

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2024-520283

(P2024-520283A)

(43)公表日 令和6年5月24日(2024.5.24)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード(参考)	
C 0 7 K	1/113(2006.01)	C 0 7 K	1/113	Z N A	4 C 0 7 6
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		4 C 0 8 4
A 6 1 K	47/68 (2017.01)	A 6 1 K	47/68		4 C 0 8 5
A 6 1 K	39/395(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	4 H 0 4 5
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	L	
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全120頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2023-567997(P2023-567997)	(71)出願人	517273308
(86)(22)出願日	令和4年5月23日(2022.5.23)		シチュアン ケルン - バイオテック バイ
(85)翻訳文提出日	令和5年11月2日(2023.11.2)		オフファーマシューティカル カンパニー
(86)国際出願番号	PCT/CN2022/094540		リミテッド
(87)国際公開番号	WO2022/253033		中華人民共和国, シチュアン 6 1 1 1
(87)国際公開日	令和4年12月8日(2022.12.8)		3 8 , チェンドウ, ウェンジャン デ
(31)優先権主張番号	202110615166.4		イストリクト, ハイ シャ インダスト
(32)優先日	令和3年6月2日(2021.6.2)		リアル パーク, シンフワ アヴェニュー
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)		(セクション 2), ナンバー 6 6 6
(31)優先権主張番号	202111225483.1	(74)代理人	100107456
(32)優先日	令和3年10月21日(2021.10.21)		弁理士 池田 成人
(33)優先権主張国・地域又は機関	中国(CN)	(74)代理人	100162352
			弁理士 酒巻 順一郎
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	100123995
	最終頁に続く		弁理士 野田 雅一
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 化学的カップリングリンカー及びその使用

(57)【要約】

本発明は、化学的カップリングリンカー及びその使用、並びに化学的カップリングリンカーにより調製された生物活性コンジュゲートに関する。本発明は、腫瘍疾患の予防又は処置のための薬物の調製における生物活性コンジュゲートの使用にも関する。

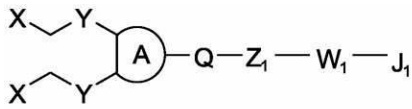
【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I :

【化 1】



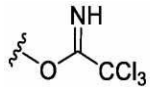
式 I

(式中、

Xは、Cl、Br、I、OMs、OTs、OTf又は

10

【化 2】



などの脱離基であり；

Yは存在しないか、又はカルボニルであり；

環 A は、置換若しくは非置換 C₆ ~ 10 芳香族環、5 員 ~ 12 員ヘテロ芳香族環又は 5 員 ~ 12 員複素環式環からなる群から選択されており；

Qは存在しないか、又は - C (O) - NH - であり；

Z₁は存在しないか、又は - CH₂ - 若しくは C₂ ~ 6 アルキレンからなる群から選択されており；

20

W₁は存在しないか、又は C₁ ~ 10 アルキレン、- (CH₂CH₂O)_p -、及び - (OCH₂CH₂)_p - からなる群から選択された 1 種若しくは複数種であり；J₁は、- COOH、- NH₂、3 員 ~ 10 員窒素含有複素環式基、スルホニル尿素基又はヒドロキシルからなる群から選択されており；

p は、1 ~ 10 の整数である)

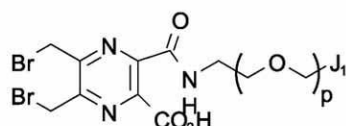
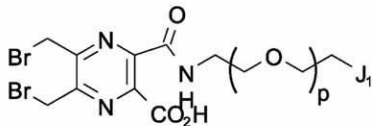
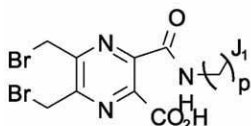
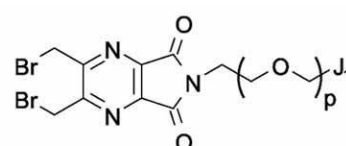
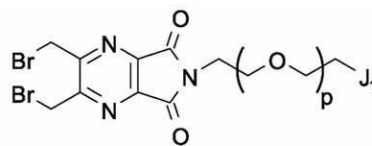
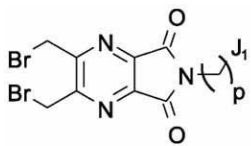
の構造を有する化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒和物、N - オキシド若しくは同位体標識化合物。

【請求項 2】

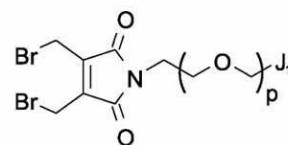
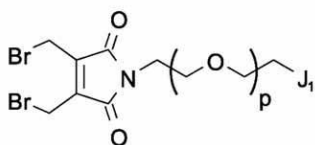
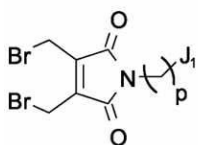
以下：

30

【化 3】



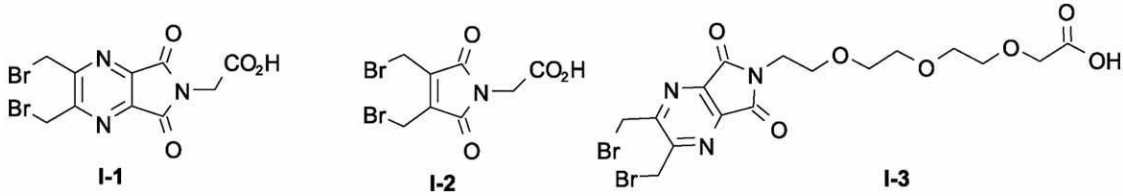
40

(式中、p は、1 ~ 10 の整数であり、J₁は、- COOH 又は - NH₂ である) から選択された構造を有する；

好ましくは、

50

【化 4】



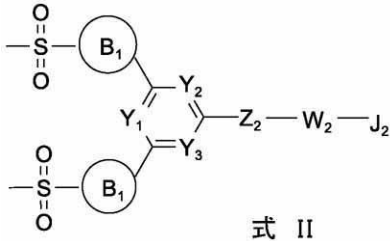
から選択された構造を有する、請求項 1 に記載の式 I の化合物。

【請求項 3】

式 I I :

10

【化 5】



(式中、 B_1 はそれぞれの出現において、単結合又は 5 員 ~ 12 員窒素含有ヘテロ芳香族環からなる群から独立的に選択されており；

Y_1 、 Y_2 及び Y_3 はそれぞれの出現において、C H 及び N からなる群からそれぞれ独立的に選択されており；

Z_2 は存在しないか、又は -NH-、-CH₂-、カルボニル、-C(=O)NH-、-NHC(=O)- 若しくは C₂ ~ 6 アルキニレンからなる群から選択されており；

W_2 は存在しないか、又は C₁ ~ 10 アルキレン、-(CH₂CH₂O)_p- 若しくは -(OCH₂CH₂)_p- からなる群から選択された 1 種若しくは複数種であり；

J_2 は、-COOH、-NH₂、3 員 ~ 10 員窒素含有複素環式基、スルホニル尿素基又はヒドロキシルからなる群から選択されており；

p は、1 ~ 10 の整数である)

30

の構造を有する化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒和物、N-オキシド若しくは同位体標識化合物。

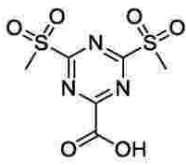
【請求項 4】

以下：

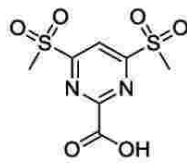
40

50

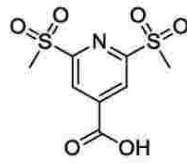
【化 6】



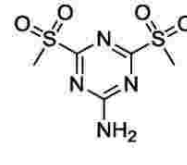
II-1



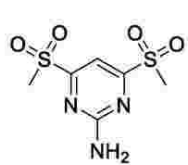
II-2



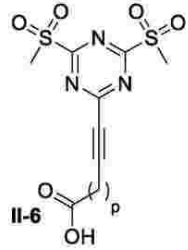
II-3



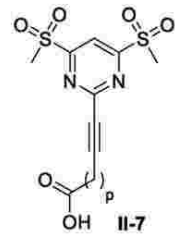
II-4



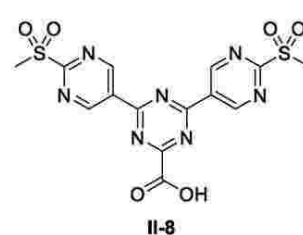
II-5



II-6



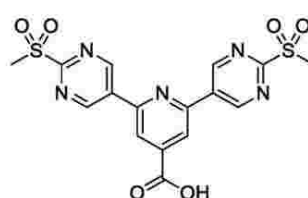
II-7



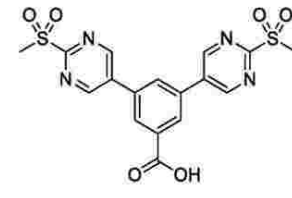
II-8



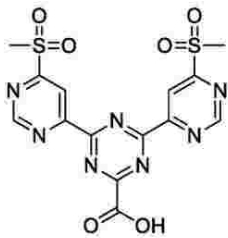
II-9



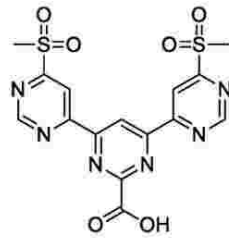
II-10



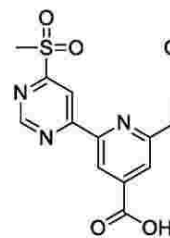
II-11



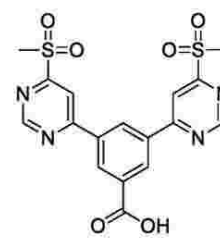
II-12



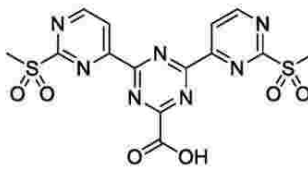
II-13



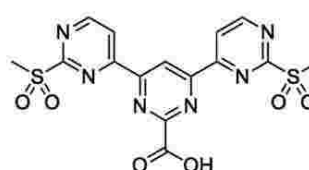
II-14



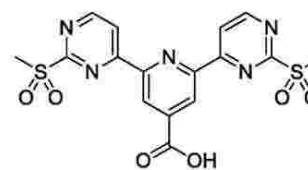
II-15



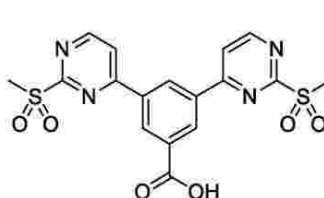
II-16



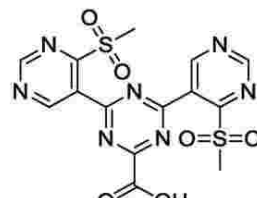
II-17



II-18



II-19



II-20



II-21

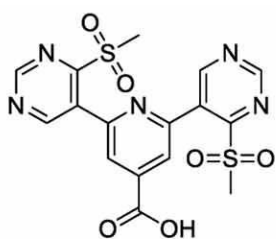
10

20

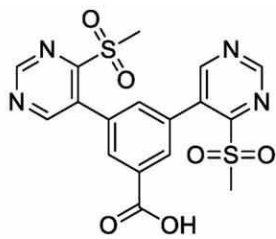
30

40

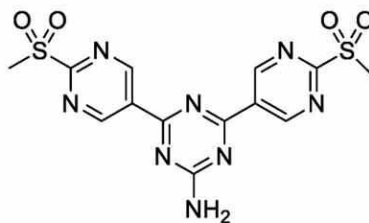
50



II-22

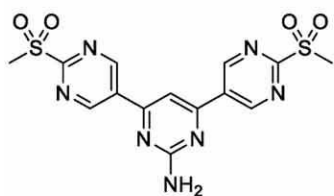


II-23

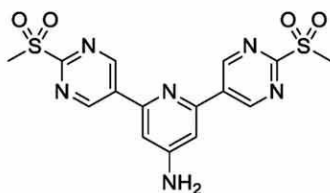


II-24

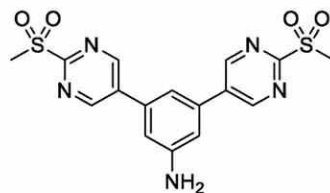
10



II-25

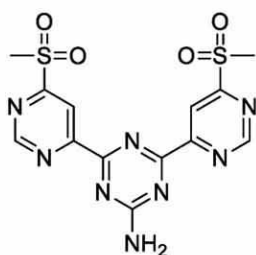


II-26

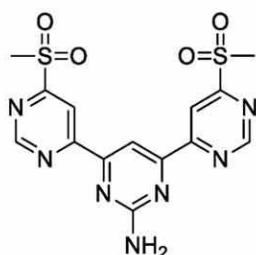


II-27

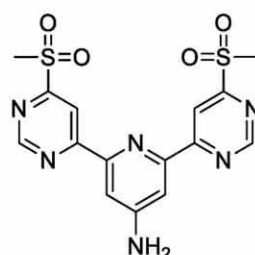
20



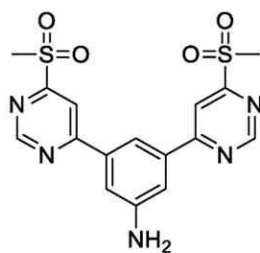
II-28



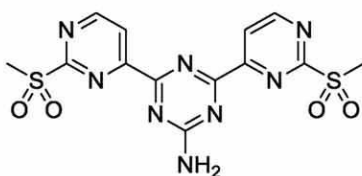
II-29



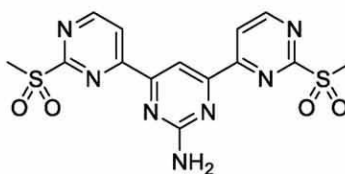
II-30



II-31



II-32

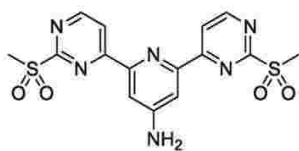


II-33

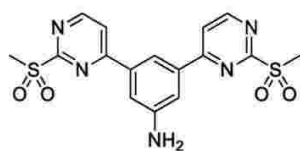
30

40

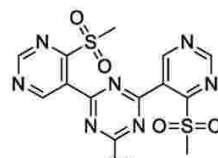
50



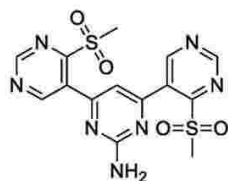
II-34



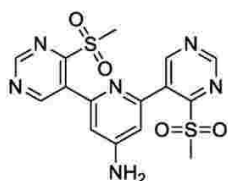
II-35



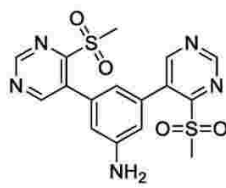
II-36



II-37

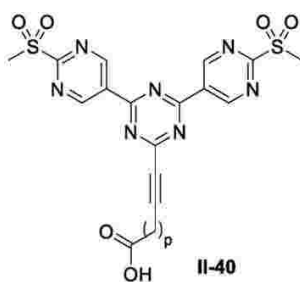


II-38

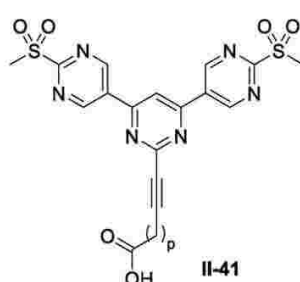


II-39

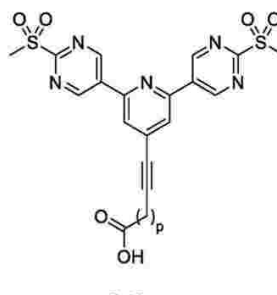
10



II-40

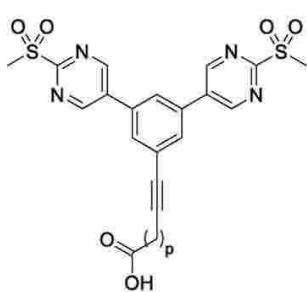


II-41

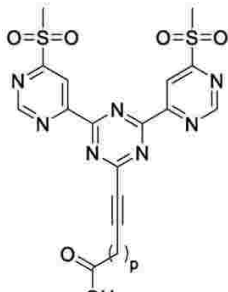


II-42

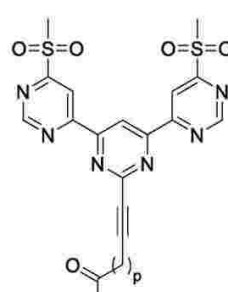
20



II-43

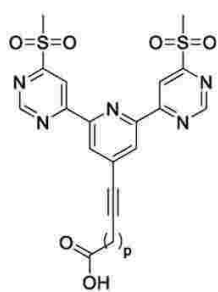


II-44

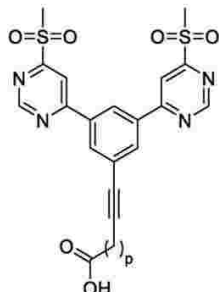


II-45

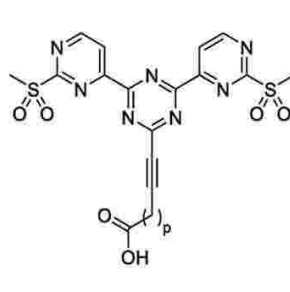
30



II-46



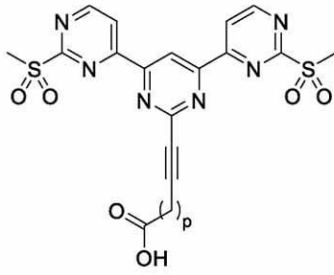
II-47



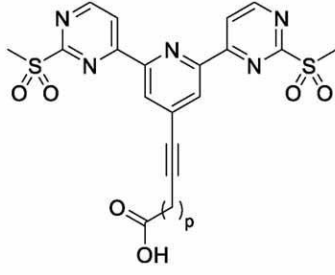
II-48

40

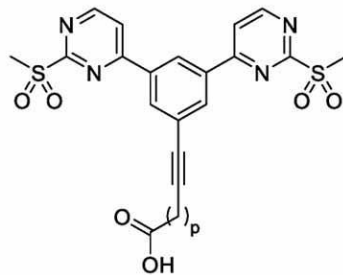
50



II-49

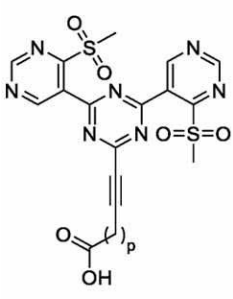


II-50

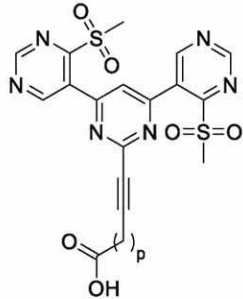


II-51

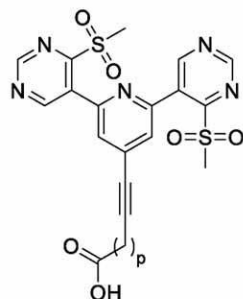
10



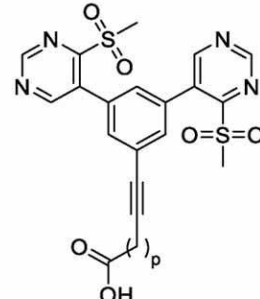
II-52



II-53

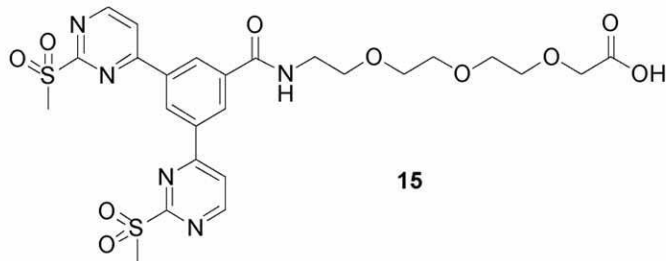


II-54



II-55

20

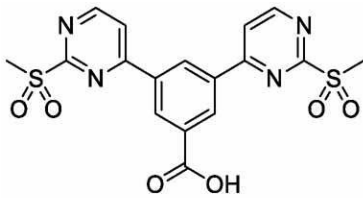


15

(p は、 1 ~ 10 の 整数 である)
 から 選択 され た 構造 を 有 す る ;
 好 ま し く は、 以 下 の 構造 :

30

【 化 7 】



II-19

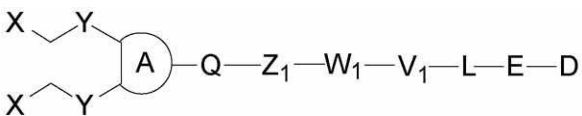
を 有 す る、 請 求 項 3 に 記 載 の 式 I I の 化 合 物。

40

【 請 求 項 5 】

式 V :

【 化 8 】

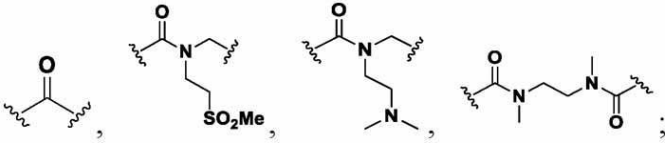


式 V

(式 中、
 E は、 単 結 合、 - N H - C H 2 -、 及 び 以 下 の 構 造 :

50

【化 9】



からなる群から選択されており；

D は、生物活性分子（例えば、細胞毒性薬）の断片であり；

X、Y、A、Q、Z₁、W₁ は、請求項 1 又は 2 に定義された通りであり；

V₁ は、それが L に接続されているとき、請求項 1 又は 2 に記載の式 I の化合物の J₁ から形成された基であり；好ましくは、V₁ は、-CO-、-N(R₁)-、-O-、3 員～10 員窒素含有複素環式基又はスルホニル尿素基からなる群から選択されており、ここで R₁ は、H、C₁～6 アルキル又は C₂～6 アルコキシアルキルであり；さらに好ましくは、V₁ は、-C(O)- 及び -N(R₁)- からなる群から選択されており、ここで R₁ は、H、C₁～6 アルキル又は C₂～6 アルコキシアルキルであり；

L は、V₁ 及び E を接続するリンカーである）

の構造を有する化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒和物、N-オキシド若しくは同位体標識化合物。

【請求項 6】

以下：

10

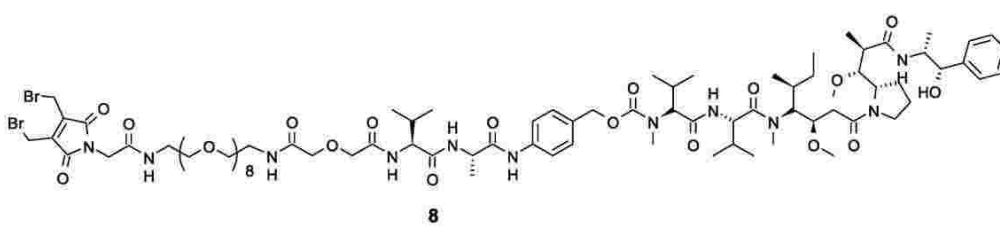
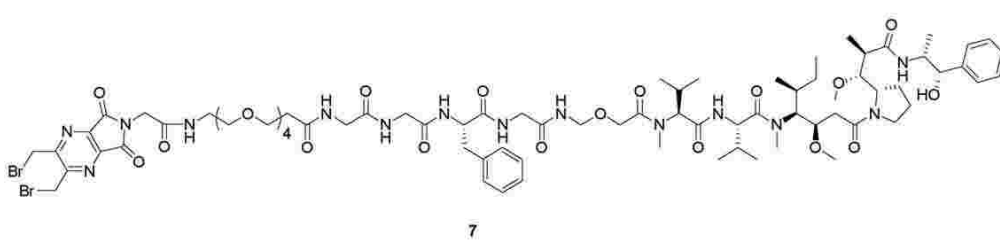
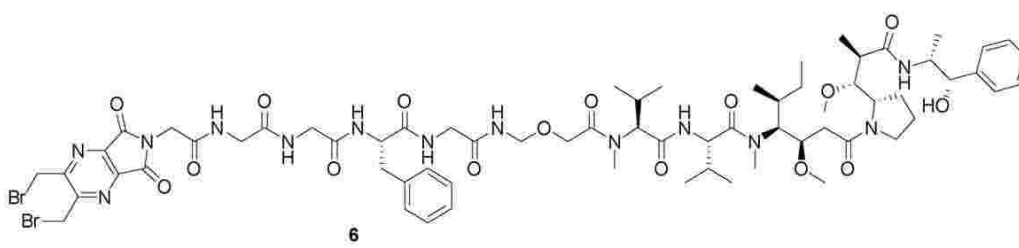
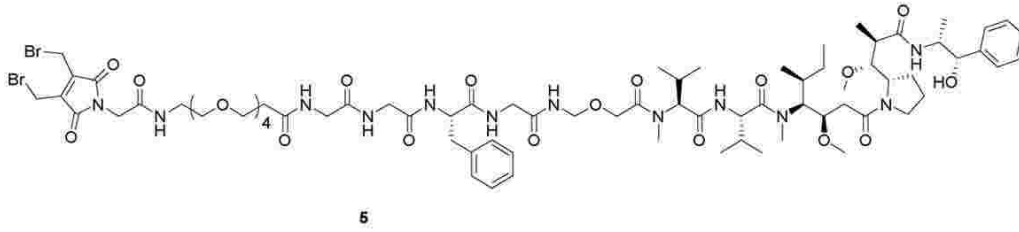
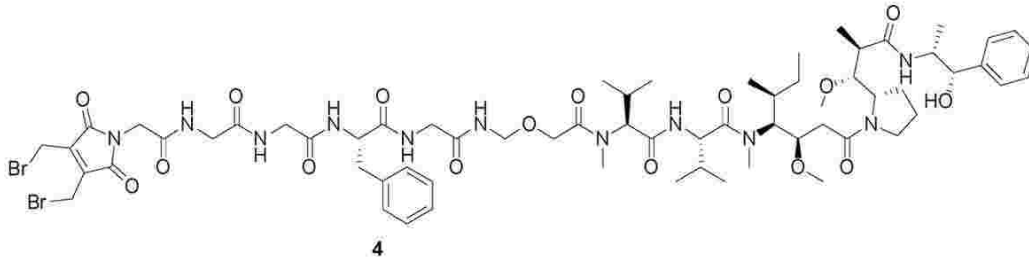
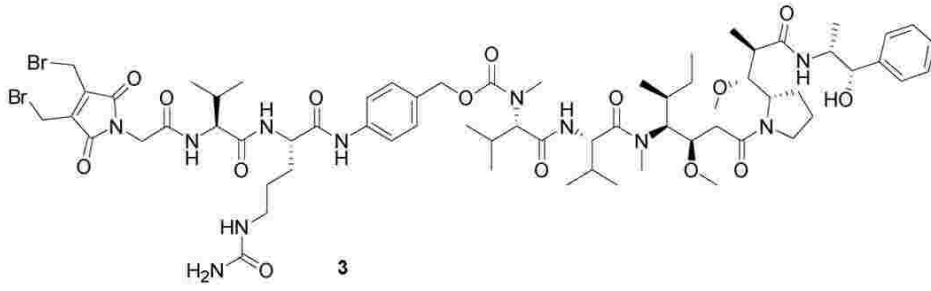
20

30

40

50

【化 1 0】



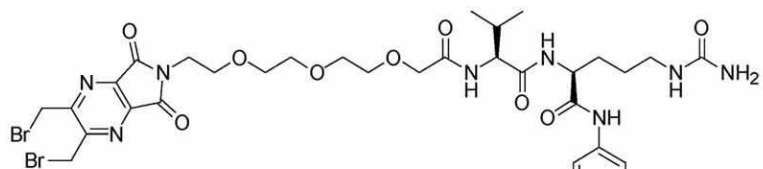
10

20

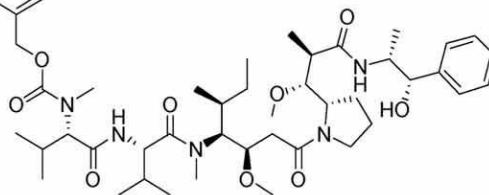
30

40

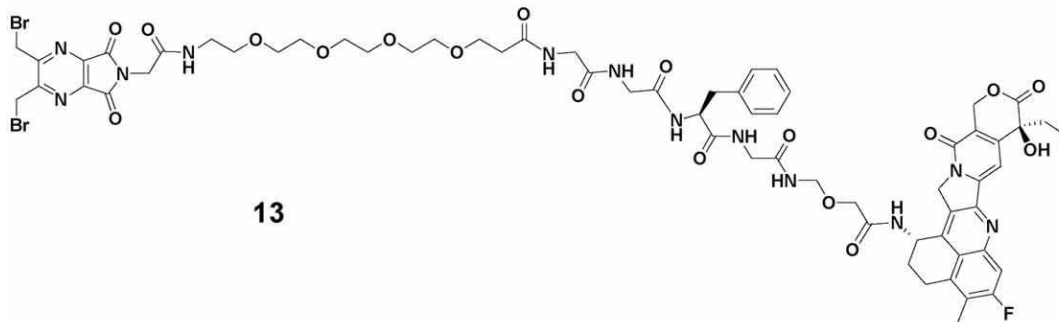
50



10

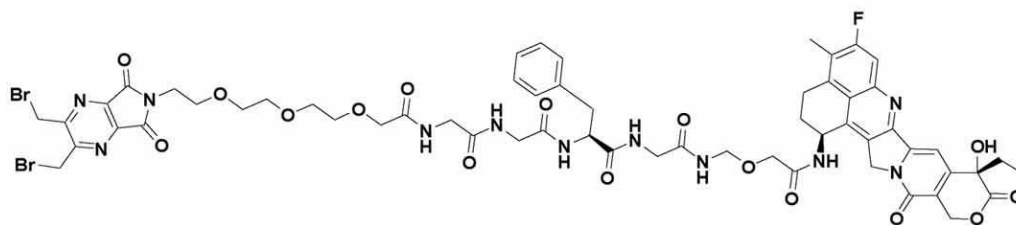


10



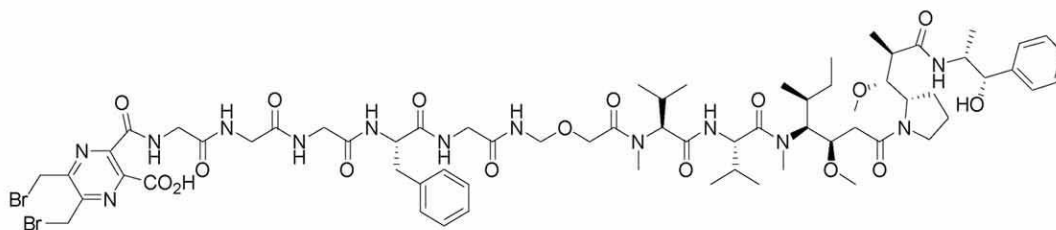
13

20

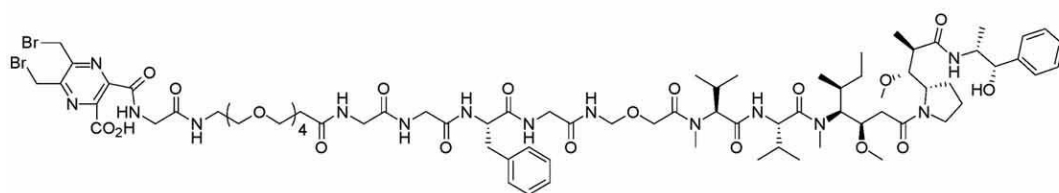


14

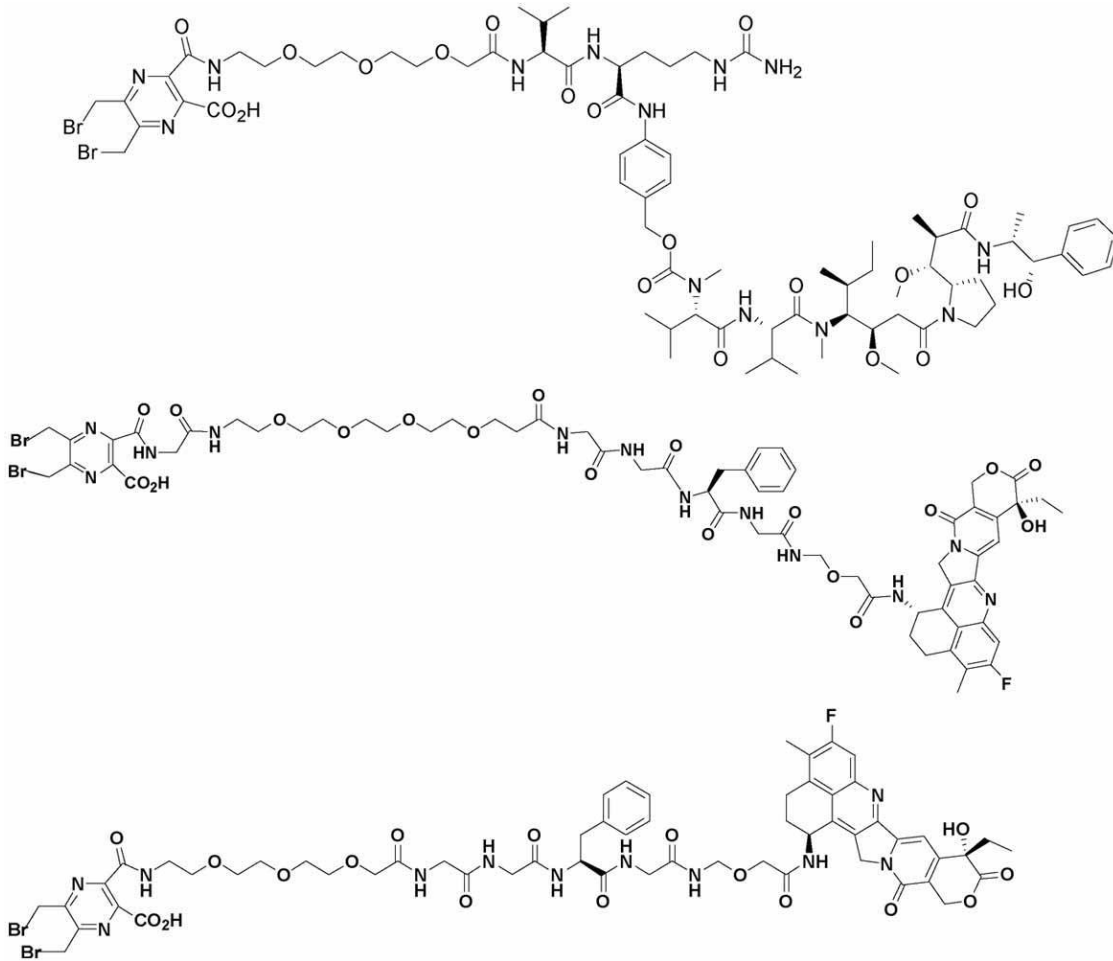
30



40



50



10

20

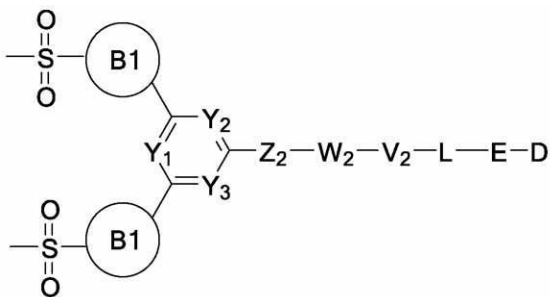
から選択された構造を有する、請求項 5 に記載の式 V の化合物。

【請求項 7】

式 VI :

30

【化 1 1】



式 VI

40

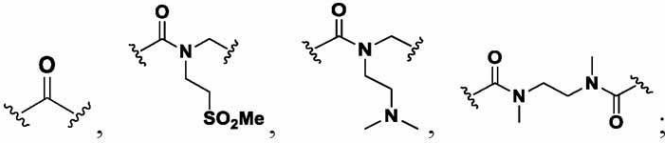
(B_1 、 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 Z_2 及び W_2 は、請求項 3 又は 4 に定義された通りであり；
 L は、 V_2 及び E を接続するリンカーであり；

V_2 は、それが L に接続されているとき、請求項 3 又は 4 に定義の J_2 から形成された基であり；好ましくは、 V_2 は、 $-\text{CO}-$ 、 $-\text{N}(\text{R}_2)-$ 、 $-\text{O}-$ 、3員～10員窒素含有複素環式基又はスルホニル尿素基からなる群から選択されており、ここで R_2 は、 H 、 $\text{C}_1\sim 6$ アルキル又は $\text{C}_2\sim 6$ アルコキシアルキルであり；さらに好ましくは、 V_2 は、 $-\text{C}(\text{O})-$ 及び $-\text{N}(\text{R}_2)-$ からなる群から選択されており、ここで R_2 は、 H 、 $\text{C}_1\sim 6$ アルキル又は $\text{C}_2\sim 6$ アルコキシアルキルであり；

E は、単結合、 $-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 、及び以下の構造：

50

【化 1 2】



からなる群から選択されており；

Dは、生物活性分子（例えば、細胞毒性薬）の断片である）の構造を有する化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒和物、N - オキシド若しくは同位体標識化合物。

10

【請求項 8】

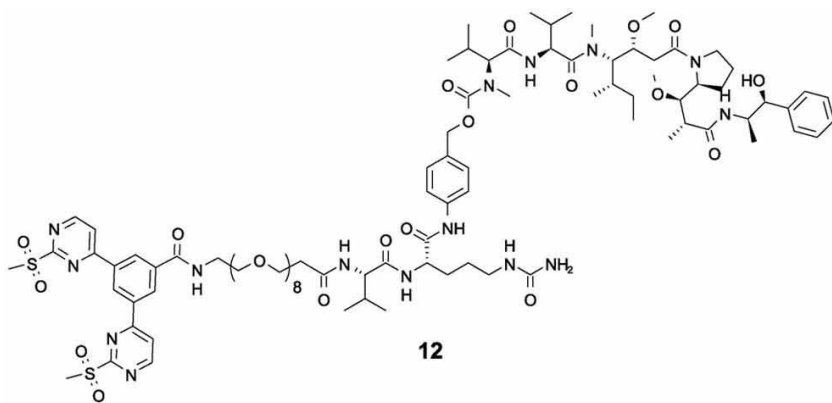
20

30

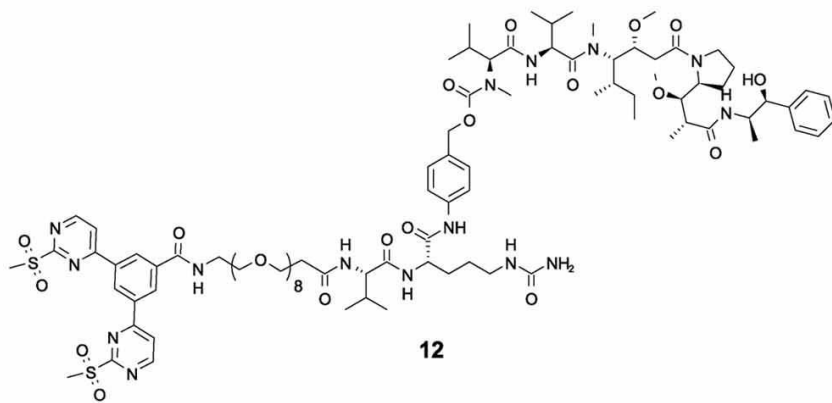
40

50

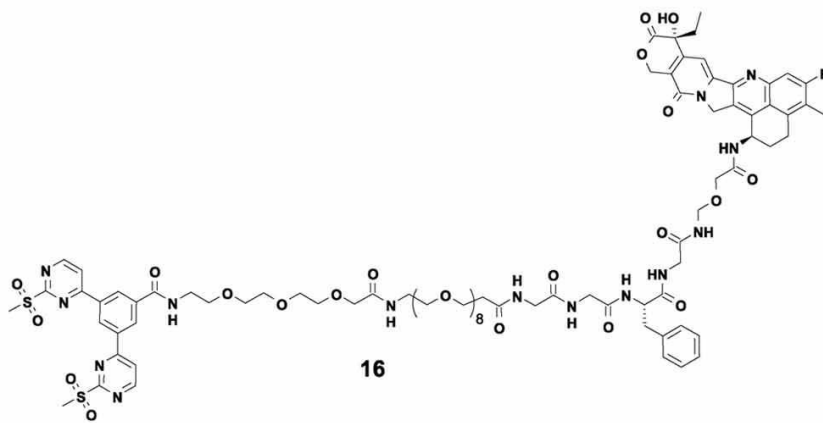
【化 1 3】



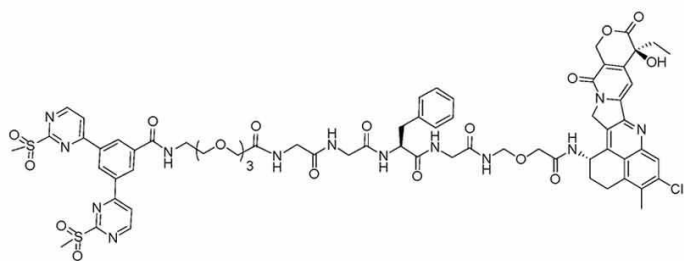
10



20

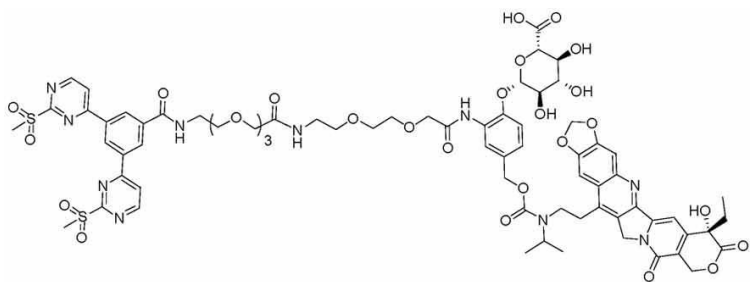


30

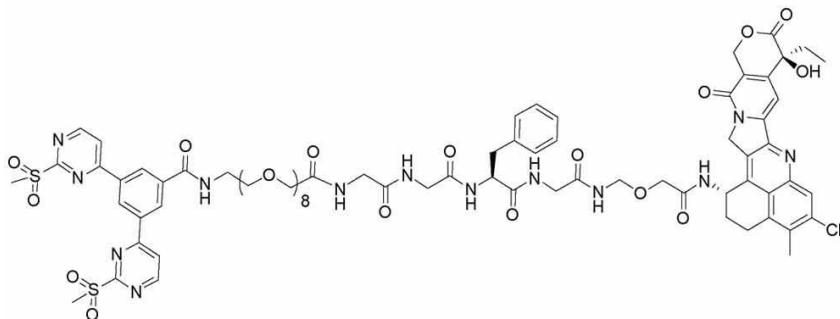


40

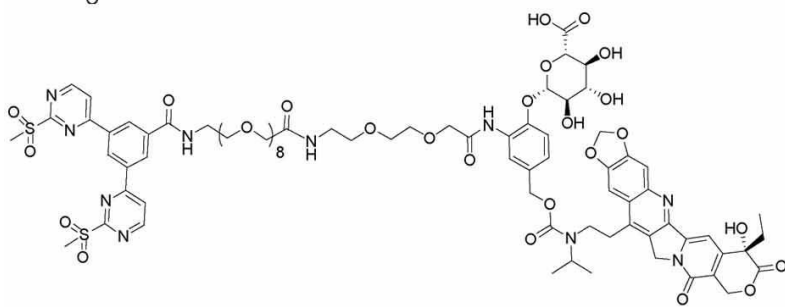
50



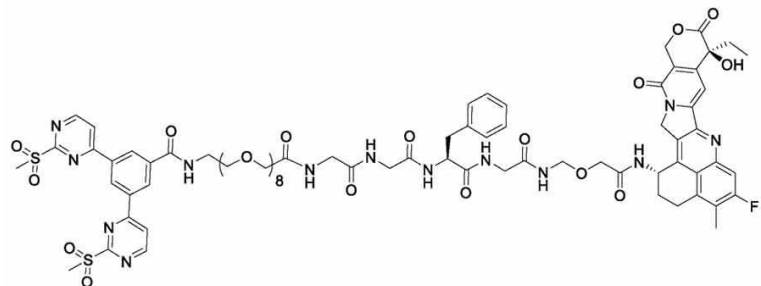
10



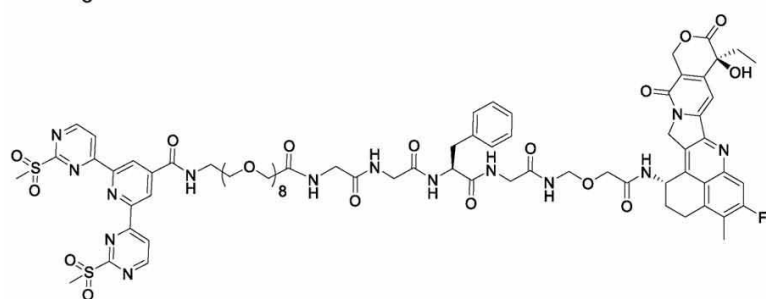
20



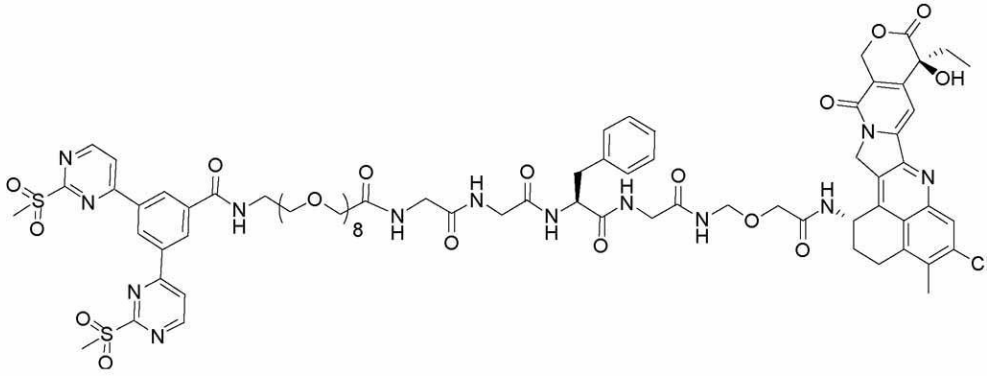
30



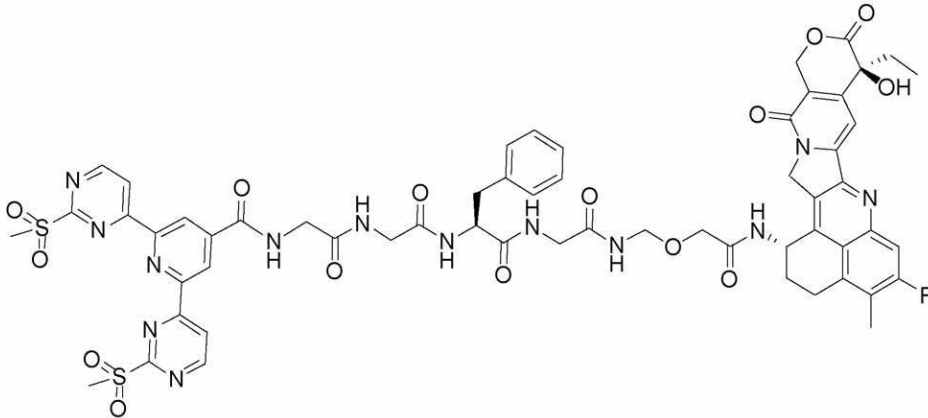
40



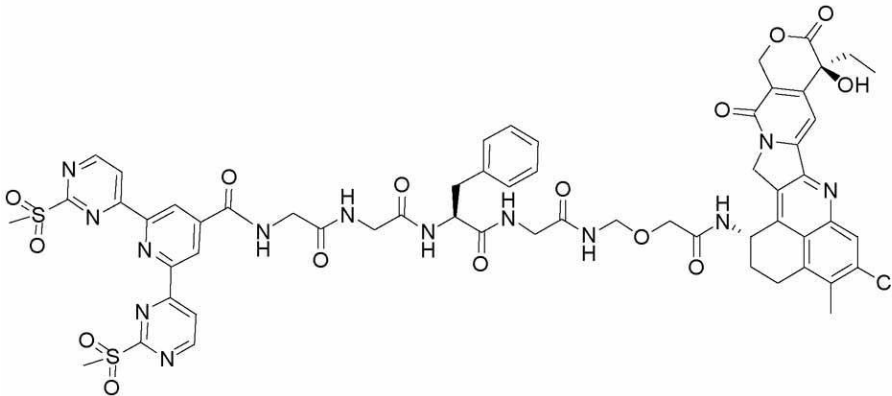
50



10



20



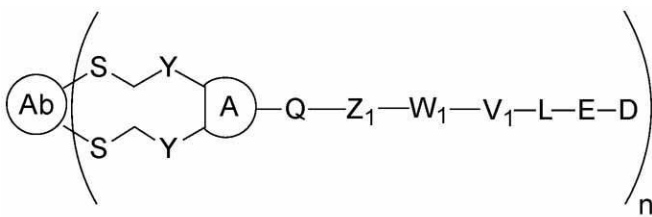
30

から選択された構造を有する、請求項 7 に記載の化合物。

【請求項 9】

生物活性コンジュゲートであって、式 VII :

【化 14】



式 VII

40

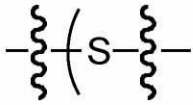
(式中、Abは、標的化部分(例えば、小分子リガンド、タンパク質(例えば、抗体)、ポリペプチド、非タンパク質試薬(例えば、サッカライド、RNA又はDNA))であり；nは、1~10の整数又は小数であり；

V₁は、-C(O)-及び-N(R₁)-からなる群から選択されており、ここでR₁は、H、C₁-6アルキル又はC₂-6アルコキシアリルであり；

50

L は、V₁ 及び E を接続するリンカーであり；
 E は、L 及び D を接続する構造断片であり；
 D は、生物活性分子（例えば、細胞毒性薬）の断片であり；
 前記標的化部分が抗体であるとき、前記生物活性コンジュゲート中の

【化 1 5】



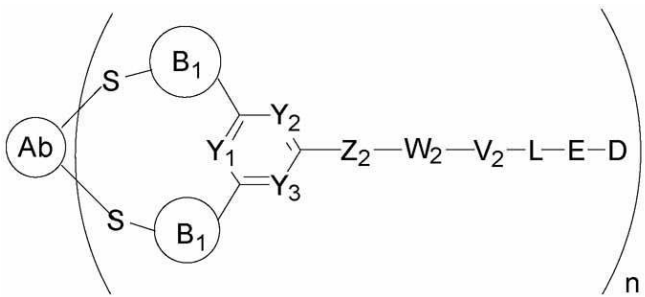
は、前記抗体中のスルフヒドリル基が前記生物活性コンジュゲートの残部に接続する特定
 の手段を表し；

すべての他の基は、請求項 1 又は 2 に定義された通りである）
 に示される通りの構造を有する、生物活性コンジュゲート。

【請求項 1 0】

生物活性コンジュゲートであって、式 V I I I :

【化 1 6】



20

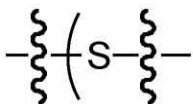
（式中、A b は、標的化部分（例えば、小分子リガンド、タンパク質（例えば、抗体）
 、ポリペプチド、非タンパク質試薬（例えば、サッカライド、RNA 又は DNA））であ
 り；n は、1 ~ 1 0 の整数又は小数であり；

V₂ は、- C (O) - 及び - N (R₂) - からなる群から選択されており、ここで R₂
 は、H、C₁ ~ 6 アルキル又は C₂ ~ 6 アルコキシアルキルであり；

30

L は、V₂ 及び E を接続するリンカーであり；
 E は、L 及び D を接続する構造断片であり；
 D は、生物活性分子（例えば、細胞毒性薬）の断片であり；
 前記標的化部分が抗体であるとき、前記生物活性コンジュゲート中の

【化 1 7】



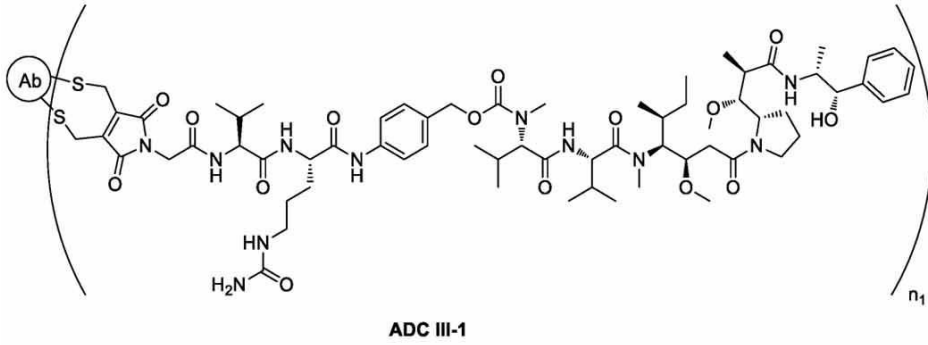
は、前記抗体中のスルフヒドリル基が前記生物活性コンジュゲートの残部に接続する特定
 の手段を表し；

すべての他の基は、請求項 3 又は 4 に定義された通りである）
 に示される通りの構造を有する、生物活性コンジュゲート。

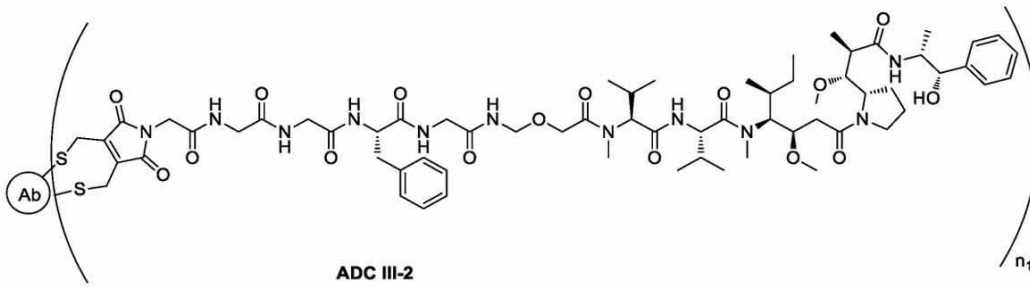
【請求項 1 1】

A b が、抗 H e r 2 抗体トラスツズマブ又は抗 T r o p 2 抗体サシツズマブ又は抗 R O
 R 1 抗体 1 9 F 6 _ H u 3 5 V 1（略して 1 9 F 6）からなる群から選択されており、n
 1 が、1 ~ 8、好ましくは 3 ~ 5 である、以下の通りの構造：

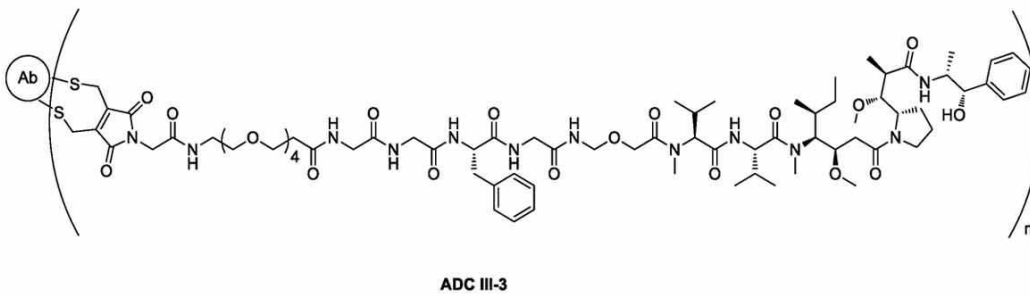
【化 1 8】



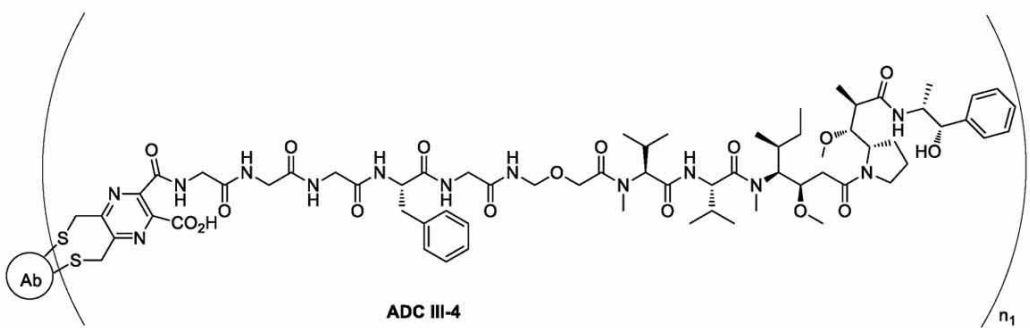
10



20

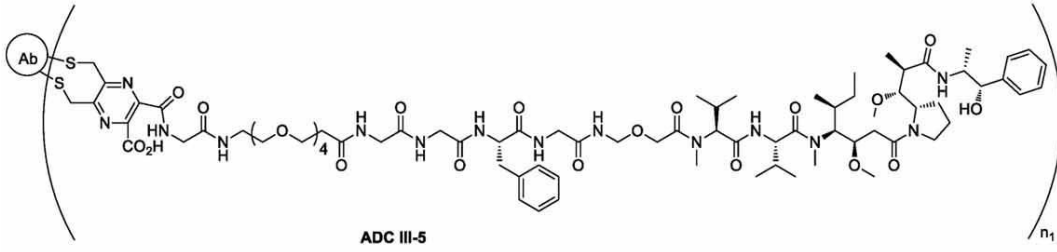


30

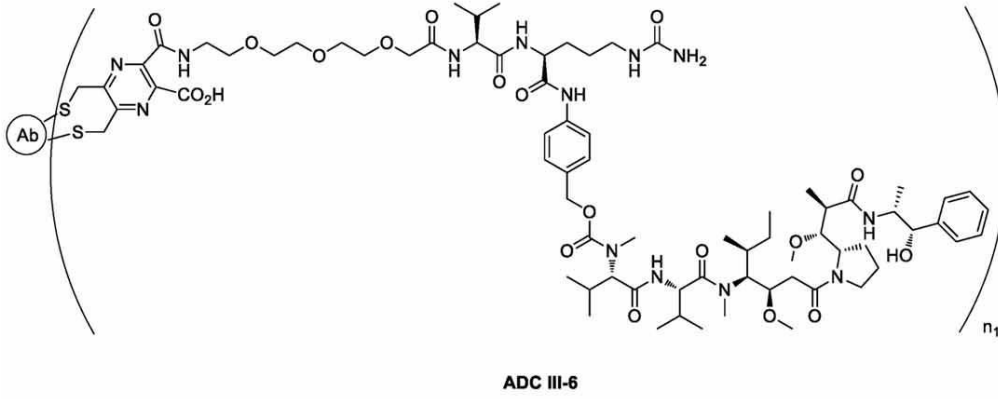


40

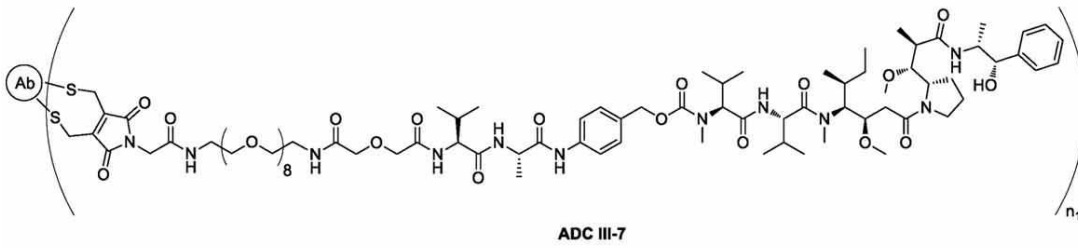
50



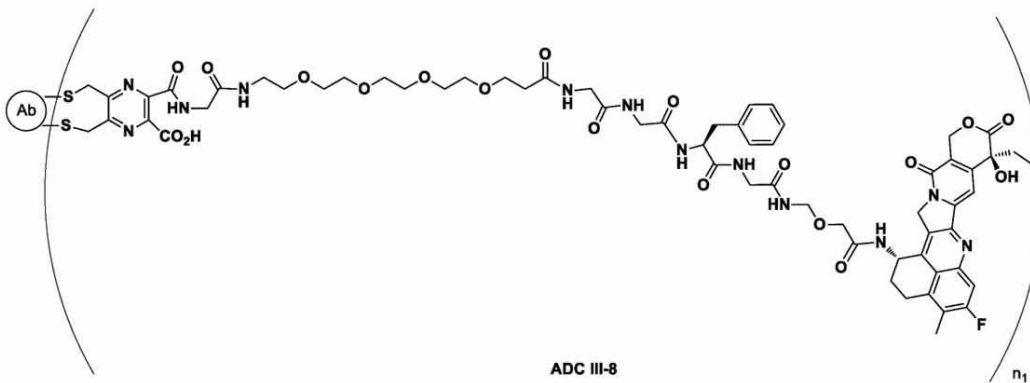
10



20

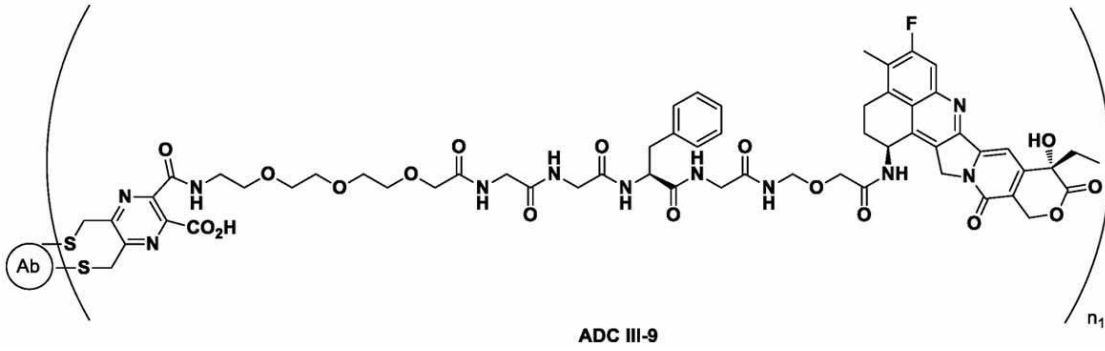


30



40

50



10

を有する、請求項 9 に記載の生物活性コンジュゲート。

【請求項 1 2】

Ab が、抗 Her2 抗体トラスツズマブ又は抗 Trop2 抗体サシツズマブ又は抗 RO R1 抗体 19F6_Hu35V1 (略して 19F6) からなる群から選択されており、 n_1 が、1 ~ 8、好ましくは 3 ~ 5 である以下の通りの構造：

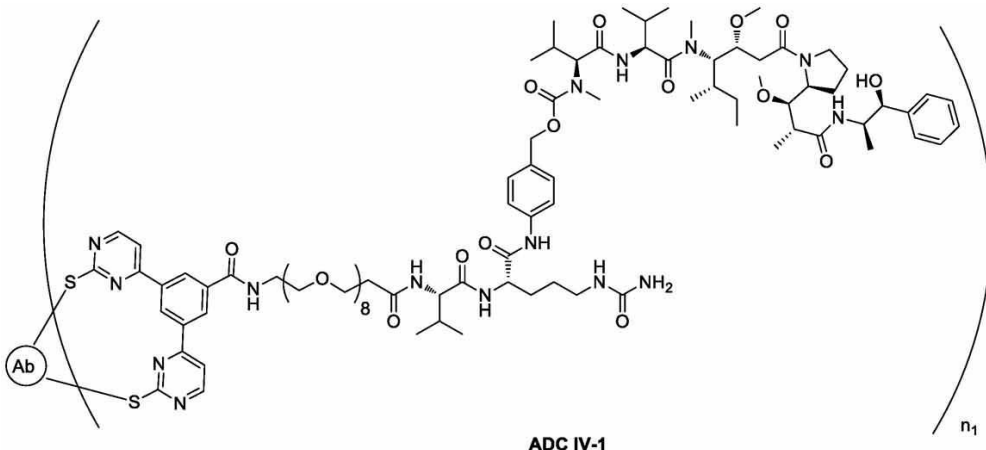
20

30

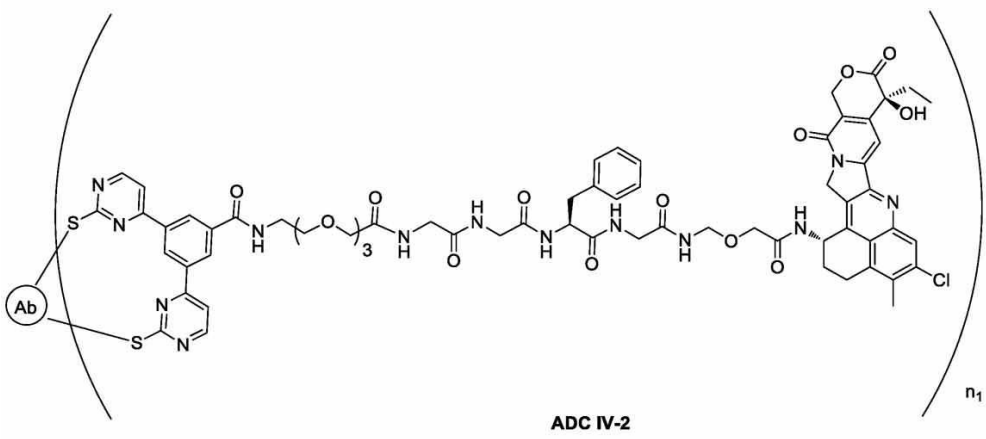
40

50

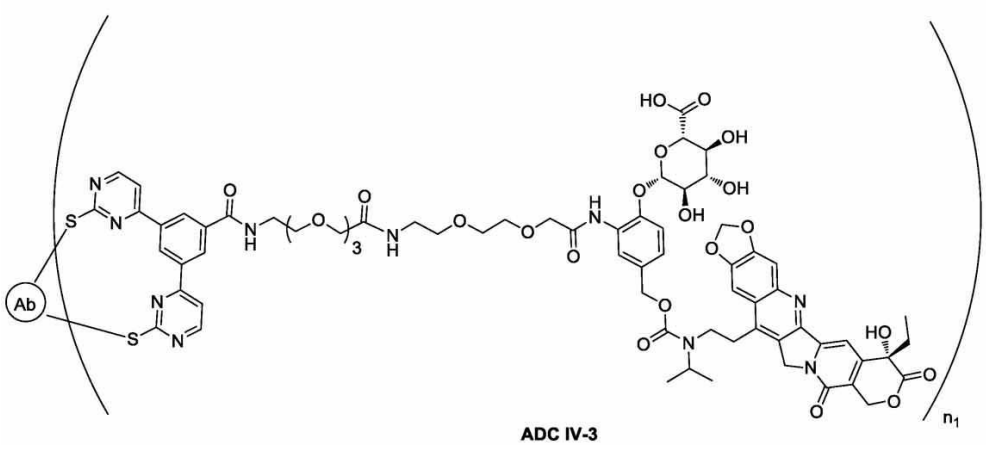
【化 1 9】



10



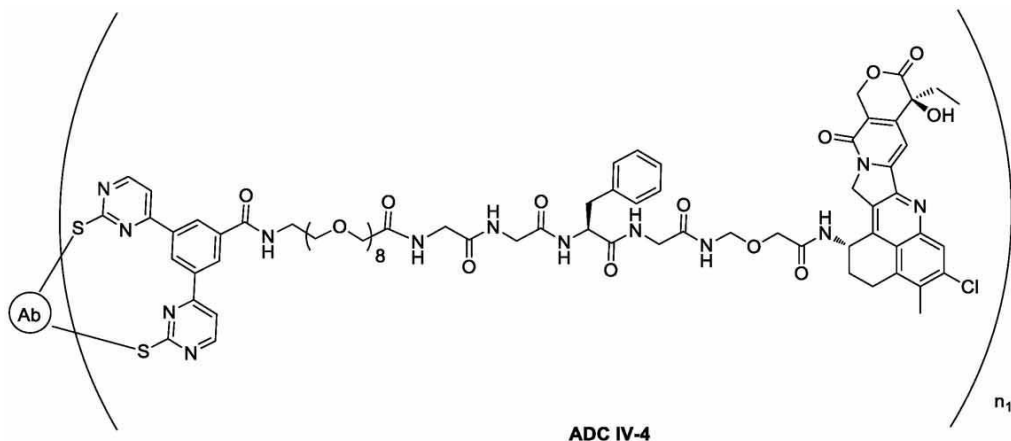
20



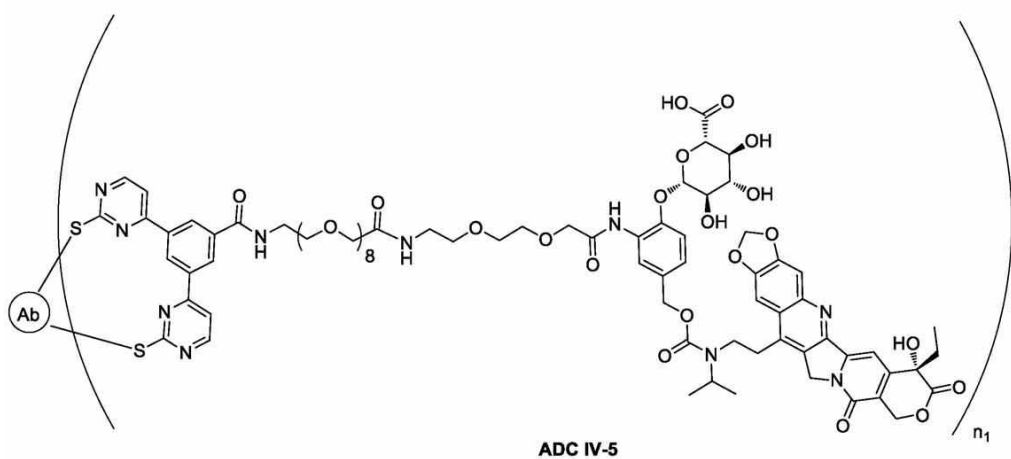
30

40

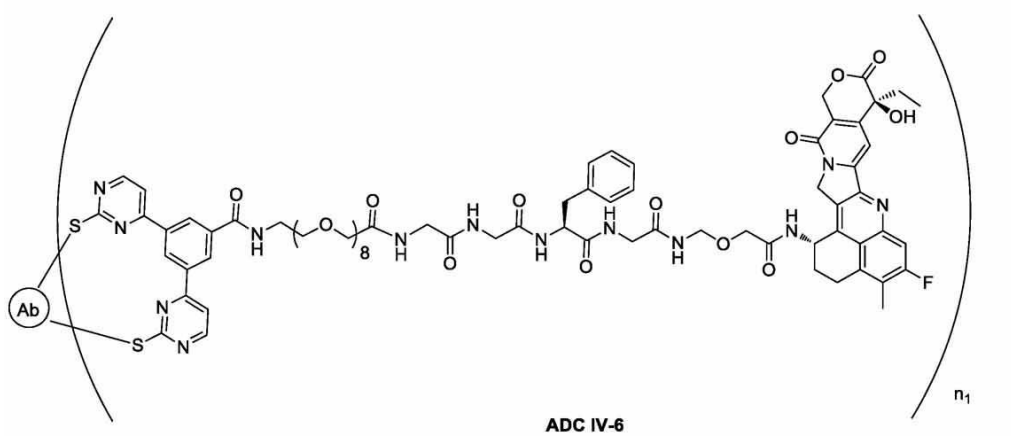
50



10



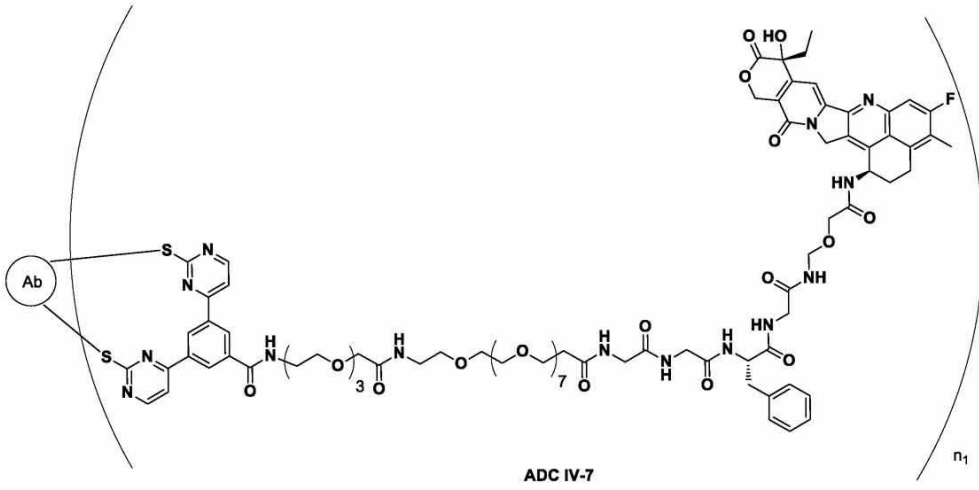
20



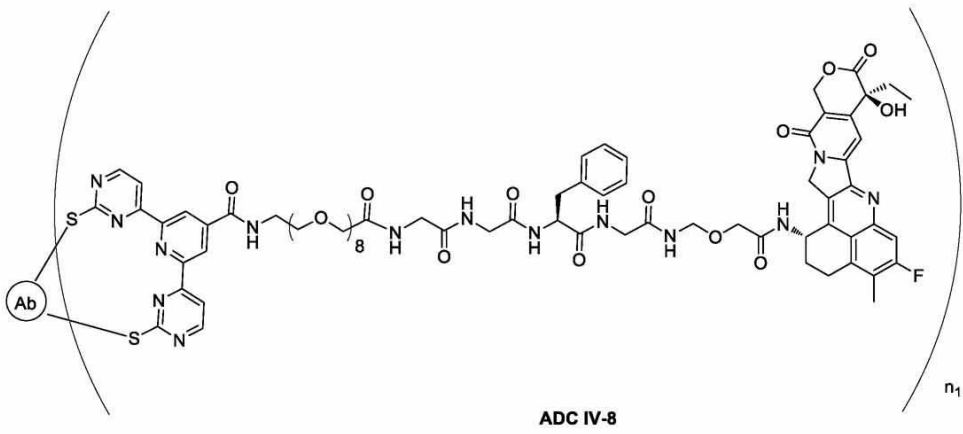
30

40

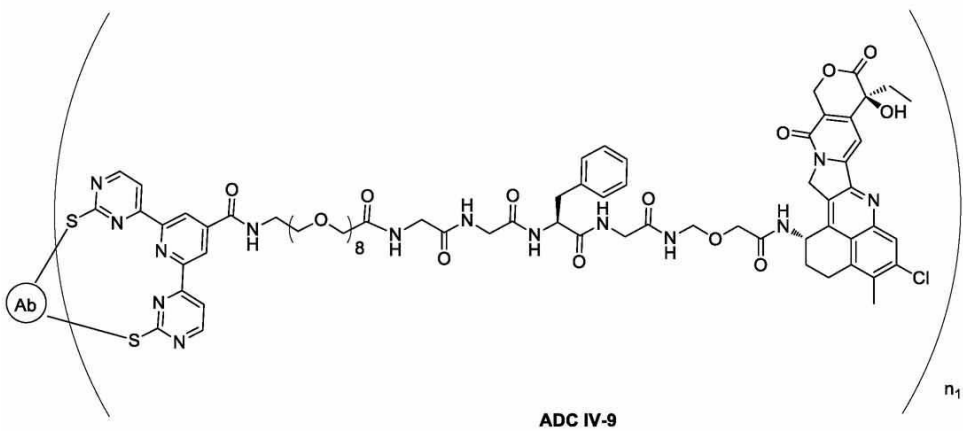
50



10



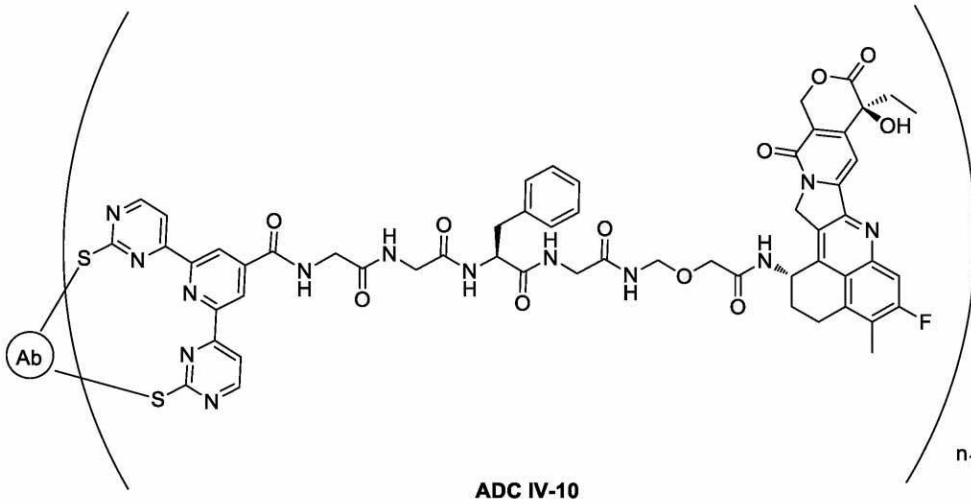
20



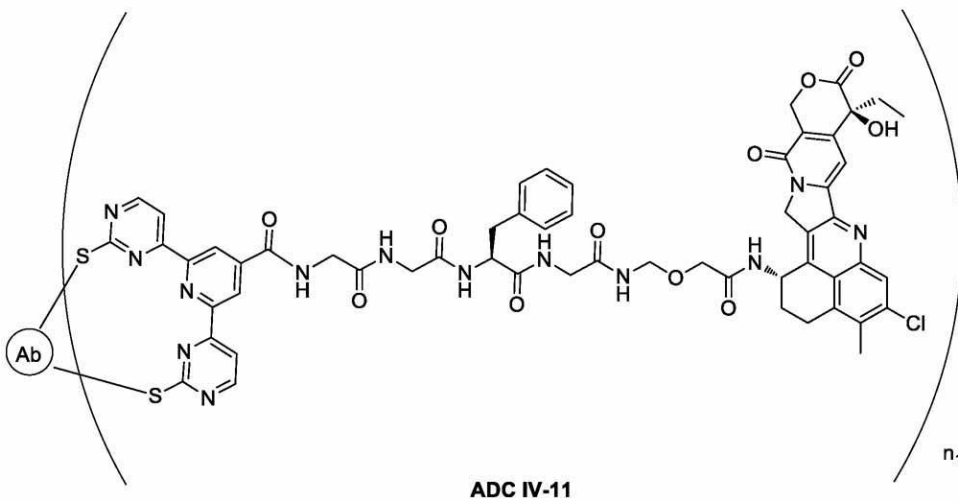
30

40

50



10



20

30

を有する、請求項 10 に記載の生物活性コンジュゲート。

【請求項 13】

請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒化合物、N - オキシド若しくは同位体標識化合物、或いは請求項 9 ~ 12 のいずれか一項に記載の生物活性コンジュゲートと、1 種又は複数種の薬学的に許容できるキャリアとを含む医薬組成物。

【請求項 14】

請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒化合物、N - オキシド若しくは同位体標識化合物、或いは請求項 9 ~ 12 のいずれか一項に記載の生物活性コンジュゲート、或いは請求項 13 に記載の医薬組成物と、任意選択で説明書とを含むキット製品。

40

【請求項 15】

腫瘍疾患を予防又は処置するための薬剤の製造における、請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒化合物、N - オキシド若しくは同位体標識化合物、或いは請求項 9 ~ 12 のいずれか一項に記載の生物活性コンジュゲートの使用。

【請求項 16】

腫瘍疾患の予防又は処置における使用のための、請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒

50

化合物、N - オキシド若しくは同位体標識化合物、或いは請求項 9 ~ 12 のいずれか一項に記載の生物活性コンジュゲート。

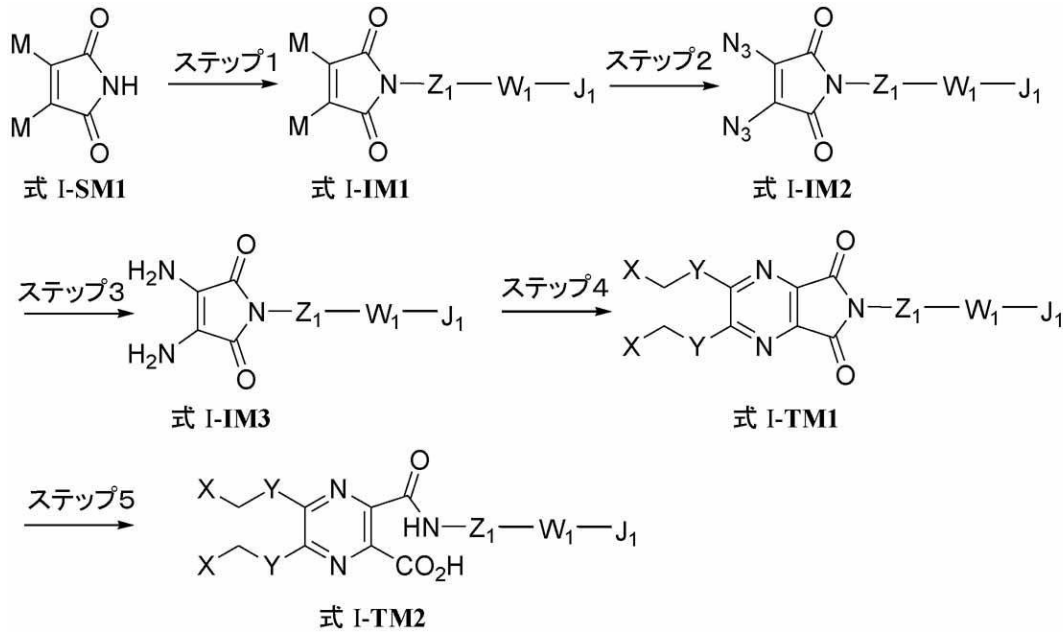
【請求項 17】

有効量の請求項 5 ~ 8 のいずれか一項に記載の化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒化合物、N - オキシド若しくは同位体標識化合物、或いは請求項 9 ~ 12 のいずれか一項に記載の生物活性コンジュゲートをそれを必要とする対象に投与するステップを含む、腫瘍疾患を予防又は処置するための方法。

【請求項 18】

化合物を合成するための方法であって、以下のステップ：

【化 20】



10

20

(式中、

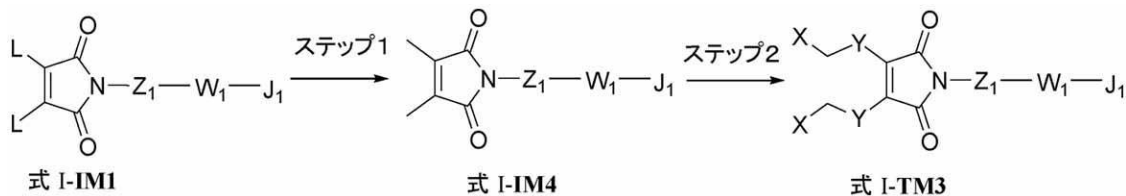
X、Z₁、W₁、J₁は、請求項 1 に定義された通りであり；Y は存在せず；

M は、ハロゲン、トリフルオロメチルスルホニル、p - トルエンシルホニル、好ましくはハロゲンを含むがこれらに限定されない、置換反応を経る脱離基である)

30

を含む、或いは、以下のステップ：

【化 21】



(式中、

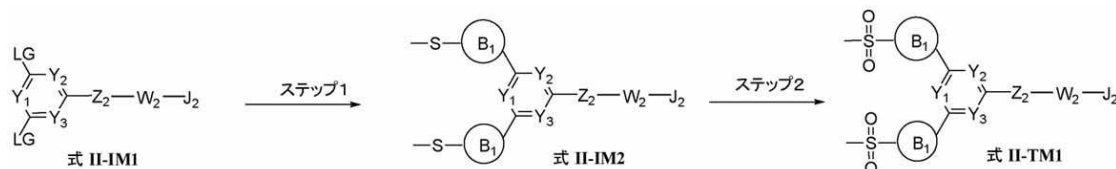
X、Z₁、W₁、J₁は、上の一般式に定義された通りであり；

L は、ハロゲン又はOTfを含むがこれらに限定されない、置換反応を経る脱離基である)

40

を含む、或いは、以下のステップ：

【化 22】



50

(式中、

Y_1 、 Y_2 、 Y_3 、 B_1 、 J_2 は、上の一般式に定義された通りであり；

LG は、ハロゲン、トリフルオロメチルスルホニル、好ましくはハロゲンを含むがこれらに限定されない、コンジュゲーション反応を経る脱離基である)を含むことを特徴とする、方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

本出願は、中国出願番号202110615166.4及び2021年6月2日の出願日を有する出願、並びに中国出願番号202111225483.1及び2021年10月21日の出願日を有する出願に基づいており、且つそれらの優先権を主張する。これらの中国出願の開示は、その全体がこれにより本出願に組み込まれる。

10

【0002】

[技術分野]

本発明は、化学的カップリングのために使用される新規なリンカー、抗体-薬物コンジュゲート及びそれから調製された対応する組成物、並びに調製方法及び腫瘍関連疾患の処置におけるその適用に関する。

【0003】

[背景技術]

近年、抗体-薬物コンジュゲートは、正確な腫瘍処置の流行の方向のうちの1つになり、腫瘍処置に希望をもたらしている。抗体-薬物コンジュゲート(ADC)は、特異抗原を標的化するモノクローナル抗体薬物と、リンカーを通じてコンジュゲートされた小分子細胞毒性薬とから構成され、伝統的な小分子化学療法の高力な死滅効果及び抗体薬物の腫瘍標的化の両方を有する。2021年4月現在、Zynlontaの承認と共に、12種のADC薬の世界的な販売が承認されており、12種のうち7種が血液腫瘍を処置するために使用され、5種が固形腫瘍を処置するために使用される。

20

【0004】

抗体-薬物コンジュゲートは、抗体、リンカー、ペイロード、及びコンジュゲーションモードから構成される。コンジュゲーションモードは、抗体と薬物-リンカーとの間の接続モードを指す。コンジュゲーションモードは、非部位特異的コンジュゲーション及び部位特異的コンジュゲーションに主に分けられる。初期には、非部位特異的コンジュゲーションモードが、主にリシンコンジュゲーション及びシステインコンジュゲーションにより使用された。薬物は、化学的方法により抗体のアミノ酸残基と直接コンジュゲートされ、化学的方法は、抗体の転換又は改変を伴わず、コンジュゲートされる細胞毒素の数及びコンジュゲーション部位のいずれも不明であり、均一性は乏しかった。現在は、一般に使用される部位特異的コンジュゲーションモードは、より均一なコンジュゲーションを達成する遺伝子操作部位又は特殊なコネクタを通じた特異的コンジュゲーションであり、特異的部位における細胞毒素の接続を実現することができる。部位特異的コンジュゲーションにより作製される抗体-薬物コンジュゲートは、コンジュゲーション部位及びコンジュゲーション数の違いによって引き起こされる効力、薬物動態、及びCMC品質管理の変動を小さくすることができる。

30

40

【0005】

現在、一般的な部位特異的コンジュゲーション方法は、THIO M A B技術、非天然アミノ酸コンジュゲーション技術、グルタミン酵素的コンジュゲーション技術、ソルターゼトランスペプチダーゼコンジュゲーション技術、及びThioBridge技術を含む。それらのうち、抗体工学又は酵素的コンジュゲーションを使用する抗体の改変は、抗体の構造安定性にある種の影響を与えることがあり、同時にCMCに関するある種の要件を有することができる。加えて、化学的コンジュゲーションを使用する部分的ThioBridge技術も、ある種の欠陥を有し、例えば、DBM(ジプロモマレイミド類)リンカーは、他のスルフヒドリル含有生物学的基での置換を経ることがあり、したがって、血漿中で不安定であり、結果として薬効が低下し、且つ毒性作用及び副作用が増加する(Chem

50

. - Eur. J.、2019、25、43~59)。したがって、良好な効力及び安全性を有する抗体-薬物コンジュゲートを開発するための新規なリンカー構造体を開発することは依然として非常に意義がある。

【0006】

[発明の内容]

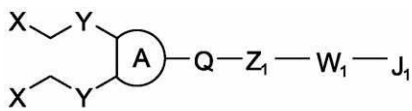
本出願の1つの目的は、化学的コンジュゲーションのための新規なリンカーを提供することである。このタイプのリンカーは、高い反応性、穏やかなコンジュゲーション条件を有し、操作しやすく、且つ部位特異的コンジュゲーションを実現することができ、得られる生物活性コンジュゲートは、良好な均一性及び血漿安定性、並びに *in vivo* 及び *in vitro* における明らかな薬効を有する。

【0007】

化合物

第1の態様において、本出願は、式I：

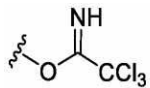
【化1】



(式中、

Xは、Cl、Br、I、OMs、OTs、OTf又は

【化2】



などの脱離基であり；

Yは存在しないか、又はカルボニルであり；

環Aは、置換若しくは非置換C₆~₁₀芳香族環、5員~12員ヘテロ芳香族環又は5員~12員複素環式環からなる群から選択されており；

Qは存在しないか、又は-C(=O)-NH-であり；

Z₁は存在しないか、又は-CH₂-若しくはC₂~₆アルキニレンからなる群から選択されており；

W₁は存在しないか、又はC₁~₁₀アルキレン、-(CH₂CH₂O)_p-、及び-(OCH₂CH₂)_p-からなる群から選択された1種若しくは複数種であり；

J₁は、-COOH、-NH₂、3員~10員窒素含有複素環式基、スルホニル尿素基又はヒドロキシルからなる群から選択されており；

pは、1~10の整数である)

の構造を有する化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒和物、N-オキシド若しくは同位体標識化合物を提供する。

【0008】

いくつかの実施形態において、Xは、Cl、Br、I、OMs、OTs及びOTfからなる群から選択された1種又は複数種である。

【0009】

いくつかの実施形態において、Yは存在しない。

【0010】

いくつかの実施形態において、Z₁は存在しないか、又はC₂~₆アルキニレンである。

【0011】

いくつかの実施形態において、W₁は存在しないか、又はC₁~₁₀アルキレン及び-(CH₂CH₂O)_p-からなる群から選択された1種若しくは複数種である。

【0012】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、 W_1 は、 $C_1 \sim 10$ アルキレン；好ましくは $C_1 \sim 6$ アルキレン、より好ましくは $C_1 \sim 3$ アルキレンである。

【0013】

いくつかの実施形態において、 J_1 は $-COOH$ である。

【0014】

いくつかの実施形態において、環Aは、置換若しくは非置換5員～12員窒素含有ヘテロ芳香族環又は5員～12員窒素含有複素環式環からなる群から選択されており；好ましくは、環Aは、置換されていないか、又はオキソ若しくは $-COOH$ で置換されている5員～12員窒素含有ヘテロ芳香族環若しくは5員～12員窒素含有複素環式環からなる群から選択されている。

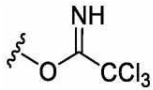
【0015】

いくつかの実施形態において、 p は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、又は10である。

【0016】

いくつかの実施形態において、 X は、 Cl 、 Br 、 I 、 OMs 、 OTs 、 OTf 及び

【化3】



からなる群から選択されており；

Y は存在せず；

環Aは、置換されていないか、又はオキソ若しくは $-COOH$ で置換されている5員～12員窒素含有ヘテロ芳香族環若しくは5員～12員窒素含有複素環式環からなる群から選択されており；

Q は存在しないか、又は $-C(=O)-NH-$ であり；

Z_1 は存在しないか、又は $-CH_2-$ であり；

W_1 は存在しないか、又は $C_1 \sim 10$ アルキレン及び $-(CH_2CH_2O)_p-$ からなる群から選択された1種若しくは複数種であり；

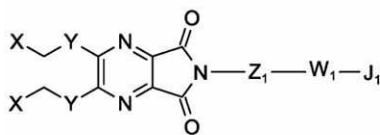
J_1 は $-COOH$ であり；

p は、1～10の整数である。

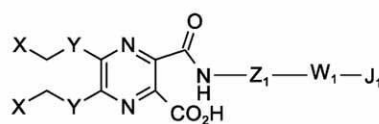
【0017】

いくつかの実施形態において、式Iは、以下の構造：

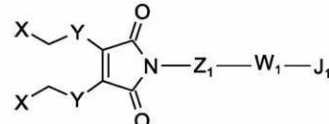
【化4】



式 I-TM1



式 I-TM2



式 I-TM3

からなる群から選択されている。

【0018】

いくつかの実施形態において、式Iの化合物は、以下の構造：

10

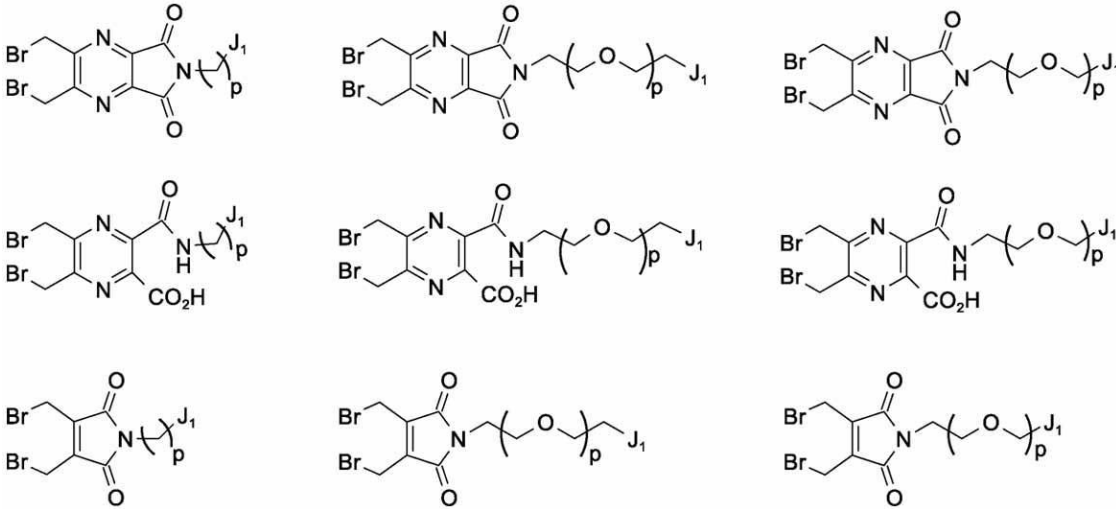
20

30

40

50

【化5】



10

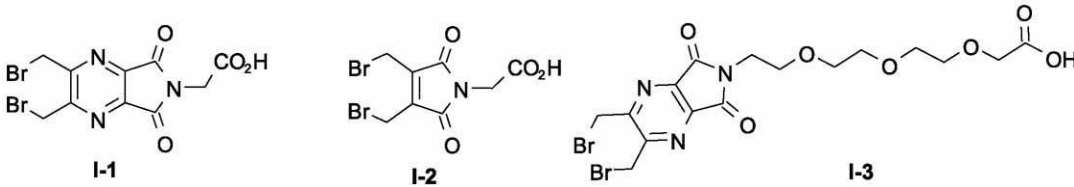
(式中、 p は、1～10から選択された整数であり、 J_1 は、 $-\text{COOH}$ 又は $-\text{NH}_2$ である)
を有する。

【0019】

いくつかの実施形態において、式Iの化合物は、以下の構造：

20

【化6】



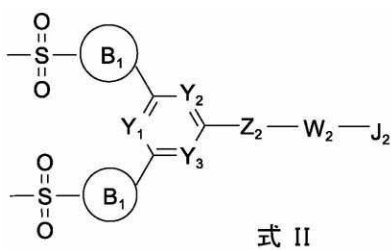
を有する。

【0020】

第2の態様において、本出願は、式II：

30

【化7】



式II

(式中、 B_1 はそれぞれの出現において、単結合又は5員～12員窒素含有ヘテロ芳香族環からなる群から独立的に選択されており；

Y_1 、 Y_2 及び Y_3 はそれぞれの出現において、 CH 及び N からなる群からそれぞれ独立的に選択されており；

Z_2 は存在しないか、又は $-\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、カルボニル、 $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$ 、 $-\text{NHC}(=\text{O})-$ 若しくは $\text{C}_2\sim 6$ アルキニレンからなる群から選択されており；好ましくは、 Z_2 は存在しないか、又は $-\text{NH}-$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、カルボニル若しくは $\text{C}_2\sim 6$ アルキニレンから選択されており；

W_2 は存在しないか、又は $\text{C}_1\sim 10$ アルキレン、 $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_p-$ 若しくは $-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_p-$ からなる群から選択された1種若しくは複数種であり；

J_2 は、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、3員～10員窒素含有複素環式基、スルホニル尿素基

50

又はヒドロキシルからなる群から選択されており；

p は、1 ~ 10 の整数である）

の構造を有する化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒和物、N - オキシド若しくは同位体標識化合物を提供する。

【0021】

いくつかの実施形態において、B₁はそれぞれの出現において、単結合又は5員~6員窒素含有ヘテロ芳香族環からなる群から独立的に選択されており；好ましくは、B₁はそれぞれの出現において、単結合又は5員~6員窒素含有ヘテロ芳香族環からなる群から独立的に選択されており；さらに好ましくは、B₁はそれぞれの出現において、単結合又はピリミジン環からなる群から独立的に選択されている。

10

【0022】

いくつかの実施形態において、Y₁、Y₂及びY₃は、すべてNであるか；又はY₁はCHであり、Y₂及びY₃のいずれもNであるか；又はY₁はNであり、Y₂及びY₃のいずれもCHであるか；又はY₁、Y₂及びY₃は、すべてCHである。

【0023】

いくつかの実施形態において、Z₂は存在しないか、又はC₂~6アルキレンである。

【0024】

いくつかの実施形態において、W₂は存在しないか、又はC₁~10アルキレンである。

【0025】

いくつかの実施形態において、J₂は、-COOH又は-NH₂からなる群から選択されている。

20

【0026】

いくつかの実施形態において、B₁はそれぞれの出現において、単結合又はピリミジン環からなる群から独立的に選択されており；

Y₁、Y₂及びY₃は、すべてCHであり；

Z₂は存在しないか、又は-C(=O)NH-であり；

W₂は存在しないか、又はC₁~10アルキレン、-(CH₂CH₂O)_pからなる群から選択された1種若しくは複数種であり；

J₂は-COOHであり；

p は、1 ~ 10 の整数である。

30

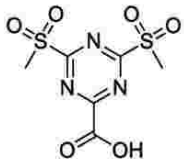
【0027】

いくつかの実施形態において、式IIの化合物は、以下の構造：

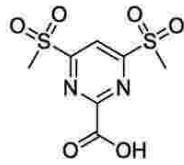
40

50

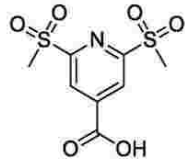
【化 8】



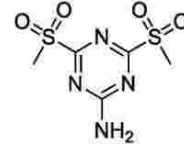
II-1



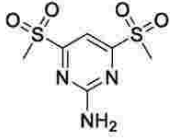
II-2



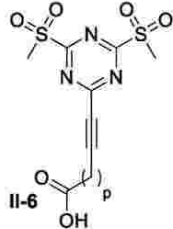
II-3



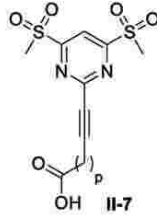
II-4



II-5



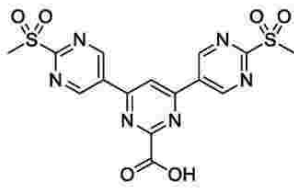
II-6



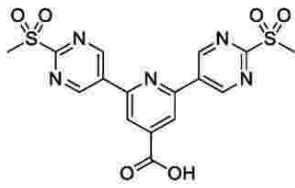
II-7



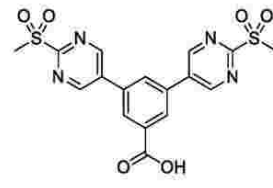
II-8



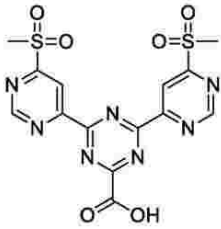
II-9



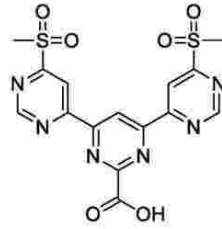
II-10



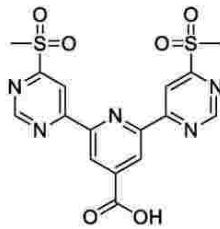
II-11



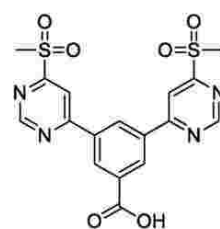
II-12



II-13



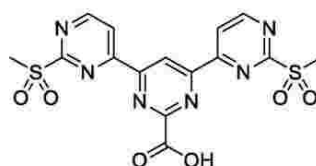
II-14



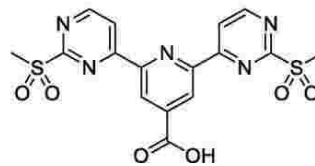
II-15



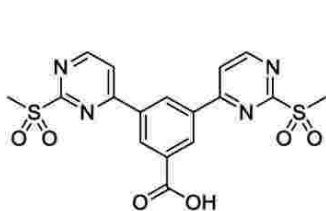
II-16



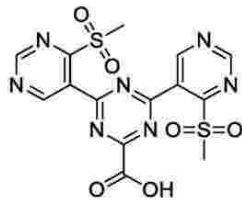
II-17



II-18



II-19



II-20



II-21

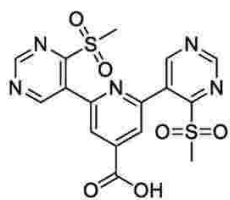
10

20

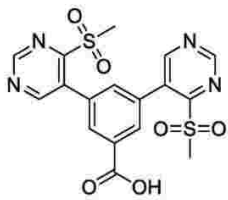
30

40

50



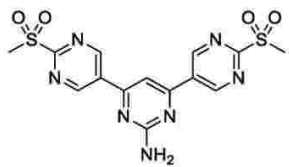
II-22



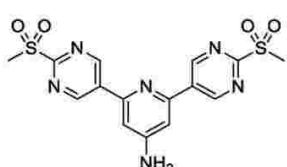
II-23



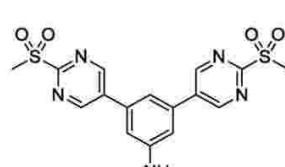
II-24



II-25

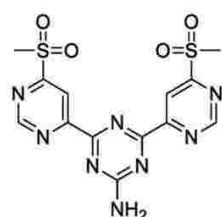


II-26

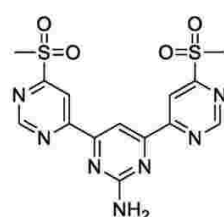


II-27

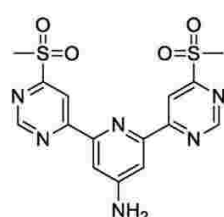
10



II-28

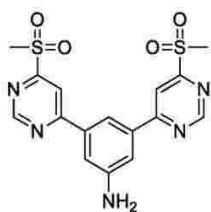


II-29

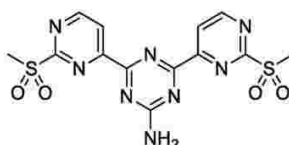


II-30

20



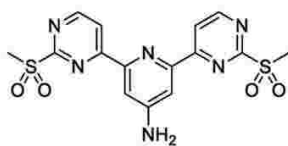
II-31



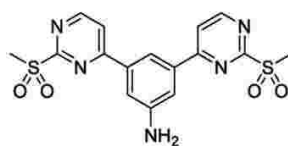
II-32



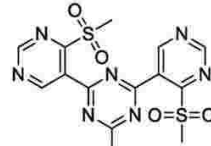
II-33



II-34

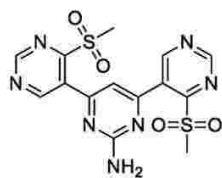


II-35



II-36

30



II-37



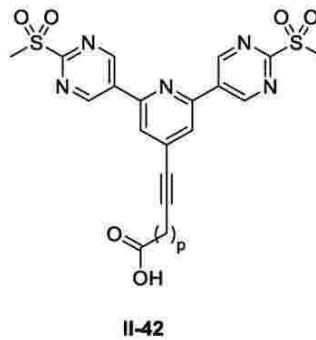
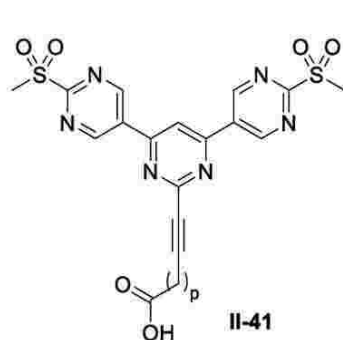
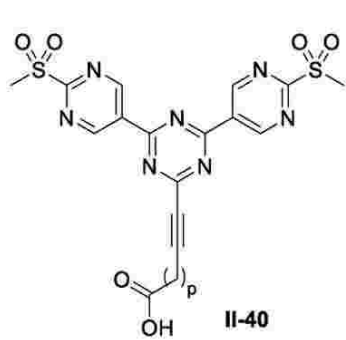
II-38



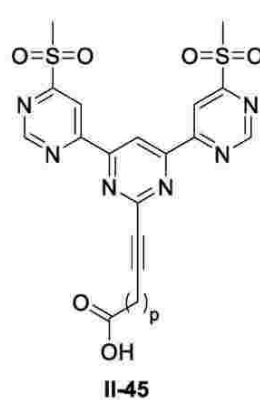
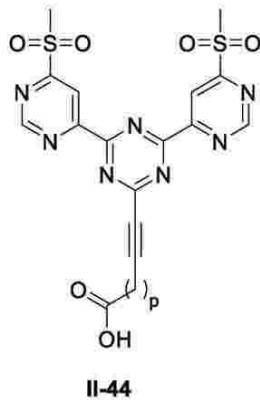
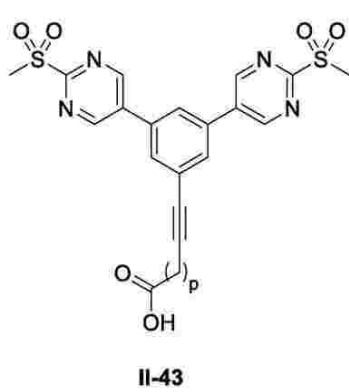
II-39

40

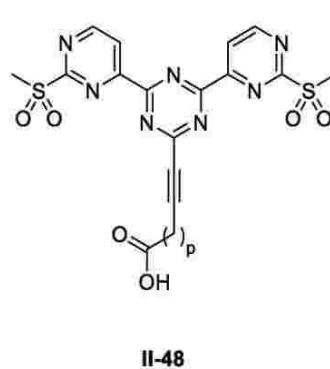
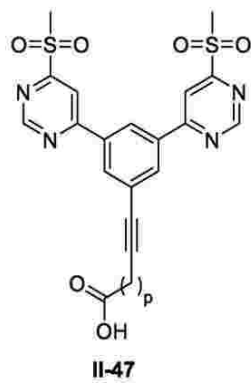
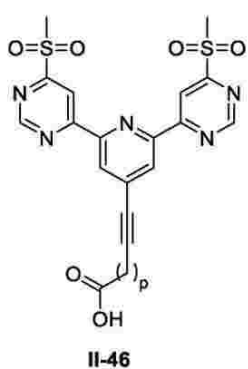
50



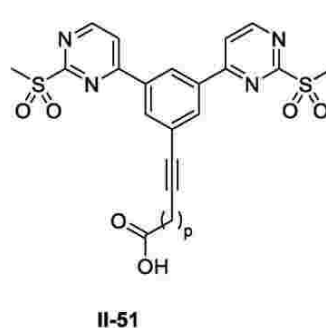
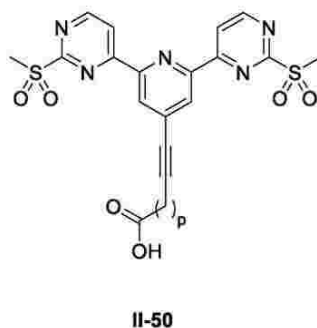
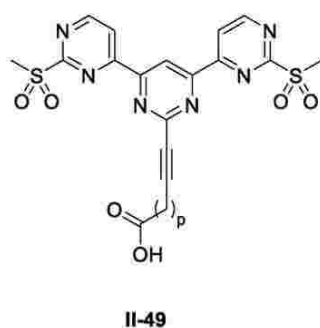
10



20

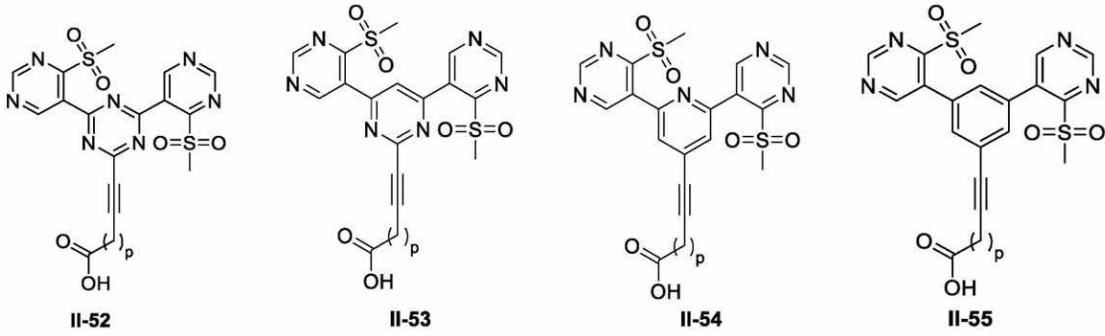


30

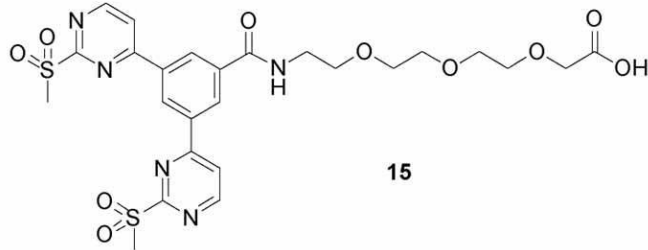


40

50



10



(p は、 1 ~ 10 の 整数である)

を 有 する。

20

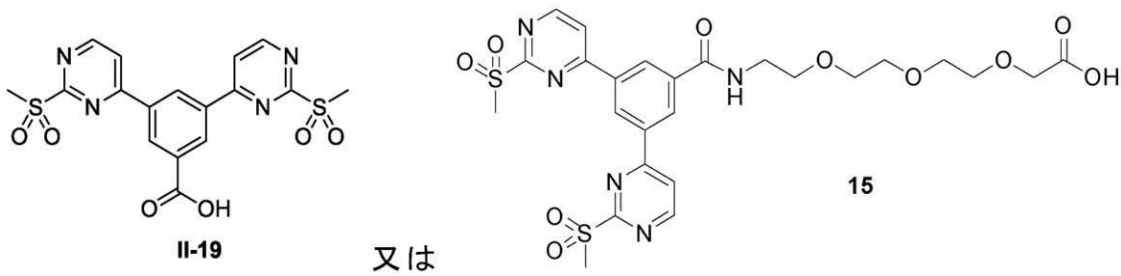
【 0 0 2 8 】

い っ っ っ っ の 実 施 形 態 に お い て、 p は、 1 ~ 8 の 整 数 で あ り； よ り 好 ま し く は、 p は、 1 ~ 5 の 整 数 で あ る。

【 0 0 2 9 】

い っ っ っ っ の 実 施 形 態 に お い て、 式 I I の 化 合 物 は、 以 下 の 構 造：

【 化 9 】



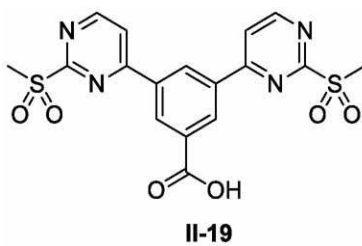
30

を 有 する。

【 0 0 3 0 】

い っ っ っ っ の 実 施 形 態 に お い て、 式 I I の 化 合 物 は、 以 下 の 構 造：

【 化 1 0 】



40

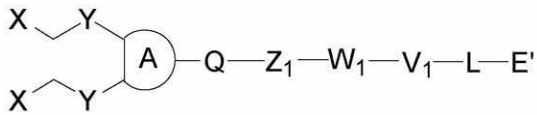
を 有 する。

【 0 0 3 1 】

第 3 の 態 様 に お い て、 本 出 願 は、 式 I I I：

50

【化 1 1】



式 III

(式中、

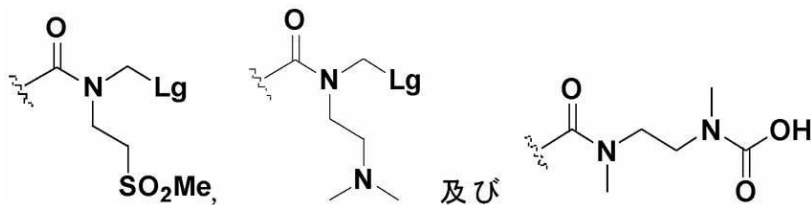
V_1 は、それが L に接続されているとき、本出願の第 1 の態様における式 I の化合物の J_1 から形成された基であり；好ましくは、 V_1 は、 $-CO-$ 、 $-N(R_1)-$ 、 $-O-$ 、3員～10員窒素含有複素環式環基又はスルホニル尿素基からなる群から選択されており、ここで R_1 は、 H 、 $C_1 \sim 6$ アルキル又は $C_2 \sim 6$ アルコキシアルキルであり；さらに好ましくは、 V_1 は、 $-C(O)-$ 及び $-N(R_1)-$ からなる群から選択されており、ここで R_1 は、 H 、 $C_1 \sim 6$ アルキル又は $C_2 \sim 6$ アルコキシアルキルであり；

10

L は、 V_1 及び E' を接続するリンカーであり；

E' は、 H 、 $-NHCH_2-Lg$ 、 $-COOH$ 、

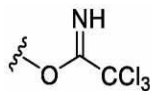
【化 1 2】



20

からなる群から選択されており、ここで、 Lg は、 Cl 、 Br 、 I 、 OMs 、 OTs 、 OTf 又は

【化 1 3】



などの脱離基を表し；

X 、 Y 、 A 、 Q 、 Z_1 、及び W_1 は、先の第 1 の態様のいずれかの項目に定義された通りである)

30

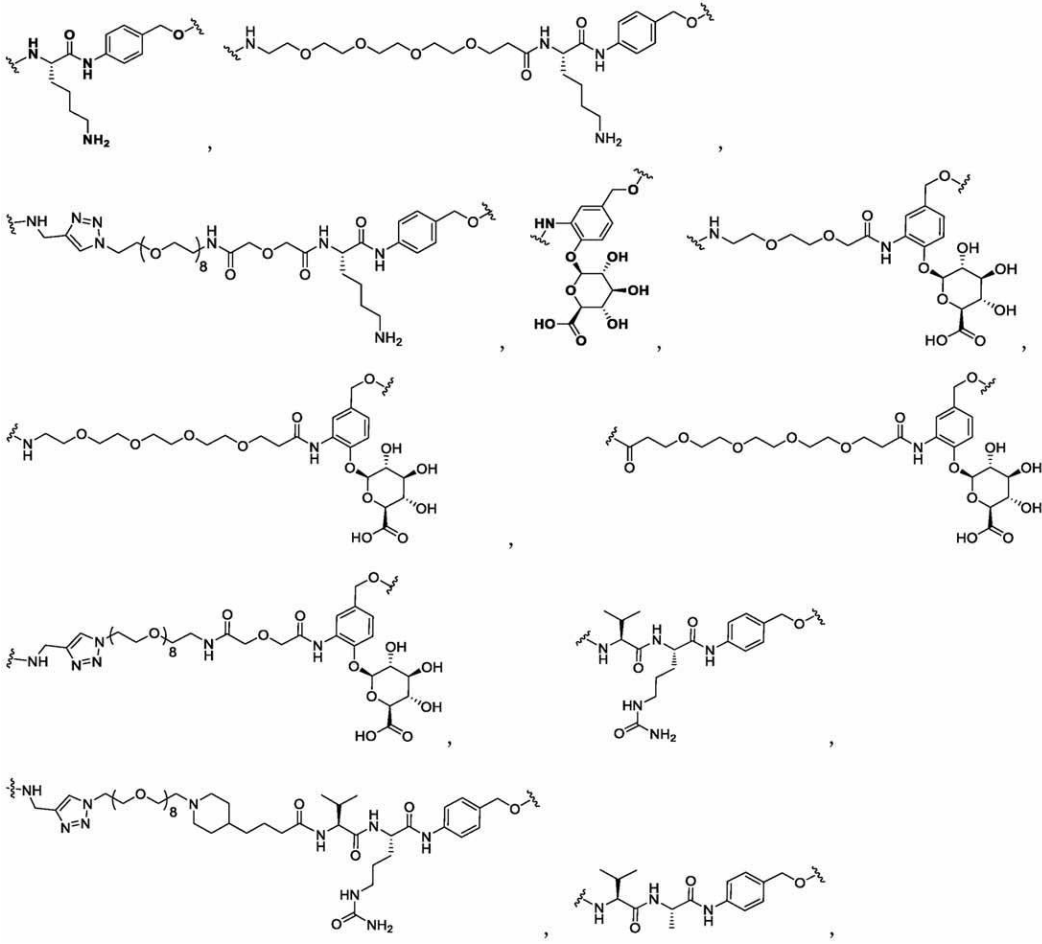
の構造を有する化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒和物、 N -オキシド若しくは同位体標識化合物を提供する。

【0032】

いくつかの実施形態において、 L は、以下の基： $C_1 \sim 6$ アルキレン、 $-N(R_6)-$ 、カルボニル、 $-O-$ 、 Val 、 Cit 、 Phe 、 Lys 、 $D-Val$ 、 Leu 、 Gly 、 Phe 、 Ala 、 Asn 、 $Val-Cit$ 、 $Val-Ala$ 、 $Val-Lys$ 、 $Val-Lys(Ac)$ 、 $Phe-Lys$ 、 $Phe-Lys(Ac)$ 、 $D-Val-Leu-Lys$ 、 $Gly-Gly-Arg$ 、 $Ala-Ala-Asn$ 、 $Gly-Gly-Gly$ 、 $Gly-Gly-Phe-Gly$ 、 $Gly-Gly-Gly-Gly-Gly$ 、

40

【化 16】



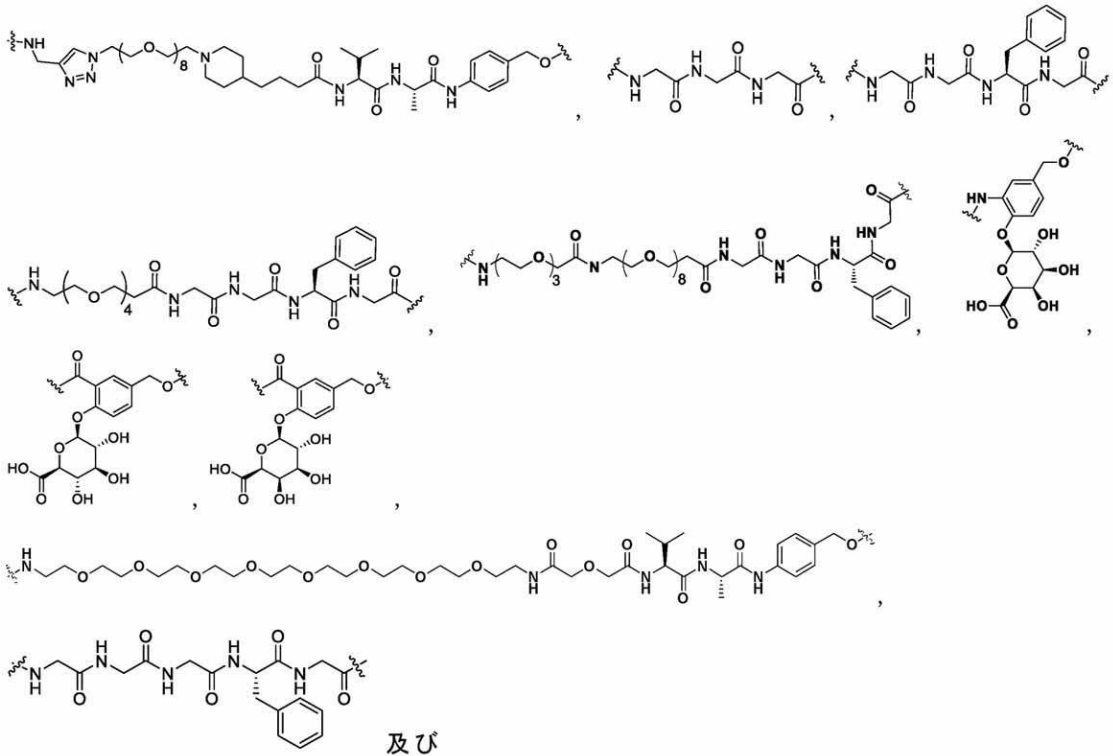
10

20

30

40

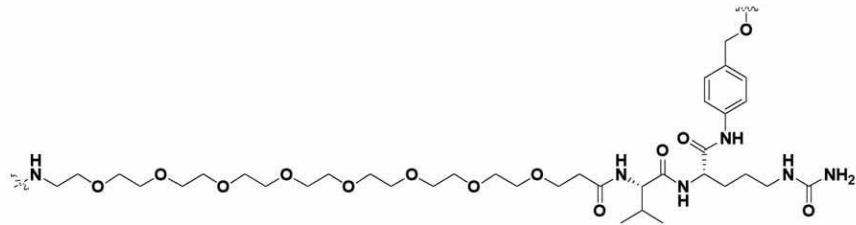
50



から選択されている。

【 0 0 3 5 】

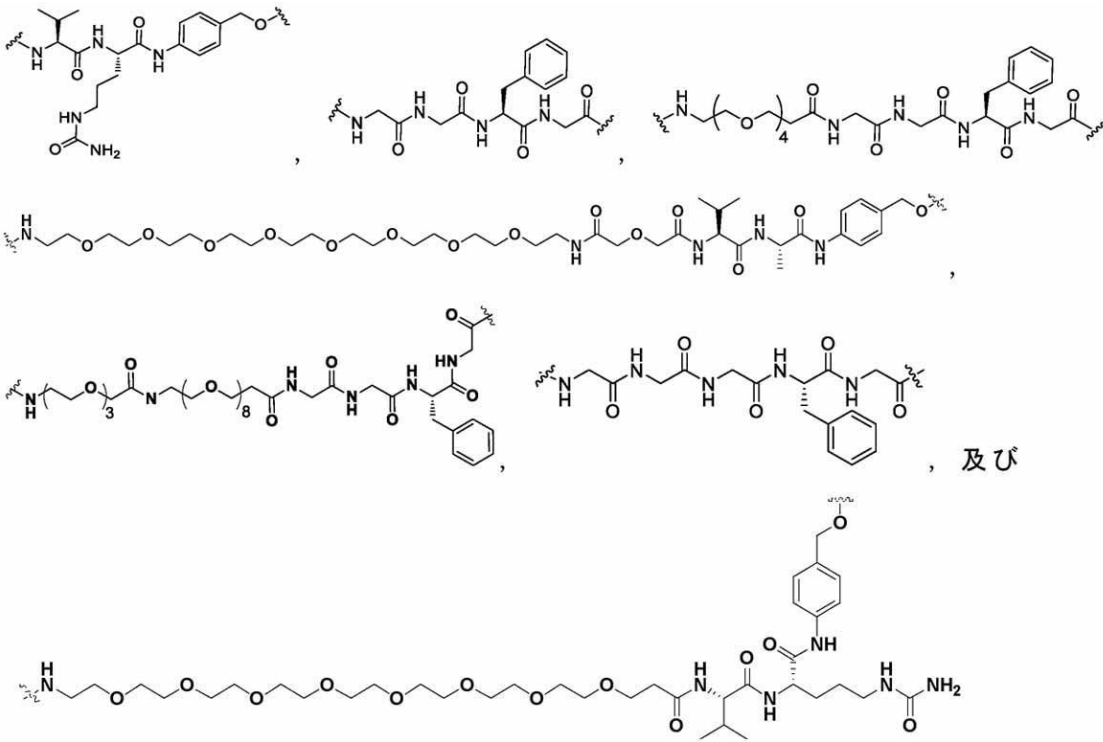
いくつかの実施形態において、Lは、



40

50

【化 17】



10

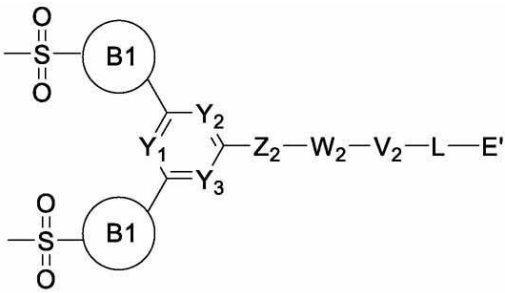
20

から選択されている。

【0036】

第4の態様において、本出願は、式IV：

【化 18】



式IV

30

(式中、

V₂は、それがLに接続されているとき、本出願の第2の態様における式IIの化合物のJ₂から形成された基であり；好ましくは、V₂は、-CO-、-N(R₂)-、-O-、3員～10員窒素含有複素環式環基又はスルホニル尿素基からなる群から選択されており、ここでR₂は、H、C₁～6アルキル又はC₂～6アルコキシアルキルであり；さらに好ましくは、V₂は、-C(O)-及び-N(R₂)-からなる群から選択されており、ここでR₂は、H、C₁～6アルキル又はC₂～6アルコキシアルキルであり；

40

B₁、Y₁、Y₂、Y₃、Z₂及びW₂は、先の第2の態様のいずれかの項目に定義された通りであり；

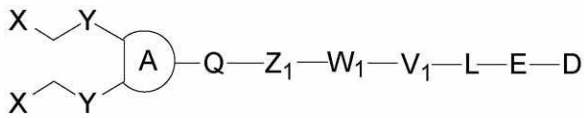
L及びE'は、先の第3の態様のいずれかの項目に定義された通りである)の構造を有する化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒和物、N-オキシド若しくは同位体標識化合物を提供する。

【0037】

第5の態様において、本出願は、式V：

50

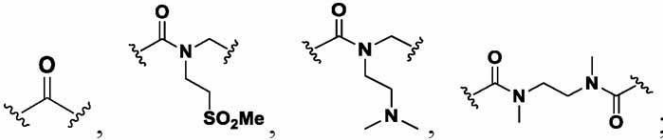
【化19】



(式中、

Eは、単結合、 $-NH-CH_2-$ 、又は以下の構造：

【化20】



10

からなる群から選択されており；

Dは、生物活性分子（例えば、細胞毒性薬）の断片であり；

X、Y、A、Q、Z₁、W₁は、先の第1の態様のいずれかの項目に定義された通りであり；V₁及びLは、第3の態様のいずれかの項目に定義された通りである）

の構造を有する化合物又は薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒和物、N-オキシド若しくは同位体標識化合物を提供する。

20

【0038】

いくつかの実施形態において、生物活性分子は、抗チューブリン剤、DNAインターカレーター、DNAトポイソメラーゼ阻害剤及びRNAポリメラーゼ阻害剤からなる群から選択されている。

【0039】

いくつかの実施形態において、生物活性分子は、アウリスタチン化合物又はメイタンシン化合物などのチューブリン阻害剤；ピロロベンゾジアゼピン（PBD）などのDNAインターカレーター；トポイソメラーゼI阻害剤（例えば、カンプトテシン、ヒドロキシカンプトテシン、9-アミノカンプトテシン、SN-38、イリノテカン、トポテカン、ペロテカン、又はルビテカン）又はトポイソメラーゼII阻害剤（例えば、アドリアマイシン、ドキソルビシン、PNU-159682、デュオカルマイシン、ダウノルビシン、ミトキサントロン、ポドフィロトキシン、又はエトポシド）などのDNAトポイソメラーゼ阻害剤；例えば、アマニチンなどのRNAポリメラーゼ阻害剤；又はその薬学的に許容できる塩、エステル若しくは類似体からなる群から選択されている。

30

【0040】

いくつかの実施形態において、生物活性分子は、トポイソメラーゼI阻害剤（例えば、カンプトテシン、ヒドロキシカンプトテシン、9-アミノカンプトテシン、SN-38、イリノテカン、トポテカン、ペロテカン、ルビテカン）、MMAE及びMMAE誘導体から選択されている。

40

【0041】

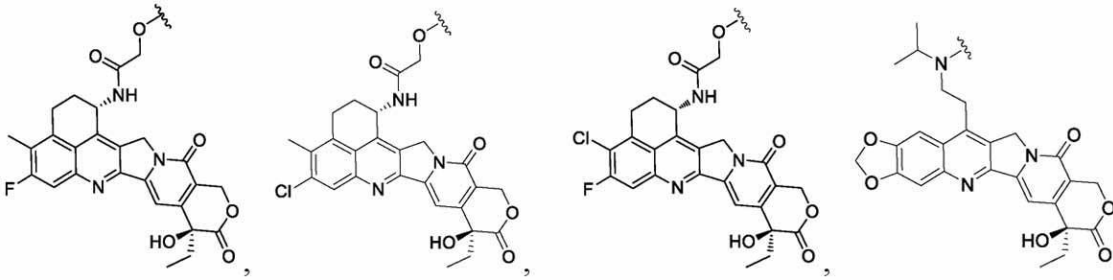
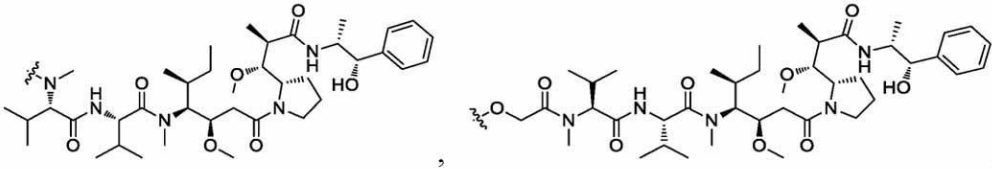
いくつかの実施形態において、生物活性分子は、MMAE及びMMAE誘導体から選択されている。

【0042】

いくつかの実施形態において、Dは、

50

【化 2 1】



10

から選択されている。

【 0 0 4 3 】

いくつかの実施形態において、式 V の化合物は、

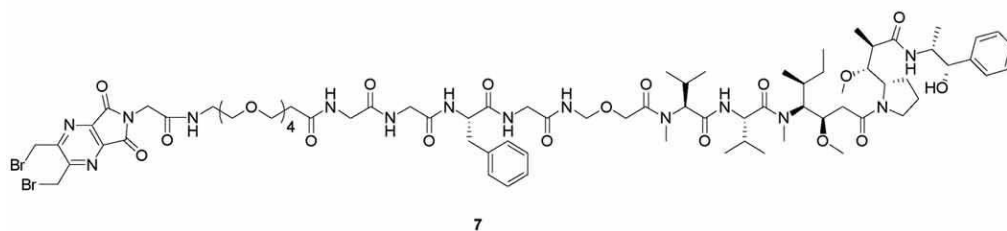
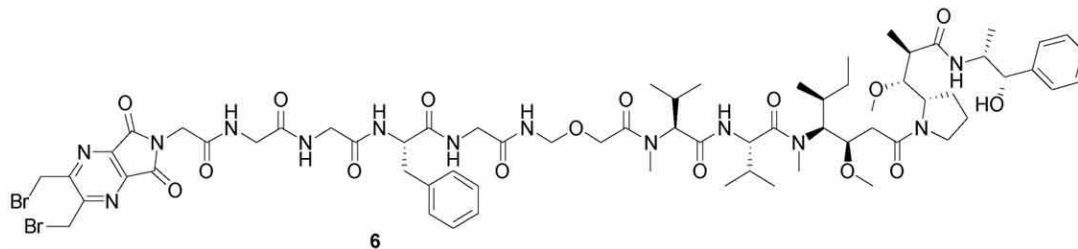
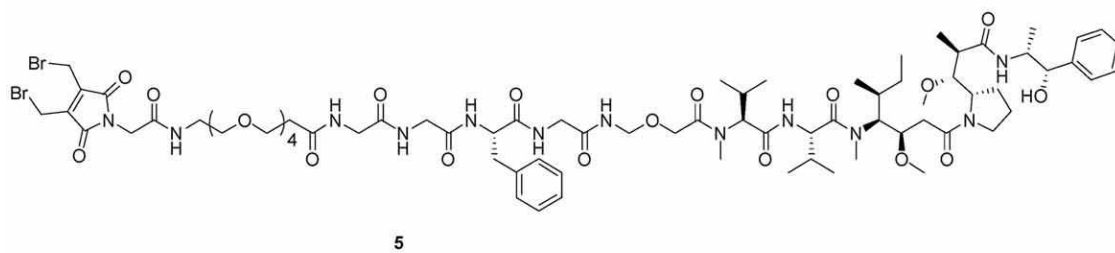
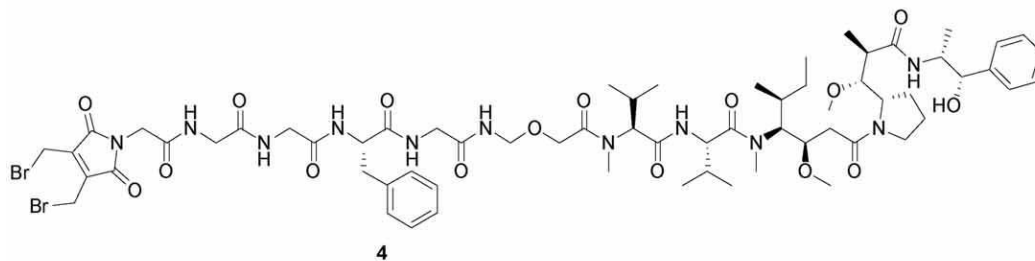
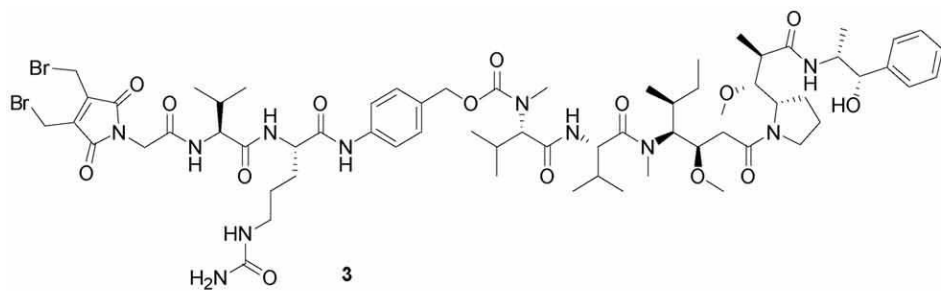
20

30

40

50

【化 2 2】



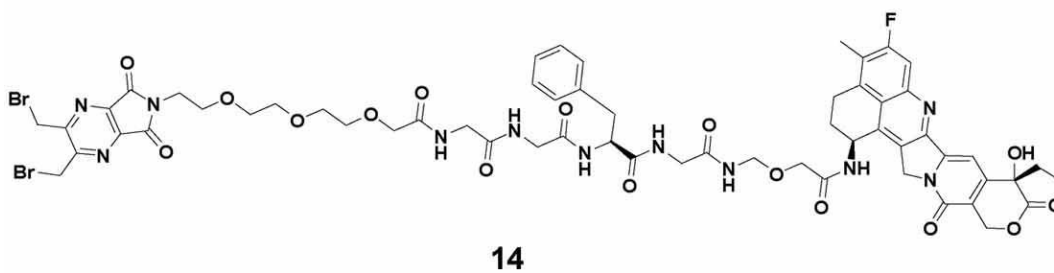
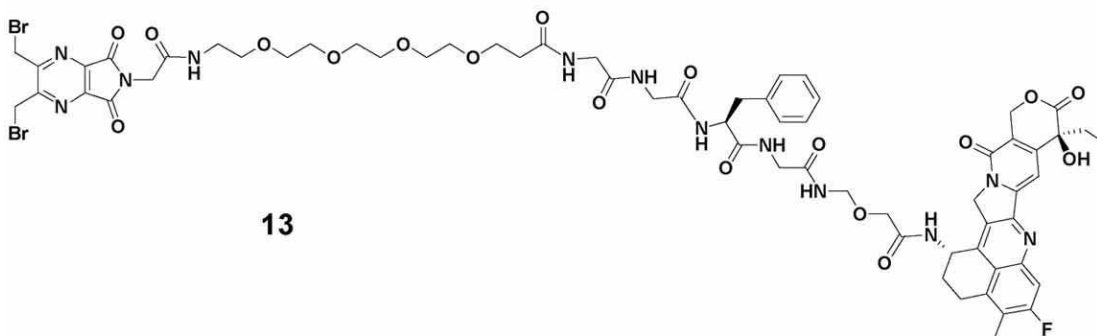
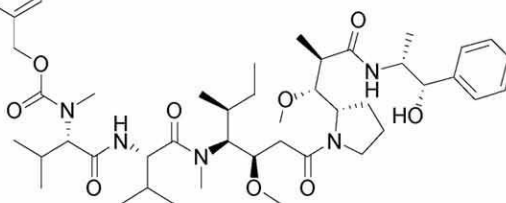
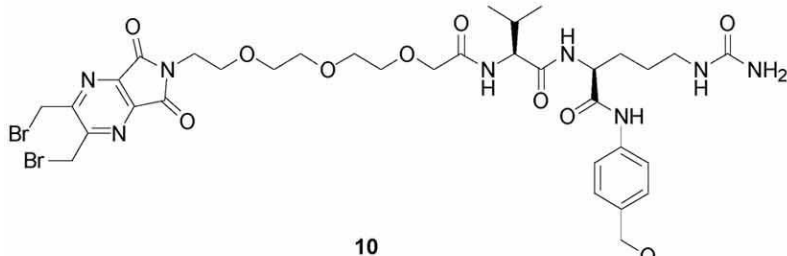
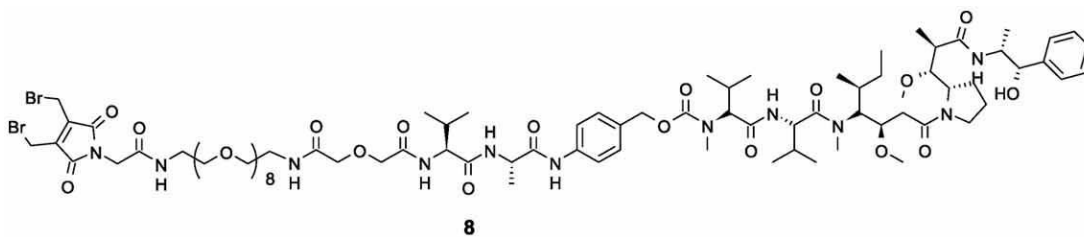
10

20

30

40

50



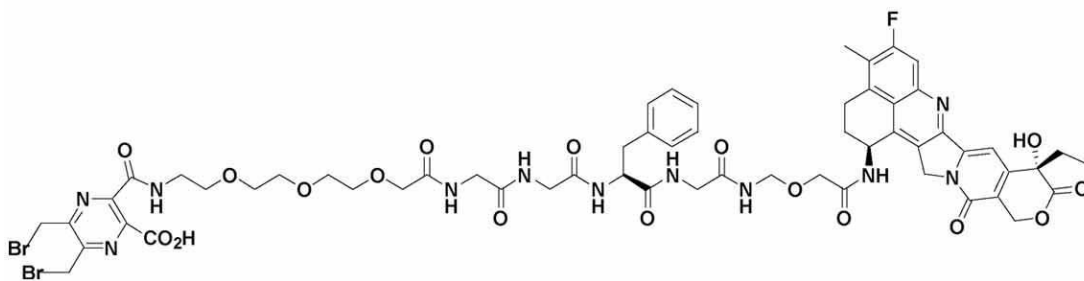
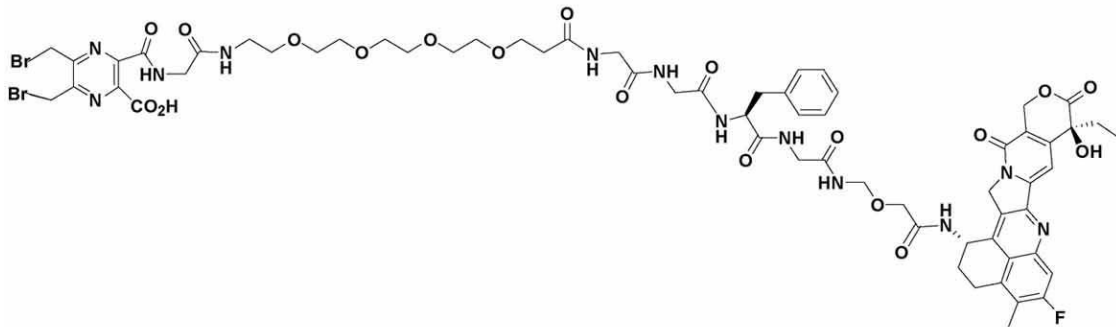
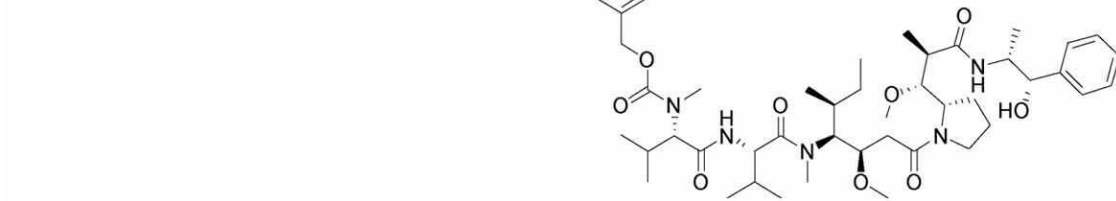
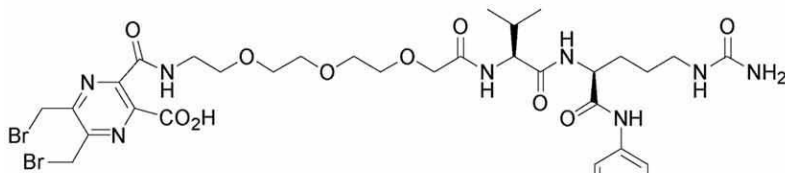
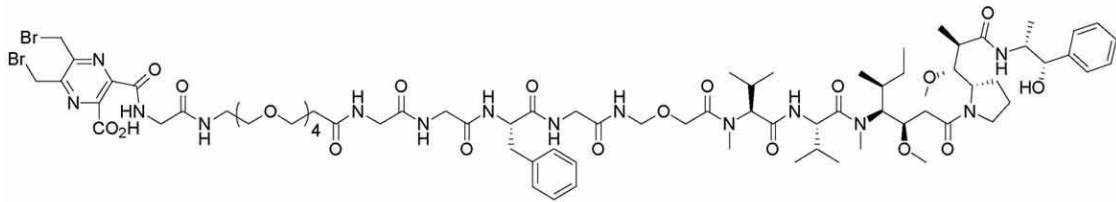
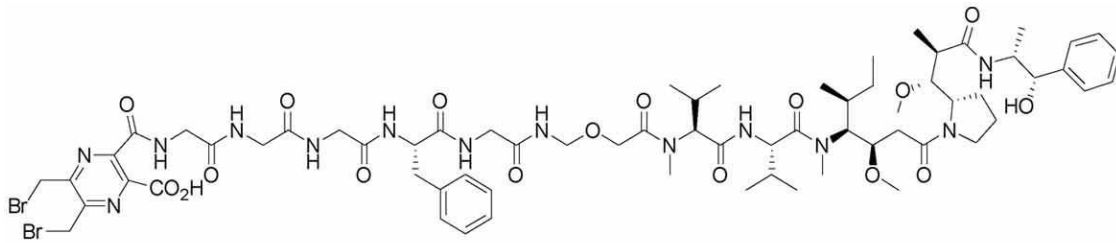
10

20

30

40

50



10

20

30

40

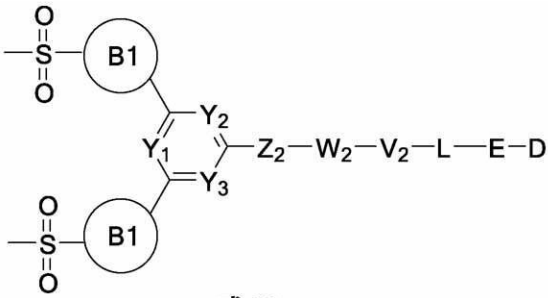
から選択されている。

【 0 0 4 4 】

第 6 の態様において、本出願は、式 V I :

50

【化 2 3】



10

(B₁、Y₁、Y₂、Y₃、Z₂ 及び W₂ は、先の第 2 の態様のいずれかの項目に定義された通りであり；

L は、先の第 3 の態様のいずれかの項目に定義された通りであり；

V₂ は、先の第 4 の態様のいずれかの項目に定義された通りであり；

E 及び D は、先の第 5 の態様のいずれかの項目に定義された通りである)

の構造を有する化合物又はその薬学的に許容できる塩、エステル、立体異性体、互変異性体、多形、溶媒和物、N - オキシド若しくは同位体標識化合物を提供する。

【 0 0 4 5】

いくつかの実施形態において、式 V I の化合物は、

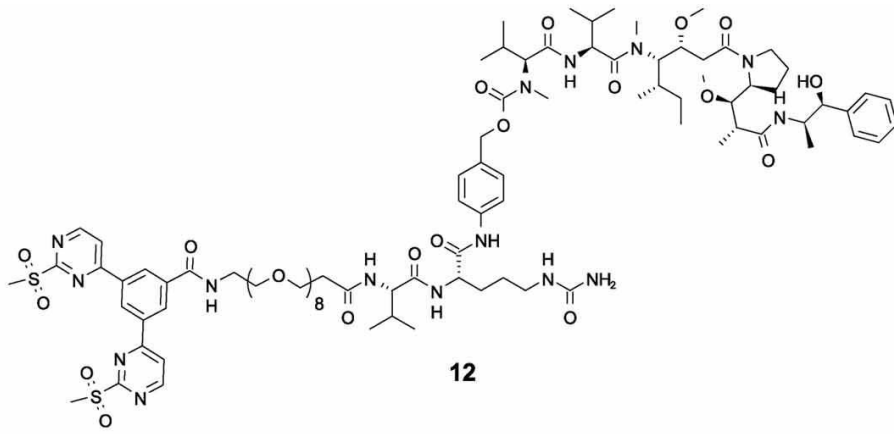
20

30

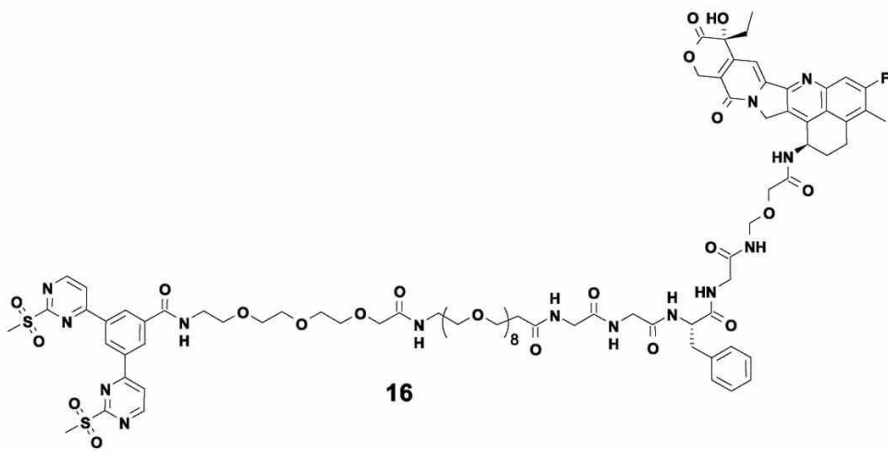
40

50

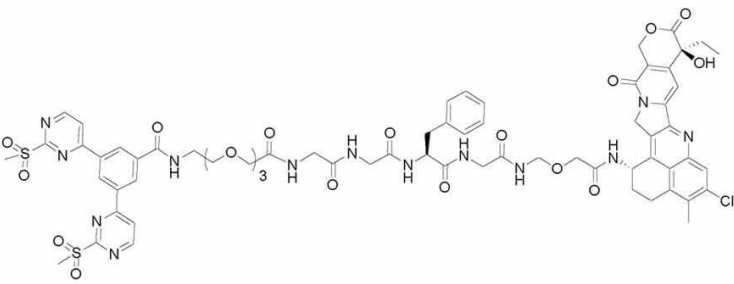
【化 2 4】



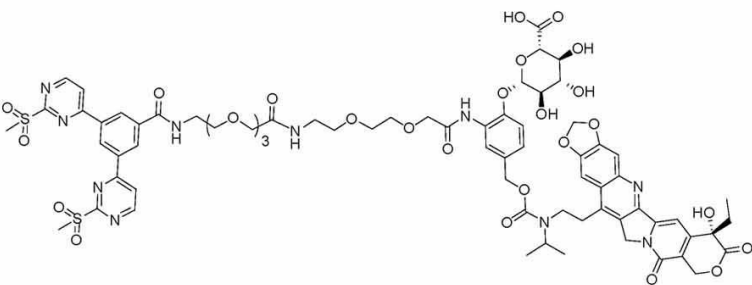
10



20

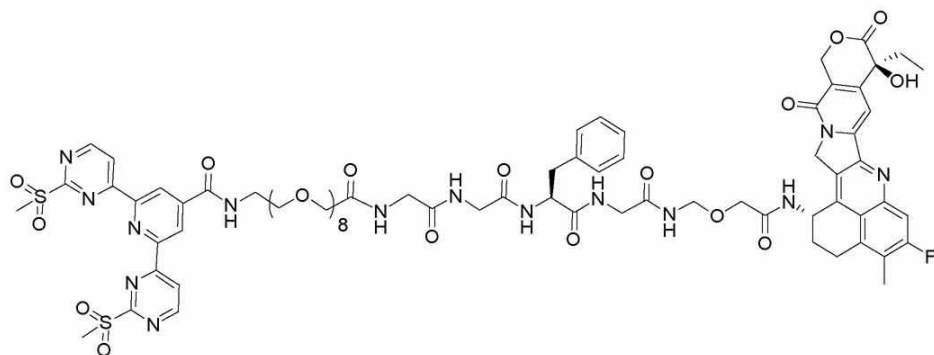
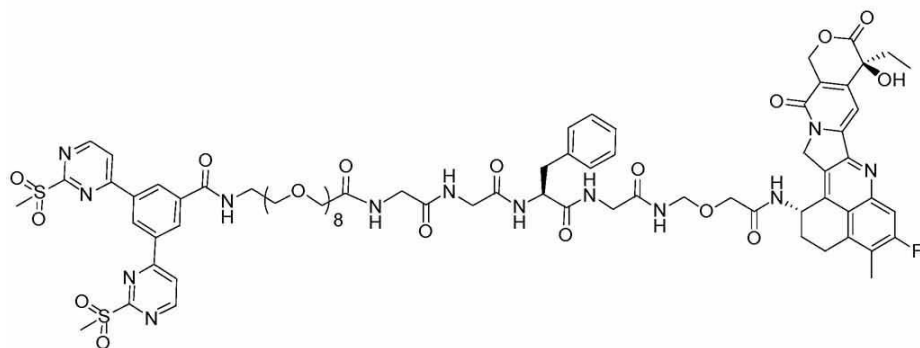
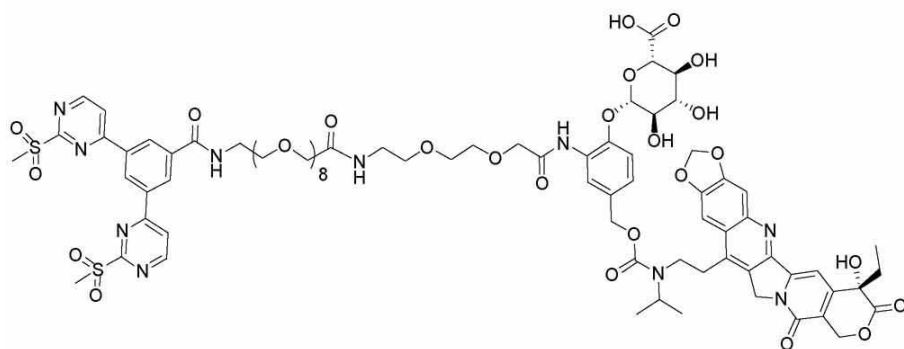
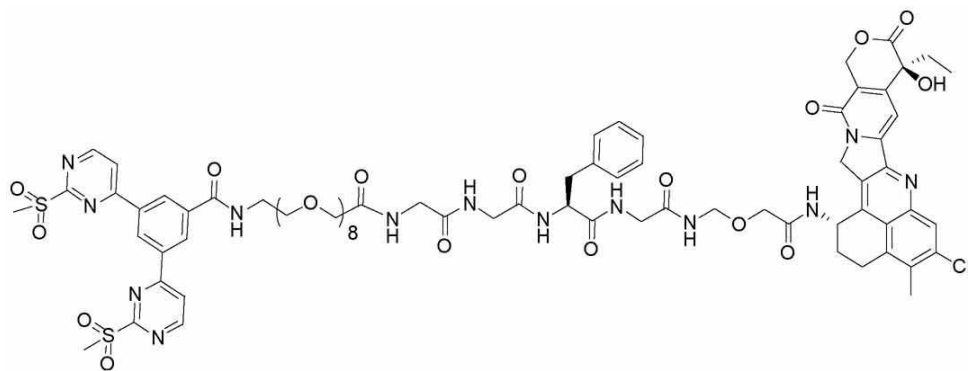


30



40

50



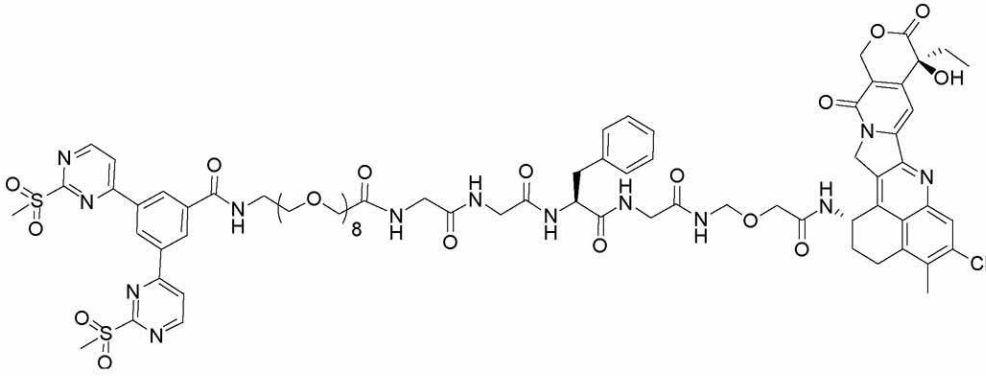
10

20

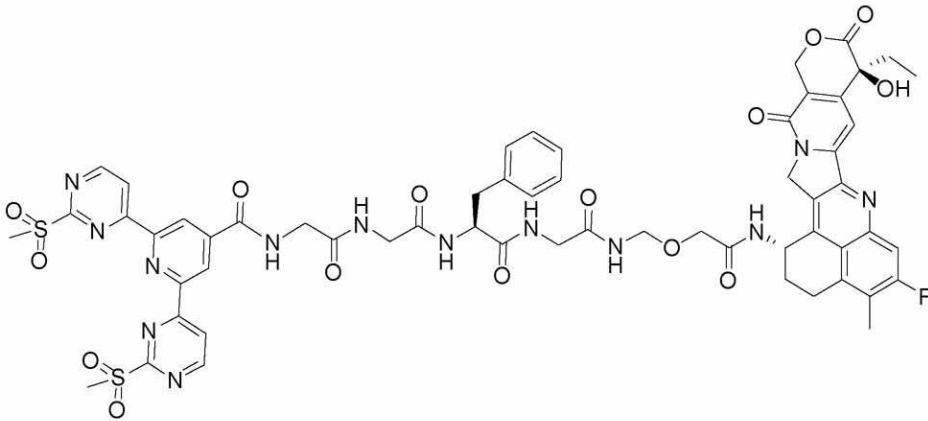
30

40

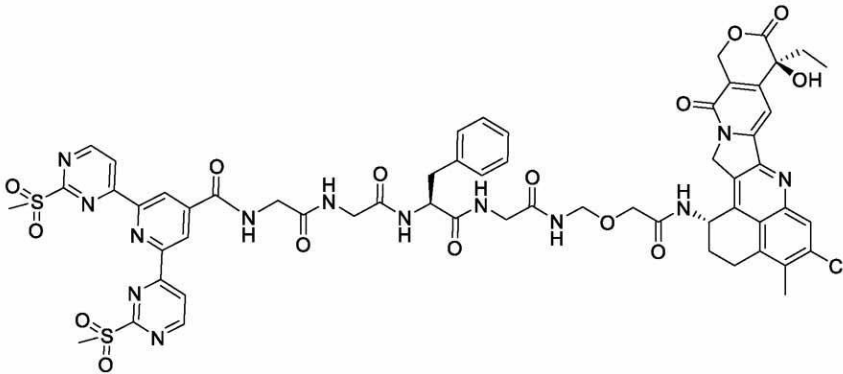
50



10



20



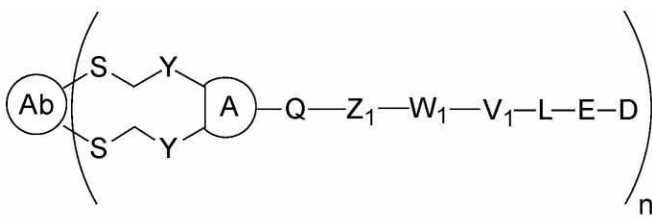
30

である。

【 0 0 4 6 】

第 7 の態様において、本出願は、生物活性コンジュゲートであって、式 V I I :

【 化 2 5 】



式 VII

40

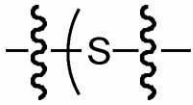
(式中、Abは、標的化部分(例えば、小分子リガンド、タンパク質(例えば、抗体)、ポリペプチド、非タンパク質試薬(例えば、サッカライド、RNA又はDNA))であり；nは、1~10の整数又は小数であり；

V₁は、-C(O)-及び-N(R₁)-からなる群から選択されており、ここでR₁は、H、C₁-6アルキル又はC₂-6アルコキシアリルであり；

50

L は、V₁ 及び E を接続するリンカーであり；
 E は、L 及び D を接続する構造断片であり；
 D は、生物活性分子（例えば、細胞毒性薬）の断片であり；
 標的化部分が抗体であるとき、生物活性コンジュゲート中の

【化 2 6】



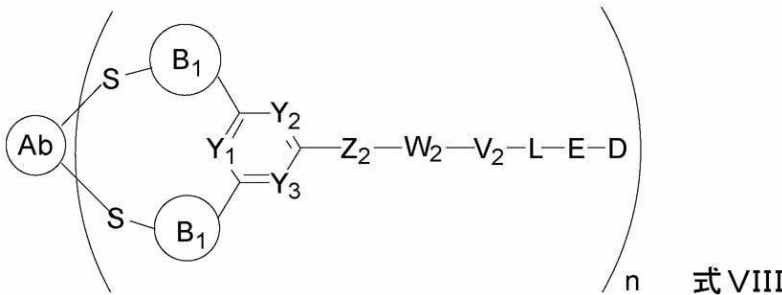
は、抗体中のスルフヒドリル基が生物活性コンジュゲートの残部に接続する特定の手段を表し；

すべての他の基は、上の態様のいずれかの項目に定義された通りである）
 に示される通りの構造を有する、生物活性コンジュゲートを提供する。

【0047】

本発明の別の態様は、生物活性コンジュゲートであって、式 VIII :

【化 2 7】



20

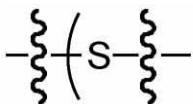
（式中、Ab は、標的化部分（例えば、小分子リガンド、タンパク質（例えば、抗体）、ポリペプチド、非タンパク質試薬（例えば、サッカライド、RNA 又は DNA））であり；n は、1 ~ 10 の整数又は小数であり；

V₂ は、-C(O)- 及び -N(R₂)- からなる群から選択されており、ここで R₂ は、H、C₁ ~ 6 アルキル又は C₂ ~ 6 アルコキシアルキルであり；

30

L は、V₂ 及び E を接続するリンカーであり；
 E は、L 及び D を接続する構造断片であり；
 D は、生物活性分子（例えば、細胞毒性薬）の断片であり；
 標的化部分が抗体であるとき、生物活性コンジュゲート中の

【化 2 8】



は、抗体中のスルフヒドリル基が生物活性コンジュゲートの残部に接続する特定の手段を表し；

すべての他の基は、上の態様のいずれかの項目に定義された通りである）
 に示される通りの構造を有する、生物活性コンジュゲートを提供する。

【0048】

いくつかの実施形態において、Ab は、上皮成長因子、Trop-2、CD37、HER2、CD70、EGFRvIII、メソテリン、葉酸受容体1、ムチン1、CD138、CD20、CD19、CD30、SLTRK6、ネクチン4、組織因子、ムチン16、エンドセリン受容体、STEAP1、SLC39A6、グアニリルシクラーゼC、PSMA、CCD79b、CD22、ナトリウムリン酸共輸送体2B、GPNMB、トロホブラスト糖タンパク質、AGS-16、EGFR、CD33、CD66e、CD74、CD5

50

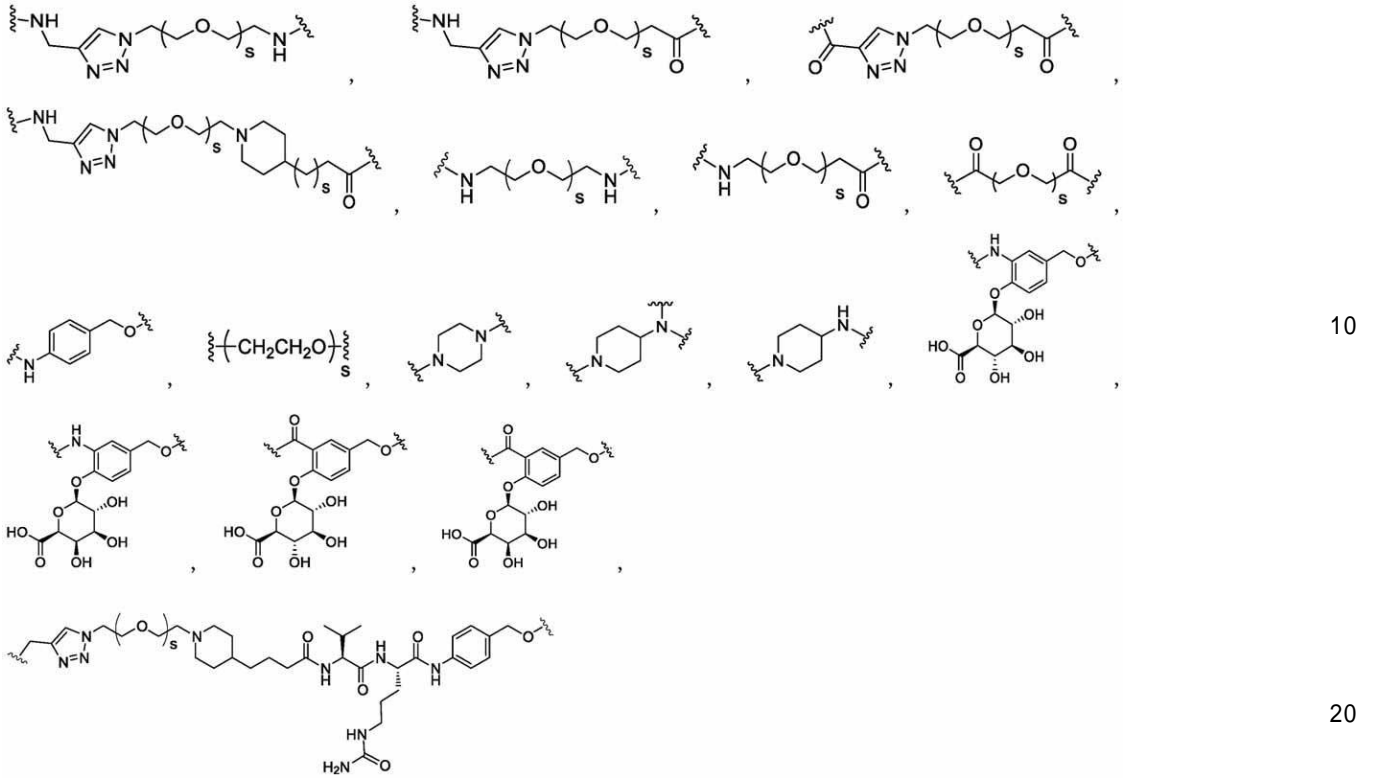
6、PD-L1、TACSTD2、DR5、E16、STEAP1、0772P、MPF、Napi3b、Sema5b、PSCA h1g、ETBR、MSG783、STEAP2、TrpM4、CRIPTO、CD21、CD79b、FcRH2、NCA、MDP、IL20R、プレビカン、EphB2R、ASLG659、PSCA、GEDA、BAFF-R、CD22、CD79a、CXCR5、HLA-DOB、P2X5、CD72、LY64、FcRH1、IRTA2、TENB2、インテグリン 5 6、4 7、FGF2、FGFR2、Her3、CD70、CA6、DLL3、DLL4、P-カドヘリン、EpCAM、pCAD、CD223、LYPD3、LY6E、EFNA4、ROR1、SLITRK6、5T4、ENPP3、SLC39A6、クローディン18.2、BMPR1B、E16、STEAP1、Tyro7、0772P、MPF、Napi3b、Sema5b、PSCA h1g、ETBR、MSG783、STEAP2、TrpM4、CRIPTO、CD21、CD79b、FcRH2、NCA、MDP、IL20R、プレビカン、EphB2R、ASLG659、PSCA、GEDA、CD22、CD79a、CXCR5、HLA-DOB、P2X5、CD72、LY64、FcRH1、IRTA2、c-Met、ApoE、CD11c、CD40、CD45 (PTPRC)、CD49D (ITGA4)、CD80、CSF1R、CTSD、GZMB、Ly86、MS4A7、PIK3AP1、PIK3CD、CCR5、IFNG、IL10RA1、IL-6、ACTA2、COL7A1、LOX、LRRC15、MCPT8、MMP10、NOG、SERPINE1、STAT1、TGFB1、CTSS、PGF、VEGFA、C1QA、C1QB、ANGPTL4、EGLN、ANGPTL4、EGLN3、BNIP3、AIF1、CCL5、CXCL10、CXCL11、IFI6、PLOD2、KISS1R、STC2、DDIT4、PFKFB3、PGK1、PDK1、AKR1C1、AKR1C2、CADM1、CDH11、COL6A3、CTGF、HMOX1、KRT33A、LUM、WNT5A、IGFBP3、MMP14、CDCP1、PDGFRA、TCF4、TGF、TGFB1、TGFB2、CD11b、ADGRE1、EMR2、TNFRSF21、UPK1B、TNFSF9、MMP16、MFI2、IGF-1R、RNF43、Napi2b、BCMA、B7H3、及びTENB2からなる群から選択されており；

好ましくは、Abは、抗Her2抗体トラスツズマブ又は抗Trop2抗体サシツズマブ又は抗ROR1抗体19F6__Hu35V1からなる群から選択されている。

【0049】

いくつかの実施形態において、Lは、以下の基：C₁₋₆アルキレン、-N(R₆)-、カルボニル、-O-、Val、Cit、Phe、Lys、D-Val、Leu、Gly、Phe、Ala、Asn、Val-Cit、Val-Ala、Val-Lys、Val-Lys(Ac)、Phe-Lys、Phe-Lys(Ac)、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn、Gly-Gly-Gly、Gly-Gly-Phe-Gly、Gly-Gly-Gly-Gly-Gly、

【化 2 9】



からなる群から選択された 1 種又は複数種であり、ここで R₆ は、H、C₁ ~ 6 アルキル
又は C₂ ~ 6 アルコシアルキルであり、s は、1 ~ 10 の整数であり；

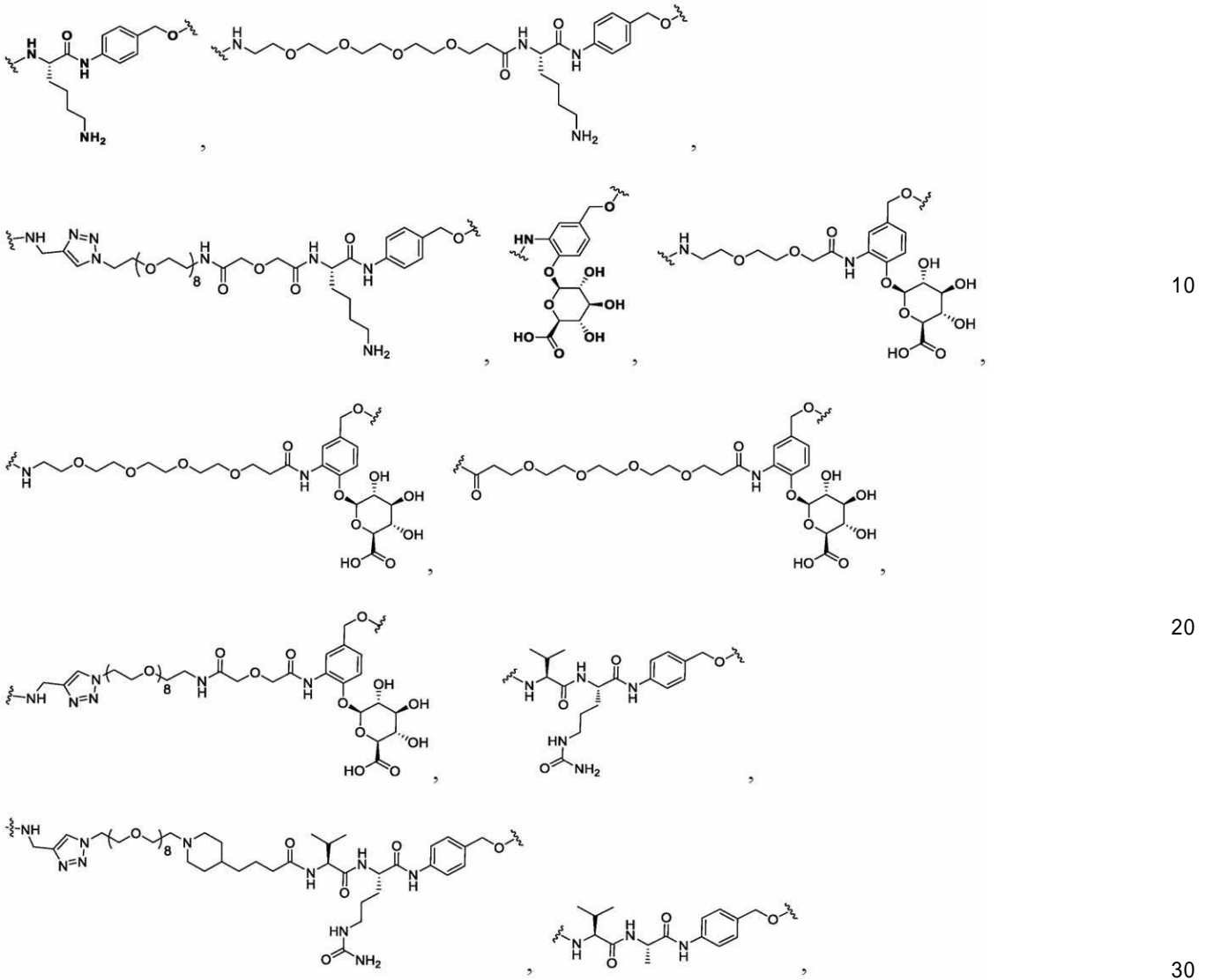
好ましくは、L は、以下の構造：

30

40

50

【化 3 0】



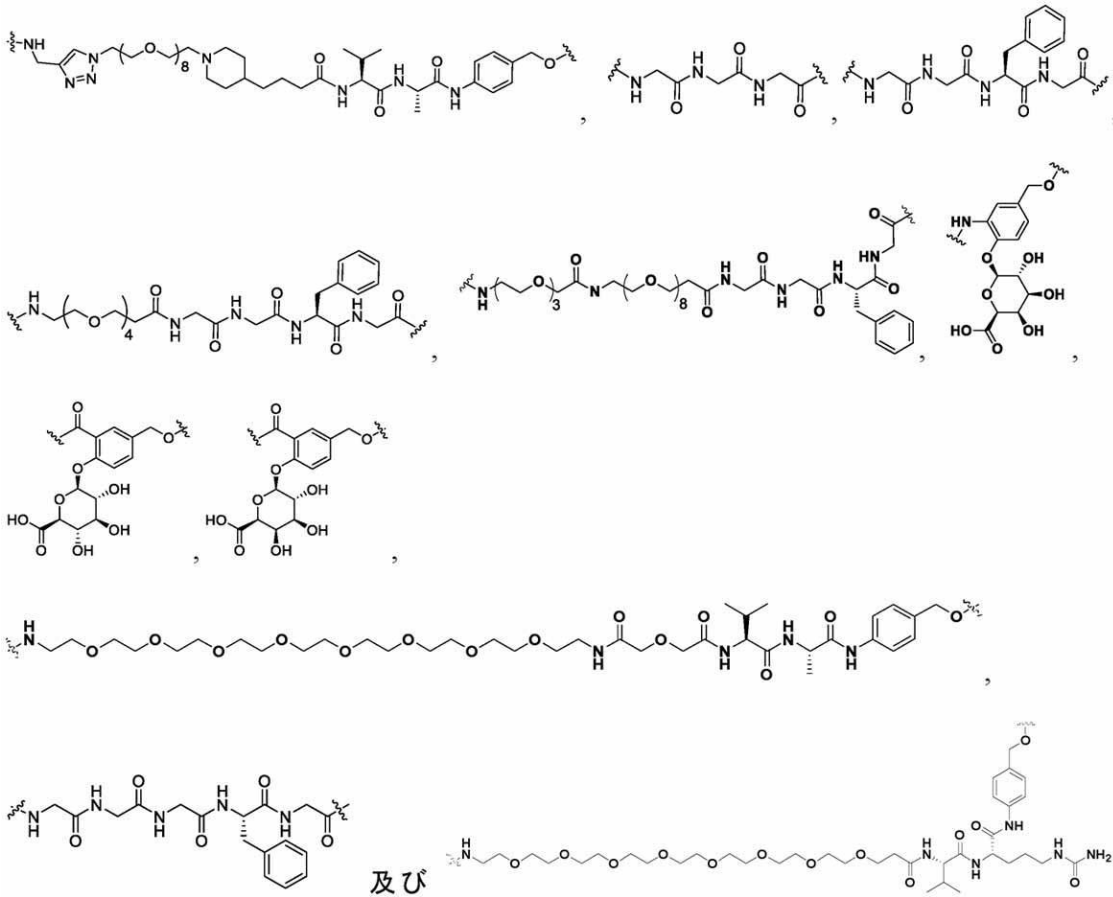
10

20

30

40

50



10

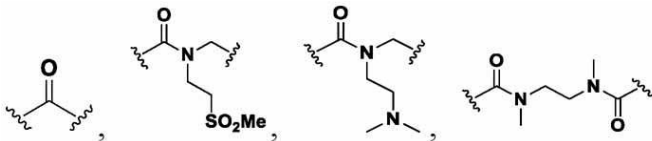
20

からなる群から選択されている。

【 0 0 5 0 】

いくつかの実施形態において、Eは、単結合、-NH-CH₂-、及び以下の構造：

【 化 3 1 】



30

である。

【 0 0 5 1 】

いくつかの実施形態において、Eは -NH-CH₂- である。

【 0 0 5 2 】

いくつかの実施形態において、生物活性分子は、抗チューブリン剤、DNAインターカレーター、DNAトポイソメラーゼ阻害剤及びRNAポリメラーゼ阻害剤からなる群から

40

【 0 0 5 3 】

いくつかの実施形態において、生物活性分子は、アウリスタチン化合物又はメイタンシン化合物などのチューブリン阻害剤；ピロロベンゾジアゼピン（PBD）などのDNAインターカレーター；トポイソメラーゼI阻害剤（例えば、カンプトテシン、ヒドロキシカンプトテシン、9-アミノカンプトテシン、SN-38、イリノテカン、トポテカン、ペロテカン、又はルピテカン）又はトポイソメラーゼII阻害剤（例えば、アドリアマイシン、ドキシソルピシン、PNU-159682、デュオカルマイシン、ダウノルピシン、ミトキサントロン、ポドフィロトキシン、又はエトポシド）などのDNAトポイソメラーゼ阻害剤；例えば -アマニチンなどのRNAポリメラーゼ阻害剤；又はその薬学的に許容

50

できる塩、エステル若しくは類似体からなる群から選択されている。

【0054】

いくつかの実施形態において、生物活性分子は、トポイソメラーゼI阻害剤（例えば、カンプトテシン、ヒドロキシカンプトテシン、9-アミノカンプトテシン、SN-38、イリノテカン、トポテカン、ベロテカン、ルビテカン）、MMAE及びMMAE誘導体から選択されている。

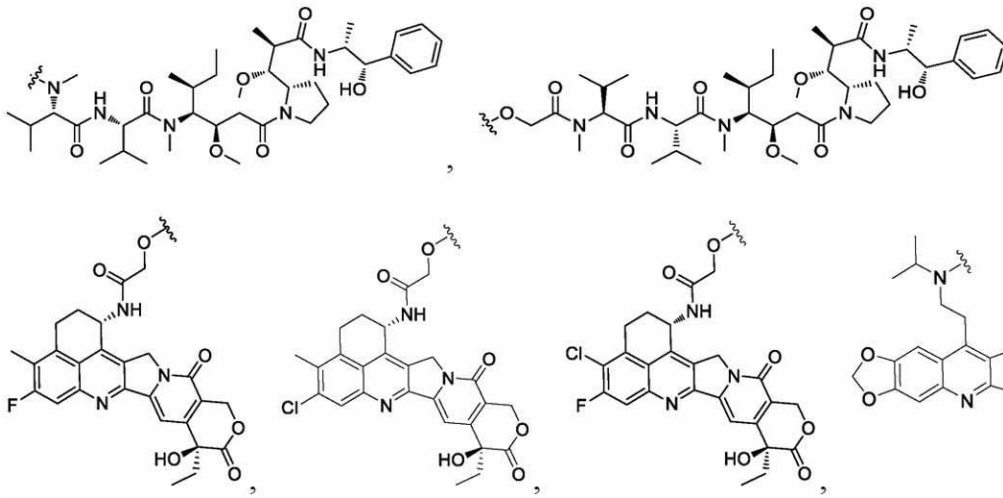
【0055】

いくつかの実施形態において、生物活性分子は、MMAE及びMMAE誘導体から選択されている。

【0056】

いくつかの実施形態において、Dは、

【化32】



から選択されている。

【0057】

いくつかの実施形態において、nは1～8であり；より好ましくはnは3～5である。

【0058】

いくつかの実施形態において、生物活性コンジュゲートは、Abが、抗Her2抗体トラスツマブ又は抗Trop2抗体サシツズマブ又は抗ROR1抗体19F6_Hu35V1からなる群から選択されており、n₁が、1～8；より好ましくは3～5である以下の構造：

10

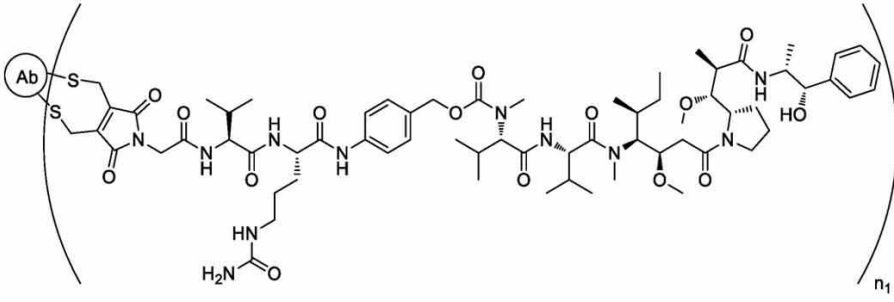
20

30

40

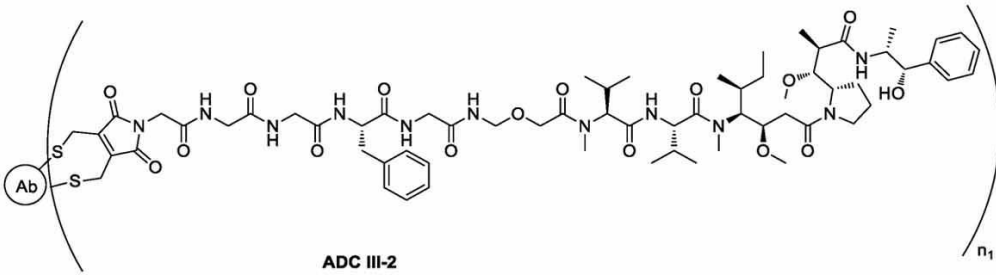
50

【化 3 3】



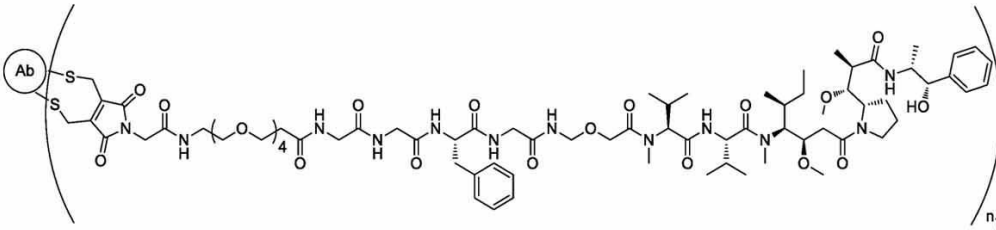
ADC III-1

10



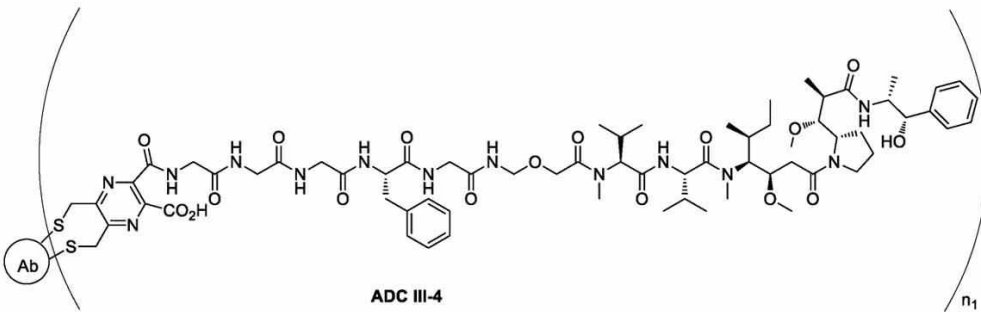
ADC III-2

20



ADC III-3

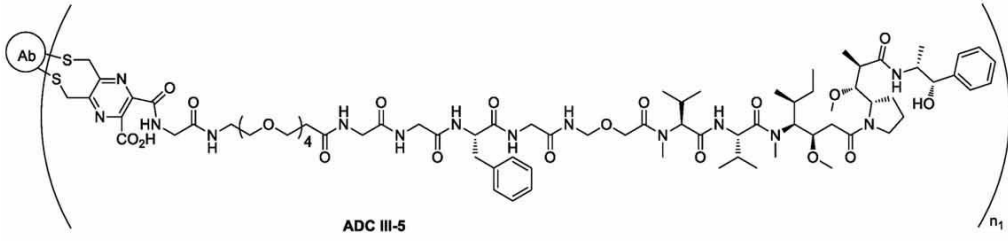
30



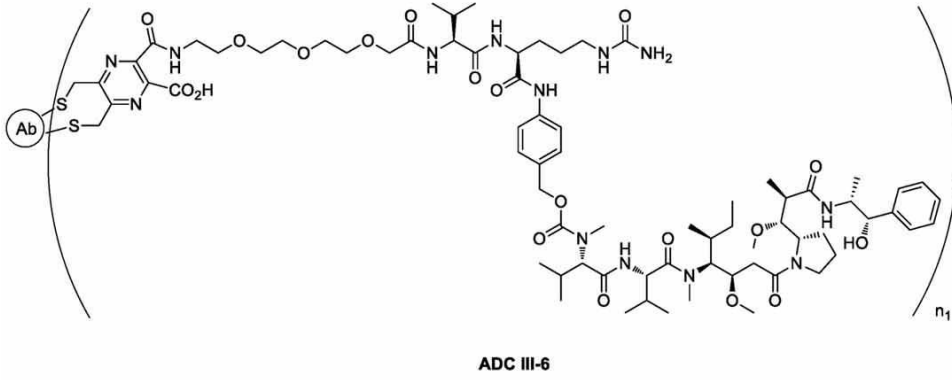
ADC III-4

40

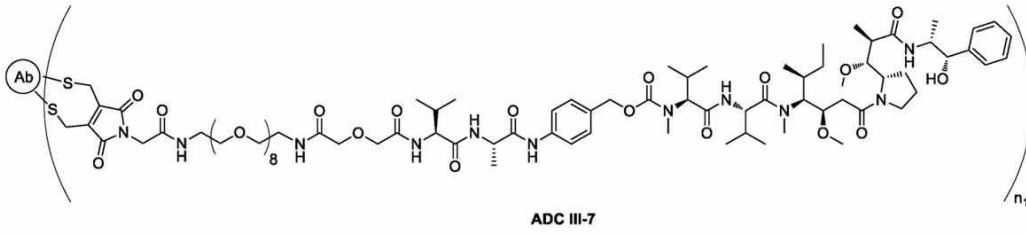
50



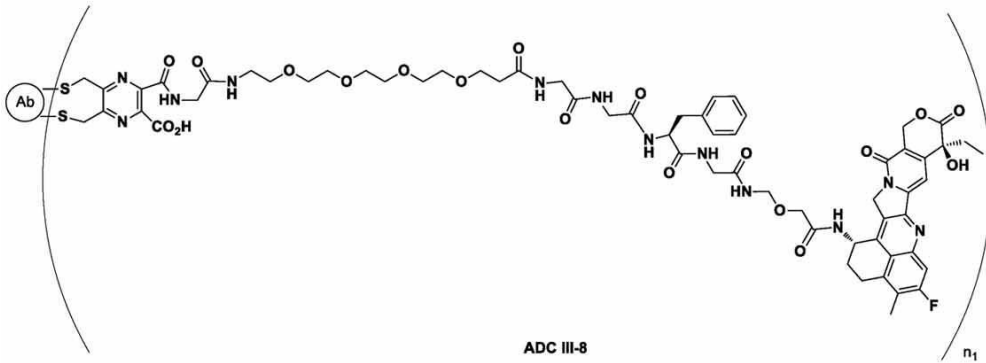
10



20

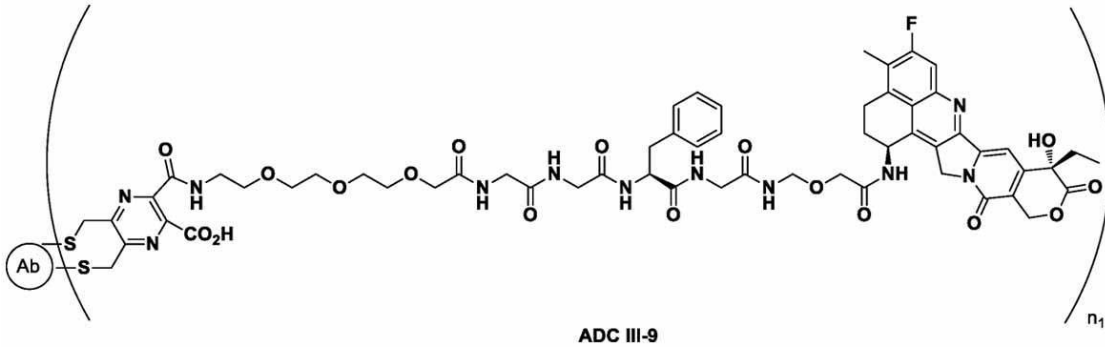


30



40

50



10

を有する。

【 0 0 5 9 】

いくつかの実施形態において、生物活性コンジュゲートは、Abが、抗Her2抗体トラスツマブ又は抗Trop2抗体サシツズマブ又は抗ROR1抗体19F6_Hu35V1からなる群から選択されており、 n_1 が、1~8；より好ましくは3~5である以下の構造：

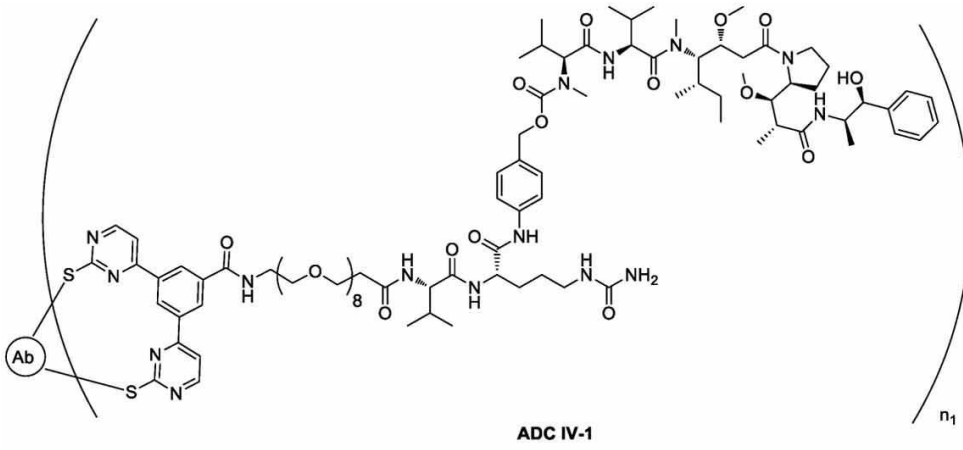
20

30

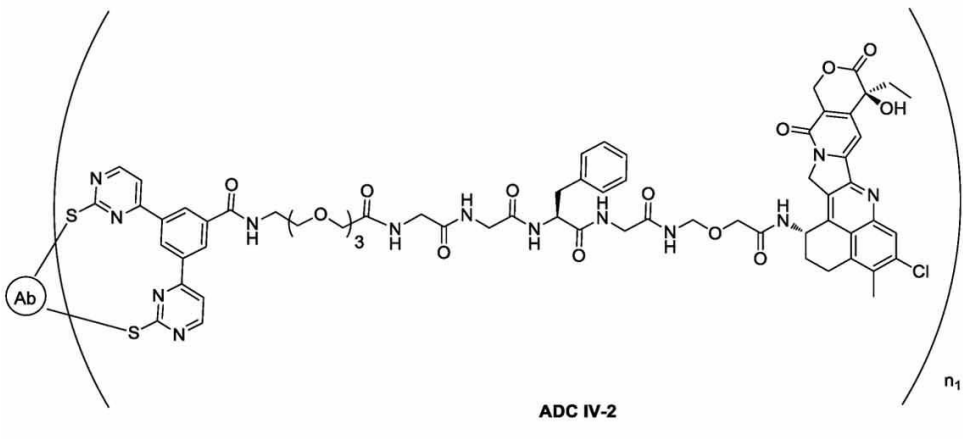
40

50

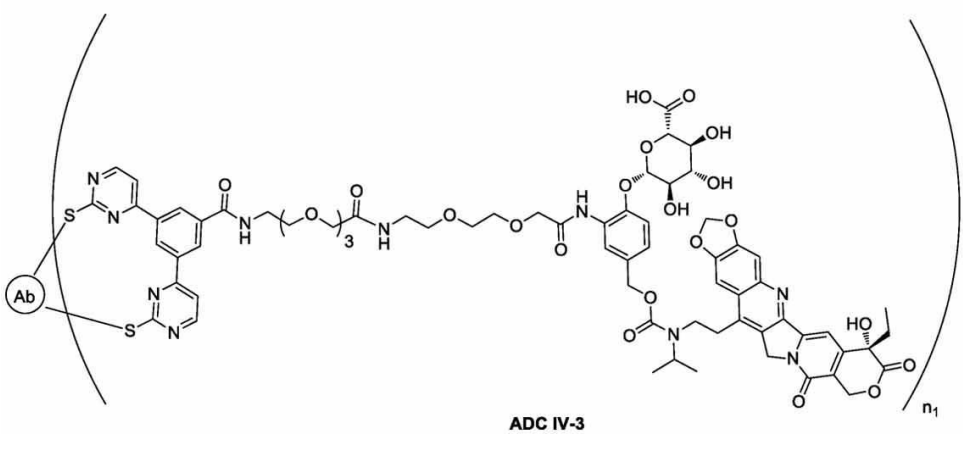
【化 3 4】



10



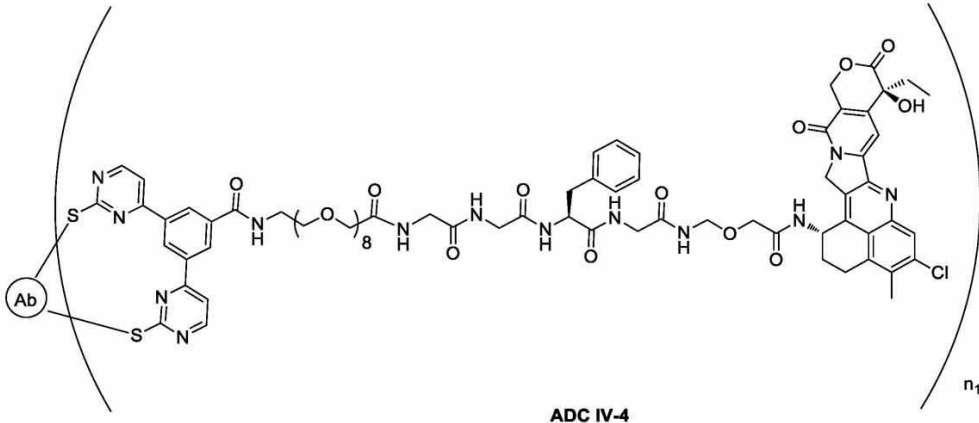
20



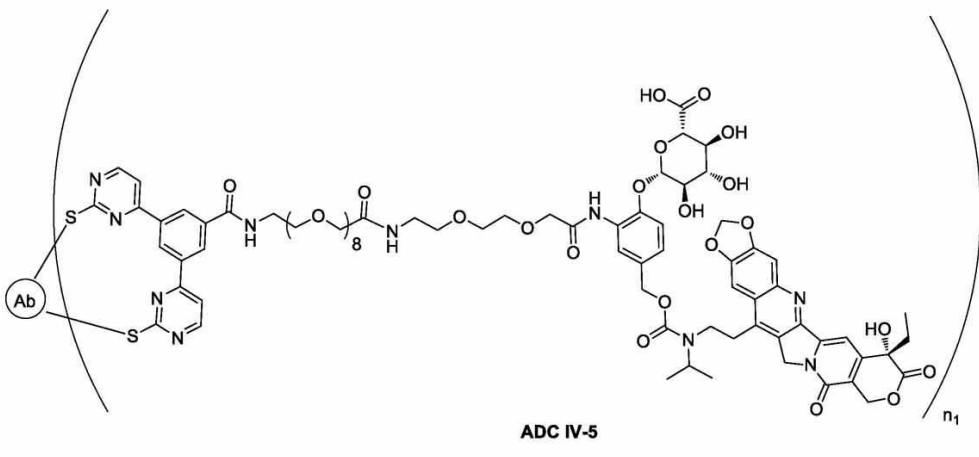
30

40

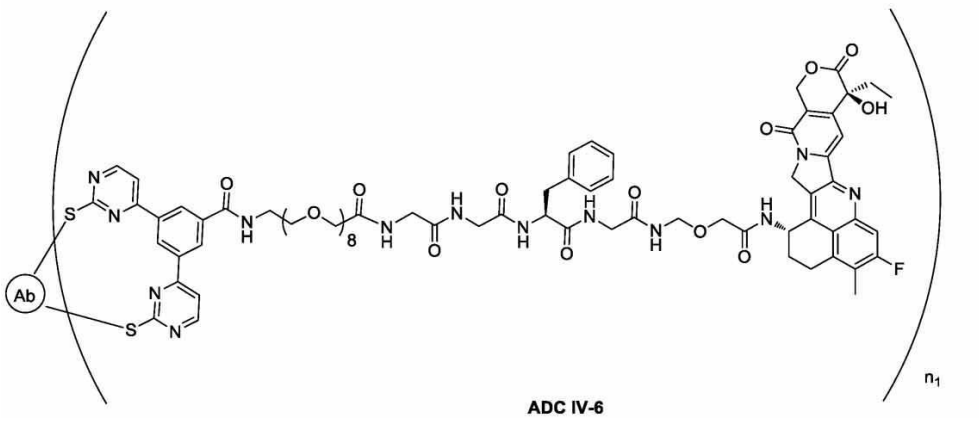
50



10



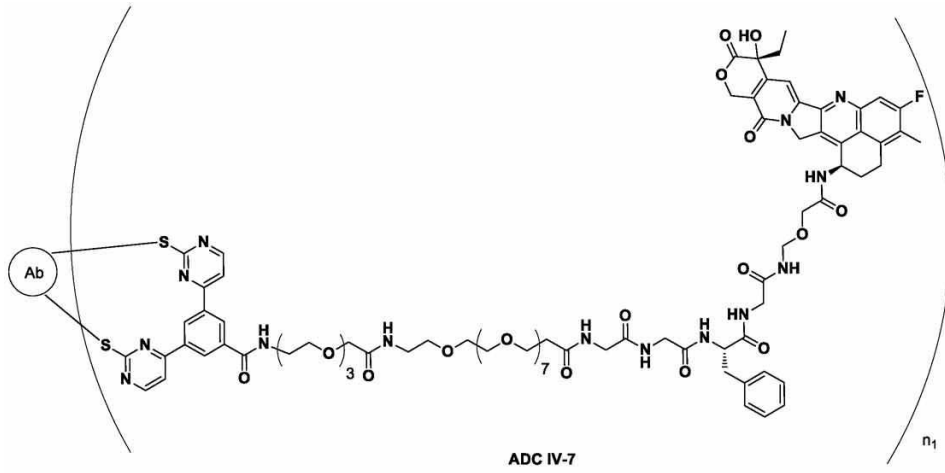
20



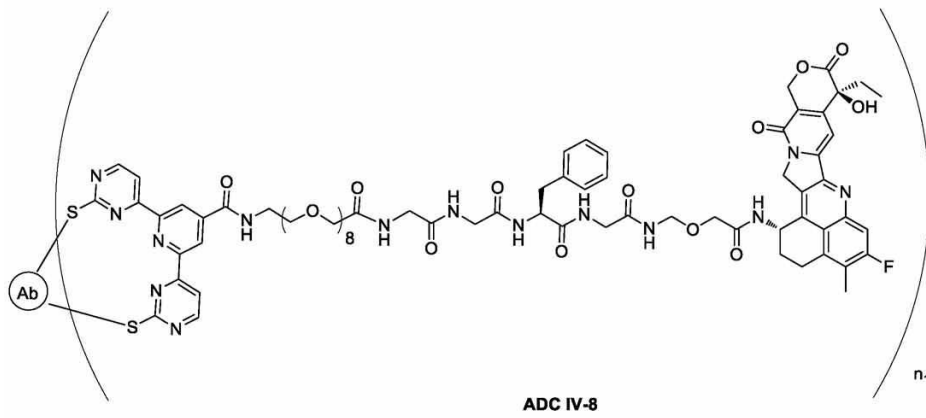
30

40

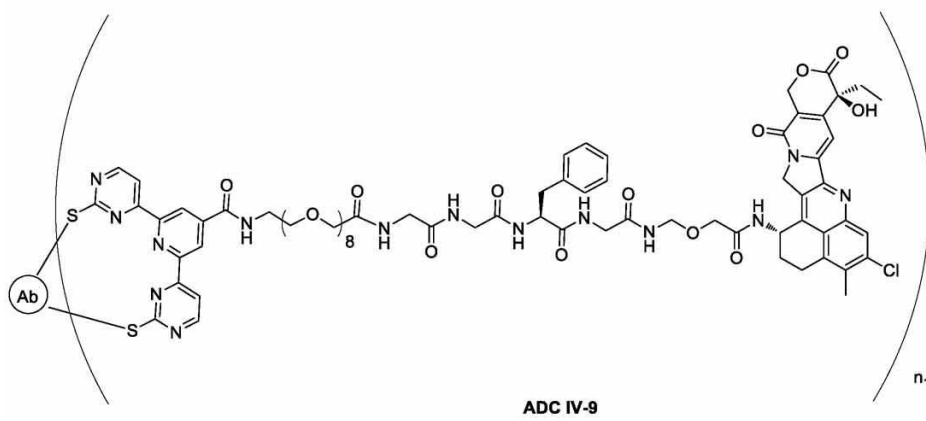
50



10



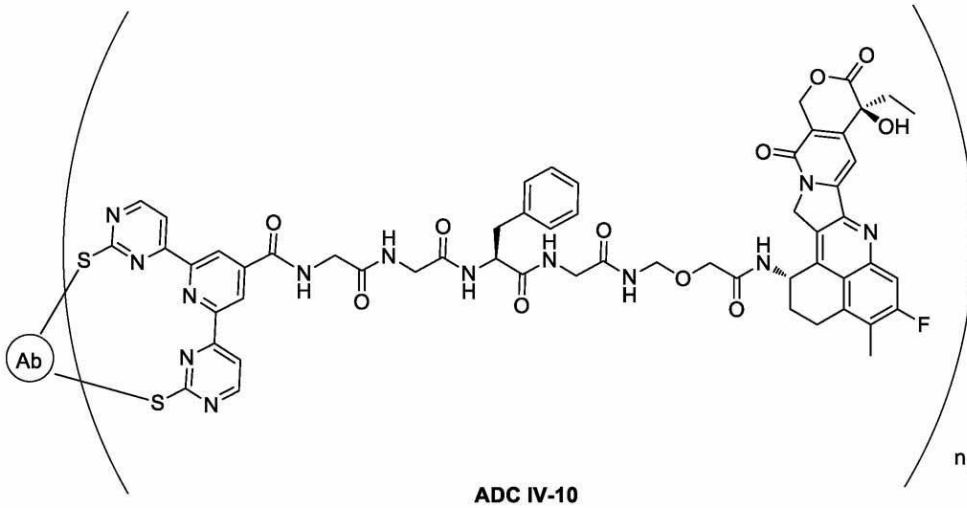
20



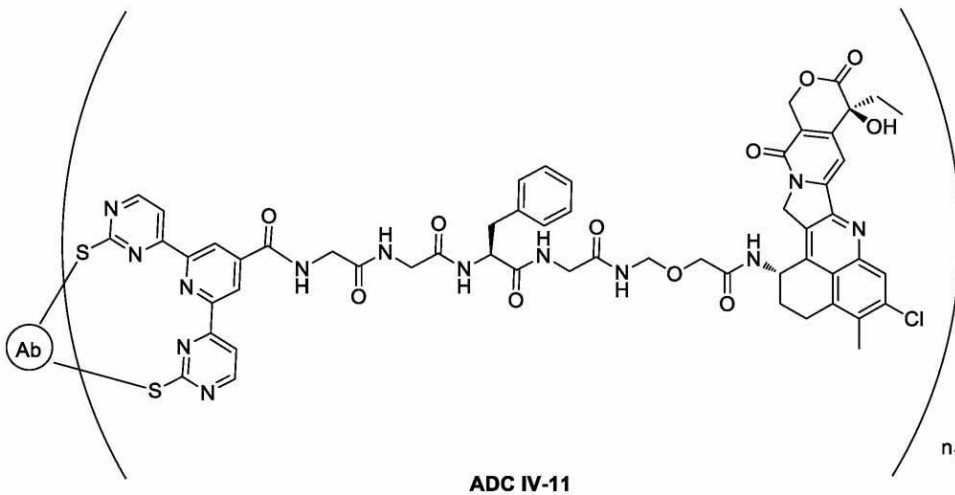
30

40

50



10



20

30

を有する。

【 0 0 6 0 】

定義

以下で定義されない限り、本明細書において使用されるすべての技術用語及び科学用語は、当業者に一般に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書において使用される技法への言及は、当業者に明らかな技術におけるそれらの変化又は同等の技術の置換を含む、当技術分野において一般に理解される技法を指すことが意図される。以下の用語は、当業者によく理解されると考えられるが、以下の定義は、本発明をよりよく説明するために記載される。

40

【 0 0 6 1 】

本明細書において使用されるとき、用語「アルキレン」は、飽和二価炭化水素基、好ましくは、メチレン、エチレン、プロピレン又はブチレンなど、1個、2個、3個、4個、5個又は6個の炭素原子を有する飽和二価炭化水素基を指す。

【 0 0 6 2 】

本明細書において使用されるとき、用語「アルキル」は、線状又は分岐状飽和脂肪族炭化水素基と定義される。いくつかの実施形態において、アルキルは、1～12個、例えば、1～6個の炭素原子を有する。例えば、本明細書において使用されるとき、用語「C₁～₆アルキル」は、1～6個の炭素原子を有する線状又は分岐状脂肪族炭化水素基（例えば、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-

50

ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル又はn-ヘキシル)を指し、それは、1個又は複数(例えば、1~3個)の適した置換基(例えば、ハロゲン)で任意選択で置換されていてもよい(基は、この場合「ハロアルキル」と呼ばれる)(例えば、 CH_2F 、 CHF_2 、 CF_3 、 CCl_3 、 C_2F_5 、 C_2Cl_5 、 CH_2CF_3 、 CH_2Cl 又は $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CF}_3$ など)。用語「 C_{1-4} アルキル」は、1~4個の炭素原子を有する線状又は分岐状脂肪族炭化水素基(すなわちメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチル又はtert-ブチル)を指す。

【0063】

本明細書において使用されるとき、用語「アルコキシ」は-O-アルキルと定義され、ここでアルキルは、上で定義された通りである。例えば、本明細書において使用されるとき、用語「 C_{1-6} アルコキシ」は-O- C_{1-6} アルキルを指す。

10

【0064】

本明細書において使用されるとき、用語「アルコシアルキル」は、アルコキシで置換されたアルキルと定義され、ここでアルキルは、上で定義された通りである。例えば、本明細書において使用されるとき、用語「 C_{2-6} アルコシアルキル」は、2~6個の炭素原子を有するアルコキシ置換アルキルを指す。

【0065】

本明細書において使用されるとき、用語「アルキニレン」は、少なくとも1個の炭素-炭素三重結合を含む、好ましくは1個、2個、3個、4個、5個又は6個の炭素原子を有する二価炭化水素基、例えばエチニレン、プロピニレン又はブチニレンを指す。

20

【0066】

本明細書において使用されるとき、用語「ヘテロシクリル」、「複素環式環」は、少なくとも1個の環原子が、N、O、及びSからなる群から選択されたヘテロ原子であり、且つ残りの環原子がCである飽和又は部分不飽和(すなわち、環内に1個若しくは複数の二重結合及び/又は三重結合が存在する)環式基を指す。例えば、「5員~12員複素環式環(基)」は、4~11個(例えば、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個又は9個)の環形成炭素原子と、N、O及びSからなる群から独立的に選択された1個又は複数(例えば、1個、2個、3個又は4個)の環形成ヘテロ原子とを有する飽和又は部分不飽和複素環式基である。「5員~12員窒素含有複素環式環(基)」は、少なくとも1個の環形成原子がNである複素環式環(基)である。複素環式基の例は、オキシラニル、アジリジニル、アゼチジニル、オキセタニル、テトラヒドロフラニル、ジオキソリニル、ピロリジニル、ピロリドニル、イミダゾリジニル、ピラゾリジニル、ピロリニル、テトラヒドロピラニル、ペペリジニル、モルホリニル、ジチアニル、チオモルホリニル、ピペラジニル又はトリチアニルを含むがこれらに限定されない。複素環式基は、1個又は複数(例えば、1個、2個、3個又は4個)の適した置換基で任意選択で置換することができ、且つ1個又は複数の芳香族環、ヘテロアリール環と任意選択で縮合して、縮合環構造を形成することができる。

30

【0067】

本明細書において使用されるとき、用語「芳香族環」又は「アリール」は、単環式又は多環式芳香族環系を指し、それは、例えば、5個、6個、8個、9個、10個、11個、12個、13個又は14個の環形成炭素原子、特に1個又は2個又は3個又は4個又は5個又は6個又は9個又は10個の炭素原子を有する。

40

【0068】

本明細書において使用されるとき、用語「ヘテロ芳香族環」又は「ヘテロアリール」は、単環式又は多環式芳香族環系を指し、それは、例えば、5個、6個、8個、9個、10個、11個、12個、13個又は14個の環原子、特に1個、2個、3個、4個、5個、6個、9個又は10個の炭素原子と、同じでも、異なってもよい少なくとも1個のヘテロ原子(ヘテロ原子は、例えば、酸素、窒素又は硫黄である)とを有し、且つそれぞれの場合において追加的にベンゾ縮合されていてもよい。

50

【0069】

本明細書において使用されるとき、用語「ハロゲン」は、F、Cl、Br又はIを含む。

【0070】

本明細書において使用されるとき、用語「スルホニル尿素基」は、 $-SO_2-NH-(C=O)-NH_2$ 又は $-NH-(C=O)-NH-SO_2H$ を指す。

【0071】

用語「置換」は、指定された原子上の1個又は複数（例えば、1個、2個、3個又は4個）の水素が、示された基で置換されることを指し、ただし、置換数は、この場合、指定された原子の通常の原子価を超えず、且つこうした置換は、安定な化合物に結果としてつながるものとする。置換基及び/又は変数の組合せは、こうした組合せが安定な化合物に結果としてつながる場合にのみ許容される。

【0072】

置換基が「任意選択で置換される」と記載される場合、置換基は、(1)非置換であり得るか、又は(2)置換され得る。置換基の炭素が、列挙された置換基のうちの1つ又は複数で任意選択で置換されると記載される場合、炭素上の1個又は複数の水素（存在する任意の水素の範囲まで）が、独立的に選択される任意選択の置換基で個々に及び/又は一緒に置換されてもよい。置換基の窒素が、列挙された置換基のうちの1つ又は複数で任意選択で置換されると記載される場合、窒素上の1個又は複数の水素（存在する任意の水素の範囲まで）が、独立的に選択される任意選択の置換基でそれぞれ置換されてもよい。

【0073】

置換基が、群「から独立的に選択される」と記載される場合、各置換基は、相互に独立的に選択される。したがって、各置換基は、別の（他の）置換基と同じでも、異なってもよい。

【0074】

本明細書において使用されるとき、用語「1つ又は複数」は、合理的な条件下、2、3、4、5又は10など、1又は1超を意味する。

【0075】

本明細書において使用されるとき、特に示されない限り、置換基の結合部位は、置換基の任意の適した位置からであってもよい。

【0076】

環内の2個の原子を接続する結合を通過することが示されている結合を置換基が有するとき、こうした置換基は、置換される環内の任意の環形成原子に結合されていてもよい。

【0077】

本発明は、同じ原子番号を有するが、自然界で一般的な原子質量又は質量数と異なる原子質量又は質量数を有する対応する原子で1個又は複数の原子が置換されていることを除いて本発明の化合物と同一であるすべての薬学的に許容できる同位体標識化合物も含む。本発明の化合物中の含有に適した同位体の例は、水素の同位体（例えば、重水素（ 2H ）、三重水素（ 3H ））；炭素の同位体（例えば、 ^{11}C 、 ^{13}C 、及び ^{14}C ）；塩素の同位体（例えば、 ^{36}Cl ）；フッ素の同位体（例えば、 ^{18}F ）；ヨウ素の同位体（例えば、 ^{123}I 及び ^{125}I ）；窒素の同位体（例えば、 ^{13}N 及び ^{15}N ）；酸素の同位体（例えば、 ^{15}O 、 ^{17}O 及び ^{18}O ）；リンの同位体（例えば、 ^{32}P ）；及び硫黄の同位体（例えば、 ^{35}S ）を含むがこれらに限定されない。

【0078】

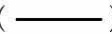
用語「立体異性体」は、少なくとも1個の不斉中心の結果生成される異性体を指す。化合物が1個又は複数（例えば、1個、2個、3個又は4個）の不斉中心を有する場合、化合物は、ラセミ混合物、単一のエナンチオマー、ジアステレオマー混合物及び個々のジアステレオ異性体を生じ得る。ある種の個々の分子は、幾何異性体（*cis/trans*）として存在することもある。同様に、本発明の化合物は、急速平衡にある2種以上の構造的に別個の形態（互変異性体と一般に呼ばれる）の混合物として存在してもよい。互変異

性体の代表例は、ケト - エノール互変異性体、フェノール - ケト互変異性体、ニトロソ - オキシム互変異性体、イミン - エナミン互変異性体などを含む。本出願の範囲は、すべてのこうした異性体又は任意の比（例えば、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%）のそれらの混合物を包含することが理解されるべきである。

【0079】

本発明の化合物の炭素 - 炭素結合は、本明細書において、実線

【化35】

()

、くさび形太線

【化36】

()

、又はくさび形破線

【化37】

()

を使用して示され得る。不斉炭素原子との結合の描写における実線の使用は、不斉炭素原子の結果生じるすべての可能な立体異性体（例えば、特定のエナンチオマー、ラセミ混合物など）が含まれることを示すことが意図される。不斉炭素原子との結合の描写におけるくさび形太線又はくさび形破線の使用は、示される通りの立体異性体を示すことが意図される。ラセミ混合物において使用されるとき、くさび形太線及びくさび形破線は、絶対立体化学よりもむしろ相対立体化学を定義するためのものである。特に示されない限り、本発明の化合物は、立体異性体（*cis* 及び *trans* 異性体、光学異性体（例えば、R 及び S エナンチオマー）、ジアステレオマー、幾何異性体、回転異性体、配座異性体、アトロプ異性体、及びそれらの任意の混合物を含む）の形態で存在することが意図される。本発明の化合物は、1つを超えるタイプの異性を示してもよく、且つそれらの混合物（例えば、ラセミ混合物及びジアステレオ異性体対）からなってもよい。

【0080】

本発明は、本発明の化合物のすべての可能な結晶性形態又は多形を包含し、それは、単一の多形又は任意の比の1種を超える多形の混合物であってもよい。

【0081】

本発明のある種の化合物は、治療法における使用のための遊離形態か、又は、適切な場合には、その薬学的に許容できる誘導体の形態で存在してもよいことも理解されるであろう。本発明において、薬学的に許容できる誘導体は、薬学的に許容できる誘導体が、薬学的に許容できる誘導体を必要とする患者に投与されるとき、薬学的に許容できる塩、エステル、溶媒和物、N - オキシド、代謝物又はプロドラッグを含むがこれらに限定されず、薬学的に許容できる誘導体は、本発明の化合物又はその代謝物若しくは残基を直接的又は間接的に与えることができる。したがって、「本発明の化合物」が本明細書において言及されるとき、上述の様々な誘導体形態の化合物を網羅することも意図される。

【0082】

本発明の化合物の薬学的に許容できる塩は、その酸付加塩及び塩基付加塩を含む。

【0083】

適した酸付加塩は、薬学的に許容できる塩を生成することができる酸から生成される。例は、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、重炭酸塩 / 炭酸塩、グルコヘプトン酸塩、グルコン酸塩、硝酸塩、オロチン酸塩、パルミチン酸塩及び他の同様の塩を含む。

【0084】

適した塩基付加塩は、薬学的に許容できる塩を生成することができる塩基から生成される。例は、アルミニウム塩、アルギニン塩、コリン塩、マグネシウム塩及び他の同様の塩

10

20

30

40

50

を含む。

【0085】

適した塩の総説は、Stahl及びWermuthによる「Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use」(Wiley-VCH、2002)が言及される。本発明の化合物の薬学的に許容できる塩を調製するための方法は当業者に既知である。

【0086】

本明細書において使用されるとき、用語「エステル」は、生理学的に加水分解可能なエステル(生理学的条件下で加水分解して、遊離酸又はアルコールの形態の本発明の化合物を放出する)を含む、本出願における一般式の化合物のそれぞれから誘導されるエステルを指す。本発明の化合物は、それ自体エステルであってもよい。

10

【0087】

本発明の化合物は、溶媒和物、好ましくは水和物の形態で存在してもよく、ここで本発明の化合物は、水、メタノール又はエタノールなどの極性溶媒を、特に、化合物の結晶格子の構造要素として含む。極性溶媒、特に水の量は、化学量論比又は非化学量論比で存在してもよい。

【0088】

窒素は、オキシドを生成するために酸化に利用可能な孤立電子対を必要とするため、すべての窒素含有複素環式環がN-オキシドを生成することができるわけではないことを当業者は理解するであろう；当業者は、N-オキシドを生成することができる窒素含有複素環式環を認識するであろう。当業者は、三級アミンがN-オキシドを生成することも認識するであろう。複素環及び三級アミンのN-オキシドの調製のための合成方法は、過酢酸及びm-クロロ過安息香酸(MCPBA)などのペルオキシ酸、過酸化水素、t-ブチルヒドロペルオキシドなどのアルキルヒドロペルオキシド、過ホウ酸ナトリウム、及びジメチルジオキシランなどのジオキシランで複素環及び三級アミンを酸化することを含め、当業者に周知である。N-オキシドを調製するためのこれらの方法は、文献に詳しく記載及び総説されており、例えば：T.L.Gilchrist、Comprehensive Organic Synthesis、第7巻、748~750ページ；A.R.Katritzky及びA.J.Boulton編、Academic Press並びにG.W.H.Cheeseman及びE.S.G.Werstiuk、Advances in Heterocyclic Chemistry、第22巻、390~392ページ、A.R.Katritzky及びA.J.Boulton編、Academic Pressを参照されたい。

20

30

【0089】

本発明の範囲内に同じく含まれるのは、本発明の化合物の代謝物、すなわち、本発明の化合物が投与されるとin vivoで生成される物質である。こうした生成物は、例えば、投与された化合物の酸化、還元、加水分解、アミド化、脱アミド化、エステル化、酵素的加水分解などの結果生じ得る。したがって、本発明は、その代謝物を産生するのに十分な時間、本発明の化合物を哺乳動物と接触させる方法により産生される化合物を含む、本発明の化合物の代謝物を含む。

40

【0090】

本発明は、その範囲内に、本発明の化合物のプロドラッグをさらに含み、それは、本発明の化合物のある種の誘導體であり、且つそれ自体は薬理学的活性をほとんど又は全く持つことができないが、体内又は体表に投与されるとき、例えば、加水開裂(hydrolytic cleavage)により、所望の活性を有する本発明の化合物に変換され得る。典型的には、こうしたプロドラッグは、化合物の官能基誘導體であり得、それは、所望の治療活性を有する化合物にin vivoで容易に変換することができる。プロドラッグの使用に関する追加情報は「Pro-drugs as Novel Delivery Systems」、第14巻、ACS Symposium Series(T.Higuchi及びV.Stella)に見出すことができる。本発明のプロドラッグは

50

、例えば、本発明の化合物中に存在する適切な官能基を「プロモイエティ (pro-moiety) (例えば、「Design of Prodrugs」、H. Bundgaard (Elsevier, 1985) に記載)」として当業者に既知のある種の部分で置換することにより調製することができる。

【0091】

本発明は、保護基を含む本発明の化合物も包含する。本発明の化合物を調製するための任意のプロセス中、関与する分子のいずれかの感受性又は反応性基を保護し、それによって本発明の化合物の化学的に保護された形態を生成することが必要であること及び/又は望ましいことがある。これは、従来の保護基、例えば、T. W. Greene及びP. G. M. Wuts、Protective Groups in Organic Synthesis、John Wiley & Sons、1991に記載されたものを使用することにより達成することができ、これらの参考文献は、参照により本明細書に組み込まれる。保護基は、適切なその後の段階で当技術分野において既知の方法を使用して除去することができる。

10

【0092】

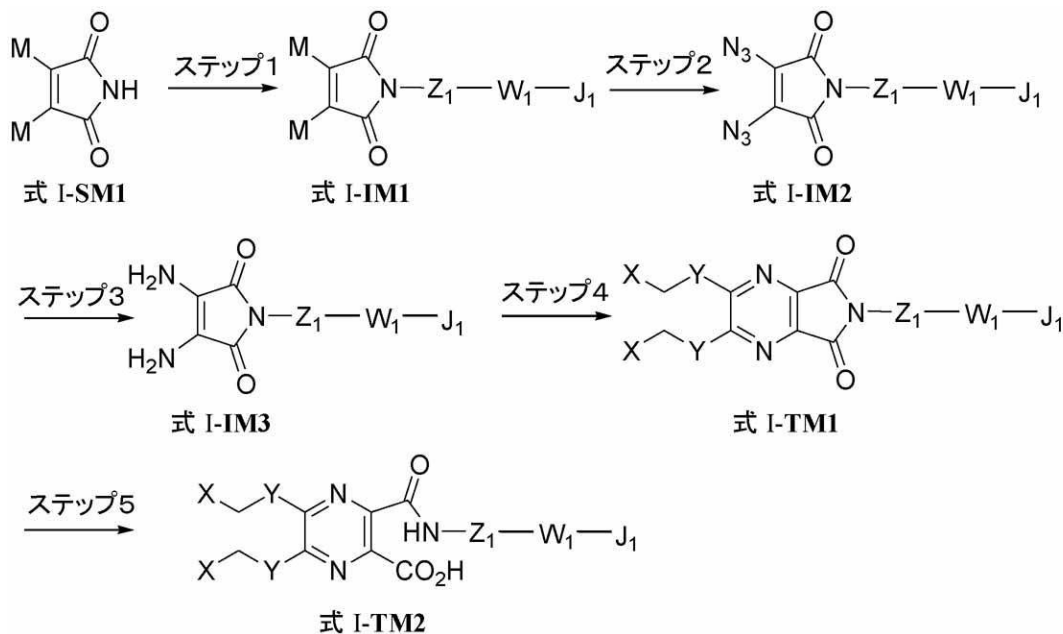
調製方法

本発明の別の態様は、式 I に示される化合物を調製するための方法を提供し、方法は、以下のステップを含む：

Y が存在しないとき、本発明の式 I - TM 1 及び式 I - TM 2 の化合物は、以下の合成経路を介して合成することができる。

20

【化38】



30

(式中、

X、Z₁、W₁、J₁は、上の一般式に定義された通りであり；

40

Mは、ハロゲン、トリフルオロメタンスルホネート、p-トルエンスルホネート、好ましくはハロゲンを含むがこれらに限定されない、置換反応を経る脱離基である)。

【0093】

ステップ1

式 I - IM 1 の化合物は、式 I - SM 1 の化合物と M - Z₁ - W₁ - J₁ の化合物との間の置換反応により得られる；

いくつかの実施形態において、反応は、塩基性条件下で行われる；

いくつかの実施形態において、反応は、適した温度で行われ、温度は、20、25

、50、60、100、好ましくは20である；

いくつかの実施形態において、反応は、適した溶媒中に行われ、溶媒は、アセトン、テ

50

トラヒドロフラン、ジクロロメタン、N, N - ジメチルホルムアミド、N - メチルピロリドン、ジメチルスルホキシド、好ましくはアセトンを含むがこれらに限定されない。

【0094】

ステップ2

式I - IM2の化合物は、式I - IM1の化合物とアジ化ナトリウムとの間の置換反応により得られる；

いくつかの実施形態において、反応は、適した温度で行われ、温度は、20、25、50、60、100、好ましくは20である；

いくつかの実施形態において、反応は、適した溶媒中で行われ、溶媒は、アセトン、トラヒドロフラン、ジクロロメタン、N, N - ジメチルホルムアミド、N - メチルピロリドン、ジメチルスルホキシド、好ましくはアセトンを含むがこれらに限定されない。

10

【0095】

ステップ3

式I - IM3の化合物は、式I - IM2の化合物の還元反応を通じて得られる；

いくつかの実施形態において、このステップは、適した還元剤の存在下で行われ、還元剤は、パラジウム触媒、白金触媒、ロジウム触媒、好ましくはパラジウム触媒からなる群から選択することができる；

いくつかの実施形態において、このステップは、適した温度で行われ、温度は、20、25、50、60、100、好ましくは20である；

いくつかの実施形態において、このステップは、適した有機溶媒中で行われ、有機溶媒は、テトラヒドロフラン、ジクロロメタン、N, N - ジメチルホルムアミド、N - メチルピロリドン、ジメチルスルホキシド、n - ヘプタン、n - ヘキサン、酢酸エチル、好ましくは酢酸エチルからなる群から選択することができる。

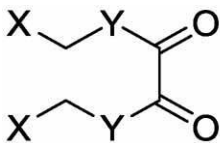
20

【0096】

ステップ4

式I - TM1の化合物は、脱水による式I - IM3の化合物と、

【化39】



30

との間の閉環反応により得られる；

いくつかの実施形態において、このステップは、適した温度で行われ、温度は、20、25、50、60、100、好ましくは20である；

いくつかの実施形態において、このステップは、適した有機溶媒中で行われ、有機溶媒は、アセトニトリル、エタノール、テトラヒドロフラン、ジクロロメタン、N, N - ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、n - ヘプタン、n - ヘキサン、酢酸エチル、好ましくはアセトニトリルからなる群から選択することができる。

【0097】

40

ステップ5

式I - TM2の化合物は、式I - TM1の化合物の加水分解により得られる；

いくつかの実施形態において、反応は、塩基性条件下で行われ、塩基性条件は、7.0、7.4又は8.0のpHを有するPB緩衝液を含むがこれに限定されない；

いくつかの実施形態において、反応は、適した温度で行われ、温度は、20、25、50、60、100、好ましくは20である；

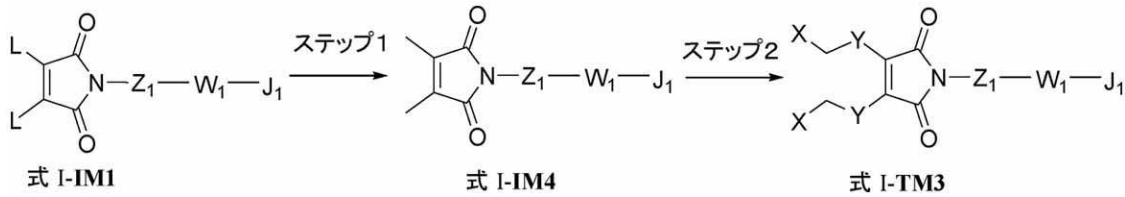
いくつかの実施形態において、反応は、適した溶媒中で行われ、溶媒は、アセトニトリル、テトラヒドロフラン、ジクロロメタン、N, N - ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、好ましくはアセトニトリルを含むがこれらに限定されない。

【0098】

50

Y が存在しないとき、本発明の式 I - T M 3 の化合物は、以下の合成経路を介して合成することができる。

【化 4 0】



(式中、

X、Z₁、W₁、J₁は、上の一般式に定義された通りであり；

Lは、ハロゲン、トリフルオロメタンスルホネート、p-トルエンシルホネート、好ましくはハロゲン、OTfを含むがこれらに限定されない、置換反応を経る脱離基である）

【0099】

ステップ1

式 I - I M 4 の化合物は、式 I - I M 1 の化合物からカップリング反応を通じて得られる；

いくつかの実施形態において、メチルボロン酸、トリメチルボロキシン、好ましくはトリメチルボロキシンを含むがこれらに限定されない、カップリング反応において使用される試薬；

いくつかの実施形態において、カップリング反応は塩基性条件で行われ、塩基は、トリエチルアミン、DIPEA、NMM、ナトリウムtert-ブトキシド、酢酸カリウム、酢酸ナトリウム、フッ化セシウム、フッ化カリウム、炭酸カリウム、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、炭酸セシウム、リン酸カリウム、リン酸二水素カリウム、好ましくはフッ化セシウムを含むがこれらに限定されない。

【0100】

いくつかの実施形態において、カップリング反応は、触媒の存在下で行われ、触媒は、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム、酢酸パラジウム、Pd₂(dba)₃、Pd(PPh₃)₂Cl₂、Pd(PPh₃)₂Cl₂ジクロロメタン錯体、Pd(dppf)Cl₂、Pd(Amphos)Cl₂、好ましくはテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウムを含むがこれらに限定されない。

【0101】

いくつかの実施形態において、カップリング反応は、0 ~ 200 の温度で、好ましくは50 ~ 150 の温度で行われる。

【0102】

いくつかの実施形態において、反応は、適した溶媒中で行われ、溶媒は、1,4-ジオキササン、水、トルエン、テトラヒドロフラン、N,N-ジメチルホルムアミド、N-メチルピロリドン、ジメチルスルホキシド及びそれらの任意の組合せ、好ましくは1,4-ジオキササンを含むがこれらに限定されない。

【0103】

ステップ2

式 I - T M 3 の化合物は、式 I - I M 4 の化合物からハロゲン化反応を通じて得られる；

いくつかの実施形態において、ハロゲン化反応において使用される試薬は、臭素、N-ヨードスクシンイミド、N-ブロモスクシンイミド、N-クロロスクシンイミド、好ましくはN-ブロモスクシンイミドを含むがこれらに限定されない；

いくつかの実施形態において、カップリング反応は、触媒の存在下で行われ、触媒は過酸化ベンゾイルである。

【0104】

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、コンジュゲーション反応は、0 ~ 200 の温度で、好ましくは50 ~ 150 の温度で行われる。

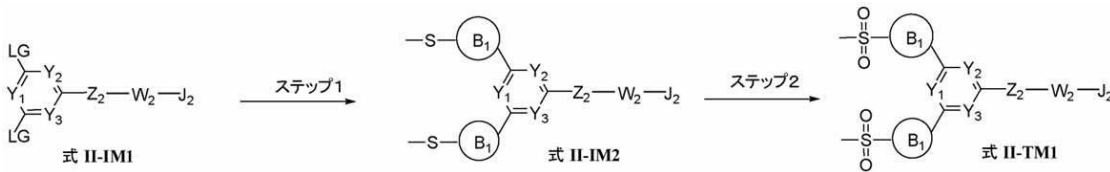
【0105】

いくつかの実施形態において、反応は、適した溶媒中で行われ、溶媒は、ハロゲン化炭化水素（例えば、四塩化炭素、ジクロロメタン、クロロホルム、1, 2 - ジクロロエタンなど）、メタノール、エタノール、DMF、アセトニトリル、エーテル（例えば、エチレングリコールジメチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン）、芳香族炭化水素（例えば、トルエン、ベンゼン、キシレン）、水及びそれらの任意の組合せ、好ましくは四塩化炭素を含むがこれらに限定されない。

【0106】

Z₂ 及び W₂ が存在しないとき、本発明の式 II - TM1 の化合物は、以下の合成経路を介して合成することができる。

【化41】



(式中、

Y₁、Y₂、Y₃、B₁、J₂ は、上の一般式に定義された通りであり；

LG は、ハロゲン、トリフルオロメタンスルホネート、好ましくはハロゲンを含むがこれらに限定されない、カップリング反応を経る脱離基である)。

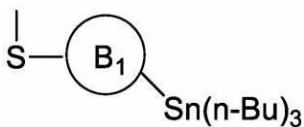
【0107】

ステップ1

式 II - IM2 の化合物は、式 II - IM1 の化合物からカップリング反応を通じて得られる；

いくつかの実施形態において、カップリング反応において使用される試薬は

【化42】



である；

いくつかの実施形態において、カップリング反応は、触媒の存在下で行われ、触媒は、テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム、酢酸パラジウム、Pd₂(dba)₃、Pd(PPh₃)₂Cl₂、Pd(PPh₃)₂Cl₂ジクロロメタン錯体、Pd(dppf)Cl₂、Pd(Amphos)Cl₂、好ましくはテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウムを含むがこれらに限定されない。

【0108】

いくつかの実施形態において、カップリング反応は、0 ~ 200 の温度で、好ましくは50 ~ 150 の温度で行われる。

【0109】

いくつかの実施形態において、反応は、適した溶媒中で行われ、溶媒は、1, 4 - ジオキサン、水、トルエン、テトラヒドロフラン、N, N - ジメチルホルムアミド、N - メチルピロリドン、ジメチルスルホキシド及びそれらの任意の組合せ、好ましくは1, 4 - ジオキサンを含むがこれらに限定されない。

【0110】

ステップ2

式 II - TM1 の化合物は、式 II - IM2 の化合物から酸化反応を通じて得られる；

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、コンジュゲーション反応は、酸化剤の存在下で行われ、触媒は *m*-クロロ過安息香酸である。

【0111】

いくつかの実施形態において、コンジュゲーション反応は、0 ~ 120 の温度で、好ましくは 50 ~ 80 の温度で行われる。

【0112】

いくつかの実施形態において、反応は、適した溶媒中で行われ、溶媒は、ハロゲン化炭化水素（例えば、四塩化炭素、ジクロロメタン、クロロホルム、1, 2-ジクロロエタンなど）、メタノール、エタノール、DMF、アセトニトリル、エーテル（例えば、エチレングリコールジメチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサン）、芳香族炭化水素（例えば、トルエン、ベンゼン、キシレン）、水及びそれらの任意の組合せ、好ましくはメタノールを含むがこれらに限定されない。

10

【0113】

加えて、本発明の化合物は、有機合成の当業者に既知の様々な手段で調製することもできる。本発明の化合物は、以下に記載される方法並びに合成有機化学の技術分野において既知の方法又は当業者に既知のその変形を使用して合成することができる。好ましい方法は、上記のものを含むがこれらに限定されない。反応は、使用される試薬及び材料に適切な且つ変換に適した溶媒又は混合溶媒中で実施することができる。有機合成の当業者は、分子に存在する官能基が、提案されている変換と一致すべきであることを理解するであろう。これは、時には、本発明の所望の化合物を得るために、合成ステップの順番を改変するか、又は別の経路よりも特定の経路を選択する判断を必要とすることになる。

20

【0114】

当技術分野における任意の合成経路の設計における別の主な考慮は、本発明に記載される化合物中に存在する反応性官能基を保護するための保護基の適切な選択であることも認識されるであろう。当業者に対して多くの代替を記載した信頼できる指示は、Green e r (P r o t e c t i v e G r o u p s i n O r g a n i c S y n t h e s i s、第4版、Wiley-Interscience (2006)) により記載されている。

【0115】

特に記載されない限り、上の経路における化合物の置換基は、本明細書に定義される通りである。当業者は、上の経路における1つ又は複数のステップを所望の生成物の構造にしたがってスキップすることができることを理解するであろう。当業者は、必要に応じて反応ステップの順序を適切に調整することもできる。

30

【0116】

医薬組成物

本発明は、本発明に記載される生物活性コンジュゲートと1種又は複数種の薬学的に許容できる賦形剤とを含む医薬組成物も提供する。

【0117】

本稿において述べられる医薬品賦形剤は、薬物の生産及び処方薬の調合において使用される賦形剤及び添加剤を指し、且つ活性成分以外の物質を指し、それらは、安全性の点から十分に評価されており、且つ医薬製剤に含まれる。

40

【0118】

医薬組成物は、それがヒト患者又は患畜の症状の予防、緩和、停止又は治癒を達成する限りにおいて、任意の形態で投与されてもよい。例えば、投与経路にしたがって様々な適切な剤形を調製することができる。

【0119】

本出願は、本発明の生物活性コンジュゲート、又は医薬組成物と、任意選択で薬物説明書とを含むキット製品も提供する。

【0120】

治療方法及び使用

50

本出願の別の態様は、腫瘍疾患を予防又は処置するための薬剤の製造における生物活性コンジュゲートの使用を提供する。

【0121】

本出願の別の態様は、腫瘍疾患の予防又は処置における使用のための生物活性コンジュゲートを提供する。

【0122】

本出願の別の態様は、有効量の生物活性コンジュゲート、又は生物活性コンジュゲートを含む医薬組成物を、それを必要とする対象に投与するステップを含む、腫瘍疾患を予防又は処置するための方法を提供する。

【0123】

本発明の1つの実施形態において、腫瘍疾患は、固形腫瘍又は血液悪性腫瘍であり；例えば、腫瘍疾患は、結腸がん、胃がん、乳がん、肺がん（例えば、非小細胞肺がん、詳細には肺腺癌）、リンパ腫からなる群から選択されている。

【0124】

本明細書において使用される用語「有効量」は、投与されたとき、処置されている疾患の1種又は複数種の症状をある程度緩和するコンジュゲートの量を指す。

【0125】

本明細書において使用されるとき、特に記載されない限り、用語「処置する」は、処置されている疾患若しくは状態、又はこうした疾患若しくは状態の1種若しくは複数種の症状の進行を逆転させること、軽減することを意味する。

【0126】

本明細書において使用される「個体」又は「対象」は、ヒト又は非ヒト動物を含む。例示的なヒト対象は、疾患（例えば、本明細書に記載される疾患）を患うヒト対象（患者と呼ばれる）又は正常対象を含む。本発明における「非ヒト動物」は、非哺乳動物（例えば、鳥類、両生類、爬虫類）、並びに非ヒト霊長類、家畜及び/又は家畜化された動物（例えば、ヒツジ、イヌ、ネコ、ウシ、ブタなど）などの哺乳動物などのすべての脊椎動物を含む。

【0127】

本発明を行うための特定のモデル

実施例及び実験例は、本発明の範囲を限定するためではなく、詳細に本発明を説明するために以下に記載され、且つ本発明の範囲から逸脱することなく変更することができる。

【0128】

1. 本発明に關与する抗ROR1抗体19F6__Hu35V1の調製

初期段階において、Balb/c、C57Bl/6、NZB及びA/Jマウスを免疫し、ハイブリドーマスクリーニングすることにより、マウス抗体19F6を得、それをヒト化して、ヒト化抗体19F6__Hu35V1（重鎖可変領域、配列番号1；軽鎖可変領域、配列番号2）を得た、上のヒト化抗体の重鎖定常領域はヒトIgG1重鎖定常領域（配列番号18）であり、軽鎖定常領域はヒトカッパ軽鎖定常領域（配列番号19）であった。上のヒト化抗体のコードDNA配列の合成及びコドン最適化後、それをpcDNA3.4プラスミドにクローニングし、ヒト化抗体の重鎖及び軽鎖に対応するpcDNA3.4プラスミドをExp1293F細胞に同時にトランスフェクトした。プロテインAを使用して、上清中の発現抗体を精製して、対応する抗体を得た。

【0129】

19F6__Hu35V1の配列情報の表：

10

20

30

40

50

【表 1】

抗体	付番方式	配列番号									
		CD R H1	CD R H2	CD R H3	CD R L1	CD R L2	CD R L3	V H	VL	C H	C L
19F6_Hu 35V1	Chothia	3	4	5	6	7	8	1	2	18	19
	AbM	9	10	5	6	7	8				
	Kabat	11	12	5	6	7	8				
	IMGT	13	14	15	16	17	8				

10

【0130】

2. 本発明に関する薬物-リンカーを合成する例。

本明細書において使用される略語は、以下の意味を有する：

【表 2】

NBS	ブロモスクシンイミド	DMF	N,N-ジメチルホルムアミド
HOBt	1-ヒドロキシベンゾトリアゾール	DIPEA	N,N-ジイソプロピルエチルアミン
DIC	N,N-ジイソプロピルカルボジイミド	HATU	O-(7-アゾベンゾトリアゾール-1-オキシ)-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
EEDQ	2-エトキシ-1-エトキシカルボニル-1,2-ジヒドロキノリン	DIAD	ジイソプロピルアゾジカルボキシレート

20

【0131】

以下の実施例に記載される化合物の構造を核磁気共鳴 (^1H NMR) 又は質量分析 (MS) により同定した。

【0132】

核磁気共鳴 (^1H NMR) は、Bruker 400 MHz 核磁気共鳴装置；重水素化クロロホルム (CDCl_3) を使用することにより決定し；内部標準物質はテトラメチルシラン (TMS) であった。

30

【0133】

核磁気共鳴 (NMR) スペクトルの解釈において実施例にて使用される略語を以下に示した。

s : 一重線、d : 二重線、t : 三重線、q : 四重線、m : 多重線、br : ブロード、J : 結合定数、Hz : ヘルツ、 CDCl_3 : 重水素化クロロホルム。値は ppm で表した。

【0134】

質量スペクトル (MS) は、Agilent (ESI) 質量分析計、モデル Agilent 6120 B を使用することにより決定した。

40

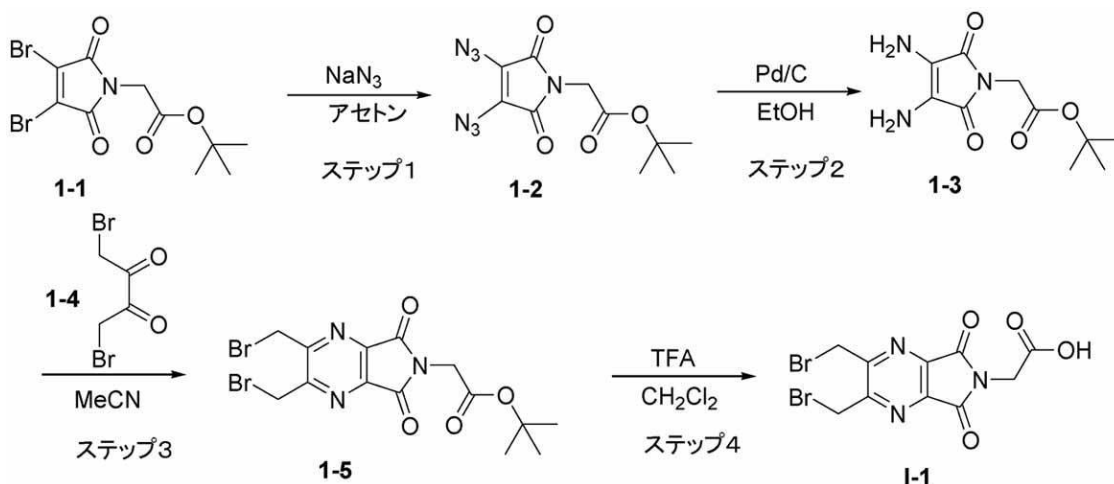
【0135】

化学合成の実施例

実施例 1 : 2 - (2 , 3 - ビス (プロモメチル) - 5 , 7 - ジオキソ - 5 , 7 - ジヒドロ - 6 H - ピロロ [3 , 4 - b] ピラジン - 6 - イル) 酢酸 (I - 1)

50

【化 4 3】



10

ステップ 1 : tert - ブチル 2 - (3 , 4 - ジアジド - 2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) アセテート (1 - 2) の合成

化合物 1 - 1 (0 . 4 0 g 、 1 . 0 8 m m o l 、 その合成については W O 2 0 1 9 0 5 7 9 6 4 を参照) 及びアジ化ナトリウム (1 4 1 . 0 0 m g 、 2 . 1 7 m m o l) をアセトン (1 0 m L) に溶解し、25 で 8 時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液を水に対して加え、酢酸エチルで抽出し、有機相を合わせ、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濾液を減圧下で濃縮して、0 . 2 8 g の表題化合物の粗生成物を得、それを精製せずに次の反応において直接使用した。

20

構造同定データは以下の通りであった :

ESI-MS (m / z) : 3 1 1 . 0 [M + 1 8] ⁺ .

【 0 1 3 6 】

ステップ 2 : tert - ブチル 2 - (3 , 4 - ジアミノ - 2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) アセテート (1 - 3) の合成

化合物 1 - 2 (0 . 1 5 g 、 0 . 5 1 m m o l) 及び炭素上 1 0 % パラジウム (1 5 . 0 0 m g) をエタノール (2 0 m L) に溶解し、水素での置き換えに 3 回供し、水素雰囲気下 2 5 で 3 時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液を珪藻土で濾過し、濾液を減圧下で濃縮して、1 0 1 . 0 0 m g の表題化合物の粗生成物を得、それを精製せずに次の反応において直接使用した。

30

構造同定データは以下の通りであった :

ESI-MS (m / z) : 1 8 5 . 9 [M - 5 6] ⁺ .

【 0 1 3 7 】

ステップ 3 : tert - ブチル 2 - (2 , 3 - ビス (プロモメチル) - 5 , 7 - ジオキソ - 5 , 7 - ジヒドロ - 6 H - ピロロ [3 , 4 - b] ピラジン - 6 - イル) アセテート (1 - 5) の合成

化合物 1 - 3 (5 0 . 0 0 m g 、 0 . 2 1 m m o l) 及び化合物 1 - 4 (5 4 . 0 0 m g 、 0 . 2 1 m m o l) をアセトニトリル (5 m L) に溶解し、25 で 3 時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液をフラッシュシリカゲルカラム (石油エーテル : 酢酸エチル = 5 : 1) により直接精製して、4 0 . 0 0 m g の表題化合物を得た。

40

構造同定データは以下の通りであった :

ESI-MS (m / z) : 4 6 6 . 8 [M + 1 8] ⁺ .

¹H NMR (4 0 0 M H z , C D C l ₃) : 4 . 8 8 (s , 4 H) , 4 . 4 7 (s , 2 H) , 1 . 4 8 (s , 9 H) .

【 0 1 3 8 】

ステップ 4 : 2 - (2 , 3 - ビス (プロモメチル) - 5 , 7 - ジオキソ - 5 , 7 - ジヒドロ - 6 H - ピロロ [3 , 4 - b] ピラジン - 6 - イル) 酢酸 (I - 1) の合成

50

化合物 1 - 5 (2 0 . 0 0 m g , 0 . 0 5 m m o l) をジクロロメタン (5 m L) 及びトリフルオロ酢酸 (1 m L) に溶解し、25 で5時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液を減圧下で直接濃縮して、15 . 0 0 m g の表題化合物の粗生成物を得、それを精製せずに次の反応において直接使用した。

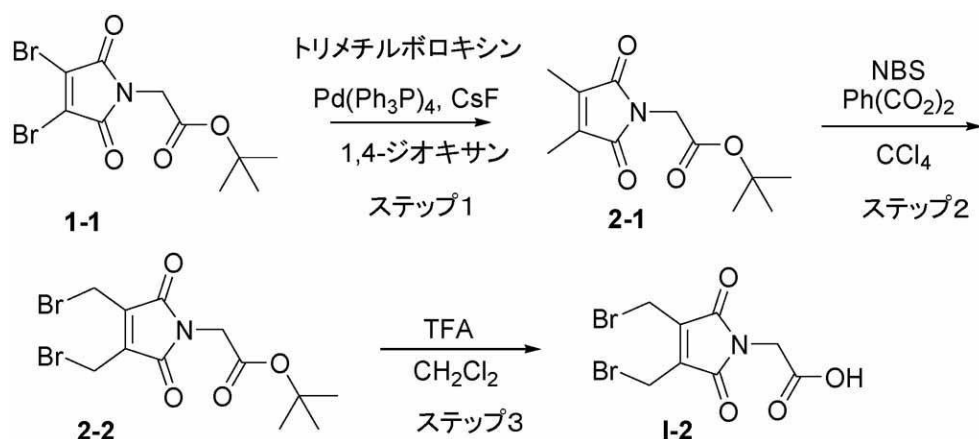
構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m / z) : 410.8 [M + 18] ⁺ .

【 0 1 3 9 】

実施例 2 : 2 - (3 , 4 - ビス (プロモメチル) - 2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) 酢酸 (I - 2)

【 化 4 4 】



10

20

ステップ 1 : tert - ブチル 2 - (3 , 4 - ジメチル - 2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) アセテート (2 - 1) の合成

窒素保護下、化合物 1 - 1 (0 . 2 0 g , 0 . 5 4 m m o l) 、トリメチルボロキシ (0 . 3 4 g , 2 . 7 1 m m o l) 、フッ化セシウム (0 . 4 1 g , 2 . 7 1 m m o l) 及びテトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (6 3 . 0 0 m g , 0 . 0 5 m m o l) を 1 , 4 - ジオキサン (2 0 m L) に溶解し、110 で3時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液をフラッシュシリカゲルカラム (石油エーテル : 酢酸エチル = 5 : 1) により直接精製して、80 . 0 0 m g

30

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m / z) : 184.0 [M + H - 56] ⁺ .

【 0 1 4 0 】

ステップ 2 : tert - ブチル 2 - (3 , 4 - ビス (プロモメチル) - 2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) アセテート (2 - 2) の合成

窒素保護下、化合物 2 - 1 (7 2 . 0 0 m g , 0 . 3 0 m m o l) 、NBS (1 1 8 . 0 0 m g , 0 . 6 6 m m o l) 及び過酸化ジベンゾイル (7 . 0 0 m g , 0 . 0 3 m m o l) を四塩化炭素 (8 m L) に溶解し、85 で12時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液をフラッシュシリカゲルカラム (石油エーテル : 酢酸エチル = 1 0 : 1) により直接精製して、65 . 0 0 m g の表題化合物を得た。

40

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m / z) : 414.8 [M + 18] ⁺ .

¹H-NMR (4 0 0 M H z , C D C l ₃) : 4.28 (s , 4 H) , 4.20 (s , 2 H) , 1.45 (s , 9 H) .

【 0 1 4 1 】

ステップ 3 : 2 - (3 , 4 - ビス (プロモメチル) - 2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) 酢酸 (I - 2) の合成

化合物 2 - 2 (6 0 . 0 0 m g , 0 . 1 5 m m o l) をジクロロメタン (1 0 m L) 及びトリフルオロ酢酸 (2 m L) に溶解し、25 で5時間反応させ、反応を高性能液体ク

50

ロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液を減圧下で直接濃縮して、50.00 mg の表題化合物の粗生成物を得、それを精製せずに次の反応において直接使用した。

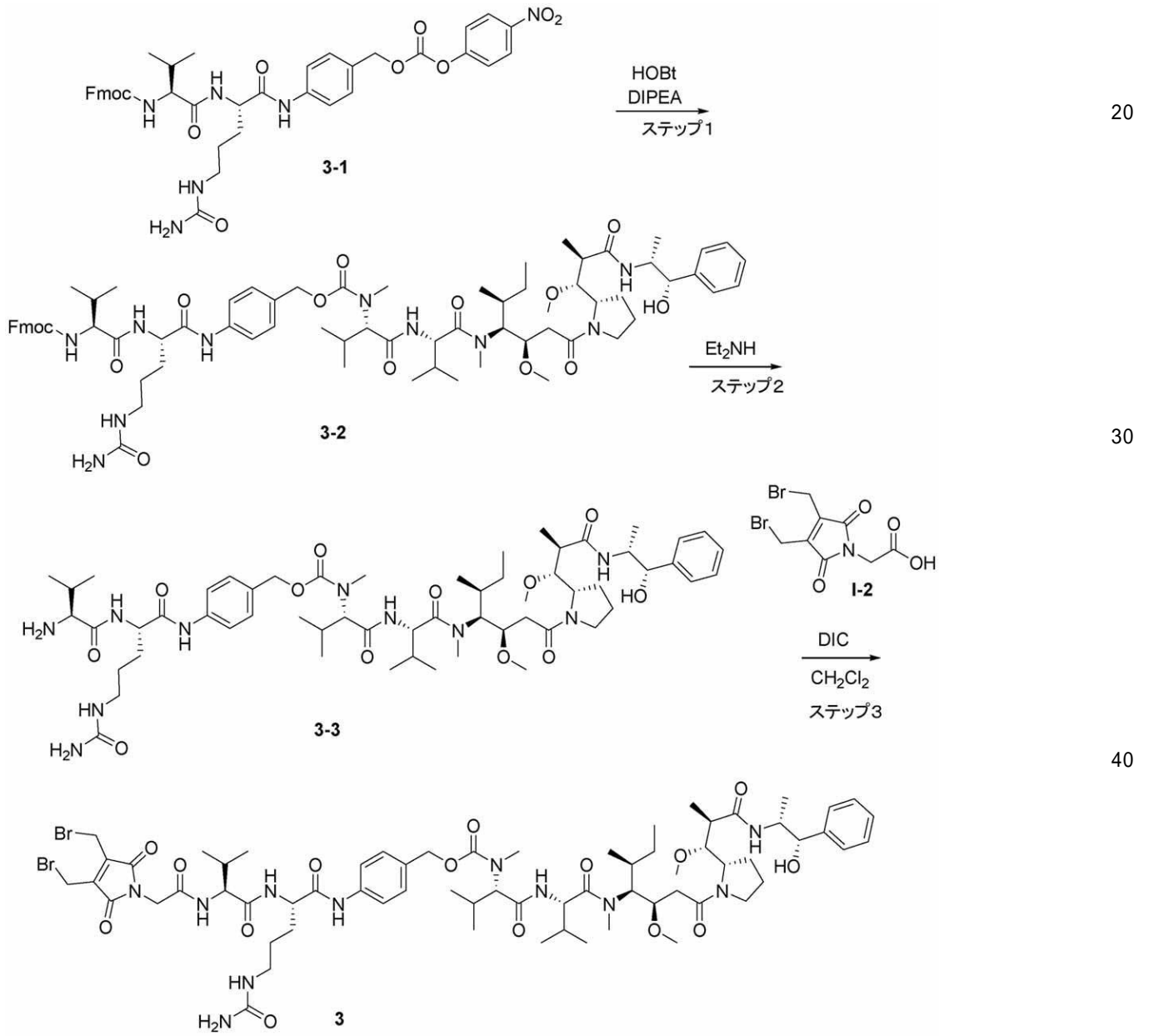
構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 358.9[M+18]⁺.

【0142】

実施例 3：4 - ((S) - 2 - ((S) - 2 - (2 - (3, 4 - ビス(プロモメチル) - 2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) アセトアミド) - 3 - メチルブチルアミド) - 5 - ウレイドペンタンアミド) ベンジル((S) - 1 - ((3R, 4S, 5S) - 1 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘプタン - 4 - イル) (メチル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) (メチル) カルバメート (薬物 - リンカー - 3)

【化 45】



ステップ 1：4 - ((S) - 2 - ((S) - 2 - ((((9H - フルオレン - 9 - イル

50

)メトキシ)カルボニル)アミノ)-3-メチルブチルアミド(methylbutyl amido))-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジル((S)-1-(((S)-1-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-ヒドロキシ-1-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-1-メトキシ-2-メチル-3-オキソプロピル)ピロリジン-1-イル)-3-メトキシ-5-メチル-1-オキソヘプタン-4-イル)(メチル)アミノ)-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル)(メチル)カルバメート(3-2)の合成

25 で、(S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((1S,2R)-1-ヒドロキシ-1-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-1-メトキシ-2-メチル-3-オキソプロピル)ピロリジン-1-イル)-3-メトキシ-5-メチル-1-オキシヘプタ-4-イル)-N,3-ジメチル-2-((S)-3-メチル-2-(メチルアミノ)ブタンアミド(30.00mg、0.04mmol)及び化合物3-1(38.50mg、0.05mmol)をDMF(3mL)に溶解し、HOBt(8.46mg、0.06mmol)及びDIPEA(10.80mg、0.08mmol)に対して加え、25 に保ち、2時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラフィー-質量分析により監視した。反応溶液をさらに処理せずに次のステップにおいて直接使用した。

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 1345.2 [M+H]⁺.

【0143】

ステップ2：4-((S)-2-((S)-2-アミノ-3-メチルブチルアミド))-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジル((S)-1-(((S)-1-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-ヒドロキシ-1-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-1-メトキシ-2-メチル-3-オキソプロピル)ピロリジン-1-イル)-3-メトキシ-5-メチル-1-オキソヘプタン-4-イル)(メチル)アミノ)-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル(メチル)カルバメート(3-3)の合成

25 で、ジエチルアミン(0.30mL)を化合物3-2の反応溶液に加え、25 で2時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラフィー-質量分析により監視した。反応溶液を減圧下で濃縮し、濃縮物を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、画分を凍結乾燥して、36.30mgの表題化合物のギ酸塩を得た。

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5µm 19×150mm

移動相A：アセトニトリル；移動相B：水(0.05%ギ酸)

【表3】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	30	70	28
18.00	90	10	28

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 1123.2 [M+H]⁺.

【0144】

ステップ3：4-((S)-2-((S)-2-(2-(3,4-ビス(プロモメチル)-2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)アセトアミド)-3-メチルブチルアミド))-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジル((S)-1-(((S)-1-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-ヒドロキシ-1-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-1-メトキシ-2

-メチル-3-オキソプロピル)ピロリジン-1-イル)-3-メトキシ-5-メチル-1-オキソヘプタン-4-イル)(メチル)アミノ)-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル)(メチル)カルバメート(3)の合成

化合物 I - 2 (12.75 mg、0.04 mmol) をジクロロメタン (3 mL) に溶解し、DIC (2.36 mg、0.02 mmol) 及び化合物 3 - 3 (21.00 mg、0.02 mmol) に対して加え、25 で1時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラフィー-質量分析により監視した。反応溶液を減圧下で濃縮し、濃縮物を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、画分を凍結乾燥して、14.30 mg の表題化合物を得た。

10

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19 × 150 mm

移動相 A：アセトニトリル；移動相 B：水 (0.05% ギ酸)

【表 4】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	30	70	28
17.00	90	10	28

構造同定データは以下の通りであった：

20

ESI-MS (m/z): 1445.9 [M+H]⁺.

【0145】

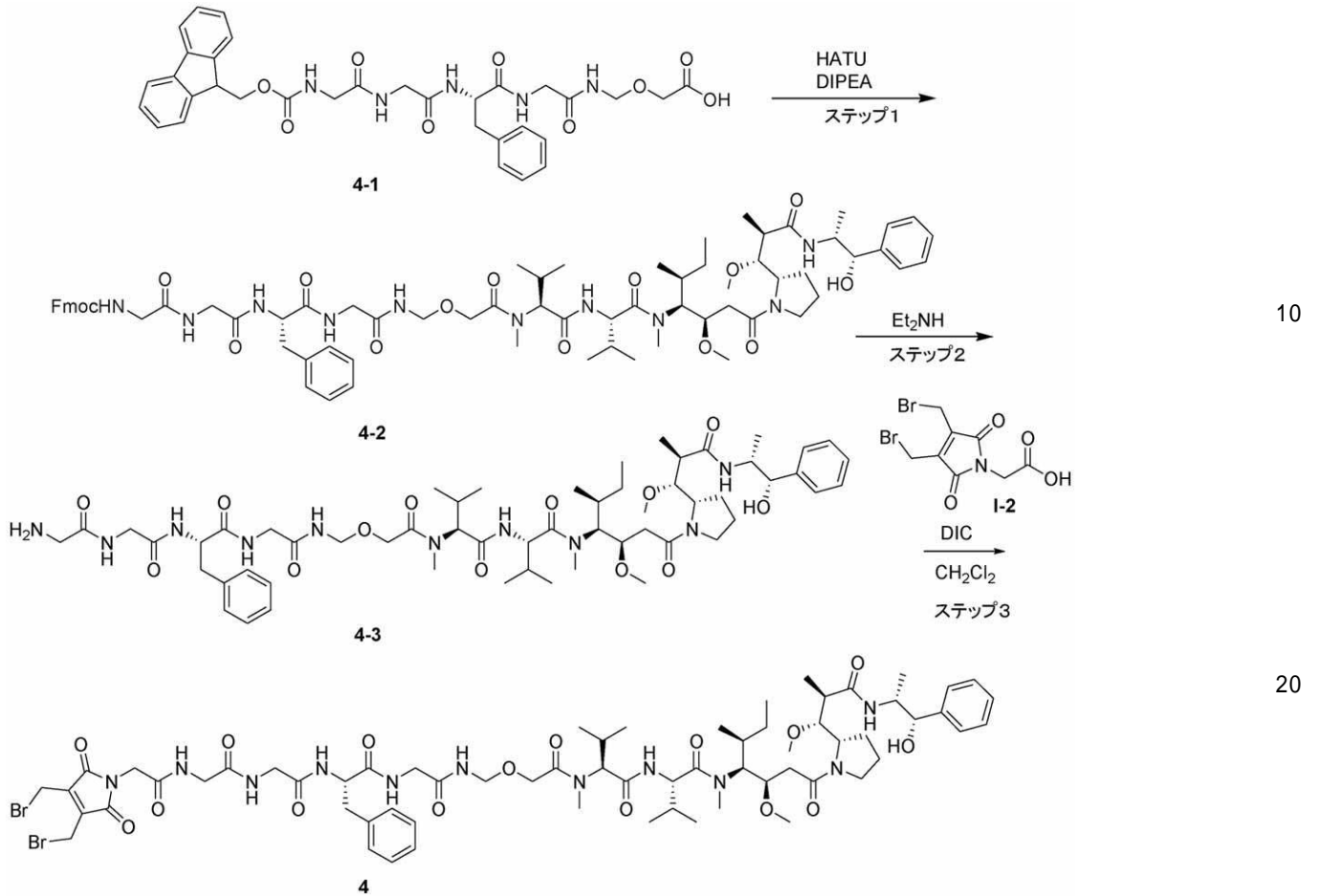
実施例 4：(S)-2-((2S,13S)-13-ベンジル-22-(3,4-ビス(プロモメチル)-2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-2-イソプロピル-3-メチル-4,9,12,15,18,21-ヘキサオキソ-6-オキサ-3,8,11,14,17,20-ヘキサアザドコサンアミド)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-ヒドロキシ-1-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-1-メトキシ-2-メチル-3-オキソプロピル)ピロリジン-1-イル)-3-メトキシ-5-メチル-1-オキソヘプタン-4-イル)-N,3-ジメチルブタンアミド(薬物-リンカー4)

30

40

50

【化 4 6】



ステップ 1 : (9 H - フルオレン - 9 - イル) メチル ((3 R , 4 S , 7 S , 1 0 S , 2 1 S) - 2 1 - ベンジル - 4 - ((S) - s e c - プチル) - 3 - (2 - ((S) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - (((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 7 , 1 0 - ジイソプロピル - 5 , 1 1 - ジメチル - 6 , 9 , 1 2 , 1 7 , 2 0 , 2 3 , 2 6 - ヘプタオキソ - 2 , 1 4 - ジオキサ - 5 , 8 , 1 1 , 1 6 , 1 9 , 2 2 , 2 5 - ヘプチルヘプタンジアミド - 2 7) カルバメート (4 - 2) の合成

30

化合物 4 - 1 (5 0 . 0 0 m g 、 0 . 0 8 m m o l) 及び (S) - N - ((3 R , 4 S , 5 S) - 1 - ((S) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - (((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキシプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘプタン - 4 - イル) - N , 3 - ジメチル - 2 - ((S) - 3 - メチル - 2 - (メチルアミノ) プチリルアミド) ブタンアミド (5 5 . 6 0 m g 、 0 . 0 8 m m o l) を秤量し、DMF (1 m L) に溶解し、次いで、HATU (3 2 . 3 7 m g 、 8 5 . 1 8 μ m o l) 及び DIPEA (2 0 . 0 2 m g 、 1 5 4 . 8 8 μ m o l) に対して加え、添加後、反応を室温で 1 時間行い、且つ高性能液体クロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製して、3 5 . 0 0 m g の表題化合物を得た。

40

カラム : SunFire Prep C18 OBD 5 μ m 1 9 × 1 5 0 m m
 移動相 A : アセトニトリル ; 移動相 B : 水 (0 . 0 5 % ギ酸)

50

【表 5】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	40	60	28
2.00	40	60	28
18.00	90	10	28

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 1345.1[M+H]⁺.

10

【0146】

ステップ2：(S)-2-((2S,13S)-19-アミノ-13-ベンジル-2-イソプロピル-3-メチル-4,9,12,15,18-ペンタオキソ-6-オキサ-3,8,11,14,17-ヘプタンアゾン(heptaneazone))-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-ヒドロキシ-1-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-1-メトキシ-2-メチル-3-オキソプロピル)ピロリジン-1-イル)-3-メトキシ-5-メチル-1-オキソヘプタン-4-イル)-N,3-ジメチルブタンアミド(4-3)の合成

化合物4-2(20.00mg、0.02mmol)をジクロロメタン(2mL)に溶解し、次いで、ジエチルアミン(1mL)に対して加え、添加後、反応を室温で1時間行い、且つ高性能液体クロマトグラフィー-質量分析により監視した。反応溶液を減圧下で濃縮し、濃縮物を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、画分を凍結乾燥して、15.00mgの表題化合物のギ酸塩を得た。

20

クロマトグラフィーカラム：SunFire Prep C18 OBD 19mm x 150mm x 5.0μm

移動相A：アセトニトリル；移動相B：水(0.05%ギ酸)

【表 6】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	10	90	28
2.00	10	90	28
18.00	90	10	28

30

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 1123.1[M+H]⁺.

【0147】

ステップ3：(S)-2-((2S,13S)-13-ベンジル-22-(3,4-ビス(プロモメチル)-2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-2-イソプロピル-3-メチル-4,9,12,15,18,21-ヘキサオキソ-6-オキサ-3,8,11,14,17,20-ヘキサアザドコサンアミド))-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-ヒドロキシ-1-フェニルプロパ-2-イル)アミノ)-1-メトキシ-2-メチル-3-オキソプロピル)ピロリジン-1-イル)-3-メトキシ-5-メチル-1-オキソヘプタ-4-イル)-N,3-ジメチルブチルアミド(4)の合成

40

化合物I-2(4.00mg、12.0μmol)をジクロロメタン(3mL)に溶解し、DIC(1.12mg、8.00μmol)及び化合物4-3(6.58mg、6.00μmol)に対して加え、25℃で1時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラ

50

フィー - 質量分析により監視した。反応溶液を減圧下で濃縮し、濃縮物を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、画分を凍結乾燥して、4.77 mg の表題化合物を得た。

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19 × 150 mm

移動相 A：アセトニトリル；移動相 B：水（0.05% 酢酸）

【表 7】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	35	65	28
18.00	90	10	28

10

構造同定データは以下の通りであった：

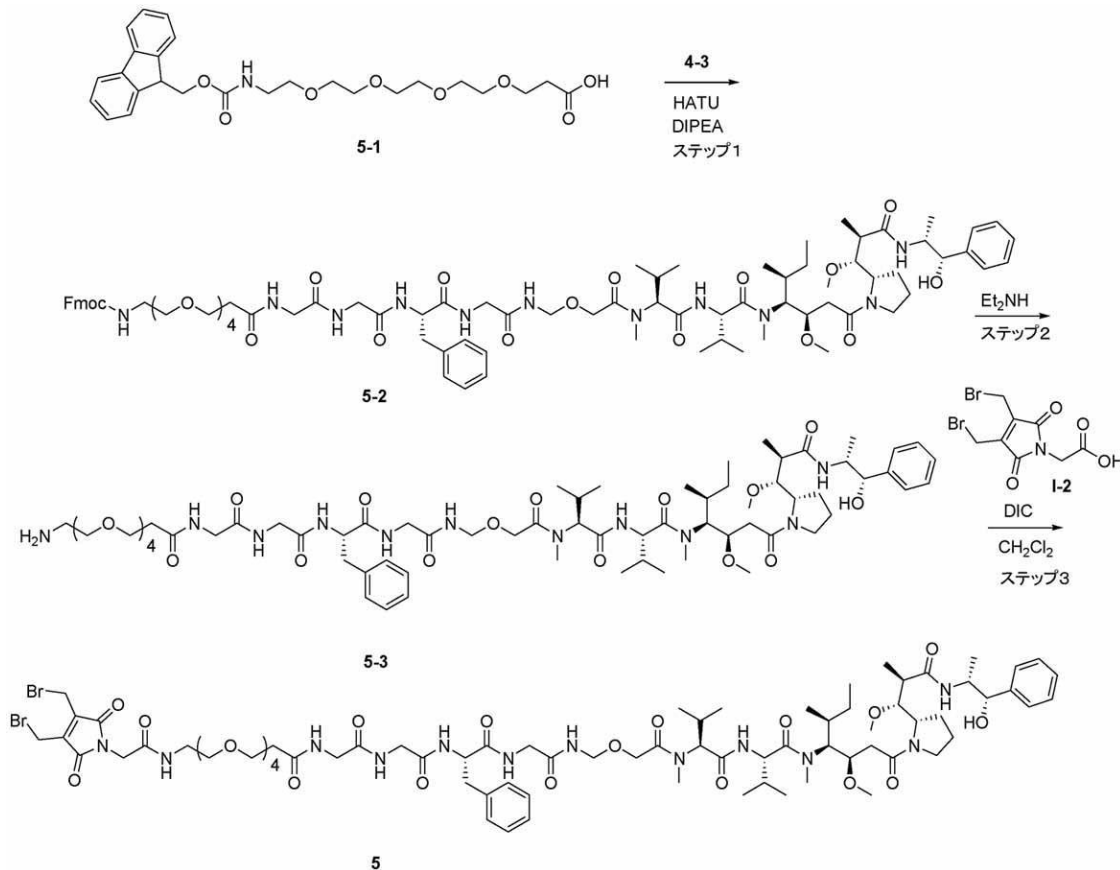
ESI-MS (m/z): 1445.9 [M+H]⁺.

【0148】

実施例 5：N - (((3 R , 4 S , 7 S , 1 0 S , 2 1 S) - 2 1 - ベンジル - 4 - ((S) - s e c - ブチル) - 3 - (2 - ((S) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - (((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパ - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 7 , 1 0 - ジイソプロピル - 5 , 1 1 - ジメチル - 6 , 9 , 1 2 , 1 7 , 2 0 , 2 3 , 2 6 - ヘプタオキソ - 2 , 1 4 - ジオキサ - 5 , 8 , 1 1 , 1 6 , 1 9 , 2 2 , 2 5 - ヘプタ

20

【化 4 7】



30

40

ステップ 1：(9H - フルオレン - 9 - イル)メチル((3 R , 4 S , 7 S , 1 0 S , 2 1 S) - 2 1 - ベンジル - 4 - ((S) - s e c - ブチル) - 3 - (2 - ((S) - 2

50

- (((1 R , 2 R) - 3 - (((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 7 , 10 - ジイソプロピル - 5 , 11 - ジメチル - 6 , 9 , 12 , 17 , 20 , 23 , 26 , 29 - オクタオキソ - 2 , 14 , 32 , 35 , 38 , 41 - ヘキサオキサ - 5 , 8 , 11 , 16 , 19 , 22 , 25 , 28 - オクタアザペンタコサン - 43 - イル) カルバメート (5 - 2) の合成

化合物 5 - 1 (5 . 21 mg、11 . 00 μmol) 及び化合物 4 - 3 (10 . 00 mg、9 . 00 μmol) を秤量し、DMF (1 mL) に溶解し、次いで、HATU (4 . 06 mg、11 . 00 μmol) 及び DIPEA (2 . 30 mg、18 . 00 μmol) に対して加え、添加後、反応を室温で 1 時間行い、且つ高性能液体クロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製して、9 . 00 mg の表題化合物を得た。

10

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19 × 150 mm

移動相 A：アセトニトリル；移動相 B：水 (0 . 05 % ギ酸)

【表 8】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	20	80	28
16.00	90	10	28

20

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 1592.8 [M+H]⁺.

【 0 1 4 9 】

ステップ 2：1 - アミノ - N - (((3 R , 4 S , 7 S , 10 S , 21 S) - 21 - ベンジル - 4 - ((S) - sec - ブチル) - 3 - (2 - ((S) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - (((S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 7 , 10 - ジイソプロピル - 5 , 11 - ジメチル - 6 , 9 , 12 , 17 , 20 , 23 , 26 - ヘプタオキソ - 2 , 14 - ジオキサ - 5 , 8 , 11 , 16 , 19 , 22 , 25 - ヘプタアザヘプタコサン - 27 - イル) - 3 , 6 , 9 , 12 - テトラオキサペンタデカン - 15 - アミド (5 - 3) の合成

30

化合物 5 - 2 (10 . 00 mg、6 . 00 μmol) をジクロロメタン (2 mL) に溶解し、次いで、ジエチルアミン (1 mL) に対して加え；添加後、反応を室温で 1 時間行い、且つ高性能液体クロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液を減圧下で濃縮し、濃縮物を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、画分を凍結乾燥して、7 . 00 mg の表題化合物のギ酸塩を得た。

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19 × 150 mm

移動相 A：アセトニトリル；移動相 B：水 (0 . 05 % ギ酸)

【表 9】

40

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	10	90	28
20.00	90	10	28

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 1370.9 [M+H]⁺.

【 0 1 5 0 】

ステップ 3：N - (((3 R , 4 S , 7 S , 10 S , 21 S) - 21 - ベンジル - 4 -

50

((S) - s e c - ブチル) - 3 - (2 - ((S) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - (((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 7 , 10 - ジイソプロピル - 5 , 11 - ジメチル - 6 , 9 , 12 , 17 , 20 , 23 , 26 - ヘプタオキソ - 2 , 14 - ジオキサ - 5 , 8 , 11 , 16 , 19 , 22 , 25 - ヘプタアザヘプタコサン - 27 - イル) - 1 - (2 - (3 , 4 - ビス (プロモメチル) - 2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) アセトアミド) - 3 , 6 , 9 , 12 - テトラオキソペンタデカンアミド (5) の合成

化合物 I - 2 (4 . 00 mg、12 . 00 μmol) をジクロロメタン (2 mL) に溶解し、DIC (1 . 12 mg、8 . 00 μmol) 及び化合物 5 - 3 (8 . 04 mg、6 . 00 μmol) に対して加え、25 で1時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液を減圧下で濃縮し、濃縮物を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、画分を凍結乾燥して、4 . 68 mg の表題化合物を得た。

カラム : SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19 × 150 mm

移動相 A : アセトニトリル ; 移動相 B : 水 (0 . 05 % ギ酸)

【表 10】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	35	65	28
18.00	90	10	28

構造同定データは以下の通りであった :

ESI-MS (m/z): 1693.7 [M+H]⁺.

【 0 1 5 1 】

実施例 6 : (S) - 2 - ((2 S , 13 S) - 13 - ベンジル - 22 - (2 , 3 - ビス (プロモメチル) - 5 , 7 - ジオキソ - 5 , 7 - ジヒドロ - 6 H - ピロロ [3 , 4 - b] ピラジン - 6 - イル) - 2 - イソプロピル - 3 - メチル - 4 , 9 , 12 , 15 , 18 , 21 - ヘキサオキソ - 6 - オキサ - 3 , 8 , 11 , 14 , 17 , 20 - ヘキサアザドコサンアミド) - N - (((3 R , 4 S , 5 S) - 1 - ((S) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - (((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ)) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘプタン - 4 - イル) - N , 3 - ジメチルブタンアミド (薬物 - リンカー 6)

10

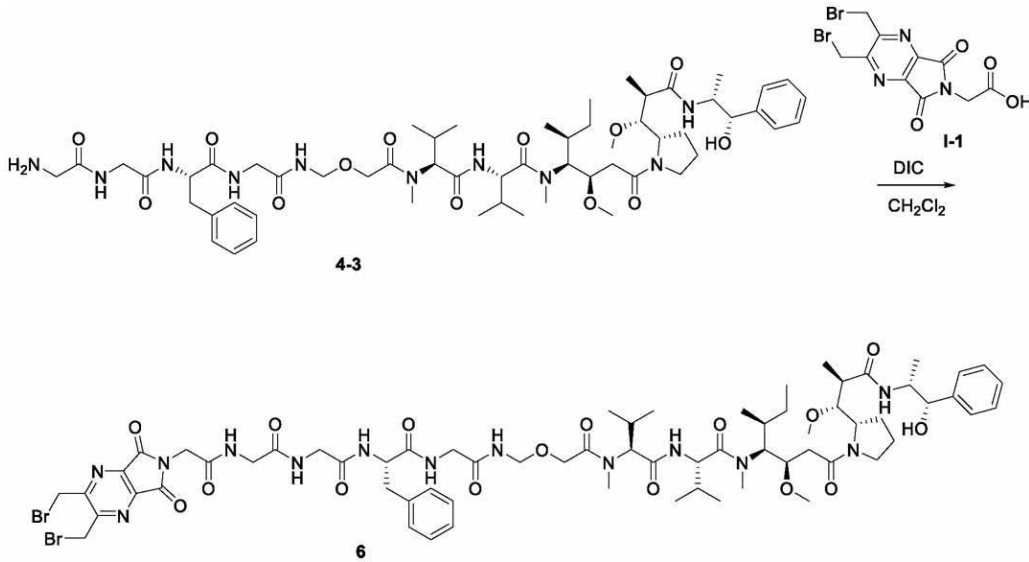
20

30

40

50

【化 4 8】



10

化合物 I - 1 (6 . 0 3 m g 、 1 5 . 0 0 μ m o l) をジクロロメタン (2 m L) に溶解し、DIC (1 . 4 5 m g 、 1 2 . 0 0 μ m o l) 及び化合物 4 - 3 (8 . 6 2 m g 、 8 . 0 0 μ m o l) に対して加え、25 で 1 時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液を減圧下で濃縮し、濃縮物を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、画分を凍結乾燥して、4 . 2 1 m g の表題化合物を得た。

20

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19 x 150 mm

移動相 A：アセトニトリル；移動相 B：水 (0 . 0 5 % ギ酸)

【表 1 1】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	30	70	28
18.00	90	10	28

30

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 1498.5 [M+H]⁺.

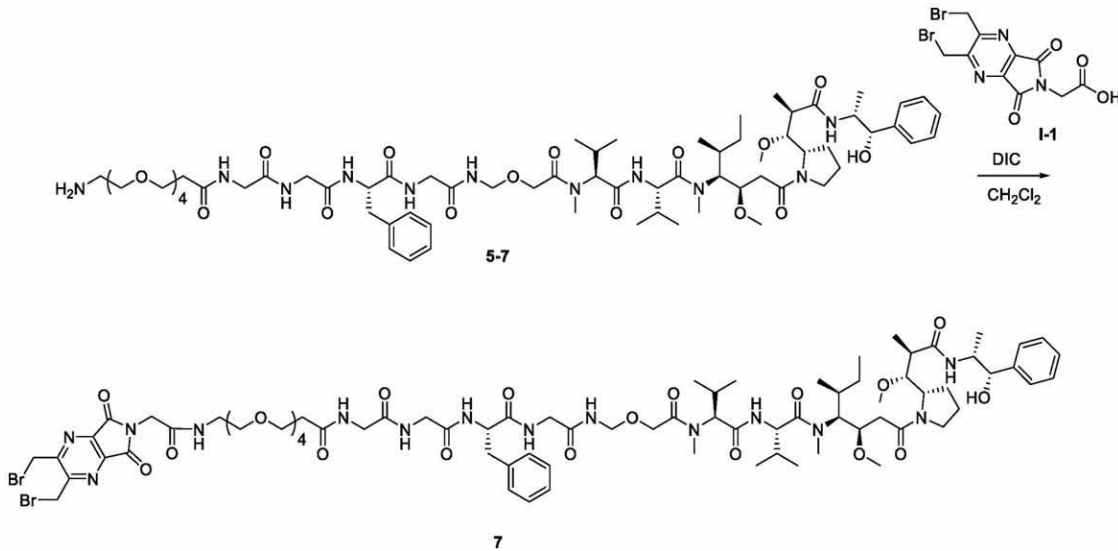
【 0 1 5 2】

実施例 7：N - (((3 R , 4 S , 7 S , 1 0 S , 2 1 S) - 2 1 - ベンジル - 4 - ((S) - s e c - プチル) - 3 - (2 - ((S) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - (((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 2 - オキソエチル) - 7 , 1 0 - ジイソプロピル - 5 , 1 1 - ジメチル - 6 , 9 , 1 2 , 1 7 , 2 0 , 2 3 , 2 6 - ヘプタオキソ - 2 , 1 4 - ジオキサ - 5 , 8 , 1 1 , 1 6 , 1 9 , 2 2 , 2 5 - ヘプタアザヘプタコサン - 2 7 - イル) - 1 - (2 - (2 , 3 - ビス (プロモメチル) - 5 , 7 - ジオキソ - 5 , 7 - ジヒドロ - 6 H - ピロロ [3 , 4 - b] ピラジン - 6 - イル) アセトアミド) - 3 , 6 , 9 , 1 2 - テトラオキサペンタデカン - 1 5 - アミド (薬物 - リンカー 7)

40

50

【化 4 9】



化合物 I - 1 (1 2 . 0 6 m g 、 0 . 0 3 m m o l) をジクロロメタン (4 m L) に溶解し、DIC (3 . 0 0 m g 、 0 . 0 2 m m o l) 及び化合物 5 - 3 (2 0 . 0 0 m g 、 1 5 . 0 0 μ m o l) に対して加え、25 で 1 時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液を減圧下で濃縮し、濃縮物を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、画分を凍結乾燥して、1 2 . 0 0 m g の表題化合物を得た。

カラム : SunFire Prep C18 OBD 5 μ m 19 x 150 mm
移動相 A : アセトニトリル ; 移動相 B : 水 (0 . 0 5 % ギ酸)

【表 1 2】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	30	70	28
2.00	30	70	28
18.00	90	10	28

構造同定データは以下の通りであった :

ESI-MS (m / z) : 1745.8 [M + H] ⁺ .

【 0 1 5 3】

実施例 8 : 4 - ((2 S , 5 S) - 4 1 - (3 , 4 - ビス (プロモメチル) - 2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) - 5 - イソプロピル - 2 - メチル - 4 , 7 , 1 1 , 4 0 - テトラオキソ - 9 , 1 5 , 1 8 , 2 1 , 2 4 , 2 7 , 3 0 , 3 3 , 3 6 - ノナオキサ - 3 , 6 , 1 2 , 3 9 - テトラアザペンタデカンアミド) フェニル ((S) - 1 - ((S) - 1 - ((3 R , 4 S , 5 S) - 1 - ((S) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - ((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘブタン - 4 - イル) (メチル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) (メチル) カーボネート (薬物 - リンカー - 8)

10

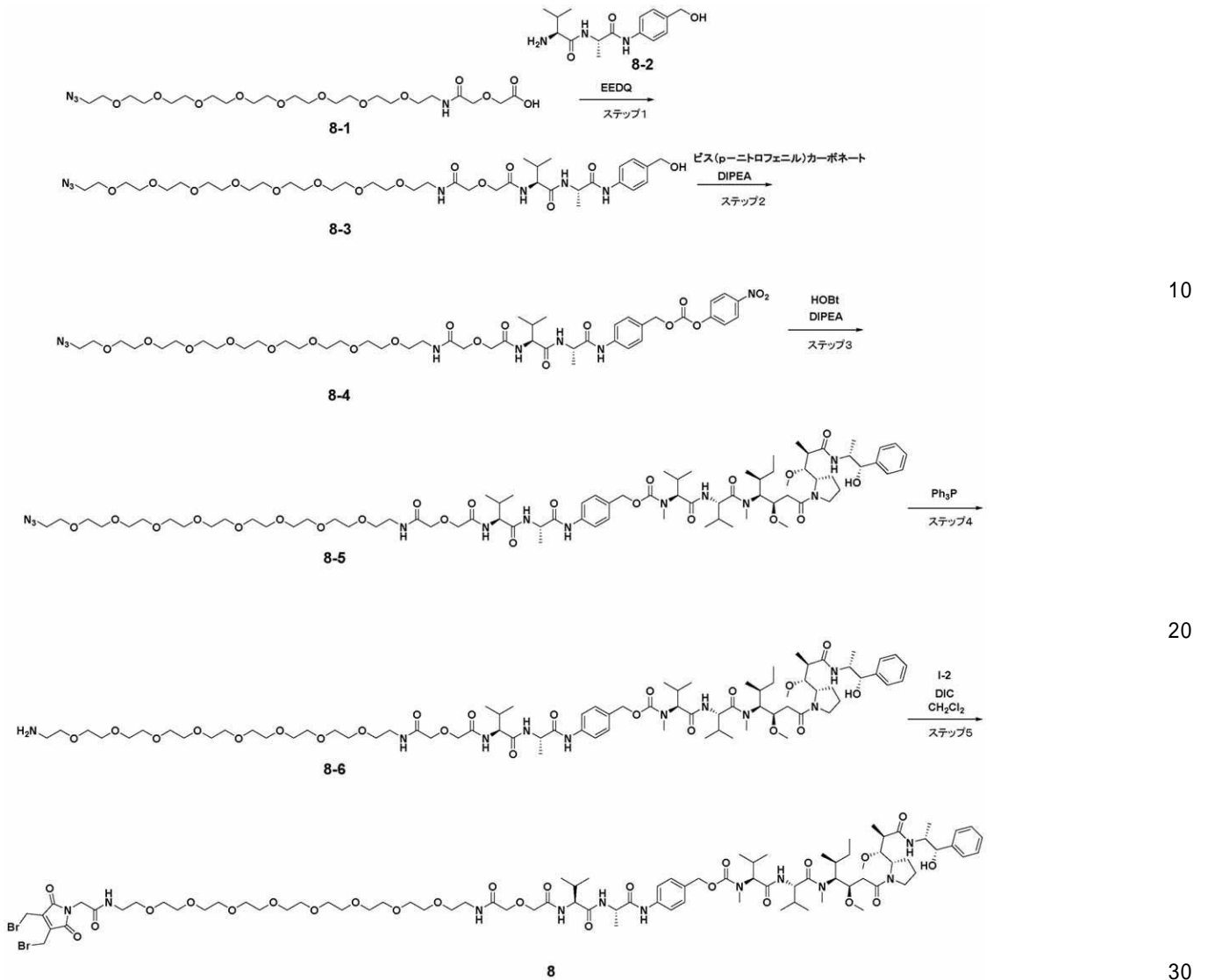
20

30

40

50

【化50】



ステップ1：(S)-2-(32-アジド-5-オキソ-3,9,12,15,18,21,24,27,30-ノナオキサ-6-アザテトラトリアコンタンアミド)-N-((S)-1-(4-(ヒドロキシメチル)フェニル)アミノ)-1-オキソプロパン-2-イル)-3-メチルブタンアミン(8-3)の合成

化合物8-2(3.60g、12.27mmol)をジクロロメタン(30mL)に溶解し、化合物8-1(7.49g、13.50mmol)及びEEDQ(6.07g、24.54mmol)に対して加え、25℃で4時間反応させた。反応溶液を減圧下で濃縮し、濃縮物を逆相C18カラム(70%アセトニトリル/0.1%水性ギ酸)により分離して、表題化合物8-3(7.80g)を得た。

40

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 830.4[M+H]⁺.

【0154】

ステップ2：4-((2S,5S)-38-アジド-5-イソプロピル-2-メチル-4,7,11-トリオキソ-9,15,18,21,24,27,30,33,36-ノナオキサ-3,6,12-トリアザオクタトリアコナンアミド(triazaoctatriaconatanamido))ベンジル(4-ニトロフェニル)カーボネート(8-4)の合成

化合物8-3(2.50g、3.01mmol)をジクロロメタン(20mL)に溶解し、ビス(p-ニトロフェニル)カーボネート(3.66g、12.05mmol)及び

50

DIPEA (1.56 g、12.05 mmol) に対して加え、25 で4時間反応させた。反応溶液をシリカゲルカラム (酢酸エチル~ジクロロメタン:メタノール = 84:16) により直接精製して、表題化合物 8-4 (2.07 g) を得た。

構造同定データは以下の通りであった:

ESI-MS (m/z): 995.4[M+H]⁺.

【0155】

ステップ3: 4 - ((2S, 5S) - 38 - アジド - 5 - イソプロピル - 2 - メチル - 4, 7, 11 - トリオキソ - 9, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36 - ノナオキサ - 3, 6, 12 - トリアザオクタトリアコンタンアミド) ベンジル ((S) - 1 - ((S) - 1 - ((3R, 4S, 5S) - 1 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘプタン - 4 - イル) (メチル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) (メチル) カーボネート (8-5) の合成

((S) - N - ((3R, 4S, 5S) - 1 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパ - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘプタ - 4 - イル) - N, 3 - ジメチル - 2 - ((S) - 3 - メチル - 2 - (メチルアミノ) ブチルアミド (100 mg、139.28 μmol)、化合物 8-4 (180.17 mg、181.06 μmol) 及び HOBt (56.46 mg、417.84 μmol) を DMF (3 mL) に溶解し、DIPEA (54.00 mg、417.84 μmol) に対して加え、25 で6時間反応させた。反応溶液を減圧下で濃縮し、濃縮物を逆相 C18 カラム (55% アセトニトリル / 0.1% 水性ギ酸) により分離して、表題化合物 8-5 (60.00 mg) を得た。

構造同定データは以下の通りであった:

ESI-MS (m/z): 1573.9[M+H]⁺.

【0156】

ステップ4: 4 - ((2S, 5S) - 38 - アミノ - 5 - イソプロピル - 2 - メチル - 4, 7, 11 - トリオキソ - 9, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36 - ノナオキサ - 3, 6, 12 - トリアザオクタトリアコンタンアミド) ベンジル ((S) - 1 - ((S) - 1 - ((3R, 4S, 5S) - 1 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘプタン - 4 - イル) (メチル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) (メチル) カーボネート (8-6) の合成

化合物 8-5 (0.60 g、381.22 μmol) を THF (10 mL) に溶解し、トリフェニルホスフィン (232.02 mg、762.44 μmol) に対して加え、次いで、水 (10 mL) に対して加え、50 で6時間反応させた。反応溶液を水に対して加え、ジクロロメタンで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濾液を減圧下で濃縮し、シリカゲルカラム (ジクロロメタン:メタノール = 84:16) により精製して、表題化合物 8-6 (50.00 mg) を得た。

構造同定データは以下の通りであった:

ESI-MS (m/z): 1548.9[M+H]⁺.

【0157】

ステップ5: 4 - ((2S, 5S) - 41 - (3, 4 - ビス(プロモメチル) - 2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) - 5 - イソプロピル - 2 - メチル - 4, 7, 11, 40 - テトラオキソ - 9, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33, 36 - ノナオキサ - 3, 6, 12, 39 - テトラアザペンタデカンアミド) フェ

ニル((S)-1-((S)-1-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((1S,2R)-1-ヒドロキシ-1-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-1-メトキシ-2-メチル-3-オキソプロピル)ピロリジン-1-イル)-3-メトキシ-5-メチル-1-オキソヘプタン-4-イル)(メチル)アミノ)-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル)(メチル)カーボネート(8)の合成

化合物 I - 2 (10.00 mg、0.03 mmol) をジクロロメタン (4 mL) に溶解し、DIC (3.70 mg、0.03 mmol) 及び化合物 8 - 6 (23.37 mg、15.00 μ mol) に対して加え、25 で 1 時間反応させ、反応を高性能液体クロマトグラフィー - 質量分析により監視した。反応溶液を減圧下で濃縮し、濃縮物を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、画分を凍結乾燥して、表題化合物 8 (12.88 mg) を得た。

カラム: SunFire Prep C18 OBD 5 μ m 19 x 150 mm

移動相 A: アセトニトリル; 移動相 B: 水 (0.05% 酢酸)

【表 13】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	35	65	28
2.00	35	65	28
18.00	95	5	28

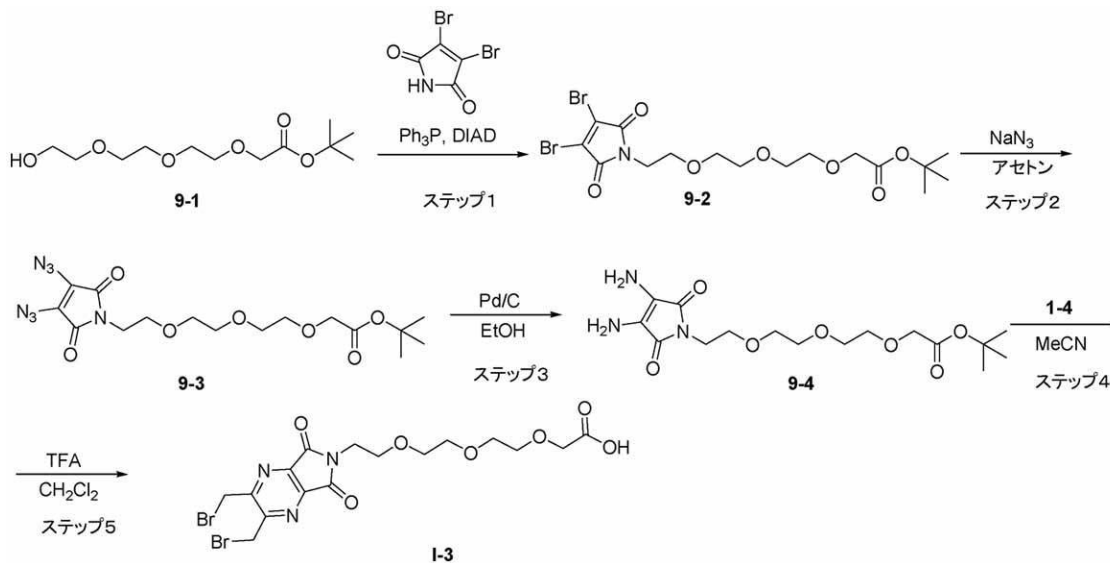
構造同定データは以下の通りであった:

ESI-MS (m/z): 1871.8 [M+H]⁺.

【0158】

実施例 9: 2-(2-(2-(2-(2,3-ビス(プロモメチル)-5,7-ジオキソ-5,7-ジヒドロ-6H-ピロロ[3,4-b]ピラジン-6-イル)エトキシ)エトキシ)酢酸(I-3)

【化 5 1】



ステップ 1: tert-ブチル 2-(2-(2-(2-(3,4-ジプロモ-2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)エトキシ)エトキシ)アセテート(9-2)の合成

0 で、化合物 9 - 1 (523.00 mg、1.98 mmol) 及びトリフェニルホス

10

20

30

40

50

フィン (518.97 mg、1.98 mmol) をテトラヒドロフラン (8 mL) に溶解し、DIAD (400.11 mg、1.98 mmol、389.59 μ L) に対して加え、次いで、5 分間攪拌し、3,4-ジブロモピロール-2,5-ジオン (504.30 mg、1.98 mmol) に対して加え、0 で 3 時間反応させた。反応溶液を飽和塩化アンモニウム水性溶液に対して加え、酢酸エチルで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濾液を減圧下で濃縮した。濃縮物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (石油エーテル：酢酸エチル = 1 : 1) により分離して、表題化合物 9-2 (0.90 g) を得た。

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 519.0[M+18]⁺.

10

【0159】

ステップ 2：tert-ブチル 2-(2-(2-(2-(3,4-ジアジド-2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)エトキシ)エトキシ)アセテート(9-3)の合成

化合物 9-2 (0.20 g、399.07 μ mol) をアセトン (8 mL) に溶解し、アジ化ナトリウム (51.89 mg、798.14 μ mol) に対して加え、25 で 8 時間反応させた。反応溶液を水に対して加え、酢酸エチルで抽出し、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、濾過し、濾液を減圧下で濃縮して、表題化合物 9-3 の粗生成物 (160.00 mg) を得た。

構造同定データは以下の通りであった：

20

ESI-MS (m/z): 443.1[M+18]⁺.

【0160】

ステップ 3：tert-ブチル 2-(2-(2-(2-(3,4-ジアミノ-2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)エトキシ)エトキシ)アセテート(9-4)の合成

化合物 9-3 (170.00 mg、399.63 μ mol) 及び炭素上 10% パラジウム (85.00 mg) をエタノール (34 mL) に溶解し、水素雰囲気下 25 で 8 時間反応させた。反応溶液を濾過し、濾液を減圧下で乾燥して、表題化合物 9-4 の粗生成物 (140.00 mg) を得た。

構造同定データは以下の通りであった：

30

ESI-MS (m/z): 391.3[M+18]⁺.

【0161】

ステップ 4：2-(2-(2-(2-(2-(2,3-ビス(プロモメチル)-5,7-ジオキソ-5,7-ジヒドロ-6H-ピロロ[3,4-b]ピラジン-6-イル)エトキシ)エトキシ)酢酸(I-3)の合成

化合物 9-4 (70.00 mg、187.47 μ mol) 及び化合物 1-4 (45.72 mg、187.47 μ mol) をアセトニトリル (5 mL) に溶解し、25 で 2 時間反応させた。反応溶媒を減圧下で乾燥し、濃縮物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (石油エーテル：酢酸エチル = 1 : 1) により分離して、表題化合物 I-3 (26.00 mg) を得た。

40

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 391.3[M+18]⁺.

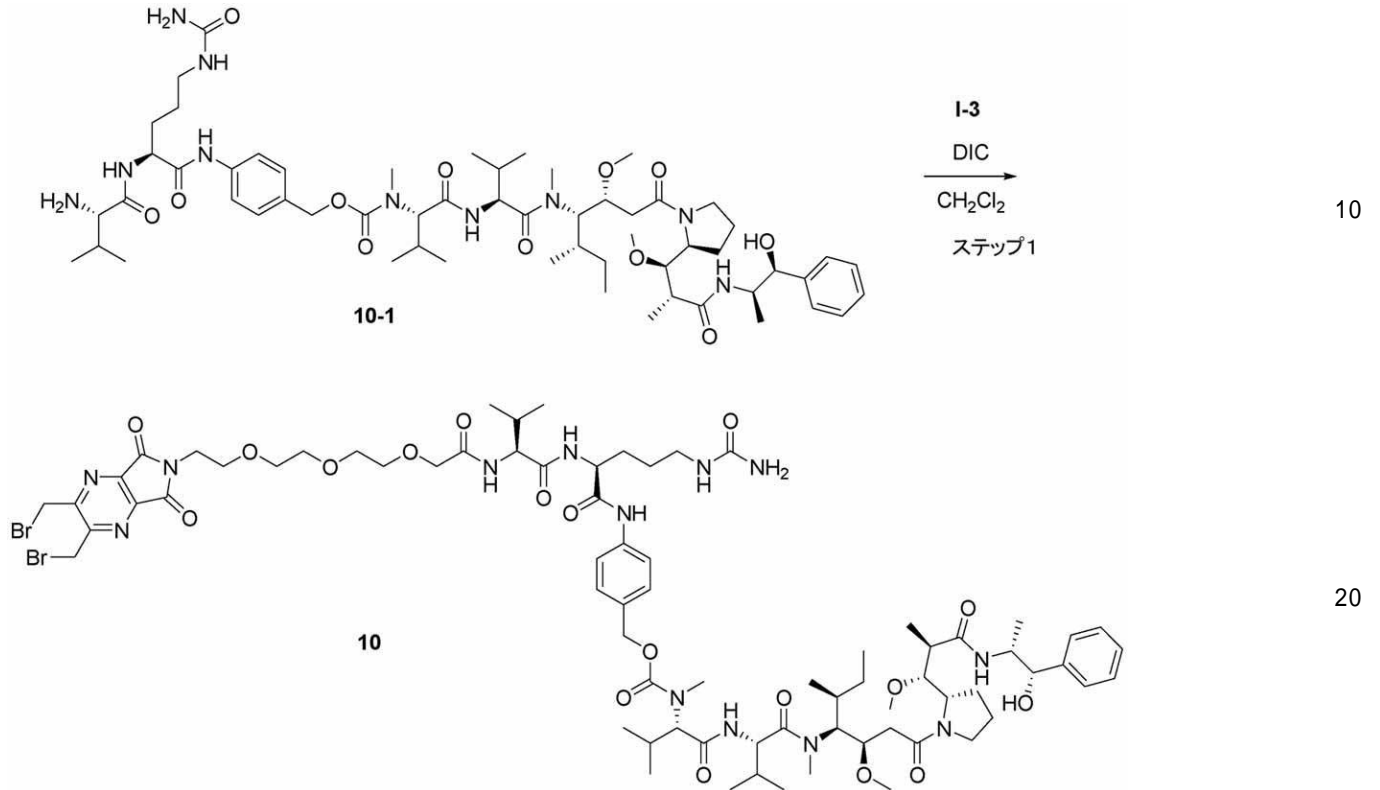
【0162】

実施例 10：4-((2S,5S)-17-(2,3-ビス(プロモメチル)-5,7-ジオキソ-5,7-ジヒドロ-6H-ピロロ[3,4-b]ピラジン-6-イル)-5-イソプロピル-4,7-ジオキソ-2-(3-ウレイドプロピル)-9,12,15-トリオキサ-3,6-ジアザヘプタデカンアミド)ベンジル((S)-1-((S)-1-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-((1S,2R)-1-ヒドロキシ-1-フェニルプロパン-2-イル)アミノ)-1-メトキシ-2-メチル-3-オキソプロピル)ピロリジン-1-イル)-3-メトキシ-5-メチ

50

ル - 1 - オキシヘブタン - 4 - イル) (メチル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキシブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキシブタン - 2 - イル) (メチル) カーボネート (薬物 - リンカー - 10)

【化52】



化合物 I - 3 (13.47 mg、25.65 μ mol) をジクロロメタン (4 mL) に溶解し、DIC (2.43 mg、19.24 μ mol、2.98 μ L) に対して加え、20 分間攪拌し、次いで、化合物 10 - 1 のギ酸塩 (15.00 mg、12.83 μ mol) に対して加え、20 で 2 時間反応させた。溶媒を減圧下で除去し、濃縮物を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、画分をフリーズドライして、表題化合物 10 (9.00 mg) を得た。

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μ m 19 x 150 mm

移動相 A：アセトニトリル；移動相 B：水 (0.05% ギ酸)

【表14】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	35	65	28
2.00	35	65	28
16.00	90	10	28

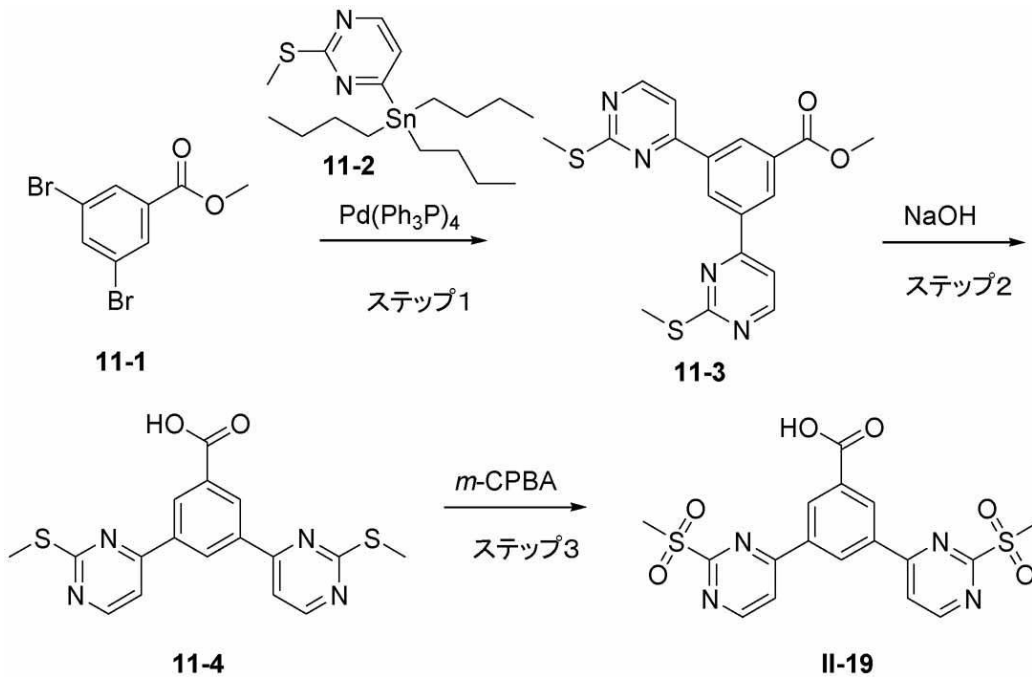
構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 1630.4 [M+H]⁺.

【0163】

実施例 11：3, 5 - ビス (2 - (メチルスルホニル) ピリミジン - 4 - イル) 安息香酸 (II - 19)

【化53】



10

ステップ1：メチル 3,5 - ビス (2 - (メチルチオ)ピリミジン - 4 - イル) ベンゾエート (11 - 3) の合成

20

メチル 3,5 - ジブロモベンゾエート (1.00 g, 3.40 mmol)、4 - トリブチルスタニル - 2 - チオメチルピリミジン (3.11 g, 7.48 mmol) 及びテトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (393.00 mg, 0.034 mmol) を 1,4 - ジオキサン (10 mL) に溶解し、窒素での置き換えに供し、マイクロ波下 110 で 6 時間反応させた。反応溶液を減圧下で濃縮し、濃縮物をシリカゲルカラム (石油エーテル : 酢酸エチル = 5 : 1) により精製して、化合物 11 - 3 (398.00 mg) を得た。

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z) : 385.0 [$M+H$]⁺.

30

【0164】

ステップ2：3,5 - ビス (2 - (メチルチオ)ピリミジン - 4 - イル) 安息香酸 (11 - 4) の合成

化合物 11 - 3 (398.00 mg, 1.04 mmol) をメタノール (5 mL)、テトラヒドロフラン (5 mL) 及び水 (1 mL) に溶解し、水酸化ナトリウム (166.00 mg, 4.14 mmol) に対して加え、攪拌下で 1 時間反応させた。反応溶液を中和のために 3 N 水性塩酸溶液に対して滴加し、減圧下で濃縮し、次いで、水に対して加え、攪拌し、濾過し、固体を水で洗浄し、真空中で乾燥して、表題化合物 11 - 4 (0.38 g) を得た。

【0165】

ステップ3：3,5 - ビス (2 - (メチルスルホニル)ピリミジン - 4 - イル) 安息香酸 (II - 19) の合成

40

化合物 11 - 4 (0.38 g, 1.03 mmol) をメタノール (20 mL) に溶解し、攪拌下で *m* - クロロ過安息香酸 (1.25 g, 80%、6.15 mmol) に対して加え、60 まで加熱し、4 時間反応させた。溶媒を窒素でブロー乾燥し、固体をジクロロメタンに溶解し、シリカゲルカラム (ジクロロメタン : メタノール = 10 : 1) で直接精製して、表題化合物 II - 19 (0.25 g) を得た。

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z) : 452.0 [$M+18$]⁺.

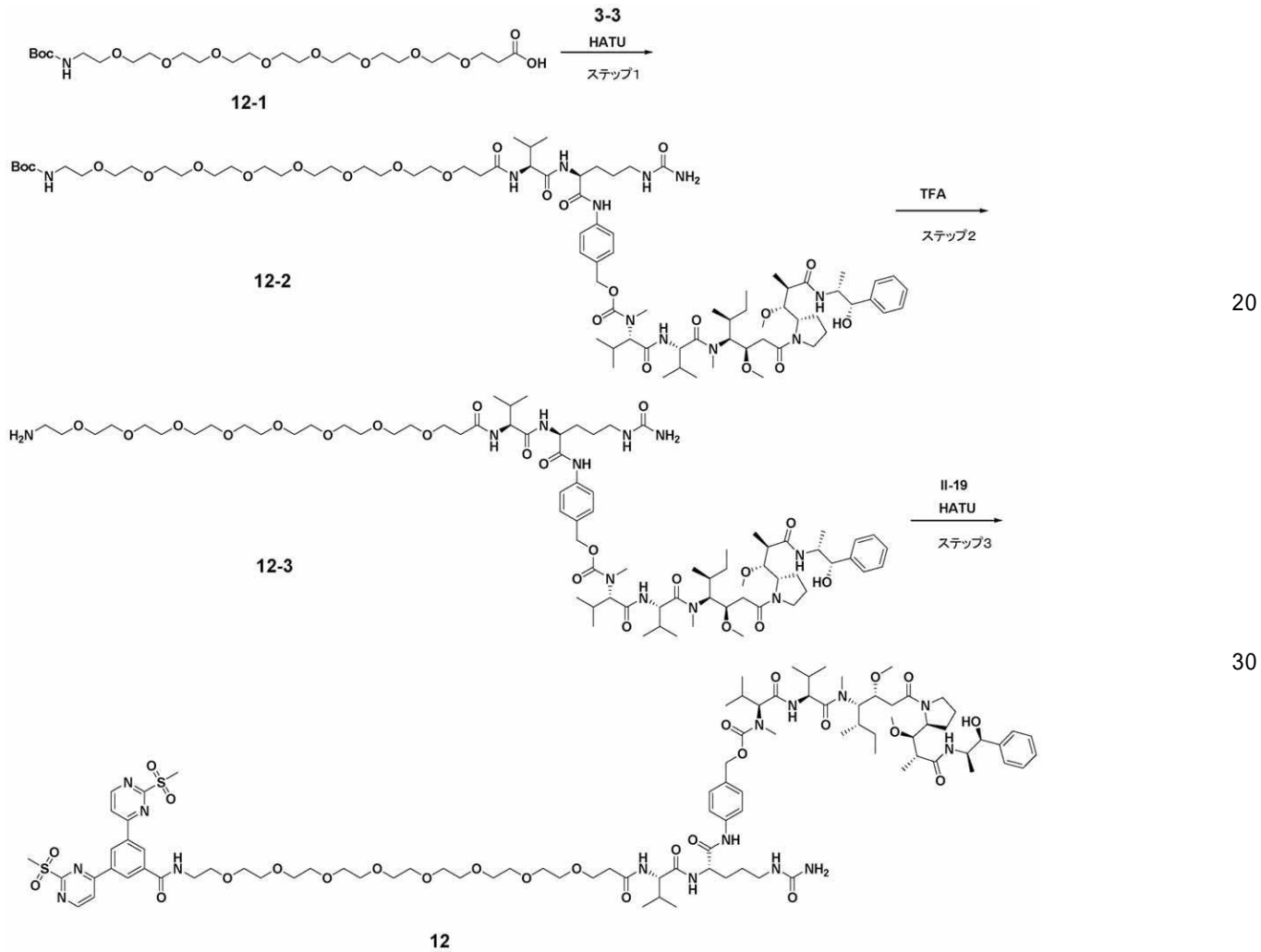
【0166】

50

実施例 12 : 4 - ((3 1 S , 3 4 S) - 1 - (3 , 5 - ビス (2 - (メチルスルホニル) ピリミジン - 4 - イル) フェニル) - 3 1 - イソプロピル - 1 , 2 9 , 3 2 - トリオキソ - 3 4 - (3 - ウレイドプロピル)) - 5 , 8 , 1 1 , 1 4 , 1 7 , 2 0 , 2 3 , 2 6 - オクタオキサ - 2 , 3 0 , 3 3 - トリアザテトラペントコンタン - 3 5 - アミド) ベンジル ((S) - 1 - (((S) - 1 - (((3 R , 4 S , 5 S) - 1 - ((S) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - (((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘプタン - 4 - イル) (メチル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) (メチル) カーボネート (薬物 - リンカー 1 2)

10

【化 5 4】



20

30

ステップ 1 : 4 - ((3 4 S , 3 7 S) - 3 4 - イソプロピル - 2 , 2 - ジメチル - 4 , 3 2 , 3 5 - トリオキソ - 3 7 - (3 - ウレイドプロピル) - 3 , 8 , 1 1 , 1 4 , 1 7 , 2 0 , 2 3 , 2 6 , 2 9 - ノナオキサ - 5 , 3 3 , 3 6 - トリアザオクタデカン - 3 8 - アミド) ベンジル ((S) - 1 - (((S) - 1 - (((3 R , 4 S , 5 S) - 1 - ((S) -) - 2 - ((1 R , 2 R) - 3 - (((1 S , 2 R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘプタン - 4 - イル) (メチル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) (メチル) カルバメート (1 2 - 2) の合成

40

化合物 3 - 3 のギ酸塩 (2 0 0 . 0 0 m g 、 1 7 1 . 0 2 μ m o l) 、 H A T U (9 1 . 0 4 m g 、 2 3 9 . 4 3 μ m o l) 及び化合物 1 2 - 1 (1 2 0 . 4 2 m g 、 2 2 2 .

50

33 μmol) を DMF (6 mL) に溶解し、次いで、DIPEA (66.31 mg、513.06 μmol) に対して加え；添加後、反応を室温で0.5時間行った。溶媒を減圧下で乾燥し、濃縮物を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、画分を凍結乾燥して、表題化合物12-2 (210.00 mg) を得た。

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19 x 150 mm

移動相 A：アセトニトリル；移動相 B：水 (0.05% ギ酸)

【表15】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	30	70	28
2.00	30	70	28
18.00	90	10	28

10

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 824.0 [(M+H)/2] +.

【0167】

ステップ2：4 - ((29S, 32S) - 1 - アミノ - 29 - イソプロピル - 27, 30 - ジオキソ - 32 - (3 - ウレイドプロピル) - 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 - オクタオキサ - 28, 31 - ジアザテトラリアコンタン - 33 - アミド) ベンジル ((S) - 1 - ((S) - 1 - ((3R, 4S, 5S) - 1 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソブタン - 4 - イル) (メチル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) (メチル) カーボネート (12 - 3) の合成

20

化合物12-2 (140.00 mg、85.00 μmol) をトリフルオロ酢酸 (0.5 mL) 及びジクロロメタン (5 mL) に溶解し、0 で2時間反応させた。溶媒を減圧下で乾燥して、表題化合物12-3の73.00 mgの粗ギ酸塩を得た。

30

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 774.1 [(M+H)/2] +.

【0168】

ステップ3：4 - ((31S, 34S) - 1 - (3, 5 - ビス (2 - (メチルスルホニル) ピリミジン - 4 - イル) フェニル) - 31 - イソプロピル - 1, 29, 32 - トリオキソ - 34 - (3 - ウレイドプロピル) - 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26 - オクタオキサ - 2, 30, 33 - トリアザテトラペンタコンタン - 35 - アミド) ベンジル ((S) - 1 - ((S) - 1 - ((3R, 4S, 5S) - 1 - ((S) - 2 - ((1R, 2R) - 3 - ((1S, 2R) - 1 - ヒドロキシ - 1 - フェニルプロパン - 2 - イル) アミノ) - 1 - メトキシ - 2 - メチル - 3 - オキソプロピル) ピロリジン - 1 - イル) - 3 - メトキシ - 5 - メチル - 1 - オキソヘブタン - 4 - イル) (メチル) アミノ) - 3 - メチル - 1 - オキソブタン - 2 - イル) (メチル) カーボネート (12) の合成

40

化合物II-19 (5.45 mg、12.56 μmol)、HATU (14.32 mg、37.67 μmol) 及び化合物12-3のギ酸塩 (20.00 mg、12.56 μmol) をDMF (2 mL) に溶解し、次いで、DIPEA (8.11 mg、62.78 μmol 、11.18 μL) に対して加え、添加後、反応を室温で2時間行った。溶媒を減圧下で乾燥した。濃縮物を分取高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、画分を凍結乾燥して、表題化合物12 (6.50 mg) を得た。

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19 x 150 mm

50

移動相 A : アセトニトリル ; 移動相 B : 水 (0 . 0 5 % ギ酸)

【表 1 6】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	40	60	28
2.00	40	60	28
18.00	80	20	28

10

構造同定データは以下の通りであった :

ESI-MS (m/z): 982.5[(M+H)/2]⁺.

【 0 1 6 9】

実施例 1 3 : N - ((S) - 1 0 - ベンジル - 1 - ((1 S , 9 S) - 9 - エチル - 5 - フルオロ - 9 - ヒドロキシ - 4 - メチル - 1 0 , 1 3 - ジオキソ - 1 , 2 , 3 , 9 , 1 0 , 1 2 , 1 3 , 1 5 - オクタヒドロベンゾ [d e] ピラノ [3 ' , 4 ' : 6 , 7] インドリジノ [1 , 2 - b] キノリン - 1 - イル) アミノ) - 1 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 - ペンタオキソ - 3 - オキサ - 5 , 8 , 1 1 , 1 4 - テトラアザヘキサデカン - 1 6 - イル) - 1 - (2 - (2 , 3 - ビス (プロモメチル) - 5 , 7 - ジオキソ - 5 H - ピロロ [3 , 4 - b] ピラジン - 6 (7 H) - イル) アセトアミド) - 3 , 6 , 9 , 1 2 - テトラオキサペンタデカンアミド (薬物 - リンカー - 1 3)

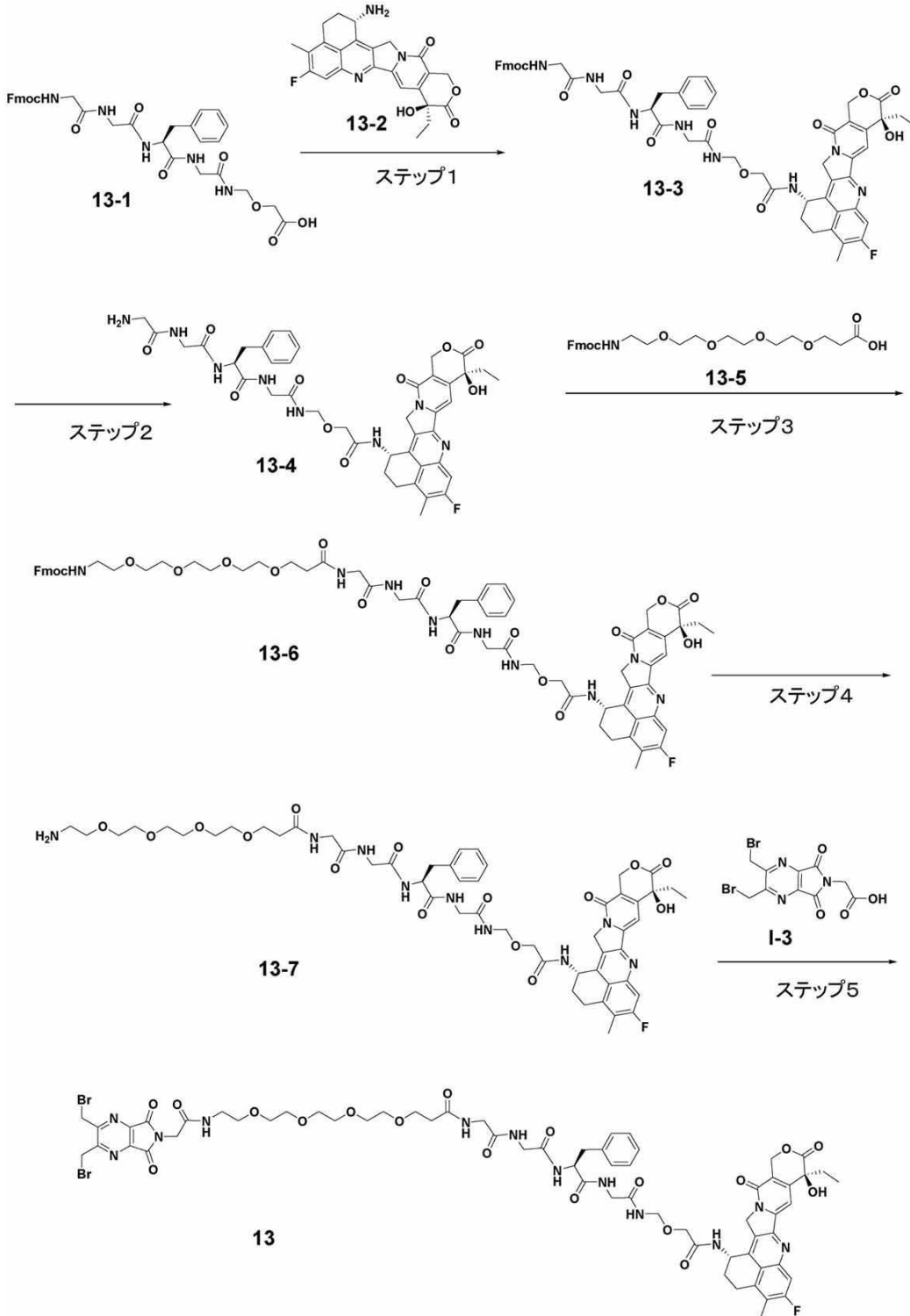
20

30

40

50

【化 5 5】



10

20

30

40

ステップ1：(9H-フルオレン-9-イル)メチル((S)-10-ベンジル-1-((1S,9S)-9-エチル-5-フルオロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-10,13-ジオキソ-1,2,3,9,10,12,13,15-オクタヒドロベンゾ[de]ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-1-イル)アミノ)-1,6,9,12,15-ペンタオキソ-3-オキサ-5,8,11,14-テトラアザヘキサデカン-16-イル)カルバメート(13-3)の合成

化合物13-1(1.00g、1.55mmol)をDMF(5mL)に溶解し、HATU(647.40mg、1.70mmol)、化合物13-2のエクサテカンメシレート(exatecan mesylate)(1.00g、1.55mmol)及びDI 50

PEA (400.34 mg、3.10 mmol) に対して順次加え、25 で2時間反応させた。溶媒を減圧下で除去し、濃縮物を高性能液体クロマトグラフィーにより直接調製し、フリーズドライして、表題化合物 13-3 (1.05 g) を得た。

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19 x 150 mm

移動相 A：アセトニトリル；移動相 B：水 (0.05% ギ酸)

【表 17】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	30	70	28
18.00	90	10	28

10

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 1063.4[M+H]⁺.

【0170】

ステップ 2：(S)-2-(2-アミノアセトアミド)アセトアミド-N-(2-(2-(1S,9S)-9-エチル-5-フルオロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-10,13-ジオキソ-1,2,3,9,10,12,13,15-オクタヒドロベンゾ[de]ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-1-イル)アミノ)-2-オキソ-エトキシ)メチル)-2-オキソ-3-フェニルプロパンアミド (13-4) の合成

化合物 13-3 (1.05 g、987.69 μmol) をジクロロメタン (100 mL) に溶解し、ジエチルアミン (20 mL) に対して加え、25 で1時間反応させた。溶媒を減圧下で除去し、濃縮物を高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、フリーズドライして、表題化合物 13-4 のギ酸塩 (285.00 mg) を得た。

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19 x 150 mm

移動相 A：アセトニトリル；移動相 B：水 (0.05% ギ酸)

【表 18】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	30	70	28
18.00	90	10	28

30

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 841.2[M+H]⁺.

【0171】

ステップ 3：(9H-フルオレン-9-イル)メチル((S)-10-ベンジル-1-(1S,9S)-9-エチル-5-フルオロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-10,13-ジオキソ-1,2,3,9,10,12,15-オクタヒドロベンゾ[de]ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-1-イル)アミノ)-1,6,9,9,15,18-ヘキサオキソ-3,21,24,27,30-ペンタオキサ-5,8,11,14,17-ペンタアザトリカルボキシレート (13-6) の合成

化合物 13-4 のギ酸塩 (83.00 mg、98.71 μmol) 及び HATU (45.04 mg、118.45 μmol)、化合物 13-5 (57.75 mg、118.45 μmol) を DMF (2 mL) に溶解し、次いで、DIPEA (25.51 mg、197.42 μmol、35.14 μL) に対して加え、添加後、室温で0.5時間反応させた。溶媒を減圧下で除去し、濃縮物を高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、フリーズドライして、表題化合物 13-6 (30.00 mg) を得た。

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19 x 150 mm

50

移動相 A : アセトニトリル ; 移動相 B : 水 (0 . 0 5 % ギ酸)

【表 1 9】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	30	70	28
16.00	90	10	28

構造同定データは以下の通りであった :

ESI-MS (m/z): 1310.5[M+H]⁺.

10

【0172】

ステップ 4 : 1 - アミノ - N - ((S) - 1 0 - ベンジル - 1 - ((1 S , 9 S) - 9 - エチル - 5 - フルオロ - 9 - ヒドロキシ - 4 - メチル - 1 0 , 1 3 - ジオキソ - 1 , 2 , 3 , 9 , 1 0 , 1 2 , 1 3 , 1 5 - オクタヒドロベンゾ [d e] ピラノ [3 ' , 4 ' : 6 , 7] インドリジノ [1 , 2 - b] キノリン - 1 - イル) アミノ - 1 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 - ペンタオキソ - 3 - オキサ - 5 , 8 , 1 1 , 1 4 - テトラアザヘキサデカン - 1 6 - イル) - 3 , 6 , 9 , 1 2 - テトラオキサ - 1 5 - デカンアミド (1 3 - 7) の合成

化合物 1 3 - 6 (3 0 . 0 0 m g 、 2 2 . 8 9 μ m o l) をジエチルアミン (1 m L) 及び DMF (2 m L) に溶解し、室温で 1 時間反応させた。溶媒を減圧下で除去し、濃縮物を高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、フリーズドライして、表題化合物 1 3 - 7 のギ酸塩 (1 6 . 0 0 m g) を得た。

20

カラム : SunFire Prep C18 OBD 5 μ m 1 9 x 1 5 0 m m

移動相 A : アセトニトリル ; 移動相 B : 水 (0 . 0 5 % ギ酸)

【表 2 0】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	5	95	28
18.00	90	10	28

30

構造同定データは以下の通りであった :

ESI-MS (m/z): 1088.4[M+H]⁺.

【0173】

ステップ 5 : N - ((S) - 1 0 - ベンジル - 1 - ((1 S , 9 S) - 9 - エチル - 5 - フルオロ - 9 - ヒドロキシ - 4 - メチル - 1 0 , 1 3 - ジオキソ - 1 , 2 , 3 , 9 , 1 0 , 1 2 , 1 3 , 1 5 - オクタヒドロベンゾ [d e] ピラノ [3 ' , 4 ' : 6 , 7] インドリジノ [1 , 2 - b] キノリン - 1 - イル) アミノ) - 1 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 - ペントキソ (p e n t o x o) - 3 - オキサ - 5 , 8 , 1 1 , 1 4 - テトラアザヘキサデカン - 1 6 - イル) - 1 - (2 - (2 , 3 - ビス (プロモメチル) - 5 , 7 - ジオキソ - 5 H - ピロロ [3 , 4 - b] ピラジン - 6 (7 H) - イル) アセトアミド) - 3 , 6 , 9 , 1 2 - テトラオキサペンタデカンアミド (1 3) の合成

化合物 1 3 - 7 のギ酸塩 (1 6 . 0 0 m g 、 1 4 . 7 0 μ m o l) 、 化合物 I - 3 (1 1 . 5 6 m g 、 2 9 . 4 1 μ m o l) 及び DIC (2 . 6 0 m g 、 2 0 . 5 9 μ m o l 、 3 . 1 9 μ L) をジクロロメタン (4 m L) に溶解し、20 で 1 時間反応させた。溶媒を減圧下で除去し、濃縮物を高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、フリーズドライして、表題化合物 1 3 (5 . 3 3 m g) を得た。

40

カラム : SunFire Prep C18 OBD 5 μ m 1 9 x 1 5 0 m m

移動相 A : アセトニトリル ; 移動相 B : 水 (0 . 0 5 % ギ酸)

50

【表 2 1】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	30	70	28
3.00	30	70	28
18.00	95	5	28

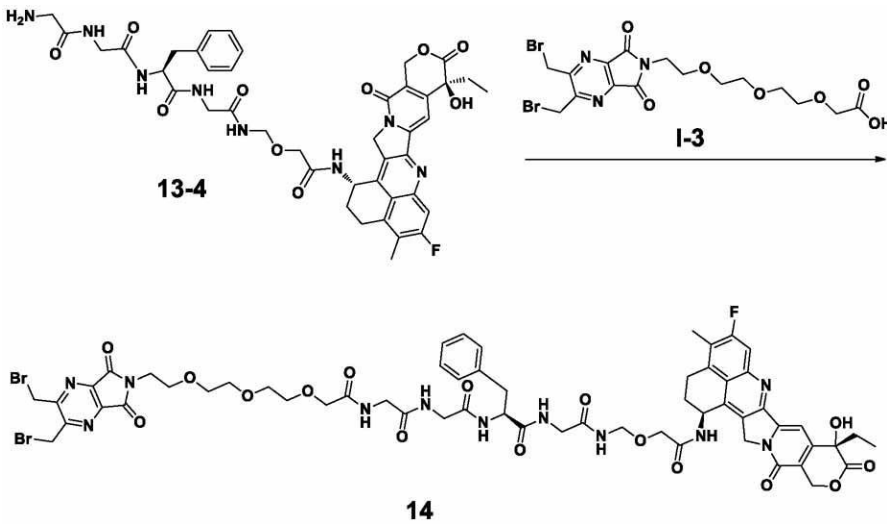
構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 1463.3 [M+H]⁺.

【0174】

実施例 14：(S)-2-(17-(2,3-ビス(プロモメチル)-5,7-ジオキソ-5H-ピロロ[3,4-b]ピラジン-6(7H)-イル)-4,7-ジオキソ-9,12,15-トリオキサ-3,6-ジアザヘプタンアミド)-N-(2-(2-(1S,9S)-9-エチル-5-フルオロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-10,13-ジオキソ)-1,2,3,9,10,12,13,15-オクタヒドロベンゾ[de]ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-1-イル)アミノ)-2-オキソエトキシ(メチル)アミノ)-2-オキソエチル)-3-フェニルプロパンアミド(薬物-リンカー14)

【化56】



化合物 I - 3 (40.26 mg、76.67 μmol) をジクロロメタン (5 mL) に溶解し、DIC (9.68 mg、76.67 μmol) に対して加え、20 分間攪拌し、次いで、化合物 13 - 4 のギ酸塩 (34.00 mg、38.34 μmol) に対して加え、20 で 2 時間反応させた。溶媒を減圧下で除去し、濃縮物を高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、フリーズドライして、表題化合物 14 (5.33 mg) を得た。

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19 x 150 mm

移動相 A：アセトニトリル；移動相 B：水 (0.05% ギ酸)

10

20

30

40

50

【表 2 2】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	30	70	28
2.00	30	70	28
18.00	90	10	28

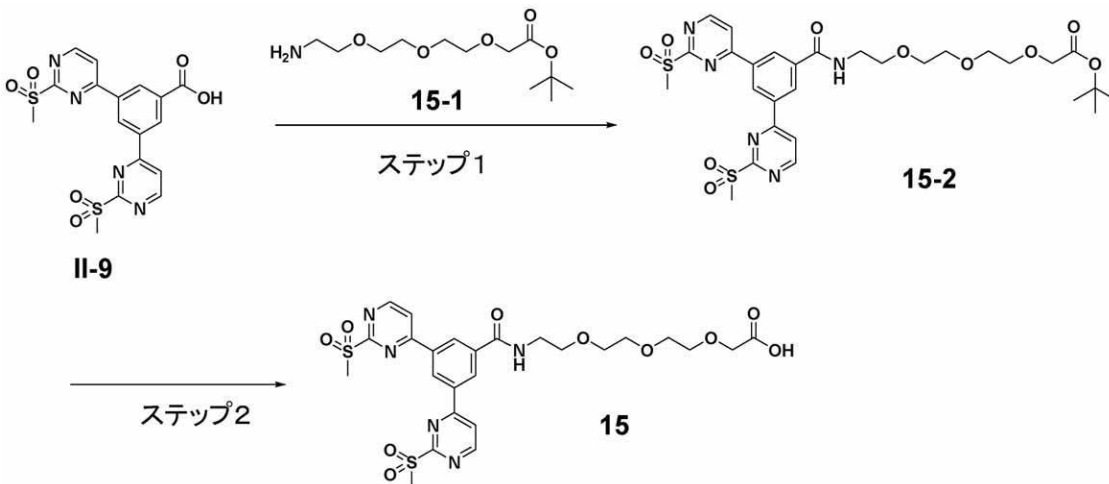
構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 1348.3[M+H]⁺.

【0175】

実施例 15：1-(3,5-ビス(2-(メチルスルホニル)ピリミジン-4-イル)フェニル)-1-オキソ-5,8,11-トリオキサ-2-アザトリデカン-13-オレイン酸(15)

【化57】



ステップ 1：tert-ブチル 1-(3,5-ビス(2-(メチルスルホニル)ピリミジン-4-イル)フェニル)-1-オキソ-5,8,11-トリオキサ-2-アザトリデカン-13-オレイン酸塩(15-2)の合成

化合物 II-9 (50.00 mg、115.09 μmol) を DMF (2 mL) に溶解し、HATU (65.60 mg、172.53 μmol) に対して加え、攪拌し、次いで、化合物 15-1 (36.37 mg、138.11 μmol) 及び DIPEA (44.62 mg、345.27 μmol、61.46 μL) に対して加え、25℃ で 2 時間反応させた。溶媒を減圧下で除去し、濃縮物を高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、フリーズドライして、表題化合物 15-2 (25.00 mg) を得た。

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μm 19 × 150 mm

移動相 A：アセトニトリル；移動相 B：水(0.05%ギ酸)

【表 2 3】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	30	70	28
2.00	30	70	28
18.00	90	10	28

10

20

30

40

50

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z): 697.2[M+18]⁺.

【0176】

ステップ2：1-(3,5-ビス(2-(メチルスルホニル)ピリミジン-4-イル)フェニル)-1-オキソ-5,8,11-トリオキサ-2-アザトリデカン-13-オレイン酸(15)の合成

化合物15-2(20.00mg、29.42μmol)をトリフルオロ酢酸(1mL)及びジクロロメタン(5mL)に溶解し、25℃で2時間反応させた。溶媒を減圧下で除去し、濃縮物を表題化合物15の粗生成物(15.00mg)として得、それを精製せずに次のステップにおいて直接使用した。

10

構造同定データは以下の通りであった：

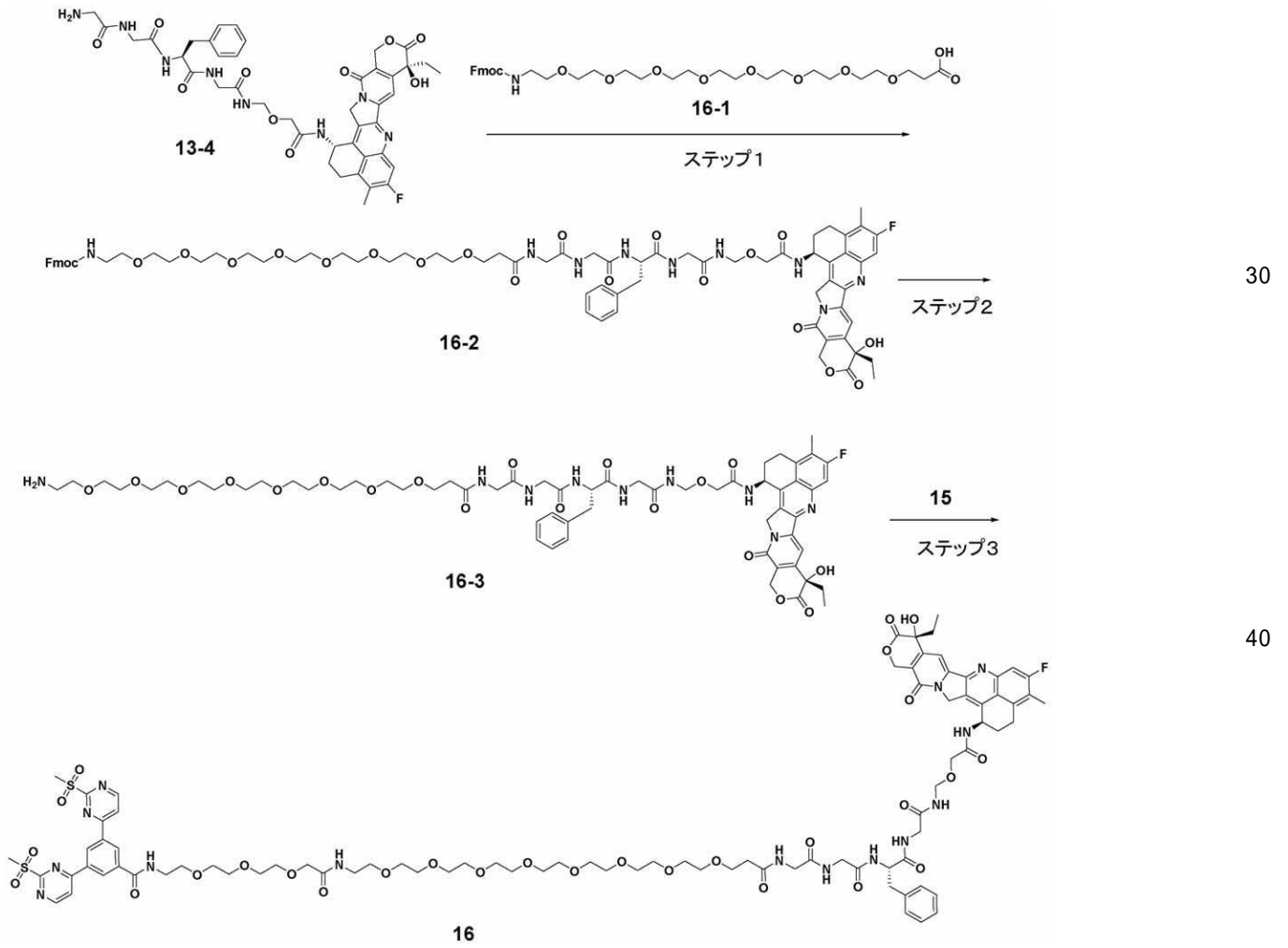
ESI-MS (m/z): 641.1[M+18]⁺.

【0177】

実施例16：N-((S)-10-ベンジル-1-((1R,9R)-9-エチル-5-フルオロ-9-ヒドロキシ-4-メチル-10,13-ジオキソ-1,2,3,9,10,12,13,15-オクタヒドロベンゾ[de]ピラノ[3',4':6,7]インドリジノ[1,2-b]キノリン-1-イル)アミノ)-1,6,9,12,15,18,46-ヘプタオキソ-3,21,24,27,30,33,36,39,42,48,51,54-ドデカオキサ-5,8,11,14,17,45-ヘキサアザヘキサペンタン-56-イル)-3,5-ビス(2-(メチルスルホニル)ピリミジン-4-イル)ベンズアミド(薬物-リンカー16)

20

【化58】



30

40

ステップ1：(9H-フルオレン-9-イル)メチル((S)-10-ベンジル-1-

50

((1 S , 9 S) - 9 - エチル - 5 - フルオロ - 9 - ヒドロキシ - 4 - メチル - 10 , 13 - ジオキソ - 1 , 2 , 3 , 9 , 10 , 12 , 13 , 15 - オクタヒドロベンゾ [d e] ピラノ [3 ' , 4 ' : 6 , 7] インドリジノ [1 , 2 - b] キノリン - 1 - イル) アミノ - 1 , 6 , 9 , 12 , 15 , 18 - ヘキサオキソ - 3 , 21 , 24 , 27 , 30 , 33 , 36 , 39 , 42 - ノナオキサ - 5 , 8 , 11 , 14 , 17 - ペンタアザテトラデカン - 44 - イル) カルバメート (16 - 2) の合成

化合物 13 - 4 のメシル酸塩 (132 . 00 mg 、 148 . 84 μ mol) を DMF (5 mL) に溶解し、HATU (90 . 55 mg 、 238 . 14 μ mol) 、化合物 16 - 1 (148 . 19 mg 、 223 . 26 μ mol) 及び DIPEA (96 . 18 mg 、 744 . 19 μ mol 、 132 . 48 μ L) に対して加え、25 で 2 時間反応させた。溶媒を減圧下で除去し、濃縮物を高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、フリーズドライして、表題化合物 16 - 2 (110 . 00 mg) を得た。

カラム : SunFire Prep C18 OBD 5 μ m 19 x 150 mm
移動相 A : アセトニトリル ; 移動相 B : 水 (0 . 05 % ギ酸)

【表 24】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	20	80	28
3.00	20	80	28
17.00	90	10	28

構造同定データは以下の通りであった :

ESI-MS (m/z): 1486.5 [M+1]⁺.

【 0 1 7 8 】

ステップ 2 : 1 - アミノ - N - ((S) - 10 - ベンジル - 1 - ((1 S , 9 S) - 9 - エチル - 5 - フルオロ - 9 - ヒドロキシ - 4 - メチル - 10 , 13 - ジオキソ - 1 , 2 , 3 , 9 , 10 , 12 , 13 , 15 - オクタヒドロベンゾ [d e] ピラノ [3 ' , 4 ' : 6 , 7] インドリジノ [1 , 2 - b] キノリン - 1 - イル) アミノ - 1 , 6 , 9 , 12 , 15 - ペンタオキソ - 3 - オキサ - 5 , 8 , 11 , 14 - テトラアザヘキサデカン - 16 - イル) - 3 , 6 , 9 , 12 , 15 , 18 , 21 , 2 - オクタオキサヘプタン - 27 - アミド (16 - 3) の合成

化合物 16 - 2 (110 . 00 mg 、 74 . 00 μ mol 、 FR) をジエチルアミン (1 mL) 及びジクロロメタン (5 mL) に溶解し、25 で 2 時間反応させた。溶媒を減圧下で除去し、濃縮物を高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、フリーズドライして、表題化合物 16 - 3 のギ酸塩 (40 . 00 mg) を得た。

カラム : SunFire Prep C18 OBD 5 μ m 19 x 150 mm
移動相 A : アセトニトリル ; 移動相 B : 水 (0 . 05 % ギ酸)

【表 25】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	10	90	28
2.00	10	90	28
18.00	90	10	28

構造同定データは以下の通りであった :

ESI-MS (m/z): 1264.6 [M+1]⁺.

【0179】

ステップ3：N - ((S) - 10 - ベンジル - 1 - ((1 R , 9 R) - 9 - エチル - 5 - フルオロ - 9 - ヒドロキシ - 4 - メチル - 10 , 13 - ジオキソ - 1 , 2 , 3 , 9 , 10 , 12 , 13 , 15 - オクタヒドロベンゾ [de] ピラノ [3 ' , 4 ' : 6 , 7] インドリジノ [1 , 2 - b] キノリン - 1 - イル) アミノ) - 1 , 6 , 9 , 12 , 15 , 18 , 46 - ヘプタオキソ - 3 , 21 , 24 , 27 , 30 , 33 , 36 , 39 , 42 , 48 , 51 , 54 - ドデカオキサ - 5 , 8 , 11 , 14 , 17 , 45 - ヘキサアザヘキサペタン - 56 - イル) - 3 , 5 - ビス (2 - (メチルスルホニル) ピリミジン - 4 - イル) ベンズアミド (16) の合成

化合物15 (7 . 00 mg 、 11 . 22 μ mol) を DMF (3 mL) に溶解し、HATU (7 . 76 mg 、 20 . 41 μ mol) 、化合物16 - 3 のギ酸塩 (13 . 37 mg 、 10 . 20 μ mol) 及びDIPEA (3 . 96 mg 、 30 . 61 μ mol 、 5 . 45 μ L) に対して加え、25 で2時間反応させた。溶媒を減圧下で除去し、濃縮物を高性能液体クロマトグラフィーにより直接精製し、フリーズドライして、表題化合物16 (7 . 00 mg) を得た。

カラム：SunFire Prep C18 OBD 5 μ m 19 x 150 mm

移動相A：アセトニトリル；移動相B：水 (0 . 05 % ギ酸)

【表26】

時間[分]	移動相 A[%]	移動相 B[%]	流速[mL/分]
0.00	15	85	28
2.00	15	85	28
18.00	80	20	28

構造同定データは以下の通りであった：

ESI-MS (m/z) : 1869.7 [M + 1] ⁺ .

【0180】

3 . 生物活性コンジュゲートの調製

コンジュゲーション方法A：

0 . 5 mL の抗体 (抗ROR1抗体19F6__Hu35V1、3 ~ 20 mg / mL 、表1中、19F6と呼ばれる) を 0 . 1 M エドト酸二ナトリウム溶液 (pH 7 . 60) で希釈し、次いで、1 M Na_2HPO_4 で pH 7 . 60 に調整し、10 mM TCEP (トリス (2 - カルボキシエチル) ホスフィン) 溶液 (pH 7 . 60) に対して加え、よく混合し、室温で2時間静置した。上の溶液系を、抗体の量の5 ~ 10 倍の量のDMSOに溶解された薬物 - リンカー (10 mM) に対して加え、よく混合し、室温で20時間静置し、次いで、NAP - 5ゲルカラム (Cytiva) を使用して、6 . 0 の pH を有する10 mM ヒスチジン緩衝溶液で緩衝溶液を置き換え、それによって、表1に示される通りのADC生成物を得た。

【0181】

コンジュゲーション方法B：

0 . 5 mL の抗体 (抗ROR1抗体19F6__Hu35V1、3 ~ 20 mg / mL 、表1中、19F6と呼ばれる) を 0 . 1 M エドト酸二ナトリウム溶液 (pH 7 . 60) で希釈し、次いで、1 M Na_2HPO_4 溶液で pH 7 . 60 に調整し、10 mM TCEP (トリス (2 - カルボキシエチル) ホスフィン) 溶液 (pH 7 . 60) に対して加え、よく混合し、室温で2時間静置した。NAP - 5ゲルカラム (Cytiva) を使用して、TCEPを除去し、生じた溶液系を、抗体の量の5 ~ 10 倍の量のDMSOに溶解された薬物 - リンカー (10 mM) に対して加え、よく混合し、室温で20時間静置し；次いで、NAP - 5ゲルカラム (Cytiva) を使用して、6 . 0 の pH を有する10 mMヒ

スチジン緩衝溶液で緩衝液を置き換え、それによって、表 1 に示される通りの A D C 生成物を得た。

【表 2 7】

表 1: ADC の調製方法、通し番号及び DAR

コンジュゲーション 反応の基質	コンジュ ゲーション 方法	ADC の名称	薬物-リンカ 一对抗体の モル比	平均 DAR (n ₁)	DAR4 割合
19F6+薬物-リンカー 7	方法 B	19F6-ADC III-5-A	6.0	3.87	56.7%
19F6+薬物-リンカー 10	方法 B	19F6-ADC III-6-A	7.0	4.42	53.2%
19F6+薬物-リンカー 12	方法 A	19F6-ADC IV-1-A	6.5	3.74	79.1%
19F6+薬物-リンカー 12	方法 A	19F6-ADC IV-1-B	8.0	3.75	80.0%
19F6+薬物-リンカー 12	方法 B	19F6-ADC IV-1-C	6.5	3.82	88.5%
19F6+薬物-リンカー 12	方法 B	19F6-ADC IV-1-D	8.0	3.87	91.4%
19F6+薬物-リンカー 16	方法 A	19F6-ADC IV-7-A	10.0	3.98	57.6%

10

20

30

【0182】

生物活性コンジュゲートの薬物対抗体比 (DAR) の決定

SEC-MS を使用して、ADC サンプルの分子量を決定し、薬物対抗体比 (DAR) を計算した。

クロマトグラフィー条件：

クロマトグラフィーカラム：ACQUITY UPLC Protein BEH SEC Column、BTQR-18-016；

サンプルチャンパー温度：8；カラム温度：カラム温度は制御しなかった；UV：280 nm；

移動相：20 mM 酢酸アンモニウム、流速：0.1 ml / 分、20 分、サンプルサイズ：50 µg；

質量分析条件：

質量分析計モデル：AB Sciex Triple TOF 5600+；

GS1 55；GS2 55；CUR 30；TEM 450；ISVF 5500；DP 75；CE 5；

m/z 900 ~ 7000；合計 100 の時間ビン。

【0183】

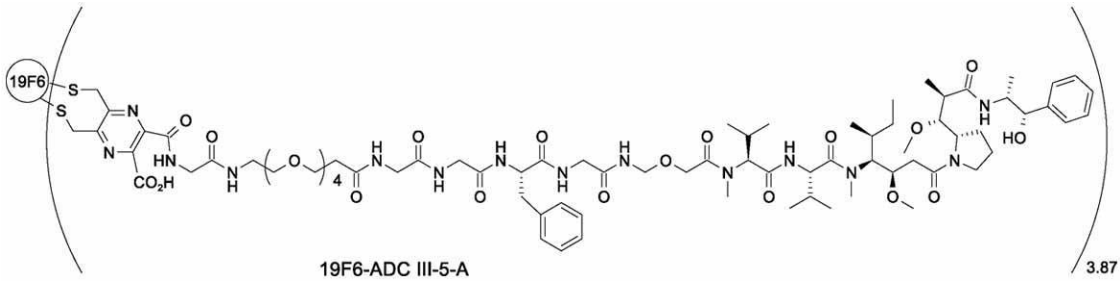
(1) SEC-MS による 19F6-ADC III-5-A の分子量測定、及び薬物

50

対抗体比の計算

コンジュゲーション後に得られた 19F6-ADC III-5-A の SEC-M S 分子量分析を表 2 に示し、その DAR は 3.87 であった。

【化 59】



10

【表 28】

表 2: 19F6-ADC III-5-A の測定分子量及び DAR 計算

負荷	MW _{実験}	最大シグナル 強度	比	DAR
ネイキッド抗体	145050.00	0.00	0.000	3.87
DAR2	なし	0.00	0.000	
DAR3	149863.68	18.50	0.282	
DAR4	151472.75	37.25	0.567	
DAR5	153078.63	9.92	0.151	

20

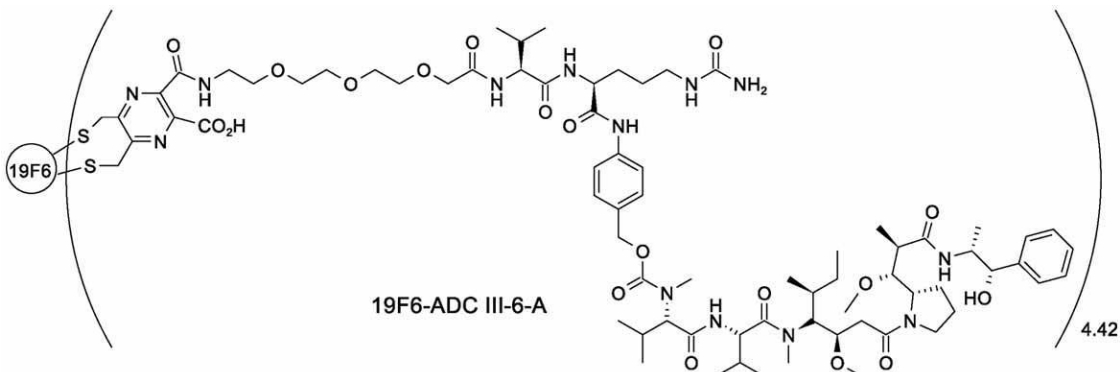
【0184】

(2) SEC-M S による 19F6-ADC III-6-A の分子量測定、及び薬物対抗体比の計算

30

コンジュゲーション後に得られた 19F6-ADC III-6-A の SEC-M S 分子量分析を表 3 に示し、その DAR は 4.42 であった。

【化 60】



40

50

【表 2 9】

表 3: 19F6-ADC III-6-A の測定分子量及び DAR 計算

負荷	MW _{実験}	最大シグナル 強度	比	DAR
ネイキッド抗体	145050.00	0.00	0.000	4.42
DAR2	なし	0.00	0.000	
DAR3	149510.90	4.85	0.052	
DAR4	151001.13	49.64	0.532	
DAR5	152483.55	33.24	0.356	
DAR6	153972.11	5.54	0.059	

10

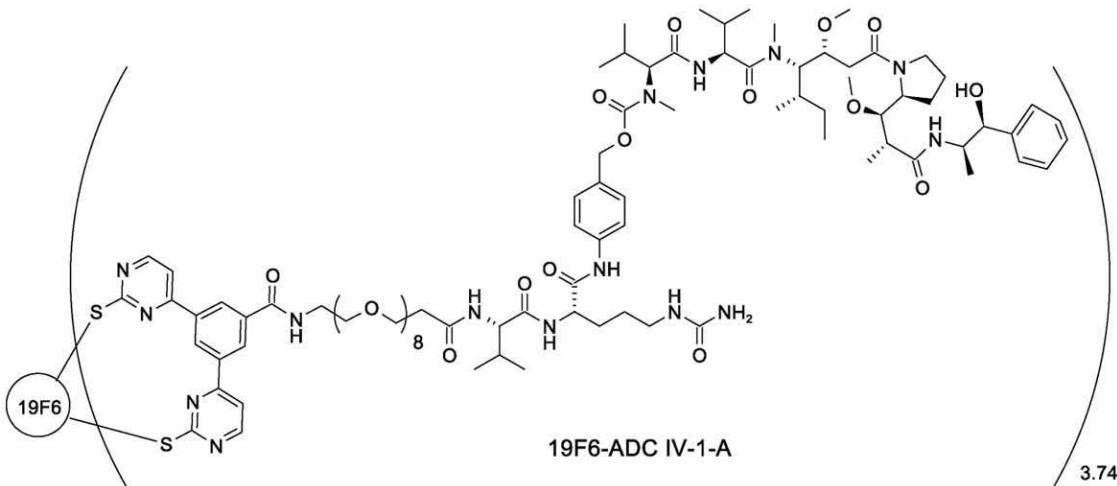
【0185】

(3) SEC-MSによる19F6-ADC IV-1-Aの分子量測定、及び薬物対抗体比の計算

コンジュゲーション後に得られた19F6-ADC IV-1-AのSEC-MS分子量分析を表4に示し、そのDARは3.74であった。

20

【化61】



30

【表 3 0】

表 4: 19F6-ADC IV-1-A の測定分子量及び DAR 計算

負荷	MW _{実験}	最大シグナル 強度	比	DAR
ネイキッド抗体	145054.77	0.00	0.000	3.74
DAR1	146863.97	2.09	0.017	
DAR2	148669.83	1.75	0.014	
DAR3	150468.31	21.98	0.178	
DAR4	152274.07	97.91	0.791	

40

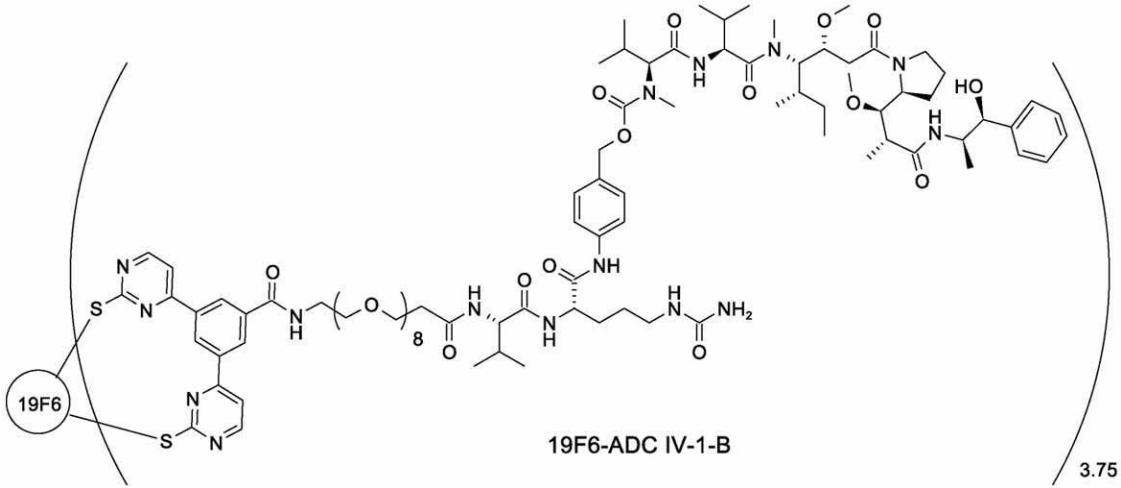
50

【 0 1 8 6 】

(4) S E C - M S による 1 9 F 6 - A D C I V - 1 - B の 分子 量 測 定 、 及 び 薬 物 対 抗 体 比 の 計 算

コ ン ジ ュ ゲ ー シ ョ ン 後 に 得 ら れ た 1 9 F 6 - A D C I V - 1 - B の S E C - M S 分 子 量 分 析 を 表 5 に 示 し 、 そ の D A R は 3 . 7 5 で あ っ た 。

【 化 6 2 】



10

20

【 表 3 1 】

表 5: 19F6-ADC IV-1-B の 測 定 分 子 量 及 び D A R 計 算

負荷	MW _{実験}	最大シグナル 強度	比	DAR
ネイキッド抗体	145054.77	0.00	0.000	3.75
DAR1	146861.63	1.96	0.015	
DAR2	148662.46	2.54	0.020	
DAR3	150467.51	21.19	0.165	
DAR4	152273.42	102.47	0.800	

30

【 0 1 8 7 】

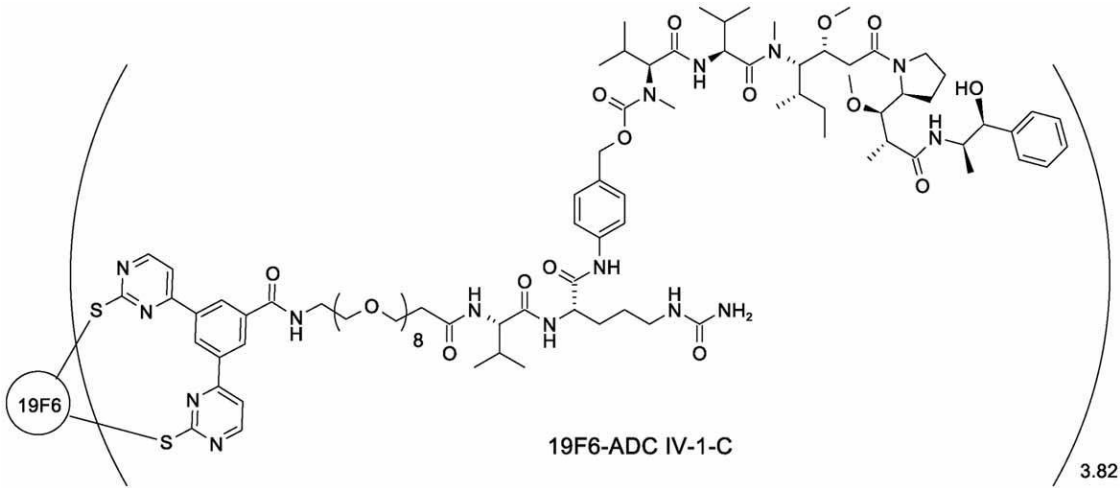
(5) S E C - M S による 1 9 F 6 - A D C I V - 1 - C の 分子 量 測 定 、 及 び 薬 物 対 抗 体 比 の 計 算

コ ン ジ ュ ゲ ー シ ョ ン 後 に 得 ら れ た 1 9 F 6 - A D C I V - 1 - C の S E C - M S 分 子 量 分 析 を 表 6 に 示 し 、 そ の D A R は 3 . 8 2 で あ っ た 。

40

50

【化 6 3】



10

【表 3 2】

表 6: 19F6-ADC IV-1-C の測定分子量及び DAR 計算

負荷	MW _{実験}	最大シグナル 強度	比	DAR
ネイキッド抗体	145054.77	0.00	0.000	3.82
DAR1	146862.39	1.68	0.025	
DAR2	148667.57	0.96	0.014	
DAR3	150470.67	5.12	0.076	
DAR4	152273.43	60.04	0.885	

20

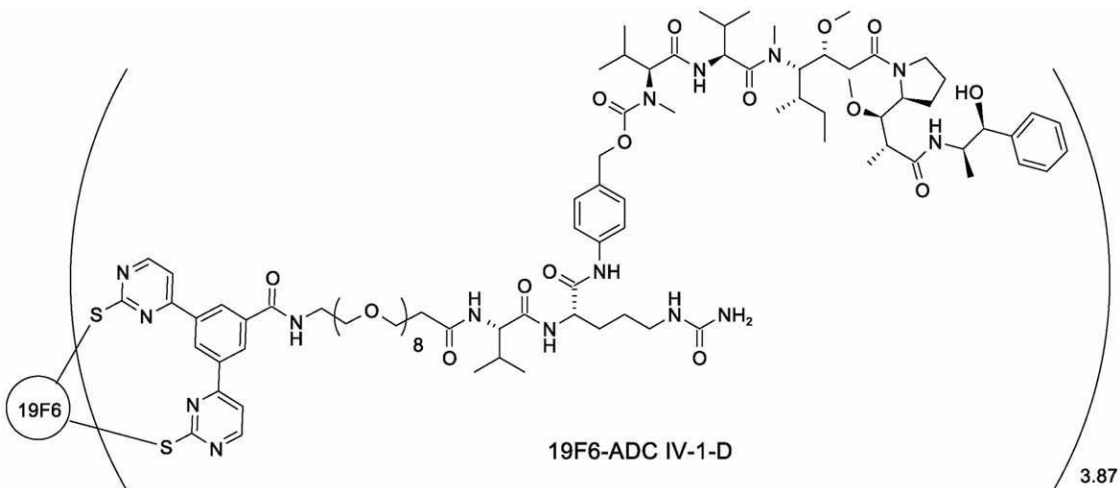
30

【 0 1 8 8 】

(6) SEC - MS による 1 9 F 6 - A D C I V - 1 - D の分子量測定、及び薬物対抗体比の計算

コンジュゲーション後に得られた 1 9 F 6 - A D C I V - 1 - D の SEC - MS 分子量分析を表 7 に示し、その DAR は 3 . 8 7 であった。

【化 6 4】



40

50

【表 3 3】

表 7: 19F6-ADC IV-1-D の測定分子量及び DAR 計算

負荷	MW _{実験}	最大シグナル 強度	比	DAR
ネイキッド抗体	145054.77	0.00	0.000	3.87
DAR1	146855.00	1.79	0.017	
DAR2	148660.10	1.00	0.009	
DAR3	150470.36	6.44	0.060	
DAR4	152273.33	98.45	0.914	

10

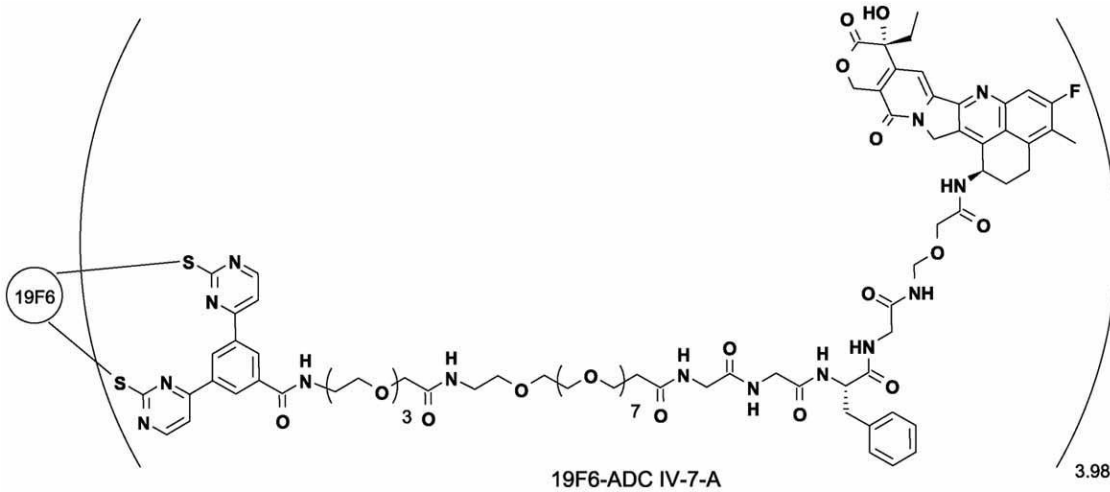
【0189】

(7) SEC-MSによる19F6-ADC IV-7-Aの分子量測定、及び薬物対抗体比の計算

コンジュゲーション後に得られた19F6-ADC IV-7-AのSEC-MS分子量分析を表8に示し、そのDARは3.98であった。

20

【化 6 5】



30

【表 3 4】

表 8: 19F6-ADC IV-7-A の測定分子量及び DAR 計算

負荷	MW _{実験}	最大シグナル 強度	比	DAR
ネイキッド抗体	145054.69	1.75	0.013	3.98
DAR1	146760.24	2.02	0.016	
DAR2	148460.32	5.75	0.044	
DAR3	150178.32	11.66	0.090	
DAR4	151894.99	74.75	0.576	
DAR5	153762.19	33.88	0.261	

40

50

【0190】

4. 細胞生存率に対する生物活性コンジュゲートの *in vitro* 阻害試験

細胞増殖に対するADC化合物の阻害効果

(1) 細胞プレATING: 最初に、腫瘍細胞N87を対応する培地で培養し、細胞をトリプシンで消化し、再懸濁させ、次いで、計数した。細胞を適切な濃度に調整し、プレートにコートした。腫瘍細胞の源を表9に示した。

【表35】

表9: 腫瘍細胞の源

細胞名	腫瘍タイプ	源
NCI-N87	ヒト胃がん細胞	ATCC

10

【0191】

本発明の化合物及び腫瘍細胞の共インキュベーション: 細胞が壁に付着した後、培地を除去し、希釈された生物活性分子(本発明の化合物)を上プレートのウェルに加え、96時間インキュベートした。

【0192】

in vitro 細胞生存率検出: インキュベーション後、50 µLのセル・カウンティング-ライト(Cell Counting-Lite)(商標)2.0試薬(Vazyme/Novazyme)を各ウェルに加え、暗所でよく振盪及び混合し、10分間反応させ、次いで、マイクロプレートリーダー(製造者: BMG、モデル: PHERASTAR-FS)により検出して、読取値を得た。細胞を含まない培地のセル・カウンティング-ライト(商標)を使用して、バックグラウンドRLUを得、細胞を含む培地のセル・カウンティング-ライト(商標)を使用して、ビヒクルRLUを得た。細胞阻害率 = $1 - (\text{サンプルRLU} - \text{バックグラウンドRLU}) / (\text{ビヒクルRLU} - \text{バックグラウンドRLU}) \times 100\%$ 。4パラメータモデルフィッティング曲線にしたがって、化合物の半阻害濃度(IC₅₀)を計算した。

20

【0193】

(2) データ結果: 検出結果を表10に示した。

30

【表36】

表10: NCI-N87細胞株におけるADCコンジュゲートの死滅結果

ADC No.	IC ₅₀ (µg/mL) 細胞名: NCI-N87(96時間)
19F6-ADC III-6-A	8.48
19F6-ADC IV-1-D	2.57

40

【0194】

新しいコンジュゲーション方法により生成されるADCは、腫瘍細胞を死滅させることができ、新しいコンジュゲーション方法は、ADC分子に有効に適用することができることが示された。

【0195】

本明細書に記載のものに加えて、本発明の様々な修正が先の説明から当業者に明らかになるであろう。こうした修正も、添付された特許請求の範囲内に入ることが意図される。すべての特許、特許出願、学術論文、本、及び任意の他の刊行物を含む、本出願において引用された各参考文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

50

【配列表】

2024520283000001.app

10

20

30

40

50

【 国际调查报告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/094540

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07D 403/14(2006.01)i; C07D 271/107(2006.01)i; A61K 45/00(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 37/02(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
C07D 403/-, C07D 271/-, A61K,A61P		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
CNKI, CNTXT, ENTXT, DWPI, REGISTRY, CAPLUS, MARPAT: 抗体, 偶联, 连接, 吡咯, 吡嗪, 嘧啶, pyrolo, pyrazine, pyrimidine, MMAE, antibody, drug, conjugate, ADC, 根据式II以及按照权利要求2对式I环A进行限定后进行的结构式检索, structural formula search performed according to formula II and after defining a ring A of formula I according to claim 2		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 109232464 A (SHANGHAI NEWBIO THERAPEUTICS, INC.) 18 January 2019 (2019-01-18) claims 9 and 36-38, embodiment 7, and description, pp. 10, 49, and 50	3, 7, 10, 13-18
PX	US 2022024904 A1 (RESEARCH FOUNDATION OF THE CITY UNIVERSITY OF NEW YORK et al.) 27 January 2022 (2022-01-27) figures 11, 3, and 19	3
X	US 2993901 A (AMERICAN CYANAMID CO.) 25 July 1961 (1961-07-25) embodiment 5	3
A	CN 103274989 A (NANJING LYNSCI CHEMICAL CO., LTD.) 04 September 2013 (2013-09-04) entire document	1-18
X	SARBISHEH, E. K. et al. "DiPODS: A Reagent for Site-Specific Bioconjugation via the Irreversible Rebridging of Disulfide Linkages" <i>Bioconjugate Chemistry</i> , Vol. 31, No. 12, 19 December 2020 (2020-12-19), 2789-2806	3
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
19 August 2022	26 October 2022	
Name and mailing address of the ISA/CN	Authorized officer	
China National Intellectual Property Administration (ISA/CN) No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao, Haidian District, Beijing 100088, China		
Facsimile No. (86-10)62019451	Telephone No.	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (January 2015)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/094540

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	"RN 771573-23-0" <i>REGISTRY</i> , 29 October 2004 (2004-10-29),	3
X	"RN 849924-85-2" <i>REGISTRY</i> , 06 May 2005 (2005-05-06),	3
X	"RN 1040682-15-2" <i>REGISTRY</i> , 13 August 2008 (2008-08-13),	3
X	"RN 1171787-85-1" <i>REGISTRY</i> , 02 August 2009 (2009-08-02),	3
X	"RN 51859-12-2" <i>REGISTRY</i> , 16 November 1984 (1984-11-16),	3
X	"RN 127726-67-4" <i>REGISTRY</i> , 22 June 1990 (1990-06-22),	3, 4

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/094540

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

a. forming part of the international application as filed:

in the form of an Annex C/ST.25 text file.

on paper or in the form of an image file.

b. furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.

c. furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:

in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).

on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).

2. In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2022/094540

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1. Claims Nos.: 17
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
[1] Claim 17 relates to a treatment method implemented on a human or animal body by therapy (PCT Rule 39.1(iv)). Nevertheless, a search was still conducted on the basis of the technical subject matter of a use of the compound in the preparation of a drug for preventing and treating a tumor.
- 2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
- 3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

30

40

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2022/094540

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	109232464	A	18 January 2019	US	2021154320	A1	27 May 2021
				WO	2019011078	A1	17 January 2019
US	2022024904	A1	27 January 2022	None			
US	2993901	A	25 July 1961	None			
CN	103274989	A	04 September 2013	None			

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/094540

A. 主题的分类		
C07D 403/14(2006.01)i; C07D 271/107(2006.01)i; A61K 45/00(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i; A61P 37/02(2006.01)i		
按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类		
B. 检索领域		
检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)		
C07D 403/-, C07D 271/-, A61K, A61P		
包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献		
在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))		
CNKI, CNIXT, ENTXT, DWPI, REGISTRY, CAPLUS, MARPAT, 抗体, 偶联, 连接, 吡咯, 吡嗪, 嘧啶, pyrolo, pyrazine, pyrimidine, MMAE, antibody, drug, conjugate, ADC, 根据式II以及按照权利要求2对式I环A进行限定后进行的结构式检索。		
C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	CN 109232464 A (上海新理念生物医药科技有限公司) 2019年1月18日 (2019 - 01 - 18) 权利要求9, 36-38, 实施例7, 说明书第10, 49, 50页	3, 7, 10, 13-18
PX	US 2022024904 A1 (UNIV CITY NEW YORK RES FOUND等) 2022年1月27日 (2022 - 01 - 27) FIG11, FIG3, FIG19	3
X	US 2993901 A (AMERICAN CYANAMID CO) 1961年7月25日 (1961 - 07 - 25) 实施例5	3
A	CN 103274989 A (南京正荣医药化学有限公司) 2013年9月4日 (2013 - 09 - 04) 全文	1-18
X	Khozeimeh Sarbisheh, Elaheh; et al. "DiPODS: A Reagent for Site-Specific Bioconjugation via the Irreversible Rebridging of Disulfide Linkages" Bioconjugate Chemistry, 第31卷, 第12期, 2020年12月19日 (2020 - 12 - 19), 2789-2806	3
X	"RN 771573-23-0" REGISTRY, 2004年10月29日 (2004 - 10 - 29),	3
<input checked="" type="checkbox"/> 其余文件在C栏的续页中列出。		<input checked="" type="checkbox"/> 见同族专利附件。
* 引用文件的具体类型: "A" 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 "E" 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 "L" 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件(如具体说明的) "O" 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 "P" 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件		"T" 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 "X" 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 "Y" 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 "&" 同族专利的文件
国际检索实际完成的日期	2022年8月19日	国际检索报告邮寄日期 2022年10月26日
ISA/CN的名称和邮寄地址	中国国家知识产权局(ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451	受权官员 解佳桦 电话号码 62089649

PCT/ISA/210 表(第2页) (2015年1月)

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/094540

C. 相关文件		
类型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
X	"RN 849924-85-2" REGISTRY, 2005年5月6日 (2005 - 05 - 06),	3
X	"RN 1040682-15-2" REGISTRY, 2008年8月13日 (2008 - 08 - 13),	3
X	"RN 1171787-85-1" REGISTRY, 2009年8月2日 (2009 - 08 - 02),	3
X	"RN 51859-12-2" REGISTRY, 1984年11月16日 (1984 - 11 - 16),	3
X	"RN 127726-67-4" REGISTRY, 1990年6月22日 (1990 - 06 - 22),	3, 4

10

20

30

40

50

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2022/094540

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利	公布日 (年/月/日)
CN	109232464	A	2019年1月18日	US 2021154320 A1 WO 2019011078 A1	2021年5月27日 2019年1月17日
US	2022024904	A1	2022年1月27日	无	
US	2993901	A	1961年7月25日	无	
CN	103274989	A	2013年9月4日	无	

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/094540

第I栏	核苷酸和/或氨基酸序列(续第1页第1.c项)
	<p>1. 关于国际申请中所公开的任何核苷酸和/或氨基酸序列,国际检索是基于下列序列表进行的:</p> <p>a. <input checked="" type="checkbox"/> 作为国际申请的一部分提交的:</p> <p style="padding-left: 20px;"><input checked="" type="checkbox"/> 附件C/ST. 25文本文件形式</p> <p style="padding-left: 20px;"><input type="checkbox"/> 纸件或图形文件形式</p> <p>b. <input type="checkbox"/> 根据细则13之三. 1(a)仅为国际检索目的以附件C/ST. 25文本文件形式与国际申请同时提交的:</p> <p>c. <input type="checkbox"/> 仅为国际检索目的在国际申请日之后提交的:</p> <p style="padding-left: 20px;"><input type="checkbox"/> 附件C/ST. 25文本文件形式(细则13之三. 1(a))</p> <p style="padding-left: 20px;"><input type="checkbox"/> 纸件或图形文件形式(细则13之三. 1(b)和行政规程第713段)</p> <p>2. <input type="checkbox"/> 另外,在提交/提供了多个版本或副本的序列表的情况下,提供了关于随后提交的或附加的副本中的信息与申请时提交的作为申请一部分的序列表的信息相同或未超出申请时提交的申请中的信息范围(如适用)的所需声明。</p> <p>3. 补充意见:</p>

10

20

30

40

50

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2022/094540

第II栏 某些权利要求被认为是不能检索的意见(续第1页第2项)

根据条约第17条(2)(a), 对某些权利要求未做国际检索报告的理由如下:

- 1. 权利要求: 17
因为它们涉及不要求本单位进行检索的主题, 即:
[1] 权利要求17涉及对人体或动物体实施的治疗方法进行处置的方法(细则39.1(iv) PCT)。尽管如此, 仍基于所述化合物在制备预防和治疗肿瘤药物中的用途的技术主题进行了检索。
- 2. 权利要求:
因为它们涉及国际申请中不符合规定的要求的部分, 以致不能进行任何有意义的国际检索, 具体地说:
- 3. 权利要求:
因为它们是从属权利要求, 并且没有按照细则6.4(a)第2句和第3句的要求撰写。

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 0 7 D	239/38	(2006.01)	A 6 1 P	35/02
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	C 0 7 D	239/38
A 6 1 K	47/65	(2017.01)	A 6 1 K	45/00
C 0 7 K	16/30	(2006.01)	A 6 1 K	47/65
C 0 7 K	19/00	(2006.01)	C 0 7 K	16/30
C 0 7 K	5/103	(2006.01)	C 0 7 K	19/00
C 0 7 K	5/083	(2006.01)	C 0 7 K	5/103
C 0 7 K	7/06	(2006.01)	C 0 7 K	5/083
			C 0 7 K	7/06

C S P

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

(72)発明者

ティエン, チアン

中華人民共和国, シチュアン 6 1 1 1 3 8, チェンドウ, ウェンジャン ディストリクト,
ハイ シャ インダストリアル パーク, シンフワ アヴェニュー (セクション 2), ナンバー
6 6 6

(72)発明者

ワン, シャオベイ

中華人民共和国, シチュアン 6 1 1 1 3 8, チェンドウ, ウェンジャン ディストリクト,
ハイ シャ インダストリアル パーク, シンフワ アヴェニュー (セクション 2), ナンバー
6 6 6

(72)発明者

リー, デリャン

中華人民共和国, シチュアン 6 1 1 1 3 8, チェンドウ, ウェンジャン ディストリクト,
ハイ シャ インダストリアル パーク, シンフワ アヴェニュー (セクション 2), ナンバー
6 6 6

(72)発明者

ジャン, イータオ

中華人民共和国, シチュアン 6 1 1 1 3 8, チェンドウ, ウェンジャン ディストリクト,
ハイ シャ インダストリアル パーク, シンフワ アヴェニュー (セクション 2), ナンバー
6 6 6

(72)発明者

イエ, ジアン

中華人民共和国, シチュアン 6 1 1 1 3 8, チェンドウ, ウェンジャン ディストリクト,
ハイ シャ インダストリアル パーク, シンフワ アヴェニュー (セクション 2), ナンバー
6 6 6

(72)発明者

フー, ルイピン

中華人民共和国, シチュアン 6 1 1 1 3 8, チェンドウ, ウェンジャン ディストリクト,
ハイ シャ インダストリアル パーク, シンフワ アヴェニュー (セクション 2), ナンバー
6 6 6

(72)発明者

ソン, ホンメイ

中華人民共和国, シチュアン 6 1 1 1 3 8, チェンドウ, ウェンジャン ディストリクト,
ハイ シャ インダストリアル パーク, シンフワ アヴェニュー (セクション 2), ナンバー
6 6 6

(72)発明者

ガー, ジュンユー

中華人民共和国, シチュアン 6 1 1 1 3 8, チェンドウ, ウェンジャン ディストリクト,
ハイ シャ インダストリアル パーク, シンフワ アヴェニュー (セクション 2), ナンバー
6 6 6

(72)発明者 ワン, ジンイー

中華人民共和国, シチュアン 6 1 1 1 3 8, チェンドウ, ウェンジャン ディストリクト,
ハイ シャ インダストリアル パーク, シンフワ アヴェニュー (セクション 2), ナンバー
6 6 6

F ターム (参考) 4C076 AA95 CC27 EE41 EE59
4C084 AA17 AA27 MA05 NA10 NA13 ZB261 ZB262 ZB271 ZB272
4C085 AA13 AA14 AA21 AA25 AA26 BB11 CC23 EE01
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 BA12 BA13 BA40 BA51 BA72 CA40
DA76 DA83 EA28 FA52 FA74