(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7590871号
(P7590871)

(45)発行日　令和6年11月27日(2024.11.27)

(24)登録日　令和6年11月19日(2024.11.19)

(51)国際特許分類			FI		
C07K	*16/28*	*(2006.01)*	C07K	16/28	ZNA
A61K	*47/68*	*(2017.01)*	A61K	47/68	
A61K	*47/40*	*(2006.01)*	A61K	47/40	
A61K	*47/22*	*(2006.01)*	A61K	47/22	
A61K	*47/42*	*(2017.01)*	A61K	47/42	

請求項の数　65　（全683頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2020-562649(P2020-562649)
(86)(22)出願日　令和1年5月8日(2019.5.8)
(65)公表番号　特表2021-523147(P2021-523147A)
(43)公表日　令和3年9月2日(2021.9.2)
(86)国際出願番号　PCT/US2019/031383
(87)国際公開番号　WO2019/217591
(87)国際公開日　令和1年11月14日(2019.11.14)
審査請求日　令和4年5月2日(2022.5.2)
(31)優先権主張番号　62/669,276
(32)優先日　平成30年5月9日(2018.5.9)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/678,200
(32)優先日　平成30年5月30日(2018.5.30)
最終頁に続く

(73)特許権者　515254806
レゲネロン ファーマシューティカルス，インコーポレーテッド
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 １０５９１‐６７０７ タリタウン オールド ソウ ミル リバー ロード ７７７
(74)代理人　100097456
弁理士　石川 徹
(72)発明者　クリストス キラトソウス
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 １０５９１‐６７０７ タリタウン オールド ソウ ミル リバー ロード ７７７ シー／オー レゲネロン ファーマシューティカルス，インク．
(72)発明者　トーマス ニットーリ
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗ＭＳＲ１抗体及びその使用方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

マクロファージスカベンジャー受容体1(MSR1)に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、該抗体又はその抗原結合断片が、

(i)配列番号52のアミノ酸配列を含むHCDR1；配列番号54のアミノ酸配列を含むHCDR2；配列番号56のアミノ酸配列を含むHCDR3；配列番号60のアミノ酸配列を含むLCDR1；配列番号62のアミノ酸配列を含むLCDR2；及び配列番号64のアミノ酸配列を含むLCDR3；又は

(ii)配列番号4のアミノ酸配列を含むHCDR1；配列番号6のアミノ酸配列を含むHCDR2；配列番号8のアミノ酸配列を含むHCDR3；配列番号12のアミノ酸配列を含むLCDR1；配列番号14のアミノ酸配列を含むLCDR2；及び配列番号16のアミノ酸配列を含むLCDR3を含む、前記単離された抗体又はその抗原結合断片。

【請求項２】

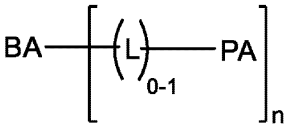
マクロファージスカベンジャー受容体1(MSR1)に結合する請求項1記載の単離された抗体又はその抗原結合断片であって、該抗体又はその抗原結合断片が、以下の特性:

(i)表面プラズモン共鳴により測定したとき、37℃で約1.4nM未満のK_DでヒトMSR1に結合すること;

(ii)表面プラズモン共鳴により測定したとき、37℃で約4分超の半減期t1/2でヒトMSR1に結合すること;

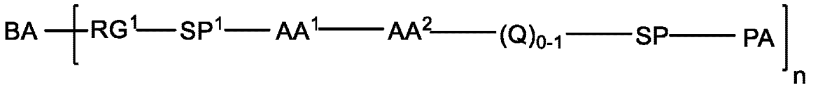
(iii)リガンド取込みアッセイにより測定したとき、約10nM未満のIC_{50}でヒトMSR1によ

る修飾LDL取込みの約90%未満の最大阻害を示すこと;
(iv)競合ELISAアッセイにより測定したとき、ヒトMSR1に対する修飾LDL結合を＜50%遮断すること;並びに/又は
(v)THP-1細胞における結合によりアッセイしたとき、ヒトMSR1の結合及び約10%超の結合複合体の内在化を示すこと
の1以上を示す、前記単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項３】
前記抗体又はその抗原結合断片が3.5nM未満のIC_{50}でMSR1による修飾LDL取込みの阻害を60%未満遮断する、請求項1記載の単離された抗体又はその抗原結合断片。
【請求項４】
前記抗体又はその抗原結合断片が、
(i)配列番号50のアミノ酸配列を含むHCVR;及び配列番号58のアミノ酸配列を含むLCVR;又は
(ii)配列番号2のアミノ酸配列を含むHCVR;及び配列番号10のアミノ酸配列を含むLCVR
を含む、請求項1記載の抗MSR1抗体又はその抗原結合断片。
【請求項５】
任意にリンカーを介して又はリンカー-スペーサーを介してペイロード残基にコンジュゲートされた、請求項1～4のいずれか一項記載の抗体又はその抗原結合断片を含む抗体-薬物コンジュゲート。
【請求項６】
式(I)の構造を有する、請求項5記載の抗体-薬物コンジュゲート、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、その位置異性体、もしくはその位置異性体の混合物:
【化１】



式 (I)

(式中:
BAは、結合剤であり;
Lは、リンカーであり;
PAは、ステロイド残基、LXRモジュレーター残基、又はリファマイシン残基からなる群から選択されるペイロード部分であり;かつ
下付文字nは、1～30の整数である)。
【請求項７】
式(IA)の構造を有する、請求項5又は請求項6記載の抗体-薬物コンジュゲート:
【化２】



式 (IA)

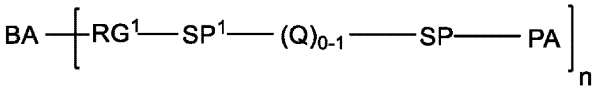
(式中、
SP^1は、非存在、又はスペーサーであり;
RG^1は、反応基残基であり;
AA^1は、非存在、又は任意に基HGと直接的にもしくは間接的に結合しているアミノ酸残基を含む二価もしくは三価リンカーであり;
AA^2は、非存在、又はジペプチド、トリペプチド、もしくはテトラペプチド残基であり;

Qは、存在する場合、コネクター基残基であり;
SPは、非存在、又はスペーサーであり;かつ
HGは、存在する場合、親水基である)。

【請求項８】

式(IB-1)の構造を有する、請求項5～7のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート:

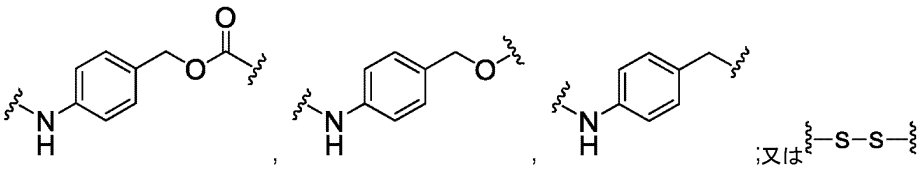
【化３】



式 (IB-1)

(式中、
SP^1は、非存在、又はスペーサーであり;
RG^1は、反応基残基であり;
Qは、存在する場合、

【化４】



であり;かつ
SPは、非存在、又はスペーサーであり;
ここで、

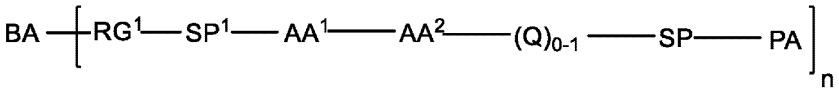
【化５】

は、それを介して言及された基が該式中の隣接する基に結合している原子を示す)。

【請求項９】

式(IB-2)の構造を有する、請求項5～7のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート:

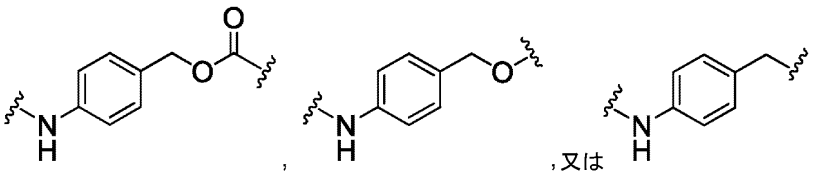
【化６】



式 (IB-2)

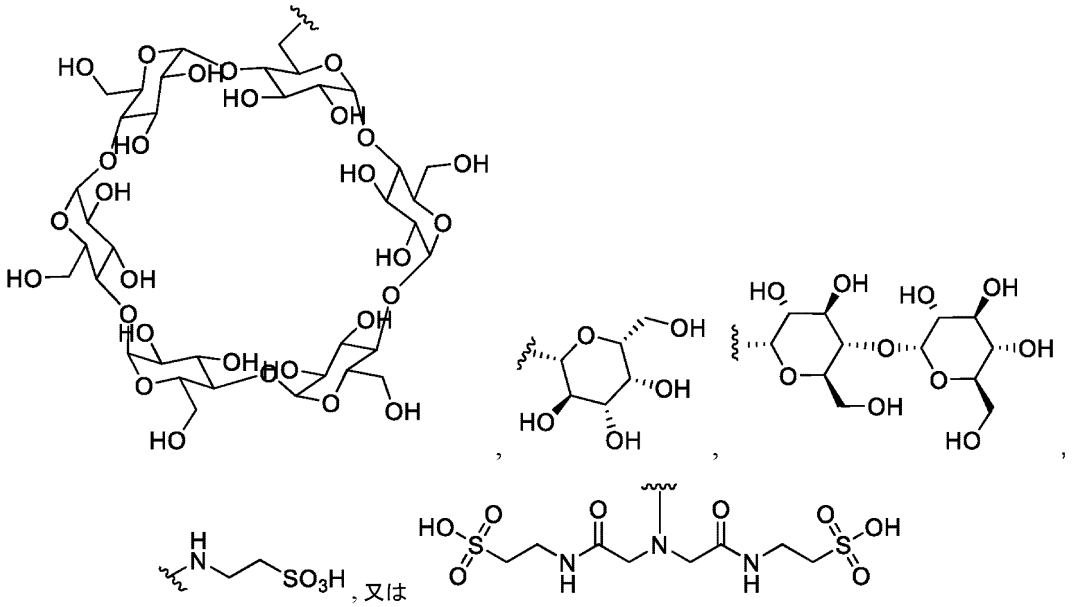
(式中、
SP^1は、非存在、又はスペーサーであり;
RG^1は、反応基残基であり;
AA^1は、非存在、又は任意に基HGと直接的にもしくは間接的に結合しているアミノ酸残基を含む二価もしくは三価リンカーであり;
AA^2は、非存在、又はジペプチド、トリペプチド、もしくはテトラペプチド残基であり;
Qは、存在する場合、

【化７】



であり;
SPは、非存在、又はスペーサーであり;かつ
HGは、存在する場合、

【化８】



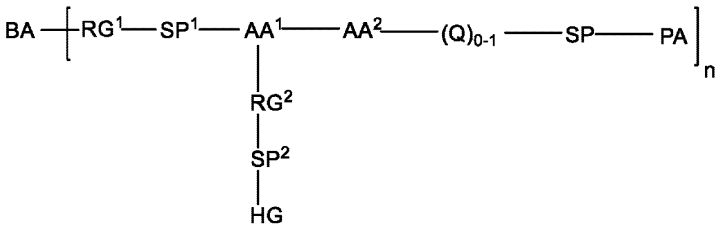
であり、
ここで、

【化９】

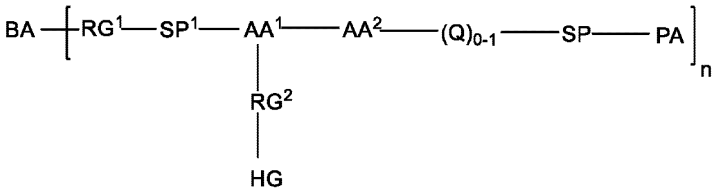
は、それを介して言及された基が該式中の隣接する基に結合している原子を示す)。

【請求項１０】
式(IC)、式(ID)、又は式(IE)の構造を有する、請求項5～7及び9のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート:

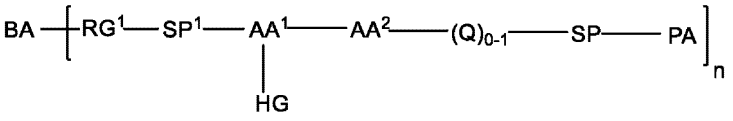
【化１０】



式（IC）

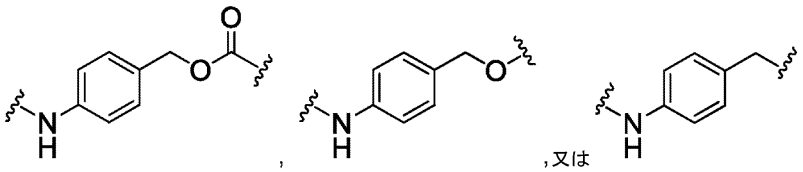


式（ID）



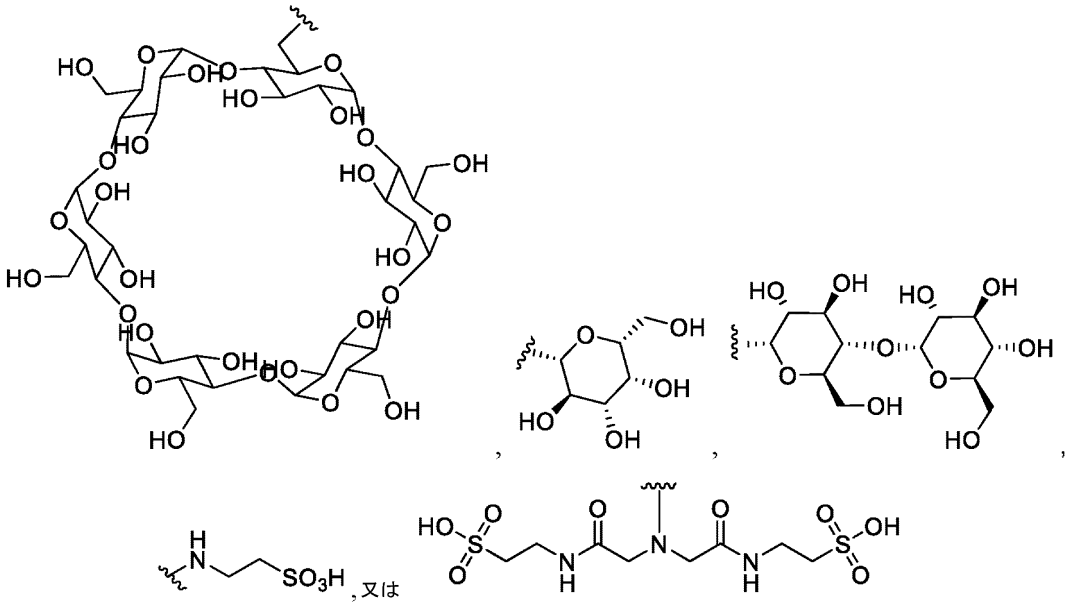
式（IE）

（式中、
SP^1は、非存在、又はスペーサーであり；
RG^1は、反応基残基であり；
SP^2は、非存在、又はスペーサーであり；
RG^2は、反応基残基であり；
AA^1は、アミノ酸残基を含む二価又は三価リンカーであり；
AA^2は、ジペプチド、トリペプチド、又はテトラペプチド残基であり；
Qは、存在する場合、
【化１１】



であり；
SPは、非存在、又はスペーサーであり；かつ
HGは、

【化１２】



であり、

ここで、

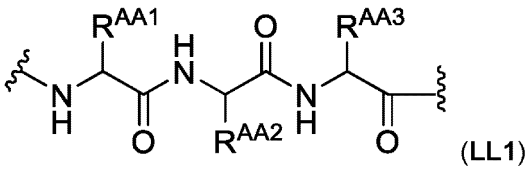
【化１３】

は、それを介して言及された基が該式中の隣接する基に結合している原子を示す)。

【請求項１１】

AA^1-AA^2が式(LL1)によるものである、請求項7、9及び10のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート:

【化１４】



(式中、R^{AA1}、R^{AA2}、及びR^{AA3}は、各々独立に、その少なくとも1つが、-(RG^2)-SP^2-HG、-(RG^2)-HG、又はHGに結合しているアミノ酸側鎖であり;ここで、

【化１５】

は、それを介してAA^1-AA^2が該式中の隣接する基に結合している原子を示す)。

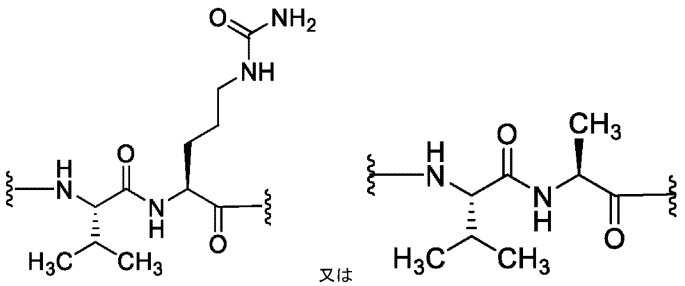
【請求項１２】

R^{AA1}が、HGに直接的に又は間接的に結合しているリジン、グルタミン、グルタミン酸、又はアスパラギン酸側鎖であり、かつR^{AA2}及びR^{AA3}が、それぞれ、バリン及びアラニン又はバリン及びシトルリン側鎖のいずれかである、請求項11記載の抗体-薬物コンジュゲート。

【請求項１３】

AA^1-AA^2が、

【化１６】



であり、ここで、

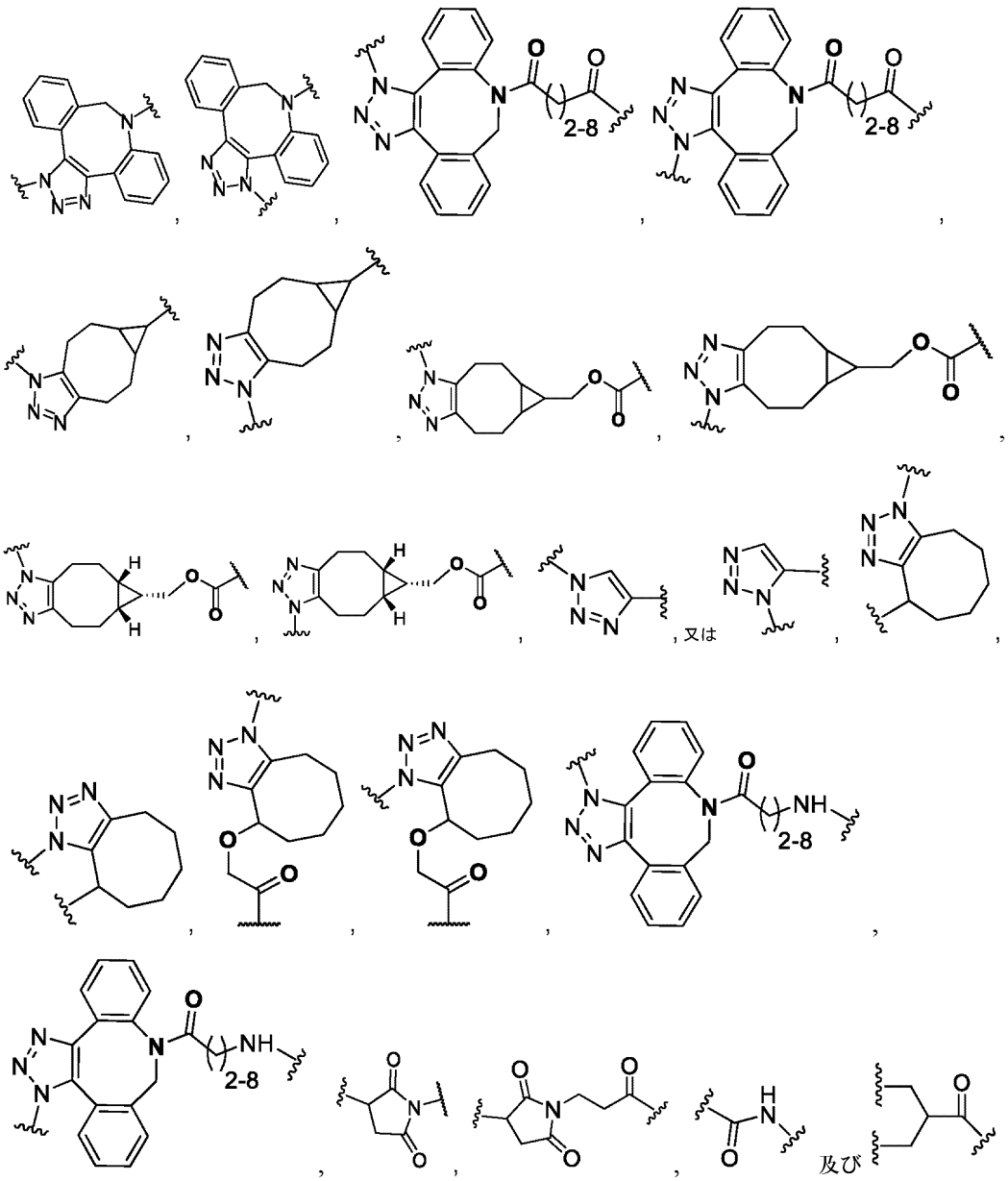
【化１７】

が、それを介してAA^{1}-AA^{2}が該式中の隣接する基に結合している原子を示す、請求項7及び9～12のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート。

【請求項１４】

RG^{1}及びRG^{2}残基が、各々の場合に独立に:

【化１８】



からなる群から選択され;

ここで、

【化１９】

が、それを介して該RG^1又はRG^2残基が該式中の隣接する基に結合している原子を示す、請求項7～13のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート。

【請求項１５】

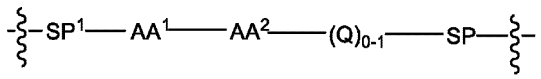
SP、SP^1、及びSP^2が、各々の場合に独立に、非存在であるか、又はC_{1-6}アルキレン、-NH-、-S-、-O-、-C(O)-、$(-CH_2-CH_2-O)_e$、$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$、$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$、$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$、(グリシン)$_4$-セリン、及びその組合せからなる群から選択され、ここで、下付文字eが0～4の整数であり、下付文字uが1～8の整数であり、かつ下付文字vが1～8の整数である、請求項7～14のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート。

【請求項１６】

nが、1、2、3、又は4である、請求項5～15のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート。

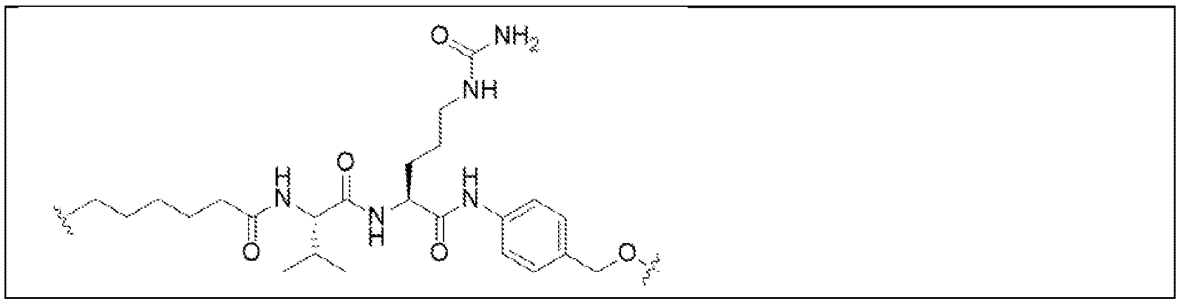
【請求項１７】

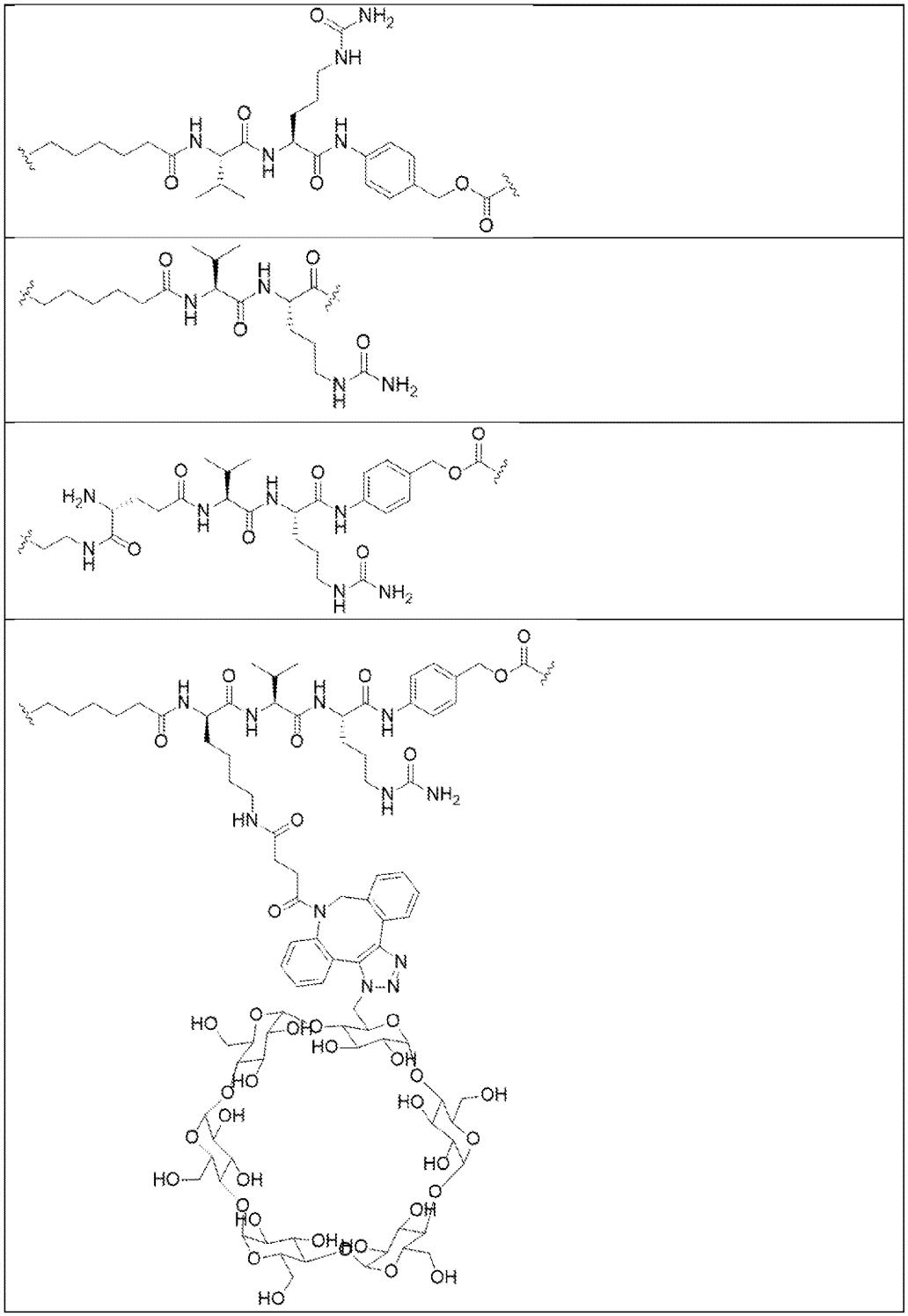
【化２０】

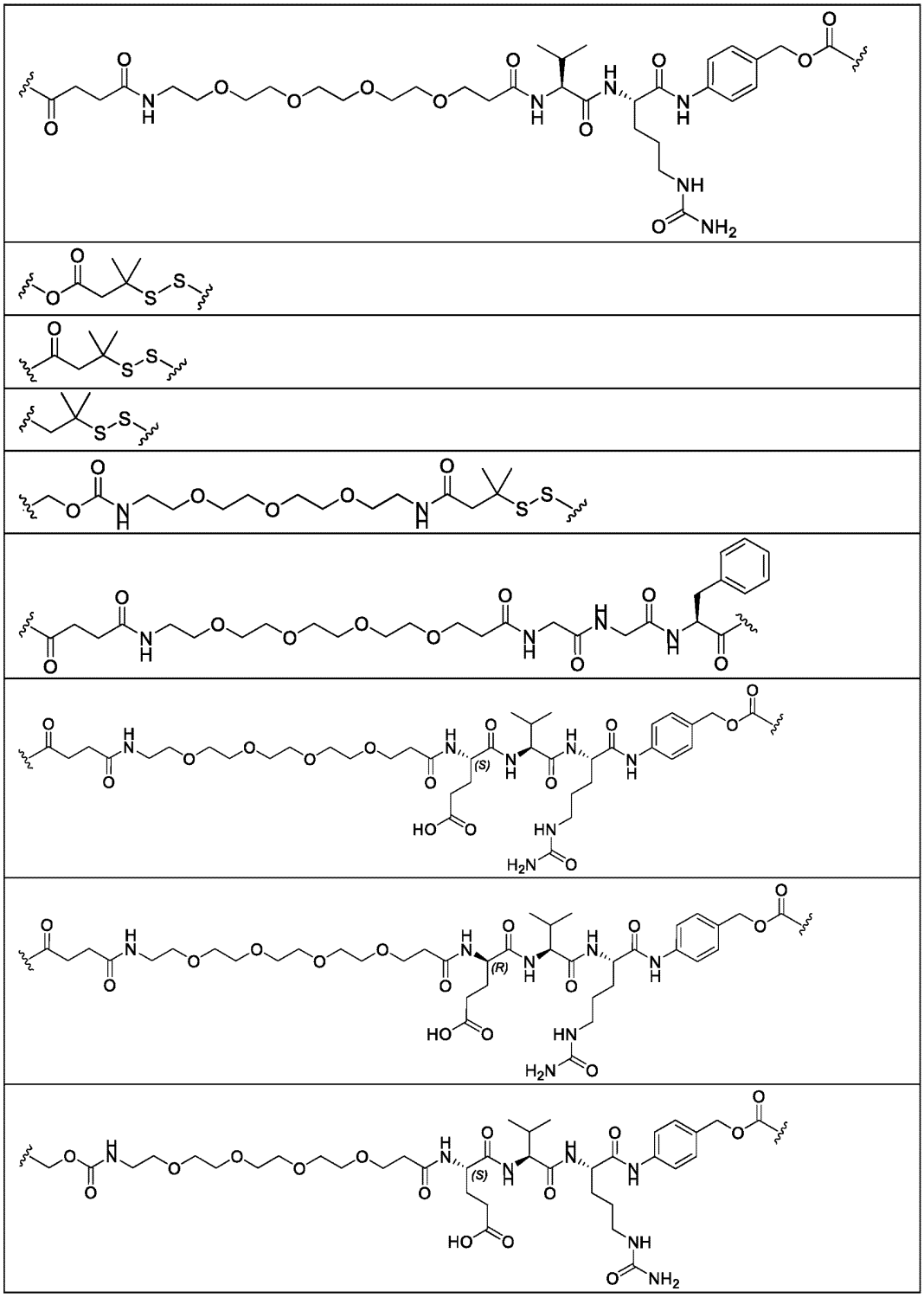


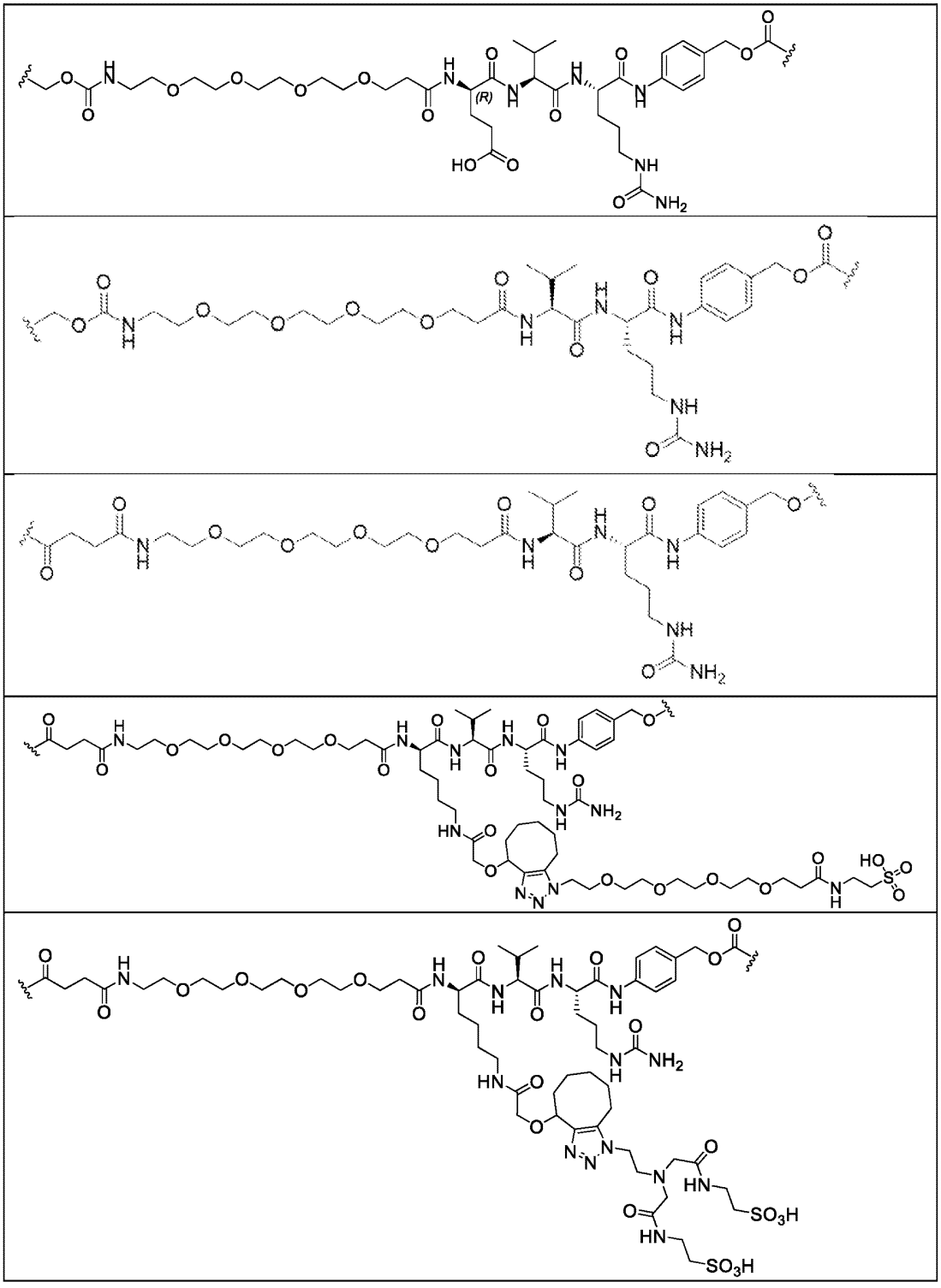
が、

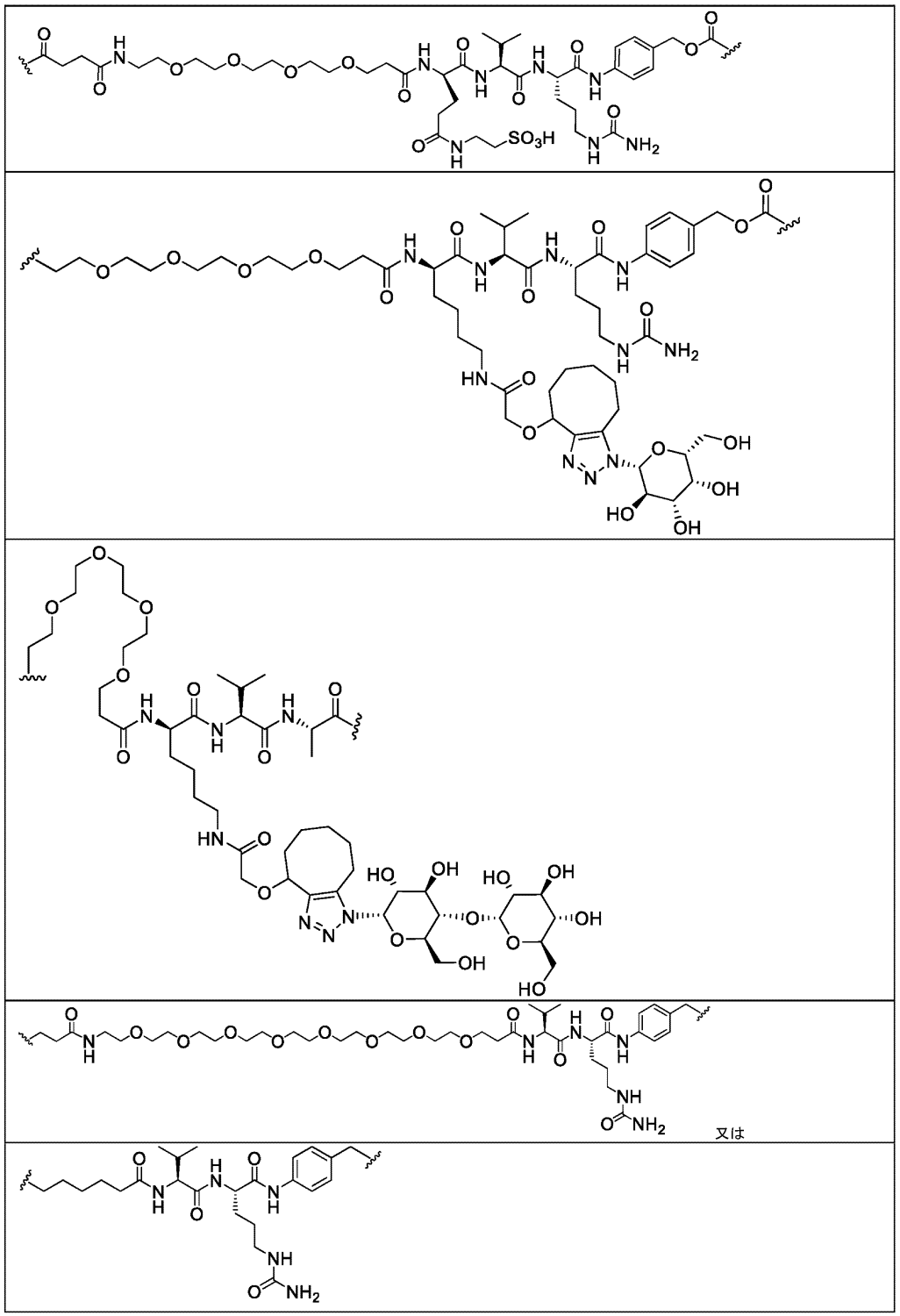
【化２１】











である、請求項7～16のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート。

【請求項１８】

前記抗体又はその抗原結合断片が、リンカー又はリンカー-スペーサーを介して、ステロイドペイロードにコンジュゲートされている、請求項5記載の抗体-薬物コンジュゲート。

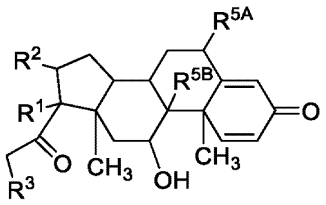
【請求項１９】

前記抗体又はその抗原結合断片が、リンカーを介して、LXRモジュレーターペイロードにコンジュゲートされている、請求項5記載の抗体-薬物コンジュゲート。

【請求項２０】

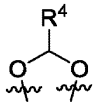
前記抗体又はその抗原結合断片が、リンカーを介して、リファマイシンペイロードにコ

ンジュゲートされている、請求項5記載の抗体-薬物コンジュゲート。
【請求項２１】
リンカー又はリンカー-スペーサーを介して前記抗体又はその抗原結合断片にコンジュゲートされたステロイドが式(A-1)の化合物である、請求項18記載の抗体-薬物コンジュゲート、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態:
【化２２】



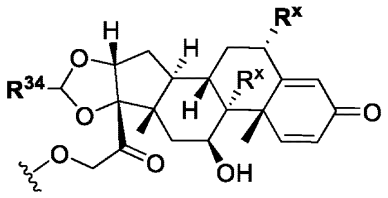
式 (A-1)

(式中、
R^1及びR^2は、独立に、-H、アルキル、アルキル-C(O)-O-、-OH、もしくはハロであるか;又はR^1及びR^2は、一緒に、
【化２３】



を形成し、
ここで、R^4は、アルキル、アリール、アリールアルキル、又はN-含有ヘテロシクロアルキルであり、
ここで、該アルキル、アリール、アリールアルキル、及びN-含有ヘテロシクロアルキルは、各々の場合に独立に、$-NR^{Aa}R^{Ab}$で任意に置換されており;
R^3は、-O、R^Z-C(O)-X-、-ヘテロアルキル、-ピペリジニル、$-NR^{Aa}R^{Ab}$、-オキシアリール-$NR^{Aa}R^{Ab}$、又は-Z-A'$(R^P)_t$であり;
R^Zは、アルキルであり;
Xは、O又はNR^{Aa}であり;
Zは、S、S(O)、$S(O)_2$、SO_2NR^{Aa}、O、C(O)NR^{Aa}、C(O)、又はNR^{Aa}であり;
A'は、アリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールであり;
R^Pは、各々の場合に独立に、ハロ、任意に置換されたアルキル、-OH、又は$-NR^{Aa}R^{Ab}$であり;
R^{Aa}及びR^{Ab}は、各々の場合に独立に、-H、任意に置換されたアルキル、又は任意に置換されたアリールであり;
下付文字aは、0～19の整数であり;かつ
tは、1～3の整数であり;かつ
R^{5A}及びR^{5B}は、各々独立に、ハロ又は水素原子であり;
ここで、基R^3又はR^4は、該リンカーに結合している)。
【請求項２２】
式(3000)の構造を有する、請求項18記載の抗体-薬物コンジュゲート、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態:
$BA-(L'-SP-D)_n$ 式(3000)
(式中、
Dは、
a)

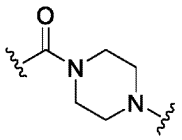
【化２４】



式 (a)

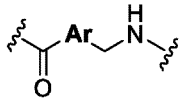
(ここで、式(a)中の両方のR^xは、水素であり; R^{34}は、アルキル、アリール、アリールアルキル、もしくはN-含有ヘテロシクロアルキルであり;かつSPは、-C(O)-C_1-C_{10}-アルキレン-C(O)-、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-C_1-C_{10}-アルキレン-X^1-(ここで、X^1は、式(3000)中のL'に付加されている)、-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-S-(ここで、Sは、式(3000)中のL'に付加されている)、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-S-(ここで、Sは、式(3000)中のL'に付加されている)、

【化２５】



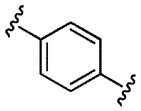
(ここで、右側にある(すなわち、Nにおける)結合点は、式(3000)中のL'に対するものである)、-CH_2-NH-(ここで、Nは、式(3000)中のL'に付加されている)、

【化２６】



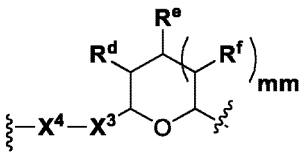
(ここで、Nは、式(3000)中のL'に付加されており、かつここで、Arは、任意に置換されたアリーレン(いくつかの実施態様において、

【化２７】



)もしくは任意に置換されたヘテロアリーレンである)、-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(3000)中のL'に付加されている)、-C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(3000)中のL'に付加されており、かつここで、各々のC_1-C_{10}-アルキレンは、独立に、1以上のヒドロキシで任意に置換されている)、-C(O)-N(R^{35})-C_1-C_{10}-アルキレン-C(O)NH-X^2-(ここで、X^2は、式(3000)中のL'に付加されている)、又は

【化２８】

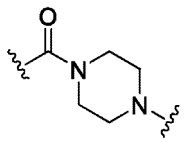


(ここで、X^4は、式(3000)中のL'に付加されている)であるか;或いは

ここで、式(a)中の両方のR^xは、フルオロであり; R^{34}は、アルキル、アリール、アリールアルキル、もしくはN-含有ヘテロシクロアルキルであり;かつSPは、-C(O)-C_1-C_{10}-ア

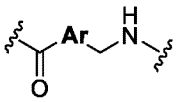
ルキレン-C(O)-、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-C_1-C_{10}-アルキレン-X^{1b}-(ここで、X^{1b}は、式(3000)中のL'に付加されている)、-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-X^{1b}-(ここで、X^{1b}は、式(3000)中のL'に付加されている)、

【化２９】



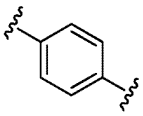
(ここで、右側にある(すなわち、Nにおける)結合点は、式(3000)中のL'に対するものである)、-CH_2-NH-(ここで、Nは、式(3000)中のL'に付加されている)、

【化３０】



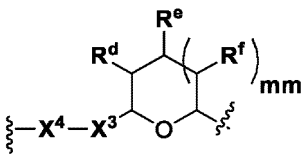
(ここで、Nは、式(3000)中のL'に付加されており、かつここで、Arは、任意に置換されたアリーレン(いくつかの実施態様において、

【化３１】



)もしくは任意に置換されたヘテロアリーレンである)、-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(3000)中のL'に付加されている)、-C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(3000)中のL'に付加されており、かつここで、各々のC_1-C_{10}-アルキレンは、独立に、1以上のヒドロキシで任意に置換されている)、-C(O)-N(R^{35})-(C_1-C_{10}-アルキレン)-C(O)NH-X^2-(ここで、X^2は、式(3000)中のL'に付加されている)、又は

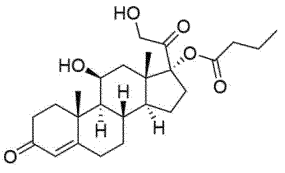
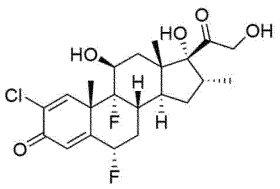
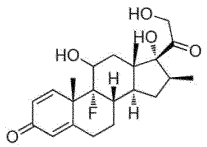
【化３２】

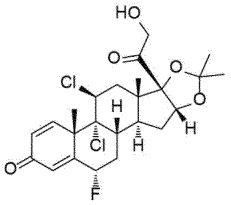
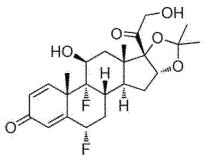
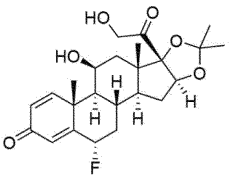
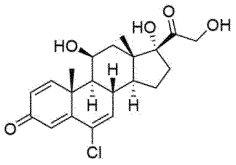
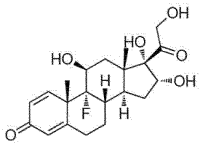


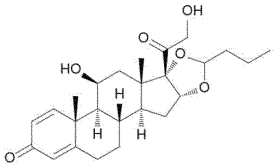
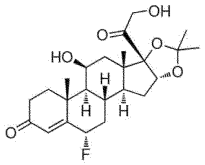
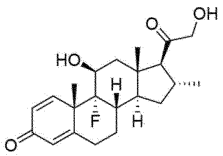
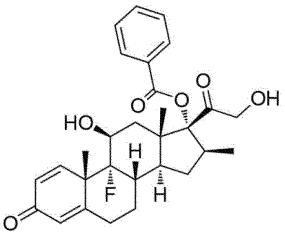
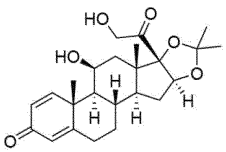
(ここで、X^4は、式(3000)中のL'に付加されている)である);並びに/或いは

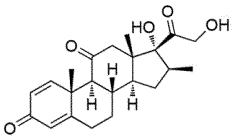
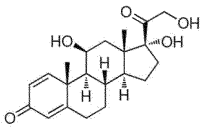
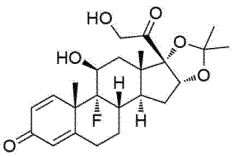
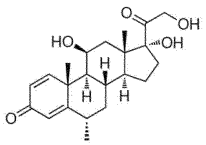
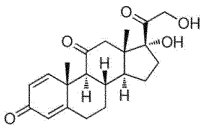
b)以下からなる化合物

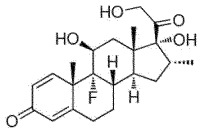
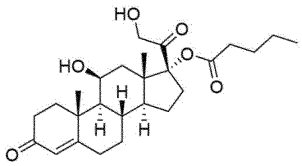
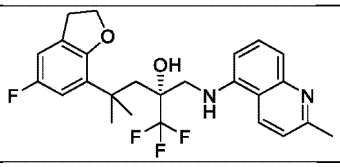
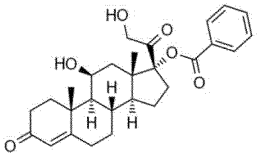
【表１】

商標名	構造
酪酸ヒドロコルチゾン Locoid（登録商標）	
ハロメタゾン Sicorten（登録商標）/ (C-48401-Ba)	
ベタメタゾン Celestone（登録商標）/Rinderon（登録商標）/ Diprosone（登録商標） (NSC-39470; Sch-4831)	

商標名	構造
フルクロロロンアセトニド Cutanit(登録商標)/Topicon(登録商標) (RS-2252)	
フルオシノロンアセトニド Flucort(登録商標)/Fluonid(登録商標)/ Iluvien(登録商標)/Retisert(登録商標)/Synalar(登録商標)/Synalar-HP(登録商標)/ Synemol(登録商標) (NSC-92339; DF-277)	
フルニソリド (RS-3999; RS-1320)	
クロプレドノール (RS-4691)	
トリアムシノロン Aristocort(登録商標)/Kenacort(登録商標)	

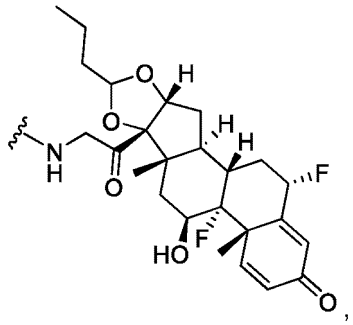
商標名	構造
ブデソニド	
フルランドレノリド Cordran（登録商標）	
デスオキシメタゾン Topicort（登録商標） (DSXS)	
安息香酸ベタメタゾン Uticort（登録商標） (W-5975)	
デソニド Desonate（登録商標） (D-2083)	

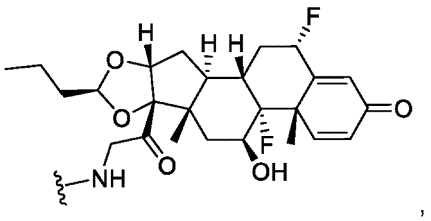
商標名	構造
メプレドニゾン (NSC-527579; Sch-4358)	
プレドニゾロン Delta-Cortef（登録商標） (NCS-9120)	
トリアムシノロンアセトニド	
メチルプレドニゾロン Depo-Medrol; Medrol; Urbason（登録商標） (NSC-19987)	
プレドニゾン Decortin(登録商標)/Deltasone(登録商標)/ Lodotra(登録商標)/Meticorten(登録商標)/ Rayos(登録商標) (NSC-10023)	

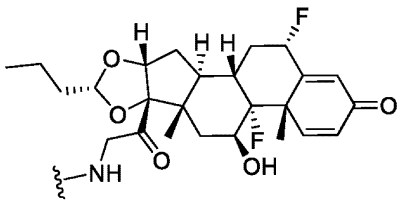
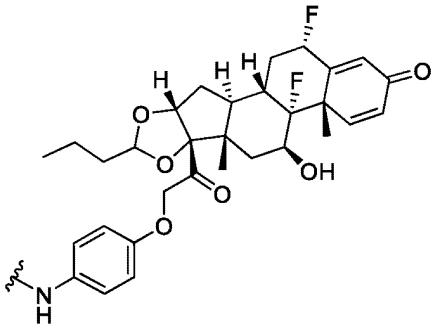
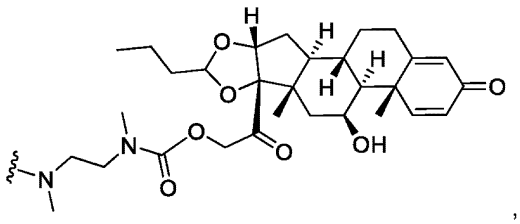
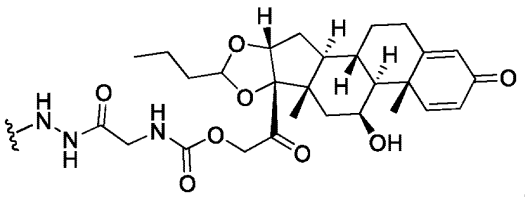
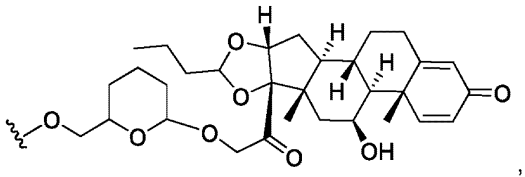
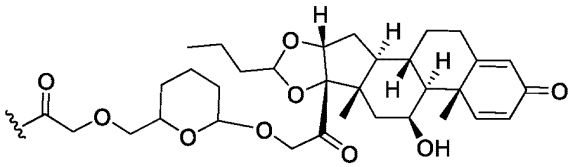
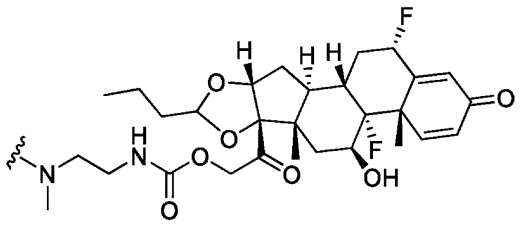
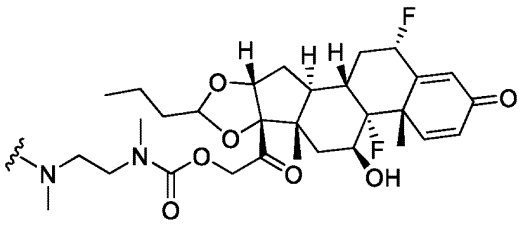
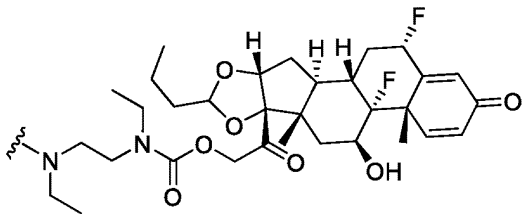
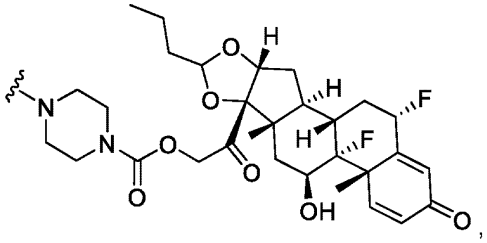
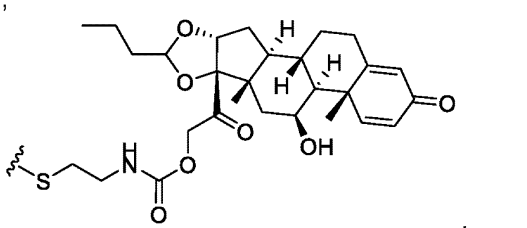
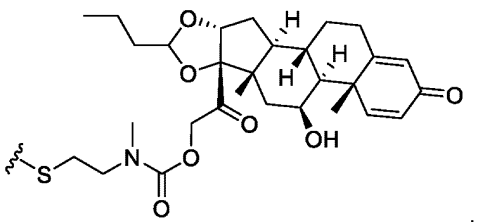
商標名	構造
デキサメタゾン Decadron（登録商標） (FT-4145; ENV-1105; IBI-10090; ISV-305; OTO-104)	
吉草酸ヒドロコルチゾン Westcort（登録商標）	
マプラコラト (BOL-242X; BOL-303242-X; ZK-245186; BAY-865319; BOL-303242-X)	
ベンゾドロコルチゾン	

(ここで、該化合物は、-C(O)CH_2OH基のヒドロキシを介して又はマプラコラトのヒドロキシを介して、式(3000)の化合物のBAに連結されている)
から選択され;
X^1は、-N(C_{1-6}アルキル)-であり;
X^{1b}は、-S-、-NH-、又は-N(C_{1-6}アルキル)-であり;
X^2は、-NH-であり;
X^3は、-CH_2-であり、X^3は、-CH_2-O-(C_1-C_{10}-アルキレン)-C(O)-(ここで、C(O)は、X^4に結合している)であるか、X^3は、-C(O)-であり;
X^4は、-O-であり;
R^{35}は、H、-OH、-OCH_3、又はC_{1-6}アルキルであり;
R^{50}及びR^{50a}は、独立に、水素又はC_1-C_6-アルキルであり;
R^d、R^e、及びR^fは、独立に、-H、-OH、ヒドロキシアルキル、アルコキシカルボニル、-C(O)OH、又は-CH_2OR^gであり、ここで、各々のR^gは、独立に、-CH_2C(O)OH又は-CH_2C(O)O(アルキル)であり;かつ
mmは、0又は1であり;
nは、1～30までから選択される整数であり;
L'は、リンカーであり;かつ
BAは、結合剤である)。

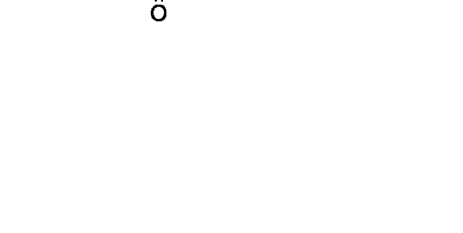
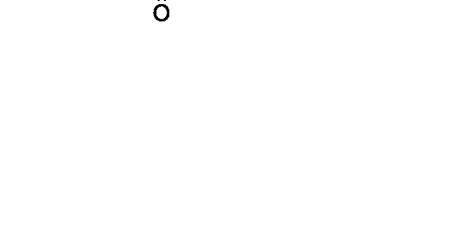
【請求項２３】
前記ステロイドペイロードが:
【化３３】

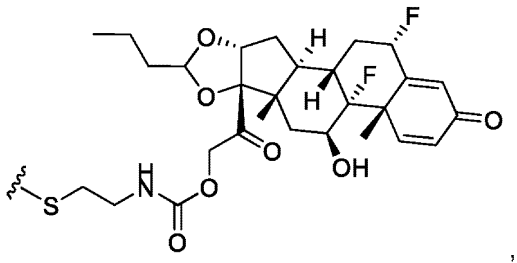
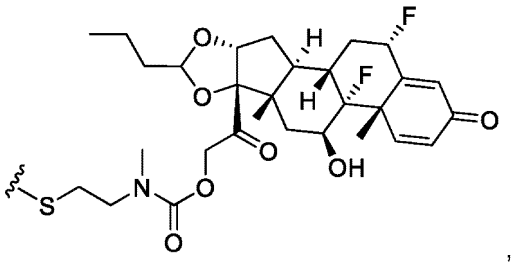
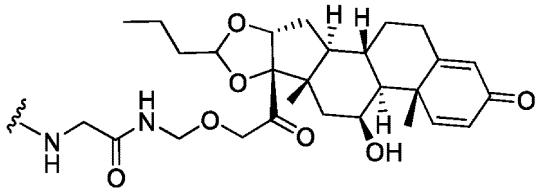
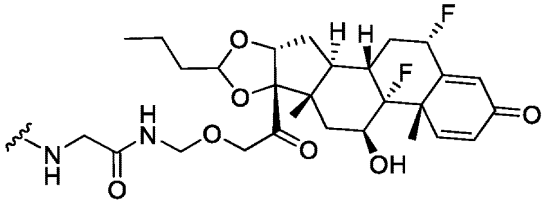
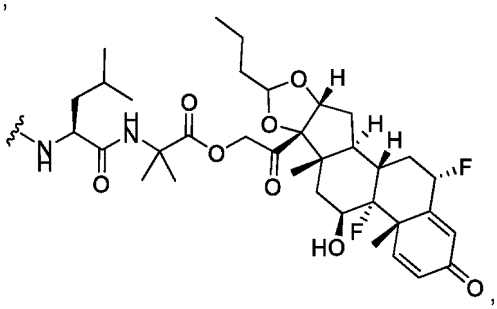
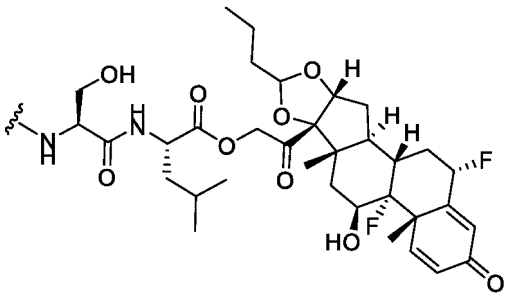
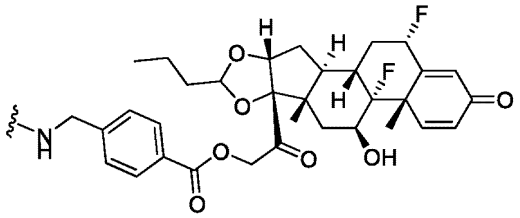
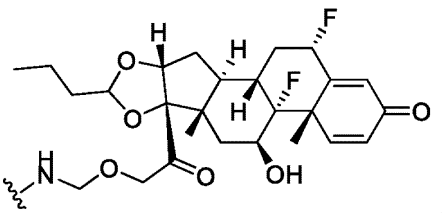
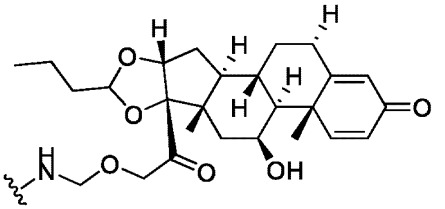
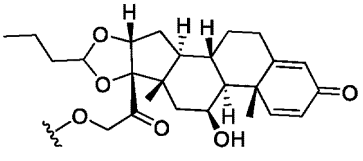
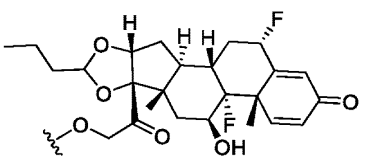

,


,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

, 及び


からなる群から選択され、

ここで、

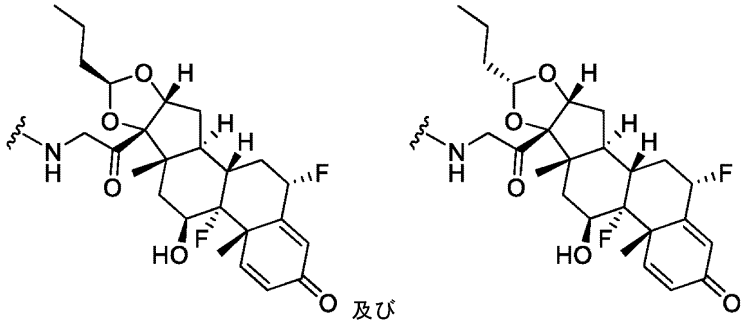
【化３４】

が前記リンカーとの結合である、請求項18記載の抗体-薬物コンジュゲート。

【請求項２４】

前記ステロイドペイロードが:

【化３５】



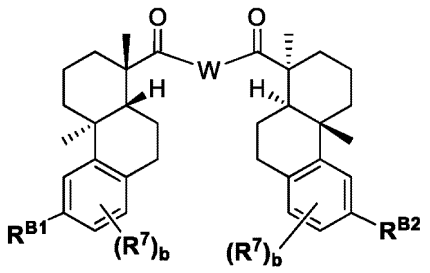
及び

又はその混合物からなる群から選択される、請求項18記載の抗体-薬物コンジュゲート。

【請求項２５】

リンカーを介して前記抗体又はその抗原結合断片にコンジュゲートされたLXRモジュレーターが式(B)の化合物である、請求項19記載の抗体-薬物コンジュゲート、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態:

【化３６】



式 (B)

(式中、

Wは、$-CH_2-$、-N(H)-、又は-O-であり;

R^{B1}は、-H、-OH、$-NH_2$、アルキル、又は$-OP(O)(OR^6)_2$であり;

R^{B2}は、-H、-OH、$-CH_2NH_2$、R^{B3}、R^{B4}、R^{B5}、又は$-O-R^{B5}$であり、ここで、R^{B1}及びR^{B2}は、同時に-Hであることはなく;

R^{B3}は、$-N(R^6)_2$であり;

R^{B4}は、-X-Y-Zであり;

Xは、-O-及び-N(H)-からなる群から選択され;

Yは、アルキレン、置換アルキレン(限定されないが、オキソ置換、(すなわち、=O)を含む)、ヘテロアルキレン、及び置換ヘテロアルキレン(限定されないが、オキソ置換(すなわち、=O)を含む)からなる群から選択され;

Zは、-OH及び$-NH_2$からなる群から選択され;

R^{B5}は、アルキル、ヘテロシクロアルキル、又は置換ヘテロシクロアルキルであり、ここで、各々のヘテロシクロアルキル又は置換ヘテロシクロアルキルは、窒素及び酸素から選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み、かつ少なくとも1つの-OH及び$-CH_2OH$置換基又は少なくとも1つの一級もしくは二級窒素、例えば、O-グルコースを含み;

各々のR^6は、各々の場合に、-H、アミノ酸残基、N-アルキルアミノ酸残基、ペプチド、又はアルキルであり;かつ

各々のR^7は、独立に、ハロ、C_{1-6}アルキル、C_{1-6}アルコキシ、-CN、O-グルコース、O-アミノ酸残基、及び$O-PEG_b$(ここで、各々の下付文字bは、0～3の整数である)であり;

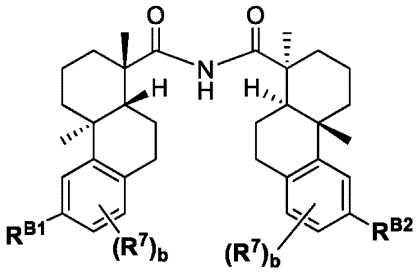
ここで、基R^{B1}又はR^{B2}は、該リンカーに結合している)。

【請求項２６】

リンカーを介して、前記抗体又はその抗原結合断片にコンジュゲートされたLXRモジュレーターが式(B-1)の化合物である、請求項19記載の抗体-薬物コンジュゲート、又はその

医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態:

【化３７】



式 (B-1)

(式中:

R^{B1}は、-N(H)R^8又は-N(R^9)$_2$であり;

R^{B2}は、-N(H)R^8であり;

各々のR^8は、各々の場合に独立に、水素、アミノ酸残基、N-アルキルアミノ酸残基、ペプチド残基、生体分解性部分、又はアルキルであり;

R^9は、アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクロアルキル、又は置換ヘテロシクロアルキルであり、ここで、各々のヘテロシクロアルキル又は置換ヘテロシクロアルキルは、窒素及び酸素から選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み、かつ置換されているとき、少なくとも1つの-OH及び-CH_2OHを含むか、又は少なくとも1つの一級もしくは二級窒素を含み;

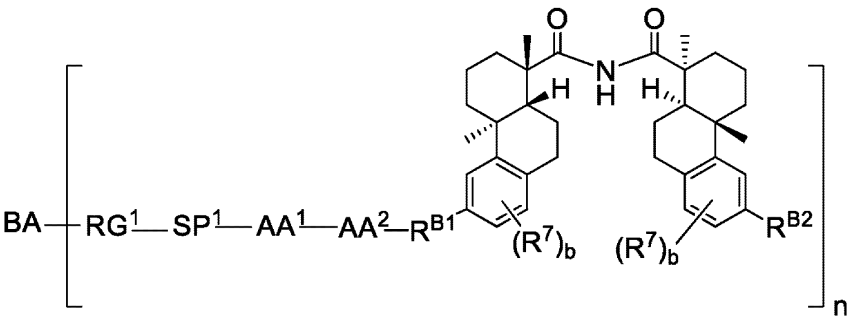
各々のR^7は、独立に、ハロ、C_{1-6}アルキル、C_{1-6}アルコキシ、-CN、O-グルコース、O-アミノ酸残基、又はO-PEG_b(ここで、各々の下付文字bは、0～3の整数である)であり;

ここで、基R^{B1}又はR^{B2}は、該リンカーに結合している)。

【請求項２７】

式(6005)の構造を有する、請求項5～17、19、25及び26のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート

【化３８】



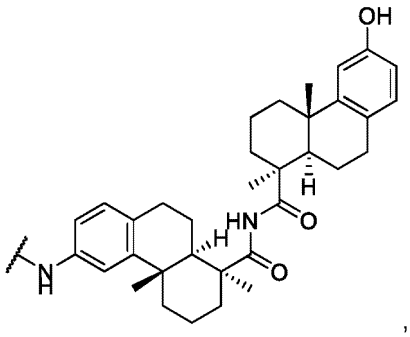
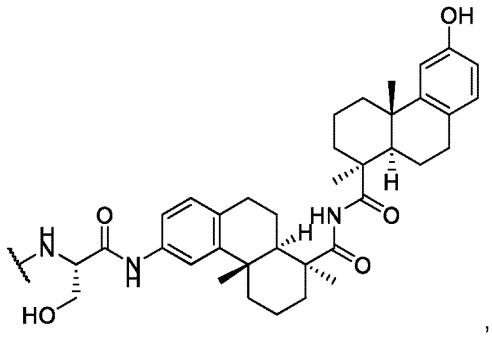
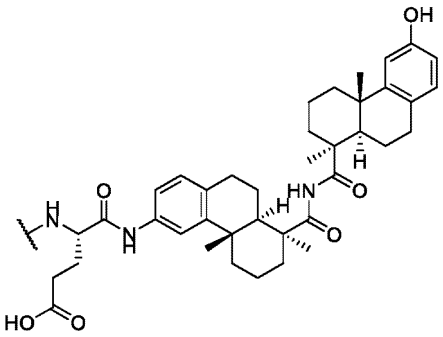
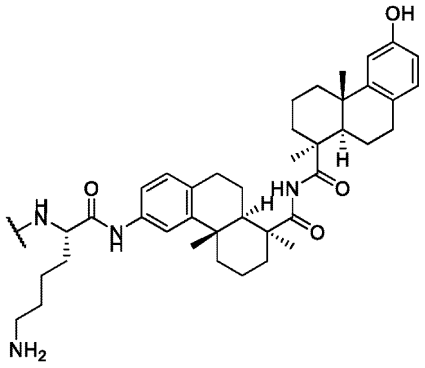
式 (6005)

。

【請求項２８】

前記LXRモジュレーターが:

【化３９】


,

,

, 及び


からなる群から選択され、

ここで、

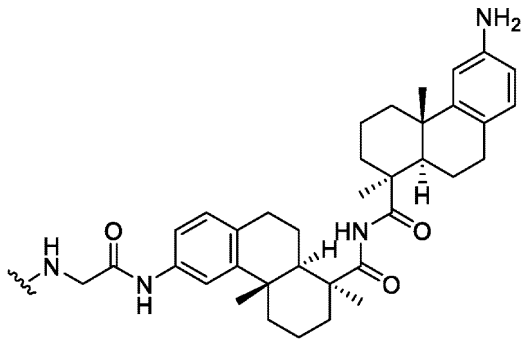
【化４０】

が前記リンカーとの結合である、請求項19記載の抗体-薬物コンジュゲート。

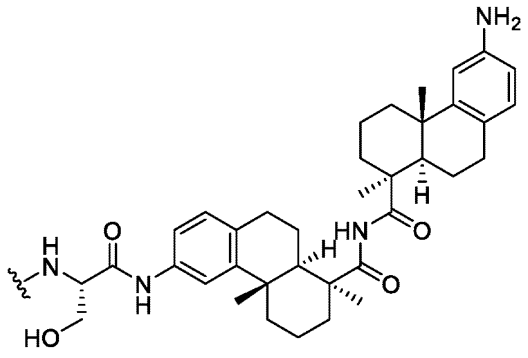
【請求項２９】

前記LXRモジュレーターが:

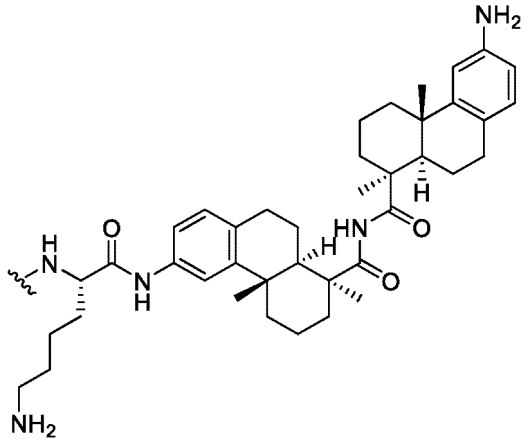
【化４１】



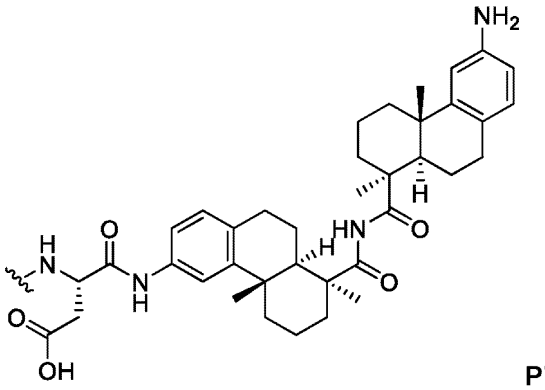
P4B;



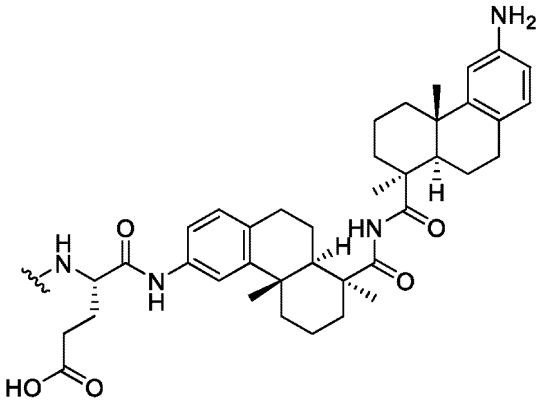
P5B;



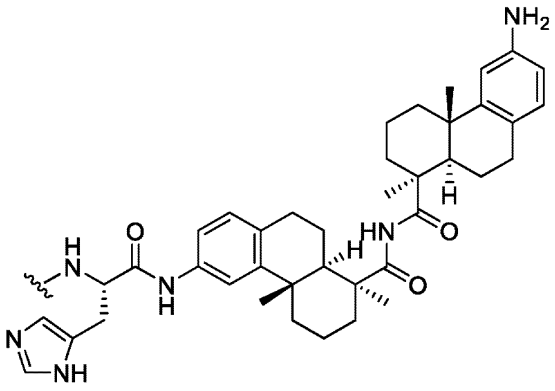
P6B;



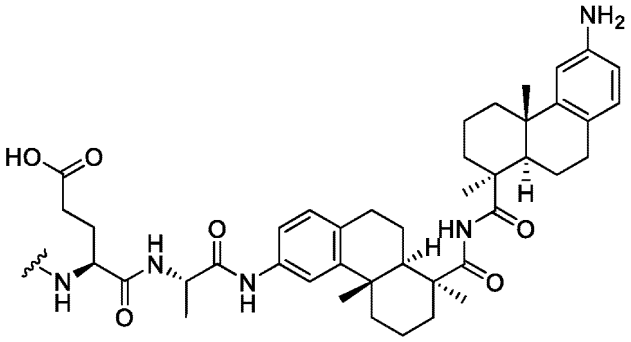
P7B;



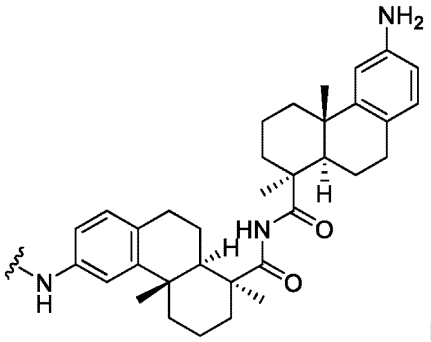
P8B;



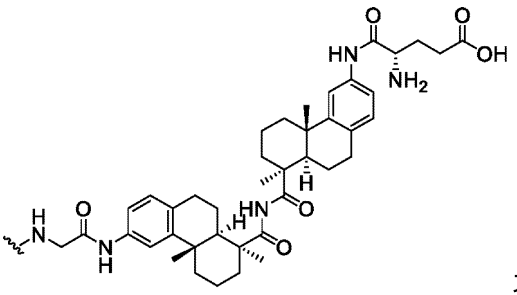
P9B;



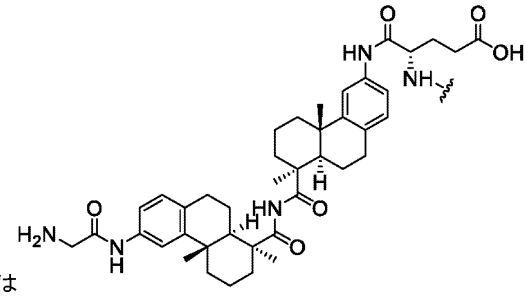
P12B;

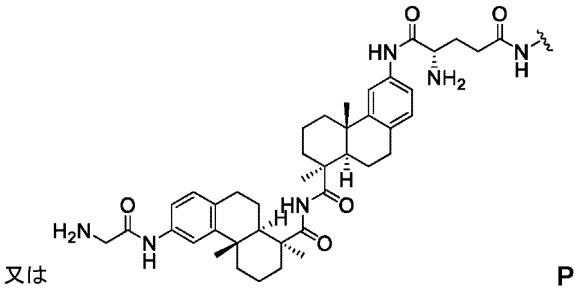


P2B;



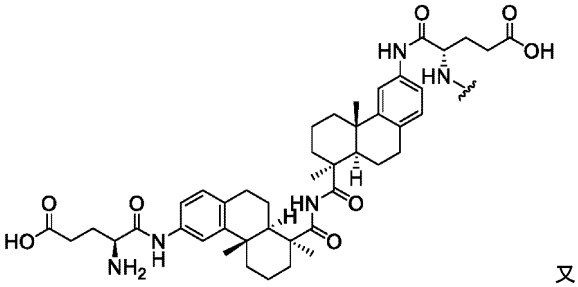
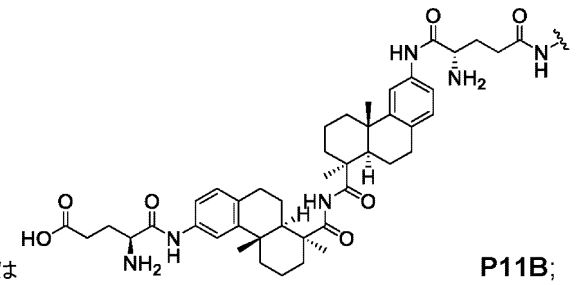
又は



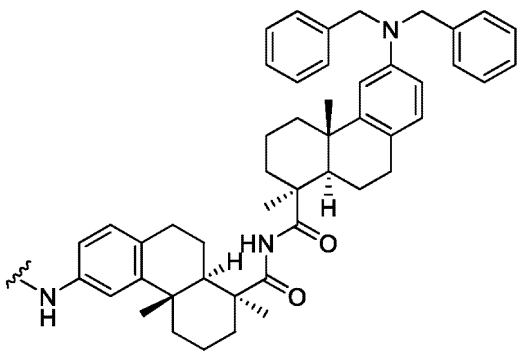


又は

P10B;

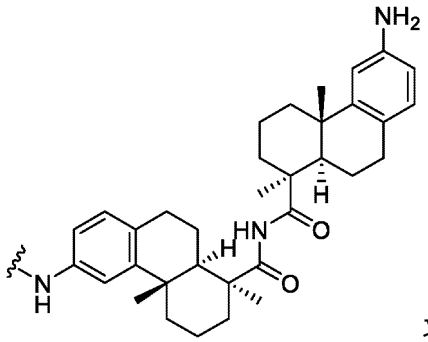
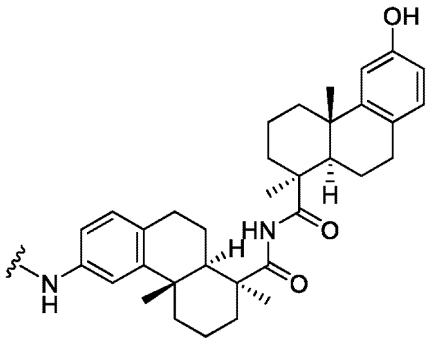

又は

P11B;

及び


P3B;

からなる群から選択され、
ここで、
【化４２】

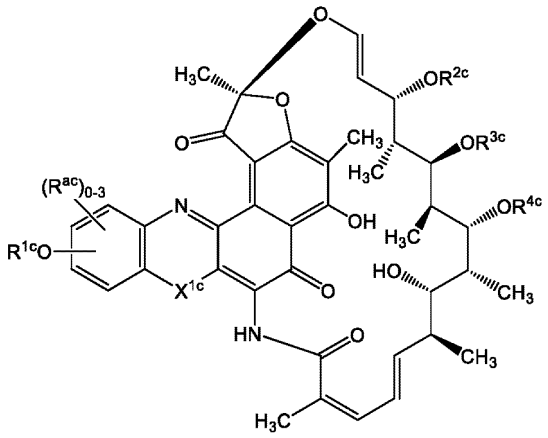
が前記リンカーとの結合である、請求項19記載の抗体-薬物コンジュゲート。
【請求項３０】
前記LXRモジュレーターが、
【化４３】


又は


であり;
ここで、
【化４４】

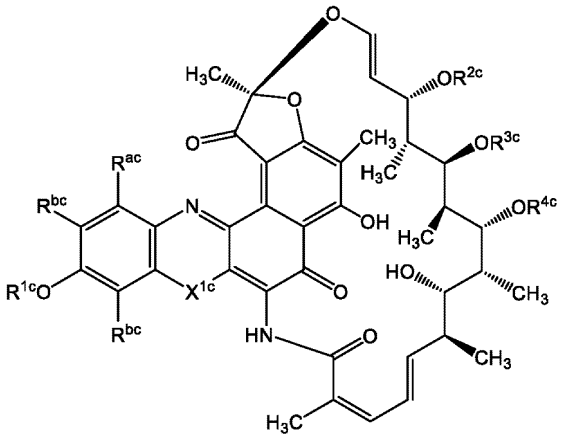
が前記リンカーとの結合である、請求項19記載の抗体-薬物コンジュゲート。

【請求項３１】
前記リファマイシンが式(C-1)の化合物である、請求項20記載の抗体-薬物コンジュゲート、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態:
【化４５】



式 (C-1)

(式中:
X^{1c}は、-S-; -O-及び-NR^{5c}から選択され;
R^{1c}は、アミノ-C_{1-6}アルキル; C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ジ-C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ヒドロキシ-C_{1-6}アルキル; HS-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-$N(R^{5c})$-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-O-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-S-C_{1-6}アルキル;ヘテロシクロアルキル、又はヘテロシクロアルキル-C_{1-6}アルキルであり;ここで、ヘテロシクロアルキルは、O、N、及びSから選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み;かつここで、ヘテロシクロアルキルは、ハロ、C_{1-6}アルキル、-OH、=O、又は-$N(R^{5c})_2$で任意に置換されており;
R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;
各々のR^{ac}は、存在する場合、独立に、-F; -Cl; -Br; -I; -OH; -NH_2;及びC_{1-6}アルコキシから選択され;かつ
R^{5c}は、出現する毎に独立に、水素;及びC_{1-6}アルキルから選択され;
ここで、基R^{1c}は、前記リンカーに結合している)。
【請求項３２】
前記リファマイシンが式(C-2)の化合物である、請求項20記載の抗体-薬物コンジュゲート、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態:
【化４６】



式 (C-2)

(式中:
X^{1c}は、-S-; -O-及び-NR^{5c}から選択され;

R^{1c}は、アミノ-C_{1-6}アルキル; C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ジ-C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ヒドロキシ-C_{1-6}アルキル; HS-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-$N(R^{5c})$-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-O-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-S-C_{1-6}アルキル;ヘテロシクロアルキル、又はヘテロシクロアルキル-C_{1-6}アルキルであり;ここで、ヘテロシクロアルキルは、O、N、及びSから選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み;かつここで、ヘテロシクロアルキルは、ハロ、C_{1-6}アルキル、-OH、=O、又は-$N(R^{5c})_2$で任意に置換されており;

R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;

R^{ac}及びR^{bc}は、独立に、-F; -Cl; -Br; -I; -OH; $-NH_2$;及びC_{1-6}アルコキシから選択され;かつ

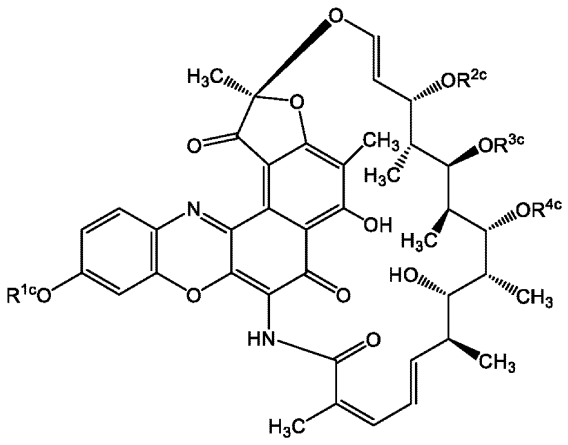
R^{5c}は、出現する毎に独立に、水素;及びC_{1-6}アルキルから選択され;

ここで、基R^{1c}は、前記リンカーに結合している)。

【請求項３３】

前記リファマイシンが式(C-3)の化合物である、請求項20記載の抗体-薬物コンジュゲート、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態:

【化４７】



式 (C-3)

(式中:

R^{1c}は、ジ-C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-$N(R^{5c})$-C_{1-6}アルキル;ヘテロシクロアルキル、又はヘテロシクロアルキル-C_{1-6}アルキルであり;ここで、ヘテロシクロアルキルは、O、N、及びSから選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み;かつここで、ヘテロシクロアルキルは、ハロ、C_{1-6}アルキル、-OH、=O、又は-$N(R^{5c})_2$で任意に置換されており;かつ

R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;かつ

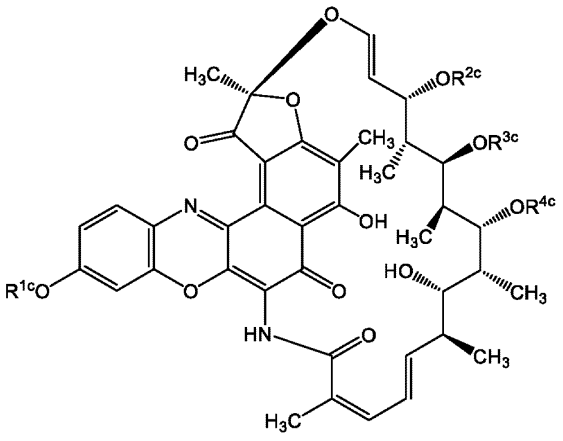
R^{5c}は、水素及びC_{1-6}アルキルから選択され;

ここで、基R^{1c}は、前記リンカーに結合している)。

【請求項３４】

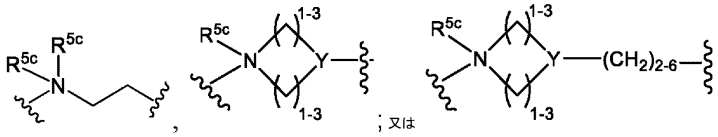
前記リファマイシンが式(C-4)の化合物である、請求項20記載の抗体-薬物コンジュゲート、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態:

【化４８】



式（C-4）

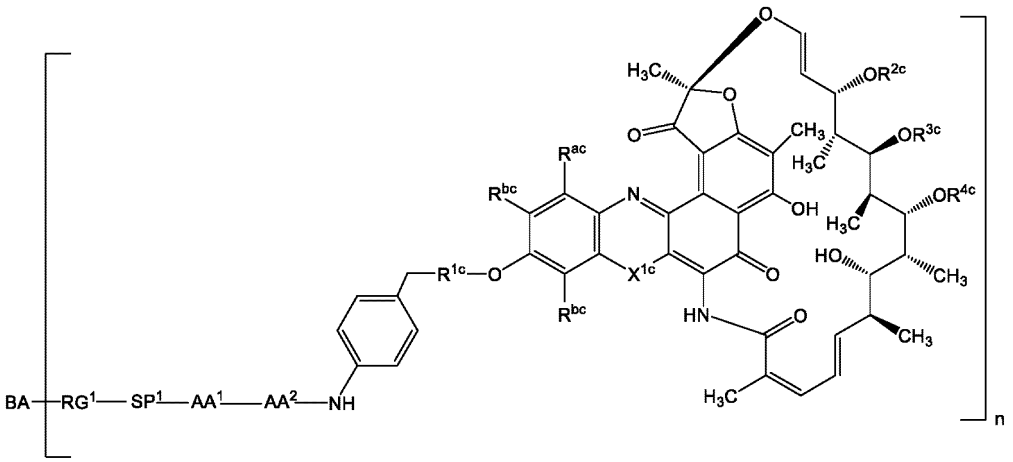
(式中:
R^{1c}は、
【化４９】



であり;ここで、Yは、C又はNであり;
R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C$_{1-6}$アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;かつ
R^{5c}は、出現する毎に独立に、非存在であるか、又は水素及びC$_{1-6}$アルキルから選択され;
ここで、基R^{1c}は、波線
【化５０】

によって示される窒素原子を介して、前記リンカーに結合している)。
【請求項３５】
式(7002)の構造を有する、請求項5～7、9、13～17、20、及び31～34のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート:

【化５１】



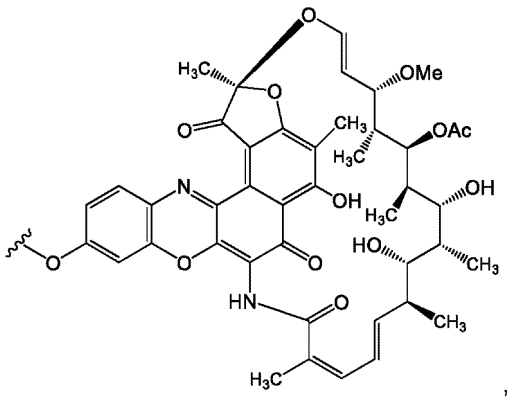
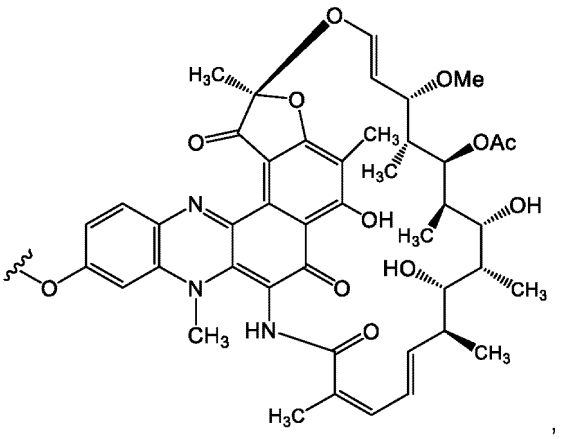
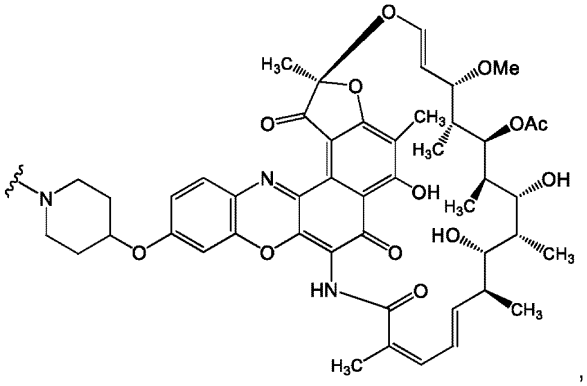
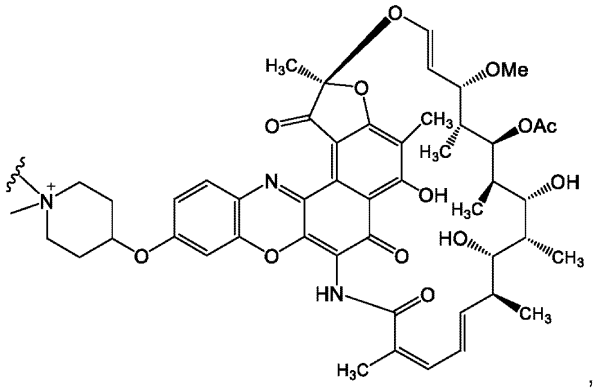
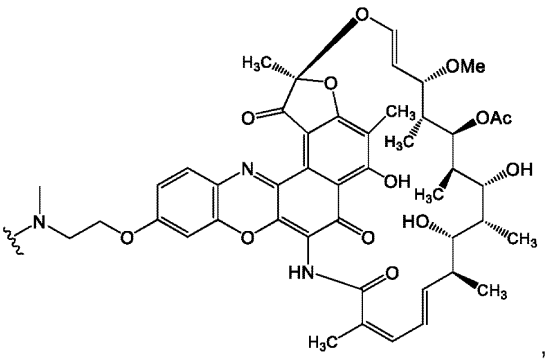
式（7002）

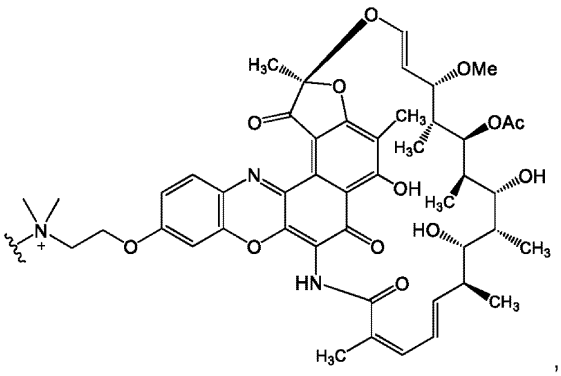
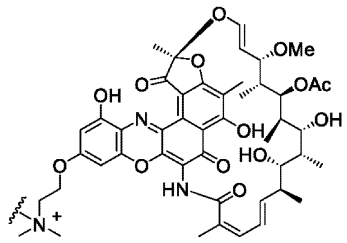
。

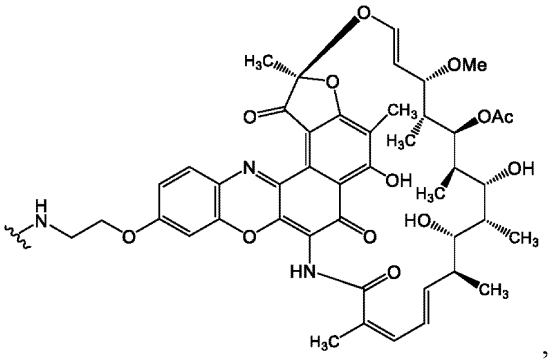
【請求項３６】

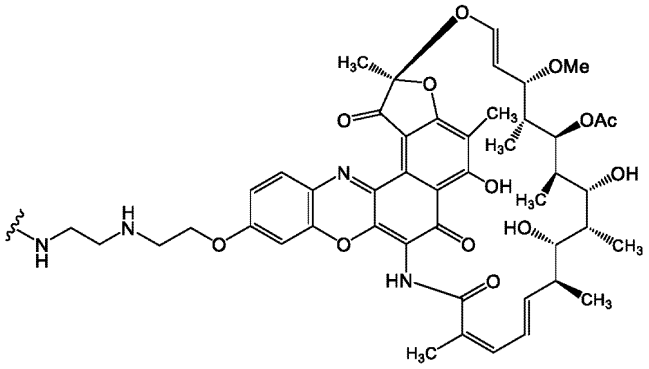
前記リファマイシンが:

【化５２】


,

,

,

,

,


,

,


,及び



からなる群から選択され、

ここで、

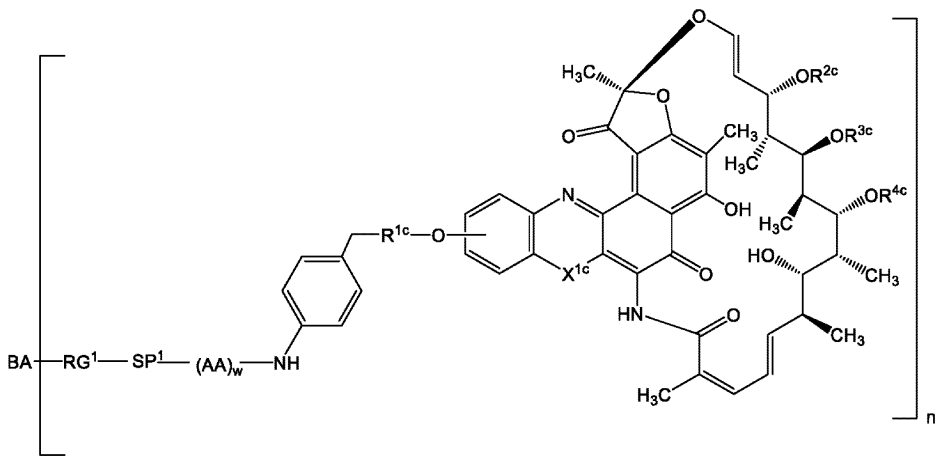
【化５３】

が前記リンカーとの結合である、請求項6、7、9、13～17、20、及び31～35のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート。

【請求項３７】

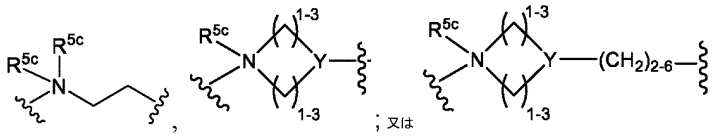
式(7003)の構造を有する、抗体-リファマイシンコンジュゲート、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態:

【化５４】



式 (7003)

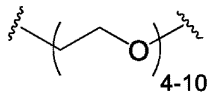
(式中:
X^{1c}は、-S-; -O-及び-NR^{5c}から選択され;
R^{1c}は、
【化５５】



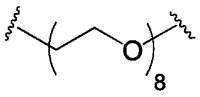
であり;ここで、Yは、C又はNであり;
R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;
R^{5c}は、出現する毎に独立に、非存在であるか、又は水素;及びC_{1-6}アルキルから選択され;
各々のAAは、独立に選択されるアミノ酸であり;
SP^1は、非存在、又はスペーサーであり;
RG^1は、反応基残基であり;
BAは、請求項1記載の抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり;
下付文字nは、1～30の整数であり;
下付文字wは、2、3、又は4であり;
ここで、R^{1c}は、波線
【化５６】

によって示される窒素原子を介して、-CH_2-に結合している)。
【請求項３８】
X^{1c}がOである、請求項37記載の抗体-リファマイシンコンジュゲート。
【請求項３９】
BAがN297Q突然変異を含む抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である、請求項37又は請求項38記載の抗体-リファマイシンコンジュゲート。
【請求項４０】
下付文字wが2である、請求項37～39のいずれか一項記載の抗体-リファマイシンコンジュゲート。
【請求項４１】
$(AA)_2$がバリン-シトルリンである、請求項37～40のいずれか一項記載の抗体-リファマ

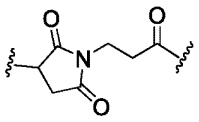
イシンコンジュゲート。
【請求項４２】
SP^1が、
【化５７】



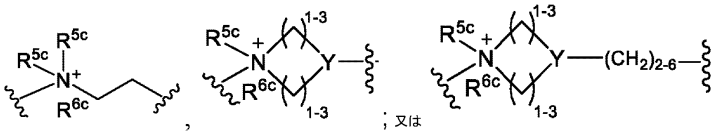
を含む、請求項37～41のいずれか一項記載の抗体-リファマイシンコンジュゲート。
【請求項４３】
SP^1が、
【化５８】



を含む、請求項37～41のいずれか一項記載の抗体-リファマイシンコンジュゲート。
【請求項４４】
RG^1が、
【化５９】

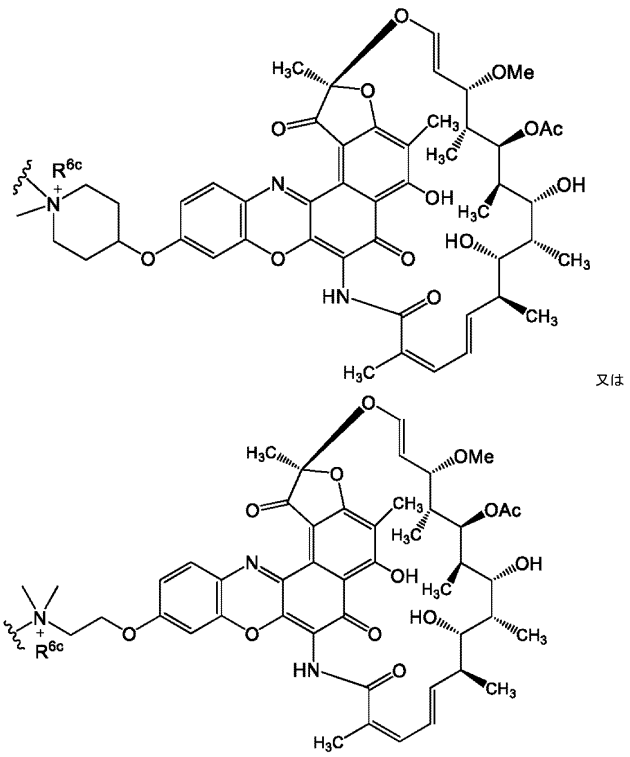


を含む、請求項37～43のいずれか一項記載の抗体-リファマイシンコンジュゲート。
【請求項４５】
X^{1c}がOであり;
R^{1c}が、
【化６０】



であり;ここで、Yは、C又はNであり;ここで、R^{1c}は、R^{1c}の4級窒素原子を介して、前記リンカーに結合しており;
R^{5c}がC_{1-6}アルキルであり;かつ
R^{6c}が対イオンである、
請求項37～43のいずれか一項記載の抗体-リファマイシンコンジュゲート。
【請求項４６】
前記リファマイシンが:

【化６１】

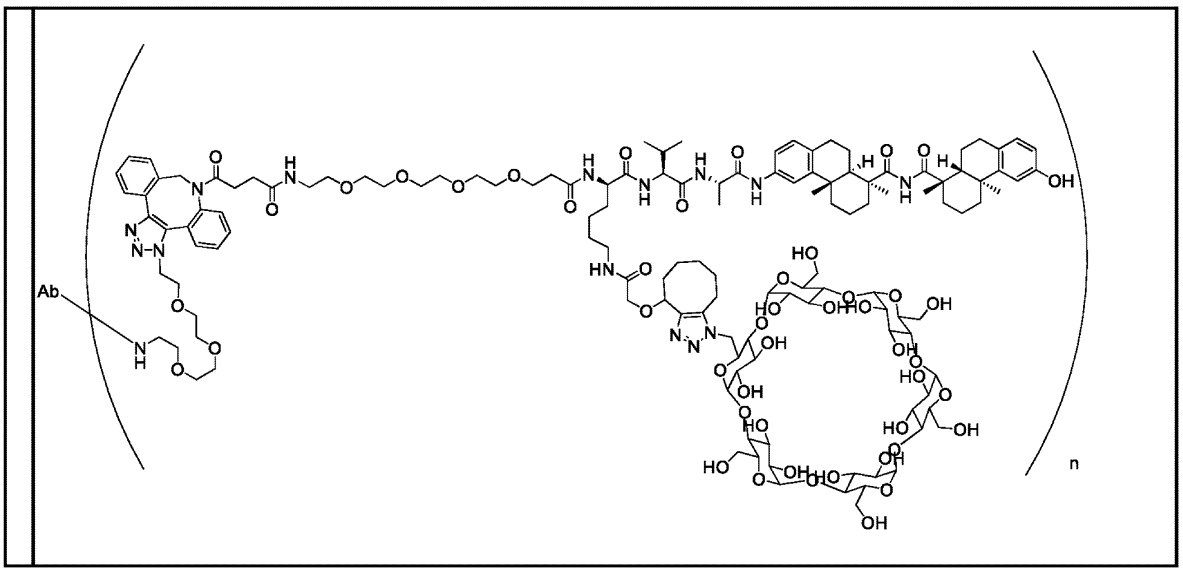


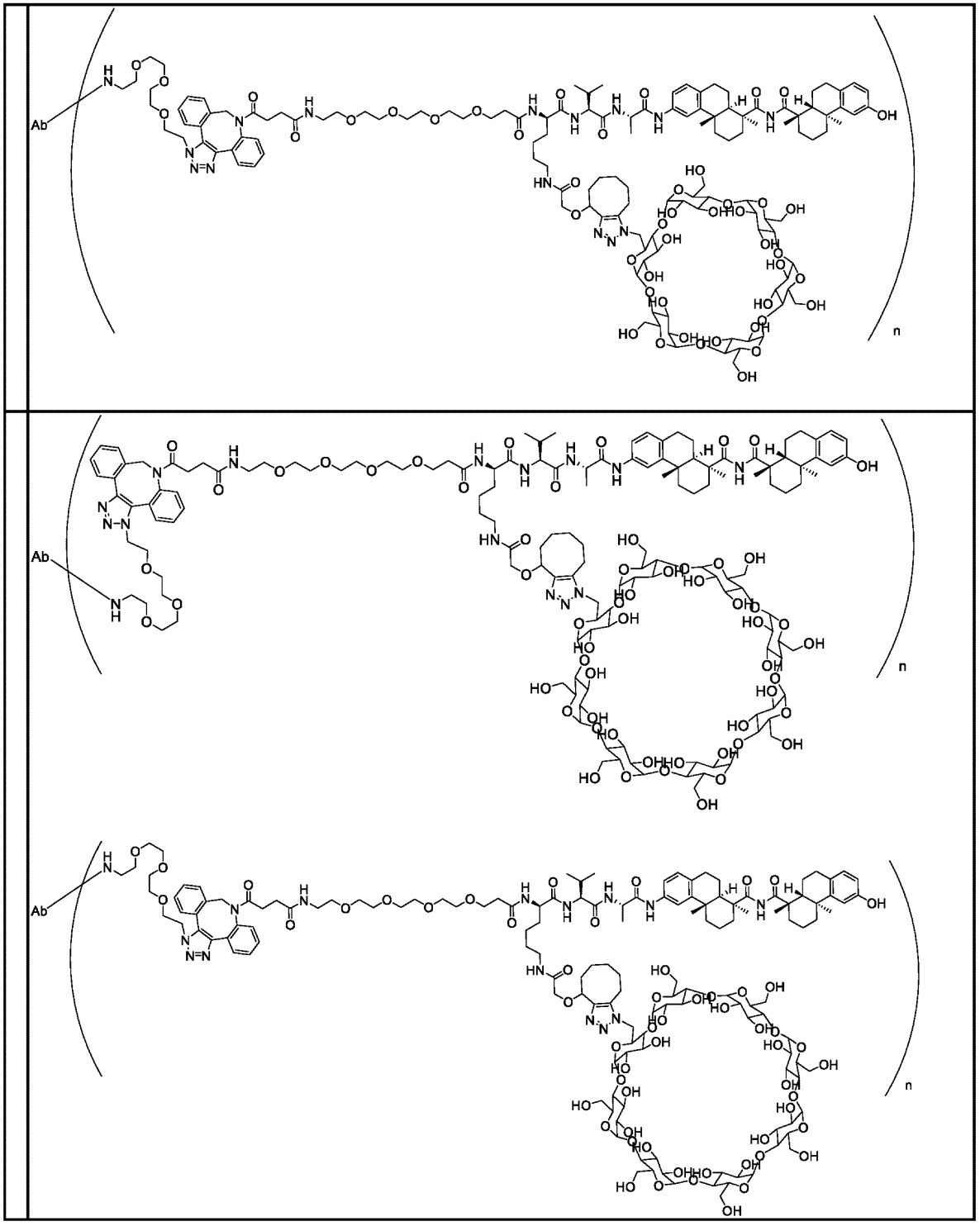
である、請求項37～45のいずれか一項記載の抗体-リファマイシンコンジュゲート。

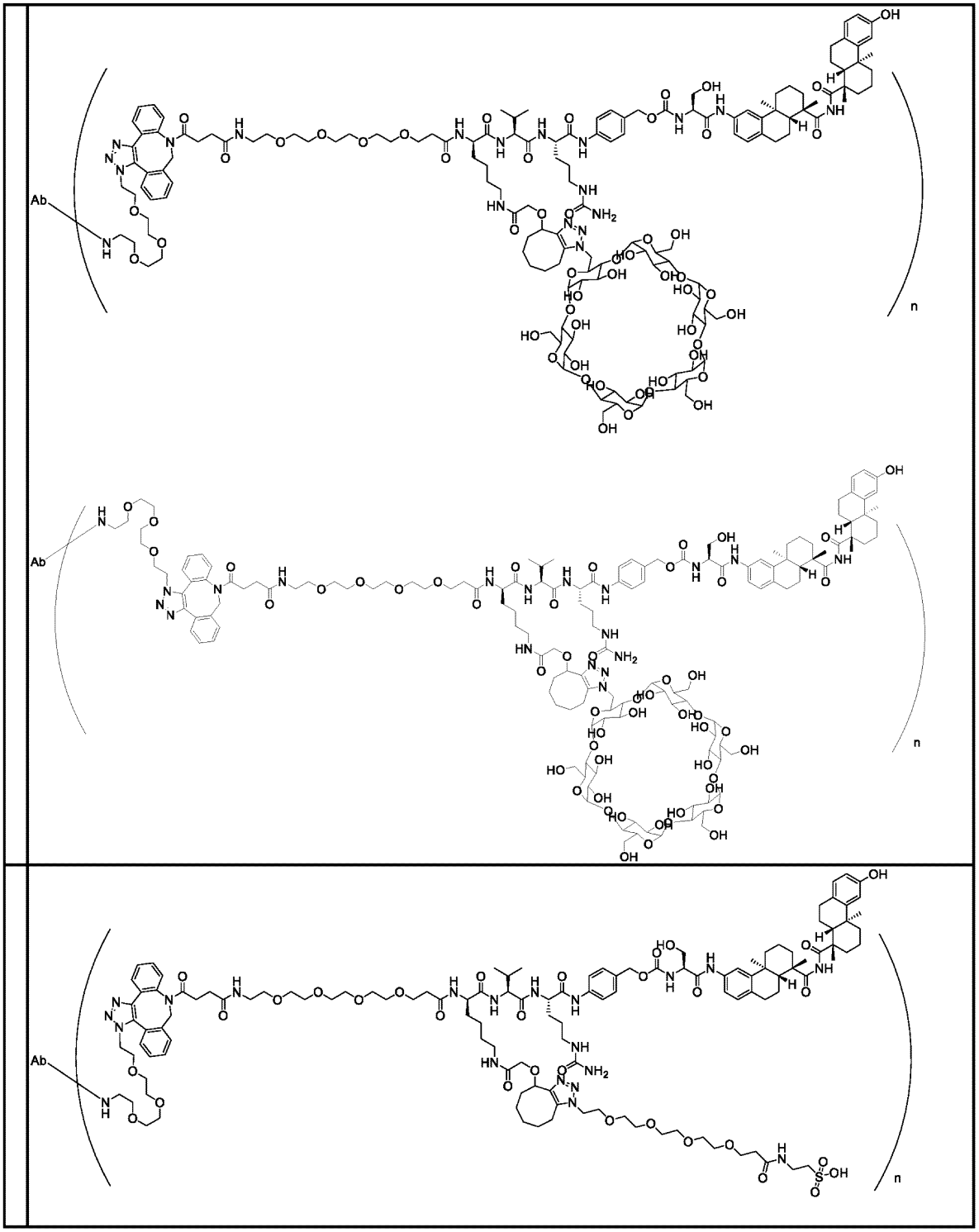
【請求項４７】

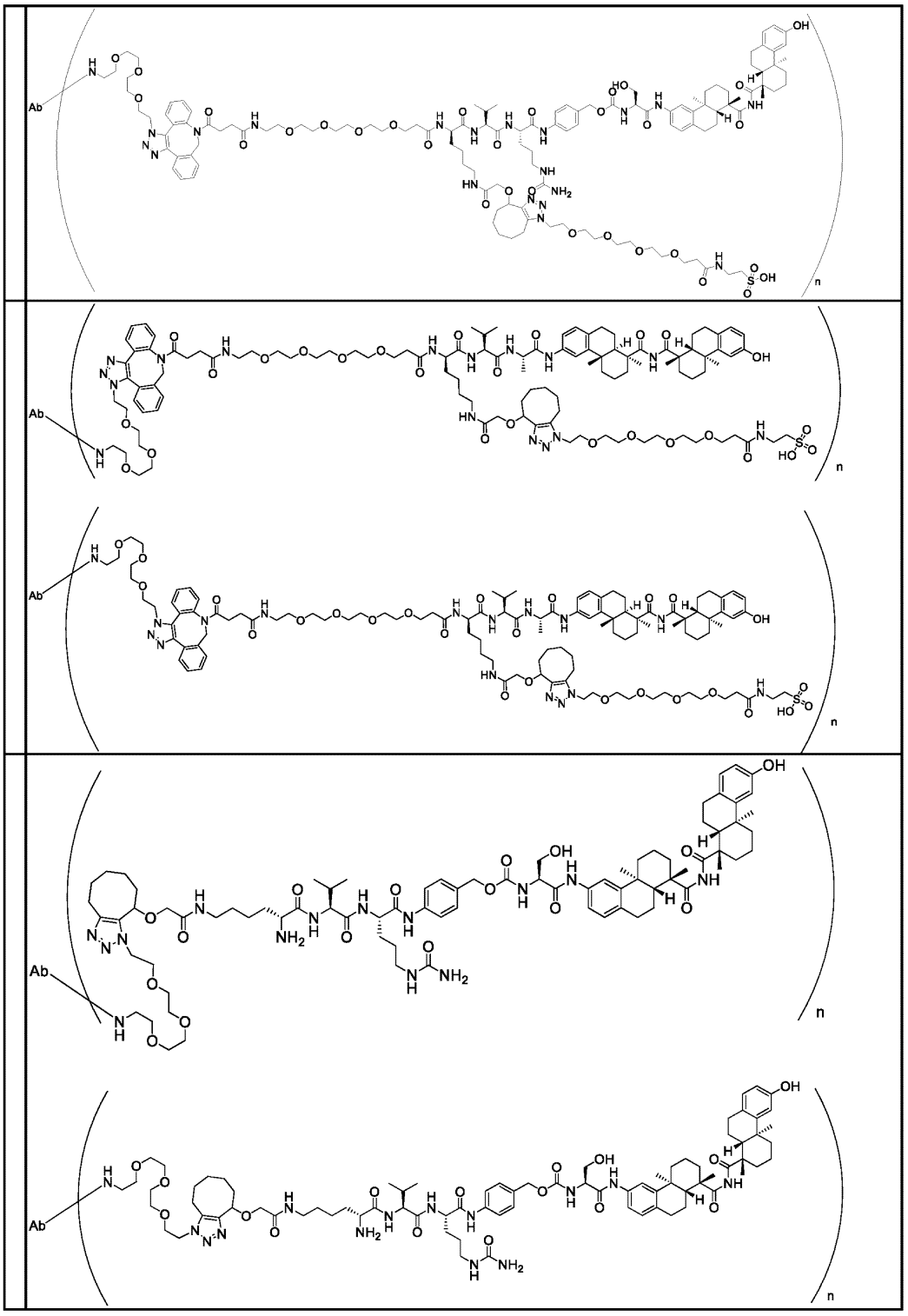
以下のもの:

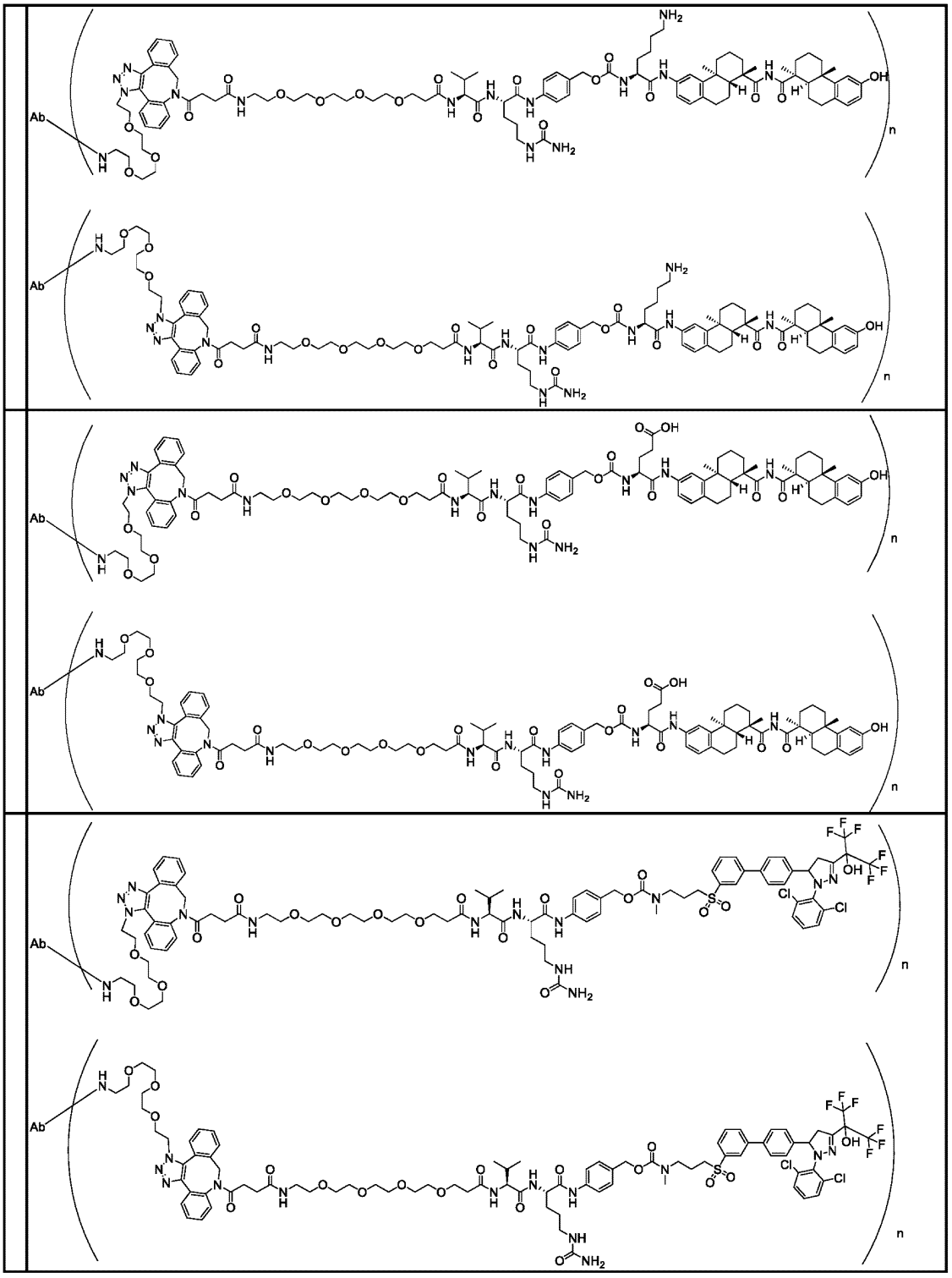
【化６２】

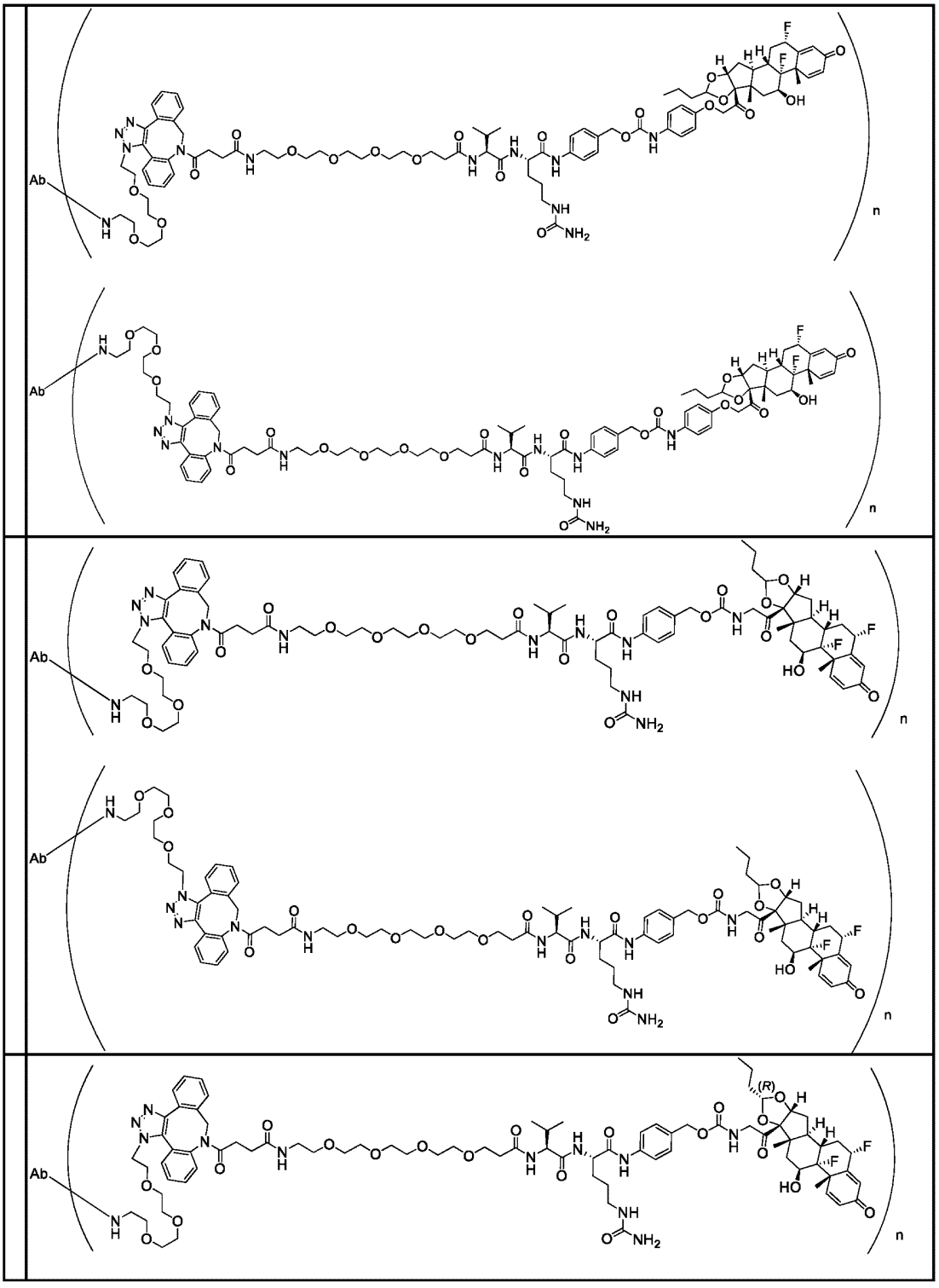


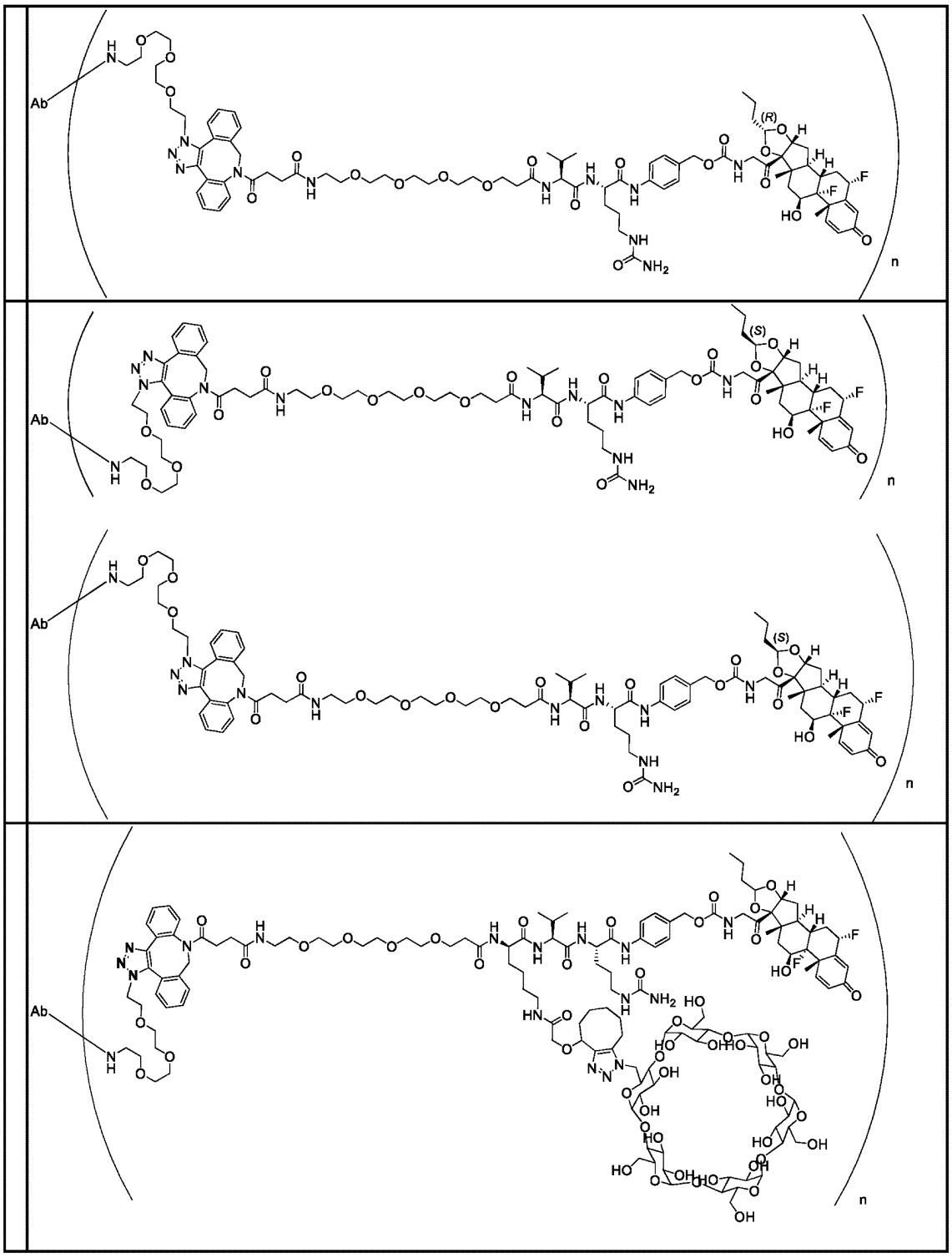

Ab
n
Ab
n
Ab
n

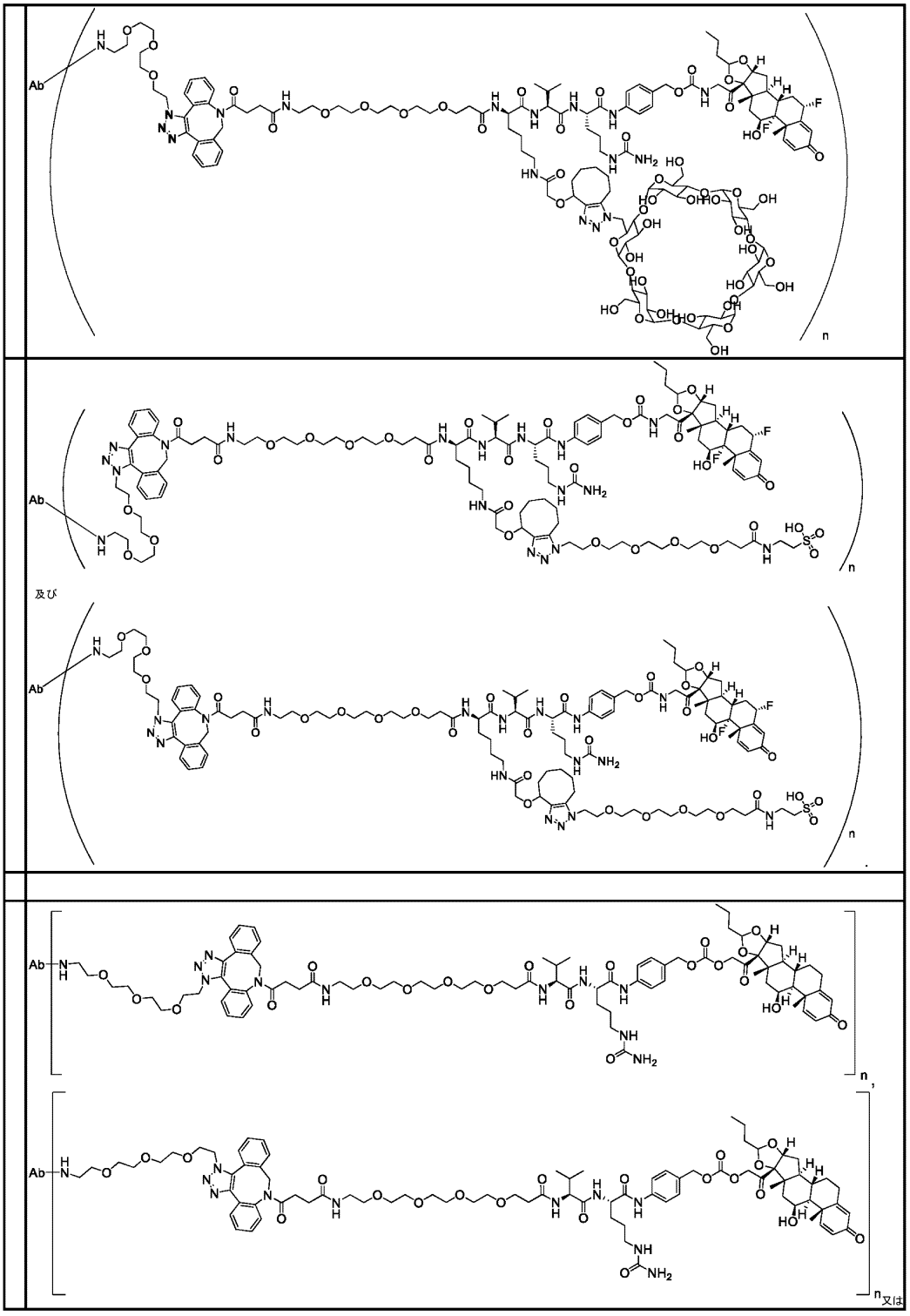

Ab
n
Ab
n
Ab
n


Ab
n
Ab
n
Ab
n
Ab
n

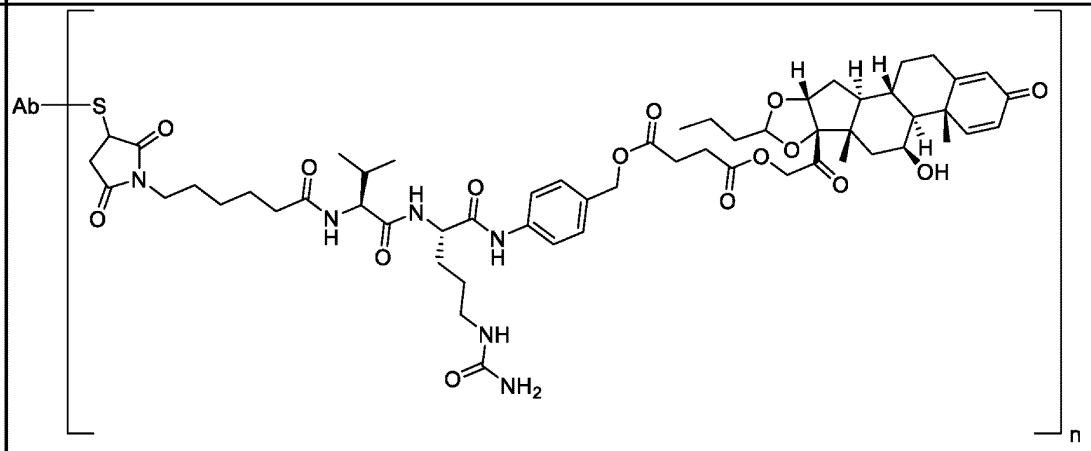

Ab
n
NH2
OH
O
N
H
F
Cl


Ab
n

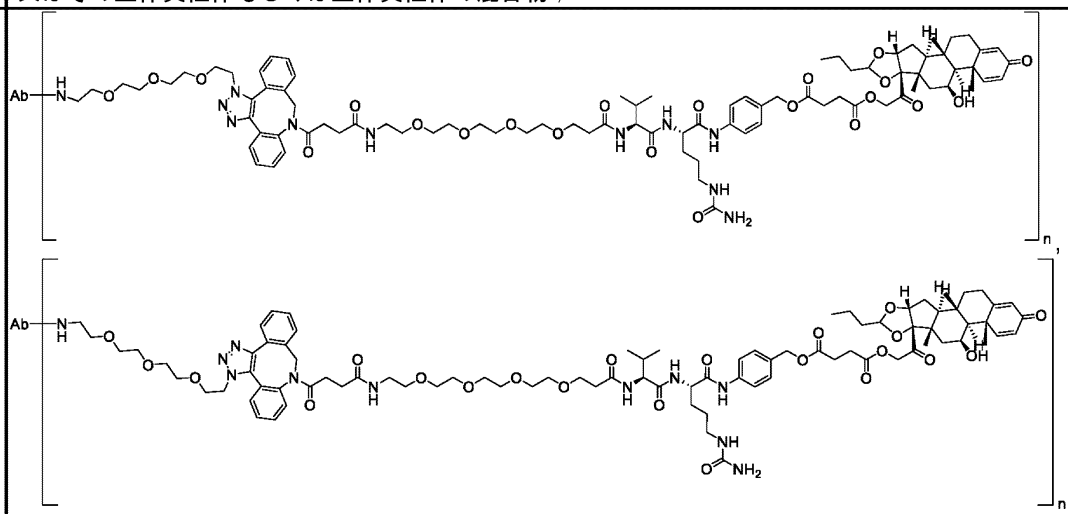

Ab
n
(R)
(S)
F
HO
NH
NH2
O
OH


及び
又は

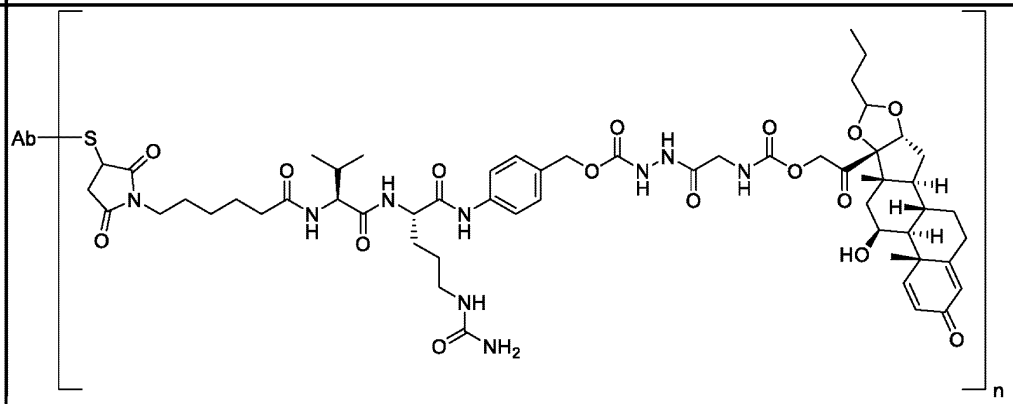
その混合物；



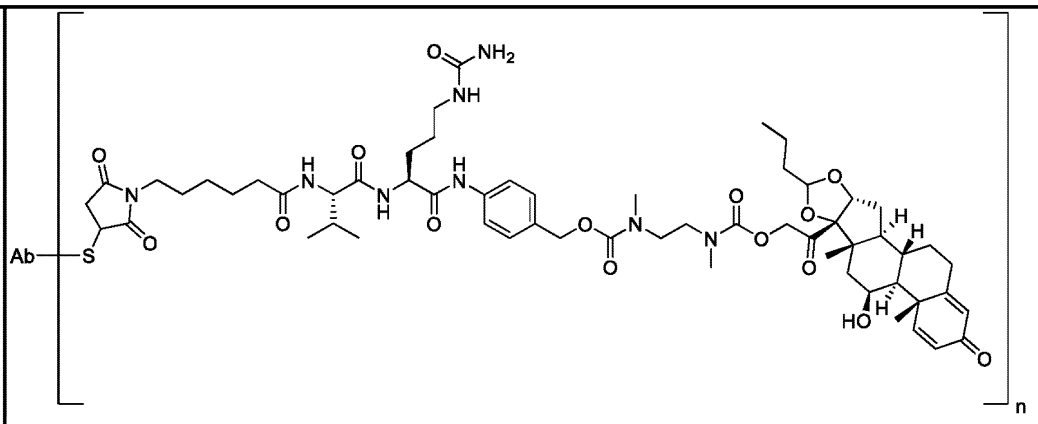
又はその立体異性体もしくは立体異性体の混合物；



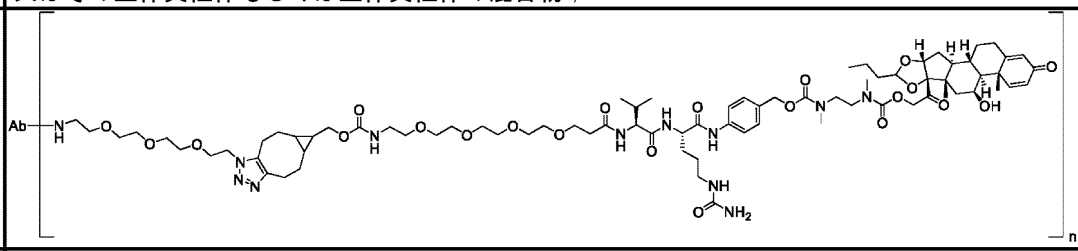
その混合物；又は

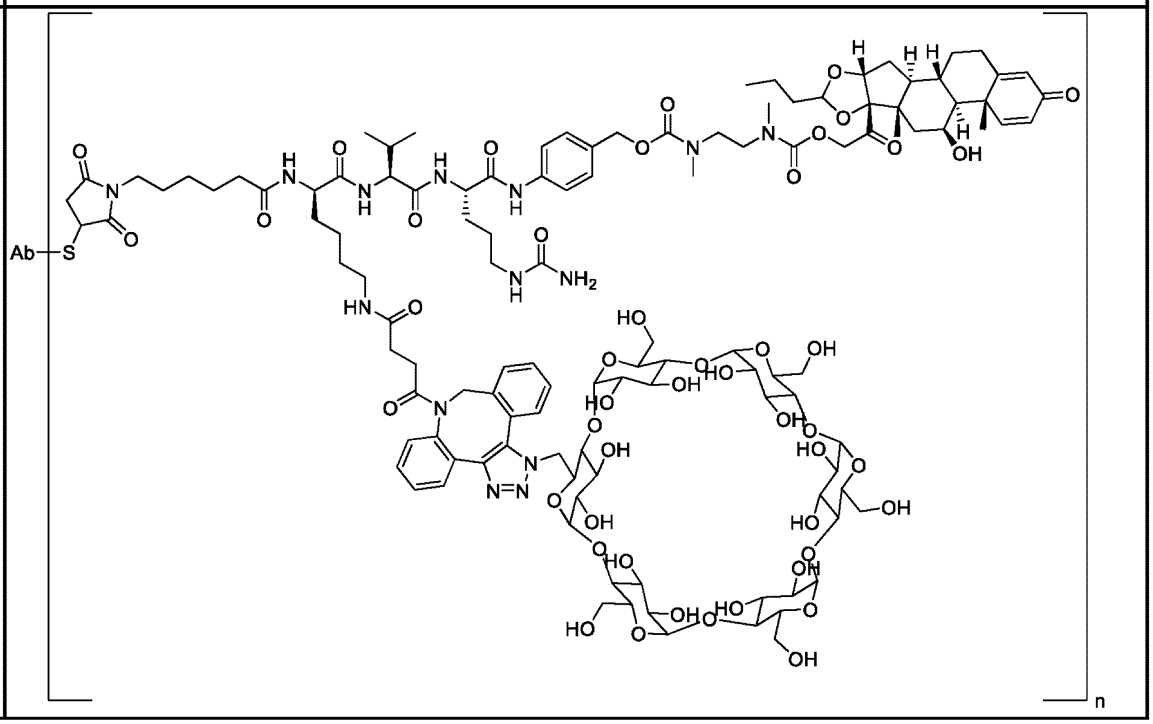


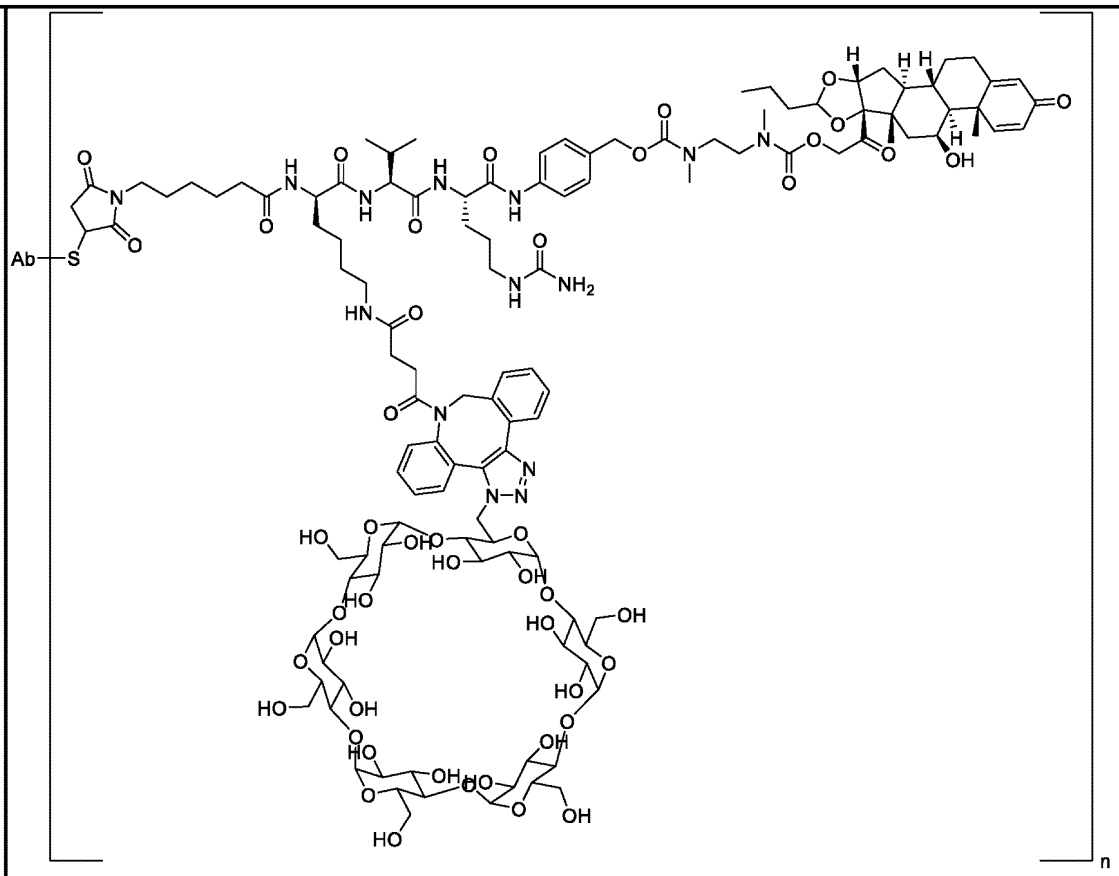
又はその立体異性体もしくは立体異性体の混合物；



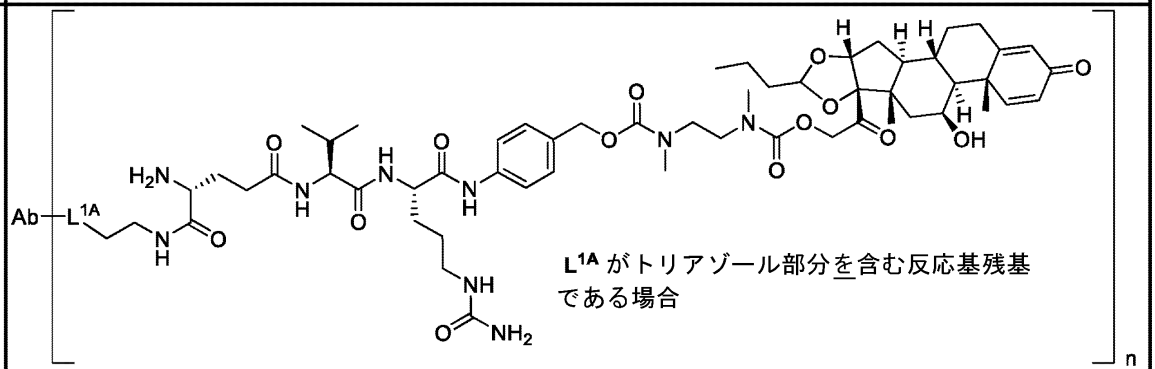
又はその立体異性体もしくは立体異性体の混合物；





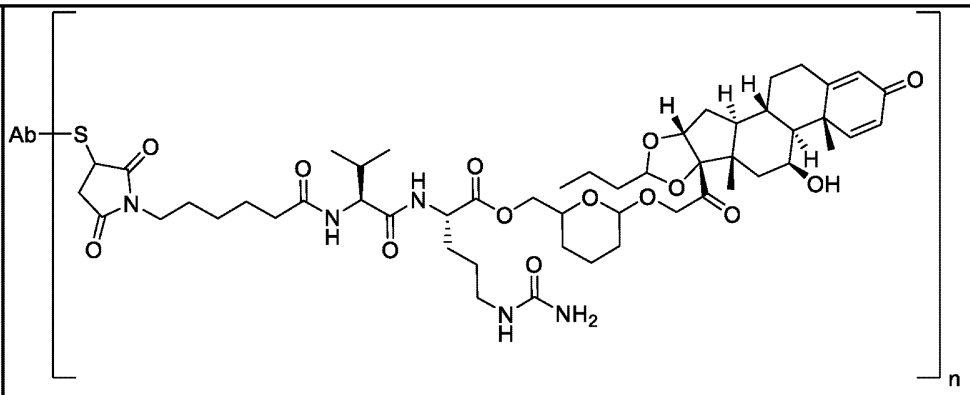


又はその混合物

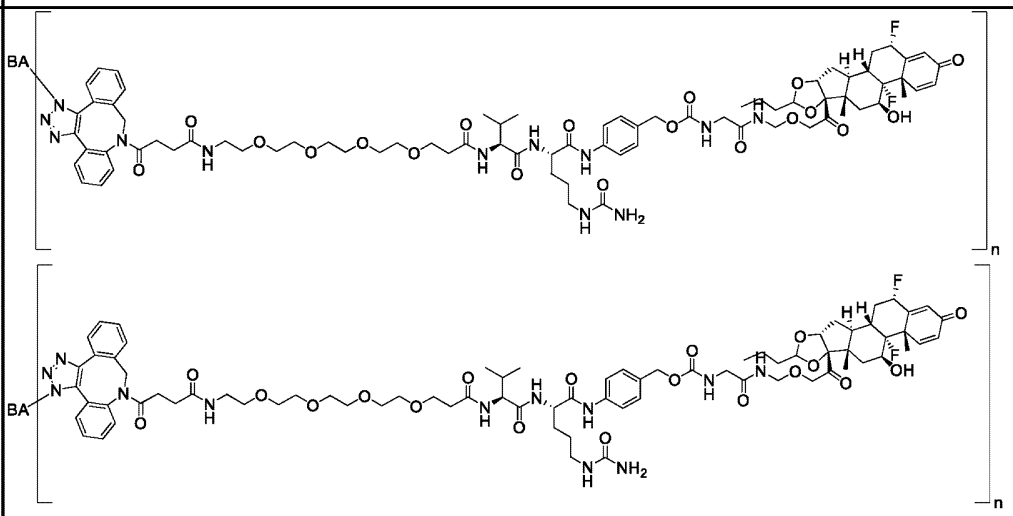


L^{1A} がトリアゾール部分を含む反応基残基である場合

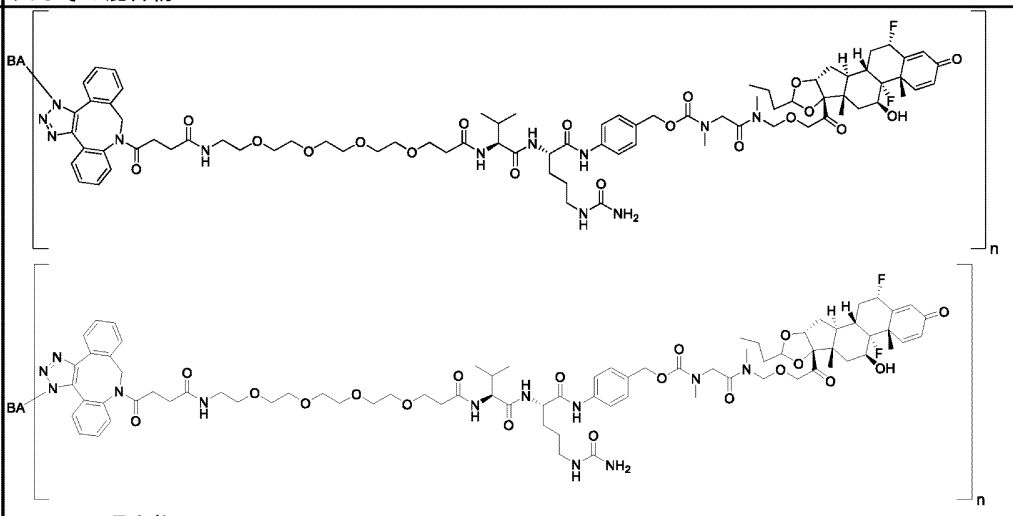
又はその混合物



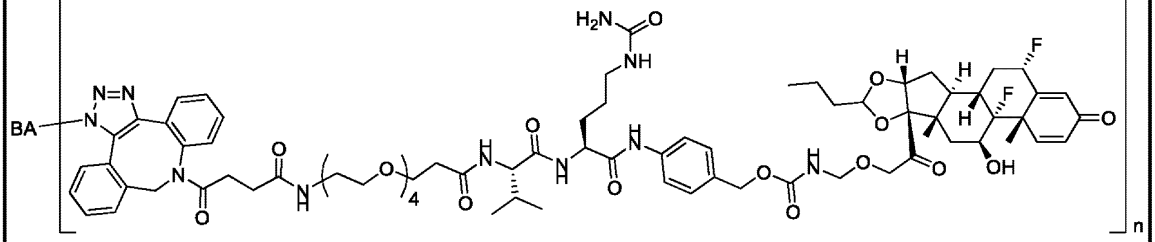
又はその立体異性体もしくは立体異性体の混合物

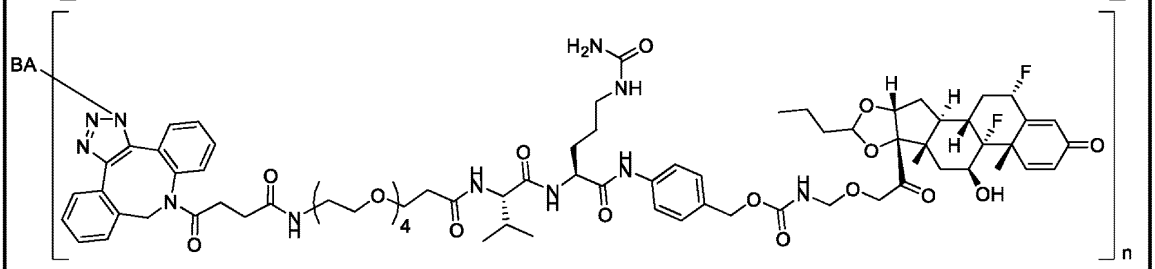


又はその混合物

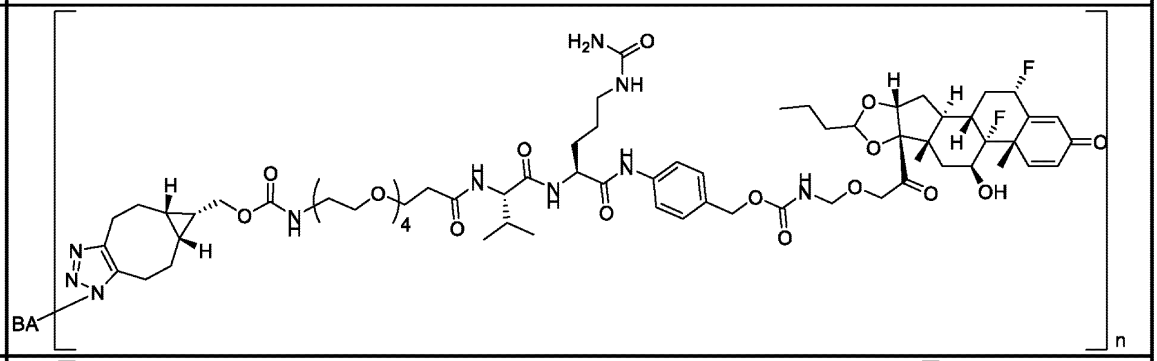


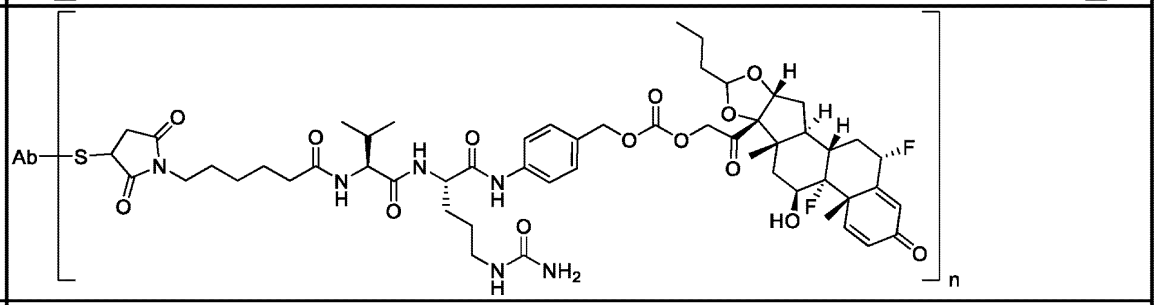
又はその混合物

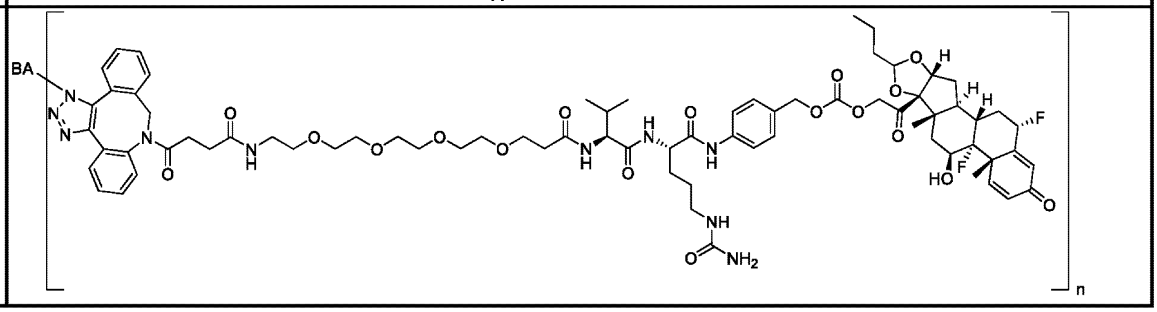


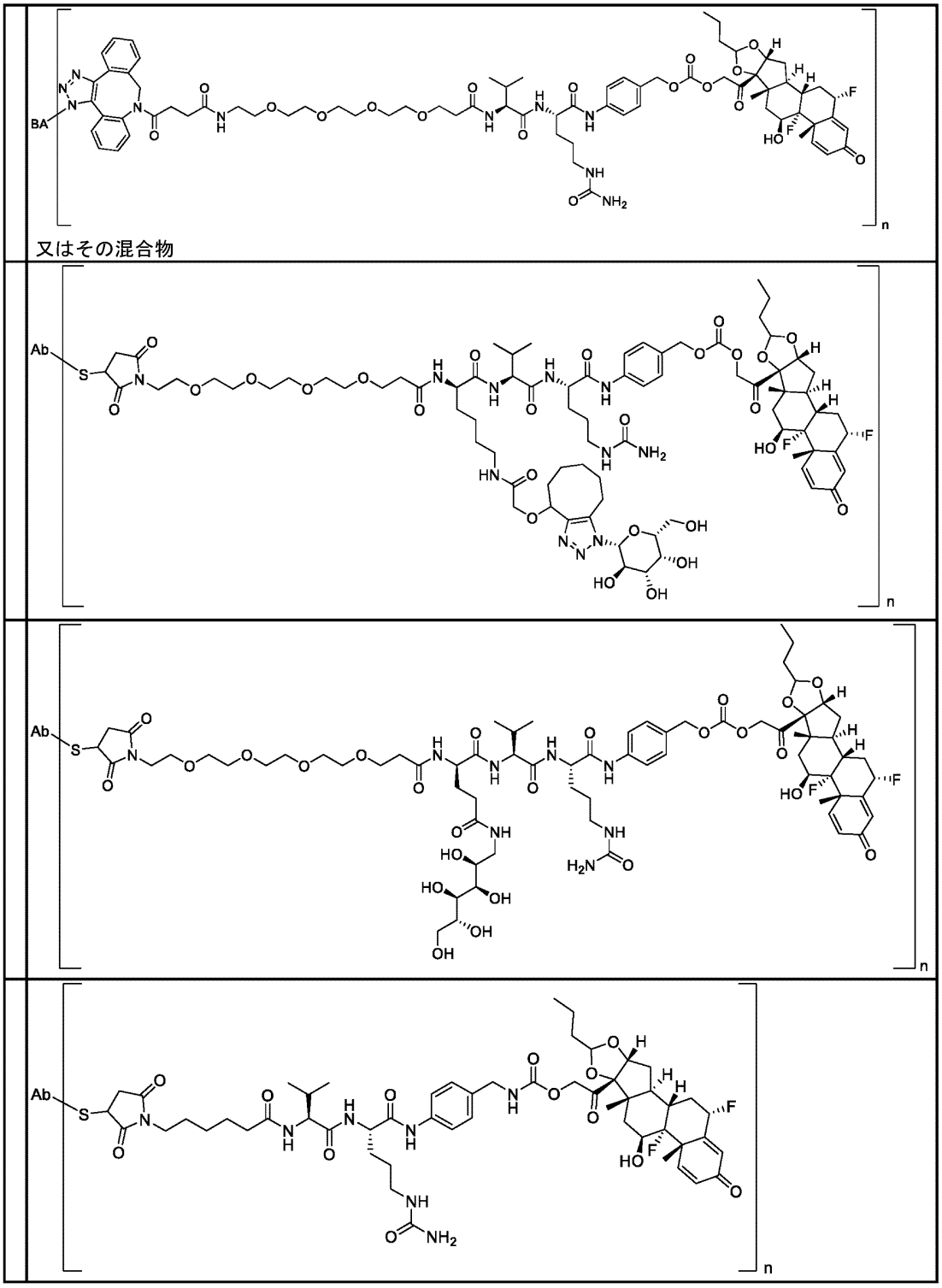


又はその混合物

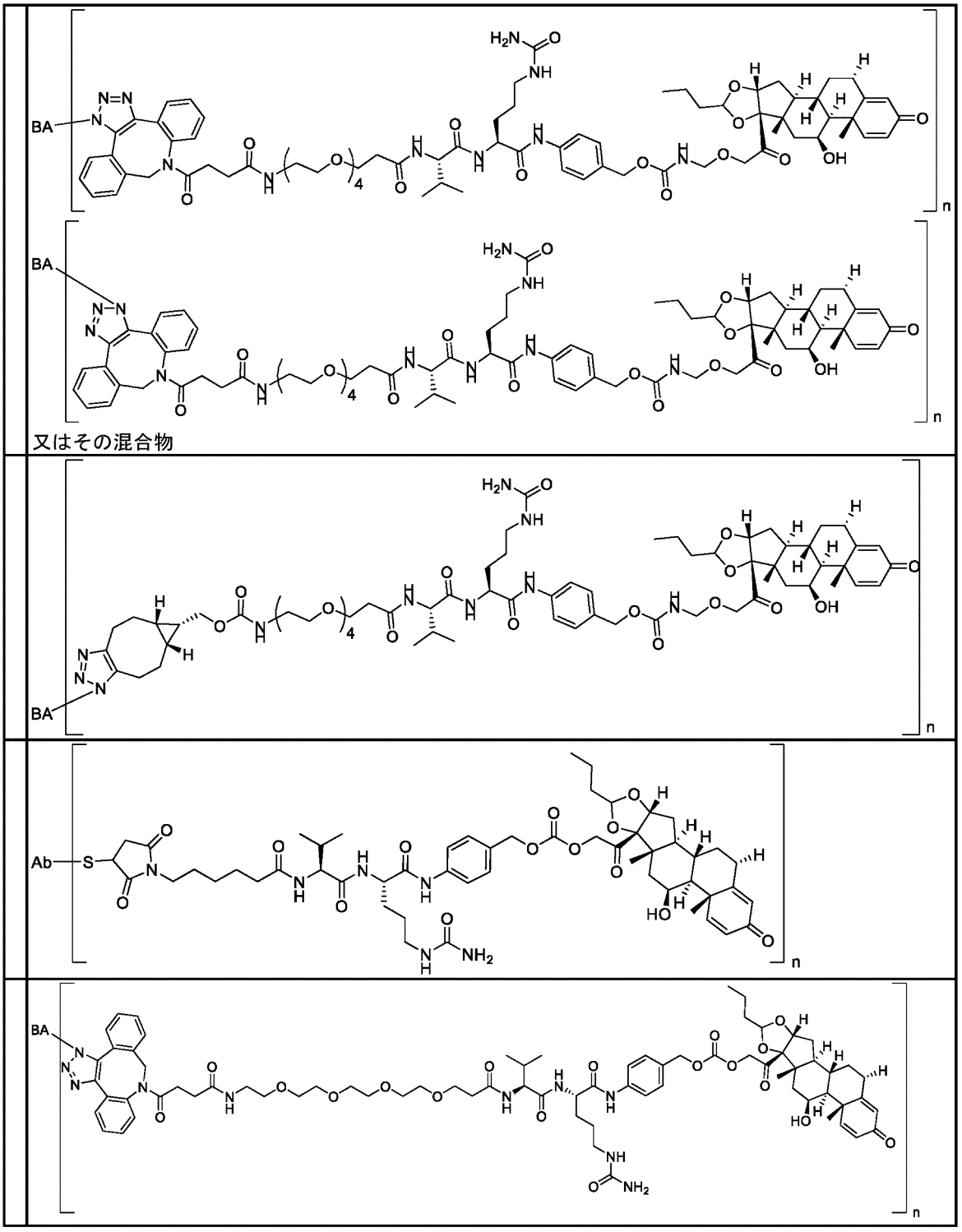


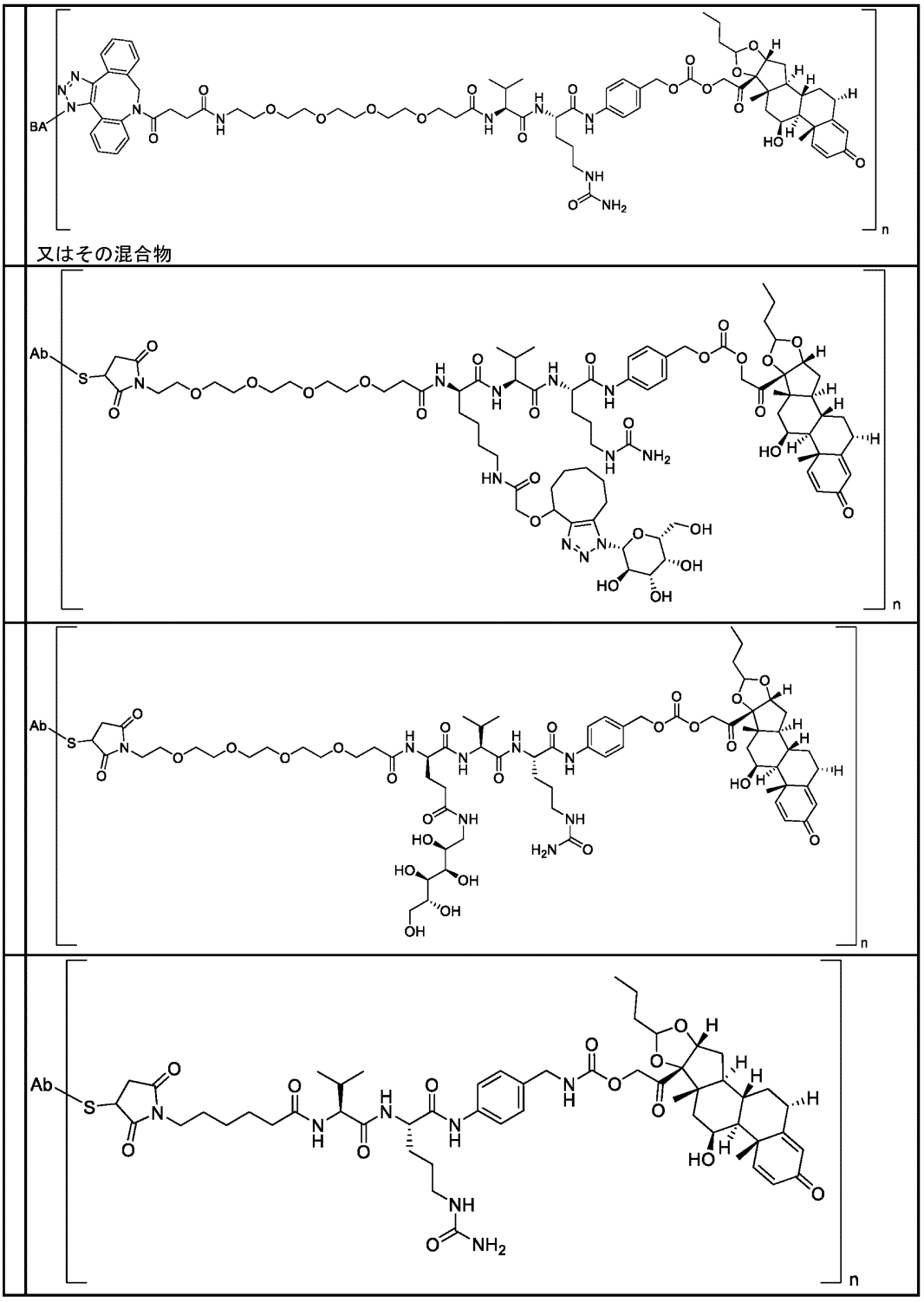




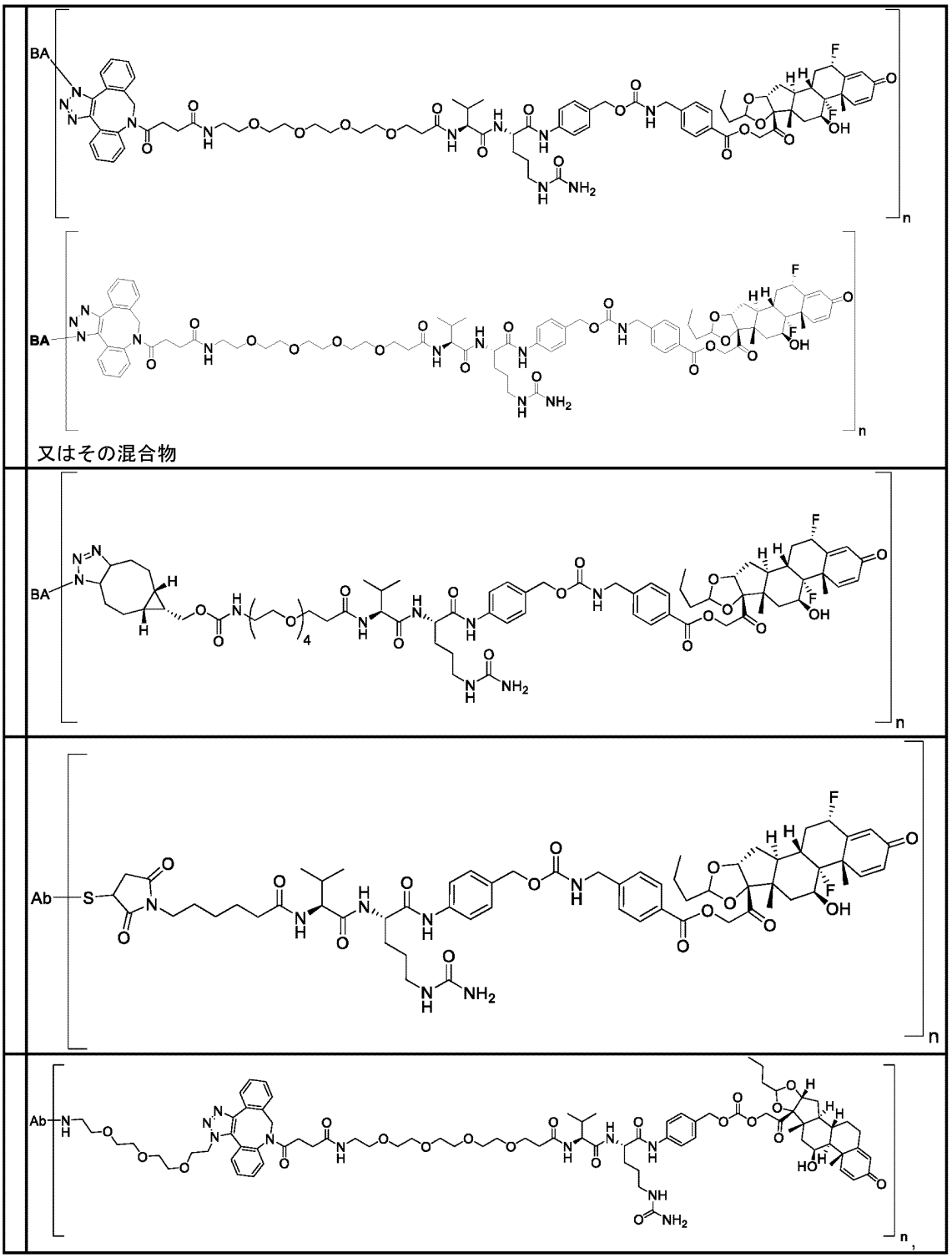


又はその混合物

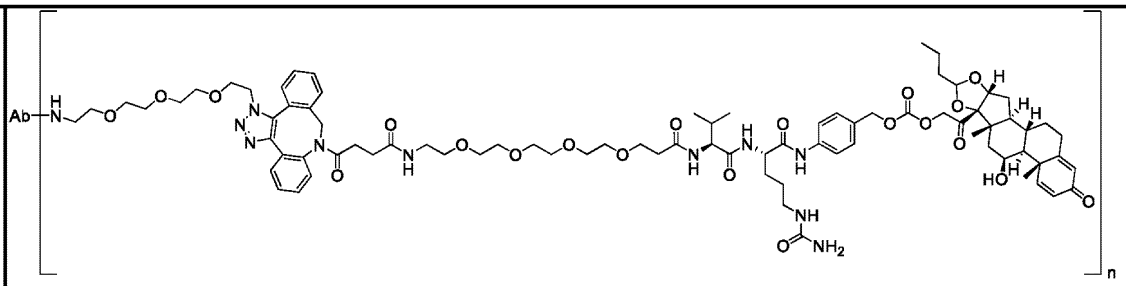

BA
Ab
又はその混合物



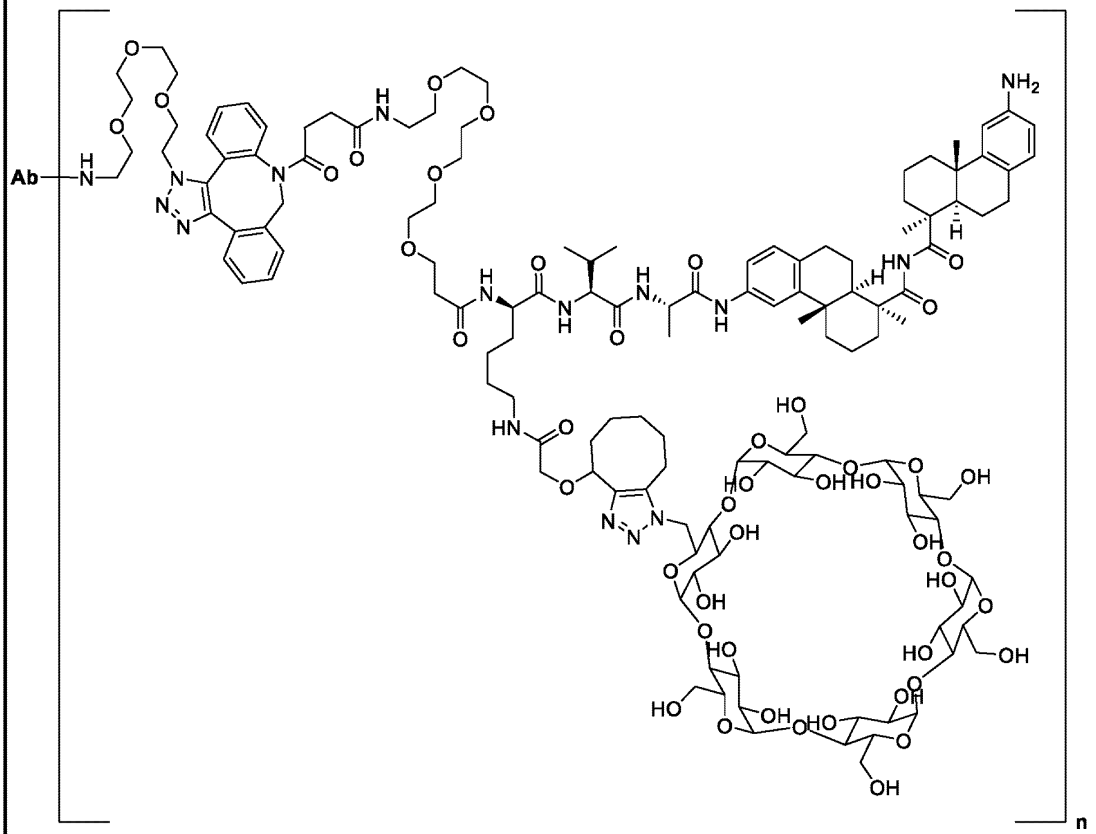
又はその混合物

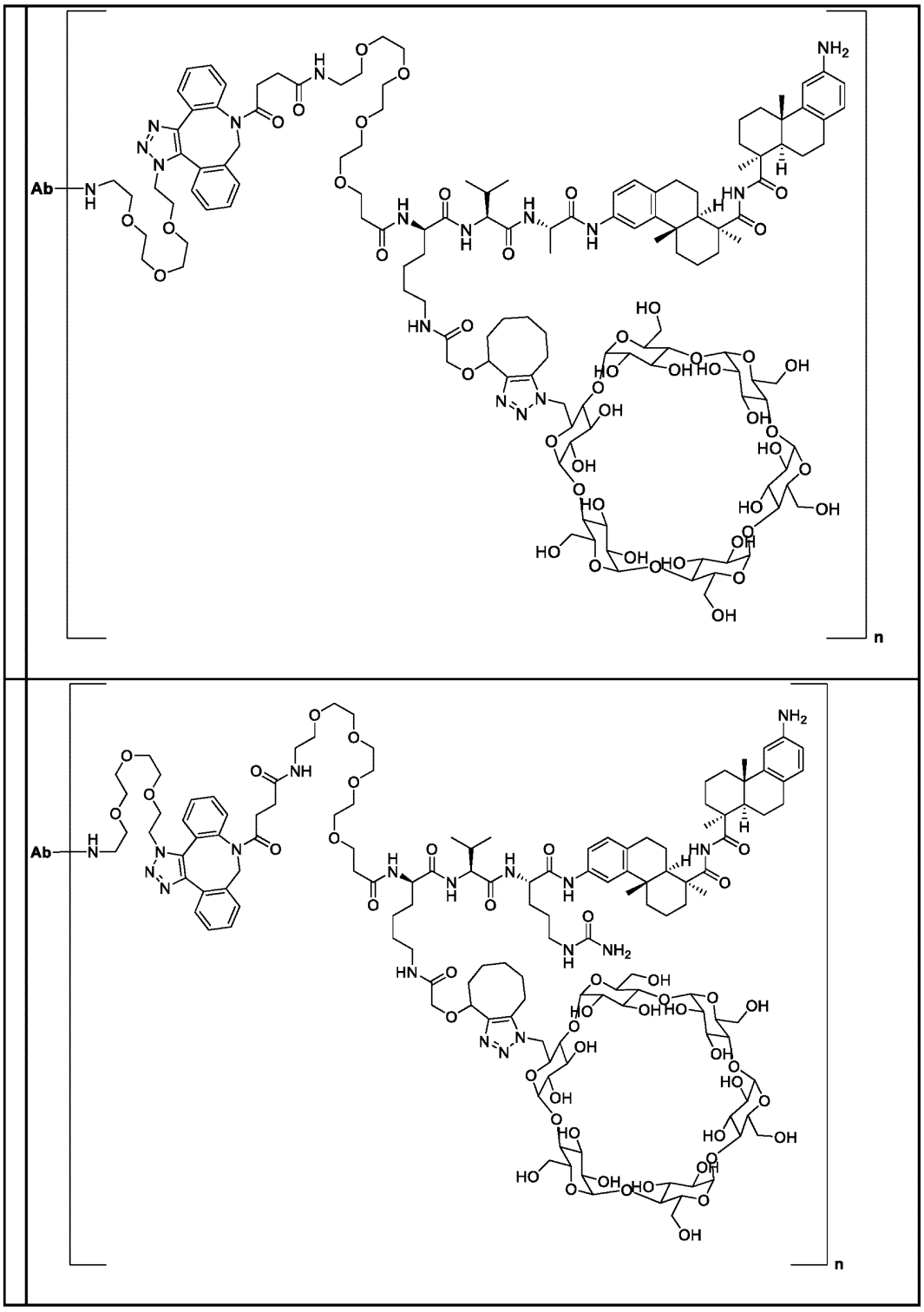


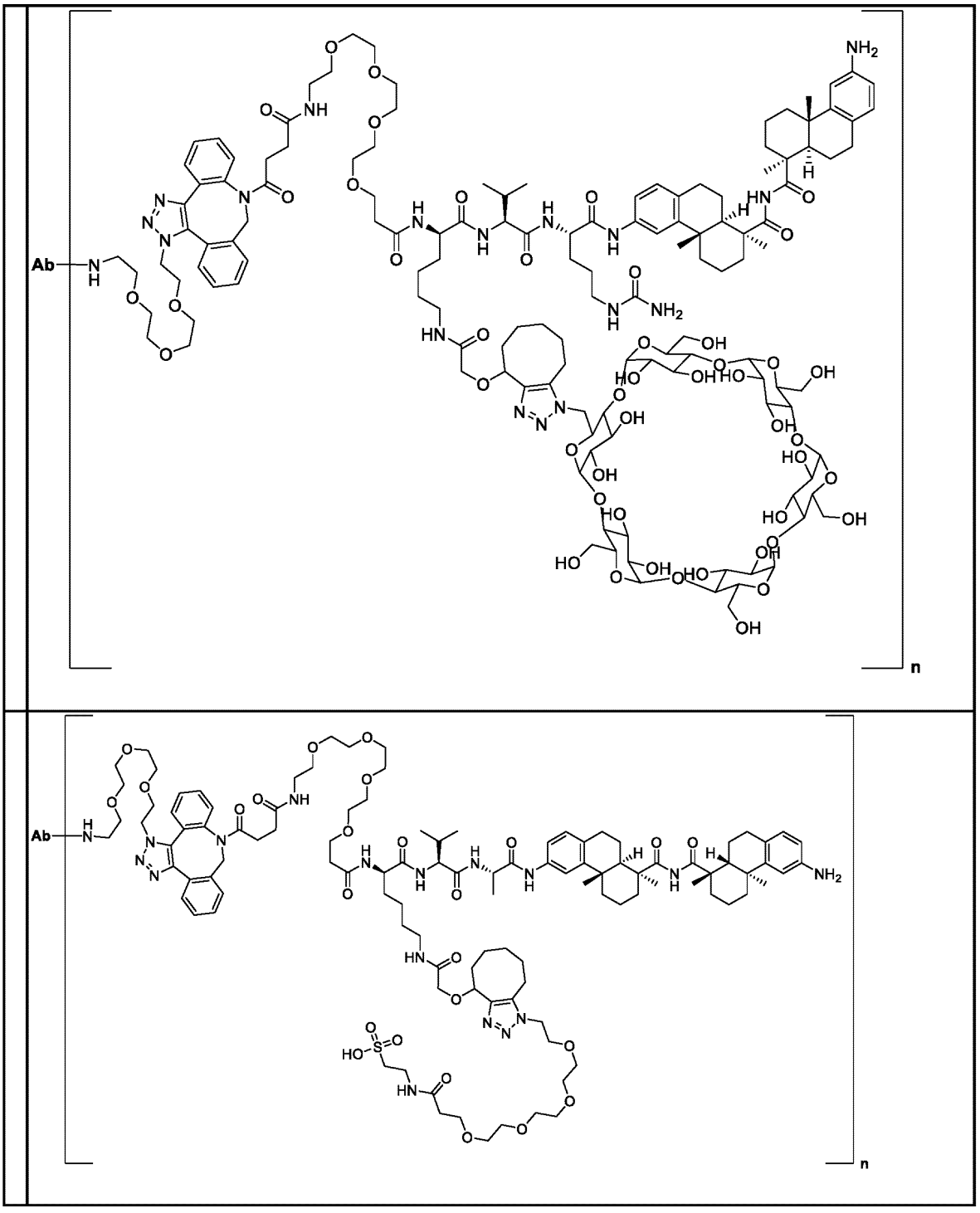
又はその混合物

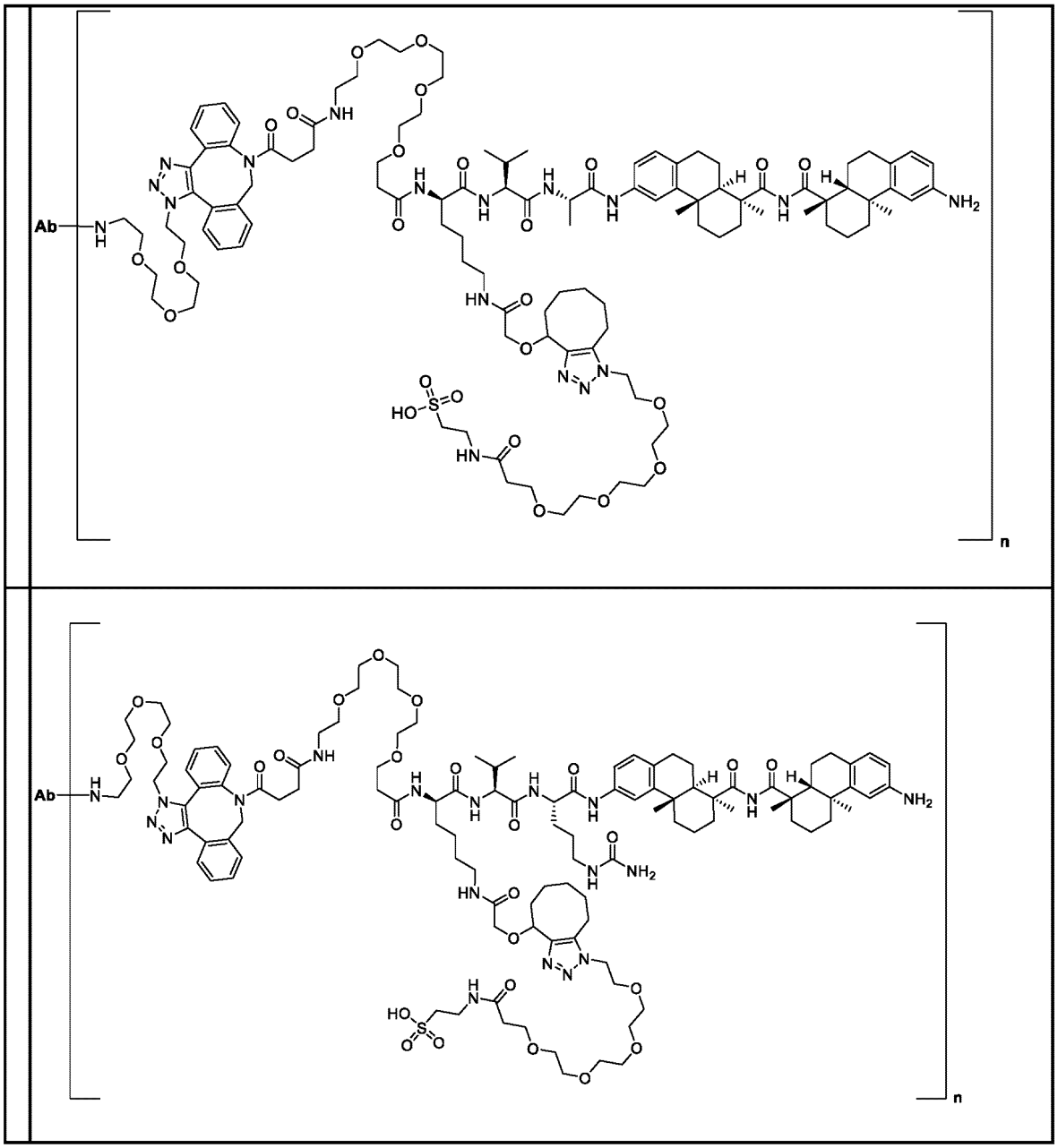


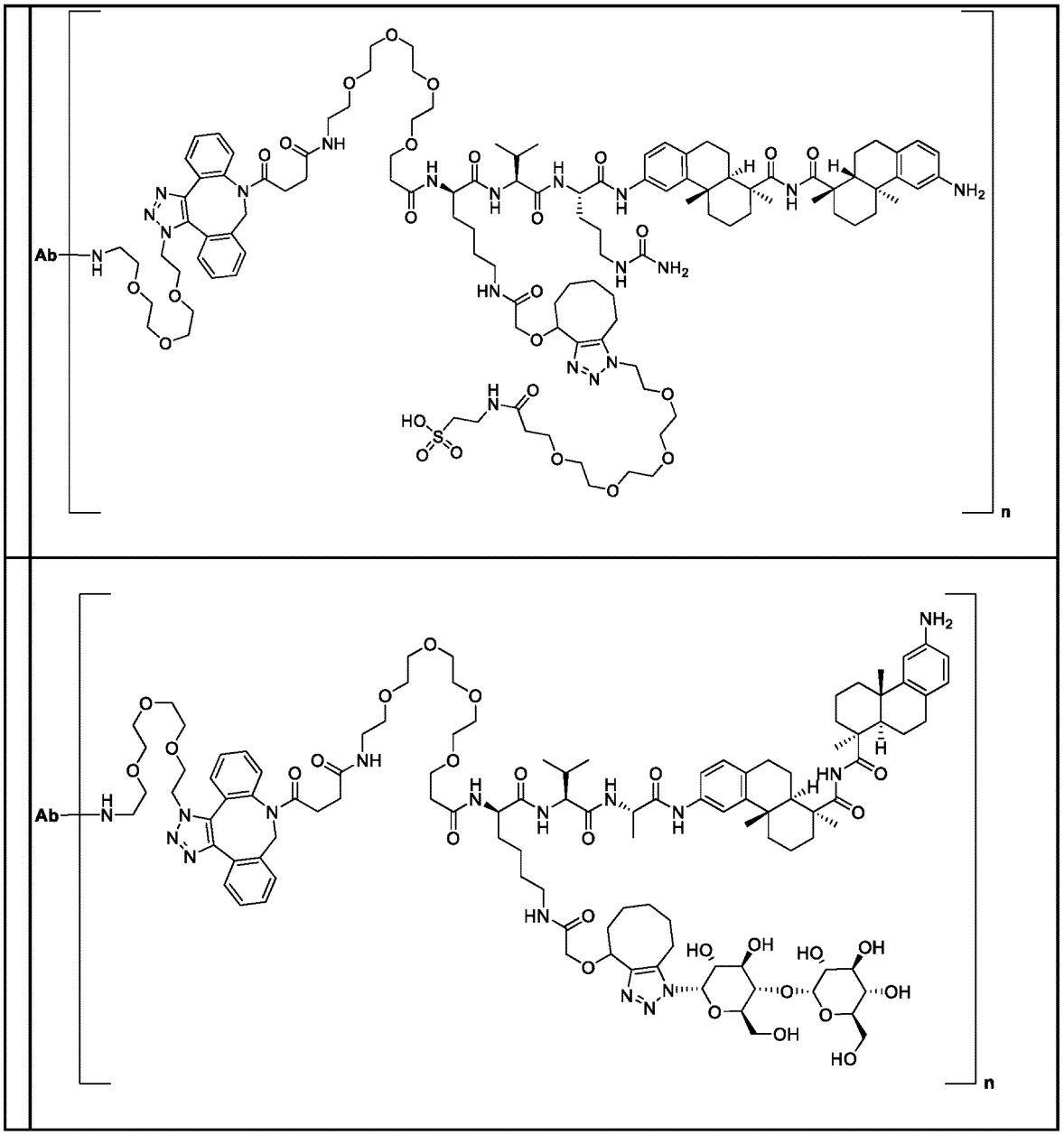
又はその混合物；

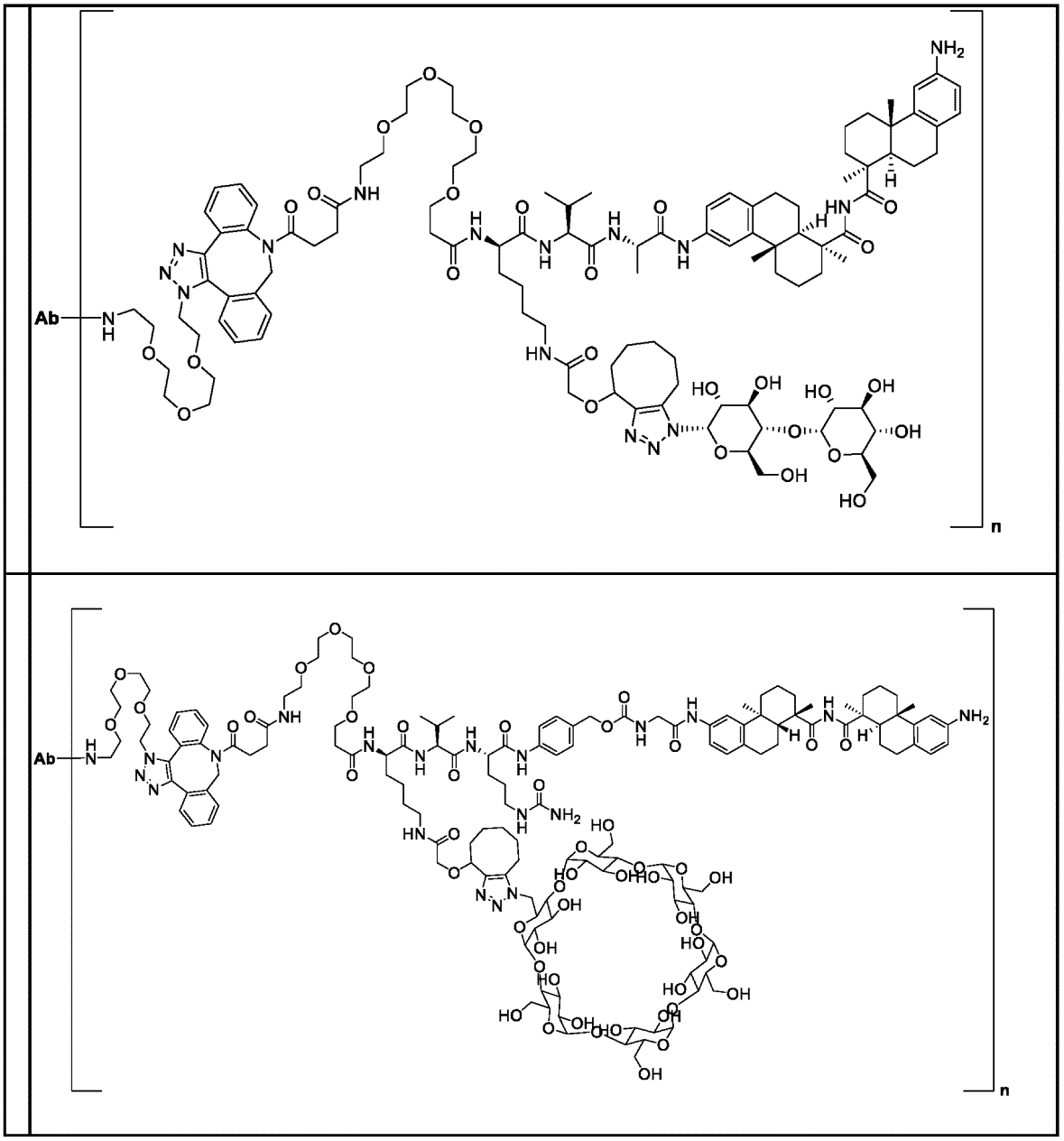


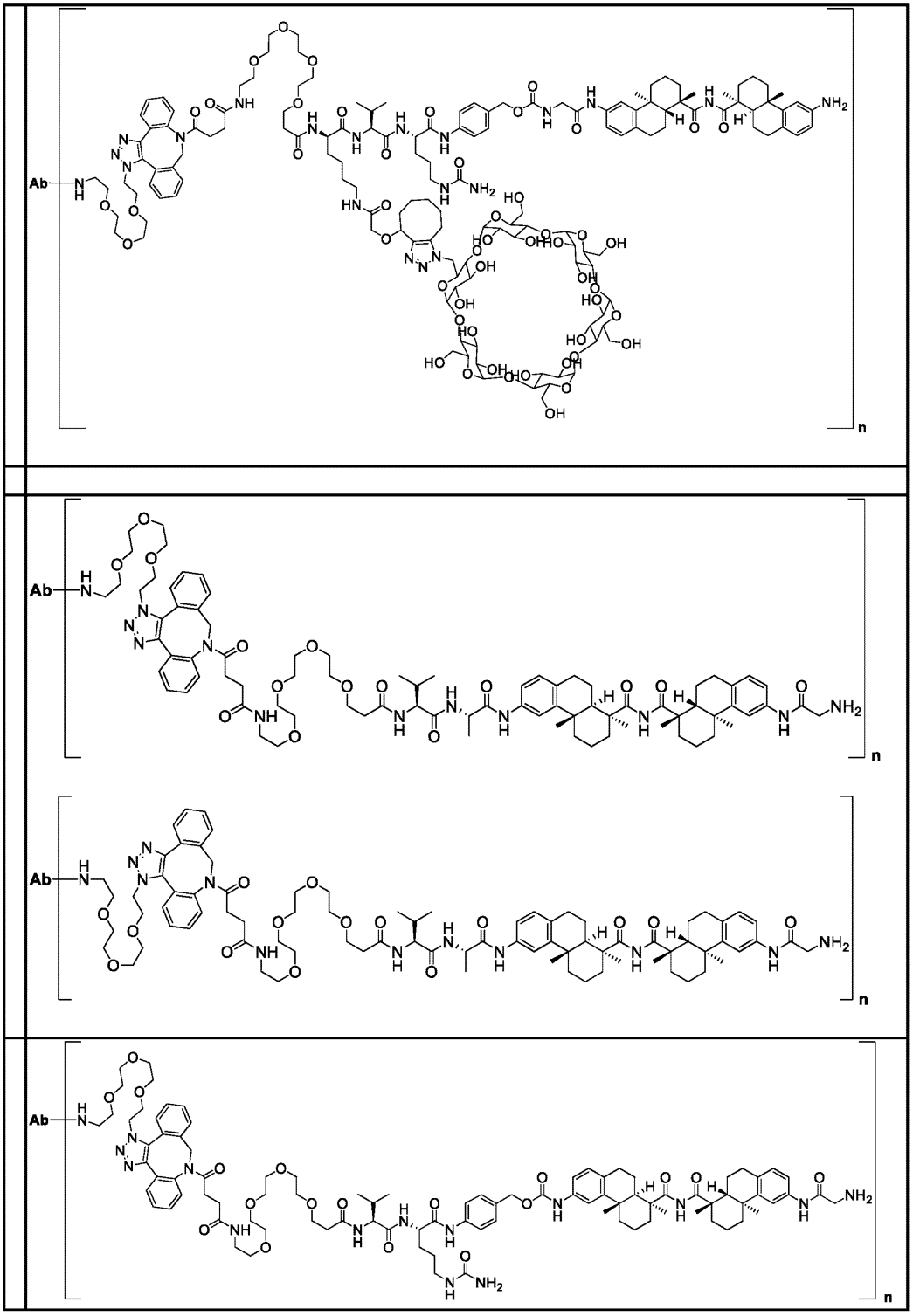

Ab
NH2
HO
OH
n
Ab
NH2
HO
OH
n

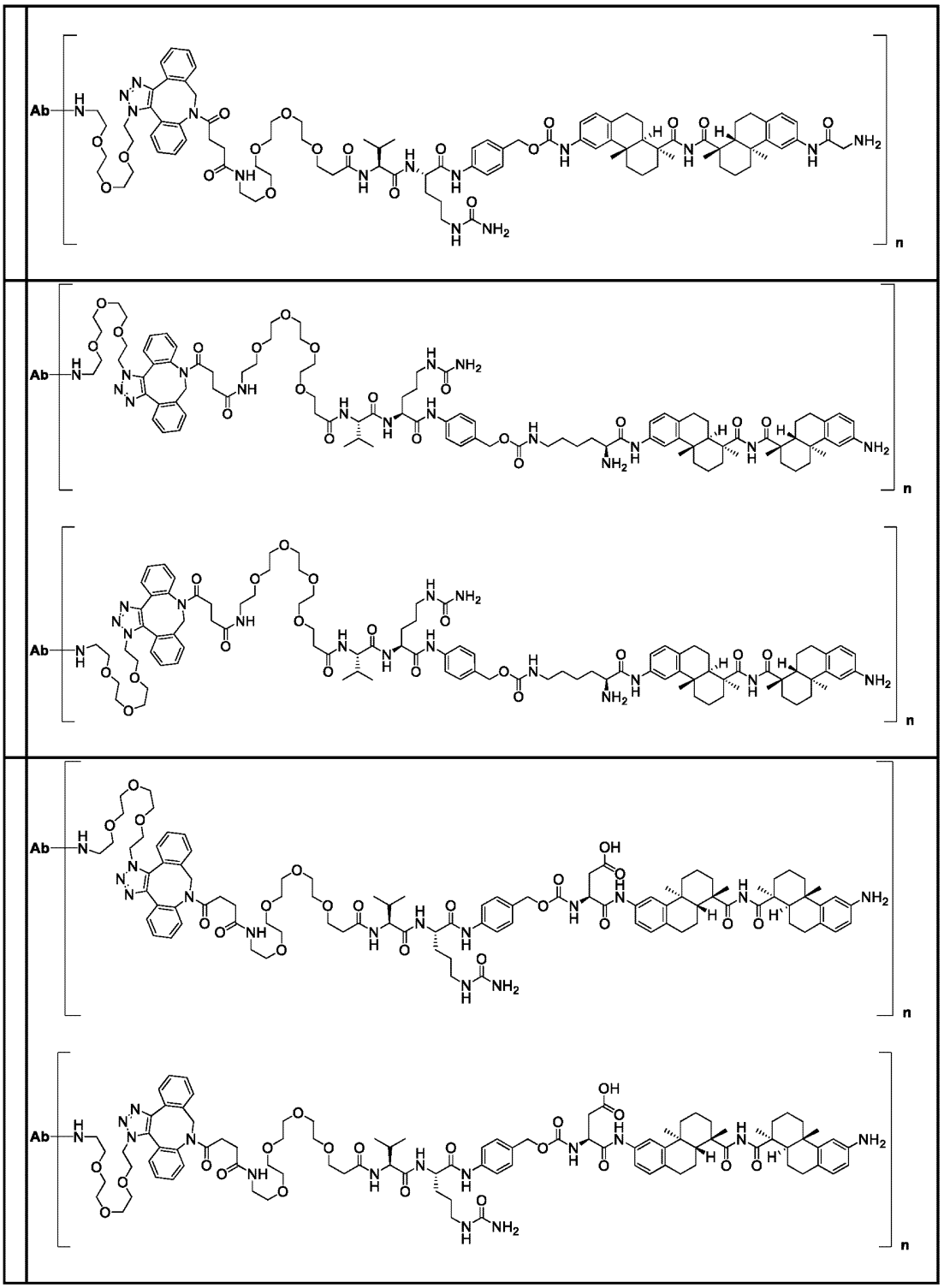

Ab
NH2
OH
HO
HN
NH
O
N
n

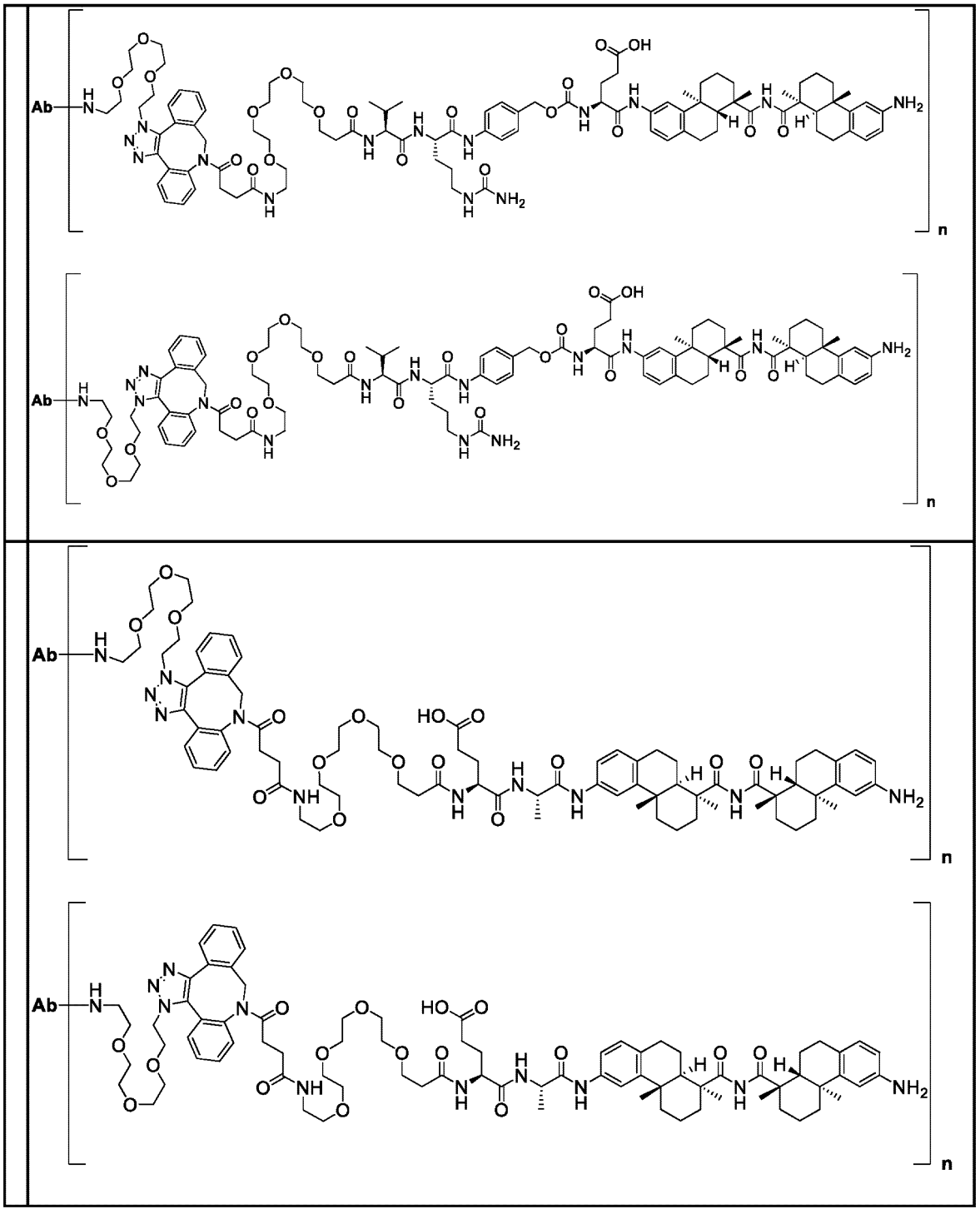

Ab
NH
O
HN
HO
S
NH2
n

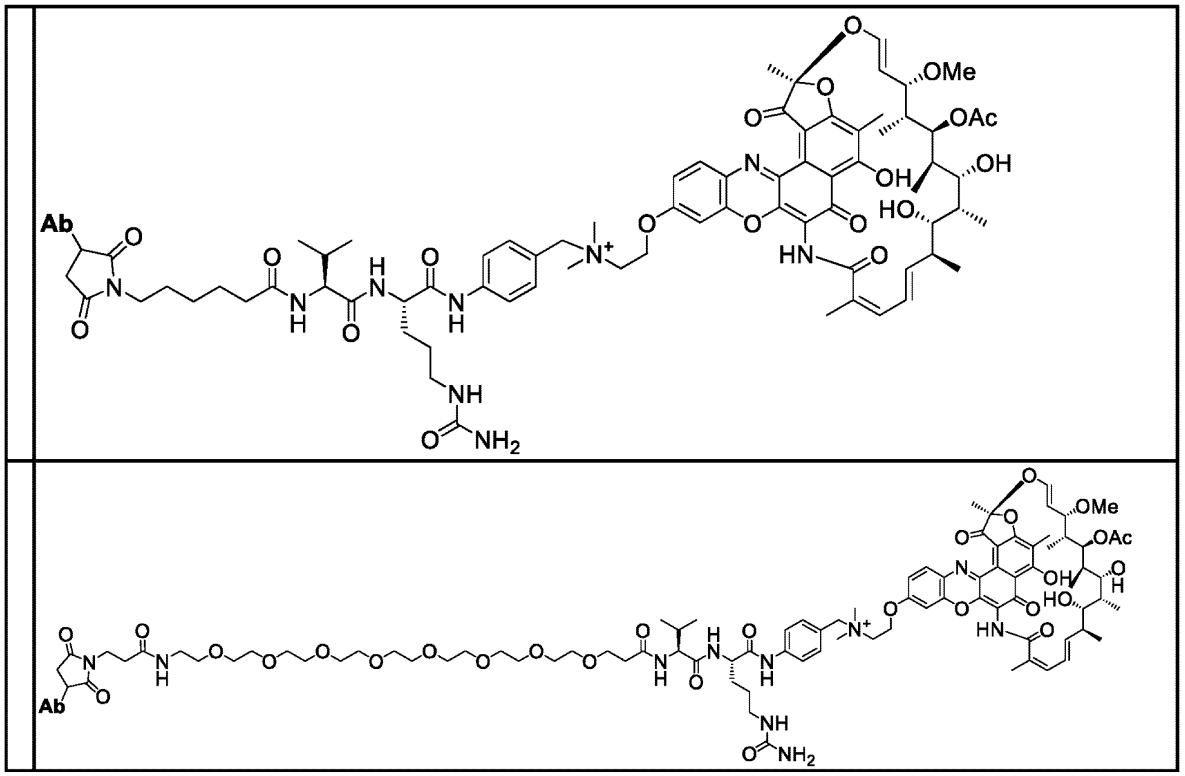

Ab
NH
HN
HO
OH
NH2
n


Ab
NH2
HO
OH
n
Ab
NH2
HO
OH
n

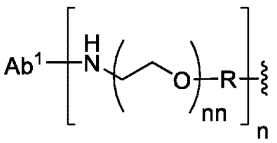

Ab
NH
NH2
HO
OH
n


Ab
n


Ab
n
Ab
n
Ab
n
Ab
n

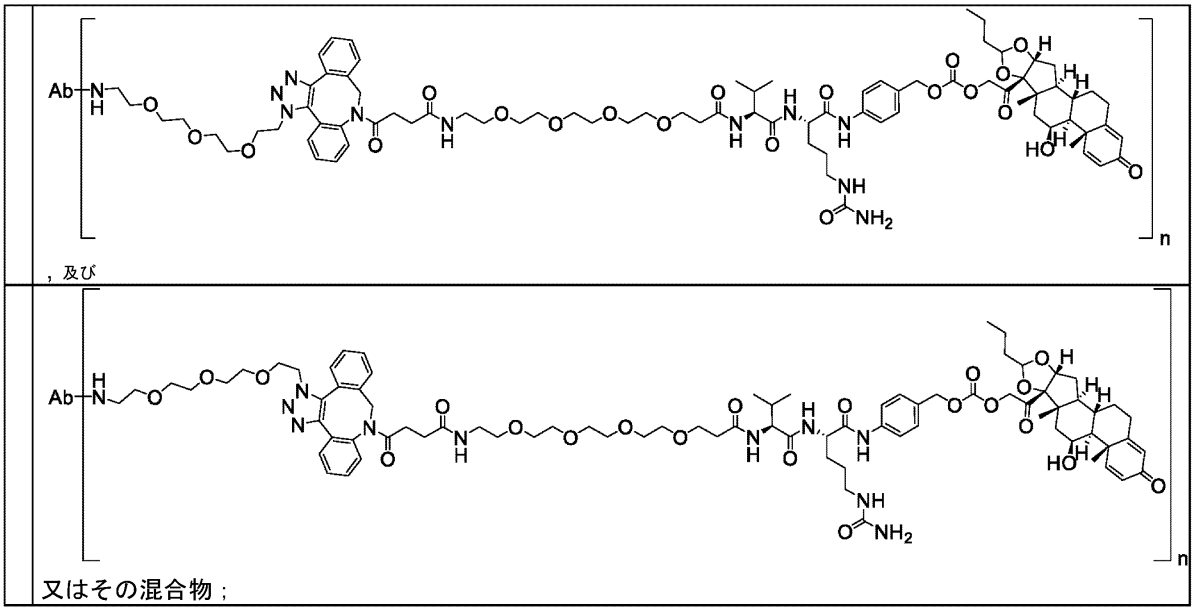


からなる群から選択され、ここで、
各々のAbが抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり;
各々のBAが、
【化６３】



であり、
ここで、Ab^1が抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり; RがC_{2-4}-アルキレンであり; かつnnが2～4までから選択される整数であり、かつ
各々のnが1～4の整数である、
請求項5～20のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート、又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物。
【請求項４８】
以下のもの

【化６４】



，及び

又はその混合物；

から選択され、ここで、

各々のAbが請求項1記載の抗ＭＳＲ1抗体又はその抗原結合断片であり;かつ

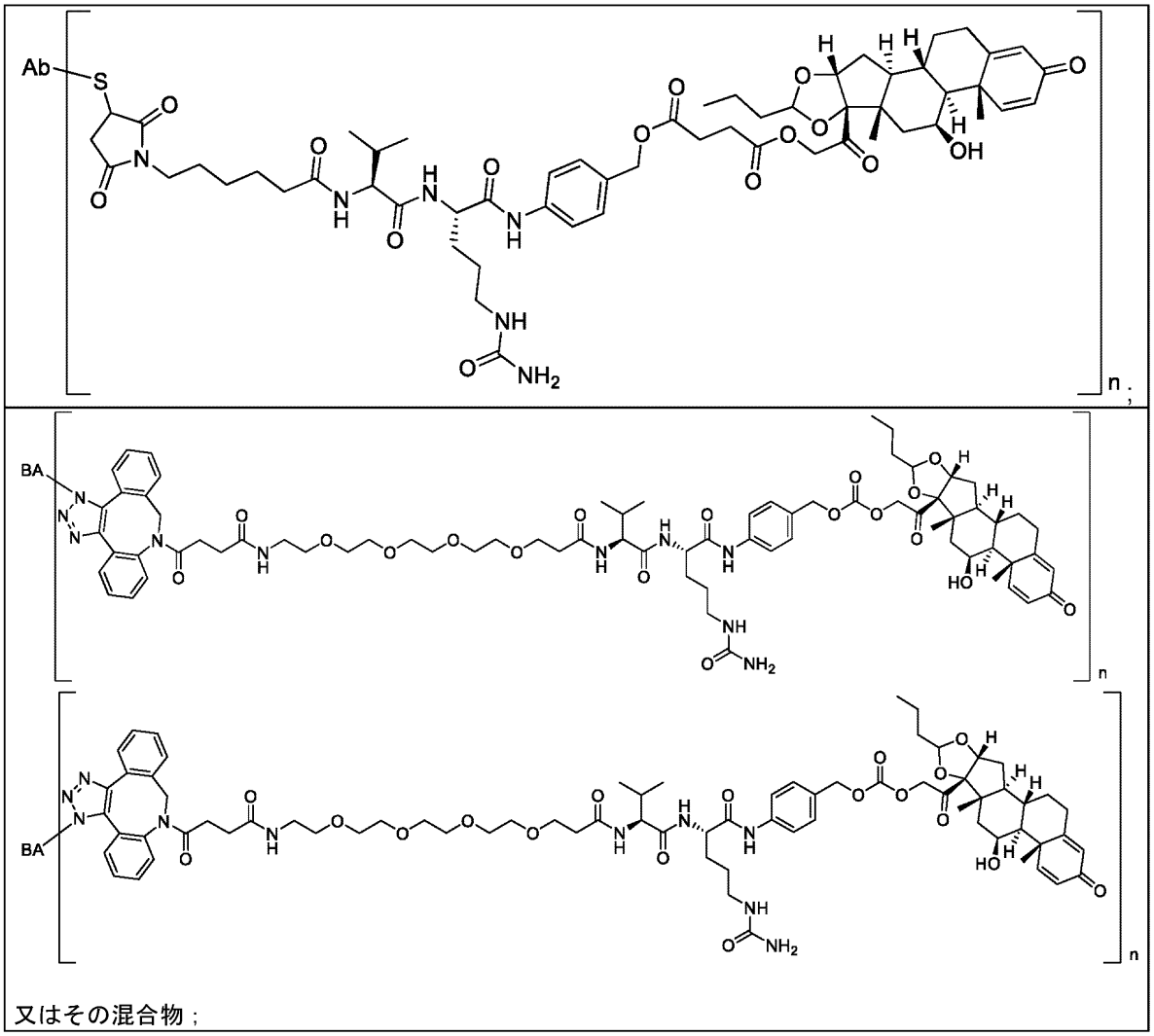
各々のnが1～4の整数である、

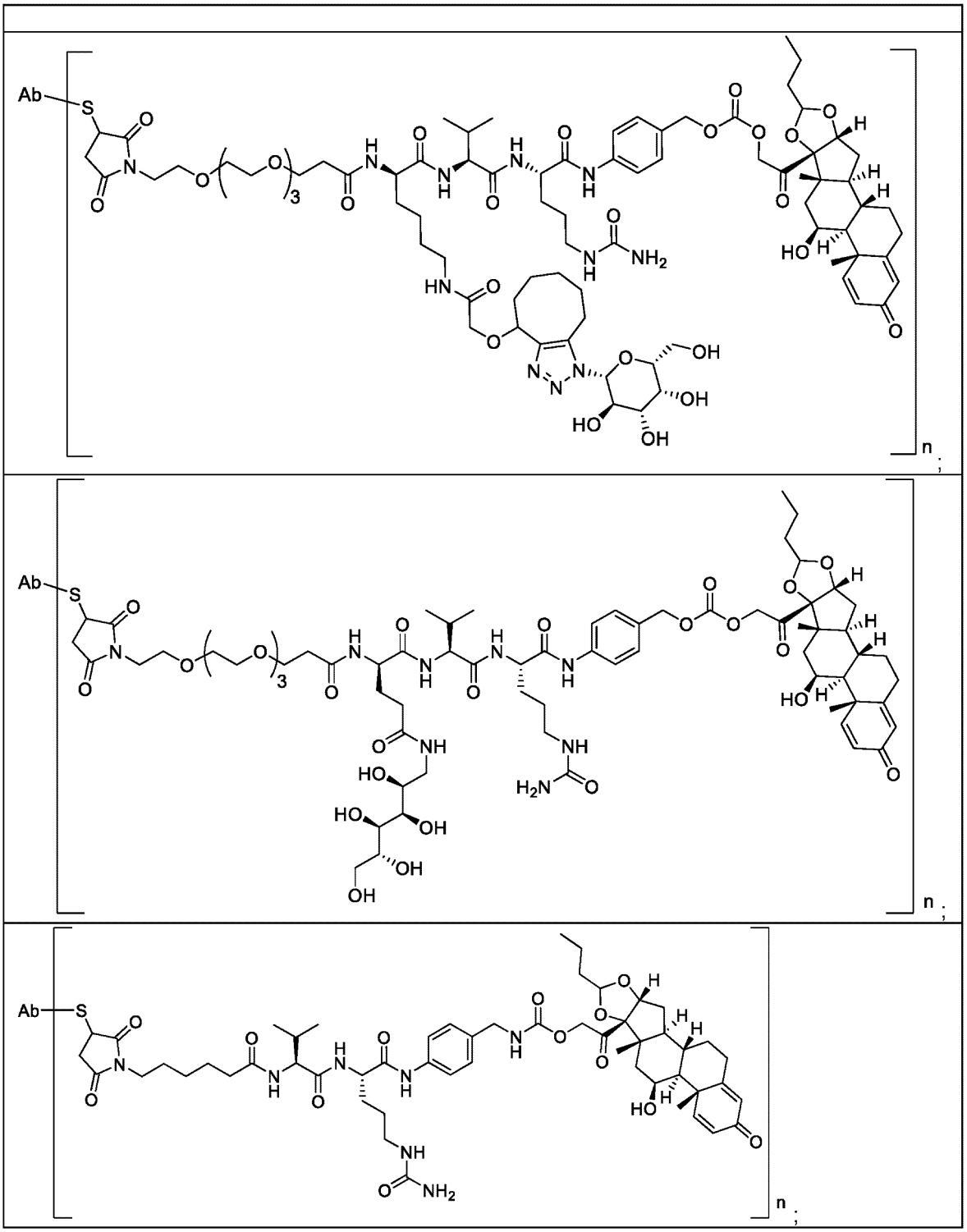
抗体-薬物コンジュゲート又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物。

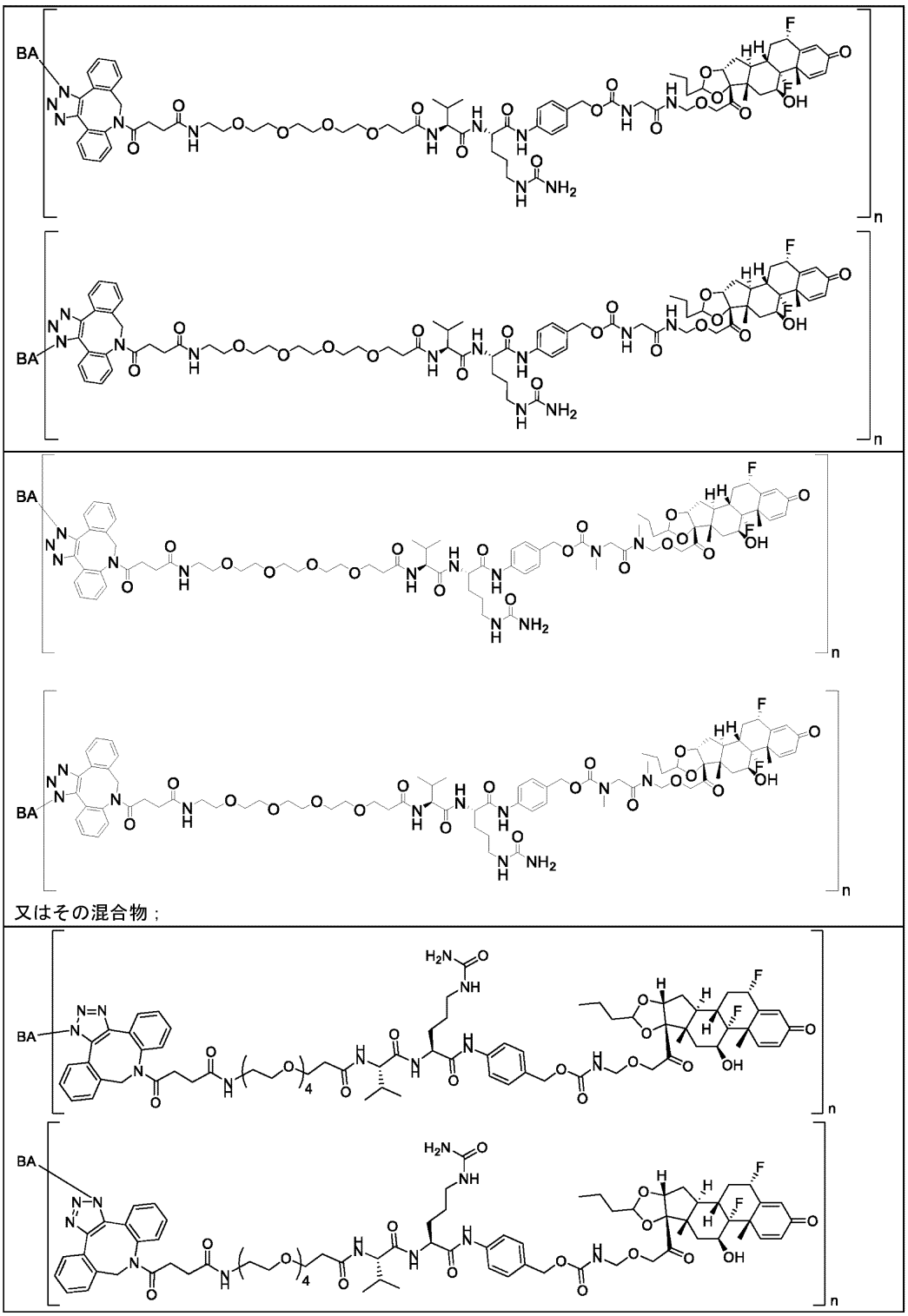
【請求項４９】

以下の式のうちの1つによる抗体-薬物コンジュゲート又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物:

【化６５】

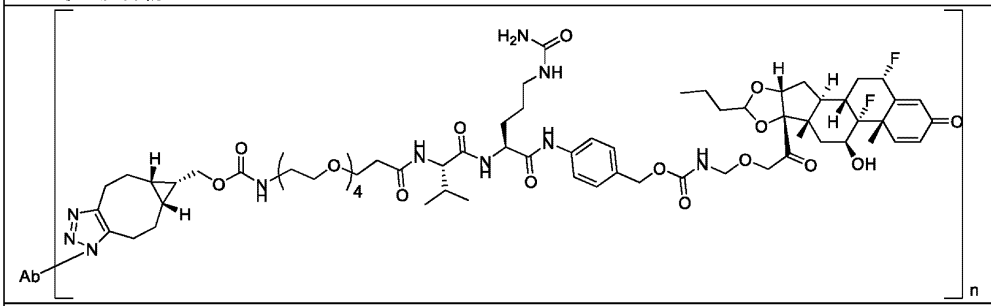

Ab
S
O
N
O
O
N
H
O
N
H
O
N
H
O
O
O
O
O
O
O
O
H
H
H
O
O
O
H
OH
NH
O
NH2
n
BA
N
N
N
O
N
H
O
O
O
O
O
O
O
O

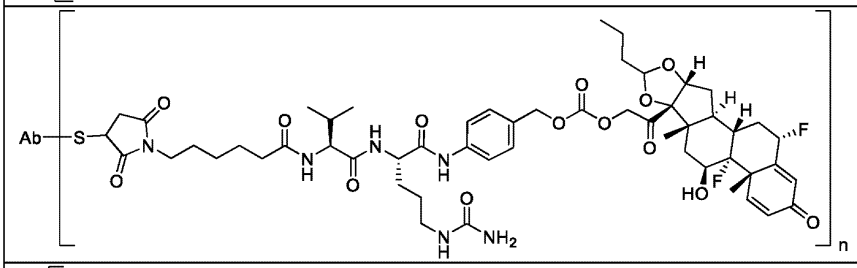

Ab
S
O
N
O
O
O
3
H
N
O
NH2
HN
OH
HO
n
;

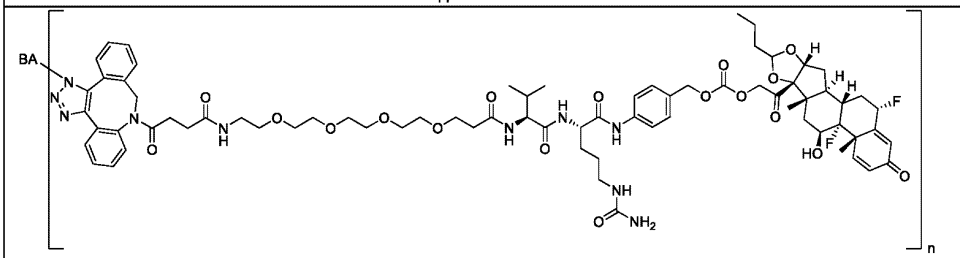


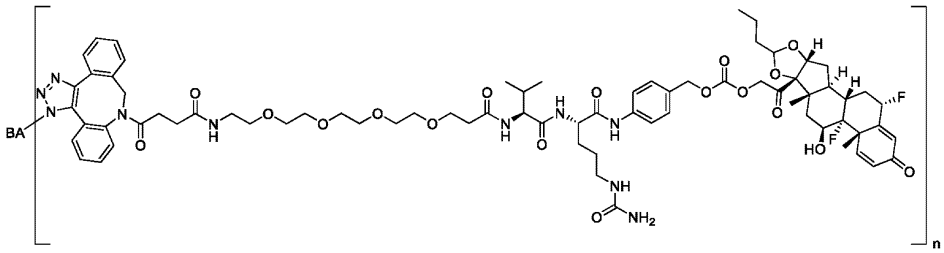
又はその混合物；

又はその混合物

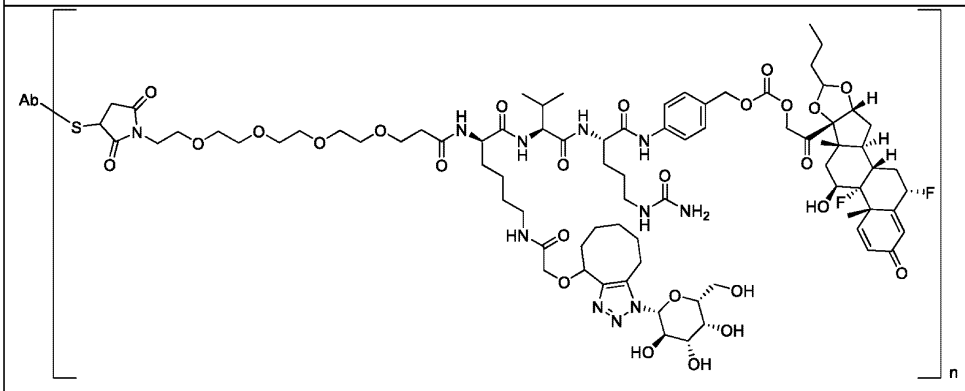


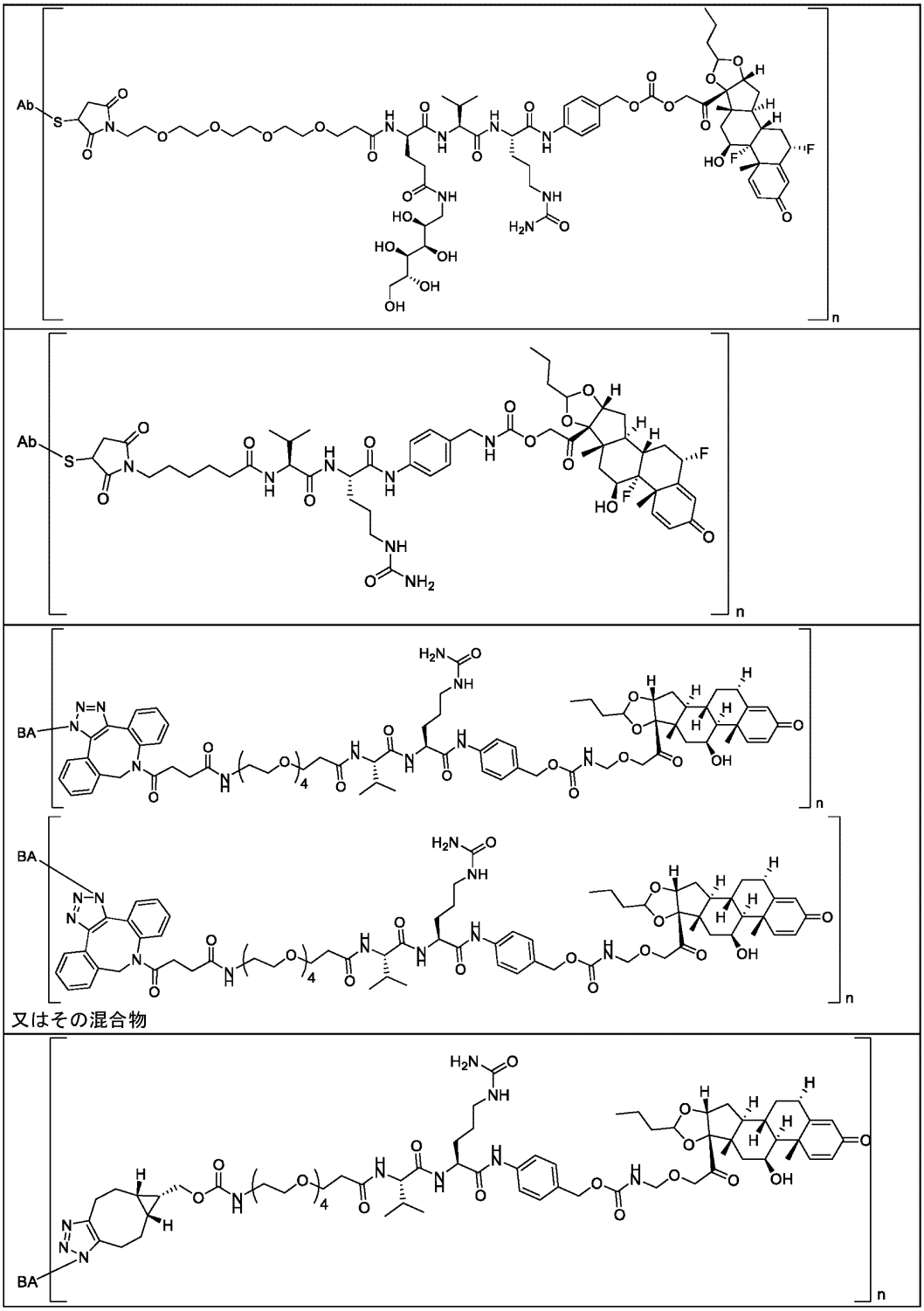




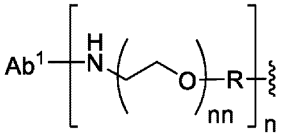


又はその混合物；





(式中、
各々のAbは、請求項1記載の抗ＭＳＲ1抗体又はその抗原結合断片であり;
各々のBAは、
【化６６】

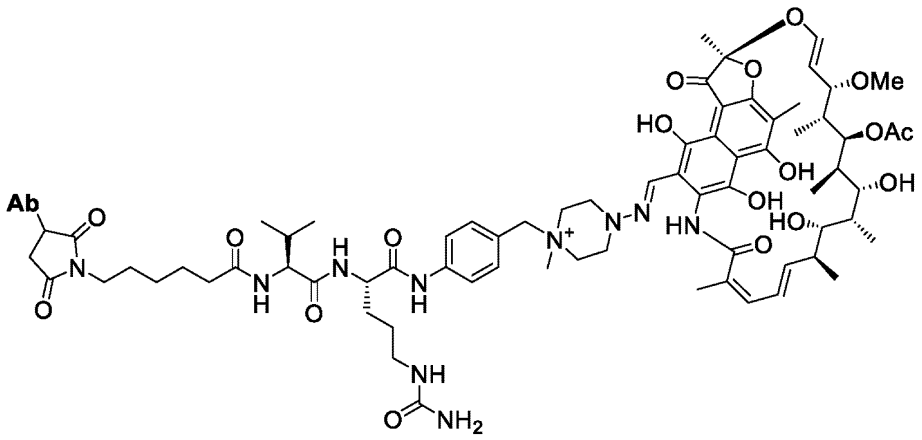


であり、ここで、Ab^1は、請求項1記載の抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり; Rは、C_{2-4}-アルキレンであり;かつnnは、2～4までから選択される整数であり、かつ
各々のnは、1～4の整数である)。

【請求項５０】

式(7004)による、請求項5、6及び20のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート:

【化６７】



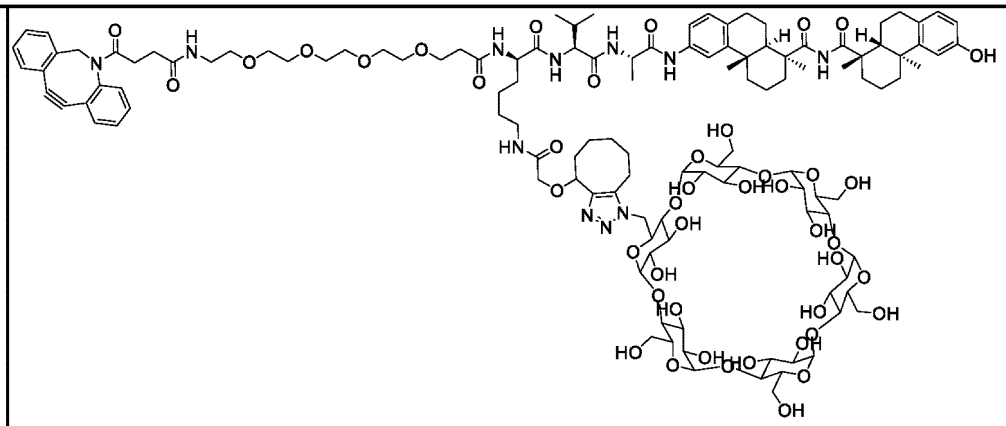
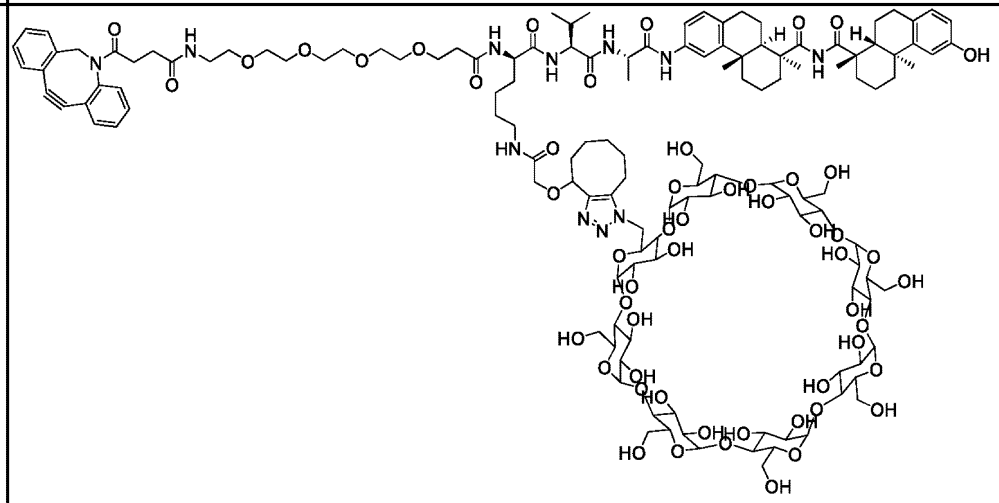
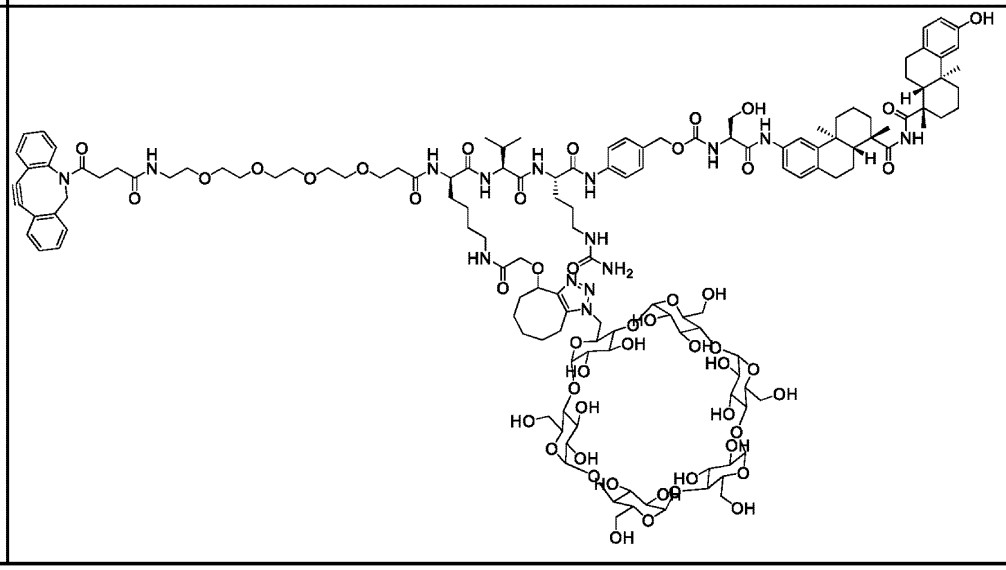
式（7004）

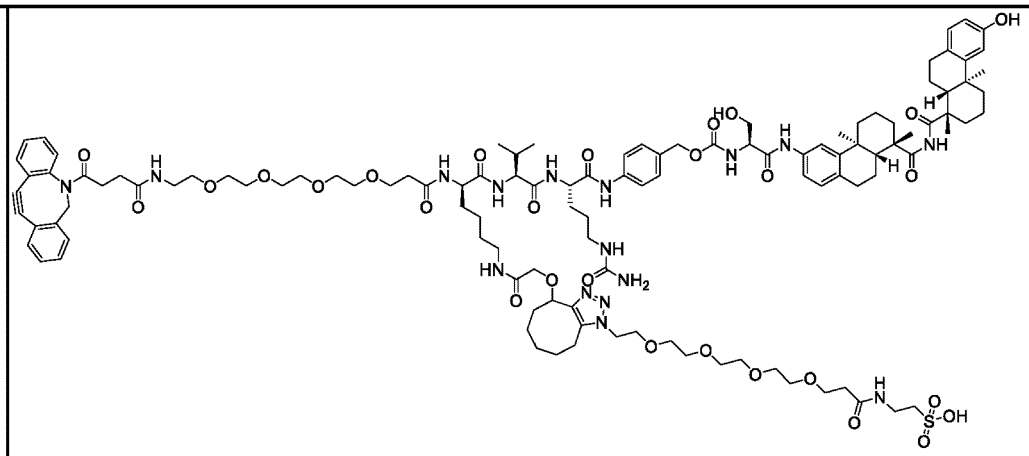
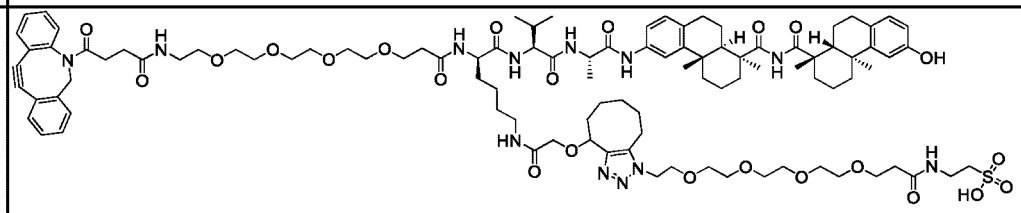
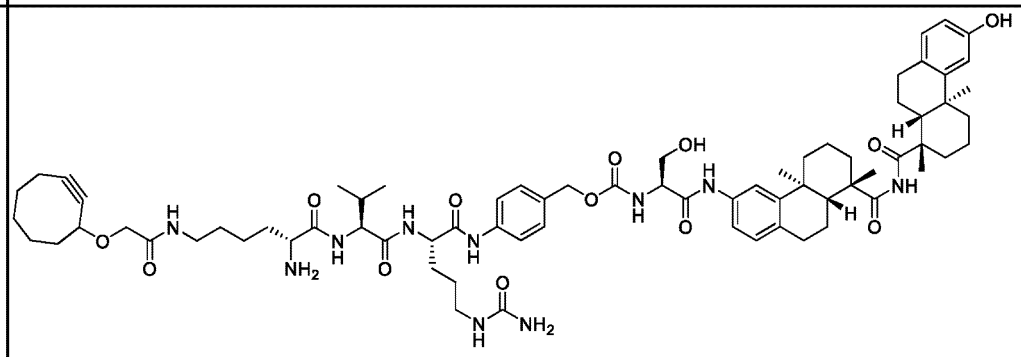
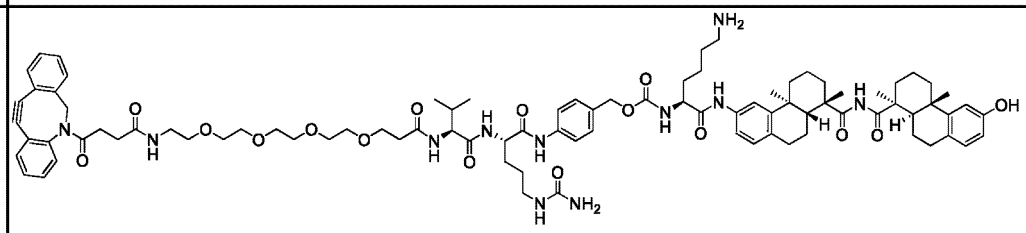
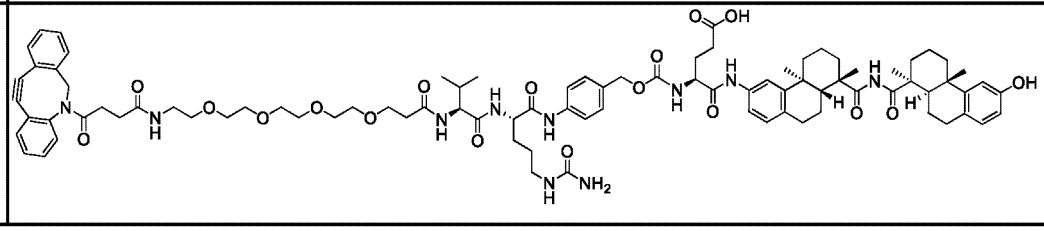
。

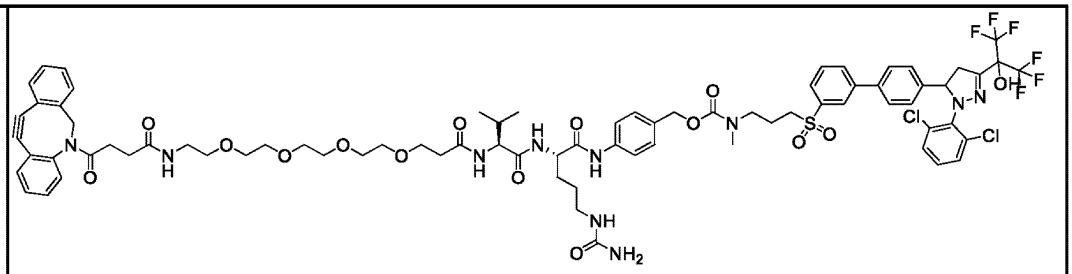
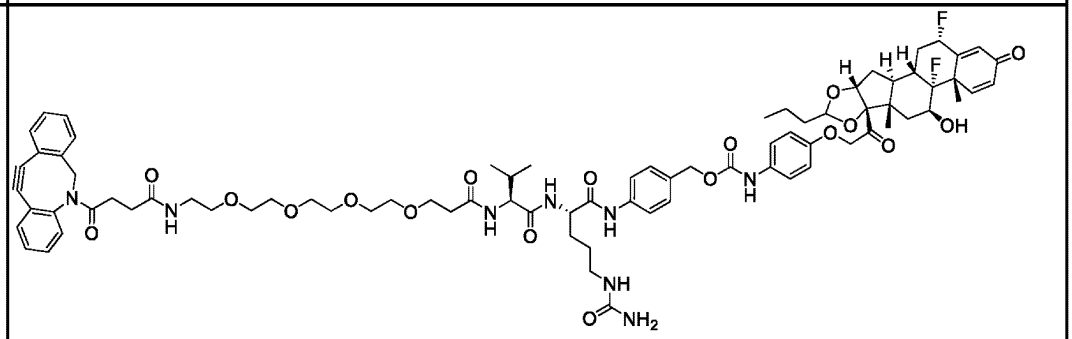
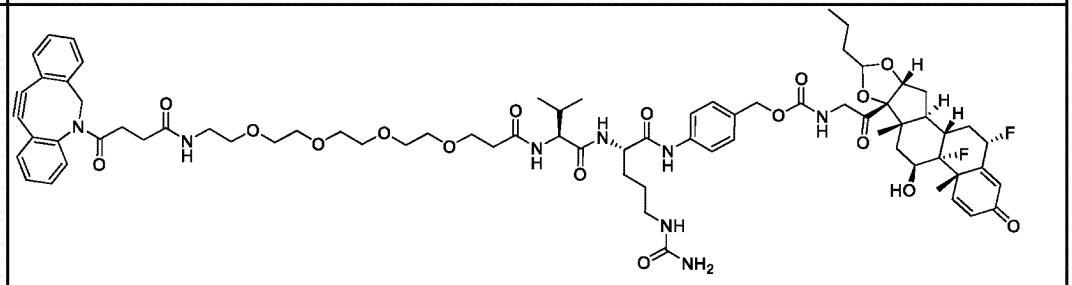
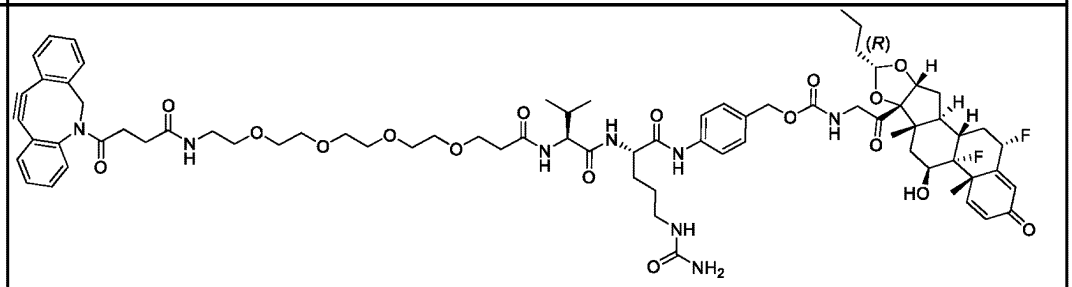
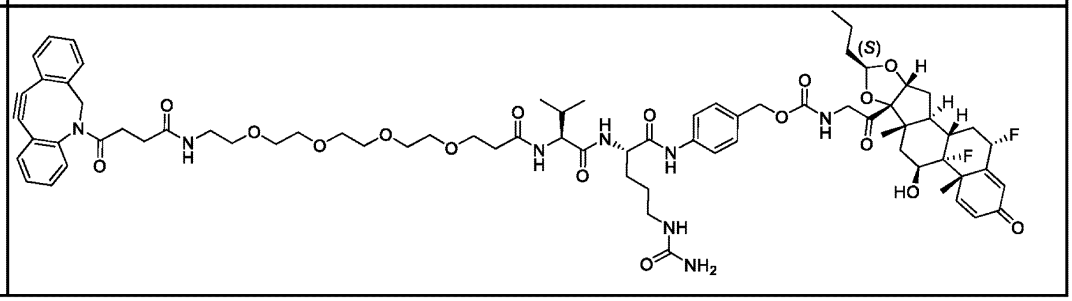
【請求項５１】

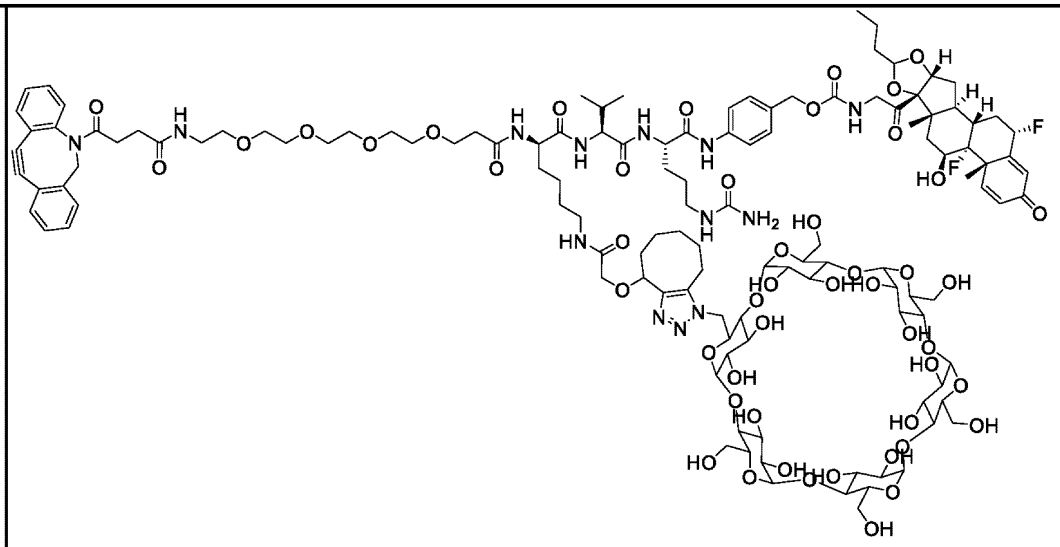
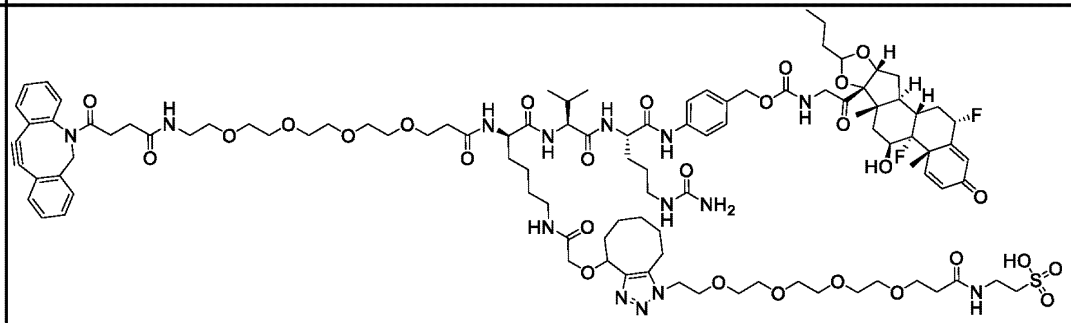
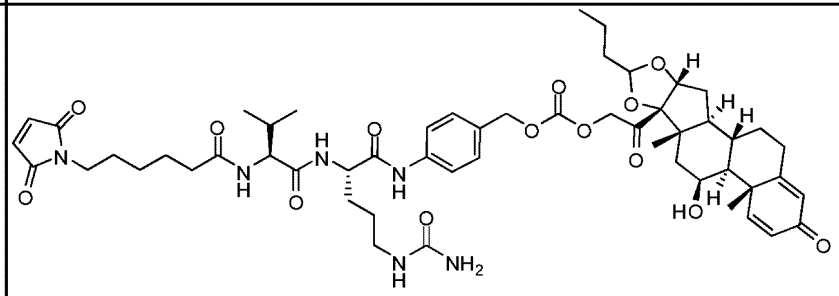
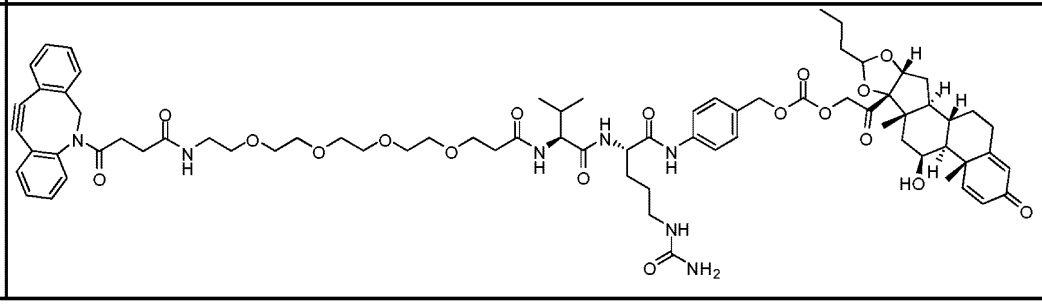
請求項1記載の抗MSR1抗体もしくはPEG修飾抗MSR1抗体又はその抗原結合断片を、以下のものからなる群から選択されるリンカーペイロード又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物とコンジュゲートすることにより調製される、抗体薬物コンジュゲート:

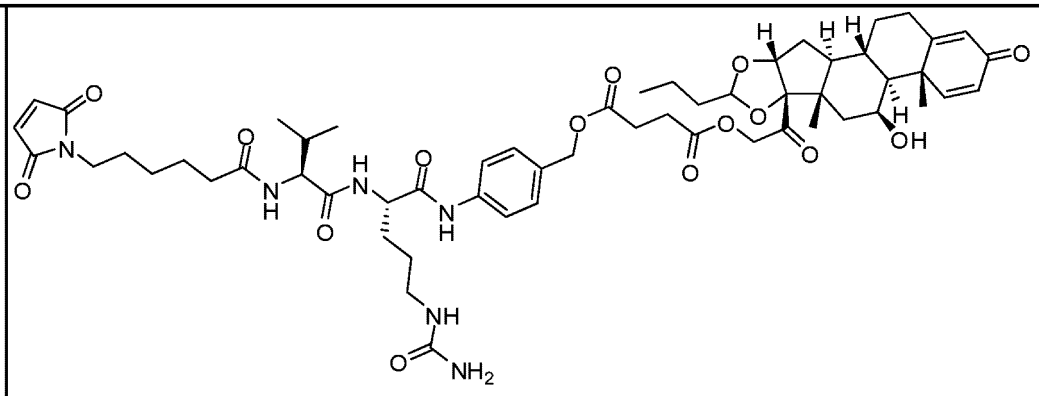
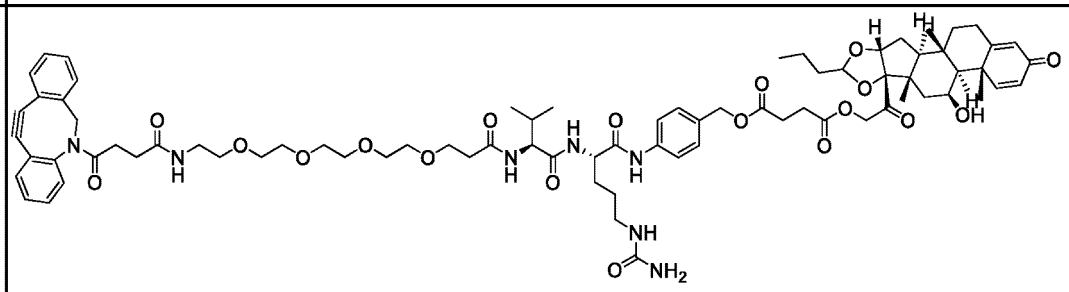
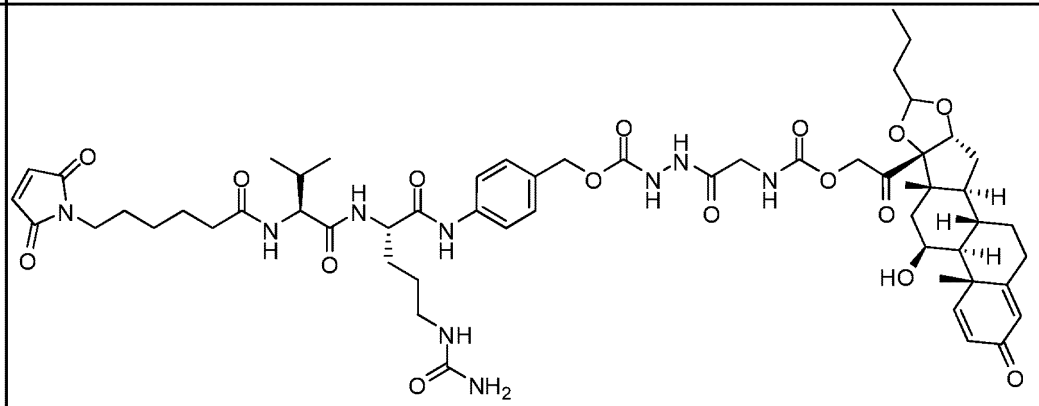
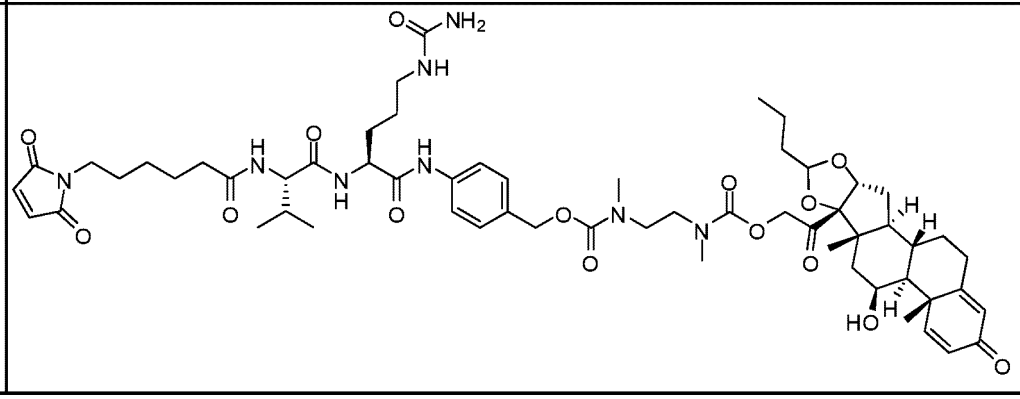
【化６８】

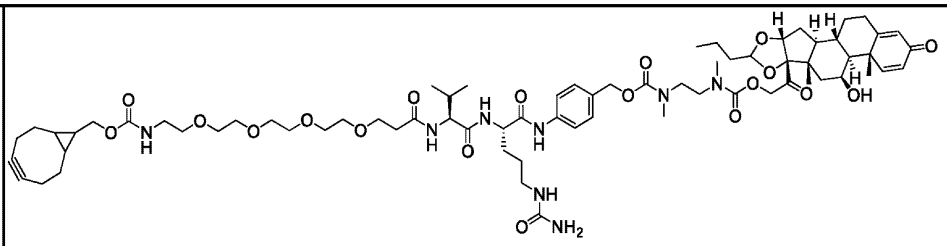
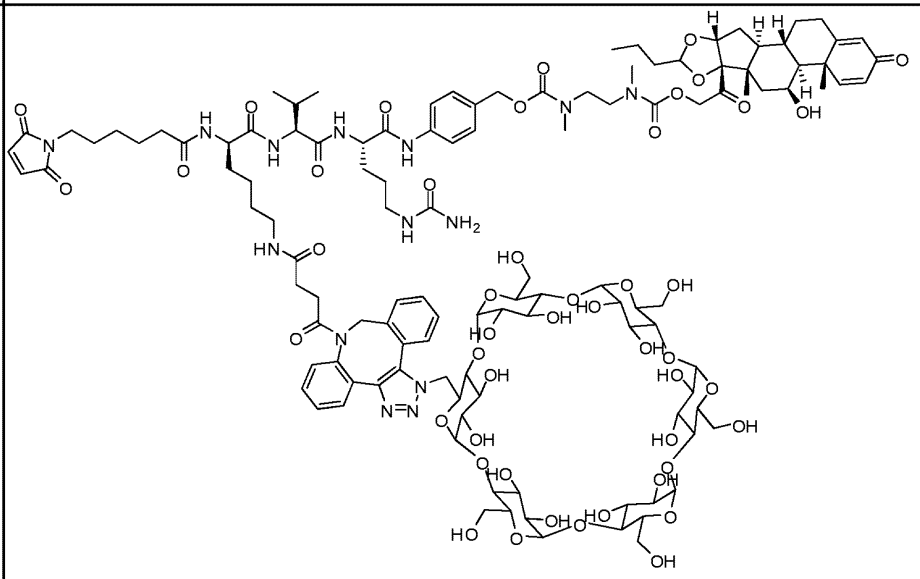
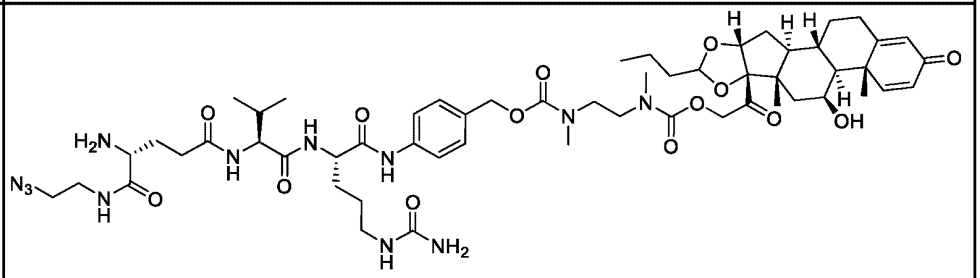
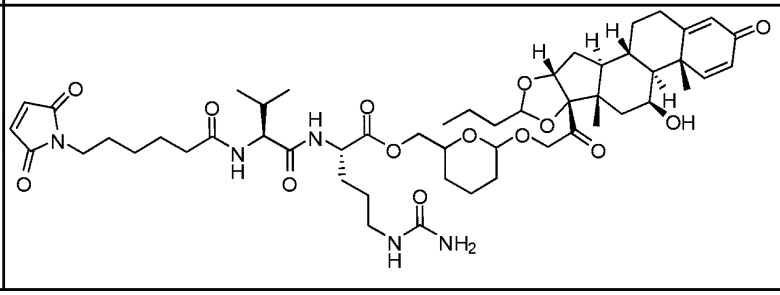
LP1	
LP2	
LP5	

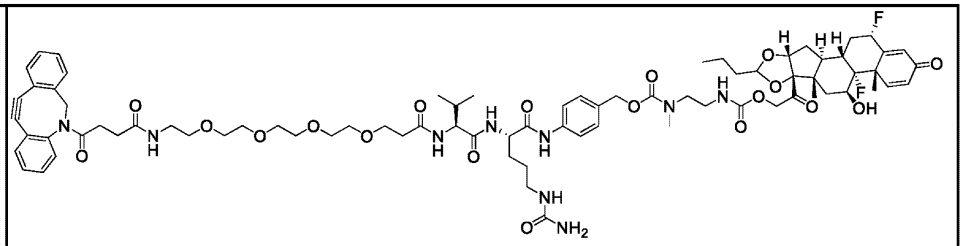
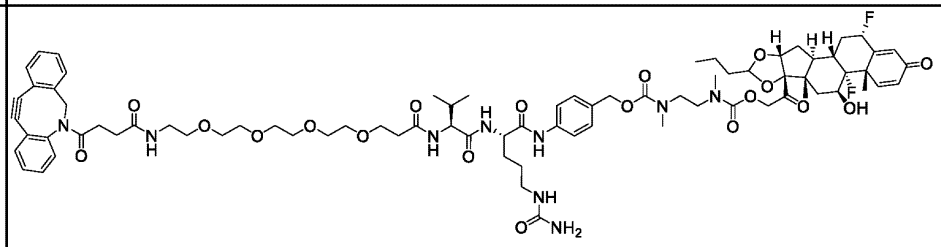
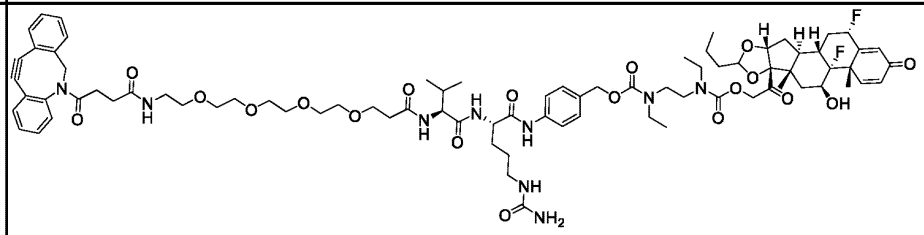
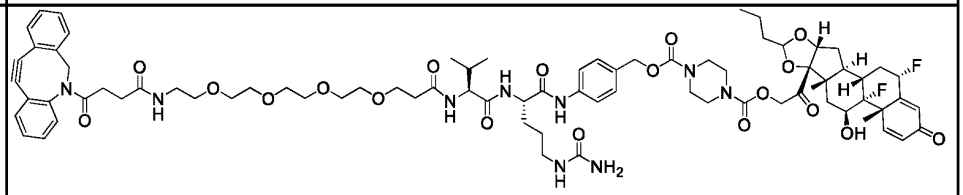
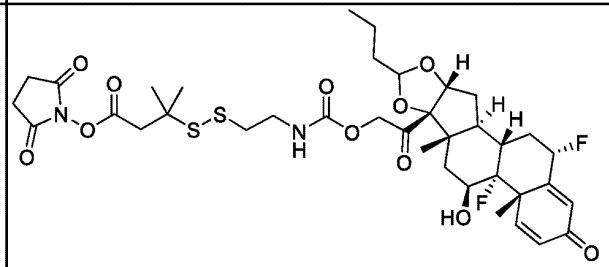
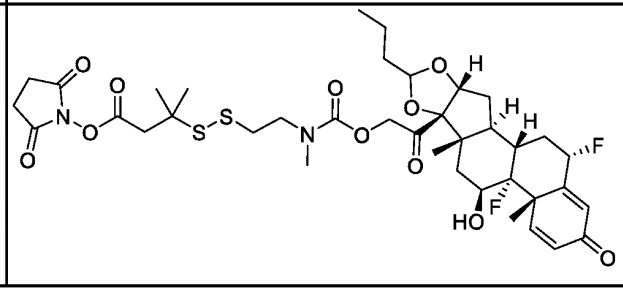
LP6	
LP18	
LP4	
LP11	
LP9	

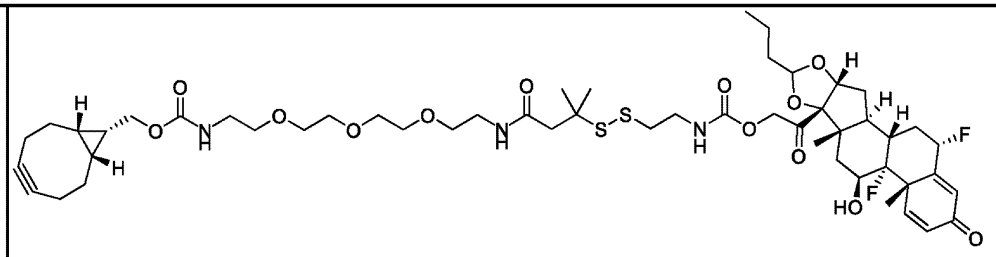
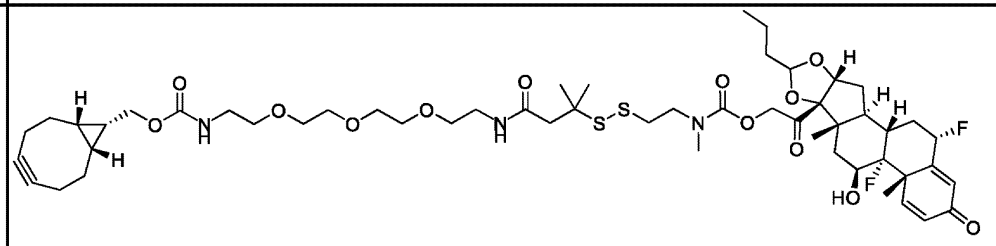
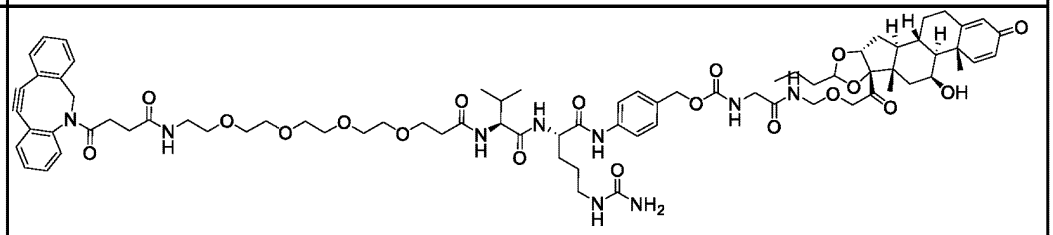
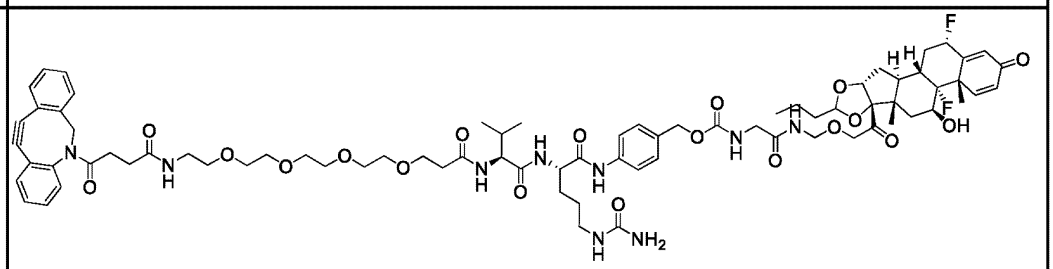
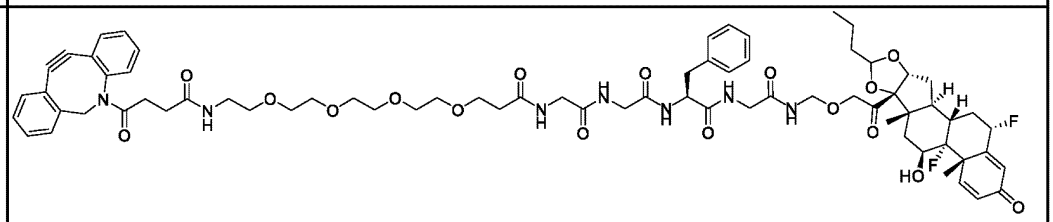
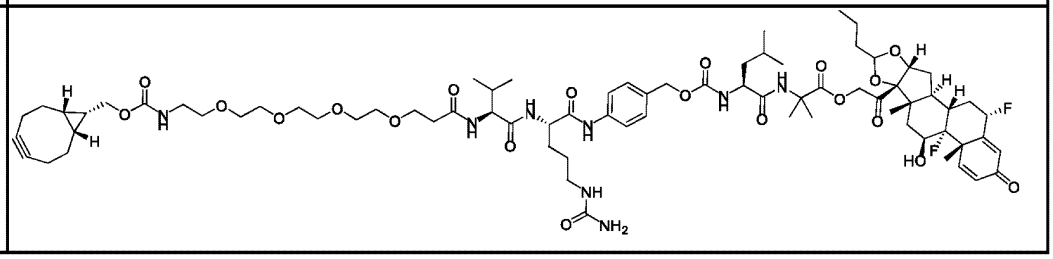
LP12	
LP3	
LP13	
	
	

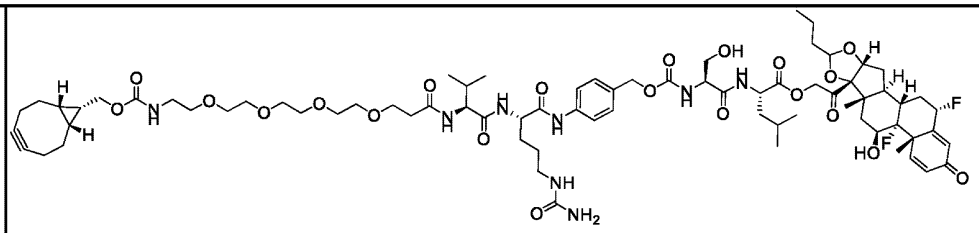
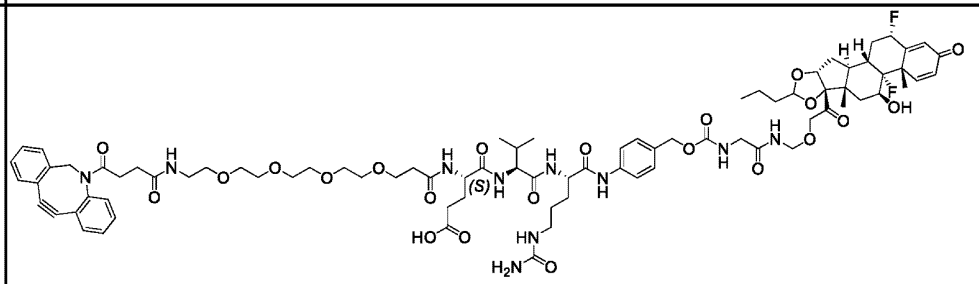
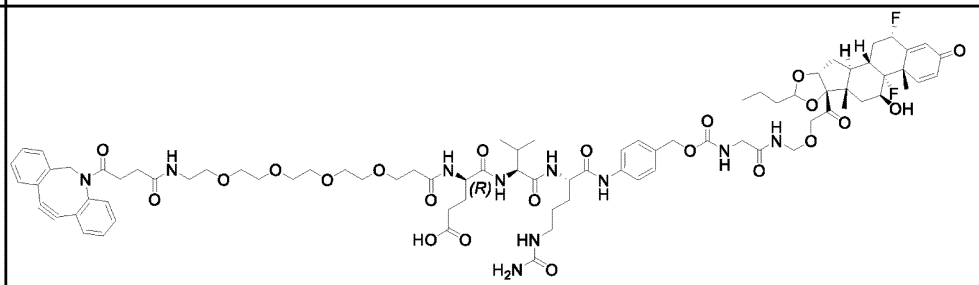
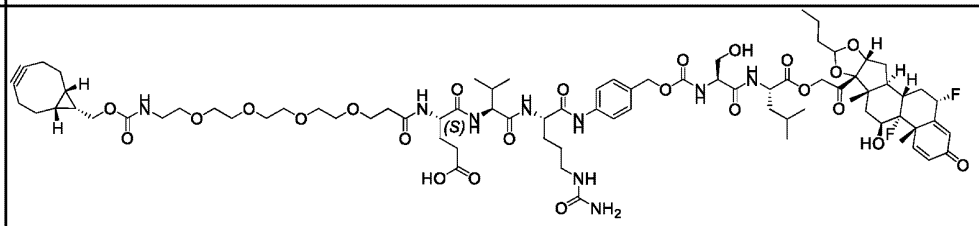
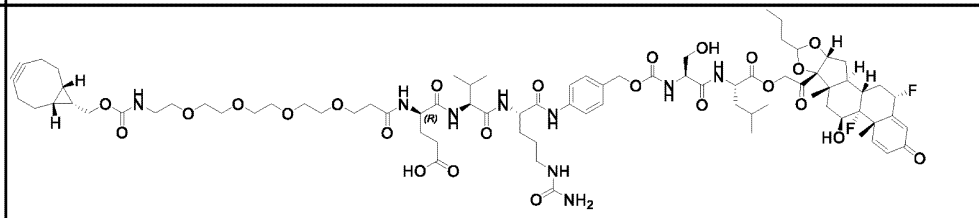
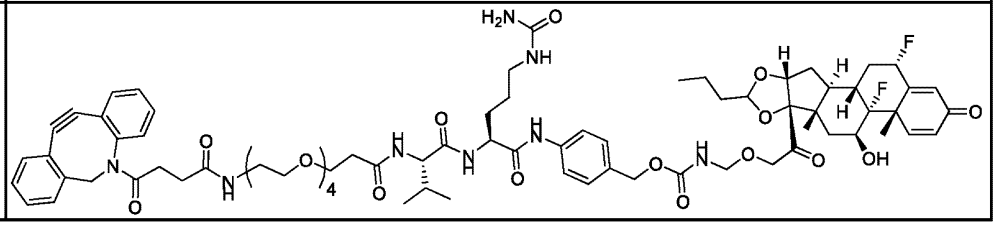
LP14	
LP15	
2a	
2b	

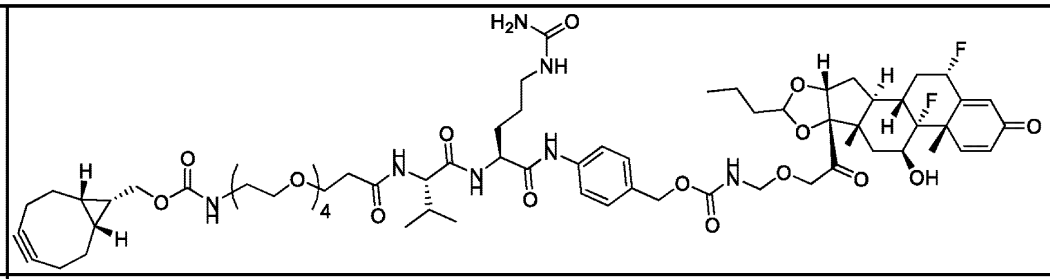
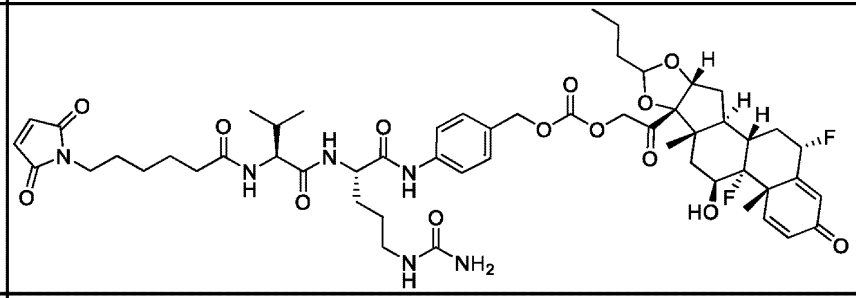
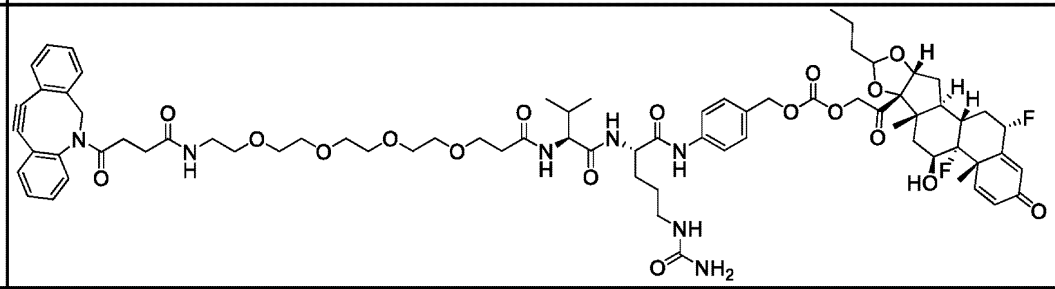
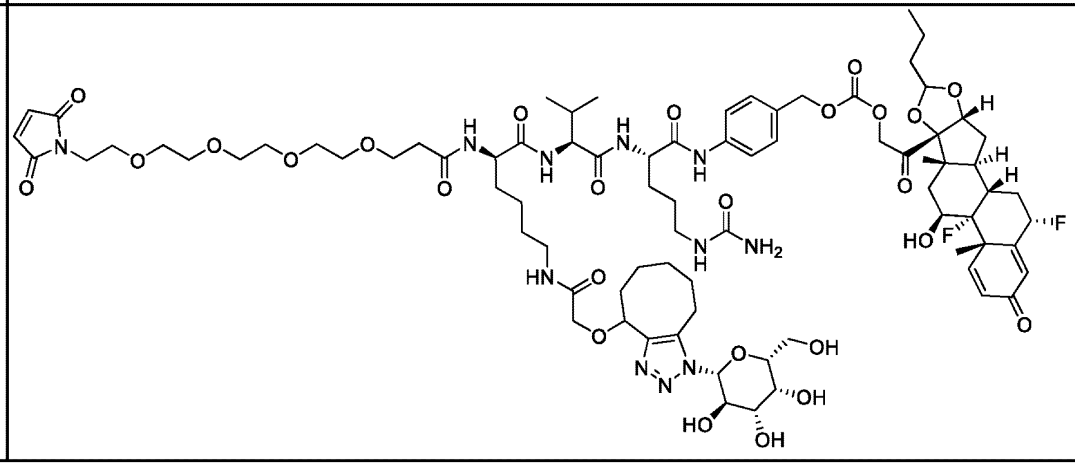
2f	
2g	
2j	
2k	

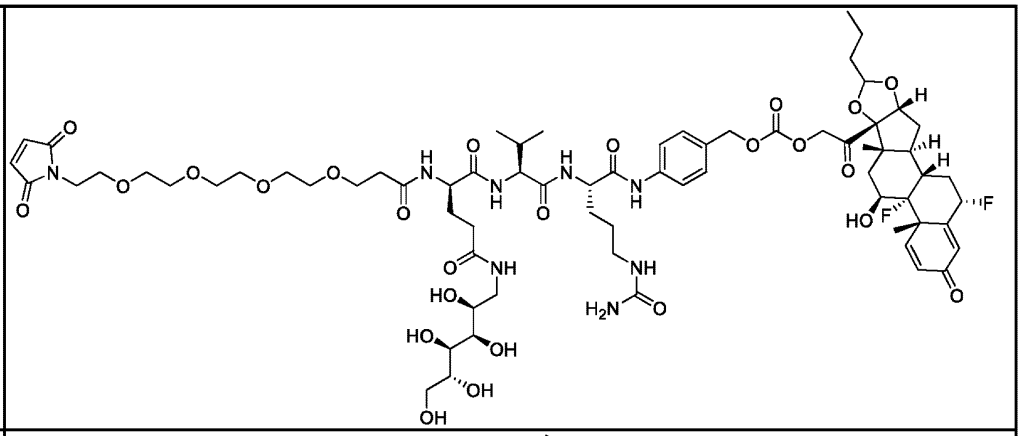
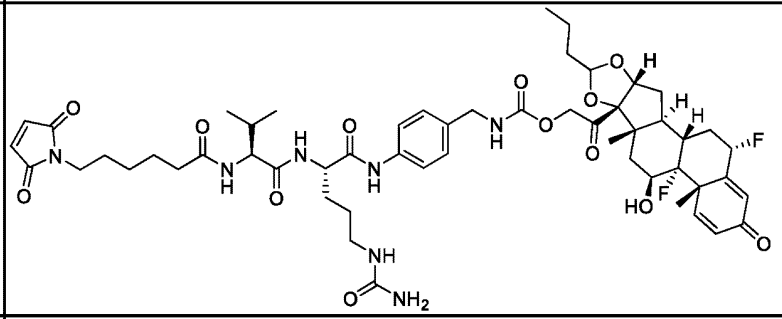
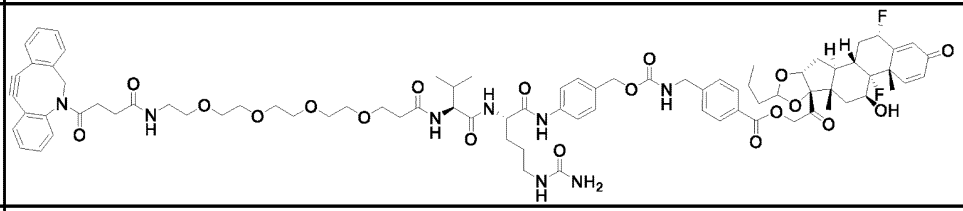
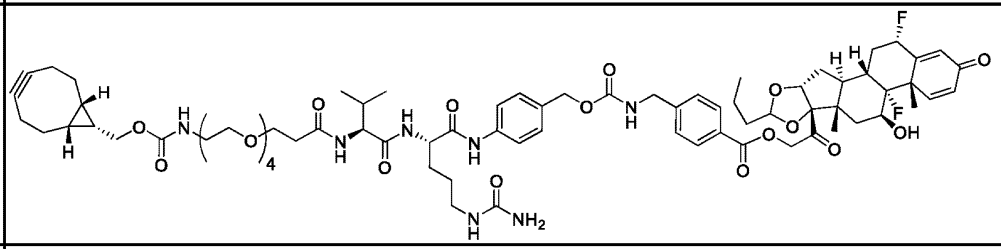
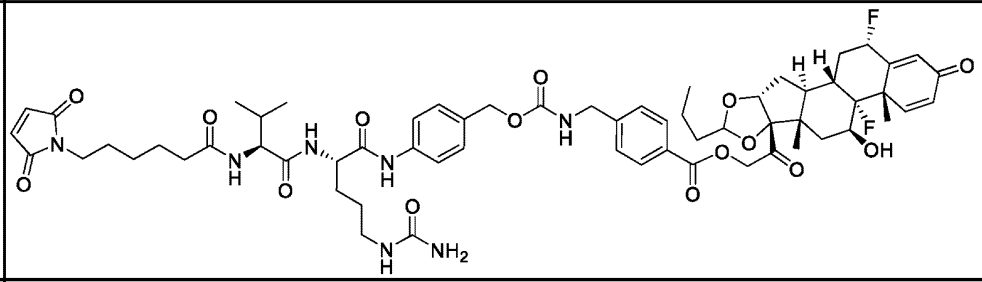
2l	
2m	
2n	 又はその混合物
2q	

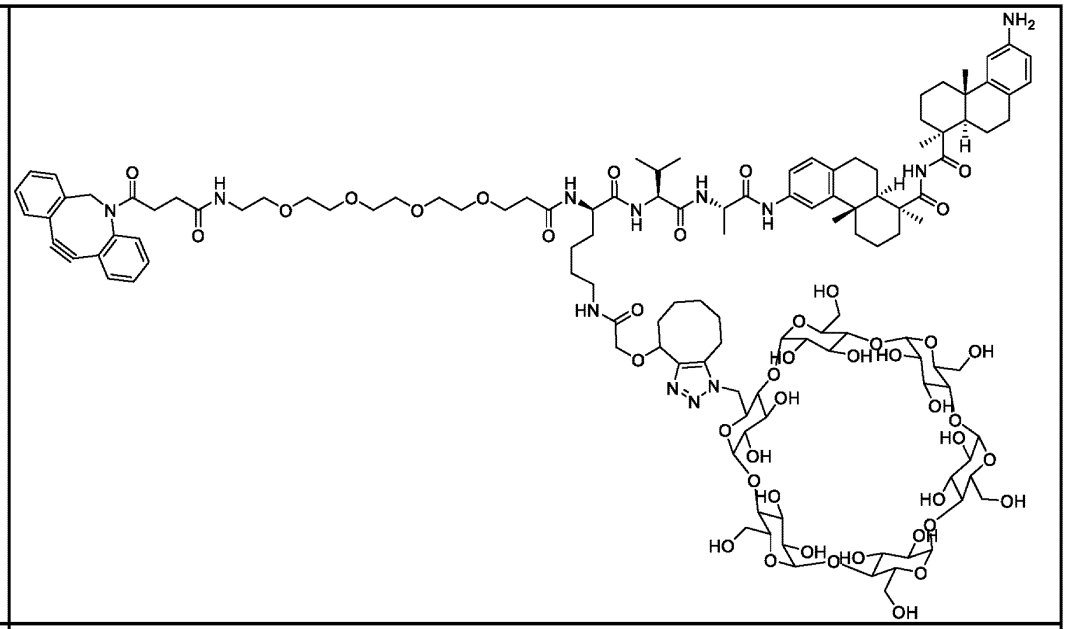
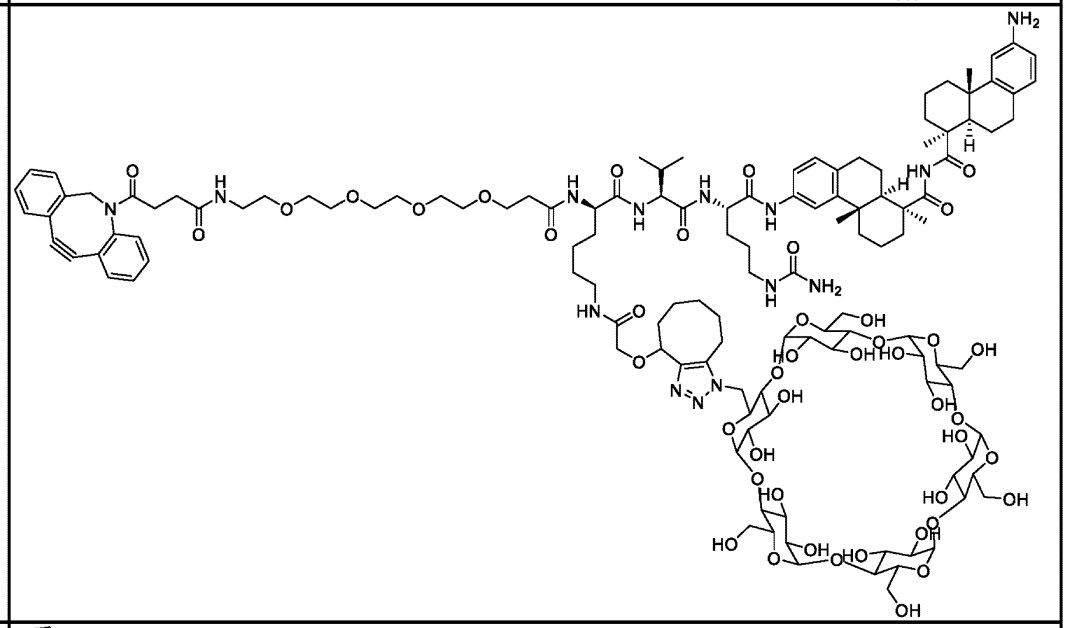
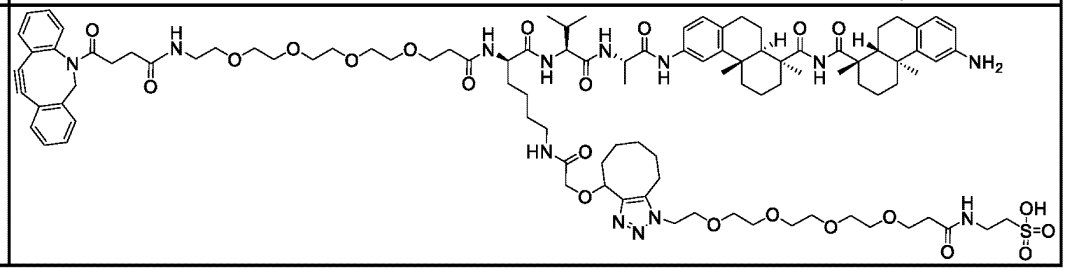
LP1A	
LP2A	
LP3A	
LP4A	
LP5A	
LP6A	

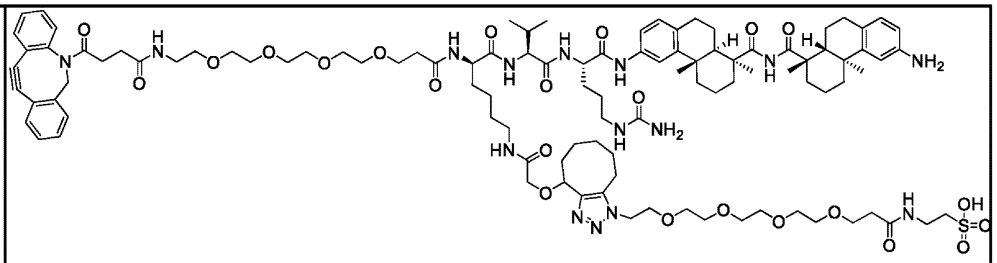
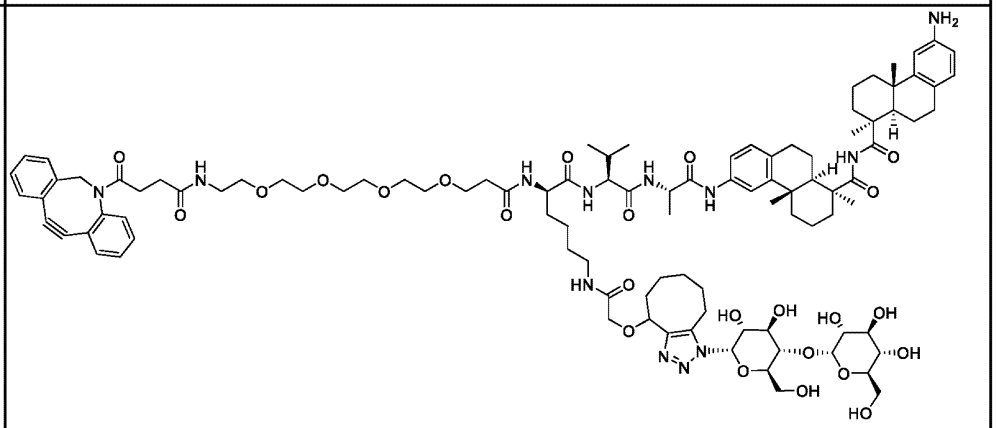
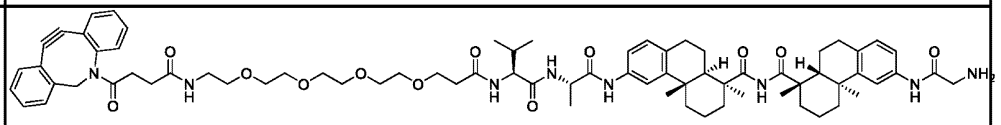
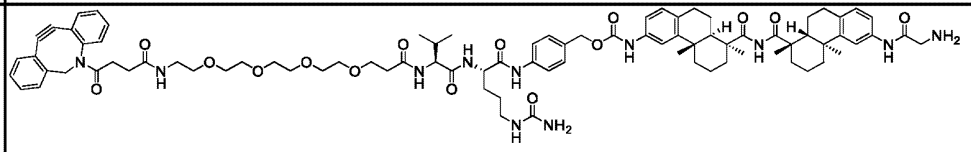
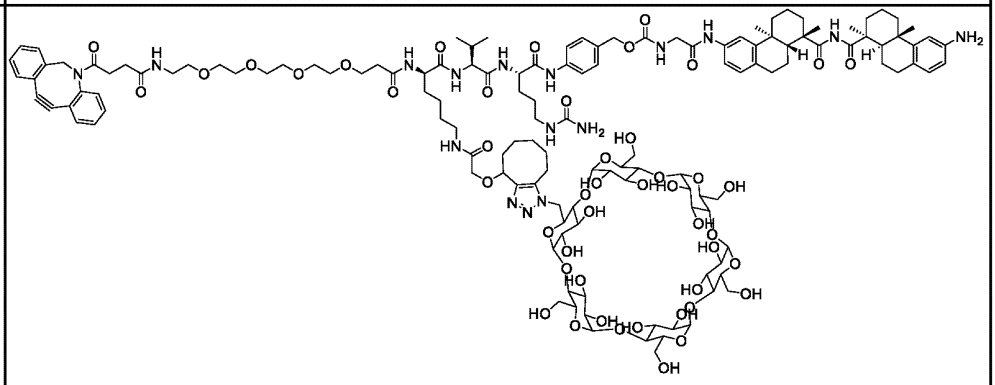
LP7A	
LP8A	
LP9A	
LP10A	
LP11A	
LP12A	

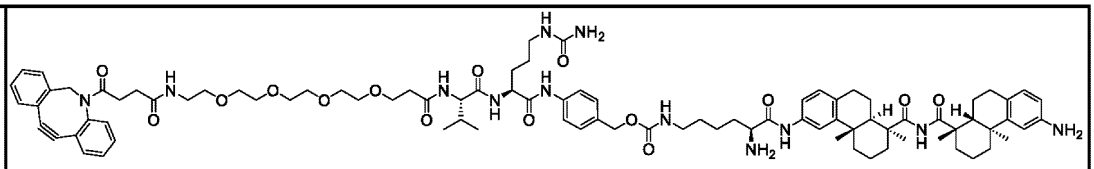
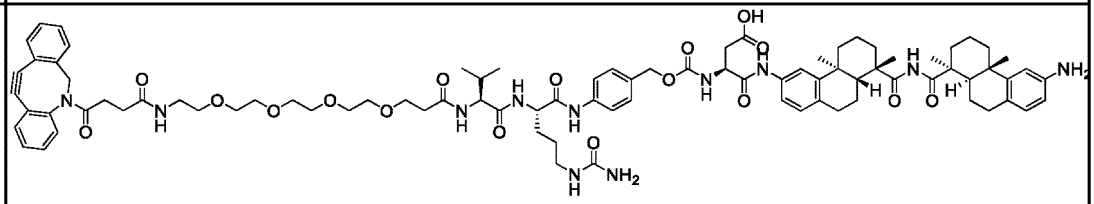
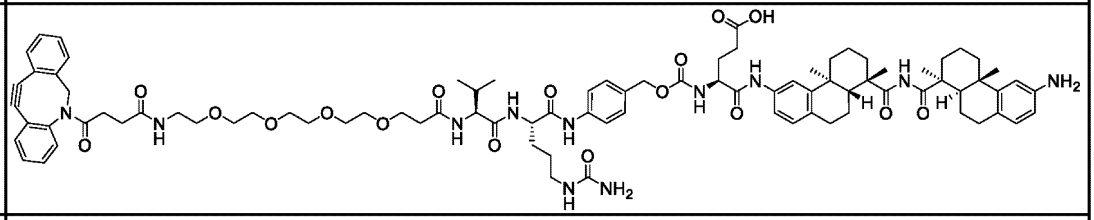
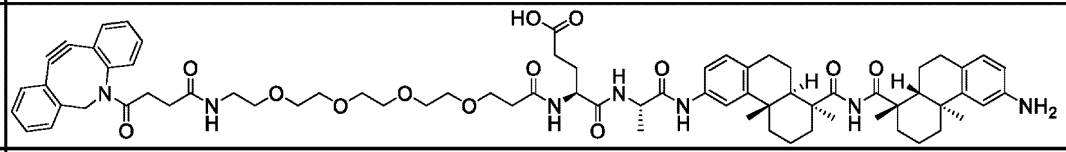
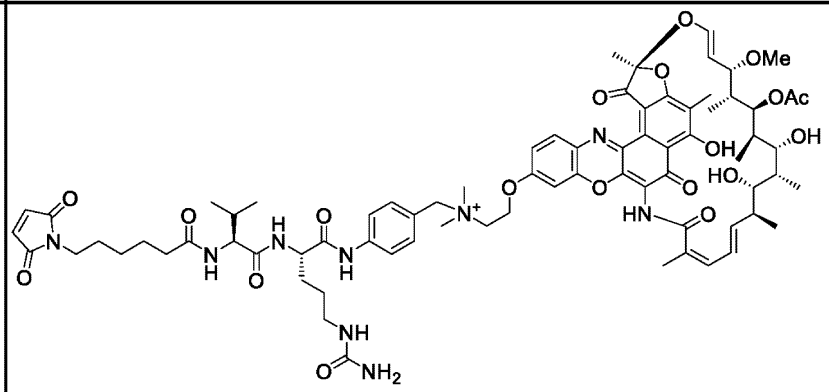
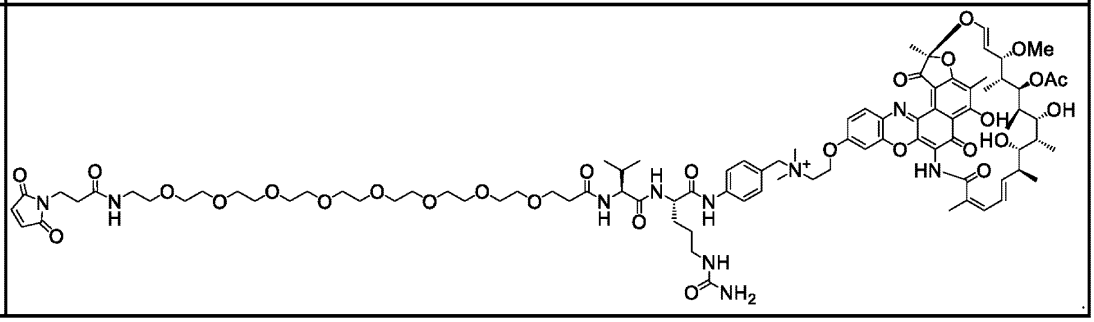
LP13 A	
LP18 A	
LP19 A	
LP20 A	
LP21 A	
LP22 A	

LP23A	
LP24A	
LP25A	
LP26A	

LP27A	
LP28A	
LP29A	
LP30A	
LP31A	

LP1B	
LP2B	
LP3B	

LP4B	
LP5B	
LP6B	
LP7B	
LP8B	

LP9B	
LP10B	
LP11B	
LP12B	
R20	
R25	

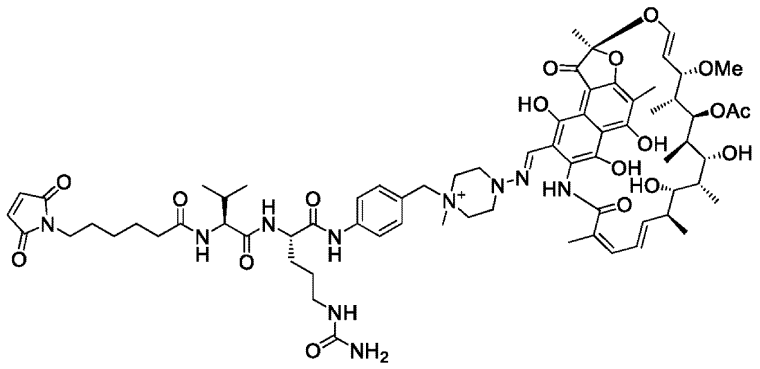
及び

。

【請求項５２】

抗ＭＳＲ１抗体もしくはＰＥＧ修飾抗ＭＳＲ１抗体又はその抗原結合断片を、式(D):

【化６９】



式 (D)

によるリンカーペイロード又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体と、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片との間の結合を形成するのに好適な条件下で接触させることにより調製される、請求項5記載の抗体-薬物コンジュゲート。

【請求項５３】

請求項1～4のいずれか一項記載の抗体又はその抗原結合断片及び医薬として許容し得る担体を含む医薬組成物。

【請求項５４】

請求項5～50のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート及び医薬として許容し得る担体を含む医薬組成物。

【請求項５５】

対象の増殖性疾患、代謝性疾患、炎症、神経変性疾患、又はグルココルチコイド受容体シグナル伝達と関連する疾患、障害、もしくは疾病を治療するための、請求項53又は54記載の医薬組成物。

【請求項５６】

アテローム性動脈硬化症を治療するための、請求項55記載の医薬組成物。

【請求項５７】

前記グルココルチコイド受容体シグナル伝達と関連する疾患、障害、又は疾病が、炎症性疾患、障害、又は疾病である、請求項55記載の医薬組成物。

【請求項５８】

関節炎を治療するための、請求項55記載の医薬組成物。

【請求項５９】

抗体とコンジュゲートされていないステロイドペイロードの投与と関連する副作用が低下する、請求項55記載の医薬組成物。

【請求項６０】

前記代謝性疾患が脂質異常症である、請求項55記載の医薬組成物。

【請求項６１】

対象の細菌感染を予防又は治療するための、請求項53又は54記載の医薬組成物。

【請求項６２】

前記細菌が、グラム陽性細菌、ペニシリン耐性細菌黄色ブドウ球菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌(MSSA)、もしくはバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(VRSA)、又は多剤耐性結核菌である、請求項61記載の医薬組成物。

【請求項６３】

前記医薬組成物がバンコマイシンと組み合わせて投与される、請求項61記載の医薬組成物。

【請求項６４】

対象の蜂巣炎、菌血症、皮膚壊死症、眼瞼感染症、眼感染症、新生児結膜炎、骨髄炎、膿痂疹、炎症性の腫れ物、熱傷様皮膚症候群、食中毒、肺炎、外科感染症、尿路感染症、熱傷後感染、髄膜炎、心内膜炎、敗血症、毒素性ショック症候群、化膿性関節炎、乳腺炎

、人工関節と関連する感染症、カテーテルと関連する感染症、又はインプラントと関連する感染症を予防又は治療するための、請求項53又は54記載の医薬組成物。
【請求項６５】
対象の細胞内細菌感染を予防又は治療するための、請求項53又は54記載の医薬組成物。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本出願は、あらゆる目的のために引用により完全に組み込まれている、2018年5月9日に出願された米国仮出願第62/669,276号、2018年5月30日に出願された米国仮出願第62/678,200号、2018年11月20日に出願された米国仮出願第62/769,946号、2019年1月8日に出願された米国仮出願第62/789,987号、及び2019年3月20日に出願された米国仮出願第62/821,362号に対する優先権を主張する。
【０００２】
(発明の分野)
本発明は、三量体膜糖タンパク質受容体(MSR1)に特異的に結合し、MSR1シグナル伝達を調節する、抗体及びその抗原結合断片並びにそのような抗体の抗体-薬物コンジュゲート、並びにその使用方法に関する。
【０００３】
(配列表)
配列表の写しは、ファイル名114581.00244_ST25.TXT、作成日2018年5月30日、及びサイズ約165キロバイトのASCII形式の配列表のハードコピーとして、EFS-Web経由で本明細書と同時に提出される。ASCII形式の文書のこのハードコピーに含まれる配列表は、本明細書の一部であり、引用により本明細書中に完全に含まれる。
【背景技術】
【０００４】
(背景)
マクロファージスカベンジャー受容体1(MSR1)は、修飾低密度リポタンパク質(LDL)(Krieger, M.の文献、1994. Annu. Rev. Biochem. 63:601-637; Platt, N.及びS. Gordon.の文献、2001. J Clin Invest. 108(5):649-654)及びウシ血清アルブミンの終末糖化産物(AGE-BSA)(Smedsrodらの文献、1997. Biochem J. 322(Pt 2):567-573)を含む、一連の負荷電性/ポリアニオン性リガンドの取込みを媒介する1回膜貫通型三量体II型膜糖タンパク質パターン認識受容体である。MSR1受容体は、アテローム性動脈硬化症、アルツハイマー病、及び宿主防御を含む、多くのマクロファージ関連の生理学的及び病理学的プロセスに関係があるとされている。
【０００５】
MSR1発現は、当初は、マクロファージ特異的であると考えられた。しかしながら、最近、これは、様々なクラスの樹状細胞上に存在することが示されている(Herberらの文献、2010. Nat. Med. 16(8): 880-886)。さらに、MSR1は、内皮細胞及び平滑筋肉細胞で発現されるように思われる。これは、細胞表面の被覆ピットを経由して内在化され、酸性pHでそのリガンドを放出した後、トランス-ゴルジ装置から細胞表面に戻って再利用される(Doiらの文献、1994. Journal of Biological Chemistry; Mori, T. 1994. Lab Invest.)。これは、アテローム性動脈硬化症進行の重要なステップである単球由来マクロファージから泡沫細胞への変換を促進する。
【０００６】
MSR1アイソフォーム1型及び2型は機能性受容体であり、修飾低密度リポタンパク質(LDL)のエンドサイトーシスを媒介することができる。MSR1アイソフォーム3型は、修飾LDL(アセチル-LDL)に結合することができるが、結合した複合体を内在化することはできないように思われる。しかしながら、MSR1は、修飾LDL以外の多種多様なリガンドにも結合する。これらのリガンドには、β-アミロイドタンパク質、分子シャペロン、細胞外マトリックスタンパク質、終末糖化産物、アポトーシス細胞、及び活性化B細胞が含まれる。

【０００７】
肝臓X受容体(LXR)には、コレステロール、脂質、及びグルコース恒常性、炎症、並びに自然免疫に関与する遺伝子の発現を制御するリガンド依存的転写因子であるLXRα及びLXRβが含まれる。LXRαは、肝臓、腸、脂肪組織、及び分化したマクロファージで高度に発現されており; LXRβは広範に発現されている。LXRは、(i)コレステロール輸送体、例えば、ABCA1及びABCG1(これらは両方とも細胞性コレステロール流出を媒介する)の発現を刺激すること;並びに(ii)NF-kB活性化の抑制を介してマクロファージ炎症性遺伝子発現を負に調節することを含む、様々な生物学的機能を有する。LXRは、アテローム性動脈硬化症、増殖性障害、神経変性障害、及び炎症にも関係があるとされている。増殖性障害には、メラノーマ、肺癌、口腔扁平上皮癌、及び前立腺癌が含まれる(Penchevaらの文献、2004; Wuらの文献、2015; Kanekoらの文献、2015; Chuuらの文献、2006)。神経変性障害には、アルツハイマー病及びミエリン遺伝子発現が含まれる(Terwelらの文献、2011; Sandoval-Hernandezらの文献、2016; Meffreらの文献、2014)。炎症には、炎症性腸疾患、潰瘍性大腸炎、クローン病、及び関節炎が含まれる(Andersonらの文献、2011; Huangらの文献、2015; Cuiらの文献、2012)。マクロファージLXRは、抗アテローム形成活性を含むことが知られている。LXRアゴニストは、(i)アテローム性動脈硬化症の開始を阻害し、その進行を遅延させ;(ii)アテローム性動脈硬化症を緩和し、確立されたアテローム性動脈硬化病変を安定化し;かつ(iii)アポトーシスにより病変マクロファージ含量を低下させることができると考えられている。

【０００８】
低分子LXRモジュレーターの治療効力は、例えば、非標的細胞での望ましくないLXRの調節及び/又は低バイオアベイラビリティによって制限される。非標的細胞でのLXRの調節は、望ましくない副作用をもたらすことがあり、低バイオアベイラビリティは、限定されないが、治療の不十分な治療域をさらに悪化させる低溶解度を含む、数多くの理由により現れ得る。LXRモジュレーターを含むADCが開発されれば、標的特異的なLXRの調節が可能になり、それにより、LXRのオフターゲット調節に起因する副作用が回避されるであろう。さらに、そのようなADCであれば、生物学的標的の調節の改善、バイオアベイラビリティの改善、及び治療域の改善をもたらすであろう。それゆえ、LXRモジュレーターの抗体-薬物コンジュゲートを用いる、例えば、代謝性疾患の効果的な治療が引き続き必要とされている。

【０００９】
グルココルチコイド(GC)は、グルココルチコイド受容体(GR)に結合する低分子ステロイドであり、抗炎症及び免疫抑制療法に広く利用されている。しかしながら、多くの細胞型におけるグルココルチコイド受容体の遍在的発現のため、グルココルチコイド治療は、ほとんどの器官系への毒性により損なわれている。したがって、グルココルチコイド投与から生じる副作用、特に、非標的細胞におけるグルココルチコイド受容体の活性化から生じる副作用を最小限にする新規のグルココルチコイド及び新規の療法の両方が必要とされている。

【００１０】
リファマイシンは、グラム陽性及びグラム陰性細菌に対する活性スペクトルを有するアンサマイシン抗生物質ファミリーのサブクラスを形成し、結核、ハンセン病、及び/又はマイコバクテリウム・アビウムコンプレックス(MAC)の治療のための一般的に処方される抗マイコバクテリア薬である。リファマイシン群の抗生物質には、「古典的」リファマイシン薬及びリファマイシン誘導体、例えば、リファンピシン(又はリファンピン)、リファブチン、リファペンチン、リファラジル、及びリファキシミンが含まれる。特に、病院内環境での、抗生物質耐性細菌株(例えば、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(VRSA))、多剤耐性結核菌)の発生の増加は、現在進行中の問題である。より効果的なリファマイシンの類似体が必要とされている。リファマイシンは、バイオアベイラビリティの低下及びシトクロムP450酵素系(特に、CYP3A4)による代謝を受ける一部の共投与薬のクリアランスの増強をもたらすことができる、シトクロムP450

酵素系(特に、CYP3A4)の適度から強度の誘導物質である。そのような相互作用は、発生が遅延する場合があるが、リファマイシン共投与を過ぎても持続する。リファンピンは、P-糖タンパク質(P-gp)多剤排出トランスポーターを誘導することもできる。リファマイシンの投与によって生じる副作用、特に、シトクロムP450酵素系の活性化によって生じる副作用を最小限に抑える新規の療法が必要とされている。

【００１１】

本出願に開示されているように、MSR抗体は、そのような化合物の全身投与によって生じる望ましくない副作用を最小限に抑えるための治療的分子、例えば、LXRアゴニスト、ステロイド、及びリファマイシンの特異的ターゲッティングのための手段を提供することができる。

【発明の概要】

【００１２】

(概要)

本明細書に提供されるのは、MSR1として知られる膜糖タンパク質受容体に結合する抗体、抗体の抗原結合断片、及びその抗体-薬物コンジュゲートである。該抗体は、とりわけ、MSR1を発現する細胞、例えば、マクロファージ細胞をターゲッティングするのに有用である。該抗MSR1抗体及びその抗原結合部分は、未修飾の形態で単独で使用することができ、又は抗体-薬物コンジュゲートの一部として含めることができる。

【００１３】

本明細書に開示される抗体は、全長(例えば、IgG1もしくはIgG4抗体)であることができるか、又は抗原結合部分(例えば、Fab、$F(ab')_2$、もしくはscFv断片)のみを含むことができ、かつ機能性に影響を及ぼすように、例えば、残りのエフェクター機能を消失させるように修飾することができる(Reddyらの文献、2000, J. Immunol. 164:1925-1933)。

【００１４】

本明細書に開示される抗MSR1抗体の実施態様は、表4及び5に掲載されている。表4は、例示的な抗MSR1抗体の重鎖可変領域(HCVR)、軽鎖可変領域(LCVR)、重鎖相補性決定領域(HCDR1、HCDR2、及びHCDR3)、並びに軽鎖相補性決定領域(LCDR1、LCDR2、及びLCDR3)のアミノ酸配列識別子を示している。表5は、例示的な抗MSR1抗体のHCVR、LCVR、HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及びLCDR3の核酸配列識別子を示している。

【００１５】

本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているHCVRアミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、又はそれに対する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含むHCVRを含む、MSR1に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。

【００１６】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているLCVRアミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、又はそれに対する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含むLCVRを含む、MSR1に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。

【００１７】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているLCVRアミノ酸配列のいずれかと対になった表4に掲載されているHCVRアミノ酸配列のいずれかを含むHCVR及びLCVRアミノ酸配列対(HCVR/LCVR)を含む、MSR1に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。ある実施態様は、表4に掲載されている例示的な抗MSR1抗体のいずれかに含まれるHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む、抗体又はその抗原結合断片に関する。いくつかの実施態様において、該HCVR/LCVRアミノ酸配列対は: 2/10、34/42、50/58; 98/106、及び290/298からなる群から選択される。

【００１８】

本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているHCDR1アミノ酸配列のいずれかから

選択されるアミノ酸配列、又は少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む重鎖CDR1(HCDR1)を含む、MSR1に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。

【００１９】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているHCDR2アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、又は少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む重鎖CDR2(HCDR2)を含む、MSR1に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。

【００２０】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているHCDR3アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、又は少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む重鎖CDR3(HCDR3)を含む、MSR1に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。

【００２１】

本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているLCDR1アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、又は少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む軽鎖CDR1(LCDR1)を含む、MSR1に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。

【００２２】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているLCDR2アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、又は少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む軽鎖CDR2(LCDR2)を含む、MSR1に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。

【００２３】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているLCDR3アミノ酸配列のいずれかから選択されるアミノ酸配列、又は少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む軽鎖CDR3(LCDR3)を含む、MSR1に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。

【００２４】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているLCDR3アミノ酸配列のいずれかと対になった表4に掲載されているHCDR3アミノ酸配列のいずれかを含むHCDR3及びLCDR3アミノ酸配列対(HCDR3/LCDR3)を含む、MSR1に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。ある実施態様は、表4に掲載されている例示的な抗MSR1抗体のいずれかに含まれるHCDR3/LCDR3アミノ酸配列対を含む、抗体又はその抗原結合断片に関する。いくつかの実施態様において、該HCDR3/LCDR3アミノ酸配列対は: 8/16、40/48、56/64; 96/104、及び288/296からなる群から選択される。

【００２５】

本明細書に提供されるのは、表4に掲載されている例示的な抗MSR1抗体のいずれかに含まれる6つのCDRの組(すなわち、HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)を含む、MSR1に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。ある実施態様において、該HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3アミノ酸配列組は: 4-6-8-12-14-16; 36-38-40-44-46-48; 52-54-56-60-62-64; 100-102-104-108-110-112、及び292-294-296-300-302-304からなる群から選択される。

【００２６】

関連する実施態様において、本明細書に提供されるのは、表4に掲載されている例示的な抗MSR1抗体のいずれかによって定義されるHCVR/LCVRアミノ酸配列対に含まれる6つのCDRの組(すなわち、HCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3)を含む、MSR1に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片である。例えば、本発明は、2/10、34/42、50/58、98/106、及び290/298:からなる群から選択されるHCVR/LCVRアミノ酸配列対に含まれるHCDR1-HCDR2-HCDR3-LCDR1-LCDR2-LCDR3アミノ酸配列組を含む

、MSR1に特異的に結合する抗体又はその抗原結合断片を含む。HCVR及びLCVRアミノ酸配列に含まれるCDRを同定するための方法及び技法は、当技術分野で周知であり、本明細書に開示される特定のHCVR及び/又はLCVRアミノ酸配列内のCDRを同定するために使用することができる。CDRの境界を同定するために使用することができる例示的な慣例としては、例えば、Kabat定義、Chothia定義、及びAbM定義が挙げられる。一般的には、Kabat定義は、配列可変性に基づいており、Chothia定義は、構造ループ領域の位置に基づいており、AbM定義は、Kabatアプローチと Chothiaアプローチの折衷案である。例えば、Kabatの文献、「免疫学的に関心のあるタンパク質の配列(Sequences of Proteins of Immunological Interest)」、米国立衛生研究所、Bethesda, Md.(1991); Al-Lazikaniらの文献、J. Mol. Biol. 273:927-948(1997);及びMartinらの文献、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:9268-9272(1989)を参照されたい。公的データベースも、抗体内のCDR配列を同定するために利用可能である。

【００２７】

また本明細書に提供されるのは、抗MSR1抗体又はその部分をコードする核酸分子である。例えば、本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているHCVRアミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子であり;ある実施態様において、該核酸分子は、表5に掲載されているHCVR核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、又はそれに対する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む。

【００２８】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているLCVRアミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子であり;ある実施態様において、該核酸分子は、表5に掲載されているLCVR核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、又はそれに対する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む。

【００２９】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているHCDR1アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子であり;ある実施態様において、該核酸分子は、表5に掲載されているHCDR1核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、又はそれに対する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む。

【００３０】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているHCDR2アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子であり;ある実施態様において、該核酸分子は、表5に掲載されているHCDR2核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、又はそれに対する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む。

【００３１】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているHCDR3アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子であり;ある実施態様において、該核酸分子は、表5に掲載されているHCDR3核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、又はそれに対する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む。

【００３２】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているLCDR1アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子であり;ある実施態様において、該核酸分子は、表5に掲載されているLCDR1核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列又はそれに対する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む。

【００３３】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているLCDR2アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子であり;ある実施態様において、該核酸分子は、表5に掲載されているLCDR2核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列又はそれに対する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む。

【００３４】

また本明細書に提供されるのは、表4に掲載されているLCDR3アミノ酸配列のいずれかをコードする核酸分子であり;ある実施態様において、該核酸分子は、表5に掲載されているLCDR3核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列又はそれに対する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む。

【００３５】

また本明細書に提供されるのは、HCVRをコードする核酸分子であり、ここで、該HCVRは、3つのCDRの組(すなわち、HCDR1-HCDR2-HCDR3)を含み、ここで、該HCDR1-HCDR2-HCDR3アミノ酸配列組は、表4に掲載されている例示的な抗MSR1抗体のいずれかによって定義されている通りである。

【００３６】

また本明細書に提供されるのは、LCVRをコードする核酸分子であり、ここで、該LCVRは、3つのCDRの組(すなわち、LCDR1-LCDR2-LCDR3)を含み、ここで、該LCDR1-LCDR2-LCDR3アミノ酸配列組は、表4に掲載されている例示的な抗MSR1抗体のいずれかによって定義されている通りである。

【００３７】

また本明細書に提供されるのは、HCVRとLCVRの両方をコードする核酸分子であり、ここで、該HCVRは、表4に掲載されているHCVRアミノ酸配列のいずれかのアミノ酸配列を含み、かつ該LCVRは、表4に掲載されているLCVRアミノ酸配列のいずれかのアミノ酸配列を含む。ある実施態様において、該核酸分子は、表5に掲載されているHCVR核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、又はそれに対する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列、及び表5に掲載されているLCVR核酸配列のいずれかから選択されるポリヌクレオチド配列、又はそれに対する少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、もしくは少なくとも99%の配列同一性を有するその実質的に同様の配列を含む。本発明のこの態様によるある実施態様において、該核酸分子は、HCVR及びLCVRをコードし、ここで、該HCVR及びLCVRは両方とも、表4に掲載されている同じ抗MSR1抗体に由来する。

【００３８】

また本明細書に提供されるのは、抗MSR1抗体の重鎖又は軽鎖可変領域を含むポリペプチドを発現することができる組換え発現ベクターである。例えば、実施態様には、上述の核酸分子、すなわち、表4に記載されているHCVR、LCVR、及び/又はCDR配列のいずれかをコードする核酸分子のいずれかを含む組換え発現ベクターが含まれる。また本発明の範囲内に含まれるのは、そのようなベクターが導入されている宿主細胞、並びに該宿主細胞を抗体又は抗体断片の産生を許容する条件下で培養することにより該抗体又はその部分を産生し、かつそのようにして産生された抗体及び抗体断片を回収する方法である。

【００３９】

本明細書に提供されるのは、修飾されたグリコシル化パターンを有する抗MSR1抗体である。いくつかの実施態様において、望ましくないグリコシル化部位を除去するための修飾は、例えば、抗体依存性細胞傷害性(ADCC)機能を増大させるために有用であり得る(Shieldらの文献(2002) JBC 277:26733を参照)。いくつかの実施態様において、オリゴ糖鎖上に存在するフコース部分を欠く抗体を提供するための修飾は、例えば、抗体依存性細胞傷害性(ADCC)機能を増大させるために有用であり得る。他の応用において、ガラクトシル化の修飾を、補体依存性細胞傷害性(CDC)を修飾するために行うことができる。

【００４０】
別の態様において、本明細書に提供されるのは、MSR1に特異的に結合する組換えヒト抗体又はその断片及び医薬として許容し得る担体を含む医薬組成物である。関連する態様において、実施態様は、抗MSR1抗体と第二の治療剤の組合せである組成物に関する。一実施態様において、第二の治療剤は、抗MSR1抗体と有利に組み合わされる任意の薬剤である。また本明細書に提供されるのは、薬物又は治療剤にコンジュゲートされた抗MSR1抗体を含む抗体-薬物コンジュゲート(ADC)である。抗MSR1抗体を含む例示的な組合せ療法、共製剤、及びADCは、本明細書中の別の場所に開示されている。
【００４１】
また本明細書に提供されるのは、薬物又は治療剤にコンジュゲートされた抗MSR1抗体又はそのMSR1抗原結合断片を含む抗体-薬物コンジュゲート(ADC)である。また本明細書に提供されるのは、ADCを作製するのに有用な反応性リンカー-ペイロードである。さらに本明細書に提供されるのは、ADCを作製するのに有用な修飾抗MSR1抗体及び修飾MSR1抗原結合断片である。
【００４２】
また本明細書に提供されるのは、それを必要としている対象への抗MSR1抗体、MSR1抗体の抗原結合部分、又は抗MSR1抗体もしくはそのMSR1抗原結合断片を含むADCの投与を含む治療方法である。該治療方法は、抗MSR1抗体、MSR1抗体の抗原結合部分、又は抗MSR1抗体もしくはそのMSR1抗原結合断片を含むADCを含む医薬組成物の治療有効量を対象に投与することを含む。治療される障害は、MSR1を標的とすることにより改善され(improved)、改善され(ameliorated)、阻害され、又は予防される任意の疾患又は疾病である。いくつかの実施態様において、該疾患又は疾病は、増殖性疾患、代謝性疾患、炎症、神経変性疾患、又はグルココルチコイド受容体シグナル伝達と関連する疾患、障害、もしくは疾病である。いくつかの実施態様において、該疾患又は疾病は、アテローム性動脈硬化症である。いくつかの実施態様において、グルココルチコイド受容体シグナル伝達と関連する疾患、障害、又は疾病は、炎症性疾患、障害、又は疾病である。そのような実施態様のいくつかにおいて、該化合物のコンジュゲートされていないステロイドペイロードの投与と関連する副作用は軽減される。また本明細書に提供されるのは、対象の細菌感染の治療及び/又は予防のための、抗MSR1抗体、MSR1抗体の抗原結合部分、又は抗MSR1抗体もしくはそのMSR1抗原結合断片を含むADCの投与を含む治療方法である。
【００４３】
本明細書に提供されるのは、本明細書に記載される任意の疾患、障害、又は疾病の治療のための、本明細書に記載される抗MSR1抗体、MSR1抗体の抗原結合部分、又は抗MSR1抗体もしくはそのMSR1抗原結合断片を含むADCの使用である。
【００４４】
また本明細書に提供されるのは、アテローム性動脈硬化症を治療し、停止させ、又は改善するための治療方法であって、抗MSR1抗体、MSR1抗体の抗原結合部分、又は抗MSR1抗体もしくはそのMSR1抗原結合断片を含むADCを、それを必要としている対象に投与することを含む、治療方法である。該治療方法は、抗MSR1抗体、MSR1抗体の抗原結合部分、又は抗MSR1抗体もしくはそのMSR1抗原結合断片を含むADCを含む医薬組成物の治療有効量を対象に投与することを含む。
【００４５】
他の実施態様は、以下の詳細な説明の概観から明らかになるであろう。
【図面の簡単な説明】
【００４６】
(図面の簡単な説明)
【図１】図1は、P1及びP2Bの合成スキームを提供している。
【００４７】
【図２】図2は、LP1の合成スキームを提供している。
【００４８】

【図３】図3は、LP2の合成スキームを提供している。
【００４９】
【図４】図4は、LP5の合成スキームを提供している。
【００５０】
【図５】図5は、LP6の合成スキームを提供している。
【００５１】
【図６】図6は、LP18の合成スキームを提供している。
【００５２】
【図７】図7は、LP4の合成スキームを提供している。
【００５３】
【図８】図8は、LP11の合成スキームを提供している。
【００５４】
【図９】図9は、LP9の合成スキームを提供している。
【００５５】
【図１０】図10は、LP12の合成スキームを提供している。
【００５６】
【図１１】図11は、P3及びP4の合成スキームを提供している。
【００５７】
【図１２】図12は、LP3の合成スキームを提供している。
【００５８】
【図１３】図13は、LP13の合成スキームを提供している。
【００５９】
【図１４】図14は、LP14の合成スキームを提供している。
【００６０】
【図１５】図15は、LP15の合成スキームを提供している。
【００６１】
【図１６】図16は、抗体-薬物コンジュゲート(ADC)の合成スキームを提供している。
【００６２】
【図１７】図17は、例示的なMSR1抗体-LXRコンジュゲート、そのコンジュゲートされていない対応物、アイソタイプ対照-ステロイドコンジュゲート、及び対応する遊離ペイロードについてのTHP-1マクロファージにおける用量依存的コレステロール流出のパーセンテージを示す折れ線グラフである。
【００６３】
【図１８】図18は、アテローム性動脈硬化症のマウスモデルにおける血清脂質レベルに対する例示的なMSR1抗体-LXRアゴニストコンジュゲート及びそのコンジュゲートされていない対応物の効果を示す一連の棒グラフを提供している。
【００６４】
【図１９】図19は、アテローム性動脈硬化症のマウスモデルにおける病変脂質面積及びマクロファージ(CD68)含量に対する例示的なMSR1抗体-LXRアゴニストコンジュゲート及びそのコンジュゲートされていない対応物の効果を示す一連の棒グラフを提供している。
【００６５】
【図２０】図20は、アテローム性動脈硬化症のマウスモデルにおける肝臓のトリグリセリド及びコレステロールレベルに対する例示的なMSR1抗体-LXRアゴニストコンジュゲート及びそのコンジュゲートされていない対応物の効果を示す一連の棒グラフを提供している。
【００６６】
【図２１】図21は、アテローム性動脈硬化症のマウスモデルにおけるデノボ脂質生成に対する例示的なMSR1抗体-LXRアゴニストコンジュゲート及びそのコンジュゲートされていない対応物の効果を示す一連の棒グラフを提供している。
【００６７】
【図２２】図22は、反応基である、suc-酸(化合物1c)、カルバメート類似体(1d、1e)、T

HP-類似体(1g及び1h)、グルコース類似体(1i及び1j)、ホスフェート類似体(1k及び1l)、並びに市販のホスフェート類似体(1m)を含有するブデソニド-スペーサーの合成スキームを提供している。

【００６８】

【図２３】図23は、ペイロード、化合物、及びビス-オクタヒドロフェナントレンカルボキサミドP3B～P9Bの合成スキームを提供している。

【００６９】

【図２４】図24は、ペイロード、化合物、及びビス-オクタヒドロフェナントレンカルボキサミドP10B～P11Bの合成スキームを提供している。

【００７０】

【図２５】図25は、リンカー及びリンカーペイロードLP1B～LP5Bの合成スキームを提供している。

【００７１】

【図２６】図26は、リンカー及びリンカーペイロードLP6Bの合成スキームを提供している。

【００７２】

【図２７】図27は、リンカー及びリンカーペイロードLP7Bの合成スキームを提供している。

【００７３】

【図２８】図28は、リンカー及びリンカーペイロードLP8Bの合成スキームを提供している。

【００７４】

【図２９】図29は、リンカー及びリンカーペイロードLP9Bの合成スキームを提供している。

【００７５】

【図３０】図30は、リンカー及びリンカーペイロードLP10B及びLP11Bの合成スキームを提供している。

【００７６】

【図３１】図31は、ペイロード12B、リンカー及びリンカーペイロードLP12Bの合成スキームを提供している。

【００７７】

【図３２】図32は、シクロデキストリン-アジド105aの合成スキームを提供している。

【００７８】

【図３３】図33は、アジド-PEG_4-タウリン105bの合成スキームを提供している。

【００７９】

【図３４】図34は、マルトース-アジド105cの合成スキームを提供している。

【００８０】

【図３５】図35は、リファマイシン類似体を用いて実施された黄色ブドウ球菌増殖阻害アッセイの結果のプロットである。

【００８１】

【図３６】図36は、リファマイシン類似体を用いて実施された黄色ブドウ球菌細胞内死滅化アッセイの結果の棒グラフである。

【００８２】

【図３７】図37は、リファマイシン類似体を用いて実施された黄色ブドウ球菌細胞内死滅化アッセイの結果のプロットである。

【発明を実施するための形態】

【００８３】

(詳細な説明)

本発明を説明する前に、記載されている特定の方法及び実験条件は様々に変わり得るので、本発明は、そのような方法及び条件に限定されないことが理解されるべきである。本

発明の範囲は、添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるので、本明細書で使用される用語法は、特定の実施態様を説明する目的のためだけのものであり、限定的であるようには意図されないことも理解されるべきである。

【００８４】

別途定義されない限り、本明細書で使用される技術的及び科学的用語は全て、本発明が属する分野の当業者によって一般に理解されているのと同じ意味を有する。本明細書で使用される場合、「約」という用語は、特定の列挙されている数値に関して使用されるとき、該値が列挙されている値とわずか1%異なり得ることを意味する。例えば、本明細書で使用される場合、「約100」という表現は、99及び101並びにその間の全ての値(例えば、99.1、99.2、99.3、99.4など)を含む。

【００８５】

本明細書に記載されるものと同様又は同等の任意の方法及び材料を本発明の実施又は試験において使用することができるが、好ましい方法及び材料をこれから記載する。本明細書で言及される特許、出願、及び非特許刊行物は全て、引用により本明細書中に完全に組み込まれる。

【００８６】

(定義)

本明細書で使用される「MSR1」、「hMSR1」などの表現は、クラスAマクロファージスカベンジャー受容体の様々なタイプ及びアイソフォームを表す、(i)NCBIアクセッション番号NP_002436.1に記載されているアミノ酸配列、(ii)NCBIアクセッション番号NP_619729.1に記載されているアミノ酸配列、及び/又は(iii)NCBIアクセッション番号NP_619730.1に記載されているアミノ酸配列を含むヒト1回膜貫通型三量体II型膜糖タンパク質パターン認識受容体を指す。「MSR1」という表現は、単量体MSR1分子と多量体MSR1分子の両方を含む。本明細書で使用される場合、「単量体ヒトMSR1」という表現は、多量体化ドメインを含有又は保有せず、かつ通常の条件下で、別のMSR1分子と直接物理的に接続しないで、単一のMSR1分子として存在する、MSR1タンパク質又はその部分を意味する。例示的な単量体MSR1分子は、配列番号393のアミノ酸配列を含む「His-hMSR1」と本明細書で称される分子である(例えば、本明細書中の実施例3を参照)。

【００８７】

本明細書におけるタンパク質、ポリペプチド、及びタンパク質断片への言及は全て、非ヒト種に由来するものであると明示的に特定されない限り、それぞれのタンパク質、ポリペプチド、又はタンパク質断片のヒトバージョンを指すことが意図される。したがって、「MSR1」という表現は、非ヒト種に由来するもの、例えば、「マウスMSR1」、「サルMSR1」などと特定されない限り、ヒトMSR1を意味する。

【００８８】

本明細書で使用される場合、「細胞表面発現MSR1」という表現は、MSR1タンパク質の少なくとも一部が細胞膜の細胞外側面に曝露されて、抗体の抗原結合部分に接近可能となるように、インビトロ又はインビボで細胞の表面に発現される1以上のMSR1タンパク質、又はその細胞外ドメインを意味する。「細胞表面発現MSR1」は、通常MSR1タンパク質を発現する細胞の表面に発現されるMSR1タンパク質を含むことができるか又は該MSR1タンパク質からなることができる。或いは、「細胞表面発現MSR1」は、通常はその表面にヒトMSR1を発現しないが、その表面にMSR1を発現するように人為的に改変されている細胞の表面に発現されるMSR1タンパク質を含むことができるか又は該MSR1タンパク質からなることができる。

【００８９】

本明細書で使用される場合、「抗MSR1抗体」という表現は、単一特異性を有する一価抗体、並びにMSR1に結合する第一のアーム及び第二の(標的)抗原に結合する第二のアームを含む二重特異性抗体を含み、ここで、抗MSR1アームは、本明細書中の表4に記載されているHCVR/LCVR又はCDR配列のいずれかを含む。「抗MSR1抗体」という表現は、薬物又は治療剤にコンジュゲートされた抗MSR1抗体又はその抗原結合部分を含む抗体-薬物

コンジュゲート(ADC)も含む。「抗MSR1抗体」という表現は、放射性核種にコンジュゲートされた抗MSR1抗体又はその抗原結合部分を含む抗体-放射性核種コンジュゲート(ARC)も含む。

【００９０】

本明細書で使用される「抗体」という用語は、特定の抗原(例えば、MSR1)に特異的に結合するか又はそれと特異的に相互作用する少なくとも1つの相補性決定領域(CDR)を含む任意の抗原結合分子又は分子複合体を意味する。「抗体」という用語は、ジスルフィド結合によって相互に接続された、2本の重(H)鎖と2本の軽(L)鎖の4本のポリペプチド鎖を含む免疫グロブリン分子、及びその多量体(例えば、IgM)を含む。各々の重鎖は、重鎖可変領域(本明細書ではHCVR又はV_Hと略す)及び重鎖定常領域を含む。重鎖定常領域は、3つのドメイン、C_H1、C_H2、及びC_H3を含む。各々の軽鎖は、軽鎖可変領域(本明細書ではLCVR又はV_Lと略す)及び軽鎖定常領域を含む。軽鎖定常領域は、1つのドメイン(C_L1)を含む。V_H及びV_L領域は、フレームワーク領域(FR)と呼ばれるより保存された領域が散在する、相補性決定領域(CDR)と呼ばれる超可変領域にさらに細かく分けることができる。各々のV_H及びV_Lは、3つのCDR及び4つのFRから構成され、アミノ末端からカルボキシ末端にかけて、以下の順序: FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4で配置されている。本発明の様々な実施態様において、抗MSR1抗体(又はその抗原結合部分)のFRは、ヒト生殖系列配列と同一であってもよく、又は自然にもしくは人為的に修飾されていてもよい。アミノ酸コンセンサス配列は、2以上のCDRの対比分析に基づいて定義することができる。

【００９１】

本明細書で使用される「抗体」という用語は、完全な抗体分子の抗原結合断片も含む。本明細書で使用される、抗体の「抗原結合部分」、抗体の「抗原結合断片」などの用語は、抗原に特異的に結合して複合体を形成する、任意の天然に存在する、酵素的に得られる、合成された、又は遺伝子改変されたポリペプチド又は糖タンパク質を含む。抗体の抗原結合断片は、任意の好適な標準的技法、例えば、タンパク分解的消化又は抗体可変ドメイン及び任意に定常ドメインをコードするDNAの操作及び発現を伴う組換え遺伝子工学技法を用いて完全な抗体分子から得ることができる。そのようなDNAは公知であり、及び/又は例えば、商業的な供給源、DNAライブラリー(例えば、ファージ-抗体ライブラリーを含む)から容易に入手可能であるか、又は合成することができる。DNAをシークエンシングし、化学的に又は分子生物学的技法を用いることにより操作して、例えば、1以上の可変及び/もしくは定常ドメインを好適な配置に配置すること、又はコドンを導入し、システイン残基を生成させ、アミノ酸を修飾し、付加し、もしくは欠失させること、などができる。

【００９２】

抗原結合断片の非限定的な例としては:(i)Fab断片;(ii)F(ab')2断片;(iii)Fd断片;(iv)Fv断片;(v)単鎖Fv(scFv)分子;(vi)dAb断片;及び(vii)抗体の超可変領域を模倣するアミノ酸残基からなる最小認識単位(例えば、CDR3ペプチドなどの単離された相補性決定領域(CDR))、又は拘束性FR3-CDR3-FR4ペプチドが挙げられる。他の改変分子、例えば、ドメイン特異的抗体、単一ドメイン抗体、ドメイン欠失抗体、キメラ抗体、CDR移植抗体、ダイアボディ、トリアボディ、テトラボディ、ミニボディ、ナノボディ(例えば、一価のナノボディ、二価のナノボディなど)、小モジュラー免疫医薬(SMIP)、及びサメ可変IgNARドメインも、本明細書で使用される「抗原結合断片」という表現に包含される。

【００９３】

抗体の抗原結合断片は、通常、少なくとも1つの可変ドメインを含む。可変ドメインは、任意のサイズ又はアミノ酸組成であってもよく、通常、1以上のフレームワーク配列に隣接しているか、又はそれとインフレームになっている少なくとも1つのCDRを含む。V_HドメインがV_Lドメインと会合している抗原結合断片において、V_HドメインとV_Lドメインは、互いに対して任意の好適な配置にあってもよい。例えば、可変領域は二量体であり、かつV_H-V_H、V_H-V_L、又はV_L-V_L二量体を含有していてもよい。或いは、抗体の抗原結合断片は、単量体のV_H又はV_Lドメインを含有していてもよい。

【００９４】
ある実施態様において、抗体の抗原結合断片は、少なくとも1つの定常ドメインに共有結合した少なくとも1つの可変ドメインを含有していてもよい。本発明の抗体の抗原結合断片内に見出し得る可変及び定常ドメインの非限定的で例示的な配置としては:(i)V_H-C_H1;(ii)V_H-C_H2;(iii)V_H-C_H3;(iv)V_H-C_H1-C_H2;(v)V_H-C_H1-C_H2-C_H3;(vi)V_H-C_H2-C_H3;(vii)V_H-C_L;(viii)V_L-C_H1;(ix)V_L-C_H2;(x)V_L-C_H3;(xi)V_L-C_H1-C_H2;(xii)V_L-C_H1-C_H2-C_H3;(xiii)V_L-C_H2-C_H3;及び(xiv)V_L-C_Lが挙げられる。上記の例示的な配置のいずれかを含む、可変ドメインと定常ドメインの任意の配置において、可変ドメインと定常ドメインは、互いに直接連結されていてもよく、又は完全なもしくは部分的なヒンジもしくはリンカー領域によって連結されていてもよい。ヒンジ領域は、単一ポリペプチド分子中の隣接する可変ドメイン及び/又は定常ドメイン間に柔軟な又は半ば柔軟な連結を生じさせる少なくとも2個(例えば、5個、10個、15個、20個、40個、60個、又はそれより多く)のアミノ酸からなっていてもよい。さらに、本発明の抗体の抗原結合断片は、互いに非共有結合的に会合した及び/又は1以上の単量体V_HもしくはV_Lドメインと(例えば、ジスルフィド結合によって)非共有結合的に会合した上記の可変及び定常ドメイン配置のいずれかのホモ二量体又はヘテロ二量体(又は他の多量体)を含むことができる。
【００９５】
完全な抗体分子と同様、抗原結合断片は、単一特異性又は多重特異性(例えば、二重特異性)であってもよい。抗体の多重特異性抗原結合断片は、通常、少なくとも2つの異なる可変ドメインを含み、ここで、各々の可変ドメインは、別々の抗原に又は同じ抗原上の異なるエピトープに特異的に結合することができる。本明細書に開示される例示的な二重特異性抗体フォーマットを含む、任意の多重特異性抗体フォーマットは、当技術分野で利用可能なルーチンの技法を用いて、本発明の抗体の抗原結合断片と関連した使用に適合させることができる。
【００９６】
本発明の抗体は、補体依存性細胞傷害性(CDC)又は抗体依存性細胞媒介細胞傷害性(ADCC)を介して機能することができる。「補体依存性細胞傷害性」(CDC)は、補体の存在下における本発明の抗体による抗原発現細胞の溶解を指す。「抗体依存性細胞媒介細胞傷害性」(ADCC)は、Fc受容体(FcR)を発現する非特異的細胞傷害性細胞(例えば、ナチュラルキラー(NK)細胞、好中球、及びマクロファージ)が標的細胞上の結合抗体を認識し、それにより、標的細胞の溶解をもたらす細胞媒介反応を指す。CDC及びADCCは、当技術分野で周知でありかつ利用可能であるアッセイを用いて測定することができる(例えば、米国特許第5,500,362号及び第5,821,337号、並びにClynesらの文献(1998) Proc. Natl. Acad. Sci.(USA) 95:652-656を参照)。抗体の定常領域は、補体を固定し、細胞依存性細胞傷害性を媒介する抗体の能力において重要である。したがって、抗体のアイソタイプは、抗体が細胞傷害性を媒介するのに望ましいかどうかに基づいて選択することができる。
【００９７】
ある実施態様において、本明細書に開示される抗MSR1抗体は、ヒト抗体である。本明細書で使用される「ヒト抗体」という用語は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変及び定常領域を有する抗体を含むことが意図される。本発明のヒト抗体は、例えば、CDR、特に、CDR3中に、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基(例えば、インビトロでのランダムなもしくは部位特異的な突然変異誘発によるか、又はインビボでの体細胞突然変異によって導入された突然変異)を含み得る。しかしながら、本明細書で使用される「ヒト抗体」という用語は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖系列に由来するCDR配列がヒトフレームワーク配列に移植されている抗体を含むことが意図されない。
【００９８】
本明細書に開示される抗体は、いくつかの実施態様において、組換えヒト抗体であってもよい。本明細書で使用される「組換えヒト抗体」という用語は、組換え手段によって調製され、発現され、作出され、又は単離される全てのヒト抗体、例えば、宿主細胞にトラ

ンスフェクトされた組換え発現ベクターを用いて発現される抗体(以下でさらに記載する)、組換えコンビナトリアルヒト抗体ライブラリーから単離される抗体(以下でさらに記載する)、ヒト免疫グロブリン遺伝子についてトランスジェニックである動物(例えば、マウス)から単離される抗体(例えば、Taylorらの文献(1992) Nucl. Acids Res. 20:6287-6295を参照)、又はヒト免疫グロブリン遺伝子配列の他のDNA配列へのスプライシングを伴う任意の他の手段によって調製され、発現され、作出され、もしくは単離される抗体を含むことが意図される。そのような組換えヒト抗体は、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変及び定常領域を有する。しかしながら、ある実施態様において、そのような組換えヒト抗体は、インビトロでの突然変異誘発(又はヒトIg配列についてトランスジェニックな動物を使用する場合、インビボでの体細胞突然変異誘発)を受け、したがって、該組換え抗体のV_H及びV_L領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列V_H及びV_L配列に由来し、かつそれに関連するが、インビボでヒト抗体生殖系列レパートリー内に天然に存在しなくてもよい配列である。

【００９９】

ヒト抗体は、ヒンジの不均一性と関連する2つの形態で存在することができる。ある形態では、免疫グロブリン分子は、二量体が鎖間重鎖ジスルフィド結合によって結合している、約150～160kDaの安定な4鎖構築物を含む。第二の形態では、二量体が鎖間ジスルフィド結合によって連結されず、共有結合した軽鎖及び重鎖(半分の抗体)から構成された、約75～80kDaの分子が形成される。これらの形態は、親和性精製後でさえも、分離するのが極めて難しい。

【０１００】

様々なインタクトのIgGアイソタイプにおける第二の形態の出現頻度は、限定されないが、抗体のヒンジ領域アイソタイプと関連する構造上の違いによるものである。ヒトIgG4ヒンジのヒンジ領域における単一アミノ酸置換は、ヒトIgG1ヒンジを用いて通常観察されるレベルにまで第二の形態の出現を有意に低下させることができる(Angalらの文献(1993) Molecular Immunology 30:105)。本明細書に開示される実施態様は、ヒンジ、C_H2、又はC_H3領域中に1以上の突然変異を有する抗体を包含し、該突然変異は、例えば、産生において、所望の抗体形態の収率を改善するために望ましい場合がある。

【０１０１】

本明細書に開示される抗体は、単離された抗体であってもよい。本明細書で使用される「単離された抗体」は、同定され、かつその天然環境の少なくとも1つの構成要素から分離及び/又は回収された抗体を意味する。例えば、生物の少なくとも1つの構成要素から、又は抗体が天然に存在しもしくは天然に産生される組織もしくは細胞から分離又は除去された抗体は、本発明の目的のための「単離された抗体」である。単離された抗体は、組換え細胞内のインサイチュの抗体も含む。単離された抗体は、少なくとも1つの精製又は単離工程にかけられた抗体である。ある実施態様によれば、単離された抗体は、他の細胞物質及び/又は化学物質を実質的に含まないものであってもよい。

【０１０２】

本明細書に開示される抗MSR1抗体は、抗体が由来した対応する生殖系列配列と比較して、重鎖及び軽鎖可変ドメインのフレームワーク及び/又はCDR領域中に1以上のアミノ酸置換、挿入、及び/又は欠失を含むことができる。そのような突然変異は、本明細書に開示されるアミノ酸配列を、例えば、公的な抗体配列データベースから入手可能な生殖系列配列と比較することにより、すぐに確認することができる。実施態様には、1以上のフレームワーク及び/又はCDR領域内の1以上のアミノ酸が、抗体が由来した生殖系列配列の対応する残基に、又は別のヒト生殖系列配列の対応する残基に、又は対応する生殖系列残基の保存的アミノ酸置換に突然変異させられている(そのような配列変化は、本明細書において、「生殖系列突然変異」と総称される)、本明細書に開示されるアミノ酸配列のいずれかに由来する抗体及びその抗原結合断片が含まれる。当業者は、本明細書に開示される重鎖及び軽鎖可変領域配列から出発して、1以上の個々の生殖系列突然変異又はその組合せを含む多くの抗体及び抗原結合断片を容易に産生することができる。ある実施態様において、V

$_H$及び/又はV_Lドメイン内の全てのフレームワーク及び/又はCDR残基を突然変異させて、抗体が由来したもとの生殖系列配列中に見出される残基に戻す。他の実施態様において、特定の残基のみ、例えば、FR1の最初の8つのアミノ酸もしくはFR4の最後の8つのアミノ酸に見出される突然変異残基のみ、又はCDR1、CDR2、もしくはCDR3に見出される突然変異残基のみを突然変異させて、もとの生殖系列配列に戻す。他の実施態様において、1以上の該フレームワーク及び/又はCDR残基を、異なる生殖系列配列(すなわち、抗体がもともと由来した生殖系列配列と異なる生殖系列配列)の対応する残基に突然変異させる。さらに、本発明の抗体は、例えば、特定の個々の残基が特定の生殖系列配列の対応する残基に突然変異させられている一方で、もとの生殖系列配列と異なる特定の他の残基が維持されているか又は異なる生殖系列配列の対応する残基に突然変異させられているフレームワーク及び/又はCDR領域内に2以上の生殖系列突然変異の任意の組合せを含有し得る。ひとたび得られれば、1以上の生殖系列突然変異を含有する抗体及び抗原結合断片を、例えば、改善された結合特異性、増大した結合親和性、改善又は増強された拮抗的又は作動的生体特性(場合による)、低下した免疫原性などの1以上の所望の特性について容易に試験することができる。この一般的な方法で得られる抗体及び抗原結合断片は、本明細書に開示される実施態様の範囲内に包含される。

【０１０３】

実施態様には、1以上の保存的置換を有する本明細書に開示されるHCVR、LCVR、及び/又はCDRアミノ酸配列のいずれかの変異体を含む抗MSR1抗体も含まれる。例えば、実施態様には、例えば、本明細書中の表4に記載されているHCVR、LCVR、及び/又はCDRアミノ酸配列組のいずれかに対する10個以下、8個以下、6個以下、4個以下のなど保存的アミノ酸置換を有する、HCVR、LCVR、及び/又はCDRアミノ酸配列を有する抗MSR1抗体が含まれる。

【０１０４】

「エピトープ」という用語は、パラトープとして知られる抗体分子の可変領域中の特異的抗原結合部位と相互作用する抗原性決定基を指す。単一の抗原は、複数のエピトープを有し得る。したがって、異なる抗体が抗原上の異なる部分に結合し得、かつ異なる生物学的効果を有し得る。エピトープは、立体構造的又は線状のいずれかであり得る。立体構造エピトープは、線状ポリペプチド鎖の異なるセグメント由来の空間的に並置されたアミノ酸により生じる。線状エピトープは、ポリペプチド鎖中の隣接するアミノ酸残基により生じるものである。ある状況において、エピトープは、抗原上のサッカリド、ホスホリル基、又はスルホニル基の部分を含み得る。

【０１０５】

核酸又はその断片を指す場合の「実質的同一性」又は「実質的に同一」という用語は、適切なヌクレオチド挿入又は欠失を伴って、別の核酸(又はその相補鎖)と最適に整列させたとき、以下で論じられるような、任意の周知の配列同一性のアルゴリズム、例えば、FASTA、BLAST、又はGAPにより測定して、少なくとも約95%、より好ましくは、少なくとも約96%、97%、98%、又は99%のヌクレオチド塩基においてヌクレオチド配列同一性があることを示す。参照核酸分子との実質的同一性を有する核酸分子は、ある例において、参照核酸分子によってコードされるポリペプチドと同じ又は実質的に類似のアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。

【０１０６】

ポリペプチドに適用される場合、「実質的類似性」又は「実質的に類似」という用語は、例えば、デフォルトのギャップウェイトを用いて、GAP又はBESTFITというプログラムによって最適に整列させたとき、2つのペプチド配列が、少なくとも95%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも98%又は99%の配列同一性を共有することを意味する。好ましくは、同一でない残基位置は、保存的アミノ酸置換により異なっている。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が類似の化学的性質(例えば、電荷又は疎水性)を有する側鎖(R基)を有する別のアミノ酸残基によって置換される置換である。一般に、保存的アミノ酸置換は、タンパク質の機能的性質を実質的には変化させない。2以上のアミノ酸

配列が保存的置換によって互いに異なる場合、パーセント配列同一性又は類似性度を上方に調整して、置換の保存的性質に合わせて補正することができる。この調整を行うための手段は、当業者に周知である。例えば、Pearsonの文献(1994) Methods Mol. Biol. 24: 307-331を参照されたい。類似の化学的性質を有する側鎖を有するアミノ酸の群の例としては、(1)脂肪族側鎖:グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、及びイソロイシン;(2)脂肪族-ヒドロキシル側鎖:セリン及びトレオニン;(3)アミド含有側鎖:アスパラギン及びグルタミン;(4)芳香族側鎖:フェニルアラニン、チロシン、及びトリプトファン;(5)塩基性側鎖:リジン、アルギニン、及びヒスチジン;(6)酸性側鎖:アスパラギン酸及びグルタミン酸、並びに(7)システイン及びメチオニンである硫黄含有側鎖が挙げられる。好ましい保存的アミノ酸置換基は:バリン-ロイシン-イソロイシン、フェニルアラニン-チロシン、リジン-アルギニン、アラニン-バリン、グルタミン酸-アスパラギン酸、及びアスパラギン-グルタミンである。或いは、保存的置換は、Gonnetらの文献(1992) Science 256: 1443-1445に開示されているPAM250対数-確率行列において正の値を有する任意の変化である。「中等度に保存的な」置換は、PAM250対数-確率行列において非負の値を有する任意の変化である。

【０１０７】

配列同一性とも称されるポリペプチドの配列類似性は、通常、配列解析ソフトウェアを用いて測定される。タンパク質解析ソフトウェアは、保存的アミノ酸置換を含む、様々な置換、欠失、及び他の修飾に割り当てられる類似性の尺度を用いて、類似の配列をマッチさせる。例えば、GCGソフトウェアは、密接に関連するポリペプチド、例えば、異なる生物種由来のホモログポリペプチド間の、又は野生型タンパク質とその突然変異体間の配列相同性又は配列同一性を決定するために、デフォルトパラメータを用いて使用することができるGAP及びBESTFITなどのプログラムを含む。例えば、GCGバージョン6.1を参照されたい。ポリペプチド配列は、デフォルトの又は推奨されるパラメータを用いる、GCGバージョン6.1中のプログラムであるFASTAを用いて比較することもできる。FASTA(例えば、FASTA2及びFASTA3)は、クエリー配列と検索配列の間の最も高いオーバーラップ領域のアラインメント及びパーセント配列同一性を提供する(Pearsonの文献(2000)、上記)。本発明の配列を様々な生物由来の多数の配列を含むデータベースと比較する場合の別の好ましいアルゴリズムは、デフォルトパラメータを用いる、コンピュータプログラムBLAST、特に、BLASTP又はTBLASTNである。例えば、Altschulの文献(1990) J. Mol. Biol. 215:403-410及びAltschulの文献(1997) Nucleic Acids Res. 25:3389-402を参照されたい。

【０１０８】

本明細書に提供される化合物に言及する場合、以下の用語は、別途示されない限り、以下の意味を有する。別途定義されない限り、本明細書で使用される技術的及び科学的用語は全て、当業者によって一般に理解されているのと同じ意味を有する。本明細書に提供される用語について複数の定義がある場合、別途明記されない限り、これらの定義が優先する。

【０１０９】

本明細書で使用される「1つの(a)」又は「1つの(an)」という用語は、文脈上明らかに矛盾しない限り、1つ又は複数を意味する。

【０１１０】

本明細書で使用される場合、「アルキル」は、一価及び飽和炭化水素ラジカル部分を指す。アルキルは、任意に置換されており、線状、分岐状、又は環状、すなわち、シクロアルキルであることができる。アルキルとしては、1～20個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{1-20}アルキル; 1～12個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{1-12}アルキル; 1～8個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{1-8}アルキル; 1～6個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{1-6}アルキル;及び1～3個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{1-3}アルキルが挙げられるが、これらに限定されない。アルキル部分の例としては、メチル、エチル、n-プロピル、i-プロピル、n-ブチル、s-ブチル、t-ブチル、i-ブチ

ル、ペンチル部分、ヘキシル部分、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、及びシクロヘキシルが挙げられるが、これらに限定されない。ペンチル部分としては、n-ペンチル及びi-ペンチルが挙げられるが、これらに限定されない。ヘキシル部分としては、n-ヘキシルが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１１１】

本明細書で使用される場合、「アルキレン」は、二価アルキル基を指す。別途指定されない限り、アルキレンは、1～20個の炭素原子を含むが、これらに限定されない。アルキレン基は、アルキルについて本明細書に記載されている通りに任意に置換されている。いくつかの実施態様において、アルキレンは、置換されていない。いくつかの実施態様において、アルキレンは、二価分岐状アルキル基である。

【０１１２】

「アミノ」という用語は、$-NH_2$を意味する。

【０１１３】

「アルキルアミノ」という用語は、本明細書で使用される場合、別途指定されない限り、基-NHR'を指し、ここで、R'は、本明細書で定義されるC_{1-10}アルキルである。いくつかの又は任意の実施態様において、アルキルアミノは、C_{1-6}アルキルアミノである。

【０１１４】

「ジアルキルアミノ」という用語は、本明細書で使用される場合、別途指定されない限り、基-NR'R'を指し、ここで、各々のR'は、独立に、本明細書で定義されるC_{1-10}アルキルである。いくつかの又は任意の実施態様において、ジアルキルアミノは、ジ-C_{1-6}アルキルアミノである。

【０１１５】

「アミノアルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、別途指定されない限り、1以上のアミノ基で置換されている、本明細書で定義されるアルキル基を指す。いくつかの又は任意の実施態様において、アミノアルキルは、1つの$-NH_2$基(例えば、$-R'(NH_2)$、ここで、R'は、本明細書で定義される$-C_{1-10}$アルキルである)で置換されたアルキル基である。いくつかの又は任意の実施態様において、アミノアルキルは、2つの$-NH_2$基で置換されたアルキル基である。いくつかの実施態様において、「アミノアルキル」は、アミノC_{1-6}アルキルである。

【０１１６】

「アルキルアミノアルキル」は、本明細書で使用される場合、別途指定されない限り、本明細書で定義される1以上のアルキルアミノ基で置換されている、本明細書で定義されるアルキル基を指す。いくつかの実施態様において、「アルキルアミノアルキル」は、C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキルである。いくつかの実施態様において、アルキルアミノアルキル中の各々のアルキルは、独立に選択される。

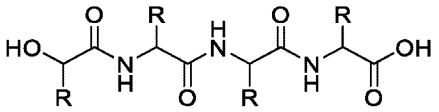
【０１１７】

「ジアルキルアミノアルキル」は、本明細書で使用される場合、別途指定されない限り、本明細書で定義される1以上のジアルキルアミノ基で置換されている、本明細書で定義されるアルキル基を指す。いくつかの実施態様において、「ジアルキルアミノアルキル」は、ジ-C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキルである。いくつかの実施態様において、ジアルキルアミノアルキル中の各々のアルキルは、独立に選択される。

【０１１８】

本明細書で使用される場合、「O-アミノ酸」又は「HO-アミノ酸」という用語は、アミノ酸又はアミノ酸配列のN-末端の天然アミノ基が、それぞれ、酸素又はヒドロキシル基と置き換えられているアミノ酸を表す。例えば、「O-AAAA」又は「HO-AAAA」は、N-末端の天然アミノ基が、それぞれ、酸素又はヒドロキシル基と置き換えられているアミノ酸配列(AAAA)(例えば、

【化１】



,

ここで、各々のRは、アミノ酸側鎖である)を表すことが意図される。同様に、「O-アミノ酸残基」又は「HO-アミノ酸残基」という用語は、化学反応後に残る化合物内の化学的部分を指す。例えば、「O-アミノ酸残基」又は「HO-アミノ酸残基」は、O-アミノ酸又はHO-アミノ酸と好適なカップリングパートナーとのアミドカップリング又はペプチドカップリングの生成物を指し;ここで、例えば、水分子は、該O-アミノ酸又は該HO-アミノ酸のアミド又はペプチドカップリング後に追い出され、結果として、該O-アミノ酸残基又は該HO-アミノ酸残基がその中に取り込まれた生成物が生じる。

【０１１９】

その立体化学を特定しないアミノ酸又はアミノ酸残基の表記は、L型のアミノ酸、D型のアミノ酸、又はそのラセミ混合物を包含することが意図される。

【０１２０】

本明細書で使用される場合、「ハロアルキル」は、上で定義されているようなアルキルを指し、ここで、該アルキルは、ハロゲン、例えば、フッ素(F)、塩素(Cl)、臭素(Br)、又はヨウ素(I)から選択される少なくとも1つの置換基を含む。ハロアルキルの例としては、-CF_3、-CH_2CF_3、-CCl_2F、及び-CCl_3が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１２１】

本明細書で使用される場合、「アルケニル」は、少なくとも2つの炭素原子及び1以上の非芳香族炭素-炭素二重結合を含有する一価炭化水素ラジカル部分を指す。アルケニルは、任意に置換されており、線状、分岐状、又は環状であることができる。アルケニルとしては、2～20個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{2-20}アルケニル; 2～12個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{2-12}アルケニル; 2～8個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{2-8}アルケニル; 2～6個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{2-6}アルケニル;及び2～4個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{2-4}アルケニルが挙げられるが、これらに限定されない。アルケニル部分の例としては、ビニル、プロペニル、ブテニル、及びシクロヘキセニルが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１２２】

本明細書で使用される場合、「アルキニル」は、少なくとも2つの炭素原子及び1以上の炭素-炭素三重結合を含有する一価炭化水素ラジカル部分を指す。アルキニルは、任意に置換されており、線状、分岐状、又は環状であることができる。アルキニルとしては、2～20個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{2-20}アルキニル; 2～12個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{2-12}アルキニル; 2～8個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{2-8}アルキニル; 2～6個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{2-6}アルキニル;及び2～4個の炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{2-4}アルキニルが挙げられるが、これらに限定されない。アルキニル部分の例としては、エチニル、プロピニル、及びブチニルが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１２３】

本明細書で使用される場合、「アルコキシ」は、一価及び飽和炭化水素ラジカル部分を指し、ここで、該炭化水素は酸素原子との単結合を含み、かつ該ラジカルは酸素原子上に位置し、例えば、エトキシの場合、CH_3CH_2-O・である。アルコキシ置換基は、それが該アルコキシ置換基のこの酸素原子を介して置換する化合物に結合する。アルコキシは、任意に置換されており、線状、分岐状、又は環状、すなわち、シクロアルコキシであることができる。アルコキシとしては、1～20個の炭素原子を有するもの、すなわち、C_{1-20}アルコキシ; 1～12個の炭素原子を有するもの、すなわち、C_{1-12}アルコキシ; 1～8個の炭素原子を有するもの、すなわち、C_{1-8}アルコキシ; 1～6個の炭素原子を有するもの、すなわち、C_{1-6}アルコキシ;及び1～3個の炭素原子を有するもの、すなわち、C_{1-3}アルコキシが

挙げられるが、これらに限定されない。アルコキシ部分の例としては、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、i-プロポキシ、n-ブトキシ、s-ブトキシ、t-ブトキシ、i-ブトキシ、ペントキシ部分、ヘキソキシ部分、シクロプロポキシ、シクロブトキシ、シクロペントキシ、及びシクロヘキソキシが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１２４】

本明細書で使用される場合、「ハロアルコキシ」は、上で定義されているようなアルコキシを指し、ここで、該アルコキシは、ハロゲン、例えば、F、Cl、Br、又はIから選択される少なくとも1つの置換基を含む。

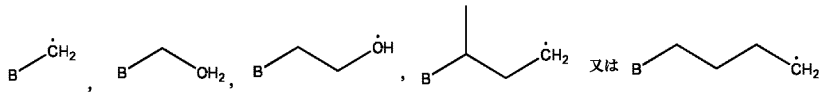
【０１２５】

本明細書で使用される場合、「アリール」は、環原子が炭素原子である芳香族化合物のラジカルである一価部分を指す。アリールは、任意に置換されており、単環式又は多環式、例えば、二環式もしくは三環式であることができる。アリール部分の例としては、6～20個の環炭素原子を有するもの、すなわち、C_{6-20}アリール; 6～15個の環炭素原子を有するもの、すなわち、C_{6-15}アリール、及び6～10個の環炭素原子を有するもの、すなわち、C_{6-10}アリールが挙げられるが、これらに限定されない。アリール部分の例としては、フェニル、ナフチル、フルオレニル、アズレニル、アントリル、フェナントリル、及びピレニルが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１２６】

本明細書で使用される場合、「アリールアルキル」は、アルキル化合物のラジカルである一価部分を指し、ここで、該アルキル化合物は芳香族置換基で置換されている、すなわち、芳香族化合物はアルキル基との単結合を含み、かつ該ラジカルは該アルキル基上に位置する。アリールアルキル基は、アルキル基を介して、図示されている化学構造に結合する。アリールアルキルは、構造、例えば、

【化２】

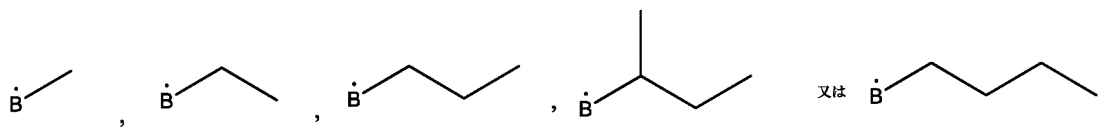


(ここで、Bは、芳香族部分、例えば、フェニルである)によって表すことができる。アリールアルキルは任意に置換されている、すなわち、アリール基及び/又はアルキル基は、本明細書に開示されているように置換されることができる。アリールアルキルの例としては、ベンジルが挙げられるが、これに限定されない。

【０１２７】

本明細書で使用される場合、「アルキルアリール」は、アリール化合物のラジカルである一価部分を指し、ここで、該アリール化合物はアルキル置換基で置換されている、すなわち、アリール化合物はアルキル基との単結合を含み、かつ該ラジカルは該アリール基上に位置する。アルキルアリール基は、アリール基を介して、図示されている化学構造に結合する。アルキルアリールは、構造、例えば、

【化３】



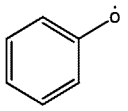
(ここで、Bは、芳香族部分、例えば、フェニルである)によって表すことができる。アルキルアリールは任意に置換されている、すなわち、アリール基及び/又はアルキル基は、本明細書に開示されているように置換されることができる。アルキルアリールの例としては、トルイルが挙げられるが、これに限定されない。

【０１２８】

本明細書で使用される場合、「アリールオキシ」は、環原子が炭素原子であり、かつ該環が酸素ラジカルと置換されている芳香族化合物のラジカルである一価部分を指す、すな

わち、該芳香族化合物は酸素原子との単結合を含み、かつ該ラジカルは該酸素原子上に位置し、例えば、フェノキシの場合、

【化４】

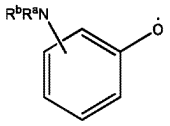


である。アリールオキシ置換基は、それがこの酸素原子を介して置換する化合物に結合する。アリールオキシは、任意に置換されている。アリールオキシとしては、6～20個の環炭素原子を有するラジカル、すなわち、C_{6-20}アリールオキシ; 6～15個の環炭素原子を有するもの、すなわち、C_{6-15}アリールオキシ、及び6～10個の環炭素原子を有するもの、すなわち、C_{6-10}アリールオキシが挙げられるが、これらに限定されない。アリールオキシ部分の例としては、フェノキシ、ナフトキシ、及びアントロキシが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１２９】

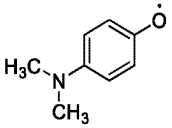
本明細書で使用される場合、「R^aR^bN-アリールオキシ」は、環原子が炭素原子であり、かつ該環が少なくとも1つのR^aR^bN-置換基及び少なくとも1つの酸素ラジカルと置換されている芳香族化合物のラジカルである一価部分を指す、すなわち、該芳香族化合物は、R^aR^bN-置換基との単結合及び酸素原子との単結合を含み、かつ該ラジカルは該酸素原子上に位置し、例えば、

【化５】



である。R^aR^bN-アリールオキシ置換基は、それがこの酸素原子を介して置換する化合物に結合する。R^aR^bN-アリールオキシは、任意に置換されている。R^aR^bN-アリールオキシとしては、6～20個の環炭素原子を有するもの、例えば、$C_{6-20}(R^aR^bN)_n$-アリールオキシ、6～15個の環炭素原子を有するもの、例えば、$C_{6-15}(R^aR^bN)_n$-アリールオキシ、及び6～10個の環炭素原子を有するもの、例えば、$C_{6-10}(R^aR^bN)_n$-アリールオキシ(ここで、nは、R^aR^bN-置換基の数を表す)が挙げられるが、これらに限定されない。R^aR^bN-アリールオキシ部分の例としては、4-(ジメチル-アミノ)-フェノキシ、

【化６】



が挙げられるが、これらに限定されない。

【０１３０】

本明細書で使用される場合、「アリーレン」は、環原子が炭素原子のみである芳香族化合物の二価部分を指す。アリーレンは、任意に置換されており、単環式又は多環式、例えば、二環式もしくは三環式であることができる。アリーレン部分の例としては、6～20個の環炭素原子を有するもの、すなわち、C_{6-20}アリーレン; 6～15個の環炭素原子を有するもの、すなわち、C_{6-15}アリーレン、及び6～10個の環炭素原子を有するもの、すなわち、C_{6-10}アリーレンが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１３１】

本明細書で使用される場合、「ヘテロアルキル」は、1以上の炭素原子がヘテロ原子に置換されているアルキルを指す。本明細書で使用される場合、「ヘテロアルケニル」は、

1以上の炭素原子がヘテロ原子に置換されているアルケニルを指す。本明細書で使用される場合、「ヘテロアルキニル」は、1以上の炭素原子がヘテロ原子に置換されているアルケニルを指す。好適なヘテロ原子としては、窒素、酸素、及び硫黄原子が挙げられるが、これらに限定されない。ヘテロアルキルは、任意に置換されている。ヘテロアルキル部分の例としては、アミノアルキル、スルホニルアルキル、及びスルフィニルアルキルが挙げられるが、これらに限定されない。ヘテロアルキル部分の例としては、メチルアミノ、メチルスルホニル、及びメチルスルフィニルも挙げられるが、これらに限定されない。

【０１３２】

本明細書で使用される場合、「ヘテロアリール」は、環原子が炭素原子及び少なくとも1つの酸素、硫黄、窒素、又はリン原子を含有する芳香族化合物のラジカルである一価部分を指す。ヘテロアリール部分の例としては、5～20個の環原子; 5～15個の環原子;及び5～10個の環原子を有するものが挙げられるが、これらに限定されない。ヘテロアリールは、任意に置換されている。

【０１３３】

本明細書で使用される場合、「ヘテロアリーレン」は、芳香環の1以上の炭素環原子が酸素、硫黄、窒素、又はリン原子と置換されているアリーレンを指す。ヘテロアリーレンは、任意に置換されている。

【０１３４】

本明細書で使用される場合、「ヘテロシクロアルキル」は、1以上の炭素原子がヘテロ原子に置換されているシクロアルキルを指す。好適なヘテロ原子としては、窒素、酸素、及び硫黄原子が挙げられるが、これらに限定されない。ヘテロシクロアルキルは、任意に置換されている。ヘテロシクロアルキル部分の例としては、モルホリニル、ピペリジニル、テトラヒドロピラニル、ピロリジニル、イミダゾリジニル、オキサゾリジニル、チアゾリジニル、ジオキソラニル、ジチオラニル、オキサニル、又はチアニルが挙げられるが、これらに限定されない。

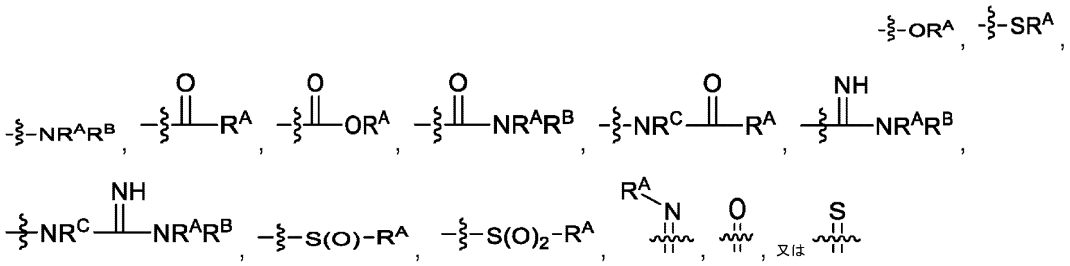
【０１３５】

本明細書で使用される場合、「N-含有ヘテロシクロアルキル」は、1以上の炭素原子がヘテロ原子に置換されており、かつ少なくとも1つのヘテロ原子が窒素原子であるシクロアルキルを指す。窒素の他に好適なヘテロ原子としては、酸素及び硫黄原子が挙げられるが、これらに限定されない。N-含有ヘテロシクロアルキルは、任意に置換されている。N-含有ヘテロシクロアルキル部分の例としては、モルホリニル、ピペリジニル、ピロリジニル、イミダゾリジニル、オキサゾリジニル、又はチアゾリジニルが挙げられるが、これらに限定されない。

【０１３６】

本明細書で使用される場合、ラジカル部分を説明するために使用されるときの「任意に置換された」、例えば、任意に置換されたアルキル、任意に置換されたアリール、任意に置換ヘテロアリール、任意に置換されたアリーレン、及び任意に置換されたヘテロアリーレンは、そのような部分が1以上の置換基に任意に結合していることを意味する。そのような置換基の例としては、ハロ、シアノ、ニトロ、任意に置換されたハロアルキル、アジド、エポキシ、任意に置換されたヘテロアリール、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、

【化７】

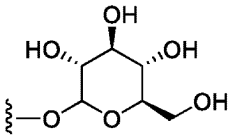


(ここで、R^A、R^B、及びR^Cは、出現する毎に独立に、水素原子、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、アルキルアリール、アリールアルキル、ヘテロアルキル、ヘテロアリール、もしくはヘテロシクロアルキルであるか、又はR^A及びR^Bは、それらが結合している原子と一緒に、飽和もしくは不飽和炭素環を形成し、ここで、該環は、任意に置換されており、かつ1以上の環原子はヘテロ原子で任意に置換されている)が挙げられるが、これらに限定されない。ある実施態様において、ラジカル部分が、任意に置換されたヘテロアリール、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、又は任意に置換された飽和もしくは不飽和炭素環で任意に置換されているとき、該任意に置換されたヘテロアリール、任意に置換されたヘテロシクロアルキル、又は任意に置換された飽和もしくは不飽和炭素環上の置換基は、それらが置換されている場合、さらなる置換基でさらに任意に置換されている置換基で置換されていない。いくつかの実施態様において、本明細書に記載される基が任意に置換されているとき、該基に結合している置換基は、別途規定されない限り、置換されていない。

【０１３７】

本明細書で使用される場合、「O-グルコース」は、環外グルコース酸素原子を介して付加された一価部分を指す。好適なO-グルコース部分には、限定されないが、

【化８】



などが含まれる。

【０１３８】

本明細書で使用される場合、「O-PEG_n」は、末端酸素原子を介して付加された一価部分を指し、ここで、nは1～100である。例えば、nが1である場合、O-PEGnは-O-CH_2CH_2OHであり; nが2である場合、O-PEGnは-O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2OHであり;かつnが3である場合、O-PEGnは-O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2O-CH_2CH_2OHである。

【０１３９】

本明細書で使用される場合、「結合剤」は、所与の結合パートナー、例えば、抗原と特異性を伴って結合することができる任意の分子、例えば、タンパク質又は抗体を指す。

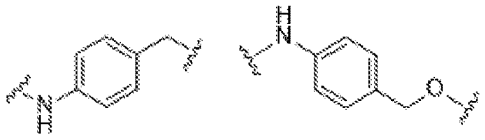
【０１４０】

本明細書で使用される場合、「リンカー」は、結合剤を、本明細書に記載される1以上の化合物、例えば、本明細書に記載されるペイロード化合物及び/又は親水基に共有結合させる二価、三価、又は多価部分を指す。

【０１４１】

本明細書で使用される場合、「コネクター基」又は「コネクター基残基」は、ペイロードの放出を容易にし得る任意の基を指す。好適なコネクター基は、二価又は多価付加ペイロードの放出を容易にして、ほとんど又は全く誘導体化されていない、もとのコンジュゲートされていない形態に戻す。コネクター基の例としては、

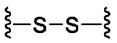
【化９】



,

又はその誘導体が挙げられるが、これらに限定されない。別の例において、コネクター基は、

【化１０】

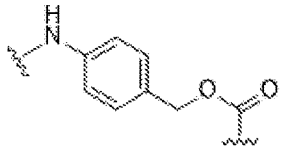


である。

【０１４２】

さらなる例において、コネクター基は、自壊基である。「自壊基」は、当業者に公知の任意のそのような基を指す。特定の実施態様において、自壊基は、p-アミノベンジルオキシカルボニル(PAB/PABC)、すなわち、

【化１１】



である。当業者は、自壊基がリンカーの残りの原子からペイロードを放出する化学反応を実施することができることを認識しているであろう。

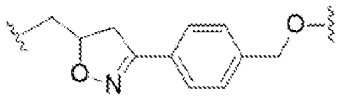
【０１４３】

本明細書で使用される場合、「接続リンカー(単数)」(L^2)又は「接続リンカー(複数)」という用語は、切断性又は非切断性である二価基を指す。切断性リンカーは、内在化後の細胞内代謝、例えば、加水分解、還元、又は酵素反応を介する切断によって切断されるリンカーである。非切断性リンカーは、内在化後の抗体のリソソーム分解を介して、付加されたペイロードを放出するリンカーである。好適な接続リンカーとしては、酸不安定性リンカー、加水分解不安定性リンカー、酵素切断性リンカー、還元不安定性リンカー、及び非切断性リンカーが挙げられるが、これらに限定されない。好適なリンカーとしては、グルクロニド、スクシンイミド-チオエーテル、ポリエチレングリコール(PEG)単位、ヒドラゾン、マル-カプロイル単位、ジスルフィド単位(例えば、-S-S-、-S-C($R^{1b}R^{2b}$)-(ここで、R^{1b}及びR^{2b}は、独立に、水素もしくはヒドロカルビルである))、カルバメート単位、パラ-アミノ-ベンジル単位(PAB)、ホスフェート単位、例えば、モノ-、ビス-、もしくはトリス-ホスフェート単位、並びにペプチド単位、例えば、限定されないが、バリン-シトルリン残基単位を含む、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、もしくはそれより多くのアミノ酸残基を含有するペプチド単位であるか、又はこれらを含むものも挙げられるが、これらに限定されない。本明細書で使用される場合、「カプロイル」は、-(CH_2)$_5$-C(O)-基を意味する。

【０１４４】

本明細書で使用される場合、「反応基」(「RG」)という語句は、抗体、修飾抗体、又はその抗原結合断片の反応性部分と反応する官能基又は官能部分を指す。ある実施態様において、「反応基」は、抗体又はその抗原結合断片のシステイン又はリジン残基と反応する官能基又は官能部分(例えば、マレイミド又はNHSエステル)である。ある実施態様において、「反応基」は、クリック化学反応を受けることができる官能基又は官能部分である。該クリック化学反応のいくつかの実施態様において、反応基は、アジドとの1,3付加環化反応を受けることができるアルキンを含む。そのような好適な反応基としては、歪みアルキン、例えば、歪み促進アルキン-アジド付加環化(SPAAC)に好適なもの、シクロアルキン、例えば、シクロオクチン、ベンズ環化アルキン、及び銅触媒の非存在下でアルキンとの1,3付加環化反応を受けることができるアルキンが挙げられるが、これらに限定されない。好適なアルキンとしては、DIBAC(ここで、DIBAC部分の-C(O)CH_2CH_2C(O)-部分は、L及び/又はL^2によって表すことができる)、DIBO(ここで、DIBO部分の-O-部分は、L及び/又はL^2によって表すことができる)、BARAC(ここで、BARAC部分の

【化１２】

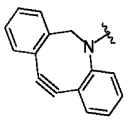


部分は、L及び/又はL^2によって表すことができる)、DIFO(ここで、-O-部分は、L及び/又はL^2によって表すことができる)、置換アルキン、例えば、フッ素化アルキン、アザ-シクロアルキン、BCN、並びにその誘導体も挙げられるが、これらに限定されない。そのような反応基を含むリンカー-ペイロードは、アジド基で官能化されている抗体をコンジュゲートするのに有用である。そのような官能化抗体としては、アジド-ポリエチレングリコール基で官能化された抗体が挙げられる。ある実施態様において、そのような官能化抗体は、少なくとも1つのグルタミン残基、例えば、重鎖Q295(EU付番)を含む抗体を、酵素トランスグルタミナーゼの存在下で、式H_2N-LL-N_3による化合物(式中、LLは、二価ポリエチレングリコール基である)と反応させることにより得られる。

【０１４５】

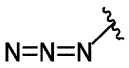
いくつかの実施態様において、反応基(RG)は、アルキン、例えば、

【化１３】



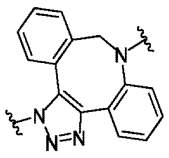
であり、これは、クリック化学反応を介して、アジド、例えば、

【化１４】



と反応して、クリック化学反応生成物、例えば、

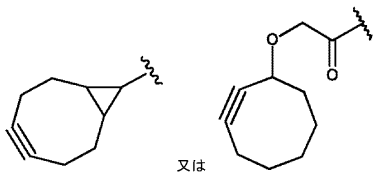
【化１５】



,

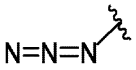
その位置異性体、又はその混合物を形成することができる。いくつかの実施態様において、反応基は、アルキン、例えば、

【化１６】

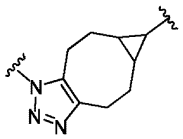


(ここで、L及び/又はL^2は、-OCH2C(O)-を包含する)であり、これは、クリック化学反応を介して、アジド、例えば、

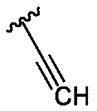
【化１７】



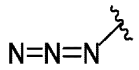
と反応して、クリック化学反応生成物、例えば、
【化１８】



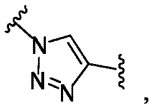
を形成することができる。いくつかの実施態様において、反応基は、アルキン、例えば、
【化１９】



であり、これは、クリック化学反応を介して、アジド、例えば、
【化２０】

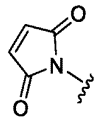


と反応して、クリック化学反応生成物、例えば、
【化２１】

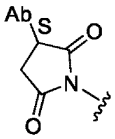


,

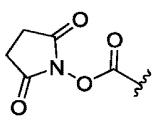
その位置異性体、又はその混合物を形成することができる。いくつかの実施態様において、反応基は、官能基、例えば、
【化２２】



であり、これは、抗体又はその抗原結合断片上のシステイン残基と反応して、それとの結合、例えば、
【化２３】

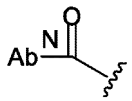


(ここで、Abは、抗体又はその抗原結合断片を表し、Sは、それを介して該官能基が該Abに結合するシステイン残基上のS原子を表す)を形成する。いくつかの実施態様において、反応基は、官能基、例えば、
【化２４】



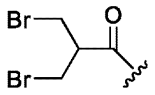
であり、これは、抗体又はその抗原結合断片上のリジン残基と反応して、それとの結合、例えば、

【化２５】



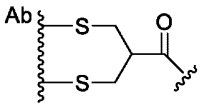
(ここで、Abは、抗体又はその抗原結合断片を表し、Nは、それを介して該官能基が該Abに結合するリジン又はアミノ末端残基上のN原子を表す)を形成する。いくつかの例において、反応基は、

【化２６】



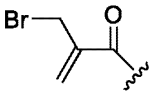
であり、これは、抗体又はその抗原結合断片の2つのチオール(例えば、2つの異なる鎖上のチオール)と反応して、それとの結合、例えば、

【化２７】



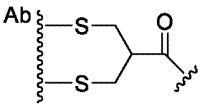
を形成する。いくつかの例において、反応基は、

【化２８】



であり、これは、抗体又はその抗原結合断片の2つのチオール(例えば、2つの異なる鎖上のチオール)と反応して、それとの結合、例えば、

【化２９】

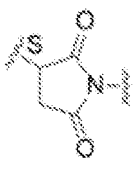


を形成する。

【０１４６】

本明細書で使用される場合、「反応基残基」という語句は、クリック化学の生成物を含む、リンカー部分中の官能基と結合剤(BA)の反応部分との反応の生成物を指す。反応基残基は、結合剤のアミノ酸上の反応基の反応によって形成され、結合剤(例えば、抗体)及びリンカーに付加される。いくつかの実施態様において、反応基残基は、1,2,3-テトラゾールを含む、すなわち、アルキンとアジドとの反応によって形成される基である。いくつかの実施態様において、反応基残基は、

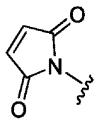
【化３０】



(a)

であり、ここで、Sは、それを介して(a)が該Abに結合するシステイン残基上のS原子を表し、かつ

【化３１】

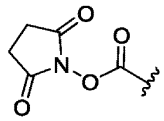


と抗体又はその抗原結合断片上のシステイン残基との反応によって形成される。いくつかの実施態様において、反応基残基は、

【化３２】

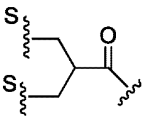
であり、ここで、Nは、リジン残基上のN原子を表し、かつ官能基、例えば、

【化３３】



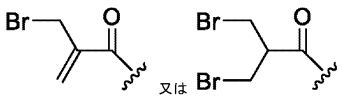
と抗体又はその抗原結合断片上のリジン残基との反応によって形成される。当業者は、反応基残基の部分が、反応基、抗体、又はその両方に由来し得ることを認識しているであろう。いくつかの例において、反応基残基は、

【化３４】



であり、ここで、Sは、システイン残基上のS原子を表し、かつ官能基

【化３５】



と抗体又はその抗原結合断片上のシステイン残基との反応によって形成される。

【０１４７】

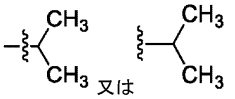
本明細書で使用される場合、「医薬として許容し得る塩」は、患者への投与に好適な任意の塩を指す。好適な塩としては、引用により本明細書中に組み込まれる、Bergeらの文献、「医薬塩(Pharmaceutical Salts)」、J. Pharm. Sci., 1977, 66:1に開示されているものが挙げられるが、これらに限定されない。塩の例としては、酸により誘導された、塩基により誘導されたアミン、有機アミン、無機アミン、及び限定されないが、カルシウム塩、マグネシウム塩、カリウム塩、ナトリウム塩、塩化水素酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、ケイ皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸などを含む、アルカリ又はアルカリ土類金属塩が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの例において、本明細書に記載されるペイロード(例えば、本明細書に記載されるリファマイシン類似体)は、三級アミンを含み、ここで、三級アミン中の窒素原子は、それを介して該ペイロードがリンカー又はリンカー-スペーサーに結合している原子である。そのような例において、三級アミンとペイロードとの結合は、リンカー-ペイロード分子中に四級アミンを生じさせる。四級アミン上の正電荷は、対イオン(例えば、クロロ、ブロモ、ヨード、又は

他の好適に電荷を帯びた部分、例えば、上記のもの)によって相殺することができる。

【０１４８】

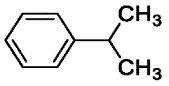
特定の基、部分、置換基、及び原子は、波線とともに示されている。波線は、結合(単数)もしくは結合(複数)を交差することができ、又は結合(単数)もしくは結合(複数)をキャッピングすることができる。波線は、それを介して、基、部分、置換基、又は原子が結合している原子を示す。例えば、以下に示されるプロピル基:

【化３６】



で置換されているフェニル基は、以下の構造を有する:

【化３７】



。

【０１４９】

本明細書で使用される場合、「アミド合成条件」は、例えば、カルボン酸、活性化カルボン酸、又はアシルハライドとアミンとの反応によって、アミドの形成を達成するために好適な反応条件を指す。いくつかの例において、「アミド合成条件」は、カルボン酸とアミンの間のアミド結合の形成を達成するために好適な反応条件を指す。これらの例のいくつかにおいて、カルボン酸は、まず、活性化カルボン酸に変換され、その後、該活性化カルボン酸がアミンと反応して、アミドを形成する。アミドの形成を達成するための好適な条件としては、限定されないが、ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、ジイソプロピルカルボジイミド(DIC)、(ベンゾトリアゾール-1-イルオキシ)トリス(ジメチルアミノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(BOP)、(ベンゾトリアゾール-1-イルオキシ)トリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(PyBOP)、(7-アザベンゾトリアゾール-1-イルオキシ)トリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(PyAOP)、ブロモトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(PyBrOP)、O-(ベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート(HBTU)、O-(ベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムテトラフルオロボレート(TBTU)、1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-1H-1,2,3-トリアゾロ[4,5-b]ピリジニウム 3-オキシドヘキサフルオロホスフェート(HATU)、N-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1,2-ジヒドロキノリン(EEDQ)、N-エチル-N'-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)、2-クロロ-1,3-ジメチルイミダゾリジニウムヘキサフルオロホスフェート(CIP)、2-クロロ-4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン(CDMT)、及びカルボニルジイミダゾール(CDI)を含む、カルボン酸とアミンの反応を達成するための試薬を利用するものが挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの例において、カルボン酸を、まず、活性化カルボン酸エステルに変換し、その後、該活性化カルボン酸エステルをアミンで処理して、アミド結合を形成させる。ある実施態様において、カルボン酸を試薬で処理する。試薬は、カルボン酸を脱プロトン化し、その後、脱プロトン化されたカルボン酸によるプロトン化された試薬への求核攻撃の結果として、脱プロトン化されたカルボン酸との生成物複合体を形成させることにより、カルボン酸を活性化する。その後、特定のカルボン酸の活性化カルボン酸エステルは、カルボン酸が活性化される前よりも、アミンによる求核攻撃に対して感受性が高い。この結果として、アミド結合形成が生じる。したがって、カルボン酸は、活性化されたと記載されている。例示的な試薬としては、DCC及びDICが挙げられる。

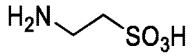
【０１５０】

「アミノ酸」又は「アミノ酸残基」は、いくつかの実施態様において、天然のアミノ酸を指す。他の実施態様において、アミノ酸又はアミノ酸残基は、天然アミノ酸及び/又は非天然アミノ酸(例えば、β-アミノ酸(β^{3}及びβ^2)、ホモ-アミノ酸、プロリン及びピルビン酸誘導体、3-置換アラニン誘導体、グリシン誘導体、環置換フェニルアラニン及びチロシン誘導体、線状コアアミノ酸、並びに/もしくはN-メチルアミノ酸、又は任意の他の市販の非天然アミノ酸(例えば、Sigma-Aldrichから入手可能な非天然アミノ酸))であってもよい。他の実施態様において、アミノ酸残基は、トランスグルタミナーゼによって媒介される反応、例えば、アミノ酸側鎖と一級アミンとのトランスグルタミナーゼ媒介反応に関与する側鎖を有する残基であってもよい。例えば、アスパラギン及び/又はグルタミン側鎖と一級アミンとの反応は、本明細書に記載される特定のADCの調製のために使用される。ある実施態様において、そのような官能化抗体は、少なくとも1つのグルタミン残基、例えば、重鎖Q295(EU付番)を含む抗体を式H_2N-LL-N_3による化合物(式中、LLは、二価ポリエチレングリコール基である)と酵素トランスグルタミナーゼの存在下で反応させることにより得られる。

【０１５１】

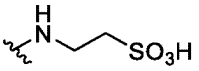
本明細書で使用される場合、「タウリン」は、試薬

【化３８】



又は基

【化３９】



(ここで、

【化４０】

は、それを介してタウリンが該式中の隣接する基に結合している原子を示す)を指す。

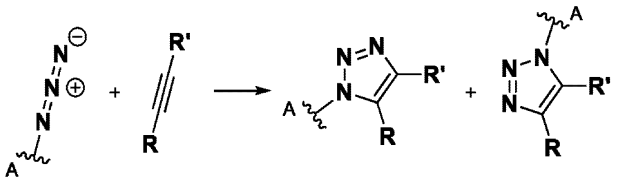
【０１５２】

本明細書で使用される場合、「立体異性体形態」又は「立体異性体」は、化合物中の異なる基の相対的空間配向を指す。立体異性体形態には、エナンチオマー、ジアステレオマー、及び/又はその混合物が含まれる。

【０１５３】

本明細書で使用される場合、「位置異性体(単数)」、「位置異性体(複数)」、又は「位置異性体の混合物」は、好適なアルキンで処理された好適なアジド(例えば、-N_3、又はPEG-N_3誘導体化抗体)から誘導される1,3-付加環化又は歪み促進アルキン-アジド付加環化(SPAAC)－別名、クリック反応として知られる－の生成物を指す。ある実施態様において、例えば、位置異性体及び位置異性体の混合物は、下に示されるクリック反応生成物によって特徴付けられる:

【化４１】



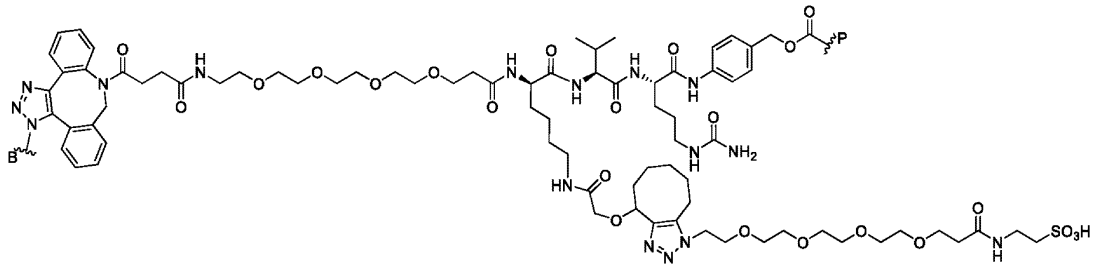
。

【０１５４】
ほんの一例として、化合物A1'の位置異性体、すなわち、化合物A2'、A3'、A4'が以下に示されており、ここで、各々の
【化４２】

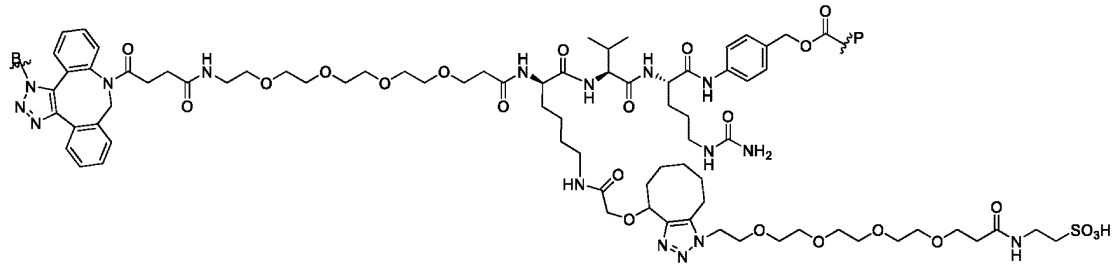
は、結合剤との結合であり;かつ各々の
【化４３】

は、ペイロードとの結合である:

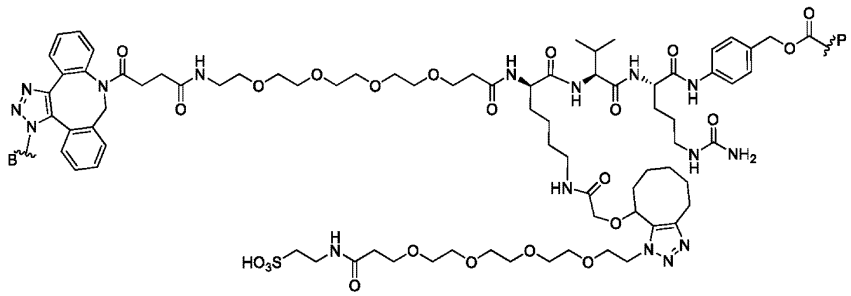
【化４４】



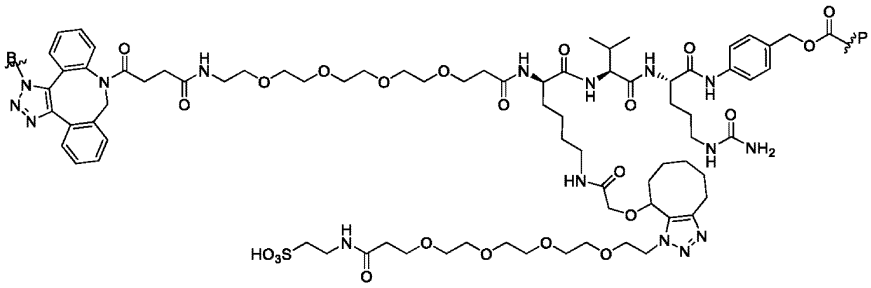
化合物 A1′



化合物 A2′;



化合物 A3′;



化合物 A4′

。

【０１５５】

(Fc変異体を含む抗MSR1抗体)

ある実施態様によれば、例えば、中性pHと比較したとき、酸性pHでのFcRn受容体に対する抗体結合を増強又は低減させる1以上の突然変異を含むFcドメインを含む抗MSR1抗が提供される。例えば、本明細書に提供されるのは、FcドメインのC_H2又はC_H3領域中に突然変異を含む抗MSR1抗体であり、ここで、該突然変異は、酸性環境中で(例えば、pHの範囲が約5.5～約6.0であるエンドソーム中で)、FcRnに対するFcドメインの親和性を増大させる。そのような突然変異は、動物に投与されたとき、抗体の血清半減期の増加をも

たらし得る。そのようなFc修飾の非限定的な例としては、例えば、位置250(例えば、EもしくはQ); 250及び428(例えば、LもしくはF); 252(例えば、L/Y/F/WもしくはT)、254(例えば、SもしくはT)、及び256(例えば、S/R/Q/E/DもしくはT)における修飾;又は位置428及び/もしくは433(例えば、H/L/R/S/P/QもしくはK)及び/もしくは434(例えば、H/FもしくはY)における修飾;又は位置250及び/もしくは428における修飾;又は位置307もしくは308(例えば、308F、V308F)及び434における修飾が挙げられる。一実施態様において、該修飾は、428L(例えば、M428L)及び434S(例えば、N434S)修飾; 428L、259I(例えば、V259I)、及び308F(例えば、V308F)修飾; 433K(例えば、H433K)及び434(例えば、434Y)修飾; 252、254、及び256(例えば、252Y、254T、及び256E)修飾; 250Q及び428L修飾(例えば、T250Q及びM428L);並びに307及び/又は308修飾(例えば、308FもしくはV308P)を含む。

【０１５６】

例えば、実施態様には、250Q及び248L(例えば、T250Q及びM248L); 252Y、254T、及び256E(例えば、M252Y、S254T、及びT256E); 428L及び434S(例えば、M428L及びN434S);並びに433K及び434F(例えば、H433K及びN434F):からなる群から選択される突然変異の1以上の対又は群を含むFcドメインを含む抗MSR1抗体が含まれる。前述のFcドメイン突然変異、及び本明細書に開示される抗体可変ドメイン内の他の突然変異の全てのあり得る組合せが本発明の範囲内で企図される。

【０１５７】

(抗体の生物学的特徴)

実施態様には、高い親和性でヒトMSR1に結合する抗体及びその抗原結合断片が含まれる。例えば、本発明は、例えば、本明細書中の実施例3で定義されているアッセイ形式を用いる25℃もしくは37℃での表面プラズモン共鳴、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、N-末端ノナヒスチジンタグ(例えば、His9-hMSR1)とともに発現されるヒトMSR1細胞外ドメインに約10nM未満のK_Dで結合する抗MSR1抗体を含む。ある実施態様によれば、例えば、本明細書中の実施例3で定義されているアッセイ形式を用いる表面プラズモン共鳴、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、37℃で、約10nM未満、約9nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1nM未満、約900pM未満、約800pM未満、約700pM未満、約600pM未満、約500pM未満、約400pM未満、約300pM未満、約200pM未満、約100pM未満、約90pM未満、約80pM未満、約70pM未満、約60pM未満、約50pM未満、約40pM未満、約30pM未満、約20pM未満、又は約10pMのK_DでヒトMSR1に結合する抗MSR1抗体が提供される。いくつかの実施態様において、本明細書に開示される抗MSR1抗体は、本明細書中の実施例3で定義されているアッセイ形式を用いる表面プラズモン共鳴、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、25℃で、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1nM未満、約900pM未満、約800pM未満、約700pM未満、約600pM未満、約500pM未満、約400pM未満、約300pM未満、約200pM未満、約100pM未満、約90pM未満、約80pM未満、約70pM未満、約60pM未満、約50pM未満、約40pM未満、約30pM未満、又は約20pMのK_DでヒトMSR1に結合する。

【０１５８】

実施態様には、サルMSR1に高い親和性で結合する抗体及びその抗原結合断片も含まれる。例えば、本明細書に開示されるのは、例えば、本明細書中の実施例3で定義されているアッセイ形式を用いる25℃もしくは37℃での表面プラズモン共鳴、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、約20nM未満のK_Dで、N-末端myc-myc-ヘキサヒスチジンタグとともに発現されるサルMSR1細胞外ドメイン(例えば、HMM-mfMSR1)に結合する抗MSR1抗体である。ある実施態様によれば、本明細書中の実施例3で定義されているアッセイ形式を用いる表面プラズモン共鳴、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、37℃で、約20nM未満、約18pM未満、約15nM未満、約12nM未満、約10nM未満、約9nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3

nM未満、約2nM未満、約1nM未満、約900pM未満、約800pM未満、約700pM未満、約600pM未満、約500pM未満、約400pM未満、約300pM未満、約200pM未満、約100pM未満、約90pM未満、約80pM未満、約70pM未満、約60pM未満、約50pM未満、約40pM未満、約30pM未満、約20pM未満、又は約10pMのK_DでサルMSR1に結合する抗MSR1抗体が提供される。いくつかの実施態様において、本明細書に提供される抗MSR1抗体は、本明細書中の実施例3で定義されているアッセイ形式を用いる表面プラズモン共鳴、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、25℃で、約12nM未満、約10nM未満、約9nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1nM未満、約900pM未満、約800pM未満、約700pM未満、約600pM未満、約500pM未満、約400pM未満、約300pM未満、約200pM未満、約100pM未満、約90pM未満、約80pM未満、約70pM未満、約60pM未満、約50pM未満、約40pM未満、約30pM未満、又は約20pMのK_DでサルMSR1に結合する。

【０１５９】

本発明は、例えば、本明細書中の実施例3で定義されているアッセイ形式を用いる25℃もしくは37℃での表面プラズモン共鳴、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、約5分超の解離半減期($t^1/_2$)で、N-末端ノナヒスチジンタグとともに発現されるヒトMSR1細胞外ドメイン(例えば、His9-hMSR1)に結合する抗体及びその抗原結合断片も含む。ある実施態様によれば、本明細書中の実施例3で定義されているアッセイ形式を用いる表面プラズモン共鳴、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、37℃で、約4分超、約5分超、約6分超、約8分超、約10分超、約12分超、約14分超、約16分超、約18分超、約20分超、約30分超、約40分超、約50分超、約60分超、約70分超、約80分超、約90分超、約120分超、約150分超、約180分超、約210分超、約240分超、又はそれより長い$t^1/_2$でヒトMSR1に結合する抗MSR1抗体が提供される。

【０１６０】

実施態様には、N-末端myc-myc-ヘキサヒスチジンタグとともに発現されるサルMSR1細胞外ドメイン(例えば、HMM-mfMSR1)に高い親和性で結合することができる抗体及びその抗原結合断片も含まれる。例えば、本発明は、例えば、本明細書中の実施例3で定義されているアッセイ形式を用いる25℃もしくは37℃での表面プラズモン共鳴、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、約20nM未満のK_DでHMM-mfMSR1に結合する抗MSR1抗体を含む。ある実施態様によれば、本明細書中の実施例3で定義されているアッセイ形式を用いる表面プラズモン共鳴、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、37℃で、約20nM未満、約15nM未満、約10nM未満、約9nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1nM未満、約900pM未満、約800pM未満、約800pM未満、約700pM未満、約600pM未満、約500pM未満、約400pM未満、約300pM未満、約200pM未満、約150pM未満、約100pM未満、約90pM未満、約80pM未満、約70pM未満、約60pM未満、又は約50pMのK_DでHMM-mfMSR1に結合する抗MSR1抗体が提供される。いくつかの実施態様において、本明細書に開示される抗MSR1抗体は、本明細書中の実施例3で定義されているアッセイ形式を用いる表面プラズモン共鳴、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、25℃で、約12nM未満、約10nM未満、約9nM未満、約8nM未満、約7nM未満、約6nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1nM未満、約900pM未満、約800pM未満、約800pM未満、約700pM未満、約600pM未満、約500pM未満、約400pM未満、約300pM未満、約200pM未満、約150pM未満、約100pM未満、約90pM未満、約80pM未満、約70pM未満、約60pM未満、又は約50pMのK_DでHMM-mfMSR1に結合する。

【０１６１】

実施態様には、例えば、本明細書中の実施例3で定義されているアッセイ形式を用いる25℃もしくは37℃での表面プラズモン共鳴、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、約55分超の解離半減期($t^1/_2$)で、N-末端myc-myc-ヘキサヒスチジンタグとともに発現されるサルMSR1細胞外ドメイン(例えば、HMM-mfMSR1)に結合する抗体及びその

抗原結合断片も含まれる。ある実施態様によれば、本明細書中の実施例3で定義されているアッセイ形式を用いる表面プラズモン共鳴、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、37℃で、約1分超、約2分超、約3分超、約4分超、約5分超、約6分超、約8分超、約10分超、約12分超、約14分超、約16分超、約18分超、約20分超、約30分超、約40分超、約50分超、約60分超、約70分超、約80分超、約90分超、約120分超、約150分超、約180分超、約210分超、又はそれより長い$t^{1}/_{2}$で二量体ヒトMSR1に結合する抗MSR1抗体が提供される。

【０１６２】

実施態様には、例えば、本明細書中の実施例5で定義されているアッセイ形式を用いる抗体結合アッセイ、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約12倍、少なくとも約15倍、少なくとも約20倍、少なくとも約25倍、少なくとも約30倍、少なくとも約35倍、少なくとも約40倍、少なくとも約45倍、少なくとも約50倍、又はそれより大きい改変hMSR1発現細胞対非発現細胞の結合比で、改変された細胞表面発現hMSR1に結合する抗体及びその抗原結合断片も含まれる。いくつかの実施態様において、本明細書に提供されるのは、例えば、本明細書中の実施例5で定義されているアッセイ形式を用いる抗体結合アッセイ、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、もしくは少なくとも約12倍、少なくとも約15倍、少なくとも約20倍、少なくとも約25倍、少なくとも約30倍、少なくとも約35倍、少なくとも約40倍、少なくとも約45倍、少なくとも約50倍、又はそれより大きい内在性hMSR1発現細胞対非発現細胞の結合比で、内在性発現hMSR1を有する細胞に結合する抗体である。いくつかの実施態様において、本明細書に開示されるMSR1抗体又は抗原結合断片は、例えば、本明細書中の実施例5で定義されているアッセイ形式を用いる抗体結合アッセイ、又は実質的に同様のアッセイにより測定したとき、少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約12倍、少なくとも約15倍、少なくとも約20倍、少なくとも約25倍、少なくとも約30倍、少なくとも約35倍、少なくとも約40倍、少なくとも約45倍、少なくとも約50倍、又はそれより大きい改変マウスMSR1発現細胞対非発現細胞の結合比で、改変された細胞表面発現マウスMSR1に結合する。

【０１６３】

実施態様には、MSR1に結合し、かつヒトMSR1を発現する細胞における修飾低密度リポタンパク質(LDL)の取込みの約95％未満の最大阻害を示す抗体及びその抗原結合断片も含まれる。例えば、実施態様には、本明細書中の実施例8で定義されているアッセイ形式を用いるリガンド取込みアッセイ、又は実質的に同様のアッセイを用いて測定したとき、約6.1nM未満のIC_{50}で、ヒトMSR1を発現する細胞における修飾LDL(例えば、酸化又はアセチル化されたもの)の取込みの約95％未満の最大阻害を示す抗MSR1抗体が含まれる。ある実施態様によれば、本明細書中の実施例8で定義されているアッセイ形式を用いるリガンド取込みアッセイ、又は実質的に同様のアッセイを用いて測定したとき、約6.1nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1.5nM未満、約1.4nM未満、約1.3nM未満、約1.2nM未満、約1.0nM未満、約900pM未満、約800pM未満、約600pM未満、約400pM未満、約200pM未満、約100pM未満、約80pM未満、約60pM未満、約40pM未満、約20pMのIC_{50}で、ヒトMSR1を発現する細胞における修飾LDL取込みの約95％未満の最大阻害を示す抗MSR1抗体が提供される。

【０１６４】

いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体は、本明細書中の実施例8で定義されているアッセイ形式を用いるリガンド取込みアッセイ、又は実質的に同様のアッセイを用いて測定したとき、約6.1nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1.

5nM未満、約1.4nM未満、約1.3nM未満、約1.2nM未満、約1.0nM未満、約900pM未満、約800pM未満、約600pM未満、約400pM未満、約200pM未満、約100pM未満、約80pM未満、約60pM未満、約40pM未満、約20pMのIC_{50}で、ヒトMSR1を発現する細胞における修飾LDL取込みの約90%未満の最大阻害を示す。

【０１６５】

いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体は、本明細書中の実施例8で定義されているアッセイ形式を用いるリガンド取込みアッセイ、又は実質的に同様のアッセイを用いて測定したとき、約6.1nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1.5nM未満、約1.4nM未満、約1.3nM未満、約1.2nM未満、約1.0nM未満、約900pM未満、約800pM未満、約600pM未満、約400pM未満、約200pM未満、約100pM未満、約80pM未満、約60pM未満、約40pM未満、約20pMのIC_{50}で、ヒトMSR1を発現する細胞における修飾LDL取込みの約75%未満の最大阻害を示す。

【０１６６】

いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体は、本明細書中の実施例8で定義されているアッセイ形式を用いるリガンド取込みアッセイ、又は実質的に同様のアッセイを用いて測定したとき、約6.1nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1.5nM未満、約1.4nM未満、約1.3nM未満、約1.2nM未満、約1.0nM未満、約900pM未満、約800pM未満、約600pM未満、約400pM未満、約200pM未満、約100pM未満、約80pM未満、約60pM未満、約40pM未満、約20pMのIC_{50}で、ヒトMSR1を発現する細胞における修飾LDL取込みの約60%未満の最大阻害を示す。

【０１６７】

いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体は、本明細書中の実施例8で定義されているアッセイ形式を用いるリガンド取込みアッセイ、又は実質的に同様のアッセイを用いて測定したとき、約6.1nM未満、約5nM未満、約4nM未満、約3nM未満、約2nM未満、約1.5nM未満、約1.4nM未満、約1.3nM未満、約1.2nM未満、約1.0nM未満、約900pM未満、約800pM未満、約600pM未満、約400pM未満、約200pM未満、約100pM未満、約80pM未満、約60pM未満、約40pM未満、約20pMのIC_{50}で、ヒトMSR1を発現する細胞における修飾LDL取込みの約50%未満の最大阻害を示す。

【０１６８】

実施態様には、細胞表面発現MSR1に結合し、かつ細胞によって内在化される抗体及びその抗原結合断片も含まれる。例えば、THP-1細胞上の細胞表面発現MSR1に結合し、かつ該細胞によって内在化されるようになる抗体が本明細書に提供される。例えば、本開示は、THP-1細胞上の細胞表面発現MSR1に結合し、かつ本明細書中の実施例9で定義されているアッセイ形式を用いる化学発光、又は実質的に同様のアッセイを用いて測定したとき、少なくとも約10%の相対的パーセンテージで、該細胞によって内在化されるようになる抗MSR1抗体を含む。ある実施態様において、THP-1細胞上の細胞表面発現MSR1に結合し、かつ本明細書中の実施例9で定義されているアッセイ形式を用いる化学発光、又は実質的に同様のアッセイを用いて測定したとき、少なくとも約10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、又は50%の相対的パーセンテージで、該細胞によって内在化されるようになる抗MSR1抗体。

【０１６９】

本明細書に開示される抗体は、上述の生物学的特徴のうちの1つもしくは複数、又はその任意の組合せを保有することができる。本明細書に開示される抗体の生物学的特徴の前述のリストは、網羅的であるようには意図されていない。本明細書に開示される抗体の他の生物学的特徴は、本明細書中の作業実施例を含む本開示の概観により、当業者に明白であろう。

【０１７０】

(抗体-薬物コンジュゲート(ADC))

本明細書に提供されるのは、薬物又は治療剤にコンジュゲートされた抗MSR1抗体又はその抗原結合断片を含む抗体-薬物コンジュゲート(ADC)である。いくつかの実施態様にお

いて、該治療剤は、肝臓X受容体(LXR)アゴニスト又はステロイドである。また本明細書に提供されるのは、ADCを作製するのに有用な反応性リンカー-ペイロードである。さらに本明細書に提供されるのは、ADCを作製するのに有用な修飾された抗MSR1抗体及び修飾されたMSR1抗原結合断片である。

【０１７１】

ADCは、通常、式(I):BA-$[(L)_{0-1}$-$PA]_n$を有する。式中、BAは、結合剤、例えば、抗MSR1抗体、又はそのMSR1抗原結合断片である。Lは、以下で詳細に記載されるリンカーである。PAは、ペイロードである。好適なペイロードとしては、MSR1へのその送達によって治療的利益をもたらすことができる任意の小分子が挙げられる。ある実施態様において、ペイロードは、例えば、ステロイド、LXRモジュレーター、又はリファマイシン類似体であり得る。有用なペイロードは、以下で詳細に記載されている。式中、nは、1～30の整数、例えば、1～4、例えば、2又は4である。各々のL-PAは、PAの官能基に共有結合している。いくつかの特定の実施態様において、各々のL-PAは、BAのリジン側鎖、システイン側鎖、グルタミン側鎖、又はアミノ末端に共有結合している。

【０１７２】

抗体又は抗原結合断片の残基にコンジュゲートするための技法及びリンカーは、当技術分野で公知である。この態様との関連において使用することができる例示的なアミノ酸付加、例えば、リジン(例えば、US 5,208,020号; US 2010/0129314号; Hollanderらの文献、Bioconjugate Chem., 2008, 19:358-361; WO 2005/089808号; US 5,714,586号; US 2013/0101546号;及びUS 2012/0585592号を参照)、システイン(例えば、US 2007/0258987号; WO 2013/055993号; WO 2013/055990号; WO 2013/053873号; WO 2013/053872号; WO 2011/130598号; US 2013/0101546号;及びUS 7,750,116号を参照)、セレノシステイン(例えば、WO 2008/122039号;及びHoferらの文献、Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2008, 105: 12451-12456を参照)、ホルミルグリシン(例えば、Carricoらの文献、Nat. Chem. Biol., 2007, 3:321-322; Agarwalらの文献、Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 2013, 110:46-51、及びRabukaらの文献、Nat. Protocols, 2012, 10:1052-1067を参照)、非天然アミノ酸(例えば、WO 2013/068874号及びWO 2012/166559号を参照)、並びに酸性アミノ酸(例えば、WO 2012/05982号を参照)。リンカーは、炭水化物(例えば、US 2008/0305497号、WO 2014/065661号、及びRyanらの文献、Food & Agriculture Immunol., 2001, 13: 127-130を参照)並びにジスルフィドリンカー(例えば、WO 2013/085925号、WO 2010/010324号、WO 2011/018611号、及びShaunakらの文献、Nat. Chem. Biol., 2006, 2: 312-313を参照)への付加を介して抗原結合タンパク質にコンジュゲートすることもできる。部位特異的コンジュゲーション技法を利用して、抗体又は抗原結合タンパク質の特定の残基へのコンジュゲーションを導くこともできる(例えば、Schumacherらの文献、J Clin Immunol(2016) 36(Suppl 1): 100を参照)。部位特異的コンジュゲーション技法としては、トランスグルタミナーゼによるグルタミンコンジュゲーションが挙げられるが、これに限定されない(例えば、Schibliの文献、Angew Chemie Inter Ed. 2010, 49 ,9995を参照)。

【０１７３】

リンカーは、トランスグルタミナーゼに基づく化学的酵素的コンジュゲーションを介して1以上のグルタミン残基にコンジュゲートすることができる(例えば、Dennlerらの文献、Bioconjugate Chem. 2014, 25, 569-578及びWO 2017/147542号を参照)。例えば、トランスグルタミナーゼの存在下において、抗体の1以上のグルタミン残基を一級アミン化合物にカップリングさせることができる。簡潔に述べると、いくつかの実施態様において、グルタミン残基(例えば、Gln295残基)を有する抗体を、酵素トランスグルタミナーゼの存在下において、以下でより詳細に記載される一級アミン化合物で処理する。一級アミン化合物には、トランスグルタミナーゼ媒介カップリングを介して抗体薬物コンジュゲートを直接的に提供する、ペイロード又はリンカー-ペイロードが含まれる。一級アミン化合物には、抗体薬物コンジュゲートの合成に向けて後にさらなる化合物と反応すること

ができる反応基で官能化されているリンカー及びスペーサーも含まれる。グルタミン残基を含む抗体は、天然源から単離するか又は1以上のグルタミン残基を含むように改変することができる。抗体ポリペプチド鎖中のグルタミン残基(グルタミニル修飾抗体又は抗原結合分子)を人為作製する技法は、当業者の能力の範囲内である。ある実施態様において、該抗体は、アグリコシル化される。

【０１７４】

ある実施態様において、該抗体又はグルタミニル修飾抗体もしくは抗原結合分子は、少なくとも1つのポリペプチド鎖配列中に、少なくとも1つのグルタミン残基を含む。ある実施態様において、該抗体又はグルタミニル修飾抗体もしくは抗原結合分子は、各々1つのGln295残基を有する2つの重鎖ポリペプチドを含む。さらなる実施態様において、該抗体又はグルタミニル修飾抗体もしくは抗原結合分子は、重鎖295以外の部位に1以上のグルタミン残基を含む。いくつかの実施態様において、抗体は、障害のある抗体機能又は結合をもたらすことなく、ある部位にグルタミン残基を挿入する部位特異的突然変異誘発により調製することができる。例えば、本明細書に含まれるのは、本明細書に記載されるAsn297Gln(N297Q)突然変異を担持する抗体である。いくつかの実施態様において、Gln295残基及び/又はN297Q突然変異を有する抗体は、トランスグルタミナーゼに接近することができ、それゆえ、リンカー又はリンカー-ペイロードにコンジュゲートすることができる1以上のさらなる天然グルタミン残基をその可変領域に含有する。例示的な天然グルタミン残基は、例えば、軽鎖のQ55に見出すことができる。そのような場合、トランスグルタミナーゼを介してコンジュゲートされる抗体は、予想よりも高いDAR値(例えば、4よりも高いDAR)を有することができる。任意のそのような抗体は、自然源又は人工源から単離することができる。

【０１７５】

グルタミンを含む抗体(又は抗原結合化合物)のトランスグルタミナーゼ媒介カップリングに有用な一級アミン化合物は、当業者によって有用であるとみなされる任意の一級アミン化合物であることができる。通常、一級アミン化合物は、式H_2N-Rを有し、式中、Rは、抗体及び反応条件と適合する任意の基であることができる。ある実施態様において、Rは、アルキル、置換アルキル、ヘテロアルキル、又は置換ヘテロアルキルである。

【０１７６】

いくつかの実施態様において、該一級アミン化合物は、反応基又は保護された反応基を含む。有用な反応基としては、アジド、アルキン、シクロアルキン、チオール、アルコール、ケトン、アルデヒド、酸、エステル、ヒドラジド、アニリン、及びアミンが挙げられる。ある実施態様において、該反応基は、アジド、アルキン、スルフヒドリル、シクロアルキン、アルデヒド、及びカルボキシルからなる群から選択される。

【０１７７】

ある実施態様において、該一級アミン化合物は、式H_2N-LL-Xによるものであり、式中、LLは、二価スペーサーであり、かつXは、反応基又は保護された反応基である。特定の実施態様において、LLは、二価ポリエチレングリコール(PEG)基である。ある実施態様において、Xは、-SH、$-N_3$、アルキン、アルデヒド、及びテトラゾールからなる群から選択される。特定の実施態様において、Xは、$-N_3$である。

【０１７８】

ある実施態様において、該一級アミン化合物は、以下の式のうちの1つによるものである:

$H_2N-(CH_2)_n-X$;

$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-(CH_2)_p-X$;

$H_2N-(CH_2)_n-N(H)C(O)-(CH_2)_m-X$;

$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-N(H)C(O)-(CH_2CH_2O)_m-(CH_2)_p-X$;

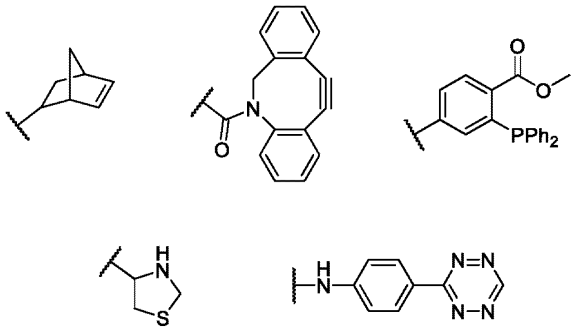
$H_2N-(CH_2)_n-C(O)N(H)-(CH_2)_m-X$;

$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-C(O)N(H)-(CH_2CH_2O)_m-(CH_2)_p-X$;

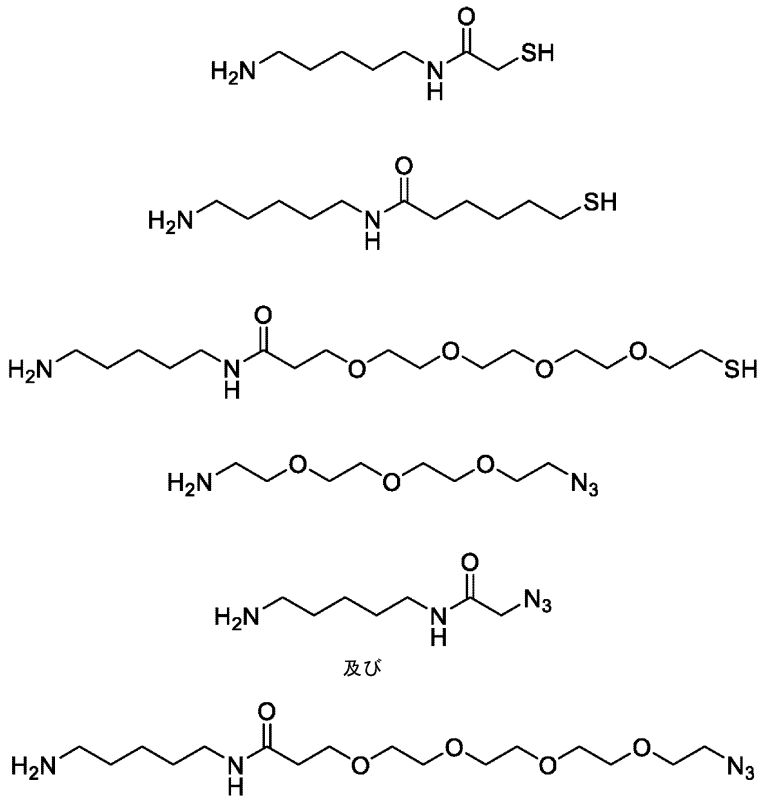
$H_2N-(CH_2)_n-N(H)C(O)-(CH_2CH_2O)_m-(CH_2)_p-X$;

$H_2N-(CH_2CH_2O)_n-N(H)C(O)-(CH_2)_m-X$;

H_2N-$(CH_2)_n$-C(O)N(H)-$(CH_2CH_2O)_m$-$(CH_2)_p$-X;及び
H_2N-$(CH_2CH_2O)_n$-C(O)N(H)-$(CH_2)_m$-X;
(式中、nは、1～12から選択される整数であり;
mは、0～12から選択される整数であり;
pは、0～2から選択される整数であり;
かつXは、-SH、-N_3、-C≡CH、-C(O)H、テトラゾール、及び
【化４５】



のいずれかからなる群から選択される)。
【０１７９】
上記において、該アルキル又はアルキレン(すなわち、-CH_2-)基のいずれかは、例えば、C_{1-8}アルキル、メチルホルミル、又は-SO_3Hで任意に置換されていてもよい。ある実施態様において、アルキル基は、置換されていない。
【０１８０】
ある実施態様において、該一級アミン化合物は:
【化４６】

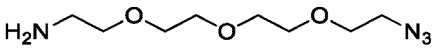


及び

からなる群から選択される。
【０１８１】

特定の実施態様において、該一級アミン化合物は、

【化４７】



である。

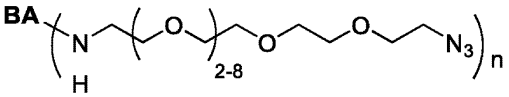
【０１８２】

上記の反応のための例示的な条件は、下記の実施例に提供されている。

【０１８３】

したがって、本明細書に提供されるのは、1以上の一級アミン化合物に連結された、修飾された抗MSR1抗体及びその抗原結合断片である。特定の実施態様において、本明細書に提供されるのは、次式による、修飾された抗MSR1抗体及びその抗原結合断片である:

【化４８】



。

【０１８４】

該式において、BAは、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。変数nは、1～30の整数である。ある実施態様において、nは、1からBA中のグルタミン残基の数である。ある実施態様において、nは、1～4である。ある実施態様において、nは、1、2、3、又は4である。いくつかの実施態様において、nは2である。いくつかの実施態様において、nは4である。修飾された抗MSR1抗体及びその抗原結合断片は、例えば、1以上のL-PA分子を連結して、ADCを形成させるのに有用である。

【０１８５】

ある実施態様において、BAは、2つ又は4つのグルタミン残基を含む。ある実施態様において、BAは、Q295残基を含む。ある実施態様において、BAは、N297Q突然変異を含む。ある実施態様において、BAは、Q295及びN297Qを含む。そのような実施態様において、BAが二量体であり得るので、BAは、L-PA部分へのコンジュゲーションための4つのグルタミン残基を有する。

【０１８６】

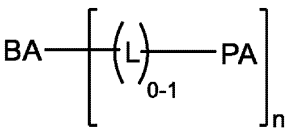
(化合物)

一態様において、本明細書に提供されるのは、化合物及び/又は任意にリンカーを介してもしくはリンカー-スペーサーを介してペイロード残基にコンジュゲートされた、本明細書に記載される任意の抗体もしくはその抗原結合断片を含む抗体-薬物コンジュゲートである。

【０１８７】

実施態様の群において、該化合物及び/又は該抗体-薬物コンジュゲートは、式(I)の構造を有する:

【化４９】



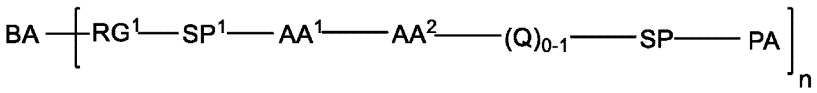
式 (I)

(式中:

BAは、結合剤であり;

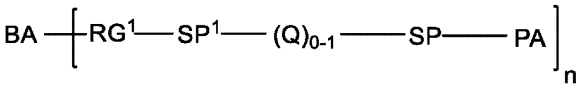
Lは、リンカーであり;

PAは、ステロイド残基、LXRモジュレーター残基、又はリファマイシン類似体残基からなる群から選択されるペイロード部分であり;かつ
下付文字nは、1～30の整数である)。
【０１８８】
実施態様の群において、上記の及び本明細書中の化合物及び/又は抗体-薬物コンジュゲートは、式(IA)の構造を有する:
【化５０】



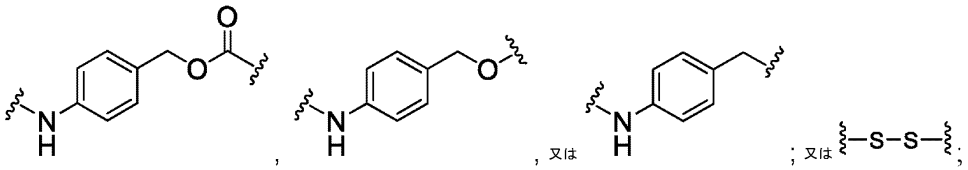
式 (IA)

(式中、
SP^1は、非存在、又はスペーサーであり;
RG^1は、反応基残基であり;
AA^1は、非存在、又は任意に基HGと直接的にもしくは間接的に結合しているアミノ酸残基を含む二価もしくは三価リンカーであり;
AA^2は、非存在、又はジペプチド、トリペプチド、もしくはテトラペプチド残基であり;
Qは、存在する場合、コネクター基残基であり;
SPは、非存在、又はスペーサーであり;かつ
HGは、存在する場合、親水基である)。
【０１８９】
実施態様の群において、上記の及び本明細書中の化合物及び/又は抗体-薬物コンジュゲートは、式(IB-1)の構造を有する:
【化５１】



式 (IB-1)

(式中、
SP^1は、非存在、又はスペーサーであり;
RG^1は、反応基残基であり;
Qは、存在する場合、
【化５２】

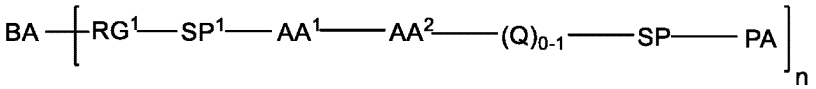


であり;かつ
SPは、非存在、又はスペーサーであり;
ここで、
【化５３】

は、それを介して言及された基が該式中の隣接する基に結合している原子を示す)。
【０１９０】
実施態様の群において、上記の及び本明細書中の化合物及び/又は抗体-薬物コンジュゲ

ートは、式(IB-2)の構造を有する:

【化５４】



式 (IB-2)

(式中、

SP^1は、非存在、又はスペーサーであり;

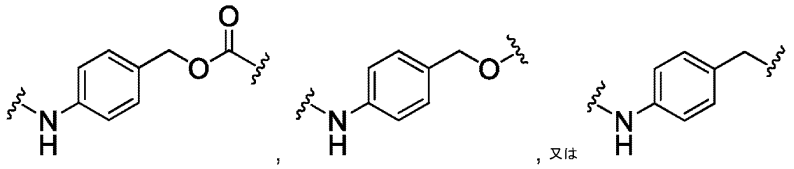
RG^1は、反応基残基であり;

AA^1は、非存在、又は任意に基HGと直接的にもしくは間接的に結合しているアミノ酸残基を含む二価もしくは三価リンカーであり;

AA^2は、非存在、又はジペプチド、トリペプチド、もしくはテトラペプチド残基であり;

Qは、存在する場合、

【化５５】

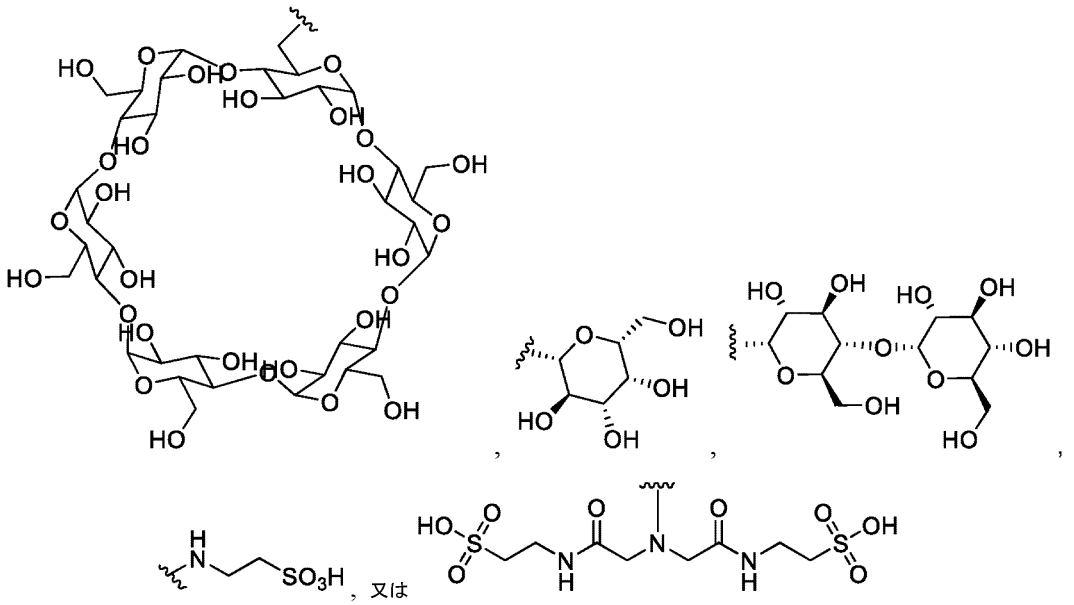


であり;

SPは、非存在、又はスペーサーであり;かつ

HGは、存在する場合、

【化５６】



であり、ここで、

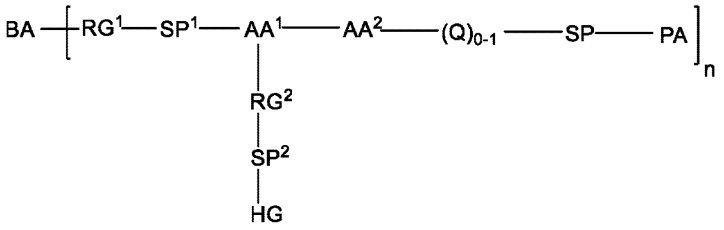
【化５７】

は、それを介して言及された基が該式中の隣接する基に結合している原子を示す)。

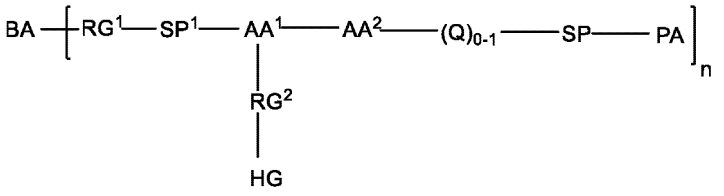
【０１９１】

実施態様の群において、上記の及び本明細書中の化合物及び/又は抗体-薬物コンジュゲートは、式(IC)、式(ID)、又は式(IE)の構造を有する:

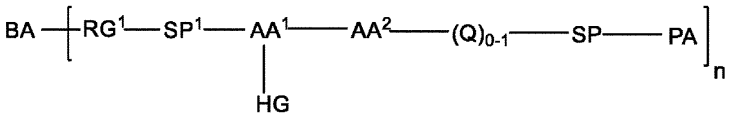
【化５８】



式（IC）

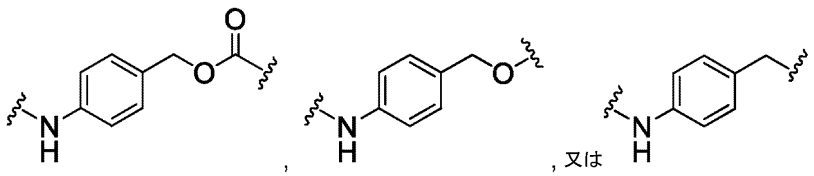


式（ID）



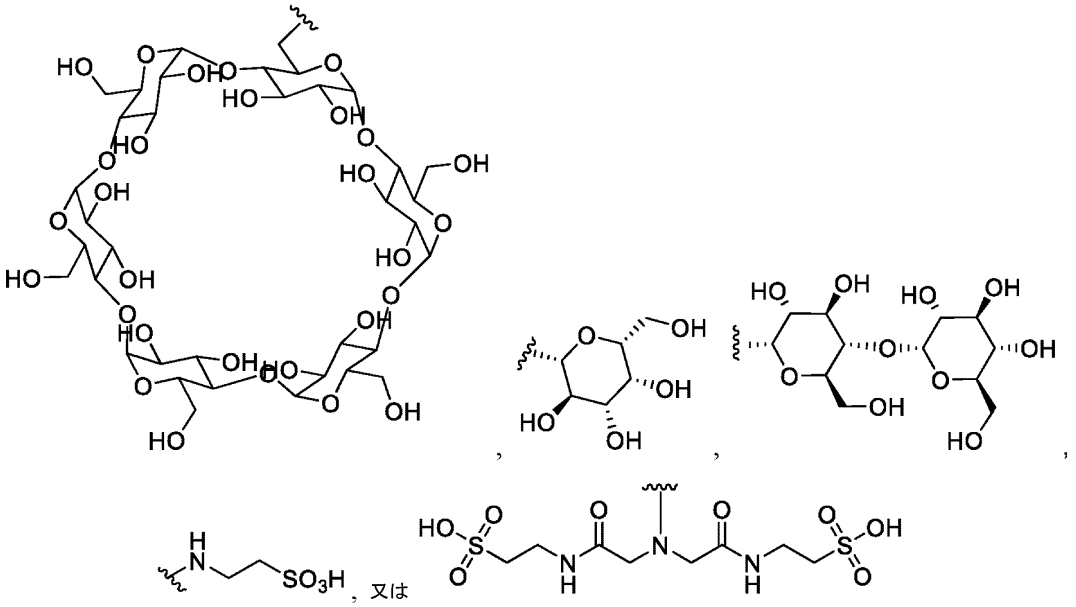
式（IE）

（式中、
SP^1は、非存在、又はスペーサーであり；
RG^1は、反応基残基であり；
SP^2は、非存在、又はスペーサーであり；
RG^2は、反応基残基であり；
AA^1は、アミノ酸残基を含む二価又は三価リンカーであり；
AA^2は、ジペプチド、トリペプチド、又はテトラペプチド残基であり；
Qは、存在する場合、
【化５９】



であり；
SPは、非存在、又はスペーサーであり；かつ
HGは、

【化６０】



である)。

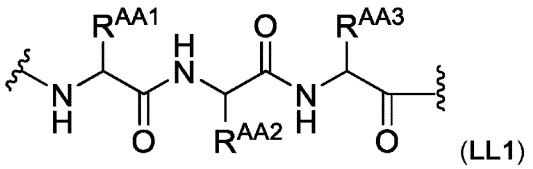
【０１９２】

ここで、

【化６１】

は、それを介して言及された基が該式中の隣接する基に結合している原子を示す。上記の及び本明細書中の任意の化合物及び/又は抗体-薬物コンジュゲートについてのいくつかの又は任意の例において、AA^1-AA^2は、式(LL1)によるものである:

【化６２】



(LL1)

(式中、R^{AA1}、R^{AA2}、及びR^{AA3}は、各々独立に、その少なくとも1つが、-(RG^2)-SP^2-HG、-(RG^2)-HG、又はHGに結合しているアミノ酸側鎖であり;ここで、

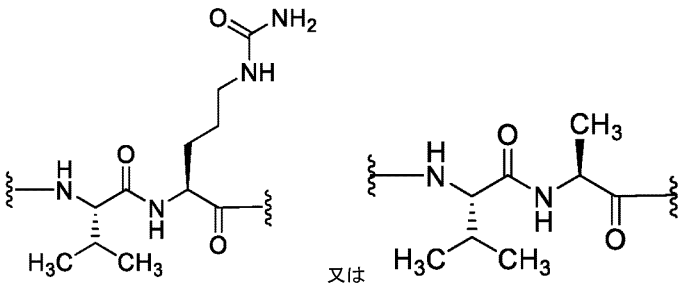
【化６３】

は、それを介してAA^1-AA^2が該式中の隣接する基に結合している原子を示す)。そのような実施態様のいくつかにおいて、R^{AA1}は、HGに直接的に又は間接的に結合しているリジン、グルタミン、グルタミン酸、又はアスパラギン酸側鎖であり、かつR^{AA2}及びR^{AA3}は、それぞれ、バリン及びアラニン又はバリン及びシトルリン側鎖のいずれかである。

【０１９３】

上記の及び本明細書中の任意の化合物及び/又は抗体-薬物コンジュゲートについてのいくつかの又は任意の例において、AA^1-AA^2は、

【化６４】



であり、ここで、

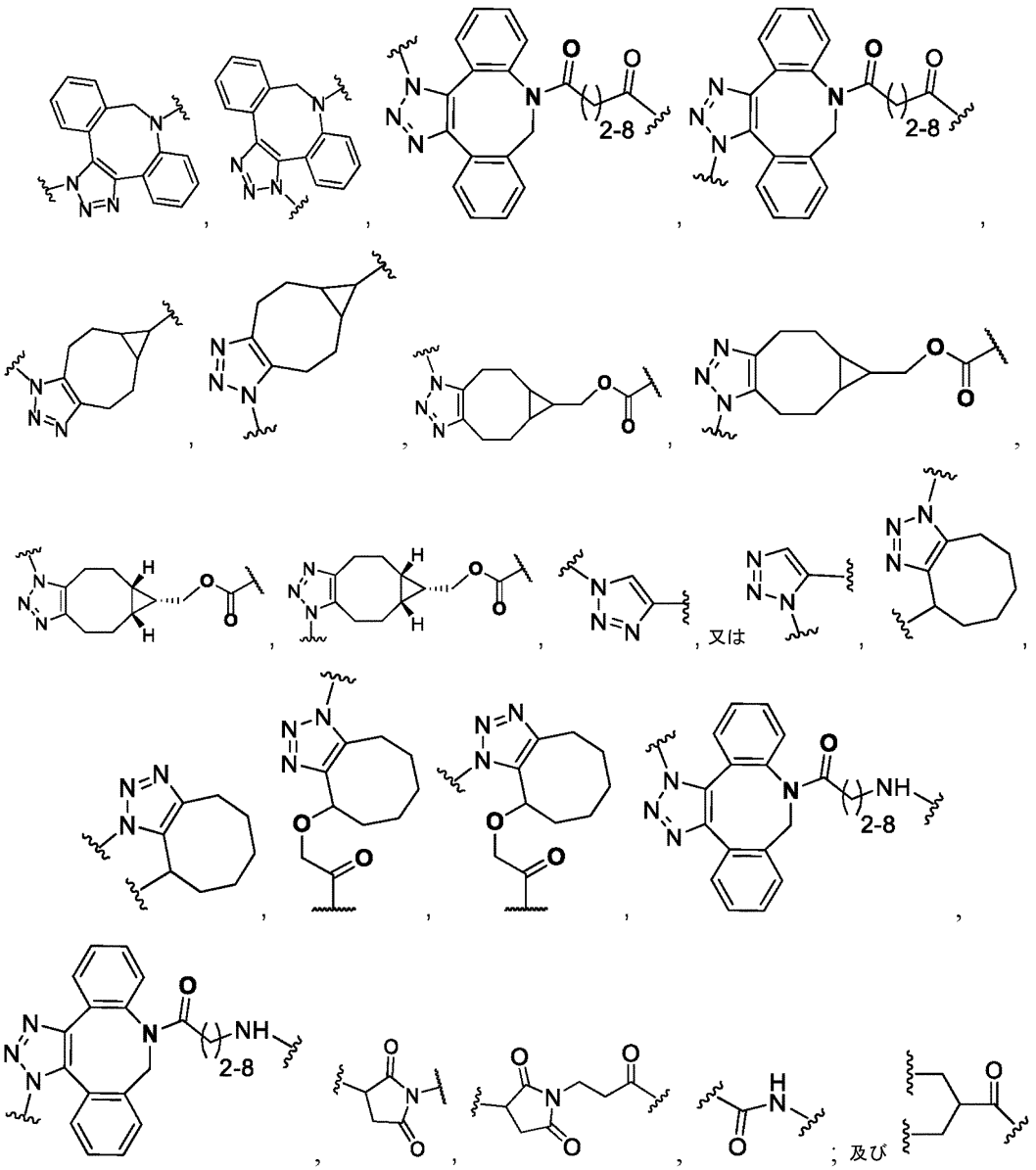
【化６５】

は、それを介してAA^{1}-AA^{2}が該式中の隣接する基に結合している原子を示す。

【０１９４】

上記の及び本明細書中の任意の化合物及び/又は抗体-薬物コンジュゲートについてのいくつかの又は任意の例において、RG^{1}及びRG^{2}残基は、各々の場合に独立に:

【化６６】



からなる群から選択され;

ここで、

【化６７】

は、それを介して該RG^1又はRG^2残基が該式中の隣接する基に結合している原子を示す。

【０１９５】

上記の及び本明細書中の任意の化合物及び/又は抗体-薬物コンジュゲートについてのいくつかの又は任意の例において、SP、SP^1、及びSP^2は、各々の場合に独立に、非存在であるか、又はC_{1-6}アルキレン、-NH-、-S-、-O-、-C(O)-、$(-CH_2-CH_2-O)_e$、$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$、$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$、$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$、(グリシン)$_4$-セリン、及びその組合せからなる群から選択され、ここで、下付文字eは0～4の整数であり、下付文字uは1～8の整数であり、かつ下付文字vは1～8の整数である。

【０１９６】

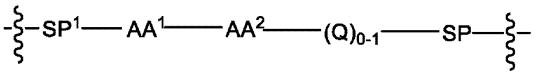
上記の及び本明細書中の任意の化合物及び/又は抗体-薬物コンジュゲートについてのい

くつかの又は任意の例において、nは、1～10、1～8、1～6、1～4の整数であるか、又はnは、1、2、3、もしくは4である。

【０１９７】

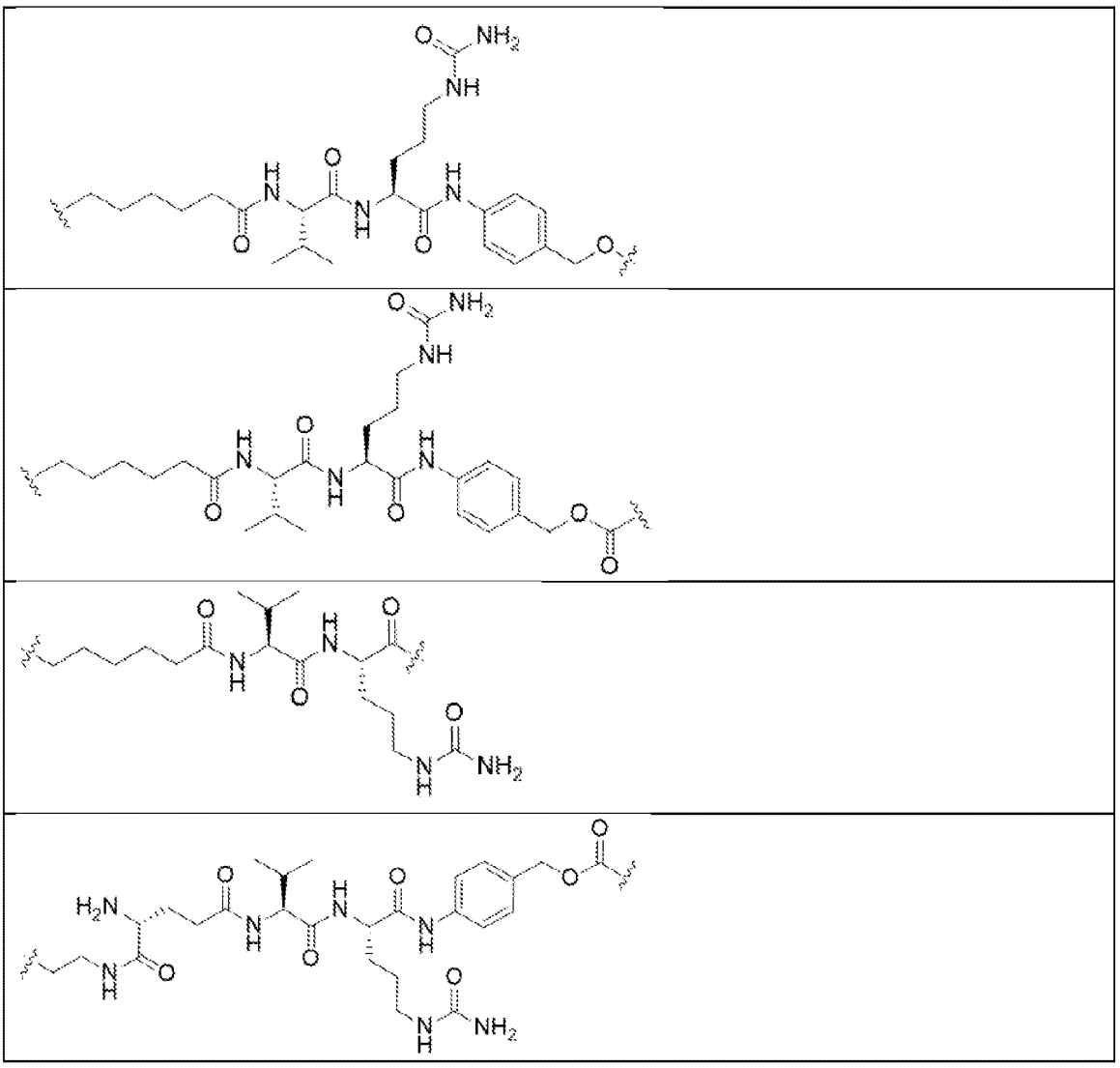
上記の及び本明細書中の任意の化合物、リンカー-ペイロード、及び/又は抗体-薬物コンジュゲートについてのいくつかの又は任意の例において、

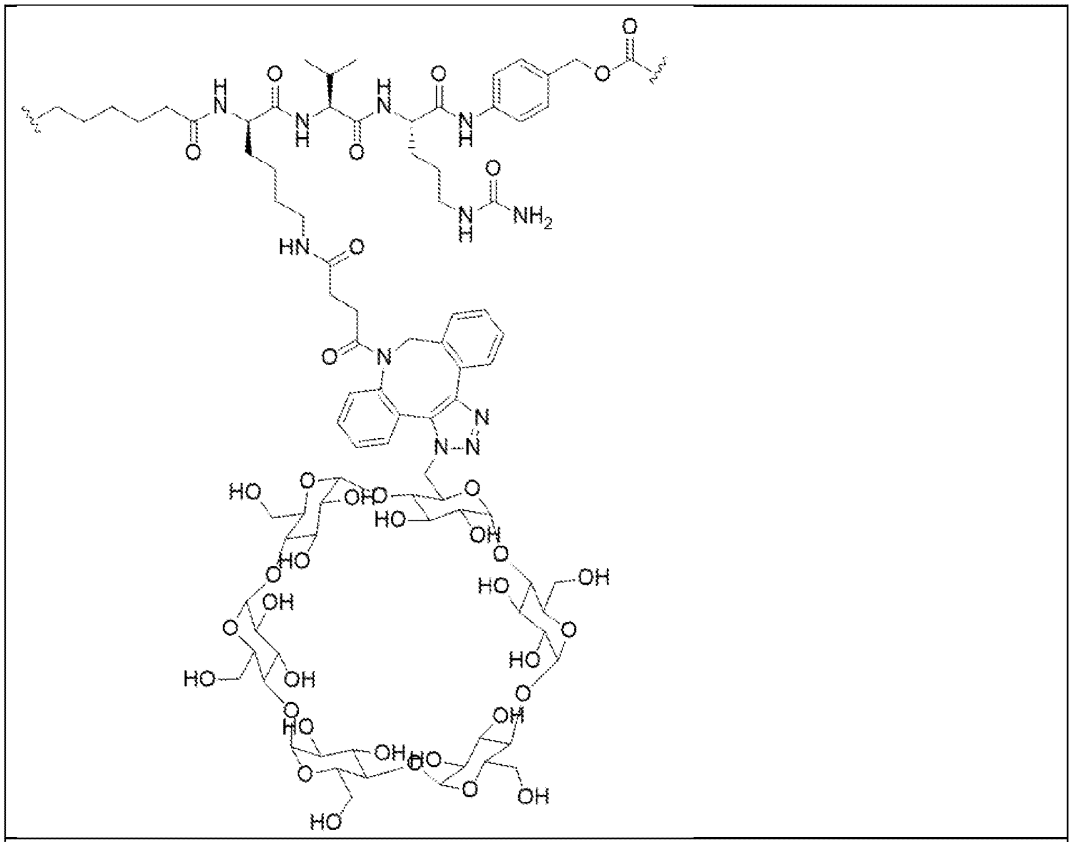
【化６８】

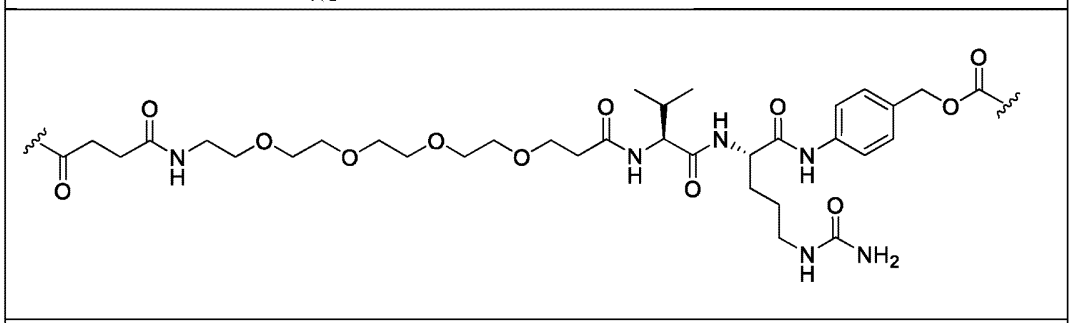


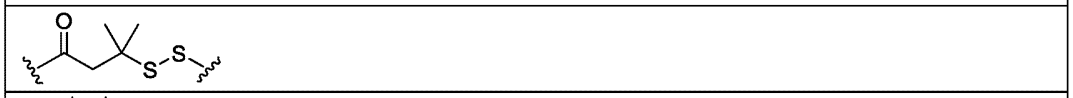
は、

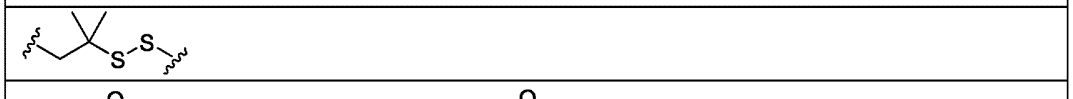
【化６９】

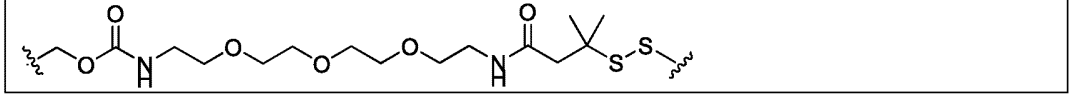


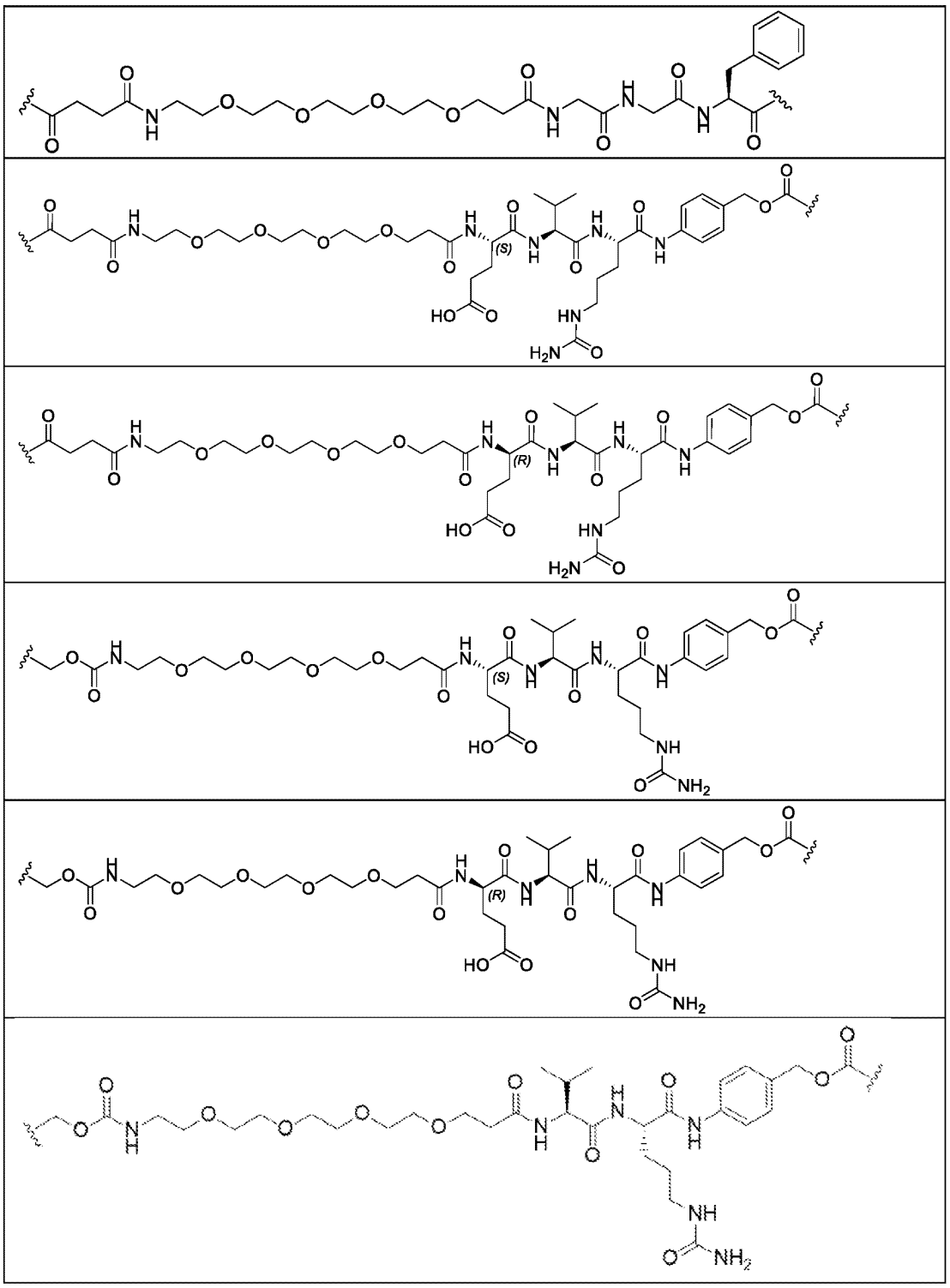


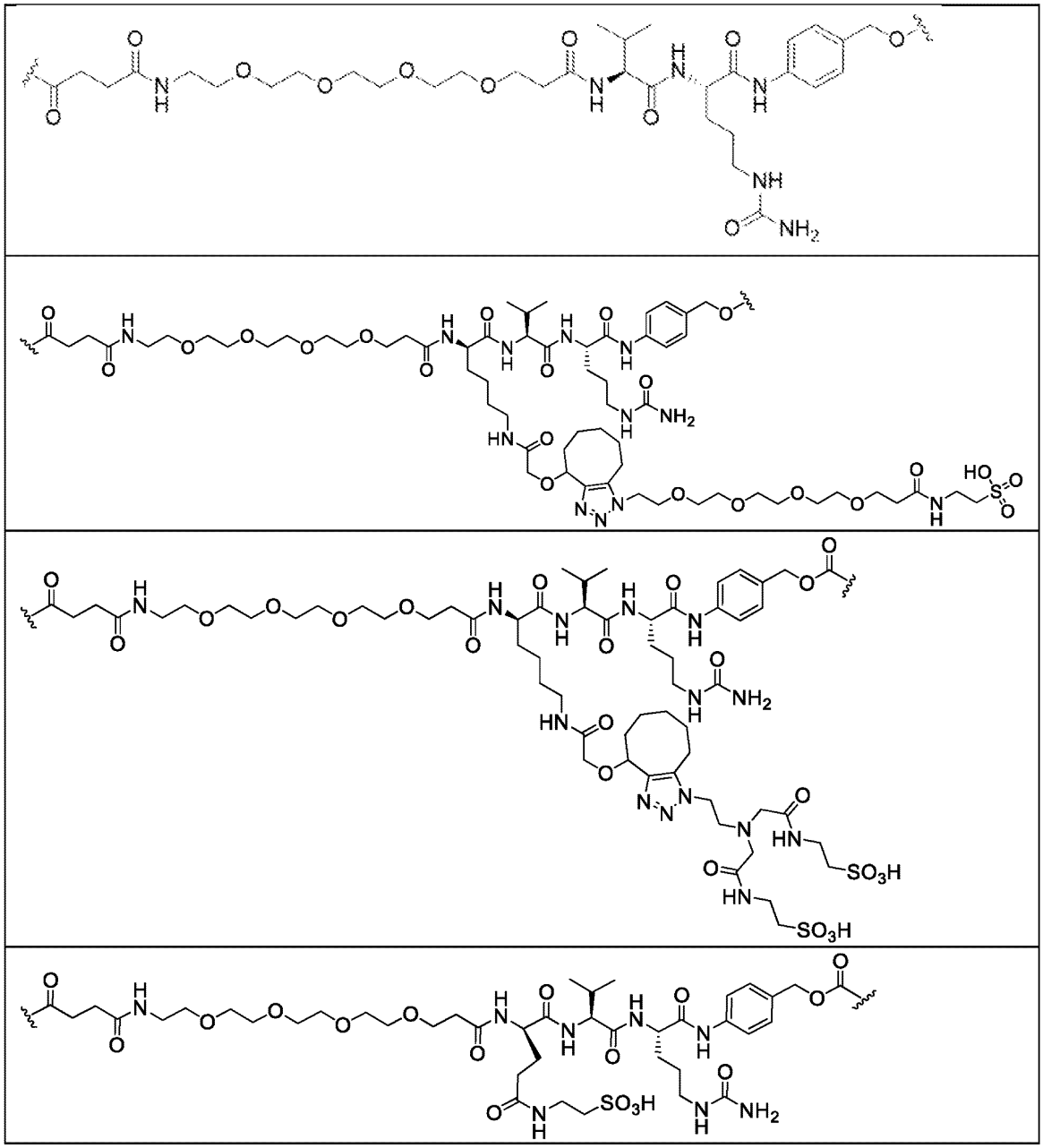


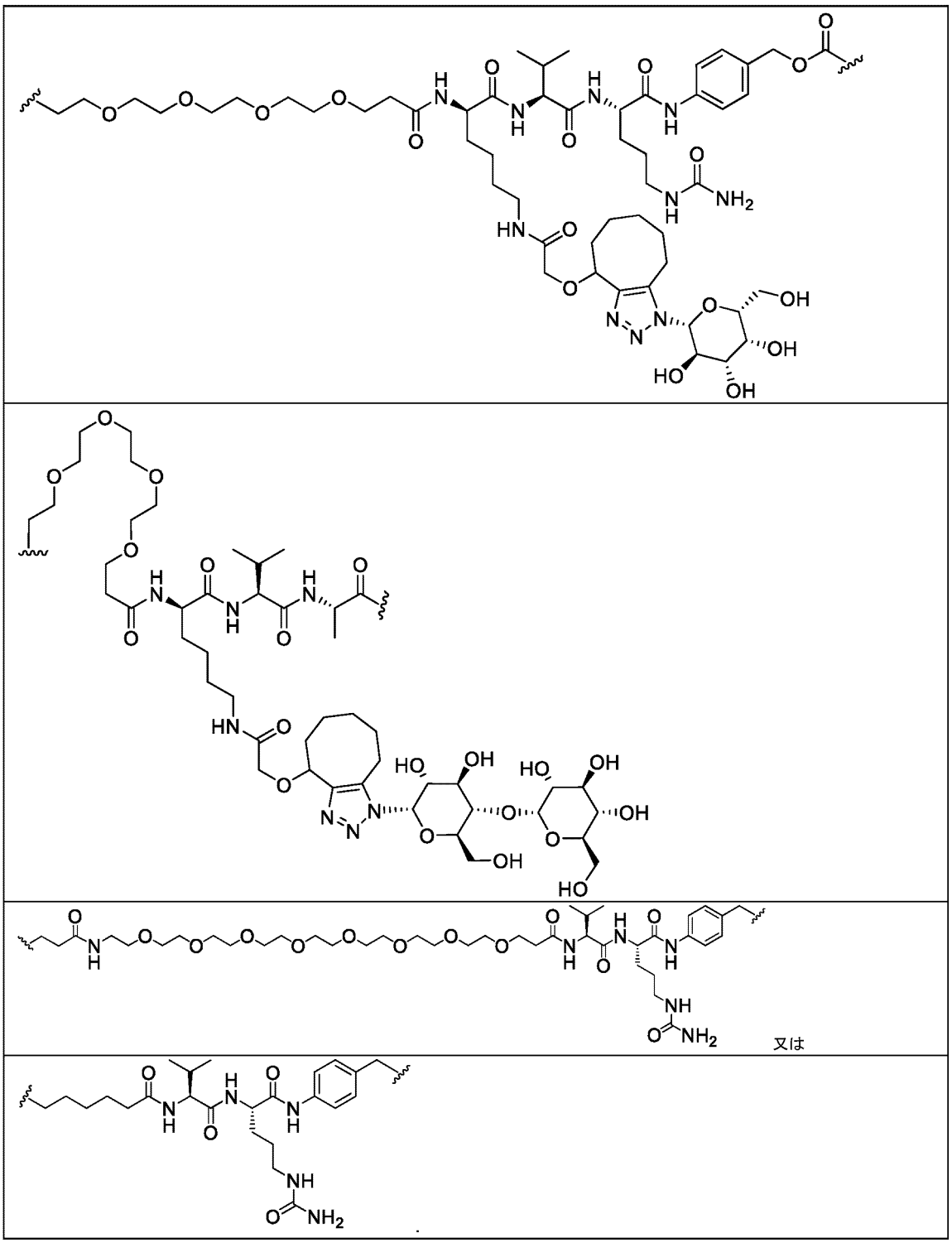












である。

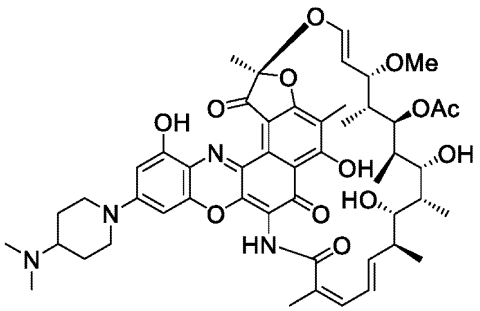
【０１９８】

上記の及び本明細書中の任意の化合物及び/又は抗体-薬物コンジュゲートについてのいくつかの又は任意の実施態様において、該抗体又はその抗原結合断片は、リンカー又はリンカー-スペーサーを介して、ステロイドペイロードにコンジュゲートされている。

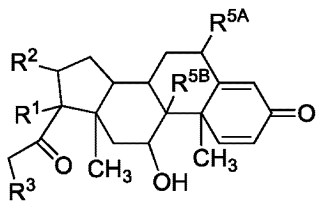
【０１９９】

上記の及び本明細書中の任意の化合物及び/又は抗体-薬物コンジュゲートについてのいくつかの又は任意の実施態様において、該抗体又はその抗原結合断片は、リンカーを介して、LXRモジュレーターペイロードにコンジュゲートされている。

【０２００】
上記の及び本明細書中の任意の化合物及び/又は抗体-薬物コンジュゲートについてのいくつかの又は任意の実施態様において、該抗体又はその抗原結合断片は、リンカーを介して、リファマイシン類似体ペイロードにコンジュゲートされている。
【０２０１】
(ペイロード)
式(I) BA-[L-PA]$_n$において、PAは、有用と思われる任意のペイロードであることができる。そのようなペイロードには、MSR1を介するその送達によって治療的利益を提供する小分子が含まれる。ある実施態様において、PAは、ステロイド、LXRモジュレーター、又はリファマイシン類似体からなる群から選択される分子の残基である。いくつかの場合において、PAは、ステロイドである。いくつかの場合において、PAは、LXRモジュレーターである。いくつかの場合において、PAは、LXRアゴニストである。いくつかの実施態様において、PAは、LXRアンタゴニストである。例示的なLXRモジュレーターペイロードは、例えば、引用より本明細書中に完全に組み込まれる、US 2018/0334426号として公開された「ビス-オクタヒドロフェナントレンカルボキサミド及びそのタンパク質コンジュゲート(BIS-OCTAHYDROPHENANTHRENE CARBOXAMIDES AND PROTEIN CONJUGATES THEREOF)」という表題の2017年5月18日に出願された米国出願第62/508,327号に記載されている。いくつかの例において、PAは、本明細書に記載される任意のリファマイシン類似体を含む、リファマイシン類似体である。いくつかの例において、PAは、以下の構造を有するリファログである:
【化７０】



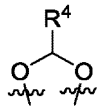
。
【０２０２】
ある実施態様において、式(I)の化合物中のペイロードは、式(A)によるグルココルチコイド:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である;
【化７１】



式 (A)

(式中、
R^1及びR^2は、独立に、-H、アルキル、アルキル-C(O)-O-、-OH、もしくはハロであるか;又はR^1及びR^2は、一緒に、

【化７２】



を形成し、

ここで、R^4は、アルキル、アリール、アリールアルキル、又はN-含有ヘテロシクロアルキルであり、

ここで、該アルキル、アリール、アリールアルキル、及びN-含有ヘテロシクロアルキルは、各々の場合に独立に、$-NR^{Aa}R^{Ab}$で任意に置換されており;

R^3は、-OH、R^Z-C(O)-X-、ヘテロアルキル、ピペリジニル、$-NR^{Aa}R^{Ab}$、-オキシアリール-$NR^{Aa}R^{Ab}$、又は-Z-A'$(R^P)_t$であり;

R^Zは、アルキルであり;

Xは、O又はNR^{Aa}であり;

Zは、S、S(O)、$S(O)_2$、SO_2NR^{Aa}、O、C(O)NR^{Aa}、C(O)、又はNR^{Aa}であり;

A'は、アリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールであり;

R^Pは、各々の場合に独立に、ハロ、任意に置換されたアルキル、-OH、又は$-NR^{Aa}R^{Ab}$であり;

R^{Aa}及びR^{Ab}は、各々の場合に独立に、-H、任意に置換されたアルキル、又は任意に置換されたアリールであり;

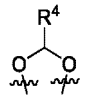
下付文字aは、0～19の整数であり;かつ

tは、1～3の整数であり;

ただし:

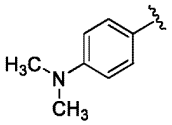
(1)R^1が-OHである場合、又は(b)R^1及びR^2が一緒に、

【化７３】



(ここで、R^4は、C_{1-9}アルキル又は

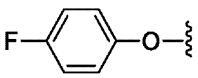
【化７４】



である)を形成する場合、R^3は-OH(a)ではなく、かつ

(2)R^3は、

【化７５】



ではなく、かつ

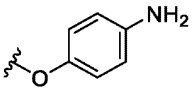
R^{5A}及びR^{5B}は、各々独立に、ハロ又は水素原子であり;

ここで、基R^3又はR^4は、リンカーに結合している)。

【０２０３】

そのような実施態様のいくつかにおいて、R^3はNH_2である。そのような実施態様のいくつかの他のものにおいて、R^3は、

【化７６】



であり、ここで、

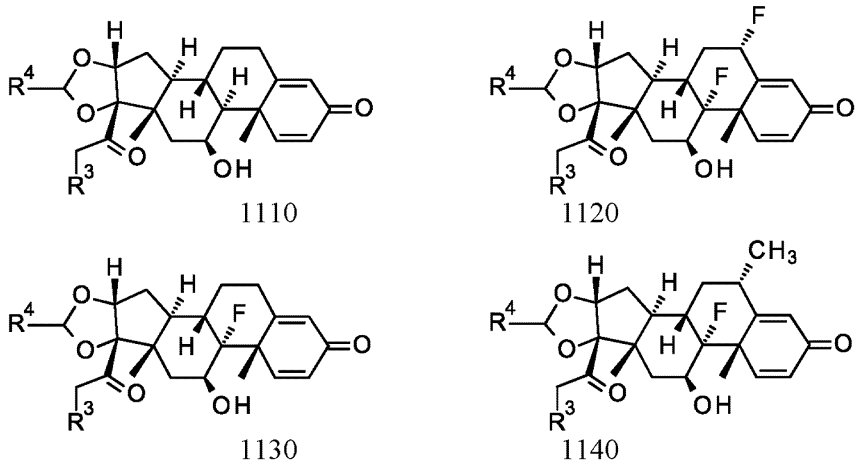
【化７７】

は、R^3が式(I)中の隣接する基に結合している原子を示す。

【０２０４】

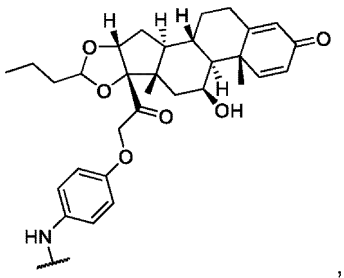
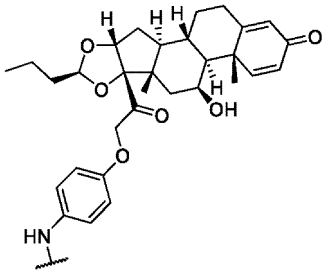
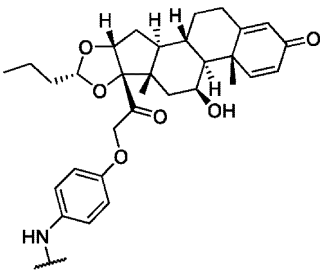
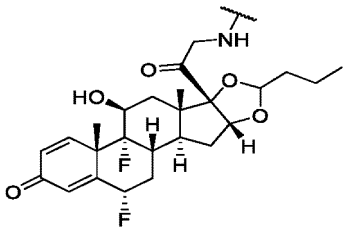
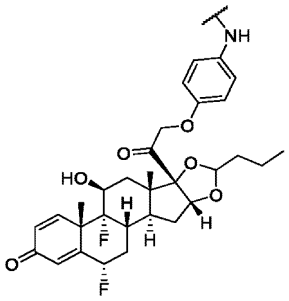
ある実施態様において、PAは、ステロイドである。例示的なステロイドペイロードは、例えば、その各々が引用により本明細書中に完全に組み込まれる、2018年1月8日に出願された「ステロイド及びその抗体コンジュゲート(STEROIDS AND ANTIBODY CONJUGATES THEREOF)」という表題の米国出願第62/614,905号、及びUS 2018/0155389号として公開された「ステロイド及びそのタンパク質-コンジュゲート(STEROIDS AND PROTEIN-CONJUGATES THEREOF」」という表題の2017年11月7日に出願された米国出願第15/806,197号に記載されている。ある実施態様において、PAは、

【化７８】



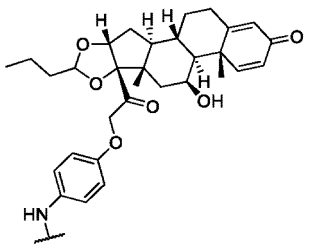
又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体から選択される。式1110～1140のいずれかによるある実施態様において、R^3は、-O-アリール、$-NR^{Aa}R^{Ab}$、-アルキレン-$NR^{Aa}R^{Ab}$、-X-アリーレン-Y-$NR^{Aa}R^{Ab}$、-X-ヘテロアリーレン-Y-$NR^{Aa}R^{Ab}$、又はN-含有ヘテロシクロアルキルであり;ここで、Xは、非存在、-N-、$-CH_2-$、又は-O-であり;ここで、Yは、非存在又は$-CH_2-$であり;かつR^4は、アルキル、アリール、アルキルアリール、又はアリールアルキルである。ある実施態様において、R^3は、-O-アリーレン-$NR^{Aa}R^{Ab}$、-O-ヘテロアリーレン-$NR^{Aa}R^{Ab}$であり;ここで、アリール又はヘテロアリールは、ハロゲン、重水素、ヒドロキシル、又はメトキシルで任意に置換されている。ある実施態様において、R^3は、-O-フェニル-$NR^{Aa}R^{Ab}$、-O-ヘテロアリーレン-$NR^{Aa}R^{Ab}$であり;ここで、フェニル又はヘテロアリールは、ハロゲン又は重水素で任意に置換されている。ある実施態様において、R^4は、n-プロピルである。ある実施態様において、R^{Aa}及びR^{Ab}は、各々独立に、水素又はアルキルである。特定の実施態様において、R^{Aa}及びR^{Ab}のうちの一方は、リンカー(例えば、L又はLL)との結合で置換されている。ある実施態様において、PAは、

【化７９】


,

,

,

,又は

,

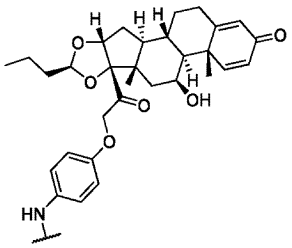
又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは、

【化８０】


,

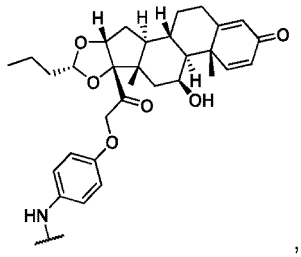
又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは、

【化８１】


,

又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは、

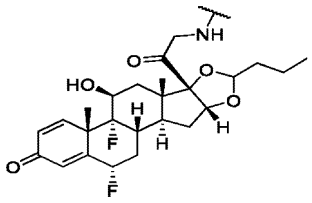
【化８２】



,

又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは、

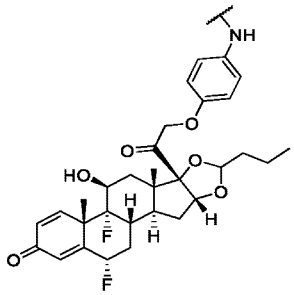
【化８３】



,

又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは、

【化８４】



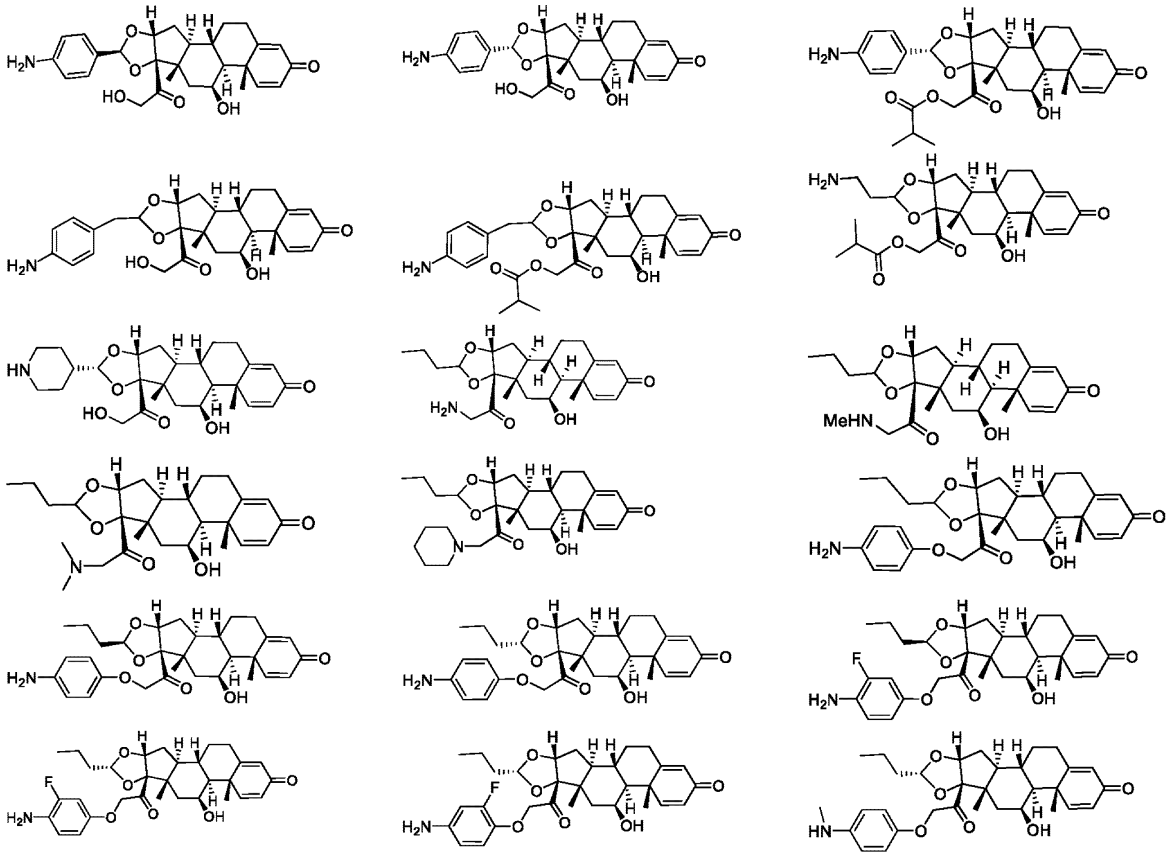
,

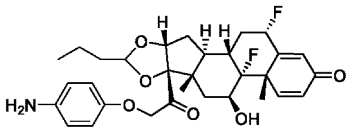
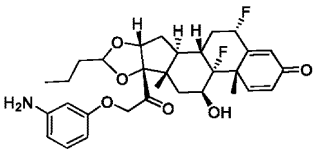
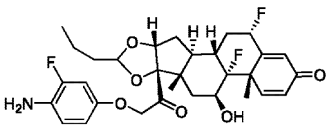
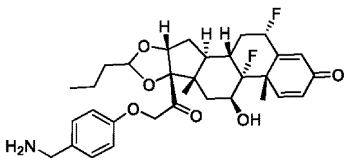
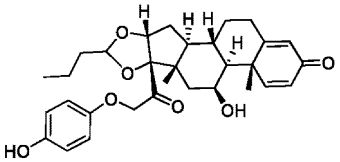
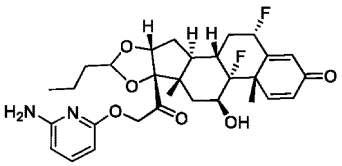
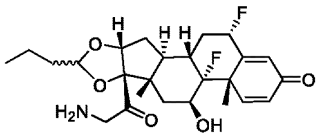
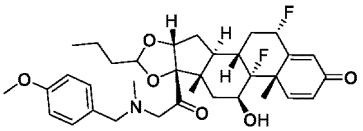
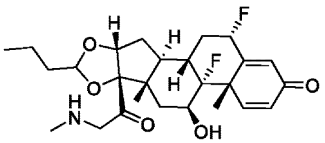
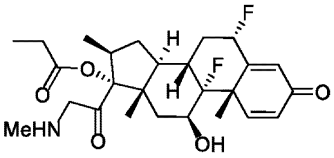
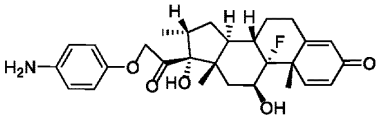
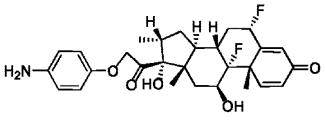
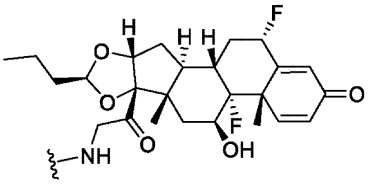
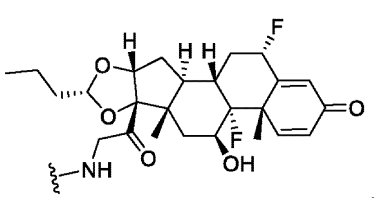
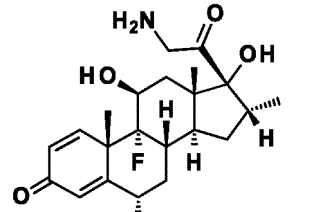
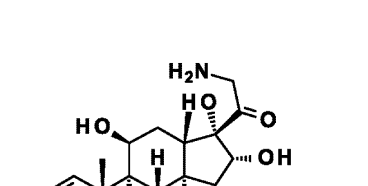
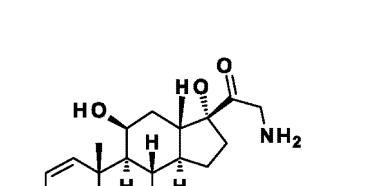
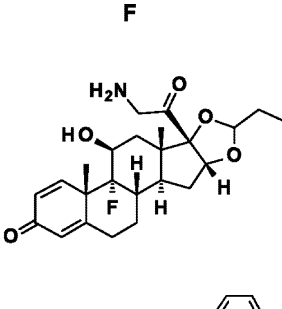
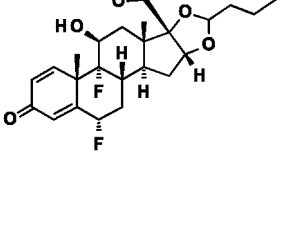
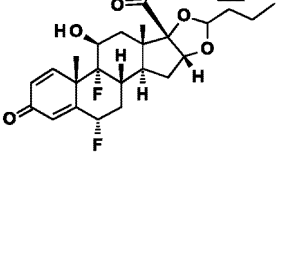
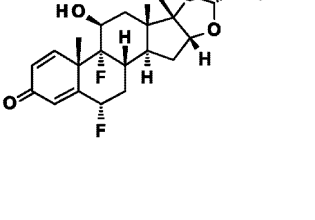
又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体である。そのような実施態様において、波線は、リンカー(例えば、L又はLL)との結合を示す。

【０２０５】

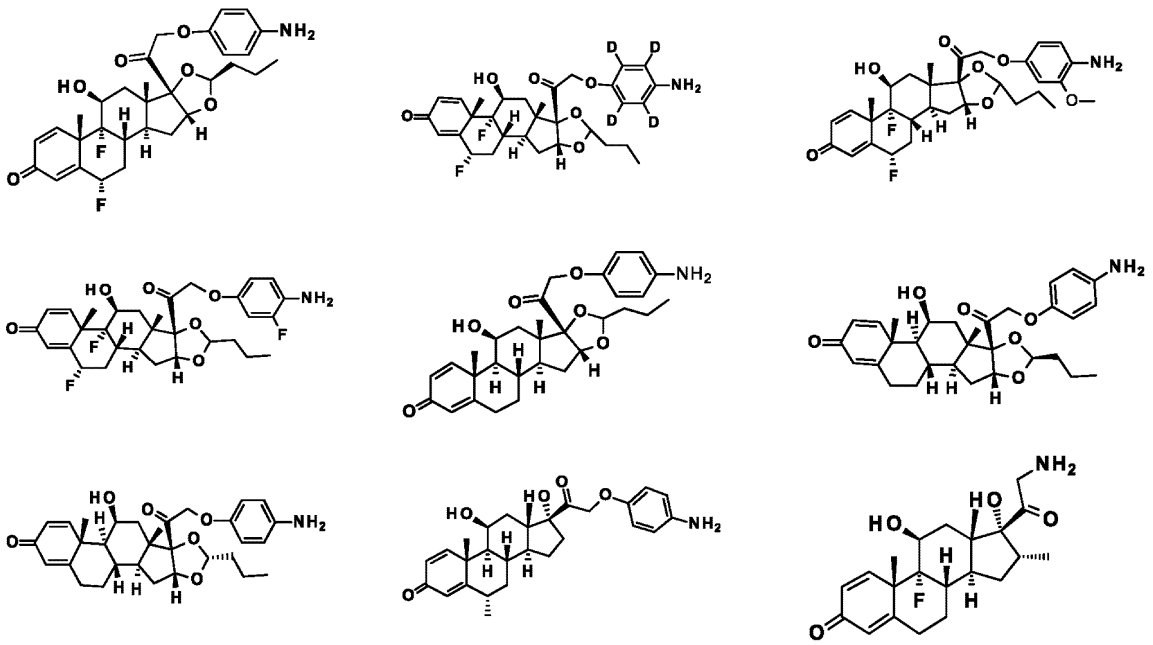
ある実施態様において、PAは、以下の残基:

【化８５】



,

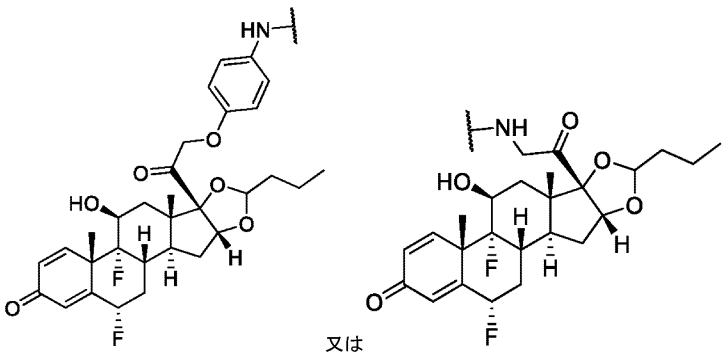


又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体から選択される。特定の実施態様において、一級又は二級アミンをリンカーLに連結させて、リンカーペイロードを形成させ、これをBAに連結させて、コンジュゲートを形成させる。当業者は、上記の化合物を、Hの代わりになる、一級又は二級アミン基との結合を有するLに連結させることができることを認識しているであろう。

【０２０６】

いくつかの実施態様において、本明細書に記載される抗MSR1抗体は:

【化８６】

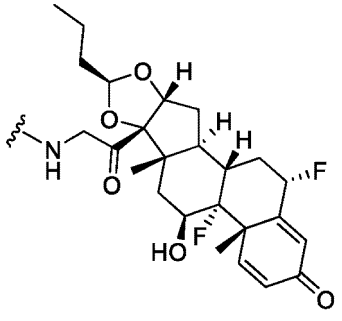
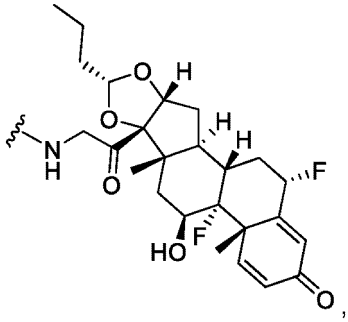


にコンジュゲートされる。

【０２０７】

いくつかの実施態様において、本明細書に記載される抗体-薬物コンジュゲートは、ステロイドペイロードを含み、ここで、該ステロイドペイロードは:

【化８７】

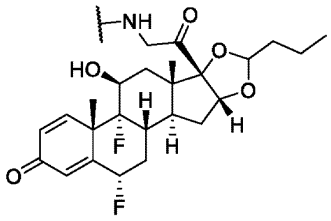

及び

,

又はその混合物からなる群から選択される。

【０２０８】

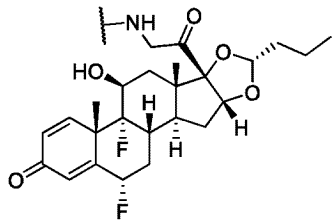
ある実施態様において、PAは:

【化８８】


,

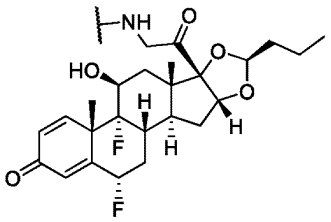
又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは:

【化８９】


,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは:

【化９０】

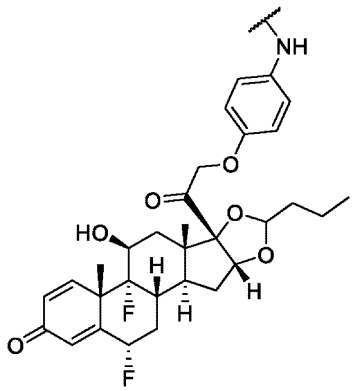

,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。

【０２０９】

ある実施態様において、PAは:

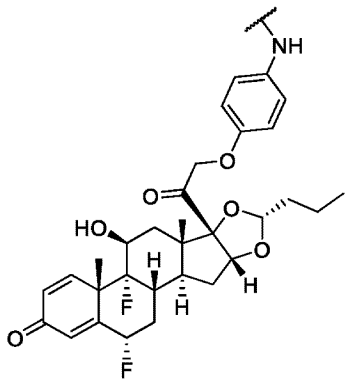
【化９１】



,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは:

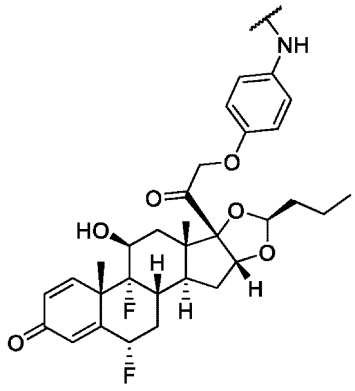
【化９２】



,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは:

【化９３】



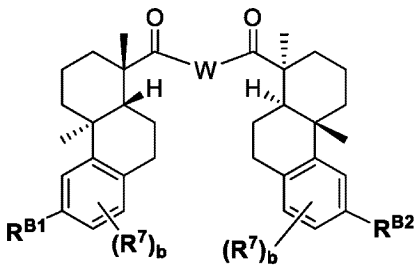
,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。

【０２１０】

ある実施態様において、PAは、肝臓X受容体(LXR)モジュレーターである。ある実施態様において、PAは、式(B)によるもの又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である:

【化９４】



式 (B)

(式中、
Wは、-CH_2-、-N(H)-、又は-O-であり;
R^{B1}は、-H、-OH、-NH_2、アルキル、又は-OP(O)(OR^6)$_2$であり;
R^{B2}は、-H、-OH、-CH_2NH_2、R^{B3}、R^{B4}、R^{B5}、又は-O-R^{B5}であり、ここで、R^{B1}及びR^{B2}は、同時に-Hであることはなく;
R^{B3}は、-N(R^6)$_2$であり;
R^{B4}は、-X-Y-Zであり;
Xは、-O-及び-N(H)-からなる群から選択され;
Yは、アルキレン、置換アルキレン(限定されないが、オキソ置換、すなわち、=O)を含む)、ヘテロアルキレン、及び置換ヘテロアルキレン(限定されないが、オキソ置換(すなわち、=O)を含む)からなる群から選択され;
Zは、-OH及び-NH_2からなる群から選択され;
R^{B5}は、アルキル、ヘテロシクロアルキル、又は置換ヘテロシクロアルキルであり、ここで、各々のヘテロシクロアルキル又は置換ヘテロシクロアルキルは、窒素及び酸素から選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み、かつ少なくとも1つの-OH及び-CH_2OH置換基又は少なくとも1つの一級もしくは二級窒素、例えば、O-グルコースを含み;
各々のR^6は、各々の場合に、-H、アミノ酸残基、N-アルキルアミノ酸残基、ペプチド、又はアルキルであり;かつ
各々のR^7は、独立に、ハロ、C_{1-6}アルキル、C_{1-6}アルコキシ、-CN、O-グルコース、O-アミノ酸残基、及びO-PEG_bであり、ここで、各々の下付文字bは、0～3の整数であり;
ここで、基R^{B1}、R^{B2}、又はR^7は、リンカーに結合している)。

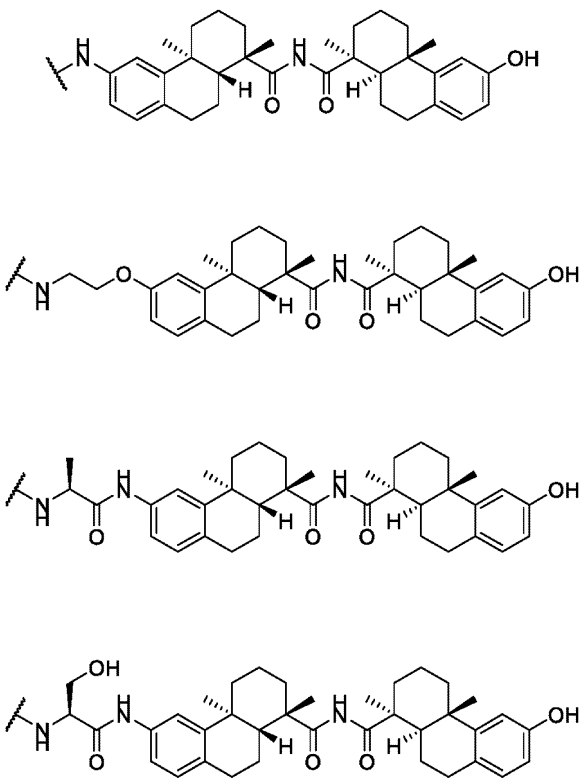
【０２１１】

特定の実施態様において、R^{B1}又はR^{B2}は、リンカー(例えば、L又はLL)との結合で置換されている。

【０２１２】

ある実施態様において、PAは:

【化９５】



から選択される。

【０２１３】

特定の実施態様において、

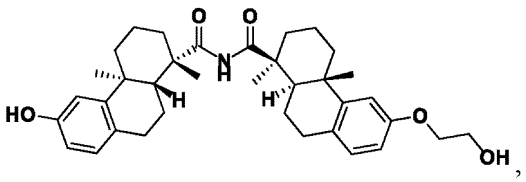
【化９６】

中の波線は、リンカー(例えば、L又はLL)との結合を示している。

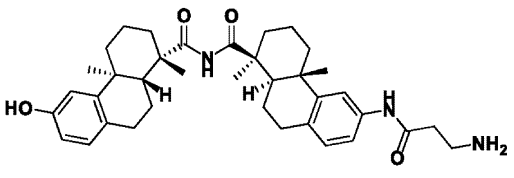
【０２１４】

ある実施態様において、式(B)のペイロードは:

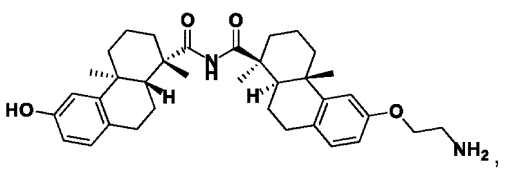
【化９７】



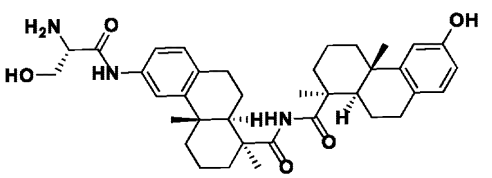
,



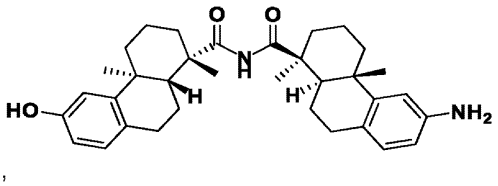
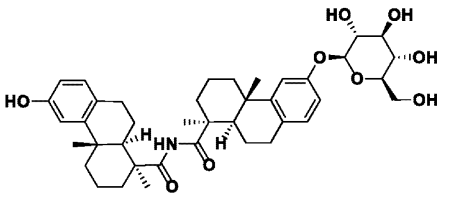
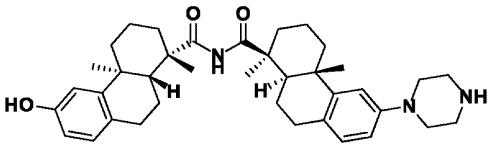
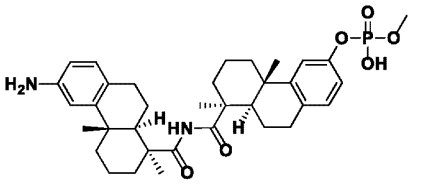
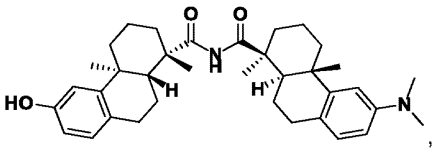
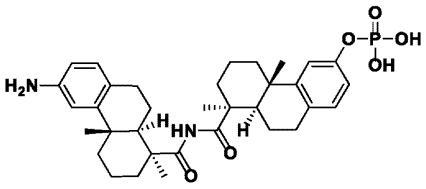
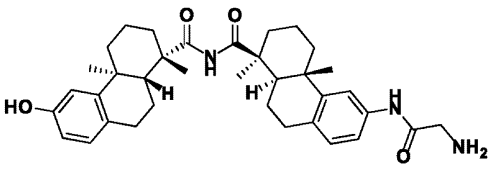
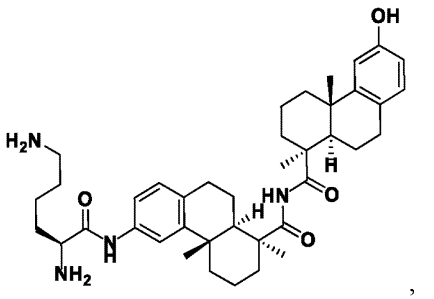
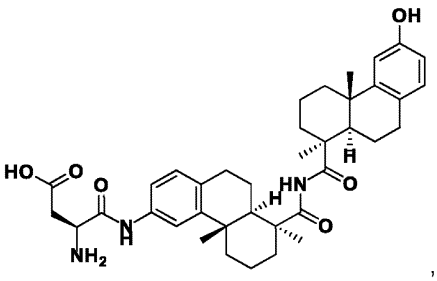
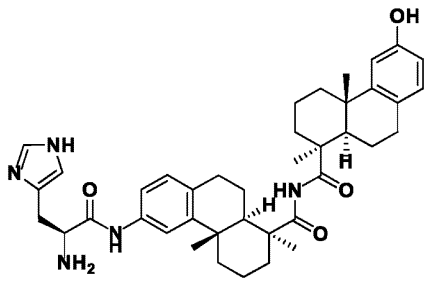
,



,



,

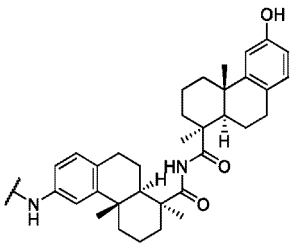

,

,

,

,

,

,

,

,

, 及び


又はその医薬として許容し得る立体異性体形態からなる群から選択される。

【０２１５】

ある実施態様において、PAは:

【化９８】



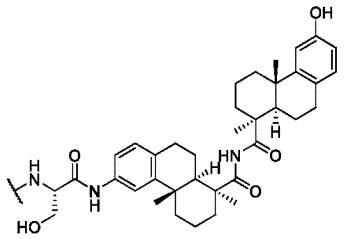
,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。

【０２１６】

ある実施態様において、PAは:

【化９９】



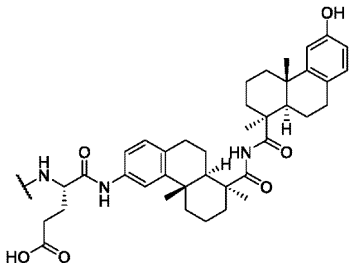
,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。

【０２１７】

ある実施態様において、PAは:

【化１００】



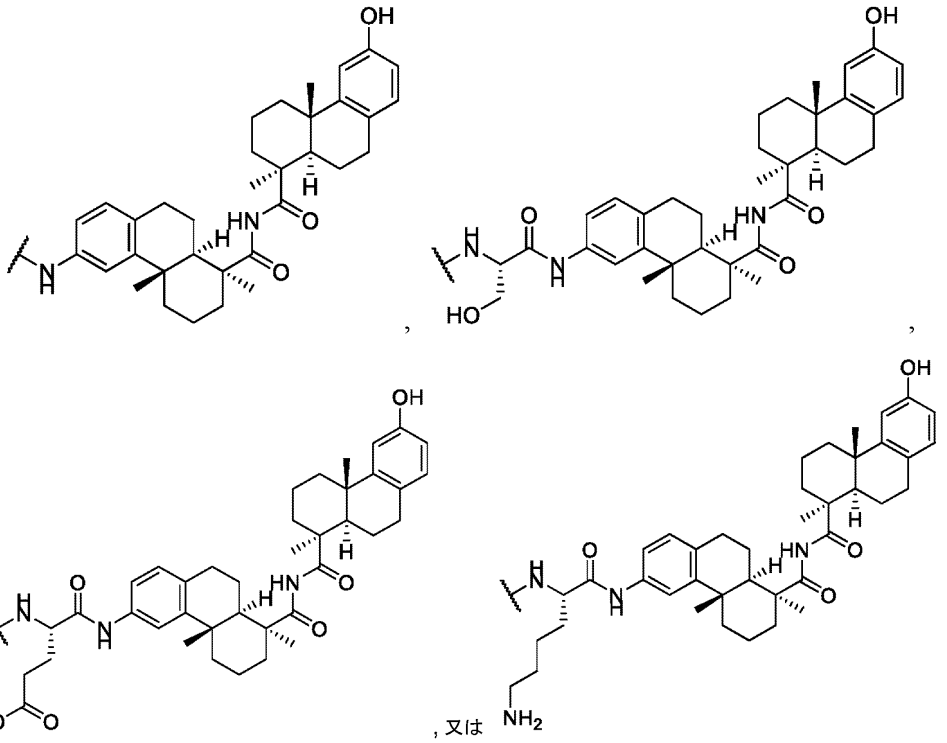
,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。

【０２１８】

いくつかの実施態様において、本明細書に記載される抗MSR1抗体は:

【化１０１】

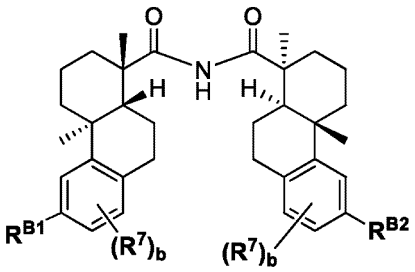


にコンジュゲートされている。

【０２１９】

いくつかの実施態様において、PAは、式(B-1)による肝臓X受容体(LXR)モジュレーター又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である:

【化１０２】



式 (B-1)

(式中、

R^{B1}は、-N(H)R^8又は-N(R^9)$_2$であり;

R^{B2}は、-N(H)R^8であり;

各々のR^8は、各々の場合に独立に、水素、アミノ酸残基、N-アルキルアミノ酸残基、ペプチド残基、生体分解性部分、又はアルキルであり;

R^9は、アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクロアルキル、又は置換ヘテロシクロアルキルであり、ここで、各々のヘテロシクロアルキル又は置換ヘテロシクロアルキルは、窒素及び酸素から選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み、かつ置換されているとき、少なくとも1つの-OH及び-CH_2OHを含むか、又は少なくとも1つの一級もしくは二級窒素を含み;

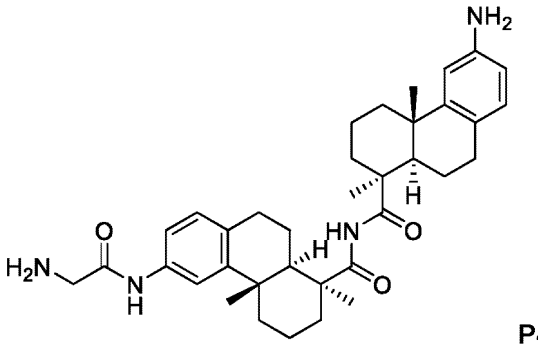
各々のR^7は、独立に、ハロ、C_{1-6}アルキル、C_{1-6}アルコキシ、-CN、O-グルコース、O-アミノ酸残基、又はO-PEG_b(ここで、各々の下付文字bは、0～3の整数である)であり、;

ここで、基R^{B1}、R^{B2}、又はR^7は、リンカーに結合している)。

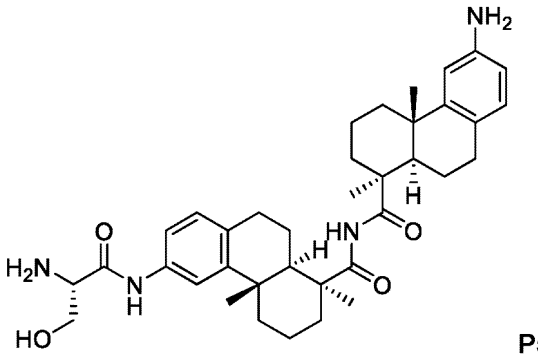
【０２２０】

いくつかの例において、式(B-1)の化合物は:

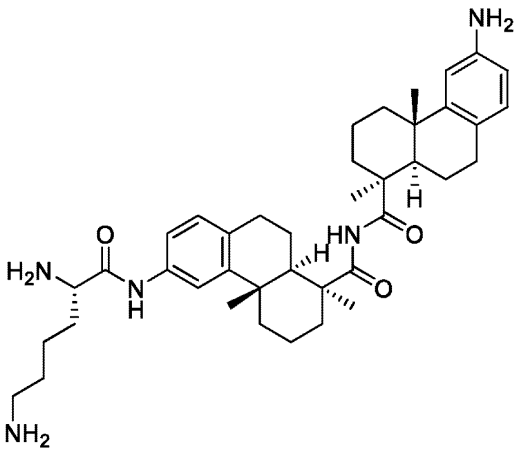
【化１０３】



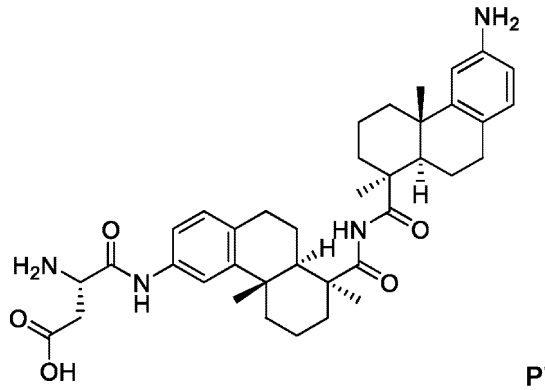
P4B;



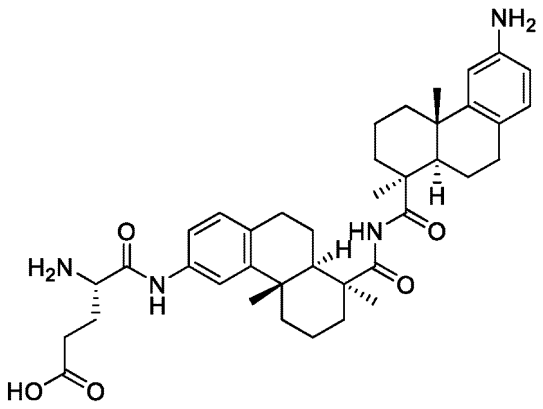
P5B;



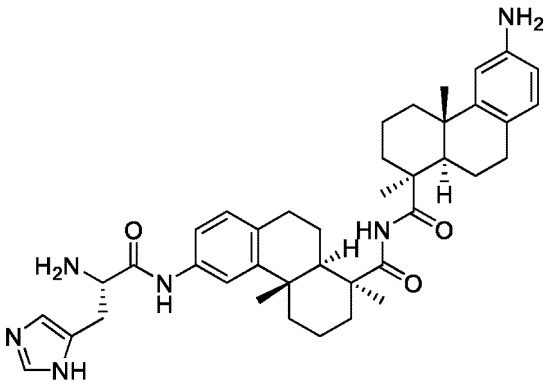
P6B;



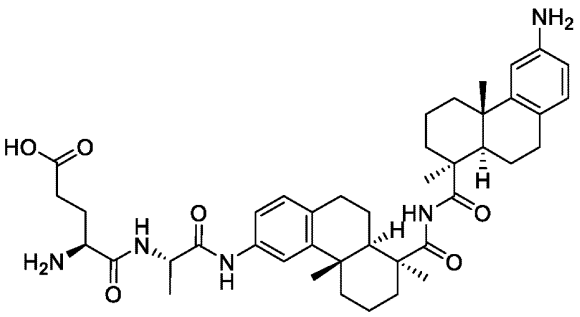
P7B;



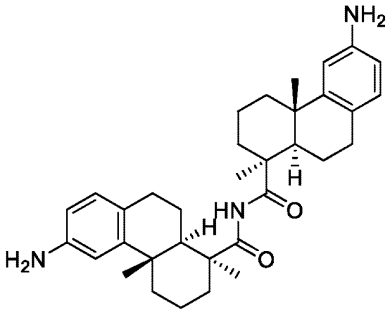
P8B;



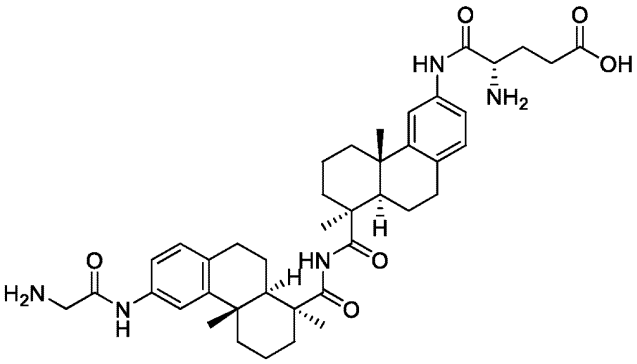
P9B;



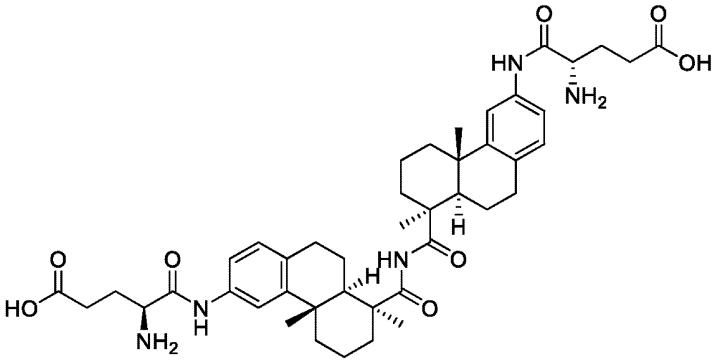
P12B;



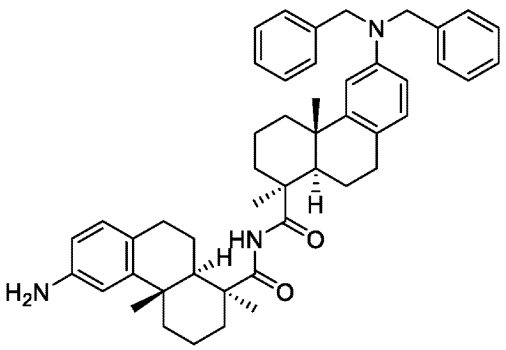
P2B;



P10B;



P11B; 及び



P3B

又はその医薬として許容し得る塩もしくは溶媒和物からなる群から選択される。

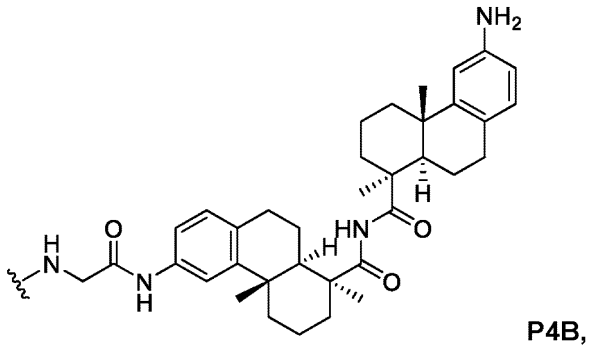
【０２２１】

特定の実施態様において、R^{B1}又はR^{B2}は、リンカー(例えば、L又はLL)との結合で置換されている。

【０２２２】

ある実施態様において、PAは、

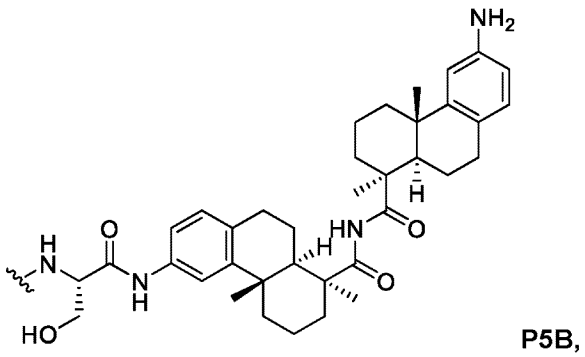
【化１０４】



P4B,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは:

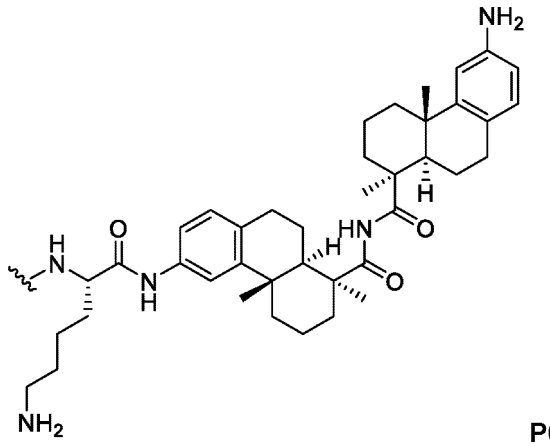
【化１０５】



P5B,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは:

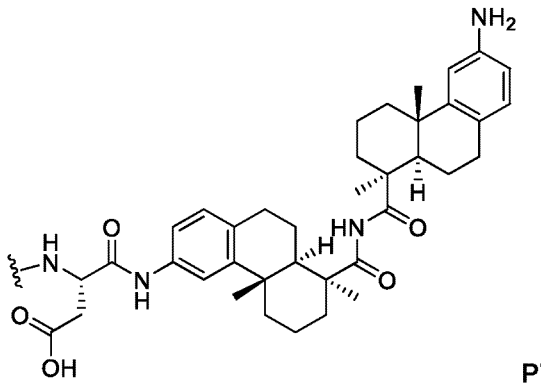
【化１０６】



P6B,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは:

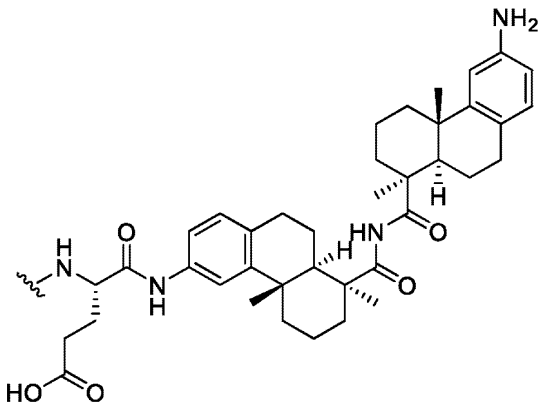
【化１０７】



P7B,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは、

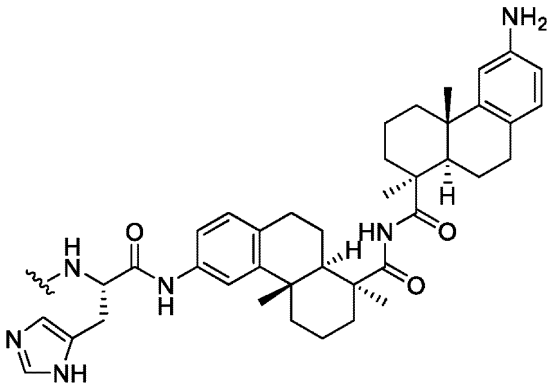
【化１０８】



P8B,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは、

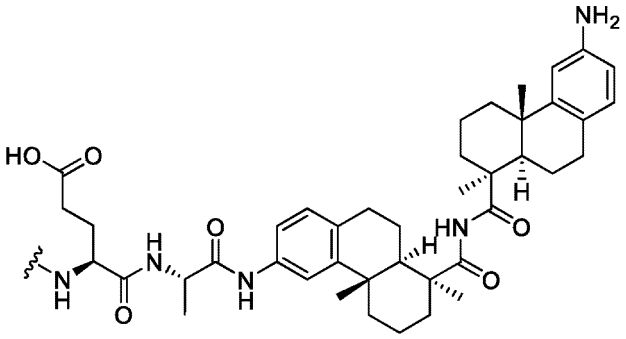
【化１０９】



P9B,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは、

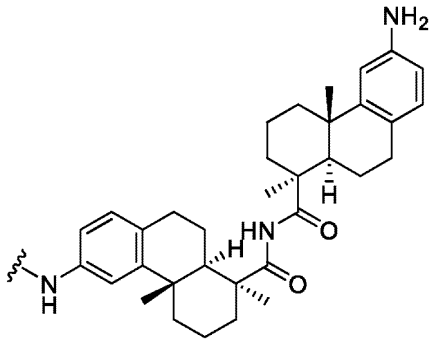
【化１１０】



P12B,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは、

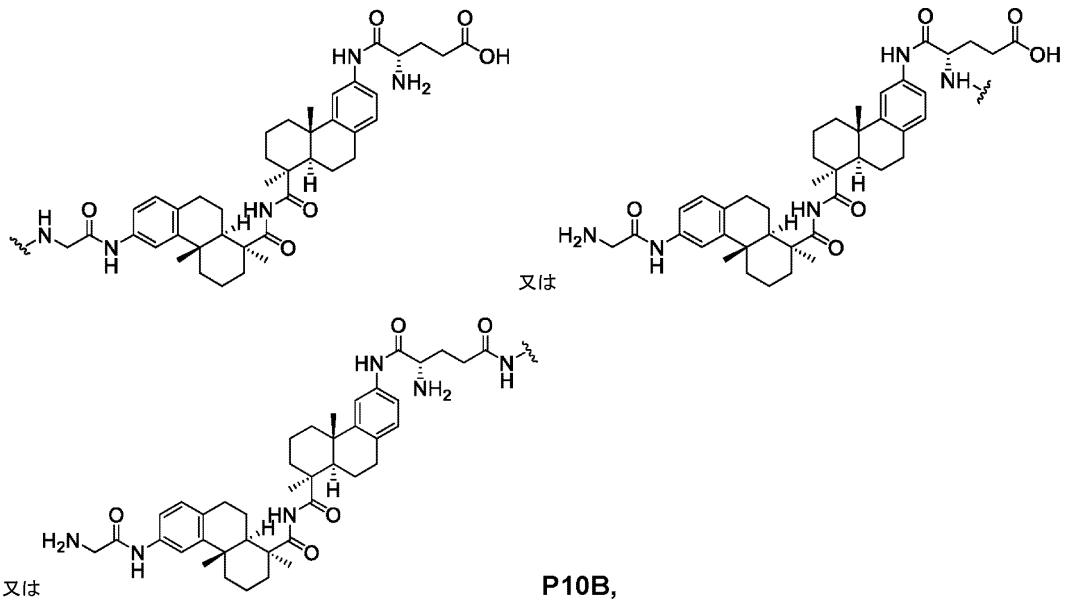
【化１１１】



P2B,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。ある実施態様において、PAは、

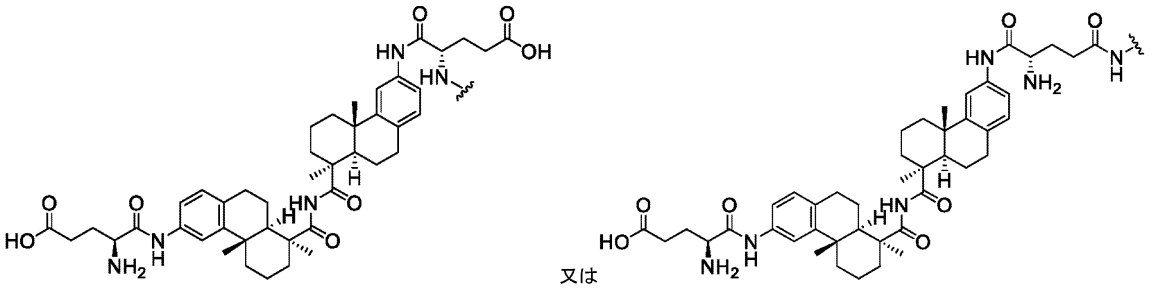
【化１１２】



P10B,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。そのような実施態様のいくつかにおいて、P10Bのカルボン酸基は、上に示されているようなアミド結合を介して、リンカーに結合している。ある実施態様において、PAは、

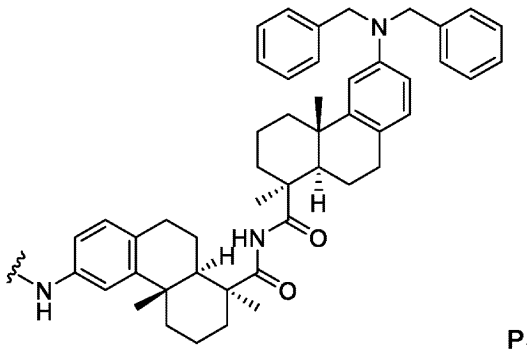
【化１１３】



P11B,

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。そのような実施態様のいくつかにおいて、P11Bのカルボン酸基は、上に示されているようなアミド結合を介して、リンカーに結合している。ある実施態様において、PAは、

【化１１４】



P3B

又はその医薬として許容し得る塩もしくは立体異性体である。この段落に記載されている任意の実施態様について、

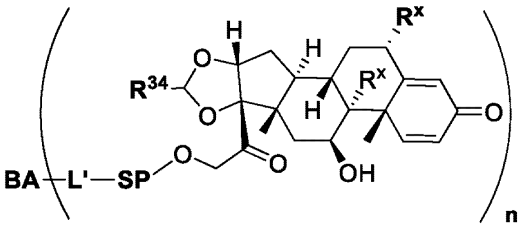
【化１１５】

中の波線は、上記のようなリンカー(例えば、L又はLL)との結合を示している。

【０２２３】

実施態様の群において、本明細書に提供されるのは、式(III)の化合物又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体である:

【化１１６】



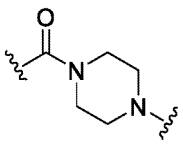
式 (III);

(式中:

R^{34}は、アルキル、アリール、アリールアルキル、又はN-含有ヘテロシクロアルキルであり;

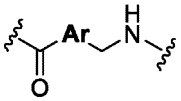
両方のR^xは水素であり;かつSPは、-C(O)-C_1-C_{10}-アルキレン-C(O)-、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-C_1-C_{10}-アルキレン-X^1-(ここで、X^1は、式(III)中のL'に付加されている)、-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-S-(ここで、Sは、式(III)中のL'に付加されている)、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-S-(ここで、Sは、式(III)中のL'に付加されている)、

【化１１７】



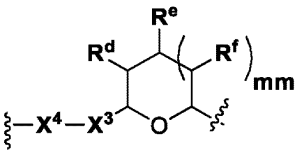
(ここで、右側にある(すなわち、Nにおける)結合点は、式(III)中のL'に対するものである)、-CH_2-NH-(ここで、Nは、式(III)中のL'に付加されている)、

【化１１８】



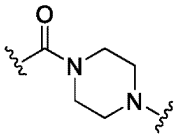
(ここで、Nは、式(III)中のL'に付加されており、かつArは、任意に置換されたアリーレン又は任意に置換されたヘテロアリーレンである)、-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(III)中のL'に付加されている)、-C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(III)中のL'に付加されており、かつ各々のC_1-C_{10}-アルキレンは、1以上のヒドロキシで独立に任意に置換されている)、-C(O)-N(R^{35})-C_1-C_{10}-アルキレン-C(O)NH-X^2-(ここで、X^2は、式(III)中のL'に付加されている)、もしくは

【化１１９】



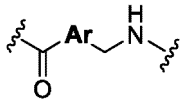
(ここで、X^4は、式(III)中のL'に付加されている)であるか;又は
両方のR^xはフルオロであり;かつSPは、-C(O)-C_1-C_{10}-アルキレン-C(O)-、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-C_1-C_{10}-アルキレン-X^{1b}-(ここで、X^{1b}は、式(III)中のLに付加されている)、-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-X^{1b}-(ここで、X^{1b}は、式(III)中のL'に付加されている)、

【化１２０】



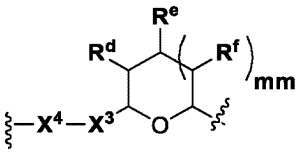
(ここで、右側にある(すなわち、Nにおける)結合点は、式(III)中のL'に対するものである)、-CH_2-NH-(ここで、Nは、式(III)中のL'に付加されている),

【化１２１】



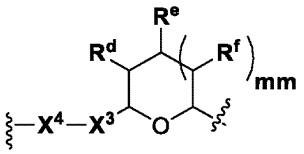
(ここで、Nは、式(III)中のL'に付加されており、かつArは、任意に置換されたアリーレン又は任意に置換されたヘテロアリーレンである)、-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(III)中のL'に付加されている)、-C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(III)中のL'に付加されており、かつ各々のC_1-C_{10}-アルキレンは、1以上のヒドロキシで独立に任意に置換されている)、-C(O)-N(R^{35})-(C_1-C_{10}-アルキレン)-C(O)NH-X^2-(ここで、X^2は、式(III)中のL'に付加されている)、もしくは

【化１２２】

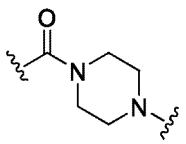


(ここで、X^4は、式(III)中のL'に付加されている)であり;かつ
X^1は、-N(C_{1-6}アルキル)-であり;
X^{1b}は、-S-、-NH-、又は-N(C_{1-6}アルキル)-であり;
X^2は、-NH-であり;
X^3は、-CH_2-であるか、X^3は、-CH_2-O-(C_1-C_{10}-アルキレン)-C(O)-(ここで、C(O)は、X^4に付加されている)であるか、又はX^3は、-C(O)-であり;
X^4は、-O-であり;
R^{35}は、H、-OH、-OCH_3、又はC_{1-6}アルキルであり;
R^{50}及びR^{50a}は、独立に、水素又はC_1-C_6-アルキルであり;R^d、R^e、及びR^fは、独立に、-H、-OH、ヒドロキシアルキル、アルコキシカルボニル、-C(O)OH、又は-CH_2OR^gであり、ここで、各々のR^gは、独立に、-CH_2C(O)OH又は-CH_2C(O)O(アルキル)であり;か

つ
mmは、0又は1であり;
nは、1～30までから選択される整数であり;
L'は、リンカーであり;かつ
BAは、結合剤である)。
【０２２４】
いくつかの実施態様において、式(III)の化合物中、両方のR^xは水素であり、かつSP、BA、L'、R^{34}、及びnは、いくつかの又は任意に実施態様において、本明細書に記載されている通りである。いくつかの実施態様において、式(III)の化合物中、両方のR^xは、フルオロであり、かつSP、BA、L'、R^{34}、及びnは、いくつかの又は任意の実施態様において、本明細書に記載されている通りである。いくつかの実施態様において、R^{34}は、R-配置のものである。いくつかの実施態様において、R^{34}は、S-配置のものである。いくつかの実施態様において、R^{34}は、R-配置とS-配置の混合物である。いくつかの実施態様において、R^{34}は、R-配置とS-配置の混合物であり、ここで、R:S混合物は、約1:1、約2:1、約3;1、約4:1、約5:1、約6;1、約7:1、約8:1、約9:1又は約10:1である。
【０２２５】
いくつかの実施態様において、式(III)の化合物であり、式中、
両方のR^xは、水素であり;かつSPは、-C(O)-C_1-C_{10}-アルキレン-C(O)-、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-C_1-C_{10}-アルキレン-X^1-(ここで、X^1は、式(III)中のL'に付加されている)、-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-S-(ここで、Sは、式(III)中のL'に付加されている)、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-S-(ここで、Sは、式(III)中のL'に付加されている)、-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(III)中のL'に付加されている)、-C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(III)中のL'に付加されており、かつ各々のC_1-C_{10}-アルキレンは、1以上のヒドロキシで独立に任意に置換されている)、-C(O)-N(R^5)-C_1-C_{10}-アルキレン-C(O)NH-X^2-(ここで、X^2は、式(III)中のL'に付加されている)、もしくは
【化１２３】



(ここで、X^4は、式(III)中のL'に付加されている)であるか;又は
両方のR^xは、フルオロであり;かつSPは、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-C_1-C_{10}-アルキレン-X^{1b}-(ここで、X^{1b}は、式(III)中のL'に付加されている)、-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-X^{1b}-(ここで、X^{1b}は、式(III)中のL'に付加されている)、
【化１２４】



(ここで、右側にある(すなわち、Nにおける)結合点は、式(III)中のL'に対するものである)、-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(III)中のL'に付加されている)、-C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(III)中のL'に付加されており、かつ各々のC_1-C_{10}-アルキレンは、1以上のヒドロキシで独立に任意に置換されている)、もしくは-C(O)-N(R^5)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-C(O)NH-X^2-(ここで、X^2は、式(III)中のL'に付加されている)

である。

【０２２６】

いくつかの実施態様において、式(I)の化合物は、式(3000)の化合物又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体である:

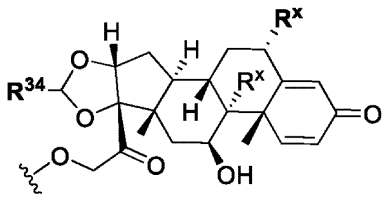
$BA-(L'-SP-D)_n$ 式(3000)

(式中、

Dは、

a)

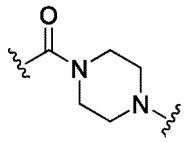
【化１２５】



式 (a)

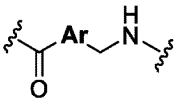
(ここで、式(a)中の両方のR^xは、水素であり; R^{34}は、アルキル、アリール、アリールアルキル、又はN-含有ヘテロシクロアルキルであり;かつSPは、$-C(O)-C_1-C_{10}$-アルキレン-C(O)-、$-C(O)-N(C_{1-6}$アルキル)$-C_1-C_{10}$-アルキレン$-X^1$-(ここで、X^1は、式(3000)中のL'に付加されている)、$-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}$-アルキレン)-S-(ここで、Sは、式(3000)中のL'に付加されている)、$-C(O)-N(C_{1-6}$アルキル)$-(C_1-C_{10}$-アルキレン)-S-(ここで、Sは、式(3000)中のL'に付加されている)、

【化１２６】



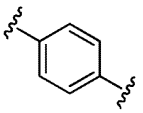
(ここで、右側にある(すなわち、Nにおける)結合点は、式(3000)中のL'に対するものである)、$-CH_2-NH-$(ここで、Nは、式(3000)中のL'に付加されている)、

【化１２７】



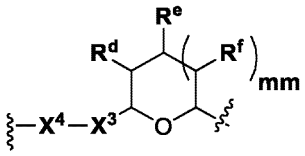
(ここで、Nは、式(3000)中のL'に付加されており、かつArは、任意に置換されたアリーレン(いくつかの実施態様において、

【化１２８】



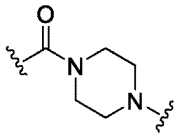
)もしくは任意に置換されたヘテロアリーレンである)、$-(C_1-C_{10}$-アルキレン$)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}$-アルキレン$)-NR^{50a}$-(ここで、$NR^{50a}$は、式(3000)中のL'に付加されている)、$-C(O)-(C_1-C_{10}$-アルキレン$)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}$-アルキレン$)-NR^{50a}$-(ここで、$NR^{50a}$は、式(3000)中のL'に付加されており、かつ各々のC_1-C_{10}-アルキレンは、独立に、1以上のヒドロキシで任意に置換されている)、$-C(O)-N(R^{35})-C_1-C_{10}$-アルキレン-C(O)NH-$X^2$-(ここで、$X^2$は、式(3000)中のL'に付加されている)、又は

【化１２９】



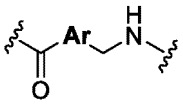
(ここで、X^4は、式(3000)中のL'に付加されている)であるか;或いは
ここで、式(a)中の両方のR^xは、フルオロであり; R^{34}は、アルキル、アリール、アリールアルキル、又はN-含有ヘテロシクロアルキルであり;かつSPは、-C(O)-C_1-C_{10}-アルキレン-C(O)-、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-C_1-C_{10}-アルキレン-X^{1b}-(ここで、X^{1b}は、式(3000)中のL'に付加されている)、-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-X^{1b}-(ここで、X^{1b}は、式(3000)中のL'に付加されている)、

【化１３０】



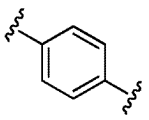
(ここで、右側にある(すなわち、Nにおける)結合点は、式(3000)中のL'に対するものである)、-CH_2-NH-(ここで、Nは、式(3000)中のL'に付加されており、

【化１３１】



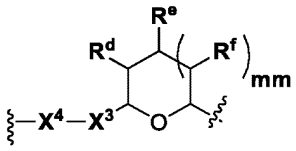
(ここで、Nは式(3000)中のL'に付加されており、かつArは、任意に置換されたアリーレン(いくつかの実施態様において、

【化１３２】



)もしくは任意に置換されたヘテロアリーレンである))、-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(3000)中のL'に付加されている)、-C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(3000)中のL'に付加されており、かつ各々のC_1-C_{10}-アルキレンは、独立に、1以上のヒドロキシで任意に置換されている)、-C(O)-N(R^{35})-(C_1-C_{10}-アルキレン)-C(O)NH-X^2-(ここで、X^2は、式(3000)中のL'に付加されている)、又は

【化１３３】



(ここで、X^4は、式(3000)中のL'に付加されている)である);並びに/或いは
b)下の表A中の化合物(ここで、表A中の化合物は、-C(O)CH_2OH基のヒドロキシを介して、すなわち、-C(O)CH_2-O-SP-L'-によって、又はマプラコラトのヒドロキシを介して、すなわち、-O-SP-L'-によって、式(III)の化合物のBAに連結されている)から選択され;
X^1は、-N(C_{1-6}アルキル)-であり;

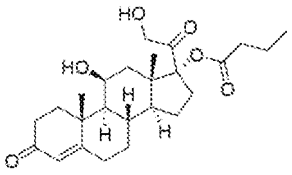
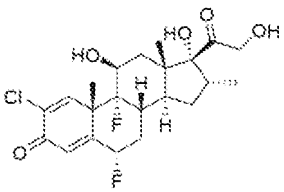
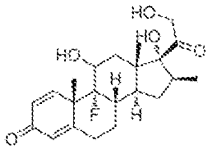
X^{1b}は、-S-、-NH-、又は-N(C_{1-6}アルキル)-であり;
X^{2}は、-NH-であり;
X^{3}は、-CH_2-であり、X^{3}は、-CH_2-O-(C_1-C_{10}-アルキレン)-C(O)-(ここで、C(O)は、X^{4}に付加されている)であるか、X^{3}は、-C(O)-であり;
X^{4}は、-O-であり;
R^{35}は、H、-OH、-OCH_3、又はC_{1-6}アルキルであり;
R^{50}及びR^{50a}は、独立に、水素又はC_1-C_6-アルキルであり;
R^{d}、R^{e}、及びR^{f}は、独立に、-H、-OH、ヒドロキシアルキル、アルコキシカルボニル、-C(O)OH、又は-CH_2OR^{g}であり、ここで、各々のR^{g}は、独立に、-CH_2C(O)OH又は-CH_2C(O)O(アルキル)であり;かつ
mmは、0又は1であり;
nは、1～30までから選択される整数であり;
L'は、リンカーであり;かつ
BAは、結合剤である)。

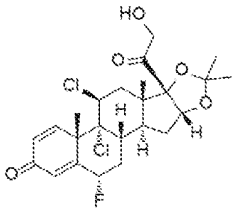
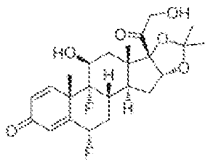
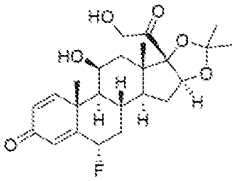
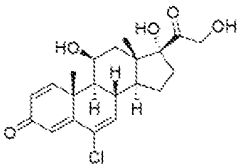
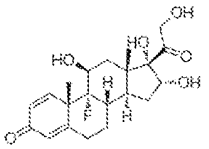
【０２２７】

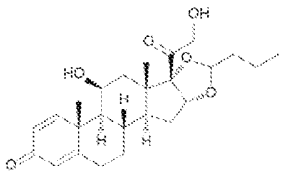
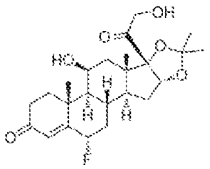
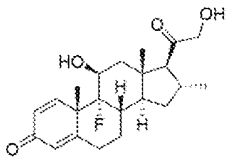
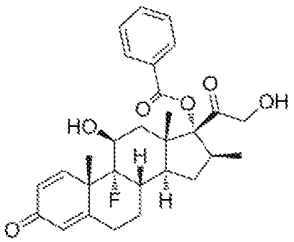
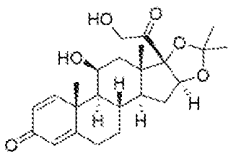
式(3000)のいくつかの例において、Dは、ブデソニド又は表Aに示されている任意の他のステロイドである。式(3000)のいくつかの例において、Dは、本明細書に記載される任意のブデソニド類似体である。表A中の化合物は、-C(O)CH_2OH基のヒドロキシを介して、すなわち、-C(O)CH_2-O-SP-L'-によって、又はマプラコラトのヒドロキシを介して、すなわち、-O-SP-L'-によって、式(III)の化合物のBAに連結されている。式(3000)のいくつかの例において、部分SP-D(又はH-SP-D)は、本明細書において、「ブデソニド-スペーサー」と呼ばれ、例えば、表B、実施例の節、及び図22のスキーム1に示されているブデソニド-スペーサー又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体を含む。

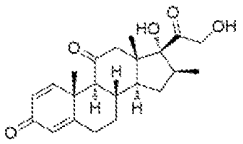
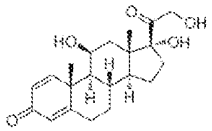
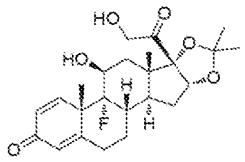
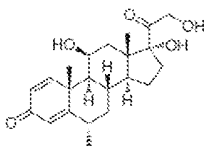
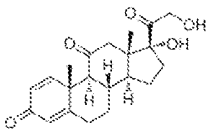
表A.

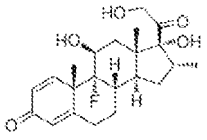
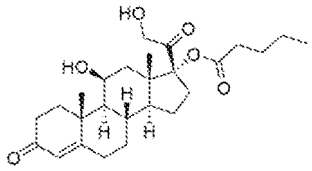
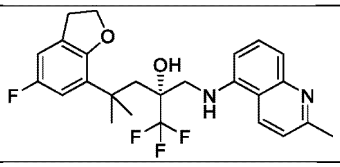
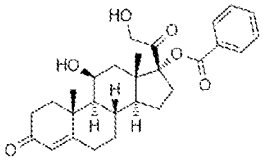
【表１】

商標名	構造
酪酸ヒドロコルチゾン Locoid（登録商標）	
ハロメタゾン Sicorten（登録商標）/ (C-48401-Ba)	
ベタメタゾン Celestone（登録商標）/Rinderon（登録商標）/ Diprosone（登録商標） (NSC-39470; Sch-4831)	

商標名	構造
フルクロロロンアセトニド Cutanit(登録商標)/Topicon(登録商標) (RS-2252)	
フルオシノロンアセトニド Flucort(登録商標)/Fluonid(登録商標)/ Iluvien(登録商標)/Retisert(登録商標)/Synalar(登録商標)/Synalar-HP(登録商標)/ Synemol(登録商標) (NSC-92339; DF-277)	
フルニソリド (RS-3999; RS-1320)	
クロプレドノール (RS-4691)	
トリアムシノロン Aristocort(登録商標)/Kenacort(登録商標)	

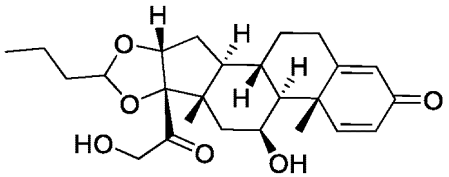
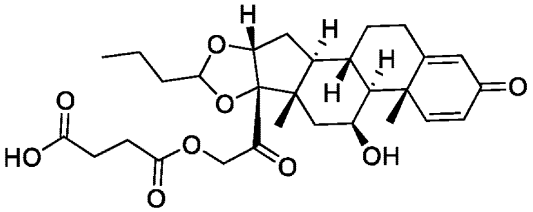
商標名	構造
ブデソニド	
フルランドレノリド Cordran（登録商標）	
デスオキシメタゾン Topicort（登録商標） (DSXS)	
安息香酸ベタメタゾン Uticort（登録商標） (W-5975)	
デソニド Desonate（登録商標） (D-2083)	

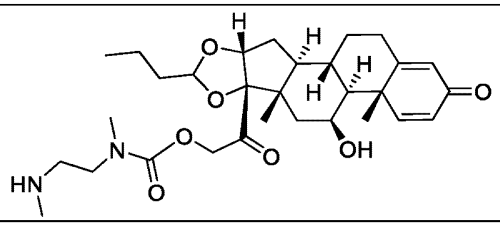
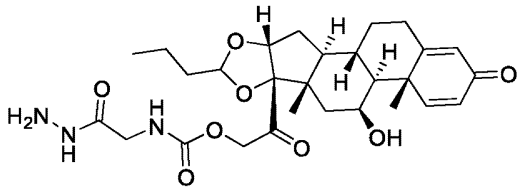
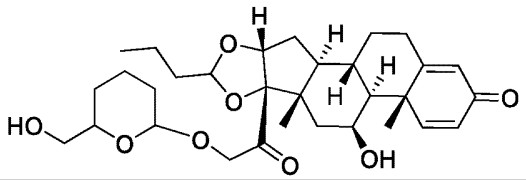
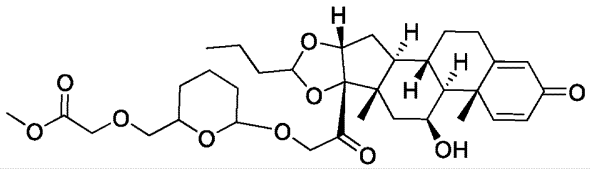
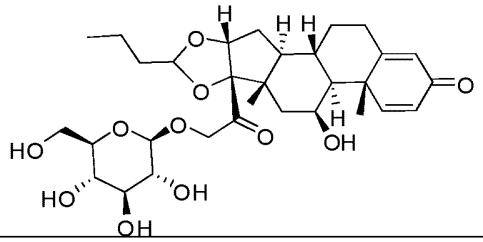
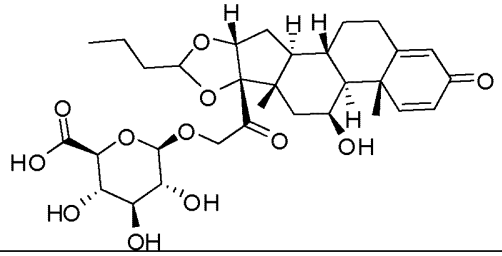
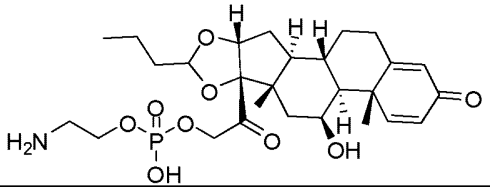
商標名	構造
メプレドニゾン (NSC-527579; Sch-4358)	
プレドニゾロン Delta-Cortef（登録商標） (NCS-9120)	
トリアムシノロンアセトニド	
メチルプレドニゾロン Depo-Medrol; Medrol; Urbason（登録商標） (NSC-19987)	
プレドニゾン Decortin(登録商標)/Deltasone(登録商標)/ Lodotra(登録商標)/Meticorten(登録商標)/ Rayos(登録商標) (NSC-10023)	

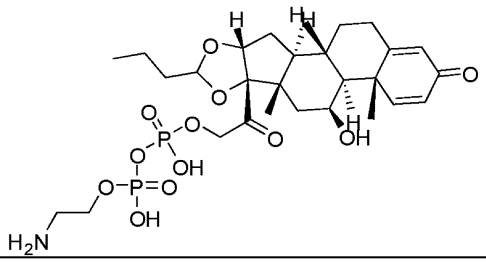
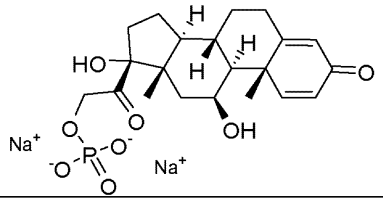
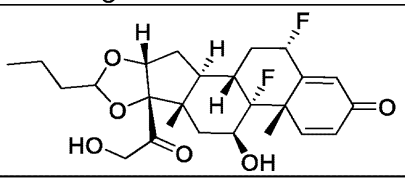
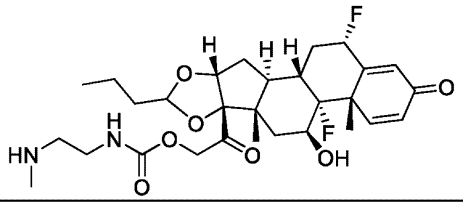
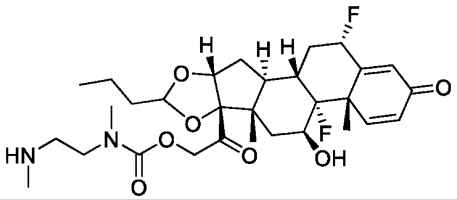
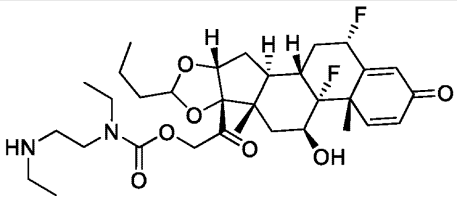
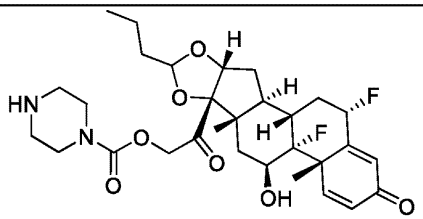
商標名	構造
デキサメタゾン Decadron（登録商標） (FT-4145; ENV-1105; IBI-10090; ISV-305; OTO-104)	
吉草酸ヒドロコルチゾン Westcort（登録商標）	
マプラコラト (BOL-242X; BOL-303242-X; ZK-245186; BAY-865319; BOL-303242-X)	
ベンゾドロコルチゾン	

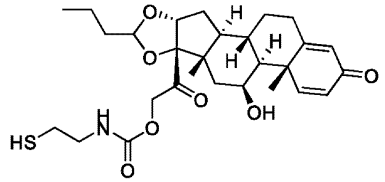
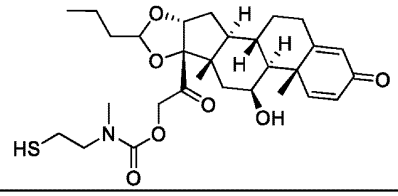
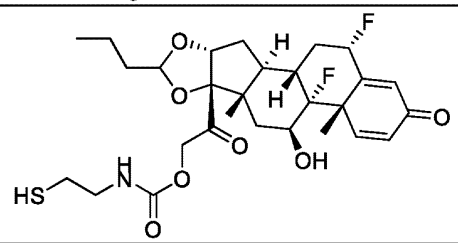
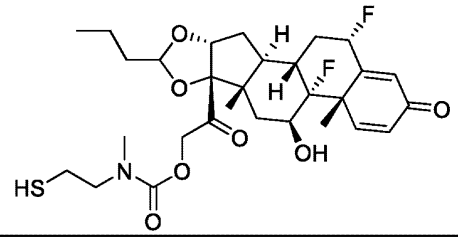
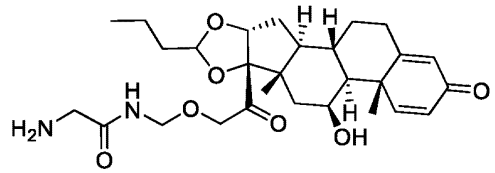
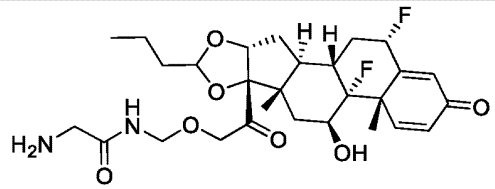
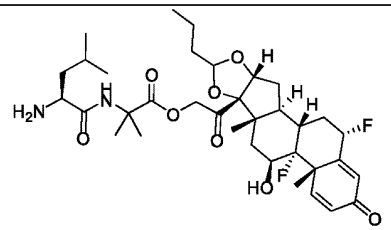
表B.ブデソニド-スペーサー(ブデソニド-SP)

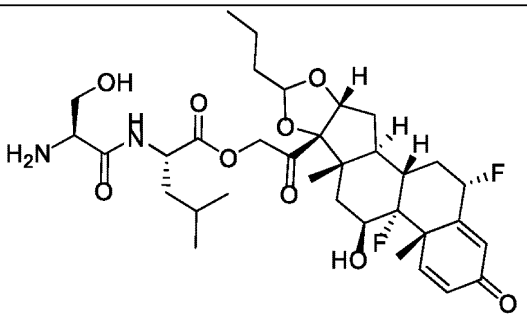
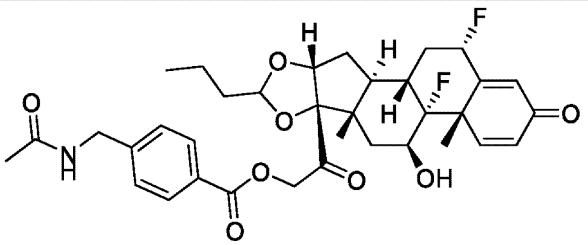
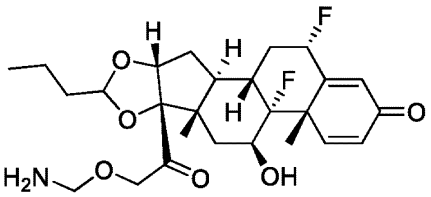
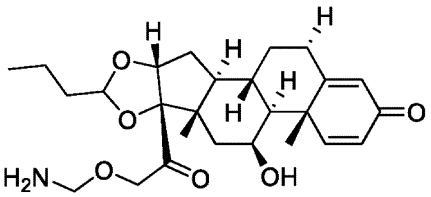
【表２】

化合物番号	構造
1a (ブデソニド)	
1c	

化合物番号	構造
1d	
1e	
1g	
1h	
1i	
1j	
1k	

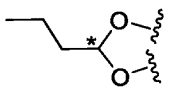
化合物番号	構造
1l	
1m	
100	
101a	
101b	
101c	
101d	

化合物番号	構造
102c	
102d	
102e	
102f	
103a	
103b	
104a	

化合物番号	構造
104b	
105aa	
106a	
107a	

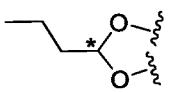
いくつかの例において、上記の構造の各々における

【化１３４】



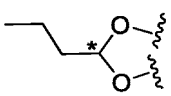
のn-プロピルは、R-配置におけるもの、すなわち、アステリスクによって示される炭素におけるものである。いくつかの例において、上記の構造の各々における

【化１３５】



のn-プロピルは、S-配置におけるもの、すなわち、アステリスクによって示される炭素におけるものである。いくつかの例において、上記の構造の各々における

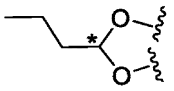
【化１３６】



のn-プロピルは、R-配置とS-配置の混合物、すなわち、アステリスクによって示される炭

素におけるものである。いくつかの例において、上記の構造の各々における

【化１３７】

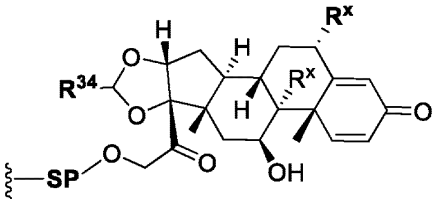


のn-プロピルは、R-配置とS-配置の混合物、すなわち、アステリスクによって示される炭素におけるものであり、ここで、R:S混合物は、約1:1、約2:1、約3;1、約4:1、約5:1、約6;1、約7:1、約8:1、約9:1、又は約10:1である。

【０２２８】

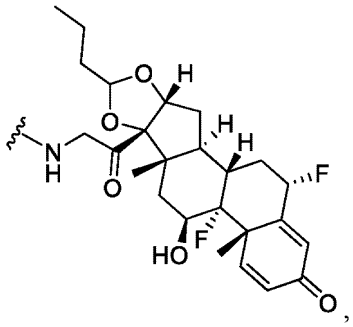
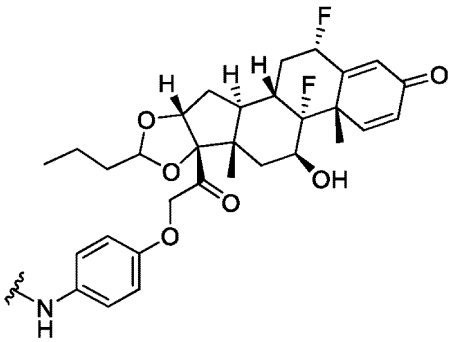
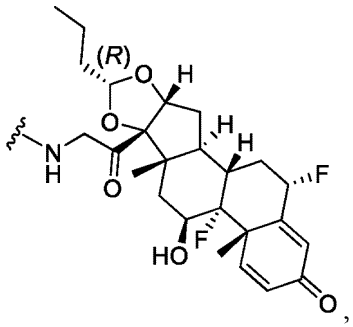
様々な実施態様において、Ab-L'-SP-Dの-SP-D又は式(3000)の

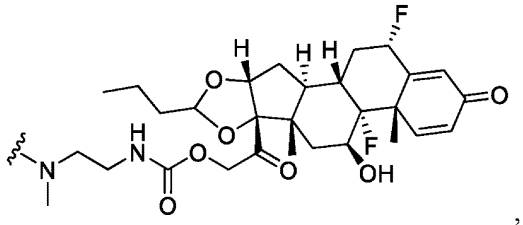
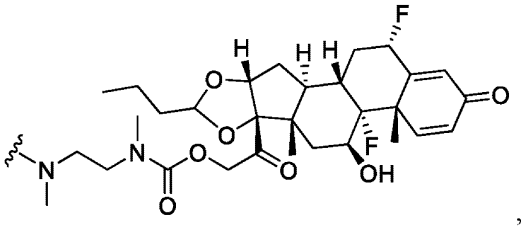
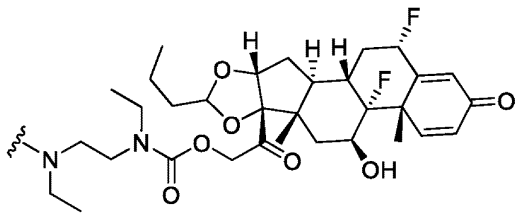
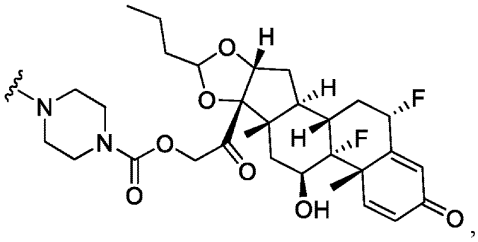
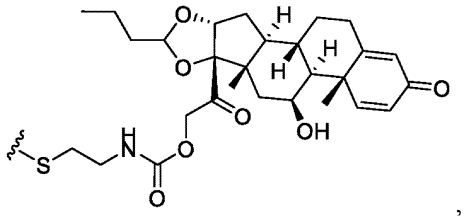
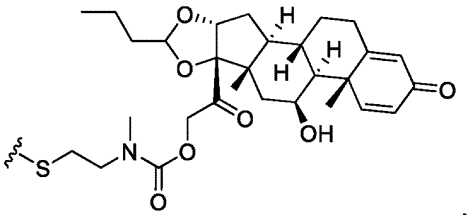
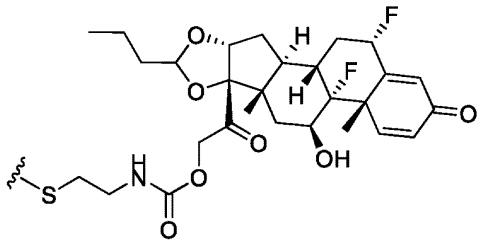
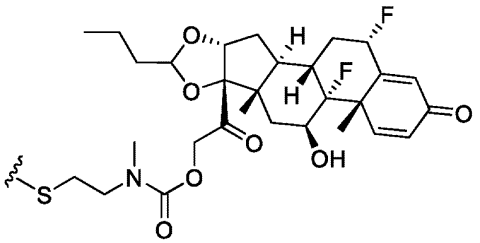
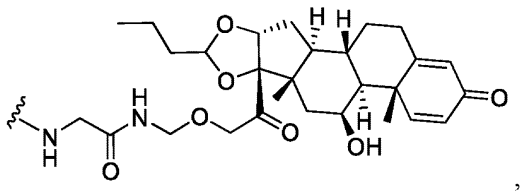
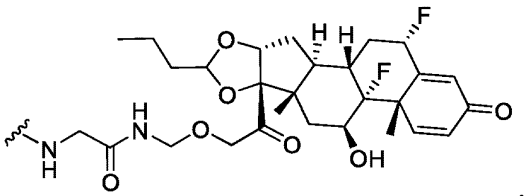
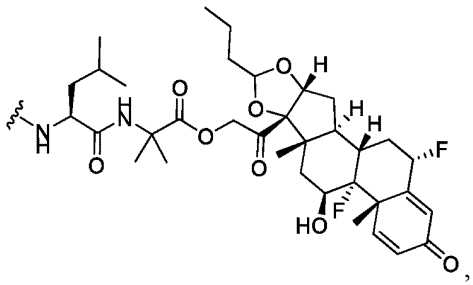
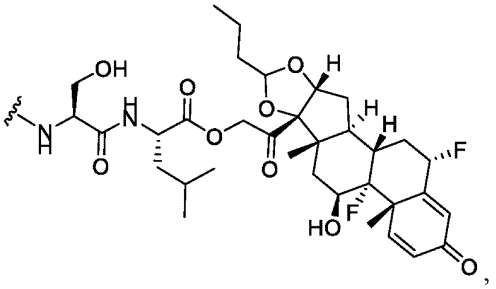
【化１３８】



は、

【化１３９】


,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

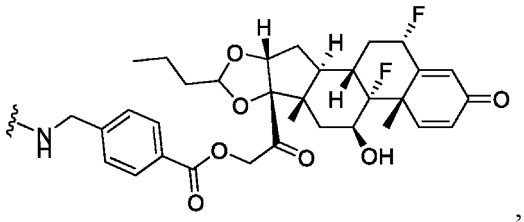
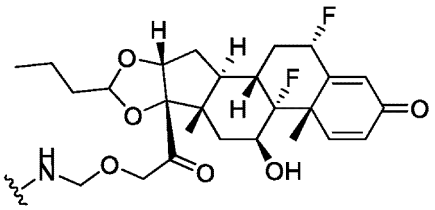
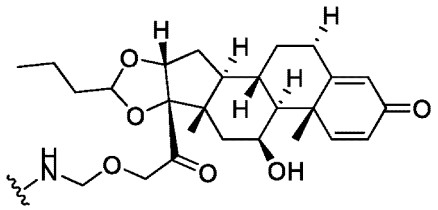
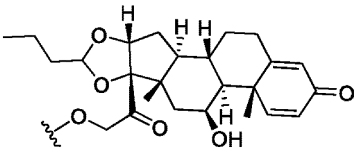
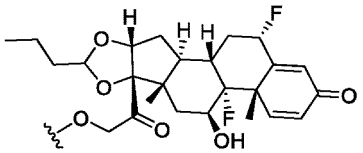
10

20

30

40

50


,

,

,

, 及び

,

から選択され、ここで、

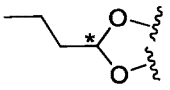
【化１４０】

は、リンカーとの結合である。

【０２２９】

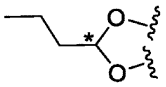
いくつかの例において、上記の構造の各々における

【化１４１】



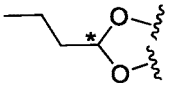
のn-プロピルは、R-配置におけるもの、すなわち、アステリスクによって示される炭素におけるものである。いくつかの例において、上記の構造の各々における

【化１４２】



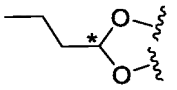
のn-プロピルは、S-配置におけるもの、すなわち、アステリスクによって示される炭素におけるものである。いくつかの例において、上記の構造の各々における

【化１４３】



のn-プロピルは、R-配置とS-配置の混合物、すなわち、アステリスクによって示される炭素におけるものである。いくつかの例において、上記の構造の各々における

【化１４４】

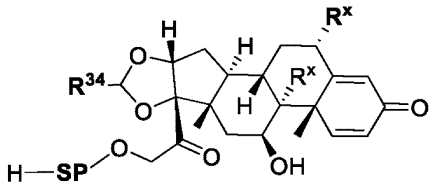


のn-プロピルは、R-配置とS-配置の混合物、すなわち、アステリスクによって示される炭素におけるものであり、ここで、R:S混合物は、約1:1、約2:1、約3;1、約4:1、約5:1、約6;1、約7:1、約8:1、約9:1、又は約10:1である。

【０２３０】

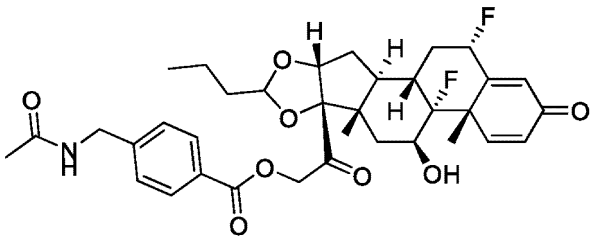
様々な実施態様において、

【化１４５】

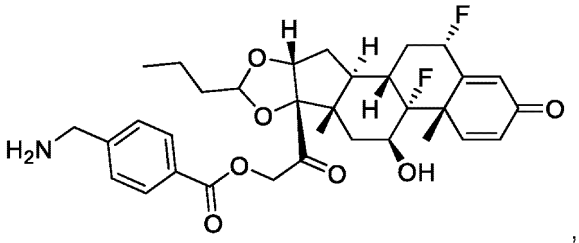


は、表Bから選択されるか、又は

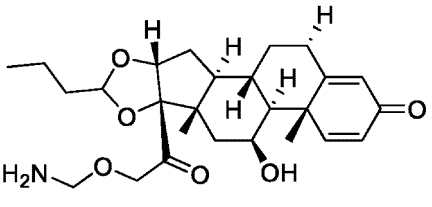
【化１４６】



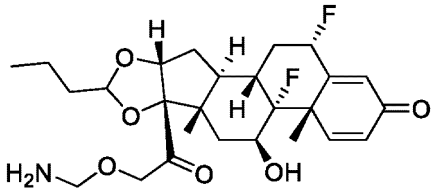
,



,



, 又は

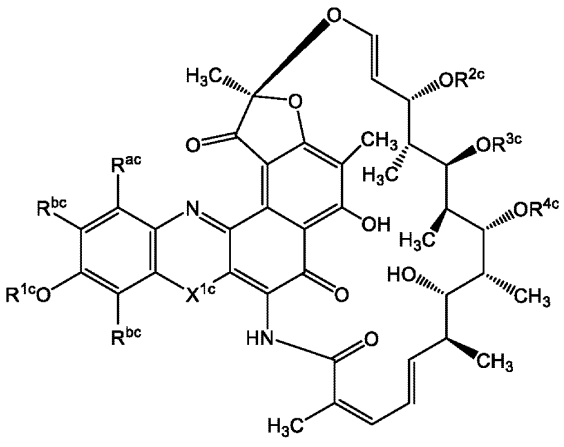


から選択される。

【０２３１】

いくつかの実施態様において、ペイロードは、式(C)の構造を有するリファマイシン類似体:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である;

【化１４７】



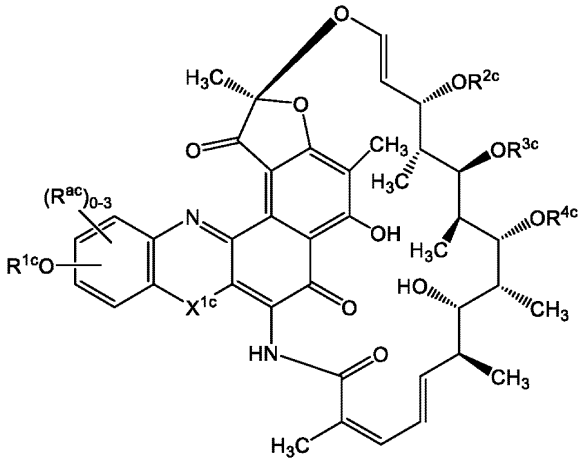
式 (C)

(式中:
X^{1c}は、-O-、-S--、及び-NR^{5c}から選択され;
R^{1c}は、水素;アミノ-C_{1-6}アルキル; C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ジ-C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ヒドロキシ-C_{1-6}アルキル; HS-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-$N(R^{5c})$-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-O-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-S-C_{1-6}アルキル;ヘテロシクロアルキル、又はヘテロシクロアルキル-C_{1-6}アルキルであり;ここで、ヘテロシクロアルキルは、O、N、及びSから選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み;かつここで、ヘテロシクロアルキルは、ハロ、C_{1-6}アルキル、-OH、=O、又は-$N(R^{5c})_2$で任意に置換されており;
R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;
R^{ac}は、-F; -Cl; -Br; -I; -OH; -NH_2;及びC_{1-6}アルコキシから選択され;
R^{bc}は、出現する毎に、水素であり;かつ
R^{5c}は、出現する毎に独立に、水素;及びC_{1-6}アルキルから選択され;
ただし、R^{1c}は、n-ブチル基ではなく;かつ
さらに、ただし、X^{1c}が-O-であるとき、R^{1c}は、水素ではなく;
ここで、基R^{1c}は、リンカーに結合している)。

【０２３２】

いくつかの実施態様において、ペイロードは、式(C-1)の構造を有するリファマイシン類似体:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である;

【化１４８】



式 (C-1)

(式中:
X^{1c}は、-S-; -O-及び-NR^{5c}から選択され;

R^{1c}は、アミノ-C_{1-6}アルキル; C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ジ-C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ヒドロキシ-C_{1-6}アルキル; HS-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-$N(R^{5c})$-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-O-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-S-C_{1-6}アルキル;ヘテロシクロアルキル、又はヘテロシクロアルキル-C_{1-6}アルキルであり;ここで、ヘテロシクロアルキルは、O、N、及びSから選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み;かつここで、ヘテロシクロアルキルは、ハロ、C_{1-6}アルキル、-OH、=O、又は-$N(R^{5c})_2$で任意に置換されており;

R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;

各々のR^{ac}は、存在する場合、独立に、-F; -Cl; -Br; -I; -OH; -NH_2;及びC_{1-6}アルコキシから選択され;かつ

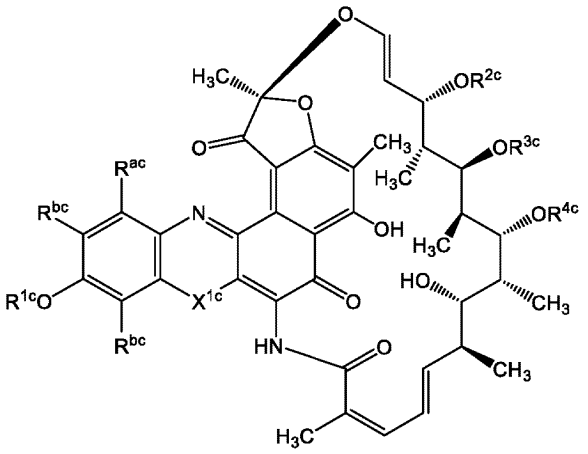
R^{5c}は、出現する毎に独立に、水素;及びC_{1-6}アルキルから選択され;

ここで、基R^{1c}は、リンカーに結合している)。

【０２３３】

いくつかの実施態様において、ペイロードは、式(C-2)の構造を有するリファマイシン類似体:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である;

【化１４９】



式 (C-2)

(式中:

X^{1c}は、-S-; -O-及び-NR^{5c}から選択され;

R^{1c}は、アミノ-C_{1-6}アルキル; C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ジ-C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ヒドロキシ-C_{1-6}アルキル; HS-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-$N(R^{5c})$-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-O-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-S-C_{1-6}アルキル;ヘテロシクロアルキル、又はヘテロシクロアルキル-C_{1-6}アルキルであり;ここで、ヘテロシクロアルキルは、O、N、及びSから選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み;かつここで、ヘテロシクロアルキルは、ハロ、C_{1-6}アルキル、-OH、=O、又は-$N(R^{5c})_2$で任意に置換されており;

R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;

R^{ac}及びR^{bc}は、独立に、-F; -Cl; -Br; -I; -OH; -NH_2;及びC_{1-6}アルコキシから選択され;かつ

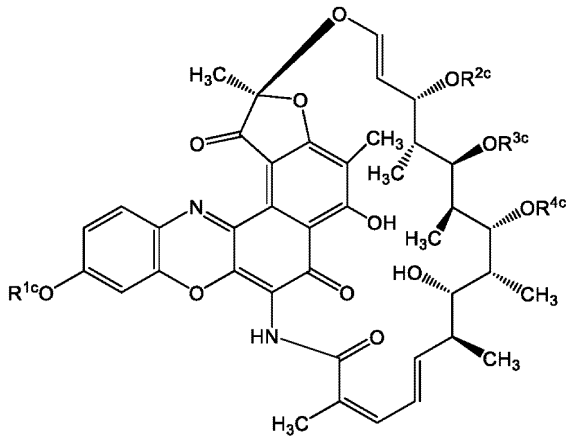
R^{5c}は、出現する毎に独立に、水素;及びC_{1-6}アルキルから選択され;

ここで、基R^{1c}は、リンカーに結合している)。

【０２３４】

いくつかの実施態様において、ペイロードは、式(C-3)の構造を有するリファマイシン類似体:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である;

【化１５０】



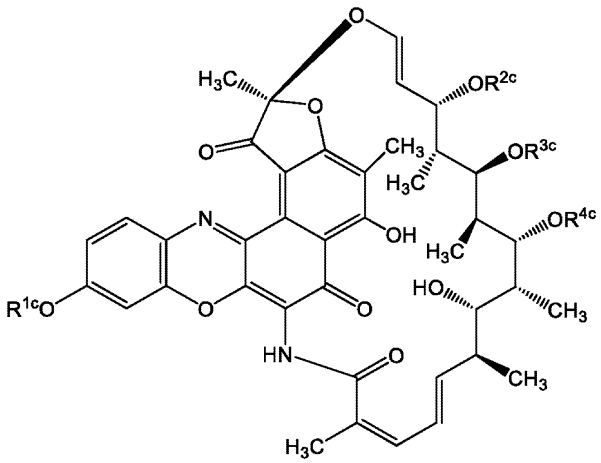
式 (C-3)

(式中:
R^{1c}は、ジ-C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-N(R^{5c})-C_{1-6}アルキル;ヘテロシクロアルキル、又はヘテロシクロアルキル-C_{1-6}アルキルであり;ここで、ヘテロシクロアルキルは、O、N、及びSから選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み;かつここで、ヘテロシクロアルキルは、ハロ、C_{1-6}アルキル、-OH、=O、又は-N(R^{5c})$_2$で任意に置換されており;かつ
R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;かつ
R^{5c}は、水素及びC_{1-6}アルキルから選択され;
ここで、基R^{1c}は、リンカーに結合している)。

【０２３５】

いくつかの実施態様において、ペイロードは、式(C-4)の構造を有するリファマイシン類似体:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である;

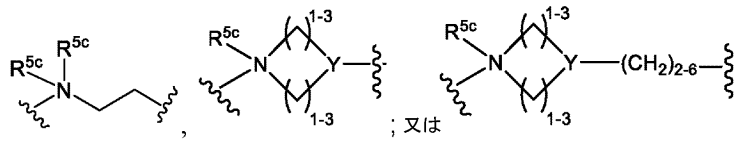
【化１５１】



式 (C-4)

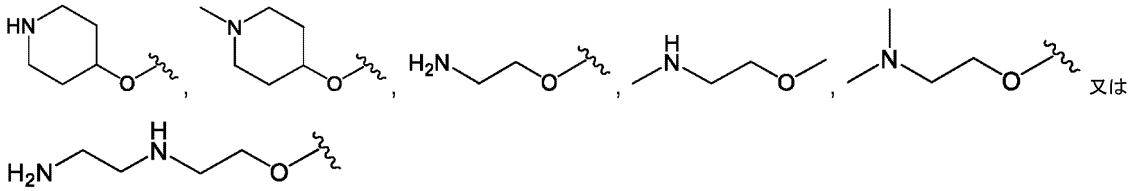
(式中:
R^{1c}は、

【化１５２】

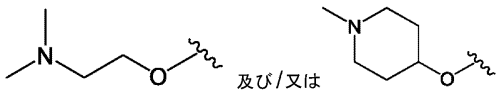


であり;
ここで、Yは、C又はNであり;
R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;かつ
R^{5c}は、水素及びC_{1-6}アルキルから選択され;
ここで、基R^{1c}は、波線
【化１５３】

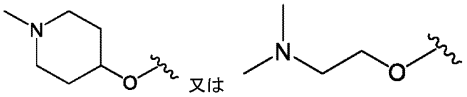
によって示される窒素原子を介して、リンカーに結合している)。
【０２３６】
式(C-1)及び/又は(C-2)及び/又は(C-3)及び/又は(C-4)のいくつかの又は任意の実施態様において、R^{bc}は、水素であり、及び/又はR^{ac}は、水素である。式(C-1)及び/又は(C-2)及び/又は(C-3)及び/又は(C-4)のいくつかの又は任意の実施態様において、R^{2c}は、メチル、エチル、プロピル、又はイソプロピル、好ましくは、メチルである。式(C-1)及び/又は(C-2)及び/又は(C-3)及び/又は(C-4)のいくつかの又は任意の実施態様において、R^{3c}は、CH_3-(C=O)-(アセチル)基、CH_3CH_2-(C=O)-、$CH_3CH_2CH_2$-(C=O)-、又は$(CH_3)_2CH$-(C=O)-;好ましくは、アセチルである。式(C-1)及び/又は(C-2)及び/又は(C-3)及び/又は(C-4)のいくつかの又は任意の実施態様において、R^{4c}は、水素である。
【０２３７】
式(C-1)及び/又は(C-2)及び/又は(C-3)及び/又は(C-4)のいくつかの実施態様において、-OR^{1c}は、
【化１５４】



のうちの1つ又は複数である。式(C-1)及び/又は(C-2)及び/又は(C-3)及び/又は(C-4)のいくつかの実施態様において、-OR^{1c}は、
【化１５５】



である。
【０２３８】
式(C-1)及び/又は(C-2)及び/又は(C-3)及び/又は(C-4)のいくつかの又は任意の実施態様において、X^{1c}は、Oであり、かつ-OR^{1c}は、三級アミンを含み、該三級アミンは、リンカーに結合した後、四級アミンに変化する。そのような実施態様のいくつかにおいて、-OR^{1c}は、
【化１５６】



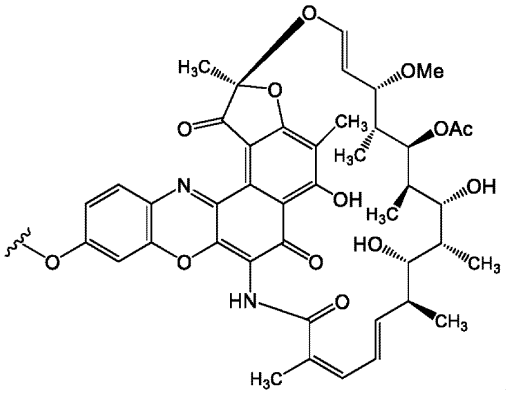
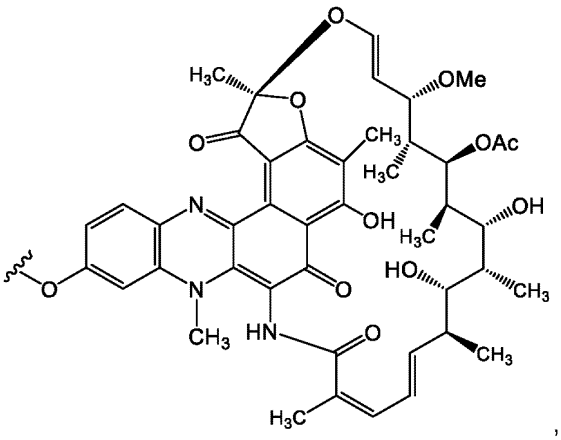
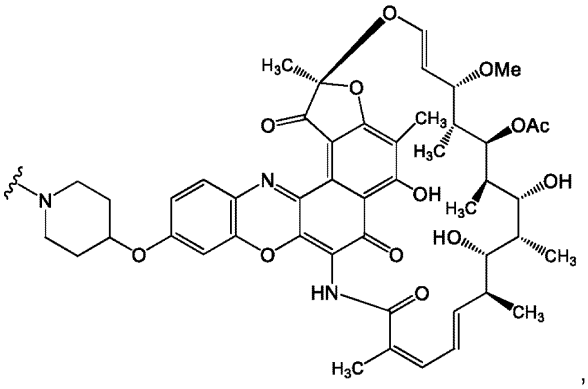
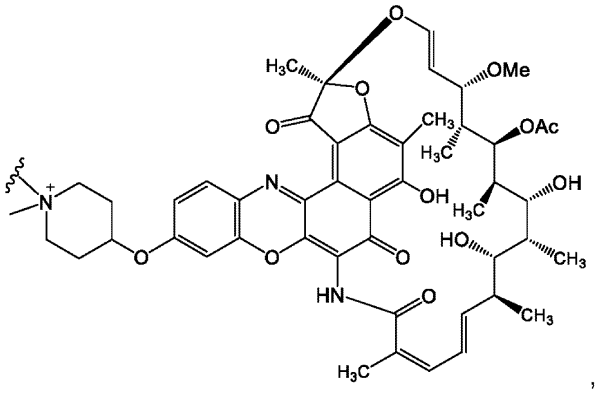
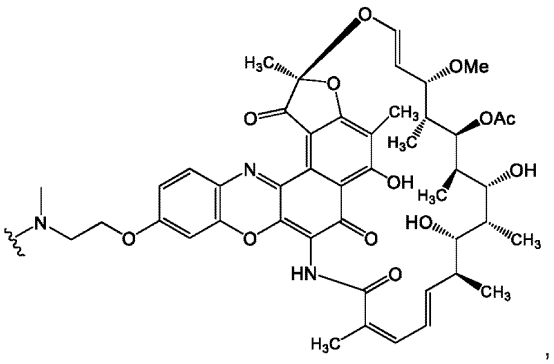
である。そのような実施態様において、四級アミンが形成される場合、好適な対イオンが存在する、すなわち、リファマイシン類似体が、正電荷を担持する四級アミンを含む医薬

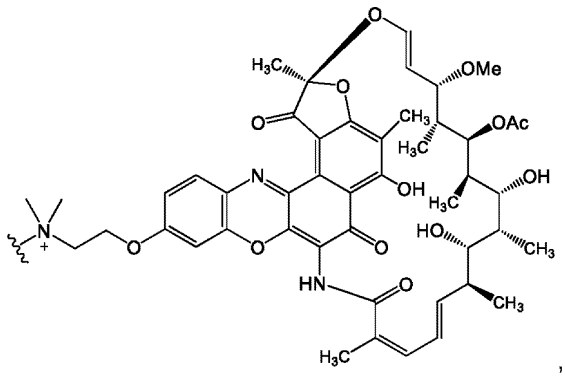
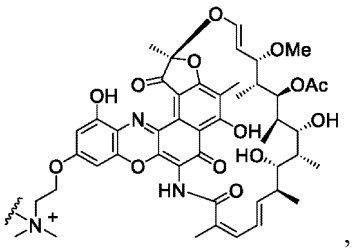
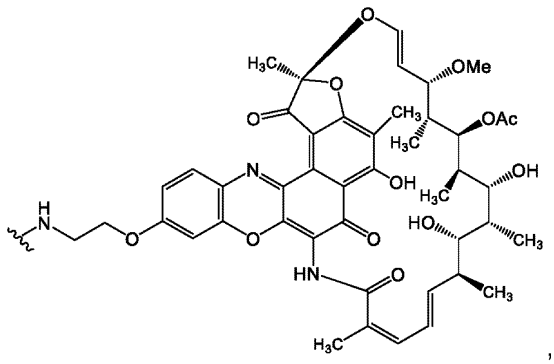
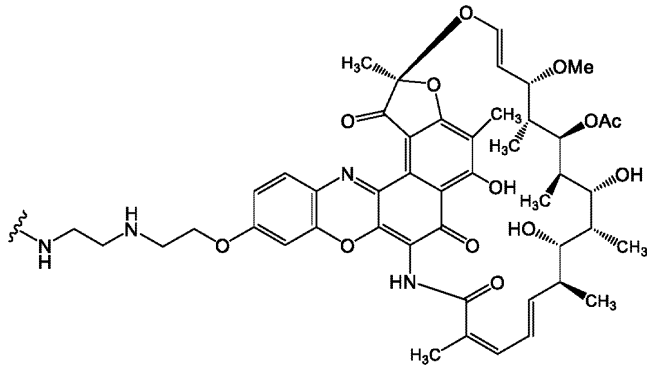
として許容し得る塩として、及び塩、例えば、負電荷を帯びた電荷平衡対イオン(例えば、I^-、Br^-、Cl^-、又は任意の他の好適な対イオン)として存在する。

【０２３９】

いくつかの実施態様において、式(C-1)及び/又は(C-2)及び/又は(C-3)及び/又は(C-4)の化合物は:

【化１５７】


,

,

,

,

,


,

,

，及び


からなる群から選択され、

ここで、

【化１５８】

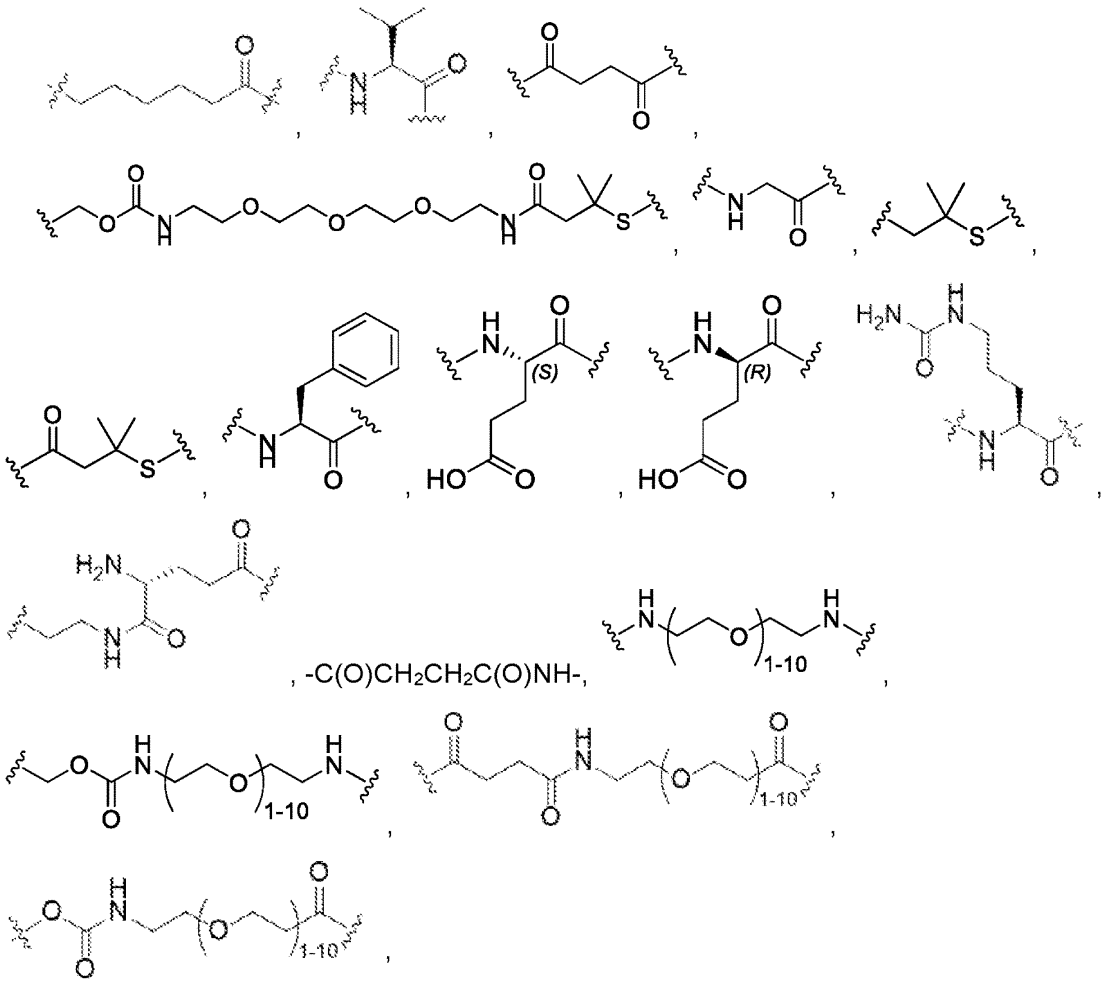
は、リンカーとの結合である。

【０２４０】

(リンカー)

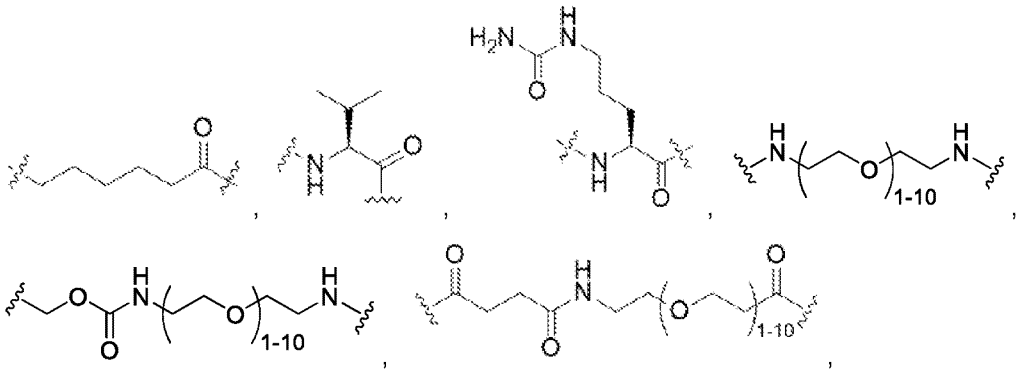
式(I)、(III)、又は(3000)のいくつかの実施態様において、Lは、$-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$を含み、かつL^2は、

【化１５９】



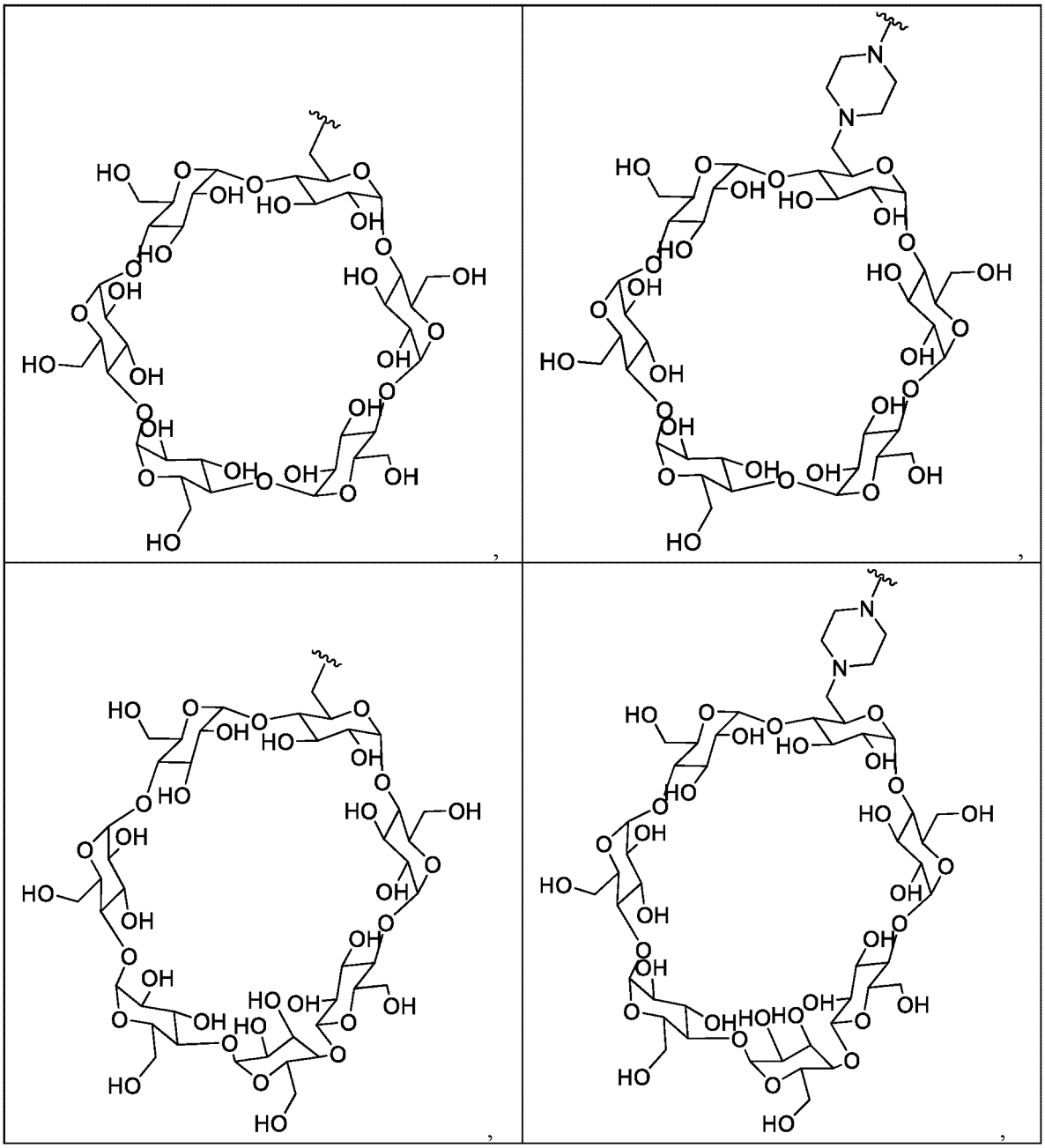
-$OCH_2C(O)$-、もしくはシクロデキストリン残基(CD);又はその組合せを含む。いくつかの実施態様において、Lは、-L^1-L^2-$(L^3)_{0-1}$-を含み、かつL^2は、

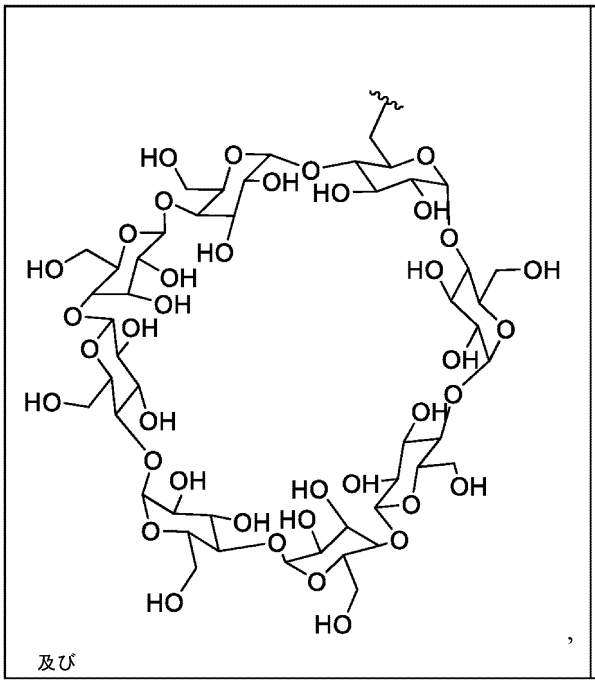
【化１６０】

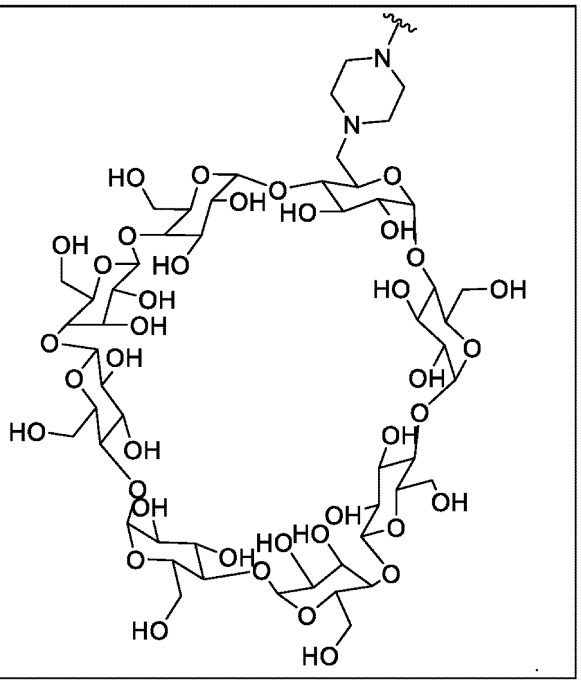


もしくはCD、又はそれらの組合せを含む。いくつかの実施態様において、Lは、-L^1-L^2-$(L^3)_{0-1}$-を含み、かつL^2はCDを含む。いくつかの実施態様において、L及び/又はL^2がCDを含む場合、CDは、

【化１６１】




,


.

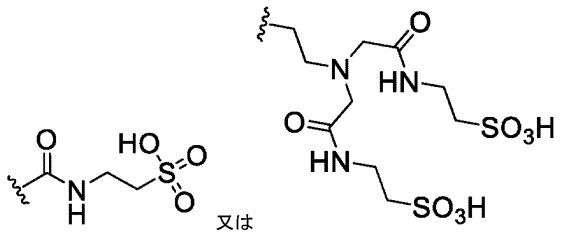
及び

からなる群から選択される。

【０２４１】

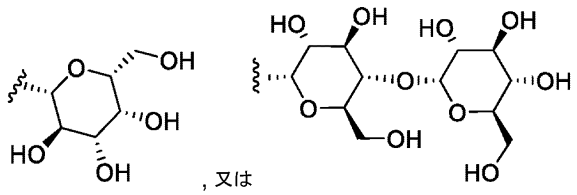
式(I)、(III)、又は(3000)のいくつかの実施態様において、Lは、$-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$を含み、かつL^2は、本明細書に記載されるHGを含む。いくつかの実施態様において、L及び/又はL^2は、

【化１６２】


又は

を含む。いくつかの実施態様において、L及び/又はL^2は、

【化１６３】

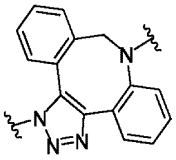

, 又は

を含む。

【０２４２】

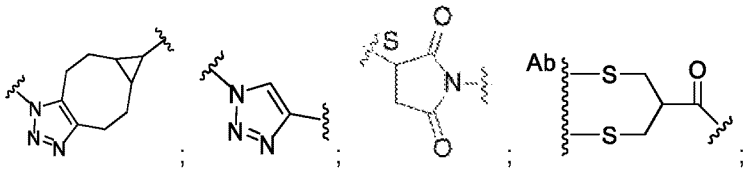
式(I)、(III)、又は(3000)のいくつかの実施態様において、Lは、$-L^1-L^2-(L^3)_{0-1}-$を含み、かつL^1は、

【化１６４】



又はその位置異性体もしくは異性体の混合物;

【化１６５】



或いはその立体異性体もしくは立体異性体の混合物(ここで、Sは、それを介して反応基残基がBAに付加されているシステイン残基上のS原子を表す);及び

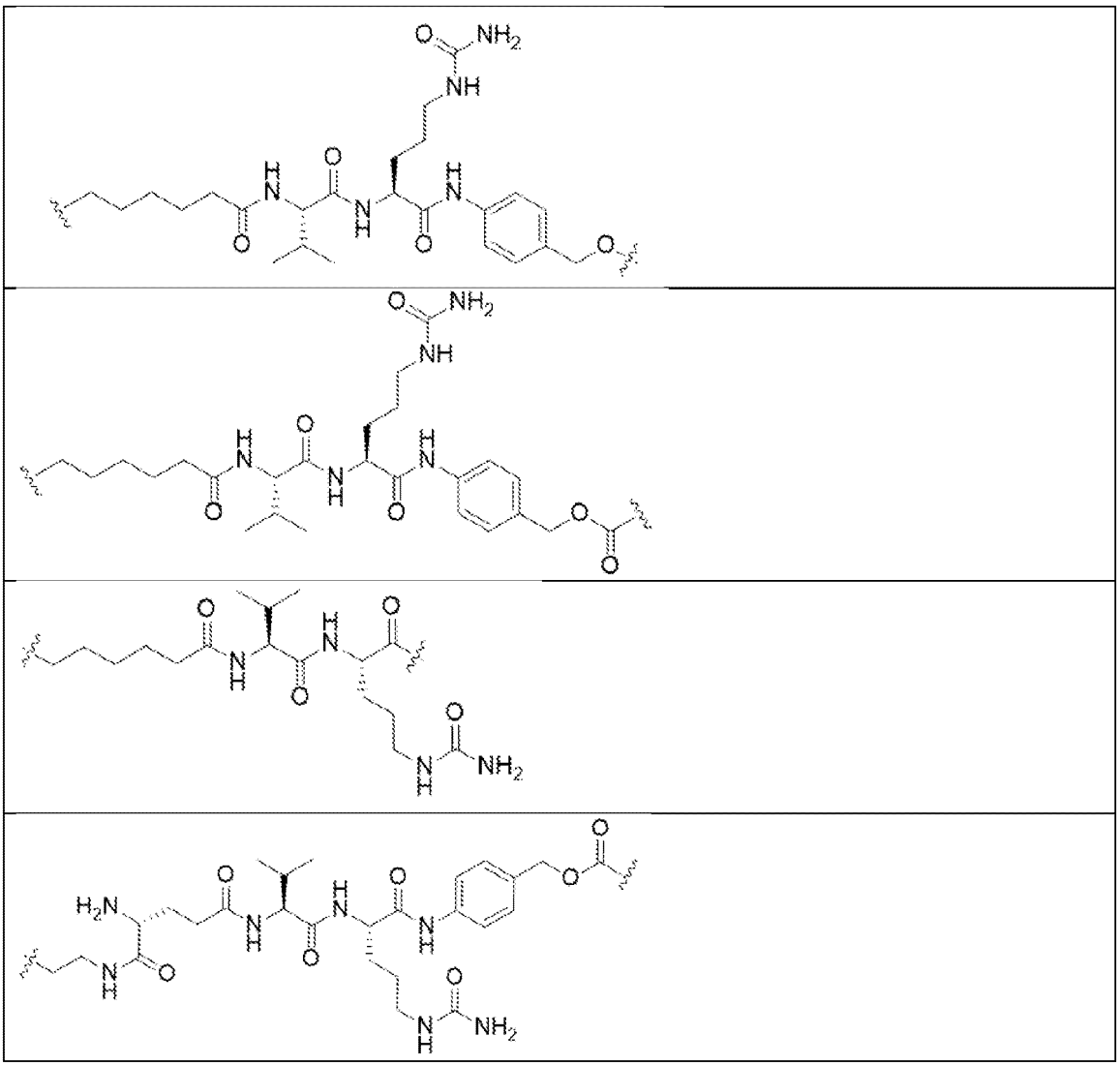
【化１６６】

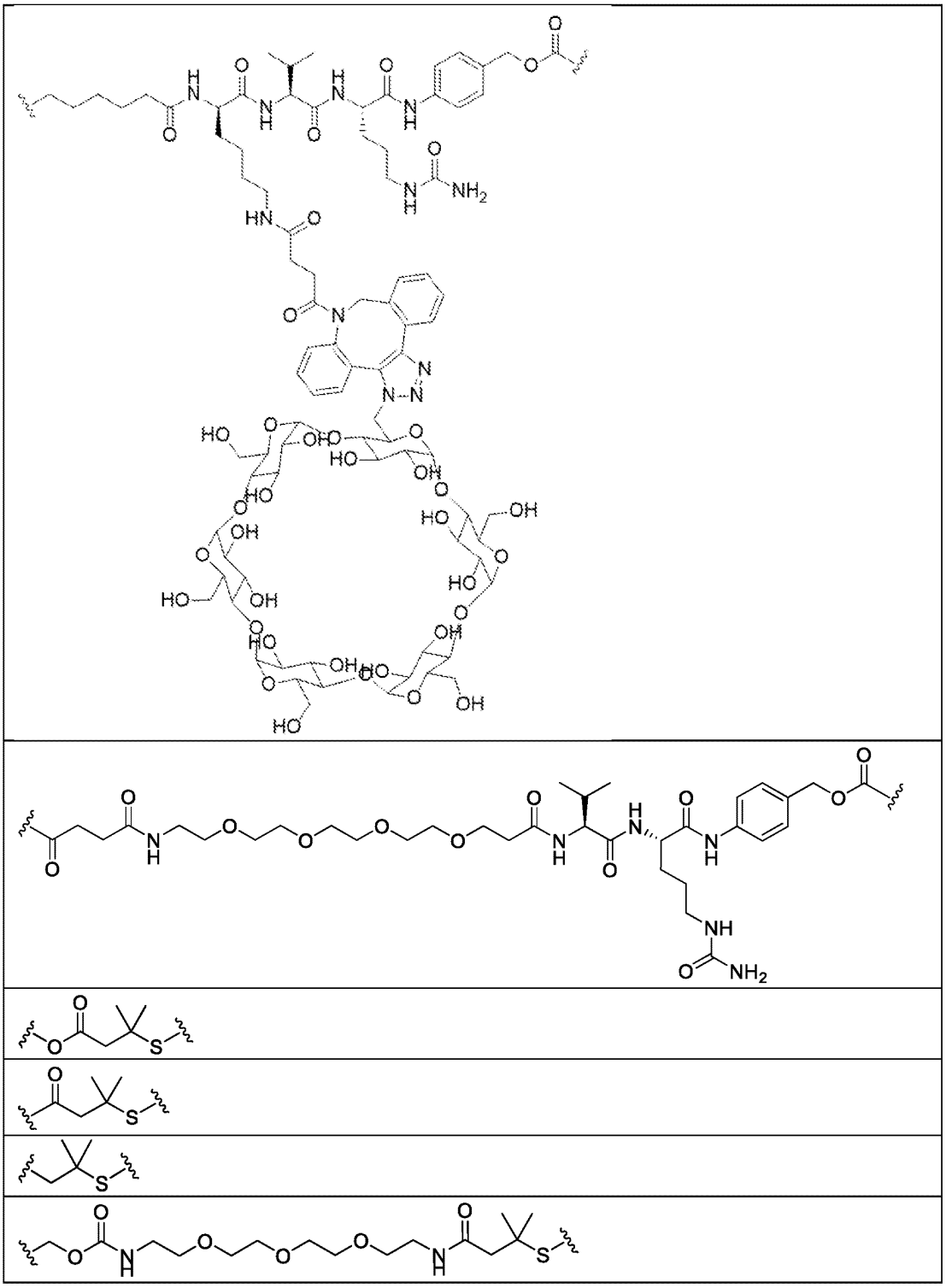
(ここで、Nは、それを介して反応基残基がBAに付加されているリジン残基上のN原子を表す)から選択される。

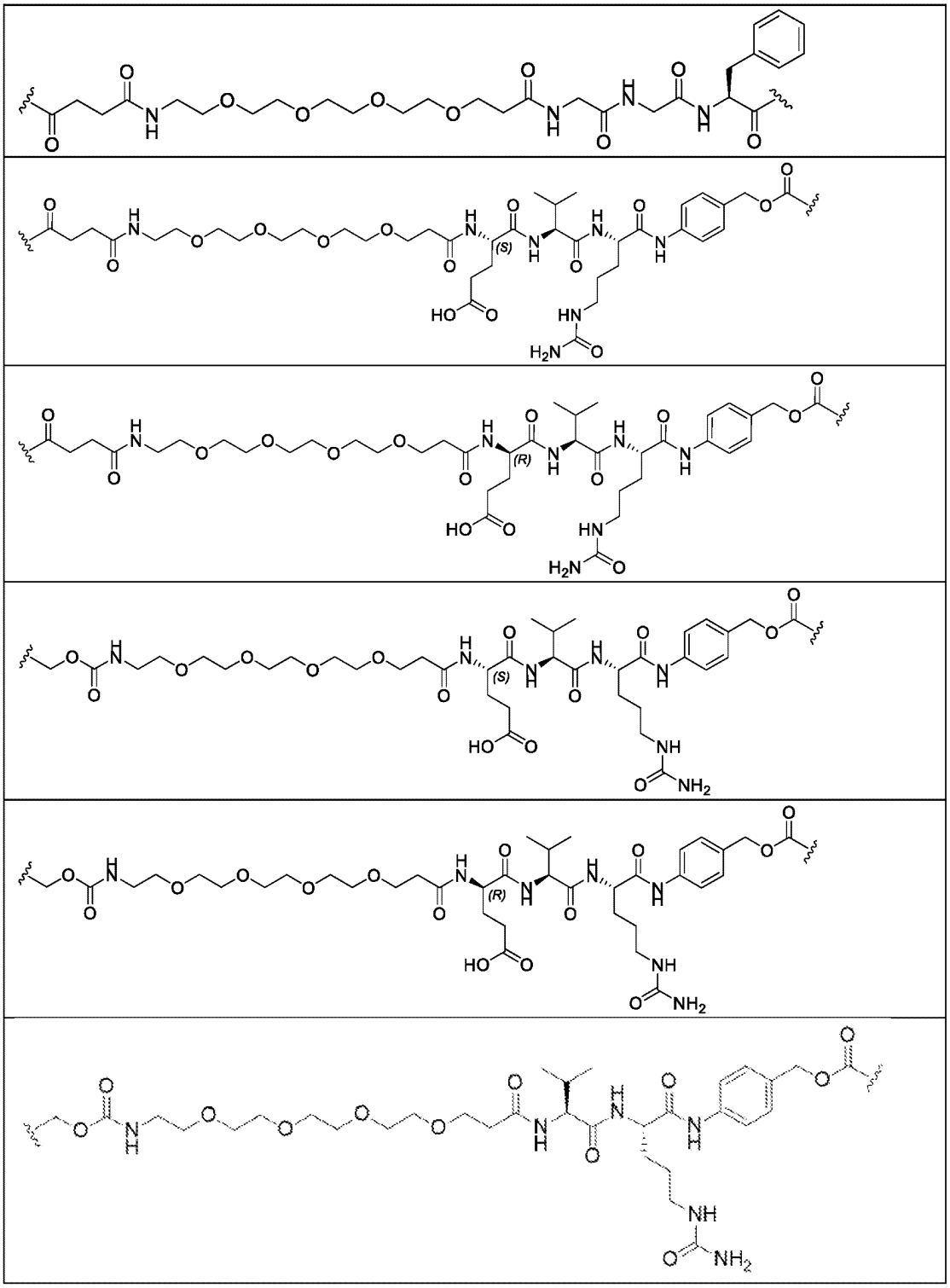
【０２４３】

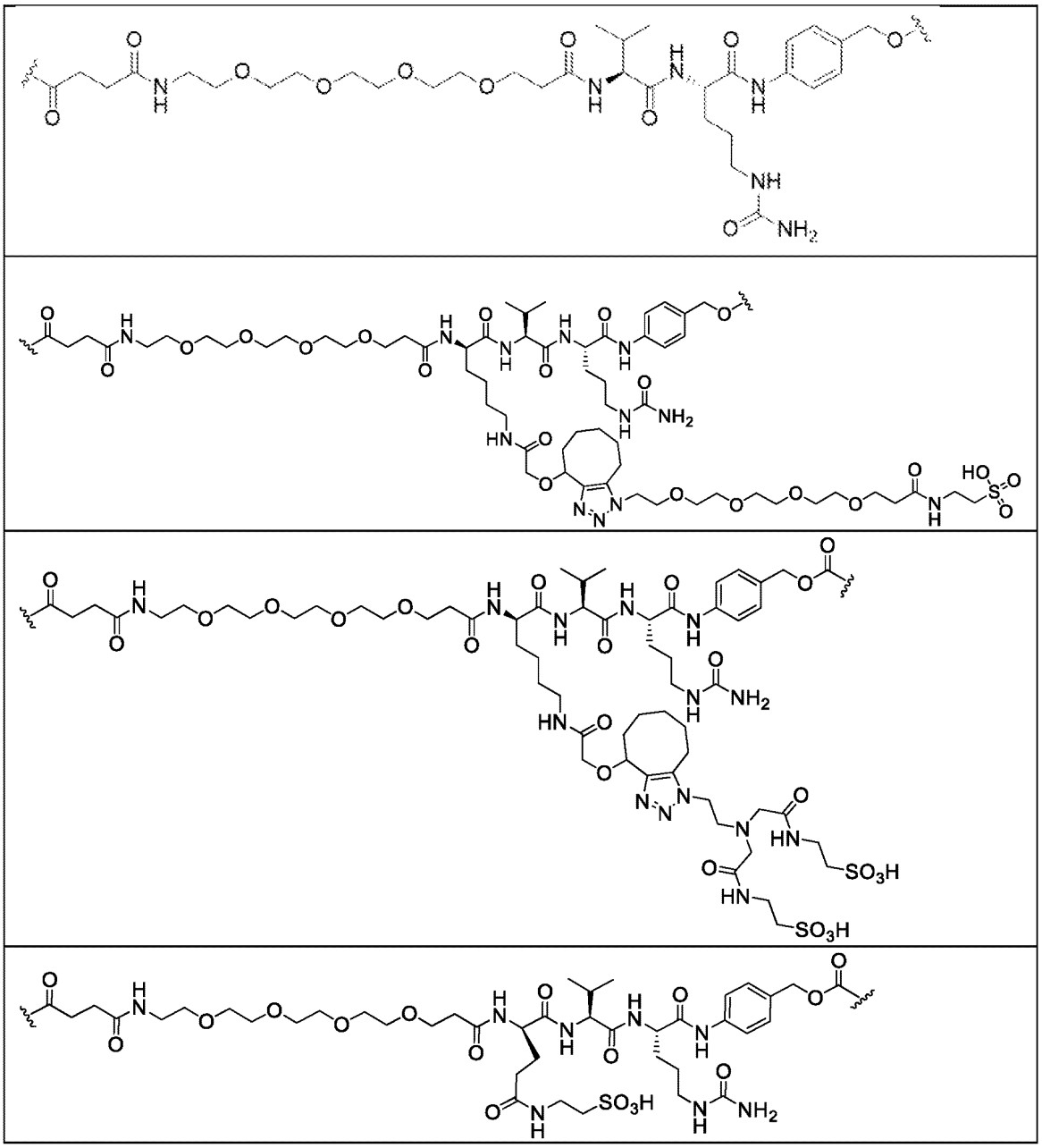
いくつかの実施態様において、Lは、本明細書に記載される-L^1-L^2-$(L^3)_{0-1}$-及び-L^2-$(L^3)_{0-1}$-を含む。いくつかの実施態様において、Lは、式(III)及び式(3000)について本明細書に記載されるL'-SPである。いくつかの実施態様において、Lは:

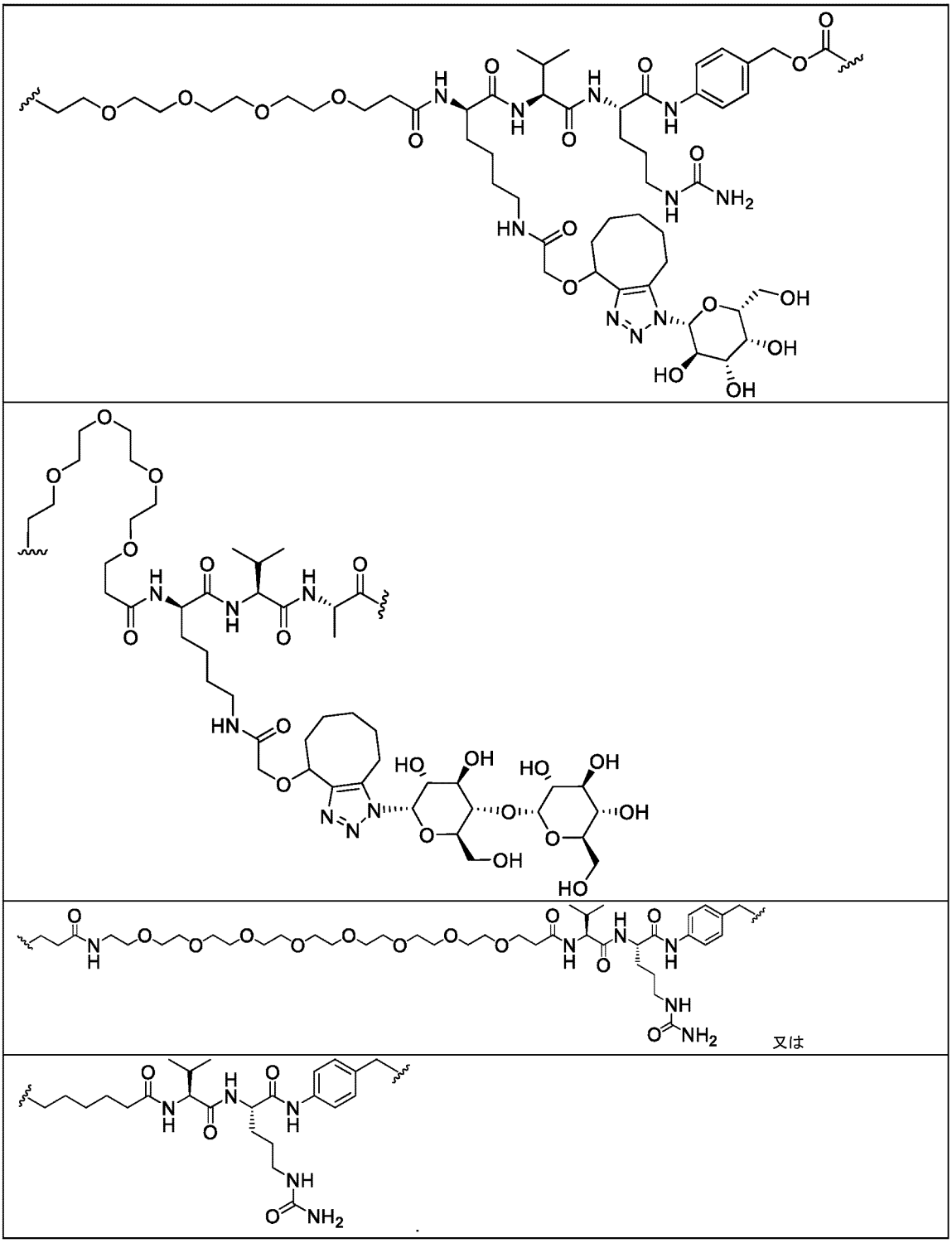
【化１６７】









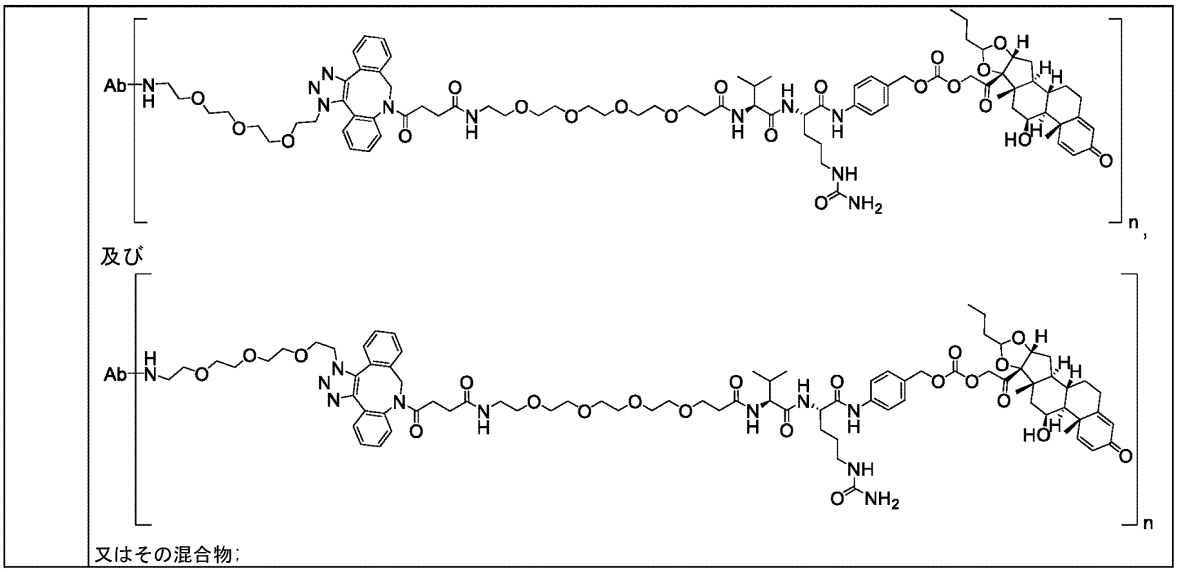


を含む。

【０２４４】

いくつかの例において、式(I)又は(III)又は(３０００)の化合物は、

【化１６８】



又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物から選択され、

ここで、

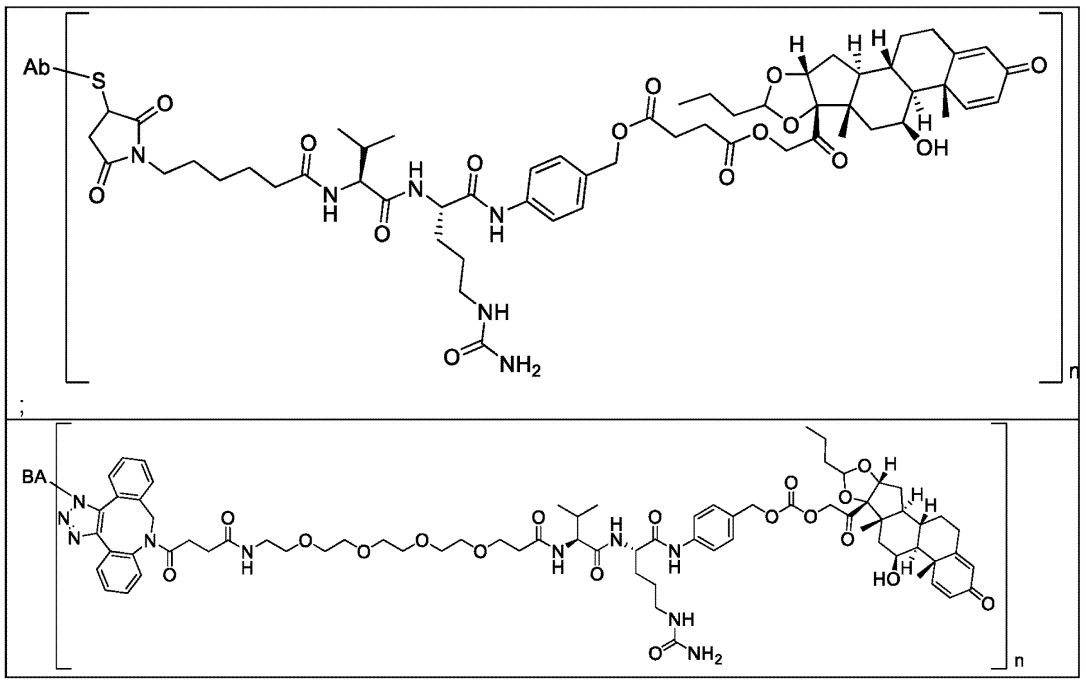
各々のAbが抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり;かつ

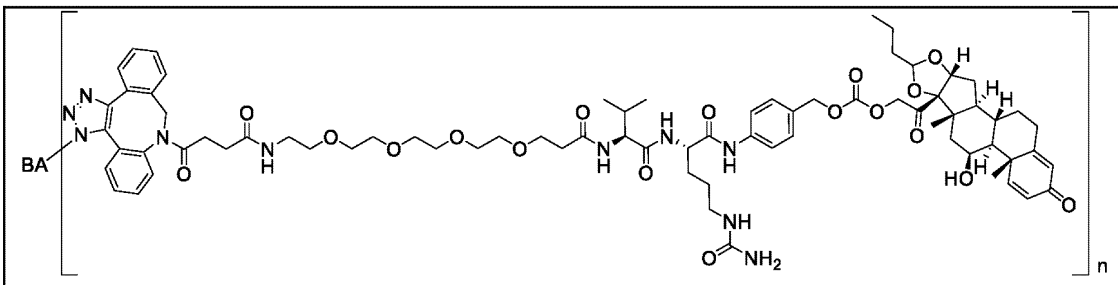
各々のnは、1～4の整数である。

【０２４５】

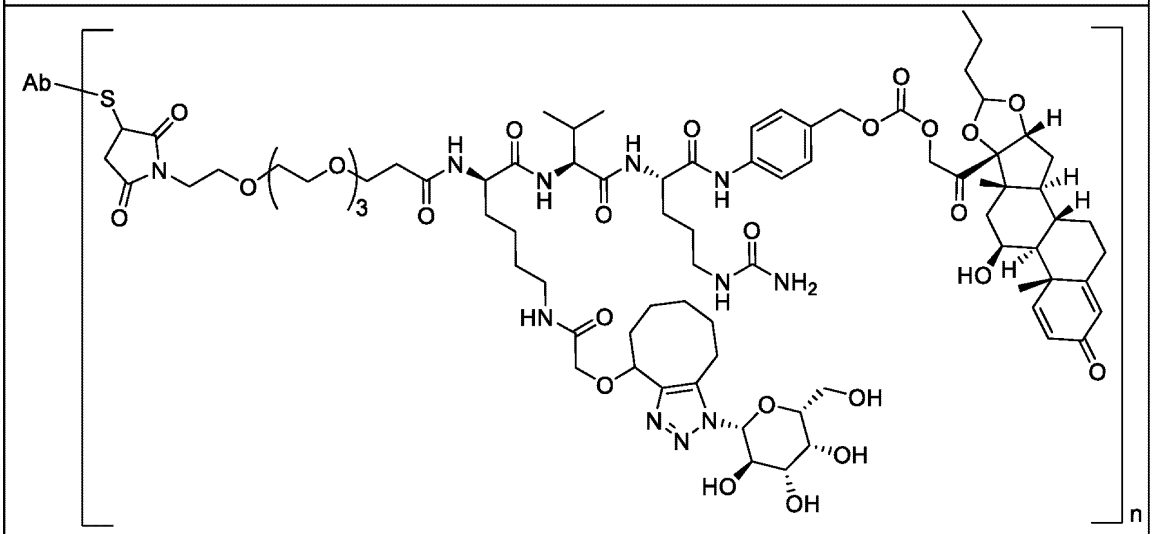
いくつかの例において、式(I)又は(III)又は(3000)の化合物は、

【化１６９】

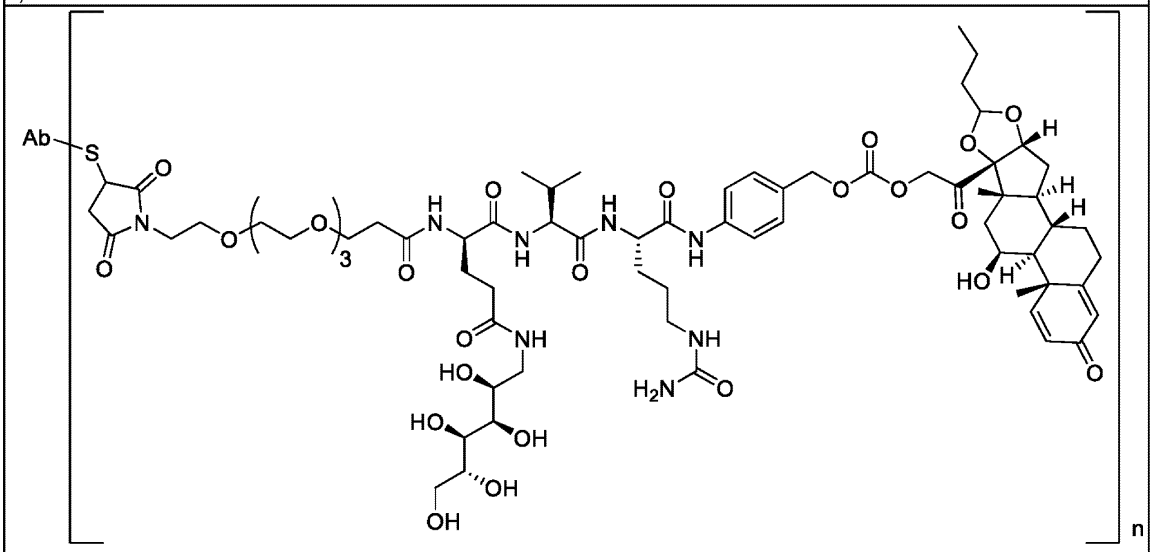




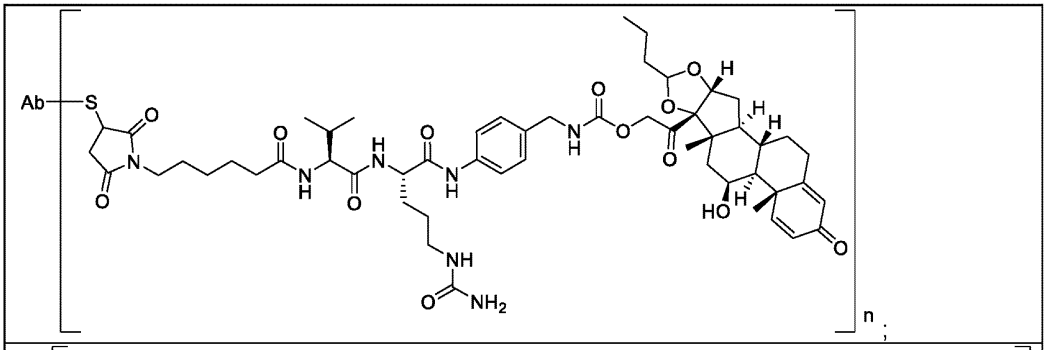
又はその混合物；



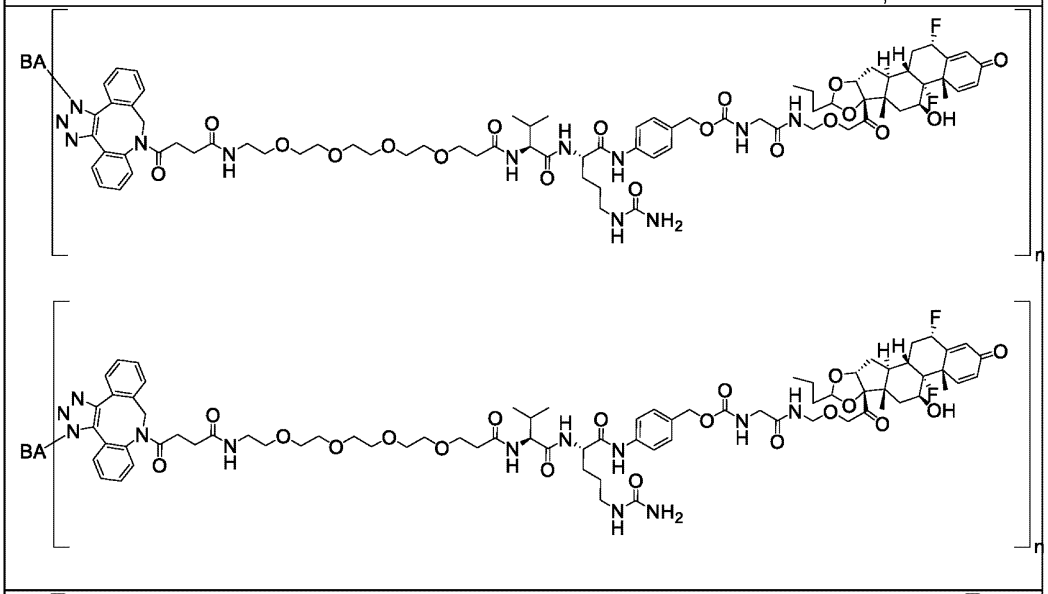
；

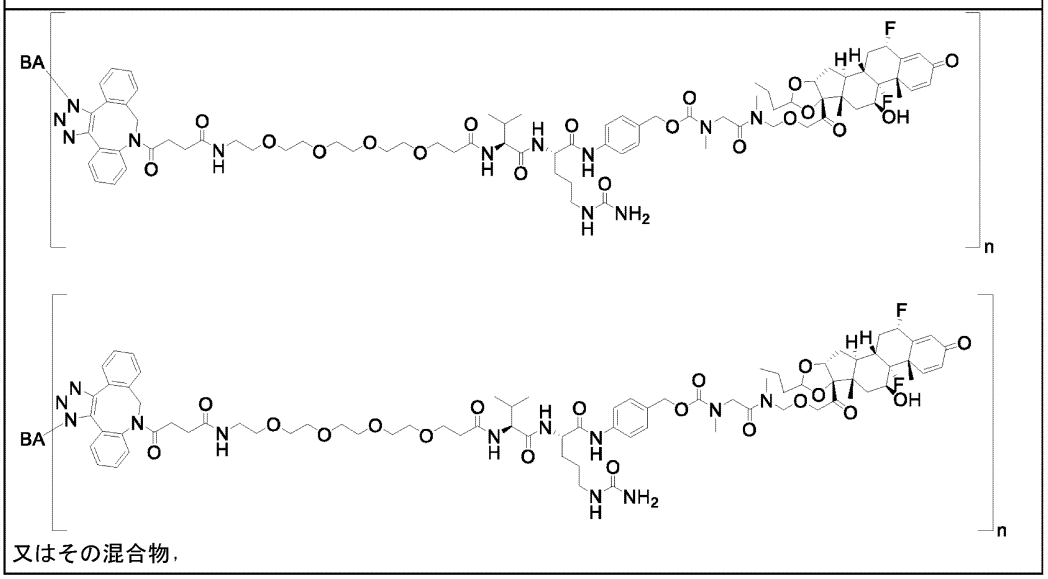


；

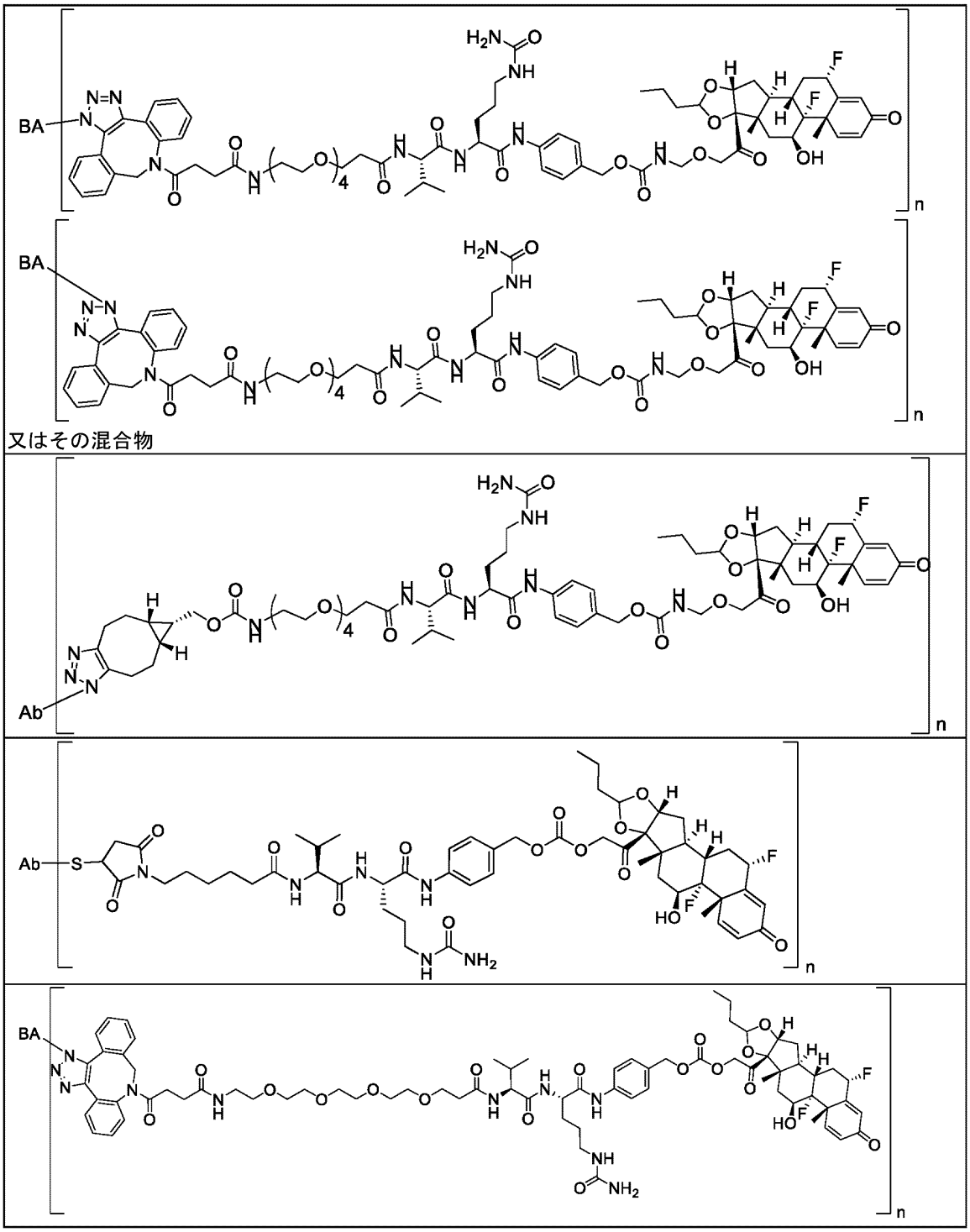


;

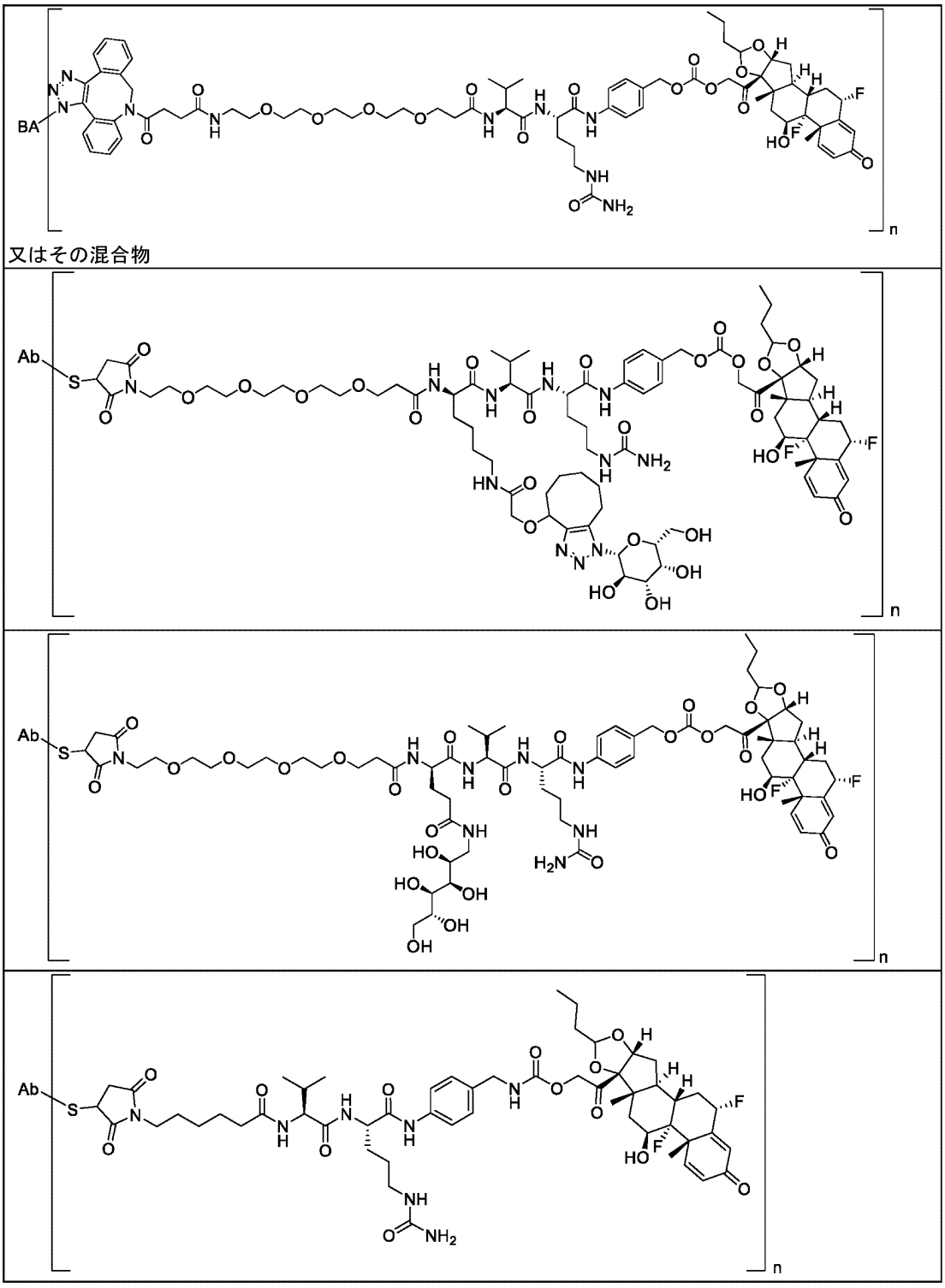




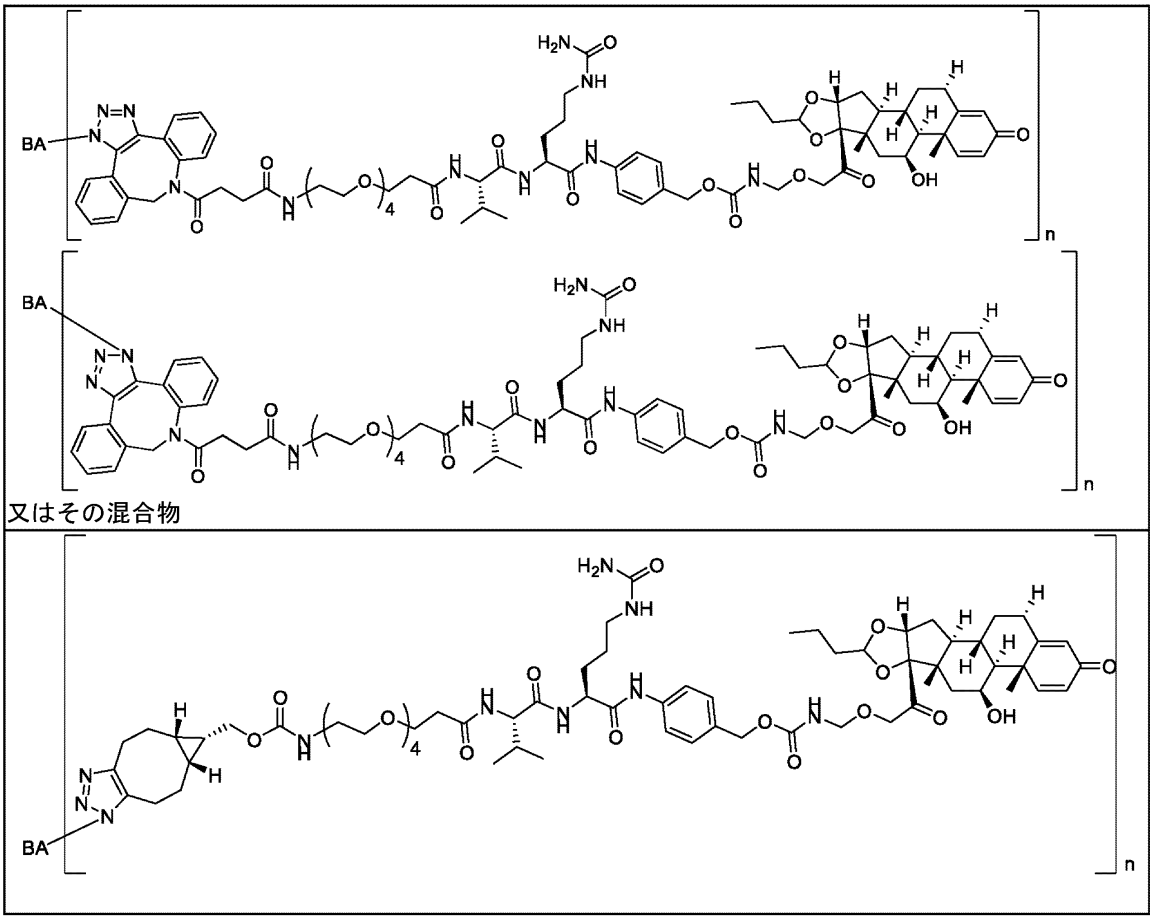
又はその混合物，



又はその混合物



又はその混合物



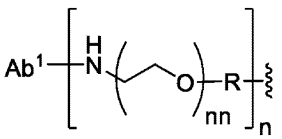
又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物から選択され、

ここで、

各々のAbは、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり;

各々のBAは、

【化１７０】



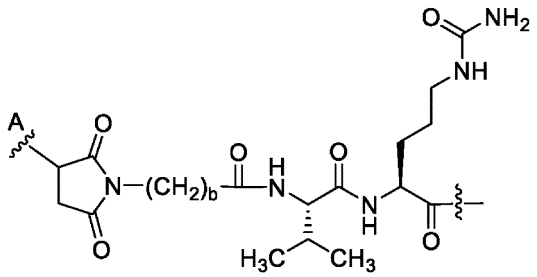
であり、ここで、Ab^1は、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり; Rは、C_{2-4}-アルキレンであり;かつnnは、2～4までから選択される整数であり、かつ

各々のnは、1～4の整数である。

【０２４６】

いくつかのさらなる実施態様において、本明細書に記載されるADCは、2016年11月29日に出願され、2018年4月24日に発行されたUS 9,951,141 B2号に記載されているリンカーを含むことができ、このリンカーは、引用により本明細書中に組み込まれる。いくつかの例において、該リンカーは:

【化１７１】

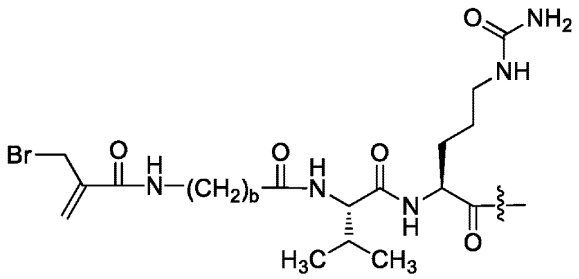


を含み、ここで、bは、2～8の整数であり、かつ

【化１７２】

は、結合剤との結合である。いくつかの実施態様において、該リンカーは、2つの反応基を含み、かつ例えば、抗体又はその抗原結合断片の2つの異なる鎖上のチオールとの結合を形成することができ:

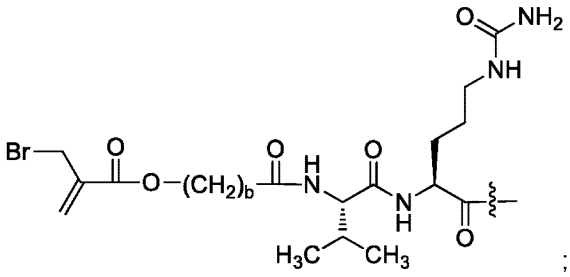
【化１７３】



;

ここで、bは、2～8の整数である。さらなる実施態様において、該リンカーは、2つの反応基を含み、かつ例えば、抗体又はその抗原結合断片の2つの異なる鎖上のチオールとの結合を形成することができ:

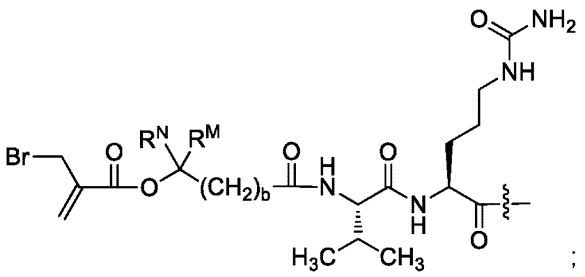
【化１７４】



;

ここで、bは、2～8の整数である。いくつかの他の実施態様において、該リンカーは、2つの反応基を含み、かつ例えば、抗体又はその抗原結合断片の2つの異なる鎖上のチオールとの結合を形成することができ:

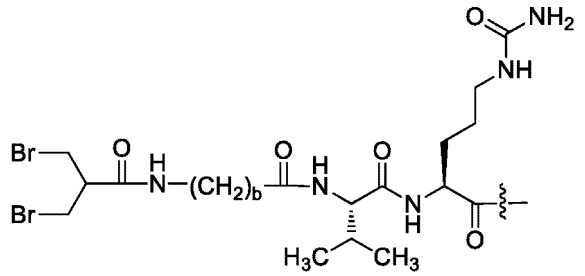
【化１７５】



;

ここで、bは、2～8の整数であり、R^Nは、水素原子又はアルキルであり、かつR^Mは、アルキルである。さらなる実施態様において、該リンカーは、2つの反応基を含み、かつ例えば、抗体又はその抗原結合断片の2つの異なる鎖上のチオールとの結合を形成することができ:

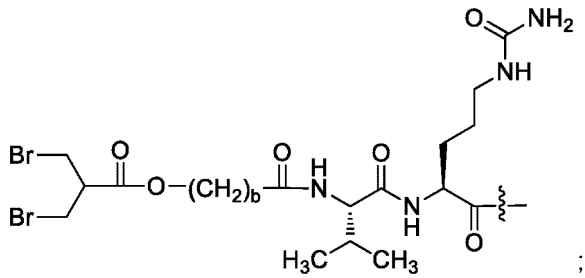
【化１７６】



;

ここで、bは、2～8の整数である。ある実施態様において、該リンカーは、2つの反応基を含み、かつ例えば、抗体又はその抗原結合断片の2つの異なる鎖上のチオールとの結合を形成することができ:

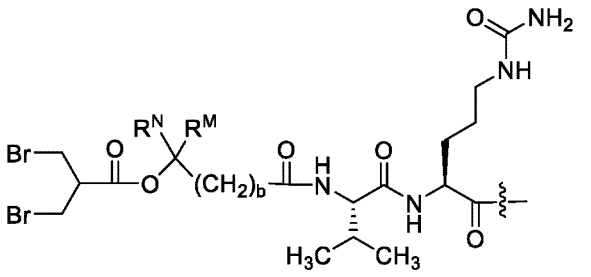
【化１７７】



;

ここで、bは、2～8の整数である。いくつかの実施態様において、該リンカーは、2つの反応基を含み、かつ例えば、抗体又はその抗原結合断片の2つの異なる鎖上のチオールとの結合を形成することができ:

【化１７８】



;

ここで、bは、2～8の整数であり; R^Nは、水素原子又はアルキルであり;かつR^Mは、アルキルである。

【０２４７】

本明細書に記載される式(I)、(IA)、(IB)、(IB-1)、(IB-2)、(IC)、(ID)、(IE)、(III)、(3000)、(5001)、(5002)、(5003)、(5004)、(6001)、(6002)、(6003)、(6004)、(6005)、(7001)、(7002)、(7003)、(7004)、及び/もしくは(7005)において、並びに/又はBA-$[(L)_{0-1}$-PA$]_n$において、PAは、好適と考えられる任意のリンカーLとともにBAに連結させることができる。リンカーは、本明細書に記載される抗体又は抗原結合タンパク質を、治療的部分、例えば、ステロイド又はLXRモジュレーターと連結させるか、接続させるか、又は結合させる任意の基又は部分である。好適なリンカーは、例えば、各々の内容が引用により本明細書中に完全に組み込まれる、抗体-薬物コンジュゲート及び免疫毒素(Antibody-Drug Conjugates and Immunotoxins); Phillips, G. L.編; Springer Verlag: New York, 2013;抗体-薬物コンジュゲート(Antibody-Drug Conjugates); Ducry, L.編; Humana Press, 2013;抗体-薬物コンジュゲート(Antibody-Drug Conjugates); Wang, J.、Shen, W.-C.、及びZaro, J. L.編; Springer International Publishing, 2015に見出すことができる。通常、本明細書に記載される抗体コンジュゲートのための好適な結合剤リンカーは、抗体の循環半減期を利用するのに十分に安定であり、かつ同時に、抗原によって媒介されるコンジュゲートの内在化の後にそのペイロードを放出することができるものである。リンカーは、切断性又は非切断性であることができる。切断性リンカーには、内在化後の細胞内代謝、例えば、加水分解、還元、又は酵素反応を介する切断によって切断されるリンカーが含まれる。非切断性リンカーには、内在化後の抗体のリソソーム分解を介して、付加されたペイロードを放出するリンカーが含まれる。好適なリンカーとしては、酸不安定性リンカー、加水分解不安定性リンカー、酵素切断性リンカー、還元不安定性リンカー、自壊性リンカー/基、及び非切断性リンカーが挙げられるが、これらに限定されない。好適なリンカーとしては、ペプチド、グルクロニド、スクシンイミド-チオエーテル、ポリエチレングリコール(PEG)単位、ヒドラゾン、マル-カプロイル単位、ジペプチド単位、バリン-シトルリン単位、及びパラ-アミノベンジル(PAB)単位であるもの、又はこれらを含むものも挙げられるが、これらに限定されない。

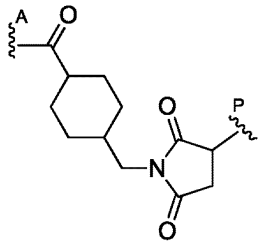
【０２４８】

当技術分野で公知の任意のリンカー分子又はリンカー技術を用いて、本開示のADCを作出又は構築することができる。ある実施態様において、該リンカーは、切断性リンカーである。他の実施態様によれば、該リンカーは、非切断性リンカーである。本開示との関連において使用することができる例示的なリンカーとしては、例えば、MC(6-マレイミドカプロイル)、MP(マレイミドプロパノイル)、val-cit(バリン-シトルリン)、val-ala(バリン-アラニン)、プロテアーゼ切断性リンカー中のジペプチド部位、ala-phe(アラニン-フェニルアラニン)、プロテアーゼ切断性リンカー中のジペプチド部位、PAB(p-アミノベンジルオキシカルボニル)、SPP(N-スクシンイミジル 4-(2-ピリジルチオ)ペンタノエート)、SMCC(N-スクシンイミジル 4-(N-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1 カルボキシレート)、SIAB(N-スクシンイミジル(4-ヨード-アセチル)アミノベンゾエート)、並びにその変異体及び組合せを含むか、又はこれらからなるリンカーが挙げられる。本開示との関連において使用することができるリンカーのさらなる例は、例えば、その内容が引用により本明細書中に完全に組み込まれる、US 7,754,681号及びDucryの文献、Bioconjugate Chem., 2010, 21:5-13、並びにその中で引用されている参考文献に提供されている。

【０２４９】

ある実施態様において、該リンカーは、生理的条件で安定である。ある実施態様において、該リンカーは切断性であり、例えば、酵素の存在下で又は特定のpH範囲もしくは値で、少なくともペイロード部分を放出することができる。いくつかの実施態様において、リンカーは、酵素切断性部分を含む。例示的な酵素切断性部分としては、ペプチド結合、エステル連結、ヒドラゾン、及びジスルフィド連結が挙げられるが、これらに限定されない。いくつかの実施態様において、該リンカーは、カテプシン切断性リンカーを含む。

【０２５０】
いくつかの実施態様において、該リンカーは、非切断性部分を含む。
【０２５１】
好適なリンカーとしては、単一の結合剤、例えば、抗体の2つのシステイン残基に化学的に結合しているものが挙げられるが、これらに限定されない。そのようなリンカーは、コンジュゲーションプロセスの結果として破壊される抗体のジスルフィド結合を模倣する働きをすることができる。
【０２５２】
いくつかの実施態様において、該リンカーは、1以上のアミノ酸を含む。好適なアミノ酸としては、天然、非天然、標準的、非標準的、タンパク質構成性、非タンパク質構成性、及びL-又はD-α-アミノ酸が挙げられる。いくつかの実施態様において、該リンカーは、アラニン、バリン、グリシン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、トリプトファン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、トレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニン、ヒスチジン、もしくはシトルリン、その誘導体、又はその組合せを含む。ある実施態様において、該アミノ酸の1以上の側鎖は、下記の側鎖基に連結される。いくつかの実施態様において、該リンカーは、バリン及びシトルリンを含む。いくつかの実施態様において、該リンカーは、リジン、バリン、及びシトルリンを含む。いくつかの実施態様において、該リンカーは、リジン、バリン、及びアラニンを含む。いくつかの実施態様において、該リンカーは、バリン及びアラニンを含む。
【０２５３】
いくつかの実施態様において、該リンカーは、自壊基を含む。該自壊基は、当業者に公知の任意のそのような基であることができる。特定の実施態様において、該自壊基は、p-アミノベンジル(PAB)又はその誘導体である。いくつかの実施態様において、該自壊基は、p-アミノベンジルオキシである。いくつかの実施態様において、該自壊基は、切断性ジスルフィド基を含む。有用な誘導体としては、p-アミノベンジルオキシカルボニル(PABC)が挙げられる。当業者は、自壊基がペイロードからリンカーの残りの原子を放出する化学反応を行うことができることを認識しているであろう。
【０２５４】
いくつかの実施態様において、該リンカーは:
【化１７９】

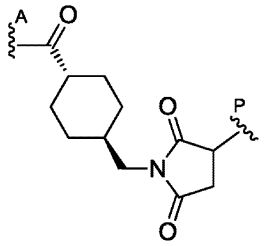


であり、ここで、
【化１８０】

は、(例えば、リジン残基を介する)抗体又は抗原結合タンパク質との結合であり、かつ
【化１８１】

は、ペイロードとの結合である。いくつかの実施態様において、該リンカーは:

【化１８２】



であり、ここで、

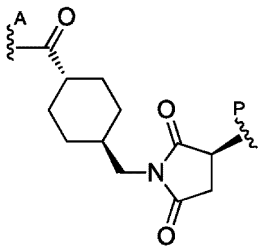
【化１８３】

は、(例えば、リジン残基を介する)抗体又は抗原結合タンパク質との結合であり、かつ

【化１８４】

は、ペイロードとの結合である。ある実施態様において、リンカーは:

【化１８５】

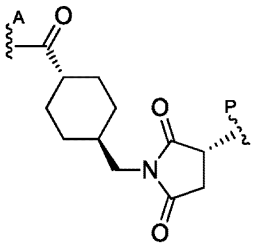


である。

【０２５５】

ある実施態様において、該リンカーは:

【化１８６】

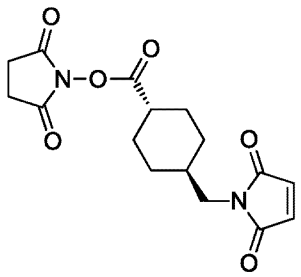


である。

【０２５６】

いくつかの実施態様において、該リンカーは、マレイミジルメチル-4-trans-シクロヘキサンカルボキシスクシネート:

【化１８７】

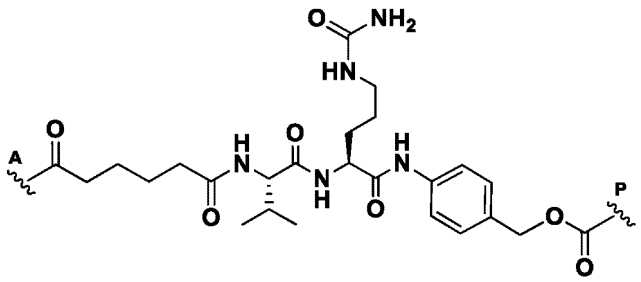


に由来する。

【０２５７】

いくつかの実施態様において、該リンカーは:

【化１８８】



であり、ここで、

【化１８９】

は、(例えば、リジン残基を介する)抗体又は抗原結合タンパク質との結合であり、かつ

【化１９０】

は、ペイロードとの結合である。

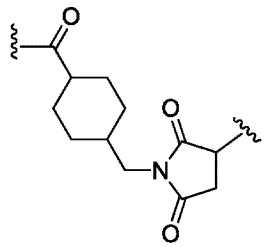
【０２５８】

いくつかの実施態様において、Lは、切断性リンカーである。いくつかの実施態様において、Lは、非切断性リンカーである。いくつかの実施態様において、Lは、ジペプチドを含む。いくつかの実施態様において、Lは、PAB部分を含む。いくつかの実施態様において、Lは、ジスルフィド部分を含む。

【０２５９】

いくつかの実施態様において、Lは、以下の構造を有する部分を含む:

【化１９１】

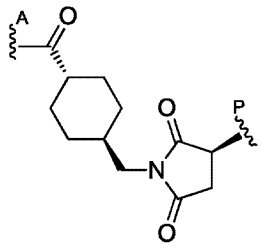


。

【０２６０】

いくつかの実施態様において、Ｌは、以下の構造を有する部分を含む:

【化１９２】

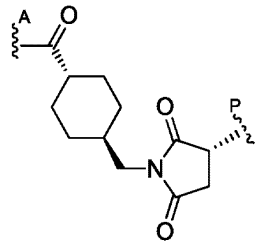


。

【０２６１】

いくつかの実施態様において、Ｌは、以下の構造を有する部分を含む:

【化１９３】

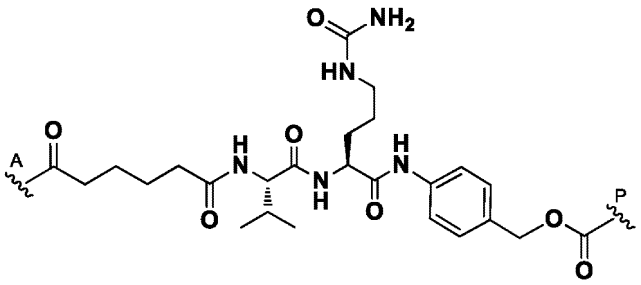


。

【０２６２】

いくつかの実施態様において、Ｌは、以下の構造を有する部分を含む:

【化１９４】

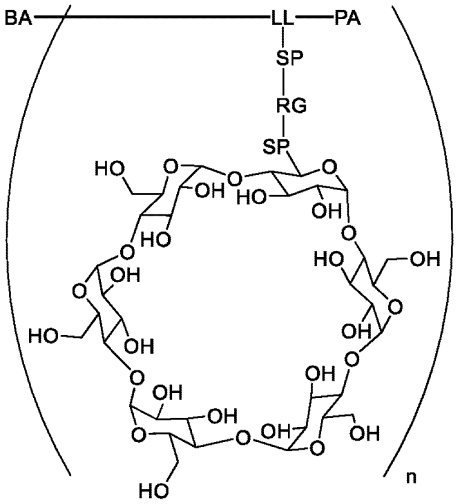


。

【０２６３】

ある実施態様において、該リンカーは、シクロデキストリン基を含む。ある実施態様において、該リンカーは、式(Ia)によるADCを提供する:

【化１９５】



(Ia)

。

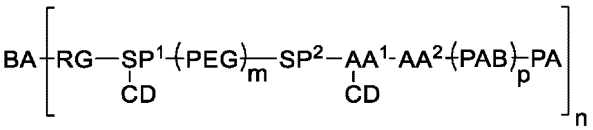
【０２６４】

式(Ia)において、BAは、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり、LLは、三価リンカーであり、RGは、反応性リンカー残基であり、SPは、各々の場合に独立に、非存在、又はスペーサー基であり、下付文字nは、1～30の整数であり;かつPAは、ペイロードである。ある実施態様において、nは、1～4である。ある実施態様において、nは4である。ある実施態様において、nは2である。ある実施態様において、nは1である。ある実施態様において、nは3である。

【０２６５】

ある実施態様において、該リンカーは、シクロデキストリン基を含む。ある実施態様において、該リンカーは、式(Id)によるADCを提供する:

【化１９６】



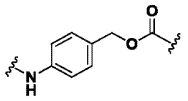
(Id)

。

【０２６６】

式(Id)において、BAは、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり; RGは、反応基残基であり; SP^1及びSP^2は各々、各々の場合に独立に、非存在又はスペーサー基残基であり、かつここで、SP^1は、三価リンカーを含み; AA^1は、アミノ酸残基を含む三価リンカーであり; AA^2は、ジペプチド残基であり; PEGは、ポリエチレングリコール残基であり; PABは、

【化１９７】



であり、ここで、

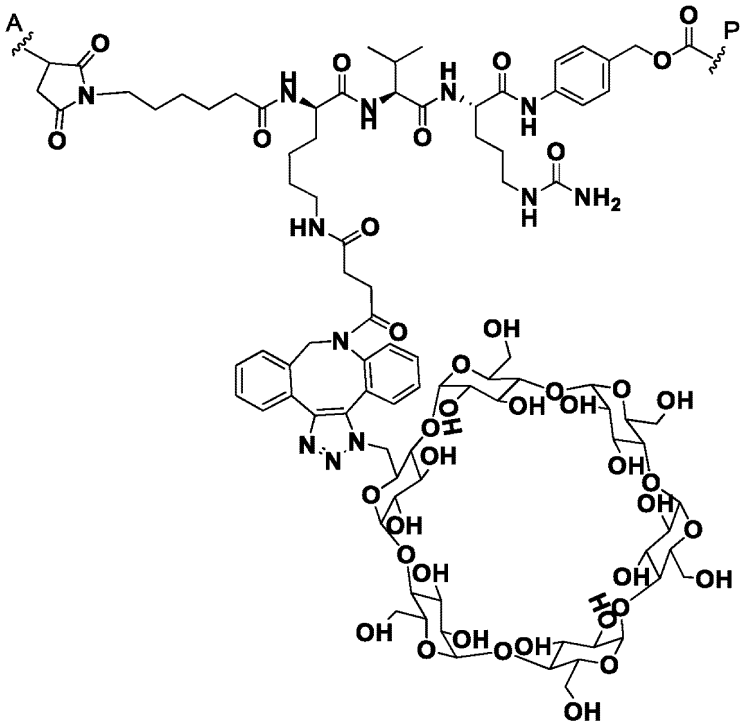
【化１９８】

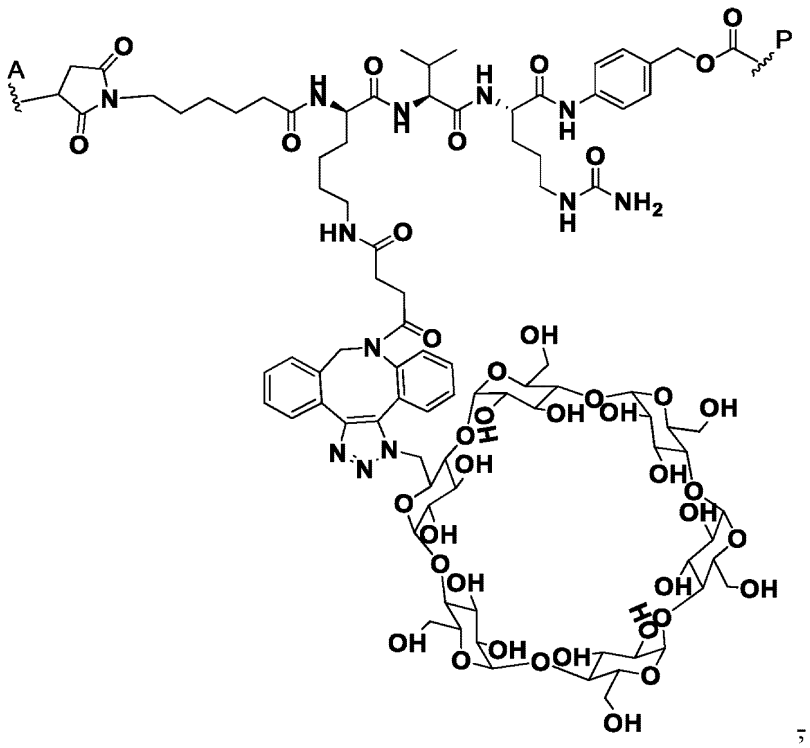
は、それを介してPABが該式中の隣接する基に結合している原子を示し、CDは、各々の場合に独立に、非存在又はシクロデキストリン残基であり、ここで、少なくとも1つのCDは存在し、下付文字nは、1～30の整数であり;下付文字mは、0～5の整数であり;下付文字pは0又は1であり;かつPAは、ペイロード部分である。これらの例において、下付文字mは、0、1、2、3、4、又は5である。いくつかの例において、下付文字mは0である。いくつかの例において、下付文字mは1である。いくつかの例において、下付文字mは2である。いくつかの例において、下付文字mは3である。いくつかの例において、下付文字mは4である。いくつかの例において、下付文字mは5である。いくつかの例において、下付文字pは0である。いくつかの例において、下付文字pは1である。いくつかの例において、AA^1又はAA^2のいずれか1つは、各々の場合に独立に、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、トリプトファン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、トレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニン、ヒスチジン、もしくはシトルリンから選択されるアミノ酸、又はその誘導体、又はその組合せを含む。ある実施態様において、AA^1は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、トリプトファン、フェニルアラニン、プロリン、グリシン、セリン、トレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニン、ヒスチジン、又はシトルリンから選択されるアミノ酸、その誘導体、又はその組合せである。ある実施態様において、AA^1は、リジンである。ある実施態様において、AA^1は、リジン又はリジンの誘導体である。ある実施態様において、AA^2は、バリン-シトルリンである。いくつかの実施態様において、AA^2は、シトルリン-バリンである。いくつかの実施態様において、AA^2は、バリン-アラニンである。いくつかの実施態様において、AA^2は、アラニン-バリンである。いくつかの実施態様において、AA^2は、バリン-グリシンである。いくつかの実施態様において、AA^2は、グリシン-バリンである。いくつかの実施態様において、AA^1-AA^2は、グルタミン-バリン-シトルリンである。いくつかの実施態様において、AA^1-AA^2は、グルタミン-バリン-シトルリンである。いくつかの実施態様において、AA^1-AA^2は、リジン-バリン-アラニンである。いくつかの実施態様において、AA^1-AA^2は、リジン-バリン-シトルリンである。いくつかの実施態様において、AA^1-AA^2は、グルタミン-バリン-シトルリンである。ある実施態様において、リジンは、L-リジンである。ある実施態様において、リジンは、D-リジンである。いくつかの例において、SP^1は、各々の場合に独立に、C_{1-6}アルキレン、-NH-、-C(O)-、$(-CH_2-CH_2-O)_e$、$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$、$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$、$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$、及びその組合せからなる群から選択され、ここで、下付文字eは0～4の整数であり、下付文字uは1～8の整数であり、かつ下付文字vは1～8の整数である。いくつかの例において、SP^2は、各々の場合に独立に、C_{1-6}アルキレン、-NH-、-C(O)-、$(-CH_2-CH_2-O)_e$、$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$、$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$、$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$、及びその組合せからなる群から選択され、ここで、下付文字eは0～4の整数であり、下付文字uは1～8の整数であり、かつ下付文字vは1～8の整数である。

【０２６７】

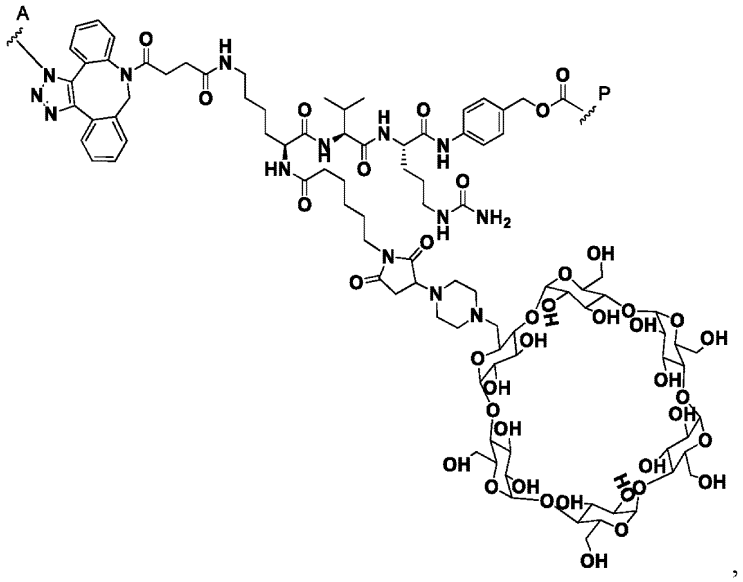
式(I)、(IA)、(IB)、(IB-1)、(IB-2)、(IC)、(ID)、(IE)、(III)、(3000)、(5001)、(5002)、(5003)、(5004)、(6001)、(6002)、(6003)、(6004)、(6005)、(7001)、(7002)、(7003)、(7004)、及び/又は(7005)についてのある実施態様において、該リンカーは:

【化１９９】

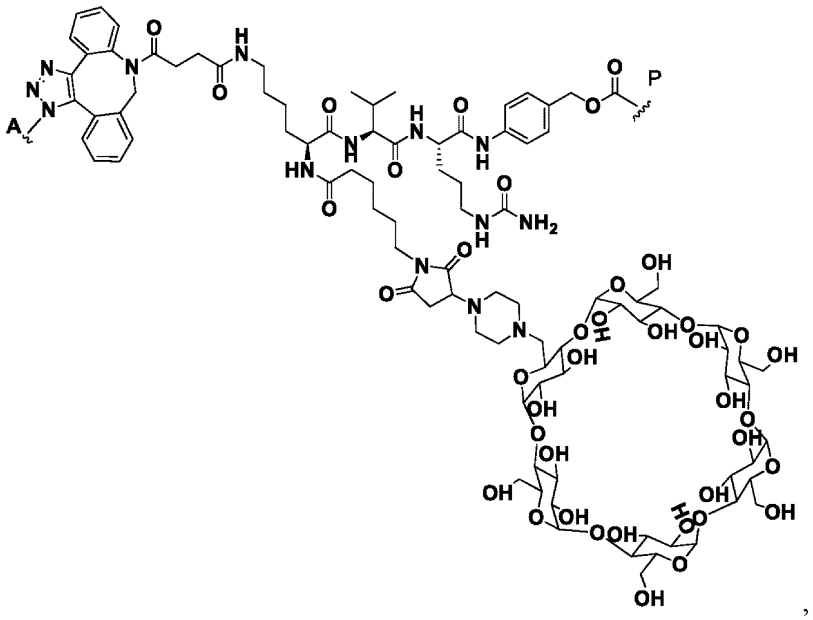

A
O
N
O
O
H
N
O
H
N
O
H
N
O
N
H
O
NH2
P
O
HN
O
N
O
N
N
OH
O
OH
OH
OH
O
OH
OH
O
OH
OH
O
OH
O
OH
OH
O
OH
OH
O
OH
OH
O
OH
OH
O
OH
HO
O
OH



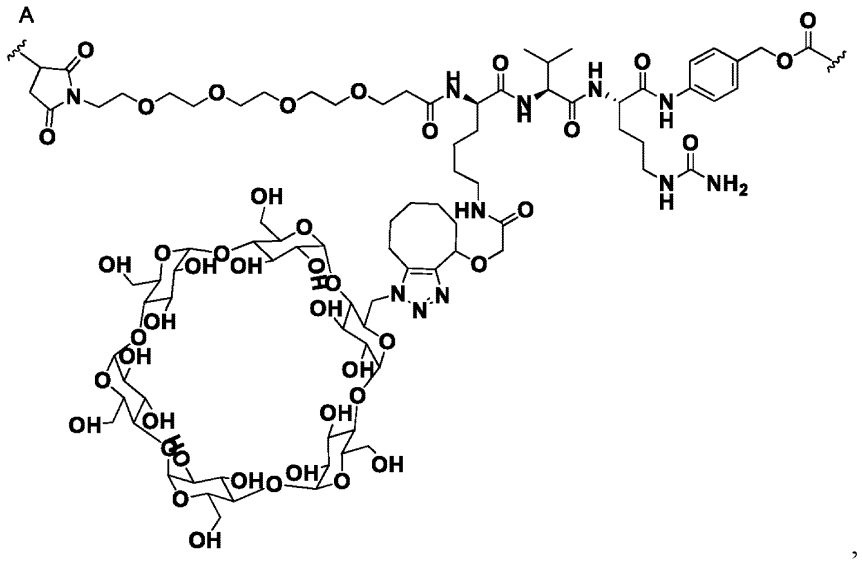
;



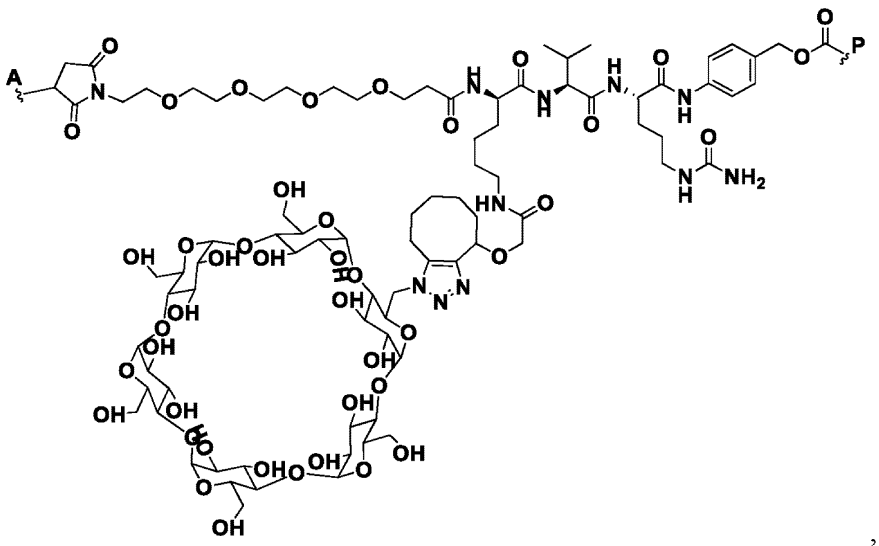
,



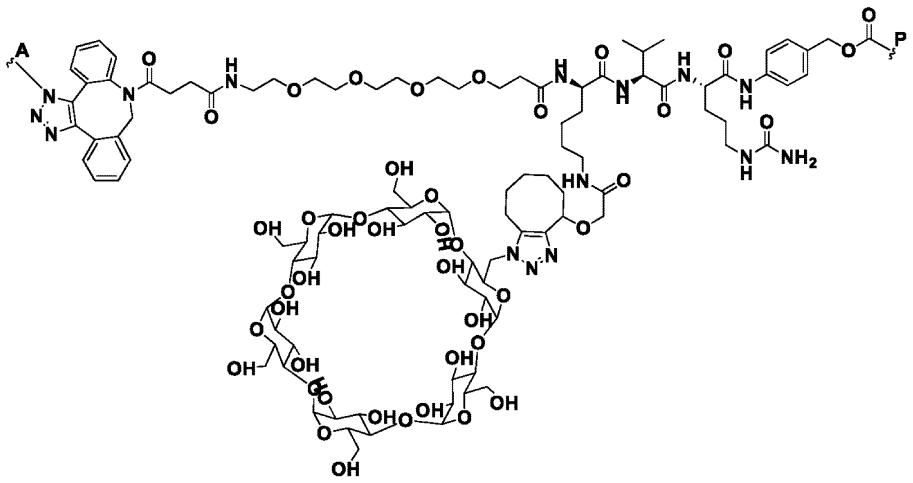
,



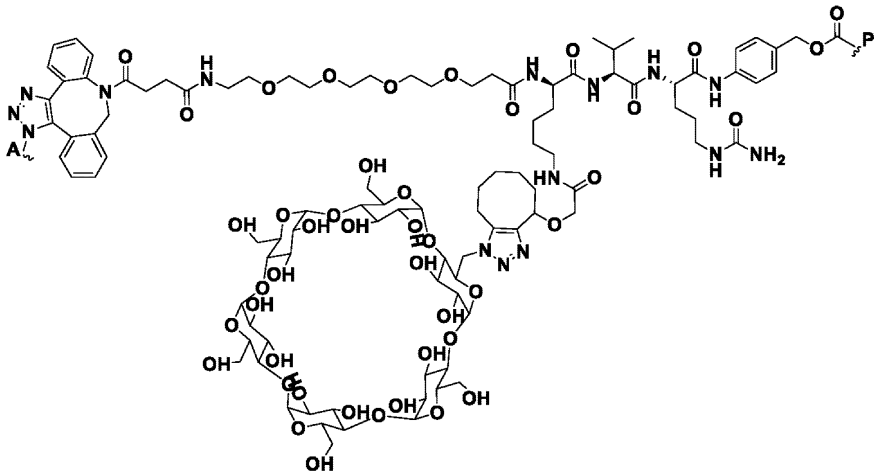
,



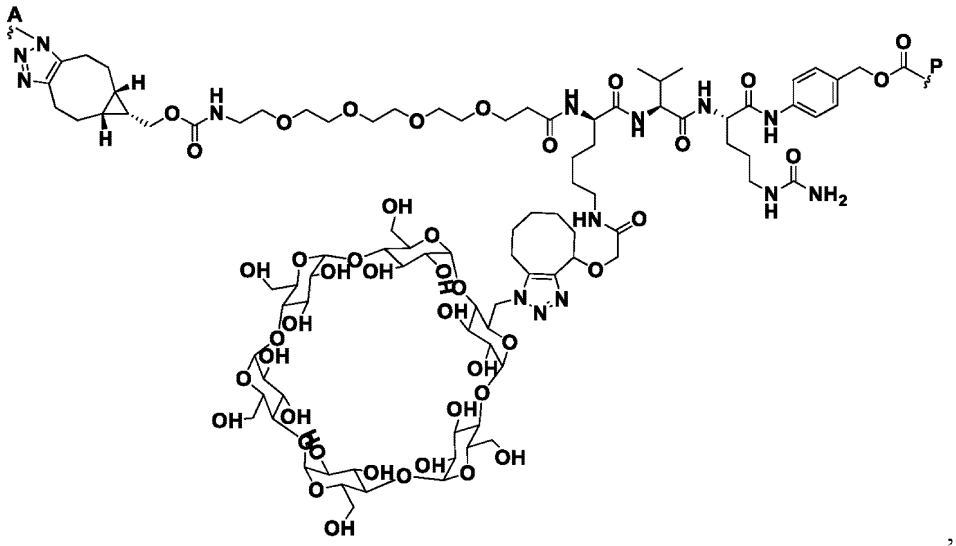
,



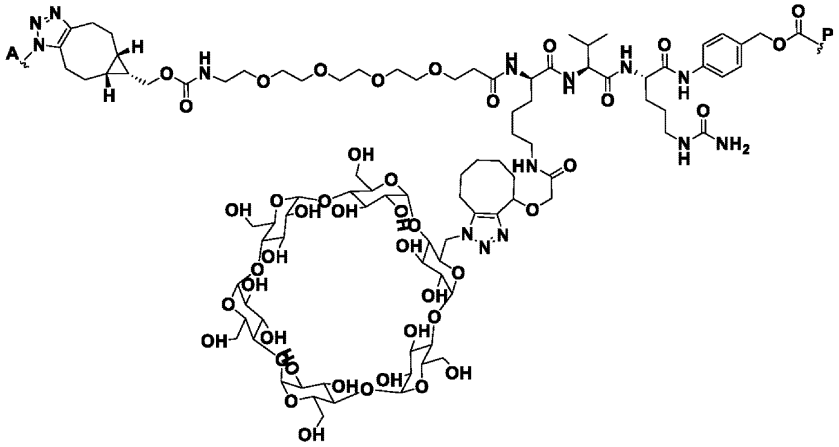
,



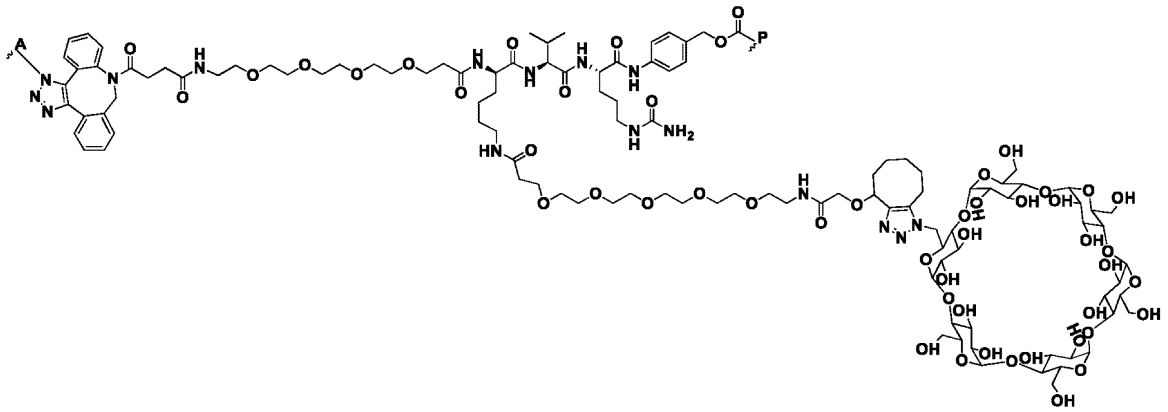
,



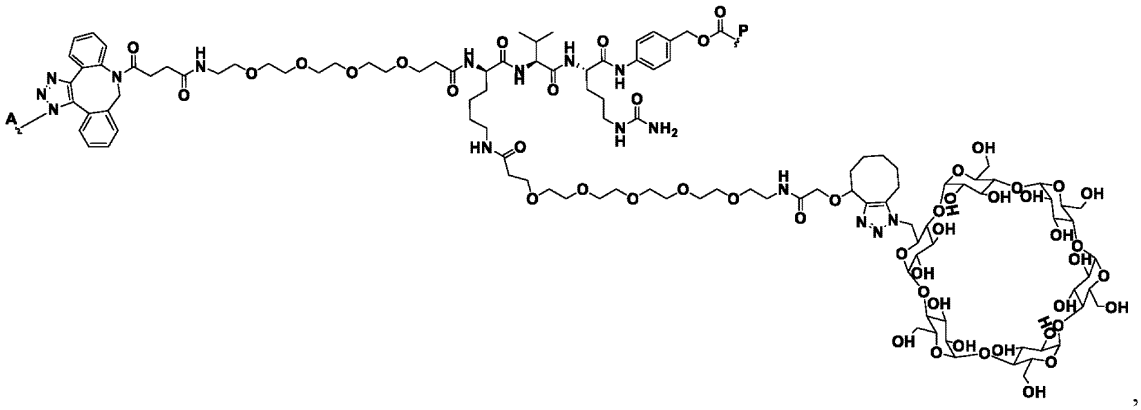
,



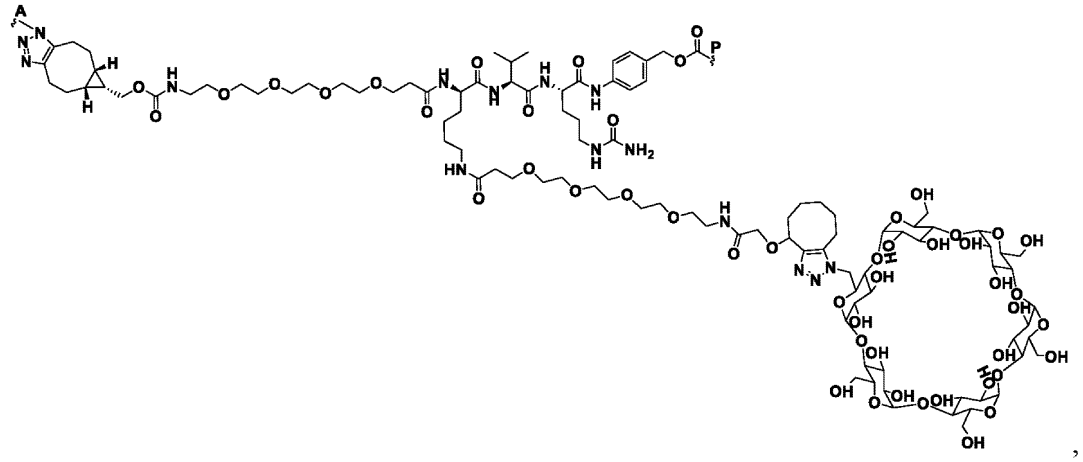
,



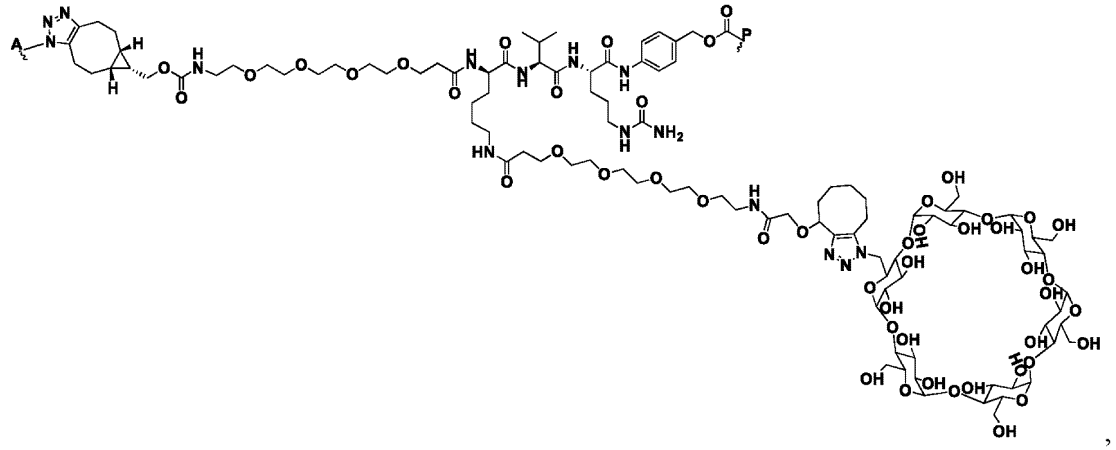
,



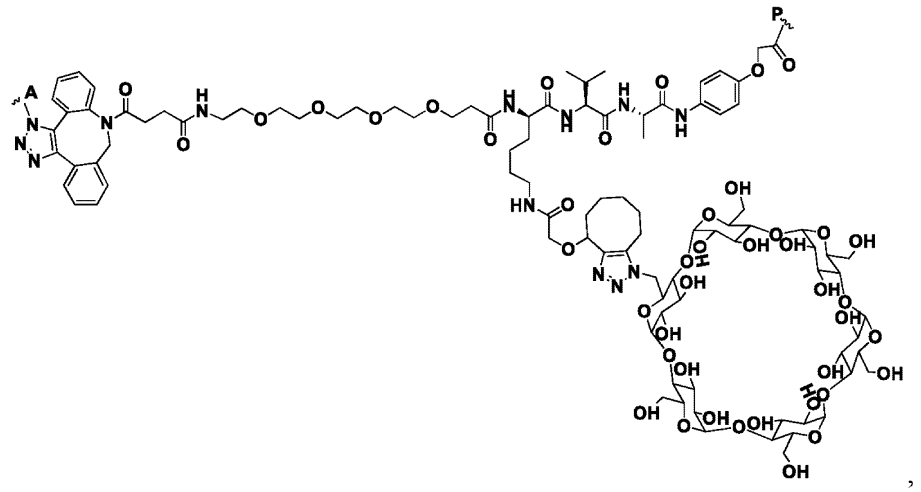
,



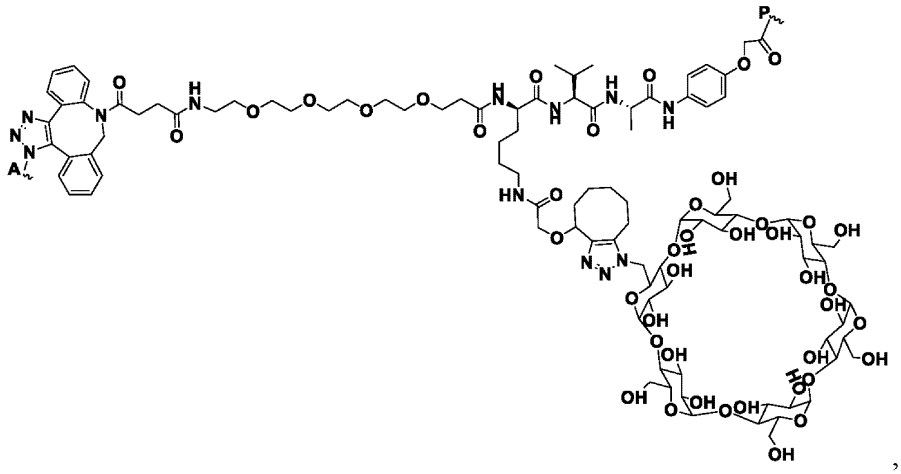
,



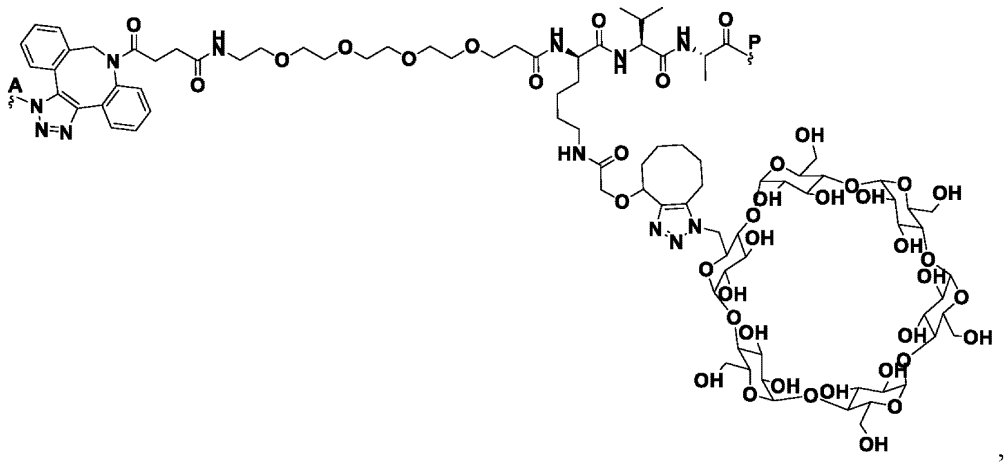
,



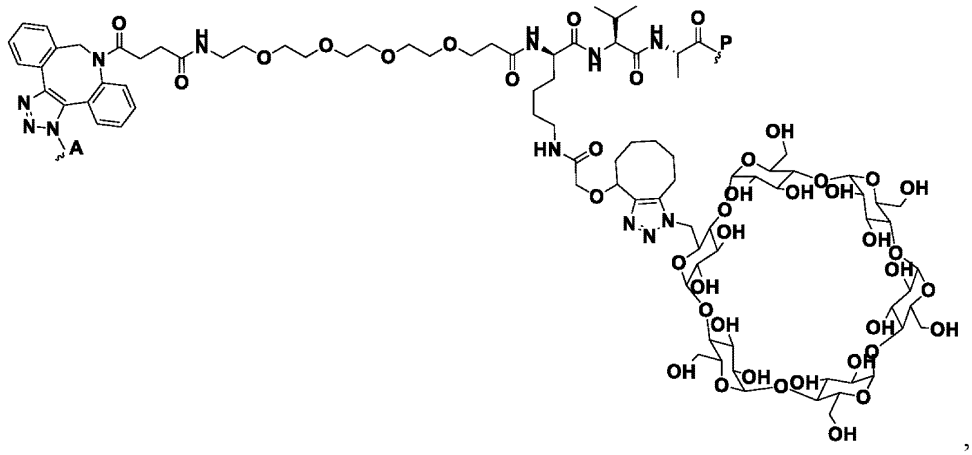
,



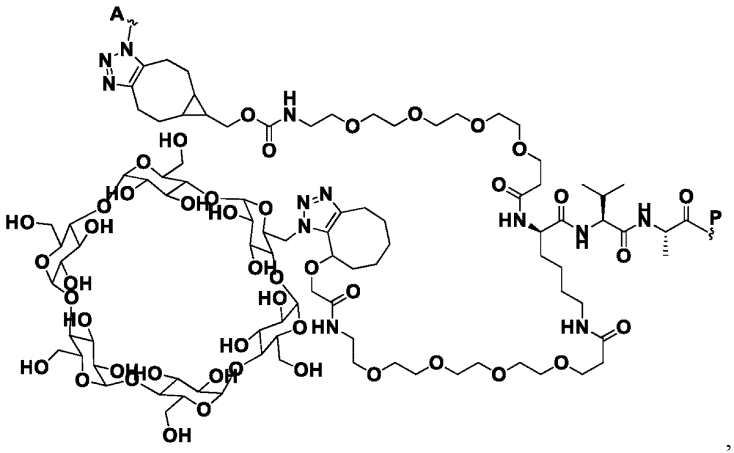
,



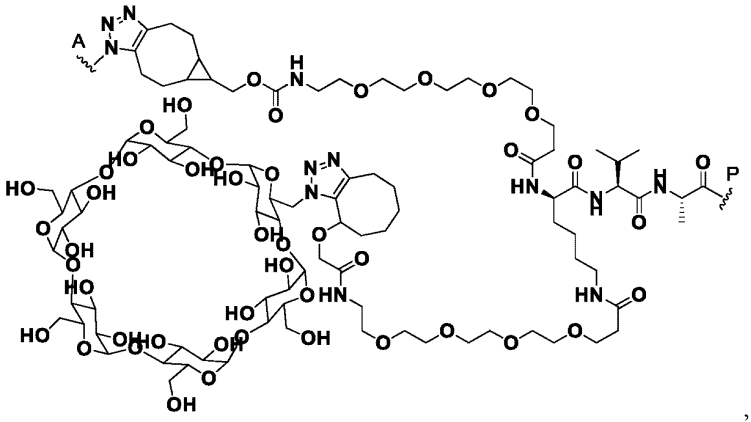
,



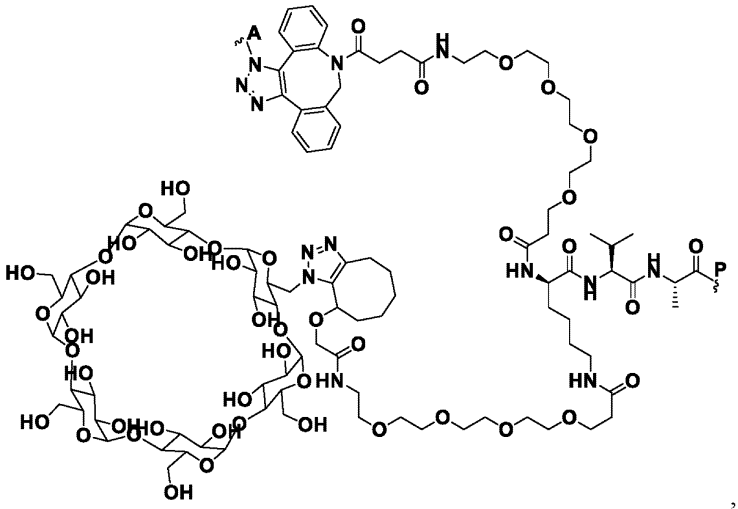
,



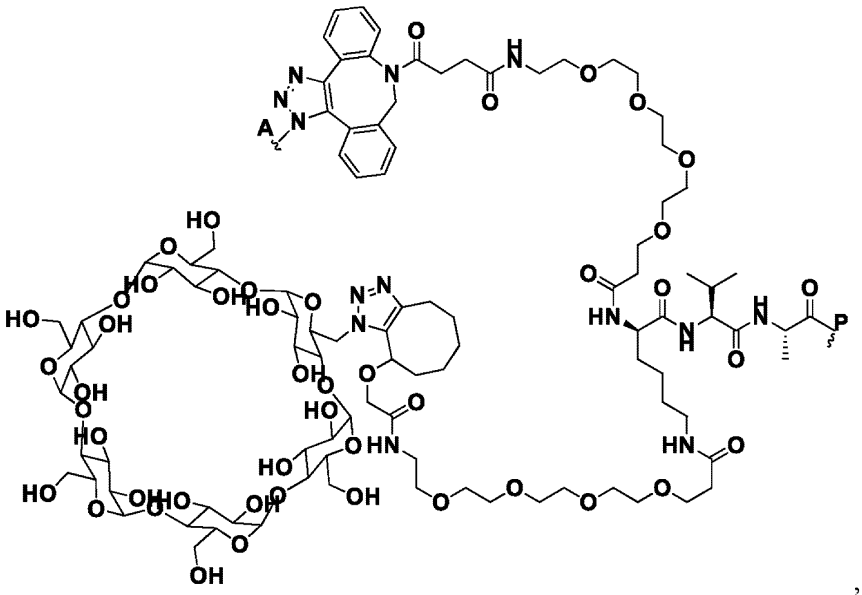
,



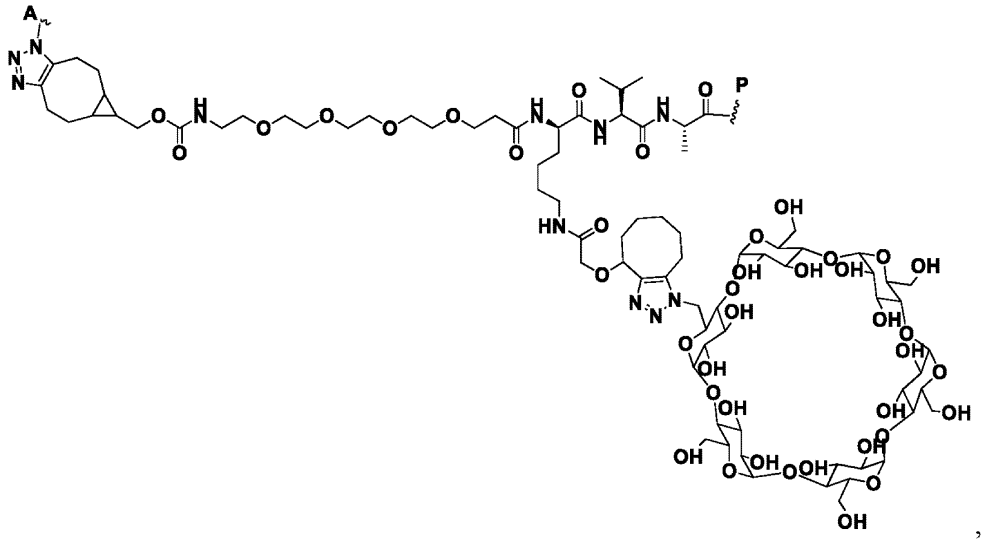
,



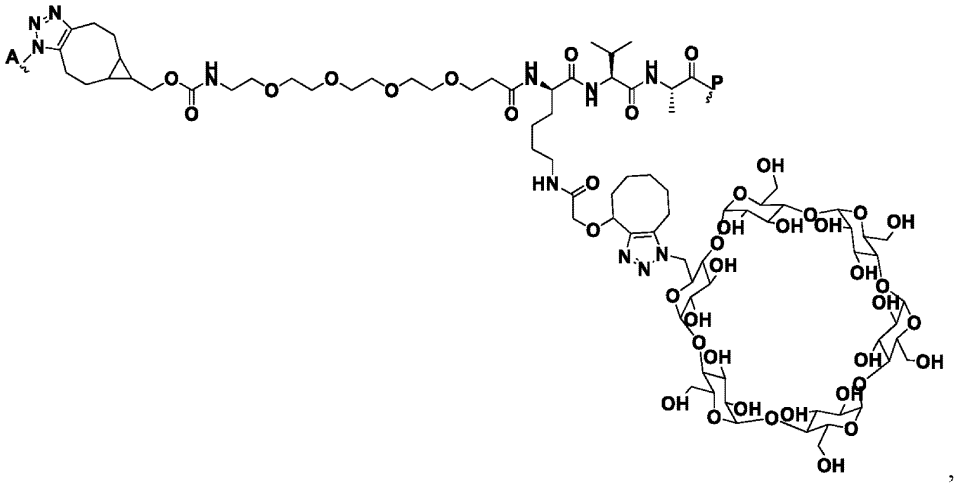
,



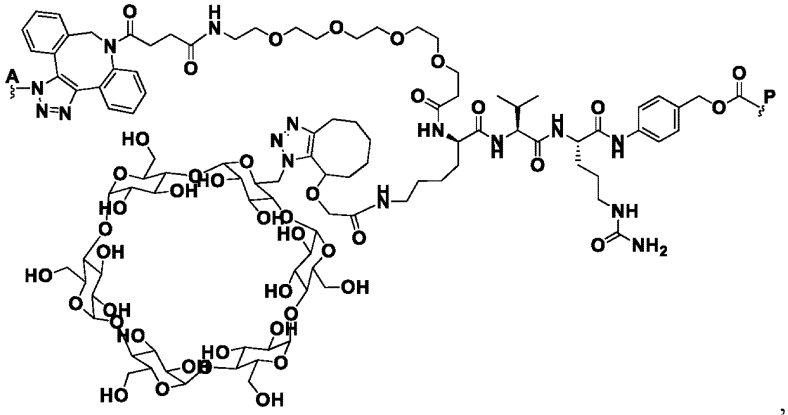
,



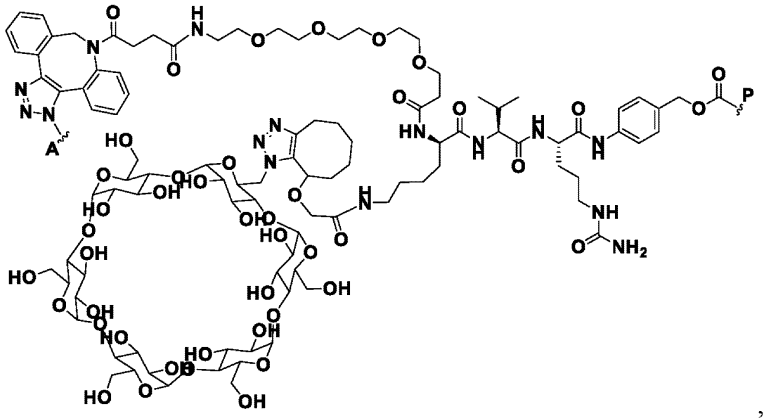
,



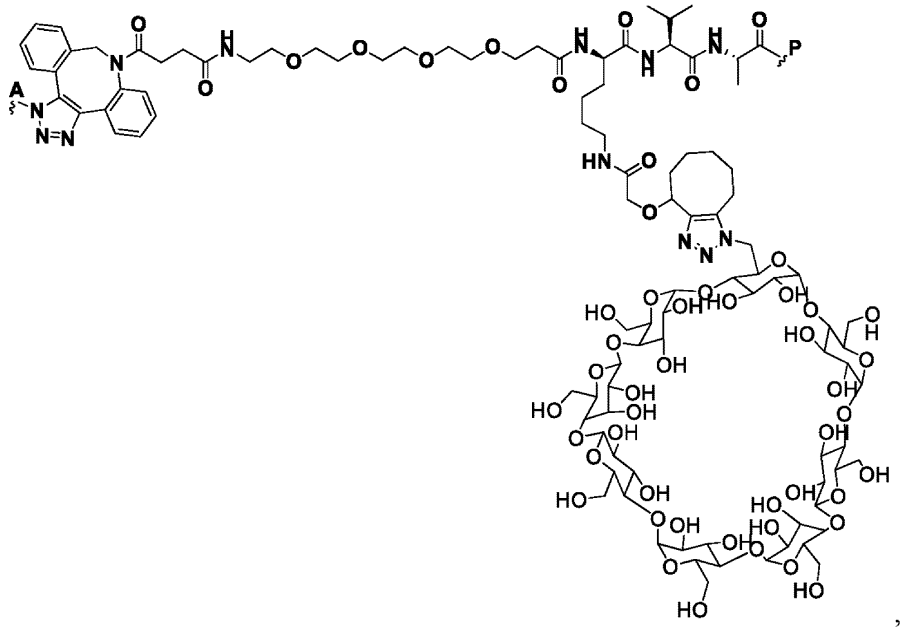
,



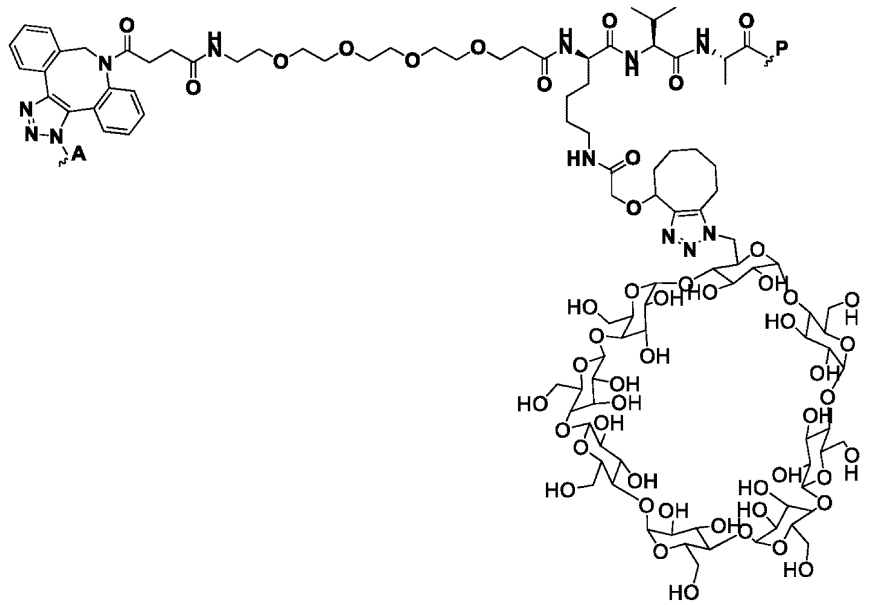
,



,



, 及び



から選択される。またこれらの例に含まれるのは、その医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、その位置異性体、又はその位置異性体の混合物であり、ここで、各々の

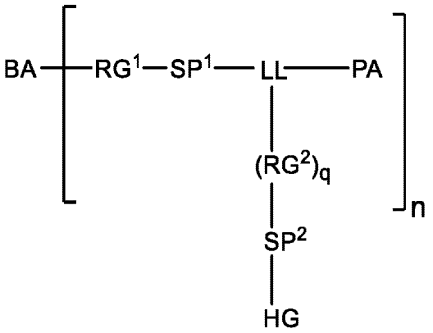
【化２００】

は、結合剤との結合であり;かつ各々の

【化２０１】

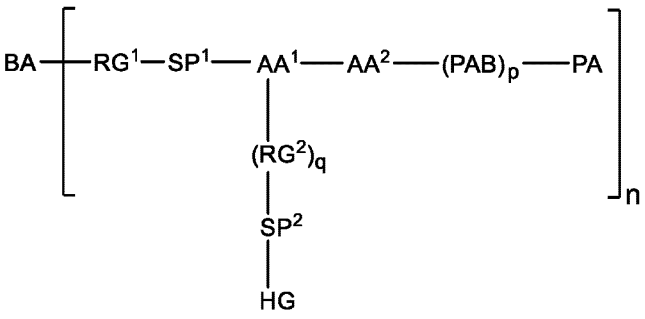
は、ペイロードとの結合である。

【０２６８】
ある実施態様において、該リンカーは、末端親水基(HG)を含む。ある実施態様において、該リンカーは、タウリン基を含む。ある実施態様において、該リンカーは、末端スルホン酸基を含む。ある実施態様において、該リンカーは、式(II)によるADCを提供し:
【化２０２】



(II)

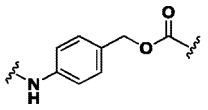
ここで、式(II)において、BAは、結合剤であり; LLは、三価リンカーであり; RG^1及びRG^2は、反応基残基であり; SP^1及びSP^2は、各々の場合に独立に、非存在又はスペーサー基残基であり; HGは、親水性残基であり; PAは、ペイロード残基であり;下付文字nは、1～30の整数であり;かつ下付文字qは0又は1である。いくつかの例において、複数の三価リンカーLLが存在していてもよい。いくつかの例において、nは1～4の整数である。いくつかの例において、nは1である。いくつかの例において、nは2である。いくつかの例において、nは3である。いくつかの例において、nは4である。いくつかの例において、HGは、末端親水基である。いくつかの例において、HGは、1つの末端スルホン酸基又はその塩を含む。他の例において、HGは、複数の末端スルホン酸基又はその塩を含む。いくつかの例において、HGは、1つの末端ホスホン酸基又はその塩を含む。他の例において、HGは、複数の末端ホスホン酸基又はその塩を含む。いくつかの例において、HGは、1つの末端三級アミン基又はその塩を含む。他の例において、HGは、複数の末端三級アミン基又はその塩を含む。いくつかの例において、HGは、1つの末端ポリオール(例えば、グルコース、マルトース)又はその誘導体を含む。他の例において、HGは、複数の末端ポリオール(例えば、グルコース、マルトース)又はその誘導体を含む。
【０２６９】
別の例において、式(II)の化合物は、式(IV)によるものである:
【化２０３】



(IV)

。
【０２７０】
式(IV)において、BA、RG^1、SP^1、RG^2、SP^2、及びHGは、上で定義されている通りのものであり、AA^1は、アミノ酸残基を含む三価リンカーであり; AA^2は、ジペプチド残基

であり;かつPABは、
【化２０４】



であり、ここで、
【化２０５】

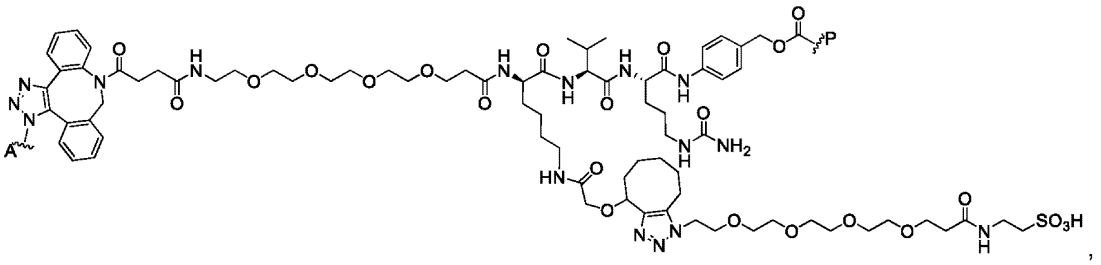
は、それを介してPABが該式中の隣接する基に結合している原子を示し;下付文字pは0又は1であり;かつ下付文字qは0又は1である。いくつかの例において、下付文字pは0であり、かつ下付文字qは0である。いくつかの例において、下付文字pは1であり;かつ下付文字qは0である。いくつかの例において、下付文字pは0であり;かつ下付文字qは1である。いくつかの例において、下付文字pは1であり;かつ下付文字qは1である。いくつかの例において、SP^1は、0～5個のポリエチレングリコール(PEG)残基を含む。いくつかの例において、SP^2は、0～5個のPEG残基を含む。いくつかの例において、SP^1は、各々の場合に独立に、C_{1-6}アルキレン、-NH-、-C(O)-、$(-CH_2-CH_2-O)_e$、$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$、$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$、$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$、及びその組合せからなる群から選択され、ここで、下付文字eは0～4の整数であり、下付文字uは1～8の整数であり、かつ下付文字vは1～8の整数である。いくつかの例において、SP^2は、各々の場合に独立に、C_{1-6}アルキレン、-NH-、-C(O)-,$(-CH_2-CH_2-O)_e$、$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$、$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$、$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$、及びその組合せからなる群から選択され、ここで、下付文字eは0～4の整数であり、下付文字uは1～8の整数であり、かつ下付文字vは1～8の整数である。いくつかの例において、AA^1又はAA^2のいずれか1つは、各々の場合に独立に、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、トリプトファン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、トレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニン、ヒスチジン、もしくはシトルリンから選択されるアミノ酸、その誘導体、又はその組合せを含む。ある実施態様において、AA^1は、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、トリプトファン、フェニルアラニン、プロリン、グリシン、セリン、トレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、グルタミン酸、リジン、アルギニン、ヒスチジン、もしくはシトルリンから選択されるアミノ酸、その誘導体、又はその組合せである。ある実施態様において、AA^1は、リジンである。ある実施態様において、AA^1は、リジン又はリジンの誘導体である。ある実施態様において、AA^1は、グルタミン酸である。ある実施態様において、AA^2は、バリン-シトルリンである。いくつかの実施態様において、AA^2は、シトルリン-バリンである。いくつかの実施態様において、AA^2は、バリン-アラニンである。いくつかの実施態様において、AA^2は、アラニン-バリンである。いくつかの実施態様において、AA^2は、バリン-グリシンである。いくつかの実施態様において、AA^2は、グリシン-バリンである。いくつかの実施態様において、AA^1-AA^2は、グルタミン-バリン-シトルリンである。いくつかの実施態様において、AA^1-AA^2は、リジン-バリン-シトルリンである。いくつかの実施態様において、AA^1-AA^2は、リジン-バリン-アラニンである。いくつかの実施態様において、AA^1-AA^2は、グルタミン-バリン-アラニンである。ある実施態様において、リジンは、L-リジンである。ある実施態様において、リジンは、D-リジンである。

【０２７１】

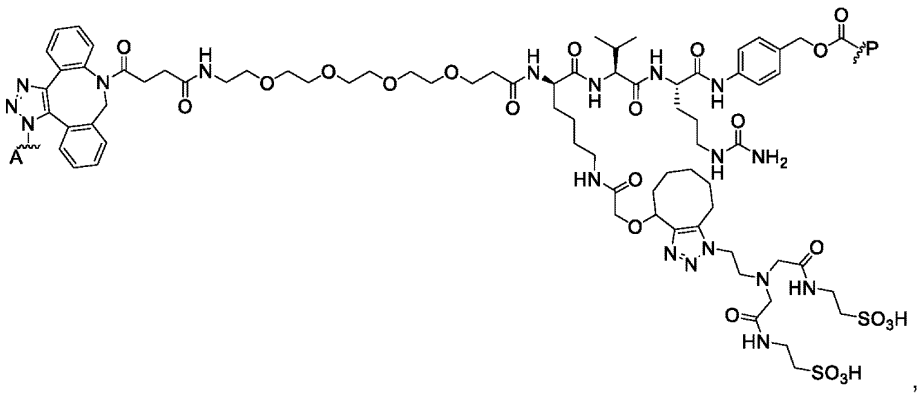
式(I)、(IA)、(IB)、(IB-1)、(IB-2)、(IC)、(ID)、(IE)、(III)、(3000)、(5001)、(5002)、(5003)、(5004)、(6001)、(6002)、(6003)、(6004)、(6005)、(7001)、(7002)、(7003)、(7004)、及び/又は(7005)についてのある実施態様において、該リン

カーは:

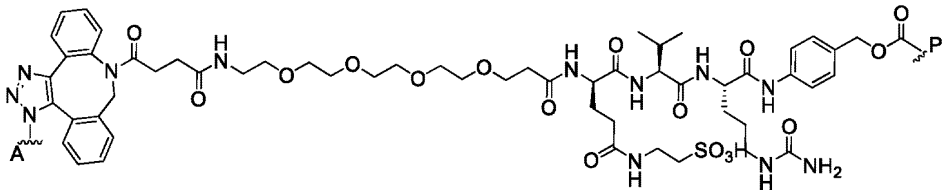
【化２０６】

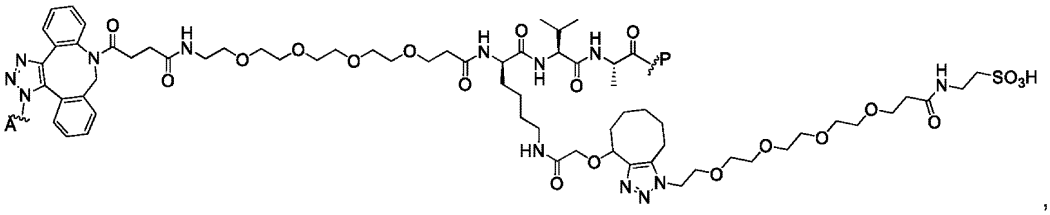


,



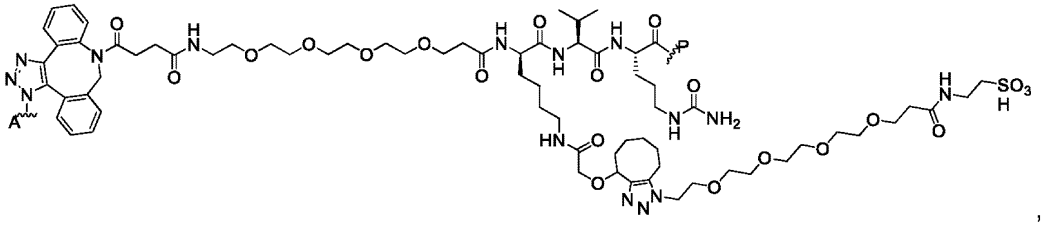
,





,

及び



,

又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物から選択され、ここで、

各々の

【化２０７】

は、結合剤との結合であり;かつ

各々の

【化２０８】

は、ペイロード残基との結合である。

【０２７２】

いくつかの例において、部分L-PAは、反応基(RG)に付加されて、RG-L-PA(例えば、表3に示されるリンカーペイロード)を形成する。いくつかの例において、BA(又はBAの修飾形態、例えば、表2に示されるPEG修飾Ab、又はAb^1)は、リンカーペイロードと反応して、表1及び表2に記載されるADCを形成する。また本明細書に提示される実施態様の範囲内で企図されるのは、表5A及び表5Bに記載される任意のリンカーペイロードから調製されるADCである。

【０２７３】

(リンカーペイロード)

本明細書に提供されるのは、抗体-薬物コンジュゲートの調製において有用である;式(2000)によるリンカー-ステロイド又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体である;

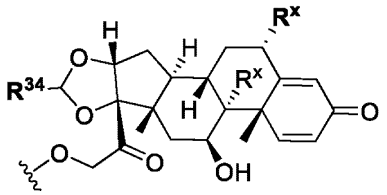
$RG\text{-}L^2\text{-}(L^3)_{0\text{-}1}\text{-}SP\text{-}D$

(式中、

Dは、

a)

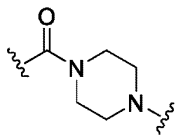
【化２０９】



式 (a)

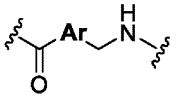
(ここで、式(a)中の両方のR^xは、水素であり; R^{34}は、アルキル、アリール、アリールアルキル、もしくはN-含有ヘテロシクロアルキルであり;かつSPは、$-C(O)-C_1-C_{10}$-アルキレン-C(O)-、$-C(O)-N(C_{1\text{-}6}$アルキル)$-C_1-C_{10}$-アルキレン$-X^1$-(ここで、X^1は、式(2000)中の$(L^3)_{0\text{-}1}$に付加されている)、$-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}$-アルキレン)-S-(ここで、Sは、式(2000)中の$(L^3)_{0\text{-}1}$に付加されている)、$-C(O)-N(C_{1\text{-}6}$アルキル)$-(C_1-C_{10}$-アルキレン)-S-(ここで、Sは、式(2000)中の$(L^3)_{0\text{-}1}$に付加されている)、

【化２１０】



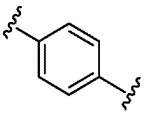
(ここで、右側にある(すなわち、Nにおける)結合点は、式(2000)中の$(L^3)_{0\text{-}1}$に対するものである)、$-CH_2$-NH-(ここで、Nは、式(2000)中の$(L^3)_{0\text{-}1}$に付加されている)、

【化２１１】



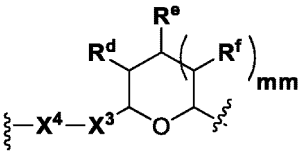
(ここで、Nは、式(2000)中の$(L^3)_{0\text{-}1}$に付加されており、かつここで、Arは、任意に置換されたアリーレン(いくつかの実施態様において、

【化２１２】



)もしくは任意に置換されたヘテロアリーレンである)、-(C_1-C_{10}-アルキレン)-$NR^{50}C(O)$-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(2000)中の$(L^3)_{0-1}$に付加されている)、-C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-$NR^{50}C(O)$-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(2000)中の$(L^3)_{0-1}$に付加されており、かつここで、各々のC_1-C_{10}-アルキレンは、独立に、1以上のヒドロキシで任意に置換されている)、-C(O)-N(R^5)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-C(O)NH-X^2-(ここで、X^2は、式(2000)中の$(L^3)_{0-1}$に付加されている)、又は

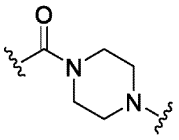
【化２１３】



(ここで、X^4は、式(2000)中の$(L^3)_{0-1}$に付加されている)であるか;或いは

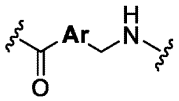
ここで、式(a)中の両方のR^xは、フルオロであり; R^{34}は、アルキル、アリール、アリールアルキル、もしくはN-含有ヘテロシクロアルキルであり;かつSPは、-C(O)-C_1-C_{10}-アルキレン-C(O)-、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-C_1-C_{10}-アルキレン-X^{1b}-(ここで、X^{1b}は、式(2000)中の$(L^3)_{0-1}$に付加されている)、-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-X^{1b}-(ここで、X^{1b}は、式(2000)中の$(L^3)_{0-1}$に付加されている)、

【化２１４】



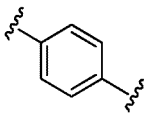
(ここで、右側にある(すなわち、Nにおける)結合点は、式(2000)中の$(L^3)_{0-1}$に対するものである)、-CH_2-NH-(ここで、Nは、式(2000)中の$(L^3)_{0-1}$に付加されている)、

【化２１５】



(ここで、Nは、式(2000)中の$(L^3)_{0-1}$に付加されており、かつここで、Arは、任意に置換されたアリーレン(いくつかの実施態様において、

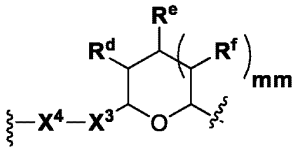
【化２１６】



)もしくは任意に置換されたヘテロアリーレンである)、-(C_1-C_{10}-アルキレン)-$NR^{50}C(O)$-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(2000)中の$(L^3)_{0-1}$に付加されて

いる)、-C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(2000)中の$(L^3)_{0-1}$に付加されており、かつここで、各々のC_1-C_{10}-アルキレンは、独立に、1以上のヒドロキシで任意に置換されている)、-C(O)-N(R^5)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-C(O)NH-X^2-(ここで、X^2は、式(2000)中の$(L^3)_{0-1}$に付加されている)、又は

【化２１７】



(ここで、X^4は、式(2000)中の$(L^3)_{0-1}$に付加されている)である);並びに/或いは

b)上の表Aの化合物(ここで、表Aの化合物は、-C(O)CH_2OH基のヒドロキシを介して、すなわち、-C(O)CH_2-O-SP-$(L^3)_{0-1}$-によって、又はマプラコラトのヒドロキシを介して、すなわち、-O-SP-$(L^3)_{0-1}$-によって、式(2000)の化合物のBAに連結されている)

から選択され:

X^1は、-N(C_{1-6}アルキル)-であり;

X^{1b}は、-S-、-NH-、又は-N(C_{1-6}アルキル)-であり;

X^2は、-NH-であり;

X^3は、-CH_2-であるか、X^3は、-CH_2-O-(C_1-C_{10}-アルキレン)-C(O)-(ここで、C(O)は、X^4に付加されている)であるか、又はX^3は、-C(O)-であり;

X^{34}は、-O-であり;

R^{35}は、H、-OH、-OCH_3、又はC_{1-6}アルキルであり;

R^{50}及びR^{50a}は、独立に、水素又はC_1-C_6-アルキルであり;

R^d、R^e、及びR^fは、独立に、-H、-OH、ヒドロキシアルキル、アルコキシカルボニル、-C(O)OH、又は-CH_2OR^gであり、ここで、各々のR^gは、独立に、-CH_2C(O)OH又は-CH_2C(O)O(アルキル)であり;かつ

mmは、0又は1であり;

RGは、反応基残基であり;

L^2は、接続リンカーであり;かつ

L^3は、存在する場合、自壊基である)。

【０２７４】

本明細書に提供されるのは、抗体-薬物コンジュゲートの調製において有用である、式(4000)によるリンカー-LXR-モジュレーター又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体である;

RG-L-E　式(4000)

(式中、

Eは、

a)上記の及び本明細書に記載される式(B)の化合物;並びに/又は

b)上記の及び本明細書に記載される式(B-1)の化合物;並びに/又は

c)本明細書中の表Cに記載されるペイロード

から選択され;

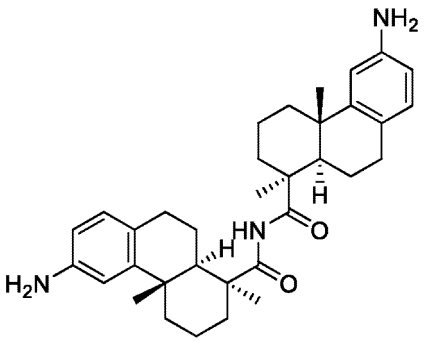
Lは、本明細書に記載されるリンカーであり;かつ

RGは、本明細書に記載される任意の反応基残基である)。

【０２７５】

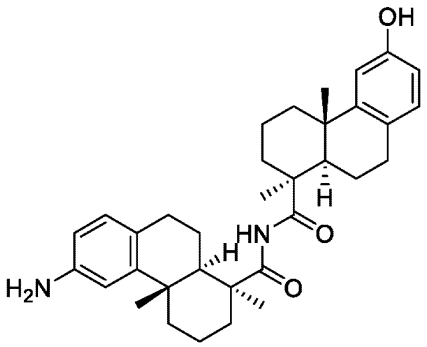
いくつかの実施態様において、LXRペイロードは、

【化２１８】



である。いくつかの実施態様において、LXRペイロードは、

【化２１９】

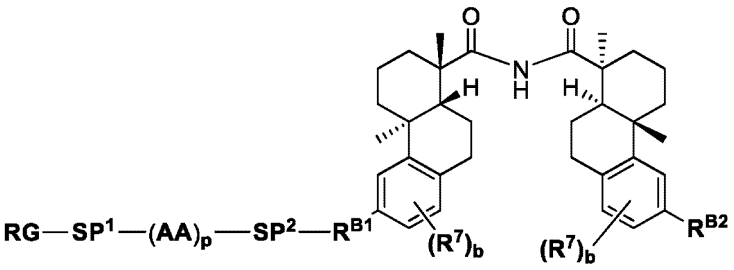


である。

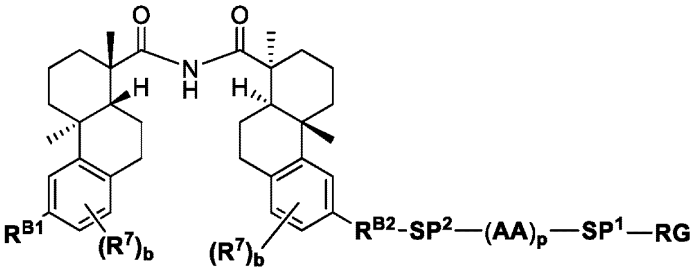
【０２７６】

いくつかの実施態様において、式(4000)のリンカー-ペイロードは、式(4001)、(4002)、(4003)、又は(4004)の構造:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体を有する;

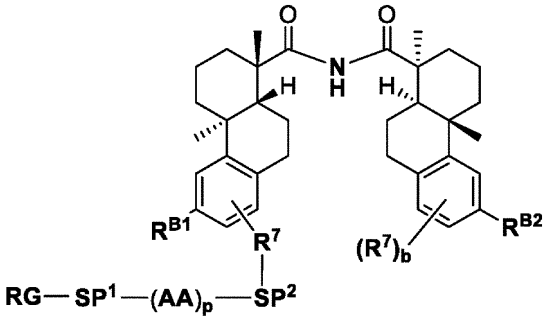
【化２２０】



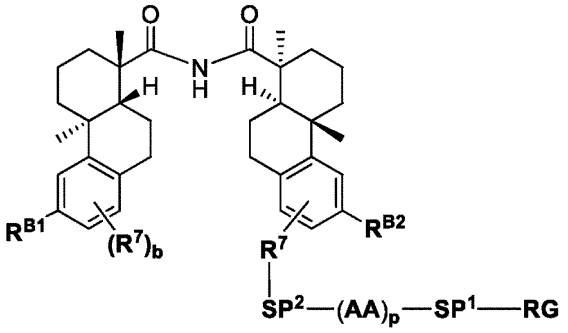
式 (4001)



式 (4002)



式 (4003) 又は



式 (4004)

(式中、
SP^1及びSP^2は、存在する場合、いくつかの及び任意の実施態様において、本明細書で定義されるスペーサー基であり;
各々のAAは、アミノ酸残基であり;
pは、1～10の整数であり;
RGは、反応基残基であり;かつ
R^{B1}、R^{B2}、R^7、及びbは、いくつかの及び任意の実施態様において、本明細書で定義されている通りである)。

【０２７７】

いくつかの実施態様において、式(4000)、(4001)、(4002)、(4003)、又は(4004)のリンカー-ペイロードは、表3のリンカー-ペイロードから選択される。

【０２７８】

本明細書に提供されるのは、式(7000)によるリンカー-リファマイシン類似体又はその

医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体である;

RG-L-F 式(7000)

(式中、

Fは、リファマイシン類似体であり;

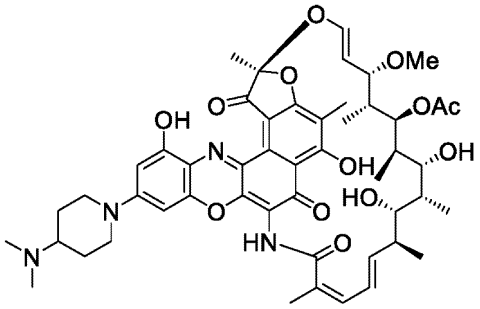
Lは、本明細書に記載されるリンカーであり;かつ

RGは、本明細書に記載される任意の反応基残基である)。

【０２７９】

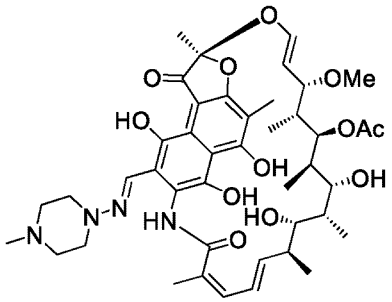
いくつかの実施態様において、Fは、本明細書に記載されるリファマイシン類似体である。いくつかの実施態様において、Fは、リファログ:

【化２２１】



である。いくつかの実施態様において、Fは、リファンピシン:

【化２２２】

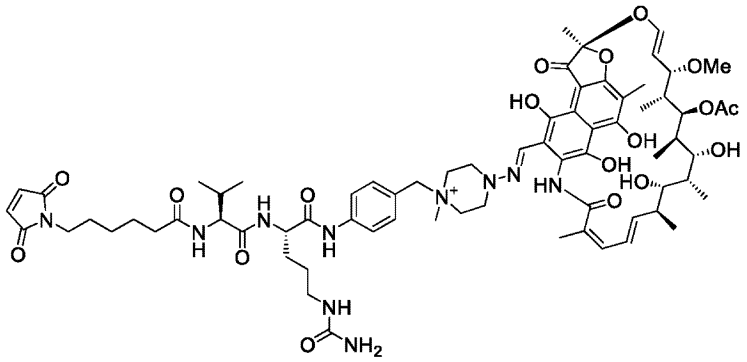


である。

【０２８０】

また本明細書に提供されるのは、式(D)によるリンカーペイロードである:

【化２２３】



式 (D)

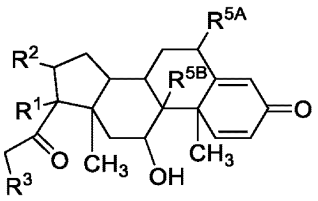
。

【０２８１】

本明細書に提供されるのは、リンカー又はリンカー-スペーサーを介して抗体又はその抗

原結合断片にコンジュゲートされたステロイドが、式(A-1)の化合物又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である、リンカー-ステロイドである;

【化２２４】

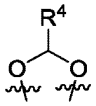


式 (A-1)

(式中、

R^1及びR^2は、独立に、-H、アルキル、アルキル-C(O)-O-、-OH、もしくはハロであるか;又はR^1及びR^2は、一緒に、

【化２２５】



を形成し、

ここで、R^4は、アルキル、アリール、アリールアルキル、又はN-含有ヘテロシクロアルキルであり、

ここで、該アルキル、アリール、アリールアルキル、及びN-含有ヘテロシクロアルキルは、各々の場合に独立に、$-NR^{Aa}R^{Ab}$で任意に置換されており;

R^3は、-O、R^Z-C(O)-X-、-ヘテロアルキル、-ピペリジニル、$-NR^{Aa}R^{Ab}$、-オキシアリール-$NR^{Aa}R^{Ab}$、又は-Z-A'$(R^P)_t$であり;

R^Zは、アルキルであり;

Xは、O又はNR^{Aa}であり;

Zは、S、S(O)、$S(O)_2$、SO_2NR^{Aa}、O、$C(O)NR^{Aa}$、C(O)、又はNR^{Aa}であり;

A'は、アリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールであり;

R^Pは、各々の場合に独立に、ハロ、任意に置換されたアルキル、-OH、又は$-NR^{Aa}R^{Ab}$であり;

R^{Aa}及びR^{Ab}は、各々の場合に独立に、-H、任意に置換されたアルキル、又は任意に置換されたアリールであり;

下付文字aは、0～19の整数であり;かつ

tは、1～3の整数であり;かつ

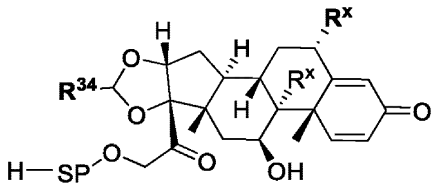
R^{5A}及びR^{5B}は、各々独立に、ハロ又は水素原子であり;

ここで、基R^3又はR^4は、リンカーに結合している)。

【０２８２】

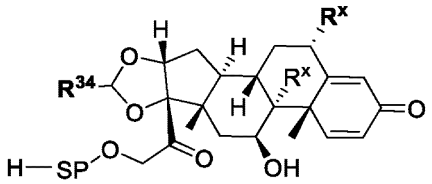
本明細書に提供されるのは、式Ab-L'-SP-D又はBA-L'-SP-Dの抗体-薬物コンジュゲートであり、ここで、Dは、ブデソニドプロドラッグ又はブデソニド類似体もしくは誘導体(フッ素化類似体及び誘導体を含む)のプロドラッグであり、かつここで、Ab、BA、L'、及びSPは、本明細書に記載される任意の実施態様において定義されている通りである。いくつかの実施態様において、SPは、D又は

【化２２６】



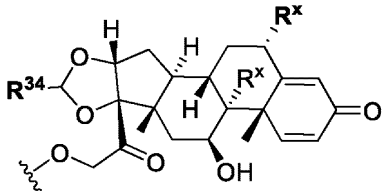
を放出することができる部分である。いくつかの実施態様において、生理的条件下で、LとSPの間の結合が切断されて、ステロイドプロドラッグ、すなわち、H-SP-D又は

【化２２７】



を放出し、その後、SPとDの間の結合、又はSPと

【化２２８】

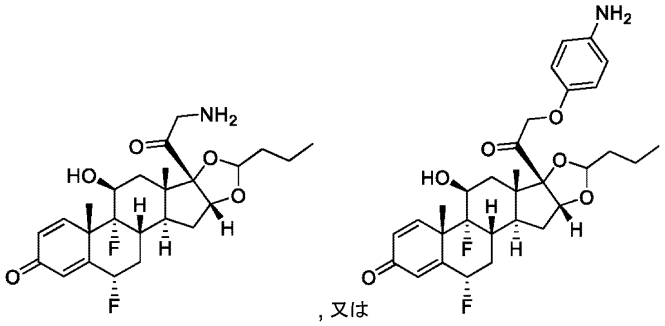


の間の結合が切断されて、生物学的活性ステロイドを放出する。

【０２８３】

いくつかの例において、式(I)、(IA)、(IB)、(IB-1)、(IB-2)、(IC)、(ID)、(IE)、(III)、又は(3000)のADCは、表1及び/又は表2並びに実施例の節に記載されているADCである。いくつかの実施態様において、本明細書に記載される任意の抗体薬物コンジュゲート中のステロイドペイロードは、

【化２２９】



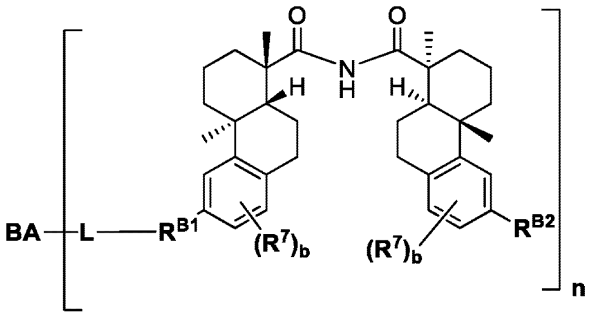
, 又は

又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体である。

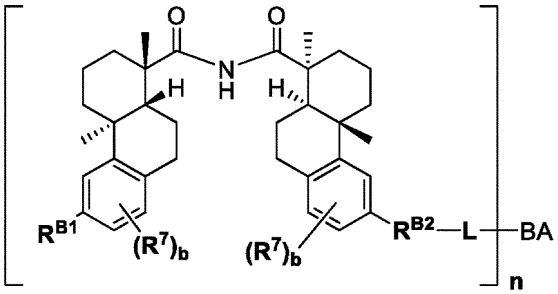
【０２８４】

本明細書に提供されるのは、式(5001)、(5002)、(5003)、又は(5004)の本明細書に記載される任意のLXR-モジュレーター化合物の抗体-薬物コンジュゲート:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくはその位置異性体、或いはその混合物である;

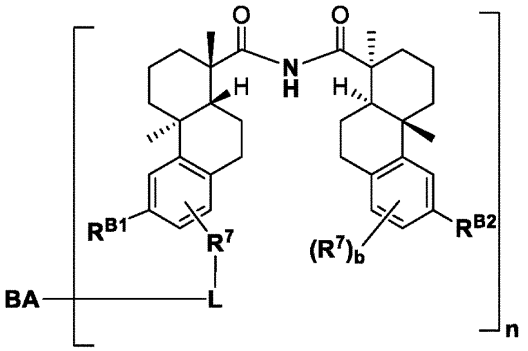
【化２３０】



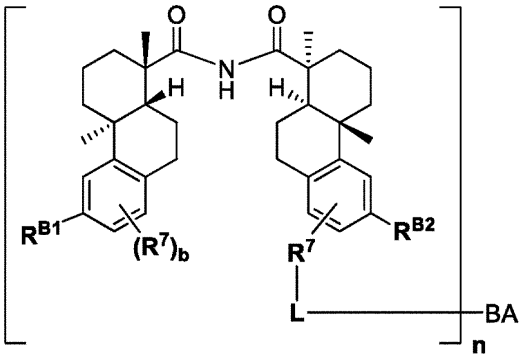
式 (5001)



式 (5002)



式 (5003) 又は



式 (5004)

(式中、Lは、いくつかの又は任意の実施態様において、本明細書に記載される任意のリンカーであり;

nは、1～30の整数であり;

BAは、結合剤又はPEG修飾結合剤であり;かつ

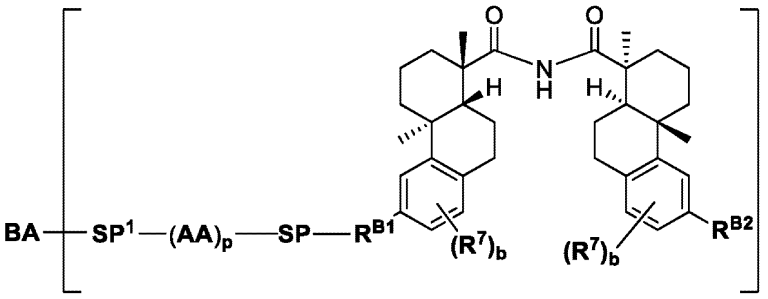
R^{B1}、R^{B2}、R^7、及びbは、いくつかの及び任意の実施態様において、本明細書で定義されている通りである)。

【０２８５】

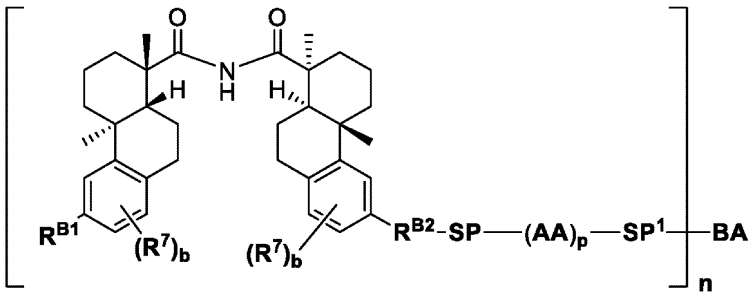
本明細書に提供されるのは、式(6001)、(6002)、(6003)、又は(6004)の本明細書に記載される任意のLXR-モジュレーター化合物の抗体-薬物コンジュゲート:又はその医薬と

して許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくはその位置異性体、或いはその混合物である;

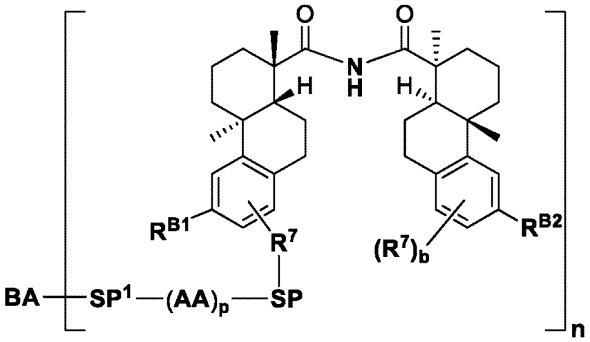
【化２３１】



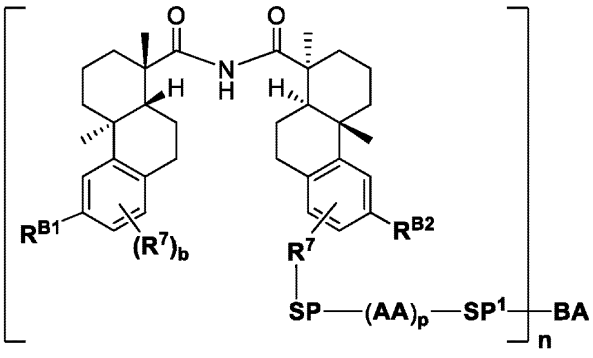
式 (6001)



式 (6002)



式 (6003) 又は



式 (6004)

(式中、SP^1及びSPは、存在する場合、いくつかの又は任意の実施態様において、本明細書で定義されるスペーサー基であり;

各々のAAは、アミノ酸残基であり;

pは、1～10の整数であり;

nは、1～30の整数であり;

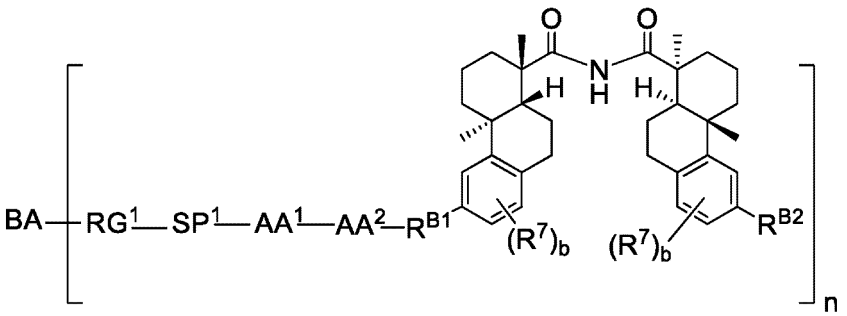
BAは、結合剤又はPEG修飾結合剤であり;かつ

R^{B1}、R^{B2}、R^7、及びbは、いくつかの及び任意の実施態様において、本明細書で定義されている通りである)。

【０２８６】

本明細書に提供されるのは、式(6005)の本明細書に記載される任意のLXR-モジュレーター化合物の抗体-薬物コンジュゲート:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくはその位置異性体、或いはその混合物である;

【化２３２】



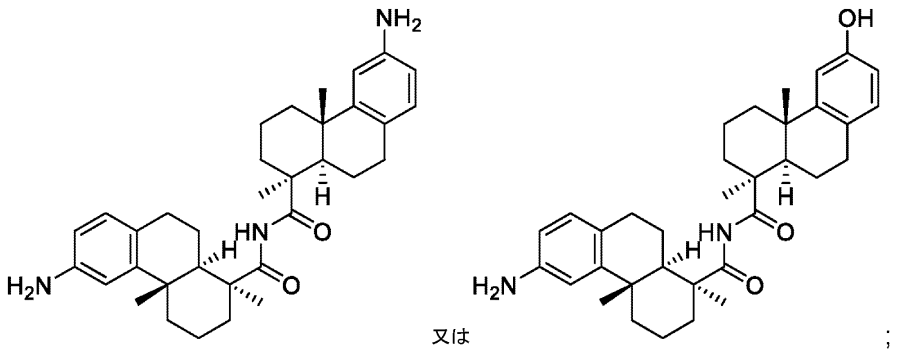
式 (6005)

(式中、R^{B1}、R^{B2}、R^7、b、BA、RG^1、SP^1、AA^1、及びAA^2は、いくつかの又は任意の実施態様において、本明細書で定義されている通りである)。

【０２８７】

いくつかの例において、式(I)、(IA)、(IB)、(IB-1)、(IB-2)、(IC)、(ID)、(IE)、(5001)、(5002)、(5003)、(5004)、(6001)、(6002)、(6003)、(6004)、又は(6005)のADCは、表1及び/又は表2並びに実施例の節に記載されるADCである。いくつかの実施態様において、本明細書に記載される任意の抗体薬物コンジュゲート中のLXRモジュレーターペイロードは、

【化２３３】



又は

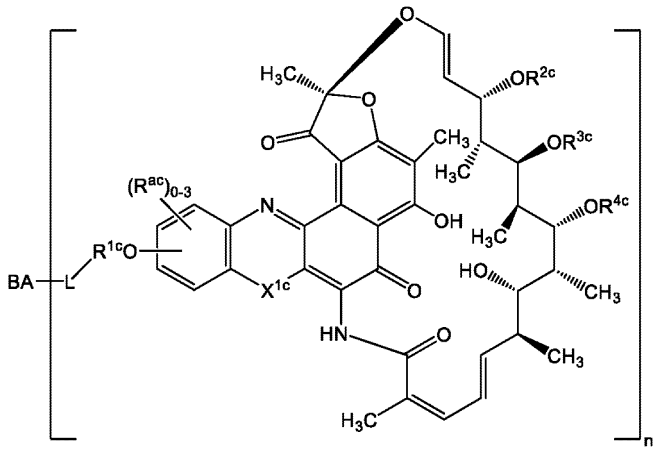
;

又はその医薬として許容し得る塩又は溶媒和物である。

【０２８８】

本明細書に提供されるのは、本明細書に記載され、かつ式(7001)の構造を有する任意のリファマイシン類似体の抗体-薬物コンジュゲート、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくはその位置異性体、或いはその混合物である;

【化２３４】



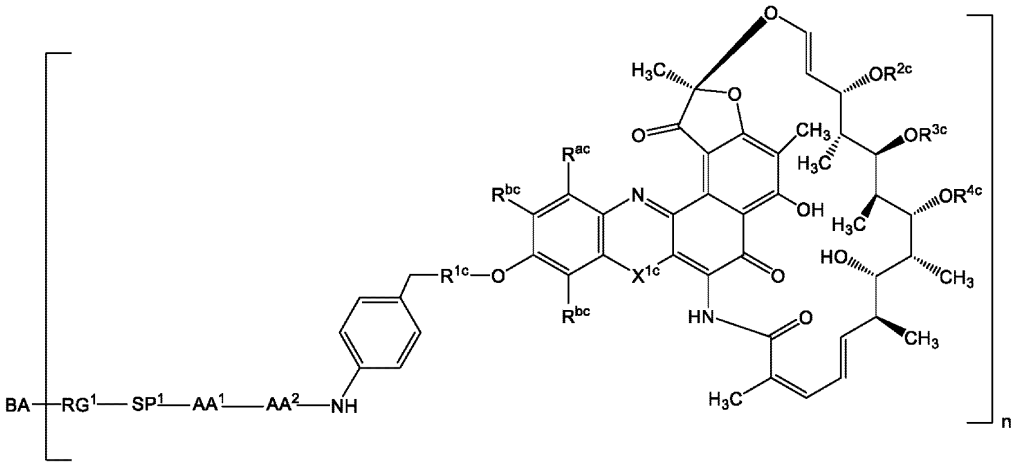
式 (7001)

(式中:
X^{1c}は、-S-; -O-及び-NR^{5c}から選択され;
R^{1c}は、アミノ-C_{1-6}アルキル; C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ジ-C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ヒドロキシ-C_{1-6}アルキル; HS-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-N(R^{5c})-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-O-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-S-C_{1-6}アルキル;ヘテロシクロアルキル、又はヘテロシクロアルキル-C_{1-6}アルキルであり;ここで、ヘテロシクロアルキルは、O、N、及びSから選択される1個、2個、又は3個のヘテロ原子を含み;かつここで、ヘテロシクロアルキルは、ハロ、C_{1-6}アルキル、-OH、又は=Oで任意に置換されており;
R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;
各々のR^{ac}は、存在する場合、独立に、-F; -Cl; -Br; -I; -OH; -NH_2;及びC_{1-6}アルコキシから選択され;かつ
R^{5c}は、出現する毎に独立に、水素;及びC_{1-6}アルキルから選択され;
Lは、リンカーであり;
BAは、結合剤であり;かつ
下付文字nは、1～30の整数である)。

【０２８９】

本明細書に提供されるのは、本明細書に記載され、かつ式(7002)の構造を有する任意のリファマイシン類似体の抗体-薬物コンジュゲート:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくはその位置異性体、或いはその混合物である;

【化２３５】



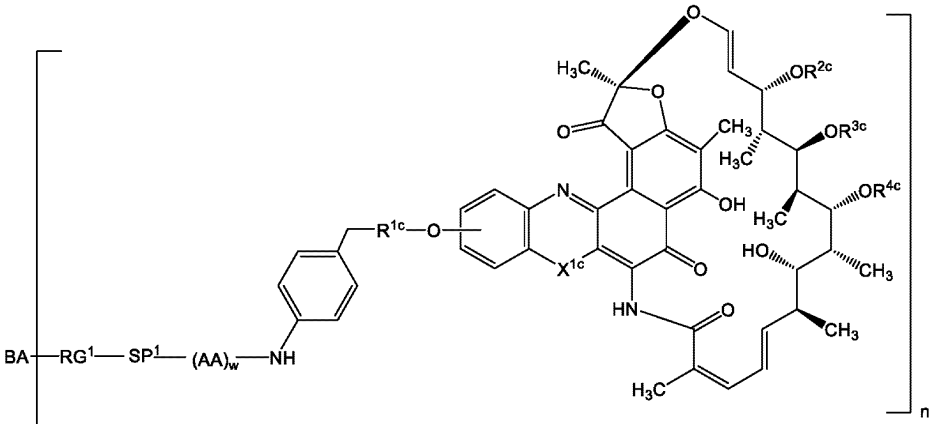
式 (7002);

(式中、BA、RG^1、SP^1、AA^1、AA^2、R^{1c}、R^{bc}、R^{ac}、X^{1c}、R^{2c}、R^{3c}、R^{4c}、及びnは、いくつかの又は任意の実施態様において、本明細書で定義されている通りである)。

【０２９０】

本明細書に提供されるのは、式(7003)の構造を有する抗体-リファマイシン類似体コンジュゲート:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくはその位置異性体、或いはその混合物である;

【化２３６】



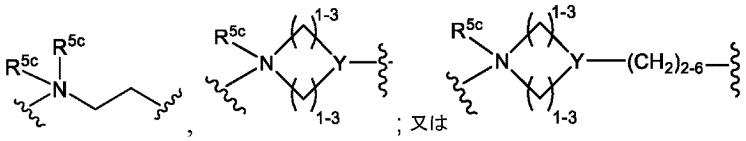
式 (7003)

(式中:

X^{1c}は、-S-; -O-、及びcから選択され;

R^{1c}は、

【化２３７】



であり;ここで、Yは、C又はNであり;

R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;

R^{5c}は、出現する毎に独立に、非存在であるか、又は水素;及びC_{1-6}アルキルから選択され;

各々のAAは、独立に選択されるアミノ酸であり;

SP^1は、非存在、又はスペーサーであり;

RG^1は、反応基残基であり;

BAは、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり;

下付文字nは、1～30の整数であり;

下付文字wは、2、3、又は4であり;

ここで、R^{1c}は、波線

【化２３８】

によって示される窒素原子を介して、リンカーに結合している)。

【０２９１】

式(7003)の様々な実施態様において、SP^1、RG^1、及びAAは、いくつかの及び/又は任意の特定の実施態様において、本明細書で定義されている通りである。

【０２９２】

式(7003)のいくつかの実施態様において、X^{1c}はOである。式(7003)のいくつかの実施態様において、X^{1c}はSである。式(7003)のいくつかの実施態様において、X^{1c}はCである。式(7003)のいくつかの実施態様において、X^{1c}はNR^{5c}である。

【０２９３】

式(7003)のいくつかの実施態様において、BAは、N297Q突然変異を含む;抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。

【０２９４】

式(7003)のいくつかの実施態様において、下付文字wは2である。

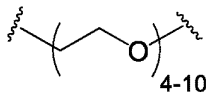
【０２９５】

式(7003)のいくつかの実施態様において、$(AA)_2$は、バリン-シトルリンである。

【０２９６】

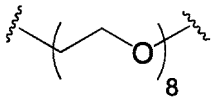
式(7003)のいくつかの実施態様において、SP^1は、

【化２３９】



を含む。式(7003)のいくつかの実施態様において、SP^1は、

【化２４０】

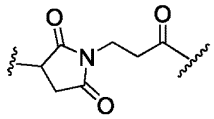


を含む。

【０２９７】

式(7003)のいくつかの実施態様において、RG^1は、

【化２４１】



を含む。

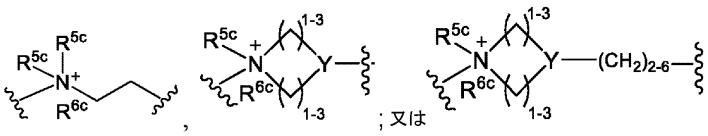
【０２９８】

式(7003)のいくつかの実施態様において、

X^{1c}は、Oであり;

R^{1c}は、

【化２４２】



であり;ここで、Yは、C又はNであり;ここで、R^{1c}は、R^{1c}の四級窒素原子を介して、リンカーに結合しており;

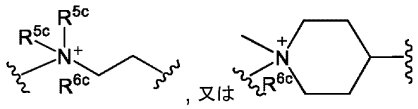
R^{5c}は、C_{1-6}アルキル;かつ

R^{6c}は、対イオンである。

【０２９９】

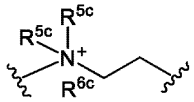
そのような実施態様のいくつかにおいて、R^{1c}は、

【化２４３】



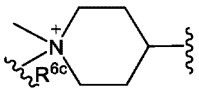
である。そのような実施態様のいくつかにおいて、R^{1c}は、

【化２４４】



である。そのような実施態様のいくつかにおいて、R^{1c}は、

【化２４５】

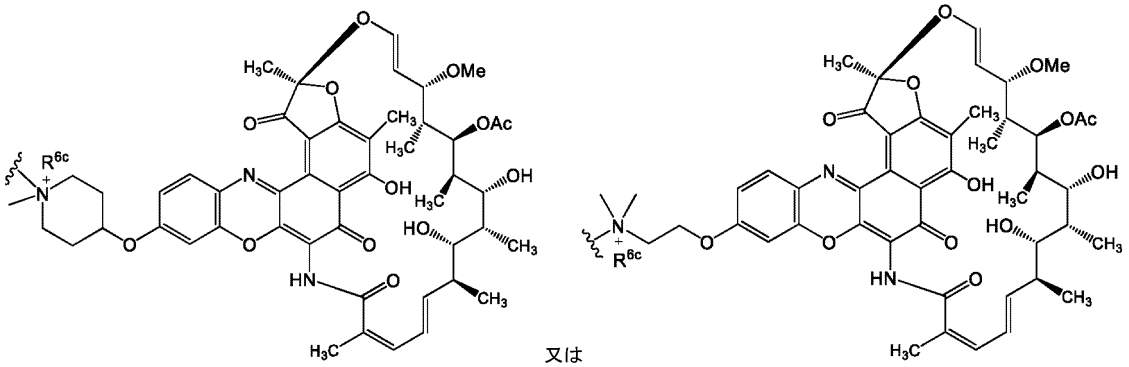


である。そのような実施態様のいくつかにおいて、R^{6c}は、I^-、Cl^-、又はBr^-であり、いつのかの例において、R^{6c}は、I^-である。

【０３００】

式(7003)のいくつかの実施態様において、リファマイシン類似体は:

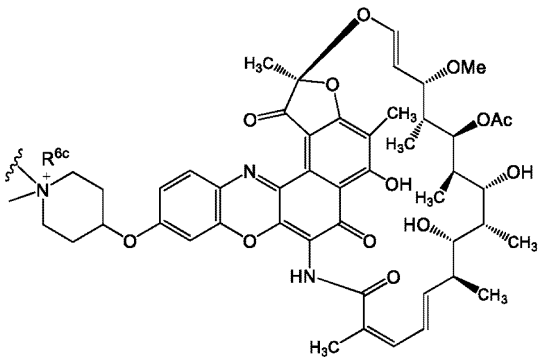
【化２４６】



である。式(7003)のいくつかの実施態様において、リファマイシン類似体は:

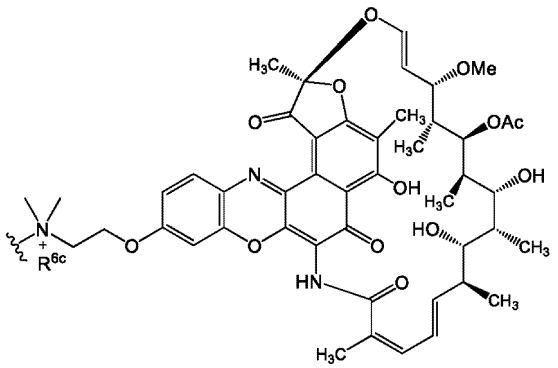
【０３０１】

【化２４７】



である。式(7003)のいくつかの実施態様において、リファマイシン類似体は:

【化２４８】

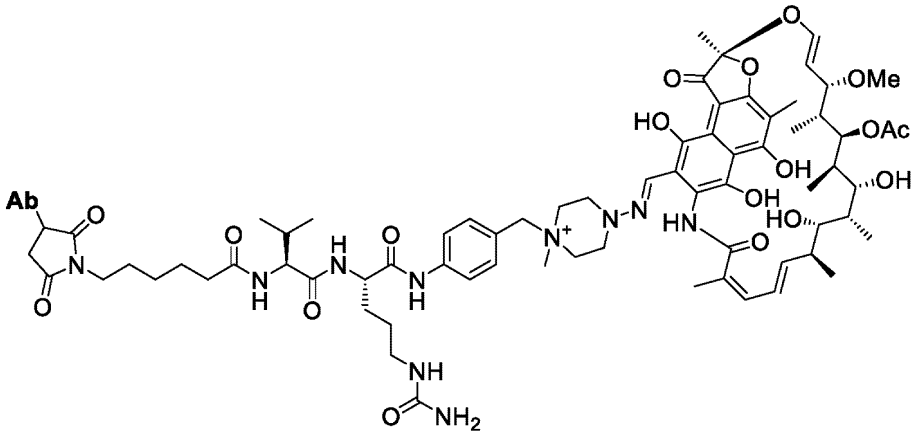


である。

【０３０２】

さらに本明細書に提供されるのは、式(7004)によるリファマイシン化合物(例えば、リファンピシン)を含む抗体-薬物コンジュゲートである:

【化２４９】



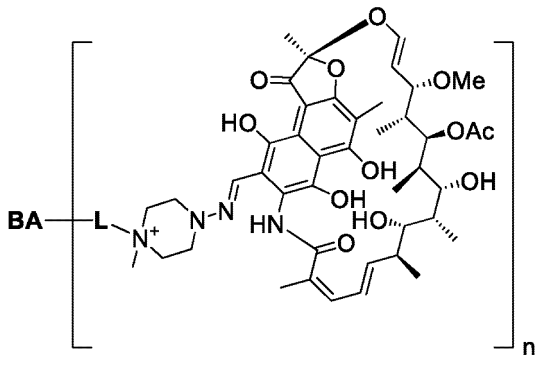
式 (7004)

。

【０３０３】

さらに本明細書に提供されるのは、式(7005)によるリファマイシン化合物(例えば、リファンピシン)を含む抗体-薬物コンジュゲートである:

【化２５０】



式 (7005)

(式中、L及びBAは、いくつかの又は任意の実施態様において、本明細書で定義されている通りである)。

【０３０４】

いくつかの例において、式(I)、(IA)、(IB)、(IB-1)、(IB-2)、(IC)、(ID)、(IE)、(700

1)(7002)、(7003)、(7004)、及び/又は(7005)のADCは、表2及び/又は実施例の節に記載されるADCである。

【０３０５】

またADCのこれらの例に含まれるのは、その医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、その位置異性体、又はその位置異性体の混合物であり、ここで、各々の

【化２５１】

は、結合剤との結合であり;かつ各々の

【化２５２】

は、ペイロードとの結合である。

【０３０６】

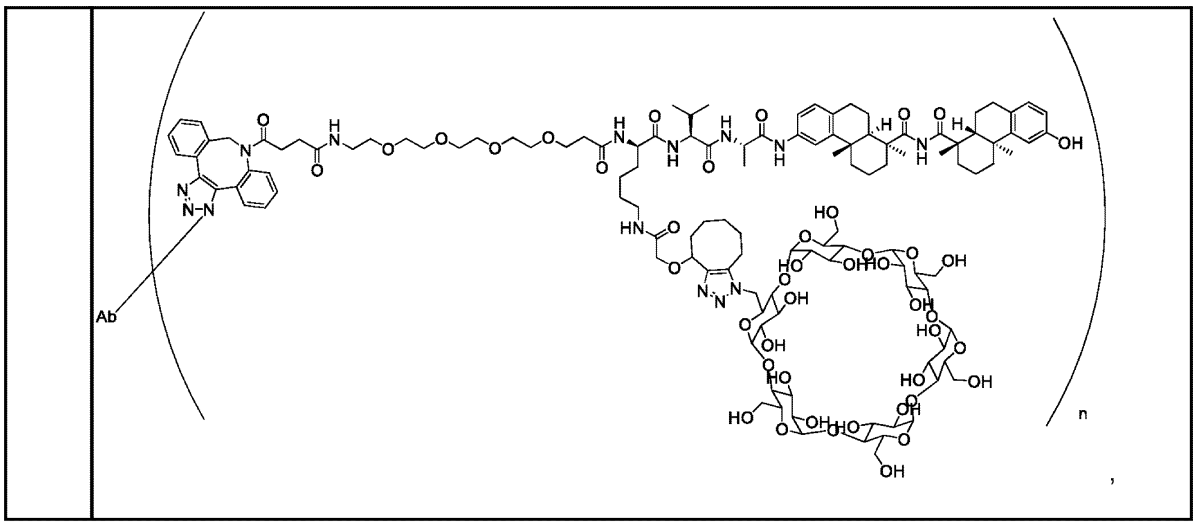
ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、本明細書に開示される抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片、又はPEG修飾抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片及び表3のリンカー-ペイロードからなる群から選択されるリンカー-ペイロード(LP)を含むADC、又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物である。

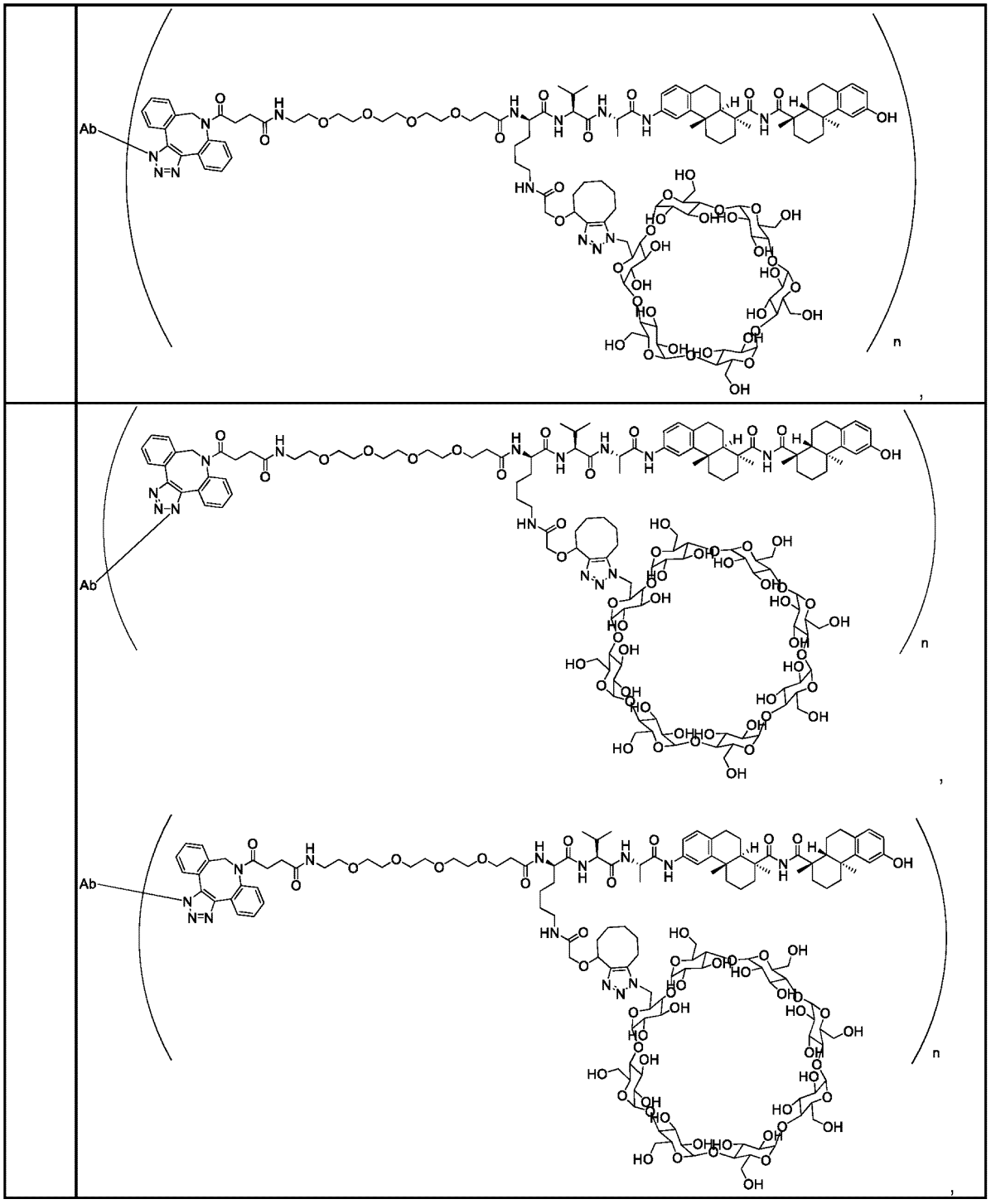
【０３０７】

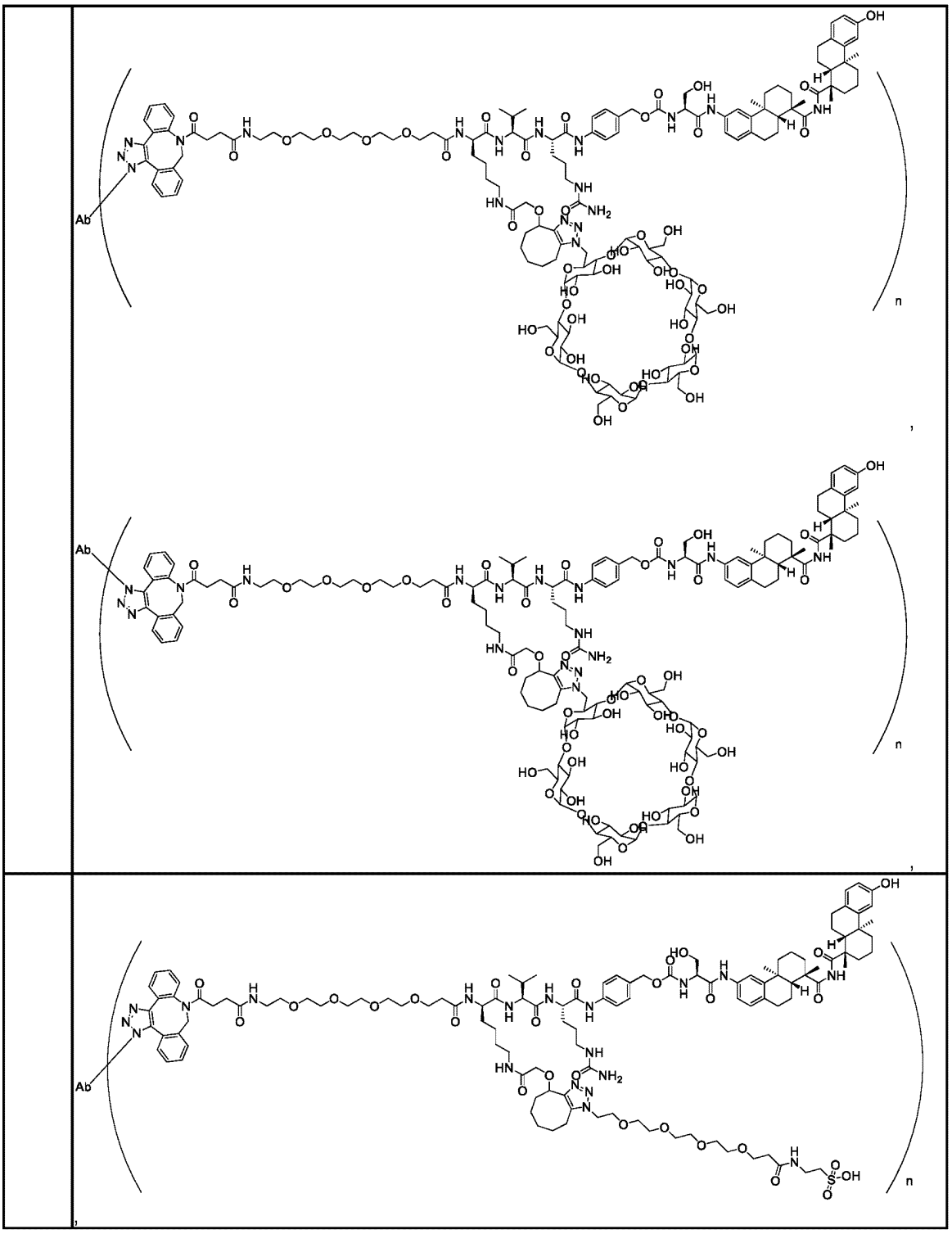
また本明細書に提供されるのは、1以上の放射性核種にコンジュゲートされた抗MSR1抗体を含む抗体-放射性核種コンジュゲート(ARC)である。本開示のこの態様との関連において使用することができる例示的な放射性核種としては、例えば、^{225}Ac、^{212}Bi、^{213}Bi、^{131}I、^{186}Re、^{227}Th、^{222}Rn、^{223}Ra、^{224}Ra、及び^{90}Yが挙げられるが、これらに限定されない。

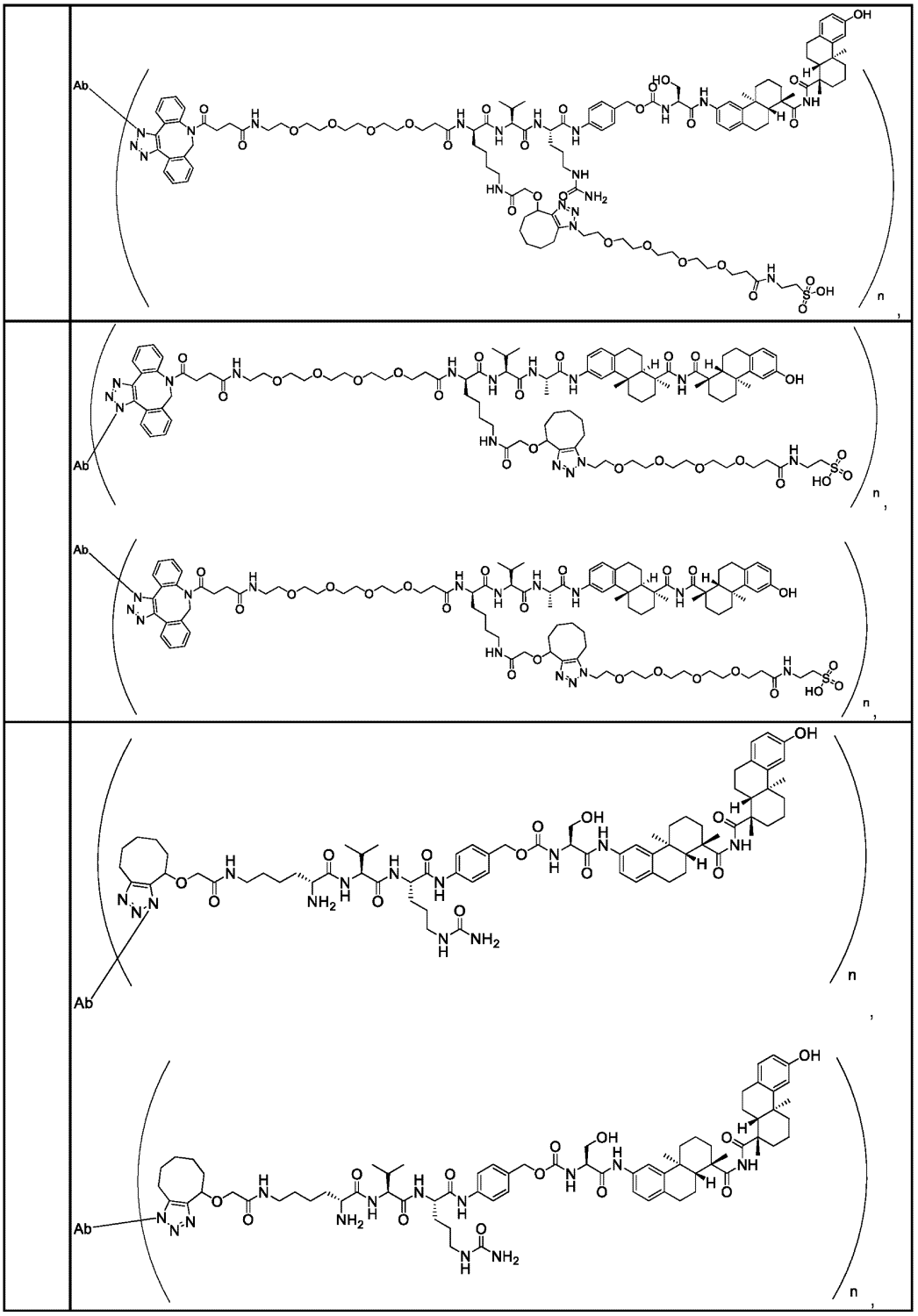
表1: ADC及びその構造のリスト

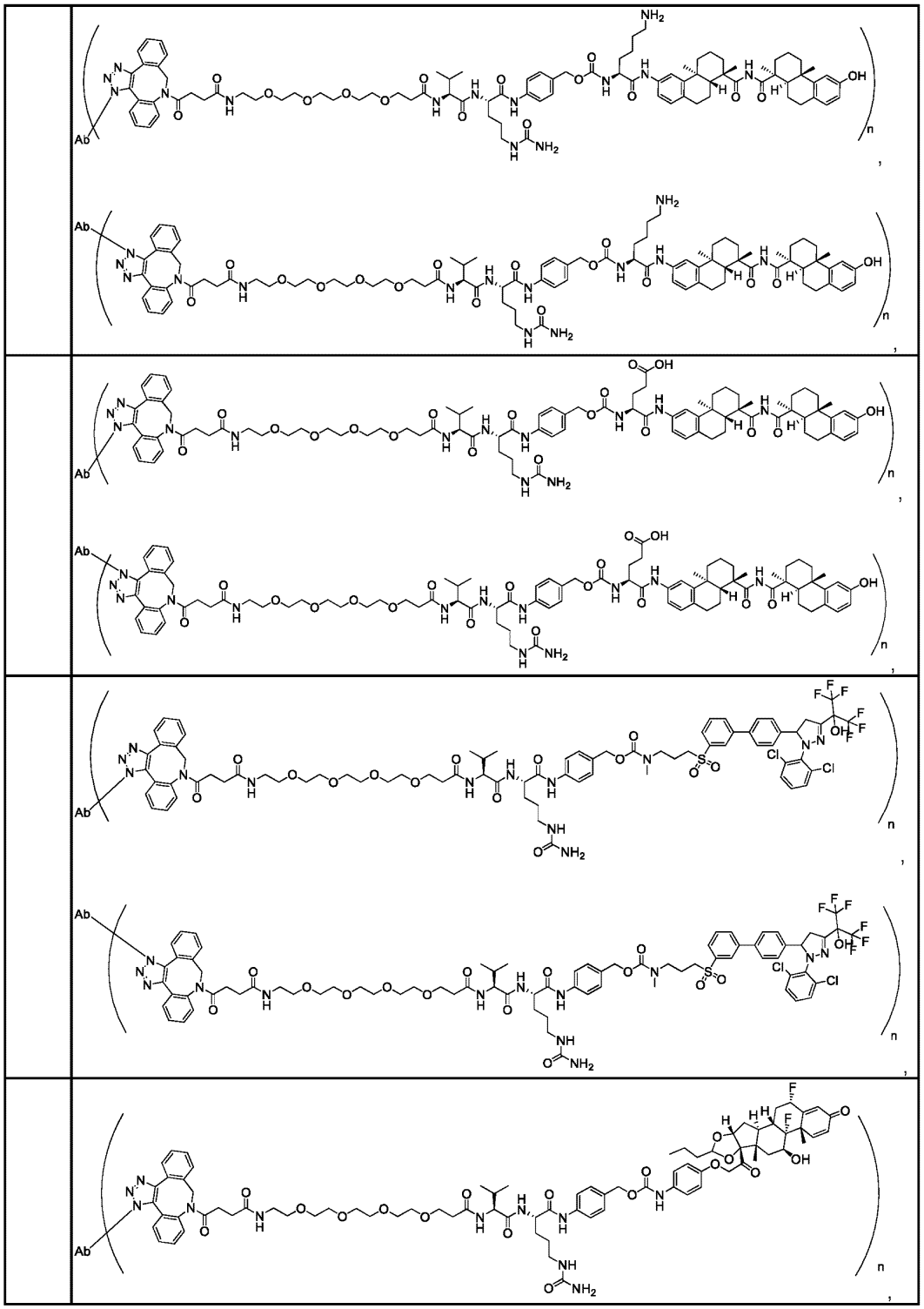
【表３】

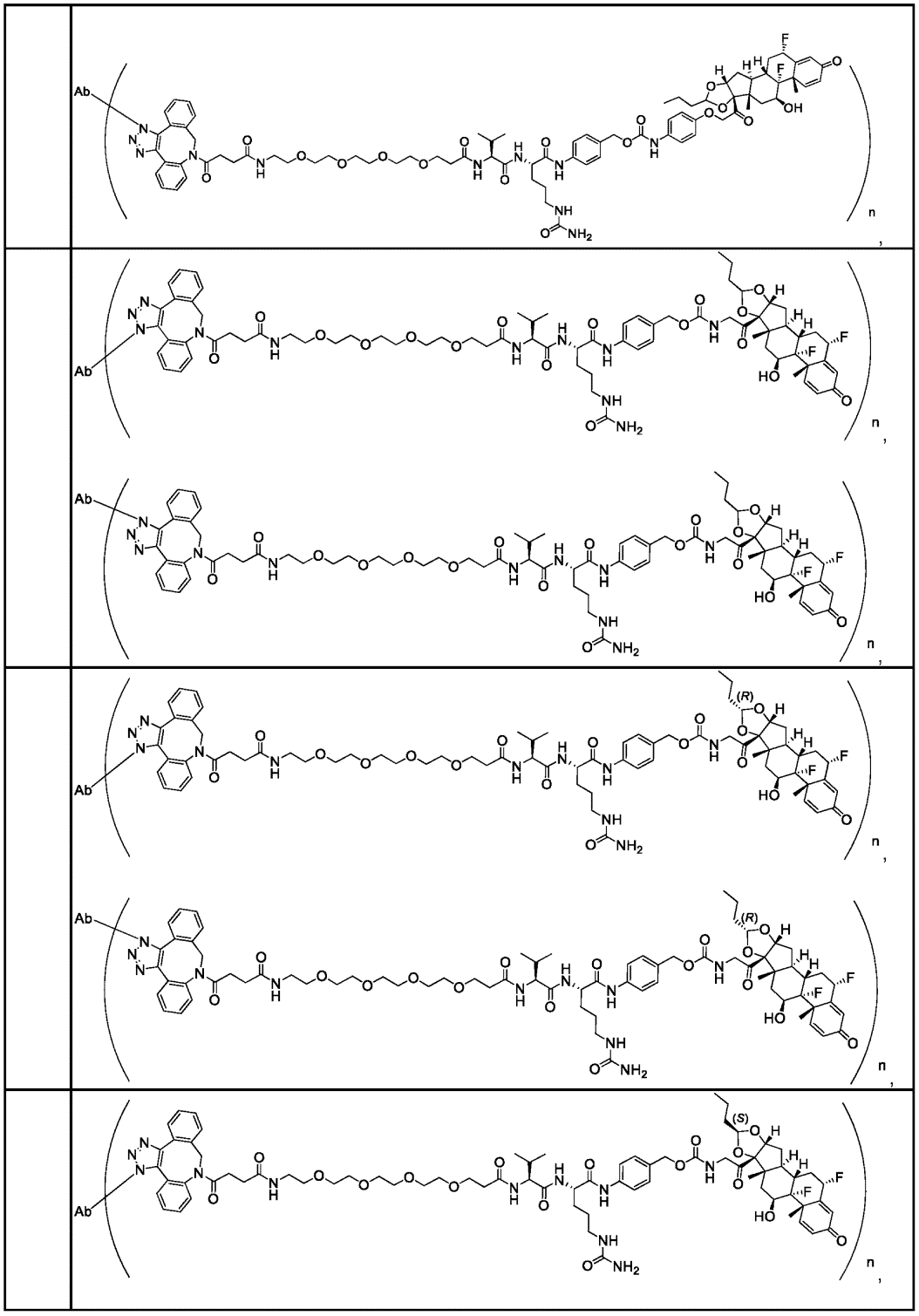


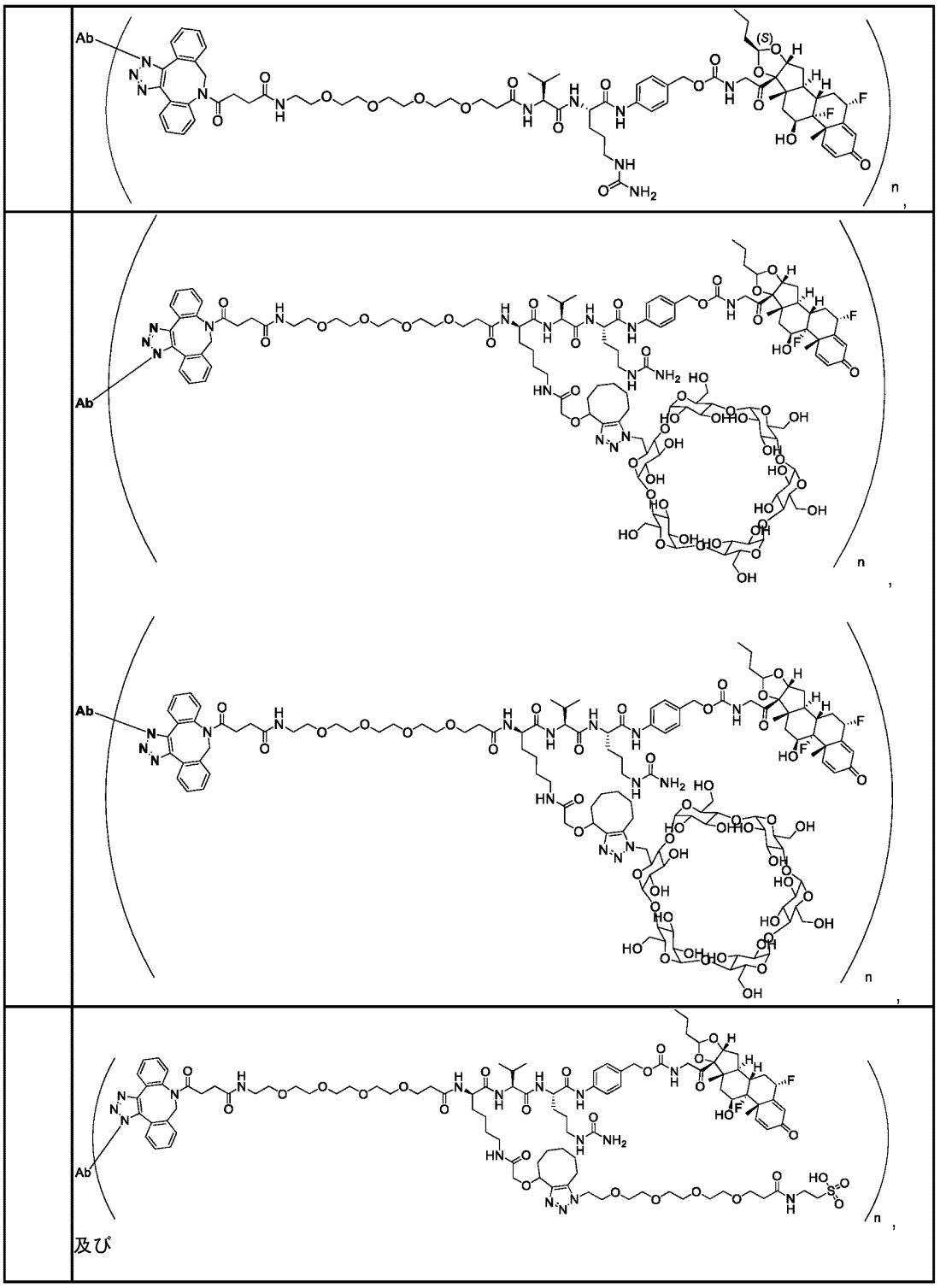

Ab
n
,
Ab
n
,
Ab
n
,



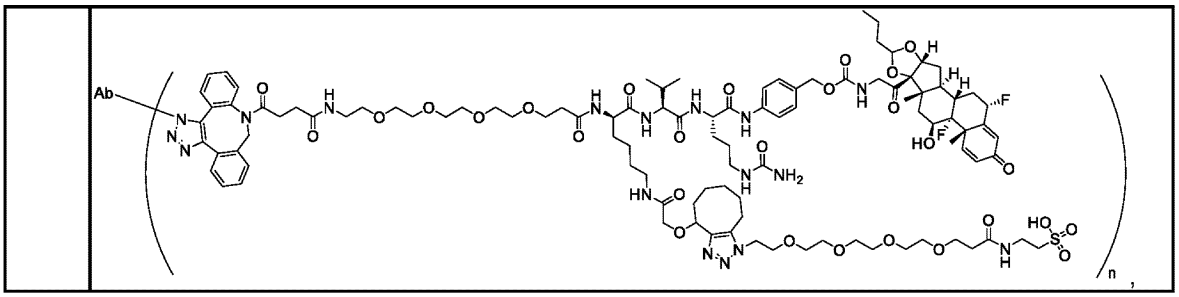

Ab
n
OH
NH
NH2
HO
HN
O
N
S
OH







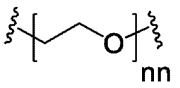
及び



【０３０８】

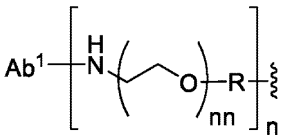
表1のADCにおいて、Abは、本明細書に提供される抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。特定の実施態様において、Abは、本明細書に記載されるグルタミン側鎖上のPEG基

【化２５３】



で修飾される(本明細書において、PEG修飾抗体と呼ばれる)。ある実施態様において、PEG基は、アジド基で終わり、本明細書に記載されるリンカー-ペイロード(例えば、表3及び実施例に記載されるリンカーペイロード)との反応を容易にする。ある実施態様において、PEG基は、本明細書に記載されるトリアゾール又はトリアゾール誘導体を介して、リンカー-ペイロードに連結される。ADCにおいて、nは、1～10の整数、例えば、1、2、3、又は4である。PEG基において、nnは、1～10の整数、例えば、1、2、3、4、又は5である。他の実施態様において、表1のADC中の各々のBAは、

【化２５４】



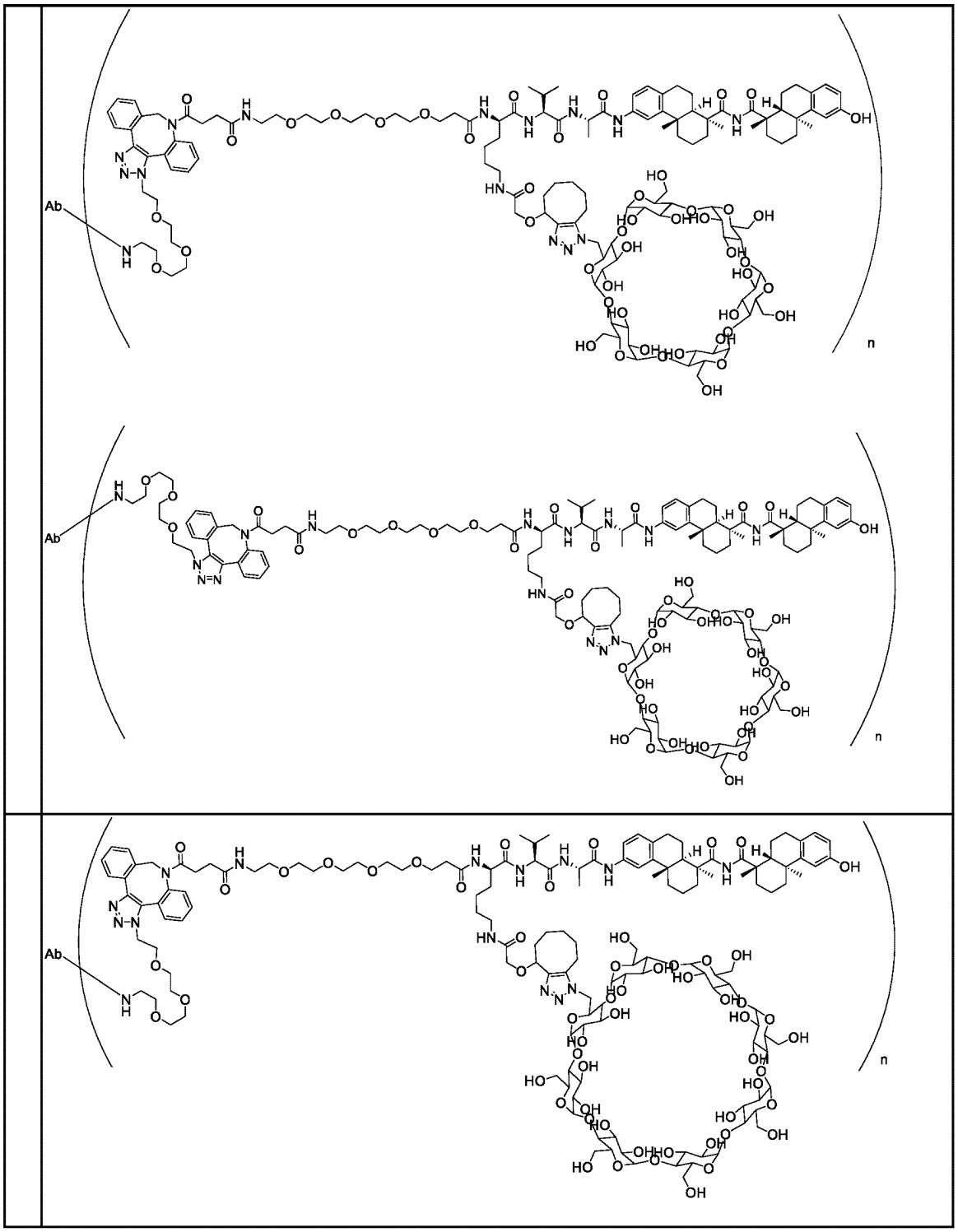
であり、ここで、Ab^1は、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり; Rは、C_{2-4}-アルキレンであり;かつnnは、2～4までから選択される整数であり、かつ各々のnは、1～10の整数、例えば、1、2、3、又は4である。

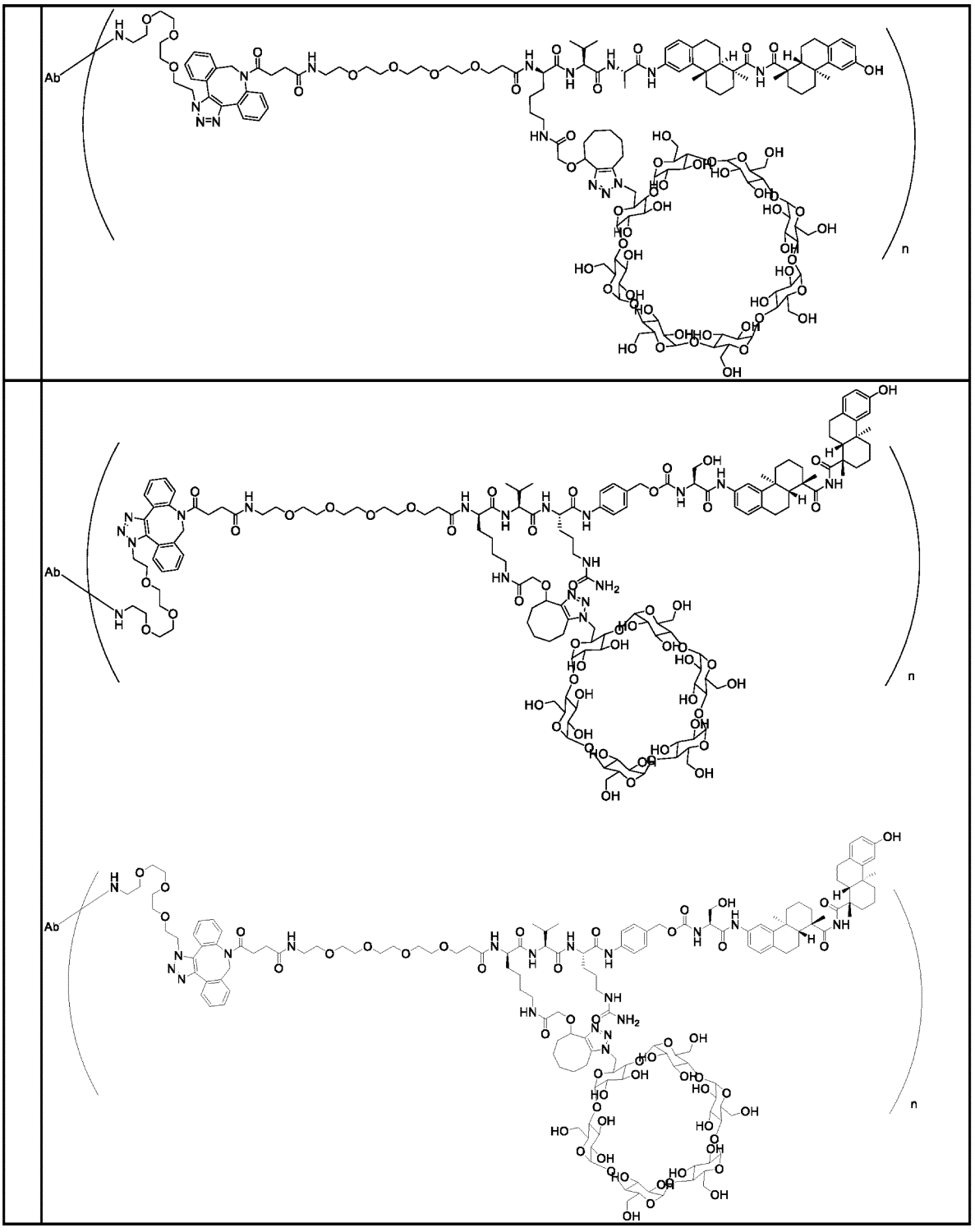
【０３０９】

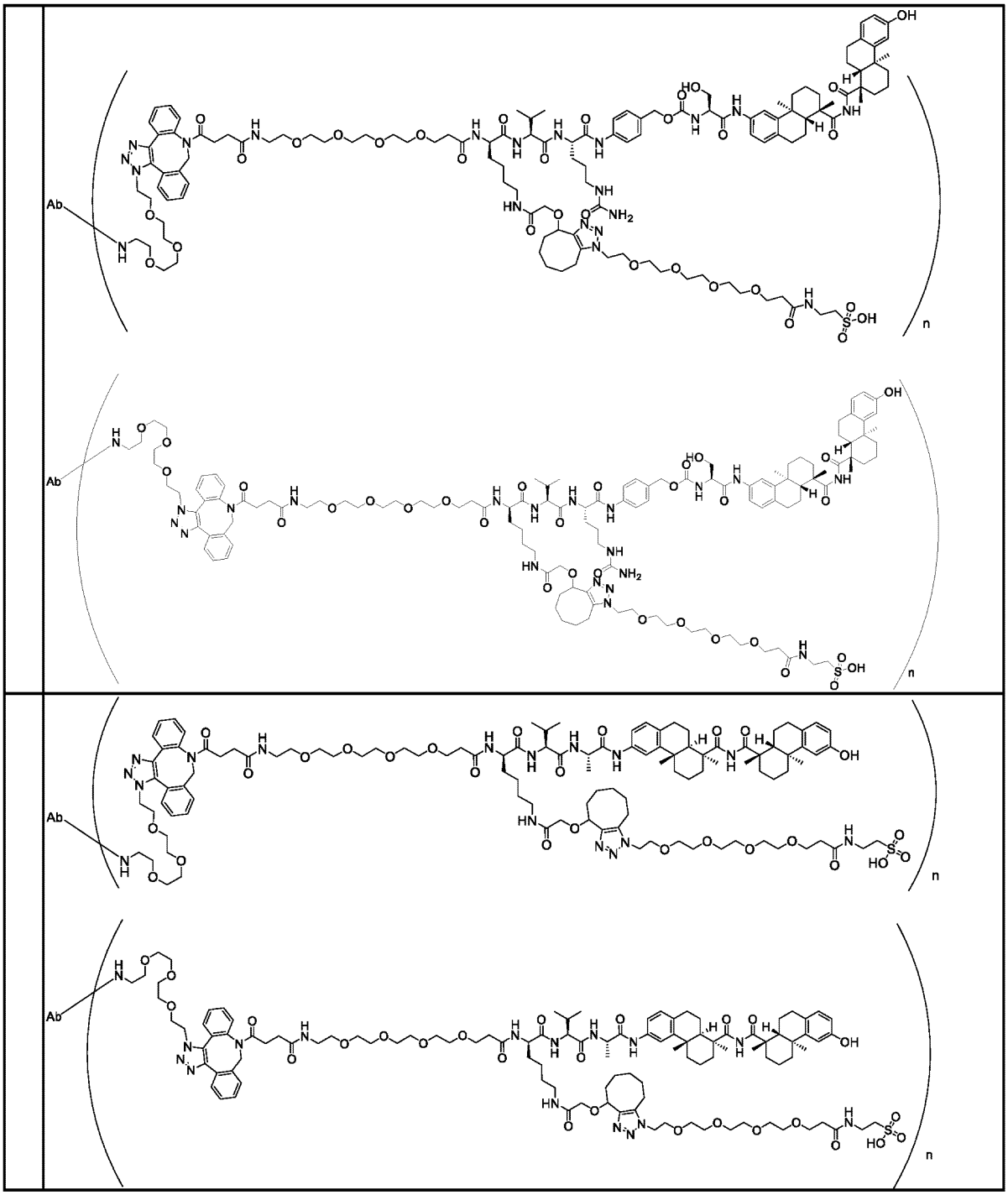
ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、本明細書に開示される抗体及び表2のリンカー-ペイロードからなる群から選択されるリンカー-ペイロード(LP)を含むADC、又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物である。

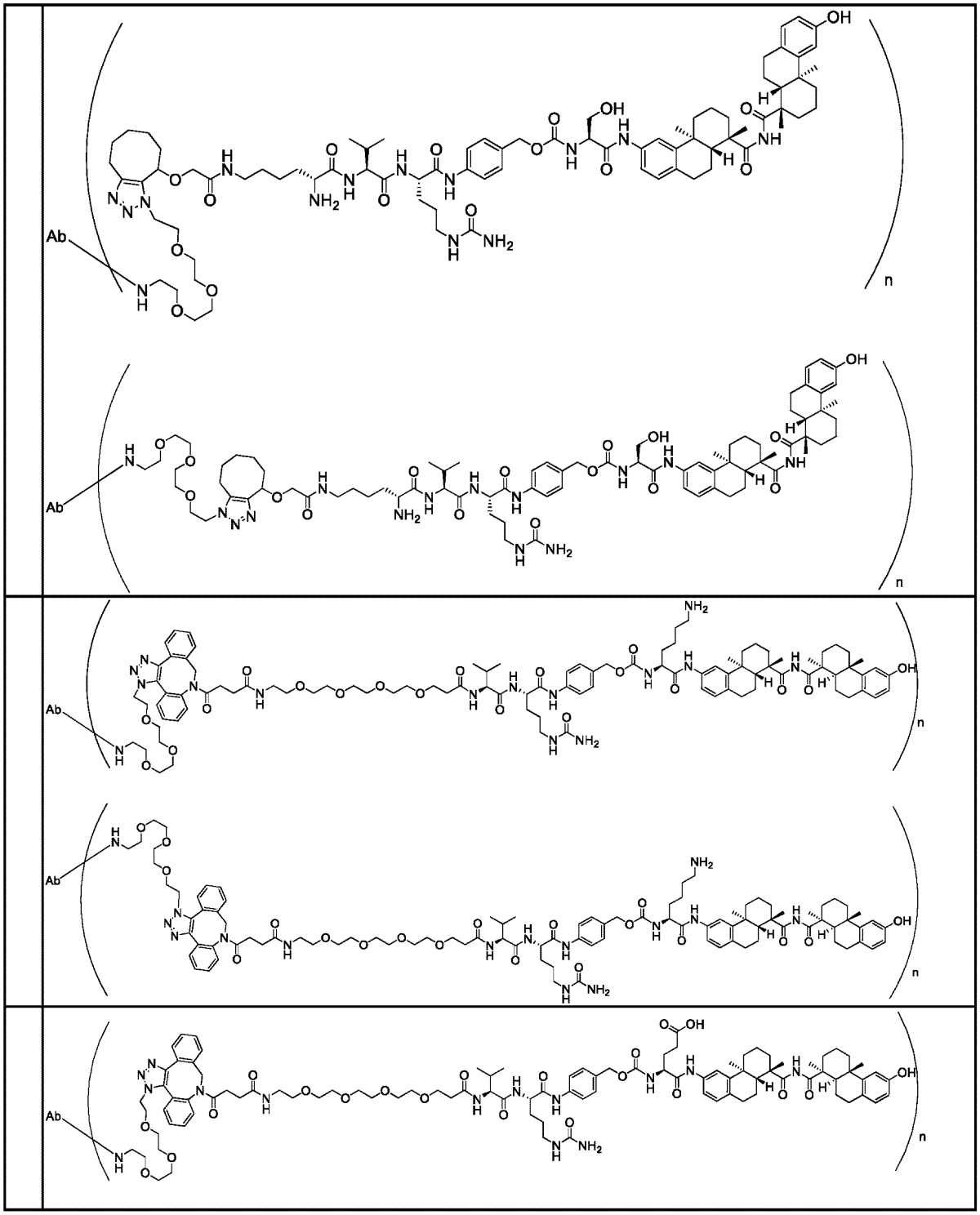
表2: ADC及びその構造のリスト

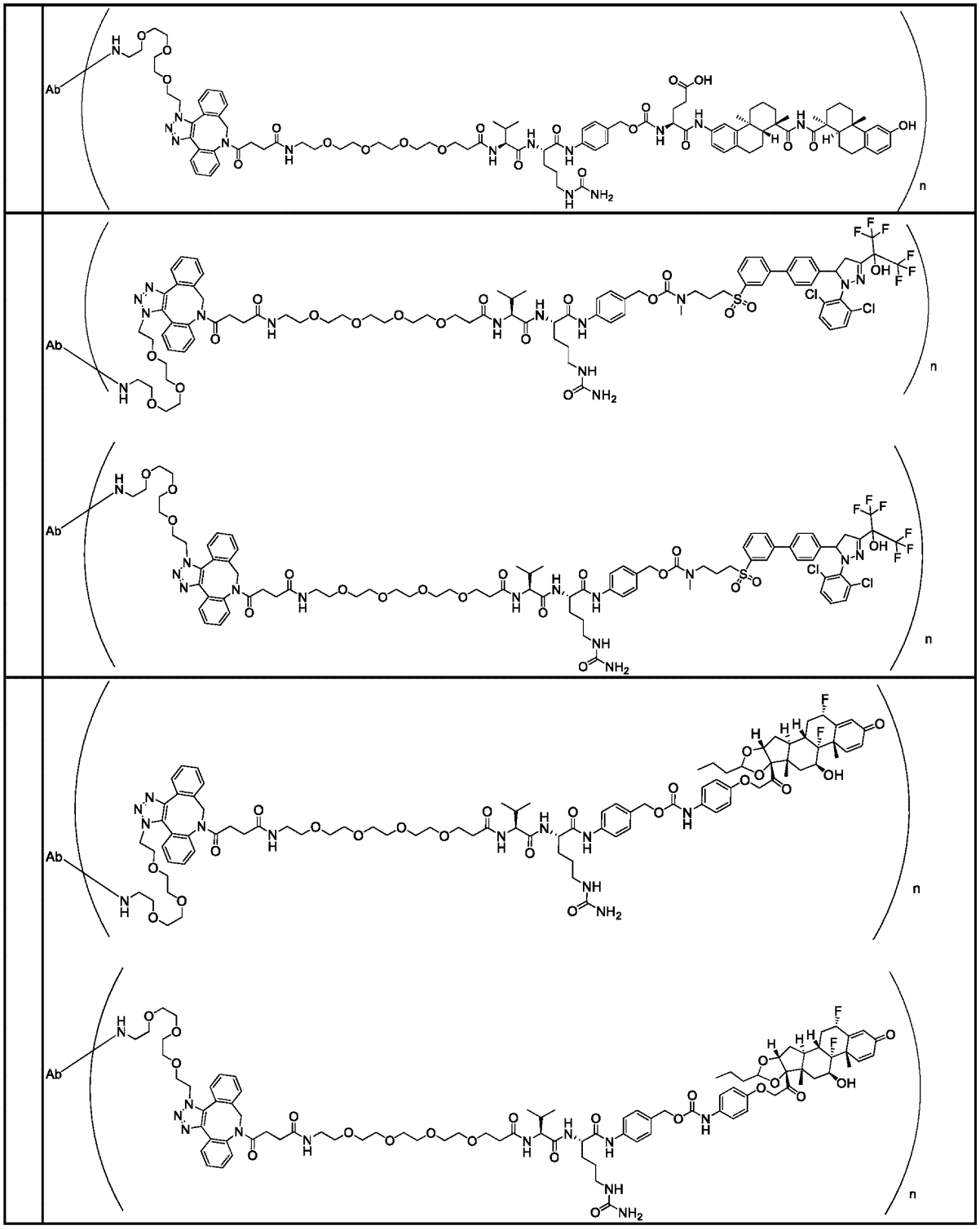
【表４】

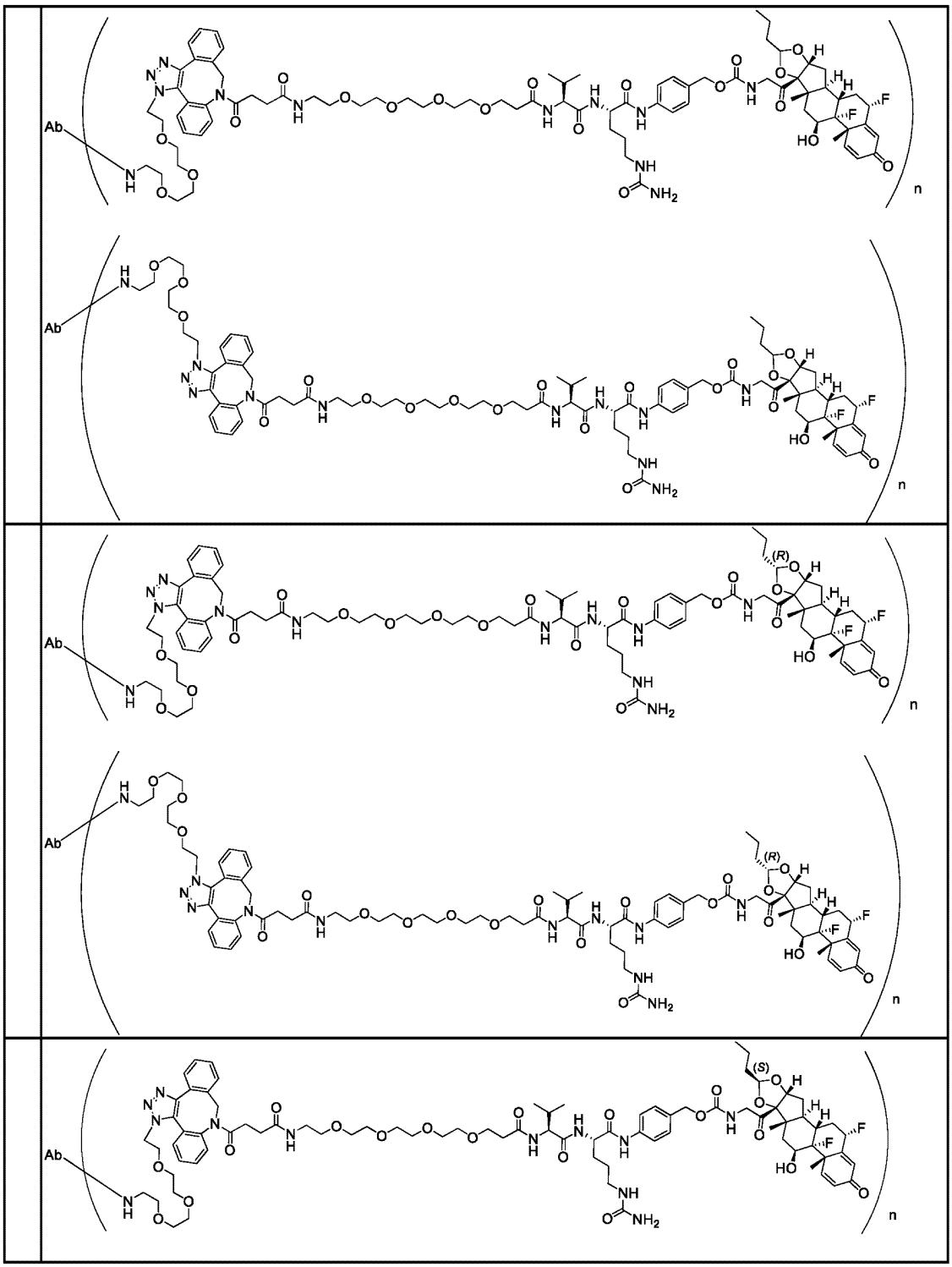


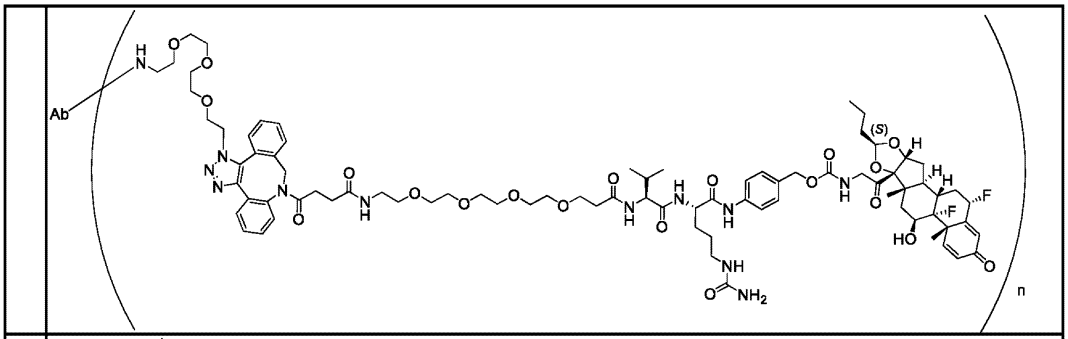

Ab
n
Ab
n
Ab
n

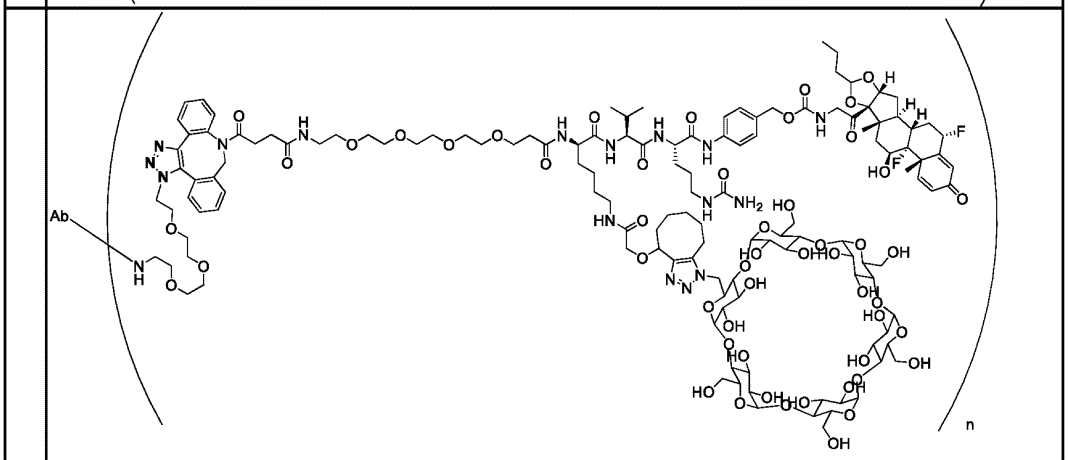

Ab
n
Ab
n
Ab
n
Ab
n

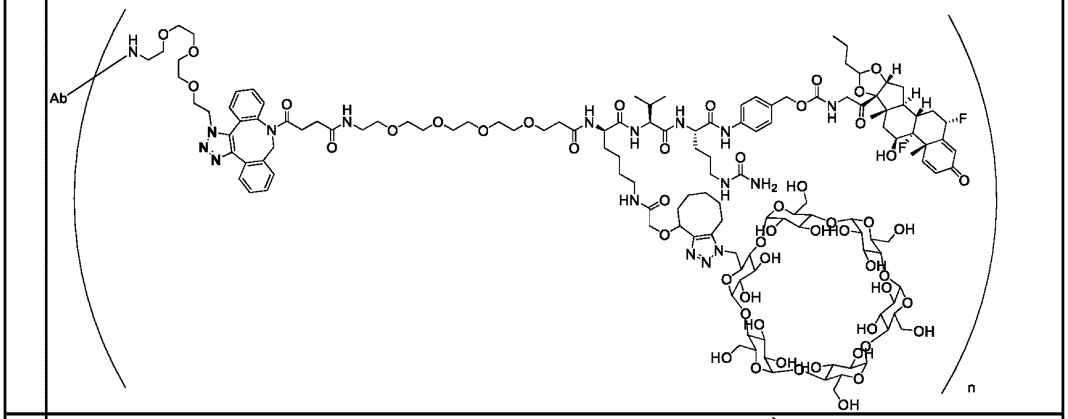

Ab
n

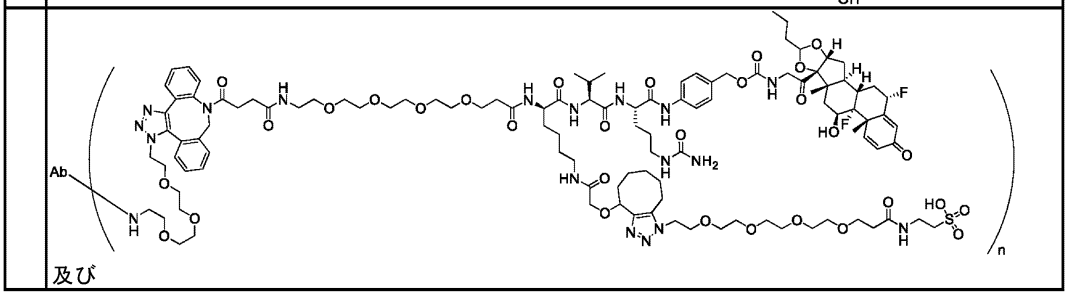

Ab
n
OH
NH2
F
Cl
O
N
H


Ab
n
(R)
(S)

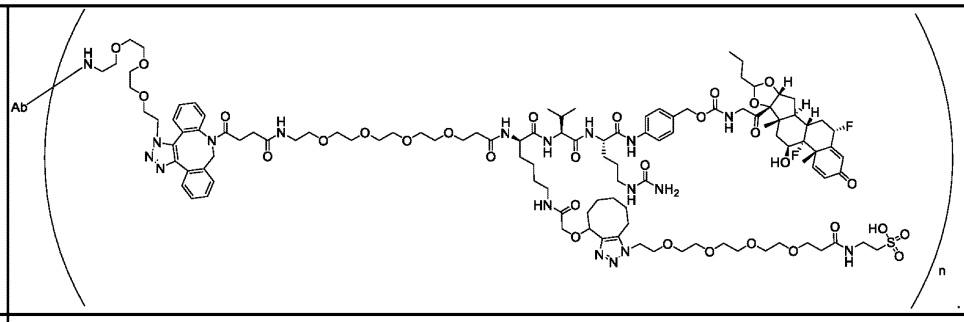


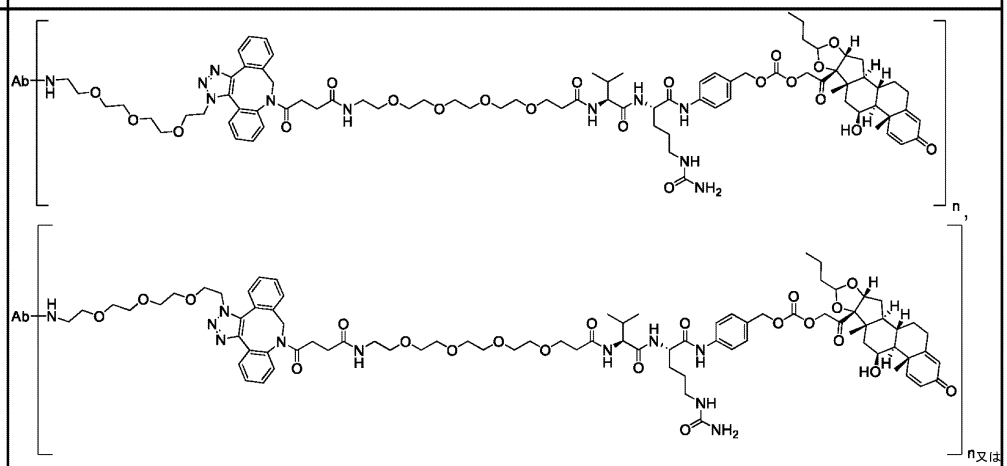




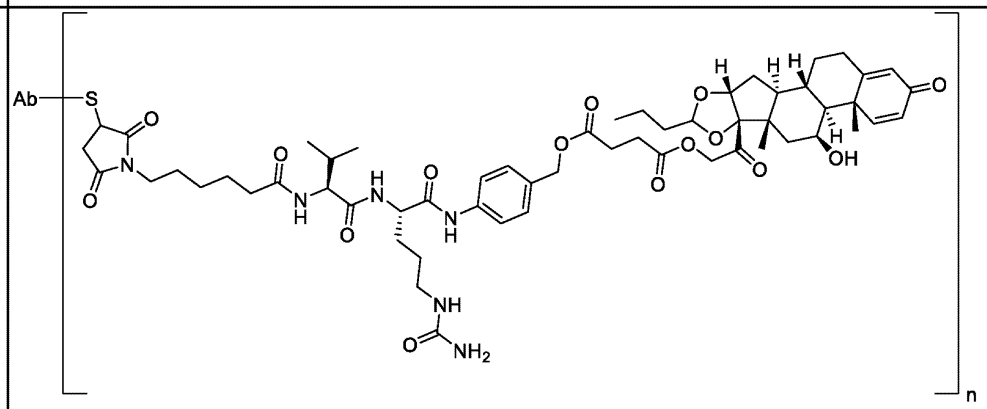


及び

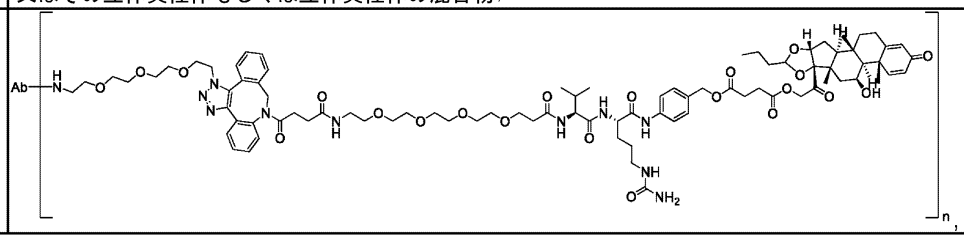


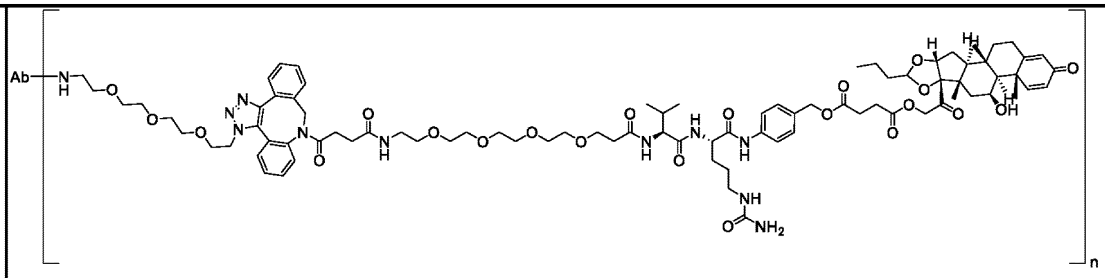


又はその混合物；

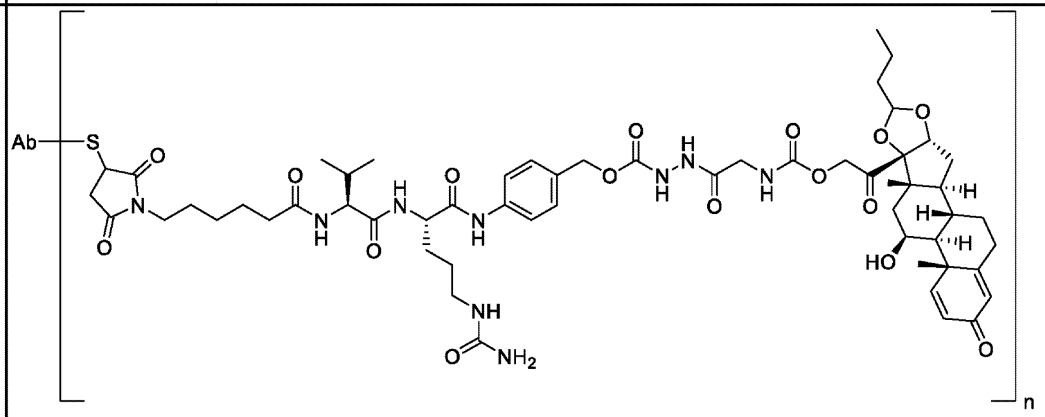


又はその立体異性体もしくは立体異性体の混合物；

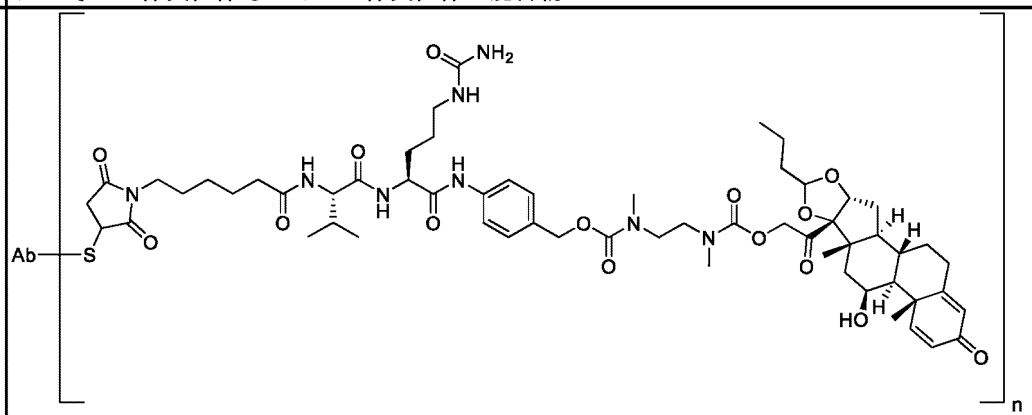




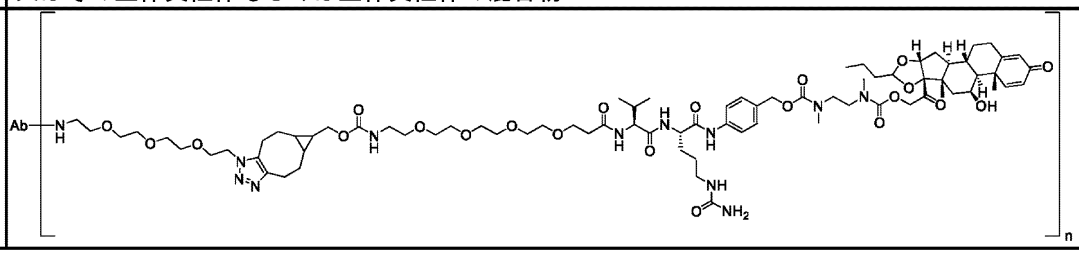
又はその混合物；

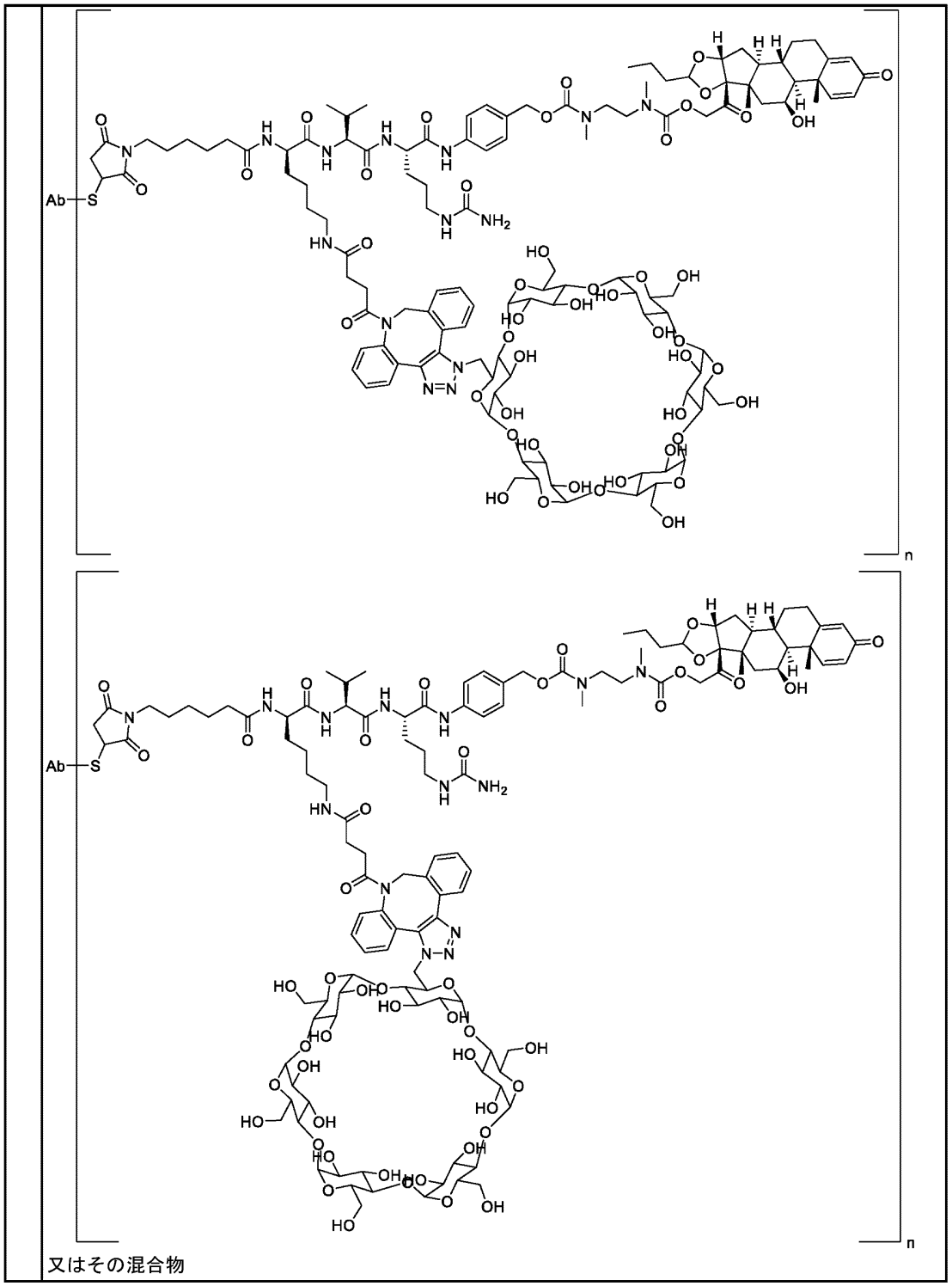


又はその立体異性体もしくは立体異性体の混合物；

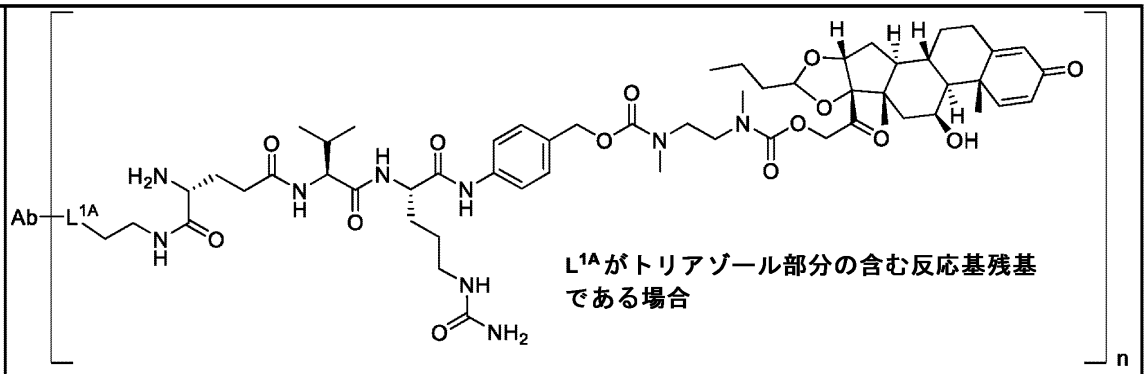


又はその立体異性体もしくは立体異性体の混合物；



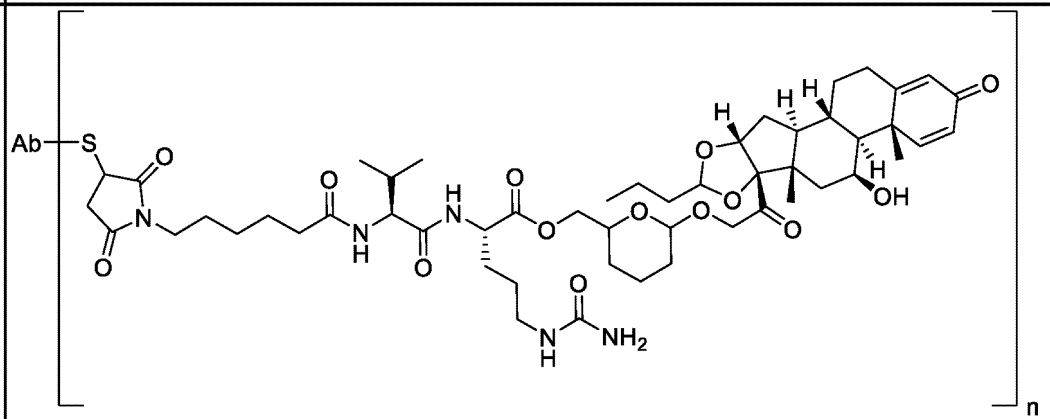


又はその混合物

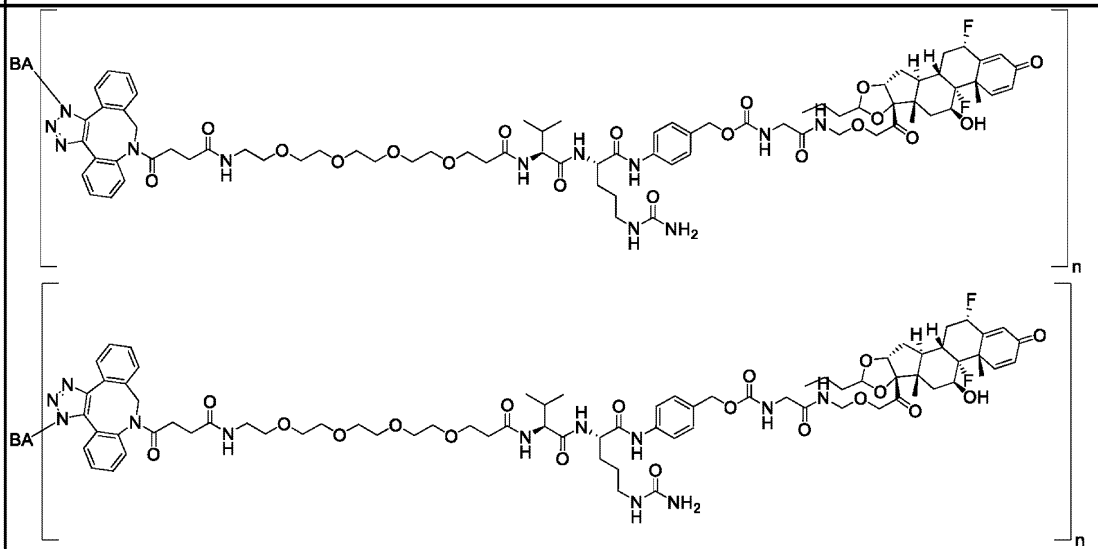


L^{1A}がトリアゾール部分の含む反応基残基である場合

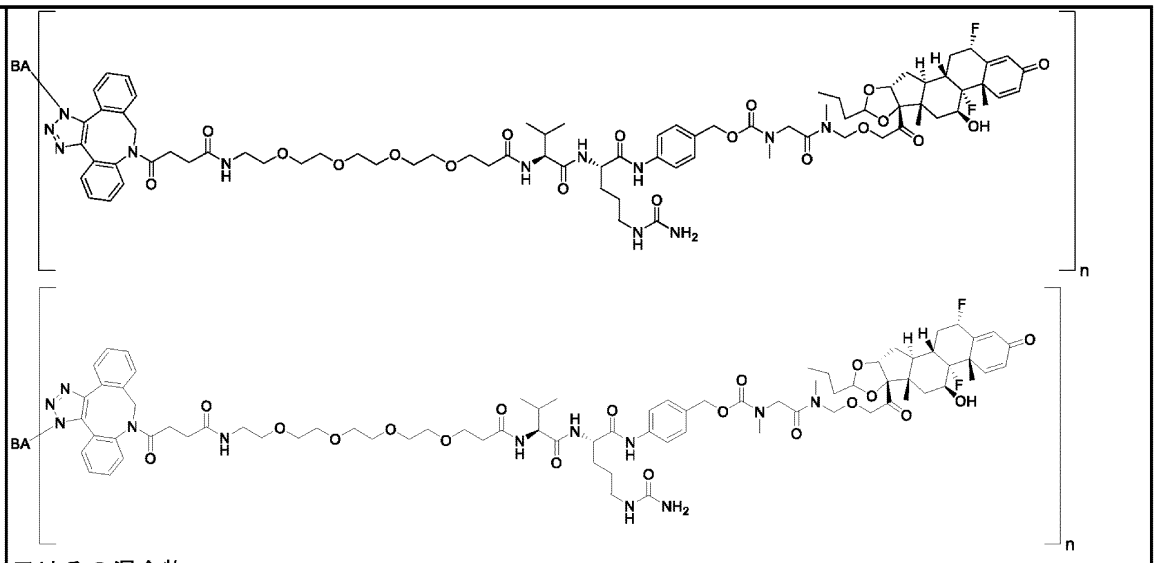
又はその混合物



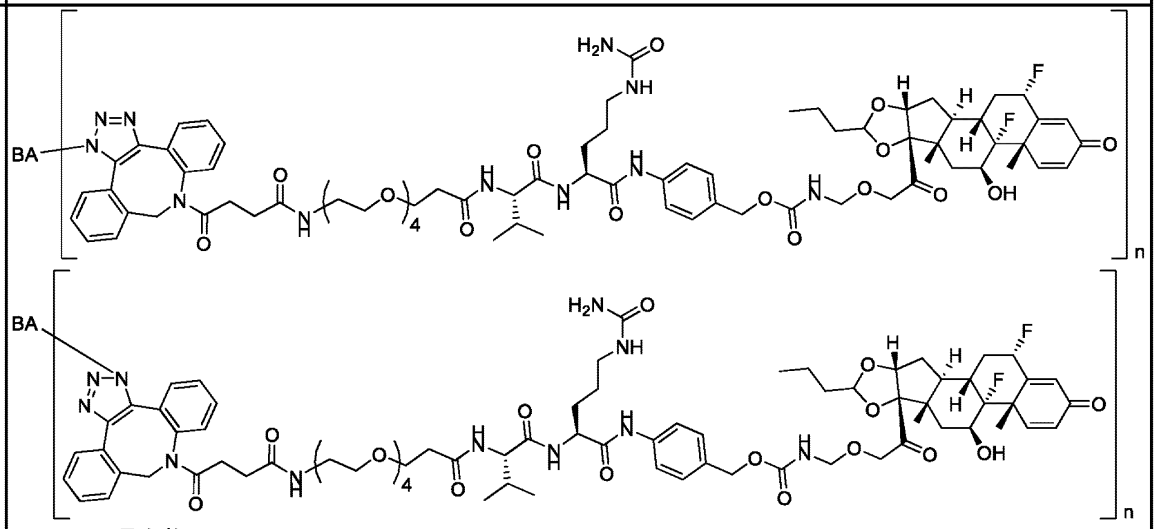
又はその立体異性体もしくは立体異性体の混合物



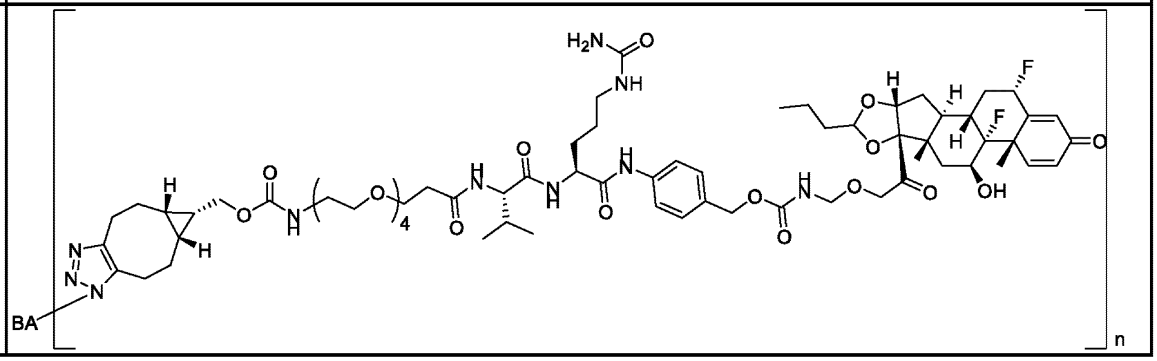
又はその混合物

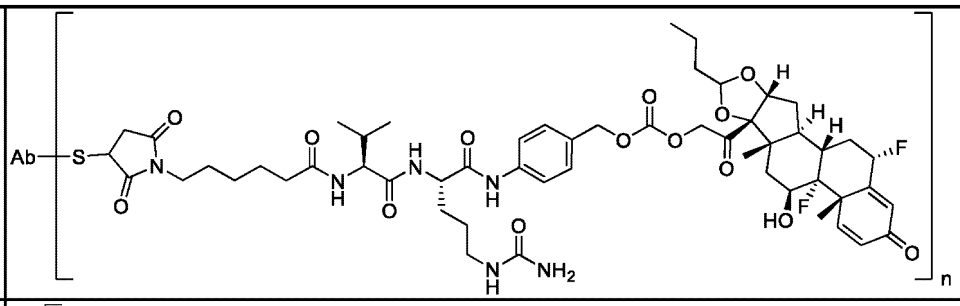


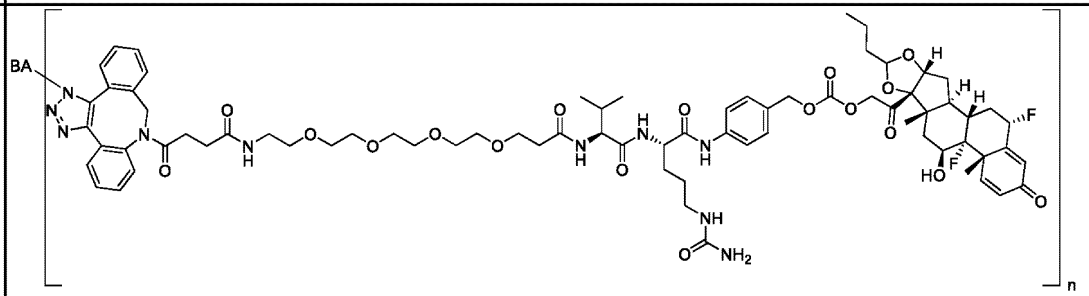
又はその混合物

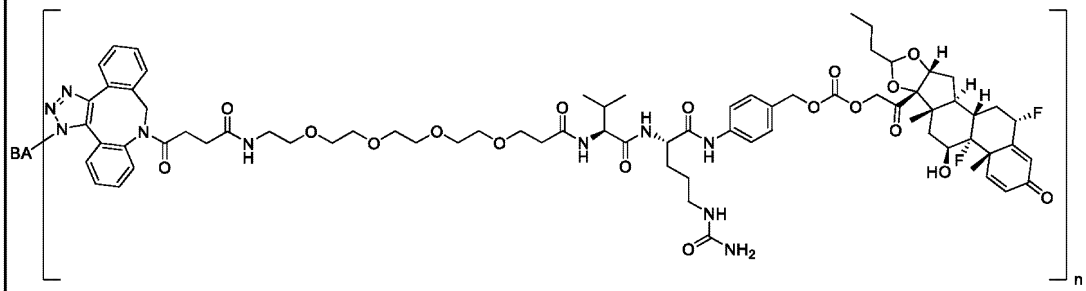


又はその混合物

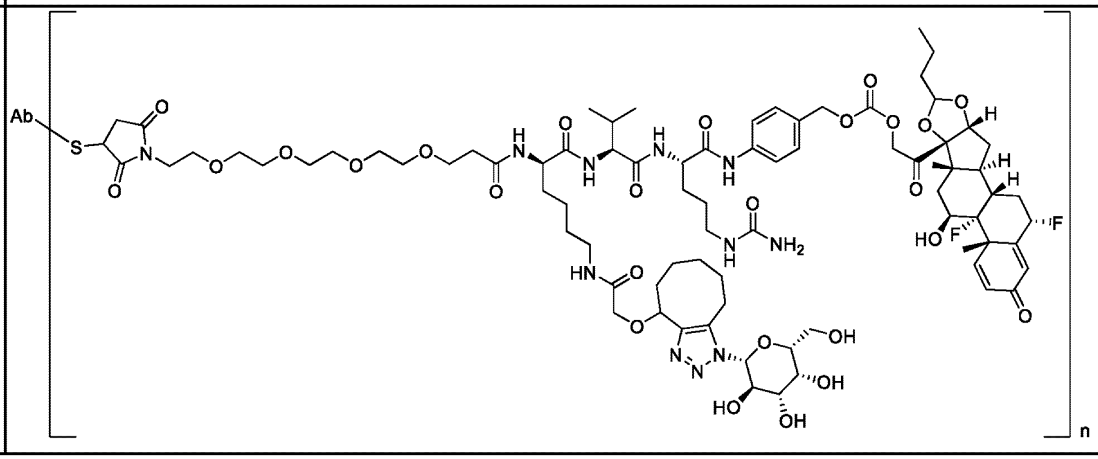


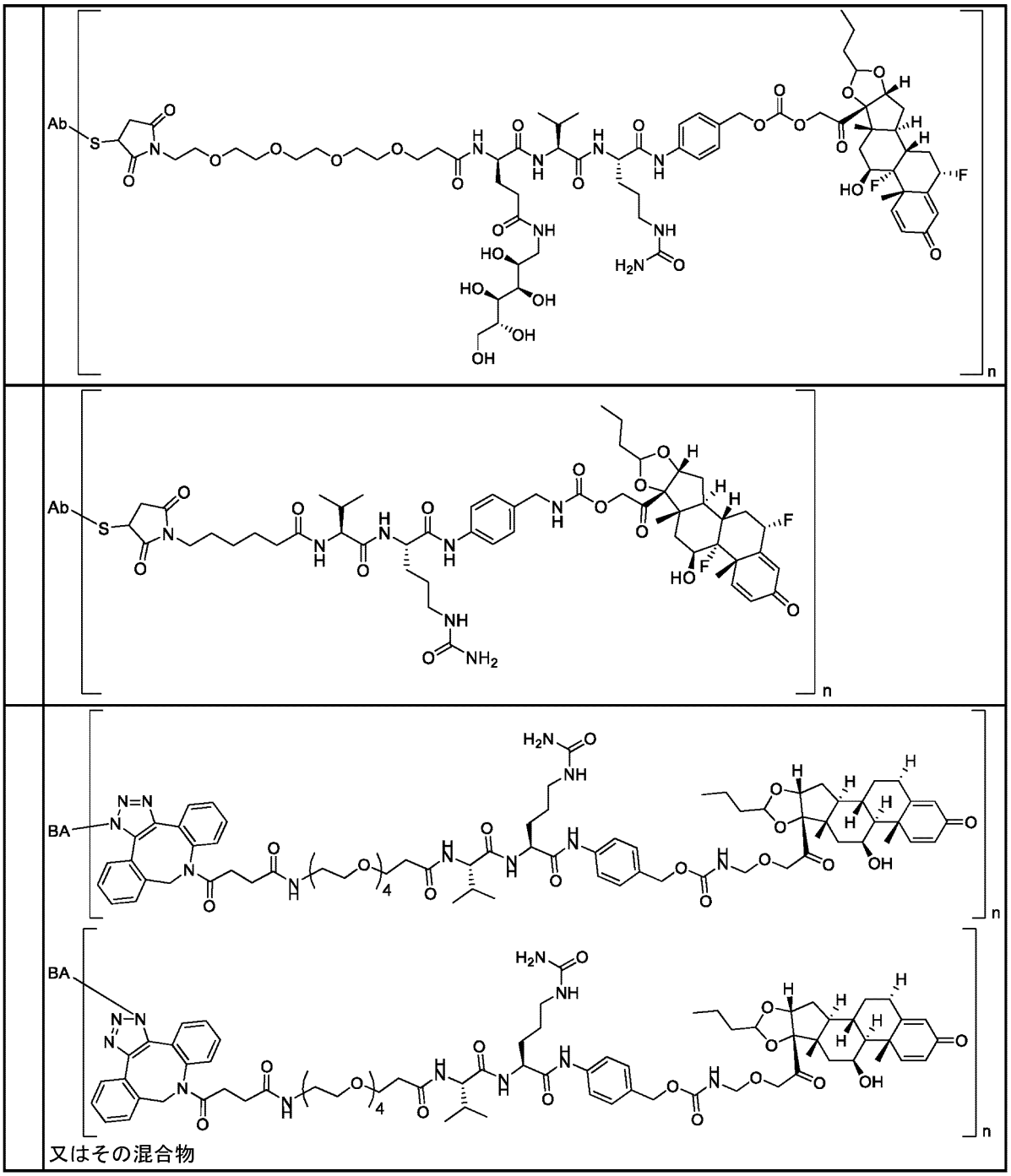




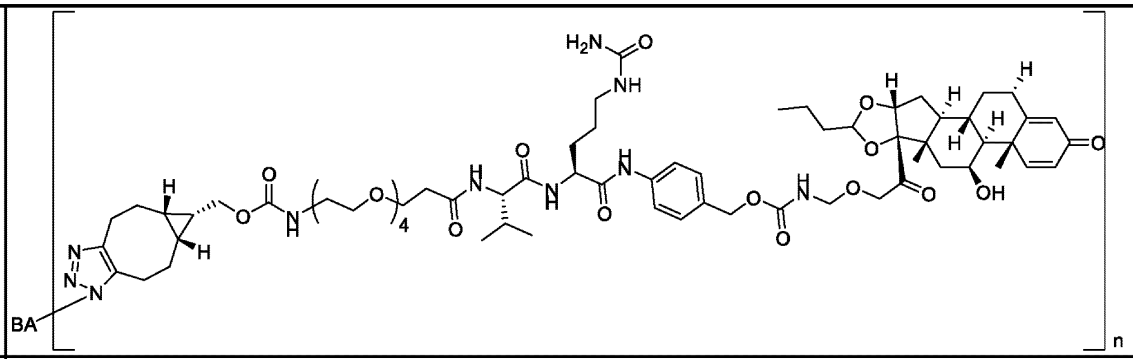


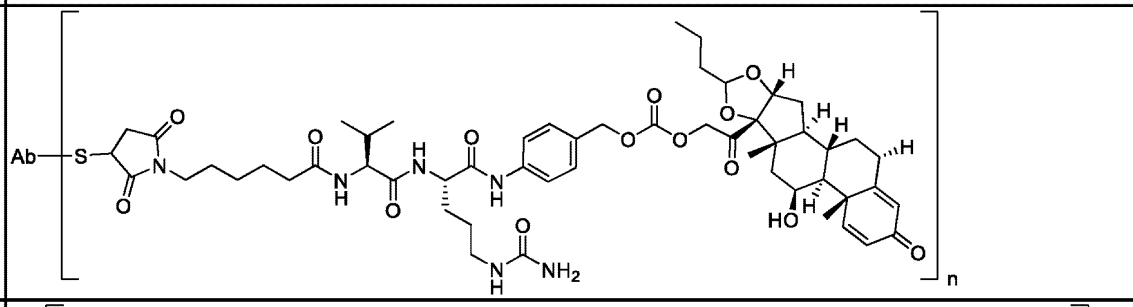
又はその混合物

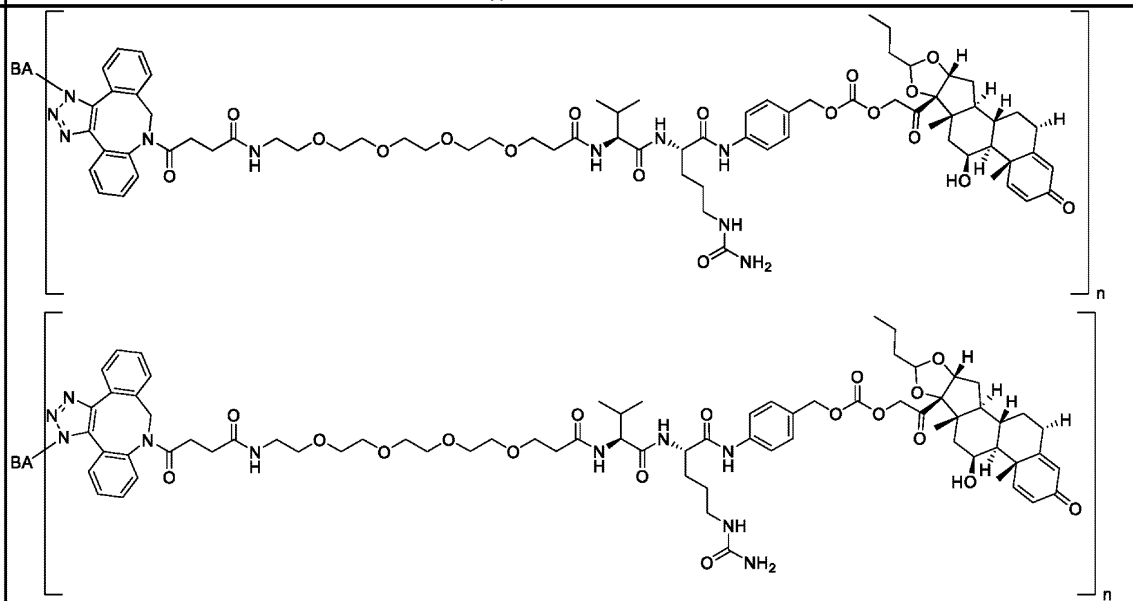




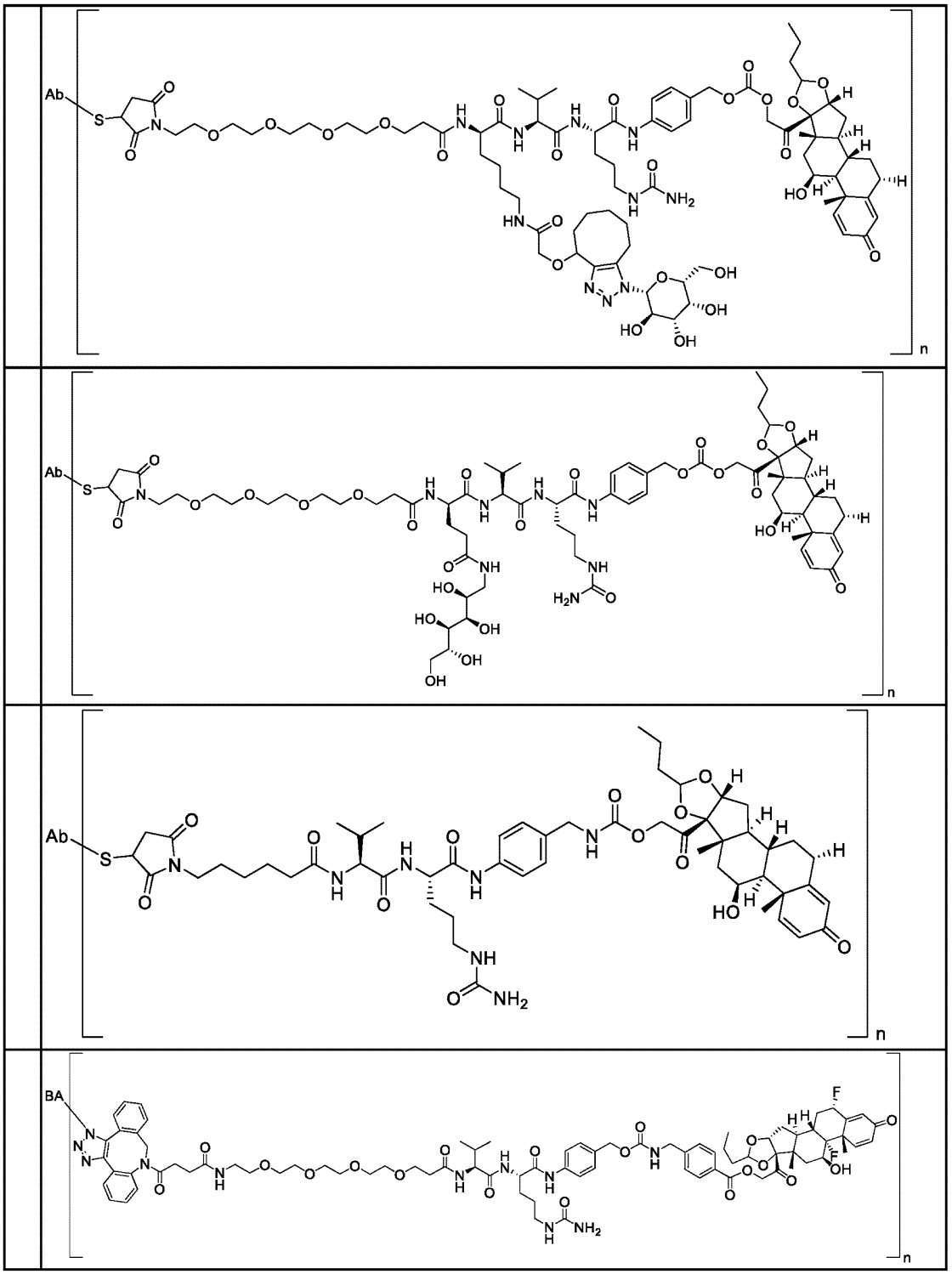
又はその混合物

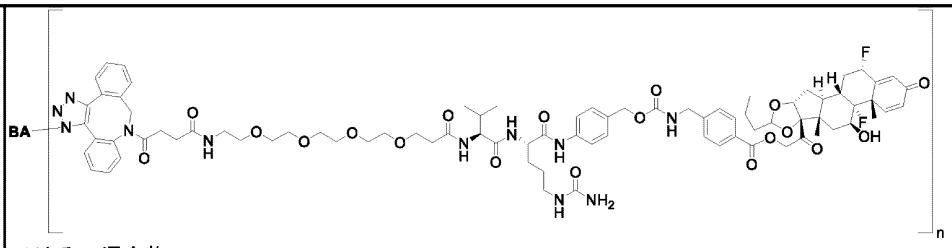




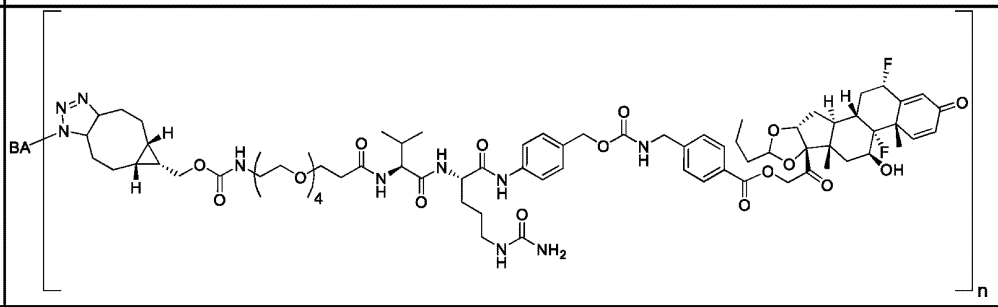


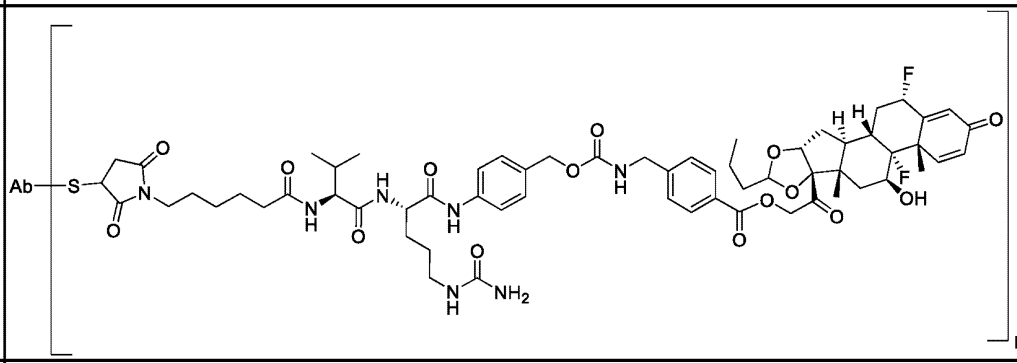
又はその混合物

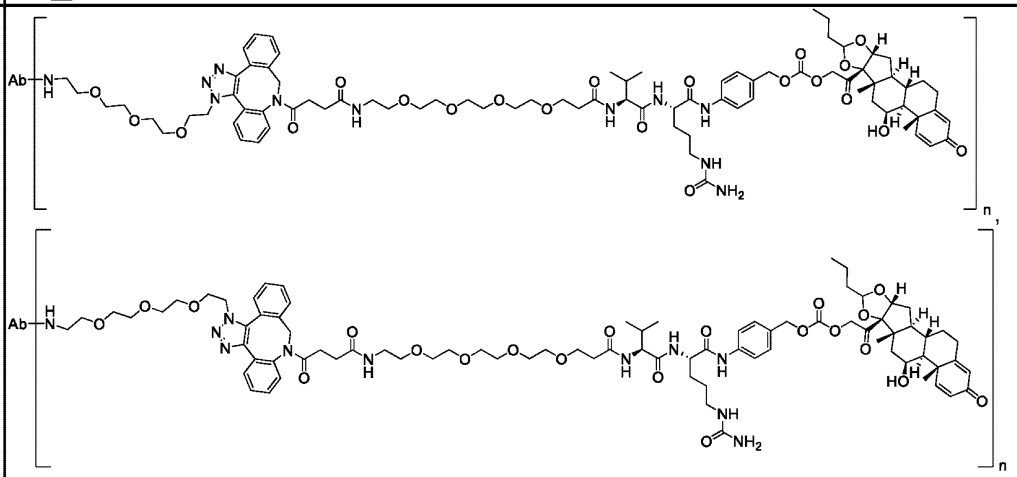

Ab
S
O
N
O
O
O



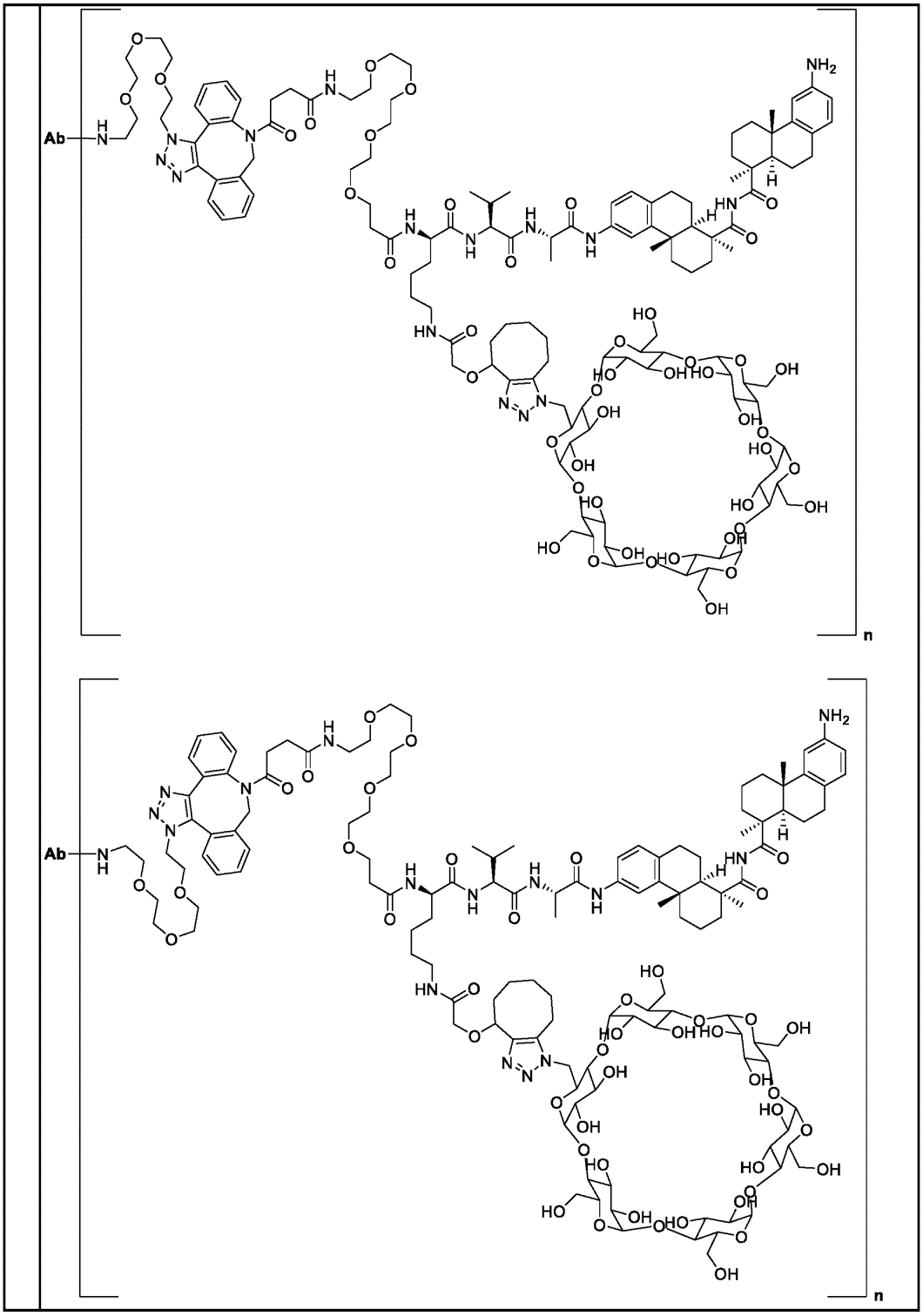
又はその混合物

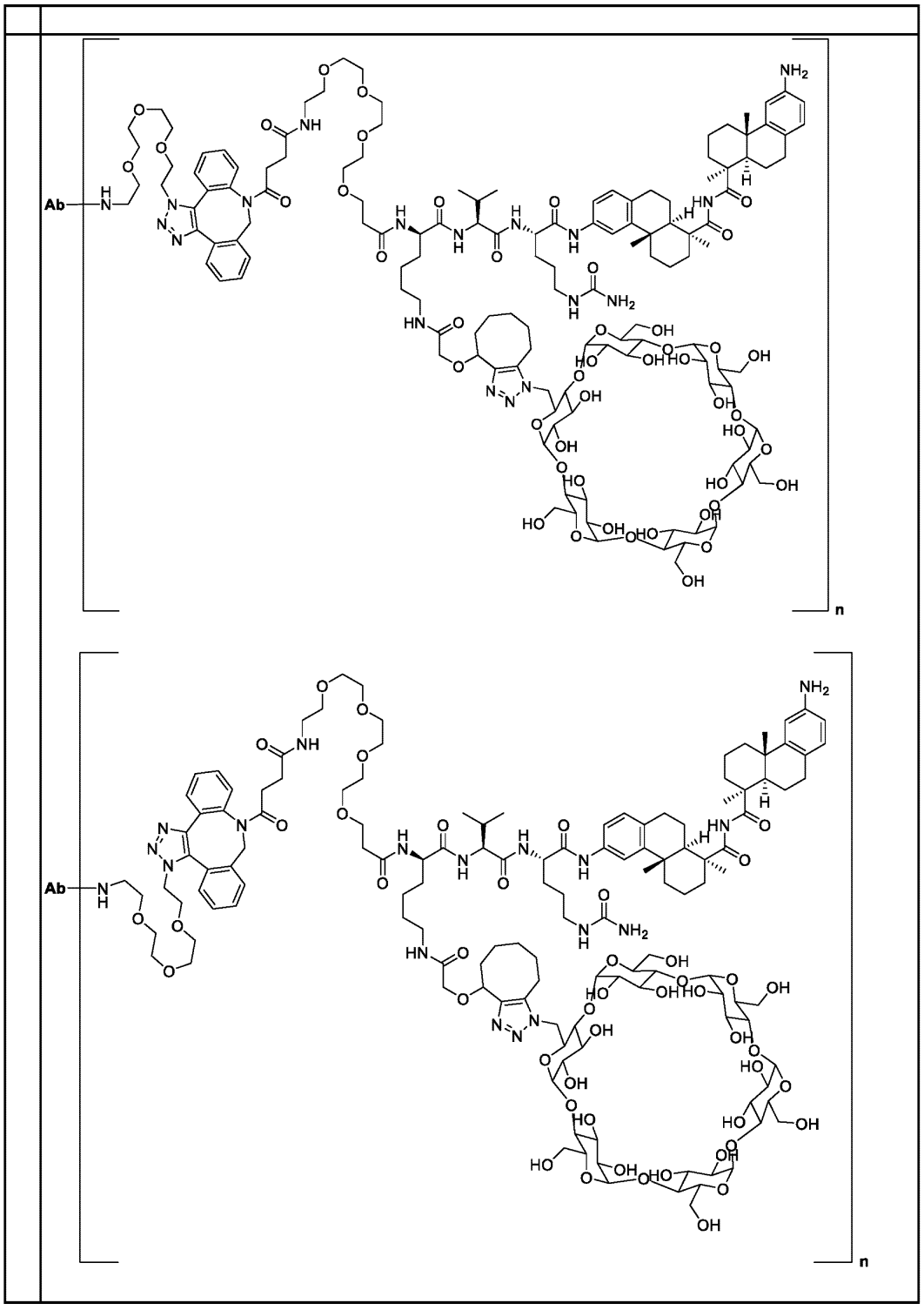


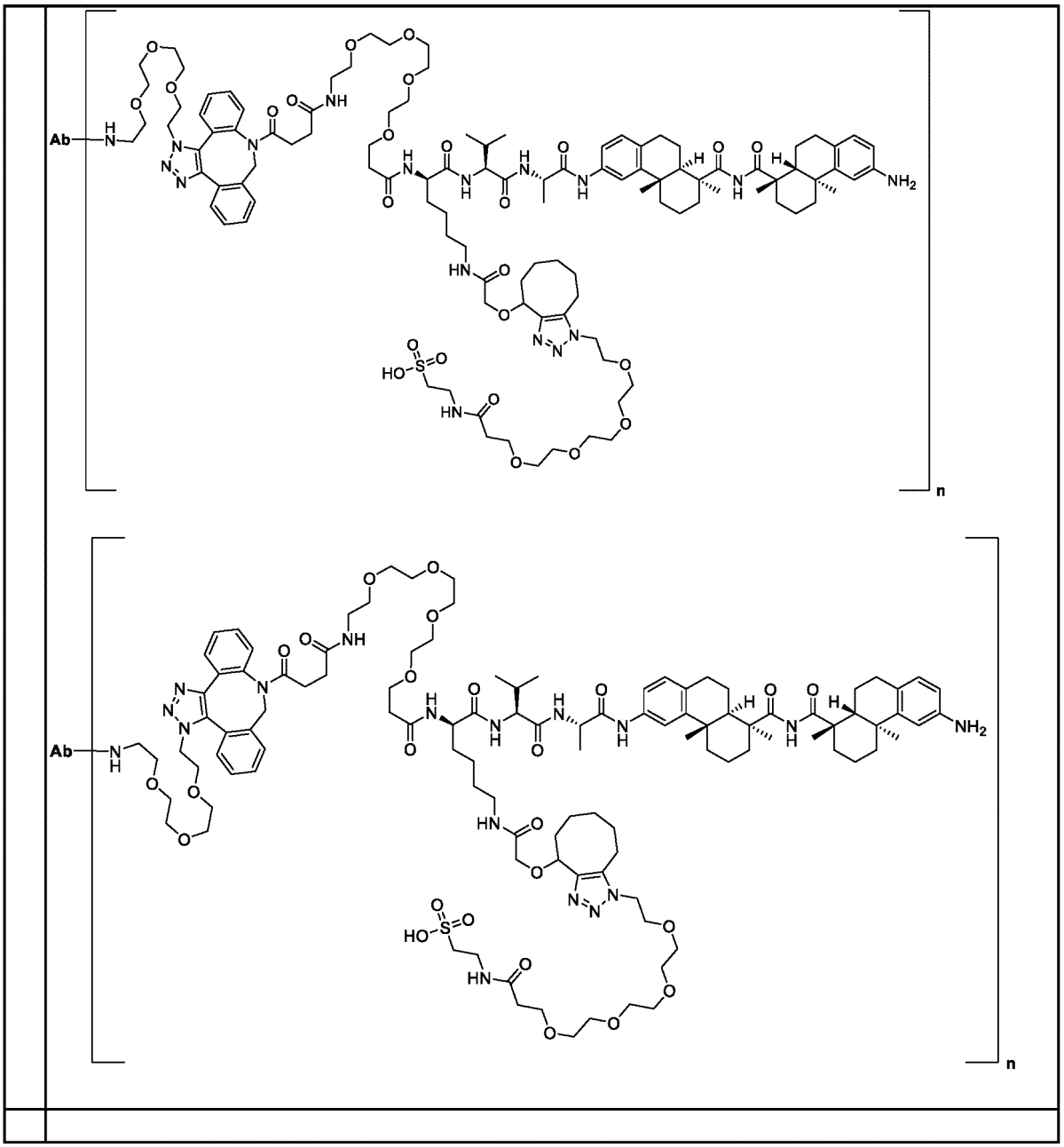


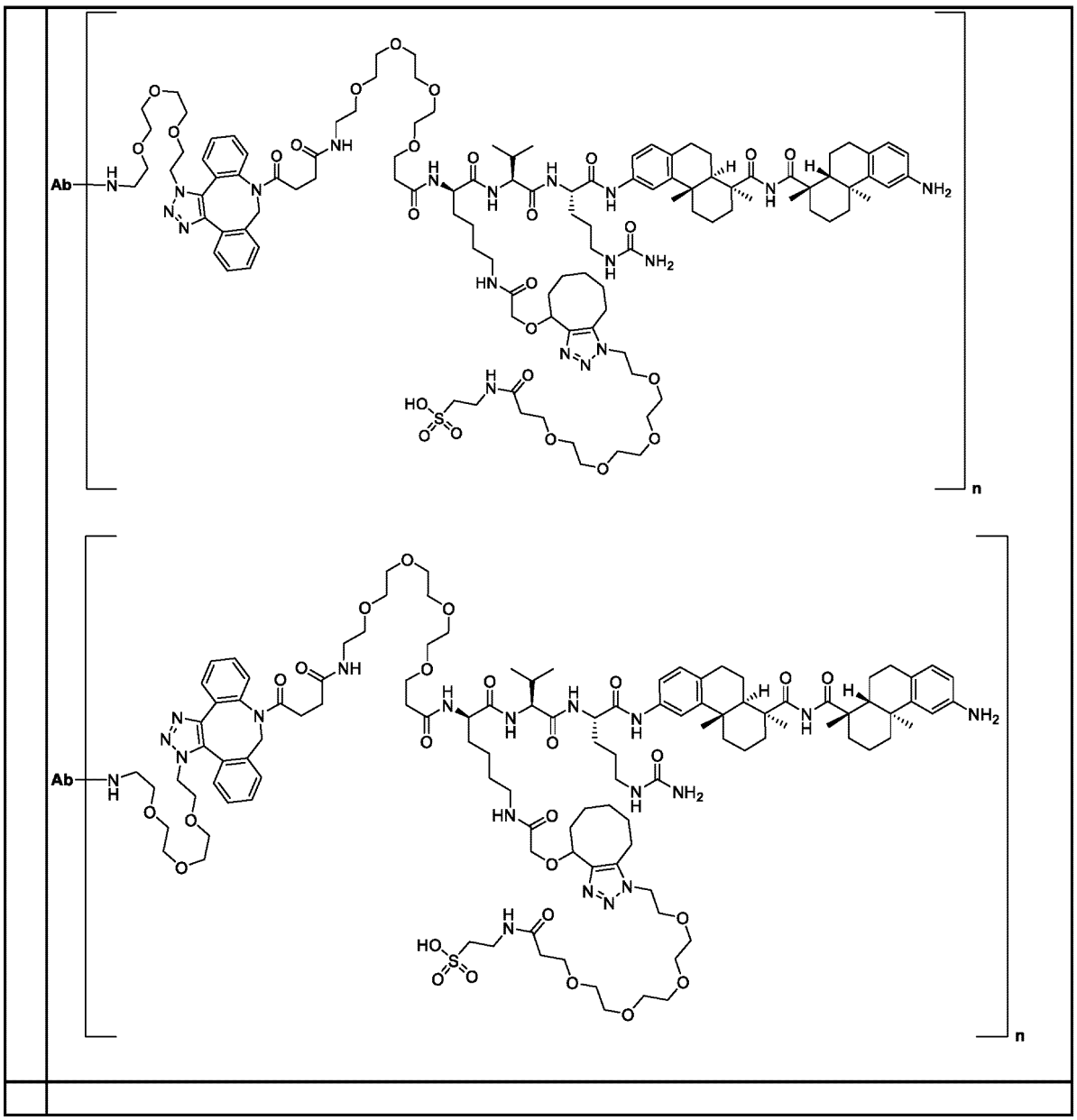


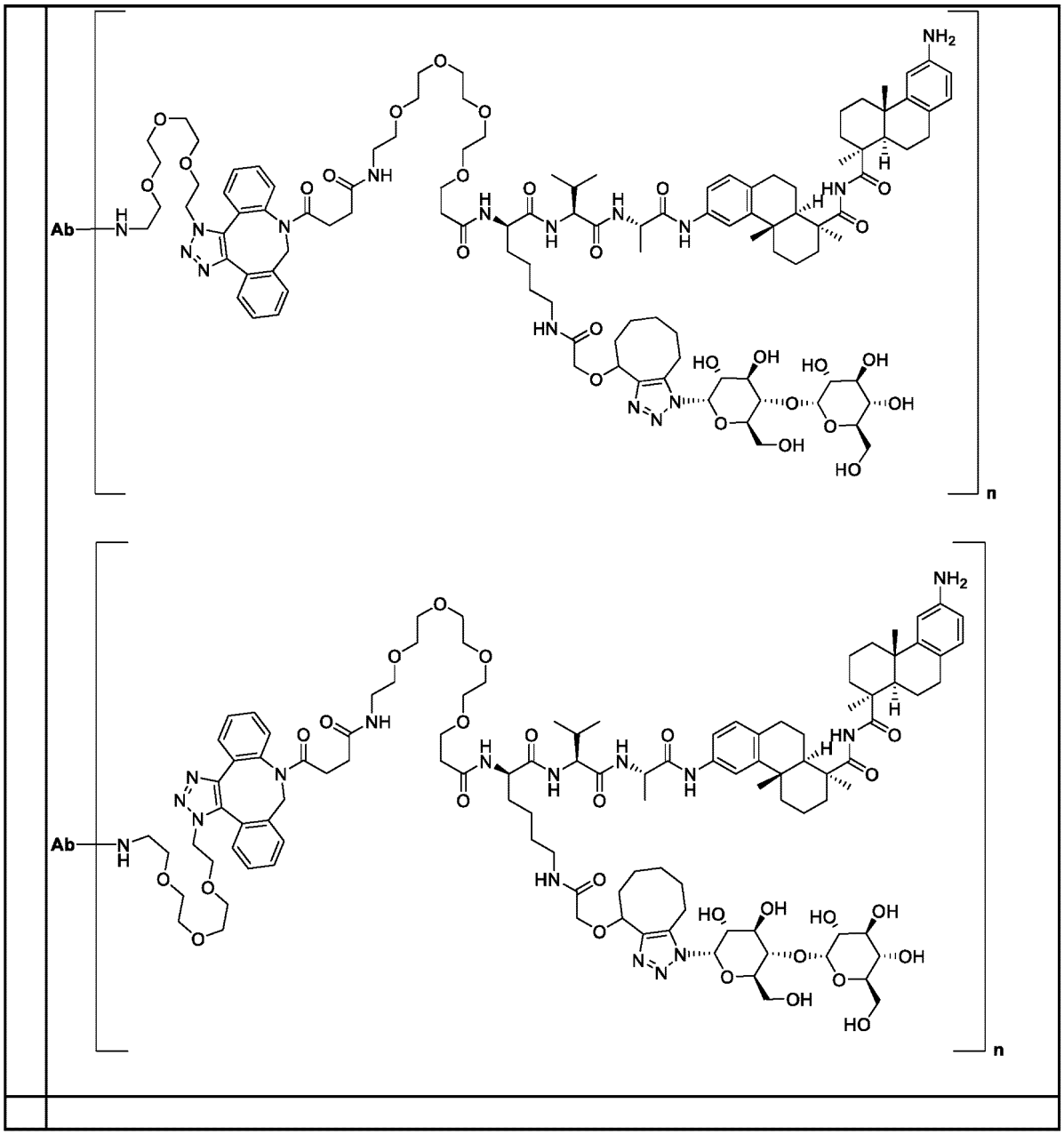
又はその混合物；

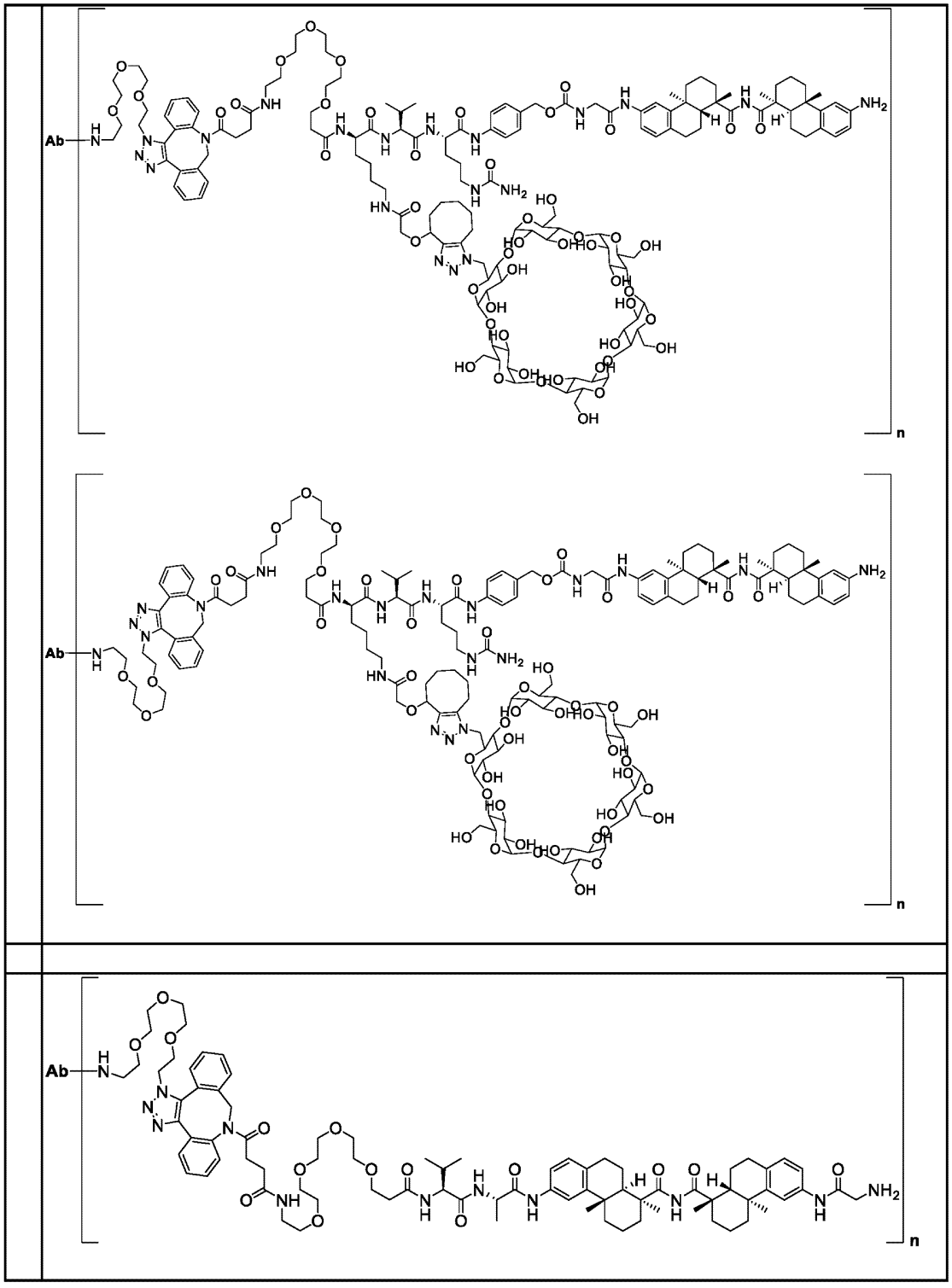

Ab
NH2
HO
OH
HN
O
N
H
n

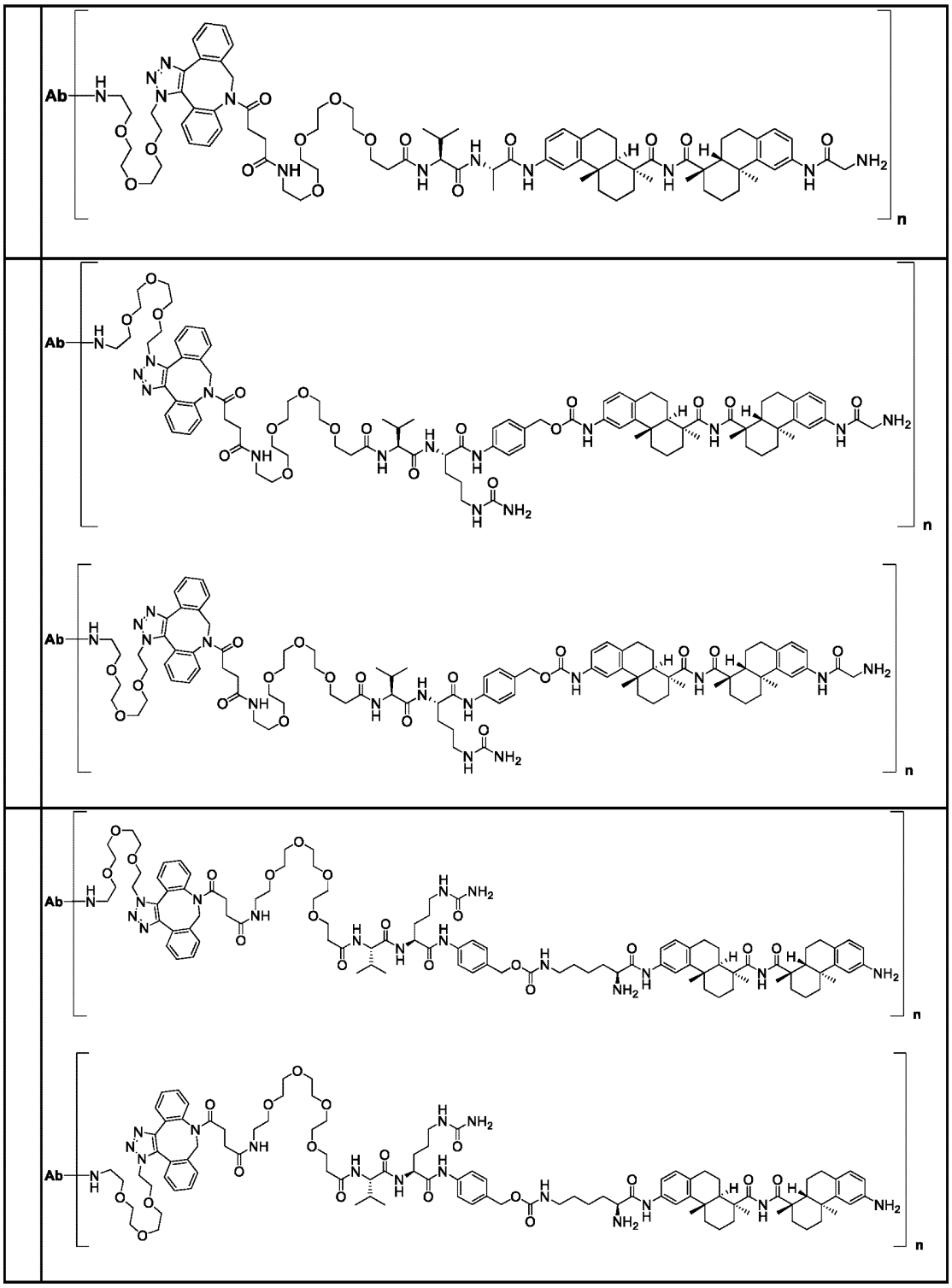

Ab
NH2
OH
HO
HN
NH
O
N
n

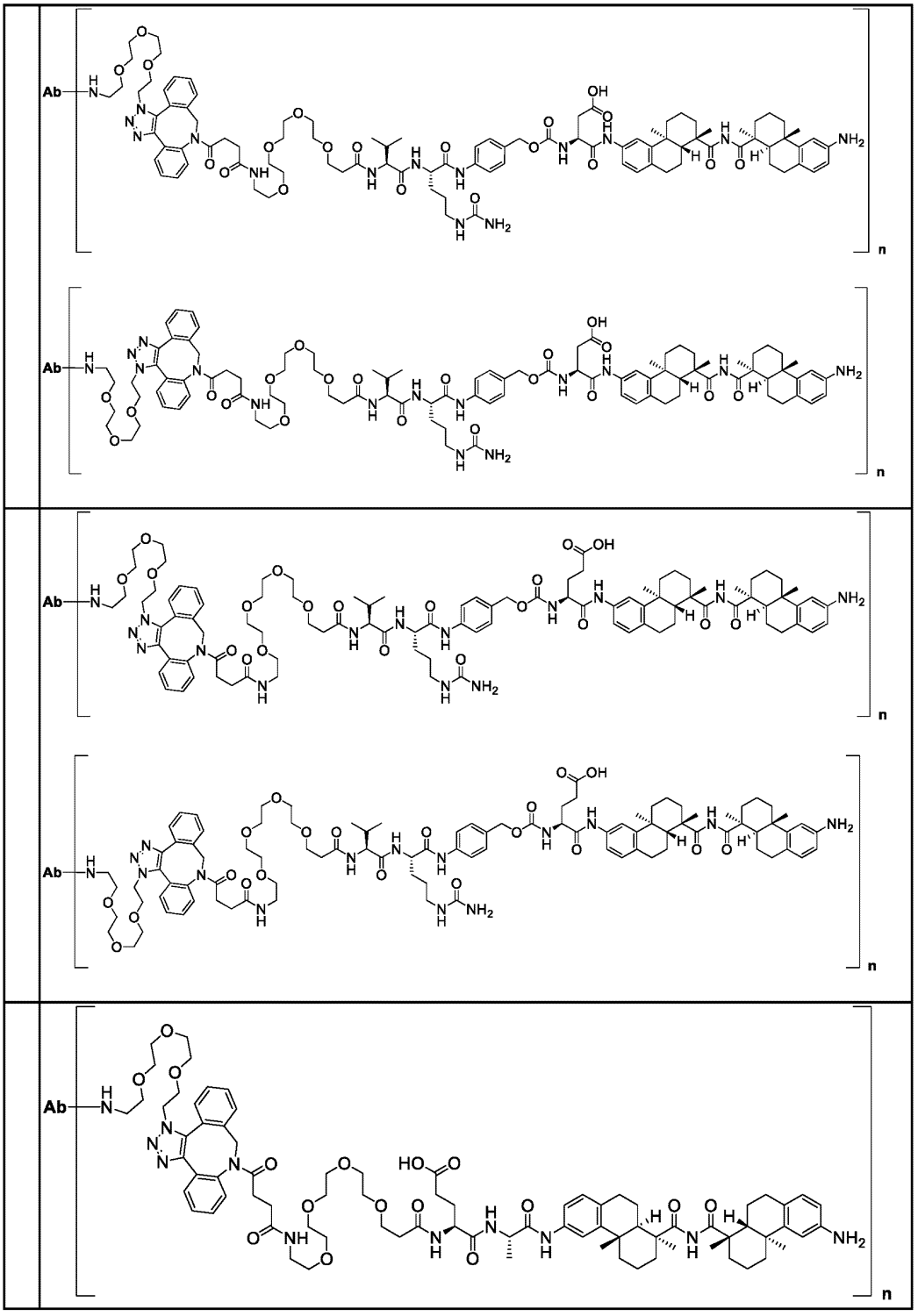

Ab
NH
O
HO
S
HN
N
NH2
n

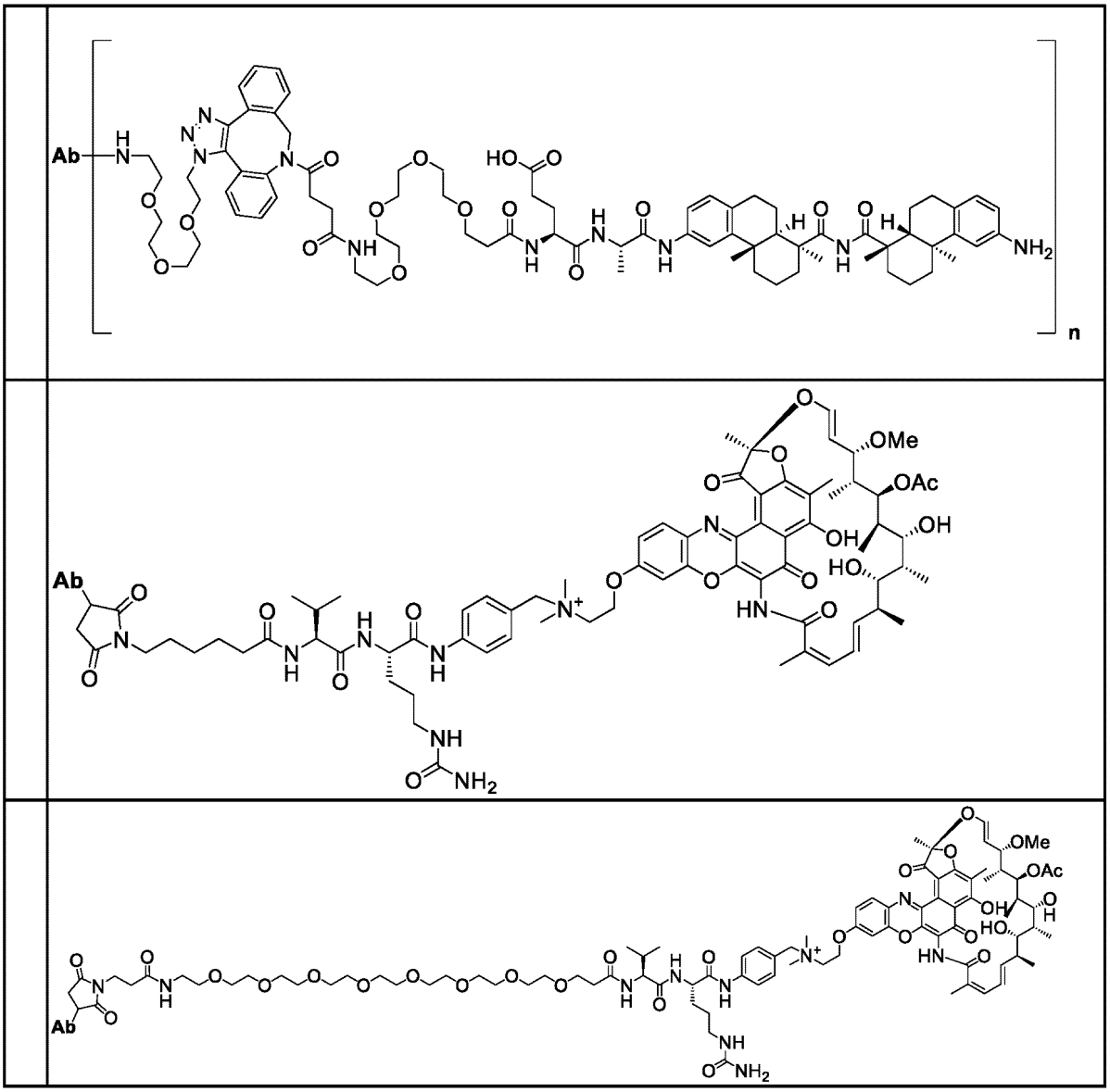

Ab
NH2
n
Ab
NH2
n


Ab
NH2
HO
OH
n


Ab
n
Ab
n
Ab
n


Ab
n


Ab
n



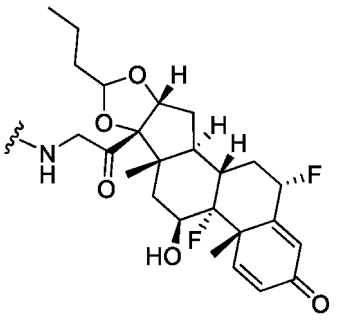
【０３１０】

表2のADCにおいて、Abは、本明細書に提供される抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。特定の実施態様において、Abは、本明細書に記載されるグルタミン側鎖上のPEG基で修飾される。ADCにおいて、nは、1～10の整数、例えば、1、2、3、又は4である。

【０３１１】

本明細書に提供されるのは、ペイロード

【化２５５】

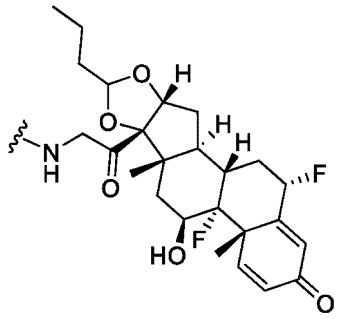


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、N297Q突然変異を含む。

【０３１２】

本明細書に提供されるのは、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組を含み、かつペイロード

【化２５６】

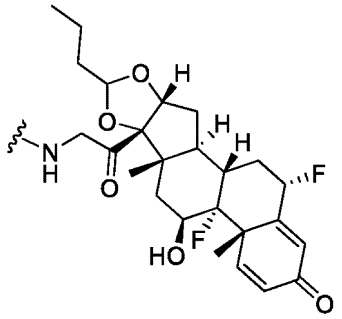


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組及びN297Q突然変異を含む。

【０３１３】

本明細書に提供されるのは、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3を含み、かつペイロード

【化２５７】

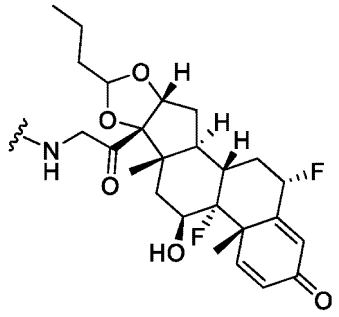


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３１４】

本明細書に提供されるのは、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組を含み、かつペイロード

【化２５８】

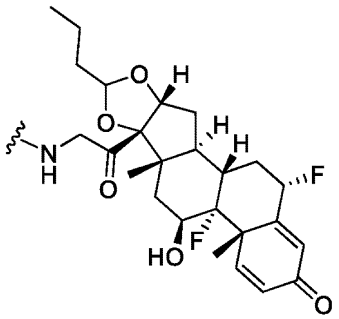


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組及びN297Q突然変異を含む。

【０３１５】

本明細書に提供されるのは、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)を含み、かつペイロード

【化２５９】



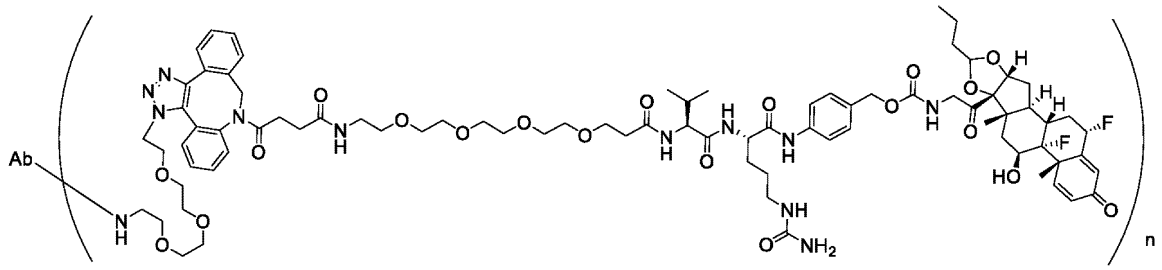
にコンジュゲートされた、

抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)、並びにN297Q突然変異を含む。

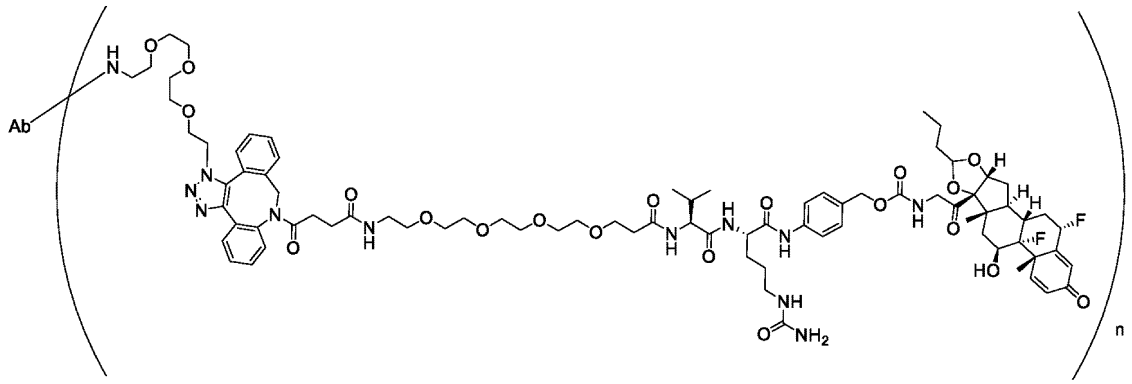
【０３１６】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２６０】



及び/又は

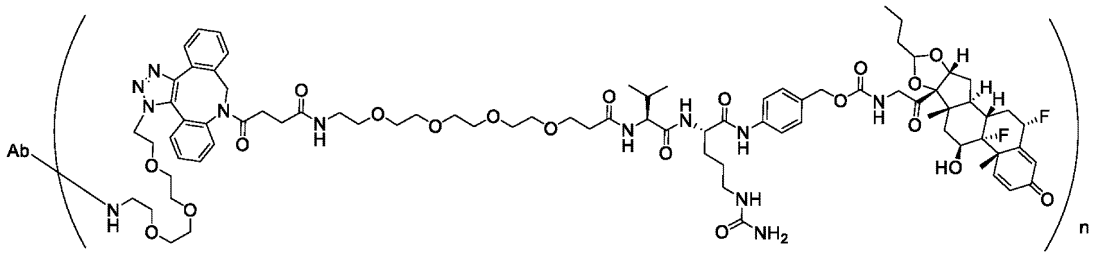


ここで、該抗体は、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、N297Q突然変異を含む。

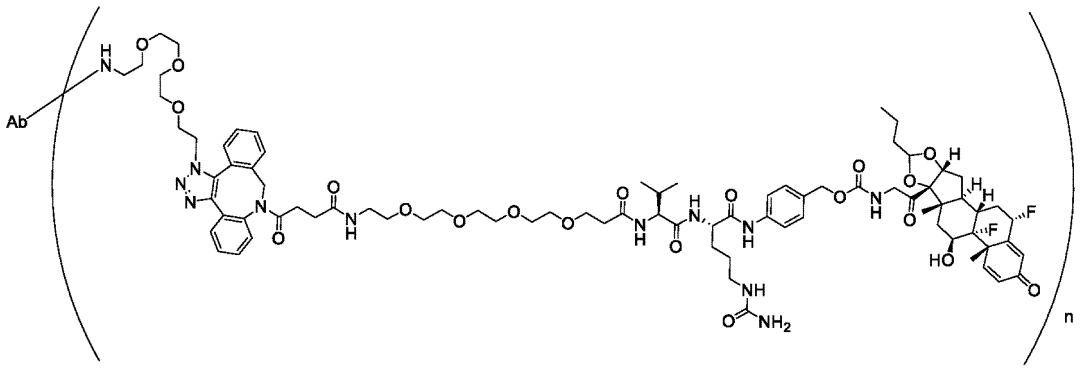
【０３１７】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２６１】



及び/又は

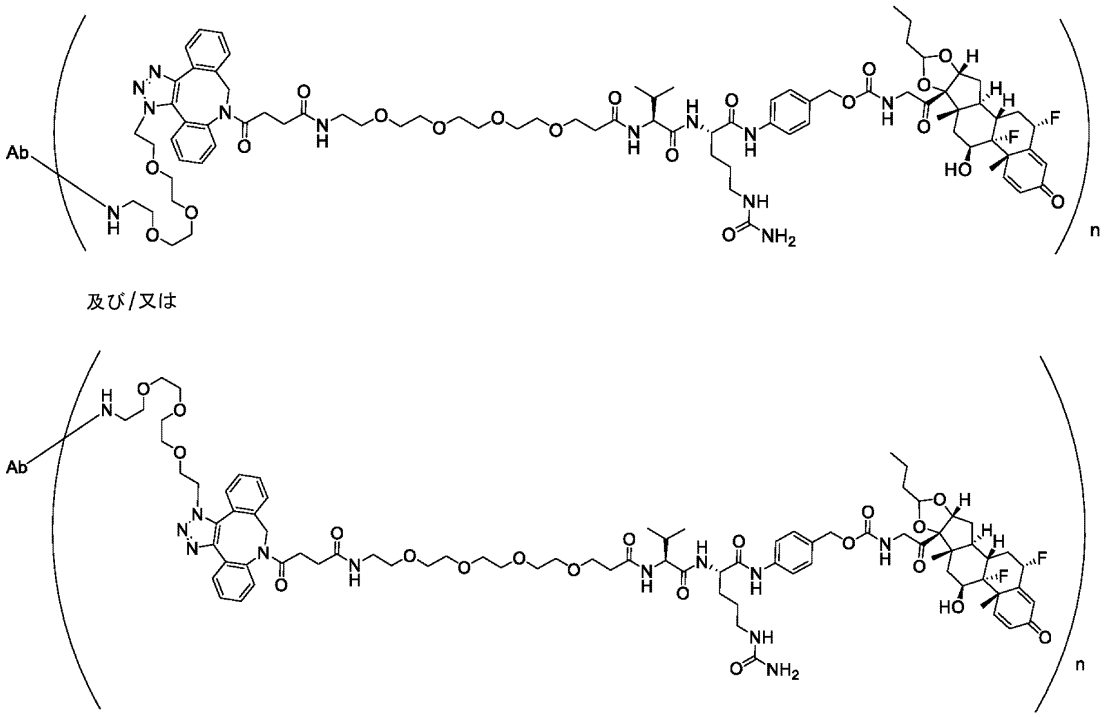


ここで、該抗体は、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組を含む抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組及びN297Q突然変異を含む。

【０３１８】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２６２】

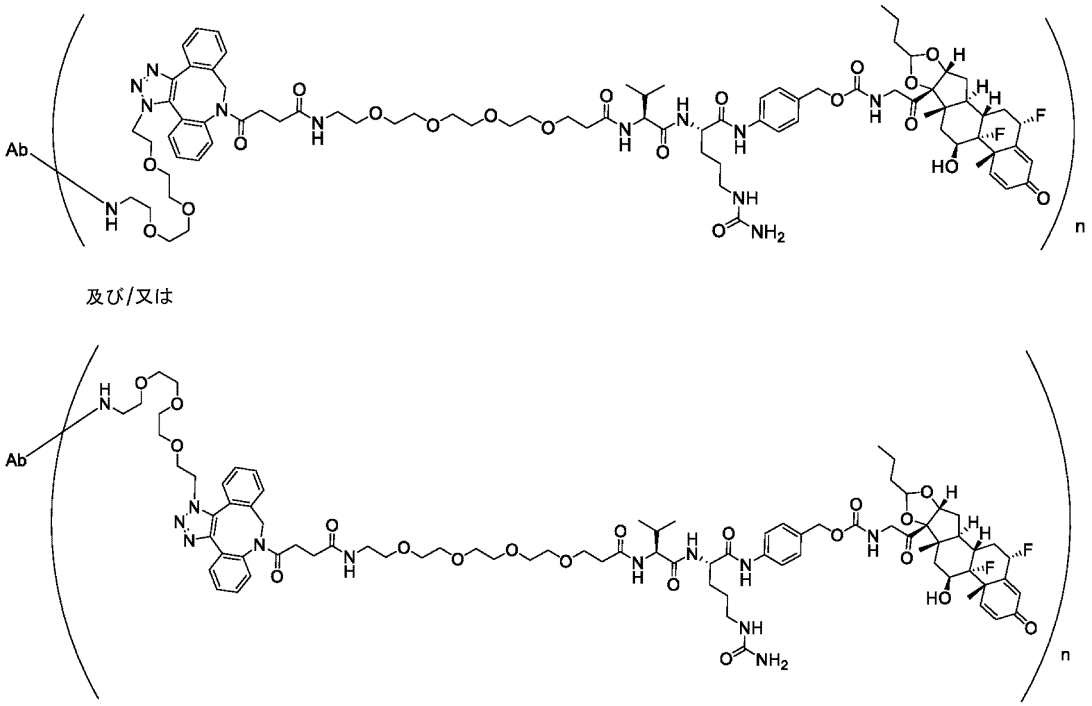


ここで、該抗体は、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3を含む、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３１９】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２６３】



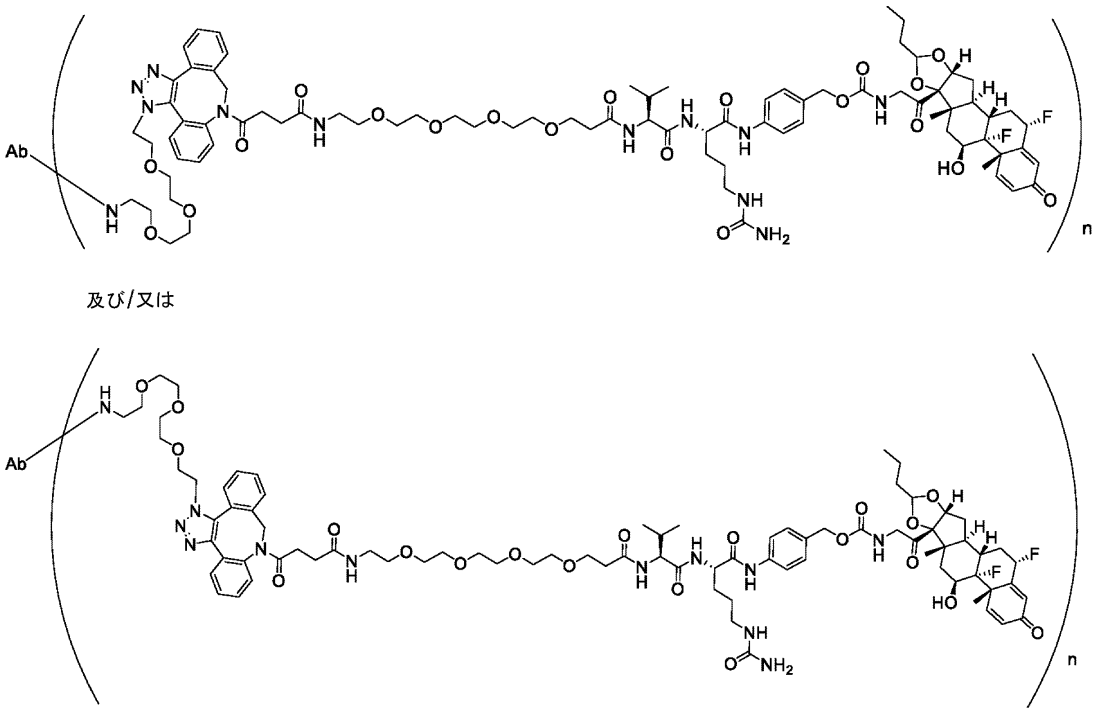
及び/又は

ここで、該抗体は、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組を含む、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３２０】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２６４】



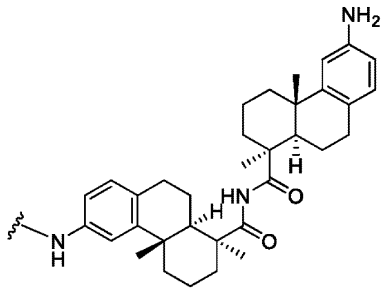
及び/又は

ここで、該抗体は、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)を含む、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３２１】

本明細書に提供されるのは、ペイロード

【化２６５】

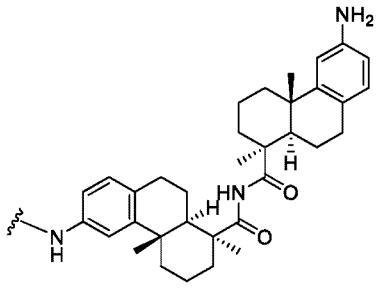


にコンジュゲートされた抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、N297Q突然変異を含む。

【０３２２】

本明細書に提供されるのは、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組を含み、かつペイロード

【化２６６】

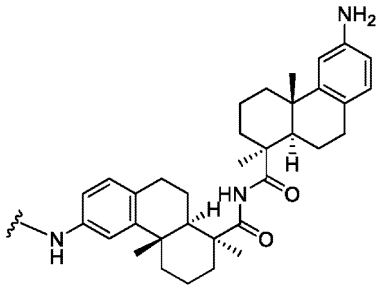


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組及びN297Q突然変異を含む。

【０３２３】

本明細書に提供されるのは、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3を含み、かつペイロード

【化２６７】

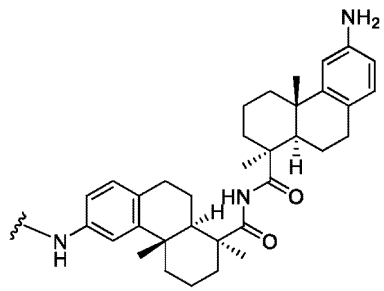


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３２４】

本明細書に提供されるのは、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組を含み、かつペイロード

【化２６８】



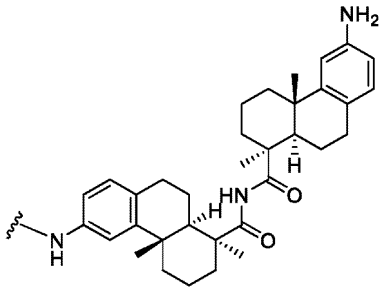
にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及

び軽鎖可変領域(LCVR)の組、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３２５】

本明細書に提供されるのは、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)を含み、かつペイロード

【化２６９】

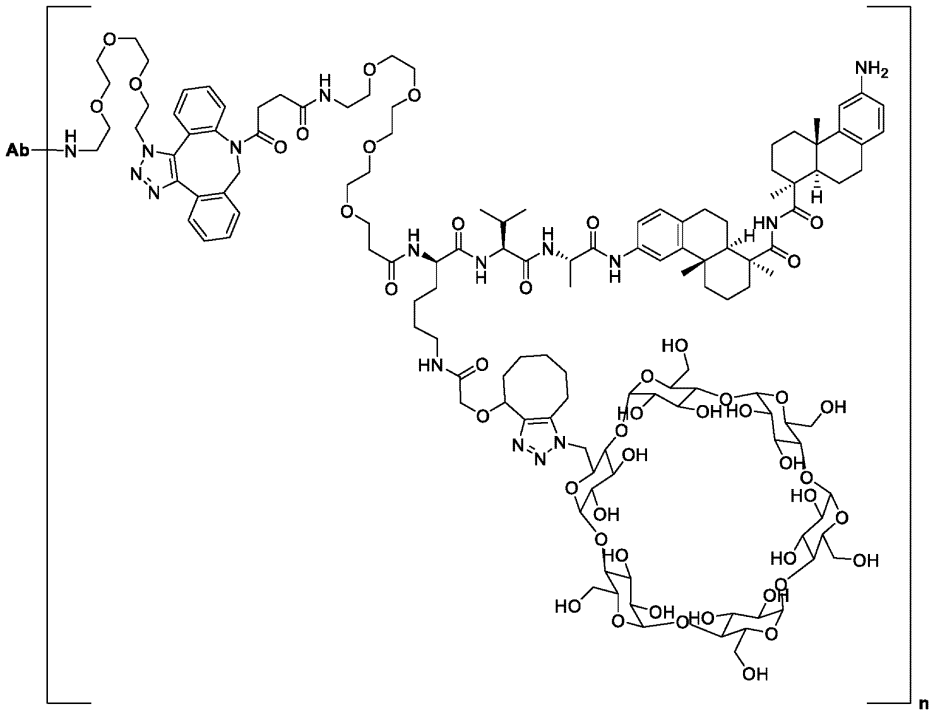


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)、並びにN297Q突然変異を含む。

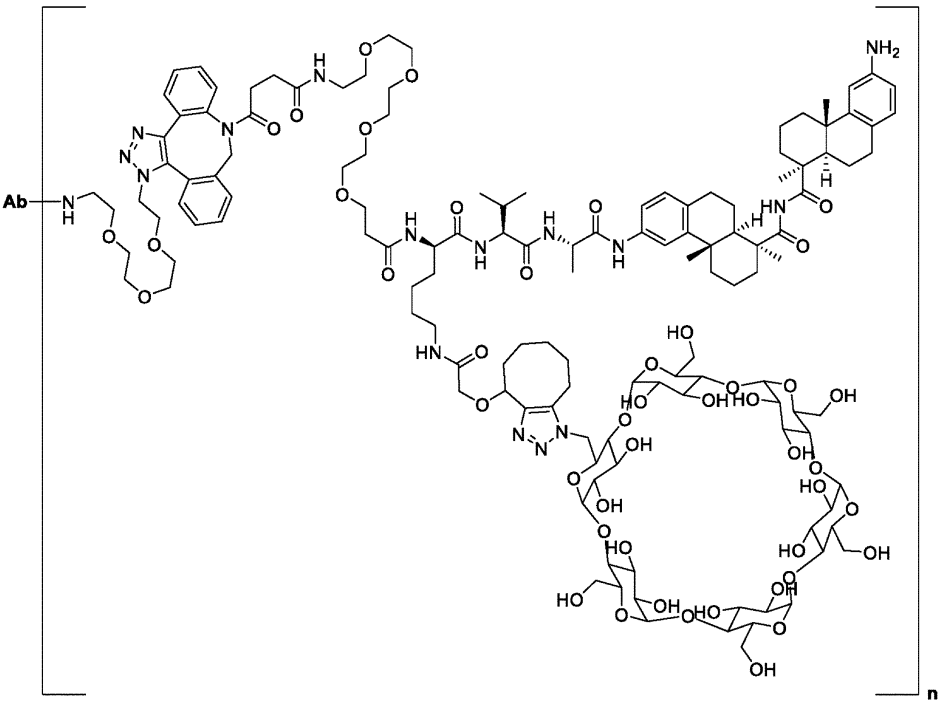
【０３２６】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２７０】



及び/又は

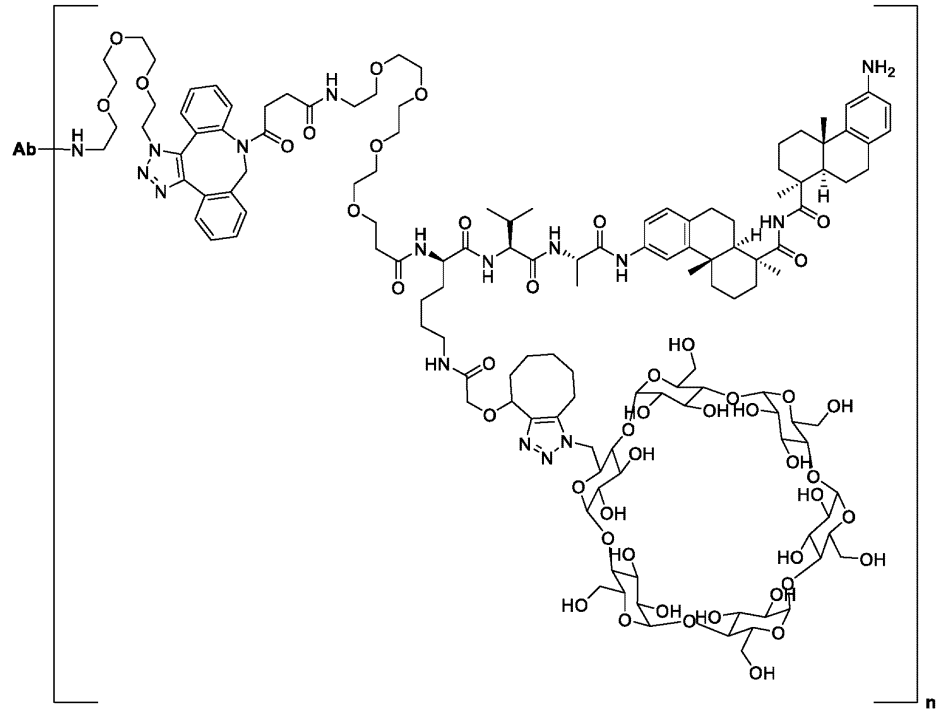


ここで、該抗体は、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、N297Q突然変異を含む。

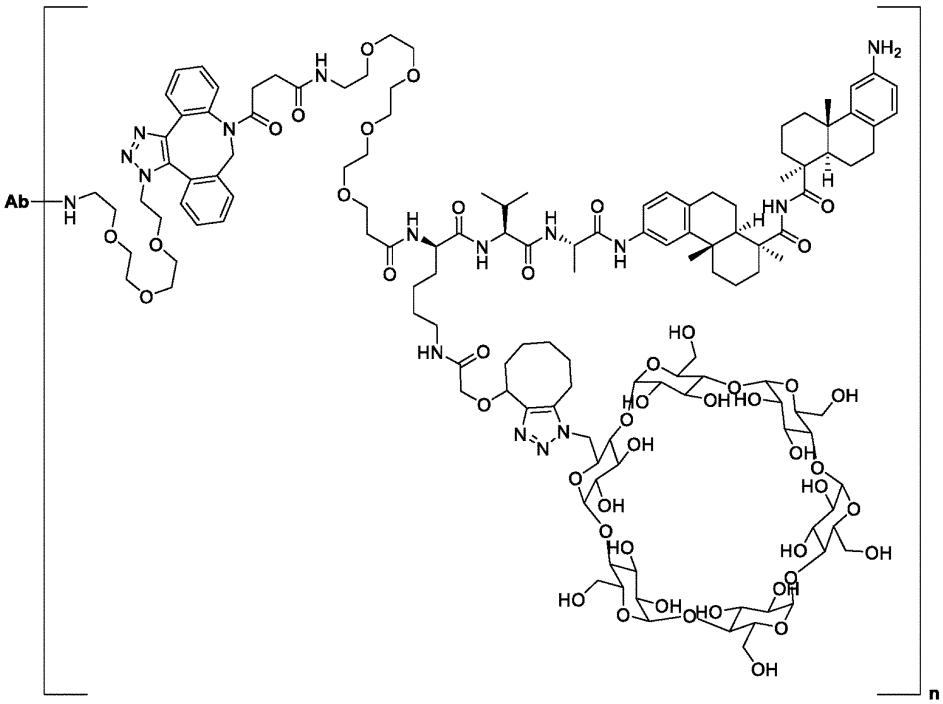
【０３２７】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２７１】



及び/又は

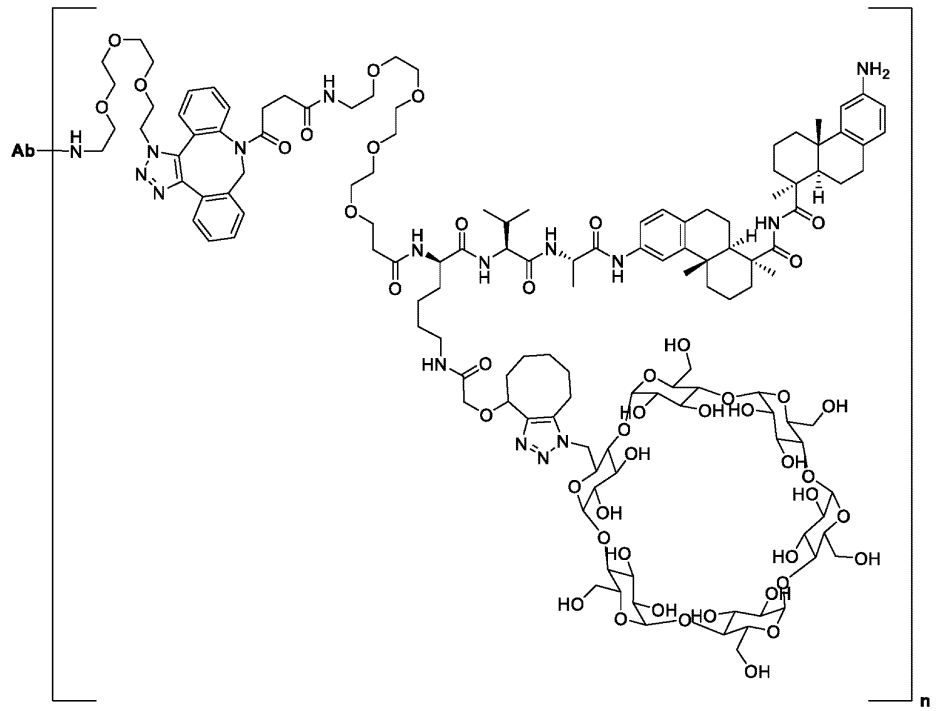


ここで、該抗体は、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組を含む抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組及びN297Q突然変異を含む。

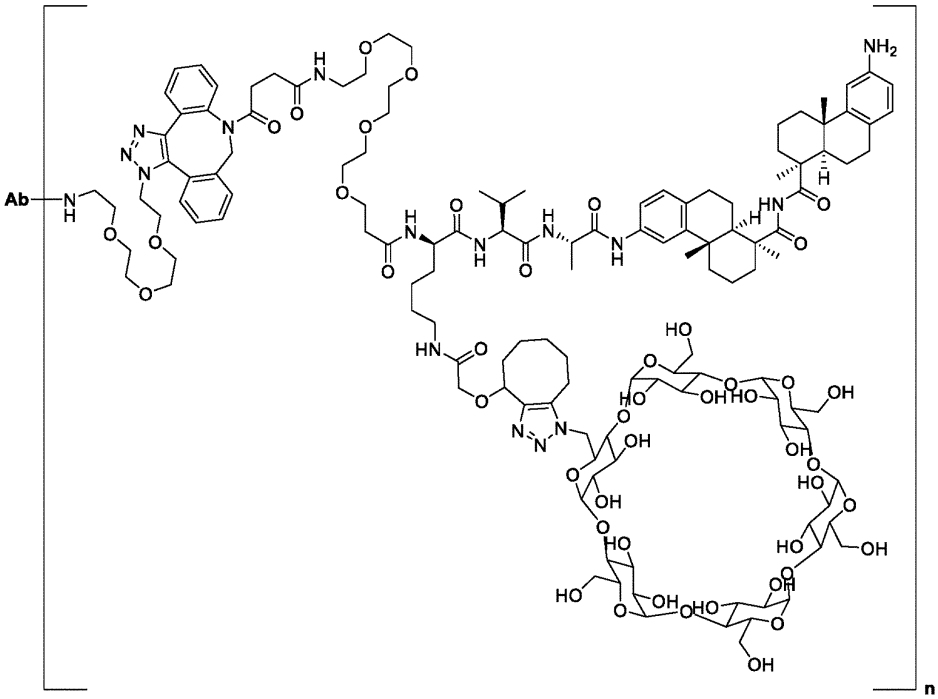
【０３２８】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２７２】



及び/又は



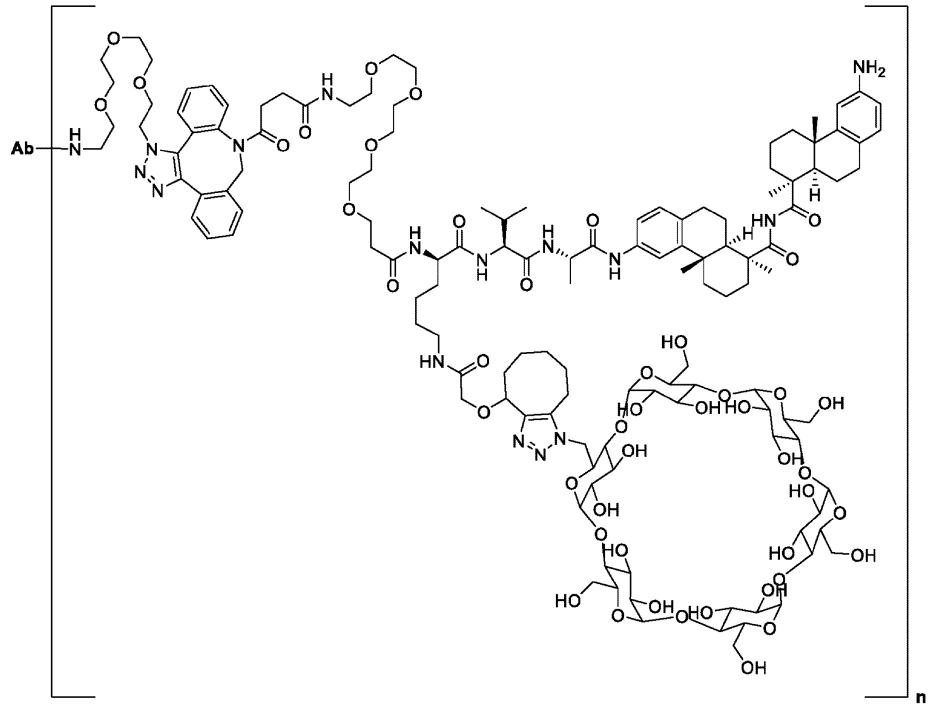
ここで、該抗体は、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3を含む、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列

番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3、並びにN297Q突然変異を含む。

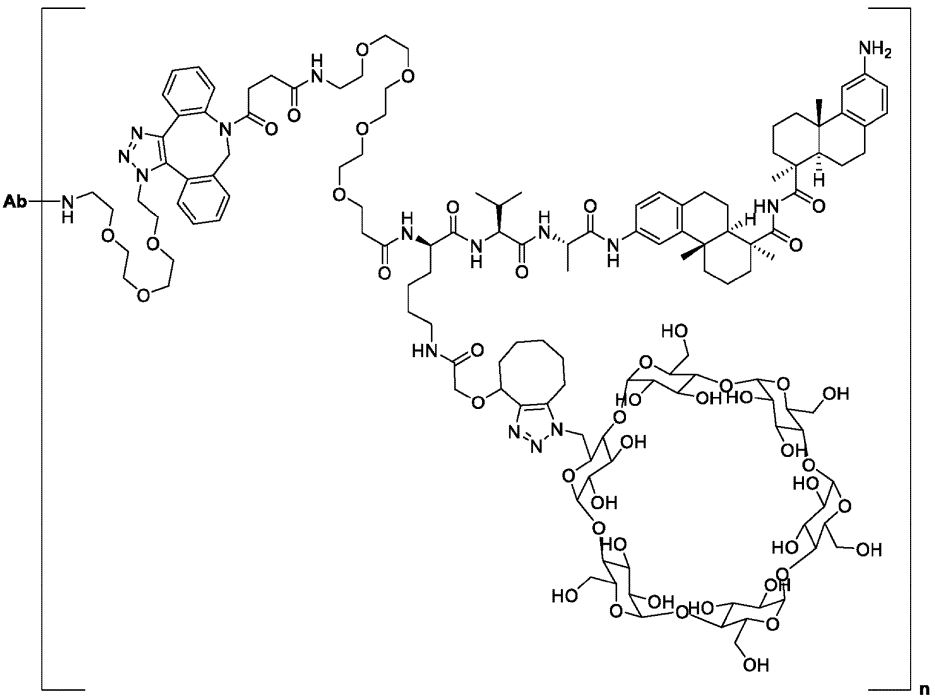
【０３２９】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２７３】



及び/又は



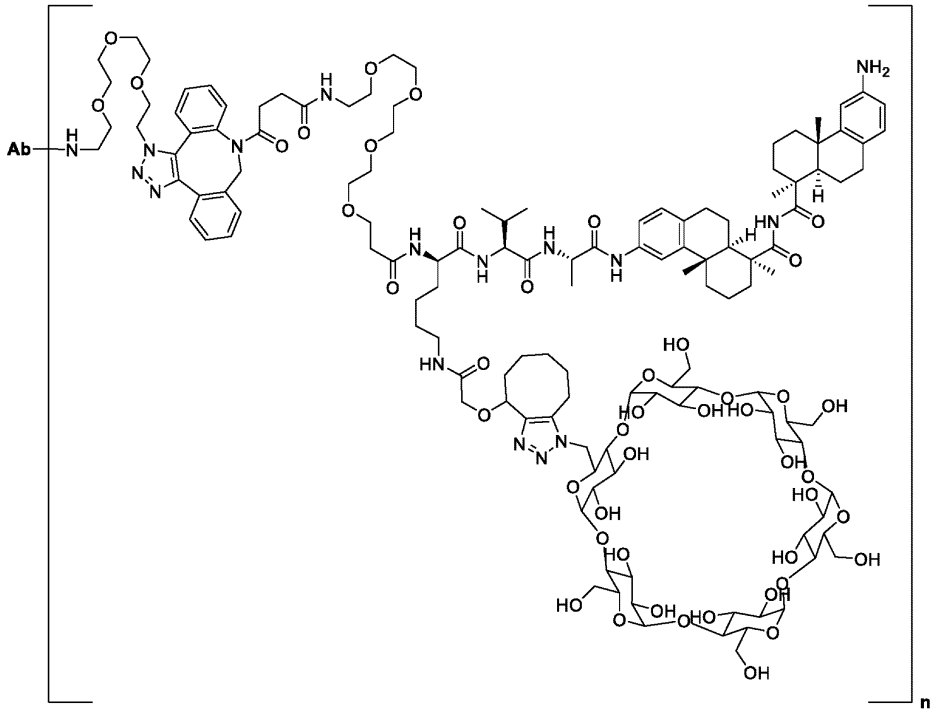
ここで、該抗体は、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組を含む、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1

である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組、並びにN297Q突然変異を含む。

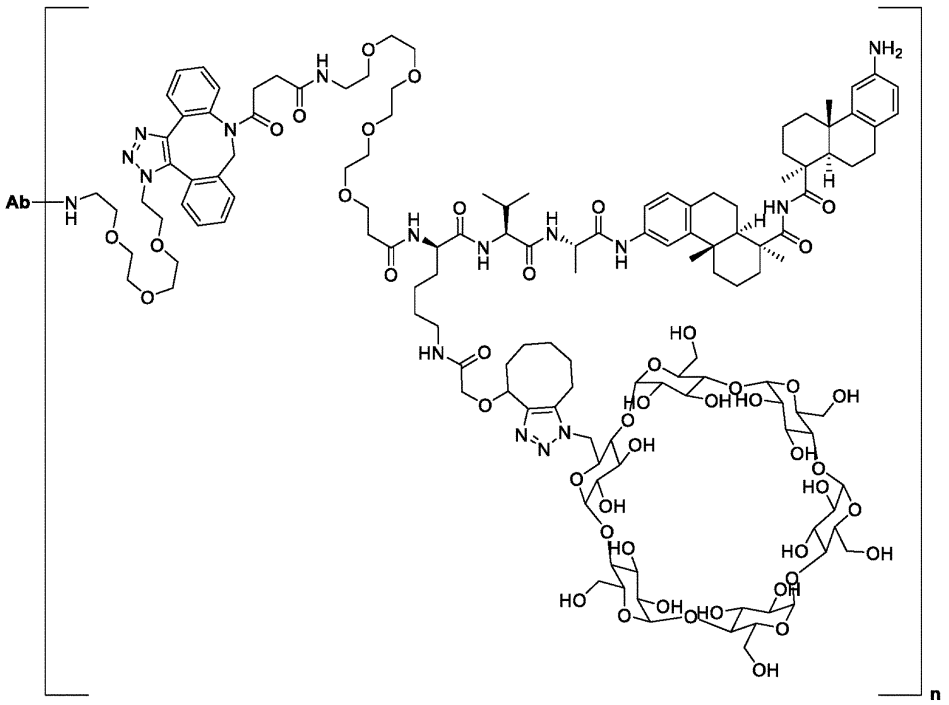
【０３３０】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２７４】



及び/又は



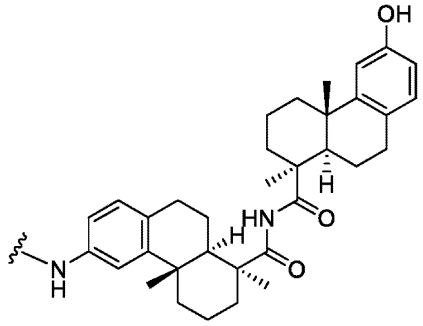
ここで、該抗体は、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)を含む、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいく

つかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３３１】

本明細書に提供されるのは、ペイロード

【化２７５】

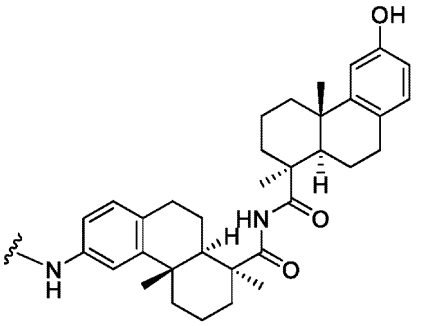


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、N297Q突然変異を含む。

【０３３２】

本明細書に提供されるのは、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組を含み、かつペイロード

【化２７６】

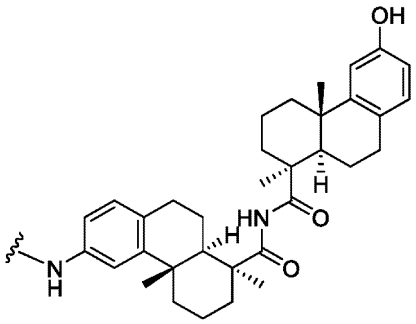


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組及びN297Q突然変異を含む。

【０３３３】

本明細書に提供されるのは、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3を含み、かつペイロード

【化２７７】

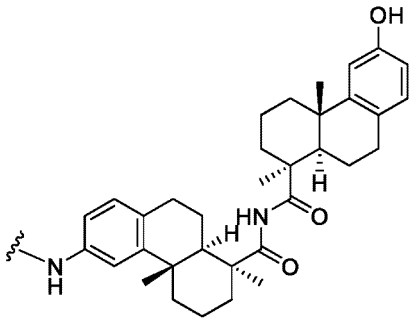


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３３４】

本明細書に提供されるのは、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組を含み、かつペイロード

【化２７８】

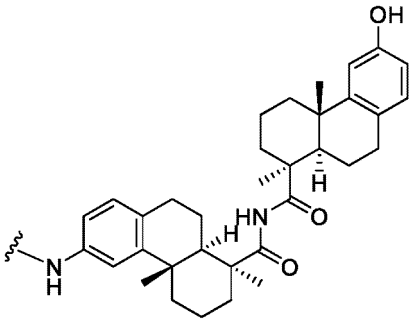


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３３５】

本明細書に提供されるのは、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)を含み、かつペイロード

【化２７９】



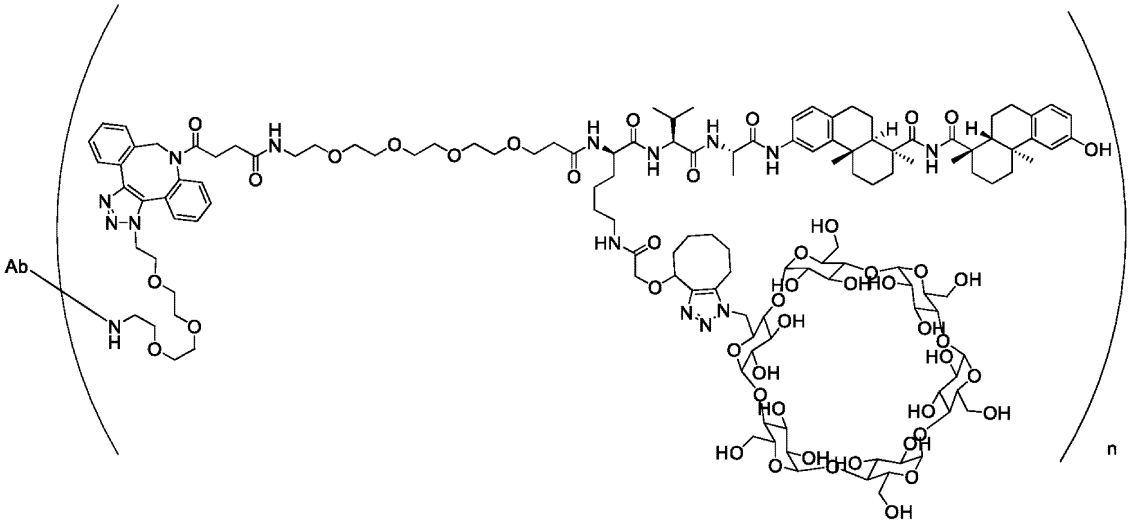
にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許

容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)、並びにN297Q突然変異を含む。

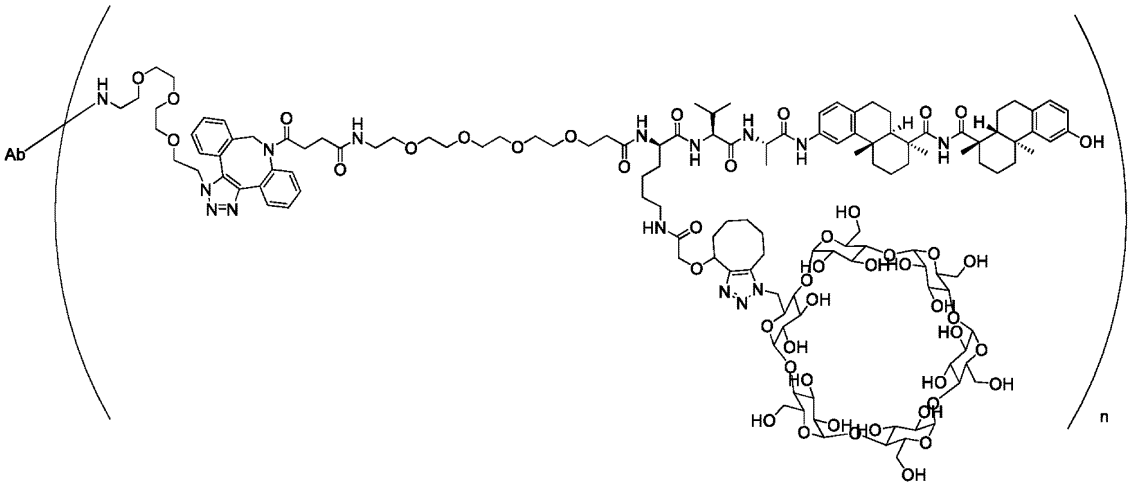
【０３３６】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２８０】



及び/又は

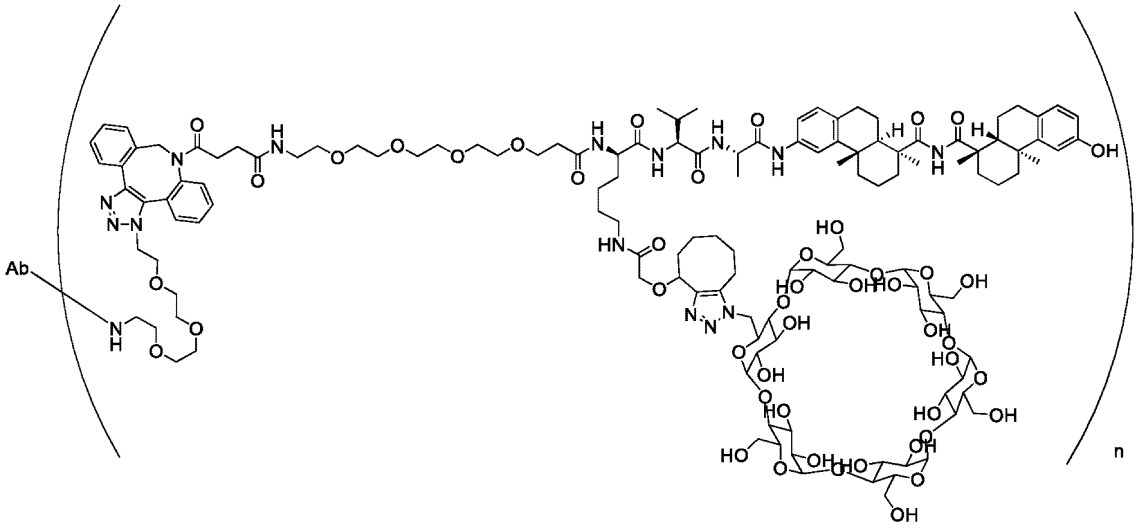


ここで、該抗体は、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、N297Q突然変異を含む。

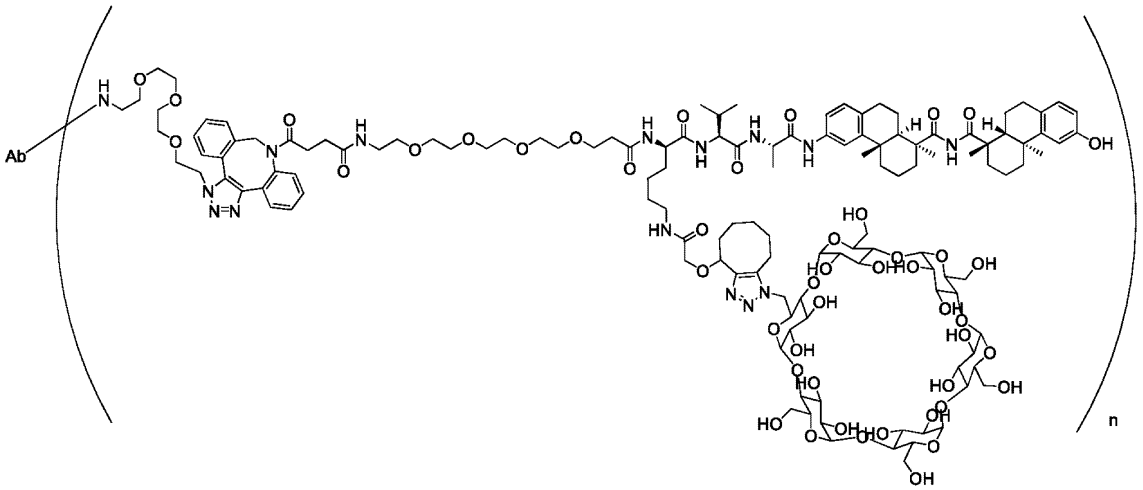
【０３３７】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２８１】



及び/又は

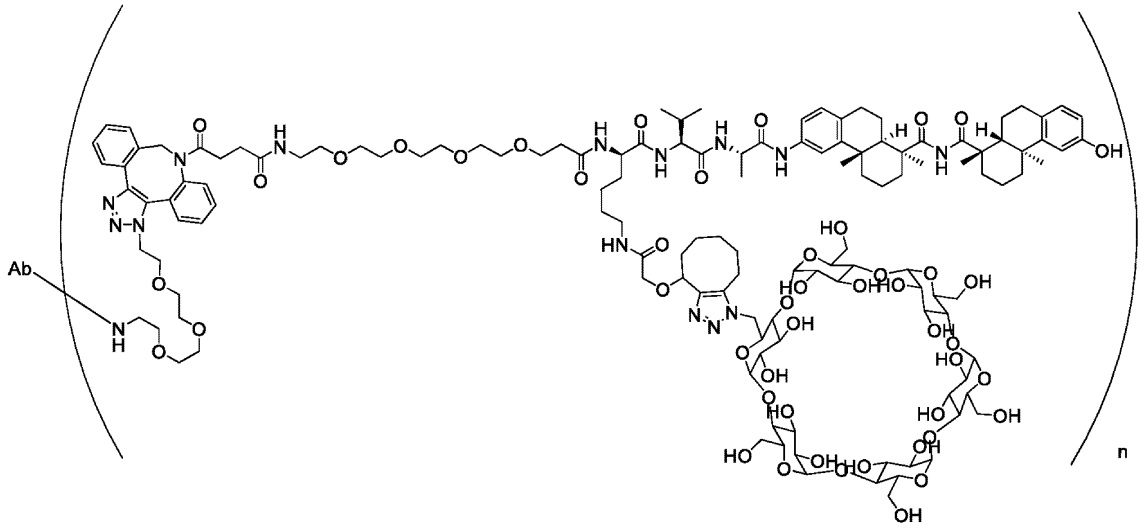


ここで、該抗体は、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組を含む抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組及びN297Q突然変異を含む。

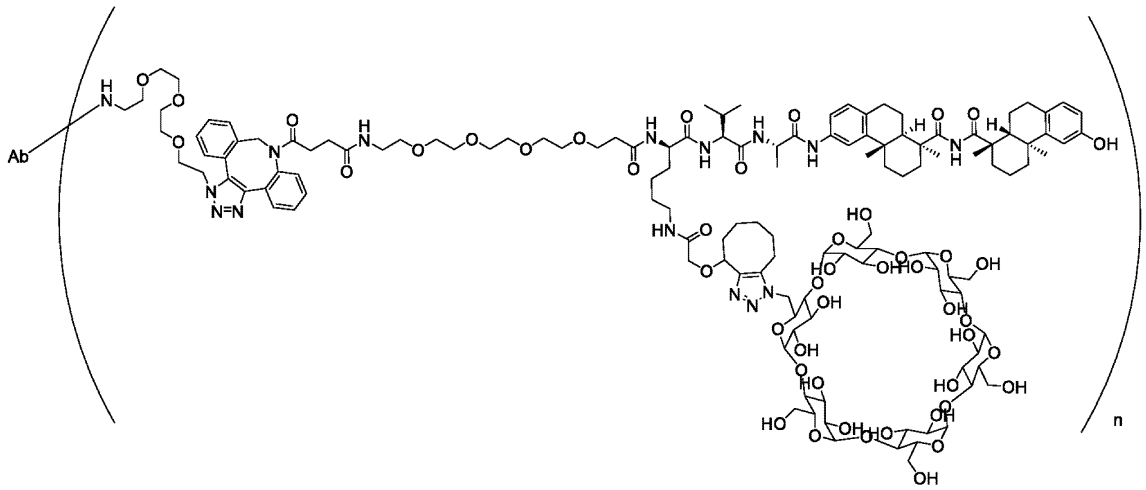
【０３３８】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２８２】



及び/又は

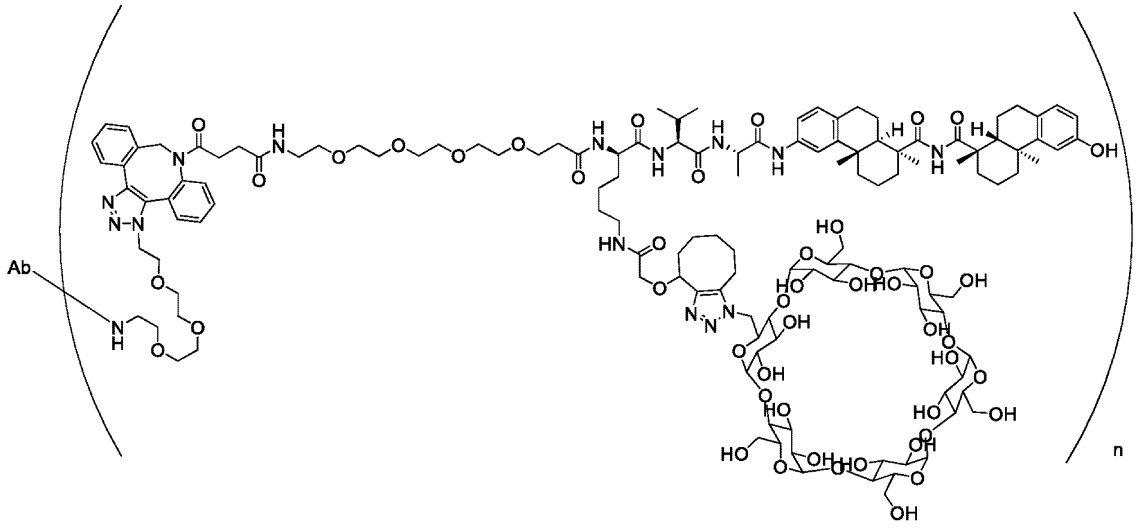


ここで、該抗体は、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3を含む、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3、並びにN297Q突然変異を含む。

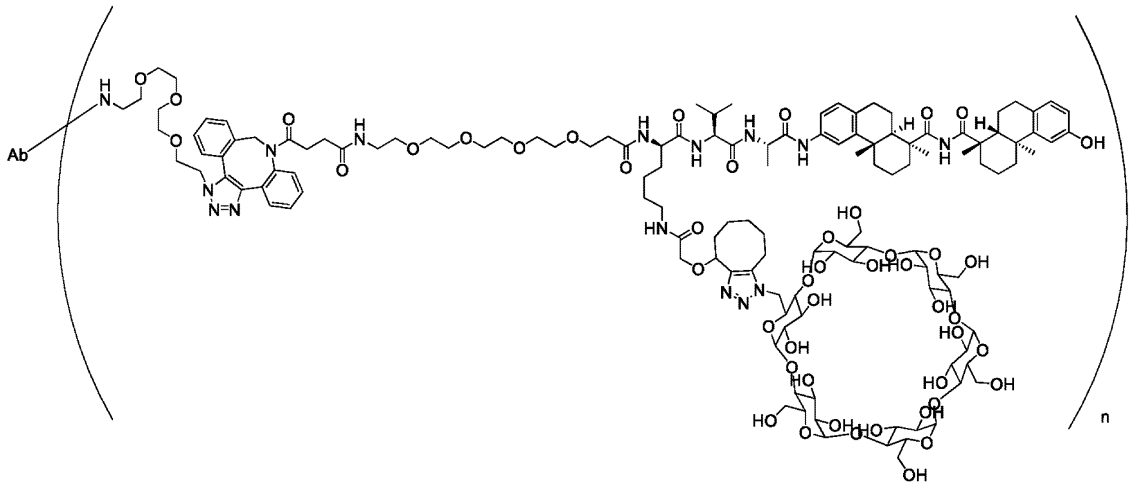
【０３３９】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２８３】



及び/又は

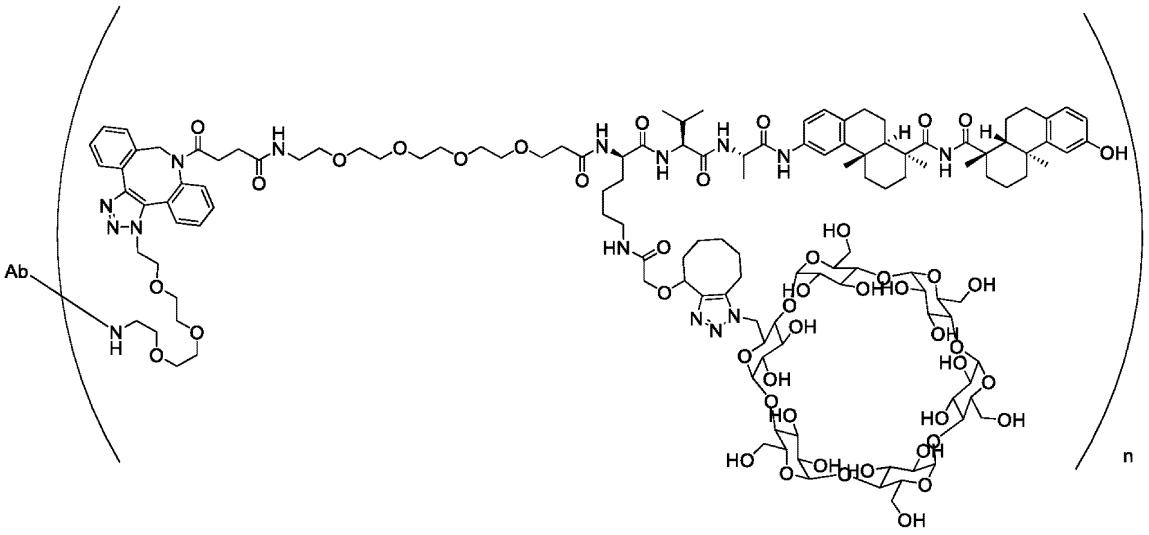


ここで、該抗体は、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組を含む、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組、並びにN297Q突然変異を含む。

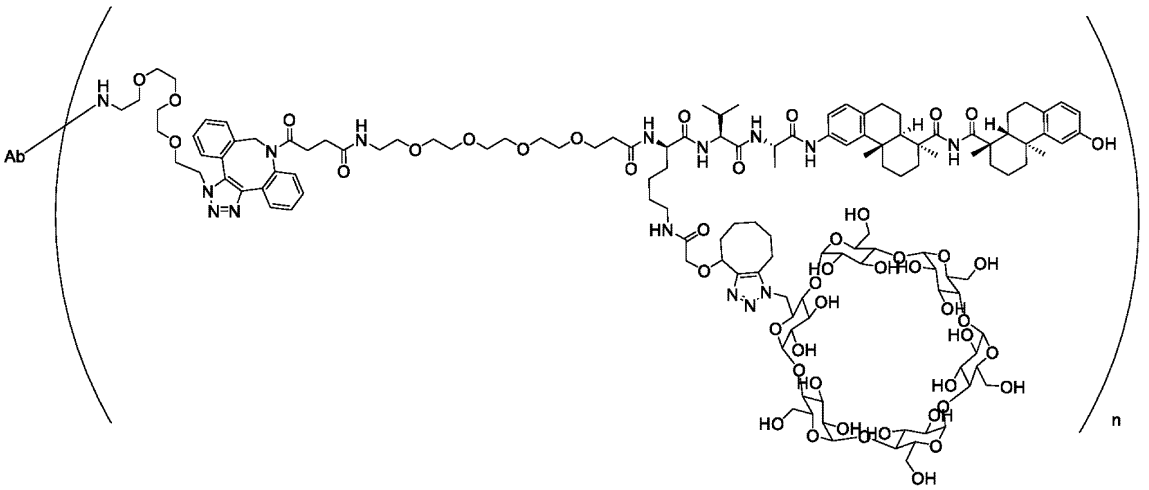
【０３４０】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２８４】



及び/又は

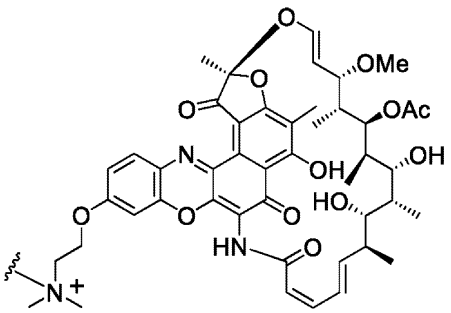


ここで、該抗体は、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)を含む、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３４１】

本明細書に提供されるのは、ペイロード

【化２８５】

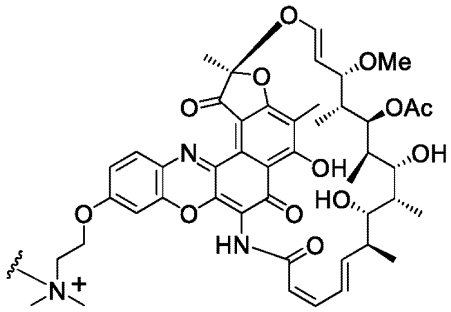


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、N297Q突然変異を含む。

【０３４２】

本明細書に提供されるのは、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組を含み、かつペイロード

【化２８６】

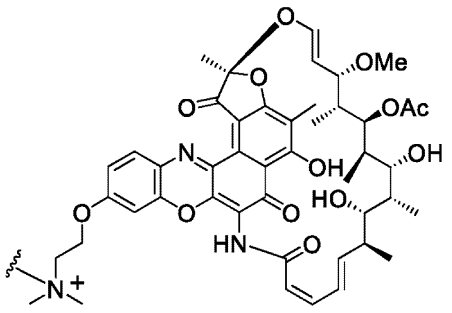


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組及びN297Q突然変異を含む。

【０３４３】

本明細書に提供されるのは、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3を含み、かつペイロード

【化２８７】



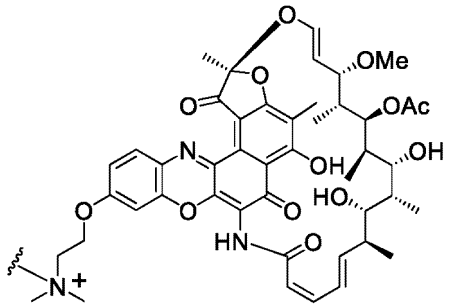
にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;

配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３４４】

本明細書に提供されるのは、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組を含み、かつペイロード

【化２８８】

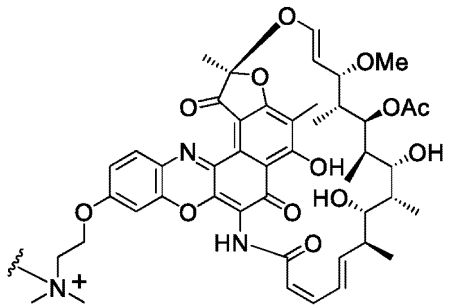


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３４５】

本明細書に提供されるのは、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)を含み、かつペイロード

【化２８９】

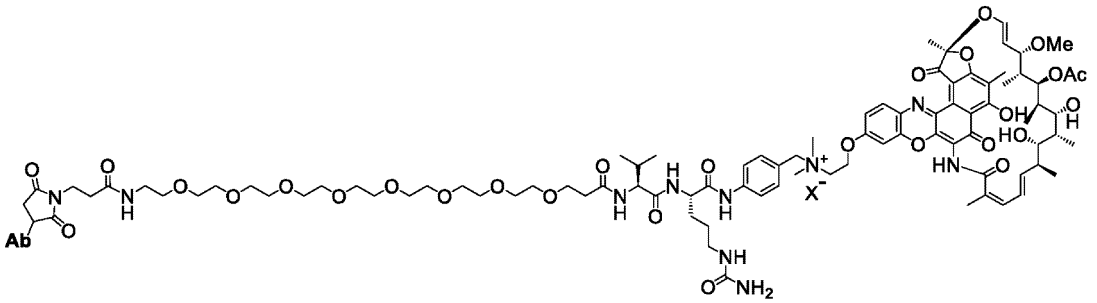


にコンジュゲートされた、抗MSR1抗体もしくはその抗原結合断片又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３４６】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２９０】

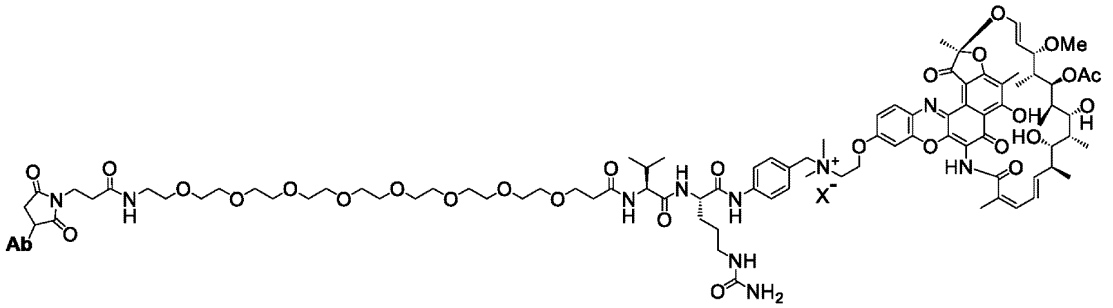


ここで、X^-は、医薬として許容し得る対イオンであり、かつここで、該抗体は、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、N297Q突然変異を含む。

【０３４７】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２９１】

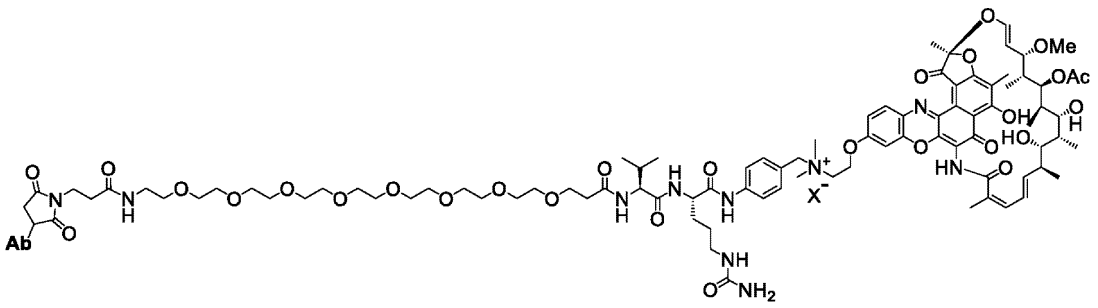


ここで、X^-は、医薬として許容し得る対イオンであり、かつここで、該抗体は、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組を含む抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の6つの相補性決定領域(CDR)(HCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、LCDR3)の組及びN297Q突然変異を含む。

【０３４８】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２９２】

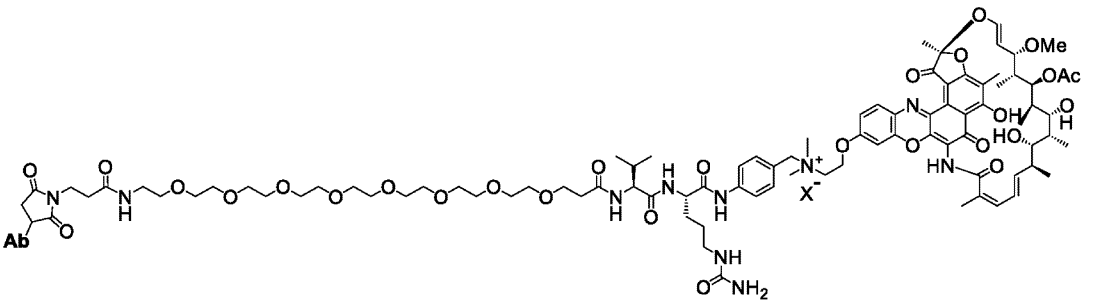


ここで、X^-は、医薬として許容し得る対イオンであり、かつここで、該抗体は、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3を含む、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３４９】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２９３】

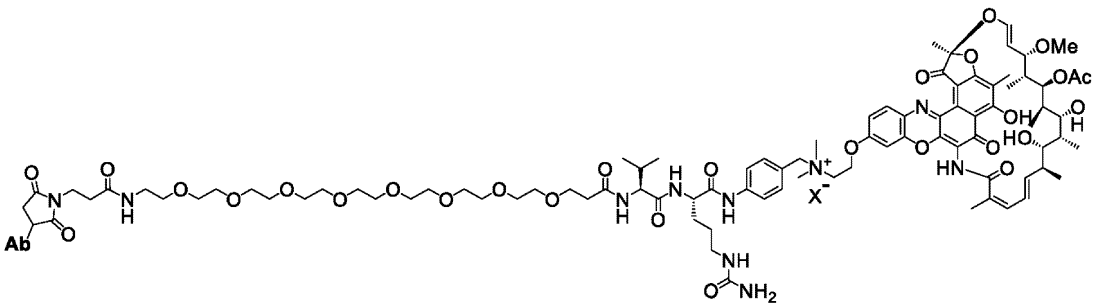


ここで、X^-は、医薬として許容し得る対イオンであり、かつここで、該抗体は、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組を含む、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、表4の可変領域である重鎖可変領域(HCVR)の組及び軽鎖可変領域(LCVR)の組、並びにN297Q突然変異を含む。

【０３５０】

次式による抗体-薬物コンジュゲート(ADC):又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、もしくは位置異性体、或いはその混合物;

【化２９４】

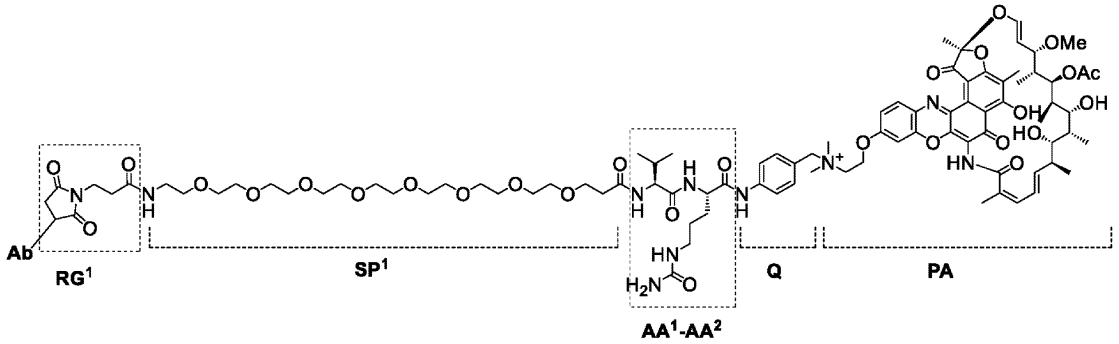


ここで、X^-は、医薬として許容し得る対イオンであり、かつここで、該抗体は、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR)及び配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR)を含む、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である。そのような実施態様のいくつかにおいて、薬物抗体比(DAR)は1～4である。いくつかの実施態様において、DARは1である。いくつかの実施態様において、DARは2である。いくつかの実施態様において、DARは3である。いくつかの実施態様において、DARは4である。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片は、配列番号50を含む重鎖可変領域(HCVR);配列番号58の軽鎖可変領域(LCVR);及びN297Q突然変異を含む。

【０３５１】

本明細書で使用される場合、ある実施態様において、アミノ酸が、例えば、部分-SP^1-AA^1-AA^2-中のスペーサーSP^1に結合している場合、アミノ酸AA^1は、そのアミノ基を介して、スペーサーSP^1に結合している。スペーサー残基は、アミノ酸中のアミノ基との結合を形成した官能基の部分を含む。ほんの一例として、以下の構造:

【化２９５】



において、バリン残基は、示されているようなSP^1に結合し、SP^1残基は、この例において、(C=O)部分を含む。また、この例において、SP^1残基は、反応基との結合を形成するのに好適な官能基を含み、かつSP^1残基は、-NH-部分を含む。当業者は、同様の分類を本明細書に記載される他の全ての式に適用することができることを認識しているであろう。

【０３５２】

本明細書に記載される抗体薬物コンジュゲートは、当業者に公知のコンジュゲーション条件を用いて調製することができる(例えば、引用により本明細書中に完全に組み込まれる、Doroninaらの文献、Nature Biotechnology 2003, 21, 7, 778を参照)。いくつかの実施態様において、ADCは、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片を所望のリンカー及びペイロードを含む化合物と反応させることにより調製され、ここで、該リンカーは、抗体又は抗原結合タンパク質と、例えば、該抗体又は抗原結合タンパク質の所望の残基で反応する部分を保有する。例示的な条件は、以下の実施例に記載されている。

【０３５３】

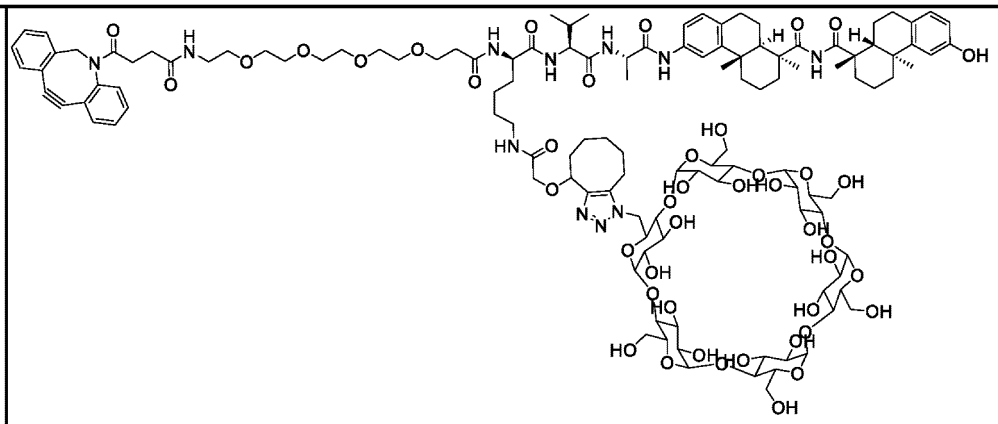
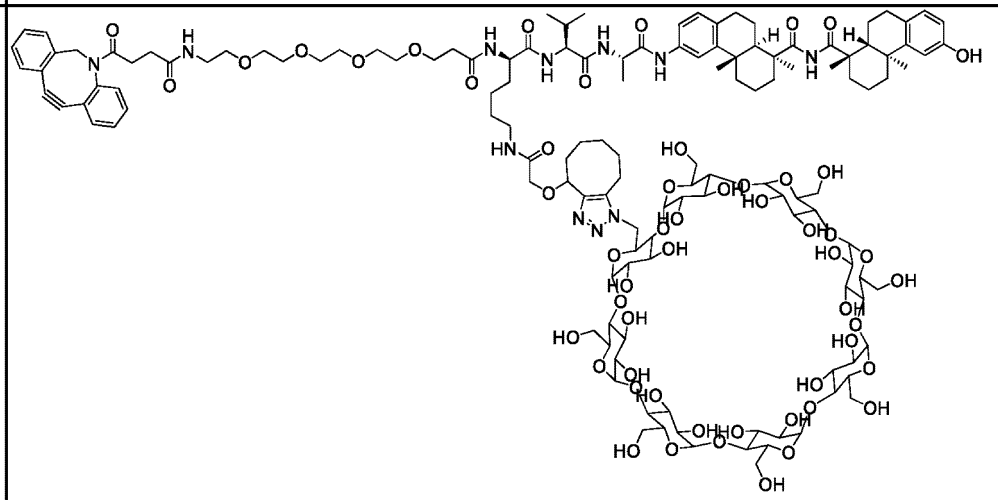
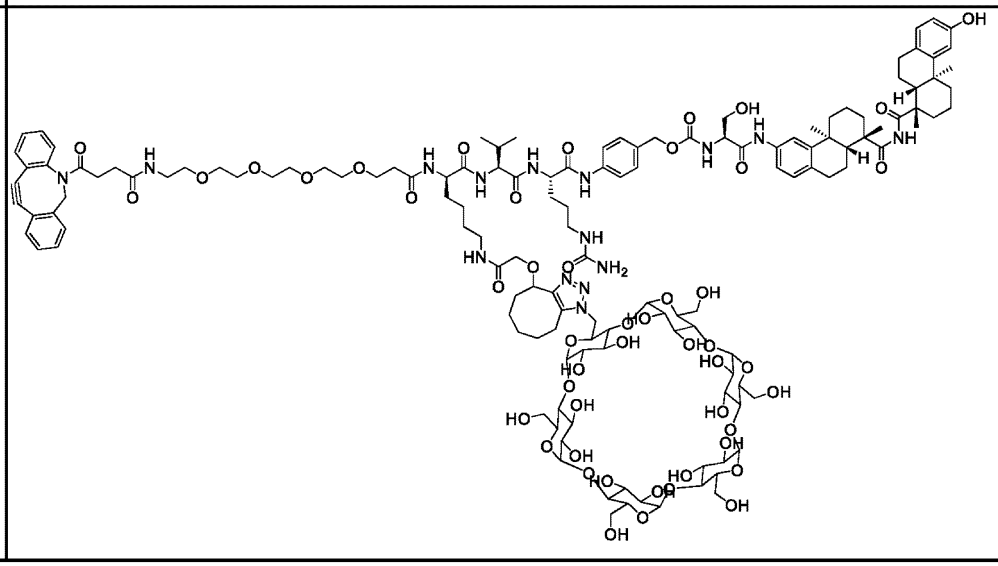
(抗体-薬物コンジュゲートの調製)

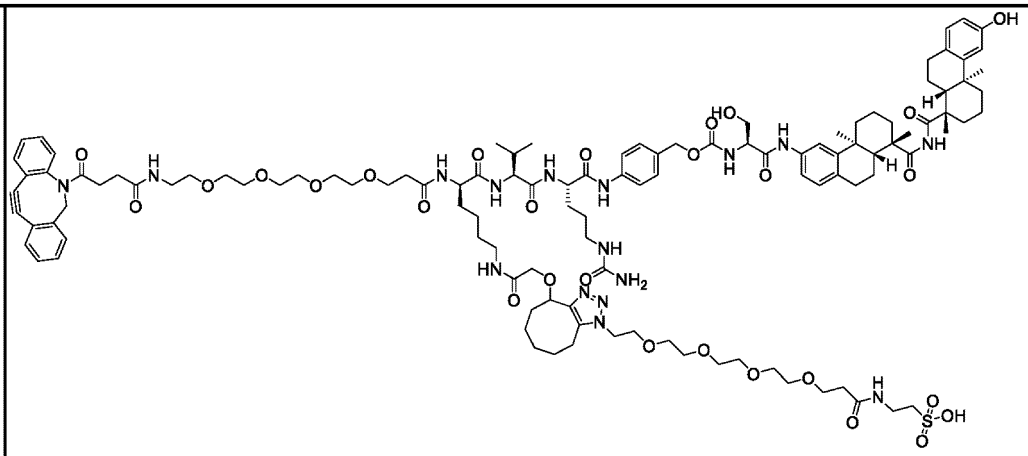
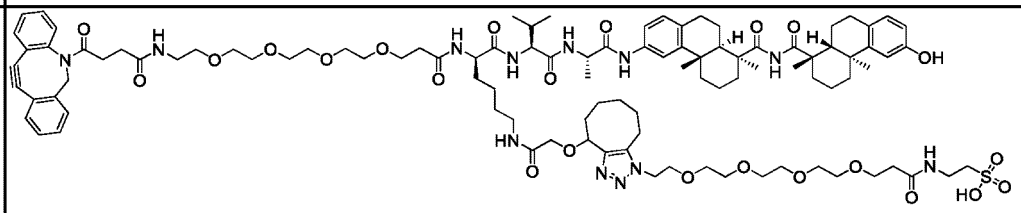
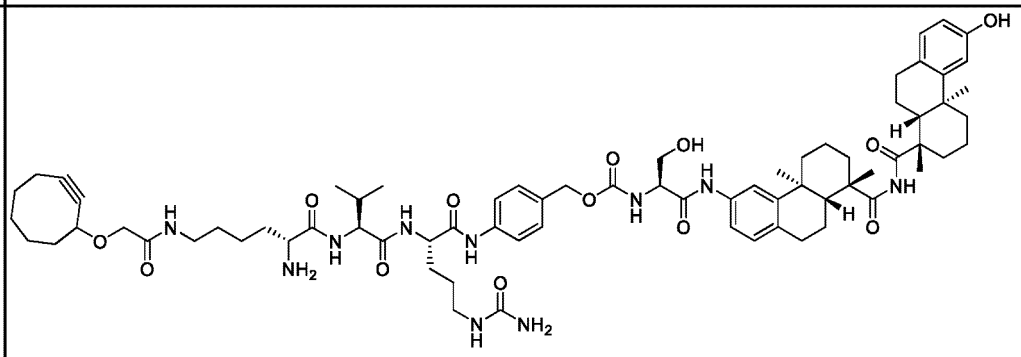
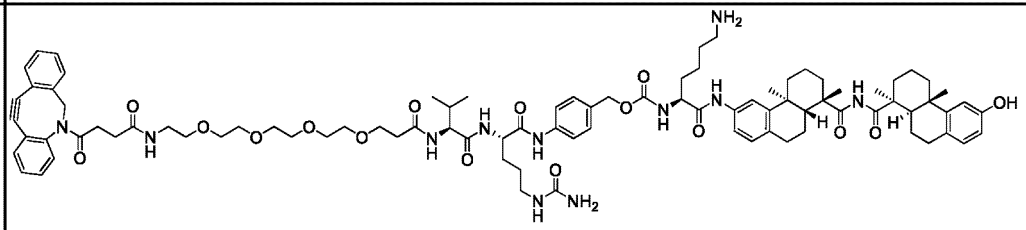
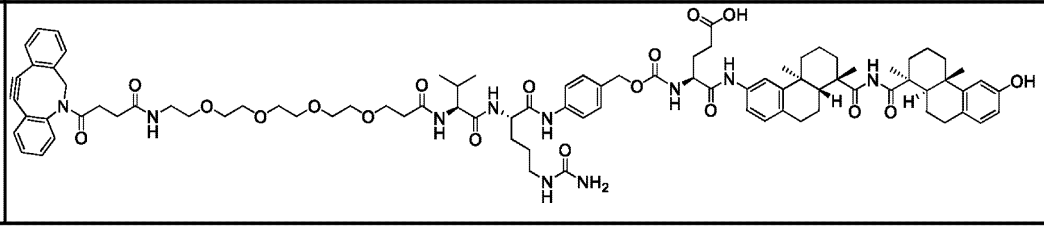
いくつかの実施態様において、本明細書に提供されるのは、抗体-薬物コンジュゲートを

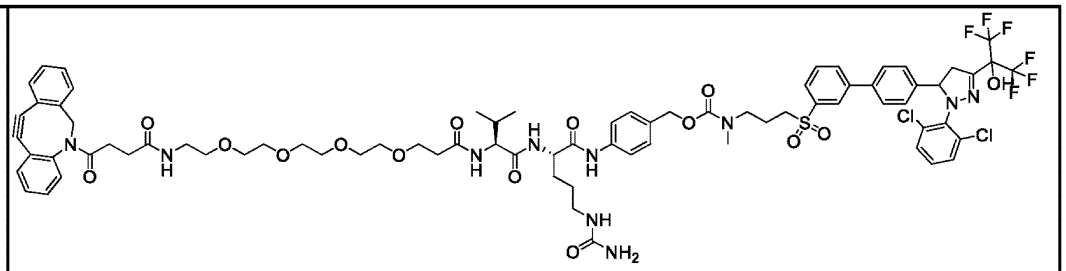
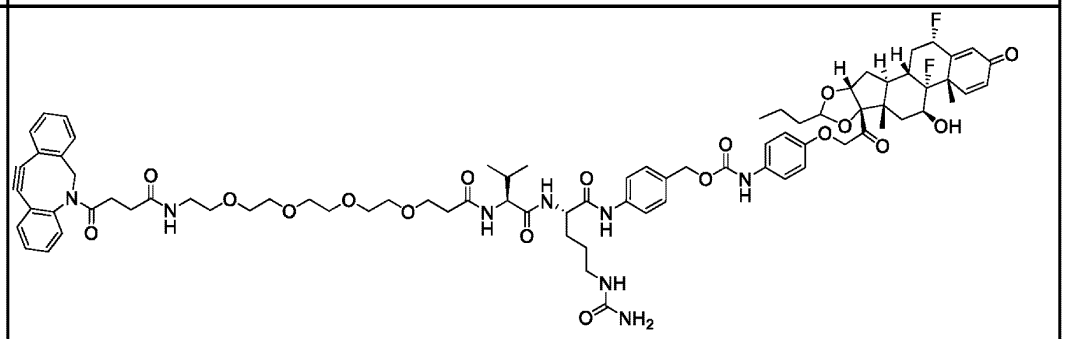
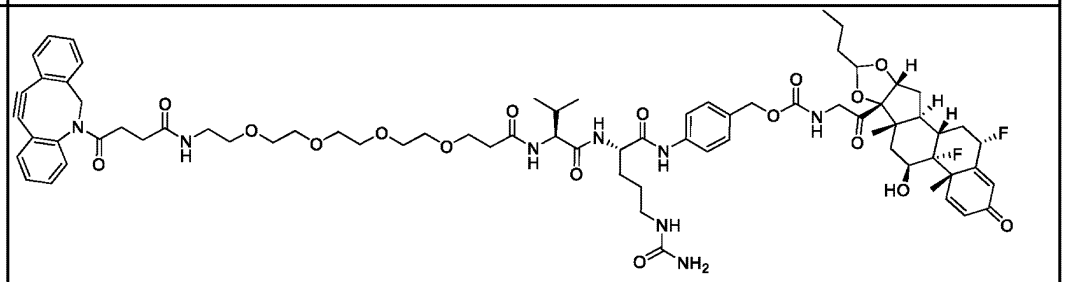
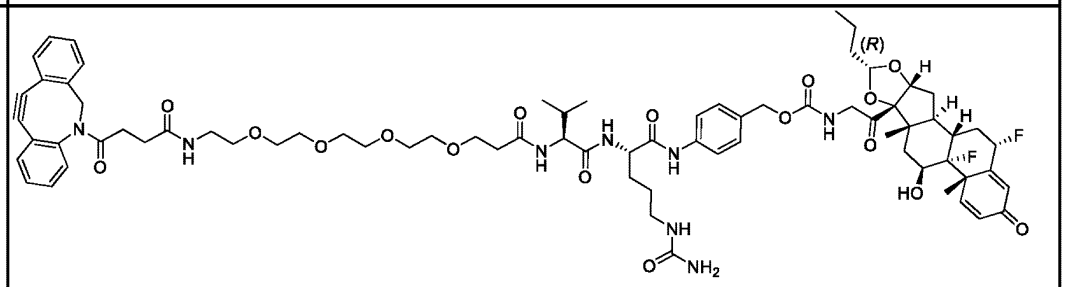
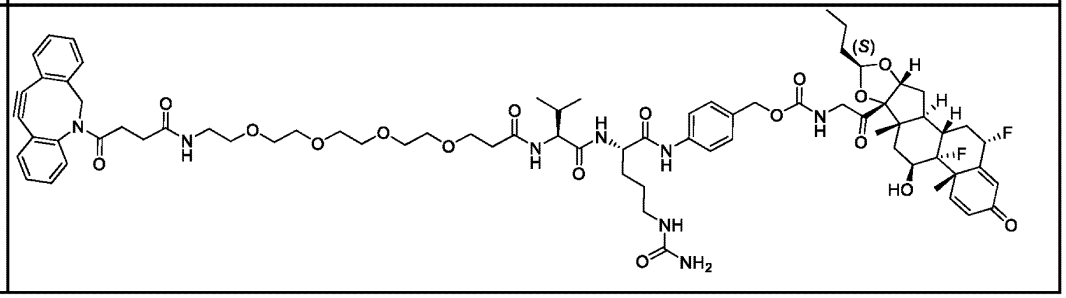
調製するプロセスであって、抗MSR1抗体もしくはPEG修飾抗MSR1抗体又はその抗原結合断片を表3から選択されるリンカー-ペイロード又はリンカー-スペーサー-ペイロードと接触させることを含む、プロセスである。また本明細書に提供されるのは、抗MSR1抗体もしくはPEG修飾抗MSR1抗体又はその抗原結合断片を表3から選択されるリンカーペイロード又はリンカー-スペーサー-ペイロードとコンジュゲートすることにより調製される抗体薬物コンジュゲート又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物である。

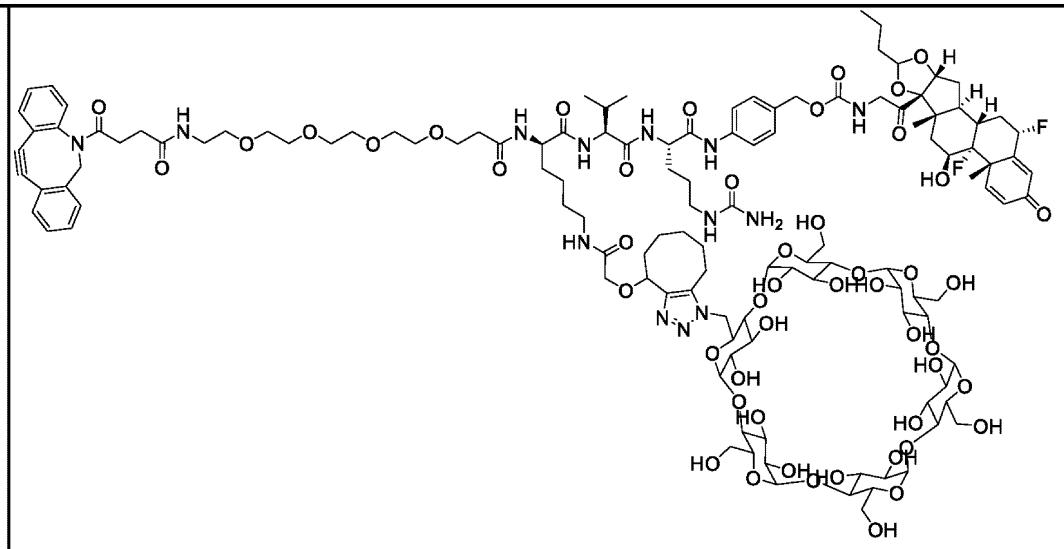
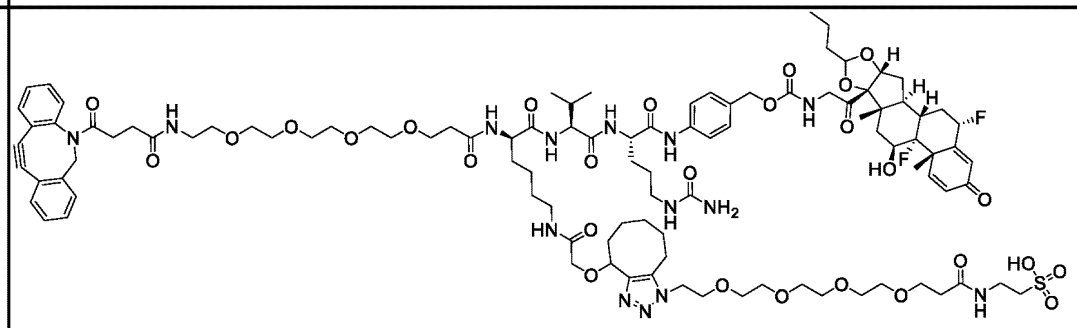
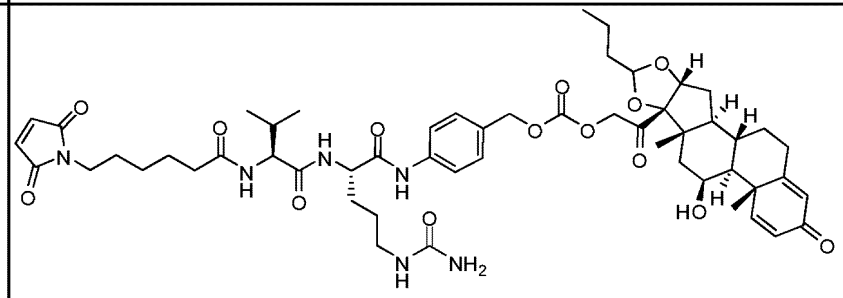
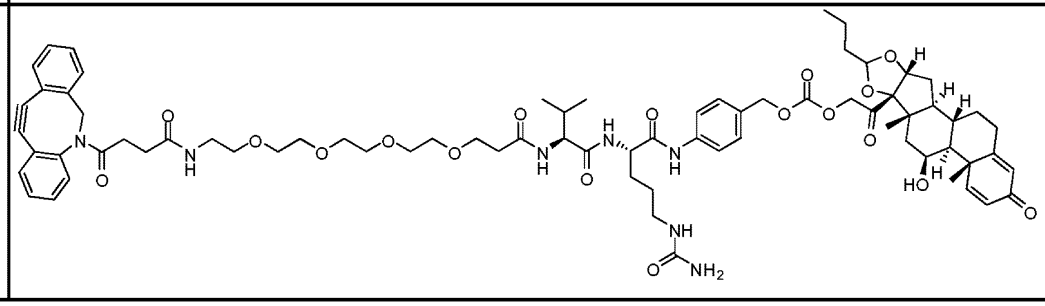
表3:リンカー-ペイロード(LP)及びその構造のリスト

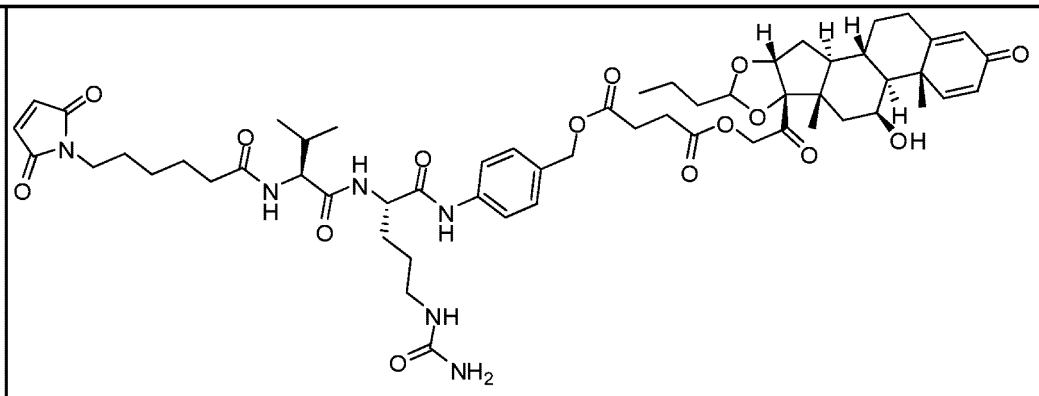
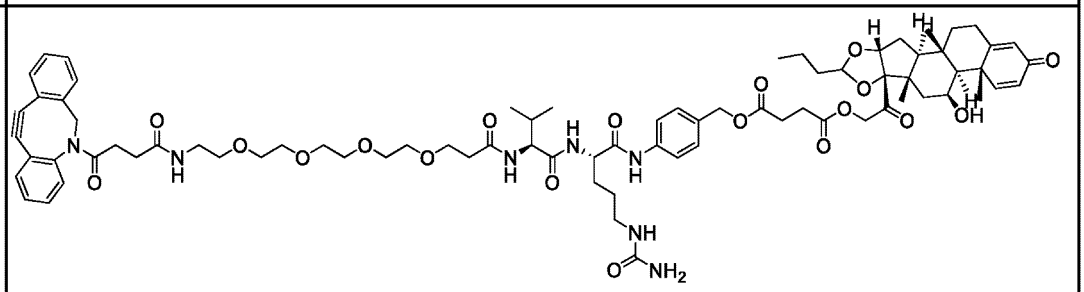
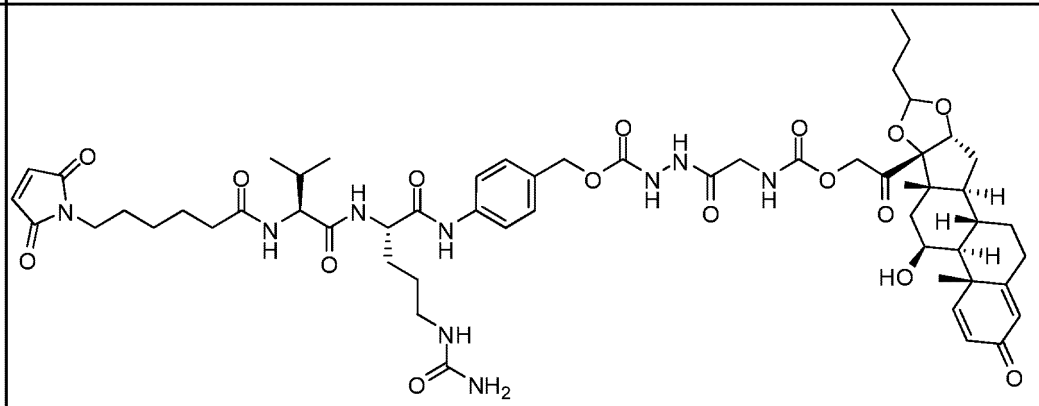
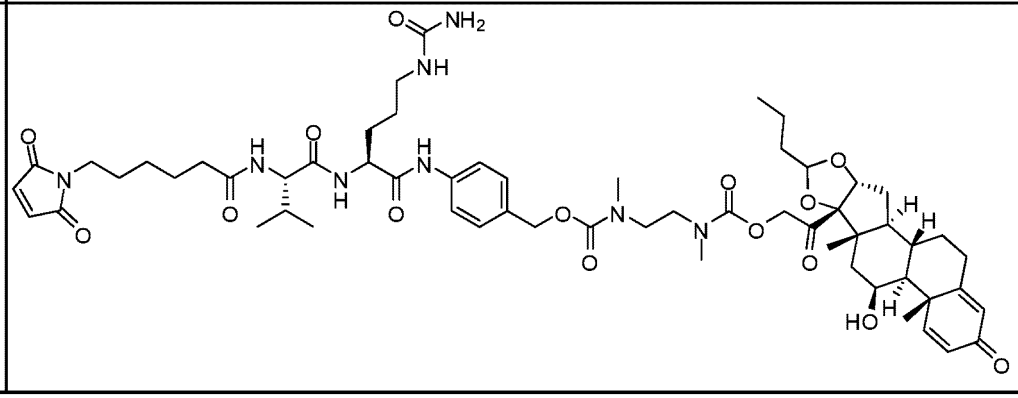
【表５】

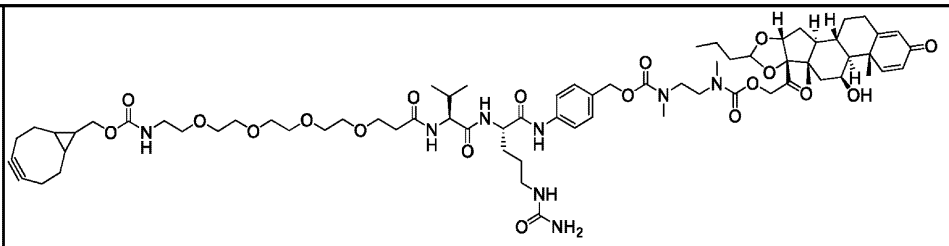
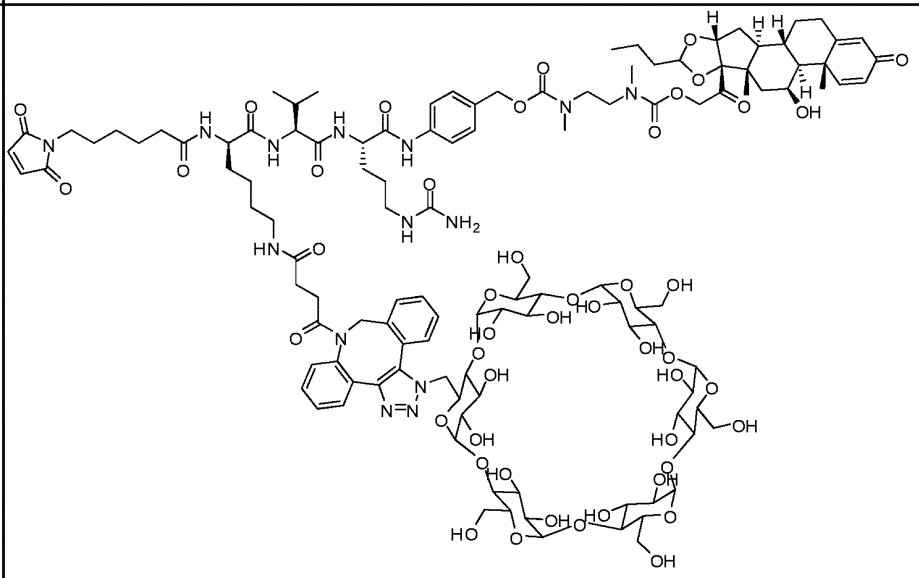
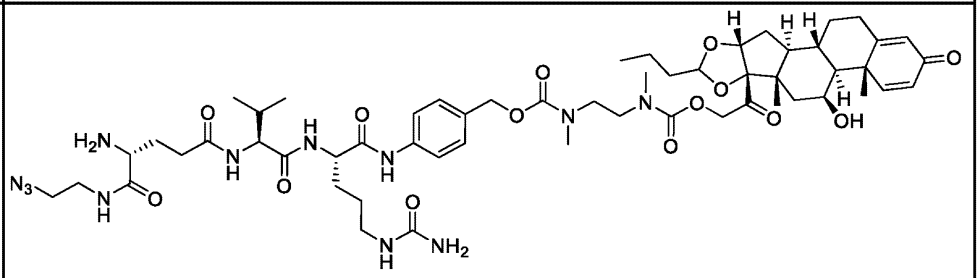
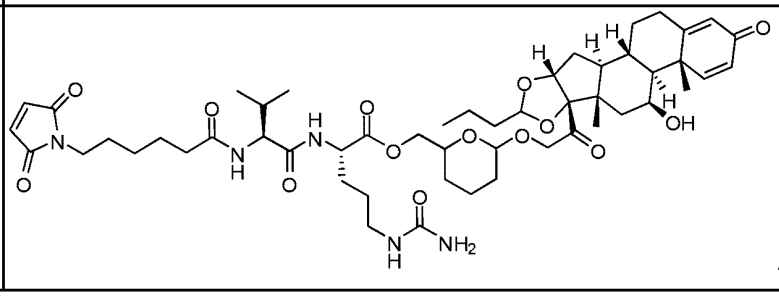
LP1	
LP2	
LP5	

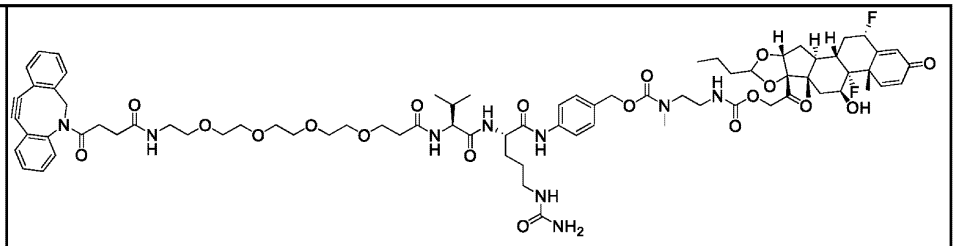
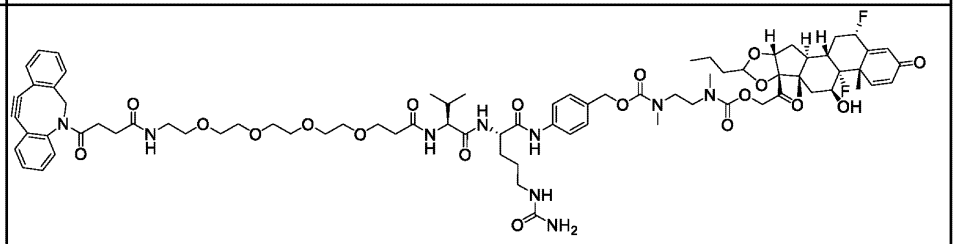
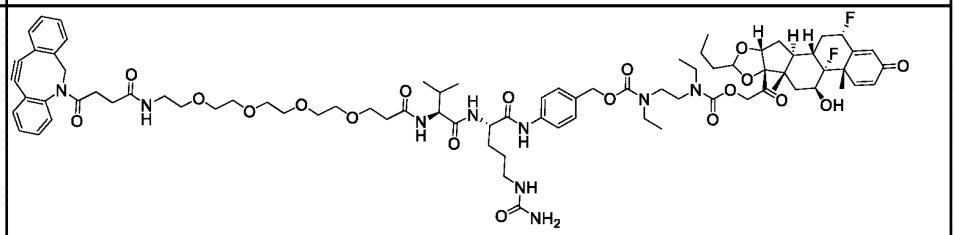
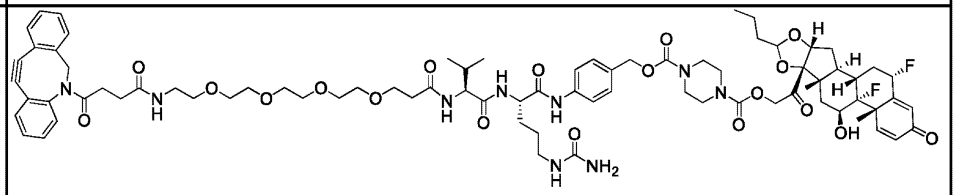
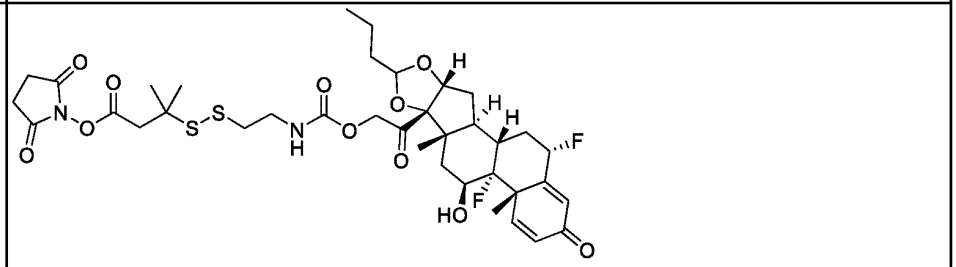
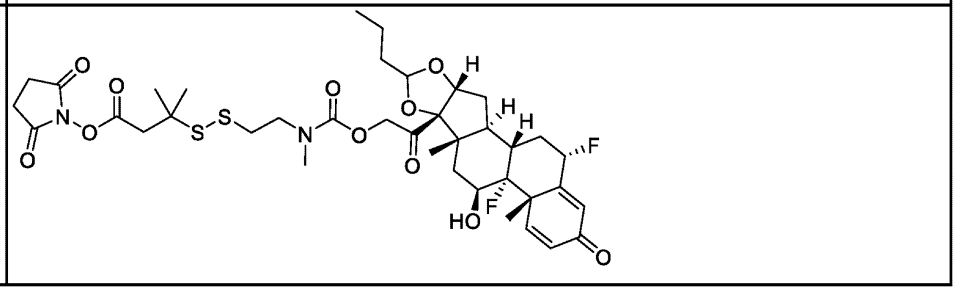
LP6	
LP18	
LP4	
LP11	
LP9	

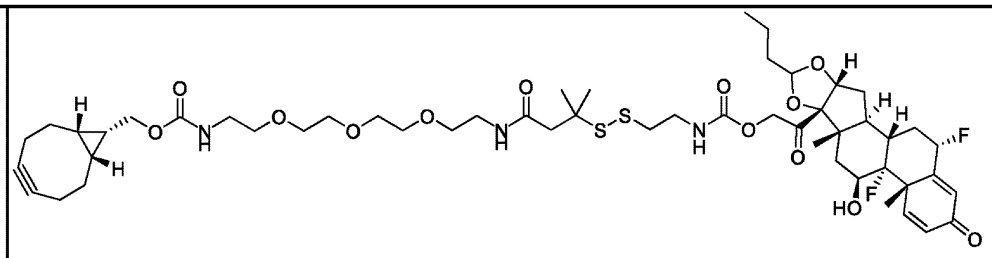
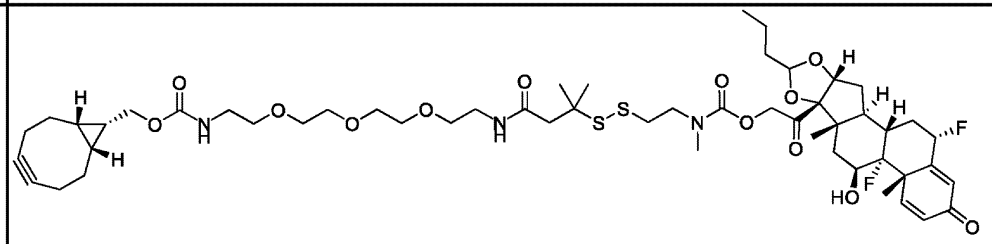
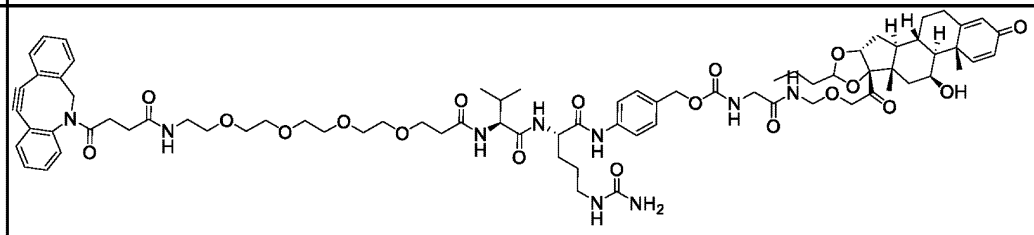
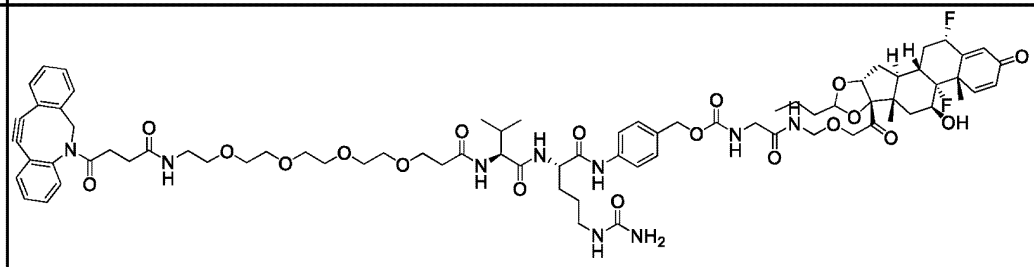
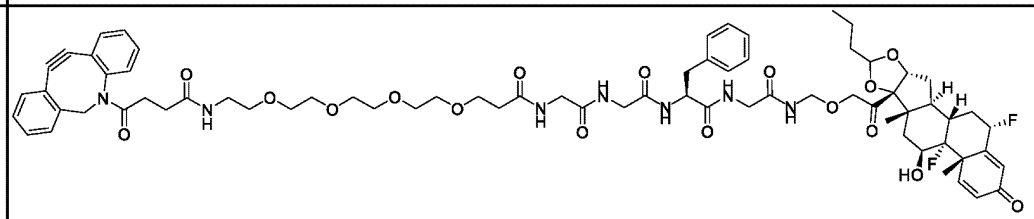
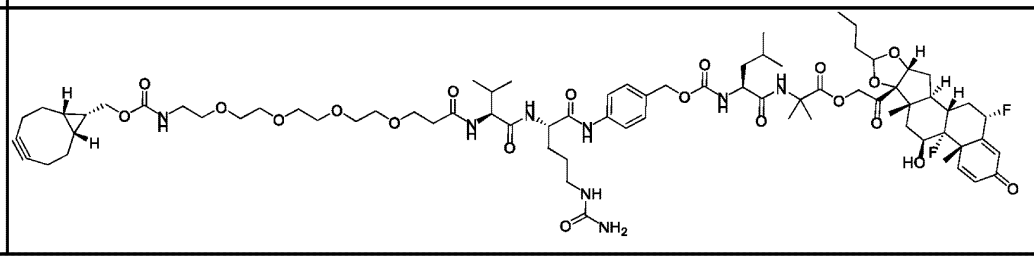
LP12	
LP3	
LP13	
	
	

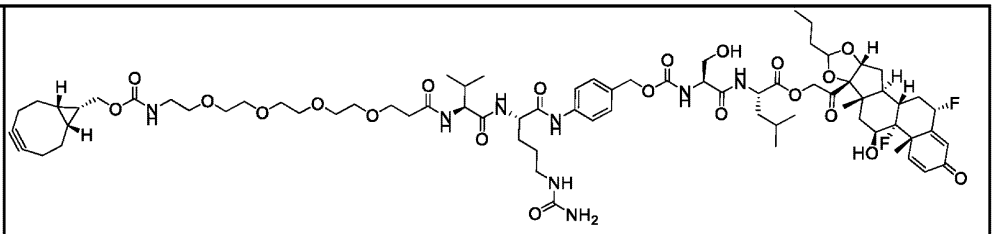
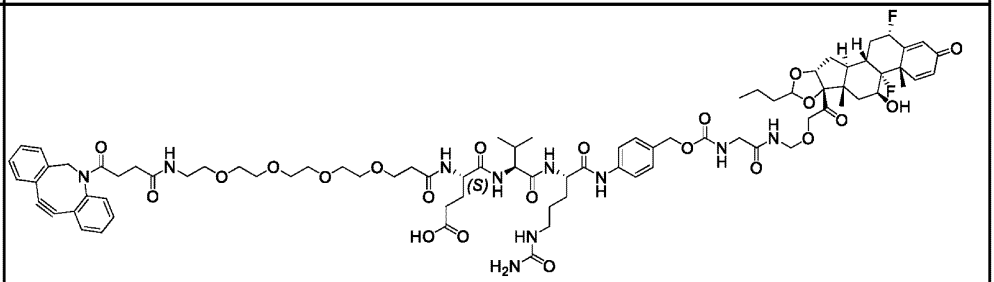
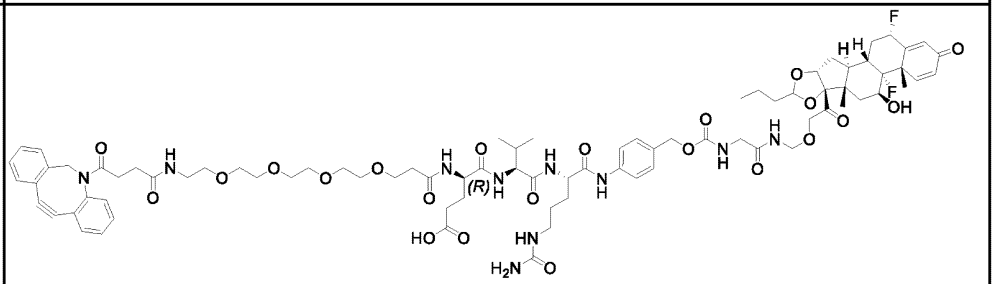
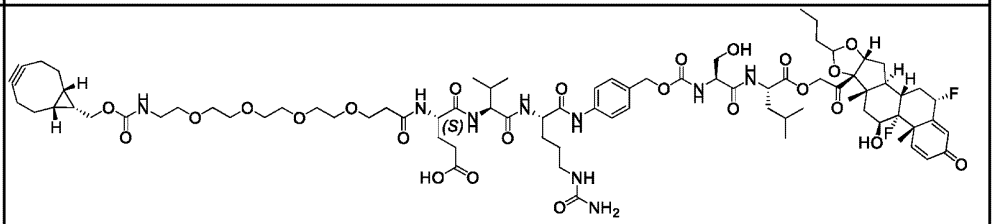
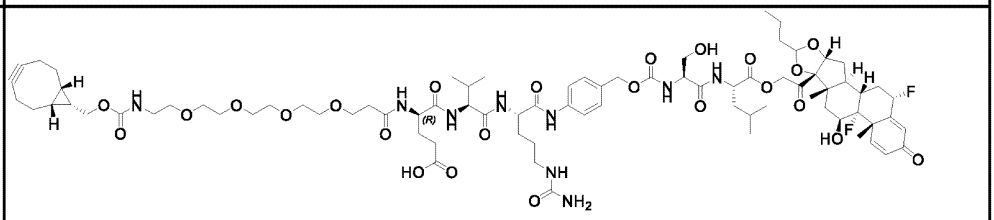
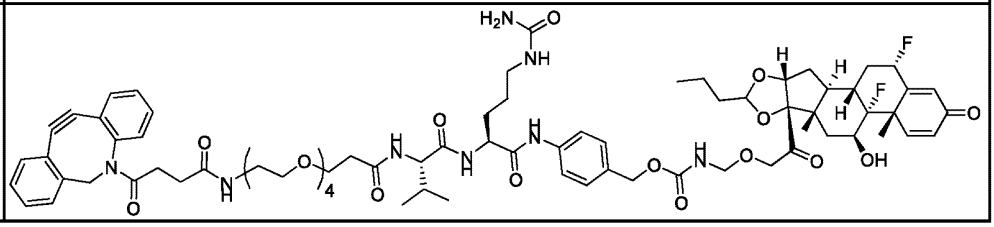
LP14	
LP15	
2a	
2b	

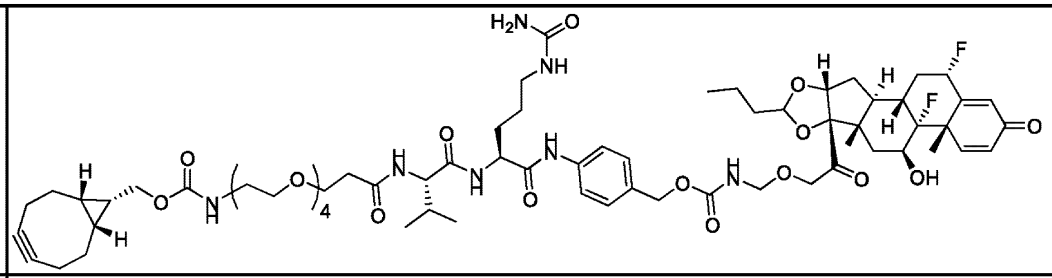
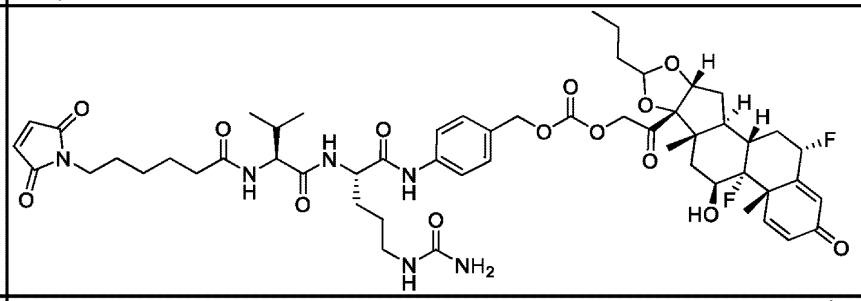
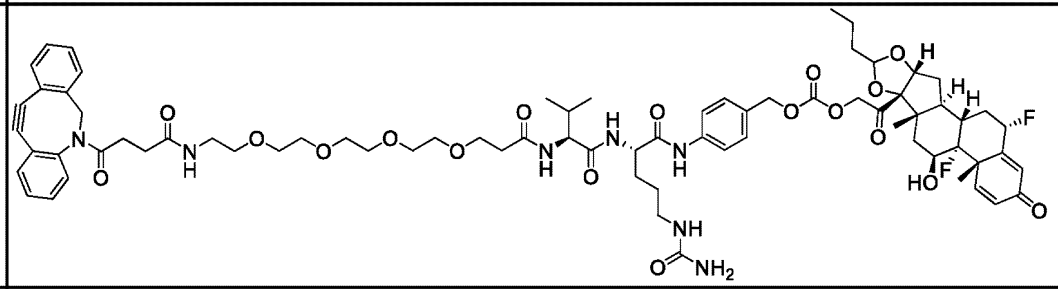
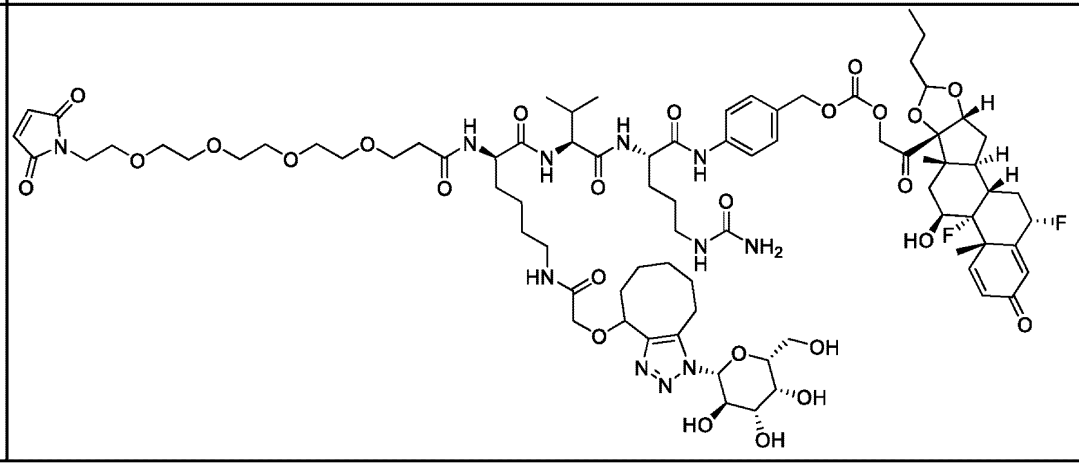
2f	
2g	
2j	
2k	

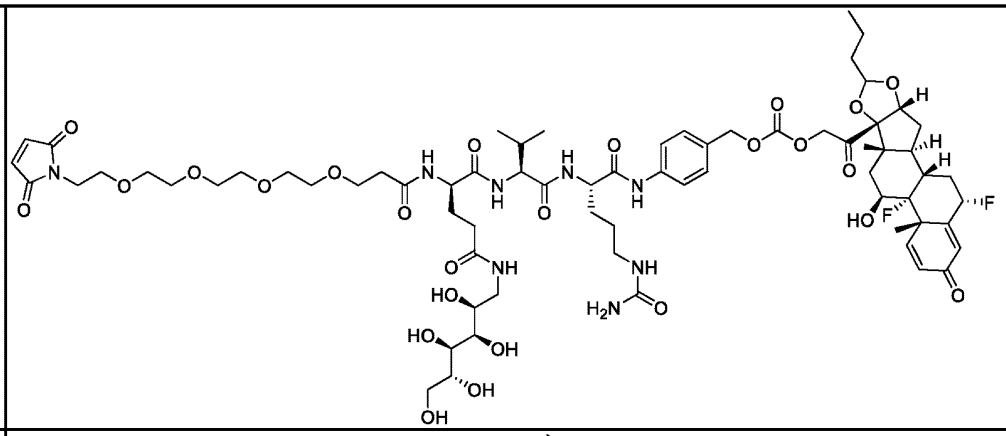
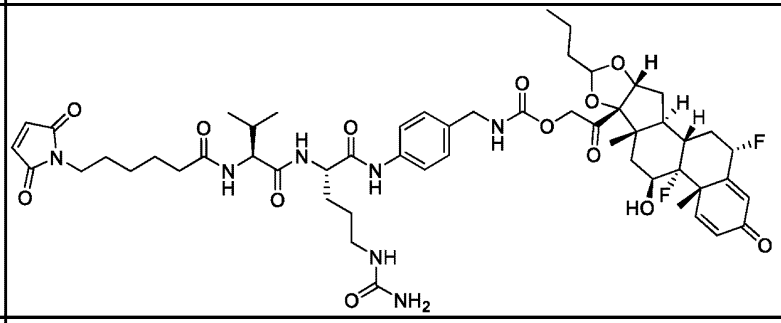
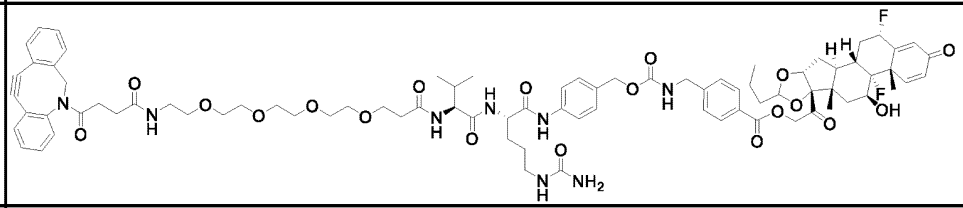
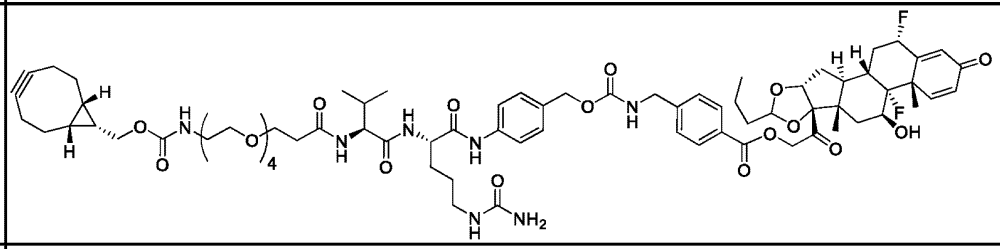
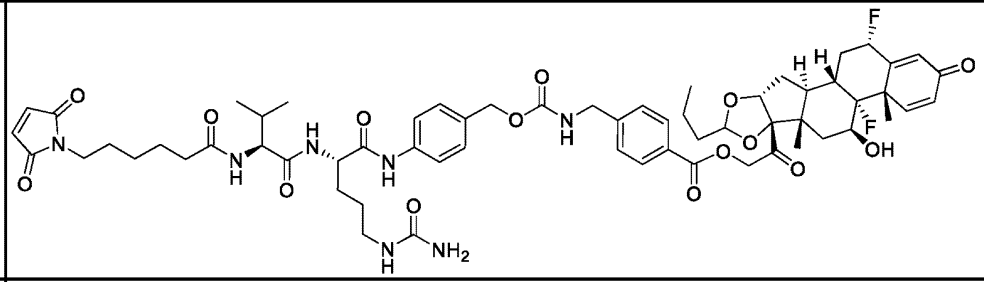
2l	
2m	
2n	 又はその混合物
2q	

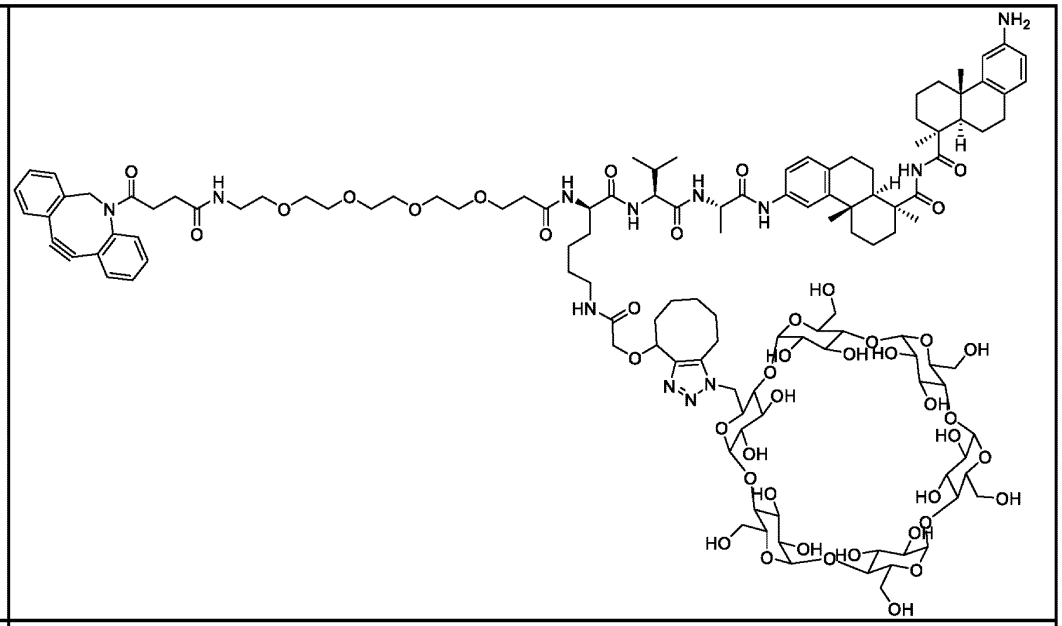
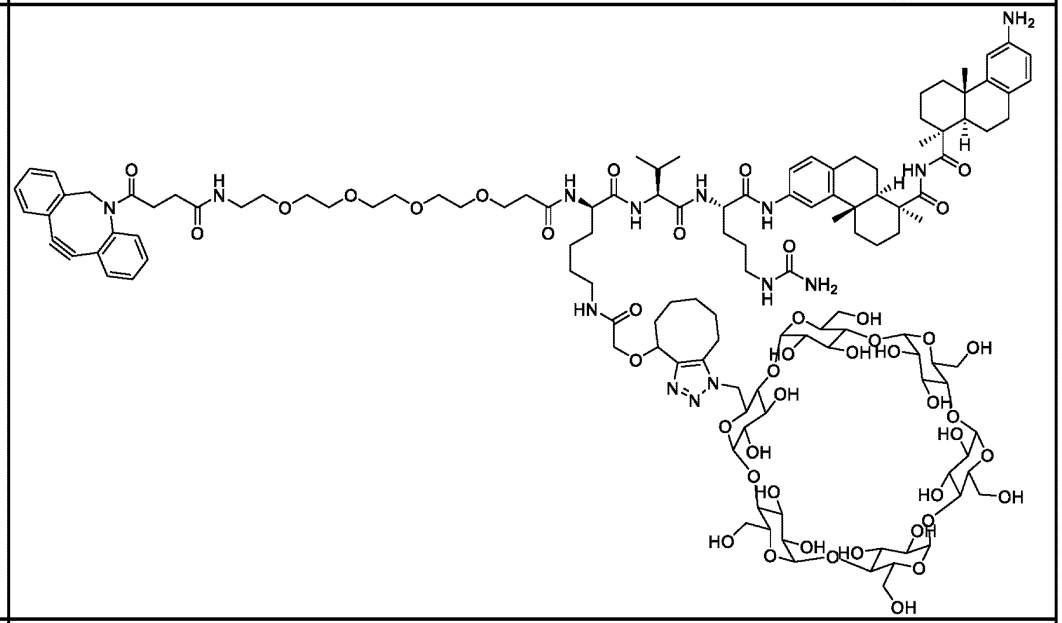
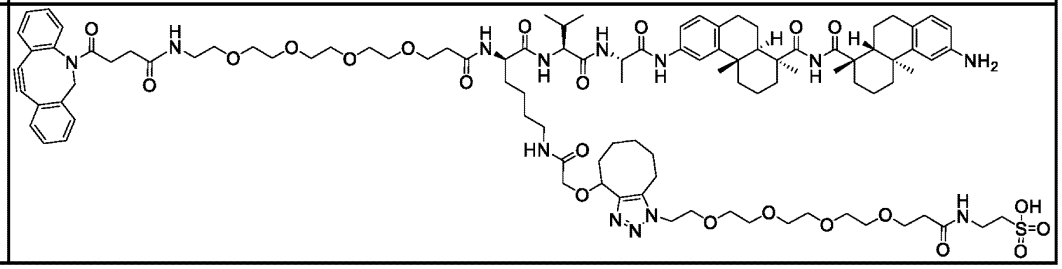
LP1A	
LP2A	
LP3A	
LP4A	
LP5A	
LP6A	

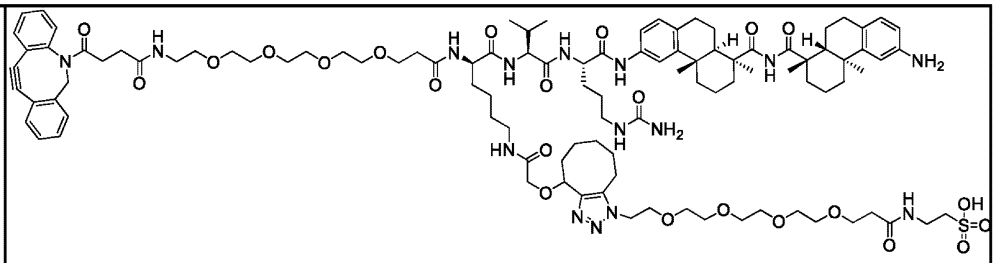
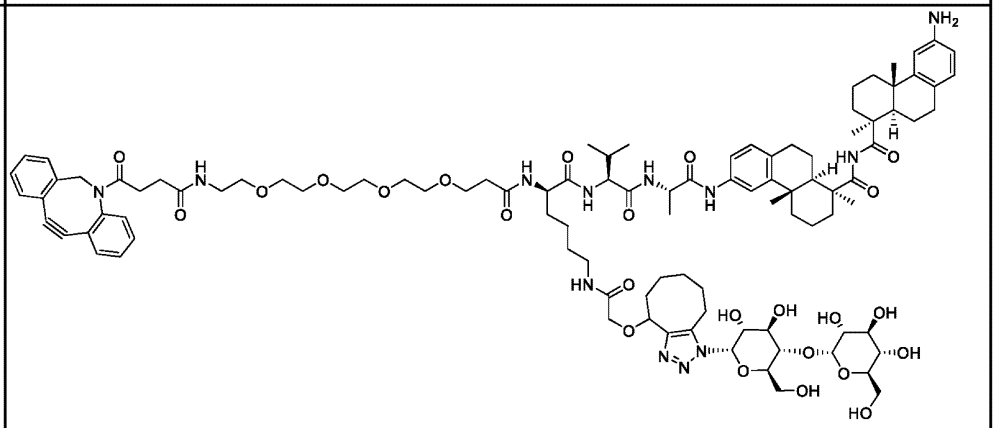
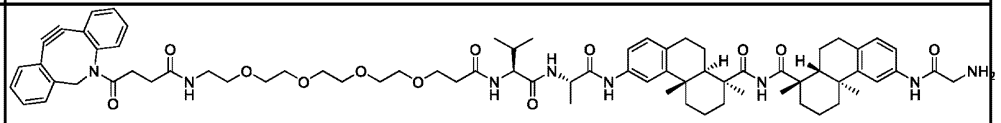
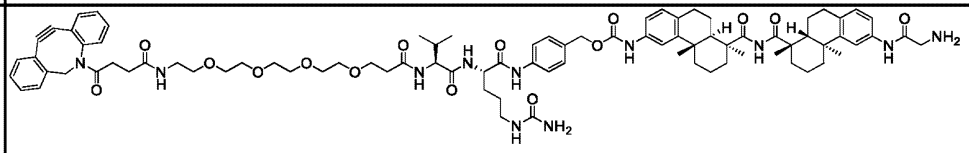
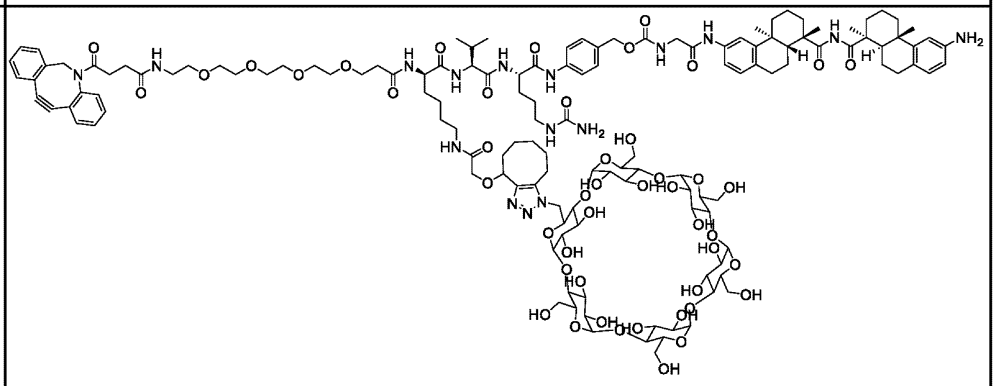
LP7A	
LP8A	
LP9A	
LP10A	
LP11A	
LP12A	

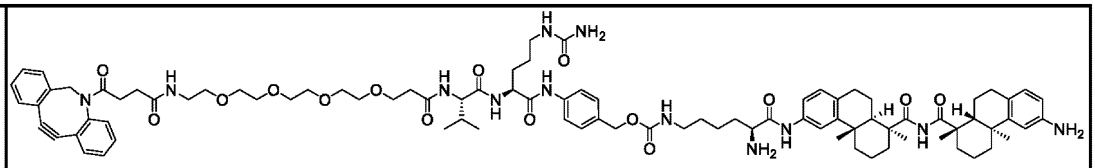
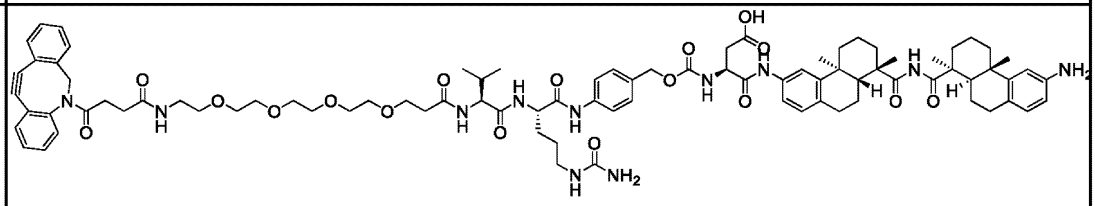
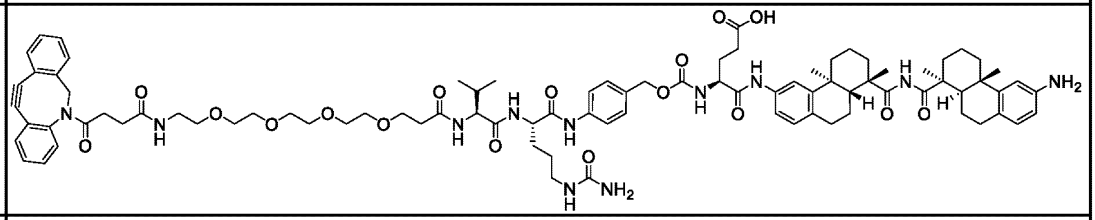
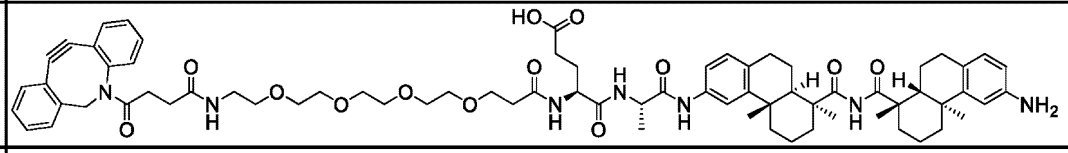
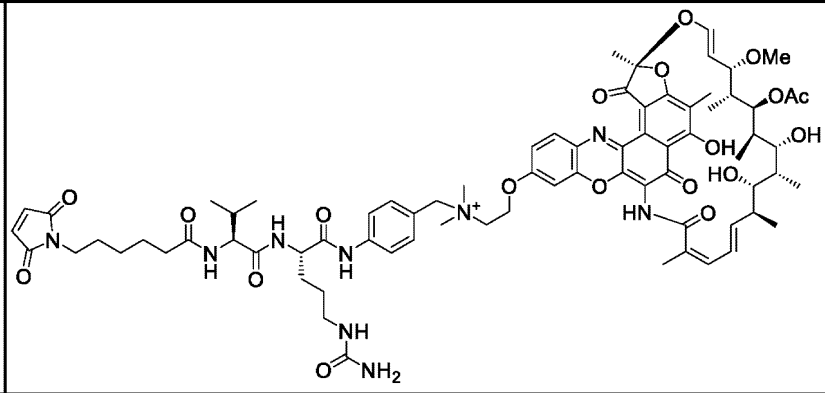
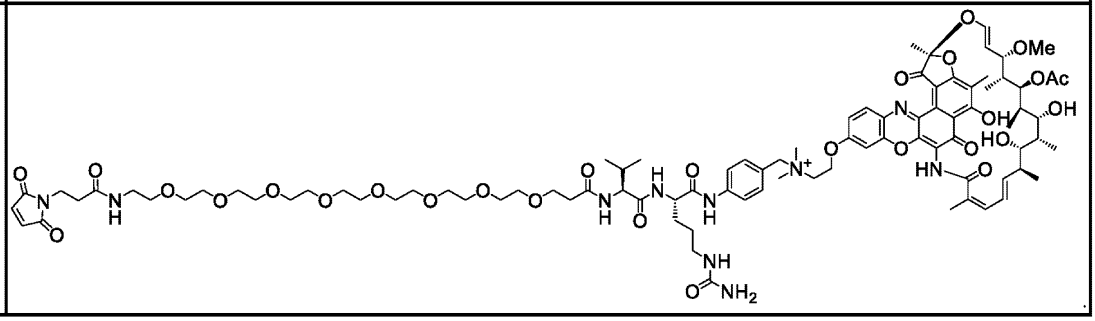
LP13 A	
LP18 A	
LP19 A	
LP20 A	
LP21 A	
LP22 A	

LP23A	
LP24A	
LP25A	
LP26A	

LP27A	
LP28A	
LP29A	
LP30A	
LP31A	

LP1B	
LP2B	
LP3B	

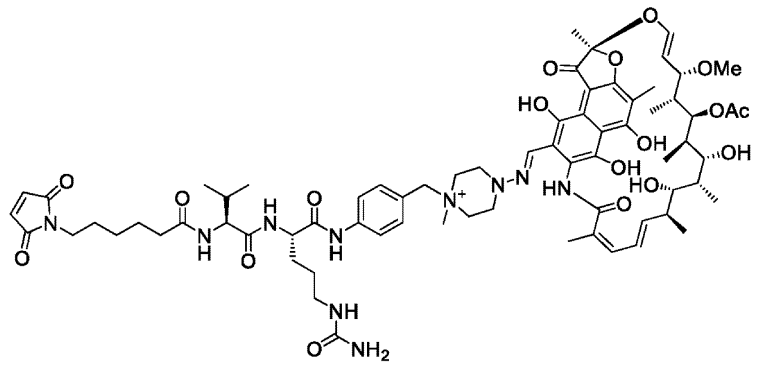
LP4B	
LP5B	
LP6B	
LP7B	
LP8B	

LP9B	
LP10B	
LP11B	
LP12B	
R20	
R25	

及び

【０３５４】
上の表の化合物は、本明細書中の実施例に記載されている通りに調製することができる。
【０３５５】
また本明細書に提供されるのは、リファマイシン類似体(例えば、リファンピシン)の抗体-薬物コンジュゲートを調製する方法であって、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片を、式(D)によるリンカーペイロード:

【化２９６】



式 (D)

と、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片間の結合を形成させるのに好適な条件下で接触させる工程を含む、方法である。

【０３５６】

(エピトープマッピング及び関連技術)

本発明の抗体が結合するエピトープは、MSR1タンパク質の3以上(例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、又はそれより多く)のアミノ酸の単一の連続する配列からなり得る。或いは、該エピトープは、MSR1の複数の不連続なアミノ酸(又はアミノ酸配列)からなり得る。いくつかの実施態様において、該エピトープは、MSR1の修飾LDL結合ドメイン又はその近くに位置する。他の実施態様において、該エピトープは、MSR1の修飾LDL結合ドメインの外側に、例えば、抗体が、そのようなエピトープに結合したときに、MSR1に対する修飾LDLの結合を妨害しないMSR1の表面上の位置に位置する。

【０３５７】

当業者に公知の様々な技法を用いて、抗体がポリペプチド又はタンパク質内の「1以上のアミノ酸と相互作用する」かどうかを決定することができる。例示的な技法としては、例えば、ルーチンの交差遮断アッセイ、例えば、Harlow及びLaneの文献、抗体(Antibodies)(Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harb., NY)に記載されているもの、アラニンスキャニング突然変異解析、ペプチドブロット解析(Reinekeの文献、2004, Methods Mol Biol 248:443-463)、及びペプチド切断解析が挙げられる。さらに、抗原のエピトープ切り出し、エピトープ抽出、及び化学修飾などの方法を利用することができる(Tomerの文献、2000, Protein Science 9:487-496)。抗体が相互作用するポリペプチド内のアミノ酸を同定するために使用することができる別の方法は、マススペクトロメトリーによって検出される水素/重水素交換である。一般的に、水素/重水素交換法は、対象となるタンパク質を重水素標識し、その後、抗体を重水素標識タンパク質に結合させることを含む。次に、タンパク質/抗体複合体を水に移して、抗体によって保護される残基(重水素標識されたままである)を除く全ての残基で水素-重水素交換を生じさせる。抗体の解離後、標的タンパク質をプロテアーゼ切断及びマススペクトロメトリー解析に供し、それにより、抗体が相互作用する特異的アミノ酸に対応する重水素標識残基を明らかにする。例えば、Ehringの文献(1999) Analytical Biochemistry 267(2):252-259; Engen及びSmithの文献(2001) Anal. Chem. 73:256A-265Aを参照されたい。

【０３５８】

実施態様には、本明細書に記載される特異的な例示的抗体(例えば、本明細書中の表4に示されるアミノ酸配列のいずれかを含む抗体)のいずれかと同じエピトープに結合する抗MSR1抗体が含まれる。同様に、実施態様には、MSR1との結合を、本明細書に記載される特異的な例示的抗体(例えば、本明細書中の表4に示されるアミノ酸配列のいずれかを含む抗体)のいずれかと競合する抗MSR1抗体も含まれる。

【０３５９】

当技術分野で公知の及び本明細書中に、例えば、実施例7に例示されているルーチンの

方法を使用することにより、抗体が参照抗MSR1抗体と同じエピトープに結合するかどうか、又は参照抗MSR1抗体との結合について競合するかどうか容易に決定することができる。例えば、試験抗体が本明細書に開示される参照抗MSR1抗体と同じエピトープに結合するかどうかを決定するために、該参照抗体をMSR1タンパク質に結合させる。次に、試験抗体がMSR1分子に結合する能力を評価する。参照抗MSR1抗体との飽和結合の後、試験抗体がMSR1に結合することができる場合、試験抗体が参照抗MSR1抗体と異なるエピトープに結合すると結論付けることができる。他方、参照抗MSR1抗体との飽和結合の後、試験抗体がMSR1分子に結合することができない場合、試験抗体は、本発明の参照抗MSR1抗体によって結合されるエピトープと同じエピトープに結合することができる。その後、さらなるルーチンの実験(例えば、ペプチド突然変異及び結合解析)を実施して、観察される試験抗体の結合の欠如が、実際に、参照抗体と同じエピトープとの結合によるものであるかどうか、又は立体遮断(もしくは別の現象)が観察される結合の欠如の原因であるかどうかを確認することができる。この種の実験は、当技術分野で利用可能なELISA、RIA、Biacore、フローサイトメトリー、又は任意の他の定量的もしくは定性的抗体結合アッセイを用いて実施することができる。本発明のある実施態様によれば、例えば、競合結合アッセイで測定したとき、1、5、10、20、又は100倍過剰の一方の抗体が、もう一方の結合を、少なくとも50%、しかし、好ましくは、75%、90%、又はさらには99%阻害する場合、2つの抗体は、同じ(又は重複する)エピトープに結合する(例えば、Junghansらの文献、Cancer Res. 1990:50:1495-1502を参照)。或いは、一方の抗体の結合を低下又は消失させる抗原中の本質的に全てのアミノ酸突然変異がもう一方の結合を低下又は消失させる場合、2つの抗体は、同じエピトープに結合するとみなされる。一方の抗体の結合を低下又は消失させるアミノ酸突然変異のサブセットのみがもう一方の結合を低下又は消失させる場合、2つの抗体は、「重複するエピトープ」を有するとみなされる。

【０３６０】

抗体が参照抗MSR1抗体との結合について競合する(又は結合について交差競合する)かどうかを決定するために、上記の結合方法を2つの方向で実施する。第一の方向では、参照抗体を飽和条件下でMSR1タンパク質に結合させ、その後、MSR1分子に対する試験抗体の結合を評価する。第二の方向では、試験抗体を飽和条件下でMSR1分子に結合させ、その後、MSR1分子に対する参照抗体の結合を評価する。両方の方向で、第一の(飽和)抗体がMSR1分子に結合することができる場合、試験抗体及び参照抗体はMSR1との結合について競合すると結論付けられる。当業者によって理解されているように、参照抗体との結合について競合する抗体は、必ずしも、参照抗体と同じエピトープに結合することができるのではなく、重複又は隣接するエピトープに結合することにより、参照抗体の結合を立体的に遮断することができる。

【０３６１】

(ヒト抗体の調製)

本明細書に開示される抗MSR1抗体は、完全ヒト抗体であることができる。完全ヒトモノクローナル抗体を含むモノクローナル抗体を作製するための方法は、当技術分野で公知である。任意のそのような既知の方法を本発明との関連において用いて、ヒトMSR1に特異的に結合するヒト抗体を作製することができる。

【０３６２】

例えば、VELOCIMMUNE(商標)技術、又は完全ヒトモノクローナル抗体を作製するための任意の他の同様の既知の方法を用いて、ヒト可変領域及びマウス定常領域を有するMSR1に対する高親和性キメラ抗体をまず単離する。下の実験の節に見られるように、該抗体を特徴解析し、親和性、リガンド遮断活性、選択性、エピトープなどを含む、所望の特徴について選択する。必要な場合、マウス定常領域を所望のヒト定常領域、例えば、野生型又は修飾IgG1又はIgG4と交換して、完全ヒト抗MSR1抗体を作製する。選択される定常領域は特定の用途によって異なり得るが、高親和性抗原結合及び標的特異性特徴は可変領域中に存在する。ある例において、完全ヒト抗MSR1抗体は、抗原陽性B細胞から直接単離される。

【０３６３】
(生物学的等価物)
本明細書に開示される抗MSR1抗体及び抗体断片は、記載されている抗体のアミノ酸配列と異なるが、ヒトMSR1に結合する能力を保持するアミノ酸配列を有するタンパク質を包含する。そのような変異体抗体及び抗体断片は、親配列と比較したとき、アミノ酸の1以上の付加、欠失、又は置換を含むが、記載されている抗体の生物活性と本質的に等価である生物活性を示す。同様に、本明細書に開示される抗MSR1抗体をコードするDNA配列は、開示されている配列と比較したとき、ヌクレオチドの1以上の付加、欠失、又は置換を含むが、本明細書に開示される抗MSR1抗体又は抗体断片と本質的に生物学的に等価である抗MSR1抗体又は抗体断片をコードする配列を包含する。そのような変異体アミノ酸及びDNA配列の例は、上で論じられている。
【０３６４】
例えば、2つの抗原結合タンパク質又は抗体が、その吸収の速度及び度合いが、同様の実験条件下、単一用量又は複数用量のいずれかで、同じモル用量で投与されたときに有意差を示さない医薬等価物又は医薬代替物である場合、これらは、生物学的に等価であるとみなされる。いくつかの抗体は、その吸収の度合いは等価であるが、その吸収速度が等価でない場合、等価物又は医薬代替物とみなされ、なおかつ、生物学的に等価であるとみなされてもよい。なぜなら、そのような吸収速度の差は、意図されたものであり、表示に反映されており、例えば、長期使用時の有効な体内薬物濃度の達成にとって本質的ではなく、かつ試験される特定の薬品について医学的に重要ではないとみなされるからである。
【０３６５】
一実施態様において、2つの抗原結合タンパク質が、その安全性、純度、及び効力の点で臨床的に意義のある差がない場合、これらは、生物学的に等価である。
【０３６６】
一実施態様において、参照製品と生物学的製品の1回以上の切り替えのない持続的な療法と比較して、臨床的に重要な免疫原性の変化、又は有効性の低下を含む、有害作用のリスクの予想される増加を伴わずに、患者に、そのような切り替えをさせることができる場合、2つの抗原結合タンパク質は、生物学的に等価である。
【０３６７】
一実施態様において、2つの抗原結合タンパク質は、それらが両方とも、そのような機序が知られている範囲内で、使用条件(単数又は複数)について共通の作用機序(単数又は複数)により作用する場合、生物学的に等価である。
【０３６８】
生物学的等価性は、インビボ及びインビトロの方法によって示すことができる。生物学的等価性の尺度としては、例えば、(a)抗体又はその代謝物の濃度が、血液、血漿、血清、又は他の生体液中で時間の関数として測定される、ヒト又は他の哺乳動物におけるインビボ試験;(b)ヒトのインビボバイオアベイラビリティデータと相関性があり、かつこれを合理的に予測するインビトロ試験;(c)抗体(又はその標的)の適切な急性薬理効果が時間の関数として測定されるヒト又は他の哺乳動物におけるインビボ試験;及び(d)抗体の安全性、効力、又はバイオアベイラビリティもしくは生物学的等価性を確立する十分に管理された臨床試験が挙げられる。
【０３６９】
本明細書に開示される抗MSR1抗体の生物学的に等価な変異体は、例えば、残基もしくは配列の様々な置換を行うか、又は生物活性に必要とされない末端もしくは内部残基もしくは配列を欠失させることにより構築することができる。例えば、生物活性に必須ではないシステイン残基を欠失させるか、又は他のアミノ酸と交換して、再生時の不必要又は不正確な分子内ジスルフィド架橋の形成を防ぐことができる。他との関連において、生物学的に等価な抗体は、抗体のグリコシル化特徴を修飾するアミノ酸変化、例えば、グリコシル化を消失させるか又は除去する突然変異を含む抗MSR1抗体変異体を含み得る。
【０３７０】

(種選択性及び種交差反応性)
ある実施態様によれば、本明細書に提供されるのは、ヒトMSR1に結合するが、他の種由来のMSR1に結合しない抗MSR1抗体である。実施態様には、ヒトMSR1及び1以上の非ヒト種由来のMSR1に結合する抗MSR1抗体も含まれる。例えば、本明細書に開示される抗MSR1抗体は、ヒトMSR1に結合することができ、場合により、マウス、ラット、モルモット、ハムスター、アレチネズミ、ブタ、ネコ、イヌ、ウサギ、ヤギ、ヒツジ、ウシ、ウマ、ラクダ、マカクザル、マーモセット、アカゲザル、又はチンパンジーMSR1のうちの1つ又は複数に結合しても、結合しなくてもよい。ある例示的な実施態様によれば、ヒトMSR1及びマカクザル(例えば、カニクイザル(Macaca fascicularis))MSR1に特異的に結合する抗MSR1抗体が提供される。本明細書に開示される他の抗MSR1抗体は、ヒトMSR1に結合するが、マカクザルMSR1には結合しない、又は弱くしか結合しない。

【０３７１】
(多重特異性抗体)
本明細書に開示される抗体は、単一特異性又は多重特異性(例えば、二重特異性)であることができる。多重特異性抗体は、1つの標的ポリペプチドの異なるエピトープに特異的であってもよく、又は複数の標的ポリペプチドに特異的な抗原結合ドメインを含有していてもよい。例えば、Tuttらの文献、1991, J. Immunol. 147:60-69; Kuferらの文献、2004, Trends Biotechnol. 22:238-244を参照されたい。本明細書に開示される抗MSR1抗体は、別の機能性分子、例えば、別のペプチド又はタンパク質に連結させるか、又はこれらと共発現させることができる。例えば、抗体又はその断片を(例えば、化学的カップリング、遺伝子融合、非共有結合的会合、又はその他によって)1以上の他の分子実体、例えば、別の抗体又は抗体断片に機能的に連結させて、第二の結合特異性を有する二重特異性又は多重特異性抗体を産生することができる。

【０３７２】
実施態様には、免疫グロブリンの一方のアームがヒトMSR1に結合し、免疫グロブリンのもう一方のアームが第二の抗原に特異的である二重特異性抗体が含まれる。MSR1結合アームは、本明細書中の表4に示されるHCVR/LCVR又はCDRアミノ酸配列のいずれかを含むことができる。ある実施態様において、MSR1結合アームは、ヒトMSR1に結合し、MSR1に対する修飾LDL結合を遮断する。他の実施態様において、MSR1結合アームは、ヒトMSR1に結合するが、MSR1に対する修飾LDL結合を遮断しない。いくつかの実施態様において、MSR1結合アームは、ヒトMSR1に結合し、MSR1シグナル伝達を活性化する。他の実施態様において、MSR1結合アームは、MSR1媒介性受容体刺激を遮断する。実施態様には、抗体の一方のアームがヒトMSR1の第一のエピトープに結合し、該抗体のもう一方のアームがヒトMSR1の第二の異なるエピトープに結合する二重特異性抗体も含まれる。

【０３７３】
本発明との関連において使用することができる例示的な二重特異性抗体フォーマットは、第一の免疫グロブリン(Ig) C_H3ドメイン及び第二のIg C_H3ドメインの使用を含み、ここで、該第一及び第二のIg C_H3ドメインは、少なくとも1アミノ酸だけ互いに異なり、かつここで、少なくとも1つのアミノ酸の違いは、アミノ酸の違いを欠く二重特異性抗体と比較したとき、プロテインAに対する二重特異性抗体の結合を低下させる。一実施態様において、第一のIg C_H3ドメインは、プロテインAに結合し、第二のIg C_H3ドメインは、プロテインA結合を低下又は消失させる突然変異、例えば、H95R修飾(IMGTエキソン付番による; EU付番によると、H435R)を含有する。第二のC_H3は、Y96F修飾(IMGTによる; EUによると、Y436F)をさらに含むことができる。第二のC_H3内で見出され得るさらなる修飾としては: IgG1抗体の場合、D16E、L18M、N44S、K52N、V57M、及びV82I(IMGTによる; EUによるとD356E、L358M、N384S、K392N、V397M、及びV422I); IgG2抗体の場合、N44S、K52N、及びV82I(IMGT; EUによるとN384S、K392N、及びV422I);並びにIgG4抗体の場合、Q15R、N44S、K52N、V57M、R69K、E79Q、及びV82I(IMGTによる; EUによるとQ355R、N384S、K392N、V397M、R409K、E419Q、及

びV422I)が挙げられる。上記の二重特異性抗体フォーマットに対するバリエーションが本発明の範囲内で企図される。

【０３７４】

本発明との関連において使用することができる他の例示的な二重特異性フォーマットとしては、限定されないが、例えば、scFvベース又はダイアボディ二重特異性のフォーマット、IgG-scFv融合体、二重可変ドメイン(DVD)-Ig、クアドローマ(Quadroma)、ノブ・イントゥ・ホール(knobs-into-holes)、共通軽鎖(例えば、ノブ・イントゥ・ホールを有する共通軽鎖など)、CrossMab、CrossFab、(SEED)ボディ、ロイシンジッパー、デュオボディ(Duobody)、IgG1/IgG2、二重作用性Fab(DAF)-IgG、及びMab^{2}二重特異性フォーマット(前述のフォーマットの概説については、例えば、Kleinらの文献、2012, mAbs 4:6, 1-11、及びその中で引用されている参考文献を参照)が挙げられる。二重特異性抗体は、例えば、オルソゴナルな化学反応性を有する非天然アミノ酸を用いて、規定の組成、原子価、及び形状を有する多量体複合体へと後に自己集合する部位特異的抗体-オリゴヌクレオチドコンジュゲートを生成させるペプチド/核酸コンジュゲーションを用いて構築することもできる(例えば、Kazaneらの文献、J. Am. Chem. Soc. [Epub: Dec. 4, 2012]を参照)。

【０３７５】

(治療的製剤及び投与)

実施態様は、本明細書に開示される抗MSR1抗体又はその抗原結合断片を含む医薬組成物に関する。本発明の医薬組成物は、改善された転移、送達、忍容性などをもたらす好適な担体、賦形剤、及び他の薬剤とともに製剤化される。多くの適切な製剤を全ての薬剤師に公知の処方集:レミントンの調剤科学(Remington's Pharmaceutical Sciences)、Mack Publishing Company, Easton, PAにおいて見出すことができる。これらの製剤としては、例えば、粉末、ペースト、軟膏、ジェル、ワックス、油、脂質、脂質(カチオン性又はアニオン性)含有小胞(例えば、LIPOFECTIN(商標)、Life Technologies, Carlsbad, CA)、DNAコンジュゲート、無水吸収ペースト、水中油型及び油中水型エマルジョン、カーボワックスエマルジョン(様々な分子量のポリエチレングリコール)、半固体ゲル、並びにカーボワックスを含有する半固体混合物が挙げられる。Powellらの文献、「非経口製剤のための賦形剤の概要(Compendium of excipients for parenteral formulations)」、PDAの文献(1998) J Pharm Sci Technol 52:238-311も参照されたい。

【０３７６】

患者に投与される抗体の用量は、患者の年齢及びサイズ、標的疾患、状態、投与経路などに応じて異なり得る。好ましい用量は、通常、体重又は体表面積に従って計算される。成体患者において、本発明の抗体を、通常、約0.01～約20mg/kg体重、より好ましくは、約0.02～約7、約0.03～約5、又は約0.05～約3mg/kg体重の単一用量で静脈内投与することが有利であり得る。疾病の重症度に応じて、治療の頻度及び持続期間を調整することができる。抗MSR1抗体を投与するための有効投薬量及びスケジュールを実験的に決定することができ;例えば、患者の進展を定期的な評価によってモニタリングし、用量をそれに応じて調整することができる。さらに、投薬量の種間スケーリングを当技術分野で周知の方法を用いて実施することができる(例えば、Mordentiらの文献、1991, Pharmaceut. Res. 8:1351)。

【０３７７】

様々な送達系が公知であり、これらを用いて、本明細書に開示される医薬組成物を投与することができ、該送達系には、例えば、リポソーム、微粒子、マイクロカプセルへの封入、突然変異体ウイルスを発現することができる組換え細胞、受容体媒介性エンドサイトーシス(例えば、Wu及びWuの文献、1987, J. Biol. Chem. 262:4429-4432)がある。導入方法としては、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、及び経口経路が挙げられるが、これらに限定されない。該組成物は、任意の好都合な経路によって、例えば、注入又はボーラス注射によって、上皮又は粘膜皮膚層(例えば、口腔粘膜、直腸、及び腸粘膜など)からの吸収によって投与することができ、かつ他の生物学的活性剤と一緒

に投与することができる。投与は、全身性又は局所性であることができる。

【０３７８】

本明細書に開示される医薬組成物は、標準的な針及びシリンジで皮下又は静脈内送達することができる。さらに、皮下送達に関して、ペン送達装置は、本発明の医薬組成物の送達に容易に応用される。そのようなペン送達装置は、再利用可能又は使い捨てであることができる。再利用可能なペン送達装置は、通常、医薬組成物を含有する交換可能なカートリッジを利用している。カートリッジ内の医薬組成物が全て投与され、カートリッジが空になったら、空のカートリッジをすぐに廃棄し、医薬組成物を含有する新しいカートリッジと交換することができる。その後、ペン送達装置を再利用することができる。使い捨てペン送達装置には、交換可能なカートリッジがない。それどころか、使い捨てペン送達装置は、装置内のリザーバに保持された医薬組成物で予め充填された状態になっている。該リザーバから医薬組成物が空になったら、装置全体を廃棄する。

【０３７９】

多くの再利用可能なペン及びオートインジェクター送達装置は、本明細書に開示される医薬組成物の皮下送達に応用される。例としては、いくつか例を挙げると、AUTOPEN(商標)(Owen Mumford社, Woodstock, UK)、DISETRONIC(商標)ペン(Disetronic Medical Systems, Bergdorf, Switzerland)、HUMALOG MIX 75/25(商標)ペン、HUMALOG(商標)ペン、HUMALIN 70/30(商標)ペン(Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN)、NOVOPEN(商標) I、II、及びIII(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、NOVOPEN JUNIOR(商標)(Novo Nordisk, Copenhagen, Denmark)、BD(商標)ペン(Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)、OPTIPEN(商標)、OPTIPEN PRO(商標)、OPTIPEN STARLET(商標)、並びにOPTICLIK(商標)(sanofi-aventis, Frankfurt, Germany)が挙げられるが、これらに限定されない。本発明の医薬組成物の皮下送達に応用される使い捨てペン送達装置の例としては、いくつか例を挙げると、SOLOSTAR(商標)ペン(sanofi-aventis)、FLEXPEN(商標)(Novo Nordisk)、及びKWIKPEN(商標)(Eli Lilly)、SURECLICK(商標) Autoinjector(Amgen, Thousand Oaks, CA)、PENLET(商標)(Haselmeier, Stuttgart, Germany)、EPIPEN(Dey, L.P.)、並びにHUMIRA(商標)ペン(Abbott Labs, Abbott Park IL)が挙げられるが、これらに限定されない。

【０３８０】

ある状況において、医薬組成物を制御放出系で送達することができる。一実施態様において、ポンプを使用してもよい(Langerの文献、上記; Seftonの文献、1987, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201を参照)。別の実施態様において、ポリマー材料を使用することができる;制御放出の医学的応用(Medical Applications of Controlled Release)、Langer及びWise(編), 1974, CRC Pres., Boca Raton, Floridaを参照されたい。また別の実施態様において、制御放出系を組成物の標的の近傍に配置することができ、そのため、全身用量のほんの一部のみが必要とされる(例えば、制御放出の医学的応用(Medical Applications of Controlled Release)、上記、第2巻、pp. 115-138に所収のGoodsonの文献、1984を参照)。他の制御放出系は、Langerの文献、1990, Science 249:1527-1533による概説で考察されている。

【０３８１】

注射可能製剤には、静脈内、皮下、皮内、及び筋肉内注射、点滴などのための剤形が含まれ得る。これらの注射可能調製物は、公知の方法によって調製することができる。例えば、注射可能調製物は、例えば、上記の抗体又はその塩を、従来注射に使用されている滅菌水性媒体又は油性媒体中で溶解させるか、懸濁させるか、又は乳化させることにより調製することができる。注射用の水性媒体として、例えば、アルコール(例えば、エタノール)、ポリアルコール(例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール)、非イオン性界面活性剤[例えば、ポリソルベート80、HCO-50(水素化ヒマシ油)のポリオキシエチレン(50mol)付加物]などの適切な可溶化剤と組み合わせて使用し得る、生理食塩水、グルコースを含有する等張溶液、及び他の助剤などがある。油性媒体として、例えば、安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどの可溶化剤と組み合わせて使用し得る、ゴマ油、大豆

油などが利用される。このようにして調製された注射剤は、好ましくは、適切なアンプルに充填される。

【０３８２】

有利なことに、上記の経口又は非経口使用のための医薬組成物は、活性成分の用量に適合するのに適している単位用量の剤形へと調製される。単位用量のそのような剤形としては、例えば、錠剤、丸剤、注射剤(アンプル)、坐剤などが挙げられる。含まれる前述の抗体の量は、通常、単位用量の剤形当たり約5～約500mgであり;特に、注射剤の形態では、前述の抗体は、約5～約100mgで、他の剤形の場合、約10～約250mgで含まれることが好ましい。

【０３８３】

(抗体の治療的使用)

実施態様には、それを必要としている対象に、抗MSR1抗体又は抗MSR1抗体を含む抗体-薬物コンジュゲート(例えば、本明細書中の表4に記載されるHCVR/LCVR又はCDR配列のいずれかを含む抗MSR1抗体又はADC)を含む治療的組成物を投与することを含む方法が含まれる。治療的組成物は、本明細書に開示される抗MSR1抗体、その抗原結合断片、又はADC(例えば、式(I)、(IA)、(IB)、(IB-1)、(IB-2)、(IC)、(ID)、(IE)、(III)、(3000)、(5001)、(5002)、(5003)、(5004)、(6001)、(6002)、(6003)、(6004)、(6005)、(7001)、(7002)、(7003)、(7004)、及び/もしくは(7005)のADC)のいずれか、並びに医薬として許容し得る担体又は希釈剤を含むことができる。

【０３８４】

本明細書に開示される抗体及びADCは、とりわけ、MSR1発現もしくは活性と関連するか又はMSR1発現もしくは活性によって媒介される、或いは修飾LDLに対して競合することなくMSR1に結合すること及び/もしくはMSR1受容体内在化を促進すること及び/もしくは細胞表面受容体数を減少させることにより治療可能である、任意の疾患もしくは障害の治療、予防、及び/又は改善に有用である。例えば、本明細書に開示される抗体及びADCは、MSR1を発現する及び/又はMSR1媒介性シグナル伝達に応答する細胞、例えば、マクロファージを標的とすることによるアテローム性動脈硬化症、増殖性障害、神経変性障害、及び炎症の治療、停止、又は改善に有用である。

【０３８５】

本明細書に記載される治療方法との関連において、抗MSR1抗体又はそのADCは、単剤療法として(すなわち、唯一の治療剤として)又は1以上の追加の治療剤(その例は、本明細書中の別の場所に記載されている)と組み合わせて投与することができる。

【０３８６】

本明細書に提供されるのは、対象の増殖性疾患、代謝性疾患、炎症、神経変性疾患、又はグルココルチコイド受容体シグナル伝達と関連する疾患、障害、もしくは疾病を治療する方法であって、該対象に、本明細書に記載される化合物(例えば、抗MSR1 ADC)、又は本明細書に記載される化合物を含む医薬組成物の有効治療量を投与することを含む、方法である。

【０３８７】

いくつかの実施態様において、ペイロードがステロイドである場合、該疾患、障害、又は疾病は、限定されないが、喘息、アトピー性皮膚炎、接触性皮膚炎、アレルギー性皮膚炎、薬物過敏反応、アナフィラキシー性鼻炎、通年性又は季節性アレルギー性鼻炎、及び血清病を含む、アレルギー状態;限定されないが、掻痒、脂漏性皮膚炎、神経皮膚炎、湿疹、水疱性ヘルペス状皮膚炎、剥脱性紅皮症、菌状息肉腫、天疱瘡、及び重症多形紅斑(スティーブンス・ジョンソン症候群)を含む、皮膚疾患;限定されないが、原発性又は続発性の副腎皮質不全、先天性副腎過形成、癌と関連する高カルシウム血症、及び非化膿性甲状腺炎を含む、内分泌障害;消化器疾患;限定されないが、後天性(自己免疫)溶血性貧血、先天性(赤芽球)再生不良性貧血(ダイアモンド・ブラックファン貧血)、成人特発性血小板減少性紫斑病、赤芽球癆、及び続発性血小板減少症を含む、血液障害;旋毛虫症;くも膜下ブロック又は切迫ブロックを伴う結核性髄膜炎;限定されないが、白血病及びリンパ腫を含む、腫

瘍性疾患;限定されないが、多発性硬化症の急性増悪、原発性又は転移性脳腫瘍と関連する脳浮腫、開頭術、又は頭部損傷を含む、神経系障害;限定されないが、交感性眼炎、側頭動脈炎、ぶどう膜炎、眼球乾燥症、及び局所コルチコステロイドに不応性の眼の炎症状態を含む、眼科疾患;限定されないが、特発性ネフローゼ症候群におけるタンパク尿の利尿もしくは寛解の誘発のためのもの、又はエリテマトーデスによるタンパク尿の利尿もしくは寛解の誘発のためのものを含む、腎疾患;限定されないが、ベリリウム症、適切な抗結核化学療法と同時に使用される場合の劇症又は播種状肺結核、特発性好酸球性肺炎、症候性サルコイドーシスを含む、呼吸器疾患;並びに限定されないが、急性痛風性関節炎、急性リウマチ性心臓炎、強直性脊椎炎、乾癬性関節炎、若年性関節リウマチを含む関節リウマチにおける(患者に急性エピソード又は増悪を乗り越えさせるための)短期投与のための、並びに皮膚筋炎、多発性筋炎、口内炎、及び全身性エリテマトーデスにおける使用のための補助療法としての使用を含む、リウマチ障害である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、関節炎を治療又は予防する方法である。

【０３８８】

いくつかの実施態様において、本明細書に記載されるのは、自己免疫疾患、アレルギー、関節炎、喘息、呼吸障害、血液疾患、癌、膠原病、結合組織障害、皮膚疾患、眼疾患、内分泌異常、免疫疾患、炎症性疾患、腸障害、胃腸疾患、神経学的障害、臓器移植疾患、リウマチ様障害、皮膚障害、腫脹状態、創傷治癒状態、及びその組合せから選択される疾患、障害、又は疾病を治療する方法であって、本明細書に記載されるステロイドペイロード又はそのコンジュゲートを投与することを含む、方法である。

【０３８９】

自己免疫疾患は、多発性硬化症、自己免疫性肝炎、帯状疱疹、全身性エリテマトーデス(すなわち、狼瘡)、重症筋無力症、デュシェンヌ型筋ジストロフィー、及びサルコイドーシスから選択される。いくつかの実施態様において、呼吸障害は、喘息、慢性呼吸器疾患、慢性閉塞性肺疾患、気管支炎症、及び急性気管支炎から選択される。いくつかの実施態様において、癌は、白血病、リンパ芽球性白血病、急性リンパ芽球性白血病、慢性リンパ芽球性白血病、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫(NHL)、及び多発性骨髄腫から選択される。いくつかの実施態様において、膠原病は、全身性エリテマトーデスである。いくつかの実施態様において、眼疾患は、角膜炎である。いくつかの実施態様において、内分泌異常は、アジソン病、副腎不全、副腎皮質機能不全、副腎皮質過形成及び先天性副腎過形成から選択される。いくつかの実施態様において、炎症性疾患は、白内障手術後の炎症、関節炎症、免疫性炎症、腱炎症、滑液包炎、上顆炎、クローン病、炎症性腸疾患、脂肪性肺臓炎、甲状腺炎、蕁麻疹(urticaria)(蕁麻疹(hives))、心膜炎、ネフローゼ症候群、及びぶどう膜炎から選択される。いくつかの実施態様において、腸疾患は、膠原性大腸炎、潰瘍性大腸炎、クローン病、及び炎症性腸疾患から選択される。いくつかの実施態様において、リウマチ様障害は、関節リウマチ、リウマチ性多発筋痛症、乾癬性関節炎、強直性脊椎炎、及び全身性エリテマトーデスから選択される。いくつかの実施態様において、皮膚障害は、乾癬、湿疹、及びポイズン・アイビーから選択される。いくつかの実施態様において、神経学的障害は慢性炎症性脱髄性多発根ニューロパチーである。

【０３９０】

いくつかの実施態様において、本明細書に記載される化合物は、限定されないが、ショック、脳浮腫、及び移植片対宿主病を含む、急性炎症イベントを治療するために患者に投与される。いくつかの実施態様において、本明細書に記載される化合物は、限定されないが、血液学的悪性腫瘍、例えば、白血病、リンパ腫、及び骨髄腫と関連するものを含む、リンパ球溶解作用を治療するために投与される。

【０３９１】

いくつかの実施態様において、本明細書に記載されるのは、それを必要としている対象の炎症を低下させる方法であって、それを必要としている対象に、本明細書に記載されるステロイド又はそのコンジュゲートの治療有効量を投与することを含む、方法である。いくつかの実施態様において、本明細書に記載されるのは、それを必要としている対象の免

疫系を調節をする方法であって、それを必要としている対象に、本明細書に記載されるステロイド又はそのコンジュゲートの治療有効量を投与することを含む、方法である。いくつかの実施態様において、本明細書に記載されるのは、それを必要としている対象のコルチゾールレベルを調節する方法であって、それを必要としている対象に、本明細書に記載されるステロイド又はそのコンジュゲートの治療有効量を投与することを含む、方法である。いくつかの実施態様において、本明細書に記載されるのは、それを必要としている対象のリンパ球遊走を低下させる方法であって、それを必要としている対象に、本明細書に記載されるステロイド又はそのコンジュゲートの治療有効量を投与することを含む、方法である。いくつかの実施態様において、本明細書に記載されるのは、癌による高カルシウム血症、メニエール病、片頭痛、群発頭痛、重度のアフタ性潰瘍、喉頭炎、重度結核、梅毒に対するヘルクスハイマー反応、非代償性心不全、アレルギー性鼻炎、又は鼻ポリープを治療する方法であって、それを必要としている対象に、本明細書に記載されるステロイド又はそのコンジュゲートの治療有効量を投与することを含む、方法である。いくつかの実施態様において、本明細書に開示される化合物は、炎症性腸疾患、クローン病、又は潰瘍性大腸炎の治療に使用することができる。いくつかの実施態様において、該疾患、障害、又は疾病は、限定されないが、喘息、皮膚感染症、及び眼感染症を含む、慢性炎症性疾患である。いくつかの実施態様において、本明細書に記載される化合物は、臓器移植を受けている患者の免疫抑制に使用される。

【０３９２】

いくつかの実施態様において、本明細書に記載されるステロイドペイロード及びそのコンジュゲートは、限定されないが、統合失調症、薬物中毒、心的外傷後ストレス障害(PTSD)、及び気分障害、薬物乱用、ストレス、並びに不安症などの精神障害を含む、GRシグナル伝達と関連する神経障害を治療するために患者に投与される。

【０３９３】

いくつかの実施態様において、本明細書に記載されるステロイドペイロード及びそのコンジュゲートは、限定されないが、眼の炎症(例えば、結膜炎、角膜炎、ぶどう膜炎)、黄斑浮腫、及び黄斑変性症を含む、視覚系障害を治療するために患者に投与される。いくつかの実施態様において、本明細書に記載されるステロイドペイロード及びそのコンジュゲートは、心血管障害を治療するために患者に投与される。いくつかの実施態様において、本明細書に記載されるステロイドペイロード及びそのコンジュゲートは、グルコース及び/又は肝臓代謝障害を治療するために患者に投与される。いくつかの実施態様において、本明細書に記載されるステロイドペイロード及びそのコンジュゲートは、筋骨格系障害を治療するために患者に投与される。いくつかの実施態様において、本明細書に記載されるステロイドペイロード及びそのコンジュゲートは、湿疹及び乾癬などの皮膚炎症状態を治療するために患者に投与される。

【０３９４】

本明細書に記載されるタンパク質コンジュゲートは、そのステロイドペイロードの特定の細胞又は器官系への標的化送達の手段を提供し、それにより、遊離のコンジュゲートされていないステロイドペイロードの投与から生じる副作用を低下させ又は予防する。低下させ又は予防すべきそのような潜在的な副作用の例としては、引用により本明細書中に完全に組み込まれるDecadron(登録商標)(デキサメタゾン)の認可された薬物ラベルに掲載されているものが挙げられる。いくつかの実施態様において、低下させ又は予防すべき副作用は、血圧の上昇;ナトリウム貯留;水/体液貯留(浮腫、血管性浮腫、肺浮腫);カリウム排泄の増加;可逆的な視床下部-下垂体副腎(HPA)軸抑制;治療の離脱後の潜在的なコルチコステロイド欠乏;感染症への易罹患性;全身性真菌感染症の増悪;小児及び成人患者の水痘の重症度の悪化;小児及び成人患者の麻疹の重症度の悪化;後嚢下白内障;視神経の潜在的損傷を伴う緑内障;細菌、真菌、又はウイルスによる続発性眼感染症の確立の促進;視神経炎の新たなエピソードの増加;カポジ肉腫;薬剤誘発性の続発性副腎皮質機能不全;活動性又は潜伏性消化性潰瘍、憩室炎、新鮮な腸吻合、及び非特異性潰瘍性大腸炎が存在する場合の穿孔のリスクの増加;胃腸の穿孔後の腹膜刺激;骨形成の減少;骨吸収の増加;骨芽細胞機能の阻害;

小児患者の骨成長の阻害;あらゆる年齢での骨粗鬆症の発症;急性ミオパチー(おそらく眼及び呼吸器の筋肉を含み、潜在的に四肢不全麻痺を引き起こす);クレアチニンキナーゼの上昇;多幸感、不眠、気分変動、人格変化、及び重度の鬱病から明らかな精神病的発現にわたる精神錯乱;既存の情緒不安定又は精神病の傾向の悪化;眼内圧亢進;徐脈;心停止;心不整脈;心臓肥大;循環虚脱;鬱血性心不全;脂肪塞栓症;高血圧;早産児の肥大型心筋症;亜急性心筋梗塞後の心破裂;失神;頻脈;血栓塞栓症;血栓性静脈炎;血管炎;座瘡;アレルギー性皮膚炎;鮫肌;斑状出血及び点状出血;紅斑;創傷治癒障害;多汗;発疹;皮膚線条;皮膚試験に対する反応の抑制;薄く脆い皮膚;頭毛が薄くなること;蕁麻疹;炭水化物及びグルコースへの耐性の減少;クッシング様状態の発生;高血糖症;糖尿;多毛症(hirsutism);多毛症(hypertrichosis);糖尿病におけるインスリン又は経口血糖降下剤の要求量増加(インスリン抵抗性);潜伏性糖尿病の徴候;月経不順;続発性の副腎皮質及び下垂体の不応性(特に、ストレスの時;外傷;手術;又は病気の場合);小児患者における成長抑制;罹患しやすい患者における鬱血性心不全;体液貯留;低カリウム血症性アルカローシス;カリウム喪失;ナトリウム貯留;腹部膨満;血清肝酵素レベルの上昇(通常、中断時に可逆的);肝肥大;食欲増加;吐き気;膵炎;穿孔及び出血の可能性がある消化性潰瘍;小腸及び大腸の穿孔(特に、炎症性腸疾患の患者);潰瘍性食道炎;タンパク質異化による負の窒素バランス;大腿骨頭及び上腕骨頭の無菌壊死;筋肉量低下;筋力低下;骨粗鬆症;長骨の病的骨折;ステロイドミオパチー;腱断裂;脊椎圧迫骨折;痙攣;鬱病;情緒不安定;多幸感;頭痛;通常、治療の中断後の乳頭浮腫を伴う頭蓋内圧増加(偽脳腫瘍);不眠;気分変動;神経炎;ニューロパチー;感覚異常;人格変化;精神障害;回転性目眩;眼球突出;緑内障;眼内圧上昇;後嚢下白内障;異常な脂肪蓄積;感染に対する抵抗性の減少;吃逆;精子の運動性及び数の増加又は減少;倦怠;抗コリンエステラーゼ剤;及び体重増加;並びに薬物間相互作用と関連する副作用から選択される。いくつかの実施態様において、低下させ又は予防すべき副作用は、薬物間相互作用と関連するものである。いくつかの実施態様において、低下させ又は予防すべき副作用は、コルチコステロイドによる副腎抑制の減弱を含む、コルチコステロイドとアミノグルテチミドの使用による薬物間相互作用;低カリウム血症、心臓肥大、及び鬱血性心不全の発症を含む、アムホテリシンB注射とカリウム除去剤の使用による薬物間相互作用;コルチコステロイドクリアランスの顕著な減少を含む抗生物質の使用による薬物間相互作用;重症筋無力症の患者で重度の衰弱をもたらすことを含む、抗コリンエステラーゼ剤の使用による薬物間相互作用;ワルファリンへの応答の阻害を含む、経口抗凝固薬の使用による薬物間相互作用;血糖値の上昇を含む、抗糖尿病剤の使用による薬物間相互作用;イソニアジドの血清濃度の減少を含む、抗結核薬の使用による薬物間相互作用;コルチコステロイドのクリアランスの増加を含む、コレスチラミンの使用による薬物間相互作用;シクロスポリンとコルチコステロイドの両方の活性及び痙攣の発生率の増加を含む、シクロスポリンの使用による薬物間相互作用;インドメタシンで治療されている患者における偽陰性結果を含む、デキサメタゾン抑制試験(DST)干渉の使用による薬物間相互作用;低カリウム血症による不整脈のリスク増加を含む、ジギタリスグリコシドの使用による薬物間相互作用;血液レベルの減少及び生理的活性の低下をもたらすコルチコステロイドの代謝クリアランスの増大を含む、エフェドリンの使用による薬物間相互作用;特定のコルチコステロイドの肝臓代謝の減少及び付随するその効果の増加を含む、経口避妊薬を含むエストロゲンの使用による薬物間相互作用;コルチコステロイドの代謝の増強を含む、肝臓酵素誘導剤、阻害剤、及び基質(チトクロムP450 3A4(CYP 3A4)酵素活性を誘導する薬物、例えば、バルビツレート、フェニトイン、カルバマゼピン、リファンピン)の使用による薬物間相互作用;コルチコステロイドの血漿濃度増加の可能性を含む、CYP 3A4を阻害する薬物(例えば、ケトコナゾール、マクロライド抗生物質、例えば、エリスロマイシン)の使用による薬物間相互作用;血漿濃度の減少をもたらす、そのクリアランスの増加を含む、CYP 3A4によって代謝される薬物(例えば、インジナビル、エリスロマイシン)の使用による薬物間相互作用;コルチコステロイド副作用のリスクの増加をもたらす特定のコルチコステロイドの最大60%の代謝減少及びコルチコステロイド離脱中に副腎不全を引き起こす可能性のある副腎コルチコステロイド合成の阻害を含む、ケトコナゾールの使用による薬物間相互作用;胃腸の副作用のリスクの増加及びサリチレートのクリアランスの増加を含む、非ステロ

イド性抗炎症薬(NSAIDS)の使用による薬物間相互作用;フェニトインレベルの増加又は減少、発作制御の変化を含む、フェニトインの使用による薬物間相互作用;皮膚試験に対する反応の抑制を含む、皮膚試験の使用による薬物間相互作用;中毒性表皮壊死症を含む、サリドマイドの使用による薬物間相互作用;並びに抗体応答の阻害又は弱毒生ワクチンに含まれる何らかの生物の複製の増強によるトキソイド及び生ワクチン又は不活化ワクチンへの応答の減少を含む、ワクチンの使用による薬物間相互作用と関連する。

【０３９５】

したがって、本明細書に提供されるのは、グルココルチコイド受容体と関連する疾患、障害、又は疾病を治療する方法であって、式(I)、(IA)、(IB)、(IB-1)、(IB-2)、(IC)、(ID)、(IE)、式(III)、又は式(3000)のコンジュゲートを、該疾患、障害、又は疾病を有する患者に投与することを含み、ここで、該コンジュゲートの遊離のステロイドペイロードの投与と関連する副作用が軽減される、方法である。さらに、本明細書に提供されるのは、式(III)又は式(3000)の化合物を細胞に送達する方法であって、該細胞を、式(III)又は式(3000)の化合物のタンパク質コンジュゲートと接触させることを含み、ここで、該タンパク質コンジュゲートが該細胞の表面抗原に結合する抗体又はその抗原結合断片を含む、方法である。

【０３９６】

ペイロードがLXRモジュレーターであるいくつかの例において、本明細書に記載されるのは、疾患、障害、又は疾病を治療する方法であって、該障害を有する患者に、化合物及び/もしくはADC(例えば、式(I)、(IA)、(IB)、(IB-1)、(IB-2)、(IC)、(ID)、(IE)、(5001)、(5002)、(5003)、(5004)、(6001)、(6002)、(6003)、(6004)、もしくは(6005)のADC)又はその医薬組成物の治療有効量を投与することを含む、方法である。

【０３９７】

いくつかの例において、本明細書に記載されるのは、疾患、障害、又は疾病を予防する方法であって、該障害を有する患者に、化合物及び/もしくはADC(例えば、式(I)、(IA)、(IB)、(IB-1)、(IB-2)、(IC)、(ID)、(IE)、(5001)、(5002)、(5003)、(5004)、(6001)、(6002)、(6003)、(6004)、又は(6005)のADC又はその医薬組成物の予防有効量を投与することを含む、方法である。

【０３９８】

いくつかの例において、本明細書に記載されるのは、LXRシグナル伝達の調節に応答性の任意の疾患、障害、又は疾病を治療又は予防する方法である。いくつかの例において、該疾患又は障害は、LXR機能、LXR多型、LXRアゴニスト活性、又はLXRアンタゴニスト活性と関連する。いくつかの例において、本明細書に記載されるのは、増殖性障害、神経変性障害、免疫学的障害、自己免疫疾患、炎症性障害、皮膚疾患、代謝性疾患、心血管疾患、及び胃腸疾患からなる群から選択される疾患、障害、又は疾病を治療又は予防する方法である。

【０３９９】

増殖性障害は、当業者に公知の任意の増殖性障害であることができる。ある実施態様において、増殖性障害には、限定されないが、腫瘍学的障害(oncology disorder)が含まれ、ここで、該腫瘍学的障害は、当業者に公知の任意の癌障害であることができる。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、メラノーマを治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、転移性メラノーマを治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、肺癌を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、EGFR-チロシンキナーゼインヒビター抵抗性肺癌を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、口腔癌を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、口腔扁平上皮細胞癌を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、前立腺癌を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、ホジキンリンパ腫を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、乳癌を治療又

は予防する方法である。

【０４００】

神経変性障害は、当業者に公知の任意の神経変性障害であることができる。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、アルツハイマー病を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、パーキンソン病を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、ハンチントン病を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、筋萎縮性側索硬化症を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、ミエリン遺伝子発現を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、髄鞘形成及び髄鞘再生の疾病、疾患、又は障害を治療又は予防する方法である。

【０４０１】

免疫学的障害は、当業者に公知の任意の免疫学的障害であることができる。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、炎症性腸疾患を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、潰瘍性大腸炎を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、クローン病を治療又は予防する方法である。

【０４０２】

炎症性障害は、当業者に公知の任意の炎症性障害であることができる。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、関節炎を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、関節リウマチを治療又は予防する方法である。

【０４０３】

代謝性疾患は、当業者に公知の任意の代謝性疾患であることができる。ある実施態様において、代謝性疾患は、脂質異常症である。脂質異常症は、当業者に公知の任意の脂質異常症であることができる。ある実施態様において、脂質異常症は、高脂血症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、高リポタンパク血症、HDL欠損症、ApoA-I欠損症、並びに心血管疾患、例えば、冠動脈疾患(例えば、狭心症、心筋梗塞、及び突然心臓死の治療及び予防を含む);アテローム性動脈硬化症(例えば、アテローム性動脈硬化症の治療及び予防を含む);並びに再狭窄(例えば、バルーン血管形成術などの医療処置の結果として生じるアテローム性動脈硬化性プラークの治療又は予防を含む)からなる群から選択される。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、糖尿病を治療又は予防する方法である。

【０４０４】

心血管疾患は、当業者に公知の任意の心血管疾患であることができる。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、アテローム性動脈硬化症を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、異常なマクロファージプロセシングから生じるアテローム性動脈硬化症を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、マクロファージがoxLDLをプロセシングすることができない酸化低密度リポタンパク質(oxLDL)の形成から生じるアテローム性動脈硬化症を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、虚血性心疾患を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、卒中を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、高血圧性心疾患を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、大動脈瘤を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、心内膜炎を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、末梢動脈疾患を治療又は予防する方法である。ある実施態様において、本明細書に提供されるのは、この段落で提供されている疾患のいずれかの組合せを治療又は予防する方法である。

【０４０５】

いくつかの例において、本明細書に記載されるのは、核内受容体の機能を調節する方法である。非限定的な例として、該機能は、炎症性メディエーター(例えば、サイトカイン、

ケモカイン)の発現/分泌、コレステロール調節、コレステロール摂取、コレステロール流出、コレステロール酸化、遊走、走化性、アポトーシス及び壊死、炎症活性、脂質調節、アポトーシス、遊走、走化性、遺伝子転写、並びにタンパク質発現から選択され得る。

【０４０６】

いくつかの例において、本明細書に記載されるのは、疾患、障害、又は疾病を予防する方法であって、該障害を有する患者に、式(I)、(IA)、(IB)、(IB-1)、(IB-2)、(IC)、(ID)、(IE)、(7001)、(7002)、(7003)、(7004)、及び/又は(7005)の化合物及び/又はADC、又はその医薬組成物の治療有効量を投与することを含む、方法である。

【０４０７】

黄色ブドウ球菌は、マクロファージ及び他の細胞型による食作用を切り抜けて生き残ることができる通性細胞内細菌である(Horn, J.らの文献、内部犯行:黄色ブドウ球菌の宿主病原体相互作用(Inside job: Staphylococcus aureus host-pathogen interactions). Int J Med Microbiol, 2018. 308(6): p. 607-624; Jubrail, J.らの文献、黄色ブドウ球菌のファゴリソソーム内死滅化を持続する能力の欠如はマクロファージにおける細菌持続の原因となる(Inability to sustain intraphagolysosomal killing of Staphylococcus aureus predisposes to bacterial persistence in macrophages). Cell Microbiol, 2016. 18(1): p. 80-96)。生体内イメージングにより、マクロファージは、黄色ブドウ球菌が複製し、その後、感染中に他の器官に播種する貯留層としての役割を果たすことができることが示されている(Surewaard, B.G.らの文献、インビボの黄色ブドウ球菌貯留層の同定及び治療(Identification and treatment of the Staphylococcus aureus reservoir in vivo). J Exp Med, 2016. 213(7): p. 1141-51)。ほとんどの抗生物質は、マクロファージを含む細胞をあまり透過せず、細胞内黄色ブドウ球菌貯留層が標準治療の抗生物質による処置を回避することができることを示している(Lehar, S.M.らの文献、新規の抗体-抗生物質コンジュゲートは細胞内黄色ブドウ球菌を消失させる(Novel antibody-antibiotic conjugate eliminates intracellular S. aureus). Nature, 2015. 527(7578): p. 323-8)。しかしながら、バンコマイシンのリポソーム製剤は、マクロファージへの抗生物質の透過を増大させ、標準治療のバンコマイシンよりも効果的に黄色ブドウ球菌の臓器負荷を低下させた(Surewaard, B.G.らの文献、インビボの黄色ブドウ球菌貯留層の同定及び治療(Identification and treatment of the Staphylococcus aureus reservoir in vivo). J Exp Med, 2016. 213(7): p. 1141-51)。まとめると、これらのデータは、マクロファージへの抗生物質の送達が細胞内黄色ブドウ球菌貯留層を消失させる効果的な方法であり得ることを示している。

【０４０８】

米国において、抗生物質耐性黄色ブドウ球菌は、公衆衛生問題であり続けており、おおよそ40%の血流感染は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)によって引き起こされる。FDAによって承認された治療選択肢は、MRSA血流感染についてはほとんど存在せず、バンコマイシンが一般に好まれる抗生物質であり続けている。適切な抗生物質治療にもかかわらず、黄色ブドウ球菌血流感染による死亡率は～18%であり、治療を改善し得る組合せの研究を促している。

【０４０９】

リファマイシンクラスの抗生物質は、細菌RNAポリメラーゼ(RNAP)を阻害し、黄色ブドウ球菌に対する強力な活性を有する。しかしながら、このクラスの抗生物質による単剤療法は、治療期間中の耐性集団の選択につながり得る。それゆえ、リファマイシン抗生物質を第一選択抗生物質と組み合わせて用いて、一般に補綴又は外来装置が関与する感染症の転帰を改善することができる。

【０４１０】

リファマイシン類似体を含む本明細書に記載されるADCは、対象における細菌増殖及び/又は細菌感染を予防又は治療するのに有用である。いくつかの例において、細菌は、グラム陽性細菌である(グラム陽性細菌が細菌感染の原因である)。いくつかの例において、細菌は、ペニシリン耐性細菌である(ペニシリン耐性細菌が細菌感染の原因である)。いくつ

かの例において、細菌は、黄色ブドウ球菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)細菌である(MRSA細菌が細菌感染の原因である)。いくつかの例において、細菌は、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌(MSSA)細菌である(MSSA細菌が細菌感染の原因である)。いくつかの例において、細菌は、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(VRSA)細菌である(VRSA細菌が細菌感染の原因である)。いくつかの例において、細菌は、多剤耐性結核菌である(多剤耐性結核菌細菌が細菌感染の原因である)。さらなる例において、細菌は、例えば、アジスロマイシンに耐性のあるクラミジア・トラコマチス(Chlamydia trachomatis)である(例えば、アジスロマイシンに耐性のあるクラミジア・トラコマチスが細菌感染の原因である)。さらなる例において、細菌は、例えば、メトロニダゾール、バンコマイシン、及び/又はフィダキソマイシンに耐性のあるクロストリジウム・ディフィシル(Clostridium difficile)である(例えば、メトロニダゾール、バンコマイシン、及び/又はフィダキソマイシンに耐性のあるクロストリジウム・ディフィシルが細菌感染の原因である)。

【０４１１】

本明細書に提供されるのは、対象の蜂巣炎、菌血症、皮膚壊死症、眼瞼感染症、眼感染症、新生児結膜炎、骨髄炎、膿痂疹、炎症性の腫れ物、熱傷様皮膚症候群、食中毒、肺炎、外科感染症、尿路感染症、熱傷後感染、髄膜炎、心内膜炎、敗血症、毒素性ショック症候群、化膿性関節炎、乳腺炎、人工関節と関連する感染症、カテーテルと関連する感染症、又はインプラントと関連する感染症を予防又は治療する方法であって、該対象に、リファマイシン類似体を含む抗体-薬物コンジュゲート(例えば、式(I)、(IA)、(IB)、(IB-1)、(IB-2)、(IC)、(ID)、(IE)、(7001)、(7002)、(7003)、(7004)、及び/又は(7005)のADC)の治療有効量を投与することを含む、方法である。また本明細書に提供されるのは、対象の細胞内細菌感染を予防又は治療する方法であって、該対象に、リファマイシン類似体を含む抗体-薬物コンジュゲート(例えば、式(I)、(IA)、(IB)、(IB-1)、(IB-2)、(IC)、(ID)、(IE)、(7001)、(7002)、(7003)、(7004)、及び/又は(7005)のADC)の治療有効量を投与することを含む、方法である。

【０４１２】

いくつかの例において、本明細書に提供されるのは、対象の細菌感染、及び/又はブドウ球菌感染、例えば、黄色ブドウ球菌感染と関連する疾患もしくは障害もしくは疾病の治療及び/もしくは予防、並びに/又はそのような疾患もしくは障害もしくは疾病の少なくとも1つの症状の改善に有用である、抗MSR1抗体、MSR1抗体の抗原結合部分、又は抗MSR1抗体もしくはそのMSR1抗原結合断片を含むADCを、それを必要としている対象に投与することを含む治療方法である。そのような疾患、障害、又は疾病は、蜂巣炎、菌血症、皮膚壊死症、眼瞼感染症、眼感染症、新生児結膜炎、骨髄炎、膿痂疹、炎症性の腫れ物、熱傷様皮膚症候群、食中毒、肺炎、外科感染症、尿路感染症、熱傷後感染、髄膜炎、心内膜炎、敗血症、毒素性ショック症候群、又は化膿性関節炎であることができる。いくつかの例において、該対象は、人工関節を有し、本明細書に開示される抗体は、人工関節の周囲の組織の黄色ブドウ球菌感染を治療及び/又は予防するために使用される。いくつかの例において、該対象は、カテーテルを有し、本明細書に開示される抗体は、カテーテル及び/又はカテーテルの周囲の組織の黄色ブドウ球菌感染を治療及び/又は予防するために使用される。いくつかの例において、該対象は、移植された異物を有し、本明細書に開示される抗体は、異物及び/又は異物の周囲の組織の黄色ブドウ球菌感染を治療及び/又は予防するために使用される。いくつかの例において、該対象は、乳腺炎を有し、本明細書に開示される抗体は、乳腺炎を治療するのに有用である。

【０４１３】

いくつかの例において、リファマイシン類似体及び/又はその抗MSR1 ADCは、1以上の追加の抗生物質(例えば、MRSA感染に使用し得る抗生物質)、例えば、バンコマイシン、トリメトプリム-スルファメトキサゾール、テトラサイクリン、ドキシサイクリン/ミノサイクリン、クリンダマイシン、セファロスポリン(例えば、セファレキシン)、ナフシリン、フィダキソマイシン、リネゾリドなど、及び/又は任意の他の好適な抗生物質と組み合わせて投与される。いくつかの例において、リファマイシン類似体を含む本明細書に記載され

るADCは、バンコマイシンと組み合わせて投与され、対象の細菌感染を予防又は治療するのに有用である。

【０４１４】

(組合せ療法及び製剤)

実施態様には、本明細書に記載される抗MSR1抗体のいずれかを1以上のさらなる治療活性成分との組合せで含む組成物及び治療製剤、並びにそのような組合せを、それを必要としている対象に投与することを含む治療方法が含まれる。

【０４１５】

本明細書に開示される抗MSR1抗体は、小分子サイトカイン阻害剤及びIL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-9、IL-11、IL-12、IL-13、IL-17、IL-18などのサイトカイン、もしくはそのそれぞれの受容体に結合する抗体を含む、サイトカイン阻害剤:からなる群から選択される1以上のさらなる治療活性成分との組合せで共製剤化及び/又は投与することができる。

【０４１６】

本明細書に開示される抗MSR1抗体は、抗炎症剤、免疫調節剤、鎮痛剤、コルチコステロイド、ステロイド、抗酸化剤、COX阻害剤、心臓保護薬、金属キレート剤、IFN-γ、及び/又はNSAIDとの組合せで投与及び/又は共製剤化することもできる。いくつかの実施態様において、抗MSR1抗体は、抗PCSK9抗体、抗ANGPTL3抗体、スタチン、エゼチミブ、及び他の脂質低下療法との組合せで投与及び/又は共製剤化することができる。

【０４１７】

さらなる治療活性成分、例えば、上記の薬剤又はその誘導体のいずれかは、本明細書に開示される抗MSR1抗体の投与の直前に、その投与と同時に、又はその投与の直後に投与することができる;(本開示の目的のために、そのような投与レジメンは、さらなる治療活性成分「と組み合わせた」抗MSR1抗体の投与と考えられる)。実施態様には、本明細書に開示される抗MSR1抗体が本明細書中の別の場所に記載されるさらなる治療活性成分のうちの1つ又は複数と共製剤化されている医薬組成物が含まれる。

【０４１８】

(投与レジメン)

ある実施態様によれば、複数用量の抗MSR1抗体(又はADCもしくは抗MSR1抗体と本明細書に言及されるさらなる治療活性剤のいずれかの組合せを含む医薬組成物)を規定の時間経過にわたって対象に投与することができる。本方法は、対象に、複数用量の本明細書に開示される抗MSR1抗体を順次投与することを含む。本明細書で使用される場合、「順次投与する」とは、各々の用量の抗MSR1抗体が、異なる時点で、例えば、所定の間隔(例えば、時間、日、週、又は月)で区切られた異なる日に、対象に投与されることを意味する。実施態様には、患者に、単一の初回用量の抗MSR1抗体、その後、1以上の二次用量の抗MSR1抗体、及び任意にその後、1以上の三次用量の抗MSR1抗体を順次投与することを含む方法が含まれる。

【０４１９】

「初回用量」、「二次用量」、及び「三次用量」という用語は、本明細書に開示される抗MSR1抗体の投与の時系列を指す。したがって、「初回用量」は、治療レジメンの開始時に投与される用量(別名、「ベースライン用量」)であり;「二次用量」は、初回用量の後に投与される用量であり;「三次用量」は、二次用量の後に投与される用量である。初回用量、二次用量、及び三次用量は全て、同じ量の抗MSR1抗体を含有し得るが、通常、投与の頻度に関して互いに異なり得る。ある実施態様において、初回用量、二次用量、及び/又は三次用量に含まれる抗MSR1抗体の量は、治療経過中、互いに変化する(例えば、必要に応じて、上方調整又は下方調整される)。ある実施態様において、2以上の(例えば、2、3、4、又は5)用量が治療レジメンの開始時に「ローディング用量」として投与され、その後、より低い頻度で投与される後続の用量(例えば、「維持用量」)として投与される。

【０４２０】

ある例示的な実施態様において、各々の二次及び/又は三次用量は、直前の用量から1～

26週間(例えば、1、$1^{1}/_{2}$、2、$2^{1}/_{2}$、3、$3^{1}/_{2}$、4、$4^{1}/_{2}$、5、$5^{1}/_{2}$、6、$6^{1}/_{2}$、7、$7^{1}/_{2}$、8、$8^{1}/_{2}$、9、$9^{1}/_{2}$、10、$10^{1}/_{2}$、11、$11^{1}/_{2}$、12、$12^{1}/_{2}$、13、$13^{1}/_{2}$、14、$14^{1}/_{2}$、15、$15^{1}/_{2}$、16、$16^{1}/_{2}$、17、$17^{1}/_{2}$、18、$18^{1}/_{2}$、19、$19^{1}/_{2}$、20、$20^{1}/_{2}$、21、$21^{1}/_{2}$、22、$22^{1}/_{2}$、23、$23^{1}/_{2}$、24、$24^{1}/_{2}$、25、$25^{1}/_{2}$、26、$26^{1}/_{2}$週間、又はそれより長い期間)後に投与される。本明細書で使用される「直前の用量」という語句は、一連の複数回の投与において、介入用量のない順序で、そのまさに次の用量の投与前に患者に投与される抗MSR1抗体の用量を意味する。

【０４２１】

本開示のこの態様による方法は、患者に、任意の数の二次及び/又は三次用量の抗MSR1抗体を投与することを含み得る。例えば、ある実施態様において、単一の二次用量のみが患者に投与される。他の実施態様において、2以上(例えば、2、3、4、5、6、7、8、又はそれより多く)の二次用量が患者に投与される。同様に、ある実施態様において、単一の三次用量のみが患者に投与される。他の実施態様において、2以上(例えば、2、3、4、5、6、7、8、又はそれより多く)の三次用量が患者に投与される。投与レジメンは、特定の対象の生涯にわたって無期限に、又はそのような治療がもはや治療的に必要でなくなるかもしくは有益でなくなるまで実施することができる。

【０４２２】

複数の二次用量を含む実施態様において、各々の二次用量は、他の二次用量と同じ頻度で投与されてもよい。例えば、各々の二次用量は、患者に、直前の用量から1～2週間後又は1～2カ月後に投与されてもよい。同様に、複数の三次用量を含む実施態様において、各々の三次用量は、他の三次用量と同じ頻度で投与されてもよい。例えば、各々の三次用量は、患者に、直前の用量から2～12週間後に投与されてもよい。ある実施態様において、二次及び/又は三次用量が患者に投与される頻度は、治療レジメンの経過にわたって変化し得る。投与の頻度はまた、臨床検査後の個々の患者の必要性に応じて、医師により、治療経過中に調整されてもよい。

【０４２３】

実施態様には、2～6のローディング用量が、第一の頻度(例えば、週に1回、2週間毎に1回、3週間毎に1回、月に1回、2カ月毎に1回など)で患者に投与され、その後、2以上の維持用量がより低い頻度で患者に投与される投与レジメンが含まれる。例えば、本発明のこの態様によれば、ローディング用量が月に1回の頻度で投与される場合、維持用量は、6週間毎に1回、2カ月毎に1回、3カ月毎に1回などで、患者に投与されてもよい。

【０４２４】

(抗体の診断的使用)

本明細書に開示される抗MSR1抗体を用いて、例えば、診断目的のための試料中のMSR1又はMSR1発現細胞を検出及び/又は測定することもできる。例えば、抗MSR1抗体又はその断片を用いて、MSR1の異常な発現(例えば、過剰発現、低発現、発現の欠如など)を特徴とする疾病又は疾患を診断することができる。MSR1の例示的な診断アッセイは、例えば、患者から得られた試料を本明細書に開示される抗MSR1抗体と接触させることを含むことができ、ここで、該抗MSR1抗体は、検出可能な標識又はレポーター分子で標識されている。或いは、非標識抗MSR1抗体を、それ自体検出可能に標識されている二次抗体と組み合わせて、診断用途で使用することができる。検出可能な標識又はレポーター分子は、放射性同位体、例えば、^{3}H、^{14}C、^{32}P、^{35}S、もしくは^{125}I;蛍光もしくは化学発光部分、例えば、フルオレセインもしくはローダミン;又は酵素、例えば、アルカリホスファターゼ、β-ガラクトシダーゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、もしくはルシフェラーゼであることができる。試料中のMSR1を検出又は測定するために使用し得る具体的な例示的アッセイとしては、酵素結合免疫吸着アッセイ(ELISA)、放射免疫アッセイ(RIA)、免疫-PET(例えば、^{89}Zr、^{64}Cuなど)、及び蛍光活性化細胞選別(FACS)が挙げられる。

【０４２５】

本発明によるMSR1診断アッセイで使用し得る試料としては、正常又は病的状態下の、検出可能な量のMSR1タンパク質又はその断片を含有する患者から取得可能な任意の組織

又は流体試料が挙げられる。通常、健康な患者(例えば、異常なMSR1レベル又は活性と関連する疾患又は疾病に罹患していない患者)から得られる特定の試料中のMSR1のレベルを測定して、MSR1のベースライン又は標準レベルを最初に確立する。その後、このMSR1のベースラインレベルを、MSR1関連の疾患又は疾病を有することが疑われる個体から得られる試料中のMSR1のレベルと比較することができる。

【実施例】

【０４２６】

(実施例)

以下の実施例は、当業者に、本明細書に提供される方法及び組成物を作製及び使用する方法の完全な開示及び説明を提供するために提示されており、本発明者らがその発明とみなすものの範囲を限定することを意図するものではない。使用される数字(例えば、量、温度など)に関して正確性を確保するために努力がなされているが、ある程度の実験誤差及び偏差が考慮されるべきである。別途示されない限り、部分は重量部であり、分子量は平均分子量であり、温度はセ氏温度であり、圧力は大気圧又はその付近である。実施例は、実施態様及びその様々な態様の具体的な理解及び実施を単に提供するので、実施例は、限定するものとみなされるべきではない。

【０４２７】

本明細書で使用される場合、本明細書中のプロセス及び実施例で使用される記号及び慣例は、別途それに反する規定がない限り、現代の科学文献、例えば、the Journal of the American Chemical Society又はthe Journal of Biological Chemistryで使用されているものと一致している。具体的には、限定されないが、以下の略語を実施例及び本明細書の全体を通じて使用することができる:

【表６】

略語	用語
ADC	抗体-薬物コンジュゲート
アグリコシル化抗体	抗体がグリカンを有さない
aq	水性
BARAC	ビアリールアザシクロオクチノン
BCN	(1R,8S,9s)-ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イル
Boc	N-tert-ブトキシカルボニル
BupHTM	別途特記しない限り、pHが7.2から7.6～7.8MQに調整された、100mMリン酸ナトリウム及び150mM塩化ナトリウムを含み、カリウムを含まない、Thermo Scientific Prod# 28372。
CD	シクロデキストリン
COT	シクロオクチノール
Da	ダルトン
DAR	薬物対抗体比
DCM	ジクロロメタン
DIBAC	ジベンゾ[b,f]アゾシン、11,12-ジデヒドロ-5,6-ジヒドロ-もしくはジベンゾシクロオクチン、又はジベンゾ[b,f]アゾシン-5(6H)-ブタン酸、11,12-ジデヒドロ
DIBAC-Suc	ジベンゾ[b,f]アゾシン-5(6H)-ブタン酸、11,12-ジデヒドロ
DIBACT	3H-ベンゾ[c]-1,2,3-トリアゾロ[4,5-e][1]ベンズアゾシン、8,9-ジヒドロ-
DIBO	ジベンゾシクロオクチン
DIFO	ニフッ化シクロオクチン
DIPEA	ジイソプロピルエチルアミン
DMF	N,N-ジメチルホルムアミド
DMSO	ジメチルスルホキシド
ESI	エレクトロスプレーイオン化
g	グラム
HATU	2-(7-アザ-1H-ベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート
HC	免疫グロブリンの重鎖
HEK	ヒト胎児腎臓(細胞)
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
hr又は hrs	時間
LC	免疫グロブリンの軽鎖
LC	液体クロマトグラフィー
MC	マレイミドカプロイル
mg	ミリグラム
min	分
mL	ミリリットル
mM	ミリモル濃度
MMAE	モノメチルオーリスタチンE
MS	マススペクトロメトリー

略語	用語
MSD	質量選択検出器
MTG	微生物トランスグルタミナーゼ
MW	分子量
ncADC	非細胞傷害性抗体薬物コンジュゲーション
NHS	N-ヒドロキシスクシンイミド
nM	ナノモル濃度
NMR	核磁気共鳴
NOESY	核オーバーハウザー効果分光法
PAB	パラ-アミノベンジルオキシ(カルボニル)
PBS	10mMリン酸ナトリウムバッファー及び150mM塩化ナトリウム
PBSg	10mMリン酸塩、150mM塩化ナトリウム、5%グリセロール
PEG	ポリエチレングリコール
ppm	百万分率(化学シフト)
RP	逆相
RT又は rt	室温
SDS-PAGE	ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動
SEC	サイズ排除クロマトグラフィー
Suc	コハク酸
TCEP	トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン塩酸塩
TEA	トリエチルアミン
TFA	トリフルオロ酢酸
TG	トランスグルタミナーゼ
THF	テトラヒドロフラン
TOF	飛行時間型
UPLC	超高速液体クロマトグラフィー
UV	紫外線
VA	バリン-アラニン
VC	バリン-シトルリン
μL	マイクロリットル
μM	マイクロモル濃度

【０４２８】

別途明示的に記述されない限り、試薬及び溶媒は、市販の供給源、例えば、Sinopharm Chemical Reagent Co.(SCRC)、Sigma-Aldrich、Alfa、又は他の供給業者から入手した。

【０４２９】

^{1}H NMR及び他のNMRスペクトルをBruker AVIII 400又はBruker AVIII 500で記録した。データをNutsソフトウェア又はMestReNovaソフトウェアで処理し、プロトンシフトを内部標準のテトラメチルシラン(TMS)から低磁場方向に移動した百万分率(ppm)で測定した。

【０４３０】

HPLC-MS測定を、以下の条件を用いて、Agilent 1200 HPLC/6100 SQシステムで実行した。

【０４３１】

HPLC-MS測定のための方法Aには、移動相として: A:水(0.01%トリフルオロ酢酸(TFA))、B:アセトニトリル(0.01%TFA);勾配相: 5%のBを15分(min)以内に95%のBまで増大させた;流速: 1.0mL/分;カラム: SunFire C18、4.6×50mm、3.5μm;カラム温度: 50℃、検出器:アナログ・デジタル変換器(ADC)蒸発光散乱検出器(ELSD)、ダイオードアレイ検出器(DAD)(214nm及び254nm)、エレクトロスプレーイオン化-大気イオン化(ES-API)が含まれた。

【０４３２】

HPLC-MS測定のための方法Bには、移動相として: A:水(10mM NH_4HCO_3)、B:アセトニトリル;勾配相: 15分以内に5%から95%のB;流速: 1.0mL/分;カラム: XBridge C18、4.6×50mm、3.5μm;カラム温度: 50℃、検出器: ADC ELSD、DAD(214nm及び254nm)、質量選択的検出器(MSD)(ES-API)が含まれた。

【０４３３】

LC-MS測定を、以下の条件を用いて、Agilent 1200 HPLC/6100 SQシステムで実行した:

【０４３４】

LC-MS測定のための方法Aには、装置として: WATERS 2767;カラム: 2つが直列に接続された、Shimadzu Shim-Pack、PRC-ODS、20×250mm、15μm;移動相: A:水(0.01%TFA)、B:アセトニトリル(0.01%TFA);勾配相: 5%のBを3分以内に95%のBまで増大させた;流速: 1.8～2.3mL/分;カラム: SunFire C18、4.6×50mm、3.5μm;カラム温度: 50℃、検出器: ADC ELSD、DAD(214nm及び254nm)、ES-APIが含まれた。

【０４３５】

LC-MS測定のための方法Bには、装置として: Gilson GX-281;カラム: Xbridge Prep C18 10μm OBD、19×250mm;移動相: A:水(10mM NH_4HCO_3)、B:アセトニトリル;勾配相: 3分以内に5%から95%のB;流速: 1.8～2.3mL/分;カラム: XBridge C18、4.6×50mm、3.5μm;カラム温度: 50℃。検出器: ADC ELSD、DAD(214nm及び254nm)、MSD(ES-API)が含まれた。

【０４３６】

酸性又は塩基性溶媒系での分取高圧液体クロマトグラフィー(分取HPLC)をGilson GX-281装置で利用した。酸性溶媒系では、Waters SunFire 10μm C18カラム(100Å、250×19mm)が使用され、分取HPLC用の溶媒Aは、水/0.05%TFAであり、溶媒Bは、アセトニトリルであった。溶出条件は、30mL/分の流速での20分間にわたる5%から100%への溶媒Bの線形勾配増加であった。塩基性溶媒系には、Waters Xbridge 10μm C18カラム(100Å、250×19mm)が含まれ、分取HPLC用の溶媒Aは、水/10mM重炭酸アンモニウム(NH_4HCO_3)であり、溶媒Bは、アセトニトリルであった。溶出条件は、30mL/分の流速での20分間にわたる5%から100%への溶媒Bの線形勾配増加であった。

【０４３７】

フラッシュクロマトグラフィーは、Agelaフラッシュカラムシリカ-CSカートリッジを用いて、Biotage装置で実施し;逆相フラッシュクロマトグラフィーは、Boston ODS又はAgela C18カートリッジを用いて、Biotage装置で実施した。

【０４３８】

(分析的キラルHPLC法－SFC条件:)

a)装置: SFC法ステーション(Thar, Waters)

b)カラム: CHIRALPAK AD-H/AS-H/OJ-H/OD-H 4.6×100mm、5μm(Daicel)

c)カラム温度: 40℃

d)移動相: CO_2/IPA(0.1%DEA)＝55/45

e)流量: 4.0ml/分

f)背圧: 120バール

g)注入容量: 2μL。

【０４３９】

分取キラルHPLC法－SFC条件:

a)装置: SFC-80(Thar, Waters)
b)カラム: CHIRALPAK AD-H/AS-H/OJ-H/OD-H 20×250mm、10μm(Daicel)
c)カラム温度: 35℃
d)移動相: CO_2/IPA(0.2%メタノールアンモニア)＝30/70
e)流量: 80g/分
f)背圧: 100バール
g)検出波長: 214nm
h)サイクル時間: 6.0分
i)試料溶液: 70mLメタノールに溶解した1500mg
j)注入容量: 2mL(ローディング: 42.86mg/注入)。

【０４４０】

本明細書で使用される場合、これらのプロセス、スキーム、及び実施例で使用される記号及び慣例は、特定の略語が具体的に定義されているかどうかにかかわらず、現代の科学文献、例えば、the Journal of the American Chemical Society又はthe Journal of Biological Chemistryで使用されているものと一致している。

【０４４１】

(実施例1.抗MSR1抗体の作製)

ヒト免疫グロブリン重鎖及びカッパ軽鎖可変領域をコードするDNAを含む遺伝子改変マウスをN-末端ノナヒスチジンタグ(R&D Systems、カタログ # 2708-MS-050, Minneapolis, MN)に融合した組換えヒトMSR1細胞外ドメインを含む免疫原で免疫することにより、抗MSR1抗体を得た。免疫に使用されたマウスは、Velocimmuneマウス又は「ユニバーサル軽鎖」を発現するマウス(「ULC」マウス)であった。ULCマウスで産生された抗体は、異なる重鎖可変領域を有するが、実質的に同一の軽鎖可変ドメインを有する。

【０４４２】

抗体免疫応答をMSR1特異的免疫アッセイによりモニタリングした。所望の免疫応答が達成されたとき、脾臓細胞を回収し、マウス骨髄腫細胞と融合させて、その生存を維持し、ハイブリドーマ細胞株を形成させた。ハイブリドーマ細胞株をスクリーニングし、選択して、MSR1特異的抗体を産生する細胞株を同定した。この技法を用いて、いくつかの抗MSR1キメラ抗体(すなわち、ヒト可変ドメイン及びマウス定常ドメインを保有する抗体)を得た。さらに、いくつかの完全ヒト抗MSR1抗体を、US 2007/0280945A1号に記載されている通りに、骨髄腫細胞への融合なしで、抗原陽性B細胞から直接単離した。

【０４４３】

この実施例の方法に従って作製される例示的な抗MSR1抗体の特定の生物学的特性は、下記の実施例で詳細に記載されている。

【０４４４】

(実施例2.重鎖及び軽鎖可変領域アミノ酸及び核酸配列)

表4には、本明細書に記載される選択された抗MSR1抗体の重鎖及び軽鎖可変領域並びにCDRのアミノ酸配列識別子が記載されている。対応する核酸配列識別子は、表5に記載されている。

表4:アミノ酸配列識別子

【表７】

	配列番号：							
抗体表記	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H21227N	2	4	6	8	10	12	14	16
H1H21228N	18	20	22	24	26	28	30	32
H1H21231N	34	36	38	40	42	44	46	48
H1H21234N	50	52	54	56	58	60	62	64
H1H21235N	66	68	70	72	74	76	78	80
H1H25685N	82	84	86	88	90	92	94	96
H1H25690N	98	100	102	104	106	108	110	112
H1H25695N	114	116	118	120	122	124	126	128

	配列番号：							
抗体表記	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H25700N	130	132	134	136	138	140	142	144
H1H27729P	146	148	150	152	154	156	158	160
H1H27731P	162	164	166	168	170	172	174	176
H1H27732P	178	180	182	184	186	188	190	192
H1H27734P	194	196	198	200	202	204	206	208
H1H27736P	210	212	214	216	218	220	222	224
H1H27739P	226	228	230	232	234	236	238	240
H1H27747P	242	244	246	248	250	252	254	256
H1H27749P	258	260	262	264	266	268	270	272
H1H27751P	274	276	278	280	282	284	286	288
H1H27754P	290	292	294	296	298	300	302	304
H1H27756P	306	308	310	312	314	316	318	320
H1H27760P2	322	324	326	328	90	92	94	96
H1H27761P2	330	332	334	336	90	92	94	96
H1H27762P2	338	340	342	344	90	92	94	96
H1H27766P2	346	348	350	352	90	92	94	96
H1H27771P2	354	356	358	360	362	364	366	368
H1xH27759P2	370	372	374	376	90	92	94	96
H1xH27773P2	378	380	382	384	362	364	366	368
H1xH27778P2	386	388	390	392	362	364	366	368
H1xH29273P2	394	396	397	400	90	92	94	96
H1xH29282P2	402	404	406	408	90	92	94	96
H1xH29283P2	410	412	414	416	90	92	94	96
H2M21229N	420	422	424	426	428	430	432	434
H2M21230N	436	438	440	442	444	446	448	450
H2M21232N	452	454	456	458	460	462	464	466

表5:核酸配列識別子

【表８】

	配列番号：							
抗体表記	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1H21227N	1	3	5	7	9	11	13	15
H1H21228N	17	19	21	23	25	27	29	31
H1H21231N	33	35	37	39	41	43	45	47
H1H21234N	49	51	53	55	57	59	61	63
H1H21235N	65	67	69	71	73	75	77	79
H1H25685N	81	83	85	87	89	91	93	95
H1H25690N	97	99	101	103	105	107	109	111
H1H25695N	113	115	117	119	121	123	125	127
H1H25700N	129	131	133	135	137	139	141	143
H1H27729P	145	147	149	151	153	155	157	159
H1H27731P	161	163	165	167	169	171	173	175
H1H27732P	177	179	181	183	185	187	189	191
H1H27734P	193	195	197	199	201	203	205	207
H1H27736P	209	211	213	215	217	219	221	223
H1H27739P	225	227	229	231	233	235	237	239
H1H27747P	241	243	245	247	249	251	253	255
H1H27749P	257	259	261	263	265	267	269	271
H1H27751P	273	275	277	279	281	283	285	287
H1H27754P	289	291	293	295	297	299	301	303
H1H27756P	305	307	309	311	313	315	317	319
H1H27760P2	321	323	325	327	89	91	93	95
H1H27761P2	329	331	333	335	89	91	93	95
H1H27762P2	337	339	341	343	89	91	93	95
H1H27766P2	345	347	349	351	89	91	93	95
H1H27771P2	353	355	357	359	361	363	365	367
H1xH27759P2	369	371	373	375	89	91	93	95
H1xH27773P2	377	379	381	383	361	363	365	367
H1xH27778P2	385	387	389	391	361	363	365	367

	配列番号：							
抗体表記	HCVR	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCVR	LCDR1	LCDR2	LCDR3
H1xH29273P2	393	395	397	399	89	91	93	95
H1xH29282P2	401	403	405	407	89	91	93	95
H1xH29283P2	409	411	413	415	89	91	93	95
H2M21229N	419	421	423	425	427	429	431	433
H2M21230N	435	437	439	441	443	445	447	449
H2M21232N	451	453	455	457	459	461	463	465

【０４４５】

抗体は、通常、本明細書において、表4及び5に示されているように、以下の命名法に従って呼ばれる: Fc接頭辞(例えば、「H1H」、「H2aM」など)、次に、数字の識別子(例えば、「21227」、「21228」、「21231」など)、次に、「P」、「N」、又は「P2」接尾辞。したがって、この命名法によれば、抗体は、本明細書において、例えば、「H1H21227N」、「H2aM21228N」、「H1H27729P」、「H1H27760P2」などと呼ぶことができる。本明細書で使用される抗体表記上の接頭辞は、抗体の特定のFc領域アイソタイプを示す。特に、「H1H」抗体は、ヒトIgG1 Fcを有する(抗体表記中の最初の「H」によって表されているように、全ての可変領域が完全ヒトである)が、「H2aM」抗体は、マウスIgG2a Fcを有する。当業者によって理解されるように、特定のFcアイソタイプを有する抗体を、異なるFcアイソタイプを有する抗体に変換することができる(例えば、マウスIgG4 Fcを有する抗体を、ヒトIgG1を有する抗体に変換することができる、など)が、いずれにしても、可変ドメイン(CDRを含む)－これは、表4及び5に示される数字の識別子によって示されている－は同じ状態のままであり、その結合特性は、Fcドメインの性質にかかわらず、同一であるか又は実質的に類似していると考えられる。

【０４４６】

抗体修飾。実施例1に記載される3つの抗MSR1抗体(21227N、21231N、21234N)は、もとのヒトFcγ部分、及び3つ全ての抗MSR1抗体についてのN297Q単一点突然変異を有するバージョンを伴って産生された。本明細書に記載される全ての他の抗体は、ヒトFcγ部分中のN297Q単一点突然変異を伴って作製された。第三のバージョンであるN297D突然変異は、21227N抗体のみについて産生した。

【０４４７】

(実施例3.表面プラズモン共鳴から得られたヒトモノクローナル抗MSR1抗体の結合親和性及び反応速度定数)

様々なMSR1試薬に対するヒト抗MSR1抗体の結合親和性及び反応速度定数をリアルタイム表面プラズモン共鳴(Biacore 4000)によって決定した。結合試験は全て、10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA、及び0.05%v/v界面活性剤Tween-20、pH 7.4(HBS-ET)泳動バッファー中、25℃及び37℃で実施した。まず、Biacore CM4センサーチップ表面をヤギ抗ヒトFcγ特異的ポリクローナル抗体(Jackson ImmunoResearch Laboratories, Cat# BR-1008-39)とのアミンカップリングにより誘導体化して、抗MSR1モノクローナル抗体を捕捉した。結合試験は、N-末端ノナヒスチジンタグとともに発現されたヒトMSR1細胞外ドメイン(His9-hMSR1; R&D Systems, Cat# 2708-MS)、及びN-末端ヘキサヒスチジン-myc-mycタグとともに発現されたサルMSR1細胞外ドメイン(HMM-mfMSR1;配列番号418)に対して実施した。まず、様々な濃度のHis9-hMSR1及びHMM-mfMSR1(100nM～3.7nM; 3倍連続希釈)をHBS-ET泳動バッファー中で調製し、抗ヒトFcγ捕捉抗MSR1モノクローナル抗体表面に、30μL/分の流速で3分間注入し、一方、モノクローナル抗体に結合したMSR1試薬の解離をHBS-ET泳動バッファー中で10分間モニタ

リングした。

【０４４８】

リアルタイム結合センサーグラムを、Scrubber 2.0c曲線フィッティングソフトウェアを用いて、物質移動制限を有する1:1結合モデルにフィッティングさせることにより、会合速度(k_a)及び解離速度(k_d)を決定した。結合解離平衡定数(K_D)及び解離半減期($t^1/_2$)を、以下のように反応速度から計算した:

【数１】

$$K_D\,(\mathrm{M}) = \frac{kd}{ka}\text{, 及び } t½\,(\text{分}) = \frac{\ln(2)}{60 * kd}$$

。

【０４４９】

25℃及び37℃での様々な抗MSR1モノクローナル抗体に対するHis9-hMSR1又はHMM-mfMSR1結合についての結合反応速度パラメータは、それぞれ、表6及び7に示されている。

表6: 25℃での抗MSR1 mAbのBiacore結合親和性

【表９】

25 °C での結合/抗体–捕捉フォーマット					
抗体	分析物	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (モル濃度)	t½ (分)
H1H21227N-N297Q	His9-hMSR1	1.23E+06	4.89E-05	3.97E-11	236
	HMM-mfMSR1	1.36E+06	7.51E-05	5.53E-11	154
H1H21227N-N297D	His9-hMSR1	1.14E+06	3.79E-05	3.33E-11	305
	HMM-mfMSR1	1.35E+06	4.03E-05	2.99E-11	287
H1H21231N-N297Q	His9-hMSR1	3.99E+05	5.88E-05	1.47E-10	196
	HMM-mfMSR1	2.40E+05	9.03E-05	3.76E-10	128
H1H21234N-N297Q	His9-hMSR1	4.97E+05	1.00E-05*	2.01E-11	1155
	HMM-mfMSR1	4.08E+05	1.95E-05	4.66E-11	593
H1H27729P-N297Q	His9-hMSR1	1.97E+05	1.07E-03	5.45E-09	11
	HMM-mfMSR1	2.69E+05	2.12E-03	7.90E-09	5

25 °C での結合/抗体−捕捉フォーマット					
抗体	分析物	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (モル濃度)	t½ (分)
H1H27731P-N297Q	His9-hMSR1	1.29E+05	2.24E-05	1.74E-10	515
	HMM-mfMSR1	9.82E+04	4.69E-05	4.77E-10	247
H1H27732P-N297Q	His9-hMSR1	1.25E+05	1.00E-05*	8.01E-11	1155
	HMM-mfMSR1	1.28E+05	3.17E-05	2.48E-10	364
H1H27734P-N297Q	His9-hMSR1	4.20E+05	1.11E-03	2.64E-09	10
	HMM-mfMSR1	4.23E+05	2.91E-03	6.88E-09	4
H1H27736P-N297Q	His9-hMSR1	5.15E+05	2.31E-04	4.48E-10	50
	HMM-mfMSR1	4.64E+05	5.87E-04	1.27E-09	20
H1H27739P-N297Q	His9-hMSR1	3.75E+05	1.03E-03	2.74E-09	11
	HMM-mfMSR1	3.52E+05	1.44E-04	4.10E-10	80
H1H27747P-N297Q	His9-hMSR1	2.43E+05	6.52E-04	2.69E-09	18
	HMM-mfMSR1	2.31E+05	8.74E-04	3.78E-09	13
H1H27749P-N297Q	His9-hMSR1	3.18E+05	1.76E-05	5.54E-11	656
	HMM-mfMSR1	2.49E+05	4.27E-05	1.71E-10	271
H1H27751P-N297Q	His9-hMSR1	1.78E+06	3.05E-04	1.72E-10	38
	HMM-mfMSR1	7.44E+05	7.49E-04	1.01E-09	15
H1H27754P-N297Q	His9-hMSR1	2.90E+05	1.00E-05*	3.44E-11	1155
	HMM-mfMSR1	2.35E+05	1.76E-05	7.50E-11	657
H1H27756P-N297Q	His9-hMSR1	3.00E+05	1.22E-04	4.06E-10	94
	HMM-mfMSR1	3.58E+05	2.44E-03	6.81E-09	5
H1H27760P-N297Q	His9-hMSR1	4.54E+05	9.09E-04	2.00E-09	13
	HMM-mfMSR1	3.63E+05	7.01E-04	1.93E-09	16
H1H27759P-N297Q	His9-hMSR1	5.99E+05	1.22E-03	2.03E-09	9
	HMM-mfMSR1	4.17E+05	9.19E-04	2.20E-09	13
H1H27761P-N297Q	His9-hMSR1	3.12E+05	5.10E-04	1.63E-09	23
	HMM-mfMSR1	3.18E+05	5.97E-04	1.88E-09	19
H1H27762P-N297Q	His9-hMSR1	9.89E+05	1.83E-03	1.85E-09	6
	HMM-mfMSR1	1.25E+06	1.99E-03	1.59E-09	6
H1H27766P-N297Q	His9-hMSR1	2.34E+05	1.86E-05	7.96E-11	620
	HMM-mfMSR1	1.57E+05	7.94E-05	5.06E-10	145
H1H27771P-N297Q	His9-hMSR1	6.86E+05	9.58E-04	1.40E-09	12
	HMM-mfMSR1	5.19E+05	5.26E-03	1.01E-08	2.2
H1H27773P-N297Q	His9-hMSR1	6.58E+05	2.63E-03	3.99E-09	4
	HMM-mfMSR1	6.43E+05	1.96E-03	3.05E-09	6
H1H27778P-N297Q	His9-hMSR1	5.75E+05	3.94E-04	6.85E-10	29
	HMM-mfMSR1	4.67E+05	1.36E-03	2.91E-09	8
H1H21234N	His9-hMSR1	6.04E+05	1.00E-05*	1.66E-11	1155
	HMM-mfMSR1	3.36E+05	1.00E-05*	2.98E-11	1155
H1H21231N	His9-hMSR1	4.77E+05	1.00E-05*	2.10E-11	1155
	HMM-mfMSR1	2.74E+05	6.39E-05	2.33E-10	181
H1H21227N	His9-hMSR1	1.20E+06	1.44E-05	1.20E-11	800
	HMM-mfMSR1	1.27E+06	4.41E-05	3.48E-11	262
非結合性対照	His9-hMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
	HMM-mfMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$

*は、現在の実験条件下でHis9-hMSR1又はHMM-mfMSR1の解離が観察されず、データをフィッティングする間、k_d値が手動で1.00E-05に固定されたことを示している。
$は、結合が現在の実験条件下では観察されなかったことを示している。
表7: 37℃での抗MSR1 mAbのBiacore結合親和性

【表１０】

37 °C での結合/抗体−捕捉フォーマット					
抗体	分析物	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (モル濃度)	t½ (分)
H1H21227N-N297Q	His9-hMSR1	2.67E+06	1.23E-05	4.60E-12	941
	HMM-mfMSR1	2.74E+06	1.08E-05	3.95E-12	1069
H1H21227N-N297D	His9-hMSR1	2.73E+06	1.00E-05*	3.66E-12	1155
	HMM-mfMSR1	2.68E+06	2.42E-05	9.03E-12	477
H1H21231N-N297Q	His9-hMSR1	5.34E+05	1.15E-04	2.15E-10	101
	HMM-mfMSR1	5.87E+05	1.09E-04	1.86E-10	106
H1H21234N-N297Q	His9-hMSR1	7.87E+05	1.00E-05*	1.27E-11	1155
	HMM-mfMSR1	7.50E+05	1.00E-05*	1.33E-11	1155
H1H27729P-N297Q	His9-hMSR1	2.39E+05	2.04E-03	8.53E-09	6
	HMM-mfMSR1	4.07E+05	3.49E-03	8.58E-09	3.3
H1H27731P-N297Q	His9-hMSR1	2.86E+05	1.32E-04	4.62E-10	88
	HMM-mfMSR1	2.78E+05	1.87E-04	6.74E-10	62
H1H27732P-N297Q	His9-hMSR1	2.81E+05	3.12E-05	1.11E-10	370
	HMM-mfMSR1	3.34E+05	1.06E-04	3.17E-10	109
H1H27734P-N297Q	His9-hMSR1	1.09E+06	1.90E-03	1.74E-09	6
	HMM-mfMSR1	9.49E+05	3.20E-03	3.37E-09	4
H1H27736P-N297Q	His9-hMSR1	1.02E+06	7.33E-04	7.17E-10	16
	HMM-mfMSR1	2.01E+06	1.28E-03	6.37E-10	9
H1H27739P-N297Q	His9-hMSR1	7.76E+05	2.88E-03	3.72E-09	4
	HMM-mfMSR1	2.25E+06	8.42E-04	3.74E-10	14
H1H27747P-N297Q	His9-hMSR1	5.13E+05	2.76E-03	5.37E-09	4
	HMM-mfMSR1	6.57E+05	2.28E-03	3.47E-09	5
H1H27749P-N297Q	His9-hMSR1	4.97E+05	2.42E-04	4.86E-10	48
	HMM-mfMSR1	4.77E+05	1.72E-04	3.61E-10	67
H1H27751P-N297Q	His9-hMSR1	1.45E+06	9.43E-04	6.50E-10	12
	HMM-mfMSR1	1.17E+06	1.80E-03	1.55E-09	6
H1H27754P-N297Q	His9-hMSR1	6.63E+05	2.53E-05	3.81E-11	457
	HMM-mfMSR1	7.01E+05	3.53E-05	5.04E-11	327
H1H27756P-N297Q	His9-hMSR1	6.63E+05	7.71E-04	1.16E-09	15
	HMM-mfMSR1	8.02E+05	3.19E-03	3.97E-09	4
H1H27760P-N297Q	His9-hMSR1	1.08E+06	1.89E-03	1.74E-09	6
	HMM-mfMSR1	1.52E+06	1.59E-03	1.05E-09	7
H1H27759P-N297Q	His9-hMSR1	1.03E+06	2.30E-03	2.24E-09	5
	HMM-mfMSR1	1.46E+06	1.88E-03	1.28E-09	6
H1H27761P-N297Q	His9-hMSR1	6.81E+05	2.22E-03	3.26E-09	5
	HMM-mfMSR1	9.20E+05	2.14E-03	2.32E-09	5
H1H27762P-N297Q	His9-hMSR1	3.06E+06	1.96E-03	6.40E-10	6
	HMM-mfMSR1	2.82E+06	1.97E-03	6.98E-10	6
H1H27766P-N297Q	His9-hMSR1	3.40E+05	7.72E-05	2.27E-10	150
	HMM-mfMSR1	3.43E+05	5.89E-04	1.72E-09	20
H1H27771P-N297Q	His9-hMSR1	1.35E+06	2.04E-03	1.51E-09	6
	HMM-mfMSR1	4.94E+05	9.07E-03	1.84E-08	1.3

37 °C での結合/抗体–捕捉フォーマット					
抗体	分析物	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (モル濃度)	t½ (分)
H1H27773P-N297Q	His9-hMSR1	9.19E+05	3.07E-03	3.34E-09	4
	HMM-mfMSR1	9.60E+05	5.06E-03	5.27E-09	2.3
H1H27778P-N297Q	His9-hMSR1	1.19E+06	6.55E-04	5.49E-10	18
	HMM-mfMSR1	1.19E+06	1.25E-03	1.05E-09	9
H1H21234N	His9-hMSR1	6.76E+05	1.00E-05*	1.48E-11	1155
	HMM-mfMSR1	7.26E+05	1.00E-05*	1.38E-11	1155
H1H21231N	His9-hMSR1	7.02E+05	9.09E-05	1.30E-10	127
	HMM-mfMSR1	7.12E+05	7.82E-05	1.10E-10	148
H1H21227N	His9-hMSR1	2.56E+06	1.85E-05	7.24E-12	624
	HMM-mfMSR1	2.76E+06	1.00E-05*	3.62E-12	1155
非結合性対照	His9-hMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
	HMM-mfMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$

*は、現在の実験条件下でHis9-hMSR1又はHMM-mfMSR1の解離が観察されず、データをフィッティングする間、k_d値が手動で1.00E-05に固定されたことを示している。
$は、結合が現在の実験条件下では観察されなかったことを示している。

【０４５０】

表6に示されているように、25℃で、本発明の抗MSR1モノクローナル抗体は全て、12pM～5.45nMの範囲のK_D値で、His9-hMSR1に結合した。表7に示されているように、37℃で、本発明の抗MSR1モノクローナル抗体は全て、3.66pM～8.53nMの範囲のK_D値で、His9-hMSR1に結合した。

【０４５１】

表6に示されているように、25℃で、本発明の抗MSR1モノクローナル抗体は全て、29.9pM～10.1nMの範囲のK_D値で、HMM-mfMSR1に結合した。表7に示されているように、37℃で、本発明の抗MSR1モノクローナル抗体は全て、3.62pM～18.4nMの範囲のK_D値で、HMM-mfMSR1に結合した。

【０４５２】

(実施例4. Octetから得られたヒトモノクローナル抗MSR1抗体の結合親和性及び反応速度定数)

様々なMSR1試薬に対するヒト抗MSR1抗体の結合親和性及び反応速度定数を、OCTET(登録商標) HTXバイオセンサープラットフォーム(Pall ForteBio社, Menlo Park, CA)でのリアルタイム無標識バイオレイヤー干渉法アッセイを用いて決定した。実験は、1000rpmの速度でプレートを振盪させながら、10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA、0.05%v/v界面活性剤Tween-20、及び1mg/mL BSA、pH7.4(HBS-EBT)バッファー中、25℃で実施した。結合試験は、N-末端ノナヒスチジンタグとともに発現されたヒトMSR1細胞外ドメイン(His9-hMSR1; R&D Systems, Cat# 2708-MS)、N-末端ヘキサヒスチジン-myc-mycタグとともに発現されたサルMSR1細胞外ドメイン(HMM-mfMSR1;配列番号418)、及びN-末端ノナヒスチジンタグとともに発現されたマウスMSR1細胞外ドメイン(His9-mMSR1; R&D Systems, Cat# 1797-MS)に対して実施した。抗ヒトFc(AHC)又は抗マウスFc(AMC) Octetバイオセンサーのいずれかを、5μg/mL又は10μg/mLの抗MSR1モノクローナル抗体を含有するウェルに45～90秒間浸漬させることにより、抗MSR1モノクローナル抗体を捕捉した。その後、AHC捕捉抗MSR1モノクローナル抗体を、50nMのHis9-mMSR1を含有するウェルに浸漬させ、一方、AMC捕捉抗MSR1モノクローナル抗体を、様々な濃度のHis9-hMSR1もしくはHMM-mfMSR1(100nM、25nM)又は100nM His9-mMSR1を含有するウェルに浸漬させた。捕捉された抗MSR1モノクローナル抗体に対する様々なMSR1試薬の結合を4分間測定し、モノクローナル抗体に結合したMSR1試薬の解離をHBS-EBTバッファー中で8～10分間モニタリングした。

【０４５３】

リアルタイム結合センサーグラムを、Scrubber 2.0c曲線フィッティングソフトウェアを用いて、物質移動制限を有する1:1結合モデルにフィッティングさせることにより、会合速度(k_a)及び解離速度(k_d)を決定した。結合解離平衡定数(K_D)及び解離半減期($t^1/_2$)を、以下のように反応速度から計算した:

【数２】

$$K_D\,(M) = \frac{kd}{ka}\text{, 及び } t½\,(分) = \frac{\ln(2)}{60 * kd}$$

。

【０４５４】

25℃での本発明の様々な抗MSR1モノクローナル抗体に対するHis9-hMSR1、HMM-mfMSR1、又はHis9-mMSR1結合についての結合反応速度パラメータは、表8及び9に示されている。

表8: 25℃での抗MSR1 mAbのOCTET(登録商標)結合親和性

【表１１】

25 °C での結合/抗体−捕捉フォーマット					
抗体	分析物	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (モル濃度)	t½ (分)
H2aM21228N	His9-hMSR1	1.22E+05	1.16E-04	9.54E-10	100
	HMM-mfMSR1	1.00E+05	1.46E-04	1.45E-09	79
H2aM21229N	His9-hMSR1	3.00E+05	2.10E-04	7.00E-10	55
	HMM-mfMSR1	1.35E+05	2.22E-03	1.64E-08	5
H2aM21230N	His9-hMSR1	6.47E+05	2.87E-04	4.43E-10	40
	HMM-mfMSR1	2.37E+05	3.76E-04	1.59E-09	31
H2aM21232N	His9-hMSR1	1.30E+05	2.86E-04	2.20E-09	40
	HMM-mfMSR1	9.75E+04	3.27E-04	3.35E-09	35
H2aM21235N	His9-hMSR1	1.21E+05	4.58E-05	3.78E-10	252
	HMM-mfMSR1	1.02E+05	6.27E-05	6.12E-10	184
H2aM25700N	His9-hMSR1	5.58E+05	1.14E-04	2.05E-10	101
	HMM-mfMSR1	5.53E+05	1.15E-04	2.08E-10	100
H2aM25690N	His9-hMSR1	2.29E+05	3.11E-04	1.36E-09	37
	HMM-mfMSR1	1.64E+05	5.47E-04	3.35E-09	21
H2aM25695N	His9-hMSR1	3.60E+05	5.27E-04	1.46E-09	22
	HMM-mfMSR1	3.12E+05	5.71E-04	1.83E-09	20
H2aM25685N	His9-hMSR1	2.01E+05	3.97E-04	1.98E-09	29
	HMM-mfMSR1	6.49E+04	1.28E-03	1.97E-08	9
mIgG アイソタイプ対照	His9-hMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
	HMM-mfMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$

$は、結合が現在の実験条件下では観察されなかったことを示している。

表9: 25℃での抗MSR1 mAbのOCTET(登録商標)結合親和性

【表１２】

25 °C での結合/抗体–捕捉フォーマット					
抗体	分析物	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (モル濃度)	t½ (分)
H2aM21228N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM21229N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM21230N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM21232N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM21235N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM25700N	His9-mMSR1	3.60E+04	1.85E-04	5.20E-09	63
H2aM25690N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM25695N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H2aM25685N	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
mIgGアイソタイプ対照	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H21227N-N297Q	His9-mMSR1	3.74E+05	7.08E-04	1.89E-09	16
H1H21227N-N297D	His9-mMSR1	4.61E+05	7.86E-04	1.71E-09	15
H1H21231N-N297Q	His9-mMSR1	IC#	IC#	IC#	IC#
H1H21234N-N297Q	His9-mMSR1	3.82E+04	5.00E-05*	1.31E-09	231
H1H27729P N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27731P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27732P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27734P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27736P-N297Q	His9-mMSR1	IC#	IC#	IC#	IC#
H1H27739P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27747P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27749P-N297Q	His9-mMSR1	IC#	IC#	IC#	IC#
H1H27751P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27754P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27756P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27760P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27759P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27761P-N297Q	His9-mMSR1	IC#	IC#	IC#	IC#
H1H27762P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27766P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27771P-N297Q	His9-mMSR1	IC#	IC#	IC#	IC#
H1H27773P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H27778P-N297Q	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$
H1H21234N	His9-mMSR1	4.60E+04	5.00E-05*	1.09E-09	231
H1H21231N	His9-mMSR1	IC#	IC#	IC#	IC#
H1H21227N	His9-mMSR1	4.15E+05	8.16E-04	1.97E-09	14
非結合性対照	His9-mMSR1	NB$	NB$	NB$	NB$

*は、現在の実験条件下でHis9-hMSR1の解離が観察されず、データをフィッティングする間、k_d値が手動で5.00E-05に固定されたことを示している。
$は、結合が現在の実験条件下では観察されなかったことを示している。
#は、結合データが確定的でない(IC)ことを示している。

【０４５５】

表8に示されているように、抗MSR1モノクローナル抗体は、205pM～2.2nMの範囲のK_D値で、His9-hMSR1に結合した。表8に示されているように、抗MSR1モノクローナル抗体は、208pM～19.7nMの範囲のK_D値で、HMM-mfMSR1に結合した。

【０４５６】

表9に示されているように、35個の抗MSR1モノクローナル抗体のうちの23個はHis9-mMSR1に結合せず、一方、6個の抗MSR1モノクローナル抗体の結合データは確定的でなかった。35個の抗MSR1モノクローナル抗体のうちの6個(6)は、表9に示されているように、1.09nM～5.2nMの範囲のK_D値で、His9-mMSR1に結合した。

【０４５７】
(実施例5.抗MSR1抗体は細胞表面発現ヒト及びサルMSR1に対する特異的結合を示す)
ヒト又はサルMSR1発現細胞に結合する抗MSR1モノクローナル抗体の能力を、電気化学発光(ECL)に基づく検出を用いて決定した。
【０４５８】
MSR1発現細胞株の作製。ヒトMSR1又はサルMSR1のいずれかを過剰発現する2つの細胞株を作製した。ヒトMSR1を過剰発現する細胞株を作製するために、ヒト胎児腎臓(HEK)293 細胞を、C-末端Mycタグを有する全長ヒトMSR1(hMSR1、アクセッション番号NP_619729.1のアミノ酸M1～L451)をコードするハイグロマイシン耐性レンチウイルスベクターの形質導入により改変した。得られた細胞株は、HEK293.Myc.hMSR1と呼ばれる。同様に、サルMSR1を過剰発現する細胞株を作製するために、HEK293細胞を、全長サルMSR1(カニクイザル、mfMSR1、アクセッション番号XP_005562705.1のアミノ酸M1～L451)をコードするジェネティシン耐性発現プラスミドのトランスフェクションにより改変した。得られた細胞株は、HEK293.mfMSR1細胞と呼ばれる。内在性に発現されたヒトMSR1に結合する抗体の能力を測定するために、THP-1ヒト単球細胞を200nMのホルボール 12-ミリスチン酸 13-アセテート(PMA; Sigma, Cat # P8139)で72時間処理して、抗体結合前に、高MSR1発現を誘導した。トランスフェクトされていないHEK293細胞は、遺伝子発現の次世代シークエンシングによってMSR1の発現が検出されないので、これも非特異的結合対照として含めた(データは示さない)。
【０４５９】
抗体結合アッセイ。抗体結合アッセイを実施するために、上記の細胞株の各々由来の細胞を、Ca^{2+}/Mg^{2+}を含まないPBSバッファー中で1回すすぎ、酵素非含有細胞溶解溶液(Millipore, Cat. # S-004-C, Burlington, MA)とともに37℃で5分間インキュベートして、細胞をフラスコから剥離させた。全ての細胞を、Ca^{2+}/Mg^{2+}を含む1×PBSで1回洗浄し、Cellometer(商標) Auto T4細胞カウンター(Nexcelom Bioscience)で計数した。約1.0×10^4個の細胞を96-ウェル炭素電極プレート[MULTI-ARRAY高結合プレート、Meso Scale Diagnostics]上に別々播種し、37℃で1時間インキュベートした。その後、非特異的結合部位を、Ca^{2+}/Mg^{2+}を含むPBS中の2%BSA(w/v)により、室温で1時間遮断した。THP-1細胞を試中で料希釈バッファー: 1)THP-1細胞表面のFcγ受容体を遮断する1mg/mLのFc受容体遮断試薬[抗MSR1-mFc抗体を用いて試験されているウェルについては、全分子ヒトIgG(Jackson Immunoresearch, Cat #009-000-003)、又は2)抗MSR1-hFc抗体を用いて試験されているウェルについては、全分子mIgG(Jackson Immunoresearch, Cat #015-000-003)とともに、室温で0.5時間プレインキュベートした。HEK293.Myc.hMSR1、HEK293.mfMSR1、及びHEK293細胞上での抗体結合をFc受容体遮断試薬なしで試験した。プレートに結合したHEK293.Myc.hMSR1、HEK293.mfMSR1、及びHEK293細胞又はTHP-1＋Fcブロックに、1.7pM～100nMの範囲の連続希釈液中の抗MSR1又は対照抗体の溶液、及び抗体が存在しない溶液を2連で添加し、プレートを室温で1時間インキュベートした。その後、プレートを洗浄し、細胞洗浄ヘッドを有するAquaMax 2000プレートウォッシャー(MDS Analytical Technologies)により、結合していない抗体を除去した。プレートに結合した抗体を、Fcγ断片に特異的なSULFO-TAG(商標)コンジュゲートヤギポリクローナル抗ヒトIgG抗体 (Jackson Immunoresearch, Cat #109-005-098)又はFcγ断片に特異的なSULFO-TAG(商標)コンジュゲートヤギポリクローナル抗マウスIgG抗体(Jackson Immunoresearch, Cat #115-005-164)のいずれかで、室温で1時間検出した。プレートを洗浄し、製造元の推奨する手順に従って読取りバッファー(Meso Scale Diagnostics, Cat # R92TD-2)で顕色させ、発光シグナルをSECTOR Imager 600(Meso Scale Diagnostics)で記録した。相対発光単位(RLU)で測定された発光強度を記録して、各々の抗体の結合強度を濃度の範囲で示した。アイソタイプ対照抗体と比較した各々の抗MSR抗体(どちらも11nM)の細胞表面結合について検出されたシグナルの比をMSR1結合の特異性を示すものとして報告した。親HEK293細胞上での比と比較してMSR-1発現細胞上で2以上の結合比を有する抗体を特異的バインダーとして分類した

。親HEK293細胞上での比と比較して2未満の結合比を有する抗体を示されているような非バインダーとして分類した(表10を参照)。

表10: MSR1発現細胞に対する抗MSR1抗体の結合

【表１３】

抗体	MSR1発現細胞及び親HEK293上の11nM抗体結合シグナル(RLU)とアイソタイプ対照との比			
	HEK293.Myc.hMSR1	PMA 処理したTHP-1	HEK293.mfMSR1	HEK293
特異的なヒト及びサルMSR1バインダー				
H1H21227N-N297Q	37	5	23	1
H1H21227N-N297D	34	6	25	1
H1H21227N	37	7	26	1
H1H21231N-N297Q	64	45	69	4
H1H21231N	61	42	75	<1
H1H21234N-N297Q	43	25	35	9
H1H21234N	32	18	31	3
H1H27729P-N297Q	17	8	6	3
H1H27731P-N297Q	48	38	43	7
H1H27732P-N297Q	72	56	46	6
H1H27734P-N297Q	40	21	28	14
H1H27736P-N297Q	58	48	45	12
H1H27739P-N297Q	22	9	20	1
H1H27747P-N297Q	26	13	21	5
H1H27749P-N297Q	27	33	24	3
H1H27751P-N297Q	63	54	49	15
H1H27754P-N297Q	55	66	53	18
H1H27756P-N297Q	38	21	20	6
H1H27759P2-N297Q	23	9	25	2
H1H27760P2-N297Q	29	15	25	3
H1H27761P2-N297Q	23	10	15	3
H1H27762P2-N297Q	33	11	25	3
H1H27771P2-N297Q	42	21	7	2
H1H27773P2-N297Q	5	3	10	2
H1H27778P2-N297Q	51	32	29	4
H1xH27759P2	22	6	21	<1
H1xH29283P2	26	9	24	1
H2aM25685N	75	11	25	2
H2aM25690N	166	25	77	5
H2aM25695N	35	8	45	5
H2aM25700N	46	3	39	1
H2aM21228N	66	16	60	2

抗体	MSR1発現細胞及び親HEK293上の11nM抗体結合シグナル(RLU)とアイソタイプ対照との比			
	HEK293.Myc.hMSR1	PMA処理したTHP-1	HEK293.mfMSR1	HEK293
H2aM21230N	78	21	55	5
H2aM21232N	86	21	51	1
H2aM21235N	68	20	40	6
特異的なヒトMSR1のみのバインダー				
H2aM21229N	78	56	27	36
H1xH29282P2	9	3	1	<1
H1H27766P2-N297Q	20	9	13	8
非特異的バインダー				
H1xH29273P2	20	24	27	
アイソタイプ対照				
hIgG1 アイソタイプ対照	1	1	1	1
mIgG アイソタイプ対照	1	1	1	1

【０４６０】

表10に示されているように、試験された39個の抗MSR1抗体のうちの38個は、11nMの抗MSR1抗体濃度で、アイソタイプ対照を上回る5～166倍の範囲の結合比でHEK293.Myc.hMSR1細胞に特異的に結合した。これらの抗MSR1抗体のうちの33個は、PMA細胞分化の後、11nMで、アイソタイプを上回る3～66倍の範囲の細胞結合比で、ヒトMSR1を内在性に発現するTHP-1細胞に特異的に結合した。改変hMSR1細胞に結合した35個の抗MSR1抗体は、11nMで、アイソタイプを上回る6～77倍の範囲の細胞結合比で、mfMSR1改変細胞にも特異的に結合した。12個の抗MSR1抗体(H1H21234N-N297Q、H1H27731P-N297Q、H1H27732P-N297Q、H1H27734P-N297Q、H1H27736P-N297Q、H1H27751P-N297Q、H1H27754P-N297Q、H1H27756P-N297Q、H2aM25695N、H2aM21235N、H2aM21229N、H1H27766P2-N297Q)は、アイソタイプ対照よりも5倍以上大きい比で親HEK293細胞に結合した。N297Q又はN297D単一点突然変異を含有するヒトIgG1を伴って産生された抗MSR1抗体は、その対応する未修飾の親抗体と同程度の細胞に結合した。

【０４６１】

H1xH29273P2という1つの抗MSR1抗体は、11nMの抗体濃度で、HEK293細胞と比較して2未満の比でMSR1細胞に結合したので、非特異的バインダーとして特徴付けられた。hIgG1及びmIgG1アイソタイプ対照は、予想通り、特異的ではなかった。

【０４６２】

(実施例6.細胞表面発現マウスMSR1に対する抗MSR1抗体の相対的結合)

マウスMSR1発現細胞に対する抗MSR1抗体の相対的細胞表面結合を、MSR1陽性RAW264.7細胞(ATCC、カタログ#TIB-71)及びMSR1陰性B16F10.9細胞(Linらの文献、1998. PNAS 95:8829-8834)を用いるフローサイトメトリーにより決定した。このアッセイのために、細胞を、96ウェルV底プレート(Axygen Scientific, Cat# P-96-450-V-C-S)中のカルシウム及びマグネシウム(VWR Cat# 45000-446)並びに2%FBS(Saradigm Cat# 1500-500)を含まないPBS(染色バッファー)中にプレーティングした。Fc受容体への結合を遮断するために、RAW264.7細胞を染色バッファー中で500μg/mLのマウスIgG(

Jackson ImmunoResearch,Cat# 015-000-003)とともに4℃で30分間インキュベートし、一方、B16F10.9細胞は、染色バッファー中に残っていた。Fc受容体遮断の後、10μg/mLの抗MSR1抗体又はアイソタイプ対照抗体を細胞に添加し、その後、氷上で30分間インキュベートした。陽性対照については、市販の抗マウスMSR1(Sino Biological, Cat# 50129-R004)抗体を使用し、一方、ウサギIgG抗体(Thermo Scientific, Cat# 26102)を陰性対照として使用した。その後、細胞を染色バッファーで1回洗浄し、10μg/mLのAPCコンジュゲート抗ヒトFc二次抗体(Jackson ImmunoResearch, Cat# 109-136-170)又はAlexa-Flour 647コンジュゲート抗ウサギFc二次抗体[Jackson ImmunoResearch Cat# 111-606-046]とともに、4℃で30分間インキュベートした。その後、細胞を洗浄し、PBSに希釈したCytofix(BD Biosciences, Cat# 554655)の50%溶液を用いて固定した。試料をBeckman Coulter Cytoflexで泳動させ、結果をFlowjo 10.2ソフトウェア(BD)で解析して、平均蛍光強度(MFI;表11)を計算した。抗MSR1抗体又は対照抗体のMFIと染色されていない試料のMFIの比を計算することにより、シグナル対ノイズ(S/N)を決定した(表11)。

表11: RAW264.7細胞に対する抗MSR1抗体の結合(フローサイトメトリー)

【表１４】

抗体	RAW264.7 MFI	B16F10.9 MFI	RAW264.7 S/N	B16F10.9 S/N
未染色	2524	3657	1	1
抗ヒトIgG二次抗体のみ	3095	3174	1	1
非結合性対照	3402	3829	1	1
H1H21227N-N297Q	12810	3287	5	1
H1H21231N-N297Q	3582	3374	1	1
H1H21234N-N297Q	7052	3499	3	1
抗マウスMSR 抗体	245149	6161	97	2
抗ウサギIgG二次抗体のみ	8720	5389	3	1
H1H27729P-N297Q	3484	3459	1	1
H1H27731P-N297Q	3510	3688	1	1
H1H27732P-N297Q	3425	3730	1	1
H1H27734P-N297Q	4783	4505	1	1
H1H27736P-N297Q	3554	3759	1	1
H1H27739P-N297Q	3271	3580	1	1
H1H27747P-N297Q	3630	3875	1	1
H1H27749P-N297Q	3789	3693	1	1
H1H27751P-N297Q	3823	4992	1	1
H1H27754P-N297Q	5406	4091	1	1
H1H27756P-N297Q	4573	3782	1	1
H1H27759P-N297Q	3288	3425	1	1
H1H27760P-N297Q	3429	3521	1	1
H1H27761P-N297Q	3837	3734	1	1
H1H27762P-N297Q	3519	3608	1	1
H1H27766P-N297Q	3812	3793	1	1
H1H27771P-N297Q	4055	3865	1	1
H1H27773P-N297Q	3367	3735	1	1
H1H27778P-N297Q	3648	4138	1	1

【０４６３】

表11に示されているように、2つの抗MSR1抗体(H1H21227N-N297Q及びH1H21234N-N297Q)は、それぞれ、5及び3のS/N値でRAW264.7細胞に弱く結合した。非結合性の対照抗体は、RAW264.7細胞に結合しなかった。22個の抗MSR1抗体はいずれも、B16F10.9細胞に結合しなかった。参照陽性対照(マウスMSR1/CD204抗体, Sino Biological, Cat. # 50129-R004)は、97のS/NでRaw 264.7細胞に結合した。

【０４６４】

(実施例7.抗MSR1抗体は抗MSR1抗体間のMSR1受容体/交差競合で異なるエピトープに結合する)

様々な抗MSR1抗体間の結合競合を、OCTET(登録商標) HTXバイオセンサープラットフォーム(Pall ForteBio社, Menlo Park, CA)でのリアルタイム無標識バイオレイヤー干渉法アッセイを用いて評価した。実験は、1000rpmの速度でプレートを振盪させながら、10mM HEPES、150mM NaCl、3mM EDTA、0.05%v/v界面活性剤Tween-20、及び1mg/mL BSA、pH7.4(HBS-EBT)バッファー中、25℃で実施した。

【０４６５】

異なる抗体がN-末端ノナヒスチジンタグとともに発現される組換えヒトMSR1細胞外ドメイン(His9-hMSR1; R&D Systems, Cat# 2708-MS)上のそのぞれぞれのエピトープに対する結合について互いに競合することができるかどうかを評価するために、まず、バイオセンサー端部を、His9-hMSR1の20μg/mL溶液を含有するウェルに45秒間浸漬させることにより、約0.59～0.79nMのHis9-hMSR1を抗ペンタ-His抗体がコーティングされたOCTET(登録商標)バイオセンサー端部(Pall ForteBio社, # 18-5122)上で捕捉した。その後、mAb-1の50μg/mL溶液を含有するウェルに4分間浸漬させることにより、抗原が捕捉されたバイオセンサー端部を第一の抗MSR1モノクローナル抗体(以後、「mAb-1」と呼ばれる)で飽和させた。その後、バイオセンサー端部を、第二の抗MSR1モノクローナル抗体(以後、「mAb-2」と呼ばれる)の50μg/mL溶液を含有するウェルに4分間浸漬させた。バイオセンサー端部は全て、実験の各々の工程の合間にHBS-EBTバッファー中で洗浄した。リアルタイム結合応答を実験の経過中モニタリングし、各々の工程の終了時の結合応答を記録した。mAb-1との複合体を予め形成したHis9-hMSR1に対するmAb-2結合の応答を比較し、様々な抗MSR1モノクローナル抗体の競合/非競合挙動を50%阻害閾値を用いて決定した。表12は、結合の順序とは無関係に、両方の方向で競合する抗体の関係性を明示的に規定している。

表12: His9-hMSR1に対する結合についての抗MSR1抗体の交差競合

【表１５】

抗ペンタ-His Octet バイオセンサーを用いて捕捉された一次mAb(mAb-1)	mAb-1と競合するmAb-2抗体	抗ペンタ-His Octet バイオセンサーを用いて捕捉された一次mAb(mAb-1)	mAb-1と競合するmAb-2抗体
H1H27756P-N297Q	H1H21231N	H1H27751P-N297Q	H1H21234N-N297Q
	H1H27760P-N297Q		H1H27734P-N297Q
	H1H27762P-N297Q		H1H27732P-N297Q
	H1H21231N-N297Q		H1H27731P-N297Q
	H1H27747P-N297Q		H1H27754P-N297Q
	H1H27749P-N297Q		H1H27766P-N297Q
H1H21231N	H1H27756P-N297Q		H1H21227N-N297D
	H1H27760P-N297Q	H1H27732P-N297Q	H1H27734P-N297Q
	H1H27762P-N297Q		H1H27751P-N297Q
	H1H21231N-N297Q		H1H27731P-N297Q
	H1H27747P-N297Q		H1H27754P-N297Q
	H1H27749P-N297Q	H1H27731P-N297Q	H1H27734P-N297Q
H1H27760P-N297Q	H1H27756P-N297Q		H1H27751P-N297Q
	H1H21231N		H1H27732P-N297Q
	H1H27762P-N297Q		H1H27754P-N297Q
	H1H21231N-N297Q	H1H27754P-N297Q	H1H27734P-N297Q
	H1H27747P-N297Q		H1H27751P-N297Q

抗ペンタ-His Octet バイオセンサーを用いて捕捉された一次mAb(mAb-1)	mAb-1と競合するmAb-2抗体	抗ペンタ-His Octet バイオセンサーを用いて捕捉された一次mAb(mAb-1)	mAb-1と競合するmAb-2抗体
	H1H27749P-N297Q		H1H27732P-N297Q
H1H27762P-N297Q	H1H27756P-N297Q		H1H27731P-N297Q
	H1H21231N	H1H27761P-N297Q	H1H27736P-N297Q
	H1H27760P-N297Q		H1H27771P-N297Q
	H1H21231N-N297Q		H1H27778P-N297Q
	H1H27747P-N297Q		H1H27773P-N297Q
	H1H27749P-N297Q		H1H27739P-N297Q
	H1H27766P-N297Q	H1H27736P-N297Q	H1H27761P-N297Q
H1H21231N-N297Q	H1H27756P-N297Q		H1H27771P-N297Q
	H1H21231N		H1H27778P-N297Q
	H1H27760P-N297Q		H1H27759P-N297Q
	H1H27762P-N297Q		H1H27773P-N297Q
	H1H27747P-N297Q		H1H27773P-N297Q
	H1H27749P-N297Q	H1H27771P-N297Q	H1H27761P-N297Q
H1H27747P-N297Q	H1H27760P-N297Q		H1H27736P-N297Q
	H1H27762P-N297Q		H1H27778P-N297Q
	H1H21231N-N297Q		H1H27759P-N297Q
H1H27749P-N297Q	H1H27760P-N297Q		H1H27773P-N297Q
	H1H27762P-N297Q		H1H27739P-N297Q
	H1H21231N-N297Q	H1H27778P-N297Q	H1H27761P-N297Q
H1H21234N-N297Q	H1H21234N		H1H27736P-N297Q
H1H21234N	H1H21234N-N297Q		H1H27771P-N297Q
H1H27734P-N297Q	H1H21234N-N297Q		H1H27759P-N297Q
	H1H27751P-N297Q		H1H27773P-N297Q
	H1H27732P-N297Q		H1H27739P-N297Q
	H1H27731P-N297Q	H1H27759P-N297Q	H1H27736P-N297Q
	H1H27754P-N297Q		H1H27771P-N297Q

抗ペンタ-His Octet バイオセンサーを 用いて捕捉された 一次mAb(mAb-1)	mAb-1と競合する mAb-2抗体	抗ペンタ-His Octet バイオセンサーを 用いて捕捉された 一次mAb(mAb-1)	mAb-1と競合する mAb-2抗体
	H1H27766P-N297Q		H1H27778P-N297Q
	H1H21227N-N297D		H1H27773P-N297Q
H1H27766P-N297Q	mAb* なし		H1H27739P-N297Q
H1H21227N-N297D	H1H21234N-N297Q	H1H27773P-N297Q	H1H27749P-N297Q
	H1H21234N		H1H27766P-N297Q
	H1H27766P-N297Q		H1H21227N-N297D
H1H27739P-N297Q	H1H27759P-N297Q	H1H27729P-N297Q	データは確定的でない**
H1H21227N	データは確定的でない**	H1H21227N-N297Q	データは確定的でない**

*は、「mAb-1」として捕捉されたとき、MSR1に対する結合について任意の他のmAbと交差競合しない

**mAbは、MSR1表面を飽和状態にしなかった、又はMSR1表面に結合しなかった

【０４６６】

(実施例8.抗MSR1抗体のリガンド取込み)

MSR1は、修飾低密度リポタンパク質(LDL)を含む、化学修飾された又は改変されたポリアニオン性分子に結合し、それを内在化することができる(Platt, N.及びS. Gordon.の文献、2001. J Clin Invest. 108(5):649-654)。特定のMSR1リガンドの取込みを調節する例示的な抗MSR1抗体の能力を評価するために、バイオアッセイを作製した。

【０４６７】

アッセイ用のMSR1発現細胞株の作製。ヒト胎児腎臓細胞(HEK293)に形質導入して、C-末端Mycタグを有するヒトMSR1(UniProtKBアクセッション番号NP_619729.1のアミノ酸1～451)を安定発現させた。本明細書において「HEK293.Myc.hMSR1」と呼ばれる、得られた細胞株を選択し、10%FBS、NEAA、ペニシリン/ストレプトマイシン、L-グルタミン、及び100μg/mLハイグロマイシンを含有するDMEM中で維持した。

【０４６８】

リガンド取込みアッセイ。バイオアッセイのために、HEK293.Myc.hMSR1細胞を、0.1%FBS、ペニシリン/ストレプトマイシン、及びL-グルタミンを含有するOpti-MEM(アッセイ培地)中、ウェル当たり20,000細胞で、96-ウェルポリ-D-リジンがコートされたアッセイプレート(Greiner Bio One, Cat #655946)上にプレーティングし、37℃、5%CO_2中で一晩インキュベートした。翌日、抗体を300nMから5.08pMまで連続希釈し(1:3連続希釈)、アッセイ培地のみからなる陰性対照と併せて、該細胞とともに37℃、5%CO_2で30分間プレインキュベートした。30分後、過塩素酸1,1'ジオクタデシル-3,3,3',3'-テトラメチルインドカルボシアニンで標識された酸化又はアセチル化低密度リポタンパク質(LDL)(それぞれ、「DiI-OxLDL」又は「DiI-AcLDL」と呼ばれる)のいずれかを10μg/mLの一定濃度で該細胞に添加した。リガンド取込みの用量応答を決定するために、DiI-OxLDL又はDiI-AcLDLを25μg/mLから24.4pg/mLまで連続希釈し(＋LDLなしのアッセイ培地のみ)、抗体なしで細胞に添加した。37℃、5%CO_2で一晩のインキュベーションの後、細胞をBD CytoFix(商標)(BD Biosciences, Cat# 554655)で、4℃で2時間固定し、514nmでの励起及び565nmでの放出でFlexstation3プレートリーダー(Molecular Devices)を用いて、リガンド取込みを評価した。Prism 7プログラムとともに非線形回帰(4-パラメータロジスティックス)を用いて、結果を解析し、EC_{50}及びIC_{50}値を得た。阻害のパーセ

ンテージを、以下の方程式を用いて、相対蛍光単位(RFU)値で計算した:

【数３】

$$最大\ \%\ 阻害 = 100 \times \frac{RLU_{ベースライン} - RLU_{阻害}}{RLU_{ベースライン} - RLU_{バックグラウンド}}$$

。

【０４６９】

この方程式において、「$RFU_{ベースライン}$」は、抗体なしで10μg/mLのリガンドで処理された細胞からの蛍光値であり、「$RFU_{阻害}$」は、10μg/mLのリガンドを用いた特定の抗体についての最小蛍光値であり、「$RFU_{バックグラウンド}$」は、リガンド又は抗体なしの細胞からの蛍光値である。リガンド取込みアッセイの結果及び計算値は、表13に提供されている。

表13: HEK293.Myc.hMSR1細胞におけるDil-OxLDL及びDil-AcLDL取込みの抗体阻害

【表１６】

		Dil-酸化 LDL		Dil-アセチル化 LDL	
列	抗体	% 阻害	IC_{50} (M)	% 阻害	IC_{50} (M)
1	H2aM21227N	90	3.1E-09	62	3.7E-09
2	H2aM21228N	79	3.1E-09	10	>1.0E-07
3	H2aM21229N	26	>1.0E-07	阻害なし	阻害なし
4	H2aM21230N	70	2.3E-09	47	>1.0E-08
5	H1M21231N	79	3.7E-09	50	>2.0E-08
6	H2aM21232N	79	4.8E-09	54	>1.0E-08
7	H2bM21234N	61	4.5E-09	19	1.8E-09
8	H2aM21235N	64	3.2E-09	24	>1.0E-07
9	マウスIgG2aアイソタイプ対照mAb 1	阻害なし	阻害なし	阻害なし	阻害なし
10	マウスIgG1アイソタイプ対照mAb	阻害なし	阻害なし	阻害なし	阻害なし
11	H2aM25685N	43	>1.0E-07	22	>1.0E-07
12	H2aM25690N	83	1.7E-09	53	2.1E-09
13	H2aM25695N	69	>1.6E-08	40	>1.7E-07
14	H2aM25700N	91	2.2E-09	79	2.4E-09

		DiI-酸化 LDL		DiI-アセチル化 LDL	
列	抗体	% 阻害	IC_{50} (M)	% 阻害	IC_{50} (M)
15	マウスIgG2aアイソタイプ対照mAb 2	阻害なし	阻害なし	阻害なし	阻害なし
16	H1H21227N-N297Q	94	1.8E-09	65	2.4E-09
17	H1H21231N-N297Q	88	3.7E-09	62	3.7E-09
18	H1H21234N-N297Q	52	6.1E-09	34	1.3E-09
19	H1H21227N	89	2.0E-09	65	2.1E-09
20	H1H21231N	78	3.6E-09	63	3.5E-09
21	H1H21234N	64	4.3E-09	36	7.1E-10
22	H1H27729P-N297Q	阻害なし	阻害なし	28	1.2E-09
23	H1H27731P-N297Q	62	>1.0E-08	37	1.8E-09
24	H1H27732P-N297Q	86	1.7E-09	62	2.2E-09
25	H1H27734P-N297Q	22	5.5E-09	阻害なし	阻害なし
26	H1H27736P-N297Q	83	3.2E-09	49	3.4E-09
27	H1H27739P-N297Q	55	>1.0E-07	阻害なし	阻害なし
28	H1H27747P-N297Q	42	>1.0E-07	26	>1.0E-07
29	H1H27749P-N297Q	42	1.7E-09	35	4.2E-10
30	H1H27751P-N297Q	85	2.9E-09	59	1.6E-09
31	H1H27754P-N297Q	73	4.6E-09	38	1.8E-09
32	H1H27756P-N297Q	76	3.4E-09	42	>1.0E-07
33	H1H27759P-N297Q	74	>1.0E-08	48	>1.0E-07
34	H1H27760P-N297Q	70	4.9E-09	46	2.6E-09
35	H1H27761P-N297Q	43	9.5E-09	29	>1.0E-07
36	H1H27762P-N297Q	78	4.0E-09	38	2.9E-09
37	H1H27766P-N297Q	72	3.7E-09	38	3.5E-09
38	H1H27771P-N297Q	73	3.0E-09	49	1.9E-09
39	H1H27773P-N297Q	41	>1.0E-07	31	>1.0E-07
40	H1H27778P-N297Q	88	2.2E-09	54	1.5E-09
41	ヒトIgG1-N297Q、アイソタイプ対照mAb	阻害なし	阻害なし	阻害なし	阻害なし
42	ヒトIgG1アイソタイプ対照mAb	阻害なし	阻害なし	阻害なし	阻害なし

【０４７０】

好適な抗体候補は、相対的に効率的な阻害(例えば、約10nM未満のIC_{50}値)を示す。いくつかの実施態様において、好適な抗体候補は、リガンド取込みの約65％未満の最大阻害も示す。

【０４７１】

表13(列1～10)に示されているように、8つの抗体は、26％～90％の範囲の最大阻害及び2.3nM～＞100nMの範囲のIC_{50}値で、HEK293.Myc.hMSR1細胞でのDiI-OxLDL取込みの阻害を示した。8つの抗体のうちの7つは、10％～62％の範囲の最大阻害及び1.8nM～＞100nMの範囲のIC_{50}値で、DiI-AcLDL取込みの阻害を示した。抗体H2aM21229Nは、DiI-AcLDL取込みの阻害を示さなかった。

【０４７２】

表13(列11～15)に示されているように、4つの抗体は、43%～91%の範囲の最大阻害及び1.7nM～＞100nMの範囲のIC_{50}値で、MSR1媒介DiI-OxLDL取込みの阻害を示した。本発明の4つの抗体は、22%～79%の範囲の最大阻害及び2.1nM～＞100nMの範囲のIC_{50}値で、MSR1媒介DiI-AcLDL取込みの阻害を示した。

【０４７３】

表13(列16～42)に示されているように、25個の抗体のうちの24個は、22%～94%の範囲の最大阻害及び1.7nM～＞100nMの範囲のIC_{50}値で、DiI-OxLDLのMSR1媒介取込みの阻害を示した。25個の抗体のうちの23個は、26%～65%の範囲の最大阻害及び0.42nM～＞100nMの範囲のIC_{50}値で、DiI-AcLDL取込みの阻害を示した。抗体H1H27729P-N297Qは、DiI-OxLDL取込みの阻害を示さず、一方、抗体H1H27739P-N297Q及びH1H27734P-N297Qは、HEK293.Myc.hMSR1細胞でのDiI-AcLDL取込みの阻害を示さなかった。

【０４７４】

ヒト及びマウスアイソタイプ対照抗体は、これらのアッセイのいずれにおいてもHEK293.Myc.hMSR1細胞によるDiI-OxLDL及びDiI-AcLDL取込みの阻害を示さなかった。

【０４７５】

(実施例9.抗MSR1抗体による細胞表面発現MSR1の結合及び内在化)

例示的な抗MSR1抗体を、MSR1発現細胞上のMSR1に結合し、それを内在化するその能力について評価した。

【０４７６】

このアッセイのために、THP-1細胞[ATCC, Cat #TIB-202]を、10%FBS(ATCC, Cat# 30-2020)、ペニシリン/ストレプトマイシン/L-グルタミン(Gibco, Cat #10378-016)、50μMのβ-メルカプトエタノール(Sigma, Cat # M7522)(成長培地)＋200nMホルボールミリステート酢酸塩(PMA; Sigma, Cat# P1585)を含有するRPMI(Irvine Scientific, Cat #9160)中の96ウェルPDLコーティングプレート(Perkin Elmer, Cat# 6055500)に播種した。THP-1細胞を37℃、5%CO_2で4日間分化させておいた。染色するために、細胞の4連のプレートを、カルシウム及びマグネシウム(Irving, Cat # 9240)を含まないPBS中の2%FBS(染色バッファー)に希釈した10μg/mLの抗MSR1抗体とともに4℃で30分間インキュベートした。細胞を染色バッファーで2回洗浄し、10μg/mLのAlexa-Flour 488コンジュゲート二次Ab(Jackson Immunoresearch, Cat # 115-547-003又はJackson Immunoresearch, Cat # 109-547-003)とともに4℃で30分間インキュベートし、その後、染色バッファーで2回洗浄した。2枚のプレートをすぐに固定し、PBS中の4%パラホルムアルデヒド(PFA; ThermoFisher, Cat #28908)＋5μM DRAQ5(ThermoFisher, Cat #62251)で20分間洗浄した(非内在化プレート)。残り2枚のプレートを37℃で1時間インキュベートし、その後、固定し、PBSに希釈した4%PFA＋5μM DRAQ5の溶液を用いて20分間染色した(内在化プレート)。固定後、全てのプレートをPBSで1回洗浄した。1枚の非内在化プレート及び1枚の内在化プレートをPBS中の50μg/mLの抗Alexa Fluor 488抗体(Regeneron)とともに4℃で一晩インキュベートして、表面のAlexa Fluor 488蛍光をクエンチした。残りのプレートをPBSのみとともにインキュベートした。共焦点画像を40×倍率のOpera Phenix(Perkin Elmer)で取得した。Harmony解析ソフトウェア(Perkin Elmer)を利用して、DRAQ5標識細胞を同定し、細胞当たりの全Alexa-Fluor 488相対蛍光単位(RFU)を決定した。4℃での全結合(4℃のクエンチされていないウェルのRFU値)、37℃での全結合(37℃のクエンチされていないウェルのRFU値)、全内在化RFU、及び%内在化を、表14に示される各々の抗体について決定した。

【０４７７】

全ての計算のために、未染色ウェル由来のバックグラウンド蛍光を全てのウェルから差し引いた。全内在化RFUを次のように計算した: 37℃のクエンチされていない試料の全RFU－37℃での表面RFU。表面RFUは、37℃でのクエンチされていないRFU-37℃でのクエンチされたRFU)/QEと定義される。QE(クエンチング効率)は: 1－(4℃のクエンチされた試料の全RFU/4℃のクエンチされていない試料の全RFU)と定義される。%内在化は、以

下の式から決定した:(37℃での全内在化RFU/37℃での全RFU)*100。
表14:分化したTHP-1細胞における抗MSR1抗体の内在化及び表面結合
【表１７】

抗体	4℃での全結合	37℃での全結合	全内在化RFU	%内在化
H1H27729P-N297Q	1930685	6607625	3763127	57.0
H1H27731P-N297Q	1215319	1802404	977543	54.2
H1H27732P-N297Q	2513511	4924734	2414132	49.0
H1H27734P-N297Q	482859	1151348	737425	ND*
H1H27736P-N297Q	9514681	12267400	14468087	117.9**
H1H27739P-N297Q	3702857	5608380	4016378	71.6
H1H27747P-N297Q	2518361	5917858	3444330	58.2
H1H27749P-N297Q	4478384	12799899	5704834	44.6
H1H27751P-N297Q	5831744	7998767	6787876	84.9
H1H27754P-N297Q	3077308	7161570	6446236	90.0
H1H27756P-N297Q	6691792	11904608	9039171	75.9
H1H27759P-N297Q	4028970	2480463	1861578	75.0
H1H27760P-N297Q	1297337	6011876	3707164	61.7
H1H27761P-N297Q	1940392	2764577	1625899	58.8
H1H27762P-N297Q	2529645	3856573	3767717	97.7
H1H27766P-N297Q	1877240	3224247	2062539	64.0
H1H27771P-N297Q	6272656	7535203	6991358	92.8
H1H27773P-N297Q	490905	962752	-67811	ND*
H1H27778P-N297Q	9910952	16552831	12518725	75.6
H1H21227N-N297Q	1800012	4110990	3226161	78.5
H1H21234N-N297Q	1953248	5451125	722651	13.3
アイソタイプ対照	185971	1087469	1704047	ND*

ND*:弱い結合及び/又はクエンチング効率の決定不能のため、%内在化を決定することができなかった。
**:＞100%の%内在化値は37℃での合計値よりもわずかに高い合計内在化値によるものである。100%の内在化は、37℃での全Alex488蛍光の小胞構造内への出現により視覚的に確認された。
【０４７８】
表14に示されているように、アッセイされた21個の抗MSR1抗体のうちの19個は、13.3%～117.9%の内在化の範囲の、分化したTHP-1細胞への内在化を示した。21個の抗MSR1抗体のうちの2個については、弱い結合及び/又はクエンチング効率の決定不能のため、内在化を決定することができなかった。対照として、アイソタイプ対照は、測定可能な内在化を示さなかった。
【０４７９】
(実施例10.ヒトMSR1に対する抗MSR1抗体の遮断能力の評価)
ヒトMSR1に対する様々なリガンドの結合を遮断する本明細書に開示される抗MSR1抗体の能力を3つの競合サンドイッチELISAアッセイを用いて測定した。これらのアッセイで使用されたリガンドは:(1)アセチル化LDL(Ac-LDL)、(2)酸化LDL(Ox-LDL)、及び(3)ウシ血清アルブミンの終末糖化産物(AGE-BSA)であった。
【０４８０】
このアッセイのために、N-末端9-ヒスチジンタグとともに発現されるヒトMSR1細胞外ドメイン(His9-hMSR1; R&D Systems, Cat# 2708-MS)の一部から構成された組換え単量体ヒトMSR1タンパク質を、Ac-LDL、Ox-LDL、又はビオチン化AGE-BSA(「biot-AGE-BSA」)を用いる競合ELISAアッセイで使用するために、96-ウェルマイクロタイタープレート上のPBS中で、2μg/mLの濃度で、4℃で一晩コーティングした。その後、非特異的

結合部位をウシ血清アルブミン(BSA)の0.5%(w/v)リン酸緩衝生理食塩水(PBS)溶液を用いてブロッキングした。抗MSR1抗体又はアイソタイプ対照抗体を、各々の試験リガンドに適切なように、連続希釈し、各々の連続希釈セットについて、His9-hMSR1がコーティングされたマイクロタイタープレートに2連で添加した。各々のコーティング時に、バッファーのみもウェルに添加した。室温で1時間のインキュベーションの後、洗浄なしで、最終的な一定濃度の50pM Ac-LDL(Life Technologies/ThermoFisher Scientific, Cat # L-35354)、5nMもしくは10nM Ox-LDL(Alfa Aesar, Cat # J65591)、又は400pM biot-AGE-BSA(R&D Systems, Cat # BT4127)をHis9-hMSR1を含むプレートに添加し、該プレートを室温でもう1時間インキュベートした(抗体阻害アッセイのためのAc-LDL、Ox-LDL、及びbiot-AGE-BSAの濃度は、プレートにコーティングされたHis9-hMSR1に対するAc-LDL、Ox-LDL、又はbiot-AGE-BSAの個々の結合曲線の直線部分内のおおよその中間点から選択された)。ウェルを洗浄し、プレートに結合したAc-LDL又はOx-LDLを、西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)にコンジュゲートされた抗ウサギIgG(H+L)特異的ロバポリクローナル抗体(JacksonImmunoResearch, Cat #711-035-152)と組み合わせた抗LDLウサギ抗体(Alfa Aesar, Cat # J64398)で検出し、biot-AGE-BSAをストレプトアビジン-HRP(ThermoFisher Scientific, Cat # N200)で検出した。プレートを製造元の推奨に従ってTMB基質溶液(BD Biosciences, Cat #51-2606KC & Cat #51-2607KC)を用いて顕色させ、450nmでの吸光度をVictor(商標) Multilabel Plate Reader (PerkinElmer(商標))で測定した。このアッセイを4つの異なるアッセイ実施で行った。

【０４８１】

Prism(商標)ソフトウェア(GraphPad)内のシグモイド用量-応答モデルを用いて、データ解析を実施した。各々のアッセイで試験された抗体の最大濃度のパーセント遮断を、アッセイのベースラインと比べて、プレート上のHis9-hMSR1に対するAc-LDL、Ox-LDL、又はbiot-AGE-BSAの結合を遮断する抗体の能力の指標として計算した。計算においては、抗体の非存在下でアッセイに使用される同じ濃度のAc-LDL、Ox-LDL、又はbiot-AGE-BSAの結合シグナルの基準を100%結合又は0%遮断とし、一方、MSR1リガンド又は抗体を含まないバッファーの試料の結合シグナルとして規定されるアッセイのベースラインの基準を0%結合又は100%遮断とした。各々のアッセイで試験された抗体の最大濃度での最大パーセント遮断が全ての抗体について報告されている。負のパーセント遮断数は、抗体の存在下でプレートにコーティングされたHis9-hMSR1に対するより高いMSR1リガンド結合を反映した。遮断結果は、表15にまとめられている。

表15:競合ELISAアッセイにおける抗MSR1抗体の遮断能力

【表１８】

抗体	His9-hMSR1に対するOx-LDL結合の抗MSR1抗体遮断			His9-hMSR1に対するAc-LDL結合の抗MSR1抗体(100nM)遮断	His9-hMSR1に対するbiot-AGE-BSA結合の抗MSR1抗体(300nM)遮断
	抗MSR1抗体濃度	Ox-LDL濃度	%遮断	% 遮断	%遮断
全てのアッセイフォーマットで＞50%遮断した					
H2aM25700N	500 nM	10 nM	98	104	101
H1H21227N-N297Q	500 nM	10 nM	97	105	96

抗体	His9-hMSR1に対するOx-LDL結合の抗MSR1抗体遮断			His9-hMSR1に対するAc-LDL結合の抗MSR1抗体(100nM)遮断	His9-hMSR1に対するbiot-AGE-BSA結合の抗MSR1抗体(300nM)遮断
	抗MSR1抗体濃度	Ox-LDL濃度	%遮断	% 遮断	%遮断
H1H21227N-N297D	500 nM	10 nM	99	101	97
H1H21227N	500 nM	10 nM	100	105	99
いくつかのアッセイフォーマットで＞50%遮断した					
H2aM25695N	500 nM	10 nM	96	65	16
H1H27766P2-N297Q	1 μM	10 nM	54	52	27
H1H21234N-N297Q	500 nM	10 nM	49	75	-27
H1H21234N	500 nM	10 nM	98	70	21
全てのアッセイフォーマットで＜50%遮断した					
H2aM21228N	500 nM	5 nM	41	-32	-1
H2aM21229N	500 nM	5 nM	38	-11	3
H2aM21230N	500 nM	5 nM	45	-14	9
H2aM21232N	500 nM	5 nM	16	25	-50
H2aM21235N	500 nM	5 nM	-4	24	-24
H2aM25685N	500 nM	10 nM	28	-33	-86
H2aM25690N	500 nM	10 nM	8	-76	-96
H1H21231N-N297Q	500 nM	10 nM	26	-60	-50
H1H21231N	500 nM	10 nM	22	-62	-44
H1H27729P-N297Q	1 μM	10 nM	36	8	15
H1H27731P-N297Q	1 μM	10 nM	-1	-41	4
H1H27732P-N297Q	1 μM	10 nM	-60	-61	-9
H1H27734P-N297Q	1 μM	10 nM	-15	-38	-4
H1H27736P-N297Q	1 μM	10 nM	3	-31	-3
H1H27739P-N297Q	1 μM	10 nM	-41	-47	-9
H1H27747P-N297Q	1 μM	10 nM	-31	-44	-2
H1H27749P-	1 μM	10 nM	-21	-51	-1

抗体	His9-hMSR1に対するOx-LDL結合の抗MSR1抗体遮断			His9-hMSR1に対するAc-LDL結合の抗MSR1抗体(100nM)遮断	His9-hMSR1に対するbiot-AGE-BSA結合の抗MSR1抗体(300nM)遮断
	抗MSR1抗体濃度	Ox-LDL濃度	%遮断	% 遮断	%遮断
N297Q					
H1H27751P-N297Q	1 μM	10 nM	-31	-51	-11
H1H27754P-N297Q	1 μM	10 nM	-44	-42	-9
H1H27756P-N297Q	1 μM	10 nM	-45	-54	-8
H1H27759P2-N297Q	1 μM	10 nM	-62	-45	-19
H1H27760P2-N297Q	1 μM	10 nM	-47	-43	-4
H1H27761P2-N297Q	1 μM	10 nM	-21	-36	-4
H1H27762P2-N297Q	1 μM	10 nM	-65	-58	-16
H1H27771P2-N297Q	1 μM	10 nM	-23	-21	-1
H1H27773P2-N297Q	1 μM	10 nM	2	-11	1
H1H27778P2-N297Q	1 μM	10 nM	-59	-40	-8
アイソタイプ対照抗体					
hIgG1アイソタイプ対照	1 μM	10 nM	3	-8	4
mIgG1アイソタイプ対照	1 μM	10 nM	16	-4	7

【０４８２】

アッセイされた35個の抗MSR1抗体のうちの4個は、hMSR1に対するAc-LDL、Ox-LDL、及びbiot-AGE-BSA結合の＞50％を遮断するものとして同定された。これら4個の抗MSR1抗体は、His9-hMSR1に対する50pM Ac-LDL、10nM Ox-LDL、及び400pM biot-AGE-BSA結合の95％超を遮断した。

【０４８３】

試験された抗体の最大濃度で、35個の抗MSR1抗体のうちの4個は、hMSR1に対するAc-LDL及び/又はOx-LDL結合を＞50％遮断したが、hMSR1に対するbiot-AGE-BSA結合を遮断しなかった。これらの抗体のうちの3個は、hMSR1に対する50pM Ac-LDL結合と10nM Ox-LDL結合の両方を52％～98％遮断で遮断した。1つの抗体(H1H21234N-N297Q)は、hMSR1に対する50pM Ac-LDL結合のみを75％遮断で遮断した。

【０４８４】

35個の抗MSR1抗体のうちの27個(27)及び無関係なアイソタイプ対照抗体は、hMSR1に対するAc-LDL、Ox-LDL、及びbiot-AGE-BSA結合の＜50％を遮断した。

【０４８５】

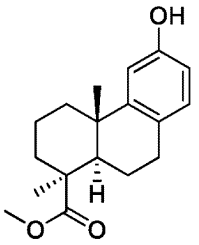
3つの抗MSR1抗体(21227N、21231N、21234N)を、もとのヒトFcγ部分を有するものとN297Q単一点突然変異を有するバージョンの両方で産生した。21227N抗体は、N297D突然変異を有する第三のバージョンとしても産生した。修飾バージョンの21227N(H1H21227N-N297Q及びH1H21227N-N297D)並びに21231N(H1H21231N-N297Q)抗MSR1抗体は、もとの特徴を保持した。抗体H1H21227N-N297Q及びH1H21227N-N297Dは、hMSR1に対する＞50％のAc-LDL、Ox-LDL、及びbiot-AGE-BSA結合を遮断し、一方、抗体H1H21231N-N297Qは、hMSR1に対するAc-LDL、Ox-LDL、及びbiot-AGE-BSA結合の＜50％を遮断した。抗MSR1修飾抗体H1H21234N-N297Qは、hMSR1に対するAc-LDL結合とOx-LDL結合の両方について＞50％遮断する未修飾のH1H21234N抗体と比較して、hMSR1に対する50pM Ac-LDL結合のみを遮断した。

【０４８６】

(実施例11.ペイロードP1及びP2Bの合成)(図1)

メチル(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキシレート(P1-2)

【化２９７】



メタノール(200mL)及びトルエン(600mL)中のポドカルピン酸(P1-1、90g、0.33mol)の溶液に、(トリメチルシリル)ジアゾメタン(ヘキサン中2M、200mL)を添加した。反応混合物を室温で2時間撹拌した。その後、LCMSによると、ポドカルピン酸が完全に消費された。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を石油エーテル(2L)からトリチュレートすると、化合物P1-2(91g、96％収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 289(M+H)$^+$。

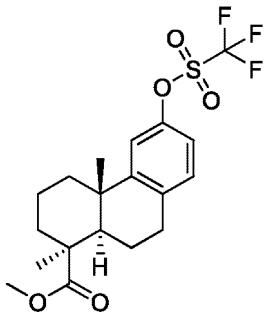
【化２９８】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 8.95 (s, 1H), 6.79 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.48 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 3.58 (s, 3H), 2.80-2.55 (m, 2H), 2.20-2.02 (m, 3H), 1.96-1.71 (m, 2H), 1.56-1.45 (m, 2H), 1.27 (t, J = 13.5 Hz, 1H), 1.21 (s, 3H), 1.09 (td, J = 13.5, 4.1 Hz, 1H), 0.91 (s, 3H) ppm.

【０４８７】

メチル(1S,4aS,10aR)-1,4a-ジメチル-6-(トリフルオロメタンスルホニルオキシ)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキシレート(P1-3)

【化２９９】



化合物P1-2(10g、35mmol)の塩化メチレン(200mL)溶液に、ピリジン(3.3g、42mmol)及びDMAP(0.84g、6.9mmol)を窒素雰囲気下で添加した。混合物を-78℃に冷却し、トリフルオロメタンスルホン酸無水物(12g、42mmol)に添加し、得られた混合物を25℃まで温めておき、25℃でさらに4時間撹拌した。反応混合物をDCM(500mL)で希釈し、水(100mL)、水性塩酸(1N、150mL)、及びブライン(100mL)で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮すると、粗化合物P1-3(14g、97%粗収率)が粘性のある油状物として得られ、これは、次の工程のために十分純粋であった。粗化合物P1-3をフラッシュクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～10%酢酸エチル)により精製すると、純粋な生成物を粘性のある油状物として得ることができた。ESI m/z: 421.2(M+1)$^+$。

【化３００】

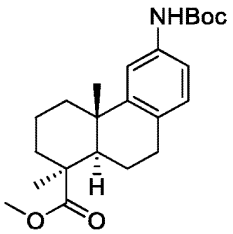
^{1}H NMR

(400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.12 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.10 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.97 (dd, J = 8.5, 2.5 Hz, 1H), 3.67 (s, J = 3.4 Hz, 3H), 2.93 (dd, J = 17.2, 4.4 Hz, 1H), 2.85-2.71 (m, 1H), 2.29 (d, J = 13.5 Hz, 1H), 2.25-2.14 (m, 2H), 2.03-1.89 (m, 2H), 1.71-1.61 (m, 1H), 1.56-1.48 (m, 1H), 1.40 (td, J = 13.4, 4.2 Hz, 1H), 1.30-1.22 (m, 3H), 1.09 (td, J = 13.6, 4.2 Hz, 1H), 1.02 (s, 3H) ppm.

【０４８８】

メチル(1S,4aS,10aR)-6-((tert-ブトキシカルボニル)アミノ)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキシレート(P1-4)

【化３０１】



化合物P1-3(14g、34mmol)及びtert-ブチルカルバメート($BocNH_2$、7.9g、68mmol)のtert-ブタノール(100mL)溶液に、炭酸セシウム(22g、68mmol)、トリス(ジベンジリデンアセトン)ジパラジウム(0)($Pd_2(dba)_3$、1.8g、2.0mmol)、及びX-Phos(1.8g、4.0mmol)を室温で順次添加した。混合物を脱気し、アルゴンで3回パージし、その後、TLCによりモニタリングして、化合物P1-3が完全に消費されるまで、アルゴン(バルーン)下、80℃で一晩撹拌した。室温に冷却した後、反応混合物を酢酸エチルで希釈し、セライトに通して濾過した。固体を酢酸エチルで3回洗浄した。合わせた濾液を真空中で濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～6.25%酢酸エチル)により精製すると、化合物P1-4(11g、82%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 410(M+23)$^+$。

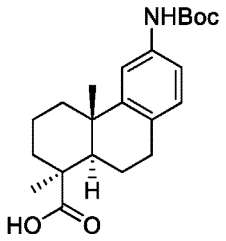
【化３０２】

^{1}H NMR (500 MHz, $DMSO_{d6}$) δ 9.07 (s, 1H), 7.39 (s, 1H), 7.13 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 3.59 (s, 3H), 2.76 (dd, J = 16.4, 4.5 Hz, 1H), 2.70-2.61 (m, 1H), 2.16-2.05 (m, 3H), 2.00-1.75 (m, 2H), 1.65-1.50 (m, 2H), 1.45 (s, 9H), 1.31-1.25 (m, 1H), 1.21 (s, 3H), 1.10 (td, J = 13.5, 4.1 Hz, 1H), 0.92 (s, 3H) ppm.

【０４８９】

(1S,4aS,10aR)-6-{[(tert-ブトキシ)カルボニル]アミノ}-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボン酸(P1-5)

【化３０３】



化合物P1-4(4.9g、13mmol)のDMSO溶液に、カリウム tert-ブトキシド(15g、0.13mol)を室温で一度に添加した。LCMSにより反応が終了するまで、反応混合物を、アルゴン下、60℃で3時間撹拌した。室温に冷却した後、該反応混合物を氷に注ぎ入れ、水性塩酸(0.5M)でゆっくりとpH 5まで酸性化し、その間、温度は25℃を超えなかった。沈殿を濾過により回収し、水で数回洗浄した。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～20%酢酸エチル)によりさらに精製すると、化合物P1-5(4.5g、93%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 318(M-55)$^+$。

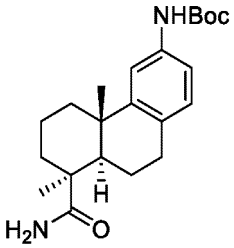
【化３０４】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 12.08 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.11 (s, 1H), 6.87 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 2.79-2.68 (m, 1H), 2.65 (d, J = 12.6 Hz, 1H), 2.17-2.03 (m, 4H), 1.94-1.76 (m, 2H), 1.53 (d, J = 13.7 Hz, 1H), 1.46 (d, J = 7.4 Hz, 9H), 1.29-1.14 (m, 5H), 1.04 (s, 3H) ppm.

【０４９０】

tert-ブチル N-[(4bS,8S,8aR)-8-カルバモイル-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバメート(P1-6)

【化３０５】



P1-5(4.5g、12mmol)及びHATU(4.9g、13mmol)のDMF(50mL)溶液に、ジイソプロピルエチルアミン(20mL、0.12mol)を添加し、混合物を25℃で1時間撹拌した。その後、該混合物に、塩化アンモニウム(16g、0.30mol)を添加し、混合物を室温で一晩撹拌した。得られた混合物を酢酸エチルで希釈し、水及びブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～20%酢酸エチル)により精製すると、化合物P1-6(4.2g、94%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 373.3(M+1)$^+$。

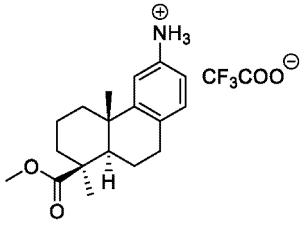
【化３０６】

^{1}H NMR (500 MHz, メタノール$_{d4}$) δ 7.20 (s, 1H), 6.97 (d, J = 7.7 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 2.77-2.68 (m, 2H), 2.66-2.55 (m, 1H), 2.20 (d, J = 12.9 Hz, 1H), 2.13 (dd, J = 13.2, 5.3 Hz, 1H), 2.08 (d, J = 14.0 Hz, 1H), 2.03-1.86 (m, 2H), 1.54 (d, J = 11.1 Hz, 1H), 1.40 (s, 9H), 1.26 (t, J = 26.7Hz, 1H), 1.18 (s, 3H), 1.14-1.03 (m, 4H) ppm.

【０４９１】

メチル(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキシレートトリフルオロ酢酸塩(P1-7)

【化３０７】

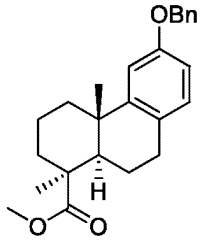


化合物P1-4(6.0g、15mmol)のDCM(60mL)溶液に、TFA(12mL)をRTで添加した。TLCによりモニタリングして、Bocが完全に除去されるまで、得られた混合物をRTで2時間撹拌した。反応混合物を真空中で濃縮すると、粗化合物P1-7がTFA塩として得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程で使用した。ESI m/z: 288(M+1)$^+$。

【０４９２】

メチル(1S,4aS,10aR)-6-(ベンジルオキシ)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキシレート(P1-8a)

【化３０８】



DMF(100mL)中の化合物P1-2(12g、40mmol)及び炭酸セシウム(14g、44mmol)の混合物を20～25℃で15分間撹拌した。該混合物に、臭化ベンジル(7.1mL、60mmol)を室温で添加した。室温で4時間撹拌した後、得られた混合物を冷水に注ぎ入れ、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機溶液を水及びブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。粗生成物をフラッシュクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～10%酢酸エチル)により精製すると、表題化合物P1-8a(13g、89%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 379(M+H)$^+$。

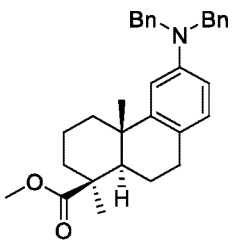
【化３０９】

^{1}H NMR (500 MHz, メタノール$_{d4}$) δ 7.60-7.20 (m, 5H), 7.00-6.82 (m, 2H), 6.73 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 5.03 (s, 2H), 3.66 (s, 3H), 2.95-2.58 (m, 2H), 2.36-2.10 (m, 3H), 2.10-1.85 (m, 2H), 1.70-1.48 (m, 2H), 1.44-1.21 (m, 4H), 1.15 (t, J = 17.2 Hz, 1H), 1.01 (s, 3H) ppm.

【０４９３】

メチル(1S,4aS,10aR)-6-(ジベンジルアミノ)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキシレート(8b)

【化３１０】

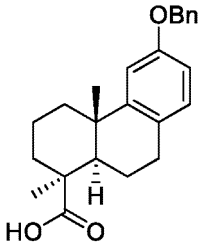


上で得られた粗化合物P1-7(計算量15mmol)のDMF(60mL)溶液に、炭酸カリウム(6.4g、46mmol)及び臭化ベンジル(5.8g、34mmol)をRTで添加した。TLCによりモニタリングして、反応が終了するまで、反応混合物を80℃で一晩撹拌した。RTに冷却した後、混合物を冷水(300mL)に注ぎ入れ、酢酸エチル(×3)で抽出した。合わせた有機溶液を水及びブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮すると、粗生成物8bが得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程で使用した。ESI m/z: 468(M+1)$^+$。

【０４９４】

(1S,4aS,10aR)-6-(ベンジルオキシ)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボン酸(P1-9a)

【化３１１】



LCMS及びTLCによりモニタリングして、メチル基が完全に除去されるまで、DMSO(0.19L)中の化合物P1-8a(11g、29mmol)及びカリウム tert-ブトキシド(33g、0.29mol)の混合物を100℃で1時間撹拌した。25℃に冷却した後、該混合物を水性塩酸(1N)でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機溶液をブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～24%酢酸エチル)により精製すると、化合物P1-9a(7.5g、71%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 365(M+H)$^+$。

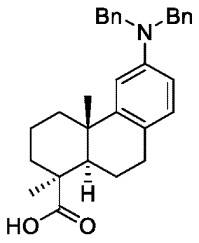
【化３１２】

1H NMR (500 MHz, メタノール$_{d4}$) δ 7.42 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.36 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.30 (t, J = 7.3 Hz, 1H), 6.92 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.87 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.72 (dd, J = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 5.02 (s, 2H), 2.82 (dd, J = 16.3, 4.4 Hz, 1H), 2.77-2.65 (m, 1H), 2.24 (d, J = 13.2 Hz, 2H), 2.19 (dd, J = 13.8, 6.0 Hz, 1H), 2.11-1.96 (m, 2H), 1.64-1.56 (m, 1H), 1.53 (d, J = 11.0 Hz, 1H), 1.35 (td, J = 13.3, 3.7 Hz, 1H), 1.30 (s, 3H), 1.13 (s, 3H), 1.11-1.05 (m, 1H) ppm.

【０４９５】

(1S,4aS,10aR)-6-(ジベンジルアミノ)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボン酸(9b)

【化３１３】



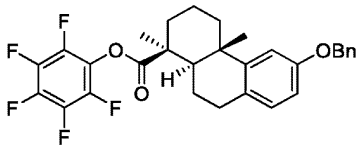
上で得られた粗化合物8b(計算量15mmol)のDMSO(100mL)溶液に、カリウム tert-ブトキシド(17g、0.15mol)をRTで一度に添加した。LCMSにより反応が終了するまで、反応混合物を、アルゴン下、100℃で2時間撹拌した。RTに冷却した後、該反応混合物を氷に注ぎ入れ、水性塩酸(4M)でpH 5までゆっくりと酸性化し、この間、温度が25℃よりも

高く達しないようにした。混合物を酢酸エチルで抽出し、合わせた有機溶液を水及びブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～20%酢酸エチル)により精製すると、化合物9b(6.8g、化合物P1-4から3工程で99%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 454(M+1)$^+$。

【０４９６】

ペンタフルオロフェニル(1S,4aS,10aR)-6-(ベンジルオキシ)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキシレート(P1-10a)

【化３１４】



P1-9a(9.6g、26mmol)のDMF(100mL)溶液に、DIPEA(14mL、79mmol)及びパーフルオロフェニル 2,2,2-トリフルオロアセテート(15g、53mmol)を添加した。この混合物を室温で一晩撹拌し、LCMSによりモニタリングした。その後、反応混合物をエーテル(200mL)で希釈し、水(300mL)及びブライン(200mL)で洗浄した。有機溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～10%酢酸エチル)により精製すると、化合物P1-10a(12g、88%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 531(M+H)$^+$。

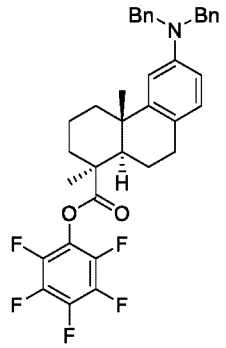
【化３１５】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 7.43 (d, J = 7.1 Hz, 2H), 7.38 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 7.31 (t, J = 7.2 Hz, 1H), 6.93 (dd, J = 10.2, 5.5 Hz, 2H), 6.76 (dd, J = 8.4, 2.5 Hz, 1H), 5.05 (s, 2H), 2.81 (dd, J = 16.3, 4.5 Hz, 1H), 2.77-2.68 (m, 1H), 2.28-2.19 (m, 2H), 2.18 (dd, J = 13.4, 5.6 Hz, 1H), 2.00-1.83 (m, 2H), 1.74 (d, J = 11.8 Hz, 1H), 1.65 (d, J = 14.1 Hz, 1H), 1.47 (s, 3H), 1.38-1.27 (m, 2H), 1.08 (s, 3H) ppm.

【０４９７】

ペンタフルオロフェニル(1S,4aS,10aR)-6-(ジベンジルアミノ)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキシレート(10b)

【化３１６】



9b(6.8g、15mmol)のDMF(100mL)溶液に、DIPEA(10mL、0.61mol)及びパーフルオロフェニル 2,2,2-トリフルオロアセテート(10mL、58mmol)を添加した。この混合物を、窒素下、25℃で一晩撹拌し、その後、エーテルで希釈した。有機物を水及びブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～10%酢酸エチル)により精製すると、化合物10b(7.5g、81%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 620(M+1)$^+$。

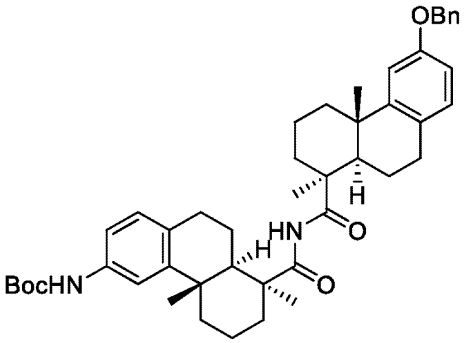
【化３１７】

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.36-7.25 (m, 10H), 6.92 (d, J =8.4 Hz, 1H), 6.67 (d, J =2.8 Hz, 1H), 6.63 (dd, J = 8.4, 2.6 Hz, 1H), 4.63 (m, 4H), 2.85-2.73 (m, 2H), 2.41-2.37(m, 1H), 2.22-2.20 (m, 1H), 2.15-1.91 (m, 3H), 1.71-1.65 (m, 2H), 1.51 (s, 3H), 1.37-1.19 (m, 2H), 1.10 (s, 3H) ppm.

【０４９８】

tert-ブチル N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-(ベンジルオキシ)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバメート(P1-11a)

【化３１８】



化合物P1-6(2.3g、6.2mmol)のTHF(20mL)溶液に、n-BuLi(ヘキサン中2.5M、5.5mL、14mmol)を-78℃で滴加した。反応液をこの温度で1時間撹拌した。混合物に、P1-10a(3.0g、5.6mmol)のTHF(20mL)溶液を添加し、その後、LCMSによりモニタリングして、化合物P1-10aが消費されるまで、得られた混合物を10～20℃で一晩撹拌した。反応液を飽和水性塩化アンモニウムでクエンチし、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機溶液を水及びブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～30%酢酸エチル)により精製すると、化合物P1-11a(1.59g、51%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 719(M+1)$^+$。

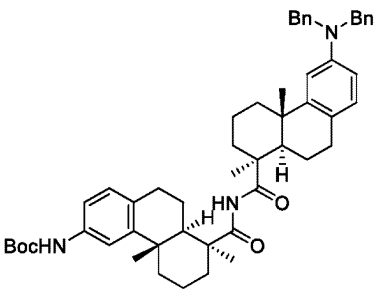
【０４９９】

(下の11bの手順と比較して、n-BuLiをLiHMDSの代わりにここで使用した。P1-6は完全には消費されなかったが、この手順は、より少ない副生成物を生じさせ、P1-11aの収率は、約40%から51%に増加した。未反応の化合物P1-6を回収した(回収された収率: 10～20%)。

【０５００】

tert-ブチル N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-(ジベンジルアミノ)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバメート(11b)

【化３１９】



化合物P1-6(1g、2.7mmol)のTHF(15mL)溶液に、リチウムビス(トリメチルシリル)アミド(ヘキサン中1M、8.0mL)を0℃で滴加した。反応液を0℃で1時間撹拌した。混合物に、化合物10b(2.5g、4.0mmol)のTHF(10mL)溶液を添加し、その後、得られた混合物をRTで一晩撹拌した。その後、反応液を飽和水性塩化アンモニウムでクエンチし、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機溶液を水及びブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～35%酢酸エチル)により精製すると、化合物11b(0.95g、44%収率)が白色の固体;及び回収された化合物P1-6(回収された収率37%)として得られた。ESI m/z: 808(M+1)$^+$。

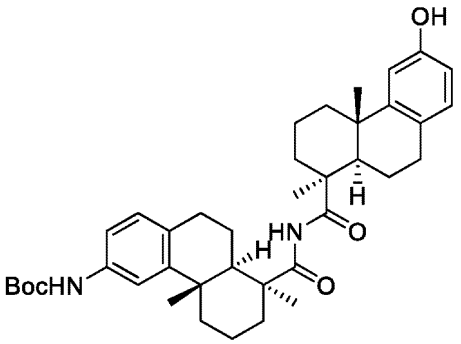
【化３２０】

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.16 (s, 1H), 7.35-7.24 (m, 10H), 7.12 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.91 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.62-6.59 (m, 2H), 6.42 (s, 1H), 4.62 (s, 3H), 2.98-2.75 (m, 4H), 2.31-2.22 (m, 5H), 2.10-1.97 (m, 5H), 1.69-1.63 (m, 4H), 1.56 (s, 9H), 1.32-1.27 (m, 9H), 1.43-1.27 (m, 5H), 1.05 (s, 3H) ppm.

【０５０１】

tert-ブチル N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバメート(P1-12a)

【化３２１】



P1-11a(2.0g、2.78mmol)の酢酸エチル(40mL)溶液に、湿潤パラジウム炭(10%Pd、0.9g)を窒素保護下で添加した。混合物を脱気し、水素でパージし、P1-11aが完全に消費されるまで、水素バルーン下、室温で一晩撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。混合物をセライトに通して濾過し、濾過を真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～55%酢酸エチル)により精製すると、P1-12a(1.06g、61%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 629(M+H)$^+$。

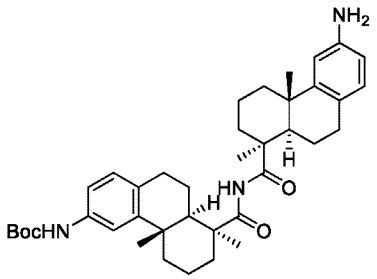
【化３２２】

^{1}H NMR (500 MHz, $DMSO_{d6}$) δ 9.10 (s, 1H), 8.98 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.15 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 6.90 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 2.84 (td, J = 16.3, 3.8 Hz, 2H), 2.77-2.64 (m, 2H), 2.30-2.22 (m, 2H), 2.14 (t, J = 10.9 Hz, 4H), 2.00-1.80 (m, 4H), 1.65-1.54 (m, 4H), 1.45 (s, 9H), 1.34-1.28 (m, 2H), 1.27 (d, J = 2.5 Hz, 6H), 1.15-1.08 (m, 2H), 0.99 (s, 6H) ppm.

【０５０２】

tert-ブチル N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバメート(12b)

【化３２３】

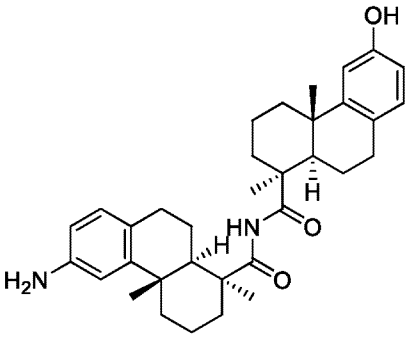


11b(0.45g、0.56mmol)の酢酸エチル(5mL)溶液に、湿潤パラジウム炭(10%Pd、50mg)を窒素下で添加した。混合物を脱気し、水素で3回パージし、水素バルーン下、RTで一晩撹拌した。該混合物をセライトに通して濾過し、濾液を真空中で濃縮すると、化合物12b(0.33g、94%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 628(M+1)$^+$。

【０５０３】

(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミド(P1)

【化３２４】



化合物P1-12a(0.17g、0.27mmol)のDCM(10mL)溶液に、TFA(3mL)を室温で滴加した。LCMSによりBocが除去されるまで、反応混合物を室温で1時間撹拌した。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を分取HPLC(方法B)により精製すると、P1(0.10g、70%収率)が白色の固体として得られた。

【０５０４】

ESI m/z: 529.3(M+1)$^+$。

【０５０５】

【化３２５】

^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 8.14 (s, 1H), 6.92 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.86 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.73 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.65-6.57 (m, 2H), 6.50 (dd, J = 8.1, 2.3 Hz, 1H), 4.75 (s, 1H), 3.49 (s, 1H), 2.99-2.85 (m, 2H), 2.79 (tt, J = 11.6, 5.8 Hz, 2H), 2.34-2.14 (m, 6H), 2.15-1.95 (m, 4H), 1.74-1.51 (m, 5H), 1.46-1.34 (m, 2H), 1.30 (s, 6H), 1.21-1.06 (m, 8H) ppm.

【０５０６】

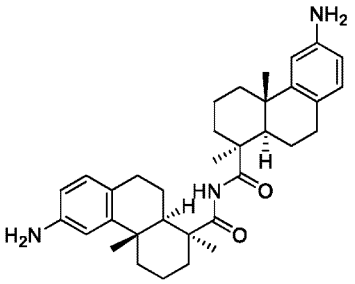
【化３２６】

^{1}H NMR (400 MHz, $DMSO_{d6}$) δ 8.99 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 6.81 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.68 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.0, 2.5 Hz, 1H), 6.48 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 8.0, 2.5 Hz, 1H), 4.69 (s, 2H), 2.86-2.60 (m, 4H), 2.28-2.10 (m, 6H), 1.94-1.75 (m, 4H), 1.65-1.53 (m, 4H), 1.35-1.20 (m, 8H), 1.20-1.06 (m, 2H), 0.98 (s, 6H) ppm.

【０５０７】
【化３２７】

^{13}C NMR (100 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 174.03, 173.92, 155.34, 148.39, 147.63, 146.43, 129.56, 129.09, 124.60, 121.65, 113.23, 112.58, 111.81, 110.77, 52.32, 52.09, 45.56, 45.52, 39.20, 39.36, 38.23, 38.17, 37.18, 37.12, 31.08, 31.00, 27.65, 27.64, 23.08, 23.03, 21.43, 21.27, 19.64, 19.61 ppm.

【０５０８】
HPLC(方法B):保持時間: 8.92分、純度: 99.4%。キラルHPLC:＞99.9%(カラムAD、AS、OD、及びOJ中)。
【０５０９】
旋光度(α): +2.53 ° (1.7g/100mL THF、25℃)。
【０５１０】
(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-N-((1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミド(P2B)
【化３２８】

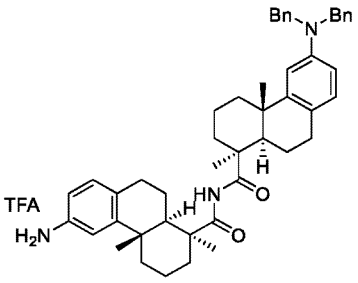


化合物12b(0.63g、1.0mmol)のDCM(10mL)溶液に、TFA(3mL)をRTで滴加した。LCMSによりBocが除去されるまで、反応混合物をRTで4時間撹拌した。該混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、P2B(0.42g、79%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 528.2(M+1)$^+$。
【化３２９】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 8.28 (s, 1H), 6.67 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.47 (d, J = 2.0 Hz, 2H), 6.33 (dd, J = 8.0, 2.0 Hz, 2H), 4.69 (s, 4H), 2.80-2.75 (m, 2H), 2.70-2.60 (m, 2H), 2.26-2.20 (m, 2H), 2.19-2.05 (m, 4H), 1.95-1.75 (m, 4H), 1.62-1.50 (m ,4H), 1.33-1.20 (m, 8H), 1.12 (t, J = 8.8 Hz, 2H), 0.98 (s, 6H) ppm.

【０５１１】
(実施例11-2. P3Bの合成)
本実施例は、下の表Cのポドカルピン酸誘導体P3Bの合成のための一般的な方法を示している。本実施例は、図23の11bからP3Bまでの番号の化合物に言及している。
【０５１２】
(3S,8R,9S,10R,13S,14S)-17-イミノ-10,13-ジメチル-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-テトラデカヒドロ-1H-シクロペンタ[a]フェナントレン-3-オール、トリフルオロ酢酸塩(P3B)

【化３３０】



化合物11b(10mg、12μmol)のDCM(2mL)溶液に、TFA(1mL)を添加した。LCMSによりBocが除去されるまで、反応混合物をRTで2時間撹拌した。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を水中の5%アセトニトリルに溶解させた。該溶液を凍結乾燥させると、化合物P3B(7mg、80%収率)が薄黄色の固体として得られた。ESI m/z: 354.8(M/2+H)$^+$。

【化３３１】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.38 (br s, 2H), 8.08 (s, 1H), 7.35-7.06 (m, 12H), 6.97 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.73 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.51 (s, 1H), 6.46 (d, J = 6.4 Hz, 1H), 4.68-4.55 (m, 4H), 3.00-2.50 (m, 4H), 2.40-2.00 (m, 6H), 1.94-1.73 (m, 5H), 1.70-1.50 (m, 3H), 1.50-1.00 (m, 11H), 0.98 (s, 3H), 0.83 (s, 3H) ppm. ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO$_{d6}$) δ -74.08 ppm.

【０５１３】

(実施例11-3)

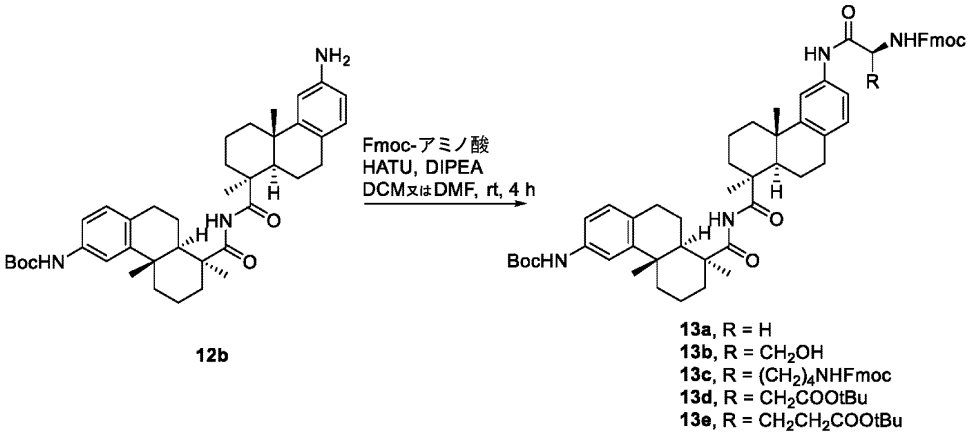
本実施例は、下の表Cのポドカルピン酸誘導体P4B～P8Bの合成のための一般的な方法を示している。本実施例は、図23の12bからP4B～P8Bまでの番号の化合物に言及している。

【０５１４】

(実施例11-3a)

中間体13a～e

【化３３２】



化合物12b(1.0当量)のDMF又はDCM溶液に、Fmoc-アミノ酸(1.1～1.2当量)、HATU(1.2～1.5当量)、及びDIPEA(2.0～3.0当量)を順次添加した。反応混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。混合物を真空中で濃縮し(DCMが溶媒である場合)、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～90%酢酸エチル)により精製するか;又は反応混合物(DMFが溶媒である場合)を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性重炭酸アンモニウム(10mM)中の50～90%アセトニトリル)によりそのま

ま精製すると、化合物13が白色の固体として得られた。

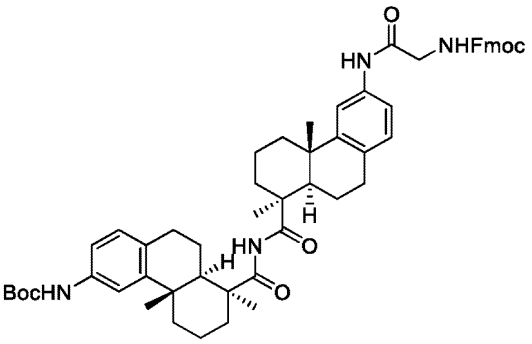
【表１９】

12b g (mmol)	Fmoc-アミノ酸 R	Fmoc-アミノ酸 g (mmol)	HATU g (mmol)	DIPEA g (mmol)	溶媒 (mL)	時間 (h)	精製	生成物 #	生成物 g	生成物 収率 (%)
0.13 (0.20)	H	0.071 (0.24)	0.11 (0.29)	0.077 (0.60)	DMF (10)	4	RP-B	**13a**	0.14	78
0.31 (0.50)	CH_2OH	0.18 (0.55)	0.23 (0.60)	0.19 (1.50)	DCM (20)	4	SGC	**13b**	0.39	83
0.20 (0.32)	$(CH_2)_4NHFmoc$	0.21 (0.35)	0.15 (0.38)	0.083 (0.64)	DMF (20)	4	RP-B	**13c**	0.30	78
0.31 (0.50)	$CH_2COOtBu$	0.22 (0.55)	0.23 (0.60)	0.19 (1.50)	DCM (20)	4	SGC	**13d**	0.43	85
0.31 (0.50)	$(CH_2)_2COOtBu$	0.23 (0.55)	0.23 (0.60)	0.19 (1.50)	DCM (20)	4	SGC	**13e**	0.42	82

【０５１５】

9H-フルオレン-9-イルメチル N-({[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-{[(tert-ブトキシ)カルボニル]アミノ}-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}メチル)カルバメート(13a)

【化３３３】

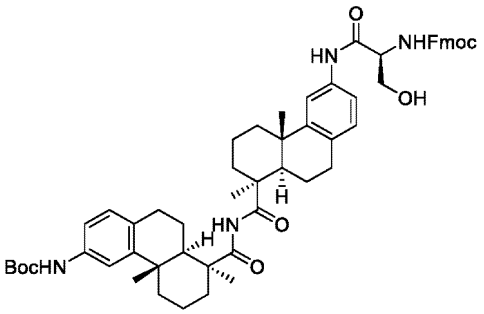


中間体13a～eのための一般的手順に従うと、化合物13a(0.14g、78%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 907$(M+H)^+$。

【０５１６】

9H-フルオレン-9-イルメチル N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-{[(tert-ブトキシ)カルボニル]アミノ}-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}-2-ヒドロキシエチル]カルバメート(13b)

【化３３４】

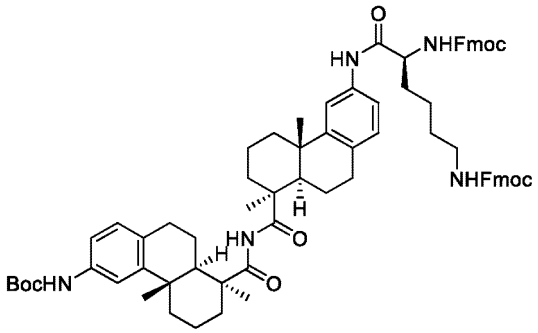


中間体13a～eのための一般的手順に従うと、化合物13b(0.39g、83%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 938(M+H)$^+$。

【０５１７】

9H-フルオレン-9-イルメチル N-[(5S)-5-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-{[(tert-ブトキシ)カルボニル]アミノ}-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}-5-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}ペンチル]カルバメート(13c)

【化３３５】

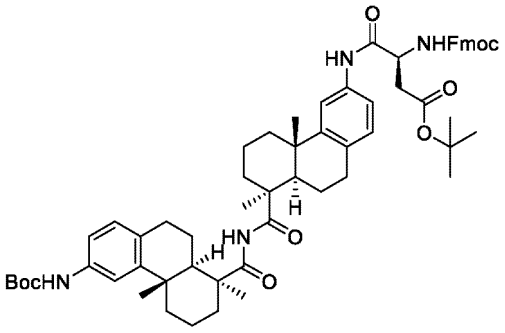


中間体13a～eのための一般的手順に従うと、化合物13c(0.30g、78%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1201(M+H)$^+$。

【０５１８】

(S)-tert-ブチル 3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニルアミノ)-4-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-4-オキソブタノエート(13d)

【化３３６】



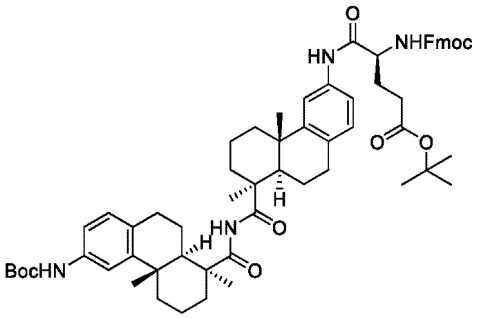
中間体13a～eのための一般的手順に従うと、化合物13d(0.43g、85%収率)が白色の固

体として得られた。ESI m/z: 1021(M+H)$^+$。

【０５１９】

(S)-tert-ブチル 4-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニルアミノ)-5-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-5-オキソペンタノエート(13e)

【化３３７】



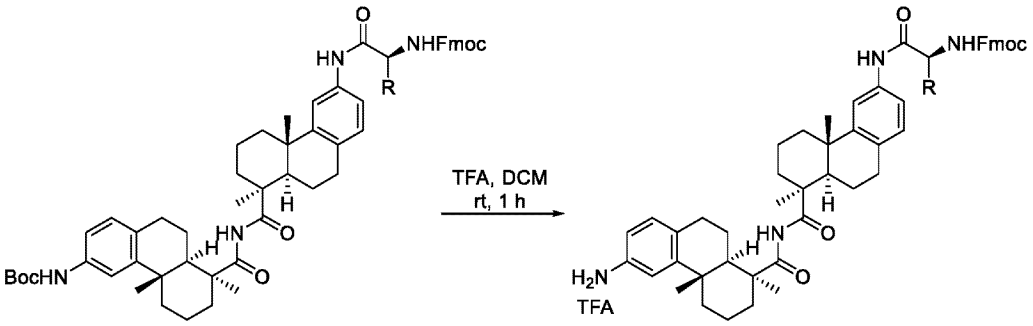
中間体13a～eのための一般的手順に従うと、化合物13e(0.42g、82%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1036(M+H)$^+$。

【０５２０】

(実施例11-3b)

中間体14a～e

【化３３８】



13a, R = H
13b, R = CH_2OH
13c, R = $(CH_2)_4NHFmoc$
13d, R = $CH_2COOtBu$
13e, R = $CH_2CH_2COOtBu$

14a, R = H
14b, R = CH_2OH
14c, R = $(CH_2)_4NHFmoc$
14d, R = CH_2COOH
14e, R = CH_2CH_2COOH

化合物13(1.0当量)のDCM溶液に、TFAをRTで添加した。反応混合物をRTで1時間撹拌し、真空中で濃縮すると、粗生成物14が無色の油状物として得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程に使用した。

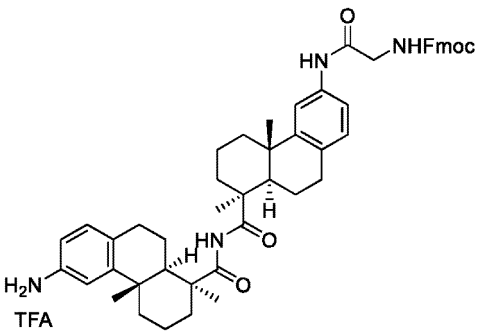
【表２０】

13			TFA (mL)	DCM (mL)	粗生成物 14		
#	R	g (mmol)			#	R	g
13a	H	0.14 (0.16)	3	10	**14a**	H	0.13
13b	CH_2OH	0.10 (0.11)	3	10	**14b**	CH_2OH	0.09
13c	$(CH_2)_4NHFmoc$	0.24 (0.20)	3	10	**14c**	$(CH_2)_4NHFmoc$	0.22
13d	$CH_2COOtBu$	0.12 (0.12)	3	10	**14d**	CH_2COOH	0.10
13e	$(CH_2)_2COOtBu$	0.10 (0.10)	3	20	**14e**	$(CH_2)_2COOH$	0.08

【０５２１】

9H-フルオレン-9-イルメチル N-({[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}メチル)カルバメート、トリフルオロ酢酸塩(14a)

【化３３９】

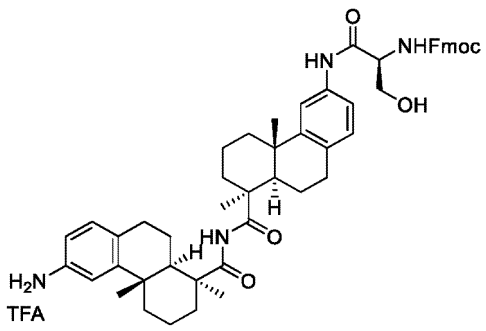


中間体14a～eのための一般的手順に従うと、粗化合物14a(0.14g、99%収率、TFA塩)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 807(M+1)$^+$。

【０５２２】

9H-フルオレン-9-イルメチル(S)-1-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-3-ヒドロキシ-1-オキソプロパン-2-イルカルバメート、トリフルオロ酢酸塩(14b)

【化３４０】

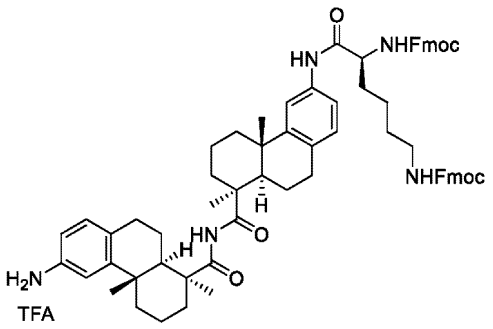


中間体14a～eのための一般的手順に従うと、粗化合物14b(0.14g、99%収率、TFA塩)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 837(M+1)$^+$。

【０５２３】

9H-フルオレン-9-イルメチル N-[(5S)-5-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}-5-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}ペンチル]カルバメート、トリフルオロ酢酸塩(14c)

【化３４１】

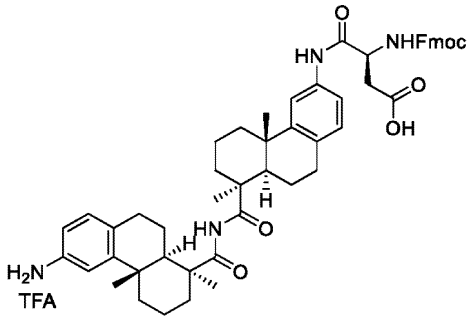


中間体14a～eのための一般的手順に従うと、粗化合物14c(0.22g、92%収率、TFA塩)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 1101(M+1)$^+$。

【０５２４】

(S)-3-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニルアミノ)-4-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-4-オキソブタン酸、トリフルオロ酢酸塩(14d)

【化３４２】

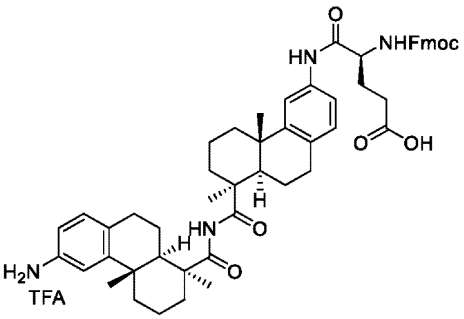


中間体14a～eのための一般的手順に従うと、粗化合物14d(0.10g、87%収率、TFA塩)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 866(M+1)$^+$。

【０５２５】

(S)-4-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニルアミノ)-5-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-5-オキソペンタン酸、トリフルオロ酢酸塩(14e)

【化３４３】



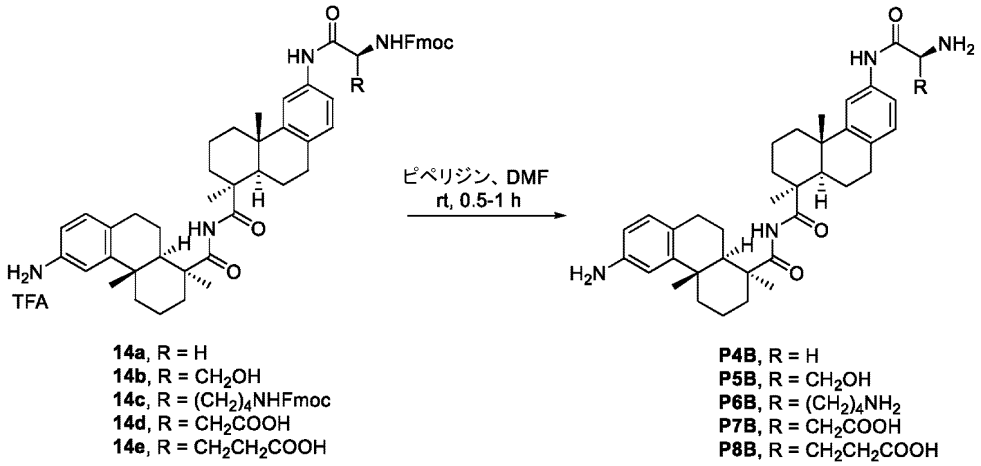
中間体14a～eのための一般的手順に従うと、粗化合物14e(84mg、86%収率、TFA塩)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 880(M+1)$^+$。

【０５２６】

(実施例11-3c)

ペイロードP4B～P8B

【化３４４】



14a, R = H
14b, R = CH_2OH
14c, R = $(CH_2)_4NHFmoc$
14d, R = CH_2COOH
14e, R = CH_2CH_2COOH

P4B, R = H
P5B, R = CH_2OH
P6B, R = $(CH_2)_4NH_2$
P7B, R = CH_2COOH
P8B, R = CH_2CH_2COOH

上で得られた粗14のDMF溶液に、ピペリジンを添加した。混合物をRTで30分間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、ペイロードP4-8が白色の固体として得られた。

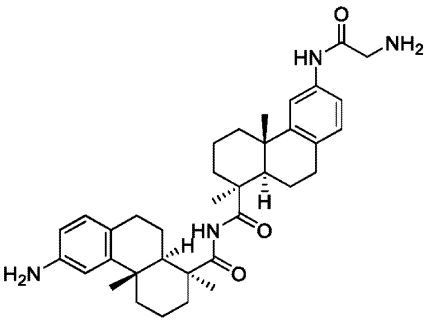
【表２１】

粗 14			ピペリジン (mL)	DMF (mL)	時間 (時間)	精製			
#	R	g (mmol)					#	R	mg (収率)
14a	H	0.066 (0.073)	0.5	3	0.5	Prep-B	**P4B**	H	12 (28%)
14b	CH_2OH	0.10 (0.11)	0.5	3	0.5	Prep-B	**P5B**	CH_2OH	41 (67%)
14c	$(CH_2)_4NHFmoc$	0.050 (0.045)	0.5	5	1	Prep-B	**P6B**	$(CH_2)_4NH_2$	5 (17%)
14d	CH_2COOH	0.10 (0.12)	0.5	3	0.5	Prep-B	**P7B**	CH_2COOH	39 (51%)
14e	$(CH_2)_2COOH$	0.10 (0.12)	0.5	3	0.5	Prep-B	**P8B**	$(CH_2)_2COOH$	44 (58%)

【０５２７】

(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-(2-アミノアセトアミド)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミド(P4B)

【化３４５】



ペイロードP4B～8Bのための一般的手順に従うと、化合物P4B(12mg、28%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 585(M+1)$^+$。

【化３４６】

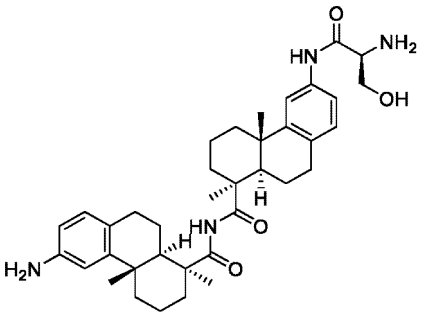
^{1}H NMR (500 MHz, $DMSO_{d6}$) δ 9.79 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.41 (dd, J = 8.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.68 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.48 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 7.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 4. 70 (m, 2H), 3.20 (s, 3H), 2.95-2.83 (m, 1H), 2.80-2.70 (m, 2H), 2.70-2.60 (m, 1H), 2.30-2.20 (m, 2H), 2.20-2.10 (m, 4H), 2.05-1.70 (m, 4H), 1.70-1.50 (m, 4H), 1.31-1.25 (m, 8H), 1.20-1.10 (m, 2H), 1.05 (d, J = 7.5 Hz ,6H) ppm.

【０５２８】

(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-N-((1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-アミノ-3-ヒドロキシプロパンアミド)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミド(P

5B)

【化３４７】



ペイロードP4B～8Bのための一般的手順に従うと、化合物P5B(41mg、67%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 615(M+1)$^+$。

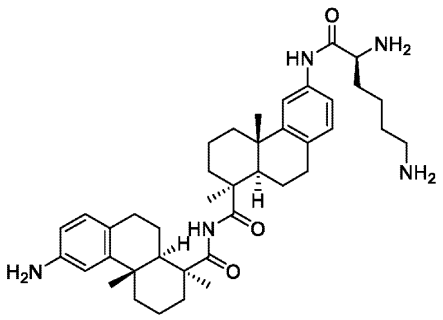
【化３４８】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 8.09(s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.41 (dd, J = 8.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 6.96(d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.68(d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.48(d, J = 1.5 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 7.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 4.84-4.76 (m, 1H), 4.67 (s, 2H), 3.60-3.45 (m, 2H), 2.95-2.83 (m, 1H), 2.80-2.60 (m, 4H), 2.30-2.20 (m, 3H), 2.20-2.10 (m, 4H), 1.95-1.75 (m, 5H), 1.70-1.50 (m, 4H), 1.40-1.30 (m, 2H), 1.28 (s, 3H), 1.26 (s, 3H), 1.20-1.10 (m, 3H), 1.01 (s, 3H), 0.98 (s, 3H) ppm.

【０５２９】

(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-N-((1S,4aS,10aR)-6-((S)-2,6-ジアミノヘキサンアミド)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミド(P6B)

【化３４９】

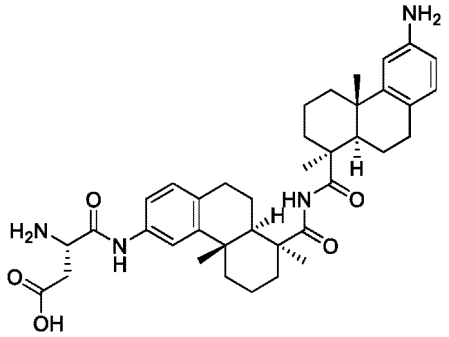


ペイロードP4B～8Bのための一般的手順に従うと、化合物P6B(5mg、17%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 656(M+1)$^+$。

【化３５０】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 8.09 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.41 (dd, J = 8.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.68 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.48 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 6.34 (dd, J = 7.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 4. 70 (m, 2H), 3.20 (s, 2H), 2.95-2.83 (m, 2H), 2.80-2.70 (m, 2H), 2.70-2.60 (m, 2H), 2.37-2.35 (m, 1H), 2.30-2.20 (m, 3H), 2.20-2.10 (m, 5H), 2.05-1.95 (m, 2H), 1.95-1.75 (m, 5H), 1.70-1.50 (m, 6H), 1.31-1.25 (m, 8H), 1.20-1.10 (m, 3H), 1.05 (d, J = 7.5 Hz, 6H), 0.85 (t, J = 6.0 Hz, 1H) ppm.

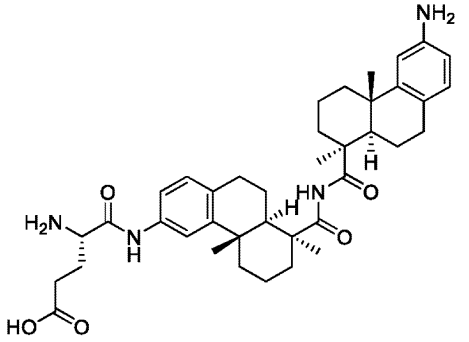
【０５３０】
(S)-3-アミノ-4-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-4-オキソブタン酸(P7B)
【化３５１】



ペイロードP4B～8Bのための一般的手順に従うと、化合物P7B(39mg、51%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 643(M+1)$^+$。
【化３５２】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.5-10.0 (br, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.41 (dd, *J* = 8.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.68 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.48 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 6.34 (dd, *J* = 7.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 4.84-4.50 (m, 2H), 3.75-3.68 (m, 2H), 2.95-2.83 (m, 1H), 2.80-2.60 (m, 4H), 2.40-2.20 (m, 4H), 2.20-2.10 (m, 5H), 1.95-1.70 (m, 5H), 1.70-1.50 (m, 5H), 1.27 (d, *J* = 7.5 Hz, 6H), 1.20-1.10 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.98 (s, 3H) ppm.

【０５３１】
(S)-4-アミノ-5-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-5-オキソペンタン酸(P8B)
【化３５３】



ペイロードP4B～8Bのための一般的手順に従うと、化合物P8B(44mg、58%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 657(M+1)$^+$。

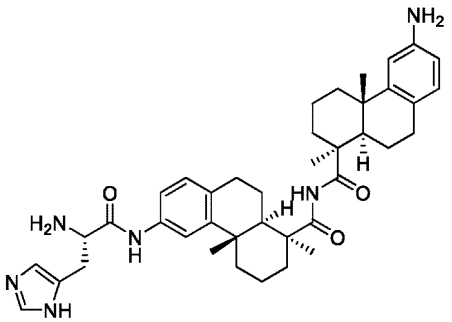
【化３５４】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 8.09 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 7.41 (dd, *J* = 8.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.5 Hz,1H), 6.68 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.48 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 6.34 (dd, *J* = 7.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 4.70 (m, 2H), 2.95-2.83 (m, 1H), 2.80-2.60 (m, 5H), 2.30-2.20 (m, 4H), 2.20-2.10 (m, 5H), 1.95-1.75 (m, 5H), 1.70-1.50 (m, 5H), 1.50-1.40 (m, 4H), 1.27 (d, *J* =7.5 Hz, 6H), 1.20-1.10 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.98 (s, 3H) ppm.

【０５３２】

(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-N-((1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-アミノ-3-(1H-イミダゾール-4-イル)プロパンアミド)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミド(P9B)

【化３５５】



Fmoc-His-OH(0.38g、1.0mmol)のDCM(5mL)溶液に、Fmoc-OSu(0.37g、1.1mmol)及びDIPEA(0.26g、2.0mmol)を添加した。反応混合物をRTで一晩撹拌した。揮発性物質を真空中で除去し、残渣をフラッシュクロマトグラフィー(DCM中の5～10%メタノール)により精製すると、Fmoc-His(Fmoc)-OH(0.50g、84%収率、ESI m/z: 600(M+1)$^+$)が白色の固体として得られた。

【０５３３】

化合物12b(0.31g、0.50mmol)のDCM(20mL)の溶液に、上で得られたFmoc-His(Fmoc)-OH(0.33g、0.55mmol)、HATU(0.23g、0.60mmol)、及びDIPEA(0.19g、1.5mmol)を順次添加した。得られた混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物に、ピペリジン(0.5mL)を添加し、LCMSによりモニタリングして、Fmocが完全に除去されるまで、混合物をRTで1時間撹拌した。該混合物を真空中で濃縮し、残渣を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水中の50～80%アセトニトリル)により精製すると、Boc-P9B(0.15g)が白色の固体として得られ、このうちの半分をDCM(20mL)に溶解させた。該溶液に、TFA(3mL)を添加した。LCMSによりBocが除去されるまで、混合物をRTで1時間撹拌した。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を分取HPLC(方法B)により精製すると、化合物P9B(17mg、12%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 665(M+1)$^+$。

【化３５６】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 11.82 (s, 1H), 9.75 (s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.52-7.50 (m, 2H), 7.41 (dd, *J* = 8.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.90-6.80 (m, 1H), 6.68 (d, *J* = 8.5 Hz,1H), 6.48 (d, *J* = 1.5 Hz, 1H), 6.34 (dd, *J* = 7.5 Hz, 1.5 Hz, 1H), 4.84-4.50 (m, 2H), 3.60-3.45 (m, 2H), 2.95-2.83 (m, 2H), 2.80-2.70 (m, 2H), 2.70-2.60 (m, 2H), 2.40-2.10 (m, 8H), 1.95-1.70 (m, 5H), 1.70-1.50 (m, 4H), 1.27 (d, *J* = 7.5 Hz, 6H), 1.20-1.10 (m, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.98 (s, 3H) ppm.

【０５３４】

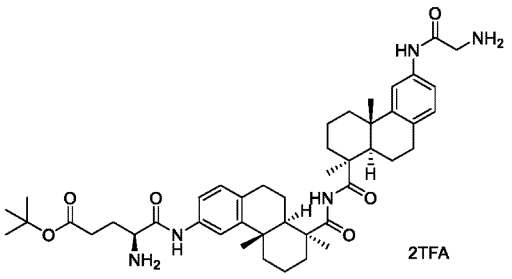
(実施例11-4)

本実施例は、下の表Cのポドカルピン酸誘導体P10B及びP11Bの合成のための一般的な方法を示している。本実施例は、図24の14a、15a～b、並びにP10B及びP11Bの番号の化合物に言及している。

【０５３５】

(S)-tert-ブチル 4-アミノ-5-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(2-アミノアセトアミド)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-5-オキソペンタノエート、ジ-トリフルオロ酢酸塩(15a)

【化３５７】

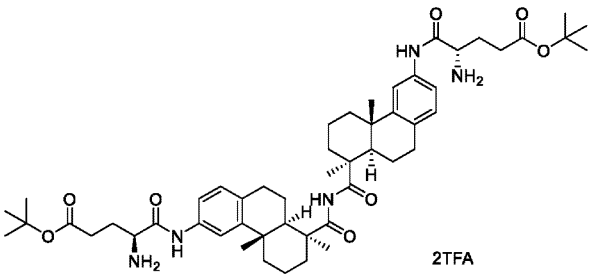


Fmoc-Glu(OtBu)-OH(74mg、0.17mmol)及びDIPEA(55μL、0.32mmol)のDMF(5.0mL)溶液に、HATU(91mg、0.24mmol)を添加した。混合物をRTで15分間撹拌し、その後、化合物14a(0.14g、0.16mmol)を添加した。反応混合物をRTで一晩撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、反応混合物に、ピペリジン(1mL)を滴加した。LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、反応混合物をRTで1時間撹拌した。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性TFA(0.01%)中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま分離すると、化合物15a(0.13g、80%収率)が黄色の固体として得られた。ESI m/z: 770.5$(M+1)^+$。

【０５３６】

(4S,4'S)-tert-ブチル 5,5'-(4bS,4b'S,8S,8aR,8'S,8a'R)-8,8'-(アザンジイルビス(オキソメチレン))ビス(4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-8,3-ジイル)ビス(アザンジイル)ビス(4-アミノ-5-オキソペンタノエート)ジ-トリフルオロ酢酸塩(15b)

【化３５８】

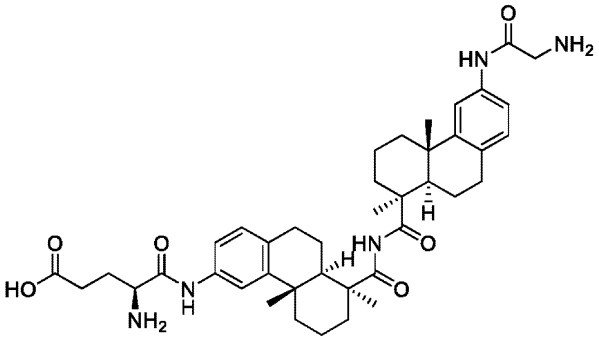


Fmoc-Glu(OtBu)-OH(0.15g、0.35mmol)及びDIPEA(83μL、0.48mmol)のDMF(5.0mL)溶液に、HATU(0.15g、0.40mmol)を添加した。混合物をRTで30分間撹拌し、その後、化合物P2B(0.10g、0.16mmol)を添加した。反応混合物をRTで一晩撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、反応混合物に、ピペリジン(1mL)を滴加した。LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、反応混合物をRTで3時間撹拌した。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性TFA(0.01%)中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま分離すると、化合物15b(0.14g、78%収率)が黄色の固体として得られた。ESI m/z: 899$(M+1)^+$。

【０５３７】

(S)-4-アミノ-5-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(2-アミノアセトアミド)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-5-オキソペンタン酸(P10B)

【化３５９】



ニートのTFA(2.0mL)中の化合物15a(0.13g、0.13mmol)の混合物をRTで1時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物をDCM(20mL)で希釈し、真空中で濃縮した。残渣を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性炭酸水素ナトリウム(10mM)中の0～100%アセトニトリル)により精製すると、P10B(20mg、22%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 358$(M/2+1)^+$; 714.5$(M+1)^+$。

【化３６０】

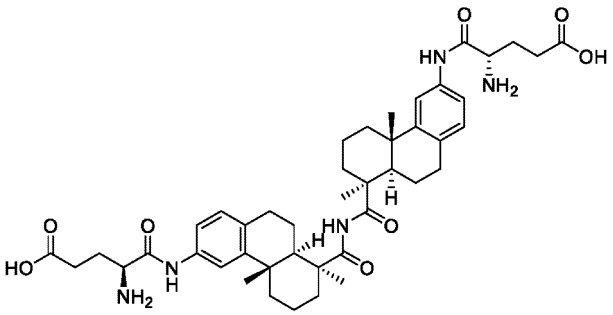
^{1}H NMR (400 MHz, $DMSO_{d6}$) δ 9.85 (br s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.51 (s, 2H), 7.42-7.36 (m, 2H), 6.96 (dd, J = 8.0 Hz and 3.0 Hz, 2H), 3.67 (br s, 8H), 3.36-3.33 (m, 1H), 3.22 (s, 2H), 2.91-2.87 (m, 2H), 2.80-2.71 (m, 2H), 2.31-2.28 (m, 4H), 2.17-2.14 (m, 4H), 1.91-1.82 (m, 5H), 1.69-1.58 (m, 5H), 1.34-1.23 (m, 6H), 1.19-1.12 (m, 2H), 1.01 (s, 6H) ppm.

【０５３８】

(4S,4'S)-5,5'-(4bS,4b'S,8S,8aR,8'S,8a'R)-8,8'-(アザンジイルビス(オキソメチレン))ビス(4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-8,3-ジイル)ビス

(アザンジイル)ビス(4-アミノ-5-オキソペンタン酸)(P11B)

【化３６１】



ニートのTFA(3.0mL)中の化合物15b(0.14g、0.14mmol)の混合物をRTで1時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物をDCM(30mL)で希釈し、真空中で濃縮した。残渣を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性炭酸水素ナトリウム(10mM)中の0～100%アセトニトリル)により精製すると、P11B(20mg、18%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 394(M/2+1)$^+$。

【化３６２】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.85 (br s, 2H), 8.12 (s, 1H), 7.51 (s, 2H), 7.9 (dd, *J* = 8.4 Hz and 1.6 Hz, 2H), 6.97 (d, *J* = 8.0 Hz, 2H), 3.5 (br s, 6H), 3.40-3.37 (m, 2H), 3.16 (s, 1H), 2.91-2.88 (m, 2H), 2.79-2.66 (m, 2H), 2.33-2.29 (m, 7H), 2.18-2.15 (m, 4H), 1.91-1.84 (m, 6H), 1.71-1.59 (m, 6H), 1.35-1.23 (m, 6H), 1.18-1.12 (m, 2H), 1.01 (s, 6H) ppm.

【０５３９】

(実施例11-5)

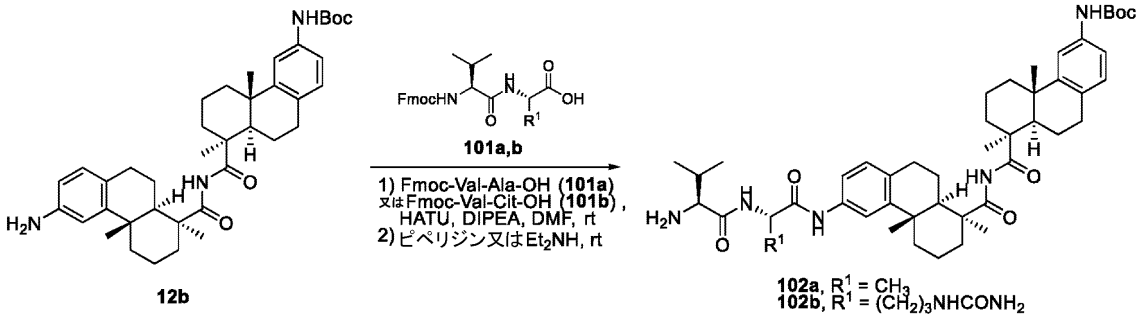
本実施例は、上の表3のリンカー-ペイロードLP1B～LP5Bの合成のための方法を示している。本実施例は、図25の12b及び102a～bから106a～eの番号の化合物並びにリンカー-ペイロードLP1B～LP5Bに言及している。

【０５４０】

(実施例5a)

中間体102a～b

【化３６３】



酸(Fmoc-Val-Ala-OH(101a、1.2当量)又はFmoc-Val-Cit-OH(101b、1.2当量)のDMF溶液に、HATU(1.2当量)及びDIPEA(2.0～3.0当量)をRTで添加した。混合物をRTで5分間撹拌し、化合物12b(1.0当量)を添加した。LCMSによりアミンが消費されるまで、得られた混合物をRTで4～20時間撹拌した。その後、該混合物に、ピペリジン(過剰)を添加し、LCMSによりモニタリングして、Fmocが完全に除去されるまで、混合物をRTで1～6時間撹拌した。反応混合物を膜に通して濾過し、濾液を分取HPLC(方法B)又は逆相フラッ

シュクロマトグラフィーによりそのまま精製すると、化合物102(38-72%収率)が白色の固体として得られた。

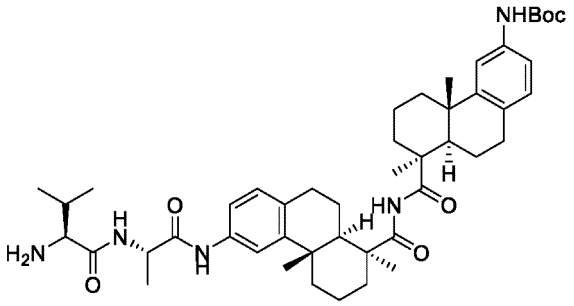
【表２２】

アミン g (mmoL)		酸 g (mmoL)		工程 1				工程 2		精製	生成物	
				HATU g (mmol)	DIPEA g (mmol)	DMF (mL)	時間 (hr)	ピペリジン (mL)	時間 (hr)		#	g (収率)
12b	0.31 (0.50)	101a	0.25 (0.60)	0.23 (0.60)	0.19 (1.5)	20	4	0.5	1	RP	102a	0.29 (72%)
12b	0.50 (0.80)	101b	0.48 (0.96)	0.36 (0.96)	0.28 mL (1.6)	6	20	0.5	6	分取B	102b	0.27 (38%)

【０５４１】

tert-ブチル N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]プロパンアミド]-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]カルボニル}カルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバメート(102a)

【化３６４】

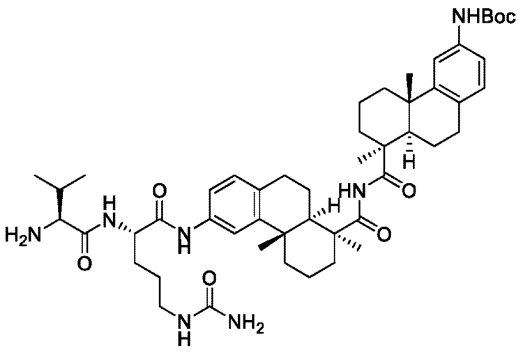


中間体102a、bのための一般的手順に従うと、化合物102a(0.29g、72%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 799$(M+1)^+$。

【０５４２】

tert-ブチル N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]カルボニル}カルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバメート(102b)

【化３６５】



中間体102a、bのための一般的手順に従うと、化合物102b(0.27g、38%収率)が白色

の固体として得られた。ESI m/z: 885(M+1)$^+$。

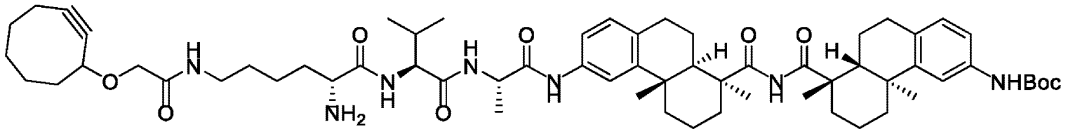
【０５４３】

(実施例5b)

中間体104a～b

tert-ブチル N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-{2-アミノ-6-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]ヘキサンアミド}-3-メチルブタンアミド]プロパンアミド]-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]カルボニル}カルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバメート(104a)

【化３６６】

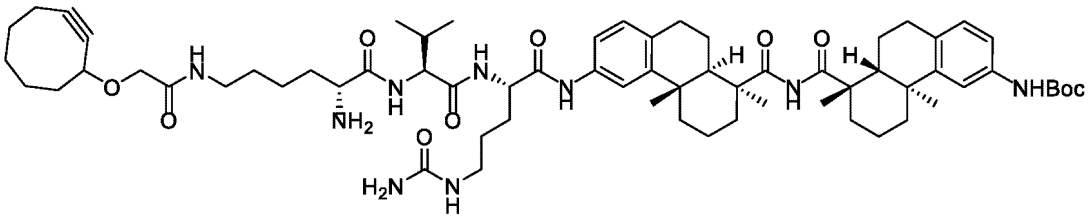


化合物103(70mg、0.13mmol)のDMF(2mL)溶液に、HATU(68mg、0.18mmol)及びDIPEA(44μL、0.24mmol)をRTで添加した。混合物をRTで5分間撹拌し、その後、化合物102a(95mg、0.12mmol)を添加した。その後、LCMSによりモニタリングして、化合物102aが完全に消費されるまで、反応混合物をRTで3時間撹拌した。その後、該反応混合物に、ピペリジン(0.5mL、過剰)を添加した。混合物をRTで2時間撹拌した。その後、該混合物を濾過し、濾液を濃縮した。残渣を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性重炭酸アンモニウム(10mM)中の0～100%アセトニトリル)により精製すると、化合物104a(0.13g、96%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 518.0((M-55)/2)$^+$。

【０５４４】

tert-ブチル N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-{2-アミノ-6-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]ヘキサンアミド}-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]カルボニル}カルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバメート(104b)

【化３６７】



化合物103(0.27g、0.31mmol)及びDIPEA(0.11mL、0.61mmol)のDMF(6mL)溶液に、化合物102b(0.18g、0.34mmol)を添加し、その後、HATU(0.14g、0.37mmol)を添加した。反応混合物をRTで3時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた溶液を逆相フラッシュクロマトグラフィーによりそのまま精製すると、化合物Fmoc-104b(0.30g、ESI m/z: 711((M+Na)/2+1)$^+$)が淡黄色の固体として得られ、これをDCM(6.0mL)に溶解させた。該溶液に、ピペリジン(0.5mL)を添加し、LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、反応混合物をRTで2時間撹拌した。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を石油エーテルでトリチュレートすると、化合物104b(0.26g、65%収率)が薄黄色の固体として得られた。ESI m/z: 1177.6((M+H)$^+$。

【０５４５】

(実施例5c)

中間体105a～c

アジド中間体α-CD-N_3(105a)は、J. Am. Chem. Soc., 2012, 134(46), 19108-19

117に従って合成した(図32)。

【０５４６】

アジド-15-オキソ-3,6,9,12-テトラオキサ-16-アザオクタデカン-18-スルホン酸(105b)、図33

2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 1-アジド-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-オエート(N_3-PEG_4-Osu、0.10g、0.26mmol)及びタウリン(39mg、0.31mmol)の無水DMF(4mL)溶液に、DIPEA(15mg、0.52mmol)を添加した。混合物をRTで一晩撹拌した。反応混合物を濾過し、溶液を分取HPLC(方法A)により精製すると、中間体105b(0.80g、収率78%)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 399.1$(M+H)^+$。

【化３６８】

^{1}H NMR (500 MHz, D_2O) δ

3.69 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.64-3.59 (m, 14H), 3.49 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.41 (t, J = 4.5 Hz, 2H), 3.00 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.45 (t, J = 6.0 Hz, 2H) ppm.

【０５４７】

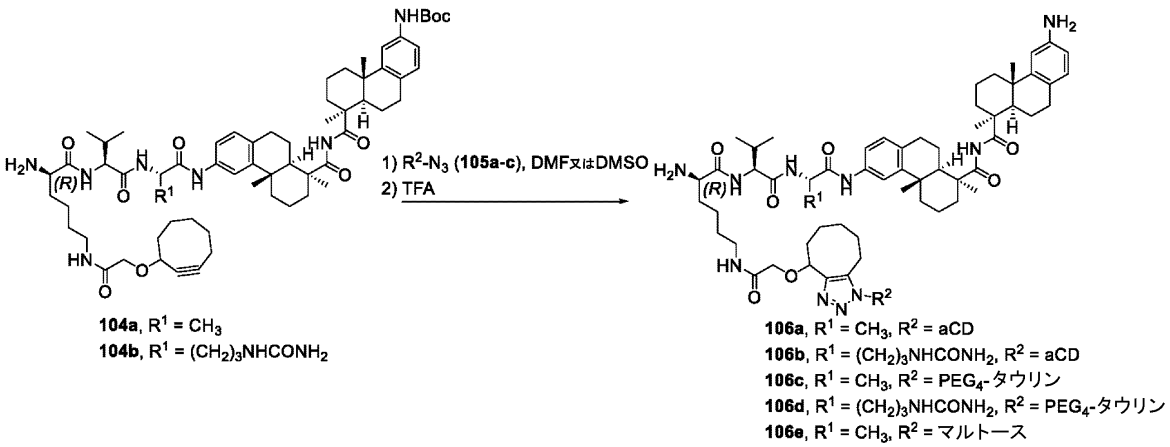
アジド中間体マルトース-N_3(105c)は、Tetrahedron Letters, 2001, 42(7), 1325-1328に従って合成した(図34)。

【０５４８】

(実施例5d)

中間体106a～e

【化３６９】



化合物104のDMF溶液に、アジド中間体105をRTで添加した。LCMSにより完全な反応が示されるまで、反応液をRTで3～48時間撹拌した。反応混合物を分取HPLCによりそのまま精製すると、化合物Boc-106が白色の固体として得られ、これをTFA溶液(又はニートのTFA)に溶解させた。LCMSによりBocが除去されるまで、該溶液をRTで0.5～20時間撹拌した。該溶液を濃縮すると、106が(TFA塩として)得られた。

【表２３】

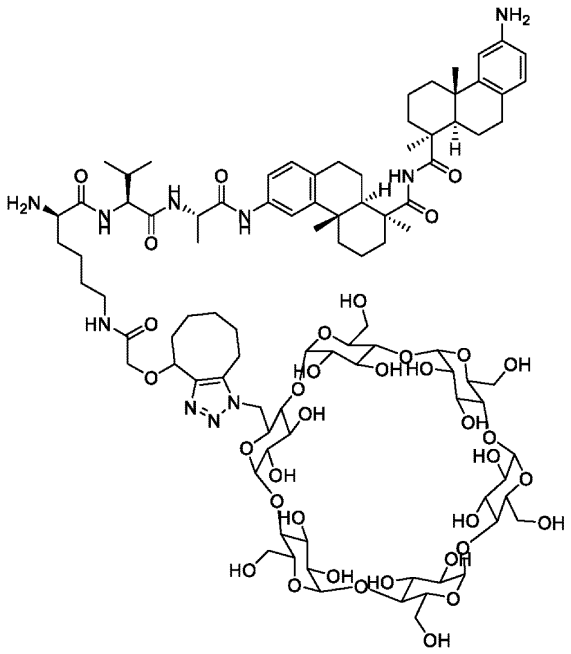
アルキン g (mmoL)		アジド g (mmoL)		工程 1				工程 2			生成物	
				DMF (mL)	T (ºC)	時間 (hr)	精製	TFA (mL)	溶媒 (mL)	時間 (hr)	#	g (収率)
104a	0.050 (0.045)	**105a**	0.11 (0.12)	4	RT	48	RP-A	1	DCM (3 mL)	1	**106a**	0.019* (69%)
104b	0.050 (0.042)	**105a**	0.085 (0.085)	4	RT	20	RP	2	/	0.5	**106b**	0.076 (87%)
104a	0.17 (0.16)	**105b**	0.12 (0.31)	6	RT	20	RP-A	2	/	1	**106c**	0.090 (39%)
104b	0.050 (0.042)	**105b**	0.034 (0.084)	2	RT	3	RP	1	MeOH (2 mL)	20	**106d**	0.022 (36%)
104a	0.035 (0.032)	**105c**	0.024 (0.064)	DMSO 5 mL	RT	4	RP	3	/	2	**106e**	0.034 (77%)

*全てtのBoc-106aを脱Bocに使用したわけではない。

【０５４９】

(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-2,3,4,9,10,10a-ヘキサヒドロフェナントレン-1-カルボニル]-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-アミノ-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-ドデカヒドロキシ-10,15,20,25,30-ペンタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-ドデカオキサヘプタシクロ[26.2.2.2^{3},6.2^{8},11.2^{13},16.2^{18},21.2^{23},26]ドテトラコンタン-5-イル]メチル}-4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]プロパンアミド]-1,4a-ジメチル-2,3,4,9,10,10a-ヘキサヒドロフェナントレン-1-カルボキサミドトリフルオロ酢酸塩(106a)

【化３７０】



中間体106a～eのための一般的手順に従うと、化合物Boc-106a(72mg、76%収率、トリアゾール位置異性体の混合物として)が白色の固体として得られた(ESI m/z: 1045(M/2+1)$^{+}$)。逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性TFA(0.01%)中の0～60%アセトニトリル)によるさらなる精製の後、少量の純粋な主要異性体(7mg)を得ることができ、これを^{1}H NMR(500MHz、DMSO$_{d6}$)により決定した。

【化３７１】

((位置異性体を含む) δ 9.92 (s, 0.5H), 9.82 (s, 0.5H), 9.10 (s, 1H), 8.58-8.53 (m, 1H), 8.50-8.35 (m, 1H), 8.12 (s, 1H), 8.04 (s, 3H), 7.88-7.82 (m, 1H), 7.55 (s, 0.5H), 7.46 (s, 0.5H), 7.41 (s, 1H), 7.40-7.26 (m, 1H), 7.14 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 6.97 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 5.51 (br, 12H), 4.83-4.70 (m, 8H), 4.57-4.51 (m, 3H), 4.44-4.36 (m, 4H), 4.00-3.98 (m, 1H), 3.88-3.55 (m, 27H), 3.26-3.09 (m, 6H), 2.91-2.85 (m, 4H), 2.76-2.63 (m, 3H), 2.29-2.25 (m, 2H), 2.17-1.99 (m, 4H), 1.96-1.93 (m, 6H), 1.88-1.63 (m, 9H), 1.56-1.54 (m, 15H), 1.33-1.28 (m, 15H), 1.18-1.13 (m, 3H), 1.01-0.99 (m, 6H), 0.89-0.83 (m, 7H) ppm.).

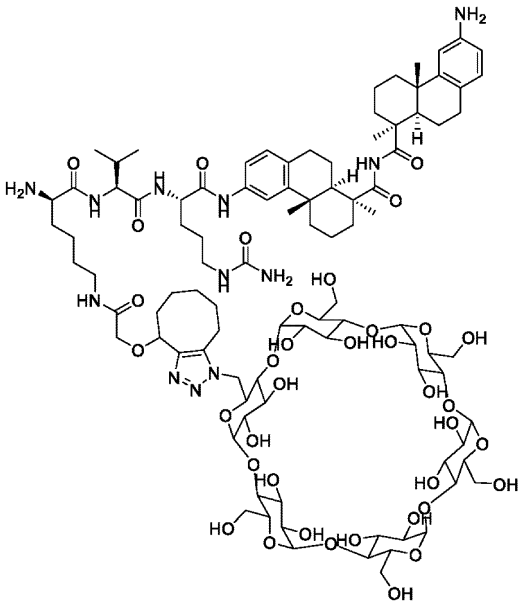
DCM(3mL)中のBoc-106a(位置異性体の混合物として)(20mg、9.6μmol)の混合物に、TFA(1mL)を添加した。LCMSによりモニタリングして、Bocが除去されるまで、得られた混合物をRTで1時間撹拌した。揮発性物質を真空中で除去すると、化合物106a(19mg、104aから69%収率)が淡黄色の固体として得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程に使用した。ESI m/z: 995(M/2+1)$^{+}$。

【０５５０】

(1S,4aS,10aR)-N-{[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-アミノ-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-ドデカヒドロキシ-10,15,20,25,30-ペンタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-ドデカオキサヘプタシクロ[26.2.2.2^{3},^{6}.2^{8},^{11}.2^{13},^{16}.2^{18},^{21}.2^{23},^{26}]ドテトラコンタン-5-イル]メチル}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]カルボニル}-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミドト

リフルオロ酢酸塩(106b)

【化３７２】

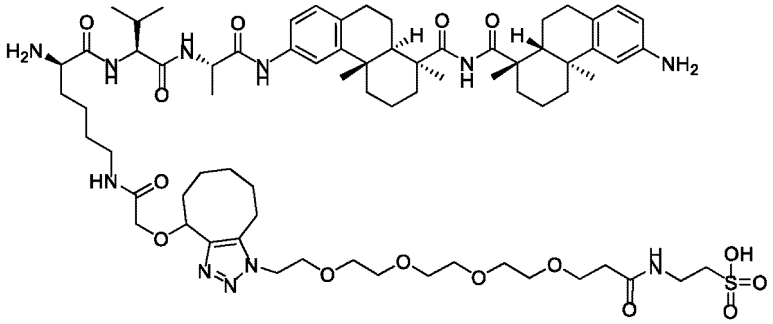


中間体106a～eのための一般的手順に従うと、化合物106b(76mg、104bから87%収率)が黄色の固体として得られた。ESI m/z: 692(M/3+1)$^+$。

【０５５１】

1-(4-(2-(((R)-5-アミノ-6-(((S)-1-(((S)-1-(((4bS,8S,8aR)-8-(((1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル)カルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル)アミノ)-1-オキソプロパン-2-イル)アミノ)-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル)アミノ)-6-オキソヘキシル)アミノ)-2-オキソエトキシ)-4,5,6,7,8,9-ヘキサヒドロ-1H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-1-イル)-15-オキソ-3,6,9,12-テトラオキサ-16-アザオクタデカン-18-スルホン酸(106c)

【化３７３】

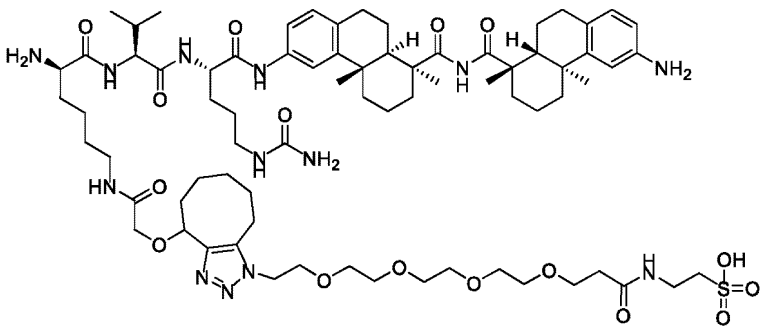


中間体106a～eのための一般的手順に従うと、化合物106c(90mg、104cから39%収率)が黄色の固体として得られた。ESI m/z: 463.8(M/3+1)$^+$。

【０５５２】

1-(4-(((6S,9S,12R)-1,12-ジアミノ-6-(((4bS,8S,8aR)-8-(((1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル)カルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル)カルバモイル)-9-イソプロピル-1,8,11,18-テトラオキソ-2,7,10,17-テトラアザノナデカン-19-イル)オキシ)-4,5,6,7,8,9-ヘキサヒドロ-1H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-1-イル)-15-オキソ-3,6,9,12-テトラオキサ-16-アザオクタデカン-18-スルホン酸(106d)

【化３７４】

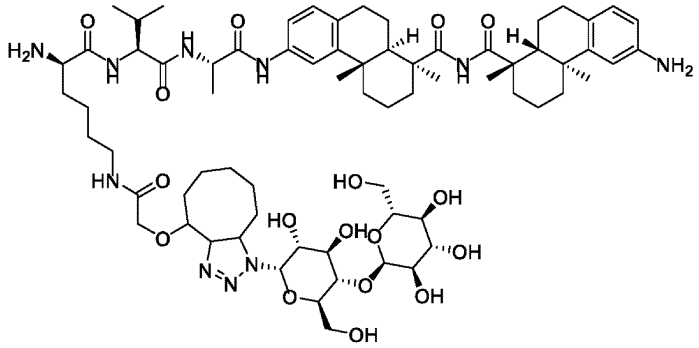


中間体106a～eのための一般的手順の後、逆相フラッシュクロマトグラフィー(水中の0～80%アセトニトリル、25分間)による精製の後に、そのTFA塩としての化合物106d(22mg、36%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 788(M/2+H)$^+$。

【０５５３】

(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-N-((1S,4aS,10aR)-6-((2S)-2-((2S)-2-((2R)-2-アミノ-6-(2-((1-((2S,3R,4R,5S,6R)-3,4-ジヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)-5-(((2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)-3a,4,5,6,7,8,9,9a-オクタヒドロ-1H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ)アセトアミド)ヘキサンアミド)-3-メチルブタンアミド)プロパンアミド)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミド(106e)

【化３７５】



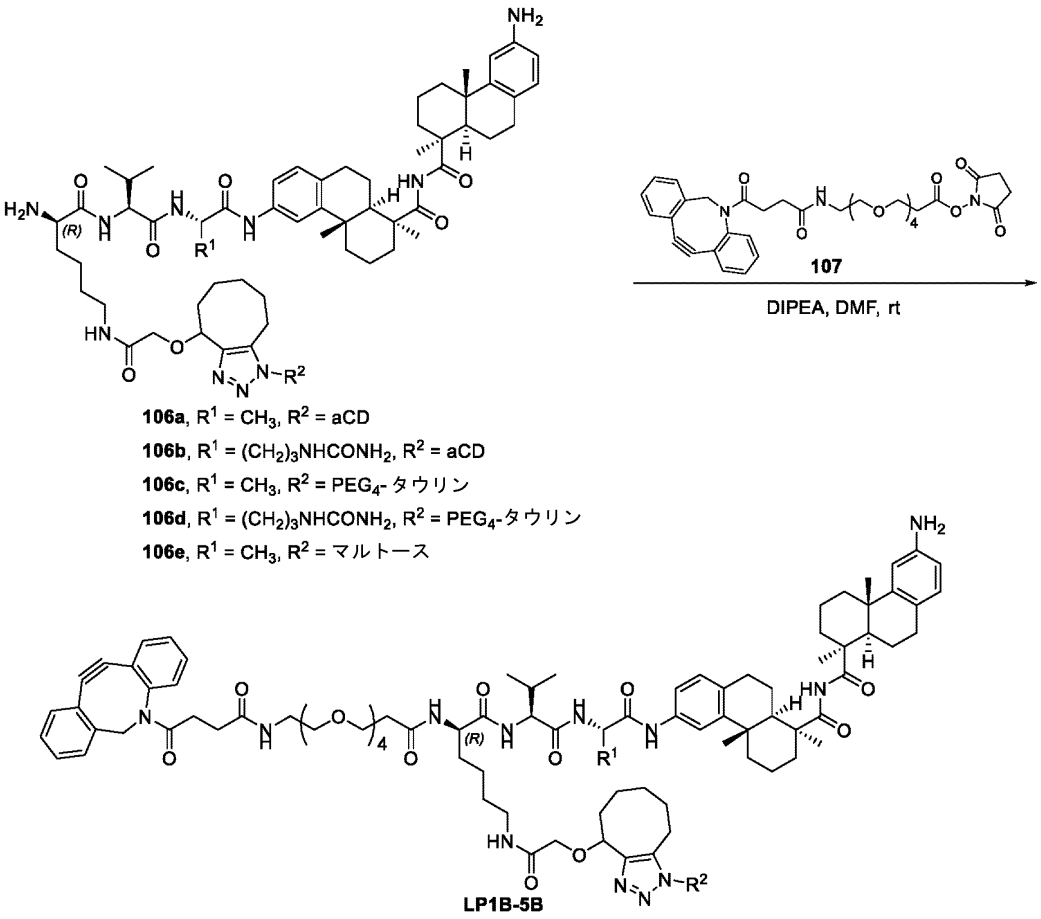
中間体106a～eのための一般的手順に従うと、そのTFA塩としての化合物106e(34mg、77%収率)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 1358(M+H)$^+$。

【０５５４】

(実施例5e)

リンカー-ペイロードLP1B～LP5B

【化３７６】



化合物106のDMF溶液に、化合物DIBAC-PEG$_4$-NHS 107及びDIPEAをRTで添加した。反応混合物をRTで3時間撹拌した。該反応混合物を分取HPLC(方法B)又は逆相フラッシュクロマトグラフィー(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP1B～5Bが得られた。

【表２４】

アミン **106**		NHS エステル **107** mg (μmol)	DIPEA (mmol)	DMF (mL)	時間 (hr)	精製		生成物 **LP**	
#	mg (μmol)							#	mg (収率)
106a	19 (8.7)	7.0 (11)	4.0 mg (0.031)	1.5	1.5	RP-B (2回)		**LP1B**	8 (36%)*
106b	76 (37)	24 (37)	12 μL (0.073)	5	1.5	分取 B (2回)		**LP2B**	20 (21%)
106c	90 (65)	39 (60)	0.02 mL (0.12)	5	1.5	分取 B		**LP3B**	60 (52%)
106d	22 (15)	9.7 (15)	5 μL (0.030)	2	1.5	分取 B		**LP4B**	6 (20%)
106e	40 (29)	23 (35)	7.6 mg (59)	5	4	分取 B		**LP5B**	15 (27%)

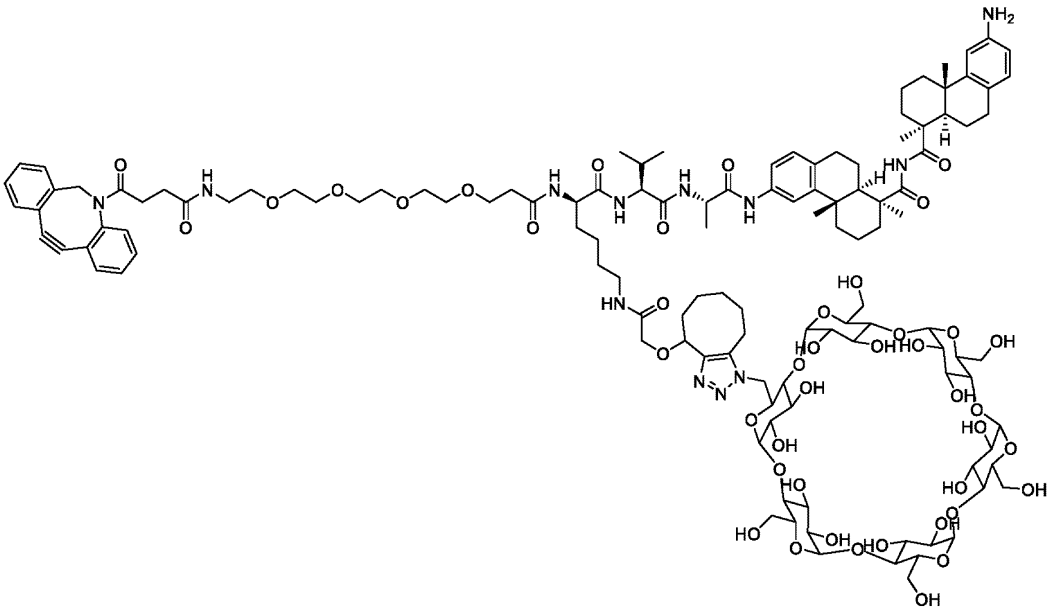
*遊離塩基としての7mgの化合物106aを再利用した。

【０５５５】

1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-1

0-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-2,3,4,9,10,10a-ヘキサヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-5,6,7,8a,9,10-ヘキサヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}エチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-ドデカヒドロキシ-10,15,20,25,30-ペンタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-ドデカオキサヘプタシクロ[26.2.2.2^{3},^{6}.2^{8},^{11}.2^{13},^{16}.2^{18},^{21}.2^{23},^{26}]ドテトラコンタン-5-イル]メチル}-4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ペンチル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド(LP1B)

【化３７７】



リンカー-ペイロードLP1～5のための一般的手順に従うと、リンカー-ペイロードLP1B(8mg、36%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 842(M/3+1)$^{+}$; 1262(M/2+1)$^{+}$。

【化３７８】

^{1}H NMR

(400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.69 (s, 0.5H), 9.28 (s, 0.5H), 8.20-8.00 (m, 5H), 7.81-7.75 (m, 2H), 7.66 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.53-7.27 (m, 9H), 6.96-6.92 (m, 1H), 6.67 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 6.32 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 5.57-5.47 (m, 14H), 5.13-4.99 (m, 2H), 4.81-4.68 (m, 11H), 4.59-4.52 (m, 5H), 4.36-4.29 (m, 3H), 4.16-4.08 (m, 1H), 3.99-3.98 (m, 1H), 3.84-3.53 (m, 30H), 3.45-3.38 (m, 12H), 3.13-3.03 (m, 4H), 2.90-2.66 (m, 5H), 2.36-2.32 (m, 1H), 2.26-2.20 (m, 3H), 2.15-2.12 (m, 4H), 2.00-1.99 (m, 2H), 1.88-1.72 (m, 6H), 1.64-1.40 (m, 14H), 1.33-1.24 (m, 17H), 1.14-1.09 (m, 3H), 1.00-0.97 (m, 7H), 0.89-0.81 (m, 8H) ppm.

【０５５６】

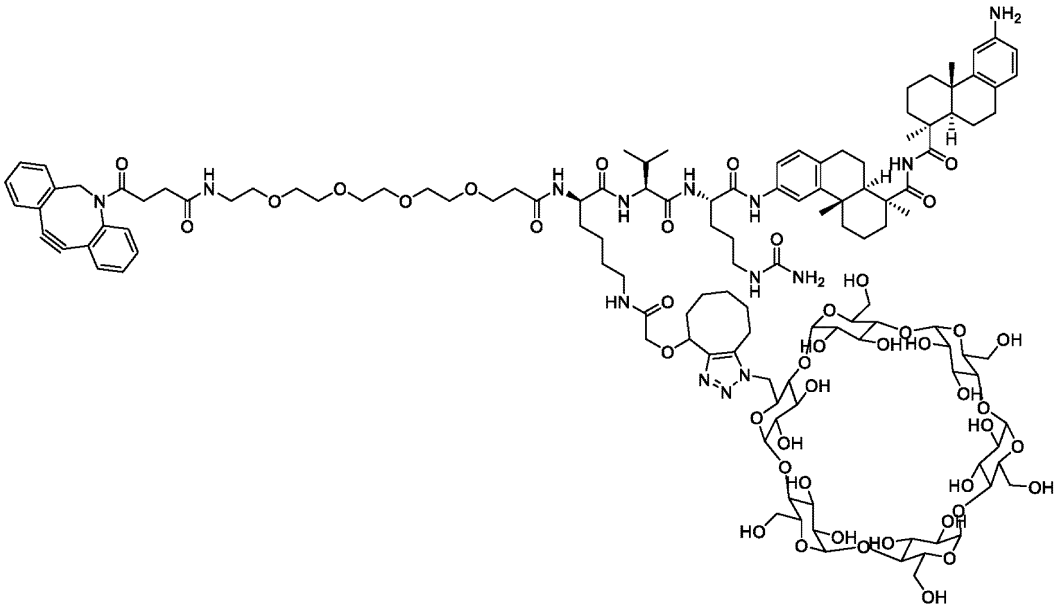
分析的HPLC: 95%、保持時間: 7.93分(方法B)。

【０５５７】

1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4},^{9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}-4-(カルバモイルアミノ)ブチル]カルバモ

イル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-ドデカヒドロキシ-10,15,20,25,30-ペンタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-ドデカオキサヘプタシクロ[26.2.2.2^{3},^{6}.2^{8},^{11}.2^{13},^{16}.2^{18},^{21}.2^{23},^{26}]ドテトラコンタン-5-イル]メチル}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ペンチル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド(LP2B)

【化３７９】



リンカー-ペイロードLP1～5のための一般的手順に従うと、リンカー-ペイロードLP2B(20mg、21%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 870(M/3+H)$^{+}$。

【化３８０】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.76 (s, 1H), 9.31 (s, 1H), 8.26-8.16 (m, 1H), 8.11-8.07 (m, 1H), 8.03-7.98 (m, 1H), 7.78-7.75 (m, 1H), 7.68-7.66 (m, 1H), 7.62-7.60 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.55-7.52 (m, 1H), 7.48-7.44 (m, 4H), 7.39-7.30 (m, 4H), 6.96-6.93 (m, 1H), 6.68-6.77 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.47 (m, 1H), 6.34-6.32 (dd, *J* = 8.0 Hz, 1.6 Hz, 1H), 5.96 (br s, 1H), 5.59-5.56 (m, 5H), 5.52-5.45 (m, 7H), 5.38 (s, 2H), 5.13 (br s, 1H), 5.04-5.00 (d, *J* = 14.0 Hz, 1H), 4.81-4.69 (m, 10H), 4.60-4.51 (m, 5H), 4.36-4.11 (m, 5H), 3.98 (br s, 2H), 3.85-3.77 (m, 11H), 3.70-3.58 (m, 10H), 3.45-3.40 (m, 20H), 3.30-3.27 (m, 4H), 3.12-3.04 (m, 5H), 2.98-2.86 (m, 4H), 2.77-2.67 (m, 4H), 2.27-2.19 (m, 4H), 2.16-2.10 (m, 4H), 2.02-1.96 (m, 2H), 1.89-1.73 (m, 8H), 1.64-1.57 (m, 11H), 1.50-1.43 (m, 7H), 1.26-1.20 (m, 12H), 1.15-1.10 (m, 4H), 1.01-0.97 (m, 6H), 0.89-0.82 (m, 6H) ppm.

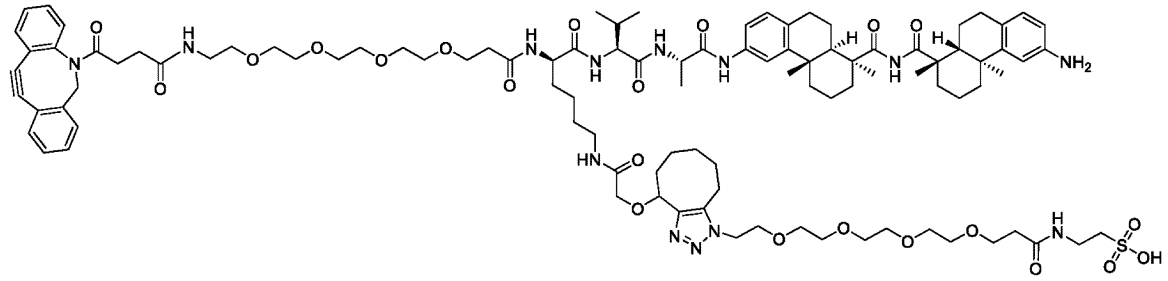
分析的HPLC: 100%、保持時間: 7.35分(方法B)。溶解度:＜0.1mg/mL水。

【０５５８】

2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]カルボニル}カルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}エチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ペンチル]カルバモイル}メトキシ)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-

1-イル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}エタン-1-スルホン酸(LP3B)

【化３８１】



リンカー-ペイロードLP1～5のための一般的手順に従うと、リンカー-ペイロードLP3B(60mg、52%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 642(M/3+H)$^+$。

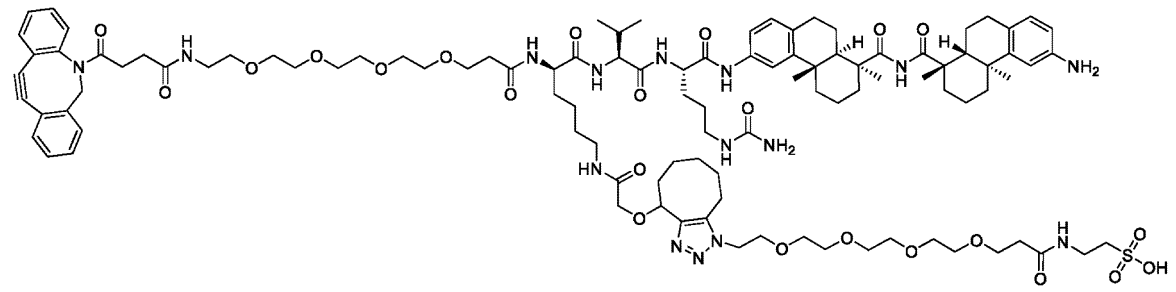
【化３８２】

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.68 (s, 0.6H), 9.25 (s, 0.4H), 8.22-8.07 (m, 3H), 8.02-7.86 (m, 2H), 7.77-7.72 (m, 2H), 7.68-7.60 (m, 2H), 7.54-7.52 (m, 1H), 7.50-7.42 (m, 4H), 7.39-7.27 (m, 4H), 7.22 (s, 1H), 7.08 (s, 1H), 6.97-6.94 (m, 2H), 6.74 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 6.43 (dd, J = 10.0 Hz, 2.0 Hz, 1H), 5.62 (br s, 1H), 5.04-5.00 (m, 1H), 4.93-4.90 (m, 0.4H), 4.76-4.72 (m, 0.6H), 4.52-4.26 (m, 4H), 4.16-4.08 (m, 1H), 3.81-3.75 (m, 4H), 3.61-3.55 (m, 4H), 3.46-3.44 (m, 24H), 3.30-3.27 (m, 5H), 3.08-3.06 (m, 5H), 2.97-2.89 (m, 2H), 2.80-2.74 (m, 4H), 2.54-2.52 (m, 2H), 2.40-2.31 (m, 2H), 2.27-2.22 (m, 4H), 2.16-2.13 (m, 4H), 2.02-1.71 (m, 8H), 1.69-1.45 (m, 10H), 1.40-1.21 (m, 14H), 1.17-1.08 (m, 4H), 1.01-0.98 (m, 6H), 0.89-0.82 (m, 6H) ppm.

【０５５９】

2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]カルボニル}カルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}-4-(カルバモイルアミノ)ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ペンチル]カルバモイル}メトキシ)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-1-イル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}エタン-1-スルホン酸(LP4B)

【化３８３】



リンカー-ペイロードLP1～5のための一般的手順に従うと、化合物LP4B(6.0mg、20%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 671(M/3+H)$^+$。

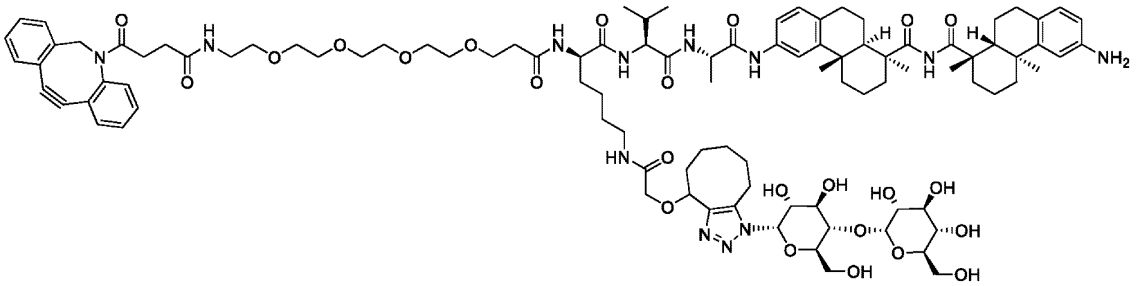
【化３８４】

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 9.37 (s, 1H), 9.29 (s, 1H), 8.24-8.22 (m, 1H), 8.18-8.17 (m, 2H), 8.09 (s, 2H), 8.01-7.99 (m, 1H), 7.97-7.94 (m, 2H), 7.89-7.84 (m, 1H), 7.76 (m, 5H), 7.68 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.62 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.55 (m, 2H), 7.51-7.43 (m, 7H), 7.39-7.28 (m, 7H), 7.08 (m, 4H), 6.96-6.93 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 6.68 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.48 (s, 2H), 6.35-6.33 (m, 2H), 5.97-5.95 (m, 2H), 5.37 (s, 4H), 5.04-5.01 (m, 2H), 4.74-4.69 (m, 5H), 4.52 (m, 1H), 4.42 (t, J = 5.5 Hz, 2H), 4.34-4.27 (m, 4H), 4.18 (m, 1H), 4.13-4.11 (m, 1H), 3.82-3.77 (m, 5H), 3.58-3.55 (m, 6H), 3.49-3.44 (m, 14H), 3.10-3.05 (m, 4H), 2.98-2.93 (m, 4H), 2.77-2.75 (m, 4H), 2.28-2.25 (m, 4H), 2.03-1.99 (m, 2H), 1.64-1.51 (m, 6H), 1.27-1.24 (m, 11H), 1.01-0.98 (m, 11H), 0.89-0.82 (m, 8H) ppm.

【０５６０】

1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}エチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}-5-[2-({1-[(2S,3R,4R,5S,6R)-3,4-ジヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)-5-{[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)オキサン-2-イル]オキシ}オキサン-2-イル]-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル}オキシ)アセトアミド]ペンチル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド(LP5B)

【化３８５】



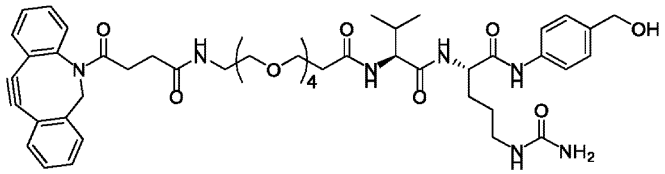
リンカー-ペイロードLP1～5のための一般的手順に従うと、化合物LP5B(15mg、27%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 947(M/2+H)$^+$。

【化３８６】

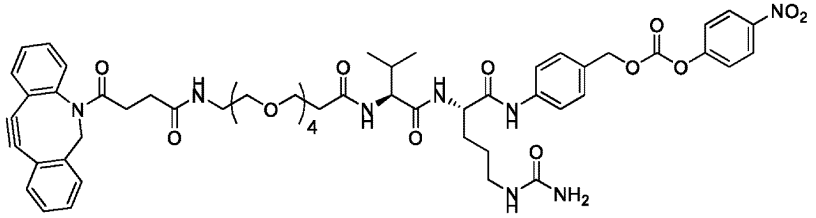
^{1}H NMR (400 MHz, $DMSO_{d6}$) δ 9.69 (s, 0.55H), 9.27 (s, 0.45H), 8.25-8.15 (m, 2H), 8.15-8.05 (m, 2H), 8.05-7.90 (m, 1H), 7.90-7.80 (m, 1H), 7.76 (t, J = 6.4 Hz, 1H), 7.66 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.55-7.40 (m, 4H), 7.40-7.25 (m, 3H), 7.00-6.90 (m, 1H), 6.67 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 6.32 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 5.75-5.70 (m, 1H), 5.56 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 5.50-5.40 (m, 2H), 5.20-4.92 (m, 4H), 4.80-4.70 (m, 1H), 4.70-4.65 (m, 2H), 4.65-4.55 (m, 2H), 4.40-4.25 (m, 2H), 4.20-3.95 (m, 2H), 3.80-3.75 (m, 2H), 3.75-3.45 (m, 23H), 3.30-3.20 (m, 3H), 3.20-2.90 (m, 5H), 2.90-2.65 (m, 3H), 2.60-2.55 (m, 1H), 2.40-1.95 (m, 12H), 1.90-1.70 (m, 5H), 1.70-1.35 (m, 14H), 1.35-1.20 (m, 15H), 1.15-1.05 (m, 3H), 1.00-0.90 (m, 7H), 0.90-0.80 (m, 7H) ppm.

【０５６１】

(実施例11-6)
リンカー-LP6B
本実施例は、上の表3のリンカー-ペイロードLP6Bの合成のための方法を示している。本実施例は、図26の109～113の番号の化合物及びリンカー-ペイロードLP6Bに言及している。
【０５６２】
1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-{[4-(ヒドロキシメチル)フェニル]カルバモイル}ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド(110)
【化３８７】



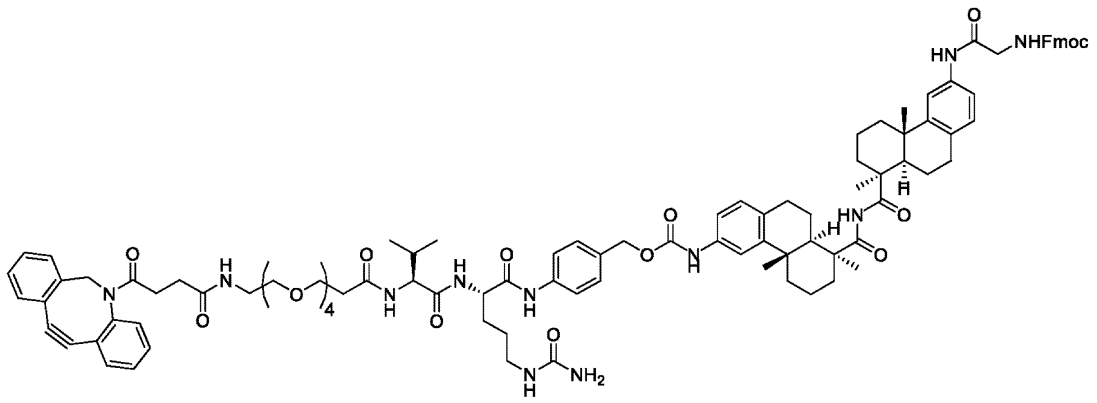
化合物108(0.30g、0.54mmol)のDMF(10mL)溶液に、HATU(0.31g、0.81mmol)及びDIPEA(0.14g、1.1mmol)をRTで順次添加した。混合物をRTで15分間撹拌した。その後、反応溶液に、VC-PAB-OH 109(CAS: 159857-79-1、0.21g、0.54mmol)をRTで添加し、LCMSによりモニタリングして、108又は109が消費されるまで、得られた混合物をRTで3時間撹拌した。その後、反応混合物を濾過膜に通して濾過し、濾液を濃縮し、逆相フラッシュクロマトグラフィー(水(10mmol/L重炭酸アンモニウムを含む)中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、化合物110(0.30g、60%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 617(M+H)$^+$。
【０５６３】
{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル 4-ニトロフェニルカルボネート(112)
【化３８８】



化合物110(0.15g、0.16mmol)のDMF(10mL)溶液に、ビス(4-ニトロフェニル)カルボネート111(0.15g、0.49mmol)及びDIPEA(63mg、0.49mmol)を0℃で順次添加した。その後、LCMSによりモニタリングして、110が消費されるまで、混合物をRTで3時間撹拌した。反応混合物を濾過膜に通して濾過し、濾液を濃縮し、逆相フラッシュクロマトグラフィー(水(10mmol/L重炭酸アンモニウムを含む)中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、化合物112(50mg、28%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1079(M+H)$^+$。
【０５６４】
9H-フルオレン-9-イルメチル N-({[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メ

トキシ)カルボニル]アミノ}-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}メチル)カルバメート(113)

【化３８９】

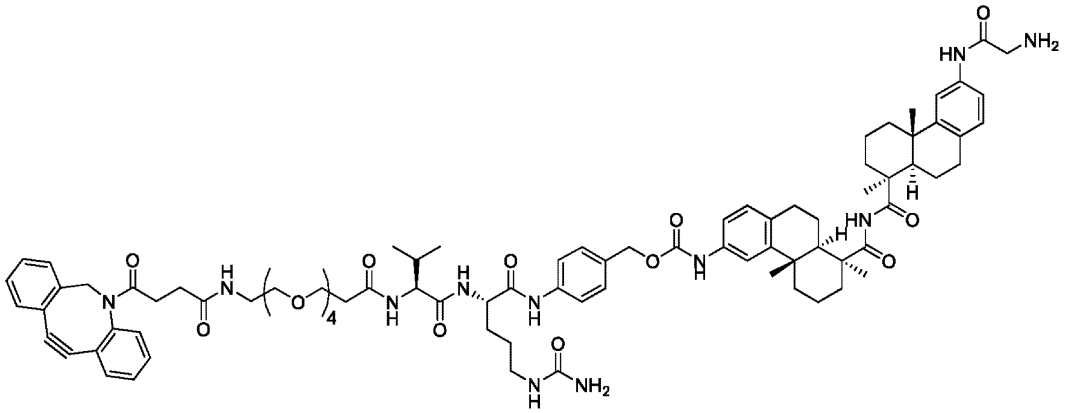


DMF(5mL)中の化合物14a(0.10g、0.12mmol)及び化合物112(0.15g、0.14mmol)の混合物に、HOBt(20mg、0.15mmol)及びDIPEA(48mg、0.37mmol)を添加し、混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を分取HPLC(方法B)により精製すると、化合物113(0.16g、72%収率)が薄黄色の固体として得られた。ESI m/z: 874$(M/2+1)^+$。

【０５６５】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.$0^{4,9}$]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-(2-アミノアセトアミド)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバメート(LP6B)

【化３９０】



化合物113(0.10g、0.057mmol)のDMF(5mL)溶液に、ピペリジン(1mL)を添加し、LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、混合物をRTで30分間撹拌した。反応混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP6B(35mg、23%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 763$(M/2+1)^+$。

【化３９１】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.0 (s, 1H), 9.51 (s, 1H), 8.15-8.08 (m, 2H), 7.87 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.76 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 7.70-7.65 (m, 1H), 7.61 (t, J = 8.5 Hz, 3H), 7.51-7.42 (m, 4H), 7.41-7.30 (m, 8H), 7.20-7.10 (m, 1H), 7.00-6.90 (m, 2H), 6.00-5.95 (m, 1H), 5.40 (s, 2H), 5.35-5.30 (m, 1H), 5.10-5.00 (m, 3H), 4.40-4.35 (m, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 3H), 3.50-3.40 (m, 14H), 3.25 (s, 3H), 3.10-3.00 (m, 4H), 3.00-2.85 (m, 4H), 2.80-2.70 (m, 2H), 2.63-2.61 (m, 1H), 2.60-2.55 (m, 1H),2.45-2.35 (m, 3H), 2.31-2.20 (m, 3H), 2.20-2.10 (m,4H), 2.10-1.92 (m, 5H), 1.90-1.82 (m, 4H), 1.68-1.53 (m, 6H), 1.50-1.40 (m, 2H), 1.20-1.10 (m, 2H), 1.02-0.96 (m, 6H), 0.90-0.80 (m, 8H) ppm.

【０５６６】

(実施例11-7)

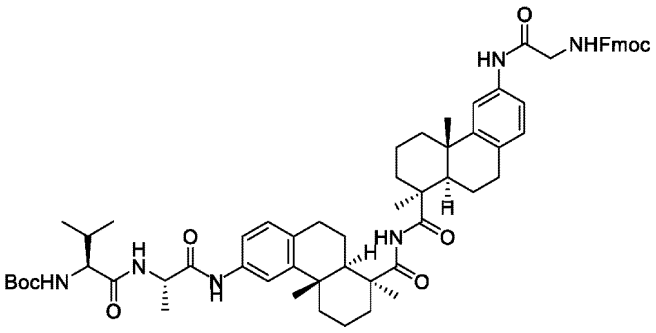
リンカー-ペイロードLP7B

本実施例は、上の表2のリンカー-ペイロードLP7Bの合成のための方法を示している。本実施例は、図27の14a、107、114、及び115の番号の化合物並びにリンカー-ペイロードLP7Bに言及している。

【０５６７】

9H-フルオレン-9-イルメチル N-({[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-{[(tert-ブトキシ)カルボニル]アミノ}-3-メチルブタンアミド]プロパンアミド]-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}メチル)カルバメート(114)

【化３９２】

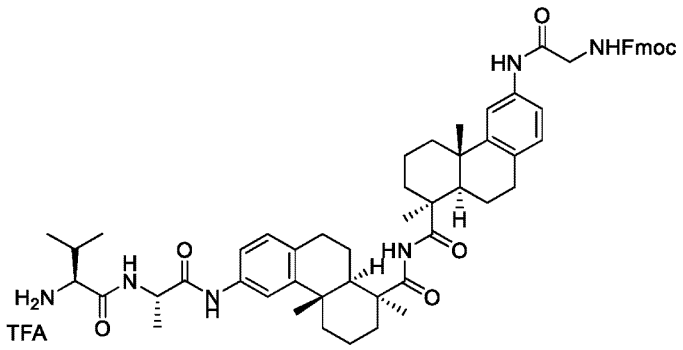


化合物14a(66mg、0.082mmol)のDMF(10mL)溶液に、Boc-Val-Ala-OH 101c(28mg、0.098mmol)、DIPEA(32mg、0.25mmol)、及びHATU(47mg、0.12mmol)を添加した。反応混合物をRTで4時間撹拌し、LCMSによりモニタリングした。該混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性重炭酸アンモニウム(10mM)中の50～90%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、化合物114(74mg、84%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 978(M-Boc+1)$^+$。

【０５６８】

9H-フルオレン-9-イルメチル N-({[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]プロパンアミド]-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}メチル)カルバメートトリフルオロ酢酸塩(115)

【化３９３】

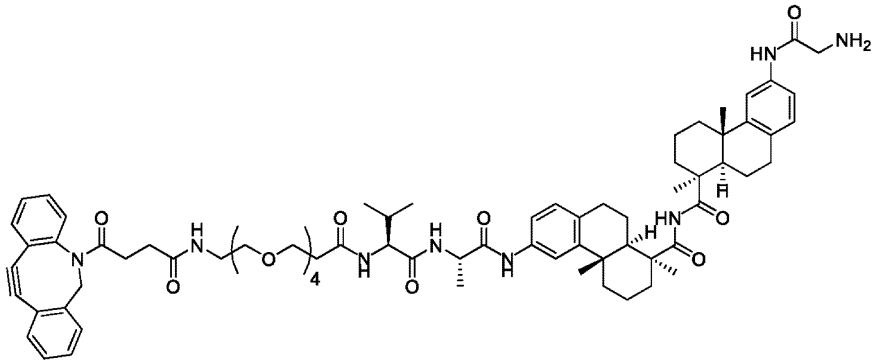


化合物114(74mg、0.069mmol)のDCM(3mL)溶液に、TFA(1mL)を添加した。LCMSによりBocが完全に除去されるまで、反応混合物をRTで1時間撹拌した。揮発性物質を真空中で除去すると、粗生成物115(66mg、TFA塩としての97%収率)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 978(M+1)$^+$。

【０５６９】

1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-N-[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-(2-アミノアセトアミド)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}エチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド(LP7B)

【化３９４】



化合物115(60mg、61μmol)のDMF(5mL)溶液に、DIBAC-suc-PEG4-OSu 107(48mg、74μmol)及びDIPEA(24mg、0.18mmol)を添加した。反応混合物をRTで4時間撹拌し、LCMSによりモニタリングした。その後、反応液に、ピペリジン(0.2mL、過剰)を添加した。LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、反応混合物をRTで30分間撹拌した。反応混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、LP7B(22mg、28%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1292(M+H)$^+$。

【化３９５】

^{1}H NMR (500MHz, $DMSO_{d6}$) (位置異性体を含む) δ 9.66 (s, 0.5H), 9.51(s, 0.5H), 8.43 (d, J = 7.5 Hz, 0.5H), 8.15-8.10 (m, 1.5H), 8.05 (d, J = 7.5 Hz, 0.5H), 7.90 (d, J = 7.5 Hz, 0.5H), 7.77 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 7.70-7.65 (m, 1H), 7.65-7.60 (m, 1H), 7.55-7.25 (m, 11H), 6.97 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 5.02 (d, J = 14.5 Hz, 1H), 4.40-4.35 (m, 1H), 4.18 (t, J = 7.5 Hz, 0.5H), 4.04 (t, J = 7.5 Hz, 0.5H), 3.65-3.50 (m, 3H), 3.50-3.40 (m, 14H), 3.23 (s, 3H), 3.15-3.05 (m, 3H), 2.95-2.85 (m, 3H), 2.80-2.70 (m, 3H), 2.60-2.55 (m, 1H), 2.40-2.10 (m, 12H), 2.00-1.80 (m, 5H), 1.80-1.70 (m, 1H), 1.70-1.55 (m, 5H), 1.24 (s, 1H), 1.20-1.10 (m, 3H), 1.10-0.90 (m, 8H), 0.90-0.80 (m, 8H) ppm.

【０５７０】

(実施例11-8)

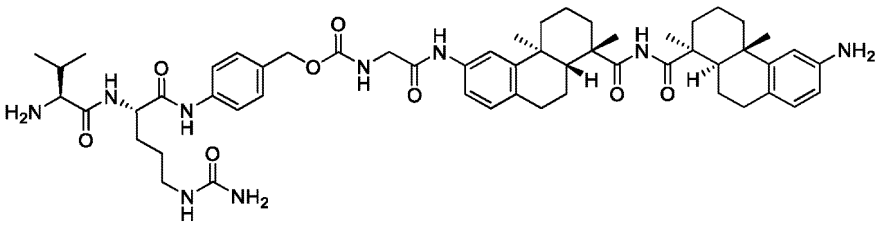
(リンカー-ペイロードLP8B)

本実施例は、上の表3のリンカー-ペイロードLP8Bの合成のための方法を示している。本実施例は、図28のP4B、117～120の番号の化合物及びリンカー-ペイロードLP8Bに言及している。

【０５７１】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-({[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}メチル)カルバメート(117)

【化３９６】



Fmoc-vc-PAB-PNP 116(0.14g、0.18mmol)及びペイロードP4B(0.11g、0.18mmol)のDMF(2mL)溶液に、HOBt(24mg、0.18mmol)及びDIPEA(70mg、0.54mmol)をRTでシリンジにより添加した。混合物をRTで2時間撹拌し、LCMSにより化合物P4Bが消費された。得られた混合物に、ピペリジン(42mg、0.50mmol)を添加し、LCMSによりモニタリングして、Fmocが完全に除去されるまで、反応液をRTで2時間撹拌した。膜に通して濾過した後、濾液を濃縮し、分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物117(45mg、27%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 991(M+1)$^+$。

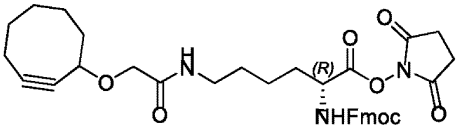
【化３９７】

^{1}H NMR (400 MHz, $DMSO_{d6}$) δ 10.11 (s, 1H), 9.80 (s, 1H), 8.20-8.04 (m, 2H), 7.60 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.52-7.44 (m, 2H), 7.36-7.20 (m, 3H), 6.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.68 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.48 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 6.36-6.29 (m, 1H), 5.98 (t, J = 5.6 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 4.97 (s, 2H), 4.70 (s, 2H), 4.52-4.42 (m, 1H), 3.75 (d, J = 6.0 Hz, 2H), 3.07-2.85 (m, 4H), 2.82-2.61 (m, 3H), 2.31-2.06 (m, 6H), 2.00-1.78 (m, 6H), 1.72-1.52 (m, 6H), 1.44-1.09 (m, 13H), 0.99 (d, J = 8.5 Hz, 6H), 0.87 (d, J = 8.1 Hz, 3H), 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 3H) ppm.

【０５７２】

2,5-ジオキソピロリジン-1-イル(2R)-6-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]-2-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}ヘキサノエート(118)

【化３９８】

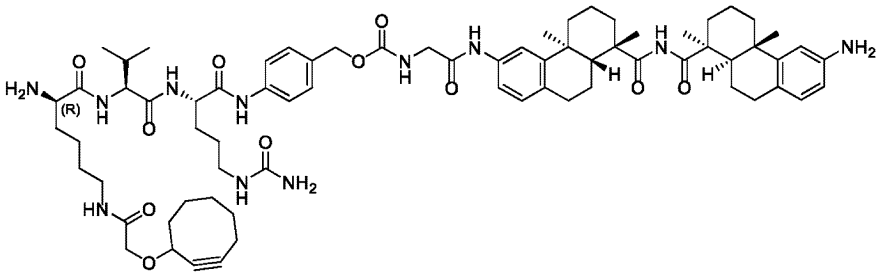


DCM(3mL)中の化合物103(0.10g、0.19mmol)、EDCI(72mg、0.38mmol)、及びHOSu(43mg、0.38mmol)の混合物をRTで3時間撹拌した。反応混合物を濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の70%の酢酸エチル)により精製すると、中間体118(55mg、47%収率)が白色の固体として得られ、これを、精製することなく、次の工程で使用した。ESI m/z: 630$(M+1)^+$。

【０５７３】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-アミノ-6-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-({[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}メチル)カルバメート(119)

【化３９９】

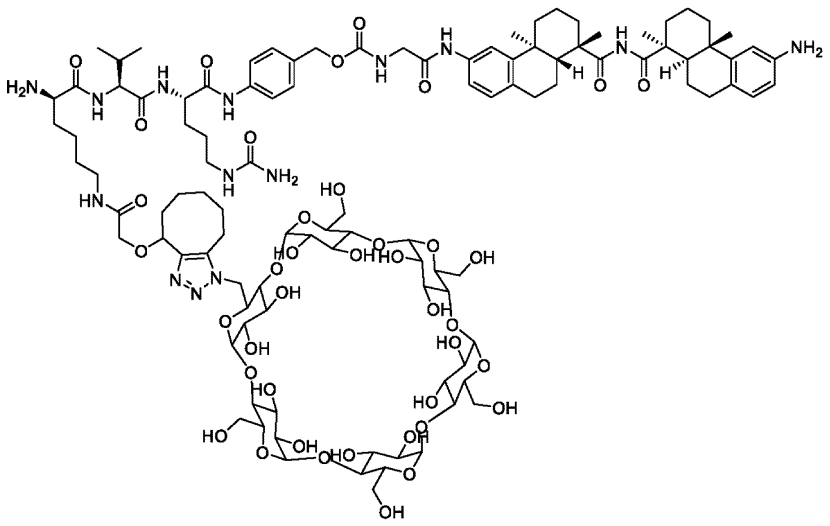


化合物117(55mg、56μmol)及びDIPEA(24mg、0.19mmol)のDMF(1.5mL)溶液に、粗中間体118(40mg、63μmol)を添加した。LCMSにより118が消費されるまで、反応混合物をRTで2時間撹拌した。該反応混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、Fmoc-119(60mg、ESI m/z: 753$(M/2+1)^+$)が白色の固体として得られ、これをDMF(1.5mL)に溶解させた。該溶液に、ジエチルアミン(24mg、0.33mmol)を添加し、LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、溶液をRTで2時間撹拌した。反応混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性重炭酸アンモニウム中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、化合物119(35mg、化合物117から50%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1282$(M+H)^+$。

【０５７４】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-アミノ-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-ドデカヒドロキシ-10,15,20,25,30-ペンタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-ドデカオキサヘプタシクロ[26.2.2.2^{3},^{6}.2^{8},^{11}.2^{13},^{16}.2^{18},^{21}.2^{23},^{26}]ドテトラコンタン-5-イル]メチル}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-({[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}メチル)カルバメート(120)

【化４００】

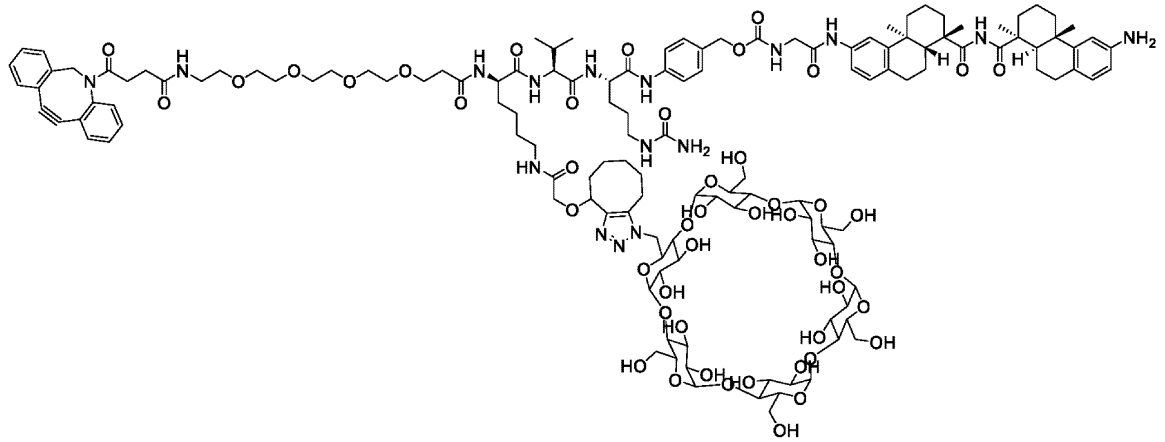


化合物119(70mg、54μmol)のDMF(3mL)溶液に、α-CD-N_3 105a(0.16g、0.16mmol)を添加した。反応混合物を50℃で3日間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性重炭酸アンモニウム(10mM)中の0～100%アセトニトリルにより精製すると、化合物120(20mg、16%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1141$(M/2+1)^+$。

【０５７５】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.$0^{4,9}$]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-ドデカヒドロキシ-10,15,20,25,30-ペンタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-ドデカオキサヘプタシクロ[26.2.2.$2^{3,6}$.$2^{8,11}$.$2^{13,16}$.$2^{18,21}$.$2^{23,26}$]ドテトラコンタン-5-イル]メチル}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-({[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}メチル)カルバメート(LP8B)

【化４０１】

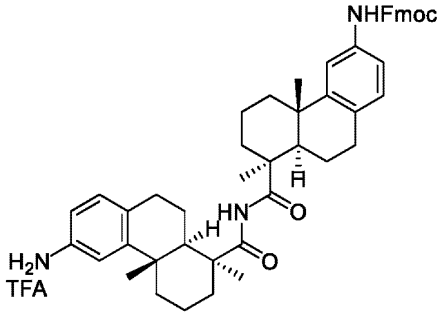


化合物120(10mg、4.4μmol)及び中間体107(5mg、7.7μmol)のDMF(2mL)溶液に、DIPEA(16mg、0.12mmol)を添加し、混合物を室温で16時間撹拌した。反応混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま2回精製すると、LP8B(1.5mg、12%収率)が白色の固

体として得られた。ESI m/z: 939(M/3+H)$^+$。
【化４０２】

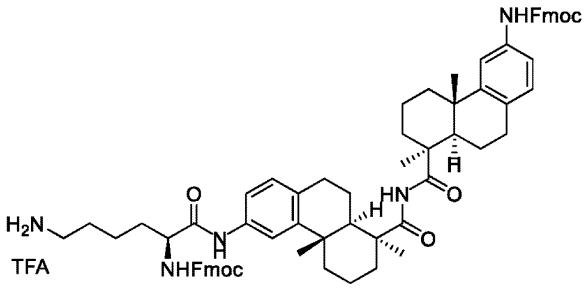
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.87-9.66 (m, 1H), 8.22-8.08 (m, 4H), 7.91-7.76 (m, 2H), 7.71-7.61 (m, 4H), 7.56-7.45 (m, 4H), 7.40-7.28 (m, 5H), 6.96 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.68 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.48 (s, 1H), 6.34 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.03-5.96 (m, 1H), 5.67-5.31 (m, 12H), 5.06-4.95 (m, 3H), 4.87-4.66 (m, 7H), 4.63-4.50 (m, 3H), 4.38-4.29 (m, 3H), 4.22-4.13 (m, 1H), 4.06-3.93 (m, 1H), 3.86-3.40 (m, 54H), 3.30-3.19 (m, 4H), 3.17-2.85 (m, 4H), 2.81-2.62 (m, 2H), 2.60-2.54 (m, 3H), 2.41-1.95 (m, 11H), 1.92-1.71 (m, 5H), 1.68-1.40 (m, 13H), 1.33-1.09 (m, 22H), 1.02-0.93 (m, 10H), 0.89-0.78 (m, 9H) ppm.

分析的HPLC(トリアゾール位置異性体の混合物として): 63%、保持時間: 6.03分; 36%、保持時間: 6.13分(方法B)。
【０５７６】
(実施例11-9)
(リンカー-ペイロードLP9B)
本実施例は、上の表3のリンカー-ペイロードLP9Bの合成のための方法を示している。本実施例は、図29の12b、15、112、121、及び122の番号の化合物並びにリンカー-ペイロードLP9Bに言及している。
【０５７７】
9H-フルオレン-9-イルメチル N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバメート、トリフルオロ酢酸塩(15)
【化４０３】



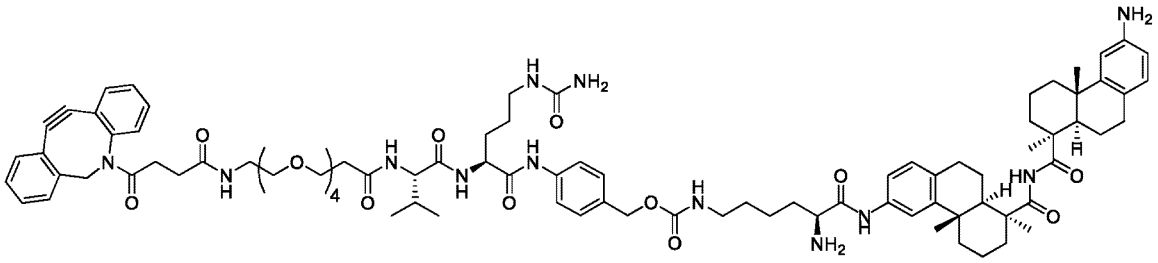
化合物12b(0.63g、1.0mmol)のDCM(50mL)溶液に、Fmoc-OSu(0.40g、1.2mmol)及びDIPEA(0.26g、2.0mmol)を添加した。混合物をRTで16時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。混合物を真空中で濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の50～80%酢酸エチル)により精製すると、Boc-15(0.71g)が白色の固体として得られ、これをDCM(10mL)に溶解させた。該溶液に、TFA(3mL)をRTで添加した。LCMSによりBocが完全に除去されるまで、反応混合物をRTで4時間撹拌した。揮発性物質を真空中で除去すると、TFA塩としての化合物15(0.62g、74%収率)及び無色の油状物が得られた。ESI m/z: 751(M+H)$^+$。
【０５７８】
9H-フルオレン-9-イルメチル N-[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-6-アミノ-2-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}ヘキサンアミド]-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバメー

ト、トリフルオロ酢酸塩(122)
【化４０４】



化合物15(0.30g、0.40mmol)のDMF(20mL)溶液に、Fmoc-Lys(Boc)-OH 121(0.23g、0.48mmol)、HATU(228mg、0.60mmol)、及びDIPEA(0.16g、1.2mmol)をRTで順次添加した。反応混合物をRTで4時間撹拌し、LCMSによりモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性重炭酸アンモニウム(10mM)中の50～90%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、Boc-122(0.41g)が白色の固体として得られ、そのうちの0.24gをDCM(20mL)に溶解させた。該溶液に、TFA(3mL)を添加し、LCMSによりBocが完全に除去されるまで、反応混合物をRTで1時間撹拌した。揮発性物質を真空中で除去すると、TFA塩としての化合物122(0.22g、79%収率)及び無色の油状物が得られた。ESI m/z: 1101$(M+H)^+$。

【０５７９】
{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.$0^{4,9}$]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-[(5S)-5-アミノ-5-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}ペンチル]カルバメート(LP9B)
【化４０５】



DMF(5mL)中の化合物122(14mg、12μmol)及び化合物112(15mg、14μmol)の混合物に、HOBt(2mg、15μmol)及びDIPEA(5mg、37μmol)を添加し、混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、反応混合物に、ピペリジン(0.5mL)を添加し、LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、混合物をRTで0.5時間撹拌した。その後、反応混合物を膜に通して濾過し、濾液を濃縮し、分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、LP9B(6mg、31%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 798$(M/2+H)^+$。

【化４０６】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.0 (s, 1H), 8.15-8.08 (m, 2H), 7.87 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.76 (t, *J* = 5.0 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 7.60-7.56 (m, 2H), 7.51-7.42 (m, 4H), 7.41-7.24 (m, 6H), 7.20-7.16 (m, 1H), 6.95 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.68 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.50-6.46 (m, 1H), 6.36-6.32 (m, 1H), 6.00-5.96 (m, 1H), 5.40 (s, 2H), 5.02 (d, *J* = 9.0 Hz, 1H), 4.91 (s, 2H), 4.69 (s, 2H), 4.40-4.35 (m, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 3H), 3.50-3.40 (m, 14H), 3.24-3.20 (m, 2H), 3.10-3.05 (m, 2H), 3.00-2.92 (m, 3H), 2.92-2.85 (m, 1H), 2.80-2.70 (m, 2H), 2.65-2.55 (m, 2H), 2.45-2.35 (m, 2H), 2.31-2.20 (m, 4H), 2.20-2.10 (m,4H), 2.10-1.92 (m, 3H), 1.90-1.70 (m, 6H), 1.68-1.53 (m, 6H), 1.50-1.30 (m, 8H), 1.25-1.20 (m, 7H), 1.20-1.10 (m, 3H), 1.02-0.96 (m, 6H), 0.90-0.80 (m, 6H) ppm.

【０５８０】

(実施例11-10)

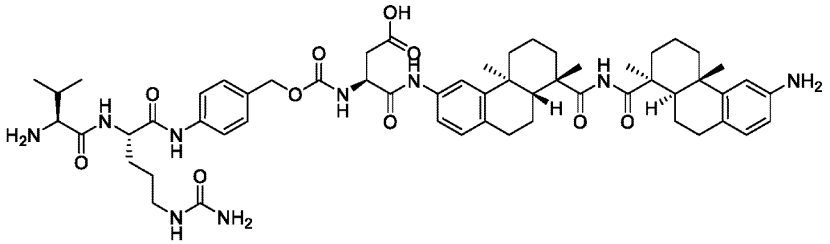
(リンカー-ペイロードLP10B及びLP11B)

本実施例は、上の表3のリンカー-ペイロードLP10B～LP11Bの合成のための方法を示している。本実施例は、図30のP7B、P8B、116、123a～bの番号の化合物、リンカー-ペイロードLP10B及びLP11Bに言及している。

【０５８１】

(S)-4-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-3-((4-((S)-2-((S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジルオキシ)カルボニルアミノ)-4-オキソブタン酸(123a)

【化４０７】

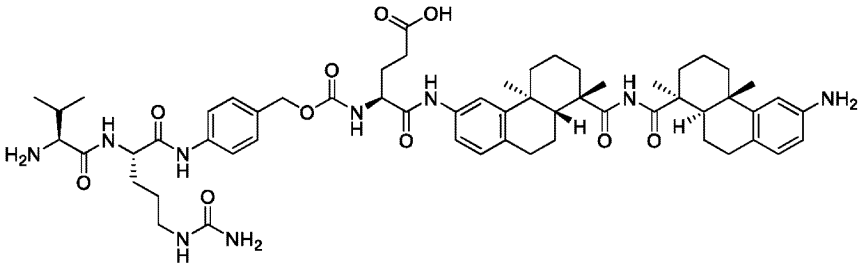


ペイロードP7(64mg、0.10mmol)のDMF(5mL)溶液に、中間体116(92mg、0.12mmol)及びDIPEA(26mg、0.20mmol)をRTで順次添加した。反応混合物をRTで4時間撹拌し、LCMSによりモニタリングした。その後、該混合物に、ピペリジン(0.5mL)を添加し、LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、反応混合物をRTで10分間撹拌した。混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性重炭酸アンモニウム(10mM)中の40～70%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、化合物123a(41mg、39%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1049(M+H)$^+$。

【０５８２】

(S)-5-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-4-((4-((S)-2-((S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジルオキシ)カルボニルアミノ)-5-オキソペンタン酸(123b)

【化４０８】

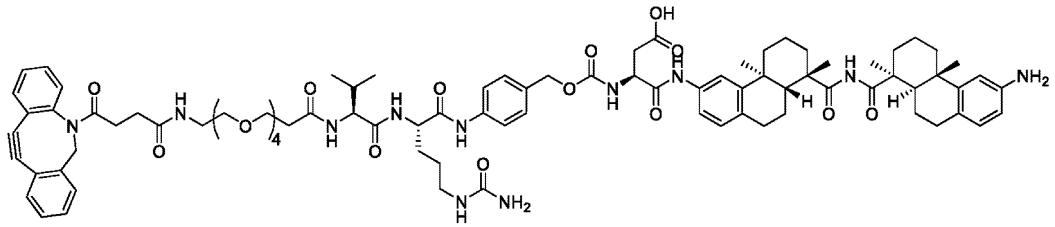


P7の代わりにP8(0.53g、0.81mmol)を使用することを除き、123aと同様の手順に従うと、化合物123b(0.61g、71%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1063(M+H)$^+$。

【０５８３】

(3S)-3-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル]アミノ}-3-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}プロパン酸(LP10B)

【化４０９】



化合物123(21mg、20μmol)のDMF(2mL)溶液に、中間体107(16mg、24μmol)及びDIPEA(5mg、40μmol)をRTで順次添加した。反応混合物をRTで4時間撹拌し、LCMSによりモニタリングした。得られた混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP10B(12mg、38%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 792(M/2+H)$^+$。

【化４１０】

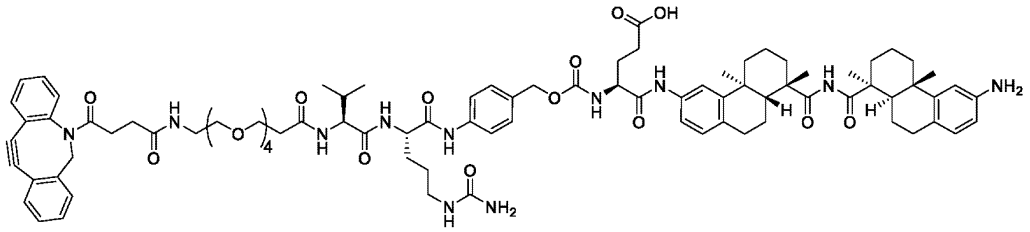
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.0 (s,1H), 8.14 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.90 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.85-7.75 (m, 1H), 7.68 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.65-7.55 (m, 3H), 7.55-7.40 (m, 4H), 7.40-7.25 (m, 5H), 6.95 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.67 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 6.32 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.05-5.95 (m, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.05-4.90 (m, 3H), 4.80-4.60 (m, 1H), 4.40-4.35 (m, 2H), 4.25-4.20 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 3H), 3.50-3.40 (m, 25H), 3.20-2.85 (m, 4H), 2.80-2.55 (m, 3H), 2.40-2.30 (m, 3H), 2.30-2.20 (m, 3H), 2.20-2.05 (m, 4H), 2.0-1.50 (m, 12H), 1.50-1.30 (m, 3H), 1.30-1.20 (m, 6H), 1.20-1.05 (m, 2H), 1.05-0.90 (m, 5H), 0.90-0.80 (m, 6H) ppm.

【０５８４】

(4S)-4-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル]アミノ}-4-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10a

R)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}ブタン酸(LP11B)

【化４１１】



123aの代わりに123b(0.10g、94μmol)を使用することを除き、LP10Bと同様の手順に従うと、化合物LP11B(50mg、33%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 799(M/2+H)$^+$。

【化４１２】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.0 (s, 1H), 9.91 (s, 1H), 8.14 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.90 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.85-7.75 (m, 1H), 7.68 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.65-7.55 (m, 3H), 7.55-7.40 (m, 4H), 7.40-7.25 (m, 6H), 6.95 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 6.67 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 6.32 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.05-5.95 (m, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.05-4.90 (m, 3H), 4.40-4.35 (m, 2H), 4.25-4.20 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 4H), 3.50-3.40 (m, 25H), 3.20-2.85 (m, 4H), 2.80-2.55 (m, 3H), 2.40-2.30 (m, 3H), 2.30-2.20 (m, 3H), 2.20-2.05 (m, 4H), 2.00-1.50 (m, 12H), 1.50-1.30 (m, 3H), 1.30-1.20 (m, 6H), 1.20-1.05 (m, 2H), 1.05-0.90 (m, 5H), 0.90-0.80 (m, 6H) ppm.

【０５８５】

(実施例11-11)

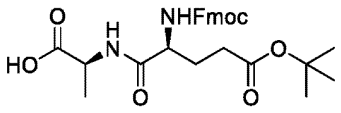
(ペイロードP12B及びリンカー-ペイロードLP12B)

本実施例は、下の表Cのペイロード P12B及び上の表Cのリンカー-ペイロードLP12Bの合成のための方法を示している。本実施例は、図31の12b、107、124、125、及び126の番号の化合物、並びにペイロードP12Bリンカー-ペイロードLP12Bに言及している。

【０５８６】

((S)-2-((((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニル)アミノ)-5-(tert-ブトキシ)-5-オキソペンタノイル)-L-アラニン(125)

【化４１３】



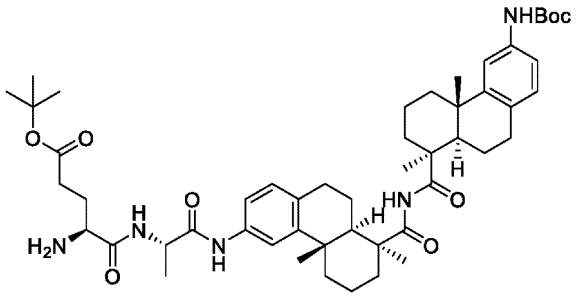
Fmoc-Glu(OtBu)-OH(6.0g、14mmol)のDCM(300mL)溶液に、HOSu(3.2g、28mmol)及びEDCI(5.4g、28mmol)を添加した。反応混合物をRTで一晩撹拌し、LCMSによりモニタリングした。得られた混合物をDCM(200mL)で希釈し、水(100mL×2)及びブライン(100mL)で洗浄した。有機溶液を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮すると、粗化合物124(8.5g、ESI m/z: 545(M+23)$^+$)が得られ、これをDMF(10mL)に溶解させた。該溶液に、アラニン(4.2g、48mmol)及びDIPEA(6.2g、48mmol)を添加した。反応混合物をRTで一晩撹拌し、LCMSによりモニタリングした。得られた混合物を水(100mL)に注ぎ入れ、酢酸でpH 5～6に酸性化した。混合物を酢酸エチルで抽出し、合わせた有機溶液を真空中で濃縮した。粗生成物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性TFA(0.01%)中の0～60%アセトニトリル)により精製すると、化合物125(1g、15

%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 497(M+H)$^+$。

【０５８７】

(S)-tert-ブチル 4-アミノ-5-((S)-1-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-(tert-ブトキシカルボニルアミノ)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-1-オキソプロパン-2-イルアミノ)-5-オキソペンタノエート(126)

【化４１４】

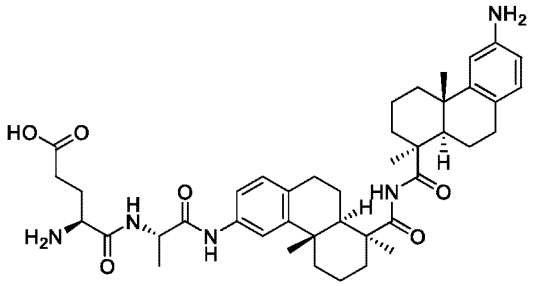


化合物125(42mg、84μmol)及びDIPEA(28μl、0.16mmol)のDMF(3.0mL)溶液に、HATU(36mg、95μmol)を添加した。反応混合物をRTで10分間撹拌し、その後、化合物12b(50mg、80μmol)を添加し、混合物をRTで一晩撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、反応混合物に、ピペリジン(1.0mL)を添加し、LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、混合物をRTで3時間撹拌した。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性TFA(0.01%)中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、化合物126(20mg、28%収率)が黄色の固体として得られた。ESI m/z: 885(M+H)$^+$。

【０５８８】

(S)-4-アミノ-5-((S)-1-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-1-オキソプロパン-2-イルアミノ)-5-オキソペンタン酸(P12B)

【化４１５】



ニートのTFA(2.0mL)中の化合物126(57mg、64μmol)の混合物をRTで1時間撹拌し、LCMSによりモニタリングした。得られた混合物をDCM(20mL)で希釈し、真空中で濃縮した。残渣を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性炭酸水素ナトリウム(10mM)中の0～100%アセトニトリル)により精製すると、P12B(20mg、43%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 365(M/2+H)$^+$。

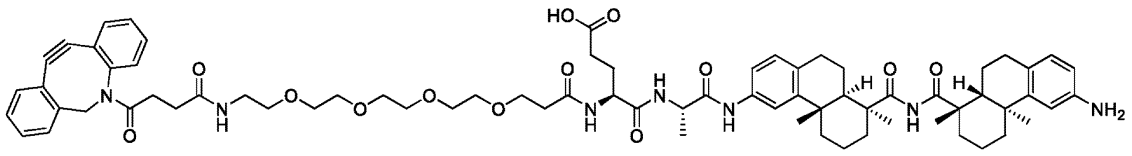
【化４１６】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.90 (s, 1H), 8.30 (br s, 1H), 8.09 (s, 1H), 7.50 (s, 1H), 7.33 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.96 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.67 (d, *J* = 8.0 Hz, 1H), 6.46(s, 1H), 6.33 (dd, *J* = 7.6 Hz 及び 2.0 Hz, 1H), 4.70 (br s, 1H), 4.41-4.36 (m, 1H), 3.42-3.30 (m, 6H), 2.91-2.85 (m, 1H), 2.78-2.75 (m, 2H), 2.67-2.61 (m, 1H), 2.32-2.27 (m, 4H), 2.16-2.13 (m, 4H), 1.88-1.77 (m, 4H), 1.65-1.58 (m, 4H), 1.29-1.23 (m, 12H), 1.14-1.11 (m, 2H), 1.01 (d, *J* = 7.6 Hz, 6H) ppm.

【０５８９】

(4S)-4-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-4-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-アミノ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}エチル]カルバモイル}ブタン酸(LP12B)

【化４１７】



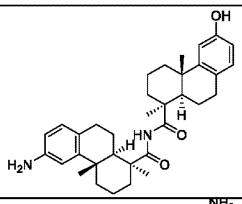
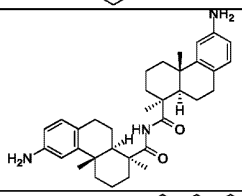
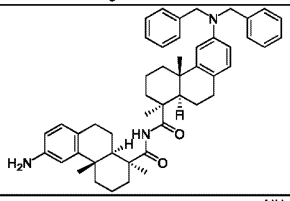
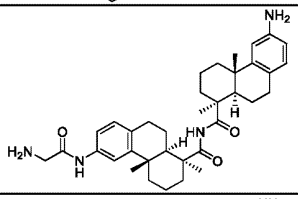
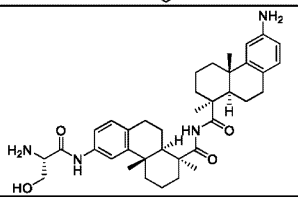
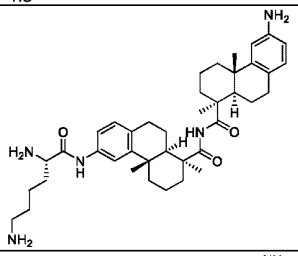
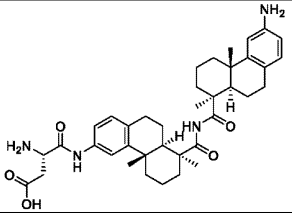
化合物P12B(10mg、14μmol)のDMF(2.0ml)溶液に、DIPEA(6μl、21μmol)及び化合物107(11mg、16μmol)を添加した。反応混合物をRTで3時間撹拌し、LCMSによりモニタリングした。得られた混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP12B(3.5mg、20%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 632(M/2+H)$^+$。

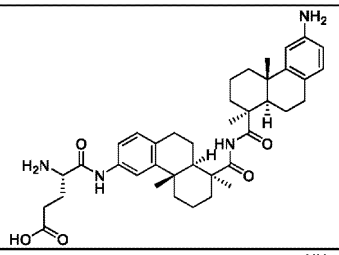
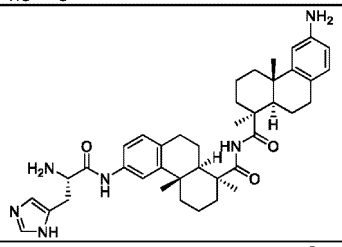
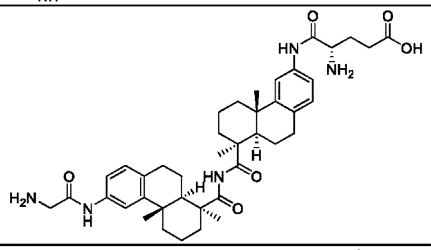
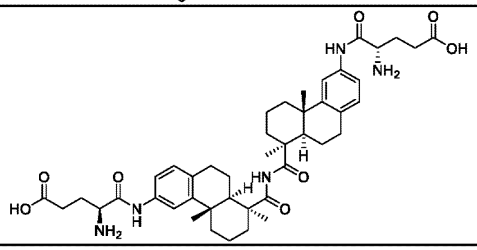
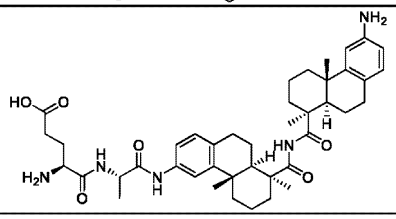
【化４１８】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.64 (s, 1H), 9.49 (s, 1H), 8.41-8.39 (m, 1H), 8.12-8.09 (m, 1H), 7.79 (br s, 1H), 7.67 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 7.60 (br s, 1H), 7.52-7.27 (m, 8H), 6.95 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.67 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.47 (s, 1H), 6.33 (dd, *J* = 8.4 Hz and 1.6 Hz, 1H), 5.02 (d, *J* = 14.0 Hz, 1H), 4.70-4.67 (br s, 1H), 4.36-4.30 (m, 1H), 4.21-4.14 (m, 1H), 3.61-3.58 (m, 3H), 3.46-3.45 (m, 15H), 3.08-3.06 (m, 2H), 2.90-2.55 (m, 5H), 2.42-2.09 (m, 12H), 1.98-1.73 (m, 7H), 1.65-1.54 (m, 3H), 1.29-1.25 (m, 12H), 1.17-1.11 (m, 2H), 0.99-0.97 (m, 6H) ppm.

表C. LXRモジュレーターペイロード

【表２５】

化合物コード	構造	MF	FW	精密質量
P1		$C_{34}H_{44}N_2O_3$	528.72	528.72
P2B		$C_{34}H_{45}N_3O_2$	527.74	527.74
P3B		$C_{48}H_{57}N_3O_2$	707.99	707.45
P4B		$C_{36}H_{48}N_4O_3$	584.79	584.37
P5B		$C_{37}H_{50}N_4O_4$	614.82	614.38
P6B		$C_{40}H_{57}N_5O_3$	655.91	655.45
P7B		$C_{38}H_{50}N_4O_5$	642.83	642.38

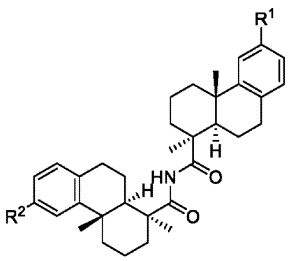
化合物コード	構造	MF	FW	精密質量
P8B		$C_{39}H_{52}N_4O_5$	656.85	656.39
P9B		$C_{40}H_{52}N_6O_3$	664.88	664.41
P10B		$C_{41}H_{55}N_5O_6$	713.91	713.42
P11B		$C_{44}H_{59}N_5O_8$	785.97	785.44
P12B		$C_{42}H_{57}N_5O_6$	727.93	727.43

【０５９０】

上記のペイロード化合物の構造、計算LogP値、MS、及びHPLCの結果は、表Dにまとめられている。

表D　ペイロードの化学的-物理的特性

【化４１９】



【表２６】

化合物	R1	R2	cLogP	MS (M+H)	HPLC	
					純度 (%)	RT (分)
P1	OH	NH_2	+++	529.3	95	8.66
P2B	NH_2	NH_2	+++	528.2	95	9.11
P3B	NH_2	NBn_2	+++	354.8 (M/2+H)	95	8.87
P4B	NH_2	$NHC(O)CH_2NH_2$ (Gly)	++	585.4	98	8.20
P5B	NH_2	$NHC(O)(S)$-$CH(CH_2OH)NH_2$ (Ser)	++	615.4	100	7.86
P6B	NH_2	$NHC(O)CH((CH_2)_4NH_2)NH_2$ (Lys)	+++	656.5	100	8.89
P7B	NH_2	$NHC(O)CH(CH_2CO_2H)NH_2$ (Asp)	+	643.4	100	6.64
P8B	NH_2	$NHC(O)CH(CH_2CH_2COOH)NH_2$ (Glu)	+	657.4	97	6.69
P9B	NH_2	$NHC(O)CH(CH_2$-イミダゾール$)NH_2$ (His)	++	665.3	97	5.94
P10B	$NHC(O)CH_2NH_2$ (Gly)	$NHC(O)CH(CH_2CH_2COOH)NH_2$ (Glu)	+	714.5	100	6.12
P11B	$NHC(O)CH(CH_2CH_2COOH)NH_2$ (Glu)	$NHC(O)CH(CH_2CH_2COOH)NH_2$ (Glu)	+	393.8 (M/2+H)	100	5.45
P12B	NH_2	$NHC(O)CH(CH_3)NHC(O)CH(CH_2CH_2COOH)NH_2$ (AlaGlu)	+	728.5	100	6.61, 6.67

6＜+++＜12; 4＜++＜6; 0＜+＜4

【０５９１】

上記のリンカー-ペイロード化合物の分子式、分子量、計算LogP値、MS、及びHPLCの結果は、表Eにまとめられている。

表E　ペイロードの化学的-物理的特性

【表２７】

化合物	MF	MW	cLogP	純度 (%)	MS m/z (100%)	最大 MS m/z	HPLC RT (分)
LP1	$C_{124}H_{176}N_{12}O_{43}$	2522.81	+	95	841.7 [M/3+H]	1262.0 [M/2+H]	7.93 (B)
LP2B	$C_{127}H_{182}N_{14}O_{44}$	2608.87	+	100	870.3 [M/3+H]	870.3 [M/3+H]	7.35 (B)
LP3B	$C_{101}H_{143}N_{13}O_{22}S$	1923.36	+++	100	641.8 [M/3+H]	962.5 [M/2+H]	6.20 (B)
LP4B	$C_{104}H_{149}N_{15}O_{23}S$	2009.45	++	99	670.5 [M/3+H]	1004.9 [M/2+H]	5.94 (B)
LP5B	$C_{100}H_{138}N_{12}O_{24}$	1892.23	++	95	631.5 [M/3+H]	946.6 [M/2+H]	6.94 (B)
LP6B	$C_{85}H_{109}N_{11}O_{15}$	1524.84	+++	96	763.0 [M/2+H]	763.0 [M/2+H]	8.63 (B)
LP7B	$C_{74}H_{96}N_8O_{12}$	1289.60	+++	97	645.4 [M/2+H]	1290.7 [M+H] (23%)	8.67 (B)
LP8B	$C_{137}H_{192}N_{16}O_{47}$	2815.07	+	99	939.2 [M/2+H]	939.2 [M/2+H]	7.60 (B)
LP9B	$C_{89}H_{118}N_{12}O_{15}$	1595.96	+++	100	798.3 [M/2+H]	798.3 [M/2+H]	8.58 (B)
LP10B	$C_{87}H_{111}N_{11}O_{17}$	1582.88	+++	97	528.4 [M/3+H]	792.0 [M/2+H]	7.11 (B)
LP11B	$C_{88}H_{113}N_{11}O_{17}$	1596.90	+++	96	799.2 [M/2+H]	799.2 [M/2+H]	7.10 (B)
LP12B	$C_{72}H_{91}N_7O_{13}$	1262.53	+++	100	631.8 [M/2+H]	631.8 [M/2+H]	7.51 (B)

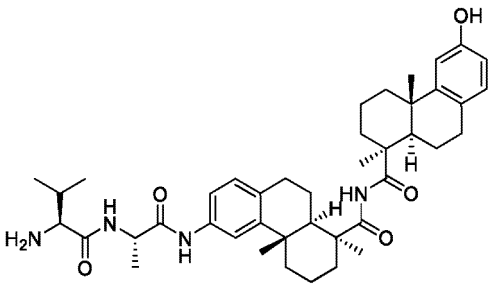
6＜+++＜12; 4＜++＜6; 0＜+＜4

【０５９２】

(実施例12. LP1の合成)(図2)

(1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-((S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド)プロパンアミド)-N-((1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミド(LP1-2)

【化４２０】



P1(53mg、0.10mmol)のDMF(1mL)溶液に、Fmoc-Val-Ala-OH(41mg、0.10mmol)、HATU(38mg、0.1mmol)、及びジイソプロピルエチルアミン(26mg、0.20mmol)を順次添加した。LCMSにより、P1が消費されるまで、25℃で24時間撹拌した後、混合物に、ピペリジン(0.1mL)を添加し、得られた溶液を25℃でさらに3時間撹拌した。濾過後、濾液を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP1-2(45mg、64%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 699(M+1)$^+$。

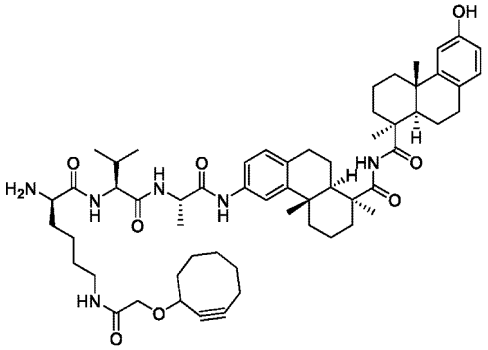
【化４２１】

^{1}H NMR (500 MHz, メタノール$_{d4}$) δ 8.40 (s, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.32 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.3, 2.4 Hz, 1H), 4.60-4.48 (m, 1H), 3.22-3.11 (m, 1H), 3.02-2.93 (m, 1H), 2.92-2.76 (m, 3H), 2.74-2.70 (m, 1H), 2.43-2.31 (m, 3H), 2.28 (d, J = 14.1 Hz, 3H), 2.16-1.96 (m, 3H), 1.81 (s, 1H), 1.78-1.65 (m, 4H), 1.53-1.42 (m, 4H), 1.38 (d, J = 5.3 Hz, 6H), 1.33-1.22 (m, 2H), 1.14 (d, J = 6.6 Hz, 6H), 1.09 (d, J = 18.6 Hz, 6H) ppm.

【０５９３】

(1S,4aS,10aR)-6-((2S)-2-((2S)-2-((2R)-2-アミノ-6-(2-(シクロオクタ-2-イニルオキシ)アセトアミド)ヘキサンアミド)-3-メチルブタンアミド)プロパンアミド)-N-((1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミド(LP1-4)

【化４２２】



化合物LP1-3(35mg、0.064mmol)のDMF(1mL)溶液に、HATU(24mg、0.064mmol)及び化合物LP1-2(45mg、0.064mmol)を室温で順次添加した。混合物が均一になるまで、該混合物を室温で数分間撹拌した。この混合物に、ジイソプロピルエチルアミン(41mg、0.32mmol)を室温でシリンジにより添加した。LCMSにより、LP1-2がほとんど消費されるまで、得られた混合物を室温で一晩(16時間)撹拌した。その後、この反応混合物に、ピペリジン(0.1mL、過剰)を室温で滴加し、LCMSによりモニタリングして、Fmocが除去されるまで、混合物をさらに3時間撹拌した。反応混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー又は分取HPLC(方法B、塩基性条件)によりそのまま精製すると、化合物LP1-4(30mg、47%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 991(M+1)$^+$。

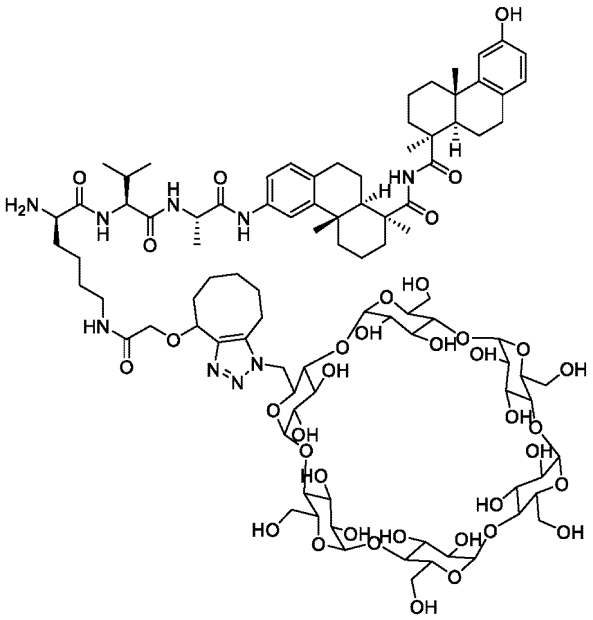
【化４２３】

^{1}H NMR (500 MHz, メタノール$_{d4}$) δ 7.51 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 7.37 (dd, J = 8.3, 2.0 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.89 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.3, 2.5 Hz, 1H), 4.64-4.57 (m, 1H), 4.48 (q, J = 7.1 Hz, 1H), 4.33-4.27 (m, 1H), 4.20 (d, J = 6.7 Hz, 1H), 3.93 (m, 2H), 3.43 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 3.24 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 3.02-2.93 (m, 2H), 2.92-2.76 (m, 3H), 2.40-2.32 (m, 2H), 2.33-2.23 (m, 4H), 2.22-2.12 (m, 3H), 2.12-2.00 (m, 5H), 1.99-1.91 (m, 1H), 1.91-1.81 (m, 2H), 1.78-1.66 (m, 6H), 1.66-1.58 (m, 1H), 1.58-1.49 (m, 2H), 1.45 (d, J = 7.1 Hz, 6H), 1.38 (d, J = 4.0 Hz, 6H), 1.34-1.22 (m, 4H), 1.14 (d, J = 7.0 Hz, 6H), 1.06-0.98 (m, 6H) ppm.

【０５９４】

(1S,4aS,10aR)-N-{[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-アミノ-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-ドデカヒドロキシ-10,15,20,25,30-ペンタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-ドデカオキサヘプタシクロ[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]ドテトラコンタン-5-イル]メチル}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]プロパンアミド]-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]カルボニル}-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミド(LP1-5)

【化４２４】



化合物LP1-4(30mg、30μmol)のDMF(0.5mL)溶液に、CD-N_3(60mg、60μmol)のDMF(0.5mL)溶液を室温でシリンジにより添加した。混合物を20～25℃で3日間撹拌した。LCMSにより、化合物LP1-4がほとんど消費された。反応混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP1-5(14mg、23%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 995(M/2+1)$^+$。

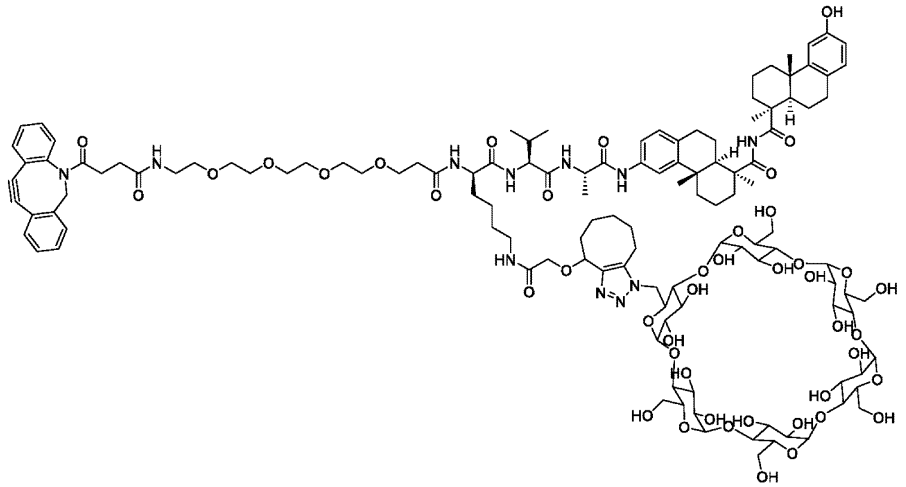
【化４２５】

^{1}H NMR (500 MHz, メタノール$_{d4}$) δ 8.40 (s, 1H), 7.56-7.52 (m, 1H), 7.32 (t, J = 7.7 Hz, 1H), 7.03 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.72 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 6.56 (dd, J = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 5.24-5.16 (m, 1H), 5.01-4.95 (m, 6H), 4.65-4.59 (m, 1H), 4.52-4.44 (m, 1H), 4.31-4.22 (m, 2H), 4.13-3.73 (m, 22H), 3.63-3.43 (m, 14H), 3.14-2.72 (m, 7H), 2.45-2.32 (m, 3H), 2.28 (d, J = 13.8 Hz, 3H), 2.22-1.85 (m, 11H), 1.82-1.59 (m, 9H), 1.55-1.41 (m, 8H), 1.38 (d, J = 5.3 Hz, 6H), 1.31-1.26 (m, 3H), 1.14 (d, J = 7.2 Hz, 6H), 1.06-0.93 (m, 6H) ppm.

【０５９５】

1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}エチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}-5-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-ドデカヒドロキシ-10,15,20,25,30-ペンタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-ドデカオキサヘプタシクロ[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]ドテトラコンタン-5-イル]メチル}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ペンチル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド(LP1)

【化４２６】



化合物LP1-5(14mg、7.4μmol)及びDIBAC-Suc-PEG$_4$-OSu(6.5mg、10μmol)のDMF(1mL)溶液に、トリエチルアミン(2.0mg、20μmol)を添加し、混合物を20～25℃で16時間撹拌した。揮発性物質の大部分を真空中で除去し、残渣を分取HPLC(方法B)により精製すると、化合物LP1(5.0mg、27%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1261(M/2+1)$^+$。

【化４２７】

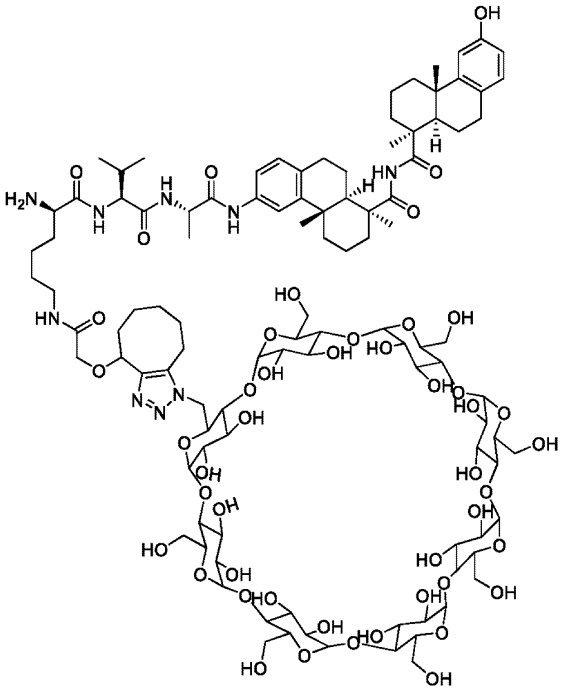
^{1}H NMR (500 MHz, メタノール$_{d4}$) δ 7.69-7.44 (m, 6H), 7.41-7.30 (m, 3H), 7.26 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.04-6.96 (m, 1H), 6.88 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.72 (d, *J* = 1.9 Hz, 1H), 6.56 (dd, *J* = 8.3, 2.4 Hz, 1H), 5.25-5.18 (m, 1H), 5.17-5.08 (m, 1H), 5.01-4.94 (m, 4H), 4.61 (s, 16H), 4.53-4.13 (m, 5H), 4.03-3.80 (m, 18H), 3.74-3.64 (m, 3H), 3.63-3.41 (m, 23H), 3.28-2.76 (m, 12H), 2.76-2.65 (m, 1H), 2.56-2.44 (m, 2H), 2.42-2.31 (m, 4H), 2.30-2.23 (m,4H), 2.18-1.92 (m, 9H), 1.79-1.55 (m, 9H), 1.49-1.34 (m, 9H), 1.33-1.22 (m, 3H), 1.18-1.10 (m, 6H), 1.06-0.94 (m, 6H) ppm.

【０５９６】

(実施例13．LP2の合成)(図3)

(1S,4aS,10aR)-N-{[(1S,4aS,10aR)-6-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-アミノ-6-{2-[(1-{[41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56-ヘキサデカヒドロキシ-10,15,20,25,30,35,40-ヘプタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29,32,34,37,39-ヘキサデカオキサノナシクロ[36.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}.2^{28,31}.2^{33,36}]ヘキサペンタコンタン-5-イル]メチル}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]プロパンアミド]-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]カルボニル}-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミド(LP2-5)

【化４２８】



化合物LP1-4(30mg、0.030mmol)のDMF(2mL)溶液に、γCD-N$_3$(0.12mg、0.091mmol)を添加した。混合物をRTで16時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。該混合物を膜に通して濾過し、その後、濾液を分取HPLC(方法A)により精製すると、化合物LP2-5(40mg、57%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1157.6(M/2+1)$^+$。

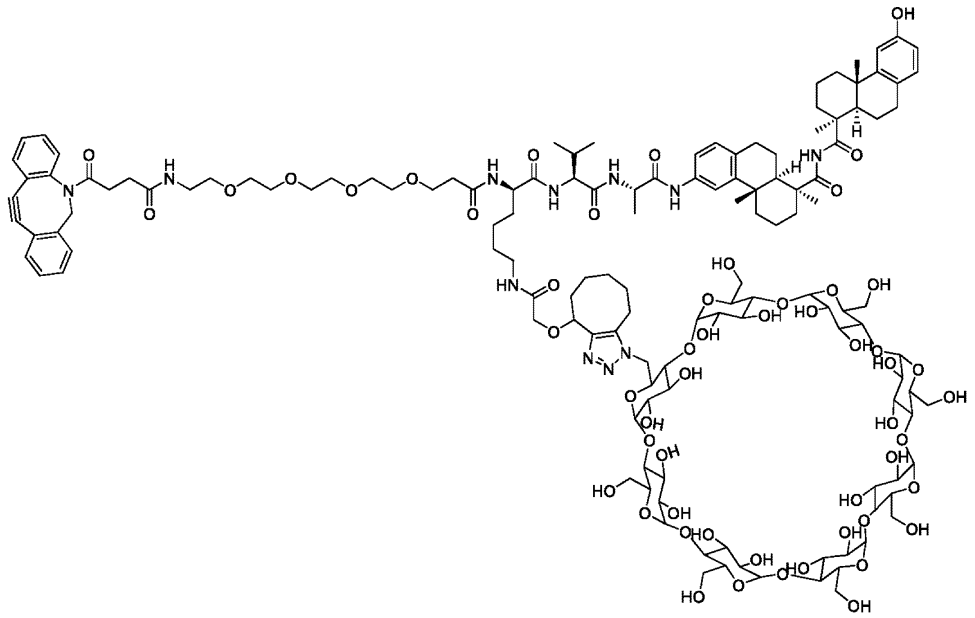
【化４２９】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.82 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.55 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 8.39 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 8.11-8.04 (m, 4H), 7.93-7.88 (m, 1H), 7.45 (s, 1H), 7.35 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.97 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.50 (d, J = 11 Hz, 1H), 5.89-5.68 (m, 16H), 5.16-4.32 (m, 19H), 3.94-3.80 (m, 4H), 3.69-3.51 (m, 50H), 3.18-2.64 (m, 8H), 2.33-1.85 (m, 12H), 1.65-1.11 (m, 25H), 0.99 (d, J = 9.5 Hz, 6H), 0.89-0.83 (m, 6H) ppm.

【０５９７】

1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}エチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}-5-{2-[(1-{[41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56-ヘキサデカヒドロキシ-10,15,20,25,30,35,40-ヘプタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29,32,34,37,39-ヘキサデカオキサノナシクロ[36.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}.2^{28,31}.2^{33,36}]ヘキサペンタコンタン-5-イル]メチル}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ペンチル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド(LP2)

【化４３０】



化合物LP2-6(4.3mg、7.8μmol)の無水DMF(1mL)溶液に、HATU(3.0mg、7.8μmol)を添加した。混合物を10℃で10分間撹拌した後、化合物LP2-5(15mg、6.5μmol)及びDIPEA(1.7mg、13μmol)を添加した。LCMSによりモニタリングして、LP2-5が完全に消費されるまで、混合物をRTで2時間撹拌した。該混合物を膜に通して濾過し、濾液を分取HPLC(方法B)により精製すると、化合物LP3(6.0mg、32%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1424.2(M/2+1)$^{+}$。

【化４３１】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.26 (s, 1H), 8.95 (s, 1H), 8.24-7.98 (m, 4H), 7.81 (d, *J* = 5.6 Hz, 1H), 7.72 (t, *J* = 5.5 Hz, 1H), 7.67 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.61 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7.55 (s, 1H), 7.53-7.25 (m, 7H), 6.95 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 6.81 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.63 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 6.50 (dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H), 5.94-5.58 (m, 15H), 5.39-4.43 (m, 17H), 4.37-4.24 (m, 3H), 4.13-4.08 (m, 1H), 3.98-3.33 (m, 52H), 3.26-2.52 (m, 18H), 2.40-1.18 (m, 48H), 1.18-0.63 (m, 19H) ppm.

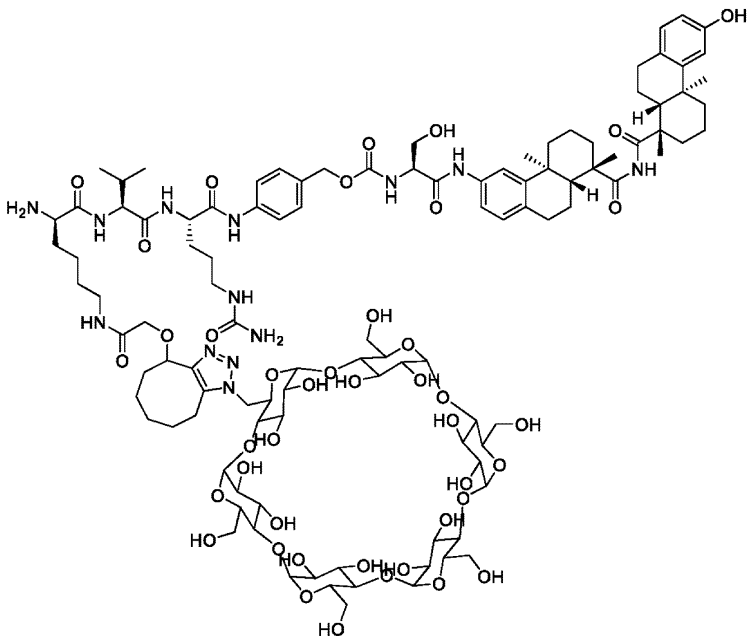
溶解度: 0.075mg/mL H_2O

【０５９８】

(実施例14. LP5の合成)(図4)

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-アミノ-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-ドデカヒドロキシ-10,15,20,25,30-ペンタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-ドデカオキサヘプタシクロ[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]ドテトラコンタン-5-イル]メチル}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}-2-ヒドロキシエチル]カルバメート(LP5-1)

【化４３２】



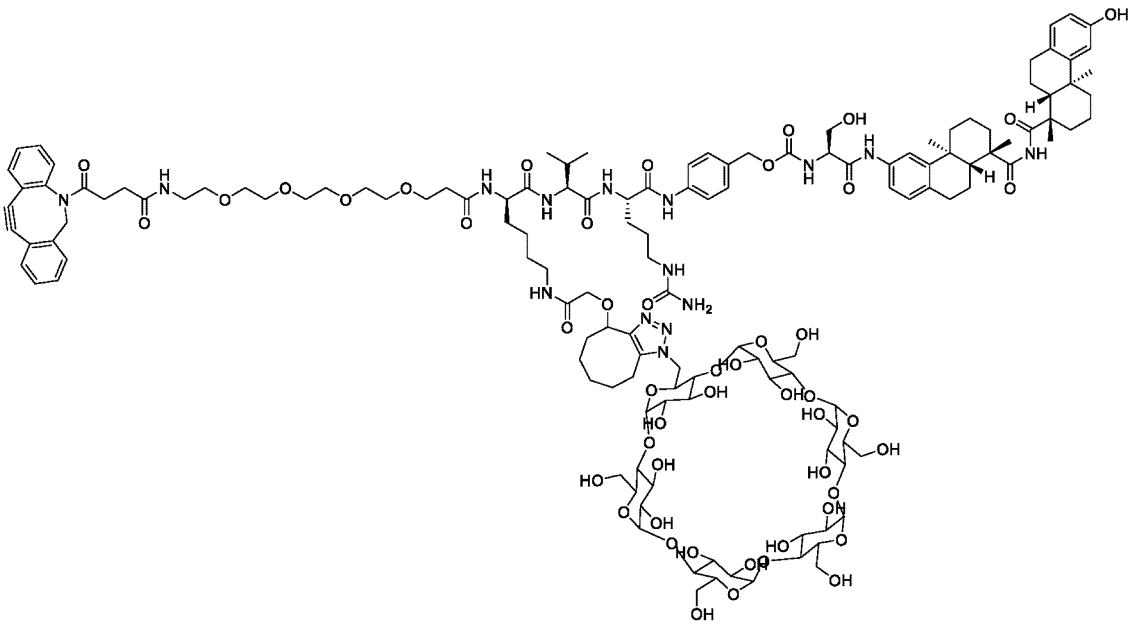
化合物LP4(20mg、15μmol)のDMF(1mL)溶液に、アセトニトリル(2mL)及び水(2mL)中のCD-N_3(46mg、45μmol)の溶液をRTで添加した。LCMSにより、化合物LP4がほとんど消費されるまで、混合物を30℃で16時間撹拌した。反応混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP5-1(20mg、57%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1156.0$(M/2+1)^+$。

【０５９９】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-

ドデカヒドロキシ-10,15,20,25,30-ペンタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-ドデカオキサヘプタシクロ[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]ドテトラコンタン-5-イル]メチル}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}-2-ヒドロキシエチル]カルバメート(LP5)

【化４３３】



DIBAC-PEG$_4$-酸LP5-2(4.3mg、7.8μmol)のDMF(1mL)溶液に、HATU(3.0mg、3.6μmol)及びDIPEA(1.7mg、13μmol)をRTで添加した。得られた混合物をRTで10分間撹拌した。その後、該混合物に、LP5-1(15mg、6.5μmol)を添加した。LCMSによりモニタリングして、反応が終了するまで、反応混合物を30℃で2時間撹拌した。該反応混合物を濾過し、分取HPLC(方法B)により精製すると、LP5(10mg、42%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1424.3(M/2+1)$^+$。

【化４３４】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ

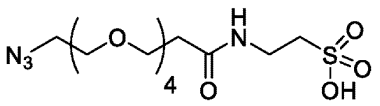
9.81-9.67 (m, 2H), 8.99 (s, 1H), 8.20-8.06 (m, 5H), 7.85-7.22 (m, 18H), 6.97-6.49 (m, 2H), 5.98 (s, 1H), 5.65-5.33 (m, 15H), 5.14-4.92 (m, 5H), 4.82-4.72 (m, 6H), 4.60-4.54 (m, 4H), 4.36-4.28 (m, 3H), 4.18-3.96 (m, 3H), 3.85-3.55 (m, 27H), 3.49-3.39 (m, 23H), 3.28-3.08 (m, 8H), 2.94-2.57 (m, 4H), 2.42-2.07 (m, 8H), 1.99-1.45 (m, 22H), 1.28-1.11 (m, 23H), 1.05-0.95 (m, 6H), 0.89-0.79 (m, 7H) ppm.

【０６００】

(実施例15. LP6の合成)(図5)

1-アジド-15-オキソ-3,6,9,12-テトラオキサ-16-アザオクタデカン-18-スルホン酸(L6-2)

【化４３５】



アジド-PEG$_4$-NHS(L6-1、0.10g、0.26mmol)の無水DMF(4mL)溶液に、タウリン(39mg、0.31mmol)及びDIPEA(15mg、0.52mmol)を添加した。混合物を25℃で一晩撹拌した。該混合物を濾過し、濾液を分取HPLC(方法A)により精製すると、化合物LP6-2(80mg、78%収率)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 399.1(M+H)$^+$。

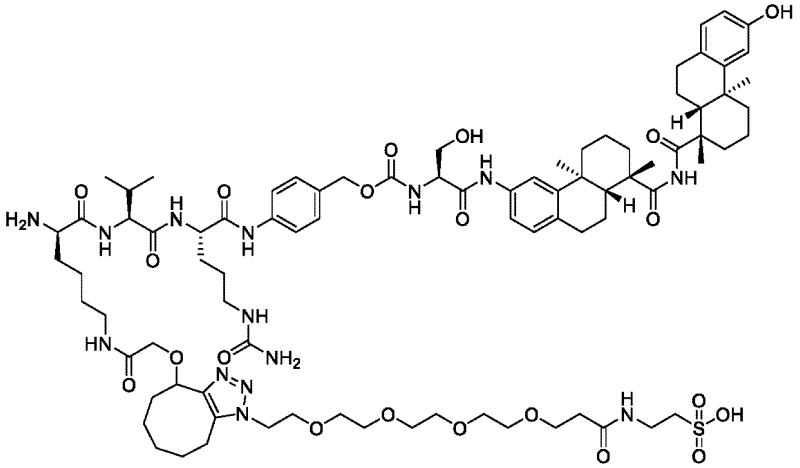
【化４３６】

^{1}H NMR (500 MHz, D_2O) δ 3.69 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.64-3.59 (m, 14H), 3.49 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.41 (t, J = 4.5 Hz, 2H), 3.00 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.45 (t, J = 6.0 Hz, 2H) ppm.

【０６０１】

2-{1-[4-({[(5R)-5-アミノ-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-({4-[({[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}-2-ヒドロキシエチル]カルバモイル}オキシ)メチル]フェニル}カルバモイル)-4-(カルバモイルアミノ)ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ペンチル]カルバモイル}メトキシ)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-1-イル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}エタン-1-スルホン酸(LP6-3)

【化４３７】



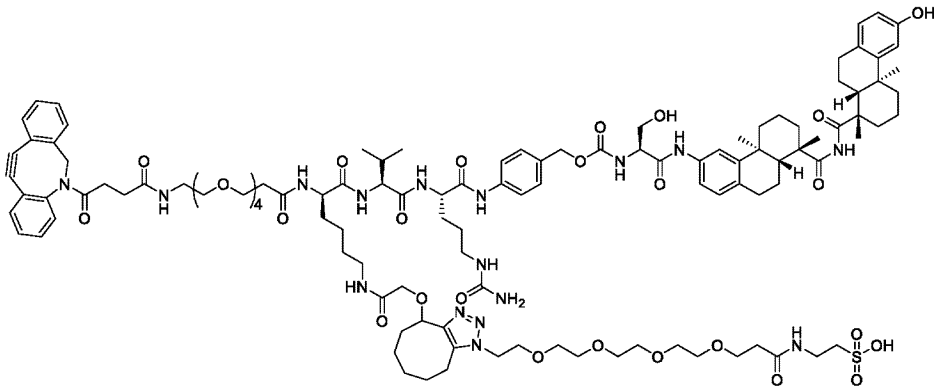
化合物LP6-2(20mg、50μmol)の水(1mL)溶液に、pH～7まで飽和水性炭酸水素ナトリウム溶液を0℃で滴加した。その後、該撹拌溶液に、化合物LP4(28mg、21μmol)のアセトニトリル(1mL)溶液をシリンジにより添加した。混合物を25℃で一晩撹拌した。化合物LP4が完全に消費されるまで、反応混合物をLCMSによりモニタリングした。該反応混合物を濾過し、分取HPLC(方法A)により精製すると、化合物LP6-3(15mg、41%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 856.5(M/2+1)$^+$。

【０６０２】

2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-({4-[({[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロ

フェナントレン-3-イル]カルバモイル}-2-ヒドロキシエチル]カルバモイル}オキシ)メチル]フェニル}カルバモイル)-4-(カルバモイルアミノ)ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ペンチル]カルバモイル}メトキシ)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-1-イル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}エタン-1-スルホン酸(LP6)

【化４３８】



化合物LP6-3(15mg、8.8μmol)及び市販のDIBAC-Suc-PEG$_4$-OSu LP6-4(5.7mg、8.8μmol、CAS 1427004-19-0)のDMF(1mL)溶液に、DIPEA(2.3mg、18μmol)を添加し、混合物をRTで2時間撹拌した。揮発性物質の大部分を真空中で除去し、残渣を分取HPLC(方法B)により精製すると、LP6(6.0mg、30%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1123.8(M/2+H)$^+$、749.5(M/3+H)$^+$。

【化４３９】

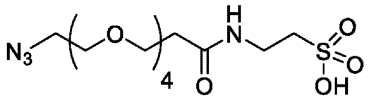
^{1}H NMR (500 MHz, *メタノール-d4*) δ 7.76-7.16 (m, 14H), 7.06-7.00 (m, 1H), 6.88 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.72-6.71 (m, 1H), 6.56-6.55 (m, 1H), 5.39-5.33 (m, 1H), 5.14-5.09 (m, 5H), 4.61 (s, 18H), 4.50-4.43 (m, 2H), 4.33-4.30 (m, 1H), 3.99 (s, 2H), 3.89-3.85 (m, 3H), 3.73-3.42 (m, 28H), 3.25-2.72 (m, 8H), 2.45 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 2.36-1.96 (m, 18H), 1.81-1.51 (m, 12H), 1.45-1.32 (m, 15H), 1.12-0.89 (m, 12H) ppm.

【０６０３】

(実施例16. LP18の合成)(図6)

1-アジド-15-オキソ-3,6,9,12-テトラオキサ-16-アザオクタデカン-18-スルホン酸(L18-2)

【化４４０】



アジド-PEG$_4$-NHS(L18-1、0.10g、0.26mmol)の無水DMF(4mL)溶液に、タウリン(39mg、0.31mmol)及びDIPEA(15mg、0.52mmol)を添加した。混合物を25℃で一晩撹拌した。該混合物を濾過し、濾液を分取HPLC(方法A)により精製すると、化合物LP18-2(80mg、78%収率)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 399.1(M+H)$^+$。

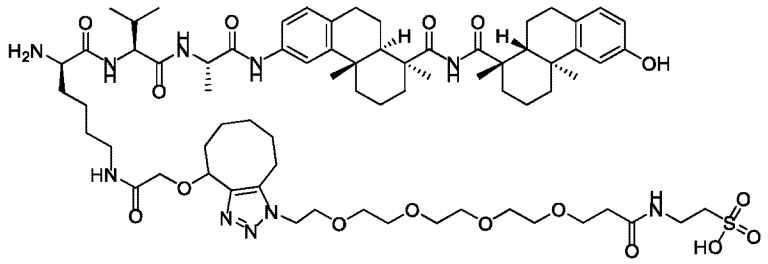
【化４４１】

^{1}H NMR (500 MHz, D_2O) δ 3.69 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 3.64-3.59 (m, 14H), 3.49 (t, J = 6.5 Hz, 2H), 3.41 (t, J = 4.5 Hz, 2H), 3.00 (t, J = 7.0 Hz, 2H), 2.45 (t, J = 6.0 Hz, 2H) ppm.

【０６０４】

1-(4-(2-((R)-5-アミノ-6-((S)-1-((S)-1-((4bS,8S,8aR)-8-((1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニルカルバモイル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イルアミノ)-1-オキソプロパン-2-イルアミノ)-3-メチル-1-オキソブタン-2-イルアミノ)-6-オキソヘキシルアミノ)-2-オキソエトキシ)-4,5,6,7,8,9-ヘキサヒドロ-1H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-1-イル)-15-オキソ-3,6,9,12-テトラオキサ-16-アザオクタデカン-18-スルホン酸(LP18-3)

【化４４２】

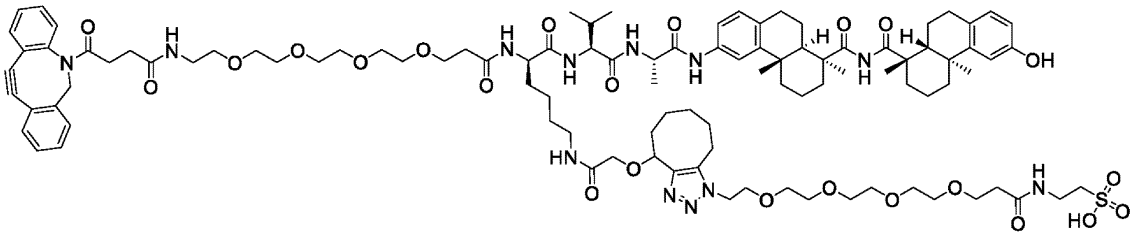


化合物LP1-4(40mg、40μmol)のDMF(1mL)溶液に、アジドLP18-2(40mg、0.10mmol)をRTで添加した。LCMSにより反応の終了が示されるまで、反応液をRTで16時間撹拌した。反応混合物を分取HPLCによりそのまま精製すると、化合物LP18-3(43mg、77%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 695.4(M/2+H)$^+$。

【０６０５】

2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-5-{[(1S)-1-{[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}エチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ペンチル]カルバモイル}メトキシ)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-1-イル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}エタン-1-スルホン酸(LP18)

【化４４３】



化合物LP18-3(30mg、22μmol)のDMF(1mL)溶液に、DMF(1mL)及びDIPEA(4mg、32μmol)中のDIBAC-suc-PEG$_4$-OSu(LP18-4、14mg、22μmol)の溶液をRTで順次添加した。反応混合物をRTで2時間撹拌した。該反応混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP18(15mg、37%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 642(M/3+H)$^+$。

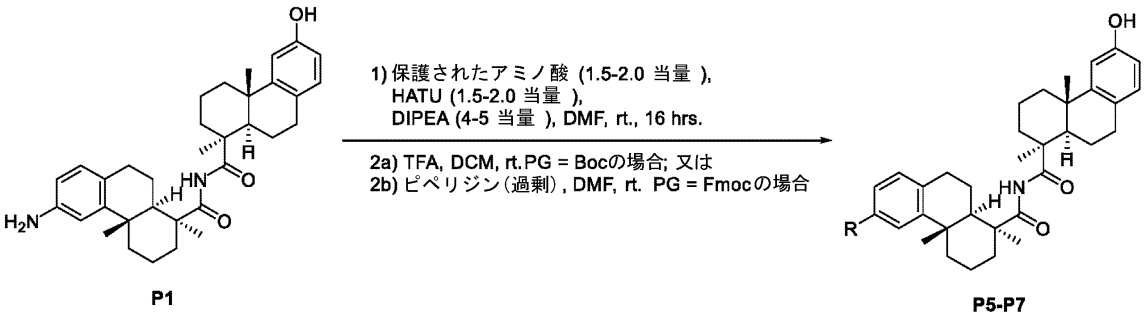
【化４４４】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.68-9.27 (m, 1H), 8.99 (s, 1H), 8.23-7.85 (m, 4H), 7.79-7.71 (m, 2H), 7.76-7.42 (m ,6H), 7.39-7.28 (m, 3H), 7.21 (s, 1H), 7.09 (s, 1H), 6.96-6.93 (m, 2H), 6.81 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.63 (d, *J* = 2.4 Hz, 1H), 6.50 (dd, *J* = 8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 5.02 (d, *J* = 14.0 Hz, 1H), 4.93-4.72 (m, 1H), 4.53-4.09 (m, 5H), 3.82-3.75 (m, 4H), 3.62-3.53 (m, 3H), 3.51-3.38 (m, 23H), 3.30-3.27 (m, 6H), 3.12-2.67 (m, 10H), 2.61-2.54 (m, 4H), 2.39-1.52 (m, 31H), 1.45-1.08 (m, 18H), 1.01-0.98 (m, 6H), 0.90-0.82 (m, 6H) ppm.

【０６０６】

(実施例17.ペイロードP5、ペイロードP6、及びペイロードP7の合成)

【化４４５】



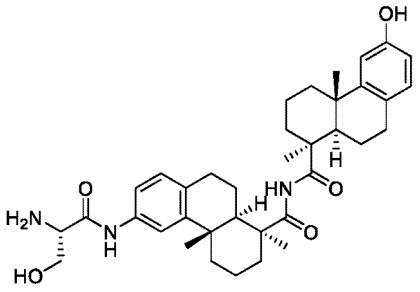
【表２８】

化合物	R	PG	収率
P5	NHC(O)(*S*)-CH(CH_2OH)NH_2 (Ser)	Fmoc	51%
P6	NHC(O)(*S*)-CH(CH_2CH_2COOH)NH_2 (Glu)	tBu, Boc	46%
P7	NHC(O)(*S*)-CH($(CH_2)_4NH_2$)NH_2 (Lys)	Boc, Boc	49%

ペイロードP5

(1S,4aS,10aR)-6-((S)-2-アミノ-3-ヒドロキシプロパンアミド)-N-((1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル)-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミド(P5)

【化４４６】



Fmoc-Ser-OH(33mg、0.1mmol)のDMF(1mL)溶液に、HATU(38mg、0.1mmol)及びDIPEA(39mg、0.3mmol)を25℃で添加した。得られた混合物をこの温度で1時間撹拌

した。その後、該混合物に、P1(30mg、0.06mmol)を添加した。反応混合物を25℃で16時間撹拌し、(LCMSによりモニタリングして)P1が完全に消費された後、ピペリジン(0.2mL)を該混合物中に添加し、これを室温でさらに30分間撹拌した。残渣を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、P5(18mg、51%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 616(M+1)$^+$。

【化４４７】

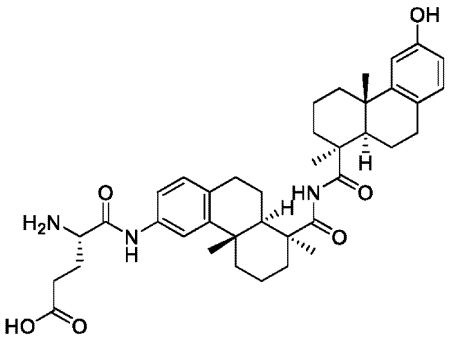
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.74 (br s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.11 (s, 1H,), 7.58 (s, 1H), 7.41 (dd, J = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 6.96 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.3 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.2, 2.4 Hz, 1H), 4.82 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 3.62-3.45 (m, 2H), 2.97-2.67 (m, 4H), 2.67-2.61 (m, 2H), 2.33-2.21 (m, 2H), 2.21-2.03 (m, 4H), 1.96-1.77 (m, 4H), 1.70-1.50 (m, 4H), 1.43-1.37 (m, 1H), 1.36-1.20 (m, 8H), 1.23-1.06 (m, 2H), 1.06-0.93 (m, 6H) ppm.

【０６０７】

ペイロードP6

(4S)-4-アミノ-4-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}ブタン酸;トリフルオロ酢酸塩(P6)

【化４４８】

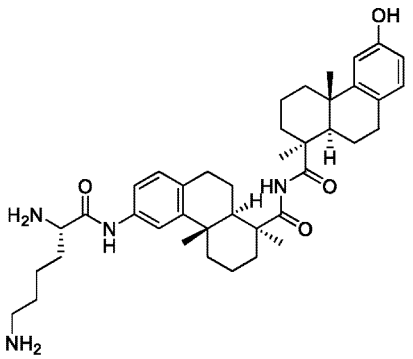


OtBu-N-Boc-Glu-OH(15mg、0.05mmol)のDMF(1mL)溶液に、HATU(19mg、0.05mmol)及びDIPEA(13mg、0.1mmol)を25℃で添加した。得られた混合物をこの温度で1時間撹拌した。その後、該混合物に、P1(14mg、0.026mmol)を添加した。25℃で16時間撹拌し、(LCMSによりモニタリングして)P1が完全に消費された後、反応混合物を酢酸エチルで希釈し、水及びブラインで洗浄した。有機溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をDCM(1mL)に溶解させ、該溶液に、TFA(0.1mL)を室温でゆっくりと添加した。混合物を室温で2時間撹拌した。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を分取HPLC(方法A)により精製すると、P6(8mg、46%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 658.3(M+1)$^+$。

【化４４９】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.32 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.35 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.63 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 6.50 (dd, J = 8.2, 2.3 Hz, 1H), 3.87 (t, J = 6.5 Hz, 1H), 2.97-2.67 (m, 4H), 2.41-2.22 (m, 4H), 2.22-2.08 (m, 4H), 2.05-1.97 (m, 2H), 1.94-1.80 (m, 4H), 1.69-1.52 (m, 4H), 1.42-1.22 (m, 8H), 1.22-1.06 (m, 2H), 1.02 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO$_{d6}$) δ -73.50 ppm.

【０６０８】
ペイロードP7
(1S,4aS,10aR)-N-[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]-6-[(2S)-2,6-ジアミノヘキサンアミド]-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボキサミド;トリフルオロ酢酸塩(P7)
【化４５０】

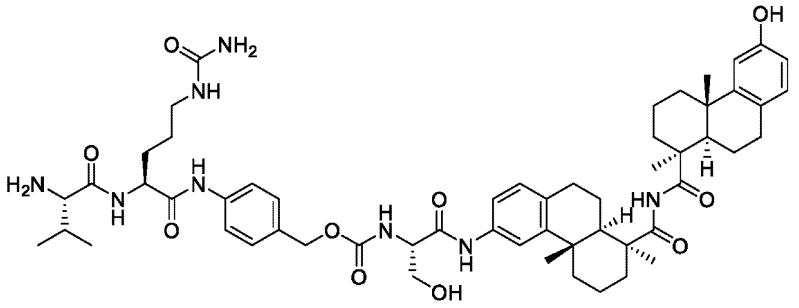


Boc-Lys-OH(15mg、0.05mmol)のDMF(1mL)溶液に、HATU(19mg、0.05mmol)及びDIPEA(13mg、0.1mmol)を25℃で添加した。得られた混合物をこの温度で1時間撹拌した。その後、該混合物に、P1(15mg、0.028mmol)を添加した。25℃で16時間撹拌し、(LCMSによりモニタリングして)P1が完全に消費された後、反応混合物を酢酸エチルで希釈し、水及びブラインで洗浄した。有機溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣(Boc-P7)をDCM(1mL)に溶解させ、該溶液に、TFA(0.1mL)を室温でゆっくりと添加した。混合物を室温で2時間撹拌した。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を分取HPLC(方法A)により精製すると、P7(9mg、49%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 657.5(M+1)$^+$。
【化４５１】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.33 (s, 1H), 9.01 (s, 1H), 8.13 (s, 1H), 7.78 (br s, 6H), 7.51 (s, 1H), 7.34 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.02 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.82 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.51 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 3.82 (s, 1H), 2.89 (s, 1H), 2.82-2.67 (m, 5H), 2.29 (s, 2H), 2.15 (s, 4H), 1.85 (s, 6H), 1.64-1.51 (m, 6H), 1.28 (d, J = 6.8 Hz, 10H), 1.13 (s, 2H), 1.01 (s, 3H), 0.99 (s, 3H) ppm. ^{19}F NMR (376 MHz, DMSO $_{d6}$) δ -73.53 ppm.

【０６０９】
(実施例18. LP4の合成)(図7)
{4-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}-2-ヒドロキシエチル]カルバメート(LP4-2)

【化４５２】



Fmoc-vc-PAB-PNP(LP4-1、58mg、76μmol)及びP5(36mg、58μmol)のDMF(3mL)溶液に、HOBt(7.9mg、58μmol)及びDIPEA(15mg、0.12mmol)を添加し、混合物を30℃で16時間撹拌した。その後、LCMSにより、化合物P5が完全に消費された。得られた混合物に、ジエチルアミン(0.1mL)を添加し、LCMSによりモニタリングして、Fmocが除去されるまで、反応液をRTで1時間撹拌した。反応液を濾過した後、濾液を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP4-2(36mg、48%収率)が薄黄色の固体として得られた。ESI m/z: 1021(M+1)$^+$。

【化４５３】

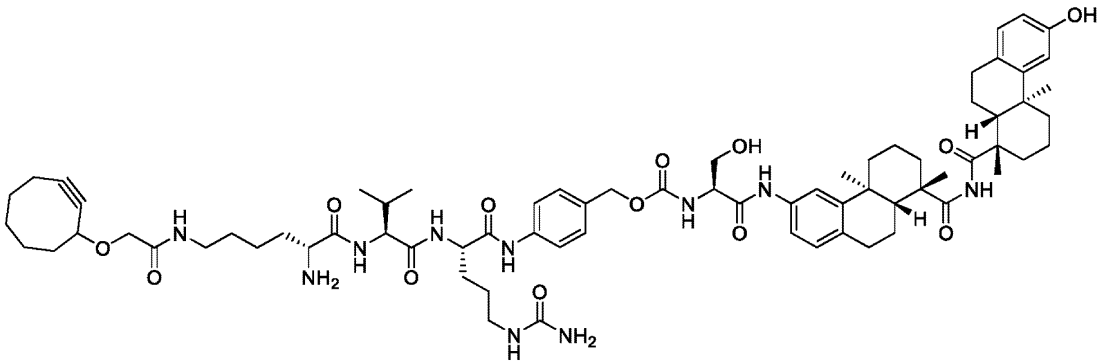
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$)

δ 10.02 (s, 1H), 9.82 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.69-8.65 (m, 1H), 8.11-8.00 (m, 4H), 7.65-7.53 (m, 3H), 7.40-7.30 (m, 3H), 7.30-7.20 (m, 1H), 6.96 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.81 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.65-6.61 (m, 1H), 6.50 (dd, J = 8.0 Hz, 2.0 Hz, 1H), 6.00-5.95 (m, 1H), 5.48 (s, 2H), 5.00-4.95 (m, 3H), 4.60-4.40 (m, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 4H), 3.15-2.55 (m, 10H), 2.40-2.20 (m, 3H), 2.20-2.00 (m, 5H), 2.00-1.80 (m, 4H), 1.86-1.55 (m, 6H), 1.27 (d, J = 4.8 Hz, 9H), 1.20-1.10 (m, 2H), 0.97-0.90 (m, 6H) ppm.

【０６１０】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-アミノ-6-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-({[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-イル]ホルムアミド}カルボニル)-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}-2-ヒドロキシエチル]カルバメート(LP4)

【化４５４】



化合物LP4-3(24mg、44μmol)のDMF(2mL)溶液に、HATU(17mg、44μmol)及び化合物LP4-2(35mg、34μmol)をRTで順次添加した。混合物が均一になるまで、該混合

物をRTで数分間撹拌した。この混合物に、DIPEA(8.8mg、68μmol)をRTでシリンジにより添加した。LCMSによりLP4-2がほとんど消費されるまで、得られた混合物をRTで2時間撹拌した。その後、この反応混合物に、ジエチルアミン又はピペリジン(0.1mL、過剰)をRTで滴加しLCMSによりモニタリングして、Fmoc基が除去されるまで、混合物を1時間撹拌した(注:ジエチルアミンとピペリジンはどちらも同等に効果的であった)。反応混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP4(15mg、33%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1313.6(M+H)$^+$。

【化４５５】

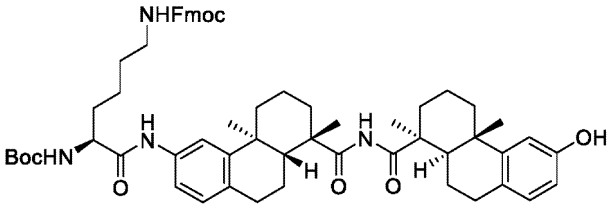
^{1}H NMR (500 MHz, メタノール-d_4) δ 7.59 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.51 (s, 1H), 7.36-7.26 (m, 3H), 7.01 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.88 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 6.72-6.71 (m, 1H), 6.57-6.54 (m, 1H), 5.09 (s, 2H), 4.64-4.52 (m, 1H), 4.35-4.28 (m, 2H), 4.21 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 4.01-3.98 (m, 1H), 3.88-3.84 (m, 3H), 3.43 (t, J = 6.5 Hz, 1H), 3.26-3.10 (m, 4H), 3.00-2.76 (m, 3H), 2.38-2.24 (m, 7H), 2.19-2.02 (m, 9H), 1.98-1.78 (m, 4H), 1.74-1.54 (m, 12H), 1.45-1.26 (m, 14H), 1.13 (s, 6H), 1.00 (t, J = 7.5 Hz, 6H) ppm.

【０６１１】

(実施例19. LP11の合成)(図8)

tert-ブチル N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}-5-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}ペンチル]カルバメート(LP11-1)

【化４５６】

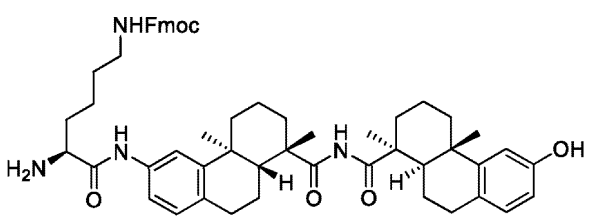


N-Boc-N'-Fmoc-L-リジン(0.21g、0.45mmol)のDMF(2mL)溶液に、HATU(0.24g、0.64mmol)及びDIPEA(0.15g、1.1mmol)をRTで添加した。得られた混合物をRTで3分間撹拌した。その後、該混合物に、ペイロードP1(0.20g、0.38mmol)を添加した。LCMSによりモニタリングして、反応が終了するまで、反応混合物をRTで15分間撹拌した。反応混合物を濾過し、分取HPLC(方法B)により精製すると、化合物LP11-1(0.10g、27%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 979(M+1)$^+$。

【０６１２】

9H-フルオレン-9-イルメチル N-[(5S)-5-アミノ-5-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}ペンチル]カルバメート(LP11-2)

【化４５７】



化合物LP11-1(0.10g、0.10mmol)のDCM溶液に、TFA(2mL)をRTで添加した。LCMSによりBocが完全に除去されるまで、得られた混合物をRTで1時間撹拌した。揮発性物質を真空中で除去した。残渣を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性重炭酸アンモニウム(10mM)中の0～100%アセトニトリル)により精製すると、化合物LP11-2(77mg、86%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 879(M+1)$^+$。

【化４５８】

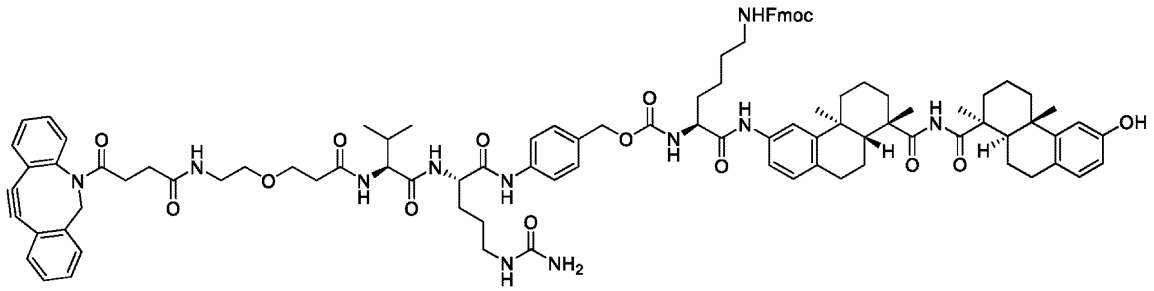
^{1}H NMR

(400 MHz, $DMSO_{d6}$) δ 9.87-9.52 (m, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.11 (s, 1H), 7.92-7.81 (m, 2H), 7.71-7.48 (m, 3H), 7.44-7.22 (m, 6H), 7.00-6.90 (m, 1H), 6.82 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.66-6.60 (m, 1H), 6.54-6.47 (m, 1H), 4.38-4.14 (m, 3H), 3.27-3.17 (m, 1H), 3.01-2.93 (m, 2H), 2.90-2.66 (m, 4H), 2.33-2.06 (m, 7H), 1.94-1.78 (m, 4H), 1.67-1.51 (m, 5H), 1.48-1.07 (m, 16H), 1.03-0.92 (m, 6H) ppm.

【０６１３】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-[(1S)-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}-5-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}ペンチル]カルバメート(LP11-3)

【化４５９】

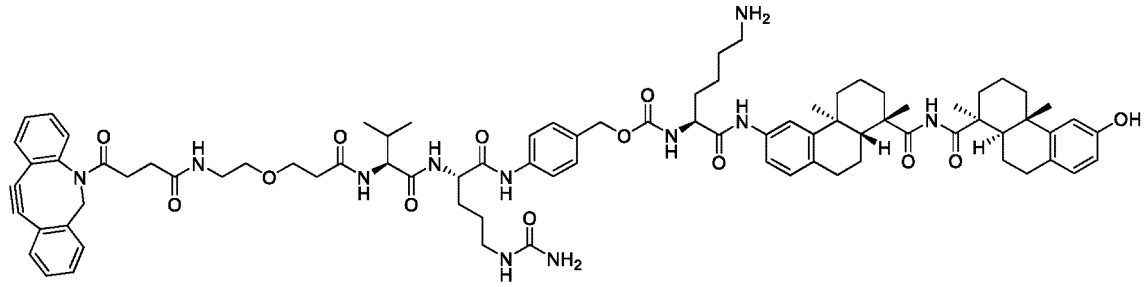


DMF(3mL)中の化合物LP11-2(57mg、65μmol)及び化合物LP9-5(0.10g、96μmol)の混合物に、HOBt(30mg、0.22mmol)及びDIPEA(0.11g、0.81mmol)を添加し、混合物をRTで1時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性重炭酸アンモニウム(10mM)中の0～100%アセトニトリル)により精製すると、化合物LP11-3(97mg、81%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 909(M/2+1)$^+$。

【０６１４】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-[(1S)-5-アミノ-1-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}ペンチル]カルバメート(LP11)

【化４６０】



化合物LP11-3(97mg、53μmol)のDMF(3mL)溶液に、ジエチルアミン(45mg、0.62mmol)を添加した。LCMSによりFmocが除去されるまで、混合物をRTで2時間撹拌した。反応混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP11(40mg、47%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 798(M/2+1)$^+$。

【化４６１】

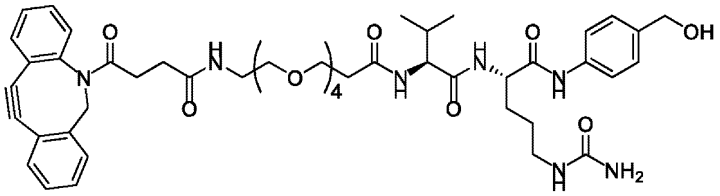
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.99 (s, 1H), 9.85 (s, 1H), 9.00 (s, 1H), 8.21-8.10 (m, 2H), 7.88 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.82-7.59 (m, 6H), 7.55-7.43 (m, 5H), 7.41-7.29 (m, 5H), 6.98 (d, J = 8.2 Hz, 1H), 6.84 (d, J = 8.3 Hz, 1H), 6.66 (s, 1H), 6.53 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 6.06-5.96 (m, 1H), 5.50-5.38 (m, 2H), 5.09-4.92 (m, 3H), 4.45-4.35 (m, 1H), 4.28-4.21 (m, 1H), 4.14-4.04 (m, 1H), 3.67-3.58 (m, 4H), 3.52-3.45 (m, 13H), 3.14-2.69 (m, 9H), 2.63-2.56 (m, 1H), 2.50-2.44 (m, 1H), 2.43-2.37 (m, 1H), 2.33-2.13 (m, 7H), 2.06-1.85 (m, 6H), 1.82-1.56 (m, 9H), 1.51-1.23 (m, 17H), 1.21-1.13 (m, 2H), 1.10-0.80 (m, 12H) ppm.

【０６１５】

(実施例20. LP9の合成)(図9)

1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-{[4-(ヒドロキシメチル)フェニル]カルバモイル}ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド(LP9-3)

【化４６２】



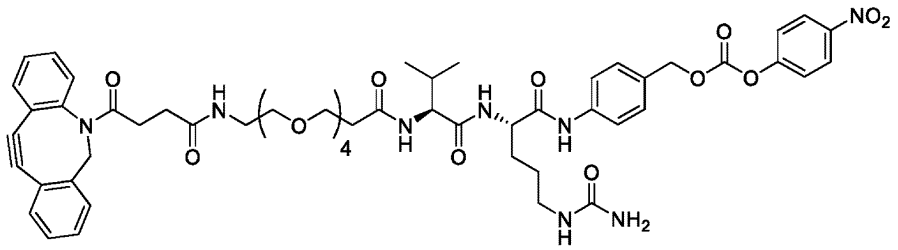
化合物LP9-2(0.30g、0.54mmol)のDMF(10mL)溶液に、HATU(0.31g、0.81mmol)及びDIPEA(0.14g、1.1mmol)を室温で順次添加した。混合物を室温で15分間撹拌した。反応溶液に、VC-PAB-OH(LP9-1、CAS: 159857-79-1、0.21g、0.54mmol)をRTで添加し、LCMSによりモニタリングして、LP9-2が消費されるまで、得られた混合物をRTで3時間撹拌した。反応混合物を濾過膜に通して濾過し、濾液をリバースフラッシュクロマトグラフィー(水(10mmol/Lの重炭酸アンモニウムを含む)中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、化合物LP9-2(0.30g、60%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 617(M+H)$^+$。

【０６１６】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペ

ンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル 4-ニトロフェニルカルボネート(LP9-5)

【化４６３】

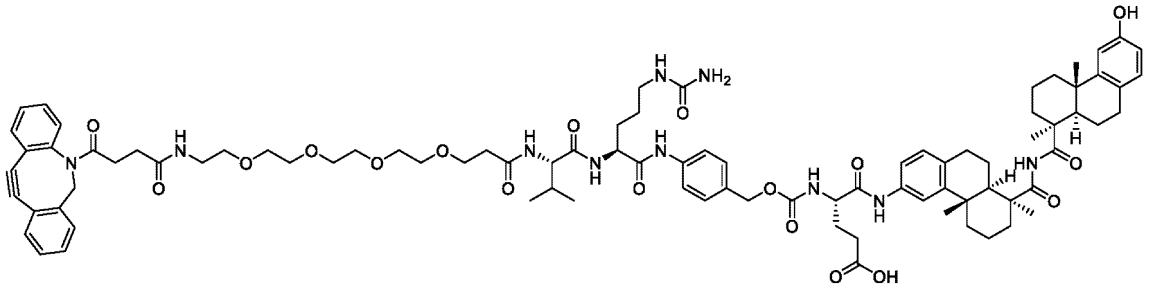


化合物LP9-3(0.15g、0.16mmol)のDMF(10mL)溶液に、ビス(4-ニトロフェニル)カルボネート(LP9-4、0.15g、0.49mmol)及びDIPEA(63mg、0.49mmol)を0℃で順次添加した。その後、LCMSによりモニタリングして、LP9-3がほとんど消費されるまで、混合物をRTで3時間撹拌した。反応混合物を濾過膜に通して濾過し、濾液をリバースフラッシュクロマトグラフィー(水(10mmol/Lの重炭酸アンモニウムを含む)中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、化合物LP9-5(50mg、28%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1079(M+H)$^+$。

【０６１７】

(4S)-4-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル]アミノ}-4-{[(4bS,8S,8aR)-8-{[(1S,4aS,10aR)-6-ヒドロキシ-1,4a-ジメチル-1,2,3,4,4a,9,10,10a-オクタヒドロフェナントレン-1-カルボニル]カルバモイル}-4b,8-ジメチル-4b,5,6,7,8,8a,9,10-オクタヒドロフェナントレン-3-イル]カルバモイル}ブタン酸(LP9)

【化４６４】

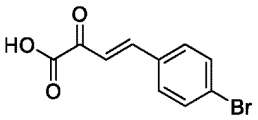


DMF(1mL)中の化合物P6(50mg、76μmol)及び化合物LP9-5(0.10g、96μmol)の混合物に、HOBt(16mg、0.12mmol)及びDIPEA(39mg、0.31mmol)を添加し、混合物をRTで1時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を分取HPLC(方法B)により精製すると、化合物LP9(40mg、33%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 799(M/2+1)$^+$。

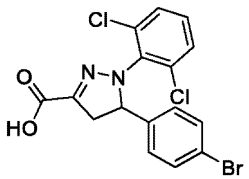
【化４６５】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.02 (s, 1H), 9.03 (s, 1H), 8.20-8.07 (m, 2H), 7.94-7.87 (m, 1H), 7.82-7.76 (m, 1H), 7.70-7.57 (m, 4H), 7.54-7.42 (m, 4H), 7.40-7.26 (m, 6H), 6.99-6.91 (m, 1H), 6.85-6.79 (m, 1H), 6.63 (s, 1H), 6.53-6.47 (m, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.44 (s, 2H), 5.07-4.88 (m, 3H), 4.42-4.32 (m, 1H), 4.27-4.20 (m, 1H), 4.11-4.02 (m, 1H), 3.63-3.55 (m, 3H), 3.51-3.41 (m, 13H), 3.11-2.58 (m, 10H), 2.40-2.10 (m, 11H), 2.00-1.55 (m, 15H), 1.46-1.09 (m, 14H), 1.05-0.94 (m, 6H), 0.99-0.77 (m, 7H) ppm.

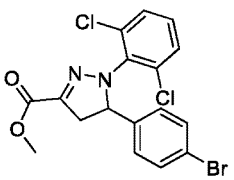
【０６１８】
(実施例21.ペイロードP9及びリンカー-ペイロードLP12の合成)(図10)
ペイロードP9
ペイロードP9の合成は、少なくとも一部は、引用により本明細書中に完全に組み込まれるUS 2015/0291563A1号に基づいている。
【０６１９】
4-(4-ブロモフェニル)-2-オキソブタ-3-エン酸(P9-3)
【化４６６】



4-ブロモベンズアルデヒドP9-2(5.5g、30mmol)及びピルビン酸P9-1(2.8g、32mmol)のメタノール(100mL)溶液に、水酸化カリウム(2.5g、45mmol)のメタノール(100mL)溶液を0℃で添加した。塩基を添加している間に沈殿が生じ、混合物を1時間RTに到達させておいた。該混合物をRTで16時間撹拌させておき、その後、真空中で濃縮すると、揮発性物質が除去された。残渣を水(200mL)で希釈し、水性HCl(1M)でpH 3に酸性化した。混合物を酢酸エチル(100mL×3)で抽出した。合わせた有機溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮すると、化合物P9-3(7.1g、93%収率)が粘性のある油状物として得られた。ESI m/z: 255(M+1)$^+$。
【０６２０】
5-(4-ブロモフェニル)-1-(2,6-ジクロロフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-3-カルボン酸(P9-5)
【化４６７】



氷酢酸(100mL)中の化合物P9-3(5.1g、20mmol)及び(2,6-ジクロロフェニル)ヒドラジン塩酸塩P9-4(4.1g、20mmol)の混合物を窒素雰囲気下で4時間還流させた。25℃に冷却した後、反応混合物を氷水に注ぎ入れ、それにより、粘着性のある物質が得られ、これをDCMで抽出した。合わせた有機溶液を水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させ、濃縮した。残渣を大気中で乾燥させると、化合物P9-5(5.4g、65%収率)が淡黄色の固体として得られた。ESI m/z: 413(M+1)$^+$。
【０６２１】
メチル 5-(4-ブロモフェニル)-1-(2,6-ジクロロフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-3-カルボキシレート(P9-6)
【化４６８】



化合物P9-5(8.2g、20mmol)のメタノール(200mL)溶液に、硫酸(0.5mL)を滴加した。混合物を4時間還流させ、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物をRTに冷

却し、揮発性物質を真空中で除去した。残渣を酢酸エチル(300mL)で抽出し、その後、飽和水性塩化アンモニウム及び水で洗浄した。有機層を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル/n-ヘキサン＝1/4)により精製すると、化合物P9-6(2.1g、25%収率)が黄色の油状物として得られた。ESI m/z 429(M+1)$^+$。

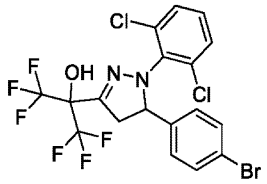
【化４６９】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 7.50-7.45 (m, 4H), 7.35-7.25 (m, 3H), 5.70-5.52 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 1.75-1.65 (m, 1H), 3.32-3.24 (m, 1H) ppm.

【０６２２】

2-(5-(4-ブロモフェニル)-1-(2,6-ジクロロフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-3-イル)-1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロプロパン-2-オール(P9-7)

【化４７０】



トルエン(20mL)中の化合物P9-6(0.49g、1.2mmol)の混合物に、(トリフルオロメチル)トルメチルシラン(0.68mL、4.6mmol)、4Å分子篩(100mg)、及びTBAF(THF中1M、4.6mL)を窒素雰囲気下でゆっくりと添加した。得られた混合物を46℃で16時間撹拌した。得られた混合物をセライトパッドに通して濾過し、濾液をDCMで希釈した。該溶液を蒸留水及びブラインで洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。黄色の残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(酢酸エチル/n-ヘキサン＝1/8)により精製すると、化合物P9-7(0.15g、25%収率)が褐色の油状物として得られた。

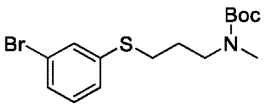
【化４７１】

^{1}H NMR (400 MHz, CDCl$_3$) δ 7.43-7.38 (m, 2H), 7.25 (s, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.22-7.17 (m, 2H), 7.12-7.06 (m, 1H), 5.75-5.95 (m, 1H), 4.88 (s, 1H), 3.65-3.55 (m, 1H), 3.26-3.16 (m, 1H) ppm.

【０６２３】

tert-ブチル 3-(3-ブロモフェニルチオ)プロピル(メチル)カルバメート(P9-11)

【化４７２】



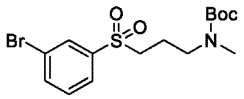
tert-ブチル 3-ヒドロキシプロピル(メチル)カルバメートP9-8(1.9g、10mmol)のピリジン(5mL)溶液に、塩化トシル(2.1g、11mmol)を0℃で滴加した。混合物をRTで2時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。混合物を真空中で濃縮して、ピリジンを除去すると、粗生成物P9-9(ESI m/z: 244(M-Boc+1)$^+$)が得られ、これをアセトニトリル(100mL)に溶解させた。該溶液に、3-ブロモベンゼンチオールP9-10(1.9g、10mmol)及び炭酸セシウム(6.5g、20mmol)を添加した。混合物を4時間還流させ、これをLCMSによりモニタリングした。RTに冷却した後、反応混合物を濾過し、濾液を真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の8～10%酢酸エチル)により精製すると、化合物P9-11(2.2g、61%収率)が薄黄色の油状物として得られた。E

SI m/z: 260(M-Boc+1)$^+$。

【０６２４】

tert-ブチル 3-(3-ブロモフェニルスルホニル)プロピル(メチル)カルバメート(P9-12)

【化４７３】

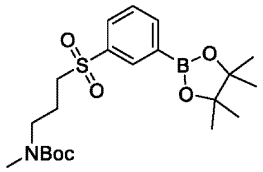


化合物P9-11(0.36g、1.0mmol)のDCM(20mL)溶液に、mCPBA(1.0g、0.4mmol)を0℃でゆっくりと添加した。混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を飽和水性炭酸ナトリウム(20mL×3)及びブラインで洗浄した。有機溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の8～10%酢酸エチル)により精製すると、化合物P9-12(0.22g、56%収率)が薄黄色の油状物として得られた。ESI m/z: 294(M-Boc+1)$^+$。

【０６２５】

tert-ブチルメチル(3-(3-(4,4,5,5-テトラメチル-1,3,2-ジオキサボロラン-2イル)フェニルスルホニル)プロピル)カルバメート(P9-13)

【化４７４】



化合物P9-12(0.20g、0.51mmol)の1,4-ジオキサン(20mL)溶液に、ビス(ピナコレート)ジボロン(0.26g、1.0mmol)、Pd(dppf)Cl_2(37mg、0.051mmol)、及び酢酸カリウム(0.20g、2.0mmol)を窒素雰囲気下で添加した。反応混合物を、窒素雰囲気下、80℃で16時間撹拌した。RTに冷却した後、該混合物をセライトパッドに通して濾過した。濾液に蒸留水を添加し、混合物をジエチルエーテルで3回抽出した。合わせた抽出物を蒸留水及びブラインで洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で濃縮すると、黄色の液体残渣が得られた。該残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の8～10%酢酸エチル)により精製すると、化合物P9-13(0.20g、87%収率)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 340(M-Boc+1)$^+$。

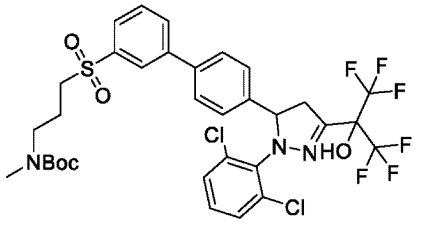
【化４７５】

^{1}H NMR (500 MHz, $DMSO_{d6}$) δ 8.10 (s, 1H), 8.05-8.0 (m, 2H), 7.70 (t, J =7.5 Hz, 1H), 3.30-3.25 (m, 2H), 3.20-3.14 (m, 2H), 2.70 (s, 3H), 1.75-1.67 (m, 2H), 1.32 (s, 9H), 1.16 (s, 12H) ppm.

【０６２６】

tert-ブチル 3-(4'-(1-(2,6-ジクロロフェニル)-3-(1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-ヒドロキシプロパン2-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-5-イル)ビフェニル-3-イルスルホニル)プロピル(メチル)カルバメート(P9-14)

【化４７６】

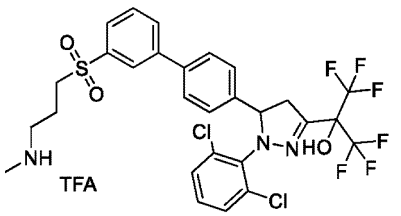


1,4-ジオキサン(20mL)及び水(3mL)中の化合物P9-13(0.20g、0.51mmol)及び化合物P9-7(0.27g、0.51mmol)の混合物に、Pd(dppf)Cl_2(37mg、0.051mmol)及び炭酸カリウム(0.28g、2.0mmol)を窒素保護下で添加した。反応混合物を窒素で3回交換し、窒素雰囲気下、80℃で16時間撹拌した。RTに冷却した後、反応混合物をセライトパッドに通して濾過した。濾液を蒸留水で希釈し、ジエチルエーテルで3回抽出した。合わせた抽出物を蒸留水及びブラインで洗浄し、無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の8～10%酢酸エチル)により精製すると、化合物P9-14(0.33g、84%収率)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 667(M-Boc+1)$^+$。

【０６２７】

2-(1-(2,6-ジクロロフェニル)-5-(3'-(3-(メチルアミノ)プロピルスルホニル)ビフェニル-4-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-3-イル)-1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロプロパン-2-オール、トリフルオロ酢酸塩(P9)

【化４７７】



化合物P9-14(0.20g、0.26mmol)のDCM(10mL)溶液に、TFA(3mL)を添加した。反応混合物をRTで1時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。揮発性物質を真空中で除去した。得られた黄色の残渣を分取HPLC(方法A)により精製すると、化合物P9(55mg、そのTFA塩として32%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 667(M+1)$^+$。

【化４７８】

^{1}H NMR (400 MHz, $DMSO_{d6}$) δ 8.77 (s, 1H), 8.34 (s, 2H), 8.10-8.00 (m, 2H), 7.90-7.83 (m, 1H), 7.80-7.77 (m, 3H), 7.50-7.40 (m, 4H), 7.30-7.20 (m, 1H), 5.58 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 3.80-3.66 (m, 1H), 3.52 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 3.26-3.18 (m, 1H), 3.00-2.90 (m, 2H), 2.56-2.52(m, 3H), 1.92-1.82 (m, 2H) ppm.

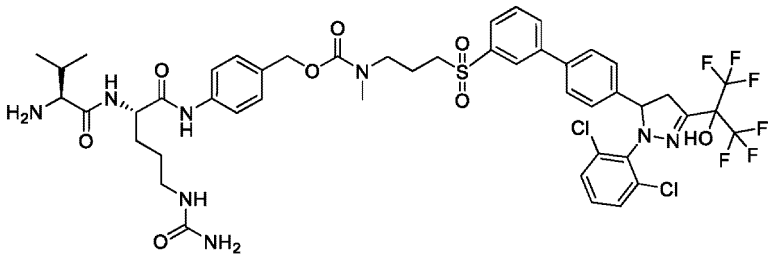
(TFAのHは、明らかにされなかった)。

【０６２８】

リンカー-ペイロードLP12

4-((S)-2-((S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド)-5-ウレイドペンタンアミド)ベンジル 3-(4'-(1-(2,6-ジクロロフェニル)-3-(1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-ヒドロキシプロパン2-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-5-イル)ビフェニル-3-イルスルホニル)プロピル(メチル)カルバメート(LP12-2)

【化４７９】

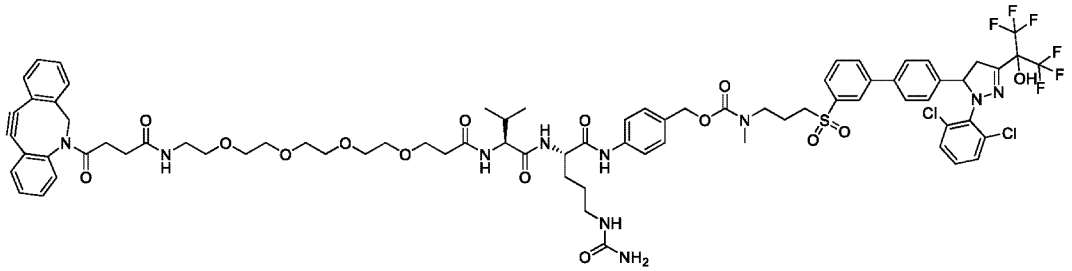


化合物P9(50mg、0.075mmol)のDMF(5mL)溶液に、Fmoc-VC-PAB-PNP P12-1(63mg、0.083mmol)、DIPEA(19mg、0.15mmol)、及びHOBt(15mg、0.11mmol)を添加した。反応混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、ピペリジン(1mL、過剰)を反応混合物に添加した。LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、混合物をRTで1時間撹拌した。該混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性重炭酸アンモニウム(10mM)中の0～50%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、化合物LP12-2(48mg、60%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1073$(M+1)^+$。

【０６２９】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.$0^{4,9}$]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-[3-(3-{4-[1-(2,6-ジクロロフェニル)-3-(1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロ-2-ヒドロキシプロパン2-イル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピラゾール-5-イル]フェニル}ベンゼンスルホニル)プロピル]-N-メチルカルバメート(LP12)

【化４８０】



DIBAC-PEG4-酸LP12-3(18mg、32μmol)のDMF(5mL)溶液に、HATU(15mg、39μmol)及びDIPEA(14mg、0.11mmol)をRTで添加した。得られた混合物をRTで30分間撹拌した。その後、該混合物に、LP12-2(29mg、27μmol)を添加した。反応が終了するまで、反応混合物をRTで1時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を濾過し、分取HPLC(方法B)により精製すると、LP12(25mg、58%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 805$(M/2+1)^+$。

【化４８１】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.99 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 8.13 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.09 (s, 1H), 8.03 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 7.90-7.80 (m, 2H), 7.80-7.65 (m, 5H), 7.65-7.60 (m, 1H), 7.60-7.52 (m, 2H), 7.52-7.43 (m, 5H), 7.43-7.39 (m, 2H), 7.39-7.31 (m, 2H), 7.31-7.20 (m, 4H), 5.98 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 5.57 (t, J = 10.5 Hz, 1H), 5.41 (s, 2H), 5.03 (d, J = 14.0Hz, 1H), 5.0-4.90 (m, 2H), 4.43-4.34 (m, 1H), 4.23 (t, J = 7.0 Hz, 1H), 3.75-3.65 (m, 1H), 3.65-3.53 (m, 3H), 3.53-3.40 (m, 12H), 3.32-3.20 (m, 6H), 3.10-3.05 (m, 2H), 3.05-3.00 (m, 1H), 3.00-2.90 (m, 1H), 2.80-2.70 (m, 3H), 2.60-2.53 (m, 1H), 2.49-2.42 (m, 1H), 2.40-2.30 (m, 1H), 2.30-2.20 (m, 1H), 2.04-1.90 (m, 2H), 1.80-1.65 (m, 4H), 1.65-1.50 (m, 1H), 1.50-1.30 (m, 2H), 1.23 (s, 1H), 0.90-0.80 (m, 6H) ppm.

【０６３０】

(実施例22.ペイロードP3及びペイロードP4の合成)(図11)

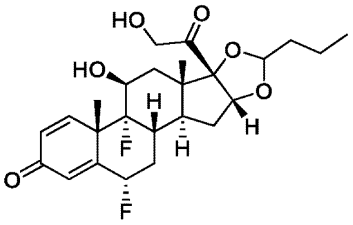
本実施例は、図11に言及している。特定のステロイド性ペイロードを市販のフルオシノロンアセトニドP3-1(CAS: 67-73-2)から出発して調製した。過塩素酸の存在下でのブチルアルデヒドとのケタール交換によってP3-1から得られた化合物P3-2をメシレートP3-3に変換し、その後、メシレート基をアジド部分と置換して、P4-4を形成させ、これをアミンP4に還元した。別の方法では、P3-3中のメシレート部分を4-アミノ-フェノールにより置換して、アニリンP3も得た。

【０６３１】

ペイロードP3

(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-8-(2-ヒドロキシアセチル)-9,13-ジメチル-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-16-オン(P3-2)

【化４８２】



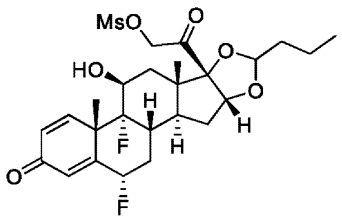
【０６３２】

ヘプタン(90mL)中のフルオシノロンアセトニド(P3-1、0.90g、2.0mmol)及びシリカゲル(18g)の混合物に、ブチルアルデヒド(0.27mL、3.0mmol)を10℃で添加し、懸濁液を10～20℃で10分間撹拌した。混合物に、過塩素酸(70%、0.68mL、8.3mmol)を0℃で滴加した。その後、反応混合物を10～20℃で一晩撹拌した。TLC及びLCMSによると、フルオシノロンアセトニドP3-1の大部分が消費された。反応混合物を石油エーテルで希釈し、飽和水性Na_2CO_3でクエンチした。懸濁液を濾過し、固体をDCM/メタノール(v/v＝1)で洗浄した。合わせた濾液を真空中で濃縮した。残渣をシリカゲル上でのフラッシュクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～100%酢酸エチル)により精製すると、化合物P3-2(0.15g、16%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 467.1(M+H)$^+$。

【０６３３】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチルメタンスルホネート(P3-3)

【化４８３】

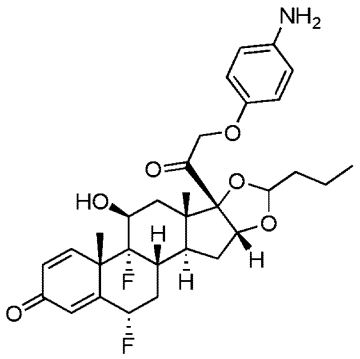


化合物P3-2(0.28g、0.65mmol))及びトリエチルアミン(0.13g、1.3mmol)のDCM(3mL)溶液に、塩化メタンスルホニル(89mg、0.78mmol)を0℃で添加した。0℃で0.5時間撹拌した後、反応混合物をDCM(20mL)で希釈した。該混合物をH_2O(20mL×2)で洗浄し、無水Na_2SO_4上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。残渣をシリカゲル上でのシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～50%酢酸エチル)により精製すると、化合物P3-3(0.26g、〉99%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 545(M+H)$^+$。

【０６３４】

(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-8-[2-(4-アミノフェノキシ)アセチル]-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.$0^{2,9}$.$0^{4,8}$.$0^{13,18}$]イコサ-14,17-ジエン-16-オン(P3)

【化４８４】



アセトン(0.5mL)中の化合物P3-3(93mg、0.17mmol)、4-アミノフェノール(37mg、0.34mmol)、及び炭酸セシウム(0.11g、0.34mmol)の混合物を2時間還流した。該混合物をRTに冷却し、H_2O(10mL)で希釈した。混合物を酢酸エチル(10mL×3)で抽出した。合わせた有機層を水(20mL)及びブライン(20mL)で洗浄し、Na_2SO_4上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮した。残渣を分取HPLCにより精製すると、ペイロードP3(6.0mg、6.3%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 298(M/2+H)$^+$、558(M+H)$^+$(10%)。

【化４８５】

^{1}H NMR (500 MHz, MeOD$_{d4}$) δ 7.34 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.78-6.71 (m, 4H), 6.37-6.33 (m, 2H), 5.63-5.49 (m, 1H), 5.10-4.99 (m, 1H), 4.77-4.63 (m, 2H), 4.33 (d, J = 9.1 Hz, 1H), 2.74-2.57 (m, 1H), 2.39-2.13 (m, 3H), 1.98-1.31 (m, 12H), 1.03-0.93 (m, 6H) ppm.

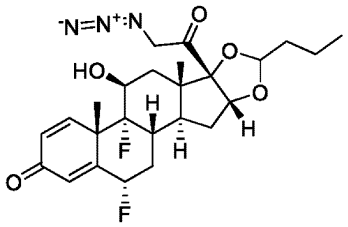
分析的HPLC:純度97.4%、保持時間: 7.55分(方法B)。

【０６３５】

ペイロードP4

(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-8-(2-アジドアセチル)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-16-オン(P4-4)

【化４８６】

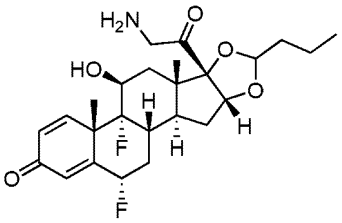


化合物P3-3(1.0g、1.8mmol)及びアジ化ナトリウム(1.2g、18mmol)のアセトン(15mL)懸濁液を50℃で一晩撹拌した。混合物をRTに冷却し、水(80mL)に注ぎ入れた。水性混合物を酢酸エチル(50mL×3)で抽出した。合わせた有機層をブライン(30mL)で洗浄し、無水Na_2SO_4上で乾燥させ、濾過し、真空中で濃縮すると、粗アジド前駆体の化合物P4-4(0.90g、＞99%収率)が黄色の固体として得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程に使用した。ESI m/z: 492$(M+H)^+$。

【０６３６】

(1S,2S,4R,6R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-8-(2-アミノアセチル)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.$0^{2,9}$.$0^{4,8}$.$0^{13,18}$]イコサ-14,17-ジエン-16-オン;トリフルオロ酢酸塩(P4)

【化４８７】



化合物P4-4(0.85g、1.7mmol)のTHF(20mL)溶液に、水性塩酸(1N、10mL)を添加した。混合物を透明になるまで28～32℃で撹拌し、その後、該混合物にトリフェニルホスフィン(0.68g、2.6mmol)を添加した。得られた黄色の透明な溶液をRTで18時間撹拌した。混合物を真空中で濃縮し、残渣を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性TFA(0.05%)中の0～50%アセトニトリル)により精製すると、化合物P4(R/S)(0.56g、57%収率、TFA塩)がオフホワイト色の固体として得られた。ESI m/z: 466$(M+H)^+$。

【化４８８】

^{1}H NMR (400 MHz, MeOD$_{d4}$) δ 7.33 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 6.40-6.29 (m, 2H), 5.69-5.45 (m, 1H), 4.93-4.92 (m, 1H), 4.71 (t, J = 4.3 Hz, 1H), 4.35-4.27 (m, 2H), 3.90-3.84 (m, 1H), 2.81-2.54 (m, 1H), 2.42-2.06 (m, 3H), 1.82-1.32 (m, 11H), 1.09-0.87 (m, 6H) ppm. ^{19}F NMR (376 MHz, CD_3OD) δ -77.01, -166.24, -166.92, -188.81, -188.83 ppm.

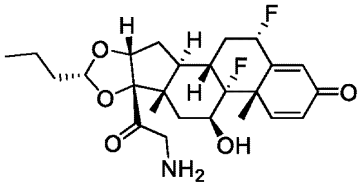
分析的HPLC: 100%、保持時間: 6.86分(方法A)。

【０６３７】

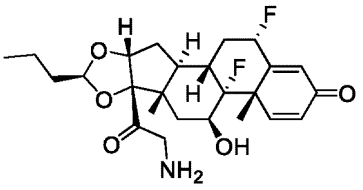
ペイロードP4を任意にHPLC及び/又は超臨界クロマトグラフィー(SFC)によるキラル分離に供した。P4の立体化学的に純粋なエピマー、すなわち、P4-1(R)及びP4-2(S)又はその濃縮混合物P4-3をその対応するR/S異性体の混合物からキラル分離により得た。各々の化合物の絶対立体化学を2D-NOESYにより決定した。米国出願公開US 2018/0155389号を参照されたく、これには、その中の化合物11-5R/Sの2D-NOESYスペクトルにおいて、H^{22}とH^{18}が化合物11-5Rについて相関すること、及び11-5S中のH^{22}とH^{18}の間に相関がないことが示されている。化合物11-5R/SについてUS 2018/0155389号に示されているのと同様の解析を用いて、C^{22}-位のキラル中心が、本明細書中の化合物P4-1及びP

4-2について、2D-NOESYにより同定されている。

【化４８９】



P4-1 (R 異性体)



P4-2 (S 異性体)

P4-3: R:S 3:1 ～ 4:1

【０６３８】

(1S,2S,4R,6R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-8-(2-アミノアセチル)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-16-オン;トリフルオロ酢酸塩P4-1(R)の交互合成

工程1:上記の同じ手順を用いると、フラッシュクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～50%酢酸エチル)による精製の後に、アジド前駆体P4-4(R)(0.12g、87%収率)が化合物(P3-3R)から白色の固体として得られた。ESI m/z: 492(M+H)$^+$。

【化４９０】

^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.10 (dd, J = 10.2, 1.3 Hz, 1H), 6.44 (s, 1H), 6.38 (dd, J = 10.2, 1.8 Hz, 1H), 5.48-5.31 (m, 1H), 4.92 (d, J = 5.4 Hz, 1H), 4.62 (t, J = 4.4 Hz, 1H), 4.43 (dd, J = 5.6, 2.7 Hz, 1H), 4.22 (d, J = 18.7 Hz, 1H), 3.94 (d, J = 18.7 Hz, 1H), 2.56-2.39 (m, 2H), 2.32-2.18 (m, 2H), 1.85-1.71 (m, 3H), 1.67-1.54 (m, 7H), 1.46-1.37 (m, 2H), 0.97-0.90 (m, 6H) ppm.

【０６３９】

工程2:上記の同じ手順を用いて、分取HPLC(方法A)による精製の後に、化合物P4-1(R)(30mg、66%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 466(M+H)$^+$。

【化４９１】

^{1}H NMR (500 MHz, $MeOD_{d4}$) δ 7.34 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.40-6.30 (m, 2H), 5.65-5.46 (m, 1H), 4.94-4.91 (m, 1H), 4.72 (t, J = 4.3 Hz, 1H), 4.34-4.28 (m, 2H), 3.88 (d, J = 18.8 Hz, 1H), 2.78-2.60 (m, 1H), 2.39-2.34 (m, 1H), 2.33-2.18 (m, 2H), 1.77-1.54 (m, 9H), 1.53-1.40 (m, 2H), 0.99-0.95 (m, 6H) ppm.

分析的HPLC: 100%、保持時間: 6.85分(方法A)。

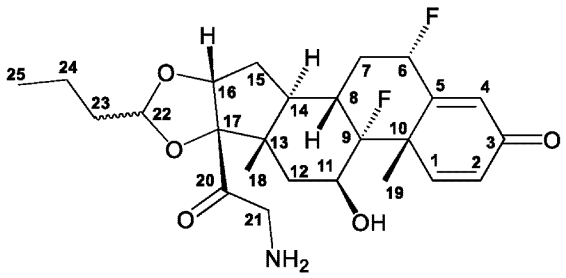
【０６４０】

P4-2(S)は、同様の手順を用いて得られる。

【０６４１】

下の表は、P4(R/S)のSFCによって単離されたR-P4(本明細書中のP4-1)及びS-P4(本明細書中のP4-2)の^{1}H NMR化学シフト(d6-DMSO中のppm)の比較を提供している。

【化４９２】



【表２９】

プロトン #	DMSO-d6中のP4(ラセミ体-)	DMSO-d6中の P4-1 *(R)*	DMSO-d6中の P4-2 *(S)*
	8.14 (s, 3H)	8.14 (s, 3H)	8.12 (brs, 3H),
C^1-H	7.31 (d, *J* = 10.2 Hz, 1H)	7.30 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H)	7.30 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H),
C^2-H	6.31 (dd, *J* = 10.1 Hz, 1.6 Hz, 1H)	6.31 (dd, *J* = 10.0 Hz, 1.6 Hz, 1H)	6.30 (dd, *J* = 1.6 Hz, 10.0 Hz, 1H),
C^4-H	6.11 (s, 1H)	6.11 (s, 1H)	6.11 (s, 1H),
C^6-H	5.71-5.54 (m, 1H)	5.71-5.55 (m, 1H)	5.71-5.54 (m, 1H),
C^7-H_2	2.28-2.26 (m, 1H), 1.68-1.56 (m, 1H)	2.28-2.26 (m, 1H), 1.68-1.56 (m, 1H)	2.25-2.22 (m, 1H), 1.72-1.52 (m, 1H)
C^8-H	1.87-1.79 (m, 1H)	1.44-1.31 (m, 1H)	1.87-1.79 (m, 1H)
C^{11}-H	4.18 (m, 1H)	4.22 (m, 1H)	4.18 (m, 1H)
C^{12}-H_2	2.09-2.01 (m, 1H), 1.68-1.56 (m, 1H)	2.09-2.01 (m, 1H), 1.68-1.56 (m, 1H)	2.03-1.97 (m, 1H), 1.72-1.52 (m, 1H)
C^{14}-H	2.09-2.01 (m, 1H)	2.09-2.01 (m, 1H)	2.03-1.97 (m, 1H)
C^{15}-H_2	2.67-2.50 (m, 1H), 1.68-1.56 (m, 1H)	2.67-2.50 (m, 1H), 1.68-1.56 (m, 1H)	2.58-2.53 (m, 1H), 1.72-1.52 (m, 1H)
C^{16}-H	4.78 (m, 0.6H)	4.78 (m, 1H)	5.15 (d, J=7.6 Hz, 1 H)

プロトン #	DMSO-d6中のP4(ラセミ体-)	DMSO-d6 中の P4-1 *(R)*	DMSO-d6中の P4-2 *(S)*
	5.15 (d, J=7.6 Hz, 0.4 H),		
C^{18}-H_3	0.85 (s, 3H)	0.85 (s, 3H)	0.91 (s, 3H)
C^{19}-H_3	1.48 (s, 3H)	1.48 (s, 3H)	1.48 (s, 3H)
C^{21}-H_2	4.20 (m, 1H), 3.77 (m, 1H)	4.20 (d, J=19 Hz, 1H), 3.77 (d, J=19 Hz, 1H)	4.15 (d, J=19 Hz, 1H), 3.74 (d, J=19 Hz, 1H)
C^{22}-H	4.67 (t, *J* = 4.4 Hz, 0.6H) 5.22 (t, J=4.8 Hz, , 0.4H),	4.67 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H)	5.22 (t, J=4.8 Hz, , 1H)
C^{23}-H_2	1.68-1.56 (m, 2H)	1.68-1.56 (m, 2H)	1.48 (m, 2H)
C^{24}-H_2	1.44-1.31 (m, 2H)	1.44-1.31 (m, 2H)	1.34-1.28 (m, 1H)
C^{25}-H_3	0.87 (t, J=7.2 Hz, 3H)	0.87 (t, J=7.2 Hz, 3H)	0.88 (t, J=7.6 Hz, 3 H)

***S*- 異性体：** ESI m/z: 522 $(M+H)^+$; キラルSFC (CC4): 99.5 d.e.%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.21 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 6.77 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.63 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.24 (dd, *J* = 10.1, 1.6 Hz, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.20 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 5.18 (t, *J* = 4.8 Hz, 1H), 4.99 (d, *J* = -17.9 Hz, 1H), 4.61 (d, *J* = -17.9 Hz, 1H), 4.43 (s, 1H), 3.46 (s, 2H), 2.57 (td, *J* = 13.2, 4.4 Hz, 1H), 2.34 (dd, *J* = 13.4, 3.2 Hz, 1H), 2.16-2.01 (m, 4H), 1.85-1.68 (m, 3H), 1.59-1.49 (m, 3H), 1.44 (s, 3H), 1.44-1.26 (m, 2H), 1.18-1.09 (m, 2H), 1.00 (s, 3H), 0.91 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H) ppm.

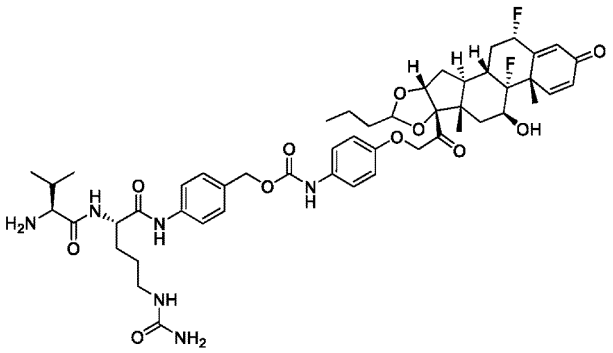
***R*- 異性体：** ESI m/z: 522 $(M+H)^+$; キラルSFC (CC4): 98.1 d.e.%; ^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.23 (d, *J* = 10.1 Hz, 1H), 6.79 (dd, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.65 (d, *J* = 8.8 Hz, 2H), 6.27 (dd, *J* = 10.1, 1.7 Hz, 1H), 6.04 (s, 1H), 4.94 (d, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.89 (d, *J* = 18.0 Hz, 1H), 4.65 (d, *J* = 18.0 Hz, 1H), 4.61 (t, *J* = 4.4 Hz, 1H), 4.48 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 3.51 (s, 2H), 2.58 (td, *J* = 13.3 Hz, 4.9 Hz, 1H), 2.35 (dd, *J* = 13.4 Hz, 2.8 Hz, 1H), 2.23-1.99 (m, 4H), 1.79-1.61 (m, 6H), 1.46-1.38 (m, 2H), 1.44 (s, 3H), 1.23-1.09 (m, 2H), 0.95 (s, 3H), 0.93 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H) ppm.

【０６４２】

(実施例23.リンカー-ペイロードLP3の合成)(図12)

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.$0^{2,9}$.$0^{4,8}$.$0^{13,18}$]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}フェニル)カルバメート(LP3-2)

【化４９３】



Fmoc-vc-PAB-PNP(LP3-1、100mg、0.13mmol)及び化合物P3(87mg、0.15mmol)のDMF(5mL)溶液に、DIPEA(67mg、0.52mmol)をRTでシリンジにより添加した。混合物をRTで3時間撹拌し、LCMSによると、LP3-1の大部分が消費された。得られた混合物に、ピペリジン(1mL、過剰)を添加し、Fmocが完全に消費されるまで、それを25℃で2時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。膜に通して濾過した後、濾液を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP3-2(80mg、64%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 963(M+1)$^+$。

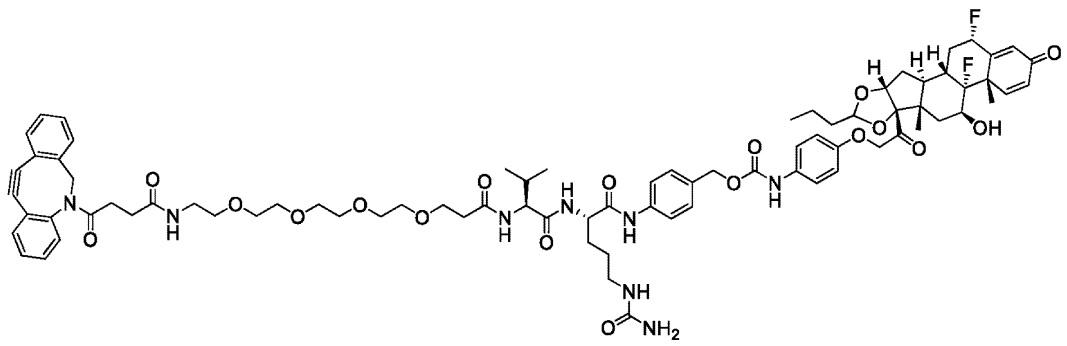
【化４９４】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.22 (s, 1H), 9.57 (s, 1H), 8.69 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.08 (s, 3H), 7.61 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.36 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 7.27 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.22-7.00 (m, 1H), 6.84 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 6.30 (dd, J = 8.0 Hz, 1.6Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.10-6.00 (m, 1H), 5.72-5.55 (m, 1H), 5.52 (s, 1H), 5.48 (s, 1H), 5.16-5.05 (m, 3H), 4.88-4.80 (m, 1H), 4.80-4.76 (m, 1H), 4.75-4.70 (m, 1H), 4.55-4.48 (m, 1H), 4.25-4.20 (m, 1H), 3.70-3.60 (m, 1H), 3.12-2.90 (m, 2H), 2.70-2.55 (m, 1H), 2.40-2.20 (m, 1H), 2.15-2.00 (m, 3H), 1.86-1.75 (m, 1H), 1.75-1.65 (m, 1H), 1.64-1.54 (m, 5H), 1.49 (s, 4H), 1.46-1.34 (m, 4H), 0.97-0.91 (m,5H), 0.90-0.85 (m, 4H), 0.85-0.80 (m, 3H) ppm.

【０６４３】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-(4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}フェニル)カルバメート(LP3)

【化４９５】



酸LP3-3(37mg、67μmol)のDMF(5mL)溶液に、DIPEA(15mg、0.12mmol)及びHATU(34mg、90μmol)をRTで順次添加した。得られた混合物をこの温度で0.5時間撹拌し、その後、アミンLP3-2(58mg、60μmol)を添加した。アミンが完全に消費されるまで、反応混合物をRTで3時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。該反応混合物を膜に通して濾過し、その後、濾液を分取HPLCにより分離すると、化合物LP3(20mg、22%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1499(M+H)$^+$。

【化４９６】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.02 (s, 1H), 9.59 (s, 1H), 8.14 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.80-7.75 (m, 1H), 7.70-7.66 (m, 1H), 7.65-7.60 (m, 3H), 7.53-7.45 (m, 3H), 7.40-7.28 (m, 7H), 6.84 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 6.30 (dd, J = 10.4 Hz, 1.6 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.10-6.00 (m, 1H), 5.72-5.55 (m,1H), 5.52 (s, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.16-5.05 (m, 4H), 4.88-4.70 (m, 3H), 4.43-4.33 (m, 1H), 4.25-4.20 (m, 2H), 3.65-3.55 (m, 3H), 3.50-3.40 (m, 12H), 3.30-3.25 (m, 2H), 3.12-2.90 (m, 4H), 2.70-2.55 (m, 2H), 2.48-2.43 (m, 1H), 2.40-2.35 (m, 1H), 2.30-2.20 (m, 2H), 2.15-1.95 (m, 4H), 1.86-1.75 (m, 2H), 1.64-1.54 (m, 5H), 1.49 (s, 4H), 1.46-1.34 (m, 4H), 1.23 (s, 2H), 0.90-0.80 (m, 12H) ppm.

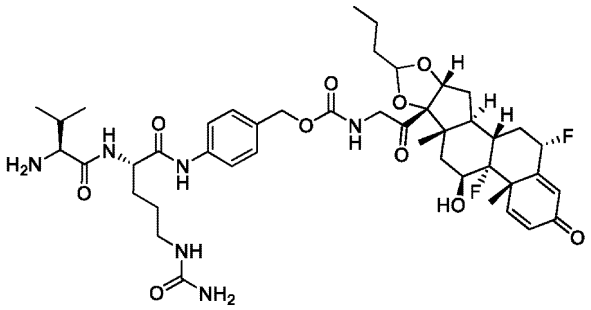
分析的HPLC: 100%、保持時間: 7.99分(方法B)。溶解度:＜0.01mg/mL水

【０６４４】

(実施例24.リンカー-ペイロードLP13の合成)(図13)

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル}カルバメート(LP13-1)

【化４９７】



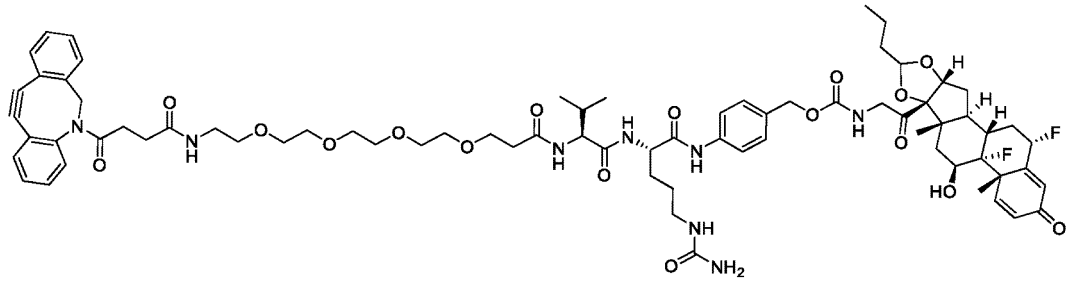
Fmoc-VC-PAB-PNP(LP3-1、0.17g、0.22mmol)及び化合物P4(93mg、0.20mmol)のDMF(3mL)溶液に、DIPEA(51mg、0.40mmol)をRTでシリンジにより添加した。混合物をRTで3時間撹拌し、LCMSにより材料の大部分が消費された。得られた混合物に、ピペリジン(0.3mL、過剰)を添加し、Fmocが完全に除去されるまで、これをRTで1時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。膜に通して濾過した後、濾液を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP13-1(0.13g、73%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 871(M+1)$^+$。

【０６４５】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}

.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル}カルバメート(LP13)

【化４９８】



酸LP3-3(30mg、54μmol)のDMF(5mL)溶液に、DIPEA(13mg、0.10mmol)及びHATU(31mg、81μmol)をRTで順次添加した。得られた混合物をこの温度で0.5時間撹拌し、その後、アミンLP13-1(43mg、50μmol)を添加した。アミンが完全に消費されるまで、反応混合物をRTで3時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。該反応混合物を膜に通して濾過し、その後、濾液を分取HPLC(方法B)により分離すると、化合物LP13(16mg、23%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1406(M+H)$^+$。

【化４９９】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.99 (s, 1H), 8.11 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.80-7.75 (m, 1H), 7.70-7.66 (m, 1H), 7.65-7.60 (m, 3H), 7.53-7.33 (m, 6H), 7.33-7.28 (m, 3H), 6.30 (dd, J = 10.0 Hz, 1.5 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H),6.10-6.00 (m, 1H), 5.72-5.55 (m, 2H), 5.41 (s, 2H), 5.05-5.01 (m, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.80-4.72 (m, 1H), 4.60-4.58 (m, 1H), 4.43-4.33 (m, 1H), 4.25-4.10 (m,3H), 3.88-3.80 (m,1H), 3.65-3.55 (m, 3H), 3.50-3.40 (m, 12H), 3.30-3.25 (m, 2H), 3.12-2.90 (m, 4H), 2.70-2.55 (m, 2H), 2.48-2.35 (m, 2H), 2.30-2.20 (m, 2H),2.15-1.95 (m, 4H), 1.86-1.65 (m, 3H), 1.64-1.54 (m, 5H), 1.49 (s, 4H), 1.46-1.34 (m, 5H), 0.90-0.80 (m, 12H) ppm.

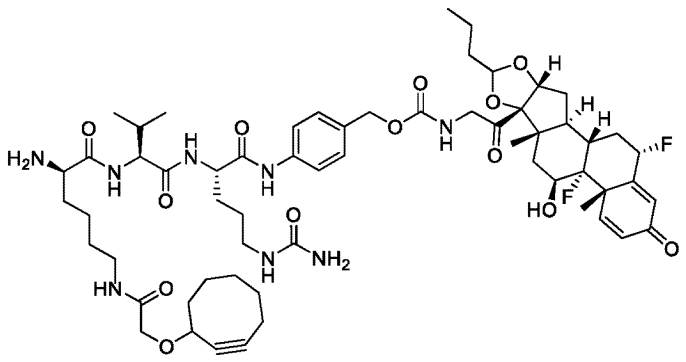
分析的HPLC: 100%、保持時間: 7.40分(方法B)。溶解度: 0.02mg/mL水

【０６４６】

(実施例25.リンカー-ペイロードLP14の合成)(図14)

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-アミノ-6-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル}カルバメート(LP14-1)

【化５００】



酸LP1-3(0.12g、0.22mmol)のDMF(5mL)溶液に、HATU(0.11g、0.30mmol)及び

DIPEA(77mg、0.60mmol)をRTで添加した。混合物をRTで30分間撹拌した後、アミンLP13-1(0.17g、0.20mmol)のDMF(5mL)溶液をシリンジにより添加した。アミンがLCMSによりほとんど消費されるまで、得られた混合物をRTで3時間撹拌した。その後、該混合物にピペリジン(1mL、過剰)を添加し、Fmocが完全に除去されるまで、混合物をRTで30分間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を膜に通して濾過し、濾液を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性重炭酸アンモニウム(10mM)中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、化合物LP14-1(0.12g、52%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1163(M+1)$^+$。

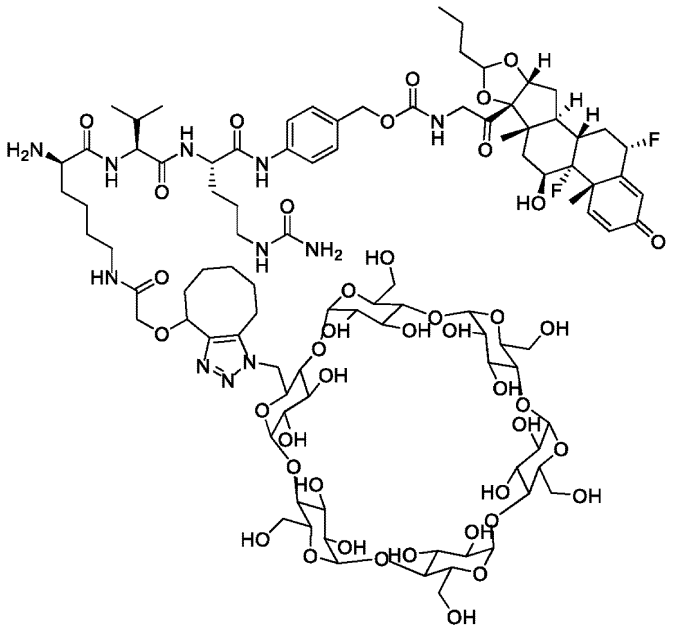
【化５０１】

^{1}H NMR (400 MHz, MeOD$_{d4}$) δ 7.65-7.55 (m, 2H), 7.40-7.26 (m, 3H), 6.39-6.27 (m, 2H), 5.65-5.45 (m, 1H), 5.13-5.01 (m, 2H), 4.71-4.50 (m, 2H), 4.40-4.14 (m, 4H), 4.11-3.82 (m, 3H), 3.46-3.39 (m, 1H), 3.29-3.09 (m, 4H), 2.76-2.54 (m, 1H), 2.41-2.10 (m, 7H), 2.09-1.99 (m, 1H), 1.96-1.80 (m, 5H), 1.78-1.21 (m, 23H), 1.06-0.82 (m, 12H) ppm.

【０６４７】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-アミノ-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-ドデカヒドロキシ-10,15,20,25,30-ペンタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-ドデカオキサヘプタシクロ[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]ドテトラコンタン-5-イル]メチル}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル}カルバメート(LP14-2)

【化５０２】



アルキンLP14-1(0.12g、0.10mmol)のDMF(5mL)溶液に、α-シクロデキストリン-アジド(0.30g、0.30mmol)を添加した。その後、化合物LP14-1がほとんど消費され、所望の質量が検出されるまで、得られた混合物を50℃で3時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。濾過した後、得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性重炭酸アンモニウム(10mM)中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、化合物LP14-2(0.11g、51%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1081(M/

2+1)$^+$。

【化５０３】

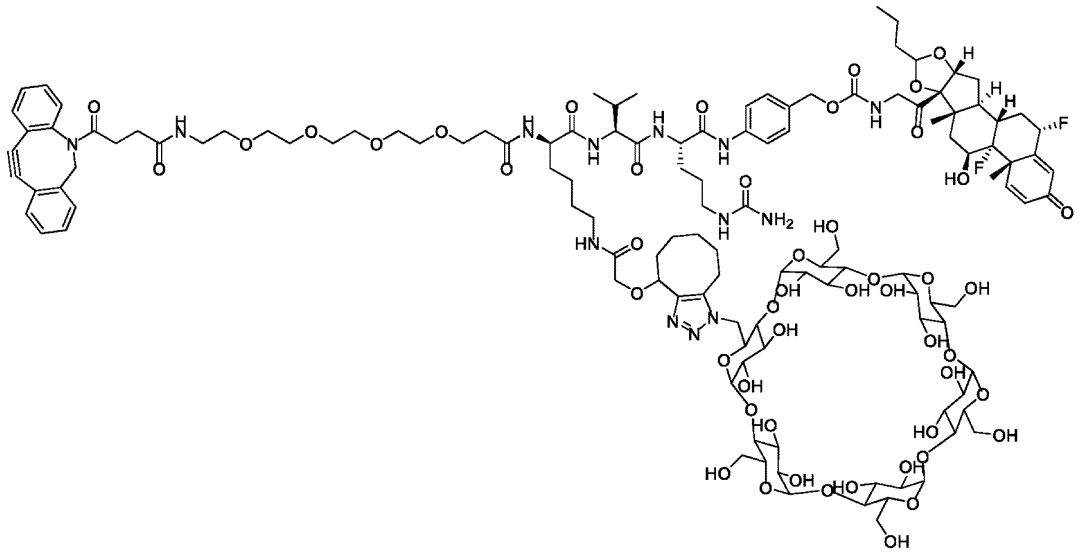
^{1}H NMR

(500MHz, $DMSO_{d6}$) δ 10.05 (s, 1H), 8.30-7.80 (m, 3H), 7.80-7.55 (m, 2H), 7.50-7.40 (m, 1H), 7.40-7.25 (m, 3H), 6.30 (d, *J* = 12.5 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.00 (s, 1H), 5.80-5.35 (m, 16H), 5.25-5.05 (m, 1H), 4.97 (s, 2H), 4.90-4.50 (m, 13H), 4.50-4.00 (m, 5H), 3.95-3.55 (m, 22H), 3.30-3.20 (m, 8H), 3.20-3.00 (m, 4H), 3.00-2.85 (m, 5H), 2.25-2.20 (m, 2H), 2.10-1.95 (m, 4H), 1.80-1.00 (m, 30H), 1.00-0.90 (m, 4H),0.90-0.80 (m, 14H) ppm.

【０６４８】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^4,^{9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-6-{2-[(1-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-ドデカヒドロキシ-10,15,20,25,30-ペンタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-ドデカオキサヘプタシクロ[26.2.2.2^3,^{6}.2^8,^{11}.2^{13},^{16}.2^{18},^{21}.2^{23},^{26}]ドテトラコンタン-5-イル]メチル}-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル)オキシ]アセトアミド}ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^2,^{9}.0^4,^{8}.0^{13},^{18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル}カルバメート(LP14)

【化５０４】



酸LP14-3(30mg、54μmol)のDMF(5mL)溶液に、DIPEA(18mg、0.14mmol)及びHATU(26mg、69μmol)をRTで順次添加した。得られた混合物をこの温度で0.5時間撹拌し、その後、アミンLP14-2(0.10g、46μmol)を添加した。アミンが完全に消費されるまで、反応混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。該反応混合物を膜に通して濾過し、その後、濾液を分取HPLC(方法B)により分離すると、化合物LP14(26mg、22%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1349(M+H)$^+$。

【化５０５】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.71 (s, 1H), 8.30-8.00 (m, 3H), 8.00-7.74 (m, 2H), 7.70-7.58 (m, 5H), 7.52-7.20 (m, 12H), 6.35-6.20 (m, 2H), 6.15-5.85 (m, 3H), 5.80-5.35 (m, 18H), 5.25-4.90 (m, 6H), 4.90-4.50 (m, 14H), 4.40-4.25 (m, 4H), 4.25-4.10 (m, 3H), 4.10-3.95 (m, 2H), 3.95-3.55 (m, 22H), 3.55-3.40 (m, 22H), 3.20-3.00 (m, 6H), 3.00-2.85 (m, 3H), 2.65-2.55 (m, 1H), 2.25-2.20 (m, 4H), 2.10-1.95 (m, 6H), 1.80-1.70 (m, 5H), 1.70-1.50 (m, 10H), 1.50-1.45 (m, 9H), 0.90-0.80 (m, 14H) ppm.

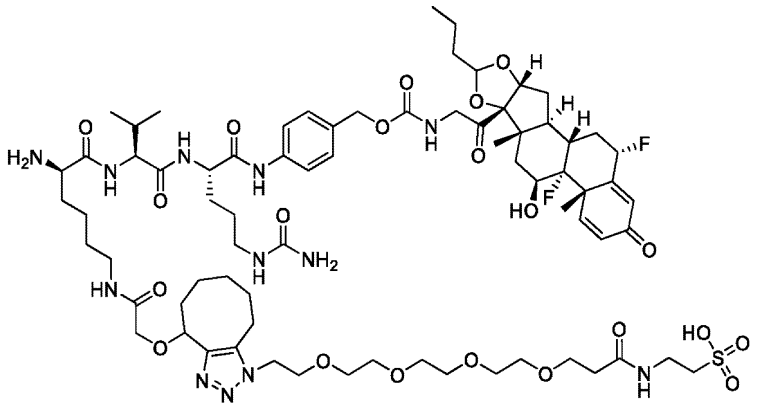
分析的HPLC: 100%、保持時間: 6.23分(方法B)。溶解度: 0.026mg/mL水

【０６４９】

(実施例26.リンカー-ペイロードLP15の合成)(図15)

2-{1-[4-({[(5R)-5-アミノ-5-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル}カルバモイル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ペンチル]カルバモイル}メトキシ)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-1-イル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}エタン-1-スルホン酸(LP15-2)

【化５０６】



化合物LP14-1(60mg、52μmol)のDMF(2mL)溶液に、アジド化合物LP15-1(62mg、0.16mmol)を添加した。反応液を30℃で一晩撹拌した。LCMSにより反応の終了が示された。反応混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP15-2(60mg、74%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 781(M/2+H)$^+$。

【化５０７】

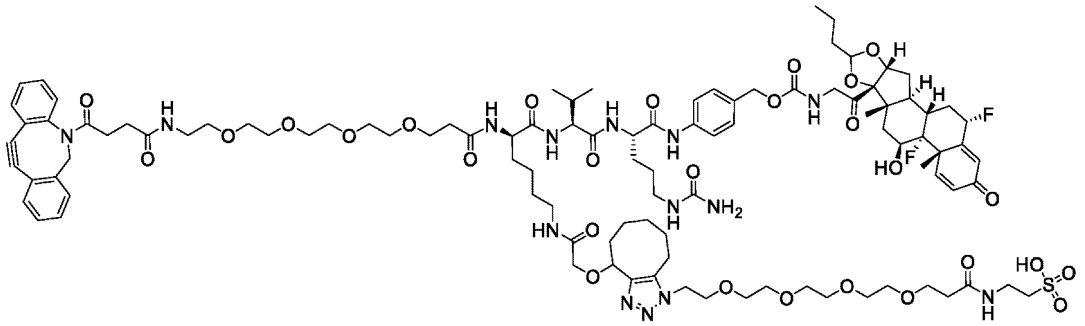
^{1}H NMR (400 MHz, MeOD$_{d4}$) δ 7.61 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.39-7.28 (m, 3H), 6.39-6.30 (m, 2H), 5.66-5.46 (m, 1H), 5.29-5.13 (m, 1H), 5.12-5.04 (m, 3H), 4.72-4.60 (m, 2H), 4.56-4.49 (m, 2H), 4.36-3.84 (m, 8H), 3.76-3.70 (m, 2H), 3.66-3.54 (m, 14H), 3.30-3.23 (m, 2H), 3.21-3.04 (m, 3H), 3.03-2.97 (m, 2H), 2.96-2.84 (m, 1H), 2.75-2.52 (m, 1H), 2.50-2.42 (m, 2H), 2.39-2.01 (m, 6H), 1.99-1.78 (m, 6H), 1.74-1.22(m, 22H), 1.03-0.87 (m, 12H) ppm.

【０６５０】

2-{1-[4-({[(5R)-5-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-5-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジ

エン-8-イル]-2-オキソエチル}カルバモイル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ペンチル]カルバモイル}メトキシ)-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-1-イル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}エタン-1-スルホン酸(LP15)

【化５０８】



化合物LP15-2(47mg、30μmol)のDMF(1mL)溶液に、化合物LP15-3(21mg、33μmol)及びDIPEA(19mg、0.15mmol)をRTで添加した。反応混合物をRTで3時間撹拌した。該反応混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP15(28mg、45%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1049(M/2+H)$^+$。

【化５０９】

1H NMR (500 MHz, MeODd4) δ 7.75-7.57 (m, 4H), 7.48-7.43 (m, 3H), 7.38-7.23 (m, 6H), 6.37-6.28 (m, 2H), 5.65-5.43 (m, 1H), 5.17-5.03 (m, 3H), 4.69-4.59 (m, 2H), 4.52-4.47 (m, 1H), 4.45-4.41 (m, 1H), 4.34-4.25(m, 2H), 4.23-4.13 (m, 2H), 4.07-3.86 (m, 5H), 3.77-3.68 (m, 4H), 3.64-3.54 (m, 22H), 3.52-3.47 (s, 3H), 3.46-3.40 (m, 4H), 3.29-3.21 (m, 4H), 3.20-3.14 (m, 2H), 3.10-3.01 (m, 1H), 3.00-2.95 (m, 2H), 2.92-2.84 (m, 1H), 2.76-2.60 (m, 2H), 2.47-2.42 (m, 2H), 2.40-2.25 (m, 5H), 2.23-2.13 (m, 3H), 2.07-1.97 (m, 3H), 1.90-1.79 (m, 4H), 1.71-1.55 (m, 14H), 1.52-1.42 (m, 3H), 1.40-1.29 (m, 8H), 1.07-0.85 (m, 12H) ppm.

分析的HPLC: 98%、保持時間: 5.88分(方法B)。

【０６５１】

(実施例26A:ブデソニドスペーサーの合成)(図22を参照)

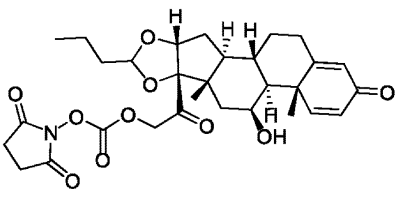
図22は、反応基、suc-酸(化合物1c)、カルバメート類似体(1d、1e)、THP-類似体(1g及び1h)、グルコース類似体(1i及び1j)、ホスフェート類似体(1k及び1l)、並びに市販のホスフェート類似体(1m)を含有するブデソニド-スペーサーの合成のためのスキーム1を示している。

【０６５２】

中間体3a

1-[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)オキシ]ピロリジン-2,5-ジオン(3a)

【化５１０】



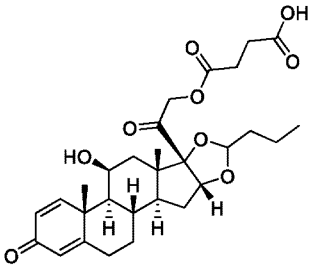
ブデソニド1a(0.10g、0.26mmol)のDCM(1mL)溶液に、ビス(2,5-ジオキソピロリジン-1-イル)カルボネート(71mg、0.30mmol)、トリエチルアミン(47mg、0.52mmol)、及びDMAP(3.0mg、触媒)を添加した。ブデソニドが消費されるまで、反応混合物を15～25℃で12時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、該反応混合物をDCMで希釈し、水により洗浄した。有機溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させた。濾過した後、溶液を真空中で濃縮し、残渣(粗3a)を、精製することなく、次の工程にそのまま使用した(93mg、収率71%)。ESI m/z: 572.2(M+H)$^+$。

【０６５３】

(実施例1c)

4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}-4-オキソブタン酸(1c)

【化５１１】



WO2015005459号; WO2013074988号; Research in Pharmaceutical Science, 2011, 6(2), 107-116;及びInternational Journal of Pharmaceutics, 2009, 365(1-2), 69-76を参照されたい。

【０６５４】

ブデソニド(1a、0.10g、0.26mmol)のDCM(1mL)溶液に、無水コハク酸(30mg、0.30mmol)、トリエチルアミン(47mg、0.52mmol)、及びDMAP(3mg、触媒、0.02mmol)を添加した。ブデソニドが消費されるまで、混合物をRTで12時間撹拌し、これをTLC及びLCMSによりモニタリングした。その後、反応混合物をDCMで希釈し、水で洗浄した。有機溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させた。濾過した後、溶液を真空中で濃縮し、残渣を分取HPLCにより精製すると、表題化合物1c(22mg、収率18%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 531.3(M+H)$^+$。

【化５１２】

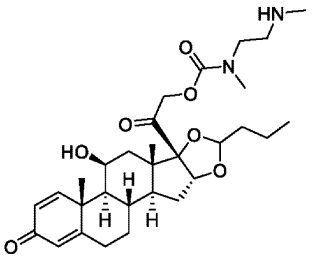
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.48 (d, J = 10 Hz, 1H), 6.28-6.26 (m, 1H), 6.04-6.02 (m, 1H), 5.23-5.11 (m, 1H), 5.06-4.99 (m, 1H), 4.83-4.68 (m, 1H), 4.45-4.43 (m, 1H), 2.76-2.63 (m, 5H), 2.41-2.39 (m, 1H), 2.26-2.12 (m, 2H), 1.99-1.66 (m, 6H), 1.57-1.38 (m, 6H), 1.32 (s, 1H), 1.16-0.94 (m, 8H) ppm.

【０６５５】

(実施例1d)

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-メチル-N-[2-(メチルアミノ)エチル]カルバメート(1d)

【化５１３】



粗中間体3a(63mg、0.11mmol)のDCM(5mL)溶液に、N,N'-ジメチルエタン-1,2-ジアミン(28mg、0.32mmol)及びトリエチルアミン(38mg、0.38mmol)をRTで添加した。3aの大部分が消費されるまで、得られた混合物をRTで2時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を分取HPLC(方法B)により精製すると、1d(4mg、収率4.5%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 545.3$(M+H)^+$。

【化５１４】

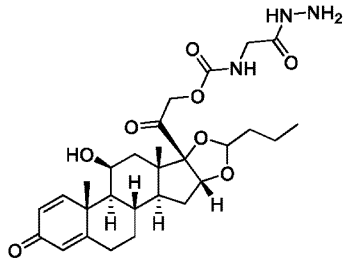
^{1}H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.32-7.30 (m, 1H), 6.28-6.25 (m,1H), 6.02-6.01 (m, 1H), 4.42 (br s, 1H), 3.50-3.23 (m, 3H), 3.10-3.02 (m, 3H), 2.82-2.71 (m, 3H), 2.57-2.55 (m, 1H), 2.35-2.33 (m, 1H), 2.15-2.06 (m, 2H), 1.96-1.79 (m, 12H), 1.60-1.56 (m, 3H), 1.46 (m, 3H), 1.37-1.33 (m, 2H), 1.23-1.04 (m, 4H), 0.92-0.86 (m, 3H) ppm.

【０６５６】

(実施例1e)

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.$0^{2,9}$.$0^{4,8}$.$0^{13,18}$]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-[(ヒドラジンカルボニル)メチル]カルバメート(1e)

【化５１５】



DMF(3mL)中の粗3a(0.16g、0.28mmol)の混合物に、Boc-2-(2-アミノアセチル)ヒドラジン(80mg、0.42mmol)及びトリエチルアミン(85mg、0.84mmol)を添加した。反応混合物を25℃で16時間撹拌すると、中間体3aが消費され、これをLCMSによりモニタリングした。その後、混合物を水でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機溶液を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させた。濾過した後、溶液を真空中で濃縮した。残渣シリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の30～50%酢酸エチル)により精製すると、Boc-1e(70mg)が白色の固体(ESI m/z: 646$(M+H)^+$)として得られ、これをDCM(2mL)に溶解させた。該溶液に、TFA(1mL)を0℃で滴加した。Boc-1eが消費されるまで、混合物を25℃で2時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を分取HPLCにより精製すると、表題化合物1e(7mg、収率12%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 546$(M+H)^+$。

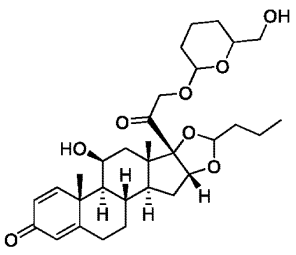
【０６５７】

(実施例1g)

(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-8-(2-{[6-(ヒドロキシメチル)オキサン

-2-イル]オキシ}アセチル)-9,13-ジメチル-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-16-オン(1g)

【化５１６】



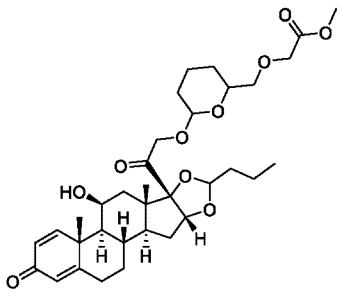
ブデソニド(1a、50mg、0.12mmol)の無水DCM(4mL)の溶液に、(3,4-ジヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メタノール(0.11g、0.93mmol)及びp-トルエンスルホン酸(31mg、0.18mmol)を0℃で添加した。反応混合物をRTで4日間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。揮発性物質を真空中で除去し、残渣をDMFに溶解させ、分取HPLC(方法B)により分離すると、表題化合物1g(13mg、収率20%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 545(M+H)$^+$。

【０６５８】

(実施例1h)

メチル2-[(6-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}オキサン-2-イル)メトキシ]酢酸塩(1h)

【化５１７】



(3,4-ジヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メタノール(2.0g、18mmol)のTHF(30mL)溶液に、水素化ナトリウム(鉱油中60%、0.88g、22mmol)を、窒素保護下、0℃で1滴ずつ添加した。水素の蒸発が終了するまで、懸濁液を0℃で撹拌した。その後、得られた混合物に、エチル 2-ブロモアセテート(4.0g、26mmol)のTHF(18mL)溶液を添加した。LCMSにより出発材料がほとんど消費されるまで、混合物をRTで一晩撹拌した。0℃に冷却した後、反応液を、窒素保護下、水でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機溶液を水及びブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(石油エーテル中の0～8%酢酸エチル)により精製すると、エチル 2-((3,4-ジヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メトキシ)アセテート(0.70g、21%収率)が無色の油状物として得られた。

【化５１８】

(^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 6.36 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 4.67 (m, 1H), 4.16 (s, 2H), 3.92 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.57 (d, J = 5.5 Hz, 2H), 2.50-1.99 (m, 1H), 1.93-1.82 (m, 1H), 1.80 (m, 1H), 1.60 (m, 1H) ppm.)

【０６５９】

ブデソニド(1a、0.11g、0.25mmol)の無水DCM(8mL)溶液に、上で得られたエチル 2

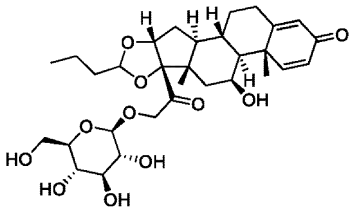
-((3,4-ジヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メトキシ)アセテート(0.35g、1.9mmol)及びp-トルエンスルホン酸(66mg、0.35mmol)を0℃で添加した。反応混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。揮発性物質を真空中で除去し、残渣をDMFに溶解させ、分取HPLC(方法A)により分離すると、表題化合物1h(46mg、収率29%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 617(M+H)$^+$。

【０６６０】

(実施例1i)

(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-6-プロピル-8-(2-{[(2R,3R,4S,5S,6R)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)オキサン-2-イル]オキシ}アセチル)-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0$0^{2,9}$.$0^{4,8}$.$0^{13,18}$]イコサ-14,17-ジエン-16-オン(1i、エピマーを含む)

【化５１９】



DCM(15mL)中のブデソニド(1a、0.22g、0.50mmol)及びアセトブロモ-α-D-グルコース(0.33g、0.80mmol)混合物に、4Å分子篩(1.0g)を添加し、混合物をRTで30分間撹拌し、その後、トリフルオロメタンスルホン酸銀(0.19g、0.75mmol)を0℃で添加した。懸濁液を、窒素保護下、暗所RTで週末の間(72時間)撹拌した。混合物をセライトに通して濾過し、濾液を真空中で濃縮した。残渣を分取HPLC(方法B)により精製すると、Ac-1i(25mg、収率9.2%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 761(M+H)$^+$。

【化５２０】

^{1}H NMR (DMSO$_{d6}$, 400 MHz) (エピマーを含む) δ 7.34-7.30 (m, 1H), 6.19-6.14 (m, 1H), 5.91 (s, 1H), 5.29 (t, J = 9.2 Hz, 1H), 5.17-5.15 (m, 0.5H), 5.03-5.01 (m, 0.5H), 4.96-4.90 (m, 1H), 4.85-4.74 (m, 3H), 4.70-4.67 (m, 1H), 4.64-4.63 (m, 0.5H), 4.59-4.56 (m, 0.5H), 4.39-4.28 (m, 2H), 4.20-4.16 (m, 1H), 4.05-3.99 (m, 2H), 2.56-2.40 (m, 1H), 2.32-2.26 (m, 1H), 2.13-1.89 (m, 14H), 1.83-1.63 (m, 3H), 1.59-1.48 (m, 3H), 1.44-1.21 (m, 6H), 1.15-0.91 (m, 2H), 0.86-0.81 (m, 6H) ppm.

【０６６１】

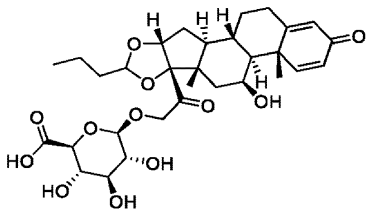
水(1mL)及びメタノール(3mL)中の上で得られた化合物Ac-1i(30mg、39μmol)の溶液に、水酸化リチウム一水和物(17mg、0.40mmol)を0℃で添加した。0℃で1時間撹拌した後、混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、1i(24mg、98%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 593(M+H)$^+$。

【化５２１】

^{1}H NMR (MeOD$_{d4}$, 400 MHz) (エピマーを含む) δ 7.46 (t, J = 10.4 Hz, 1H), 6.26 (dt, J = 10.0 and 2.0 Hz, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.21 and 4.64 (t, J = 4.8 Hz, 1H), 5.16 (t, J = 7.2 Hz, 0.5H), 4.94-4.80 (m, 2.5H), 4.57-4.47 (m, 1H), 4.44-4.41 (m, 1H), 4.34-4.31 (m, 1H), 3.90-3.87 (m, 1H), 3.70-3.64 (m, 1H), 3.39-3.24 (m, 4H), 2.70-2.62 (m, 1H), 2.41-2.36 (m, 1H), 2.27-2.08 (m, 2H), 2.00-1.93 (m, 1H), 1.88-1.81 (m, 1H), 1.74-1.32 (m, 9H), 1.22-0.90 (m, 8H) ppm.

【０６６２】

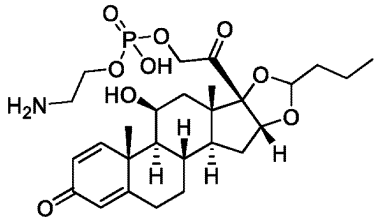
(実施例1j)
(2S,3S,4S,5R,6R)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.00^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}オキサン-2-カルボン酸(1j、エピマーを含む)
【化５２２】



アセトブロモ-α-D-グルコースの代わりに、アセトブロモ-α-D-グルクロン酸メチルエステルを使用することを除き、1iと同様の手順に従うと、白色の固体としての化合物1j(24mg、2工程で9.2%収率)が得られた。ESI m/z: 607(M+H)$^+$。
【化５２３】

^{1}H NMR (MeOD$_{d4}$, 400 MHz) δ 7.48 (t, J = 10.0 Hz, 1H), 6.28-6.24 (m, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.22-5.15 (m, 1H), 4.98-4.81 (m, 2.5H), 4.65-4.56 (m, 1.5H), 4.45-4.39 (m, 2H), 3.62-3.59 (m, 1H), 3.52-3.46 (m, 1H), 3.41 (t, J = 8.8 Hz, 1H), 3.30-3.28 (m, 1H), 2.70-2.62 (m, 1H), 2.40-2.36 (m, 1H), 2.27-2.10 (m, 2H), 1.95-1.92 (m, 2H), 1.75-1.54 (m, 3H), 1.50 (s, 3H), 1.51-1.32 (m, 3H), 1.12-0.90 (m, 8H) ppm.

【０６６３】
(実施例1k)
(2, 2113エトキシ)({2 1H)S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)13オキシ)({2 1H), 3.30-3.28(m, 1H), 2.70-2.62(m, 1H), 2.40-2.36(m, 1H)^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ)({2 1H), 3.30-3.28 オキソエトキシ})ホスフィン酸(1k)
【化５２４】



トリエチルアミン(0.67g、6.6mmol)のクロロホルム(4mL)溶液に、オキシ塩化リン(0.51mg、3.3mmol)を0℃で添加し、その後、ブデソニド(1a、1.3g、3.0mmol)のクロロホルム(4mL)溶液を添加した。20℃で2時間撹拌した後、混合物を0℃に冷却し、クロロホルム(4mL)及びピリジン(3mL)中のBoc-エタノールアミン(0.41mg、2.6mmol)の溶液を添加した。LCMSにより反応が終了するまで、20℃で1時間撹拌した後、反応混合物を0℃での水(2mL)の添加によりクエンチした。混合物を20℃で一晩撹拌した。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を分取HPLC(方法B)により精製すると、粗Boc-1k(330mg、17%)が黄色の薄膜として得られた。ESI m/z: 676(M+Na)$^+$。
【０６６４】
Boc-1k(0.18g、0.28mmol)のDCM(5mL)溶液に、トリフルオロ酢酸(0.5mL)を0℃で添加した。LCMSによりBocが完全に除去されるまで、得られた混合物を23℃で2時間撹拌した。揮発性物質を真空中で除去した。残渣を分取HPLC(方法B)により精製すると、1k

が白色の固体(90mg、59%収率)として得られた。ESI m/z: 554(M+H)$^+$。

【化５２５】

^{1}H NMR (500 MHz, MeOD$_{d4}$) δ 7.49 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 6.28 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.24-5.15 (m, 1H), 4.87-4.62 (m, 3H), 4.45 (d, J = 6.1 Hz, 1H), 4.18-4.15 (m, 2H), 3.22-3.20 (m, 2H), 2.71-2.64 (m, 1H), 2.40 (d, J = 13.4 Hz, 1H), 2.29-1.71 (m, 6H), 1.65-1.32 (m, 9H), 1.22-0.91 (m, 7H) ppm.

分析的HPLC:＞99.9%、保持時間: 3.90分(方法B)。

【０６６５】

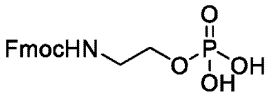
(実施例1l)

(2-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}エトキシ)ホスホン酸

J. Am. Chem. Soc., 2016, 138(4), 1430-1445; WO2015153401号;及びPhosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements, 2000, 165, 83-90を参照されたい。

【０６６６】

【化５２６】

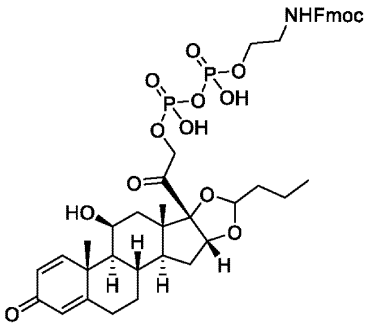


THF(16mL)中のFmoc-エタノールアミン(1.1g、3.9mmol)の混合物に、塩化ジホスホリル(2.2g、8.8mmol)を-40℃でシリンジにより添加した。出発材料が完全に消費されるまで、-40℃で1時間撹拌した後、これをLCMSによりモニタリングし、反応混合物を-40℃で水(1mL)でクエンチし、飽和水性重炭酸ナトリウム溶液(200mL)で処理し、10～20℃で一晩保持した。得られた混合物を濃HClでpH 2に酸性化し、その後、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濃縮すると、粗表題化合物(1.6g、粗)が白色の固体として得られ、これを、精製することなく、次の工程に使用した。ESI m/z: 364(M+H)$^+$。

【０６６７】

(2-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}エトキシ)({[ヒドロキシ({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ})ホスホリル]オキシ})ホスフィン酸(Fmoc-1l)

【化５２７】



Fmoc-エタノールアミンの代わりにブデソニド(1a、0.86g、20mmol)を使用することを除き、上の手順に従うと、白色の固体(ESI m/z: 551(M+H)$^+$)としてのホスホン酸ブデソニド中間体1a-PO_3H_2(1.1g、粗)が得られた。

【０６６８】

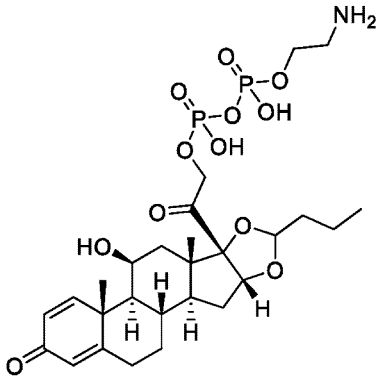
粗(2-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}エトキシ)ホスホン酸(0.29

g、0.80mmol)のDMF(5mL)溶液に、トリエチルアミン(81mg、0.80mmol)及び1,1'-カルボニルジイミダゾール(CDI、0.32g、2.0mmol)を10℃で添加した。混合物を10～20℃で30分間撹拌し、その後、上で得られたホスホン酸ブデソニド中間体1a-PO_3H_2(0.41g、0.80mmol)及び塩化亜鉛(0.87g、6.4mmol)を反応混合物に添加した。得られた混合物を10～20℃で一晩撹拌し、LCMSにより出発材料が完全に消費された。その後、反応液を水性希HCl(1N、50mL)でクエンチし、酢酸エチルで抽出した。合わせた有機溶液を濃縮し、残渣を分取HPLC(方法B)により精製すると、Fmoc-1l(0.32g、収率47%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 856$(M+H)^+$。

【0669】

(2-アミノエトキシ)({[ヒドロキシ({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.$0^{2,9}$.$0^{4,8}$.$0^{13,18}$]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ})ホスホリル]オキシ})ホスフィン酸(1l)

【化528】



WO2015153401号を参照されたい。

【0670】

Fmoc-1l(0.10g、0.12mmol)のDCM(2mL)溶液に、ピペリジン(67mg、0.79mmol)を10℃で添加した。反応混合物を10～20℃で16時間撹拌した。LCMSにより化合物Fmoc-1lが完全に消費された。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を分取HPLC(方法B)により精製すると、1l(50mg、収率68%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 634$(M+H)^+$。

【化529】

^{1}H NMR (500 MHz, MeOD$_{d4}$) δ 7.50 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.28 (d, J = 9.9 Hz, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.23-5.16 (m, 1H), 5.02-4.97 (m, 1H), 4.88-4.67 (m, 1H), 4.45 (d, J = 3.4 Hz, 1H), 4.23 (s, 2H), 3.24 (s, 2H), 2.67 (dd, J = 13.5, 8.3 Hz, 1H), 2.40 (d, J = 11.3 Hz, 1H), 2.28-1.32 (m, 15H), 1.23-0.92 (m, 8H) ppm.

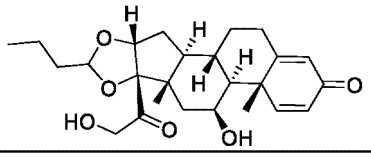
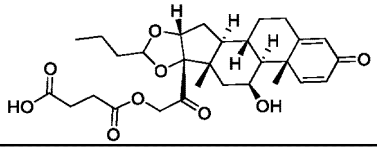
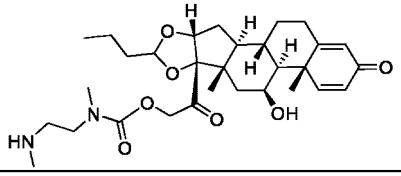
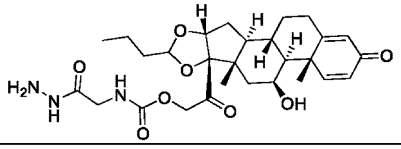
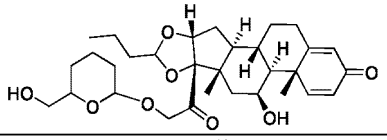
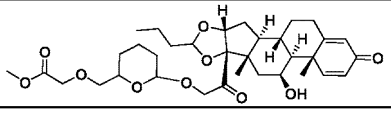
分析的HPLC:＞99.9%、保持時間: 2.74分(方法B)。

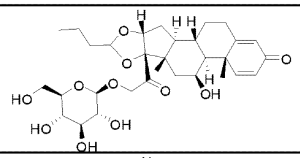
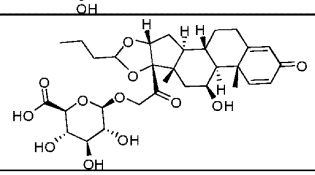
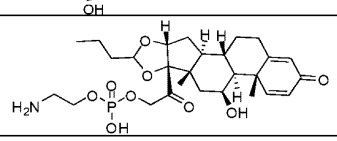
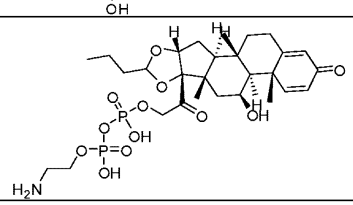
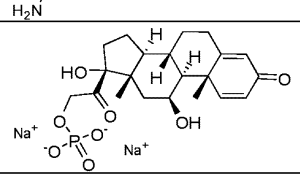
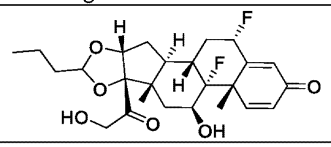
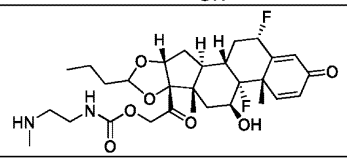
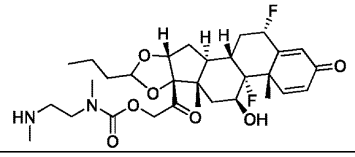
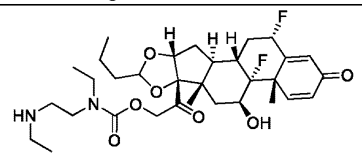
【0671】

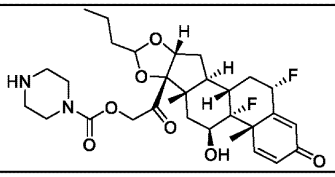
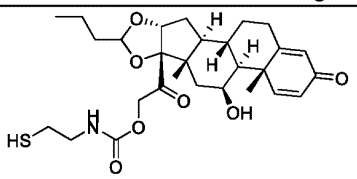
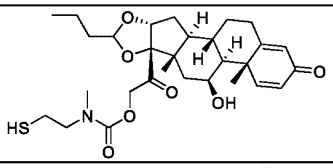
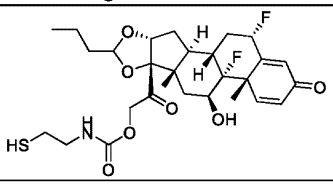
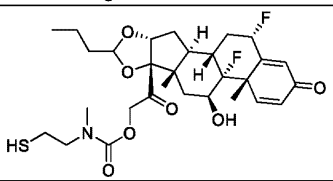
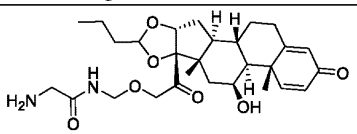
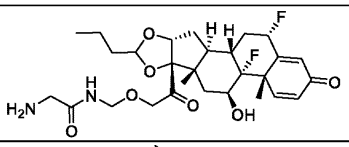
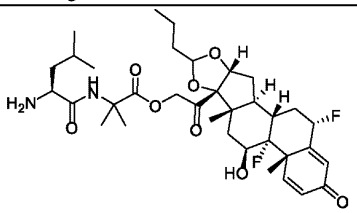
下の表1aは、本明細書に記載される方法を用いて作製されるステロイドを提示している。

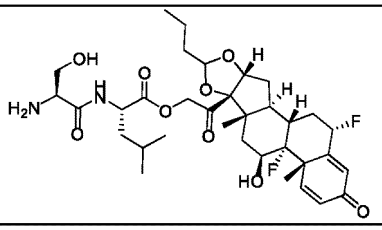
表1a－化合物の構造及び化学的-物理的特性

【表３０】

#	構造	HPLC純度	cLogP	MF	MW(計算値)	MS(M+H)
1a		95	2.73	$C_{25}H_{34}O_6$	430.55	431.3
1c		98	3.00	$C_{29}H_{38}O_9$	530.25	531.2
1d		93	2.92	$C_{30}H_{44}N_2O_7$	544.69	545.3
1e		100	1.44	$C_{28}H_{39}N_3O_8$	545.62	546.2
1g		92	3.65	$C_{31}H_{44}O_8$	544.68	545.3
1h		98	3.19	$C_{34}H_{48}O_{10}$	616.32	616.32

#	構造	HPLC 純度	cLogP	MF	MW (計算値)	MS (M+H)
1i		100	0.96	$C_{31}H_{44}O_{11}$	592.67	593.4
1j		98	1.28	$C_{31}H_{42}O_{12}$	606.66	607.3
1k		100	1.18	$C_{27}H_{40}NO_9P$	553.58	554.1
1l		100	0.55	$C_{27}H_{41}NO_{12}P_2$	633.56	634.0
1m		100	1.15	$C_{21}H_{27}Na_2O_8P$	484.39	590.3
100		100	2.44	$C_{25}H_{32}F_2O_6$	466.51	467
101a		>95	2.40	$C_{29}H_{40}F_2N_2O_7.C_2HF_3O_2$	663.66	567
101b		>95	2.63	$C_{30}H_{42}F_2N_2O_7.C_2HF_3O_2$	678.69	581
101c		100	3.34	$C_{32}H_{46}F_2N_2O_7.C_2HF_3O_2$	722.74	609

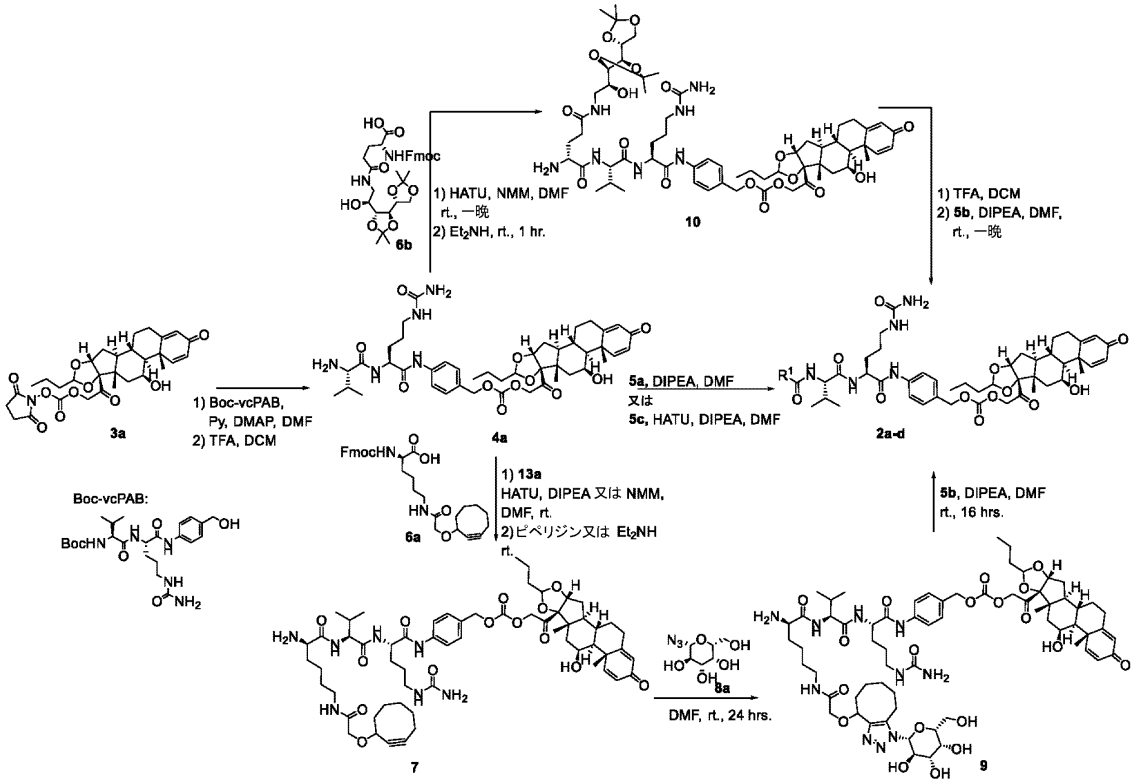
#	構造	HPLC純度	cLogP	MF	MW（計算値）	MS（M+H）
101d		100	2.46	$C_{30}H_{40}F_2N_2O_7$	578.64	579
102c		>95	3.47	$C_{28}H_{39}NO_7S$	533.68	531
102d		>95	3.69	$C_{29}H_{41}NO_7S$	547.71	548
102e		>95	3.17	$C_{28}H_{37}F_2NO_7S$	569.66	570
102f		>95	3.40	$C_{29}H_{39}F_2NO_7S$	583.69	584
103a		98	1.58	$C_{28}H_{40}N_2O_7$	516.64	517
103b		98	1.29	$C_{28}H_{38}F_2N_2O_7$	552.62	553
104a		>90	3.67	$C_{35}H_{50}F_2N_2O_8$	664.79	665

#	構造	HPLC純度	cLogP	MF	MW(計算値)	MS(M+H)
104b		>95	2.19	$C_{34}H_{48}F_2N_2O_9$	666.76	667

【０６７２】

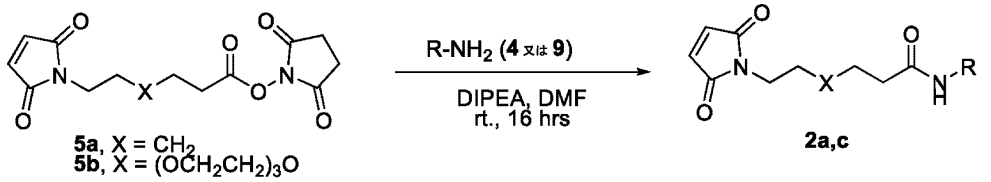
(スキーム2. VC-PABスペーサー-ブデソニドの合成)

【化５３０】



(MC-スペーサー-ブデソニド(2a及び2c)の合成のための一般的手順A)

【化５３１】



スキーム2のvcPAB-ブデソニド(4a A＝CO、1.0当量)又はアミン9(1.0当量)のDMF(10mgのアミン当たり約1mL)溶液に、下の表の活性化NHSエステル5(1.5～3.0当量)及びDIPEA(2.0当量)をRTで添加した。LCMSスペクトルによりNHSエステルとアミンの大部分とが消費されたとき、反応混合物をRTで一晩撹拌した。濾過後、反応溶液を分取HPLC又は逆相フラッシュクロマトグラフィーによりそのまま精製すると、所望のアミド2(約17%

収率)が白色の固体として得られた。

【表３１】

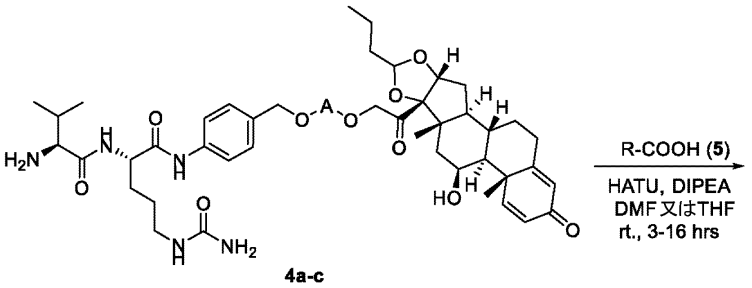
アミン		活性化エステル 5		塩基/試薬	溶媒	時間 (hr)	精製	生成物 2
4a[c]	50 mg, 56 μmol	**5a**	28 mg, 91 μmol	DIPEA (23 mg, 0.18 mmol)	DMF (3 mL)	16	分取HPLC (方法A)	**2a** (10 mg, 17%)
9 の反応溶液		**5b**	8.8 mg, 20 μmol	DIPEA (4.0 mg, 31 μmol)	DMF (1 mL)	16	分取HPLC (方法A)	**2d** (3.5 mg, 4%)

c. TFA塩

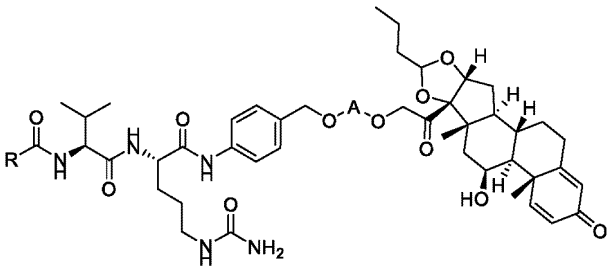
【０６７３】

(酸からのアミド2b、2l、2m-前駆体の合成のための一般的手順B)

【化５３２】

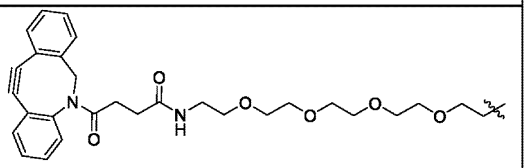
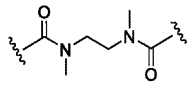
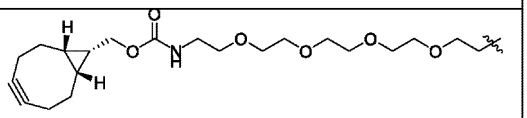
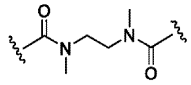
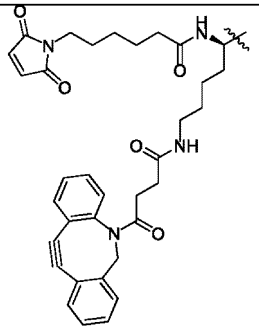


4a-c



2b, 2l, 2m-前駆体

【表３２】

生成物	アミン	酸	A	R
2b	4a	5c		
2l	4c	5d		
2m - 前駆体	4c	5e		

DMF又はDCM又はTHF(5mgの5当たり1mL)中の酸5(1.0～1.5当量)の溶液に、DIPEA(2.0～5.0当量)及びHATU(1.4～2.2当量)をRTで添加した。得られた混合物をこの温度で0.5～1時間撹拌し、その後、vcPAB-ブデソニド(4、1.0当量)を添加した。アミンが完全に消費されるまで、反応混合物をRTで3～16時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を膜に通して濾過し、その後、濾過を分取HPLC又は逆相フラッシュクロマトグラフィーにより分離すると、アミド2(21-54%収率)が白色の固体として得られた。下の表に、さらなる詳細がある。

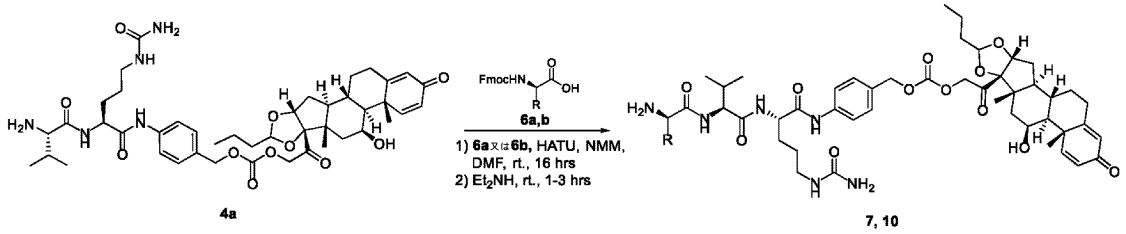
【表３３】

アミン		酸		塩基/試薬	溶媒	時間(hr)	精製	生成物 2
4b	10 mg, 11 μmol	5c	10 mg, 18 μmol	DIPEA (6.2 mg, 48 μmol) HATU (9.0 mg, 24 μmol)	DMF (1 mL)	16	分取HPLC (方法B)	2b (3.0 mg, 21%)
4c	58 mg, 61 μmol	5c	37 mg, 67 μmol	DIPEA (15 mg, 0.12 mmol) HATU (34 mg, 89 μmol)	DMF (5 mL)	3	分取HPLC (方法B)	2i (21 mg, 24%)
4c	8.9 mg, 9.4 μmol	5d	6.3 mg, 14 μmol	DIPEA (3.6 mg, 27 μmol) HATU (8.0 mg, 20 μmol)	DMF (1 mL)	16	分取HPLC (方法B)	2l (7 mg, 54%)
4c	20 mg, 21 μmol	5e	13 mg, 21 μmol	DIPEA (8.0 mg, 62 μmol) HATU (12 mg, 31 μmol)	THF (5 mL)	16	分取HPLC (方法A)	2m - 前駆体 (5 mg)

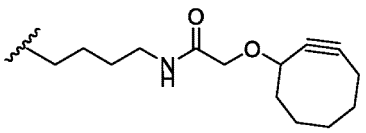
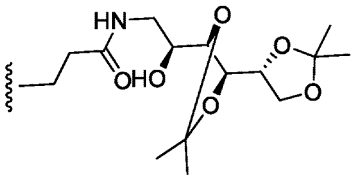
【０６７４】

(中間体7及び10の合成のための一般的手順C)

【化５３３】



【表３４】

Fmoc-アミノ酸 **6**	生成物	R
6a	**7**	
6b	**10**	

中間体6(1.2～1.4当量)のDMF溶液に、HATU(1.5～1.7当量)をRTで添加した。得られた溶液をRTで1時間撹拌した。この懸濁液に、vcPAB-ブデソニド(4a、1.0当量)のDMF(4aのmg当たり0.10mL)の溶液、その後、NMM(2.3～3.0当量)を添加した。反応混合物をRTで16時間撹拌すると、透明になった。化合物4aが完全に消費されるまで、反応液をLCMSによりモニタリングした。その後、反応混合物に、ジエチルアミン(過剰)を添加し、その後、LCMSによりFmocが除去されるまで、得られた混合物をRTで1～3時間撹拌した。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を分取HPLC(方法A)により精製すると、化合物7(化合物4aから18%収率)が得られ、又は分取HPLC(方法B)により精製すると、化合物10(5%収率)が白色の固体として得られた。下の表に、さらなる詳細がある。

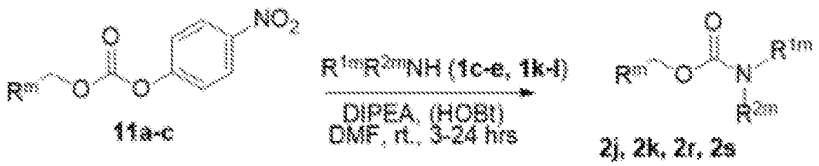
【表３５】

アミン		中間体 6		塩基/試薬	溶媒	時間	精製	生成物
4a	60 mg, 64 μmol	**6a**	46 mg, 86 μmol	NMM (15 mg, 0.15 mmol) HATU (41 mg, 0.11 mmol) その後、Et_2NH (0.5 mL)	DMF (3 mL)	16時間 その後、3時間	分取HPLC (方法A)	**7** (13 mg, 18%)
4a	0.19 g, 0.20 mmol	**6b**	0.15 g, 0.24 mmol	NMM (61 mg, 0.60 mmol) HATU (0.11 g, 0.29 mmol) その後、Et_2NH (1 mL)	DMF (5 mL)	16時間 その後、1時間	分取HPLC (方法B)	**10** (13 mg, 5%)

【０６７５】

(カルバメート2j、2k、2r、及び2sの合成のための一般的手順D)

【化５３４】



PNP活性化エステルが完全に消費されるまで、混合物をRTで3～24時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を膜に通して濾過し、濾液を分取HPLCによりそのまま分離すると、化合物2(ジアステレオ異性体を含む又はジアステレオ異性体を含まない、11～63%収率)が白色の固体として得られた。下の表に、さらなる詳細がある。

【表３６】

スペーサー–ブデソニド 21		活性化エステル 23		塩基/試薬	溶媒	時間 (hr)	精製	生成物 2
1e	15 mg, 28 μmol	**11a**	15 mg, 20 μmol	DIPEA (12 mg, 93 μmol) HOBt (4.0 mg, 30 μmol)	DMF (1 mL)	12	分取HPLC (方法A)	**2j** (3.0 mg, 13%)
1d	20 mg, 37 μmol	**11a**	22 mg, 30 μmol	DIPEA (12 mg, 93 μmol) HOBt (6.0 mg, 44 μmol)	DMF (1 mL)	12	分取HPLC (方法A)	**2k-A** (3.3 mg, 10%) **2k-B** (4.1 mg, 12%)
1k	50 mg, 90 μmol	**11c**	30 mg, 95 μmol	DIPEA (50 mg, 0.39 mmol)	DMF (1 mL)	3	分取HPLC (方法B)	**2r** (40 mg, 収率 61%)

【０６７６】

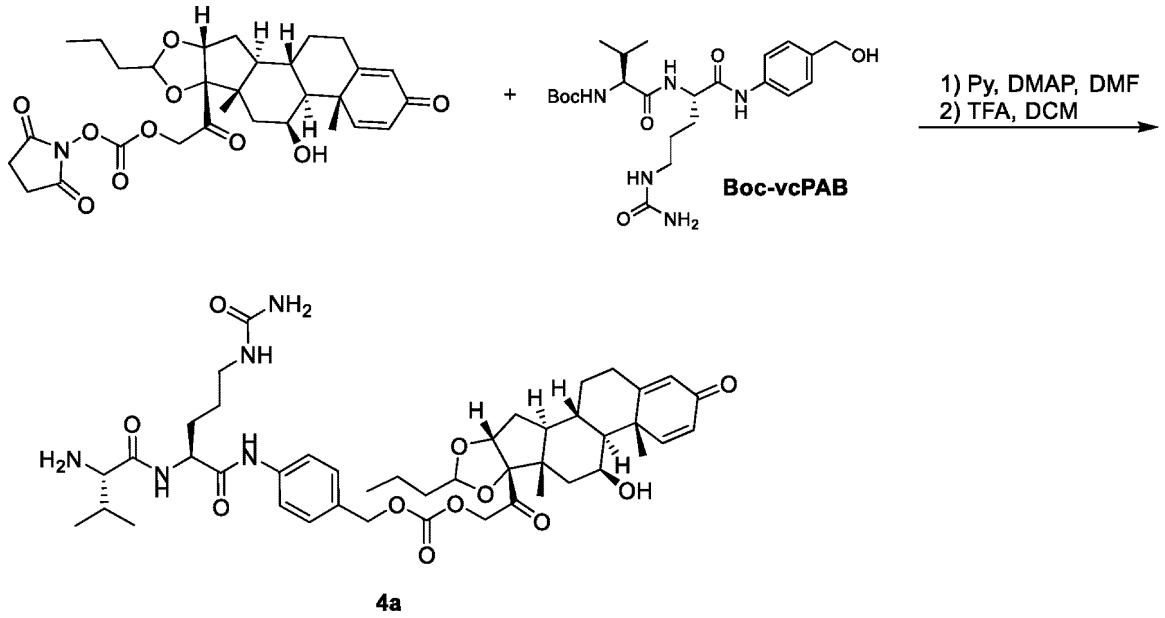
(2a～dの合成)

ブデソニド-リンカー2a～dは、スキーム2による3つのアプローチから調製した。第一のアプローチは、リンカー5を有するブデソニド3aの活性化エステルから得られるvcPAB-ブデソニド(4a)からの直接的なアミドカップリング反応である。第二のアプローチは、ブデソニド-リンカー7を生成させるためのvcPAB-ブデソニド(4a)と中間体6aからの最初のアミドカップリング反応、次いで、中間体9を生成させるためのガラクトース-アジド(8a)との3+2環化、及び最後に5との第二のアミドカップリング反応によるものであった。第三のアプローチは、4と中間体6bとの第一のアミドカップリング反応、次いで、5bとのアミド形成、及び2dを生じるアセトンの連続的な脱保護によるものであった。

【０６７７】

中間体4a

【化５３５】



無水DMF(10mL)中の1.4mmol)に、Boc-vc-PAB(12a)[WO2008/34124 A2号](0.59g、1.2mmol)、DMAP(0.30g、2.4mmol)、及びピリジン(0.29g、3.7mmol)を添加した。LCMSにより3aが完全に消費されるまで、混合物をRTで16時間撹拌した。反応混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水中の50～80%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、中間体Boc-4a(0.74g、収率38%、ESI m/z: 936(M+H)$^+$)が白色の固体として得られ、これをDCM(40mL)に溶解させた。5mLのDCM溶液(94mgのBoc-4aを含有)に、TFA(0.5mL)を0℃で滴加した。Boc-4aが消費されるまで、RTで1.5時間撹拌した後(これは、LCMSによりモニタリングされる)、得られた混合物を真空中で濃縮すると、そのTFA塩としての粗表題生成物4a(83mg、ブデソニドから収率34%)が無色の油状物として得られた。これは、精製することなく、次の工程の合成に使用することができる。20mgの粗4aを分取HPLC(方法B)により精製すると、純粋な4a(8mg)が血漿安定性試験用の遊離塩基として得られた。ESI m/z: 836(M+H)$^+$。

【化５３６】

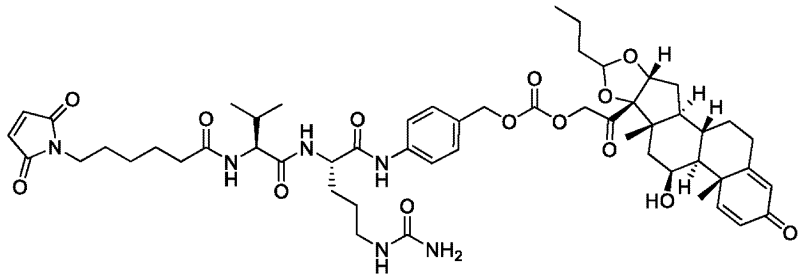
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.17 (s, 1H), 8.12 (br s, 1H), 7.62 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 10.2 Hz, 3H), 6.17 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 5.97 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.40 (s, 2H), 5.22-5.01 (m, 4H), 4.89-4.62 (m, 3H), 4.53-4.40 (m, 1H), 4.30 (s, 1H), 3.09-2.87 (m, 3H), 2.36-2.22 (m, 1H), 2.14-1.87 (m, 4H), 1.81 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 1.75 (s, 2H), 1.62-1.52 (m, 4H), 1.51-1.41 (m, 2H), 1.40-1.19 (m, 8H), 1.18-0.92 (m, 2H), 0.92-0.82 (m, 9H), 0.78 (d, J = 6.8 Hz, 3H) ppm.

【０６７８】

(実施例2a)

N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]-6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサンアミド(2a)

【化５３７】



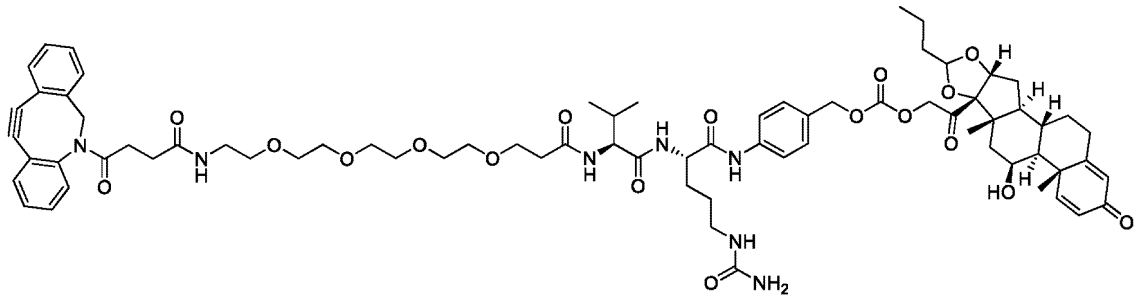
一般的手順Aに従うと、表題化合物2a(10mg、17%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1029(M+H)$^+$。分析的HPLC: 92.5%、保持時間: 7.66分(方法A)。

【０６７９】

(実施例2b)

1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタナム-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-イド)-N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({2ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド(2b)

【化５３８】



一般的手順Bに従うと、表題化合物2b(3.0mg、21%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 686(M/2+H)$^+$。

【化５３９】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.05 (s, 1H), 8.15 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.77 (t, J = 5.7 Hz, 1H), 7.71-7.66 (m, 1H), 7.66-7.59 (m, 3H), 7.52-7.27 (m, 9H), 6.17 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.03-5.95 (m, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.79-5.74 (m, 1H), 5.43 (s, 2H), 5.22-4.99 (m, 6H), 4.88-4.84 (m, 1H), 4.84-4.60 (m, 2H), 4.42-4.34 (m, 1H), 4.33-4.26 (m, 1H), 4.26-4.20 (m, 1H), 3.65-3.55 (m, 3H), 3.48-3.44 (m, 12H), 3.32-3.26 (m, 2H), 3.12-2.91 (m, 4H), 2.63-2.54 (m, 1H), 2.41-2.19 (m, 3H), 2.03-1.94 (m, 4H), 1.84-1.78 (m, 2H), 1.63-1.22 (m, 14H), 1.03-0.82 (m, 15H) ppm.

分析的HPLC: 96.9%、保持時間: 8.10分(方法B)。

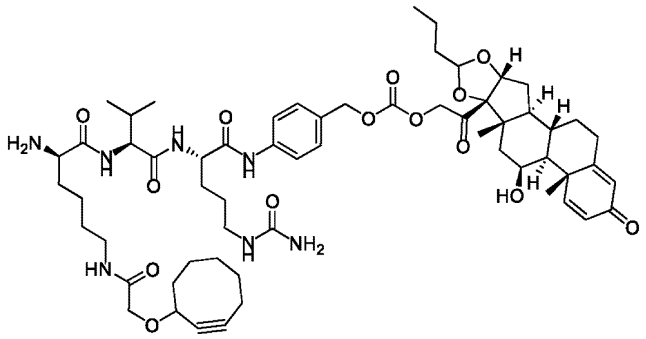
【０６８０】

(実施例2c)

(2R)-2-アミノ-N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピ

ル]-6-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]ヘキサンアミド(7)

【化５４０】



ESI m/z: 565(M/2+H)$^+$。

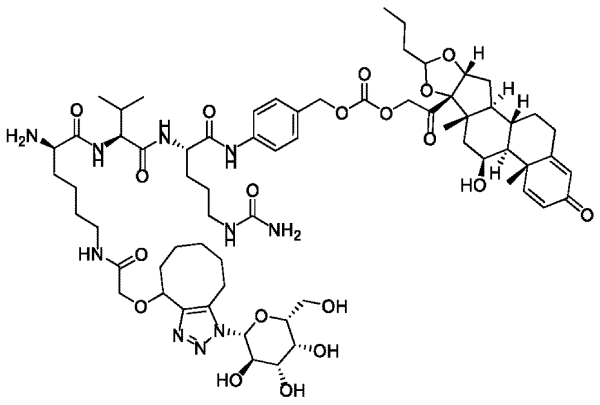
【化５４１】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.17-10.00 (m, 1H), 8.47-7.73 (m, 2H), 7.69-7.57 (m, 3H), 7.38-7.26 (m, 3H), 6.17 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.76 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.23-5.01 (m, 4H), 4.88-4.61 (m, 3.4H), 4.43-4.16 (m, 4.6H), 3.85 (d, J = 14.7 Hz, 1H), 3.73 (d, J = 14.5 Hz, 1H), 3.23-3.18 (m, 1H), 3.09-2.90 (m, 4H), 2.33-2.18 (m, 3H), 2.18-2.04 (m, 3H), 2.03-1.66 (m, 10H), 1.64-1.50 (m, 7H), 1.49-1.22 (m, 13H), 1.17-0.90 (m, 4H), 0.90-0.79 (m, 12H) ppm.

【０６８１】

(2R)-2-アミノ-N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]-6-[2-({1-[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)オキサン-2-イル]-1H,4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル}オキシ)アセトアミド]ヘキサンアミド(9)

【化５４２】



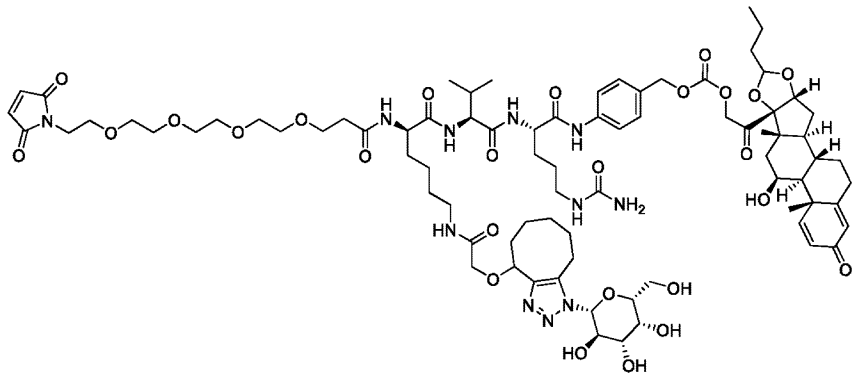
濾過後、得られた9の溶液を次の工程に直接そのまま使用した。ESI m/z: 667(M/2+H)$^+$

【０６８２】

N-[(1R)-1-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カル

ボニル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}-5-[2-({1-[(2R,3R,4S,5R,6R)-3,4,5-トリヒドロキシ-6-(ヒドロキシメチル)オキサン-2-イル]-4H,5H,6H,7H,8H,9H-シクロオクタ[d][1,2,3]トリアゾール-4-イル}オキシ)アセトアミド]ペンチル]-1-(2,5-ジオキソピロール-1-イル)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド(Mc-PEG$_4$-N(糖-COT)Lys-vc-PAB-ブデソニド)(2c)

【化５４３】



ESI m/z: 831(M/2+H)$^+$。

【化５４４】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.73 (s, 1H), 8.21-8.07 (m, 3H), 7.94-7.82 (m, 1H), 7.71-7.59 (m, 3H), 7.39-7.26 (m, 4H), 7.02 (s, 1H), 6.17 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.09-5.98 (m, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.56-5.28 (m, 4H), 5.25-5.01 (m, 4H),4.90-4.62 (m, 5H), 4.39-4.13 (m, 5H), 3.84-3.69 (m, 4H), 3.59-3.40 (m, 16H), 3.17-2.79 (m, 9H), 2.43-1.71 (m, 13H), 1.71-1.42 (m, 15H), 1.40-1.19 (m, 11H), 1.04-0.77 (m, 15H) ppm.

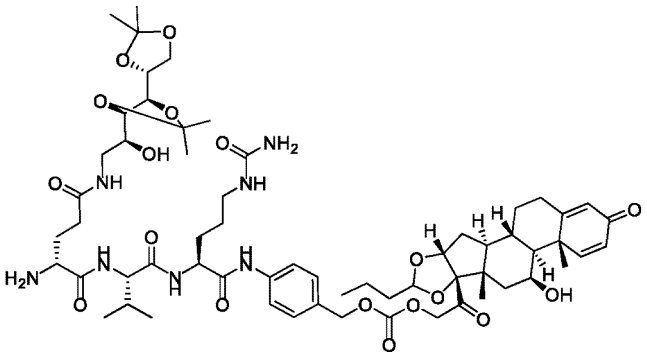
分析的HPLC: 97.6%、保持時間: 7.63分(方法A)。

【０６８３】

(実施例2d)

(2R)-2-アミノ-N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]-N'-[(2S)-2-[(4R,5R)-5-[(4R)-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-イル]-2,2-ジメチル-1,3-ジオキソラン-4-イル]-2-ヒドロキシエチル]ペンタンジアミド(10)

【化５４５】



一般的手順Cに従うと、化合物10(13mg、5%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 605(M/2+H)$^+$。

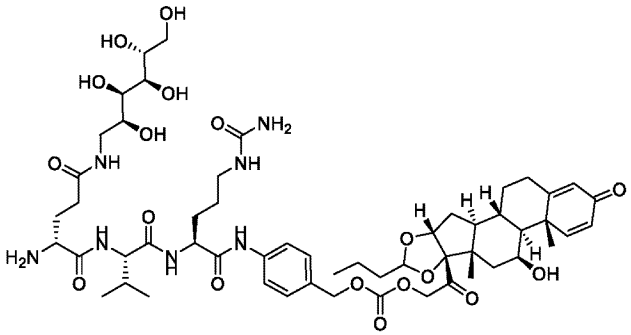
【化５４６】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.08 (s, 1H), 8.34-8.17 (m, 1H), 7.98 (s, 1H), 7.93-7.81 (m, 1H), 7.62 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 7.42-7.26 (m, 3H), 6.17 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 5.99 (s, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.76 (s, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.23-5.01 (m, 4H), 4.91-4.61 (m, 4H), 4.43-4.20 (m, 3H), 4.10-3.72 (m, 6H), 3.60-3.54 (m, 1H), 3.24-3.09 (m, 2H), 3.07-2.91 (m, 2H), 2.32-2.25 (m, 1H), 2.22-2.10 (m, 2H), 2.04-1.93 (m, 2H), 1.88-1.67 (m, 5H), 1.64-1.22 (m, 27H), 1.17-0.93 (m, 3H), 0.91-0.81 (m, 12H) ppm.

【０６８４】

(2R)-2-アミノ-N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]-N'-[(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-ペンタヒドロキシヘキシル]ペンタンジアミド(10A)

【化５４７】

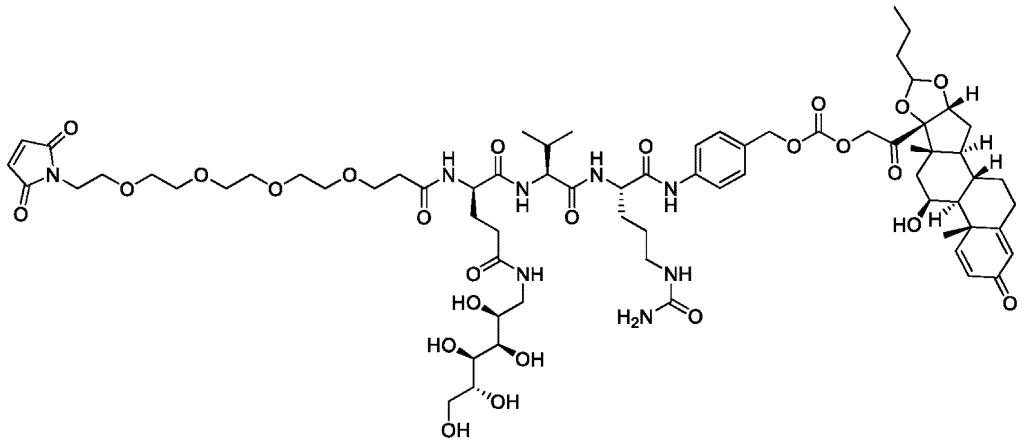


DCM(1mL)中の化合物10(13mg、11μmol)の混合物に、TFA(1mL)を滴加した。混合物をRTで1時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。揮発性物質を真空中で除去すると、粗脱保護生成物10A(13mg)が薄黄色の油状物として得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程に使用した。ESI m/z: 565(M/2+H)$^+$。

【０６８５】

(2R)-N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]-2-[1-(2,5-ジオキソピロール-1-イル)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-N'-[(2S,3R,4R,5R)-2,3,4,5,6-ペンタヒドロキシヘキシル]ペンタンジアミド(2d)

【化５４８】



一般的手順Aに従うと、表題化合物2d(3.5mg、4aから1%全収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 829.7(M/2+H)$^+$。

【化５４９】

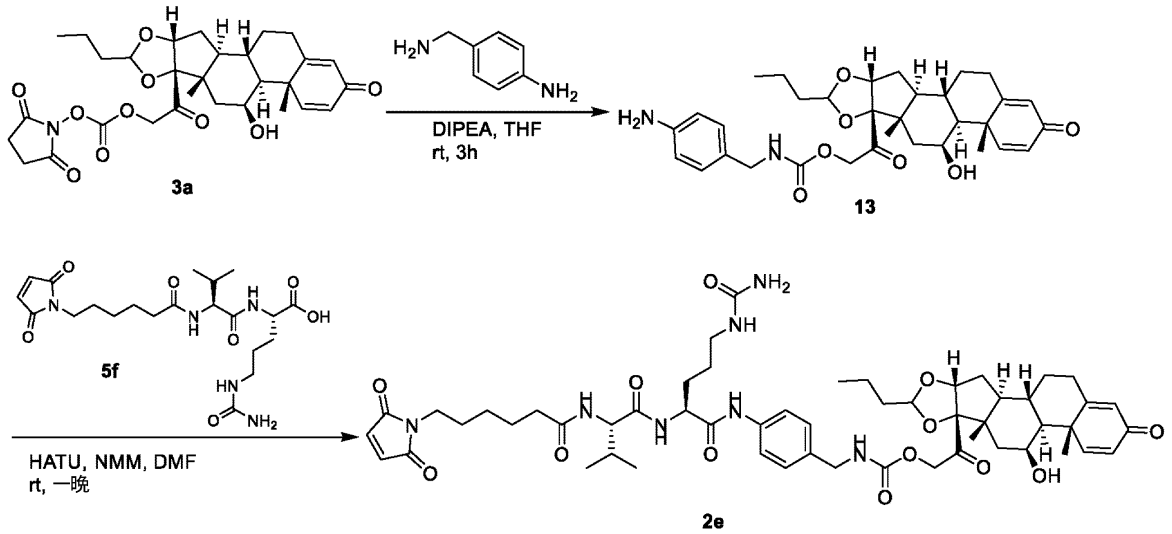
^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.10 (s, 0.25H), 9.79 (s, 0.75H), 8.22 (d, J = 7.1 Hz, 1H), 8.12 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 8.07 (d, J = 7.8 Hz, 1H),7.79-7.71 (m, 1H), 7.69-7.60 (m, 2H), 7.38-7.27 (m, 4H), 7.02 (d, J = 1.4 Hz, 2H), 6.17 (dt, J = 7.6, 1.6 Hz, 1H), 6.03-5.97 (m, 1H), 5.92 (s, 1H), 5.46-5.40 (m, 2H), 5.35-5.02 (m, 4H), 4.89-4.61 (m, 4H), 4.50-4.45 (m, 1H), 4.40-4.16 (m, 7H), 3.65-3.37 (m, 21H), 3.07-2.90 (m, 3H), 2.44-2.23 (m, 4H), 2.17-1.93 (m, 6H), 1.90-1.71 (m, 4H), 1.62-1.20 (m, 15H), 1.06-0.76 (m, 15H) ppm.

分析的HPLC:＞99%、保持時間: 6.40分(方法A)。

【０６８６】

(スキーム3．2eの合成)

【化５５０】

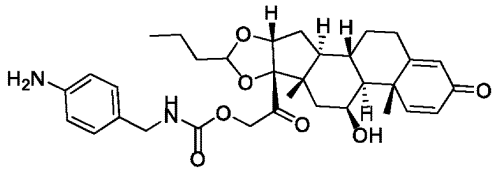


(実施例2e)

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル

]-2-オキソエチル N-[(4-アミノフェニル)メチル]カルバメート(13)

【化５５１】



4-アミノベンジルアミン(9.7mg、79μmol)及びDIPEA(12mg、93μmol)のTHF(10mL)溶液に、3a(24mg、44μmol)のTHF(5.0mL)溶液をRTで滴加した。3aが完全に消費されるまで、混合物をRTで3時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を分取HPLC(方法B)により精製すると、化合物13(5.6mg、収率22%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 579.2(M+H)$^+$。

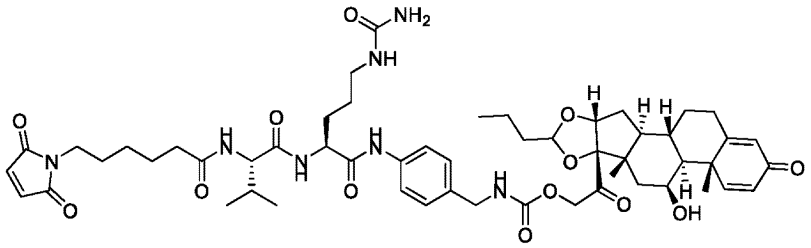
【化５５２】

^{1}H NMR (400 MHz, MeOD$_{d4}$) δ 7.48-7.45 (m, 3H), 7.31-7.28 (m, 2H), 6.27-6.24 (m, 1H), 6.02 (s, 1H), 5.22 (m, 1H), 5.12-5.11 (m, 1 H), 4.96 (m, 1 H), 4.86-4.81 (m, 2 H), 4.66 (m, 1 H), 4.44-4.35 (m, 3 H), 2.66-2.65 (m, 1H), 2.40-2.36 (m, 1 H), 2.15-2.10 (m, 2 H), 1.97-1.60 (m, 6H), 1.53-1.36 (m, 6H), 1.09-0.92 (m, 7H) ppm.

【０６８７】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-({4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メチル)カルバメート(2e)

【化５５３】

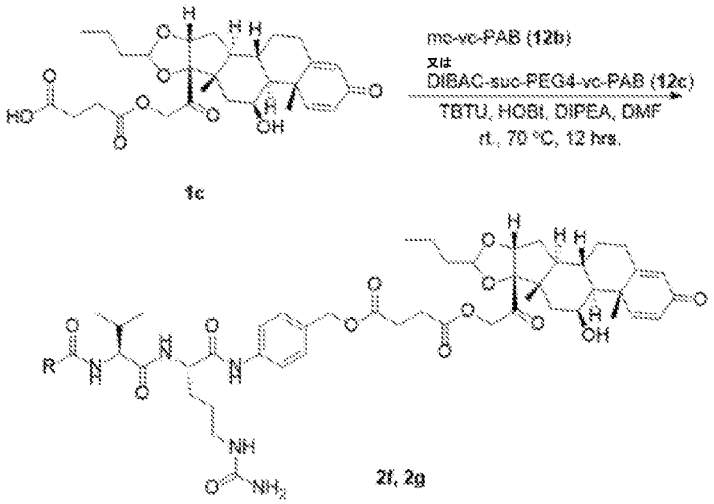


無水DMF(1.5mL)中のMC-VC-OH 5f(WO2014/191578 A1号)(5.7mg、12μmol)の混合物に、HATU(4.6mg、12μmol)及びNMM(4.0mg、40μmol)をRTで添加した。混合物をRTで10分間撹拌し、その後、化合物13(4.7mg、8.1μmol)を反応混合物に添加した。得られた混合物をRTで一晩撹拌した。LCMSにより、化合物13が完全に消費され、所望の生成物が主要な生成物として検出された。混合物を分取HPLCによりそのまま精製すると、表題化合物2e(2.9mg、収率35%)が白色の固体として得られた。ES m/z: 1029.1(M+H)$^+$、514.7(M/2+H)$^+$。分析的HPLC:＞99%、保持時間: 7.54分(方法A)。

【０６８８】

(スキーム4.リンカー-スペーサー-ブデソニド2f及び2gの合成(エステルを経由))

【化５５４】



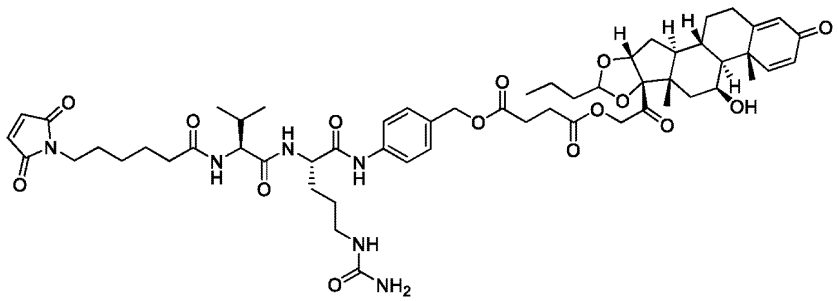
【表３７】

化合物 #	R
2f	MC
2g	DIBAC-suc-PEG4

(実施例2f)

1-{4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メチル 4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル}ブタンジオエート(2f)

【化５５５】



1c(20mg、38μmol)のDMF(2mL)溶液に、MC-VCPAB(12b、0.11g、0.19mmol)、TBTU(63mg、0.19mmol)、HOBt(26mg、0.19mmol)、及びDIPEA(41mg、0.19mmol)をRTで添加した。得られた混合物を70℃で12時間撹拌した。生成物2f以上のものは形成されず、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を分取HPLC(方法A)によりそのまま精製すると、表題化合物2f(2.6mg、収率6%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1085.3$(M+H)^+$。

【化５５６】

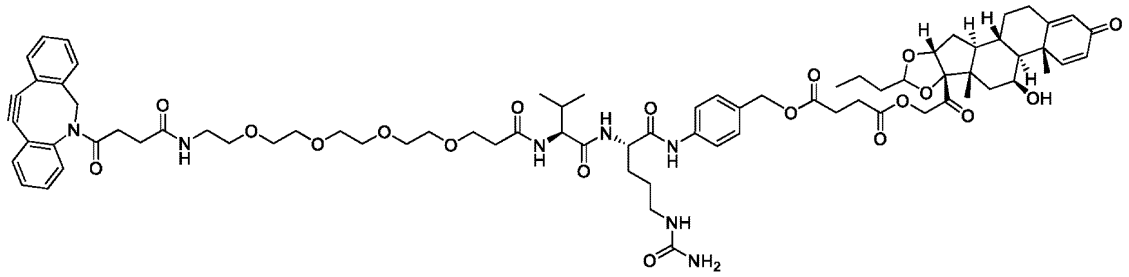
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.55-7.52 (m, 1H), 7.34-7.30 (m,1H), 6.67 (br s, 1H), 6.30-6.27 (m, 1H), 6.03 (br s, 1H), 5.16-5.11 (m, 2H), 5.09-4.87 (m, 2H), 4.80-4.61 (m, 1H), 4.60-4.30 (m, 2H), 3.47-3.44 (m, 1H), 3.21-3.10 (m, 1H), 3.03-2.96 (m, 2H), 2.79-2.55 (m, 4H), 2.35-1.73 (m, 28H), 1.71-1.32 (m, 15H), 1.29-1.07 (m, 4H), 0.99-0.85 (m, 9H) ppm.

【０６８９】

(実施例2g)

1-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル 4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル}ブタンジオエート(2g)

【化５５７】



12bの代わりにDIBAC-suc-PEG4-vc-PAB(12c)を使用することを除き、実施例2fの手順に従うと、表題化合物2g(15mg、収率19%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 714(M/2+H)$^+$。

【化５５８】

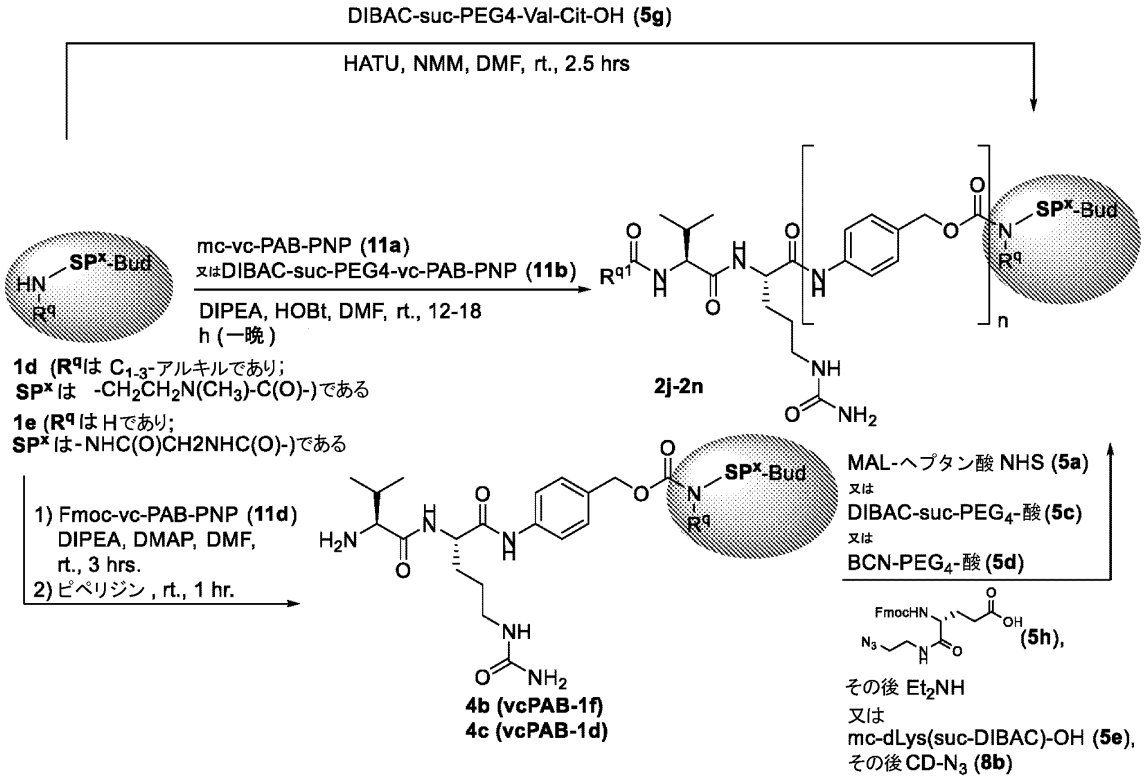
^{1}H NMR (500 MHz, $MeOD_{d4}$) δ 7.67-7.60 (m, 4H), 7.48-7.46 (m, 4H), 7.38-7.32 (m, 4H), 7.26 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 6.27 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.24-5.10 (m, 4H), 5.02-4.97 (m, 1H), 4.85-4.66 (m, 2H), 4.61 (s, 1H), 4.53 (dd, J = 9.1, 4.9 Hz, 1H), 4.45-4.43 (m, 1H), 4.22 (dd, J = 6.7, 4.7 Hz, 1H), 3.78-3.69 (m, 3H), 3.60-3.55 (m, 11H), 3.47-3.40 (m, 2H), 3.26-3.10 (m, 4H), 2.78-2.54 (m, 8H), 2.41-2.35 (m, 2H), 2.25-2.11 (m, 4H), 2.02-1.31 (m, 17H), 1.21-0.92 (m, 14H) ppm.

分析的HPLC: 99.5%、保持時間: 7.86分(方法B)。

【０６９０】

(スキーム5.リンカー-スペーサー-ブデソニド2j～2nの合成(アミド又はカルバメートを経由))

【化５５９】

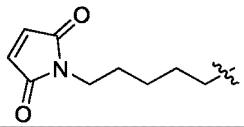
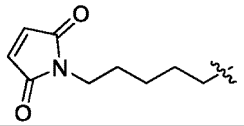
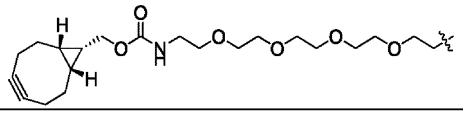
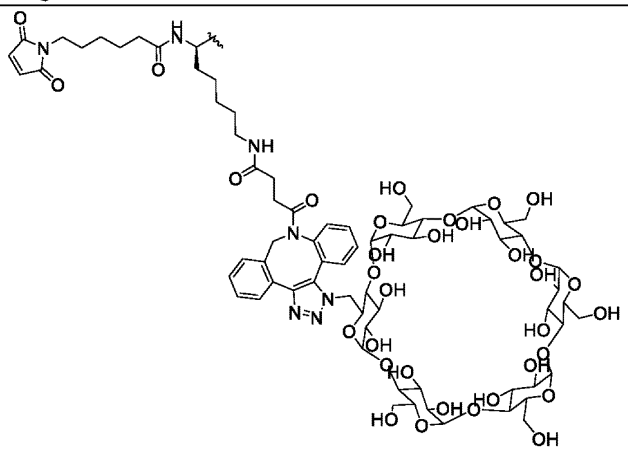
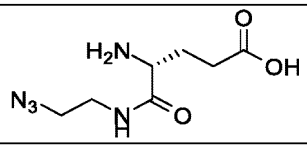


スキーム5において、Budは、ブデソニドを指す。

【０６９１】

VC-PAB部分を有する大部分のブデソニド-リンカー(2)は、アミド又はカルバメート経由で3つのアプローチから合成された(スキーム5)。化合物1d、1eを、アミドカップリングにより、リンカーと別々にコンジュゲートすると、アミド又はカルバメート(スキーム5)が得られた。下の表に、さらなる詳細がある。

【表３８】

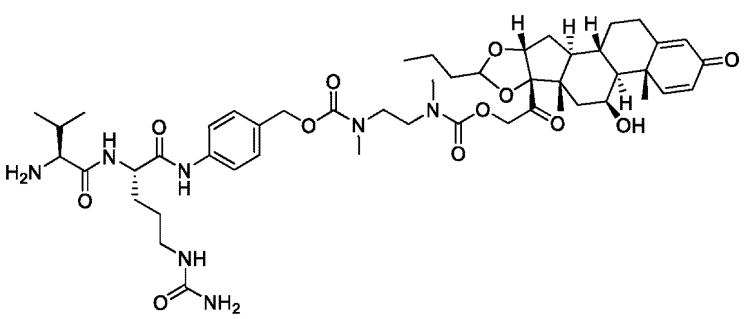
化合物番号	R^{q1} in 2j, 2k, 2l, 2m, 2n	n in 2j-n	R^{q}-NH-スペーサー-ブデソニド
2j		1	1e
2k		1	1d
2l		1	1d
2m		1	1d
2n		1	1d

【０６９２】

中間体4c

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-(2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル](メチル)アミノ}エチル)-N-メチルカルバメート(4c)

【化５６０】



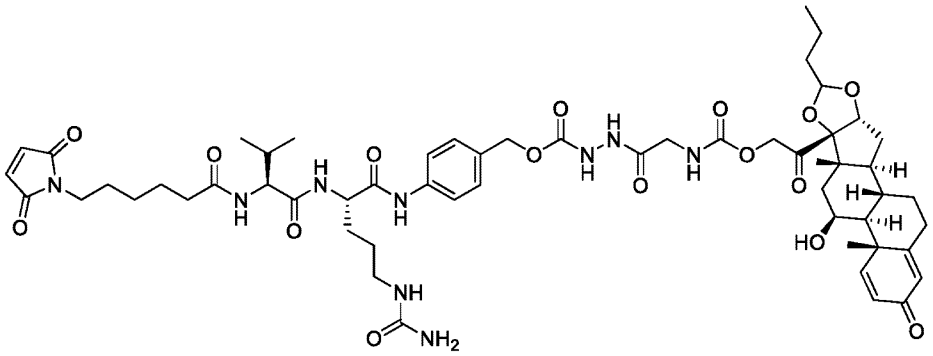
化合物1d(40mg、73μmol)のDMF(3mL)溶液に、Fmoc-vcPAB-PNP(11d、60mg、78μmol)、DMAP(9.0mg、74μmol)、及びDIPEA(20mg、0.16mmol)を室温で添加した。出発材料の大部分が消費されるまで、混合物を室温で3時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、反応混合物に、ピペリジン(1mL)を添加した。脱Fmoc反応が終了するまで、室温で1時間撹拌した後(これは、LCMSによりモニタリングされる)、反応混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物4c(9.0mg、収率13%、LC中の第二のピーク)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 951(M+H)$^+$、973(M+Na)$^+$。

【０６９３】

(実施例2j)

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-({N'-[({4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル]ヒドラジンカルボニル}メチル)カルバメート(2j)

【化５６１】



ESI m/z: 1144.3(M+H)$^+$。

【化５６２】

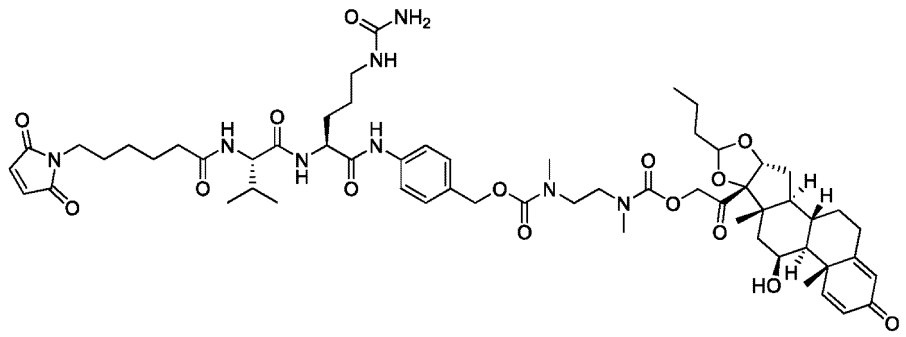
^{1}H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ 10.02 (s, 1H), 9.77 (s, 1H), 9.18 (s, 1H), 8.12 (d, J = 7.2 Hz, 1H), 7.83 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.73-7.70 (m, 1H), 7.61-7.59 (m, 2H), 7.32-7.29 (m, 3H), 7.01 (s, 2H), 6.19-6.16 (m, 1H), 6.00-5.92 (m, 2H), 5.05-5.00 (m, 2H), 4.95-4.85 (m, 2H), 4.71-4.62 (m, 2H), 4.40-4.17 (m, 3H), 3.71-3.58 (m, 2H), 3.45-3.39 (m, 2H), 3.06-2.89 (m, 3H), 2.33-2.28 (m, 2H), 2.20-2.07 (m, 3H), 2.02-1.91 (m, 3H), 1.81-1.75 (m, 2H), 1.75-1.62 (m, 2H), 1.60-1.44 (m, 11H), 1.42-1.20 (m, 6H), 1.19-1.12 (m, 4H), 1.00-0.92 (m, 2H), 0.88-0.81 (m, 10H) ppm.

【０６９４】

(実施例2k)

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-(2-{[({4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル](メチル)アミノ}エチル)-N-メチルカルバメート(2k-A及び2k-B)

【化５６３】



一般的手順Dに従うと、ジアステレオ異性体としての表題化合物2k～A(3.3mg、収率10%、LC中の第二のピーク)及び2k-B(4.1mg、収率12%、LC中の第一のピーク)が白色の固体として得られた。

2k-A: ESI m/z: 1143.4(M+H)$^+$、保持時間: 1.70分(方法A)。

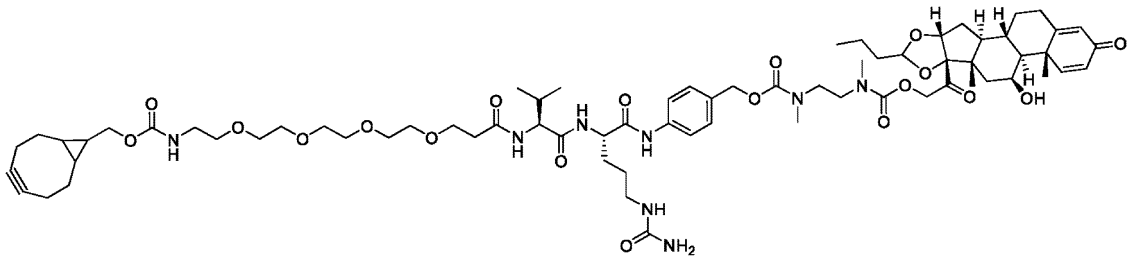
2k-B : ESI m/z: 1143.4(M+H)$^+$、保持時間: 1.65分(方法A)。

【０６９５】

(実施例2l)

ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イルメチル N-(14-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({2-[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)(メチル)アミノ]エチル}(メチル)カルバモイル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}-3,6,9,12-テトラオキサテトラデカン-1-イル)カルバメート(2l)

【化５６４】



ESI m/z: 687.5(M/2+H)$^+$、1396.8(M+Na)$^+$(50%)。

【化５６５】

^{1}H NMR (500 MHz, MeOD$_{d4}$) δ 7.66 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.50 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 7.36 (d, J = 7.0 Hz, 2H), 6.28 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.04 (s, 1H), 5.15-5.05 (m, 2H), 4.87-4.62 (m, 4H), 4.53(s, 1H), 4.46(s, 1H), 4.21 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 4.16 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 3.83-3.72 (m, 2H), 3.66-3.60 (m, 12H), 3.56-3.52 (m, 3H), 3.49-3.42 (m, 1H), 3.30 (s, 3H), 3.25-3.09 (m, 3H), 3.02-2.96 (m, 4H), 2.87 (dd, J = 16.6, 4.8 Hz, 2H), 2.72-2.64 (m, 1H), 2.58 (t, J = 6.0 Hz, 2H), 2.40 (d, J = 13.1 Hz, 1H), 2.31-2.10 (m, 9H), 2.01-1.91 (m, 3H), 1.81-1.70 (m, 2H), 1.63 (s, 7H), 1.51 (s, 3H), 1.48-1.30 (m, 4H), 1.11 (s, 1H), 1.02-0.91 (m, 15H) ppm.

分析的HPLC:＞99.9%、保持時間: 9.40分(方法A)。

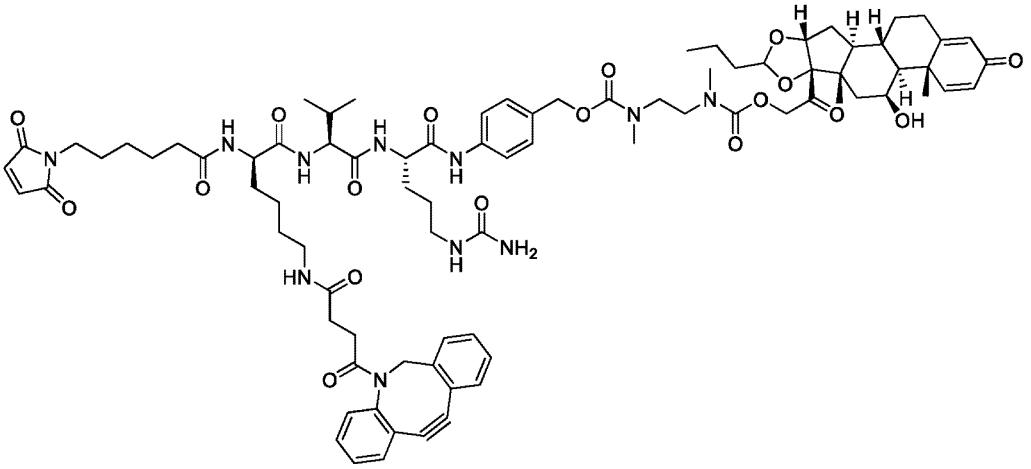
【０６９６】

(実施例2m)

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロ

ピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-(2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(2R)-6-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-2-[6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサンアミド]ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル](メチル)アミノ}エチル)-N-メチルカルバメート(2m-前駆体)

【化５６６】

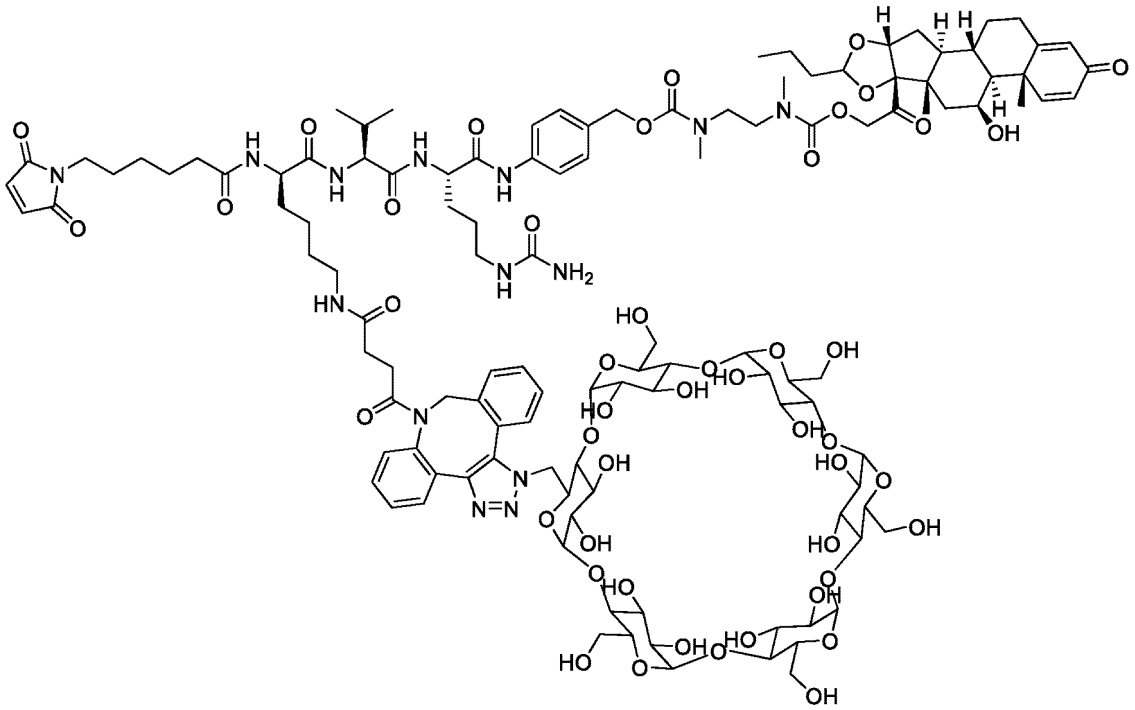


一般的手順Bに従うと、粗化合物2m-前駆体(2mの前駆体)(5mg)が薄黄色の油状物として得られ、これを次の工程にそのまま使用した。ESI m/z: 780(M/2+H)$^+$

【０６９７】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-(2-{[({4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-[(2R)-2-[6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサンアミド]-6-[4-(3-{[31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42-ドデカヒドロキシ-10,15,20,25,30-ペンタキス(ヒドロキシメチル)-2,4,7,9,12,14,17,19,22,24,27,29-ドデカオキサヘプタシクロ[26.2.2.2^{3,6}.2^{8,11}.2^{13,16}.2^{18,21}.2^{23,26}]ドテトラコンタン-5-イル]メチル}-3,4,5,13-テトラアザテトラシクロ[13.4.0.0^{2,6}.0^{7,12}]ノナデカ-1(15),2(6),4,7(12),8,10,16,18-オクタエン-13-イル)-4-オキソブタンアミド]ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル](メチル)アミノ}エチル)-N-メチルカルバメート(2m)

【化５６７】



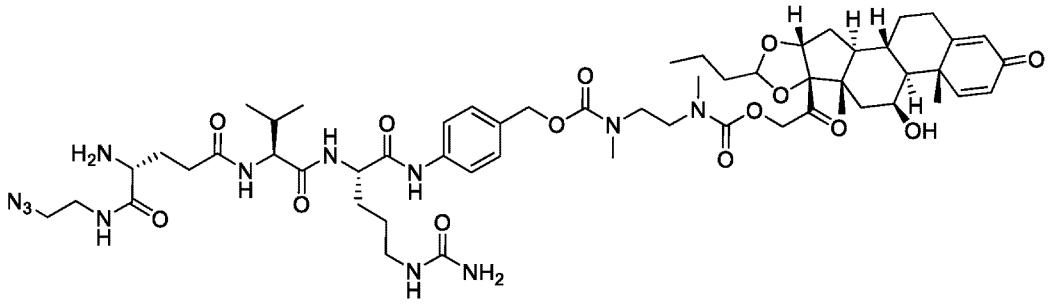
粗2m(5mg)のDMF(1mL)溶液に、CD-N_3(8b、63mg、63μmol)を添加した。得られた混合物をRTで72時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を分取HPLC(方法A)によりそのまま精製すると、化合物2m(2mg、4cから4%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1278.8(M/2+H)$^+$。分析的HPLC: 97.9%、保持時間: 6.49分(方法A)。

【０６９８】

(実施例2n)

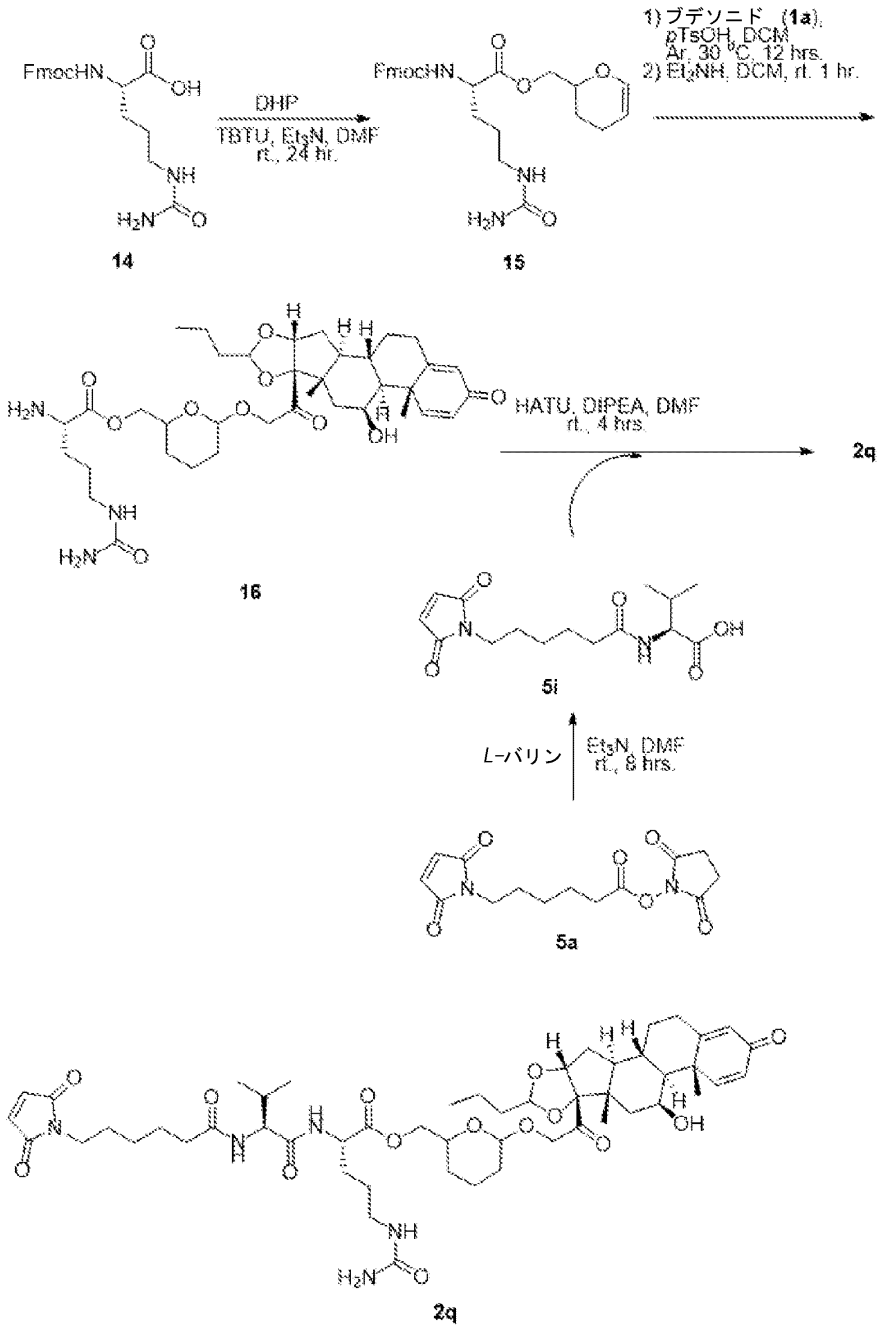
2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-(2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[(4R)-4-アミノ-4-[(2-アジドエチル)カルバモイル]ブタンアミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル](メチル)アミノ}エチル)-N-メチルカルバメート(2n)

【化５６８】



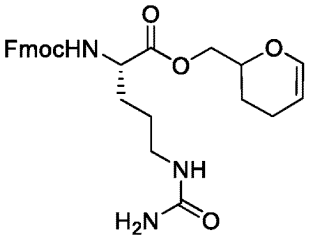
その後、反応混合物をRTで一晩撹拌した。LCMSにより化合物4cが完全に消費された。混合物を分取HPLC(方法A)により分離し、凍結乾燥後、Fmoc-2nが得られ(20mg)、これをDMF(2mL)に溶解させた。DMF溶液に、ジエチルアミン(4滴、約0.08mL)を添加した。脱Fmoc反応が終了するまで、反応混合物をRTで2時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。該混合物を濾過膜に通して濾過し、溶液を分取HPLC(方法A)により精製すると、表題化合物2n(10mg、収率8.4%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1147(M+H)$^+$。分析的HPLC: 99.6%、保持時間: 5.67分(方法A); 7.72分(方法B)。

【０６９９】
(スキーム6.リンカー-ブデソニド2q(THP類似体)の合成)
【化５６９】



(実施例2q)
(2S)-(3,4-ジヒドロ-2H-ピラン-2-イル)メチル 2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニルアミノ)-5-ウレイドペンタノエート(15)

【化５７０】

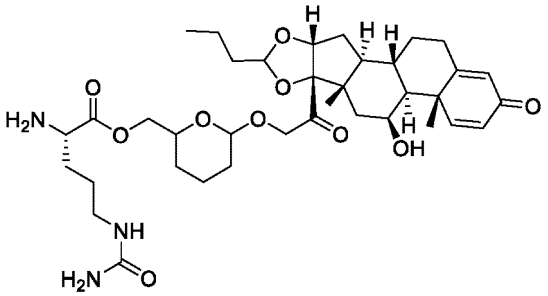


DMF(5mL)中のFmoc-Cit-OH(14、0.29g、0.73mmol)の混合物に、DHP(0.10mg、0.88mmol)、TBTU(0.70g、2.2mmol)、及びトリエチルアミン(0.37g、3.7mmol)をRTで添加した。得られた混合物をRTで24時間撹拌した。LCMSにより所望の質量の15%が検出された。反応液を水(30mL)でクエンチし、酢酸エチル(10mL×3)で抽出した。合わせた有機溶液を水及びブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。粗生成物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水中の0～100%アセトニトリル)により精製すると、表題化合物15(110mg、収率30%)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 494(M+H)$^+$。

【０７００】

(6-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}オキサン-2-イル)メチル(2S)-2-アミノ-5-(カルバモイルアミノ)ペンタノエート(16)

【化５７１】

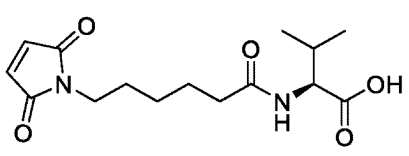


化合物15(80mg、0.16mmol)の無水DCM(3mL)溶液に、ブデソニド(1a、70mg、0.16mmol)及びp-トルエンスルホン酸(42mg、0.24mmol)の無水DCM(2mL)溶液を、アルゴンバルーンの保護下、RTで、シリンジにより添加した。反応混合物を、アルゴンバルーン下、30℃で12時間撹拌した。化合物15の大部分がLCMSにより消費された。反応混合物をRTに冷却し、該反応混合物に、ジエチルアミン(1mL)を添加した。脱Fmoc反応が終了するまで、反応混合物をRTで1時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。揮発性物質を真空中で除去し、残渣を分取HPLC(方法B)により精製すると、表題化合物16(17mg、収率31%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 702(M+H)$^+$。

【０７０１】

(S)-2-(6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサンアミド)-3-メチルブタン酸(5i)

【化５７２】

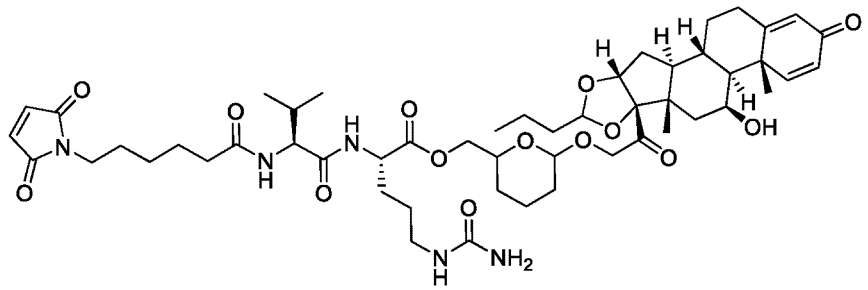


L-バリン(0.12g、1.0mmol)の無水DMF(2mL)溶液に、化合物5a(0.31g、1.0mmol)及びトリエチルアミン(0.51g、5.0mmol)をRTで添加した。化合物5aが完全に消費されるまで、反応混合物をRTで8時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。該反応混合物を濾過膜に通して濾過し、濾液を分取HPLC(方法A)によりそのまま精製すると、表題化合物5i(0.14g、収率46%)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 311$(M+H)^+$。

【０７０２】

6-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}オキサン-2-イル)メチル(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-[6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサンアミド]-3-メチルブタンアミド]ペンタノエート(2q)

【化５７３】

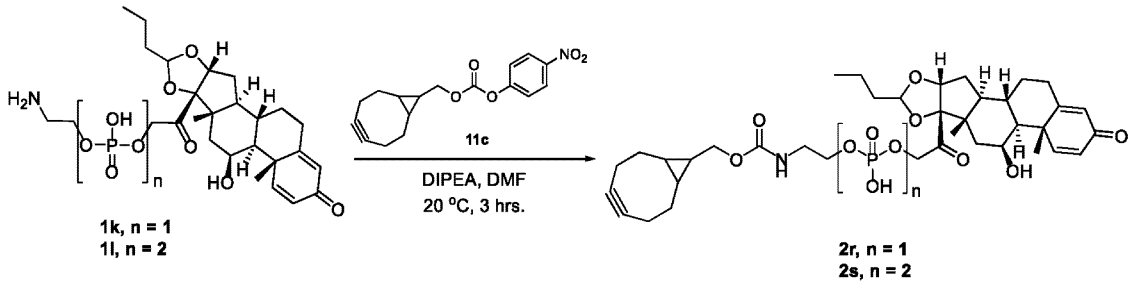


化合物5i(5.8mg、19μmol)のDMF(1mL)溶液に、HATU(10mg、26μmol)及びDIPEA(6.6mg、51μmol)をRTで添加した。混合物をRTで15分間撹拌し、その後、該溶液に、化合物16(12mg、17μmol)をRTで添加した。化合物5iが完全に消費されるまで、得られた混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、反応混合物を濾過膜に通して濾過し、濾液を分取HPLC(方法A)によりそのまま2回精製すると、表題化合物2q(2mg、収率12%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 995.3$(M+H)^+$。分析的HPLC: 83.5%、保持時間: 10.36分(方法B)。

【０７０３】

(スキーム7.リンカー-ホスフェート-ブデソニド2r及び2sの合成)

【化５７４】



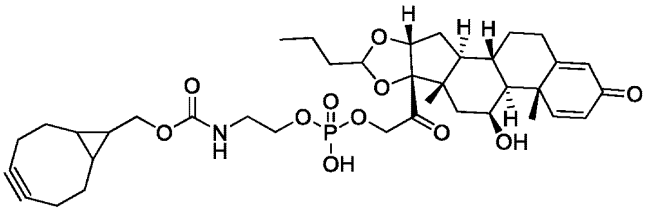
ホスフェート-ブデソニドをBCN-PNP(11c)とカップリングさせると、BCN-ホスフェート-ブデソニド(化合物2r及び2s)が得られた(スキーム7)。

【０７０４】

(実施例2r)

{2-[({ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イルメトキシ}カルボニル)アミノ]エトキシ}({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ})ホスフィン酸(2r)

【化５７５】



一般的手順Dに従うと、化合物2r(40mg、61%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 730(M+H)$^+$。

【化５７６】

^{1}H NMR (500 MHz, MeOD$_{d4}$) δ 7.49 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 6.29-6.26 (m, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.23-5.16 (m, 1H), 4.88-4.64 (m, 3H), 4.45 (dd, J = 8.0, 3.1 Hz, 1H), 4.23-4.13 (m, 2H), 3.97 (dd, J = 11.9, 5.7 Hz, 2H), 3.36 (t, J = 4.7 Hz, 2H), 2.67 (td, J = 13.4, 5.3 Hz, 1H), 2.40 (d, J = 9.6 Hz, 1H), 2.30-1.34 (m, 23H), 1.21-0.92 (m, 10H) ppm.

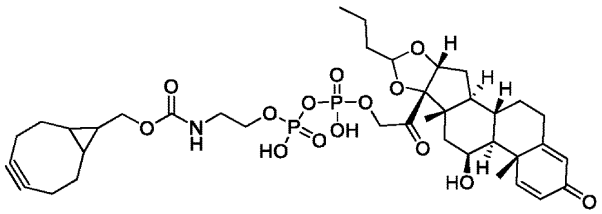
分析的HPLC:＞99.9%、保持時間: 5.26分(方法B)。

【０７０５】

(実施例2s)

{2-[({ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イルメトキシ}カルボニル)アミノ]エトキシ}({[ヒドロキシ({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ})ホスホリル]オキシ})ホスフィン酸(2s)

【化５７７】



ESI m/z: 810(M+H)$^+$。

【化５７８】

^{1}H NMR (500 MHz, MeOD$_{d4}$) δ 7.51 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 6.28 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.03 (s, 1H), 5.22-5.16 (m, 1H), 4.98-4.66 (m, 3H), 4.46 (s, 1H), 4.12 (dt, J = 45.0, 13.0 Hz, 4H), 3.39 (t, J = 11.9 Hz, 2H), 2.67 (dd, J = 13.3, 8.0 Hz, 1H), 2.40 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 2.30-1.32 (m, 23H), 1.22-0.92 (m, 10H) ppm.

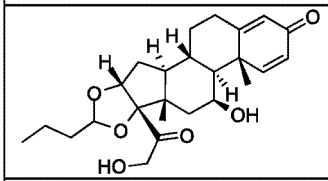
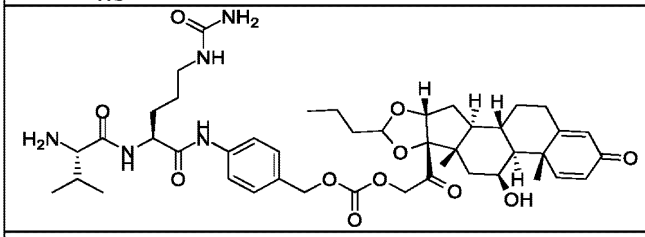
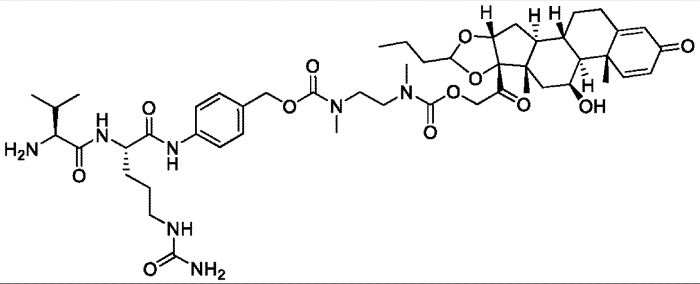
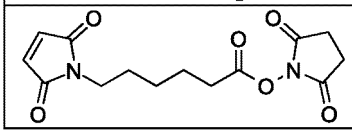
分析的HPLC:＞99.9%、保持時間: 4.03分(方法B)。

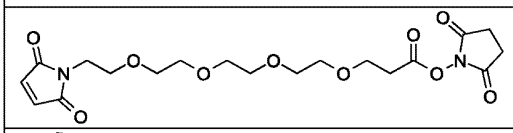
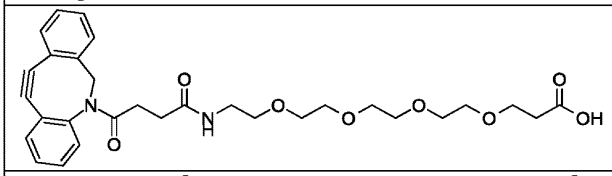
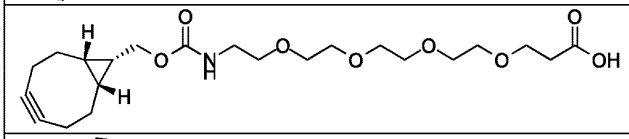
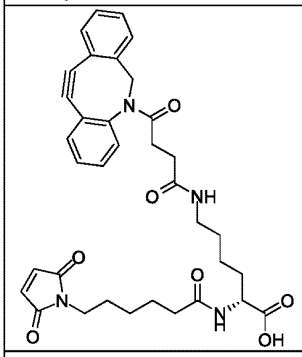
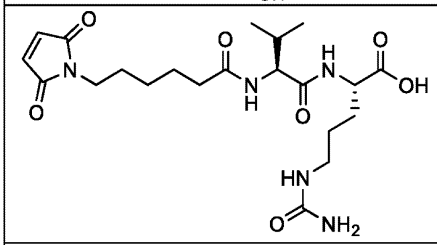
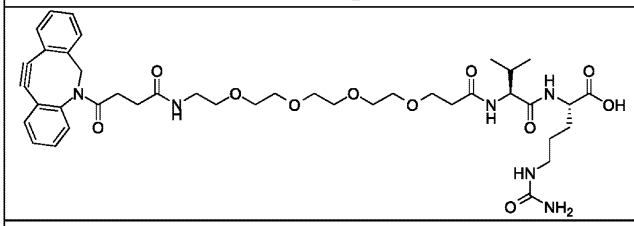
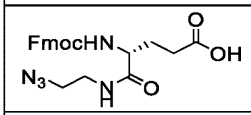
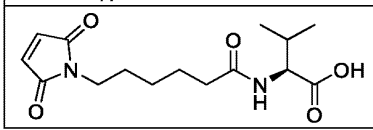
【０７０６】

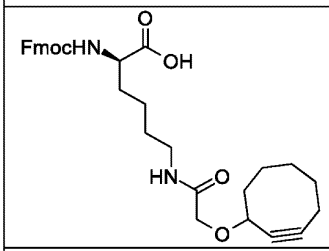
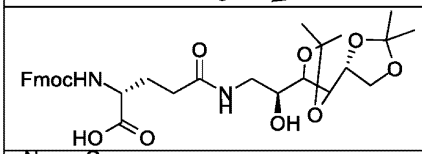
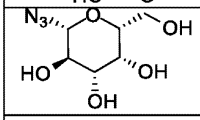
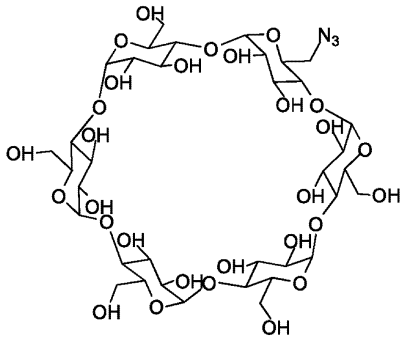
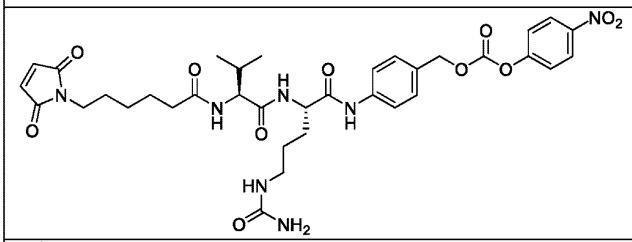
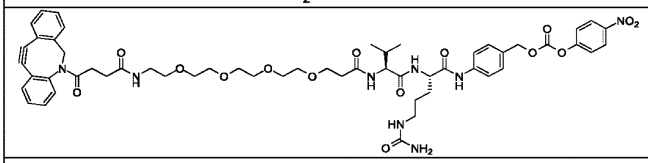
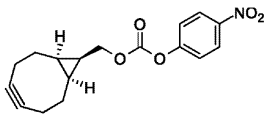
(中間体のための実験手順)

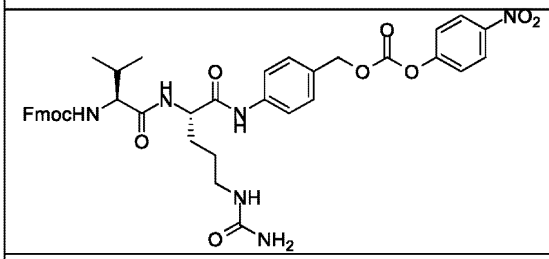
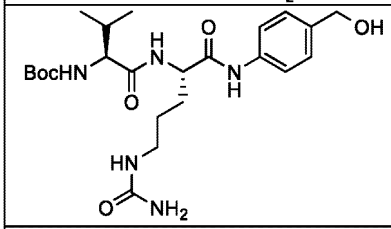
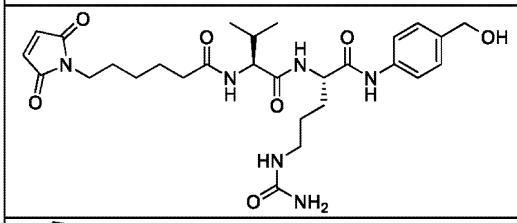
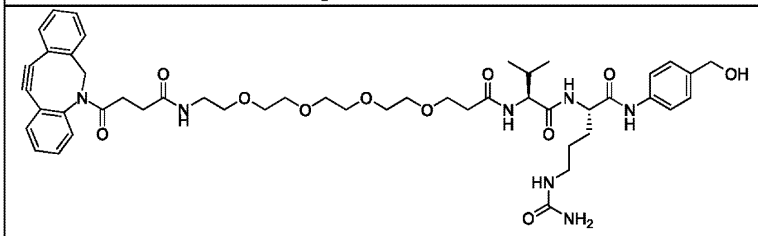
表4.重要な中間体及び出発材料

【表３９】

構造	中間体番号	参照又は合成
	**1a** （ブデソニド）	市販 (51333-22-3)
	**4a** (vcPAB-ブデソニド)	スキーム2を参照
	**4c** (vcPAB-**1d**)	スキーム5を参照
	**5a** (mc-NHS)	市販 (55750-63-5)

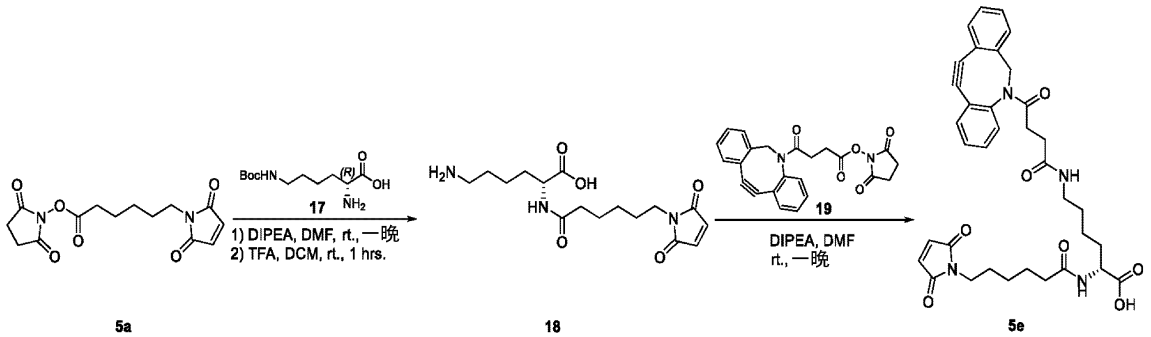
構造	中間体番号	参照又は合成
	**5b** (MAL-PEG4-NHS)	市販 (1325208-25-0)
	**5c** (DIBAC-suc-PEG4-酸)	市販 (1537170-85-6)
	**5d** (BCN-PEG4-酸)	市販 (1421932-54-8)
	**5e**	スキーム 8
	**5f** (mc-Val-Cit-OH)	WO2014/191578 A1号
	**5g** (DIBAC-suc-PEG4-Val-Cit-OH)	スキーム 9
	**5h**	スキーム 10
	**5i**	スキーム6を参照

構造	中間体番号	参照又は合成
	**6a**	スキーム 11
	**6b**	*J. Org. Chem.* **2010**, 75, 3685-3691
	**8a**	市販 (35899-89-9)
	**8b**	*Synth. Commun.*, **2002**, 32(21), 3367-3372 *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, 134(46), 19108-19117 *J. Med. Chem.*, **1997**, 40(17), 2755-2761 *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**, 115(12), 5035-5040
	**11a** (MC-VC-PAB-PNP)	市販 (159857-81-5) WO2014/191578 A1 号
	**11b** (DIBAC-suc-PEG4-vc-PAB-PNP)	スキーム 12
	**11c** (BCN-PNP)	WO2013/181697A1 号 *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2010**, 49 (49), 9422-

構造	中間体番号	参照又は合成
		9425
	**11d** (Fmoc-vc-PAB-PNP)	市販 863971-53-3
	**12a** (Boc-vc-PAB)	市販 (870487-09-5) WO2008/34124 A2 号
	**12b** (MC-VC-PAB)	市販 159857-80-4
	**12c** (DIBAC-suc-PEG4-vc-PAB)	スキーム 12

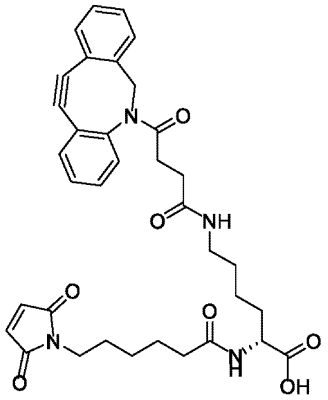
(スキーム8．5eの合成)

【化５７９】



(2R)-6-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4,6,8,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-2-[6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサンアミド]ヘキサン酸(5e)

【化５８０】



DMF(10mL)中のH-D-Lys(Boc)-OH(17、0.25g、1.0mmol)の混合物に、6-マレイミドカプロン酸-NHS(5a、0.31g、1.0mmol)及びジイソプロピルエチルアミン(DIPEA、0.26g、2.0mmol)をRTで添加した。反応液をRTで一晩撹拌した後、化合物5aが完全に消費された。該混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水(0.05%TFA)中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま分離すると、中間体Boc-18(ESI m/z: 440(M+H)$^+$)が無色の油状物として得られ、これをDCM(5mL)に溶解させた。該溶液に、TFA(0.5mL)を0℃で滴加し、混合物をRTで1時間撹拌した。反応をLCMSによりモニタリングすると、中間体Boc-18が完全に消費された。揮発性物質を真空中で除去すると、粗18(ESI m/z: 340(M/2+H)$^+$)が得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程に使用した。DMF(5mL)中の粗化合物18(0.21g、0.62mmol)の混合物に、活性化エステル19(0.20g、0.50mmol)及びDIPEA(50mg、0.39mmol)をRTで添加した。反応混合物をRTで一晩撹拌した後、化合物19が完全に消費され、これをLCMSによりモニタリングした。その後、反応混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま分離すると、表題化合物5e(0.10g、5aから3工程で20%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 627(M+H)$^+$。

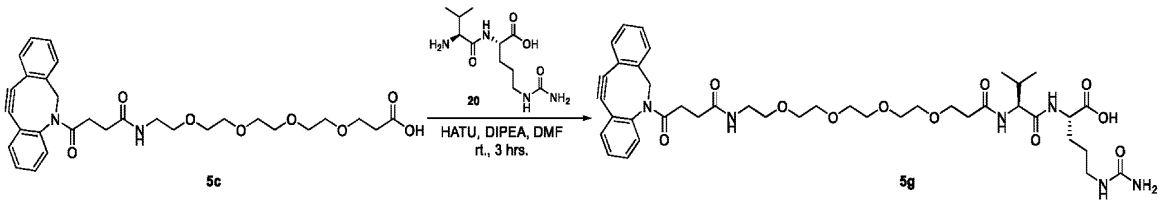
【化５８１】

^{1}H NMR (DMSO$_{d6}$, 400 MHz): δ 7.89 (d, J = 13.2 Hz, 1H), 7.69-7.62 (m, 3H), 7.48-7.47 (m, 3H), 7.36-7.28 (m, 3H), 6.99 (s, 2H), 5.03 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 4.09-4.04 (m, 1H), 3.60 (d, J = 13.6 Hz, 1H), 3.38-3.34 (m, 1H), 2.90-2.87 (m, 2H), 2.61-2.55 (m, 1H), 2.25-2.17 (m, 1H), 2.08-1.51 (m, 5H), 1.46-1.15 (m, 12H) ppm.

【０７０７】

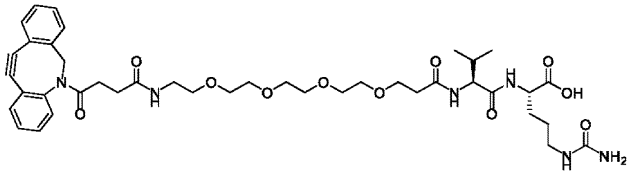
(スキーム9．5gの合成)

【化５８２】



(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタン酸(5g)

【化５８３】

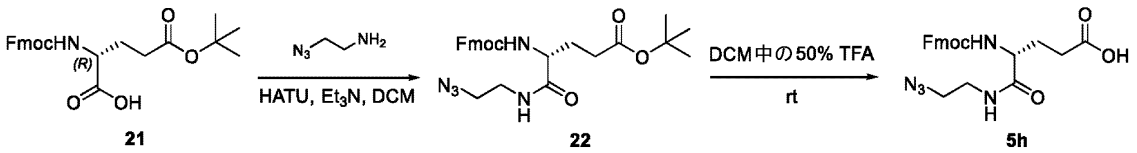


化合物5c(0.30g、0.54mmol)のDMF(10mL)溶液に、HATU(0.31g、0.81mmol)及びDIPEA(0.14g、1.1mmol)をRTで添加した。混合物をRTで15分間撹拌した。反応溶液に、Val-Cit-OH(20(CAS# 159858-33-0)、0.21g、0.76mmol)をRTで添加し、大部分の材料が消費されるまで、得られた混合物をRTで3時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を濾過膜に通して濾過し、濾液をリバースフラッシュクロマトグラフィー(水(10mmol/L重炭酸アンモニウムを含む)中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、表題中間体5g(0.25g、収率57%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 809.5(M+H)$^+$。

【０７０８】

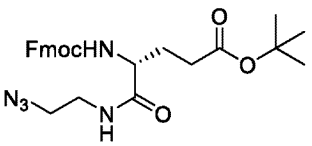
(スキーム10.中間体5hの合成)

【化５８４】



tert-ブチル(4R)-4-[(2-アジドエチル)カルバモイル]-4-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}ブタノエート(22)

【化５８５】



DCM(50mL)中のFmoc-D-Glu(OTBU)-OH(21、(104091-08-9)、0.30g、0.71mmol)及び2-アジドエタンアミン(87156-40-9、73mg、0.85mmol)の混合物に、HATU(0.41g、1.1mmol)及びトリエチルアミン(0.3mL)をRTで添加した。反応混合物をRTで一晩撹拌した。その後、TLC及びLCMSにより化合物21の大部分が消費された。反応混合物をRTで水(50mL)でクエンチし、有機溶液を水及びブラインで洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣を分取TLC(シリカゲル、石油エーテル/酢酸エチル(v/v＝1)で溶出)により精製すると、表題化合物22(0.30g、収率76%)が粘性のある油状物として得られた。ESI m/z: 494(M+H)$^+$。

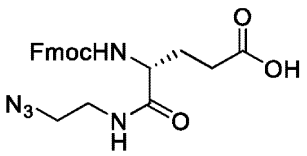
【化５８６】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$): δ 8.09 (m, 1H), 7.84-7.90 (m, 4H), 7.33-7.44 (m, 4H), 6.28 (s, 2H), 3.35 (m, 6H), 3.26 (m, 1H), 2.50 (m, 2H), 2.25 (m, 1H), 1.80 (m, 1H), 1.39 (s, 9H) ppm.

【０７０９】

(4R)-4-[(2-アジドエチル)カルバモイル]-4-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}ブタン酸(5h)

【化５８７】

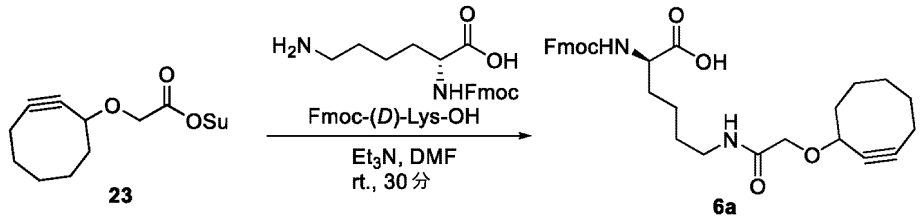


化合物22が完全に消費されるまで、得られた混合物をRTで2時間撹拌し、これをTLC及びLCMSによりモニタリングした。揮発性物質を真空中で除去すると、粗化合物5h(17mg、収率96%)が黄色の油状物として得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程に使用した。ESI m/z: 438(M+H)$^+$。

【０７１０】

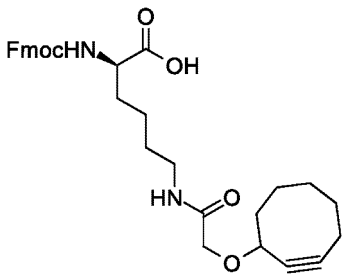
(スキーム11.中間体6aの合成)

【化５８８】



(2R)-6-[2-(シクロオクタ-2-イン-1-イルオキシ)アセトアミド]-2-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}ヘキサン酸(6a)

【化５８９】



DMF(2mL)中の市販化合物23(65mg、0.23mmol、CAS: 1425803-45-7)の混合物に、Fmoc-D-Lys-OH(85mg、0.23mmol)及びトリエチルアミン(52mg、0.51mmol)を添加した。反応混合物をRTで30分間撹拌した。該混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水(0.05%TFA)中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま分離すると、中間体6a(85mg、収率70%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 533(M+H)$^+$。

【化５９０】

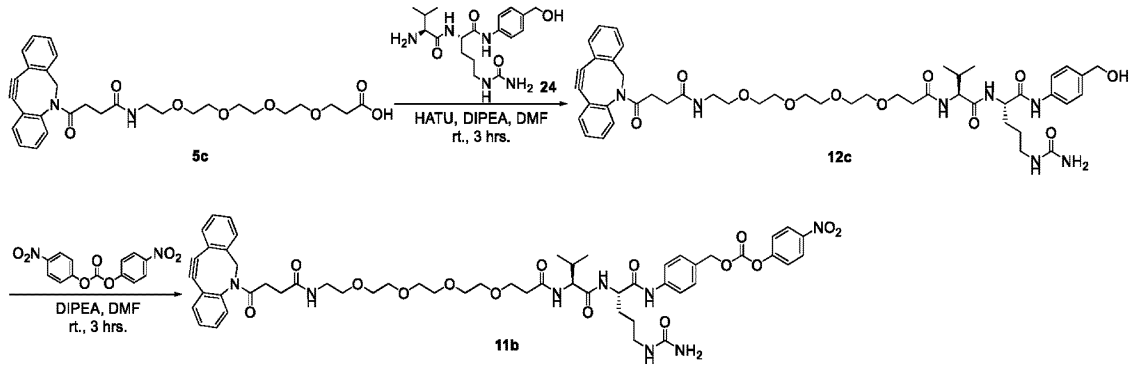
^{1}H NMR

(MeOD$_{d4}$, 500 MHz): δ 7.70 (d, J = 7.5 Hz, 2H), 7.59 (t, J = 8.0 Hz, 2H), 7.30 (t, J = 7.5 Hz, 2H), 7.22 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 4.35-4.22 (m, 2H), 4.22-4.09 (m, 2H), 4.09-3.99 (m, 1H), 3.94-3.81 (m, 1H), 3.79-3.67 (m, 1H), 3.15 (t, J = 6.9 Hz, 2H), 2.17-1.96 (m, 3H), 1.96-1.86 (m, 1H), 1.85-1.66 (m, 4H), 1.66-1.41 (m, 5H), 1.41-1.25 (m, 3H) ppm.

【０７１１】

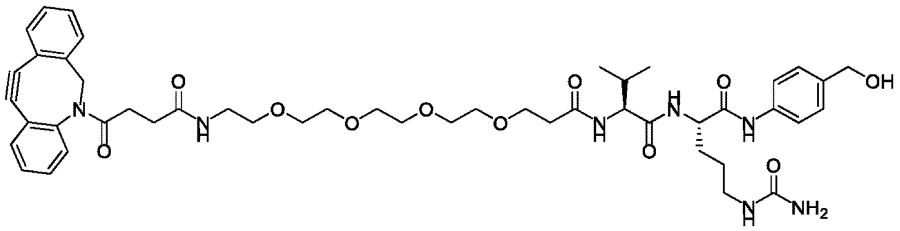
(スキーム12.中間体11b及び12cの合成)

【化５９１】



1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-N-[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-{[4-(ヒドロキシメチル)フェニル]カルバモイル}ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド(12c)

【化５９２】

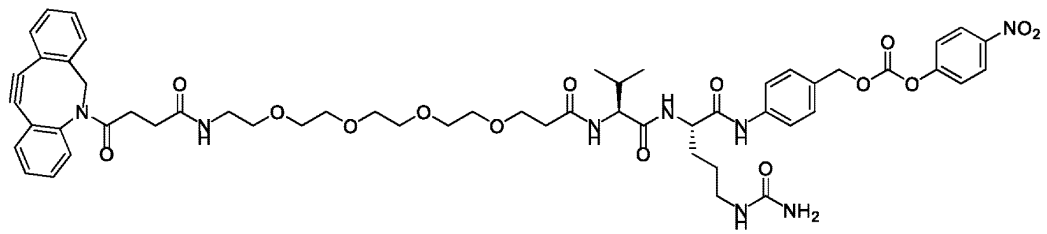


混合物をRTで15分間撹拌した。反応溶液に、vc-PAB(24(159857-79-1)、0.21g、0.54mmol)をRTで添加し、大部分の材料が消費されるまで、得られた混合物をRTで3時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を濾過膜に通して濾過し、濾液をリバースフラッシュクロマトグラフィー(水(10mmol/L重炭酸アンモニウムを含む)中の0～100％アセトニトリル)によりそのまま精製すると、表題中間体12c(0.30g、収率60％)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 617(M+H)$^+$。

【０７１２】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル 4-ニトロフェニルカルボネート(11b)

【化５９３】



化合物12c(0.15g、0.16mmol)のDMF(10mL)溶液に、ビス(4-ニトロフェニル)カルボネート(0.15g、0.49mmol)及びDIPEA(63mg、0.49mmol)を0℃で添加した。その後、12cがほとんど消費されるまで、混合物RTで3時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を濾過膜に通して濾過し、濾液をリバースフラッシュクロマトグラフィー(水(10mmol/L重炭酸アンモニウムを含む)中の0～100％アセトニトリル)によりそのまま精製すると、表題中間体11b(50mg、収率28％)が白色の固体として得られた。E

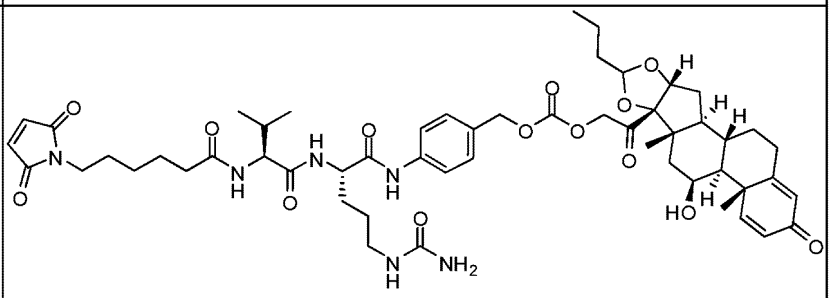
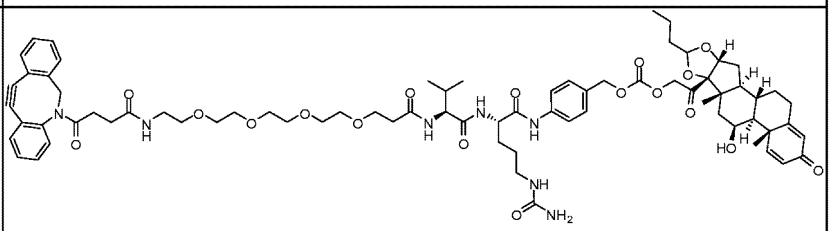
SI m/z: 1079(M+H)$^+$。

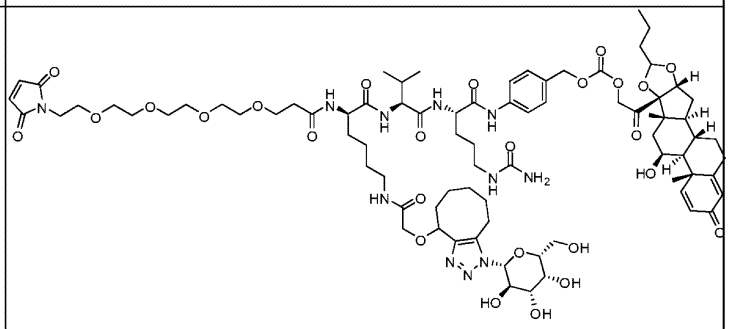
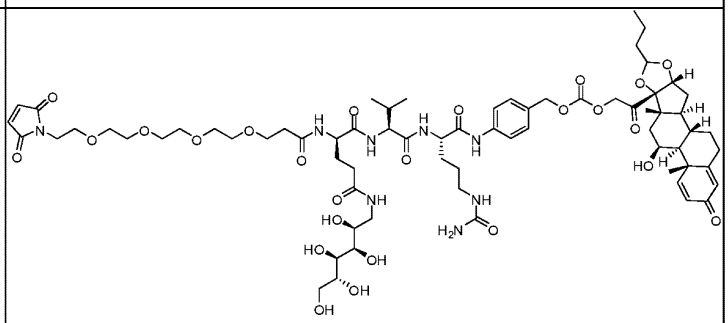
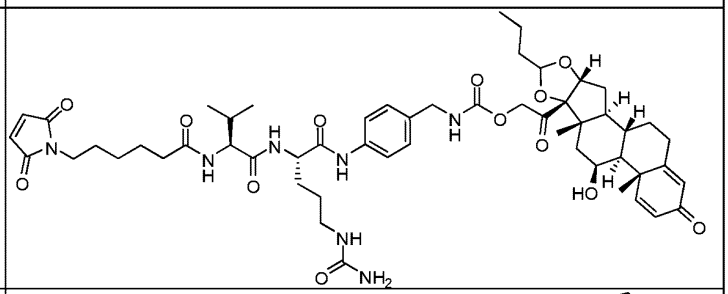
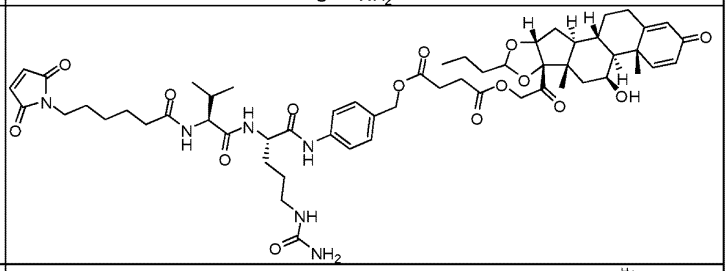
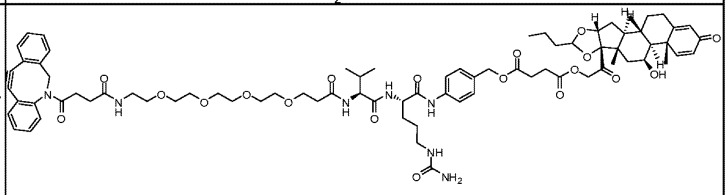
【０７１３】

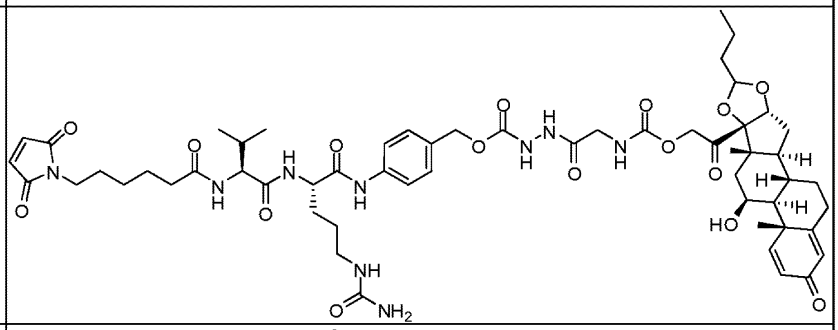
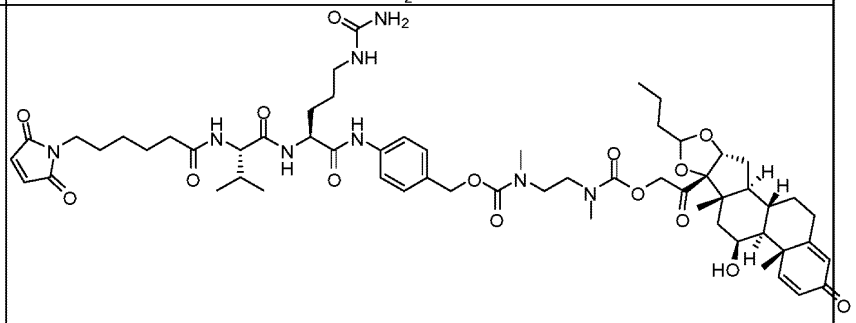
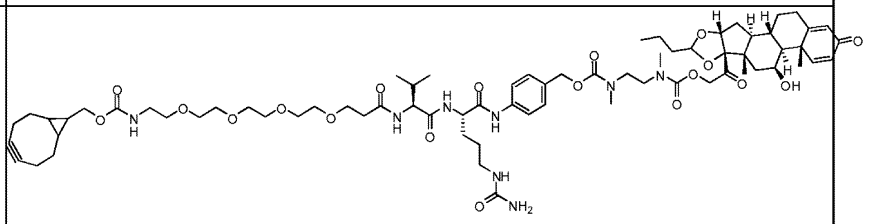
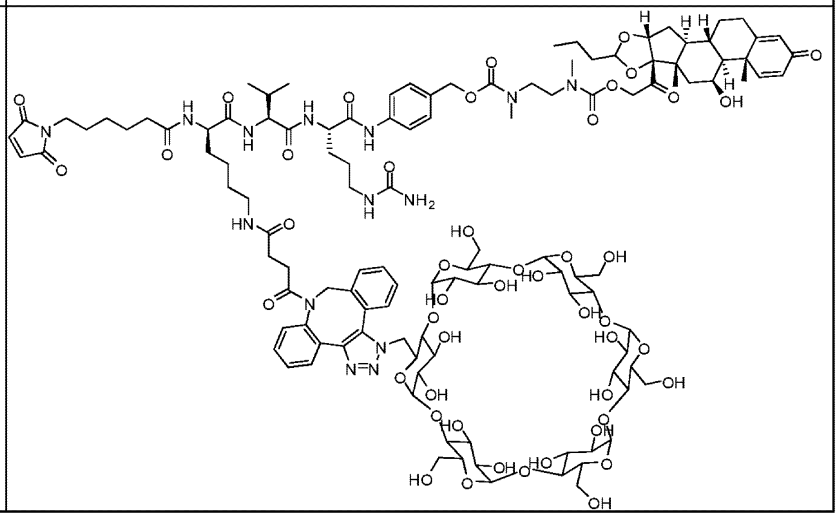
下の表5Aは、本明細書に記載される方法を用いて作製されたリンカーペイロードを提示している。

表5A.リンカー-ペイロードの例

【表４０】

LP	ペイロード	リンカー名	構造
2a	1a	MC-VC-PAB	
2b	1a	DIBAC-suc-vc-PAB	

LP	ペイロード	リンカー名	構造
2c	1a	mc-PEG4-(糖COT)dLys-vc-PAB	
2d	1a	mc-PEG4-(糖2)dGlu-vc-PAB	
2e	1a	MC-VC-PABA	
2f	1c	MC-VC-PAB	
2g	1c	DIBAC-suc-vc-PAB	

LP	ペイロード	リンカー名	構造
2j	1e	MC-VC-PAB	
2k	1d	MC-VC-PAB	
2l	1d	BCN-PEG4-vc-PAB	
2m	1d	mc-N5(CD-DIBAC-suc)Lys-vc-PAB	

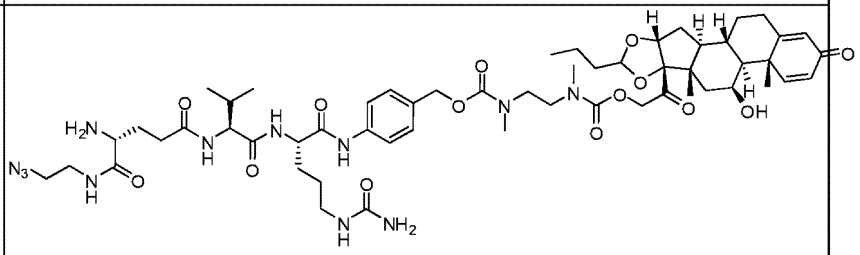
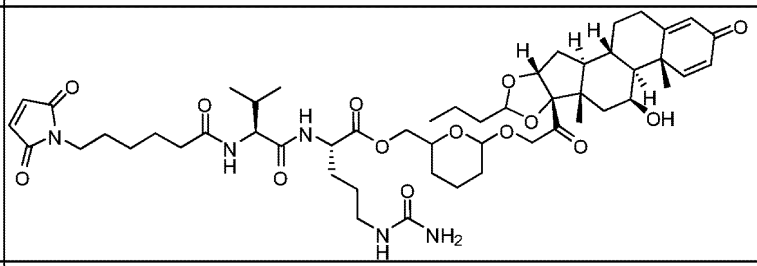
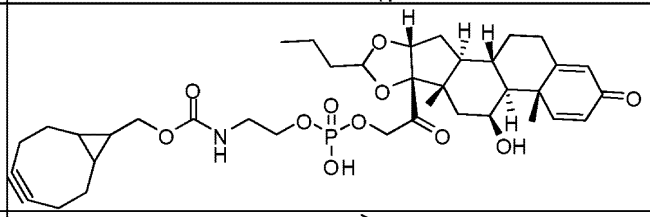
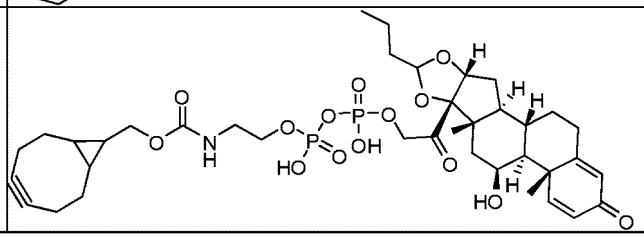
LP	ペイロード	リンカー名	構造
2n	1d	アジドエチル-GLu-vc-PAB	
2q	1g	MC-VC	
2r	1k	BCN	
2s	1l	BCN	

表6A.リンカー-ペイロードの特徴解析データ

【表４１】

LP	cLogP	MF	MW	HPLC純度(%)	HPLC RT（分）	MS (m/z) 100%	最大m/zピーク
2a	4.18	$C_{54}H_{72}N_6O_{14}$	1029.2	92	7.6 (A)	1029 (M+H)	1029 (M+H)
2b	5.42	$C_{74}H_{95}N_7O_{18}$	1370.6	97	8.1 (B)	685.8 (M/2+H)	685.8 (M/2+H)
2c	1.03	$C_{81}H_{117}N_{11}O_{26}$	1660.9	97	7.0 (A)	830.8 (M/2+H)	830.8 (M/2+H)
2d	-1.87	$C_{70}H_{102}N_8O_{25}$	1455.6	100	6.48 (A)	728 (M/2+H)	1456 (M+H) (10%)

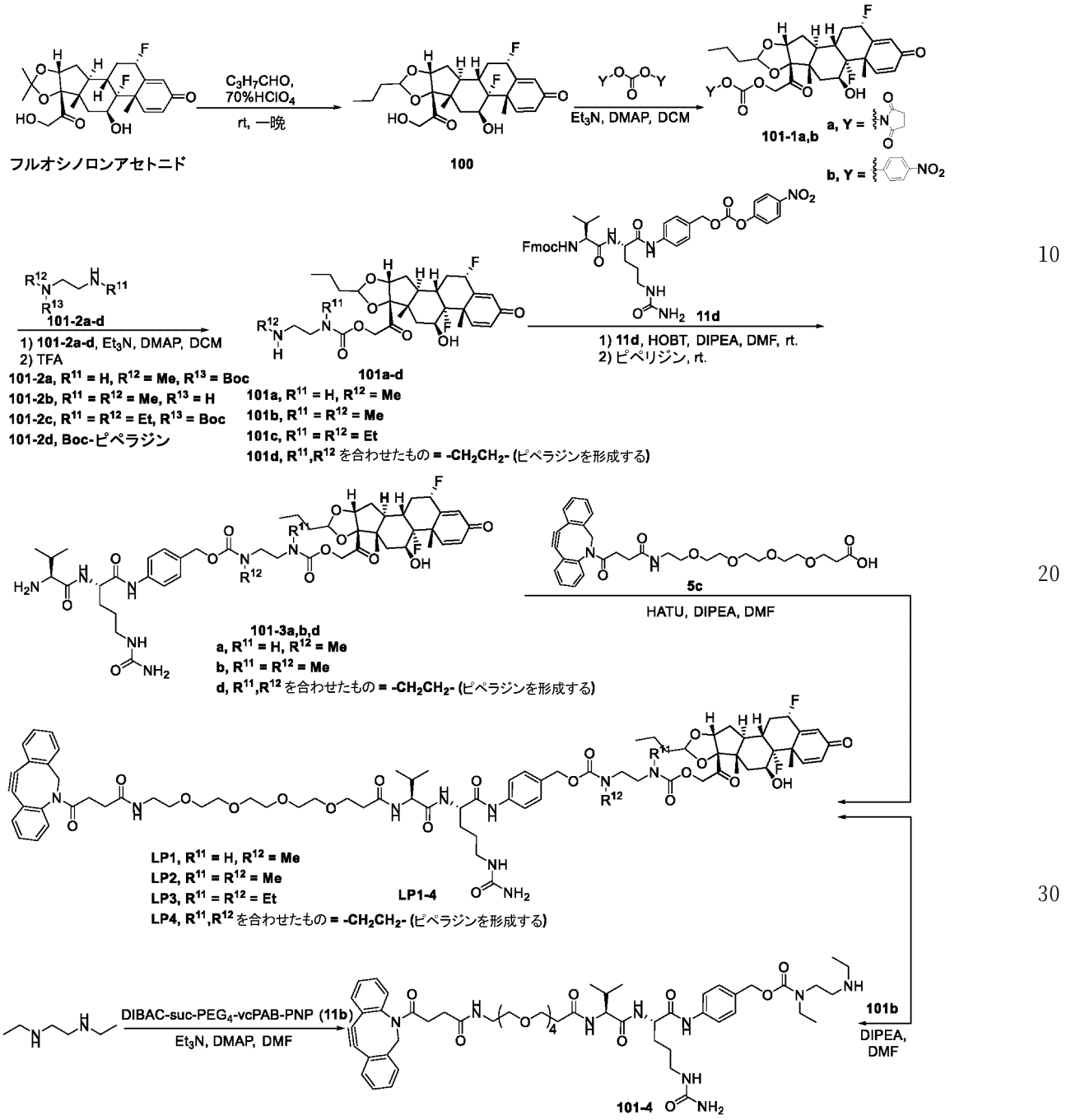
LP	cLogP	MF	MW	HPLC 純度 (%)	HPLC RT(分)	MS (m/z) 100%	最大 m/z ピーク
2e	3.45	$C_{54}H_{73}N_7O_{13}$	1028.2	100	7.54 (A)	1028.3 (M+H)	1028.3 (M+H)
2f	3.54	$C_{57}H_{76}N_6O_{15}$	1085.2	98	1.71 (LCMS)	1085.3 (M+H)	1085.3 (M+H)
2g	4.77	$C_{77}H_{99}N_7O_{19}$	1426.7	> 99	7.86 (B)	714.0 (M/2+H)	1427 (M+H) (15%)
2j	2.16	$C_{57}H_{77}N_9O_{16}$	1144.3	98	1.57 (LCMS)	1144.3 (M+H)	1144.3 (M+H)
2k	3.54	$C_{59}H_{82}N_8O_{15}$	1143.3	98	1.70 (LCMS)	1143.4 (M+H)	1143.4 (M+H)
2l	4.66	$C_{71}H_{104}N_8O_{19}$	1373.6	100	9.40 (A)	687.5 (M/2+H)	1396.8 (M+Na) (50%)
2m	-4.89	$C_{120}H_{166}N_{14}O_{47}$	2556.7	100	6.49 (A)	1278.8 (M/2+H)	1278.8 (M/2+H)
2n	1.68	$C_{56}H_{82}N_{12}O_{14}$	1147.3	100	7.72 (B)	1147.5 (M+H)	1147.5 (M+H)
2q	3.52	$C_{52}H_{75}N_5O_{14}$	994.2	79	10.36 (B)	995.3 (M+H)	995.3 (M+H)
2r	4.88	$C_{38}H_{52}NO_{11}P$	729.8	100	5.26 (B)	686.2 (弱 質量)	1459.1 (2M+H)
2s	0.55	$C_{38}H_{53}NO_{14}P_2$	809.8	100	4.03 (B)	766.1 (M-44)	810.1 (M+H) (70%)

【０７１４】

(リンカー-ペイロードLP1A～4Aの合成)

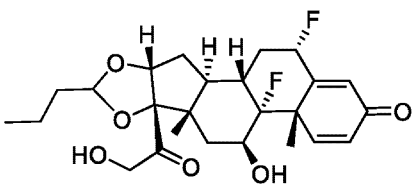
(スキーム101.ペイロード100、スペーサー-ペイロード101a～d、及びリンカー-ペイロードLP1A～4Aの合成)

【化５９４】



(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-8-(2-ヒドロキシアセチル)-9,13-ジメチル-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-16-オン(100)

【化５９５】



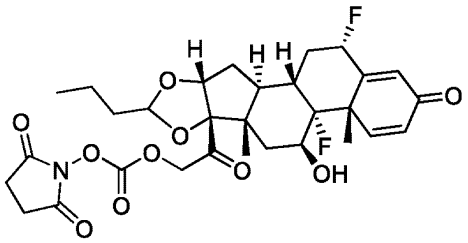
ヘプタン(900mL)中のフルオシノロンアセトニド(10g、22mmol)及びシリカゲル(10

0g)の混合物に、ブチルアルデヒド(3.0mL、33mmol)を10℃未満で添加し、懸濁液を10～20℃で30分間撹拌した。混合物に、過塩素酸(70%、7.6mL、91mmol)を0℃で滴加した。その後、反応混合物をRTで一晩撹拌した。TLC及びLCMSにより、フルオシノロンアセトニドの大部分が消費された。反応混合物を石油エーテルで希釈し、飽和水性炭酸ナトリウムでクエンチした。懸濁液を濾過し、固体をDCM/メタノール(v/v＝1:1)で洗浄した。合わせた濾液を真空中で濃縮した。残渣をフラッシュクロマトグラフィー(DCM中の0～1.5%メタノール)により精製すると、化合物100(8.0g、収率: 78%)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 467.1(M+H)$^+$。

【０７１５】

1-[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)オキシ]ピロリジン-2,5-ジオン(101-1a)

【化５９６】

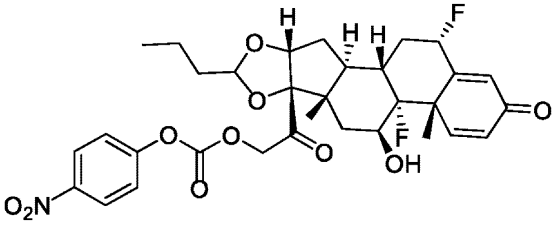


化合物100(0.47g、1.0mmol)のDCM(20mL)溶液に、ビス(2,5-ジオキソピロリジン-1-イル)カルボネート(0.28g、1.1mmol)、トリエチルアミン(0.40g、4.0mmol)、及びDMAP(3.0mg、触媒)を添加した。化合物100が消費されるまで、反応混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、反応混合物をDCMで希釈し、水で洗浄した。有機溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させた。濾過した後、該溶液を真空中で濃縮し、残渣(粗101-1a)を、精製することなく、次の工程にそのまま使用した。ESI m/z: 608.2(M+H)$^+$。

【０７１６】

(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-8-{2-[(4-ニトロフェノキシカルボニル)オキシ]アセチル}-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-16-オン(101-1b)

【化５９７】

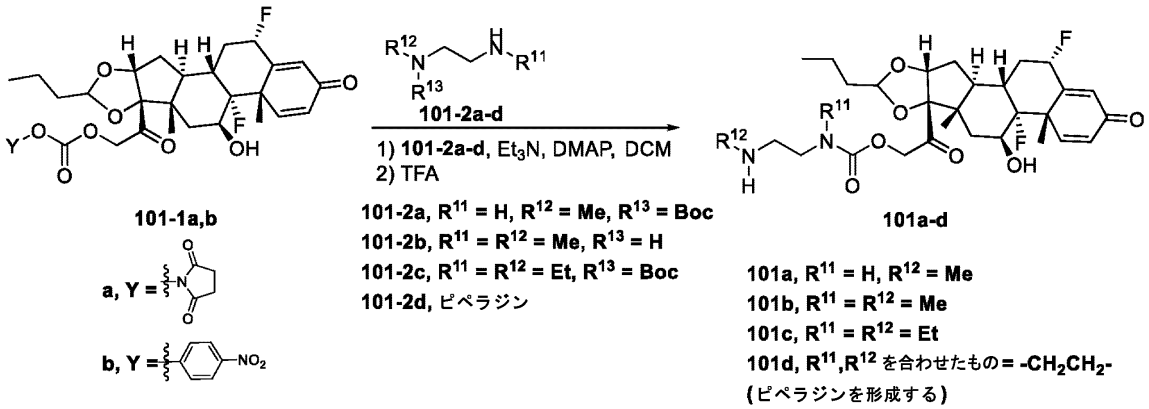


THF(20mL)中の化合物100(0.80g、1.7mmol)、ビス(4-ニトロフェニル)カルボネート(1.6g、5.2mmol)、及びDIPEA(1.1g、8.6mmol)の混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。該混合物を真空中で濃縮した。粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の50%酢酸エチル)により精製すると、化合物101-1b(0.75g、69%収率)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 632(M+H)$^+$。

【０７１７】

(化合物101のための一般的手順)

【化５９８】

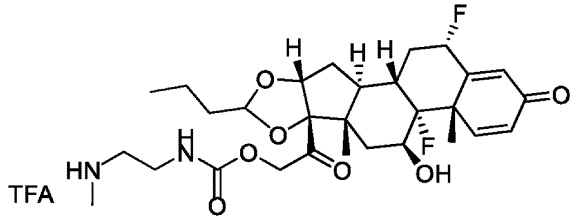


化合物101-1a又は101-1b(1.0mmolとして計算された粗製物)のDCM(20mL)溶液に、ジアミン101-2(a、b、c、又はd)(1.1mmol)及びDMAP(0.1mmol)を添加した。反応混合物をRTで4時間撹拌し、その後、TFA(1mL)を添加した。混合物をRTで30分間撹拌した(R^{13}＝Bocの場合、Bocが完全に除去されるまで、反応液を撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした)。得られた混合物を真空中で濃縮し、残渣を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性TFA(0.5%)中の50～80%アセトニトリル)により精製すると、化合物101(a、b、c、又はd)が無色の油状物として得られた。

【０７１８】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-[2-(メチルアミノ)エチル]カルバメート(101a)

【化５９９】

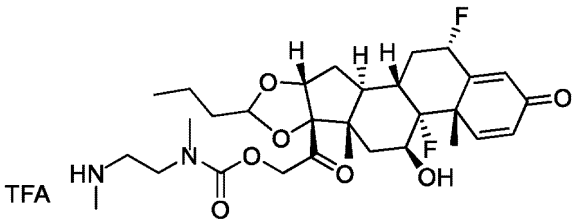


一般的手順に従い、化合物101-1aをBoc-ジアミン101-2aとともに使用すると、化合物101a(0.38g、2工程で57%、TFA塩)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 567(M+H)$^+$。

【０７１９】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-メチル-N-[2-(メチルアミノ)エチル]カルバメート(101b)

【化６００】



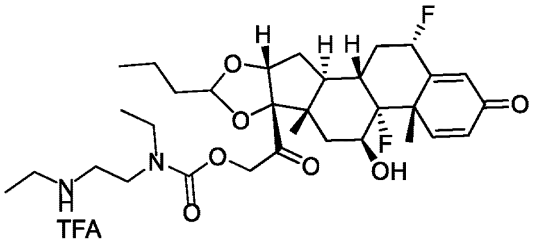
一般的手順に従い、化合物101-1aをジアミン101-2bとともに使用すると、化合物101

b(0.45g、2工程で66%収率、TFA塩)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 581(M+H)$^+$。

【０７２０】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-エチル-N-[2-(エチルアミノ)エチル]カルバメート(101c)

【化６０１】



一般的手順に従い、化合物101-1bをジアミン101-2cとともに使用すると、化合物101c(24mg、2工程で18%収率、TFA塩)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 609(M+H)$^+$。

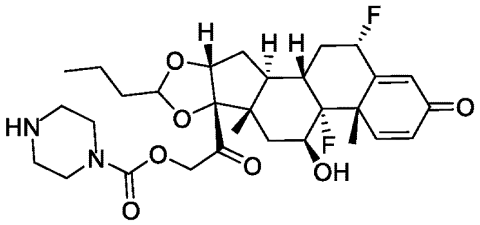
【化６０２】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 8.38 (s, 2H), 7.30 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 6.24 (dd, J = 10.5 Hz, 2.0 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.70-5.54 (m, 2H), 5.10-4.91 (m, 1H), 4.85-4.65 (m, 3H), 4.25-4.16 (m, 1H), 3.60-3.40 (m, 2H), 3.33-3.20 (m, 4H), 3.20-2.90 (m, 4H), 2.67-2.53 (m, 1H), 2.30-2.20 (m, 1H), 2.10-2.00 (m, 2H), 1.80-1.70 (m, 1H), 1.64-1.51 (m, 4H), 1.49 (s, 3H), 1.40-1.30 (m, 2H), 1.20-1.10 (m, 4H), 1.10-1.00 (m, 1H), 0.90-0.80 (m, 6H) ppm.

【０７２１】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチルピペラジン-1-カルボキシレート(101d)

【化６０３】

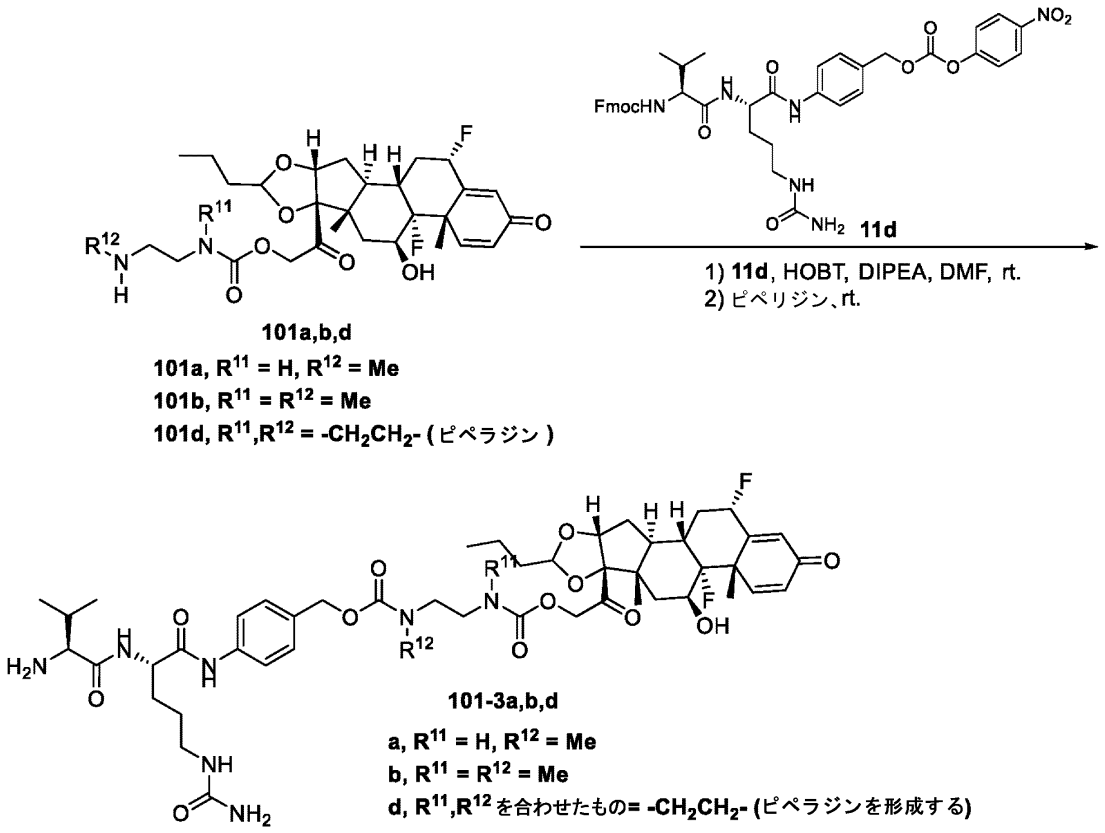


一般的手順に従い、TFAによる処理なしで化合物101-1bをピペラジン(101-2d)とともに使用し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(DCM中の0～10%メタノール)により精製すると、化合物101d(0.21g、2工程で49%収率、遊離塩基)が無色の油状物として得られた。 ESI m/z: 579(M+H)$^+$。

【０７２２】

(化合物101-3のための一般的手順)

【化６０４】

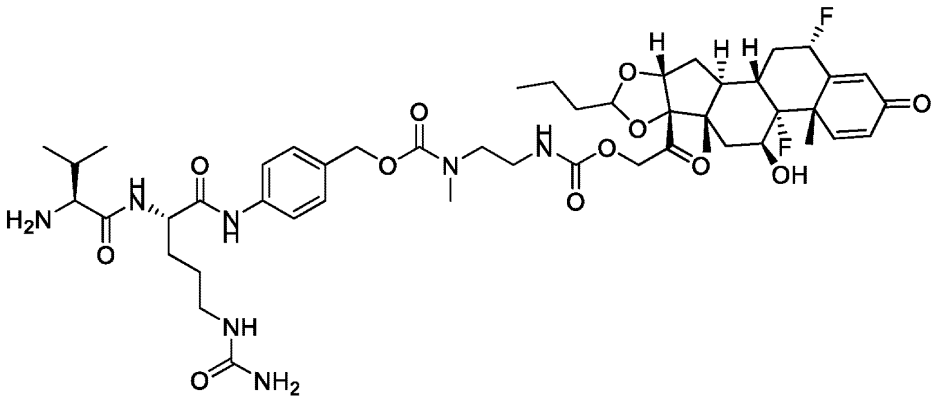


化合物101a、b、又はd(0.20mmol)のDMF(3mL)溶液に、Fmoc-VC-PAB-PNP 11d(0.17g、0.22mmol)、HOBT(41mg、0.30mmol)、及びDIPEA(77mg、0.60mmol)を添加した。混合物をRTで3時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、該混合物に、ピペリジン(0.3mL)を添加した。反応混合物をRTで1時間撹拌した。LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性NH_4HCO_3(10mM)中の50～80%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、化合物101-3a、b、又はdが白色の固体として得られた。

【０７２３】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-(2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル](メチル)アミノ}エチル)カルバメート(101-3a)

【化６０５】

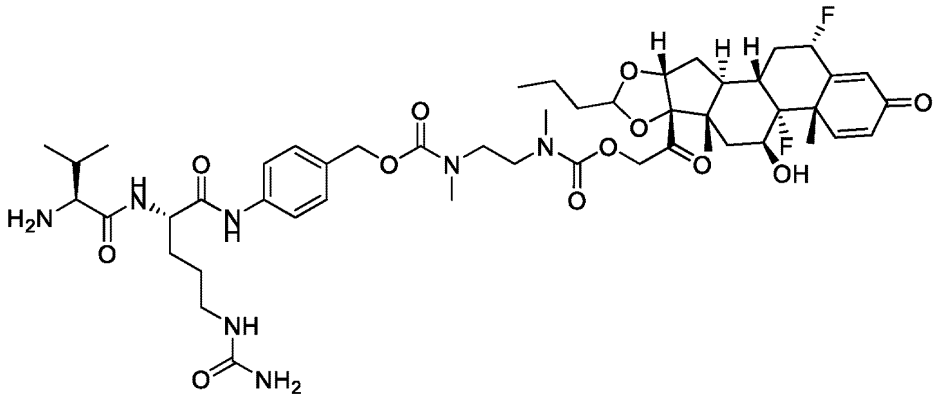


一般的手順に従い、化合物101aを使用すると、化合物101-3a(0.11g、57%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 972(M+H)$^+$。

【0724】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-メチル-N-[2-(メチルアミノ)エチル]カルバメート(101-3b)

【化606】

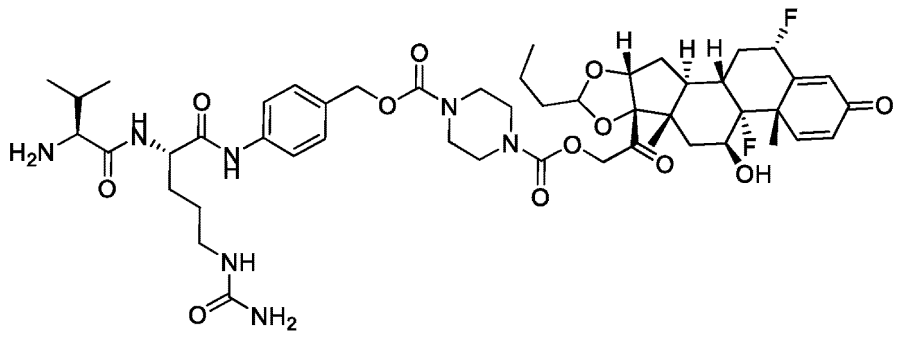


一般的手順に従い、化合物101bを使用すると、化合物101-3b(0.13g、65%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 986(M+H)$^+$。

【0725】

1-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル 4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル}ピペラジン-1,4-ジカルボキシレート(101-3d)

【化607】

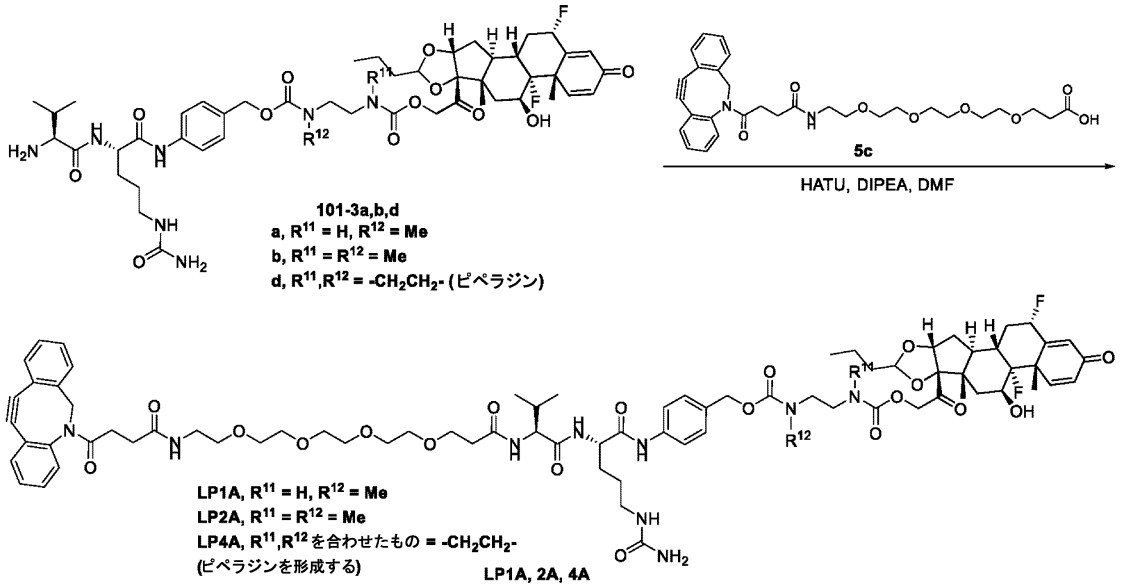


一般的手順に従い、化合物101d(58mg、0.10mmol)を使用すると、化合物101-3d(52mg、53%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 984(M+H)$^+$。

【化608】

^{1}HNMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 10.0 (s, 1H), 8.14 (d, J = 7.5 Hz, 1H),7.60 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.31 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.26 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 6.30 (dd, J = 1.5 Hz, 10.5 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.02-5.88 (m, 1H), 5.70-5.50 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.20-4.92 (m, 3H), 4.80-4.62 (m, 3H), 4.50-4.45 (m, 1H), 4.25-4.15 (m, 1H), 3.50-3.35 (m, 8H), 3.05-2.90 (m, 3H), 2.70-2.54 (m, 2H), 2.32-2.20 (m, 1H), 2.10-1.50 (m, 10H), 1.46 (s, 3H), 1.45-1.30 (m, 5H), 0.95 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 0.90-0.80 (m, 9H), 0.77 (d, J = 7.0 Hz, 3H) ppm.

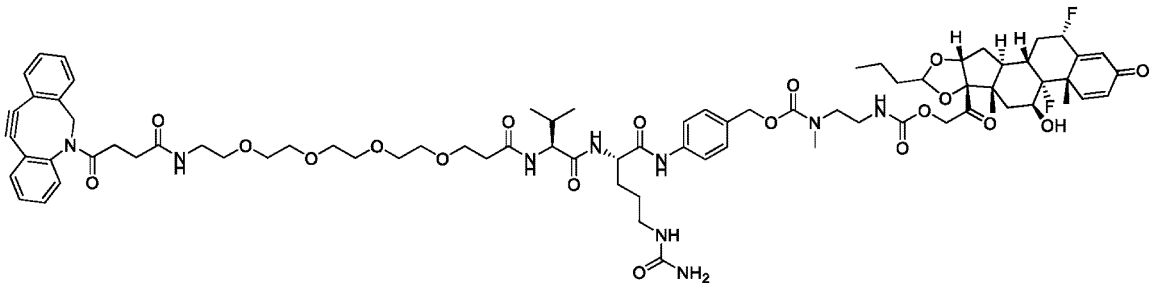
【０７２６】
(化合物LP1A、LP2A、及びLP4Aのための一般的手順)
【化６０９】



化合物5c(34mg、60μmol)のDMF(1mL)溶液に、HATU(27mg、71μmol)及びDIPEA(20mg、0.15mmol)を添加した。混合物をRTで5分間撹拌した後、化合物101-3a、b、又はd(50μmol)を該混合物に添加した。混合物をRTで2時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物LP1A、2A、又は4Aが白色の固体として得られた。

【０７２７】
2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-(2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル](メチル)アミノ}エチル)カルバメート(LP1A)

【化６１０】

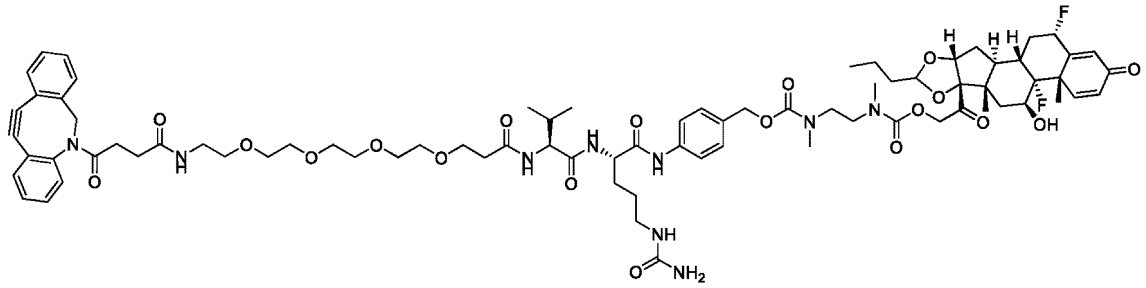


一般的手順に従い、化合物101-3aを使用すると、リンカー-ペイロードLP1A(20mg、26%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 754(M/2+H)$^{+}$。

【０７２８】
2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-(2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}

-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル](メチル)アミノ}エチル)-N-メチルカルバメート(LP2A)

【化６１１】



一般的手順に従い、化合物101-3bを使用すると、リンカー-ペイロードLP2A(20mg、26%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 761(M/2+H)$^+$。

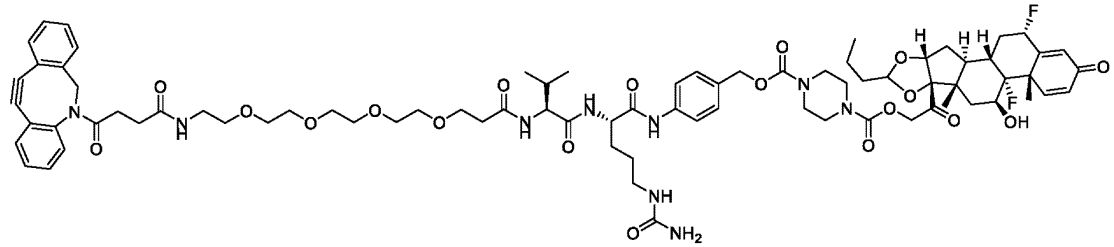
【化６１２】

^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.98 (s, 1H), 8.12 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.76 (t, J = 5.4 Hz, 1H), 7.69-7.66 (m, 1H), 7.64-7.57 (m, 3H), 7.51-7.44 (m, 3H), 7.40-7.33 (m, 2H), 7.32-7.25 (m, 4H), 6.33-6.27 (m, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.98 (t, J = 5.5 Hz, 1H), 5.70-5.55 (m, 2H), 5.41 (s, 2H), 5.08-4.91 (m, 4H), 4.79-4.66 (m, 2H), 4.41-4.35 m, 1H), 4.25-4.17 (m, 2H), 3.64-3.56 (m, 3H), 3.49-3.41 (m, 15H), 3.30-3.27 (m, 2H), 3.13-3.00 (m, 3H), 2.98-2.75 (m, 8H), 2.65-2.54 (m, 2H), 2.48-2.43 (m, 1H), 2.41-2.34 (m, 1H), 2.28-2.19 (m, 2H), 2.07-1.94 (m, 4H), 1.81-1.67 (m, 3H), 1.63-1.53 (m, 5H), 1.48 (s, 3H), 1.45-1.31 (m, 5H), 0.88-0.82 (m, 13H) ppm.

【０７２９】

1-{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル 4-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル}ピペラジン-1,4-ジカルボキシレート(LP4A)

【化６１３】



一般的手順に従い、化合物101-3dを使用すると、リンカー-ペイロードLP4A(35mg、44%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 760(M/2+H)$^+$。

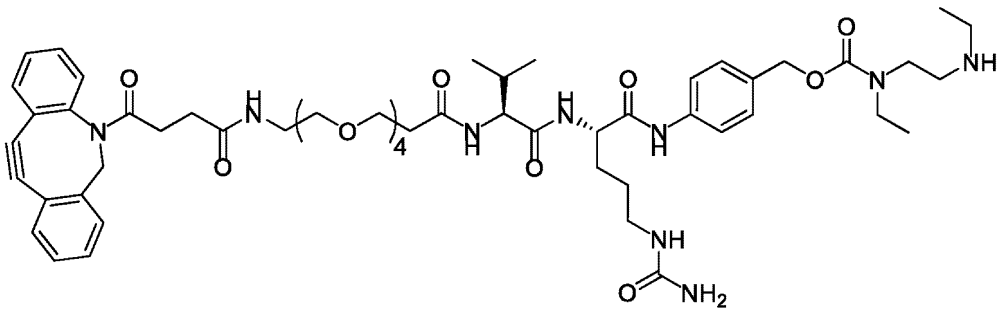
【化６１４】

^{1}H NMR (500 MHz, $DMSO_{d6}$) δ 10.0 (s, 1H), 8.14 (d, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.88 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.77 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 7.70-7.66 (m, 1H), 7.63-7.55 (m, 3H), 7.52-7.43 (m, 3H), 7.40-7.27 (m, 6H), 6.30 (d, *J* = 10.5 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.02-5.88 (m, 1H), 5.70-5.50 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.20-4.92 (m, 4H), 4.80-4.62 (m, 3H), 4.40-4.35 (m, 1H), 4.26-4.20 (m, 2H), 3.64-3.55 (m, 3H), 3.50-3.35 (m, 17H), 3.30-3.25 (m, 3H), 3.15-2.90 (m, 4H), 2.64-2.54 (m, 2H), 2.50-2.45 (m, 1H), 2.41-2.34 (m,1H), 2.32-2.20 (m, 2H), 2.10-1.92 (m, 4H), 1.80-1.68 (m, 3H), 1.62-1.50 (m, 5H), 1.46 (s, 3H), 1.45-1.40 (m, 2H), 1.40-1.30 (m, 3H), 1.22-1.20 (m, 1H), 0.90-0.80 (m, 13H) ppm.

【０７３０】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-エチル-N-[2-(エチルアミノ)エチル]カルバメート(101-4)

【化６１５】

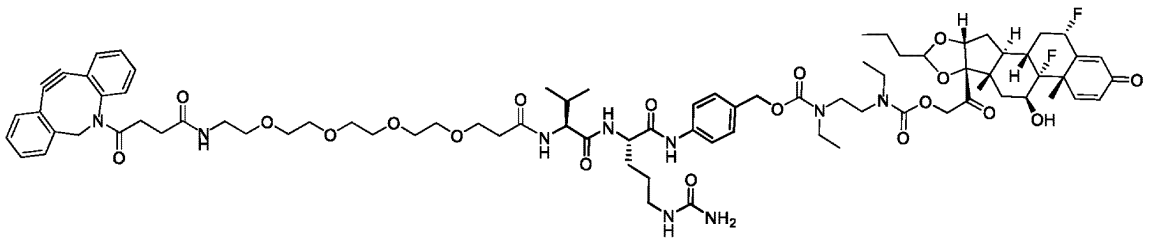


DIBAC-suc-PEG$_4$-vcPAB-PNP 11b(0.11g、0.10mmol)のDMF(5mL)溶液に、N,N'-ジエチルエチレンジアミン(58mg、0.50mmol)及びDMAP(1mg、0.01mmol)を添加した。反応混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物101-4が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 1056.6(M+H)$^+$、529(M/2+H)$^+$。

【０７３１】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-(2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル](エチル)アミノ}エチル)-N-エチルカルバメート(LP3A)

【化６１６】



DMF(5mL)中の化合物101-4(16mg、15μmol)、101-1b(11mg、17μmol)、及びD

IPEA(4.0mg、31μmol)の混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、リンカー-ペイロードLP3A(3mg、13%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 775(M/2+H)$^+$。

【化６１７】

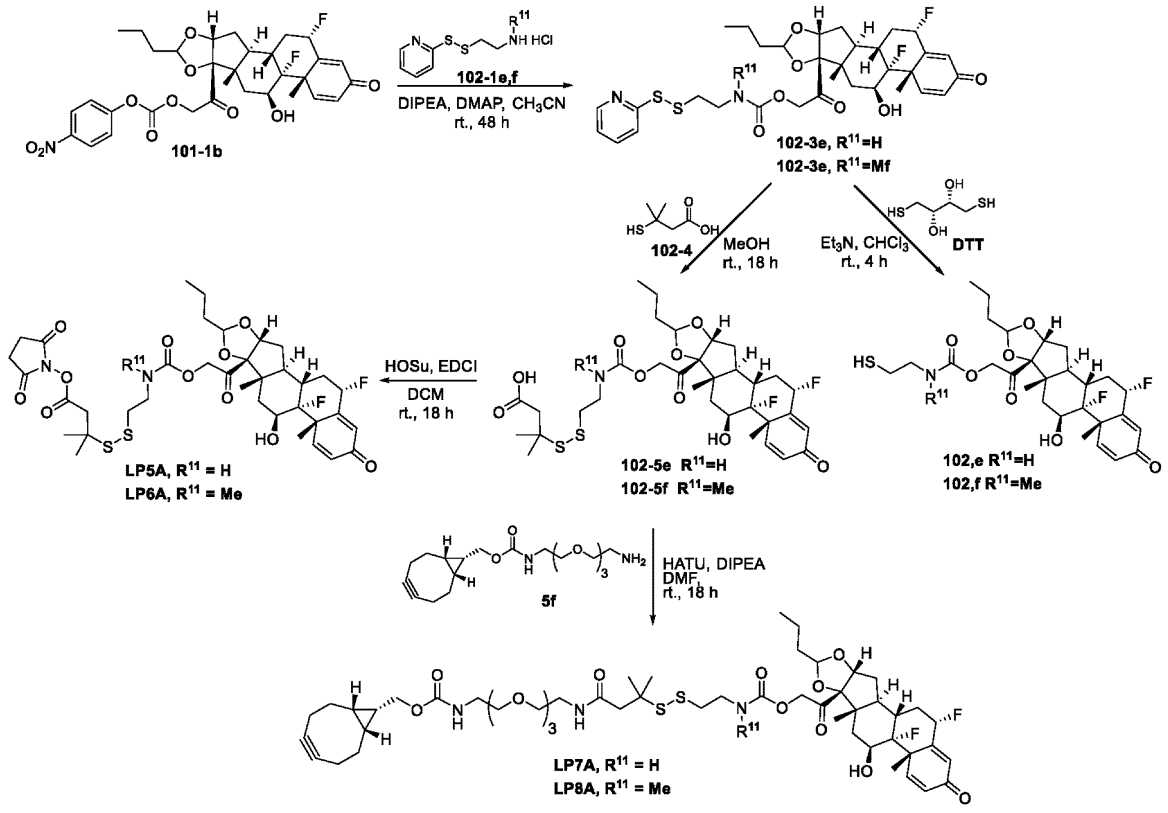
^{1}H NMR (500 MHz, DMSO$_{d6}$)

δ 10.0 (s, 1H), 8.14 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.88 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.77 (t, J = 5.0 Hz, 1H), 7.70-7.66 (m, 1H), 7.63-7.55 (m, 3H), 7.52-7.43 (m, 3H), 7.40-7.27 (m, 7H), 6.30 (d, J = 10.5 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.02-5.88 (m, 1H), 5.70-5.50 (m, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.20-4.92 (m, 4H), 4.80-4.62 (m, 3H), 4.40-4.35 (m, 1H), 4.26-4.20 (m, 2H), 3.64-3.55 (m, 4H), 3.50-3.35 (m, 18H), 3.12-2.90 (m, 7H), 2.64-2.54 (m, 3H), 2.41-2.34 (m, 2H), 2.32-2.20 (m, 3H), 2.10-1.92 (m, 5H), 1.88-1.68 (m, 3H), 1.62-1.50 (m, 6H), 1.50-1.40 (m, 6H), 1.40-1.30 (m, 4H), 1.22-1.20 (m, 1H), 1.02-0.90 (m, 4H), 0.90-0.78 (m, 6H) ppm.

【０７３２】

(システアミンプロドラッグ:リンカー-ペイロードLP5A、6A、7A、及びLP8Aの合成)

【化６１８】



2-(ピリジン-2-イルジスルファニル)エタンアミン塩酸塩(102-1e)は、CAS 83578-21-6で市販で入手可能であった。tert-ブチル(2-メルカプトエチル)(メチル)カルバメート(102-1f)は、Eur. J. Med. Chem., 2015, 95, 483-491に従って合成した。

【０７３３】

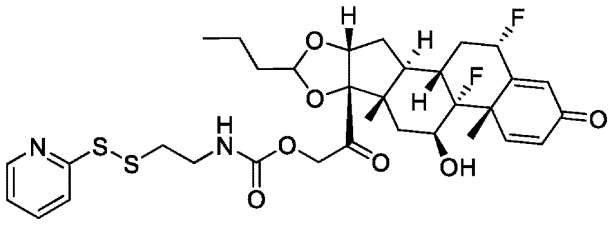
エンド-ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イルメチル N-(2-{2-[2-(2-アミノエトキシ)エトキシ]エトキシ}エチル)カルバメート(5f)は、WO2016168769号に従って合成した。

【０７３４】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコ

サ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-[2-(ピリジン-2-イルジスルファニル)エチル]カルバメート(102-3e)

【化６１９】

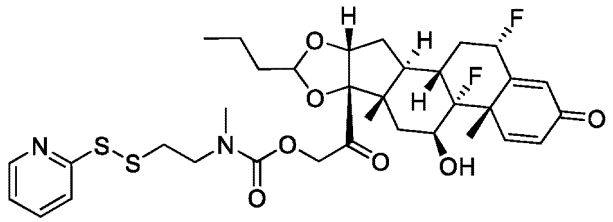


化合物101-1b(0.54g、0.86mmol)のアセトニトリル(10mL)溶液に、DIPEA(0.22g、1.7mmol)、102-1e(0.19g、0.86mmol)、及びDMAP(10mg、86μmol)を添加した。LCMSにより101-1bが完全に消費されるまで、反応混合物をRTで48時間撹拌した。その後、該混合物を濾過し、濾液を真空中で濃縮した。残存する油状物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン中の20～50%酢酸エチル)により精製すると、化合物102-3e(0.47g、80%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 679.2(M+H)$^+$。

【０７３５】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-メチル-N-[2-(ピリジン-2-イルジスルファニル)エチル]カルバメート(102-3f)

【化６２０】

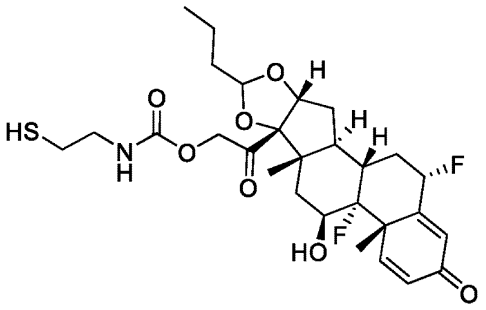


102-1eの代わりに102-1fを使用することを除き、102-3eと同様の手順に従うと、化合物102-3f(0.45g、75%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 693.2(M+H)$^+$。

【０７３６】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-(2-スルファニルエチル)カルバメート(102e)

【化６２１】



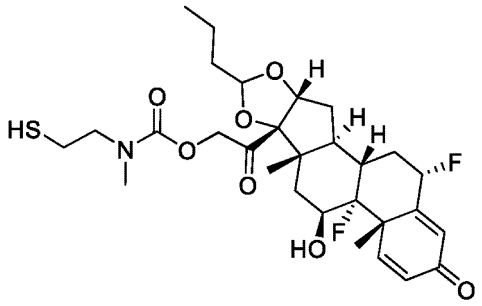
化合物102-3e(1.4g、2.1mmol)のクロロホルム(30mL)溶液に、トリエチルアミン(0.82mL、5.9mmol)及び1,4-ジチオスレイトール(クレランド試薬、DTT)(1.2g、7.8mmol)を添加した。反応混合物を、窒素下、RTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(ヘキサン中の50～70%酢酸エチル)により精製すると、化合物102e(0.95g、83%収

率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 570.2(M+H)$^+$。

【０７３７】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル N-メチル-N-(2-スルファニルエチル)カルバメート(102f)

【化６２２】

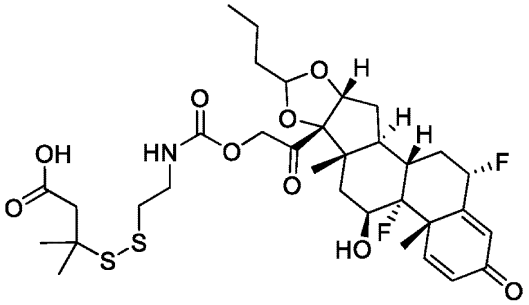


102-3eの代わりに102-3fを使用することを除き、102eと同様の手順に従うと、化合物102f(0.97g、83%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 584.3(M+H)$^+$。

【０７３８】

3-({2-[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)アミノ]エチル}ジスルファニル)-3-メチルブタン酸(102-5e)

【化６２３】

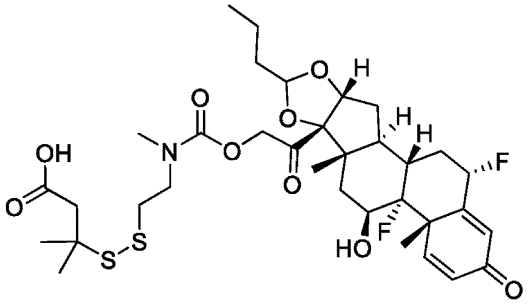


化合物102-3e(0.68g、1.0mmol)のメタノール(5mL)溶液に、化合物102-4(0.13g、1.0mmol)を添加した。反応混合物をRTで18時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、得られた混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物102-5e(0.39g、55%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 702.2(M+H)$^+$。

【０７３９】

3-({2-[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)(メチル)アミノ]エチル}ジスルファニル)-3-メチルブタン酸(102-5f)

【化６２４】

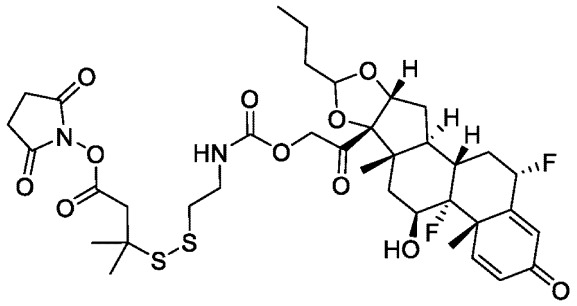


102-3eの代わりに102-3fを使用することを除き、102-5eと同様の手順に従うと、化合物102-5f(0.29g、40%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 716.3(M+H)$^+$。

【０７４０】

2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 3-({2-[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)アミノ]エチル}ジスルファニル)-3-メチルブタノエート(LP5A)

【化６２５】

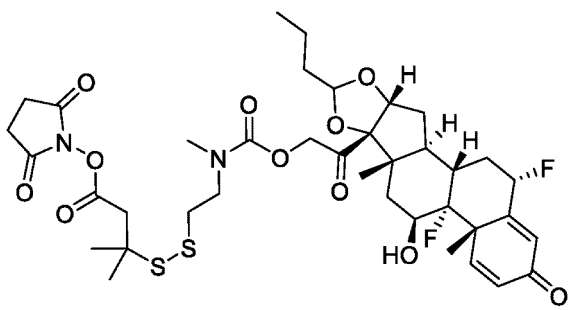


化合物102-5e(0.20g、0.29mmol)のDCM(10mL)溶液に、HOSu(73mg、0.64mmol)及びEDCI(0.12g、0.64mmol)を添加し、混合物をRTで24時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物をDCM(50mL)で希釈し、有機溶液を水及びブラインで洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣を分取HPLC(方法A)により精製すると、LP5A(85mg、37%収率)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 799.3(M+H)$^+$。

【０７４１】

2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 3-({2-[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)(メチル)アミノ]エチル}ジスルファニル)-3-メチルブタノエート(LP6A)

【化６２６】

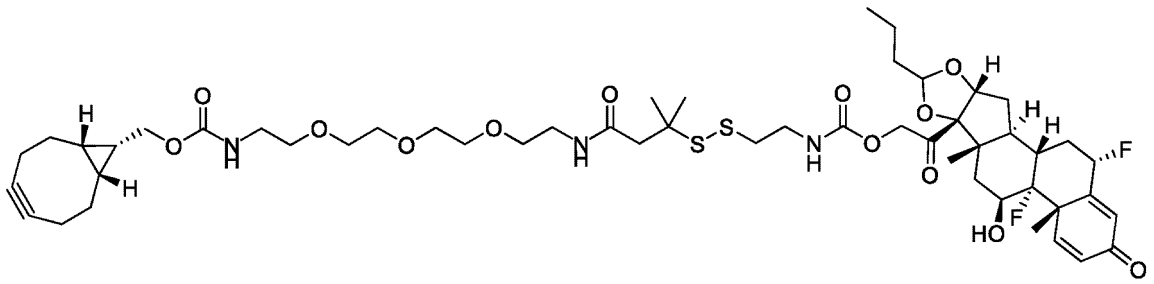


102-5eの代わりに102-5fを使用することを除き、LP5Aと同様の手順に従うと、化合物LP6A(86mg、36%収率)が無色の油状物として得られた。ESI m/z: 813.3(M+H)$^+$。

【０７４２】

エンド-ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イルメチル N-{2-[2-(2-{2-[3-({2-[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)アミノ]エチル}ジスルファニル)-3-メチルブタンアミド]エトキシ}エトキシ)エトキシ]エチル}カルバメート(LP7A)

【化６２７】

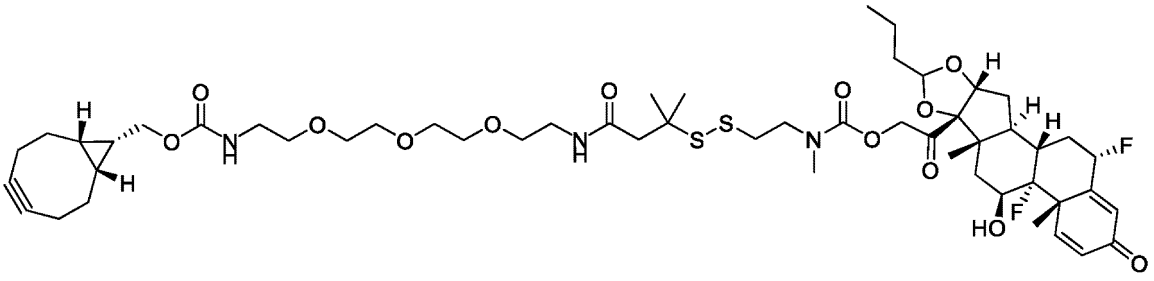


化合物102-5e(0.20g、0.29mmol)のDMF(10mL)溶液に、HATU(0.11g、0.29mmol)及びDIPEA(75mg、0.58mmol)を添加した。反応混合物をRTで10分間撹拌し、その後、化合物5f(0.11g、0.29mmol)を添加した。反応混合物をRTで18時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、得られた混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま分離すると、化合物LP7A(0.16g、55%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 526.7(M/2+H)$^+$。

【０７４３】

エンド-ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イルメチル N-{2-[2-(2-{2-[3-({2-[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}カルボニル)(メチル)アミノ]エチル}ジスルファニル)-3-メチルブタンアミド]エトキシ}エトキシ)エトキシ]エチル}カルバメート(LP8A)

【化６２８】



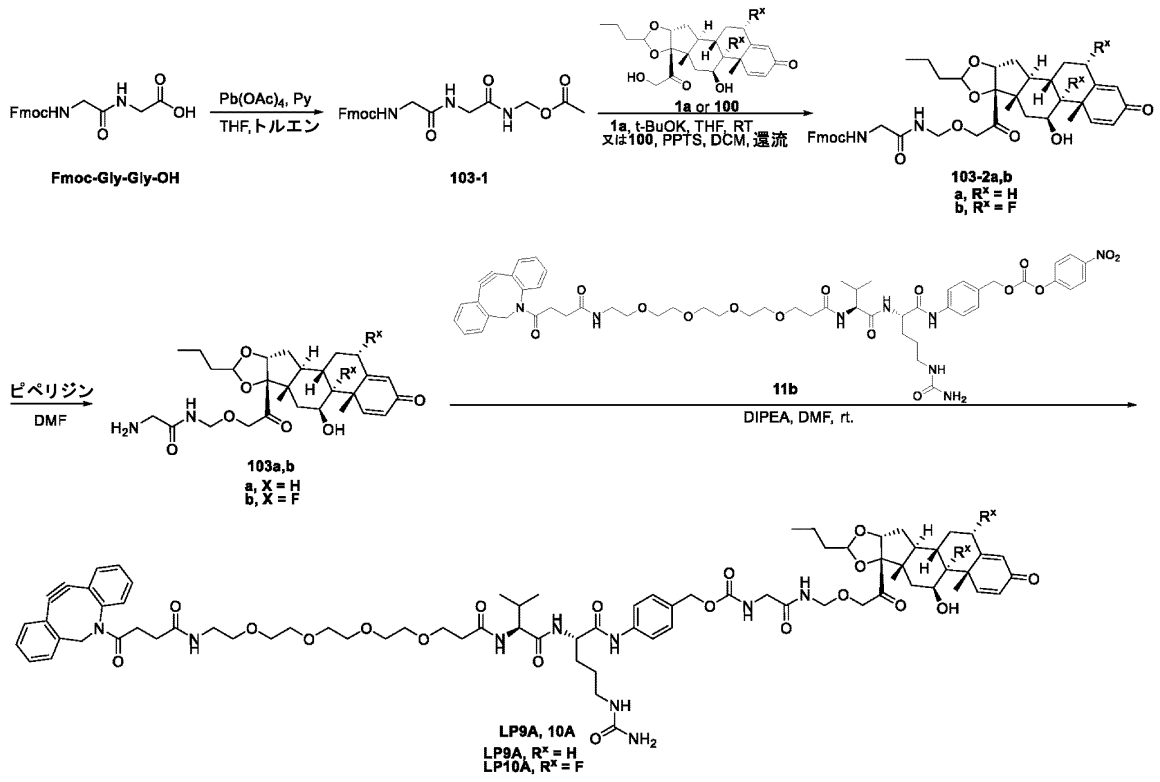
102-5eの代わりに102-5fを使用することを除き、LP7Aと同様の手順に従うと、化合物LP8A(0.13g、41%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 533.8(M/2+H)$^+$。

【０７４４】

(AMOリンカー-ペイロードLP9A～11Aの合成)

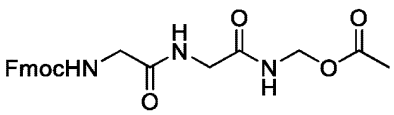
(スキーム103A.ペイロード103a、b、及びリンカー-ペイロードLP9A～10Aの合成)

【化６２９】



酢酸(2-(((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニルアミノ)アセトアミド)メチル(103-1)

【化６３０】

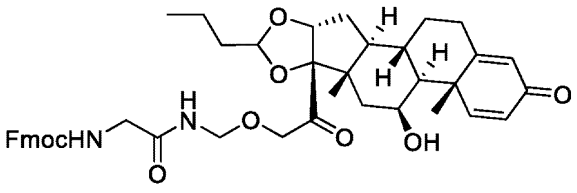


THF(0.12L)及びトルエン(40mL)中のFmoc-Gly-Gly-OH(4.3g、12mmol)の混合物に、ピリジン(1.2mL、15mmol)及び四酢酸鉛(6.8g、15mmol)を添加した。反応混合物を5時間還流させ、これをLCMSによりモニタリングした。RTに冷却した後、該反応混合物をセライトに通して濾過して、不溶性材料を除去し、濾液を真空中で濃縮した。残渣を酢酸エチルに溶解させ、溶液を水及びブラインで洗浄した。有機溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の10%酢酸エチル)により精製すると、化合物103-1(3.0g、67%収率)が無色の固体として得られた。ESI m/z: 391(M+Na)$^+$。

【０７４５】

9H-フルオレン-9-イルメチル N-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}メチル)カルバモイル]メチル}カルバメート(103-2a)

【化６３１】

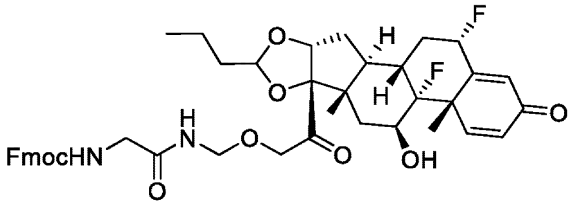


化合物103-1(0.37g、1.0mmol)及びブデソニド1a(1.3g、3.0mmol)のTHF(4mL)溶液に、カリウム tert-ブトキシド(0.22g、2.0mmol)を0℃で添加した。反応混合物をRTで15分間撹拌し、これをTLCによりモニタリングした。反応溶液に酢酸エチル及び水を0℃で投入し、酢酸エチル及びクロロホルムで抽出した。合わせた有機溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の30～35%酢酸エチル)により精製すると、化合物103-2a(0.19g、40%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 739(M+H)$^+$。

【０７４６】

9H-フルオレン-9-イルメチル N-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}メチル)カルバモイル]メチル}カルバメート(103-2b)

【化６３２】

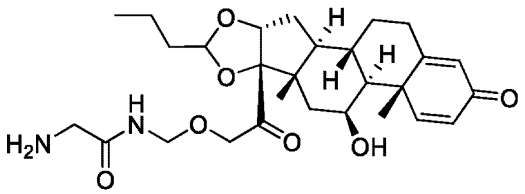


密封管に、DCM(4mL)及びピリジニウム p-トルエンスルホネート(21mg、81μmol)中の化合物103-1(0.30g、0.81mmol)及び化合物100(0.38g、0.81mmol)の溶液をRTで添加した。反応管を密閉し、50℃で24時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。冷却後、反応混合物を真空中で濃縮し、残渣を分取HPLC(方法A)により精製すると、化合物103-2b(0.23g、37%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 775(M+H)$^+$。

【０７４７】

2-アミノ-N-({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}メチル)アセトアミド(103a)

【化６３３】

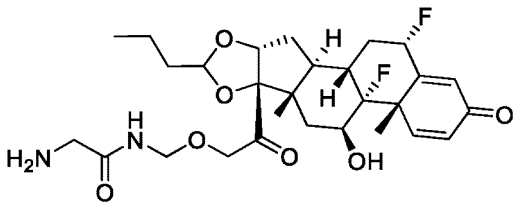


化合物103-2a(0.10g、0.14mmol)のDMF(2mL)溶液に、ピペリジン(35mg、0.41mmol)を添加した。Fmocが完全に除去されるまで、反応混合物をRTで2時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性TFA(0.05%)中の0～100%アセトニトリル)によりそのまま精製すると、化合物103a(50mg、70%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 517.6(M+H)$^+$。

【０７４８】

2-アミノ-N-({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}メチル)アセトアミド(103b)

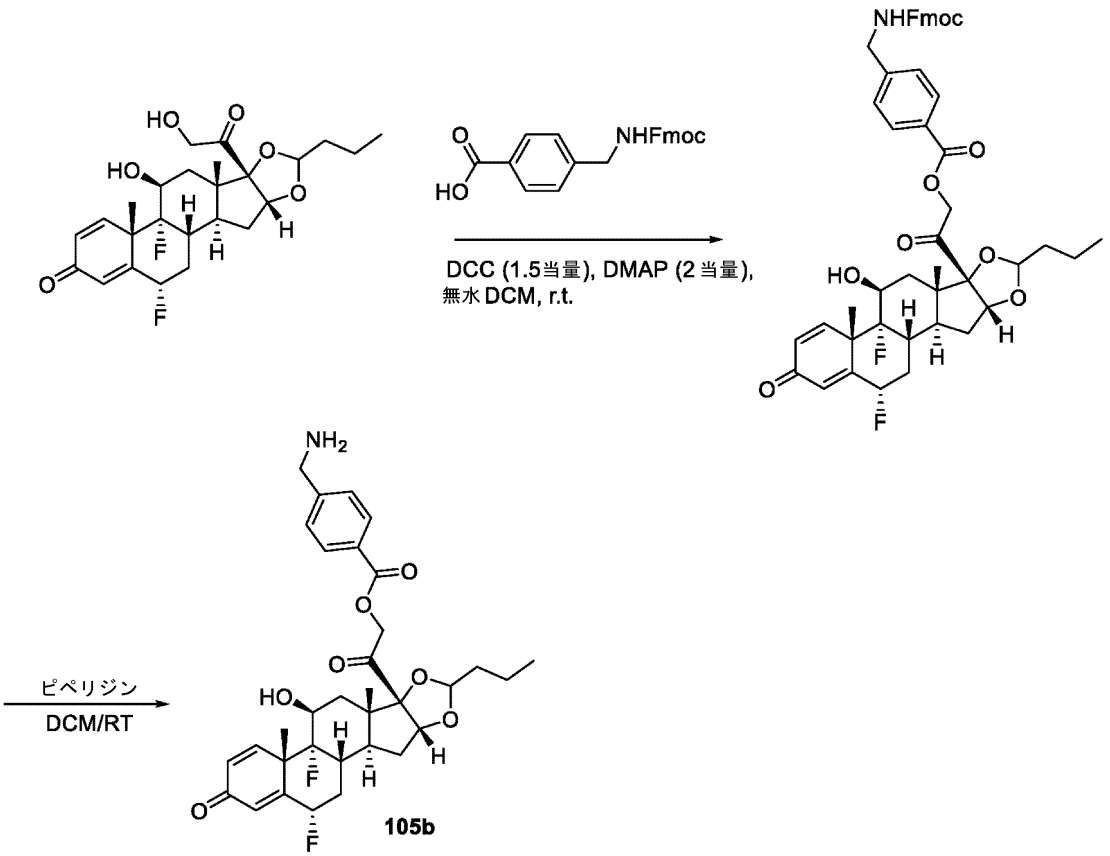
【化６３４】



103-2aの代わりに103-2bを使用することを除き、103aと同様の手順に従うと、化合物103b(0.26g、65%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 553.2(M/2+H)$^+$。

【０７４９】

【化６３５】

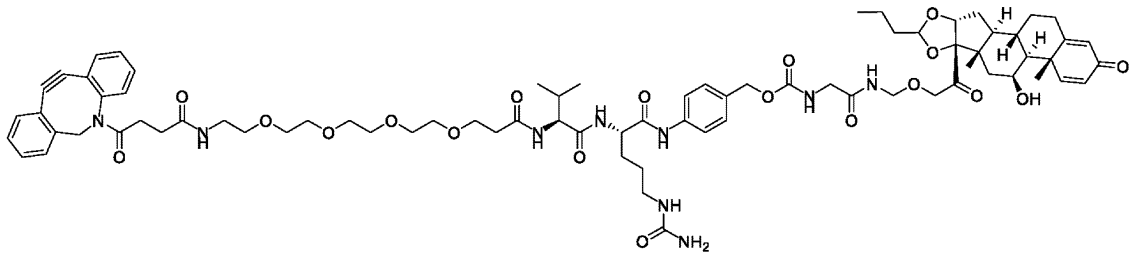


化合物105(b)を上記の手順に従って調製した。

【０７５０】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12S,13R)-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}メチル)カルバモイル]メチル}カルバメート(LP9A)

【化６３６】

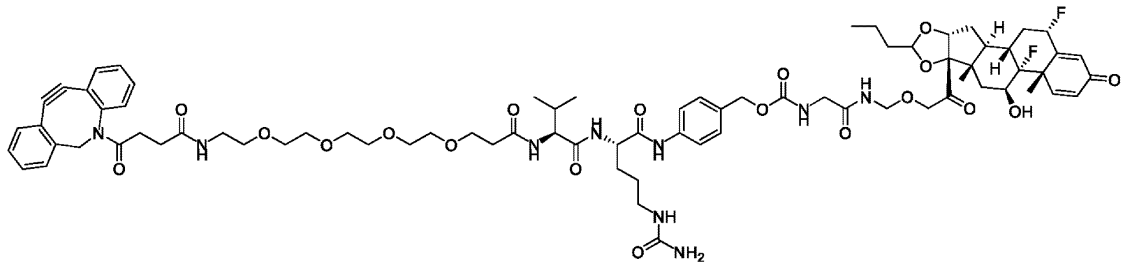


化合物103a(15mg、29μmol)のDMF(1.0mL)溶液に、化合物11b(30mg、28μmol)、HOBT(2.0mg、15μmol)、及びDIPEA(7.7mg、60μmol)を添加した。反応混合物をRTで2時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。該混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、リンカー-ペイロードLP9A(5.0mg、11%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 729(M/2+H)$^+$。

【０７５１】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}メチル)カルバモイル]メチル}カルバメート(LP10A)

【化６３７】



103aの代わりに103bを使用することを除き、LP9Aと同様の手順に従うと、リンカー-ペイロードLP10A(23mg、58%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 747.0(M/2+H)$^+$; 513.8(LCMSにより切断された断片、NHCH$_2$-Oで切断された小片)

【化６３８】

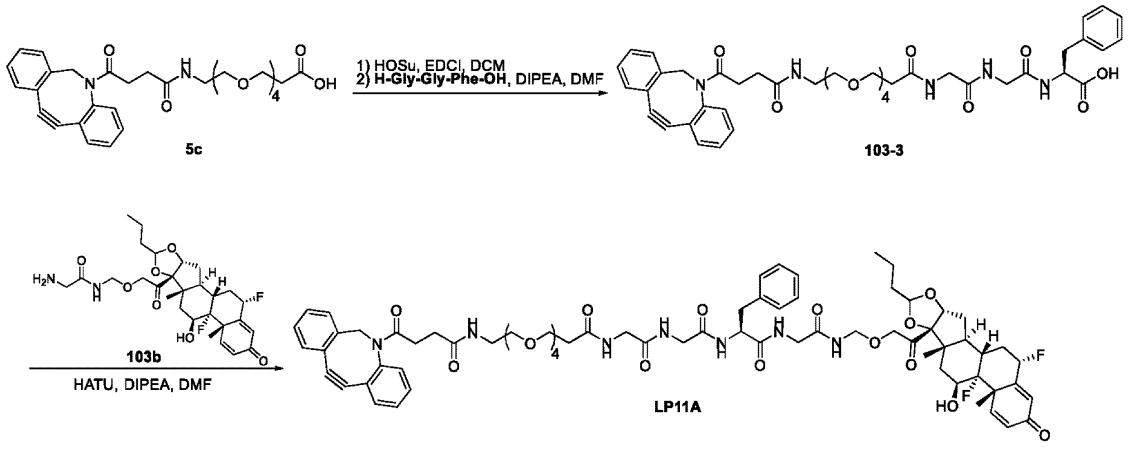
^{1}HNMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ

10.02 (s, 1H), 8.80-8.72 (m, 1H), 8.15 (d, *J* = 6.8 Hz, 1H), 7.89 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 7.80-7.75 (m, 1H), 7.68 (d, *J* = 7.6 Hz, 1H), 7.64-7.58 (m, 3H), 7.54-7.22 (m, 9H), 6.29 (d, *J* = 10.0 Hz, 1H), 6.10 (s, 1H), 6.04-5.96 (m, 1H), 5.78-4.10 (m, 15H), 3.66-3.54 (m, 5H), 3.54-3.42 (m, 13H), 3.32-3.26 (m, 2H), 3.20-2.50 (m, 7H), 2.42-2.20 (m, 4H), 2.05-1.90 (m, 4H), 1.85-1.25 (m, 15H), 0.90-0.80 (m, 13H) ppm.

【０７５２】

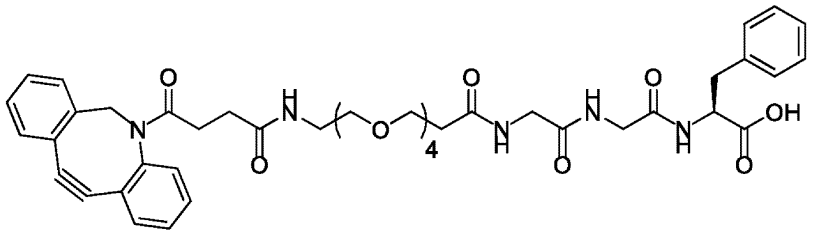
(スキーム103B.リンカー-ペイロードLP11Aの合成)

【化６３９】



(2S)-2-(2-{2-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]アセトアミド}アセトアミド)-3-フェニルプロパン酸(103-3)

【化６４０】



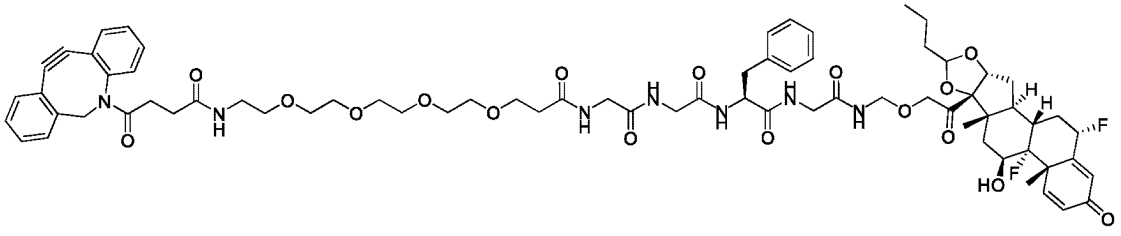
化合物5c(0.16g、0.29mmol)のDCM(20mL)溶液に、HOSu(73mg、0.64mmol)及びEDCI(0.12g、0.64mmol)を添加した。LCMSにより化合物5cが完全に消費されるまで、混合物をRTで24時間撹拌した。得られた混合物をDCM(50mL)で希釈し、有機溶液を水(50mL)及びブライン(50mL)で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、真空中で濃縮すると、OSu活性エステル(0.16g、84%収率)が無色の油状物として得られ、これを次の工程にそのまま使用した。

H-Gly-Gly-Phe-OH(10mg、36μmol)のDMF(0.5mL)溶液に、上で得られたOSu活性エステル(23mg、36μmol)及びDIPEA(9.0mg、72μmol)を添加した。反応混合物をRTで一晩撹拌した。該混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物103-3(15mg、51%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 408.2(M/2+H)$^+$。

【０７５３】

1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-N-{[({[(1S)-1-({[({2-[(19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}メチル)カルバモイル]メチル}カルバモイル)-2-フェニルエチル]カルバモイル}メチル)カルバモイル]メチル}-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド(LP11A)

【化６４１】



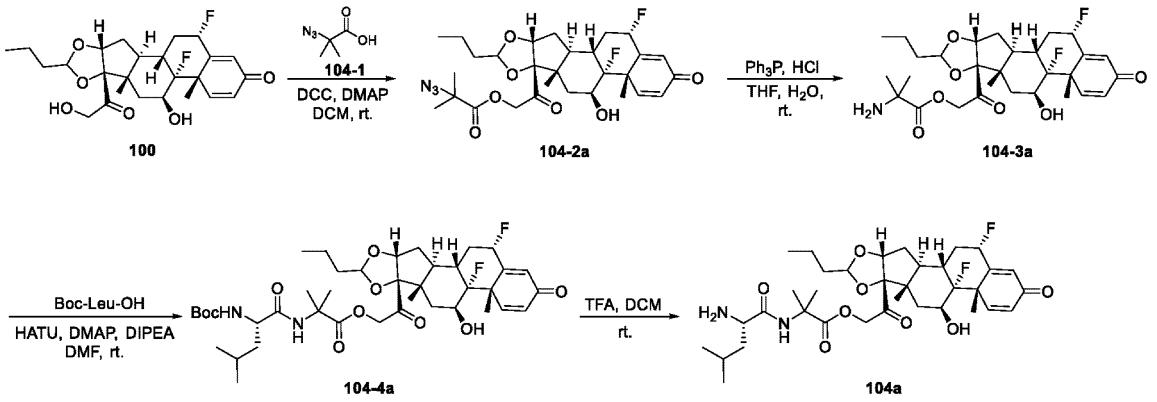
化合物103-3(15mg、18μmol)のDMF(0.5mL)溶液に、HATU(14mg、36μmol)及びDIPEA(9.3mg、72μmol)を添加した。反応混合物をRTで10分間撹拌した後、化合物103b(10mg、18μmol)を該混合物に添加した。その後、反応混合物をRTで一晩撹拌した。得られた混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、リンカー-ペイロードLP11A(5.0mg、20%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 420.2(M/3+H)$^+$。

【0754】

(ジペプチドプロドラッグ:リンカー-ペイロードLP12Aの合成)

(スキーム104A.ペイロード104aの合成)

【化642】

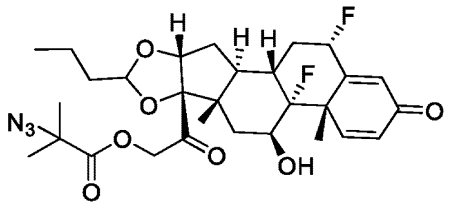


α-アジドイソ酪酸104-1をOrg. Lett., 2001, 3(5), 781-783に従って合成した。

【0755】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル 2-アジド-2-メチルプロパノエート(104-2a)

【化643】

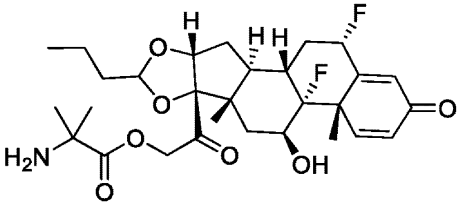


化合物100(0.10g、0.21mmol)のDCM(30mL)溶液に、化合物104-1(52mg、0.40mmol)、DCC(90mg、0.44mmol)、及びDMAP(10mg)を添加し、混合物をRTで一晩撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を真空中で濃縮し、残渣を分取HPLC(方法A)により精製すると、化合物104-2a(80mg、70%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 578.3(M+H)$^+$。

【0756】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル 2-アミノ-2-メチルプロパノエート(104-3a)

【化644】

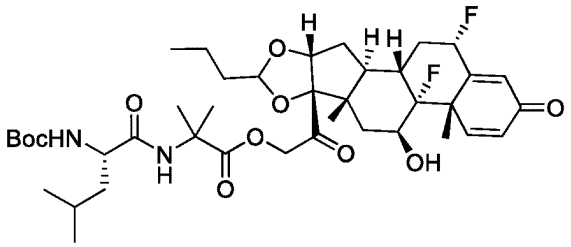


化合物104-2a(75mg、0.15mmol)のTHF(5mL)溶液に、PPh_3(0.15g、0.57mmol)、水(5mL)、及び濃HCl(1滴)を添加し、反応混合物をRTで一晩撹拌した。該混合物を真空中で濃縮し、DMFで希釈した。沈殿を濾過により完全に除去した。濾液を分取HPLC(方法A)により精製すると、化合物104-3a(45mg、54%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 552.3$(M+H)^+$。

【0757】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル 2-[(2S)-2-{[(tert-ブトキシ)カルボニル]アミノ}-4-メチルペンタンアミド]-2-メチルプロパノエート(104-4a)

【化645】

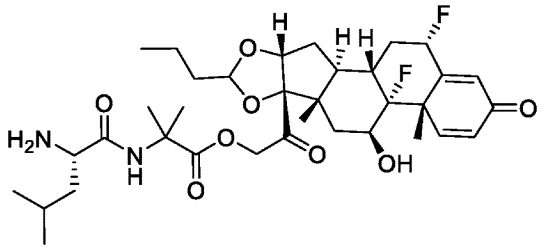


DMF(3mL)中のBoc-Leu-OH(20mg、87μmol)及びHATU(50mg、0.13mmol)の混合物に、DIPEA(30mg、0.23mmol)、DMAP(2mg)、及び化合物104-3a(30mg、54μmol)を添加した。混合物をRTで1時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。該混合物を分取HPLC(方法A)によりそのまま精製すると、化合物104-4a(25mg、55%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 787.4$(M+Na)^+$。

【0758】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル 2-[(2S)-2-アミノ-4-メチルペンタンアミド]-2-メチルプロパノエート(104a)

【化646】

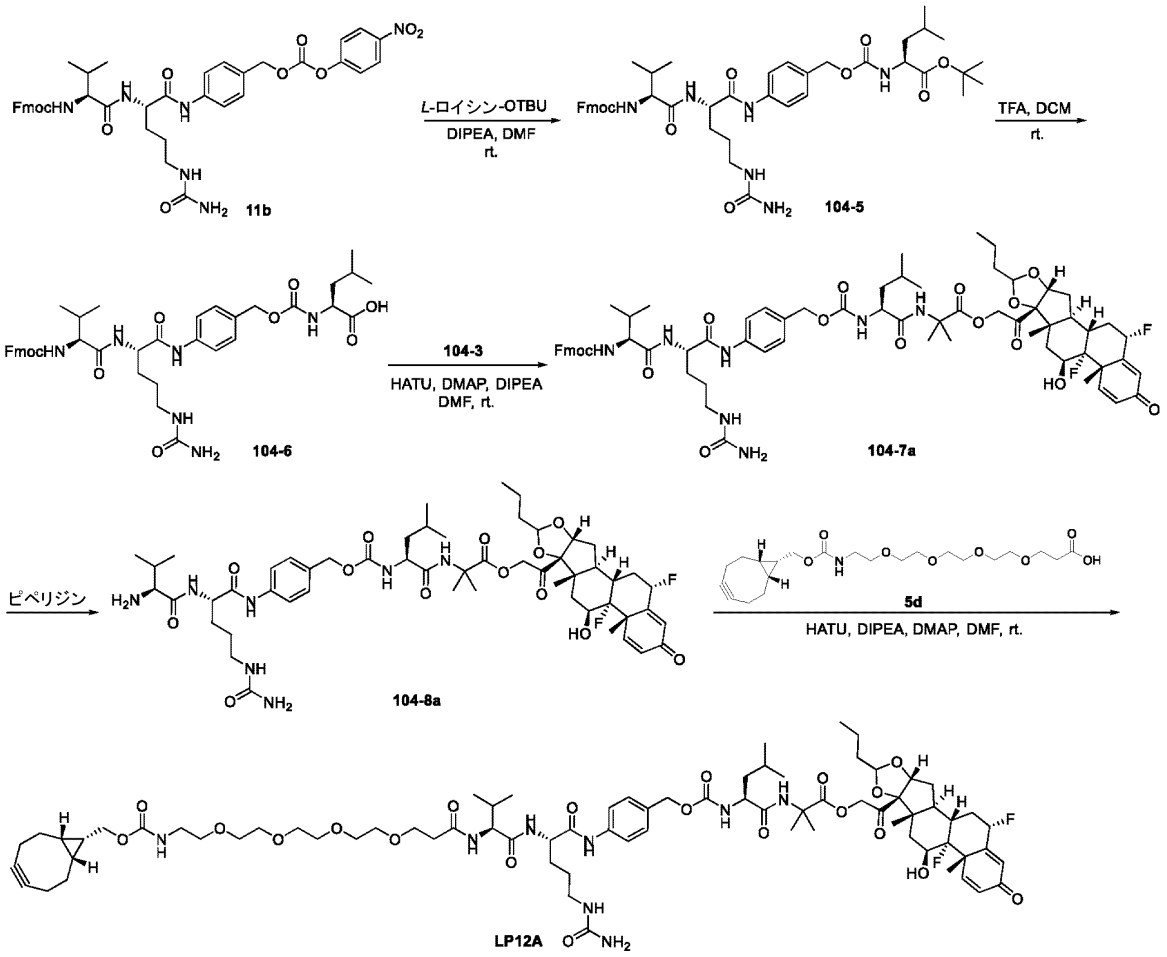


DCM(1.5mL)中の化合物104-4a(25mg、33μmol)の混合物に、TFA(0.15mL)を添加し、LCMSによりBocが完全に除去されるまで、混合物をRTで1時間撹拌した。反応混合物を真空中で濃縮し、残渣を分取HPLC(方法A)により精製すると、化合物104a(13mg、61%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 665.4$(M+H)^+$。

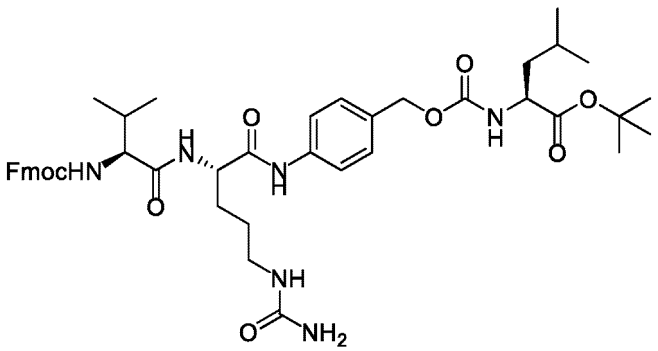
【化647】

^{1}H NMR (400 MHz, $DMSO_{d6}$) δ 8.39 (s, 1H), 8.26 (s, 1H), 7.27 (d, J = 10.0 Hz, 1H), 6.31 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 5.63 (t, J = 24.2 Hz, 2H), 5.30-5.05 (m, 1H), 4.96 (d, J = 17.7 Hz, 1H), 4.81-4.65 (m, 2H), 4.20 (s, 1H), 2.69-2.54 (m, 1H), 2.36-2.15 (m, 1H), 2.12-1.94 (m, 2H), 1.85-1.63 (m, 2H), 1.63-1.53 (m, 3H), 1.52-1.41 (m, 11H), 1.41-1.10 (m, 6H), 0.97-0.76 (m, 12H) ppm.

【０７５９】
(スキーム104B.リンカー-ペイロードLP12Aの合成)
【化６４８】

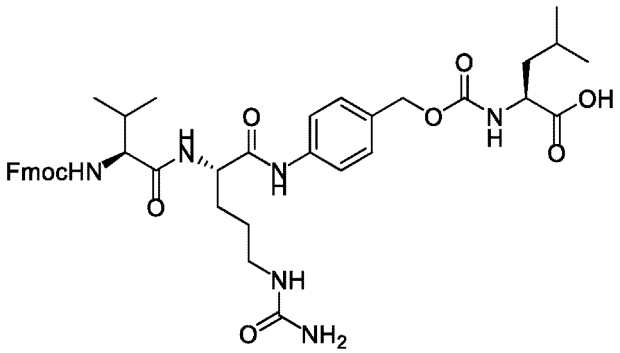


tert-ブチル(2S)-2-{[({4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル]アミノ}-4-メチルペンタノエート(104-5)
【化６４９】

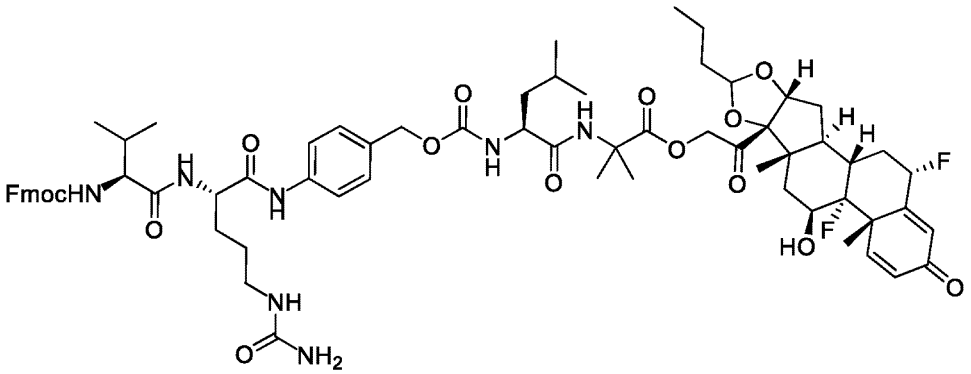


化合物11b(0.30g、0.39mmol)及びH-Leu-OTBU-OH(0.14g、0.63mmol)のDMF(3mL)溶液に、DIPEA(0.26g、2.0mmol)を添加し、反応混合物をRTで2時間撹拌した。得られた混合物を分取HPLC(方法A)によりそのまま精製すると、化合物104-5(0.11g、35%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 815.4$(M+H)^+$。
【０７６０】
(2S)-2-{[({4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボ

ニル]アミノ}-4-メチルペンタン酸(104-6)
【化６５０】

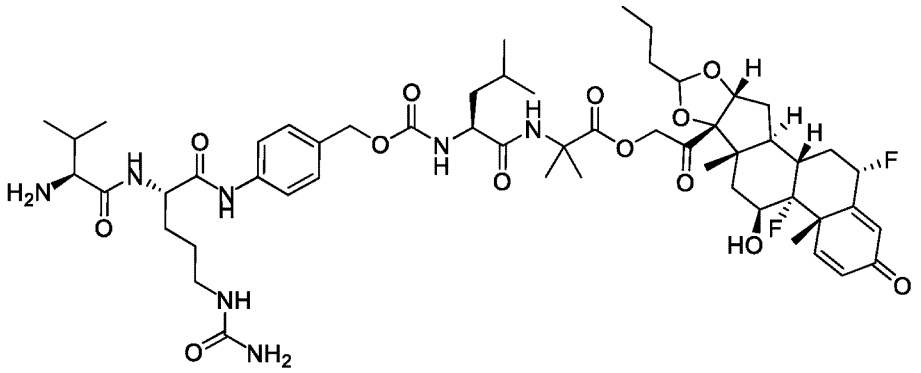


化合物104-5(25mg、31μmol)のDCM(4mL)溶液に、TFA(0.8mL)を添加し、混合物をRTで2時間撹拌した。得られた混合物を真空中で濃縮し、残渣を分取HPLC(方法A)により精製すると、化合物104-6(15mg、67%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 759.3(M+H)$^+$。
【０７６１】
2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル 2-[(2S)-2-{[({4-[(2S)-5-(カルバモイルアミノ)-2-[(2S)-2-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}-3-メチルブタンアミド]ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル]アミノ}-4-メチルペンタンアミド]-2-メチルプロパノエート(104-7a)
【化６５１】



化合物104-5(20mg、26μmol)及び化合物104-3(17mg、32μmol)のDMF(2mL)溶液に、HATU(20mg、52μmol)、DIPEA(13mg、0.10mmol)、及びDMAP(1mg)を添加し、反応混合物をRTで1時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を分取HPLC(方法A)によりそのまま精製すると、化合物104-7a(30mg、89%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1293(M+H)$^+$。
【０７６２】
2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル 2-[(2S)-2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル]アミノ}-4-メチルペンタンアミド]-2-メチルプロパノエート(104-8a)

【化６５２】

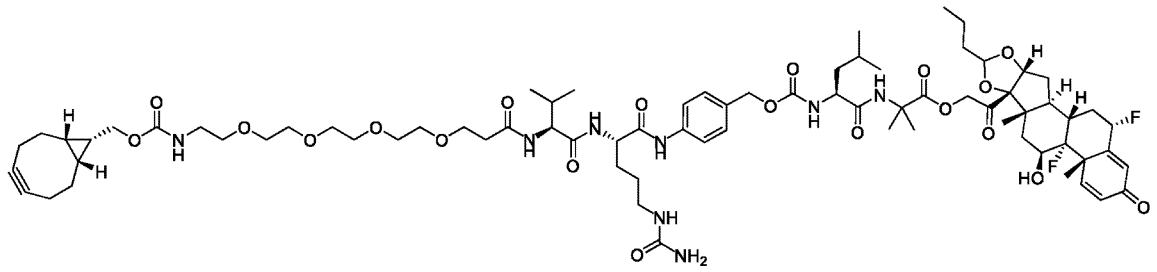


化合物104-7a(25mg、19μmol)のDMF(2mL)溶液に、ピペリジン(0.2mL)を添加し、LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、混合物をRTで30分間撹拌した。反応混合物を逆相フラッシュクロマトグラフィー(水性TFA(0.03%)中の0～50%アセトニトリル)によりすぐに精製すると、化合物104-8a(20mg、95%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 1070.5(M+H)$^+$。

【０７６３】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル 2-[(2S)-2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-({[エンド-ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イルメトキシ]カルボニル}アミノ)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル]アミノ}-4-メチルペンタンアミド]-2-メチルプロパノエート(LP12A)

【化６５３】



化合物104-8a(20mg、26μmol)及び化合物5d(14mg、32μmol)のDMF(2mL)溶液に、HATU(22mg、58μmol)、DIPEA(15mg、0.12mmol)、及びDMAP(1mg)を添加し、反応混合物をRTで2時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を分取HPLC(方法A)によりそのまま精製すると、リンカー-ペイロードLP12A(10mg、21%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 747.6(M/2+H)$^+$。

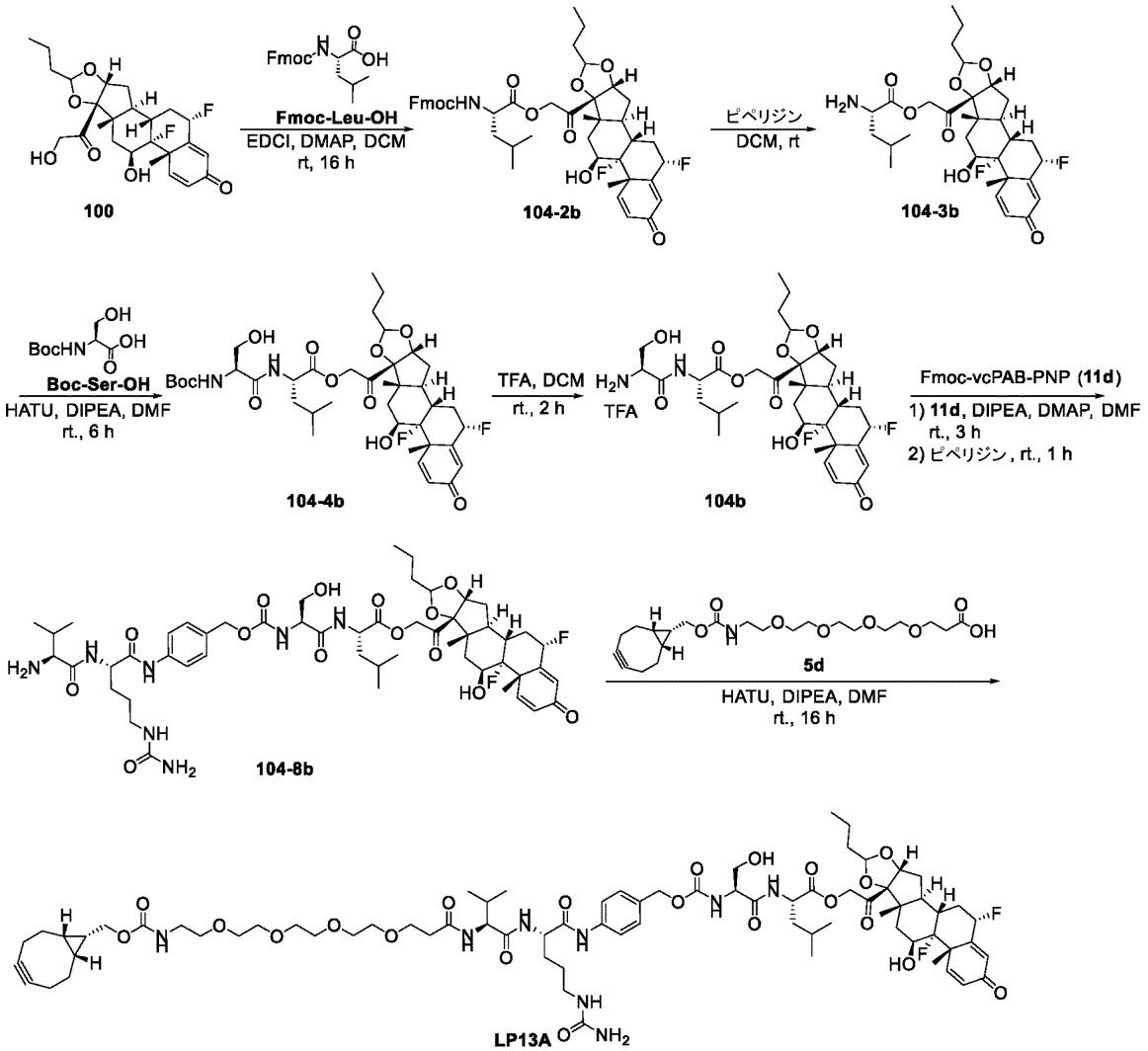
【化６５４】

^{1}H NMR (400 MHz, DMSO$_{d6}$) δ 9.97 (s, 1H), 8.35-8.25 (m, 1H), 8.11 (d, J = 7.4 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 8.2 Hz, 2H), 7.34-7.18 (m, 4H), 7.17-7.04 (m, 1H), 6.30 (d, J = 10.1 Hz, 1H), 6.11 (s, 1H), 6.03-5.90 (s, 1H), 5.72-5.50 (m, 2H), 5.41 (s, 2H), 5.34-3.91 (m, 12H), 3.66-3.38 (m, 15H), 3.15-2.88 (m, 4H), 2.73-2.53 (m, 1H), 2.50-2.45 (m, 1H), 2.41-2.31 (m, 1H), 2.30-1.90 (m, 9H), 1.83-1.62 (m, 2H), 1.63-1.17 (m, 27H), 0.92-0.77 (m, 20H) ppm.

【０７６４】

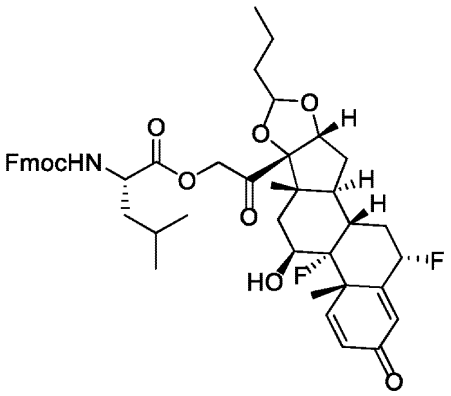
(スキーム104C.ペイロード104b及びそのリンカー-ペイロードLP13Aの合成)

【化６５５】



2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル(2S)-2-{[(9H-フルオレン-9-イルメトキシ)カルボニル]アミノ}-4-メチルペンタノエート(104-2b)

【化６５６】



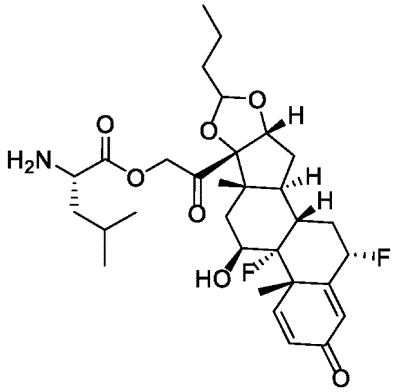
化合物100(0.47g、1.0mmol)及びFmoc-Leu-OH(0.39g、1.1mmol)のDCM(10mL)溶液に、EDCI(0.23g、1.2mmol)及びDMAP(12mg、0.10mmol)を添加した。混合物を

RTで16時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を水(50mL)で希釈し、DCM(50mL×2)で抽出した。合わせた有機溶液を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の10～50%酢酸エチル)により精製すると、化合物104-2b(0.52g、65%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 802.4$(M+H)^+$。

【０７６５】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル(2S)-2-アミノ-4-メチルペンタノエート(104-3b)

【化６５７】

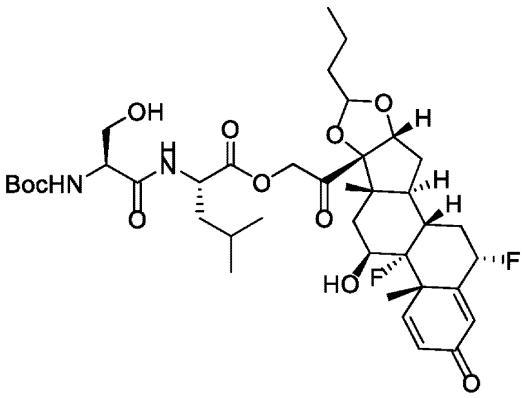


化合物104-2b(0.50g、0.62mmol)のDCM(9mL)溶液に、ピペリジン(1mL)を添加し、LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、反応混合物をRTで30分間撹拌した。得られた混合物を真空中で濃縮した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(DCM中の5～10%メタノール)により精製すると、化合物104-3b(0.32g、90%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 580.3$(M+H)^+$。

【０７６６】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル(2S)-2-[(2S)-2-{[(tert-ブトキシ)カルボニル]アミノ}-3-ヒドロキシプロパンアミド]-4-メチルペンタノエート(104-4b)

【化６５８】



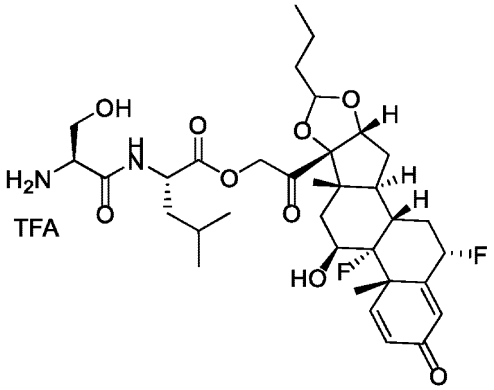
DMF(3mL)中の化合物104-3b(0.32g、0.55mmol)及びBoc-Ser-OH(0.14g、0.66mmol)の混合物に、HATU(0.25g、0.66mmol)及びDIPEA(0.21g、1.6mmol)をRTで添加した。混合物をRTで6時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。得られた混合物を真空中で濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(石油エーテル中の1

0～50%酢酸エチル)により精製すると、化合物104-4b(0.34mg、80%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 767.4(M+H)$^+$。

【０７６７】

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-ヒドロキシプロパンアミド]-4-メチルペンタノエートトリフルオロ酢酸塩(104b)

【化６５９】

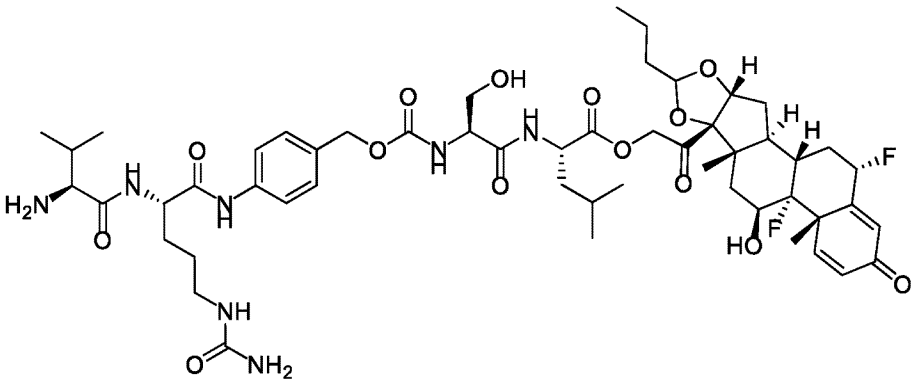


化合物104-4b(0.34g、0.44mmol)のDCM(5mL)溶液に、TFA(1mL)を添加した。LCMSによりBocが完全に除去されるまで、反応混合物をRTで2時間撹拌した。得られた混合物を濃縮すると、残渣(0.33g、95%収率)は、次の工程のために十分純粋であった。100mgの粗生成物を分取HPLC(方法A)によりさらに精製すると、化合物104b(80mg、80%収率)が黄色の固体として得られた。ESI m/z: 667.3(M+H)$^+$。

【０７６８】

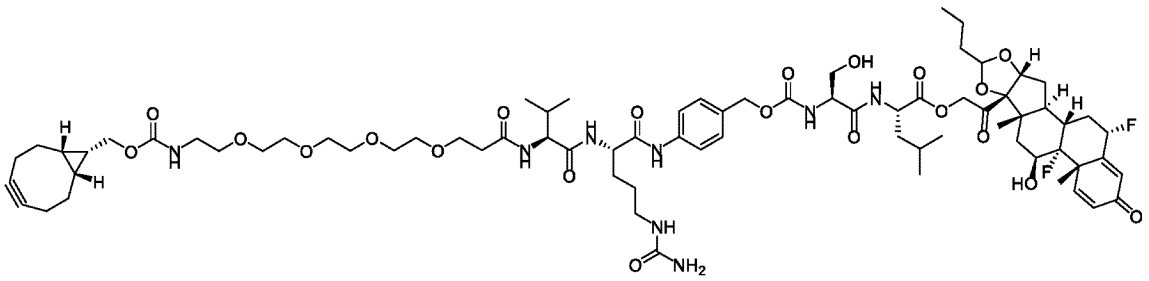
2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル(2S)-2-[(2S)-2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル]アミノ}-3-ヒドロキシプロパンアミド]-4-メチルペンタノエート(104-8b)

【化６６０】



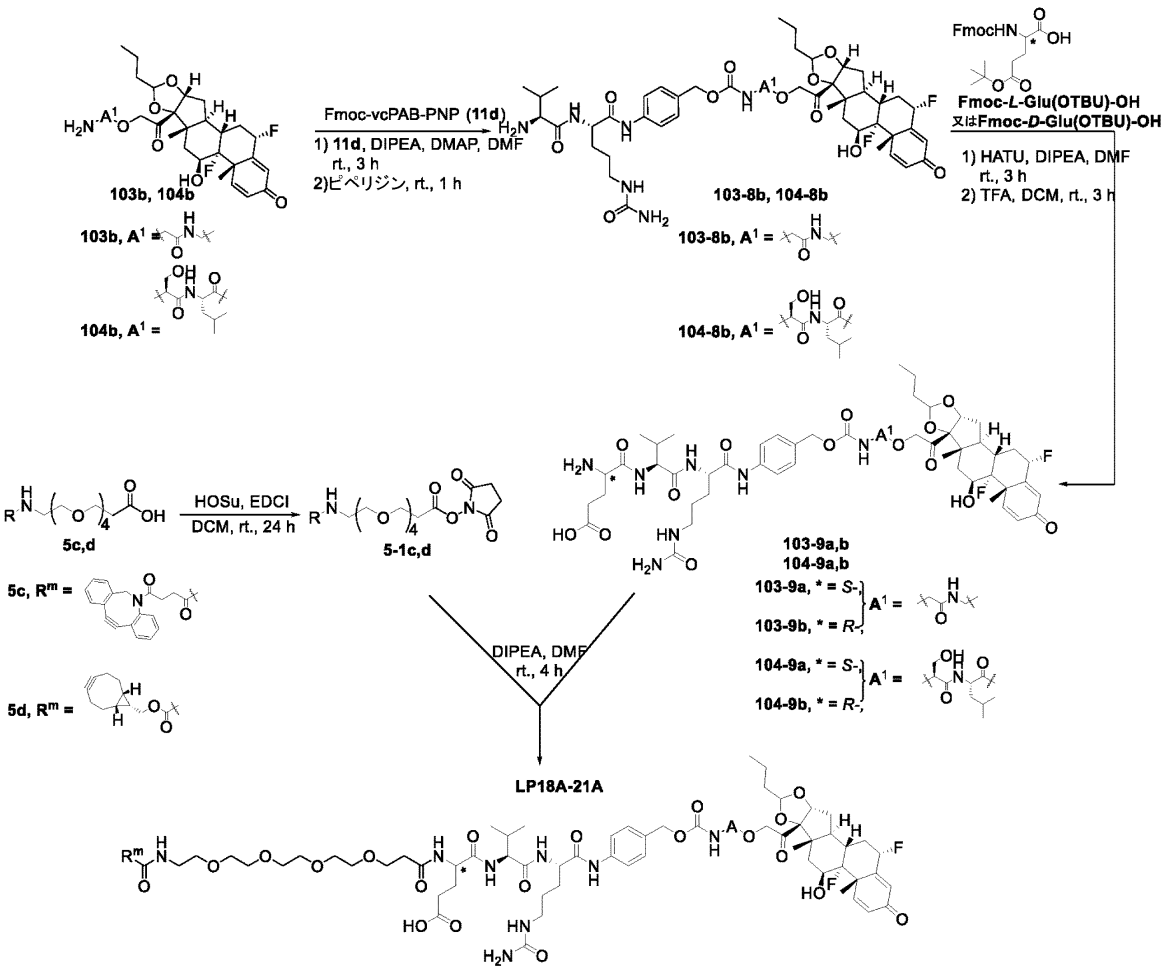
上記の新たに得られた粗化合物104b(0.10g、0.13mmol)のDMF(3mL)溶液に、Fmoc-vcPAB-PNP(11d)(0.12g、0.16mmol)、DMAP(16mg、0.13mmol)、及びDIPEA(50mg、0.39mmol)をRTで添加した。出発材料の大部分が消費されるまで、混合物をRTで3時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、反応混合物に、ピペリジン(1mL)を添加した。LCMSによりFmocが完全に除去されるまで、室温で1時間撹拌した後。反応混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物104-8b(28mg、20%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 536.8(M/2+H)$^+$。

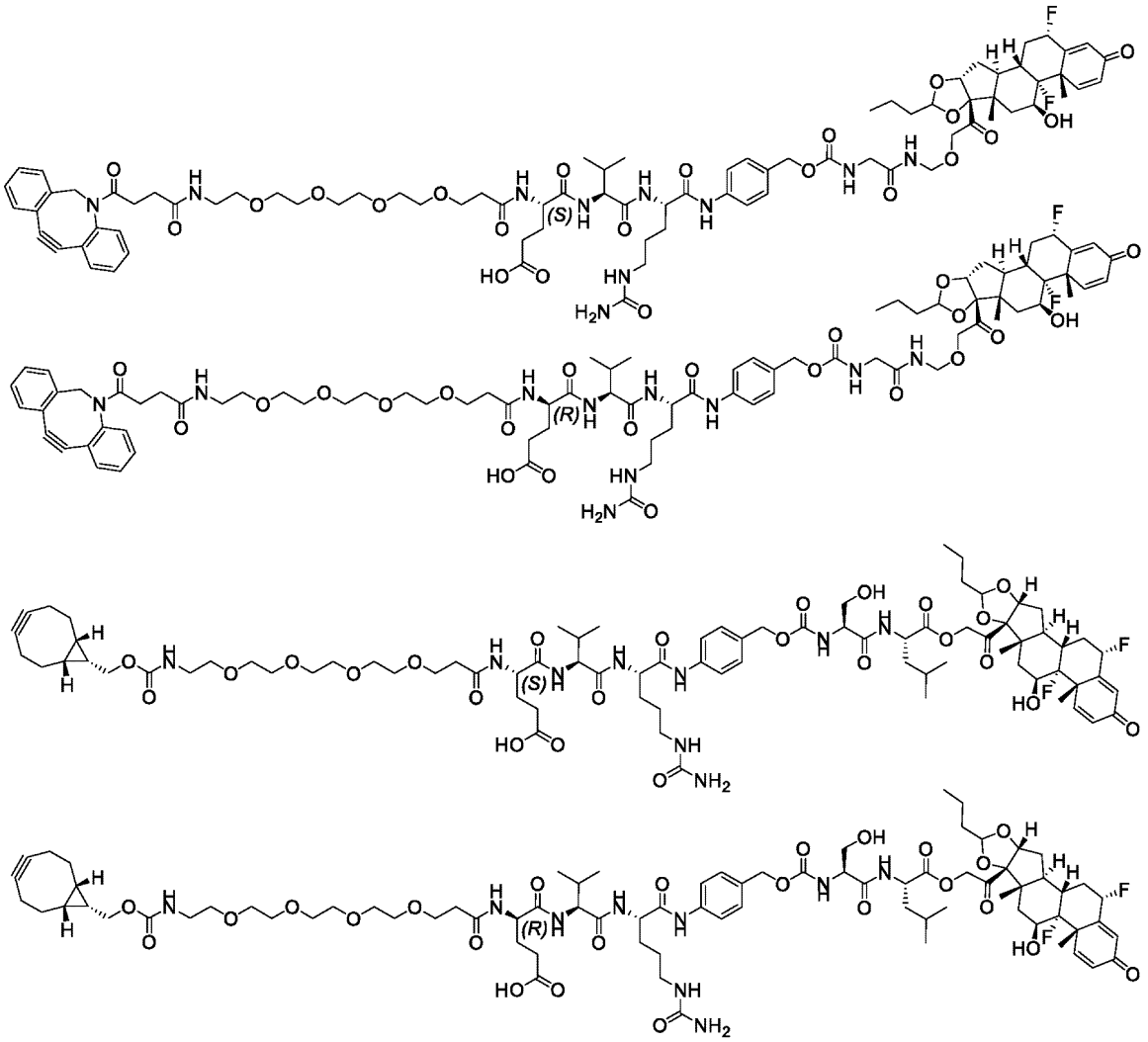
【０７６９】
2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエチル(2S)-2-[(2S)-2-{[({4-[(2S)-2-[(2S)-2-[1-({[エンド-ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イルメトキシ]カルボニル}アミノ)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メトキシ)カルボニル]アミノ}-3-ヒドロキシプロパンアミド]-4-メチルペンタノエート(LP13A)
【化６６１】



化合物5d(10mg、22μmol)のDMF(1mL)溶液に、HATU(9mg、22μmol)及びDIPEA(8.0mg、62μmol)をRTで順次添加した。混合物をRTで30分間撹拌し、その後、化合物104-8b(20mg、19μmol)のDMF(1mL)溶液を添加した。化合物104-8bが消費されるまで、得られた混合物をRTで2時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。膜に通して濾過した後、濾液を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、リンカー-ペイロードLP13A(10mg、35%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 748.4(M/2+H)$^{+}$。
【０７７０】
(スキーム105. LP18A～21Aの合成)

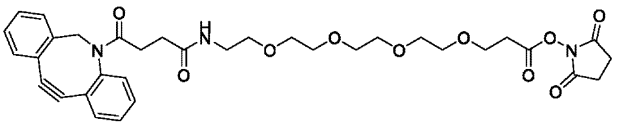
【化６６２】


Fmoc-vcPAB-PNP (11d)
1) 11d, DIPEA, DMAP, DMF
rt., 3 h
2)ピペリジン, rt., 1 h
103b, 104b
103b, A1 =
104b, A1 =
103-8b, 104-8b
103-8b, A1 =
104-8b, A1 =
FmocHN
Fmoc-L-Glu(OTBU)-OH
又はFmoc-D-Glu(OTBU)-OH
1) HATU, DIPEA, DMF
rt., 3 h
2) TFA, DCM, rt., 3 h
HOSu, EDCI
DCM, rt., 24 h
5c,d
5-1c,d
5c, Rm =
5d, Rm =
103-9a,b
104-9a,b
103-9a, * = S-
103-9b, * = R-
104-9a, * = S-
104-9b, * = R-
A1 =
DIPEA, DMF
rt., 4 h
LP18A-21A



2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4,9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-オエート(5-1c)

【化６６３】

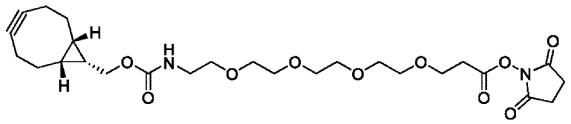


化合物5c(160mg、0.290mmol)のDCM(20mL)溶液に、HOSu(73.3mg、0.637mmol)及びEDCI(122mg、0.637mmol)を添加し、混合物をRTで24時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。反応混合物をDCM(50mL)で希釈し、有機層を水(50mL)及びブラインで洗浄し、無水Na_2SO_4で乾燥させ、真空中で濃縮すると、化合物5-1c(159mg、84%収率)が無色の油状物として得られ、これを次の工程にそのまま使用した。ESI m/z: 650$(M+H)^+$。

【０７７１】

2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 1-[({エンド-ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イルメトキシ}カルボニル)アミノ]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-オエート(5-1d)

【化６６４】

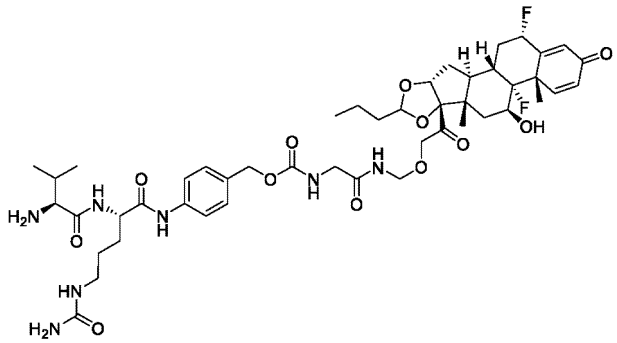


5cの代わりに5dを使用することを除き、5-1cと同様の手順に従うと、化合物5-1d(150mg、54%収率)が無色の油状物として得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程にしそのまま使用した。ESI m/z: 539$(M+H)^+$。

【０７７２】

{4-[(2S)-2-[(2S)-2-アミノ-3-メチルブタンアミド]-5-(カルバモイルアミノ)ペンタンアミド]フェニル}メチル N-{[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.$0^{2,9}$.$0^{4,8}$.$0^{13,18}$]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}メチル)カルバモイル]メチル}カルバメート(103-8b)

【化６６５】

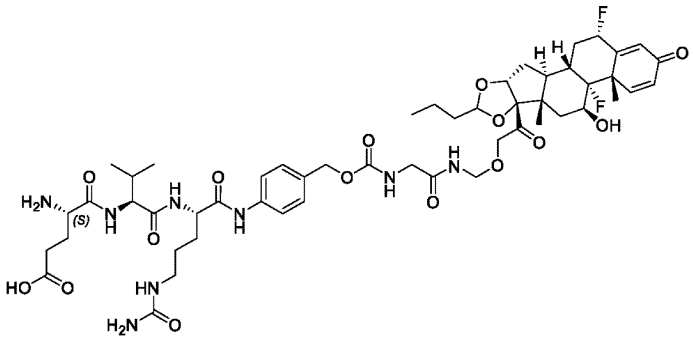


104bの代わりに103bを使用することを除き、104-8bと同様の手順に従うと(スキーム104Cを参照)、化合物103-8b(28mg、20%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 480$(M/2+H)^+$。

【０７７３】

(4S)-4-アミノ-4-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.$0^{2,9}$.$0^{4,8}$.$0^{13,18}$]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}メチル)カルバモイル]メチル}カルバモイル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ブタン酸(103-9a)

【化６６６】



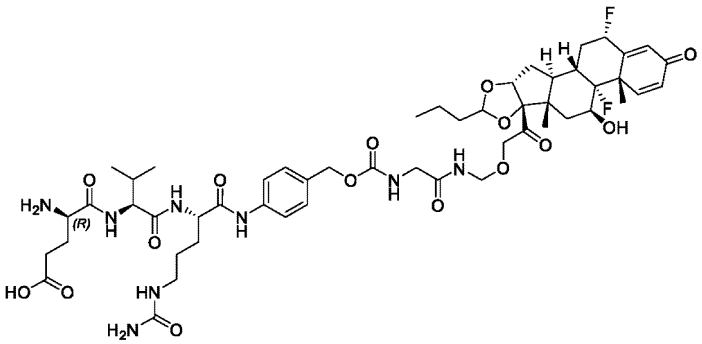
化合物Boc-L-Glu(OTBU)-OH(0.15g、0.50mmol)のDMF(5mL)溶液に、HATU(0.19g、0.50mmol)及びDIPEA(0.13g、1.0mmol)を添加した。反応混合物をRTで10分間撹

拌し、その後、化合物103-8b(0.48g、0.50mmol)を反応混合物に添加した。その後、LCMSにより103-8bが完全に消費されるまで、反応混合物をRTで3時間撹拌した。該混合物をEtOAcで抽出し、合わせた有機溶液を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、真空中で濃縮した。残渣をDCM(10mL)に溶解した。該溶液に、TFA(2mL)を添加し、反応混合物をRTで3時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。該反応混合物を濃縮し、残渣を分取HPLC(方法B)によりそのまま精製すると、化合物103-9a(0.41g、75%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 536.8(M/2+H)$^+$。

【０７７４】

(4R)-4-アミノ-4-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}メチル)カルバモイル]メチル}カルバモイル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ブタン酸(103-9b)

【化６６７】

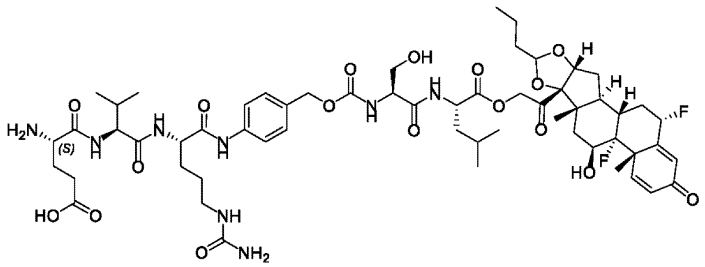


Boc-L-Glu(OTBU)-OHの代わりにBoc-D-Glu(OTBU)-OHを使用することを除き、103-9aと同様の手順に従うと、化合物103-9b(0.40g、74%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 536.8(M/2+H)$^+$。

【０７７５】

(4S)-4-アミノ-4-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-({4-[({[(1S)-1-{[(2S)-1-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2,9}.0^{4,8}.0^{13,18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}-4-メチル-1-オキソペンタン-2-イル]カルバモイル}-2-ヒドロキシエチル]カルバモイル}オキシ)メチル]フェニル}カルバモイル)ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ブタン酸(104-9a)

【化６６８】



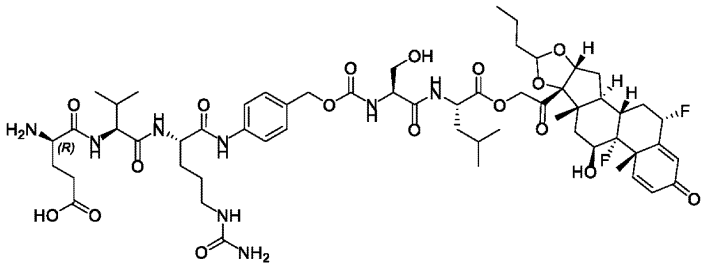
103-8bの代わりに104-8bを使用することを除き、103-9aと同様の手順に従うと、化合物104-9a(0.39g、65%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 601.3(M/2+H)$^+$。

【０７７６】

(4R)-4-アミノ-4-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-({4-[({[(1S)-1-{[(2S)-1-{

2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2},^{9}.0^{4},^{8}.0^{13},^{18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}-4-メチル-1-オキソペンタン-2-イル]カルバモイル}-2-ヒドロキシエチル]カルバモイル}オキシ)メチル]フェニル}カルバモイル)ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ブタン酸(104-9b)

【化６６９】

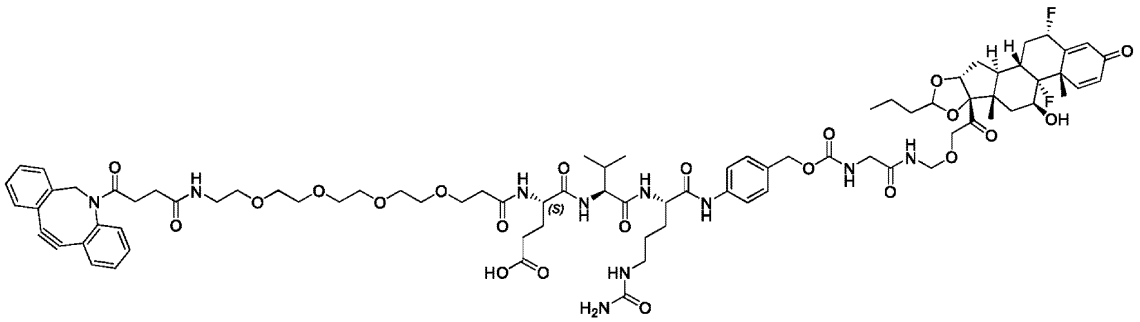


103-8bの代わりに104-8b、Boc-L-Glu(OTBU)-OHの代わりにBoc-D-Glu(OTBU)-OHを使用することを除き、103-9aと同様の手順に従うと、化合物104-9b(0.39g、65%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 601.3(M/2+H)$^{+}$。

【０７７７】

(4S)-4-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4},^{9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-4-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2},^{9}.0^{4},^{8}.0^{13},^{18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}メチル)カルバモイル]メチル}カルバモイル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ブタン酸(LP18A)

【化６７０】



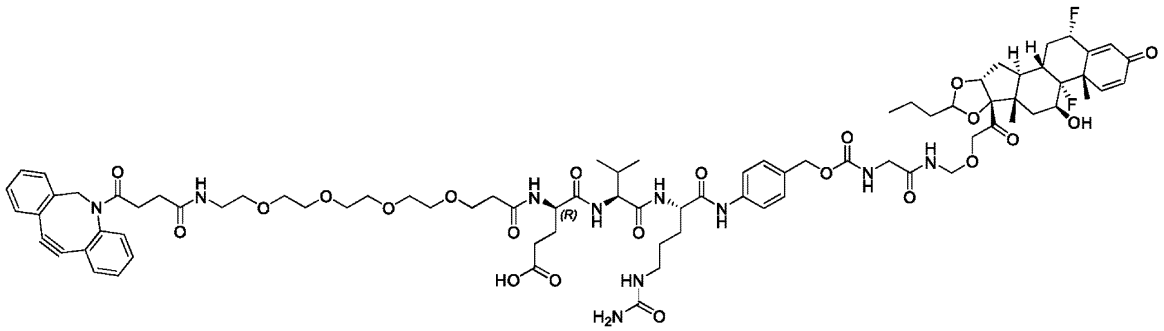
化合物103-9a(57mg、53μmol)のDMF(1mL)溶液に、化合物5-1c(36mg、56μmol)及びDIPEA(27mg、0.21mmol)を添加した。反応混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、得られた混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま分離すると、化合物LP18A(12mg、15%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 811.4(M/2+H)$^{+}$。

【０７７８】

(4R)-4-[1-(4-{2-アザトリシクロ[10.4.0.0^{4},^{9}]ヘキサデカ-1(12),4(9),5,7,13,15-ヘキサエン-10-イン-2-イル}-4-オキソブタンアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド]-4-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-[(4-{[({[({2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2},^{9}.0^{4},^{8}.0^{13},^{18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}メチル)カルバモイル]メチル}カルバモイル)オキシ]メチル}フェニル)カルバモイル]ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ブタン酸(LP1

9A)

【化６７１】

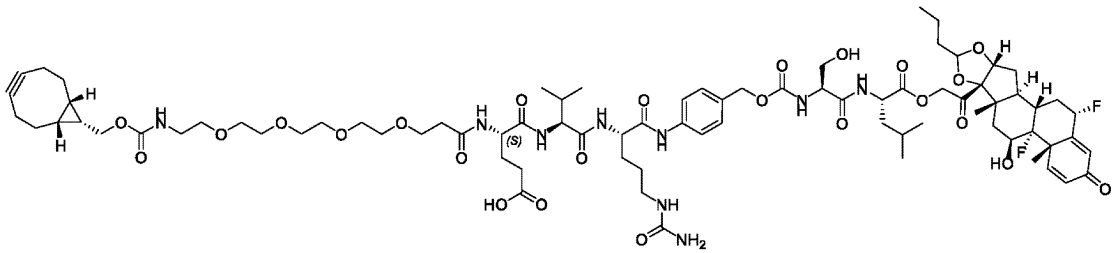


103-9aの代わりに103-9bを使用することを除き、LP18Aと同様の手順に従うと、化合物LP19A(14mg、17%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 811.4(M/2+H)$^{+}$。

【０７７９】

(4S)-4-{1-[({エンド-ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イルメトキシ}カルボニル)アミノ]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}-4-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-({4-[({[(1S)-1-{[(2S)-1-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2},^{9}.0^{4},^{8}.0^{13},^{18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}-4-メチル-1-オキソペンタン-2-イル]カルバモイル}-2-ヒドロキシエチル]カルバモイル}オキシ)メチル]フェニル}カルバモイル)ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ブタン酸(LP20A)

【化６７２】

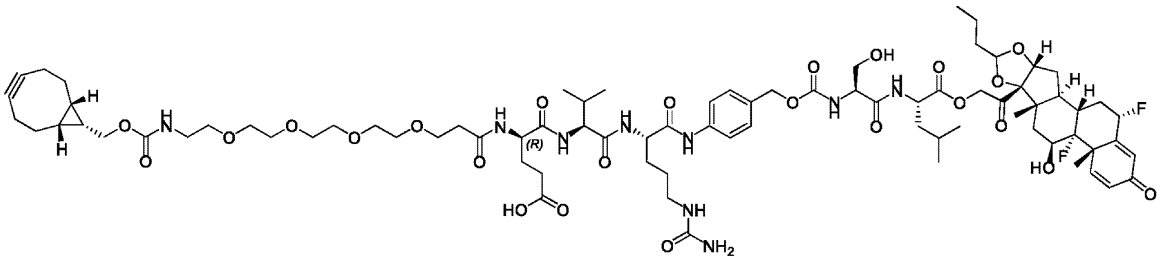


化合物104-9a(64mg、53μmol)のDMF(1mL)溶液に、化合物5-1d(30mg、56μmol)及びDIPEA(27mg、0.21mmol)を添加した。反応混合物をRTで4時間撹拌し、これをLCMSによりモニタリングした。その後、得られた混合物を分取HPLC(方法B)によりそのまま分離すると、化合物LP20A(17mg、20%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 813.0(M/2+H)$^{+}$。

【０７８０】

(4R)-4-{1-[({エンド-ビシクロ[6.1.0]ノナ-4-イン-9-イルメトキシ}カルボニル)アミノ]-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド}-4-{[(1S)-1-{[(1S)-4-(カルバモイルアミノ)-1-({4-[({[(1S)-1-{[(2S)-1-{2-[(1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S,19S)-12,19-ジフルオロ-11-ヒドロキシ-9,13-ジメチル-16-オキソ-6-プロピル-5,7-ジオキサペンタシクロ[10.8.0.0^{2},^{9}.0^{4},^{8}.0^{13},^{18}]イコサ-14,17-ジエン-8-イル]-2-オキソエトキシ}-4-メチル-1-オキソペンタン-2-イル]カルバモイル}-2-ヒドロキシエチル]カルバモイル}オキシ)メチル]フェニル}カルバモイル)ブチル]カルバモイル}-2-メチルプロピル]カルバモイル}ブタン酸(LP21A)

【化６７３】



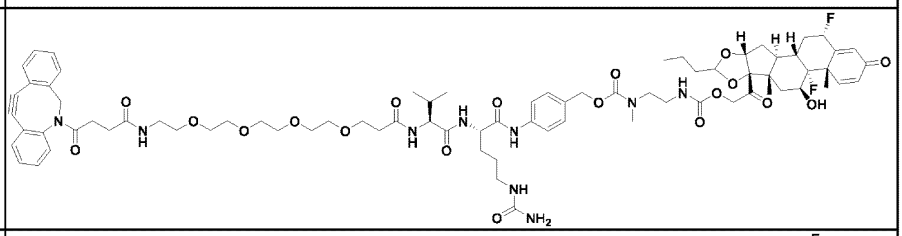
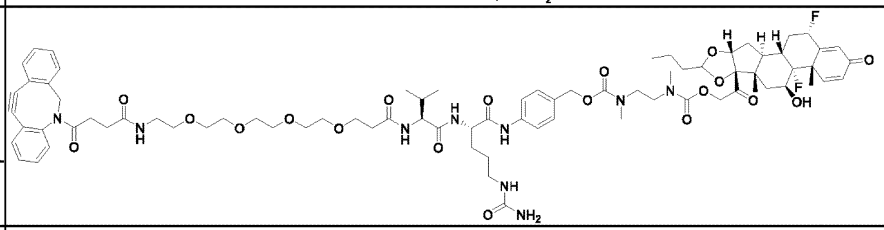
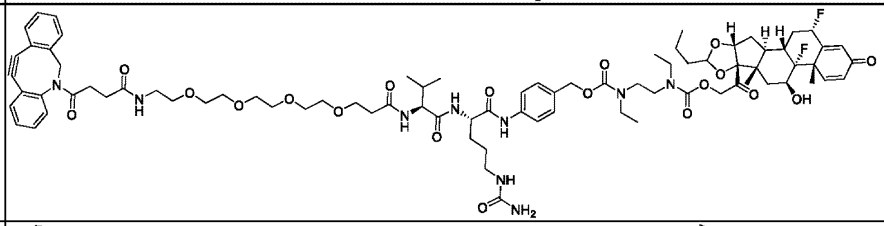
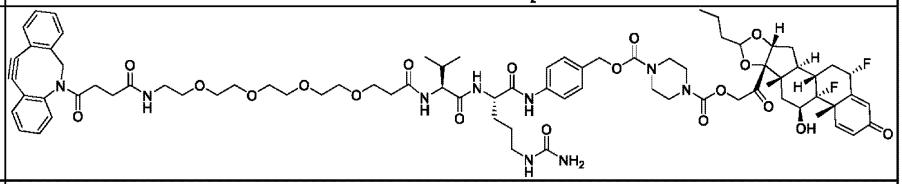
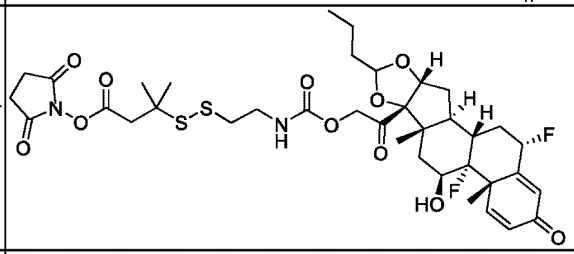
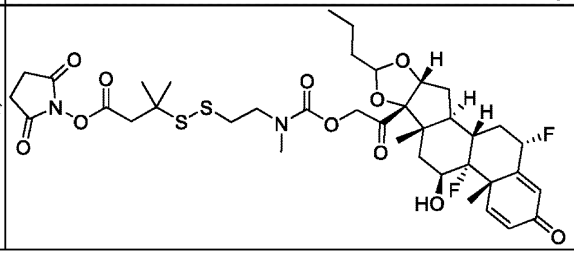
104-9aの代わりに104-9bを使用することを除き、LP20Aと同様の手順に従うと、化合物LP21A(14mg、17%収率)が白色の固体として得られた。ESI m/z: 813.0(M/2+H)$^{+}$。

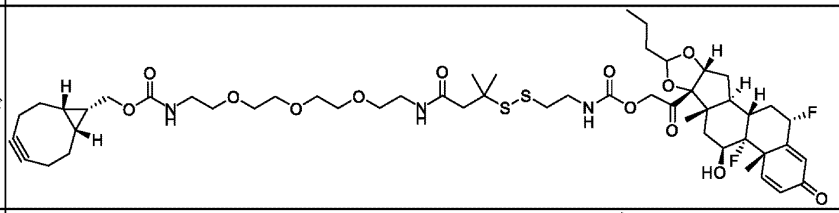
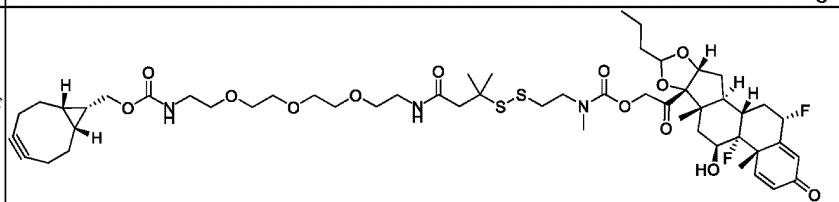
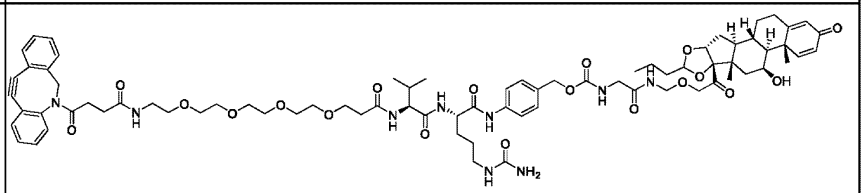
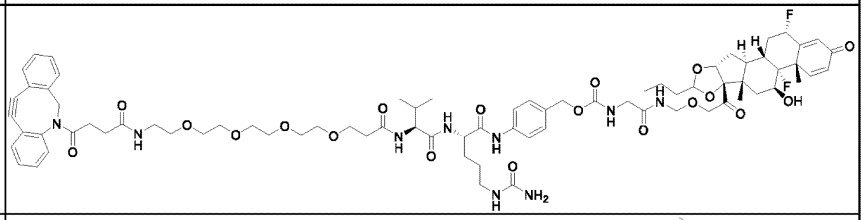
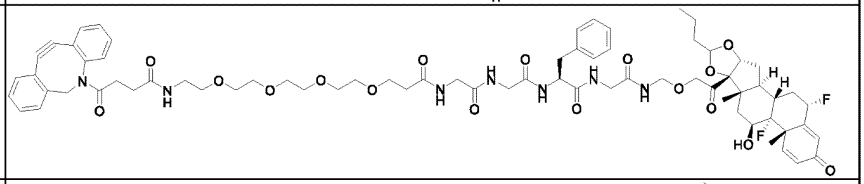
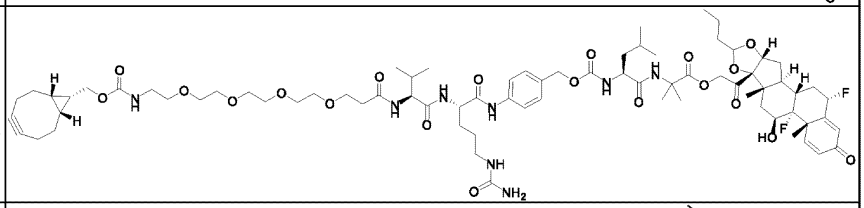
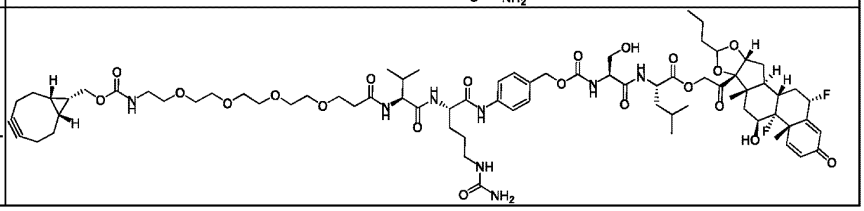
【０７８１】

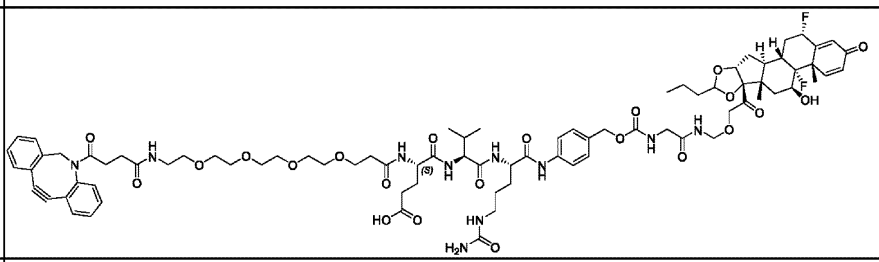
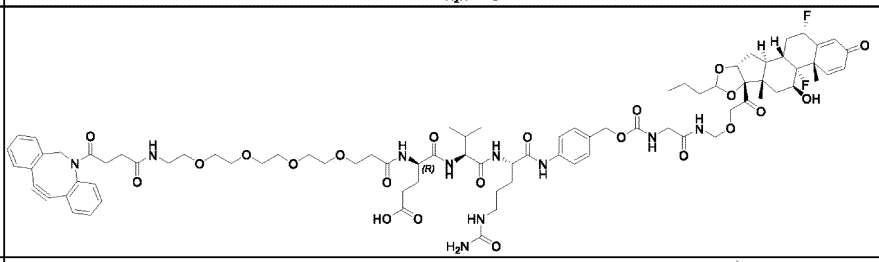
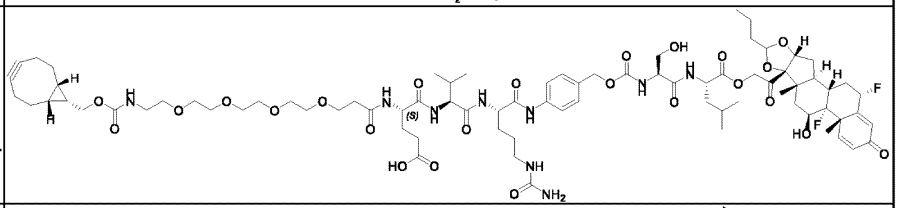
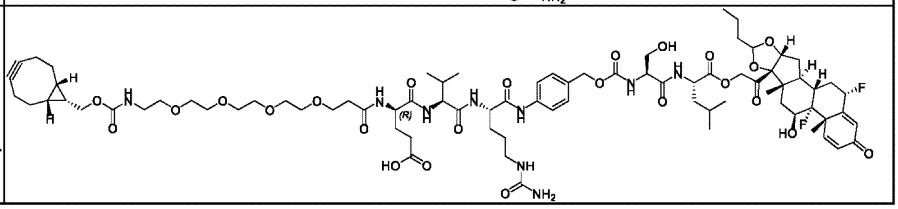
下の表5Bは、本明細書に記載される方法を用いて作製されたリンカーペイロードを提示している。

表5B.リンカー-ペイロードの例

【表４２】

LP	ペイロード	リンカー名	構造
LP1A	101a	DIBAC-suc-PEG4-vcPAB-MEDA-100	
LP2A	101b	DIBAC-suc-PEG4-vcPAB-DMEDA-100	
LP3A	101c	DIBAC-suc-PEG4-vcPAB-DEEDA-100	
LP4A	101d	DIBAC-suc-PEG4-vcPAB-Pip-100	
LP5A	102e	NHS-ジスルフィド-SEA-100	
LP6A	102f	NHS-ジスルフィド-SEMA-100	

LP	ペイロード	リンカー名	構造
LP7A	102e	BCN-PEG3-ジスルフィド-SEA-100	
LP8A	102f	BCN-PEG3-ジスルフィド-SEMA-100	
LP9A	103a	DIBAC-suc-PEG4-vcPAB-Gly-AMO-Bud	
LP10A	103b	DIBAC-suc-PEG4-vcPAB-Gly-AMO-100	
LP11A	103b	DIBAC-suc-PEG4-GGFG-AMO-100	
LP12A	104a	BCN-PEG4-vcPAB-Leu-Aib-100	
LP13A	104b	BCN-PEG4-vcPAB-Ser-Leu-100	

LP	ペイロード	リンカー名	構造
LP18A	103b	DIBAC-suc-PEG4-EVC-PAB-Gly-AMO-100	
LP19A	103b	DIBAC-suc-PEG4-dEVC-PAB-Gly-AMO-100	
LP20A	104b	BCN-PEG4-EVC-PAB-Ser-Leu-100	
LP21A	104b	BCN-PEG4-dEVC-PAB-Ser-Leu-100	

【０７８２】

(実施例27.リンカー-ペイロードの特徴解析)

表16は、リンカー-ペイロードのHPLC純度及びHPLC上でのLC保持時間、質量スペクトルからのM/Zの結果をまとめたものである。分析的HPLC及びMS法は、本明細書に開示される一般的手順において記載された。

表16:リンカー-ペイロードの化学的-物理的特性

【表４３】

LP	cLogP	MF	MW	HPLC 純度 (%)	HPLC RT (分)[1]	MS (m/z) 100%	最大 m/z ピーク
13	**4.39**	C74H94F2N8O17	1405.60	>99	7.40[1]	703.5 (M/2+H)	703.5 (M/2+H)
15	**2.98**	C103H144F2N14O28S	2096.38	98	5.88	699.6 (M/3+H)	1049.0 (M/2+H) (67%)
3	6.25	$C_{80}H_{98}F_2N_8O_{18}$	1497.70	99	7.99[1]	1498.7 (M/2+H)	1498.7 (M+H) (10%)
6	6.59	$C_{115}H_{160}N_{16}O_{28}S$	2245.13	99	7.24	749.5 (M/3+H)	1123.8 (M/2 + H)$^+$

[1]HPLC-MSのための方法B

表17:リンカー-ペイロード特性

【表４４】

LP	cLogP	MF	MW	HPLC 純度 (%)	HPLC RT (分)	MS (m/z) 100%	最大 m/z ピーク
LP1	-0.38	$C_{124}H_{175}N_{11}O_{44}$	2523.76	98	6.45, 6.55 (B)	841.8 [M/3+H]	1262.4 [M/2+H] (30%)
LP2	-3.92	$C_{136}H_{195}N_{11}O_{54}$	2848.04	96	7.48 (B)	955.0 [(M+18)/3] 949.5 (M/3+H)	1424.2 (M/2+H) (30%)
LP3	6.25	$C_{80}H_{98}F_2N_8O_{18}$	1497.67	100	7.99 (B)	749.5 (M/2+H)	1497.7 (M+H) (5%)
LP4	7.53	$C_{72}H_{100}N_{10}O_{13}$	1313.62	96	8.16 (B)	657.5 (M/2+H)	1313.6 (M+H) (5%)
LP5	-1.48	$C_{138}H_{193}N_{15}O_{49}$	2846.08	100	6.11, 6.21 (B)	949.0 (M/3+H)	1423.3 (M/2+H) (5%)
LP6	6.59	$C_{115}H_{160}N_{16}O_{28}S$	2246.66	100	7.24 (B)	749.5 (M/3+H)	1123.8 (M/2+H) (5%)
LP9	8.70	$C_{88}H_{112}N_{10}O_{18}$	1597.89	95	5.67 (B)	799.0 (M/2+H)	799.0 (M/2+H)
LP11	8.17	$C_{89}H_{117}N_{11}O_{16}$	1596.95	95	8.51 (B)	798.5 (M/2+H)	798.5 (M/2+H)
LP12	8.77	$C_{77}H_{86}Cl_2F_6N_{10}O_{15}S$	1608.53	99	9.36 (B)	804.2 (M/2+H)	804.2 (M/2+H)
LP13	4.39	$C_{74}H_{94}F_2N_8O_{17}$	1405.58	100	7.40 (B)	703.5 (M/2+H)	1405.7 (M+H) (5%)
LP14	-5.09	$C_{126}H_{177}F_2N_{13}O_{49}$	2695.81	100	6.23 (B)	899.2 (M/3+H)	1348.6 (M/2+H) (40%)
LP15	2.98	$C_{103}H_{144}F_2N_{14}O_{28}S$	2096.38	98	5.88 (B)	699.6 (M/3+H)	1049.0 (M/2+H) (67%)
LP18	6.49	$C_{101}H_{142}N_{12}O_{23}S$	1924.34	97	7.57 (B)	642.2 (M/3+H)	962.5 (M/2+H) (70%)

表17A　リンカー-ペイロードの特徴解析データ

【表４５】

LP	cLogP	MF	MW	HPLC 純度 (%)	HPLC RT（分）	MS (m/z) 100%	最大 m/z ピーク
LP1A	4.26	$C_{78}H_{101}F_2N_9O_{19}$	1506.71	95		753.9 (m/2+H)	753.9 (m/2+H)
LP2A	4.48	$C_{79}H_{103}F_2N_9O_{19}$	1520.71	97		761.0 (m/2+H)	761.0 (m/2+H)
LP3A	5.20	$C_{81}H_{107}F_2N_9O_{19}$	1548.76	95		775.0 (m/2+H)	775.0 (m/2+H)
LP4A	4.31	$C_{79}H_{101}F_2N_9O_{19}$	1518.69	99		760.0 (m/2+H)	760.0 (m/2+H)
LP5A	3.40	$C_{37}H_{48}F_2N_2O_{11}S_2$	798.91	99		799.3 (m+H)	799.3 (m+H)
LP6A	3.62	$C_{38}H_{50}F_2N_2O_{11}S_2$	812.94	97		813.3 (m+H)	813.3 (m+H)
LP7A	5.20	C52H75F2N3O13S2	1052.29	97		526.7 (m/2+H)	526.7 (m/2+H)
LP8A	5.42	C53H77F2N3O13S2	1066.32	98		533.8 (m/2+H)	533.8 (m/2+H)
LP9A	3.65	$C_{77}H_{101}N_9O_{19}$	1456.70	96		729.0 (m/2+H)	729.0 (m/2+H)
LP10A	3.35	$C_{77}H_{99}F_2N_9O_{19}$	1492.68	95		513.8 (fragment)	747.0 (m/2+H)
LP11A	1.96	$C_{71}H_{87}F_2N_7O_{17}$	1348.51	95		450.2 (m/3+H)	675.2 (m/2+H)
LP12A	5.61	$C_{76}H_{110}F_2N_8O_{20}$	1493.75	90		747.6 (m/2+H)	747.6 (m/2+H)
LP13A	4.13	$C_{75}H_{108}F_2N_8O_{21}$	1495.70	95		748.4 (m/2+H)	748.4 (m/2+H)
LP18A	2.46	$C_{82}H_{106}F_2N_{10}O_{22}$	1621.77	95		811 (m/2+H)	811 (m/2+H)
LP19A	2.46	$C_{82}H_{106}F_2N_{10}O_{22}$	1621.77	95		811 (m/2+H)	811 (m/2+H)
LP20A	3.25	$C_{80}H_{115}F_2N_9O_{24}$	1624.81	95		813 (m/2+H)	813 (m/2+H)
LP21A	3.25	$C_{80}H_{115}F_2N_9O_{24}$	1624.81	95		813 (m/2+H)	813 (m/2+H)

【０７８３】

(実施例28. ADCコンジュゲーション)

本実施例は、全体として、ペイロードの抗体又はその抗原結合断片への部位特異的コンジュゲーションのための方法を示している。図16を参照されたい。

【０７８４】

作製された抗MSR1抗体(表4)を突然変異させて(N297Q)、治療的ペイロードとのコンジュゲーションのためのトランスグルタミナーゼ部位を組み込んだ。N297Q突然変異を含有する部位特異的アグリコシル化抗体をアミン-PEG_3-N_3とコンジュゲートさせて、抗MSR1 Ab-PEG_3-N_3を含む、アジド官能化抗体コンジュゲート(mAb-N_3)を作製した。

【０７８５】
本実施例は、該コンジュゲートを作製するための方法を示している。BupH(商標)(pH 7～8)中のヒトIgG1アイソタイプを有するアグリコシル化抗体を≧200モル当量のアジド-dPEG$_3$-アミン(MW.218.26g/mol)と混合した。得られた溶液をトランスグルタミナーゼ(25U/mL; 1mgの抗体当たり5U MTG)と混合すると、0.5～10mg/mLの最終濃度の抗体が得られ、その後、穏やかに振盪させながら、該溶液を37℃で4～24時間インキュベートした。反応をSDS-PAGE又はESI-MSによりモニタリングした。終了後、余分なアミン及びMTGをサイズ排除クロマトグラフィー(SEC)により除去すると、アジド官能化抗体(mAb-N$_3$)が生成された。この生成物をSDS-PAGE及びESI-MSで解析した。該抗体の2つの部位－Q295及びQ297－に付加されたアジド-dPEG$_3$-アミンは、結果として、4DARのアグリコシル化抗体-PEG$_3$-アジドコンジュゲートについて、804Daの増加をもたらした。コンジュゲーション部位を、トリプシン消化された重鎖のペプチド配列マッピングにより、4DARのアジド官能化抗体について、EEQ^{リンカー}YQ^{リンカー}STYRで同定し、確認した。

【０７８６】
N297Q突然変異を含有するヒトIgG1を有する部位特異的アグリコシル化抗体薬物コンジュゲート(ADC)を、アルキン含有リンカー-ペイロード(LP)を有するアジド官能化抗体(mAb-N$_3$)間の[2+3]クリック反応により調製した。

【０７８７】
リンカー-ペイロード(LP)を有する部位特異的抗体コンジュゲートを、水性媒体(例えば、PBS、5%グリセロールを含有するPBS、HBS)中のmAb-PEG$_3$-N$_3$(1～12mg/mL)を、DMSO、DMF、又はDMAなどの好適な有機溶媒に溶解した≧6モル当量のLPとともに24℃～37℃で30分～24時間インキュベートすることにより調製した(すなわち、反応混合物は、5～20%有機溶媒、v/vを含有する)。反応の進行をESI-MSによりモニタリングし、mAb-PEG$_3$-N$_3$の欠如は、コンジュゲーションの終了を示した。余分な量のLP及び有機溶媒を、PBSによる溶出を介するSECによるか、又は酸性バッファーで溶出させ、その後のトリス(pH 8.0)で中和するプロテインAカラムクロマトグラフィーにより除去した。精製されたコンジュゲートを、SEC、SDS-PAGE、及びESI-MSにより解析した。表19に示されているのは、対応するLP由来のMMAE抗体コンジュゲート、ステロイド抗体コンジュゲート、及びLXRアゴニスト抗体コンジュゲート、それらの分子量及びESI-DAR値のリストである。

【０７８８】
具体的な例において、0.800mLのPBSg(PBS、5%グリセロール、pH 7.4)中のアジド官能化抗体(1mg)を6モル当量の表1のリンカーペイロード(LP)(濃度、DMSO中10mg/mL)でRTで2時間処理し、余分なリンカーペイロード(LP)をサイズ排除クロマトグラフィー(SEC、Superdex 200 HR、GE Healthcare)により除去した。最終生成物を超遠心分離により濃縮し、UV、SEC、SDS-PAGE、及びESI-MSにより特徴解析した。

【０７８９】
(実施例28A: ADCコンジュゲーション)
本実施例は、チオール-マレイミド反応を用いて、薬物と抗体との非部位特異的コンジュゲーションを行うための方法を示している。

【０７９０】
抗体システインを介するコンジュゲーションを、Mol Pharm. 2015 Jun 1;12(6):1863-71に記載されている方法と同様の記載されている方法を用いて、2工程で実施する。

【０７９１】
pH 7.5のモノクローナル抗体(mAb、50mM HEPES、150mM NaCl中10mg/ml)を、1mMジチオスレイトール(抗体1mg当たり0.006mg)又はTCEP(抗体に対して2.5モル当量)で、37℃で30分間還元する。抗体の濃度は、Nanodrop(ThermoFisher Scientific)での280nmにおける吸光度及び該抗体の減衰係数に基づいて計算した。ゲル濾過(G-25、pH 4.5の酢酸ナトリウム)後、DMSO中のLP化合物(10mg/mL)を還元抗体に添加し、混合物を1M HEPES(pH 7.4)でpH 7.0に調整した。反応液を3～14時間反応させておく。

得られるコンジュゲートをSECにより精製した。ncADCの測定された吸光度並びに該抗体及びLP化合物の減衰係数を用いて、DAR(UV)値を決定する。

【０７９２】

(実施例29. LC-ESI-MSによるADCの特徴解析)

薬物-ペイロード分布プロファイルを決定するために及び平均DARを計算するために、LC-ESI-MSによるADC試料のインタクト質量の測定を行った。各々の試験試料(20～50ng、5uL)をAcquity UPLC Protein BEH C4カラム(10K psi、300Å、1.7μm、75μm×100mm;カタログ番号186003810)に充填した。3分間の脱塩の後、タンパク質を溶出させ、質量スペクトルをWaters Synapt G2-Siマススペクトロメトリー計により獲得した。表18にまとめられているように、ほとんどの部位特異的ADCは、部位特異的コンジュゲートについて、3.9～4 DARを有する。

表18: ADC特性

【表４６】

LP #	MW (LP)	Ab, Ab–N_3, 又はncADC	MS m/z (ncADC)	DAR (ESI–MS)
		H1H27729P		
		H1H27729P-N_3	144166	4
1	2523.8	H1H27729P-LP1		
		H1H27731P	144620	4
		H1H27731P-N_3		
1	2523.8	H1H27731P-LP1		
		H1H27732P	144176	5.7
		H1H27732P-N_3		
1	2523.8	H1H27732P-LP1		
		H1H27734P	145110	4.4
		H1H27734P-N_3		
1	2523.8	H1H27734P-LP1		
		H1H27736P	145940	4
		H1H27736P-N_3		
1	2523.8	H1H27736P-LP1		
		H1H27739P	145251	4
		H1H27739P-N_3		
1	2523.8	H1H27739P-LP1		
		H1H27747P	145214	5.3
		H1H27747P-N_3		
1	2523.8	H1H27747P-LP1		
		H1H27749P	143441	4
		H1H27749P-N_3		
1	2523.8	H1H27749P-LP1		
		H1H17751P	146092	3.8
		H1H17751P-N_3		
1	2523.8	H1H17751P-LP1		

LP #	MW (LP)	Ab, Ab–N_3, 又はncADC	MS m/z (ncADC)	DAR (ESI–MS)
		H1H27754P	145477	4.2
		H1H27754P-N_3		
1	2523.8	H1H27754P-LP1		
		H1H27756P	145503	
		H1H27756P-N_3	146310	4
1	2523.8	H1H27756P-LP1	156424	4
		H1H17759P2	145126	
		H1H17759P2-N_3	145930	4
1	2523.8	H1H17759P2-LP1	156046	4
		H1H17760P	145611	
		H1H17760P2-N_3	146431	4
1	2523.8	H1H17760P2-LP1	156533	4
		H1H17761P2	145508	
		H1H17761P2-N_3	146717	6
1	2523.8	H1H17761P-LP1	161884 159158	5.34
		H1H27762P2	144371	
		H1H27762P2-N_3	145177	4
1	2523.8	H1H27762P2-LP1	155294	4
		H1H27766P2	146314	
		H1H27766P2-N_3	147121	4
1	2523.8	H1H27766P2-LP1	157236	4
		H1H27771P2	145966	
		H1H27771P2-N_3	146774	4
1	2523.8	H1H27771P2-LP1	156890	4
		H1H27773P2	145533	
		H1H27773P2-N_3	146337	4
1	2523.8	H1H27773P2-LP1	156453	4
		H1H27778P2	145310	
		H1H27778P2-N_3	146115	4
1	2523.8	H1H27778P2-LP1	156227	4
		H1H21231N		
		H1H21231N-N_3	ロット2	2

LP #	MW (LP)	Ab, Ab–N_3, 又はncADC	MS m/z (ncADC)	DAR (ESI–MS)
1	2523.8	H1H21231N-LP1	ロット4	1.9
		H1H21227N		
		H1H21227N -N_3	ロット2	4
1	2523.8	H1H21227N -LP1	ロット3	3.7
		H1H21231N		
		H1H21231N -N_3	ロット2	6
1	2523.8	H1H21231N -LP1	ロット3	5.9
		H1H21235N	145487	
		H1H21235N -N_3	146288	4
1	2523.8	H1H21235N -LP1	156390	4.1
		H1H25700N	145484	
		H1H25700N -N_3	146688	6
1	2523.8	H1H25700N -LP1	161873	6
		H1H25690N	145157	
		H1H25690N -N_3	145969	4
1	2523.8	H1H25690N -LP1	156060	4.1
		H1H25695N	145736	
		H1H25695N -N_3	146537	4
1	2523.8	H1H25695N -LP1	156637	3.9
		H1H25685N	145380	
		H1H25685N -N_3	146582	6
1	2523.8	H1H25685N -LP1	161767	5.8
		H1H21228N	144830	
		H1H21228N -N_3	145631	4
1	2523.8	H1H21228N -LP1	155732	4.2
		H1H21234N	145790	
		H1H21234N -N_3	146583	4
1	2523.8	H1H21234N -LP1	156691	4
2	2848.1	H1H21234N -LP2	157983	3.9
4	1313.7	H1H21234N -LP4	151841	3.9
5	2846.2	H1H21234N -LP5	157963	3.9
6	2246.7	H1H21234N -LP6	155570	3.9
9	1597.9	H1H21234N -LP9	152975	3.9

LP #	MW (LP)	Ab, Ab–N_3, 又はncADC	MS m/z (ncADC)	DAR (ESI–MS)
11	1597.0	H1H21234N -LP11	152979	3.9
12	1608.6	H1H21234N -LP12	153019	3.9
13	1405.6	H1H21234N -LP13	152218	3.9
14	2695.9	H1H21234N -LP14	157369	3.6
15	2096.4	H1H21234N -LP15	154964	3.9
3	1497.7	H1H21234N -LP3	152568	3.9
Fel D1		アイソタイプ対照-N297Q		
		アイソタイプ対照-N297Q-N_3	146251	4
1	2523.8	アイソタイプ対照-N297Q-LP1	156352	3.9
13	1405.6	アイソタイプ対照-N297Q-LP13	152218	3.9
14	2695.9	アイソタイプ対照-N297Q-LP14	157369	3.6
15	2096.4	アイソタイプ対照-N297Q-LP15	154964	3.9
3	1496.7	アイソタイプ対照-N297Q-LP3	152568	4

【０７９３】

(実施例30. Biacore表面プラズモン共鳴から得られる抗MSR1抗体-薬物コンジュゲートの結合反応速度)

本明細書に開示されるMSR1抗体を様々な肝臓X受容体(LXR)ペイロード又は様々なステロイドペイロードにコンジュゲートした。本実施例は、ヒト抗MSR1抗体-薬物コンジュゲート及びその対応するコンジュゲートされていない親抗体に対するヒトMSR1試薬結合の平衡解離定数(K_D)値がリアルタイム表面プラズモン共鳴ベースのBiacore T200バイオセンサーを用いてどのように決定されたかということを記載している。

【０７９４】

結合試験は全て、10mM HEPES、300mM NaCl、3mM EDTA、及び0.05%v/v界面活性剤Tween-20、pH 7.4(HBS-ET)泳動バッファー中、25℃で実施した。抗MSR1モノクローナル抗体を捕捉するために、最初に、Biacore CM4センサーチップ表面をヤギ抗ヒトFcγ特異的ポリクローナル抗体(Jackson ImmunoResearch Laboratories、カタログ番号BR-1008-39)とのアミンカップリングにより誘導体化した。結合試験は、N-末端ノナヒスチジンタグ付きで発現されるヒトMSR1細胞外ドメイン(His9-hMSR1; R&D Systems、カタログ番号2708-MS)に対して実施した。最初に、様々な濃度のHis9-hMSR1(100nM～3.7nM又は30nM～3.33nM; 3倍連続希釈物)をHBS-ET泳動バッファー中で調製し、抗ヒトFcγ捕捉抗MSR1モノクローナル抗体表面に50μL/分の流速で3分間注入し、その一方で、モノクローナル抗体に結合したMSR1試薬の解離をHBS-ET泳動バッファー中で約8～10分間モニタリングした。

【０７９５】

Scrubber 2.0cカーブフィッティングソフトウェアを用いて、リアルタイム結合センサーグラムを質量移動限界を伴う1:1結合モデルに当てはめることにより、会合速度(k_a)及び解離速度(k_d)を決定した。結合解離平衡定数(K_D)及び解離半減期($t^1/_2$)は、以下のような反応速度から計算した:

【数４】

$$K_D\,(\mathrm{M}) = \frac{kd}{ka}\text{, 及び } t½\,(\text{分}) = \frac{\ln(2)}{60*kd}$$

。

【０７９６】

25℃での様々な抗MSR1抗体-LXR ADC及びそのコンジュゲートされていない親抗体に対するHis9-hMSR1結合の結合反応速度パラメータを表19に示す。「LP1」は、それについてのペイロード構造が実施例11に提供されているリンカー-ペイロードを表す。

表19: 25℃でのMSR1抗体-LXR ADC及び対応するコンジュゲートされていない抗体に対するHis-hMSR1結合の結合反応速度

【表４７】

捕捉された抗体	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (モル濃度)	t½ (分)
H1H27729P-N297Q	1.05E+05	9.06E-04	8.67E-09	12.8
H1H27729P-N297Q-LP1	5.47E+04	7.18E-04	1.31E-08	16.1
H1H27731P-N297Q	1.17E+05	1.00E-05	8.55E-11	1155.2
H1H27731P-N297Q-LP1	1.28E+05	1.00E-05*	7.80E-11	1155.2
H1H27732P-N297Q	2.20E+05	1.00E-05*	4.50E-11	1155.2
H1H27732P-N297Q-LP1	1.50E+05	1.00E-05*	6.60E-11	1155.2
H1H27734P-N297Q	7.72E+04	5.96E-04	7.72E-09	19.4
H1H27734P-N297Q-LP1	6.93E+04	4.49E-04	6.49E-09	25.7
H1H27736P-N297Q	1.14E+05	1.47E-04	1.29E-09	78.7
H1H27736P-N297Q-LP1	9.59E+04	1.21E-04	1.26E-09	95.5
H1H27739P-N297Q	1.19E+05	5.55E-04	4.68E-09	20.8
H1H27739P-N297Q-LP1	8.88E+04	7.22E-04	8.14E-09	16.0
H1H27747P-N297Q	1.17E+05	2.62E-04	2.24E-09	44.1
H1H27747P-N297Q-LP1	1.36E+05	2.03E-04	1.49E-09	56.9
H1H27749P-N297Q	1.43E+05	1.00E-05*	6.99E-11	1155.2
H1H27749P-N297Q-LP1	1.40E+05	1.00E-05*	7.16E-11	1155.2
H1H27751P-N297Q	2.10E+05	1.75E-04	8.33E-10	66.1
H1H27751P-N297Q-LP1	2.29E+05	1.52E-04	6.64E-10	76.1
H1H27754P-N297Q	2.00E+05	1.00E-05*	4.99E-11	1155.2
H1H27754P-N297Q-LP1	1.77E+05	1.00E-05*	5.64E-11	1155.2
H1H27756P-N297Q	7.21E+04	1.19E-04	1.65E-09	97.4
H1H27756P-N297Q-LP1	6.27E+04	1.10E-04	1.76E-09	104.7
H1H27759P-N297Q	1.03E+05	4.35E-04	4.23E-09	26.6
H1H27759P-N297Q-LP1	1.30E+05	5.95E-04	4.57E-09	19.4
H1H27760P-N297Q	2.31E+05	3.83E-04	1.66E-09	30.2
H1H27760P-N297Q-LP1	2.59E+05	4.34E-04	1.67E-09	26.6
H1H27761P-N297Q	5.95E+05	3.62E-04	6.09E-10	31.9
H1H27761P-N297Q-LP1	2.53E+05	5.11E-04	2.02E-09	22.6
H1H27762P-N297Q	4.05E+05	5.60E-04	1.38E-09	20.6
H1H27762P-N297Q-LP1	4.83E+05	6.23E-04	1.29E-09	18.5
H1H27766P-N297Q	1.72E+05	1.00E-05*	5.83E-11	1155.2
H1H27766P-N297Q-LP1	4.16E+05	2.70E-05	6.49E-11	427.4
H1H27771P-N297Q	3.83E+05	3.55E-04	9.26E-10	32.6
H1H27771P-N297Q-LP1	3.38E+05	4.42E-04	1.31E-09	26.1
H1H27773P-N297Q	5.49E+04	7.52E-04	1.37E-08	15.4
H1H27773P-N297Q-LP1	2.72E+04	9.47E-04	3.48E-08	12.2
H1H27778P-N297Q	1.66E+05	2.71E-04	1.63E-09	42.6
H1H27778P-N297Q-LP1	2.85E+05	2.76E-04	9.70E-10	41.8
H1H21234N-N297Q	2.20E+05	1.00E-05*	4.54E-11	1155.2
H1H21234N-N297Q-LP1	4.90E+05	1.00E-05*	2.04E-11	1155.2
H1xH29273P2	8.20E+04	7.63E-03	9.30E-08	1.5
H1xH29282P2	8.28E+04	3.62E-03	4.37E-08	3.2
H1xH29283P2	1.39E+05	1.85E-03	1.34E-08	6.2

*は、現在の実験条件下でHis9-hMSR1の解離が観察されず、データをフィッティングする間、k_d値が手動で1.00E-05に固定されたことを示している。
$は、現在の実験条件下で結合が観察されなかったことを示している。

【０７９７】

表19に示されているように、25℃で、様々な抗MSR1抗体-LXRコンジュゲートは、0.6pM以下～34.8nMの範囲のK_D値で9xHis-hMSR1に結合し、その一方、コンジュゲートされていない親抗体は、0.6pM以下～13.7nMの範囲のK_D値で9xHis-hMSR1に結合した。

【０７９８】

結合試験を抗MSR1抗体H1H21234-N297Q及びステロイドリンカーペイロード(LP)で繰り返した。25℃でのHis9-hMSR1結合の結合反応速度パラメータを表20に示す。「LP3」は、それについて構造が実施例23に提供されているリンカー-ペイロードを表し、「LP13」は、それについて構造が実施例24に提供されているリンカー-ペイロードを表す。

表20: 25℃でのMSR1抗体-ステロイドADC及び対応するコンジュゲートされていない抗体に対するHis-hMSR1結合の結合反応速度

【表４８】

捕捉された抗体	ka ($M^{-1}s^{-1}$)	kd (s^{-1})	K_D (モル濃度)	t½ (分)
H1H21234N-N297Q *	3.00E+05	1.00E-05	3.33E-11	1155.2
H1H21234N-N297Q-LP3 *	4.17E+05	1.00E-05	2.40E-11	1155.2
H1H21234N-N297Q-LP13 *	4.00E+05	1.00E-05	2.50E-11	1155.2

*は、現在の実験条件下でHis9-hMSR1の解離が観察されず、データをフィッティングする間、k_d値が手動で1.00E-05に固定されたことを示している。

$は、現在の実験条件下で結合が観察されなかったことを示している。

【０７９９】

25℃で、LP3及びLP13とコンジュゲートされた抗MSR1モノクローナル抗体は、表20に示されているように、それぞれ、25.0pM～24.0pMの範囲のK_D値でHis9-hMSR1に結合した。比較すると、対応するコンジュゲートされていない抗MSR1モノクローナル抗体は、33.3pMのK_D値でHis9-hMSR1に結合した。

【０８００】

(実施例31.抗MSR1抗体-LXRコンジュゲートはLXR-ルシフェラーゼレポーターバイオアッセイでLXRシグナル伝達を活性化する)

アッセイ細胞株の作製。インビトロでの抗MSR1抗体-LXRコンジュゲートの効力を試験するために、細胞ベースのLXR応答ルシフェラーゼレポーターアッセイを開発した。アッセイ細胞株を作製するために、LXR調節型ルシフェラーゼレポーター遺伝子[Cignalレンチ LXRレポーター(luc)キット(Qiagen、カタログ番号CLS-001L)]をTHP1細胞に形質導入し、細胞をピューロマイシン中で2週間選択した。このレンチウイルスは、最小CMVプロモーター及びLXR転写応答エレメントのタンデムリピートの制御下でホタルルシフェラーゼ遺伝子を発現する。得られる細胞株をTHP1/LXR-Luc細胞と呼ぶ。

【０８０１】

アッセイプロトコル。THP1/LXR-Luc細胞を、10%FBS及びペニシリン/ストレプトマイシンが補充されたRPMIを含有する培地中、40,000細胞/ウェルで、96ウェルプレートに播種し、その後、200nMホルボールミリステート酢酸塩(PMA)で、3日間分化させた。3日間の分化期間の後、新鮮な培地中の抗体薬物コンジュゲート、コンジュゲートされていない抗体、又は遊離ペイロードの3倍連続希釈物を100nM～0.01nMの範囲の最終濃度で細胞に添加した。培地のみは、ブランク対照としての役割を果たした。48時間後、One-Glo(商標)試薬(Promega、カタログ番号E6130)を各々のウェルに添加した後に、ルシフェラーゼ活性を決定した。相対発光単位(RLU)をVictorルミノメーター(PerkinElmer)で測定し、EC_{50}値を10点用量応答曲線(GraphPad Prism)に対する4パラメータロジスティック方程式を用いて決定した。各々の被験試薬のEC_{50}値は、表21に示されている。コンジュゲートされていない抗MSR1抗体又は遊離ペイロードの各々について、標準的なもの1つのRLU/標準的なもの8つのRLUを計算することにより、シグナル対ノイズ比(S/N)を決定した。「LP#」は、それについての対応する構造が本明細書中の別の場所に提供されているリンカー-ペイロードを表し、「P#」は、それについての対応する構造が本明細書中の別の場所に提供されているペイロードを表す。

表21:抗MSR1抗体-LXRコンジュゲート、ペイロード、及びコンジュゲートされていない抗体のアゴニスト活性

【表４９】

試験された分子	EC_{50} (M)	S/N
H1H21231N-N297Q-LP1	8.6E-10	14.5
H1H21227N-N297Q-LP1	8.9E-10	31.0
H1H21231N-N297Q-LP1	1.73E-09	38.6
H1H21234N-N297Q-LP1	3.65E-09	18.4
H1H21234N-N297Q-LP4	6.3E-10	9.0
H1H21234N-N297Q-LP5	9.8E-10	9.6
H1H21234N-N297Q-LP6	1.02E-09	9.2
H1H21234N-N297Q-LP12	活性化なし	1.5
H1H21234N-N297Q-LP9	1.12E-09	8.3
H1H21234N-N297Q-LP11	8.1E-10	10.0
H1H21234N-N297Q-LP2	8.7E-10	9.1
H1H27729P-N297Q-LP1	1.64E-09	14.5
H1H27731P-N297Q-LP1	1.46E-09	15.5
H1H27732P-N297Q-LP1	8.2E-10	19.1
H1H27734P-N297Q-LP1	5.19E-09	17.8
H1H27736P-N297Q-LP1	1.01E-09	16.4
H1H27739P-N297Q-LP1	1.60E-09	21.0
H1H27747P-N297Q-LP1	4.77E-09	20.6
H1H27749P-N297Q-LP1	1.46E-09	13.1
H1H27751P-N297Q-LP1	1.54E-09	17.9
H1H27754P-N297Q-LP1	1.30E-09	17.3
H1H27756P-N297Q-LP1	1.61E-09	18.6
H1H27759P-N297Q-LP1	5.94E-09	18.9
H1H27760P-N297Q-LP1	6.34E-09	21.5
H1H27761P-N297Q-LP1	5.72E-09	20.7
H1H27762P-N297Q-LP1	7.02E-09	16.4
H1H27766P-N297Q-LP1	1.277E-08	11.3
H1H27771P-N297Q-LP1	2.41E-09	17.3
H1H27773P-N297Q-LP1	>4.05E-08	12.9
H1H27778P-N297Q-LP1	1.51E-09	16.1
H1H21235N-N297Q-LP1	8.3E-10	8.2
H1H25700N-N297Q-LP1	1.13E-09	7.4
H1H25690N-N297Q-LP1	2.5E-10	8.0
H1H25695N-N297Q-LP1	1.87E-09	9.8
H1H25685N-N297Q-LP1	7.8E-10	8.3
H1H21228N-N297Q-LP1	1.8E-09	8.6
アイソタイプ対照-N297Q-LP1	>6.6E-08	2.7
H1H21234N-N297Q	活性化なし	活性化なし
P1	1.14E-09	15.9
P5	4.6E-10	5.7
P7	2.09E-09	8.9
P6	3.7E-10	8.3

【０８０２】

表21に示されているように、48時間の時点で、LP1とコンジュゲートされた抗MSR1抗体は全て、0.2nM～140.5nM超の範囲のEC_{50}値及び7.4～38.6の範囲のS/N値で、THP1/Luc細胞の刺激を示した。ある例示的な抗MSR1抗体-LXRコンジュゲート(H1H21234N-N297Q-LP1)は、3.7nMのEC_{50}値及び18.4のS/Nで、THP1/Luc細胞の刺激を示した。遊離ペイロードP1は、15.9nMの平均EC_{50}で、THP1/Luc細胞の刺激を示した。LP1とコンジュゲートされたアイソタイプ対照抗体(アイソタイプ対照-LP1)は、＞66nMの平均EC_{50}値及び2.7のS/Nを有していた。さらに、さらなる被験LXRアゴニストリンカー-ペイロードとコンジュゲートされたH1H21234N-N297Q(H1H21234N-N297Q-LP4、H1H21234N-N297Q-LP5、H1H21234N-N297Q-LP6、H1H21234N-N297Q-LP12、H1H21234N-N297Q-LP9、H1H21234N-N297Q-LP11、及びH1H21234N-N297

Q-LP2)は、0.63nM～73nM超の範囲のEC_{50}値及び1.4～10の範囲のS/Nで、THP1/Luc細胞の刺激を示した。対照的に、本アッセイにおける比較基準物質としての役割を果たすLXRアゴニストリンカー-ペイロードにコンジュゲートされた抗MSR1抗体(H1H21234N-N297Q-LP12)は、THP1/Luc細胞の活性化を示さなかった。さらなる被験LXRアゴニストペイロード(P5、P7、及びP6)は、0.37nM～2.09nMの範囲のEC_{50}値及び5.7～8.9の範囲のS/Nで、THP1/Luc細胞の刺激を示した。あるコンジュゲートされていない抗MSR1抗体(H1H21234N)単独では、THP/Luc細胞の刺激に何ら影響を及ぼさなかった。

【０８０３】

(実施例32.抗MSR1抗体-ステロイドコンジュゲートはLPS媒介性IL-1βの放出をインビトロで阻害する)

インビトロでの抗MSR1抗体-ステロイドコンジュゲートの抗炎症特性を試験するために、リポ多糖(LPS)媒介性IL-1β放出アッセイを実施した。本アッセイのために、THP-1細胞を、10%FBS及びペニシリン/ストレプトマイシンが補充されたRPMIを含有する培地中、40,000細胞/ウェルで、96ウェルプレート上に播種し、200nMホルボールミリステート酢酸塩(PMA)で3日間分化させた。3日間の分化期間の後、新鮮な培地中の抗体薬物コンジュゲート、コンジュゲートされていない抗体、又は遊離ペイロードの3倍連続希釈物を該細胞に100nM～0.01nMの範囲の最終濃度で添加した。培地のみは、ブランク対照としての役割を果たした。その後、24、48、又は72時間後に、細胞を100ng/ml LPS(InVivoGen, Cat# tlrl-eklps)で5時間処理した。その後、細胞培地を回収し、V-PLEX炎症促進パネル1ヒトキット(Meso Scale Diagnostics, Cat # 15049D-2)を製造元の指示に従って用いて、IL-1βレベルを測定した。その後、プレートをMeso Scale Diagnostics装置で読み取った。

【０８０４】

10点応答曲線(GraphPad Prism)に対する4パラメータロジスティック方程式を用いて、IC_{50}値を決定した。IC_{50}値は全て、M(モル)濃度で表される。抗体-ステロイドコンジュゲート又は対照の最大濃度でのIC_{50}値及びIL-1β量が、各々の時点が試験された表22に示されている。

【表５０】

表22:抗MSR1抗体−ステロイドコンジュゲートのLPS誘導性IL−1β放出

	24時間		48時間		72時間	
分子	EC_{50} (M)	試験された最大濃度で放出されたIL1β (pg/mL)	EC_{50} (M)	試験された最大濃度で放出されたIL1β (pg/mL)	EC_{50} (M)	試験された最大濃度で放出されたIL1β (pg/mL)
H1H21234N-N297Q-LP13	6.287E-09	119.43	3.586E-09	69.3	1.7E-09	70.31
アイソタイプ対照-N297Q-LP13	NA	209.6	NA	279.4	NA	276.27
H1H21234N-N297Q	NA	234.21	NA	267.7	NA	355.76
P4	8.486E-10	43.39	1.017E-09	9.3	1.199E-09	12.95
デキサメタゾン	4.199E-10	45.33	7.941E-10	11.8	5.433E-10	13.34

【０８０５】

表22に示されているように、24時間の時点で、抗MSR1抗体-ステロイドコンジュゲート(H1H21234N-N297Q-LP13)は、6.287nMのIC_{50}で、LPS誘導性IL-1β分泌を阻害した。遊離ペイロードP4及び遊離ペイロード対照デキサメタゾンは、それぞれ、0.8486nM及び0.4199nMのIC_{50}値でLPS誘導性IL-1β分泌を阻害した。LP13とコンジュゲートされたアイソタイプ対照抗体(アイソタイプ対照-N297Q-LP13)も、コンジュゲートされていない抗MSR1抗体(H1H21234N-N297Q)も、LPS誘導性IL-1β放出に対して何ら影響を及ぼさなかった。

【０８０６】

表22に示されているように、48時間の時点で、抗MSR1抗体-ステロイドコンジュゲート(H1H21234N-N297Q-LP13)は、3.586nMのIC$_{50}$で、LPS誘導性IL-1β分泌を阻害した。遊離ペイロードP4及び遊離ペイロード対照デキサメタゾンは、それぞれ、1.017nM及び0.7941nMのIC$_{50}$値でLPS誘導性IL-1β分泌を阻害した。LP13とコンジュゲートされたアイソタイプ対照抗体(アイソタイプ対照-N297Q-LP13)も、コンジュゲートされていない抗MSR1抗体(H1H21234N-N297Q)も、LPS誘導性IL-1β放出に対して何ら影響を及ぼさなかった。

【０８０７】

表22に示されているように、72時間の時点で、抗MSR1抗体-ステロイドコンジュゲート(H1H21234N-N297Q-LP13)は、1.7nMのIC$_{50}$で、LPS誘導性IL-1β分泌を阻害した。遊離ペイロードP4及び遊離ペイロード対照デキサメタゾンは、それぞれ、1.199nM及び0.5433nMのIC$_{50}$値でLPS誘導性IL-1β分泌を阻害した。LP13とコンジュゲートされたアイソタイプ対照抗体(アイソタイプ対照-N297Q-LP13)も、コンジュゲートされていない抗MSR1抗体(H1H21234N-N297Q)も、LPS誘導性IL-1β放出に対して何ら影響を及ぼさなかった。

【０８０８】

(実施例33.抗MSR1抗体-ステロイドコンジュゲートはインビボでのLPS媒介性炎症応答の放出を阻害する)

抗MSR1抗体-ステロイドコンジュゲートの抗炎症効果を調べるために、エクスビボ及びインビボLPS誘導性炎症性免疫応答モデルを実施した。

【０８０９】

マウス炎症免疫応答モデルの作製。マウスMSR1細胞外ドメインの代わりにヒトMSR1細胞外ドメインをホモ接合性に発現し、かつApoE遺伝子のホモ接合性欠失を有するマウスを利用した(得られるマウスは、Msr1$^{hu/hu}$ ApoE$^{-/-}$マウスと呼ばれる)。

【０８１０】

エクスビボLPS誘導性応答のためのアッセイプロトコル。エクスビボLPS投与実験において、腹腔由来の腹腔細胞を採取する前に、マウスに、10μL/gの抗MSR1抗体-ステロイドコンジュゲート(H1H21234N-N297Q-LP13)、アイソタイプ対照ステロイドコンジュゲート(アイソタイプ対照-LP13)、コンジュゲートされていない抗MSR1抗体(H1H21234N-N297Q)、及びアイソタイプ対照抗体を様々な時点(24、48、及び72時間)で腹腔内投与した。PBS及び遊離ステロイドP4及びデキサメタゾン(Henry Schein Animal Health, Cat # NDC#11695-4017-1)を腹腔細胞単離の2時間前に腹腔内注射した。マウスの群についての実験的投与及び処置プロトコルは、表23に示されている。全てのマウスを0時間の時点で　　殺し、腹腔細胞を腹腔洗浄技法により腹腔から得た。簡潔に述べると、2%BSA(Gibco, Cat #A9576)及び0.6mM EDTA(ThermoFisher Scientific, Cat #15575020)を含有する5mLの氷冷1×PBS(ThermoFisher Scientific, Cat #20012027)を、27g針を用いて腹腔に注射した。腹腔細胞を5-mLシリンジに装着された20g針で15mLチューブ中に回収し、300×gで8分間遠心分離し、10%のFBS(ThermoFisher Scientific, Cat #10082147)及び1%のペニシリン-ストレプトマイシン(ThermoFisher Scientific, Cat #11875093)を含有するRPMI-1640(ThermoFisher Scientific, #15140122)中で、1×10^{6}細胞/mLに調整した。再懸濁した細胞を24-ウェル組織培養プレート中にウェル当たり500,000細胞でプレーティングし、10ng/mLのLPSとともに又はそれなしで18時間インキュベートした。

表23:エクスビボLPS投与実験についての実験設計、投与、及び処置プロトコル

【表５１】

	インビボ				エクスビボ
	群	マウス (n)	試験された分子	用量 (mg/kg)	LPS 投与 (10 ng/mL)
72 時間	1	3	H1H21234N-N297Q-LP13	96.08	+/- LPS
	2	3	アイソタイプ対照-N297Q-LP13	97.07	+/- LPS
	3	3	H1H21234N-N297Q	96.08	+/- LPS
	4	3	アイソタイプ対照-N297Q	97.07	+/- LPS
48 時間	5	3	H1H21234N-N297Q-LP13	96.08	+/- LPS
	6	3	アイソタイプ対照-N297Q-LP13	97.07	+/- LPS
	7	3	H1H21234N-N297Q	96.08	+/- LPS
	8	3	アイソタイプ対照-N297Q	97.07	+/- LPS
24 時間	9	3	H1H21234N-N297Q-LP13	96.08	+/- LPS
	10	3	アイソタイプ対照-N297Q-LP13	97.07	+/- LPS
	11	3	H1H21234N-N297Q	96.08	+/- LPS
	12	3	アイソタイプ対照-N297Q	97.07	+/- LPS
2 時間	13	3	PBS	-	+/- LPS
	14	3	デキサメタゾン	1	+/- LPS
	15	3	P4	1.48	+/- LPS

【０８１１】

インビボLPS誘導性応答のためのアッセイプロトコル。インビボLPS投与実験において、マウスに、10μL/gの減少濃度の抗MSR1抗体-ステロイドコンジュゲート(H1H21234N-N297Q-LP13)及びアイソタイプ対照ステロイドコンジュゲート(アイソタイプ対照-N297Q-LP13)をインビボLPS投与の24時間前に腹腔内投与した。PBS及び遊離ステロイドP4をインビボLPS投与の2時間前に腹腔内注射した。マウス群の群についての実験的投与及び処置プロトコルは、表24に示されている。0時間の時点で、大粒の3滴の血液(容量～100μL)を各々のマウスの顎静脈から血清ゲル分離器チューブ中に回収した。チューブを2200～2500rpmで15分間遠心分離し、後続のサイトカイン測定のために、血清を96-ウェルプレートに回収した。インビボLPS投与後18時間で、後続のフローサイトメトリー解析のために、腹腔細胞を前述のように腹腔から取得した。

表24:インビボLPS投与実験についての実験設計、投与、及び処置プロトコル

【表５２】

	インビボ				インビボ
	群	マウス (n)	試験された分子	用量 (mg/kg)	LPS 投与 (1μg/ マウス)
24 時間	1	5	H1H21234N-N297Q-LP13	96.08	+
	2	5	アイソタイプ対照-N297Q-LP13	97.07	+
	3	5	H1H21234N-N297Q-LP13	32.03	+
	4	5	アイソタイプ対照-N297Q-LP13	32.36	+
	5	5	H1H21234N-N297Q-LP13	10.67	+
	6	5	アイソタイプ対照-N297Q-LP13	10.79	+
2 時間	7	3	PBS	-	-
	8	5	PBS	-	+
	9		P4	1.48	+
	10	5	P4	0.49	+
	11	5	P4	0.16	+

【０８１２】

LPSエクスビボ投与後18時間でのサイトカインの測定。エクスビボLPS投与後18時間で、上清を96-ウェル丸底組織培養プレートに回収し、さらなる解析まで20℃で保存した。炎症促進パネル1(マウス)マルチプレックス免疫アッセイキット(MesoScale Diagnostics, Cat #K15048D)を製造元の指示に従って用いて、上清中のサイトカイン濃度を測定した。電気化学発光をMeso Scale Diagnostics SECTOR(登録商標)装置で読み取った。デ

ータ解析を、GraphPad Prism(商標)ソフトウェアを用いて実施した。群内の統計的有意性を、テューキーの多重比較事後検定を伴う一元配置Anovaにより決定した(*p＜0.01; **p＜0.001; ***p＜0.0001)。

【０８１３】

LPSエクスビボ投与後の腹腔マクロファージ上の活性化マーカーの発現の解析。サイトカイン解析のために上清を回収した後、プレートを、Ca^{++}/$Mg2^{++}$を含まない1×PBS (ThermoFisher Scientific, Cat #14190144)で2回洗浄し、接着している腹腔細胞を40分間の250～300μLの冷マクロファージ剥離溶液DXF(PromoCell, Cat #C41330)の添加により回収した。剥離した細胞を50-mLチューブに回収し、350×gで15分間遠心分離した。2mM EDTAが補充された1×PBSで2回洗浄した後、細胞を細胞染色バッファー(Biolegend, #420201)に再懸濁させ、96-ウェルV底プレート中にウェル当たり$1×10^6$細胞でプレーティングした。細胞を遠心分離し、細胞生存率を決定するために、細胞ペレットを、1×PBS中に1:600で希釈した100μLのLIVE/DEAD Blue蛍光反応性色素(Life Technologies, Cat #L34962)に再懸濁させた。細胞を暗所室温で20分間インキュベートした。1×PBSで1回洗浄した後、細胞を、10μg/mLの精製ラット抗マウスCD16/CD32 Fcブロック(クローン: 2.4G2; BD Biosciences, Cat #553142)を含有する細胞染色バッファー中、4℃で10分間でインキュベートした。細胞を1回洗浄し、Brilliant染色バッファー(BD Biosciences, Cat #566345)に希釈した適切な抗体混合物中、暗所4℃で30分間インキュベートした。フローサイトメトリー解析に使用した抗体パネルは、表25に示されている。その後、細胞を1×PBSで洗浄し、細胞染色バッファーに再懸濁させ、FACS LSRFortessa X-20フローサイトメーター(Becton Dickinson)で獲得した。FlowJo(Tree Star)を用いて、データを解析した。

表25:フローサイトメトリー解析で使用した抗体

【表５３】

抗体	蛍光色素	製造業者	カタログ番号	最終希釈
抗マウス CD45	BV510	Biolegend	103138	1/200
抗マウス B220	APC-Cy7	Biolegend	103224	1/200
抗マウス TCRβ	BV711	Biolegend	109243	1/200
抗マウス CD11b	PercP-Cy5.5	Biolegend	101228	1/300
抗マウス F4/80	FITC	Biolegend	123108	1/200
抗ヒト SR-AI/MSR1	PE	R&D Systems	FAB2708P	1/30
抗マウス TLR4	APC	Biolegend	145405	1/200
抗マウス MHCII	BV421	Biolegend	107631	1/200
抗マウス CD80	PE-Cy7	Biolegend	104733	1/200

【０８１４】

結果は、表26～28に提供されている。$Msr1^{hu/hu}$ $ApoE^{-/-}$マウスに由来する腹腔細胞のフローサイトメトリー解析により、hMSR1及びTLR4が$F4/80^+CD11b^+$腹腔マクロファージの表面に主に発現されることが明らかになり、$MSR1^+$細胞がLPS刺激に対する主要なレスポンダーであることが示唆された。

表26:抗MSR1抗体-ステロイドコンジュゲート及び対照についてのエクスビボLPS誘導性サイトカイン産生

【表５４】

抗体/試薬	時間	サイトカイン [ng/mL]		
		IL-6	KC-GRO	TNF-α
PBS	2時間	224.8 ± 11.04	26.4 ± 2.1	1.8 ± 0.3
デキサメタゾン		134.5 ± 18.2*	19.9 ± 1.5	0.63 ± 0.11*
P4		12.98 ± 5.8****	2.6 ± 1.3**	0.43 ± 0.06**
H1H21234N-N297Q-LP13	24時間	21.1 ± 1.38****	9.3 ± 1.7	0.26 ± 0.08***
アイソタイプ対照-N297Q-LP13		165.6 ± 20.7	17.8 ± 1.7	0.96 ± 0.14
H1H21234N-N297Q		261.9 ± 18.3	36.4 ± 2.9	2.02 ± 0.4
アイソタイプ対照-N297Q		215.8 ± 40.1	21.9 ± 5.2	1.9 ± 0.1
H1H21234N-N297Q-LP13	48時間	34.02 ± 7.8**	6.3 ± 2.3*	0.58 ± 0.06*
アイソタイプ対照-N297Q-LP13		113.4 ± 11.3	22.2 ± 4.2	1.2 ± 0.2
H1H21234N-N297Q		158.3 ± 11.6	15.2 ± 0.8	1.6 ± 0.3
アイソタイプ対照-N297Q		143.4 ± 12.4	18.8 ± 1.8	1.12 ± 0.1
H1H21234N-N297Q-LP13	72時間	50.7 ± 14.1*	13.1 ± 1.1	0.47 ± 0.1**
アイソタイプ対照-N297Q-LP13		132.1 ± 18.9	20.8 ± 2.7	0.92 ± 0.07
H1H21234N-N297Q		228.6 ± 19.7	27.1 ± 3.5	1.09 ± 0.2
アイソタイプ対照-N297Q		284.5 ± 14.9	29.4 ± 8.2	1.2 ± 0.2

【０８１５】

表26に示されているように、エクスビボLPS投与は、PBSで前処置したMsr1$^{hu/hu}$ ApoE$^{-/-}$マウスに由来する腹腔細胞によるIL-6、KC-GRO、及びTNF-αの頑強な産生を誘導した。対照的に、1mg/kgのデキサメタゾンと等価な用量でのMSR1-ncADCコンジュゲート(H1H21234N-N297Q-LP13)のインビボ投与は、時間依存的な様式での腹腔細胞によるLPS誘導性サイトカイン産生の阻害に有効であった。24、48、及び72時間での抗体-ステロイドコンジュゲートの投与と2時間での遊離ペイロードP4の投与の間で、LPS誘導性免疫応答の同程度の阻害が観察された(表26)。24、48、及び72時間でのアイソタイプ対照-ステロイドコンジュゲートの投与と2時間でのデキサメタゾンの投与の間で、LPS誘導性免疫応答の阻害に対する同様の効果が観察された(表26)。LPS誘導性サイトカイン産生に対する効果は、様々な時点で投与されたアイソタイプ対照-ステロイドコンジュゲート(アイソタイプ対照-N297Q-LP13)、コンジュゲートされていない抗MSR1抗体(H1H21234N-N297Q)、及びアイソタイプ対照抗体で観察されなかった(表26)。

表27:抗MSR1抗体-ステロイドコンジュゲート及び対照についての血清中でのインビボLPS誘導性サイトカイン産生

【表５５】

抗体/試薬	投与された濃度 (mg/kg)	時間	サイトカイン [ng/mL]		
			IL-6	KC-GRO	TNF-α
PBS	-	2時間	56.94 ± 9.3	13.97 ± 1.7	1.7 ± 0.3
P4	1.48		3.51 ± 0.7***	4.1 ± 1.5*	0.09 ± 0.02***
P4	0.49		11.89 ± 7.7**	6.7 ± 2.3	0.2 ± 0.04***
P4	0.16		19.15 ± 1.1*	15.1 ± 1.2	0.6 ± 0.05***
H1H21234N-N297Q-LP13	96.08	24時間	7.7 ± 3.1***	5.1 ± 1.5*	0.42 ± 0.14***
	32.03		15.34 ± 5.2***	10.6 ± 2.8	0.48 ± 0.18***
	10.67		33 ± 8.1	13.3 ± 1.2	0.51 ± 0.08***
アイソタイプ対照-N297Q-LP13	97.07	24時間	33.6 ± 4.1	19.2 ± 0.6	2.6 ± 0.92
	32.36		65.9 ± 7.8	18.2 ± 1.7	2 ± 0.67
	10.79		76.3 ± 9.9	19.9 ± 2.1	1.9 ± 0.62

【０８１６】

MSR1-ステロイドコンジュゲート(H1H21234N-N297Q-LP13)のインビボ投与も、LPS投与後2時間でのMsr1$^{hu/hu}$ ApoE$^{-/-}$マウスにおける用量依存的な様式でのインビボL

PS誘導性サイトカイン産生の阻害に有効であった(表27)。インビボでのLPS誘導性サイトカイン産生に対する効果は、アイソタイプ対照-ncADC(アイソタイプ対照-N297Q-LP13、表27)で観察されなかった。

表28:抗MSR1抗体-ステロイドコンジュゲート及び対照についてのエクスビボLPS誘導性サイトカイン産生

【表５６】

抗体/試薬	時間	CD80のLPS媒介性発現 [PBS/LPS処理と比べた%]	
		pMΦ 細胞	非 pMΦ 細胞
デキサメタゾン	2 時間	77.69 ± 2.6	99.6 ± 5.8
P4		54.7 ± 3.8****	93.02 ± 4.4
H1H21234N-N297Q-LP13	24 時間	61.1 ± 1.3***	95.5 ± 2.6
アイソタイプ対照-N297Q-LP13		94.9 ±7.2	90.22 ± 5.2
H1H21234N-N297Q		76.8 ± 2.3	98.9 ± 3.1
アイソタイプ対照-N297Q		75.6 ± 4	100.8 ± 8.5
H1H21234N-N297Q-LP13	48 時間	58.7 ± 4.2****	99 ± 1.8
アイソタイプ対照-N297Q-LP13		75.9 ± 3.8	95.4 ± 5.2
H1H21234N-N297Q		81.9 ± 2	100.4 ± 3.3
アイソタイプ対照-N297Q		87.4 ± 0.6	107.7 ± 6.7
H1H21234N-N297Q-LP13	72 時間	63.9 ± 1.01***	102.3 ± 0.14
アイソタイプ対照-N297Q-LP13		85.3 ± 12.04	95.6 ± 2.2
H1H21234N-N297Q		82.9 ± 5.9	96.3 ± 3.3
アイソタイプ対照-N297Q		86.4 ± 4.3	96.8 ± 8.8

【０８１７】

さらに、表28に示されているように、抗MSR1抗体-ステロイドコンジュゲート(H1H21234N-N297Q-LP13)のインビボ投与により、hMSR1^{+}F4/80^{+}CD11b^{+}腹腔マクロファージ(pMΦ)上でのLPS媒介性CD80発現の有意な低下がもたらされたが、hMSR1^{-}F4/80^{-}CD11b^{-}細胞(非pMΦ)上ではもたらされなかった。CD80発現に対する効果は、アイソタイプ対照抗体で観察されなかった(表28)。

【０８１８】

(実施例34.抗MSR1抗体-LXRコンジュゲートはTHP-1細胞におけるコレステロール流出を活性化する)

ヒトマクロファージ細胞株(THP-1; ATCCカタログ番号TIB-202)においてコレステロール流出を活性化する抗MSR1抗体-LXRコンジュゲートの能力を、蛍光コレステロール類似体を用いて評価した。

【０８１９】

簡潔に述べると、THP-1細胞を、96ウェルポリリジンコートプレート(Corning、カタログ番号354640)に、10%FBS(Gibco、カタログ番号1043010)、10μg/mLペニシリン-ストレプトマイシン(Gibco、カタログ番号15140122)を含有するRPMI 1640培地(Irvine Scientific、カタログ番号9160)中、100,000細胞/ウェルで播種し、5%CO_2、37℃でインキュベートした。100nMホルボール-12ミリステート 13-アセテート(Sigma、カタログ番号P8139)を培地に添加して、細胞をマクロファージに分化させ、96時間のさらなるインキュベーションに供した。その後、分化したマクロファージを、25μM BODIPY-コレステロール(Avanti Polar Lipids、カタログ番号810255P)、0.2%ウシ血清アルブミン(BSA; Sigmaカタログ番号A7211)、及び10μg/mLペニシリン-ストレプトマイシンを含有するフェノールレッド不含RPMI 1640培地(Gibco、カタログ番号32404-014)中で24時間インキュベートし、その後、0.2%BSAを含有するフェノールレッド不含RPMI 1640培地中、1×10^{7}M～5×10^{-14}Mの範囲の遊離ペイロード、抗MSR1抗体-LXRコンジュゲート(H1H21234N-N297Q-LP1)、アイソタイプ対照-LXRコンジュゲート(アイソタイプ対照-N297Q-LP1)、及びコンジュゲートされていない抗MSR1抗体(H1H21234N-N297Q)のいずれかの連続希釈物で24時間処理した。細胞をフェノールレッド不含RPMI 1640培地で洗浄し、50μg/mL高密度リポタンパク質(Milliporeカタログ番号437

641)、10μg/mLアポリポプロテインA1(Millipore、カタログ番号ALP10)を含有する100μLのアクセプター培地とともに、フェノールレッド不含RPMI 1640培地中で5時間インキュベートし、その後、アクセプター培地を回収し、室温で穏やかに撹拌しながら、細胞を100μLのRIPAバッファー(Millipore、カタログ番号20-188)中で2時間溶解させた。蛍光を、SpectraMax i3プレートリーダー(Molecular Devices)で、励起482nm、放出515nmで、これらの画分中で測定した。

【０８２０】

以下の式:[アクセプター培地中での蛍光/(アクセプター培地中での蛍光＋細胞溶解物中での蛍光)]×100を用いて、BODIPY-コレステロール流出のパーセンテージを計算した。表29は、試験品についての活性化コレステロール流出を提供し、図17は、グラフ形式でのデータを示している。

【０８２１】

表29:抗体-LXRコンジュゲート及び比較基準物質によるコレステロール流出の活性化

【表５７】

試験された分子	コレステロール流出活性化 EC_{50} (M)	最大流出 (%)
P1	1.5E-10	36.7
H1H21234N-N297Q-LP1	5.0E-11	36.7
アイソタイプ対照-N297Q-LP1	> 6.4E-8	30.3
H1H21234N-N297Q	N/A	18.7

表29に示されているように、24時間後、H1H21234N-N297Q-LP1コンジュゲートは、36.6%の最大流出率及び50pMのEC_{50}値で、最大量のコレステロール流出を示した。遊離ペイロードP1は、36.6%の最大流出率及び150pMのEC_{50}値で、2番目に大きい量のコレステロール流出を示した。アイソタイプ対照-N297Q-LP1コンジュゲートは、30.3%の最大流出率で、最小量のコレステロール流出を示した。コンジュゲートされていない抗体H1H21234N-N297Qは、測定可能なコレステロール流出を示さなかった。

【０８２２】

(実施例34A 細胞ベースのLXR応答性ルシフェラーゼレポーターアッセイにおけるLXRアゴニストペイロードの活性)

本明細書に記載される特定のLXRアゴニストペイロードの活性を細胞ベースのLXR応答性ルシフェラーゼレポーターアッセイで評価した。アッセイ細胞株を作製するために、LXR調節型ルシフェラーゼレポーター遺伝子(Cignal Lenti LXRレポーター(luc)キット(Qiagen, Cat# CLS-001L))をTHP1細胞に形質導入し、細胞をピューロマイシン中で2週間選択した。レンチウイルスは、最小CMVプロモーター及びLXR転写応答エレメントのタンデムリピートの制御下でホタルルシフェラーゼ遺伝子を発現する。得られる細胞株は、THP1/LXR-Luc細胞と呼ばれる。本アッセイのために、THP1/LXR-Luc細胞を、10%FBS及びペニシリン/ストレプトマイシンが補充されたRPMIを含有する培地中、96ウェルプレートに40,000細胞/ウェルで播種し、その後、200nMホルボールミリステート酢酸塩(PMA)で、3日間分化させた。その後、培地を除去し、PMAを含まない80uLの新鮮な培地と交換した。遊離ペイロードの3倍連続希釈物を100%DMSO中で調製し、新鮮な培地に移し、20uLを0.2%の最終的な一定DMSO濃度で、及び遊離ペイロードを100nM～0.015nMの範囲の最終濃度で細胞に添加した。プレート中の最後のウェルは、培地及び0.2%DMSOのみを含有するブランク対照(未処置のウェル)としての役割を果たし、3倍連続希釈の延長としてプロットされた。48時間後、One-Glo(商標)試薬(Promega, Cat# E6130)を各々のウェルに添加した後に、ルシフェラーゼ活性を決定した。相対発光単位(RLU)をVictorルミノメーター(PerkinElmer)で測定し、EC_{50}値を10点応答曲線(GraphPad Prism)に対する4パラメータロジスティック方程式を用いて決定した。各々の分子のEC_{50}値は、表1に示されている。用量応答曲線上の最大のRLUと未処置のウェルにおけるRLUとの比を取ることにより、シグナル対ノイズ(S/N)を決定した。表5に示されているように、全ての

被験ペイロード化合物は、112pM～3.51nMの範囲のEC_{50}値及び10.4～13.8の範囲のS/N値で、THP1/LXR-Luc細胞におけるLXR依存的ルシフェラーゼ活性を増大させた。
表30:分化したTHP-1/LXR-Luc細胞におけるペイロード化合物によるLXR-レポーター活性
【表５８】

ペイロード化合物	EC_{50} (M)	S/N
P1	1.14E-09	11.4
P2B	2.92E-10	11.3
P4B	1.25E-10	10.4
P6B	3.34E-09	10.9
P5B	1.74E-10	13.8
P7B	2.53E-10	12.5
P9B	2.34E-10	12.8
P8B	3.51E-09	10.8
P10B	2.22E-10	11.1
P12B	2.96E-10	11.4
P11B	1.12E-10	10.7

【０８２３】
(実施例34B　抗体コンジュゲーション)
抗体システインを介するコンジュゲーションは、Mol. Pharm. 2015, 12(6), 1863-71に記載されている方法と同様の方法を用いて2工程で実施する。例示的な手順において、モノクローナル抗体(mAb)をジチオスレイトール又はTCEPで還元する。ゲル濾過後、DMSO溶液中の適切なリンカー-ペイロードを還元抗体に添加し、混合物を適切なpHに調整する。反応液を撹拌させておく。得られるコンジュゲートをSECにより精製する。DAR(UV)値は、ADCの測定された吸光度及び抗体リンカー-ペイロードの減衰係数を用いて決定する。
【０８２４】
部位特異的な抗体コンジュゲーションは、例えば、2工程で:(1)部位特異的突然変異抗体に対するアジド-PEG-アミンの微生物トランスグルタミナーゼ、例えば、(MTG EC 2.3.2.13, Zedira, Darmstadt, Germany)ベースの酵素付加及び(2)[2+3]付加環化、例えば官能化抗体のアジド部分とリンカー-ペイロードの適当なシクロオクチン部分の間の1,3双極子付加環化、例えば、銅フリーのクリック化学によるアジド-PEG-アミン官能化抗体への適当なリンカー-ペイロードの付加で実施することができる。Baskin, J. M.; Prescher, J. A.; Laughlin, S. T.; Agard, N. J.; Chang, P. V.; Miller, I. A.; Lo, A.; Codelli, J. A.; Bertozzi, C. R.の文献、PNAS 2007, 104(43), 16793-7を参照されたい。例えば、BupH(商標)(pH 6.5～8.0)中のアグリコシル化ヒト抗体IgG(IgG1、IgG4など)又はヒトIgG1アイソタイプを≧200モル当量のアジド-$dPEG_3$-アミン(MW＝218.26g/mol)と混合する。得られた溶液をトランスグルタミナーゼ(25U/mL;抗体1mg当たり5U MTG、Zedira、Darmstadt、Germany、又はAjinomoto, Japan製)と混合すると、0.5～5mg/mLの最終濃度の抗体が得られ、該溶液をpH 6.5～8.0で保持し、その後、穏やかに振盪させながら、37℃で4～24時間インキュベートする。反応をESI-MSによりモニタリングする。反応終了後、余分なアミン及びMTGを、酸性バッファーで溶出させるSEC又はプロテインAカラムにより除去し、その後、Trisバッファー(pH 8)で中性化して、アジド官能化抗体を生成させる。この生成物をSDS-PAGE及びESIにより解析する。アジド-$dPEG_3$-アミンは、抗体の2つの部位－Q295及びQ297－に付加し、4DARアグリコシル化抗体-PEG_3-アジドコンジュゲートについて、804Daの増加をもたらす。コンジュゲーション部位を、トリプシン消化された重鎖のペプチド配列マッピングにより、4DARアジド官能化抗体について、$EEQ^{リンカー}YQ^{リンカー}$STYRで同定し、確認する。
【０８２５】
別の例において、N297Q突然変異(EU付番)を含有するヒトIgG(IgG1、IgG4など)を有する部位特異的アグリコシル化抗体薬物コンジュゲートを、アジド官能化抗体とアルキン

含有リンカー-ペイロードとの間の[2+3]クリック反応により調製する。具体的には、アジド官能化アグリコシル化ヒトIgG1抗体(mAb-PEG_3-N_3)を、水性媒体(例えば、PBS、5%グリセロールを含有するPBS、HBS)中のmAb-PEG_3-N_3(1～3mg/mL)を、DMSO、DMF、又はDMAなどの好適な有機溶媒に溶解した≧6モル当量のリンカーペイロードとともに24℃～37℃で6時間超インキュベートすることにより、適当なリンカーペイロードにコンジュゲートする(すなわち、反応混合物は、5～20%有機溶媒、v/vを含有する)。反応の進行をESI-MSによりモニタリングし、mAb-PEG_3-N_3の欠如は、コンジュゲーションの終了を示した。余分な量のリンカーペイロード及び有機溶媒を、PBSによる溶出を介するSECによるか、又は酸性バッファーで溶出させ、その後のトリス(pH 8.0)で中和するプロテインAカラムにより除去する。精製されたコンジュゲートを、SEC、SDS-PAGE、及びESI-MSにより解析する。

【０８２６】

抗体及び抗体-薬物コンジュゲートは、SDS-PAGE、SEC、及びMS(ESI)により特徴解析することができる。1つの方法において、BenchMarkプレステインドタンパク質ラダー(Invitrogen, cat# 10748-010; L# 1671922.)とともに非還元及び還元試料(2～4μg)を含むSDS-PAGE条件のものを、レーン毎に、(1.0mm×10ウェル)のNovex 4-20%Tris-グリシンゲル中にローディングし、180V、300mAで80分間泳動する。分析用試料をNovex Tris-グリシンSDSバッファー(2×)(Invitrogen, Cat# LC2676)を用いて調製し、還元試料を10%の2-メルカプトエタノールを含有するSDS試料バッファー(2×)を用いて調製する。

【０８２７】

(実施例34C)

いくつかのリンカー-ペイロード(LP)を表Cのペイロード化合物から誘導し、先の実施例に記載されている技法を用いて、抗MSR1抗体(H1H21234N-N297Q)又は非結合対照にコンジュゲートした。得られた抗MSR1 LXRアゴニスト抗体薬物コンジュゲート(ADC)を、ペイロード化合物について上記のTHP1/LXRLucレポーターアッセイにおける活性について試験した。表31に示されているように、試験された抗MSR1 LXRアゴニストADCは全て、414pM～2.11nMの範囲のEC_{50}値及び9.4～13.7の範囲のS/N値で、THP1/LXR-Luc細胞の刺激を示した。コンジュゲートされていない抗MSR1は、LXR-Luc活性に対する影響を有さず、LP1にコンジュゲートされた非結合対照抗体(対照ADC-LP1)は、＞100nMのEC_{50}値及び＜5.0の最大S/N値を有した。

【０８２８】

抗MSR1抗体H1H21234Nは、配列番号50によるHCVR及び配列番号58によるLCVRを有する。これは、それぞれ、配列番号52、54、56、60、62、及び64によるHCDR1、HCDR2、HCDR3、LCDR1、LCDR2、及びLCDR3を含む。ポリペプチド配列は、配列番号49、51、53、55、57、59、61、及び63のポリヌクレオチド配列によってコードされることができる。N297Qは、残基297は、アスパラギン(N)からグルタミン(Q)に突然変異させられていることを示す。全ての付番は、EU付番によるものである。

表31:分化したTHP-1/LXR-Luc細胞における抗MSR1-LXRアゴニストコンジュゲート活性

【表５９】

抗MSR1-LXRアゴニストADC	LXRアゴニストLP	LXRアゴニストペイロード	EC_{50} (M)	S/N
H1H21234N-N297Q-LP1	LP1	P2B	7.38E-10	11.8
H1H21234N-N297Q- LP4B	LP4B	P2B	9.23E-10	11.9
H1H21234N-N297Q-LP5B	LP5B	P2B	1.20E-09	11.0
H1H21234N-N297Q-LP2B	LP2B	P2B	8.68E-10	13.7
H1H21234N-N297Q-LP12B	LP12B	P2B	1.30E-09	11.6
H1H21234N-N297Q-LP6B	LP6B	P4B	6.85E-10	12.5
H1H21234N-N297Q-LP7B	LP7B	P4B	5.60E-10	11.6
H1H21234N-N297Q-LP8B	LP8B	P4B	6.19E-10	12.5
H1H21234N-N297Q-LP9B	LP9B	P6B	4.14E-10	11.2
H1H21234N-N297Q-LP10B	LP10B	P6B	9.60E-10	12.5
H1H21234N-N297Q-LP11B	LP11B	P8B	9.78E-10	12.4
コンジュゲートされていない抗MSR1	NA	NA	>1.00E-07	0.8
対照 ADC-LP1	LP1	P2	>1.00E-07	4.4

【０８２９】

(実施例35.マウスモデルのアテローム性動脈硬化症に対する抗MSR1抗体-LXRコンジュゲートのインビボ効果)

アテローム性動脈硬化症の発症に対する抗MSR1抗体-LXRアゴニストコンジュゲートであるH1H21234N-N297Q-LP1の効果を、マウスMSR1細胞外ドメインの代わりにヒトMSR1細胞外ドメインの発現がホモ接合で、かつapoE遺伝子の欠失がホモ接合のマウス(本明細書では$Msr1^{hu/hu}$ $ApoE^{-/-}$マウスと呼ばれる)で、インビボで評価した。

【０８３０】

実験開始の6日前に、4時間の絶食の後、$Msr1^{hu/hu}$ $ApoE^{-/-}$マウスから予備採血し、その後、西洋型アテローム生成食(Research Diets、カタログ番号106452)で飼育した。これらのマウスを、そのベースライントリグリセリド(TG)及び低密度リポタンパク質コレステロール(LDL-C)値に基づいて、群(各々、n＝7～9匹)に分けた。MSR1抗体(H1H21234N-N297Q)又はMSR1抗体-LXRアゴニストコンジュゲート(H1H21234N-N297Q-LP1)を、週1回の皮下注射により、25mg/kg用量(抗体濃度に基づく)で、0日目から始めて16週間投与した。血清を、研究4、8、及び16週で、4時間の絶食後に回収し、AdviaXPT Chemistry System(Siemens)を用いて、血清脂質を評価した。平均血清脂質値を各々の時点について計算した。(平均±SEM)として表された結果が図18に示されている。図18は、MSR1抗体-LXRアゴニストコンジュゲートH1H21234N-N297Q-LP1の投与が血清脂質レベルに影響を及ぼさなかったことを示している。

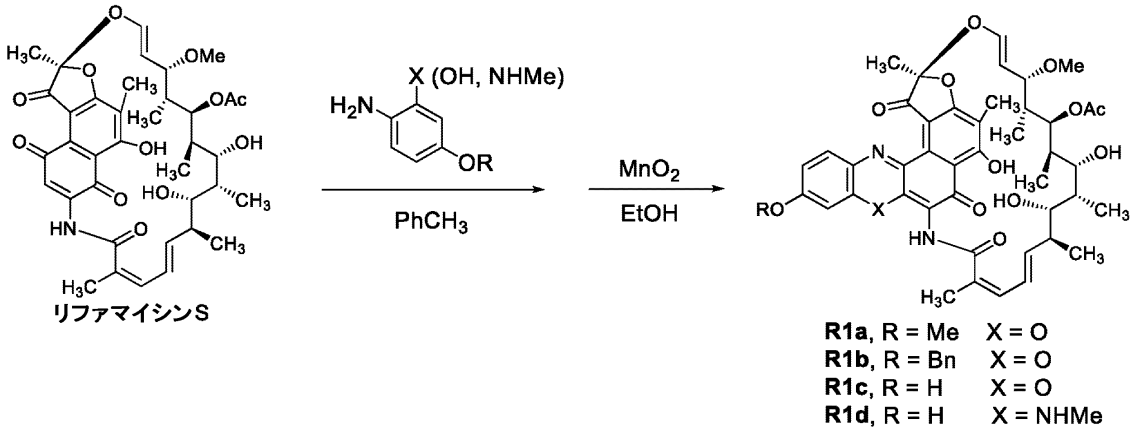
【０８３１】

抗MSR1抗体又はMSR1抗体-LXRアゴニストncADCの最後の注射から6日後、非絶食条件での研究の最後に、マウスを　　殺し、その心臓及び肝臓を回収した。心臓を最適切断温度化合物(OCT)中に包埋し、心臓内部から始めて、大動脈弓の方向に進めて、大動脈の軸と垂直に切片を作製した。大動脈弁尖の出現により大動脈基部が確認されたら、連続横断面(12μm厚)を採取し、連続するスライド(VWR International、カタログ番号16004-406)上で標本化した。これらの切片を、ヘマトキシリン及びエオシン染料(H&E染料)、オイルレッドO脂質染料、及びラット抗CD68抗体(Abcam、カタログ番号ab201844)で染色して、解析用にマクロファージを標識した。Aperio AT2スライドスキャナー(Leica Biosystems, Illinois)を用いて、スライドをスキャンし、画像を生成させた。各々のマウスについて、HALOソフトウェア(Indica Labs, New Mexico)を用いて、連続して生じる7つの横断面で、オイルレッドO染色に基づいて脂質面積を測定し、その後、これらの測定を用いて、マウス毎の全病変脂質面積の平均を計算した。測定は全て、処置群を知らない分析者により行われた。(平均±SEM)として表された結果が図19Aに示されている。図19Aは、MSR1抗体-LXRアゴニストコンジュゲートH1H21234N-N297Q-LP1の投与がアテローム性動脈硬化病変面積の低下をもたらしたことを示している。

【０８３２】
さらに、H&E染色スライドを用いて、プラークサイズの標準化値を表す、内膜/中膜比を計算した。動脈中膜及び動脈腔の内弾性膜及び外弾性膜の面積を、H&E染色切片を用いて、各々のマウスについて、連続して生じる7つの横断面で測定し、平均値をマウス毎に計算した。内膜/中膜比は、以下の方程式を用いて計算した:
内膜/中膜比＝(内弾性膜面積－腔面積)/(外弾性膜面積－内弾性膜面積)
(平均±SEM)として表された結果が図19Bに示されている。
【０８３３】
切片中のマクロファージ含量を、ラット抗CD68抗体で染色されたスライドを用いて測定した。各々のマウスについて、マクロファージ陽性面積を、連続して生じる少なくとも5つの横断面でHALOソフトウェアを用いて測定し、これらの測定を用いて、マウス毎の全マクロファージ含量の平均を計算した。(平均±SEM)として表された結果が図19Cに示されている。図19Cは、MSR1抗体-LXRアゴニストコンジュゲートH1H21234N-N297Q-LP1の投与がマクロファージ含量の低下をもたらしたことを示している。
【０８３４】
殺時に回収された肝臓をqRT-PCR及び脂質抽出に用いた。各々のマウス由来の1つの肝臓片をRNA抽出用にRNAlader(Invitrogen、カタログ番号AM7023)中に入れ、その後、評価されるデノボ脂質生成に対する脂質生成遺伝子(Srebf1、Acc、Fasn)の発現を、標準的な方法を用いるqRT-PCRにより評価した。(平均±SEM)として表された結果が図21に示されている。図21は、MSR1抗体-LXRアゴニストコンジュゲートH1H21234N-N297Q-LP1の投与が肝臓のトリグリセリド又はコレステロールレベルに影響を及ぼさないことを示している。
【０８３５】
脂質を各々のマウス由来の第二の肝臓片からFolchの方法により抽出し、Carrの方法により可溶化した。TG、総コレステロール及び遊離コレステロールのレベルを、検出用の酵素アッセイ(Teco Diagnostics、カタログ番号T532-480(TG); Thermo Fisher Scientific、カタログ番号TR13421(総コレステロール); Waco Diagnostics、カタログ番号993-02501(遊離コレステロール))を用いて測定し、湿潤組織重量に対して標準化した。(平均±SEM)として表された結果が図20に示されている。図20は、MSR1抗体-LXRアゴニストコンジュゲートH1H21234N-N297Q-LP1の投与が肝臓のデノボ脂質生成に影響を及ぼさないことを示している。
【０８３６】
(実施例36～41のための一般的な方法:)
使用した溶媒は全て、Sigma Aldrich又はFisher Scientificから購入し、そのまま使用した。リファマイシンSは、Bosche Scientificから購入された。^{1}H-NMRスペクトルは、Varian Inova 300 MHz及び500 MHz NMR装置で記録した。化学シフト(δ)は、分析に使用されたNMR溶媒に関してppmで報告されており、かつs-一重線、d-二重線、t-三重線、q-四重線、dd-二重線の二重線、dt-三重線の二重線、dq-四重線の二重線、及びm-多重線として報告されている。カップリング定数(J)は、ヘルツ(Hz)で報告されている。クロマトグラフィー純度を、Chromolith(登録商標) FastGradient RP-18e分析用カラム(50×2mm、Merck KGaA, P/N 1.52007.0001)及び以下の分析的HPLC法を用いて、Agilent 1100、1260 Infinity、又は1200 Series LC/MSシステムで決定した:注入容量5又は10μL;流速1mL/分;水中の5～95%アセトニトリル、4分間; Agilentダイオードアレイ検出器、λ＝254nm;室温。低分解能マススペクトロメトリーを、エレクトロスプレーイオン化源を用いるAgilentシステムで実施し、単一四重極又はイオントラップ質量検出器のいずれかで分析した。
【０８３７】
(実施例36.類似体R1a～R1dの合成)
下のスキームR1は、市販の出発材料からの本開示による例示的化合物1a～1dの合成を示している。

(スキームR1)

【化６７４】



【０８３８】

(実施例36A:リファマイシン 4-MeO-フェノール類似体(R1a):)

実施例36の一般的なカップリング手順を用いて、表題化合物を調製する:アルゴン下、室温の15mLのトルエン中のリファマイシンS(200mg、0.287mmol)の撹拌溶液に、2-アミノ-5-メトキシフェノール(44mg、0.316mmol)を添加した。混合物溶液を室温で3日間撹拌した。反応の進行をLC/MSによりモニタリングし、その後、混合物を蒸発乾固させた。暗色の残渣を10mLのエタノールに溶解させ、100mg(1.14mmol)の酸化マンガン(MnO_2)を該エタノール溶液に一度に添加した。反応の遅い混合物を室温で15時間撹拌した。セライトパッドを用いて、不溶性材料を濾過した後、濾液を減圧下で蒸発させた。暗色の残渣をISCOによる40g HPシリカゲルGold RediSepカラム(勾配溶出:ヘキサン中の5→95%EA)で精製し、純粋な画分を蒸発させ、真空中で乾燥させると、表題化合物R1aが濃い赤色の固体(85mg、37%)として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{44}H_{50}N_2O_{13}$の計算値、814.33;実測値815.3(M+H)、837.3(M+Na)。

【化６７５】

^{1}H NMR (500 MHz; $CDCl_3$) δ 7.96 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 7.47 (s, 1H), 7.05 - 7.01 (m, 2H), 6.86 (s, 1H), 5.99 (s, 2H), 4.97 (dd, J = 12.4, 7.4 Hz, 2H), 3.93 (s, 3H), 3.08 (s, 3H), 3.00 - 2.99 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 2.13 (s, 3H), 2.03 (d, J = 18.1 Hz, 3H), 1.81 (s, 3H), 1.70 - 1.67 (m, 1H), 1.59 - 1.54 (m, 16H), 1.53 (s, 3H), 0.96 - 0.95 (m, 3H).

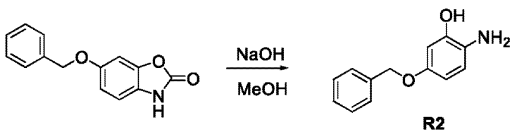
【０８３９】

(実施例36B:リファマイシン4-BnO-フェノール類似体(R1b):)

類似体R1bを、中間体R2を用いて調製した。この合成は、下のスキームR2に示されている。

(スキームR2)

【化６７６】



【０８４０】

化合物R2の合成。6-(ベンジルオキシ)ベンゾ[d]オキサゾール-2(3H)-オン(500mg、2.07mmol)及びメタノール(6mL)の混合物を1.2gのNaOHの6mLの水溶液で処理した。懸濁液を90℃で一晩加熱した。室温で冷却した後、混合物を6N HCl(5mL)で処理し、その

後、濾過した。濾液を飽和水性$NaHCO_3$で調整して、pH＝8～9を生じさせ、沈殿を濾過し、水で洗浄すると、暗色の固体が得られ、これを40g HPシリカゲルGold RediSepカラム(ヘキサン中の0→90％EA)により精製すると、220mg(49％)の化合物R2が得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{13}H_{13}NO_2$の計算値、215.09;実測値216.1(M+H)。

【化６７７】

^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6) δ 7.39 - 7.37 (m, 5H), 7.31 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H), 6.49 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.37 (d, *J* = 2.7 Hz, 1H), 6.25 (dd, *J* = 8.4, 2.7 Hz, 1H), 4.91 (s, 2H).

【０８４１】

類似体R1bの合成。アルゴン下、室温の1mLのトルエン中のリファマイシンS(20mg、0.0287mmol)の撹拌溶液を、2-アミノ-5-(ベンジルオキシ)フェノールR2(6.8mg、0.0316mmol)で処理した。該溶液を室温で3日間撹拌し、追加の2-アミノ-5-(ベンジルオキシ)フェノール(6.8mg)を添加した。反応の進行をLC/MSによりモニタリングした。5日後、混合物を蒸発乾固させた。暗色の残渣を3.5mLのエタノールに溶解させ、10mg(0.11mmol)の酸化マンガン(MnO_2)を該エタノール溶液に一度に添加した。反応の遅い混合物を室温で3時間撹拌した。セライトパッドを用いて、不溶性材料を濾過した後、濾液を減圧下で蒸発させた。暗色の残渣をISCOによる24g HPシリカゲルGold RediSepカラム(勾配溶出:ヘキサン中の5→98％EA)で精製し、純粋な画分を蒸発させ、真空中で乾燥させると、表題化合物R1bが濃い赤色の固体(8.5mg、33％)として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{50}H_{54}N_2O_{13}$の計算値、890.36;実測値891.3(M+H)。

【化６７８】

^{1}H NMR (500 MHz; $CDCl_3$) δ 7.97 (s, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.44 - 7.41 (m, 5H), 7.14 - 7.11 (m, 2H), 7.07 (s, 1H), 6.94 (s, 1H), 5.32 (s, 1H), 5.23 (s, 1H), 5.18 (d, *J* = 11.9 Hz, 2H), 4.99 (s, 2H), 3.11 (s, 3H), 3.04 (dd, *J* = 2.0, 0.6 Hz, 1H), 2.32 (s, 3H), 2.07 (s, 6H), 1.83 (s, 3H), 1.71 - 1.69 (m, 1H), 1.61 (d, *J* = 0.4 Hz, 9H), 1.58—1.52 (m, 6H), 1.28 (s, 1H), 0.97 (td, *J* = 1.9, 1.2 Hz, 3H), 0.79 (t, *J* = 0.8 Hz, 1H).

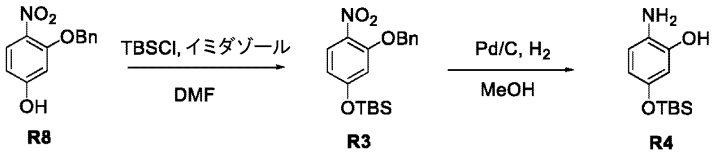
【０８４２】

(実施例36C:リファマイシン 4-OH-フェノール類似体(36c):)

類似体R1cを中間体R4を用いて調製した。この合成は、下のスキームR3に示されている。

(スキームR3)

【化６７９】



【０８４３】

2-アミノ-5-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)フェノール(R4):

【０８４４】

化合物R3の合成。化合物R8を実施例36Bの生成物から調製した。アルゴン下の3-ベンジルオキシ-4-ニトロフェノールR8(400mg、1.63mmol)のDMF(2mL)溶液に、TBSCl(0.247mL、2.44mmol)、イミダゾール(222mg、3.26mmol)、及びDMAP(0.5mg)を添加した。混合物を室温で一晩撹拌し、その後、酢酸エチル(25mL)で希釈し、水(2×10mL)、ブライン溶液(10mL)で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させた。粗製物をISCOによる

40g HPシリカゲルGold RediSepカラム(勾配溶出:ヘキサン中の0→20%EA)により精製し、純粋な画分を蒸発させると、所望の化合物R3(540mg、92%)が得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{19}H_{25}N_2O_4Si$の計算値、359.16;実測値382.1(M+Na)。

【０８４５】

化合物R4の合成。アルゴン下の3mLのメタノール(アルゴンで3回脱気した)中の化合物R3(120mg、0.33mmol)の溶液に、10%Pd/C(10mg)を添加した。混合物を再び脱気し、バルーンからの水素でバブリングさせた。水素バルーンをセプタムから挿入し、混合物を一晩熟成させた。該混合物をセライトに通して濾過し、濃縮すると、濃い緑色の固体(71mg、90%)が得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{12}H_{21}NO_2Si$の計算値、239.13;実測値240.2(M+H)。

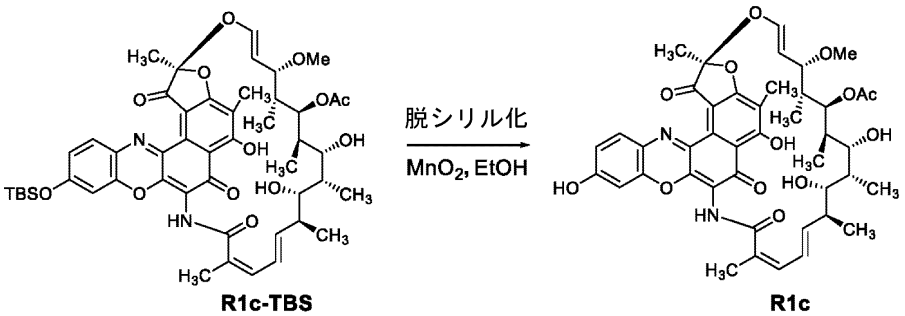
【０８４６】

類似体R1cの合成。アルゴン下の室温の10mLのトルエン中のリファマイシンS(120mg、0.172mmol)の撹拌溶液に、化合物R4(46mg、0.192mmol)を添加した。混合物溶液を室温で3日間撹拌した。反応の進行をLC/MSによりモニタリングし、その後、混合物を蒸発乾固させた。暗色の残渣を10mLのエタノールに溶解させ、50mg(0.6mmol)の酸化マンガン(MnO_2)を該エタノール溶液に一度に添加した。反応の遅い混合物を室温で12時間撹拌した。セライトパッドを用いて、不溶性材料を濾過した後、濾液を減圧下で蒸発させた。暗色の残渣をISCOによる24g HPシリカゲルGold RediSepカラム(勾配溶出:ヘキサン中の5→95%EA)で精製した。純粋な画分を蒸発させ、真空中で乾燥させると、表題化合物R1cが濃い赤色の固体(48mg、35%)として得られた。MS: $C_{43}H_{48}N_2O_{13}$の計算値、800.32;実測値801.3(M+H)、799.2(M-H)。

【化６８０】

^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6) δ 11.43 (d, J = 1.7 Hz, 1H), 9.33 - 9.32 (m, 1H), 7.82 (dt, J = 2.0, 1.0 Hz, 1H), 7.02 - 7.01 (m, 1H), 6.89 (t, J = 1.3 Hz, 1H), 6.04 (dd, J = 2.5, 0.9 Hz, 1H), 5.83 (dt, J = 1.9, 1.0 Hz, 1H), 5.25 - 5.24 (m, 1H), 4.78 - 4.77 (m, 1H), 4.14 - 4.14 (m, 1H), 3.52 (d, J = 0.8 Hz, 1H), 3.07 (d, J = 0.7 Hz, 1H), 3.03 (t, J = 0.6 Hz, 3H), 2.89 (s, 1H), 2.78 (t, J = 2.7 Hz, 1H), 2.19 (d, J = 16.7 Hz, 3H), 1.99 (d, J = 12.2 Hz, 4H), 1.95 (t, J = 0.5 Hz, 4H), 1.67 (d, J = 1.9 Hz, 3H), 1.24 (s, 2H), 0.89 (dd, J = 2.5, 1.1 Hz, 2H), 0.85 (d, J = 6.5 Hz, 6H), 0.69 (d, J = 1.5 Hz, 3H).

【化６８１】



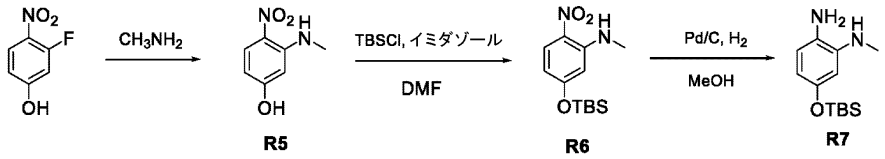
【０８４７】

(実施例36D:リファマイシン 4-OH-フェノール N-メチル類似体(36d):)

類似体36dを、中間体R7を用いて調製した。この合成は、下のスキームR4に示されている。

(スキームR4)

【化６８２】



【０８４８】

5-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-N1-メチルベンゼン-1,2-ジアミン(R7):

【０８４９】

化合物R5の合成。表題化合物を、PTC国際出願第2008051805号に開示されている方法を用いて調製した。密封管中に、3-フルオロ-4-ニトロフェニル(1g、6.36mmol)及び2mLの40%メチルアミン水性溶液の混合物を入れた。フラスコをセプタムにより密閉し、アルゴンでパージし、油浴中、80℃で18時間加熱した。LCMS分析により反応は終了しており、室温に冷却した。該溶液を水(15～20mL)の添加により溶解させ、酢酸エチル(3×30mL)を用いて抽出した。その後、合わせた有機層を、水、ブラインで洗浄し、乾燥させ(Na_2SO_4)、その後、濃縮すると、R5の粗生成物である茶白色の固体(900mg、84%)が得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程で使用した。MS(ESI、ポジティブ): $C_7H_8N_2O_3$の計算値、168.05;実測値169.1(M+H)。

【０８５０】

化合物R6の合成。アルゴン下、3-(メチルアミノ)-4-ニトロフェノールR5(200mg、1.19mmol)及びイミダゾール(162mg、2.38mmol)を触媒的DMAP(0.7mg)の存在下で無水DMFに溶解させた。撹拌した黄色の溶液を氷浴中で冷却し、TBSCl(269mg、1.79mmol)を該黄色の溶液に一度に添加した。5分後、該浴を取り外し、溶液を室温まで一晩温めておいた。混合物を飽和$NaHCO_3$溶液によりクエンチし、酢酸エチル(2×25mL)で抽出した。合わせた有機物をNa_2SO_4の添加により乾燥させ、その後、濃縮すると、粗生成物が得られた。残渣をISCOによる24g HPシリカゲルGold RediSepカラム(勾配溶出:ヘキサン中の0→90%EA)で精製し、純粋な画分を蒸発させ、その後、真空中で乾燥させると、表題化合物R6が黄色の固体(220mg、66%)として得られた。MS: $C_{13}H_{22}N_2O_3Si$の計算値、282.14;実測値283.1(M+H)。

【０８５１】

化合物R7の合成。アルゴン下、5-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-N1-メチルベンゼン-1,2-ジアミン6(50mg、0.177mmol)を2mLのメタノールに溶解させた。該溶液をアルゴンで3回脱気し、その後、Pd/C(5mg)を添加した。混合物をアルゴンでさらに脱気し、セプタムを介して水素バルーンに接続した。2.5時間後、プロセス中のアリコートからのLC/MSによる分析により、反応が終了していることが示された。混合物をセライトに通して濾過し、濃縮すると、46mgの化合物R7が定量的に得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程ですぐに使用した。MS: $C_{13}H_{24}N_2OSi$の計算値、252.17;実測値253.2(M+H)。

【０８５２】

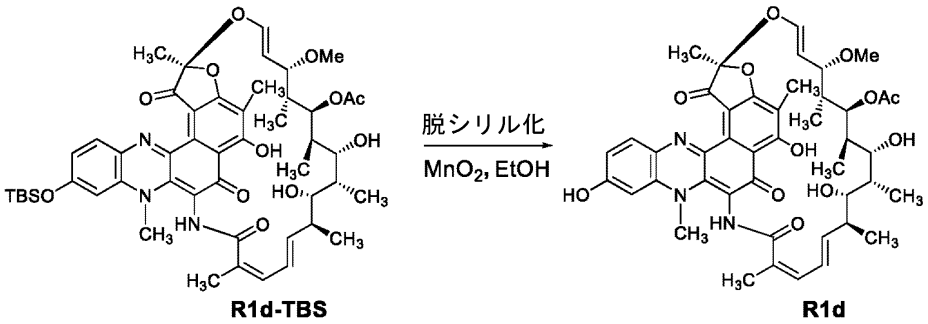
類似体R1dの合成。アルゴン下の室温の3mLのトルエン中のリファマイシンS(58mg、0.083mmol)の撹拌溶液に、化合物R7(21mg、0.083mmol)を添加した。該溶液を室温で2日間撹拌した。反応の進行をLC/MSによりモニタリングし、その後、溶液を蒸発乾固させた。暗色の残渣を5mLのエタノールに溶解させ、10mgの酸化マンガン(MnO_2)を該エタノール溶液に一度に添加した。反応の遅い混合物を室温で12時間撹拌した。セライトパッドを用いて、不溶性材料を濾過した後、濾液を減圧下で蒸発させた。暗色の残渣をISCOによる12g HPシリカゲルGold RediSepカラム(勾配溶出:ヘキサン中の5→95%EA)で精製し、純粋な画分を蒸発させ、その後、真空中で乾燥させると、表題化合物R1dが濃い赤色の固体(22.3mg、33%)として得られた。これは、LC/MSにより不純であることが分かったので、これをMeCN/水に溶解させ、15.5g C18 Aq Goldカラム(勾配溶出:水中の

10～95%MeCN、両方に0.05%酢酸、20分間)で再精製した。生成物画分を合わせ、ドライアイス上で凍結させ、凍結乾燥させると、表題化合物R1dが白色の固体(13.5mg、20%)として得られた。MS: $C_{44}H_{51}N_3O_{12}$の計算値、813.35;実測値814.3(M+H)、812.3(M-H)。

【化６８３】

^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6) δ 11.31 (b, J = 0.8 Hz, 2H), 9.41 (s, 1H), 9.22 (s, 1H), 8.86 (s, 1H), 8.01 - 7.95 (m, 2H), 7.19 - 7.13 (m, 2H), 7.04 (s, 2H), 6.79 - 6.74 (m, 1H), 6.39 - 6.37 (m, 1H), 6.19 (t, J = 11.4 Hz, 2H), 6.08 (d, J = 12.4 Hz, 1H), 6.02 - 5.92 (m, 1H), 5.73 (d, J = 26.4 Hz, 1H), 5.49 (d, J = 11.2 Hz, 1H), 5.28 (d, J = 0.6 Hz, 1H), 5.09 - 5.02 (m, 2H), 4.82 (dd, J = 11.5, 10.2 Hz, 1H), 4.54 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 4.36 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 3.96 (d, J = 4.4 Hz, 1H), 3.88 (s, 1H), 3.83 (s, 1H), 3.79 (s, 1H), 3.70 (s, 1H), 3.09 (s, 1H), 2.91 (s, 3H), 2.21 (s, 3H), 2.15 (d, J = 5.9 Hz, 1H), 1.97 (s, 2H), 1.72 (s, 2H), 1.64 (s, 2H), 1.59 (s, 2H), 0.90 (d, J = 7.0 Hz, 1H), 0.70 (d, J = 6.6 Hz, 1H), 0.62 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 0.20 - 0.18 (m, 1H), 0.07 (d, J = 0.7 Hz, 1H).

【化６８４】



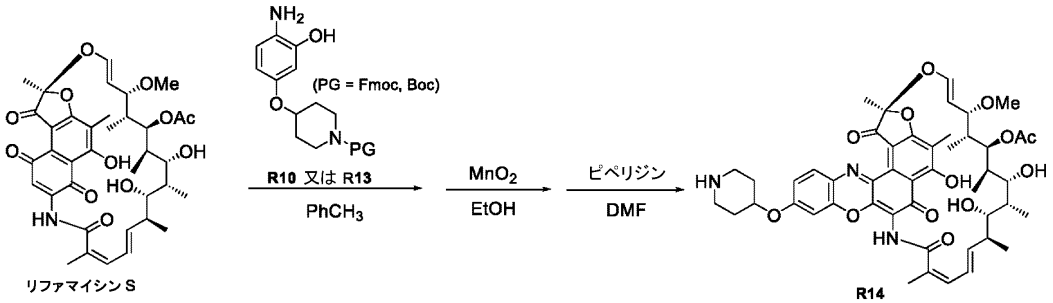
【０８５３】

(実施例37:類似体R14の合成)

リファマイシン類似体R14を、スキームR5に示されているように、及び下記のように、リファマイシンSから合成した。

(スキームR5)

【化６８５】

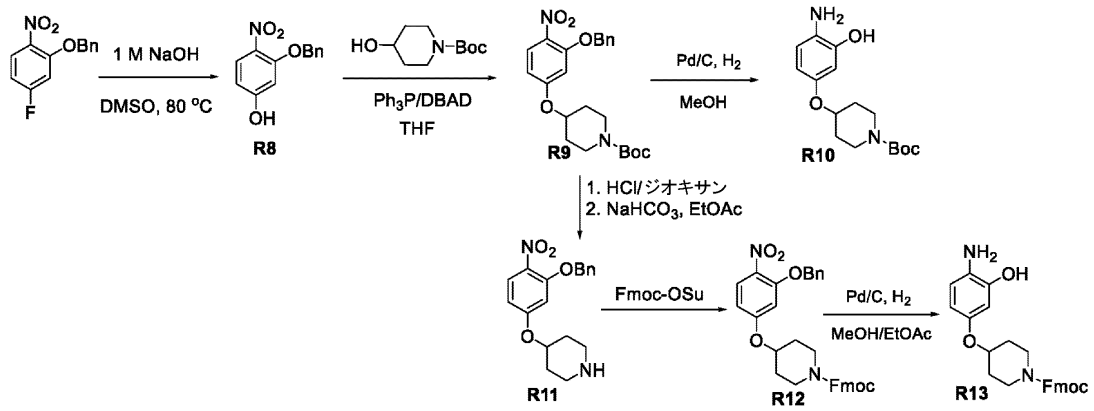


【０８５４】

(実施例37A:化合物(R10及びR13)の調製:)

中間体R10及びR13を、下に示されているスキームR6に従って調製した。

【化６８６】



【０８５５】

化合物R8の合成。表題化合物を、Ottenらの文献(Bioconjugate Chem. 2001, 12, 76-83)によって報告された若干修飾した方法を用いて調製した。3-フルオロ-4-ニトロフェニル(2.09g、8.45mmol)のDMSO(10mL)溶液に、1M NaOH(10mL)を添加し、ヒーティングブロックで80℃まで18時間加熱した。LCMSにより反応が終了しており、室温に冷却した。反応液をpH＝3～4まで1M HCl(15～20mL)で酸性化し、得られた溶液を、酢酸エチル(3×30mL)を用いて抽出した。合わせた有機層を、水、ブラインで洗浄し、乾燥させ(Na_2SO_4)、真空中で濃縮した。その後、粗油状物をISCOによる80g HPシリカゲルGold RediSepカラム(勾配溶出:ヘキサン中の0→100%酢酸エチル)で精製すると、純粋な画分を蒸発させ、その後、真空中で乾燥させると、表題化合物R8が黄色がかった白色の固体(1.51g、73%)として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{13}H_{11}NO_4$の計算値、245.1;実測値268.1(M+Na)、244.1(M-H)。

【０８５６】

化合物R9の合成。アルゴン下の室温の化合物R8(1.51g、6.157mmol)のTHF(16mL)撹拌溶液に、BOC-ピペリジン-4-オール(1.61g、8.005mmol)及びPPh_3(2.91g、11.083mmol)を添加した。DBAD(2.55g、11.083mmol)のTHF(9mL)溶液を反応混合物に滴加した。16時間撹拌した後、該混合物を蒸発乾固させ、残渣をISCOによる40g HPシリカゲルGold RediSepカラム(勾配溶出:ヘキサン中の0→100%酢酸エチル)で精製し、純粋な画分を蒸発させ、その後、真空中で乾燥させると、表題化合物R9が黄色がかった白色の固体(2.41g、91%)として得られた。MS: $C_{23}H_{28}N_2O_6$の計算値、428.2;実測値451.1(M+Na)。

【０８５７】

化合物R10の合成。アルゴン下の3mLのメタノール中の化合物R9(100mg、0.233mmol)の脱気溶液に、5mgの10%Pd/Cを添加した。混合物をさらに脱気し、水素バルーンに接続した。2.5時間後、プロセス中のアリコートからのLC/MSによる分析により、反応が終了していることが示された。混合物をセライトに通して濾過し、濃縮すると、75mgの化合物R10が定量的に得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程ですぐに使用した。MS: $C_{16}H_{24}N_2O_4$の計算値、308.17;実測値331.2(M+Na)、307.1(M-H)。

【０８５８】

化合物R11の合成。化合物R9(1100mg、2.561mmol)の1,4-ジオキサン(15mL)溶液に、1,4-ジオキサン(5mL)中の4M HClを添加した。15時間撹拌した後、プロセス中のアリコートにより、反応が終了していることが示された。該溶液に、ジエチルエーテル(50mL)を添加し、その後、白い沈殿が形成されるまで、混合物を1時間激しく撹拌した。固体を濾過し、エーテルで洗浄すると、R11のHCl塩が得られた。該白色の固体に、EtOAc(10mL)及び飽和$NaHCO_3$(15mL)をpH＝8～9まで添加し、15分間撹拌した。2つの層を分離し、水性層をEtOAc(3×30mL)で抽出した。合わせた有機層を乾燥させ(Na_2SO_4)、真空中で濃縮すると、化合物R11(372mg、44%)が得られ、これを、それ以上精製するこ

となく、次の工程ですぐに使用した。MS: $C_{18}H_{21}N_2O_4$の計算値、328.1;実測値329.1(M+H)。

【０８５９】

化合物R12の合成。アルゴン下の化合物R11(372mg、1.128mmol)の1,4-ジオキサン/水(v/v、10:1、11mL)溶液に、Fmoc-OSu(399mg、1.184mmol)を添加した。15時間撹拌した後、プロセス中のLC/MS分析により、反応が終了していることが示された。反応混合物を真空中で濃縮すると、化合物R12が得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程ですぐに使用した。MS: $C_{33}H_{30}N_2O_6$の計算値、550.2;実測値551.2(M+H)。

【０８６０】

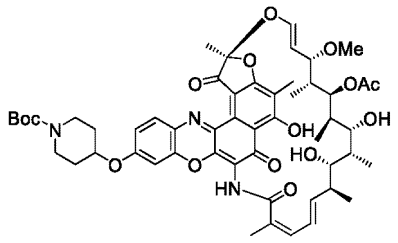
化合物R13の合成。2mLのメタノール中のアルゴンで脱気された化合物R12(72mg、0.131mmol)のアルゴン下の溶液に、9mgの10%Pd/Cを添加した。混合物をアルゴンでさらに脱気し、水素バルーンに接続した。45分後、プロセス中のアリコートからのLC/MSによる分析により、反応が終了していることが示された。混合物をセライトに通して濾過し、真空中で濃縮すると、55mgの化合物R13が定量的に得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程ですぐに使用した。MS: $C_{26}H_{26}N_2O_4$の計算値、430.1;実測値431.2(M+H)。

【０８６１】

(実施例37B:中間体R10からの類似体R14の調製)

化合物R14-Bocの合成:室温の5mLのトルエン中のリファマイシンS(100mg、0.143mmol)の撹拌溶液に、化合物R10(44mg、0.143mmol)を添加した。混合物溶液を室温で4日間撹拌した。反応の進行を終了までLC/MSによりモニタリングし、その後、混合物を蒸発乾固させた。暗色の残渣を10mLのエタノールに溶解させ、62mg(0.715mmol)の酸化マンガン(MnO_2)を該エタノール溶液に一度に添加した。反応の遅い混合物を室温で15時間撹拌した。セライトパッドを用いて、不溶性材料を濾過した後、濾液を減圧下で蒸発させた。暗色の残渣をISCOによる12g HPシリカゲルGold RediSepカラム(勾配溶出:ヘキサン中の5%→95%酢酸エチル)で精製した。減圧下で濃縮した後、粗生成物(約85%純粋)を50g C18 Aq Goldカラム(勾配溶出:水中の10～95%MeCN、両方に0.05%酢酸)で再精製した。純粋な画分を合わせ、ドライアイス上で凍結させ、凍結乾燥させると、R14-Bocが濃い赤色の固体(36mg、26%)として得られた。MS: $C_{53}H_{65}N_3O_{15}$の計算値、983.44;実測値984.4(M+H)。

【化６８７】



R14 -Boc

【０８６２】

化合物R14の合成: R14-Boc(30mg、0.03mmol)をTFA/アセトニトリル/水(0.25mL/5mL/5mL)の混合物で室温で20時間処理すると、化合物R14が得られた。反応混合物をISCOシステム(勾配溶出:水中の10%～100%MeCN、両方に0.05%酢酸、30分間)による15.5g C18 Aq. Goldカラムで精製した。生成物を含有する画分を合わせ、ドライアイス上で凍結させ、一晩凍結乾燥させると、表題化合物R14(10mg、37%)が濃い赤色の固体として得られた。MS: $C_{48}H_{57}N_3O_{13}$の計算値、883.4;実測値884.3(M+H)。

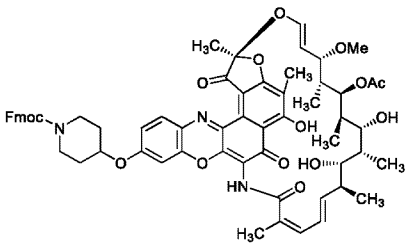
【０８６３】

(実施例37C:中間体R13からの類似体R14の調製)

化合物R14の合成:ヒドロキシアニリンR13(55mg、0.1278mmol)を含む丸底フラスコ

に、トルエン(1.5mL)及びリファマイシンS(67mg、0.0956mmol)を添加した。反応混合物を1分間超音波処理して、反応混合物を溶解させ、ラバーセプタムにより密閉し、アルゴンでパージし、反応液を周囲温度で撹拌した。2日後、もう1回分のヒドロキシアニリン(45mg、0.1045mmol)を添加し、1日間撹拌した。反応液を真空中で濃縮して、トルエンを除去し、EtOH(6mL)に溶解させ、MnO_2(20mg)を添加した。3日間撹拌した後、反応液を真空中で濃縮し、ISCOによる40g HPシリカゲルGold RediSepカラム上でのクロマトグラフィー(勾配溶出:ヘキサン中の0→100%酢酸エチル)により精製した。純粋な画分を蒸発させ、真空中で乾燥させると、表題化合物R14-Fmocが濃い赤色の固体(35mg、33%)として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{63}H_{67}N_3O_{15}$の計算値、1105.4;実測値1106.5(M+H)、1128.5(M+Na)。

【化６８８】



R14 -Fmoc

【０８６４】

前工程のアルゴン下のFmoc-リファマイシン-ピペリジン-O-フェノールR14-Fmoc(35mg、0.0361mmol)のN,N-ジメチルホルムアミド(DMF、1mL)撹拌溶液を2%ピペリジン(3.5mg、0.2mL、0.0411mmol)のDMF溶液で処理し、反応液を周囲温度で撹拌した。2時間後、反応液をISCOシステム(勾配溶出:水中の0～100%MeCN、両方に0.05%酢酸、30分間)による50g C18 RediSep Goldカラムでそのまま精製した。生成物を含有する画分を合わせ、ドライアイス上で凍結させ、一晩凍結乾燥させると、表題化合物R14が濃い赤色の固体(12mg、43%)として得られた。MS: $C_{48}H_{57}N_3O_{13}$の計算値、883.4;実測値884.3(M+H)。

【化６８９】

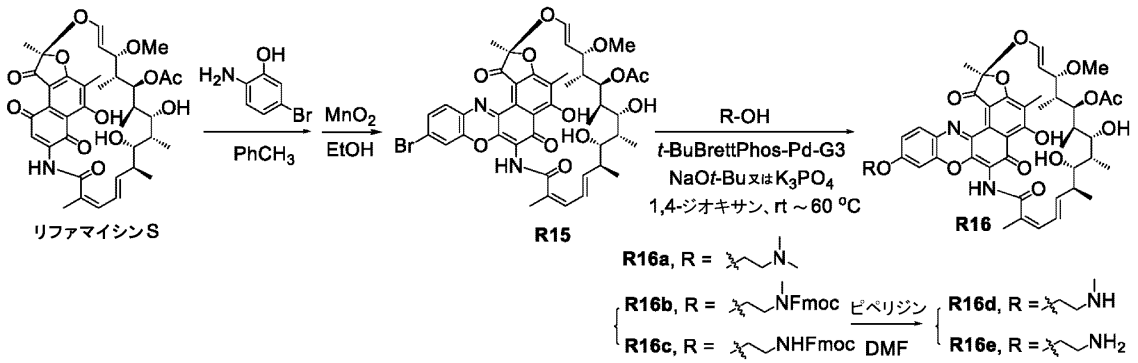
^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6) δ 9.40 (s, 1H), 7.87 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.16 – 7.23 (m, 4H), 5.99 – 6.05 (m, 2H), 5.76 – 5.85 (m, 2H), 5.18 – 5.23 (m, 2H), 4.83 – 4.95 (m, 2H), 4.80 (br. s, 2H), 4.12 (br. S., 1H), 2.91 – 3.18 (m, 13H), 2.88 (s, 1H), 2.78 (t, J = 0.9 Hz, 2H), 2.67 (s, 2H), 2.22 (d, J = 3.7 Hz, 4H), 2.15 (s, 2H), 2.02 (s, 2H), 1.96 (d, J = 1.2 Hz, 2H), 1.90 (s, 1H), 1.68 (s, 2H), 0.85 – 0.92 (m, 12H), 0.69 (br. s, 9H).

【０８６５】

(実施例38:類似体R16a～R16eの合成)

リファマイシン類似体R16a～R16eを、下のスキームR7に示されているように、及び下記のように、リファマイシンSから合成した。

【化６９０】



【０８６６】

(実施例38A: Pd触媒によるO-アルキル化(R16a～R16c):)

化合物R15の合成。アルゴン下の室温の80mLのトルエン中のリファマイシンS(2.0g、2.87mmol)の撹拌溶液に、2-アミノ-5-ブロモフェノール(0.54g、2.87mmol)を添加した。該溶液を室温で2日間撹拌した。その後、反応混合物を蒸発乾固させ、暗色の残渣を20mLのエタノールに溶解させ、300mgの酸化マンガン(MnO_2)を該エタノール溶液に一度に添加した。反応の遅い混合物を、アルゴン下、室温で15時間撹拌した。セライトパッドを用いて、不溶性材料を濾過した後、濾液を減圧下で蒸発させた。暗色の残渣をISCOによる120g HPシリカゲルGold RediSepカラム(勾配溶出:ヘキサン中の5→95%EA)で精製した。純粋な画分を蒸発させ、真空中で乾燥させると、表題化合物R15が濃い赤色の固体(1.6g、65%)として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{43}H_{47}BrN_2O_{13}$の計算値、862.23;実測値863.1及び865.1(M+H)、885.1及び888.0(M+Na)。

【化６９１】

^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6): δ 9.49 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.92 (ddd, J = 3.6, 2.9, 1.8 Hz, 1H), 7.86 - 7.85 (m, 1H), 7.75 - 7.74 (m, 1H), 6.06 - 6.05 (m, 1H), 5.84 (dt, J = 2.6, 1.4 Hz, 2H), 5.25 - 5.23 (m, 2H), 4.80 (dt, J = 2.5, 1.0 Hz, 1H), 4.23 (td, J = 2.4, 1.0 Hz, 1H), 3.49 (d, J = 1.1 Hz, 1H), 3.10 - 3.09 (m, 2H), 3.03 (s, 3H), 2.79 (s, 1H), 2.19 (s, 3H), 2.01 (s, 4H), 1.96 (s, 4H), 1.81 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 1.68 (s, 3H), 1.60 (dq, J = 2.8, 0.9 Hz, 1H), 1.48 (t, J = 1.4 Hz, 1H), 0.90 (dt, J = 2.1, 1.1 Hz, 2H), 0.84 (d, J = 7.1 Hz, 4H), 0.69 (dd, J = 2.2, 1.2 Hz, 5H).

【０８６７】

化合物R16aの合成。Buchwald S. L.らの文献(Org. Lett. 2018, 20, 1580)によって報告された同様の方法を用いて、パラジウム触媒による一級アルコールと化合物R15とのC-Oカップリングを表題化合物R16a～R16cに利用した。撹拌子を備え、スクリューキャップで密閉された2ドラムのオーブン乾燥したスクリュートップ試験管に、化合物R15(40mg、0.0463mmol、1.00当量)、2-(ジメチルアミノ)エタン-1-オール(42mg、0.462mmol、10当量)、tBuBrettPhos Pd G3-パラダサイクル(11.8mg、30mol%)、及びNaOt-Bu(5mg、0.051mmol、1.1当量)を投入した。反応管をセプタムで再び蓋をし、装着された針で穴を開けて排気し、アルゴンを充填し直し(このプロセスを2回繰り返した)、その後、シリンジにより1,4-ジオキサン(2.0mL)を添加した。反応液を、アルゴン圧下、油浴中、55±5℃で15時間加熱し、反応液を室温に冷却させておき、その後、セライト(登録商標)のパッドに通して濾過し、EtOAcですすいだ。粗材料を真空中で濃縮し、15.5g C18 Aq Goldカラム(勾配溶出:水中の10～95%MeCN、両方に0.05%酢酸)で精製した。生成物画分を合わせ、ドライアイス上で凍結させ、凍結乾燥させると、表題化合物R16aが濃い赤色の固体(12.5mg、32%)として得られた。MS: $C_{47}H_{57}N_3O_{13}$の計算値、871.39;実測値872.3(M+H)、870.2(M-H)。

【化６９２】

^{1}H NMR (300 MHz; DMSO-d_6) δ 9.40 (s, 1H), 7.87 (d, *J* = 8.9 Hz, 1H), 7.23—7.16 (m, 2H), 6.83 (dt, *J* = 2.3, 1.1 Hz, 1H), 6.23 (d, *J* = 4.6 Hz, 1H), 6.06 (dd, *J* = 5.9, 1.1 Hz, 1H), 5.82 (dd, *J* = 2.3, 1.5 Hz, 2H), 5.24 (dt, *J* = 1.4, 0.7 Hz, 1H), 4.83—4.75 (m, 1H), 4.24 (d, *J* = 29.9 Hz, 3H), 3.80 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 3.03 (t, *J* = 0.5 Hz, 3H), 2.88 (s, 1H), 2.78 (t, *J* = 0.9 Hz, 2H), 2.67 (s, 2H), 2.22 (d, *J* = 3.7 Hz, 4H), 2.15 (s, 2H), 2.02 (s, 2H), 1.96 (d, *J* = 1.2 Hz, 2H), 1.90 (s, 1H), 1.68 (s, 2H), 0.85 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 0.69 (t, *J* = 1.2 Hz, 3H).

【０８６８】

化合物R16bの合成。撹拌子を備え、スクリューキャップで密閉された8mLのオーブン乾燥したスクリュートップバイアルに、化合物R15(40mg、0.0463mmol、1.00当量)、Fmoc-グリシノール(131mg、0.463mmol、10当量)、t-BuBrettPhos-Pd-G3-パラダサイクル(16mg、0.4当量)、及びK_3PO_4(20mg、0.0942mmol、2.0当量)を投入した。反応バイアルにラバーセプタムで蓋をし、装着された針で穴を開けて排気し、アルゴンを充填し直し(このプロセスを2回繰り返した)、その後、シリンジにより1,4-ジオキサン(2.0mL)を添加した。反応液を、アルゴン圧下、ヒーティングブロック中、60℃で15時間加熱し、反応液を室温に冷却させておき、その後、セライト(登録商標)のパッドに通して濾過し、MeOHですすいだ。粗材料を真空中で濃縮し、50g C18 Aq Goldカラム(勾配溶出:水中の5～100％MeCN、両方に0.05％酢酸)で精製した。生成物画分を合わせ、ドライアイス上で凍結させ、凍結乾燥させると、表題化合物R16bが濃い赤色の固体(19mg、38％)として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{60}H_{63}N_3O_{15}$の計算値、1065.4;実測値1066.4(M+H)。

【０８６９】

化合物R16dの合成。前工程の化合物R16b(26mg、0.0244mmol)をDMF(1mL)に溶解させ、2％ピペリジン(3.1mg、0.2mL、0.0366mmol)のDMF溶液で処理し、反応液を、アルゴン下、周囲温度で撹拌した。2時間後、反応液をISCOシステムによる50g C18 Aq Goldカラム(勾配溶出:水中の0～100％MeCN、両方に0.05％酢酸、30分間)でそのまま精製した。生成物を含有する画分を合わせ、ドライアイス上で凍結させ、一晩凍結乾燥させると、表題化合物R16dが濃い青色の固体(9mg、44％)として得られた。MS: $C_{45}H_{53}N_3O_{13}$の計算値、843.4;実測値844.4(M+H)、842.3(M-H)。

【化６９３】

^{1}HNMR (500 MHz; CD_3OD): δ 7.83 (d, *J* = 8.8 Hz, 1H), 6.91 - 7.03 (m, 2H), 6.55 (s, 1H), 6.43 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H), 6.21 - 6.30 (m, 2H), 4.98 - 5.08 (m, 2H), 3.76 (br. s, 3H), 3.43 - 3.47 (m, 1H), 3.41 (d, *J* = 5.37 Hz, 2H), 3.12 (br. s, 1H), 2.97 - 3.04 (m, 4H), 2.39 (br. s, 1H), 2.19 - 2.32 (m, 4H), 2.09 - 2.14 (m, 4H), 1.95 - 2.07 (m, 4H), 1.78 (s, 4H), 1.67 (d, *J* = 6.84 Hz, 1H), 1.31 (br. s., 2H), 0.97 (br. s, 8H), 0.66 - 0.85 (m, 4H), 0.08 (d, *J* = 5.5 Hz, 3H), -0.26 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H).

【０８７０】

化合物R16cの合成。撹拌子を備え、スクリューキャップで密閉された8mLのオーブン乾燥したスクリュートップバイアルに、化合物R15(80mg、0.0926mmol、1.00当量)、Fmoc-サルコシノール(275mg、0.9262mmol、10当量)、t-BuBrettPhos-Pd-G3-パラダサイクル(40mg、0.5当量)、及びK_3PO_4(39mg、0.1852mmol、2当量)を投入した。反応バイアルにラバーセプタムで蓋をし、装着された針で穴を開けて排気し、アルゴンを充填し直し(このプロセスを2回繰り返した)、その後、シリンジにより1,4-ジオキサン(3.0mL)を添加した。反応液を、アルゴン圧下、ヒーティングブロック中、60℃で15時間加熱し、反応液を室温に冷却させておき、その後、セライト(登録商標)のパッドに通して濾過し、MeOHですすいだ。粗材料を真空中で濃縮し、50g C18 Aq Goldカラム(勾配溶出:水中の5～100％MeCN、両方に0.05％酢酸)で精製した。生成物画分を合わせ、ドライア

イス上で凍結させ、凍結乾燥させると、表題化合物R16cが濃い赤色の固体(49mg、49%)として得られた。MS: $C_{61}H_{65}N_3O_{15}$の計算値、1079.4;実測値1080.5(M+H)。

【0871】

化合物R16eの合成。前工程の化合物R16c(49mg、0.045mmol)をDMF(1mL)に溶解させ、2%ピペリジン(7.7mg、0.45mL、0.091mmol)のDMF溶液で処理し、反応液を、アルゴン下、周囲温度で撹拌した。2時間後、反応液をISCOシステムによる50g C18 Aq Goldカラム(勾配溶出:水中の0～100%MeCN、両方に0.05%酢酸、30分間)でそのまま精製した。生成物を含有する画分を合わせ、ドライアイス上で凍結させ、一晩凍結乾燥させると、表題化合物R16eが濃い青色の固体(18mg、46%)として得られた。MS: $C_{46}H_{55}N_3O_{13}$の計算値、857.3;実測値858.3(M+H)。

【化694】

^{1}H NMR (500 MHz; CD_3OD): δ 7.84 (d, *J* = 8.79 Hz, 1H), 7.11 - 7.20 (m, 1H), 6.88 - 6.96 (m, 1H), 6.64 (s, 1H), 6.42 (d, *J* = 10.26 Hz, 1H), 6.17 - 6.28 (m, 2H), 4.93 - 5.06 (m, 2H), 3.86 (br. s, 1H), 3.66 - 3.84 (m, 8H), 3.18 - 3.31 (m, 7H), 3.10 (br. s, 2H), 2.94 - 3.05 (m, 6H), 2.37 (br. s, 1H), 2.25 (d, *J* = 4.88 Hz, 4H), 2.05 - 2.22 (m, 7H), 1.85 - 2.05 (m, 7H), 1.78 (s, 6H), 1.65 (br. s, 1H), 1.30 (br. s., 2H), 0.95 (br. s, 8H), 0.82 - 0.92 (m, 4H), 0.78 (br. s., 1H), 0.70 (br. s, 1H), 0.03 (d, *J* = 5.86 Hz, 3H), -0.28 (d, *J* = 5.86 Hz, 3H).

(実施例39:リファマイシン類似体R17の合成)

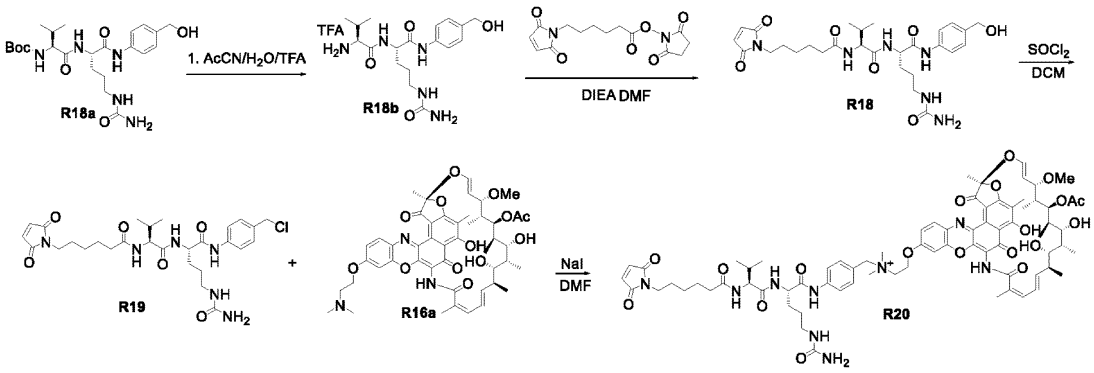
リファマイシン類似体(R17)を還元アミノ化の使用により化合物R14から合成した。室温の1.0mLの無水DCM中の化合物R14(9mg、0.0102mmol)及びパラホルムアルデヒド(1.52mg、0.051mmol)の溶液に、$NaBH(OAc)_3$(4.3mmol、0.0204mmol)を添加した。混合物を1時間撹拌した。反応プロセスをLC/MSによりモニタリングすると、所望の生成物が得られた。粗反応混合物を2～3滴の水の添加によりクエンチした。全ての揮発性物質を減圧下で除去し、その後、DMSO(0.5mL)で希釈した。粗混合物を分取HPLC(Gemini、5μm、150mm×30mm、溶離剤:水中の10～95%MeCN、0.05%AcOH)により精製し、純粋な画分を合わせ、凍結乾燥させると、6mg(66%)のR17が赤みがかった固体として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{49}H_{59}N_3O_{13}$の計算値、897.40;実測値898.4(M+H)。

【化695】

^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6): δ 9.38 (br. s., 1H), 7.86 (br. s., 1H), 7.17 - 7.25 (m, 4H), 6.04 (d, *J* = 6.35 Hz, 1H), 5.81 (br. s., 2H), 4.79 (br. s., 2H), 4.70 (br. s., 2H), 4.15 (br. s., 1H), 3.53 (br. s., 1H), 3.30 (br. s., 5H), 3.09 (br. s., 3H), 3.03 (br. s., 4H), 2.87 (s, 1H), 2.78 (br. s., 2H), 2.58 - 2.66 (m, 6H), 2.54 (br. s., 8H), 2.37 (d, *J* = 1.47 Hz, 2H), 2.15 - 2.27 (m, 20H), 2.12 (br. s., 1H), 2.03 - 2.09 (m, 3H), 2.00 (s, 9H), 1.95 (br. s., 10H), 1.91 (s, 3H), 1.72 (br. s., 3H), 1.67 (br. s., 8H), 1.58 (s, 1H), 1.50 (br. s., 1H), 1.24 (br. s., 2H), 0.81 - 0.94 (m, 15H), 0.78 (d, *J* = 6.84 Hz, 3H), 0.69 (br. s., 9H).

【化696】

【０８７２】
(実施例40)
【化６９７】



本実施例は、表題化合物R20を調製するため使用されるリンカーペイロード化学を記載している。
【０８７３】
化合物R18:表題化合物を、PCT国際出願第2014145090号の手順を用いて調製した。tert-ブチル((S)-1-(((S)-1-((4-(ヒドロキシメチル)フェニル)アミノ)-1-オキソ-5-ウレイドペンタン-2-イル)アミノ)-3-メチル-1-オキソブタン-2-イル)カルバメートR18a(500mg、1.04mmol)を$CH_3CN/H_2O/TFA$(3:1:1＝v/v/v、12mL/4mL/4mL)の混合物に溶解させた。反応混合物を室温で48時間撹拌した。LCMSにより反応の進行が終了していることが明らかにされた。真空中で濃縮した後、粗生成物R18b(0.9g湿潤)を、それ以上精製することなく、次の工程にそのまま使用した。MS(ESI、ポジティブ): $C_{18}H_{29}N_5O_4$の計算値、379.22;実測値380.2(M+H)。
【０８７４】
R18b(700mg、1.47mmol、1.0当量)の水(8mL)溶液を2mLの水性$NaHCO_3$溶液で4℃で希釈し、混合物(pH＝8.0)を10mLのアセトニトリル中の市販の2,5-ジオキソピロリジン-1-イル 6-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)ヘキサノエート(408mg、0.9当量)で処理した。反応が終了するまで、懸濁液を室温で16時間撹拌した。粗生成物を減圧下で濃縮し、DMSO(5mL)で希釈した。粗生成物をISCO 150g C18カラム(溶離剤:水中の10～95%MeCN、AcOH中0.05%)により精製した。純粋な画分をあわせ、凍結乾燥させると、368mg(44%)の化合物R18が白色の固体として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{28}H_{40}N_6O_7$の計算値、572.30;実測値573.6(M+H)、(2M+H)、1145.9。
【化６９８】

^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6): δ 9.89 (s, 1H), 8.05 (d, *J* = 7.33 Hz, 1H), 7.81 (d, *J* = 8.79 Hz, 1H), 7.52 - 7.57 (m, *J* = 8.79 Hz, 2H), 7.21 - 7.26 (m, *J* = 8.79 Hz, 2H), 6.99 - 7.02 (m, 2H), 5.98 (br. s., 1H), 5.40 (s, 2H), 5.10 (t, *J* = 5.62 Hz, 1H), 4.35 - 4.45 (m, 3H), 4.18 (dd, *J* = 6.84, 8.30 Hz, 1H), 3.26 - 3.33 (m, 2H), 2.91 - 3.06 (m, 2H), 2.08 - 2.22 (m, 2H), 1.93 - 2.01 (m, 1H), 1.66 - 1.74 (m, 1H), 1.59 (dd, *J* = 4.40, 9.28 Hz, 1H), 1.43 - 1.55 (m, 5H), 1.32 - 1.43 (m, 1H), 1.19 (quin, *J* = 7.57 Hz, 2H), 0.84 (d, *J* = 8.30 Hz, 3H), 0.80 - 0.89 (m, 3H).

【０８７５】
化合物R19:室温のR18(100mg、0.174mmol、1.0当量)の撹拌溶液に、マイクロシリンジを用いて、$SOCl_2$(14μL、0.192mmol、1.1当量)をゆっくりと添加した。スラリー反応混合物を1.5時間撹拌し、LC/MSにより分析されたアリコートは、所望のものの形成を示した。粗混合物を濃縮して、全ての揮発性物質を減圧下で除去した。混合物を2mLのDMSOで希釈し、精製用のISCO C18 Aq 50gカラム(水中の10～95%MeCN、0.05%AcOH)に充填した。純粋な画分を合わせ、凍結乾燥させると、72mg(71%)のR19がオフホ

ワイト色の固体として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{28}H_{39}ClN_6O_6$の計算値、590.26;実測値591.3(M+H)、1181.5(2M+H)。

【化６９９】

^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6) δ 10.03 (s, 1H), 8.03 - 8.11 (m, 1H), 7.79 (d, *J* = 8.30 Hz, 1H), 7.57 - 7.63 (m, *J* = 8.79 Hz, 2H), 7.34 - 7.38 (m, *J* = 8.79 Hz, 2H), 6.99 - 7.02 (m, 2H), 5.97 (br. s., 1H), 5.40 (br. s., 2H), 4.71 (s, 2H), 4.34 - 4.43 (m, 2H), 4.16 - 4.21 (m, 1H), 3.36 - 3.42 (m, 3H), 2.90 - 3.06 (m, 3H), 2.07 - 2.22 (m, 3H), 1.91 - 2.00 (m, 1H), 1.66 - 1.73 (m, 1H), 1.31 - 1.41 (m, 1H), 1.18 (quin, *J* = 7.69 Hz, 3H), 0.79 - 0.89 (m, 7H).

【０８７６】

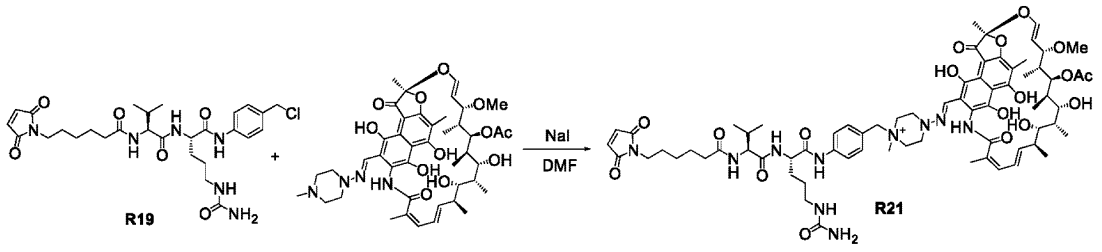
化合物R20: 2ドラムのバイアル中のR19(13.5mg、0.0228mmol、1.2当量)、R16a(16.6mg、0.0190mmol、1.0当量)、及びNaI(14.2mg、0.095mmol)の混合物を1mLの無水DMFに溶解させた。触媒量(10μL)の0.5M DIPEAのDMF溶液をシリンジにより添加した。混合物を、油浴中、55℃で一晩加熱した。LC/MSにより反応が終了し、所望の生成物が得られた。混合物を4℃に冷却し、1mLの水で希釈した。濾過後、暗色の粗混合物をEZ分取HPLCカラム(Gemini、5μm、150mm×30mm、溶離剤:水中の10～95%MeCN、0.05%AcOH)により精製した。純粋な画分を合わせ、凍結乾燥させると、14.6mg(55%)のR20が濃い赤色の固体として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{75}H_{96}N_9O_{19}^+$の計算値、1426.68;実測値1427.3(M+1)及び1425.5(M-1)。

【化７００】

^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6) δ 10.25 (s, 1H), 8.19 (d, *J* = 6.84 Hz, 1H), 7.82 (d, *J* = 8.30 Hz, 2H), 7.76 (d, *J* = 8.79 Hz, 3H), 7.50 (d, *J* = 8.30 Hz, 3H), 7.00 (s, 2H), 6.12 (d, *J* = 12.70 Hz, 1H), 6.03 (br. s., 1H), 5.43 (s, 2H), 4.70 - 4.80 (m, 2H), 4.58 (br. s., 3H), 4.36 - 4.41 (m, 1H), 4.18 (t, *J* = 7.82 Hz, 1H), 3.77 (br. s., 2H), 3.36 - 3.45 (m, 8H), 3.13 (d, *J* = 8.30 Hz, 1H), 2.89 - 3.06 (m, 12H), 2.78 (t, *J* = 9.04 Hz, 1H), 2.06 - 2.22 (m, 3H), 2.03 (br. s., 1H), 1.91 - 2.00 (m, 10H), 1.85 (s, 3H), 1.66 - 1.74 (m, 1H), 1.56 - 1.64 (m, 6H), 1.42 - 1.56 (m, 8H), 1.38 (d, *J* = 6.84 Hz, 2H), 1.15 - 1.25 (m, 3H), 0.75 - 0.88 (m, 14H), 0.07 (s, 1H).

【０８７７】

【化７０１】



化合物R21: 2ドラムのバイアル中のR19(20mg、0.0349mmol、1.0当量)、リファンピシン(25.8mg、0.0314mmol、0.9当量)、及びNaI(39mg、0.261mmol)の混合物を1mLの無水DMFに溶解させた。混合物を、油浴中、55℃で一晩加熱した。LC/MSにより反応が終了していることが明らかにされた。混合物を4℃に冷却し、1mLの水で希釈した。濾過後、暗色の粗混合物をEZ分取HPLCカラム(Gemini、5μm、150mm×30mm、溶離剤:水中の10～95%MeCN、0.05%AcOH)により精製した。純粋な画分を合わせ、30時間凍結乾燥させると、22mg(51%)のR21が赤みがかった黄色の固体として得られた。MS

(ESI、ポジティブ): $C_{71}H_{97}N_{10}O_{18}^{+}$の計算値、1377.70;実測値1377.6(M+H)。

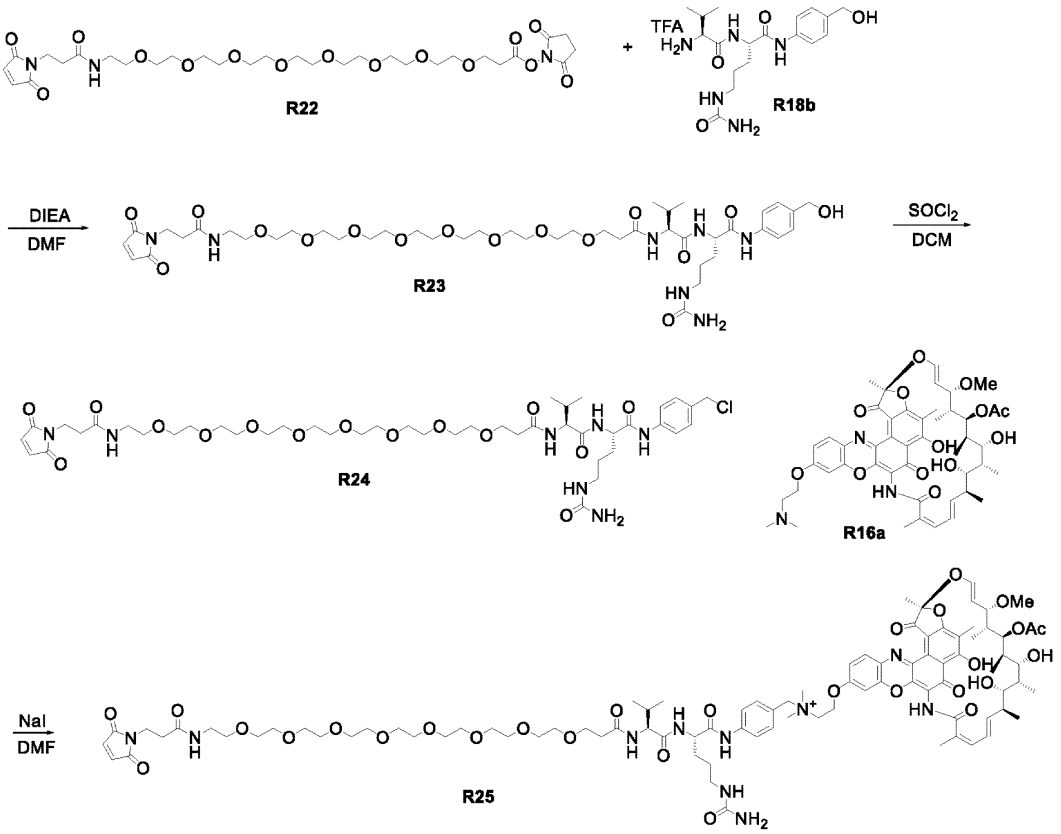
【化７０２】

^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6)

δ 12.55 (s, 1H), 10.20 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.13 (s, 2H), 7.77 (dd, *J* = 23.3, 8.4 Hz, 4H), 7.47 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.13 - 7.07 (m, 1H), 7.00 (s, 2H), 6.25 - 6.20 (m, 2H), 5.98 (d, *J* = 0.4 Hz, 1H), 5.90 (dd, *J* = 15.9, 6.9 Hz, 1H), 5.42 (s, 2H), 5.08 - 5.06 (m, 1H), 5.02 - 5.02 (m, 1H), 4.95 - 4.91 (m, 1H), 4.58 (dd, *J* = 1.0, 0.4 Hz, 2H), 4.39 - 4.38 (m, 1H), 4.20 - 4.15 (m, 2H), 3.74 - 3.73 (m, 1H), 3.56 - 3.54 (m, 3H), 3.03 - 3.01 (m, 2H), 2.96 - 2.93 (m, 6H), 2.90 (s, 5H), 2.81 - 2.81 (m, 1H), 2.17 (dd, *J* = 9.5, 5.3 Hz, 3H), 1.97 (s, 5H), 1.91(d, *J* = 11.0 Hz, 8H), 1.63 (s, 6H), 1.58 (dd, *J* = 6.5, 0.8 Hz, 2H), 1.48 (t, *J* = 7.4 Hz, 8H), 1.37 - 1.32 (m, 2H), 1.20 - 1.17 (m, 2H), 1.04 (dd, *J* = 6.1, 0.6 Hz, 1H), 0.86 (td, *J* = 12.9, 6.9 Hz, 14H), 0.77 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H), 0.43 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H).

【０８７８】

【化７０３】



化合物R23:その後、無水DMF(1.5mL)中のR22(100mg、0.144mmol)及びR18b(82mg、0.217mmol)の混合物を、マイクロシリンジにより、DIEA(50μL、0.288mmol)で処理した。反応混合物を室温で2時間撹拌し、LC/MSによりR23が得られることが明らかにされた。粗混合物をISCO C18 100g Aqカラム(溶離剤:水中の10～95%MeCN、AcOH中の0.05%)により精製し、純粋な画分を合わせ、凍結乾燥させると、84.4mg(62%)の23が得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{44}H_{71}N_{7}O_{16}$の計算値、953.50;実測値954.4(M+H)、976.4(M+Na)、952.4(M-H)。

【化７０４】

^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6) δ 9.88 (s, 1H), 8.08 (d, *J* = 7.2 Hz, 1H), 8.00 (s, 1H), 7.86 (d, *J* = 8.5 Hz, 1H), 7.55 (d, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.23 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.00 (s, 2H), 5.98 (s, 1H), 5.40 (s, 1H), 4.43 (s, 2H), 4.39 (d, *J* = 5.4 Hz, 1H), 4.23 (dd, *J* = 8.3, 6.8 Hz, 2H), 3.60 (d, *J* = 6.9 Hz, 6H), 3.44 - 3.54 (m, 30H), 3.37 (t, *J* = 5.8 Hz, 3H), 3.15 (d, *J* = 5.7 Hz, 2H), 2.99 (d, *J* = 29.6 Hz, 2H), 2.33 (t, *J* = 7.3 Hz, 3H), 1.98 (d, *J* = 6.7 Hz, 1H), 1.71 - 1.70 (m, 1H), 1.61 - 1.58 (m, 1H), 1.44 - 1.36 (m, 2H), 0.85 (dd, *J* = 15.5, 6.7 Hz, 7H).

【０８７９】

化合物R24:室温のバイアル中のR23(15mg、0.0157mmol、1.0当量)の撹拌懸濁液に、マイクロシリンジにより、$SOCl_2$(1.3μL、0.0173mmol、1.1当量)をゆっくりと添加した。1時間後、LC/MSにより分析されたアリコートは、所望の生成物の形成を示した。粗混合物を濃縮して、全ての揮発性物質を減圧下で除去した。粗混合物を0.8mLのMeCNで希釈し、EZ 分取HPLCカラムに充填し、溶出させた(Gemini、5μm、150mm×30mm、溶離剤:水中の10～95%MeCN、0.05%AcOH)。純粋な画分を合わせ、凍結乾燥させると、9.5mg(63%)のR24がオフホワイト色の固体として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{44}H_{70}ClN_7O_{15}$の計算値、971.46;実測値972.4(M+H)、994.4(M+Na)、970.3(M-1)。

【０８８０】

化合物R25: 1ドラムのバイアル中のR24(9.5mg、0.00976mmol、1.0当量)、R16a(8.51mg、0.00976mmol、1.0当量)、及びNaI(7.3mg、0.0488mmol)の混合物を1mLの無水DMFに溶解させた。触媒量(20μL)の0.5M DIEAのDMF溶液をシリンジにより添加した。混合物を、油浴中、55℃で一晩加熱した。LC/MSにより反応が終了し、所望の生成物が得られた。混合物を氷浴中で冷却し、1mLの水で希釈した。濾過後、暗色の粗混合物をEZ分取HPLCカラム(Gemini、5μm、150mm×30mm、溶離剤:水中の10～95%MeCN、0.05%AcOH)により精製した。純粋な画分を合わせ、凍結乾燥させると、7.4mg(42%)のR25が濃い赤色の固体として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{91}H_{127}N_{10}O_{28}^+$の計算値、1807.88;実測値1808.8(M+H)及び1806.5(M-1)。

【化７０５】

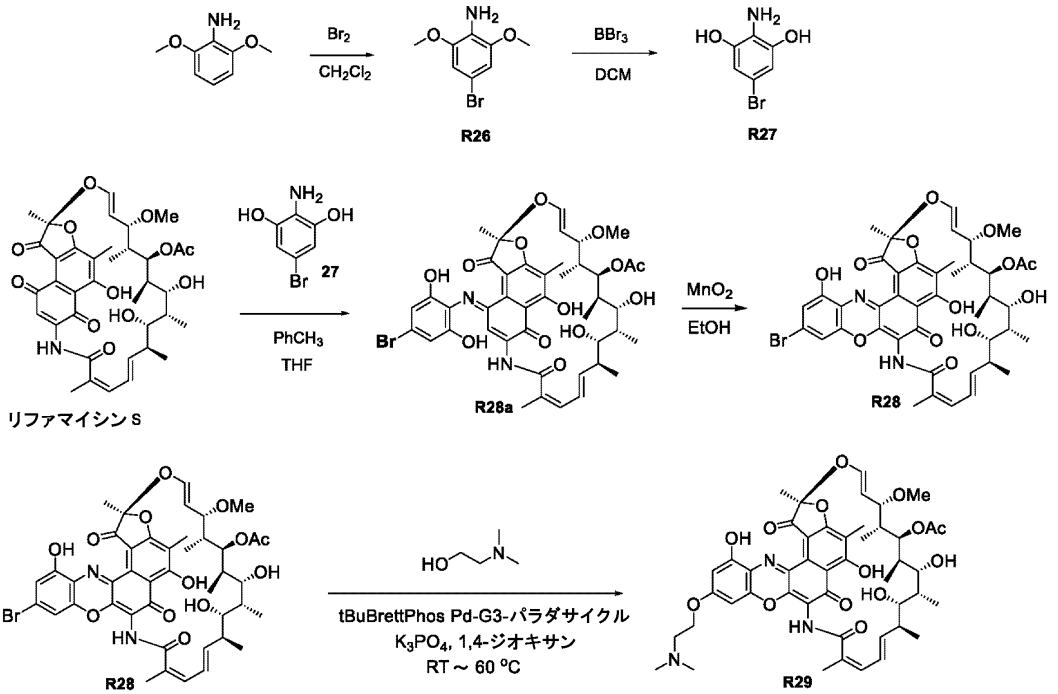
^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6)

δ 10.23 (s, 1H), 8.22—8.17 (m, 1H), 8.03—7.98 (m, 1H), 7.86 (d, *J* = 8.3 Hz, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.2 Hz, 4H), 7.50 (d, *J* = 8.3 Hz, 3H), 7.00 (s, 2H), 6.01 (s, 1H), 5.76 (s, 1H), 5.43 (s, 1H), 4.80—4.80 (m, 1H), 4.58 (s, 1H), 4.43—4.41 (m, 1H), 4.27—4.23 (m, 1H), 3.76 (t, *J* = 0.6 Hz, 2H), 3.59 (t, *J* = 7.3 Hz, 5H), 3.49 (d, *J* = 2.9 Hz, 54H), 3.14 (d, *J* = 5.8 Hz, 4H), 3.03 (s, 8H), 2.90 (t, *J* = 0.7 Hz, 3H), 2.77 (d, *J* = 0.7 Hz, 1H), 2.33 (t, *J* = 7.3 Hz, 4H), 2.08 (d, *J* = 6.1 Hz, 4H), 1.94 (d, *J* = 18.9 Hz, 10H), 1.83 (s, 5H), 1.59 (s, 8H), 0.85 (dd, *J* = 16.1, 6.7 Hz, 8H).

【０８８１】

(実施例41)

【化７０６】



化合物R26: 350mLの無水DCM中の2,6-ジメトキシアニリン(9.0g、58.7mmol、1.0当量)の撹拌溶液に、30分間かけて、50mLの無水DCM中のBr_2溶液を4℃で滴加した。追加の200mLをスラリーに添加して、半均一な溶液を獲得した。反応混合物を室温で一晩撹拌した。濃い茶色の混合物を4℃に冷却し、1.0M NaOH溶液(約100mL)の添加によりpH＝10～11に塩基性化した。混合物を200mLのDCMで希釈し、層を分離した。水性層をDCM(合計200mL)で抽出した。合わせたDCM層を、水、ブラインで洗浄し、Na_2SO_4上で乾燥させた。真空中で濃縮した後、粗生成物がわずかに赤みがかった固体として得られた。残渣をDCM(8mL)に溶解させ、220g HPシリカゲルGold RediSepカラムに充填し、ISCO(勾配溶出:ヘキサン中の5～95%EA)により精製し、純粋な画分を合わせ、溶媒を真空中で蒸発させた。固体をDCM及びヘキサンでトリチュレートし、濾過した。オフホワイト色の固体を真空中で乾燥させると、表題化合物R26がオフホワイト色の固体(9.4g、70%)として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_8H_{10}BrNO_2$の計算値、230.99;実測値231.9及び234.0(M+H)。

【化７０７】

^{1}H NMR (500 MHz; $CDCl_3$) δ 6.66 (s, 2H), 3.84 (s, 6H)

【０８８２】

化合物R27:化合物R26(2.2g、9.47mmol、1.0当量)を10mLの無水DCMに溶解させ、BBr_3溶液を10分間かけて4℃で滴加した(10mL、1.0MのDCM溶液)。反応は発熱性であり、沈殿を生成させた。追加量のBBr_3(9mL、94.7mmol、10当量)を添加し、反応混合物を室温で一晩撹拌した。赤みがかった懸濁液をLC/MSによりチェックして、所望の生成物を確認した。反応混合物を250mLフラスコに移し、4℃に冷却した。該混合物を水で慎重にクエンチし、その後、水性飽和$NaHCO_3$溶液で処理すると、pH＝7～8が得られた。混合物をDCMで抽出し、水性層を4℃に冷却すると、濃茶色の沈殿が得られた。混合物を濾過し、茶色の固体を10mLのメタノールに溶解させ、Na_2SO_4上で乾燥させると、所望の生成物R27(1.9g、100%)が得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_6H_6BrNO_2$の計算値、202.96;実測値204.0及び206.1(M+H)。

【化７０８】

^{1}H NMR (500 MHz; CD_3OD) δ 6.45 (s, 2H), 4.87 (s, 2H).

【０８８３】

化合物R28:室温のトルエン(20mL)及びTHF(20mL)中の化合物R27(0.146g、0.72mmol)の撹拌溶液に、リファマイシンS(0.5g、0.72mmol)を添加した。該溶液を室温で3日間撹拌すると、所望の生成物が得られた。溶媒を真空中で除去し、暗色の残渣を、10mLのエタノール、その後、100mgの二酸化マンガン(MnO_2)に溶解させた。反応の遅い混合物を室温で5時間撹拌した。セライトパッドを用いて、不溶性材料を濾過した後、濾液を真空中で蒸発させた。暗色の残渣をISCOによる120g HPシリカゲルGold RediSepカラム(勾配溶出:ヘキサン中の5～95%EA)で精製した。純粋な画分を合わせ、真空中で蒸発させると、表題化合物R28が濃い赤色の固体(270mg、43%)として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{43}H_{47}BrN_2O_{13}$の計算値、878.23;実測値879.2及び880.2(M+H)、878.1及び879.1(M-1)。

【化７０９】

^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6) δ 10.22 (br. s., 1H), 9.52 (br. s., 1H), 7.43 (br. s., 1H), 7.35 (br. s., 1H), 6.04 (br. s., 1H), 5.83 (br. s., 2H), 5.21 (d, J = 6.35 Hz, 2H), 4.89 (t, J = 10.50 Hz, 1H), 4.16 (br. s., 1H), 3.51 (br. s., 1H), 3.15 (br. s., 2H), 3.02 (br. s., 4H), 2.80 (t, J = 8.55 Hz, 1H), 2.21 (br. s., 3H), 2.08 (br. s., 1H), 1.96 (s, 4H), 1.99 (s, 4H), 1.78 (br. s., 1H), 1.71 (br. s., 3H), 1.60 (br. s., 1H), 1.47 (br. s., 1H), 0.84 (d, J = 6.84 Hz, 6H), 0.69 (br. s., 6H).

【０８８４】

化合物R29:撹拌子を備えた、オーブン乾燥した8mLのスクリュートップバイアルに、化合物R15(60mg、0.069mmol、1.00当量)、2-(ジメチルアミノ)エタン-1-オール(61mg、0.69mmol、10当量)、t-BuBrettPhos-Pd-G3-パラダサイクル(31mg、0.0345mmol、0.5当量)、及びK_3PO_4(30mg、0.141mmol、2.0当量)を投入した。反応バイアルにラバーセプタムで蓋をした。セプタムに装着された針で穴を開けて排気し、アルゴンを充填し直し(このプロセスを2回繰り返した)、その後、シリンジにより1,4-ジオキサン(1.5mL)を添加した。反応液を、アルゴン圧下、60℃で15時間加熱し、反応液を室温に冷却させておき、セライト(登録商標)のパッドに通して濾過し、MeOHですすいだ。粗材料を真空中で濃縮し、50g C18 Aqカラム(勾配溶出:水中の10～95%MeCN、両方に0.05%酢酸)で精製した。生成物画分を合わせ、凍結乾燥させると、表題化合物R29が濃い赤色の固体(21mg、35%)として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{47}H_{57}N_3O_{14}$の計算値、887.38;実測値888.3(M+H)。

【化７１０】

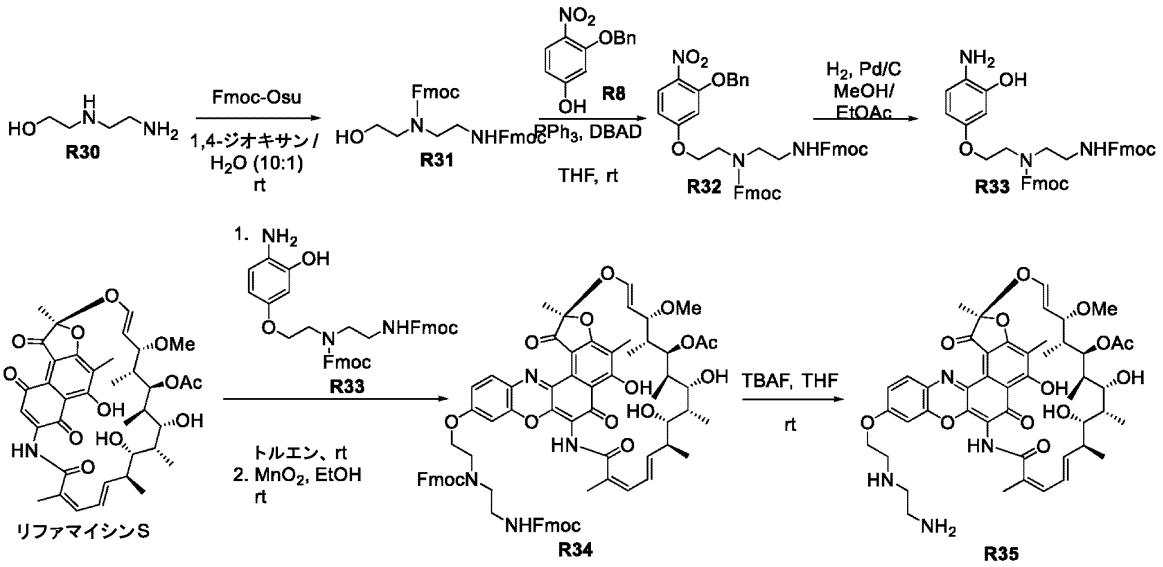
^{1}H NMR (500 MHz; DMSO-d_6) δ 10.12 (br. s.,1H), 9.39 (br. s., 1H), 6.75 (br. s.,1H), 6.70 (br. s.,1H), 6.03 (br. s., 1H), 5.77 (d, J = 15.14 Hz, 1H), 5.21 (br. s., 1H), 4.83 - 4.90 (m, 1H), 4.15 - 4.30 (m, 2H), 4.08 (br. s., 1H), 3.53 (br. s., 1H), 3.29 (s, 1H), 3.16 (br. s., 1H), 3.03 (br. s., 3H), 2.87 (br. s., 1H), 2.79 (br. s., 1H), 2.62 - 2.71 (m, 2H), 2.36 (s, 1H), 2.23 (s, 6H), 2.19 (br. s., 3H), 1.93 - 2.11 (m, 7H), 1.91 (s, 1H), 1.76 (br. s., 1H), 1.69 (br. s., 3H), 1.53 - 1.65 (m, 1H), 1.50 (br. s., 1H), 1.32 - 1.45 (m, 1H), 0.76 - 0.94 (m, 6H), 0.68 (br. s., 5H).

【０８８５】

(実施例42:リファマイシン類似体R35の合成)

リファマイシン類似体R35を、下記のように、リファマイシンSから合成した。

【化７１１】



【０８８６】

化合物R31:アルゴン下の化合物R30(200mg、1.920mmol)の1,4-ジオキサン/水(v/v、10:1、11mL)溶液に、Fmoc-OSu(1360mg、4.032mmol)を添加した。5時間撹拌した後、LC/MS分析により、反応が終了していることが示された。反応混合物を飽和$NaHCO_3$(5mL)で処理し、EtOAc(3×15mL)で抽出した。その後、合わせた有機層をブライン(10mL)で処理し、乾燥させ(Na_2SO_4)、真空中で濃縮すると、粗化合物R31が白色の泡状物(800mg、76%)として得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程ですぐに使用した。MS: $C_{34}H_{32}N_2O_5$の計算値、548.2;実測値549.2(M+H)。

【０８８７】

化合物R32:アルゴン下の室温の化合物R8(160mg、0.652mmol)のTHF(2mL)撹拌溶液に、アルコールR31(432mg、0.788mmol)及びPPh_3(308mg、1.174mmol)を添加した。その後、DBAD(270mg、1.174mmol)のTHF(1mL)溶液を反応混合物に滴加した。15時間撹拌した後、混合物を蒸発乾固させ、残渣をISCOによる40g HPシリカゲルGold RediSepカラム(勾配溶出:ヘキサン中の0～100%酢酸エチル)で精製し、純粋な画分を蒸発させ、真空中で乾燥させると、表題化合物R32が黄色がかった白色の固体(286mg、56%)として得られた。MS: $C_{47}H_{41}N_3O_8$の計算値、775.3;実測値776.3(M+H)、798.2(M+Na)。

【０８８８】

化合物R33: 5mLのメタノール/EtOAc(2:3)中の、アルゴンで脱気された化合物R32(220mg、0.284mmol)のアルゴン下の溶液に、31mgの10%Pd/Cを添加した。混合物をアルゴンでさらに脱気し、水素バルーンに接続した。2時間後、プロセス中のアリコートからのLC/MSによる分析により、反応が終了していることが示された。混合物をセライトに通して濾過し、濃縮すると、150mgの化合物R33(LC/MSにより85%純粋)が黄色がかった固体として得られ、これを、それ以上精製することなく、次の工程ですぐに使用した。MS: $C_{40}H_{37}N_3O_6$の計算値、655.3;実測値656.3(M+H)。

【０８８９】

化合物R34:ヒドロキシアニリンR33(150mg、0.194mmol、85%純粋)を含む丸底フラスコに、トルエン(2mL)及びリファマイシンS(129mg、0.185mmol)を添加した。反応混合物を1分間超音波処理して、反応混合物を溶解させ、ラバーセプタムにより密閉し、アルゴンでパージし、反応液を周囲温度で撹拌した。1日後、トルエン(2mL)中のもう1回分のヒドロキシアニリンR33(45mg、0.059mmol、86%純粋、先に記載されたのと同じ手順を用いて合成した)を添加し、5日間撹拌した。反応液を真空中で濃縮して、トルエンを除去し、EtOH(4mL)に溶解させ、MnO_2(20mg)を添加した。4日間撹拌した後、反

応液を真空中で濃縮し、ISCOによる40g HPシリカゲルGold RediSepカラム(勾配溶出:ヘキサン中の0～100%酢酸エチル)上でのクロマトグラフィーにより精製した。純粋な画分を蒸発させ、真空中で乾燥させると、表題化合物R34が濃い赤色の固体(65mg、26%)として得られた。MS(ESI、ポジティブ): $C_{77}H_{78}N_4O_{17}$の計算値、1330.5;実測値、1353.5(M+Na)。

【０８９０】

化合物R35:アルゴン下の化合物R34(28mg、0.021mmol)のTHF(1mL)撹拌溶液を、TBAF(13mg、0.05mL、0.050mmol、THF中1M)溶液で処理し、反応液を周囲温度で撹拌した。2時間後、反応液をISCOシステムによる50g C18 RediSep Goldカラム(勾配溶出:水中の0～100%MeCN、両方に0.05%酢酸、30分間)でそのまま精製した。生成物を含有する画分を合わせ、ドライアイス上で凍結させ、一晩凍結乾燥させると、表題化合物35が濃い赤色の固体(9mg、48%)として得られた。MS: $C_{47}H_{58}N_4O_{13}$の計算値、886.4;実測値887.3(M+H)。

【化７１２】

^{1}H-NMR (500 MHz; CD_3OD): δ 7.86-7.74 (m, 1H), 7.18-7.08 (m, 1H), 6.98-6.84 (m, 1H), 6.78-6.68 (m, 1H), 6.53-6.40 (m, 1H), 6.23-6.15 (m, 1H), 6.23-6.15 (m, 1H), 6.00-5.79 (m, 1H), 6.00-5.79 (m, 1H), 5.30-4.95 (m, 2H), 3.81-3.65 (m, 6H), 3.35 (s, 3H), 3.09-2.93 (m, 7H), 2.25-2.20 (m, 2H), 2.17-2.03 (m, 4H), 2.00-1.87 (m, 5H), 1.76-1.68 (m, 4H), 1.03-0.85 (m, 7H), 0.78-0.65 (m, 2H), 0.14-0.03 (m, 4H), 0.13-0.00 (m, 3H), -0.30 (m, 2H).

【０８９１】

(実施例43:ブロス最小阻害濃度(MIC)アッセイ)

インビトロでの本開示のリファマイシン類似体の効力を試験するために、ブロス増殖阻害アッセイを開発した。本アッセイのために、黄色ブドウ球菌NRS384をトリプティックソイブロス(TSB)中で一晩増殖させ、その後、新鮮なTSB中で1:50で継代培養し、さらに2時間増殖させた。その後、培養物を遠心分離によりペレット化し、PBS中で2回洗浄した。その後、培養物を1×10^4cfu/mLまでTSBに希釈し、ウェル当たり50μLの懸濁液を96ウェルマイクロタイターディッシュに2連で添加した。表示されている抗生物質(本開示による類似体又は以前に知られている類似体リファンピシン)の希釈系列を、1:3希釈の1×10^{-5}Mの最終的な出発濃度のために、1:1で添加した。プレートを振盪させながら37℃で24時間インキュベートし、その後、OD600nmをSpectramax i3 Minimax 300で読み取った。

【０８９２】

使用した試薬及びロット番号は、下の表R2に示されている。

表R2: MICアッセイについての試薬及びロット番号

【表６０】

試薬	販売業者	カタログ#	ロット
PBS	Gibco	20012-043	2003838
黄色ブドウ球菌 NRS384	BEI resources	NR-46070	
トリプティックソイブロス(TSB)	Teknova	T1525	T014420G1801
希釈プレート	Greiner Bio one	780261	B17073CP

【０８９３】

黄色ブドウ球菌の増殖を阻害する最低濃度(最小阻害濃度、MIC)は、表R3に掲載されている。本開示によるリファマイシン類似体を用いて実施された黄色ブドウ球菌阻害アッセイのプロットは、図35に示されている。

表R3:ブロス増殖阻害アッセイにおける抗生物質の最小阻害濃度(MIC)

【表６１】

試験された リファマイシ類似体	分子量 (Da)	*黄色ブドウ球菌*ブロスMIC (M)
リファンピシン	**823**	**4.6E-09**
R1a	815	1.4E-08
R1b	890	1.2E-07
R1d	813	3.7E-07
R14	883	4.1E-08
R16a	823	1.5E-09
R16d	843	4.1E-08
R16e	858	4.6E-09

【０８９４】

表R3に示されているように、本開示によるリファマイシン類似体は全て、サブマイクロモル濃度～ナノモル濃度で黄色ブドウ球菌の増殖を阻害するのに有効である。類似体16aは、リファンピシンよりも強力に1.5×10^{-9}MのMICで黄色ブドウ球菌の増殖を阻害した。

【０８９５】

(実施例44:細胞内アッセイ)

黄色ブドウ球菌に対するリファマイシン類似体化合物の活性を細胞内「死滅化」アッセイで試験した。

【０８９６】

使用した試薬及びロット番号は、下の表R4に示されている。

表R4:細胞内アッセイについての試薬及びロット番号

【表６２】

試薬	販売業者	カタログ#	ロット
TSB	Teknova	T1525	T152517E1701
PBS	Gibco	20012-043	1951145
Triton X-100	Sigma	TX1568-1	
RPMI	Gibco	11875-093	1989237
FBS	Gibco	172667	138252-100
PMA	Sigma	P8139	MkBV849TV
Costa 96 ウェルプレート	Corning	3904	16618025
TSAプレート	Teknova	T0144	T014420G1801
Pen/Strep	Gibco	15140-122	1953095
希釈プレート	Greiner Bio one	780261	B17073CP
ゲンタマイシン	Gibco	10131-035	1729122

【０８９７】

THP-1単球細胞株を培地(RMPI＋10%FBS＋1%ペニシリン/ストレプトマイシン)中で増殖させ、その後、96ウェルプレート中に1e5細胞/ウェルの密度で播種し、マクロファージへと3日間分化させ、その後、200nM PMAを用いて感染させた。黄色ブドウ球菌NRS384の終夜培養物をRPMI中で培養させ、PBSで2回洗浄し、PBSに1e7cfu/mLで再懸濁した。THP-1を温かい培地(FBSを含まないRMPI)で洗浄して、ペニシリン/ストレプトマイシンを除去し、その後、10:1(黄色ブドウ球菌:マクロファージ)の感染多重度で黄色ブドウ球菌懸濁液に感染させた。プレートを300×gで5分間スピンして、細菌の接着を同期させ、その後、37℃で2時間インキュベートした。温かい培地で2回洗浄することにより、自由に浮遊する細菌を除去し、残存する細胞外黄色ブドウ球菌を、ゲンタマイシン(50ug/mL)を含有する培地の添加により死滅させた。1時間後、培地を吸引し、表示されている化

合物を、50μg/mLゲンタマイシンを含有する培地中の感染したマクロファージに添加して、黄色ブドウ球菌の細胞外増殖を防いだ。2時間後、プレートを、FBSを含まない温かいRPMIで2回洗浄し、100ulのTHP-1溶解バッファー(PBS中の0.1%Triton)を各々のウェルに添加した。黄色ブドウ球菌の生存を連続希釈によりコロニー形成単位別に列挙し、TSA上にプレーティングした。

【０８９８】

細胞内死滅化アッセイの結果は、表R5並びに図36及び37に示されている。最小阻害濃度(MIC)は、細胞内黄色ブドウ球菌の根絶をもたらした各々の化合物の最低濃度に対応する。

表R5

【表６３】

試験された リファマイシン類似体	細胞内死滅化 MIC
リファンピシン	>1.0E-06
R1a	1.0E-06
R1b	>1.0E-06
R1d	>1.0E-06
R14	1.0E-06
R16a	4.0E-08
R16d	1.0E-06
R16e	1.0E-06

【０８９９】

表R5並びに図36及び37に示されているように、化合物R1a、R14、R16a、R16d、及びR16eは、リファンピシンと比較して増大した細胞内黄色ブドウ球菌死滅化能力を有し、化合物R16aが最大の活性を有していた。

【０９００】

(実施例45:マレイミドのコンジュゲーション法)

50mM HEPES、150mM NaCl、pH 7.5中の抗体(1～10mg/ml)を、1mMジチオスレイトールで、37℃で30分間処理した。ゲル濾過(G-25、pH 4.5酢酸ナトリウム)後、DMSO(10mg/ml)中のマレイミドリンカーペイロード誘導化合物R25(1.2当量/SH基)を還元抗体に添加し、混合物を1M HEPES(pH 7.4)でpH 7.0に調整した。1時間後、反応液を過剰のN-エチルマレイミドでクエンチした。コンジュゲートをサイズ排除クロマトグラフィーにより5%グリセロールを含むPBSを用いて精製し、滅菌濾過した。タンパク質濃度及びペイロード対抗体比をUVスペクトル分析により決定した。サイズ排除HPLCにより、使用した全てのコンジュゲートが＞90%単量体であることが立証され、RP-HPLCにより、＜1%のコンジュゲートされていないリンカーペイロードが存在することが立証された。全てのコンジュゲートされた抗体をリンカーペイロードローディング値についてHICにより解析した。

【０９０１】

疎水性相互作用クロマトグラフィー(HIC)によるコンジュゲートの特徴解析:

【０９０２】

抗体上へのリンカー-ペイロードのローディングを決定するために、コンジュゲートを、1Mリン酸カリウムpH 8.5から水への線形勾配を用いて、TSK-NPRブチルHICカラムを使用するAgilent 1260上で60分にわたって泳動させた。コンジュゲートされた抗体とコンジュゲートされていない抗体の種に対応するピーク面積の積分により、ペイロードローディングを決定した。ペイロード対抗体比は、表R6に報告されている。

表R6

抗体薬物コンジュゲートの各々についてのパーセント収率及びペイロード対抗体比

【表６４】

抗体	収率 (%)	DAR (HIC)
H1H21234N-化合物 **R25**	50	3
アイソタイプ対照−化合物 **R25**	50	2

【０９０３】

(実施例46:)

MSR1非細胞傷害性抗体薬物(ncADC)コンジュゲートをインビボでの抗II型コラーゲン抗体誘導性関節炎(CAIA)で試験した;炎症促進パネル1(マウス)マルチプレックス免疫アッセイキット(MSD)を用いた炎症関節のサイトカイン検出

【０９０４】

リポ多糖(LPS; 0111:B4)(Chondrex, Cat #53100, Lot #180141)。ストック濃度: 2.5mg/ml;作業濃度: 0.5mg/ml。

【０９０５】

抗MSR1 Ab-ステロイドncADCの抗炎症効果をさらに調べるために、インビボでのncADCをコラーゲン-抗体誘導性関節炎(CAIA)モデルで評価した。本モデルのために、マウスMSR1細胞外及び膜貫通ドメインの代わりにヒトMSR1細胞外ドメイン及び膜貫通ドメイン(ヒト化MSR1)をホモ接合性に発現し、かつApoE遺伝子のホモ接合性欠失(ApoE-KO)を有するマウスを利用した(得られるマウスは、hMSR1/ApoE-KOマウスと呼ばれる)。

【０９０６】

インビボでのCAIAにおけるncADC試験:

【０９０７】

CAIAを誘導するために、hMSR1/ApoE-KOマウスに、5種の抗II型コラーゲンmAb(Chondrex, Cat #53100, Lot #180140)の8mg/kg混合物を0日目に腹腔内注射し、その後、50μgのリポ多糖(LPS; 0111:B4; Chondrex, Cat #53100, Lot #180141)を3日目に腹腔内投与した。肉眼的レベルの関節炎の重症度を、マウス毎に四肢の各々におけるmAb注射後13日まで、1～4のスケールで等級付けした。等級付けの基準は、次の通りであった: 0、正常; 1、足首/手首又は個々の指趾の軽度の発赤及び腫脹; 2、足首/手首の中等度の発赤及び腫脹; 3、指趾を含む足全体の重度の発赤及び腫脹; 4、複数の関節を含む肢における最大限度の腫脹。各々のマウスの四肢から得られるスコアの合計の最大値は16であった。マウスは、5日目に関節炎の最初の兆候を発症し、6日目から1日おきに20μL/gの減少濃度(21mg/kg、63mg/kg、及び191mg/kg)の抗MSR1 Ab-ステロイドncADCコンジュゲート(H1H21234N-N297Q-P4-3)及びアイソタイプ対照ステロイドncADC(Isotype Control-N297Q-P4-3)で腹腔内処置された。PBS、コンジュゲートされていない抗MSR1 Ab(H1H21234N-N297Q)、及び遊離ステロイドペイロード(P4-1)を1日おきに又は毎日(P4-1EDと呼ばれる)腹腔内注射した。マウスの群についての実験的投与及び処置プロトコルは、表32に示されている。全てのマウスを13日目に　　殺し、炎症を起こした膝蓋を後続のホモジナイゼーション及びサイトカイン検出のために回収した。

【０９０８】

(関節ホモジネートにおけるサイトカインの測定:)

【０９０９】

炎症を起こした膝蓋を、2種の炭化タングステンビーズ(Qiagen, Cat #69997)とプロテアーゼ阻害剤カクテル及び0.5M EDTA(Thermo Scientific, Cat #78444, Lot #RF231047)を含む500μLのT-perバッファー(Thermo Scientific, Cat #78510, Lot #QF217759)とを含む2mL微小遠心分離チューブに回収した。組織を、Qiagen Tissue Lyser IIを用いて、30s^{-1}の周波数で10分間破壊し、14,000rpmで7分間遠心分離し、その後

、ペレットを乱すことなく、上清を回収した。炎症促進パネル1(マウス)マルチプレックス免疫アッセイキット(MesoScale Discovery, Cat #K15048D)を製造元の指示に従って用いて、上清中のサイトカイン濃度を測定した。簡潔に述べると、50μL/ウェルの(希釈剤41に希釈した)較正物質及び試料を捕捉抗体でプレインキュベートしたプレートに添加し、700rpmで振盪させながら室温で2時間インキュベートした。その後、プレートを、0.05%(w/v) Tween-20を含有する1×PBSで3回洗浄し、その後、希釈剤45に希釈した25μLの検出抗体溶液を添加した。振盪させながら室温で2時間インキュベートした後、プレートを3回洗浄し、150μLの2×読取りバッファーを各々のウェルに添加した。電気化学発光をMSD Spector(登録商標)装置ですぐに読み取った。サイトカイン濃度を、Bradfordタンパク質アッセイ(BioRad, Cat #5000006, Lot #64144266)を用いて測定された組織ホモジネート中の全タンパク質含有量毎に標準化した。データ解析を、GraphPad Prism(商標)ソフトウェアを用いて実施した。群内の統計的有意性を、テューキーの多重比較事後検定を伴う一元配置Anovaにより決定した($^{*}p<0.01$; $^{**}p<0.001$; $^{***}p<0.0001$)。

表32: CAIA hMSR1/ApoE-KOマウスについての実験設計、投与、及び処置プロトコル

【表６５】

群	マウス (n)	試験された分子	用量 (mg/kg)	頻度 (d= 日)
1	5	PBS	-	2日毎 : d6, d8, d10, d12
2	5	**P4-1**ED	2.95	毎日 : d6, d7, d8, d9, d10, d11, d12
3	5	**P4-1**	2.95	2日毎 : d6, d8, d10, d12
4	3	H1H21234N-N297Q	191	2日毎 : d6, d8, d10, d12
5	5	H1H21234N-N297Q-**P4-3**	191	2日毎 : d6, d8, d10, d12
6	5	H1H21234N-N297Q-**P4-3**	63	2日毎 : d6, d8, d10, d12
7	5	H1H21234N-N297Q-**P4-3**	21	2日毎 : d6, d8, d10, d12
8	5	アイソタイプ対照-N297Q-**P4-3**	191	2日毎 : d6, d8, d10, d12
9	5	アイソタイプ対照-N297Q-**P4-3**	63	2日毎 : d6, d8, d10, d12
10	5	アイソタイプ対照-N297Q-**P4-3**	21	2日毎 : d6, d8, d10, d12

【０９１０】

表33に示されているように、抗II型コラーゲンmAbの混合物は、PBSで処置したhMSR1/ApoE-KOマウスにおいて頑強なCAIAを誘導した。インビボでの抗MSR1 Ab-ステロイドncADC(H1H21234N-N297Q-P4-3)の治療的投与は、全ての用量で用量依存的な様式でCAIAの進行を阻害し、かつその重症度を改善するのに有効であり、顕著な効果を示した。CAIAの同程度の阻害は、21mg/kgで投与された抗MSR1 Ab-ステロイドncADC(H1H21234N-N297Q-P4-3)と毎日投与された遊離P4-1(P4-1ED)との間で観察された。191mg/kg及び63mg/kgで投与された抗MSR1 Ab-ステロイドncADC(H1H21234N-N297Q-P4-3)は、毎日投与されたペイロードよりも大きい効力を示した。1日おきの63mg/kg及び21mg/kgアイソタイプ対照-ncADC(アイソタイプ対照-P4-3)、コンジュゲートされていない抗MSR1 Ab(H1H21234N)、及び遊離P4-1の治療的投与は、hMSR1/ApoE-KOマウスにおけるCAIAを減衰させなかった。最大用量のアイソタイプ対照ncADCは、CAIAの重症度の改善において効力を示した。

【０９１１】

表34に示されているように、抗MSR1 Ab-ステロイドncADC(H1H21234N-N297Q-P4-3)のインビボでの治療的投与は、試験した全ての用量で用量依存的な様式でhMSR1/ApoE-KOマウスにおけるインビボでの炎症促進性サイトカイン産生を阻害するのにも有効で

あり、IL-6、IL-1β、及びKC-GROに対する顕著な影響を示したが;最大用量のみがTNF-αに対する顕著な効果を有した。炎症関節における炎症促進性サイトカインレベルに対する効果は、1日おきに投与されたコンジュゲートされていない抗MSR1 Ab(H1H21234N-N297Q)及び遊離P4-1で観察されなかった。アイソタイプ対照ncADCは、試験したより高い用量で炎症促進性サイトカインに対する効果を示した。

表33:抗MSR1 Ab-ステロイドncADCはインビボで用量依存的な様式でhMSR1/ApoE-KOマウスにおけるCAIAの臨床スコアを改善する。PBS処置群及びアイソタイプ対照P4-3処置群に対する統計的有意性は、テューキーの多重比較事後検定及び計算された標準誤差(SEM±)を伴う一元配置Anovaにより決定した。

【表６６】

表 33

試験された分子	PBS	P4-1ED	P4-1	H1H21234N-N297Q	H1H21234N-N297Q-P4-3		アイソタイプ対照-N297Q-P4-3		
用量 (mg/kg)	N/A	*2.95*	*2.95*	*191*	*191*	*63*	*21*	*191*	*63*	*21*
臨床スコア	11.3±2.36	5±1.54	9.4±2.46	13.67±2.02	0.5±0.35**	2.3±0.84**	5.1±2.1*	3.2±0.84	7.5±0.94	9.6±3.96

*p<0.05, **p<0.005, ***p<0.0005, ****p<0.00001

表34:抗MSR1 Ab-ステロイドncADCによる治療的処置はhMSR1/ApoE-KOマウスにおけるCAIA誘導性炎症促進性サイトカイン産生を阻害する。PBS処置群及びアイソタイプ対照N297Q-P4-3処置群に対する統計的有意性は、テューキーの多重比較事後検定及び計算された標準誤差(SEM±)を伴う一元配置Anovaにより決定した。

【表６７】

表 34

		PBS	P4-1ED	P4-1	H1H21234N	H1H21234N-N297Q-P4-3			アイソタイプ対照-N297Q-P4-3		
	用量(mg/kg)		*2.95*	*2.95*	*191*	*191*	*63*	*21*	*191*	*63*	*21*
サイトカイン[全タンパク質のmg当たりのpg]	IL-6	155.4±41	22.8±5.2$^{**}_{**}$	131.4±40.9	116.3±23.8	18.8±3.7$^{**}_{**}$	23.5±4.2$^{**}_{**}$	51.9±27.8$^{**}_{**}$	40.3±15.5$^{**}_{**}$	75.2±24.3$^{*}_{**}$	99.1±25.5
	IL-1β	23.1±6.1	1.1±0.6****	20.6±4.3	23.7±7.9	0.5±0.2****	1.6±1.3****	12.8±2.2**	6.3±2.1****	13.7±7.3*	17.3±2.9
	KC-GRO	16.6±6.8	8±4.4****	8.9±9	7.8±16	5.9±1.5****	10.8±6.9$^{**}_{**}$	9.9±13*	11.7±2.7****	18.2±8.6	15±10
	TNF-α	7.9±2.8	3.5±1.4	8.3±1.9	10.2±5	1.9±0.8*	3.8±1.9	7.9±3.5	4.3±2	9.3±4.3	9.5±1.6

*p<0.05, **p<0.005, ***p<0.0005, ****p<0.00001

【０９１２】

(実施例47:)

(細胞内黄色ブドウ球菌死滅化アッセイ)

【０９１３】

以下の抗MSR1 ncADcを試験した。

【表６８】

H1H21234N-N297Q-**R25**
アイソタイプ対照抗体 -N297Q-**R25**

【０９１４】

インビトロでの本発明の抗MSR1 Ab-抗生物質ncADCの効力を試験するために、細胞内黄色ブドウ球菌死滅化アッセイを利用した。本アッセイのために、THP-1単球細胞株を、10%FBS及び1%ペニシリン/ストレプトマイシンを含有するRPMIから構成される培地中で増殖させ、その後、96ウェルプレート中に1×10^5細胞/ウェルの密度で播種し、マクロファージへと3日間分化させ、その後、200nMホルボールミリステート酢酸塩(PMA)を用いて感染させた。黄色ブドウ球菌MRSA株NRS384の終夜培養物をRPMI中で増殖させ、PBSで2回洗浄し、その後、PBSに1×10^7cfu/mLで再懸濁させた。THP-1細胞を温かい培地(FBSを含まないRPMI)で洗浄して、ペニシリン/ストレプトマイシンを除去し、その後、10:1(黄色ブドウ球菌:マクロファージ)の感染多重度で黄色ブドウ球菌懸濁液に感染させた。プレートを300×gで5分間スピンして、細菌の接着を同期させ、その後、37℃で2時間インキュベートした。温かい培地で2回洗浄することにより、自由に浮遊する細菌を除去し、残存する細胞外黄色ブドウ球菌を、100ug/mLのゲンタマイシンを含有する培地の添加により死滅させた。1時間後、培地を吸引し、様々な用量(10ug/mL、3.3ug/mL、1.1ug/mL、0.4ug/mL、0.1ug/mL)の抗MSR1 Ab-抗生物質ncADC(H1H21234N-N297Q-R25)及び10ug/mLのアイソタイプ対照-抗生物質ncADC(アイソタイプ対照-N297Q-R25)を、50ug/mLゲンタマイシンを含有する培地中の感染したマクロファージに添加して、黄色ブドウ球菌の細胞外増殖を防いだ。ncADCなしの試料も参照用に含めた。24時間後、プレートを、FBSを含まない温かいRPMIで2回洗浄し、その後、PBS中の100uLの0.1%Triton X-100を添加し、10分間インキュベートして、THP-1を溶解させた。黄色ブドウ球菌の生存をPBS中への連続希釈によりコロニー形成単位別に列挙し、トリプチケースソイ寒天プレート上にプレーティングした。

【０９１５】

表R7に示されているように、10、3.3、及び1.1ug/mLの濃度の抗MSR1 Ab-抗生物質ncADC(H1H21234N-N297Q-R25)は、感染したマクロファージ由来の細胞内黄色ブドウ球菌をインビトロで根絶する能力を示した。0.4ug/mL及び0.1ug/mLのより低い用量の抗MSR1 Ab-抗生物質ncADCは、感染したマクロファージ由来の細胞内黄色ブドウ球菌をインビトロで低下させる能力を示したが、より高い用量で示されたような検出限界までではなかった。10ug/mLのアイソタイプ対照-抗生物質ncADC(アイソタイプ対照-N297Q-R25)で処理したマクロファージは、未処理対照と同様のレベルで細胞内黄色ブドウ球菌を保有していた。これらのデータは、抗MSR1 Ab-抗生物質ncADCを用いて、マクロファージ貯留層に存在する病原体を効果的に死滅させることができることを示している。

表R7:抗MSR1 Ab-抗生物質の平均コロニー形成単位

【表６９】

	ncADC 用量 (ug/mL)	平均 cfu/mL	標準偏差
*黄色ブドウ球菌*対照	なし	275,000	0
アイソタイプ対照-N297Q-**R25**	10	200,000	35,355
MSR1 ncADC H1H21234N-N297Q-**R25**	10	50 (検出限界)	0
	3.3	50 (検出限界)	0
	1.1	50 (検出限界)	0
	0.4	663	124
	0.1	33,750	1,768

【０９１６】

(実施例48:)

黄色ブドウ球菌IV播種性感染マウスモデル

【０９１７】

以下のADCを本実験に使用した:

【表７０】

抗体
MSR1 ncADC H1H21234N-N297Q-**R25**
アイソタイプ対照-N297Q-**R25**
MSR1 ncADC H1H21234N 3-N297Q
アイソタイプ対照-N297Q

【０９１８】

インビボでの本発明の抗MSR1 Ab-抗生物質ncADCの効力を試験するために、静脈内播種感染モデルを利用した。黄色ブドウ球菌MSRA株NRS384をトリプティックソイブロス(TSB)中で一晩増殖させ、対数期中期まで継代培養した。その後、細菌をPBSで2回洗浄し、1.2×10^8cfu/mLの濃度でPBSに再懸濁させた。その後、マウスMSR1細胞外及び膜貫通ドメインの代わりにヒトMSR1細胞外ドメイン及び膜貫通ドメイン(ヒト化MSR、MAID 7343-MSR1 HumIn delHyg)をホモ接合性に発現するマウスに、1.2×10^7cfu/マウスの最終感染用量を得るために、100uLの細菌懸濁液を尾静脈から静脈内注射した。感染から1～3日後、マウスを、表示されている場合、1日2回、110mg/kgバンコマイシンで皮下処置した。感染から1日後、抗MSR1モノクローナル抗体(H1H21234N-N297Q)、抗MSR1 Ab-抗生物質ncADC(H1H21234N-N297Q-R25)、アイソタイプ対照Ab、又はncADCアイソタイプ対照(アイソタイプ対照-R25)のいずれかを、表示されている用量で、表R8に記載されているように皮下投与した。マウスを体重減少及び体内コンディショニングスコアについて感染の間中ずっとモニタリングした。感染から4日後に、マウスを安楽死させ、黄色ブドウ球菌腎臓負荷を、組織ホモジナイゼーションと、その後のPBS中での連続希釈によるコロニー形成単位の数え上げ及びトリプチケースソイ寒天プレート上へのプレーティングにより定量した。この実験からのデータは、表R8に示されている。

表R8

バンコマイシンと組み合わせた抗MSR1 Ab-抗生物質ncADCで処置したマウスにおける平均黄色ブドウ球菌腎臓負荷

【表７１】

処置	バンコマイシン処置	mAb又はコンジュゲート用量 (mg/kg)	平均 cfu/腎臓対	検出限界未満の *黄色ブドウ球菌*を有するマウスの#	標準偏差
感染した対照	-	(-)	4.33E+08	0/5	2.32E+08
バンコマイシン	+	(-)	2.07E+06	0/6	2.76E+06
アイソタイプ対照 1mg/kg	+	1	2.44E+06	0/4	1.51E+06
ncADCアイソタイプ対照 (アイソタイプ対照 -N297Q-**R25**)	+	1	4.01E+05	1/5	6.49E+05
抗 MSR1 Ab (H1H21234N-N297Q)	+	1	1.55E+05	4/8	2.72E+05
抗 MSR1 Ab (H1H21234N-N297Q)	+	0.1	2.43E+05	0/6	2.64E+05
抗 MSR1 Ab-抗生物質 ncADC (H1H21234N-N297Q-**R25**)	+	1	6.17E+03	7/9	1.69E+04
抗 MSR1 Ab-抗生物質 ncADC (H1H21234N-N297Q-**R25**)	+	0.1	1.16E+03	6/8	1.78E+03

検出限界＝250コロニー形成単位(cfu)

【０９１９】

表R8に示されているように、黄色ブドウ球菌MRSA株NRS384による静脈内感染は、腎臓における高い細菌負荷をもたらし、標準治療抗生物質バンコマイシンによるマウスの処置は、黄色ブドウ球菌腎臓負荷を約2対数低下させるが、どのマウスも黄色ブドウ球菌のレベルを検出限界未満(LOD)に低下させなかった。バンコマイシンと組み合わせた1及び0.1mg/kgの用量の抗MSR1 Ab-抗生物質ncADC(H1H21234N-N297Q-R25)は、77%及び75%のマウスがLOD未満の黄色ブドウ球菌レベルを有する結果をもたらし、Ab-抗生物質ncADC組合せ療法で処置したマウスにおける黄色ブドウ球菌クリアランスの改善を示した。黄色ブドウ球菌クリアランスは、アイソタイプ対照ncADCコンジュゲート(アイソタイプ対照-N297Q-R25)＋バンコマイシンで処置したマウスではあまり顕著ではなく、マクロファージへのペイロードターゲッティングの利益を示した。

【０９２０】

本発明は、本明細書に記載される具体的な実施態様によって範囲が限定されるべきではない。実際、記載されているものに加えた、本発明の様々な修飾が上述の説明及び添付の図から当業者に明らかであろう。そのような修飾は、添付の特許明細書の範囲内に含まれることが意図される。

本件出願は、以下の態様の発明を提供する。

（態様１）

マクロファージスカベンジャー受容体1(MSR1)に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、該抗体又はその抗原結合断片が、以下のこと:

(i)表面プラズモン共鳴により測定したとき、37℃で約1.4nM未満のK_DでヒトMSR1に結合すること;

(ii)表面プラズモン共鳴により測定したとき、37℃で約4分超の$t^1/_2$でヒトMSR1に結合す

ること;
(iii)リガンド取込みアッセイにより測定したとき、約10nM未満のIC_{50}でヒトMSR1による修飾LDL取込みの約90%未満の最大阻害を示すこと;
(iv)競合ELISAアッセイにより測定したとき、ヒトMSR1に対する修飾LDL結合を＜50%遮断すること;及び
(v)THP-1細胞における結合によりアッセイしたとき、ヒトMSR1の結合及び約10%超の結合複合体の内在化を示すこと
からなる群から選択される1以上の特性を示す、前記単離された抗体又はその抗原結合断片。

（態様２）

細胞表面発現マクロファージスカベンジャー受容体1(MSR1)に結合し、かつ3.5nM未満のIC_{50}でMSR1による修飾LDL取込みの阻害を80%未満遮断する、単離された抗体又はその抗原結合断片。

（態様３）

前記抗体又はその抗原結合断片が1.5nM未満のIC_{50}でMSR1による修飾LDL取込みの阻害を60%未満遮断する、態様2記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

（態様４）

マクロファージスカベンジャー受容体1(MSR1)に結合する単離された抗体又はその抗原結合断片であって、該抗体又は抗原結合断片が:(a)表4に示されるアミノ酸配列を有する重鎖可変領域(HCVR)の相補性決定領域(CDR);及び(b)表4に示されるアミノ酸配列を有する軽鎖可変領域(LCVR)のCDRを含む、前記単離された抗体又はその抗原結合断片。

（態様５）

前記抗体又は抗原結合断片が、表4に示されるアミノ酸配列を有するHCVR及び表4に示されるアミノ酸配列を有するLCVRを含む、態様4記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

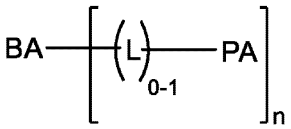
（態様６）

前記抗体又は抗原結合断片が:
(i)配列番号4、36、52、92、及び284からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHCDR1ドメイン;
(ii)配列番号6、38、54、94、及び286からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHCDR2ドメイン;
(iii)配列番号8、40、56、96、及び288からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するHCDR3ドメイン;
(iv)配列番号12、44、60、100、及び292からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するLCDR1ドメイン;
(v)配列番号14、46、62、102、及び294からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するLCDR2ドメイン;並びに
(vi)配列番号16、48、64、104、及び296からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するLCDR3ドメイン
を含む、態様4記載の単離された抗体又は抗原結合断片。

（態様７）

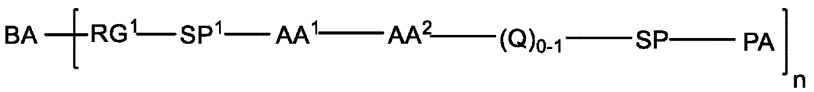
前記抗体又は抗原結合断片が:
(i)配列番号52を含む重鎖相補性決定領域(HCDR)-1;配列番号54を含むHCDR2;配列番号56を含むHCDR3;配列番号60を含む軽鎖相補性決定領域(LCDR)-1;配列番号62を含むLCDR2;及び配列番号64を含むLCDR3;
(ii)配列番号4を含むHCDR1;配列番号6を含むHCDR2;配列番号8を含むHCDR3;配列番号12を含むLCDR1;配列番号14を含むLCDR2;及び配列番号16を含むLCDR3;
(iii)配列番号36を含むHCDR1;配列番号38を含むHCDR2;配列番号40を含むHCDR3;配列番号44を含むLCDR1;配列番号46を含むLCDR2;及び配列番号48を含むLCDR3;
(iv)配列番号92を含むHCDR1;配列番号94を含むHCDR2;配列番号96を含むHCDR3;配列

番号100を含むLCDR1;配列番号102を含むLCDR2;及び配列番号104を含むLCDR3;
(v)配列番号284を含むHCDR1;配列番号286を含むHCDR2;配列番号288を含むHCDR3;
配列番号292を含むLCDR1;配列番号294を含むLCDR2;及び配列番号296を含むLCDR3;
を含む、態様4記載の単離された抗体又は抗原結合断片。
（態様８）
単離された抗体又はその抗原結合断片であって、該抗体又はその抗原結合断片が、ヒトMSR1に対する結合について、配列番号2/10、23/42、50/58; 90/98、及び282/290からなる群から選択されるHCVR/LCVRアミノ酸配列対を含む参照抗体と競合する、前記単離された抗体又はその抗原結合断片。
（態様９）
任意にリンカーを介して又はリンカー-スペーサーを介してペイロード残基にコンジュゲートされた、態様1～8のいずれか一項記載の抗体又はその抗原結合断片を含む抗体-薬物コンジュゲート。
（態様１０）
式(I)の構造を有する、態様9記載の抗体-薬物コンジュゲート:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、立体異性体形態、その位置異性体、もしくはその位置異性体の混合物;
（化１）



式 (I)

(式中:
BAは、結合剤であり;
Lは、リンカーであり;
PAは、ステロイド残基、LXRモジュレーター残基、又はリファマイシン類似体残基からなる群から選択されるペイロード部分であり;かつ
下付文字nは、1～30の整数である)。
（態様１１）
式(IA)の構造を有する、態様9又は態様10記載の抗体-薬物コンジュゲート:
（化２）

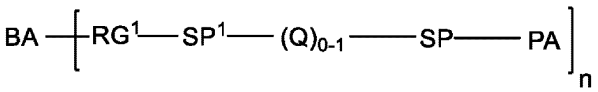


式 (IA)

(式中、
SP^1は、非存在、又はスペーサーであり;
RG^1は、反応基残基であり;
AA^1は、非存在、又は任意に基HGと直接的にもしくは間接的に結合しているアミノ酸残基を含む二価もしくは三価リンカーであり;
AA^2は、非存在、又はジペプチド、トリペプチド、もしくはテトラペプチド残基であり;
Qは、存在する場合、コネクター基残基であり;
SPは、非存在、又はスペーサーであり;かつ
HGは、存在する場合、親水基である)。
（態様１２）

式(IB-1)の構造を有する、態様9～11のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート:

（化３）



式 (IB-1)

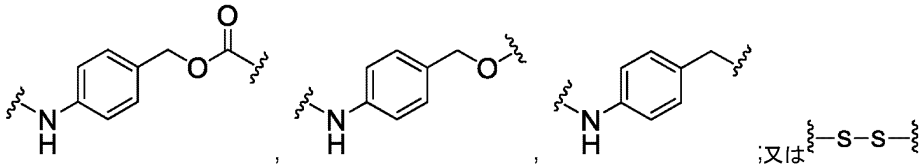
(式中、

SP^1は、非存在、又はスペーサーであり;

RG^1は、反応基残基であり;

Qは、存在する場合、

（化４）



であり;かつ

SPは、非存在、又はスペーサーであり;

ここで、

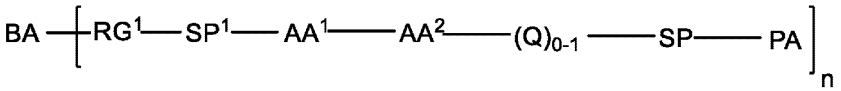
（化５）

は、それを介して言及された基が該式中の隣接する基に結合している原子を示す)。

（態様１３）

式(IB-2)の構造を有する、態様9～11のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート:

（化６）



式 (IB-2)

(式中、

SP^1は、非存在、又はスペーサーであり;

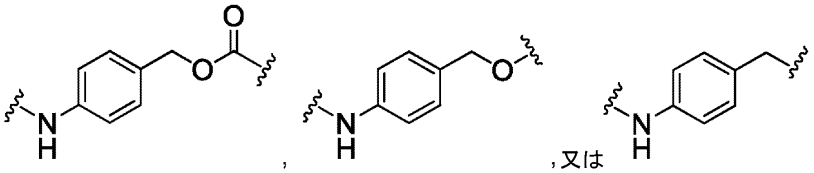
RG^1は、反応基残基であり;

AA^1は、非存在、又は任意に基HGと直接的にもしくは間接的に結合しているアミノ酸残基を含む二価もしくは三価リンカーであり;

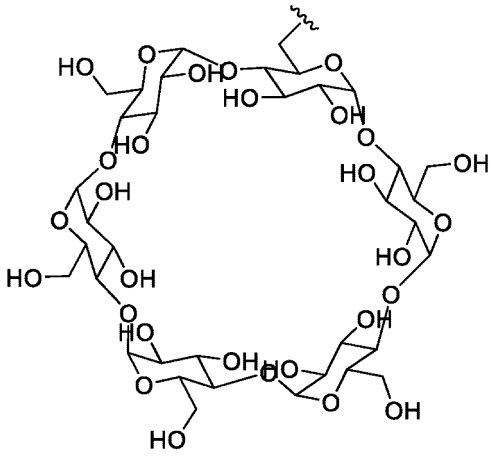
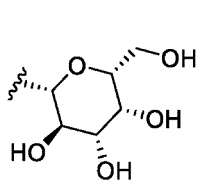
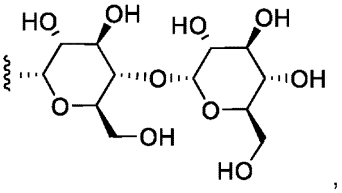
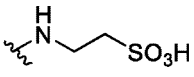
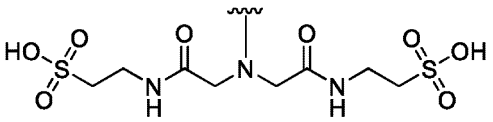
AA^2は、非存在、又はジペプチド、トリペプチド、もしくはテトラペプチド残基であり;

Qは、存在する場合、

（化７）

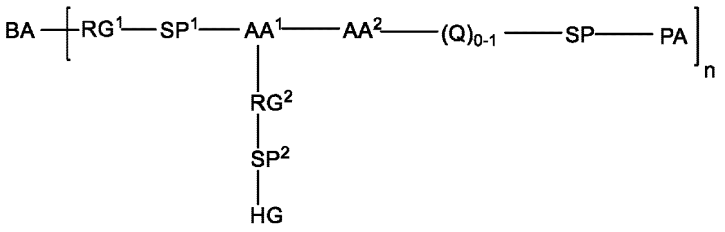


であり;
SPは、非存在、又はスペーサーであり;かつ
HGは、存在する場合、
（化８）

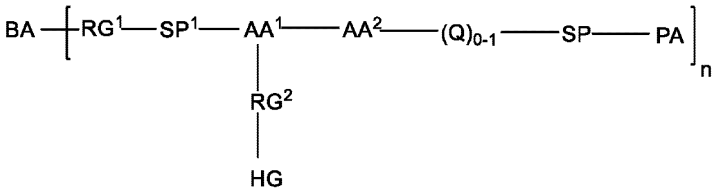






であり、
ここで、
（化９）

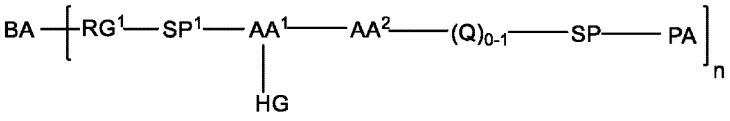
は、それを介して言及された基が該式中の隣接する基に結合している原子を示す)。
（態様１４）
式(IC)、式(ID)、又は式(IE)の構造を有する、態様9～11及び13のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート:
（化１０）



式 (IC)



式 (ID)



式 (IE)

(式中、

SP^1は、非存在、又はスペーサーであり;

RG^1は、反応基残基であり;

SP^2は、非存在、又はスペーサーであり;

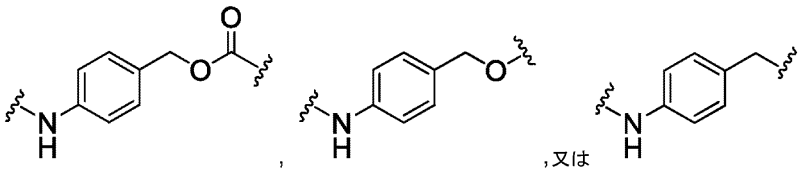
RG^2は、反応基残基であり;

AA^1は、アミノ酸残基を含む二価又は三価リンカーであり;

AA^2は、ジペプチド、トリペプチド、又はテトラペプチド残基であり;

Qは、存在する場合、

（化１１）



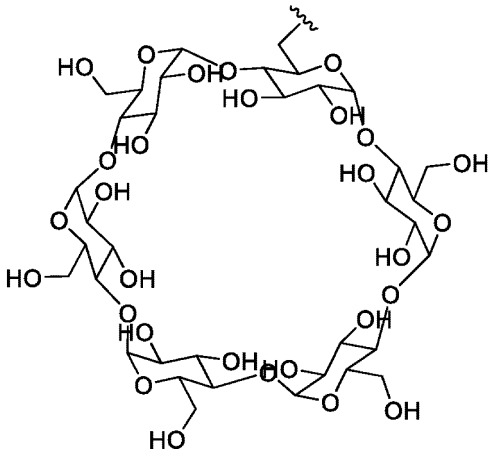
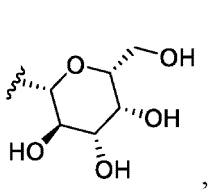
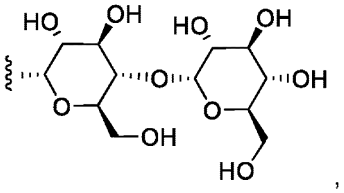
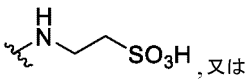
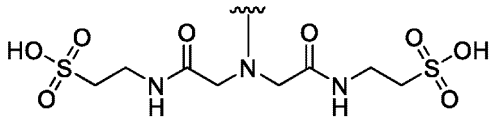
,又は

であり;

SPは、非存在、又はスペーサーであり;かつ

HGは、

（化１２）

であり、

ここで、

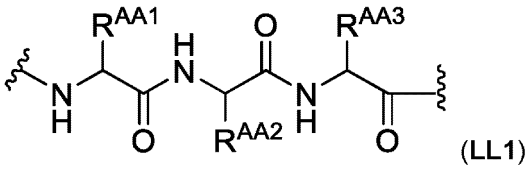
（化１３）

は、それを介して言及された基が該式中の隣接する基に結合している原子を示す)。

（態様１５）

AA^1-AA^2が式(LL1)によるものである、態様11及び13～14のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート:

（化１４）



(LL1)

(式中、R^{AA1}、R^{AA2}、及びR^{AA3}は、各々独立に、その少なくとも1つが、-(RG^2)-SP^2-HG、-(RG^2)-HG、又はHGに結合しているアミノ酸側鎖であり;ここで、

（化１５）

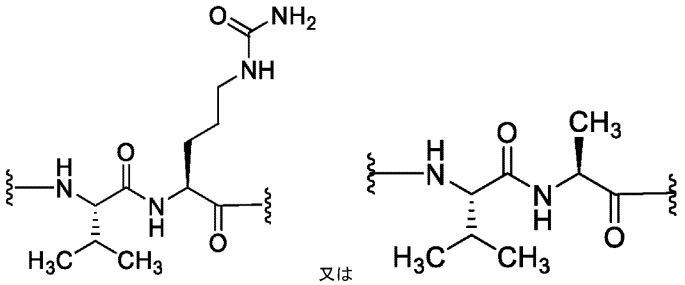
は、それを介してAA^1-AA^2が該式中の隣接する基に結合している原子を示す)。

（態様１６）

R^{AA1}が、HGに直接的に又は間接的に結合しているリジン、グルタミン、グルタミン酸、又はアスパラギン酸側鎖であり、かつR^{AA2}及びR^{AA3}が、それぞれ、バリン及びアラニン又はバリン及びシトルリン側鎖のいずれかである、態様15記載の抗体-薬物コンジュゲート。

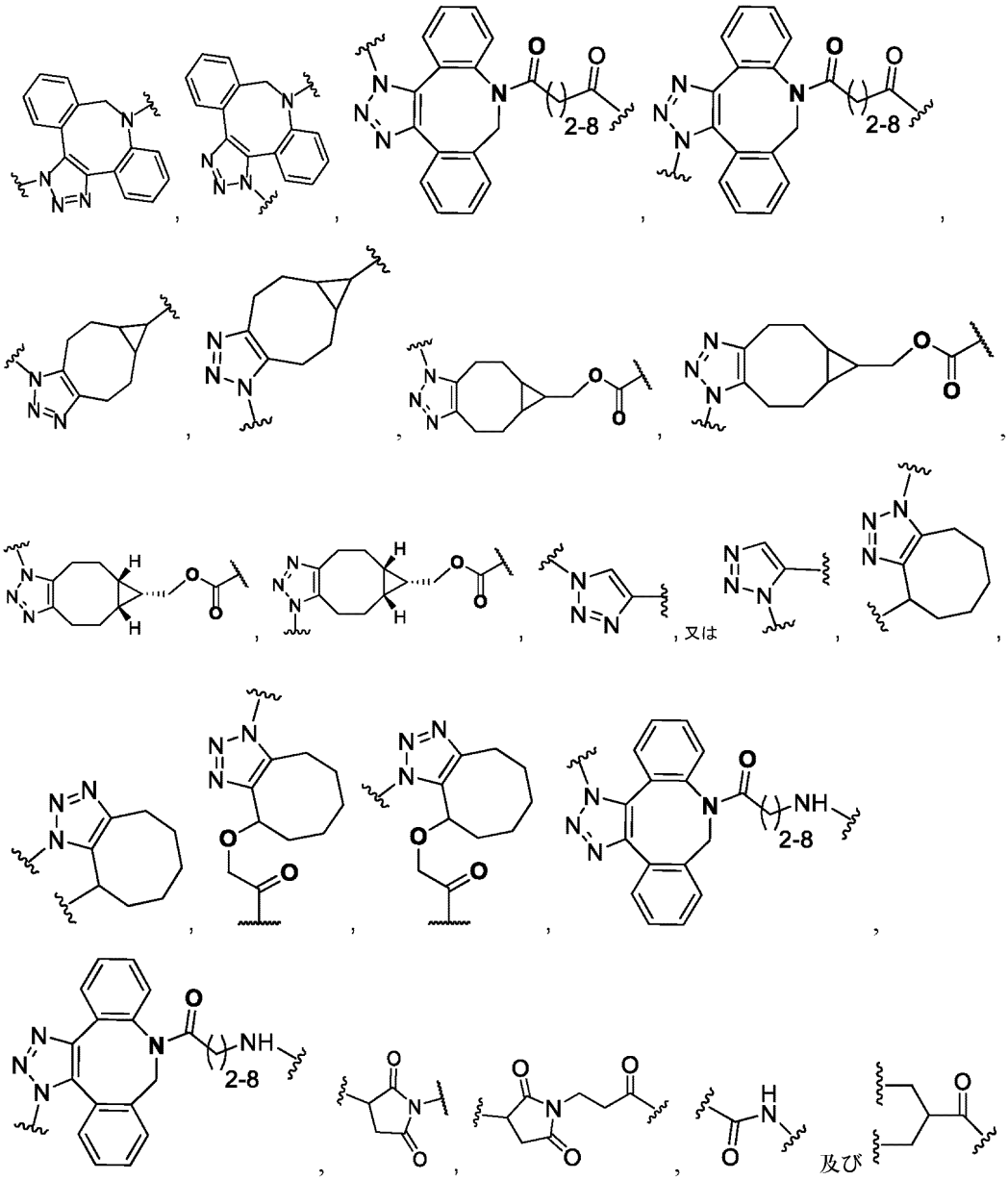
（態様１７）

AA[1]-AA[2]が、
（化１６）



であり、ここで、
（化１７）

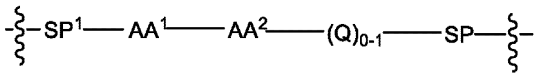
が、それを介してAA[1]-AA[2]が該式中の隣接する基に結合している原子を示す、態様11及び13～16のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート。
（態様１８）
RG[1]及びRG[2]残基が、各々の場合に独立に:
（化１８）



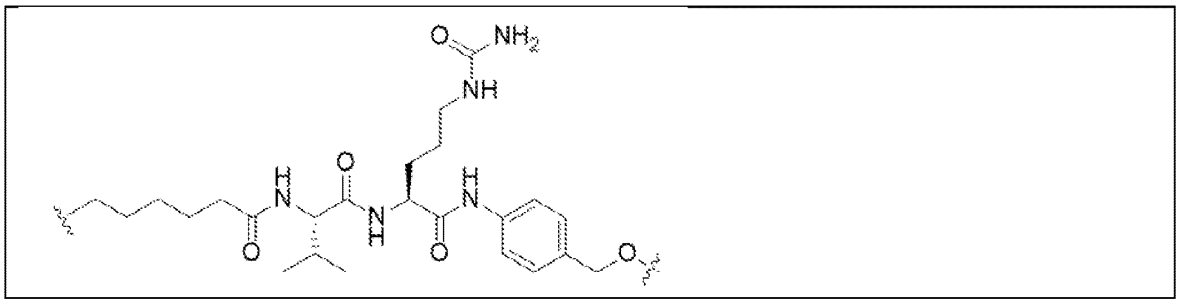
からなる群から選択され;
ここで、
（化１９）

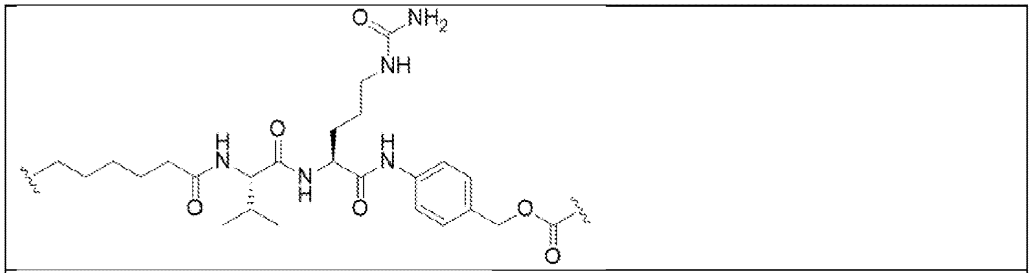
が、それを介して該RG^1又はRG^2残基が該式中の隣接する基に結合している原子を示す、態様11～17のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート。
（態様１９）
SP、SP^1、及びSP^2が、各々の場合に独立に、非存在であるか、又はC_{1-6}アルキレン、-NH-、-S-、-O-、-C(O)-、$(-CH_2-CH_2-O)_e$、$-NH-CH_2-CH_2-(-O-CH_2-CH_2)_e-C(O)-$、$-C(O)-(CH_2)_u-C(O)-$、$-C(O)-NH-(CH_2)_v-$、$(グリシン)_4$-セリン、及びその組合せからなる群から選択され、ここで、下付文字eが0～4の整数であり、下付文字uが1～8の整数であり、かつ下付文字vが1～8の整数である、態様11～18のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート。

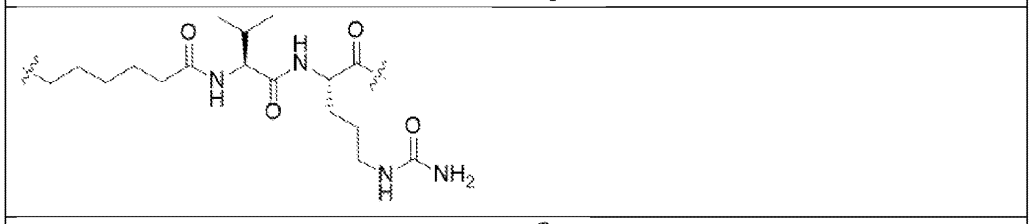
（態様２０）
nが、１、２、３、又は4である、態様9～19のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート。
（態様２１）
（化２０）

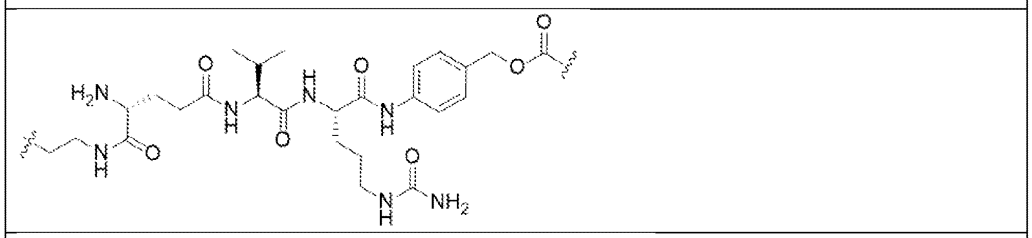


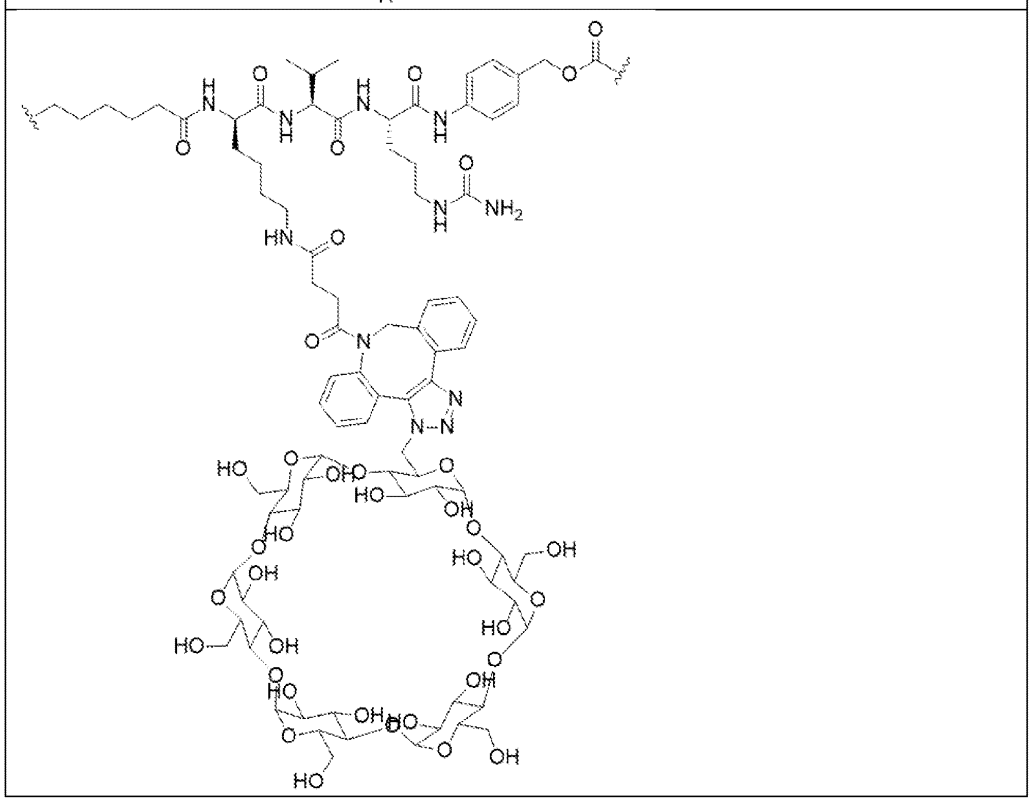
が、
（化２１）

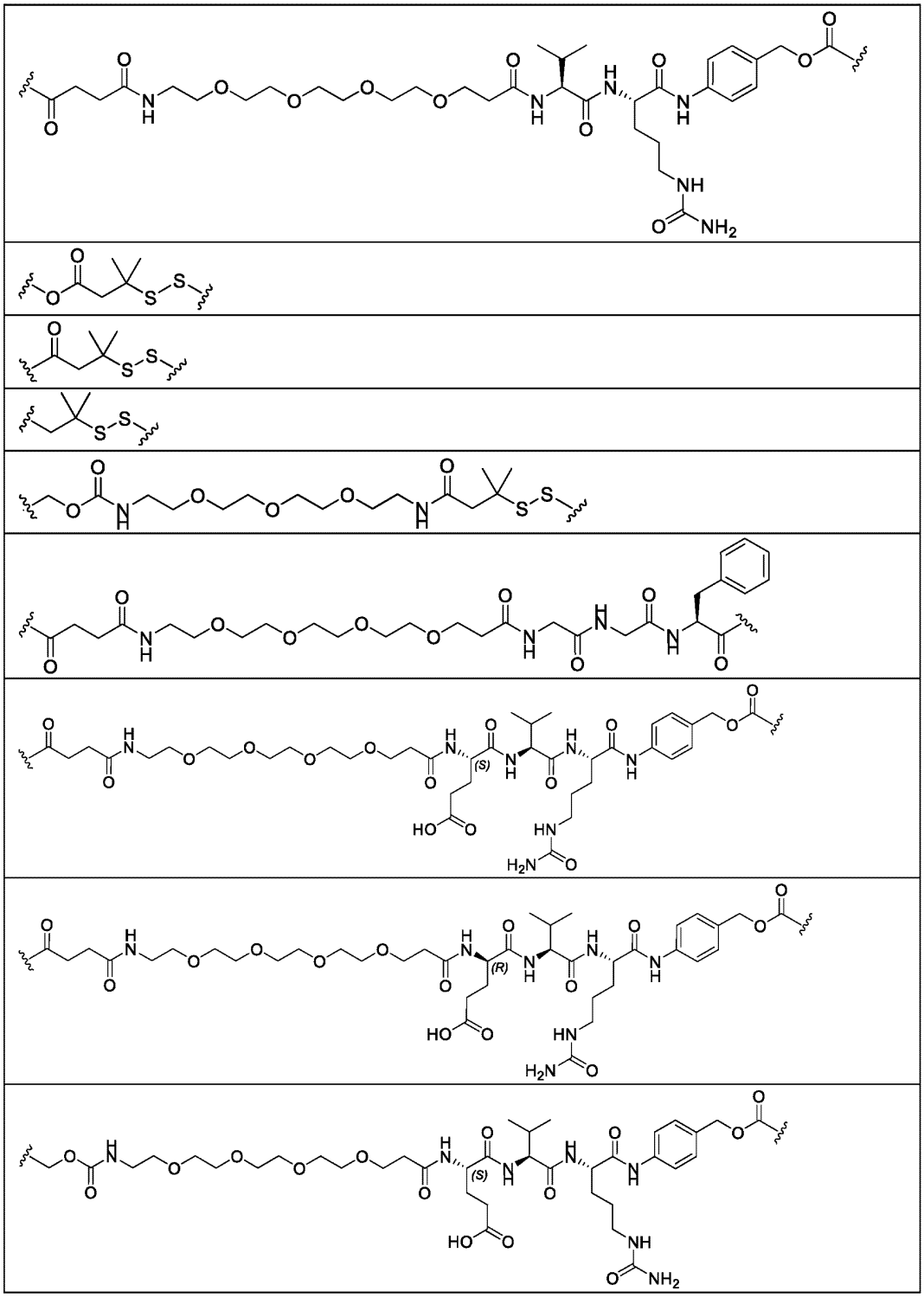


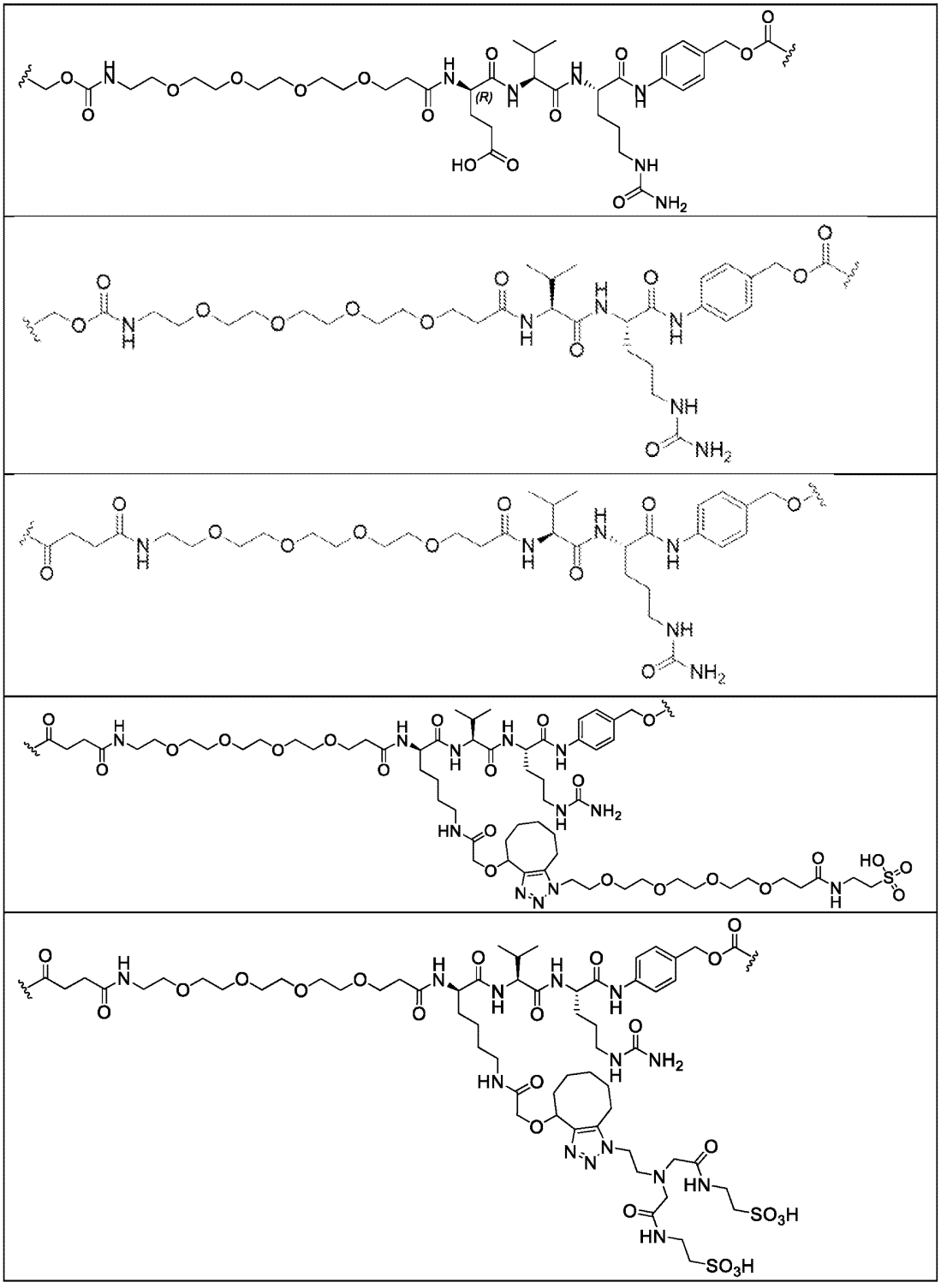


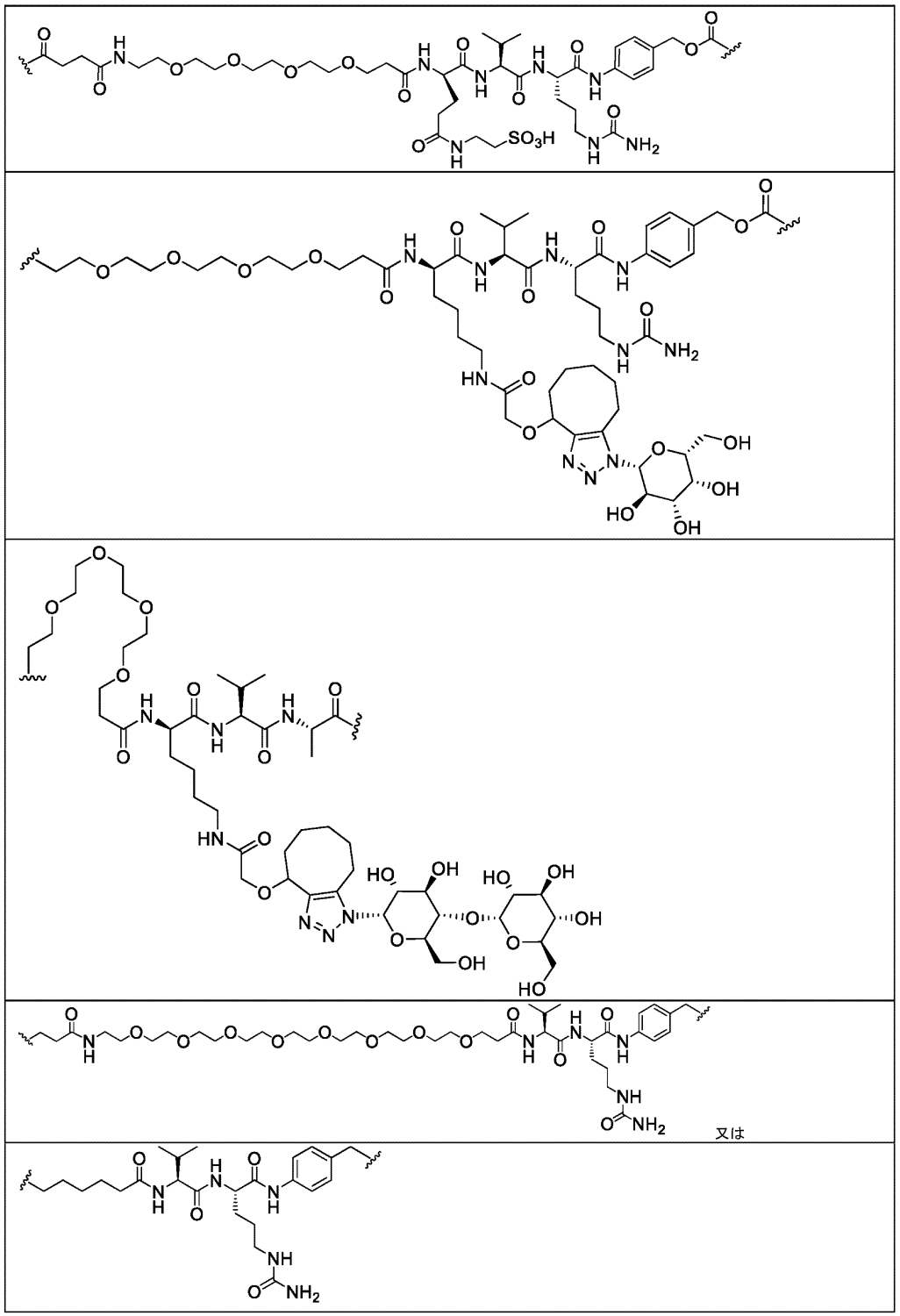












である、態様11～20のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート。

（態様２２）

前記抗体又はその抗原結合断片が、リンカー又はリンカー-スペーサーを介して、ステロイドペイロードにコンジュゲートされている、態様9記載の抗体-薬物コンジュゲート分子。

（態様２３）

前記抗体又はその抗原結合断片が、リンカーを介して、LXRモジュレーターペイロードにコンジュゲートされている、態様9記載の抗体-薬物コンジュゲート分子。

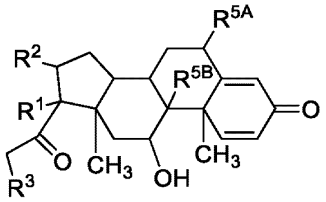
（態様２４）

前記抗体又はその抗原結合断片が、リンカーを介して、リファマイシン類似体ペイロードにコンジュゲートされている、態様9記載の抗体-薬物コンジュゲート分子。

（態様２５）

リンカー又はリンカー-スペーサーを介して前記抗体又はその抗原結合断片にコンジュゲートされたステロイドが式(A-1)の化合物である、態様22記載の抗体-薬物コンジュゲート分子、又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態;

（化２２）

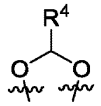


式 (A-1)

(式中、

R^1及びR^2は、独立に、-H、アルキル、アルキル-C(O)-O-、-OH、もしくはハロであるか;又はR^1及びR^2は、一緒に、

（化２３）



を形成し、

ここで、R^4は、アルキル、アリール、アリールアルキル、又はN-含有ヘテロシクロアルキルであり、

ここで、該アルキル、アリール、アリールアルキル、及びN-含有ヘテロシクロアルキルは、各々の場合に独立に、$-NR^{Aa}R^{Ab}$で任意に置換されており;

R^3は、-O、R^Z-C(O)-X-、-ヘテロアルキル、-ピペリジニル、$-NR^{Aa}R^{Ab}$、-オキシアリール-$NR^{Aa}R^{Ab}$、又は-Z-A'$(R^P)_t$であり;

R^Zは、アルキルであり;

Xは、O又はNR^{Aa}であり;

Zは、S、S(O)、$S(O)_2$、SO_2NR^{Aa}、O、C(O)NR^{Aa}、C(O)、又はNR^{Aa}であり;

A'は、アリール、アリールアルキル、又はヘテロアリールであり;

R^Pは、各々の場合に独立に、ハロ、任意に置換されたアルキル、-OH、又は$-NR^{Aa}R^{Ab}$であり;

R^{Aa}及びR^{Ab}は、各々の場合に独立に、-H、任意に置換されたアルキル、又は任意に置換されたアリール(optionally subtitued aryl)であり;

下付文字aは、0～19の整数であり;かつ

tは、1～3の整数であり;かつ

R^{5A}及びR^{5B}は、各々独立に、ハロ又は水素原子であり;

ここで、基R^3又はR^4は、該リンカーに結合している)。

（態様２６）

式(3000)の構造を有する、態様22記載の抗体-薬物コンジュゲート:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態;

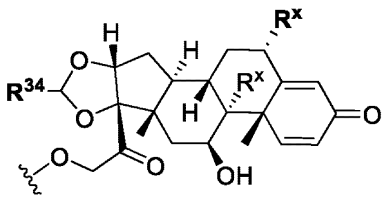
$BA-(L'-SP-D)_n$ 式(3000)

(式中、

Dは、

a)

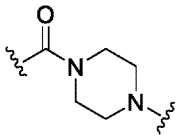
（化２４）



式 (a)

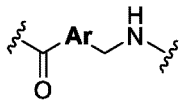
(ここで、式(a)中の両方のR^xは、水素であり; R^{34}は、アルキル、アリール、アリールアルキル、もしくはN-含有ヘテロシクロアルキルであり;かつSPは、-C(O)-C_1-C_{10}-アルキレン-C(O)-、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-C_1-C_{10}-アルキレン-X^1-(ここで、X^1は、式(3000)中のL'に付加されている)、-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-S-(ここで、Sは、式(3000)中のL'に付加されている)、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-S-(ここで、Sは、式(3000)中のL'に付加されている)、

（化２５）



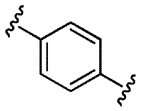
(ここで、右側にある(すなわち、Nにおける)結合点は、式(3000)中のL'に対するものである)、-CH_2-NH-(ここで、Nは、式(3000)中のL'に付加されている)、

（化２６）



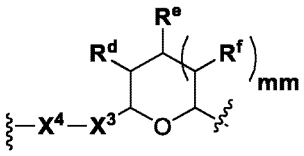
(ここで、Nは、式(3000)中のL'に付加されており、かつここで、Arは、任意に置換されたアリーレン(いくつかの実施態様において、

（化２７）

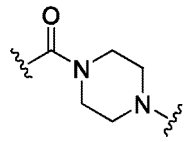


)もしくは任意に置換されたヘテロアリーレンである)、-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(3000)中のL'に付加されている)、-C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(3000)中のL'に付加されており、かつここで、各々のC_1-C_{10}-アルキレンは、独立に、1以上のヒドロキシで任意に置換されている)、-C(O)-N(R^{35})-C_1-C_{10}-アルキレン-C(O)NH-X^2-(ここで、X^2は、式(3000)中のL'に付加されている)、又は

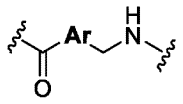
（化２８）



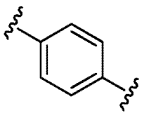
(ここで、X^4は、式(3000)中のL'に付加されている)であるか;或いは
ここで、式(a)中の両方のR^xは、フルオロであり; R^{34}は、アルキル、アリール、アリールアルキル、もしくはN-含有ヘテロシクロアルキルであり;かつSPは、-C(O)-C_1-C_{10}-アルキレン-C(O)-、-C(O)-N(C_{1-6}アルキル)-C_1-C_{10}-アルキレン-X^{1b}-(ここで、X^{1b}は、式(3000)中のL'に付加されている)、-C(O)-N(H)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-X^{1b}-(ここで、X^{1b}は、式(3000)中のL'に付加されている)、
(化２９)



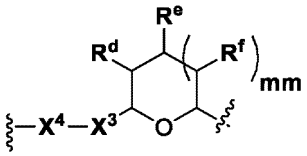
(ここで、右側にある(すなわち、Nにおける)結合点は、式(3000)中のL'に対するものである)、-CH_2-NH-(ここで、Nは、式(3000)中のL'に付加されている)、
(化３０)



(ここで、Nは、式(3000)中のL'に付加されており、かつここで、Arは、任意に置換されたアリーレン(いくつかの実施態様において、
(化３１)



)もしくは任意に置換されたヘテロアリーレンである)、-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(3000)中のL'に付加されている)、-C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50}C(O)-(C_1-C_{10}-アルキレン)-NR^{50a}-(ここで、NR^{50a}は、式(3000)中のL'に付加されており、かつここで、各々のC_1-C_{10}-アルキレンは、独立に、1以上のヒドロキシで任意に置換されている)、-C(O)-N(R^{35})-(C_1-C_{10}-アルキレン)-C(O)NH-X^2-(ここで、X^2は、式(3000)中のL'に付加されている)、又は
(化３２)



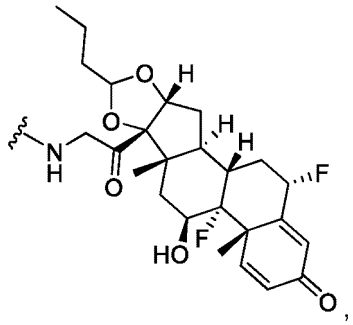
(ここで、X^4は、式(3000)中のL'に付加されている)である);並びに/或いは
b)表Aの化合物(ここで、該表Aの化合物は、-C(O)CH_2OH基のヒドロキシを介して又はマプラコラトのヒドロキシを介して、式(III)の化合物のBAに連結されている)
から選択され;
X^1は、-N(C_{1-6}アルキル)-であり;
X^{1b}は、-S-、-NH-、又は-N(C_{1-6}アルキル)-であり;
X^2は、-NH-であり;
X^3は、-CH_2-であり、X^3は、-CH_2-O-(C_1-C_{10}-アルキレン)-C(O)-(ここで、C(O)は、X^4に結合している)であるか、X^3は、-C(O)-であり;

X^4は、-O-であり;
R^{35}は、H、-OH、$-OCH_3$、又はC_{1-6}アルキルであり;
R^{50}及びR^{50a}は、独立に、水素又はC_1-C_6-アルキルであり;
R^d、R^e、及びR^fは、独立に、-H、-OH、ヒドロキシアルキル、アルコキシカルボニル、-C(O)OH、又は$-CH_2OR^g$であり、ここで、各々のR^gは、独立に、$-CH_2C(O)OH$又は$-CH_2C(O)O$(アルキル)であり;かつ
mmは、0又は1であり;
nは、1～30までから選択される整数であり;
L'は、リンカーであり;かつ
BAは、結合剤である)。

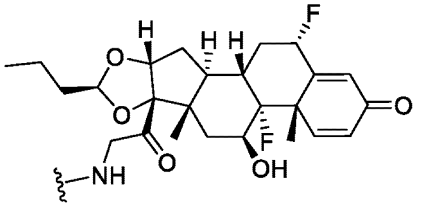
（態様２７）

前記ステロイドペイロードが:

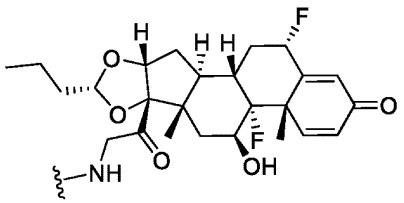
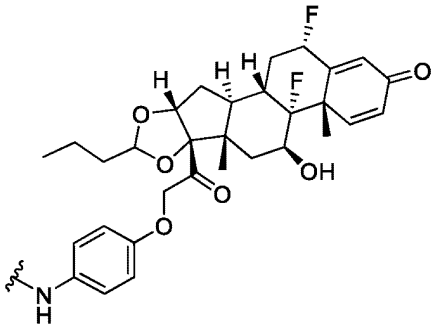
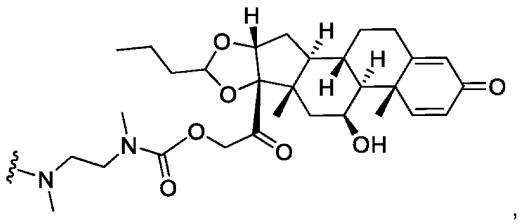
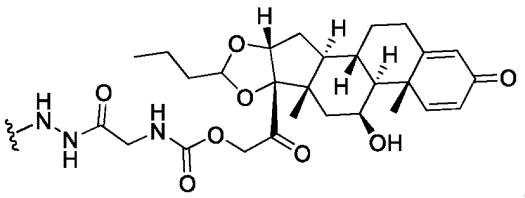
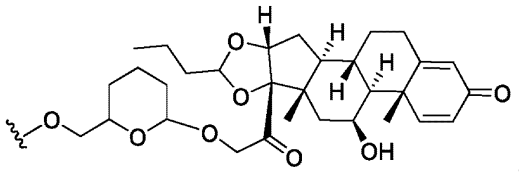
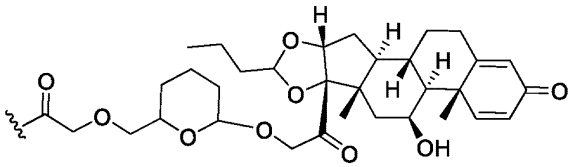
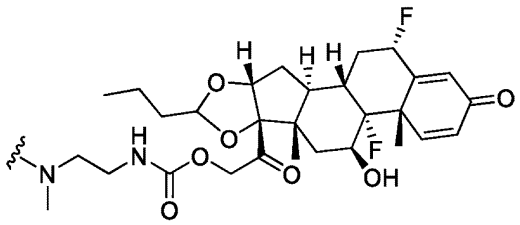
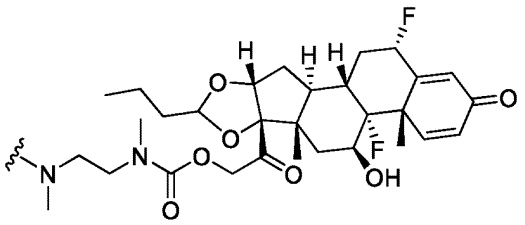
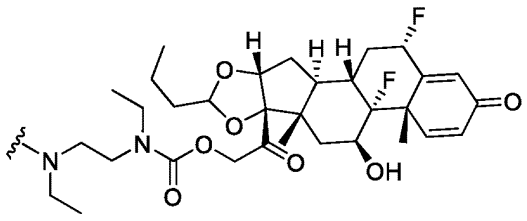
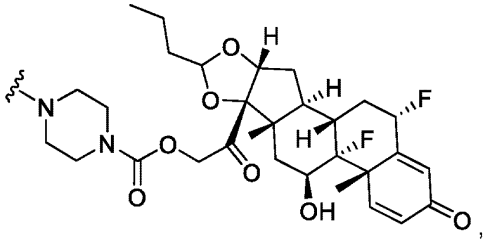
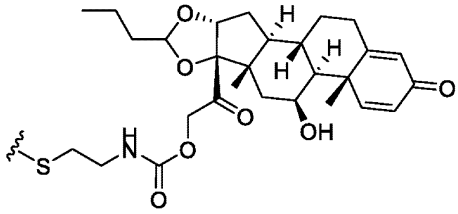
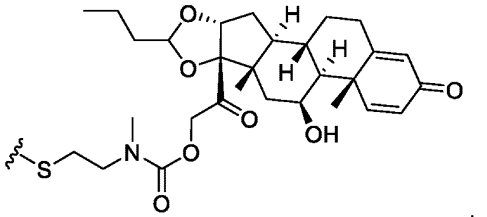
（化３３）

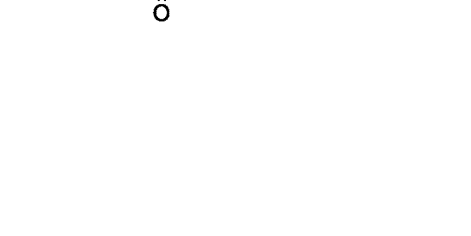


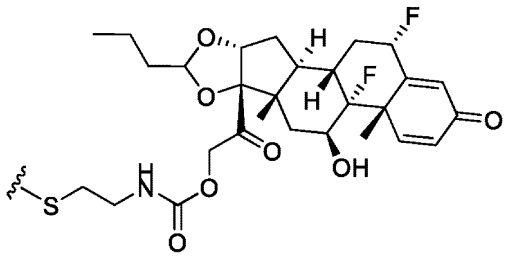
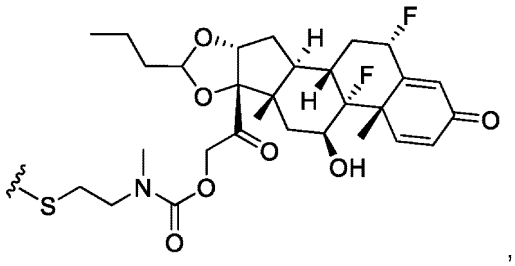
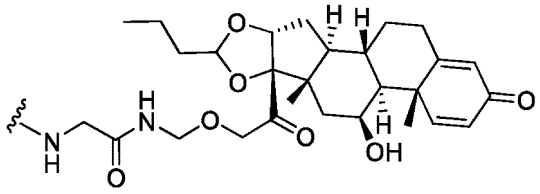
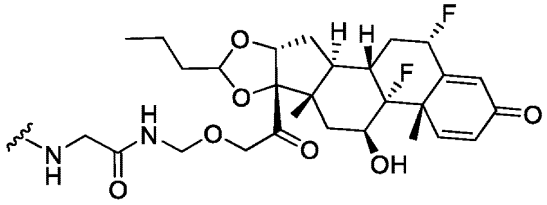
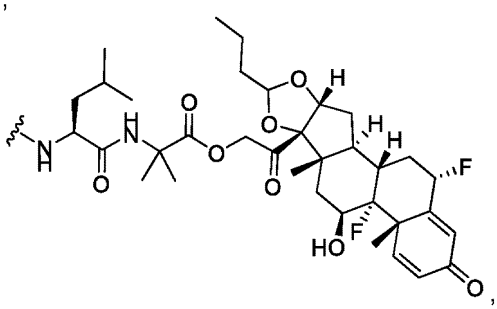
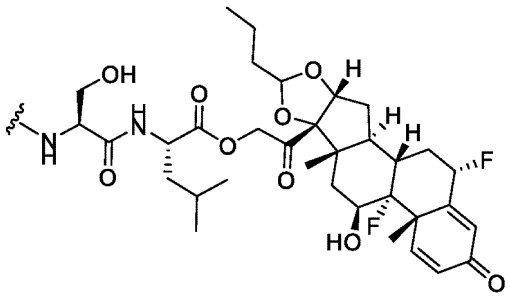
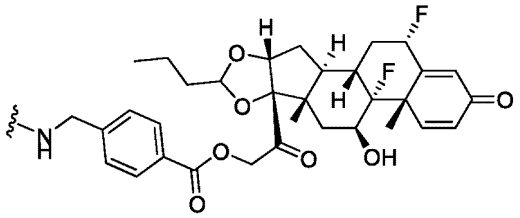
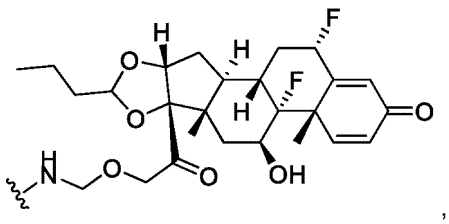
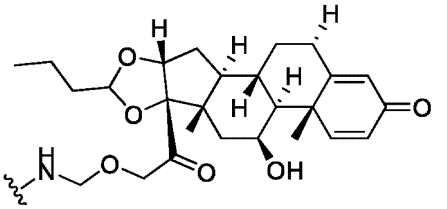
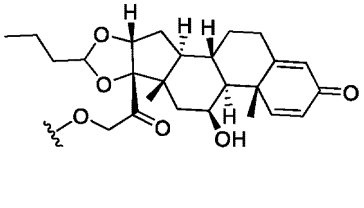
,



,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,

,


,

,

,

,

,

,

,

,

,

, 及び

からなる群から選択され、

ここで、

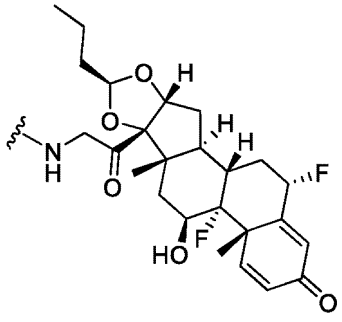
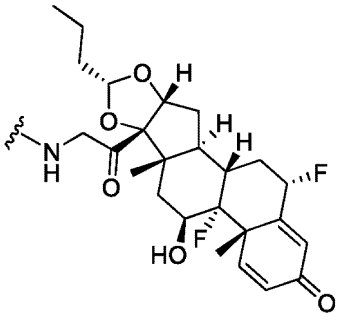
（化３４）

が前記リンカーとの結合である、態様22記載の抗体-薬物コンジュゲート。

（態様２８）

前記ステロイドペイロードが:

（化３５）

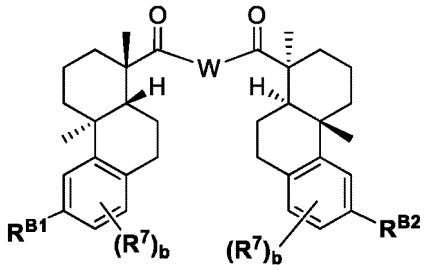

及び


又はその混合物からなる群から選択される、態様22記載の抗体-薬物コンジュゲート。

（態様２９）

リンカーを介して前記抗体又はその抗原結合断片にコンジュゲートされたLXRモジュレーターが式(B)の化合物である、態様23記載の抗体-薬物コンジュゲート:又は医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態

（化３６）


式 (B)

(式中、

Wは、$-CH_2-$、-N(H)-、又は-O-であり;

R^{B1}は、-H、-OH、$-NH_2$、アルキル、又は$-OP(O)(OR^6)_2$であり;

R^{B2}は、-H、-OH、$-CH_2NH_2$、R^{B3}、R^{B4}、R^{B5}、又は$-O-R^{B5}$であり、ここで、R^{B1}及びR^{B2}は、同時に-Hであることはなく;

R^{B3}は、$-N(R^6)_2$であり;

R^{B4}は、-X-Y-Zであり;

Xは、-O-及び-N(H)-からなる群から選択され;

Yは、アルキレン、置換アルキレン(限定されないが、オキソ置換、すなわち、=O)を含む)、ヘテロアルキレン、及び置換ヘテロアルキレン(限定されないが、オキソ置換(すなわち、=O)を含む)からなる群から選択され;

Zは、-OH及び$-NH_2$からなる群から選択され;

R^{B5}は、アルキル、ヘテロシクロアルキル、又は置換ヘテロシクロアルキルであり、ここで、各々のヘテロシクロアルキル又は置換ヘテロシクロアルキルは、窒素及び酸素から選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み、かつ少なくとも1つの-OH及び$-CH_2OH$置換基又は少なくとも1つの一級もしくは二級窒素、例えば、O-グルコースを含み;

各々のR^6は、各々の場合に、-H、アミノ酸残基、N-アルキルアミノ酸残基、ペプチド、又はアルキルであり;かつ

各々のR^7は、独立に、ハロ、C_{1-6}アルキル、C_{1-6}アルコキシ、-CN、O-グルコース、O-アミノ酸残基、及びO-PEG_b(ここで、各々の下付文字bは、0～3の整数である)であり;

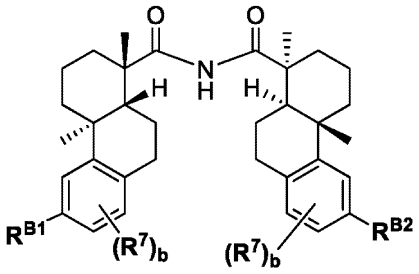
ここで、基R^{B1}又はR^{B2}は、該リンカーに結合している)。

（態様３０）

リンカーを介して、前記抗体又はその抗原結合断片にコンジュゲートされたLXRモジュ

レーターが式(B-1)の化合物である、態様23記載の抗体-薬物コンジュゲート:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態;

（化３７）



式 (B-1)

(式中:

R^{B1}は、-N(H)R^8又は-N(R^9)$_2$であり;

R^{B2}は、-N(H)R^8であり;

各々のR^8は、各々の場合に独立に、水素、アミノ酸残基、N-アルキルアミノ酸残基、ペプチド残基、生体分解性部分、又はアルキルであり;

R^9は、アルキル、アリール、アリールアルキル、ヘテロシクロアルキル、又は置換ヘテロシクロアルキルであり、ここで、各々のヘテロシクロアルキル又は置換ヘテロシクロアルキルは、窒素及び酸素から選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み、かつ置換されているとき、少なくとも1つの-OH及び-CH_2OHを含むか、又は少なくとも1つの一級もしくは二級窒素を含み;

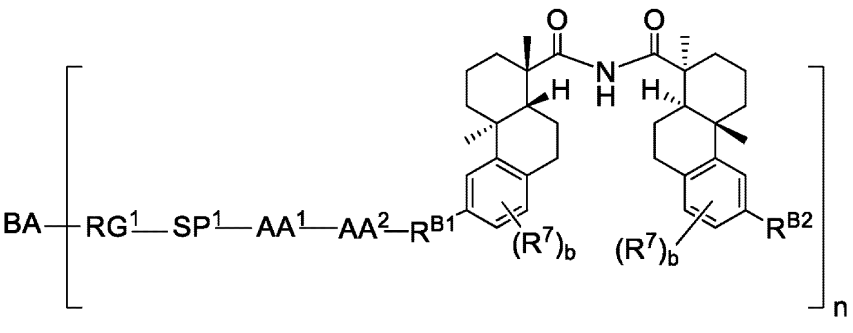
各々のR^7は、独立に、ハロ、C_{1-6}アルキル、C_{1-6}アルコキシ、-CN、O-グルコース、O-アミノ酸残基、又はO-PEG_b(ここで、各々の下付文字bは、0～3の整数である)であり;

ここで、基R^{B1}又はR^{B2}は、該リンカーに結合している)。

（態様３１）

式(6005)の構造を有する、態様9～21、23、及び29～30のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート

（化３８）



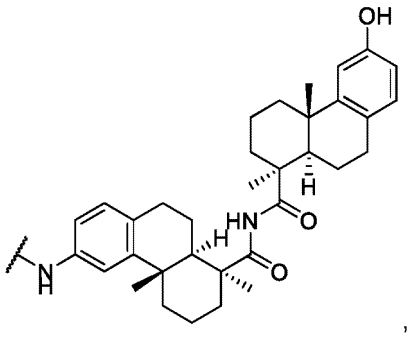
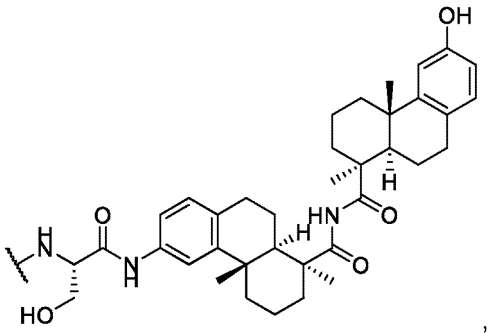
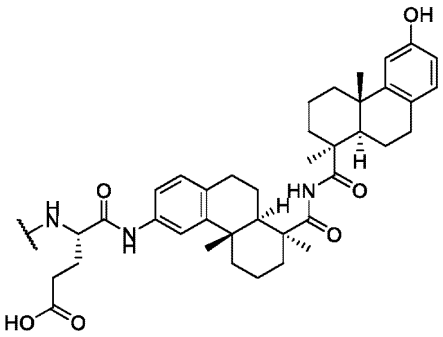
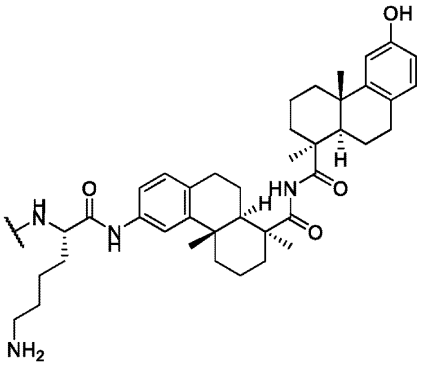
式 (6005)

。

（態様３２）

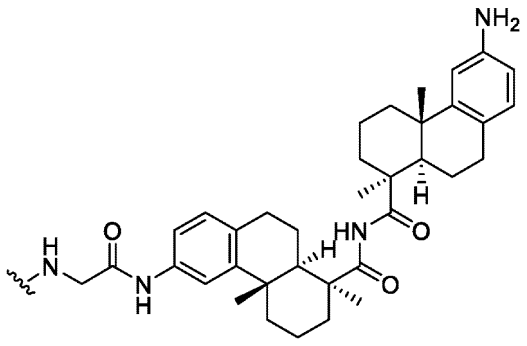
前記LXRモジュレーターが:

（化３９）

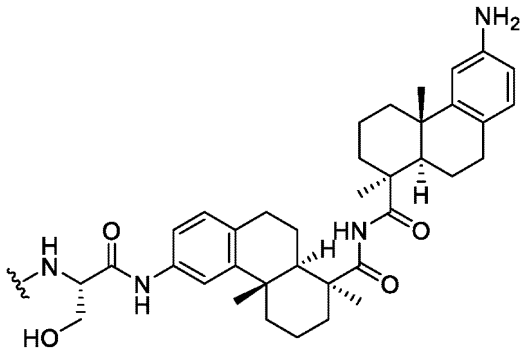

,

,

,及び


からなる群から選択され、
ここで、
（化４０）

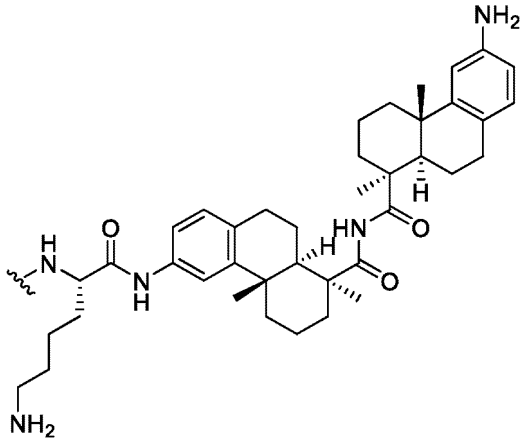
が前記リンカーとの結合である、態様23記載の抗体-薬物コンジュゲート。
（態様３３）
前記ＬＸＲモジュレーターが:
（化４１）



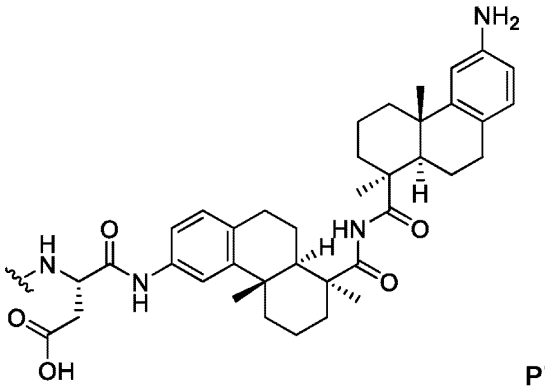
P4B;



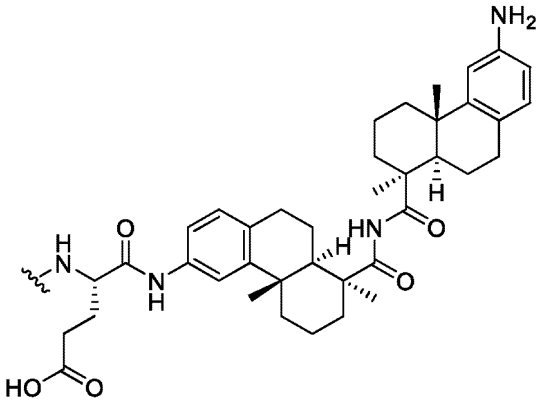
P5B;



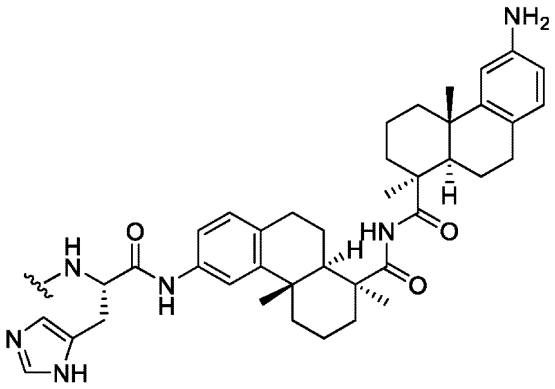
P6B;



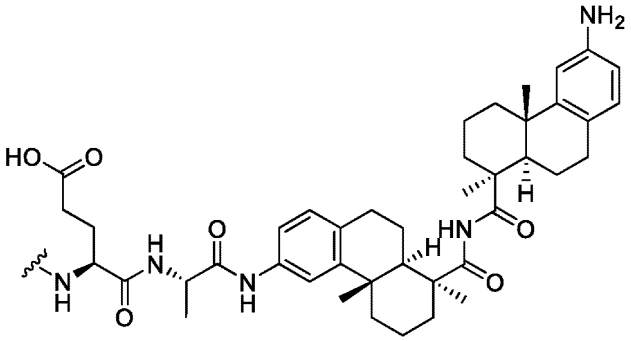
P7B;



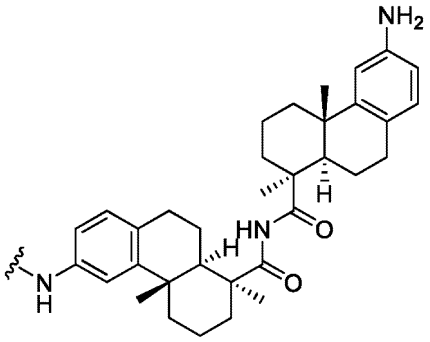
P8B;



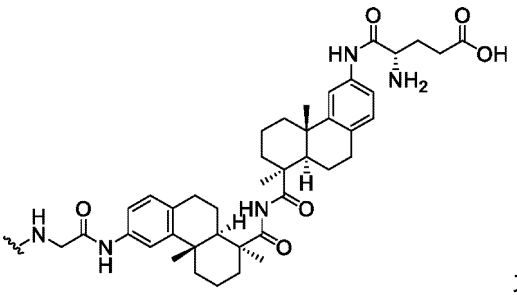
P9B;



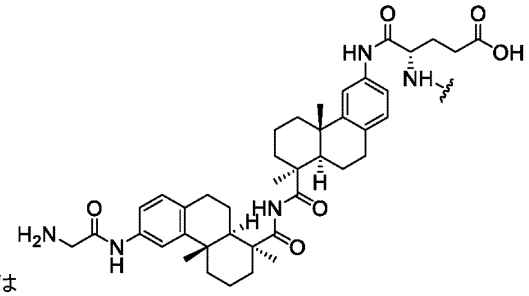
P12B;

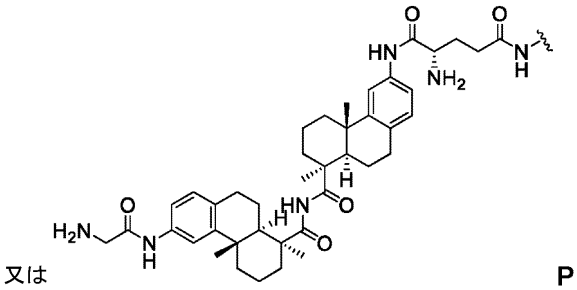


P2B;



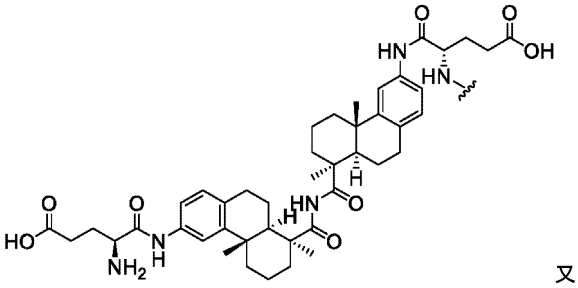
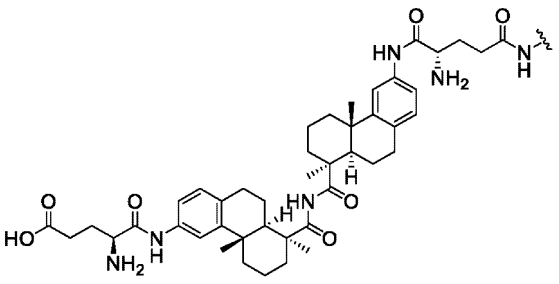
又は



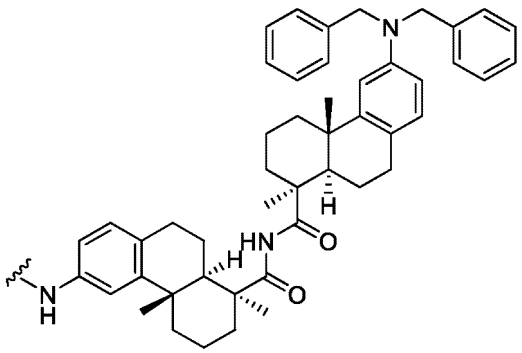


又は

P10B;


又は


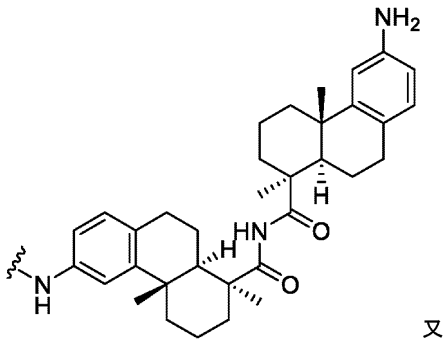
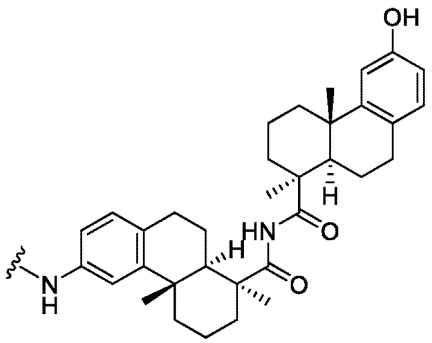
P11B;
及び



P3B;

からなる群から選択され、
ここで、
（化４２）

が前記リンカーとの結合である、態様23記載の抗体-薬物コンジュゲート。
（態様３４）
前記LXRモジュレーターが、
（化４３）


又は


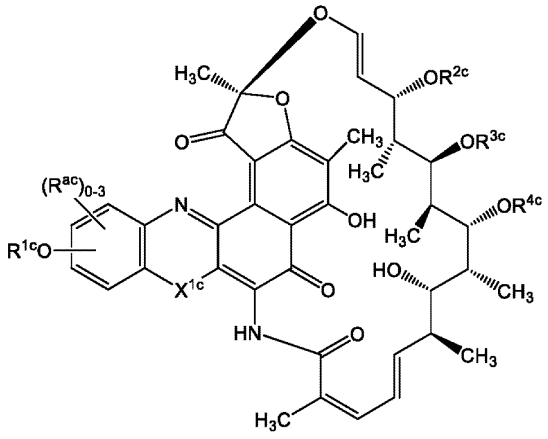
であり;
ここで、
（化４４）

が前記リンカーとの結合である、態様23記載の抗体-薬物コンジュゲート。

（態様３５）

前記リファマイシン類似体が式(C-1)の化合物である、態様24記載の抗体-薬物コンジュゲート:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態;

（化４５）



式（C-1）

(式中:

X^{1c}は、-S-; -O-及び-NR^{5c}から選択され;

R^{1c}は、アミノ-C_{1-6}アルキル; C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ジ-C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ヒドロキシ-C_{1-6}アルキル; HS-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-$N(R^{5c})$-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-O-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-S-C_{1-6}アルキル;ヘテロシクロアルキル、又はヘテロシクロアルキル-C_{1-6}アルキルであり;ここで、ヘテロシクロアルキルは、O、N、及びSから選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み;かつここで、ヘテロシクロアルキルは、ハロ、C_{1-6}アルキル、-OH、=O、又は-$N(R^{5c})_2$で任意に置換されており;

R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;

各々のR^{ac}は、存在する場合、独立に、-F; -Cl; -Br; -I; -OH; -NH_2;及びC_{1-6}アルコキシから選択され;かつ

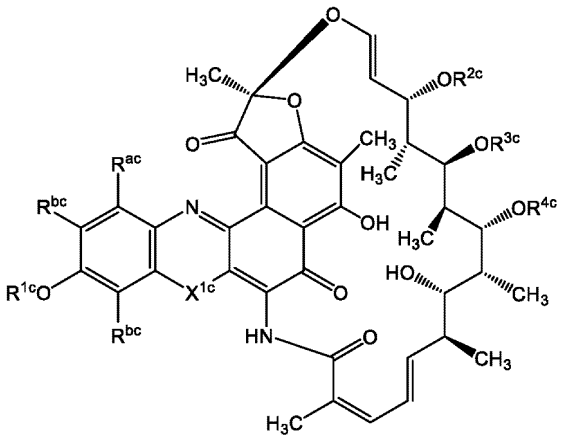
R^{5c}は、出現する毎に独立に、水素;及びC_{1-6}アルキルから選択され;

ここで、基R^{1c}は、前記リンカーに結合している)。

（態様３６）

前記リファマイシン類似体が式(C-2)の化合物である、態様24記載の抗体-薬物コンジュゲート:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態;

（化４６）



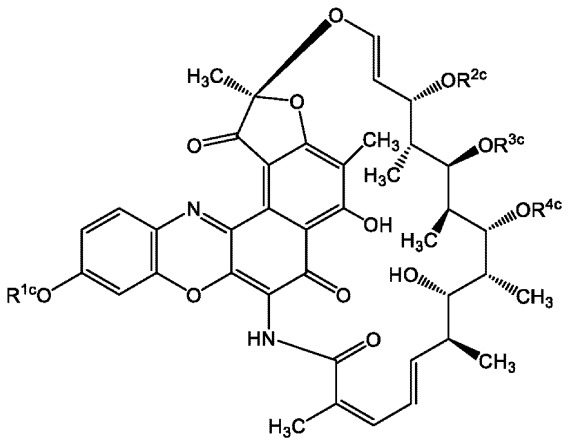
式（C-2）

(式中:
X^{1c}は、-S-; -O-及び-NR^{5c}から選択され;
R^{1c}は、アミノ-C_{1-6}アルキル; C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ジ-C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;ヒドロキシ-C_{1-6}アルキル; HS-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-$N(R^{5c})$-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-O-C_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-S-C_{1-6}アルキル;ヘテロシクロアルキル、又はヘテロシクロアルキル-C_{1-6}アルキルであり;ここで、ヘテロシクロアルキルは、O、N、及びSから選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み;かつここで、ヘテロシクロアルキルは、ハロ、C_{1-6}アルキル、-OH、=O、又は-$N(R^{5c})_2$で任意に置換されており;
R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;
R^{ac}及びR^{bc}は、独立に、-F; -Cl; -Br; -I; -OH; -NH_2;及びC_{1-6}アルコキシから選択され;かつ
R^{5c}は、出現する毎に独立に、水素;及びC_{1-6}アルキルから選択され;
ここで、基R^{1c}は、前記リンカーに結合している)。

（態様３７）

前記リファマイシン類似体が式(C-3)の化合物である、態様24記載の抗体-薬物コンジュゲート:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態;

（化４７）



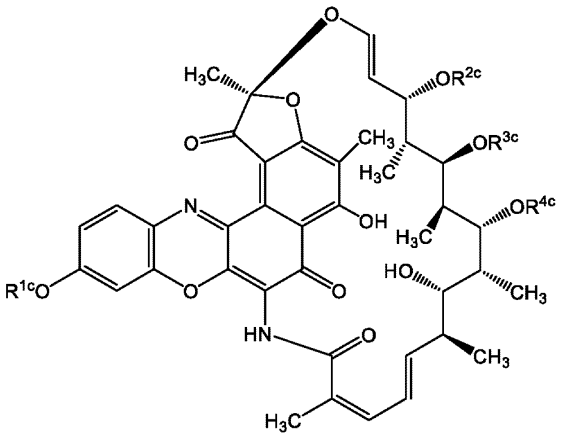
式 (C-3)

(式中:
R^{1c}は、ジ-C_{1-6}アルキルアミノC_{1-6}アルキル;$(R^{5c})_2N$-C_{1-6}アルキレン-$N(R^{5c})$-C_{1-6}アルキル;ヘテロシクロアルキル、又はヘテロシクロアルキル-C_{1-6}アルキルであり;ここで、ヘテロシクロアルキルは、O、N、及びSから選択される1、2、又は3個のヘテロ原子を含み;かつここで、ヘテロシクロアルキルは、ハロ、C_{1-6}アルキル、-OH、=O、又は-$N(R^{5c})_2$で任意に置換されており;かつ
R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C_{1-6}アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;かつ
R^{5c}は、水素及びC_{1-6}アルキルから選択され;
ここで、基R^{1c}は、前記リンカーに結合している)。

（態様３８）

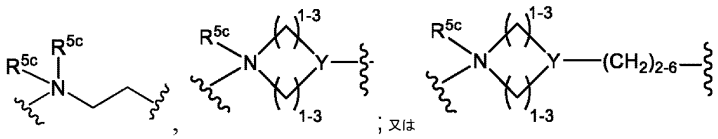
前記リファマイシン類似体が式(C-4)の化合物である、態様24記載の抗体-薬物コンジュゲート:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態;

（化４８）



式（C-4）

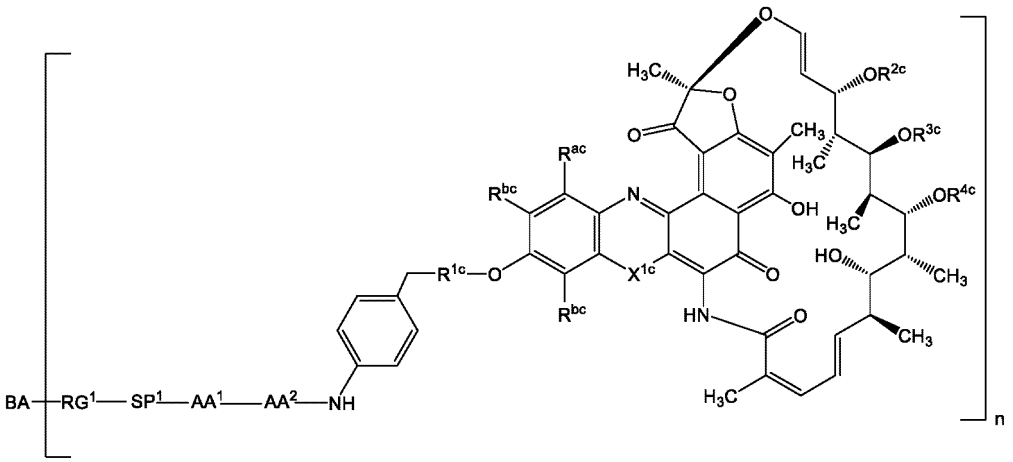
(式中:
R^{1c}は、
（化４９）



;又は

であり;ここで、Yは、C又はNであり;
R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C$_{1-6}$アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;かつ
R^{5c}は、出現する毎に独立に、非存在であるか、又は水素及びC$_{1-6}$アルキルから選択され;
ここで、基R^{1c}は、波線
（化５０）

によって示される窒素原子を介して、前記リンカーに結合している)。
（態様３９）
式(7002)の構造を有する、態様9～11、13、17～21、24、及び35～38のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート:
（化５１）



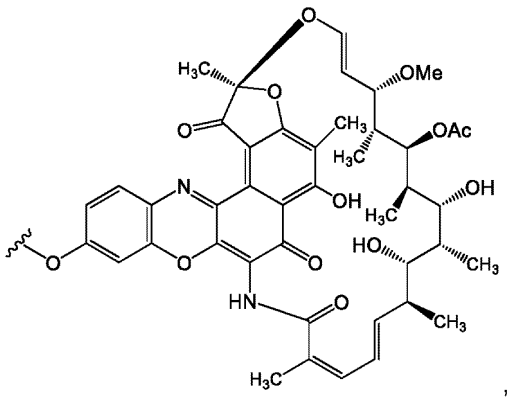
式（7002）

。

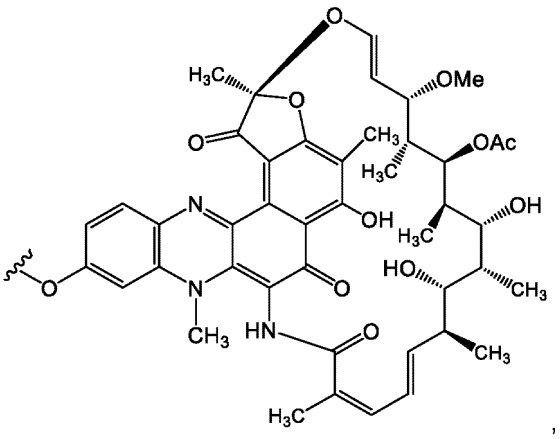
（態様４０）

前記リファマイシン類似体が:

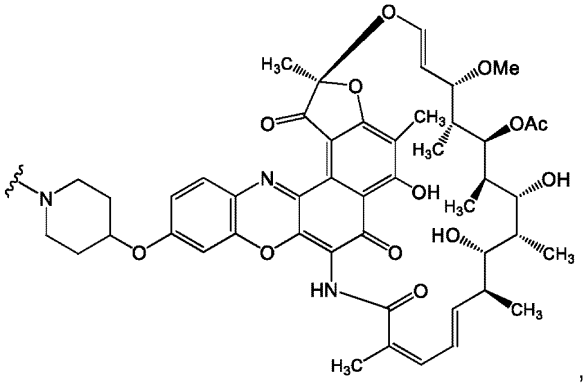
（化５２）



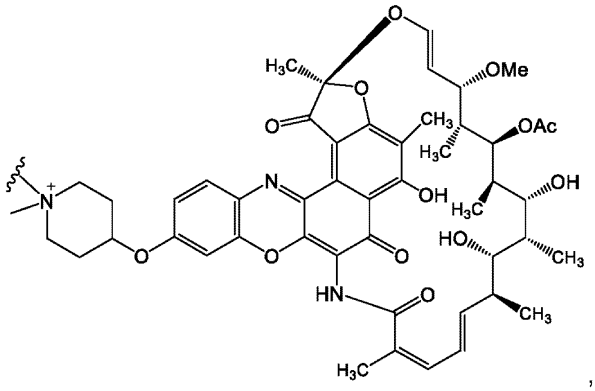
,



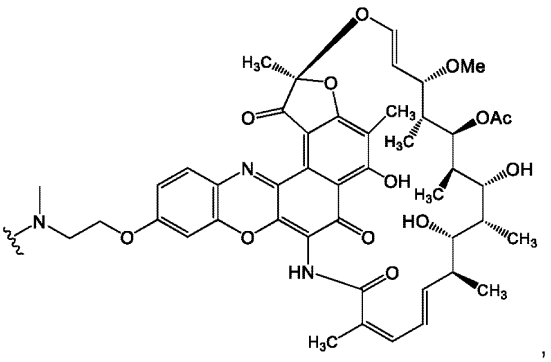
,



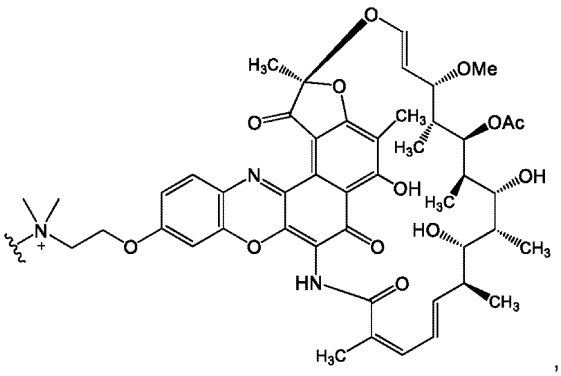
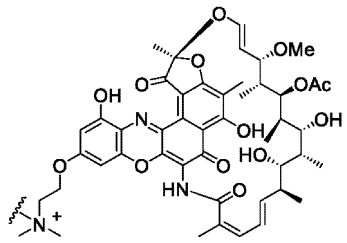
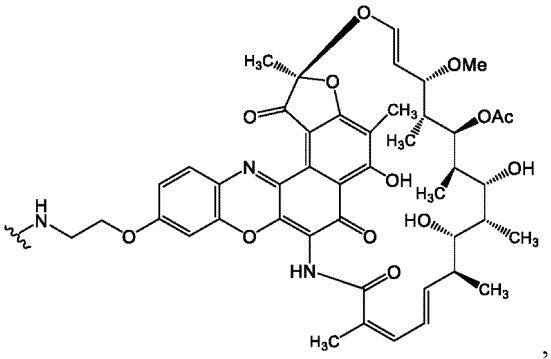
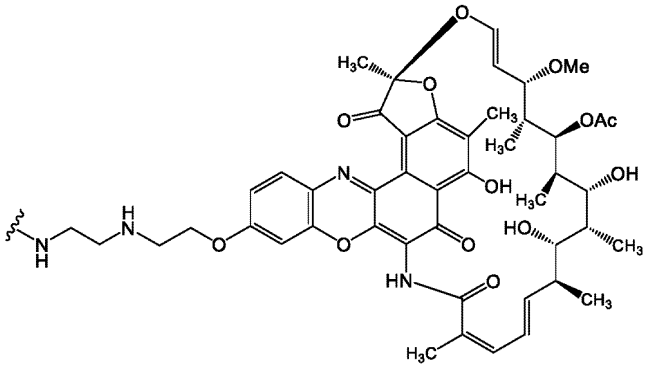
,



,

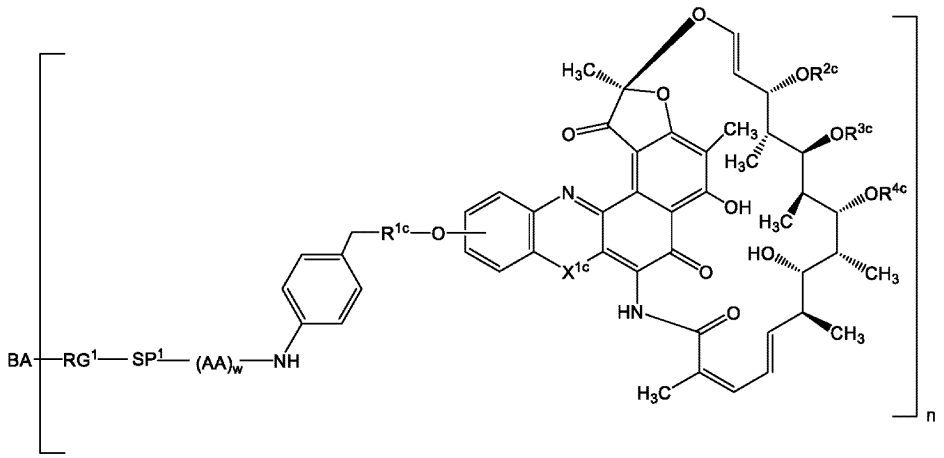


,


,

,

,及び


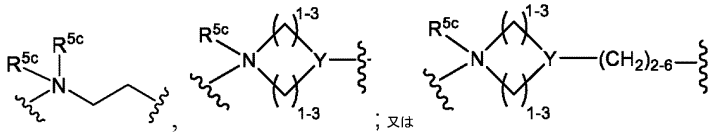
からなる群から選択され、
ここで、
（化５３）

が前記リンカーとの結合である、態様9～11、13、17～21、24、及び35～39のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート。
（態様４１）
式(7003)の構造を有する、抗体-リファマイシン類似体コンジュゲート:又はその医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは立体異性体形態;
（化５４）



式 (7003)

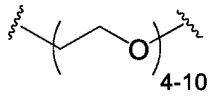
(式中:
X^{1c}は、-S-; -O-及び-NR^{5c}から選択され;
R^{1c}は、
（化５５）



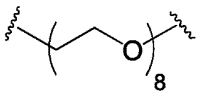
であり;ここで、Yは、C又はNであり;
R^{2c}、R^{3c}、及びR^{4c}は、独立に、水素、C$_{1-6}$アルキル、及び-(C=O)-R^{5c}から選択され;
R^{5c}は、出現する毎に独立に、非存在であるか、又は水素;及びC$_{1-6}$アルキルから選択され;
各々のAAは、独立に選択されるアミノ酸であり;
SP^{1}は、非存在、又はスペーサーであり;
RG^{1}は、反応基残基であり;
BAは、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり;
下付文字nは、1～30の整数であり;
下付文字wは、2、3、又は4であり;
ここで、R^{1c}は、波線
（化５６）

によって示される窒素原子を介して、前記リンカーに結合している)。
（態様４２）
X^{1c}がOである、態様41記載の抗体-リファマイシン類似体コンジュゲート。
（態様４３）
BAがN297Q突然変異を含む;抗MSR1抗体又はその抗原結合断片である、態様41又は態様42記載の抗体-リファマイシン類似体コンジュゲート。
（態様４４）
下付文字wが2である、態様41～43のいずれか一項記載の抗体-リファマイシン類似体コンジュゲート。
（態様４５）
(AA)$_2$がバリン-シトルリンである、態様41～44のいずれか一項記載の抗体-リファマイ

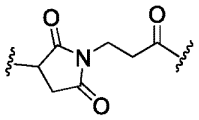
シン類似体コンジュゲート。
（態様４６）
SP^1が、
（化５７）



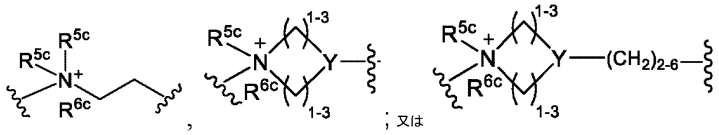
を含む、態様41～45のいずれか一項記載の抗体-リファマイシン類似体コンジュゲート。
（態様４７）
SP^1が、
（化５８）



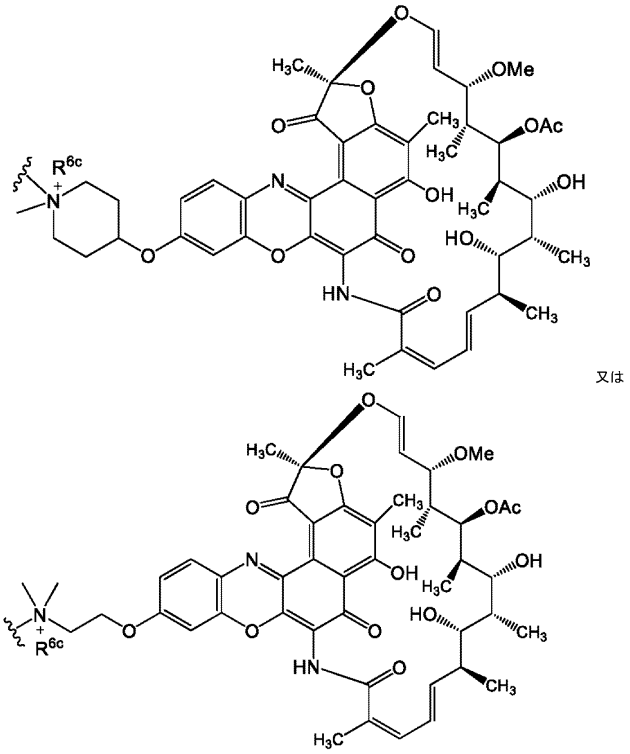
を含む、態様41～45のいずれか一項記載の抗体-リファマイシン類似体コンジュゲート。
（態様４８）
RG^1が、
（化５９）



を含む、態様41～47のいずれか一項記載の抗体-リファマイシン類似体コンジュゲート。
（態様４９）
X^{1c}がOであり;
R^{1c}が、
（化６０）



であり;ここで、Yは、C又はNであり;ここで、R^{1c}は、R^{1c}の4級窒素原子を介して、前記リンカーに結合しており;
R^{5c}がC_{1-6}アルキルであり;かつ
R^{6c}が対イオンである、
態様41～47のいずれか一項記載の抗体-リファマイシン類似体コンジュゲート。
（態様５０）
前記リファマイシン類似体が:
（化６１）

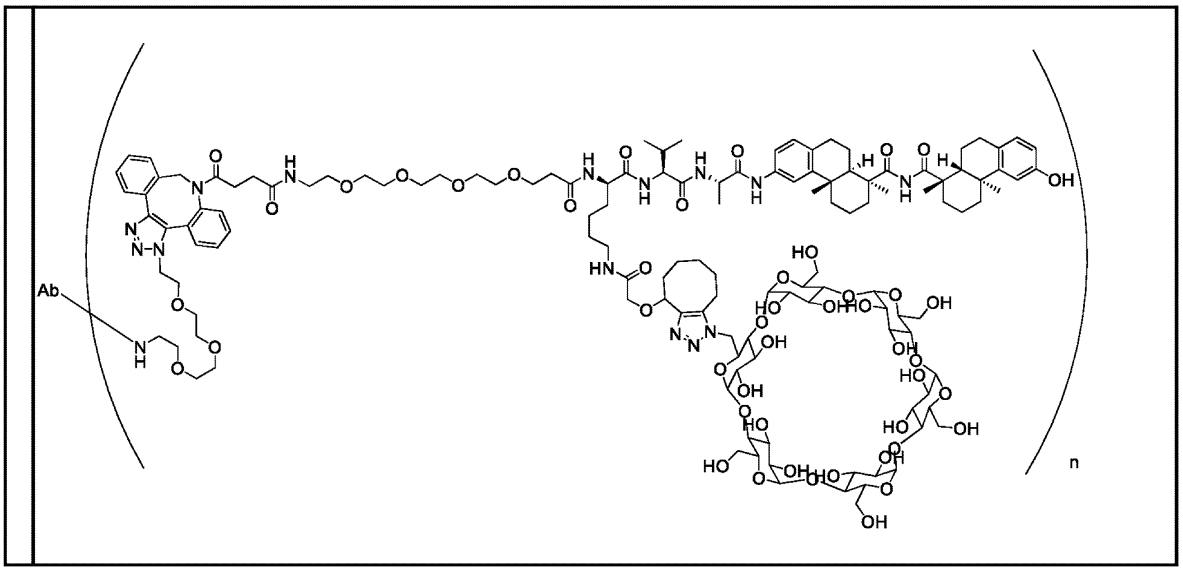


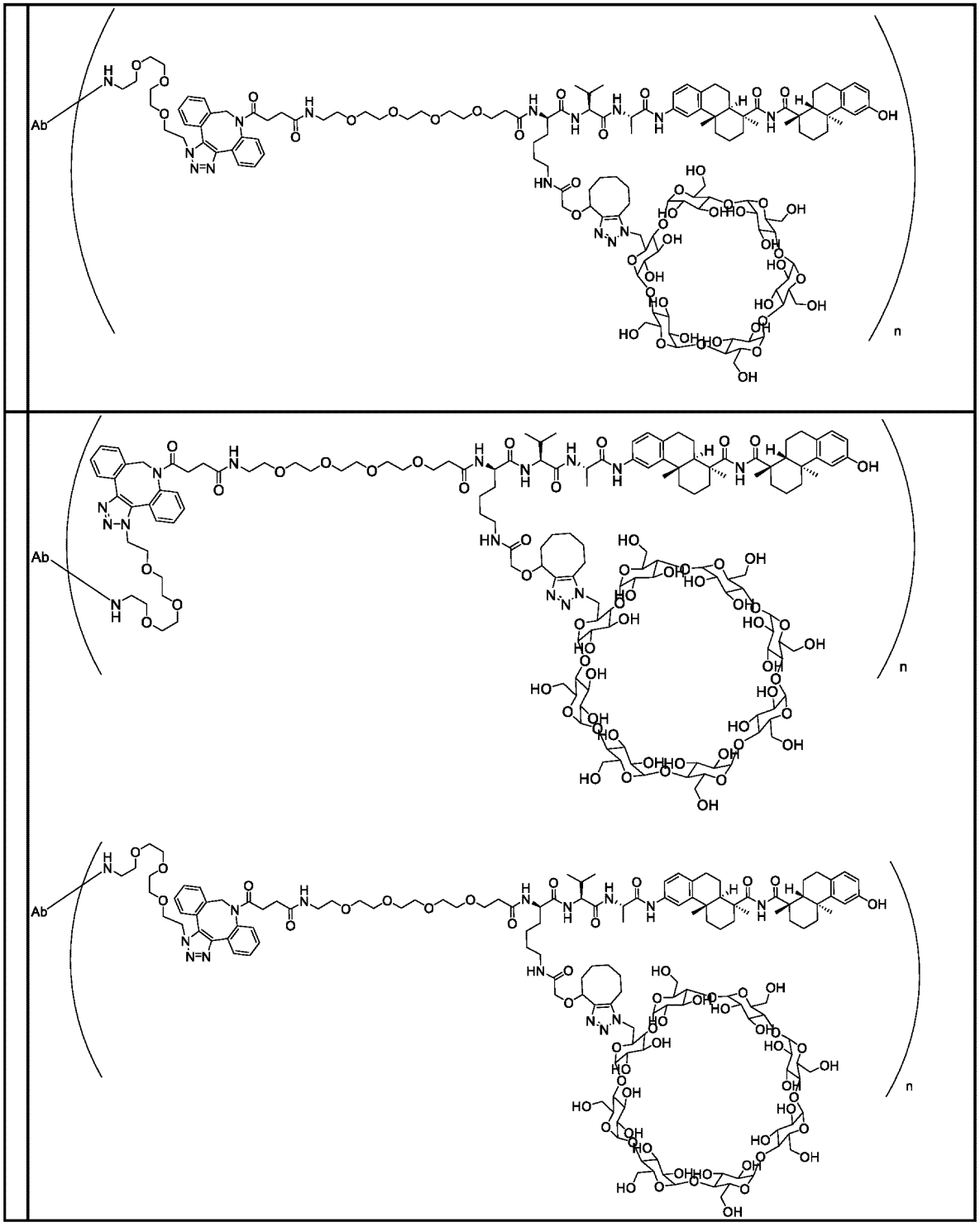
である、態様41～49のいずれか一項記載の抗体-リファマイシン類似体コンジュゲート。

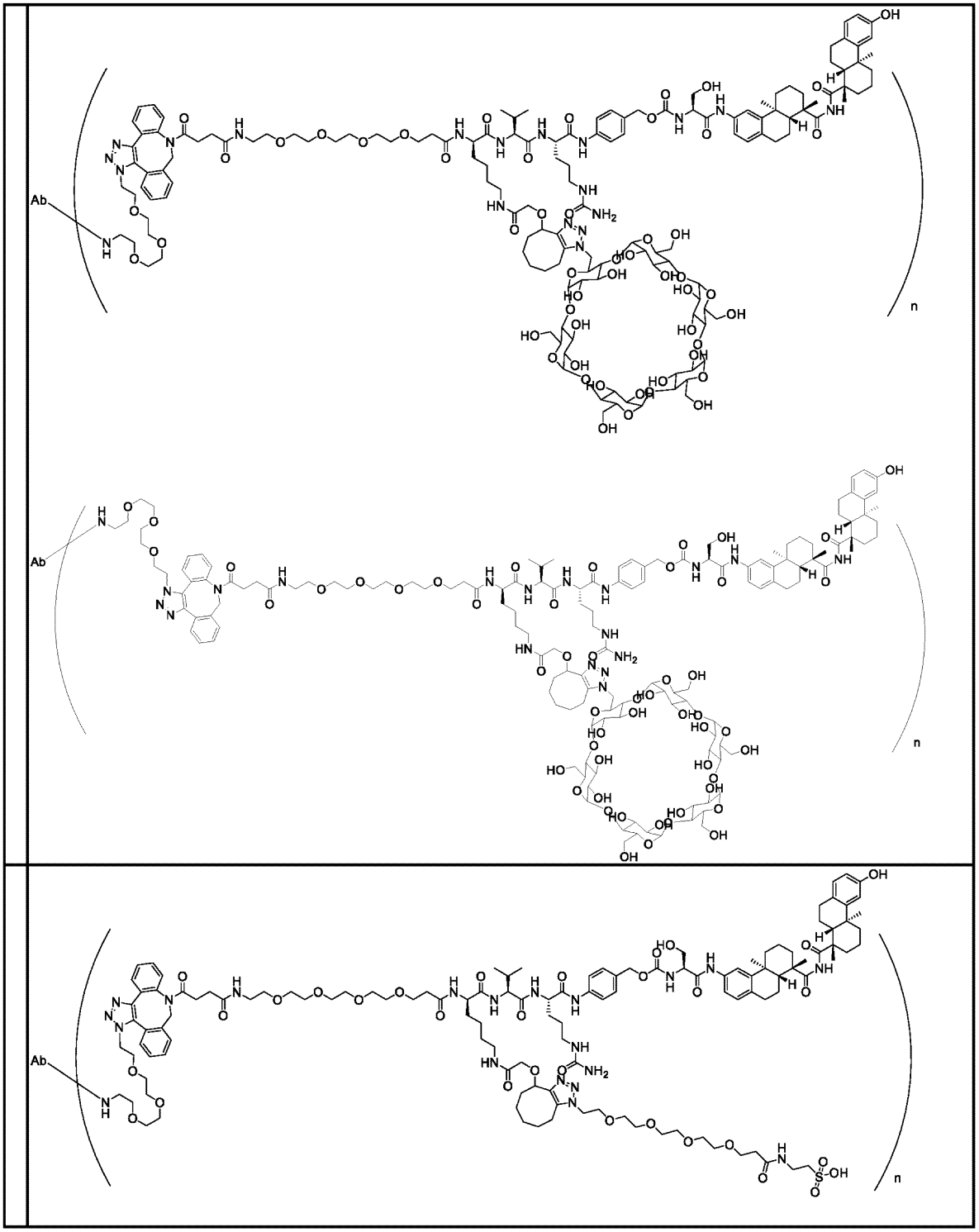
（態様５１）

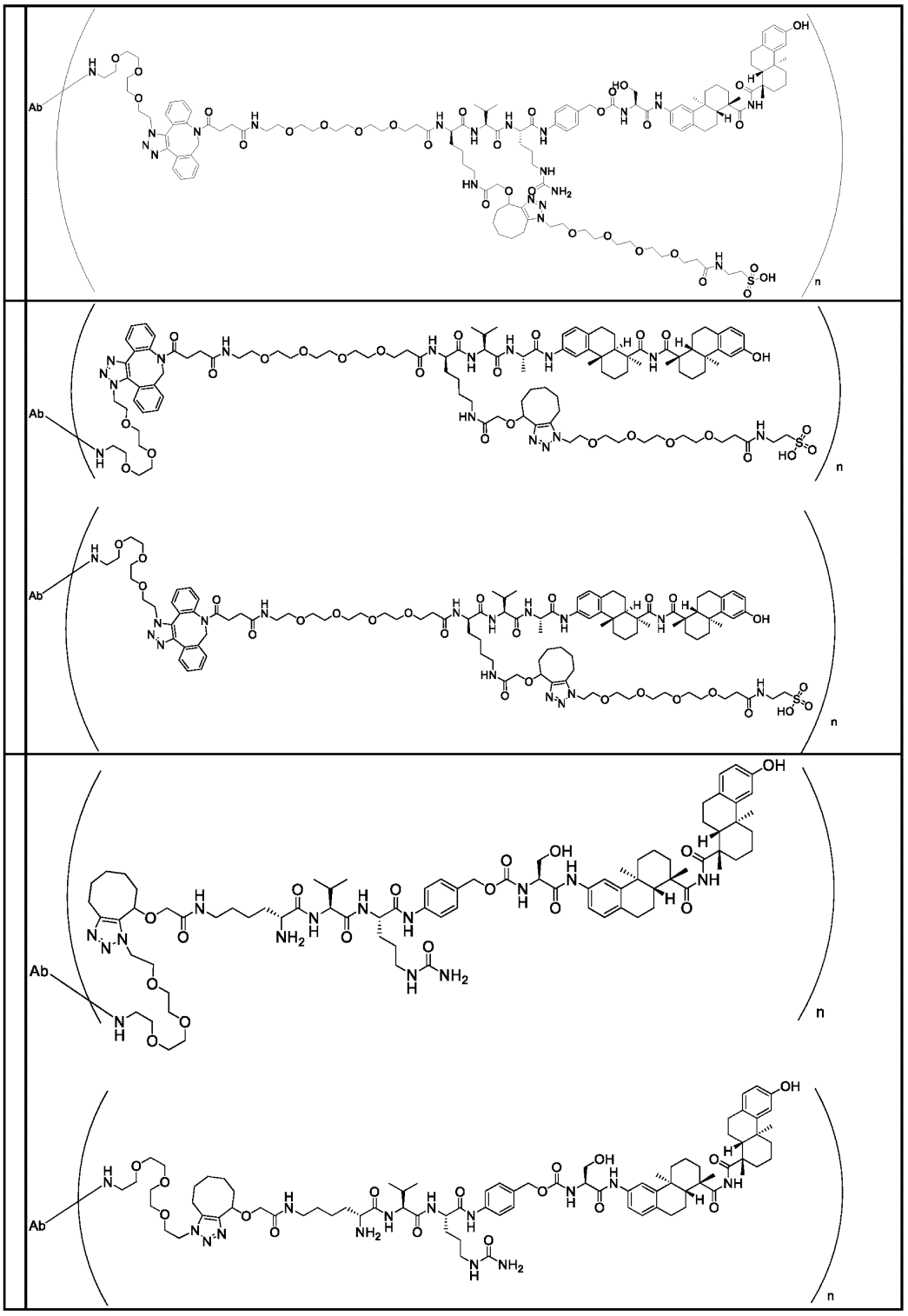
以下のもの:

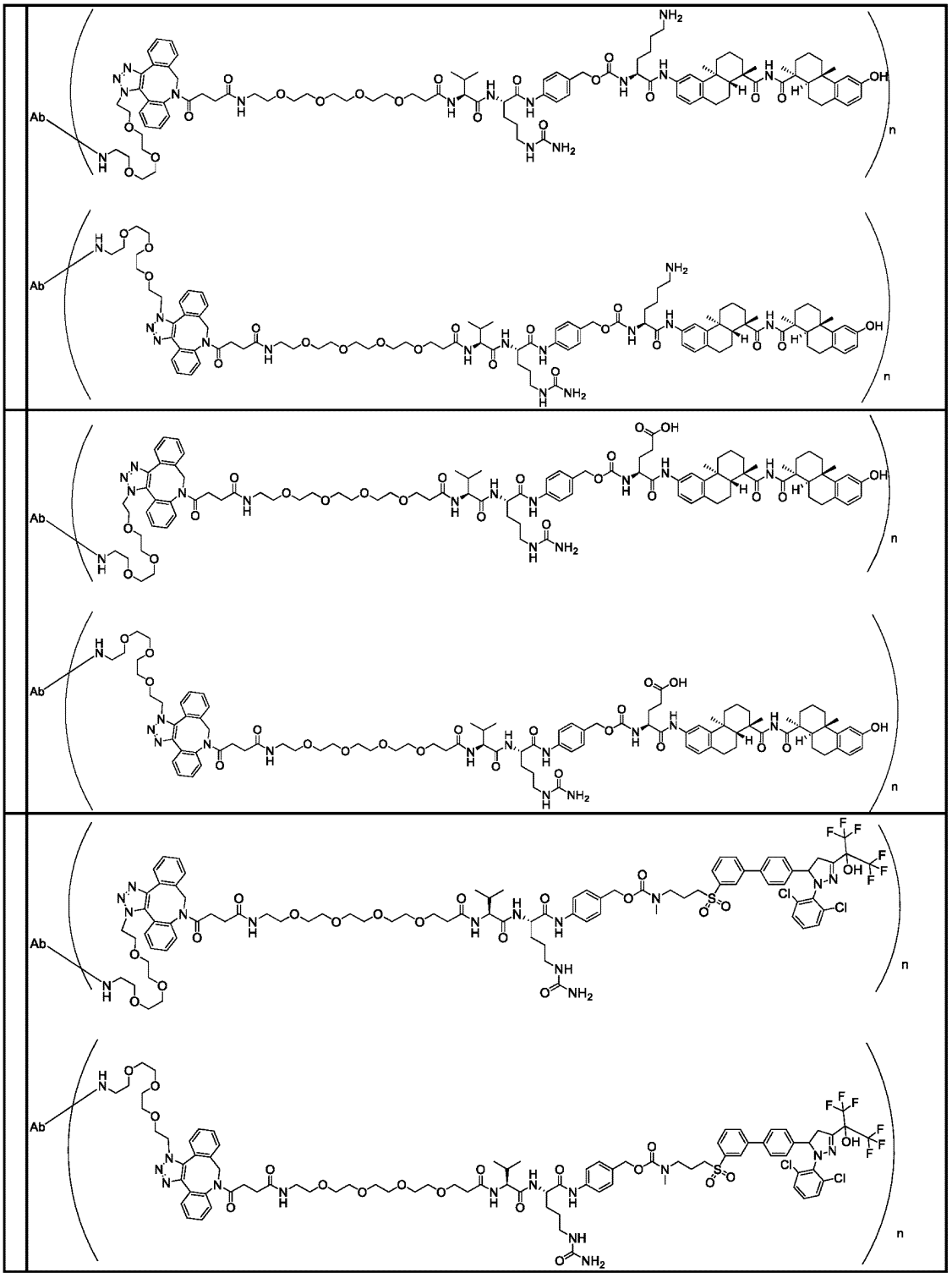
（化６２）

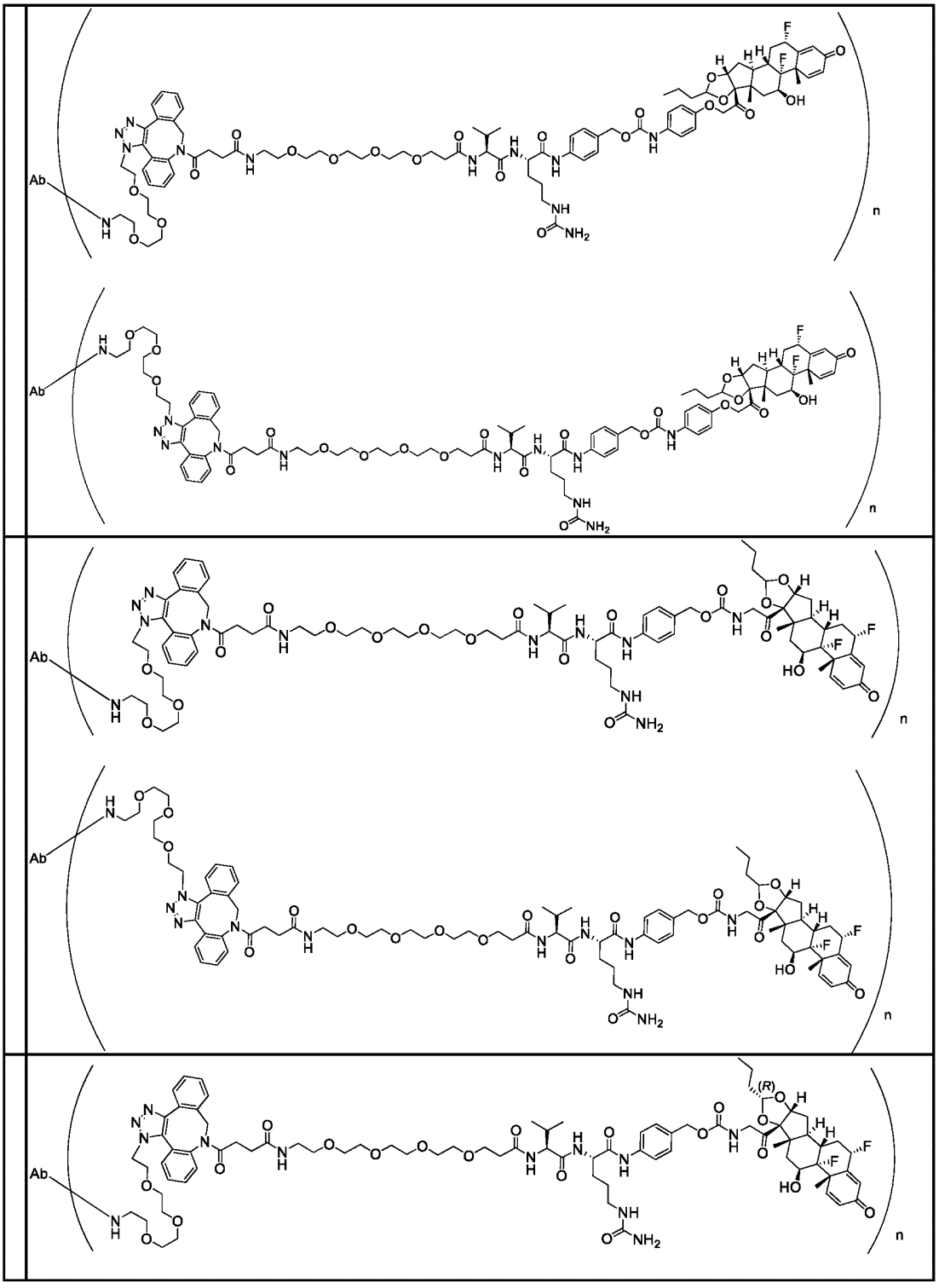


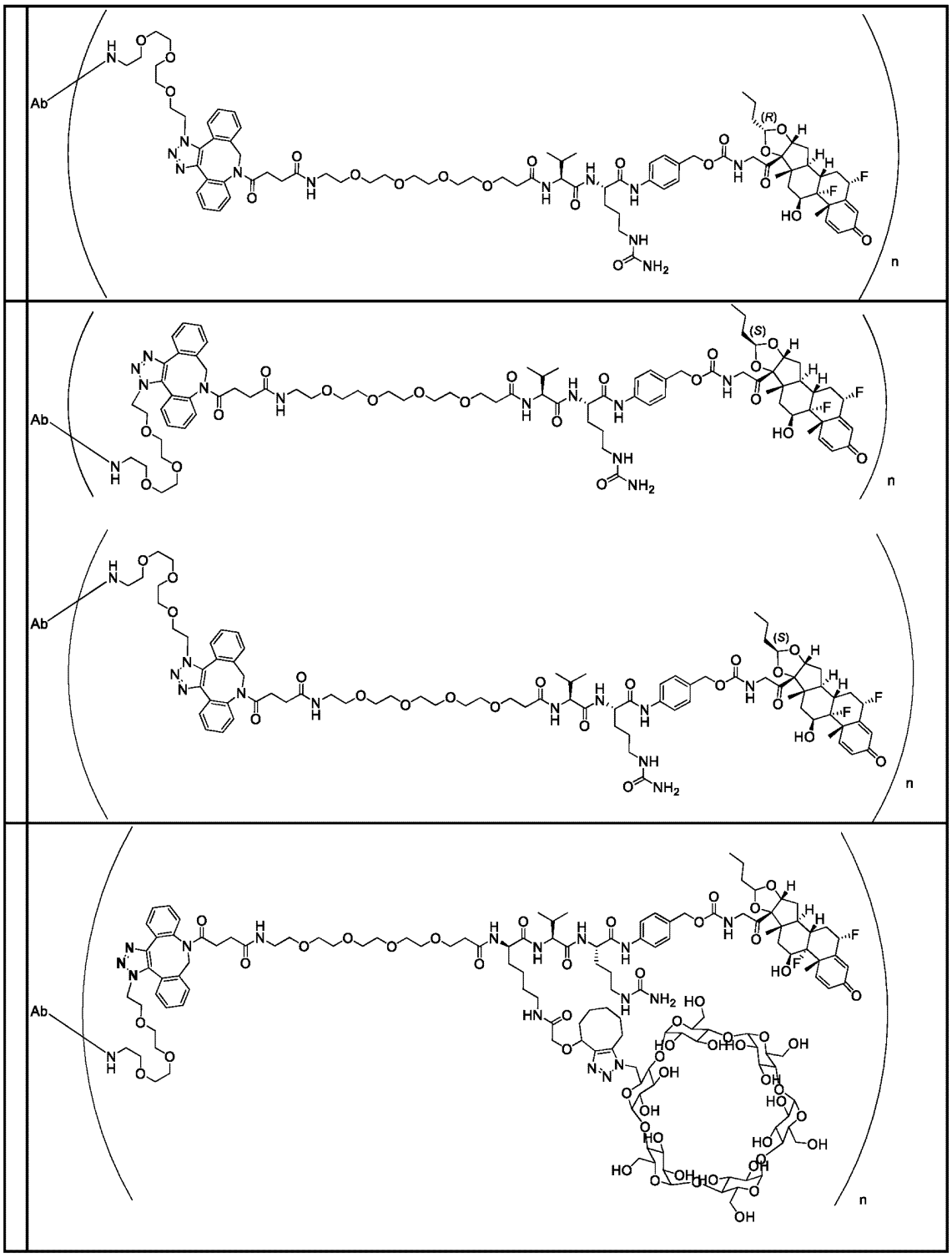

Ab
n
Ab
n
Ab
n

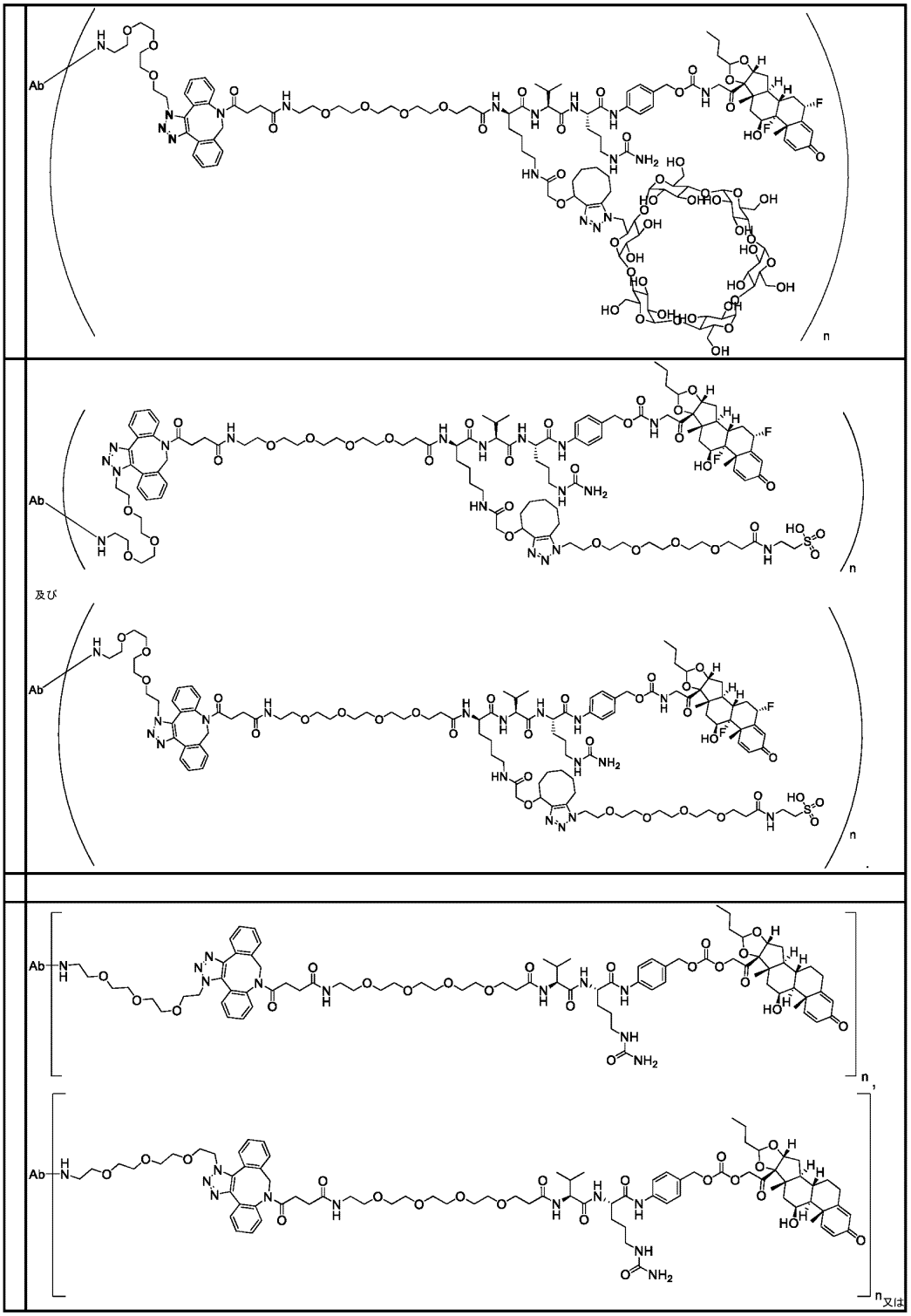

Ab
n
Ab
n
Ab
n


Ab
n
Ab
n
Ab
n
Ab
n

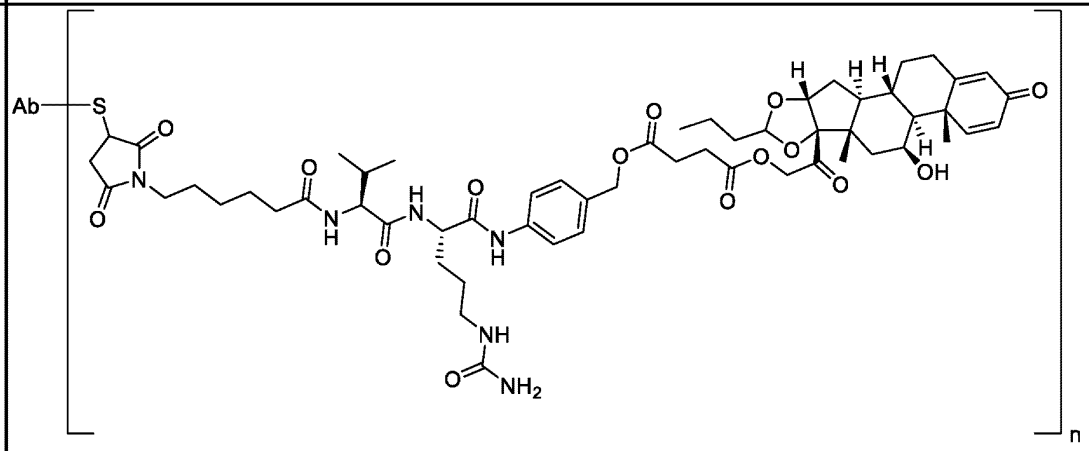

Ab
n
NH2
OH
O
N
H
F
Cl
S


Ab
n

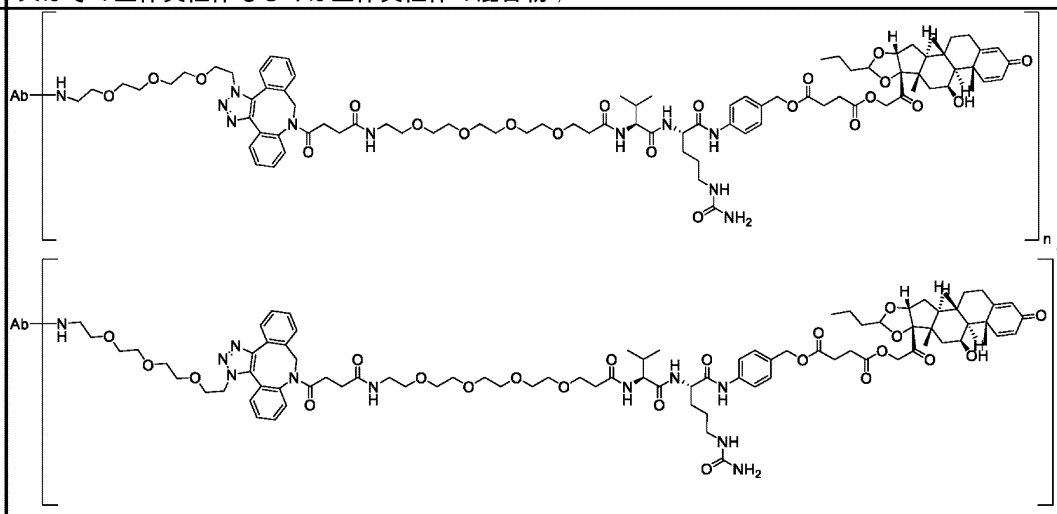

Ab
n
(R)
(S)
F
HO
NH
NH2
O
OH


及び
又は

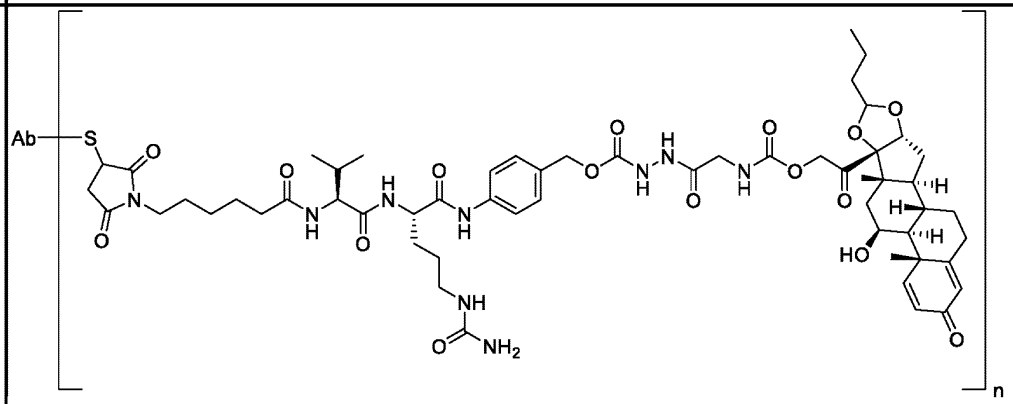
その混合物；



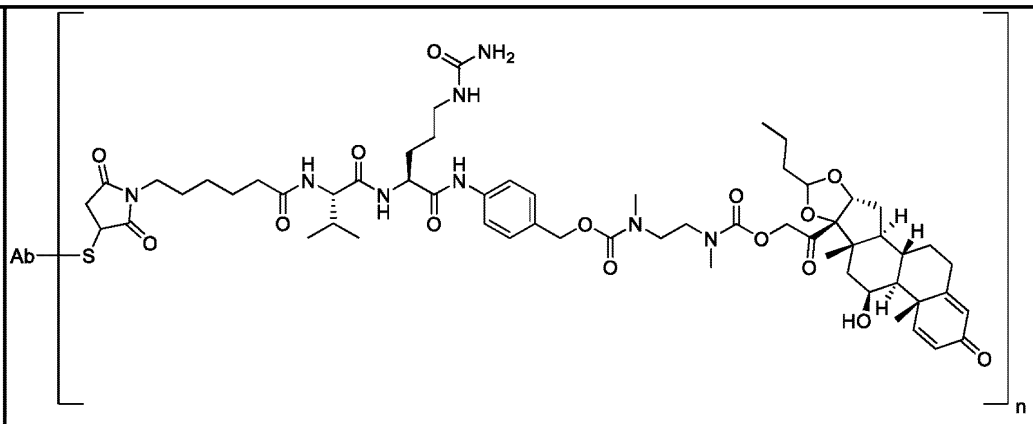
又はその立体異性体もしくは立体異性体の混合物；



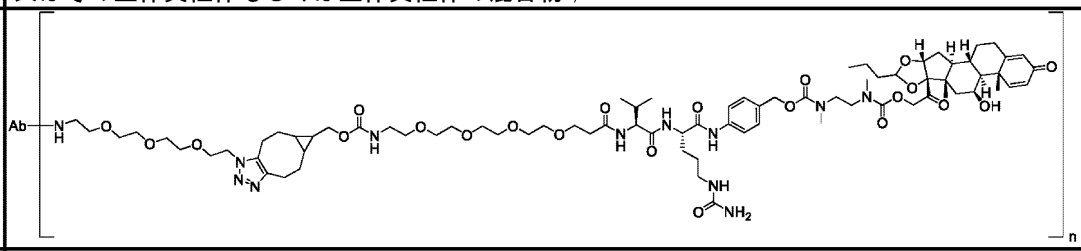
その混合物；又は

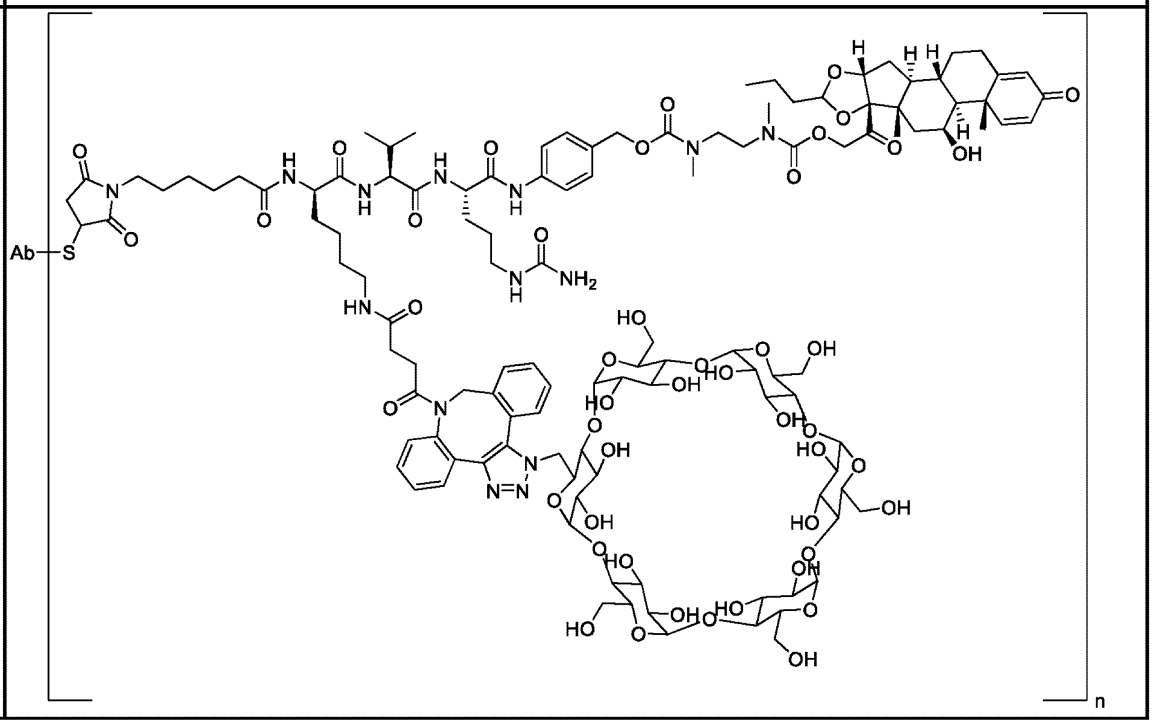


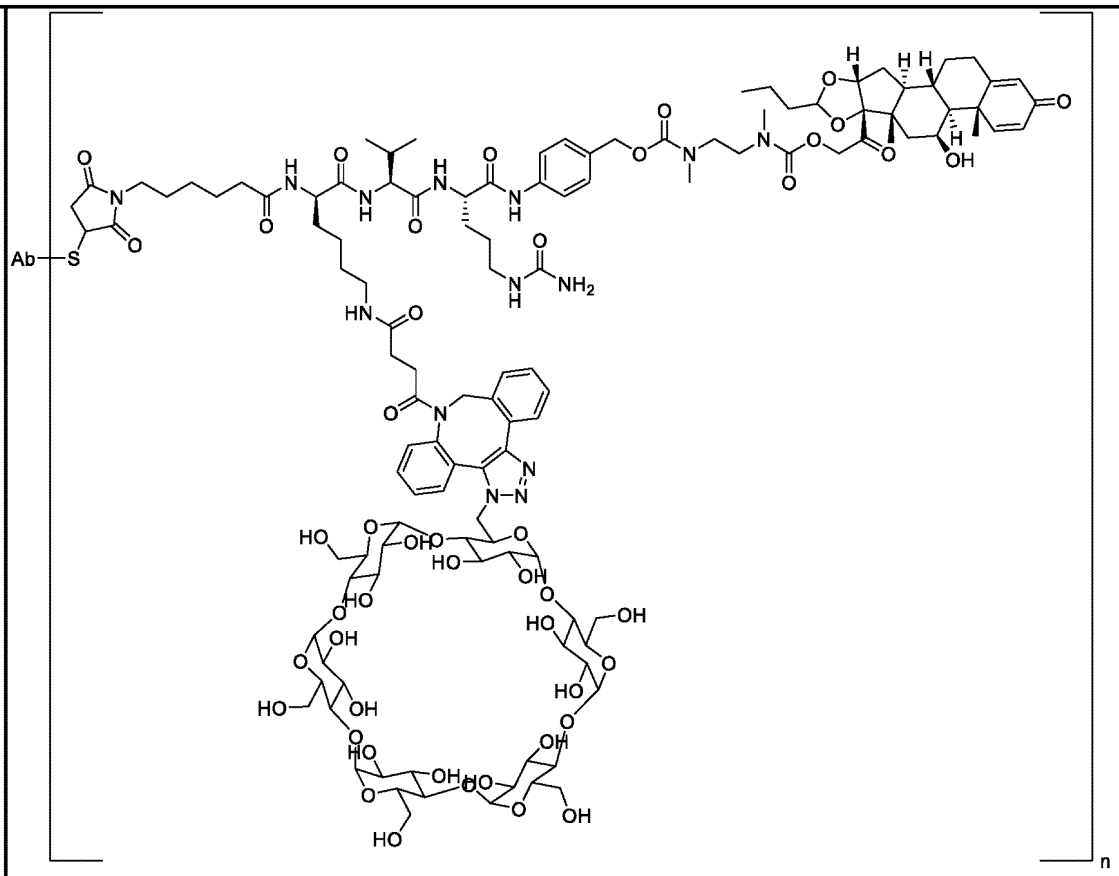
又はその立体異性体もしくは立体異性体の混合物；



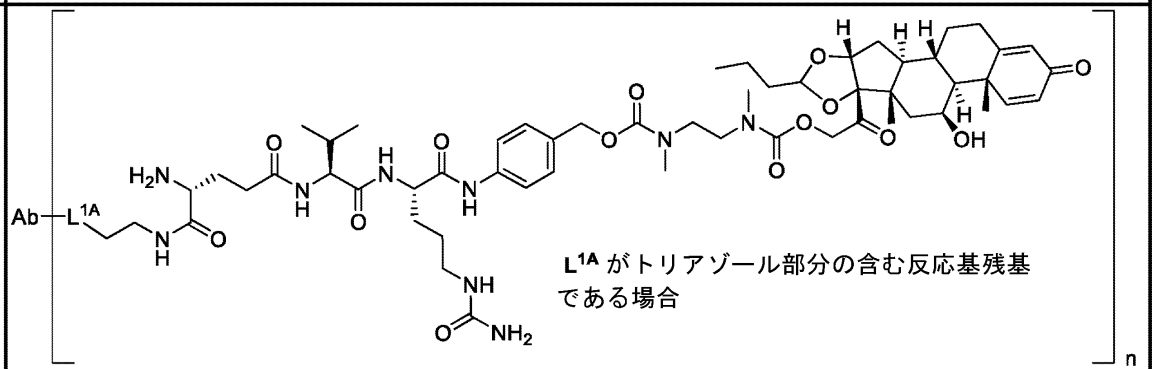
又はその立体異性体もしくは立体異性体の混合物；





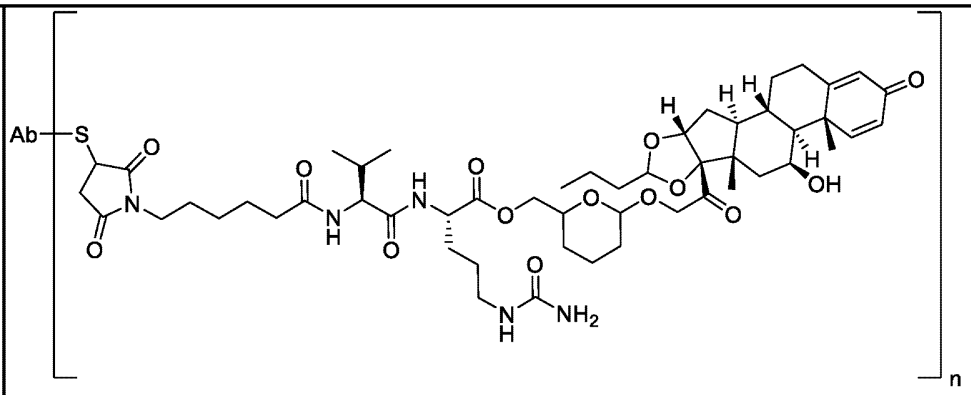


又はその混合物

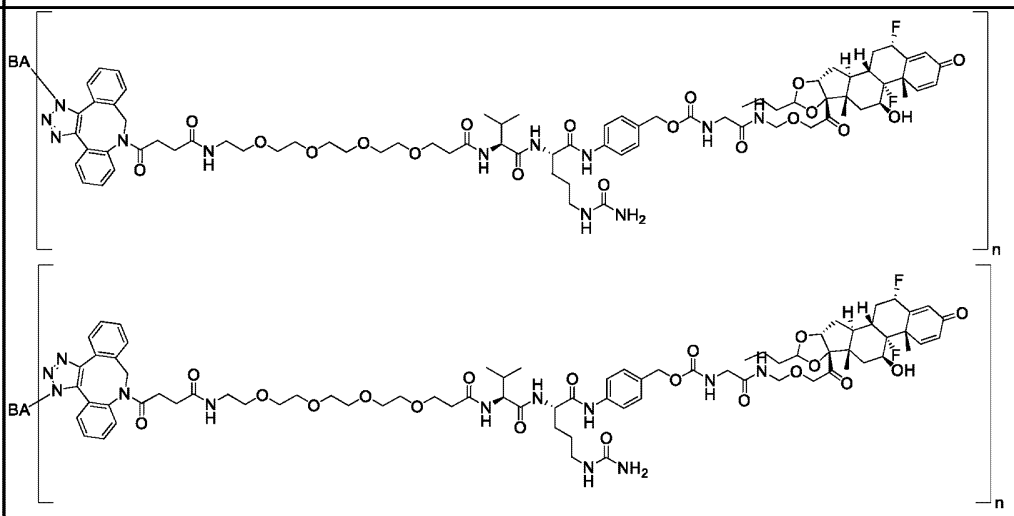


L^{1A} がトリアゾール部分の含む反応基残基である場合

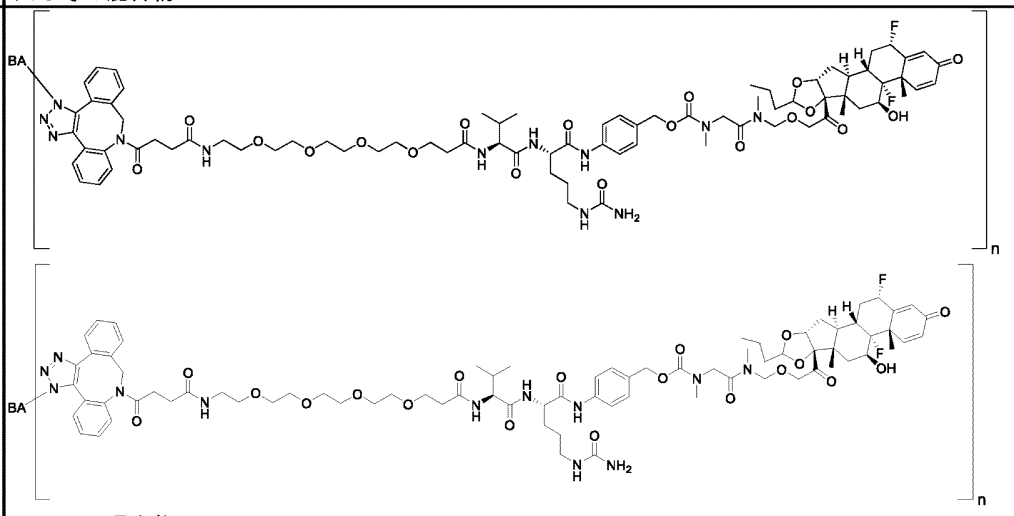
又はその混合物



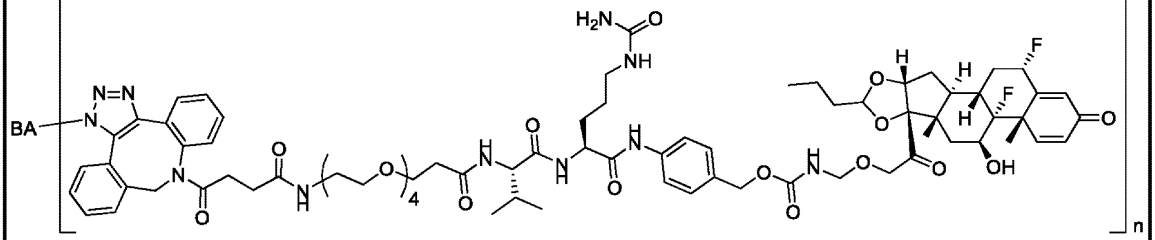
又はその立体異性体もしくは立体異性体の混合物

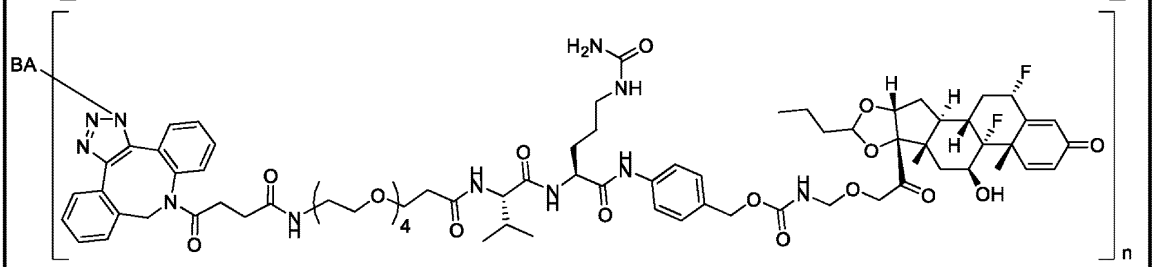


又はその混合物

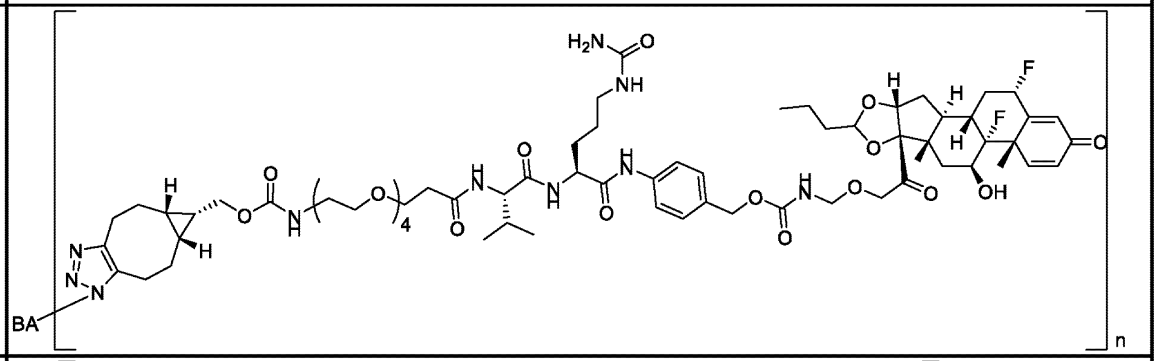


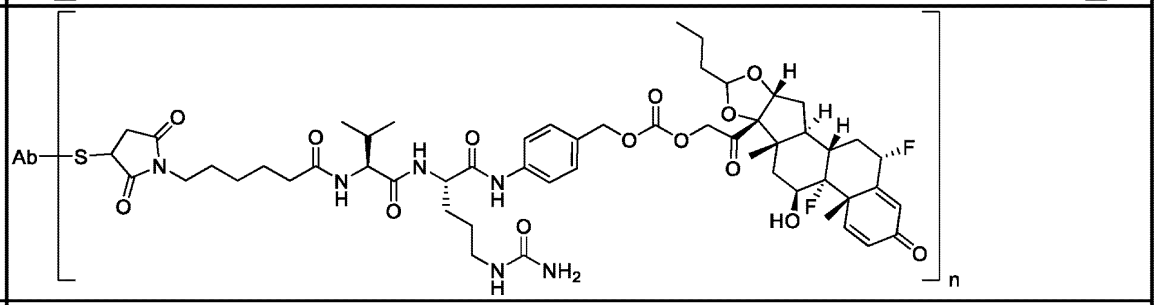
又はその混合物

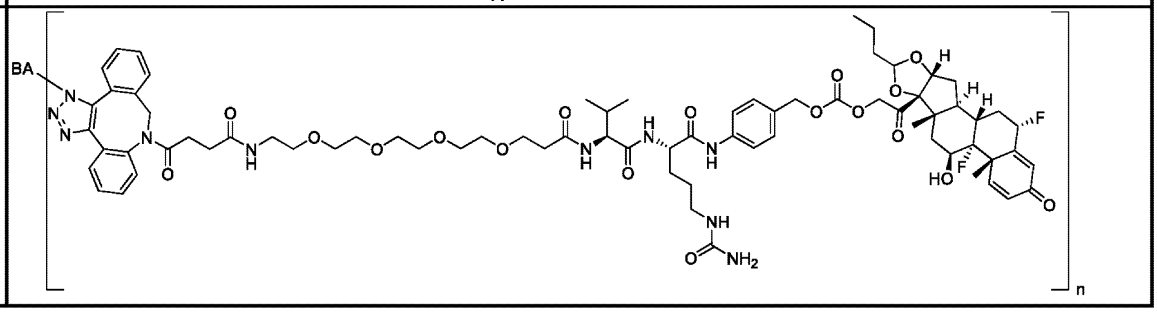


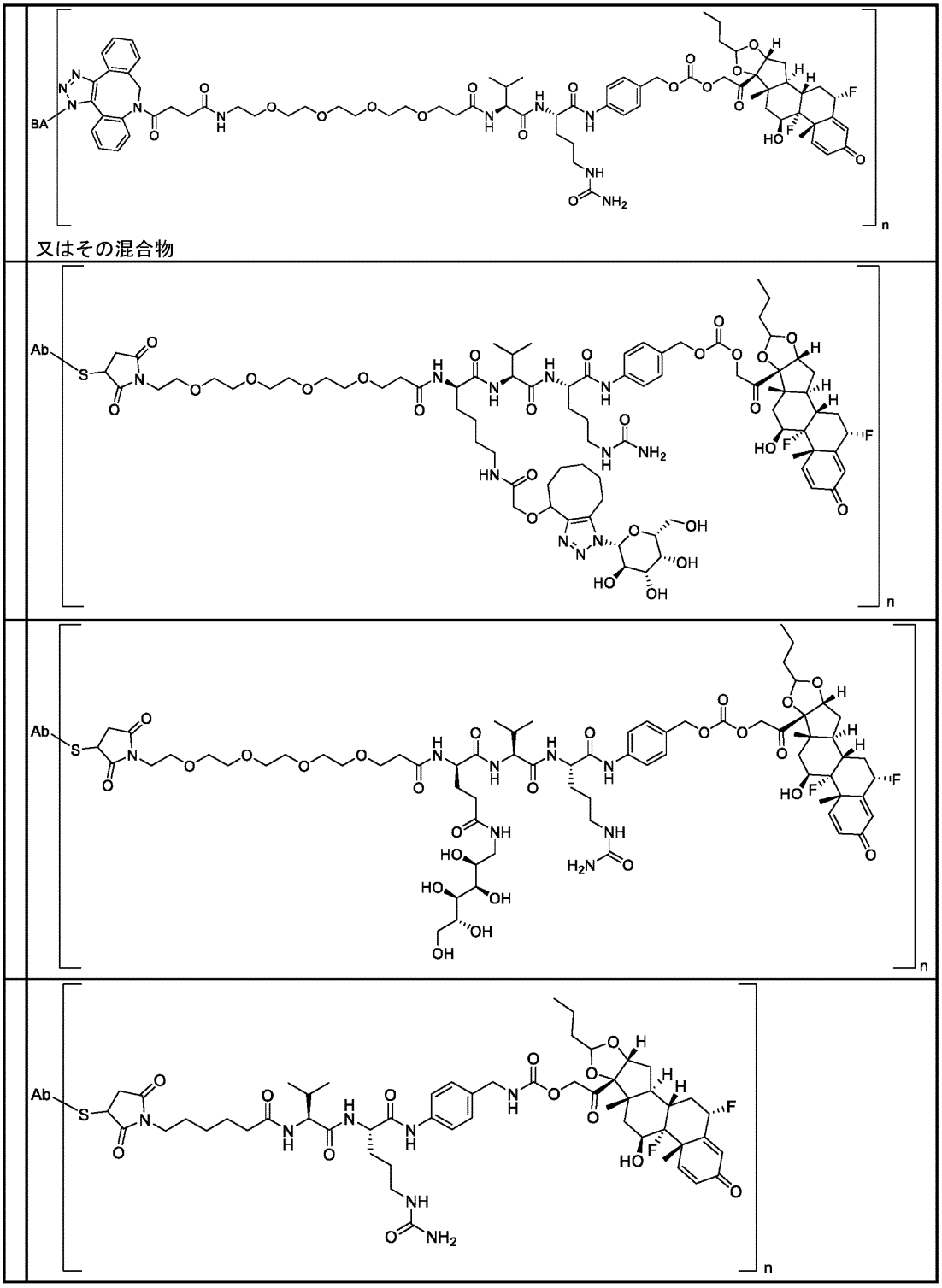


又はその混合物

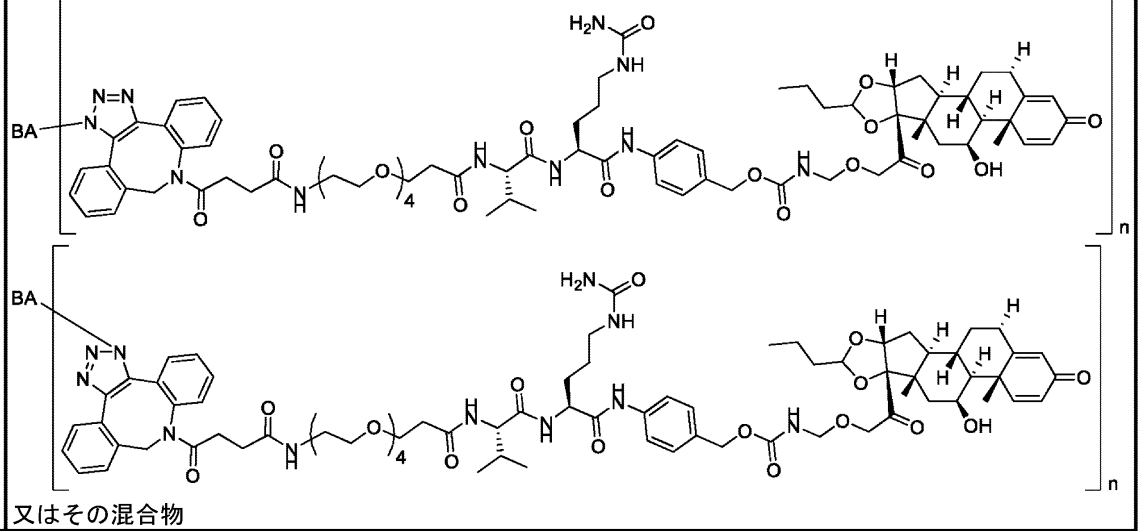




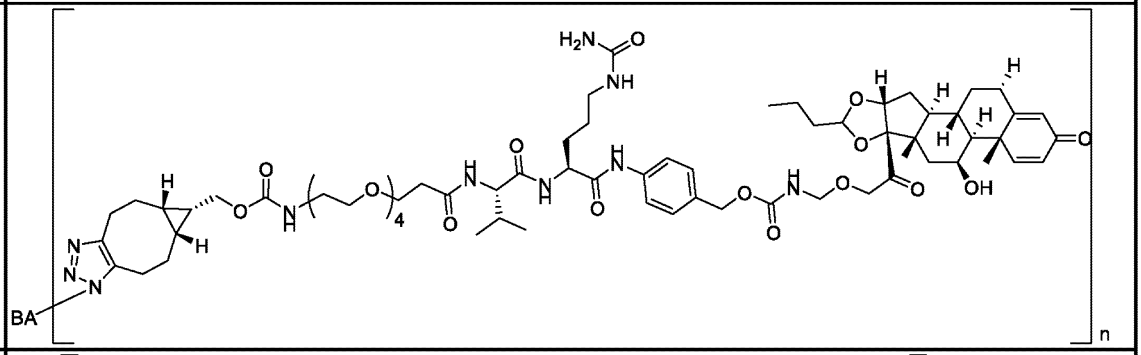


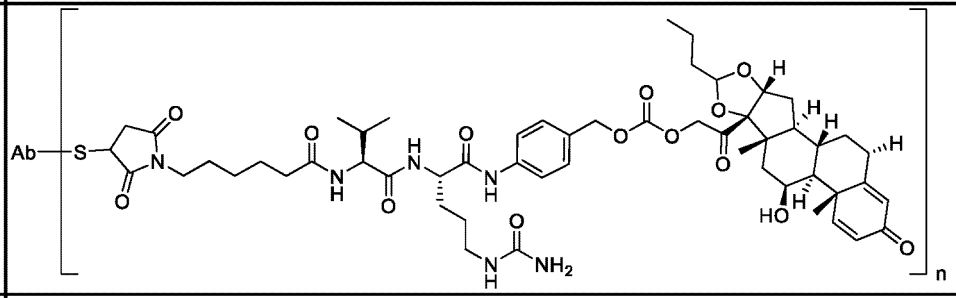


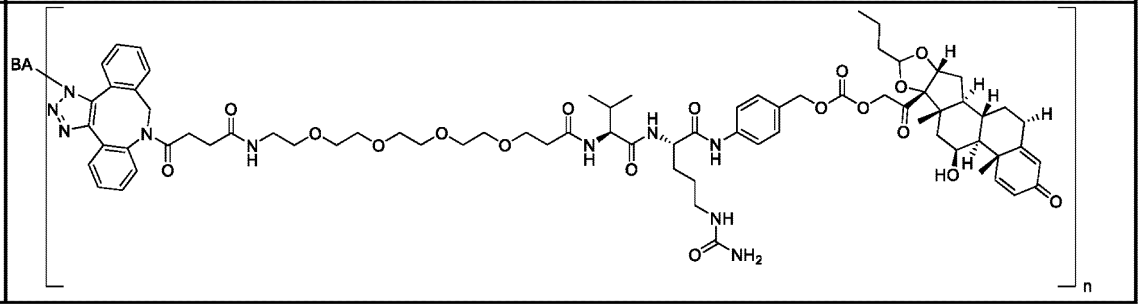
又はその混合物

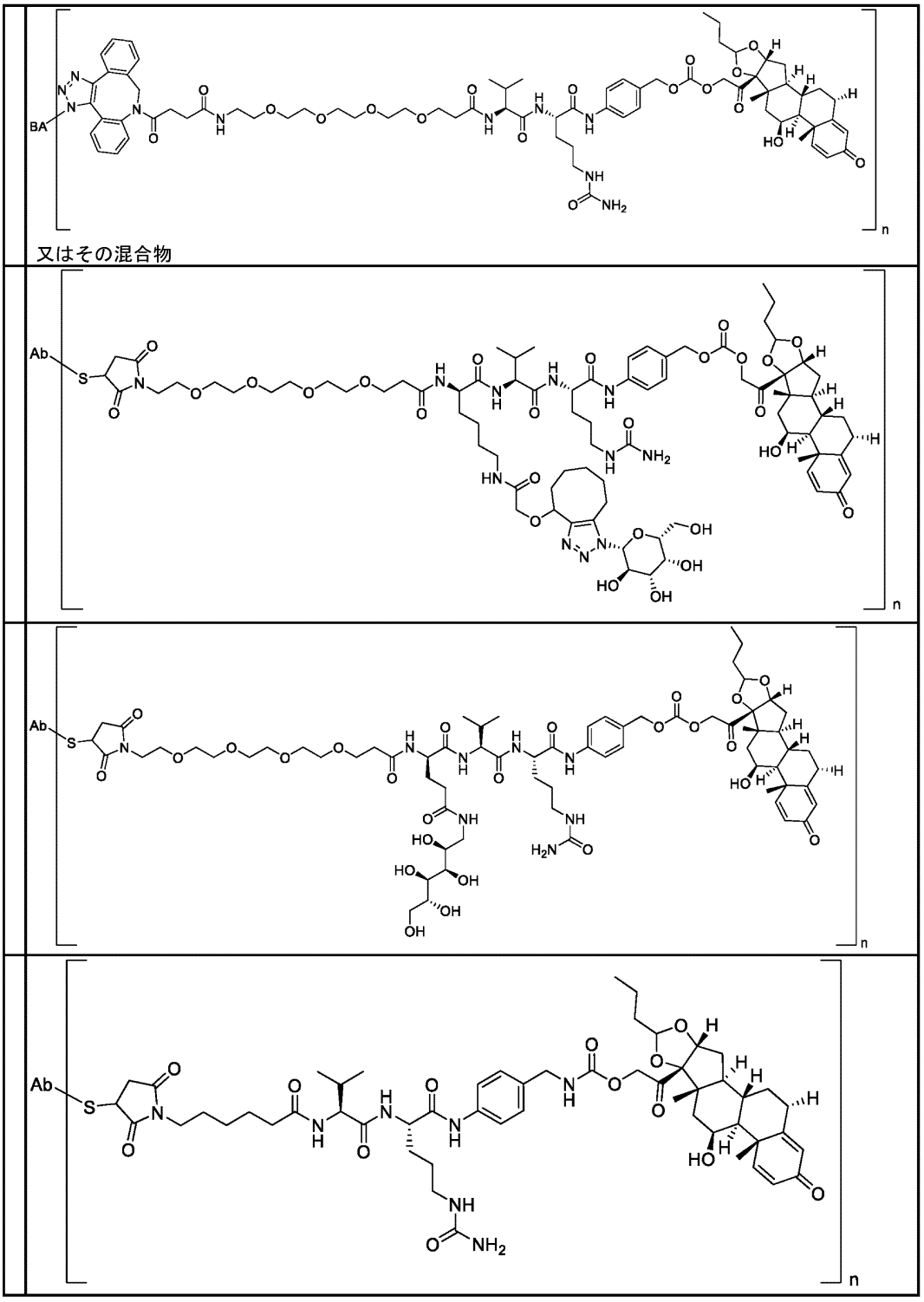


又はその混合物

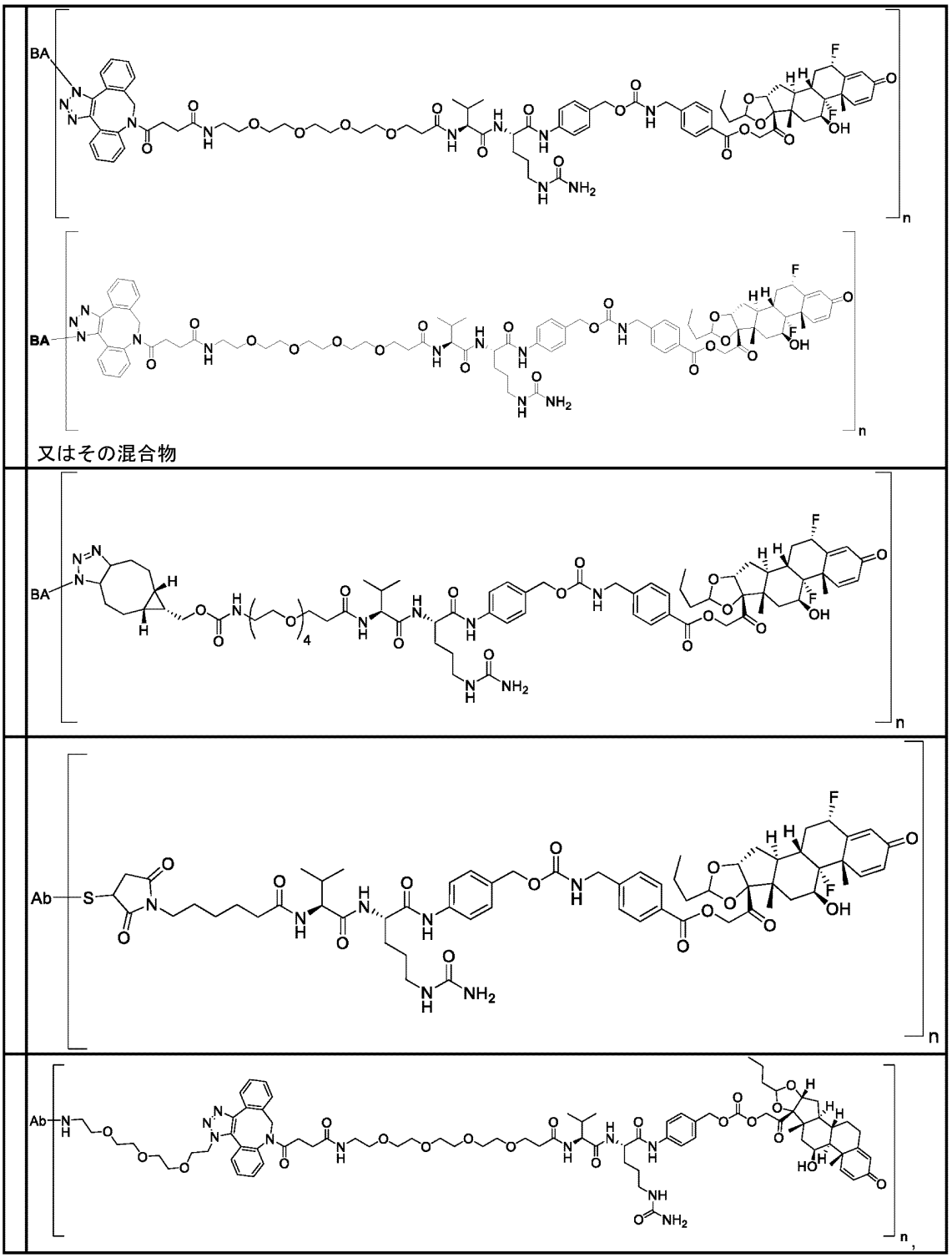


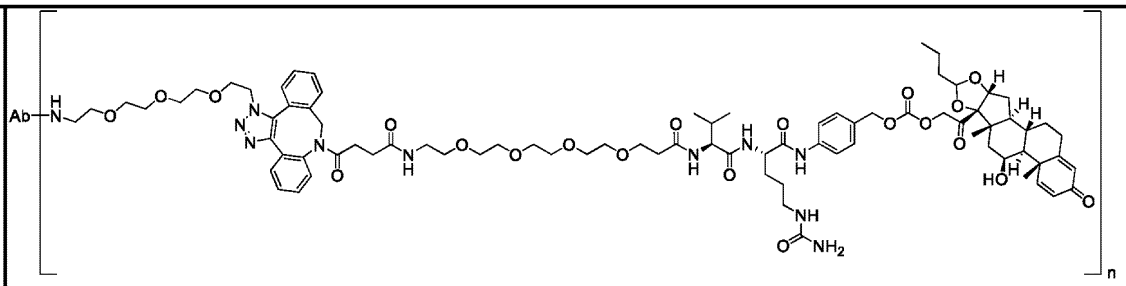




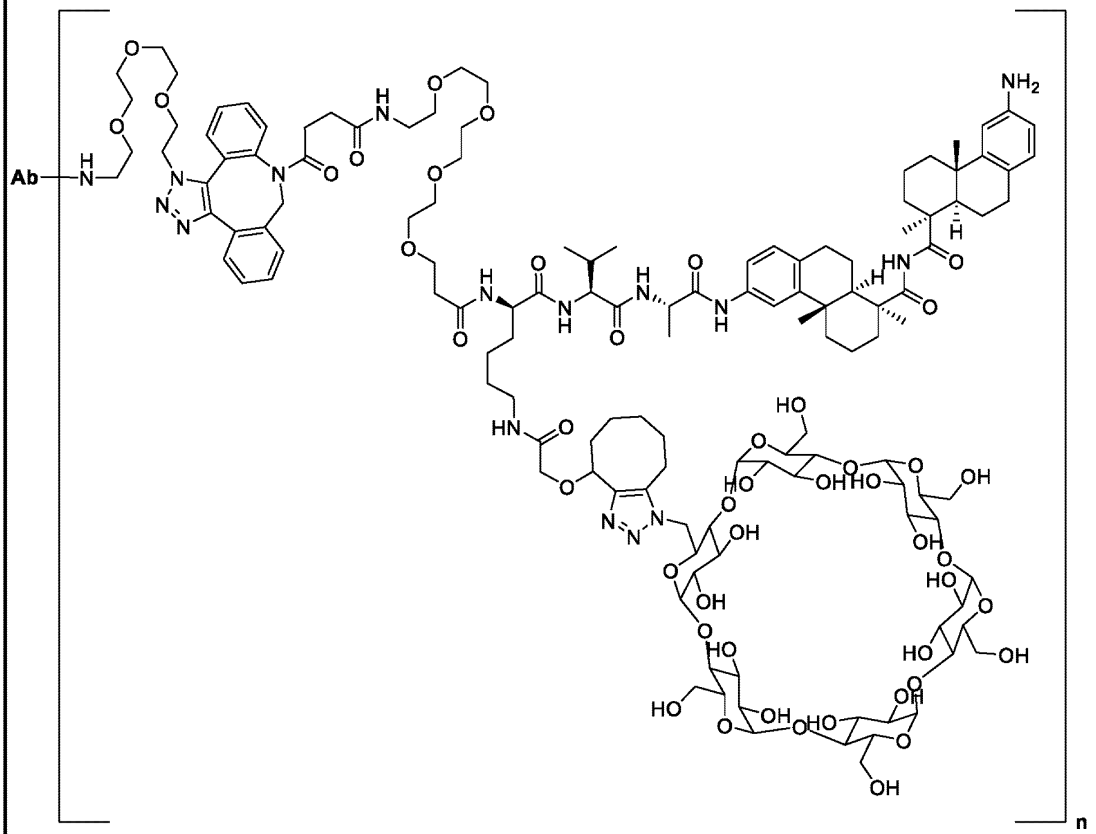


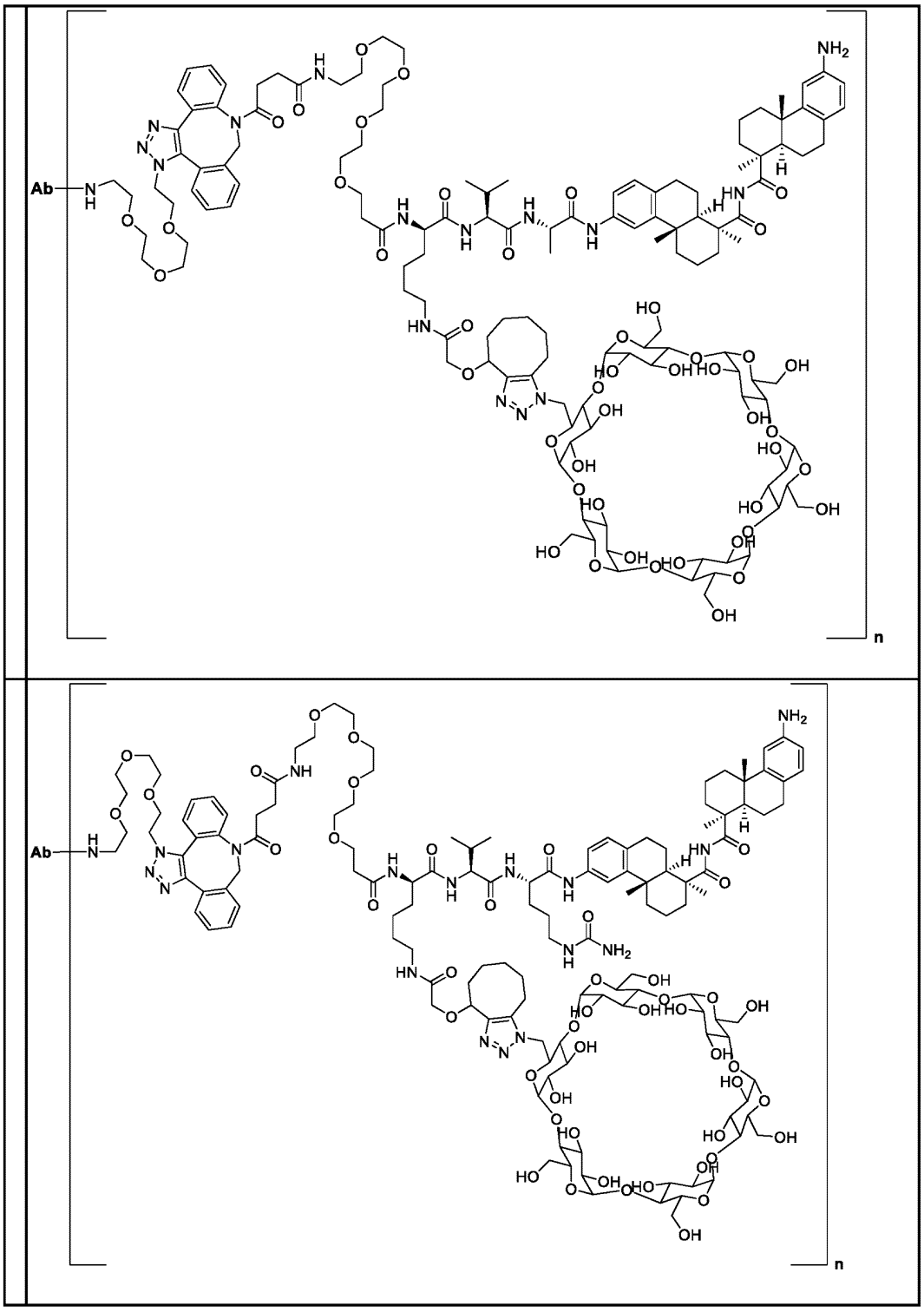
又はその混合物

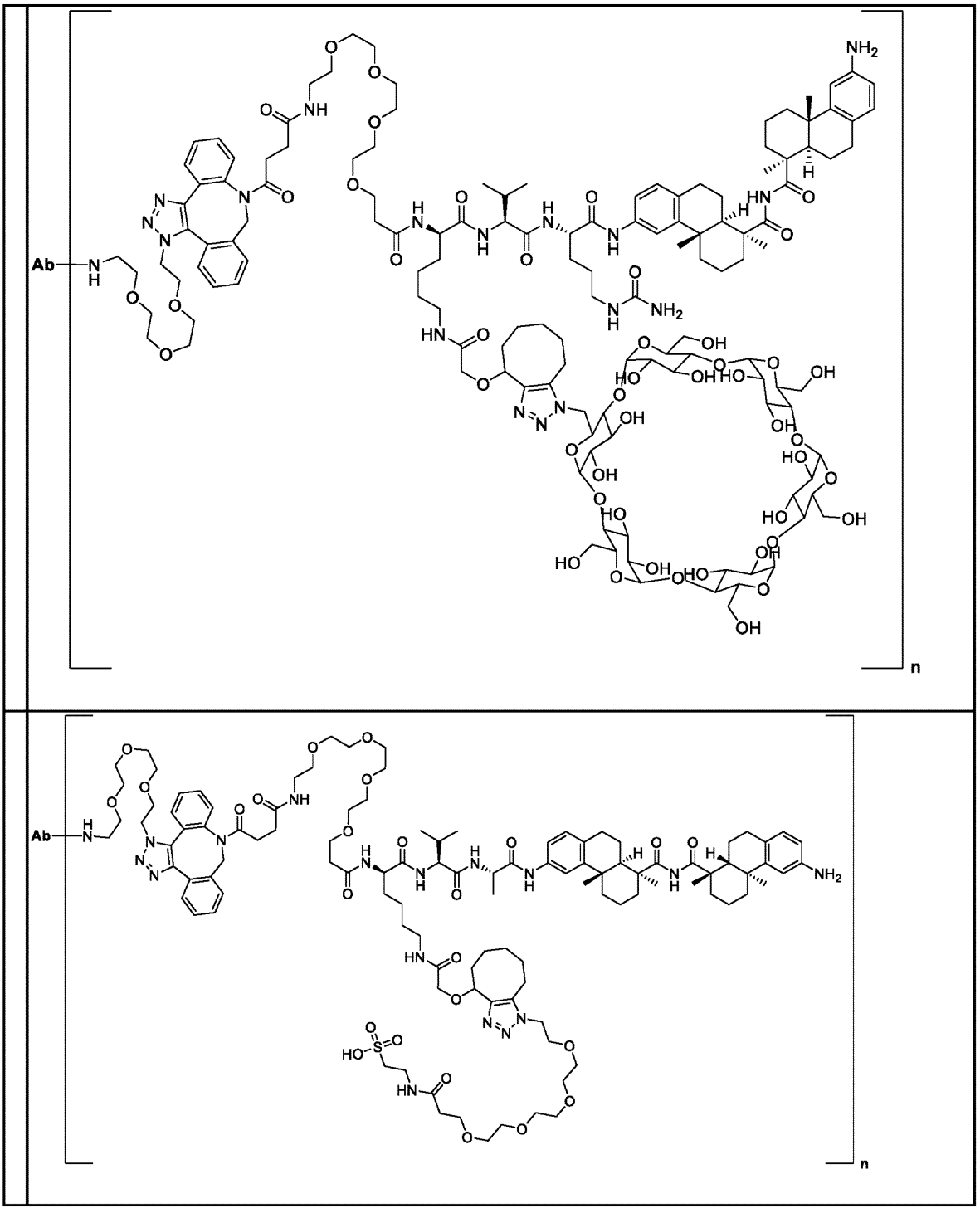

BA
BA
又はその混合物
BA
Ab
Ab

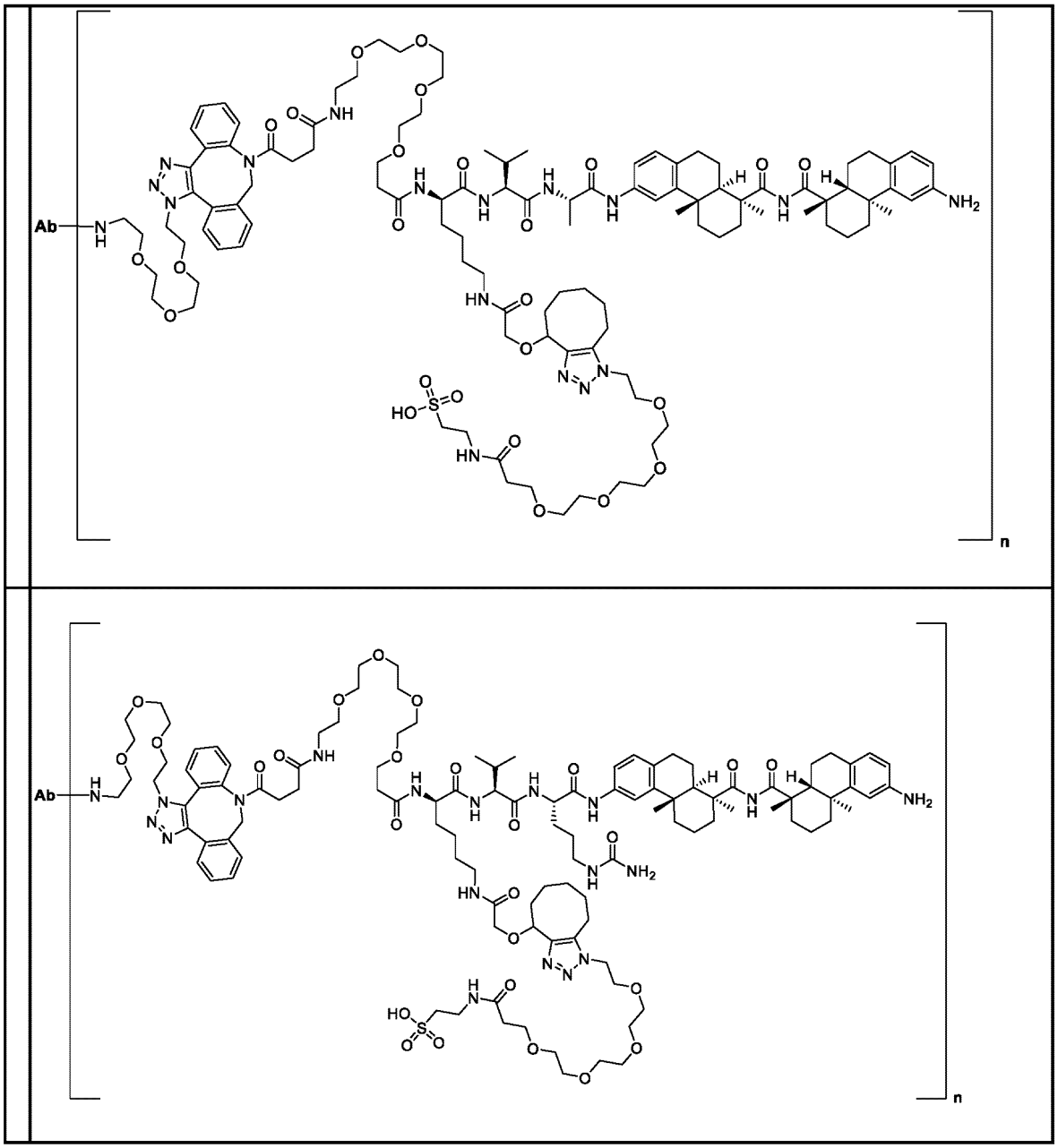


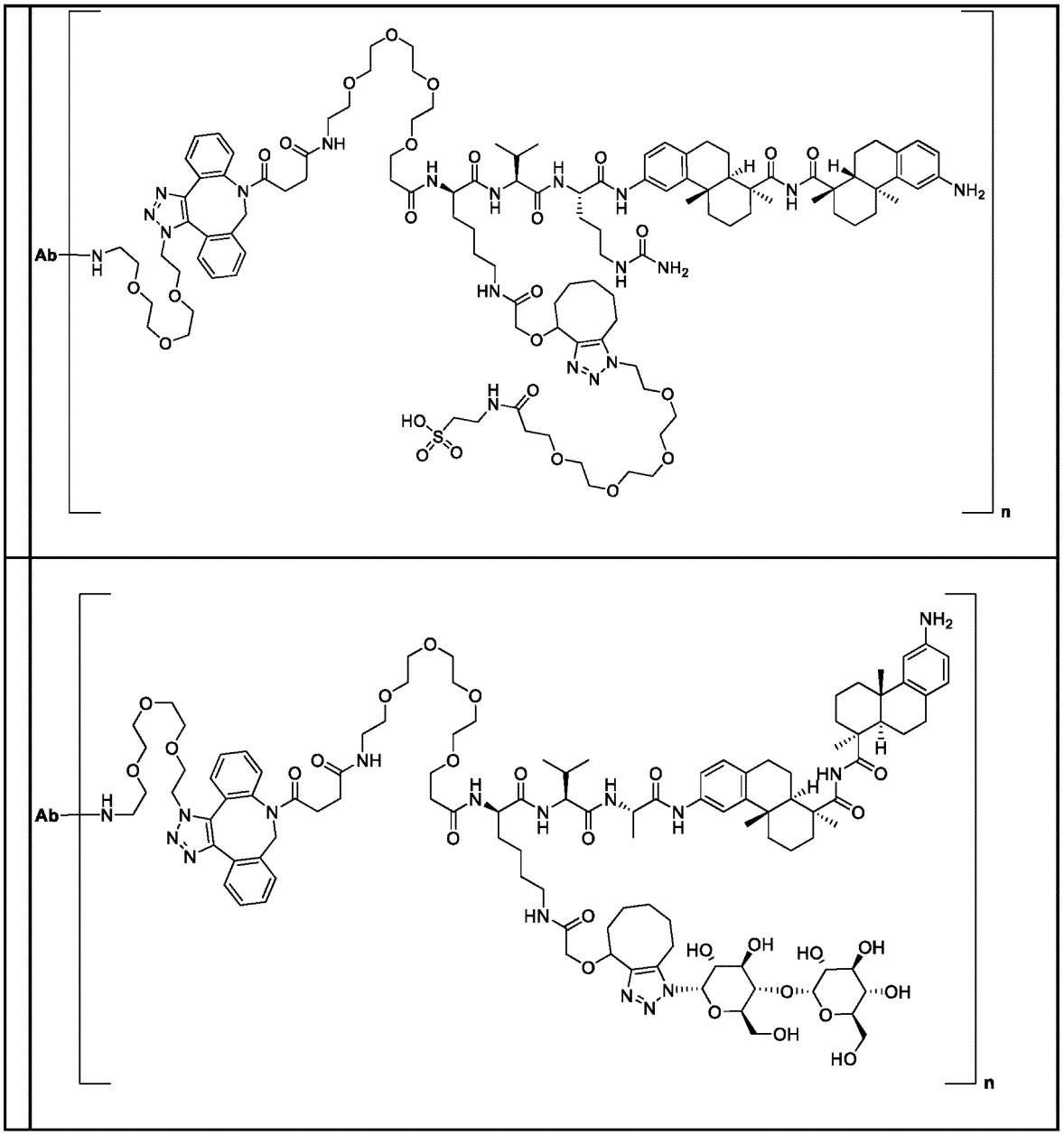
又はその混合物；

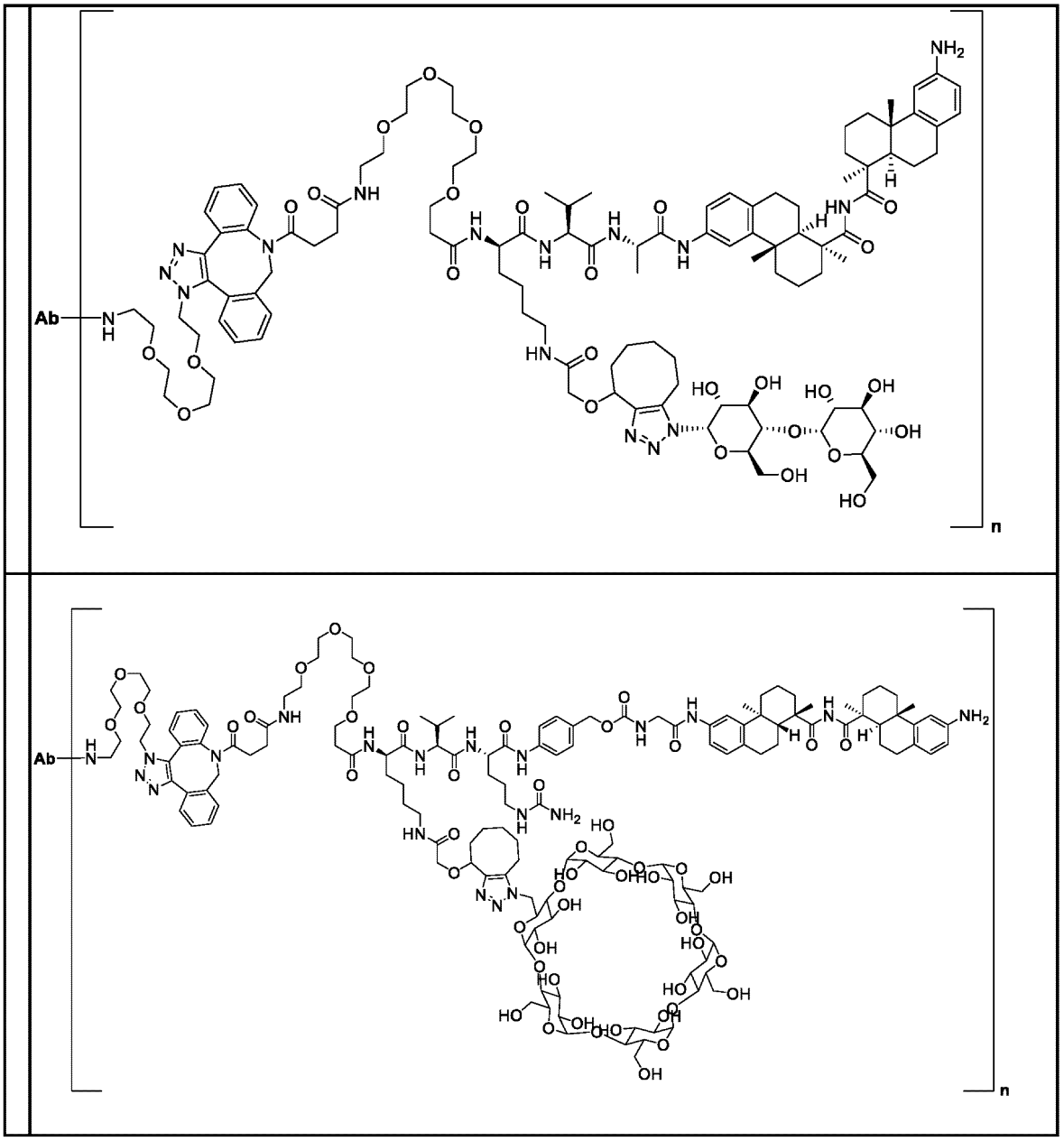


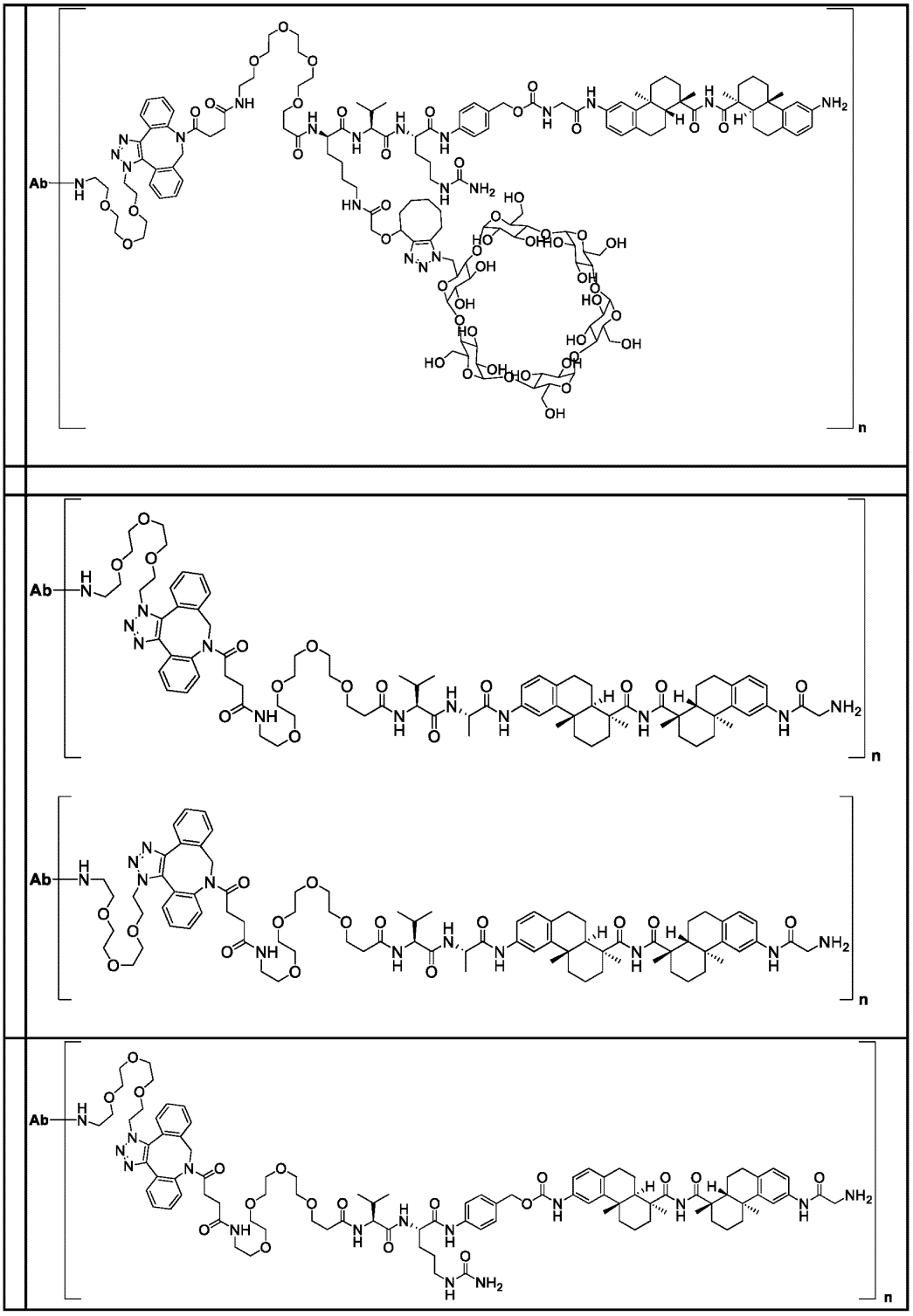

Ab
NH2
HO
OH
n
Ab
NH2
HO
OH
n

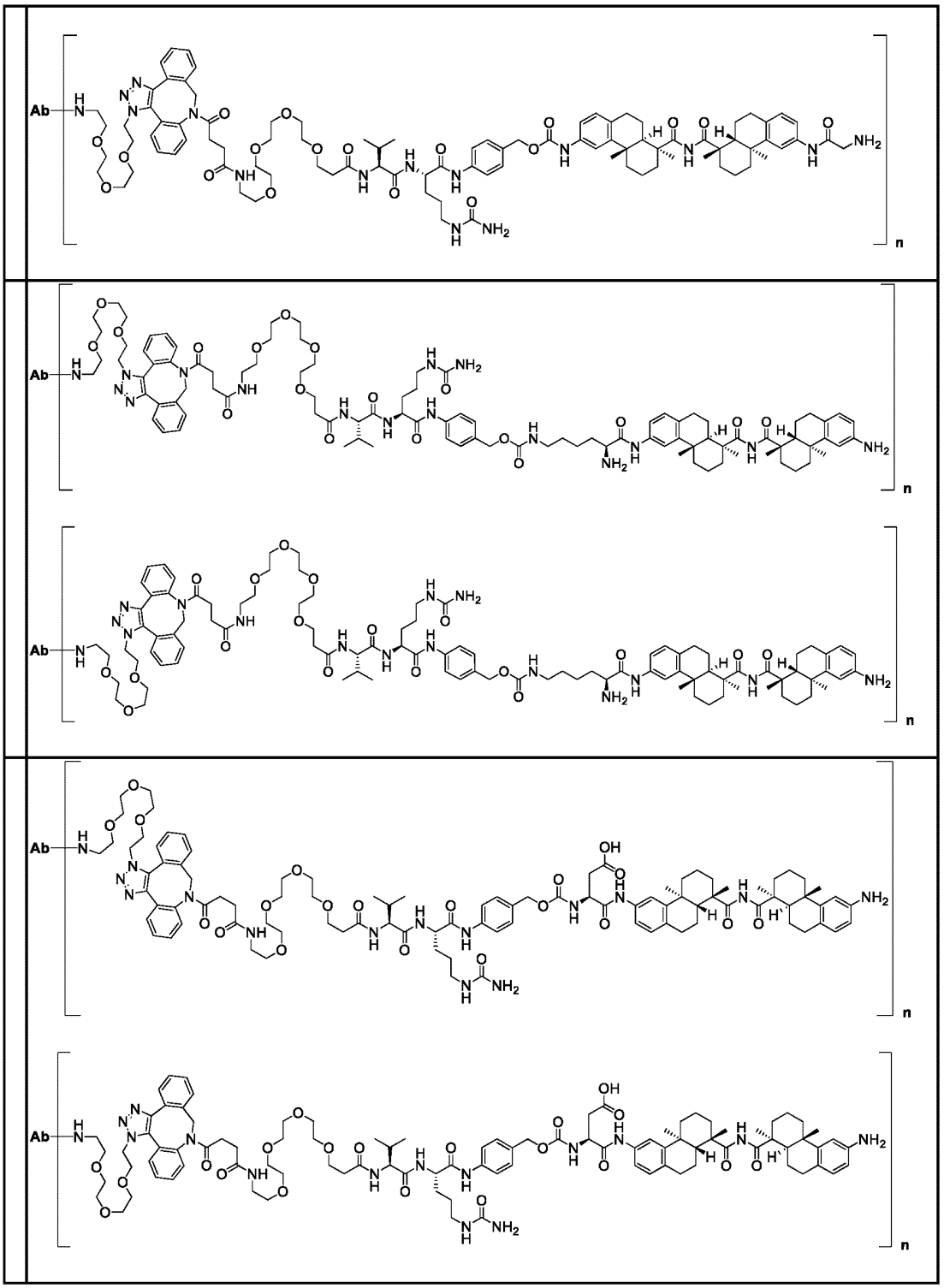

Ab
NH2
OH
HO
HN
NH
O
N
n

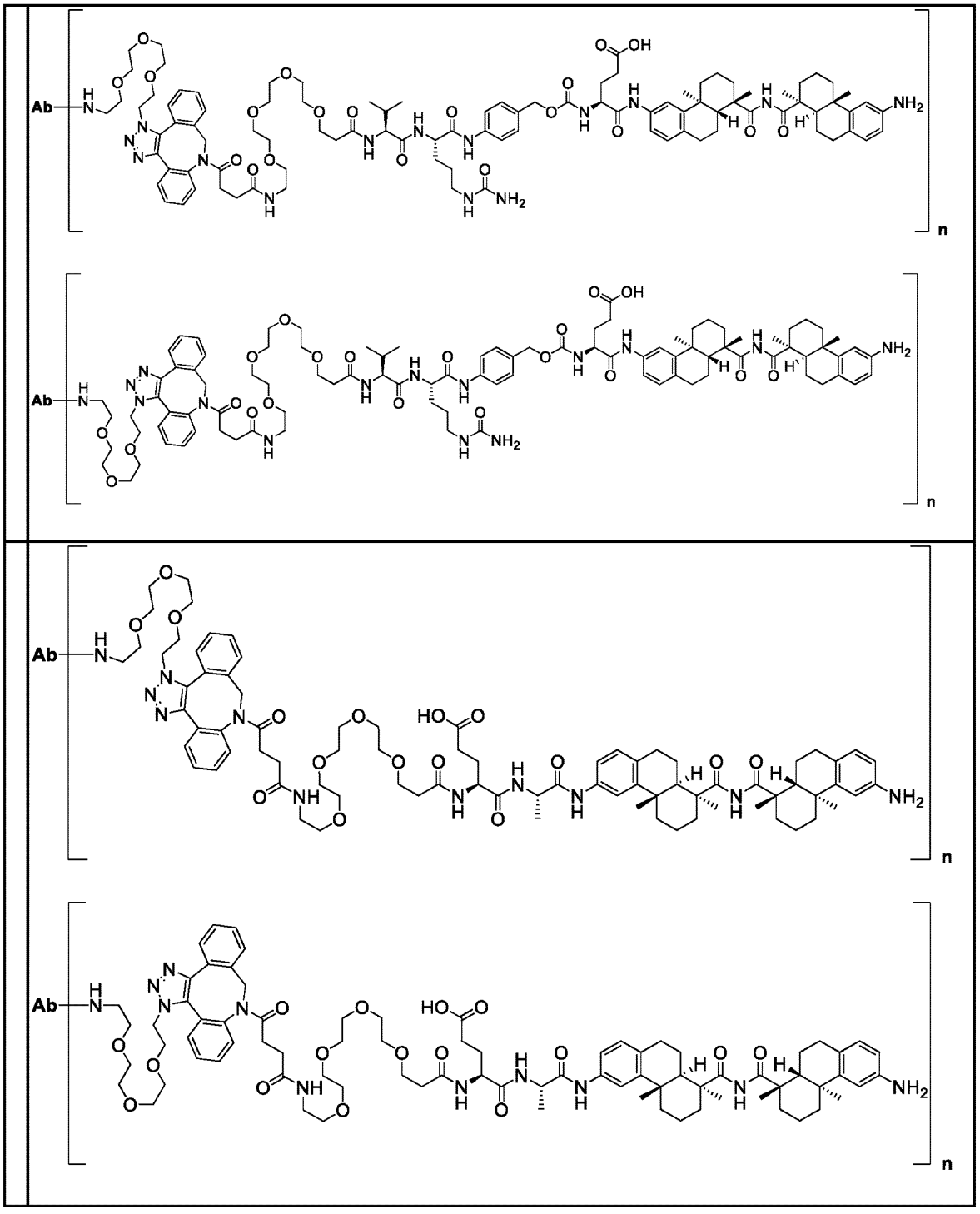

Ab
NH
HN
HO
S
O
NH2
n

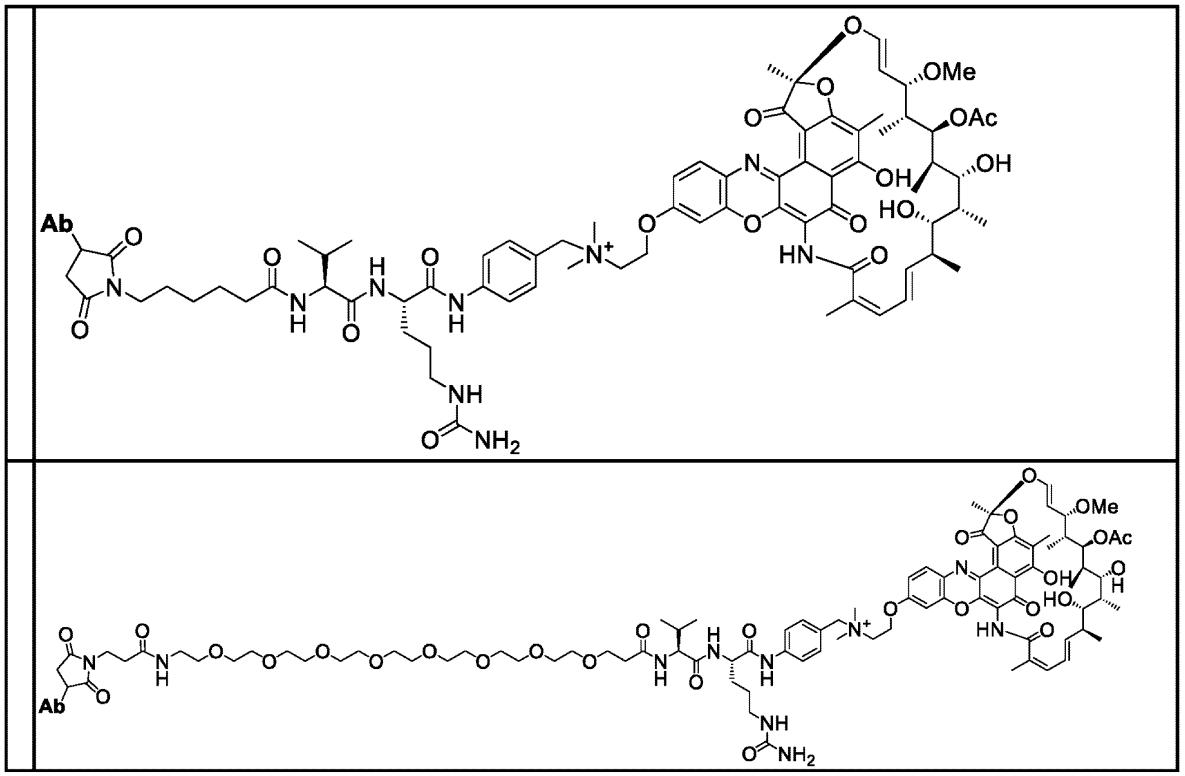

Ab
NH
O
N
HN
HO
S
NH2
n
Ab
NH
O
N
HN
HO
OH
NH2
n


Ab
NH2
HO
OH
n
Ab
NH2
HO
OH
n

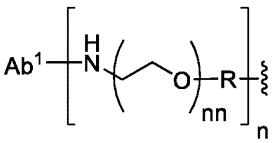

Ab
n
Ab
n
Ab
n
Ab
n


Ab
n

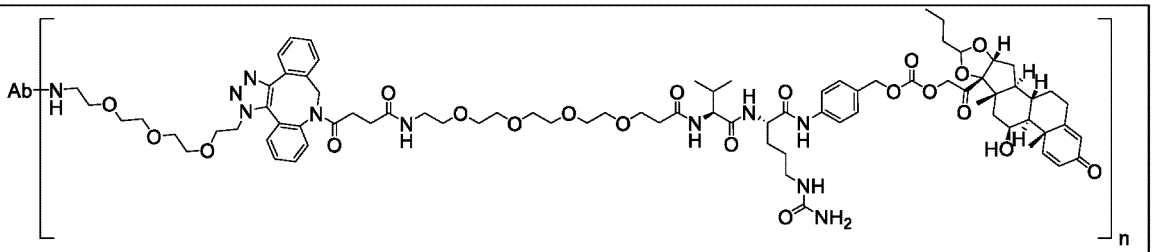

Ab
n
OH
NH2
HO



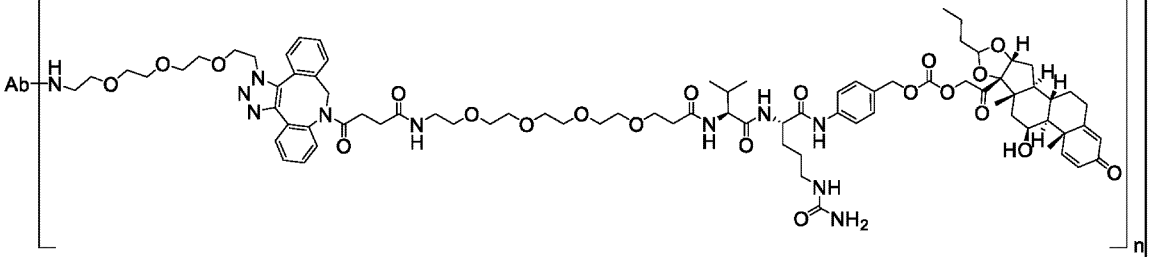
からなる群から選択され、ここで、
各々のAbが抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり;
各々のBAが、
（化６３）



であり、
ここで、Ab^1が抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり; RがC_{2-4}-アルキレンであり; かつnnが2～4までから選択される整数であり、かつ
各々のnが1～4の整数である、
態様9～24のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート、又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物。
（態様５２）
以下のもの
（化６４）



，及び



又はその混合物；

から選択され、ここで、

各々のAbが抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり;かつ

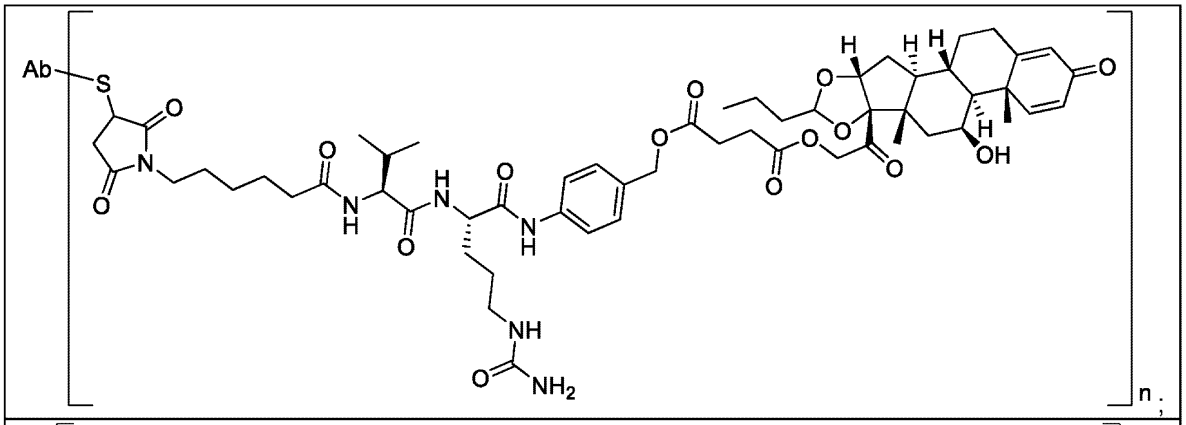
各々のnが1～4の整数である、

抗体-薬物コンジュゲート(又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物)。

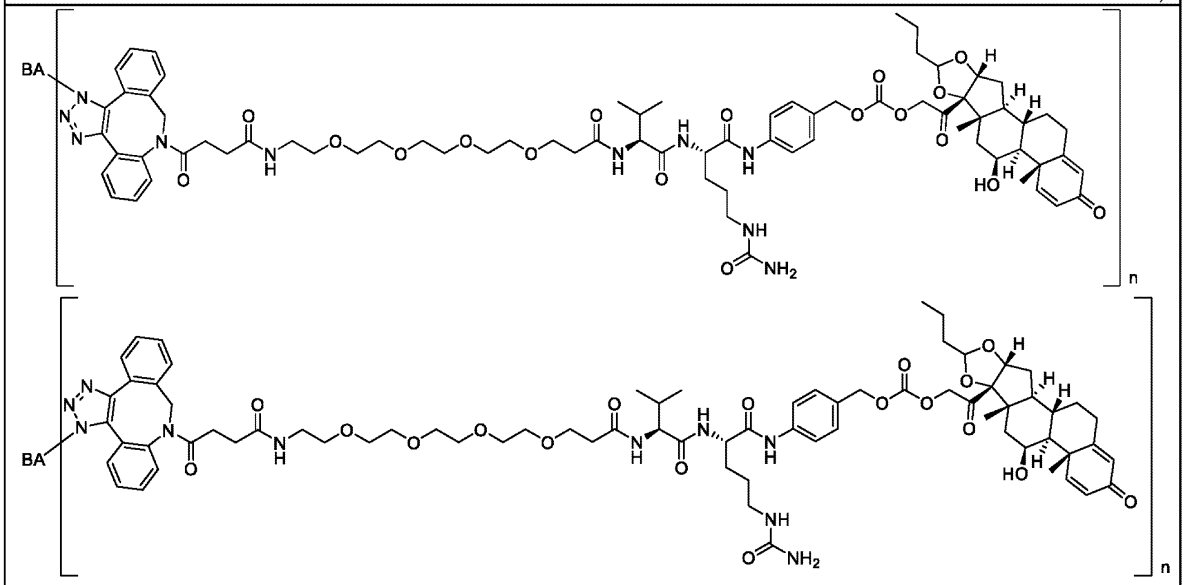
（態様５３）

以下の式のうちの1つ又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物による抗体-薬物コンジュゲート又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物:

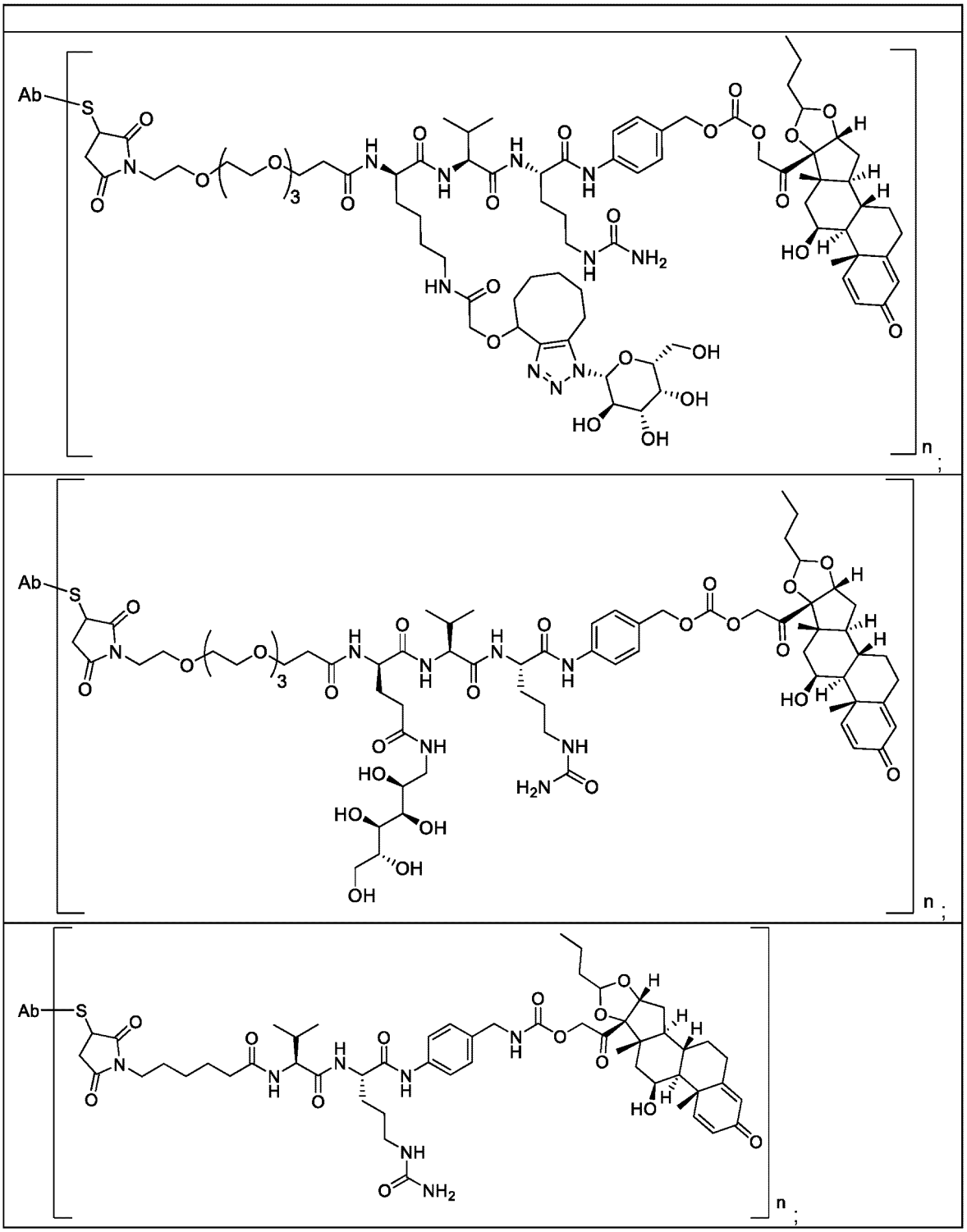
（化６５）

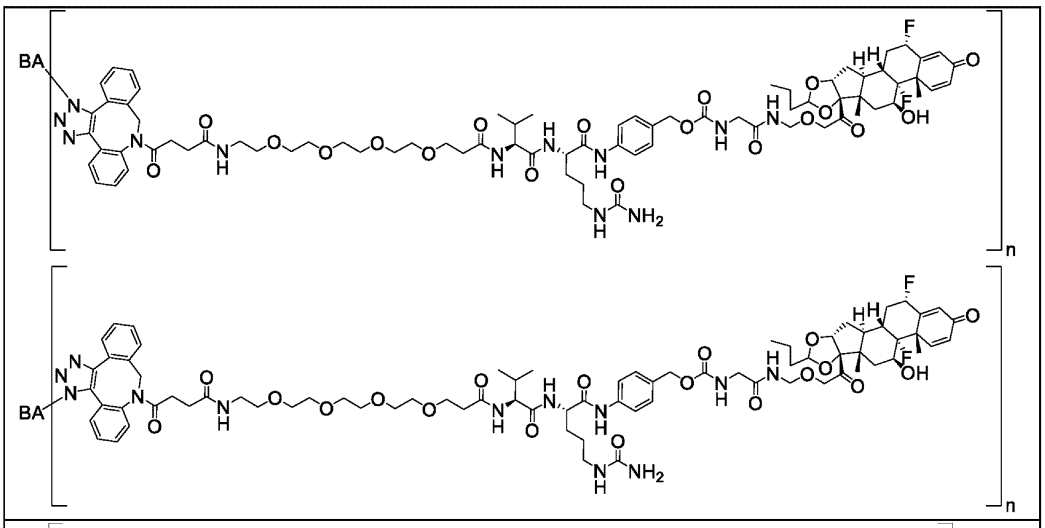


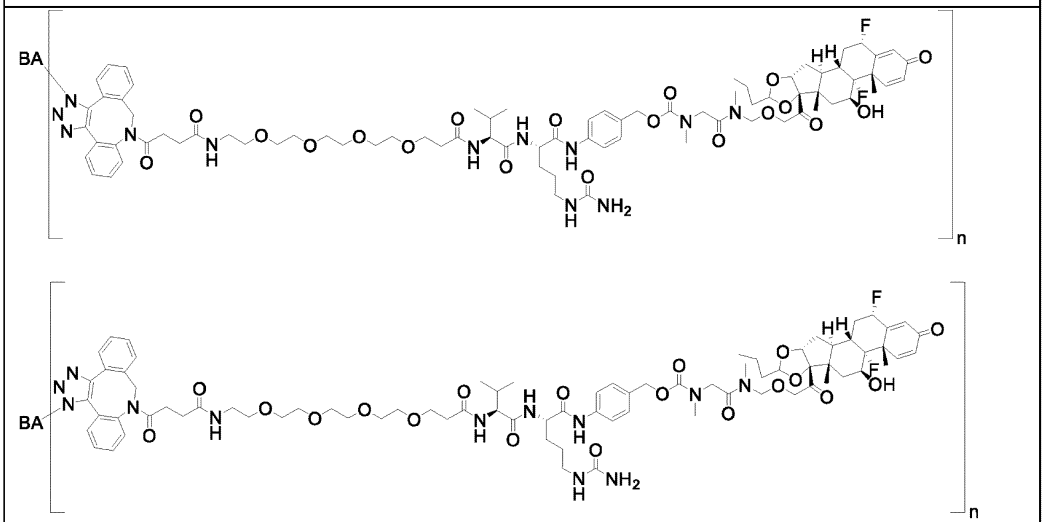
;

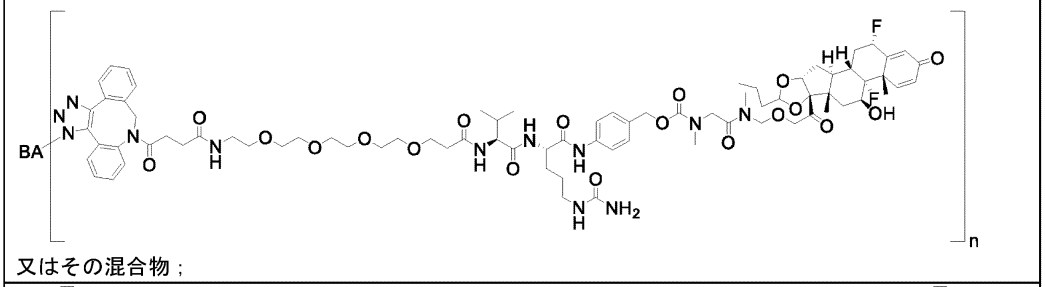


又はその混合物；

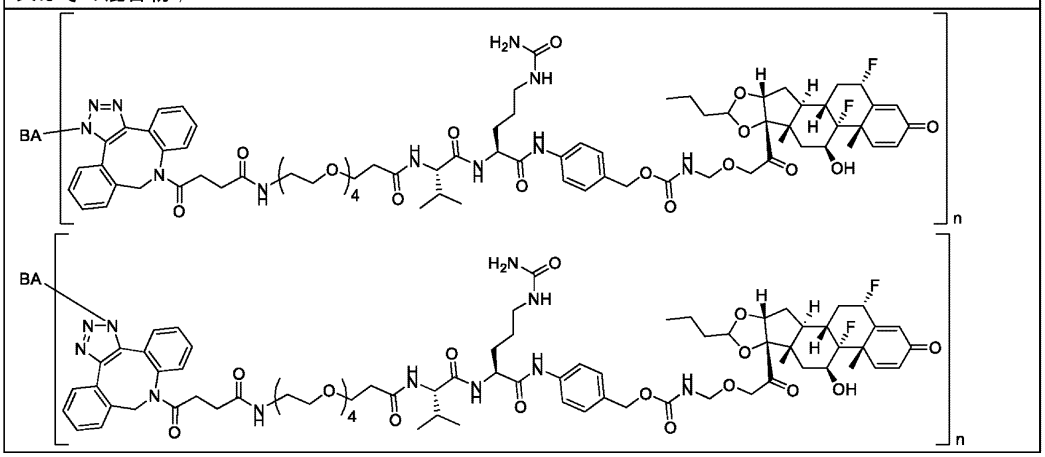

Ab
S
O
N
O
O
O
O
3
H
N
O
N
H
O
H
N
O
N
H
O
O
O
O
O
O
H
H
H
HO
H
O
HN
O
O
N
N
N
O
OH
HO
OH
OH
NH2
n
;
Ab
S
O
N
O
O
O
O
3
H
N
O
N
H
O
H
N
O
N
H
O
O
O
O
O
O
H
H
H
HO
H
O
O
NH
HO
HO
OH
OH
OH
NH
H2N
O
n
;
Ab
S
O
N
O
O
H
N
O
N
H
O
H
N
O
N
H
O
O
O
O
O
H
H
H
HO
H
O
NH
O
NH2
n
;



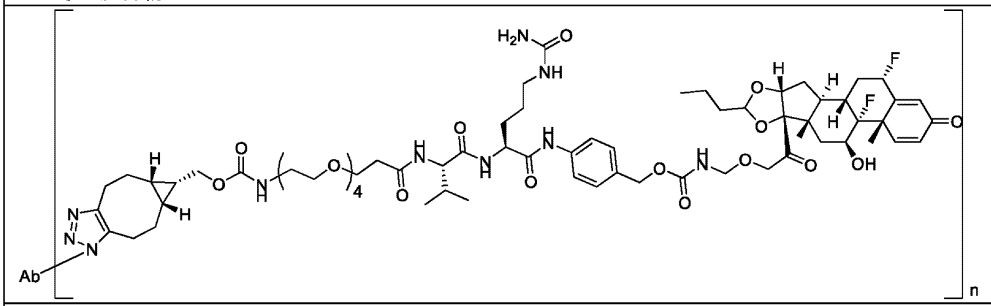


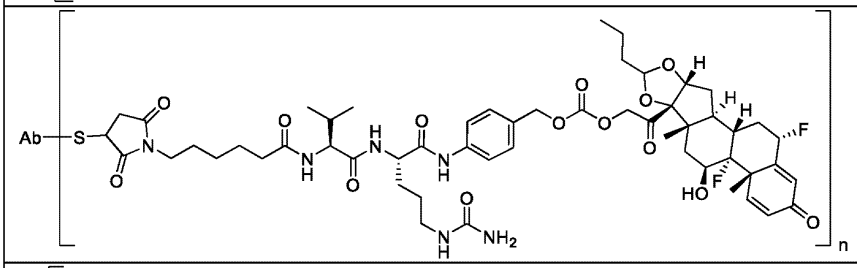


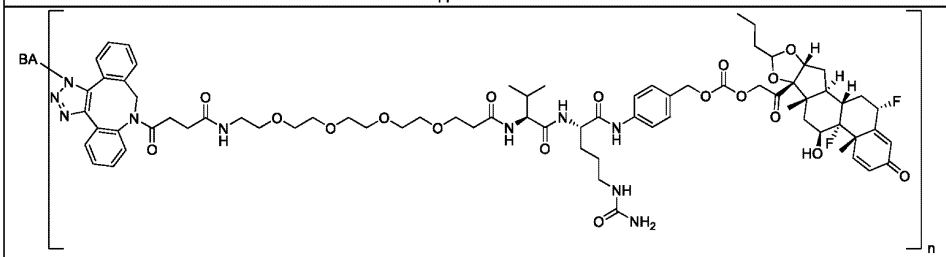
又はその混合物；

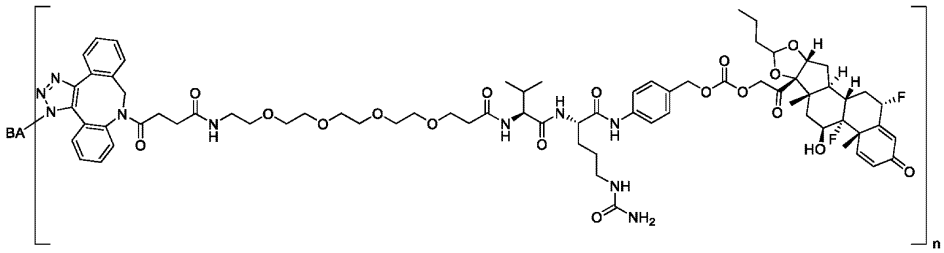


又はその混合物

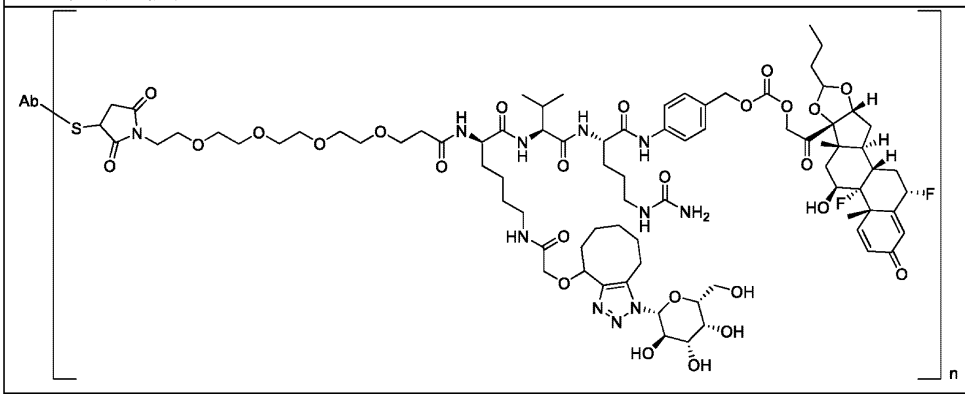


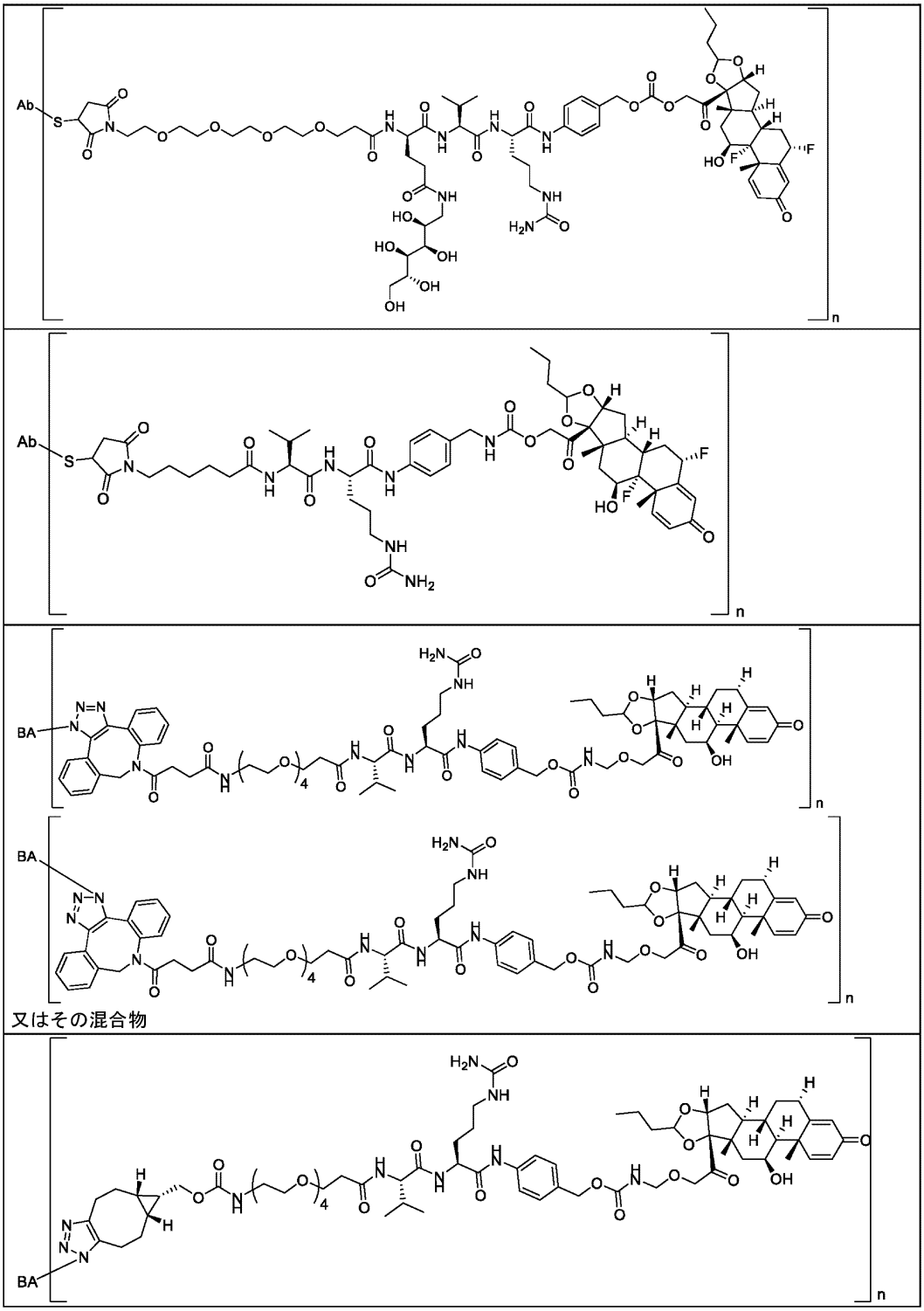






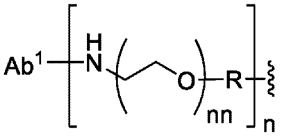
又はその混合物；





又はその混合物

(式中、
各々のAbは、抗ＭＳＲ１抗体又はその抗原結合断片であり;
各々のBAは、
（化６６）

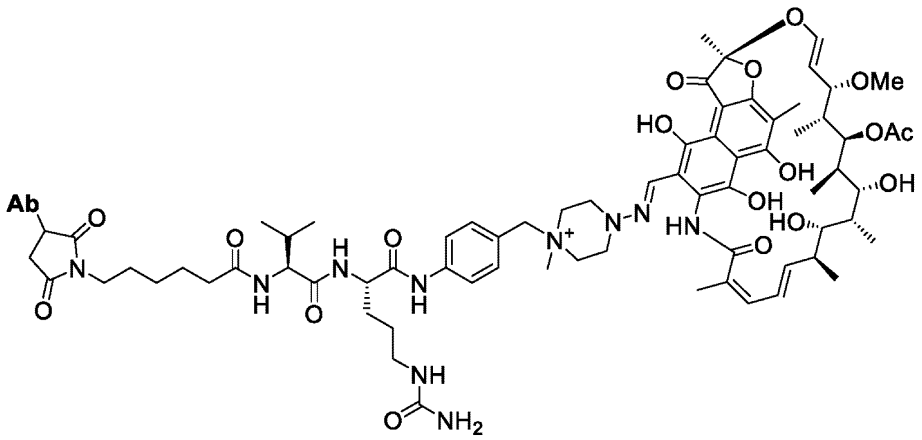


であり、ここで、Ab^1は、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片であり; Rは、C_{2-4}-アルキレンであり;かつnnは、2～4までから選択される整数であり、かつ
各々のnは、1～4の整数である)。

（態様５４）

式(7004)による、態様9～10及び24のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート:

（化６７）



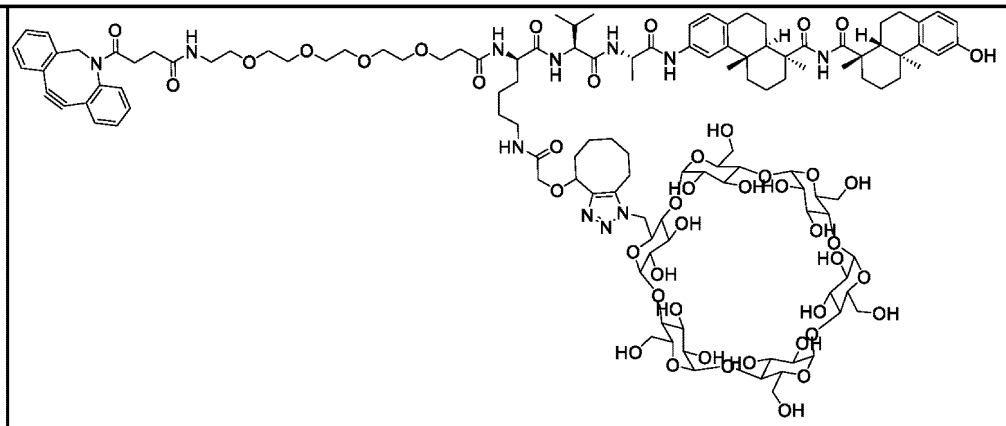
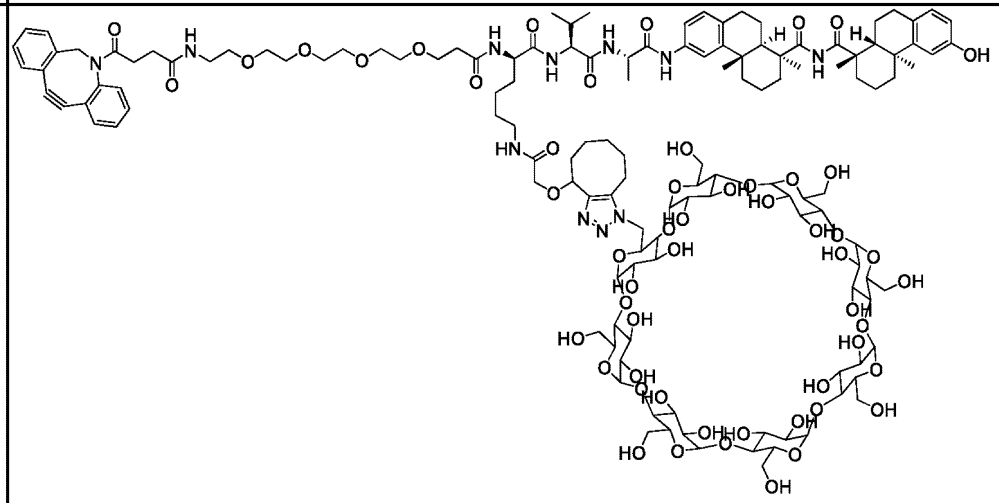
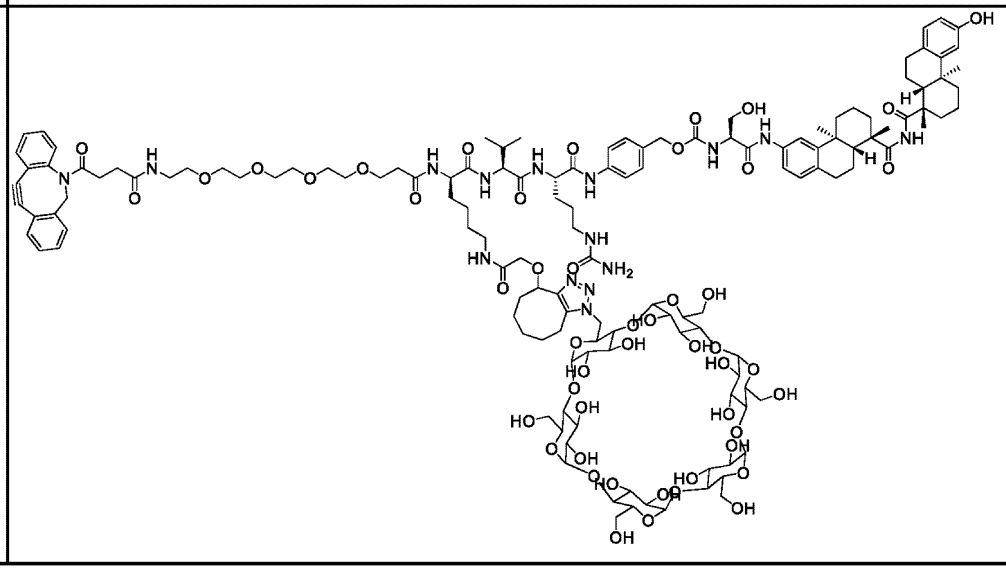
式 (7004)

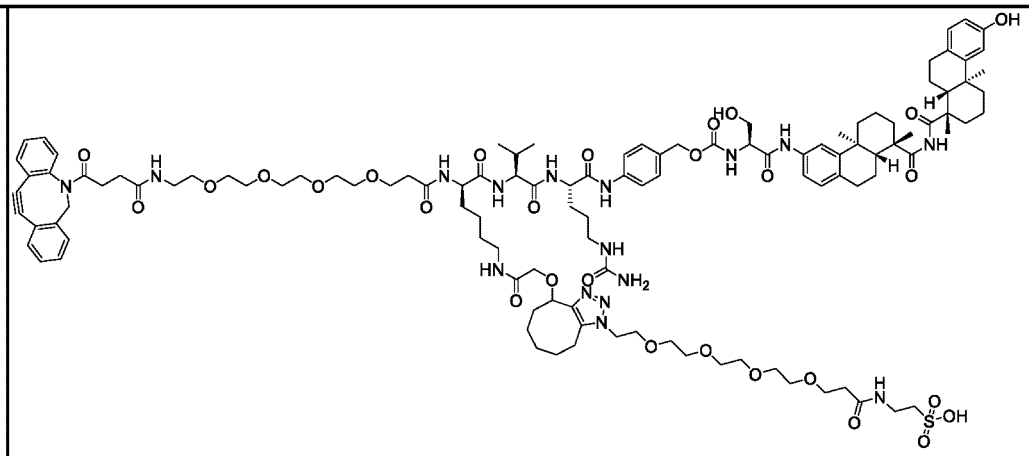
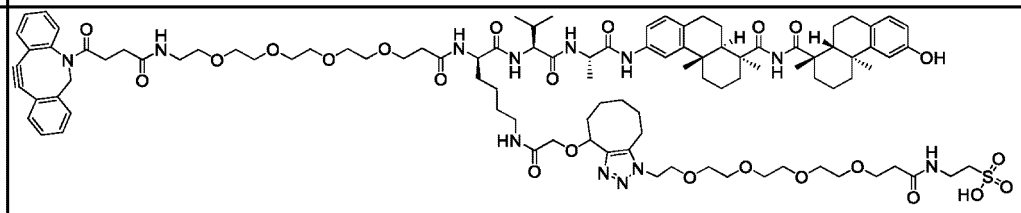
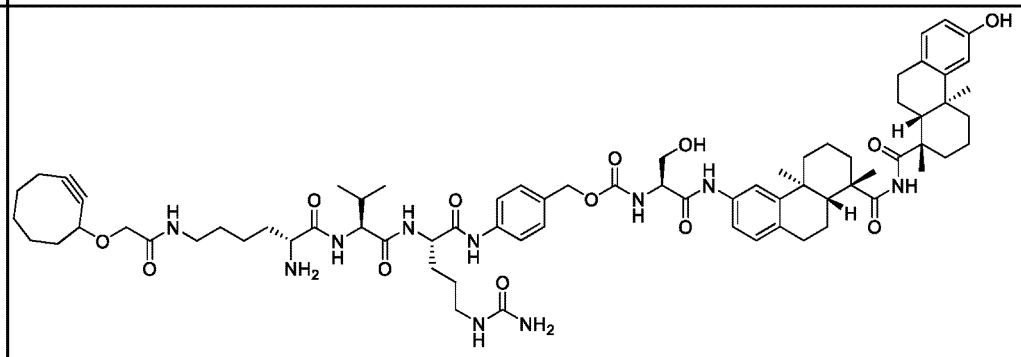
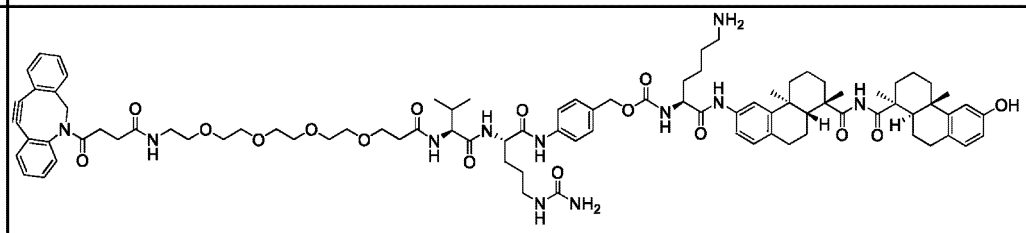
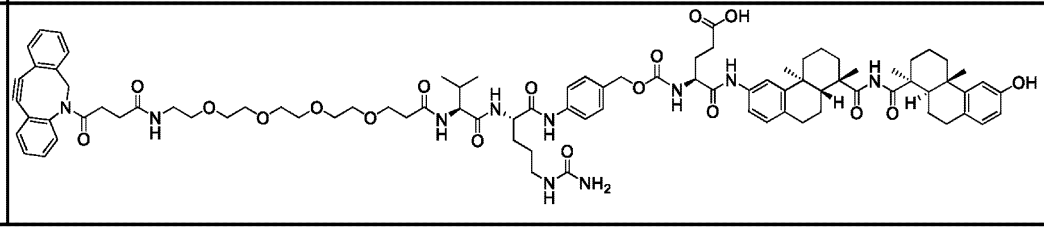
。

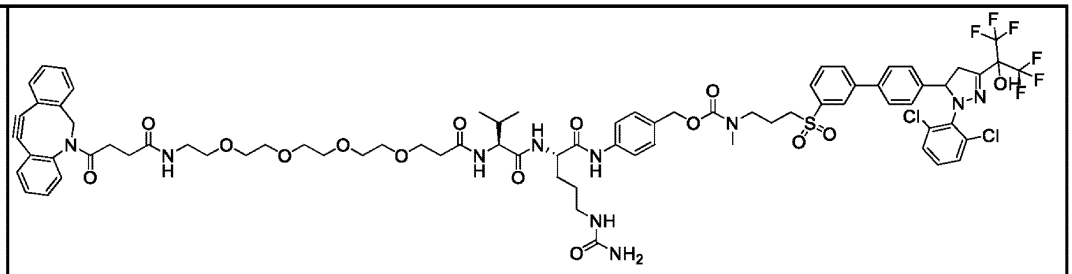
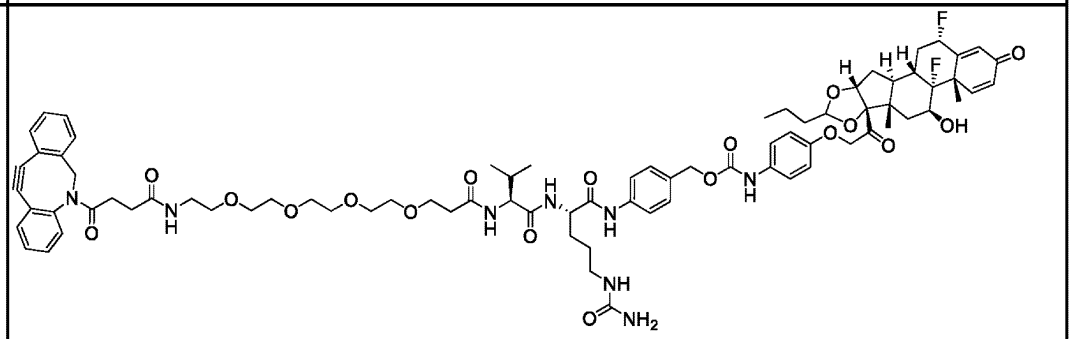
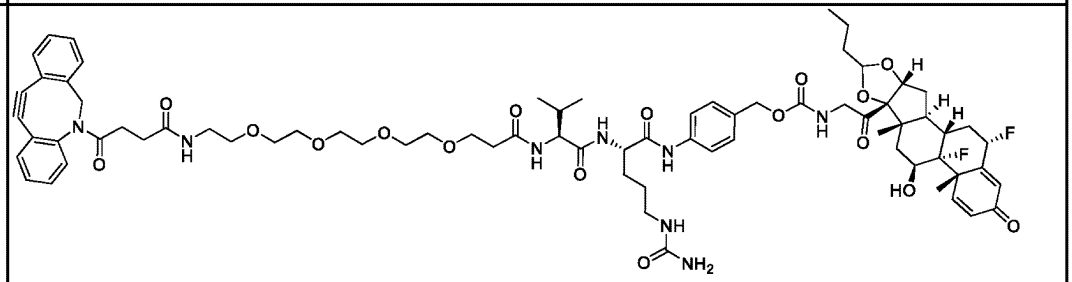
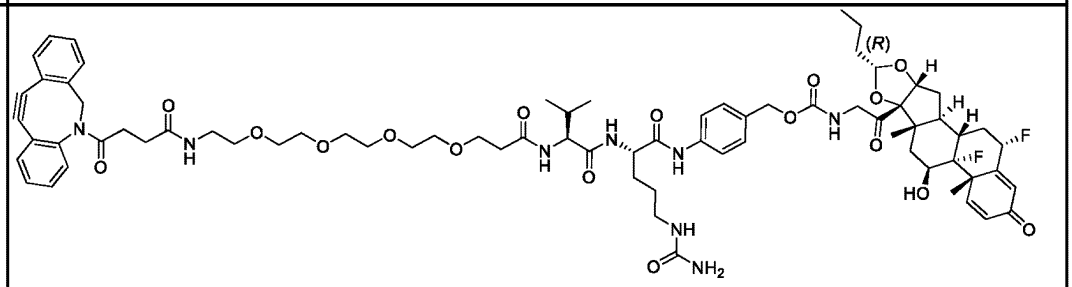
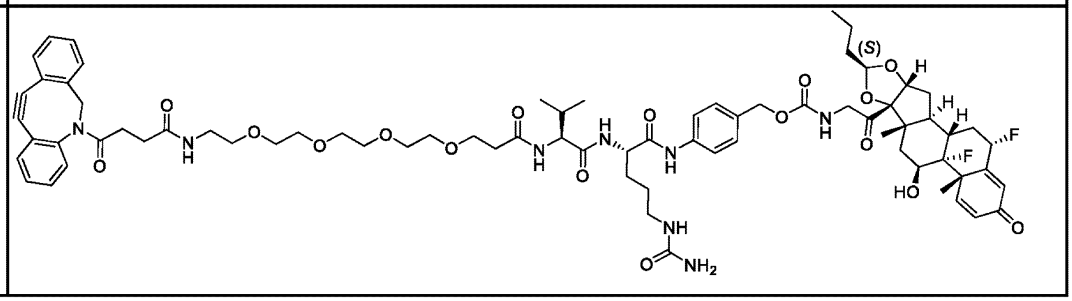
（態様５５）

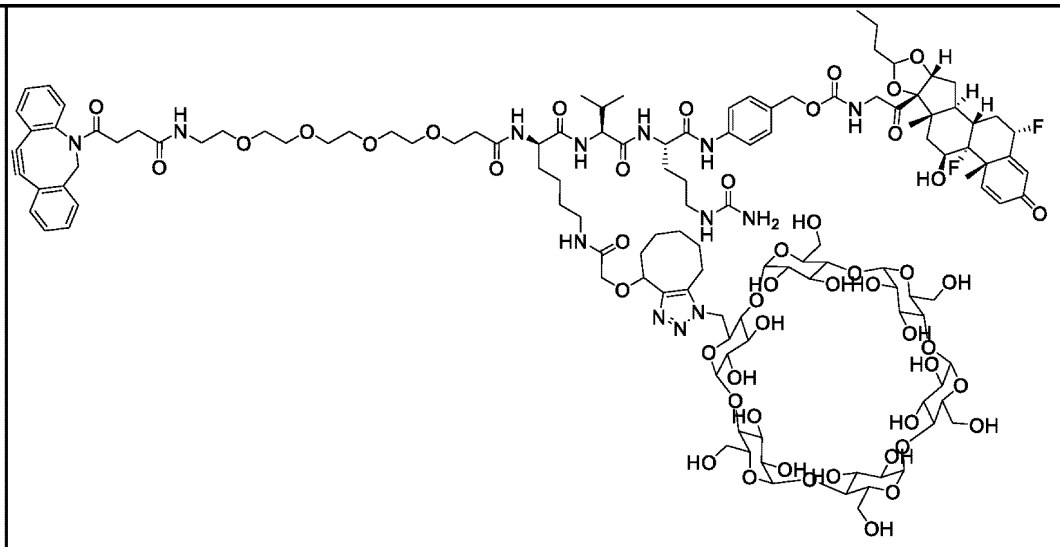
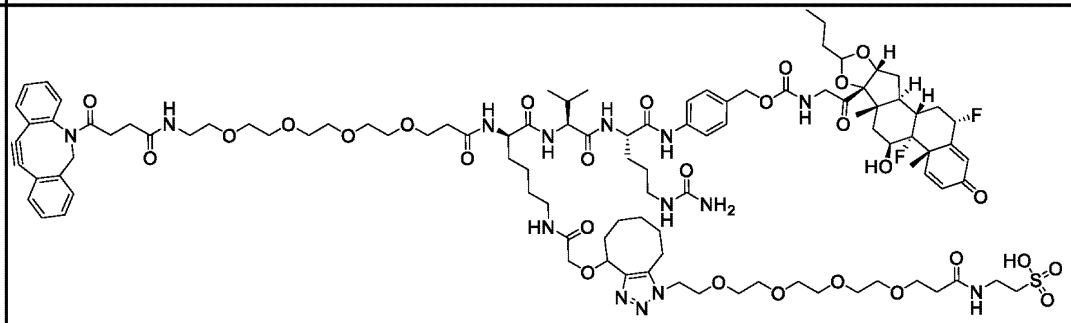
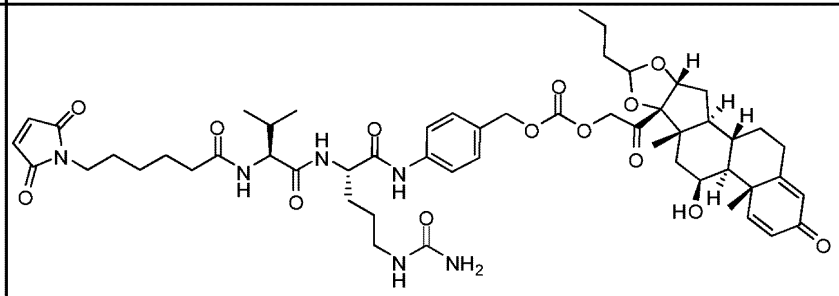
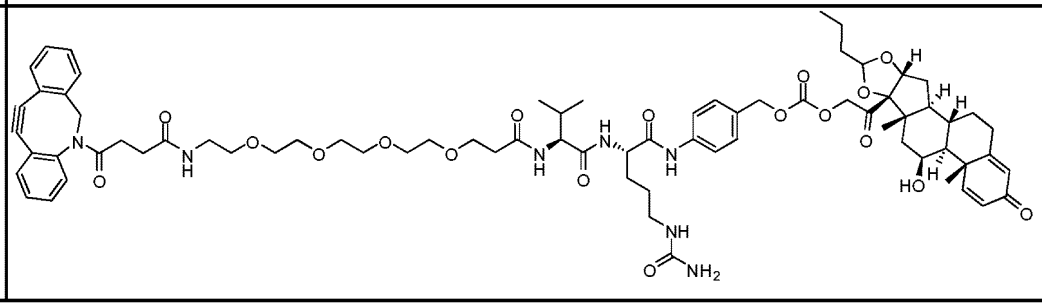
抗MSR1抗体もしくはPEG修飾抗MSR1抗体又はその抗原結合断片を、以下のものからなる群から選択されるリンカーペイロード又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体もしくはその位置異性体の混合物とコンジュゲートすることにより調製される、抗体薬物コンジュゲート:

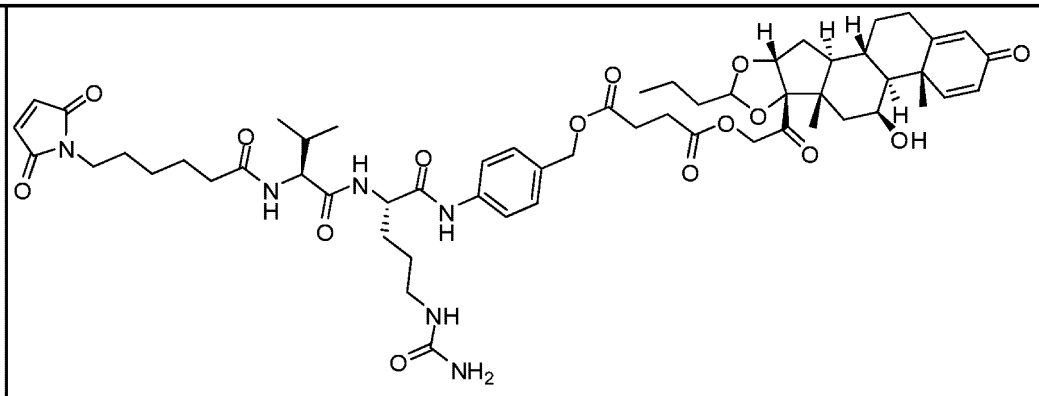
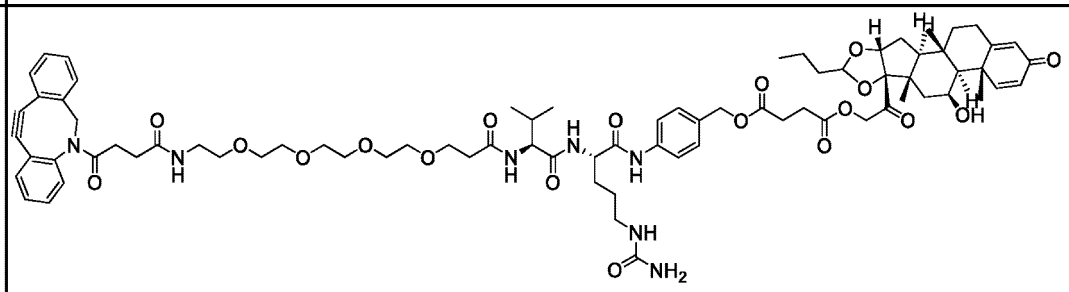
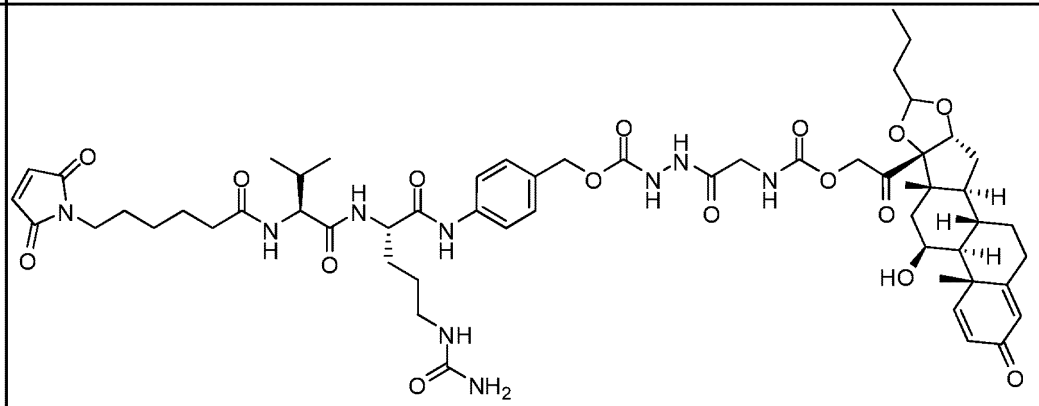
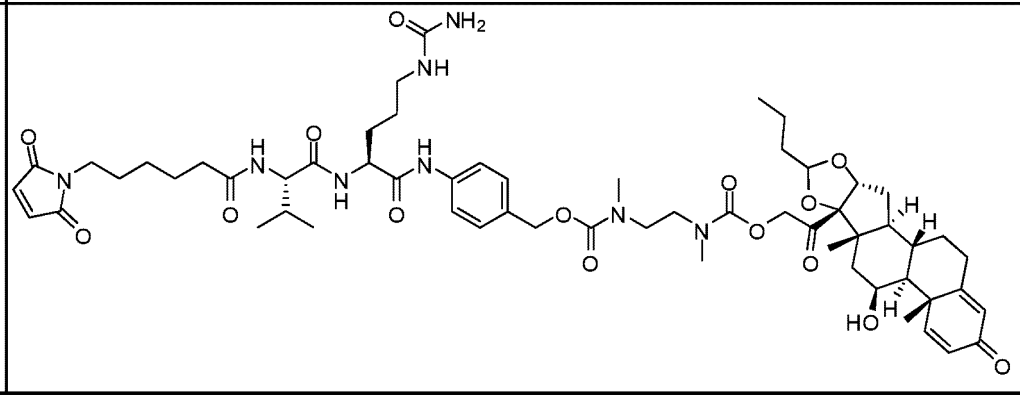
（化６８）

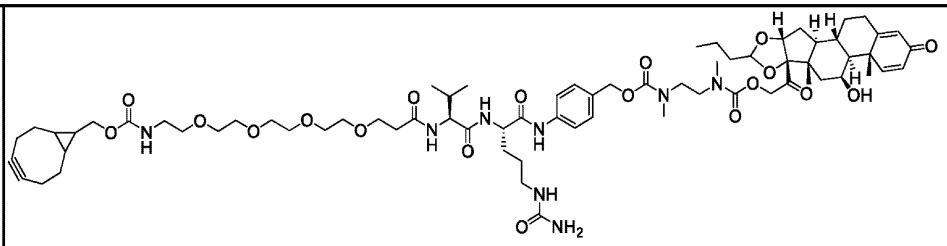
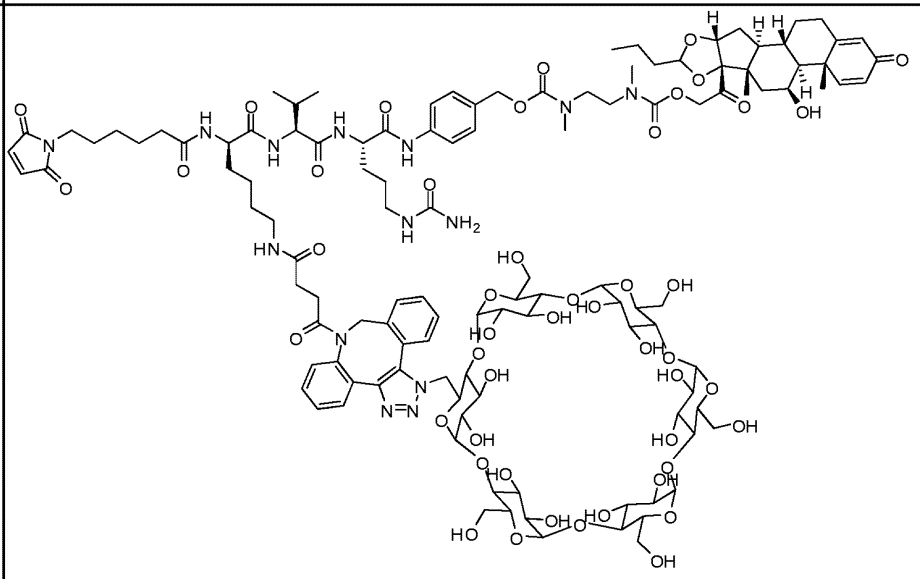
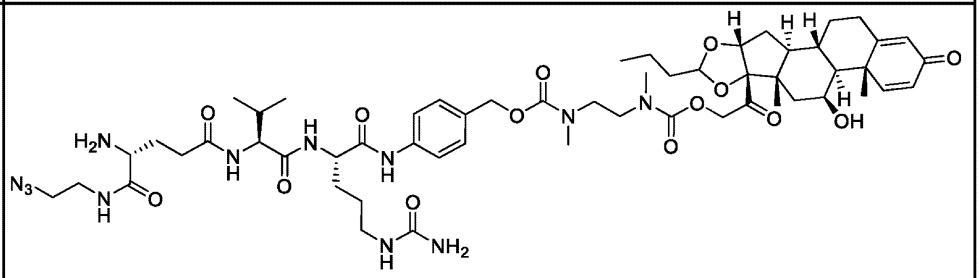
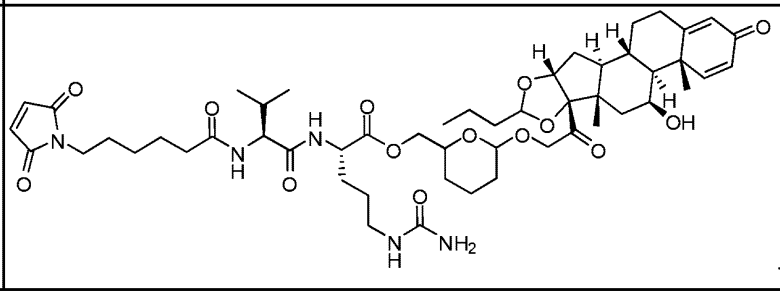
LP1	
LP2	
LP5	

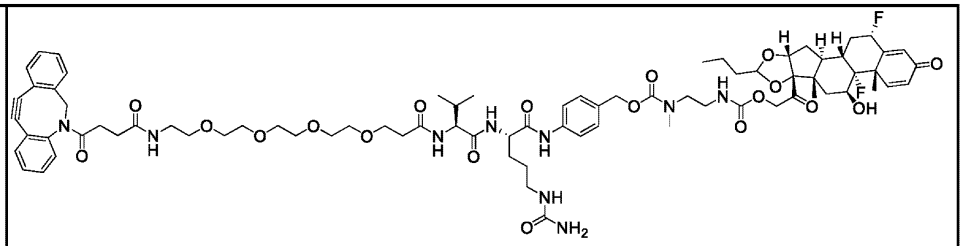
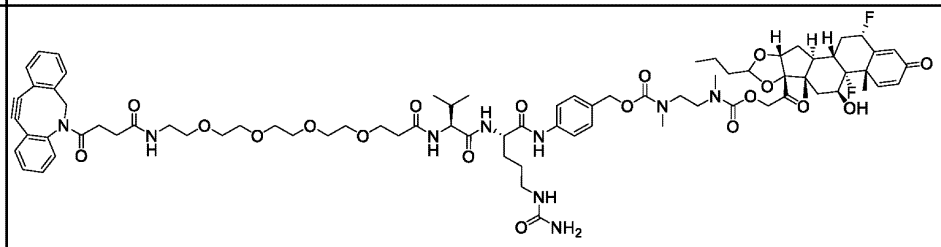
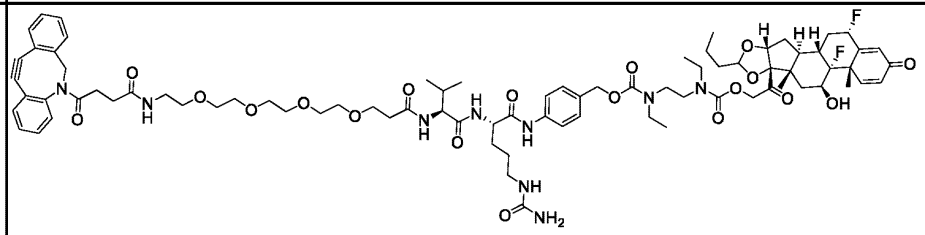
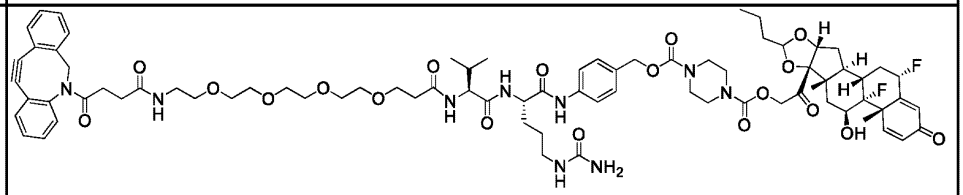
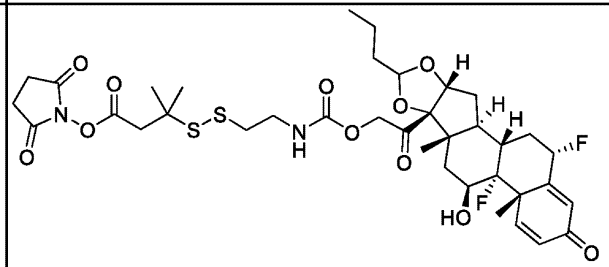
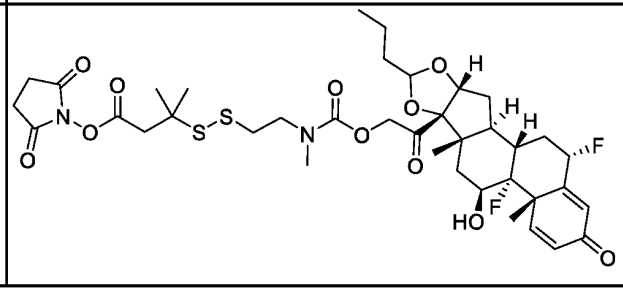
LP6	
LP18	
LP4	
LP11	
LP9	

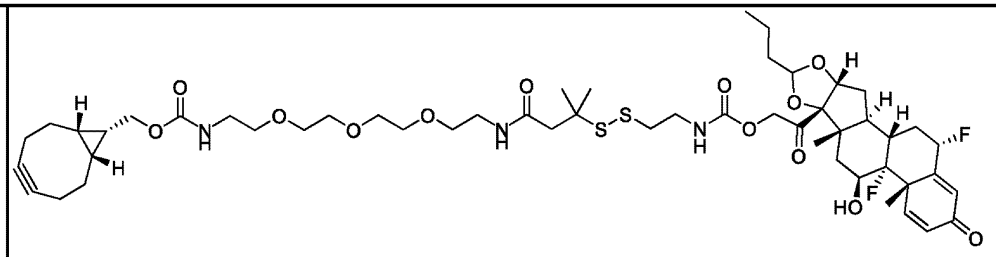
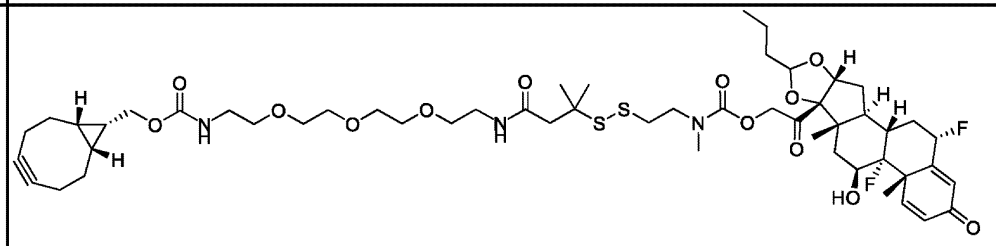
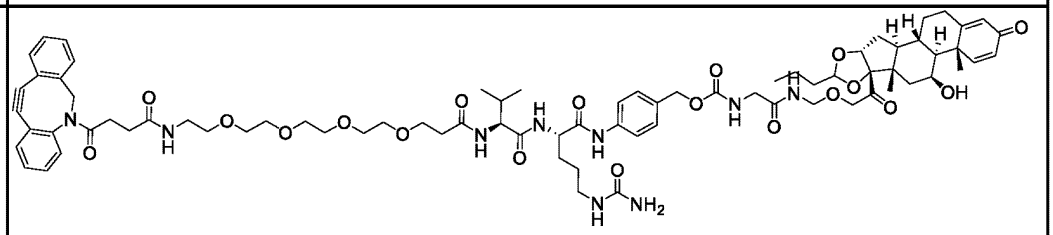
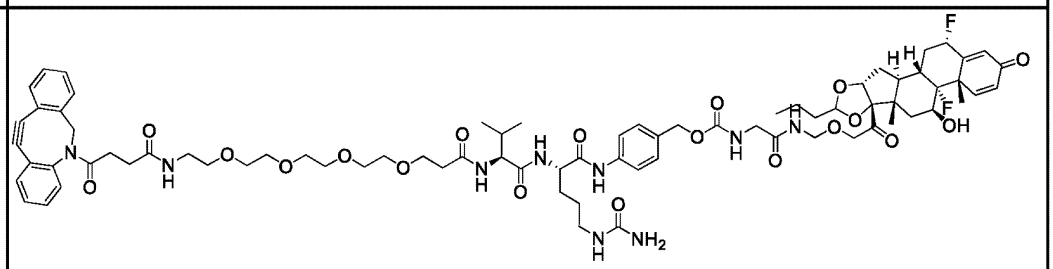
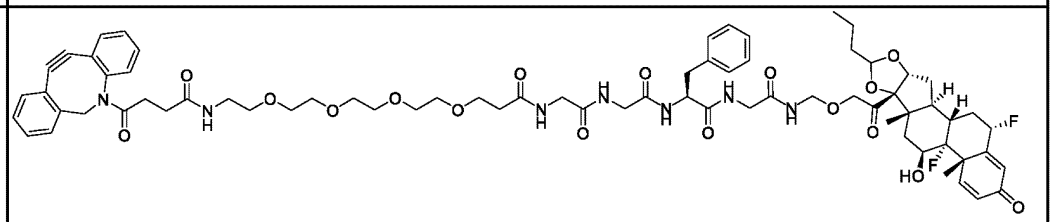
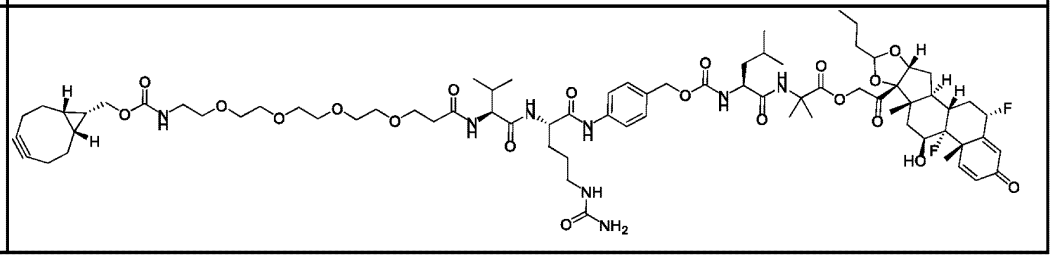
LP12	
LP3	
LP13	
	
	

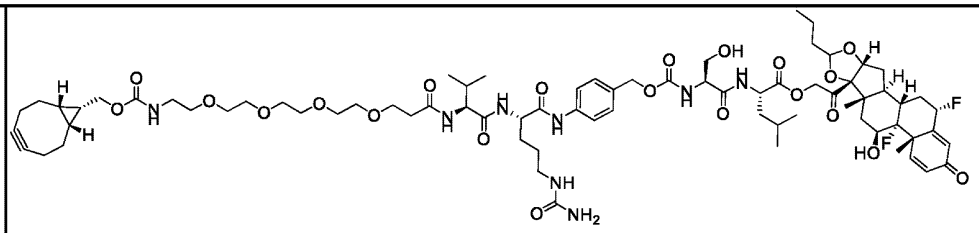
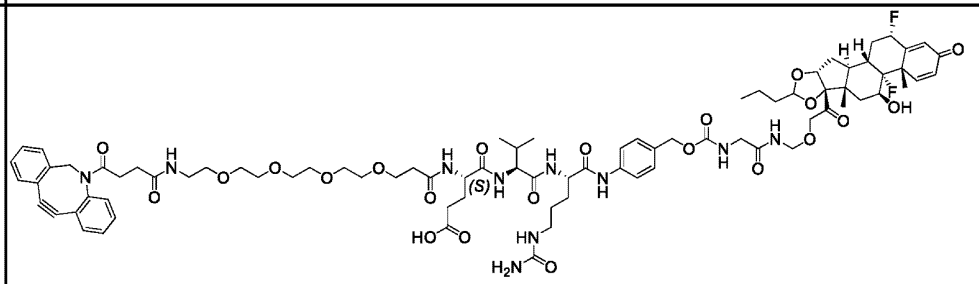
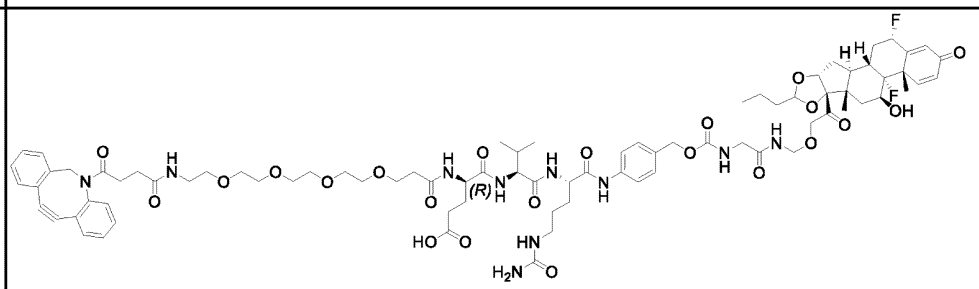
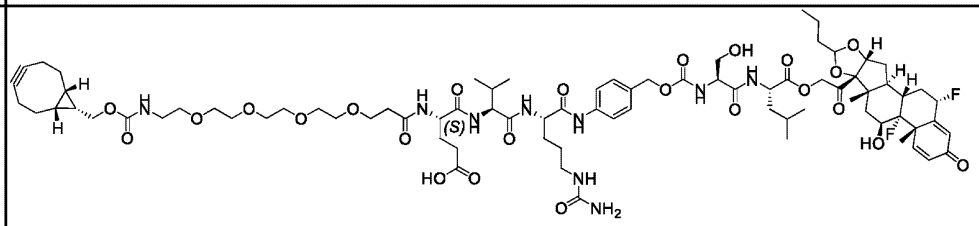
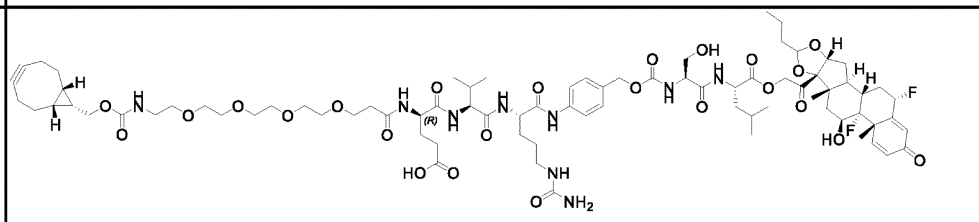
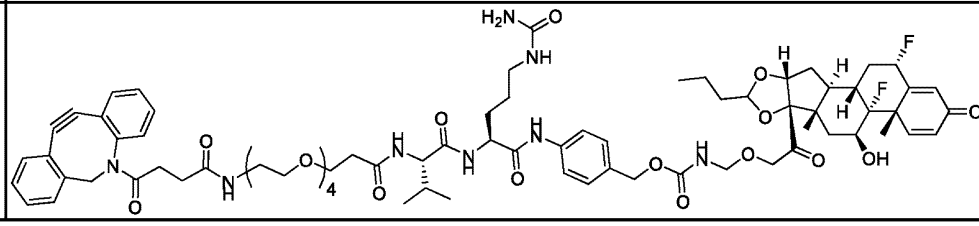
LP14	
LP15	
2a	
2b	

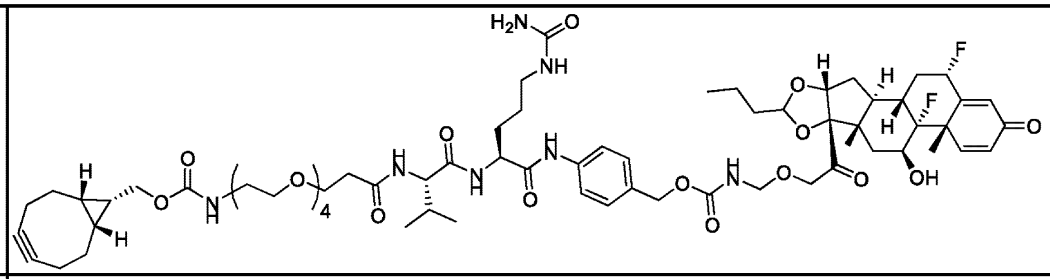
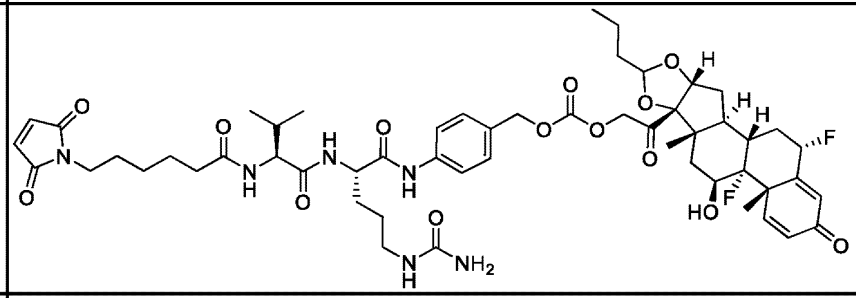
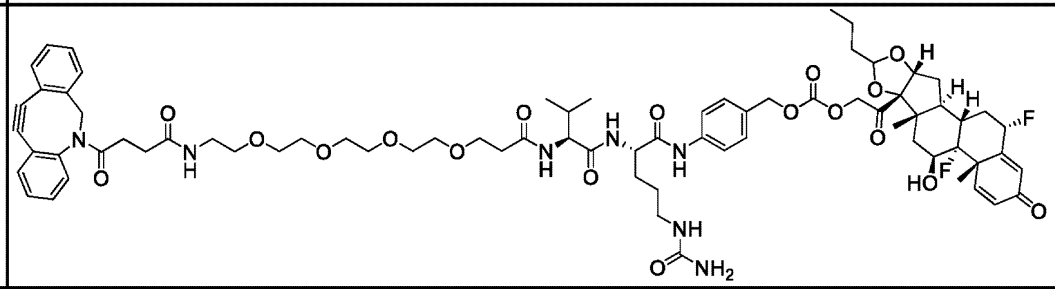
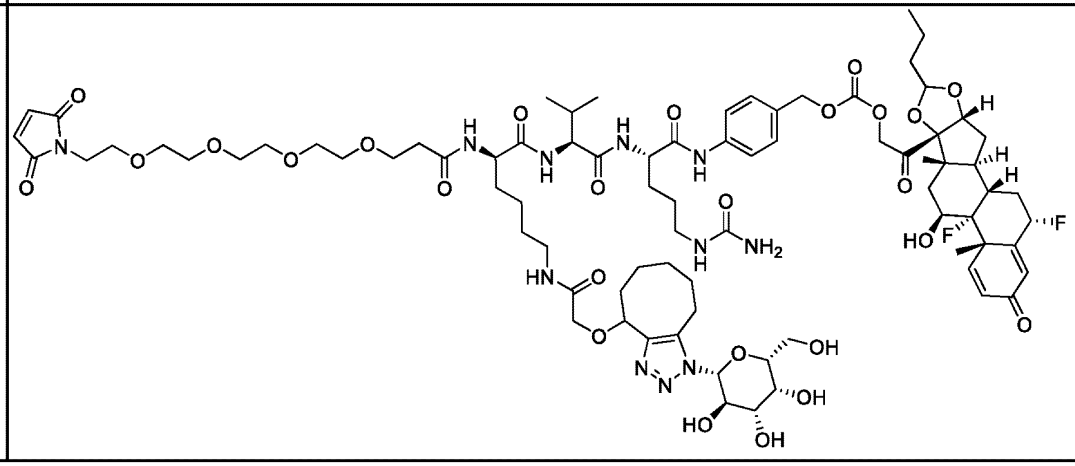
2f	
2g	
2j	
2k	

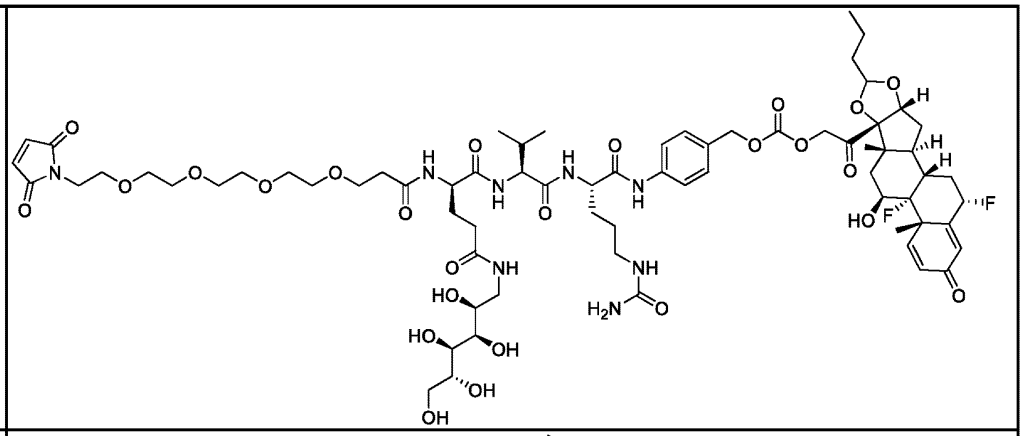
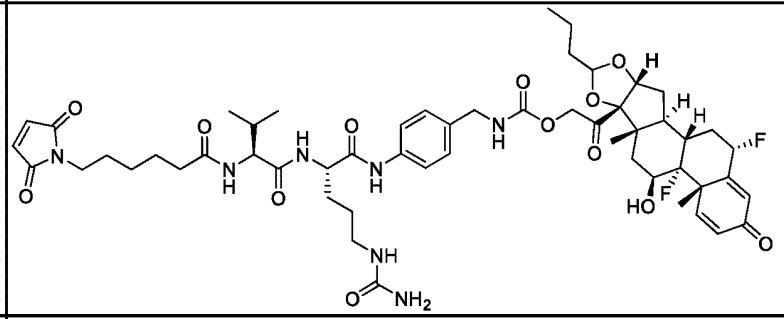
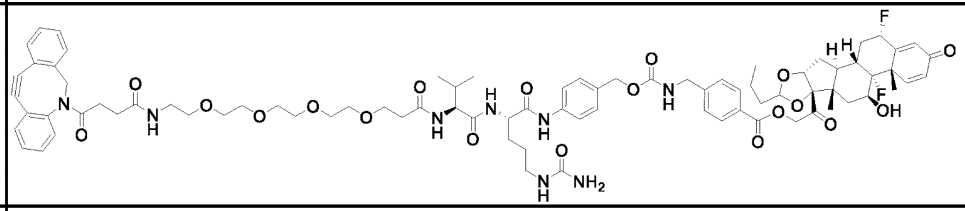
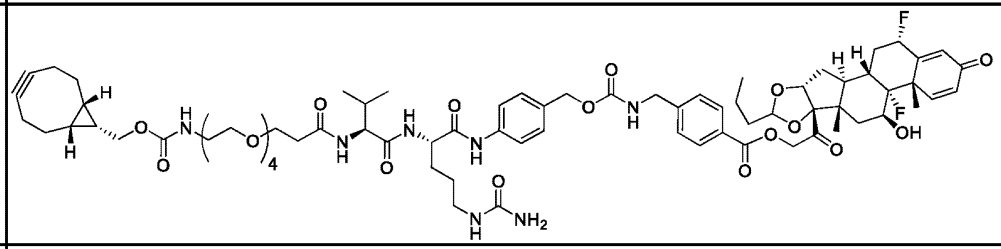
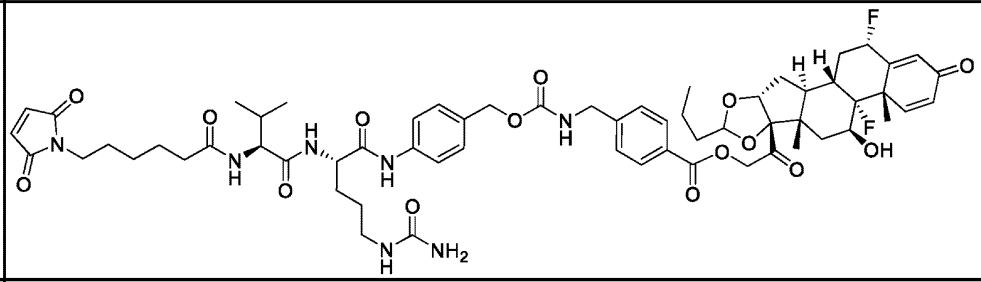
2l	
2m	
2n	 又はその混合物
2q	

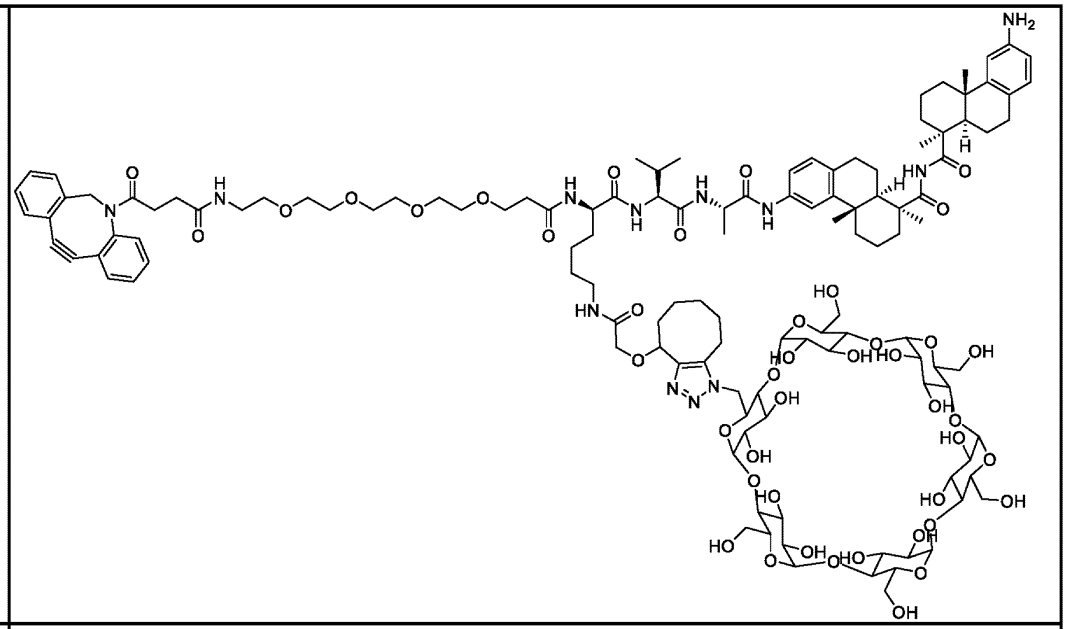
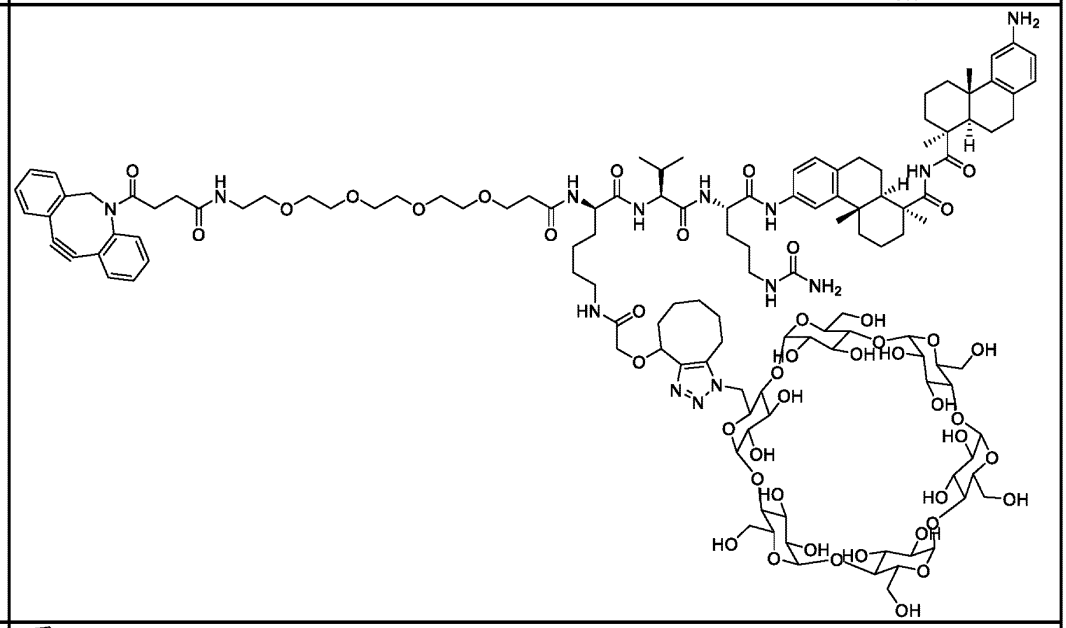
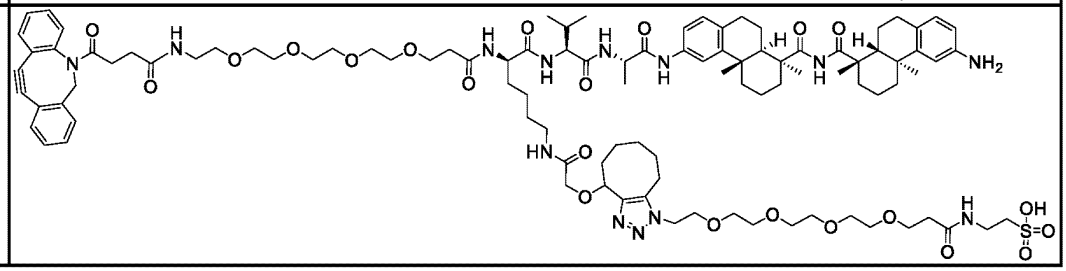
LP1A	
LP2A	
LP3A	
LP4A	
LP5A	
LP6A	

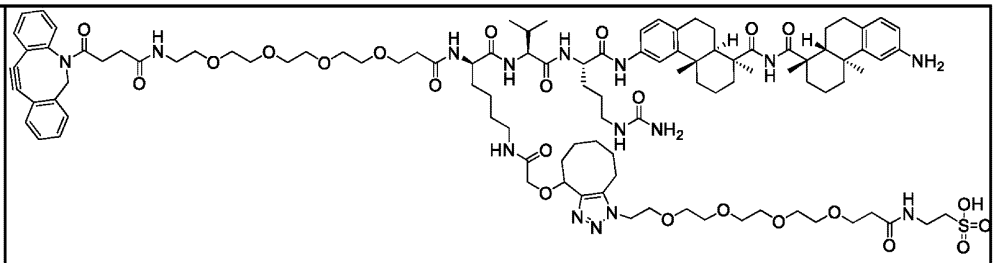
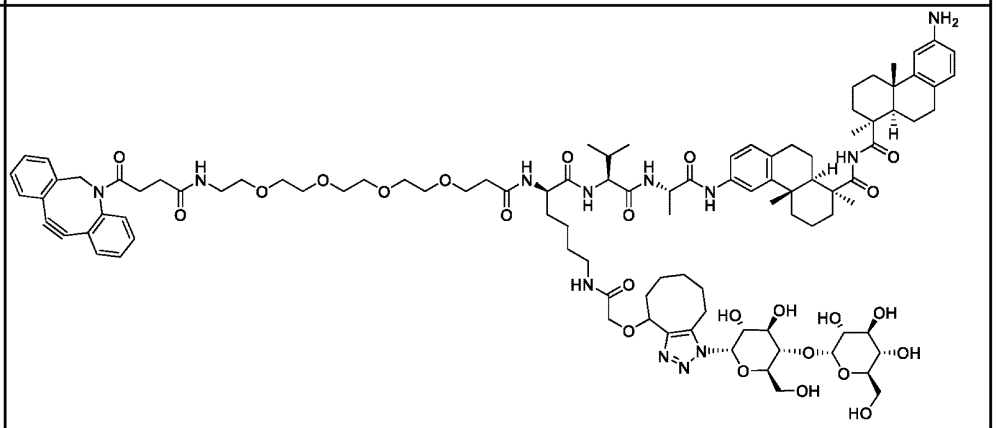
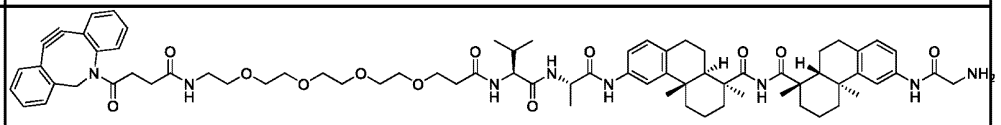
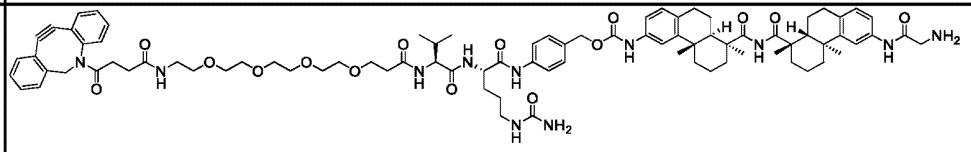
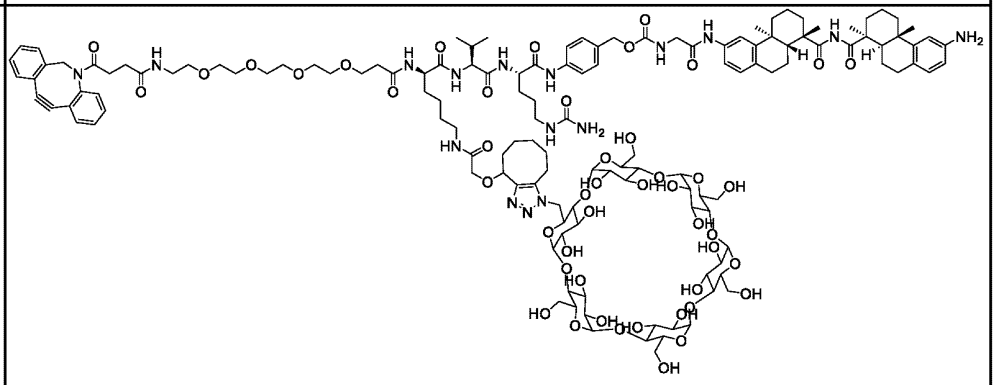
LP7A	
LP8A	
LP9A	
LP10A	
LP11A	
LP12A	

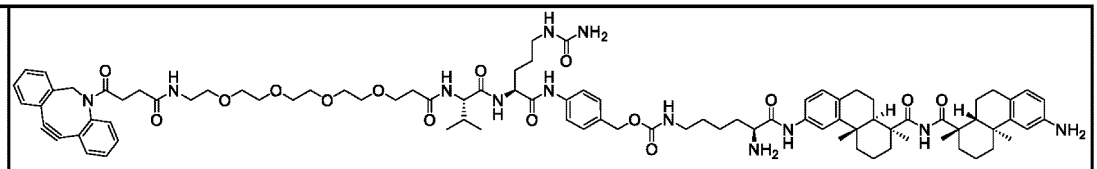
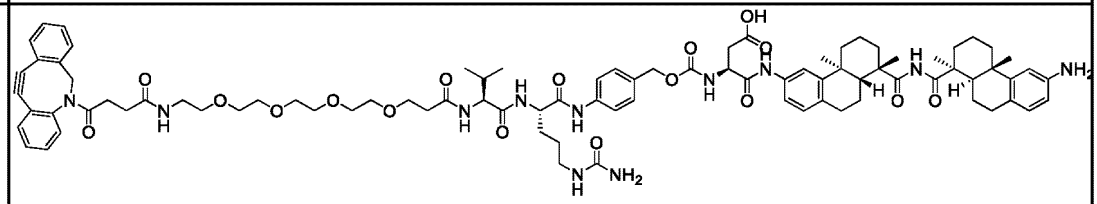
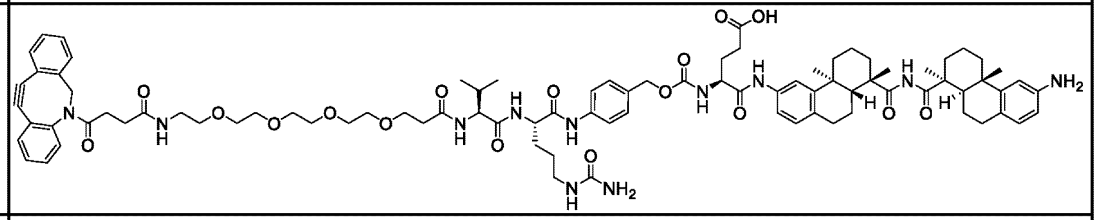
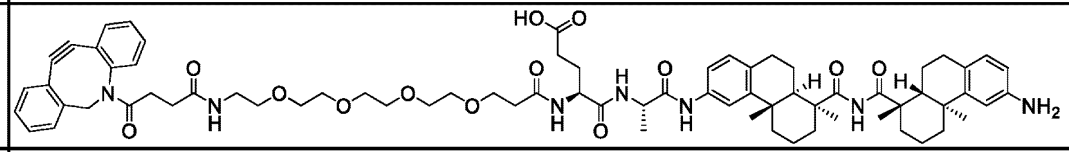
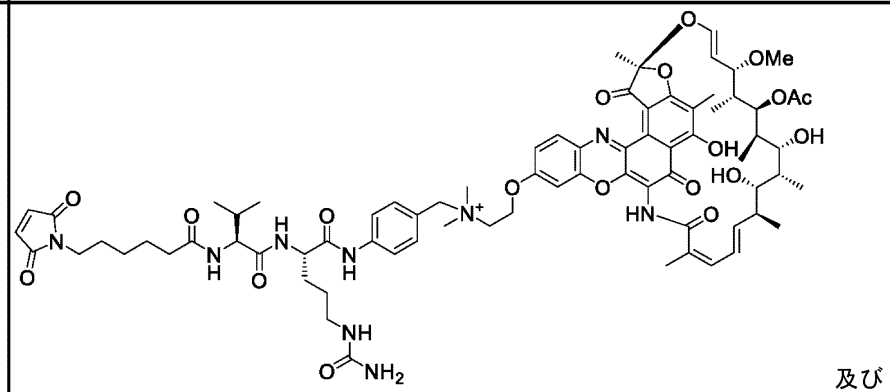
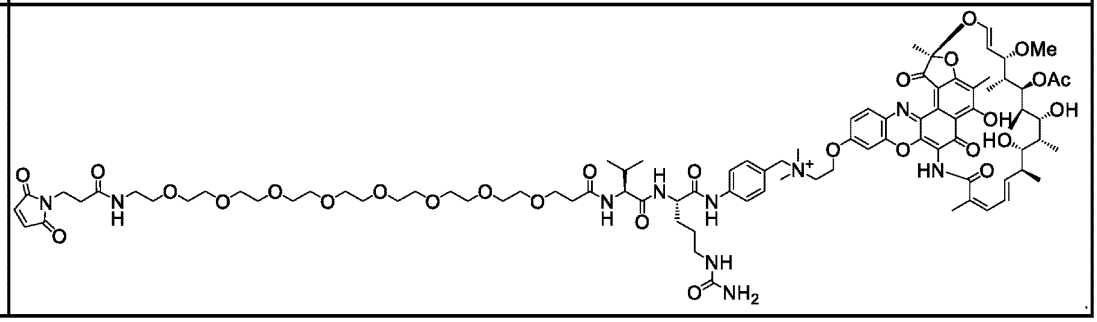
LP13 A	
LP18 A	
LP19 A	
LP20 A	
LP21 A	
LP22 A	

LP23A	
LP24A	
LP25A	
LP26A	

LP27A	
LP28A	
LP29A	
LP30A	
LP31A	

LP1B	
LP2B	
LP3B	

LP4B	
LP5B	
LP6B	
LP7B	
LP8B	

LP9B	
LP10B	
LP11B	
LP12B	
R20	
R25	

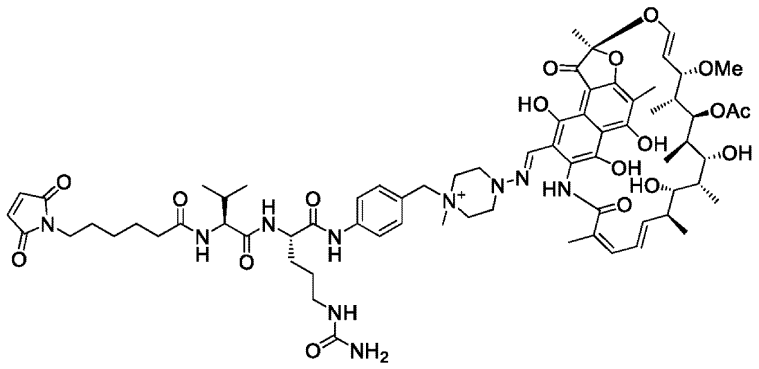
及び

。

（態様５６）

抗ＭＳＲ１抗体もしくはＰＥＧ修飾抗ＭＳＲ１抗体又はその抗原結合断片を、式(D):

（化６９）



式 (D)

によるリンカーペイロード又はその立体異性体形態もしくはその位置異性体と、抗MSR1抗体又はその抗原結合断片間の結合を形成するのに好適な条件下で接触させることにより調製される、態様9記載の抗体-薬物コンジュゲート。

（態様５７）

態様1～8のいずれか一項記載の抗体又はその抗原結合断片及び医薬として許容し得る担体を含む医薬組成物。

（態様５８）

態様9～54のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート及び医薬として許容し得る担体を含む医薬組成物。

（態様５９）

対象の増殖性疾患、代謝性疾患、炎症、神経変性疾患、又はグルココルチコイド受容体シグナル伝達と関連する疾患、障害、もしくは疾病を治療する方法であって、該対象に、態様1～23、25～34、51～53のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート、又は態様47～48のいずれか一項記載の医薬組成物の治療有効量を投与することを含む、前記方法。

（態様６０）

前記方法がアテローム性動脈硬化症を治療するためのものである、態様59記載の方法。

（態様６１）

前記グルココルチコイド受容体シグナル伝達と関連する疾患、障害、又は疾病が、炎症性疾患、障害、又は疾病である、態様59記載の方法。

（態様６２）

前記方法が関節炎を治療するためのものである、態様59記載の方法。

（態様６３）

前記化合物のコンジュゲートされていないステロイドペイロードの投与と関連する副作用が低下する、態様59記載の方法。

（態様６４）

前記方法の代謝性疾患が脂質異常症である、態様59記載の方法。

（態様６５）

対象の細菌感染を予防又は治療する方法であって、該対象に、態様1～21、24、35～50、及び54のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート又は態様57～58のいずれか一項記載の医薬組成物の治療有効量を投与することを含む、前記方法。

（態様６６）

前記細菌が、グラム陽性細菌、ペニシリン耐性細菌黄色ブドウ球菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌(MSSA)、もしくはバンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(VRSA)、又は多剤耐性結核菌(Mycobacterium tuberculosis)である、態様65記載の方法。

（態様６７）

態様1～21、24、35～50、及び54のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート、

又は態様57～58のいずれか一項記載の医薬組成物がバンコマイシンと組み合わせて投与される、態様65記載の方法。

（態様６８）

対象の蜂巣炎、菌血症、皮膚壊死症、眼瞼感染症、眼感染症、新生児結膜炎、骨髄炎、膿痂疹、炎症性の腫れ物、熱傷様皮膚症候群、食中毒、肺炎、外科感染症、尿路感染症、熱傷後感染、髄膜炎、心内膜炎、敗血症、毒素性ショック症候群、化膿性関節炎、乳腺炎、人工関節と関連する感染症、カテーテルと関連する感染症、又はインプラントと関連する感染症を予防又は治療する方法であって、該対象に、態様11～21、24、35～50、及び54のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート、又は態様57～58のいずれか一項記載の医薬組成物の治療有効量を投与することを含む、前記方法。

（態様６９）

対象の細胞内細菌感染を予防又は治療する方法であって、該対象に、態様11～21、24、35～50、及び54のいずれか一項記載の抗体-薬物コンジュゲート、又は態様57～58のいずれか一項記載の医薬組成物の治療有効量を投与することを含む、前記方法。

【図面】

【図１】

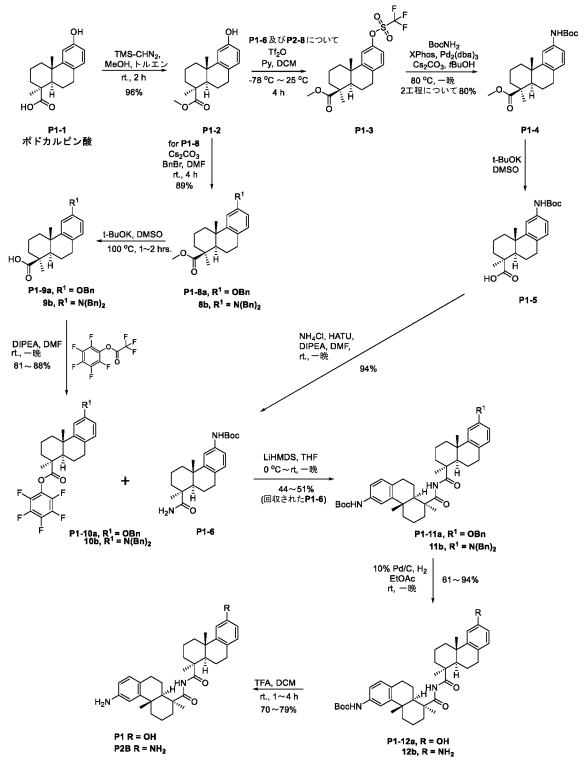


図 1

【図２】

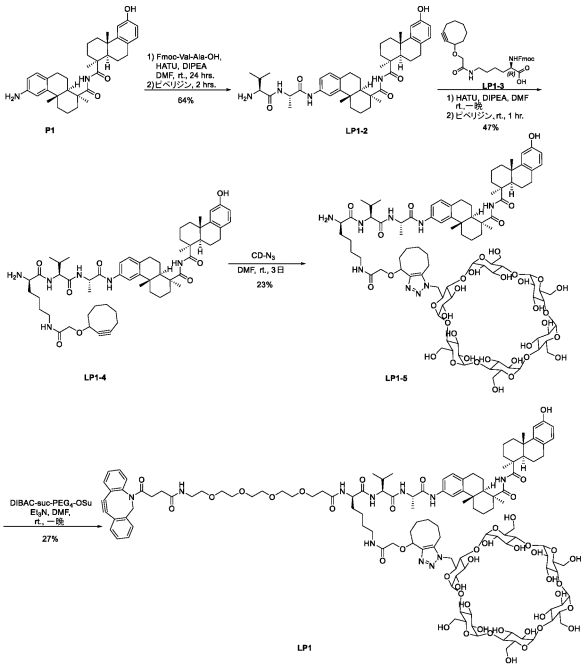


図 2

【図３】

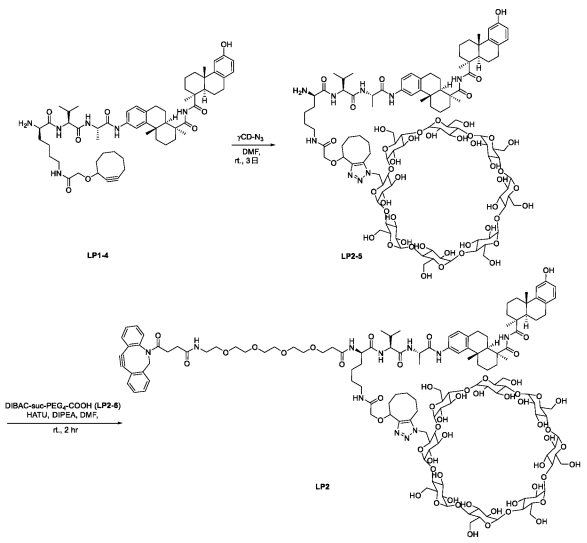


図 3

【図４】

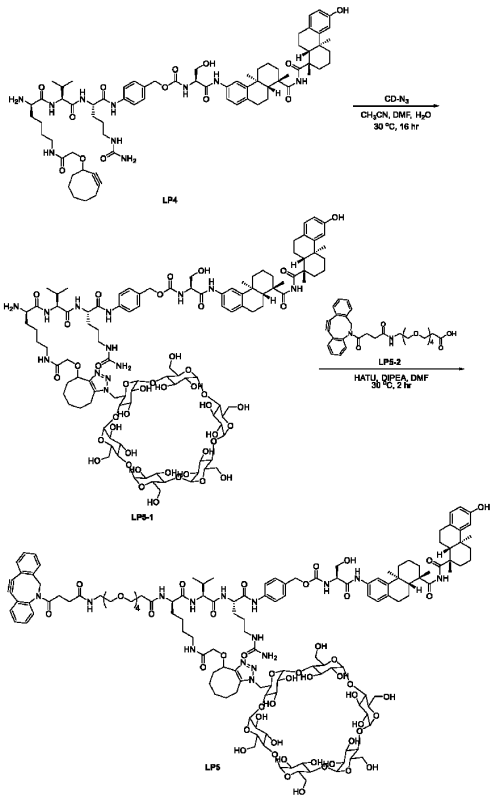


FIG. 4

【図５】

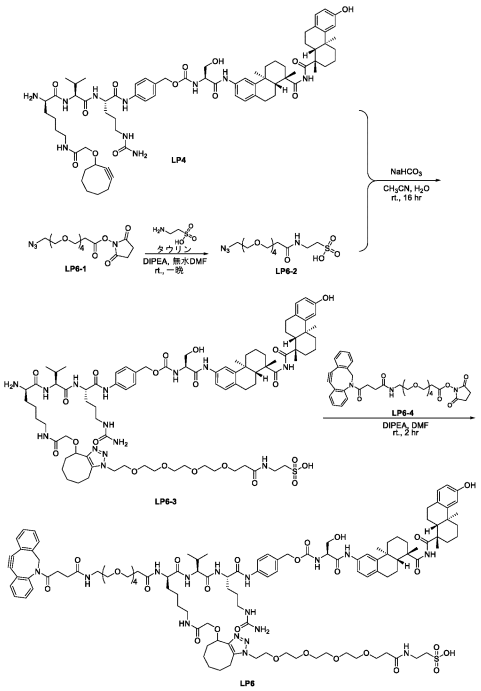


図 5

【図６】

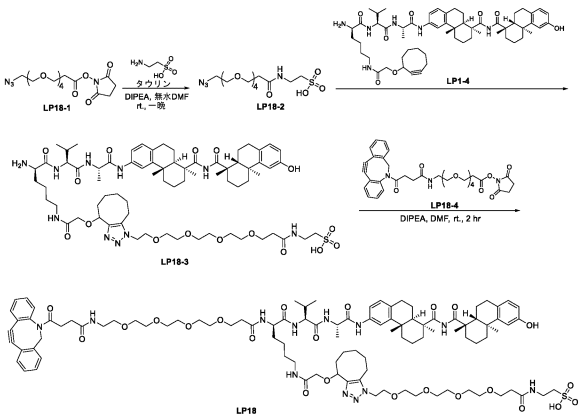


図 6

【図７】

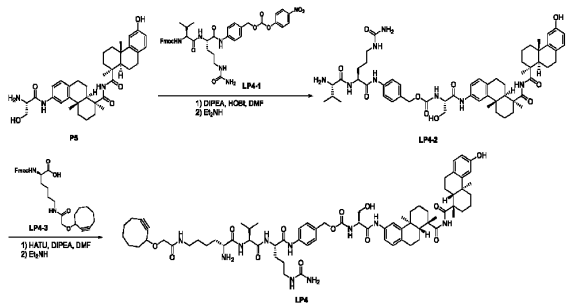


FIG. 7

【図８】

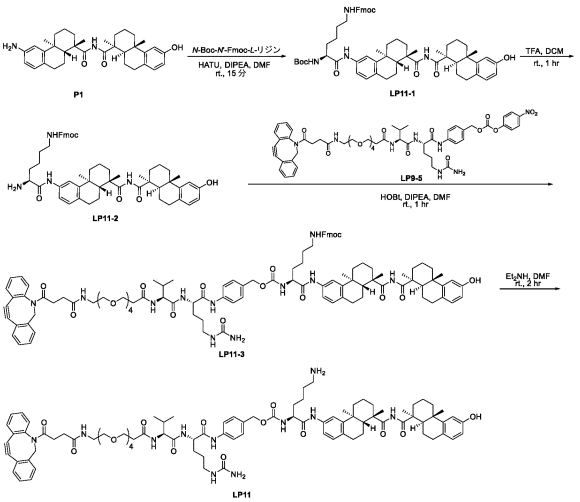


図 8

【図９】

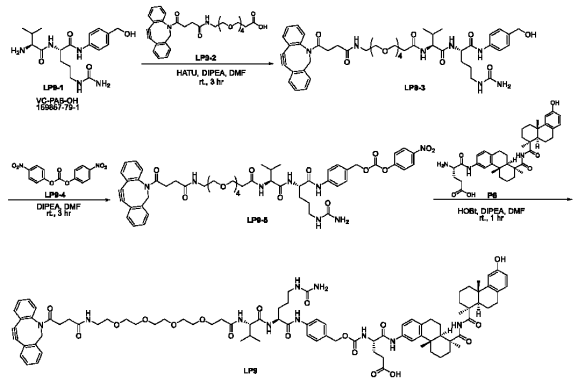


FIG. 9

【図１０】

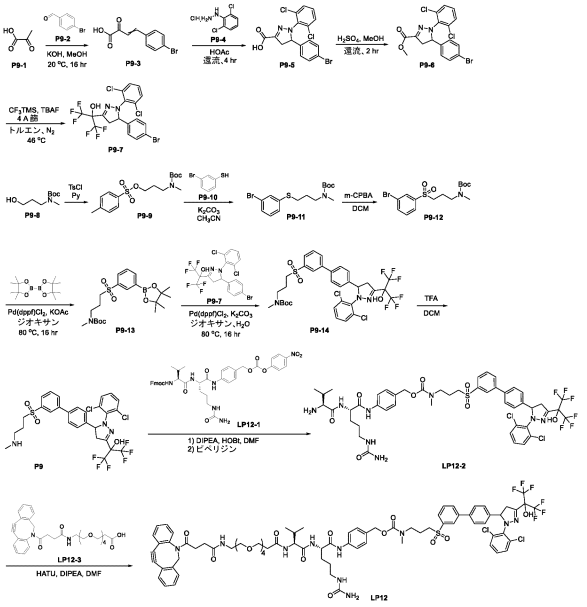


図 10

【図１１】

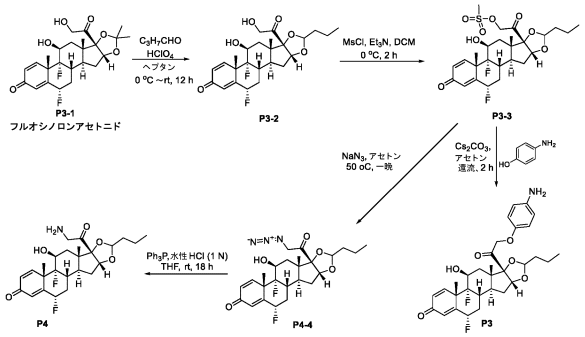


図 11

【図１２】

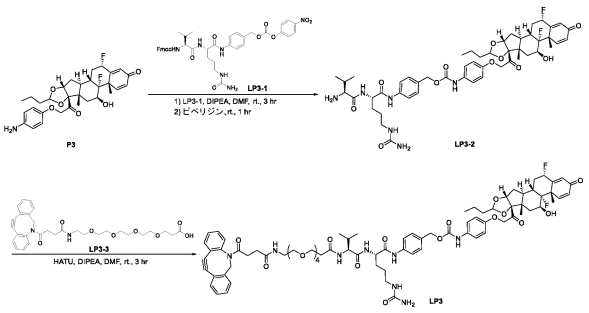


図 12

【図１３】

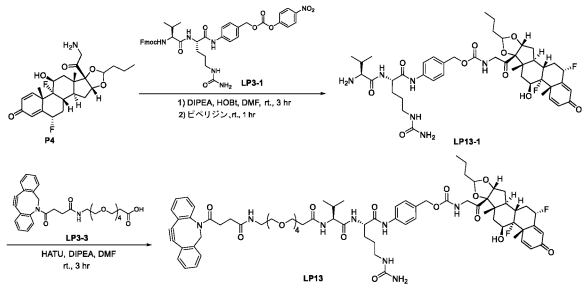


図 13

【図１４】

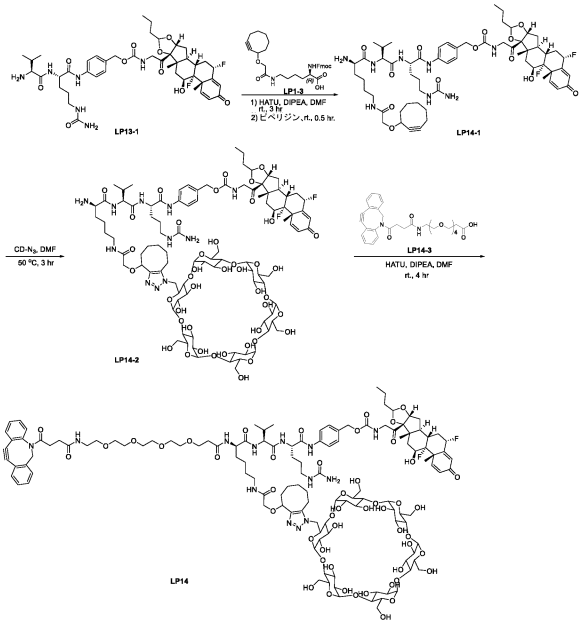


図 14

【図１５】

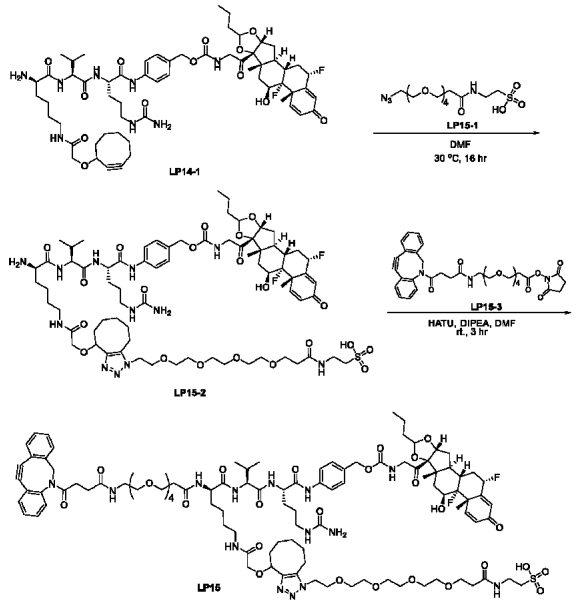


FIG. 15

【図１６】

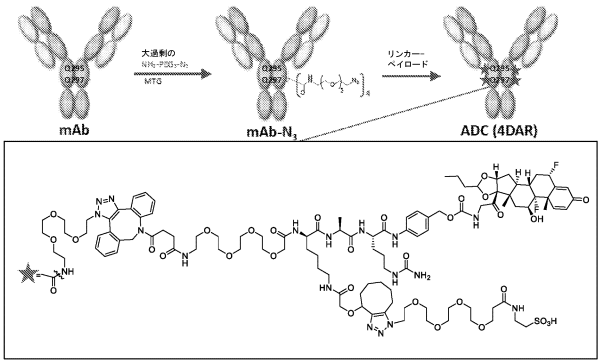


図 16

【図１７】

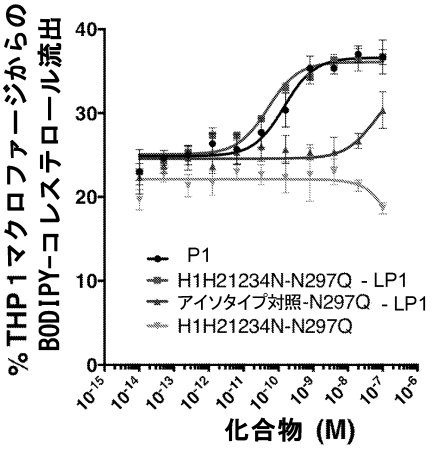


図 17

【図１８】

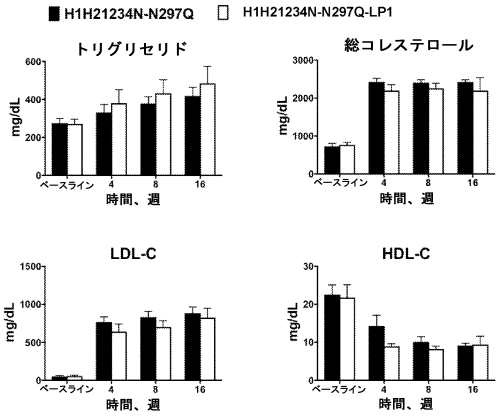
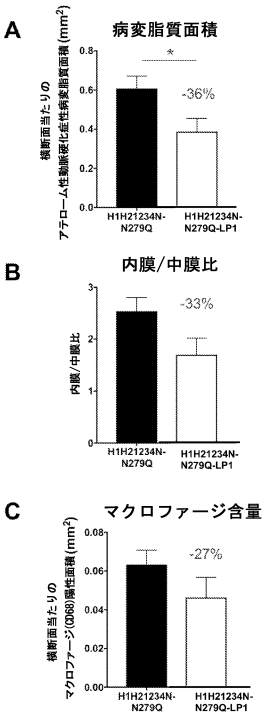


図 18

【図１９】



ウェルチのt−検定による統計的比較、*p<0.05

図 19

【図２０】

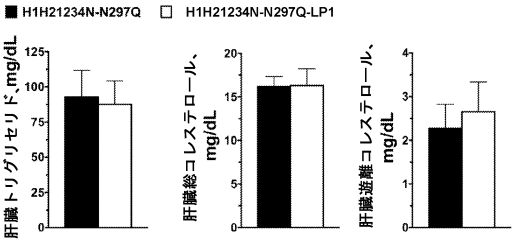


図 20

【図２１】

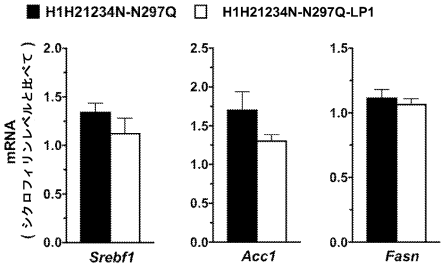
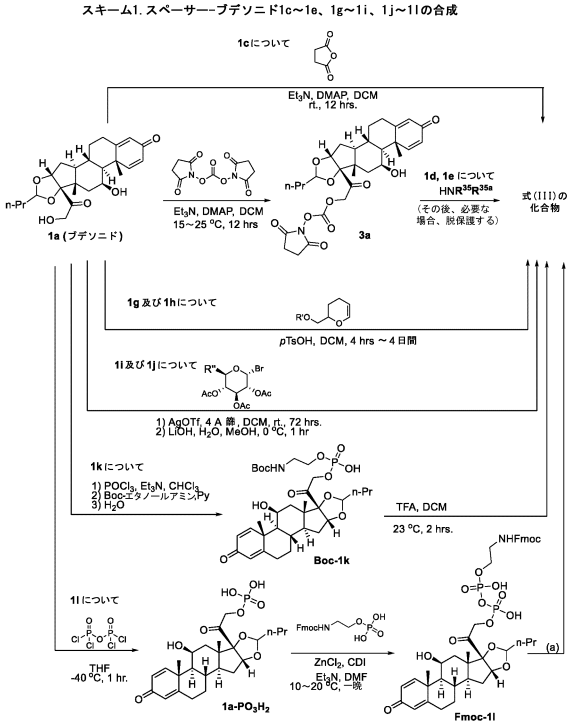


図 21

【図２２】



式(III)の化合物が 1c, 1d, 1e, 1g, 1h, 1i, 1j, 1k, 1l を含む場合

図 22

【図２３】

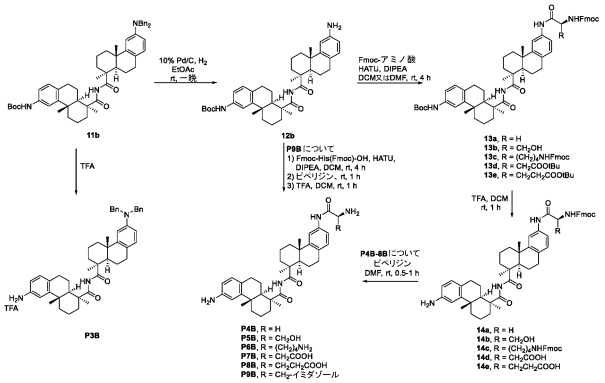


図 23 ペイロードP3B～P9Bの合成

【図２４】

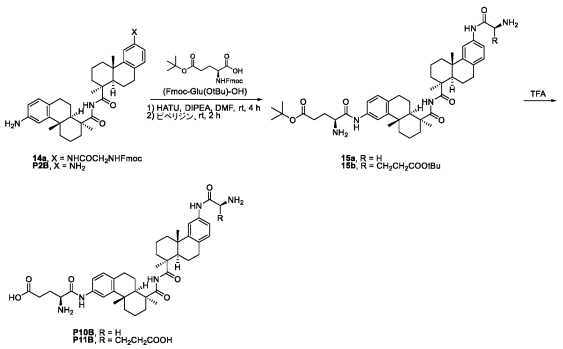
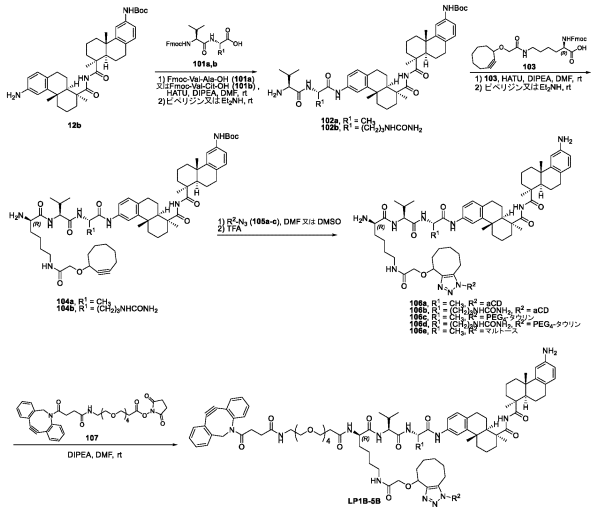


図 24 ペイロードP10B及びP11Bの合成

【図２５】



化合物#	R^1	R^2
LP1B	CH_3	αCD
LP2B	$(CH_2)_3NHCONH_2$	αCD
LP3B	CH_3	PEG_4-タウリン
LP4B	$(CH_2)_3NHCONH_2$	PEG_4-タウリン
LP5B	CH_3	マルトース

図 25 リンカー及びLP1B～5Bの一般合成

【図２６】

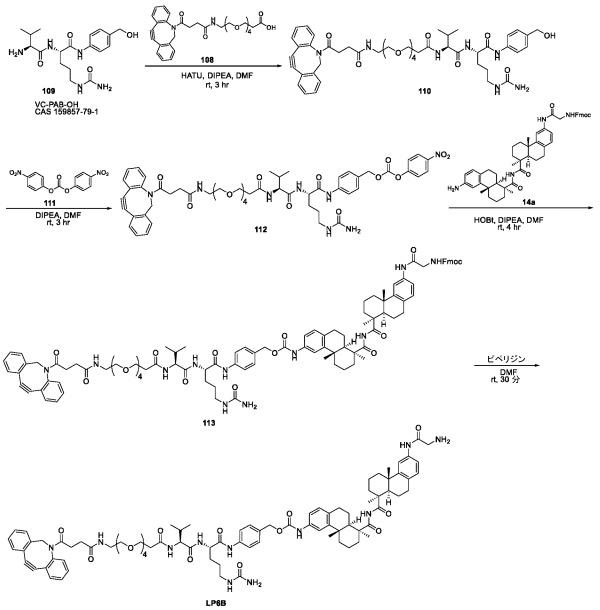


図 26 LP6Bの合成

【図２７】

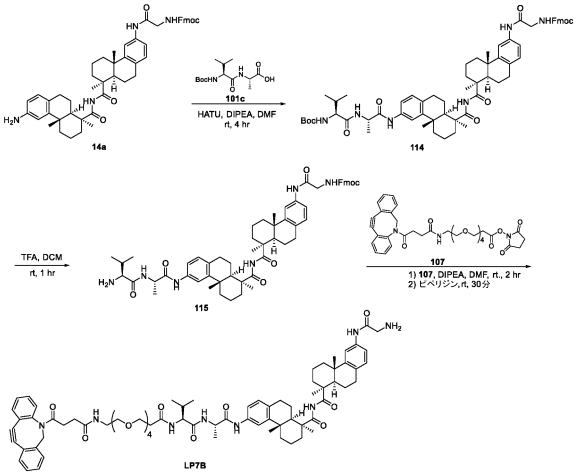


図 27 LP7Bの合成

【図２８】

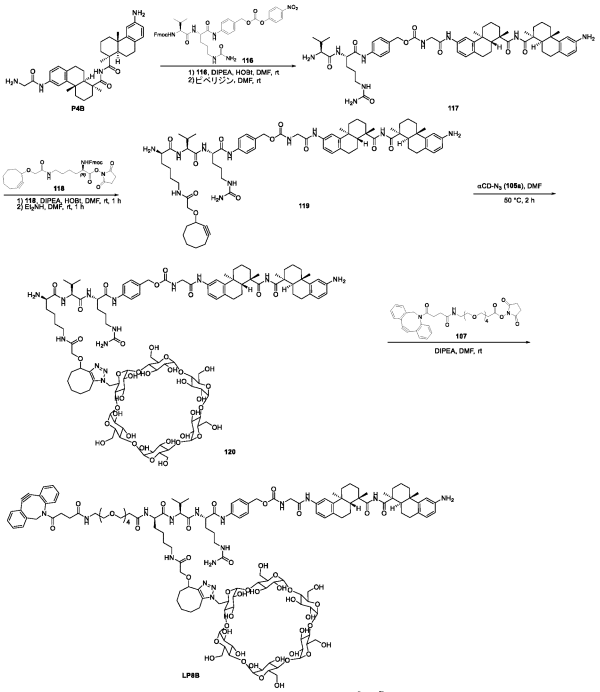


図 28 LP8Bの合成

【図２９】

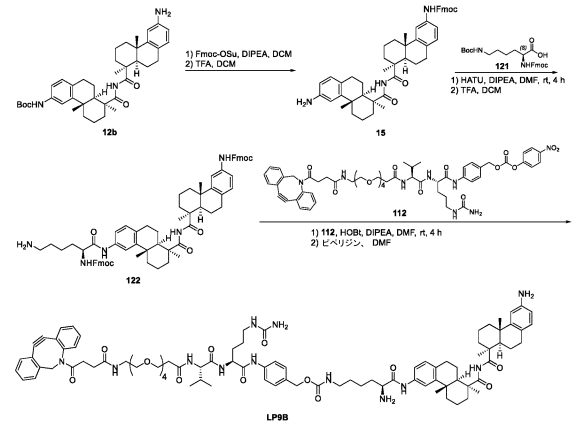


図 29 LP9Bの合成

【図３０】

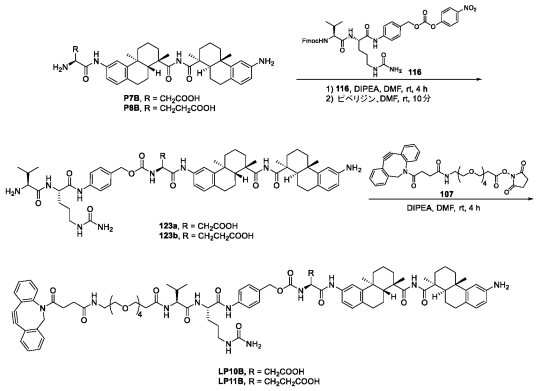


図 30 LP10B 及び LP11Bの合成

【図３１】

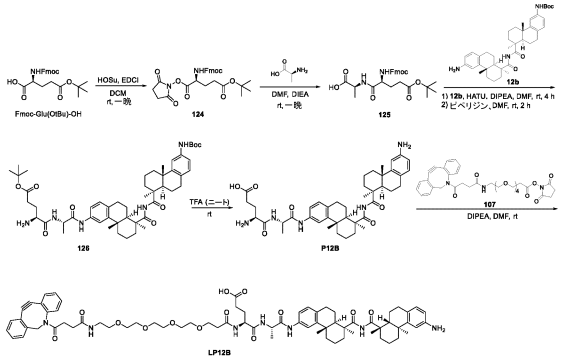


図31 P12B及び LP12Bの合成

【図３２】

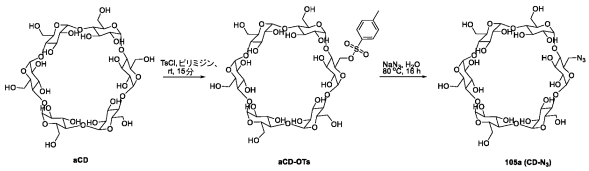


図32 Azide 105aの合成

【図３３】

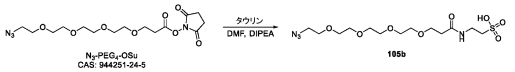


図33 アジド105bの合成

【図３４】

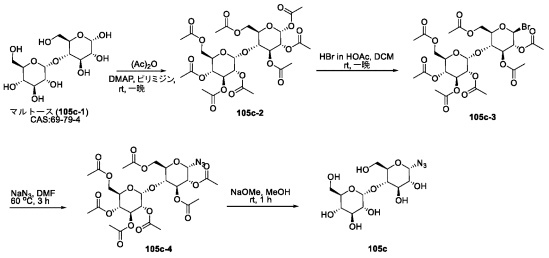


図34 中間体105cの合成

【図３５】

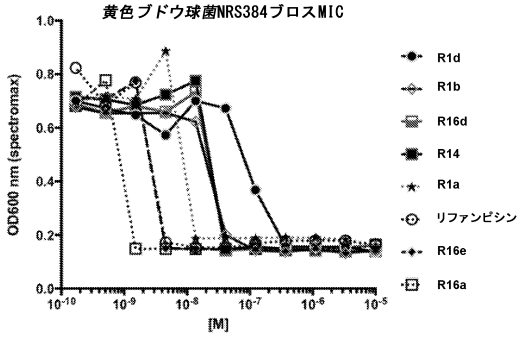


図 35

【図３６】

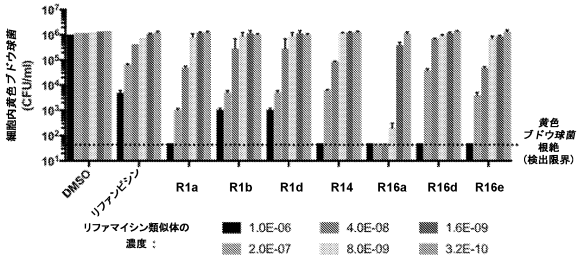


図 36

【図３７】

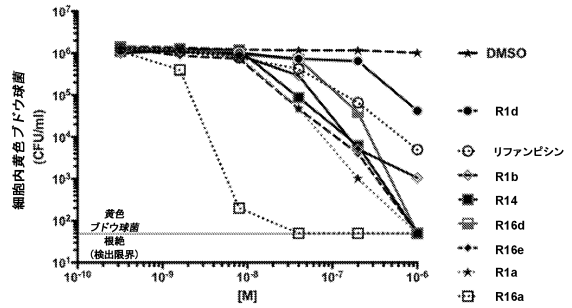


図 37

【配列表】

000759087100000 1.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類		FI		
Ａ６１Ｋ	*39/395 (2006.01)*	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｎ
Ａ６１Ｐ	*3/06 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/06	
Ａ６１Ｐ	*9/10 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/10	
Ａ６１Ｐ	*13/02 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	13/02	１０５
Ａ６１Ｐ	*17/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	17/00	１０１
Ａ６１Ｐ	*19/02 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	19/02	
Ａ６１Ｐ	*29/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	29/00	
Ａ６１Ｐ	*31/04 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/04	
Ａ６１Ｐ	*43/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１
Ａ６１Ｐ	*27/02 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	27/02	
Ａ６１Ｐ	*3/00 (2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/00	
Ｃ１２Ｎ	*15/13 (2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/13	

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/769,946
(32)優先日 平成30年11月20日(2018.11.20)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/789,987
(32)優先日 平成31年1月8日(2019.1.8)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号 62/821,362
(32)優先日 平成31年3月20日(2019.3.20)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

前置審査
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 １０５９１‐６７０７ タリタウン オールド ソウ ミル リバー ロード ７７７ シー／オー レゲネロン ファーマシューティカルス，インク．
(72)発明者 アンナ ズムステグ
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 １０５９１‐６７０７ タリタウン オールド ソウ ミル リバー ロード ７７７ シー／オー レゲネロン ファーマシューティカルス，インク．
(72)発明者 ジャスパー グロマダ
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 １０５９１‐６７０７ タリタウン オールド ソウ ミル リバー ロード ７７７ シー／オー レゲネロン ファーマシューティカルス，インク．
(72)発明者 ヴィクトリア グサロバ
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 １０５９１‐６７０７ タリタウン オールド ソウ ミル リバー ロード ７７７ シー／オー レゲネロン ファーマシューティカルス，インク．
(72)発明者 エイミー ハン
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 １０５９１‐６７０ タリタウン オールド ソウ ミル リバー ロード ７７７ シー／オー レゲネロン ファーマシューティカルス，インク．
(72)発明者 ソコル ハジナスト
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 １０５９１‐６７０７ タリタウン オールド ソウ ミル リバー ロード ７７７ シー／オー レゲネロン ファーマシューティカルス，インク．
(72)発明者 アンドリュー ジェイ． マーフィー
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 １０５９１‐６７０７ タリタウン オールド ソウ ミル リバー ロード ７７７ シー／オー レゲネロン ファーマシューティカルス，インク．
(72)発明者 ウィリアム オルソン
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 １０５９１‐６７０７ タリタウン オールド ソウ ミル リバー ロード ７７７ シー／オー レゲネロン ファーマシューティカルス，インク．

(72)発明者　マシュー スリーマン
アメリカ合衆国 ニューヨーク州 １０５９１‐６７０７ タリタウン オールド ソウ ミル リバー ロード ７７７ シー／オー レゲネロン ファーマシューティカルス，インク．

審査官　井関 めぐみ

(56)参考文献
国際公開第２０１１／１０３３８９（WO，Ａ１）
国際公開第２０１０／０１０１１９（WO，Ａ１）
国際公開第２００５／１１９２６６（WO，Ａ１）
国際公開第２０１２／０１１５９１（WO，Ａ１）
国際公開第２０１７／１９９０４６（WO，Ａ１）
国際公開第２０１５／１５３４０１（WO，Ａ１）
CZERKIES M et al.，“ An interplay between scavenger receptor A and CD14 during activation of J774 cells by high concentrations of LPS. ”，Immunobiology，2013年04月12日，Vol. 218, No. 10，p.1217-26
OZMENT, T. R. et al.，P222 BLOOD MONOCYTE SCAVENGER RECEPTOR A (CD204) EXPRESSION IS INCREASED IN SEPTIC PATIENTS，SHOCK，2016年，Vol.45, No.6S，p.129
Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，2016年07月28日，Ｖｏｌ．２７，Ｎｏ．９，ｐ２０８１－２０８８，doi: 10.1021/acs.bioconjchem.6b00337
Drug Metab. Dispos.，1998年，26，623-630
Drug Metab. Dispos.，1997年，25，1311-1317
P. I. MAKINEN et al.，"Silencing of either SR-A or CD36 reduces atherosclerosis in hyperlipidaemic mice and reveals reciprocal upregulation of these receptors"，Cardiovascular Research，2010年，Vol.88, No.3，p.530-538

(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ０７Ｋ　１６／１８
Ａ６１Ｋ　４７／６８
Ａ６１Ｋ　４７／４０
Ａ６１Ｋ　４７／２２
Ａ６１Ｋ　４７／４２
Ａ６１Ｋ　３９／３９５
Ａ６１Ｐ　３／０６
Ａ６１Ｐ　９／１０
Ａ６１Ｐ　１３／０２
Ａ６１Ｐ　１７／００
Ａ６１Ｐ　１９／０２
Ａ６１Ｐ　２９／００
Ａ６１Ｐ　３１／０４
Ａ６１Ｐ　４３／００
Ａ６１Ｐ　２７／０２
Ａ６１Ｐ　３／００
Ｃ１２Ｎ　１５／１３
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ（ＳＴＮ）