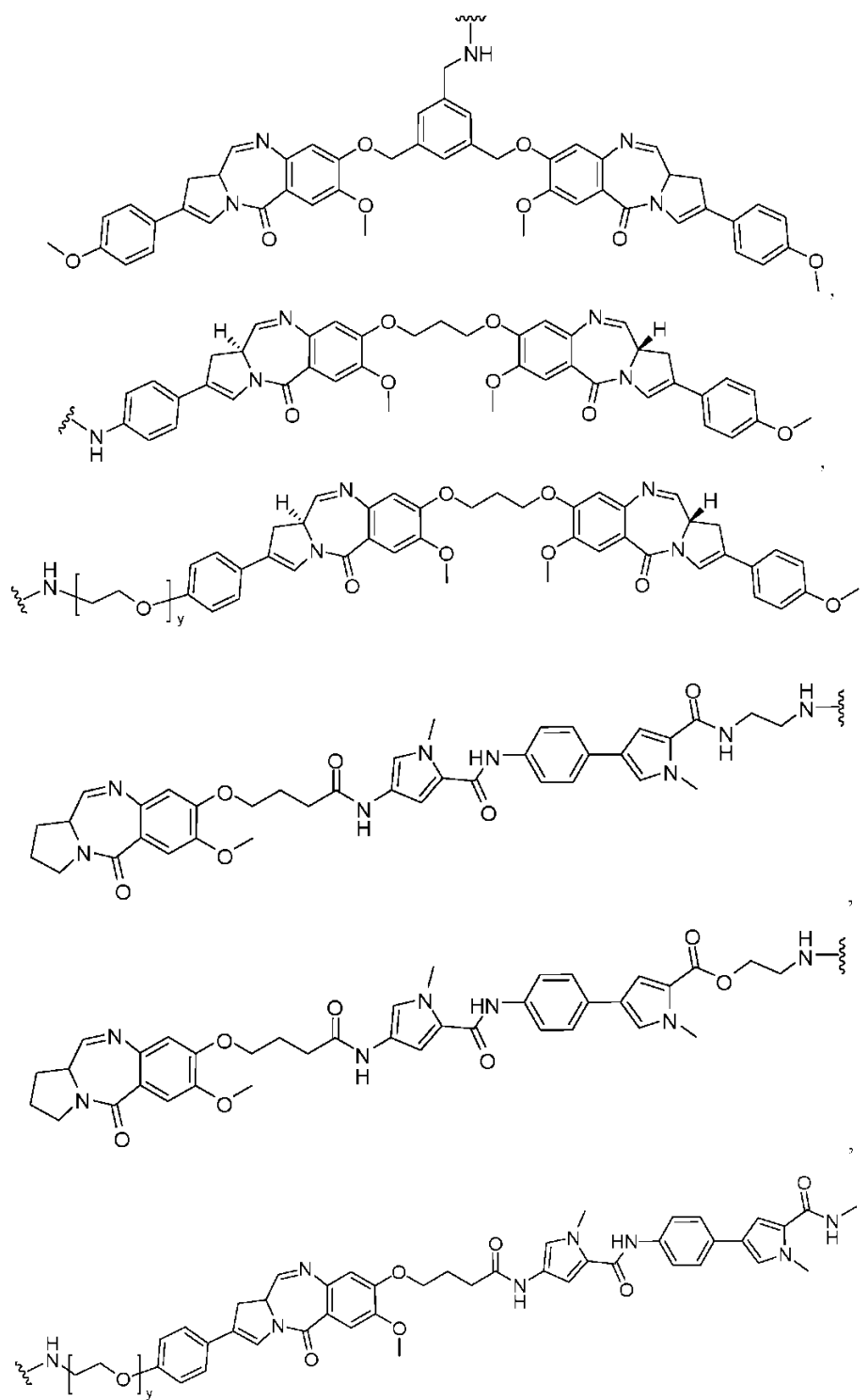
10

20

30

40

50



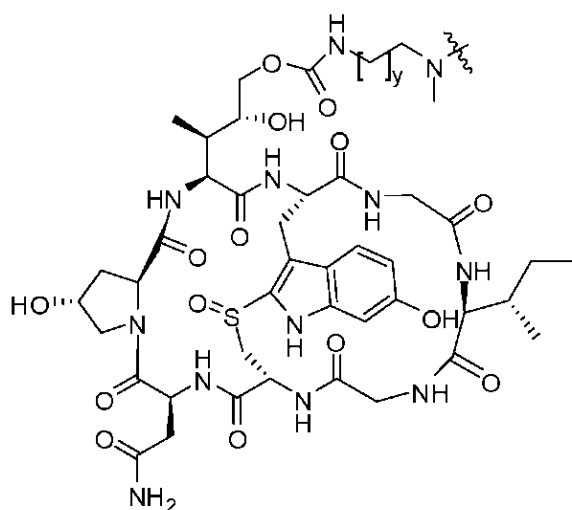
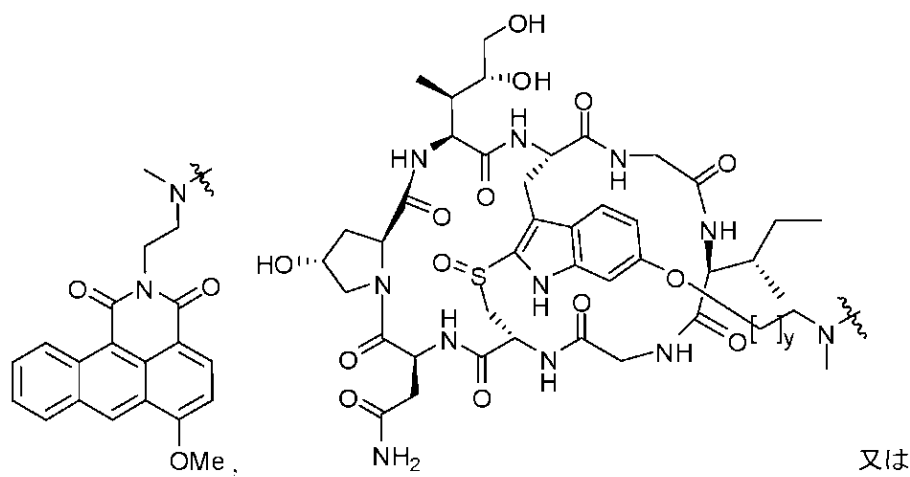
10

20

30

40

50



であり、式中、 y は1から10の整数である。

【0147】

他の実施形態では、本発明は、例えば、リガンド及び1つ以上の活性剤を連結させて、本明細書で開示されているリガンド-薬物複合体を調製するのに適しているリンカー化合物に関し、

i)分岐リンカーは、一次リンカー(PL)によりリガンドに共有結合で連結する分岐ユニット(BR)を含み、

ii)分岐ユニットは、第1の分岐(B1)に共有結合で連結し、切断基(CG)は、二次リンカー(SL)に共有結合で連結し、

iii)分岐ユニットは、第2の分岐(B2)に共有結合で連結し、これは、a)二次リンカー(SL)に共有結合で連結する第2の切断基(CG)、又はb)ポリエチレングリコール部分のいずれかを含む。

【0148】

一部の実施形態では、本発明は、例えば、リガンド及び1つ以上の活性剤を連結させて、本明細書で開示されているリンカー-活性剤複合体を調製するのに適しているリンカー化合物に関し、

i)分岐リンカーは、一次リンカー(PL)によりリガンドに共有結合で連結する分岐ユニット(BR)を含み、

ii)分岐ユニットは、第1の分岐(B1)に共有結合で連結し、これは、二次リンカー(SL)に共有結合で連結する切断基(CG)と反応させることが可能である末端反応基を有し、

iii)分岐ユニットは、第2の分岐(B2)に共有結合で連結し、これは、a)二次リンカー(SL)に

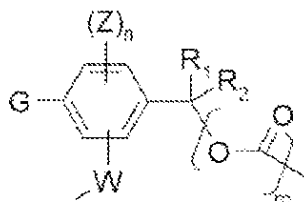
共有結合で連結する切断基(CG)と反応させることが可能である第2の末端反応基、又はb) ポリエチレングリコール部分を含む。

【0149】

そのようなリンカー化合物のある特定の実施形態では、切断基は式：

【0150】

【化34】



10

を有し、式中：

Gは、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、
Wは、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、 $-P(O)R''NR'-$ 、 $-S(O)NR'-$ 又は $-PO_2NR'-$ を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に、好ましくは直接結合し、R'及びR''は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、モノ若しくはジカルボキシル $(C_1\sim C_8)$ アルキル、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_1\sim C_8)$ アルコキシ、 $(C_1\sim C_8)$ アルキルチオ、モノ若しくはジ $(C_1\sim C_8)$ アルキルアミノ、 $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリール又は $(C_6\sim C_{20})$ アリールであり、Wは、分岐ユニットに直接的又は間接的に連結し、
各Zは、独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、
nは1から3の整数であり、

20

mは0又は1、好ましくは1であり、

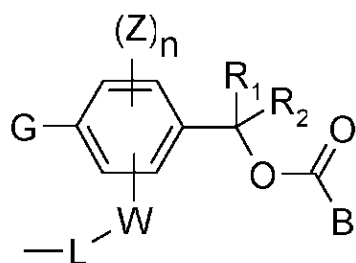
R₁及びR₂は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル若しくは $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂は、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル環を形成する。

【0151】

そのようなリンカー化合物の他の実施形態では、切断基は、式：

【0152】

【化35】



40

を有し、式中：

Gは、糖又は糖酸、好ましくはグルクロン酸を表し、
Bは、活性剤に取って代わることが可能である脱離基、例えばハロゲン(とりわけCl若しくはBr)、又は、活性剤に連結することが可能である反応性部分を含むユニット、例えばイソシアネート、酸塩化物、クロロホルメートなどを表し、
Wは、電子求引性基、好ましくは $-C(O)NR'-$ を表し、C(O)はフェニル環に結合しており、NR'(アミノ酸、好ましくは親水性アミノ酸のアミノ基であってよい)は、Lに結合しており、

50

各Zは、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、
nは1から3の整数であり、

Lは、分岐ユニットへのつながりを表し、

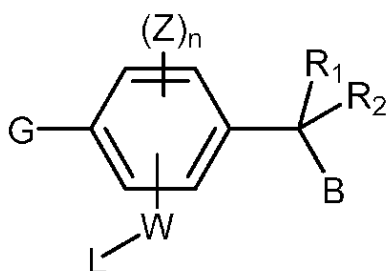
R₁及びR₂は、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくは(C₃~C₈)シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂は、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、(C₃~C₈)シクロアルキル環を形成する。

【0153】

そのようなリンカー化合物のさらに他の実施形態では、切断基は、式:

【0154】

【化36】



又は薬学的に許容されるその塩を有し、式中、

Gは、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、

Bは、活性剤に連結することが可能である反応性部分を含むユニットであり、

Wは、-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-S(O)₂NR'-、-P(O)R''NR'-、-S(O)NR'-又は-PO₂NR'-を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に直接結合し、R'及びR''は、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、(C₁~C₈)アルキルチオ、モノ若しくはジ(C₁~C₈)アルキルアミノ、(C₃~C₂₀)ヘテロアリール又は(C₆~C₂₀)アリールであり、

各Zは、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nは1から3の整数、好ましくは3であり、

Lは、分岐ユニットへの結合を表し、

R₁及びR₂は、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくは(C₃~C₈)シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂は、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、(C₃~C₈)シクロアルキル環を形成する。

【図面の簡単な説明】

【0155】

【図1】β-グルクロニドをベースとしたリンカーからの活性薬物放出機構を例証する図である。

【図2】実験例1のβ-グルクロニダーゼによるリンカーの加水分解を描写するグラフである。

【図3】実験例2の薬物-リンカー複合体2種の血漿安定性を描写するグラフである。

【図4】実施例68に記載されている化合物47aの血漿安定性を描写するグラフである。

【図5】実施例70に記載されている化合物49aの血漿安定性を描写するグラフである。

【図6】実施例69に記載されている化合物48aの血漿安定性を描写するグラフである。

【図7A】図7A及び図7Bの2つのパネルからなる図である。図7Aは、薬物を抗体(DAR2)に複合させるための方略を表す図である。

【図7B】図7Bは、薬物を抗体(DAR4)に複合させるための方略を表す図である。

【図8】JIMT-1(HER2陽性)及びMCF7細胞(HER2陰性)に対する、リンカーにおけるPEGの長さを変化させた、DAR2 MMAE-複合体の相対的in vitro活性を示す図である。

【図9】JIMT-1(HER2陽性)及びMCF7細胞(HER2陰性)に対する、リンカー部分における異なるPEGの長さを有する、DAR4 MMAE-複合体の相対的in vitro活性を示す図である。

【図10】様々なリンカーのタイプを有するDAR4 ADCにおける、ヒトベータ-グルクロニダーゼ反応性を示す図である。12 μ MのADCをヒトベータ-グルクロニダーゼ(R&D Systems)0.01 μ gと37℃にて3時間インキュベートした。

【図11】マウス又はヒト血漿における、ADC2及びカドサイラの血漿安定性を示す図である。

【図12】ADC33及びADC34の、7日間にわたるヒト血漿安定性を示す図である。

【図13】ハーセプチン(Herceptin)及びADC2のラットPKプロファイルを示す図である。

【図14】ADC23及びADC34のラットPKプロファイルを示す図である。

【図15】リンカー-毒素の2gから11jへの置き換えにより、MMAEをベースとしたADCのラットPKプロファイル改善を示す図である。

【図16】分岐リンカーユニットによる、ラットPKプロファイル改善を示す図である。

【図17】MMAE ADCにおける、ラットPKプロファイルに対する極性アミノ酸の影響を示す図である。

【図18】ADCとDAR2における、極性アミノ酸を伴う、又は伴わない、分岐リンカー-毒素による、ラットPKプロファイル改善を示す図である。

【図19】ADCとDAR4のラットPKプロファイルに対する、リンカー-毒素ユニットにおけるAspの効果を示す図である。

【図20】ADCとDAR4のラットPKプロファイルに対する、リンカー-毒素ユニットにおけるGluの効果を示す図である。

【図21】MMAF(ADC23)又はMMAE(ADC24)を使用した、代表的なアミンタイプDAR4 ADCのin vivoの効き目を示す図である。

【図22】MMAF(ADC34)又はMMAE(ADC33)を使用した、代表的なアミドタイプDAR4 ADCのin vivoの効き目を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0156】

本発明は、複数の活性剤が、少なくとも1つの分岐リンカーを介して抗体に複合している抗体-薬物複合体(ADC)に関する。しかし、当業者が認識するように、そのような複合体の抗体部は、任意の適切なリガンドにより置き換えられてよく、したがって、本発明は、リガンド-薬物複合体にも同等に関する。したがって、本明細書の抗体-薬物複合体への言及及び考察は、文脈に反しない限り、リガンド-薬物複合体及びその対応する中間体(例えば、リガンド-リンカー複合体)にも等しく適用可能であると理解されるべきである。しかし、本明細書で開示されている様々なリガンド-薬物複合体に関連するすべての態様において、リガンドは、好ましくは抗体である。

【0157】

分岐リンカーは分岐ユニットを含み得、2つの活性剤は、二次リンカーを介して分岐ユニットに連結する一方、分岐ユニットは、一次リンカーにより抗体に連結する。2つ以上のそのような分岐リンカー、例えば、2~4つの分岐リンカーは、抗体に複合でき、これらは、本明細書で以下により詳細に記載されているように、抗体の重鎖又は軽鎖の異なるC-末端システインにそれぞれ連結し得る。任意の分岐リンカーにおける活性剤は、同一であっても、又は異なってもよく、活性剤は、同一の抗体において一方の分岐リンカーともう一方の分岐リンカーで異なってもよい。1つ以上の一次及び/又は二次リンカー、任意選択で一次及び二次リンカーのすべては、少なくとも1個のポリエチレングリコールユニットを含み得る。

【0158】

分岐リンカーは、第1の分岐、及び分岐ユニットに連結しているポリエチレングリコール部分を含む第2の分岐により、分岐ユニットに連結している1つの活性剤を含み得る。2つ以上のそのような分岐リンカー、例えば、2~4つの分岐リンカーは、抗体に複合でき、これらは、抗体の重鎖又は軽鎖の異なるC-末端システインにそれぞれ連結し得る。

【0159】

抗体の重鎖又は軽鎖の異なるC-末端システインに連結している分岐リンカーは、同一であっても、又は異なってもよい。一方は、活性剤が各分岐に連結している第1のタイプの分岐リンカーになり得るが、もう一方のものは、分岐の1つがポリエチレングリコール部分を有するが活性剤を有さない、第2のタイプの分岐リンカーになり得る。活性剤は、異なる分岐リンカーの間で、又は同一の分岐リンカー内でさえも、同一であっても、又は異なってもよい。例えば、分岐ユニットに連結している2つの活性剤を含む一方の分岐リンカーは、抗体の重鎖に連結することができ、第1の分岐及びポリエチレングリコール部分を含む第2の分岐により分岐ユニットに連結している1つの活性剤を含む第2の分岐リンカーは、抗体の軽鎖に連結することができる。そのような組合せにより、同一であっても、又は異なってもよい1から8つの活性剤を、分岐リンカーを介して抗体に連結させることが可能となる。これにより、続いて、抗体結合事象の度に、より多数の活性剤を標的細胞に送達することが可能となる。

【0160】

分岐リンカーの分岐ユニットは、原子、例えば窒素を含み得る。分岐ユニットは、例えばアミン、第三級アミド、又は第三級若しくは第四級炭素の3個をつなげることができる、任意の原子又は基を含み得る。ある特定の好ましい実施形態では、分岐ユニットは、アミド又はエステル(好ましくはアミド)結合を共有することが可能である基を有する側鎖を有するアミン又はアミノ酸である。一部の実施形態では、分岐ユニットは、アミドを含む。分岐ユニットがアミドを含む場合、一次リンカーは、アミドのカルボニルを含み得、又はカルボニルは、他の分岐の1つに含まれ得る。

【0161】

例えば、分岐ユニットがアミドである場合、二次リンカーがアミドのカルボニルを含むように、分岐リンカーは2つの活性剤を有し得る。分岐ユニットがアミドである場合、第1の分岐又は第2の分岐がアミドのカルボニルを含むように、分岐ユニットは1つのみ活性剤を有し得る。

【0162】

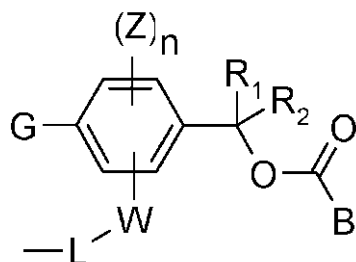
一部の実施形態では、分岐ユニットは、リシンユニットである。リシンユニットは、修飾、例えばε-アミノ基のメチル化、メチルリシン、ジメチルリシン及びトリメチルリシンの付加、並びにさらにはアセチル化、スモイル化(sumoylation)及び/又はユビキチン化を含み得る。分岐ユニットは、本発明の様々な実施形態において、多くの他のアミノ酸を含み得る。例えば、分岐ユニットのアミノ酸は、リシン、5-ヒドロキシリシン、4-オキサリシン、4-チアリシン、4-セレナリシン、4-チアホモリシン、5,5-ジメチルリシン、5,5-ジフルオロリシン、trans-4-デヒドロリシン、2,6-ジアミノ-4-ヘキシン酸、cis-4-デヒドロリシン、6-N-メチルリシン、ジアミノピメリン酸、オルニチン、3-メチルオルニチン、α-メチルオルニチン、シトルリン及びホモシトルリンから選択され得る。分岐ユニットは、L-アミノ酸又はD-アミノ酸を含み得る。分岐ユニットは、α-アミノ酸又はβ-アミノ酸を含み得る。分岐ユニットは、天然に存在するアミノ酸を含んでもよく、又は天然に存在しないアミノ酸を含んでもよい。抗体-薬物複合体の分岐ユニットは、リシンの代わりに又はそれに加えて、他のアミノ酸を含み得る。

【0163】

活性剤は、切断結合又は非切断結合、加水分解性結合又は非加水分解性結合によりリンカーに連結できる。ある特定の好ましい実施形態では、活性剤は、切断結合により分岐リンカーに連結する。例えば、抗体-薬物複合体は、自壊性基、好ましくは各活性剤に対する自壊性基を含んで、例えば、ADCから活性剤を放出し得、そのような切断基は、式：

【0164】

【化 3 7】



を有し、式中、

Gは、糖又は糖酸、好ましくはグルクロン酸又はそれらの誘導体であり、

Bは、活性剤、例えば薬物を表し、

Wは、電子求引性基、好ましくは-C(O)NR'-を表し、C(O)はフェニル環に結合しており、NR'はLに結合しており、

各Zは、独立して、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、好ましくは水素を表し、

nは1から3の整数、好ましくは3であり、

Lは、抗体をWに共有結合でつなげる20から100個の原子の鎖を含み、

R₁及びR₂は、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくは(C₃~C₈)シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂は、それらが結合する炭素原子と一緒に、(C₃~C₈)シクロアルキル環を形成する。

【0165】

本明細書で開示されている他の任意の式の切断基は、このやり方で同様に使用してよい。

【0166】

一部の実施形態では、L及び/又は分岐リンカーは、例えば、抗体-薬物複合体、リンカー及び/又は抗体-薬物複合体の前駆体の水溶解度を上昇させるための親水性アミノ酸を含む。親水性アミノ酸は、活性剤の近位、抗体の近位に位置し得、又は分岐リンカーに沿って、例えば、一次リンカー及び/又は二次リンカー、好ましくは各二次リンカーにおいて、どこにでも挿入され得る。例えば、親水性アミノ酸は、L及び/又は一次リンカーのオキシムを、L及び/又は一次リンカーのポリエチレングリコールユニットに共有結合でつなげることができる。ペプチドは、L及び/又は一次リンカーのオキシムを、L及び/又は一次リンカーのポリエチレングリコールユニットに共有結合でつなげることができる。

【0167】

電子求引性基Wは、-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-SO₂NR'-、-P(O)R''NR'-、-SONR'-又は-PO₂NR'-、好ましくは-C(O)NR'-であってよく、R'及びR''は、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、(C₁~C₈)アルキルチオ、モノ若しくはジ(C₁~C₈)アルキルアミノ、(C₃~C₂₀)ヘテロアリール又は(C₆~C₂₀)アリール、好ましくは水素であってよい。そのような実施形態では、Wは、好ましくは、カルボニル、ホスホリル、スルホニル又はスルフィニル基が、フェニル環に直接結合するように方向付けられている。Zが電子求引性基を表す場合、Zは、Wに関してこの段落に記載されている部分のいずれかを表し得る。

【0168】

Wは、-C(O)NR'-を表し得、Wの窒素は、親水性アミノ酸の窒素原子であってよい。親水性アミノ酸は、天然に存在するアミノ酸であっても、又は天然に存在しないアミノ酸であってもよい。親水性アミノ酸は、α-アミノ酸であっても、又はβ-アミノ酸であってもよい。親水性アミノ酸は、アルギニン、アスパルテート、アスパラギン、グルタメート、グルタミン、ヒスチジン、リシン、オルニチン、プロリン、セリン又はトレオニンであってよく、D-アミノ酸であってよく、又はL-アミノ酸であってよい。ある特定の好ましい実施形態では、親水性アミノ酸は、アスパルテート又はグルタメート、例えばL-アスパルテ

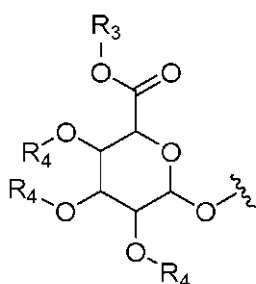
ート又はL-グルタメートである。他の好ましい実施形態では、親水性アミノ酸は、リシン又はオルニチン、例えばL-リシン又はL-オルニチンである。ある特定な実施形態では、親水性アミノ酸は、アルギニン、例えばL-アルギニンである。ある特定な実施形態では、親水性アミノ酸は、水溶液中で、中性pHにおいて電荷を持つ部分(例えば、アミン、グアニジン又はカルボキシル部分)を有する側鎖を含む。

【0169】

切断基の糖又は糖酸(すなわち、先の図におけるG)は、例えば、酵素切断に感受性がある結合、例えばフェニル環における酸素置換基へのグリコシド結合によりフェニル環につながる。糖又は糖酸は、好ましくは単糖、例えばグルクロン酸又はそれらの誘導体であり、これは、酵素、例えばβ-グルクロニダーゼ、例として、複合体により標的化される細胞に存在する酵素によりADCから切断することが可能である。グルクロン酸及びそれらの誘導体は、式：

【0170】

【化38】



により表され得、式中、R₃は、水素又はカルボキシル保護基、好ましくは水素であり、各R₄は、独立して、水素又はヒドロキシル保護基、好ましくは水素である。

【0171】

カルボキシル保護基は、例えば、有機合成においてカルボン酸をマスキングするための、任意の適切な保護基、例としてメチル、メトキシメチル、メチルチオメチル、テトラヒドロピラニル、ベンジルオキシメチル、フェナシル、N-フタルイミドメチル、2,2,2-トリクロロエチル、2-ハロエチル、2-(p-トルエンスルホニル)エチル、t-ブチル、シンナミル、ベンジル、トリフェニルメチル、ビス(o-ニトロフェニル)メチル、9-アントリルメチル、2-(9,10-ジオキソ)アントリルメチル、ピペロニル、2-トリメチルシリルエチル、トリメチルシリル又はt-ブチルジメチルシリルであってよい。一部の実施形態では、全体部分R₃-OC(=O)-は、カルボキシル-マスキング部分、例えば2-アルキル-1,3-オキサゾリニルにより置き換えられる。

【0172】

ヒドロキシル保護基は、例えば、有機合成においてヒドロキシル基のマスキングに適している、任意の適切な保護基、例としてアセチル、メチル、エトキシエチル、ベンゾイル、ベンジル、4-メトキシベンジル、3,4-ジメトキシベンジル、テトラヒドロピラニル(THP)、テトラヒドロフラニル(THF)、tert-ブチルジメチルシリル(TBDMS)、トリメチルシリル(TMS)、トリエチルシリル(TES)、トリイソプロピルシリル(TIPS)、tert-ブチルジフェニルシリル(TBDPS)、トリイソプロピルシリルオキシメチル(TOM)、β-メトキシエトキシメチル(MEM)、メトキシメチル(MOM)、アリル又はトリチルであってよい。

【0173】

L及び/又は分岐リンカーは、1から100個の炭素原子、好ましくは20から80個の炭素原子を有し、以下の(i)から(iv)の少なくとも1つ、好ましくは少なくとも2つを満たす、置換又は非置換アルキレンを含み得る：

(i)アルキレンが、少なくとも1つの不飽和結合、好ましくは3又は4つの二重結合を含み、三重結合を含まない、

(ii)アルキレンが、少なくとも1つのヘテロアリーレンを含む、

10

20

30

40

50

(iii) アルキレンの少なくとも1個の炭素原子が、窒素(N)、酸素(O)及び硫黄(S)から選択される1個以上のヘテロ原子、好ましくは少なくとも1つの窒素及び少なくとも1つの酸素(例えば、オキシムに見られる)により置き換えられている、及び

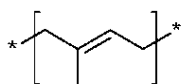
(iv) アルキレンが、1から20個の炭素原子を有する1つ以上のアルキル、好ましくは2又は3個のメチルで置換されている。

【0174】

好ましい実施形態では、抗体、好ましくは抗体の重鎖又は軽鎖のC-末端のシステインは、イソプレニルユニットの炭素原子とチオエーテル結合を形成し、それにより、抗体を分岐リンカー、例えば、一次リンカーに共有結合でつなげる。したがって、一部の実施形態では、L及び/又は分岐リンカー(例えば、一次リンカー)は、少なくとも1個のイソプレニルユニット、好ましくは2個のイソプレニルユニットを含み得、それぞれは、以下の式により表され得、好ましくはイソプレノイド転移酵素により、例えばイソプレノイド転移酵素の生成物又は基質の一部として認識される。

【0175】

【化39】



【0176】

そのようなある特定の好ましい実施形態では、抗体は、イソプレノイド転移酵素により認識されることが可能であるアミノ酸モチーフを含む。例えば、抗体の少なくとも1つのC-末端は、イソプレノイド転移酵素により認識されることが可能であるアミノ酸モチーフを(例えば、抗体-薬物複合体を形成する前に、例として基質として、又は、例えば、抗体-薬物複合体を形成した後での、イソプレノイド転移酵素の生成物として)含み得る。抗体は、スペーサ、例えばアミノ酸、又は抗体のペプチド鎖をアミノ酸モチーフにつなげるアミノ酸のストレッチをさらに含み得る。スペーサは、1から20個の連続するアミノ酸、好ましくは7個以上のアミノ酸からなり得る。グリシン及びプロリンは、スペーサに好ましいアミノ酸であり、例えば約7個の一連のグリシンの任意の組合せで使用され得る。一部の実施形態では、抗体のC-末端は、アミノ酸配列GGGGGGGCVIMを含む。抗体は、例えば、ADCに含まれない抗体の形成に対して、カルボキシ末端における付加又は欠失を含み得る。

【0177】

イソプレノイド転移酵素の例は、タンパク質ファルネシル転移酵素(FTase)及びゲラニルゲラニル転移酵素(GGTase)を含み、これらは、ファルネシル又はゲラニル-ゲラニル基の、標的タンパク質の少なくとも1つのC-末端システインへの転移も触媒できる。GGTaseは、GGTase I又はGGTase IIとして分類できる。FTase及びGGTase Iは、CAAXモチーフを認識でき、GGTase IIは、XXCC、XCXC又はCXXモチーフを認識でき、Cはシステインを表し、Aは、脂肪族アミノ酸(例えば、イソロイシン、バリン、メチオニン、ロイシン)を表し、各Xは、独立して、例えばグルタミン、グルタメート、セリン、システイン、メチオニン、アラニン又はロイシンを表す(Nature Rev. Cancer、5(5):405~12頁(2005年); Nature Chemical Biology 17:498~506頁(2010年); Lane KT、Bees LS、J. Lipid Research、47:681~699頁(2006年); Kasey PJ、Seabra MC、J. Biological Chemistry、271(10):5289~5292頁(1996年)を参照されたく、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。

【0178】

本発明による抗体-薬物複合体は、アミノ酸モチーフ、例えばCYXX、XXCC、XCXC又はCXX、好ましくはCYXX(式中、Cはシステインを表し、Yは、脂肪族アミノ酸、例えばロイシン、イソロイシン、バリン及び/又はメチオニンを表し、Xは、イソプレノイド転移酵素の基質特異性を決定するアミノ酸、例えばグルタミン、グルタメート、セリン、システイン、メチオニン、アラニン、及び/又はロイシンを表す)を含み得る。

【0179】

様々な供給源からのイソプレノイド転移酵素を使用してよい。例えば、イソプレノイド転移酵素は、ヒト、動物、植物、細菌、ウイルス又は他の供給源から得られる。一部の実施形態では、天然に存在するイソプレノイド転移酵素が使用される。一部の実施形態では、天然修飾又は人工修飾イソプレノイド転移酵素が使用され得る。例えば、イソプレノイド転移酵素は、1個以上のアミノ酸の置換、付加及び/若しくは欠失を含み得、かつ/又は、イソプレノイド転移酵素は、ヒスチジンタグ、GST、GFP、MBP、CBP、イソペプチドタグ、BCCP、Mycタグ、カルモジュリンタグ、FLAGタグ、HAタグ、マルトース結合タンパク質タグ、Nusタグ、グルタチオン-S-転移酵素タグ、緑色蛍光タンパク質タグ、チオレドキシントグ、Sタグ、ソフトタグ1、ソフトタグ3、ストレプトタグ、SBPタグ、Tyタグなどの少なくとも1つの付加により修飾され得る。

10

【0180】

イソプレノイド転移酵素は、イソ基質 (isosubstrate) 及び/又は基質を認識する。イソ基質という用語は、化学修飾を含む基質類似体を指す。イソプレノイド転移酵素は、抗体のC-末端において特定のアミノ酸モチーフ(例えばCAAXモチーフ)をアルキル化できる(例えば、Duckworth, BPら、ChemBioChem、8:98頁(2007年);Uyen TTら、ChemBioChem、8:408頁(2007年);Labadie, GRら、J. Org. Chem., 72(24):9291頁(2007年);Wollack, JWら、ChemBioChem、10:2934頁(2009年)を参照されたく、これらのそれぞれは、参照により本明細書に組み込まれる)。官能基化されている抗体は、C-末端のシステインをアルキル化できるイソプレノイド転移酵素及びイソ基質を使用して生成できる。

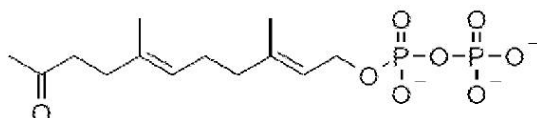
20

【0181】

イソ基質は、例えば、式IV

【0182】

【化40】



30

を有する化合物であってよい。

【0183】

C-末端CAAXモチーフのシステインは、イソプレノイド転移酵素を使用して、イソ基質に結合できる。一部の実施形態では、モチーフの一部、例えばAAXは、引き続き、プロテアーゼにより、例えば、イソプレノイドが結合しているシステインのみを残して除去できる。システインは、任意選択で、例えば酵素により、カルボキシ末端においてメチル化され得る(例えば、Bell, IM、J. Med. Chem., 47(8):1869頁(2004年))を参照されたい、これは、参照により本明細書に組み込まれる)。

【0184】

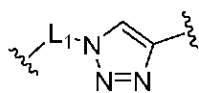
L及び/又は分岐リンカー、例えば、一次リンカーは、1,3-双極子環状付加反応、ヘテロ-ディールス-アルダー反応、求核置換反応、非アルドール型カルボニル反応、炭素-炭素多重結合への付加、酸化反応又はクリック反応により形成される結合ユニットを含み得る。結合ユニットは、アセチレンとアジドの反応、又は非アルドール型カルボニル反応、例えばアルデヒド又はケトン基と、ヒドラジン又はアルコキシアミンの反応により形成され得、そのような結合ユニットは、式(A)、(B)、(C)又は(D)

40

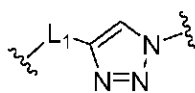
【0185】

50

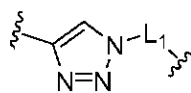
【化 4 1】



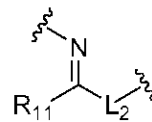
(A)



(B)



(C)



(D)

により表され得る。

L₁は、単結合、又は1から30個の炭素原子、好ましくは12個の炭素原子を有するアルキレンであり、

R₁₁は、水素、又は1から10個の炭素原子を有するアルキル、好ましくはメチルであり、

L₂は、1から30個の炭素原子、例えば、10又は11個、好ましくは11個の炭素原子を有するアルキレンである。

【0186】

一部の実施形態では、L₁及び/又はL₂は、少なくとも1個のイソプレニルユニット、好ましくは2個のイソプレニルユニットを含み得る。L₂は、少なくとも1個のイソプレニルユニット、好ましくは2個のイソプレニルユニットからなり得る。好ましい実施形態では、イソプレニルユニットの炭素原子は、抗体の、最も好ましくは重鎖又は軽鎖のC-末端におけるシステインの硫黄原子とチオエーテル結合を形成し、それにより、抗体及び分岐リンカー、例えば、一次リンカーを共有結合でつなげる。

【0187】

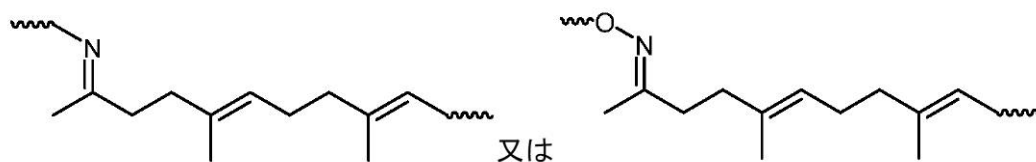
抗体-薬物複合体は、上記式(D)により表される結合ユニットを含み得、式中、L₂は、少なくとも1個のイソプレニルユニット、好ましくは2個のイソプレニルユニットからなる。結合ユニットは、O-置換オキシムであってよく、すなわち、結合ユニットの窒素は、置換酸素に共有結合できる。イソプレニルユニットの炭素原子は、抗体の、最も好ましくは重鎖又は軽鎖のC-末端におけるシステインの硫黄原子とのチオエーテル結合を形成し得、それにより、結合ユニット及び抗体を共有結合でつなげる。

【0188】

L及び/又は分岐リンカー、例えば、一次リンカーは、

【0189】

【化 4 2】



又は

により表されるイソプレニル基を含み得、例えば、式中、イソプレニル基の炭素原子は、抗体のシステインの硫黄原子とチオエーテル結合を形成し、それにより、イソプレニル基及び抗体を共有結合でつなげる。イソプレニル基の窒素は、イソプレニル基を、L及び/又は分岐リンカー、例えば、一次リンカーのポリエチレングリコールユニットに共有結合でつなげることができる。

【0190】

L及び/又は分岐リンカー、例えば、一次リンカーは、

【0191】

10

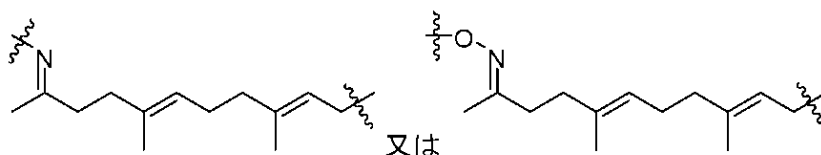
20

30

40

50

【化 4 3】



により表されるイソプレニル基を含み得、例えば、式中、イソプレニル基の炭素原子は、抗体のシステインの硫黄原子とチオエーテル結合を形成し、それにより、イソプレニル基及び抗体を共有結合でつなげる。イソプレニル基の窒素は、イソプレニル基を、L及び/又は分岐リンカー、例えば、一次リンカーのポリエチレングリコールユニットに共有結合でつなげることができる。

【0192】

クリック化学反応は、抗体の存在下で、抗体を変性させることなく行うことができる穏当な条件下で実行され得る。クリック化学反応は、高い反応特異性を示す。したがって、抗体が様々な官能基(例えば、アミン、カルボキシル、カルボキサミド及びグアニジニウム)を有していても、クリック化学反応は、例えば、抗体のアミノ酸側鎖に影響を与えずに行うことができる。アジド基とアセチレン基の間のクリック化学反応は、例えば、抗体の存在下で、抗体のアミノ酸側鎖官能基を改変することなく、発生し得る。さらに、クリック化学反応は、反応物の性質に関係なく、特定の官能基、例えば天然にはほとんど見出されない官能基を正確に標的とすることができる。一部のケースでは、反応物は、全体の反応効率を改善するように選択される。例えば、アジド-アセチレンのクリック化学反応は、高い収率でトリアゾールを生成することができる(例えば、Hia, RKら、Chem. Rev., 109:5620(2009年); Meldal, M & Tornøe, CW, Chem. Rev., 108:2952(2008年); Kolb, H Cら、Angew. Chemie Int. Ed. Engl., 40:2004(2001年)を参照されたく、これらのそれぞれは、参照により本明細書に組み込まれる)。

【0193】

アジド及びアセチレン官能基は、天然のタンパク質には存在しない。したがって、アミノ酸側鎖、N-末端アミン又はC-末端カルボキシルのいずれも、これらの官能基を利用するクリック化学反応により影響を受けないはずである。

【0194】

接続ユニットは、 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q$ -又は $-(CH_2CH_2X)_w$ -により表され得、式中、Vは、単結合、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR_{21}-$ 、 $-C(O)NR_{22}-$ 、 $-NR_{23}C(O)-$ 、 $-NR_{24}SO_2-$ 又は $-SO_2NR_{25}-$ 、好ましくは $-O-$ であり、Xは、 $-O-$ 、 $(C_1\sim C_8)$ アルキレン又は $-NR_{21}-$ 、好ましくは $-O-$ であり、 R_{21} から R_{25} は、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_6\sim C_{20})$ アリール又は $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリール、好ましくは水素であり、rは、1から10の整数、好ましくは2又は3であり、pは、0から12の整数、好ましくは1又は2であり、qは、1から20の整数であり、wは、1から20、好ましくは4から20の整数である。

【0195】

一部の好ましい実施形態では、qは2から12の整数である。他の好ましい実施形態では、qは4から20の整数である。

【0196】

L及び/又は分岐リンカー、例えば、一次リンカーは、式(A)、(B)、(C)又は(D)により表される結合ユニット、及び $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q$ -又は $-(CH_2CH_2X)_w$ -により表される接続ユニットを含み得る。

【0197】

好ましい実施形態では、L及び/又は分岐リンカー、例えば、一次リンカー若しくは二次

10

20

30

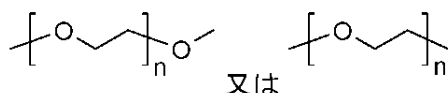
40

50

リンカー、又はその両方の組合せは、

【0198】

【化44】



のいずれかにより表される、少なくとも1個のポリエチレングリコールユニットを含む。ある特定の実施形態では、抗体-薬物複合体は、1から20個の-OCH₂CH₂-ユニット、例えば、1から19個の-OCH₂CH₂-ユニット、例えば1から12個の-OCH₂CH₂-ユニット、5から12個の-OCH₂CH₂-ユニット、6から12個の-OCH₂CH₂-ユニット、5から20個の-OCH₂CH₂-ユニット、6から20個の-OCH₂CH₂-ユニット、又は4から20個の-OCH₂CH₂-ユニットを含み得る。そのようなユニットは、一次及び二次リンカーの数が異なっていてよい。一次リンカーがオキシムを含む実施形態では、ポリエチレングリコールユニットは、優先的には、オキシムをペプチドに、例えば、ペプチドのN-末端、ペプチドのC-末端、又はペプチドの側鎖に共有結合でつなげる。

【0199】

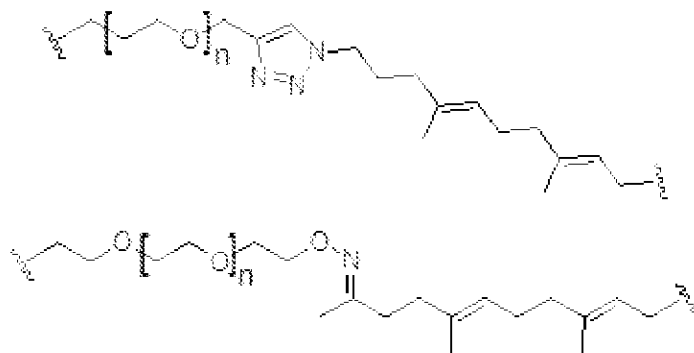
L及び/又は分岐リンカー、例えば、一次リンカーは、好ましくは、-(CH₂CH₂O)_n-により表されるポリエチレングリコール基を含み、nは1から20であり、例えば1から12、5から12、6から12、5から20又は6から20である。二次リンカーは、好ましくは、-(CH₂CH₂O)_n-により表されるポリエチレングリコール基を含み、nは1から20、例えば1から12、5から12、6から12、5から20又は6から20である。一次リンカーがオキシムを含む実施形態では、ポリエチレングリコール基は、優先的には、オキシムをペプチドに共有結合でつなげる。一次リンカーがオキシムを含む実施形態では、ポリエチレングリコール基は、オキシムを優先的に、Wに共有結合でつなげ、例えば、Wは-C(O)NR'-で表される。ポリエチレングリコール基の炭素は、Wの原子(例えば、-C(O)NR'-の窒素)との共有結合を形成し得、かつ/又は、ポリエチレングリコール基の酸素は、オキシムの酸素であってよい。

【0200】

一部の実施形態では、一次リンカーは、好ましくは、以下の2つの構造の1つにより表され、したがって、リンカーは、以下の2つの構造:

【0201】

【化45】



の1つを含み得、式中、nは1から20、例えば4から20の整数である。

【0202】

L及び/又はリンカーは、

【0203】

10

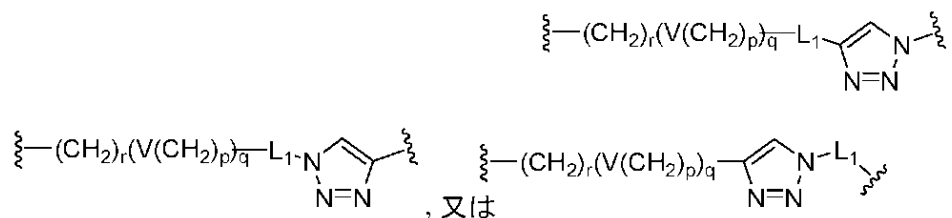
20

30

40

50

【化 4 6】



を含み得、式中、

Vは、単結合、-O-、-S-、-NR₂₁-、-C(O)NR₂₂-、-NR₂₃C(O)-、-NR₂₄SO₂-又は-SO₂NR₂₅-、好ましくは-O-を表し、

R₂₁からR₂₅は、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₆)アルキル、(C₁~C₆)アルキル(C₆~C₂₀)アリール又は(C₁~C₆)アルキル(C₃~C₂₀)ヘテロアリールを表し、

rは、1から10の整数、好ましくは2又は3であり、

pは、0から10の整数、好ましくは1又は2であり、

qは、1から20、好ましくは1から6の整数であり、

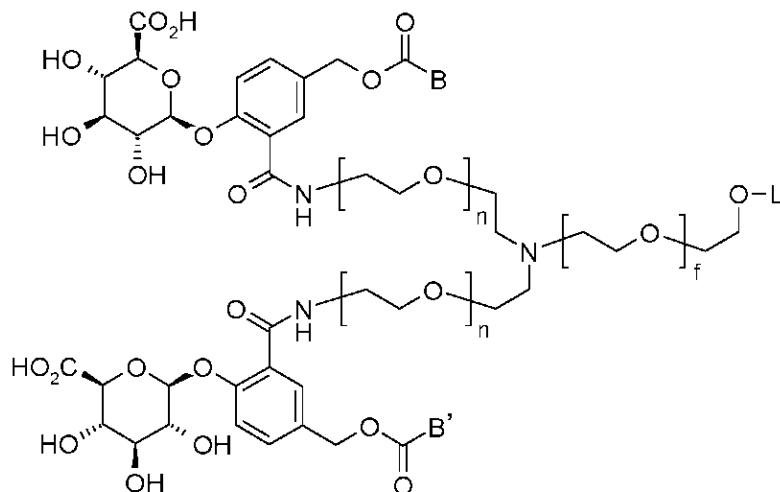
L₁は単結合である。

【0204】

一部の実施形態では、抗体-薬物複合体は、構造:

【0205】

【化 4 7】



を含み、式中:

B及びB'は、同一であっても、又は異なってもよい活性剤を表し、

nは、それぞれの発生に対して独立して、0から30の整数を表し、

fは、それぞれの発生に対して独立して、0から30の整数を表し、

Lは、抗体へのつながりを表す。

【0206】

ある特定の好ましい実施形態では、各nは1~20、好ましくは1~10の整数である。ある特定の好ましい実施形態では、fは、1~20、好ましくは、1~10の整数である。最も好ましくは、各n及びfは、f+nが20未満、例えば15未満になるように選択される。

【0207】

一部の実施形態では、抗体-薬物複合体は、構造:

【0208】

10

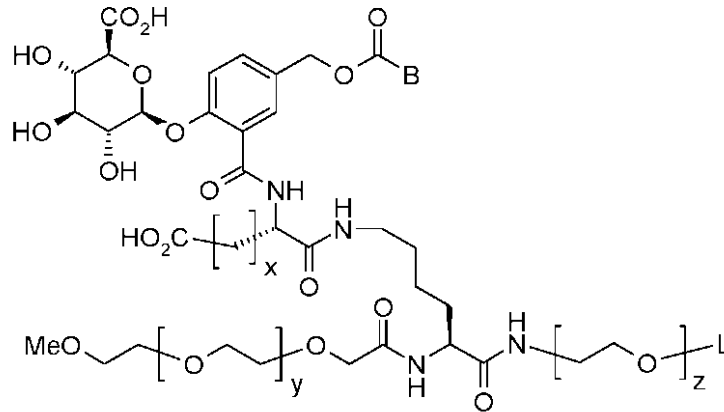
20

30

40

50

【化 4 8】



を含み、式中：

Bは活性剤を表し、

xは1から3の整数を表し、

yは0から20の整数を表し、

zは1から20の整数を表し、

Lは、抗体へのつながりを表す。

【0209】

一部の実施形態では、y及びzは、独立して、2から20の整数を表す。好ましい実施形態では、y及びzは、独立して、1から19、好ましくは4から20の整数を表す。ある特定の好ましい実施形態では、y及びzは、独立して、20以下の整数を表す。

【0210】

本発明の抗体-薬物複合体は、分子生物学法及び細胞生物学法を含む、当業界で公知の任意の方法を使用して調製できる。例えば、一時的な、又は安定なトランスフェクション法が使用され得る。イソプレノイド転移酵素により認識されることが可能である特定のアミノ酸モチーフをコードする遺伝子配列は、標準PCR及び/又はライゲーション技術を使用して、公知のプラスミドベクター中に挿入でき、その結果、特定のアミノ酸モチーフをC-末端に有する抗体を発現させる。イソプレノイド転移酵素により認識されることが可能である、少なくとも1個のアミノ酸モチーフを有する抗体は、適切な宿主、例えば、CHO細胞又はE coliにおいてこのように発現し得る。

【0211】

「アシル」という用語は、当技術分野において認知されており、一般式ヒドロカルビルC(O)-、好ましくはアルキルC(O)-により表される基を指す。

【0212】

「アシルアミノ」という用語は、当技術分野において認知されており、アシル基で置換されているアミノ基を指し、例えば、式ヒドロカルビルC(O)NH-により表され得る。

【0213】

「アシルオキシ」という用語は、当技術分野において認知されており、一般式ヒドロカルビルC(O)O-、好ましくはアルキルC(O)O-により表される基を指す。

【0214】

「アルコキシ」という用語は、アルキル基、好ましくは、自らに結合している酸素を有する低級アルキル基を指す。代表的なアルコキシ基は、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、tert-ブトキシなどを含む。

【0215】

「アルコシアルキル」という用語は、アルコキシ基で置換されているアルキル基を指し、一般式アルキル-O-アルキルにより表され得る。

【0216】

本明細書で使用されている「アルケニル」という用語は、少なくとも1つの二重結合を含有する脂肪族基を指し、「非置換アルケニル」及び「置換アルケニル」の両方を含むよう意図されており、その後者は、アルケニル基の1つ以上の炭素上で水素と置き換わる置換基を有するアルケニル部分を指す。そのような置換基は、1つ以上の二重結合に含まれる、又は含まれない1つ以上の炭素上で発生し得る。さらに、そのような置換基は、以下に論じるように、安定性に難がある場合を除いて、アルキル基に対して考えられるものすべてを含む。例えば、1つ以上のアルキル、カルボシクリル、アリール、ヘテロシクリル又はヘテロアリール基によるアルケニル基の置換が考えられる。

【0217】

「アルキル」基又は「アルカン」は、完全に飽和されている直鎖又は分岐非芳香族炭化水素である。典型的には、直鎖又は分岐アルキル基は、特に定義がない限り、1から約20個、好ましくは1から約10個の炭素原子を有する。直鎖及び分岐アルキル基の例は、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、ペンチル、ヘキシル、ペンチル及びオクチルを含む。 $C_1 \sim C_6$ 直鎖又は分岐アルキル基は、「低級アルキル」基とも呼ばれる。

【0218】

さらに、明細書、実施例及び特許請求の範囲を通じて使用されているように「アルキル」(又は「低級アルキル」)という用語は、「非置換アルキル」及び「置換アルキル」の両方を含むよう意図されており、その後者は、炭化水素骨格の1つ以上の炭素上で水素と置き換わる置換基を有するアルキル部分を指す。そのような置換基は、特に規定されない限り、例えば、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル(例えばカルボキシル、アルコキシカルボニル、ホルミル若しくはアシル)、チオカルボニル(例えばチオエステル、チオアセテート若しくはチオホルメート)、アルコキシル、ホスホリル、ホスフェート、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、アルキルチオ、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラルキル又は芳香族若しくはヘテロ芳香族部分を含み得る。炭化水素鎖上で置換されている部分は、適切であればそれ自体が置換され得ることは当業者により理解されるであろう。例えば、置換アルキルの置換基は、アミノ、アジド、イミノ、アミド、ホスホリル(ホスホネート及びホスフィネートを含む)、スルホニル(スルフェート、スルホンアミド、スルファモイル及びスルホネートを含む)、並びにシリル基、並びにエーテル、アルキルチオ、カルボニル(ケトン、アルデヒド、カルボキシレート及びエステルを含む)、 $-CF_3$ 、 $-CN$ などの置換及び非置換形態を含み得る。模範的な置換アルキルは、以下に記載されている。シクロアルキルは、アルキル、アルケニル、アルコキシ、アルキルチオ、アミノアルキル、カルボニル-置換アルキル、 $-CF_3$ 、 $-CN$ などでさらに置換され得る。

【0219】

「 $C_x \sim y$ 」という用語は、化学部分、例えばアシル、アシルオキシ、アルキル、アルケニル、アルキニル又はアルコキシと共に使用される場合、鎖に x から y 個の炭素を含有する基を含むことを意味する。例えば、「 $C_x \sim y$ アルキル」という用語は、鎖に x から y 個の炭素を含有する直鎖アルキル及び分岐鎖アルキル基を含む置換又は非置換飽和炭化水素基を指し、これは、ハロアルキル基、例えばトリフルオロメチル及び2,2,2-トリフルオロエチルを含み、 C_0 アルキルは、基が末端位置にある場合は水素を、内部の場合は結合を指し示す。「 $C_2 \sim y$ アルケニル」及び「 $C_2 \sim y$ アルキニル」という用語は、長さ及び考えられる置換に関して上記のアルキルに類似しているが、少なくとも1つの二重又は三重結合をそれぞれ含有する置換又は非置換不飽和脂肪族基を指す。

【0220】

本明細書で使用されている「アルキルアミノ」という用語は、少なくとも1つのアルキル基で置換されているアミノ基を指す。

【0221】

本明細書で使用されている「アルキルチオ」という用語は、アルキル基で置換されてい

10

20

30

40

50

るチオール基を指し、一般式アルキルS-により表され得る。

【0222】

本明細書で使用されている「アルキニル」という用語は、少なくとも1つの三重結合を含有する脂肪族基を指し、「非置換アルキニル」及び「置換アルキニル」の両方を含むことが意図されており、その後者は、アルキニル基の1つ以上の炭素上で水素と置き換わる置換基を有するアルキニル部分を指す。そのような置換基は、1つ以上の三重結合に含まれる、又は含まれない1つ以上の炭素上で発生し得る。さらに、そのような置換基は、上で論じたように、安定性に難がある場合を除いて、アルキル基に対して考えられるものをすべて含む。例えば、1つ以上のアルキル、カルボシクリル、アリール、ヘテロシクリル又はヘテロアリール基によるアルキニル基の置換が考えられる。

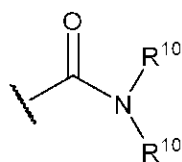
10

【0223】

本明細書で使用されている「アミド」という用語は、基

【0224】

【化49】



20

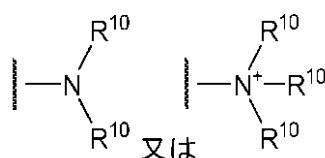
を指し、式中、各 R^{10} は、独立して、水素若しくはヒドロカルビル基を表し、又は2つの R^{10} は、それらが結合するN原子と一緒に、環構造に4から8個の原子を有するヘテロ環を完成させる。

【0225】

「アミン」及び「アミノ」という用語は、当技術分野において認知されており、非置換及び置換アミンの両方、並びにそれらの塩、例えば、

【0226】

【化50】



30

により表され得る部分を指し、各 R^{10} は、独立して、水素若しくはヒドロカルビル基を表し、又は2つの R^{10} は、それらが結合するN原子と一緒に、環構造に4から8個の原子を有するヘテロ環を完成させる。

【0227】

本明細書で使用されている「アミノアルキル」という用語は、アミノ基で置換されているアルキル基を指す。

40

【0228】

本明細書で使用されている「カルボキシ」という用語は、式- CO_2H により表される基を指す。

【0229】

本明細書で使用されている「ヘタラルキル(hetaralkyl)」及び「ヘテロアラルキル」という用語は、ヘタリール(hetaryl)基で置換されているアルキル基を指す。

【0230】

本明細書で使用されている「ヘテロアルキル」という用語は、炭素原子、及び少なくとも1個のヘテロ原子の飽和又は不飽和鎖を指し、そこでは2個のヘテロ原子は隣接していない。

50

【0231】

「ヘテロアリアル」及び「ヘタリール」という用語は、置換又は非置換芳香族単環構造、好ましくは5-から7-員環、より好ましくは5-から6-員環を含み、この環構造は、少なくとも1個のヘテロ原子、好ましくは1から4個のヘテロ原子、より好ましくは1又は2個のヘテロ原子を含む。「ヘテロアリアル」及び「ヘタリール」という用語は、2つ以上の環状環を有する多環式環系も含み、この環系では、2つ以上の炭素が、2つの隣接する環に共通し、環の少なくとも1つは、ヘテロ芳香族であり、例えば、他の環状環はシクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリアル、ヘテロアリアル及び/又はヘテロシクリルである。ヘテロアリアル基は、例えば、ピロール、フラン、チオフェン、イミダゾール、オキサゾール、チアゾール、ピラゾール、ピリジン、ピラジン、ピリダジン及びピリミジンを含む。

10

【0232】

本明細書で使用されている「ヘテロ原子」という用語は、炭素又は水素以外の任意の元素の原子を意味する。好ましいヘテロ原子は、窒素、酸素及び硫黄である。

【0233】

「ヘテロシクリル」、「ヘテロ環」及び「ヘテロ環式」という用語は、置換又は非置換非芳香族環構造、好ましくは3-から10-員環、より好ましくは3-から7-員環を指し、この環構造は、少なくとも1個のヘテロ原子、好ましくは1から4個のヘテロ原子、より好ましくは1又は2個のヘテロ原子を含む。「ヘテロシクリル」及び「ヘテロ環式」という用語は、2つ以上の環状環を有する多環式環系も含み、この環系では、2つ以上の炭素が、2つの隣接する環に共通し、環の少なくとも1つは、ヘテロ環式であり、例えば、他の環状環は、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリアル、ヘテロアリアル及び/又はヘテロシクリルであり得る。ヘテロシクリル基は、例えば、ピペリジン、ピペラジン、ピロリジン、モルホリン、ラクトン、ラクタムを含む。ヘテロシクリル基は、オキソ基により置換されていてもよい。例えば、「ヘテロシクリル」は、ピロリジン及びピロリジノンの両方を包含する。

20

【0234】

本明細書で使用されている「ヒドロキシアルキル」という用語は、ヒドロキシ基で置換されているアルキル基を指す。

【0235】

「置換されている」という用語は、骨格の1つ以上の炭素上で水素と置き換わる置換基を有する部分を指す。「置換」又は「で置換されている」は、そのような置換は、置換されている原子及び置換基の許容される価数に一致し、置換により、例えば再配置、環化、脱離などで、例として自発的に変換を受けない安定な化合物が生じるという暗示的条件を含むことが理解されるであろう。本明細書で使用されている「置換されている」という用語は、有機化合物の許容できる置換基をすべて含むと考えられる。広範な態様では、許容できる置換基は、有機化合物の非環状及び環状、分岐及び非分岐、炭素環式及びヘテロ環式、芳香族及び非芳香族置換基を含む。許容できる置換基は、1つ以上であり得、適切な有機化合物に対して、同一であっても、又は異なってもよい。本発明の目的のために、ヘテロ原子、例えば窒素は、ヘテロ原子の価数を満たす、水素置換基、及び/又は、本明細書に記載されている有機化合物の任意の許容できる置換基を有し得る。置換基は、本明細書に記載されている任意の置換基、例えば、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル(例えばカルボキシル、アルコキシカルボニル、ホルミル又はアシル)、チオカルボニル(例えばチオエステル、チオアセテート又はチオホルメート)、アルコキシル、ホスホリル、ホスフェート、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、アルキルチオ、スルフェート、スルホネート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル、アラキル又は芳香族若しくはヘテロ芳香族部分を含み得る。置換基は、適切であればそれ自体が置換され得ることは当業者により理解されるであろう。「非置換」と特に指定されない限り、本明細書における化学的部分の言及は、置換変異体を含むことが理解される。例えば、「アリアル」基又

30

40

50

は部分という言葉及び、置換及び非置換変異体の両方を暗に含む。

【0236】

本明細書で使用されている「チオアルキル」という用語は、チオール基で置換されているアルキル基を指す。

【0237】

本明細書で使用されている「チオエステル」という用語は、 $-C(O)SR^{10}$ 又は $-SC(O)R^{10}$ 基を指し、式中、 R^{10} はヒドロカルビルを表す。

【0238】

本明細書で使用されている「チオエーテル」という用語は、酸素が硫黄で置き換えられているエーテルの等価物である。

【0239】

「保護基」は、分子における反応性官能基に結合している場合、官能基の反応性をマスキングする、低下させる、又は防ぐ原子の一群を指す。典型的には、保護基は、合成の経過中に、望ましいように選択的に除去され得る。保護基の例は、Greene及びWuts、Protective Groups in Organic Chemistry、第3版、1999年、John Wiley & Sons、NY並びにHarrisonら、Compendium of Synthetic Organic Methods、第1～8巻、1971～1996年、John Wiley & Sons、NYで見出され得る。代表的な窒素保護基は、ホルミル、アセチル、トリフルオロアセチル、ベンジル、ベンジロキシカルボニル(「CBZ」)、tert-ブトキシカルボニル(「Boc」)、トリメチルシリル(「TMS」)、2-トリメチルシリル-エタンスルホニル(「TES」)、トリチル及び置換トリチル基、アリロキシカルボニル、9-フルオレニルメチロキシカルボニル(「FMOC」)、ニトロ-ベラトリロキシカルボニル(「NVOC」)などを含むが、それらに限定されない。代表的なヒドロキシル保護基は、ヒドロキシル基がアシル化している(エステル化している)もの、又はアルキル化しているもの、例えばベンジル及びトリチルエーテル、並びにアルキルエーテル、テトラヒドロピラニルエーテル、トリアルキルシリルエーテル(例えば、TMS又はTIPS基)、グリコールエーテル、例えばエチレングリコール及びプロピレングリコール誘導体、並びにアリルエーテルを含むが、それらに限定されない。

【0240】

「共有結合で連結する」は、2つの化学種の直接結合及び(例えば、数々の原子の介在による)間接結合の両方を含む。例えば、アミノ酸は、例として、アミノ酸のカルボキシルとポリエチレングリコールのヒドロキシルの間でエステルを形成することにより共有結合で直接的にポリエチレングリコールに連結し得、又は、例えば、ポリエチレングリコールをエピクロロヒドリンと反応させて、エポキシプロピルエーテルを形成し、生じたエポキシドをアミノ酸のアミノ基と反応させ、それにより、2-ヒドロキシプロピルリンカーでアミノ酸及びポリエチレングリコールを共有結合でつなげることにより、間接的にポリエチレングリコールに連結し得る。多様な部分を直接的又は間接的に連結するための様々な部分及び反応は、当業界で周知である。ある特定の好ましい実施形態では、文脈により別段指示がない限り、間接結合は、1～10個の介在原子(例えば、メチレン、ジブチルエーテル、トリペプチドなど)、最も好ましくは1～6個の介在原子のみ含む。

【0241】

本明細書で使用されている、障害又は状態を「防ぐ」治療剤は、統計的試料において、未処置の対照試料と比較して、処置した試料での障害若しくは状態の発生を減少させる、或いは、未処置の対照試料と比較して、障害若しくは状態の発症を遅延させる、又は1つ若しくは複数の症状の重症度を低下させる化合物を指す。

【0242】

「処置すること」という用語は、予防的及び/又は治療的処置を含む。「予防的又は治療的」処置という用語は、当技術分野において認知されており、宿主への対象組成物の1つ以上の投与を含む。これが、望ましくない状態(例えば、宿主動物の疾患又は他の望ましくない状態)の臨床的兆候の前に投与される場合、その結果、処置は予防的である(すなわち、処置により、宿主は、望ましくない状態の発現に対して保護される)一方、望ましくない

10

20

30

40

50

状態の兆候の後で投与される場合、処置は治療的である(すなわち、望ましくない状態又はその副作用の存在を弱める、寛解させる又は安定化させることが意図されている)。

【0243】

「プロドラッグ」という用語は、生理的条件下で、本発明の治療的活性剤に変換される化合物を包含するよう意図されている。プロドラッグを作るための一般的方法は、望ましい分子を発現するために、生理的条件下で加水分解される1つ以上の選択された部分を含むことである。他の実施形態では、プロドラッグは、宿主動物の酵素活性により変換される。例えば、エステル又はカーボネート(例えば、アルコール又はカルボン酸のエステル又はカーボネート)は、好ましいプロドラッグである。

【0244】

「抗体」という用語は、免疫グロブリン分子の変換領域内における少なくとも1つの抗原認識部位を介して様々な分子を認識し、特異的に結合する免疫グロブリン分子を指す。本明細書で使用されている「抗体」という用語は、インタクトなポリクローナル抗体、インタクトなモノクローナル抗体、抗体断片(例えば、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd及びFv断片)、一本鎖Fv(scFv)変異体、多重特異性抗体、例えば2つ以上のインタクトな抗体から生成される二重特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、抗体の抗原決定部を含む融合タンパク質、並びに、抗原認識部位を含む任意の他の修飾免疫グロブリン分子を含む。抗体は、免疫グロブリンの主な分類5つ:IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMのいずれか、又はそれらの下位分類(アイソタイプ)(例えば、IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2)であってよく、アルファ、デルタ、イプシロン、ガンマ及びミューとそれぞれ呼ばれるその重鎖定常ドメインの同一性に基づく。免疫グロブリンの様々な分類は、様々な、かつ周知のサブユニット構造及び立体形状を有する。「抗体」という用語は、免疫グロブリン配列と相同性を持たない分子を指さない。例えば、本明細書で使用されている「抗体」は、「レペボディ(repebodies)」を含まない。

【0245】

「抗体断片」という用語は、インタクトな抗体の一部を指し、インタクトな抗体の抗原決定可変領域を指す。抗体断片の例は、Fab、Fab'、F(ab')₂、Fd及びFv断片、直鎖状抗体、一本鎖抗体、及び抗体断片から形成される多重特異性抗体を含む。

【0246】

「モノクローナル抗体」という用語は、高度に特異的な認識、及び単一の抗原決定基又はエピトープの結合に関与する、均一な抗体の集団を指す。これは、典型的には多彩な異なる抗原決定基に向けられている、異なる抗体を含むポリクローナル抗体と対照をなす。

「モノクローナル抗体」という用語は、抗体断片(例えばFab、Fab'、F(ab')₂、Fd、Fv)、一本鎖(scFv)変異体、抗体部を含む融合タンパク質、及び抗原認識部位を含む任意の他の修飾免疫グロブリン分子、並びにインタクトな、及び全長のモノクローナル抗体の両方を含むが、それらに限定されない。さらに、「モノクローナル抗体」は、ハイブリドーマ、ファージ選択、組換え発現及びトランスジェニック動物を含むが、それらに限定されないいくつかの方法で作られた、そのような抗体を指す。

【0247】

「ヒト化抗体」という用語は、最小非ヒト(例えばマウス)配列を含有する特異的免疫グロブリン鎖、キメラ免疫グロブリン、又はそれらの断片である、非ヒト(例えばマウス)抗体の形態を指す。一般に、ヒト化抗体は、相補性決定領域(CDR)からの残基が、非ヒト種(例えば、マウス、ラット、ウサギ及びハムスター)の、望ましい特異性、親和性及び能力を有するCDRからの残基により置き換えられるヒト免疫グロブリンである(例えば、Jonesら、Nature、321:522~525頁(1986年);Riechmannら、Nature、332:323~327頁(1988年);Verhoeyenら、Science、239:1534~1536頁(1988年)を参照されたい)。一部の例において、ヒト免疫グロブリンのFvフレームワーク領域(FR)残基は、非ヒト種の望ましい特異性、親和性及び/又は結合能力を有する抗体中の対応する残基で置き換えられる。ヒト化抗体は、Fvフレームワーク領域における、及び/又は置き換えられている非ヒト残基内における追加の残基を置換することにより、さらに修飾して、抗体特異性、親和性

10

20

30

40

50

、及び/又は結合能力を改良し、最適化することができる。一般に、ヒト化抗体は、非ヒト免疫グロブリンに対応するすべての、又は実質的にすべてのCDRを含有する、少なくとも1つの、典型的には2つ又は3つの可変ドメインを実質的にすべて含む一方、すべての、又は実質的にすべてのフレームワーク領域(FR)は、ヒト免疫グロブリンのコンセンサス配列のものを有する。ヒト化抗体は、免疫グロブリンの定常領域又はドメイン(Fc)、典型的にはヒト免疫グロブリンのものの少なくとも一部も含めることができる。ヒト化抗体を生成するために使用される方法の例は、米国特許第5,225,539号に記載されており、参照により本明細書に組み込まれる。

【0248】

本明細書で使用されている「ヒト抗体」という用語は、ヒトヌクレオチド配列によりコードされる抗体、又は、当業界で公知の任意の技術を使用して、人為的に生成される抗体に対応するアミノ酸配列を有する抗体を指す。ヒト抗体のこの定義は、インタクトな全長抗体及び/又はその断片を含む。

【0249】

「キメラ抗体」という用語は、免疫グロブリン分子のアミノ酸配列が、2つ以上の種に由来する抗体を指し、この種の1つは、好ましくはヒトである。一般に、軽鎖及び重鎖の両方の可変領域は、哺乳動物(例えば、マウス、ラット、ウサギなど)の1種に由来する、望ましい特異性、親和性及び能力を有する抗体の可変領域に相当する一方、定常領域は、別の種(通常はヒト)に由来する抗体における配列と同様となって、例えば、その種における免疫応答を導くことを回避する。

【0250】

「エピトープ」及び「抗原決定基」という用語は、本明細書において互換的に使用され、また、特定の抗体により認識され、特異的に結合されることが可能である抗原の部を指す。抗原が、ポリペプチド又はタンパク質である、又はそれを含む場合、エピトープは、例えば、タンパク質の二次、三次及び/又は四次フォールディングにより並列している隣接及び/又は非隣接アミノ酸から形成され得る。隣接したアミノ酸から形成されるエピトープは、典型的にはタンパク質変性の際に保たれる一方、三次フォールディングにより形成されるエピトープは、タンパク質変性の際に失われることがある。エピトープは、特有の空間的な立体配座において、典型的には、3個以上、5個以上又は8から10個以上のアミノ酸を含む。

【0251】

抗体は、エピトープ又は抗原分子に「特異的に結合する」が、これは、抗体が、別のタンパク質を含む代替物質よりも高頻度で、迅速に、長い持続時間で、高い親和性で、又は先述の一部の組合せで、エピトープ又は抗原分子に相互作用する、又は結び付くことを意味する。特定の実施形態では、「特異的に結合する」は、例えば、抗体が、約0.1mM以下の K_D で、但しより一般的には、約1 μ M未満の K_D でタンパク質に結合することを意味する。特定の実施形態では、「特異的に結合する」は、抗体が、時には、約0.1 μ M以下の K_D で、またある時には、約0.01 μ M以下の K_D でタンパク質に結合することを意味する。異なる種における相同タンパク質の間の配列同一性のため、特異的結合は、1つ超の種における特定のタンパク質を認識する抗体を含み得る。第1の標的に特異的に結合する抗体、又は結合残基は、第2の標的に特異的に結合してもよく、又はしなくてもよいことが理解される。上に記載した、「特異的結合」は、独占的な結合、すなわち単一の標的への結合を必ずしも必要としない(が、それを含むこともある)。本明細書で使用される結合という用語は、全般的に特異的結合を意味するが、必ずしもそれを意味するとは限らない。

【0252】

抗体は、その断片/誘導体及びモノクローナル抗体を含み、これらは、当業界で公知の方法(例えば、McCaffertyら、Nature、348:552~554頁(1990年);Clacksonら、Nature、352:624~628頁;Marksら、J. Mol. Biol. 222:581~597頁(1991年);Marksら、Bio/Technology 10:779~783頁(1992年);Waterhouseら、Nucleic Acids Res. 21:2265~2266頁(1993年);Morimotoら、J Biochemical & Biophysical Methods 24:

107～117頁(1992年);Brennanら、Science 229:81頁(1985年);Carterら、Bio/Technology 10:163～167頁(1992年);Kohlerら、Nature、256:495頁(1975年);Kilpatrickら、Hybridoma 16(4):381～389頁(1997年);Wringら、J. Pharm. Biomed. Anal. 19(5):695～707頁(1999年);Bynumら、Hybridoma 18(5):407～411頁(1999年)、Jakobovitsら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、90:2551頁(1993年);Jakobovitsら、Nature、362:255～258頁(1993年);Bruggemannら、Year Immuno. 7:33頁(1993年);Barbasら、Proc. Nat. Acad. Sci. USA 91:3809～3813頁(1994年);Schierら、Gene 169:147～155頁(1995年);Yeltonら、J. Immunol. 155:1994～2004頁(1995年);Jacksonら、J. Immunol. 154(7):3310～9頁(1995);Hawkinsら、J. Mol. Biol. 226:889～896頁(1992年)、米国特許第4,816,567号、第5,514,548号、第5,545,806号、第5,569,825号、第5,591,669号、第5,545,807号;PCT特許出願公報WO97/17852号を参照されたく、これらのそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)を使用して得ることができる。

【0253】

抗体は、ムロモナブ-CD3 アブシキシマブ、リツキシマブ、ダクリズマブ、パリビズマブ、インフリキシマブ、トラスツズマブ、エタネルセプト、バシリキシマブ、ゲムツズマブ、アレムツズマブ、イブリツモマブ、アダリムマブ、アレファセプト、オマリズマブ、エファリズマブ、トシツモマブ、セツキシマブ、ABT-806、ベバシズマブ、ナタリズマブ、ラニビズマブ、パニツムマブ、エクリズマブ、リロナセプト、セルトリズマブ、ロミプロスチム、AMG-531、ゴリムマブ、ウステキヌマブ、ABT-874、ベラタセプト、ベリムマブ、アタシセプト、抗CD20抗体、カナキヌマブ、トシリズマブ、アトリズマブ、メボリズマブ、ベルツズマブ、HuMax CD20、トレメリムマブ、チシリムマブ、イビリムマブ、IDEC-114、イノツズマブ、HuMax EGFR、アフリベルセプト、HuMax-CD4、テプリズマブ、オテリキスズマブ、カツマキソマブ、抗EpCAM抗体IGN101、アデカツムマブ、オレゴボマブ、ジヌツキシマブ、ギレンツキシマブ、デノスマブ、バピネウズマブ、モタビズマブ、エファンングマブ、ラキシバクマブ、LY2469298及びベルツズマブであってよい。

【0254】

抗体は、少なくとも1つの軽鎖及び少なくとも1つの重鎖を含む場合、抗体の少なくとも1つの軽鎖、又は抗体の少なくとも1つの重鎖、又はその両方は、イソプレノイド転移酵素により認識されることが可能であるアミノ酸モチーフを有する、アミノ酸領域を含み得る。抗体は、4つのポリペプチド鎖(例えば、2つの重鎖及び2つの軽鎖)を含み得るので、抗体は、4つのイソプレニル化配列を含み得、このそれぞれを使用して、リンカーを経由して活性剤を抗体に複合できる。したがって、抗体-薬物複合体は、それぞれ活性剤に複合している4つのリンカーを含み得る。したがって、抗体-薬物複合体は、少なくとも1つのリンカー、及び少なくとも1つの活性剤を含み得る。抗体-薬物複合体は、少なくとも2つのリンカーを含み得、抗体-薬物複合体は、少なくとも2つの活性剤を含み得る。抗体-薬物複合体は、1、2、3又は4つのリンカーを含み得る。抗体-薬物複合体は、1、2、3又は4つの活性剤を含み得る。

【0255】

活性剤は、薬物、毒素、親和性リガンド、検出プローブ又は先述のいずれかの組合せであってよい。

【0256】

活性剤は、エルロチニブ;ボルテゾミブ;フルベストラント;スーテント;レトロゾール;メシル酸イマチニブ;PTK787/ZK 222584;オキサリプラチン;5-フルオロウラシル;ロイコボリン;ラパマイシン(シロリムス);ラパチニブ;ロナファルニブ;ソラフェニブ;ゲフィチニブ;AG1478;AG1571;アルキル化剤(例えば、チオテパ又はシクロホスファミド);スルホン酸アルキル(例えば、ブスルファン、インプロスルファン又はピボスルファン);アジリジン(例えば、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ又はウレドーパ);エチレンイミン、メチルメラミン、アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、ト

リエチレンチオホスホルアミド、トリメチロールメラミン;アセトゲニン(例えば、ブラタシン又はブラタシノン);カンプトテシン及びカンプトテシン誘導体及び代謝産物(SN-38);トポテカン;ブリオスタチン;カリスタチン;CC-1065(そのアドゼレシン、カルゼルシン又はビゼレシン合成類似体を含む);クリプトフィシン(例えば、クリプトフィシン1又はクリプトフィシン8);ドラスタチン;デュオカルマイシン(合成類似体、例えば、KW-2189及びCB1-TM1を含む);エリュテロピン;パンクラチスタチン;サルコジクチン;スポンジスタチン;ナイトロジェンマスタード(例えば、クロランブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロリド、メルファラン、ノベンビチン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド又はウラシルマスタード);ニトロソウレア(nitrous urea)(例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン又はラニムスチン);抗生物質(例えば、エンジン抗生物質、例えば、カリケアミシガンマ1I及びカリケアミシンオメガ1Iから選択されるカリケアミシン、又はジネミシンAを含むジネミシン);ビスホスホネート(例えば、クロドロネート;エスペラミシン、ネオカルジノスタチンクロモフォア、又は関連する色素タンパク質エンジン抗生物質クロモフォア(related chromoprotein enediyne antibiotic chromophores)、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アントラマイシン、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、カルニノマイシン(carninomycin)、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルブシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ドキシソルビシン(例えば、モルホリノ-ドキシソルビシン、シアノモルホリノ-ドキシソルビシン、2-ピロリノ-ドキシソルビシン、リポソームドキシソルビシン又はデオキシドキシソルビシン)、エピルビシン、エソルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシン(例えば、マイトマイシンC、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、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、ジノスタチン又はゾルビシン);代謝拮抗剤(例えば、5-フルオロウラシル);葉酸類似体(例えば、デノプテリン、メトトレキサート、プテロプテリン又はトリメトレキサート);プリン類似体(例えば、フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン又はチオグアニン);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、エノシタビン又はフロキシウリジン);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)又はテストラクトン);抗副腎剤(例えば、アミノグルテチミド、ミトタン又はトリロスタン);葉酸補液(folic acid replenisher)(例えばフォリン酸);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;ピサントレン;エダトレキサート;デフォファミン;デメコルシン;ジアジコン;エフロルニチン;酢酸エリプチニウム;エポチロン;エトグルシド;硝酸ガリウム;ヒドロキシ尿素;レンチナン;ロニダイニン;メイタンシノイド(例えば、メイタンシン又はアンサミトシン);トリコテセン(特にT-2毒素、ベラキュリンA、ロリジンA又はアングイジン);ミトグアゾン;ミトキサントロン;モピダンモール;ニトラリン;ペントスタチン;フェナメット;ピラルビシン;ロソキサントロン;2-エチルヒドラジド;プロカルバジン;ポリサッカリドK複合体;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;トリアジコン;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毒素、ベラキュリン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;ミトブロニトール;ミトラクトール;ピボプロマン;ガシトシン;アラビノシド;シクロホスファミド;チオテバ;タキソイド(例えば、パクリタキセル)、クレモフォーフルフリーABRAXANE(商標)、パクリタキセルのアルブミン改変ナノ粒子製剤、ドセタキセル;クロランブシル;ゲムシタビン;6-チオグアニン;メルカプトプリン;白金類似体(例えば、シスプラチン又はカルボプラチン);ピンブラスチン;白金;エトポシド、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;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;ゼローダ;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;レチノイド(例えば、レチノイン酸);カ

10

20

30

40

50

ペシタピン、並びにそれらの薬学的に許容される塩、溶媒和物、酸又は誘導体から選択され得るが、必ずしもそれらに限定されない。

【0257】

活性剤は、(i)腫瘍に対するホルモン作用を調節又は阻害するように作用する抗ホルモン剤、例えば、タモキシフェン、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン及びトレミフェンを含む、抗エストロゲン剤及び選択的エストロゲン受容体調節薬;(ii)副腎においてエストロゲン生成を調節する、アロマターゼという酵素を阻害するアロマターゼ阻害剤、例えば、4(5)-イミダゾール、アミノグルテチミド、酢酸メゲストロール、エキセメスタン、レトロゾール及びアナストロゾール;(iii)抗アンドロゲン、例えばフルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド及びゴセレリン;並びに、トロキサシタピン(1,3-ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体);(iv)アロマターゼ阻害剤;(v)タンパク質キナーゼ阻害剤;(vi)脂質キナーゼ阻害剤;(vii)アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に、粘着細胞に関わるシグナル伝達経路において遺伝子の発現を阻害するもの、例えば、PKC-アルファ、Raf、H-Ras;(viii)リボザイム、例えば、VEGF阻害剤、例としてリボザイム及びHER2発現阻害剤;(ix)ワクチン、例えば遺伝子治療ワクチン;ALLOVECTIN(登録商標)ワクチン、LEUVECTINワクチン、VAXIDワクチン;PROLEUKIN(登録商標)rIL-2;LURTOTECAN(登録商標)トポイソメラーゼ1阻害剤;ABARELIX(登録商標)rmRH;(x)抗血管形成剤、例えばベバシズマブ;並びに(xi)薬学的に許容されるそれらの塩、溶媒和物、酸又は誘導体から選択され得る。

【0258】

さらに、サイトカインは、活性剤として使用され得る。サイトカインは、多数の細胞により分泌される小細胞-シグナル伝達タンパク質分子であり、細胞間情報伝達に広範に使用されるシグナル伝達分子の区分にある。サイトカインは、モノカイン、リンフォカイン、従来からのポリペプチドホルモンなどを含む。サイトカインの例は、成長ホルモン(例えば、ヒト成長ホルモン、N-メチオニルヒト成長ホルモン又はウシ成長ホルモン);上皮小体ホルモン;チロキシン;インスリン;プロインスリン;リラキシン;プロリラキシン;糖タンパク質ホルモン(例えば、卵胞刺激ホルモン(FSH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)又は黄体形成ホルモン(LH));肝細胞増殖因子;線維芽細胞増殖因子;プロラクチン;胎盤性ラクトゲン;腫瘍壊死因子- α 、腫瘍壊死因子- β ;ミューラー管阻害物質;マウスゴナドトロピン関連ペプチド;インヒビン;アクチビン;血管内皮増殖因子;インテグリン、トロンボポエチン(TPO);神経増殖因子(例えば、NGF- β);血小板増殖因子;形質転換増殖因子(TGF)(例えば、TGF- α 又はTGF- β);インスリン様増殖因子-I、インスリン様増殖因子-II;エリスロポエチン(EPO);骨誘導因子;インターフェロン(例えば、インターフェロン- α 、インターフェロン- β 又はインターフェロン- γ);コロニー刺激因子(CSF)(例えば、マクロファージ-CSF(M-CSF)、顆粒球-マクロファージ-CSF(GM-CSF)又は顆粒球-CSF(G-CSF));インターロイキン(IL)(例えば、IL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11又はIL-12);腫瘍壊死因子(TNF)(例えば、TNF- α 又はTNF- β);並びにポリペプチド因子(例えば、LIF又はkitリガンド)を含むが、それらに限定されない。さらに、「サイトカイン」という用語は、天然の供給源又は組換え細胞培養物からのサイトカイン、及び、天然配列のサイトカインの生物学的に活性な同等物も含む。

【0259】

「毒素」という用語は、生細胞又は生物に有毒な物質を指す。毒素は、体組織との接触又はそれによる吸収の後で、例えば、1つ以上の生物学的高分子、例として酵素又は細胞受容体との相互作用を介して、細胞の機能不全又は細胞死を引き起こすことが可能である小分子、ペプチド又はタンパク質であり得る。毒素は、植物毒素及び動物毒素を含む。動物毒素の例は、ジフテリア毒素、ボツリヌス毒素、破傷風毒素、赤痢毒素、コレラ毒素、テトロドトキシン、ブレベトキシン及びシガトキシンを含むが、それらに限定されない。植物毒素の例は、リシン、AM-毒素を含むが、それらに限定されない。

【0260】

小分子毒素の例は、オーリスタチン、チューブリシン、ゲルダナマイシン(Kerrら、1997年、Bioconjugate Chem. 8(6):781~784頁)、メイタンシノイド(EP 1391213、A CR 2008年、41、98~107頁)、カリケアミシン(米国特許公報第2009/0105461号明細書、Cancer Res. 1993年、53、3336~3342頁)、ダウノマイシン、ドキソルビシン、メトトレキサート、ビンデシン、SG2285 (Cancer Res. 2010年、70(17)、6849~6858頁)、ドラスタチン、ドラスタチン類似体、オーリスタチン(米国特許第5,635,483号)、クリプトフィシン、カンプトテシン、リゾキシニ誘導体、CC-1065類似体又は誘導体、デュオカルマイシン、エンジイン抗生物質、エスペラミシン、エポチロン、ピロロベンゾジアゼピン(PBD)誘導体、 α -アマニチン、及びトキシソイドを含むが、それらに限定されない。毒素は、チューブリン結合、DNA結合、トポイソメラーゼ抑制などによる細胞毒性及び細胞増殖阻害活性を呈し得る。

10

【0261】

「リガンド」という用語は、標的生体分子と複合物を形成することが可能である分子を指す。リガンドの例は、標的タンパク質の所定の位置に結合して、シグナルを伝達する分子である。リガンドは、基質、阻害剤、刺激剤、神経伝達物質又は放射性同位体であってよい。

【0262】

「検出可能な部分」又は「標識」は、分光分析、光化学的、生化学的、免疫化学的、放射性又は化学的手段により検出可能な組成物を指す。例えば、有用な標識は、 ^{32}P 、 ^{35}S 、蛍光色素、電子密度試薬、酵素(例えば、ELISAに一般的に使用される酵素)、ビオチン-ストレプトアビジン、ジゴキシゲニン、ハプテン、及び抗血清又はモノクローナル抗体が利用できるタンパク質、又は標的に相補的な配列を有する核酸分子を含む。検出可能な部分は、測定可能なシグナル、例えば、放射性、発色性又は蛍光シグナルを生成することが多く、これらを使用して、試料中で、結合している検出可能な部分の量を定量化する。シグナルの定量は、例えば、シンチレーション計数、濃度測定、フローサイトメトリ、ELISA、又はインタクトな、若しくは後に消化されるペプチドを質量分析することでの直接分析(1つ以上のペプチドが評価され得る)により達成され得る。

20

【0263】

本明細書で使用されている「プローブ」という用語は、(i)検出可能なシグナルを示す、(ii)第1のプローブ若しくは第2のプローブと相互作用させて、第1若しくは第2のプローブにより示された検出可能なシグナルを改変する、例えば蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)、(iii)抗原若しくはリガンドとの相互作用を安定させる、若しくは、結合親和性を上昇させる、(iv)物理的パラメータ、例えば電荷、疎水性などにより、電気泳動度若しくは細胞侵入活性に影響を与える、又は(v)リガンド親和性、抗原-抗体結合又はイオン性錯体形成を調整することができる、材料を指す。

30

【0264】

活性剤は、免疫調節化合物、抗がん剤、抗ウイルス剤、抗細菌剤、抗菌剤、抗寄生虫剤又はそれらの組合せであってよい。

【0265】

免疫調節化合物は、アミノカブロン酸、アザチオプリン、プロモクリプチン、クロランブシル、クロロキン、シクロホスファミド、シクロスポリン、シクロスポリンA、ダナゾール、デヒドロエピアンドロステロン、デキサメタゾン、エタネルセプト、ヒドロコルチゾン、ヒドロキシクロロキン、インフリキシマブ、メロキシカム、メトトレキサート、ミコフェノレート(mycophenylate)モフェチル、ブレドニゾン、シロリムス及びタクロリムスから選択され得る。抗がん剤は、1-メチル-4-フェニルピリジニウムイオン、5-エチニル-1- β -D-リボフラノシルイミダゾール-4-カルボキサミド(EICAR)、5-フルオロウラシル、9-アミノカンプトテシン、アクチノマイシンD、アスパラギナーゼ、ビカルタミド、ビス-クロロエチルニトロソウレア(BCNU)、ブレオマイシン、ブレオマイシンA2、ブレオマイシンB2、ブスルファン、カンプトテシン、カルボプラチン、カルムスチン、CB1093、クロランブシル、シスプラチン、クリスナトール(crisnatol)、シクロホスファミド

40

50

、シタラビン、シトシンアラビノシド、シトキサン、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、ダカルバジン(decarbazine)、デフェロキサミン、デメトキシ-ヒポクレリンA、ドセタキセル、ドキシフルリジン、ドキソルビシン、EB1089、エピルビシン、エトポシド、フロキシウリジン、フルダラビン、フルタミド、ゲムシタビン、ゴセレリン、ヒドロキシ尿素、イダルビシン、イホスファミド、インターフェロン- α 、インターフェロン- γ 、イリノテカン、KH1060、酢酸ロイプロリド、ロムスチン、ロバスタチン、メゲストロール、メルファラン、メルカプトプリン、メトトレキサート、マイトマイシン、マイトマイシンC、ミトキサントロン、ミコフェノール酸、ナイトロジェンマスタード、ニトロソウレア、パクリタキセル、ペプロマイシン、光増感剤Pe4、フタロシアニン、ピラルビシン、プリカマイシン、プロカルバジン、ラロキシフェン、ラルチトレキセド、レブラミド(revlimid)、リバビリン、スタウロスポリン、タモキシフェン、テニポシド、サロミド、タプシガルギン、チオグアニン、チアゾフリン、トポテカン、トレオサルファン、トリメトレキサート、腫瘍壊死因子、ベルケイド、ベラパミル、ベルテポルフィン、ビンブラスチン、ピンクリスチン、ビノレルビン及びゾルビシンから選択され得る。抗ウイルス剤は、ペンシシクロビル(penciclovir)、バラシクロビル、ガンシシクロビル(ganciclovir)、ホスカルネット、リバビリン、イドクスウリジン、ビダラビン、トリフルリジン、アシクロビル、ファムシシクロビル(famciclovir)、アマンタジン、リマンタジン、シドフォビル、アンチセンスオリゴヌクレオチド、免疫グロブリン及びインターフェロンから選択され得る。抗細菌剤は、クロラムフェニコール、バンコマイシン、メトロニダゾール、トリメトプリム(trimethoprin)、スルファメタゾール(sulfamethazole)、キヌプリスチン、ダルホプリスチン、リファンピン、スペクチノマイシン及びニトロフラントインから選択され得る。抗菌剤は、アムホテリシンB、カンジシジン、フィリピン、ハマイシン、ナタマイシン、ナイスタチン、リモシジン、ビホナゾール、ブトコナゾール、クロトリマゾール、エコナゾール、フェンチコナゾール、イソコナゾール、ケトコナゾール、ルリコナゾール、ミコナゾール、オモコナゾール、オキシコナゾール、セルタコナゾール、スルコナゾール、チオコナゾール、アルバコナゾール、フルコナゾール、イサブコナゾール、イトラコナゾール、ボサコナゾール、ラブコナゾール、テルコナゾール、ポリコナゾール、アバファンギン、アモロルフィン(amorolfine)、ブテナフィン、ナフチフィン、テルビナフィン、アニデュラファンギン、カスポファンギン、ミカファンギン、安息香酸、シクロピロクス、フルシトシン、グリセオフルビン、ハロプロギン、トルナフタート、ウンデシレン酸、クリスタルバイオレット、ペルーバルサム、シクロピロクスオラミン、ピロクトンオラミン、ジンクピリチオン及び硫化セレンから選択され得る。抗寄生虫剤は、メベンダゾール、パモ酸ピランテル、チアベンダゾール、ジエチルカルバマジン、イベルメクチン、ニクロサミド、プラジカンテル、アルベンダゾール、リファンピン、アムホテリシンB、メラルソプロール、エフロルニチン、メトロニダゾール、チニダゾール及びミルテホシンから選択され得る。

【0266】

抗体は、Ab-HC-(G)_zCVIM、Ab-HC-(G)_zCVLL、Ab-LC-(G)_zCVIM及びAb-LC-(G)_zCVLLから選択されるアミノ酸モチーフを含み得、式中、Abは抗体を表し、-HC-は重鎖を表し、-LC-は軽鎖を表し、Gはグリシンを表し、Cはシステインを表し、Vはバリンを表し、Iはイソロイシンを表し、Mはメチオニンを表し、Lはロイシンを表し、zは0から20の整数である。

【0267】

抗体-薬物複合体の活性剤は、以下の構造:

【0268】

10

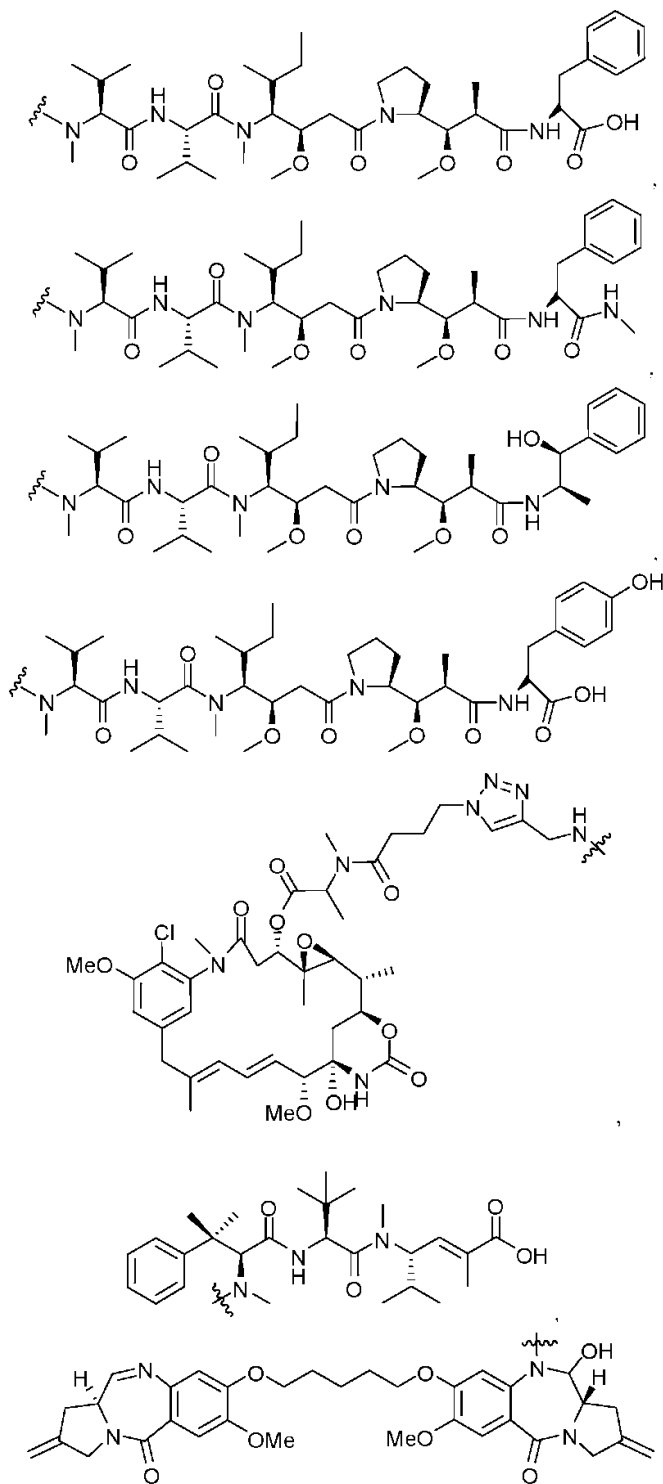
20

30

40

50

【化 5 1】



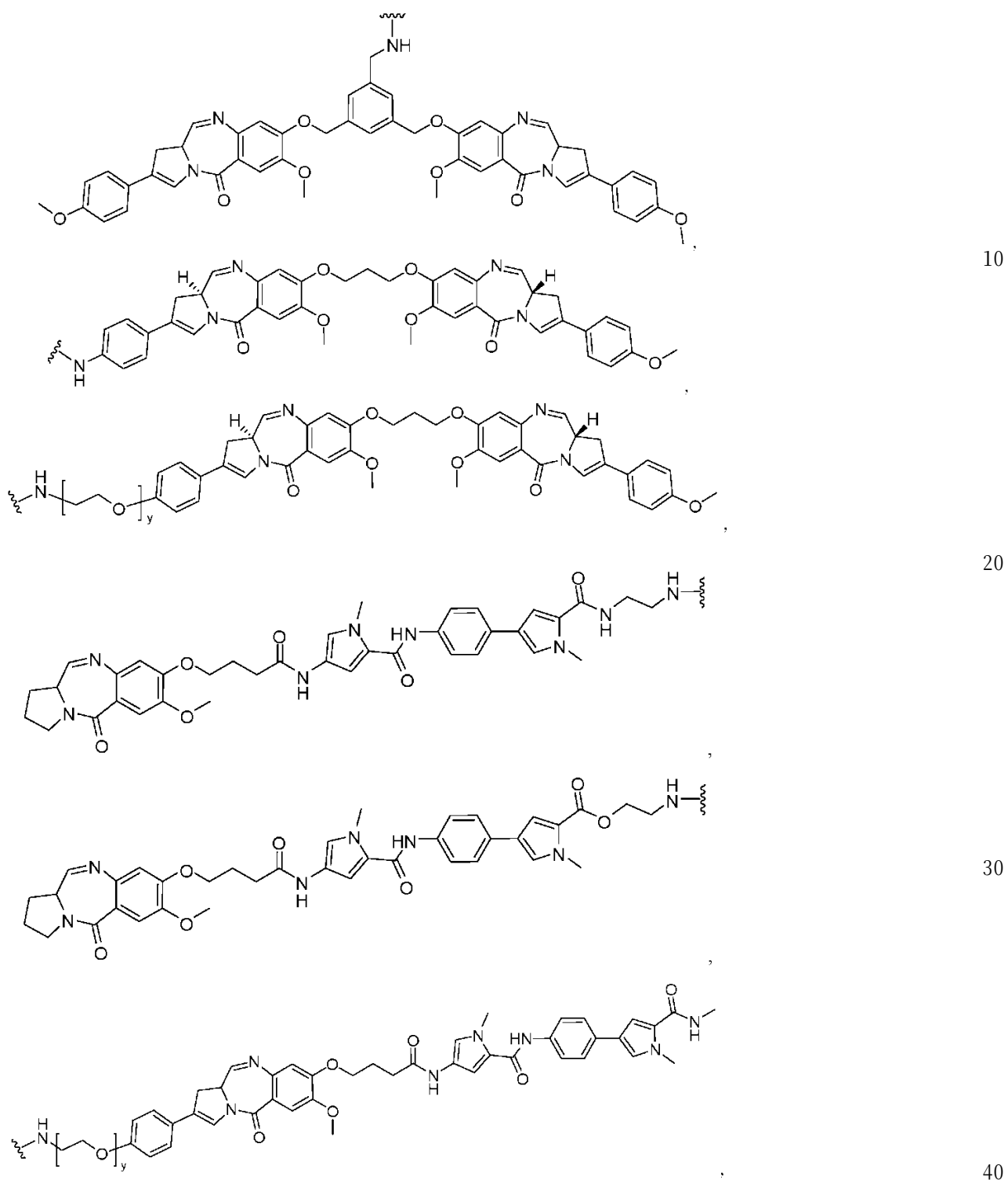
10

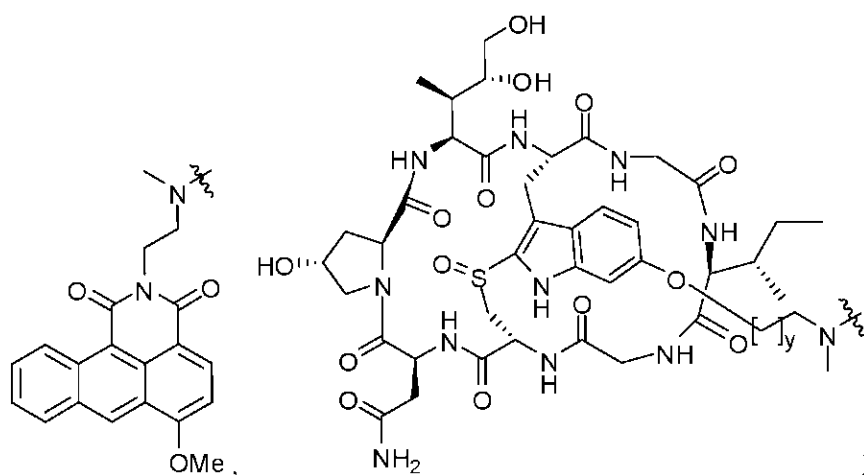
20

30

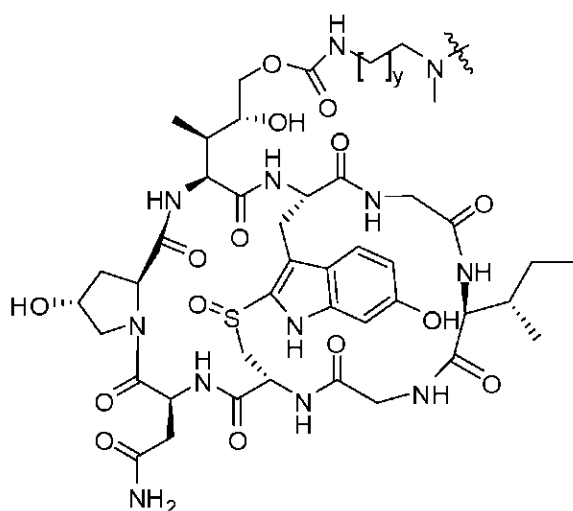
40

50





又は



のいずれか1つから選択され得、式中、 y は1から10の整数である。

【0269】

当業者に知られている組成物を調製する方法を使用して、活性剤を対象の標的細胞に移動させて、対象を処置するために抗体-薬物複合体を使用してもよい。一部の態様では、本発明は、本明細書に記載されている抗体-薬物複合体を含む組成物(例えば、医薬組成物)に関する。

【0270】

組成物は、溶液として、又は懸濁液として、注射可能な形態で調製できる。注射に適している固体形態も、例えば、エマルションとして、又はリポソームに被包されている抗体-薬物複合体と共に、調製できる。抗体-薬物複合体は、薬学的に許容される担体と組み合わせることができ、これは、担体を受ける対象に有害な抗体の生成を誘導しない、任意の担体を含む。適切な担体は、典型的には、ゆっくり代謝される大型高分子、例えば、タンパク質、ポリサッカリド、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリマー性アミノ酸、アミノ酸コポリマー、脂質凝集物などを含む。

【0271】

組成物は、希釈剤、例えば、水、生理食塩水、グリセロール及びエタノールも含有し得る。補助物質、例えば、湿潤剤又は乳化剤、pH緩衝物質などもそこに存在し得る。組成物は、注射により非経口的に投与され得、そのような注射は、皮下又は筋肉内注射であってよい。一部の実施形態では、組成物は、腫瘍中に投与され得る。組成物は、腫瘍中に挿入され得る(例えば、注射される)。追加の製剤は、他の投与形態、例えば坐剤又は経口投与に適している。経口組成物は、液剤、懸濁液剤、タブレット剤、丸剤、カプセル剤又は持

続放出製剤として投与され得る。

【0272】

組成物は、用量及び製剤と適合する手段で投与され得る。組成物は、好ましくは、治療有効量の抗体-薬物複合体を含む。「治療有効量」という用語は、疾患又は障害の処置又は予防に有効な、単回量又は複数回量計画で投与される組成物を意味する。用量は、処置される対象、対象の健康及び健康状態、望ましい保護の程度及び他の関連要因に応じて変化させてよい。活性成分(例えば、抗体-薬物複合体)の正確な量は、医師の判断によって決めることができる。例えば、治療有効量の抗体-薬物複合体又はそれを含有する組成物は、がん又は腫瘍に罹患した患者に投与して、がん又は腫瘍を処置できる。

【0273】

本発明による抗体-薬物複合体又はそれを含有する組成物は、薬学的に許容されるその塩又は溶媒和物の形態で投与され得る。一部の実施形態では、本発明による抗体-薬物複合体又はそれを含有する組成物は、薬学的に許容される担体、薬学的に許容される賦形剤、及び/又は薬学的に許容される添加剤と共に投与され得る。薬学的に許容される塩又は溶媒和物、賦形剤及び添加剤の有効量及びタイプは、標準的な方法を使用して測定され得る(例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences、Mack Publishing Co.、Easton、PA、第18版、1990年を参照されたい)。

【0274】

がん又は腫瘍に関して、「治療有効量」という用語は、がん細胞の数を減少させる;がん細胞の大きさを縮小させる;がん細胞の末梢系への侵入を阻害する、又は侵入を減少させる;がん細胞の他の系への転移を阻害する、又は転移を減少させる;がん細胞の増殖を阻害する;並びに/又は、がんに関連した少なくとも1つの症状を寛解させることができる量を意味する。がんの処置において、薬物の有効性は、腫瘍進展までの時間(TTP)及び/又は反応速度(RR)により評価され得る。

【0275】

本明細書で使用される「薬学的に許容される塩」という用語は、有機塩及び無機塩を含む。それらの例は、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硝酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、酸性リン酸塩、イソニコチン酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、酸性クエン酸塩、酒石酸塩、オレイン酸塩、タンニン酸塩、パントネート(pantionate)、酒石酸水素塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチジン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルクロネート(glucuronate)、糖酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩及びパモ酸塩(すなわち1,1'-メチレンビス-(2-ヒドロキシ-3-ナフトエ酸塩))を含む。薬学的に許容される塩は、別の分子(例えば、酢酸イオン、コハク酸イオン及び/又は他の対イオン)を含み得る。

【0276】

本明細書に記載されている抗体-薬物複合体の薬学的に許容される溶媒和物に使用され得る模範的な溶媒和物は、水、イソプロパノール、エタノール、メタノール、ジメチルスルホキシド、酢酸エチル、酢酸及びエタノールアミンを含む。

【0277】

一部の実施形態では、本発明は、対象におけるがんを処置する方法に関し、この方法は、本明細書に記載されている抗体-薬物複合体を含む医薬組成物を対象に投与するステップを含む。医薬組成物は、治療有効量の化学療法剤をさらに含み得る。好ましい実施形態では、対象は哺乳動物である。例えば、対象は、げっ歯類、ウサギ、ネコ、イヌ、ブタ、ヒツジ、ウシ、ウマ及び霊長類から選択され得る。ある特定の好ましい実施形態では、対象はヒトである。

【実施例】

【0278】

以下の表には以下の実施例を通して使用した略語を示す:

【0279】

【表 1】

略語	参考
Ac	アセチル
AcOH	酢酸
aq.	水溶液
Bn	ベンジル
ブライン	飽和塩化ナトリウム水溶液
Boc	t-ブトキシカルボニル
Cbz	ベンジロキシカルボニル
DBU	1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン
DCM	ジクロロメタン
DIC	N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド
DIPEA	N,N'-ジイソプロピルエチルアミン
DMAP	4-(ジメチルアミノ)ピリジン
DMF	N,N-ジメチルホルムアミド
DMSO	ジメチルスルホキシド
EDC	N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド
Et	エチル
Et ₂ O	ジエチルエーテル
EtOAc	酢酸エチル
EtOH	エタノール
HBTU	O-(ベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオ ロホスフェート
Hex	n-ヘキサン
HOBt	1-ヒドロキシベンゾトリアゾール
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Me	メチル
MeCN	アセトニトリル
MeOH	メタノール
MMAE	モノメチルアウリスタチンE
MMAF	モノメチルアウリスタチンF
MMAF-OMe	モノメチルアウリスタチンFメチルエステル
i-PrOH	イソプロパノール
PyBOP	(ベンゾトリアゾール-1-イルオキシ)トリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホ スフェート

TBAF	テトラブチルアンモニウムフルオリド
TBS	t-ブチルジメチルシリル
THF	テトラヒドロフラン
TFA	トリフルオロ酢酸
Ts	p-トルエンスルホニル
wt	重量

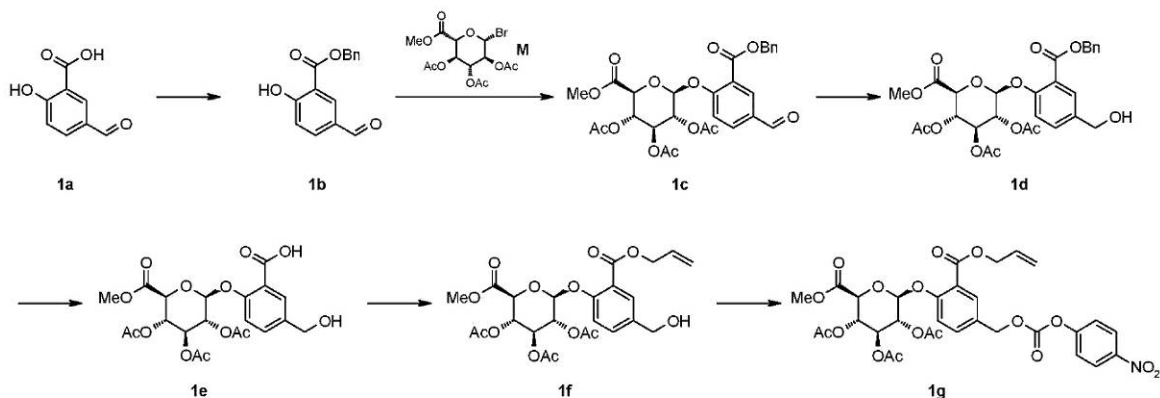
【0280】

[実施例1]

化合物1iの調製

【0281】

【化52】



10

化合物1bの調製

5-ホルミルサリチル酸1a(10.0g、60.1mmol)のTHF(30mL)中懸濁液に、室温でDIPEA(29.8mL、180mmol)及び臭化ベンジル(7.15mL、60.1mmol)を加えた。次いで反応混合物を加熱還流した。還流下18時間後、反応混合物を2N HCl水溶液(100mL)で希釈した。得られた混合物をEtOAc(2×100mL)で抽出した。合わせた有機層を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物1b(12.9g、83%)を得た。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 11.38 (s, 1H), 9.86 (s, 1H), 8.40 (s, 1H), 8.01 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.44 (m, 5H), 7.12 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H).

20

【0282】

化合物1cの調製

化合物1b(5.0g、19.5mmol)及び化合物M(8.5g、21.4mmol、実施例66参照)のMeCN(100mL)中溶液に、4 Å モレキュラーシーブ(10g)及びAg₂O(18.0g、78.0mmol)を加えた。N₂下室温で12時間攪拌した後、反応混合物を濃縮した。次いで濃縮した反応混合物をH₂O(100mL)で希釈し、EtOAc(2×200mL)で抽出した。合わせた有機層を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物1c(8.63g、77%)を得た。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 9.94 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.02 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.46-7.28 (m, 6H), 5.41-5.32 (m, 6H), 4.27 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 3.71 (s, 3H), 2.05 (m, 9H).

30

【0283】

化合物1dの調製

化合物1c(3.10g、5.41mmol)のi-PrOH/CHCl₃(9mL/45mL)中溶液に、0℃でシリカゲル(3g)及びNaBH₄(0.41g、10.82mmol)を加えた。N₂下0℃で2時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(100mL)でクエンチし、EtOAc(200mL)で抽出した。有機層を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物1d(2.73g、87%)を白色固体として得た。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 7.74 (s, 1H), 7.48-7.34 (m, 6H), 7.16 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.35-5.26 (m, 5H), 5.15 (m, 1H), 4.17 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.04 (s, 9H), 1.73 (t, 1H).

40

【0284】

化合物1eの調製

化合物1d(2.40g、4.17mmol)のEtOH(150mL)中溶液に、Pd/C(10重量%、240mg)を加えた。反応混合物を水素下室温で10分間攪拌した。次いで反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、EtOH(100mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、粗生成物1eを白色固体(

50

2.10g)として得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.06 (s, 1H) 7.61 (dd, J = 8.8 Hz, 1H), 7.23 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.43-5.29 (m, 5H), 4.17 (s, 2H), 4.32 (d, J = 8.4 Hz, 1H) 3.69 (s, 3H), 2.11-2.08 (t, 9H), 1.24 (t, 1H).
【0285】

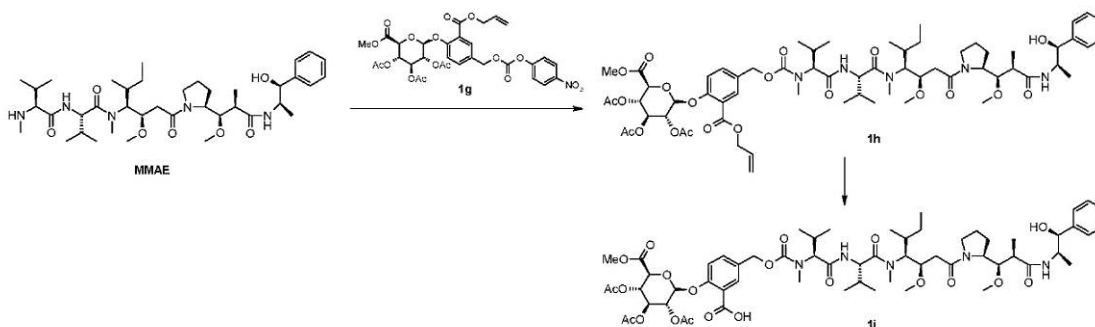
化合物1fの調製

粗製の化合物1e(2.10g、4.33mmol)のDMF(50mL)中溶液に、室温でK₂CO₃(1.79g、13.01mmol)及び臭化アリル(0.41mL、4.76mmol)を加えた。室温で3時間攪拌した後、反応混合物を2N HCl水溶液(100mL)で希釈した。得られた混合物をEtOAc(200mL)で抽出した。有機層を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物1f(1.55g、2ステップで70%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.74 (s, 1H), 7.45 (dd, J = 8.0 Hz, 2.0 Hz, 1H), 7.16 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.02 (m, 1H), 5.40-5.26 (m, 5H), 5.16 (m, 1H), 4.76 (m, 2H), 4.66 (s, 2H), 4.19 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.07-2.05 (m, 9H), 1.68 (t, 1H).
【0286】

化合物1gの調製

化合物1f(2.50g、4.77mmol)のDMF(20mL)中溶液に、N₂下0℃でビス(4-ニトロフェニル)カーボネート(1.30g、4.29mmol)及びDIPEA(0.80mL4.77mmol)を加えた。反応混合物を0℃で30分間攪拌し、室温に1時間加温した。反応混合物をH₂O(100mL)で希釈し、EtOAc(200mL)で抽出した。有機層をブライン(100mL)で洗浄し、無水MgSO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物1g(2.80g、85%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.28 (d, J = 15.2 Hz, 2H), 7.85 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.55 (dd, J = 3.2 Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.38 (d, J = 15.2 Hz, 2H), 7.20 (d, J = 8.8 Hz, 1H) 6.03 (m, 1H), 5.42-5.19 (m, 8H), 4.78 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 4.12 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 3.74 (s, 3H).
【0287】

【化53】



【0288】

化合物1hの調製

化合物1g(528mg、0.77mmol)、MMAE(500mg、0.7mmol)及び無水HOBt(19mg、0.14mmol)を0℃でDMF(3mL)に溶解した。次いでピリジン(0.7mL)及びDIPEA(0.24mL、1.39mmol)を加えた。N₂下室温で24時間攪拌した後、反応混合物をH₂O/飽和NH₄Cl水溶液(100mL/50mL)で希釈し、EtOAc(2×100mL)で抽出した。合わせた有機層を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物1h(600mg、67%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1269.5, [M+Na]⁺ 1291.5.
【0289】

化合物1iの調製

化合物1h(600mg、0.47mmol)及びトリフェニルホスフィン(31mg、0.12mmol)のDCM(10mL)中溶液に、室温でピロリジン(0.047mL、0.57mmol)及びPd(PPh₃)₄(27mg、0.02mmol)を加えた。2時間攪拌した後、反応混合物をH₂O/1N HCl水溶液(50mL/50mL)で希釈し、EtOAc(3×50mL)で抽出した。合わせた有機層を無水MgSO₄で脱水し、

濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィー(Hex/EtOAc 1/1からEtOAc)により精製して、化合物1i(480mg、82%)を白色固体として得た。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1228.4, $[M+Na]^+$ 1250.4.

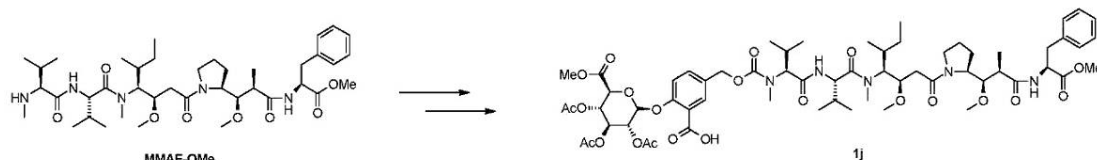
【0290】

[実施例2]

化合物1jの調製

【0291】

【化54】



10

実施例1において化合物1iを調製する方法と同様の方法により、MMAF-OMeから化合物1jを調製した。

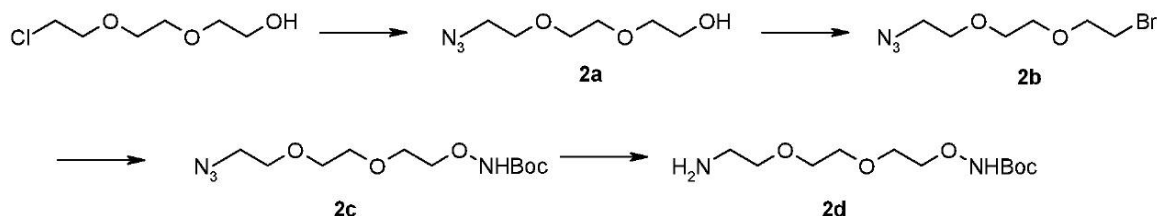
【0292】

[実施例3]

化合物2gの調製

【0293】

【化55】



20

【0294】

化合物2aの調製

2-(2-(2-クロロエトキシ)エトキシ)エタノール(10g、59.3mmol)を窒素下室温でDMF(90mL)に溶解し、次いでNaN₃(5.78g、88.9mmol)をこれに加えた。100℃で13時間攪拌した後、クロロホルム(200mL)及び蒸留水(300mL)をこれに加えて有機層を抽出し、抽出した有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物2a(10.3g、99%)を得た。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 3.75-3.73 (m, 2H), 3.70-3.68 (m, 6H), 3.63-3.61 (m, 2H), 3.40 (t, J = 5.4 Hz, 2H), 2.20 (t, J = 6.0 Hz, 1H).

【0295】

化合物2bの調製

CBr₄(21.4g、64.6mmol)を窒素下0℃でDCM(100mL)に溶解し、次いでDCM(100mL)中のトリフェニルホスフィン(16.9g、64.6mmol)及び化合物2a(10.3g、58.7mmol)をこれに加え、混合物を室温で13時間攪拌した。反応完結後、DCM(300mL)及び蒸留水(300mL)をこれに加えて有機層を抽出し、抽出した有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物2b(12g、85%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.83 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.72-3.67 (m, 6H), 3.48 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.40 (t, J = 4.8 Hz, 2H)

40

【0296】

化合物2cの調製

化合物2b(1g、4.20mmol)を窒素下室温でMeCNに溶解し、次いでN-Boc-ヒドロキシルアミン(643mg、4.82mmol)及びDBU(0.66mL、4.41mmol)をこれに加えた。60℃

50

で13時間攪拌した後、DCM(300mL)及び蒸留水(300mL)をこれに加えて有機層を抽出し、抽出した有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物2c(748mg、70%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.55 (s, 1H), 4.05-4.03 (m, 2H), 3.76-3.74 (m, 2H), 3.74-3.69 (m, 6H), 3.42 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 1.49 (s, 9H).

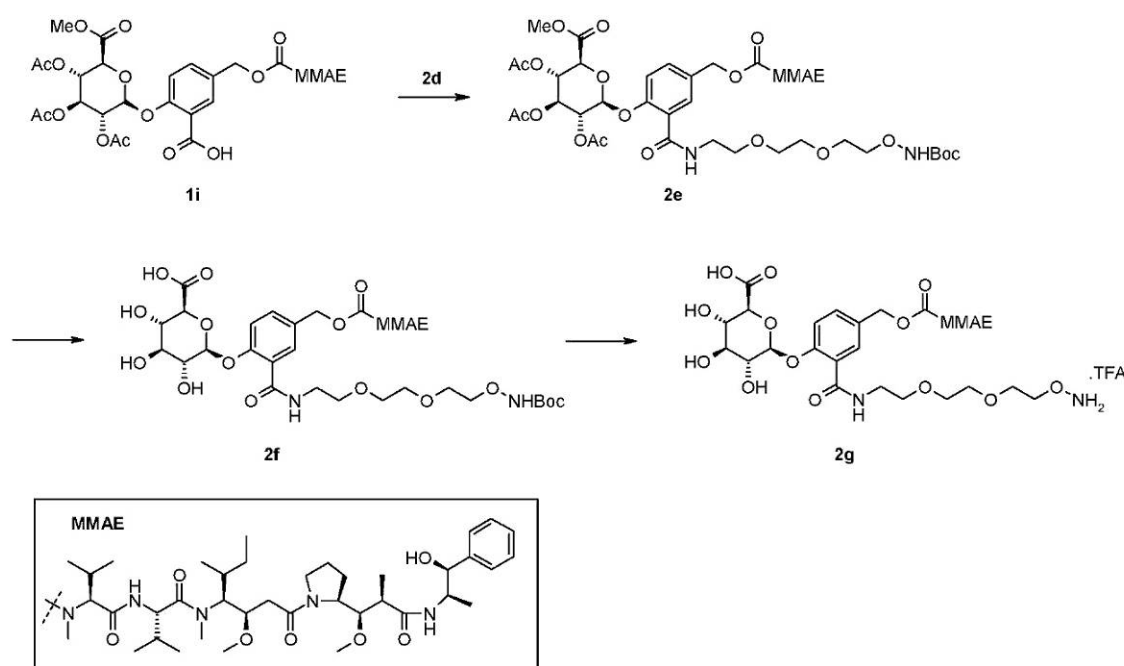
【0297】

化合物2dの調製

化合物2c(200mg、0.688mmol)をMeOH(5mL)に溶解し、次いでPd/C(10重量%、70mg)をこれに加え、水素下3時間攪拌した。反応完結後、反応混合物をセライト濾過し、減圧下で濃縮して、化合物2d(180mg、98%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.04-4.01 (m, 2H), 3.74-3.62 (m, 7H), 3.55 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 2.88 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 2.81 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 1.64 (s, 2H), 1.48 (s, 9H).

【0298】

【化56】



【0299】

化合物2eの調製

DIPEA(0.042mL、0.32mmol)及びPyBOP(126mg、0.24mmol)を、化合物1i(200mg、0.16mmol)及び化合物2d(51mg、0.19mmol)のDMF(4mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で4時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(100mL)で希釈し、EtOAc(2×100mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物2e(142mg、60%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1474.7.

【0300】

化合物2fの調製

化合物2e(142mg、0.096mmol)のMeOH(2mL)中溶液に、-20℃でH₂O(2mL)中のLiOH一水和物(36mg、0.86mmol)を加えた。0℃で1時間攪拌した後、反応混合物をH₂O/2N HCl水溶液(50mL/2mL)で希釈し、CHCl₃(2×100mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、濃縮して、粗製の化合物2f(128mg)を得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1334.5.

【0301】

化合物2gの調製

粗製の化合物2f(105mg、0.08mmol)のDCM(3mL)中溶液に、HCl(1,4-ジオキサン中4M、1mL)を0℃で加えた。1時間後、溶媒及び過剰のHClをN₂流により除去し、次いで残留物をHPLCにより精製して、化合物2g(47mg、46%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1234.4.

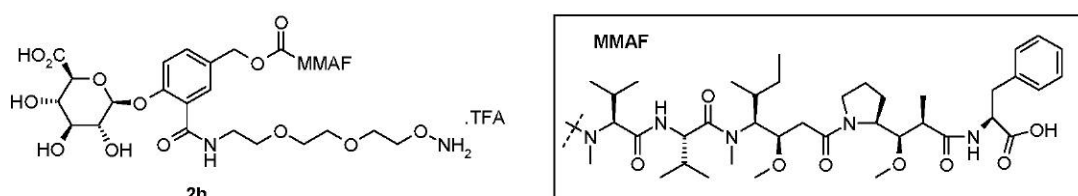
【0302】

[実施例4]

化合物2hの調製

【0303】

【化57】



実施例3において化合物2gを調製する方法と同様の方法により、化合物1j及び化合物2dから化合物2hを調製した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1248.9.

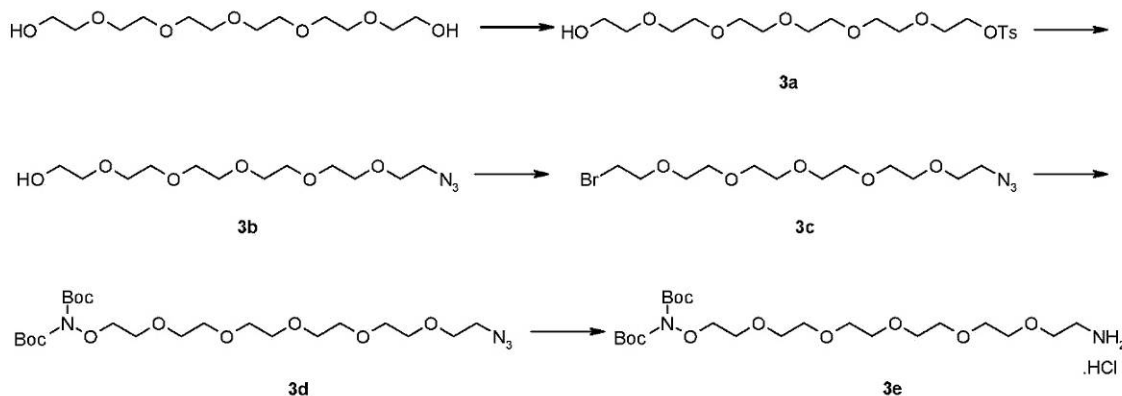
【0304】

[実施例5]

化合物3fの調製

【0305】

【化58】



【0306】

化合物3aの調製

ヘキサエチレングリコール(1.0g、3.54mmol)、Ag₂O(1.23g、5.31mmol)及びKI(117mg、0.71mmol)のDCM(10mL)中混合物を、15分間超音波処理した。懸濁液を-30℃に冷却し、p-トルエンスルホニルクロリド(688mg、3.61mmol)のDCM(13mL)中溶液を滴下添加した。次いで混合物を0℃に徐々に加温し、この温度で15分間維持した。次いで反応混合物を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮して、シロップ状残留物を得た。次いで、シロップ状残留物をカラムクロマトグラフィー(EtOAcからEtOAc/MeOH 10/1)により精製した。純粋なフラクションを真空で蒸発させて、化合物3a(1.18g、77%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.80 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.34 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.16 (m, 2H), 3.72-3.58 (m, 22H), 2.97 (br, 1H), 2.45 (s, 3H).

【0307】

化合物3bの調製

化合物3a(1.18g、2.71mmol)及びNaN₃(264mg、4.07mmol)をDMF(3mL)に溶解し

た。次いで反応混合物を100℃で加熱した。100℃で15時間後、反応混合物を濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィー(EtOAcからEtOAc/MeOH 10/1)により精製して、化合物3b(728mg、87%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.75-3.70 (m, 2H), 3.69-3.63 (m, 18H), 3.62-3.60 (m, 2H), 3.39 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 3.07 (br, 1H).

【0308】

化合物3cの調製

化合物3b(728mg、2.36mmol)のTHF(10mL)中攪拌溶液に、0℃でトリエチルアミン(0.73mL、5.21mmol)及びメタンスルホン酸無水物(619mg、3.55mmol)を加えた。2時間後、LiBr(1.03g、11.8mmol)を攪拌溶液に加え、得られた反応混合物を5時間還流した。室温に冷却した後、反応混合物を減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィー(EtOAcからEtOAc/MeOH 10/1)により精製して、化合物3c(810mg、92%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.81 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.69-3.65 (m, 18H), 3.47 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.39 (t, J = 5.2 Hz, 2H).

【0309】

化合物3dの調製

NaH(油中60%、564mg、12.9mmol)を、0℃で化合物3c(3.42g、9.24mmol)及びN, N-ジBoc-ヒドロキシルアミン(2.80g、12.0mmol、国際公開番号WO2004/018466A2における手順により合成され、これは本明細書の一部として援用する)のDMF(20mL)中攪拌混合物に加えた。反応混合物を室温に加熱し、この温度で2時間維持した。溶媒を減圧下で蒸発させ、残留物をカラムクロマトグラフィー(EtOAc/Hex 1/20から1/5)により精製して、化合物3d(3.51g、73%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.08 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 3.73 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 3.69-3.62 (m, 18H), 3.39 (t, J = 5.6 Hz, 2H), 1.53 (s, 18H).

【0310】

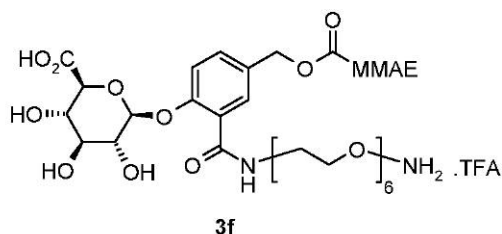
化合物3eの調製

化合物3d(123mg、0.23mmol)及びPd/C(10重量%、25mg)のMeOH(5mL)中攪拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.05mL、0.21mmol)を加えた。水素下室温で5時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(100mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物3e(118mg、95%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 3.98 (t, J = 4.4 Hz, 2H), 3.61-3.51 (m, 22H), 2.95 (br, 3H), 1.46 (s, 18H). EI-MS m/z: [M+H]⁺ 497.6.

【0311】

化合物3fの調製

【化59】



実施例3において化合物2gを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物3eから化合物3fを調製した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1366.6, [M+Na]⁺ 1389.6.

【0312】

[実施例6]

化合物3gの調製

【0313】

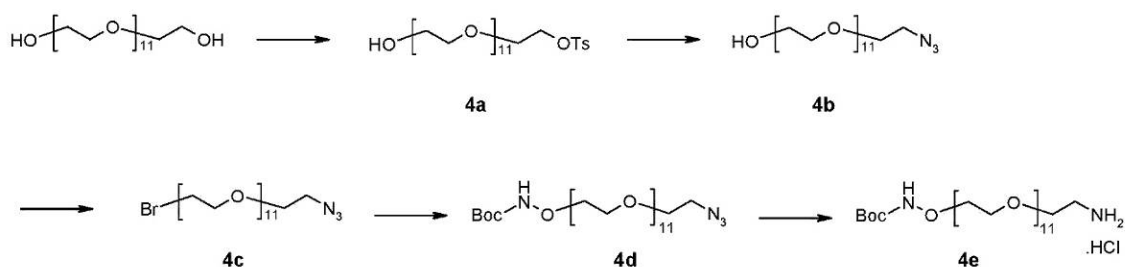
10

20

30

40

50

[illegible]

化合物4dの調製

NaH(油中60%、14mg、0.33mmol)を、0℃で化合物4c(175mg、0.27mmol)及びN-Boc-ヒドロキシルアミン(47mg、0.35mmol)のDMF(5mL)中攪拌混合物に加えた。反応混合物を室温に加温し、この温度で12時間維持した。溶媒を減圧下で蒸発させ、残留物をカラムクロマトグラフィー(MeOH/CHCl₃1/20から1.5/20)により精製して、化合物4d(148mg、78%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.00 (t, 2H), 3.66 (m, 4H), 3.39 (t, 2H), 1.47 (d, 9H).

【0320】

化合物4eの調製

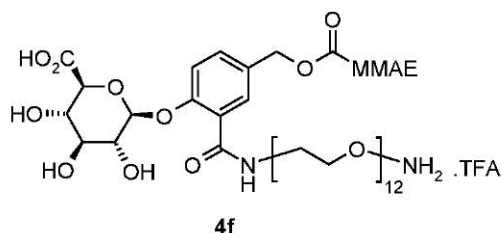
化合物4d(148mg、0.21mmol)及びPd/C(10重量%、28mg)のMeOH(5mL)中攪拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.053mL、0.21mmol)を加えた。水素下室温で30分間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(30mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物4e(142mg、96%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 4.00 (t, 2H), 3.92 (t, 2H), 3.76-3.64 (m, 42H), 3.18 (t, 2H) 1.47 (s, 9H).

【0321】

化合物4fの調製

【0322】

【化62】



実施例3において化合物2gを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物4eから化合物4fを調製した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1631.9.

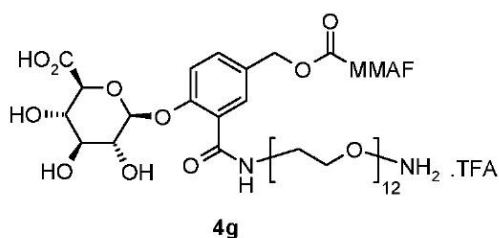
【0323】

[実施例8]

化合物4gの調製

【0324】

【化63】



実施例3において化合物2gを調製する方法と同様の方法により、化合物1j及び化合物4eから化合物4gを調製した。EI-MS m/z: EI-MS m/z [M+H]⁺ 1645.3.

【0325】

[実施例9]

化合物5eの調製

【0326】

10

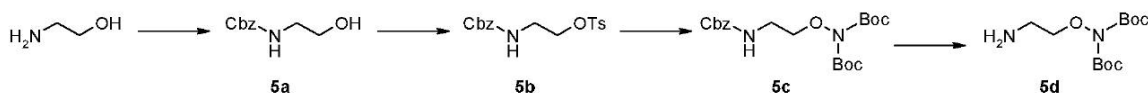
20

30

40

50

【化 6 4】



【 0 3 2 7 】

化合物5aの調製

2-アミノエタノール(10g、164mmol)のDCM(70mL)中溶液に、 N_2 下0℃でDCM(30mL)中のトリエチルアミン(3.9mL、28.1mmol)及びクロロギ酸ベンジル(30mL、213mmol)を加えた。24時間後、反応混合物を濃縮した。得られた残留物を H_2O (50mL)で希釈し、 EtOAc (3×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水 MgSO_4 で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物5a(17g、53%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.40-7.27 (m, 5H), 5.11 (s, 2H), 3.72 (s, 2H), 3.56 (s, 2H), 2.13 (br s, 1H).

【 0 3 2 8 】

化合物5bの調製

化合物5a(5.0g、25.6mmol)のDCM(70mL)中溶液に、トリエチルアミン(3.9mL、28.1mmol)を加え、 N_2 下0℃でDCM(30mL)中のDMAP(100mg、5.12mmol)及びp-トルエンスルホニルクロリド(5.4g、28.1mmol)を加えた。0℃で15時間後、反応混合物を飽和 NH_4Cl 水溶液(100mL)で希釈し、DCM(2×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水 MgSO_4 で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物5b(8.29g、92%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.77 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.40-7.28 (m, 7H), 5.07 (s, 3H), 4.09 (s, 2H), 3.45 (s, 2H), 2.43 (s, 3H).

【 0 3 2 9 】

化合物5cの調製

化合物5b(2.0g、7.23mmol)のTHF(20mL)中溶液に、 N_2 下0℃でN,N-ジBoc-ヒドロキシルアミン(1.7g、7.44mmol)及びNaH(300mg、6.86mmol)を加えた。室温で17時間攪拌した後、反応混合物を飽和 NH_4Cl 水溶液(50mL)で希釈し、 EtOAc (3×50mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水 MgSO_4 で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物5c(375mg、16%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.45-7.27 (m, 5H), 5.11 (s, 2H), 4.01 (br s, 2H), 3.44 (d, J = 4.8 Hz, 2H), 1.52 (s, 18H). EI-MS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 410.7.

【 0 3 3 0 】

化合物5dの調製

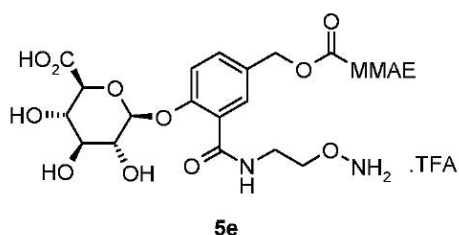
化合物5c(187mg、0.45mmol)のMeOH(20mL)中溶液に、Pd/C(10%重量%、20mg)を加え、次いで反応混合物を水素下室温で4時間攪拌した。反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(20mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物5d(120mg)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。

【 0 3 3 1 】

化合物5eの調製

【 0 3 3 2 】

【化 6 5】



5e

10

20

30

40

50

実施例3において化合物2gを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物5dから化合物5eを調製した。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1146.4.

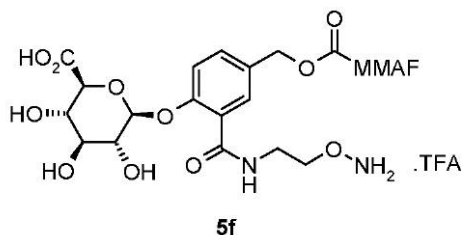
【0333】

[実施例10]

化合物5fの調製

【0334】

【化66】



10

実施例3において化合物2gを調製する方法と同様の方法により、化合物1j及び化合物5dから化合物5fを調製した。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1160.3.

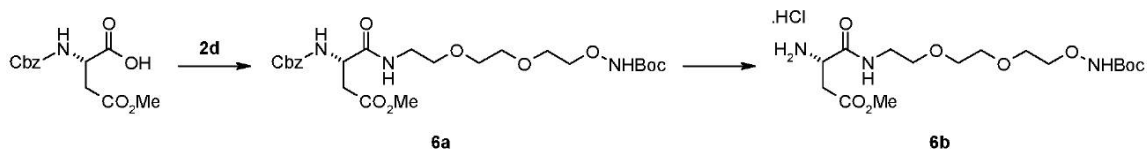
【0335】

[実施例11]

化合物6eの調製

【0336】

【化67】



20

【0337】

化合物6aの調製

DIPEA(1.2mL、9.96mmol)及びHBTU(1.69g、6.22mmol)を、Z-Asp(OMe)-OH(500mg、1.78mmol)及び化合物2d(642mg、2.98mmol)のDMF(5mL)中攪拌混合物に加えた。反応混合物を N_2 下室温で22時間攪拌した。反応混合物を H_2O (100mL)で希釈し、EtOAc($2 \times 100mL$)で抽出した。合わせた有機層を無水 Na_2SO_4 で脱水し、濾過し、濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物6a(368mg、40%)を得た。 ^1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.85-7.70 (m, 1 H), 7.45-7.28 (m, 5 H), 7.04 (s, 1H), 6.02 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 5.11 (s, 2H), 4.65-4.50 (m, 1H), 4.00 (d, $J = 3.6$ Hz, 2H), 3.72-3.30 (m, 10H), 2.80 (dd, $J = 5.6$ Hz, 2H), 1.46 (s, 9H).

【0338】

化合物6bの調製

化合物6a(150mg、0.28mmol)及びPd/C(10重量%、20mg)のMeOH(5mL)中攪拌混合物に、 $0^\circ C$ でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.07mL、0.28mmol)を加えた。水素下室温で2時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(20mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物6b(169mg)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z : $[M+1]^+$ 393.7.

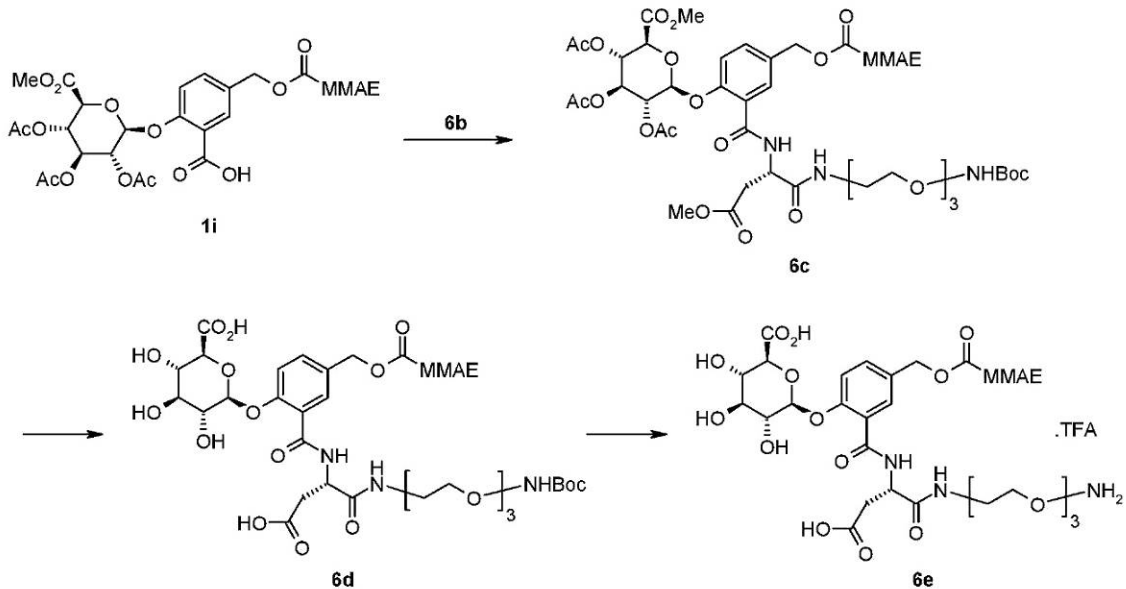
【0339】

30

40

50

【化 6 8】



【 0 3 4 0】

化合物6cの調製

DIPEA(0.022mL、0.12mmol)及びHBTU(20mg、0.05mmol)を、化合物1i(50mg、0.04mmol)及び化合物6b(22mg、0.05mmol)のDMF(1mL)中攪拌混合物に加えた。反応混合物をN₂下室温で14時間攪拌した。次いで、反応混合物をH₂O(10mL)で希釈し、EtOAc(2×20mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物6c(38mg、60%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1604.5.

【 0 3 4 1】

化合物6dの調製

化合物6c(38mg、0.023mmol)のMeOH(1mL)中溶液に、0℃でH₂O(1mL)中のLiOH一水和物(5mg、0.118mmol)を加えた。0℃で2時間後、溶液のpHをAcOHで4～5に調節し、減圧下で濃縮した。残留物をDMSO(1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物6d(26mg、78%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1450.5.

【 0 3 4 2】

化合物6eの調製

TFA(0.3mL)を、化合物6d(26mg、0.018mmol)のDCM(1.5mL)中攪拌溶液に加えた。0℃で2時間攪拌した後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をDMSO(1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物6e(19.5mg、80%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1350.6.

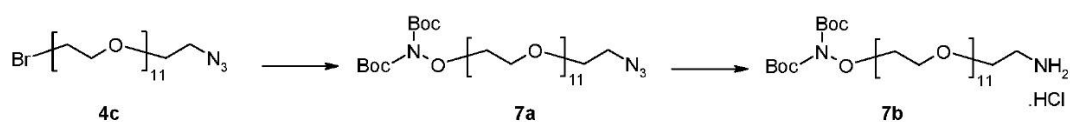
【 0 3 4 3】

[実施例12]

化合物7eの調製

【 0 3 4 4】

【化 6 9】



【 0 3 4 5】

10

20

30

40

50

化合物7aの調製

NaH(60重量%、500mg、12.49mmol)を、0℃で化合物4c(6.10g、9.61mmol)及びN,N-ジBoc-ヒドロキシルアミン(2.69g、11.53mmol)のDMF(90mL)中攪拌混合物に加えた。反応混合物を室温に加熱し、この温度で12時間維持した。反応混合物を減圧下で蒸発させ、得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製した。純粋なフラクションを真空で蒸発させて、化合物7a(5.70g、75%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.05 (t, 2H), 3.71 (t, 2H), 3.64 (m, 42H), 3.37 (t, 2H), 1.51 (d, 18H).

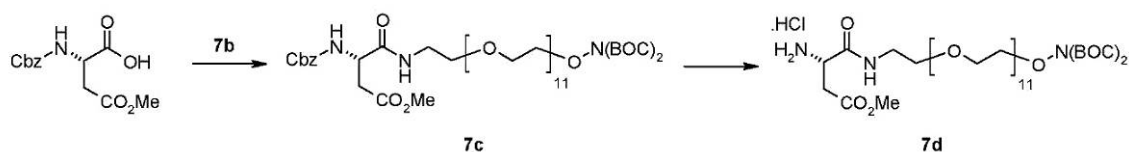
【0346】

化合物7bの調製

化合物7a(5.70g、7.21mmol)及びPd/C(10重量%、570mg)のMeOH(100mL)中攪拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、1.9mL、7.2mmol)を加えた。水素下室温で30分間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(30mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物7b(5.10g、87%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 4.21 (t, 2H), 4.07 (s, 2H), 3.95-3.78 (m, 42H), 3.32 (s, 2H) 1.63 (s, 18H).

【0347】

【化70】



【0348】

化合物7cの調製

DIPEA(0.25mL、1.42mmol)及びHBTU(337g、0.89mmol)を、Z-Asp(OMe)-OH(100mg、0.36mmol)及び化合物7b(340mg、0.43mmol)のDMF(10mL)中攪拌混合物に加えた。反応混合物をN₂下室温で20時間攪拌した。次いで、反応混合物をH₂O(100mL)で希釈し、EtOAc(2×100mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物7c(123mg、58%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1024.2.

【0349】

化合物7dの調製

化合物7c(120mg、0.12mmol)及びPd/C(10重量%、20mg)のMeOH(5mL)中攪拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.03mL、0.12mmol)を加えた。水素下室温で2時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(20mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物7d(120mg)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。

【0350】

化合物7eの調製

【0351】

10

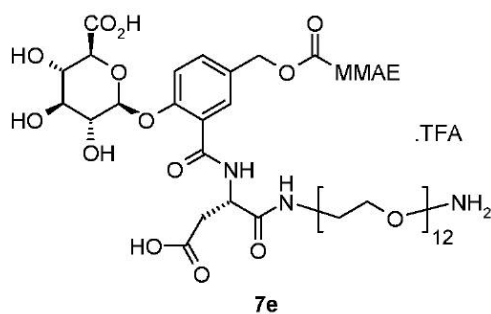
20

30

40

50

【化 7 1】



実施例11において化合物6eを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物7dから化合物7eを調製した。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1747.1.

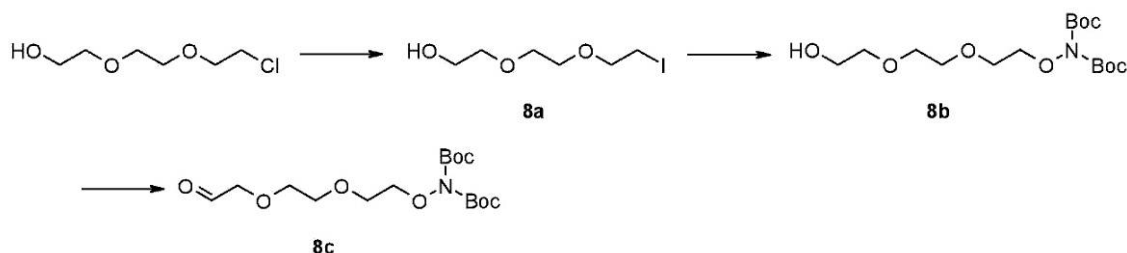
【 0 3 5 2】

[実施例13]

化合物8fの調製

【 0 3 5 3】

【化 7 2】



【 0 3 5 4】

化合物8aの調製

2-(2-(2-クロロエトキシ)エトキシ)エタノール(5.0g、29.6mmol)のアセトン(30mL)中溶液に、NaI(13.3g、88.9mmol)を加えた。反応混合物を12時間還流した。反応完結後、反応混合物を濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物8a(7.0g、91%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 3.80-3.73 (m, 4H), 3.72-3.65 (m, 4H), 3.63-3.61 (m, 2H), 3.27 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H).

【 0 3 5 5】

化合物8bの調製

NaH(500mg、12.49mmol)を、 N_2 下 0°C で化合物8a(2.0g、7.69mmol)及びN,N-ジBoc-ヒドロキシルアミン(2.33g、10.00mmol)のDMF(20mL)中攪拌混合物に加えた。室温で17時間攪拌した後、反応混合物を飽和 NH_4Cl 水溶液(50mL)で希釈し、EtOAc(3×50 mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水 MgSO_4 で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物8b(1.54g、54%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.45-7.27 (m, 5H), 5.11 (s, 2H), 4.01 (br s, 2H), 3.44 (d, $J = 4.8$ Hz, 2H), 1.52 (s, 18H). EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 410.7.

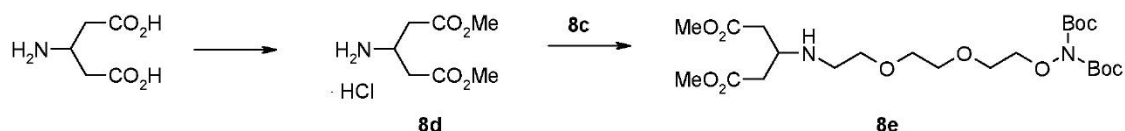
【 0 3 5 6】

化合物8cの調製

化合物8b(123mg、0.242mmol)のDMSO(2mL)及びDCM(2mL)中攪拌溶液に、 N_2 下 0°C で $\text{SO}_3 \cdot \text{ピリジン}$ 錯体(116mg、0.726mmol)及びトリエチルアミン(0.17mL、1.21mmol)を加えた。1時間後、反応混合物を飽和 NH_4Cl 水溶液(10mL)で希釈し、DCM(2×10 mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水 MgSO_4 で脱水し、濾過した。減圧下で濃縮して化合物8c(88mg)を得、これを更には精製せずに使用した。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.74 (s, 1H), 4.19 (s, 2H), 3.77-3.69 (m, 6H), 3.42 (m, 2H).

【 0 3 5 7】

【化 7 3】



【 0 3 5 8】

化合物8dの調製

□-グルタミン酸(500mg、0.339mmol)のMeOH(10mL)中溶液に、 N_2 下0℃で塩化チオニル(0.148mL、2.04mmol)を加えた。24時間後、反応混合物を濃縮して化合物8d(697mg)を得、これを更には精製せずに使用した。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.40-7.27 (m, 5H), 5.11 (s, 2H), 3.72 (s, 2H), 3.56 (s, 2H), 2.13 (br s, 1H).

【 0 3 5 9】

化合物8eの調製

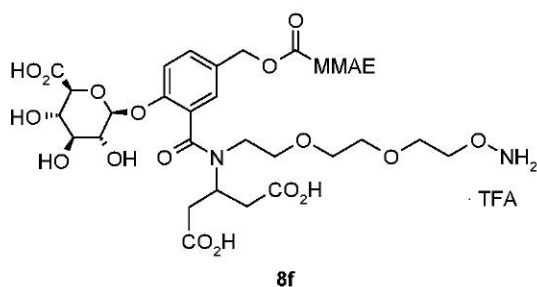
化合物8d(34mg、0.16mmol)及び化合物8c(88mg、0.24mmol)のMeOH(5mL)中溶液に、 N_2 下室温で NaCNBH_3 (10mg、0.16mmol)を加えた。3時間後、反応混合物を濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物8e(53mg、63%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 7.45-7.25 (m, 10H), 5.60 (br s, 2H), 5.03 (s, 4H), 3.80-3.25 (m, 20H), 2.81 (s, 4H).

【 0 3 6 0】

化合物8fの調製

【 0 3 6 1】

【化 7 4】



実施例11において化合物6eを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物8eから化合物8fを調製した。EI-MS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 1365.0.

【 0 3 6 2】

[実施例14]

化合物9jの調製

【 0 3 6 3】

10

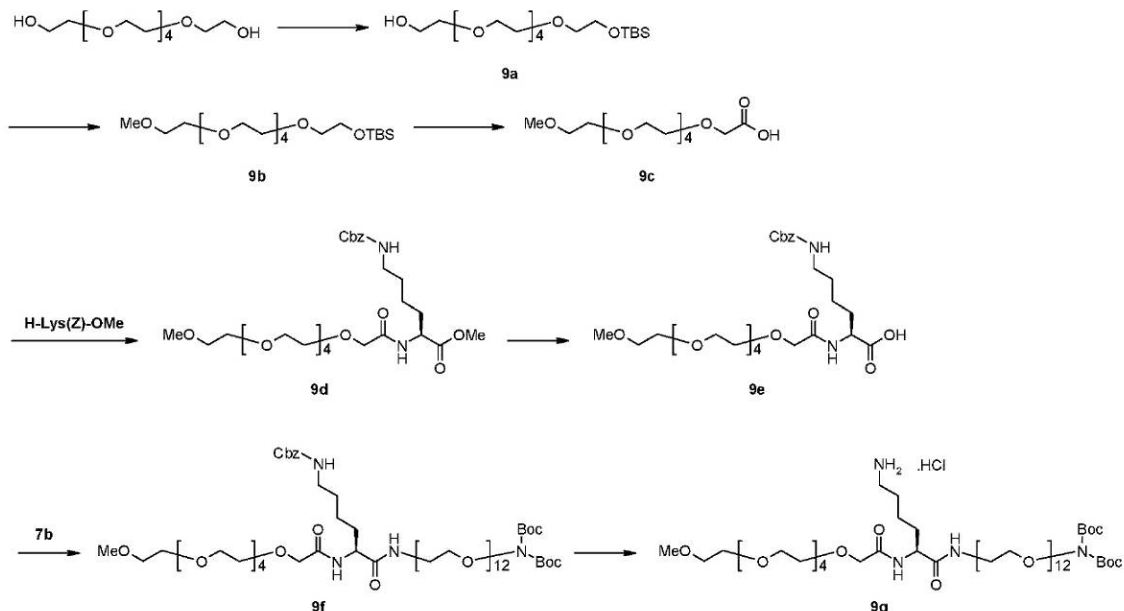
20

30

40

50

【化 7 5】



10

【 0 3 6 4】

化合物9aの調製

ヘキサエチレングリコール(10.48g、37.12mmol)のDCM(400mL)中溶液に、 N_2 下0℃でイミダゾール(3.20g、44.54mmol)を加えた。5分後、反応混合物を N_2 雰囲気下同一温度でTBSCl(5.60g、37.12mmol)のDCM(50mL)中溶液に滴下添加した。反応混合物を0℃で攪拌し、 N_2 下室温に21時間加温した。反応完結後、反応混合物を水(200mL)で希釈し、DCM(2×100mL)で抽出した。有機層を無水 Na_2SO_4 で脱水し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製した。純粋なフラクションを真空で蒸発させて、化合物9a(6.70g、46%)を得た。 ^1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.77-3.71 (m, 4H), 3.66-3.60 (m, 18H), 3.56-3.54 (t, 2H), 0.89 (s, 9H), 0.06 (s, 6H).

【 0 3 6 5】

化合物9bの調製

化合物9a(3.32g、8.37mmol)の乾燥THF(40mL)中溶液に、 N_2 下0℃でNaH(油中55%、438mg、10.05mmol)を加えた。30分後、MeI(0.78mL、12.56mmol)を N_2 下同一温度で反応混合物に加えた。反応混合物を攪拌し、 N_2 下室温に18時間加温した。反応完結後、 H_2O (10mL)でクエンチし、EA(3×10mL)で抽出した。有機層を合わせ、飽和 NH_4Cl 水溶液(5mL)及びブライン(10mL)で洗浄し、無水 Na_2SO_4 で脱水し、減圧下で蒸発させた。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製した。純粋なフラクションを真空で蒸発させて、化合物9b(3.16g、92%)を得た。 ^1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 3.78-3.75 (t, 2H), 3.65 (s, 20H), 3.57-3.54 (t, 4H), 3.38 (s, 3H), 0.89 (s, 9H), 0.06 (s, 6H).

【 0 3 6 6】

化合物9cの調製

化合物9b(3.16g、7.69mmol)のアセトン(100mL)中溶液に、 N_2 下0℃でジョーンズ試薬(10mL)を加えた。反応混合物を攪拌し、 N_2 下室温に17時間加温した。反応完結後、反応混合物を濾過し、減圧下で蒸発させた。残留物を H_2O (100mL)で希釈し、 $CHCl_3$ (3×50mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水 Na_2SO_4 で脱水し、減圧下で蒸発させた。得られた粗製の化合物9c(2.28g、95%)を更には精製せずに使用した。 ^1H -NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 4.16 (s, 2H), 3.76-3.75 (t, 2H), 3.69-3.67 (m, 16H), 3.57-3.55 (t, 2H), 3.38 (s, 3H).

【 0 3 6 7】

化合物9dの調製

50

DIPEA(3.8mL、22.03mmol)、HOBt(1.29g、9.55mmol)及びEDC・HCl(1.83g、9.55mmol)を、化合物9c(2.28g、7.34mmol)及びH-Lys(Z)-OMe塩酸塩(2.91g、8.81mmol)のDMF(30mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を濃縮した。カラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物9d(1.23g、72%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.38-7.31 (m, 5H), 5.10 (s, 2H), 5.00 (s, 1H) 4.68-4.62 (m, 1H), 4.03 (s, 2H), 3.75 (s, 3H), 3.68-3.64 (m, 16H), 3.56 (t, 2H), 3.39 (s, 3H), 3.20 (m, 2H), 1.89 (m, 1H), 1.74 (m, 1H), 1.55(m, 1H), 1.40 (m, 1H). EI-MS m/z: [M+H]⁺ 586.8, [M+Na]⁺ 608.9.

【0368】

化合物9eの調製

化合物9d(2.16g、3.68mmol)のTHF/MeOH/H₂O(18mL/6mL/6mL)中溶液に、N₂下0℃でLiOH-水和物(307mg、7.31mmol)を加えた。反応混合物を室温で1時間攪拌した。次いで溶液のpHを1N HCl水溶液で2~3に調節した。反応混合物をH₂O(20mL)中に注ぎ入れ、DCM(3×50mL)で抽出した。有機層を合わせ、Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮して化合物9e(2.28g、99%)を得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.34-7.30 (m, 5H), 5.08 (s, 2H), 4.66-4.60 (q, 1H), 4.01 (s, 2H), 3.67-3.55 (m, 18H), 3.37 (s, 3H), 3.20 (m, 2H), 1.87 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.53(m, 1H), 1.38 (m, 1H).

【0369】

化合物9fの調製

DIPEA(0.45mL、2.63mmol)、HOBt(154mg、0.11mmol)及びEDC・HCl(218mg、0.11mmol)を、化合物9e(502mg、0.88mmol)及び化合物7b(700mg、0.88mmol)のDMF(8mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(20mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×20mL)で抽出した。合わせた有機層をNaHCO₃水溶液(20mL)及びブライン(20mL)で洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物9f(499mg、43%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.35-7.30 (m, 5H), 6.83 (s, 1H), 5.15 (s, 1H), 5.08 (s, 2H), 4.43 (q, 1H) 4.07 (t, 1H), 3.65-3.60 (m, 54H), 3.55-3.53 (m, 4H), 3.37 (s, 3H), 3.16 (m, 2H), 1.85 (m, 1H), 1.53-1.52 (d, 19H), 1.38(m, 2H). EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1337.5.

【0370】

化合物9gの調製

化合物9f(499mg、0.37mmol)及びPd/C(10重量%、50mg)のMeOH(20mL)中攪拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.1mL、0.37mmol)を加えた。水素下室温で90分間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(10mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物9g(458mg、98%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1218.6.

【0371】

10

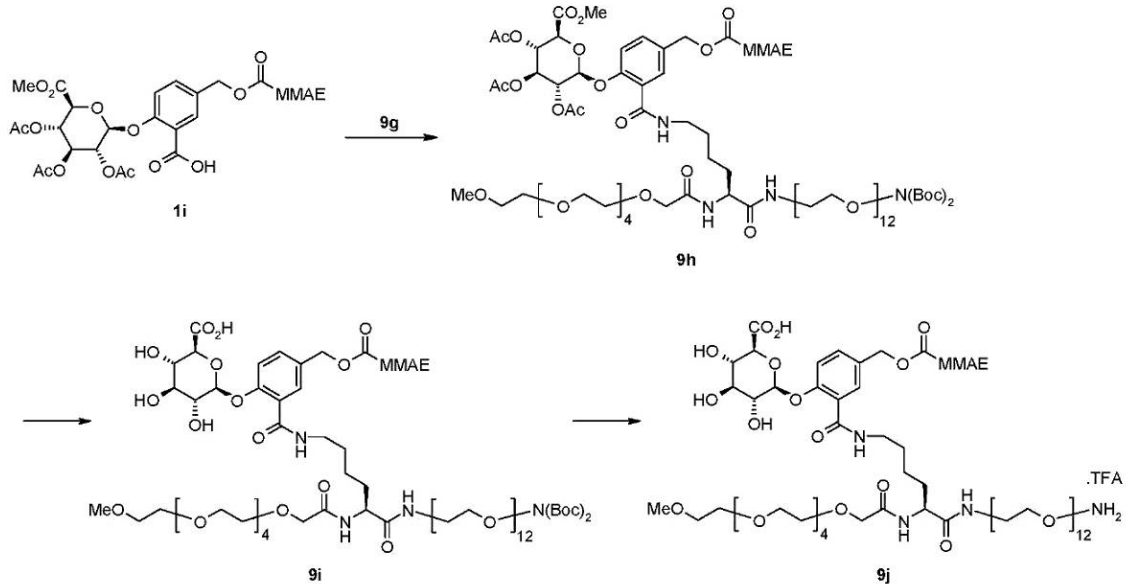
20

30

40

50

【化 7 6】



【 0 3 7 2 】

化合物9hの調製

DIPEA(0.019mL、0.11mmol)及びHBTU(18mg、0.05mmol)を、化合物1i(45mg、0.04mmol)及び化合物9g(57mg、0.05mmol)のDMF(0.5mL)中攪拌混合物に加えた。反応混合物をN₂下室温で14時間攪拌した。反応混合物をH₂O/DMSO(1.5mL/1.5mL)で希釈し、HPLCにより精製して、化合物9h(65mg、57%)を得た。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1181.7.

【 0 3 7 3 】

化合物9iの調製

化合物9h(65mg、0.03mmol)のMeOH(1.5mL)中溶液に、0℃でH₂O(1.5mL)中のLiOH一水和物(10mg、0.24mmol)を加えた。0℃で1時間後、溶液のpHをAcOHで4~5に調節し、減圧下で濃縮した。次いで反応混合物をH₂O/DMSO(1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物9i(45mg、55%)を得た。EI-MS m/z: 1/2[M+Na]⁺ 1098.7.

【 0 3 7 4 】

化合物9jの調製

TFA(0.2mL)を、化合物9i(45mg、0.02mmol)のDCM(1mL)中攪拌溶液に加えた。0℃で30分間攪拌した後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をH₂O/DMSO(1mL/1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物9j(14mg、32%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1026.3.

【 0 3 7 5 】

[実施例15]

化合物10cの調製

【 0 3 7 6 】

10

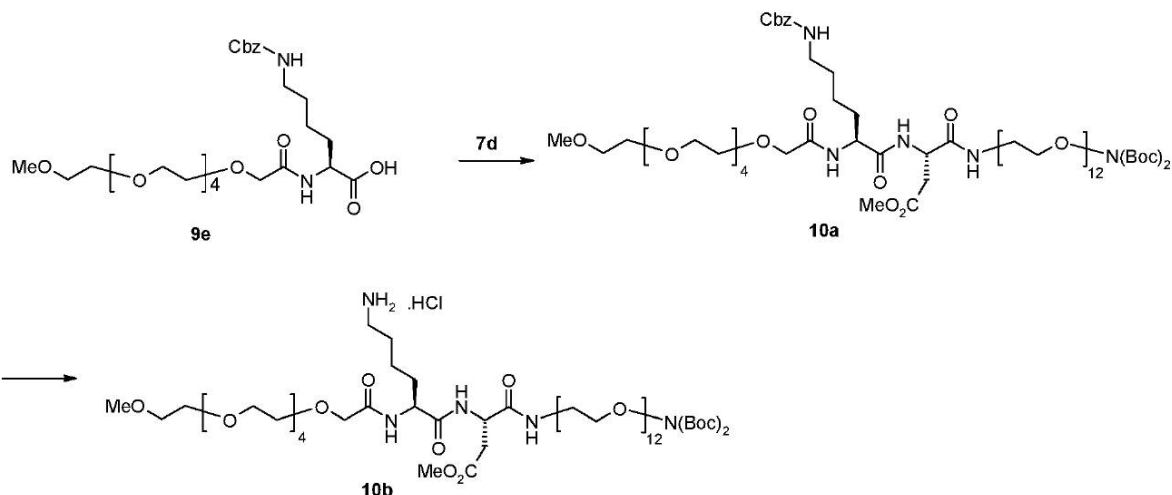
20

30

40

50

【化 7 7】



【 0 3 7 7】

化合物10aの調製

DIPEA(0.03mL、0.17mmol)、HOBt(10mg、0.075mmol)及びEDC・HCl(14mg、0.075mmol)を、化合物9e(33mg、0.058mmol)及び化合物7d(54mg、0.058mmol)のDMF(3mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(10mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×10mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(8mL)、飽和NaHCO₃水溶液(8mL)及びブライン(8mL)で洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物10a(61mg、73%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1445.0, [M+H-Boc]⁺ 1344.9.

【 0 3 7 8】

化合物10bの調製

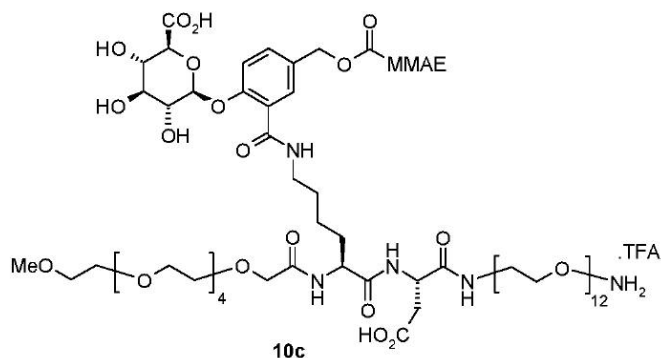
化合物10a(60mg、0.04mmol)及びPd/C(10重量%、30mg)のMeOH(10mL)中攪拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.01mL、0.01mmol)を加えた。水素下室温で3時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(40mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物10b(56mg、100%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1311.0, [M+Na]⁺ 1332.9.

【 0 3 7 9】

化合物10cの調製

【 0 3 8 0】

【化 7 8】



実施例14において化合物9jを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物10bから化合物10cを調製した。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1083.8.

【 0 3 8 1】

【実施例16】

【化 7 9】



【化 8 0】



30

40

50

δ 4.17 (s, 2H), 3.80-3.60 (m, 21H), 3.47 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H).

【0388】

化合物11dの調製

化合物11c(1.0g、2.67mmol)及びNaN₃(261mg、4.01mmol)をDMF(3mL)に溶解した。反応混合物を100℃で5時間加熱した。反応完結後、反応混合物を濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィー(EtOAcからEtOAc/MeOH 10/1)により精製して、化合物11d(854mg、95%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.17 (s, 2H), 3.76-3.64 (m, 21H), 3.39 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H).

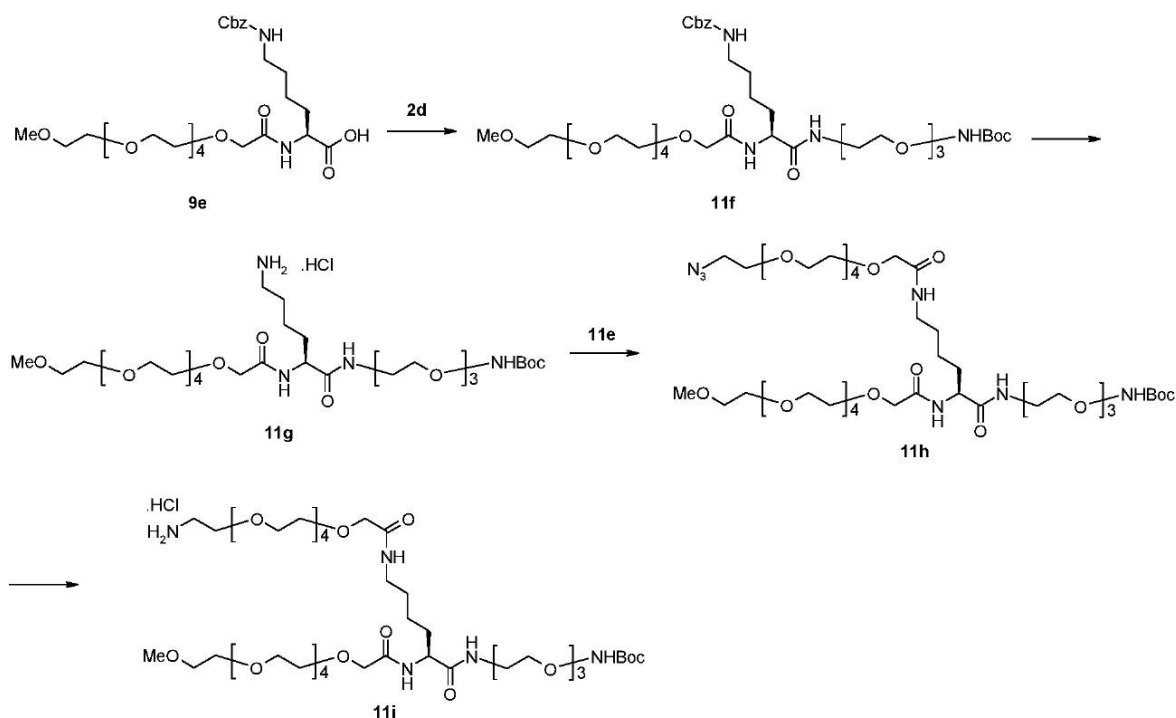
【0389】

化合物11eの調製

化合物11d(854mg、2.54mmol)のMeOH(25mL)中攪拌溶液に、0℃で2M NaOH水溶液(6.3mL、12.64mmol)を加えた。反応混合物を室温で3時間攪拌した。次いで溶液を減圧下で濃縮した。得られた懸濁液を0℃で冷却しながら2N HCl水溶液で酸性化した。残留物をCHCl₃(8×50mL)により抽出した。有機層を合わせ、Na₂SO₄で脱水し、濃縮して、化合物11e(783mg、96%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.16 (s, 2H), 3.76-3.65 (m, 18H), 3.40 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H).

【0390】

【化81】



【0391】

化合物11fの調製

DIPEA(0.47mL、2.72mmol)、HOBt(160mg、1.18mmol)及びEDC・HCl(226mg、1.18mmol)を、化合物9e(520mg、0.91mmol)及び化合物2d(270mg、0.91mmol)のDMF(5mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(20mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×30mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(15mL)、飽和NaHCO₃水溶液(15mL)及びブライン(15mL)で洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物11f(631mg、85%)を得た。

EI-MS m/z : [M+H]⁺ 819.1, [M+H-Boc]⁺ 719.1 [M+Na+]⁺ 841.1.

【0392】

化合物11gの調製

化合物11f(300mg、0.36mmol)及びPd/C(10重量%、70mg)のMeOH(20mL)中撹拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.08mL、0.08mmol)を加えた。水素下室温で3時間撹拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(40mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物11g(200mg、99%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 685.1, $[M+Na]^+$ 707.1.

【0393】

化合物11hの調製

DIPEA(0.024mL、0.41mmol)、HOBt(24mg、0.18mmol)及びEDC・HCl(34mg、0.18mmol)を、化合物11g(100mg、0.14mmol)及び化合物11e(44mg、0.14mmol)のDMF(5mL)中撹拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間撹拌した後、反応混合物をH₂O(10mL)中に注ぎ入れ、DCM(3×10mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物11h(73mg、53%)を得た。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 988.4, $[M+Na-Boc]^+$ 888.2, $[M+Na]^+$ 1010.4.

【0394】

化合物11iの調製

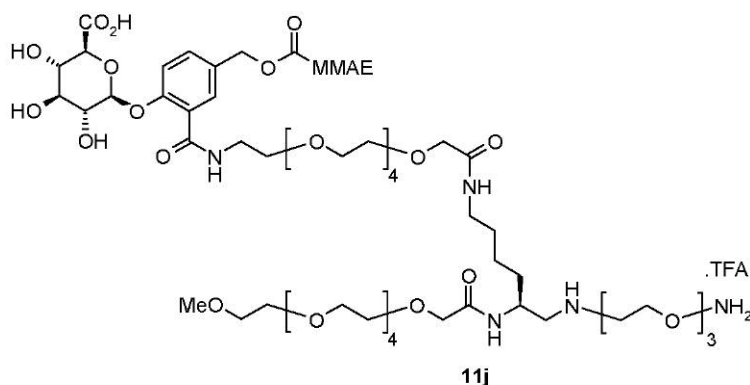
化合物11h(73mg、0.07mmol)及びPd/C(10重量%、10mg)のMeOH(7mL)中撹拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.018mL、0.018mmol)を加えた。水素下室温で2時間撹拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(30mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物11i(72mg、99%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 962.4, $[M+Na]^+$ 984.4.

【0395】

化合物11jの調製

【0396】

【化82】



実施例14において化合物9jを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物11iから化合物11jを調製した。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1932.5.

【0397】

[実施例18]

化合物11kの調製

【0398】

10

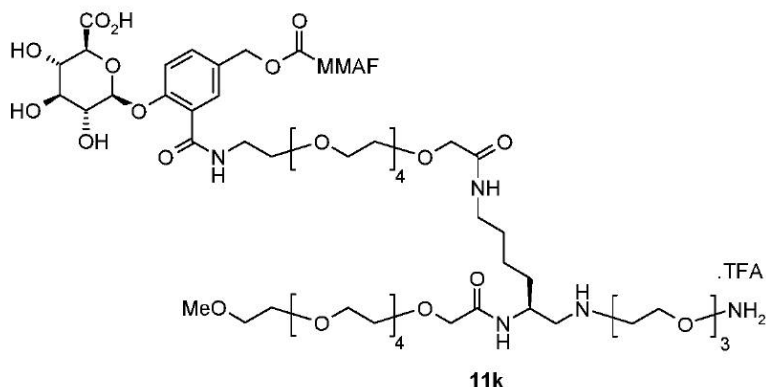
20

30

40

50

【化 8 3】



10

実施例14において化合物9jを調製する方法と同様の方法により、化合物1j及び化合物1iから化合物11kを調製した。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1947.1.

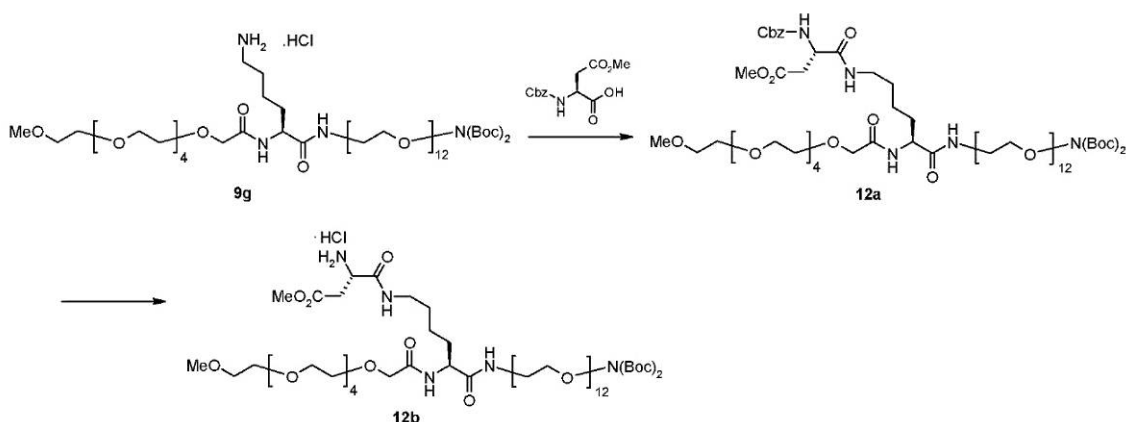
【 0 3 9 9】

[実施例19]

化合物12cの調製

【 0 4 0 0】

【化 8 4】



20

30

【 0 4 0 1】

化合物12aの調製

DIPEA(0.13mL、0.77mmol)及びHBTU(110mg、0.35mmol)を、化合物9g(235mg、0.1929mmol)及びZ-Asp(OMe)-OH(54mg、0.212mmol)のDMF(5mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(20mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×20mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(7mL)、飽和NaHCO₃水溶液(7mL)及びブライン(7mL)で洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物12a(260mg、93%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.07 (t, 1H), 7.62 (t, 1H), 7.54-7.52 (m, 1H), 5.73 (s, 2H), 4.27-4.25 (q, 1H), 3.96 (t, 2H), 3.88 (s, 2H), 3.82 (s, 2H), 3.58-3.48 (m, 52H), 3.19-3.18 (m, 3H), 3.04-3.03 (m, 3H), 1.44 (s, 18H), 1.39-1.37 (m, 3H), 1.21-1.19 (m, 3H). EI-MS m/z : $[M+H-2Boc]^+$ 1031.6.

40

【 0 4 0 2】

化合物12bの調製

化合物12a(260mg、0.179mmol)及びPd/C(10重量%、72mg)のMeOH(20mL)中攪拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.040mL、0.179mmol)を加えた。水素下室温で3時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(40mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物12b(242mg、100%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 625.0, $[M+H-Boc]^+$ 525.0, $[M+H$

50

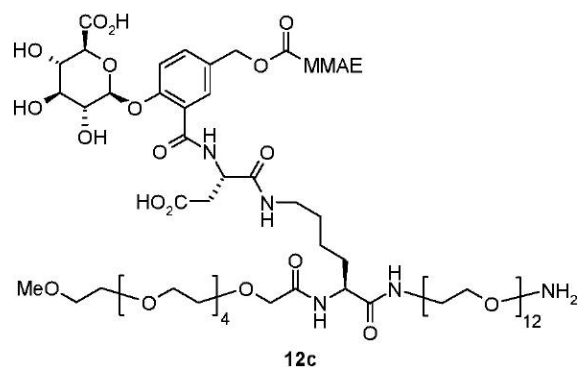
-2Boc]⁺ 424.9.

【0403】

化合物12cの調製

【0404】

【化85】



10

実施例14において化合物9jを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物12bから化合物12cを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1083.5.

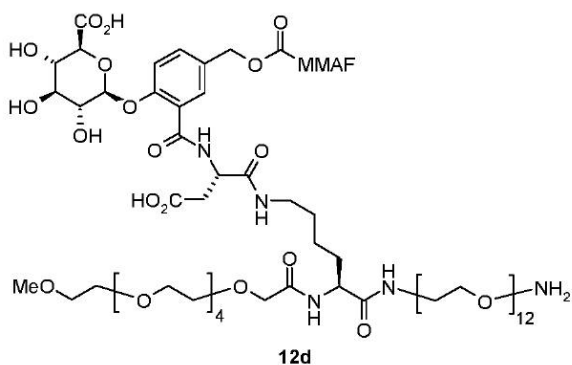
【0405】

[実施例20]

化合物12dの調製

【0406】

【化86】



20

30

実施例14において化合物9jを調製する方法と同様の方法により、化合物1j及び化合物12bから化合物12dを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1090.5.

【0407】

[実施例21]

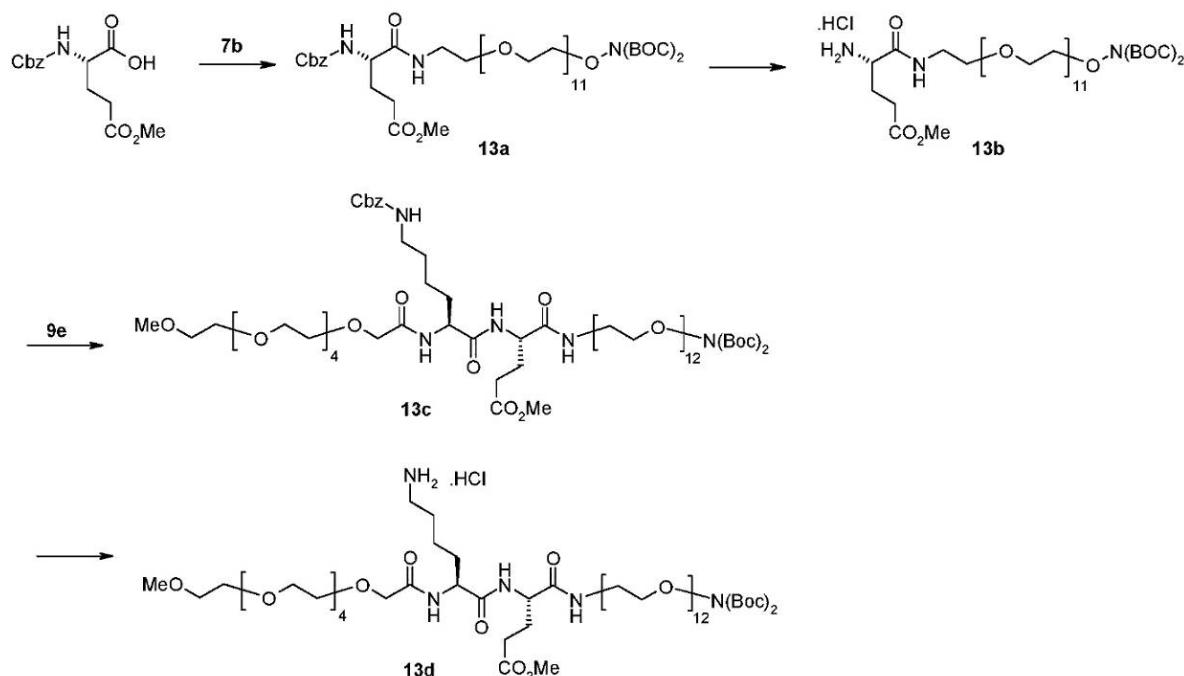
化合物13eの調製

【0408】

40

50

【化 8 7】



【 0 4 0 9 】

化合物13aの調製

DIPEA(0.22mL、1.25mmol)及びHBTU(356mg、0.94mmol)を、Z-Glu(OMe)-OH(222mg、0.75mmol)及び化合物7b(500mg、0.62mmol)のDMF(5.0mL)中攪拌混合物に加えた。反応混合物をN₂下室温で14時間攪拌した。反応混合物を水(200mL)で希釈し、EA(3×100mL)で抽出した。有機層を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物13a(370mg、57%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.34 (br, 5H), 6.73 (br, 1H), 5.72 (d, J=7.6Hz, 1H), 5.06 (br, 2H), 4.28-4.18 (m, 1H), 4.07 (t, J=4.4Hz, 2H), 3.76-3.71 (m, 2H), 3.70-3.50 (m, 45H), 3.48-3.42 (m, 2H), 2.53-2.36 (m, 2H), 2.20-2.08 (m, 1H), 2.00-1.88 (m, 1H), 1.53 (s, 18H). EI-MS m/z: [M+Na]⁺ 1061.2.

【 0 4 1 0 】

化合物13bの調製

1,4-ジオキサン中4N HCl(0.08mL、0.32mmol)を、0℃で化合物13a(370mg、0.35mmol)及びPd/C(38mg)のMeOH(8mL)中攪拌混合物に加えた。水素下室温で20時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(400mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物13b(301mg、90%)を黄色液体として得、これを更には精製せずを使用した。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.41 (br, 1H), 8.09 (br, 3H), 4.13 (br, 1H), 3.85-3.56 (m, 51H), 2.55 (br, 2H), 2.38-2.18 (m, 2H), 1.53 (s, 18H). EI-MS m/z: [M+H]⁺ 905.0.

【 0 4 1 1 】

化合物13cの調製

DIPEA(0.165mL、0.96mmol)及びHBTU(279mg、0.74mmol)を、化合物13b(300mg、0.32mmol)及び化合物9e(366mg、0.64mmol)のDMF(5.0mL)中攪拌混合物に加えた。反応混合物をN₂下室温で14時間攪拌した。反応混合物を水(200mL)で希釈し、EtOAc(3×100mL)で抽出した。有機層を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物13c(290mg、62%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.40-7.32 (m, 7H), 7.00 (br, 1H), 6.73 (br, 1H), 5.07 (br, 2H), 4.44-4.36 (m, 2H), 4.07 (t, J=4.8Hz, 2H), 4.02 (br, 2H), 3.73 (t, J = 5.2Hz, 2H), 3.71-3.52 (m, 68H), 3.24-3.14 (m, 2H), 2.52-2.34 (

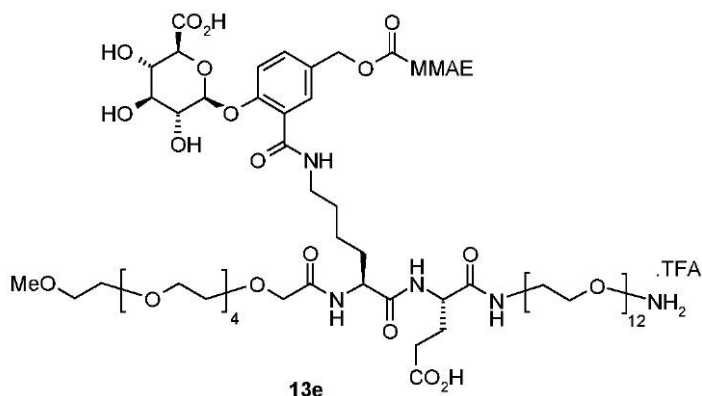
【 0 4 1 2 】

Pd/C(21mg)を、0℃で化合物13c(290mg、0.19mmol)のMeOH(5mL)中攪拌混合物に加えた。水素下室温で20時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(400mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物13c(247mg、94%)を黄色液体として得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.20 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.74 (br, 1H), 7.30 (br, 1H), 4.66-4.48 (m, 2H), 4.07 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 4.01 (br, 2H), 3.74-3.62 (m, 70H), 3.57-3.53 (m, 2H), 3.04-2.98 (m, 2H), 2.24-2.15 (m, 2H), 2.14-2.06 (m, 2H), 1.99-1.86 (m, 4H), 1.84-1.74 (m, 2H), 1.53 (s, 18H). EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1325.5.

【 0 4 1 3 】

【 0 4 1 4 】

【化 8 8】

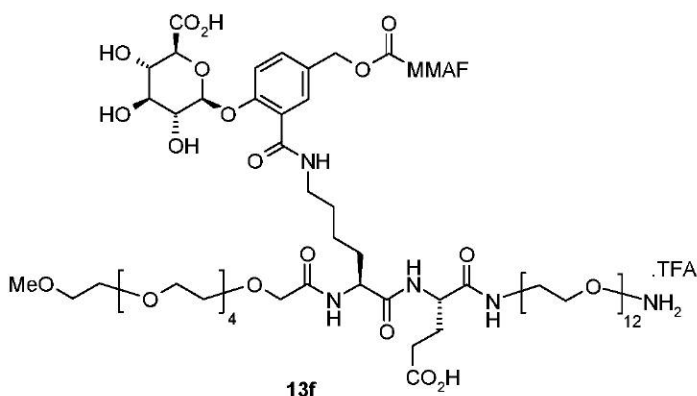


【 0 4 1 5 】

化合物13fの調製

【 0 4 1 6 】

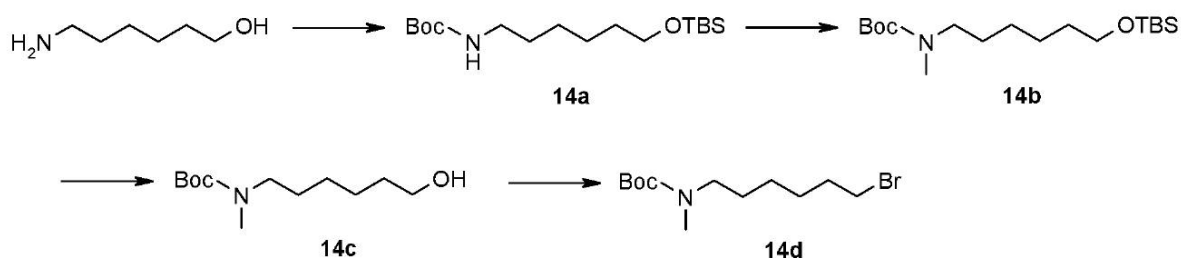
【化 8 9】



【 0 4 1 7 】

[实施例 23]

【化 9 0】



10

化合物14aの調製

6-アミノ-1-ヘキサノール(5.0g、42.6mmol)のDCM(30mL)中溶液に、室温でジ-tert-ブチルジカーボネート(9.3g、42.6mmol)を加えた。18時間攪拌した後、トリエチルアミン(8.7mL、63.9mmol)及びt-ブチルジメチルシリルクロリド(7.7g、51.2mmol)を0℃で反応混合物に加えた。室温で24時間後、反応混合物を飽和NH₄Cl水溶液(200mL)で希釈した。得られた混合物をEtOAc(100mL)で抽出した。有機層をブライン(100mL)で洗浄し、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物14a(12g、84%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.50 (br s, 1H), 3.58 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.10 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 1.72-1.20 (m, 17H), 0.88 (s, 9H), 0.04 (s, 6H).

20

化合物14bの調製

化合物14a(6.0g、18.1mmol)のTHF(30mL)中溶液に、N₂下0℃でNaH(油中60%、2.4g、54.2mmol)及びヨウ化メチル(3.4mL、54.2mmol)を加えた。14時間後、反応混合物をH₂O(50mL)で希釈し、EtOAc(2×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物14b(4.3g、69%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.59 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.17 (br s, 2H), 2.82 (s, 3H), 1.62-1.21 (m, 17H), 0.88 (s, 9H), 0.04 (s, 6H).

30

化合物14cの調製

化合物14b(4.3g、12.4mmol)のTHF(15mL)中溶液に、N₂下0℃でTBAF(THF中1M、15mL、14.9mmol)を加えた。5時間後、反応混合物をH₂O(50mL)で希釈し、ジエチルエーテル(2×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物14c(3.0g、98%)を得た。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 3.63 (br s, 2H), 3.20 (br s, 2H), 2.82 (s, 3H), 1.65-1.23 (m, 17H).

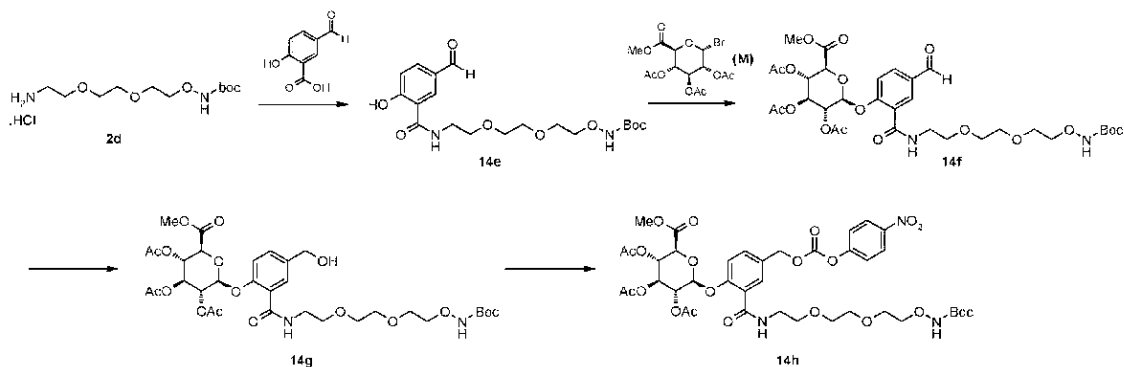
化合物14dの調製

化合物14c(3.0g、12.9mmol)のTHF(30mL)中溶液に、N₂下0℃で四臭化炭素(6.4g、19.4mmol)及びトリフェニルホスフィン(5.1g、19.4mmol)を加えた。2時間後、反応混合物をシリカゲルに通して濾過し、ジエチルエーテル(100mL)で洗浄した。濾液を濃縮し、カラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物14d(3.3g、86%)を得た。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 3.40 (t, J = 6.8 Hz, 2H), 3.19 (br s, 2H), 2.83 (s, 3H), 1.90-1.70 (m, 2H), 1.65-1.40 (m, 13H), 1.38-1.25 (m, 2H).

40

【 0 4 2 3 】

【化 9 1】



10

【 0 4 2 4 】

化合物14eの調製

DIPEA(53.0mL、302.5mmol)及びEDC・HCl(35.7g、186.2mmol)を、0℃で化合物2d(35.0g、116.4mmol)及び5-ホルミルサリチル酸(21.3g、128.0mmol)のDCM(1.6L)中攪拌混合物に加えた。反応混合物をN₂下室温で20時間攪拌した。反応混合物を飽和NH₄Cl水溶液(1.5L)で希釈し、DCM(2×1.5L)で抽出した。合わせた有機層をブライン(1.5L)で洗浄し、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物14e(28.2g、59%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 13.37 (br s, 1H), 9.86 (s, 1H), 8.20 (s, 1H), 8.07 (br s, 2H), 7.90 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.07 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.06-4.01 (m, 2H), 3.79-3.66 (m, 10H), 1.47 (s, 9H).

20

【 0 4 2 5 】

化合物14fの調製

化合物14e(28.0g、67.9mmol)のMeCN(500mL)中溶液に、化合物M(29.7g、74.7mmol)、4 Åモレキュラーシーブ(30g)及びAg₂O(62.9g、272mmol)を加えた。N₂下室温で12時間攪拌した後、反応混合物を濃縮し、H₂O(800mL)で希釈し、EtOAc(1L)で抽出した。合わせた有機層を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物14f(30.1g、61%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 9.99 (s, 1H), 8.54 (s, 1H), 7.99 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.68 (s, 1H), 7.44 (br s, 1H), 7.18 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.45-5.30 (m, 4H), 4.26 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 4.02-3.97 (m, 2H), 3.80-3.55 (m, 13H), 2.06 (s, 9H), 1.46 (s, 9H).

30

【 0 4 2 6 】

化合物14gの調製

化合物14f(29.0g、39.8mmol)のi-PrOH/CHCl₃(90mL/450mL)中溶液に、0℃でシリカゲル(16.7g)及びNaBH₄(3.70g、99.5mmol)を加えた。N₂下0℃で2時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(500mL)でクエンチし、EtOAc(1L)で抽出した。有機層を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物14g(24.1g、83%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.98 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 7.46 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.41 (br, 1H), 7.04 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.41-5.24 (m, 4H), 4.67 (d, J = 6.6 Hz, 2H), 4.19 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 3.99-3.93 (m, 2H), 3.79-3.65 (m, 12H), 3.59-3.50 (m, 1H), 2.08-2.00 (m, 10H), 1.46 (s, 9H).

40

【 0 4 2 7 】

化合物14hの調製

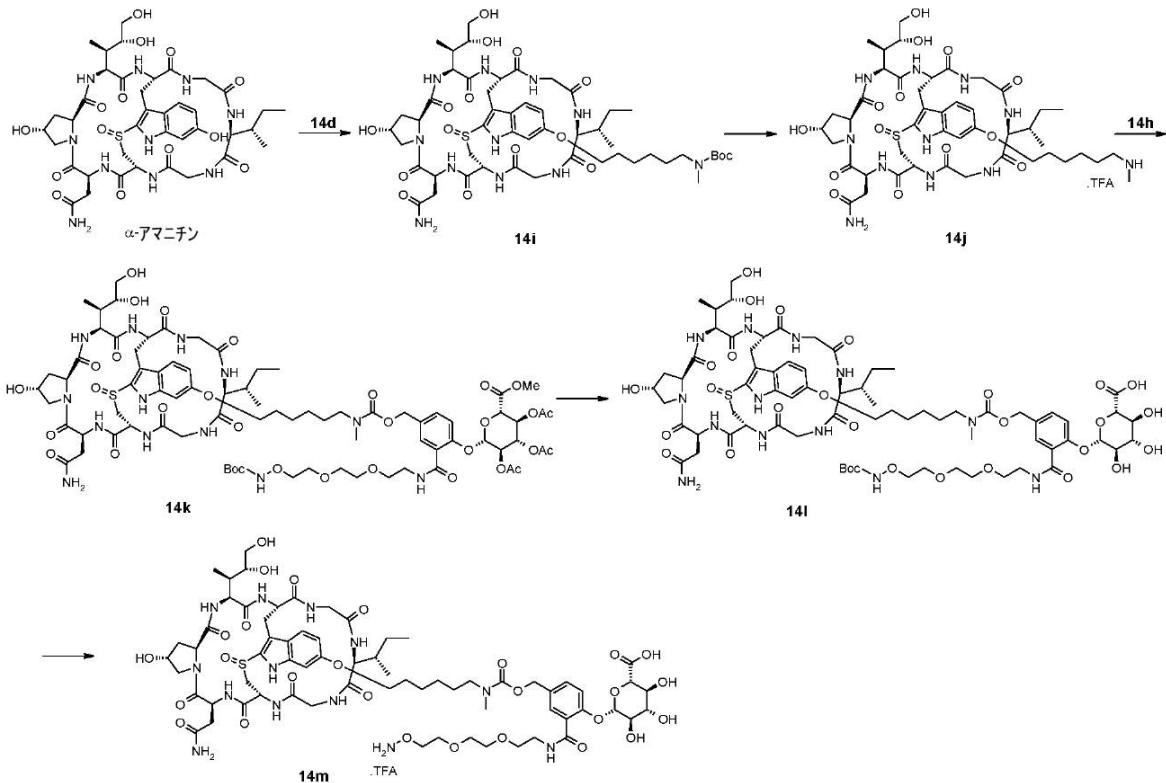
化合物14g(23.7g、31.5mmol)のDMF(50mL)中溶液に、N₂下0℃でビス(4-ニトロフェニル)カーボネート(8.9g、29.3mmol)及びDIPEA(5.65mL、31.5mmol)を加えた。反応混合物を0℃で30分間攪拌し、室温に1時間加温した。反応混合物をH₂O(500mL)で希釈し、EtOAc(500mL)で抽出した。有機層をブライン(2×200mL)で洗浄し、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化

50

化合物14h(22.4g、77%)を白色泡状物として得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.28 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 8.13 (s, 1H), 7.68 (br s, 1H), 7.52 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.47 (br, 1H), 7.38 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.08 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.44-5.24 (m, 6H), 4.21 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 4.00 (br s, 2H), 3.80-3.64 (m, 12H), 3.64-3.54 (m, 1H), 2.06 (s, 9H), 1.47 (s, 9H).

【0428】

【化92】



【0429】

化合物14iの調製

α-アマニチン(60.0mg、0.065mmol)をDMSO(2mL)に溶解し、化合物14d(114mg、0.39mmol)及びカリウムtert-ブトキシド(0.065mL、0.065mmol)をN₂下0°Cで加えた。0°Cで4時間後、溶液のpHを酢酸で4~5に調節した。残留物をDMSO(1mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物14i(29mg、39%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: [M-Boc]⁺ 1032.4.

【0430】

化合物14jの調製

化合物14i(29mg、0.026mmol)のDCM(3mL)中溶液に、0°CでTFA(0.5mL)を加えた。0°Cで2時間後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去し、得られた残留物をHPLCにより精製して、化合物14j(26mg、99%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1032.3, [M+Na]⁺ 1054.3.

【0431】

化合物14kの調製

化合物14j(13mg、0.011mmol)、化合物14h(10mg、0.011mmol)及び無水HOBt(0.3mg、0.002mmol)を、0°CでDMF(0.5mL)に溶解した。次いでピリジン(0.2mL)及びDIPEA(0.004mL、0.023mmol)を加えた。N₂下室温で24時間攪拌した後、反応混合物をDMSO(1mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物14k(11mg、54%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1788.1.

【0432】

化合物14lの調製

化合物14k(11mg、0.006mmol)のMeOH(0.2mL)中溶液に、-20℃でH₂O(0.2mL)中のLiOH-水和物(1.3mg、0.03mmol)を加えた。0℃で1時間後、溶液のpHを酢酸で4～5に調節した。得られた溶液をDMSO(1mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物14l(7.5mg、75%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1648.6.

【0433】

化合物14mの調製

化合物14l(7.5mg、0.0045mmol)のDCM(3mL)中溶液に、0℃でTFA(0.5mL)を加えた。0℃で2時間後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をHPLCにより精製して、化合物14m(6.2mg、85%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ : 1548.5.

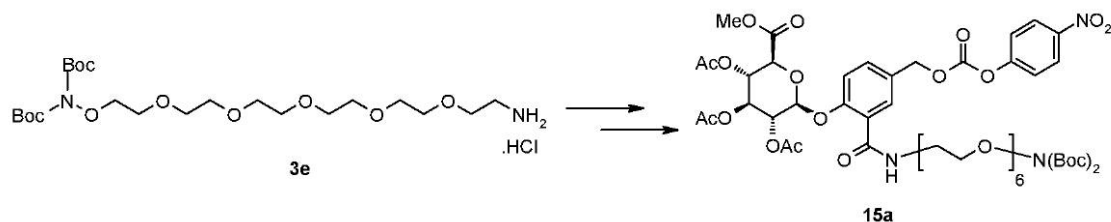
【0434】

[実施例24]

化合物15bの調製

【0435】

【化93】



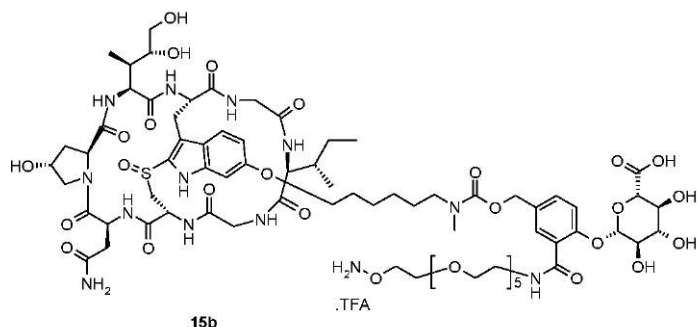
【0436】

化合物15aの調製

実施例23において化合物14hを調製する方法と同様の方法により、化合物3eから化合物15aを調製した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1128.3, [M+H-Boc]⁺ 1028.3, [M+H-2Boc]⁺ 928.2.

【0437】

【化94】



【0438】

化合物15bの調製

実施例23において化合物14mを調製する方法と同様の方法により、化合物14j及び化合物15aから化合物15bを調製した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1681.6.

【0439】

[実施例25]

化合物16fの調製

【0440】

10

20

30

40

50

10

化合物16aの調製

塩化オキサリル(2.8mL、32.5mmol)のDCM(5mL)中攪拌溶液に、DMSO(3.08mL、43.4mmol)をDCM(15mL)中で加え、次いで反応混合物を-78℃で30分間攪拌した。この溶液に-78℃で化合物2a(3.8g、21.7mmol)を加え、1時間攪拌した。DCM(20mL)中のトリエチルアミン(15.1mL、108mmol)を加え、次いで反応混合物を室温に加温し、H₂O(100mL)で希釈し、DCM(2×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物16a(1.8g、48%)を得た。¹H-NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 9.74 (s, 1H), 4.19 (s, 2H), 3.77-3.69 (m, 6H), 3.42 (m, 2H).

20

化合物16bの調製

化合物16a(1.0g、3.32mmol)及び化合物2d(1.72g、9.96mmol)のMeOH(15mL)中溶液に、0℃でAcOH(0.19mL、3.32mmol)を加えた。0℃で30分間攪拌した後、NaCNBH₃(658mg、9.96mmol)を加え、2時間かけて室温に加温した。反応完結後、反応混合物をH₂O(50mL)で希釈し、次いでDCM(3×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物16b(800mg、41%)を薄黄色油状物として得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.78 (brs, 1H), 4.01 (m, 2H), 3.69-3.65 (m, 24H), 3.39 (m, 4H), 3.04 (m, 6H), 1.47 (s, 9H).

30

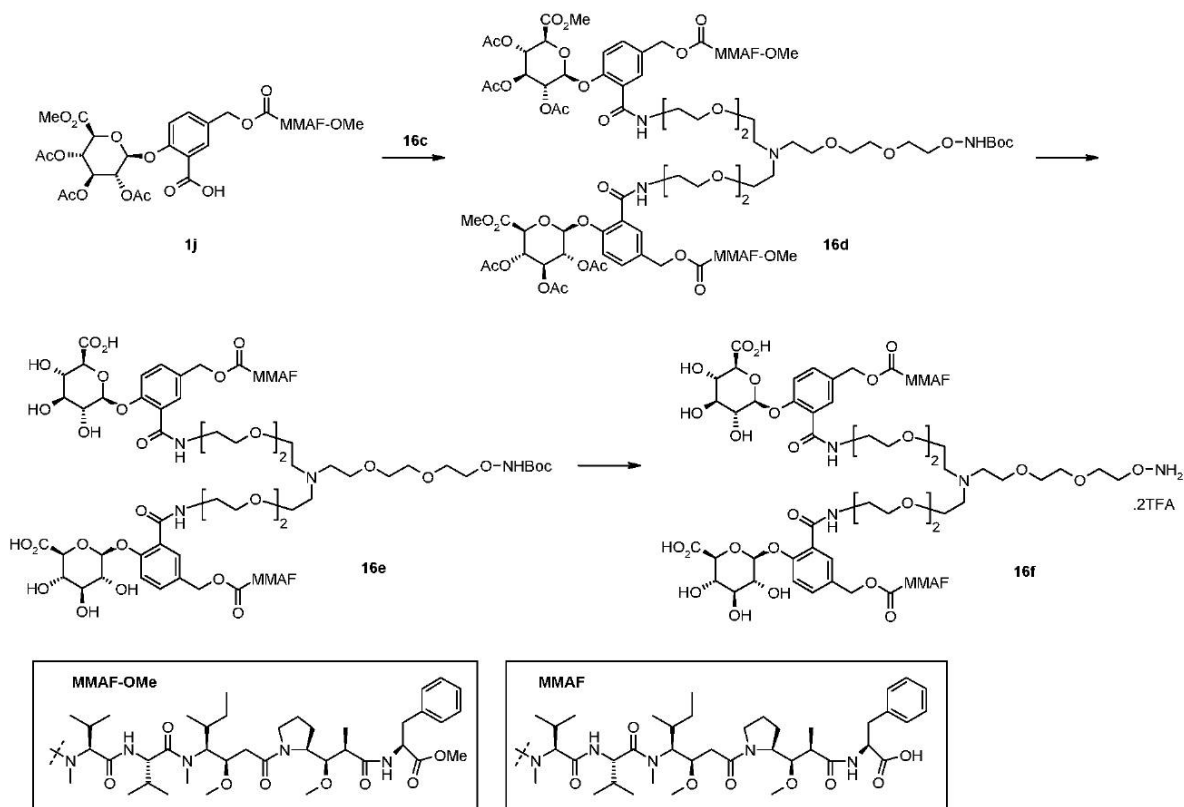
化合物16cの調製

化合物16b(350mg、0.60mmol)のMeOH(10mL)中溶液に、Pd/C(10重量%、300mg)を加えた。水素下室温で8時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(100mL)で洗浄した。濃縮して、化合物16cを無色油状物として得(300mg、94%)、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.02 (m, 2H), 3.71 (m, 2H), 3.65-3.55 (m, 22H), 2.92 (m, 4H), 2.76 (t, J = 5.2 Hz, 6H), 1.47 (s, 9H). EI-MS m/z: [M+H]⁺ 527.6.

【 0 4 4 4 】

40

【化 9 6】



【 0 4 4 5】

化合物16dの調製

DIPEA(0.40mL、2.24mmol)及びPyBOP(711mg、1.34mmol)を、化合物1j(1.57g、1.23mmol)及び化合物16c(300mg、0.56mmol)のDMF(15mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で4時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(200mL)で希釈し、EtOAc(3×100mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、減圧下で濃縮した。残留物をH₂O/DMSO(5mL/5mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物16d(1.57g、91.8%)を得た。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1502.7.

【 0 4 4 6】

化合物16fの調製

化合物16d(1.10g、0.36mmol)のMeOH/THF(5mL/10mL)中溶液に、NaOH(175mg、4.32mmol)を0℃でH₂O(3mL)中にて滴下添加した。0℃で3時間後、溶液のpHを2N HCl水溶液を用いてpH4に調節し、濃縮した。残留物を0℃にてDCM(12mL)及びTFA(3mL)で希釈した。0℃で2時間後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。残留物をH₂O/MeCN(7.5mL/7.5mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物16f(432mg、46%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1298.5.

【 0 4 4 7】

[実施例26]

化合物16gの調製

【 0 4 4 8】

10

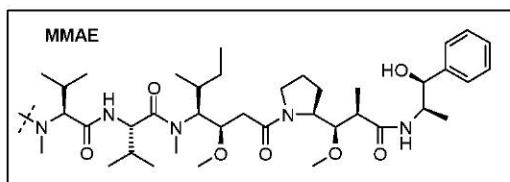
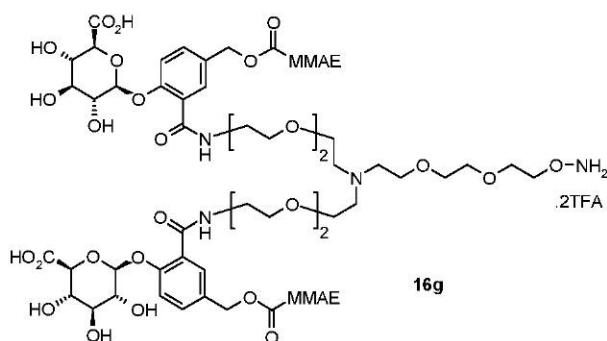
20

30

40

50

【化 9 7】



10

実施例25において化合物16fを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物16cから化合物16gを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1284.5.

【 0 4 4 9 】

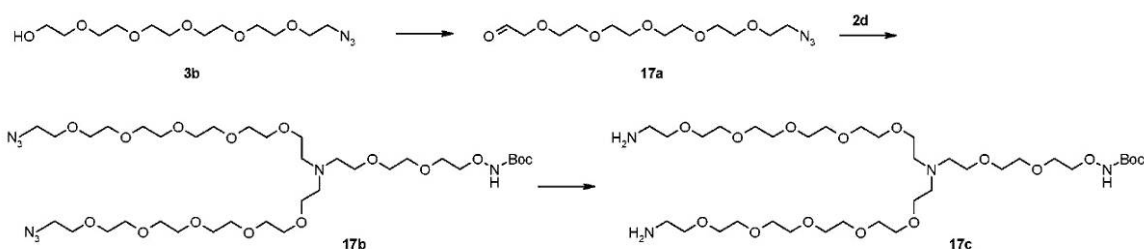
20

[実施例27]

化合物17dの調製

【 0 4 5 0 】

【化 9 8】



30

【 0 4 5 1 】

化合物17aの調製

塩化オキサリル(0.62mL、7.3mmol)のDCM(4mL)中攪拌溶液に、DMSO(1.04mL、4.6mmol)をDCM(10mL)中で加え、次いで反応混合物を-78℃で30分間攪拌した。この溶液に-78℃で化合物3b(1.5g、4.88mmol)を加え、1時間攪拌した。DCM(7mL)中のトリエチルアミン(2.72mL、19.50mmol)を加え、次いで反応混合物を室温に加温した。減圧下で濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィー(EtOAcからEtOAc/MeOH 10/1)により精製して、化合物17a(1.23g、82%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 9.73 (s, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.75-3.61 (m, 18H), 3.39 (t, $J = 5.2$ Hz, 2H).

40

【 0 4 5 2 】

化合物17bの調製

NaCNBH_3 (257mg、4.09mmol)を、0℃で化合物17a(1.30g、4.25mmol)及び化合物2d(492mg、1.63mmol)のMeOH(5mL)中攪拌混合物に加えた。次いで反応混合物を2時間かけて室温に徐々に加熱した。反応完結後、反応混合物を減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィー(EtOAcからEtOAc/MeOH 10/1)により精製して、化合物17b(620mg、45%)を得た。

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.96 (br, 1H), 3.79 (t, $J = 4.8$ Hz, 2H) 3.59 (t, $J = 4.8$ Hz, 4H), 3.56-3.46 (m, 38H), 3.44-3.37 (m, 10H), 2.66-2.56 (m, 6H),

50

1.39 (s, 9H).

【0453】

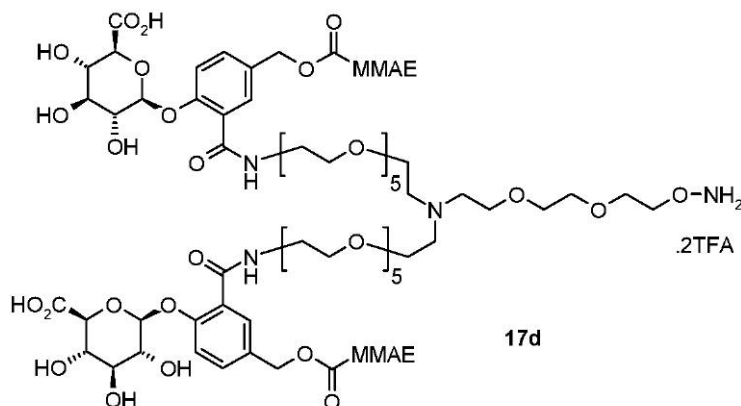
化合物17cの調製

化合物17b(300mg、0.35mmol)のMeOH(7mL)中溶液に、Pd/C(10重量%、38mg)を加えた。水素下室温で4時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(400mL)で洗浄した。濃縮して、化合物17cを無色油状物として得(253mg、90%)、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 3.79 (t, J = 4.4 Hz, 2H), 3.55-3.45 (m, 38H), 3.42 (t, J = 6.0 Hz, 10H), 2.66-2.56 (m, 10H), 1.39 (s, 9H). EI-MS m/z: [M+H]⁺ 791.0.

【0454】

化合物17dの調製

【化99】



実施例25において化合物16fを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物17cから化合物17dを調製した。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1415.6.

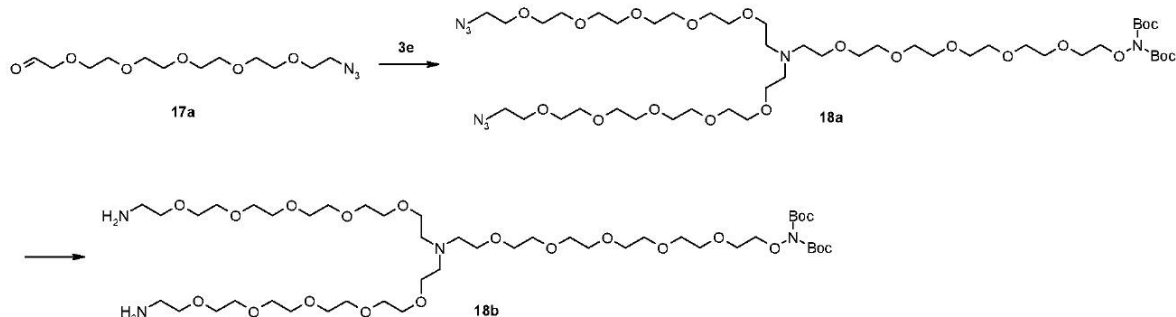
【0455】

[実施例28]

化合物18cの調製

【0456】

【化100】



【0457】

化合物18aの調製

NaCNBH₃(197mg、3.14mmol)を、0℃で化合物17a(998mg、3.26mmol)及び化合物3e(670mg、1.25mmol)のMeOH(4mL)中攪拌混合物に加えた。次いで反応混合物を2時間かけて室温に徐々に加熱した。反応完結後、反応混合物を減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィー(EtOAcからEtOAc/MeOH 10/1)により精製して、化合物18a(668mg、49%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 3.97 (m, 2H) 3.63-3.57 (m, 6H), 3.56-3.44 (m, 46H), 3.44-3.36 (m, 12H), 2.66-2.61 (m, 6H), 1.45 (s, 18H).

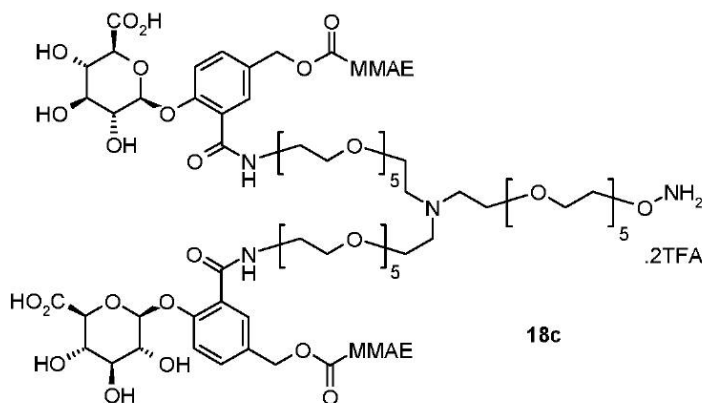
【0458】

化合物18bの調製

化合物18a(60mg、0.055mmol)のMeOH(1.2mL)中溶液に、Pd/C(10重量%、6mg)を加えた。水素下室温で4時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(400mL)で洗浄した。濃縮して、化合物18b(55mg、96%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 3.97 (m, 2H), 3.62-3.57 (m, 4H), 3.54-3.45 (m, 50H), 3.45-3.39 (m, 10H), 2.66-2.61 (m, 10H), 1.46 (s, 18H). EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1023.3.

【0459】

【化101】



実施例25において化合物16fを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物18bから化合物18cを調製した。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1481.7.

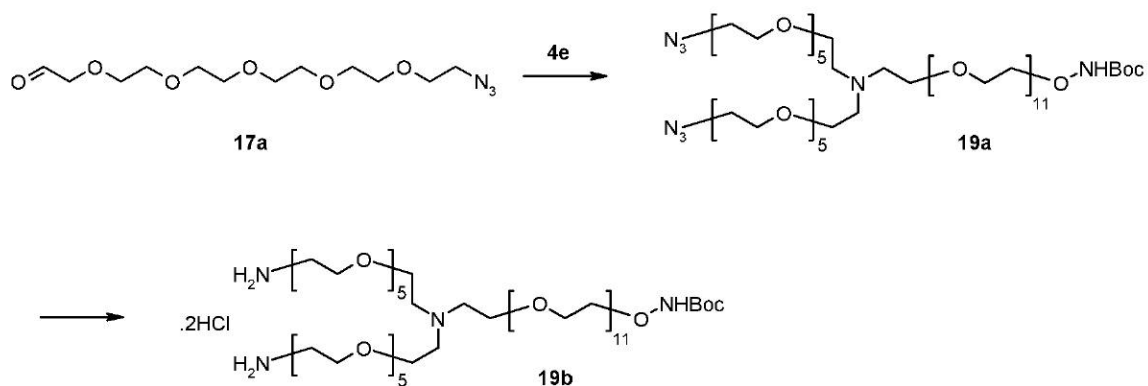
【0460】

[実施例29]

化合物19cの調製

【0461】

【化102】



【0462】

化合物19aの調製

NaCNBH₃(197mg、3.14mmol)を、0℃で化合物17a(118mg、0.16mmol)及び化合物4e(232mg、0.76mmol)のMeOH(1mL)中攪拌混合物に加えた。次いで反応混合物を2時間かけて室温に徐々に加熱した。反応完結後、反応混合物を減圧下で蒸発させた。残留物をカラムクロマトグラフィー(EtOAcからEtOAc/MeOH 10/1)により精製して、化合物19a(135mg、68%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.72 (br s, 1H) 4.02 (t, 2H), 3.72-3.53 (m, 86H), 3.39 (t, 4H), 2.77 (bs, 4H), 1.47 (s, 9H). EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1239.6.

【0463】

化合物19bの調製

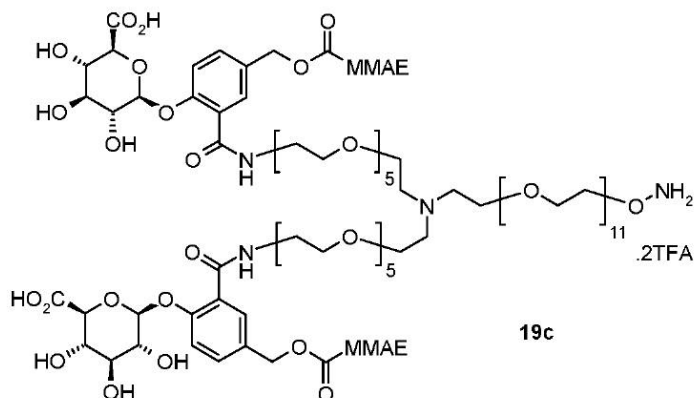
化合物19a(133mg、0.107mmol)のMeOH(2mL)中溶液に、0℃でPd/C(10重量%、26mg)及びHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.054mL、0.21mmol)を加えた。水素下室温で40分間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(40mL)で洗浄した。濃縮して、化合物19b(132mg、97%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.79 (s, 1H), 4.06-4.02 (m, 8H), 3.88 (m, 2H), 3.73-3.64 (m, 80H), 3.22 (s, 4H), 1.47 (s, 9H). EI-MS m/z: [M+H]⁺: 1187.5.

【0464】

化合物19cの調製

【0465】

【化103】



実施例25において化合物16fを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物19bから化合物19cを調製した。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1614.5.

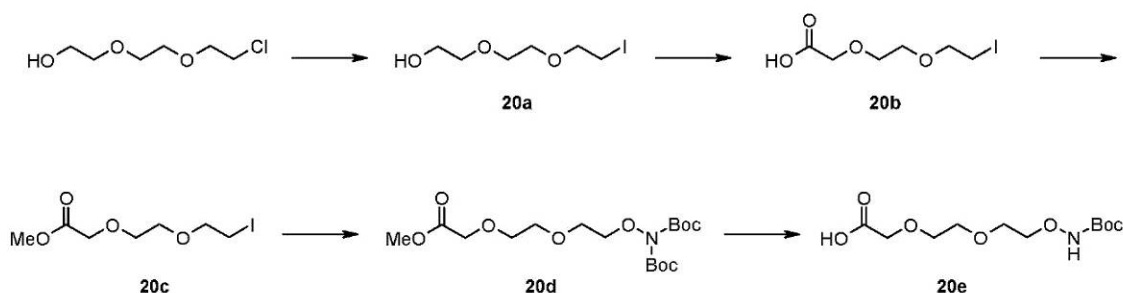
【0466】

[実施例30]

化合物20qの調製

【0467】

【化104】



【0468】

化合物20aの調製

2-(2-(2-クロロエトキシ)エトキシ)エタノール(5.0g、29.6mmol)のアセトン(30mL)中溶液に、NaI(13.3g、88.9mmol)を加えた。反応混合物を12時間還流した。反応完結後、反応混合物を濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物20a(7.0g、91%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.80-3.73 (m, 4H), 3.72-3.65 (m, 4H), 3.63-3.61 (m, 2H), 3.27 (t, J = 6.4 Hz, 2H).

【0469】

化合物20bの調製

10

20

30

40

50

化合物20a(7.0g、26.9mmol)のアセトン(200mL)中溶液に、0℃でジョーンズ試薬(20mL)を加えた。0℃で15時間後、反応混合物を濾過し、濃縮した。残留物をH₂O(150mL)で希釈し、EtOAc(2×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物20b(7.0g、94%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.22 (s, 2H), 3.85-3.70 (m, 6H), 3.35-3.25 (m, 2H).

【0470】

化合物20cの調製

化合物20b(7.0g、25.5mmol)のMeOH(70mL)中溶液に、N₂下0℃で塩化オキサリル(3.2mL、38.3mmol)を加えた。16時間後、反応混合物を濃縮し、カラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物20c(5.7g、77%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.19 (s, 2H), 3.80-3.67 (m, 9H), 3.27 (t, J = 6.8 Hz, 2H).

【0471】

化合物20dの調製

化合物20c(2.5g、8.67mmol)及びN,N-ジBoc-ヒドロキシルアミン(2.6g、11.2mmol)のDMF(30mL)中溶液に、N₂下0℃でNaH(油中60%、454mg、10.4mmol)を加えた。15時間後、反応混合物をH₂O(50mL)で希釈し、EtOAc(3×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物20d(1.87g、73%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.17 (s, 2H), 4.08 (m, 2H), 3.78-3.65 (m, 9H), 1.53 (s, 18H).

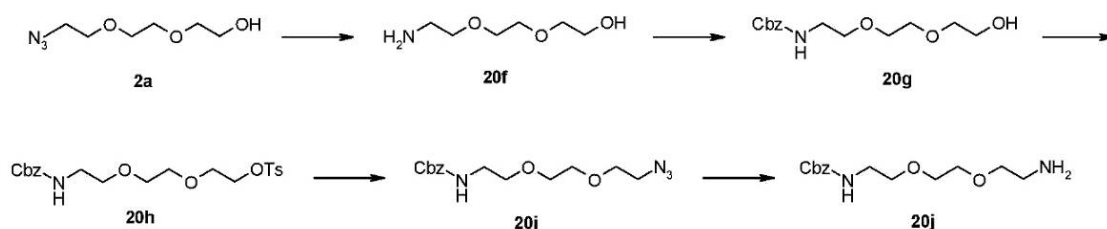
【0472】

化合物20eの調製

化合物20d(1.87g、6.38mmol)のTHF/MeOH/H₂O(45mL/15mL/15mL)中溶液に、N₂下0℃でNaOH(600mg、15.9mmol)を加えた。反応混合物を室温で3時間撹拌した。次いで溶液のpHを1N HCl水溶液で4~5に調節した。反応混合物をH₂O(100mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(2×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。化合物20e(1.6g、90%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.17 (s, 2H), 4.08-4.02 (m, 2H), 3.80-3.67 (m, 6H), 1.48 (s, 9H).

【0473】

【化105】



【0474】

化合物20fの調製

Pd/C(10重量%、1.0g)を、化合物2a(6.7g、38.2mmol)のMeOH(38mL)中溶液に加えた。水素下室温で8時間撹拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(100mL)で洗浄した。濃縮して、化合物20f(5.6g、99%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.95-3.25 (m, 12H), 2.90 (s, 2H).

【0475】

化合物20gの調製

クロロギ酸ベンジル(6mL、42.2mmol)を、N₂下0℃で30分間化合物20f(5.6g、38.2mmol)及びトリエチルアミン(8mL、57.6mmol)のTHF(200mL)中溶液にゆっくり加えた。0℃で1時間撹拌した後、反応混合物を濃縮し、粗生成物をカラムクロマトグラフィー

により精製して、化合物20g(5.7g、53%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.4 5-7.20 (m, 5H), 5.61 (br s, 1H), 5.07 (s, 2H), 3.85-3.20 (m, 12H).

【0476】

化合物20hの調製

化合物20g(2.7g、9.53mmol)のDCM(30mL)中溶液に、N₂下室温でトリエチルアミン(1.9mL、12.3mmol)及びp-トルエンスルホニルクロリド(2.3g、10.4mmol)を加えた。8時間後、反応混合物をH₂O(50mL)で希釈し、DCM(3×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物20h(3.51g、84%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.78 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.45-7.25 (m, 7H), 5.20 (br s, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.20-4.0 5 (m, 2H), 3.75-3.25 (m, 10H), 2.43 (s, 3H).

【0477】

化合物20iの調製

化合物20h(3.51g、8.02mmol)及びNaN₃(3.8g、57.6mmol)のDMF(27mL)中溶液を、100℃で15時間加熱した。反応完結後、反応混合物を濾過し、濃縮した。残留物をH₂O(50mL)で希釈し、EtOAc(2×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物20i(2.05g、83%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.45-7.25 (m, 5H), 5.20 (br s, 1H), 5.10 (s, 2H), 3.80-3.25 (m, 12H).

【0478】

化合物20jの調製

トリフェニルホスフィン(2.09g、7.97mmol)を、室温で化合物20i(2.05g、6.64mmol)のTHF(27mL)中溶液に加えた。N₂下2時間攪拌した後、H₂O(0.6mL、33.2mmol)を加え、反応混合物を3時間還流した。次いで反応混合物を濃縮し、カラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物20j(1.78g、95%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.45-7.25 (m, 5H), 5.63 (br s, 1H), 5.10 (s, 2H), 3.80-3.25 (m, 10H), 2.88 (s, 2H).

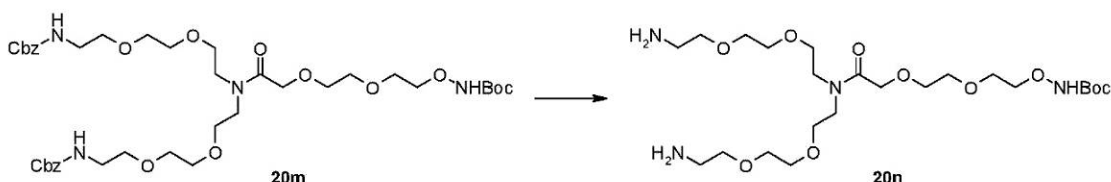
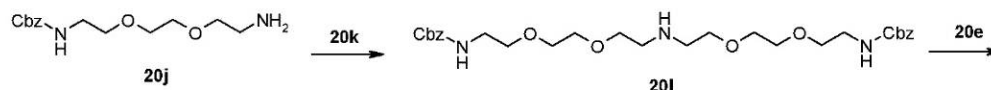
【0479】

【化106】

1)



2)



【0480】

化合物20kの調製

塩化オキサリル(1.4mL、15.9mmol)のDCM(14mL)中攪拌溶液に、DCM(28mL)中のDMSO(2.3mL、31.9mmol)を加え、次いで反応混合物を-78℃で30分間攪拌した。この溶液に-78℃で化合物20g(3.01g、10.6mmol)を加えた。-78℃で1時間攪拌した後、トリエチルアミン(7.4mL、53.1mmol)を加え、反応物を室温に加熱した。反応混合物をH₂O(100mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(2×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、MgSO₄で

脱水した。濾過し、濃縮して化合物20k(2.6g)を得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 9.70 (s, 1H), 7.45-7.25 (m, 5 H), 5.25 (br s, 1 H), 5.10 (s, 2 H), 3.80-3.25 (m, 10 H).

【0481】

化合物20lの調製

化合物20j(1.78g、6.30mmol)及び化合物20k(2.13g、7.56mmol)のMeOH(63mL)中溶液に、N₂下室温でNaCNBH₃(674mg、10.7mmol)を加えた。3時間後、反応混合物を濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物20l(2.01g、58%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.45-7.25 (m, 10H), 5.60 (br s, 2H), 5.03 (s, 4H), 3.80-3.25 (m, 20H), 2.81 (s, 4H).

【0482】

化合物20mの調製

DIPEA(0.4mL、2.28mmol)及びPyBOP(713mg、1.36mmol)を、化合物20l(500mg、0.91mmol)及び化合物20e(306mg、1.09mmol)のDMF(10mL)中攪拌溶液に加えた。N₂下室温で6時間攪拌した後、反応混合物を水(100mL)で希釈し、EtOAc(3×100mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物20m(318mg、43%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.45-7.25 (m, 10H), 5.47 (br s, 1H), 5.37 (br s, 1H), 5.09 (s, 4H), 3.80-3.25 (m, 34H), 1.46 (s, 9H). EI-MS m/z: [M+H]⁺ 808.9.

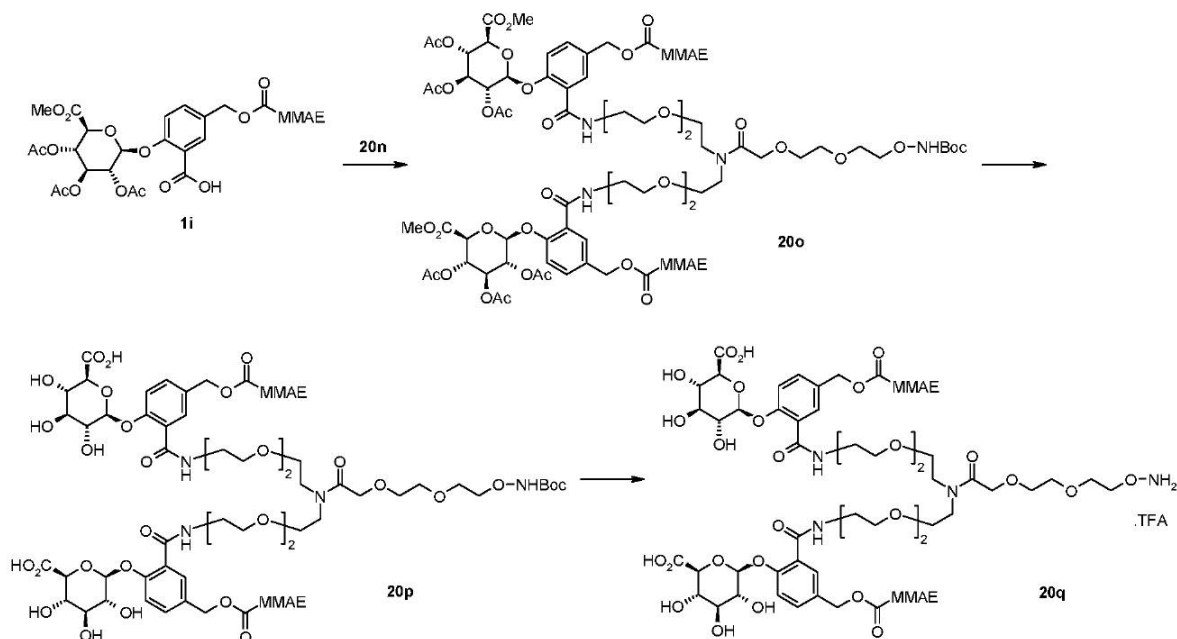
【0483】

化合物20nの調製

化合物20m(318mg、0.39mmol)のMeOH(30mL)中溶液に、Pd/C(10重量%、1.0g)を加えた。水素下室温で3時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(100mL)で洗浄した。濃縮して、化合物20n(180mg)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 541.2.

【0484】

【化107】



【0485】

化合物20oの調製

DIPEA(0.034mL、0.19mmol)及びPyBOP(63mg、0.12mmol)を、0℃で化合物1i(130mg、0.10mmol)及び化合物20n(26mg、0.04mmol)のDMF(3mL)中攪拌溶液に加えた。0℃で30分間攪拌した後、反応物をN₂下20時間かけて室温に加温した。反応混合物

【 0 4 8 6 】

化合物20o(28mg、0.009mmol)のMeOH(1mL)中溶液に、-5℃でH₂O(1mL)中のLiOH-水和物(2mg、0.047mmol)を加えた。反応混合物を-5℃で1時間攪拌した。反応完結後、溶液のpHを酢酸で4~5に調節した。残留物をDMSO(1mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物20p(16mg、67%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺: 1341.4.

【 0 4 8 7 】

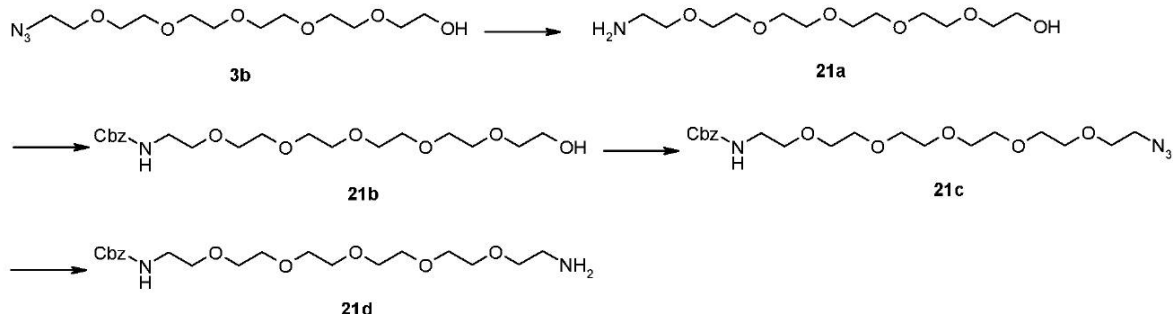
化合物20p(16mg、0.0059mmol)のDCM(2mL)中溶液に、0℃でTFA(0.2mL)を加えた。0℃で2時間後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。残留物をDMSO(1mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物20q(8.5mg、56%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺: 1291.3.

【 0 4 8 8 】

化合物21iの調製

【 0 4 8 9 】

【化 1 0 8】



【 0 4 9 0 】

化合物3b(9.0g、29.2mmol)のMeOH(146mL)中溶液に、Pd/C(10重量%、3.0g)を加え、反応混合物を水素下室温で5時間攪拌した。次いで反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(100mL)で洗浄した。濃縮して、化合物21a(8.2g、100%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400MHz, CDCl₃) δ 3.80-3.60 (m, 24H), 3.01 (t, J = 4.8 Hz, 2H).

【 0 4 9 1 】

化合物21a(8.24g、29.2mmol)のTHF(190mL)中溶液に、N₂下0℃でトリエチルアミン(6.1mL、43.9mmol)及びクロロギ酸ベンジル(4.6mL、32.2mmol)を加えた。反応混合物を濃縮し、粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物21b(5.59g、46%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.45-7.20 (m, 5H), 5.61 (br s, 1H), 5.09 (s, 2H), 3.85-3.50 (m, 22H), 3.39 (m, 2H).

【 0 4 9 2 】

化合物21b(3.09g、7.43mmol)のTHF(75mL)中溶液に、N₂下0℃で4-メチルモルホリン(1.1mL、9.66mmol)及びメタンスルホン酸無水物(1.43g、8.18mmol)を加えた。

DIPEA(0.27mL、1.53mmol)及びHBTU(350mg、0.92mmol)を、化合物21f(380mg、0.61mmol)及び化合物20e(206mg、0.73mmol)のDMF(6mL)中撹拌溶液に加えた。N₂下室温で6時間撹拌した後、反応混合物を水(100mL)で希釈し、EtOAc(3×100mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、減圧下で濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物21g(210mg、42%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.45-7.25 (m, 10 H), 5.47 (br s, 1 H), 5.37 (br s, 1 H), 5.09 (s, 4 H), 3.80-3.25 (m, 34 H), 1.46 (s, 9 H).

【0498】

化合物21hの調製

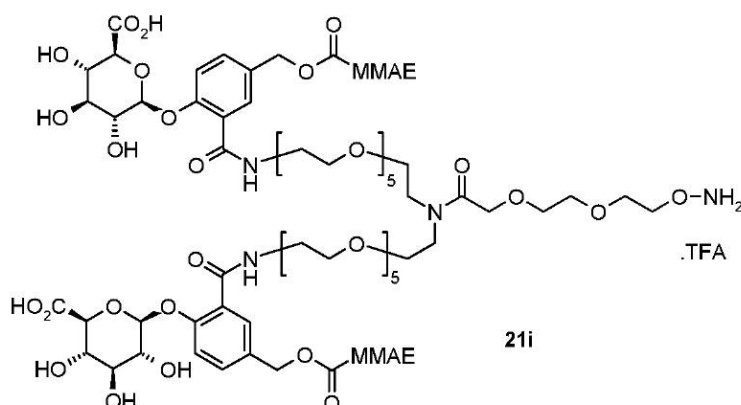
化合物21g(210mg、0.19mmol)のMeOH(30mL)中溶液に、Pd/C(10重量%、1.0g)を加え、次いで反応混合物を水素下室温で4時間撹拌した。反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(50mL)で洗浄した。濃縮して、化合物21h(30mg)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 805.2, [M+Na]⁺ 827.2.

【0499】

化合物21iの調製

【0500】

【化110】



実施例30において化合物20qを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物21hから化合物21iを調製した。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1423.7, 1/2[M+Na]⁺ 1445.2.

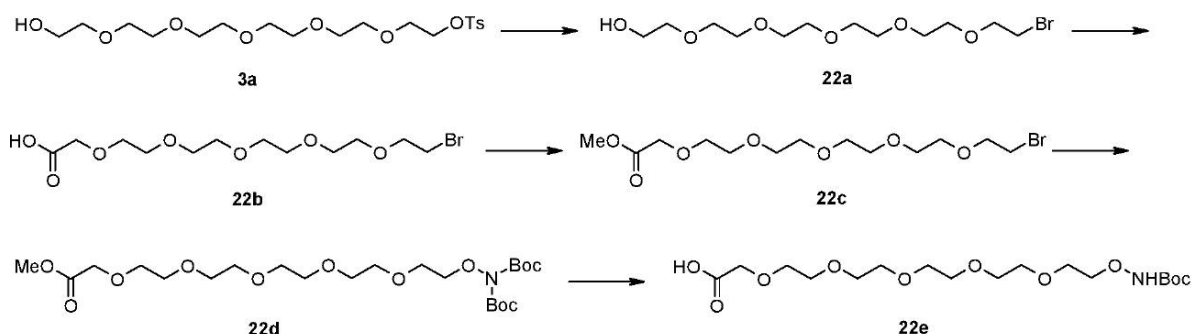
【0501】

[実施例32]

化合物22hの調製

【0502】

【化111】



【0503】

化合物22aの調製

化合物3a(8.0g、18.3mmol)のTHF(50mL)中溶液に、室温でLiBr(7.9g、91.6mmol)

を加えた。還流下17時間攪拌した後、反応混合物を濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物22a(3.2g、50%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.95-3.50 (m, 24H).

【0504】

化合物22bの調製

化合物22a(3.2g、12.3mmol)のアセトン(20mL)中溶液に、0℃でジョーンズ試薬(20mL)を加えた。0℃で15時間後、反応混合物を濾過し、濃縮した。残留物をH₂O(50mL)で希釈し、EtOAc(2×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物22b(3.2g、72%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.16 (s, 2H), 3.95-3.30 (m, 20H).

【0505】

化合物22cの調製

化合物22b(3.2g、8.90mmol)のMeOH(30mL)中溶液に、N₂下0℃で塩化オキサリル(1.15mL、13.3mmol)を加えた。16時間後、反応混合物を濃縮し、カラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物22c(2.7g、81%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.17 (s, 2H), 3.80-3.60 (m, 21H), 3.47 (t, J = 6.4 Hz, 2H).

【0506】

化合物22dの調製

NaH(油中60%、378mg、8.63mmol)を、N₂下0℃で化合物22c(2.7g、7.23mmol)及びN,N-ジBoc-ヒドロキシルアミン(2.2g、9.4mmol)のDMF(30mL)中溶液に加えた。17時間後、反応混合物を濃縮した。残留物をH₂O(50mL)で希釈し、EtOAc(3×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物22d(2.1g、55%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.17 (s, 2H), 4.08 (t, J = 5.2 Hz, 2H), 3.78-3.60 (m, 21H), 1.53 (s, 18H).

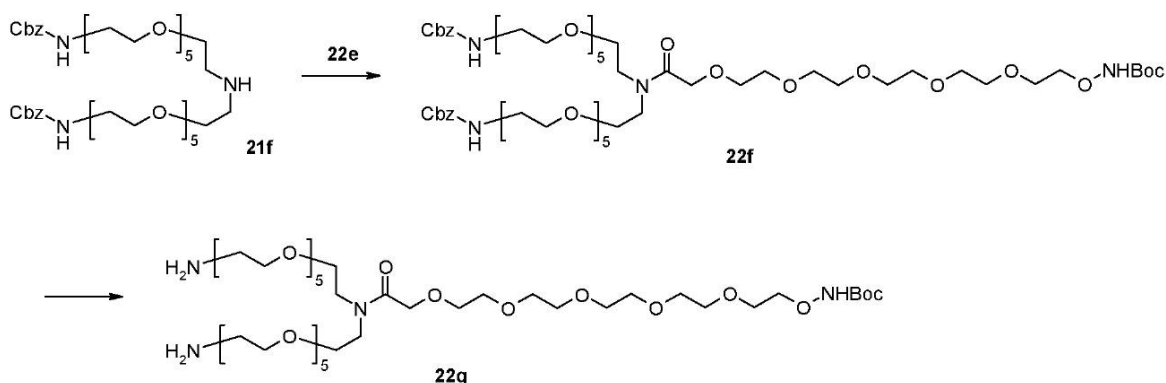
【0507】

化合物22eの調製

化合物22d(2.1g、3.99mmol)のTHF/MeOH/H₂O(30mL/10mL/10mL)中溶液に、N₂下0℃でNaOH(400mg、9.98mmol)を加えた。反応混合物を室温で3時間攪拌した。次いで溶液のpHを1N HCl水溶液で4~5に調節した。反応混合物をH₂O(50mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(2×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、MgSO₄で脱水した。濾過し、濃縮して、化合物22e(1.6g)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.90 (s, 1H), 4.15 (s, 2H), 4.03 (br s, 2H), 3.80-3.60 (m, 18H), 1.47 (s, 9H).

【0508】

【化112】



【0509】

化合物22fの調製

DIPEA(0.13mL、0.73mmol)及びHBTU(187mg、0.49mmol)を、化合物21f(200m

化合物23bの調製

化合物23a(330mg、0.54mmol)のアセトン(2mL)中溶液に、0°Cでジョーンズ試薬(2mL)を加えた。0°Cで15時間後、反応混合物を濾過し、濃縮した。残留物をH₂O(15mL)で希釈し、EtOAc(2×20mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。得られた粗製の化合物23bを更には精製せずに使用した。

【0517】

化合物23cの調製

粗製の化合物23b(266mg、0.43mmol)のMeOH(5mL)中溶液に、N₂下0°Cで塩化オキサリル(0.054mL、0.64mmol)を加えた。16時間後、反応混合物を濃縮し、カラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物23c(200mg、2ステップで58%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.17 (s, 2H), 3.81 (t, J = 6.4 Hz, 2H), 3.79-3.64 (m, 4H), 3.48 (t, J = 6.4 Hz, 2H).

【0518】

化合物23dの調製

化合物23c(200mg、0.31mmol)のDMF(3mL)中溶液に、N₂下0°CでN,N-ジBoc-ヒドロキシルアミン(95mg、0.40mmol)及びNaH(油中60%、16mg、0.37mmol)を加えた。17時間後、反応混合物を濃縮した。残留物をH₂O(5mL)で希釈し、EtOAc(3×10mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物23d(120mg、49%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.17 (s, 2H), 4.13 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 3.75-3.64 (m, 45H), 1.53 (s, 18H).

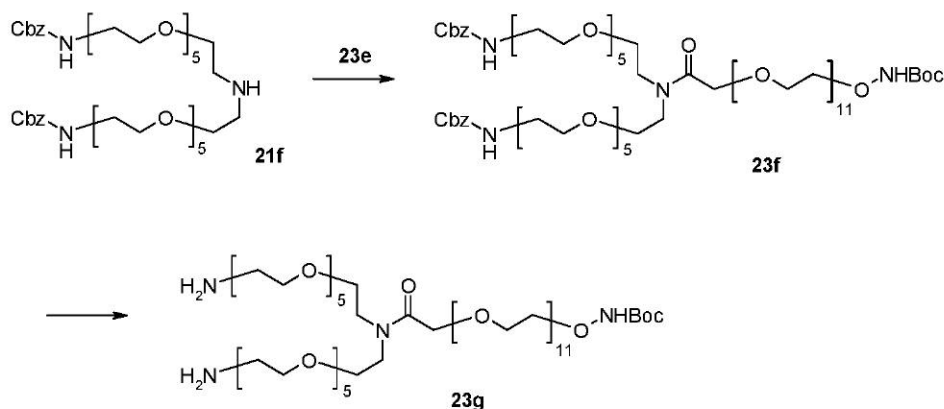
【0519】

化合物23eの調製

化合物23d(120mg、0.15mmol)のTHF/MeOH/H₂O(3mL/1mL/1mL)中溶液に、N₂下0°CでNaOH(15mg、0.38mmol)を加えた。反応混合物を室温で1時間攪拌した。次いで溶液のpHを1N HCl水溶液で4~5に調節した。反応混合物をH₂O(10mL)中に注ぎ入れ、CHCl₃(2×20mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮して、化合物23e(100mg)を得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.23 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 4.15 (s, 2H), 4.08 (t, J = 4.0 Hz, 1H), 4.01 (t, J = 4.0 Hz, 1H), 3.74-3.64 (m, 40H), 1.53 (s, 9H).

【0520】

【化115】



【0521】

化合物23fの調製

DIPEA(0.052mL、0.29mmol)及びHBTU(75mg、0.20mmol)を、化合物21f(80mg、0.09mmol)及び化合物23e(100mg、0.15mmol)のDMF(3mL)中攪拌溶液に加えた。N₂下室温で6時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(50mL)で希釈し、EtOAc(3×50mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、減圧下で濃縮した。粗生成

物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物23f(140mg、97%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.38-7.31 (m, 10 H), 5.44 (br, 2 H), 5.09 (s, 4 H), 4.34 (s, 2 H), 4.26-4.17 (m, 4 H), 4.09-4.08 (m, 1 H), 4.07 (br, 1 H), 3.73-3.47 (m, 76 H), 3.39-3.38 (m, 4 H), 1.53 (s, 9 H). EI-MS m/z: [M+Na]⁺ 1491.6, [M+H-Boc]⁺: 1369.6.

【0522】

化合物23gの調製

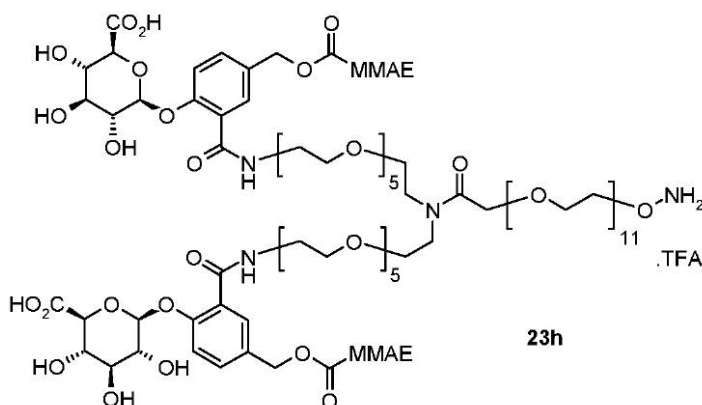
化合物23f(140mg、0.09mmol)のMeOH(20mL)中溶液に、Pd/C(10重量%、20mg)を加え、次いで反応混合物を水素下室温で4時間攪拌した。反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(20mL)で洗浄した。濃縮して、化合物23gを無色油状物(120mg)として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1201.7, [M+Na]⁺ 1223.7.

【0523】

化合物23hの調製

【0524】

【化116】



実施例30において化合物20qを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物23gから化合物23hを調製した。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1620.3, 1/2[M+Na]⁺ 1632.1.

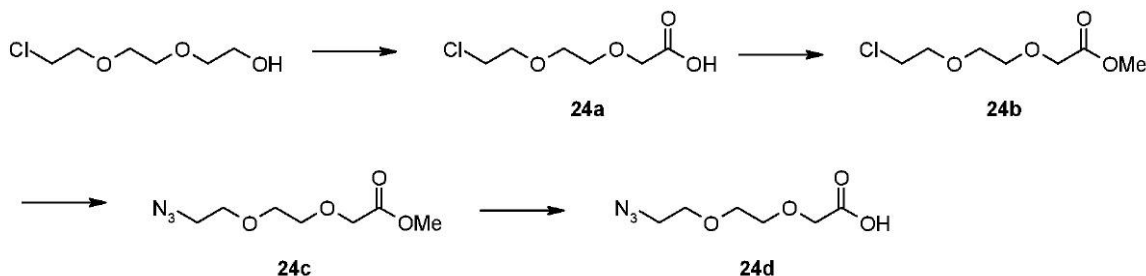
【0525】

[実施例34]

化合物24lの調製

【0526】

【化117】



【0527】

化合物24aの調製

ジヨーンズ試薬(90mL)を、0°Cで化合物2-[2-(2-クロロエトキシ)エトキシ]エタノール(15.0g、88.9mmol)のアセトン(600mL)中溶液にゆっくり加えた。0°Cで15時間後、反応混合物を濾過し、濃縮した。残留物をH₂O(200mL)で希釈し、CHCl₃(5×300mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水MgSO₄で脱水した。濃縮して、化合物24a(20.0g)を得、

これを更には精製せずに使用した。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 4.18 (s, 2H), 3.81-3.64 (m, 8H).

【0528】

化合物24bの調製

化合物24a(20.0g、88.9mmol)のMeOH(500mL)中溶液に、 N_2 下0°Cで30分間塩化オキサリル(11.5mL、133.4mmol)を加えた。16時間後、反応混合物を濃縮し、カラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物24b(13.0g、75%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 4.18 (s, 2H), 3.78-3.67 (m, 9H), 3.65 (t, J = 5.6 Hz, 2H).

【0529】

化合物24cの調製

化合物24b(13.0g、66.1mmol)及び NaN_3 (6.4g、99.2mmol)をDMF(130mL)に溶解した。100°Cで2時間攪拌した後、反応混合物をブライン(200mL)で希釈し、 CHCl_3 (2×100mL)で抽出した。有機層を合わせ、無水 MgSO_4 で脱水した。濃縮して、化合物24c(11.7g、87%)を得、これを更には精製せずに使用した。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 4.18 (s, 2H), 3.76-3.67 (m, 9H), 3.41 (t, J = 5.6 Hz, 2H).

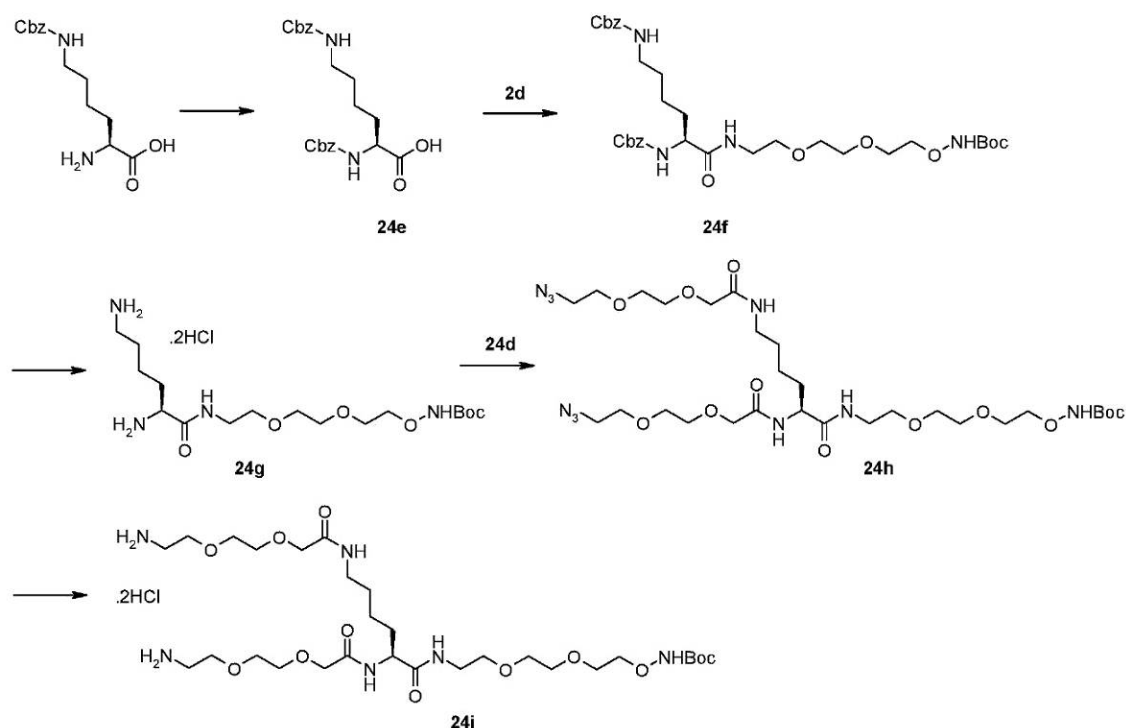
【0530】

化合物24dの調製

化合物24c(11.5g、56.6mmol)のTHF/MeOH/ H_2O (300mL/100mL/100mL)中溶液に、0°Cで NaOH (4.53g、113.2mmol)を加えた。 N_2 下0°Cで2時間後、溶液のpHを4M HCl 水溶液で2に調節した。反応混合物を H_2O (100mL)中に注ぎ入れ、 CHCl_3 (3×500mL)で抽出した。有機層を合わせ、 MgSO_4 で脱水した。濾過し、濃縮して、化合物24d(10.7g、99%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 4.19 (s, 2H), 3.79-3.77 (m, 2H), 3.72-3.70 (m, 4H), 3.44 (t, J = 5.2 Hz, 2H).

【0531】

【化118】



【0532】

化合物24eの調製

3ッロフラスコに、 H_2O (40mL)、1,4-ジオキサン(70mL)及びH-Lys(Z)-OH(10g、35.7mmol)を連続的に仕込んだ。混合物を完全に溶解するまで攪拌した。2M Na_2CO_3 水溶

液を加えることにより、pHを約10.5に調節した。2M Na_2CO_3 水溶液を同時に加えることによりpHを約10~11で維持しながら、クロロギ酸ベンジル(6.69g、39.2mmol)を加えた。添加完了後、反応混合物を20℃で1時間攪拌した。次いでEtOAc(50mL)を加え、得られた混合物のpHをc-HClで2~3に調節した。有機層を分離し、水層をEtOAc(50mL)で抽出した。合わせた有機層をブライン(50mL)で洗浄し、 Na_2SO_4 で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮して、化合物24eを黄色油状物として得た(14.7g、99%)。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 7.33-7.27 (m, 10H), 5.07-5.04 (d, 4H), 4.08 (m, 1H), 3.09 (t, 2H), 1.51 (br s, 1H), 1.49 (bs, 1H), 1.47-1.40 (m, 4H).

【0533】

化合物24fの調製

DIPEA(0.40mL、2.37mmol)、HOBt(143mg、1.06mmol)及びEDC・HCl(240mg、1.25mmol)を、化合物24e(400mg、0.96mmol)及び化合物2d(261mg、0.86mmol)のDMF(3mL)中攪拌混合物に加えた。 N_2 下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を H_2O (50mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×50mL)で抽出し、 NaHCO_3 水溶液(50mL)及びブライン(50mL)で洗浄し、無水 Na_2SO_4 で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物24f(380mg、59%)を得た。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.16 (s, 1H), 7.34-7.28 (m, 10H), 7.49 (s, 1H) 5.08-5.07 (m, 5H), 4.17 (m, 1H), 3.99 (t, 2H), 3.68-3.16 (m, 10H), 3.17 (d, 2H), 1.66 (m, 1H), 1.51-1.27 (m, 14H). EI-MS m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 661.0.

【0534】

化合物24gの調製

化合物24f(370mg、0.55mmol)及びPd/C(10重量%、74mg)のMeOH(10mL)中攪拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.27mL、1.1mmol)を加えた。水素下室温で2時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(40mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物24g(223mg、87%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 10.02 (s, 1H), 8.62 (s, 1H), 8.22 (br, 2H), 7.90 (br, 2H), 3.81 (t, 2H), 3.56 (m, 4H), 3.46 (t, 2H), 3.39-3.27 (m, 26H), 2.75(m, 2H), 1.73 (q, 2H), 1.55 (p, 2H), 1.40-1.33 (m, 14H).

【0535】

化合物24hの調製

DIPEA(1.6mL、9.45mmol)、HOBt(746mg、5.52mmol)及びEDC・HCl(1.19g、6.42mmol)を、化合物24g(1.0g、5.29mmol)及び化合物24d(1.1g、2.35mmol)のDMF(15mL)中攪拌混合物に加えた。 N_2 下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を H_2O (20mL)中に注ぎ入れ、DCM(3×50mL)で抽出し、無水 Na_2SO_4 で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物24h(1.25g、70%)を得た。 ^1H -NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8.36 (s, 1H), 7.30 (d, 1H), 7.08 (s, 1H), 7.68 (t, 1H), 4.46 (q, 1H), 4.07-3.98-4.01 (m, 4H), 3.98 (s, 2H), 3.75-3.663 (m, H) 3.57(t, 2H), 3.44 (m, 6H), 3.28 (m, 2H), 1.87(m, 1H), 1.66 (m, 1H), 1.59-1.52 (p, 2H), 1.48 (s, 9H), 1.41-1.33 (m, 2H). EI-MS m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 735.0.

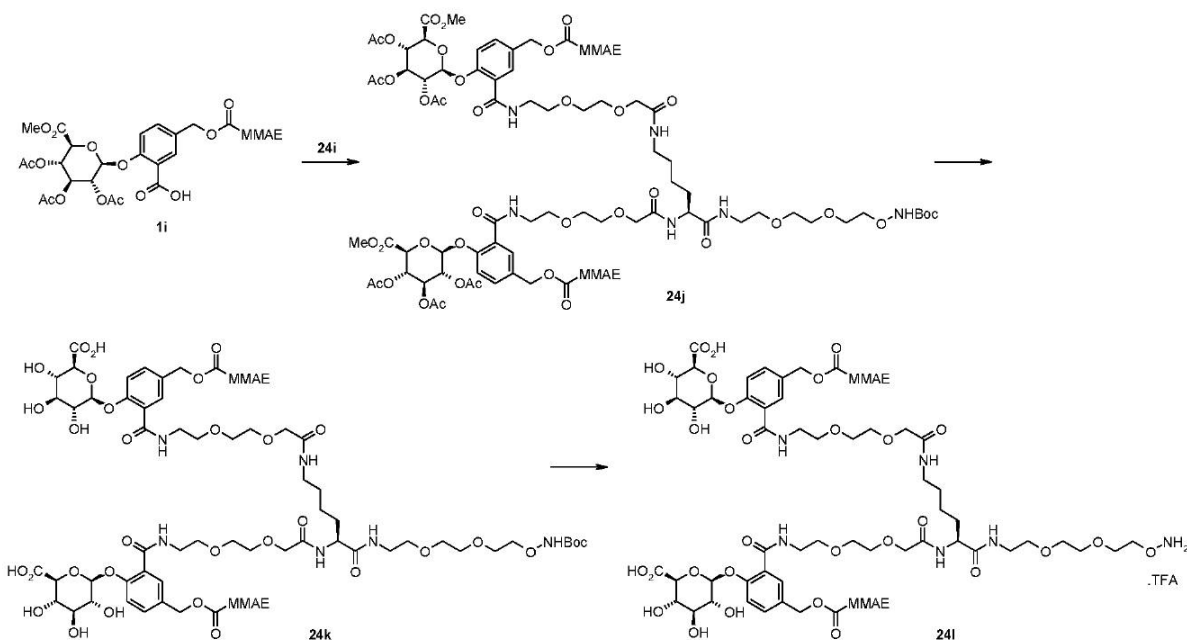
【0536】

化合物24iの調製

化合物24h(1.2g、0.163mmol)及びPd/C(10重量%、250mg)のMeOH(30mL)中攪拌混合物に、0℃で4N HCl(1,4-ジオキサン、0.81mL、3.26mmol)を加えた。水素下室温で1.5時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(100mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物24i(1.39g、99%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。 ^1H -NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 9.99 (s, 1H), 8.22 (t 1H) 7.74 (t, 1H), 7.61 (d, 1H), 4.31, (q, 1H), 3.93 (s, 2H), 3.86 (s, 2H), 3.79(t, 2H), 3.60-3.50 (m, 18H), 3.06 (q, 2H), 2.97 (p, 4H), 1.60-1.49 (m, 2H), 1.39 (m, 11H), 1.20 (m, 2H). EI-MS m/z: $[\text{M}+\text{H}]^+$ 683.

【 0 5 3 7 】

【 化 1 1 9 】



10

20

【 0 5 3 8 】

化合物24jの調製

DIPEA(0.021mL、0.125mmol)及びHBTU(29mg、0.078mmol)を、化合物1i(85mg、0.069mmol)及び化合物24i(23mg、0.031mmol)のDMF(0.7mL)中攪拌混合物に加えた。 N_2 下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を H_2O /DMSO(1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、濃縮して、化合物24j(67mg、68%)を得た。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1552.5.

【 0 5 3 9 】

化合物24kの調製

化合物24j(67mg、0.021mmol)のMeOH(1.7mL)中溶液に、 $0^\circ C$ で H_2O (1.7mL)中のLiOH-水和物(16mg、0.388mmol)を加えた。 $0^\circ C$ で2時間攪拌した後、反応混合物を酢酸(0.018mL)を用いて中和し、減圧下で濃縮した。反応混合物を H_2O /DMSO(1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、濃縮して、化合物24k(37mg、62%)を得た。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1412.3.

【 0 5 4 0 】

化合物24lの調製

TFA(0.4mL)を、化合物24k(37mg、0.013mmol)のDCM(2.0mL)中攪拌溶液に加えた。 $0^\circ C$ で2時間攪拌した後、溶媒及び過剰のTFAを N_2 で吹き飛ばした。残留物を H_2O /アセトニトリル(1mL/1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物24l(19.8mg、53%)を白色固体として得た。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1362.3.

【 0 5 4 1 】

[実施例35]

化合物25eの調製

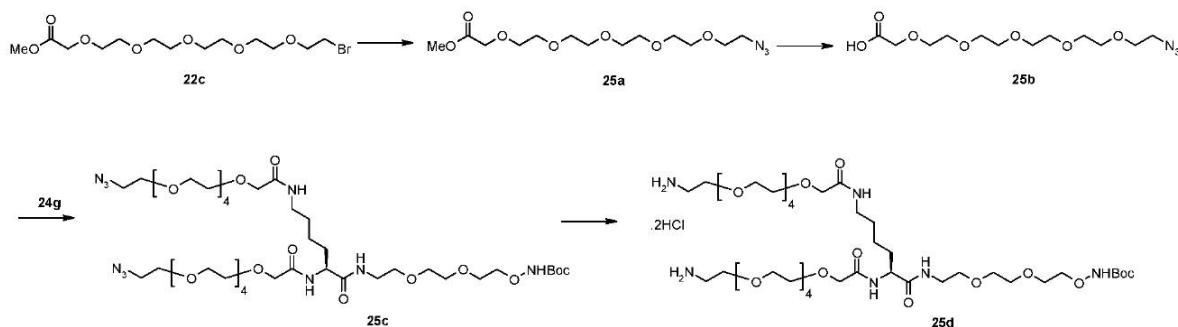
【 0 5 4 2 】

30

40

50

【化 1 2 0】



10

【 0 5 4 3】

化合物25aの調製

化合物22c(1.0g、2.67mmol)及びNaN₃(261mg、4.01mmol)をDMF(3mL)に溶解した。反応混合物を100℃で5時間加熱した。反応完結後、反応混合物を濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィー(EtOAcからEtOAc/MeOH 10/1)により精製して、化合物25a(854mg、95%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.17 (s, 2H), 3.76-3.64 (m, 21H), 3.39 (t, J = 5.2 Hz, 2H)。

【 0 5 4 4】

化合物25bの調製

化合物25a(854mg、2.54mmol)のMeOH(25mL)中搅拌溶液に、0℃で2M NaOH水溶液(6.3mL、12.64mmol)を加えた。反応混合物を室温で3時間搅拌した。次いで溶液を減圧下で濃縮した。得られた懸濁液を0℃で冷却しながら2N HCl水溶液で酸性化した。残留物をCHCl₃(8×500mL)により抽出した。有機層を合わせ、Na₂SO₄で脱水し、濃縮して、化合物25b(783mg、96%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.16 (s, 2H), 3.76-3.65 (m, 18H), 3.40 (t, J = 5.2 Hz, 2H)。

20

【 0 5 4 5】

化合物25cの調製

DIPEA(0.30mL、1.70mmol)及びHBTU(483mg、1.27mmol)を、化合物25b(337mg、1.05mmol)及び化合物24g(198mg、0.42mmol)のDMF(3mL)中搅拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間搅拌した後、反応混合物を濃縮し、カラムクロマトグラフィー(EtOAcからEtOAc/MeOH 10/1)により精製して、化合物25c(358mg、84%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.98 (s, 1H), 8.09 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 7.63 (t, J = 5.2 Hz, 1H), 7.55 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.31-4.25 (m, 1H), 3.90 (s, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.80 (m, 2H), 3.62-3.46 (m, 34H), 3.42-3.36 (m, 6H), 3.25-3.17 (m, 2H), 3.08-3.03 (m, 2H), 1.61-1.51 (m, 2H), 1.39 (s, 9H), 1.26-1.10 (m, 7H). EI-MS m/z: [M+H]⁺999.1.

30

【 0 5 4 6】

化合物25dの調製

化合物25c(358mg、0.35mmol)のMeOH(7mL)中溶液に、Pd/C(10重量%、38mg)及びHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.18mL、0.72mmol)を加えた。水素下室温で5時間搅拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(400mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物25d(314mg、93%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.98 (s, 1H), 8.10 (m, 1H), 7.68 (m, 1H), 7.57 (m, 1H), 4.31-4.25 (m, 1H), 3.90 (s, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.80 (m, 2H), 3.62-3.46 (m, 30H), 3.42-3.36 (m, 10H), 3.45-3.16 (m, 4H), 3.08-3.03 (m, 3H), 2.72-2.66 (m, 3H), 1.61-1.51 (m, 2H), 1.39 (s, 9H), 1.26-1.10 (m, 6H). EI-MS m/z: [M+H]⁺947.1.

40

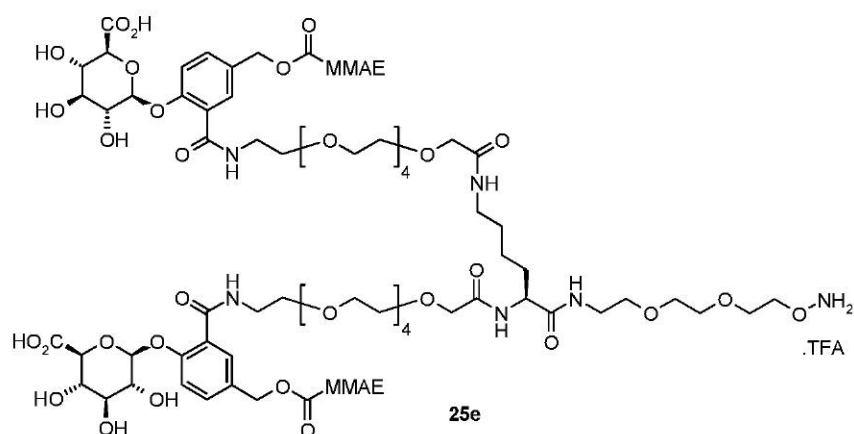
【 0 5 4 7】

化合物25eの調製

50

【 0 5 4 8 】

【化 1 2 1】



10

実施例34において化合物24lを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物25dから化合物25eを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1493.7.

【 0 5 4 9 】

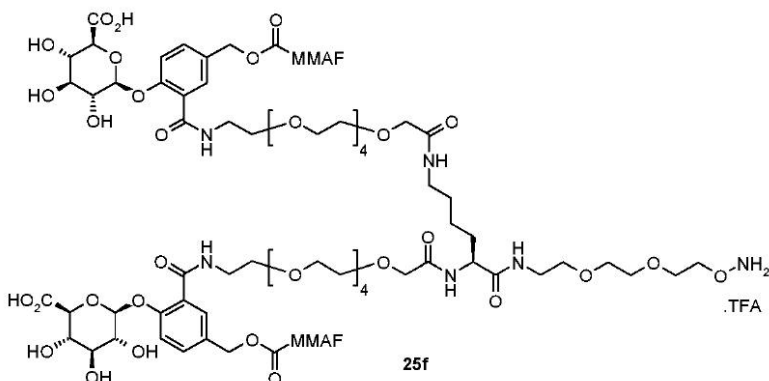
[実施例36]

化合物25fの調製

20

【 0 5 5 0 】

【化 1 2 2】



30

実施例34において化合物24lを調製する方法と同様の方法により、化合物1j及び化合物25dから化合物25fを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1508.2.

【 0 5 5 1 】

[実施例37]

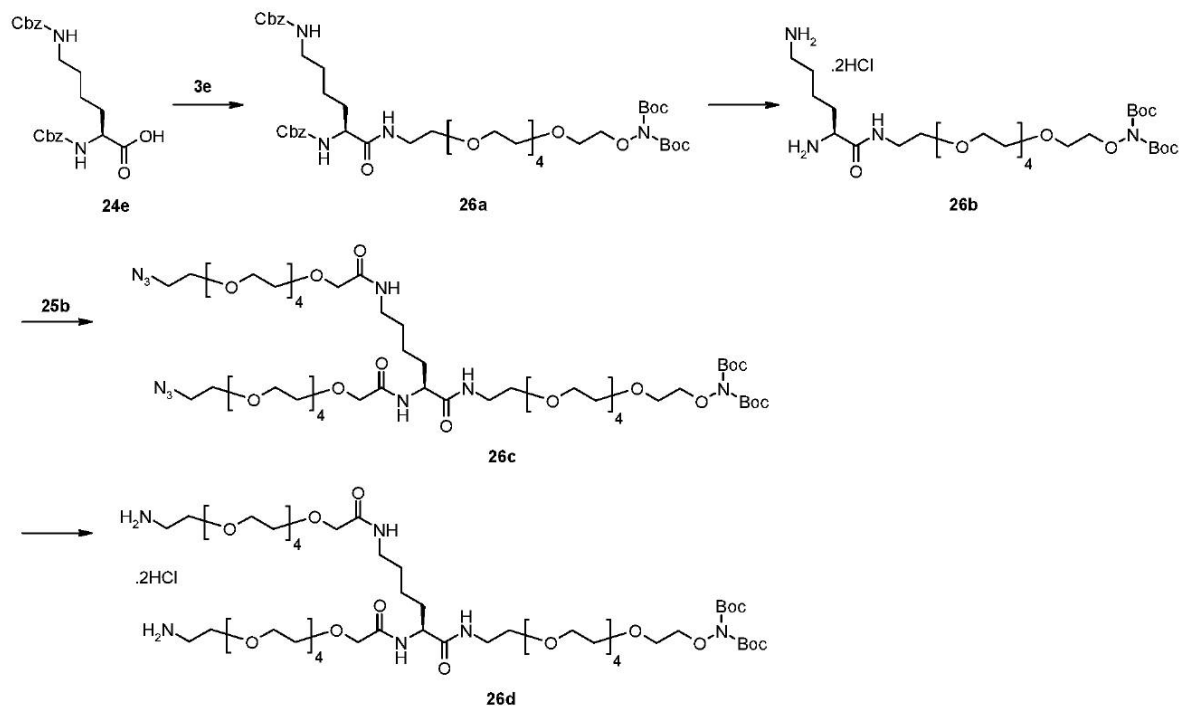
化合物26eの調製

【 0 5 5 2 】

40

50

【化 1 2 3】



10

20

【 0 5 5 3】

化合物26aの調製

DIPEA(0.65mL、0.004mmol)、HOBt(218mg、1.61mmol)及びEDC・HCl(364mg、1.9mmol)を、化合物24e(1.0g、2.43mmol)及び化合物3e(810mg、1.52mmol)のDMF(10mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(50mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×50mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(30mL)、飽和NaHCO₃水溶液(30mL)及びブライン(30mL)で洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物26a(988mg、73%)を得た。

30

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.33-7.26 (m, 8 H), 6.85 (s, 1H), 5.63 (s, 1H), 5.08-5.02 (s, 4 H), 4.16-4.11 (m, 1 H), 4.09-4.05 (m, 2 H), 3.72-3.70 (m, 2 H), 3.62-3.59 (m, 14H), 3.53 (s, 2H), 3.44-3.43 (m, 2H), 3.18-3.16 (m, 2H), 1.82 (m, 1H), 1.72 (s, 7H), 1.66 (m, 1H), 1.52 (s, 18H), 1.38-1.36 (m, 2H), 1.24-1.27 (s, 1H). EI-MS m/z: [M+H-2Boc]⁺ 693.1.

【 0 5 5 4】

化合物26bの調製

化合物26a(988mg、1.1mmol)及びPd/C(10重量%、196mg)のMeOH(6mL)中攪拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.55mL、2.2mmol)を加えた。水素下室温で1.5時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(40mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物26b(767mg、99%)を黄色泡状物として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 625.0, [M+H-Boc]⁺ 525.0, [M+H-2Boc]⁺ 424.9.

40

【 0 5 5 5】

化合物26cの調製

DIPEA(0.2mL、1.14mmol)、HOBt(89mg、0.66mmol)及びEDC・HCl(142mg、0.74mmol)を、化合物26b(200mg、0.29mmol)及び化合物25b(202mg、0.63mmol)のDMF(5mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(10mL)中に注ぎ入れ、DCM(3×10mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物

50

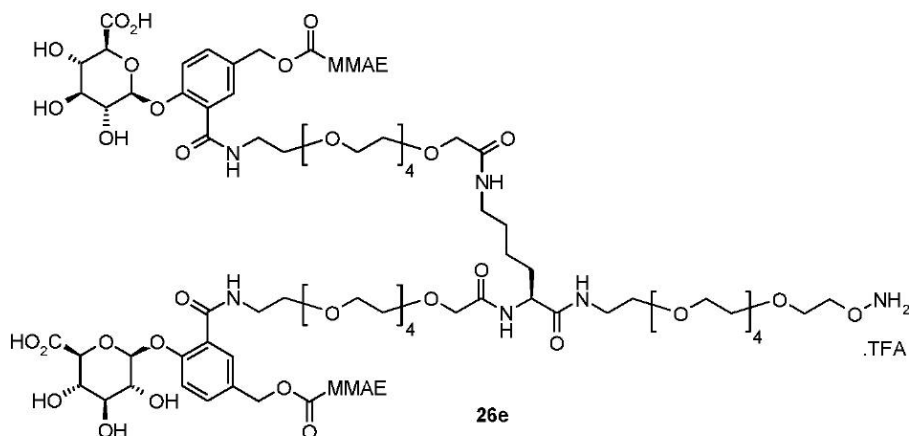
【 0 5 5 6 】

化合物26c(160mg、0.13mmol)及びPd/C(10重量%、28mg)のMeOH(20mL)中撈拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.07mL、0.28mmol)を加えた。水素下室温で30分間撈拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(30mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物26d(140mg、91%)を無色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1179.7.

【 0 5 5 7 】

【 0 5 5 8 】

【化 1 2 4】

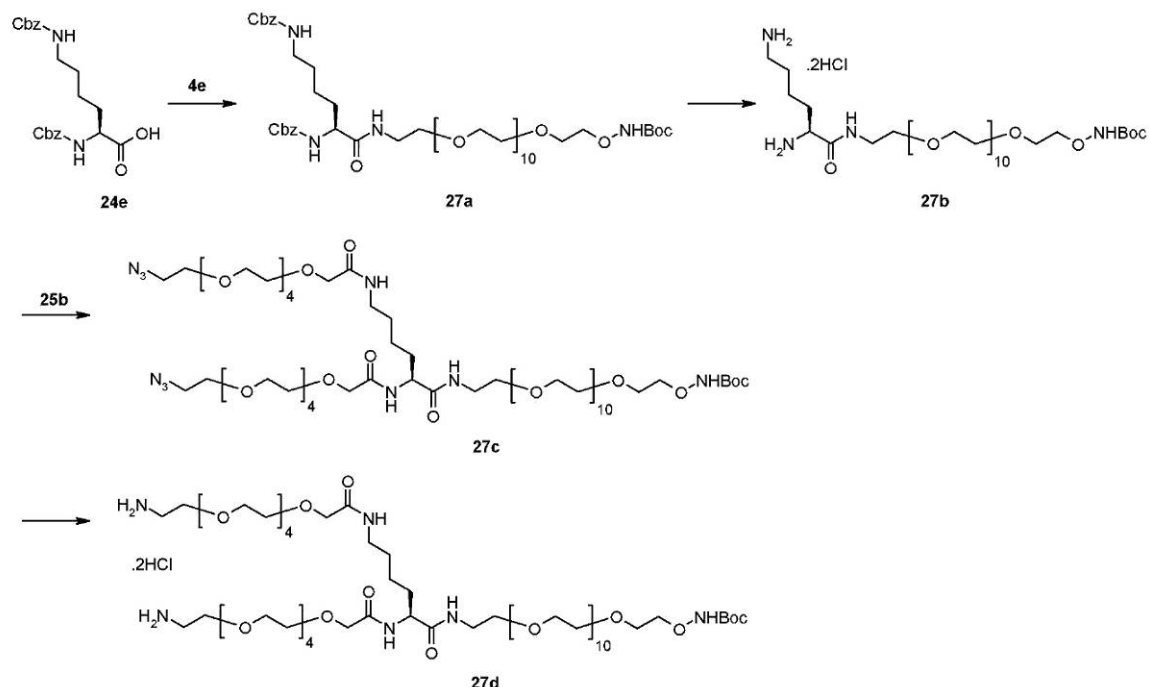


【 0 5 5 9 】

化合物27eの調製

【 0 5 6 0 】

【化 1 2 5】



【0 5 6 1】

化合物27aの調製

DIPEA(0.19mL、1.1mmol)、HOBt(64mg、0.47mmol)及びEDC・HCl(91mg、0.47mmol)を、化合物24e(228mg、0.55mmol)及び化合物4e(256mg、0.36mmol)のDMF(4mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で4時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(10mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×15mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(20mL)、飽和NaHCO₃水溶液(10mL)及びブライン(10mL)で洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物27a(327mg、85%)を得た。

¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.73 (s, 1H), 7.33-7.26 (m, 11H), 6.91 (s, 1H), 5.67 (br, 1H), 5.08-5.07 (m, 5H), 4.15 (m, 1H), 4.02 (t, 2H), 3.72-3.44 (m, 46H), 3.16 (d, 2H), 1.82 (m, 1H), 1.63 (m, 1H), 1.55-1.36 (m, 13H).

【0 5 6 2】

化合物27bの調製

化合物27a(327mg、0.309mmol)及びPd/C(10重量%、65mg)のMeOH(6mL)中攪拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.15mL、0.618mmol)を加えた。水素下室温で1.5時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(40mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物27b(244mg、91%)を無色油状物として得、これを用いるには精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 789.2.

【0 5 6 3】

化合物27cの調製

DIPEA(0.19mL、1.13mmol)、HOBt(95mg、0.707mmol)及びEDC・HCl(135mg、0.707mmol)を、化合物25b(227mg、0.707mmol)及び化合物27b(244mg、0.283mmol)のDMF(6mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で3時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(5mL)中に注ぎ入れ、DCM(3×10mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物27c(339mg、85%)を得た。¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.69 (s, 1H), 7.29 (d, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.82 (s, 1H), 4.39 (q, 1H), 3.99-3.94 (m, 6H), 3.69-3.58 (m, 80H), 3.51 (t, 2H), 3.44-3.34 (m, 8H), 3.25 (m, 2H), 1.68-1.64 (m, 1H), 1.53-1.48 (m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.33 (m, 2H). EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1395.6.

【0564】

化合物27dの調製

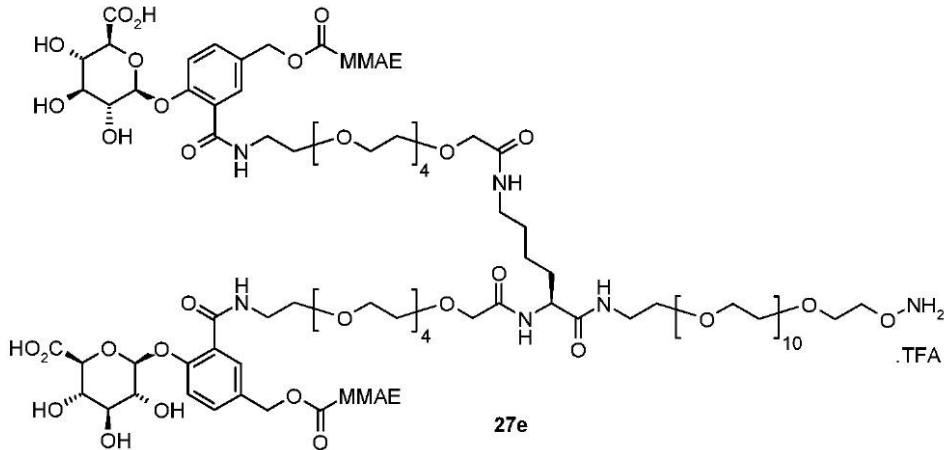
化合物27c(339mg、0.242mmol)及びPd/C(10重量%、67mg)のMeOH(6mL)中攪拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.12mL、0.484mmol)を加えた。水素下室温で30分間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(30mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物27d(300mg、87%)を無色油状物として得、これを経には精製せずに使用した。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1343.5.

【0565】

化合物27eの調製

【0566】

【化126】



実施例34において化合物24lを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物27dから化合物27eを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1692.5.

【0567】

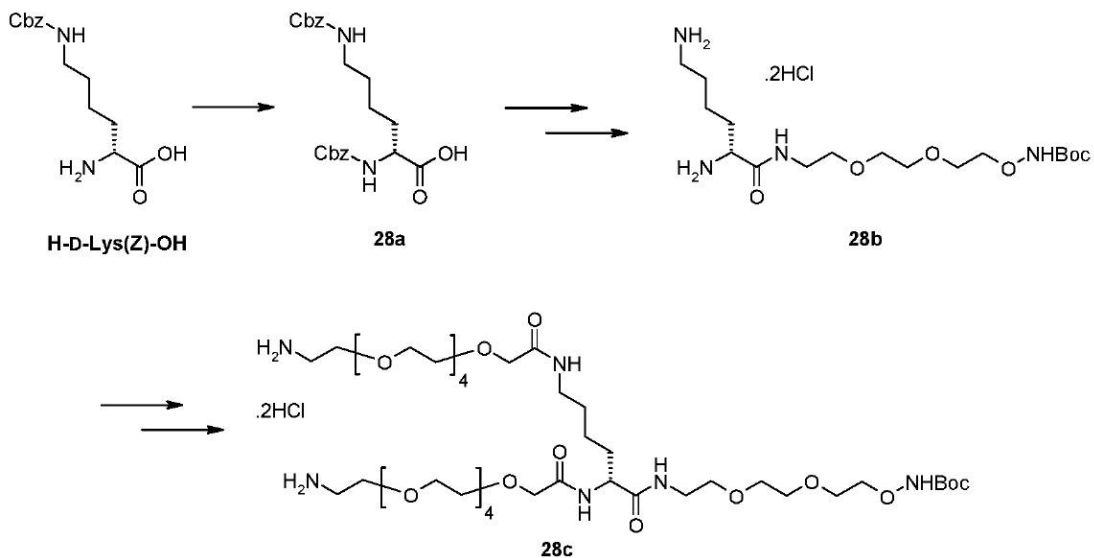
[実施例39]

化合物28dの調製

化合物28cの調製

【0568】

【化127】



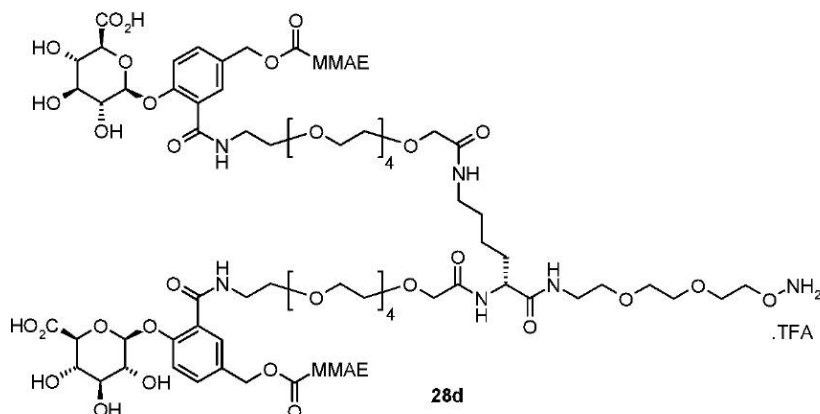
実施例35において化合物25dを調製する方法と同様の方法により、H-D-Lys(Z)-OHから化合物28cを調製した。

【 0 5 6 9 】

化合物28dの調製

【 0 5 7 0 】

【化 1 2 8】



10

実施例35において化合物25eを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物28cから化合物28dを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1494.9.

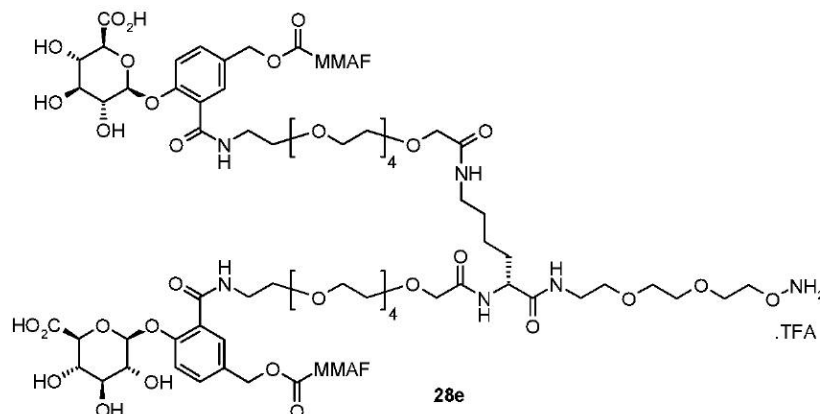
【 0 5 7 1 】

[実施例40]

化合物28eの調製

【 0 5 7 2 】

【化 1 2 9】



20

30

実施例35において化合物25eを調製する方法と同様の方法により、化合物1j及び化合物28cから化合物28eを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1509.2.

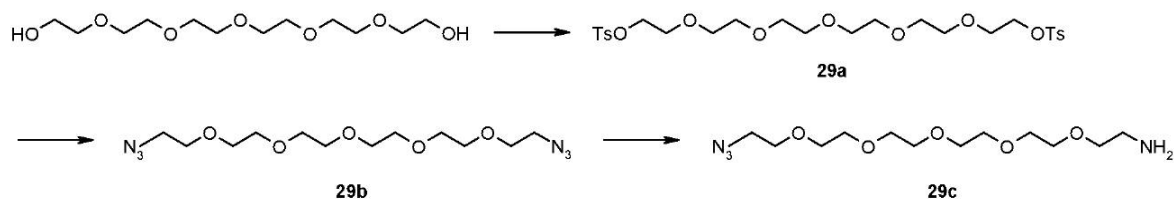
【 0 5 7 3 】

[実施例41]

化合物29jの調製

【 0 5 7 4 】

【化 1 3 0】



40

【 0 5 7 5 】

50

化合物29aの調製

ヘキサエチレングリコール(25.0g、88.5mmol)のDCM(100mL)中溶液に、N₂下0℃でトリエチルアミン(61.7mL、443mmol)及びp-トルエンスルホニルクロリド(50.6g、266mmol)を加えた。0℃で5時間後、反応混合物を1N HCl水溶液(200mL)中に注ぎ入れ、DCM(2×200mL)で抽出した。合わせた有機層を飽和NaHCO₃水溶液(100mL)及びブライン(100mL)で洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物29a(45.0g、87%)を茶褐色油状物として得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.79 (d, J = 7.6 Hz, 4H), 7.34 (d, J = 7.6 Hz, 4H), 4.16-4.14 (m, 4H), 3.69-3.67 (m, 4H), 3.64-3.56 (m, 16H), 2.44 (s, 6H).

【0576】

化合物29bの調製

化合物29a(17.6g、29.7mmol)のDMF(100mL)中溶液に、NaN₃(9.65g、148mmol)及びテトラブチルアンモニウムヨード(550mg、1.49mmol)を加えた。反応混合物を80℃に加熱した。80℃で16時間攪拌した後、反応混合物を室温に冷却した。反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、DCM(100mL)で洗浄した。濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物29b(9.4g、94%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.68 (m, 20H), 3.39 (t, 4H).

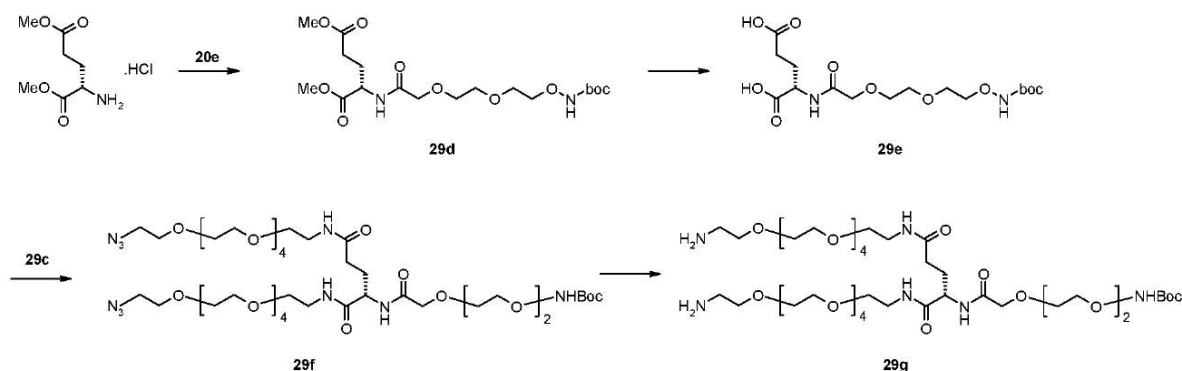
【0577】

化合物29cの調製

29b(8.4g、24.9mmol)のDCM(24mL)及びトルエン(24mL)中溶液に、1N HCl水溶液(40.3mL)及びトリフェニルホスフィン(6.9g、23.6mmol)を加えた。反応混合物をN₂下室温で16時間攪拌した。減圧下で溶媒を除去した後、H₂O(20mL)を反応混合物中に加え、水層をEtOAc(20mL)で抽出した。次いで水相のpHを13に調節した。得られた水相をDCM(3×30mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、減圧下で濃縮して、化合物29c(6.6g、84%)を無色油状物として得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 3.67 (m, 20H), 3.52 (t, 2H), 3.39 (t, 2H), 2.86 (t, 2H). EI-MS m/z: [M+H]⁺ 306.9.

【0578】

【化131】



【0579】

化合物29dの調製

DIPEA(2.67mL、15.4mmol)及びHBTU(3.49g、9.21mmol)を、0℃でL-グルタミン酸ジメチルエステル塩酸塩(1.3g、6.14mmol)及び化合物20e(1.72g、6.14mmol)のDMF(15mL)中攪拌混合物に加えた。反応混合物を0℃で30分間攪拌し、N₂下16時間かけて室温に加熱した。反応混合物を水(50mL)中に注ぎ入れ、DCM(3×50mL)で抽出した。合わせた有機層を0.5N HCl(50mL)、飽和NaHCO₃水溶液(50mL)及びブライン(50mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物29d(2.18g、81%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10.00 (s, 1H), 8.04 (d, 1H), 4.34 (m, 1H), 3.93 (s,

10

20

30

40

50

1H), 3.77 (s, 1H), 3.63 (s, 3H), 3.58 (s, 9H), 3.38-3.34 (t, 2H), 2.14 (m, H), 1.90 (m, 1H), 1.39 (s, 9H). EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 437.35.

【0580】

化合物29eの調製

化合物29d(2.18g、4.99mmol)のTHF:MeOH:H₂O(12mL:4mL:4mL)中溶液に、N₂下室温でNaOH(499mg、12.5mmol)を加えた。3時間後、反応混合物のpHを4に調節し、濃縮した。次いで残留物をDCM/MeOH(80mL/20mL)で抽出した。濃縮して、化合物29e(1.0g、49%)を黄色油状物として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z : $[M+H-Boc]^+$ 309.20.

【0581】

化合物29fの調製

DIPEA(1.7mL、9.79mmol)及びHBTU(2.79g、7.35mmol)を、0℃で化合物29e(1.0g、2.45mmol)及び化合物29c(2.25g、7.35mmol)のDMF(10mL)中攪拌混合物に加えた。反応混合物を0℃で30分間攪拌し、N₂下16時間かけて室温に加温した。反応混合物を水(50mL)中に注ぎ入れ、DCM(3×50mL)で抽出した。合わせた有機層を0.5N HCl水溶液(50mL)、飽和NaHCO₃水溶液(50mL)及びブライン(50mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物29f(611mg、25%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.97 (s, 1H), 8.08 (t, 1H), 7.85 (t, 1H), 7.64 (d, 1H), 4.27 (m, 1H), 3.83 (s, 2H), 3.82-3.61 (m, 2H), 3.61-3.50 (m, 42H), 3.42-3.37 (m, 8H), 3.28-3.15 (m, 4H), 2.90 (s, H), 2.08-2.04 (m, 2H), 1.88 (m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.39 (s, 9H). EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 986.73.

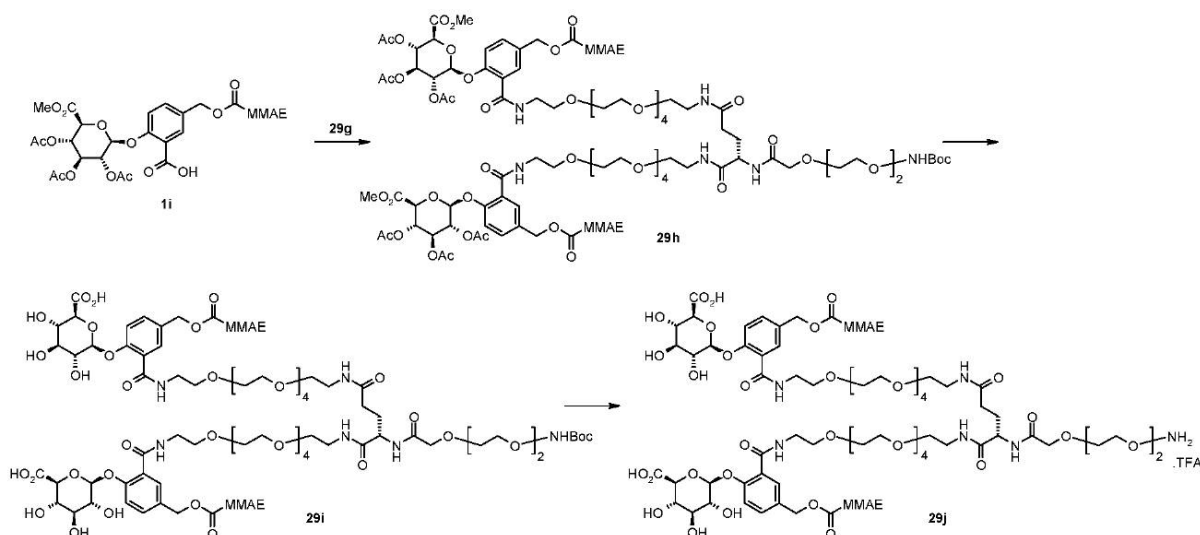
【0582】

化合物29gの調製

化合物29f(611mg、0.62mmol)のMeOH(50mL)中攪拌混合物に、Pd/C(10重量%、132mg、0.62mmol)を加えた。水素下室温で2時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(40mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物29gを無色油状物として得(518mg、粗製物)、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 933.85.

【0583】

【化132】



【0584】

化合物29hの調製

DIPEA(0.026mL、0.150mmol)及びHBTU(40mg、0.105mmol)を、化合物29g(35mg、0.037mmol)及び化合物1i(106mg、0.086mmol)のDMF(3mL)中攪拌混合物に加

えた。N₂下室温で16時間攪拌した後、反応混合物を水(20mL)で希釈し、EtOAc(3×10 mL)で抽出した。合わせた有機層を0.5N HCl(20mL)、飽和NaHCO₃水溶液(20mL)及びブライン(20mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物29h(81.4mg、65%)を得た。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1677.94, 1/3[M+H]⁺ 1119.03.

【0585】

化合物29iの調製

化合物29h(81mg、0.024mmol)のMeOH(1mL)中溶液に、-10℃でH₂O(1mL)中のLiOH一水和物(8.1mg、0.19mmol)を加えた。-10℃で2時間攪拌した後、反応混合物を酢酸を用いて中和し、減圧下で濃縮した。次いで反応混合物をH₂O/DMSO(1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物29i(53mg、72%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1537.86, 1/3[M+H]⁺ 1025.66.

【0586】

化合物29jの調製

TFA(0.3mL)を、0℃で化合物29i(53mg、0.017mmol)のDCM(1.0mL)中攪拌溶液に加えた。1時間攪拌した後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をH₂O/MeCN(1mL/1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物29j(23.1mg、43%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1487.99, 1/3[M+H]⁺ 992.40.

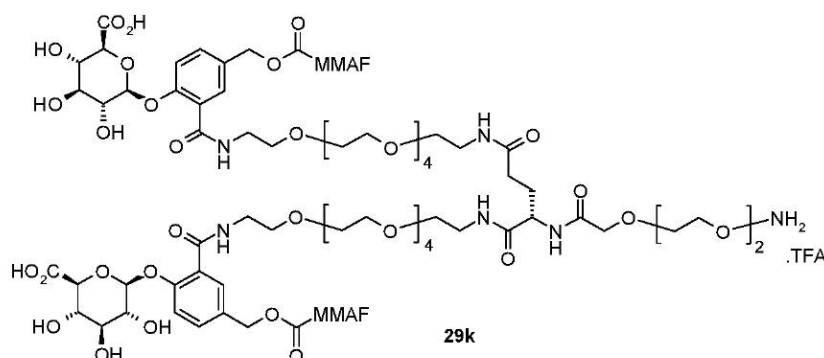
【0587】

[実施例42]

化合物29kの調製

【0588】

【化133】



実施例41において化合物29jを調製する方法と同様の方法により、化合物1j及び化合物29gから化合物29kを調製した。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1501.93, 1/3[M+H]⁺ 1001.69.

【0589】

[実施例43]

化合物30bの調製

化合物30aの調製

【0590】

10

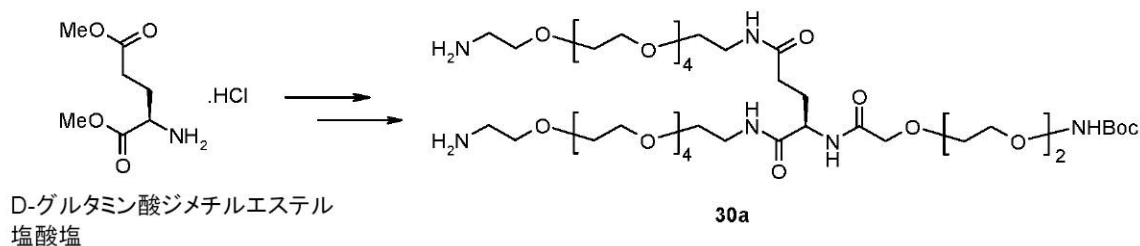
20

30

40

50

【化 1 3 4】



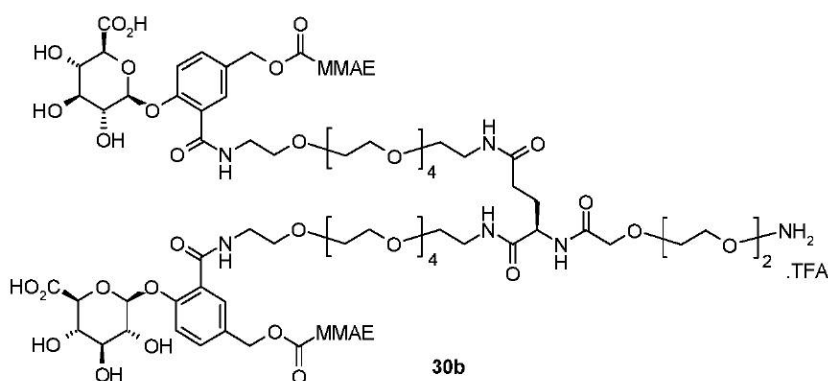
実施例41において化合物29gを調製する方法と同様の方法により、D-グルタミン酸ジメチルエステル塩酸塩から化合物30aを調製した。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 933.89.

【0 5 9 1】

化合物30bの調製

【0 5 9 2】

【化 1 3 5】



実施例41において化合物29jを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物30aから化合物30bを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1488.07, $1/3[M+H]^+$ 992.40.

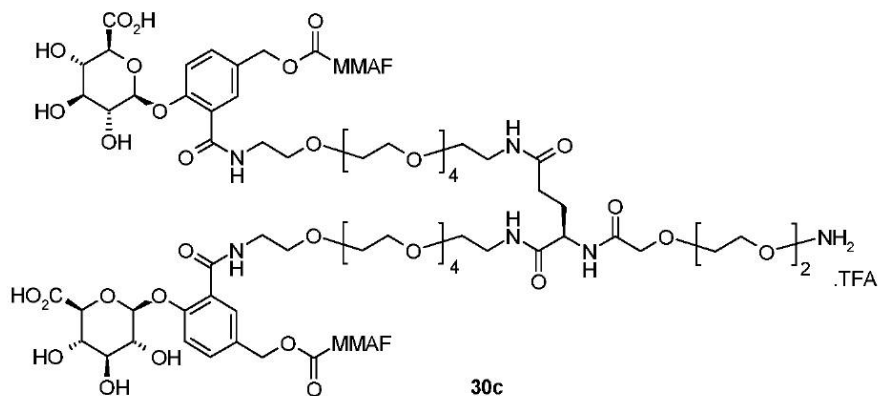
【0 5 9 3】

[実施例44]

化合物30cの調製

【0 5 9 4】

【化 1 3 6】



実施例41において化合物29jを調製する方法と同様の方法により、化合物1j及び化合物30aから化合物30cを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1501.93, $1/3[M+H]^+$ 1001.69.

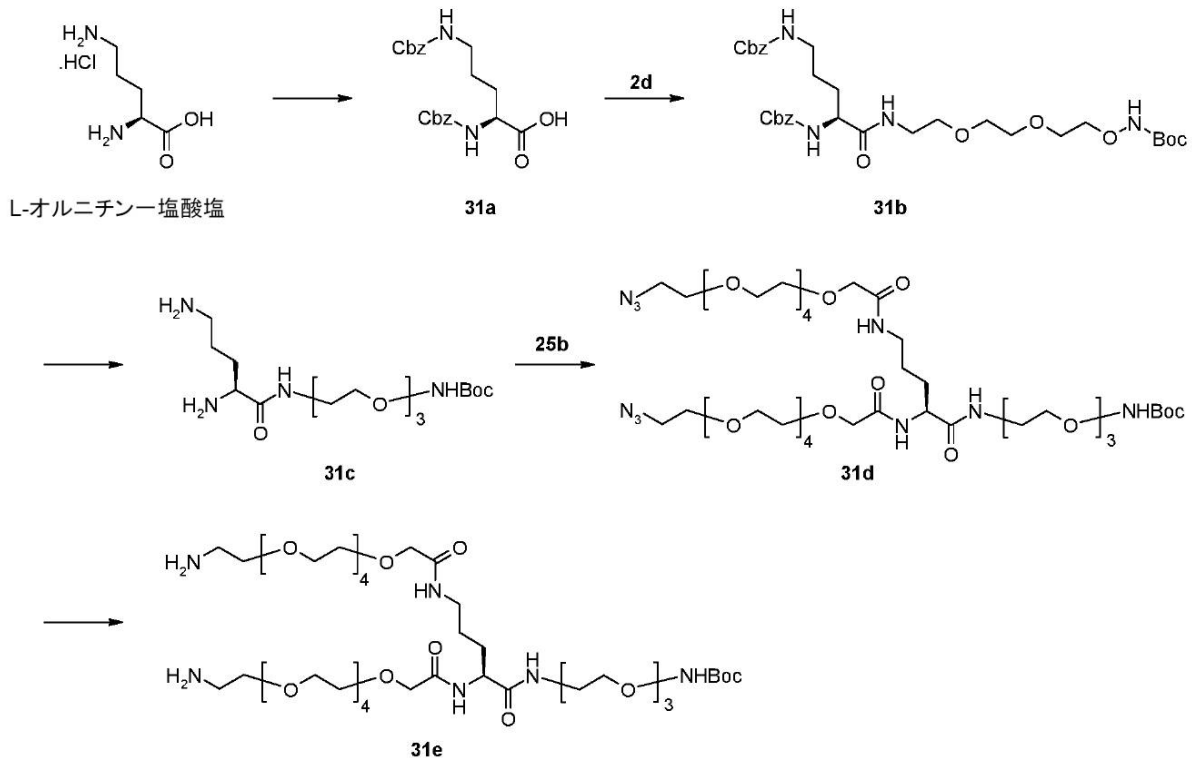
【0 5 9 5】

[実施例45]

化合物31fの調製

【0596】

【化137】



【0597】

化合物31aの調製

3口フラスコに、 H_2O (18 mL)、1,4-ジオキサン (30 mL) 及び L-オルニチン塩酸塩 (3.0 g、17.8 mmol) を連続的に仕込んだ。混合物を完全に溶解するまで攪拌した。2 M Na_2CO_3 水溶液を加えることにより、pH を約 10.5 に調節した。2 M Na_2CO_3 水溶液を同時に加えることにより pH を約 10~11 で維持しながら、クロロギ酸ベンジル (6.37 g、37.4 mmol) を加えた。添加終了後、反応混合物を 20°C で 1 時間攪拌した。次いで EtOAc (50 mL) を加え、得られた混合物の pH を c-HCl で 2~3 に調節した。有機層を分離し、水層を EtOAc (50 mL) で抽出した。合わせた有機層をブライン (50 mL) で洗浄し、 Na_2SO_4 で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮して、化合物 31a (7.1 g) を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 12.54 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.44-7.29 (m, 10H), 7.24-7.22 (m, 1H), 5.16-5.00 (d, 4H), 3.95-3.89 (m, 1H), 3.00-2.96 (m, 2H), 1.98-1.57 (m, 1H), 1.56-1.46 (m, 3H).

【0598】

化合物31bの調製

DIPEA (1.41 mL、8.12 mmol) 及び HBTU (1.85 g、4.87 mmol) を、0°C で化合物 31a (1.30 g、3.25 mmol) 及び化合物 2d (891 mg、3.57 mmol) の DMF (10 mL) 中攪拌混合物に加えた。反応混合物を 0°C で 30 分間攪拌し、 N_2 下 16 時間かけて室温に加温した。反応混合物を水 (50 mL) 中に注ぎ入れ、DCM (3 × 50 mL) で抽出した。合わせた有機層を 0.5 N HCl 水溶液 (50 mL)、飽和 NaHCO_3 水溶液 (50 mL) 及びブライン (50 mL) で順次洗浄し、無水 Na_2SO_4 で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物 31b (1.2 g、57%) を得た。EI-MS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 647.54, $[\text{M}+\text{H-Boc}]^+$ 547.47

【0599】

化合物31cの調製

化合物 31b (1.2 g、1.86 mmol) の MeOH (50 mL) 中攪拌混合物に、Pd/C (10 重量%、59

mg、5.57mmol)を加えた。水素下室温で2時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(40mL)で洗浄した。濾液を濃縮して化合物31c(717mg)を得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7.93 (s, 1H), 3.81 (t, 2H), 3.55 (t, 2H), 3.51 (s, 5H), 3.42-3.22 (m, 13H), 1.37 (s, 9H).

【0600】

化合物31dの調製

DIPEA(0.55mL、3.17mmol)及びHBTU(902mg、2.38mmol)を、0℃で化合物31c(300mg、0.79mmol)及び化合物25b(637mg、1.98mmol)のDMF(5mL)中攪拌混合物に加えた。反応混合物を0℃で30分間攪拌し、N₂下16時間かけて室温に加温した。反応混合物を水(30mL)中に注ぎ入れ、DCM(3×30mL)で抽出した。合わせた有機層を0.5N HCl水溶液(30mL)、飽和NaHCO₃水溶液(30mL)及びブライン(30mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物31d(551mg、71%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 985.87.

【0601】

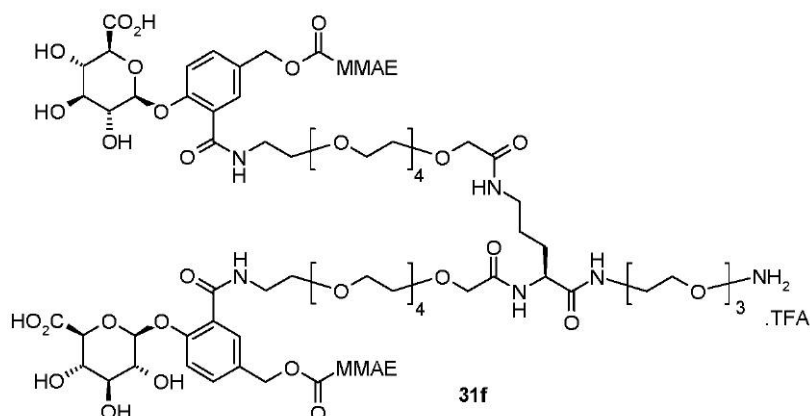
化合物31eの調製

化合物31d(491mg、0.50mmol)のMeOH(30mL)中攪拌混合物に、Pd/C(10重量%、106mg1.00mmol)を加えた。水素下室温で2時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(40mL)で洗浄した。濾液を濃縮して化合物31e(452mg)を得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 933.94.

化合物31fの調製

【0602】

【化138】



実施例35において化合物25eを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物31eから化合物31fを調製した。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1488.20, 1/3[M+H]⁺ 992.54.

【0603】

[実施例46]

化合物31gの調製

【0604】

10

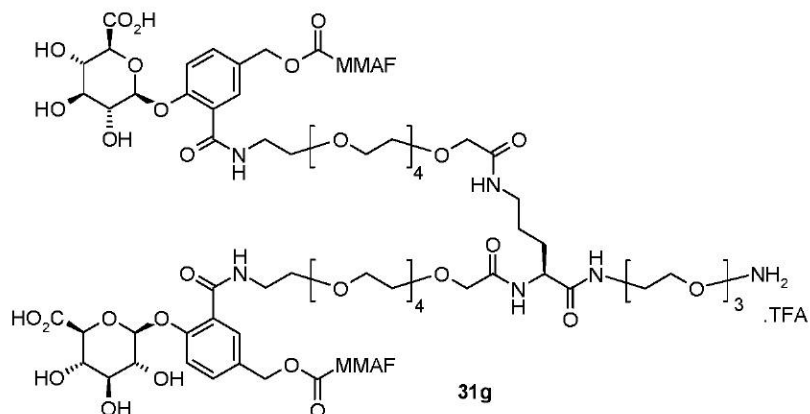
20

30

40

50

【化 1 3 9】



10

実施例35において化合物25eを調製する方法と同様の方法により、化合物1j及び化合物31eから化合物31gを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1502.23, $1/3[M+H]^+$ 1001.86.

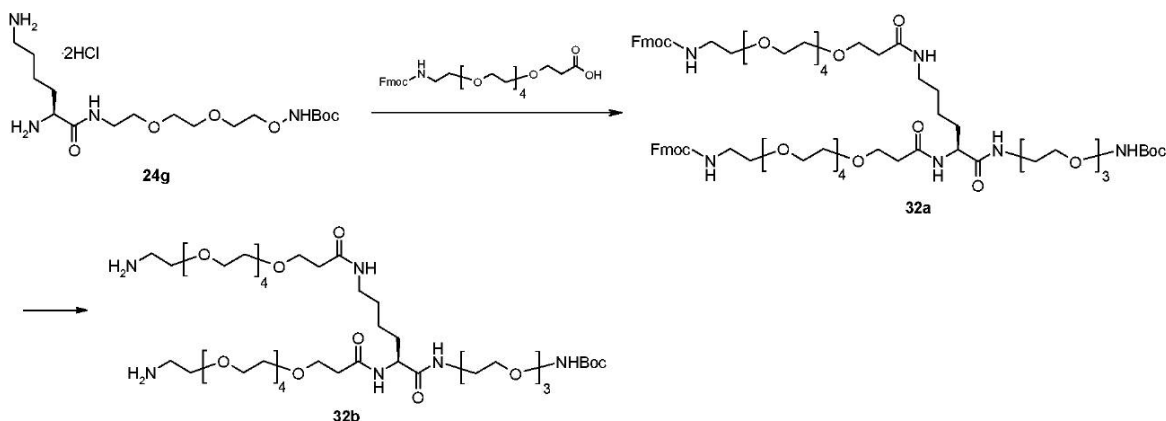
【 0 6 0 5】

[実施例47]

化合物32cの調製

【 0 6 0 6】

【化 1 4 0】



20

30

【 0 6 0 7】

化合物32aの調製

DIPEA(0.6mL、7.07mmol)及びHBTU(972mg、5.30mmol)を、化合物24g(483mg、0.855mmol)及びFmoc-NH-PEG5-CH₂CH₂COOH(1.0g、3.89mmol)のDMF(10mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(30mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×30mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(10mL)、飽和NaHCO₃水溶液(10mL)及びブライン(10mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物32a(1.16g、90%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 7.77 (d, 4H), 7.60(d, 4H), 7.39 (t, 4H), 7.31 (t, 4H), 4.39 (d, 4H), 4.33 (m, 1H), 4.22 (m, 2H), 4.09 (m, 2H), 3.71-3.39 (m, 52H), 3.19 (m, 2H), 2.51 (m, 4H), 1.50 (m, 1H), 1.46 (m, 1H), 1.43 (s, 9H), 1.25 (m, 2H). EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1520.0.

40

【 0 6 0 8】

化合物32bの調製

化合物32a(500mg、0.328mmol)のTHF(8mL)中溶液に、室温でピペリジン(2mL)を加えた。20分間攪拌した後、反応混合物を減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物32b(175mg、50%)を得た。¹H-NMR (400

50

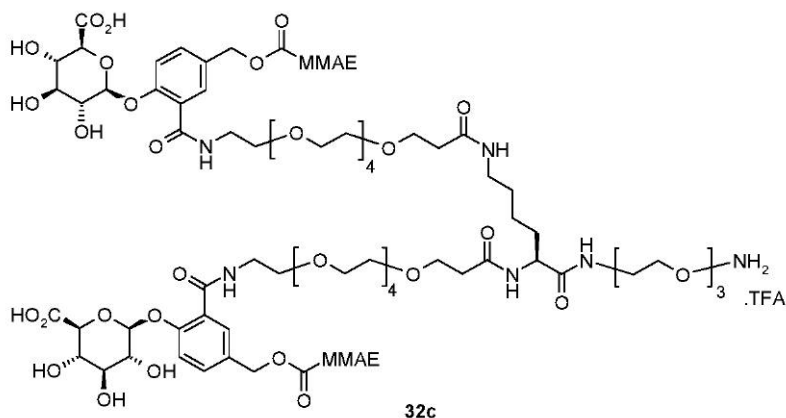
MHz, CDCl₃) δ 4.41 (m, 1H), 4.01 (m, 2H), 3.75-3.56 (m, 43H), 3.54 (m, 2H), 3.24 (m, 2H), 2.89 (m, 3H), 2.52 (m, 4H), 1.83 (m, 1H), 1.80 (m, 1H), 1.53 (s, 9H), 1.39 (m, 2H). EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 975.5.

【0609】

化合物32cの調製

【0610】

【化141】



10

実施例35において化合物25eを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物32bから化合物32cを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1508.8.

20

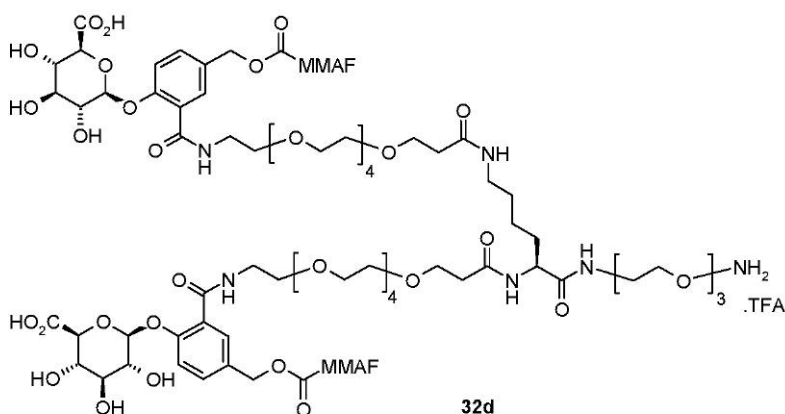
【0611】

[実施例48]

化合物32dの調製

【0612】

【化142】



30

実施例35において化合物25eを調製する方法と同様の方法により、化合物1j及び化合物32bから化合物32dを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1522.8.

40

【0613】

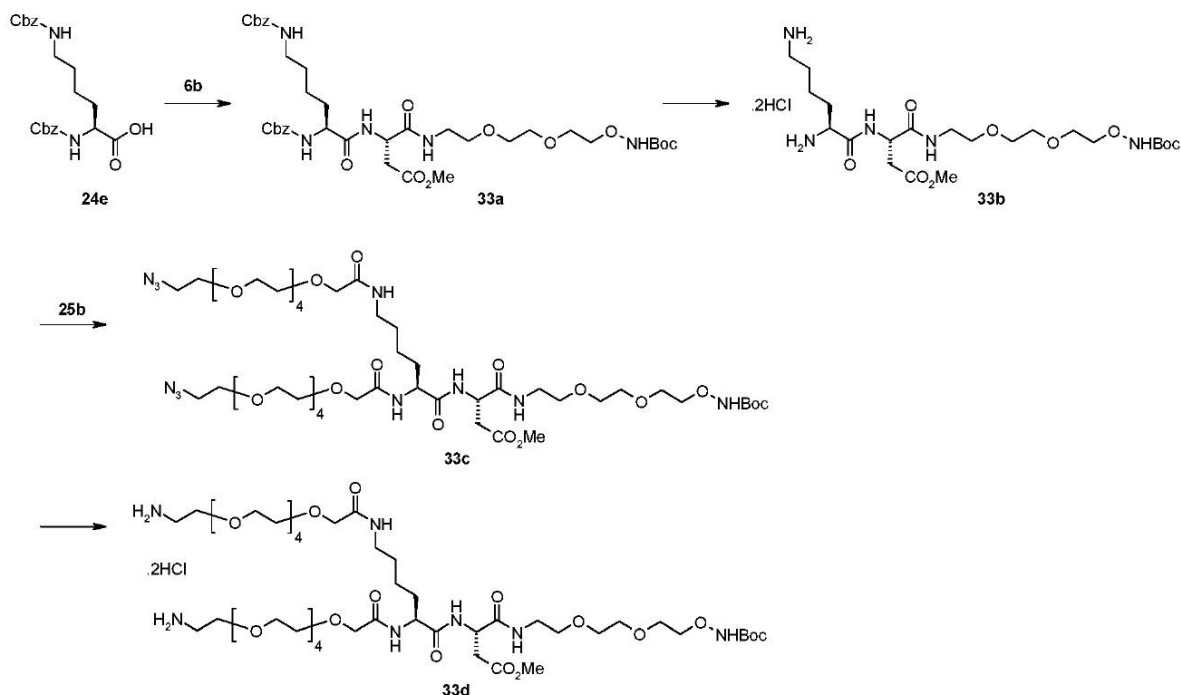
[実施例49]

化合物33eの調製

【0614】

50

【化 1 4 3】



10

20

【 0 6 1 5】

化合物33aの調製

DIPEA(1.98mL、11.37mmol)及びHBTU(2.15g、5.68mmol)を、化合物24e(1.57g、3.79mmol)及び化合物6b(1.30g、3.15mmol)のDMF(37mL)中攪拌混合物に加えた。 N_2 下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を H_2O (40mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×40mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(40mL)、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液(40mL)及びブライン(40mL)で順次洗浄し、無水 Na_2SO_4 で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物33a(2.2g、88%)を得た。 ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.99 (s, 1H), 8.19 (d, 1H), 7.79 (t, 1H), 7.47 (d, 1H), 7.34-7.31 (m, 5H), 7.24 (t, 1H), 5.01 (d, 4H), 4.55 (q, 1H), 3.91 (q, 1H), 3.79 (t, 2H), 3.55-3.48 (m, 9H), 3.24-3.11 (m, 2H), 2.75-2.54 (m, 2H), 1.57-1.49 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.25 (m, 2H). EI-MS m/z: $[M+H]^+$ 790.47, $[M+Na]^+$ 812.4.

30

【 0 6 1 6】

化合物33bの調製

化合物33a(2.2g、2.78mmol)及びPd/C(10重量%、400mg)のMeOH(60mL)中攪拌混合物に、0℃でHCl(1,4-ジオキサン中4N、1.39mL、5.56mmol)を加えた。水素下室温で3時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(40mL)で洗浄した。濾液を濃縮して化合物33b(1.67g、99%)を得、これを更には精製せずに使用した。 ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.98 (s, 1H), 8.87 (d, 1H), 8.28 (bs, 3H), 8.12 (1H), 7.96 (bs, 3H), 4.51 (q, 1H), 3.77 (t, 2H), 3.72 (bs, 1H), 3.57 (s, 3H), 3.52-3.47 (m, 7H), 3.12 (s, 3H), 2.76-2.61 (m, 4H) 1.71 (q, 2H), 1.55 (q, 2H) 1.36 (s, 9H). EI-MS m/z: $[M+H]^+$ 522.4, $[M+Na]^+$ 544.3.

40

【 0 6 1 7】

化合物33cの調製

DIPEA(1.95mL、11.23mmol)及びHBTU(3.19g、8.42mmol)を、化合物25b(1.98g、6.17mmol)及び化合物33b(1.67g、2.80mmol)のDMF(20mL)中攪拌混合物に加えた。 N_2 下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を濃縮し、カラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物33c(2g、63%)を得た。 ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9.97 (s, 1H), 8.28 (d, 1H), 7.82 (t, 1H), 7.65 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 4.54 (q, 1H), 4.

50

25 (q, 1H), 3.91 (s, 2H), 3.84 (s, 2H), 3.80 (t, 2H), 3.60-3.49 (m, 48H), 3.26-3.12 (m, 3H), 3.07 (q, 2H), 2.75-2.54 (m, 2H), 1.65-1.55 (m, 2H), 1.39 (s, 10H), 1.21 (m, 3H). EI-MS m/z: $[M+H]^+$ 1128.8, $[M+Na]^+$ 1150.7.

【0618】

化合物33dの調製

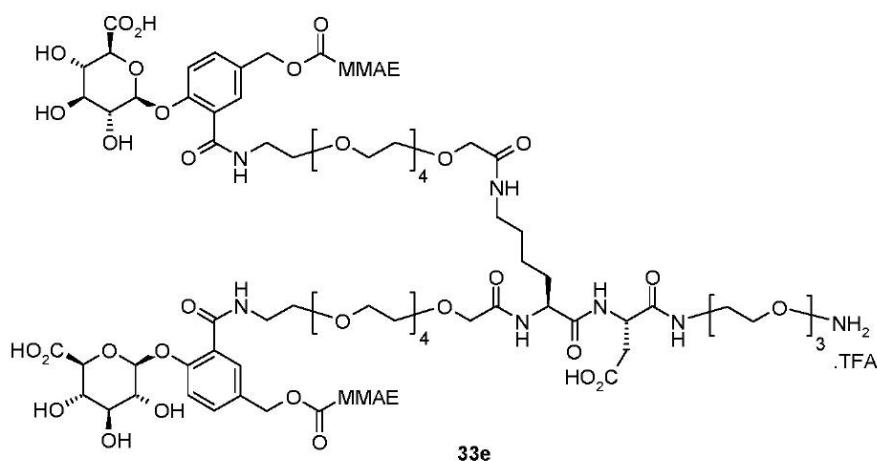
化合物33c(1g、0.88mmol)及びPd/C(10重量%、200mg)のMeOH(20mL)中攪拌混合物に、0°CでHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.44mL、0.88mmol)を加えた。水素下室温で3時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(20mL)で洗浄した。濾液を濃縮して化合物33d(936mg、92%)を得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.98 (s, 1H), 8.30 (d, 1H), 7.70 (t, 2H), 4.54 (q, 1H), 4.26 (q, 1H), 3.93 (s, 2H), 3.85 (s, 2H), 3.80 (t, 2H), 3.61-3.49 (m, 46H), 3.22-3.12 (m, 4H), 3.06 (q, 2H), 2.97 (q, 4H), 2.76-2.54 (m, 2H), 1.64-1.55 (m, 2H), 1.39 (s, 10H), 1.26 (m, 3H). EI-MS m/z: $[M+H]^+$ 1076.8.

【0619】

化合物33eの調製

【0620】

【化144】



実施例35において化合物25eを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物33dから化合物33eを調製した。EI-MS m/z: $1/2[M+H]^+$ 1552.2.

【0621】

[実施例50]

化合物33fの調製

【0622】

10

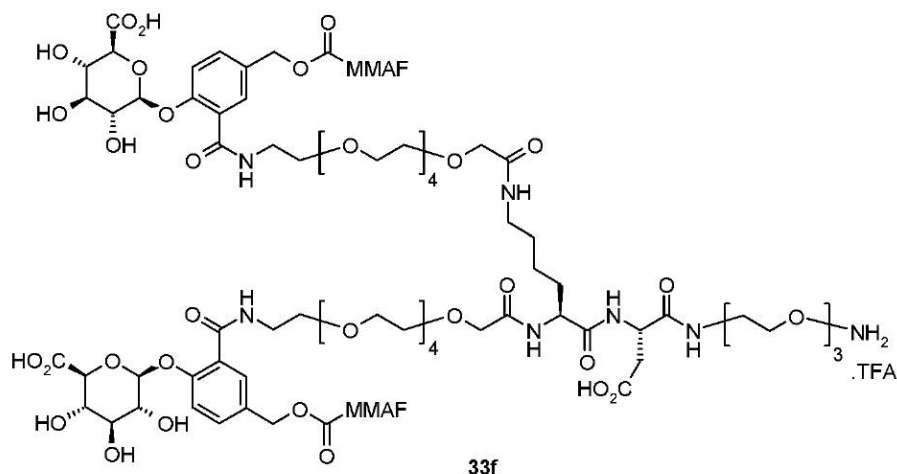
20

30

40

50

【化 1 4 5】



10

実施例35において化合物25eを調製する方法と同様の方法により、化合物1j及び化合物33dから化合物33fを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1566.4.

【0 6 2 3】

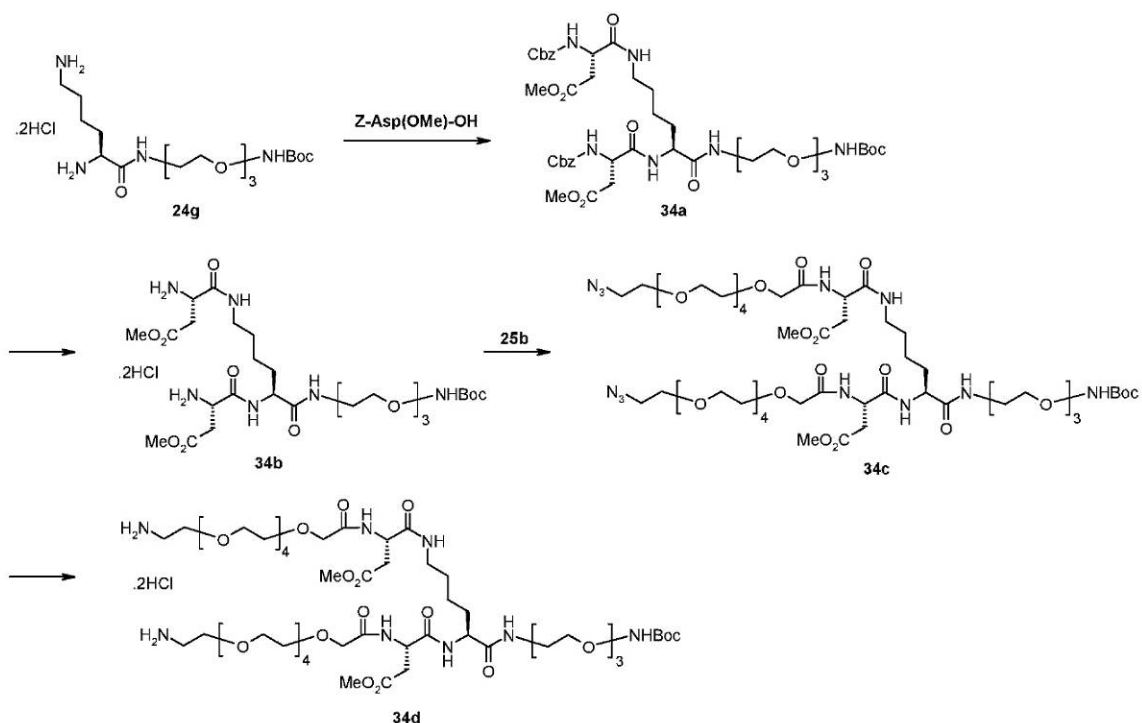
[実施例51]

化合物34eの調製

20

【0 6 2 4】

【化 1 4 6】



30

40

【0 6 2 5】

化合物34aの調製

DIPEA(0.8mL、4.56mmol)及びHBTU(1.3g、3.42mmol)を、化合物24g(530mg、1.14mmol)及びZ-Asp(OMe)-OH(704mg、2.5mmol)のDMF(5mL)中攪拌混合物に加えた。 N_2 下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を H_2O (50mL)中に注ぎ入れ、EtOAc($3 \times 30mL$)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(40mL)、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液(40mL)及びブライン(40mL)で順次洗浄し、無水 Na_2SO_4 で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物34a.(713mg、68%)を得た。

50

$^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) : δ 9.97 (s, 1H), 7.88 (m, 3H), 7.64 (d, 2H), 7.51 (d, 2H), 7.35 (m, 10H), 5.02 (m, 4H), 4.43-4.31 (m, 2H), 4.17 (m, 1H), 3.80 (t, 2H), 3.58-3.50 (m, 12H), 3.41-3.16 (m, 6H), 2.98 (m, 2H), 2.79-2.67 (m, 3H), 2.57 (m, 2H), 1.60-1.34 (m, 13H).

【0626】

化合物34bの調製

化合物34a(530mg、0.58mmol)のMeOH(5mL)中溶液に、Pd/C(20重量%、106mg)及びHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.29mL、1.16mmol)を加えた。水素下室温で3時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(30mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物34b(420mg、100%)を得、これを更には精製せずに使用した。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6) δ 9.97 (s, 1H), 8.62 (d, 1H), 8.54 (s, 1H), 8.27 (m, 4H), 7.02 (s, 1H), 4.17 (m, 2H), 4.02 (m, 1H), 3.76 (t, 2H), 3.61 (m, 4H), 3.51-3.11 (m, 12H), 3.09-2.77 (m, 8H), 1.60-1.24 (m, 13H). EI-MS m/z : $[\text{M}+\text{H}]^+$ 651.5.

【0627】

化合物34cの調製

DIPEA(0.4mL、2.32mmol)及びHBTU(660mg、1.74mmol)を、化合物34b(420mg、0.58mmol)及び化合物25b(299mg、0.93mmol)のDMF(5mL)中攪拌混合物に加えた。 N_2 下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を H_2O (30mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×3 0mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(20mL)、飽和 NaHCO_3 水溶液(20mL)及びブライン(20mL)で順次洗浄し、無水 Na_2SO_4 で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物34c(466mg、70.8%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): δ 8.28 (s, 1H), 7.78 (q, 1H), 7.31 (d, 1H), 7.71 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 4.85 (m, 2H), 4.35 (m, 1H), 4.07-4.03(m, 6H), 3.75-3.41 (m, 56H), 3.23 (q, 2H), 2.92-2.84 (m, 4H), 1.91-1.32 (m, 15H). EI-MS m/z : $[\text{M}+2\text{H}]^+$ 1158.1.

【0628】

化合物34dの調製

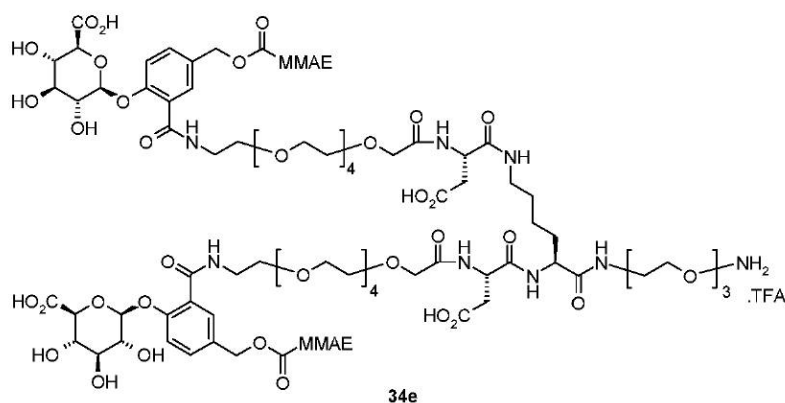
化合物34c(260mg、0.21mmol)及びPd/C(10重量%、52mg)のMeOH(20mL)中攪拌混合物に、 0°C でHCl(1,4-ジオキサン中4N、0.10mL、0.41mmol)を加えた。水素下室温で2時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(50mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物34d(249mg、100%)を得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z : $[\text{M}+2\text{H}]^+$ 1206.1.

【0629】

化合物34eの調製

【0630】

【化147】



実施例35において化合物25eを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物

34dから化合物34eを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1610.4.

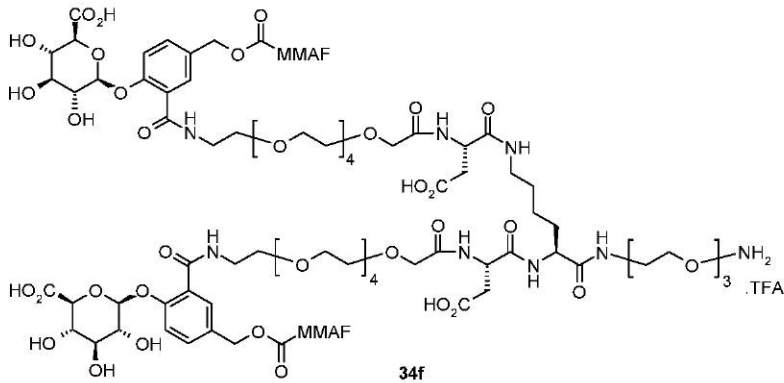
【0631】

[実施例52]

化合物34fの調製

【0632】

【化148】



10

実施例35において化合物25eを調製する方法と同様の方法により、化合物1j及び化合物34dから化合物34fを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1624.3.

【0633】

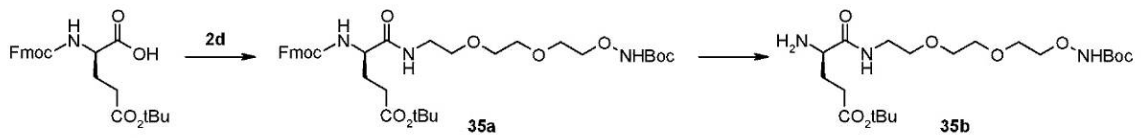
20

[実施例53]

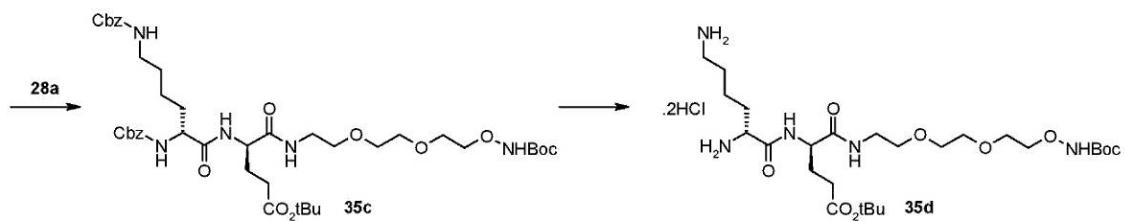
化合物35gの調製

【0634】

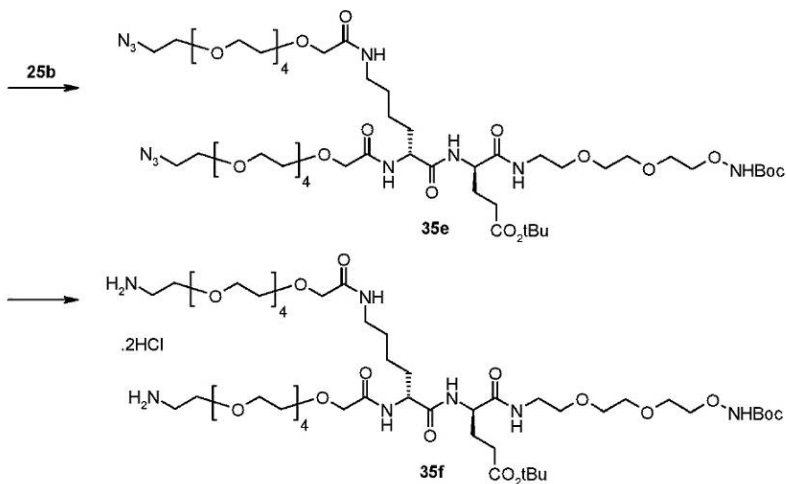
【化149】



Fmoc-D-Glu(OtBu)-OH



30



40

【0635】

50

化合物35aの調製

DIPEA(0.61mL、3.52mmol)及びHBTU(665mg、1.175mmol)を、Fmoc-D-Glu(Ot Bu)-OH(500mg、1.17mmol)及び化合物2d(424mg、1.404mmol)のDMF(10mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(30mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×30mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(20mL)、飽和NaHCO₃水溶液(20mL)及びブライン(20mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物35a(708mg、89%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 672.7.

【0636】

化合物35bの調製

化合物35a(708mg、1.04mmol)のTHF(8mL)中溶液に、室温でピペリジン(2mL)を加えた。20分間攪拌した後、反応混合物を減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物35b(400mg、85%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 450.1.

【0637】

化合物35cの調製

DIPEA(0.19mL、1.1mmol)及びHBTU(253mg、0.66mmol)を、化合物28a(203mg、0.484mmol)及び化合物35b(200mg、0.44mmol)のDMF(10mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(30mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×30mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(10mL)、飽和NaHCO₃水溶液(10mL)及びブライン(10mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物35c(235mg、63%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 847.0.

【0638】

化合物35dの調製

化合物35c(235mg、0.277mmol)のMeOH(15mL)中溶液に、Pd/C(10重量%、30mg)を加えた。水素下室温で2時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(50mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物35d(160mg、100%)を得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 578.7.

【0639】

化合物35eの調製

DIPEA(0.145mL、1.758mmol)及びHBTU(262mg、1.465mmol)を、化合物35d(160mg、0.276mmol)及び化合物25b(187mg、0.581mmol)のDMF(3mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(30mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×30mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(10mL)、飽和NaHCO₃水溶液(10mL)及びブライン(10mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物35e(260mg、79%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1185.4.

【0640】

化合物35fの調製

化合物35e(70mg、0.059mmol)のMeOH(5mL)中溶液に、Pd/C(10重量%、15mg)を加えた。水素下室温で90分間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(30mL)で洗浄した。濾液を濃縮して化合物35f(67mg、100%)を得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1133.3.

【0641】

化合物35gの調製

【0642】

10

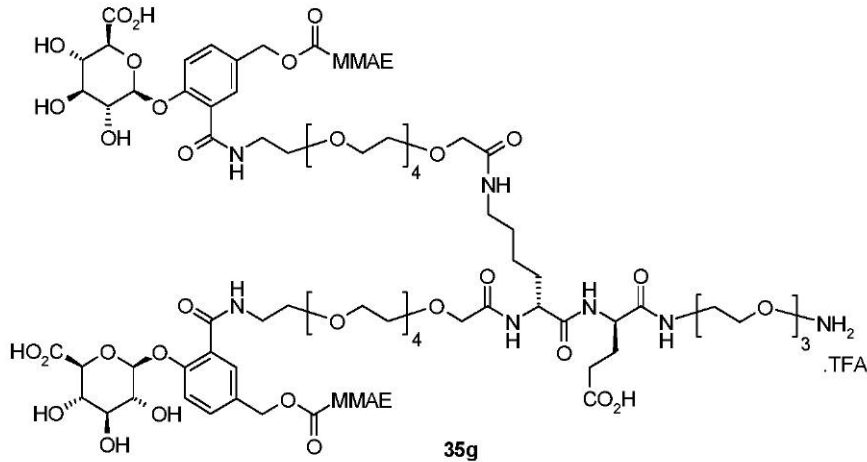
20

30

40

50

【化 1 5 0】



10

実施例35において化合物25eを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物35fから化合物35gを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1559.9.

【 0 6 4 3】

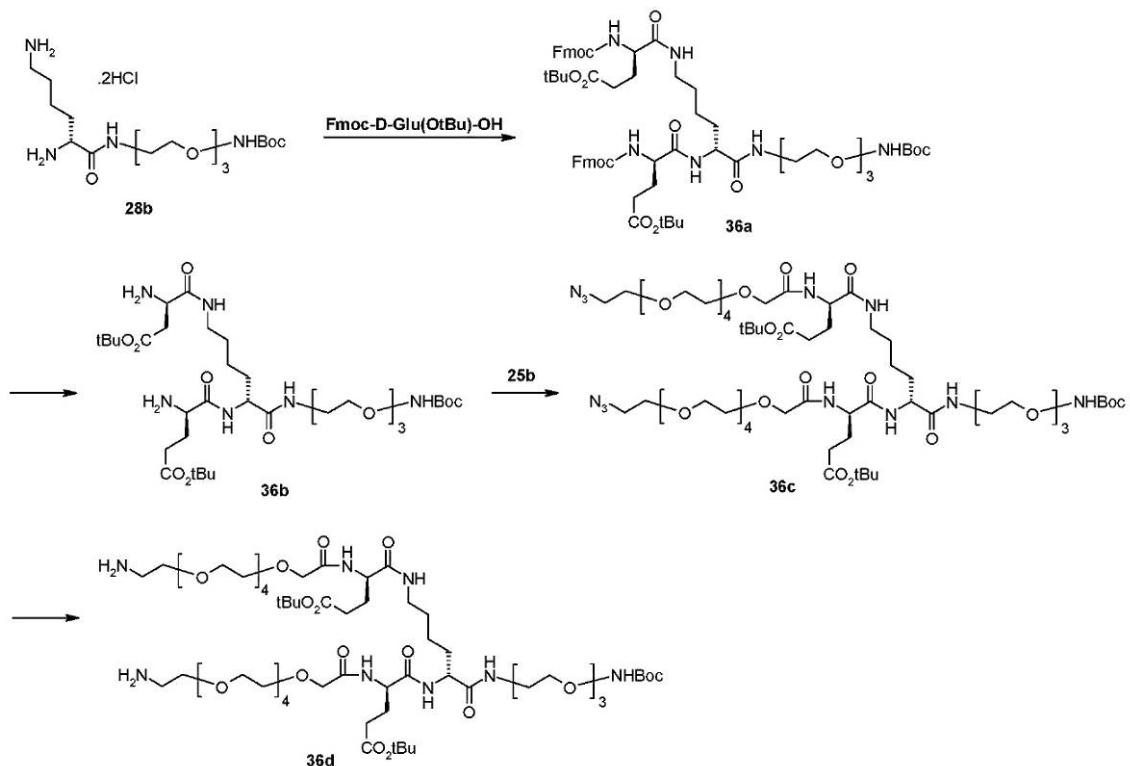
[実施例54]

化合物36eの調製

20

【 0 6 4 4】

【化 1 5 1】



30

40

【 0 6 4 5】

化合物36aの調製

DIPEA(0.3mL、3.10mmol)及びHBTU(474mg、2.275mmol)を、Fmoc-D-Glu(OtBu)-OH(484mg、1.138mmol)及び化合物28b(223mg、0.569mmol)のDMF(7mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(30mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×30mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(20mL)、飽和NaHCO₃水溶液(20mL)及びブライン(20mL)で洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮

50

した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物36a(593mg、86%)を得た。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1208.3.

【0646】

化合物36bの調製

化合物36a(593mg、0.49mmol)のTHF(8mL)中溶液に、室温でピペリジン(1mL)を加えた。20分間攪拌した後、反応混合物を減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物36b(166mg、44%)を得た。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 763.9.

【0647】

化合物36cの調製

DIPEA(0.15mL、0.84mmol)及びHBTU(247mg、0.63mmol)を、化合物36b(166mg、0.21mmol)及び化合物25b(147mg、0.441mmol)のDMF(3mL)中攪拌混合物に加えた。 N_2 下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を H_2O (30mL)中に注ぎ入れ、EtOAc($3 \times 30mL$)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(10mL)、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液(10mL)及びブライン(10mL)で順次洗浄し、無水 Na_2SO_4 で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物36c(195mg、68%)を得た。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1370.6.

【0648】

化合物36dの調製

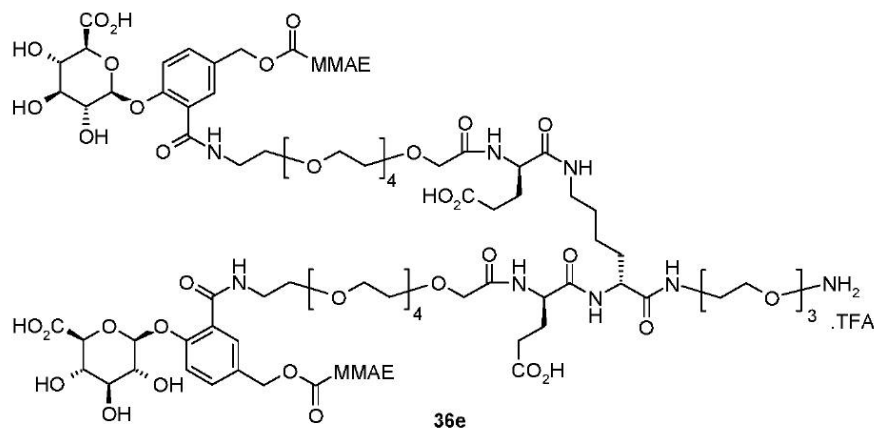
化合物36c(195mg、0.14mmol)のMeOH(10mL)中溶液に、Pd/C(10重量%、30mg)を加えた。次いで反応混合物を水素下室温で90分間攪拌した。反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(30mL)で洗浄した。濾液を濃縮して化合物36d(187mg、100%)を得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1318.6.

【0649】

化合物36eの調製

【0650】

【化152】



実施例35において化合物25eを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物36dから化合物36eを調製した。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1624.4.

【0651】

[実施例55]

化合物37dの調製

【0652】

10

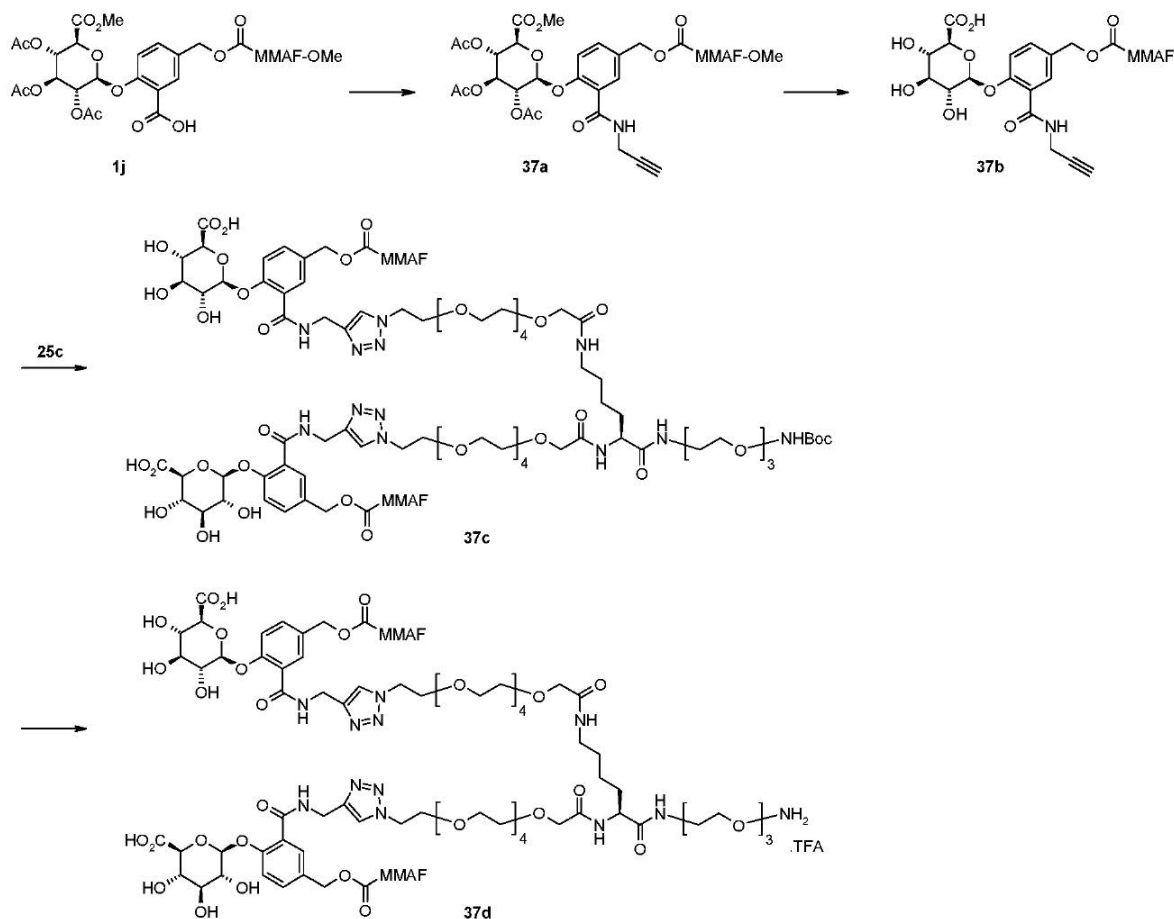
20

30

40

50

【化 1 5 3】



10

20

【0 6 5 3】

化合物37aの調製

DIPEA(0.083mL、0.71mmol)及びHBTU(136mg、0.36mmol)を、プロパルギルアミン(0.018mL、0.285mmol)及び化合物1j(300mg、0.238mmol)のDMF(3mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(10mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×10mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(10mL)、飽和NaHCO₃水溶液(10mL)及びブライン(10mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物37a(300mg、97%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1294.0.

30

【0 6 5 4】

化合物37bの調製

化合物37a(300mg、0.24mmol)のTHF(2mL)及びMeOH(2mL)中溶液に、0℃でH₂O(2mL)中のLiOH一水和物(50mg、1.20mmol)を加えた。0℃で2時間攪拌した後、反応混合物を酢酸を用いて中和し、減圧下で濃縮した。次いで残留物をH₂O/DMSO(1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、濃縮して、化合物37b(165mg、60%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1140.8.

40

【0 6 5 5】

化合物37cの調製

CuSO₄·5H₂O(1mg)及びアスコルビン酸ナトリウム(2mg)を、化合物37b(50mg、0.042mmol)及び化合物25c(23mg、0.02mmol)のTHF(2mL)及びH₂O(2mL)中攪拌混合物に加えた。1M Na₂CO₃水溶液を加えることにより、pHを約7に調節した。20℃で1時間攪拌した後、反応混合物をH₂O/DMSO(1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、濃縮して、化合物37c(32.4mg

50

、48%)を得た。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1638.2.

【0656】

化合物37dの調製

TFA(0.4mL)を、化合物37c(32.4mg、0.01mmol)のDCM(2mL)中溶液に加えた。0℃で2時間攪拌した後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をH₂O/MeCN(1mL/1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物37d(19.6mg、62%)を白色固体として得た。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1590.2.

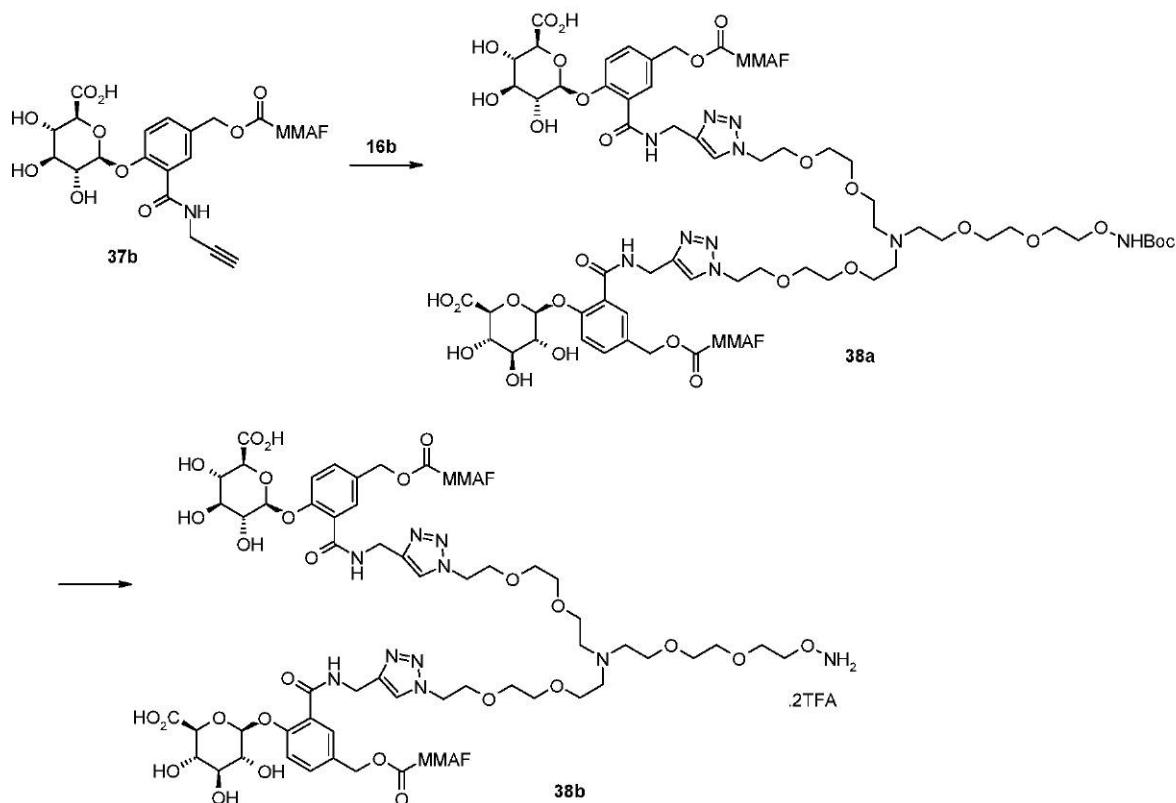
【0657】

[実施例56]

化合物38bの調製

【0658】

【化154】



【0659】

化合物38aの調製

CuSO₄·5H₂O(1mg)及びアスコルビン酸ナトリウム(2mg)を、化合物37b(60mg、0.052mmol)及び化合物16b(14mg、0.025mmol)のTHF(2mL)及びH₂O(2mL)中攪拌混合物に加えた。1M Na₂CO₃水溶液を加えることにより、pHを約7に調節した。20℃で1時間攪拌した後、反応混合物をH₂O/DMSO(1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、濃縮して、化合物38a(61mg、82%)を得た。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1430.2.

【0660】

化合物38bの調製

TFA(0.4mL)を、化合物38a(59.8mg、0.02mmol)のDCM(2.0mL)中溶液に加えた。0℃で2時間攪拌した後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をH₂O/AN(1mL/1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物38b(14.6mg、24%)を白色固体として得た。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1380.1.

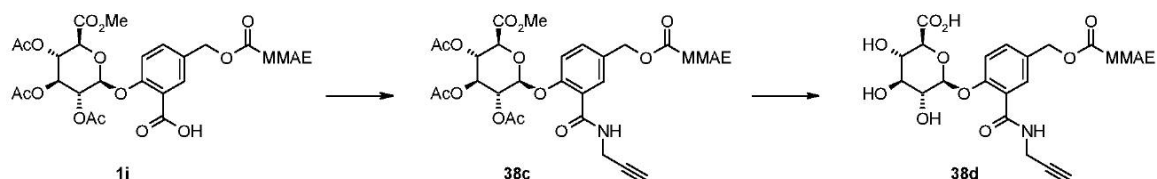
【0661】

[実施例57]

化合物38eの調製

【0662】

【化155】



10

【0663】

化合物38cの調製

DIPEA(0.075mL、0.428mmol)及びHBTU(122mg、0.321mmol)を、プロパルギルアミン(0.016mL、0.256mmol)及び化合物1i(264mg、0.214mmol)のDMF(3mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(10mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×10mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(10mL)、飽和NaHCO₃水溶液(10mL)及びブライン(10mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮した後、残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物38c(270mg、100%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1266.2.

20

【0664】

化合物38dの調製

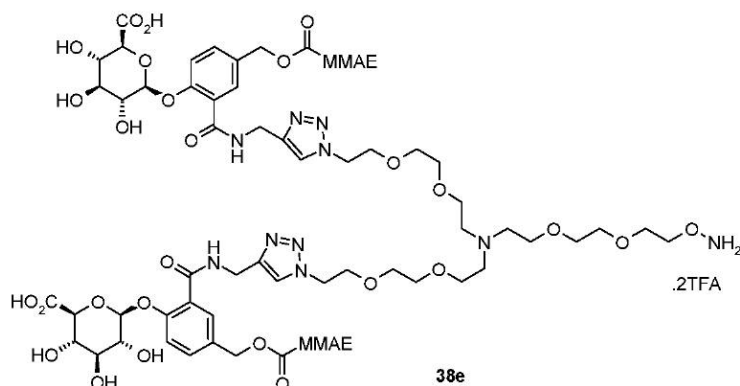
化合物38c(270mg、0.213mmol)のTHF(2mL)及びMeOH(2mL)中溶液に、0℃でH₂O(2mL)中のLiOH一水和物(36mg、0.853mmol)を加えた。0℃で2時間攪拌した後、反応混合物を酢酸を用いて中和し、減圧下で濃縮した。次いで残留物をH₂O/DMSO(1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、濃縮して、化合物38d(168mg、70%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1126.1.

【0665】

化合物38eの調製

【0666】

【化156】



40

実施例56において化合物38bを調製する方法と同様の方法により、化合物38d及び化合物16bから化合物38eを調製した。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1366.2.

【0667】

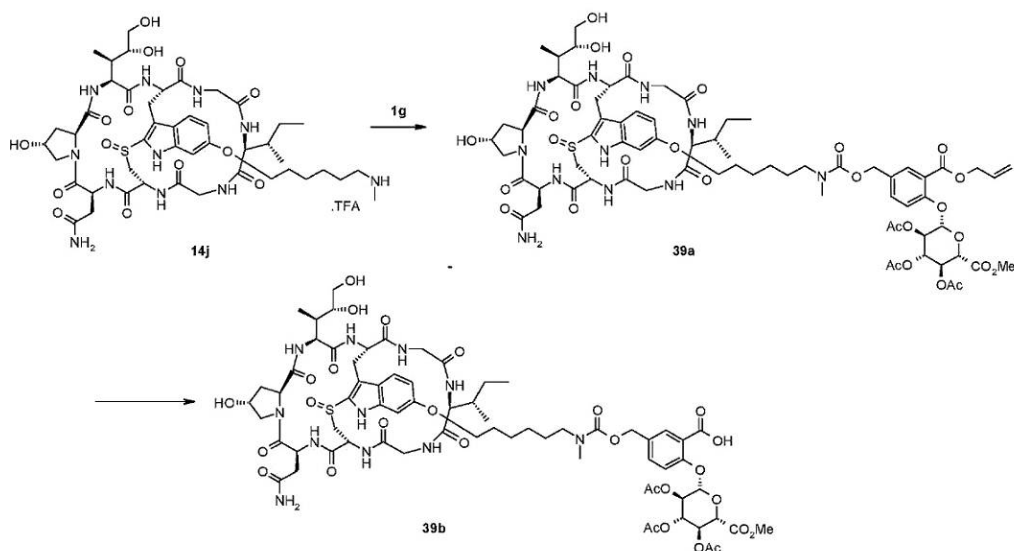
[実施例58]

化合物39eの調製

【0668】

50

【化 1 5 7】



10

【 0 6 6 9】

化合物39aの調製

化合物1g(27mg、0.039mmol)、化合物14j(45mg、0.039mmol)及び無水HOBt(1mg、0.0078mmol)を0℃でDMF(2mL)に溶解した。次いでピリジン(0.2mL)及びDIPEA(0.014mL、0.078mmol)を加えた。N₂下0℃から室温で24時間攪拌した後、反応混合物をDMSO(1mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物39a(36mg、58%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1582.9, [M+Na]⁺ 1604.5.

20

【 0 6 7 0】

化合物39bの調製

化合物39a(35mg、0.022mmol)及びトリフェニルホスフィン(1.5mg、0.005mmol)をDCM(2mL)に溶解した。ピロリジン(0.0025mL、0.026mmol)及びPd(PPh₃)₄(1.3mg、0.001mmol)を室温で反応混合物に加え、次いで2時間攪拌した。反応混合物をH₂O(50mL)で希釈し、n-ブタノール(2×50mL)で抽出した。合わせた有機層を無水MgSO₄で脱水し、減圧下で蒸発させた。得られた残留物をDMSO(1mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物39b(34mg、粗製物)を白色固体として得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ : 1542.7.

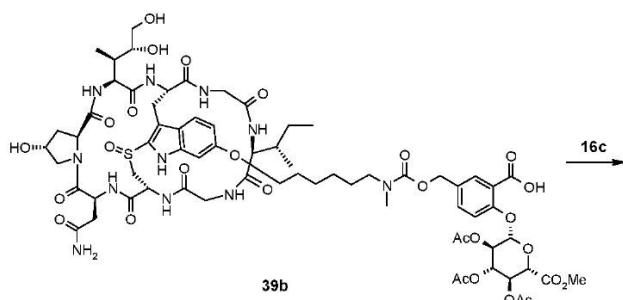
30

【 0 6 7 1】

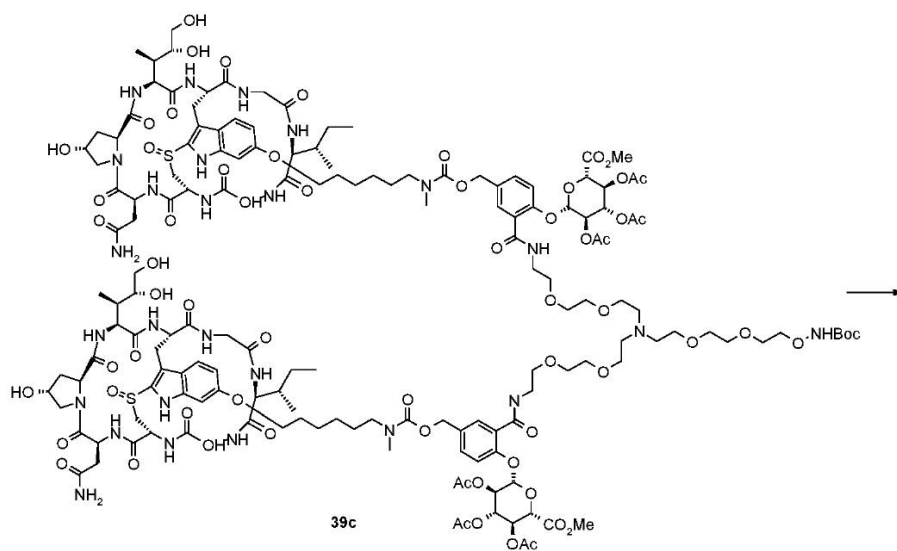
40

50

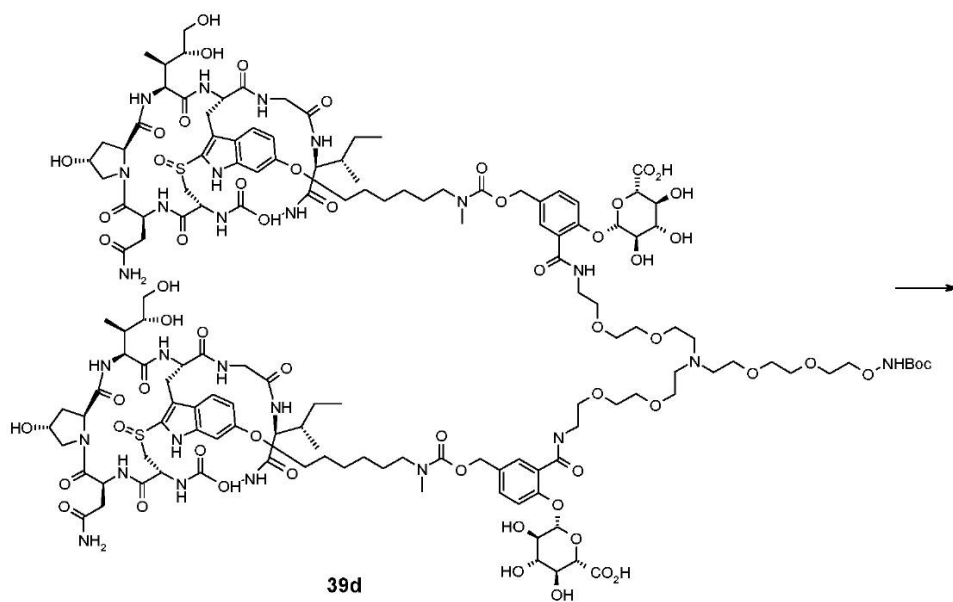
【化 1 5 8】



10



20



30

40

50



化合物39cの調製

【 0 6 7 3 】

30

【 0 6 7 4 】

40

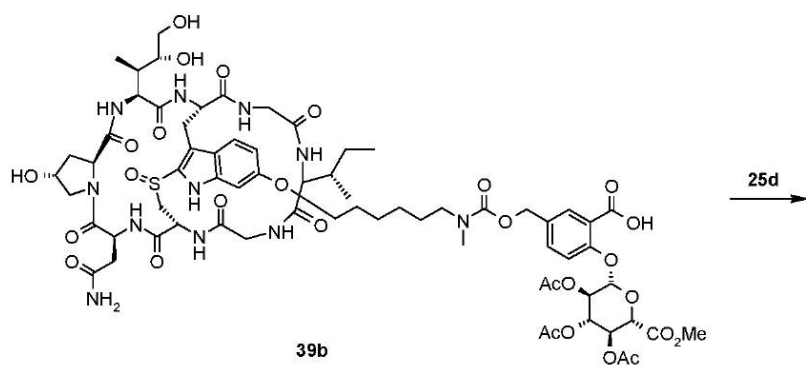
【 0 6 7 5 】

[实施例 59]

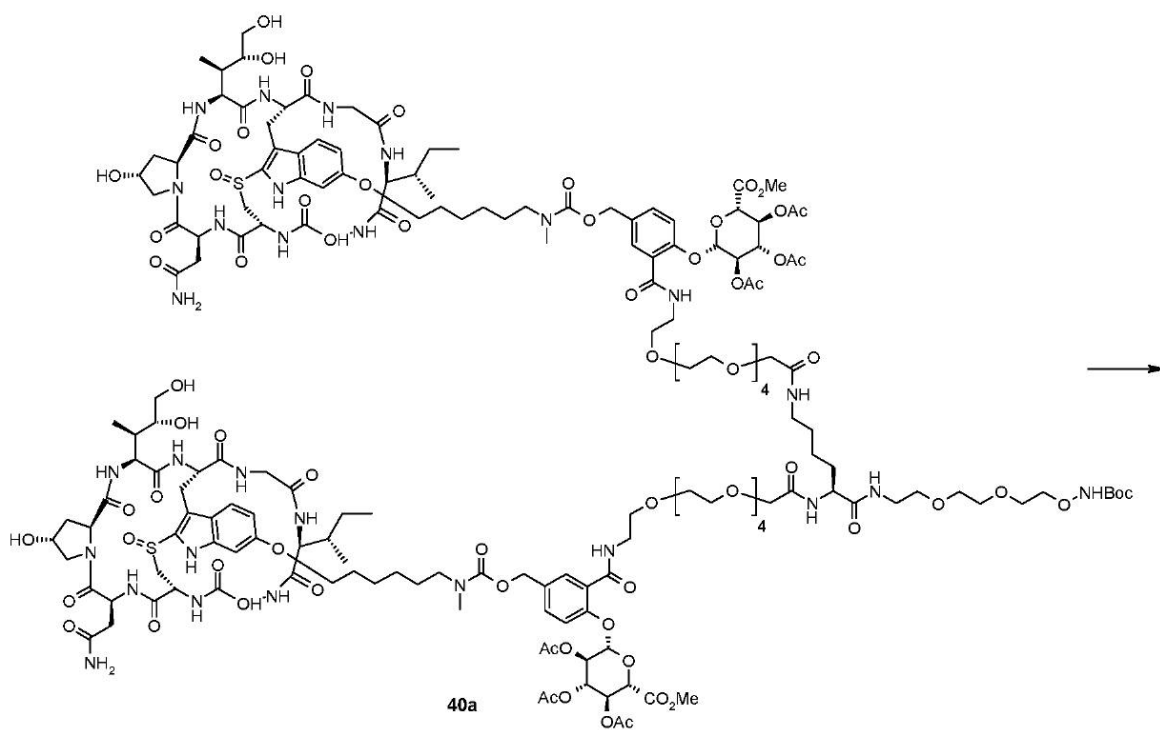
化合物40cの調製

【 0 6 7 6 】

【化 1 5 9】



10

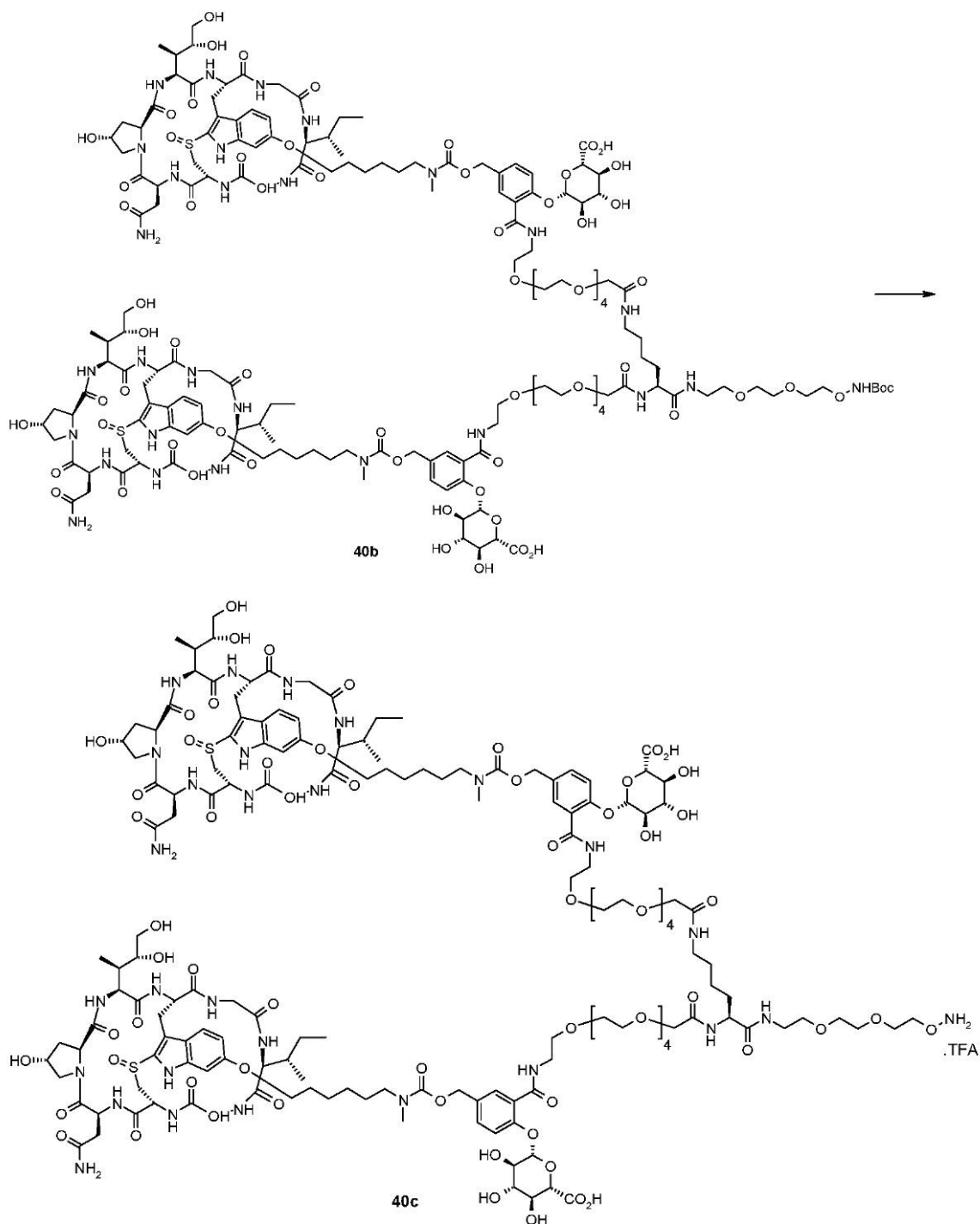


20

30

40

50



【 0 6 7 7 】

化合物40aの調製

DIPEA(0.004mL、0.021mmol)及びHBTU(5.0mg、0.013mmol)を、化合物39b(20mg、0.012mmol)及び化合物25d(5.0mg、0.005mmol)のDMF(1.5mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をDMSO(1.0mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物40a(14.5mg、30%)を得た。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1998.8.

【 0 6 7 8 】

化合物40bの調製

化合物40a(10mg、0.0025mmol)のMeOH(1mL)中溶液に、0℃でH₂O(1mL)中のLiOH-水和物(1.0mg、0.025mmol)を加えた。0℃で2時間後、反応混合物を酢酸を用いて

中和し、減圧下で濃縮した。次いで残留物をDMSO(1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物40b(6.9mg、74%)を得た。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1858.3.

【0679】

化合物40cの調製

TFA(0.2mL)を、化合物40b(6.9mg、0.0018mmol)のDCM(2.0mL)中攪拌溶液に加えた。0°Cで2時間攪拌した後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をDMSO(1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物40c(1.5mg、23%)を白色固体として得た。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1808.6.

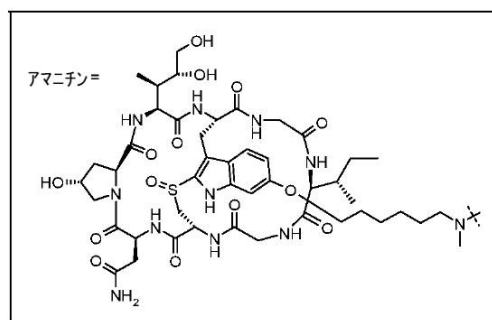
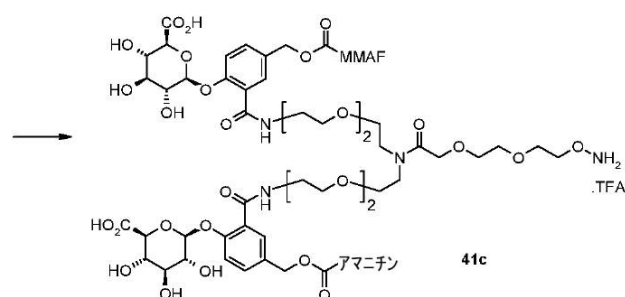
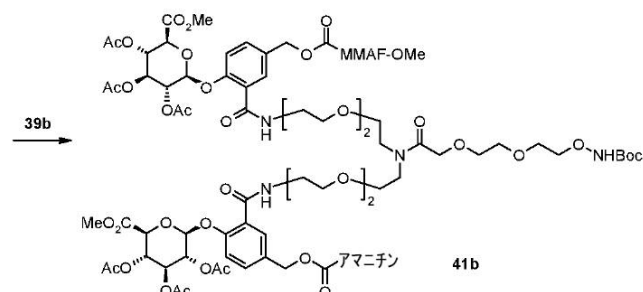
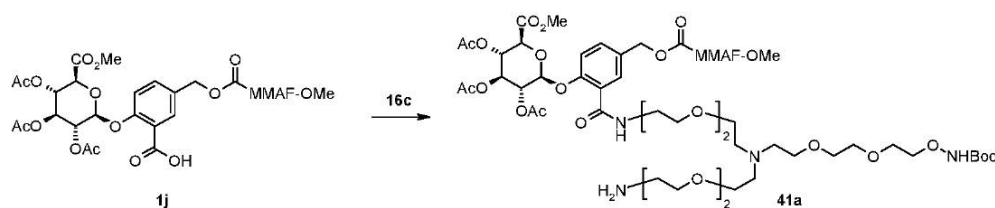
【0680】

[実施例60]

化合物41cの調製

【0681】

【化160】



【0682】

化合物41aの調製

DIPEA(0.116mL、0.66mmol)及びPyBOP(127mg、0.24mmol)を、化合物16c(280mg、0.22mmol)及び化合物1j(587mg、1.10mmol)のDMF(10mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で2時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(200mL)で希釈し、EtOAc(2×100mL)で抽出した。合わせた有機層を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物41a(250mg、64%)を得た。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 883.2, $[M+H]^+$ 1766.

【0683】

化合物41bの調製

DIPEA(0.0017mL、0.0096mmol)及びPyBOP(2.0mg、0.0038mmol)を、化合物4

1a(5.7mg、0.0032mmol)及び化合物39b(5.0mg、0.0032mmol)のDMF(0.5mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で3時間攪拌した後、反応混合物をMeCN(1mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物41b(8.0mg、75%)を得た。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1645.

【0684】

化合物41cの調製

化合物41b(8.0mg、0.0024mmol)のMeOH(0.5mL)中溶液に、0℃でH₂O(0.1mL)中のLiOH一水和物(1.2mg、0.028mmol)を加えた。0℃で2時間後、反応混合物を2N HCl水溶液を用いて中和し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をDCM(2mL)及びH₂O(3滴)で希釈した。次いでTFA(0.1mL)を0℃で加えた。0℃で2時間後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をDMSO(1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物41c(3.1mg、44%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: 1/2[M+H]⁺ 1448, 1/2[M+Na]⁺ 1459.

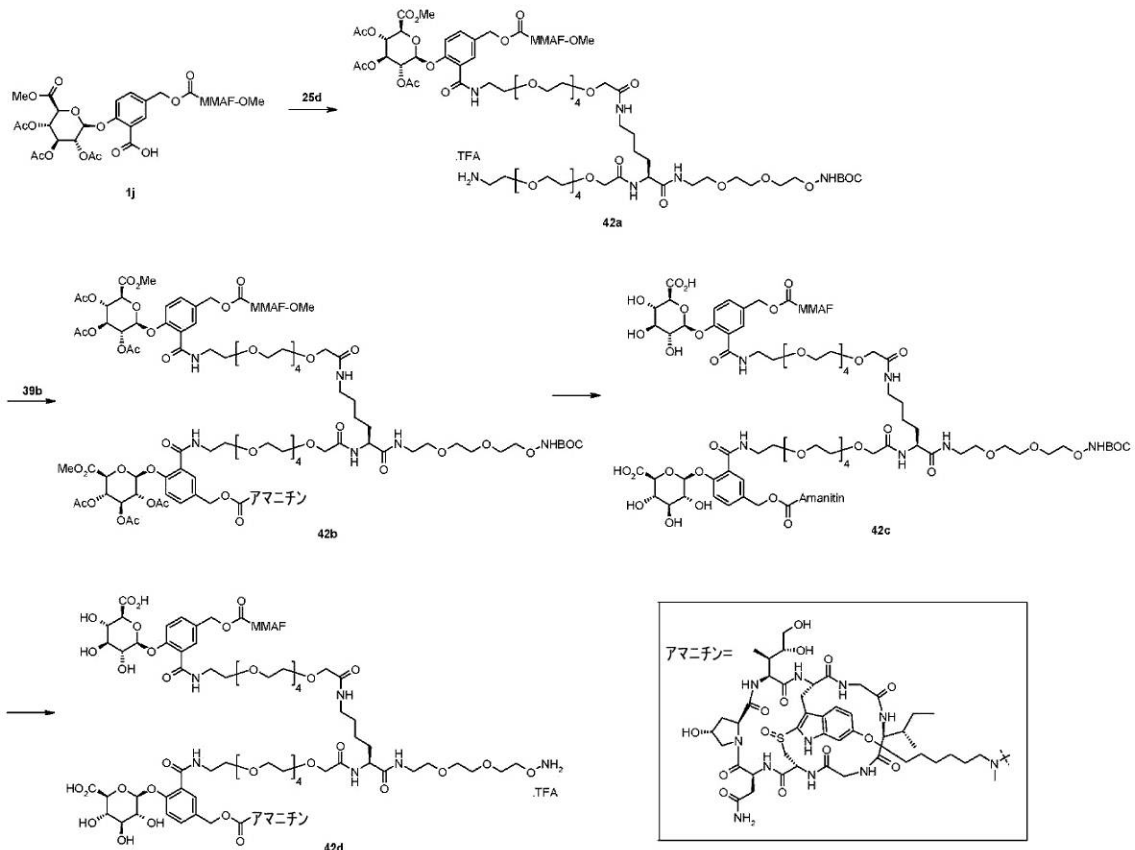
【0685】

[実施例61]

化合物42dの調製

【0686】

【化161】



【0687】

化合物42aの調製

DIPEA(0.026mL、0.23mmol)及びHBTU(22mg、0.06mmol)を、化合物1j(60mg、0.048mmol)及び化合物25d(214mg、0.19mmol)のDMF(3mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をDMSO(1.0mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物42a(64mg、58%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 2286.8.

【0688】

化合物42bの調製

10

20

30

40

50

DIPEA(0.011mL、0.06mmol)及びHBTU(14mg、0.036mmol)を、化合物42a(68mg、0.03mmol)及び化合物39b(46mg、0.03mmol)のDMF(3mL)中攪拌混合物に加えた。 N_2 下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をDMSO(1.0mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物42b(60mg、52%)を得た。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1906.3.

【0689】

化合物42cの調製

化合物42b(60mg、0.016mmol)のMeOH(2mL)中溶液に、0°Cで H_2O (2mL)中のLiOH-H₂O水和物(5mg、0.126mmol)を加えた。0°Cで2時間後、反応混合物を酢酸を用いて中和し、減圧下で濃縮した。次いで残留物をDMSO(1mL)に溶解し、分取HPLCにより精製して、化合物42c(37mg、65%)を得た。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1759.3.

【0690】

化合物42dの調製

TFA(0.3mL)を、化合物42c(37mg、0.01mmol)のDCM(3mL)中攪拌溶液に加えた。0°Cで2時間攪拌した後、溶媒及び過剰のTFAを N_2 流により除去した。次いで残留物をDMSO(1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物42d(15mg、45%)を白色固体として得た。EI-MS m/z : $1/2[M+H]^+$ 1659.6.

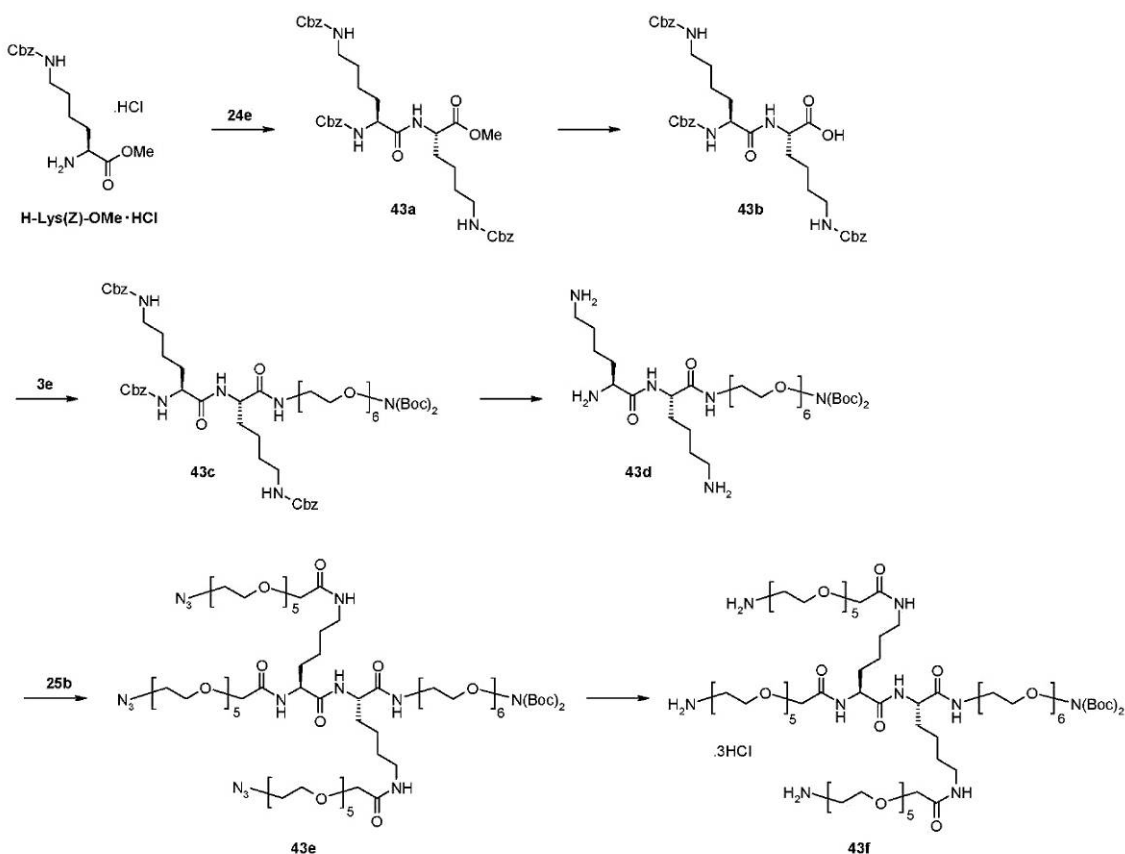
【0691】

【実施例62】

化合物43iの調製

【0692】

【化162】



【0693】

化合物43aの調製

DIPEA(10.4mL、23.8mmol)及びHBTU(13.5g、35.7mmol)を、H-Lys(z)-OMe塩酸塩(7.0g、23.8mmol)及び化合物24e(9.86mg、23.8mmol)のDMF(50mL)中攪拌混合物に加えた。 N_2 下室温で8時間攪拌した後、反応混合物を水(100mL)で希釈し、EtOAc(3

×50mL)で抽出した。合わせた有機層を0.5N HCl水溶液(50mL)、飽和NaHCO₃水溶液(50mL)及びブライン(50mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物43a(9.3g、57%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.22 (d, 1H), 7.37-7.29 (m, 15H), 7.22 (m, 2H), 5.00 (s, 6H), 4.18 (m, 1H), 4.00 (m, 1H), 3.59 (s, 3H), 2.96 (m, 4H), 1.67-1.50 (m, 4H), 1.38-1.29 (m, 4H), 1.19-1.18 (m, 4H). EI-MS m/z: [M+Na]⁺ 712.96.

【0694】

化合物43bの調製

化合物43a(9.3g、13.5mmol)のTHF:MeOH:H₂O(60mL:30mL:30mL)中溶液に、N₂下0℃でLiOH-水和物(1.13g、26.9mmol)を加えた。2時間後、反応混合物を1N HCl水溶液でpHを4にまで酸性化し、EtOAc(3×100mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮して、化合物43b(9.1g、粗製物)を得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 677.48, 2[M+H]⁺ 1353.82.

【0695】

化合物43cの調製

DIPEA(1.47mL、8.44mmol)、HOBt(484mg、3.58mmol)及びEDC・HCl(809mg、4.22mmol)を、化合物43b(2.5g、3.71mmol)及び化合物3e(1.8g、3.38mmol)のDMF(20mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を水(50mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×50mL)で抽出した。合わせた有機層を0.5N HCl水溶液(50mL)、飽和NaHCO₃水溶液(50mL)及びブライン(50mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物43c(2.3g、59%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1155.92, [M+H-Boc]⁺ 1055.83.

【0696】

化合物43dの調製

化合物43c(2.3g、1.99mmol)及びPd/C(10重量%、424mg、3.98mmol)のMeOH(200mL)中攪拌混合物に、HCl(1,4-ジオキサン中4N、0.99mL、3.98mmol)を加えた。水素下室温で2時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(100mL)で洗浄した。濾液を濃縮して化合物43d(1.5g、粗製物)を得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 753.29.

【0697】

化合物43eの調製

DIPEA(0.14mL、0.80mmol)、HOBt(59mg、0.43mmol)及びEDC・HCl(102mg、0.53mmol)を、化合物43d(2.5g、3.71mmol)及び化合物25b(150g、0.46mmol)のDMF(5mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を水(50mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×50mL)で抽出した。合わせた有機層を1N HCl水溶液(30mL)、飽和NaHCO₃水溶液(30mL)及びブライン(30mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた粗生成物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物43e(100mg、45%)を無色油状物として得た。EI-MS m/z: [M+Na]⁺ 1685.11, 1/2[M+H-Boc]⁺ 731.82.

【0698】

化合物43fの調製

化合物43e(100mg、0.06mmol)及びPd/C(10重量%、20mg、0.192mmol)のMeOH(20mL)中攪拌混合物に、HCl(1,4-ジオキサン中4N、0.045mL、0.18mmol)を加えた。水素下室温で2時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(30mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物43f(95mg)を茶褐色泡状物として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1586.30, 1/2[M+H]⁺ 793.02.

【0699】

10

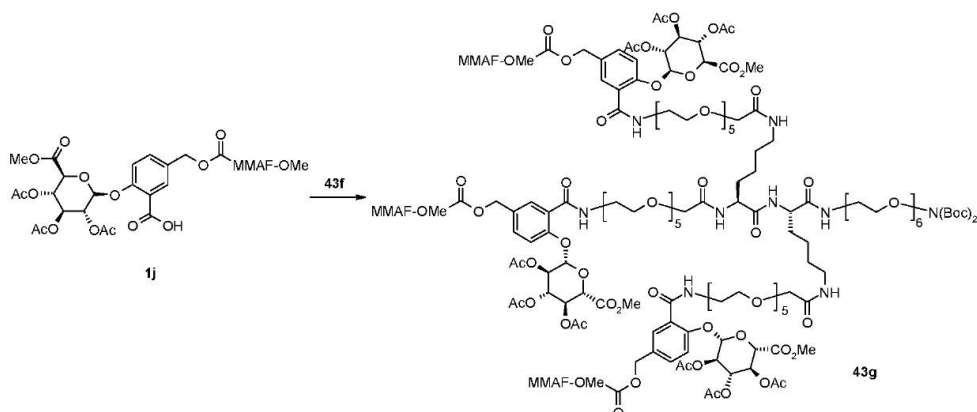
20

30

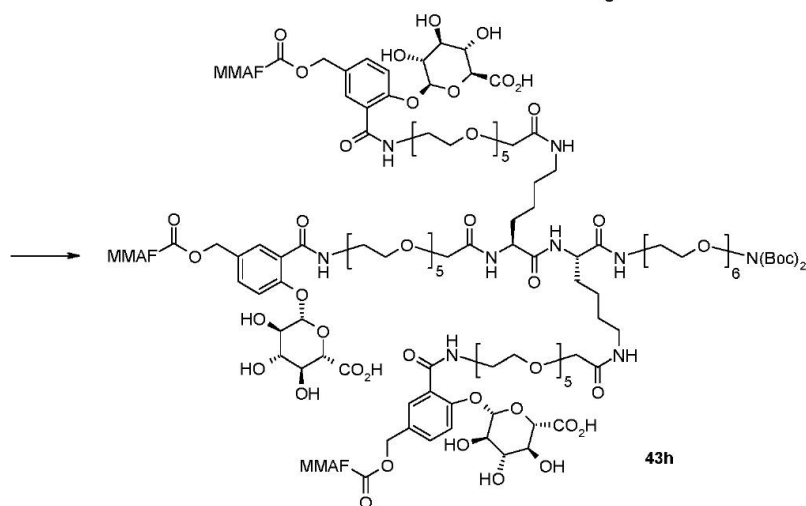
40

50

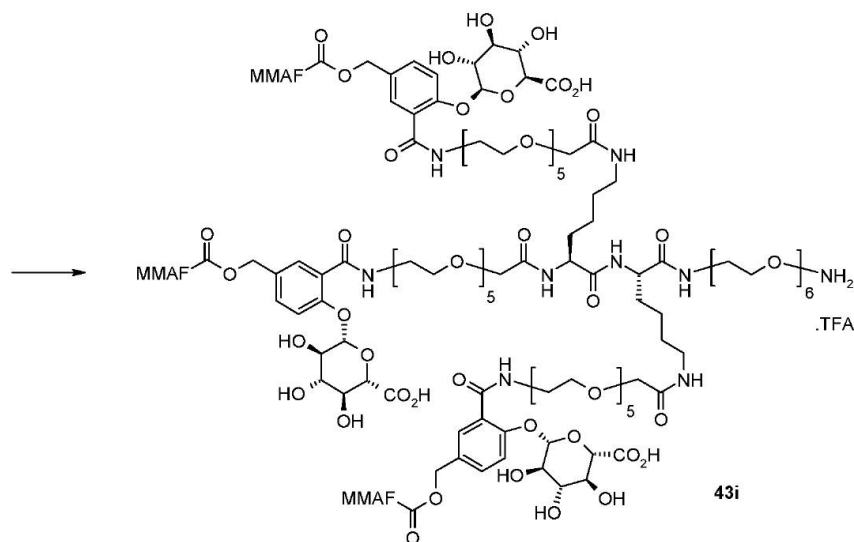
【化 1 6 3】



10



20



30

【0 7 0 0】

化合物43gの調製

DIPEA(0.030mL、0.170mmol)及びHBTU(36mg、0.094mmol)を、化合物43f(45mg、0.028mmol)及び化合物1j(114mg、0.091mmol)のDMF(3mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で16時間攪拌した後、反応混合物をH₂O/DMSO(1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、濃縮して、化合物43g(31mg、21%)を得た。EI-MS m/z: 1/3[M+H-Boc]⁺ 1705.74, 1/4[M+H-2Boc]⁺ 1254.79.

【0 7 0 1】

50

化合物43hの調製

化合物43g(31mg、0.006mmol)のMeOH(1mL)中溶液に、-20℃でH₂O(1mL)中のLiOH-水和物(3.7mg、0.088mmol)を加えた。-20℃で2時間攪拌した後、反応混合物を酢酸を用いて中和し、減圧下で濃縮した。次いで反応混合物をH₂O/DMSO(1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物43h(18mg、64%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: 1/3[M+H-Boc]⁺ 1735.19, 1/4[M+H]⁺ 1301.95, 1/5[M+H-Boc]⁺ 1021.71. 【0702】

化合物43iの調製

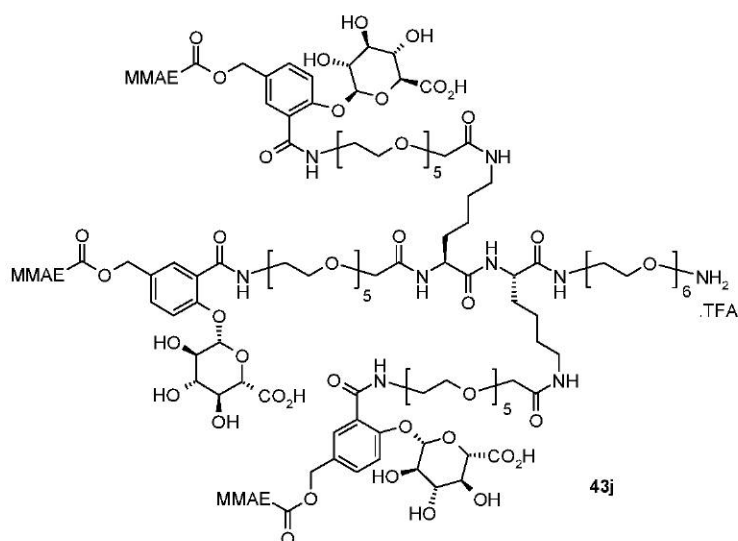
TFA(0.3mL)を、0℃で化合物43h(18mg、0.004mmol)のDCM(1.0mL)中攪拌溶液に加えた。1時間攪拌した後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をH₂O/MeCN(1mL/1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物43i(6mg、33%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: 1/3[M+H]⁺ 1547.75, 1/4[M+H]⁺ 1161.14. 【0703】

[実施例63]

化合物43jの調製

【0704】

【化164】



実施例62において化合物43iを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物43fから化合物43jを調製した。EI-MS m/z: 1/3[M+H]⁺ 1532.37, 1/4[M+H]⁺ 1149.69. 【0705】

[実施例64]

化合物44iの調製

【0706】

10

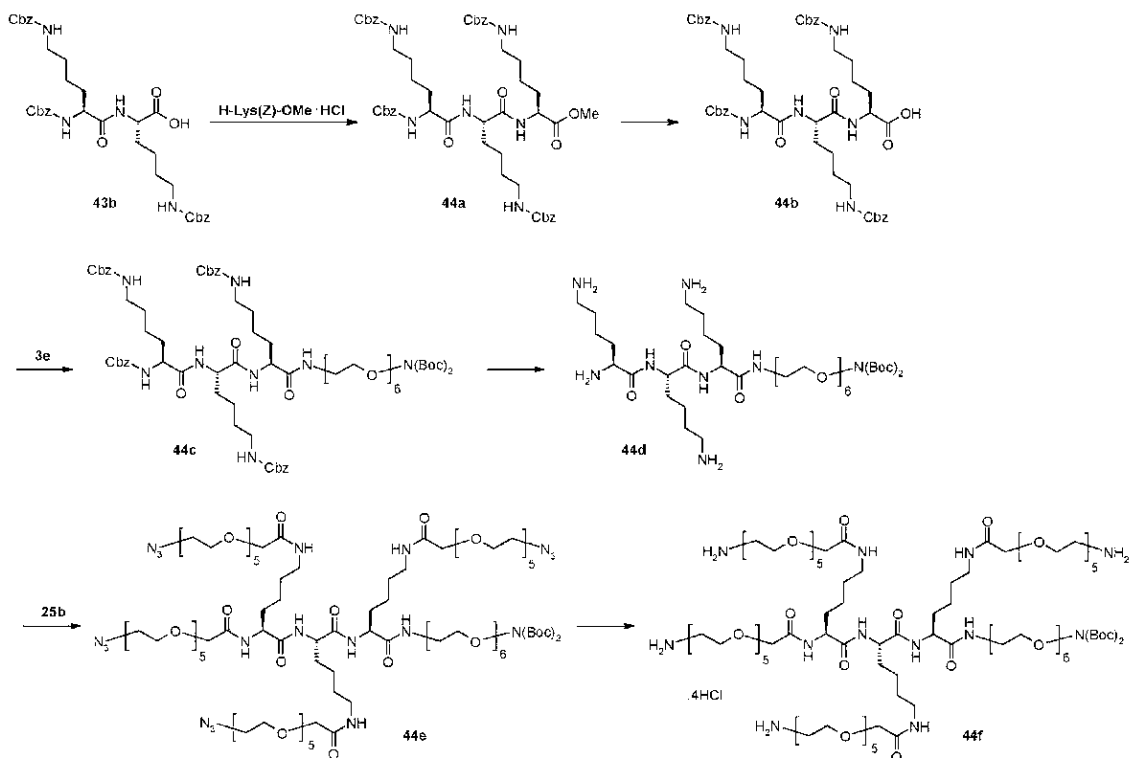
20

30

40

50

【化 1 6 5】



10

20

【0 7 0 7】

化合物44aの調製

DIPEA(1.9mL、11.0mmol)及びHBTU(2.5g、6.64mmol)を、化合物H-Lys(z)-OMe塩酸塩(1.3g、4.43mmol)及び化合物43b(3.0g、4.43mmol)のDMF(30mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を水(100mL)で希釈し、EtOAc(3×50mL)で抽出した。合わせた有機層を0.5N HCl水溶液(50mL)、飽和NaHCO₃水溶液(50mL)及びブライン(50mL)で洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物44a(3.9g、93%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 953.42.

30

【0 7 0 8】

化合物44bの調製

化合物44a(2.1g、2.20mmol)のTHF:MeOH:H₂O(24mL:8mL:8mL)中溶液に、N₂下室温でLiOH一水和物(185mg、4.40mmol)を加えた。2時間後、反応混合物を1N HCl水溶液でpHを4にまで酸性化し、EtOAc(3×50mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮して化合物44b(2.0g)を得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 939.35, [M+Na]⁺ 961.37.

【0 7 0 9】

化合物44cの調製

DIPEA(0.93mL、5.33mmol)及びHBTU(1.21g、3.20mmol)を、化合物44b(2.0g、2.13mmol)及び化合物3e(1.14g、2.13mmol)のDMF(20mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を水(50mL)中に注ぎ入れ、EtOAc(3×50mL)で抽出した。合わせた有機層を0.5N HCl水溶液(50mL)、飽和NaHCO₃水溶液(50mL)及びブライン(50mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物44c(2.60g、86%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1418.44, [M+Na]⁺ 1440.39, [M+H-Boc]⁺ 1318.47.

40

【0 7 1 0】

化合物44dの調製

化合物44c(2.60g、1.83mmol)及びPd/C(10重量%、781mg、7.34mmol)のMeOH(

50

50mL)中攪拌混合物に、HCl(1,4-ジオキサン中4N、0.9mL、3.67mmol)を加えた。次いで反応物を水素下室温で2時間攪拌した。反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(50mL)で洗浄した。濾液を濃縮して、化合物44d(1.73g)を黄色泡状物として得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: $[M+H]^+$ 881.90.

【0711】

化合物44eの調製

DIPEA(1.58mL、9.08mmol)及びHBTU(2.58g、6.81mmol)を、化合物44d(1.0g、1.13mmol)及び化合物25b(1.82g、5.67mmol)のDMF(20mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物を水(100mL)で希釈し、EtOAc(3×50mL)で抽出した。合わせた有機層を0.5N HCl(50mL)、飽和NaHCO₃水溶液(50mL)及びブライン(50mL)で順次洗浄し、無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、減圧下で濃縮した後、得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物44e(848mg、36%)を得た。EI-MS m/z: $1/2[M+H-2Boc]^+$ 947.63.

【0712】

化合物44fの調製

化合物44e(848mg、0.40mmol)及びPd/C(10重量%、172mg、1.62mmol)のMeOH(50mL)中攪拌混合物に、HCl(1,4-ジオキサン中4N、0.4mL、1.62mmol)を加えた。水素下室温で2時間攪拌した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過し、MeOH(50mL)で洗浄した。濾液を濃縮して化合物44f(625mg、粗製物)を得、これを更には精製せずに使用した。EI-MS m/z: $1/2[M+H]^+$ 996.40, $1/3[M+H]^+$ 664.59

【0713】

10

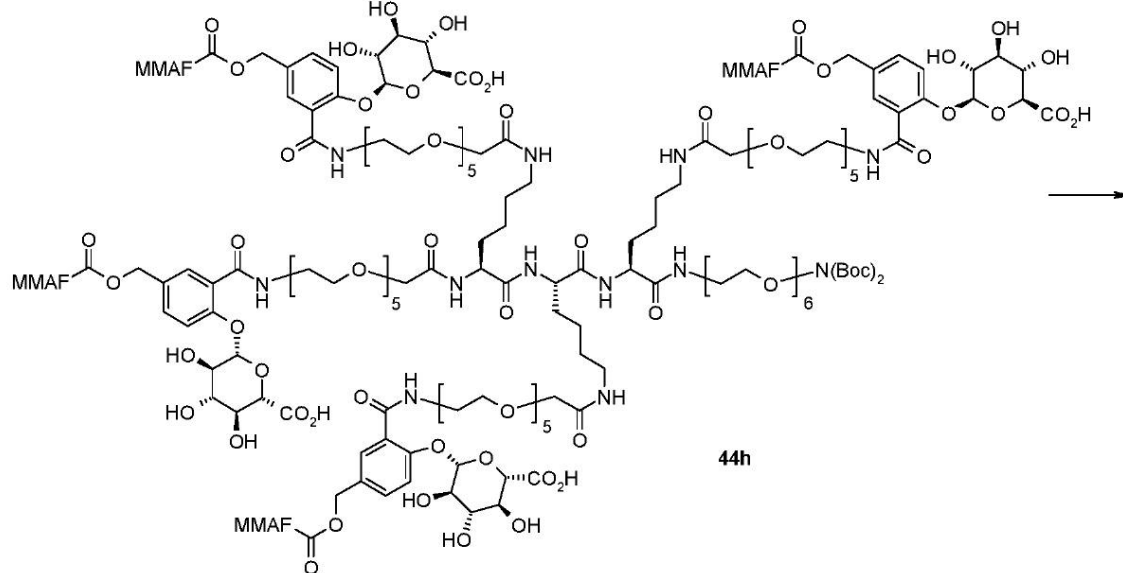
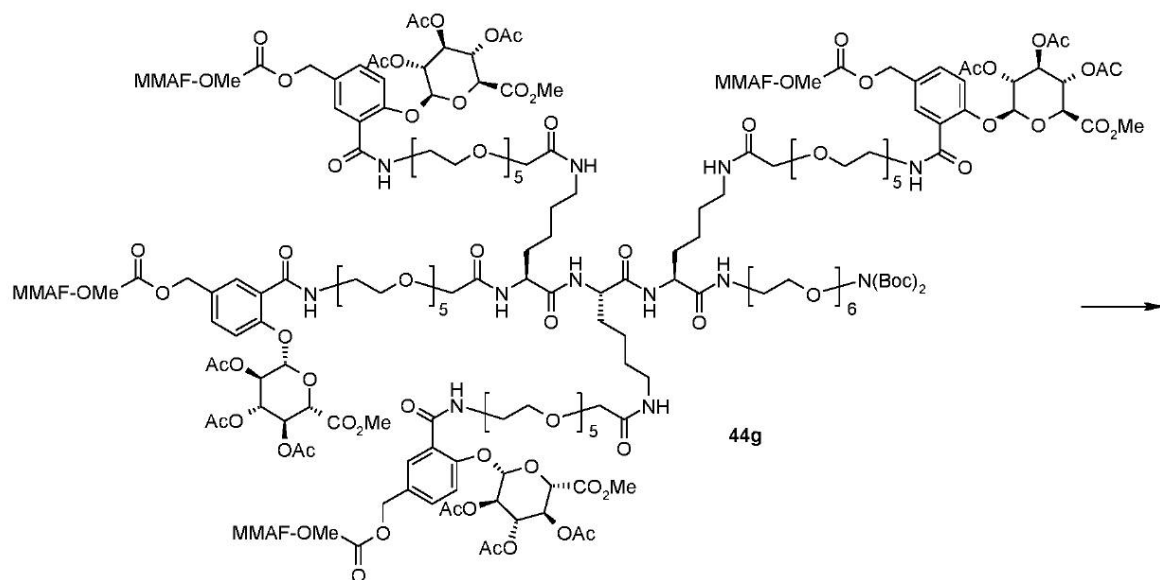
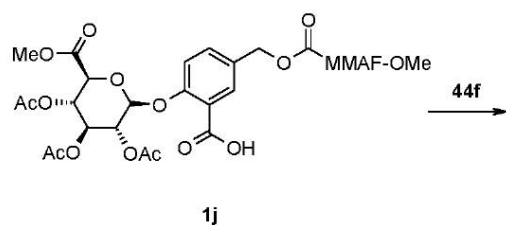
20

30

40

50

【化 1 6 6】



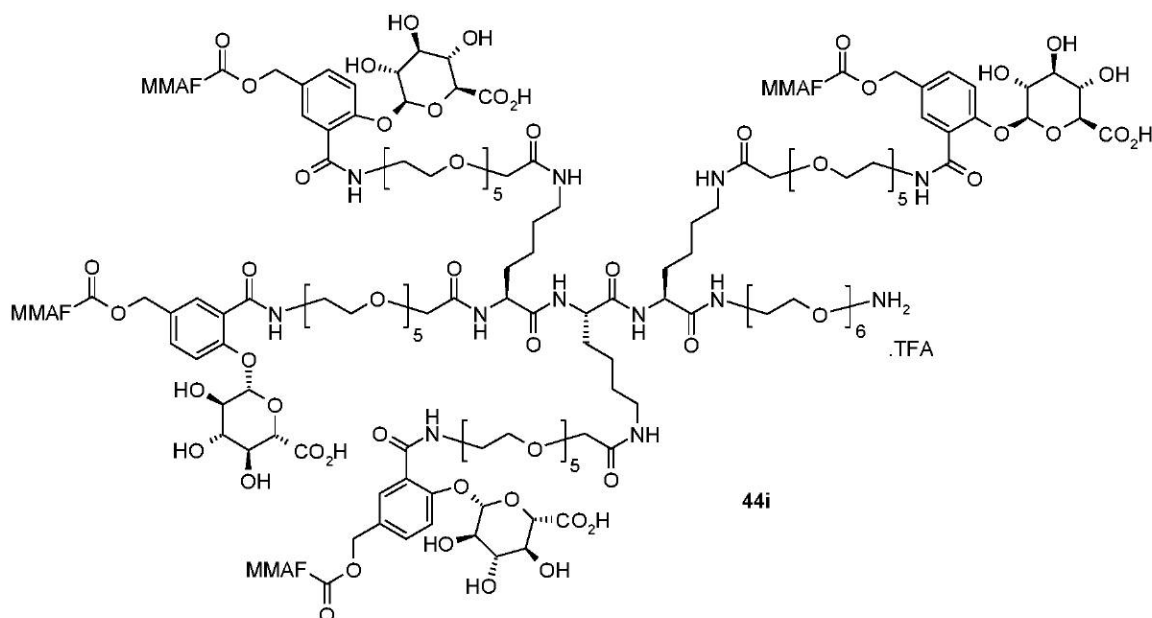
10

20

30

40

50



10

【0714】

20

化合物44gの調製

DIPEA(0.067mL、0.386mmol)及びHBTU(110mg、0.289mmol)を、化合物44f(96mg、0.048mmol)及び化合物1j(303mg、0.24mmol)のDMF(3mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で16時間攪拌した後、反応混合物をH₂O/DMSO(1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、濃縮して、化合物44g(67mg、20%)を得た。EI-MS m/z: 1/3[M+H]⁺ 2315.93, 1/4[M+H]⁺ 1737.60, 1/5[M+H]⁺ 1390.37.

【0715】

化合物44hの調製

化合物44g(67mg、0.009mmol)のMeOH(1mL)中溶液に、-20℃でH₂O(1mL)中のLiOH一水和物(8.1mg、0.192mmol)を加えた。-20℃で2時間攪拌した後、反応混合物を酢酸を用いて中和し、減圧下で濃縮した。次いで反応混合物をH₂O/DMSO(1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物44h(27.9mg、45%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: 1/3[M+H]⁺ 2110.24, 1/4[M+H]⁺ 1582.97, 1/4[M+H-Boc]⁺ 1557.91.

30

【0716】

化合物44iの調製

TFA(0.3mL)を、0℃で化合物44h(27.9mg、0.004mmol)のDCM(1.0mL)中攪拌溶液に加えた。1時間攪拌した後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をH₂O/MeCN(1mL/1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物44i(13.6mg、50%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: 1/3[M+H]⁺ 2043.49, 1/4[M+H]⁺ 1532.96, 1/5[M+H]⁺ 1226.62.

40

【0717】

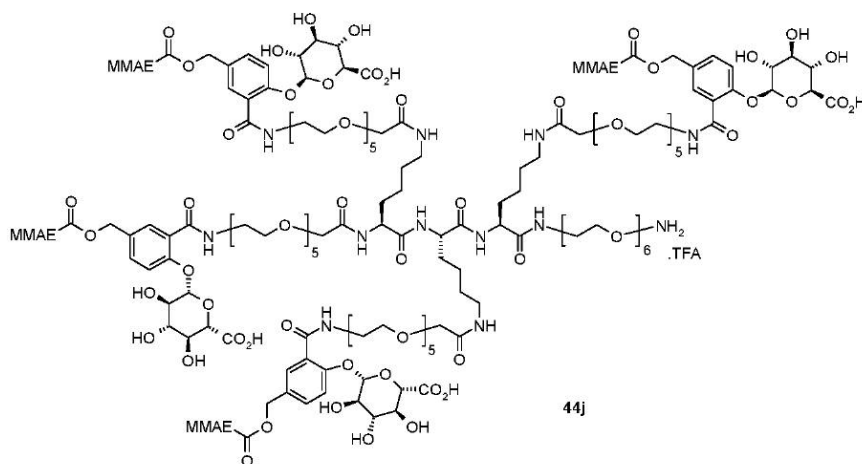
【実施例65】

化合物44jの調製

【0718】

50

【化 1 6 7】



10

実施例64において化合物44iを調製する方法と同様の方法により、化合物1i及び化合物44fから化合物44jを調製した。EI-MS m/z : $1/3[M+H]^+$ 2025.37, $1/4[M+H]^+$ 1519.10, $1/5[M+H]^+$ 1215.60.

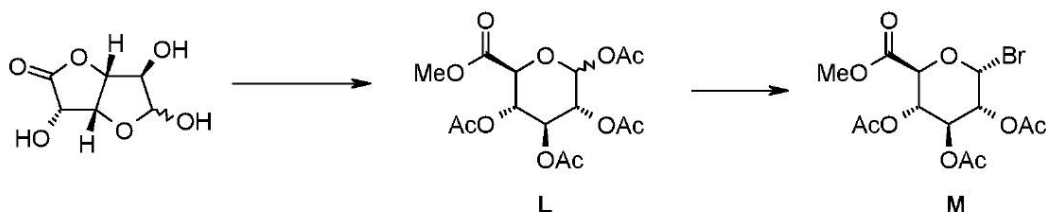
【0 7 1 9】

[実施例66]

化合物45kの調製

【0 7 2 0】

【化 1 6 8】



30

【0 7 2 1】

化合物Lの調製

D-グルクロノ-6,3-ラクトン(25.0g、141.9mmol)を窒素下室温でMeOH(250mL)に溶解し、NaOH(141mg)のMeOH(100mL)中溶液をこれにゆっくり加えた。24時間攪拌した後、反応混合物を減圧下で濃縮し、次いでピリジン(66mL)及び無水酢酸(71mL)を10℃未満で加えた。室温で4時間攪拌した後、反応混合物を減圧下で濃縮し、カラムクロマトグラフィーに供して、化合物L(41.6g、77%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 5.77 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 5.31 (t, $J = 9.6$ Hz, 1H), 5.24 (t, $J = 9.6$ Hz, 1H), 5.14 (m, 1H), 4.17 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 3.74 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.04 (m, 9H).

【0 7 2 2】

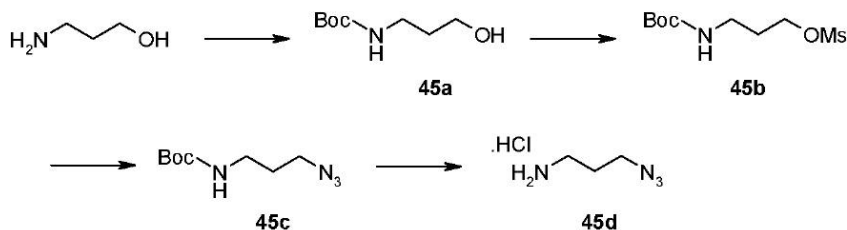
化合物Mの調製

化合物L(10.0g、26.6mmol)を窒素下0℃でHBr(AcOH中33%、20mL)に溶解した。反応混合物を室温に加温した。2時間攪拌した後、トルエン(50mL)をこれに加え、混合物を減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物M(10.9g、99%)を得た。 $^1\text{H-NMR}$ (600 MHz, CDCl_3) δ 6.64 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H), 5.61 (t, $J = 3.6$ Hz, 1H), 5.24 (t, $J = 3.6$ Hz, 1H), 4.85 (m, 1H), 4.58 (d, d, $J = 10.2$ Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.10 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (s, 3H).

【0 7 2 3】

50

【化 1 6 9】



【 0 7 2 4】

化合物45aの調製

3-アミノ-1-プロパノール(3.0g、66.57mmol)を窒素下0℃でDCM(150mL)に溶解し、ジ-tert-ブチルジカーボネート(16g、73.23mmol)をこれに加えた。得られた混合物を室温で12時間攪拌した。反応完結後、溶媒を減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物45a(6.4g、92%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.78 (s, 1H), 3.65 (m, 2H), 3.30 (m, 2H), 2.90 (s, 1H), 1.68 (m, 2H), 1.48 (s, 9H).

【 0 7 2 5】

化合物45bの調製

化合物45a(6.04g、34.47mmol)及びトリエチルアミン(14.4mL、103.4mmol)を、窒素下0℃でTHFに溶解し、次いでメタンスルホン酸無水物(7.21g、41.36mmol)でゆっくり処理した。得られた混合物を窒素下室温で12時間攪拌した。反応完結後、溶媒を減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物45b(9.01g、98%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 4.73 (s, 1H), 4.30 (t, J = 5.9 Hz, 2H), 3.31-3.24 (m, 2H), 3.04 (s, 3H), 1.94 (t, J = 6.1 Hz, 2H), 1.44 (s, 9H).

【 0 7 2 6】

化合物45cの調製

化合物45b(3.0g、11.84mmol)を窒素下室温でDMF(40mL)に溶解し、次いでNaN₃(924mg、14.21mmol)で処理し、得られた混合物を60℃で12時間攪拌した。反応完結後、EtOAc(50mL)、蒸留水(50mL)及び1N HCl水溶液(5mL)をこれに加えた。有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物45c(2.3g、99%)を得た。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 4.63 (s, 1H), 3.36 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.24-3.18 (m, 2H), 1.80-1.75 (m, 2H), 1.45 (s, 9H).

【 0 7 2 7】

化合物45dの調製

化合物45c(3.8g、18.98mmol)を窒素下0℃でDCM(10mL)に溶解し、次いでジオキサン中4M-HCl(10mL)をこれにゆっくり加えた。12時間攪拌した後、反応混合物を減圧下で濃縮して、化合物45d(2.5g、99%)を得た。¹H-NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ 8.06 (s, 3H), 3.47 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 2.82 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.84-1.79 (m, 2H).

【 0 7 2 8】

10

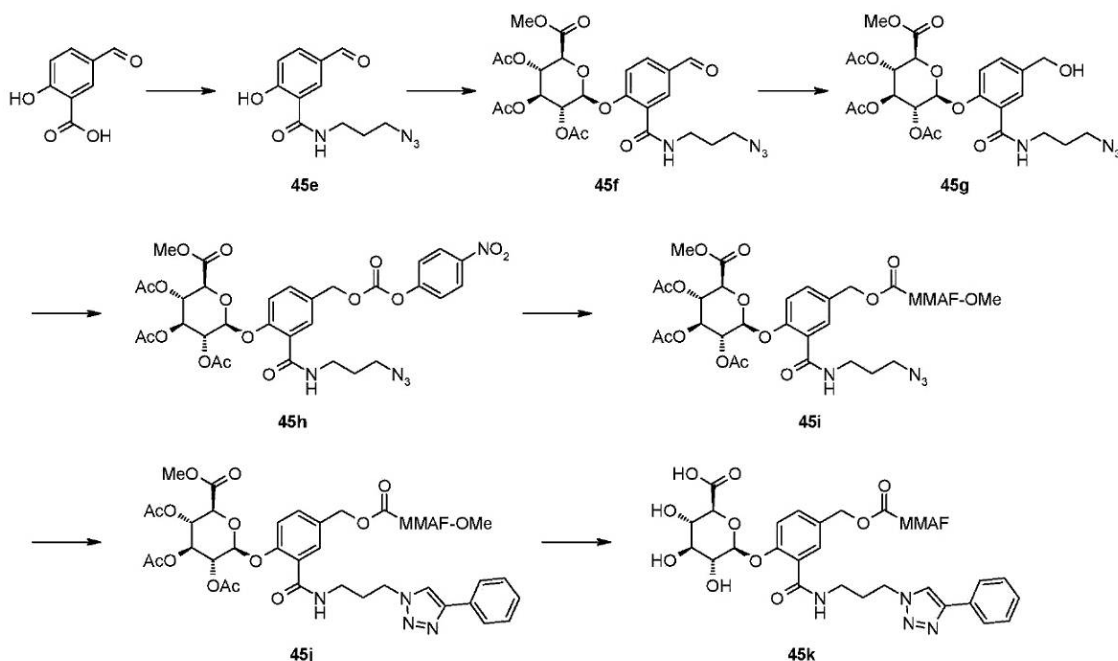
20

30

40

50

【化170】



10

【0729】

20

化合物45eの調製

化合物45d(58mg、0.42mmol)及び5-ホルミルサリチル酸(100mg、0.60mmol)を、窒素下0℃でDMF(2mL)に溶解し、次いでDIPEA(0.2mL、1.20mmol)及びPyBop(375mg、0.72mmol)を反応混合物に加えた。室温で3時間攪拌した後、EtOAc(30mL)及び蒸留水(10mL)をこれに加えた。有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物45e(82mg、79%)を得た。¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 13.39(s, 1H), 9.87(s, 1H), 8.29(s, 1H), 7.89(dd, J = 1.6, 7.2 Hz, 1H), 7.60(s, 1H), 7.10(d, J = 8.8 Hz, 1H), 3.63-3.57(m, 2H), 3.48(t, J = 6.4 Hz, 2H), 1.99-1.92(m, 2H)。

【0730】

30

化合物45fの調製

化合物45e(78mg、0.31mmol)及び化合物M(125mg、0.31mmol)を、窒素下室温でMeCN(3mL)に溶解し、次いで酸化銀(291mg、1.26mmol)及び4Åモレキュラーシーブ(125mg)をこれに加えた。室温で3時間攪拌した後、混合物をセライト濾過し、濾液を減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物45f(160mg、90%)を得た。¹H-NMR(400MHz, CDCl₃) δ 10.00(s, 1H), 8.66(d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.02(dd, J = 2.0, 6.4 Hz, 1H), 7.46(t, J = 6.4 Hz, 1H), 7.14(d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.48-5.33(m, 4H), 4.28(d, J = 8.8 Hz, 1H), 3.74(s, 3H), 3.73-3.64(m, 1H), 3.50-3.42(m, 3H), 2.09-2.07(m, 9H), 2.00-1.92(m, 2H)。

【0731】

40

化合物45gの調製

化合物45f(160mg、1.51mmol)を窒素下0℃で2-プロパノール(0.4mL)及びクロロホルム(2mL)に溶解し、次いでシリカゲル(2g)及び水素化ホウ素ナトリウム(27mg、0.71mmol)をこれに加えた。0℃で2時間攪拌した後、反応物をセライト濾過し、濾液を減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物45g(115mg、71%)を得た。¹H-NMR(600MHz, CDCl₃) δ 8.06(d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.50-7.44(m, 2H), 7.01(d, J = 9.0 Hz, 1H), 5.45-5.31(m, 4H), 4.38(s, 2H), 4.22(d, J = 9.0 Hz, 1H), 3.74(s, 3H), 3.67-3.61(m, 1H), 3.46-3.41(m, 3H), 2.07-2.04(m, 9H), 1.97-1.91(m, 2H)。

【0732】

50

化合物45hの調製

化合物45g(100mg、0.18mmol)を窒素下0℃でDMF(1mL)に溶解し、次いでビス(4-ニトロフェニル)カーボネート(110mg、0.35mmol)及びDIPEA(0.050mL、0.27mmol)をこれに加えた。室温で2時間攪拌した後、EtOAc(30mL)及び蒸留水(10mL)をこれに加えた。有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物45h(75mg、58%)を得た。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.29-8.27 (m, 2H), 8.23 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 7.54 (dd, J = 2.4, 6.6 Hz, 1H), 7.49 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 7.39-7.37 (m, 2H), 7.04 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.45-5.29 (m, 4H), 5.28 (s, 2H), 4.23 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.68-3.64 (m, 1H), 3.46-3.42 (m, 3H), 2.08-2.05 (m, 9H), 1.98-1.93 (m, 2H).

【0733】

化合物45iの調製

化合物45h(50mg、0.068mmol)を窒素下室温でDMF(0.8mL)に溶解し、次いでMMA F-OMe(51mg、0.068mmol)をこれに加えた。得られた混合物をHOBT(2mg、0.013mmol)、ピリジン(0.24mL)及びDIPEA(0.012mL、0.068mmol)で処理した。室温で18時間攪拌した後、EtOAc(20mL)及び蒸留水(10mL)をこれに加えた。有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物45i(71mg、78%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1339.

【0734】

化合物45jの調製

化合物45i(30mg、0.022mmol)及びフェニルアセチレン(3.7 μL、0.033mmol)を、窒素下室温でEtOH(0.2mL)及び水(30 μL)に溶解し、次いで0.1M CuSO₄水溶液(30 μL)及び1.0Mアスコルビン酸ナトリウム水溶液(30 μL)をこれに加えた。得られた混合物をHOBT(2mg、0.013mmol)、ピリジン(0.24mL)及びDIPEA(12 μL、0.068mmol)で処理した。室温で5時間攪拌した後、EtOAc(20mL)及び蒸留水(5mL)をこれに加えた。有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物45j(26mg、81%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1441.

【0735】

化合物45kの調製

化合物45j(20mg、0.013mmol)を窒素下0℃でMeOH(0.2mL)に溶解し、次いで水(0.2mL)中のLiOH・H₂O(6mg、0.14mmol)をこれに加えた。室温で1時間攪拌した後、クロロホルム(10mL)、MeOH(1mL)、蒸留水(10mL)及び0.5N HCl水溶液(1mL)をこれに加えた。有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物45k(17mg、87%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1286.

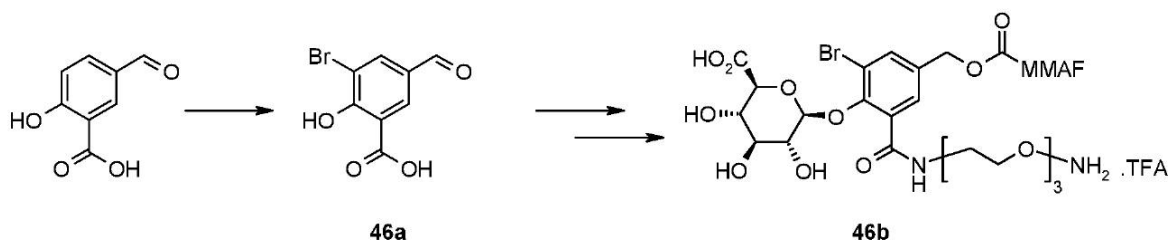
【0736】

【実施例67】

化合物46bの調製

【0737】

【化171】



【0738】

化合物46aの調製

5-ホルミルサリチル酸(1.0g、6.02mmol)を窒素下0℃でDMF(20mL)に溶解し、次い

でN-ブロモスクシンイミド(1.07g、6.11mmol)をこれに加え、混合物を70℃で3時間攪拌した。反応完結後、EtOAc(100mL)、2N HCl水溶液(2mL)及び蒸留水(100mL)をこれに加えた。有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物46a(1.2g、84%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9.64 (s, 1H), 8.19 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 8.00 (d, J = 2.0 Hz, 1H), 3.16 (s, 1H).
【0739】

化合物46bの調製

実施例4において化合物2hを調製する方法と同様の方法により、化合物46aから化合物46bを調製した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1328.

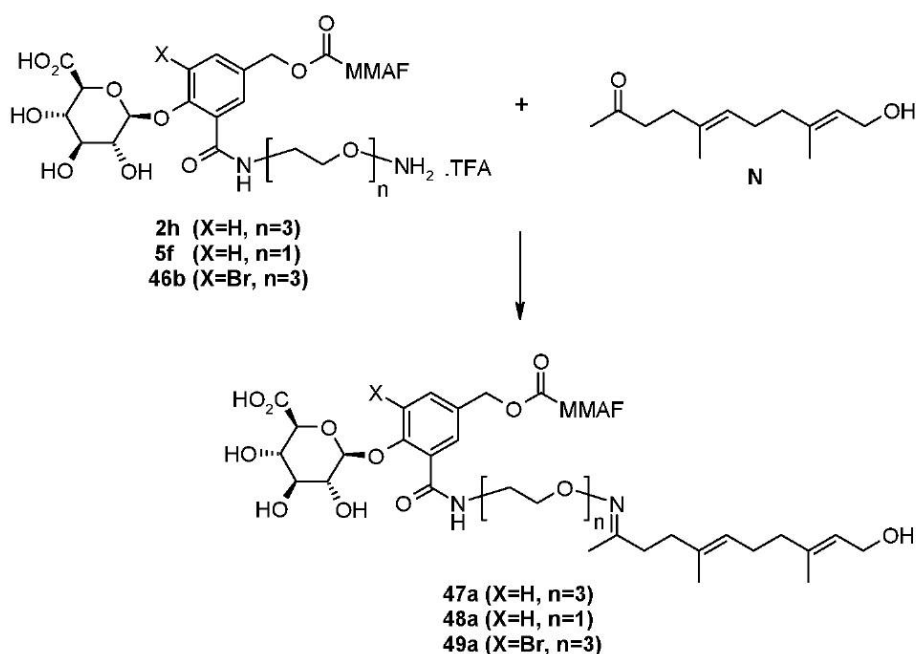
【0740】

[実施例68から70]

化合物47a、化合物48a及び化合物49aの調製

【0741】

【化172】



化合物Nは韓国公開特許公報番号10-2014-0035393に開示されている方法により調製した。

【0742】

[実施例68]

化合物47aの調製

化合物2h(20mg、0.014mmol)を窒素下室温でEtOH(0.7mL)に溶解し、次いで化合物N(3.7mg、0.017mmol)をこれに加え、混合物を45℃で2時間攪拌した。反応完結後、HPLCを用いて化合物47a(10.2mg、49%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1441.

【0743】

[実施例69及び70]

化合物48a及び49aの調製

実施例68において化合物47aを調製する方法と同様の方法により、化合物48a(実施例69)及び化合物49a(実施例70)を調製した。化合物48aのEI-MS m/z: [M+H]⁺ 1353. 化合物49aのEI-MS m/z: [M+H]⁺ 1520.

【0744】

[比較例66]

化合物50kの調製

【0745】

BrCCCC(=O)OCC $\longrightarrow$ N=[N+]([N-])CCCC(=O)OCC $\longrightarrow$ N=[N+]([N-])CCCC(=O)O $\longrightarrow$ N=[N+]([N-])CCCC(=O)Cl

50a **50b** **50c**

Chemical reaction scheme showing the synthesis of compound **50k** from 2-hydroxy-5-nitrobenzoic acid.

The synthesis proceeds through several intermediates:

- 2-hydroxy-5-nitrobenzoic acid is converted to **50d** (2-hydroxy-5-nitrobenzyl alcohol).
- 50d** is converted to **50e** (a tetra-acetate-protected sugar derivative).
- 50e** is converted to **50f** (an aniline derivative).
- 50f** is converted to **50g** (an azide derivative).
- 50g** is converted to **50h** (a benzoyl ester derivative).
- 50h** is converted to **50i** (a carboxylic acid derivative).
- 50i** is converted to **50k** (the final product, which includes a phenyl group).

50

化合物50dの調製

4-ヒドロキシ-3-ニトロ安息香酸(5.0g、27.3mmol)を窒素下0℃でTHF(120mL)に溶解し、次いで1M BH₃-THF錯体(54.6mL、54.6mmol)をこれに加え、室温で20時間攪拌した。反応完結後、EtOAc(200mL)、0.5N HCl水溶液(20mL)及び蒸留水(100mL)をこれに加えた。上記した通りに得られた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物50d(4.2g、91%)を得た。¹H-NMR (600 MHz, CD₃OD) δ 8.06 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 7.59 (dd, J = 1.2, 7.8 Hz, 1H), 7.12 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 4.83 (s, 2H).

【0751】

化合物50eの調製

化合物50d(937mg、5.54mmol)を窒素下室温でMeCN(15mL)に溶解し、化合物M(2.0g、5.04mmol)、酸化銀(4.66g、20.1mmol)及び4 Å モレキュラーシーブ(2.0g)をこれに加え、室温で14時間攪拌した。反応完結後、混合物をセライト濾過し、濾液を減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物50e(1.0g、40%)を得た。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 7.81 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.54 (dd, J = 1.8, 6.6 Hz, 1H), 7.37 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.37-5.27 (m, 3H), 5.20 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 4.72 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 4.21 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 2.12 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 2.04-2.02 (m, 1H).

【0752】

化合物50fの調製

化合物50e(900mg、6.35mmol)をEtOAc(100mL)に溶解し、次いで酸化白金(IV)(84.2mg、0.370mmol)をこれに加え、水素下室温で3時間攪拌した。反応完結後、混合物をセライト濾過し、濾液を減圧下で濃縮して、化合物50f(700mg、83%)を得、これを更には精製せずに使用した。

【0753】

化合物50gの調製

化合物50f(350mg、0.77mmol)を窒素下0℃でDCM(10mL)に溶解し、次いで化合物50c(136mg、0.92mmol)及びDIPEA(0.27mL、1.54mmol)をこれに加え、室温で20分間攪拌した。反応完結後、EtOAc(50mL)及び蒸留水(50mL)をこれに加えた。上記した通りに得られた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物50g(280mg、65%)を得た。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.37 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.07 (dd, J = 1.8, 6.6 Hz, 1H), 6.93 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.43-5.28 (m, 3H), 5.06 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.63 (s, 2H), 4.19 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.44-3.41 (m, 2H), 2.56 (t, J = 7.8 Hz, 2H), 2.17-2.00 (m, 12H).

【0754】

化合物50hの調製

化合物50g(250mg、0.44mmol)を窒素下0℃でDMF(4mL)に溶解し、次いでビス(4-ニトロフェニル)カーボネート(270mg、0.88mmol)及びDIPEA(0.12mL、0.66mmol)をこれに加え、室温で1時間攪拌した。反応完結後、EtOAc(50mL)及び蒸留水(50mL)をこれに加えた。上記した通りに得られた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物50h(290mg、90%)を得た。¹H-NMR (600 MHz, CDCl₃) δ 8.54 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.28-8.25 (m, 2H), 8.02 (s, 1H), 7.40-7.36 (m, 2H), 7.11 (dd, J = 1.8, 6.6 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.44-5.29 (m, 3H), 5.23 (s, 2H), 5.10 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 4.21 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.45-3.42 (m, 2H), 2.58 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 2.11-2.00 (m, 12H).

【0755】

化合物50iの調製

化合物50h(250mg、0.34mmol)を窒素下室温でDMF(4mL)に溶解し、次いでMMAF-

10

20

30

40

50

OMe(255mg、0.34mmol)をこれに加えた。得られた混合物をHOBT(9mg、0.068mmol)、ピリジン(1.2mL)及びDIPEA(0.060mL、0.34mmol)で処理した。室温で2日間攪拌した後、EtOAc(50mL)、2N HCl水溶液(5mL)及び蒸留水(50mL)をこれに加えた。上記した通りに得られた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物50i(340mg、74%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1339.

【0756】

化合物50jの調製

化合物50i(210mg、0.156mmol)を窒素下0℃でMeOH(2mL)に溶解し、次いで水(2mL)中のLiOH・H₂O(66mg、1.56mmol)をこれに加えた。室温で1.5時間攪拌した後、クロロホルム(50mL)、MeOH(5mL)、蒸留水(50mL)及び0.5N HCl水溶液(5mL)をこれに加えた。上記した通りに得られた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物50j(107mg、57%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1184.

【0757】

化合物50kの調製

化合物50j(10mg、0.008mmol)及びフェニルアセチレン(0.92μL、0.008mmol)を、窒素下室温でEtOH(0.15mL)及び水(10μL)に溶解し、次いで0.1M CuSO₄水溶液(10μL)及び1.0Mアスコルビン酸ナトリウム水溶液(10μL)をこれに加えた。室温で5時間攪拌した後、EtOAc(10mL)及び蒸留水(5mL)をこれに加えた。上記した通りに得られた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーに供して、化合物50k(5mg、46%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1286.

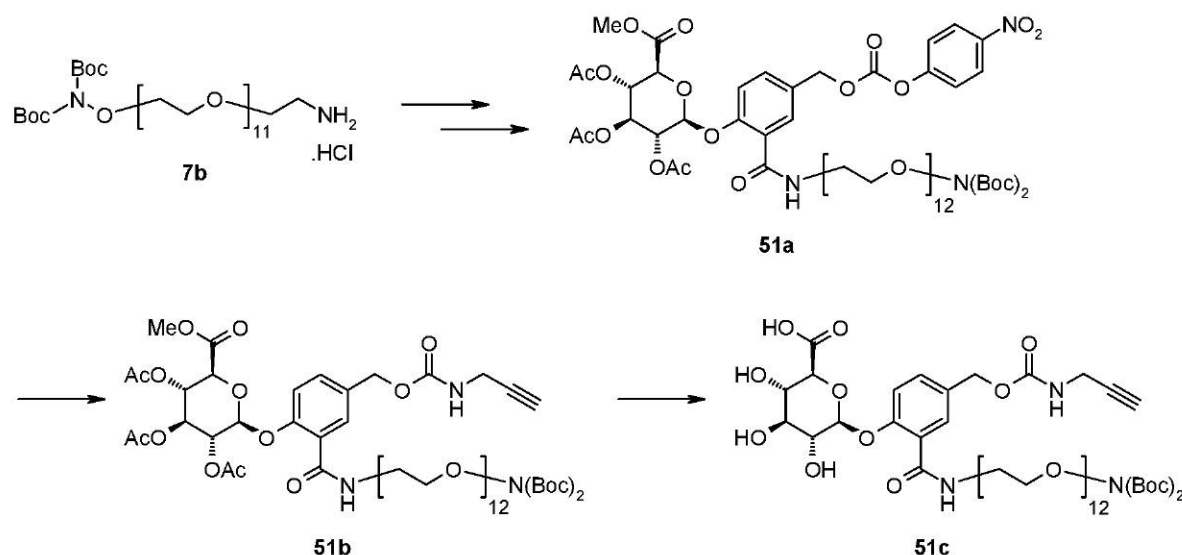
【0758】

【実施例71】

化合物51hの調製

【0759】

【化175】



【0760】

化合物51aの調製

実施例23の化合物14hを調製する方法と同様の方法により、化合物7bから化合物51aを調製した。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1392.8, [M+H-Boc]⁺ 1292.7, [M+Na]⁺ 1414.8.

【0761】

化合物51bの調製

化合物51a(1.8g、1.29mmol)、プロパルギルアミン(0.1mL、1.55mmol)及び無水H

OBT(35mg、0.25mmol)を、0℃でDMF(5mL)に溶解した。次いでピリジン(0.2mL)及びDIPEA(0.45mL、2.59mmol)を加えた。N₂下室温で24時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(100mL)及び飽和NH₄Cl水溶液(50mL)で希釈した。EtOAc(2×100mL)で抽出した後、合わせた有機層を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物51b(1.15g、68%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8.01 (s, 1H), 7.48-7.31 (m, 2H), 7.02 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.45-5.20 (m, 4H), 5.09 (s, 2H), 4.19 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 4.10-4.05 (m, 2H), 3.97 (s, 2H), 3.85-3.45 (m, 49H), 2.24 (s, 1H), 2.05 (s, 9H), 1.53 (s, 18H). EI-MS m/z: [M+Na]⁺ 1330.3.

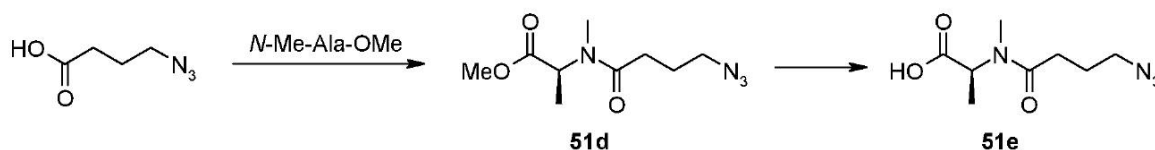
【0762】

化合物51cの調製

化合物51b(1.15g、0.879mmol)のTHF/MeOH(20mL/20mL)中溶液に、0℃でH₂O(20mL)中のLiOH一水和物(151mg、3.603mmol)を加えた。0℃で2時間後、反応混合物を酢酸を用いて中和し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をDMSO(5mL)に溶解し、分取HPLCにより精製して、化合物51c(600mg、60%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1169.2.

【0763】

【化176】



【0764】

化合物51dの調製

DIPEA(0.92mL、5.30mmol)及びHBTU(1.0g、2.64mmol)を、4-アジドブタン酸(28mg、1.76mmol)及びN-Me-Ala-OMe(298mg、1.94mmol)のDMF(10mL)中攪拌混合物に加えた。N₂下室温で14時間攪拌した後、反応混合物をH₂O(50mL)で希釈し、EtOAc(2×50mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物51d(310mg、77%)を得た。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.22 (q, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.39 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 2.95 (s, 3H), 2.52-2.39 (m, 2H), 1.98-1.92 (m, 2H), 1.41 (d, 3H).

【0765】

化合物51eの調製

化合物51d(310mg、1.36mmol)のMeOH(3mL)中溶液に、-20℃でH₂O(3mL)中のLiOH一水和物(114mg、2.72mmol)を加えた。0℃で1時間攪拌した後、反応混合物をH₂O/2N HCl水溶液(50mL/2mL)で希釈し、Et₂O(2×30mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水した。濾過し、濃縮して化合物51e(246mg)を得、これを更には精製せずに使用した。¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 5.15 (q, 1H), 3.39 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 2.98 (s, 3H), 2.49-2.45 (m, 2H), 1.98-1.92 (m, 2H), 1.41 (d, 3H).

【0766】

10

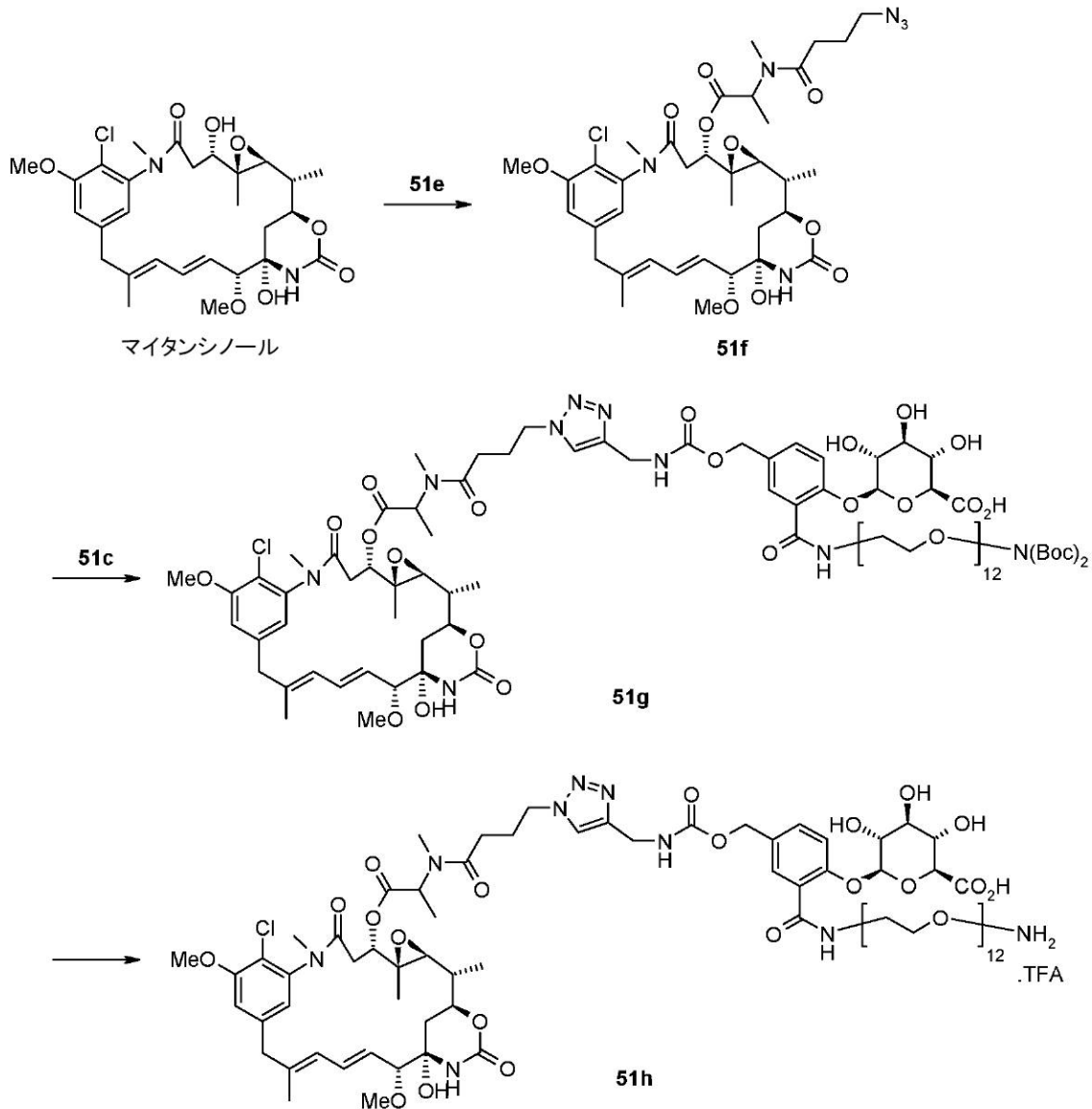
20

30

40

50

【化 1 7 7】



【0 7 6 7】

化合物51fの調製

マイタンシノール(50mg、0.088mmol)及び化合物51e(113mg、0.528mmol)のDCM(6mL)中溶液に、 N_2 下DIC(0.087mL、0.557mmol)のDCM(1.4mL)中溶液を加えた。1分後、 $ZnCl_2$ の溶液(Et_2O 中1M、0.11mL、0.11mmol)を加えた。室温で2時間攪拌した後、反応混合物を $EtOAc$ (10mL)で希釈した。有機層を飽和 $NaHCO_3$ 水溶液(4mL)及びブライン(2mL)で洗浄し、無水 Na_2SO_4 で脱水し、減圧下で蒸発させた。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、メイタンシノイド化合物のジアステレオマー混合物51f(50mg、74%)を得た。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 761.7.

【0 7 6 8】

化合物51gの調製

$CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (2mg)及びアスコルビン酸ナトリウム(10mg)を、化合物51f(78mg、0.102mmol)及び化合物51c(132mg、0.112mmol)のDMSO(4mL)及び H_2O (1mL)中攪拌混合物に加えた。1M Na_2CO_3 水溶液を加えることにより、pHを約7に調節した。20°Cで1時間攪拌した後、反応混合物を $H_2O/DMSO$ (1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、濃縮して、化合物51g(72.1mg、37%)を得た。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1930.9, $[M+H-Boc]^+$ 1830.9.

【0769】

化合物51hの調製

TFA(0.2mL)を、化合物51g(72.1mg、0.037mmol)のDCM(1mL)中撹拌溶液に加えた。0℃で2時間撹拌した後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をH₂O/MeCN(1mL/1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物51h(より極性の高い異性体17mg及びより極性の低い異性体6.0mg、36%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1730.8.

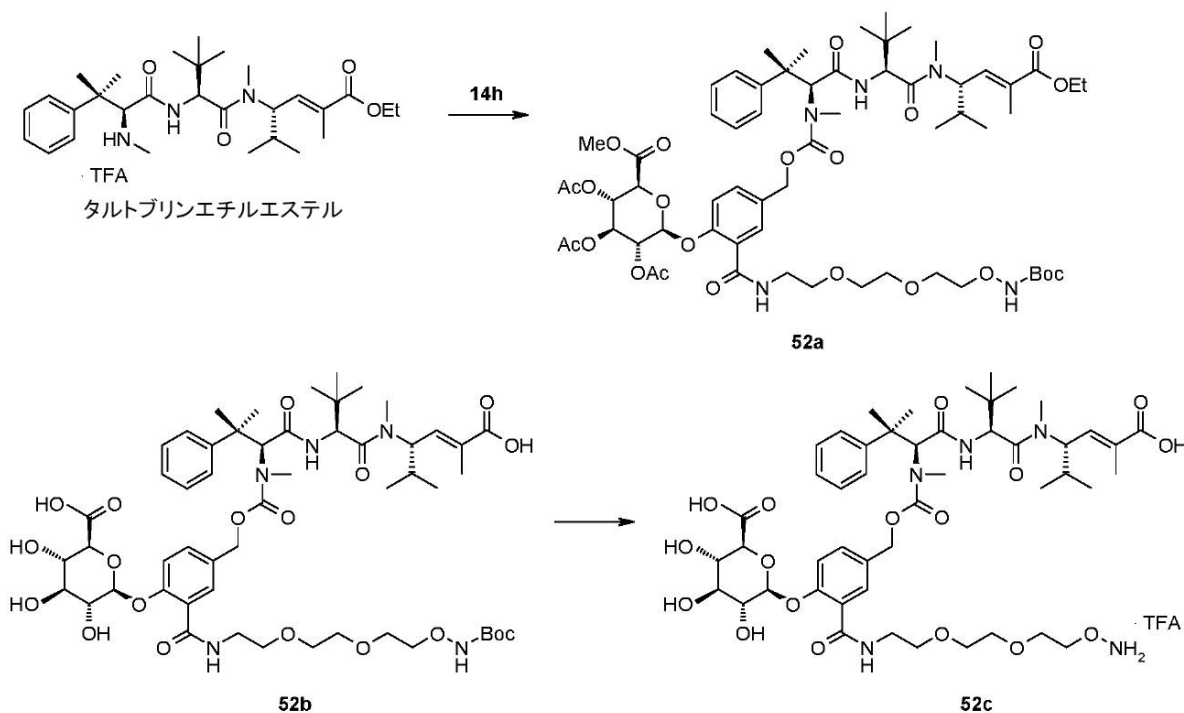
【0770】

[実施例72]

化合物52cの調製

【0771】

【化178】



【0772】

化合物52aの調製

タルトブリンエチルエステル(TFA塩、80mg、0.029mmol)、化合物14h(128mg、0.0142mmol)及び無水HOBt(3.5mg、0.026mmol)を、0℃でDMF(3mL)に溶解した。次いでピリジン(0.5mL)及びDIPEA(0.045mL、0.26mmol)を加えた。N₂下室温で24時間撹拌した後、反応混合物をH₂O(10mL)で希釈し、EtOAc(2×10mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物52a(70mg、43%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1258.6, [M+H-Boc]⁺ 1158.6.

【0773】

化合物52bの調製

化合物52a(70mg、0.055mmol)のMeOH(1.4mL)中溶液に、-20℃でH₂O(1.4mL)中のLiOH一水和物(11.7mg、0.275mmol)を加えた。0℃で1時間後、溶液のpHを酢酸で4～5に調節した。得られた溶液をDMSO(1mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物52b(4.5mg、8%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1090.4.

【0774】

化合物52cの調製

10

20

30

40

50

化合物52b(4.5mg、0.0041mmol)のDCM(1mL)中溶液に、0℃でTFA(0.2mL)を加えた。0℃で2時間後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をHPLCにより精製して、化合物52c(2.4mg、59%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 990.4.

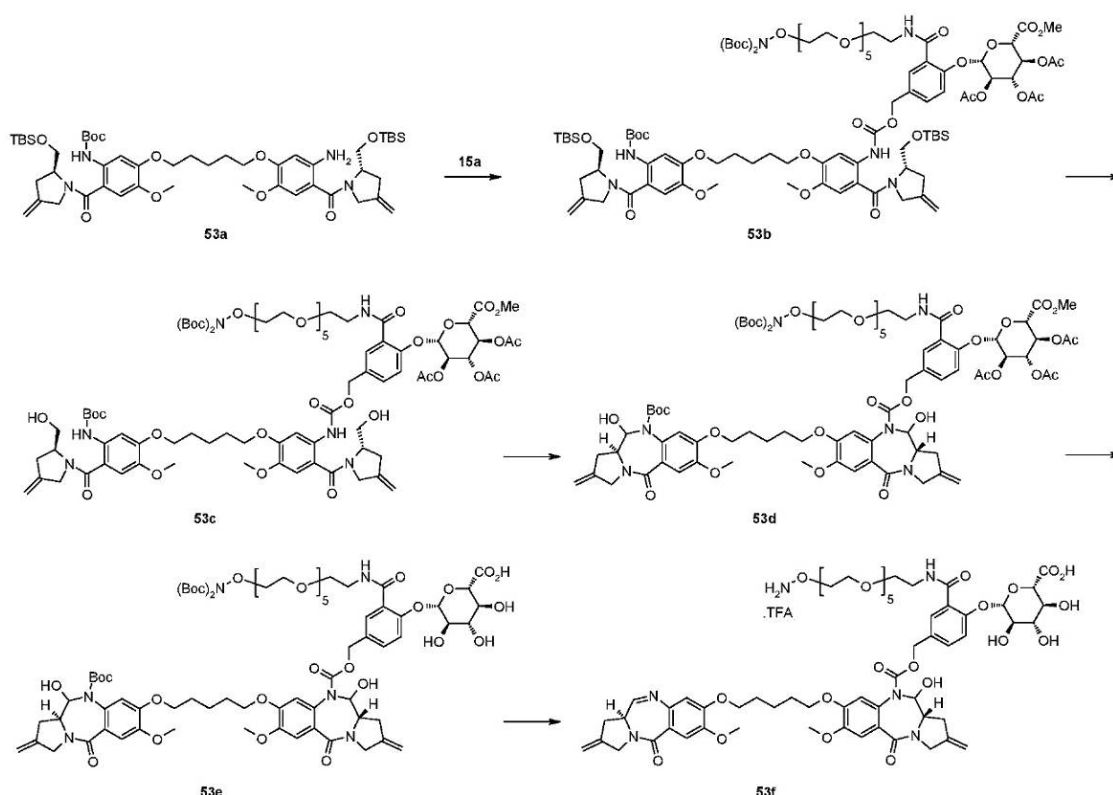
【0775】

[実施例73]

化合物53fの調製

【0776】

【化179】



【0777】

化合物53bの調製

化合物53a(300mg、0.31mmol、化合物53aは特許WO2013/055987A1に開示されている方法により調製した)、化合物15a(355mg、0.31mmol)及び無水HOBt(10mg、0.06mmol)を、0℃でDMF(0.5mL)に溶解した。次いでピリジン(0.3mL)及びDIPEA(0.14mL、0.78mmol)を加えた。N₂下室温で23時間攪拌した後、反応混合物をH₂O/飽和NH₄Cl水溶液(100mL/50mL)で希釈し、EtOAc(2×100mL)で抽出した。合わせた有機層を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物53b(250mg、41%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1943.6, [M+Na]⁺ 1965.6.

【0778】

化合物53cの調製

化合物53b(300mg、0.31mmol)のTHF/H₂O(2mL/1mL)中溶液に、N₂下0℃で酢酸(3mL)を加えた。22時間後、反応混合物をH₂O(100mL)で希釈し、EtOAc(2×100mL)で抽出した。合わせた有機層を無水Na₂SO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物53c(140mg、68%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1713.6.

【0779】

化合物53dの調製

10

20

30

40

50

【 0 7 8 0 】

化合物53d(95mg、0.056mmol)のMeOH(1mL)中溶液に、0℃でH₂O(1mL)中のLiOH-水和物(12mg、0.278mmol)を加えた。0℃で2時間後、反応混合物を酢酸を用いて中和し、減圧下で濃縮した。得られた残留物をDMSO(1mL)に溶解し、分取HPLCにより精製して、化合物53e(6mg、7%)を得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1569.7.

【 0 7 8 1 】

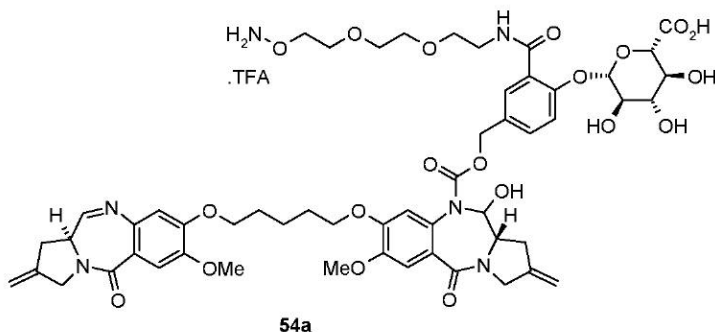
TFA(0.2mL)を、化合物53e(6mg、0.004mmol)のDCM(2mL)中攪拌溶液に加えた。0℃で2時間攪拌した後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をDM SO(1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物53f(2.7mg、53%)を白色固体として得た。EI-MS m/z: [M+H]⁺ 1251.3.

【 0 7 8 2 】

化合物54aの調製

【 0 7 8 3 】

【化 1 8 0】



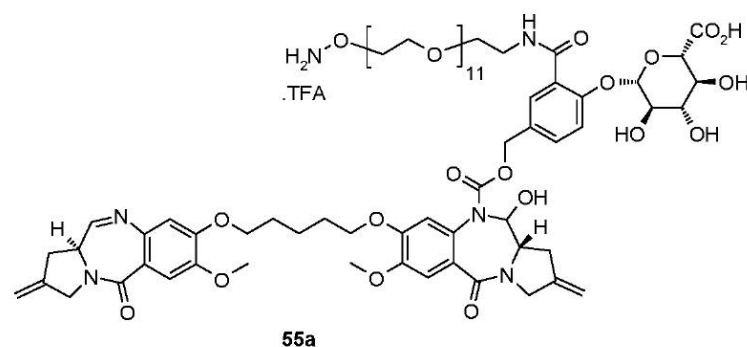
実施例73において化合物53fを調製する方法と同様の方法により、化合物53a及び化合物14hから化合物54aを調製した。

【 0 7 8 4 】

化合物55aの調製

【 0 7 8 5 】

【化 1 8 1】



実施例73において化合物53fを調製する方法と同様の方法により、化合物53a及び化合物51aから化合物55aを調製した。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1516.7, $1/2[M+H]^+$ 758.7.

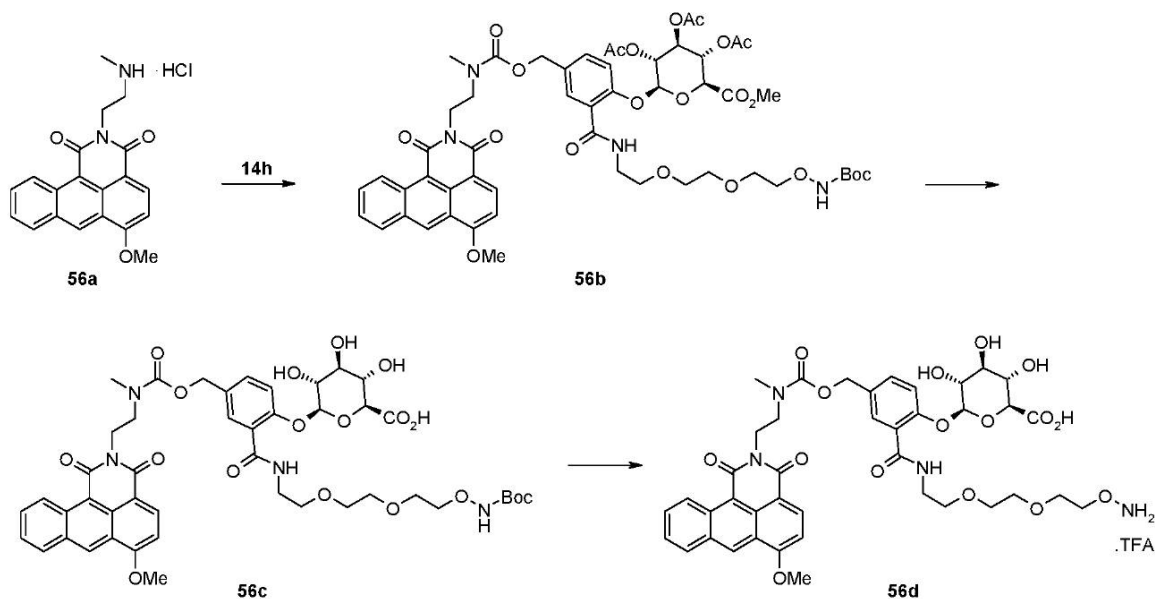
【0786】

[実施例76]

化合物56dの調製

【0787】

【化182】



【0788】

化合物56bの調製

化合物56a(HCl塩、100mg、0.27mmol、化合物56aはCurr.Med.Chem.2009、16、1192-1213に開示されている方法により調製した。)、化合物14h(242mg、0.27mmol)及び無水HOBt(7.3mg、0.05mmol)を、0℃でDMF(3mL)に溶解した。次いでピリジン(0.4mL)及びDIPEA(0.09mL、0.60mmol)を加えた。N₂下室温で16時間攪拌した後、反応混合物を飽和NH₄Cl水溶液(10mL)で希釈し、EtOAc(2×20mL)で抽出した。合わせた有機層を無水MgSO₄で脱水し、濾過し、濃縮した。残留物をカラムクロマトグラフィーにより精製して、化合物56b(184mg、63%)を得た。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 1091.9, $[M+H-Boc]^+$ 991.7.

【0789】

化合物56cの調製

化合物56b(90mg、0.08mmol)のMeOH(2mL)中溶液に、-20℃でH₂O(2mL)中のLiOH-H₂O水和物(17mg、0.41mmol)を加えた。-20℃で2時間攪拌した後、反応混合物を酢酸を用いて中和し、減圧下で濃縮した。次いで反応混合物をH₂O/DMSO(1.5mL/1.5mL)に溶解し、HPLCにより精製して、化合物56c(35mg、45%)を黄色固体として得た。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 951.7, $[M+H-Boc]^+$ 851.5.

【0790】

化合物56dの調製

TFA(0.3mL)を、0℃で化合物56c(35mg、0.04mmol)のDCM(2.0mL)中攪拌溶液に加えた。1時間攪拌した後、溶媒及び過剰のTFAをN₂流により除去した。次いで残留物をH₂O/MeCN(1mL/1mL)に溶解し、HPLCにより精製した。同一の保持時間を有する純粋なフラクションを合わせ、凍結乾燥して、化合物56d(24.9mg、68%)を黄色固体として得た。EI-MS m/z : $[M+H]^+$ 851.6.

【0791】

[実施例77]

10

20

30

40

50

【化 1 8 3】



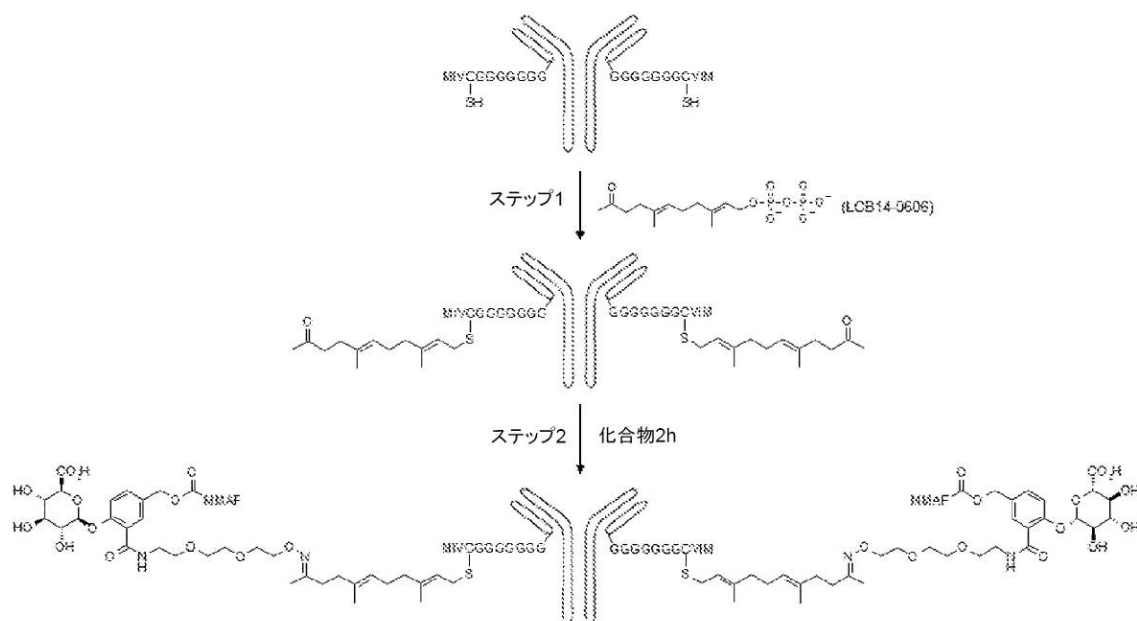
【化 1 8 4】



【 0 7 9 6 】

40

【化 1 8 5】



10

【 0 7 9 7】

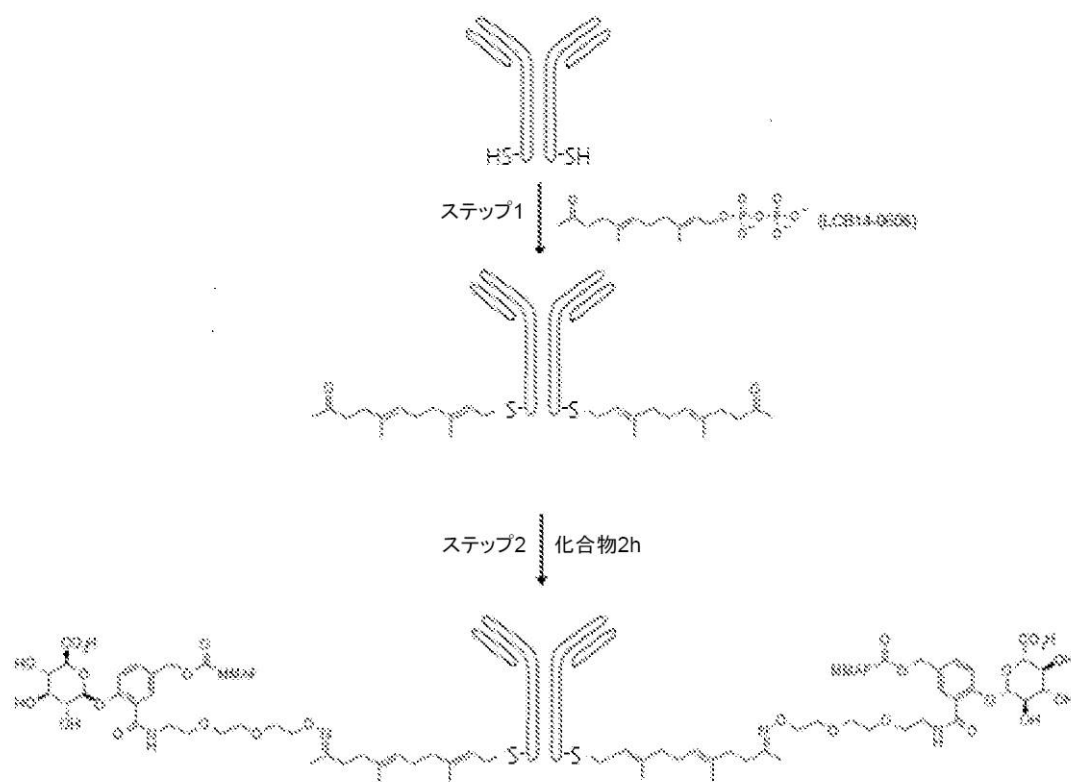
[実施例80]

ADC86合成

【 0 7 9 8】

【化 1 8 6】

20



30

40

【 0 7 9 9】

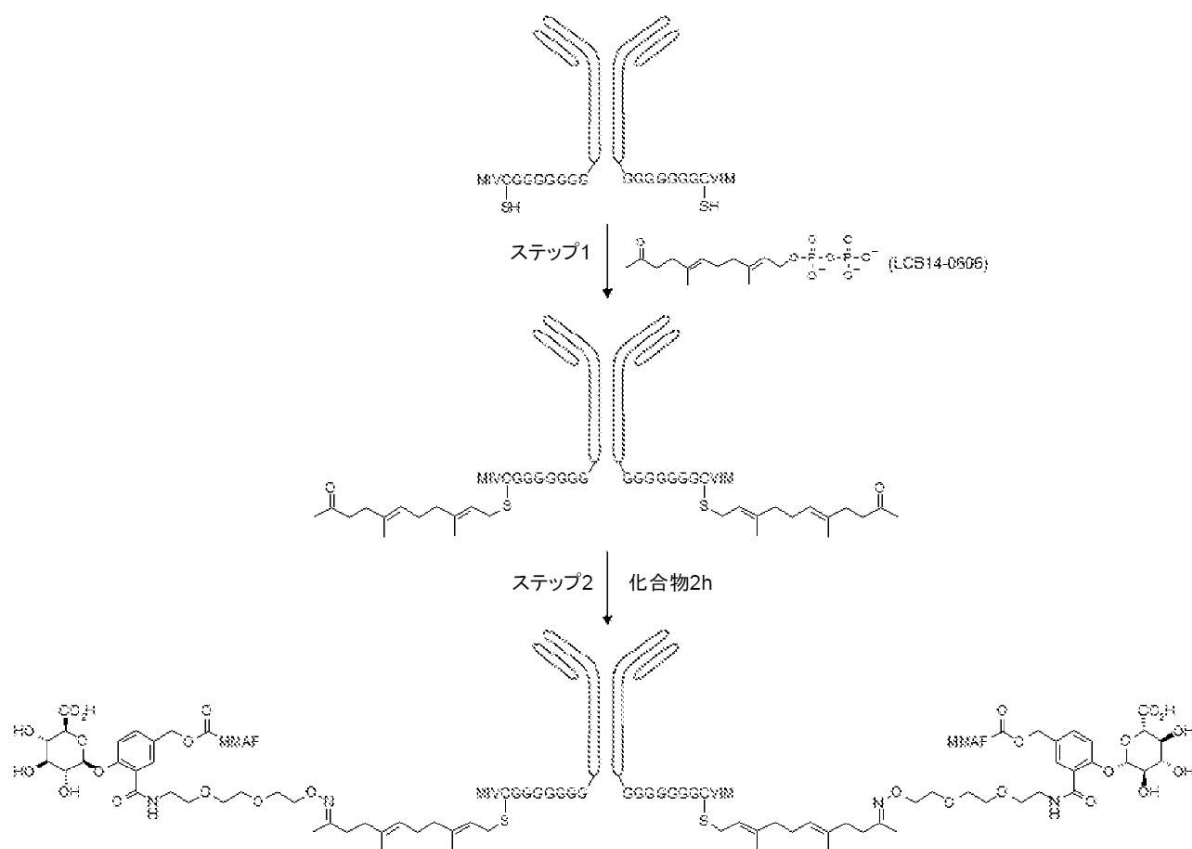
[実施例81]

ADC86合成

【 0 8 0 0】

50

【化 1 8 7】



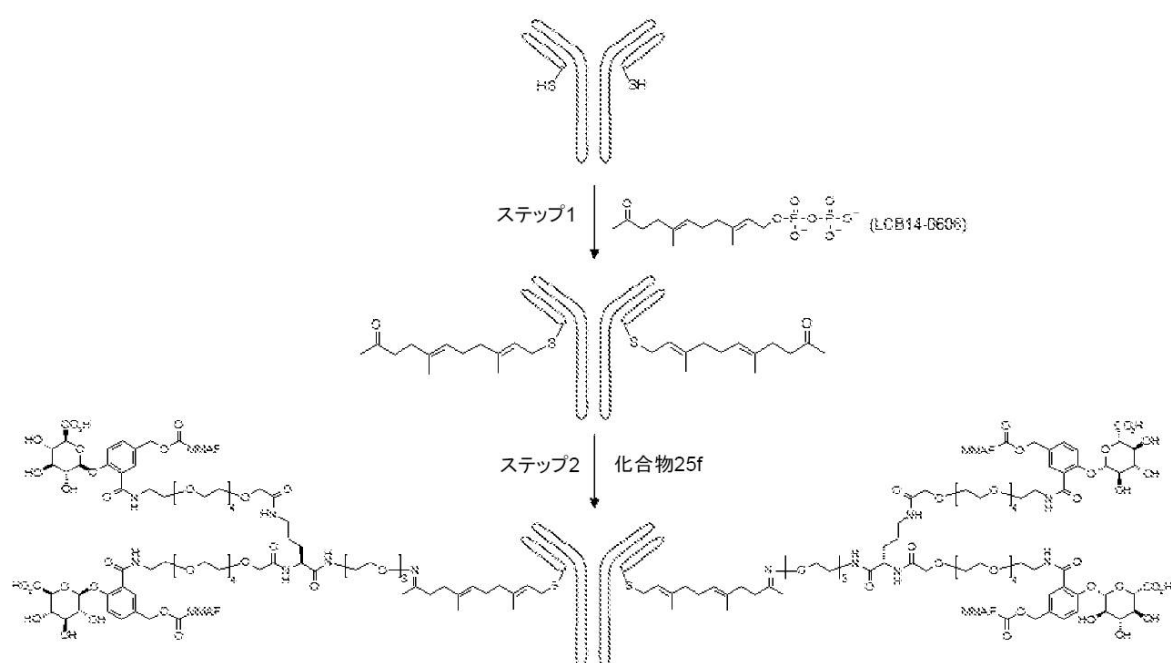
【 0 8 0 1】

[実施例82]

ADC4合成

【 0 8 0 2】

【化 1 8 8】



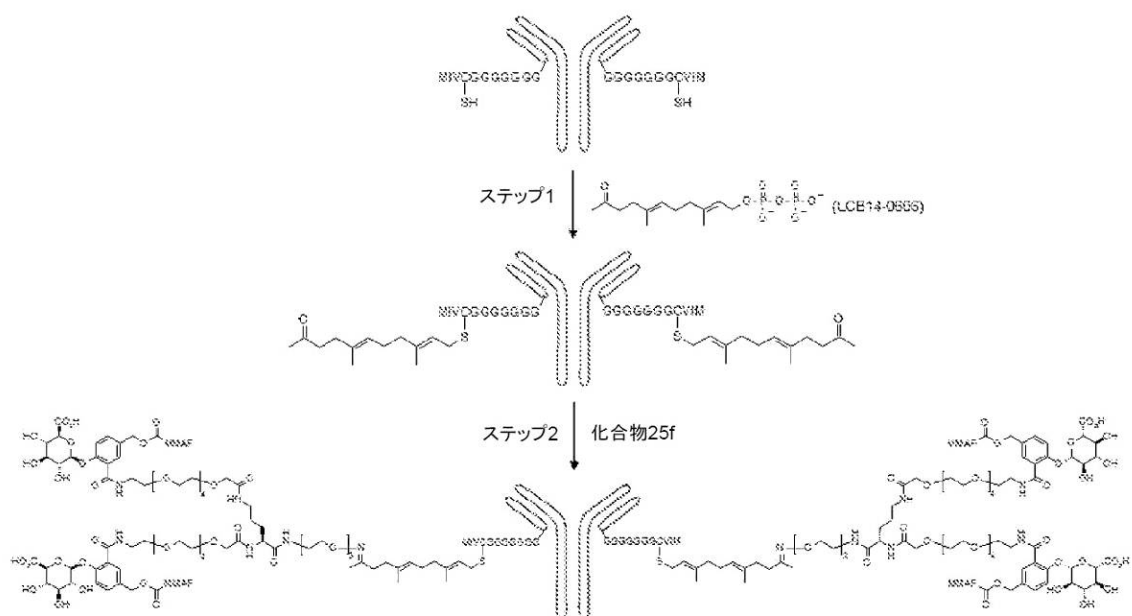
【 0 8 0 3 】

[実施例83]

ADC4合成

【 0 8 0 4 】

【化 1 8 9 】



【 0 8 0 5 】

[実施例84]

ADC75合成

【 0 8 0 6 】

10

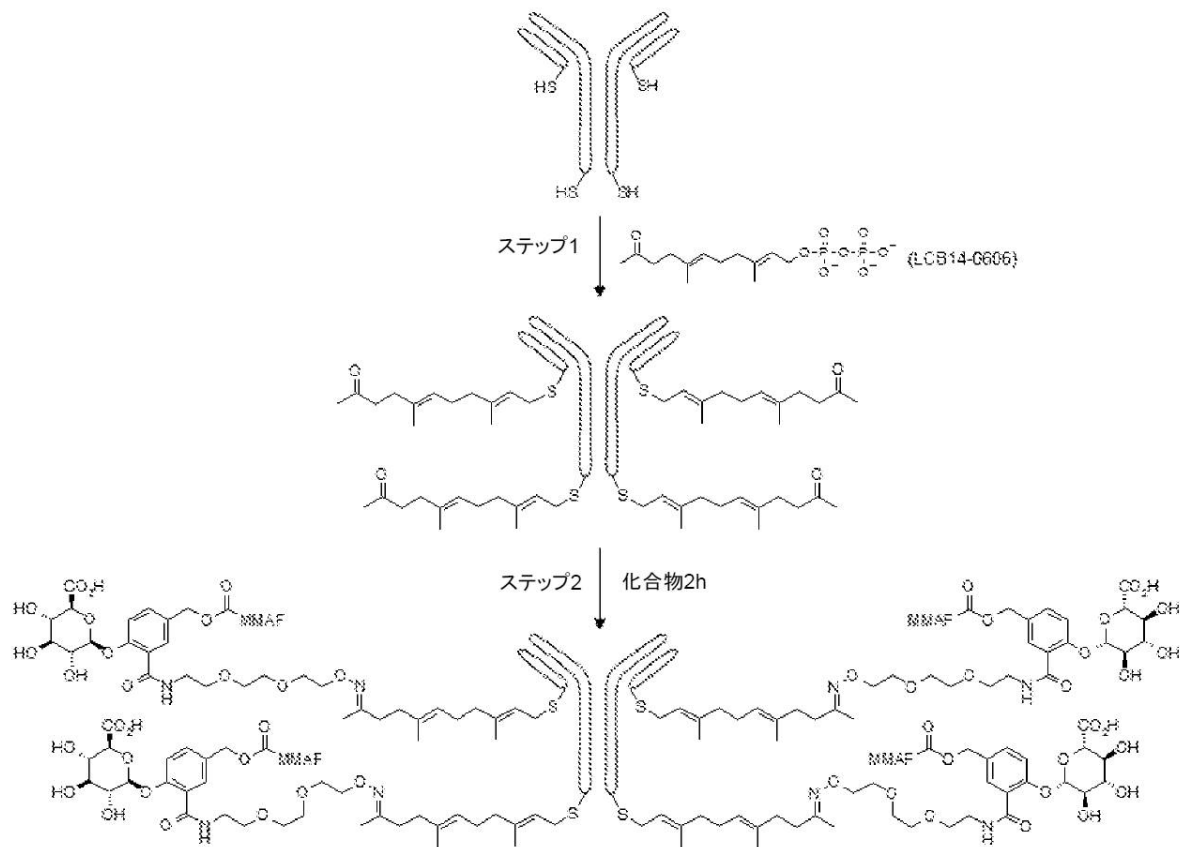
20

30

40

50

【化190】



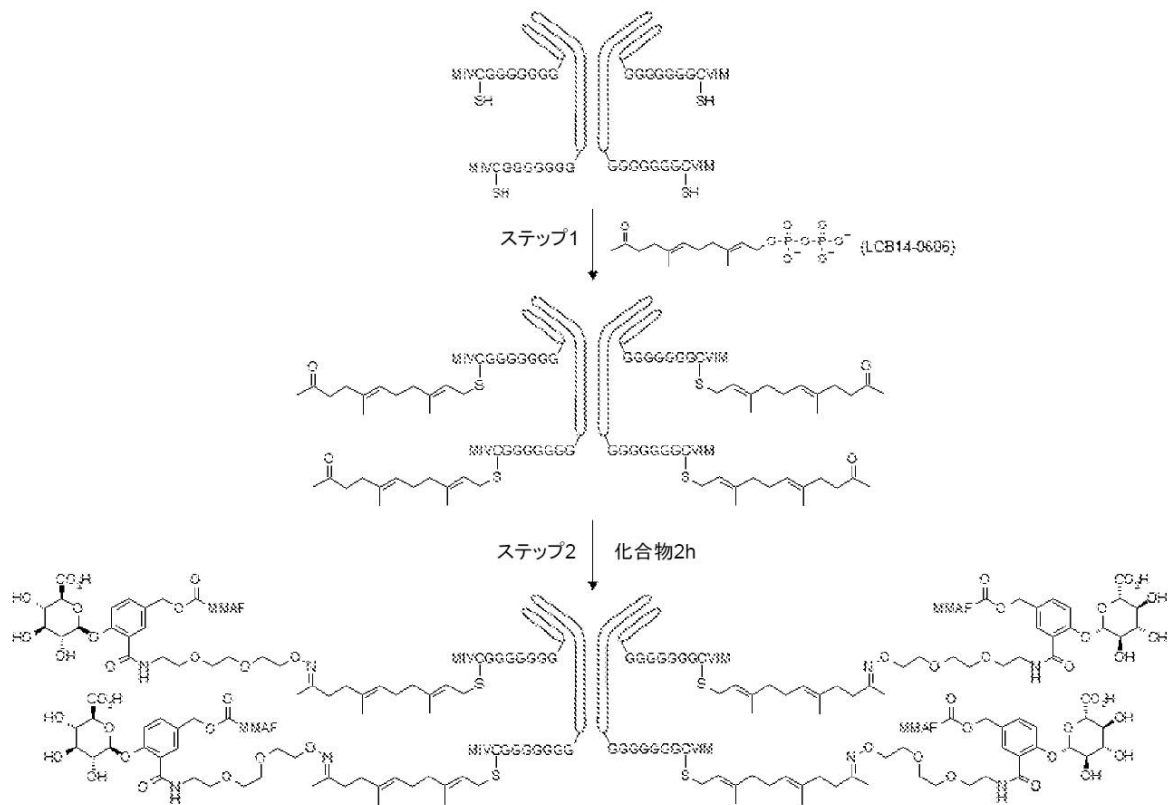
【0807】

[実施例85]

ADC75合成

【0808】

【化191】



【0809】

実験例1. β -グルクロニダーゼに関する反応性の比較試験。

β -グルクロニダーゼに対する、実施例66の化合物45k及び比較例66の化合物50kの反応性を互いに比較するために、比較試験を以下に行った。

【0810】

実施例66の化合物45k及び比較例66の化合物50kを、 $500\ \mu\text{M}$ 及び $50\ \mu\text{M}$ のDMSO保存溶液としてそれぞれ調製した。 $880\ \mu\text{L}$ のリン酸緩衝生理食塩水(PBS)溶液、並びに $100\ \mu\text{L}$ の化合物45k及び化合物50kの保存溶液をそれぞれ互いに混合した反応溶液を、それぞれ調製した(その最終濃度はそれぞれ $50\ \mu\text{M}$ 及び $5\ \mu\text{M}$)。 $20\ \mu\text{L}$ のE. coliの β -グルクロニダーゼ酵素(1mg/ml 、Sigma: E.C.3.2.1.31 Type IX-A; PBS中 1mg/mL ; $3.6\ \mu\text{g}$ 、 $13\ \mu\text{mol}$)を反応溶液に添加した後で、 37°C にて一定温度の水浴中で反応を開始した。 $100\ \mu\text{L}$ の混合溶液を、0分、25分、60分及び90分にそれぞれ分配し、 $200\ \mu\text{L}$ のアセトニトリルをそれに添加した。混合物試料で遠心分離(4°C 、15分、 14000rpm)を行うことにより得られたそれぞれの上澄みから放出されたMMAFは、LC-MS/MSを使用して定量的に分析した(米国特許第8,568,728号で開示されている方法と同様の方法により実験を行った、この文献は参照により本明細書に組み込まれる)。

【0811】

試験結果は、図2で例証されており、 β -グルクロニダーゼによる酵素反応の後での1,6-脱離反応により、MMAFが、実施例66の化合物45k及び比較例66の化合物50kのそれぞれから、きわめて迅速に放出されたことが図2から確認された(米国特許第8,568,728号、参照により本明細書に組み込まれる)。

【0812】

実験例2. リンカー毒素の血漿安定性の比較試験

実施例66の化合物45k及び比較例66の化合物50kの血漿安定性を比較した。

【0813】

$10\ \mu\text{L}$ の化合物45k又は50kを、 5mM のDMSOに溶解し、それぞれの組成物を、 $990\ \mu$

Lのマウス血漿と混合し、それにより、血漿安定性を評価するために50 μM試料を調製した。血漿/化合物溶液を37℃にて7日間インキュベートした。6日間のインキュベーション中、100 μLのアリコートをして0、1、2及び7日に採取し、血漿タンパク質の沈殿をモニタリングするために、内部標準を含有する200 μLのアセトニトリルと混合した。アセトニトリル/血漿試料を遠心分離する(4℃、15分、14000rpm)ことにより、上澄みを得、上澄みでLC-MS/MSを行うことにより、各化合物及び生成物の量を定量した。(実験は、J. Chromatography B、780:451～457頁(2002年)で開示されているものと同様の実験を使用して行った)。

【0814】

LS-MS/MSを使用して、実施例66の化合物45k及び比較例66の化合物50kに対して得られた結果は、図3及び表1で例証されている。比較例66の化合物50kの安定性及び実施例66の化合物45kの安定性は、1日でそれぞれ14%及び80%であった。したがって、マウス血漿における実施例66の化合物45kの安定性は、比較例66の化合物50kよりも優れている。

【0815】

【表2】

表1. マウス血漿における化合物45k及び化合物50kの安定性

	実施例66の化合物45k	比較例66の化合物50k
リンカー	グルクロニド	グルクロニド
血漿安定性 (マウス血漿)	80%安定性 (7日目)	14%安定性 (1日目)
結果	安定	不安定

【0816】

化合物47a、48a及び49aの血漿安定性は、上で言及されている方法を使用して行った(図4～6)。

【0817】

実験例3. 抗体-薬物複合体の調製

ステップ1. プレニル化抗体の方法(韓国特許出願公開公報第10-2014-0035393号の方法に従って調製した)

抗体のプレニル化反応混合物を調製し、30℃にて16時間反応させた。各軽鎖のc-末端に付加されているGGGGGGGCVIM配列(「G7CVIM」)を含む抗体を使用した。G7CVIM配列を、重鎖(ADC86-91)、又は重鎖及び軽鎖(ADC75-77)の両方のC-末端に付加した。使用される抗体の配列の供給源は、以下の表2と同様である。

【0818】

【表3】

表2. ADC調製のために使用される抗体の一覧

標的(抗体)	参考文献
HER2(Herceptin(登録商標))	http://www.drugbank.ca/drugs/DB00002
EGFR(Erbix(登録商標))	http://www.drugbank.ca/drugs/DB00002
CD19 (DI-B4)	US8691952 B2
CD20 (Rituxan(登録商標))	http://www.drugbank.ca/drugs/DB00073
EGFR wt & EGFRvIII (ABT806)	US 2014/02555410 A9

【0819】

反応混合物を、 $24\mu\text{M}$ 抗体、 200nM FTase(Calbiochem #344145)及び $144\mu\text{M}$ LC B14-0606(韓国特許出願公開公報第10-2014-0035393号の方法に従って所内で調製した、この文献は参照により本明細書に組み込まれる)を含有する緩衝溶液(50mM Tris-HCl($\text{pH}7.4$)、 5mM MgCl_2 、 $10\mu\text{M}$ ZnCl_2 、 0.25mM DTT)で構成した。反応が完了した後で、プレニル化抗体をFPLCにより精製した。

【0820】

ステップ2.ADCを調製する方法

プレニル化抗体とリンカー-毒素の間におけるオキシム結合形成反応混合物は、 100mM Na-酢酸緩衝液($\text{pH}4.5$ 、 10% DMSO)、 $12\mu\text{M}$ プレニル化抗体及び $120\mu\text{M}$ リンカー-毒素(所内)を混合することにより調製し、 30°C にて静かに攪拌した。反応を24時間インキュベートした後で、FPLC及び疎水性相互作用クロマトグラフィー-HPLCで脱塩することにより、抗体-薬物複合体を精製した。

【0821】

【表4】

表3. 抗HER2 ADC(DAR2)の一覧

ADC#	化合物#
ADC1	2g
ADC2	2h
ADC3	3f
ADC4	3g
ADC5	4f
ADC6	4g
ADC7	5e
ADC8	5f
ADC9	6e
ADC10	7e
ADC11	8f
ADC12	9j
ADC13	10c
ADC14	10d
ADC15	11j
ADC16	11k
ADC17	12c
ADC18	12d
ADC19	13e
ADC20	13f
ADC86	2h
ADC87	2g

【0822】

【表 5】

表4. 抗HER2 ADC(DAR4)の一覧

ADC#	化合物#
ADC23	16f
ADC24	16g
ADC25	17d
ADC26	18c
ADC27	19c
ADC28	20q
ADC29	21i
ADC30	22h
ADC31	23h
ADC32	24l
ADC33	25e
ADC34	25f
ADC35	26e
ADC36	27e
ADC37	28d
ADC38	28e
ADC39	29j
ADC40	29k
ADC41	30b

ADC42	30c
ADC43	31f
ADC44	31g
ADC45	32c
ADC46	32d
ADC47	33e
ADC48	33f
ADC49	34e
ADC50	34f
ADC51	35g
ADC52	36e
ADC53	37d
ADC54	38b
ADC55	38e
ADC76	2h
ADC88	16f
ADC89	16g
ADC90	25f
ADC91	25e

10

20

30

【 0 8 2 3 】

【表 6】

表5. 抗HER2 ADC(DAR4<)の一覧

	ADC#	化合物#
<DAR6>	ADC60	43i
	ADC61	43j
<DAR8>	ADC62	44i
	ADC63	44j
	ADC77	16f

40

【 0 8 2 4 】

50

【表 7】

表6. アマニチンをペイロードとして使用した抗HER2 ADCの一覧

DAR 2		DAR4	
ADC#	化合物#	ADC#	化合物#
ADC21	14m	ADC56	39e
ADC22	15b	ADC57	40c
		ADC58	41c
		ADC59	42d

10

【 0 8 2 5 】

【表 8】

表7. 様々なタンパク質を標的化する抗体を使用したADCの一覧

標的(抗体)	ADC#	化合物#
EGFR(Erbix(登録商標))	ADC64	2h
	ADC65	25e
	ADC66	25f
CD19 (DI-B4)	ADC67	2h
	ADC68	25e
	ADC69	25f
CD20(Rituxan(登録商標))	ADC70	2h
	ADC71	25e
	ADC72	25f
EGFR wt & EGFRvIII (ABT806)	ADC73	4g
	ADC74	25e
	ADC75	25f

20

30

【 0 8 2 6 】

実験例4.抗HER2 ADCの細胞毒性

市販のヒト乳がん細胞株MCF-7(HER2陰性から正常)、OE-19 (HER2陽性)、NCI-N87 (HER2陽性)、SK-OV-3 (HER2陽性)、JIMT-1(HER2陽性)及びSK-BR-3(HER2陽性)を使用した。細胞株を、市販の細胞株で示されている推奨仕様に従って培養した。

【 0 8 2 7 】

がん細胞株に対する抗体、薬物及び複合体の抗増殖活性を測定した。細胞を、96ウェル組織培養プレートにウェル当たり細胞 1×10^4 個で播種した。24時間のインキュベーション後、抗体、薬物及び複合体を様々な濃度で添加した。SRBアッセイを使用して、72時間後に生存能力のある細胞の数を計数した。SpectraMax 190 (Molecular Devices、USA)を使用して、540nmにおいて吸光度を測定した。

40

【 0 8 2 8 】

50

【表 9】

表8. 様々な抗HER2 ADC(DAR2)のIC₅₀値

ペイロード	ADC	リンカー毒素	SK-BR-3	JIMT-1	OE-19	NCI-N87	SK-OV-3	MCF-7
MMAF	ADC8	5f	0.10	0.34	-	-	-	>33.33
	ADC2	2h	0.14	0.16	0.42	0.75	1.19	>33.33
	ADC4	3g	0.10	0.32	-	0.97	1.21	>33.33
	ADC6	4g	0.03	0.38	-	-	-	>33.33
	ADC16	11k	0.06	0.26	-	-	-	>33.33
	ADC14	10d	0.09	0.31	-	-	-	>33.33
	ADC18	12d	0.10	0.34	-	-	-	>33.33
	ADC20	13f	0.08	0.29	-	-	-	>33.33
MMAE	ADC7	5e	0.10	13.44	-	-	-	>33.33
	ADC1	2g	0.47	275	-	0.69	241	>33.33
	ADC3	3f	0.29	1.63	-	1.04	1.34	>33.33
	ADC5	4f	0.15	0.97	-	0.40	1.04	>33.33
	ADC9	6e	0.10	>33.3	-	-	-	>33.33
	ADC15	11j	0.17	>33.3	-	-	-	>33.33
	ADC10	7e	0.12	0.64	-	-	-	>33.33
	ADC12	9j	0.20	2.01	-	-	-	>33.33
	ADC13	10c	0.19	1.09	-	-	-	>33.33
	ADC17	12c	0.03	0.11	-	-	-	>33.33
	ADC19	13e	0.13	0.38	-	-	-	>33.33

【 0 8 2 9 】

【表 1 0】

表9. PEGの長さが異なるADCのIC₅₀値

試験試料					IC ₅₀ (nM)	
毒素	DAR	ADC	PEGユニット の数	リンカー毒素	JIMT-1	MCF-7
MMAE	2	ADC7	1	5e	>10.0	>10.0
		ADC1	3	2g	>10.0	>10.0
		ADC3	6	3f	>10.0	>10.0
		ADC5	12	4f	1.01	>10.0

【 0 8 3 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 1】

表10. 様々なタイプのリンカーを有するMMAF ADCのIC₅₀値

ADC	リンカー毒素	SK-BR-3	JIMT-1	NCI-N87	SK-OV-3	MCF-7
ADC23	16f	0.05	0.12	0.35	0.44	>33.33
ADC34	25f	0.03	0.10	-	-	>33.33
ADC38	28e	0.03	0.05	-	-	>33.33
ADC40	29k	0.02	0.06	-	-	>33.33
ADC42	30c	0.03	0.04	-	-	>33.33
ADC44	31g	0.03	0.05	-	-	>33.33
ADC46	32d	0.04	0.08	-	-	>33.33
ADC48	33f	0.03	0.08	-	-	>33.33
ADC50	34f	0.03	0.05	-	-	>33.33
ADC53	37d	0.03	0.05	-	-	>33.33
ADC54	38b	0.05	0.12	-	-	>33.33

【 0 8 3 1 】

10

20

30

40

50

【表 1 2】

表11. 様々なタイプのリンカーを有するMMAE ADCのIC₅₀値

ADC	リンカー毒素	SK-BR-3	JIMT-1	NCI-N87	SK-OV-3	MCF-7
ADC24	16g	0.14	0.26	0.17	0.37	>33.33
ADC25	17d	0.03	0.10	0.36	0.37	>33.33
ADC26	18c	0.08	0.14	-	-	>33.33
ADC27	19c	0.05	0.43	0.29	0.38	>33.33
ADC28	20q	0.03	0.12	0.36	0.36	>33.33
ADC29	21i	0.03	0.41	0.31	0.49	>33.33
ADC30	22h	0.05	0.41	0.30	0.35	>33.33
ADC31	23h	0.14	0.24	-	-	>33.33
ADC32	24l	0.03	0.40	0.32	0.35	>33.33
ADC33	25e	0.04	0.23	0.27	0.33	>33.33
ADC35	26e	0.13	0.19	-	-	>33.33
ADC36	27e	0.13	0.22	-	-	>33.33
ADC37	28d	0.04	0.07	-	-	>33.33
ADC39	29j	0.03	0.11	-	-	>33.33
ADC41	30b	0.03	0.10	-	-	>33.33
ADC43	31f	0.03	0.04	-	-	>33.33
ADC45	32c	0.03	0.08	-	-	>33.33
ADC47	33e	0.04	0.07	-	-	>33.33
ADC49	34e	0.03	0.05	-	-	>33.33
ADC51	35g	0.04	0.24	0.34	-	>33.33
ADC52	36e	0.07	0.40	0.37	-	>33.33
ADC55	38e	0.04	0.07	-	-	>33.33

【 0 8 3 2 】

10

20

30

40

50

【表 1 3】

表12. ハイブリッドADCのIC₅₀値

試験試料				IC ₅₀ (nM)				
毒素	DAR	ADC	リンカー毒素	SK-BR-3	JIMT-1	NCI-N87	SK-OV-3	MCF-7
MMAF	2	ADC2	2h	0.08	0.40	0.84	0.84	>33.33
	4	ADC23	16f	0.05	0.10	0.25	0.36	>33.33
アマニチン	2	ADC21	14m	0.09	>33.3	0.88	0.25	>33.33
MMAF&アマニチン	4	ADC58	41c	0.06	0.73	0.95	0.64	>33.33
	8	ADC78	41c	0.03	0.03	0.33	0.76	>33.33
MMAF-OMe				0.12	0.07	0.49	0.78	0.60

10

2つの異なる毒素が複合したADC、及び、同一毒素が複合したADCの比較

【0 8 3 3】

20

【表 1 4】

表13. 様々なDAR-ADCのIC₅₀値

試験試料			IC ₅₀ (nM)	
DAR#	ADCコード	リンカー毒素	JIMT-1	MCF-7
DAR2	ADC2	2h	1.37	>33.33
DAR4	ADC23	16f	0.21	>33.33
	ADC34	25f	0.09	>33.33
	ADC76	2h	0.27	>33.33
DAR8	ADC62	44i	0.08	>33.33
	ADC77	16f	0.02	>33.33

30

【0 8 3 4】

実験例5. Erbitux(LC)-グルクロニドリンカー-MMAFの細胞毒性

高レベルのEGFRを発現するA431細胞、及び、低レベルのEGFRを発現するMCF-7細胞を、96ウェルプレート中のウェル当たり細胞約1000個で、100 µLの培地に播種した。中レベルのEGFRを発現するHCC-827細胞を、96ウェルプレート中のウェル当たり細胞約5000個で、100 µLの培地に播種した。細胞を、5%CO₂中で37℃にて24時間インキュベートした。次いで、モノメチルオーリスタチンF-OMe(MMAF-OMe)、Erbitux(LC)-G7C VIM、並びに、Erbitux (LC)-G7CVIM及びMMAFを含む抗体薬物複合体ADC64の系列希釈物を、100から0.00128nMの濃度で細胞に添加した。細胞を72時間インキュベートし、次いで、100 µLの氷冷10%トリクロロ酢酸を各ウェルに添加した後で、4℃にて1時間固定した。SRB色素(スルホローダミンB、Sigma S1402)、及び、Softmax Pro v5を実行するMolecular Devices SpectraMax 190プレートリーダーを使用して540nmで吸光度をモニタリングし、生存能力のある細胞を計数した(表14)。

40

50

【0835】

Erbix(LC)-G7CVIMは、各細胞株(A431、MCF-7及びHCC-827)に対して、100nM超のIC₅₀を有していた。MMAF-OMeは、MCF-7細胞に対して1.81nM、HCC-827細胞に対して1.99nM、また、A431細胞に対して1.11nMのIC₅₀を有していた。抗体-薬物複合体ADC64、65及び66は、MCF-7細胞に対して100nM超、HCC-827細胞に対して0.47、0.17及び0.11nMのIC₅₀をそれぞれ有していた。ADC64は、A431細胞に対して1.3nMを示し、したがって、MMAF-OMeを上回る優れた特異性、Erbix(LC)-G7CVIMを上回る優れた効力を表した。

【0836】

【表15】

表14. 抗EGFR mAb、ErbixをベースとしたADCのIC₅₀値

ADCコード	細胞株		
	A431	HCC-827	MCF-7
ADC64	1.30	0.47	>33.33
ADC65	-	0.17	>33.33
ADC66	-	0.11	>33.33

【0837】

実験例6. ABT-806(LC)-グルクロニドリンカー-MMAFの細胞毒性

Samsung Medical Center (Seoul, Republic of Korea)で樹立された患者由来細胞株に対して、ABT-806をベースとしたADCの細胞毒性を試験した。L-グルタミン(200nM)、bFGF(20ng/mL)、EGF(20ng/mL)、N2サプリメント及びB27サプリメントを補充したNeurobasal(登録商標)-A Media(Thermo Fisher Scientific)で細胞を維持した。生存能力試験に関しては、細胞を96ウェルプレートにアリコート(細胞5000個/ウェル)し、処置前に、5%CO₂中で、37℃にて1日間インキュベートした。ADC処理後、細胞を72時間インキュベートした。100μLのCellTiter-Glo(登録商標)試薬(Promega)を各ウェルに添加して、細胞の生存能力を分析した。10分のインキュベーション後、Luminometerを使用して蛍光シグナルを分析した。

【0838】

DAR4 ADC(ADC74、ADC75)は、予想通り、DAR2 ADC (ADC73)より優れた効力を有していた。一部の患者の細胞は、ペイロードに対して少し異なる感受性を示した。22&780の細胞は、MMAEよりもMMAFにさらに感受性であり、464細胞はその反対であった。

【0839】

【表16】

表15. 患者由来細胞株に対するABT-806をベースとしたADCの細胞毒性活性

試験試料		患者由来細胞株				
		vIII352T1	780	437	464	22
ABT806	ADC73	0.572	0.959	0.357	0.472	0.501
	ADC75	0.104	0.227	0.241	0.151	0.282
	ADC74	0.170	0.425	0.253	0.069	0.489

【0840】

実験例7. 抗CD19 ADCの細胞毒性

ヒトバーキットリンパ腫細胞であるRamos細胞を、100 μ Lの増殖培地中に細胞20,000個/ウェルで、96ウェルプレートにシードした。細胞を、5%CO₂中で、37℃にて1日間インキュベートした。100 μ L培地中の抗CD19抗体DI-B4-(LC)-G7CVIM及びADCの系列希釈物33.33nMから5.1pMをウェルに添加し、細胞を、抗体&ADCと72時間インキュベートした。WST-1(TaKaRa MK400)、及びSoftmax Pro v5を実行するMolecular Devices SpectraMax 190プレートリーダーを使用して450nmで吸光度をモニタリングし、細胞の生存能力を評価した(表16)。

【0841】

何らかの非特異的細胞毒性を評価するために、陰性対照としてCD19を発現しないヒト骨髄性白血病細胞であるK562細胞での実験と並行して、Ramos細胞で実験を行った。

【0842】

ADC68及びADC69は、Ramos細胞に対して0.09nMのIC₅₀を表し、これは、非複合DI-B4より優れていた(表16)。K562対照細胞に対して、33.33nM未満の細胞毒性を表す抗体はなかった。

【0843】

【表17】

表16. 抗CD19抗体をベースとしたADCの細胞毒性活性

ADCコード	細胞株	
	Ramos	K562
ADC67	>33.33	>33.33
ADC68	0.09	>33.33
ADC69	0.09	>33.33

【0844】

実験例8. RituxanをベースとしたADCの細胞毒性

ヒトバーキットリンパ腫細胞であるRamos細胞を、100 μ Lの増殖培地中に細胞20,000個/ウェルで、96ウェルプレートにシードした。細胞を、5%CO₂中で、37℃にて1日間インキュベートした。100 μ L培地中のRituxan (LC)-G7CVIM及びADCの系列希釈物33.33nMから5.1pMを、ウェルに添加し、細胞を、抗体&ADCと72時間インキュベートした。WST-1(TaKaRa MK400)、及びSoftmax Pro v5を実行するMolecular Devices SpectraMax 190プレートリーダーを使用して450nmで吸光度をモニタリングし、細胞の生存能力を評価した(表17)。

【0845】

何らかの非特異的細胞毒性を評価するために、陰性対照としてCD20を発現しないヒト骨髄性白血病細胞であるK562細胞での実験と並行して、Ramos細胞で実験を行った。

【0846】

ADC70、ADC71及びADC72は、Ramos細胞に対して、それぞれ4.56nM、1.47nM及び1.78nMのIC₅₀を表し、これは、非複合抗CD20抗体より優れていた(表17)。K562対照細胞に対して、33.33nM未満の細胞毒性を表す抗体はなかった。

【0847】

10

20

30

40

50

【表 18】

表17. RituxanをベースとしたADCの細胞毒性活性

ADCコード	細胞株	
	Ramos	K562
ADC70	4.56	>33.33
ADC71	1.47	>33.33
ADC72	1.78	>33.33

10

【0848】

実験例9. ベータグルクロニダーゼの罹患性における差

0.06 M Na-酢酸緩衝液(pH5.2)中のADCを、1.5 mLマイクロチューブ中にアリコートした。混合物中でADCの最終濃度を12 μ Mに調整した。0.001 μ gのヒト β -グルクロニダーゼ(R&D systems:6144-GH-020)を各チューブに添加した。次いで、混合物を37℃の水浴で3時間インキュベートした。冷PBS緩衝液(pH7.4)を15倍に希釈されるまで添加することにより反応を終了させた。ベータ-グルクロニダーゼによるADC-パターンの変化をHIC-HPLCにより分析した。酵素活性の効き目を残りの%で視覚化した(図10)。

【0849】

罹患性の特徴は、リンカー-毒素部の分岐ユニット(BR)と考えられる。LysがBRに位置している場合、毒素の放出はきわめて効率的に発生した。アミド及びアミンは、Lysよりも低い罹患性を示した。

20

【0850】

実験例10. ADCの血漿安定性

ADC2(Herceptin-LBG-MMAF、DAR2)とカドサイラの間における血漿安定性を比較するために、こうしたADCをマウス及びヒト血漿中で5秒間(0時間)又は96時間(96時間)インキュベートし、続いてSK-BR3細胞を使用してSRB in vitro細胞毒性試験を72時間行った。血漿-インキュベートしたADC2は、強力な細胞毒性を保つ(IC₅₀に変化なし;MPに対して0.06(0時間)及び0.07 nM(96時間)、HPに対して0.08(0時間)及び0.08 nM(96時間))一方、血漿-インキュベートしたカドサイラは、0時間カドサイラと比較して、低下した細胞毒性を表した(IC₅₀上昇;MPに対して0.26(0時間)及び1.59 nM(96時間)、HPに対して0.29(0時間)及び4.21 nM(96時間))(図11)。様々な抗体でできているADCの血漿安定性を特徴付けるために、ADCをヒト血漿中で5秒間(0時間)又は168時間(168時間)インキュベートし、続いてSK-BR3細胞を使用してSRB in vitro細胞毒性試験を72時間行った(表18~20及び図12)。

30

【0851】

40

50

【表 19】

表18. HerceptinをベースとしたADCの血漿安定性(nM)

試験試料			血漿インキュベーション時間	
			0時間	168時間
MMAF-OMe			0.48	測定不能
Herceptin	MMAF	ADC2	0.09	0.15
		ADC6	0.07	0.09
		ADC8	0.11	0.18
		ADC14	0.06	0.08
		ADC16	0.05	0.07
		ADC23	0.04	0.05
		ADC34	0.03	0.04
		ADC40	0.03	0.05
		ADC46	0.03	0.03
		ADC48	0.03	0.04
		ADC62	0.02	0.02
	MMAE	ADC1	0.26	0.41
		ADC3	0.20	0.32
		ADC5	0.19	0.31
		ADC7	0.17	0.26
		ADC12	0.51	0.79
		ADC13	0.63	0.87
		ADC15	0.52	0.70
		ADC24	0.08	0.11
		ADC25	0.07	0.12
		ADC26	0.17	0.22
		ADC27	0.10	0.14
		ADC28	0.07	0.08
		ADC29	0.06	0.08
		ADC30	0.15	0.19
		ADC31	0.08	0.12
		ADC32	0.05	0.09
		ADC33	0.04	0.09
		ADC35	0.11	0.21
		ADC36	0.09	0.12
		ADC39	0.12	0.17
		ADC45	0.04	0.05
		ADC47	0.04	0.05
		ADC61	0.32	0.32

【0852】

10

20

30

40

50

【表 2 0】

表19. 抗CD19抗体をベースとしたADCの血漿安定性(nM)

試験試料		血漿インキュベーション	
		0時間	168時間
MMAF-OMe		0.160	測定不能
CD19	ADC68	0.036	0.048
	ADC69	0.047	0.135

10

【 0 8 5 3】

【表 2 1】

表20. 抗CD20抗体をベースとしたADCの血漿安定性(nM)

試験試料		血漿インキュベーション	
		0時間	168時間
MMAF-OMe		0.160	測定不能
CD20	ADC71	4.001	4.134
	ADC72	2.026	3.851

20

【 0 8 5 4】

実験例11.Herceptin(登録商標)及びADCの薬物動態

オスSprague Dawleyラットに、3mg/kgの抗体又は抗体-薬物複合体を静脈内投与した。投与の後で、血液試料を複数の時点において採取し、氷水で冷やし、血漿を単離した。後続のLC/MS/MS分析まで、血漿を-80℃にて冷凍した。

【 0 8 5 5】

20 µLの各試料を、340 µLのPBS及び60 µLのタンパク質A磁気ビーズと混合し、静かに振とうしながら室温にて2時間インキュベートした。ビーズをPBSで3回洗浄した。次いで、25 µLの内部標準(10 µg/mLで同位体標識したペプチド)、75 µLのRapiGest SF (Waters)、及び10 µLのジチオトレイトールをビーズに添加した。混合物を1分間振とうし、次いで、60℃にて1時間インキュベートした。25 µLのヨード酢酸を混合物に添加し、混合物を1分間振とうし、次いで室温にて30分間インキュベートした。10 µLの配列グレードの修飾トリプシン(equencing grade modified trypsin)(Promega)を混合物に添加し、混合物を1分間振とうし、混合物を37℃にて終夜インキュベートした。15 µLの塩酸を混合物に添加し、混合物を1分間振とうし、混合物を37℃にて30分間インキュベートした。混合物を、4℃にて、5000×gで10分間遠心分離し、上澄みをHPLCバイアル中に移した。

30

【 0 8 5 6】

液体クロマトグラフィー-質量分析系は、2つのShimadzu LC-20ADポンプ、Shimadzu CBM-20A HPLCポンプコントローラ(Shimadzu Corporation、Columbia、MD、USA)、CTC HTS PALオートサンプラ(CEAP Technologies、Carrboro、NC、USA)及びトリプル飛行時間型5600質量分析計(Triple TOF MS) (AB Sciex、Foster City、CA、USA)からなっていた。分析カラムは、Phenomenex Kinetex XB-C18カラム、2.1×30(2.6 µm)であった。HPLCを水/アセトニトリルグラジエントで行い、0.1%ギ酸で酸性化させた。注入体積は10 µLであった。Duospray(商標)イオン供給源を備えたトリプルTOF MSを使用して、高分解能実験を完了させた。トリプルTOF MSを陽イオンモードで作動させ

40

50

た。高純度窒素ガスを、噴霧器/Duospray(商標)及びカーテンガスに使用した。供給源温度を、30L/分のカーテンガス流と共に、500℃にセットした。イオン噴霧電圧を5500Vにセットし、デクラスタリング電位は145V、衝突エネルギーは38Vであった。生成イオンモードはスキャンモードとして使用した。Windows(登録商標)(Microsoft)と共に作動させるAnalyst(登録商標)TF Version 1.6(AB Sciex)を、機器のコントロール及びデータ獲得に使用した。ピーク積分は、MultiQuant(登録商標)Version 2.1.1(AB Sciex)で行った。計算は、ピーク面積比、標準曲線回帰、試料濃度値及び記述統計について、MultiQuant(登録商標)Version 2.1.1で行った。0.1、0.4、1、2、5、10、20、40、80及び100 µg/mLの濃度の標準液を使用して、LC/MS/MSを校正した。代表的なPKプロファイルを、図13に示した。ADC2(Herceptin(LC)-MMAF、DAR2)のPKプロファイルは、Herceptinのものときわめて類似していた。

10

【0857】

実験例12.分岐リンカー-毒素におけるPEG(接続ユニット)の組合せ効果

ADCのPKプロファイルに影響を与える重大な特質を特定するために、異なる長さ及び構造の接続ユニット(PEG数及び配置)を試験した。PK分析のための実験は、実験例9に記載されているように行った。ADC23(DAR4 ADC)は、in vitro及びin vivoでDAR2 ADCより強力な効き目を有していたが、PKプロファイルは、半減期及びAUCで低下した(図14)。リンカー-毒素を16fから25fに置き換える(追加の接続ユニット(3 PEG)を分岐ユニット(BR)の後に結合させる)ことにより、PKプロファイルは、Herceptinのものと同じ程度に回復した(図14)。こうした効果は、MMAEをベースとしたADC、ADC24及びADC33で正しく再現された(図15)。MMAEは、MMAFよりも疎水性であるため、MMAEをベースとしたADCは、ADC1及びADC24により示されているPKプロファイルで悪化した。長いPEGユニットを付加することは、半減期及びAUCを伸ばすための従来からの応用であった。しかし、ADC1とADC5を比較すると、PEGユニット数を3から12へと伸ばすだけでは、大きな差は示されなかった。一方、直鎖状リンカーユニット(化合物2g又は4f)を、分岐したもの(化合物11j、ADC15)に置き換えることにより、PKプロファイルは著しく改善され(図16)、PKに対する重大な特質は、単純な長さだけではなく、接続ユニットの構造であり得ることが指し示された。

20

【0858】

実験例13. ADCのPKにおける親水性接続ユニットの効果

ADCに使用される多くのペイロードは、疎水性を有し、PK特性は不十分となる。疎水性を相殺するために、親水性化合物を接続ユニットの一部として試験した。親水性化合物、例えばAspを挿入することにより、ADCのAUC及び半減期が向上した(図17、18、19)。DAR2のケースでは、Aspを含む接続ユニットを有するADCは、Herceptinより高いAUCを示した(図17、18)。極性アミノ酸、例えばAsp又はGluによる相殺効果は、DAR4を有するADCで観察できる(図19、20)。ADC49(2 Asp)及びADC52(2 D-Glu)は、AUC及び半減期に関して、ADC47(1 Asp)及びADC51(1D-Glu)よりそれぞれ優れている。

30

【0859】

実験例14. in vivoの効き目

冷凍JIMT-1細胞ストックを解凍し、37℃、5%CO₂の条件下で培養した。生存能力が95%を超える最適な状態のJIMT-1細胞を、埋め込みに使用した。50 µL冷生理食塩水中で懸濁した5×10⁶個の細胞を、balb/c-ヌードマウスの右後肢中に埋め込んだ。群当たり5匹のマウスを実験に使用した。腫瘍の形成及び増殖を周期的にモニターした。式;体積=(a²b)/2、「a」は、短い直径を意味し、「b」は、長い直径を意味する、により腫瘍体積を計算した。

40

【0860】

腫瘍体積が約200mm³に達した場合、平均値を有するマウスは、腫瘍体積に従って選択し、グループ分けした。次いで、マウスをPBS(ビヒクル対照)で、又は、図21及び22で指し示されているADCで処置した。実験期間中に、3~4日間の間隔で週に2回、腫瘍の大きさを判定した。投与初日から終了日まで測定した腫瘍体積を、腫瘍増殖曲線に対してプロ

50

ットした。

【0861】

単回注射により代表的なADCを試験した。一般に、Lysを含有する分岐ユニット(BR)を有するADCは、アミドを含有するBRを有するADCより優れた効き目を有していた。

【0862】

参照による組み込み

本明細書に記載される特許、公表特許出願及び非特許参考文献のそれぞれは、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0863】

等価物

当業者は、日常の実験を使用するだけで、本明細書に記載されている本発明の特定の実施形態の多くの等価物を認識すると考えられる、又は確かめることができる。そのような等価物は、添付する特許請求の範囲に包含されるよう意図されている。

本発明の実施形態として例えば以下を挙げることができる。

〔実施形態1〕

リガンド、及びリガンドに共有結合で連結する1つ以上の分岐リンカーを含むリガンド-薬物複合体であって、

i) 各分岐リンカーが、一次リンカー(PL)によりリガンドに共有結合で連結する分岐ユニット(BR)を含み、

ii) 各分岐リンカーが、第1の分岐(B1)を含み、第1の活性剤が、二次リンカー(SL)及び切断基(CG)により分岐ユニットに共有結合で連結し、

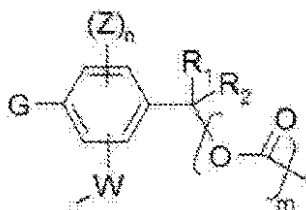
iii) 各分岐リンカーが、第2の分岐(B2)をさらに含み、a) 第2の活性剤が、二次リンカー(SL)及び切断基(CG)により分岐ユニットに共有結合で連結し、又はb) ポリエチレングリコール部分が、分岐ユニットに共有結合で連結し、

各切断基が、リガンド-薬物複合体から活性剤を放出するように、加水分解することができる、上記リガンド-薬物複合体。

〔実施形態2〕

切断基が、式:

【化192】



を有し、式中:

Gが、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、

Wが、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、 $-P(O)R''NR'-$ 、 $-S(O)NR'-$ 又は $-PO_2NR'-$ を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に、好ましくは直接結合し、R'及びR''が、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、モノ若しくはジカルボキシル $(C_1\sim C_8)$ アルキル、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_1\sim C_8)$ アルコキシ、 $(C_1\sim C_8)$ アルキルチオ、モノ若しくはジ $(C_1\sim C_8)$ アルキルアミノ、 $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリール又は $(C_6\sim C_{20})$ アリールであり、Wが、分岐ユニットに直接的又は間接的に連結し、

各Zが、独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数であり、

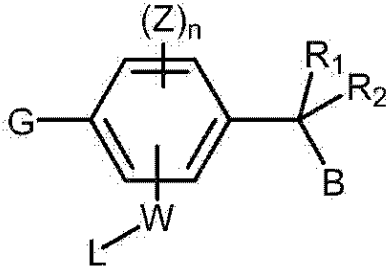
mが0又は1、好ましくは1であり、

R₁及びR₂が、それぞれ独立して、水素、(C₁～C₈)アルキル若しくは(C₃～C₈)シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂が、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、(C₃～C₈)シクロアルキル環を形成する、実施形態1に記載の複合体。

〔実施形態3〕

活性剤が、式:

〔化193〕



10

を有する切断基、又は薬学的に許容されるその塩を介して第1の分岐に連結し、式中、
Gが、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、

Bが、活性剤に共有結合しているユニットであり、

Wが、-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-S(O)₂NR'-、-P(O)R''NR'-、-S(O)NR'-又は-PO₂NR'-を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に直接結合し、R'及びR''が、それぞれ独立して、水素、(C₁～C₈)アルキル、(C₃～C₈)シクロアルキル、(C₁～C₈)アルコキシ、(C₁～C₈)アルキルチオ、モノ若しくはジ(C₁～C₈)アルキルアミノ、(C₃～C₂₀)ヘテロアリール又は(C₆～C₂₀)アリールであり、

20

各Zが、独立して、水素、(C₁～C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、(C₁～C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数、好ましくは3であり、

Lが、リンカー又は分岐ユニットへの結合を表し、

R₁及びR₂が、それぞれ独立して、水素、(C₁～C₈)アルキル若しくは(C₃～C₈)シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂が、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、(C₃～C₈)シクロアルキル環を形成する、実施形態1に記載の複合体。

30

〔実施形態4〕

各Zが、独立して、水素、(C₁～C₈)アルキル若しくはアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ又はニトロを表す、実施形態2又は3に記載の複合体。

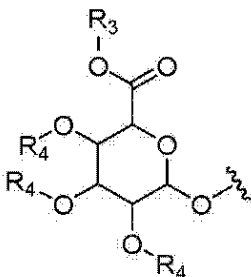
〔実施形態5〕

各Zが、独立して、水素、(C₁～C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロを表す、実施形態4に記載の複合体。

〔実施形態6〕

Gが、

〔化194〕



40

50

であり、

R_3 が、水素又はカルボキシル保護基であり、

各 R_4 が、独立して、水素又はヒドロキシル保護基である、

先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態7〕

少なくとも1つの一次又は二次リンカーが、構造 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q-$ 、 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qY-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q(CH_2)_r-$ 、 $-Y((CH_2)_pV)_q-$ 又は $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qYCH_2-$ を有し、

式中：

r が0から10の整数であり、

p が1から10の整数であり、

q が1から20の整数であり、

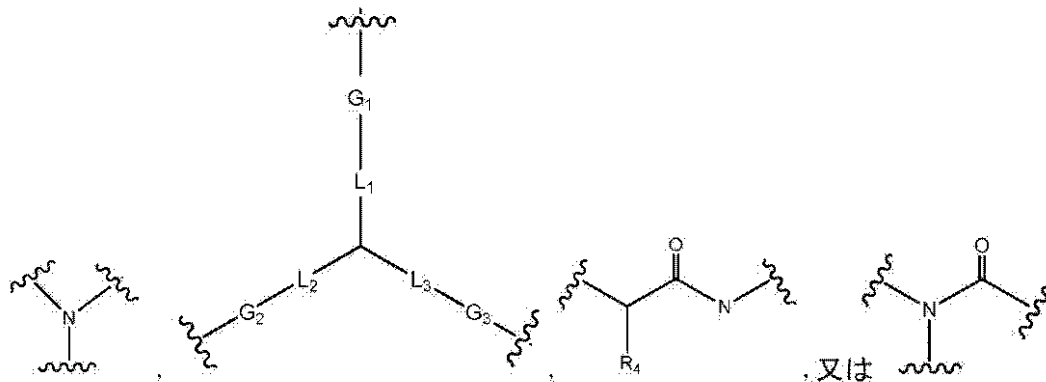
V 及び Y が、それぞれ独立して、単結合、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR_{21}-$ 、 $-C(O)NR_{22}-$ 、 $-NR_{23}C(O)-$ 、 $-NR_{24}SO_2-$ 又は $-SO_2NR_{25}-$ であり、

R_{21} から R_{25} が、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル、 $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_6\sim C_{20})$ アリール又は $(C_1\sim C_6)$ アルキル $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリールである、先行する実施形態のいずれかに記載のリガンド-薬物複合体。

〔実施形態8〕

少なくとも1個の分岐ユニットが、構造

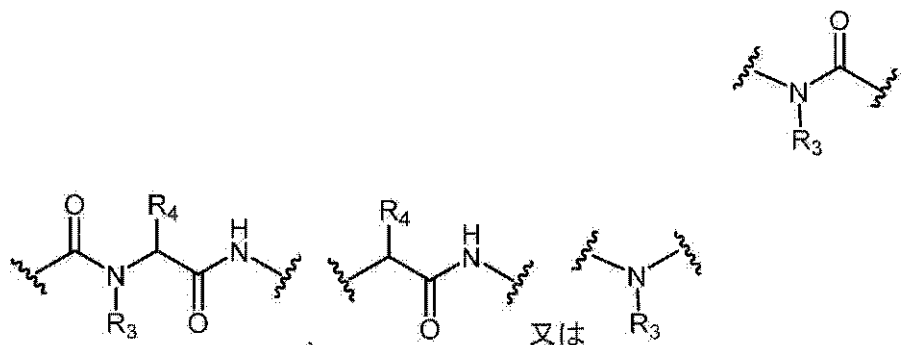
〔化195〕



を有し、式中、 L_1 、 L_2 、 L_3 が、それぞれ独立して、直接結合又は $-C_nH_{2n}-$ であり、 n が1から30の整数であり、

G_1 、 G_2 、 G_3 が、それぞれ独立して、直接結合、

〔化196〕



であり、

式中、 R_3 が、水素又は $C_1\sim C_{30}$ アルキルであり、

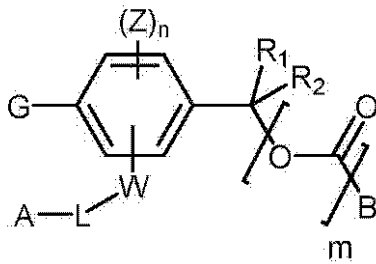
R_4 が、水素又は $-L_4-COOR_5$ であり、 L_4 が、直接結合又は $-C_nH_{2n}-$ であり、 n が、1から10の整数であり、 R_5 が、水素又は $C_1\sim C_{30}$ アルキルである、先行する実施形態のいずれかに

記載のリガンド-薬物複合体。

〔実施形態 9〕

リガンド、リンカー、及び活性剤を含み、式：

〔化 1 9 7〕



を有し、式中：

Gが、糖、糖酸又は修飾糖を表し、

Aがリガンドを表し、

Bが活性剤を表し、

Wが、-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-S(O)₂NR'-、-P(O)R''NR'-、-S(O)NR'-又は-PO₂NR'-を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に直接結合し、R'及びR''が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、(C₁~C₈)アルキルチオ、モノ若しくはジ(C₁~C₈)アルキルアミノ、(C₃~C₂₀)ヘテロアリール又は(C₆~C₂₀)アリールであり、

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数、好ましくは3であり、

mが0又は1、好ましくは1であり、

Lが、少なくとも1個の分岐ユニット(BR)及び少なくとも1つの一次リンカー(PL)を含むリンカーであり、

R₁及びR₂が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくは(C₃~C₈)シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂が、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、(C₃~C₈)シクロアルキル環を形成する、先行する実施形態のいずれかに記載のリガンド-薬物複合体。

〔実施形態 1 0〕

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくはアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ又はニトロを表す、実施形態9に記載の複合体。

〔実施形態 1 1〕

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロを表す、実施形態10に記載の複合体。

〔実施形態 1 2〕

リガンド；リガンドに共有結合で連結する少なくとも1つの分岐リンカーであって、一次リンカーによりリガンドに共有結合で連結する分岐ユニットを含む分岐リンカー；第1の分岐により分岐ユニットに共有結合で連結する活性剤；及び、分岐ユニットに共有結合で連結するポリエチレングリコール部分を含む第2の分岐を含む、リガンド-薬物複合体。

〔実施形態 1 3〕

リガンドが抗体である、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 1 4〕

少なくとも2つの分岐リンカーが、リガンドに連結し、各分岐リンカーが、ちょうど1つの活性剤に連結する、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 1 5〕

3つの分岐リンカーがリガンドに連結する、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体

o—

〔実施形態 16〕

4つの分岐リンカーがリガンドに連結する、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体

o—

〔実施形態 17〕

ちょうど1つの分岐リンカーがリガンドに連結する、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 18〕

各分岐リンカーがちょうど1つの活性剤に連結する、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 19〕

活性剤が、切断(例えば、加水分解性)結合により、第1の分岐に連結する、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 20〕

少なくとも2つの異なる活性剤が、異なる分岐リンカーに連結する、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 21〕

分岐ユニットが、例えば、アミン又はアミドの窒素原子である、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 22〕

分岐ユニットがアミドであり、一次リンカーがアミドのカルボニルを含む、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 23〕

分岐ユニットがアミドであり、第1の分岐又は第2の分岐がアミドのカルボニルを含む、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

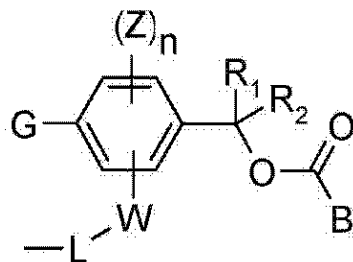
〔実施形態 24〕

分岐ユニットがリシンユニットである、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 25〕

活性剤が、式:

〔化 198〕



を有する切断基を介して第1の分岐に連結し、式中:

Gが、糖又は糖酸、好ましくはグルクロン酸を表し、

Bが活性剤を表し、

Wが、電子求引性基、好ましくは-C(O)NR'を表し、C(O)がフェニル環に結合しており、NR'(アミノ酸、好ましくは親水性アミノ酸のアミノ基であってよい)が、Lに結合しており、

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数であり、

Lが、リガンドへのつながりを表し、

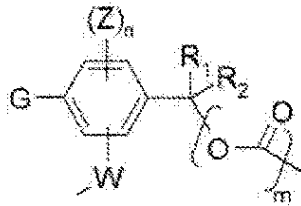
R₁及びR₂が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくは(C₃~C₈)シクロア

ルキル、好ましくは水素であり、又は R_1 及び R_2 が、それらが結合する炭素原子と一緒に
な
って、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル環を形成する、先行する実施形態のいずれかに記載の複
合
体。

〔実施形態 26〕

活性剤が、式：

〔化 199〕



10

を有する切断基を介して第1の分岐に連結し、式中：

Gが、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、

、

Wが、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、 $-P(O)R''NR'-$ 、 $-S(O)NR'-$ 又は $-PO_2NR'-$ を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に、好ましくは直接結合し、 R' 及び R'' が、それぞれ独立して、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、モノ若しくはジカルボキシル($C_1 \sim C_8$)アルキル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_1 \sim C_8)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキルチオ、モノ若しくはジ($C_1 \sim C_8$)アルキルアミノ、 $(C_3 \sim C_{20})$ ヘテロアリール又は $(C_6 \sim C_{20})$ アリールであり、Wが、分岐ユニットに直接的又は間接的に連結し、

20

各Zが、独立して、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数であり、

mが0又は1、好ましくは1であり、

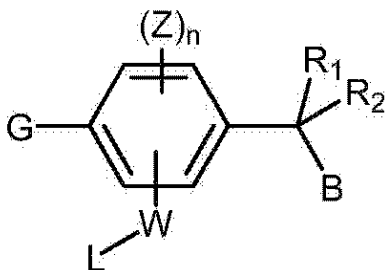
R_1 及び R_2 が、それぞれ独立して、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル若しくは $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、好ましくは水素であり、又は R_1 及び R_2 が、それらが結合する炭素原子と一緒に
な
って、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル環を形成する、実施形態12から24のいずれかに記載の複
合
体。

30

〔実施形態 27〕

活性剤が、式：

〔化 200〕



40

を有する切断基、又は薬学的に許容されるその塩を介して第1の分岐に連結し、式中：

Gが、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、

、

Bが、活性剤に共有結合しているユニットであり、

Wが、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、 $-P(O)R''NR'-$ 、 $-S(O)NR'-$ 又は $-PO_2NR'-$ を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に直接結合し、 R' 及び R'' が、それぞれ独立して、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_1 \sim C_8)$ アルコキシ、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキルチオ、モノ若しくはジ($C_1 \sim C_8$)アルキルアミノ、 $(C_3 \sim C_{20})$ ヘ

50

テロアリール又は(C₆~C₂₀)アリールであり、

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数、好ましくは3であり、

Lが、リンカー又は分岐ユニットへの結合を表し、

R₁及びR₂が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくは(C₃~C₈)シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂が、それらが結合する炭素原子と一緒になって、(C₃~C₈)シクロアルキル環を形成する、実施形態12から24のいずれかに記載の複合体。

10

〔実施形態28〕

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくはアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ又はニトロを表す、実施形態25から27のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態29〕

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロを表す、実施形態28に記載の複合体。

〔実施形態30〕

Wが、-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-S(O)₂NR'-、-P(O)R''NR'-、-S(O)NR'-又は-PO₂NR'-であり、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に直接結合し、R'及びR''が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、(C₁~C₈)アルキルチオ、モノ若しくはジ(C₁~C₈)アルキルアミノ、(C₃~C₂₀)ヘテロアリール又は(C₆~C₂₀)アリールである、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

20

〔実施形態31〕

Wが、-C(O)NR'-を表し、Wの窒素が、アミノ酸、好ましくは親水性アミノ酸の窒素である、実施形態25から30に記載の複合体。

〔実施形態32〕

Wが-C(O)NR'-であり、C(O)がフェニル環に結合しており、NR'がLに結合している、実施形態31に記載の複合体。

30

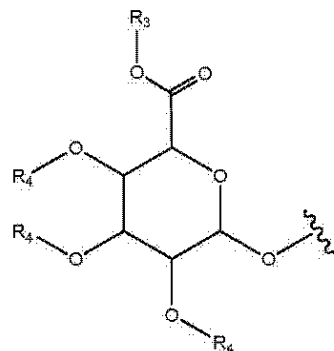
〔実施形態33〕

糖又は糖酸が単糖である、実施形態25から32のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態34〕

Gが、

〔化201〕



40

であり、

R₃が、水素又はカルボキシル保護基であり、

各R₄が、独立して、水素又はヒドロキシル保護基である、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

50

〔実施形態 3 5〕

R₃が水素であり、各R₄が水素である、実施形態34に記載の複合体。

〔実施形態 3 6〕

各Zが水素を表し、nは3である、実施形態25から35のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 3 7〕

Gがグルクロン酸であり、

Wが-C(O)NR'¹であり、C(O)がフェニル環に結合しており、NR'¹がLに結合しており、

Zが水素を表し、

nが3であり、

R₁及びR₂が、それぞれ、水素を表す、

実施形態25から36のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 3 8〕

一次リンカーが、1から100個、好ましくは1から50個の炭素原子を有するアルキレンを含み、また：

アルキレンが、少なくとも1つの不飽和結合を含み；

アルキレンが、少なくとも1つのヘテロアリーレンを含み；

アルキレンの炭素原子が、窒素(N)、酸素(O)及び硫黄(S)から選択される1個以上のヘテロ原子により置き換えられ；又は

アルキレンが、1から20個の炭素原子を有する1つ以上のアルキルでさらに置換されている、

先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 3 9〕

アルキレンの少なくとも1個の炭素原子が、窒素により置き換えられ、一次リンカーが、親水性アミノ酸の少なくとも2個の原子を含み、窒素が、親水性アミノ酸の骨格カルボニルとペプチド結合を形成する、実施形態38に記載の複合体。

〔実施形態 4 0〕

少なくとも1個の分岐ユニットが親水性アミノ酸である、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 4 1〕

親水性アミノ酸が、アルギニン、アスパルテート、アスパラギン、グルタメート、グルタミン、ヒスチジン、リシン、オルニチン、プロリン、セリン又はトレオニンである、実施形態39又は40に記載の複合体。

〔実施形態 4 2〕

一次リンカーが、アミノ酸を含み、アミノ酸が、水溶液中で、中性pHにおいて電荷を持つ部分を有する側鎖を含む、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 4 3〕

アミノ酸が、アルギニン、アスパルテート、グルタメート、リシン又はオルニチンである、実施形態42に記載の複合体。

〔実施形態 4 4〕

アミノ酸がアスパルテートである、実施形態42に記載の複合体。

〔実施形態 4 5〕

アミノ酸がグルタメートである、実施形態42に記載の複合体。

〔実施形態 4 6〕

アミノ酸がセリンである、実施形態42に記載の複合体。

〔実施形態 4 7〕

アミノ酸がリシンである、実施形態42に記載の複合体。

〔実施形態 4 8〕

アミノ酸がアルギニンである、実施形態42に記載の複合体。

〔実施形態 4 9〕

アミノ酸が、分岐リンカーのオキシムを分岐リンカーのポリエチレングリコールユニッ

10

20

30

40

50

トに共有結合でつなげる、実施形態42から48のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態50〕

アミノ酸が、第1の分岐に存在する、実施形態40から49のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態51〕

一次リンカーが、チオエーテル結合によりリガンドに共有結合しており、チオエーテル結合が、リガンドのシステインの硫黄原子を含む、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態52〕

リガンドが、イソプレノイド転移酵素により認識されるC-末端アミノ酸モチーフを含み、チオエーテル結合が、アミノ酸モチーフのシステインの硫黄原子を含む、実施形態51に記載の複合体。

〔実施形態53〕

アミノ酸モチーフが、配列CYYXであり、

Cがシステインを表し、

Yが、それぞれの発生に対して独立して、脂肪族アミノ酸を表し、

Xが、それぞれの発生に対して独立して、グルタミン、グルタメート、セリン、システイン、メチオニン、アラニン又はロイシンを表し、

チオエーテル結合が、アミノ酸モチーフのシステインの硫黄原子を含む、実施形態52に記載の複合体。

〔実施形態54〕

アミノ酸モチーフが配列CYYXであり、

Yが、それぞれの発生に対して独立して、アラニン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン又はバリンを表す、実施形態52又は53に記載の複合体。

〔実施形態55〕

アミノ酸モチーフが、配列CVIM又はCVLLである、実施形態54に記載の複合体。

〔実施形態56〕

アミノ酸モチーフに先行するアミノ酸7個の少なくとも1個がグリシンである、実施形態52から55のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態57〕

アミノ酸モチーフに先行するアミノ酸7個の少なくとも3個が、それぞれ独立して、グリシン及びプロリンから選択される、実施形態56に記載の複合体。

〔実施形態58〕

アミノ酸モチーフに先行するアミノ酸7個の少なくとも3個が、それぞれ独立して、グリシン、アルギニン、アスパルテート及びセリンから選択される、実施形態56に記載の複合体。

〔実施形態59〕

アミノ酸モチーフに先行するアミノ酸1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個のそれぞれが、グリシンである、実施形態57に記載の複合体。

〔実施形態60〕

アミノ酸モチーフに直接先行するアミノ酸1から10個が、グリシンであり、好ましくは、アミノ酸モチーフに直接先行するアミノ酸の少なくとも1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個が、グリシンである、実施形態58に記載の複合体。

〔実施形態61〕

リガンドのC-末端が、アミノ酸配列GGGGGGGCVIMを含む、実施形態59に記載の複合体。

〔実施形態62〕

チオエーテル結合が、

10

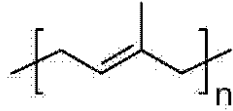
20

30

40

50

【化 2 0 2】



により表される少なくとも1個のイソプレニルユニットの炭素原子を含む、実施形態51から61のいずれかに記載の複合体。

【実施形態 6 3】

少なくとも1個のイソプレニルユニットが、イソプレノイド転移酵素に対する基質である、又はその生成物である、実施形態62に記載の複合体。

【実施形態 6 4】

nが少なくとも2である、実施形態62又は63に記載の複合体。

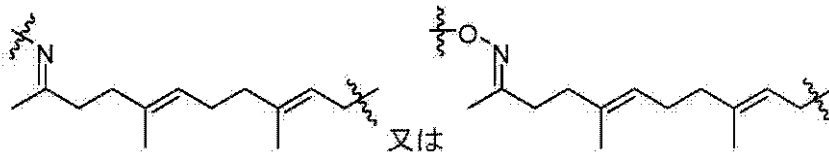
【実施形態 6 5】

一次リンカーが、オキシムを含み、少なくとも1個のイソプレニルユニットが、オキシムをリガンドに共有結合でつなげる、実施形態62から64のいずれかに記載の複合体。

【実施形態 6 6】

リンカーが:

【化 2 0 3】

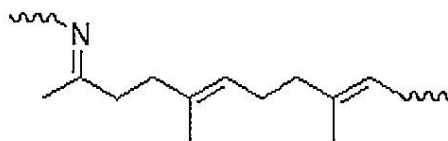


を含む、実施形態65に記載の複合体。

【実施形態 6 7】

リンカーが:

【化 2 0 4】

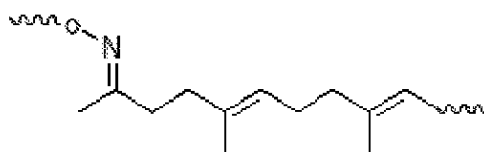


を含む、実施形態65に記載の複合体。

【実施形態 6 8】

リンカーが:

【化 2 0 5】



を含む、実施形態65に記載の複合体。

【実施形態 6 9】

一次リンカー及び/又は第1の分岐が、

10

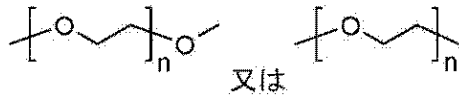
20

30

40

50

【化 2 0 6】



のいずれかにより表される少なくとも1個のポリエチレングリコールユニットを含む、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 7 0〕

リンカーが、1から20個の-OCH₂CH₂-ユニットを含む、実施形態69に記載の複合体。

〔実施形態 7 1〕

リンカーが、4から20個の-OCH₂CH₂-ユニットを含む、実施形態69に記載の複合体。

〔実施形態 7 2〕

リンカーが、1から19個の-OCH₂CH₂-ユニットを含む、実施形態69に記載の複合体。

〔実施形態 7 3〕

リンカーが、3から12個の-OCH₂CH₂-ユニットを含む、実施形態69に記載の複合体。

〔実施形態 7 4〕

一次リンカー、第1の分岐又はその両方が、-(CH₂)_r(V(CH₂)_p)_q-により表される接続ユニットを含み：

式中：

rが1から10の整数、好ましくは2であり、

pが0から12の整数、好ましくは2であり、

qが1から20の整数であり、

Vが、単結合、-O-、-S-、-NR₂₁-、-C(O)NR₂₂-、-NR₂₃C(O)-、-NR₂₄SO₂-又は-SO₂NR₂₅-、好ましくは-O-であり、

R₂₁からR₂₅が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₆)アルキル、(C₁~C₆)アルキル(C₆~C₂₀)アリール又は(C₁~C₆)アルキル(C₃~C₂₀)ヘテロアリールである、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 7 5〕

qが1から10の整数である、実施形態74に記載の複合体。

〔実施形態 7 6〕

一次リンカー、第1の分岐又はその両方が、-(CH₂)_r(V(CH₂)_p)_q-、-((CH₂)_pV)_q-、-(CH₂)_r(V(CH₂)_p)_qY-、-((CH₂)_pV)_q(CH₂)_r-、-Y((CH₂)_pV)_q-又は-(CH₂)_r(V(CH₂)_p)_qYCH₂-により表される接続ユニットを含み、

式中：

rが0から10の整数であり、

pが1から10の整数であり、

qが1から20の整数であり、

V及びYが、それぞれ独立して、単結合、-O-、-S-、-NR₂₁-、-C(O)NR₂₂-、-NR₂₃C(O)-、-NR₂₄SO₂-又は-SO₂NR₂₅-であり、

R₂₁からR₂₅が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₆)アルキル、(C₁~C₆)アルキル(C₆~C₂₀)アリール又は(C₁~C₆)アルキル(C₃~C₂₀)ヘテロアリールである、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 7 7〕

rが2である、実施形態74から76のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 7 8〕

pが2である、実施形態74から77のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 7 9〕

qが6から20の整数である、実施形態74から78のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 8 0〕

qが2、5又は11である、実施形態74から78のいずれかに記載の複合体。

[実施形態 8 1]

V及びYが、それぞれ独立して、-O-である、実施形態76から80のいずれかに記載の複合体。

[実施形態 8 2]

rが2であり、

pが2であり、

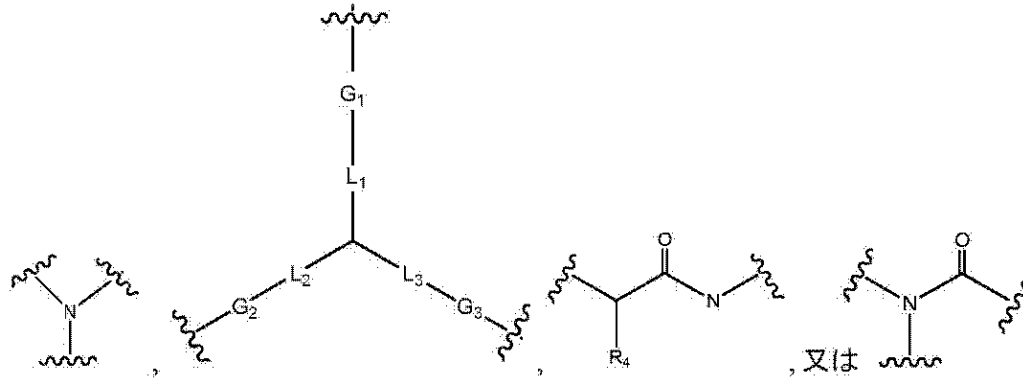
qが2、5又は11であり、

Vが-O-である、実施形態74又は76に記載の複合体。

[実施形態 8 3]

少なくとも1個の分岐ユニットが、

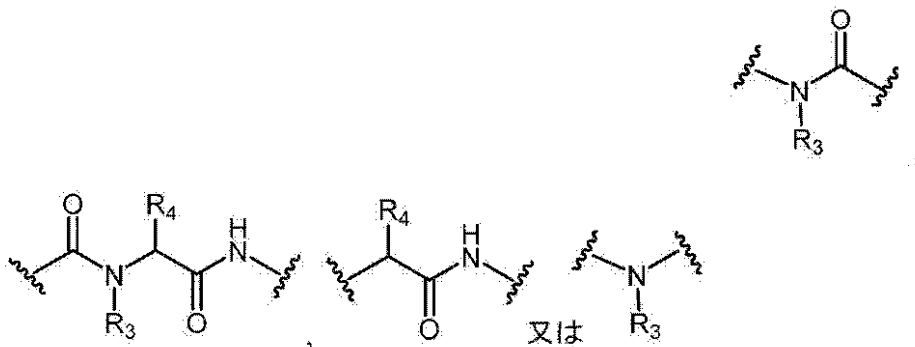
【化 2 0 7】



であり、式中、 L_1 、 L_2 、 L_3 が、それぞれ独立して、直接結合又は $-C_nH_{2n}-$ であり、 n が1から30の整数であり、

G_1 、 G_2 、 G_3 が、それぞれ独立して、直接結合、

【化 2 0 8】



であり、式中、 R_3 が、水素又は $C_1 \sim C_{30}$ アルキルであり、

R_4 が、水素又は $-L_4-COOR_5$ であり、 L_4 が、直接結合又は $-C_nH_{2n}-$ であり、 n が、1から10の整数であり、 R_5 が、水素又は $C_1 \sim C_{30}$ アルキルである、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

[実施形態 8 4]

一次リンカー、第1の分岐又はその両方が、 $-(CH_2CH_2X)_w-$ により表される接続ユニットを含み、式中：

Xが、-O-、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキレン又は $-NR_{21}-$ 、好ましくは-O-を表し、

R_{21} が、水素、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_6 \sim C_{20})$ アリール又は $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_3 \sim C_{20})$ ヘテロアリール、好ましくは水素を表し、

wが、1から12の整数、好ましくは1、3、6又は12である、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

[実施形態 8 5]

10

20

30

40

50

Xが-O-であり、wが6から12の整数である、実施形態84に記載の複合体。

〔実施形態86〕

一次リンカーが、1,3-双極子環状付加反応、ヘテロ-ディールス-アルダー反応、求核置換反応、非アルドール型カルボニル反応、炭素-炭素多重結合への付加、酸化反応又はクリック反応により形成される結合ユニットを含む、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

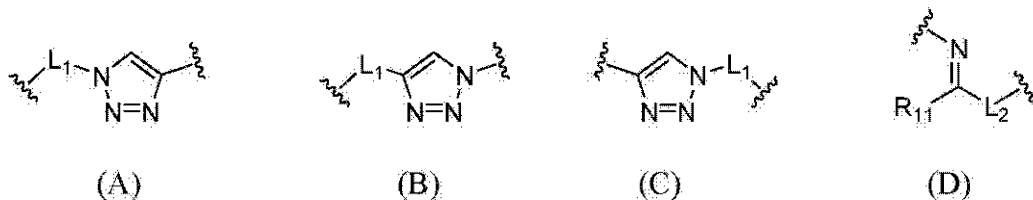
〔実施形態87〕

結合ユニットが、アセチレンとアジドの間の反応、又はアルデヒド若しくはケトン基とヒドラジン若しくはアルコキシアミンの間の反応により形成される、実施形態86に記載の複合体。

〔実施形態88〕

結合ユニットが、式A、B、C又はDのいずれか1つ、好ましくはD:

〔化209〕



により表され、式中:

L_1 が、単結合、又は1から30個、好ましくは12個の炭素原子を有するアルキレンであり、 R_{11} が、水素、又は1から10個の炭素原子を有するアルキル、好ましくはメチルであり、 L_2 が、1から30個、好ましくは11個の炭素原子を有するアルキレンである、実施形態86に記載の複合体。

〔実施形態89〕

L_1 が、12個の炭素原子を有するアルキレンである、実施形態88に記載の複合体。

〔実施形態90〕

R_{11} がメチルである、実施形態88に記載の複合体。

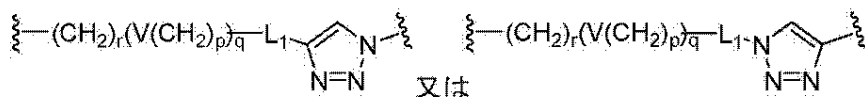
〔実施形態91〕

L_2 が11個の炭素原子を有するアルキレンである、実施形態88又は90に記載の複合体。

〔実施形態92〕

一次リンカーが、

〔化210〕



を含み、

Vが、単結合、-O-、-S-、-NR₂₁-、-C(O)NR₂₂-、-NR₂₃C(O)-、-NR₂₄SO₂-又は-SO₂NR₂₅-、好ましくは-O-であり、

R₂₁からR₂₅が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₆)アルキル、(C₁~C₆)アルキル(C₆~C₂₀)アリール又は(C₁~C₆)アルキル(C₃~C₂₀)ヘテロアリールであり、

rが1から10の整数、好ましくは2又は3であり、

pが0から10の整数、好ましくは1又は2であり、

qが1から20、好ましくは1から6の整数であり、

L_1 が単結合である、実施形態88に記載の複合体。

〔実施形態93〕

一次リンカーがO-置換オキシムを含み、

a)オキシムの酸素原子が、オキシムを活性剤に共有結合でつなげる基で置換され、

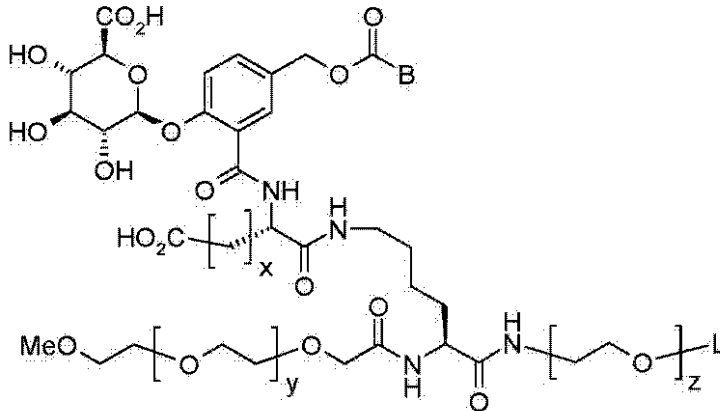
オキシムの炭素原子が、オキシムをリガンドに共有結合でつなげる基で置換されている、又は

b) オキシムの酸素原子が、オキシムをリガンドに共有結合でつなげる基で置換され、オキシムの炭素原子が、オキシムを活性剤に共有結合でつなげる基で置換されている、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 9 4〕

構造:

〔化 2 1 1〕



を含み、式中:

Bが活性剤を表し、

xが1から3の整数を表し、

yが0から20の整数を表し、

zが1から20の整数を表し、

Lが、リガンドへのつながりを表す、実施形態93に記載の複合体。

〔実施形態 9 5〕

y及びzが、独立して、2から20の整数を表す、実施形態94に記載の複合体。

〔実施形態 9 6〕

y及びzが、独立して、1から20、好ましくは3から12の整数を表す、実施形態94に記載の複合体。

〔実施形態 9 7〕

一次リンカー及び/又は第1の分岐が、1から20個の-OCH₂CH₂-ユニット、好ましくは4から20個の-OCH₂CH₂-ユニット、最も好ましくは3から12個の-OCH₂CH₂-ユニットを含む、少なくとも1つのポリエチレングリコール部分を含む、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 9 8〕

ポリエチレングリコール部分が、ヒドロキシル部分、アミノ基又はアルキルエーテルで終了する、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 9 9〕

リガンドが、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体断片、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、一本鎖Fv(「scFv」)、二特異性抗体、直鎖状抗体、二重特異性抗体、多重特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体又は抗体の抗原結合性部分を含む融合タンパク質である、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 1 0 0〕

リガンドが、ムロモナブ-CD3 アブシキシマブ、リツキシマブ、ダクリズマブ、パリビズマブ、インフリキシマブ、トラスツズマブ、エタネルセプト、バシリキシマブ、ゲムツズマブ、アレムツズマブ、イブリツモマブ、アダリムマブ、アレファセプト、オマリズマブ、エファリズマブ、トシツモマブ、セツキシマブ、ABT-806、ベバシズマブ、ナタリズ

マブ、ラニビズマブ、パニツムマブ、エクリズマブ、リロナセプト、セルトリズマブ、ロミプロスチム、AMG-531、ゴリムマブ、ウステキヌマブ、ABT-874、ベラタセプト、ベリムマブ、アタシセプト、抗CD20抗体、カナキヌマブ、トシリズマブ、アトリズマブ、メポリズマブ、ペルツズマブ、HuMax CD20、トレメリムマブ、チシリムマブ、イピリムマブ、IDEC-114、イノツズマブ、HuMax EGFR、アフリベルセプト、HuMax-CD4、テプリズマブ、オテリキシズマブ、カツマキソマブ、抗EpCAM抗体IGN101、アデカツムマブ、オレゴボマブ、ジヌツキシマブ、ギレンツキシマブ、デノスマブ、バピネウズマブ、モタビズマブ、エファンングマブ、ラキシバクマブ、LY2469298及びベルツズマブから選択される、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態101〕

少なくとも1つの活性剤が、化学療法剤及び毒素から選択される、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態102〕

少なくとも1つの活性剤が：

(a)エルロチニブ、ボルテゾミブ、フルベストラント、スーテント、レトロゾール、メシル酸イマチニブ、PTK787/ZK 222584、オキサリプラチン、5-フルオロウラシル、ロイコボリン、ラパマイシン、ラパチニブ、ロナファルニブ、ソラフェニブ、ゲフィチニブ、AG 1478、AG1571、チオテパ、シクロホスファミド、ブスルファン、インプロスルファン、ピボスルファン、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、ウレドーパ、エチレンイミン、アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、トリメチロールメラミン、ブラタシン、ブラタシノン、カンプトテシン、トポテカン、ブリオスタチン、カリスタチン、CC-1065、アドゼレシン、カルゼルシン、ビゼレシン、クリプトフィシン1、クリプトフィシン8、ドラスタチン、デュオカルマイシン、KW-2189、CB1-TM1、エリユテロピン、パンクラチスタチン、サルコジクチン、スポンジスタチン、クロランブシル、クロルナファジン、コロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メルファラン、ノベンピチン、フェネステリン、ブレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタード、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチン、カリケアミシン、カリケアミシガンマ1、カリケアミシンオメガ1、ジネミシン、ジネミシンA、クロドロネート、エスペラミシン、ネオカルジノスタチンクロモフォア、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アンチマイシン、アザセリン、プレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン、カルニノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルブシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ドキシソルビシン、モルホリノ-ドキシソルビシン、シアノモルホリノ-ドキシソルビシン、2-ピロリノ-ドキシソルビシン、リボソームドキシソルビシン、デオキシドキシソルビシン、エピルビシン、エソルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシンC、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、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、5-フルオロウラシル、デノブテリン、メトトレキサート、プテロプテリン、トリメトトレキサート、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、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、フロキシウリジン、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、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン、フォルリン酸、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、エダトレキサート、デフォファミン、デメコルシン、ジアジコン、エフロルニチン、酢酸エリブチニウム、エトグルシド、硝酸ガリウム、ヒドロキシ尿素、レンチナン、ロニダイニン、メイタンシン、アンサミトシン、ミトグアゾン、ミトキサントロン、モビダンモール、ニトラリン、ペントスタチン、フェナメット、ピラルビシン、ロソキサントロン、2-エチルヒドラジド、プロカルバジン、ポリサッカ

10

20

30

40

50

リド-k、ラゾキサン、リゾキシシ、シゾフィラン、スピロゲルマニウム、テヌアゾン酸、トリアジコン、2,2',2''-トリクロロトリエチルアミン、T-2毒素、ベラキュリン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、ミトブロニトール、ミトラクトール、ピポブロマン、ガシトシン、アラビノシド、シクロホスファミド、チオテパ、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン改変ナノ粒子製剤、ドセタキセル、クロランブシル、ゲムシタピン、6-チオグアニン、メルカプトプリン、シスプラチン、カルボプラチン、ピンブラスチン、白金、エトポシド、イホスファミド、ミトキサントロン、ピンクリスチン、ビノレルビン、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、ゼローダ、イバンドロネート、CPT-11、トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000、ジフルオロメチルオルニチン、レチノイン酸、カペシタビン又は先述のいずれかの薬学的に許容される塩、溶媒和物又は酸、

10

(b)モノカイン、リンフォカイン、従来からのポリペプチドホルモン、上皮小体ホルモン、チロキシシ、リラキシシ、プロリラキシシ、糖タンパク質ホルモン、卵胞刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、肝細胞増殖因子、線維芽細胞増殖因子、プロラクチン、胎盤性ラクトゲン、腫瘍壊死因子- α 、腫瘍壊死因子- β 、ミュー管阻害物質、マウスゴナドトロピン関連ペプチド、インヒビン、アクチビン、血管内皮増殖因子、トロンプオエチン、エリスロポエチン、骨誘導因子、インターフェロン、インターフェロン- α 、インターフェロン- β 、インターフェロン- γ 、コロニー刺激因子(「CSF」)、マクロファージ-CSF、顆粒球-マクロファージ-CSF、顆粒球-CSF、インターロイキン(「IL」)、IL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、腫瘍壊死因子、TNF- α 、TNF- β 、ポリペプチド因子、LIF、kitリガンド又は先述のいずれかの組合せ、

20

(c)ジフテリア毒素、ボツリヌス毒素、破傷風毒素、赤痢毒素、コレラ毒素、アマニチン、アマニチン誘導体、 α -アマニチン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン誘導体、テトロドトキシシ、ブレベトキシシ、シガトキシシ、リシン、AM毒素、チューブリシン、ゲルダナマイシン、メイタンシノイド、カリケアミシン、ダウノマイシン、ドキシソルビシン、メトトレキサート、ビンデシン、SG2285、ドラスタチン、ドラスタチン類似体、オーリスタチン、クリプトフィシン、カンプトテシン、カンプトテシン誘導体及び代謝産物、リゾキシシ、リゾキシシ誘導体、CC-1065、CC-1065類似体若しくは誘導体、デュオカルマイシン、エンジイン抗生物質、エスペラミシン、エポチロン、アゾナフィド、アブリジン、トキシソイド又は先述のいずれかの組合せ、

30

(d)親和性リガンドであって、基質、阻害剤、刺激剤、神経伝達物質、放射性同位体又は先述のいずれかの組合せである、親和性リガンド、

(e)放射性標識、 ^{32}P 、 ^{35}S 、蛍光色素、電子密度試薬、酵素、ビオチン、ストレプトアビジン、ジゴキシゲニン、ハプテン、免疫原性タンパク質、標的に相補的な配列を有する核酸分子、又は先述のいずれかの組合せ、

(f)免疫調節化合物、抗がん剤、抗ウイルス剤、抗細菌剤、抗菌剤及び抗寄生虫剤又は先述のいずれかの組合せ、

(g)タモキシフェン、ラロキシフェン、ドロロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン又はトレミフェン、

40

(h)4(5)-イミダゾール、アミノグルテチミド、酢酸メゲストロール、エキセメスタン、レトロゾール又はアナストロゾール、

(i)フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、ゴセレリン又はトロキサシタビン、

(j)アロマターゼ阻害剤、

(k)タンパク質キナーゼ阻害剤、

(l)脂質キナーゼ阻害剤、

(m)アンチセンスオリゴヌクレオチド、

(n)リボザイム、

(o)ワクチン、並びに

50

(p)抗血管形成剤

から選択される、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 103〕

少なくとも1つの活性剤がタルトブリンである、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 104〕

少なくとも1つの活性剤がアゾナフィドである、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

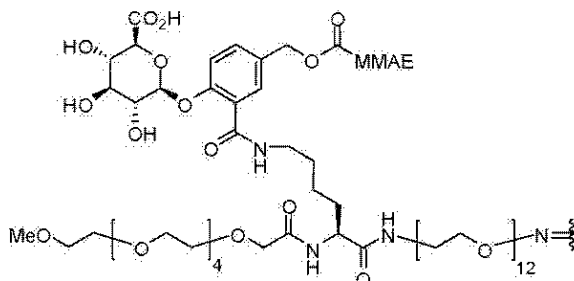
〔実施形態 105〕

少なくとも1つの活性剤が、アマニチン、オーリスタチン、カリケアミシン、カンプトテシン、クリプトフィシン、ダウノマイシン、ドラスタチン、ドキソルビシン、デュオカルマイシン、エポチロン、エスペラミシン、ゲルダナマイシン、メイタンシノイド、メトトレキサート、モノメチルオーリスタチンE(「MMAE」)、モノメチルオーリスタチンF(「MMAF」)、ピロロベンゾジアゼピン、リゾキシシン、SG2285、チューブリシン、ビンデシン、トキシノイド、又は先述のいずれか1つの誘導体である、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 106〕

複合体が:

【化 2 1 2】



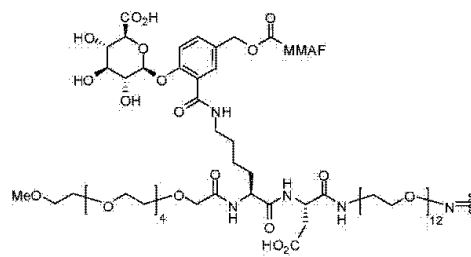
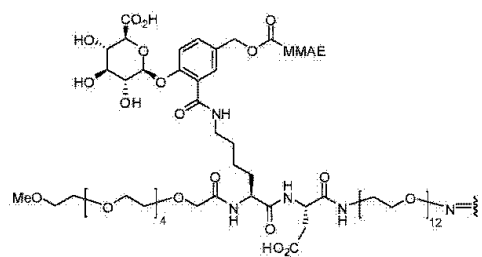
10

20

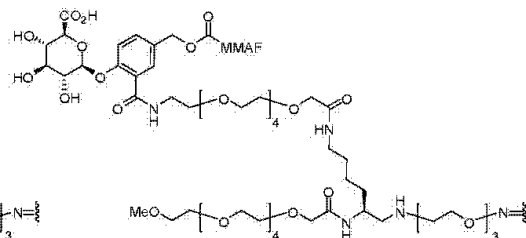
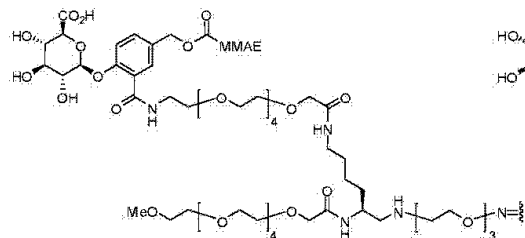
30

40

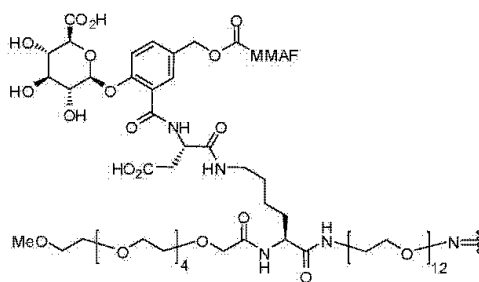
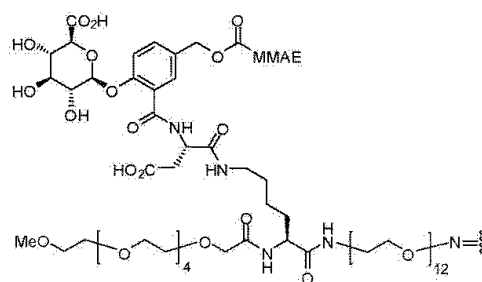
50



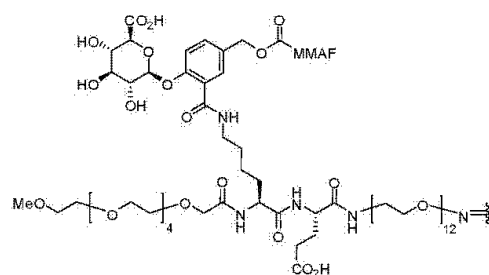
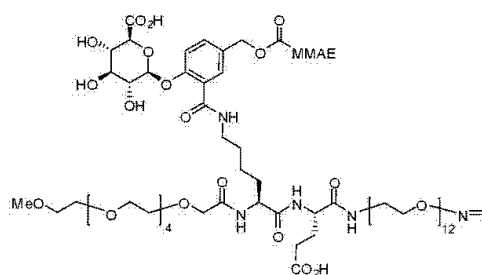
10



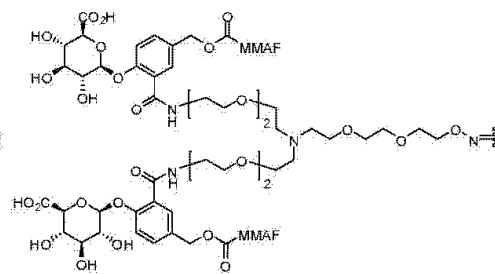
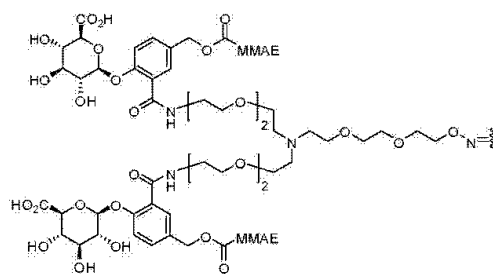
20



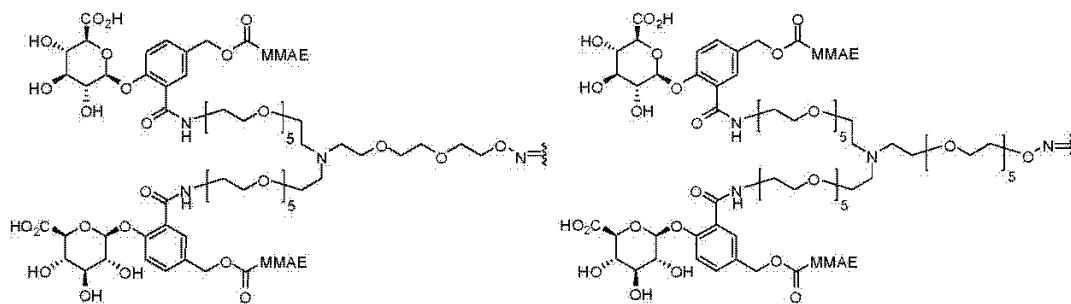
30



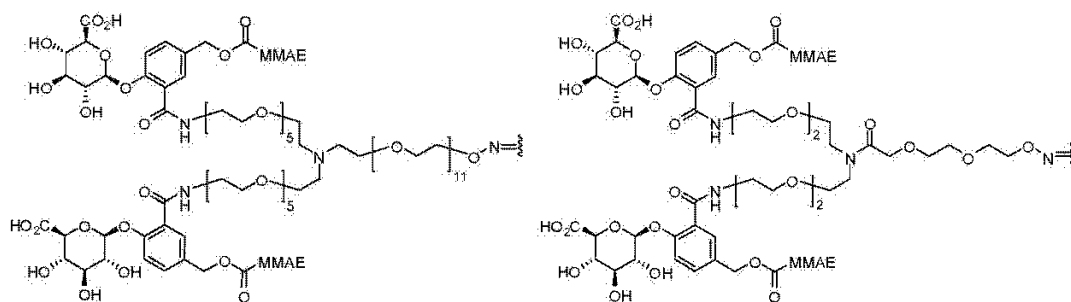
40



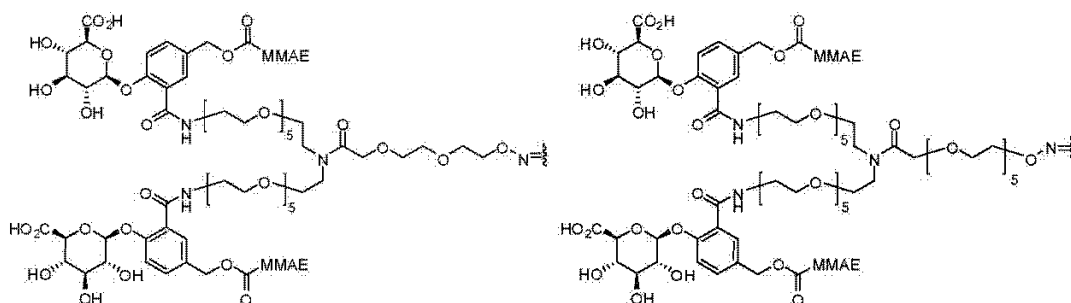
50



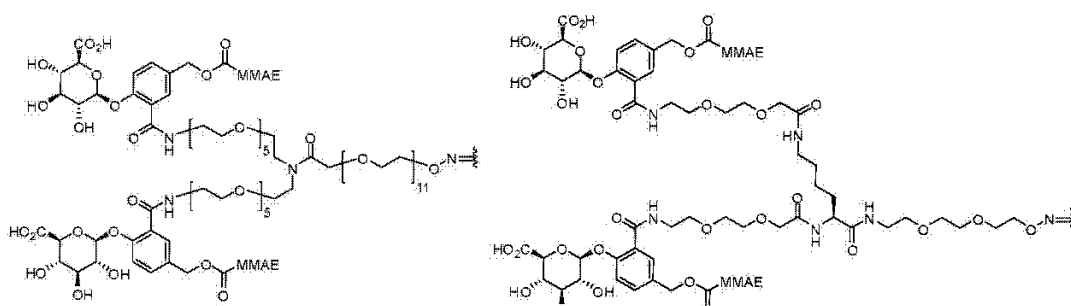
10



20

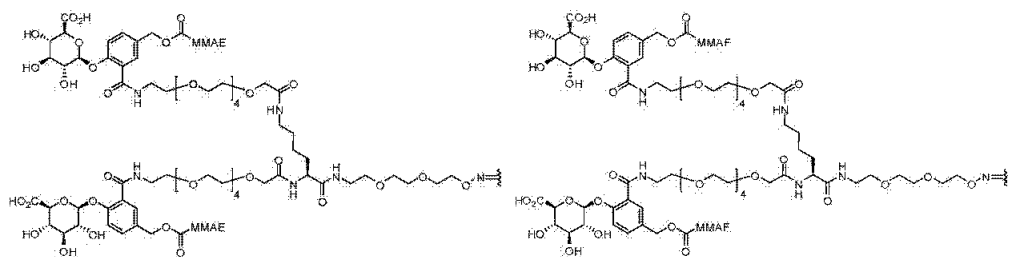


30

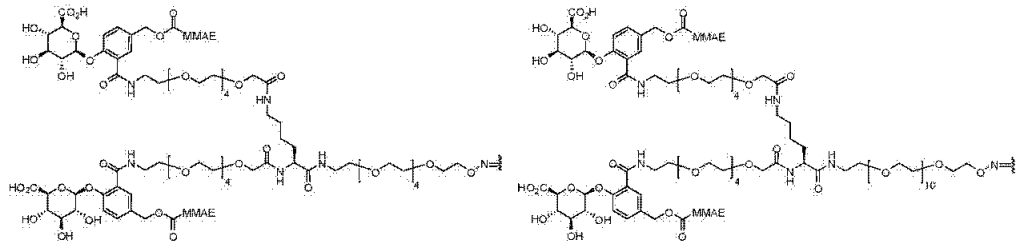


40

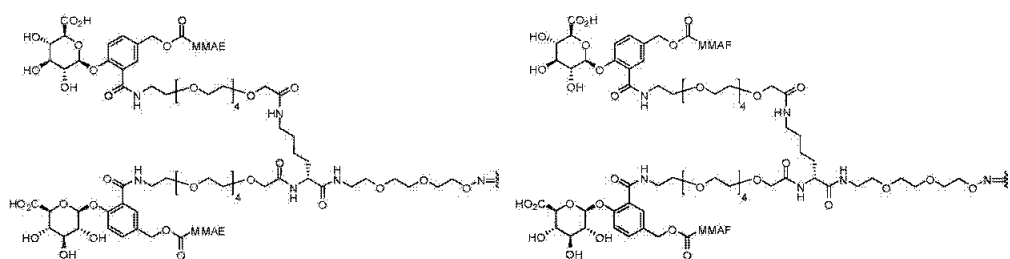
50



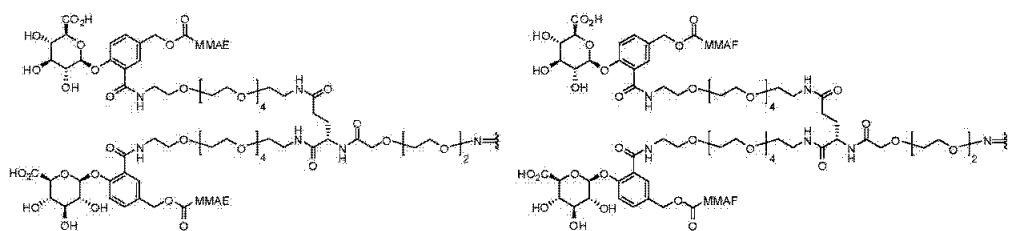
10



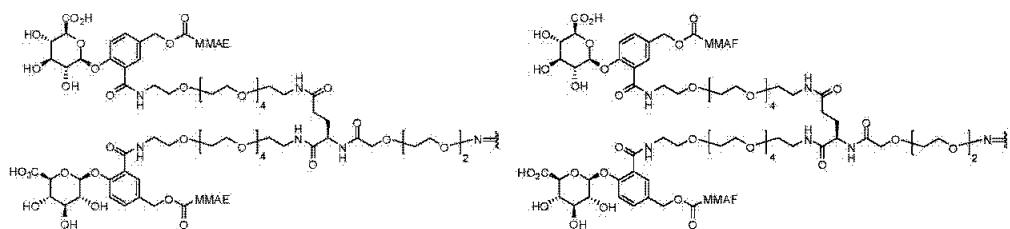
20



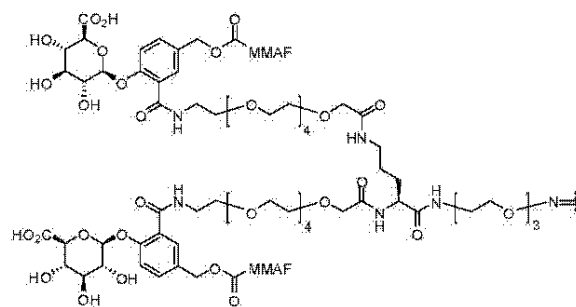
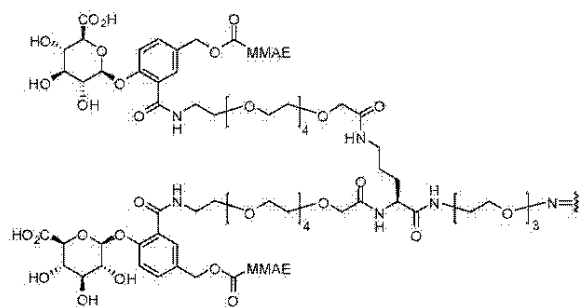
30



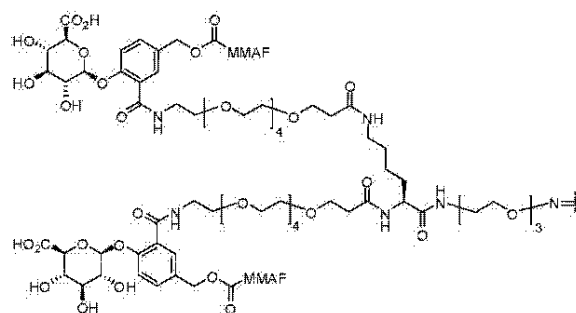
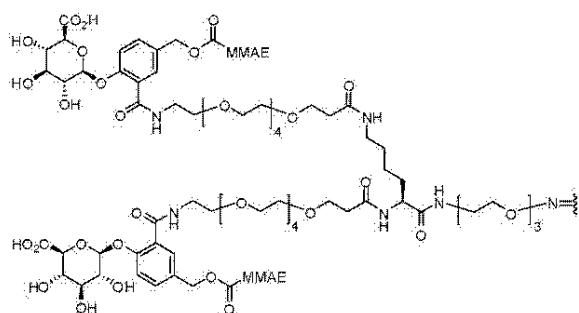
40



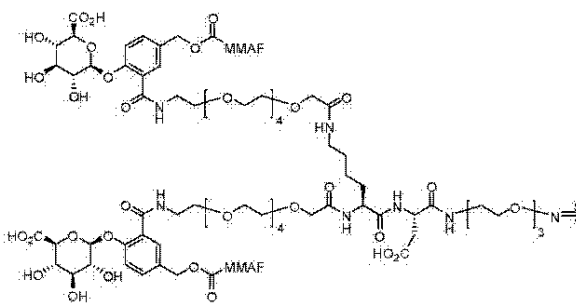
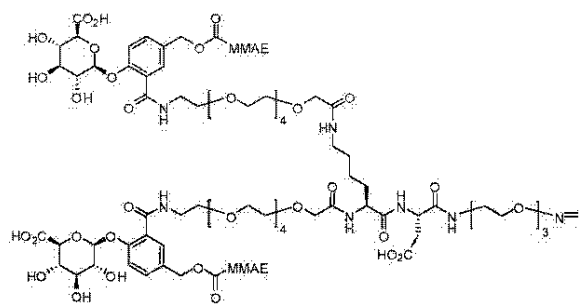
50



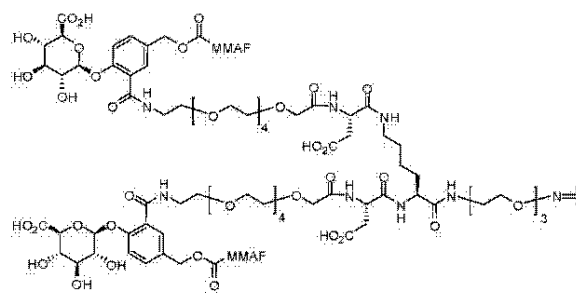
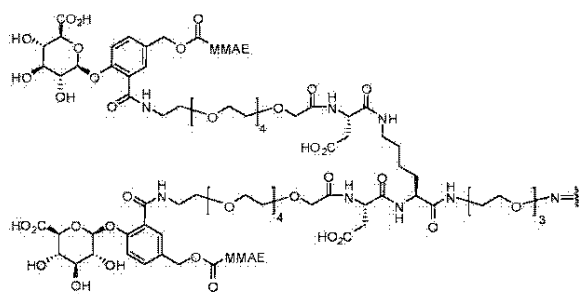
10



20

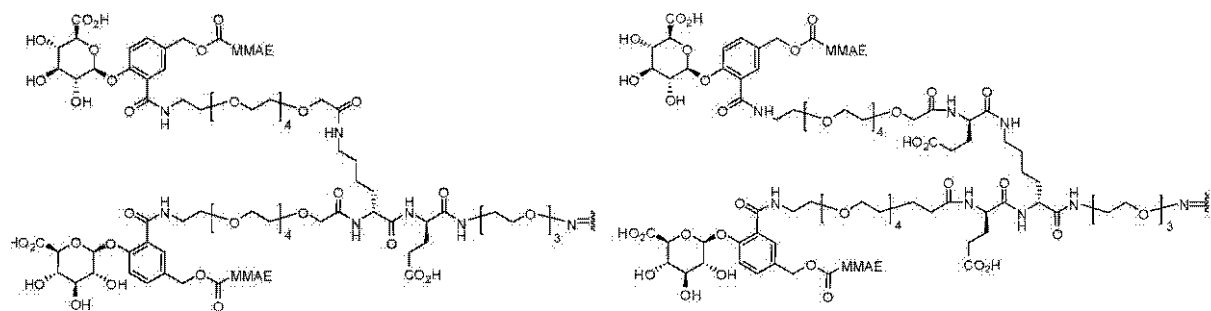


30

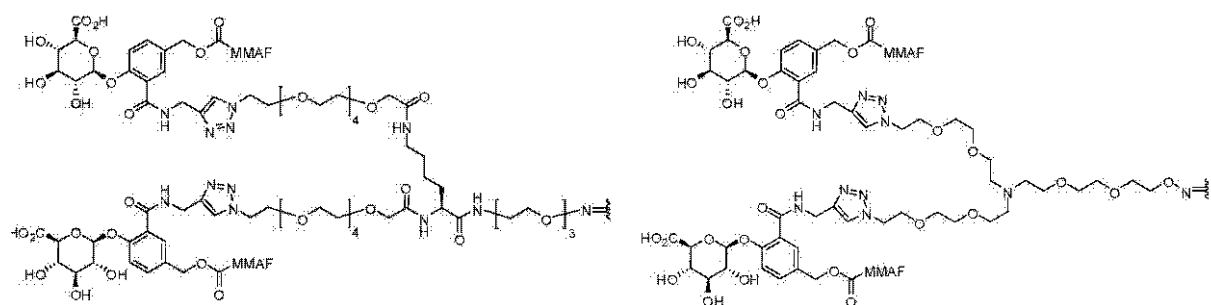


40

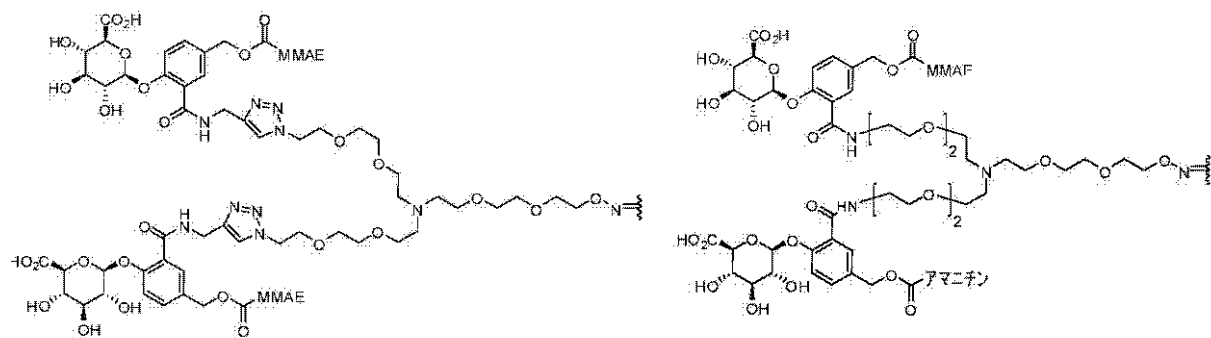
50



10



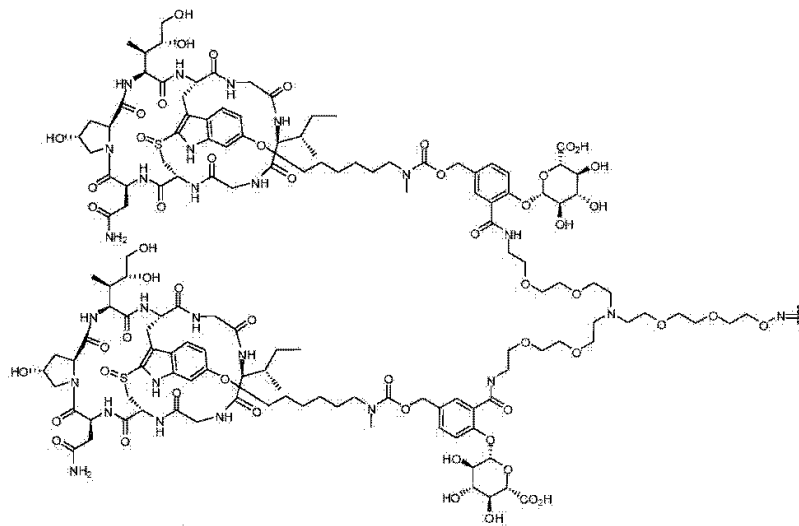
20



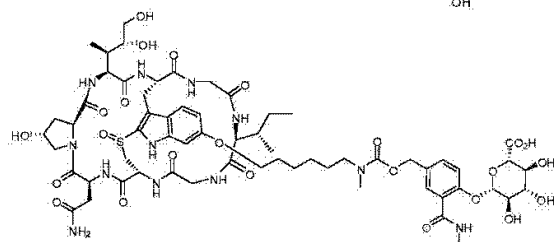
30

40

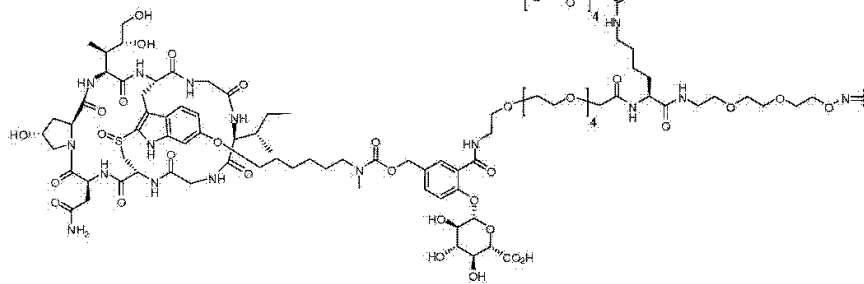
50



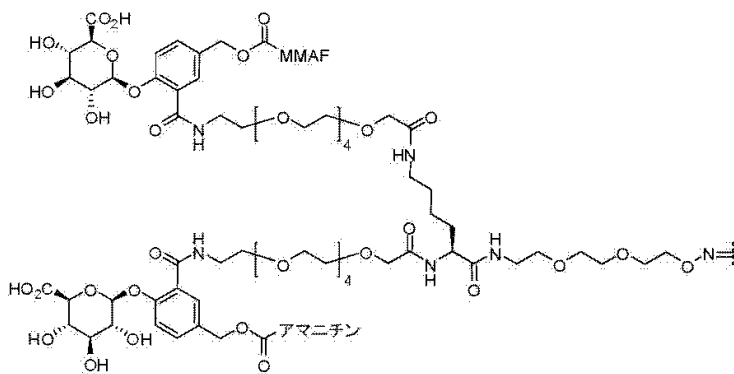
10



20



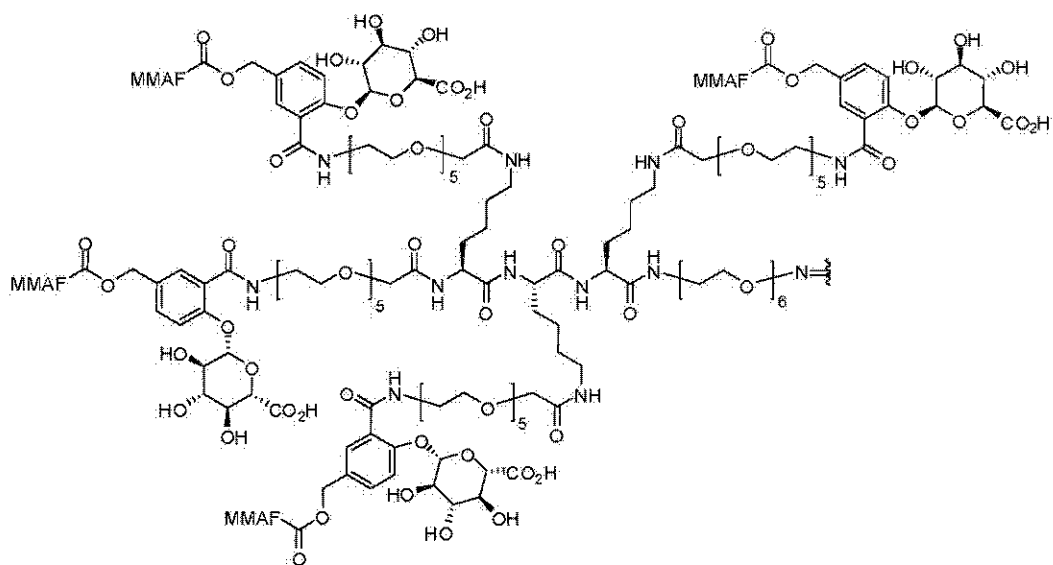
30



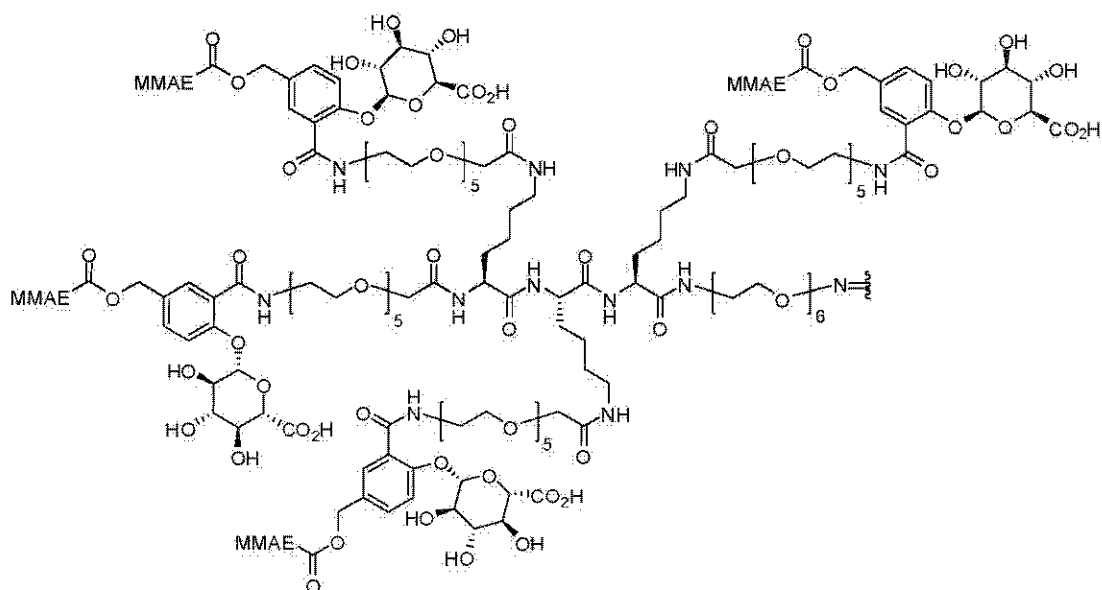
40

50





10



20

30

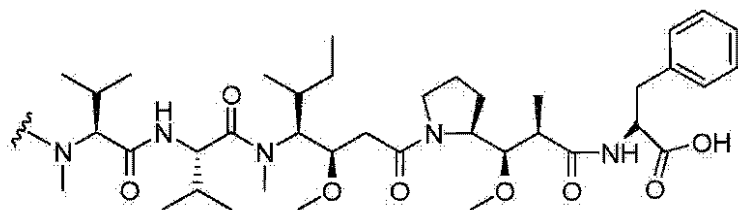
から選択される部分を含む、1つ以上の分岐リンカーを含む、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 107〕

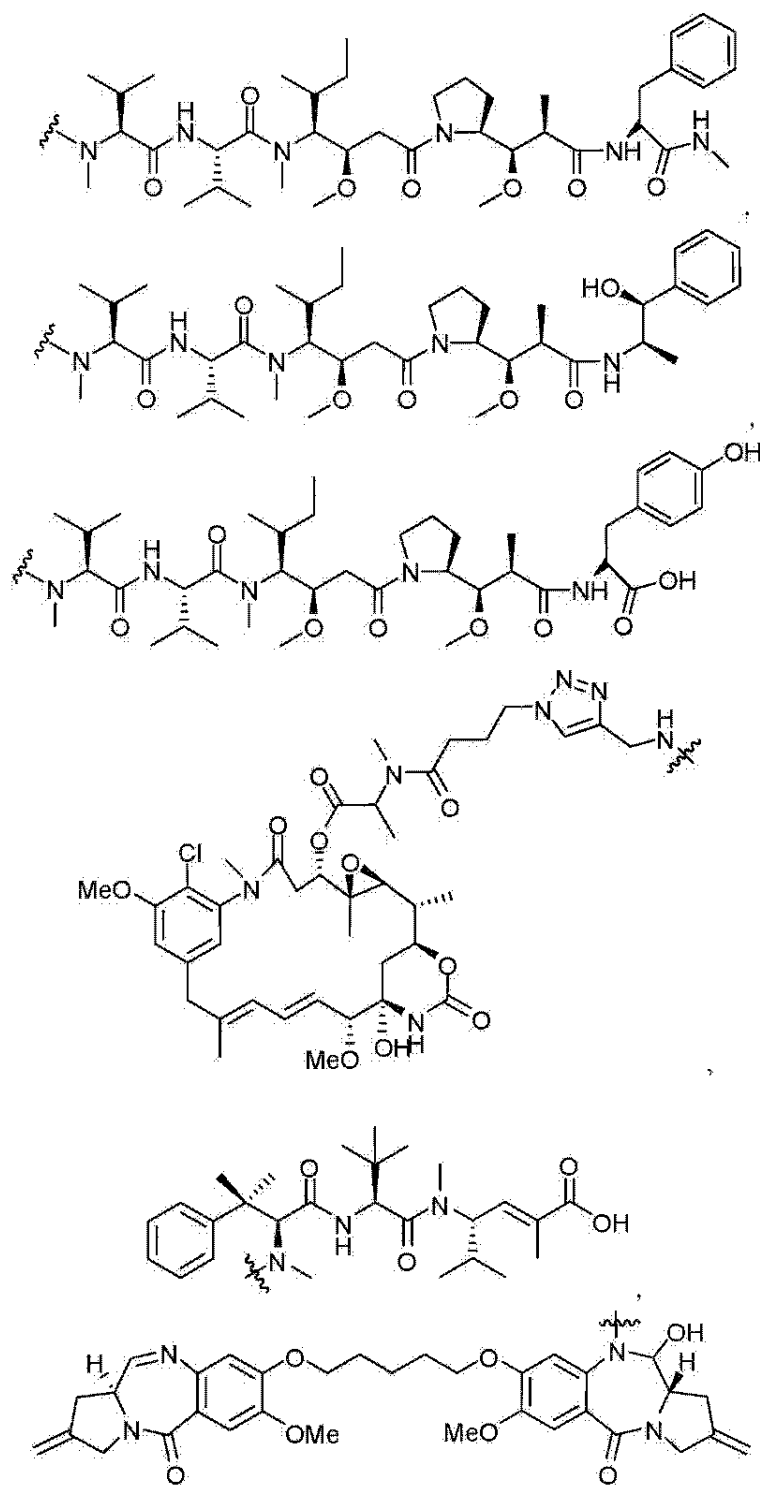
活性剤が:

〔化 213〕

40



50



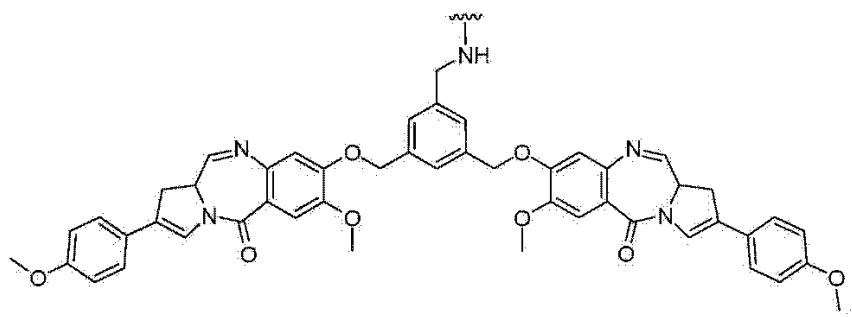
10

20

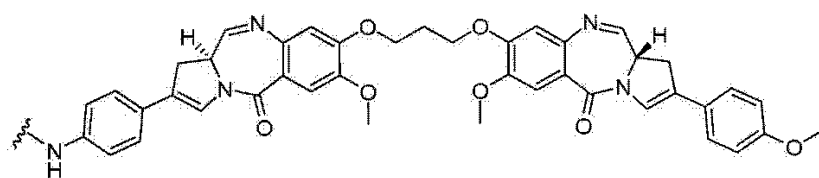
30

40

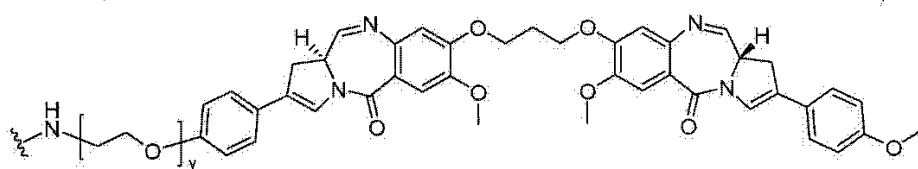
50



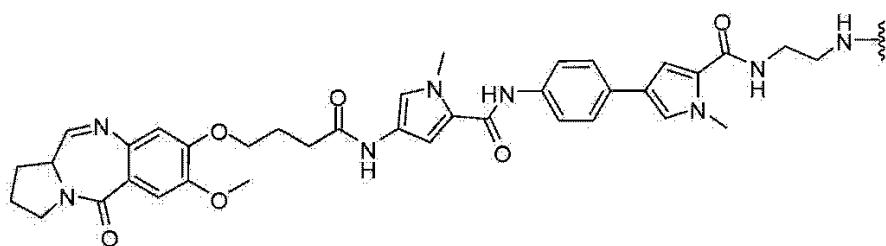
10



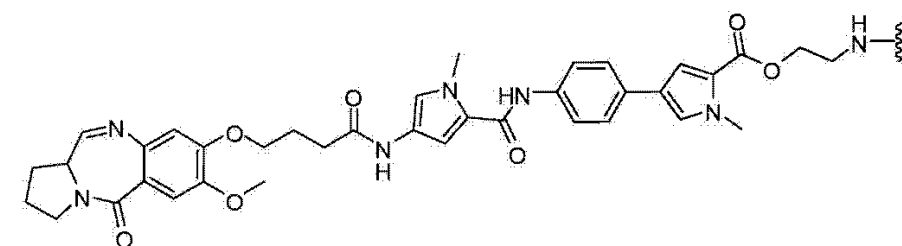
20



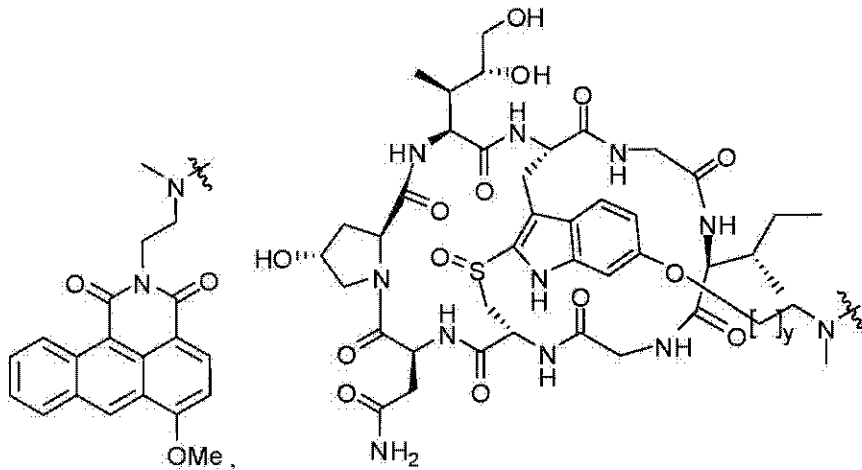
30



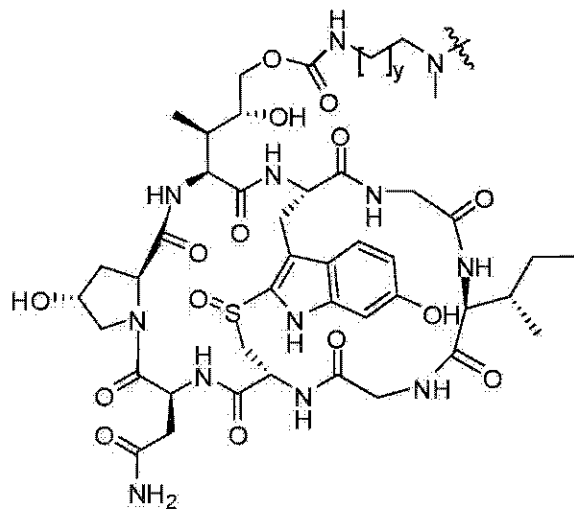
40



50



又は



であり、式中、 y が1から10の整数である、先行する実施形態のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態108〕

先行する実施形態のいずれかに記載の複合体を含む医薬組成物。

〔実施形態109〕

治療有効量の化学療法剤をさらに含む、実施形態108に記載の医薬組成物。

〔実施形態110〕

実施形態108又は109に記載の医薬組成物を対象に投与するステップを含む、対象におけるがんを処置する方法。

〔実施形態111〕

対象が哺乳動物である、実施形態110に記載の方法。

〔実施形態112〕

哺乳動物が、げっ歯類、ウサギ、ネコ、イヌ、ブタ、ヒツジ、ウシ、ウマ及び霊長類から選択される、実施形態111に記載の方法。

〔実施形態113〕

対象がヒトである、実施形態110に記載の方法。

〔実施形態114〕

リガンド-薬物複合体、例えば先行する実施形態のいずれかに記載の複合体を作るための方法であって、生体分子をプロドラッグと反応させるステップを含み、

生体分子が、リガンド、及びケトン又はアルデヒドを含み、

プロドラッグが、アルコキシアミンを含み、

反応により、オキシムが生成され、それにより、リガンドがプロドラッグに共有結合でつながる、上記方法。

〔実施形態 115〕

リガンドが抗体である、実施形態114に記載の方法。

〔実施形態 116〕

リガンドをイソプレニル化し、それにより、生体分子を生成するステップをさらに含み、
リガンドが、イソプレノイド転移酵素により認識されるアミノ酸モチーフを含み、
リガンドをイソプレニル化するステップが、リガンドをイソプレノイド転移酵素及びイソプレノイド転移酵素基質とインキュベートするステップを含み、
基質が、ケトン又はアルデヒドを含む、実施形態114又は実施形態115に記載の方法。

〔実施形態 117〕

イソプレノイド転移酵素が、ファルネシル転移酵素又はゲラニルゲラニル転移酵素である、実施形態116に記載の方法。

〔実施形態 118〕

リガンドをイソプレニル化するステップを含み、
リガンドが、イソプレノイド転移酵素により認識されるアミノ酸モチーフを含み、
リガンドをイソプレニル化するステップが、リガンドをイソプレノイド転移酵素及びイソプレノイド転移酵素基質とインキュベートするステップを含み、
基質が、活性剤を含む、実施形態1から107のいずれかに記載のリガンド-薬物複合体を作るための方法。

〔実施形態 119〕

リガンドが抗体である、実施形態118に記載の方法。

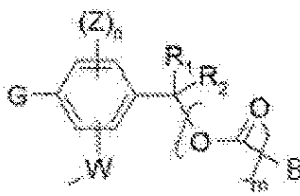
〔実施形態 120〕

i) 分岐リンカーが、一次リンカー(PL)により反応性部分に共有結合で連結する分岐ユニット(BR)を含み、
ii) 分岐ユニットが、第1の分岐(B1)に共有結合で連結し、これが、二次リンカー(SL)及び切断基(CG)に共有結合で連結する第1の活性剤を含み、
iii) 分岐ユニットが、第2の分岐(B2)に共有結合で連結し、これが、a) 二次リンカー(SL)及び切断基(CG)に共有結合で連結する第2の活性剤、又はb) ポリエチレングリコール部分のいずれかを含み、
各切断基が、リガンド-活性剤化合物から活性剤を放出するように、加水分解することができる、分岐リンカー-活性剤化合物。

〔実施形態 121〕

切断基が、式(I):

〔化 214〕



の構造により表され、式中:

Gが糖、糖酸又は糖誘導体を表し、

Bが活性剤へのつながりを表し、

Wが、-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-S(O)₂NR'-、-P(O)R''NR'-、-S(O)NR'-又は-PO₂NR'-を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に、好ましくは直接結合し、R'及びR''が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、モノ若しくはジカルボキシル(C₁~C₈)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、(C₁~C₈)アルキルチオ、モノ若しくはジ(C₁~C₈)アルキルアミノ、(C₃~C₂₀)ヘテロアリアル又は(C₆~C₂₀)

アリールであり、Wが、接続ユニット又は分岐ユニットに接続し、

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数であり、

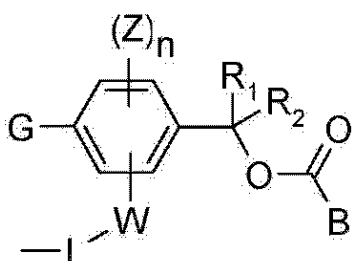
mが0又は1であり、

R₁及びR₂が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくは(C₃~C₈)シクロアルキルであり、又はR₁及びR₂が、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、(C₃~C₈)シクロアルキル環を形成する、実施形態120に記載の分岐リンカー-活性剤化合物。

[実施形態122]

切断基が、式:

【化215】



を有し、式中:

Gが、糖又は糖酸、好ましくはグルクロン酸を表し、

Bが活性剤へのつながりを表し、

Wが、電子求引性基、好ましくは-C(O)NR'-を表し、C(O)がフェニル環に結合しており、NR'(アミノ酸、好ましくは親水性アミノ酸のアミノ基であってよい)が、Lに結合しており、

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数であり、

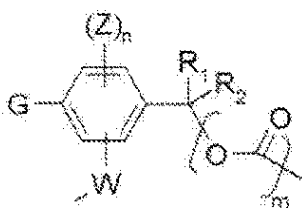
Lが、分岐ユニットへのつながりを表し、

R₁及びR₂が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくは(C₃~C₈)シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂が、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、(C₃~C₈)シクロアルキル環を形成する、実施形態120に記載の分岐リンカー-活性剤化合物。

[実施形態123]

切断基が、式:

【化216】



を有し、式中:

Gが、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、

Wが、-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-S(O)₂NR'-、-P(O)R''NR'-、-S(O)NR'-又は-PO₂NR'-を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に、好ましくは直接結合し、R'

及びR''が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、モノ若しくはジカルボキシル(C₁~C₈)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、(C₁~C₈)アルキルチオ、モノ若しくはジ(C₁~C₈)アルキルアミノ、(C₃~C₂₀)ヘテロアリール又は(C₆~C₂₀)アリールであり、Wが、分岐ユニットに直接的又は間接的に連結し、

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数であり、

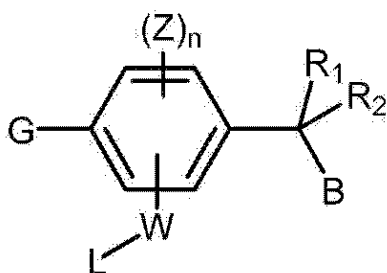
mが0又は1、好ましくは1であり、

R₁及びR₂が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくは(C₃~C₈)シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂が、それらが結合する炭素原子と一緒になって、(C₃~C₈)シクロアルキル環を形成する、実施形態120に記載の分岐リンカー-活性剤化合物。

[実施形態124]

活性剤が、式:

[化217]



を有する切断基、又は薬学的に許容されるその塩を介して第1の分岐に連結し、式中、

Gが、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、

Bが、活性剤に共有結合しているユニットであり、

Wが、-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-S(O)₂NR'-、-P(O)R''NR'-、-S(O)NR'-又は-PO₂NR'-を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に直接結合し、R'及びR''が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、(C₁~C₈)アルキルチオ、モノ若しくはジ(C₁~C₈)アルキルアミノ、(C₃~C₂₀)ヘテロアリール又は(C₆~C₂₀)アリールであり、

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数、好ましくは3であり、

Lが、分岐ユニットへの結合を表し、

R₁及びR₂が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくは(C₃~C₈)シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂が、それらが結合する炭素原子と一緒になって、(C₃~C₈)シクロアルキル環を形成する、実施形態120に記載の分岐リンカー-活性剤化合物。

[実施形態125]

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又はアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロを表す、実施形態121から124のいずれかに記載の分岐リンカー-活性剤化合物

[実施形態126]

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロを表す、実施形態125に記載の分岐リンカー-活性剤化合物。

[実施形態 127]

- i) 分岐リンカーが、一次リンカー(PL)によりリガンドに共有結合で連結する分岐ユニット(BR)を含み、
 ii) 分岐ユニットが、第1の分岐(B1)に共有結合で連結し、切断基(CG)が、二次リンカー(SL)に共有結合で連結し、
 iii) 分岐ユニットが、第2の分岐(B2)に共有結合で連結し、これが、a) 二次リンカー(SL)に共有結合で連結する第2の切断基(CG)、又はb) ポリエチレングリコール部分のいずれかを含み、リンカー化合物。

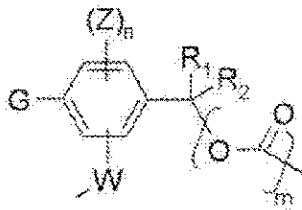
[実施形態 128]

- i) 分岐リンカーが、一次リンカー(PL)によりリガンドに共有結合で連結する分岐ユニット(BR)を含み、
 ii) 分岐ユニットが、第1の分岐(B1)に共有結合で連結し、これが、二次リンカー(SL)に共有結合で連結する切断基(CG)と反応させることが可能である末端反応基を有し、
 iii) 分岐ユニットが、第2の分岐(B2)に共有結合で連結し、これが、a) 二次リンカー(SL)に共有結合で連結する切断基(CG)と反応させることが可能である第2の末端反応基、又はb) ポリエチレングリコール部分のいずれかを含み、リンカー化合物。

[実施形態 129]

切断基が、式:

[化 218]



を有し、式中:

Gが、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、

Wが、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'-$ 、 $-P(O)R''NR'-$ 、 $-S(O)NR'-$ 又は $-PO_2NR'-$ を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に、好ましくは直接結合し、R'及びR''が、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、モノ若しくはジカルボキシル $(C_1\sim C_8)$ アルキル、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_1\sim C_8)$ アルコキシ、 $(C_1\sim C_8)$ アルキルチオ、モノ若しくはジ $(C_1\sim C_8)$ アルキルアミノ、 $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリアル又は $(C_6\sim C_{20})$ アリアルであり、Wが、分岐ユニットに直接的又は間接的に連結し、

各Zが、独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数であり、

mが0又は1、好ましくは1であり、

R₁及びR₂が、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル若しくは $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂が、それらが結合する炭素原子と一緒にあって、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル環を形成する、実施形態127又は128に記載のリンカー化合物。

[実施形態 130]

切断基が、式:

10

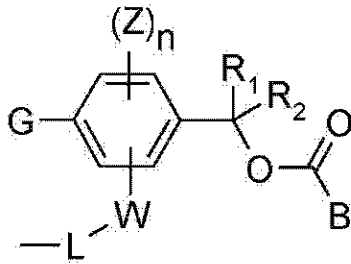
20

30

40

50

【化 2 1 9】



を有し、式中：

Gが、糖又は糖酸、好ましくはグルクロン酸を表し、

Bが、活性剤に取って代わることが可能である脱離基、例えばハロゲン(とりわけCl若しくはBr)、又は、活性剤に連結することが可能である反応性部分を含むユニット、例えばイソシアネート、酸塩化物、クロロホルメートなどを表し、

Wが、電子求引性基、好ましくは-C(O)NR'を表し、C(O)がフェニル環に結合しており、NR'(アミノ酸、好ましくは親水性アミノ酸のアミノ基であってよい)が、Lに結合しており、

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数であり、

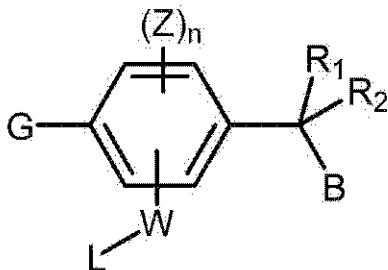
Lが、分岐ユニットへのつながりを表し、

R₁及びR₂が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル若しくは(C₃~C₈)シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂が、それらが結合する炭素原子と一緒になって、(C₃~C₈)シクロアルキル環を形成する、実施形態127又は128に記載のリンカー化合物。

〔実施形態 1 3 1〕

切断基が、式：

【化 2 2 0】



又は薬学的に許容されるその塩を有し、式中、

Gが、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、

Bが、活性剤に連結することが可能である反応性部分を含むユニットであり、

Wが、-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-S(O)₂NR'-、-P(O)R''NR'-、-S(O)NR'-又は-PO₂NR'-を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に直接結合し、R'及びR''が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、(C₁~C₈)アルキルチオ、モノ若しくはジ(C₁~C₈)アルキルアミノ、(C₃~C₂₀)ヘテロアリール又は(C₆~C₂₀)アリールであり、

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、(C₁~C₈

アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、
 n が1から3の整数、好ましくは3であり、
 L が、分岐ユニットへの結合を表し、
 R_1 及び R_2 が、それぞれ独立して、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル若しくは $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル、好ましくは水素であり、又は R_1 及び R_2 が、それらが結合する炭素原子と一緒になって、 $(C_3 \sim C_8)$ シクロアルキル環を形成する、実施形態127又は128に記載のリンカー化合物。

[実施形態132]

各 Z が、独立して、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル又はアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロを表す、実施形態129から131のいずれかに記載のリンカー化合物。

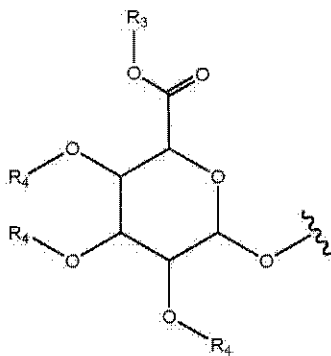
[実施形態133]

各 Z が、独立して、水素、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロを表す、実施形態132に記載のリンカー化合物。

[実施形態134]

G が、

[化221]



であり、

R_3 が、水素又はカルボキシル保護基であり、

各 R_4 が、独立して、水素又はヒドロキシル保護基である、実施形態129から133のいずれかに記載のリンカー化合物。

[実施形態135]

少なくとも1つの一次又は二次リンカーが、構造 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_q-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q-$ 、 $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qY-$ 、 $-((CH_2)_pV)_q(CH_2)_r-$ 、 $-Y((CH_2)_pV)_q-$ 又は $-(CH_2)_r(V(CH_2)_p)_qYCH_2-$ を有し、

式中:

r が0から10の整数であり、

p が1から10の整数であり、

q が1から20の整数であり、

V 及び Y が、それぞれ独立して、単結合、 $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-NR_{21}-$ 、 $-C(O)NR_{22}-$ 、 $-NR_{23}C(O)-$ 、 $-NR_{24}SO_2-$ 又は $-SO_2NR_{25}-$ であり、

R_{21} から R_{25} が、それぞれ独立して、水素、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_6 \sim C_{20})$ アリール又は $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_3 \sim C_{20})$ ヘテロアリールである、実施形態127から134のいずれかに記載のリンカー化合物。

[実施形態136]

少なくとも1つの分岐ユニットが、構造

10

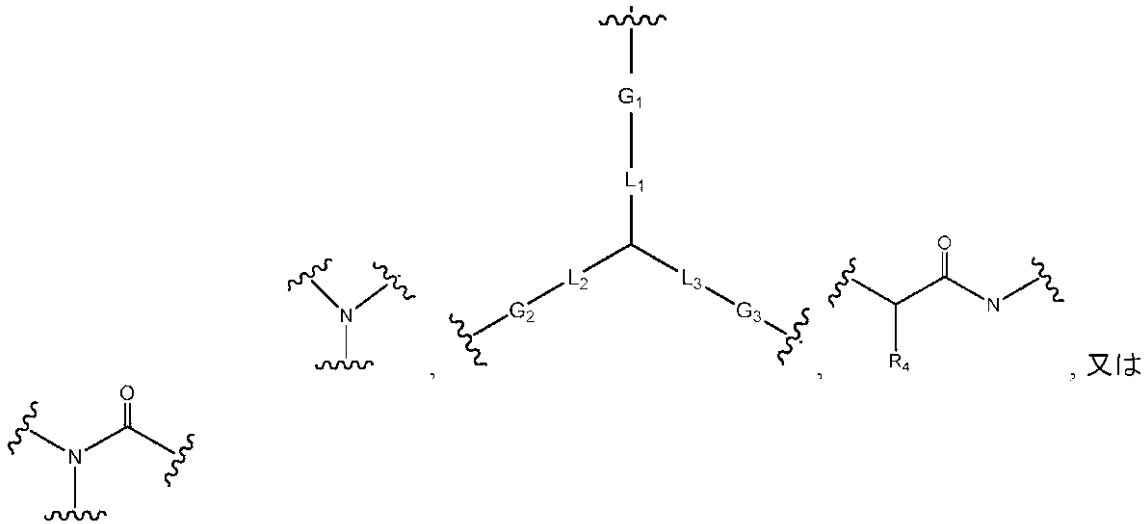
20

30

40

50

【化 2 2 2】



10

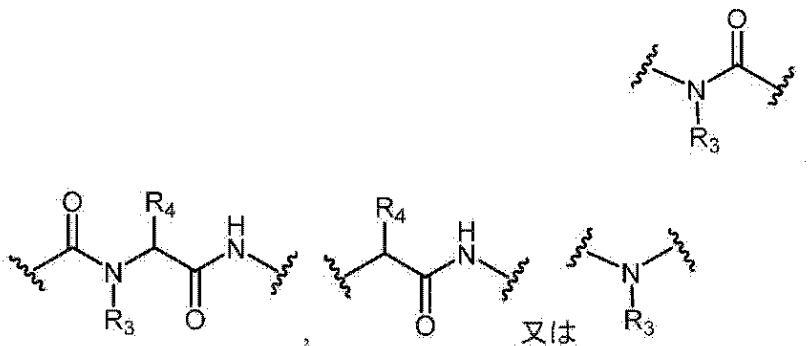
を有し、

式中、 L_1 、 L_2 、 L_3 が、それぞれ独立して、直接結合又は $-C_nH_{2n}-$ であり、 n が1から30の整数であり、

G_1 、 G_2 、 G_3 が、それぞれ独立して、直接結合、

20

【化 2 2 3】



30

であり、 R_3 が、水素又は $C_1 \sim C_{30}$ アルキルであり、

R_4 が、水素又は $-L_4-COOR_5$ であり、 L_4 が、直接結合又は $-C_nH_{2n}-$ であり、 n が、1から10の整数であり、 R_5 が、水素又は $C_1 \sim C_{30}$ アルキルである、実施形態127から135のいずれかに記載のリンカー化合物。

【実施形態 1 3 7】

切断基が、標的細胞内で切断することが可能である、先行する実施形態のいずれかに記載の化合物又は複合体。

【実施形態 1 3 8】

切断基が、1つ以上の活性剤を放出することが可能である、先行する実施形態のいずれかに記載の化合物又は複合体。

【実施形態 1 3 9】

リガンド、リガンドに共有結合で連結する少なくとも1つの分岐リンカー、及び分岐リンカーに共有結合で連結する少なくとも2つの活性剤を含むリガンド-薬物複合体。

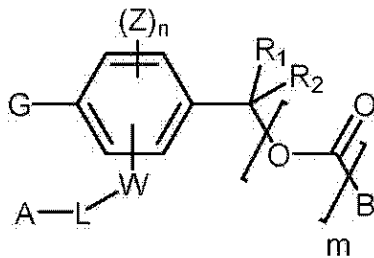
【実施形態 1 4 0】

リガンドが抗体である、実施形態139に記載の複合体。

【実施形態 1 4 1】

少なくとも2つの分岐リンカーがリガンドに連結し、各分岐リンカーが、少なくとも2つの活性剤に連結する、実施形態139又は140に記載の複合体。

50

〔実施形態 1 4 2〕3つの分岐リンカーがリガンドに連結する、実施形態141に記載の複合体。〔実施形態 1 4 3〕4つの分岐リンカーがリガンドに連結する、実施形態141に記載の複合体。〔実施形態 1 4 4〕ちょうど1つの分岐リンカーが、リガンドに連結する、実施形態139又は140に記載の複合体。〔実施形態 1 4 5〕各分岐リンカーが、ちょうど2つの活性剤に連結する、実施形態139から144のいずれかに記載の複合体。〔実施形態 1 4 6〕複合体が、少なくとも2つの異なる活性剤を含む、実施形態139から145のいずれかに記載の複合体。〔実施形態 1 4 7〕少なくとも1つの分岐リンカーが、2つの異なる活性剤に連結する、実施形態146に記載の複合体。〔実施形態 1 4 8〕各活性剤が、切断(例えば、加水分解性)結合により、分岐リンカーに連結する、実施形態139から147のいずれかに記載の複合体。〔実施形態 1 4 9〕各分岐リンカーが分岐ユニットを含み、各活性剤が、二次リンカーを介して分岐ユニットに連結し、分岐ユニットが、一次リンカーによりリガンドに連結する、実施形態139から148のいずれかに記載の複合体。〔実施形態 1 5 0〕分岐ユニットが、例えば、アミン又はアミドの窒素原子である、実施形態149に記載の複合体。〔実施形態 1 5 1〕分岐ユニットがアミドであり、一次リンカーが、アミドのカルボニルを含む、実施形態150に記載の複合体。〔実施形態 1 5 2〕分岐ユニットがアミドであり、二次リンカーが、アミドのカルボニルを含む、実施形態150に記載の複合体。〔実施形態 1 5 3〕分岐ユニットがリシンユニットである、実施形態149に記載の複合体。〔実施形態 1 5 4〕リガンド、リンカー及び活性剤を含み、式:〔化 2 2 4〕を有し、式中:Gが、糖、糖酸又は修飾糖を表し、Aがリガンドを表し、Bが活性剤を表し、Wが、-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-S(O)₂NR'-、-P(O)R''NR'-、-S(O)NR'-又は-PO

$_2\text{NR}'$ -を表し、各ケースでは、 $\text{C}(\text{O})$ 、 S 又は P がフェニル環に直接結合し、 R' 及び R'' が、それぞれ独立して、水素、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキル、 $(\text{C}_3\sim\text{C}_8)$ シクロアルキル、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルコキシ、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキルチオ、モノ若しくはジ $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキルアミノ、 $(\text{C}_3\sim\text{C}_{20})$ ヘテロアリール又は $(\text{C}_6\sim\text{C}_{20})$ アリールであり、

各 Z が、独立して、水素、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

n が1から3の整数、好ましくは3であり、

m が0又は1、好ましくは1であり、

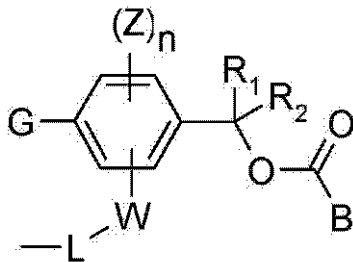
L が、少なくとも1個の分岐ユニット(BR)及び少なくとも1つの一次リンカー(PL)を含むリンカーであり、

R_1 及び R_2 が、それぞれ独立して、水素、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキル若しくは $(\text{C}_3\sim\text{C}_8)$ シクロアルキル、好ましくは水素であり、又は R_1 及び R_2 が、それらが結合する炭素原子と一緒になって、 $(\text{C}_3\sim\text{C}_8)$ シクロアルキル環を形成する、実施形態139から153のいずれかに記載の複合体。

[実施形態155]

各活性剤が、式:

【化225】



を有する切断基を介して分岐リンカーに連結し、式中:

G が、糖又は糖酸、好ましくはグルクロン酸を表し、

B が活性剤を表し、

W が、電子求引性基、好ましくは $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'$ -を表し、 $\text{C}(\text{O})$ がフェニル環に結合しており、 NR' (アミノ酸、好ましくは親水性アミノ酸のアミノ基であってよい)が、 L に結合しており、

各 Z が、独立して、水素、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

n が1から3の整数であり、

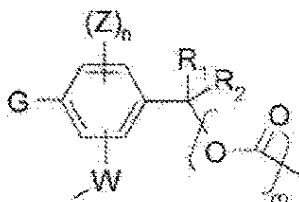
L が、リガンドへのつながりを表し、

R_1 及び R_2 が、それぞれ独立して、水素、 $(\text{C}_1\sim\text{C}_8)$ アルキル若しくは $(\text{C}_3\sim\text{C}_8)$ シクロアルキル、好ましくは水素であり、又は R_1 及び R_2 が、それらが結合する炭素原子と一緒になって、 $(\text{C}_3\sim\text{C}_8)$ シクロアルキル環を形成する、実施形態139から153のいずれかに記載の複合体。

[実施形態156]

各活性剤が、式:

【化226】



を有する切断基を介して分岐リンカーに連結し、式中：

Gが、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、

Wが、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'$ 、 $-P(O)R''NR'$ 、 $-S(O)NR'$ 又は $-PO_2NR'$ を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に、好ましくは直接結合し、R'及びR''が、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、モノ若しくはジカルボキシル $(C_1\sim C_8)$ アルキル、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_1\sim C_8)$ アルコキシ、 $(C_1\sim C_8)$ アルキルチオ、モノ若しくはジ $(C_1\sim C_8)$ アルキルアミノ、 $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリール又は $(C_6\sim C_{20})$ アリールであり、Wが、リガンド又は分岐ユニットに直接的又は間接的に連結し、

各Zが、独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数であり、

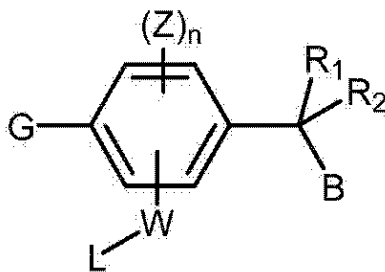
mが0又は1、好ましくは1であり、

R₁及びR₂が、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル若しくは $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂が、それらが結合する炭素原子と一緒になって、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル環を形成する、実施形態139から153のいずれかに記載の複合体。

[実施形態157]

各活性剤が、式：

[化227]



を有する切断基、又は薬学的に許容されるその塩を介して分岐リンカーに連結し、式中、Gが、糖、糖酸又は修飾糖、好ましくは糖又は糖酸、最も好ましくはグルクロン酸を表し、

Bが、活性剤に共有結合しているユニットであり、

Wが、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NR'$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-S(O)_2NR'$ 、 $-P(O)R''NR'$ 、 $-S(O)NR'$ 又は $-PO_2NR'$ を表し、各ケースでは、C(O)、S又はPがフェニル環に直接結合し、R'及びR''が、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、 $(C_1\sim C_8)$ アルコキシ、 $(C_1\sim C_8)$ アルキルチオ、モノ若しくはジ $(C_1\sim C_8)$ アルキルアミノ、 $(C_3\sim C_{20})$ ヘテロアリール又は $(C_6\sim C_{20})$ アリールであり、

各Zが、独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル又は電子求引性基(例えばアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ若しくはニトロ)、好ましくは水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロ、最も好ましくは水素を表し、

nが1から3の整数、好ましくは3であり、

Lが、リンカー又は分岐ユニットへの結合を表し、

R₁及びR₂が、それぞれ独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル若しくは $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル、好ましくは水素であり、又はR₁及びR₂が、それらが結合する炭素原子と一緒になって、 $(C_3\sim C_8)$ シクロアルキル環を形成する、実施形態139から153のいずれかに記載の複合体。

[実施形態158]

各Zが、独立して、水素、 $(C_1\sim C_8)$ アルキル若しくはアミド、カルボン酸、カルボン酸エステル、ハロゲン、シアノ又はニトロを表す、実施形態154から157のいずれかに記載

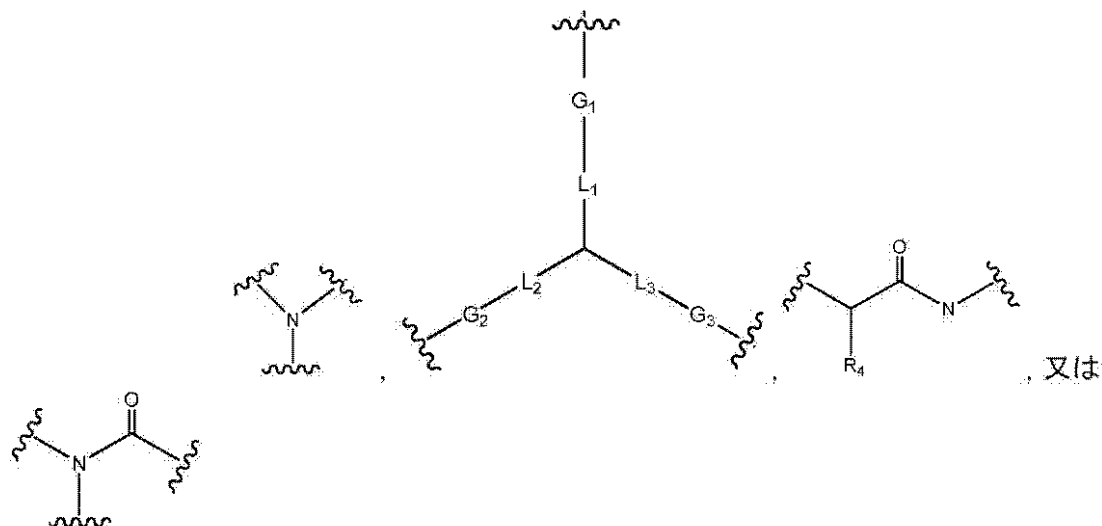
の複合体。

〔実施形態159〕

各Zが、独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、ハロゲン、シアノ又はニトロを表す、実施形態158に記載の複合体。

〔実施形態160〕

少なくとも1個の分岐ユニットが、構造
【化228】

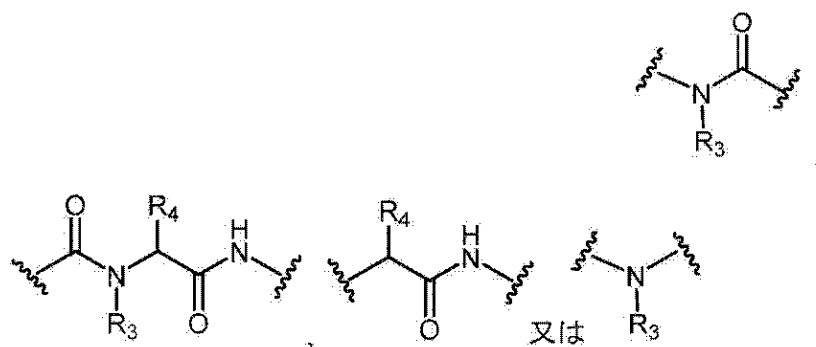


10

20

を有し、式中、L₁、L₂、L₃が、それぞれ独立して、直接結合又は-C_nH_{2n}-であり、nが1から30の整数であり、

G₁、G₂、G₃が、それぞれ独立して、直接結合、
【化229】



30

であり、

R₃が、水素又はC₁~C₃₀アルキルであり、

R₄が、水素又は-L₄-COOR₅であり、L₄が、直接結合又は-C_nH_{2n}-であり、nが、1から10の整数であり、R₅が、水素又はC₁~C₃₀アルキルである、実施形態139から159のいずれかに記載の複合体。

40

〔実施形態161〕

Wが、-C(O)-、-C(O)NR'-、-C(O)O-、-S(O)₂NR'-、-P(O)R''NR'-、-S(O)NR'-又は-PO₂NR'-であり、各ケースでは、C(O)、S又はPが、好ましくはフェニル環に直接結合し、R'及びR''が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₈)アルキル、(C₃~C₈)シクロアルキル、(C₁~C₈)アルコキシ、(C₁~C₈)アルキルチオ、モノ若しくはジ(C₁~C₈)アルキルアミノ、(C₃~C₂₀)ヘテロアリール又は(C₆~C₂₀)アリールである、実施形態154から160のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態162〕

50

Wが、 $-C(O)NR'$ -を表し、Wの窒素が、アミノ酸、好ましくは親水性アミノ酸の窒素である、実施形態154又は161に記載の複合体。

[実施形態163]

Wが $-C(O)NR'$ -であり、C(O)がフェニル環に結合しており、NR'がLに結合している、実施形態162に記載の複合体。

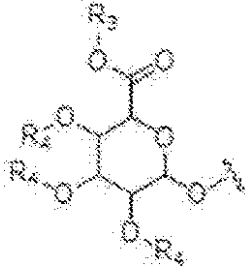
[実施形態164]

糖又は糖酸が単糖である、実施形態154から163のいずれかに記載の複合体。

[実施形態165]

Gが、

【化230】



であり、

R₃が、水素又はカルボキシル保護基であり、

各R₄が、独立して、水素又はヒドロキシル保護基である、実施形態164に記載の複合体。

[実施形態166]

R₃が水素であり、各R₄が水素である、実施形態165に記載の複合体。

[実施形態167]

各Zが水素を表し、nは3である、実施形態154から166のいずれかに記載の複合体。

[実施形態168]

Gがグルクロン酸であり、

Wが $-C(O)NR'$ -であり、C(O)がフェニル環に結合しており、NR'がLに結合しており、

Zが水素を表し、

nが3であり、

R₁及びR₂が、それぞれ、水素を表す、

実施形態154から167のいずれかに記載の複合体。

[実施形態169]

一次リンカーが、1から100個、好ましくは1から50個の炭素原子を有するアルキレンを含み、また：

アルキレンが、少なくとも1つの不飽和結合を含み；

アルキレンが、少なくとも1つのヘテロアリーレンを含み；

アルキレンの炭素原子が、窒素(N)、酸素(O)及び硫黄(S)から選択される1個以上のヘテロ原子により置き換えられ；又は

アルキレンが、1から20個の炭素原子を有する1つ以上のアルキルでさらに置換されている、

実施形態139から168のいずれかに記載の複合体。

[実施形態170]

アルキレンの少なくとも1個の炭素原子が、窒素により置き換えられ、一次リンカーが、親水性アミノ酸の少なくとも2個の原子を含み、窒素が、親水性アミノ酸の骨格カルボニルとペプチド結合を形成する、実施形態169に記載の複合体。

[実施形態171]

親水性アミノ酸が、アルギニン、アスパルテート、アスパラギン、グルタメート、グル

10

20

30

40

50

タミン、ヒスチジン、リシン、オルニチン、プロリン、セリン又はトレオニンである、実施形態170に記載の複合体。

〔実施形態172〕

分岐リンカーが、アミノ酸を含み、アミノ酸が、水溶液中で、中性pHにおいて電荷を持つ部分を有する側鎖を含む、実施形態139から171のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態173〕

アミノ酸が、アルギニン、アスパルテート、グルタメート、リシン又はオルニチンである、実施形態172に記載の複合体。

〔実施形態174〕

アミノ酸が、アスパルテート、グルタメート又はオルニチンである、実施形態172に記載の複合体。

〔実施形態175〕

アミノ酸がリシンである、実施形態172に記載の複合体。

〔実施形態176〕

アミノ酸がアルギニンである、実施形態172に記載の複合体。

〔実施形態177〕

アミノ酸が、分岐リンカーのオキシムを分岐リンカーのポリエチレングリコールユニットに共有結合でつなげる、実施形態172から176のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態178〕

アミノ酸が、二次リンカー、任意選択で各二次リンカーに存在する、実施形態172から176のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態179〕

分岐リンカーが、チオエーテル結合によりリガンドに共有結合しており、チオエーテル結合が、リガンドのシステインの硫黄原子を含む、実施形態139から178のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態180〕

リガンドが、イソプレノイド転移酵素により認識されるC-末端アミノ酸モチーフを含み、チオエーテル結合が、アミノ酸モチーフのシステインの硫黄原子を含む、実施形態179に記載の複合体。

〔実施形態181〕

アミノ酸モチーフが、配列CYYXであり、
Cがシステインを表し、
Yが、それぞれの発生に対して独立して、脂肪族アミノ酸を表し、
Xが、それぞれの発生に対して独立して、グルタミン、グルタメート、セリン、システイン、メチオニン、アラニン又はロイシンを表し、
チオエーテル結合が、アミノ酸モチーフのシステインの硫黄原子を含む、実施形態180に記載の複合体。

〔実施形態182〕

アミノ酸モチーフが配列CYYXであり、
Yが、それぞれの発生に対して独立して、アラニン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン又はバリンを表す、実施形態181に記載の複合体。

〔実施形態183〕

アミノ酸モチーフが、配列CVIM又はCVLLである、実施形態182に記載の複合体。

〔実施形態184〕

アミノ酸モチーフに先行するアミノ酸7個の少なくとも1個がグリシンである、実施形態180から183のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態185〕

アミノ酸モチーフに先行するアミノ酸7個の少なくとも3個が、それぞれ独立して、グリシン及びプロリンから選択される、実施形態184に記載の複合体。

〔実施形態186〕

10

20

30

40

50

アミノ酸モチーフに直接先行するアミノ酸1から10個が、グリシンであり、好ましくは、アミノ酸モチーフに直接先行するアミノ酸の少なくとも1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個又は10個が、グリシンである、実施形態185に記載の複合体。

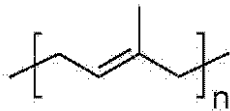
〔実施形態187〕

リガンドのC-末端が、アミノ酸配列GGGGGGGCVIMを含む、実施形態186に記載の複合体。

〔実施形態188〕

チオエーテル結合が、

〔化231〕



10

により表される少なくとも1個のイソプレニルユニットの炭素原子を含む、実施形態179から187のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態189〕

nが少なくとも2である、実施形態188に記載の複合体。

〔実施形態190〕

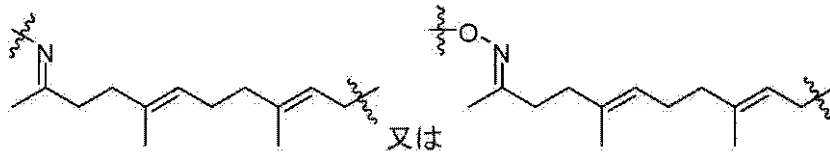
分岐リンカーが、オキシムを含み、少なくとも1個のイソプレニルユニットが、オキシムをリガンドに共有結合でつなげる、実施形態188又は189に記載の複合体。

20

〔実施形態191〕

リンカーが:

〔化232〕



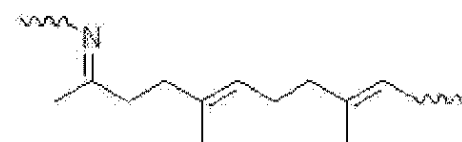
を含む、実施形態190に記載の複合体。

30

〔実施形態192〕

リンカーが:

〔化233〕



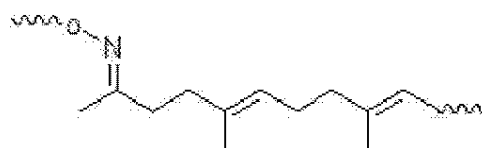
を含む、実施形態190に記載の複合体。

40

〔実施形態193〕

リンカーが:

〔化234〕

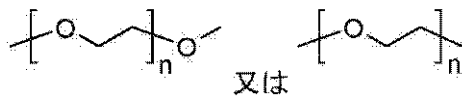


を含む、実施形態190に記載の複合体。

50

〔実施形態194〕

一次リンカー及び/又は二次リンカー(好ましくは各二次リンカー)が、
【化 2 3 5】



のいずれかにより表される少なくとも1個のポリエチレングリコールユニットを含む、実施形態139から193のいずれかに記載の複合体。

【実施形態 1 9 5】

ポリエチレングリコールユニットが、1から20個の-OCH₂CH₂-ユニットを含む、実施形態194に記載の複合体。

【実施形態 1 9 6】

ポリエチレングリコールユニットが、1から19個の-OCH₂CH₂-ユニットを含む、実施形態194に記載の複合体。

【実施形態 1 9 7】

ポリエチレングリコールユニットが、4から20個の-OCH₂CH₂-ユニットを含む、実施形態194に記載の複合体。

【実施形態 1 9 8】

ポリエチレングリコールユニットが、3から12個の-OCH₂CH₂-ユニットを含む、実施形態194に記載の複合体。

【実施形態 1 9 9】

一次リンカー、二次リンカー(好ましくは各二次リンカー)、又はその両方が、-(CH₂)_r(V(CH₂)_p)_q-により表される接続ユニットを含み、式中:

rが1から10の整数、好ましくは2であり、

pが0から12の整数、好ましくは2であり、

qが1から20の整数であり、

Vが、単結合、-O-、-S-、-NR₂₁-、-C(O)NR₂₂-、-NR₂₃C(O)-、-NR₂₄SO₂-又は-SO₂NR₂₅-、好ましくは-O-であり、

R₂₁からR₂₅が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₆)アルキル、(C₁~C₆)アルキル(C₆~C₂₀)アリール又は(C₁~C₆)アルキル(C₃~C₂₀)ヘテロアリールである、実施形態139から198のいずれかに記載の複合体。

【実施形態 2 0 0】

一次リンカー、二次リンカー(好ましくは各二次リンカー)、又はその両方が、-(CH₂)_r(V(CH₂)_p)_q-、-((CH₂)_pV)_q-、-(CH₂)_r(V(CH₂)_p)_qY-、-((CH₂)_pV)_q(CH₂)_r-、-Y(((CH₂)_pV)_q-又は-(CH₂)_r(V(CH₂)_p)_qYCH₂-により表される接続ユニットを含み、式中:

rが0から10の整数であり、

pが1から10の整数であり、

qが1から20の整数であり、

V及びYが、それぞれ独立して、単結合、-O-、-S-、-NR₂₁-、-C(O)NR₂₂-、-NR₂₃C(O)-、-NR₂₄SO₂-又は-SO₂NR₂₅-であり、

R₂₁からR₂₅が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₆)アルキル、(C₁~C₆)アルキル(C₆~C₂₀)アリール又は(C₁~C₆)アルキル(C₃~C₂₀)ヘテロアリールである、実施形態139から198のいずれかに記載の複合体。

【実施形態 2 0 1】

qが4から20の整数である、実施形態199又は200に記載の複合体。

【実施形態 2 0 2】

qが6から20の整数である、実施形態199又は200に記載の複合体。

【実施形態 2 0 3】

qが1から10の整数である、実施形態199又は200に記載の複合体。

[実施形態 204]

qが2から12の整数である、実施形態199又は200に記載の複合体。

[実施形態 205]

qが2、5又は11である、実施形態199又は200に記載の複合体。

[実施形態 206]

rが2である、実施形態199から205のいずれかに記載の複合体。

[実施形態 207]

pが2である、実施形態199から206のいずれかに記載の複合体。

[実施形態 208]

V及びYが、それぞれ独立して、-O-である、実施形態200から207のいずれかに記載の複合体。

10

[実施形態 209]

rが2であり、

pが2であり、

qが2、5又は11であり、Vが-O-である、実施形態199又は200に記載の複合体。

[実施形態 210]

一次リンカー、二次リンカー(好ましくは各二次リンカー)、又はその両方が、 $-(CH_2CH_2X)_w-$ により表される接続ユニットを含み、式中、

Xが、-O-、 $(C_1 \sim C_8)$ アルキレン又は $-NR_{21}-$ 、好ましくは-O-を表し、

R_{21} が、水素、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル、 $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_6 \sim C_{20})$ アリール又は $(C_1 \sim C_6)$ アルキル $(C_3 \sim C_{20})$ ヘテロアリール、好ましくは水素を表し、

20

wが、1から12の整数、好ましくは1、3、6又は12である、実施形態139から198のいずれかに記載の複合体。

[実施形態 211]

Xが-O-であり、wが6から12の整数である、実施形態210に記載の複合体。

[実施形態 212]

一次リンカーが、1,3-双極子環状付加反応、ヘテロ-ディールス-アルダー反応、求核置換反応、非アルドール型カルボニル反応、炭素-炭素多重結合への付加、酸化反応又はクリック反応により形成される結合ユニットを含む、実施形態139から211のいずれかに記載の複合体。

30

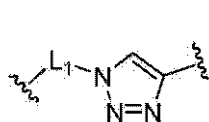
[実施形態 213]

結合ユニットが、アセチレンとアジドの間の反応、又はアルデヒド若しくはケトン基とヒドラジン若しくはアルコキシアミンの間の反応により形成される、実施形態212に記載の複合体。

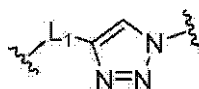
[実施形態 214]

結合ユニットが、式A、B、C又はDのいずれか1つ、好ましくはD:

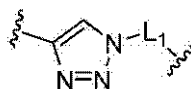
【化 2 3 6】



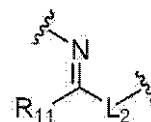
(A)



(B)



(C)



(D)

40

により表され、式中:

L_1 が、単結合、又は1から30個、好ましくは12個の炭素原子を有するアルキレンであり、

R_{11} が、水素、又は1から10個の炭素原子を有するアルキル、好ましくはメチルであり、

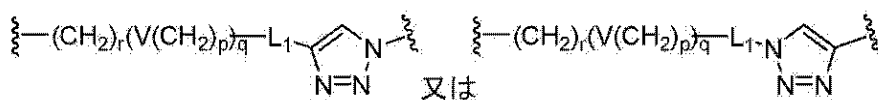
L_2 が、1から30個、好ましくは11個の炭素原子を有するアルキレンである、実施形態213に記載の複合体。

[実施形態 215]

50

一次リンカーが:

【化 2 3 7】



を含み、式中、

Vが、単結合、-O-、-S-、-NR₂₁-、-C(O)NR₂₂-、-NR₂₃C(O)-、-NR₂₄SO₂-又は-SO₂NR₂₅-、好ましくは-O-であり、

R₂₁からR₂₅が、それぞれ独立して、水素、(C₁~C₆)アルキル、(C₁~C₆)アルキル(C₆~C₂₀)アリール又は(C₁~C₆)アルキル(C₃~C₂₀)ヘテロアリールであり、

rが、1から10の整数、好ましくは2又は3であり、

pが、0から10の整数、好ましくは1又は2であり、

qが、1から20、好ましくは1から6の整数であり、

L₁が単結合である、実施形態214に記載の複合体。

【実施形態 2 1 6】

分岐リンカーが、O-置換オキシムを含み、

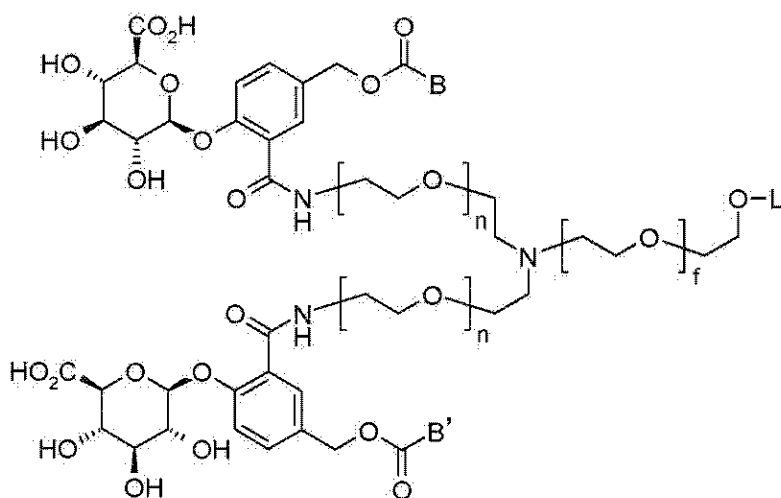
a) オキシムの酸素原子が、オキシムを活性剤に共有結合でつなげる基で置換され、オキシムの炭素原子が、オキシムをリガンドに共有結合でつなげる基で置換されている、又は

b) オキシムの酸素原子が、オキシムをリガンドに共有結合でつなげる基で置換され、オキシムの炭素原子が、オキシムを活性剤に共有結合でつなげる基で置換されている、実施形態139から215のいずれかに記載の複合体。

【実施形態 2 1 7】

構造:

【化 2 3 8】



を含み、式中:

B及びB'が、同一であっても、又は異なってもよい活性剤を表し、

nが、それぞれの発生に対して独立して、0から30の整数を表し、

fが、それぞれの発生に対して独立して、0から30の整数を表し、

Lが、リガンドへのつながりを表す、実施形態216に記載の複合体。

【実施形態 2 1 8】

nが1から10の整数である、実施形態217に記載の複合体。

【実施形態 2 1 9】

nが4から20の整数である、実施形態217に記載の複合体。

〔実施形態 220〕

リンカーが、オキシムを含み、少なくとも1個のポリエチレングリコールユニットが、オキシムを活性剤に共有結合でつなげる、実施形態217から219のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 221〕

抗体が、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗体断片、Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂、Fv、一本鎖Fv(「scFv」)、二特異性抗体、直鎖状抗体、二重特異性抗体、多重特異性抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体又は抗体の抗原結合性部分を含む融合タンパク質である、実施形態139から220のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 222〕

抗体が、ムロモナブ-CD3 アブシキシマブ、リツキシマブ、ダクリズマブ、パリビズマブ、インフリキシマブ、トラスツズマブ、エタネルセプト、バシリキシマブ、ゲムツズマブ、アレムツズマブ、イブリツモマブ、アダリムマブ、アレファセプト、オマリズマブ、エファリズマブ、トシツモマブ、セツキシマブ、ABT-806、ベバシズマブ、ナタリズマブ、ラニビズマブ、パニツムマブ、エクリズマブ、リロナセプト、セルトリズマブ、ロミブロスチム、AMG-531、ゴリムマブ、ウステキヌマブ、ABT-874、ベラタセプト、ベリムマブ、アタシセプト、抗CD20抗体、カナキヌマブ、トシリズマブ、アトリズマブ、メボリズマブ、ペルツズマブ、HuMax CD20、トレメリムマブ、チシリムマブ、イピリムマブ、IDEC-114、イノツズマブ、HuMax EGFR、アフリベルセプト、HuMax-CD4、テプリズマブ、オテリキシズマブ、カツマキソマブ、抗EpCAM抗体IGN101、アデカツムマブ、オレゴボマブ、ジヌツキシマブ、ギレンツキシマブ、デノスマブ、バピネウズマブ、モタビズマブ、エファングマブ、ラキシバクマブ、LY2469298及びベルツズマブから選択される、実施形態139から221のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 223〕

各活性剤が、独立して、化学療法剤及び毒素から選択される、実施形態139から222のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態 224〕

各活性剤が:

(a)エルロチニブ、ボルテゾミブ、フルベストラント、スーテント、レトロゾール、メシル酸イマチニブ、PTK787/ZK 222584、オキサリプラチン、5-フルオロウラシル、ロイコボリン、ラパマイシン、ラパチニブ、ロナファルニブ、ソラフェニブ、ゲフィチニブ、AG 1478、AG1571、チオテパ、シクロホスファミド、ブスルファン、インプロスルファン、ピボスルファン、ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、ウレドーパ、エチレンイミン、アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミド、トリメチロールメラミン、ブラタシン、ブラタシノン、カンプトテシン、トポテカン、プリオスタチン、カリストアチン、CC-1065、アドゼレシン、カルゼルシン、ビゼレシン、クリプトフィシン1、クリプトフィシン8、ドラスタチン、デュオカルマイシン、KW-2189、CB1-TM1、エリユテロビン、パンクラチスタチン、サルコジクチン、スポンジスタチン、クロランブシル、クロルナファジン、コロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メルファラン、ノベンビチン、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、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチン、カリケアミシン、カリケアミシガンマ1、カリケアミシンオメガ1、ジネミシン、ジネミシンA、クロドロネート、エスペラミシン、ネオカルジノスタチンクロモフォア、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アンチマイシン、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、カルニノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルブシン、6-ジアゾ-5-オキソ-L-ノルロイシン、ドキシソルビシン、モルホリノ-ドキシソルビシン、シアノモルホリノ-ドキシソルビシン、2-ピロリノ-ドキシソルビシン、リボソームドキシソルビシン、デオキシドキシソルビシン、エピルビシン、エソルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシンC、ミコフェノール酸、ノガラマイシン

10

20

30

40

50

、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、ケラマイシン、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、5-フルオロウラシル、デノブテリン、メトトレキサート、フテロブテリン、トリメトトレキサート、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、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、フロキシウリジン、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、アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン、フォルリン酸、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、エダトレキサート、デフォファミン、デメコルシン、ジアジコン、エフロルニチン、酢酸エリブチニウム、エトグルシド、硝酸ガリウム、ヒドロキシ尿素、レンチナン、ロニダイニン、メイタンシン、アンサミトシン、ミトグアゾン、ミトキサントロン、モビダンモール、ニトラリン、ペントスタチン、フェナメット、ピラルビシン、ロソキサントロン、2-エチルヒドラジド、プロカルバジン、ポリサッカリド-k、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、トリアジコン、2,2',2''-トリクロロトリエチルアミン、T-2毒素、ベラキュリン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、ミトブロニトール、ミトラクトール、ピポブロマン、ガシトシン、アラビノシド、シクロホスファミド、チオテパ、パクリタキセル、パクリタキセルのアルブミン改変ナノ粒子製剤、ドセタキセル、クロランブシル、ゲムシタビン、6-チオグアニン、メルカプトプリン、シスプラチン、カルボプラチン、ビンブラスチン、白金、エトポシド、イホスファミド、ミトキサントロン、ビンクリスチン、ビノレルビン、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、アミノブテリン、ゼローダ、イバンドロネート、CPT-11、トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000、ジフルオロメチルオルニチン、レチノイン酸、カペシタビン又は先述のいずれかの薬学的に許容される塩、溶媒和物又は酸、

(b)モノカイン、リンフォカイン、従来からのポリペプチドホルモン、上皮小体ホルモン、チロキシン、リラキシン、プロリラキシン、糖タンパク質ホルモン、卵胞刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、黄体形成ホルモン、肝細胞増殖因子、線維芽細胞増殖因子、プロラクチン、胎盤性ラクトゲン、腫瘍壊死因子- α 、腫瘍壊死因子- β 、ミューラー管阻害物質、マウスゴナドトロピン関連ペプチド、インヒビン、アクチビン、血管内皮増殖因子、トロンプオエチン、エリスロポエチン、骨誘導因子、インターフェロン、インターフェロン- α 、インターフェロン- β 、インターフェロン- γ 、コロニー刺激因子(「CSF」)、マクロファージ-CSF、顆粒球-マクロファージ-CSF、顆粒球-CSF、インターロイキン(「IL」)、IL-1、IL-1 α 、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、腫瘍壊死因子、TNF- α 、TNF- β 、ポリペプチド因子、LIF、kitリガンド又は先述のいずれかの組合せ、

(c)ジフテリア毒素、ボツリヌス毒素、破傷風毒素、赤痢毒素、コレラ毒素、アマニチン、アマニチン誘導体、 α -アマニチン、ピロロベンゾジアゼピン、ピロロベンゾジアゼピン誘導体、テトロドトキシン、ブレベトキシン、シガトキシン、リシン、AM毒素、オーリスタチン、チューブリシン、ゲルダナマイシン、メイタンシノイド、カリケアミシン、ダウノマイシン、ドキシソルビシン、メトトレキサート、ビンデシン、SG2285、ドラスタチン、ドラスタチン類似体、クリプトフィシン、カンプトテシン、カンプトテシン誘導体及び代謝産物、リゾキシン、リゾキシン誘導体、CC-1065、CC-1065類似体若しくは誘導体、デュオカルマイシン、エンジイン抗生物質、エスペラミシン、エポチロン、アゾナフィド、アブリジン、トキシイド又は先述のいずれかの組合せ、

(d)親和性リガンドであって、基質、阻害剤、刺激剤、神経伝達物質、放射性同位体又は先述のいずれかの組合せである、親和性リガンド、

(e)放射性標識、 ^{32}P 、 ^{35}S 、蛍光色素、電子密度試薬、酵素、ビオチン、ストレプトアビジン、ジゴキシゲニン、ハプテン、免疫原性タンパク質、標的に相補的な配列を有する核酸分子、又は先述のいずれかの組合せ、

10

20

30

40

50

(f)免疫調節化合物、抗がん剤、抗ウイルス剤、抗細菌剤、抗菌剤及び抗寄生虫剤又は先述のいずれかの組合せ、

(g)タモキシフェン、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、オナプリストン又はトレミフェン、

(h)4(5)-イミダゾール、アミノグルテチミド、酢酸メゲストロール、エキセメスタン、レトロゾール又はアナストロゾール、

(i)フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、ゴセレリン又はトロキサシタビン、

(j)アロマターゼ阻害剤、

(k)タンパク質キナーゼ阻害剤、

(l)脂質キナーゼ阻害剤、

(m)アンチセンスオリゴヌクレオチド、

(n)リボザイム、

(o)ワクチン、並びに

(p)抗血管形成剤

から独立して選択される、実施形態139から223のいずれかに記載の複合体。

[実施形態225]

活性剤が、アマニチン、オーリスタチン、カリケアミシン、カンプトテシン、クリプトフィシン、ダウノマイシン、ドラスタチン、ドキシソルピシン、デュオカルマイシン、エポチロン、エスペラミシン、ゲルダナマイシン、メイタンシノイド、メトトレキサート、モノメチルオーリスタチンE(「MMAE」)、モノメチルオーリスタチンF(「MMAF」)、ピロロベンゾジアゼピン、リゾキシシン、SG2285、チューブリシン、ビンデシン、トキシソイド、又は先述のいずれか1つの誘導体である、実施形態139から224のいずれかに記載の複合体。

[実施形態226]

活性剤が、アマニチン、MMAE若しくはMMAF、又は先述のいずれか1つの誘導体である、実施形態225に記載の複合体。

[実施形態227]

少なくとも1つの活性剤がタルトブリンである、実施形態139から226のいずれかに記載の複合体。

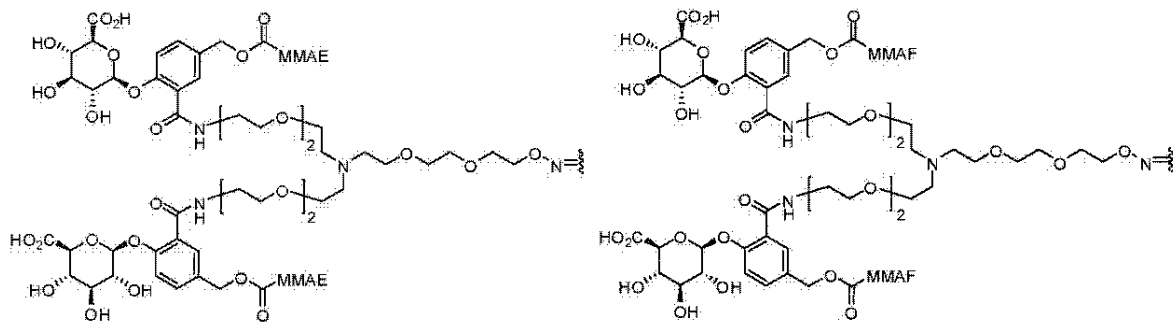
[実施形態228]

少なくとも1つの活性剤がアゾナフィドである、実施形態139から227のいずれかに記載の複合体。

[実施形態229]

複合体が:

[化239]



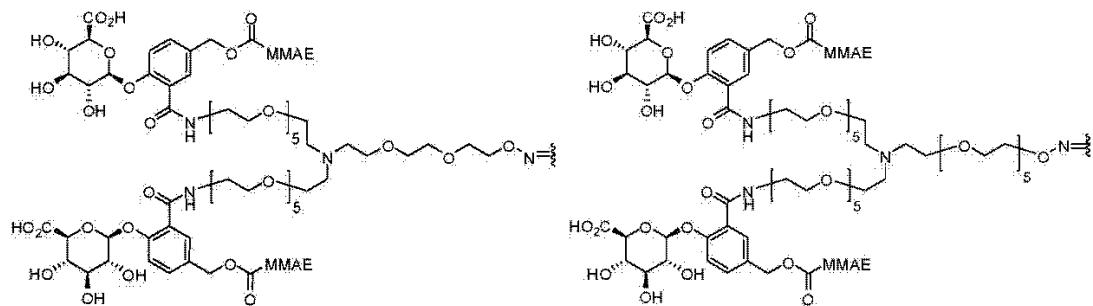
10

20

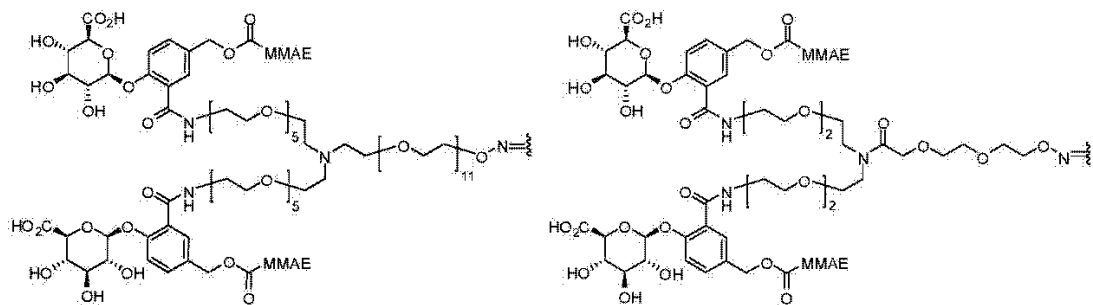
30

40

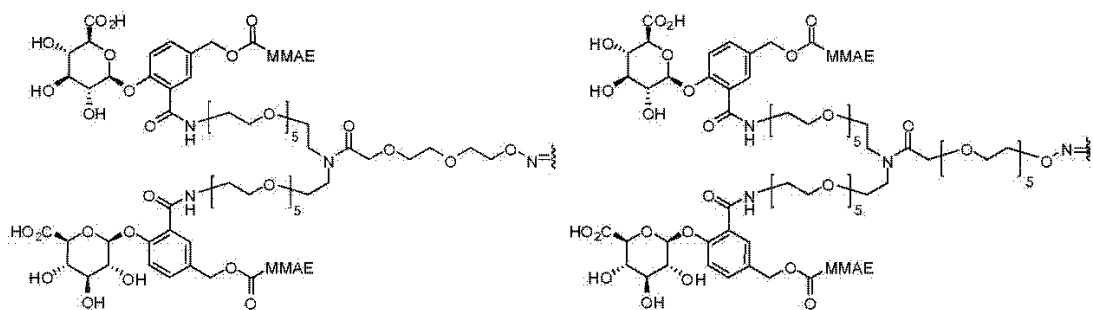
50



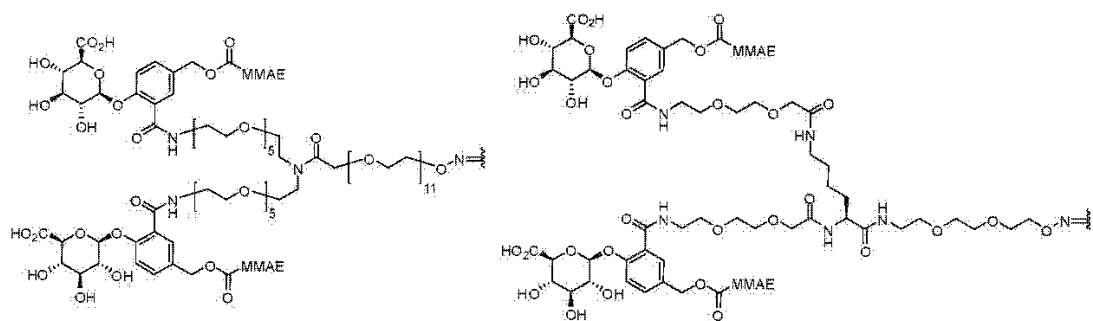
10



20

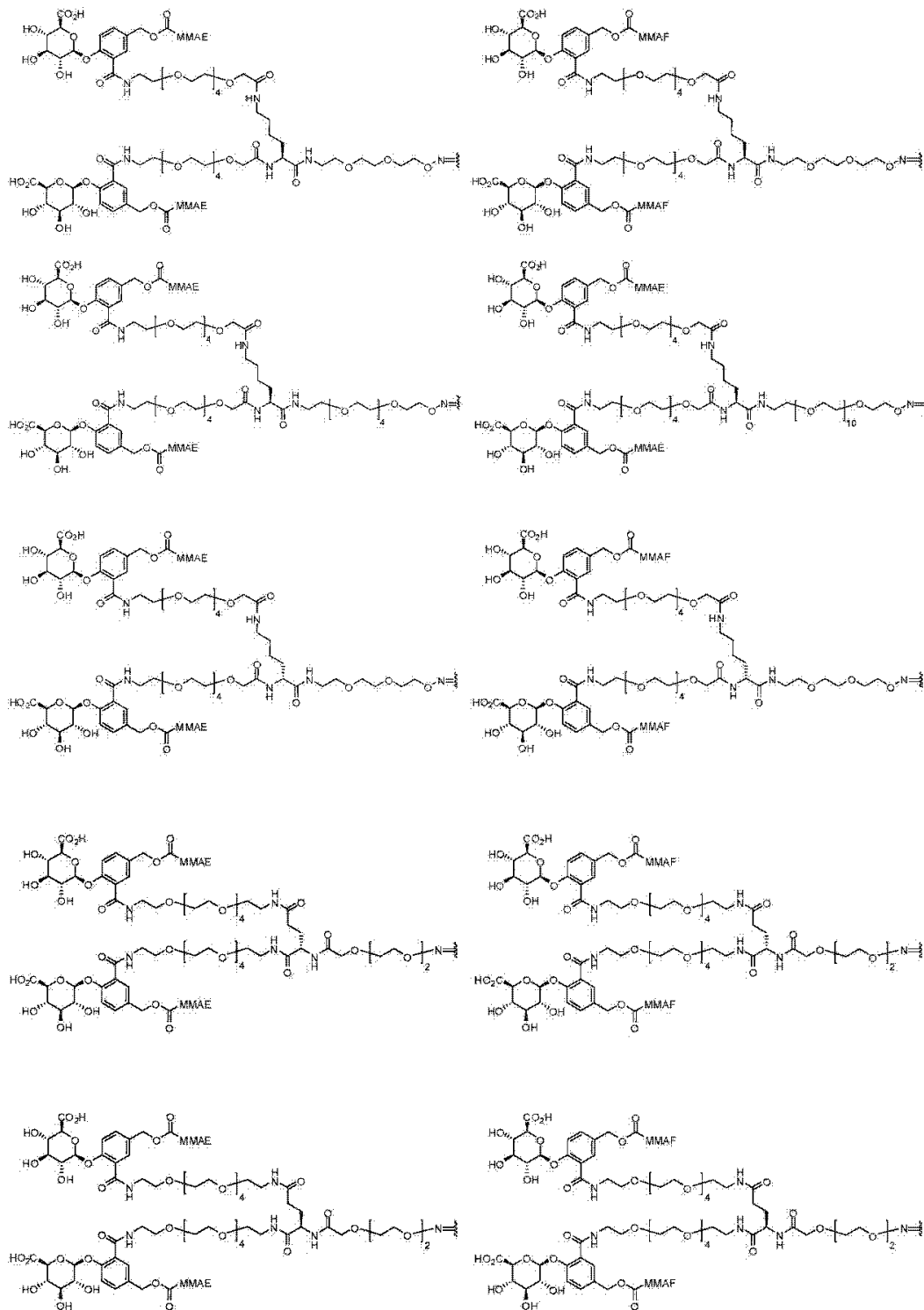


30



40

50



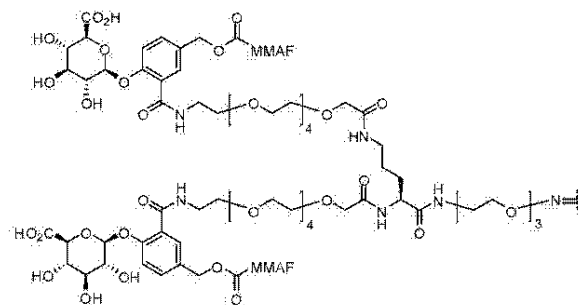
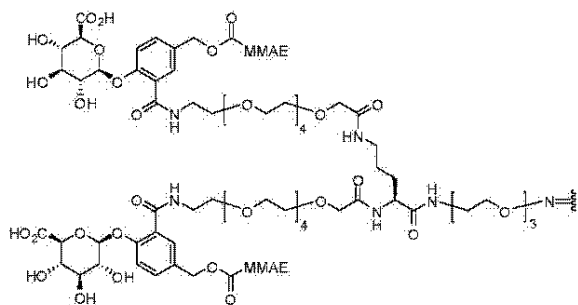
10

20

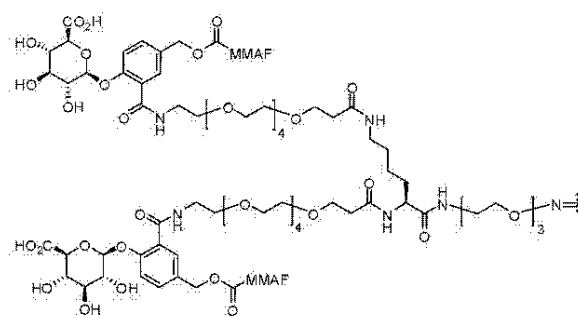
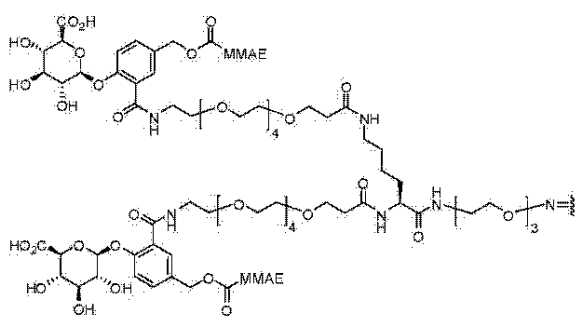
30

40

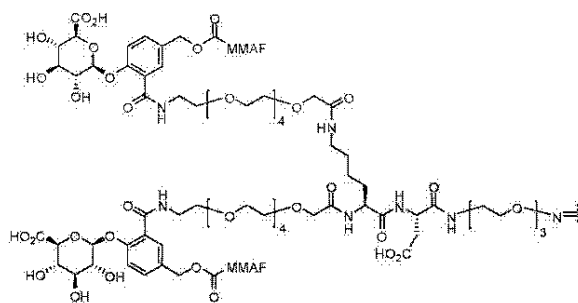
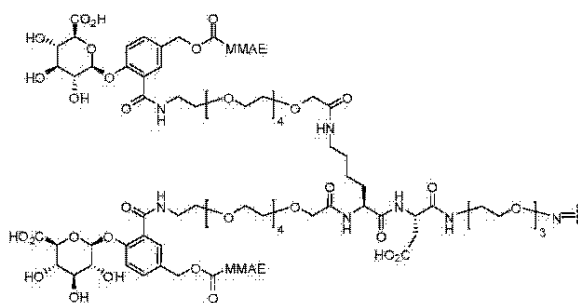
50



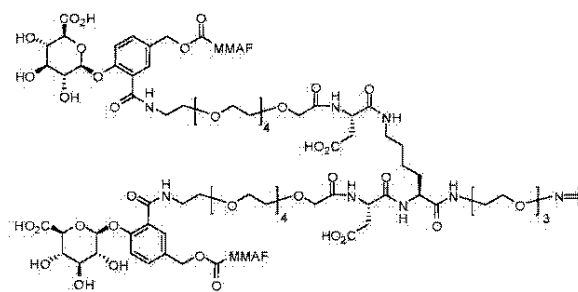
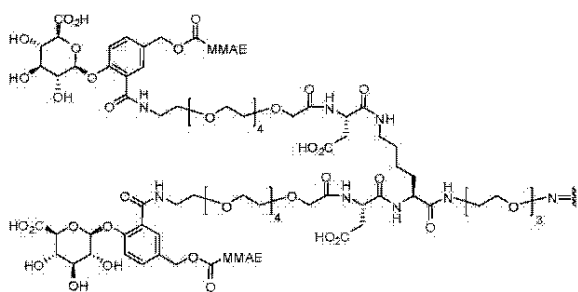
10



20

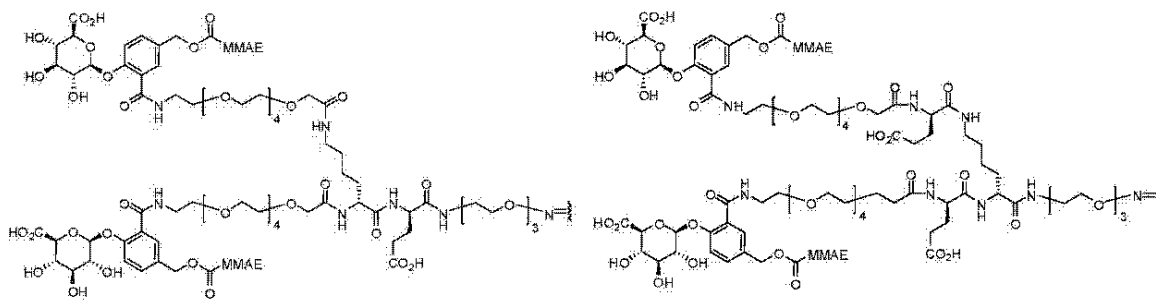


30

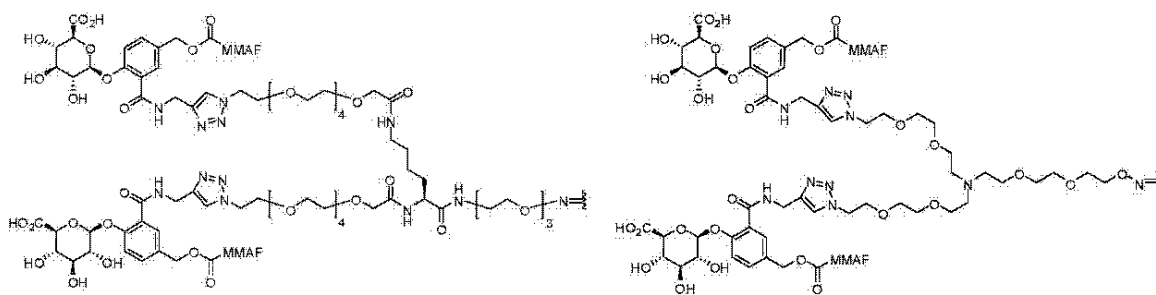


40

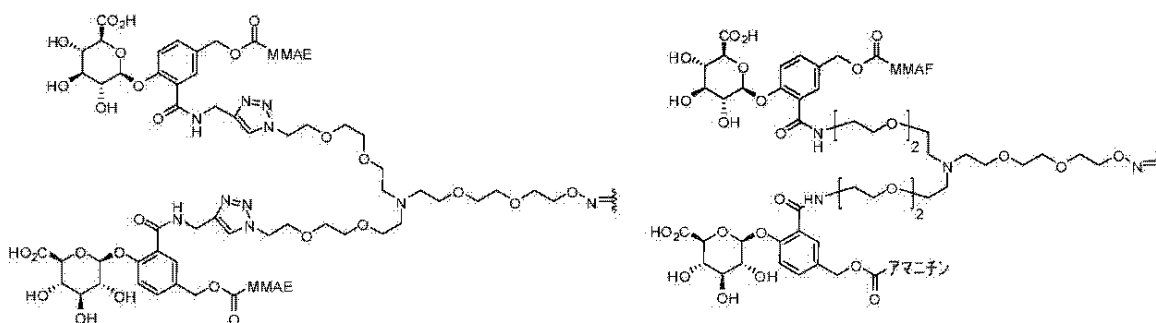
50



10



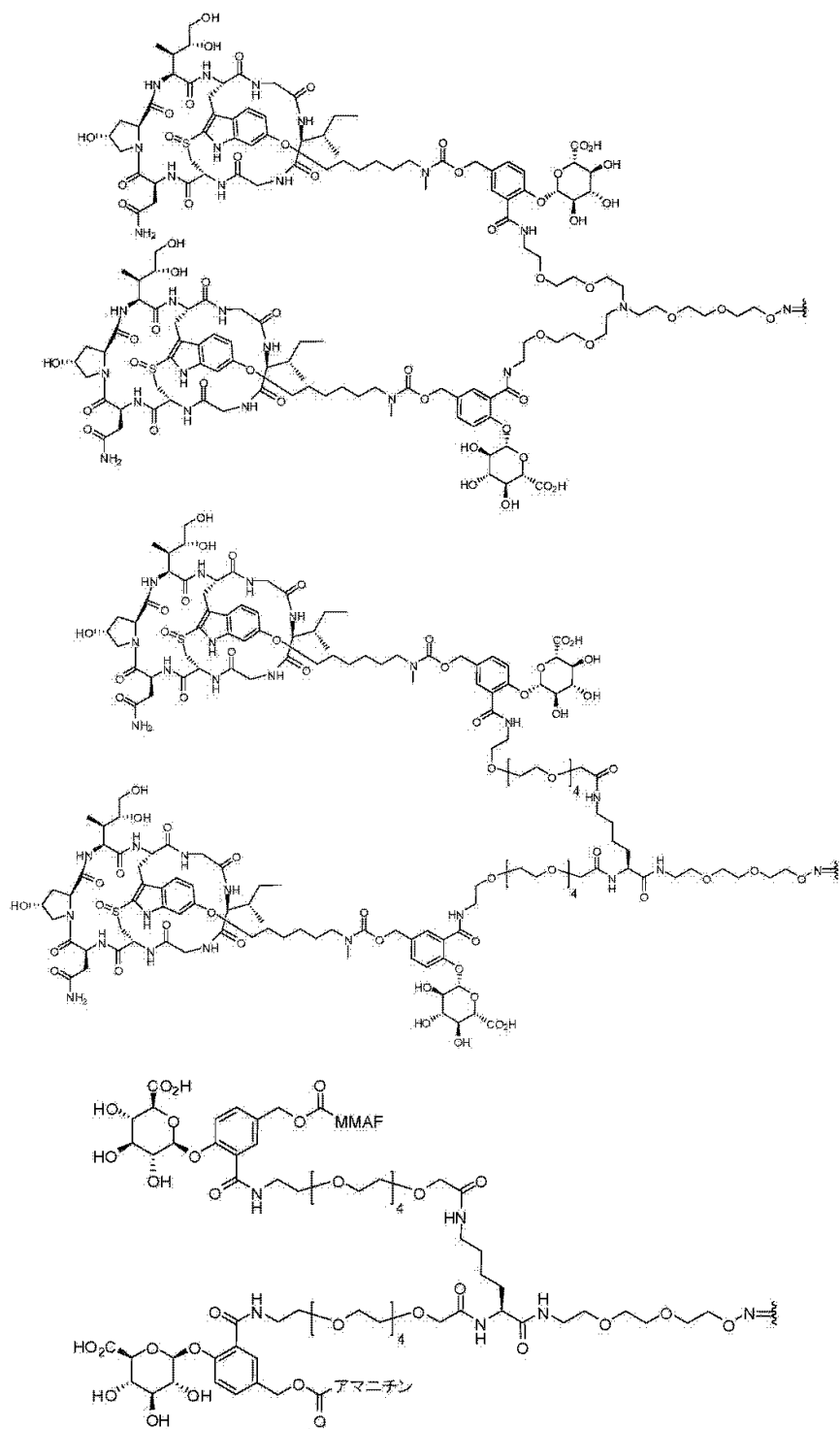
20



30

40

50



10

20

30

40

50



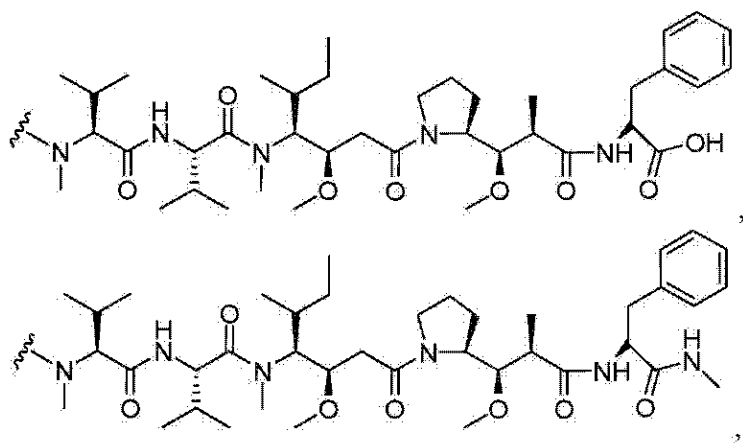


30

活性剤が:

40

【化 2 4 0】



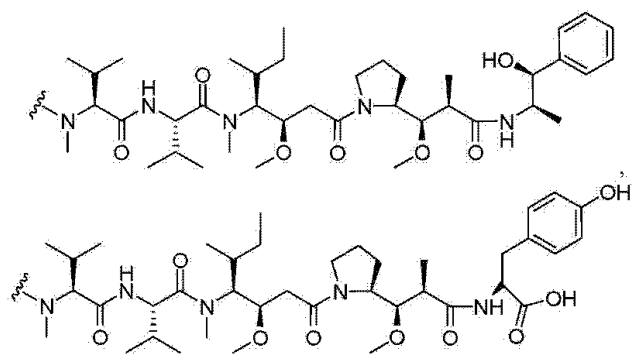
10

20

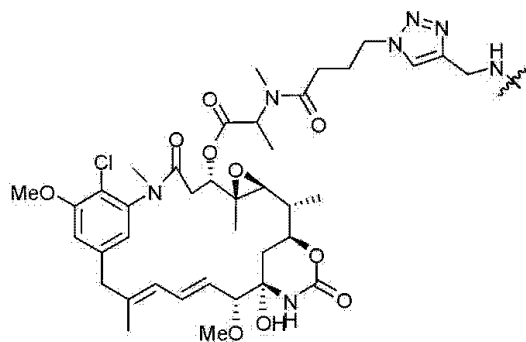
30

40

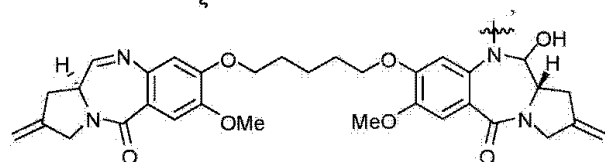
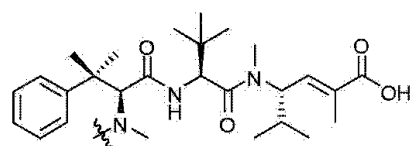
50



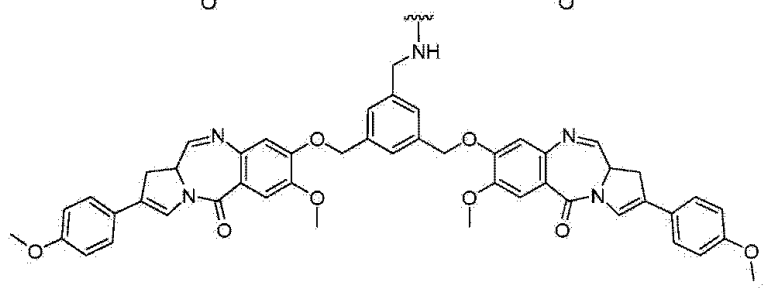
10



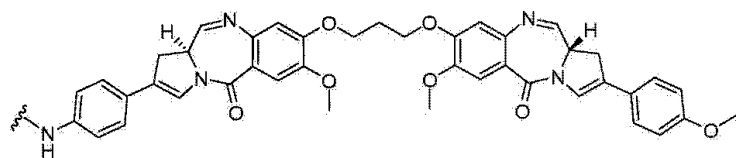
20



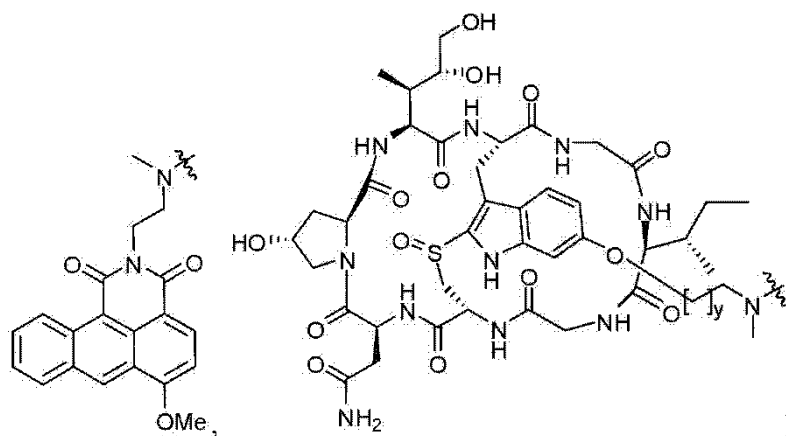
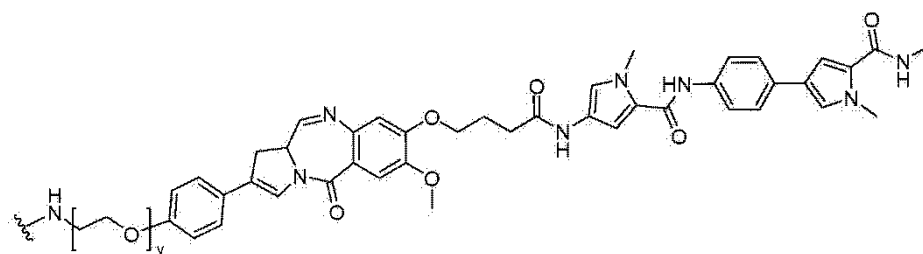
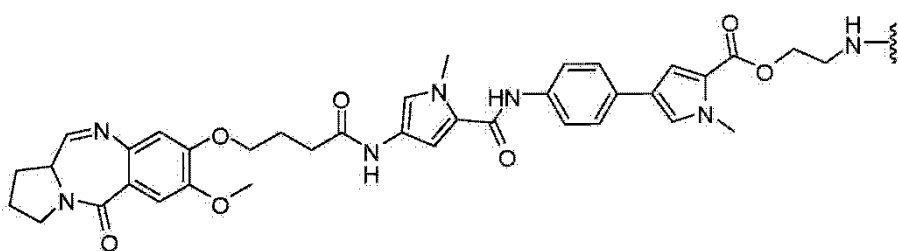
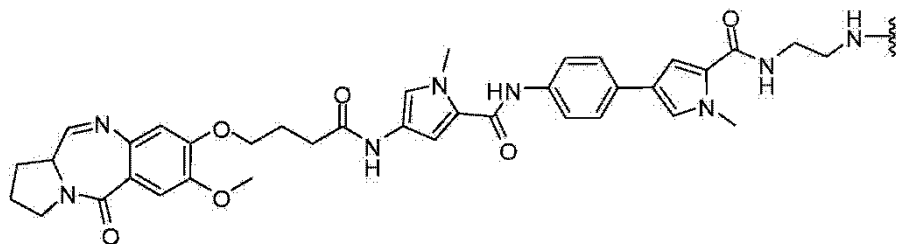
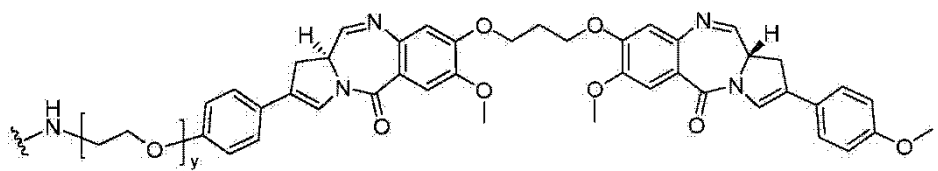
30



40



50



又は

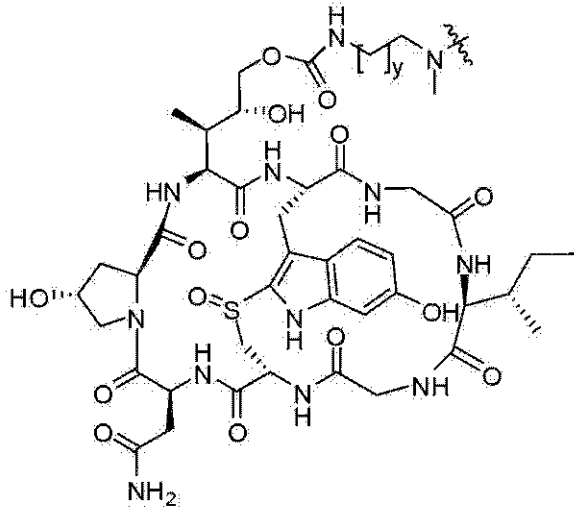
10

20

30

40

50



10

であり、式中、 y が1から10の整数である、実施形態139から224のいずれかに記載の複合体。

〔実施形態231〕

実施形態139からの230のいずれかに記載の複合体を含む医薬組成物。

20

〔実施形態232〕

治療有効量の化学療法剤をさらに含む、実施形態231に記載の医薬組成物。

〔実施形態233〕

実施形態231又は232に記載の医薬組成物を対象に投与するステップを含む、対象におけるがんを処置する方法。

〔実施形態234〕

対象が哺乳動物である、実施形態233に記載の方法。

〔実施形態235〕

対象が、げっ歯類、ウサギ、ネコ、イヌ、ブタ、ヒツジ、ウシ、ウマ及び霊長類から選択される、実施形態234に記載の方法。

30

〔実施形態236〕

対象がヒトである、実施形態235に記載の方法。

〔実施形態237〕

生体分子をプロドラッグと反応させるステップを含み：

生体分子が、リガンド、及びケトン又はアルデヒドを含み、

プロドラッグがアルコキシアミンを含み、

反応により、オキシムが生成され、それにより、リガンドがプロドラッグに共有結合でつながる、実施形態139から230のいずれかに記載の複合体を作るための方法。

〔実施形態238〕

リガンドが抗体である、実施形態237に記載の方法。

40

〔実施形態239〕

リガンドをイソプレニル化し、それにより生体分子が生成されるステップをさらに含み：

リガンドがイソプレニル化配列を含み、

リガンドをイソプレニル化するステップが、リガンドをイソプレノイド転移酵素及びイソプレノイド転移酵素基質とインキュベートするステップを含み、

基質がケトン又はアルデヒドを含む、実施形態237又は238に記載の方法。

〔実施形態240〕

イソプレノイド転移酵素が、ファルネシル転移酵素又はゲラニルゲラニル転移酵素である、実施形態239に記載の方法。

〔実施形態241〕

50

リガンドをイソプレニル化するステップを含み、

リガンドが、イソプレノイド転移酵素により認識されるアミノ酸モチーフを含み、

リガンドをイソプレニル化するステップが、リガンドをイソプレノイド転移酵素及びイソプレノイド転移酵素基質とインキュベートするステップを含み、

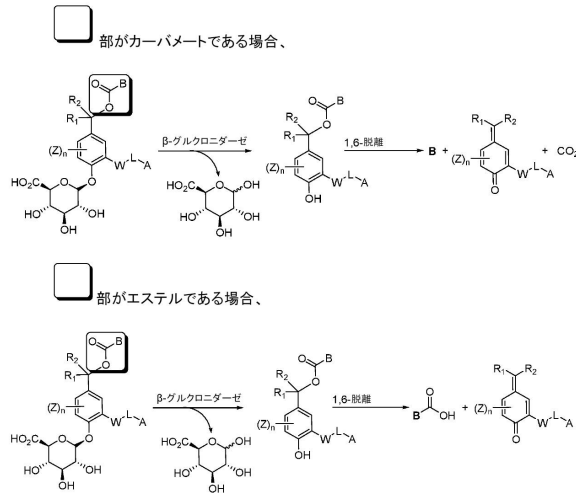
基質が、活性剤を含む、実施形態139から230のいずれかに記載のリガンド-薬物複合体を作るための方法。

【実施形態242】

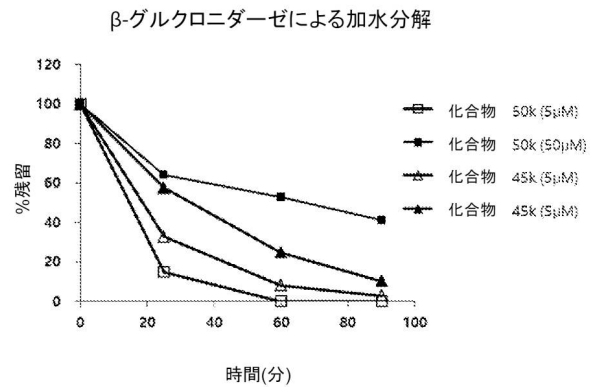
リガンドが抗体である、実施形態241に記載の方法。

【図面】

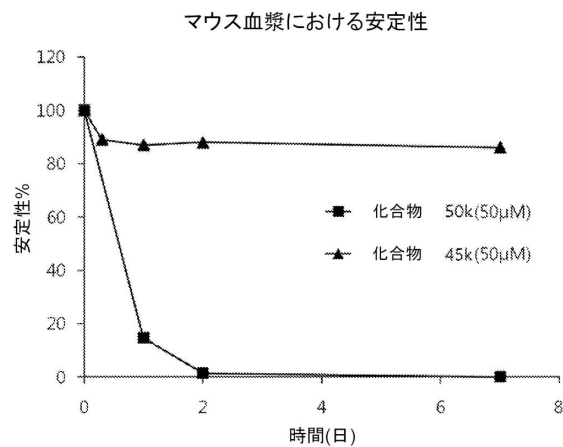
【図1】



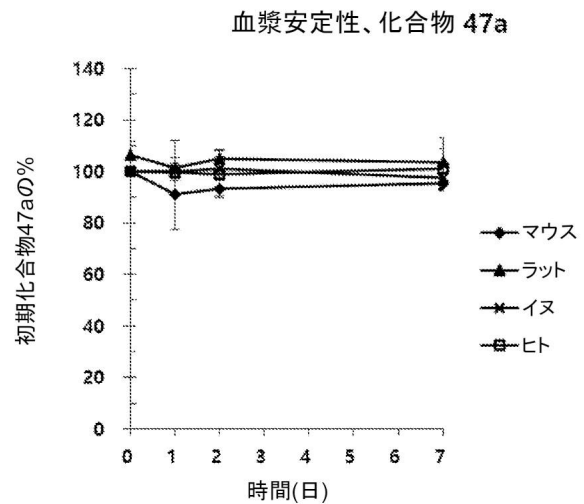
【図2】



【図3】



【図4】



10

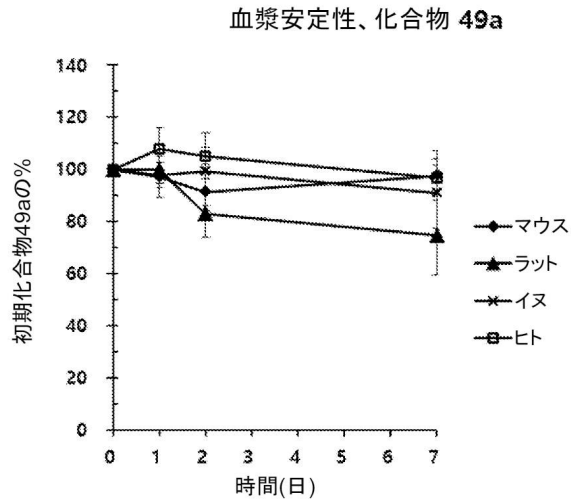
20

30

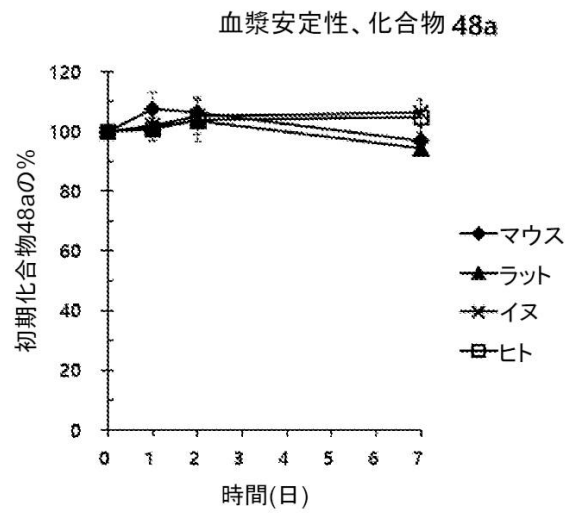
40

50

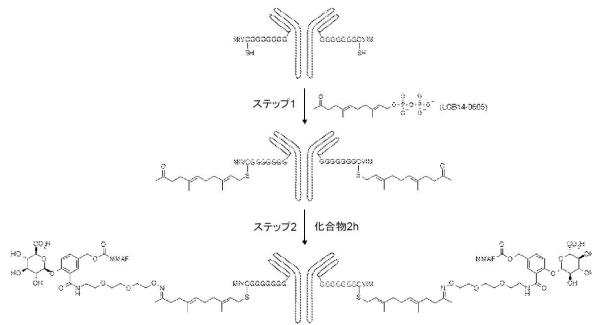
【図 5】



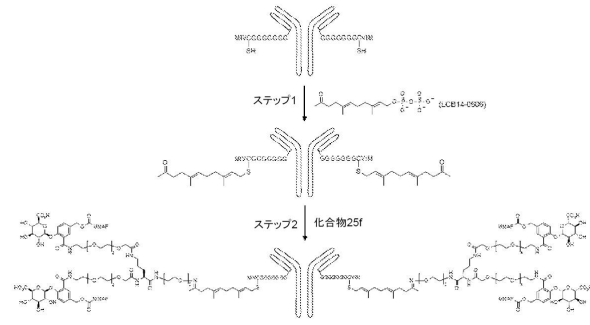
【図 6】



【図 7 A】



【図 7 B】



10

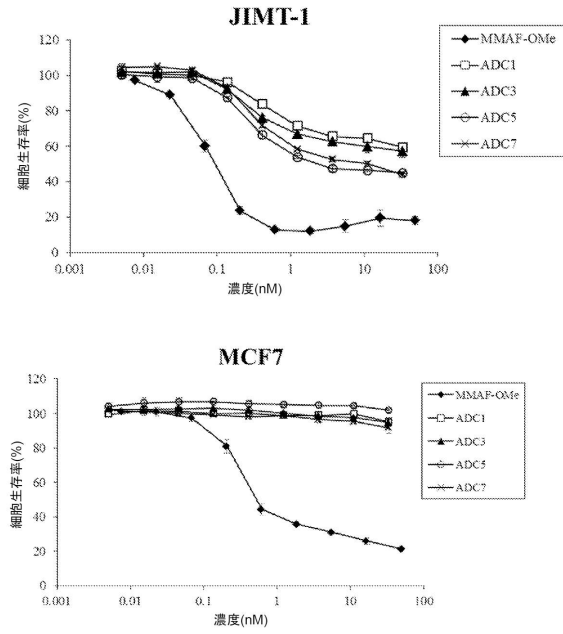
20

30

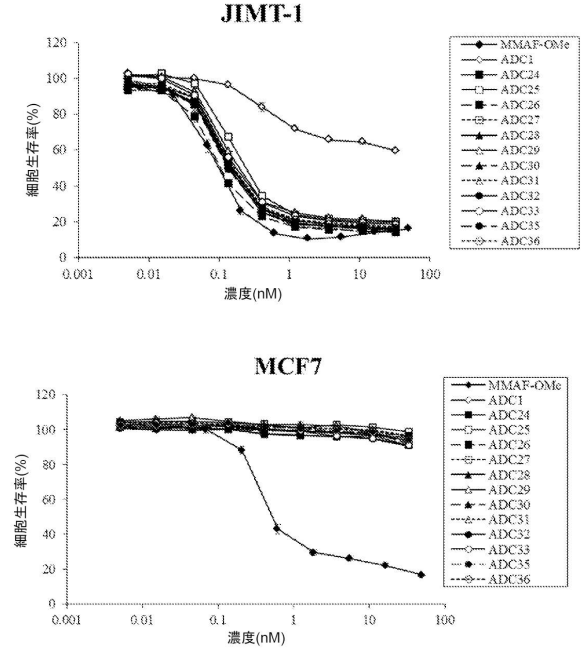
40

50

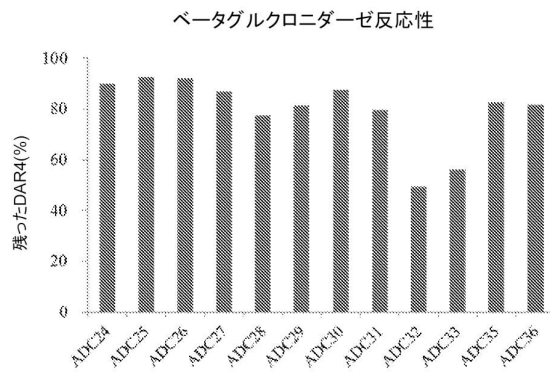
【図 8】



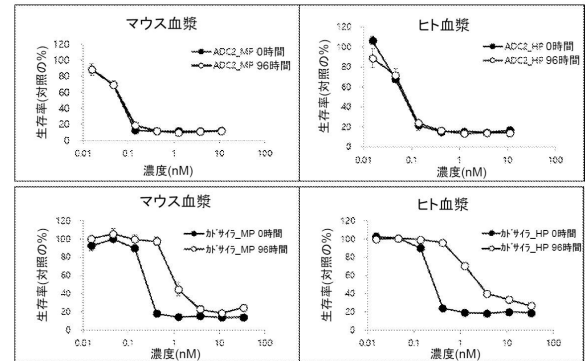
【図 9】



【図 10】



【図 11】



10

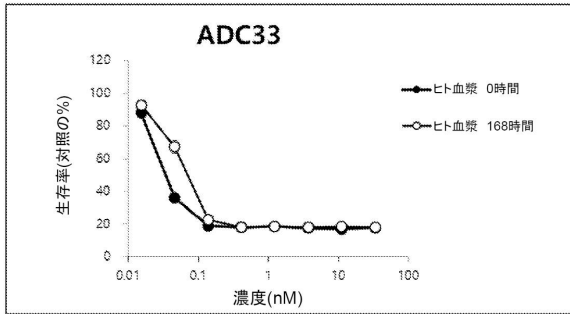
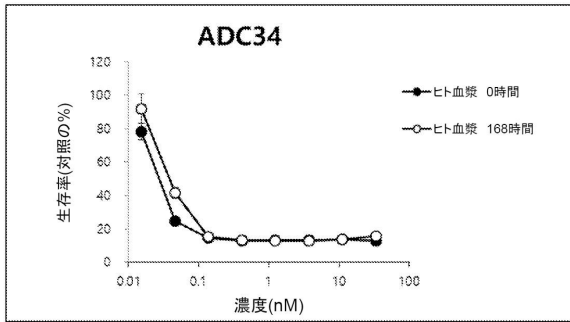
20

30

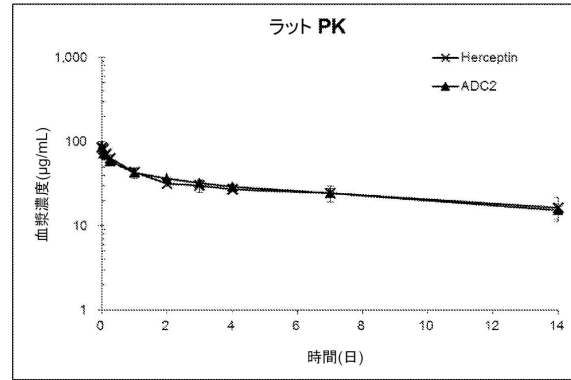
40

50

【図 1 2】

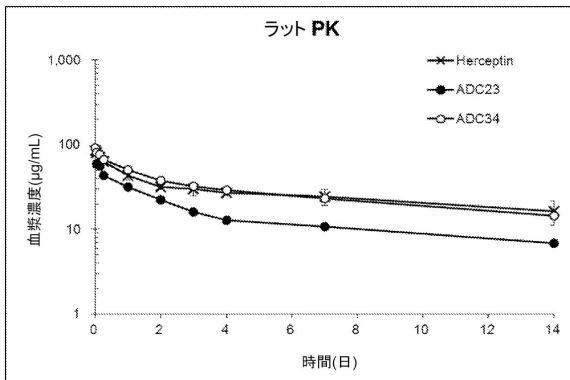


【図 1 3】

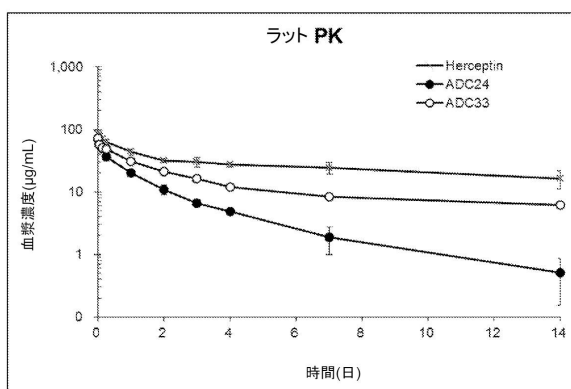


10

【図 1 4】



【図 1 5】



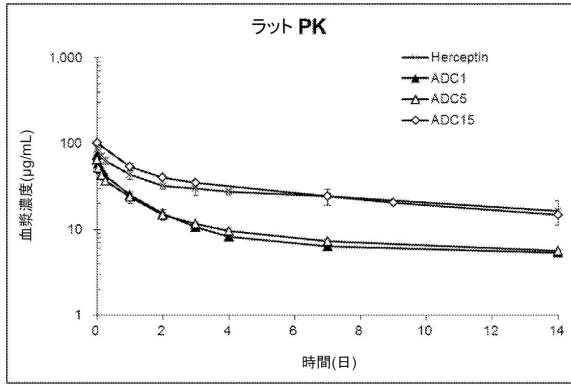
20

30

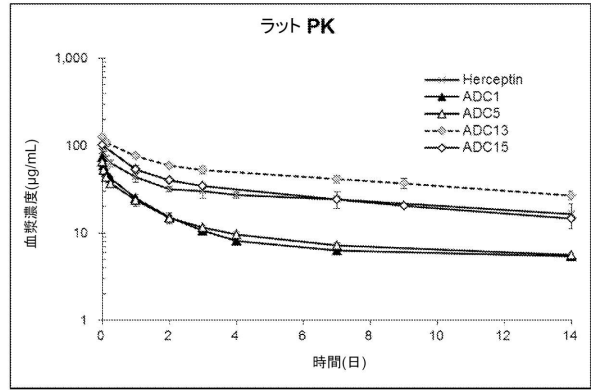
40

50

【図 16】

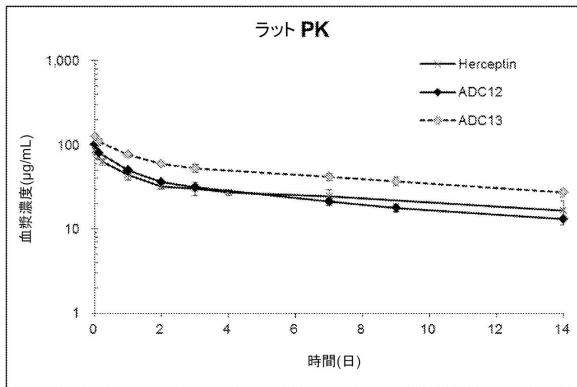


【図 17】

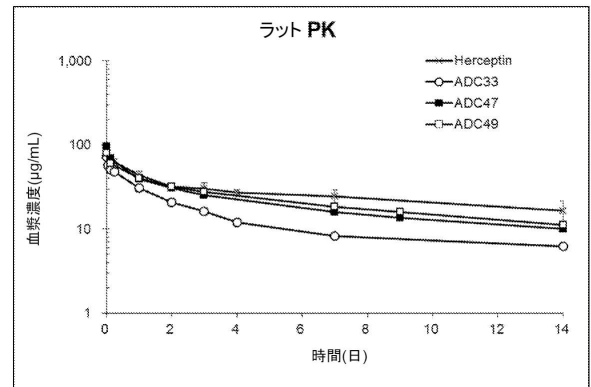


10

【図 18】

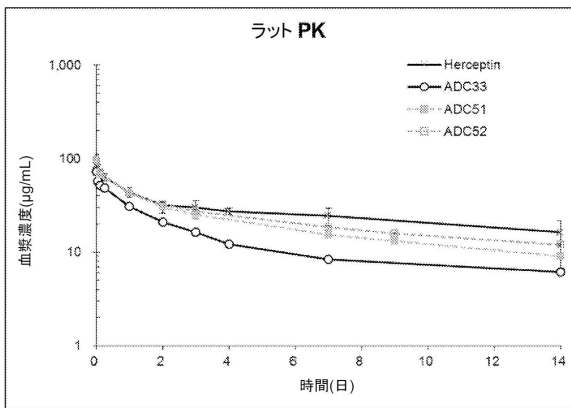


【図 19】

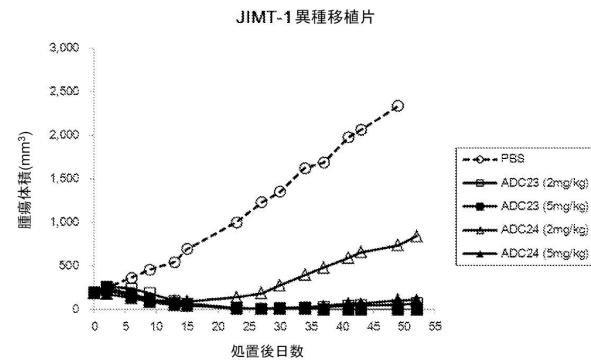


20

【図 20】



【図 21】

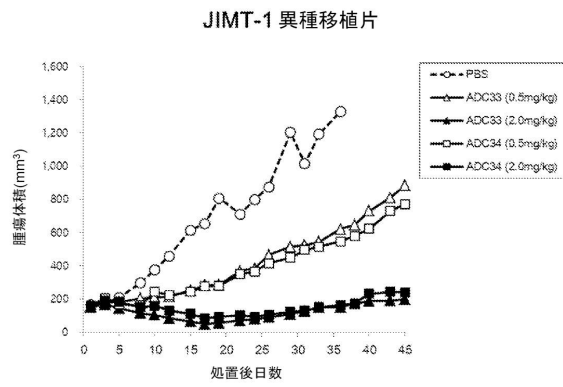


30

40

50

【図 2 2】



10

【配列表】

0007327899000001.app

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	C
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	L
A 6 1 K	47/62 (2017.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/62	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 K	47/68	
C 0 7 K	16/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
C 0 7 K	5/10 (2006.01)	C 0 7 K	16/00	
		C 0 7 K	5/10	

米国(US)

- (72)発明者 オ, ヨン ソ
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 チェ, チェウク
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 ソン, ホ ヨン
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 チュン, チュルーウォン
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 バク, ユン ヒ
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 チェ, ヒョ チュン
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 バク, キョン ウン
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 キム, ヒョングレ
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 キム, ジンヨン
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 ミン, チ ヨン
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 キム, ソン ミン
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 リ, ビョン ソ
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 ウ, ドン ヒョン
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 チョン, チ ウン
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6
- (72)発明者 リ, ス イン
大韓民国 3 4 3 0 2, テジョン, テドクグ ムンピョンセオーロ 8-2 6

合議体

審判長 原田 隆興

審判官 吉田 佳代子

審判官 淵野 留香

(56)参考文献 特表2014-519492 (JP, A)

特許第7120765 (JP, B2)

Angewante Communications、2015年8月、Vol. 54、p
. 12020-12024

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A61K47/00-47/69

C a p l u s / R E G I S T R Y (S T N)