

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号
特表2024-518097
(P2024-518097A)

(43)公表日 令和6年4月24日(2024.4.24)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	47/54 (2017.01)	A 6 1 K	47/54	4 C 0 7 6	
A 6 1 K	51/04 (2006.01)	A 6 1 K	51/04	2 0 0	4 C 0 8 4
A 6 1 K	49/00 (2006.01)	A 6 1 K	49/00	4 C 0 8 5	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	51/04	3 1 0	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全76頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2023-570221(P2023-570221)	(71)出願人	598063203
(86)(22)出願日	令和4年5月13日(2022.5.13)		パーデュー・リサーチ・ファウンデーション
(85)翻訳文提出日	令和6年1月11日(2024.1.11)		PURDUE RESEARCH FOUNDATION
(86)国際出願番号	PCT/US2022/029292		アメリカ合衆国 4 7 9 0 6 インディアナ州, ウェスト ラファイエット, スイート 2 5 0 0, ファウンドリー ドライブ 1 0 1
(87)国際公開番号	WO2022/241279	(74)代理人	100107984
(87)国際公開日	令和4年11月17日(2022.11.17)		弁理士 廣田 雅紀
(31)優先権主張番号	63/318,463	(74)代理人	100182305
(32)優先日	令和4年3月10日(2022.3.10)		弁理士 廣田 鉄平
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100096482
(31)優先権主張番号	63/188,910		弁理士 東海 裕作
(32)優先日	令和3年5月14日(2021.5.14)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA		

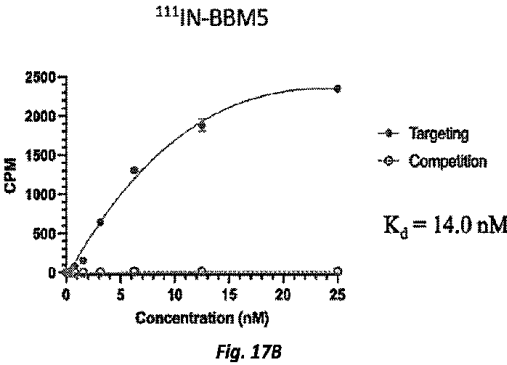
最終頁に続く

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 刷子縁膜酵素切断可能リンカーを持つ葉酸受容体標的コンジュゲート並びにガンのイメージング及び治療における使用方法

(57)【要約】

式 (I) F R T L-B B M e c L-A A又は (II) F R T L-A l b-B B M e c L-A Aのコンジュゲート [式中、F R T Lは、葉酸受容体標的化リガンドであり、B B M e c Lは、刷子縁膜 (B B M) 酵素切断可能リンカーであり、A l bは、アルブミン結合部分であり、A Aは、活性剤である] ; それを含む組成物; 並びに腫瘍をイメージングする及び/又は治療する方法。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 I 又は式 II のコンジュゲート。

F R T L - B B M e c L - A A (式 I) 又は F R T L - A l b - B B M e c L - A A (式 II)

[式中、

F R T L は、葉酸受容体標的化リガンドであり、

B B M e c L は、腎臓刷子縁膜 (B B M) 酵素切断可能リンカーであり、

A l b は、アルブミン結合部分であり、

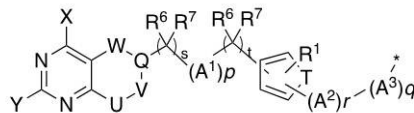
A A は、活性剤である]

10

【請求項 2】

F R T L が、次の構造を有する、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【化 1】



[式中、

T は、S、O、NR^{4b} 及び -HC=CH- からなる群から選択され、

20

U、V 及び W は、- (R^{6a}) C =、- N =、- (R^{6a}) C (R^{7a}) - 及び - N (R^{4a}) - (式中、R^{6a} 及び R^{7a} は、水素、ハロ及び C₁-C₁₂ アルコキシからなる群からそれぞれ独立して選択されるか、又は R^{6a} 及び R^{7a} は、一緒になってカルボニル基を形成する) からなる群からそれぞれ独立して選択される二価部分を表し、

X 及び Y は、ハロ、R²、OR²、SR³ 及び NR⁴R⁵ からなる群からそれぞれ独立して選択され、

Q は、C 又は CH であり、

A¹ 及び A² は、酸素、硫黄、-C(Z)-、-C(Z)O-、-OC(Z)-、-N(R^{4b})-、-C(Z)N(R^{4b})-、-N(R^{4b})C(Z)-、-OC(Z)N(R^{4b})-、-N(R^{4b})C(Z)O-、-N(R^{4b})C(Z)N(R^{5b})-、-S(O)-、-S(O)₂-、-N(R^{4b})S(O)₂-、-C(R^{6b})(R^{7b})-、-N(C≡CH)-、-N(CH₂C≡CH)-、C₁-C₁₂ アルキレン及び C₁-C₁₂ アルキンオキシ

30

(式中、Z は、酸素又は硫黄である) からなる群からそれぞれ独立して選択され、

R²、R³、R⁴、R^{4a}、R^{4b}、R⁵、R^{5b}、R^{6b} 及び R^{7b} は、水素、ハロ、C₁-C₁₂ アルキル、C₁-C₁₂ アルコキシ、C₁-C₁₂ アルカノイル、C₁-C₁₂ アルケニル、C₁-C₁₂ アルキニル、(C₁-C₁₂ アルコキシ) カルボニル及び (C₁-C₁₂ アルキルアミノ) カルボニルからなる群からそれぞれ独立して選択され、

A³ はアミノ酸であり、

R¹ は、水素、ハロ、C₁-C₁₂ ヘテロアルキル及び C₁-C₁₂ アルコキシからなる群から選択され、

40

R⁶ 及び R⁷ は、水素、ハロ、C₁-C₁₂ アルキル及び C₁-C₁₂ アルコキシからなる群からそれぞれ独立して選択されるか、又は R⁶ 及び R⁷ は、一緒になってカルボニル基を形成し、

q は、1~3 の整数であり、

p、r、s 及び t は、それぞれ独立して、0 又は 1 であり、

* は、前記 B B M e c L 又は前記 A l b との結合点を示す]

【請求項 3】

Q が CH である、請求項 2 に記載のコンジュゲート。

【請求項 4】

50

XがOHであり、YがNH₂である、請求項2に記載のコンジュゲート。

【請求項5】

W及びUが-N(R^{4a})-であり、QがCHであり、VがCH₂であり、A¹が-N(R^{4b})-であり、sが1であり、pが1であり、tが0である、請求項2又は3に記載のコンジュゲート。

【請求項6】

W及びUが-N(R^{4a})-であり、QがCHであり、VがCH₂であり、A¹が-N(R^{4b})-であり、sが1であり、pが1であり、tが0である、請求項4に記載のコンジュゲート。

【請求項7】

R^{4a}及びR^{4b}が、独立して、アルキル又はヘテロアルキルである、請求項2に記載のコンジュゲート。

【請求項8】

R^{4a}及びR^{4b}がメチルである、請求項7に記載のコンジュゲート。

【請求項9】

R^{4a}及びR^{4b}が、独立して、アルキル又はヘテロアルキルである、請求項4に記載のコンジュゲート。

【請求項10】

R^{4a}及びR^{4b}がメチルである、請求項9に記載のコンジュゲート。

【請求項11】

R^{4a}及びR^{4b}が、独立して、アルキル又はヘテロアルキルである、請求項5に記載のコンジュゲート。

【請求項12】

R^{4a}及びR^{4b}がメチルである、請求項11に記載のコンジュゲート。

【請求項13】

R^{4a}及びR^{4b}が、独立して、アルキル又はヘテロアルキルである、請求項6に記載のコンジュゲート。

【請求項14】

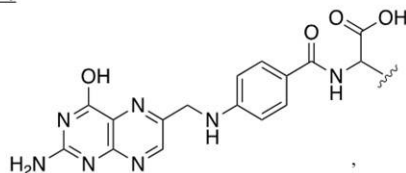
R^{4a}及びR^{4b}がメチルである、請求項13に記載のコンジュゲート。

【請求項15】

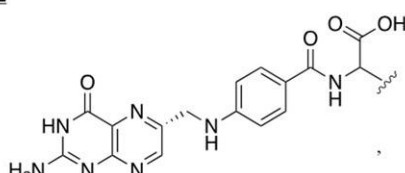
FRTLが、次の構造を有する、請求項2に記載のコンジュゲート。

【化2】

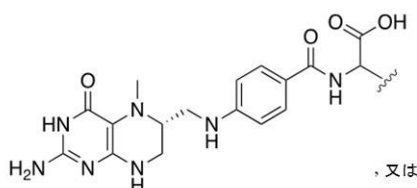
F1



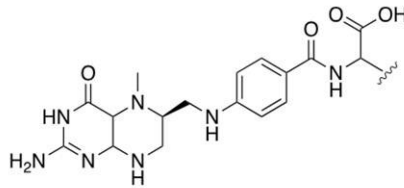
F2



F3



F4



【式中、

10

20

30

40

50

【化 3】

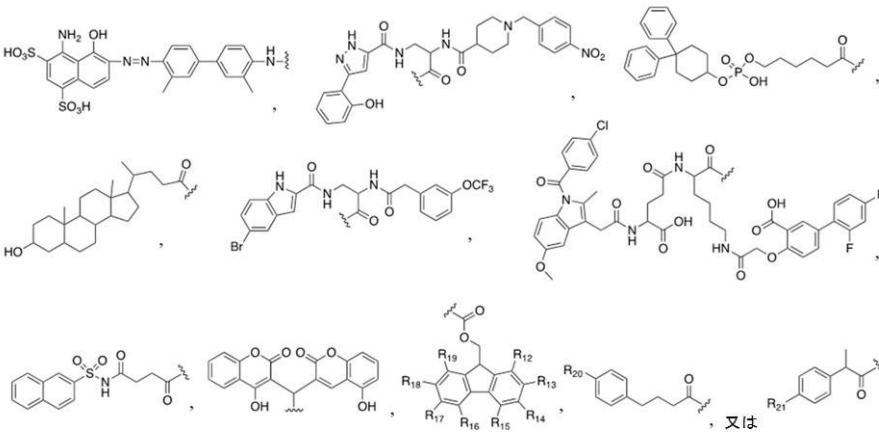


は、前記 F R T L の A l b 又は B B M e c L との結合点を示す]

【請求項 1 6】

A l b が、次の構造を有する、請求項 1 ～ 3 のいずれかに記載のコンジュゲート。

【化 4】



【式中、

【化 5】

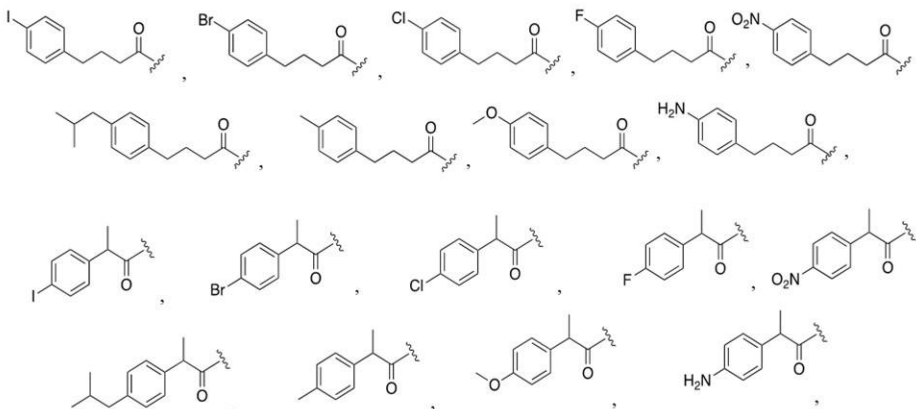


は、A l b の F R T L との結合点を示し、

R₁₂ - R₁₉ は、独立して、-H、-C₁-C₆アルキル、-F、-Cl、-Br、-I、
-CN、-CHO、-B(OH)₂、-C(O)アルキル、-C(O)アリール、-
C=C-C(O)アリール、-C=C-S(O)₂アリール、-CO₂H、-SO₃H、
-SO₂NH₂、-PO₃H₂ 又は -SO₂F であり、

R₂₀ 及び R₂₁ は、独立して、-H、-C₁-C₆アルキル、-F、-Cl、-Br、
-I、-O-C₁₋₆アルキル、-CN、-CHO、-B(OH)₂、-C=C-C(O)
アリール、-C=C-S(O)₂アリール、-CO₂H、-SO₃H、-SO₂NH₂
、-PO₃H₂、-SO₂F 又は CF₃、

【化 6】



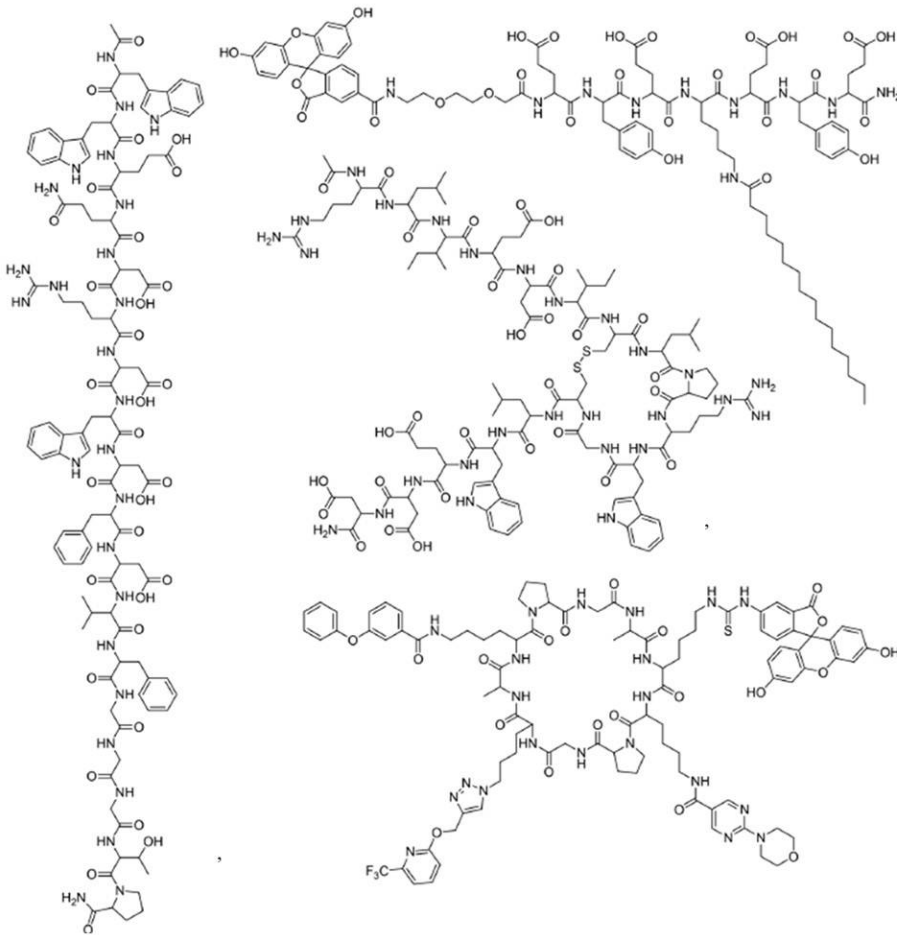
10

20

30

40

50



10

20

30

40

50

、ABD035、ABDCon、設計されたアンキリンリピートタンパク質（DARPin s）、dsFV CA645、ナノボディ、又は抗ヒト血清アルブミンドメインクローンE06と融合している新たな抗原受容体の可変ドメイン（VNAR）である]

【請求項17】

BBMeclが、

- (i) Met-Val、
 - (ii) X-Lys若しくはX-Arg [式中、X=Gly又はArgである]、又はそれらの組合せ、
 - (iii) Gly-Tyr、
 - (iv) Gly-Phe-(Lys)、
 - (v) Gly-Pro、
 - (vi) Ala-X若しくはLeu-X [式中、Xはいずれかのアミノ酸である]、又はそれらの組合せ、
 - (vii) Asp-X若しくはGlu-X [式中、Xはいずれかのアミノ酸である]、又はそれらの組合せ、
 - (viii) γ-Glu-X [式中、Xはいずれかのアミノ酸である]、及びアクセプターペプチド、
 - (ix) スクロース、マルトース、トレハロース、ラクトース、パラチノース又は前述の2若しくは3以上の組合せ、
 - (x) ヨードインスリンB鎖、
 - (xi) フロリジン、
 - (xii) p-ニトロフェニルリン酸、或いは
 - (xiii) 前述の2又は3以上の組合せ
- を含む、請求項1～3のいずれかに記載のコンジュゲート。

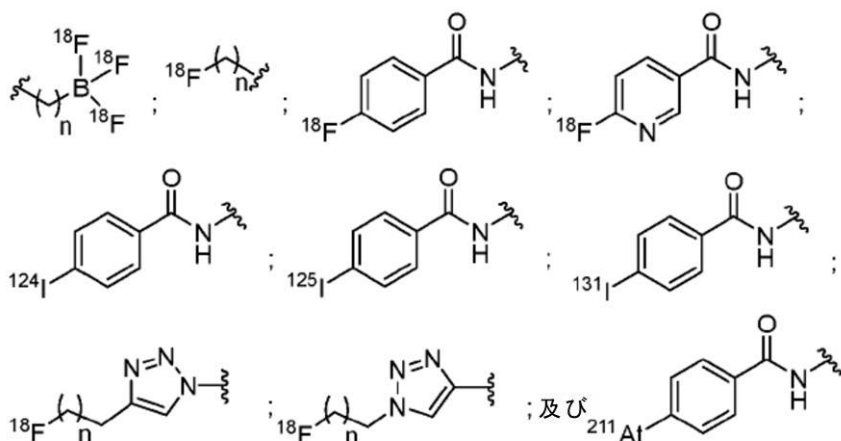
10

20

30

40

【化 8】



10

【式中、 n が、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19及び20からなる群から選択される整数である】から選択される構造を含む、請求項23に記載のコンジュゲート。

【請求項25】

AAが、DOTA（1，4，7，10-テトラアザシクロドデカン-1，4，7，10-四酢酸）、TETA（1，4，8，11-テトラアザシクロテトラデカン-1，4，8，11-四酢酸）、SarAr（1-N-（4-アミノベンジル）-3，6，10，13，16，19-ヘキサアザビシクロ[6.6.6]-エイコサン-1，8-ジアミン、NOTA（1，4，7-トリアザシクロノナン-1，4，7-三酢酸）、NODAGA（2，2'-（7-（4-（（2-アミノエチル）アミノ）-1-カルボキシ-4-オキソブチル）-1，4，7-トリアゾナン-1，4-ジイル）二酢酸）、HYNIC（6-ヒドラジノニコチン酸）、NETA（4-〔2-（ビス-カルボキシメチルアミノ）-エチル〕-7-カルボキシメチル-〔1，4，7〕トリアゾナン-1-イル）酢酸、TRAP（1，4，7-トリアザシクロノナン-1，4，7-トリス〔メチル（2-カルボキシエチル）ホスフィン酸〕）、HBED（N，N-ビス（2-ヒドロキシベンジル）-エチレンジアミン-N，N-二酢酸）、2，3-HOPO（3-ヒドロキシピリジン-2-オン）、PCTA（3，6，9，15-テトラアザビシクロ[9.3.1]-ペンタデカ-1（15），11，13-トリエン-3，6，9，-三酢酸）、DFO（デスフェリオキサミン）、DTPA（ジエチレントリアミン五酢酸）、OCTAPA（N，N-ビス（6-カルボキシ-2-ピリジルメチル）-エチレンジアミン-N，N-二酢酸）、H₂macropa（N，N'-ビス〔（6-カルボキシ-2-ピリジルメチル）-4，13-ジアザ-18-クラウン-6〕）、H₂dedpa（1，2-〔〔カルボキシ〕-ピリジン-2-イル〕-メチルアミノ〕エタン、β-ル-ジアミノプロピオン酸、アスパラギン酸及びシステインを含むEC20ヘッド、並びに前述のいずれかの誘導体からなる群から選択されるキレート剤を含む、請求項1～3のいずれかに記載のコンジュゲート。

20

30

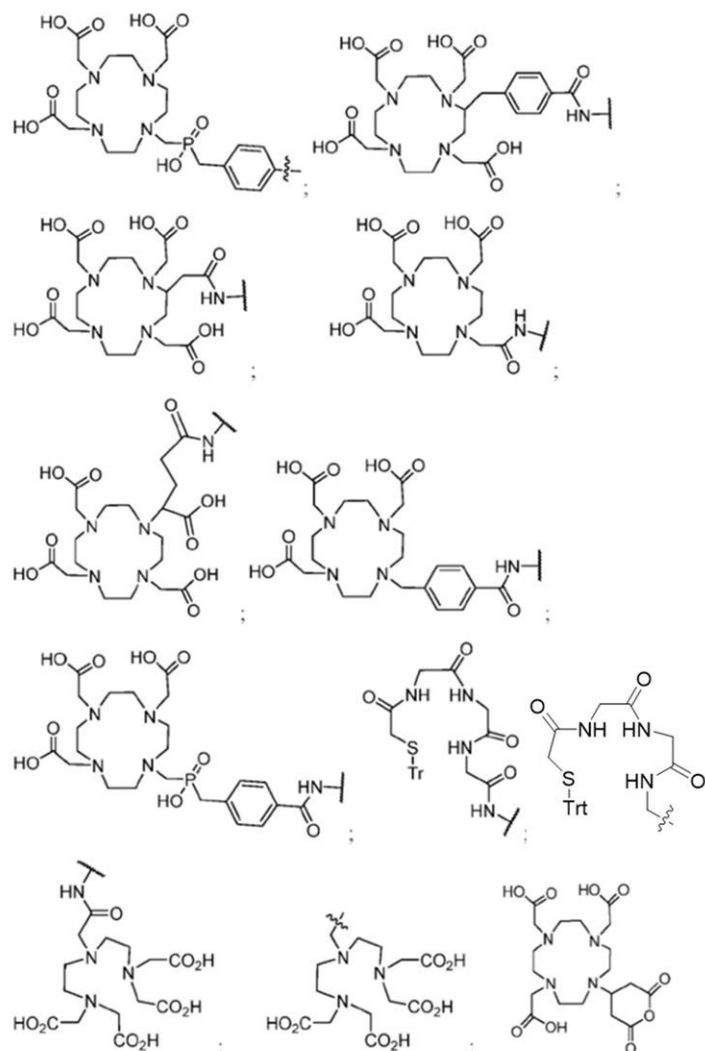
【請求項26】

AAが、

40

50

【化 9】



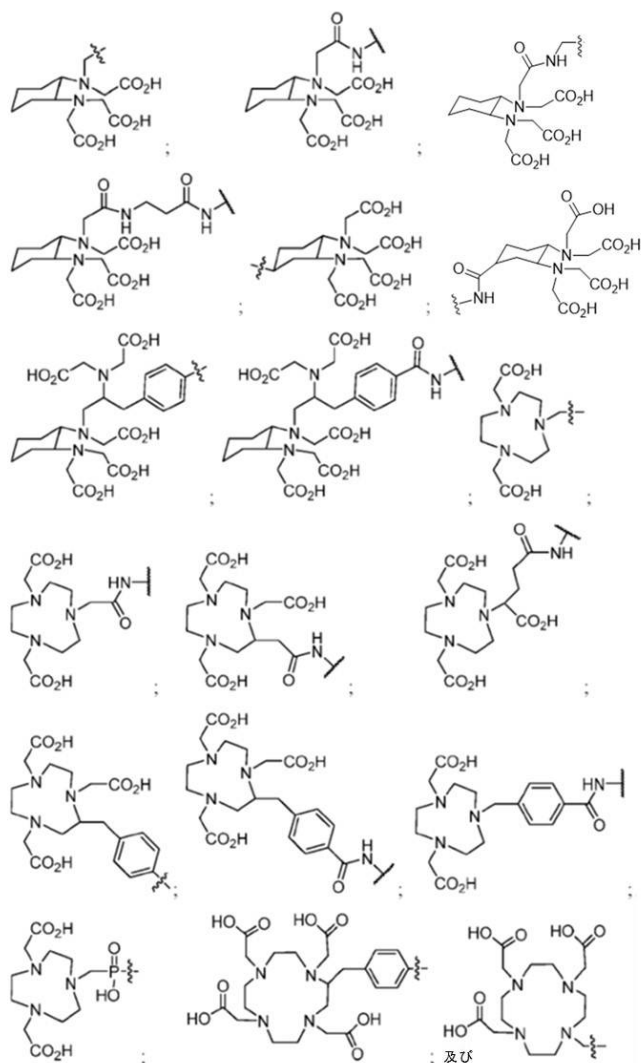
10

20

30

40

50



10

20

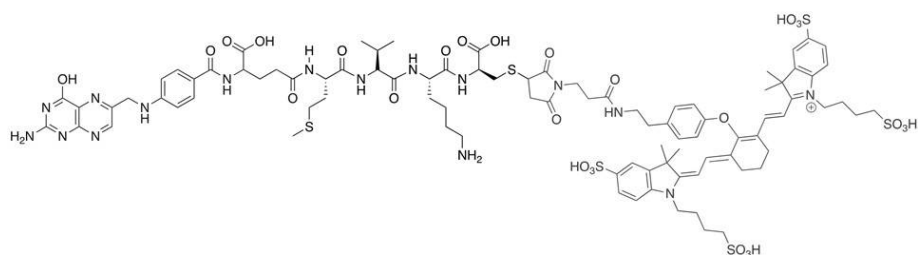
30

からなる群から選択されるキレート剤を含む、請求項 1～3 のいずれかに記載のコンジュゲート。

【請求項 27】

次の構造を有する、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【化 10】



40

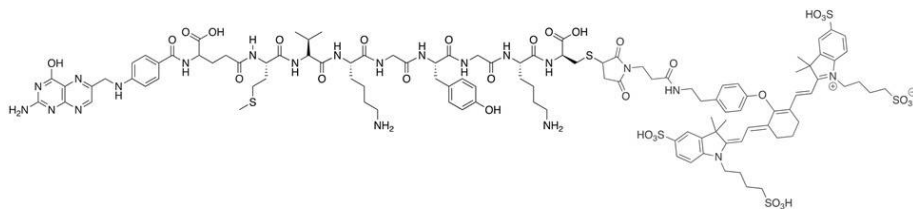
(BBM1)

【請求項 28】

次の構造を有する、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

50

【化 1 1】



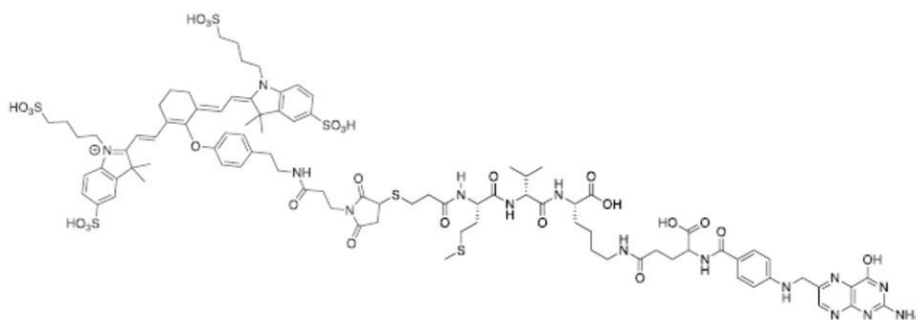
(BBM 2)

【請求項 2 9】

10

次の構造を有する、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【化 1 2】



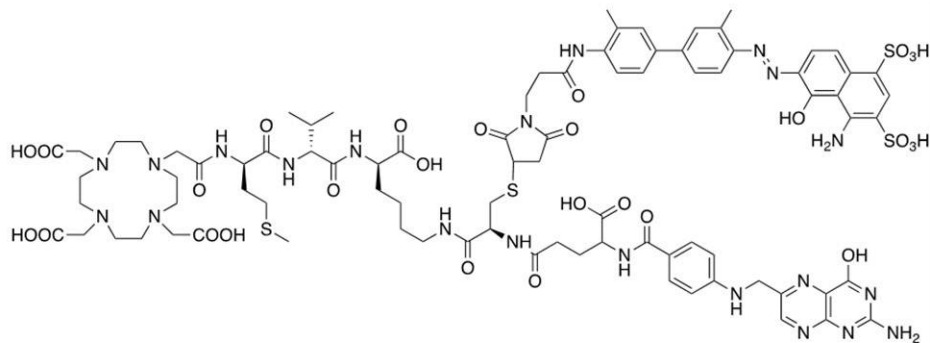
20

(BBM 3)

【請求項 3 0】

次の構造を有する、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【化 1 3】



30

BBM 4 (DOTA-MVK(EB-葉酸)-OH)

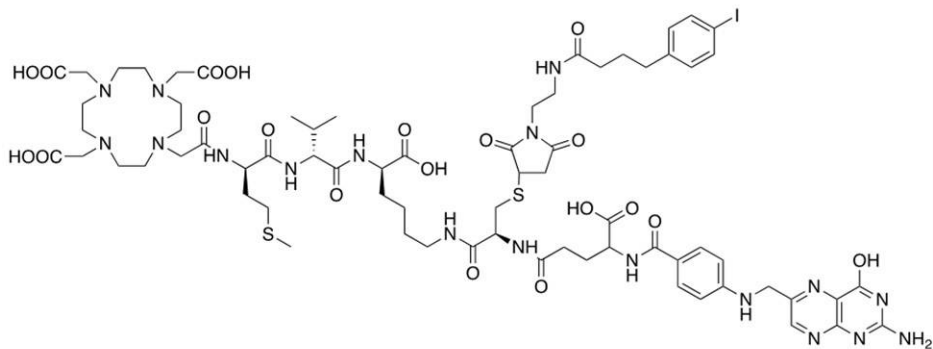
40

【請求項 3 1】

次の構造を有する、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

50

【化 1 4】



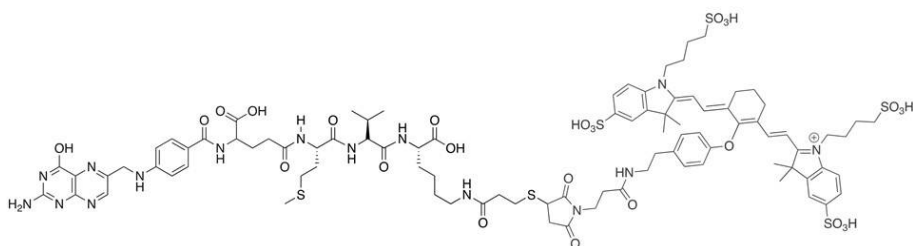
10

(BBM5(DOTA-MVK(IP-葉酸)-OH))

【請求項 3 2】

次の構造を有する、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【化 1 5】

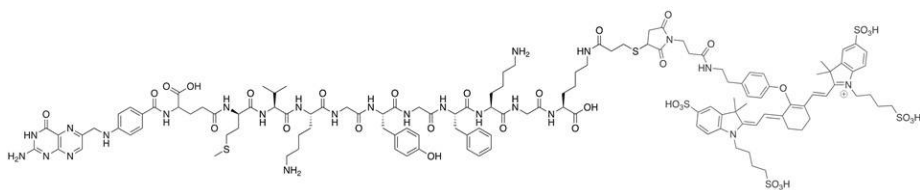


20

【請求項 3 3】

次の構造を有する、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【化 1 6】

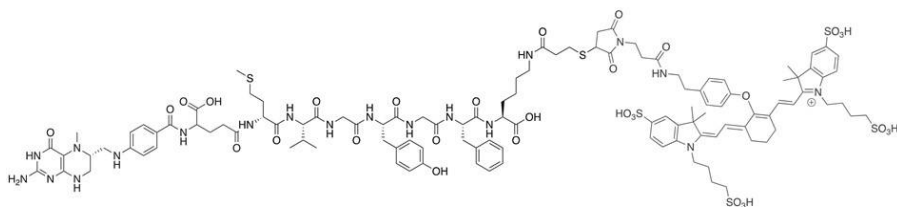


30

【請求項 3 4】

次の構造を有する、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【化 1 7】



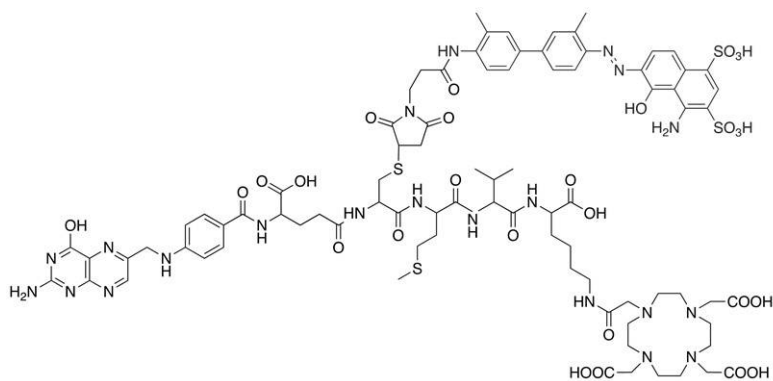
40

【請求項 3 5】

次の構造を有する、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

50

【化 1 8】

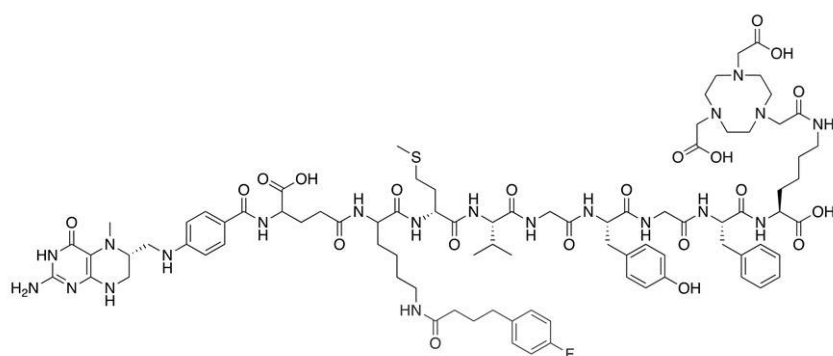


10

【請求項 3 6】

次の構造を有する、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【化 1 9】

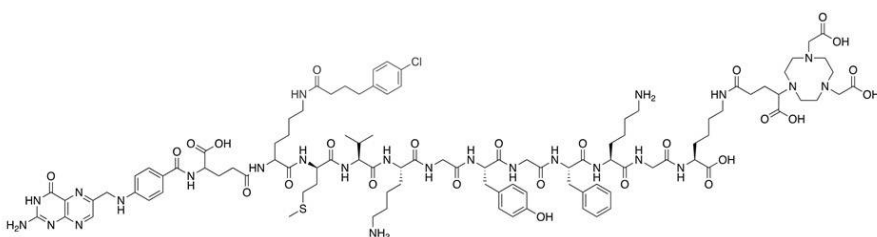


20

【請求項 3 7】

次の構造を有する、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【化 2 0】



30

【請求項 3 8】

請求項 1 ～ 3 7 のいずれかに記載のコンジュゲートと薬学的に許容される担体とを含む、組成物。

【請求項 3 9】

対象におけるガンを、腫瘍の細胞、前記腫瘍に関連するマクロファージ又はその両方への、単独での又は光学イメージング剤とさらに組み合わせた標的放射能によって、イメージングする、治療する、又はイメージング及び治療する方法であって、前記対象に、有効量の請求項 1 ～ 3 7 のいずれかに記載のコンジュゲート又は請求項 3 8 に記載の組成物を投与するステップを含む、前記方法。

40

【請求項 4 0】

腫瘍に関連するマクロファージが、腫瘍関連マクロファージ（TAM）を含む、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 1】

腫瘍をイメージングするステップをさらに含む、請求項 3 9 に記載の方法。

50

【請求項 4 2】

腫瘍をイメージングするステップが、光学イメージング、陽電子放出断層撮影（P E T）又は単一光子放射断層撮影（S P E C T）によってイメージングすることを含む、請求項 4 1 に記載の方法。

【請求項 4 3】

対象における腫瘍を、イメージングする、治療する、又はイメージング及び治療するためのキットであって、

第 1 の容器内の請求項 1 ～ 3 7 のいずれかに記載のコンジュゲート又は請求項 3 8 に記載の組成物の少なくとも 1 つの投与単位と、

第 2 の活性剤又は前記第 2 の活性剤を含む組成物の少なくとも 1 つの投与単位とを含む、前記キット。

10

【請求項 4 4】

前記第 2 の活性剤又は前記第 2 の活性剤を含む組成物の少なくとも 1 つの投与単位が、第 1 の容器内に含有される、請求項 4 3 に記載のキット。

【請求項 4 5】

前記第 2 の活性剤又は前記第 2 の活性剤を含む組成物の少なくとも 1 の投与単位が、第 2 の容器内に含有される、請求項 4 3 に記載のキット。

【請求項 4 6】

請求項 1 ～ 3 7 のいずれかに記載のコンジュゲート又は請求項 3 8 に記載の組成物の投与手段をさらに備える、請求項 4 3 ～ 4 5 のいずれかに記載のキット。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

優先権

本特許出願は、2021年5月14日に出願された米国仮特許出願第63／188,910号及び2022年3月10日に出願された米国仮特許出願第63／318,463号に関し、その優先利益を主張する。前述の出願の両方の内容は、参照によりその全体が本開示に組み込まれる。

【0 0 0 2】

本開示は、受容体を標的とするリガンドと、酵素切断可能リンカーと、腫瘍又は腫瘍関連マクロファージをイメージングする又は治療的に処置するための剤とを含む、コンジュゲートに関する。

30

【背景技術】

【0 0 0 3】

葉酸受容体（F R, Folate receptor）は、ヒトにおける様々な腫瘍及び活性化マクロファージのための実証済みの標的である。F R は、葉酸コンジュゲートと高親和性で結合し、迅速に内在化し、これらは、受容体媒介性薬物送達のための理想的な属性である。

【0 0 0 4】

葉酸リガンド標的コンジュゲートは、イメージング及び治療（例えば、ガンのイメージング及び治療）に使用される。これらの使用の不利点は、高く長期にわたる腎臓での滞留である。腎臓での滞留は、放射線感受性である腎臓を損傷するリスクにより、葉酸ベースの放射線治療を使用不可能にしている。腎ガンの蛍光又は放射性イメージングも、葉酸ベースのコンジュゲートでは無効である。

40

【0 0 0 5】

この問題は現在、種々の手法で対処されている。腎臓への取込をブロックするために抗葉酸剤が投与され、葉酸リガンド構造が修飾され、又は排尿を増大させるために血漿増量剤若しくは利尿薬が投与される。前臨床研究において葉酸標的セラノスティクス（theranostics）のために重大な腫瘍対腎臓比を改善するために、いくつかの戦略が既に用いられてきた。これらは、前治療用抗葉酸剤（例えば、ペメトレキセド）及びアルブミン結合剤の組み込みを包含するが、ヒト患者における F R 標的放射線療法の適用を可能にするた

50

め、特に腎ガンのイメージング及び治療には、さらなる最適化が必要である。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

上記を考慮して、本開示は、腎臓での滞留に対処するために、さらなる構造修飾も他の剤の投与もなしに使用されうる葉酸リガンド標的コンジュゲートを提供しようと試みるものである。コンジュゲートは、改善された薬物動態を提供しながら、腫瘍及び腫瘍関連マクロファージをイメージングする及び治療するために使用されうる。この及び他の目的及び利点、並びに追加の発明の特色は、本明細書において提供される詳細な記述から明らかになるであろう。

10

【課題を解決するための手段】

【0007】

式I又は式IIのコンジュゲートが提供される。

FRTL-BBMecL-AA (式I) 又は FRTL-Alb-BBMecL-AA (式II)

【式中、

FRTLは、葉酸受容体標的化リガンドであり、

BBMecLは、腎臓刷子縁膜 (BBM, brush border membrane) 酵素切断可能リンカーであり、

Albは、アルブミン結合部分であり、

AAは、活性剤である。]

20

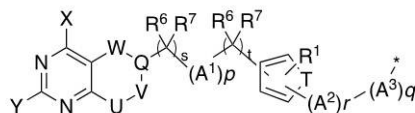
【0008】

FRTLは、10,000未満の分子量を有しうる。Albは、血清アルブミンと非共有結合的に会合することができる。

【0009】

FRTLは、次の構造を有しうる。

【化1】



30

【式中、

Tは、S、O、NR^{4b}及び-HC=CH-からなる群から選択され、

U、V及びWは、-(R^{6a})C=、-N=、-(R^{6a})C(R^{7a})-及び-N(R^{4a})-

(式中、R^{6a}及びR^{7a}は、水素、ハロ及びC₁-C₁₂アルコキシからなる群からそれぞれ独立して選択されるか、又はR^{6a}及びR^{7a}は、一緒になってカルボニル基を形成する)からなる群からそれぞれ独立して選択される二価部分を表し、

X及びYは、ハロ、R²、OR²、SR³及びNR⁴R⁵からなる群からそれぞれ独立して選択され、

40

Qは、C又はCHであり、

A¹及びA²は、酸素、硫黄、-C(Z)-、-C(Z)O-、-OC(Z)-、-N(R^{4b})-、-C(Z)N(R^{4b})-、-N(R^{4b})C(Z)-、-OC(Z)N(R^{4b})-、-N(R^{4b})C(Z)O-、-N(R^{4b})C(Z)N(R^{5b})-、-S(O)-、-S(O)₂-、-N(R^{4b})S(O)₂-、-C(R^{6b})(R^{7b})-、-N(C≡CH)-、-N(CH₂C≡CH)-、C₁-C₁₂アルキレン及びC₁-C₁₂アルキンオキシ

(式中、Zは、酸素又は硫黄である)からなる群からそれぞれ独立して選択され、

R²、R³、R⁴、R^{4a}、R^{4b}、R⁵、R^{5b}、R^{6b}及びR^{7b}は、水素、ハロ、C₁

50

—C₁₋₁₂アルキル、C₁₋₁₂アルコキシ、C₁₋₁₂アルカノイル、C₁₋₁₂アルケニル、C₁₋₁₂アルキニル、(C₁₋₁₂アルコキシ)カルボニル及び(C₁₋₁₂アルキルアミノ)カルボニルからなる群からそれぞれ独立して選択され、

A³はアミノ酸であり、

R¹は、水素、ハロ、C₁₋₁₂ヘテロアルキル及びC₁₋₁₂アルコキシからなる群から選択され、

R⁶及びR⁷は、水素、ハロ、C₁₋₁₂アルキル及びC₁₋₁₂アルコキシからなる群からそれぞれ独立して選択されるか、又はR⁶及びR⁷は、一緒になってカルボニル基を形成し、

qは、1～3の整数であり、

p、r、s及びtは、それぞれ独立して、0又は1であり、*は、BBMeCL又はAlbとの結合点を示す。]

10

【0010】

QはCHであってもよい。XはOHであることができ、YはNH₂であってもよい。W及びUは—N(R^{4a})—であることができ、QはCHであることができ、VはCH₂であることができ、A¹は—N(R^{4b})—であることができ、sは1であることができ、pは1であることができ、tは0であってもよい。R^{4a}及びR^{4b}は、独立して、アルキル又はヘテロアルキルであってもよい。R^{4a}及びR^{4b}はメチルであってもよい。

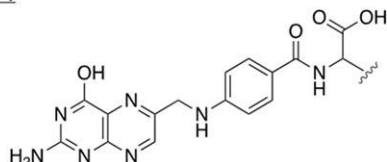
【0011】

FRTLは、次の構造を有しうる。

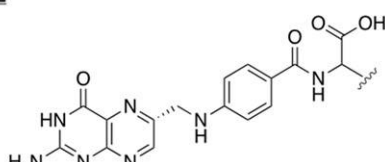
20

【化2】

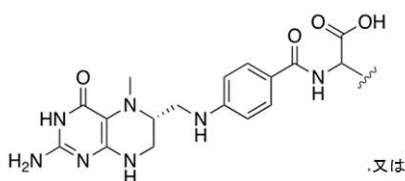
F1



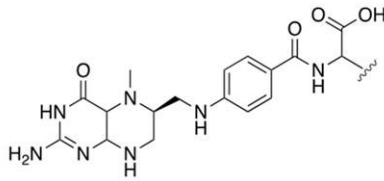
F2



F3



F4



30

【式中、

【化3】



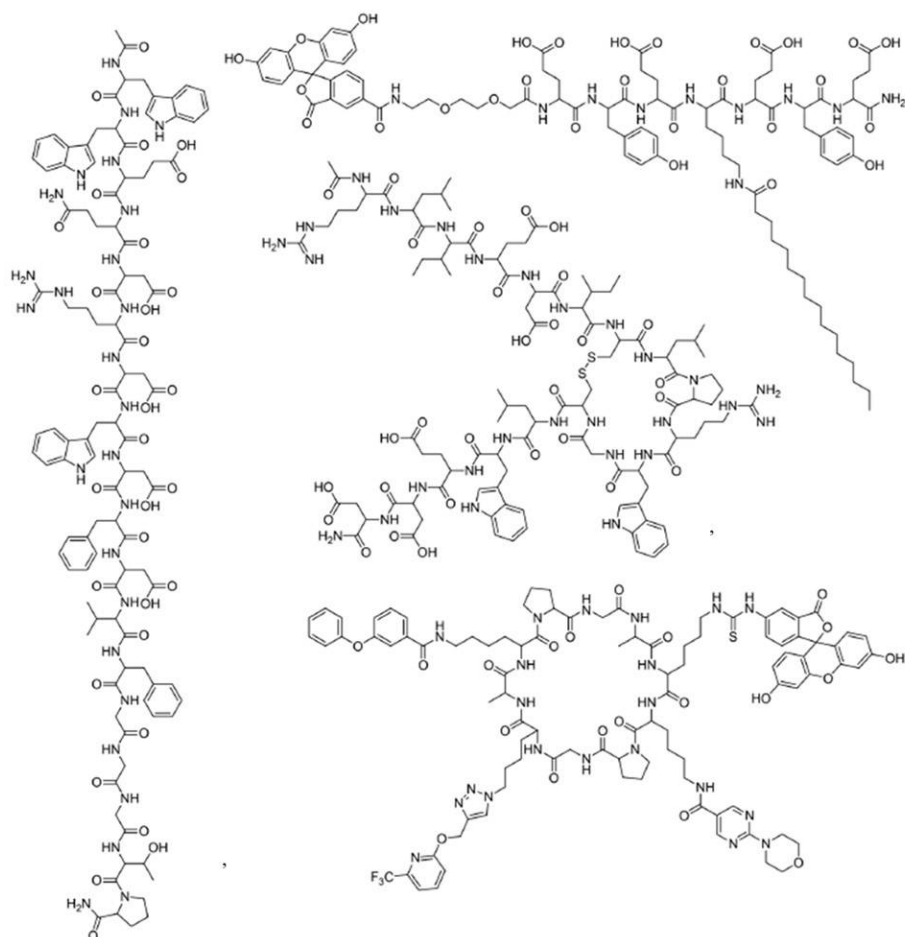
40

は、FRTLのAlb又はBBMeCLとの結合点を示す。]

【0012】

Albは、次の構造を有しうる。

50



10

20

30

40

50

【0014】

、ABD035、ABDCon、設計されたアンキリンリピートタンパク質（DARPs, designed ankyrin repeat proteins）、dsFV CA645、ナノボディ（単ドメイン抗体（sdAb, single-domain antibody））、又は抗ヒト血清アルブミンドメインクローンE06と融合している新たな抗原受容体の可変ドメイン（VNAR, variable domain of new antigen receptor）である]

【0015】

BBMeCLは、

- (i) Met-Val、
- (ii) X-Lys若しくはX-Arg [式中、X=Gly又はArgである]、又はそれらの組合せ、
- (iii) Gly-Tyr、
- (iv) Gly-Phe-(Lys)、
- (v) Gly-Pro、
- (vi) Ala-X若しくはLeu-X [式中、Xはいずれかのアミノ酸である]、又はそれらの組合せ、
- (vii) Asp-X若しくはGlu-X [式中、Xはいずれかのアミノ酸である]、又はそれらの組合せ、
- (viii) γ-Glu-X [式中、Xはいずれかのアミノ酸である]、及びアクセプターペプチド、
- (ix) スクロース、マルトース、トレハロース、ラクトース、パラチノース又は前述の2若しくは3以上の組合せ、
- (x) ヨードインスリンB鎖、
- (xi) フロリジン、

(xii) p-ニトロフェニルリン酸、或いは
(xiii) 前述の2又は3以上の組合せ
を含んでもよい。

【0016】

AAは、光学イメージング剤、放射性イメージング剤又は放射性治療剤であってもよい。光学イメージング剤は蛍光染料であってもよい。蛍光染料は、S0456、フルオレセインイソチオシアネート（FITC, fluorescein isothiocyanate）、ローダミン、LS288、ヘプタメチンシアニン染料（HMCD, heptamethine cyanine dye）、SS180、アクリジンオレンジ（AO, acridine orange）、IRDye800CW、IR783、IR825、ZW800-1又はインドシアニングリーン（ICG, indocyanine green）からなる群から選択されうる。AAが放射性イメージング剤又は放射性治療剤である場合、AAは、 ^{18}F 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{52}Mn 、 ^{55}Co 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{86}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 $^{114\text{m}}\text{In}$ 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{149}Tb 、 ^{153}Sm 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{212}Pb 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{223}Ra 、 ^{224}Ra 、 ^{225}Ac 及び ^{227}Th からなる群から選択される放射性同位体を含んでもよい。

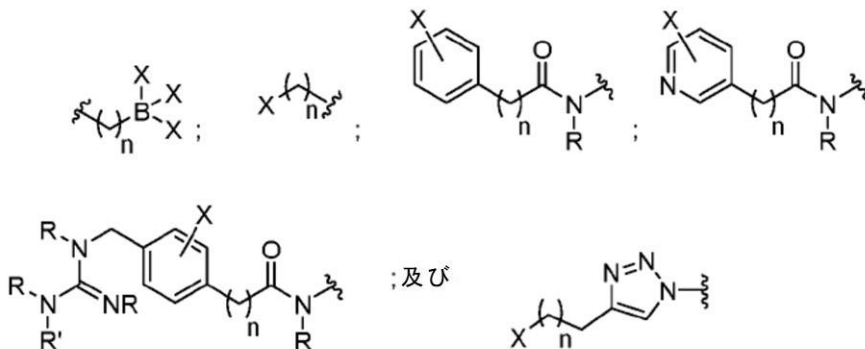
10

【0017】

AAは、 ^{68}Ga 、 ^{18}F 、 ^{90}Y 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{18}P 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 及び ^{211}At からなる群から選択される放射性同位体を含む放射性標識補欠分子族を含んでもよい。放射性標識補欠分子族は、

20

【化6】



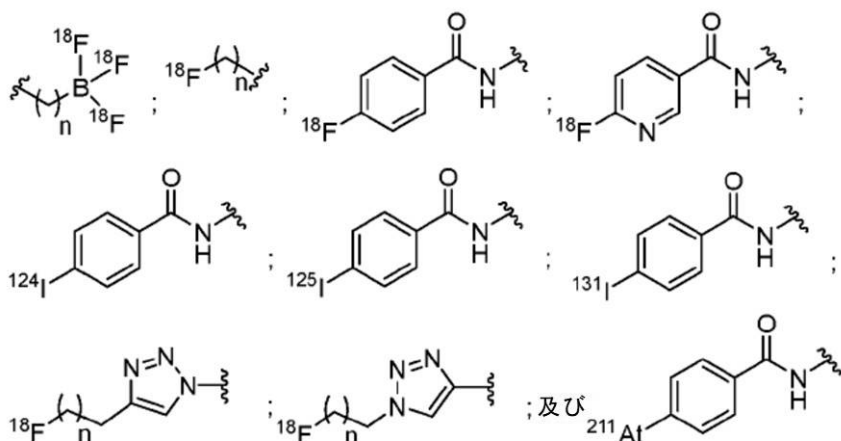
30

〔式中、R及びR'は、独立して、水素又はメチルであり、nは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19及び20からなる群から選択される整数である〕から選択される構造を含んでもよい。放射性標識補欠分子族は、

40

50

【化 7】



10

〔式中、 n は、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19及び20からなる群から選択される整数である〕から選択される構造を含んでもよい。

【0018】

コンジュゲートのAAは、DOTA（1，4，7，10-テトラアザシクロドデカン-1，4，7，10-四酢酸，1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid）、TETA（1，4，8，11-テトラアザシクロテトラデカン-1，4，8，11-四酢酸，1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane-1,4,8,11-tetraacetic acid）、SarAr（1-N-（4-アミノベンジル）-3，6，10，13，16，19-ヘキサアザビシクロ〔6.6.6〕-エイコサン-1，8-ジアミン，1-N-(4-Aminobenzyl)-3,6,10,13,16,19-hexaazabicyclo[6.6.6]-eicosane-1,8-diamine）、NOTA（1，4，7-トリアザシクロノナン-1，4，7-三酢酸，1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid）、NODAGA（2，2'-（7-（4-（2-アミノエチル）アミノ）-1-カルボキシ-4-オキソブチル）-1，4，7-トリアゾナン-1，4-ジイル）二酢酸，2,2'-7-(4-((2-aminoethyl)amino)-1-carboxy-4-oxobutyl)-1,4,7-triazonane-1,4-diyl)diacetic acid）、HYNIC（6-ヒドラジノニコチン酸，6-Hydrazinonicotinic acid）、NETA（4-〔2-（ビス-カルボキシメチルアミノ）-エチル〕-7-カルボキシメチル-〔1，4，7〕トリアゾナン-1-イル）酢酸，4-[2-(bis-carboxymethylamino)-ethyl]-7-carboxymethyl-[1,4,7]triazonan-1-yl) acetic acid）、TRAP（1，4，7-トリアザシクロノナン-1，4，7-トリス〔メチル（2-カルボキシエチル）ホスフィン酸，1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-tris[methyl(2-carboxyethyl)phosphinic acid]）、HBED（N，N-ビス（2-ヒドロキシベンジル）-エチレンジアミン-N，N-二酢酸，N,N-bis(2-hydroxybenzyl)-ethylenediamine-N,N-diacetic acid）、2，3-HOPO（3-ヒドロキシピリジン-2-オン，3-hydroxypyridin-2-one）、PCTA（3，6，9，15-テトラアザビシクロ〔9.3.1〕-ペンタデカ-1（15），11，13-トリエン-3，6，9，-三酢酸，3,6,9,15-tetraazabicyclo[9.3.1]-pentadeca-1(15),11,13-triene-3,6,9,-triacetic acid）、DFO（デスフェリオキサミン，desferrioxamine）、DTPA（ジエチレントリアミン五酢酸，diethylenetriaminepentaacetic acid）、OCTAPA（N，N-ビス（6-カルボキシ-2-ピリジルメチル）-エチレンジアミン-N，N-二酢酸，N,N-bis(6-carboxy-2-pyridylmethyl)-ethylenediamine-N,N-diacetic acid）、H2macropa（N，N'-ビス〔（6-カルボキシ-2-ピリジルメチル（pyridipmethyl））-4，13-ジアザ-18-クラウン-6，N,N'-bis[(6-carboxy-2-pyridipmethyl)-4,13-diaza-18-crown-6]）、H2dedpa（1，2-〔〔カルボキシ〕-ピリジン-2-イル〕-メチルアミノ〕エタン，1,2-[[carboxy]-pyridin-2-yl]-met

20

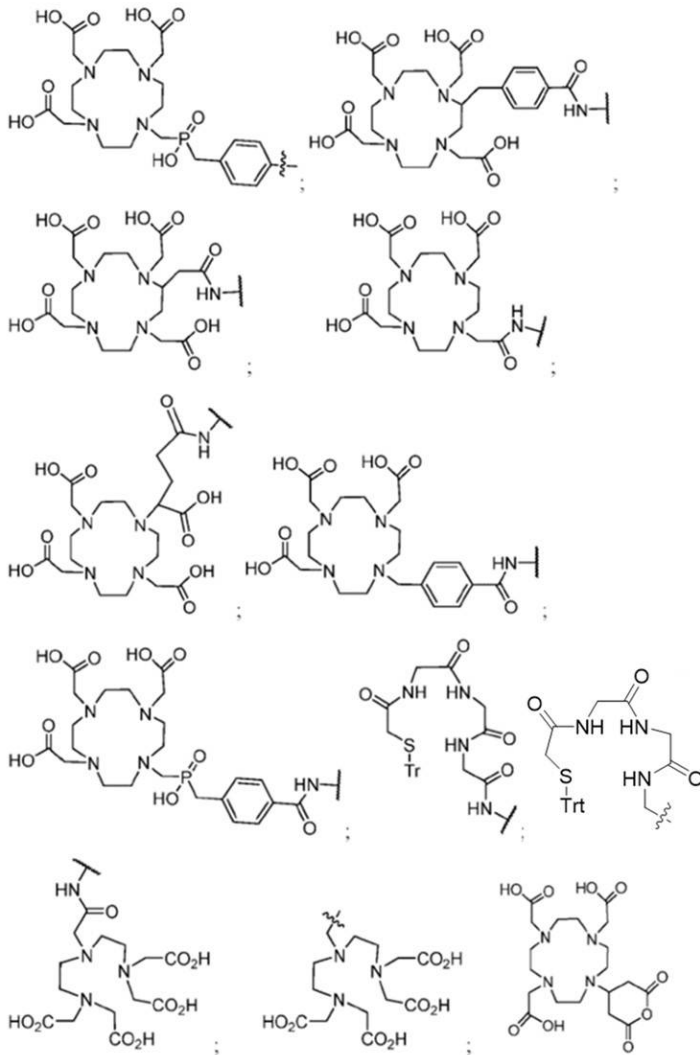
30

40

50

hylamino]ethane)、 β -リージアミノプロピオン酸、アスパラギン酸及びシステインを含むEC20ヘッド、並びに前述のいずれかの誘導体からなる群から選択されるキレート化剤を含んでもよい。AAは、

【化8】



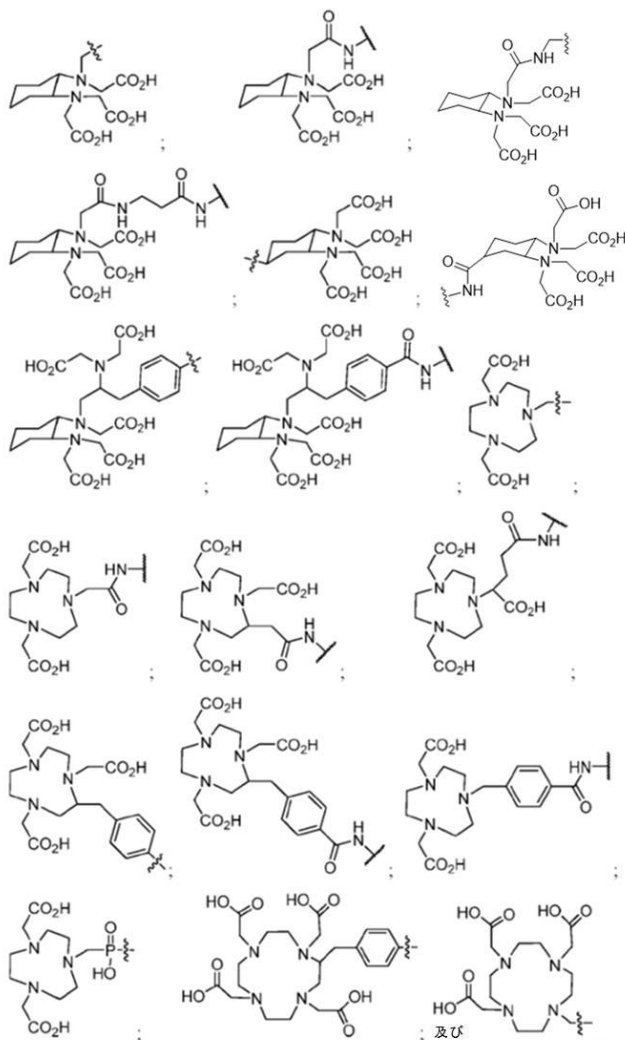
10

20

30

40

50



10

20

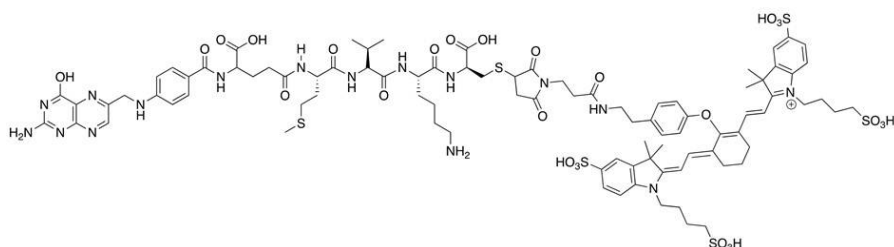
30

からなる群から選択されるキレート化剤を含んでもよい。

【0019】

コンジュゲートは、次の構造を有してもよい。

【化9】



40

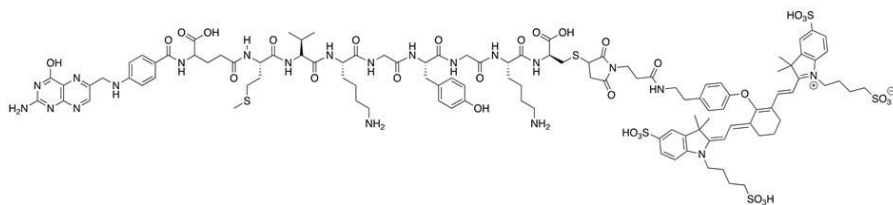
(BBM1 (MVKC))

【0020】

コンジュゲートは、次の構造を有してもよい。

50

【化 1 0】



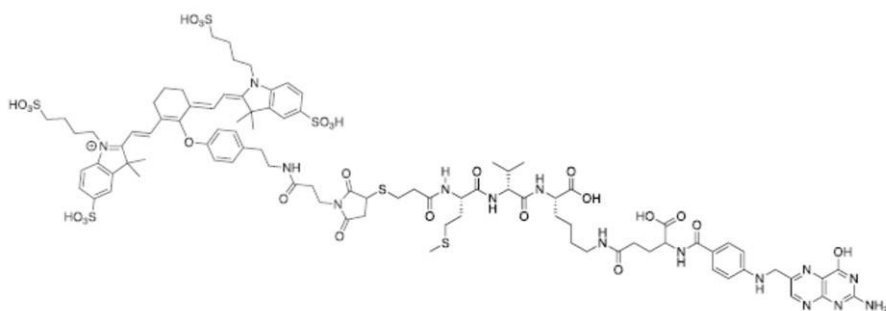
(BBM2 (MVKGYGKC))

【0 0 2 1】

10

コンジュゲートは、次の構造を有してもよい。

【化 1 1】



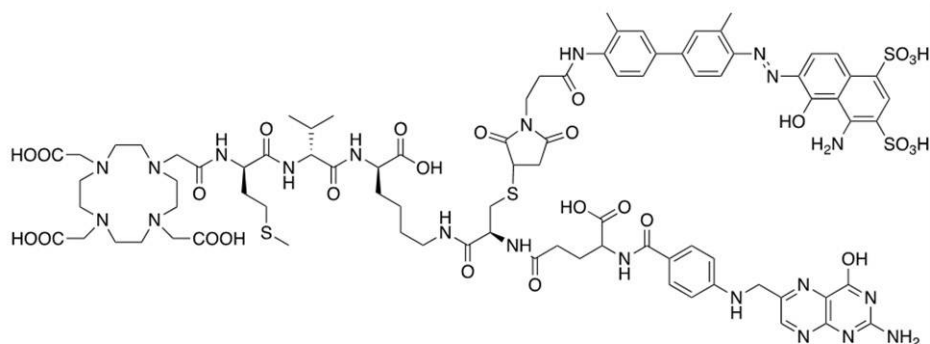
20

(BBM3 (MVK))

【0 0 2 2】

コンジュゲートは、次の構造を有してもよい。

【化 1 2】



30

BBM4(DOTA-MVK(EB-葉酸)-OH)

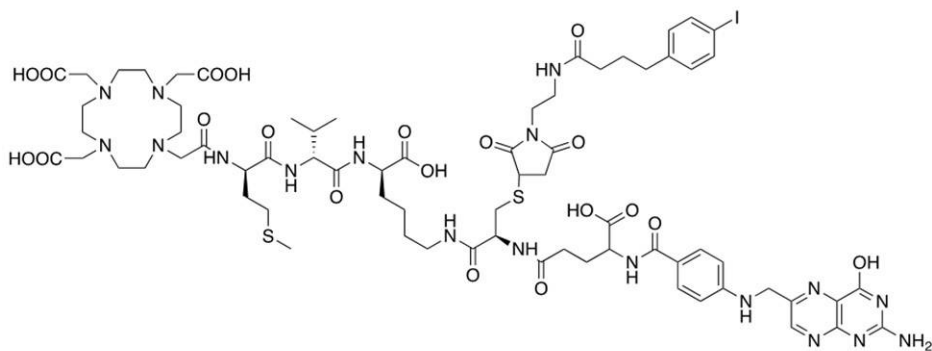
【0 0 2 3】

40

コンジュゲートは、次の構造を有してもよい。

50

【化 1 3】



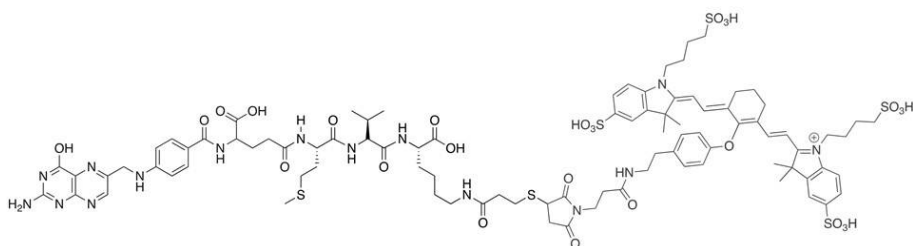
10

BBM5(DOTA-MVK(IP-葉酸)-OH

【0024】

コンジュゲートは、次の構造を有してもよい。

【化 1 4】

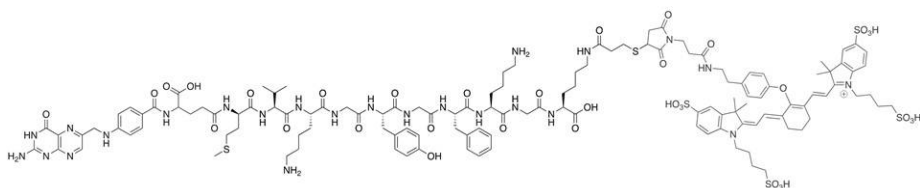


20

【0025】

コンジュゲートは、次の構造を有してもよい。

【化 1 5】

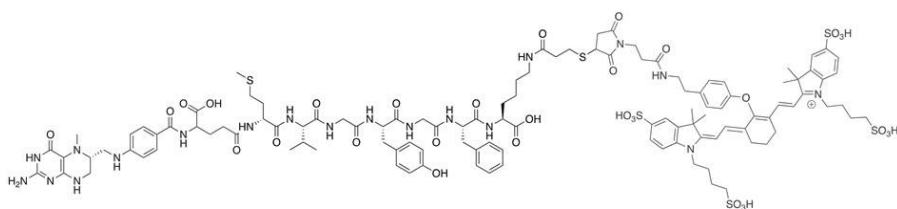


30

【0026】

コンジュゲートは、次の構造を有してもよい。

【化 1 6】



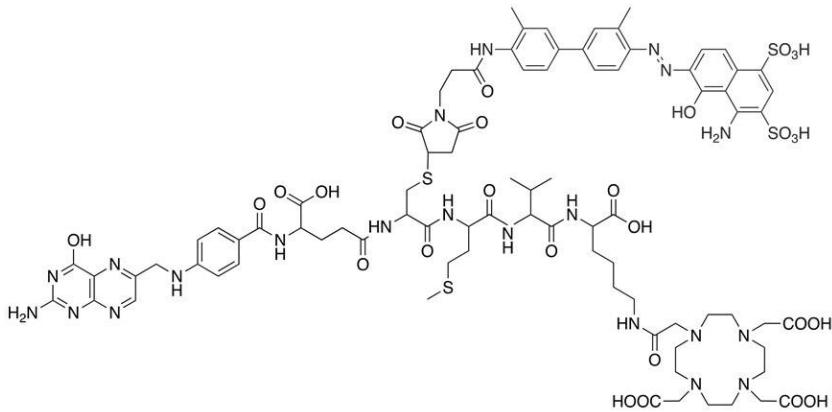
40

【0027】

コンジュゲートは、次の構造を有してもよい。

50

【化 1 7】

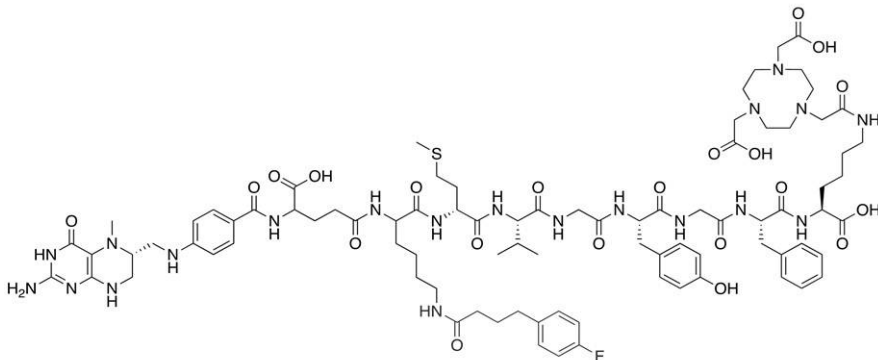


10

【0028】

コンジュゲートは、次の構造を有してもよい。

【化 1 8】

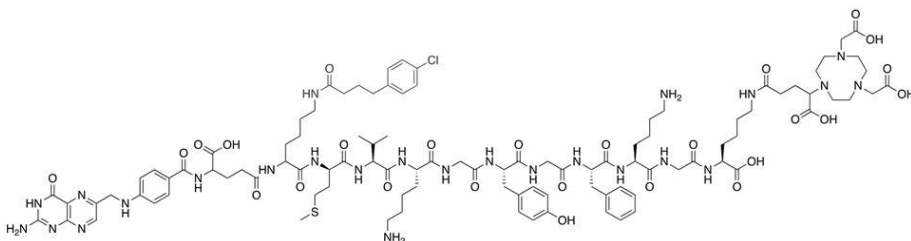


20

【0029】

コンジュゲートは、次の構造を有してもよい。

【化 1 9】



30

【0030】

コンジュゲートと薬学的に許容される担体とを含む、組成物がさらに提供される。

40

【0031】

対象における腫瘍を、腫瘍の細胞、腫瘍に関連するマクロファージ（例えば、腫瘍関連マクロファージ（TAM, tumor-associated macrophage））又は両方への、単独での又は光学イメージング剤とさらに組み合わせた標的放射能によって、イメージングする、治療する、又はイメージング及び治療する方法であって、対象に、有効量の（i）コンジュゲート又は（ii）コンジュゲートと薬学的に許容される担体とを含む組成物を投与するステップを含む方法がまたさらに提供される。方法は、腫瘍をイメージングするステップをさらに含んでもよい。イメージングするステップは、光学イメージング、陽電子放出断層撮影（PET, positron emission tomography）又は単一光子放射断層撮影（SPECT, single photon emission computed tomography）によるもので

50

あってもよい。

【0032】

対象における腫瘍を、イメージングする、治療する、又はイメージング及び治療するためのキットも提供される。ある特定の実施形態では、キットは、第1の容器内のコンジュゲート又は組成物の少なくとも1つの投与単位と、第2の活性剤又は第2の活性剤を含む組成物の少なくとも1つの投与単位とを含む。ある特定の実施形態では、第2の活性剤又は第2の活性剤を含む組成物の少なくとも1つの投与単位は、第1の容器内に含有される。代替として、第2の活性剤又は第2の活性剤を含む組成物の少なくとも1の投与単位は、第2の容器内に含有される。キットは、コンジュゲート又は組成物の投与手段（例えば、シリンジ、ステント、カニューレ、トロカール等）をさらに備えることもできる。

10

【図面の簡単な説明】

【0033】

【図1A】OTL38について葉酸標的化の検証のためのフローサイトメトリー結果を示す図である。

【図1B】BBM1について葉酸標的化の検証のためのフローサイトメトリー結果を示す図である。

【図1C】BBM2について葉酸標的化の検証のためのフローサイトメトリー結果を示す図である。

【図2A】OTL38についての葉酸コンジュゲート結合曲線を示す図である（ $K_d = 6.7 \text{ nM}$ ）。

20

【図2B】BBM1についての葉酸コンジュゲート結合曲線を示す図である（ $K_d = 12.3 \text{ nM}$ ）。

【図2C】BBM2についての葉酸コンジュゲート結合曲線を示す図である（ $K_d = 29.6 \text{ nM}$ ）。

【図2D】BBM3についての葉酸コンジュゲート結合曲線を示す図である（ $K_d = 16.0 \text{ nM}$ ）。

【図3A】～

【図3B】3週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、 1 nmol のOTL38、BBM1又はBBM2を注射し、24時間後に殺したマウスの臓器の蛍光スキャンの結果を示す図であり、図3Aは短期曝露の結果を示し、図3Bは高度曝露の結果を示す（図3Aに示される高い蛍光は白色の円によってさらに判別される）。

30

【図4A】～

【図4B】3週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、 1 nmol のOTL38、BBM1又はBBM2を注射し、1時間後に殺したマウスの臓器の蛍光スキャンの結果を示す図である（高い蛍光は白色の長方形によってさらに判別される）。

【図5A】～

【図5B】3週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、 1 nmol のOTL38、BBM1又はBBM2を注射し、3時間後に殺したマウスの臓器の蛍光スキャンの結果を示す図である（高い蛍光は白色の長方形によってさらに判別される）。

【図6A】～

40

【図6B】3週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、 1 nmol のOTL38、BBM1又はBBM2を注射し、6時間後に殺したマウスの臓器の蛍光スキャンの結果を示す図である（高い蛍光は白色の長方形によってさらに判別される）。

【図7】3週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、 1 nmol のOTL38又はBBM3を注射し、注射後1時間（1 h p.i.）又は3時間（3 h p.i.）で蛍光をスキャンしたマウスの蛍光スキャンの結果を示す図である（蛍光は白色の円によってさらに判別される）。

【図8A】3週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、 1 nmol のOTL38又はBBM3を注射し、3時間後に殺したマウスの臓器の蛍光スキャンの結果を示す図である（最も高い蛍光は白色の長方形によってさらに判別される）。

50

【図 8 B - 1】～

【図 8 B - 2】3 週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、1 nmol の O T L 3 8、B B M 1 又は B B M 2 を注射し、3 時間後に 殺したマウスの臓器の蛍光スキニングの結果を示す図である（最も高い蛍光は白色の長方形によってさらに判別される）。

【図 9 A】3 週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、5 nmol の O T L 3 8 又は B B M 3 を注射し、注射後 1 時間（1 h p. i.）又は 3 時間（3 h p. i.）で蛍光をスキャンしたマウスのスキニングの結果を示す図である（最も高い蛍光は黒色の円によってさらに判別される）。

【図 9 B】3 週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、5 nmol の O T L 3 8 又は B B M 3 を注射し、注射後 6 時間（6 h p. i.）又は 24 時間（24 h p. i.）で蛍光をスキャンしたマウスのスキニングの結果を示す図である（最も高い蛍光は黒色の円によってさらに判別される）。 10

【図 10】3 週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、5 nmol の O T L 3 8 又は B B M 3 を注射し、24 時間後に 殺したマウスの臓器のスキニングの結果を示す図である（最も高い蛍光は黒色の長方形によってさらに判別される）。

【図 11】3 週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、5 nmol の O T L 3 8、B B M 1 又は B B M 2 を注射し、24 時間後に 殺した無胸腺ヌードマウスの臓器のスキニングの結果を示す図である。

【図 12】3 週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、5 nmol の O T L 3 8 又は B B M 3 を注射し（1～2 のマウス／コンジュゲート）、注射後 1 時間（1 時間 p. i.）、3 時間（3 時間 p. i.）、6 時間（6 時間 p. i.）及び 24 時間（24 時間 p. i.）で腫瘍（MDA-MD-231）対腎臓において蛍光をスキャンした無胸腺ヌードマウスのスキニングの結果を示す図である（蛍光は黒色の円によってさらに判別される）。 20

【図 13】3 週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、5 nmol の O T L 3 8 又は B B M 3 を尾静脈注射し（1～2 のマウス／コンジュゲート）、注射後 1 時間（1 時間 p. i.）、3 時間（3 時間 p. i.）、6 時間（6 時間 p. i.）及び 24 時間（24 時間 p. i.）で腫瘍（MDA-MB-231）対腎臓において蛍光をスキャンした無胸腺ヌードマウスのスキニングの結果を示す図である（蛍光は黒色の円によってさらに判別される）。

【図 14】3 週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、5 nmol の O T L 3 8 又は B B M 3 を尾静脈注射し（1～2 のマウス／コンジュゲート）、注射後 24 時間で腫瘍、心臓、肺、肝臓、脾臓及び腎臓において蛍光をスキャンした無胸腺ヌードマウスの臓器のスキニングの結果を示す図である。 30

【図 15】¹¹¹In-BBM4 のラジオクロマトグラムである。

【図 16】¹¹¹In-BBM5 のラジオクロマトグラム（radio-chromatogram）である。

【図 17 A】KB 細胞におけるインジウム-111 放射性標識 B B M 4 コンジュゲートの結合を示す、濃度（nM）対 C P M のグラフである。

【図 17 B】KB 細胞におけるインジウム-111 放射性標識 B B M 5 コンジュゲートの結合を示す、濃度（nM）対 C P M のグラフである。 40

【図 18】健康なマウスにおけるインジウム-111 放射性標識 B B M 4 コンジュゲートの S P E C T / C T 画像を示す図である。約 250 uCi の In-111 で放射性標識されたものを 1 nmol 注射した。黄色の矢印は腎臓を示す。

【図 19】健康なマウスにおけるインジウム-111 放射性標識 B B M 5 コンジュゲートの S P E C T / C T 画像を示す図である。約 250 uCi の In-111 で放射性標識されたものを 1 nmol 注射した。黄色の矢印は腎臓を示す。

【図 20】健康なマウスにおけるインジウム-111 放射性標識 B B M 4 コンジュゲートの S P E C T / C T 画像を示す図である。約 250 uCi の In-111 で放射性標識されたものを 5 nmol 注射した。黄色の矢印は腎臓を示す。

【図 21】¹⁷⁷Lu-BBM4 のラジオクロマトグラムである。 50

【図 2 2】 ^{177}Lu -BBM5 のラジオクロマトグラムである。

【図 2 3 A】 ^{177}Lu 放射性標識 BBM コンジュゲートで処置したマウスにおける KB 腫瘍の総体積を示す、日数対腫瘍体積 (mm^3) のグラフである。

【図 2 3 B】 ^{177}Lu 放射性標識 BBM コンジュゲートで処置したマウスにおける KB 腫瘍の相対的サイズを示す、日数対相対的腫瘍サイズのグラフである。

【図 2 3 C】KB 腫瘍があり、 ^{177}Lu 放射性標識 BBM コンジュゲートで処置したマウスの相対的体重を示す、日数対相対的体重 (%) のグラフである。

【図 2 4】 ^{177}Lu 放射性標識 BBM4 コンジュゲートで処置したマウスの SPECT / CT 画像を示す図である。約 500 μCi の ^{177}Lu -177 で放射性標識されたものを 5 nmol 注射した。白色の矢印は腫瘍を示し、黄色の矢印は腎臓を示す。

【図 2 5】 ^{177}Lu 放射性標識 BBM5 コンジュゲートで処置したマウスの SPECT / CT 画像を示す図である。約 500 μCi の ^{177}Lu -177 で放射性標識されたものを 5 nmol 注射した。白色の矢印は腫瘍を示し、黄色の矢印は腎臓を示す。

【発明を実施するための形態】

【0034】

本開示の原理の理解を促進するという目的のために、ここで図面において例証される実施形態を参照し、それを記述するために特異的な言語が使用されることとなる。それでもなお、これらの実施形態の記述によって範囲の限定は意図されていないことが理解されるであろう。それどころか、本開示は、代替物、修正形態及び等価物を、本開示の趣旨及び範囲内に包含されうるとして、網羅することが意図されている。

【0035】

本開示は、葉酸受容体標的化リガンドをイメージング又は放射線療法用の作用物質と連結させるための腎臓刷子縁膜 (BBM) 酵素基質の使用が、腎臓からのコンジュゲートの迅速なクリアランスを可能にするという発見を少なくとも部分的に前提としている。迅速なクリアランスは、腎ガンイメージングを可能とし、複数の腫瘍の放射線療法における腎毒性を最小化する。腎臓からの迅速なクリアランスに加えて、コンジュゲートは、特異的標的化、高い腫瘍浸透、及び受容体陰性組織からの迅速なクリアランスを可能とする。さらに、葉酸は多くの固形腫瘍のガン関連マクロファージにおいて発現されることから、コンジュゲートは、多くの種類のガンの間質を治療に使用することができる。

【0036】

式 I 又は式 II のコンジュゲートが提供される。

FRTL-BBMecL-AA (式 I) 又は FRTL-Alb-BBMecL-AA (式 II)

【式中、

FRTL は、葉酸受容体標的化リガンドであり、

BBMecL は、腎臓刷子縁膜 (BBM) 酵素切断可能リンカーであり、

Alb は、アルブミン結合部分であり、

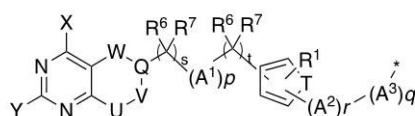
AA は、活性剤である。]

ある特定の実施形態では、FRTL は、10,000 未満の分子量を有する。Alb は、血清アルブミンと非共有結合的に会合することができる。

【0037】

FRTL は、次の構造を有しうる。

【化 2 0】



式中、

T は、S、O、NR^{4b} 及び -HC=CH- からなる群から選択され、

U、V及びWは、 $-(R^{6a})C=$ 、 $-N=$ 、 $-(R^{6a})C(R^{7a})-$ 及び $-N(R^{4a})-$ からなる群からそれぞれ独立して選択される二価部分を表し、

式中、 R^{6a} 及び R^{7a} は、水素、ハロ及び C_{1-12} アルコキシからなる群からそれぞれ独立して選択されるか、又は R^{6a} 及び R^{7a} は、一緒になってカルボニル基を形成し、

X及びYは、ハロ、 R^2 、 OR^2 、 SR^3 及び NR^4R^5 からなる群からそれぞれ独立して選択され、

Qは、C又はCHであり、

A^1 及び A^2 は、酸素、硫黄、 $-C(Z)-$ 、 $-C(Z)O-$ 、 $-OC(Z)-$ 、 $-N(R^{4b})-$ 、 $-C(Z)N(R^{4b})-$ 、 $-N(R^{4b})C(Z)-$ 、 $-OC(Z)N(R^{4b})-$ 、 $-N(R^{4b})C(Z)O-$ 、 $-N(R^{4b})C(Z)N(R^{5b})-$ 、 $-S(O)-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-N(R^{4b})S(O)_2-$ 、 $-C(R^{6b})(R^{7b})-$ 、 $-N(C\equiv CH)-$ 、 $-N(CH_2C\equiv CH)-$ 、 C_{1-12} アルキレン及び C_{1-12} アルキレンオキシからなる群からそれぞれ独立して選択され、式中、Zは、酸素又は硫黄であり、

10

R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^{4a} 、 R^{4b} 、 R^5 、 R^{5b} 、 R^{6b} 及び R^{7b} は、水素、ハロ、 C_{1-12} アルキル、 C_{1-12} アルコキシ、 C_{1-12} アルカノイル、 C_{1-12} アルケニル、 C_{1-12} アルキニル、 $(C_{1-12}$ アルコキシ)カルボニル及び $(C_{1-12}$ アルキルアミノ)カルボニルからなる群からそれぞれ独立して選択され、

20

A^3 はアミノ酸であり、

R^1 は、水素、ハロ、 C_{1-12} ヘテロアルキル及び C_{1-12} アルコキシからなる群から選択され、

R^6 及び R^7 は、水素、ハロ、 C_{1-12} アルキル及び C_{1-12} アルコキシからなる群からそれぞれ独立して選択されるか、又は R^6 及び R^7 は、一緒になってカルボニル基を形成し、

qは、1～3の整数であり、

p、r、s及びtは、それぞれ独立して、0又は1であり、

*は、BBMe c L又はAl bとの結合点を示す。

【0038】

「 C_{1-12} アルキル」は、1～12の炭素原子を含有する直鎖、分岐状又は環状炭化水素鎖を指す。本発明の教示に従う C_{1-12} アルキル基の代表例は、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、シクロプロピル、ブチル、イソブチル、tert-ブチル、sec-ブチル、シクロブチル、ペンチル、シクロペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、ヘキシル、シクロヘキシル、イソヘキシル、ネオヘキシル、ヘプチル、シクロヘプチル、イソヘプチル、ネオヘプチル、オクチル、シクロオクチル、イソオクチル、ネオオクチル、ノニル、シクロノニル、イソノニル、ネオノニル、デシル、シクロデシル、イソデシル、ネオデシル、ウンデシル、シクロウンデシル、イソウンデシル、ネオウンデシル、ドデシル、シクロドデシル、イソドデシル及びネオドデシルを含むがこれらに限定されない。

30

【0039】

「 C_{1-12} アルコキシ」は、酸素と単結合している C_{1-12} アルキルである。

40

【0040】

「 C_{1-12} アルカノイル」は、カルボニルと単結合している C_{1-12} アルキルである。

【0041】

「 C_{1-12} アルケニル」は、 $C=C$ を含む C_{1-12} アルキルである。

【0042】

「 C_{1-12} アルキニル」は、 $C\equiv C$ を含む C_{1-12} アルキルである。

【0043】

「 $(C_{1-12}$ アルコキシ)カルボニル」は、カルボニルと結合している C_{1-12}

50

₂ アルコキシである。

【0044】

「(C₁ - C₁₂ アルキルアミノ) カルボニル」は、カルボニルと結合している C₁ - C₁₂ アルキルアミノ (すなわち、アミノと結合している C₁ - C₁₂ アルキル) である。

【0045】

「C₁ - C₁₂ ヘテロアルキル」は、少なくとも1のヘテロ原子 (すなわち、炭素又は水素以外の原子) を含む C₁ - C₁₂ アルキルである。

【0046】

「ハロゲン」及び「ハロ」は、フッ素、塩素、ヨウ素又は臭素を指す。

【0047】

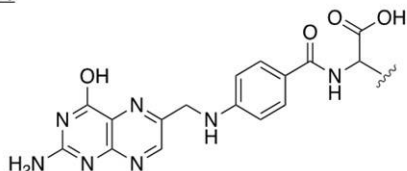
ある特定の実施形態では、QはCHである。ある特定の実施形態では、XはOHであり、YはNH₂である。ある特定の実施形態では、W及びUは-N(R^{4a})-であり、QはCHであり、VはCH₂であり、A¹は-N(R^{4b})-であり、sは1であり、pは1であり、tは0である (例えば、A¹はヘテロ環に直接接続されている)。ある特定の実施形態では、R^{4a}及びR^{4b}は、それぞれ独立して、アルキル又はヘテロアルキルである。ある特定の実施形態では、R^{4a}及びR^{4b}は、それぞれメチルである。

【0048】

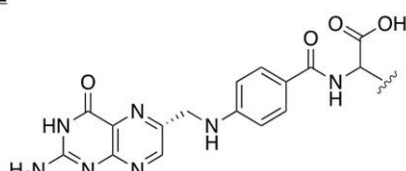
FRTLは、次の構造を有しうる。

【化21】

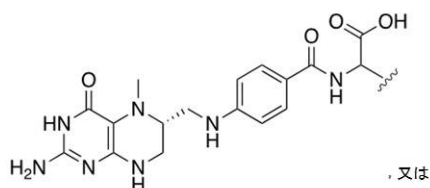
F1



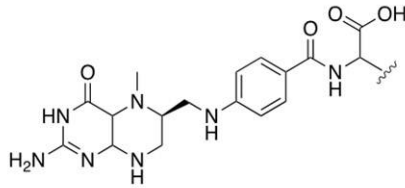
F2



F3



F4



【0049】

【式中、

【化22】



は、FRTLのAlb又はBBMeCLとの結合点を示す。]

【0050】

Albは、次の構造を有しうる。

10

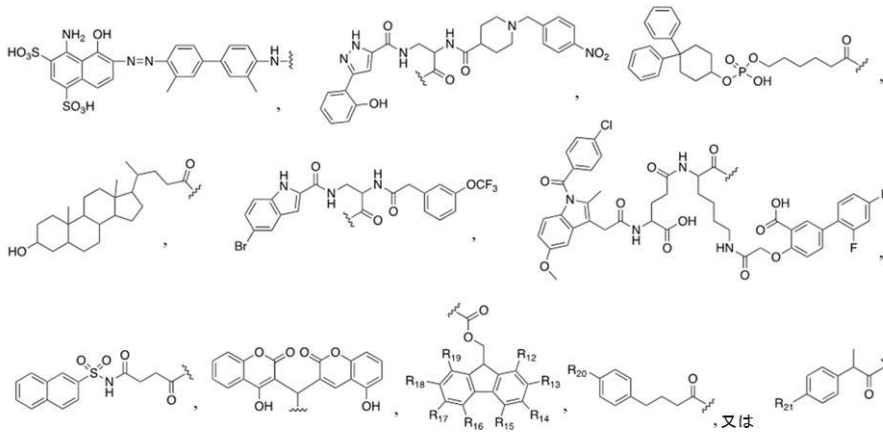
20

30

40

50

【化 2 3】



10

【式中、
【化 2 4】

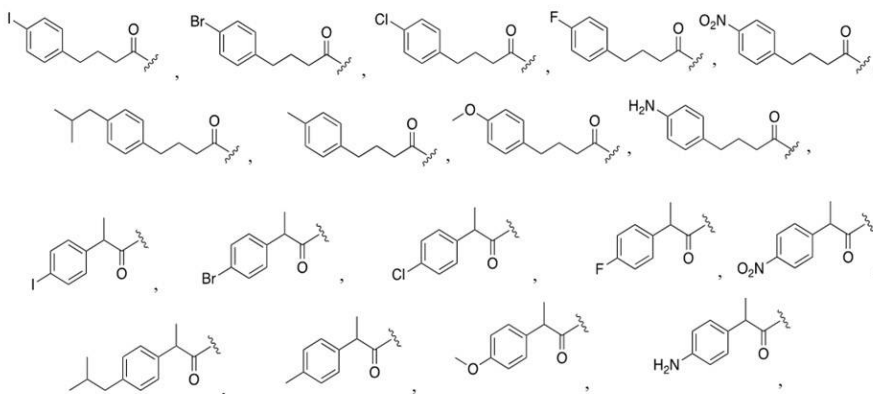
は、A l b の F R T L との結合点を示し、

20

R₁₂ - R₁₉ は、独立して、-H、-C₁-C₆ アルキル、-F、-Cl、-Br、-I、-CN、-CHO、-B(OH)₂、-C(O) アルキル、-C(O) アリール、-C=C-C(O) アリール、-C=C-S(O)₂ アリール、-CO₂H、-SO₃H、-SO₂NH₂、-PO₃H₂ 又は -SO₂F であり、

R₂₀ 及び R₂₁ は、独立して、-H、-C₁-C₆ アルキル、-F、-Cl、-Br、-I、-O-C₁-C₆ アルキル、-CN、-CHO、-B(OH)₂、-C=C-C(O) アリール、-C=C-S(O)₂ アリール、-CO₂H、-SO₃H、-SO₂NH₂、-PO₃H₂、-SO₂F 又は CF₃、

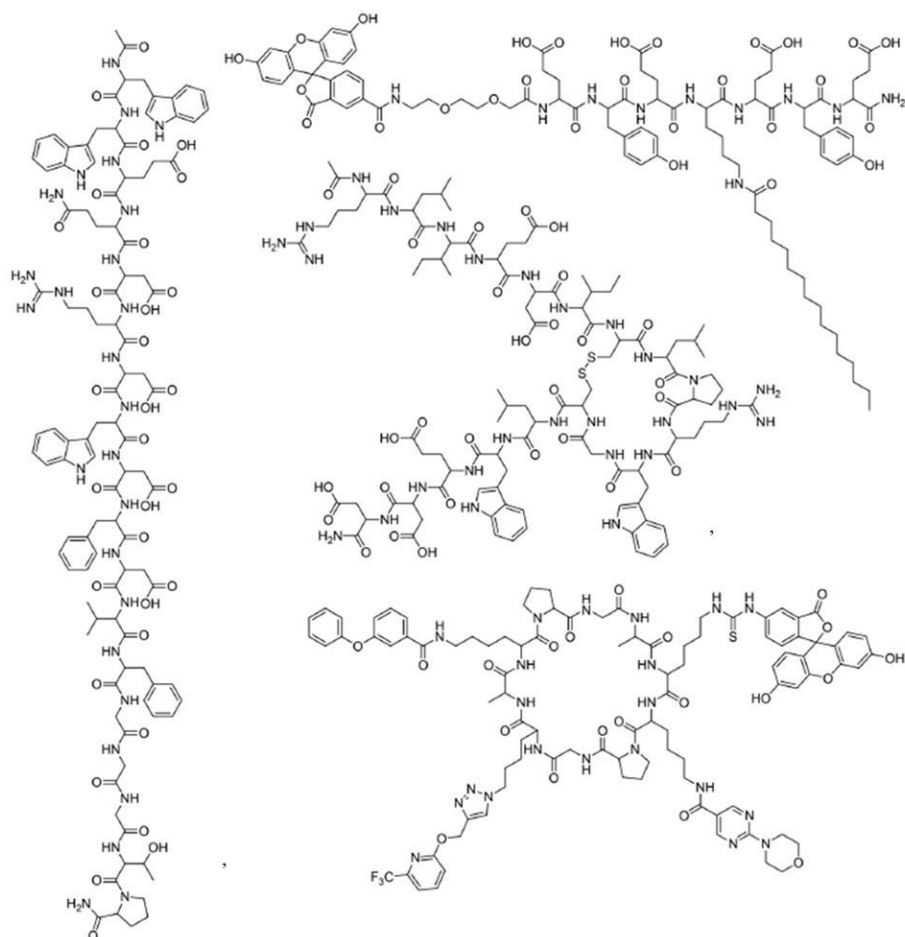
【化 2 5】



30

40

50



10

20

、ABD035 (Jonsson et al., Protein Eng. Des. Sel. 21, 515-527. doi: 10.1093/protein/gzn028 (2008))、ABDCOn (Jacobs et al., Protein Eng Des Sel 28(10): 385-393 (Oct 2015)、設計されたアンキリンリピートタンパク質 (DARPin s)、dsFV CA645 (Zorzi et al., Med Chem Comm 10: 1068-1081 (2019))、ナノボディ (単ドメイン抗体 (sdAb))、又は抗ヒト血清アルブミンドメインクローンE06と融合している新たな抗原受容体の可変ドメイン (VNAR) (Barelle et al., Antibodies 4(3): 240-258 (2015))である。]

【0051】

30

コンジュゲートのBBMeCLは、あらゆる適切なBBM酵素切断可能基質 (例えば、リンカー) であってもよい。例としては、表1に示されているものを包含するが、BBMeCLは、現在公知である又は今後開発されるあらゆる適切なBBM酵素切断可能基質を含むことが分かるであろう。

【0052】

40

50

【表 1】

表1: 刷子縁膜酵素切断可能基質

基質	BBM酵素
Met-Val	ネプリライシン/中性エンドペプチダーゼ(NEP)
X-Lys又はX-Arg, 式中、X=Gly又はArg	カルボキシペプチダーゼM (CPM)
Gly-Tyr	NEP, CPM, ジペプチダーゼ1 (DPEP1)
Gly-Phe-(Lys)	NEP
Gly-Pro	ジペプチジル-ペプチダーゼ4 (DPP4), 線維芽細胞活性化タンパク質(FAP)
Ala-X又はLeu-X, 式中、X=いずれかのアミノ酸	アミノペプチダーゼN
Asp-X又はGlu-X, 式中、X=いずれかのアミノ酸	アミノペプチダーゼA
γ-Glu-X 式中、X=いずれかのアミノ酸、及びアクセプターペプチド	γ-グルタミルトランスフェラーゼ
スクロース	スクラーゼ-イソマルターゼ
マルトース	マルターゼ(グルコアミラーゼ)
トレハロース	トレハラーゼ
ラクトース	ラクトース-グリコシル-セラミダーゼ
パラチノース	スクラーゼ-イソマルターゼ
ヨードインスリンB鎖	ネプリライシン/NEP
フロリジン	ラクトース-グリコシル-セラミダーゼ
p-ニトロフェニルリン酸	アルカリフォスファターゼ

10

20

【0053】

ある特定の実施形態では、コンジュゲートのBBMeCLは、

- (i) メチオニン-バリン (Met-Val)、
- (ii) X-リジン (X-Lys) 若しくはX-アルギニン (X-Arg) 又はそれらの組合せ [式中、Xはグリシン (Gly) 又はアルギニン (Arg) である]、
- (iii) グリシン-チロシン (Gly-Tyr)、
- (iv) グリシン-フェニルアラニン- (リジン) (Gly-Phe-(Lys))、
- (v) グリシン-プロリン (Gly-Pro)、
- (vi) アラニン-X (Ala-X) 若しくはロイシン-X (Leu-X) 又はそれらの組合せ [式中、Xはいずれかのアミノ酸である]、
- (vii) アスパラギン酸-X (Asp-X) 若しくはグルタミン酸-X (Glu-X) 又はそれらの組合せ [式中、Xはいずれかのアミノ酸である]、
- (viii) γ-グルタミン酸-X (γ-Glu-X) [式中、Xはいずれかのアミノ酸である]、及びアクセプターペプチド、
- (ix) スクロース、マルトース、トレハロース、ラクトース、パラチノース又は前述の2若しくは3以上の組合せ、
- (x) ヨードインスリンB鎖、
- (xi) フロリジン、
- (xii) p-ニトロフェニルリン酸、或いは
- (xiii) 前述の2又は3以上の組合せを含む。

30

40

【0054】

ある特定の実施形態では、コンジュゲートのBBMeCLは、腎臓BBM切断可能基質／リンカーを含む。ある特定の実施形態では、BBMeCLのBBM切断可能リンカーは、コンジュゲート及びFRTL (例えば、式Iのコンジュゲート) の少なくともAAと結合している。ある特定の実施形態では、BBMeCLのBBM切断可能リンカーは、コン

50

ジュゲート及びA l b（例えば、式IIのコンジュゲート）の少なくともA Aと結合している。コンジュゲートのそのような実施形態が対象に（例えば全身に）投与される場合、B B M リンカーは切断され、コンジュゲートの残余（例えば、F R T L 及び／又はA l b）からA Aを放出することができる。したがって、コンジュゲートの一部が、一例えば、対象の腎臓の一刷子縁膜において葉酸受容体（例えば、F R α）と結合することができるとしても、コンジュゲートの残余は放出され、したがって、臓器（例えば、腎臓）内に取り込まれることも保持されることもない。

【0055】

B B M リンカーは、ある特定の実施形態では、限定されないが、D-アミノ酸、シトルリン、ヒドロキシプロリン、ノルロイシン、3-ニトロチロシン、ニトロアルギニン、ナフチルアラニン、アミノ酪酸（A b u, aminobutyric acid）、2, 4-ジアミノ酪酸（D A B, diaminobutyric acid）、メチオニンスルホキシド、メチオニンスルホン等のうちの1又は2以上を包含する、1又は2以上の非天然アミノ酸（U A A, unnatural amino acid）を包含してもよい。

【0056】

B B M 切断可能リンカー破断をもたらすそのような生理学的条件は、例えば、生理学的p Hで、又は細胞質p Hよりも低いp Hを有するエンドソーム等の細胞小器官への区画化の結果として起こる、標準的な化学加水分解反応を包含することが分かるはずである。例証として、本明細書において記述されているB B M 切断可能リンカーは、他の生理学的又は代謝条件下で切断を受けることができる。

【0057】

A Aは、光学イメージング剤、放射性イメージング剤又は放射性治療剤であってもよい。

【0058】

ある特定の実施形態では、A Aは、光学イメージング剤である。光学イメージング剤は、検出可能なシグナル（例えば、電磁シグナル（例えば、ラジオシグナル、蛍光シグナル、ガンマ線）又は質量）を発するいかなる化合物（又はそのラジカル）であることもできる。光学イメージング剤の例は、ラジオイメージング剤（a radio-imaging agent：例えば、陽電子放出断層撮影（P E T）イメージング剤又は単一光子放射断層撮影（S P E C T）イメージング剤）、蛍光イメージング剤（例えば、蛍光染料）等を包含するがこれらに限定されない。イメージング剤は、磁気共鳴（M R, magnetic resonance）剤であってもよい。一部の実施形態では、A Aは、P E Tイメージング、S P E C Tイメージング、他のラジオイメージング技術、磁気共鳴イメージング又は放射線療法に適切な放射性標識官能基（例えばそのラジカル）を含む。A Aは、ラジオイメージング、放射線治療用又は磁気共鳴同位体のラジカルを含んでもよい。

【0059】

ある特定の実施形態では、光学イメージング剤は、蛍光染料を含む光学イメージング剤である。蛍光染料は、S 0 4 5 6、フルオレセインイソチオシアネート（F I T C）、ローダミン、L S 2 8 8、ヘプタメチンシアニン染料（H M C D）、S S 1 8 0、アクリジンオレンジ（A O）、I R D y e 染料8 0 0 C W、I R 7 8 3、I R 8 2 5、Z W 8 0 0 - 1 又はインドシアニングリーン（I C G）からなる群から選択されうる。

【0060】

ある特定の実施形態では、A Aは、 ^{18}F 、 ^{44}Sc 、 ^{47}Sc 、 ^{52}Mn 、 ^{55}Co 、 ^{64}Cu 、 ^{67}Cu 、 ^{67}Ga 、 ^{68}Ga 、 ^{86}Y 、 ^{89}Zr 、 ^{90}Y 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 $^{114\text{m}}\text{In}$ 、 $^{117\text{m}}\text{Sn}$ 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{149}Tb 、 ^{153}Sm 、 ^{152}Tb 、 ^{155}Tb 、 ^{161}Tb 、 ^{177}Lu 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{212}Pb 、 ^{212}Bi 、 ^{213}Bi 、 ^{223}Ra 、 ^{224}Ra 、 ^{225}Ac 、 ^{225}Ab 及び ^{227}Th からなる群から選択される放射性同位体を含む放射性イメージング剤又は放射性治療剤である。

【0061】

10

20

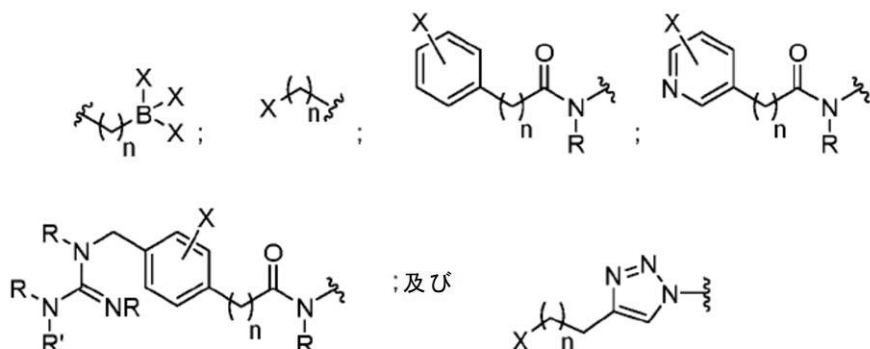
30

40

50

ある特定の実施形態では、AAは、 ^{68}Ga 、 ^{18}F 、 ^{90}Y 、 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 、 ^{111}In 、 ^{177}Lu 、 ^{225}Ac 、 ^{18}P 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 及び ^{211}At からなる群から選択される放射性同位体を含む放射性標識補欠分子族を含む。放射性標識補欠分子族は、

【化26】

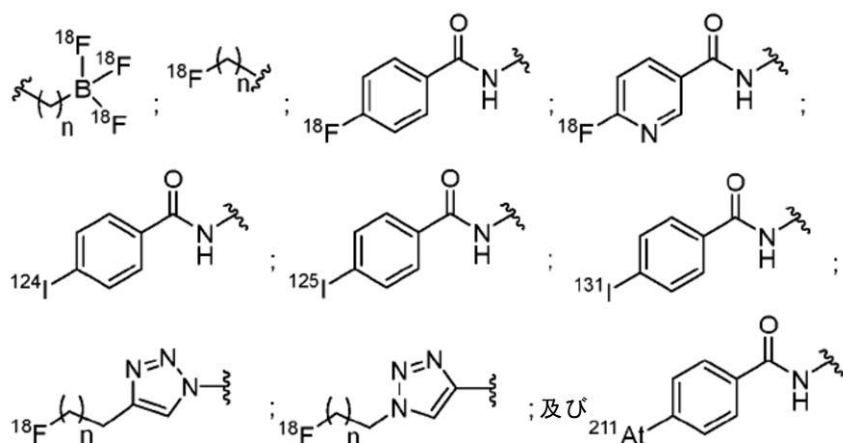


10

【式中、R及びR'は、独立して、水素又はメチルであり、nは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19及び20からなる群から選択される整数である】から選択される構造を含んでもよい。放射性標識補欠分子族は、

20

【化27】



30

【式中、nは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19及び20からなる群から選択される整数である】から選択される構造を含んでもよい。

【0062】

AAは、キレート化基（例えば、キレート剤（又はそのラジカル））であってもよい。「キレート化基」は、キレート化基における2又は3以上の結合部位を使用することによる複数の結合相互作用で、中心金属原子と結合することができる、多座化学基を指す。キレート化基及び金属原子の組合せはキレートである。キレート化基の金属原子との結合は、非共有相互作用又は結合によるものであることができ、一部の実施形態では、キレート化基の金属原子との結合は、多重配位結合によるものである。

40

【0063】

AAは、DOTA（1, 4, 7, 10-テトラアザシクロデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸）、TETA（1, 4, 8, 11-テトラアザシクロテトラデカン-1, 4, 8, 11-四酢酸）、SarAr（1-N-（4-アミノベンジル）-3, 6, 10, 13, 16, 19-ヘキサアザビシクロ[6.6.6]-エイコサン-1, 8-ジアミン、NOTA（1, 4, 7-トリアザシクロノナン-1, 4, 7-三酢酸）、NODAGA（2

50

、2'-（7-（4-（（2-アミノエチル）アミノ）-1-カルボキシ-4-オキソブチル）-1,4,7-トリアゾナン-1,4-ジイル）二酢酸）、HYNIC（6-ヒドラジノニコチン酸）、NETA（4-[2-（ビス-カルボキシメチルアミノ）-エチル]-7-カルボキシメチル-[1,4,7]トリアゾナン-1-イル）酢酸、TRAP（1,4,7-トリアザシクロノナン-1,4,7-トリス[メチル（2-カルボキシエチル）ホスフィン酸]）、HBED（N,N-ビス（2-ヒドロキシベンジル）-エチレンジアミン-N,N-二酢酸）、2,3-HOPO（3-ヒドロキシピリジン-2-オン）、PCTA（3,6,9,15-テトラアザビシクロ[9.3.1]-ペンタデカ-1（15）,11,13-トリエン-3,6,9,-三酢酸）、DFO（デスフェリオキサミン）、DTPA（ジエチレントリアミン五酢酸）、OCTAPA（N,N-ビス（6-カルボキシ-2-ピリジルメチル）-エチレンジアミン-N,N-二酢酸）、H₂macropa（N,N'-ビス[（6-カルボキシ-2-ピリジルメチル）-4,13-ジアザ-18-クラウン-6]）、H₂dedpa（1,2-[（カルボキシ）-ピリジン-2-イル]-メチルアミノ]エタン、β-ル-ジアミノプロピオン酸、アスパラギン酸、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）及びシステインを含むEC20ヘッド、並びに前述のいずれかの誘導体からなる群から選択されるキレート化基又はキレート剤を含んでもよい。ある特定の実施形態では、AAは、前述のキレート剤のいずれかのラジカルを含んでもよい。

10

【0064】

ある特定の実施形態では、AAは、放射性イメージング、放射線療法又は磁気共鳴イメージングに適切な同位体（又は金属）と共有結合している基のラジカルである又はそれを含んでもよい。

20

【0065】

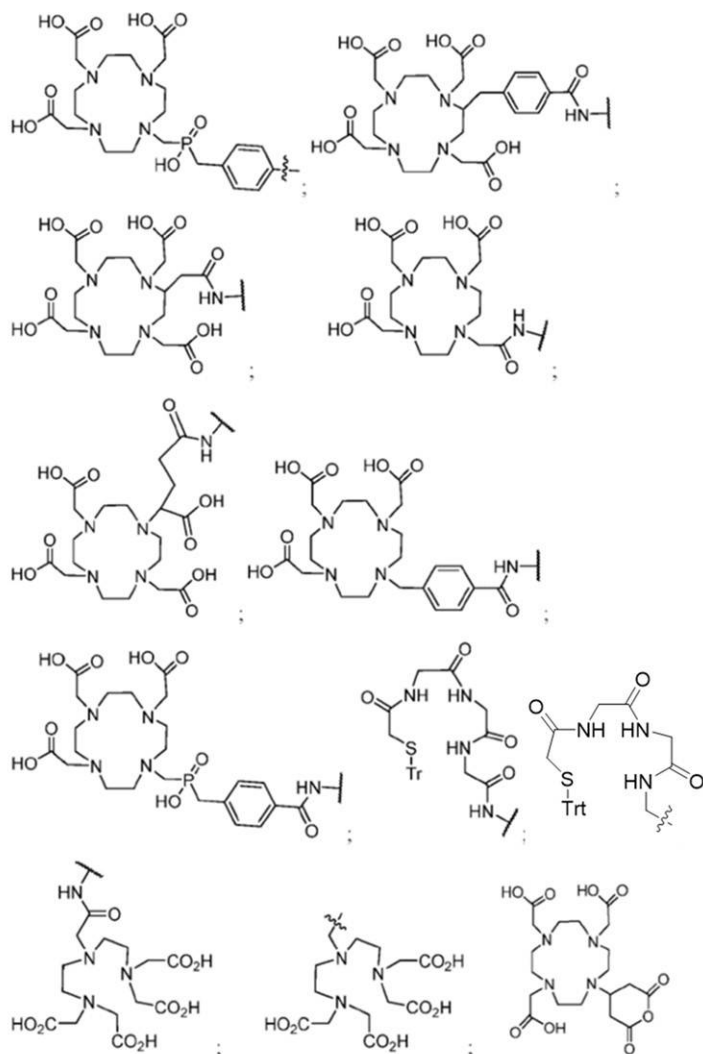
代表的なキレート化基は、

30

40

50

【化 2 8】



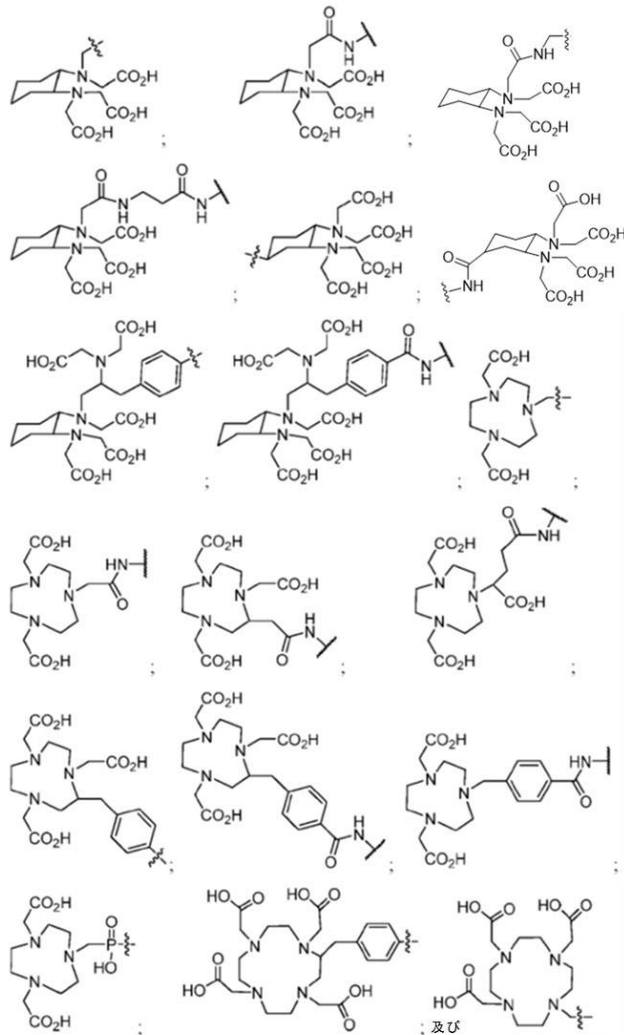
10

20

30

40

50



10

20

30

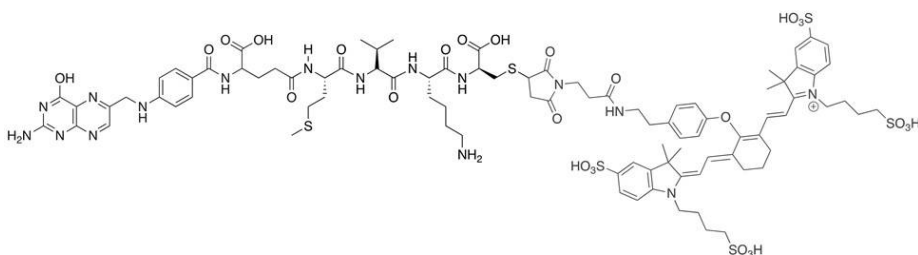
を包含する（１又は２以上の CO_2H （ COOH ）のプロトン（ H^+ ）が除去されて COO^- を形成する等、その遊離塩基を包含する）がこれらに限定されない。ある特定の実施形態では、各キレート化剤は、放射性イメージング、放射線療法又は MR イメージングに適切な同位体（又は金属）と結合されていてもよい。

【００６６】

コンジュゲート／化合物

一部の実施形態では、コンジュゲート（例えば、化合物）は、次の構造を有する。

【化２９】



40

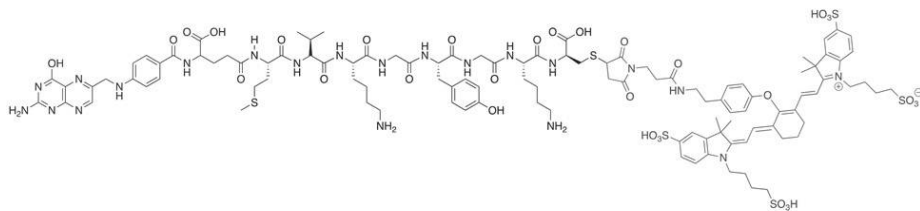
(BBM1 (MVKC))

【００６７】

一部の実施形態では、コンジュゲートは、次の構造を有する。

50

【化 3 0】



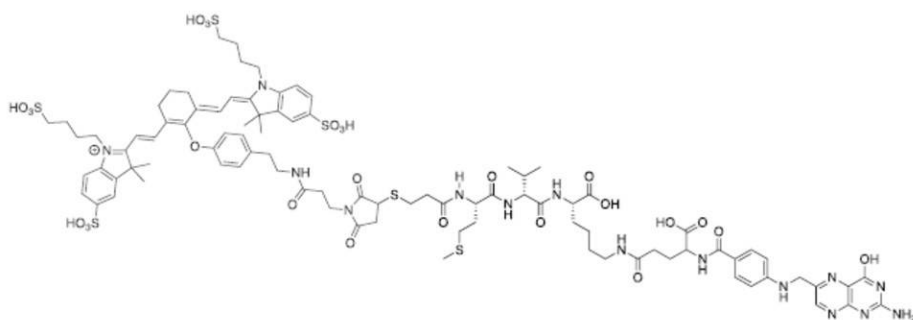
(BBM2 (MVKGYGKC))

【0068】

10

一部の実施形態では、コンジュゲートは、次の構造を有しうる。

【化 3 1】



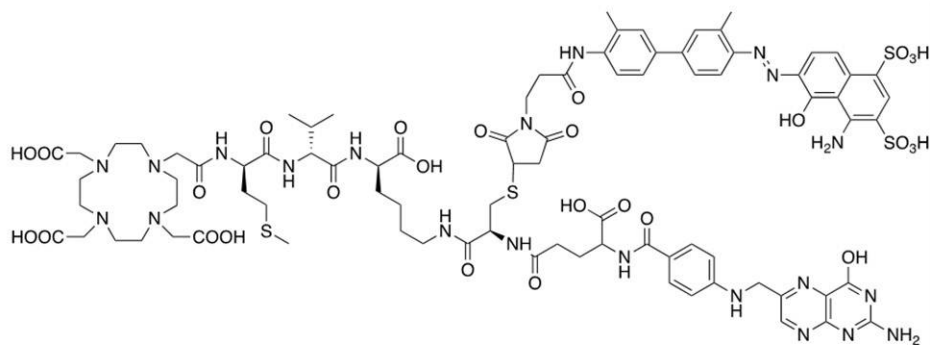
20

(BBM3 (MVK))

【0069】

コンジュゲートは、次の構造を有しうる。

【化 3 2】



30

BBM4(DOTA-MVK(EB-葉酸)-OH)

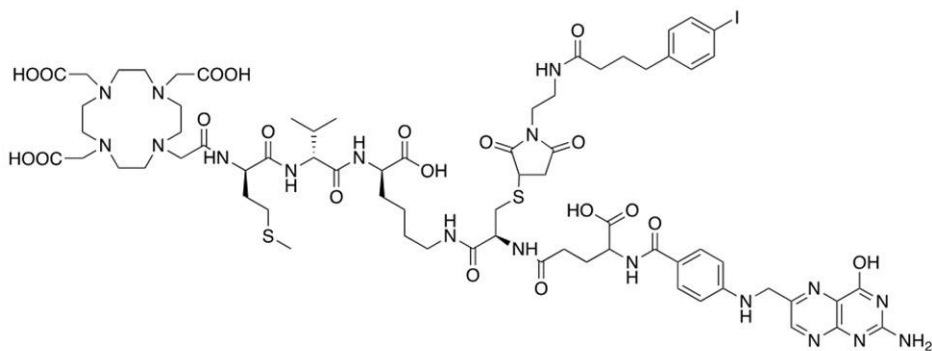
40

【0070】

コンジュゲートは、次の構造を有しうる。

50

【化 3 3】



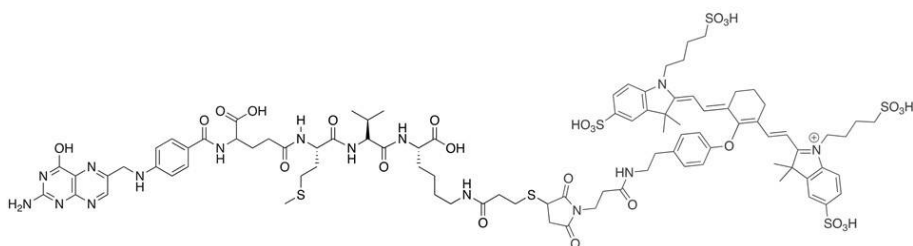
10

BBM5(DOTA-MVK(IP-葉酸)-OH

【0071】

コンジュゲートは、次の構造を有する。

【化 3 4】

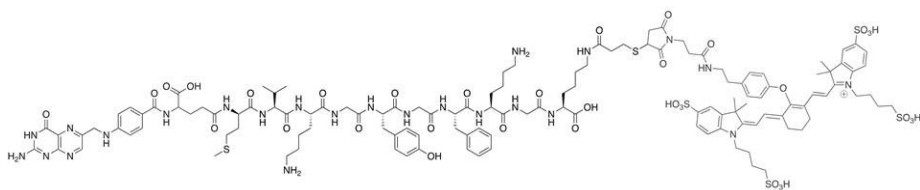


20

【0072】

コンジュゲートは、次の構造を有する。

【化 3 5】

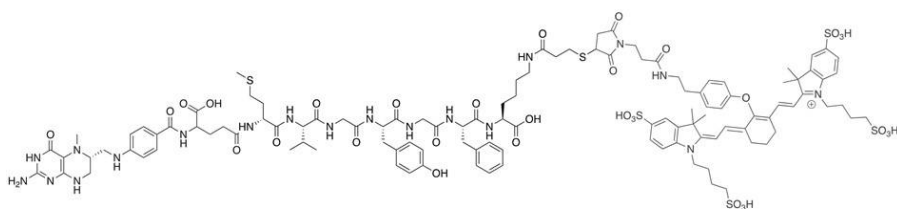


30

【0073】

コンジュゲートは、次の構造を有する。

【化 3 6】



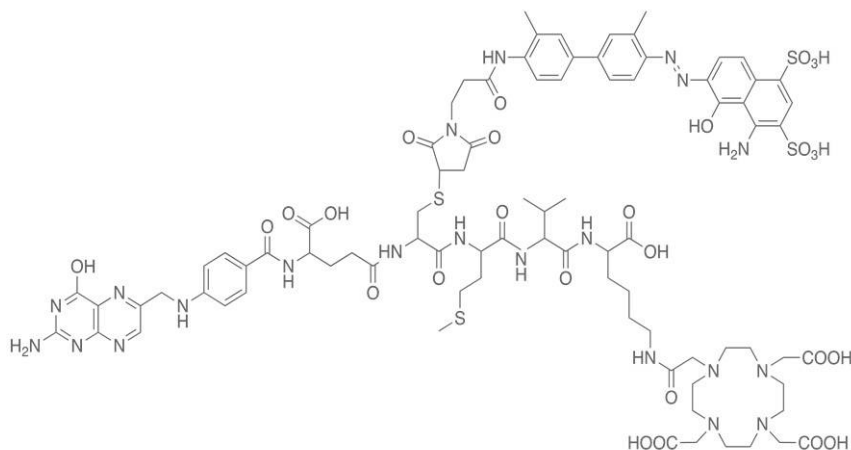
40

【0074】

コンジュゲートは、次の構造を有する。

50

【化 3 7】

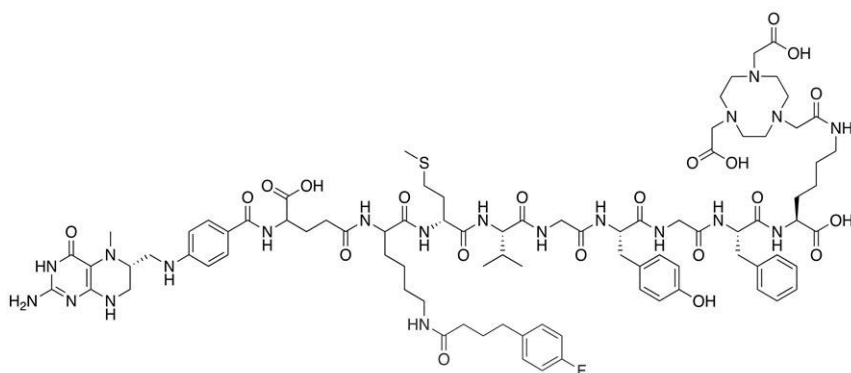


10

【0075】

コンジュゲートは、次の構造を有しうる。

【化 3 8】

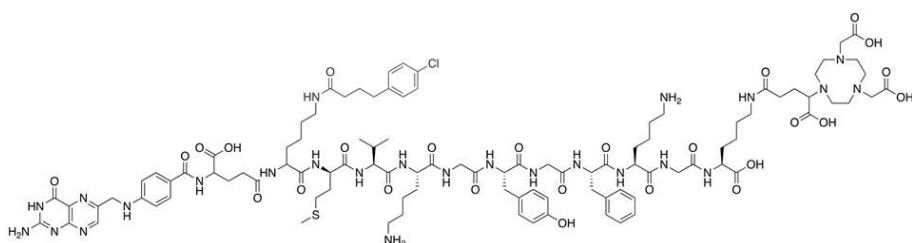


20

【0076】

コンジュゲートは、次の構造を有しうる。

【化 3 9】



30

【0077】

コンジュゲートは、1 若しくは 2 以上のキラル中心を含有しうるか、又はそうでなければ、鏡像異性体、ジアステレオマー及び鏡像異性的に若しくはジアステレオマー的に富化された混合物等の複数の立体異性体として存在しうる。別段の記載がない限り、化合物のすべての立体異性形態が企図されることが意図されている。コンジュゲートがアルケン二重結合を含有する場合、別段の定めがない限り、これは、E 及び Z 幾何異性体（例えば、シス又はトランス）の両方を包含することが意図されている。同様に、すべての考えられる異性体、並びにそれらのラセミ及び光学的に純粋な形態、並びにすべての互変異性形態も、包含されることが意図されている。

40

【0078】

コンジュゲートは、幾何異性体として存在することができる。用語「幾何異性体」は、

50

アルケン二重結合の E 又は Z 幾何異性体（例えば、シス又はトランス）を示す。当業者ならば、化合物は、1 又は 2 以上の水素原子が重水素で置き換えられることを意味する「重水素化」され得ることがさらに理解するであろう。

【0079】

コンジュゲートは、非溶媒和形態、及び水和形態を包含する溶媒和形態で存在することができる。概して、溶媒和形態は、非溶媒和形態と等価である。コンジュゲートは、複数の結晶性又は非晶質形態で存在することができる。概して、すべての物理的形態は、企図されている使用に対して等価である。式は、薬学的に許容される塩（例えば、酸付加及び塩基塩）、水和物及び／又は溶媒和物を包含する。

【0080】

組成物、投与ルート及び投薬

ある特定の実施形態では、医薬組成物は、複数のコンジュゲート及び薬学的に許容される担体を含む。用語「薬学的に許容される担体」は、ヒト又は他の脊椎動物への投与に適切な、1 又は 2 以上の適合する固体若しくは液体充填剤、希釈剤又は封入物質（encapsulating substances）を意味する。用語「担体」は、活性成分を組み合わせる適用を容易にする、天然又は合成の有機又は無機成分を意味する。担体は賦形剤であってもよい。担体の選定は、特定の投与モード、溶解度及び安定性に対する担体の効果、並びに剤形の性質等の要因によって決まりうる。本明細書において記述されている通りのコンジュゲートの送達に適切な医薬組成物及びそれらの調製のための方法は、例えば、Remington: The Science & Practice of Pharmacy, 21st edition (Lippincott Williams & Wilkins, 2005)において見られうる。

【0081】

組成物の成分は、所望の医薬品の効率を実質的に損なうであろう相互作用がないようにして、化合物と、及び互いに混ざり合ってもよい。

【0082】

組成物は、1 又は 2 以上のコンジュゲートを薬学的に許容される担体と組み合わせることによって調製することができ、1 又は 2 以上の追加の成分と組み合わせてもよい。製剤は、薬学的に許容される液剤で投与することができ、これは、薬学的に許容される濃度の塩、緩衝剤、保存剤、適合する担体、アジュバントを日常的に含有してもよく、他の治療成分を含有してもよい。

【0083】

コンジュゲートは、そのまま（未希釈）又は薬学的に許容される塩の形態で投与することができ、1 又は 2 以上の他の治療剤を加えていてもよい。薬剤において使用される場合、塩は、薬学的に許容されるものであるべきだが、薬学的に許容されない塩を好都合に使用して薬学的に許容されるその塩を調製してもよい。そのような塩は、以下の酸から調製されるものを包含するがこれらに限定されない：塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、マレイン酸、酢酸、サリチル酸、p-トルエンスルホン酸、酒石酸、クエン酸、メタンスルホン酸、ギ酸、マロン酸、コハク酸、ナフタレン-2-スルホン酸及びベンゼンスルホン酸。また、そのような塩は、カルボン酸基のナトリウム、カリウム又はカルシウム塩等のアルカリ金属又はアルカリ土類塩として調製されうる。

【0084】

適切な酸付加塩は、非毒性塩を形成する酸から形成される。例証的な例は、酢酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ベシル酸塩、重炭酸塩／炭酸塩、重硫酸塩／硫酸塩、ホウ酸塩、カンシル酸塩、クエン酸塩、エジシル酸塩、エシル酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グルセプト酸塩、グルコン酸塩、グルクロン酸塩、六フッ化リン酸塩、ヒベンズ酸塩、塩酸塩／塩化物、臭化水素酸塩／臭化物、ヨウ化水素酸塩／ヨウ化物、イセチオン酸塩、乳酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メシル酸塩、メチル硫酸塩、ナフチル酸塩、2-ナブシル酸塩、ニコチン酸塩（nicotinate）、硝酸塩、オロチン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、リン酸塩／リン酸水素塩／リン酸二水素塩、糖酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、トシル酸塩及びトリフルオロ酢酸塩を包含する

10

20

30

40

50

がこれらに限定されない。

【0085】

本明細書において記述されているコンジュゲートの適切な塩基塩は、非毒性塩を形成する塩基から形成される。例証的な例は、アルギニン塩、ベンザチン塩、カルシウム塩、コリン塩、ジエチルアミン塩、ジオールアミン塩、グリシン塩、リジン塩、マグネシウム塩、メグルミン塩、オラミン塩、カリウム塩、ナトリウムトロメタミン塩及び亜鉛塩を包含するがこれらに限定されない。ヘミ硫酸塩及びヘミカルシウム塩等の酸及び塩基のヘミ塩も形成されうる。

【0086】

投与のための組成物及び／又は剤形は、少なくともおよそ90%、およそ95%、およそ96%、およそ97%、およそ98%、およそ99%又はおよそ99.5%の純度のコンジュゲートから調製されうる。投与のための組成物及び／又は剤形は、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%又は少なくとも99.5%の純度のコンジュゲートから調製されうる。

10

【0087】

薬学的に許容される担体は、ありとあらゆる溶媒、分散媒、コーティング、抗菌及び抗真菌剤、等張及び吸収遅延剤等、並びに生理学的に適合するそれらの組合せを包含してもよい。担体は、非経口投与に適切であってもよい。薬学的に許容される担体は、滅菌水溶液又は分散体、及び滅菌注射用溶液又は分散体の即席調製物のための滅菌散剤を包含する。そのような担体（又は賦形剤）の例は、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、種々の糖、デンプン、セルロース誘導体、ゼラチン、及びポリエチレングリコール等のポリマーを包含するがこれらに限定されない。1又は2以上の他の活性剤を組成物に組み込むこともできる。

20

【0088】

組成物は、液体、例えば、懸濁剤又は液剤として製剤化されうる。液体製剤は、水、エタノール、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、メチルセルロース又は適切な油、並びに1又は2以上の乳化剤及び／又は懸濁化剤を含んでもよい。液体製剤は、固体の再構成によって調製されうる。

【0089】

医薬製剤（例えば、非経口投与用）は、水溶性形態の活性化合物の水溶液を包含する。加えて、活性コンジュゲート及び／又は化合物の懸濁液は、適切な油性注射懸濁剤として調製されうる。水性懸濁剤は、コンジュゲートを、単独で又は1若しくは2以上の他の活性剤とさらに組み合わせて、適切な賦形剤と混和して含有しうる。賦形剤は、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガカントガム及びアカシアガム等の懸濁化剤；自然界のリン脂質、例えば、レシチン等の分散又は湿潤剤；アルキレンオキシドと脂肪酸との凝縮生成物、例えば、ステアリン酸ポリオキシエチレン；エチレンオキシドと長鎖脂肪族アルコールとの凝縮生成物、例えば、ヘプタデカエチレンオキシセタノール（heptadecaethyleneoxycycetanol）；ポリオキシエチレンソルビトールモノオレエート等のエチレンオキシドと脂肪酸及びヘキシトールに由来する部分エステルとの凝縮生成物；或いは、エチレンオキシドと脂肪酸及びヘキシトール無水物に由来する部分エステルとの凝縮生成物、例えば、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエートを包含する。水性懸濁剤は、1又は2以上の保存剤、例えば、アスコルビン酸又はエチル、*n*-プロピル若しくは*p*-ヒドロキシ安息香酸塩、及び1又は2以上の着色剤も含有しうる。ある特定の実施形態では、水性懸濁剤は、ゴマ油等の脂肪油、又はオレイン酸エチル若しくはトリグリセリド等の合成脂肪酸エステル、又はリポソームを包含する、適切な親油性溶媒又は媒体をさらに含んでもよい。懸濁剤は、コンジュゲートの溶解度を増大させ、高濃度溶液の調製を可能にするために、適切な安定剤又は剤を含有していてもよい。

30

40

【0090】

代替として、組成物は、使用前の適切な媒体、例えば滅菌パイロジェンフリー水による

50

構成用の粉末形態であってもよい。水の添加による水性懸濁液の調製に適切な分散性の散剤及び顆粒剤は、活性成分を、懸濁化剤、分散又は湿潤剤、及び1又は2以上の保存剤と混和して提供することができる。追加の賦形剤、例えば着色剤も存在させることができる。

【0091】

適切な乳化剤は、自然界のガム、例えば、アカシアガム又はトラガカントガム；自然界のリン脂質、例えば、大豆レシチン；並びに、脂肪酸及びヘキシトール無水物に由来する部分エステル、例えば、ソルビタンモノオレエートを包含するエステル、及び部分エステルとエチレンオキシドとの凝縮生成物、例えば、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエートを包含する。等張剤、例えば、糖、マンニトール、ソルビトール等の多価アルコール、又は塩化ナトリウムが組成物中に包含されうる。注射用組成物の持続的吸収は、吸収を遅延させる1又は2以上の剤、例えば、モノステアリン酸塩及びゼラチンを組成物中に包含することによって達成されうる。

10

【0092】

療法又は治療において使用するために、有効量のコンジュゲート又は組成物は、化合物を所望の表面に送達するあらゆるモードによって対象に投与されうる。組成物を投与することは、当業者に公知のあらゆる手段によって遂行されうる。投与ルートは、静脈内、筋肉内、腹腔内、膀胱内（膀胱）、経口、皮下、直接的注射（例えば、腫瘍又は膿瘍への）、粘膜（例えば、目への局所）、吸入及び局所を包含するがこれらに限定されない。

20

【0093】

経口投与のために、コンジュゲートは、コンジュゲートを、当技術分野において周知の薬学的に許容される担体と組み合わせることにより、容易に製剤化されうる。そのような担体は、コンジュゲートが、治療される対象による経口摂取用の、錠剤、丸剤、糖衣錠剤、カプセル剤、液体剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー剤、懸濁剤等として製剤化されるようにできる。経口使用のための医薬調製物は、固体賦形剤として取得することができ、得られた混合物を細碎し、所望ならば適切な助剤を添加した後、顆粒剤の混合物を加工して、錠剤又は糖衣錠剤コアを取得してもよい。適切な賦形剤は、特に、ラクトース、スクロース、マンニトール又はソルビトールを含む糖等の充填剤；例えば、トウモロコシデンプン、小麦デンプン、コメデンプン、バレイショデンプン、ゼラチン、トラガカントガム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム及び／又はポリビニルピロリドン（PVP, polyvinyl pyrrolidone）等のセルロース調製物である。所望ならば、架橋PVP、寒天若しくはアルギン酸又はアルギン酸ナトリウム等のそれらの塩等、崩壊剤を添加することができる。経口製剤は、例えば、内部酸状態を中和するためのEDTA等の生理食塩水若しくは緩衝液中で製剤化してもよいし、又はいかなる担体もなしに投与されてもよい。

30

【0094】

化合物の経口剤形も企図されている。コンジュゲートは、誘導体の経口送達が効果的であるように化学的に修飾されうる。概して、企図されている化学修飾は、少なくとも1つの部分の化合物自体との結合であり、この部分は、（a）酸加水分解の阻害、及び（b）胃又は腸から血流中への取込を可能にする。付加的に又は代替的に、コンジュゲートは、体内におけるそれらの全体的な安定性及び循環時間を増大させるように修飾されうる。安定性及び／又は循環時間を増大させるために使用されうる部分の例は、ポリエチレングリコール、エチレングリコール及びプロピレングリコールのコポリマー、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、PVP並びにポリプロリンを包含する。例えば、Abuchowski and Davis, "Soluble Polymer-Enzyme Adducts," In: Enzymes as Drugs, Hocenberg and Roberts, eds., Wiley-Interscience, New York, N.Y., pp. 367-383 (1981); Newmark et al., J Appl Biochem 4:185-189 (1982)を参照されたい。使用されうる他のポリマーは、ポリ-1,3-ジオキソラン及びポリ-1,3,6-チオキソカンである。医薬的用法には、上記で指し示した通り、ポリエチレングリコール部分が適切である。

40

50

【0095】

着色剤及び／又は香味剤が包含されうる。例えば、化合物は、（リポソーム又はミクロスフェア封入等によって）製剤化することができ、次いで、着色剤及び香味剤を含有する冷蔵飲料等の食用製品内にさらに含有されうる。

【0096】

経口投与のための例証的な型は、錠剤、カプセル剤、エリキシル剤、シロップ剤等を包含するがこれらに限定されない。

【0097】

ある特定の実施形態では、コンジュゲートは、血流中に、筋肉内に又は内臓器官内に直接投与されうる。そのような非経口投与に適切なルートは、静脈内、動脈内、腹腔内、胸腔内、硬膜外、脳室内、尿道内、胸骨内、頭蓋内、腫瘍内、筋肉内、鼻腔内及び皮下を包含する。非経口投与に適切な手段は、針（顕微針を含む）注射器、無針注射器及び注入技術を包含する。コンジュゲート及び／又は組成物を全身に送達することが望ましい実施形態では、コンジュゲート及び／又は組成物は、注射による、例えば、ボラス注射又は持続注入による非経口投与のために製剤化されうる。注射用製剤は、単位剤形で、例えば、保存剤が添加されたアンプル中又は複数回用量容器内に提示されうる。組成物は、油性又は水性媒体中の懸濁液、溶液又はエマルション等の形態をとることができ、懸濁化、安定化及び／又は分散剤等の配合剤を含有しうる。

10

【0098】

非経口製剤は、典型的には、塩、炭水化物及び緩衝剤（好ましくは3～9のpHで）等の担体又は賦形剤を含有しうる水溶液であるが、一部の用途では、滅菌非水溶液として、又は滅菌パイロジェンフリー水等の適切な媒体と併せて使用される乾燥形態として、より適切に製剤化されてもよい。

20

【0099】

液体製剤は、コンジュゲートの非経口投与に適応されうる。滅菌条件下における、例えば滅菌条件下における凍結乾燥による非経口製剤の調製は、当業者に周知である標準的な薬学技術を使用して、容易に遂行されうる。コンジュゲートの溶解度は、溶解度増強剤の組み込み等の適切な製剤化技術の使用により、増大しうる。

【0100】

非経口投与用の製剤は、即時及び／又は調節された放出のために製剤化されうる。コンジュゲートは、徐放性製剤で、例えば緩徐放出ポリマーを包含する組成物で投与されうる。コンジュゲートは、インプラント及びマイクロカプセル化送達システムを含む制御放出製剤等の迅速放出からそれを保護するであろう担体を用いて調製されうる。エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、ポリ乳酸、及びポリ乳酸ポリグリコール酸コポリマー（PGLA, polylactic, polyglycolic copolymer）等の生分解性生体適合性ポリマーが使用されうる。そのような製剤の調製のための方法は、一般的に当業者に公知である。

30

【0101】

滅菌注射用溶液は、コンジュゲートを、単独で又は1若しくは2以上の他の活性剤とともに組み合わせ、必要とされる量で、適切な溶媒に、必要とされる際には上述した通りの成分の1つ又は組合せとともに組み込むこと、続いて、濾過滅菌によって、調製される。典型的には、分散体は、コンジュゲートを滅菌媒体に組み込むことによって調製され、これは、分散媒及び上述したうちのいずれかの追加の成分を含有する。滅菌注射用溶液の調製のための滅菌散剤の場合において、好ましい調製方法は、真空乾燥及びフリーズドライであり、これらは、活性成分プラス前もって滅菌濾過した溶液由来のいずれかの追加の所望の成分の粉末を得るか、又は成分は一緒に滅菌濾過されることで得られる。

40

【0102】

組成物は、液剤、マイクロ乳剤、リポソーム剤、又は高い薬物濃度に適した他の秩序だった構造として製剤化されうる。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール及び液体ポリエチレングリコール等）及びそれら

50

の適切な混合物を含有する、溶媒又は分散媒であってもよい。妥当な流動性は、例えば、レシチン等のコーティングの使用によって、分散体の場合には必要とされる粒子径の維持によって、及び界面活性剤の使用によって、維持されうる。

【0103】

コンジュゲート、又はコンジュゲートを含む組成物は、適切な場合、継続的に投与されうる。

【0104】

キット

キットが、また、さらに提供される。1を超えるコンジュゲートが投与される場合或いはコンジュゲートが1又は2以上の他の活性剤と同時に又は順次に（いずれかの順序で）投与される場合、コンジュゲート及び活性剤（又はそれらを含む組成物）をキット内で組み合わせることができる。少なくとも1つの実施形態では、キットは、コンジュゲート、又はコンジュゲートを含む組成物の少なくとも1つの投与単位を含む。少なくとも1つの実施形態では、キットは、第2の活性剤、又は第2の活性剤を含む組成物の少なくとも1つの投与単位を含む。「投与単位」は、1つの送達作業によって1回の投与で投与される組成物又はコンジュゲートを意味する。例えば、組成物が経鼻送達による経粘膜投与のために製剤化される実施形態では、投与単位は、1つの送達作業によって投与される組成物の体積又は投与される活性剤の量である。

【0105】

コンジュゲート及び活性剤は、固体又は液体形態で、同じ又は別個の容器、例えば、バイアル、分割されたボトル、分割されたホイル小包等の中にあってもよい。キットは、使用説明書も含有しうる。説明書は、紙に印刷されてもよいし、電子読み取り可能なメディアで供給されてもよいし、又は電子メール、テキストメッセージ、ソーシャルメディア、ウェブサイト等を介してインターネット上でアクセスされてもよい。ある特定の実施形態では、キットは、治療中のコンジュゲート及び／又は活性剤の投与手段をさらに含む。そのような投与手段は、例えば、シリンジ、止血帯、ステント、カニューレ及び／又はトロカールを包含してもよい。

【0106】

イメージング及び／又は治療の方法

対象における腫瘍（例えば、ガン）を、腫瘍の細胞、腫瘍に関連するマクロファージ（腫瘍関連マクロファージ（TAM））又は両方への、単独での又は光学イメージング剤とさらに組み合わせた標的放射能によって、イメージングする、治療する、又はイメージング及び治療する方法が、また、さらに提供される。。ある特定の実施形態では、方法は、対象に、有効量のコンジュゲート、又はコンジュゲートと薬学的に許容される担体とを含む組成物を投与するステップを含む。方法は、腫瘍をイメージングするステップをさらに含む。イメージングは、光学イメージング、PET又はSPECTによるものであってもよい。

【0107】

ある特定の実施形態では、対象における腫瘍（例えば、ガン）をイメージングする、治療する、又はイメージング及び治療する方法は、（例えば、ガン患者の）腫瘍細胞を、本明細書において提供されるいずれかの式の化合物（例えば、コンジュゲート）と接触させるステップを含む。

【0108】

したがって、ガンのある患者においてガン（例えば、腫瘍）をイメージングするための方法が提供される。ある特定の実施形態では、方法は、対象に、有効量のコンジュゲートを（例えば、医薬組成物の一部として又は別様に）投与するステップを含む。ある特定の実施形態では、方法は、対象をイメージングするステップをさらに含む。ある特定の実施形態では、方法は、対象において（例えば、コンジュゲートの投与後に又はそれと同時に発生的に）ガン（例えば、腫瘍）の画像を生成するステップをさらに含む。

【0109】

10

20

30

40

50

光学イメージングのための方法も提供される。ある特定の実施形態では、対象を光学イメージングするための方法は、対象に、有効量のいずれかのコンジュゲートを（例えば、医薬組成物の一部として又は別様に）投与するステップを含む。方法は、例えば蛍光ガイド手術用であってもよい。方法は、ラジオイメージング用であってもよい。方法は、MRI用であってもよい。

【0110】

方法は、1又は2以上の追加の療法及び／又は活性剤と組み合わせて使用されうる。そのような追加の療法は、限定されないが、免疫療法、DNA損傷応答経路阻害剤の投与、化学療法及び／又は手術を包含する。

【0111】

「有効量」は、治療されている疾患又は障害の兆候及び／又は症状のイメージング及び／又は緩和を包含するがこれらに限定されない、研究者、獣医、医師又は他の臨床医が求める対象（すなわち、組織、臓器、又は生物、例を挙げると、脊椎動物、例えばヒト等の哺乳動物）における所望の生物学的又は医薬的応答を誘起する、コンジュゲート又はそれを含む組成物の量を示す。一態様では、有効量は、あらゆる医学的治療に適用可能な合理的なベネフィット／リスク比で疾患の兆候及び／又は症状を治療又は緩和しうる、活性剤の量である。プロドラッグの有効量は、通常の代謝プロセスを経由して変換された場合に、対象において求められている所望の生物学的又は医薬的応答を誘起する量の活性薬を産生する、不活性プロドラッグの量である。治療における使用に関して、「有効量」は、所望の投与量レジメンの一部として（例えば、ヒト等の哺乳動物に）投与された場合に、治療される障害若しくは状態又は美容目的のための臨床的に許容される基準に従い、例えば、あらゆる医学的治療に適用可能な合理的なベネフィット／リスク比で、症状を緩和する、状態を寛解させる又は疾患の発症を減速させる、調製物中の化合物の量を指す。

【0112】

種々の活性剤並びに効力、相対的バイオアベイラビリティ、患者の体重、有害副作用の重症度及び投与モード等の重み付け係数の中から選定することにより、本明細書において提供される教示と組み合わせて、実質的な望ましくない毒性を引き起こさず、それにもかかわらず特定の対象を治療するために有効である、有効な防護的又は治療的処置レジメンが計画されうる。

【0113】

ガンの種類、投与ルート及び／又はコンジュゲートが局所的に若しくは全身にのいずれで投与されるかに応じて、約 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ ～約 $1\text{g}/\text{kg}$ の範囲内に収まる用量を包含する広範囲の容認できる投与量が本明細書において企図されている。単位1日投与量は、患者の状態、治療されているガン、投与ルート、組織分布、及び放射線療法又は組合せ療法における追加の薬物等の他の治療的処置の併用の可能性に応じて有意に変動しうる。患者に投与される有効量は、体表面積、質量、及び内科医による患者の状態の評価に基づく。治療有効用量（本明細書において「治療有効量」又は「有効量」とも称される）は、例えば、およそ $0.5\sim 20.0\text{mg}/\text{m}^2$ の範囲に及ぶことができる。

【0114】

いかなるコンジュゲートについても、有効量は、動物モデルから最初に決定されうる。有効用量は、ヒトにおいて試験された化合物及び他の関連する活性剤等の同様の薬理学的活性を呈することが公知であるコンジュゲート／化合物についてのヒトデータから決定することもできる。非経口投与には、より高用量が必要とされうる。いずれかの特定の用途のための有効量は、治療されている疾患若しくは状態、投与されている特定のコンジュゲート、対象のサイズ、又は疾患若しくは状態の重症度等の要因に応じて変動しうる。当業者ならば、必要以上の実験を要することなく、特定の化合物及び／又は他の治療剤の有効量を経験的に決定することができる。最大用量、すなわち、一部の医学的判断に従う最高安全用量を使用することができる。化合物の適切な全身レベルを達成するために、1日当たり複数回用量が使用されうる。適切な全身レベルは、例えば、患者の薬物のピーク又は持続的な血漿レベルの測定によって決定されうる。「用量」及び「投与量」は、本明細書

10

20

30

40

50

において交換可能に使用される。

【0115】

記述されている方法及び当技術分野において周知である他の方法に基づいて最大効能を達成するために用量を調整することは、十分に当業者の能力の範囲内である。投与量は、投与モードに応じて、局部的又は全身的な所望の薬物レベルを達成するために適切に調整されうる。例えば、静脈内投与のための用量は、1日当たり1桁～数桁低く変動しうる。対象における応答がそのような用量で不十分な場合、さらに高い用量が（又は有効なより高い用量が異なるより局在化された送達ルートによって）、患者の耐容性が許す程度まで用いられうる。1日当たり複数回用量は、化合物の適切な全身レベルを達成するように企画されている。

10

【0116】

コンジュゲートを投与するためのあらゆる有効なレジメンが使用されうる。投与量は、単回又は分割であることができ、q. d.、b. i. d.、t. i. d.、又はさらには1日おき、隔週（b. i. w.）、週に1回、月に1回、四半期に1回等を包含する多種多様なプロトコルに従い、投与されうる。これらの場合のそれぞれにおいて、本明細書において記述されている有効量は、投与の実例に、又は代替として、投薬プロトコルによって決定される通りの総1日、週、月若しくは四半期ごとの総用量に対応することが理解される。

【0117】

例えば、コンジュゲートは、単回用量として投与されうるか、又は用量は、分割され、1日複数回用量レジメンとして投与されうる。さらに、時差レジメン、例えば、週に1～5日は、毎日の治療の代替として使用されうる。そのような間欠又は時差1日レジメンは、毎日の治療と同等とみなされる。患者は、ガンを治療するために、コンジュゲートの複数回の注射で治療されうる。患者は、コンジュゲートを、例えば12～72時間間隔で又は48～72時間間隔で、複数回（例えば、およそ2～50回）注射されうる。コンジュゲートの追加注射は、最初の注射後数日又は数か月の間隔で患者に投与でき、追加注射は、ガンの再発を予防することができる。

20

【0118】

代替として、例えば、1か月間に投与される約15mgの総用量を提供するために、個々の用量及び投与量レジメンが選択されうる。コンジュゲートは、4週間ごとのサイクルで、4週目には投与せず、1、2及び3週目に1日単回用量を週5日で投与されうる。さらに、別の代替例では、コンジュゲートは、各4週間のサイクルで、2及び4週目には投与せず、1及び3週目に1日単回用量を週3日で投与されうる。また、さらに別の代替例では、コンジュゲートは、1及び2週目に週2日（すなわち、3週間のサイクルの1、4、8及び11日目に）投与されうる。さらなる代替例として、コンジュゲートは、1及び2週目に週に1回（すなわち、3週間のサイクルの1及び8日目に）投与されうる。

30

【0119】

「対象」は、ヒト患者；げっ歯類（例えば、マウス、ラット又はハムスター）、ウサギ、サル、チンパンジー等の実験動物；イヌ、ネコ若しくはウサギ等の家庭内動物；雌ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ若しくはヤギ等の農業動物；又は、クマ、パンダ、ライオン、トラ、ヒョウ、ゾウ、シマウマ、キリン、ゴリラ、イルカ若しくはクジラ等の飼育下の野生動物であってもよい。

40

【0120】

ガンは、良性腫瘍及び悪性腫瘍を包含する腫瘍原性又は非腫瘍原性である、ガン細胞集団であってもよい。ガンは、生殖細胞系列又は体細胞変異によって自発的に生じることができるか、或いはガンは、化学的に、ウイルス的に又は放射線的に誘発されうる。ガンは、癌腫、肉腫、リンパ腫、黒色腫、中皮腫、上咽頭癌、白血病、腺癌及び骨髄腫を包含するがこれらに限定されない。ガンは、肺ガン、骨ガン、膵臓ガン、皮膚ガン、頭部ガン、頸部ガン、皮膚黒色腫、眼球内黒色腫、子宮ガン、卵巣ガン、子宮内膜ガン、平滑筋肉腫、直腸ガン、胃ガン、結腸ガン、乳ガン、トリプルネガティブ乳ガン、卵管癌、子宮内膜

50

癌、子宮頸癌、膣癌、外陰癌、ホジキン病、食道ガン、小腸ガン、内分泌系のガン、甲状腺ガン、副甲状腺ガン、非小細胞肺癌、小細胞肺癌、副腎ガン、軟部組織の肉腫、尿道ガン、陰茎ガン、前立腺ガン、慢性白血病、急性白血病、リンパ球性リンパ腫、胸膜中皮腫、膀胱ガン、バーキットリンパ腫、尿管ガン、腎臓ガン、腎細胞癌、腎盂癌、中枢神経系（CNS, central nervous system）の新生物、原発性CNSリンパ種、脊髄軸腫瘍、脳幹神経膠腫、下垂体腺腫、胆管癌、ヒュルトレ細胞甲状腺ガン又は胃食道接合部の腺癌であってもよい。

【0121】

他の定義

別段の定義がない限り、本明細書において使用されるすべての技術的及び科学的用語は、化学及び生物学技術分野の当業者によって一般的に理解されているのと同じ意味を有する。加えて、本明細書及び添付の請求項において使用される場合、単数形「a」、「an」及び「the」は、内容上明確に別のことを指示するものでない限り、複数の指示対象を包含する。したがって、例えば、化合物／組成物が「an」アルキル又はアリールで置換されている場合、化合物／組成物は、少なくとも1のアルキル及び／又は少なくとも1のアリールで置換されていてもよい。

10

【0122】

「オキシ」は、=Oラジカルを示す。

【0123】

「アルキル」は、一般的に、1～15の炭素原子を有する（例えば、C₁－C₁₅アルキル）等の炭素及び水素原子だけからなる直鎖又は分岐状炭化水素鎖ラジカルを示す。本明細書において提供される「アルキル」の開示は、別段の記載がない限り、飽和「アルキル」の独立した列記を包含することが意図されている。アルキルは、1～13の炭素原子を含んでもよい（例えば、C₁－C₁₃アルキル）。アルキルは、1～8の炭素原子を含んでもよい（例えば、C₁－C₈アルキル）。アルキルは、1～5の炭素原子を含んでもよい（例えば、C₁－C₅アルキル）。アルキルは、1～4の炭素原子を含んでもよい（例えば、C₁－C₄アルキル）。アルキルは、1～3の炭素原子を含んでもよい（例えば、C₁－C₃アルキル）。アルキルは、1～2の炭素原子を含んでもよい（例えば、C₁－C₂アルキル）。アルキルは、1の炭素原子を含んでもよい（例えば、C₁アルキル）。アルキルは、5～15の炭素原子を含んでもよい（例えば、C₅－C₁₅アルキル）。アルキルは、5～8の炭素原子を含んでもよい（例えば、C₅－C₈アルキル）。アルキルは、2～5の炭素原子を含んでもよい（例えば、C₂－C₅アルキル）。アルキルは、3～5の炭素原子を含んでもよい（例えば、C₃－C₅アルキル）。他の実施形態では、アルキル基は、メチル、エチル、1-プロピル（n-プロピル）、1-メチルエチル（イソ-プロピル）、1-ブチル（n-ブチル）、1-メチルプロピル（sec-ブチル）、2-メチルプロピル（イソ-ブチル）、1, 1-ジメチルエチル（tert-ブチル）、1-ペンチル（n-ペンチル）から選択される。アルキルは、単結合により分子の残りと結合している。

20

30

【0124】

「アルコキシ」は、式-O-アルキルの酸素原子を経由して結合しているラジカルを示し、式中、アルキルは、上記で定義されている通りのアルキル鎖である。

40

【0125】

「アルキレン」又は「アルキレン鎖」は、一般的に、分子の残りをラジカル基と連結している1～12の炭素原子を有する等の直鎖又は分岐状二価アルキル基、例えば、メチレン、エチレン、プロピレン、i-プロピレン、n-ブチレン等を指す。

【0126】

「アリール」は、環炭素原子から水素原子を除去することによって芳香族単環式又は多環式炭化水素環系から誘導されたラジカルを示す。芳香族単環式又は多環式炭化水素環系は、水素及び5～18の炭素原子からの水素及び炭素のみを含有し、環系中の環のうちの少なくとも1つは完全に不飽和である、すなわち、これは、ヒュッケル理論に従う、非局

50

在化 ($4n+2$) π 電子系の環式を含有する。アリール基が誘導される環系は、ベンゼン、フルオレン、インダン、インデン、テトラリン及びナフタレン等の基を包含するがこれらに限定されない。

【0127】

「アラルキル」又は「アリール-アルキル」は、式 $-R^c-$ アリールのラジカルを示し、式中、 R^c は、上記で定義されている通りのアルキレン鎖、例えば、メチレン、エチレン等である。アラルキルラジカルは、アルキレン鎖について上述した通りに置換されていてもよい。

【0128】

「約」は、ある値又は範囲内の、例えば、定められている値の又は範囲の定められている限界の、10%以内、5%以内又は1%以内の変動の程度を可能にしうる。

10

【0129】

用語「を含む (comprising)」(及び「を含む (comprise)」若しくは「を含む (comprises)」又は「を有する」又は「を包含する」等の関連用語) は、記述されている特色「からなる」又は「から本質的になる」場合があるいずれかの化合物、組成物、方法、プロセス等の実施形態を除外することを意図していない。本明細書において例証として記述されている発明は、本明細書において具体的に開示されていないいかなる要素も限定も非存在下で適切に実施されうる。

【0130】

用語「ヘテロアルキル」は、アルキルの1又は2以上の骨格炭素原子がヘテロ原子で置換されている、上記で定義されている通りのアルキル基を示す(適切な数の置換基又は原子価で—例えば、 $-CH_2-$ は $-NH-$ 又は $-O-$ で置き換えられうる)。例えば、各置換炭素原子は、独立して、ヘテロ原子で置換されており、例を挙げると、炭素は、窒素、酸素、セレン又は他の適切なヘテロ原子で置換されている。一部の事例において、各置換炭素原子は、独立して、酸素、窒素(例えば、 $-NH-$ 、 $-N$ (アルキル)—若しくは $-N$ (アリール)—、又は本明細書において企図されている別の置換基を有する)又は硫黄(例えば、 $-S-$ 、 $-S(=O)-$ 又は $-S(=O)_2-$)の代用となっている。ヘテロアルキルは、ヘテロアルキルの炭素原子において分子の残りと結合している。ヘテロアルキルは、ヘテロアルキルのヘテロ原子において分子の残りと結合している。ヘテロアルキルは C_{1-8} ヘテロアルキルである。ヘテロアルキルは C_{1-12} ヘテロアルキルである。ヘテロアルキルは C_{1-6} ヘテロアルキルである。ヘテロアルキルは C_{1-4} ヘテロアルキルである。ヘテロアルキルは、本明細書において定義されている通りの、アルコキシ、アルコシアルキル、アルキルアミノ、アルキルアミノアルキル、アミノアルキル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルキル及びヘテロシクロアルキルアルキルを包含してもよい。

20

30

【0131】

用語「ラジカル」は、本明細書において使用される場合、分子の断片を示し、この断片は、結合形成のための開放原子価を有する。一価のラジカルは、別の化学基と1つの結合を形成することができるような1つの開放原子価を有する。別段の定めがない限り、分子のラジカルは、その分子からの1つの水素原子の除去によって作成されて、水素原子が除去された位置に1つの開放原子価を持つ一価のラジカルを作成する。適切な場合、ラジカルは、2、3又は4以上の水素原子又は他の基が除去されて、2、3又は4以上の化学基と結合することができるラジカルを作成した、二価、三価等であってもよい。適切な場合、ラジカル開放原子価は、除去された原子が、ラジカルを形成している分子中の全原子のごく一部(原子カウントの20%以下)である限り、水素原子以外(例えば、ハロゲン)の除去によって又は2若しくは3以上の原子(例えば、ヒドロキシル基)の除去によって作製されてもよい。

40

【0132】

「実質的に」は、ある値又は範囲内の、例えば、定められている値の又は範囲の定められている限界の、90%以内、95%以内又は99%以内の変動の程度を可能にしうる。

50

【0133】

本開示の概念が本明細書における図及び記述において例証及び詳細に記述され、図及びそれらの記述における結果は例示的なものとしてみなされるべきであり、特徴が制限されるものではないが、例証的な実施形態のみが示され記述されていること、並びに本開示の趣旨内に収まるすべての変更及び修正形態は保護されるよう所望されることが理解されている。実際に、提供される多数の具体的詳細は、本開示の徹底的な理解を提供するために明記されている。特定の例は、これらの具体的詳細の一部又は全部なしで実装されてよく、本開示は、特定の生物学的システム、特定のガン、又は特定の臓器若しくは組織に限定されず、当然ながら変動しうるが、本明細書において提供されるデータを考慮して適用可能なままであることを理解されたい。

10

【0134】

あらゆるすべての特許公報、非特許刊行物、及び本明細書で挙げられている参照テキストの内容全体は、本明細書と矛盾する何らかの開示又は定義がある場合に、本明細書における開示又は定義が優先すると考えられるものとするものを除き、参照により本明細書に組み込まれる。

【0135】

本開示の種々の技術及び機構は、時に、2成分間の接続又は連結を記述することになる。結合している、連結されている、カップリングされている、接続されている、及びそれらの語形変化を用いる同様の用語等の語は、差異が注記されている又は別段文脈から明確にされているのでない限り、交換可能に使用される。これらの語及び表現は、必ずしも直接接続を知らせるとは限らないが、媒介成分を経由する接続を包含する。注目すべき2成分の間に様々な他の成分があつてよいことから、2成分間の接続が必ずしも直接的で妨げられない接続を意味するとは限らないことに留意すべきである。結果として、接続は、別段の注記がない限り、必ずしも直接的で妨げられない接続を意味するとは限らない。

20

【0136】

見出し及び小見出しの使用は、参照を容易にするためだけであり、所与の見出し又は小見出し下の本開示の範囲を、その下に明記されている主題に限定することを意図していない。むしろ、いかなる見出し又は小見出し下の開示も、明示的に別段の指示がない限り又は文脈と矛盾しない限り、本明細書におけるすべての主題に適用可能である。

【実施例】

30

【0137】

以下の実施例は、本開示を例証するために役立ち、その範囲を何ら限定することを意図していない。

【実施例1】

【0138】

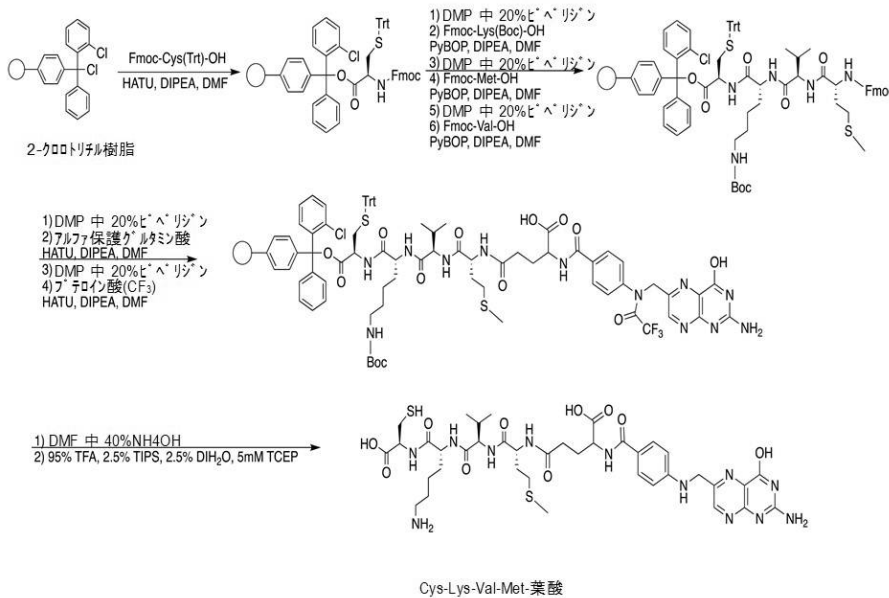
刷子縁膜 (BBM) リンカー M-V-K-C を持つ葉酸リガンドの合成

【0139】

40

50

【化 4 0】



10

【0140】

2-クロロトリチル樹脂を、樹脂1グラム当たり10mLのDCM中で膨潤させ、次いで濾過した。2.0当量の第1のアミノ酸を、樹脂1グラム当たり10mLのDCMに4.0当量のDIPEAとともに溶解し、次いで、樹脂に添加した。混合物を2時間にわたって攪拌し、次いで、樹脂1グラム当たり0.8mLのMeOHの30分間にわたる添加によりキャッピングした。樹脂を、2回DMF、次いでDCM、次いでMeOHで洗浄した。

20

【0141】

追加のアミノ酸及びペプチド模倣分子を、次の通りにペプチドとコンジュゲートさせた。最初に、樹脂3×を20%ピペリジン/DMF溶液(v/v)に懸濁ごとに20分間にわたって懸濁し、各懸濁の間のDMF、次いでDCM、次いでDMFの5回の洗浄によって、Fmocを脱保護した。次に、2当量の適切なアミノを、樹脂1グラム当たり20mLのDMFに2当量のHATU及び4当量のDIPEAとともに溶解した。溶液を5分間にわたってインキュベートし、次いで樹脂に添加し、不活性ガスで2～3時間にわたって泡立てた。

30

【0142】

カップリングステップを同じ条件下で繰り返した後、次のアミノ酸に進んだ。3当量のDOTA-tris(t-Buエステル)、HATU及び6当量のDIPEAをカップリングに使用した。MeOHですすいだばかりの1当量のPd(PPh₃)₄及び20当量のフェニルシランを、DCM中の樹脂に約0.05Mの濃度で、不活性ガス下、1時間にわたって添加することにより、Allocを脱保護した。樹脂を、DMF、N,N-ジエチルチオカルバミン酸ナトリウム(DMF中0.03M)及びDCMで3回洗浄した。COF₃で保護されたプテロイン酸(Pteoric acid)を、40%NH₄OH/DMF溶液(v/v)で6時間にわたって脱保護した。5mM TCEPを加えた95%TFA/2.5%TIPS/2.5%H₂O溶液を樹脂とともに1時間にわたってインキュベートすることにより、最終ペプチドコンジュゲートを切断した。切断生成物を氷冷ジエチルエーテルに沈殿させ、さらに精製することなくマレイミド担持染料とカップリングさせた。

40

【0143】

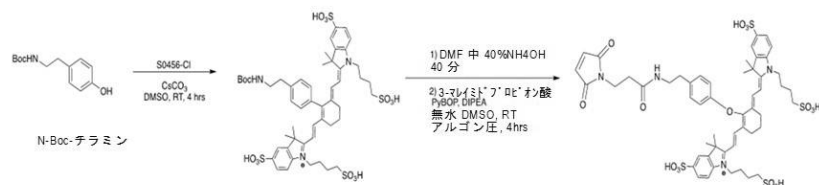
最終生成物を、RP-HPLC(Agilent Technologies社製; Santa Clara, CA; C18 10µm; 19mm×250mm)を使用して精製した。

【実施例2】

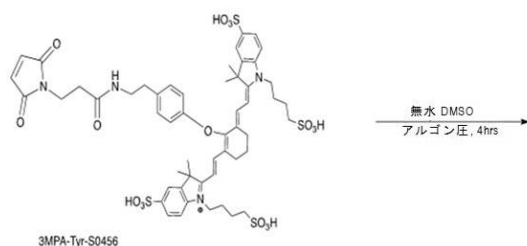
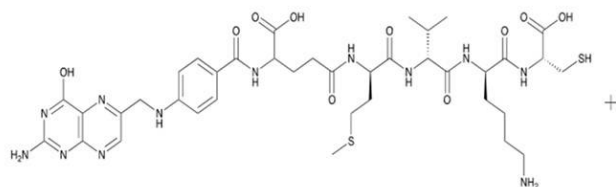
【0144】

50

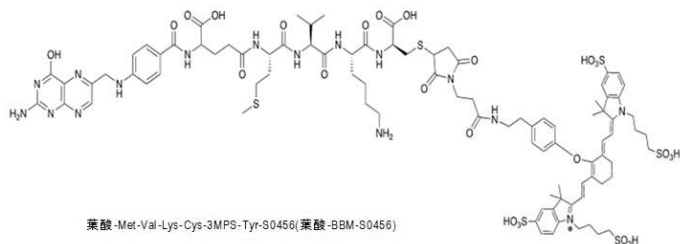
S 0 4 5 6 マレイミドの合成及び葉酸-M-V-K-C-S HのBBMリンカー（BBM1（MVKC））とのカップリング
【0145】
【化41】



10



20

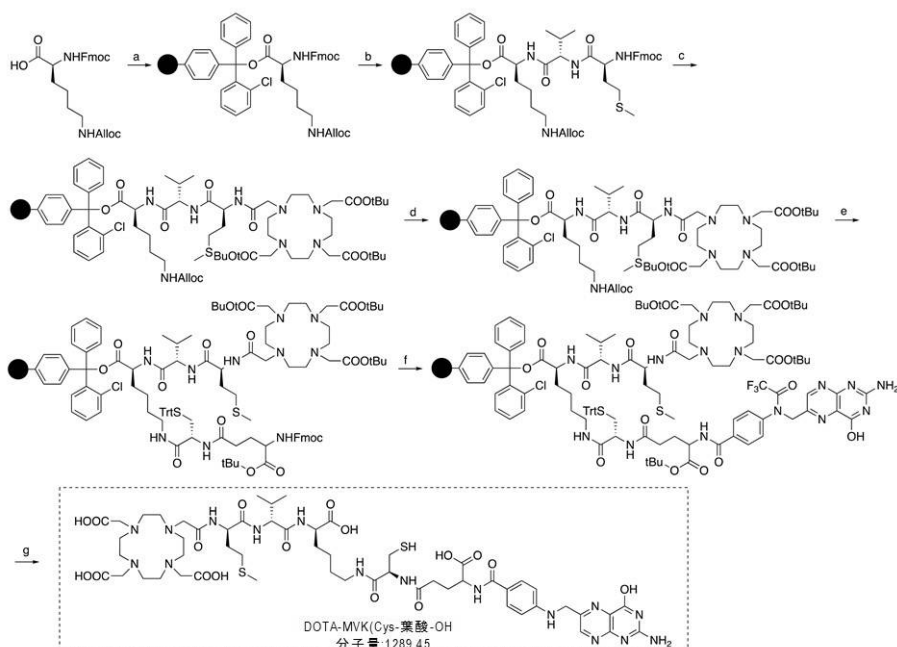


30

【0146】
S 0 4 5 6 マレイミド及びEvans Blueマレイミド（国際公開第WO／2019／165200号）を、以前に公開されたプロトコールに準拠して合成した。最終生成物を、R P-HPLC（Agilent Technologies社製；Santa Clara、CA；C18 10 μm；19mm×250mm）を使用して精製した。
【実施例3】
【0147】
BBM3（MVK）の合成
【0148】

40

【化 4 3】



10

20

30

40

50

【0153】

アルブミン結合剤カップリングのための葉酸-BBM-DOTA前駆体の合成：試薬及び条件：a) 2-クロロトリチル樹脂、DIPEA、DCM、室温 (rt, room temperature)、2時間；b) i. 20%ピペリジンDMF、Ar、20分 (×3)；ii. Fmoc-Val-OH、HATU、DIPEA、DMF、Ar、3時間 (×2)；iii. 20%ピペリジンDMF、Ar、20分 (×3)；iv. Fmoc-Met-OH、HATU、DIPEA、DMF、Ar、3時間 (×2)；c) i. 20%ピペリジンDMF、Ar、20分 (×3)；ii. DOTA-tris (t-Buエステル)、HATU、DIPEA、DMF、Ar、3時間；d) Pd (PPh₃)₄、フェニルシラン、DCM、Ar、1時間；e) i. Fmoc-Cys-OH、HATU、DIPEA、DMF、Ar、3時間 (×2)；ii. 20%ピペリジンDMF、Ar、20分 (×3)；iii. Fmoc-Glu-OtBu、HATU、DIPEA、DMF、Ar、3時間；f) i. 20%ピペリジンDMF、Ar、20分 (×3)；ii. N10-TFA-Pteoric acid、HATU、DIPEA、DMF；g) i. 50%NH₄OH DMF、Ar；ii. TCEP、95/2.5/2.5 TFA/TIPS/H₂O、1時間。

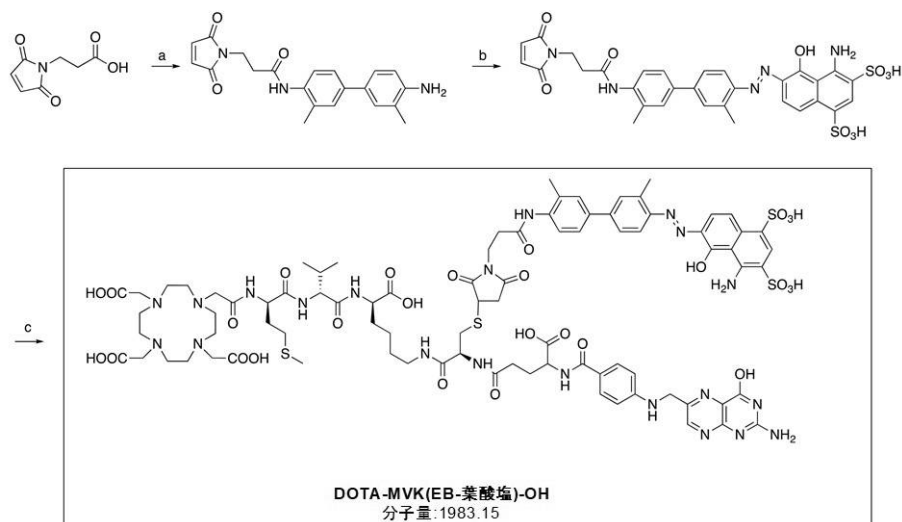
【実施例6】

【0154】

BBM4の合成

【0155】

【化 4 4】



10

【0156】

DOTA-MVK (EB-葉酸) -OHの合成。試薬及び条件：a) Tolidine、HATU、DIPEA、DMF、終夜；b) i. HCl、NaNO₂、ACN、H₂O、0℃、30分；ii. 1-アミノ-8-ナフトール-2,4-ジスルホン酸、NaHCO₃、H₂O、0℃～室温、1.5時間；c) DOTA-MVK (Cys-葉酸) -OH、DMSO、Ar、室温、4時間。

20

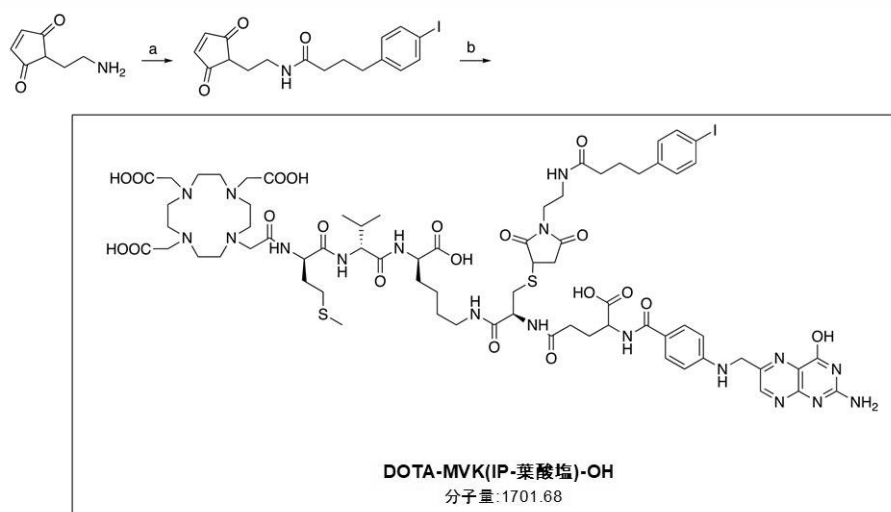
【実施例 7】

【0157】

BBM5の合成

【0158】

【化 4 5】



30

40

【0159】

DOTA-MVK (IP-葉酸) -OHの合成。試薬及び条件：a) 4-ヨードフェニル-酪酸、HATU、DIPEA、DMF、室温、3時間；b) DOTA-MVK (Cys-葉酸) -OH、DMSO、Ar、室温、4時間。

【実施例 8】

【0160】

50

フローサイトメトリーを介する葉酸標的化の検証

OTL38、BBM1及びBBM2のそれぞれを、葉酸欠乏培地中で事前に培養したKB細胞とともに、100倍過剰の葉酸グルコサミンの非存在下又は存在下、4℃で1時間にわたってインキュベートした。細胞を3回洗浄し、次いで、フローサイトメトリーを介して分析した。結果を図1A～1Cに示す。

【実施例9】

【0161】

葉酸コンジュゲート結合曲線

KB細胞を、染色緩衝液中、漸増濃度のOTL38、BBM1、BBM2又はBBM3とともに、4℃で1時間にわたってインキュベートし、染色緩衝液で3回洗浄し、リン酸緩衝生理食塩水に懸濁し、次いで、フローサイトメトリーを介して分析した。結果を図2A～2Dに示す。すべてのコンジュゲートの濃度を、蛍光を介して正規化した。50nmにおけるすべてのコンジュゲートは、葉酸グルコサミンとの競合を示した。

10

【実施例10】

【0162】

マウスにおけるインビボ研究

スイスウェブスターマウスを3週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育した。次いで、マウスに、1nmolのOTL38、BBM1又はBBM2を尾静脈注射し（1～2のマウス／コンジュゲート）、注射後24時間、1時間、3時間又は6時間で殺した。マウスを解剖し、それらの心臓、肺、肝臓、脾臓及び腎臓の蛍光をスキャンした。結果を、図3A及び3B、4A及び4B、5A及び5B、並びに6A及び6Bにそれぞれ示す。

20

【0163】

別個に、他のスイスウェブスターマウスを3週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、1nmolのOTL38、BBM1、BBM2又はBBM3を尾静脈注射した（1のマウス／コンジュゲート）。注射後1時間（1h p.i.）及び3時間（3h p.i.）で、マウスの蛍光をスキャンした。OTL38及びBBM3についての結果を、図7に示す。注射後3時間で、マウスを解剖し、それらの心臓、肺、肝臓、脾臓及び腎臓の蛍光をスキャンした。OTL38、BBM1、BBM2及びBBM3についての結果を、図8A及び8Bに示す。

【0164】

30

さらに別の実験では、スイスウェブスターマウスを3週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、5nmolのOTL38又はBBM3を尾静脈注射した（1のマウス／コンジュゲート）。注射後1時間（1h p.i.）、3時間（3h p.i.）、6時間（6h p.i.）及び24時間（24h p.i.）で、マウスの蛍光をスキャンした。結果を図9A及び9Bに示す。注射後24時間で、マウスを解剖し、それらの心臓、肺、肝臓、脾臓及び腎臓の蛍光をスキャンした。結果を図10に示す。

【0165】

またさらに別の実験では、3週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育した無胸腺ヌードマウスに、5nmolのOTL38、BBM1又はBBM2を尾静脈注射した（1のマウス／コンジュゲート）。注射後24時間時間で、マウスを解剖し、それらの腫瘍（KB）、心臓、肺、肝臓及び腎臓の蛍光をスキャンした。結果を図11に示す。

40

【0166】

3週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育した無胸腺ヌードマウスに、5nmolのOTL38又はBBM3を尾静脈注射した（1～2のマウス／コンジュゲート）。注射後1時間（1時間p.i.）、3時間（3時間p.i.）、6時間（6時間p.i.）及び24時間（24時間p.i.）で、腫瘍（MDA-MB-231）対腎臓においてマウスの蛍光をスキャンした。結果を図12に示す。

【0167】

無胸腺ヌードマウスを3週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、5nmolのOTL38又はBBM3を尾静脈注射した（1～2のマウス／コンジュゲート）。注射後1時間

50

(1時間 p. i.)、3時間 (3時間 p. i.)、6時間 (6時間 p. i.) 及び 24時間 (24時間 p. i.) で、腫瘍 (MDA-MB-231) 対腎臓においてマウスの蛍光をスキャンした。結果を図 13 に示す。

【0168】

無胸腺ヌードマウスを3週間以上にわたって葉酸欠乏食で飼育し、5 nmol の O T L 38 又は B B M 3 を尾静脈注射した (1~2 のマウス/コンジュゲート)。注射後 24 時間で、マウスを解剖し、それらの腫瘍 (MDA-MB-231)、心臓、肺、肝臓、脾臓及び腎臓の蛍光をスキャンした。結果を図 14 に示す。

【実施例 11】

【0169】

B B M 4 及び B B M 5 の ^{111}In による放射性標識

葉酸-DOTAコンジュゲートを酢酸アンモニウム (0.5 M、pH 8.0) で希釈して、0.5 mM の最終コンジュゲート濃度に到達させた。インジウム-111 ($^{111}\text{InCl}_3$) を添加して 1 MBq/nmol の比活性を取得し、次いで、10 分間にわたって 90°C に加熱した。ナトリウム-ジエチレントリアミン五酢酸溶液 (5 mM、pH 7.0) を添加して、あらゆる未反応の微量の放射性同位体を錯体化した。LabLogic Systems Ltd. 社 (Brandon, FL) から購入した Flow-RAM 検出器及び逆相 XBridge Shield RP18 カラム (3.0 × 50 mm、3.5 µm) とともに用いる Agilent 社製 1260 Infinity II によるラジオ HPLC によって、放射化学的純度を分析した。移動相は、20 mM 酢酸アンモニウム水性緩衝液 (pH 7) (A) 及びアセトニトリル (B) からなり、15 分間かけて 5% B ~ 95% B の線形勾配であった。放射化学的純度は、 ^{111}In 放射性標識葉酸-DOTAコンジュゲートについて 95% 以上であった。図 15 は、 ^{111}In -B B M 4 のラジオクロマトグラムである。図 16 は、 ^{111}In -B B M 5 のラジオクロマトグラムである。

【実施例 12】

【0170】

K B 細胞における ^{111}In -B B M 4 及び ^{111}In -B B M 5 の結合

K B 細胞 (200,000) を 24 ウェルアミンコーティングプレートに播種し、終夜接着させた。細胞が培養密度 (confluency) に到達したら、それらを漸増濃度の ^{111}In -B B M 4 又は ^{111}In -B B M 5 とともに、100 倍過剰の葉酸グルコサミンの非存在下又は存在下、室温で 1 時間にわたってインキュベートした。インキュベーション後、細胞を PBS で 3 回洗浄して非結合放射能を除去し、1.0 M NaOH に溶解した。試料をチューブに移し、Packard 社製 Cobra ガンマカウンターを使用して細胞結合放射能を測定した。ワンサイト特異的非線形当てはめを使用して、特異的結合定数を計算した。図 17 A は、K B 細胞におけるインジウム-111 放射性標識 B B M 4 コンジュゲートの結合を示す、濃度 (nM) 対 CPM のグラフである。図 17 B は、K B 細胞におけるインジウム-111 放射性標識 B B M 5 コンジュゲートの結合を示す、濃度 (nM) 対 CPM のグラフである。

【実施例 13】

【0171】

インビボにおける ^{111}In -B B M 4 及び ^{111}In -B B M 5 の結合

放射性スキャンは、パデュー大学の Bindley バイオサイエンスセンターのクラスター化マルチピンホール高エネルギーコリメーター (MILabs B.V. 社、Utrecht、The Netherlands) 付きの VECTOr/CT システムで実施した。12 週齢の雌 ND4 スイスウェブスターマウス及び 12 週齢の雌無胸腺 nu/nu マウスは、Envigo 社 (Indianapolis、IN) から購入した。すべてのマウスに、葉酸欠乏食及び水へのアクセスを自由に与えた。マウスを標準的な 12 時間の明/暗サイクルで飼育した。それらの肩に 5×10^6 MDA-MB-231 細胞を接種することにより、MDA-MB-231 腫瘍をおよそ 1 cm^3 まで増殖させた後、SPECT/CT スキャンを行った。各マウスには、尾静脈を介して最大 5 nmol の ^{111}In -B B M 4 又は ^{111}In

10

20

30

40

50

^{111}In -BBM5を静脈内に注射した。マウス（1群当たり $n=1$ ）に酸素中3%イソフルランで麻酔をかけ、全身スキャンを複数の時点で実施した。発光スキャンを15～60分間にわたって行った。CTスキャンは、60kV及び615 μA に設定したX線源で獲得した。SPECT画像を、U-SPECT IIソフトウェア並びに171及び241keVの ^{111}In γ -エネルギーウィンドウで再構築した。0.8mmのボクセルグリッド上で16サブセット及び4反復を用いてPOS-EMアルゴリズムを使用した。CT画像を、NReconソフトウェアを使用して再構築した。PMODソフトウェア（バージョン3.2）を使用して、データセットを融合させ、フィルタリングした。

【0172】

図18は、健康なマウスにおけるインジウム-111放射性標識BBM4コンジュゲート（ ^{111}In -BBM4）のSPECT/CT画像を示す。約250 μCi の ^{111}In -111で放射性標識されたものを1nmol注射した。黄色の矢印は腎臓を示す。図19は、健康なマウスにおけるインジウム-111放射性標識BBM5コンジュゲート（ ^{111}In -BBM5）のSPECT/CT画像を示す。約250 μCi の ^{111}In -111で放射性標識されたものを1nmol注射した。黄色の矢印は腎臓を示す。図20は、健康なマウスにおけるインジウム-111放射性標識BBM4コンジュゲート（ ^{111}In -BBM4）のSPECT/CT画像を示す。約250 μCi の ^{111}In -111で放射性標識されたものを5nmol注射した。黄色の矢印は腎臓を示す。

【実施例14】

【0173】

BBM4及びBBM5の ^{177}Lu による放射性標識

葉酸-DOTAコンジュゲートを酢酸アンモニウム（0.5M、pH8.0）で希釈して、0.5mMの最終コンジュゲート濃度に到達させた。ルテチウム-177（ $^{177}\text{LuCl}_3$ ）を添加して4MBq/nmolの比活性を取得し、次いで、10分間にわたって90℃に加熱した。ナトリウム-ジエチレントリアミン五酢酸溶液（5mM、pH7.0）を添加して、あらゆる未反応の微量の放射性同位体を錯体化した。LabLogic社（Brandon, FL）から購入したFlow-RAM検出器及び逆相XBridge Shield RP18カラム（3.0 $\times$ 50mm、3.5 μm ）とともに用いるAgilent社製1260 Infinity IIによるラジオHPLCによって、放射化学的純度を分析した。移動相は、20mM酢酸アンモニウム水性緩衝液（pH7）（A）及びアセトニトリル（B）からなり、15分間かけて5%B～95%Bの線形勾配であった。放射化学的純度は、 ^{177}Lu 放射性標識葉酸-DOTAコンジュゲートについて95%以上であった。図21は、 ^{177}Lu -BBM4のラジオクロマトグラムである。図22は、 ^{177}Lu -BBM5のラジオクロマトグラムである。

【実施例15】

【0174】

インビボにおける ^{177}Lu -BBM4及び ^{177}Lu -BBM5の結合

12週齢の雌無胸腺nu/nuマウスをEnvigo社から購入し、葉酸欠乏食及び水へのアクセスを自由に与えた。マウスを標準的な12時間の明/暗サイクルで飼育した。それらの肩に5 $\times$ 10⁶ KB細胞を接種することにより、KB腫瘍をおよそ300mm³まで増殖させた。療法研究の開始前に、マウスを対照又は治療群に無作為に分類した。0日目、マウスに、単回静脈内用量の滅菌生理食塩水、又は18MBqのルテチウム-177で放射性標識された5nmolのBBM4若しくはBBM5を、尾静脈を介して受けさせた。腫瘍を療法中1日おきに垂直の2方向に測定し、それらの体積を0.5 $\times$ L $\times$ W² [式中、Lは最長軸（単位ミリメートル）であり、WはLに垂直な軸（単位ミリメートル）である]として計算した。人道的エンドポイント基準は、初期体重の20%を超える重量損失、1,800mm³を超える腫瘍体積、又は開放性潰瘍形成として定義された。事前定義されたエンドポイント基準のうちの1つに到達したら、マウスを安楽死させた。

【0175】

図23Aは、 ^{177}Lu 放射性標識BBMコンジュゲートで処置したマウスにおけるK

B腫瘍の総体積を示す、日数対腫瘍体積 (mm^3) のグラフである。図23Bは、 ^{177}Lu 放射性標識BBMコンジュゲートで処置したマウスにおけるKB腫瘍の相対的サイズを示す、日数対相対的腫瘍サイズのグラフである。図23Cは、KB腫瘍がある及び ^{177}Lu 放射性標識BBMコンジュゲートで処置したマウスの相対的体重を示す、日数対相対的体重 (%) のグラフである。

【0176】

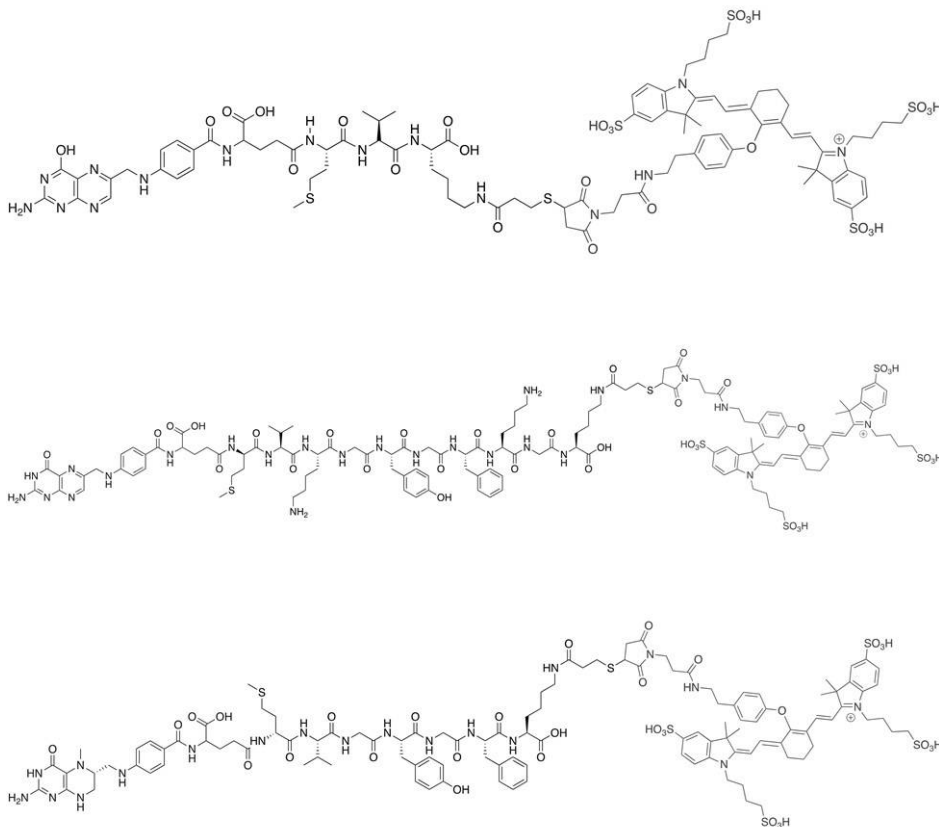
放射性スキャンは、パデュー大学のBindleyバイオサイエンスセンターのクラスター化マルチピンホール高エネルギーコリメーター (MILabs B.V.社、Utrecht、The Netherlands) 付きのVECTOr/CTシステムで実施した。スキャンされるマウスは、図23A～23Cにおける放射線療法治療群から選択した。マウス (1群当たり $n=1$) に酸素中3%イソフルランで麻酔をかけ、全身スキャンを複数の時点で実施した。発光スキャンを15～60分間にわたって行った。CTスキャンは、60 kV及び615 μA に設定したX線源で獲得した。SPECT画像を、U-SPECT IIソフトウェア及び208 keVの ^{177}Lu γ -エネルギーウィンドウで再構築した。0.8 mmのボクセルグリッド上で16サブセット及び4反復を用いてPOS-EMアルゴリズムを使用した。CT画像を、NReconソフトウェアを使用して再構築した。PMODソフトウェア (バージョン3.2) を使用して、データセットを融合させ、フィルタリングした。図24は、 ^{177}Lu 放射性標識BBM4コンジュゲートで処置したマウスのSPECT/CT画像を示す。約500 μCi の ^{177}Lu で放射性標識されたものを5 nmol注射した。上位の矢は腫瘍を示し、下位の矢は腎臓を示す。図25は、 ^{177}Lu 放射性標識BBM5コンジュゲートで処置したマウスのSPECT/CT画像を示す。約500 μCi の ^{177}Lu で放射性標識されたものを5 nmol注射した。上位の矢は腫瘍を示し、下位の矢は腎臓を示す。

【実施例16】

【0177】

BBM酵素不安定性リンカーを持つ葉酸染料コンジュゲート構造

【化46】



10

20

30

40

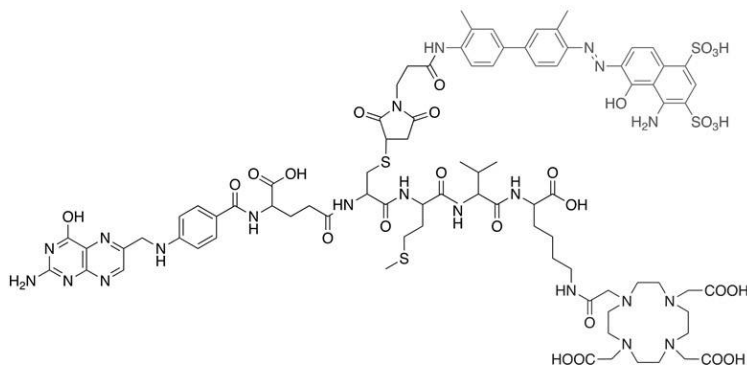
50

【実施例 17】

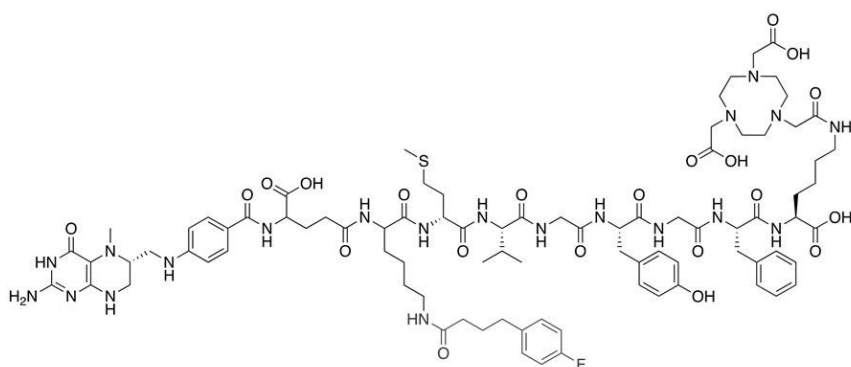
【0178】

B B M 酵素不安定性リンカーを持つ葉酸ラジオコンジュゲート構造

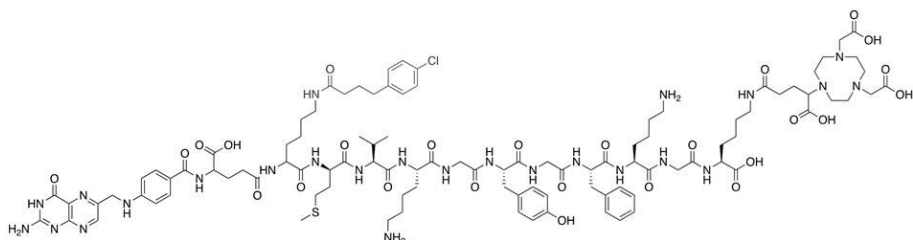
【化 47】



10



20



30

【0179】

(参考文献)

他の参考文献

1. Weitman, S. D.; Lark, R. H.; Coney, L. R.; Fort, D. W.; Frasca, V.; Zurawski, V. R.; Kamen, B. A., Distribution of the Folate Receptor GP38 in Normal and Malignant Cell Lines and Tissues. *Cancer Research* 1992, 52 (12), 3396.
2. Coney, L. R.; Tomassetti, A.; Carayannopoulos, L.; Frasca, V.; Kamen, B. A.; Colnaghi, M. I.; Zurawski, V. R., Cloning of a Tumor-associated Antigen: MOv18 and MOv19 Antibodies Recognize a Folate-binding Protein. *Cancer Research* 1991, 51 (22), 6125.
3. Garin-Chesa, P.; Campbell, I.; Saigo, P. E.; Lewis, J. L., Jr.; Old, L. J.; Rettig, W. J., Trophoblast and ovarian cancer antigen LK26. Sensitivity and specificity in immunopathology and molecular identification as a folate-binding protein. *The American journal of pathology* 1993, 142 (2), 557-567.
4. Parker, N.; Turk, M. J.; Westrick, E.; Lewis, J. D.; Low, P. S.; Lea

40

50

- mon, C. P., Folate receptor expression in carcinomas and normal tissues determined by a quantitative radioligand binding assay. *Analytical Biochemistry* 2005, 338 (2), 284-293.
5. Low, P. S.; Henne, W. A.; Doorneweerd, D. D., Discovery and Development of Folic-Acid-Based Receptor Targeting for Imaging and Therapy of Cancer and Inflammatory Diseases. *Accounts of Chemical Research* 2008, 41 (1), 120-129.
6. Low, P. S.; Kularatne, S. A., Folate-targeted therapeutic and imaging agents for cancer. *Current Opinion in Chemical Biology* 2009, 13 (3), 256-262.
7. Holm, J.; Hansen, S. I.; Hoier-Madsen, M.; Bostad, L., A high-affinity folate binding protein in proximal tubule cells of human kidney. *Kidney International* 1992, 41 (1), 50-55.
8. Birn, H.; Spiegelstein, O.; Christensen, E. I.; Finnell, R. H., Renal Tubular Reabsorption of Folate Mediated by Folate Binding Protein 1. *Journal of the American Society of Nephrology* 2005, 16 (3), 608.
9. Sandoval, R. M.; Kennedy, M. D.; Low, P. S.; Molitoris, B. A., Uptake and trafficking of fluorescent conjugates of folic acid in intact kidney determined using intravital two-photon microscopy. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 2004, 287 (2), C517-C526.
10. Zhou, P.; Sun, X.; Zhang, Z., Kidney-targeted drug delivery systems. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 2014, 4 (1), 37-42.
11. Muller, C.; Schibli, R., Prospects in Folate Receptor-Targeted Radionuclide Therapy. *Frontiers in Oncology* 2013, 3 (249).
12. Muller, C.; Struthers, H.; Winiger, C.; Zhernosekov, K.; Schibli, R., DOTA Conjugate with an Albumin-Binding Entity Enables the First Folic Acid-Targeted ¹⁷⁷Lu-Radionuclide Tumor Therapy in Mice. *Journal of Nuclear Medicine* 2013, 54 (1), 124-131.
13. Farkas, R.; Siwowska, K.; Ametamey, S. M.; Schibli, R.; van der Meulen, N. P.; Muller, C., ⁶⁴Cu- and ⁶⁸Ga-Based PET Imaging of Folate Receptor-Positive Tumors: Development and Evaluation of an Albumin-Binding NODAGA-Folate. *Molecular Pharmaceutics* 2016, 13 (6), 1979-1987.
14. Radford, L. L.; Fernandez, S.; Beacham, R.; El Sayed, R.; Farkas, R.; Benesova, M.; Muller, C.; Lapi, S. E., New ⁵⁵Co-labeled Albumin-Binding Folate Derivatives as Potential PET Agents for Folate Receptor Imaging. *Pharmaceutics* 2019, 12 (4).
15. Arano, Y.; Fujioka, Y.; Akizawa, H.; Ono, M.; Uehara, T.; Wakisaka, K.; Nakayama, M.; Sakahara, H.; Konishi, J.; Saji, H., Chemical Design of Radiolabeled Antibody Fragments for Low Renal Radioactivity Levels. *Cancer Research* 1999, 59 (1), 128-134.
16. Uehara, T.; Koike, M.; Nakata, H.; Hanaoka, H.; Iida, Y.; Hashimoto, K.; Akizawa, H.; Endo, K.; Arano, Y., Design, Synthesis, and Evaluation of [¹⁸⁸Re]Organorhenium-Labeled Antibody Fragments with Renal Enzyme-Cleavable Linkage for Low Renal Radioactivity Levels. *Bioconjugate Chemistry* 2007, 18 (1), 190-198.
17. Akizawa, H.; Uehara, T.; Arano, Y., Renal uptake and metabolism of radiopharmaceuticals derived from peptides and proteins. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2008, 60 (12), 1319-1328.
18. Akizawa, H.; Imajima, M.; Hanaoka, H.; Uehara, T.; Satake, S.; Arano, Y., Renal Brush Border Enzyme-Cleavable Linkages for Low Renal R

10

20

30

40

50

radioactivity Levels of Radiolabeled Antibody Fragments. Bioconjugate Chemistry 2013, 24 (2), 291-299.

19. Suzuki, C.; Uehara, T.; Kanazawa, N.; Wada, S.; Suzuki, H.; Arano, Y., Preferential Cleavage of a Tripeptide Linkage by Enzymes on Renal Brush Border Membrane To Reduce Renal Radioactivity Levels of Radiolabeled Antibody Fragments. Journal of Medicinal Chemistry 2018, 61 (12), 5257-5268.

20. Uehara, T.; Yokoyama, M.; Suzuki, H.; Hanaoka, H.; Arano, Y., A Gallium-67/68-Labeled Antibody Fragment for Immuno-SPECT/PET Shows Low Renal Radioactivity Without Loss of Tumor Uptake. Clinical Cancer Research 2018, 24 (14), 3309-3316.

21. Uehara, T.; Kanazawa, N.; Suzuki, C.; Mizuno, Y.; Suzuki, H.; Hanaoka, H.; Arano, Y., Renal Handling of 99mTc-Labeled Antibody Fab Fragments with a Linkage Cleavable by Enzymes on Brush Border Membrane. Bioconjugate Chemistry 2020, 31 (11), 2618-2627.

22. Bendre, S.; Zhang, Z.; Kuo, H.-T.; Rousseau, J.; Zhang, C.; Merckens, H.; Roxin, A.; Benard, F.; Lin, K.-S., Evaluation of Met-Val-Lys as a Renal Brush Border Enzyme-Cleavable Linker to Reduce Kidney Uptake of 68Ga-Labeled DOTA-Conjugated Peptides and Peptidomimetics. Molecules 2020, 25 (17), 3854.

23. Vaidyanathan, G.; Kang, C. M.; McDougald, D.; Minn, I.; Brummet, M.; Pomper, M. G.; Zalutsky, M. R., Brush border enzyme-cleavable linkers: Evaluation for reducing renal uptake of radiolabeled prostate-specific membrane antigen inhibitors. Nuclear Medicine and Biology 2018, 62-63, 18-30.

24. Radiopharmaceutical Agents (2020年4月24日に公開された中国特許出願公開第CN111065646A号).

25. Novel radiometal-binding compounds for diagnosis or treatment of prostate specific membrane antigen-expressing cancer (2019年4月25日に公開されたカナダ特許出願公開第CA3079906A1号).

26. Trifunctional constructs with tunable pharmacokinetics useful in imaging and anti-tumor therapies (2018年9月18日に公開された米国特許出願公開第2019/0015531号A1).

27. Folate conjugates of albumin-binding entities (2012年8月10日に公開された米国特許第9295739号B2).

10

20

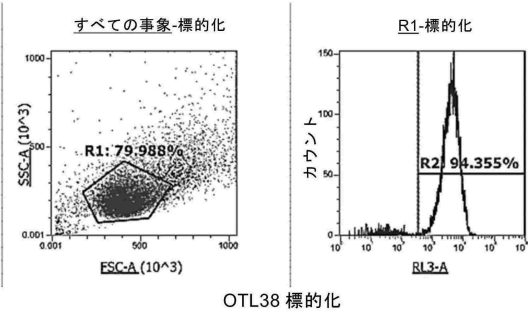
30

40

50

【図面】

【図 1 A】



【図 1 B】

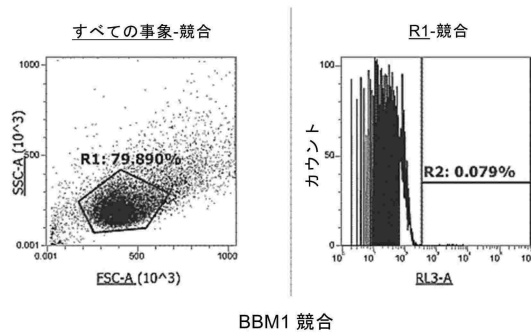
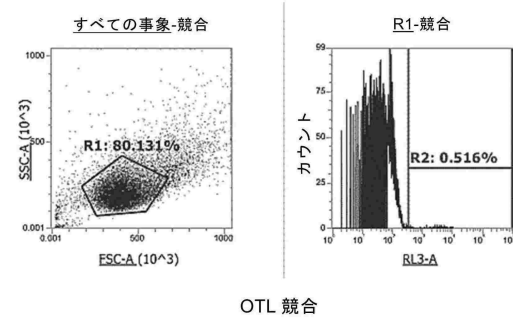
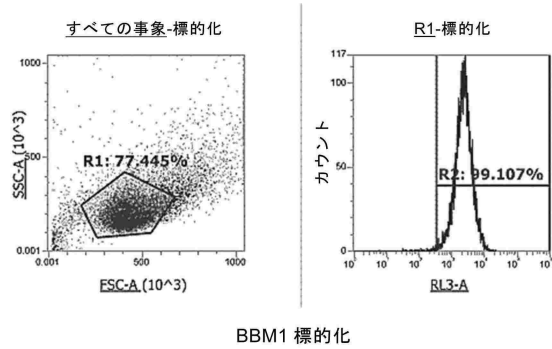
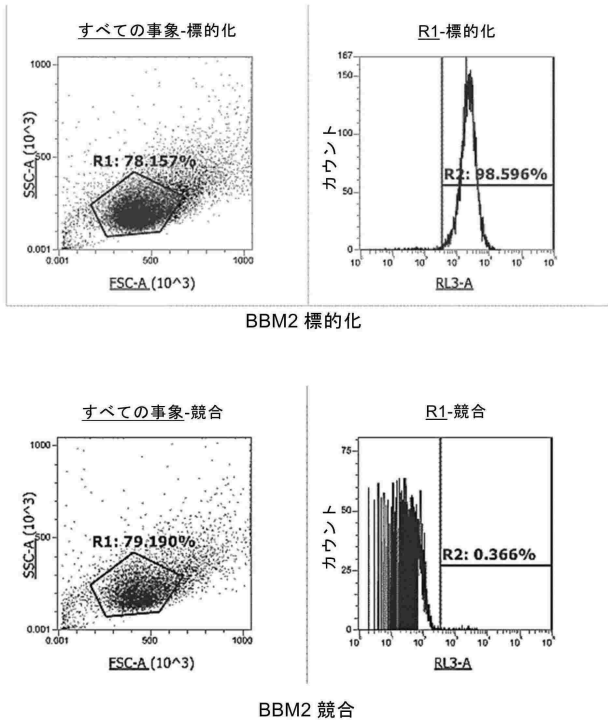


Fig. 1A

Fig. 1B

【図 1 C】



【図 2 A】

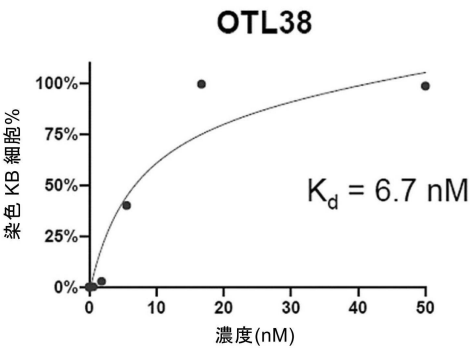


Fig. 2A

Fig. 1C

10

20

30

40

50

【図 2 B】

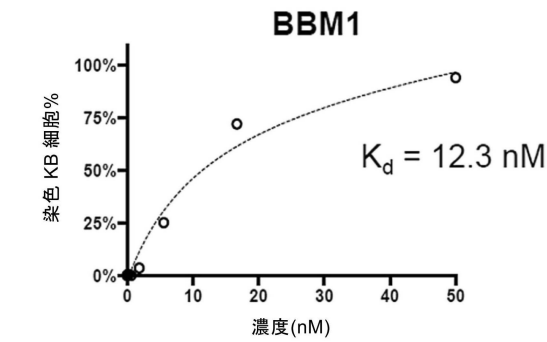


Fig. 2B

【図 2 C】

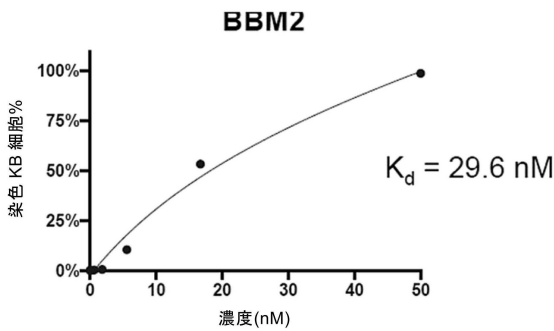


Fig. 2C

【図 2 D】

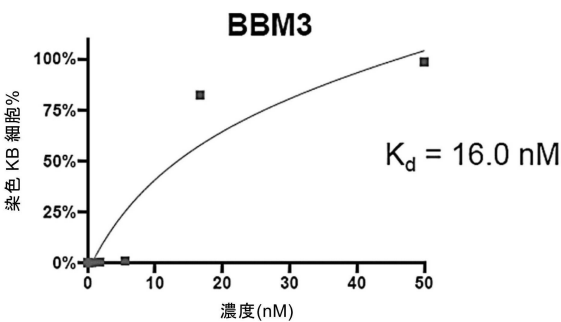


Fig. 2D

【図 3 A】

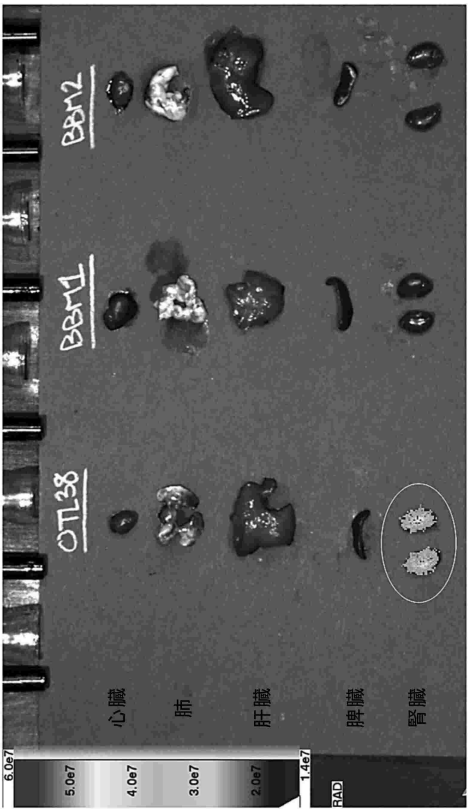


Fig. 3A

10

20

30

40

50

【図 3 B】

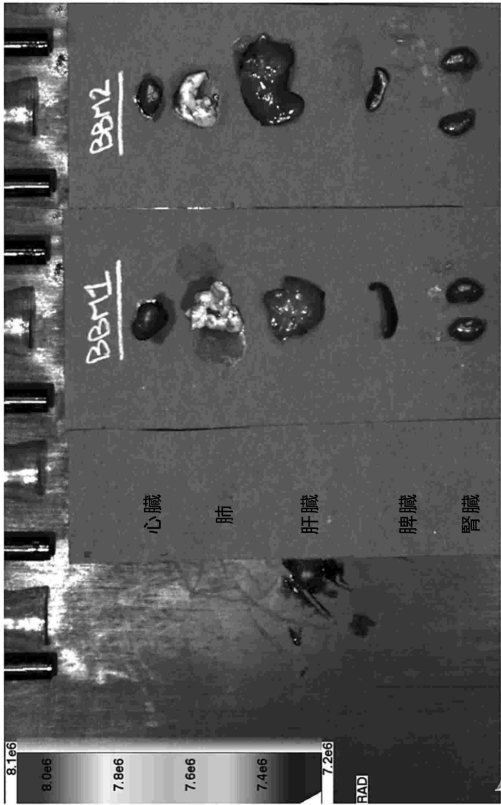


Fig. 3B

【図 4 A】

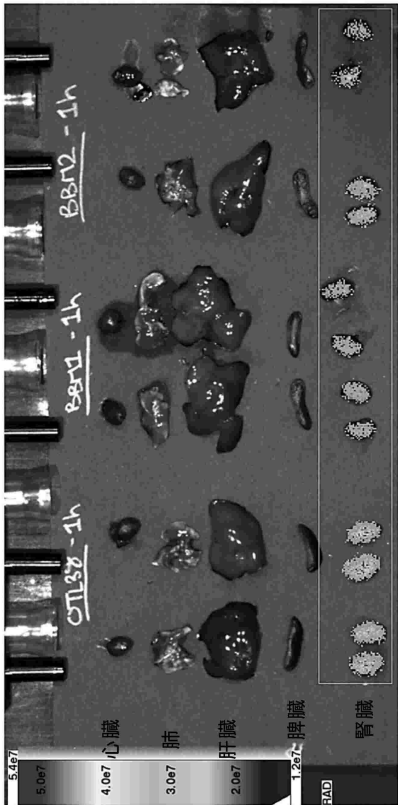


Fig. 4A

【図 4 B】



Fig. 4B

【図 5 A】



Fig. 5A

10

20

30

40

50

【図 5 B】

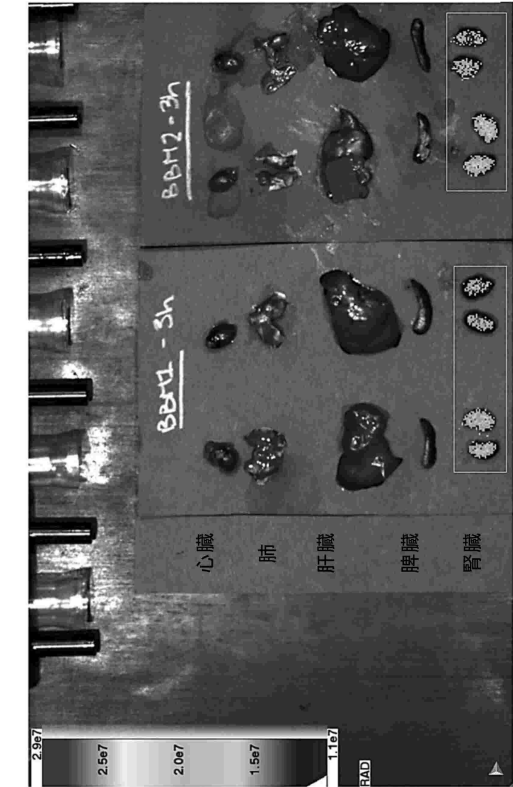


Fig. 5B

【図 6 A】

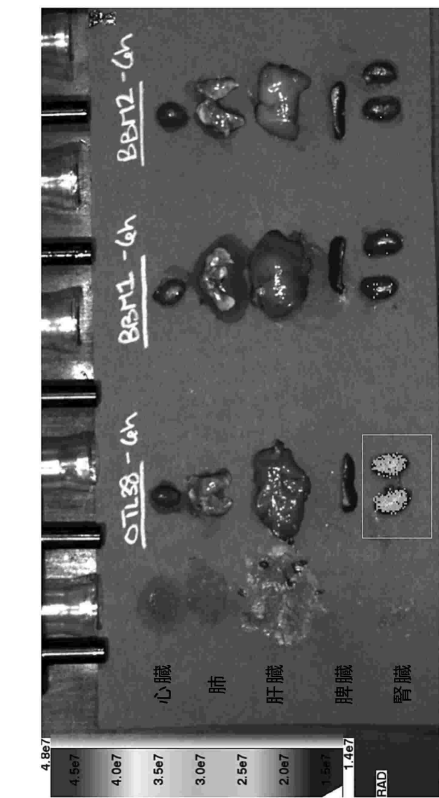


Fig. 6A

【図 6 B】



Fig. 6B

【図 7】

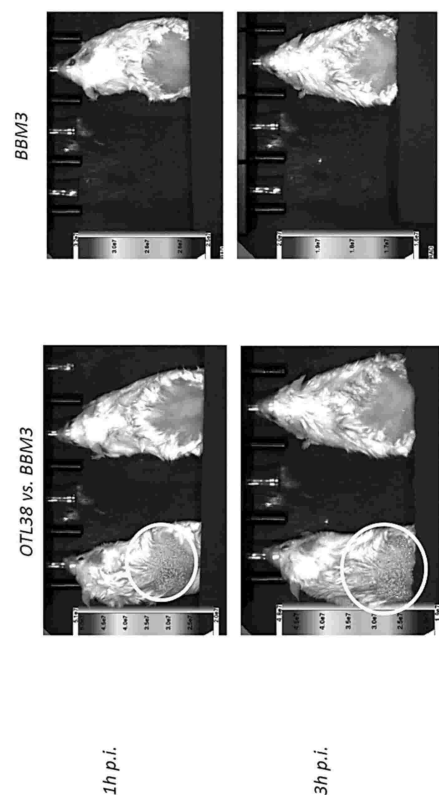


Fig. 7

10

20

30

40

50

【図 8 A】

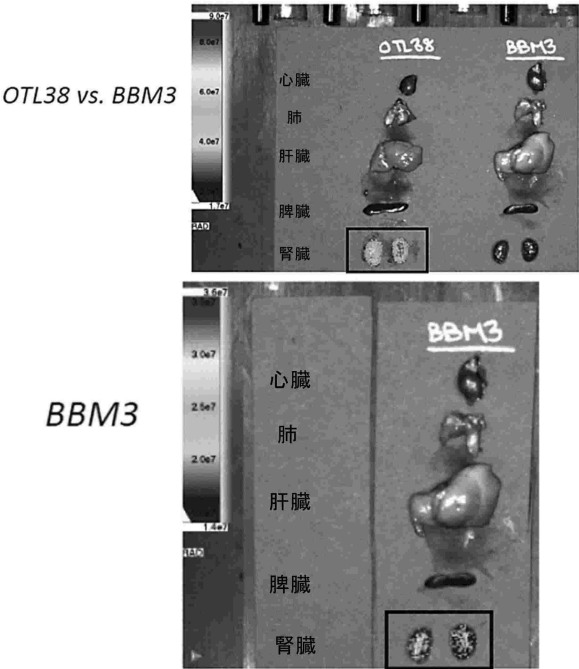


Fig. 8A

【図 8 B - 1】

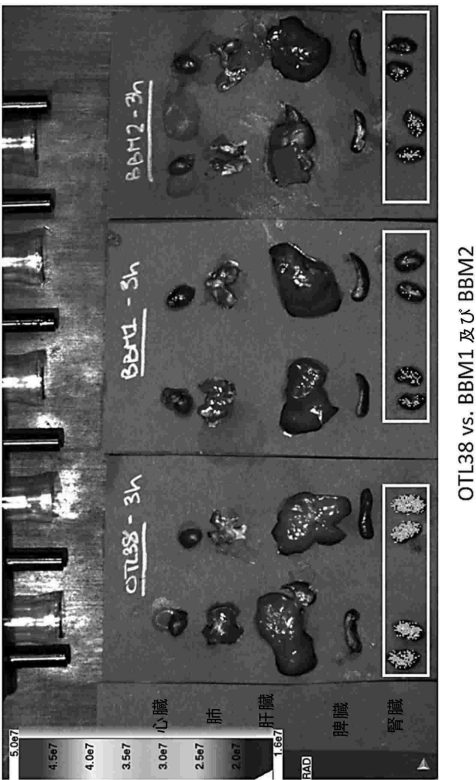


Fig. 8B

【図 8 B - 2】



Fig. 8B 続き

【図 9 A】

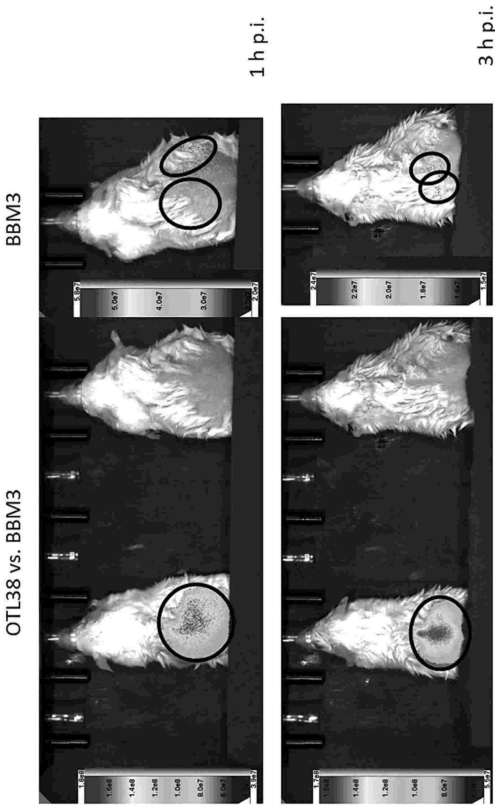


Fig. 9A

10

20

30

40

50

【図 9 B】

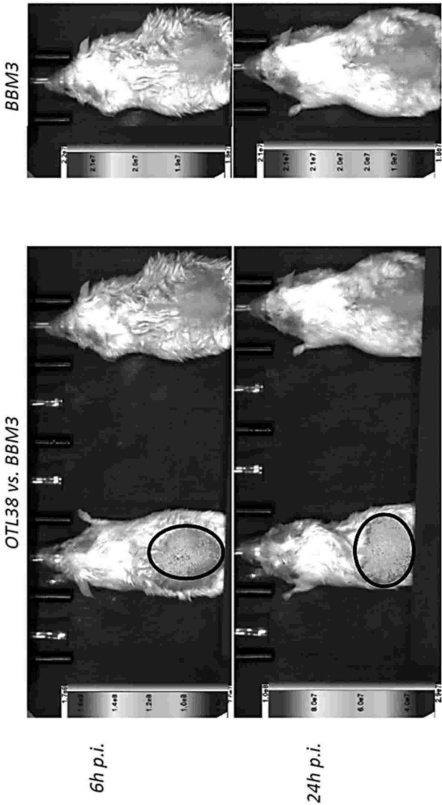


Fig. 9B

【図 1 0】

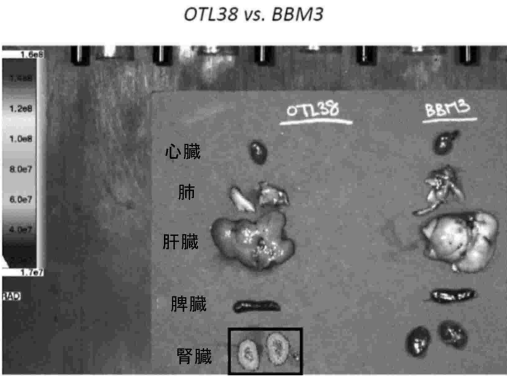


Fig. 10

【図 1 1】

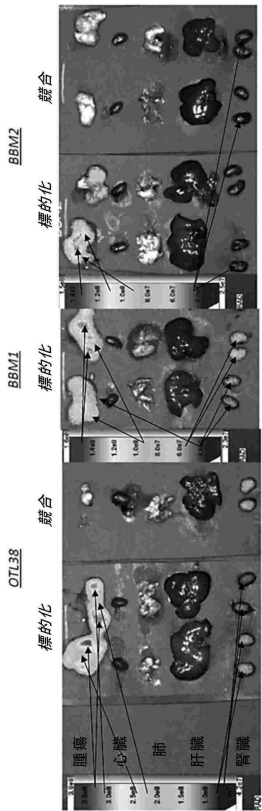


Fig. 11

【図 1 2】

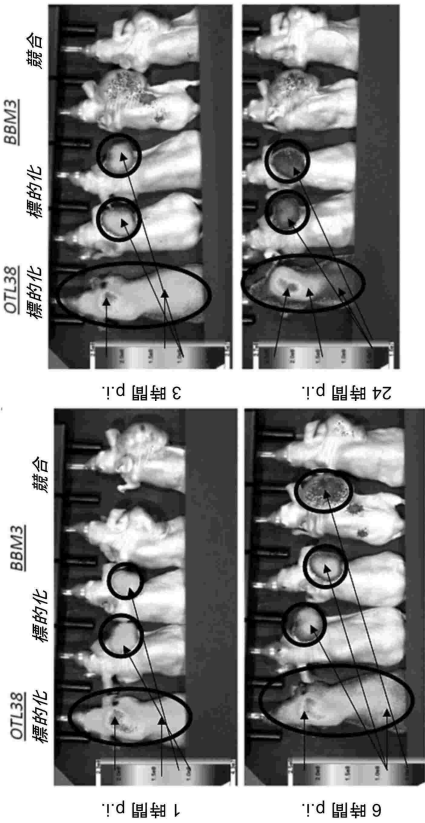


Fig. 12

10

20

30

40

50

【図 1 3】

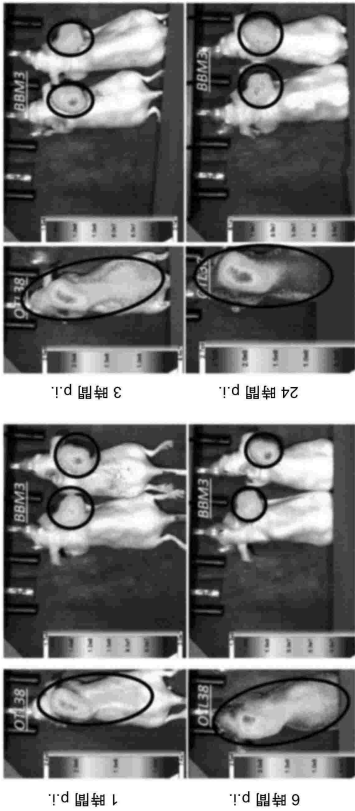


Fig. 13

【図 1 4】

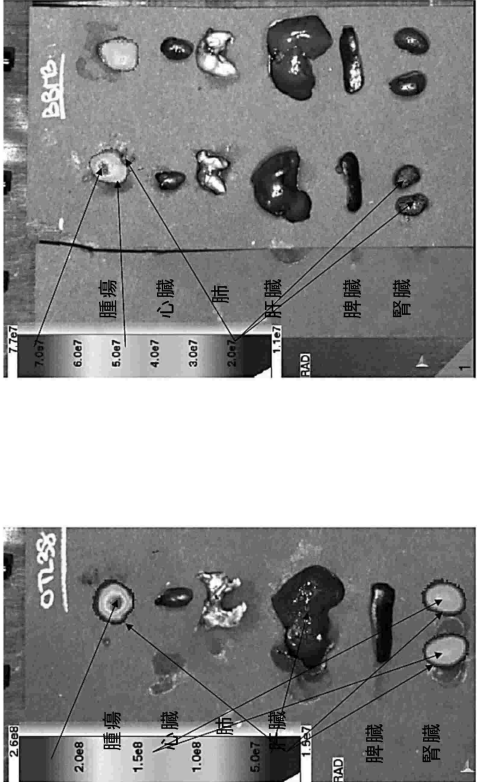


Fig. 14

【図 1 5】

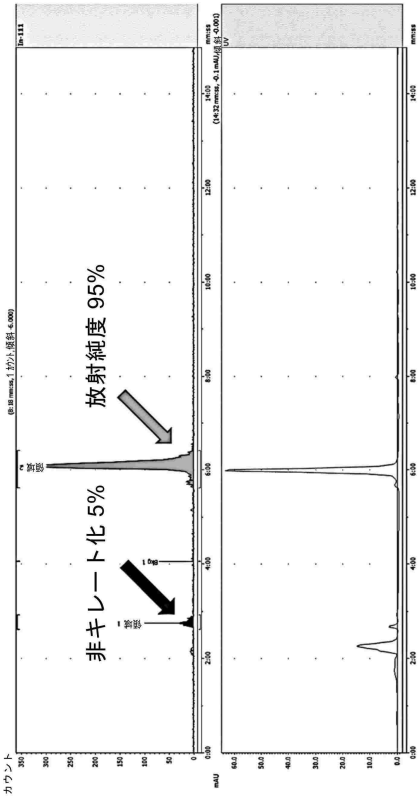


Fig. 15

【図 1 6】

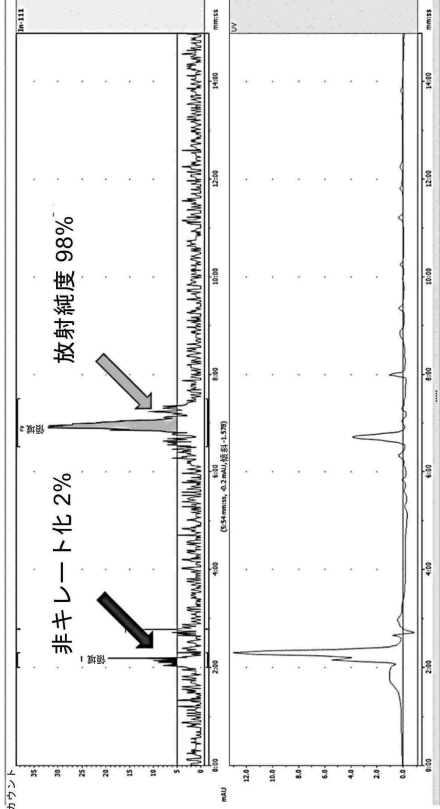


Fig. 16

10

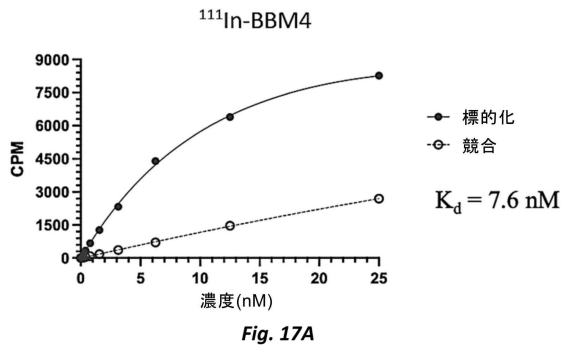
20

30

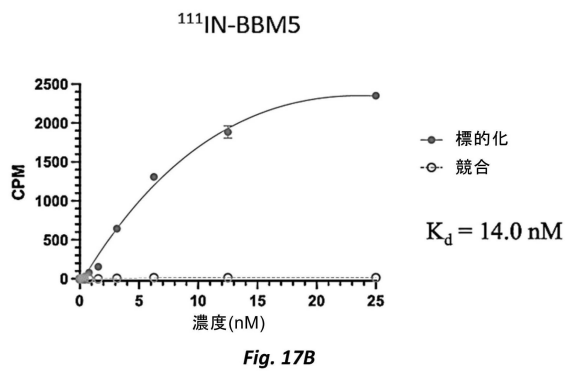
40

50

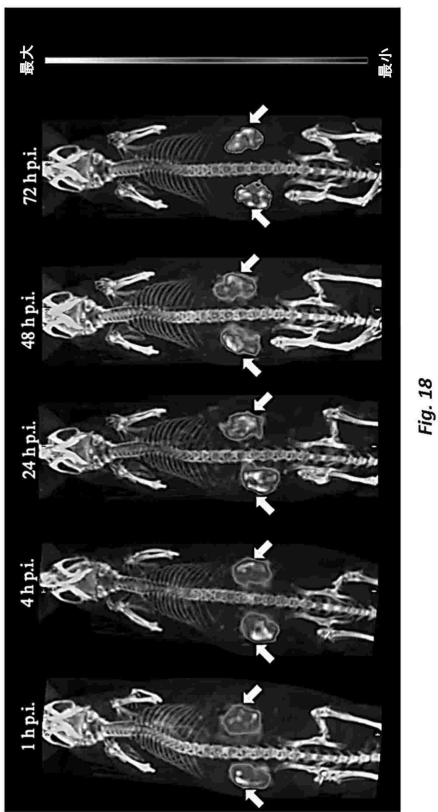
【 図 1 7 A 】



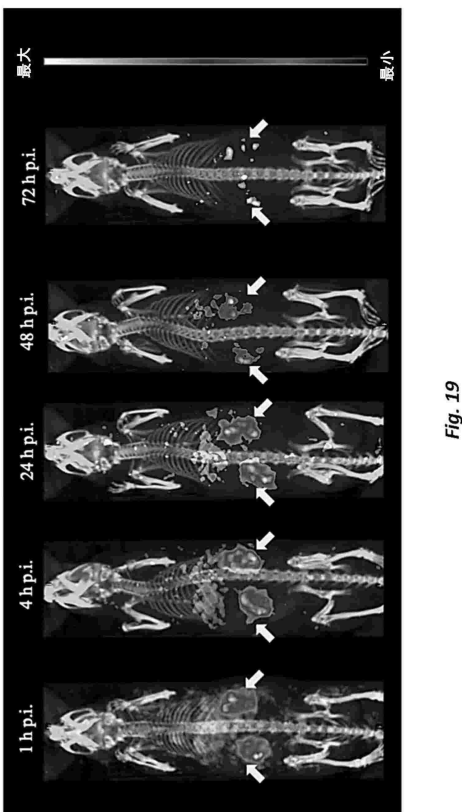
【 図 1 7 B 】



【 図 1 8 】



【 図 1 9 】



10

20

30

40

50

【図 2 0】

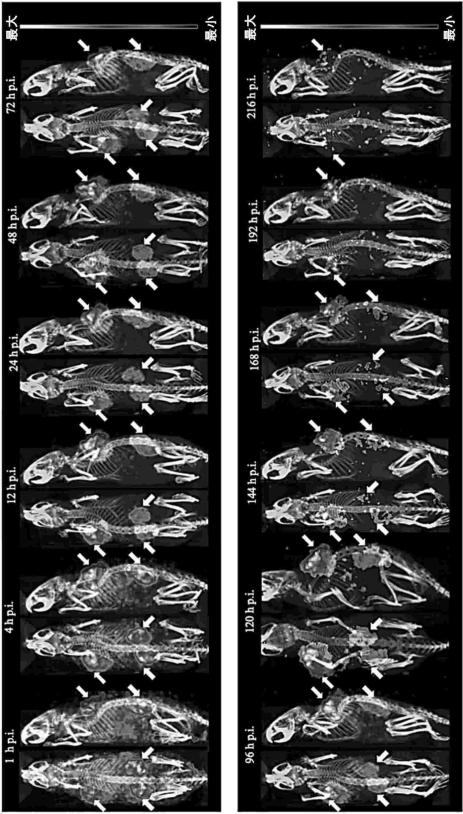


Fig. 20

【図 2 1】

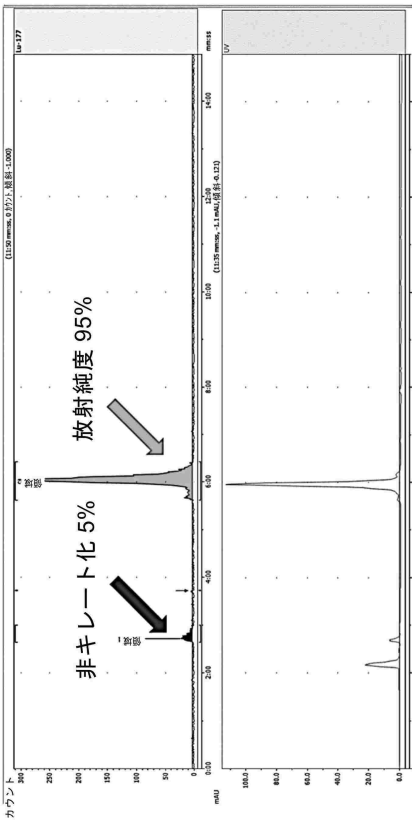


Fig. 21

【図 2 2】

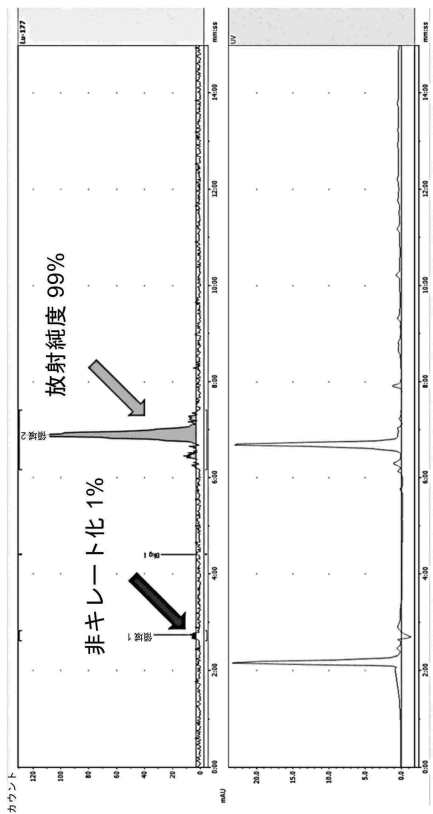


Fig. 22

【図 2 3 A】

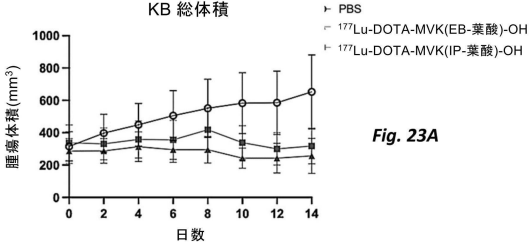


Fig. 23A

10

20

30

40

50

【図 2 3 B】

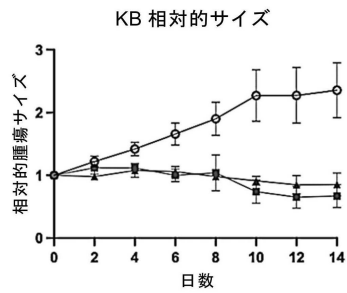


Fig. 23B

【図 2 3 C】

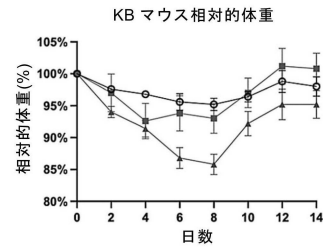


Fig. 23C

【図 2 4】

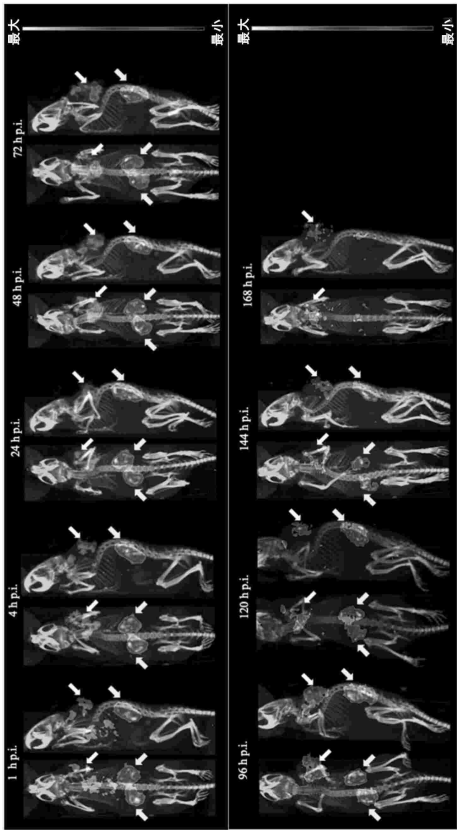


Fig. 24

【図 2 5】

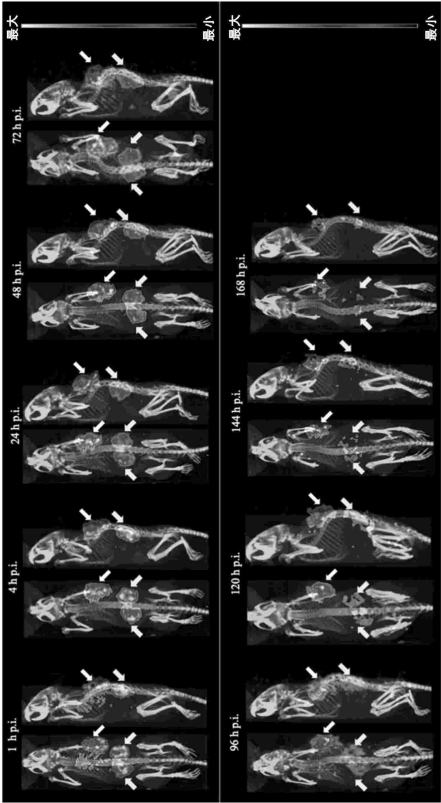


Fig. 25

10

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 22/29292

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 47/65; A61K 51/04; A61K 51/08 (2022.01)

CPC - A61K47/65; A61K 51/0459; A61K 51/049

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)

See Search History document

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

See Search History document

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

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — A	US 2015/0023874 A1 (PURDUE RESEARCH FOUNDATION) 22 January 2015 (22.01.2015); para [0081], [0084], [0238]	1, (17-18)/1, 19-20 2, (17-18)/2
A	US 2014/0058063 A1 (ENDOCYTE, INC.) 27 February 2014 (27.02.2014); entire document	1-2, (17-18)/(1-2), 19-20
A	US 2020/0188541 A1 (DUKE UNIVERSITY) 18 June 2020 (18.06.2020); entire document	1-2, (17-18)/(1-2), 19-20
A	WO 2017/161195 A1 (ON TARGET LABORATORIES, LLC) 21 September 2017 (21.09.2017); entire document	1-2, (17-18)/(1-2), 19-20
A	WO 2021/007277 A1 (PURDUE RESEARCH FOUNDATION) 14 January 2021 (14.01.2021); entire document	1-2, (17-18)/(1-2), 19-20

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

* Special categories of cited documents:

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

"D" document cited by the applicant in the international application
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 August 2022

Date of mailing of the international search report

OCT 13 2022

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents
P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450
Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Kari Rodriguez

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 22/29292

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

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

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 38-46
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
(see supplemental page)

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-2, (17-18)/(1-2) and 19-20

Remark on Protest

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 22/29292

—continued from Box No. III—

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Group I+: Claims 1-37, directed to a conjugate of claim 1. The conjugate of claim 1 will be searched to the extent that it encompasses the first species of claim 1, represented by a compound of formula I wherein FRTL is the first structure listed of claim 2, wherein T is S; U, V and W are divalent moieties which are $-(R6a)C=$, wherein R6a is hydrogen; X and Y are halo; Q is C; A3 is an amino acid; q is 1; p, r, s and t are 0 and * indicates point of attachment of the BBMeCL and the active agent is the first agent listed of claim 18, an optical imaging agent (wherein optional groups are omitted). It is believed that claims 1-2, (17-18)/(1-2) and 19-20 read on this first named invention, and thus these claims will be searched without fee. This first named invention has been selected based on the guidance set forth in section 10.54 of the PCT International Search and Preliminary Examination Guidelines. Applicant is invited to elect additional compounds of claim 1, wherein each additional compound elected will require one additional invention fee. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected compound. Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the '+' group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. Additionally, an exemplary election wherein different actual variables are selected is suggested. An exemplary election would be a compound of formula I wherein FRTL is the first structure listed of claim 2, wherein T is S; U and V are divalent moieties which are $-(R6a)C=$, wherein R6a is hydrogen; W is $(R6a)C(R7a)$ wherein R6a and R7a are hydrogen; X and Y are halo; Q is CH; A3 is an amino acid; q is 1; p, r, s and t are 0 and * indicates point of attachment of the BBMeCL and the active agent is the first agent listed of claim 18, an optical imaging agent (wherein optional groups are omitted) (i.e., claims 1-3 and 17-20).

The group of inventions listed above do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Special Technical Features:

Group I+ includes the technical feature of a unique compound of claim 1, formula I or II, which is not required by any other invention of Group I+.

Common technical features:

The inventions of Groups I+ share the technical feature of a compound of formula I or II.

These shared technical features, however, do not provide a contribution over the prior art, as being anticipated by US 2014/0058063 A1 to ENDOCYTE, INC. (hereinafter Endocyte). Endocyte discloses a compound of formula I (FRTL-BBMeCL-AA) wherein FRTL is a folate receptor-targeting ligand, wherein T is $HC=CH$; U is $-(R6a)C=$; wherein R6a is hydrogen; W and U are $-N=$; X is OR2 wherein R2 is hydrogen (drawn as a tautomer thereof; Y is $NR4R5$ wherein R4 and R5 are hydrogen; Q is C; A1 is $N(R4b)$ wherein R4b is hydrogen; A2 is $C(Z)N(R4b)$ wherein Z is oxygen and R4b is hydrogen; R6 and R7 are hydrogen; A3 is an amino acid; R1 is hydrogen; q is 1; p, r and s are 1; t is 0, and * indicates point of attachment of the BBMeCL (para [0202]: Example 4a: folate moiety); BBMeCL is a kidney brush border membrane (BBM) enzyme-cleavable linker (para [0202]: Example 4a: Asp-Cys moiety) (as evidenced by instant claim 17: wherein BBMeCL comprises: Asp-X or Glu-X, wherein X is any amino acid); and AA is an active agent (para [0202]: Example 4a: mitomycin C moiety).

As said compound was known in the art at the time of the invention, these cannot be considered special technical features that would otherwise unify the inventions of Groups I+. The inventions of Group I+ thus lack unity under PCT Rule 13.

*Item 4 (cont'd): Claims 38-46 have been found to be unsearchable because they are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I
A 6 1 P 35/00

テーマコード (参考)

,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

(74)代理人 100131093
弁理士 堀内 真

(74)代理人 100150902
弁理士 山内 正子

(74)代理人 100141391
弁理士 園元 修一

(74)代理人 100221958
弁理士 篠田 真希恵

(74)代理人 100192441
弁理士 渡辺 仁

(72)発明者 ロウ フィリップ
アメリカ国 インディアナ州 4 7 9 0 6 ウェスト ラファイエット ファーム リッジ ロード 5 8 5 0

(72)発明者 スリニヴァサラオ マッドウリ
アメリカ国 インディアナ州 4 7 9 0 6 ウェスト ラファイエット マーウィック ストリート 9 7 5

(72)発明者 リンデマン スペンサー
アメリカ国 インディアナ州 4 7 9 0 6 ウェスト ラファイエット フレミング ドライブ 2 2 8 7

(72)発明者 ガーディーン スペンサー
アメリカ国 インディアナ州 4 7 9 0 6 ウェスト ラファイエット # 6 0 3 ハッピー ホロー
ロード 1 2 0 0

F ターム (参考) 4C076 AA95 CC27 CC41 EE59
4C084 AA12 AA19 AA27 NA05 NA14 ZB26
4C085 HH03 HH11 KA27 KA29 KB56 KB82 LL18