

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5752346号
(P5752346)

(45) 発行日 平成27年7月22日(2015.7.22)

(24) 登録日 平成27年5月29日(2015.5.29)

(51) Int.Cl.	F 1
A 61 K 39/395	(2006.01)
A 61 K 31/351	(2006.01)
A 61 K 47/26	(2006.01)
A 61 K 47/48	(2006.01)
A 61 P 35/00	(2006.01)
A 61 K	39/395
A 61 K	31/351
A 61 K	47/26
A 61 K	47/48
A 61 P	35/00

請求項の数 22 (全 94 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2008-522908 (P2008-522908)	(73) 特許権者	505314468 シアトル ジェネティックス, インコ- ポレイテッド アメリカ合衆国 ワシントン 98021 , ボセル, エス. イー., 30ティ ーエイチ ドライブ - 21823
(86) (22) 出願日	平成18年7月18日 (2006.7.18)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(65) 公表番号	特表2009-501800 (P2009-501800A)	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(43) 公表日	平成21年1月22日 (2009.1.22)	(72) 発明者	ジェフリー, スコット アメリカ合衆国 ワシントン 98296 , スノーホーミッシュ, コネリー ロ ード 14730
(86) 國際出願番号	PCT/US2006/027925		
(87) 國際公開番号	W02007/011968		
(87) 國際公開日	平成19年1月25日 (2007.1.25)		
審査請求日	平成21年7月17日 (2009.7.17)		
審判番号	不服2013-10143 (P2013-10143/J1)		
審判請求日	平成25年6月3日 (2013.6.3)		
(31) 優先権主張番号	60/700,422		
(32) 優先日	平成17年7月18日 (2005.7.18)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	60/779,076		
(32) 優先日	平成18年3月4日 (2006.3.4)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

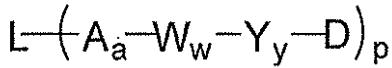
(54) 【発明の名称】 β -グルクロニド-リンカー薬物結合体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式

【化 1】



を有するリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物であって、式中、

L - は、蛋白質、ポリペプチドまたはペプチドからなる群より選択されるリガンド単位であり、

- A_a - W_w - Y_y - は、薬物単位をリガンド単位に連結するリンカー単位 (L U) であり、

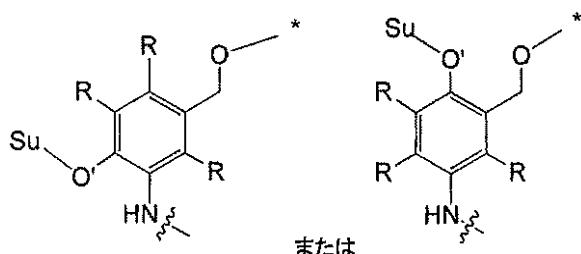
- A - は、リガンド単位をグルクロニド単位に連結し得る伸長体単位であり、

a は、1 または 2 であり、

各 - W - は、独立して、以下の式：

10

【化1A】



のうちの 1 つを有するグルクロニド単位であり、

Su は、グルクロン酸であり、

- O' - は、- グルクロニダーゼによって切断可能なグリコシド結合の酸素原子を表し、

各 R は、独立して、水素、ハロゲン、- CN、または - NO₂ であり、

w は、1 であり、

- Y - は、- C (= O) - である自己犠牲スペーサー単位であり、

y は、1 であり、

p は、1 から 20 の範囲にあり、

- D は、薬物単位であり、

波線は、該伸長体単位に対する共有結合を示し、アスタリスクは、該自己犠牲スペーサー単位に対する共有結合を示す、

リガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

【請求項2】

L は抗体である、請求項 1 に記載のリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

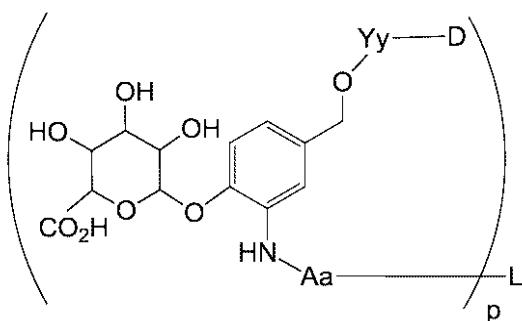
【請求項3】

前記抗体は、ヒト化、キメラ、またはヒト抗体もしくは抗体の抗原結合抗体フラグメントである、請求項 2 に記載のリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

【請求項4】

式

【化5】



を有する、請求項 1 に記載のリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

【請求項5】

式

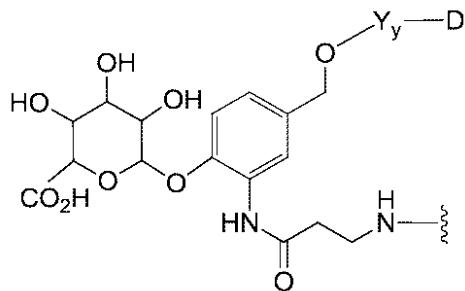
10

20

30

40

【化6】



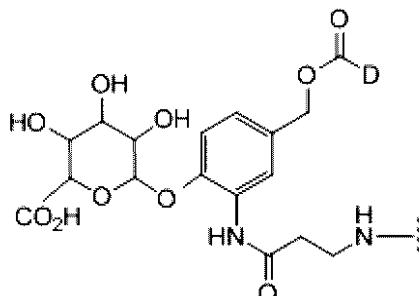
10

を有し、ここで、波線は、前記伸長体単位の残部または前記リガンド単位に対する結合を示し、そして、1～20個の薬物単位が該リガンド単位に連結される、請求項4に記載のリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

【請求項6】

式

【化7】



20

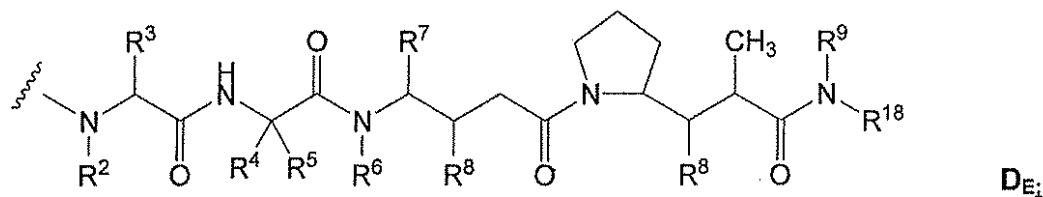
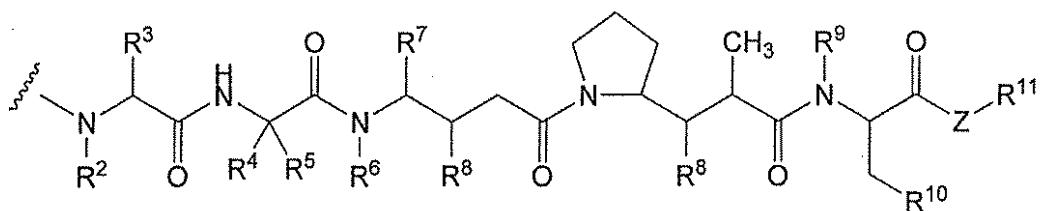
を有し、ここで、波線は、前記伸長体単位の残部または前記リガンド単位に対する結合を示し、該リガンド単位はモノクローナル抗体であり、そして、1～20個の薬物単位が該リガンド単位に連結される、請求項5に記載のリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

【請求項7】

前記薬物単位は、式D_EおよびD_F

30

【化8】

D_{Ei}D_F

から選択され、D_FおよびD_Eの波線は、前記リンカ単位への共有結合を示し、式中、各位置で独立して、

R²は、HおよびC₁～C₈アルキルからなる群より選択され、

50

R^3 は、H、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ 炭素環、アリール、 X^1 - アリール、 X^1 - ($C_3 \sim C_8$ 炭素環)、 $C_3 \sim C_8$ 複素環および X^1 - ($C_3 \sim C_8$ 複素環) からなる群より選択され、

R^4 は、H、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ 炭素環、アリール、 X^1 - アリール、 X^1 - ($C_3 \sim C_8$ 炭素環)、 $C_3 \sim C_8$ 複素環および X^1 - ($C_3 \sim C_8$ 複素環) からなる群より選択され、

R^5 は、H およびメチルからなる群より選択されるか、

または、 R^4 と R^5 とは一緒に炭素環を形成し、式 - ($CR^a R^b$)_n - を有し、ここで R^a および R^b は、独立して、H、 $C_1 \sim C_8$ アルキルおよび $C_3 \sim C_8$ 炭素環からなる群より選択され、 n は、2、3、4、5 および 6 からなる群より選択され、

R^6 は、H および $C_1 \sim C_8$ アルキルからなる群より選択され、

R^7 は、H、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ 炭素環、アリール、 X^1 - アリール、 X^1 - ($C_3 \sim C_8$ 炭素環)、 $C_3 \sim C_8$ 複素環および X^1 - ($C_3 \sim C_8$ 複素環) からなる群より選択され、

各 R^8 は、独立して、H、OH、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ 炭素環およびO - ($C_1 \sim C_8$ アルキル) からなる群より選択され、

R^9 は、H および $C_1 \sim C_8$ アルキルからなる群より選択され、

R^{10} は、アリールおよび $C_3 \sim C_8$ 複素環からなる群より選択され、

Z は、O、S、NH または NR^{12} であり、 R^{12} は、 $C_1 \sim C_8$ アルキルであり、

R^{11} は、H、 $C_1 \sim C_2$ アルキル、アリール、 $C_3 \sim C_8$ 複素環、- ($R^{13} O$)_m - R^{14} および - ($R^{13} O$)_m - CH (R^{15})₂ からなる群より選択され、

m は、1 ~ 1000 の範囲の整数であり、

R^{13} は、 $C_2 \sim C_8$ アルキルであり、

R^{14} は、H または $C_1 \sim C_8$ アルキルであり、

R^{15} の各位置は、独立して、H、COOH、- (CH_2)_n - N (R^{16})₂、- (CH_2)_n - SO₃H または - (CH_2)_n - SO₃ - $C_1 \sim C_8$ アルキルであり、かつ、 n は 0 から 6 の範囲の整数であり、

R^{16} の各位置は、独立して、H、 $C_1 \sim C_8$ アルキルまたは、- (CH_2)_n - COOH であり、かつ、 n は 0 から 6 の範囲の整数であり、

R^{18} は、- C (R^8)₂ - C (R^8)₂ - アリール、- C (R^8)₂ - C (R^8)₂ - ($C_3 \sim C_8$ 複素環)、および - C (R^8)₂ - C (R^8)₂ - ($C_3 \sim C_8$ 炭素環) からなる群より選択され、

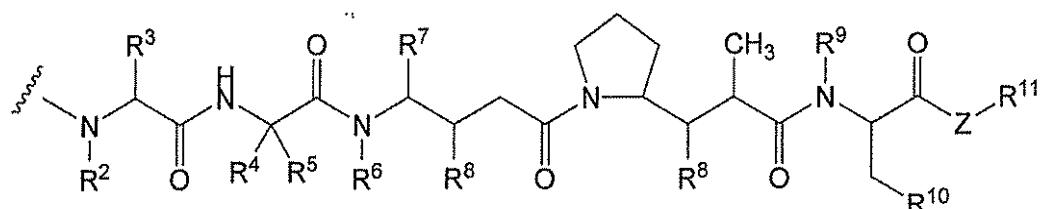
X^1 は、 $C_1 \sim C_{10}$ アルキレンである、

請求項 1 に記載のリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

【請求項 8】

D は、式 D_F

【化 9】



D_F

を有し、ここで、 $R^2 \sim R^{11}$ は請求項 7 で定義された通りであり、 D_F の波線は、前記 リンカーユニットへの共有結合を示す、請求項 7 に記載のリガンド薬物結合体化合物、または 薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

【請求項 9】

10

20

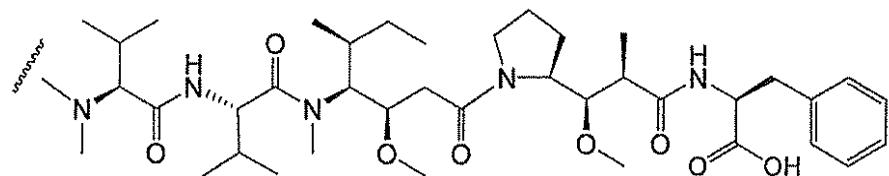
30

40

50

D は、式

【化 1 0 】



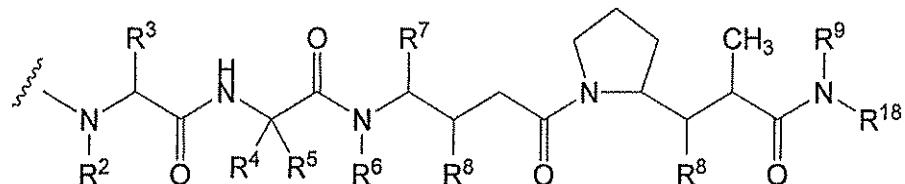
を有する、請求項8に記載のリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

10

【請求項 10】

D は、式 D_E

【化 1 1】



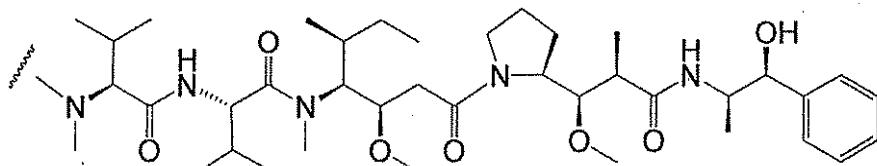
を有し、ここで、 $R^2 \sim R^9$ および R^{1-8} は請求項 7 で定義された通りであり、 D_E の波線は、前記リンカー単位への共有結合を示す、請求項 7 に記載のリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

20

【請求項 11】

D は、式

【化 1 2】



30

を有し、波線は、前記リンカー単位への共有結合を示す、請求項 1_0 に記載のリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

【請求項 1 2】

pは、2から6である、請求項1に記載のリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

【請求項 13】

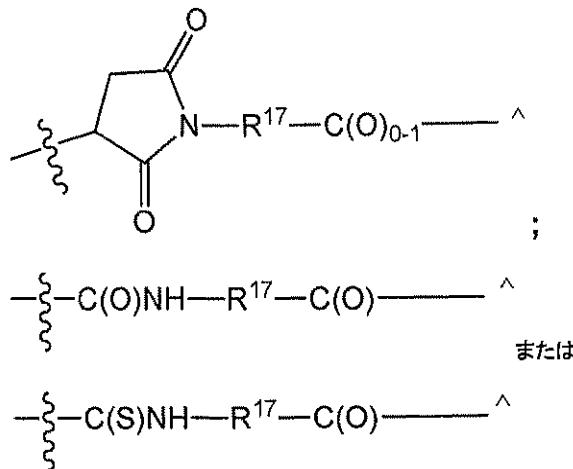
pは、2から4である、請求項1に記載のリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

【請求項 1 4】

請求項 1 に記載のリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物であって、ここで、A が、存在し、かつ、以下の式：

40

【化13】



から選択され、式中、

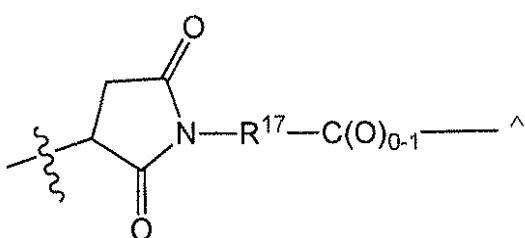
R^{17} は、 $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - 、 $-C_3 \sim C_8$ カルボシクロ - 、 $-O-(C_1 \sim C_8$ アルキル) - 、 $-$ アリーレン - 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - アリーレン - 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - ($C_3 \sim C_8$ カルボシクロ) - 、 $-$ ($C_3 \sim C_8$ カルボシクロ) - $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - 、 $-C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ - 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - ($C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ) - 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - 、 $-$ (CH_2CH_2O)_r - 、 $-$ (CH_2CH_2O)_r - CH_2-CH_2- であり、 r は、1 ~ 10 の範囲の整数であり、そして、A の波線は、前記リガンド単位への結合を示し、 \wedge は、前記リンカーユニットの残部への結合を示す。

リガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

【請求項15】

請求項4に記載のリガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物であって、ここで、A が、存在し、かつ、以下の式：

【化14】



であり、ここで、 R^{17} は、 $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - 、 $-C_3 \sim C_8$ カルボシクロ - 、 $-O-(C_1 \sim C_8$ アルキル) - 、 $-$ アリーレン - 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - アリーレン - 、 $-$ アリーレン - $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - ($C_3 \sim C_8$ カルボシクロ) - 、 $-$ ($C_3 \sim C_8$ カルボシクロ) - $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - 、 $-C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ - 、 $-C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - ($C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ) - 、 $-$ ($C_3 \sim C_8$ ヘテロシクロ) - $C_1 \sim C_{10}$ アルキレン - 、 $-$ (CH_2CH_2O)_r - 、 $-$ (CH_2CH_2O)_r - CH_2-CH_2- であり、 r は、1 ~ 10 の範囲の整数であり、そして、A の波線は、前記リガンド単位への結合を示し、 \wedge は、前記リンカーユニットの残部への結合を示す、リガンド薬物結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物。

【請求項16】

請求項1に記載の前記リガンド薬物結合体化合物または薬学的に許容されるその塩と、薬学的に許容される希釈剤、キャリアまたは賦形剤とを含む、医薬品組成物。

【請求項17】

10

20

30

40

50

癌および自己免疫疾患からなる群より選択される疾患の治療のための、請求項 1_6 に記載の医薬品組成物。

【請求項 1 8】

腫瘍細胞または癌細胞を死滅させるかあるいは腫瘍細胞または癌細胞の増殖を阻害するための医薬の製造における、請求項 1 に記載の化合物または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物の使用。

【請求項 1 9】

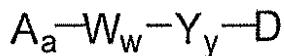
自己免疫疾患を治療するための医薬の製造における、請求項 1 に記載の化合物または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物の使用。

【請求項 2 0】

10

式

【化 1 5】



を有する薬物リンカー結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物であって、式中、

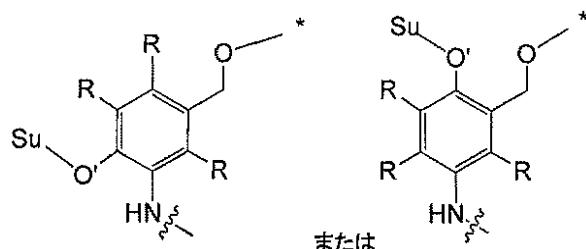
A は、蛋白質、ポリペプチドまたはペプチドからなる群より選択されるリガンド単位をグルクロニド単位に連結し得る伸長体単位であり、

a は、1 または 2 であり、

20

各 - W - は、独立して、以下の式：

【化 1 5 A】



のうちの 1 つを有するグルクロニド単位であり、

30

Su は、グルクロン酸であり；

- O' - は、- グルクロニダーゼによって切断可能なグリコシド結合の酸素原子を表し；

各 R は、独立して、水素、ハロゲン、- CN、または- NO₂ であり；

w は、1 であり、

- Y - は、- C (= O) - である自己犠牲スペーサー単位であり、

y は、1 であり、

- D は、薬物単位であり、

波線は、該伸長体単位に対する共有結合を示し、アスタリスクは、該自己犠牲スペーサー単位に対する共有結合を示す、薬物リンカー結合体化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和物。

40

【請求項 2 1】

請求項 1 に記載の化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物を含む、腫瘍細胞または癌細胞を死滅させるかあるいは腫瘍細胞または癌細胞の増殖を阻害するための組成物。

【請求項 2 2】

請求項 1 に記載の化合物、または薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物を含む、自己免疫疾患の治療のための組成物。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

50

【0001】

(関連出願)

本願は、2005年6月18日に出願された米国仮特許出願第60/700,422号、および2006年3月4日に出願された米国仮特許出願第60/779,076号の利益を主張し；それらの開示は本明細書中に参考として援用される。

【0002】

(背景)

モノクローナル抗体療法は、癌の補助治療および第一線治療として本格化しつつある。結腸癌用アバスチン（抗VEGF）、非ホジキンリンパ腫用リツキサン（リツキシマブ、抗CD20）、および乳癌用ハーセプチニン（抗Her2）が成功したことによって、非結合化抗体が毒性をそれほど高めないで患者生存率を改善することが実証された。10

【0003】

モノクローナル抗体（mAb）は、治療薬と結合化して抗体薬物結合体（ADC）を形成することができる。ADCは、非結合化抗体と比較すると増大した効力を示すことができる。抗体を薬物に結合するときは直接でもよく、リンカーを介して間接でもよい。効能があり、認容性に優れたADCを開発するために重要と思われる要素の1つは、リンカーの組成および安定性である。ADCの種類によっては、リンカーによって望ましくは血清安定性が得られ、さらに、標的細胞においてまたは標的細胞内で薬物を選択的に放出する。

【0004】

リンカーのmAbへの結合は、表面リシン仲介、酸化型炭水化物への還元カップリング、および鎖間ジスルフィド結合を還元して遊離化したシステイン残基仲介など、さまざまな方法で実現することができる。文献には、ヒドラゾン系、ジスルフィド系およびペプチド系結合を含む、さまざまなADC結合システムが記載されている。いくつかのヒドラゾン系およびジスルフィド系リンカーは、循環時に不安定化し、その結果、標的組織外で薬物を放出することがある。この早すぎる薬物放出によって、全身毒性または器官特異毒性および/または非最適治療効能を生じる可能性があると考えられる。ペプチド系リンカー戦略によれば、高安定性リンカーを得ることができると、リンカーによっては同時に疎水性が増加するため、特に、疎水性の強い薬物では凝集を起こすことがある。そのような凝集の結果、非標的組織へのADCの非特異的摂取が起こり、非標的毒性に影響を及ぼす可能性がある。20

【0005】

-グルクロニドは、肝臓および腎臓でUDP-グルクロノシルトランスフェラーゼとして知られる種類の酵素によって產生される代謝産物である。これらのトランスフェラーゼは、生体異物を体内から排除する代謝変換に関与する。グルクロン酸化によって基質化合物の溶解性が劇的に増加し、腎クリアランスの効率を高くすることができる。

【0006】

-グルクロニダーゼは、基本的にすべてのヒト組織のリソソーム中に存在するUDP-グルクロノシルトランスフェラーゼである。この酵素は、-配置を有するグルクロニドのグリコシド結合の加水分解を触媒し、広い基質特異性を有すると報告されている。この酵素は、低pHで最も活性が高く、酵素効率は中性pHでは約10%低下する。
-グルクロニダーゼは、腫瘍周辺組織と比べると乳癌組織中で過剰発現すると報告された。この酵素はどこにでもあるが、事実上細胞リソソームの内部に隔離され、正常組織試料の細胞外空間では最小限の免疫組織化学的染色しか観測されない。1つの例外は、腸管中で見られる-グルクロニダーゼ活性であり、大腸菌が存在すると生じる。40

【0007】

正常組織とは異なり、壊死腫瘍組織の間質腔は、高水準の-グルクロニダーゼ活性を示す。この源は、炎症細胞であり、腫瘍組織から直接ではないと考えられる。この観察を根拠として、単剤療法における研究のために-グルクロニドプロドラッグ（主にドキソルビシンの）が調製された。この手法の論拠は、-グルクロニドプロドラッグは細胞に

10

20

30

40

50

入ることができないので、遊離薬物より毒性が低いということである。プロドラッグには2つの主な消長経路がある。すなわち、腫瘍近傍のプロドラッグは遊離薬物に変換されるが、残余のプロドラッグは腎臓を通じて速やかに排除される。ADEPT（抗体指向酵素プロドラッグ療法）に用いられる - グルクロニドプロドラッグが報告された。しかし、 - グルクロニドプロドラッグ利用治療には高い全身レベルのプロドラッグが必要であり、その結果、望ましくない毒性を伴うことがある。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

従って、標的細胞を消滅させるが、非標的細胞への毒性を低くする結果となるプロドラッグを標的に投与することへの求めが依然存在する。 10

【0009】

さらに、高い水準のリンカー血清安定性と溶解性の増加とをもたらし、効率的な疎水性薬物の結合体化を可能にし、薬物の細胞内送達を実現する、リンカーシステムを有するADCへの求めがある。

【0010】

本発明は、これらおよびその他の弱点、ならびに過去の問題点を解決する。（本願中でいかなる参考文献を挙げたとしても、その参考文献が本願の先行技術であると認めるものではない。） 20

【課題を解決するための手段】

【0011】

（簡単な要旨）

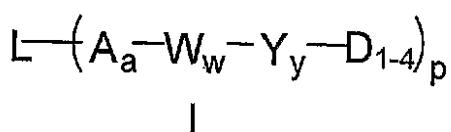
本発明は、標的型薬物投与のためのリガンド薬物結合体およびリンカー - 薬物結合体を提供する。本リガンド薬物結合体は、標的細胞または標的組織を結合体の標的とするための、抗体などのリガンドを含む。本結合体は、さらに、 - グルクロニダーゼ活性を有する酵素によって開裂させることができる部位を含む - グルクロニド系リンカーを含む。本リンカーは、リガンドと薬物とに結合される。本発明は、さらに、 - グルクロニド系リンカーを含むリガンド薬物結合体を用いて癌、免疫疾患、感染症およびその他の疾患または障害を治療する方法を提供する。驚くべきことに、本リガンド薬物結合体は、さらに、血清安定性を顕わして結合薬物の標的細胞への標的型送達を提供する。 30

【0012】

一態様では、以下の式

【0013】

【化17】



を有するリガンド薬物結合体化合物、あるいは薬学的に許容されるその塩または溶媒和物。式中、 40

L - は、リガンド単位、

- A_a - W_w - Y_y - は、リンカー単位 (Liu)、

- A - は、任意選択の伸長体 (Stretcher) 単位、

a は、0、1 または 2、

各 - W - は、独立して、グルクロニド単位、

w は、1 から 2 の範囲の整数、

- Y - は、任意選択の自己犠牲 (self-immolative) スペーサー単位、

y は、0、1 または 2、

p は、1 から約 20 の範囲にあり、 50

- D は、薬物単位である。

【0014】

実施態様によって、リガンドは、キメラ抗体、ヒト化抗体またはヒト抗体などの抗体、あるいは抗原結合抗体フラグメントである。

【0015】

実施態様によって、グルクロニド単位 (- W -) は、式

【0016】

【化18】

$\text{Su-O}'\text{-Z-}$

|

10

を含む。式中、S は糖部分、- O ' - はグリコシド結合 (例えば、- グルクロニダーゼによって開裂可能) 、Z は自己犠牲基である。式中、Z は、Y または D と第 1 の共有結合を形成し、L または A と第 2 の共有結合を形成する。

【0017】

実施態様によって、グルクロニド単位 (- W -) は、式

【0018】

【化19】

-Su-O'-Z-

20

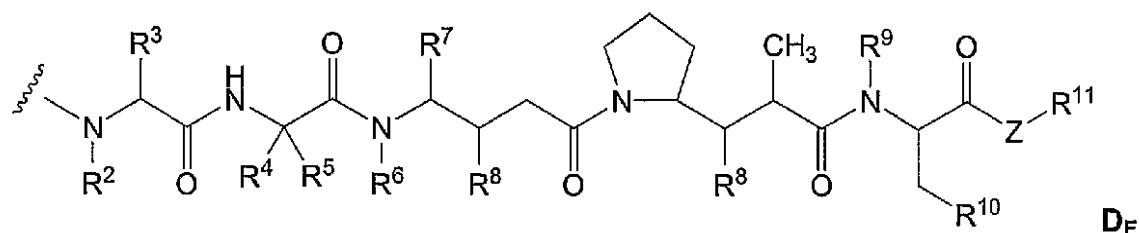
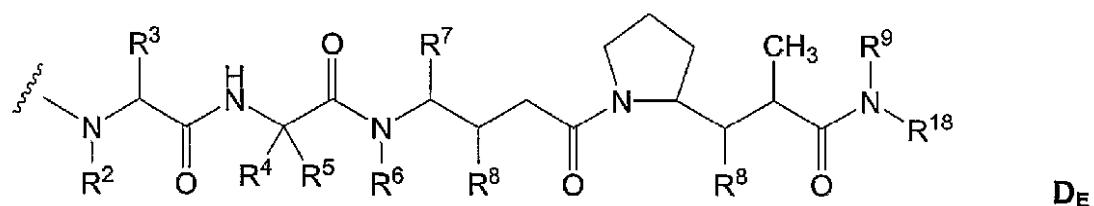
を含む。式中、S は糖部分、- O ' - は - グルクロニダーゼによって開裂可能な結合、Z は自己犠牲基である。式中、Z は Y または D と共有結合を形成し、Su は、L または A と共有結合を形成する。

【0019】

実施態様によって、薬物単位は、式 D_E および D_F 、

【0020】

【化20】



から選択される。式中、

R² は、H および C₁ ~ C₈ アルキルから選択され、

R³ は、H、C₁ ~ C₈ アルキル、C₃ ~ C₈ 炭素環、アリール、X¹ - アリール、X¹ - (C₃ ~ C₈ 炭素環)、C₃ ~ C₈ 複素環および X¹ - (C₃ ~ C₈ 複素環) から選択され、

R⁴ は、H、C₁ ~ C₈ アルキル、C₃ ~ C₈ 炭素環、アリール、X¹ - アリール、X¹ - (C₃ ~ C₈ 炭素環)、C₃ ~ C₈ 複素環および X¹ - (C₃ ~ C₈ 複素環) から選択され、

R⁵ は、H およびメチルから選択され、

50

あるいは、R⁴とR⁵とは一緒に炭素環を形成し、式 - (C R^a R^b)_n - を有し、R^aおよびR^bは、独立して、H、C₁～C₈アルキルおよびC₃～C₈炭素環から選択され、nは、2、3、4、5および6から選択され、

R⁶は、HおよびC₁～C₈アルキルから選択され、

R⁷は、H、C₁～C₈アルキル、C₃～C₈炭素環、アリール、X¹-アリール、X¹- (C₃～C₈炭素環)、C₃～C₈複素環およびX¹- (C₃～C₈複素環)から選択され、

各R⁸は、独立して、H、OH、C₁～C₈アルキル、C₃～C₈炭素環およびO-(C₁～C₈アルキル)から選択され、

R⁹は、HおよびC₁～C₈アルキルから選択され、

10

R¹⁰は、アリールおよびC₃～C₈複素環から選択され、

Zは、O、S、NHまたはNR¹～²であり、R¹～²は、C₁～C₈アルキルであり、

R¹～¹は、H、C₁～C₂～₀アルキル、アリール、C₃～C₈複素環、- (R¹～³O)～_m - R¹～⁴および- (R¹～³O)～_m - CH(R¹～⁵)₂から選択され、

mは、1～1000の範囲の整数であり、

R¹～³は、C₂～C₈アルキルであり、

R¹～⁴は、HまたはC₁～C₈アルキルであり、

R¹～⁵の各部位は、独立して、H、COOH、- (CH₂)_n - N(R¹～⁶)₂、- (CH₂)_n - SO₃Hまたは- (CH₂)_n - SO₃-C₁～C₈アルキルであり、

R¹～⁶の各部位は、独立して、H、C₁～C₈アルキルまたは- (CH₂)_n - COO

20

Hであり、

R¹～⁸は、- C(R⁸)₂ - C(R⁸)₂ - アリール、- C(R⁸)₂ - C(R⁸)₂ - (C₃～C₈複素環)および- C(R⁸)₂ - C(R⁸)₂ - (C₃～C₈炭素環)から選択され、

X¹は、C₁～C₁～₀アルキレンであり、

nは、0から6の範囲の整数である。

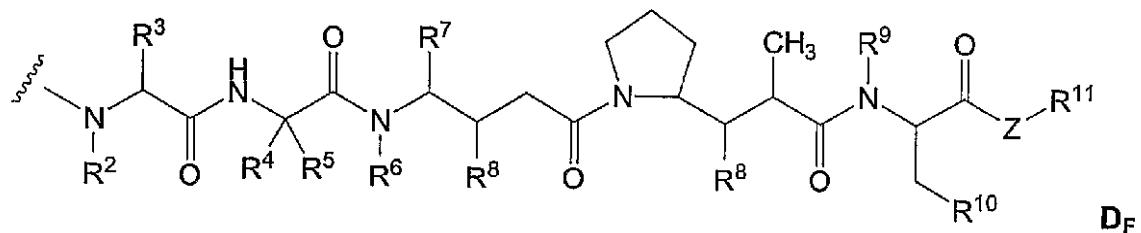
【0021】

実施態様によって、薬物単位は、式D_F

【0022】

【化21】

30



である。

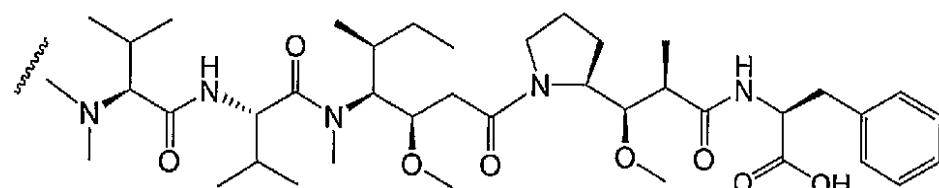
【0023】

実施態様によって、薬物単位は、式

40

【0024】

【化22】

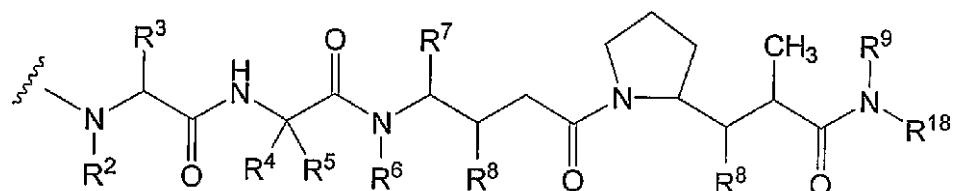


を有する。

【0025】

50

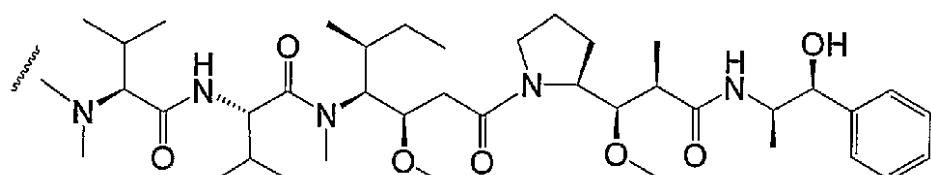
実施態様によって、薬物単位は、式 D_E
 【0026】
 【化23】



を有する。

10

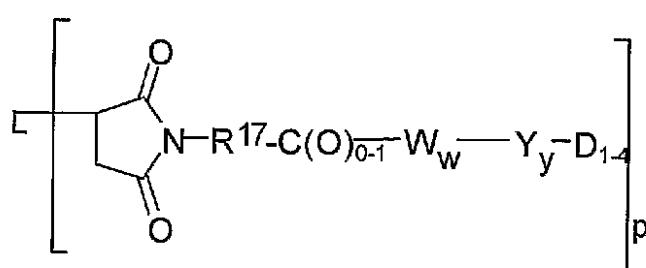
【0027】
 実施態様によって、薬物単位は、式
 【0028】
 【化24】



20

を有する。

【0029】
 実施態様によって、リガンド薬物結合体化合物は、以下の式
 【0030】
 【化25】



30

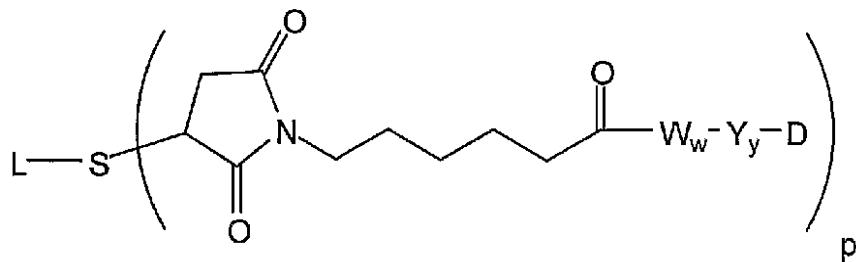
を有する。

【0031】
 式中、R^{1~7}は、-C_{1~10}アルキレン-、-C_{3~8}カルボシクロ-、-O-
 (C_{1~8}アルキル)-、-アリーレン-、-C_{1~10}アルキレン-アリーレン-
 、-アリーレン-C_{1~10}アルキレン-、-C_{1~10}アルキレン-(C_{3~8}
 カルボシクロ)-、-(C_{3~8}カルボシクロ)-C_{1~10}アルキレン-、-C_{3~8}
 ヘテロシクロ-、-C_{1~10}アルキレン-(C_{3~8}ヘテロシクロ)-、-
 (C_{3~8}ヘテロシクロ)-C_{1~10}アルキレン-、-(CH₂CH₂O)_r、-
 (CH₂CH₂O)_r-CH₂-または-(CH₂CH₂O)_r-CH₂-CH₂-の直
 接結合であり、rは、1~10の範囲の整数である。

40

【0032】
 実施態様によって、リガンド薬物結合体化合物は、式
 【0033】

【化26】



を有する。

10

【0034】

本リガンド薬物結合体化合物は、有効量の本リガンド薬物結合体化合物または薬学的に許容されるその塩と、薬学的に許容される希釈剤、キャリアまたは賦形剤とを含む医薬品組成物として製剤化してよい。本医薬品組成物は、任意選択として、治療有効量の化学療法剤を含んでよい。

【0035】

別の態様では、腫瘍細胞または癌細胞を殺すか、あるいは増殖阻害する方法が提供される。本方法は、全体として、腫瘍細胞または癌細胞を殺すか増殖阻害するのに有効な量のリガンド薬物結合体化合物または薬学的に許容されるその塩または溶媒和物で腫瘍細胞または癌細胞を処理することを含む。

20

【0036】

別の態様では、癌を治療するための方法が提供される。本方法は、全体として、ある量の本抗体薬物結合体化合物または薬学的に許容されるその塩または溶媒和物を患者に投与することを含む。その量は、癌を処理するのに有効である。本方法は、任意選択として、有効な量の追加の抗癌剤、免疫抑制剤または抗感染症剤を投与することを含んでよい。

【0037】

別の態様では、自己免疫疾患を治療するための方法が提供される。本方法は、ある量のリガンド薬物結合体化合物または薬学的に許容されるその塩または溶媒和物を患者に投与することを含む。その量は、自己免疫疾患を治療するのに有効である。

【0038】

30

別の態様では、感染症を治療するための方法が提供される。本方法は、全体として、ある量のリガンド薬物結合体化合物または薬学的に許容されるその塩または溶媒和物を患者に投与することを含む。その量は、感染症を治療するのに有効である。

【0039】

本発明のこれらの態様およびその他の態様は、添付の図面とともに、以下の好ましい実施態様の詳細な説明を参照すれば最もよく理解される。下記の考察は、記載し、説明し、例を示すものであり、添付のいかなる請求項によって定義される範囲をも限定すると理解するべきでない。

【発明を実施するための最良の形態】

【0040】

40

(詳細な説明)

開示を分りやすくするためであるが限定を目的とすることなく、本発明の詳細な説明を以下の副次的な節に分ける。

【0041】

(定義)

特に断らない限り、本明細書で用いられる以下の用語および句は、以下の意味を有するものとする。本明細書で商標名を用いるとき、商標名は、特に断らない限り、商標名製品製剤、商標名製品の後発薬剤および活性医薬品成分（単数または複数）を含む。

【0042】

本明細書における用語「抗体」は、最も広い意味で用いられ、原形のモノクローナル抗

50

体、ポリクローナル抗体、多重特異性抗体（例えば二重特異性抗体）、および所望の生物活性（例えば抗原結合）を示す抗体フラグメントを指す。抗体は、任意の型または種類（例えば Ig G、Ig E、Ig M、Ig D および Ig A）または亜種（例えば Ig G1、Ig G2、Ig G3、Ig G4、Ig A1 および Ig A2）であってよい。

【0043】

「原形」抗体は、抗原結合可変領域、ならびに抗体の種類として適切である軽鎖不变分域（C_L）および重鎖不变分域、C_H1、C_H2、C_H3 および / または C_H4 を含む抗体である。不变分域は、野生型配列不变分域（例えば、ヒト野生型配列不变分域）またはそのアミノ酸配列変化形であってよい。

【0044】

抗体は、1つ以上の「エフェクター機能」を有してよい。エフェクター機能とは、抗体の Fc 領域（野生型配列 Fc 領域またはアミノ酸配列変化形 Fc 領域）に帰せられる生物活性を指す。抗体エフェクター機能の例は、C1q 結合、補体依存性細胞毒性（CDC）、Fc 受容体結合、抗体依存性細胞媒介細胞毒性（ADCC）、食細胞作用、細胞表面受容体の下方調節（例えば、B 細胞受容体、BCR）等を含む

「単鎖 Fv」または「scFv」抗体フラグメントは、抗体の V_H 分域および V_L 分域を含み、これらの分域は、単一ポリペプチド鎖中に存在する。F_v ポリペプチドは、通常、さらに、V_H 分域と V_L 分域との間のポリペチドリンカーを含み、scFv は、ポリペプチドリンカーによって抗体結合のための所望の構造を形成することができる。scFv の概要については、The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg and Moore, eds., Springer-Verlag, New York, pp. 269 - 315 (1994) の Plueckthun を参照すること。

【0045】

用語「ダイアボディー」は、2つの抗原結合部位を有する小型抗体フラグメントを指す。このフラグメントは、同じポリペプチド鎖中の可変軽分域（V_L）に結合した可変重分域（V_H）を含む。短すぎて同じ鎖の2つの分域の間の対形成（V_H - V_L）が可能にならないリンカーを用いることによって、これらの分域は、別の鎖の相補分域と対形成するしかなく、2つの抗原結合部位が発生する。例えば、欧洲特許第 0 404 097 号、国際特許第 93/11161 号、および Hollinger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 6444 - 6448 にダイアボディーがもっと詳しく記載されている。2つの抗原結合部位は、同じであっても異なっていてもよい。

【0046】

「単離された」抗体は、特定され、分離され、および / またはその自然環境の成分から回収された抗体である。その自然環境の汚染成分は、抗体のための診断使用または治療使用を妨害する物質であり、酵素、ホルモンおよびその他の蛋白質溶質または非蛋白質溶質を含んでよい。実施態様によって、抗体は、(1) ローリー法で測定して抗体の 95 重量 % を超え、または 99 重量 % を超え、(2) スピニングカップシーケンエーターを用いて N 末端または内部アミノ酸配列の少なくとも 15 残基を得るのに十分な程度に、または (3) クーマシーブルーまたは銀染色を用いて還元条件下または非還元条件下で SDS-PAGE によって均一に精製される。単離された抗体は、組み換え細胞内のインサイチュ抗体を含む。抗体の自然環境の少なくとも 1 つの成分が存在しないからである。しかし、普通は、単離された抗体は、少なくとも 1 つの精製ステップによって調製される。

【0047】

対象となる抗原と「結合する」抗体は、抗原を発現する細胞を標的とするとき抗体が有用であるように十分な親和力で抗原と結合することができる抗体である。

【0048】

用語「特異性結合する」および、「特異性結合」は、予め定められた抗原に結合する抗体を指す。通常、抗体は、少なくとも約 $1 \times 10^{-7} \text{ M}^{-1}$ の親和力で結合し、予め定めら

10

20

30

40

50

れた抗原または密接に関連する抗原以外の非特異性抗原（例えば、B S A、カゼイン）への結合の親和力より少なくとも2倍大きな親和力で予め定められた抗原に結合する。

【0049】

用語「治療有効量」は、哺乳類における疾患または障害を治療するのに有効な薬物（例えばリガンド薬物結合体またはリンカー薬物結合体）の量を指す。癌の場合、治療有効量の薬物は、癌細胞の数を減らし、腫瘍サイズを小さくし、癌細胞の周辺器官への侵入を抑制し（すなわち、ある程度遅くし、好ましくは停止させ）、腫瘍転移を抑制し（すなわち、ある程度遅くし、好ましくは停止させ）、腫瘍成長をある程度抑制し、および／または癌に関連する症状の1つ以上をある程度軽減させることができる。薬物は、既存癌細胞の成長を妨げ、および／または死滅させる程度に応じて、細胞増殖抑制性および／または細胞毒性であってよい。癌療法の場合、例えば、効力は、無増悪期間（TTP）を評価し、および／または奏功率（RR）を求めて測定することができる。

10

【0050】

用語「標的ポリペチド」、「標的蛋白質」および「標的抗原」は、蛋白質、ポリペチドを指し、さらに、「標的抗原」の場合には、標的細胞の表面にあるかまたは標的細胞と会合している別の分子を指す。

【0051】

用語「式の化合物」、「式の化合物」および類似用語における「化合物」は、化合物それ自体、ならびに、明示的に言明されているか否かにかかわらず、状況によって除外されることが明らかな場合を除いて、以下のものを指し、包含する。多形を含む、化合物の非晶質および結晶の形。これらの形は、混合物の一部であってもよく、単離されていてよい。化合物の遊離酸および遊離塩基の形。これらの形は、通常、本明細書に提供される構造物において示される形である。化合物の異性体。これらの異性体は、光学異性体および互変異性体を指し、光学異性体は、エナンチオマーおよびジアステレオマー、キラル異性体および非キラル異性体を含む。これらの光学異性体は、単離された光学異性体、ならびにラセミ混合物および非ラセミ混合物を含む光学異性体の混合物を含む。異性体は、単離された形または1つ以上の異性体との混合物であってよい。重水素および三重水素含有化合物を含む化合物の同位体。これらは、ラジオアイソトープを含む化合物を含み、治療に有効な、および診断に有効な放射性元素を含む。二量体、三量体等の形を含む化合物の多量体の形。化合物の塩、好ましくは、薬学的に許容される塩。これらは、酸付加塩および塩基付加塩を含み、有機対イオンおよび無機対イオンを有する塩を含み、双性イオン形を含む。化合物が2つ以上の対イオンと会合するなら、2つ以上の対イオンは同じであってよく、または異なっていてよい。化合物の溶媒和物。これらは、半溶媒和物、一溶媒和物、二溶媒和物等を含む。これらは、有機溶媒和物および無機溶媒和物を含み、前記無機溶媒和物は、化合物が2つ以上の溶媒分子と会合する場合、2つ以上の溶媒分子は同じであってよく、または異なっていてよい水和物を含む。場合によって、本明細書で本発明の化合物を参照するとき、1つ以上の上記の形、例えば、塩および溶媒和物への明示的な参照を含む。しかし、この参照は、強調だけを目的とし、上記で特定した上記の他のものを除外すると解釈するべきではない。

20

用語「アルキル」は、表示炭素原子数を有する直鎖または分岐、飽和または不飽和の炭化水素を指す（例えば、「C₁～C₈アルキル」は、1から8の炭素原子を有するアルキル基を指す）。炭素原子数が表示されていないとき、アルキル基は1から8の炭素原子を有する。代表的な「C₁～C₈アルキル」基は、メチル（Me、-CH₃）、エチル（Et、-CH₂CH₃）、1-プロピル（n-Pr、n-プロピル、-CH₂CH₂CH₃）、2-プロピル（i-Pr、i-プロピル、-CH(CH₃)₂）、1-ブチル（n-Bu、n-ブチル、-CH₂CH₂CH₂CH₃）、2-メチル-1-プロピル（i-Bu、i-ブチル、-CH₂CH(CH₃)₂）、2-ブチル（s-Bu、s-ブチル、-CH(CH₃)CH₂CH₃）、2-メチル-2-プロピル（t-Bu、t-ブチル、-C(CH₃)₃）、1-ペンチル（n-ペンチル、-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃）、2-ペンチル（-CH(CH₃)CH₂CH₂CH₃）、3-ペンチル（-CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、4-ペンチル（-CH₂CH(CH₃)₃）、5-ペンチル（-CH(CH₃)₂CH(CH₃)₂CH₃）、6-ペンチル（-CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、7-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、8-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、9-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、10-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、11-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、12-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、13-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、14-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、15-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、16-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、17-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、18-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、19-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、20-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、21-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、22-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、23-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、24-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、25-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、26-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、27-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、28-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、29-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、30-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、31-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、32-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、33-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、34-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、35-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、36-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、37-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、38-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、39-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、40-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、41-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、42-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、43-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、44-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、45-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、46-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、47-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、48-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、49-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、50-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、51-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、52-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、53-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、54-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、55-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、56-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、57-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、58-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、59-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、60-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、61-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、62-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、63-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、64-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、65-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、66-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、67-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、68-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、69-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、70-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、71-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、72-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、73-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、74-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、75-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、76-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、77-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、78-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、79-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、80-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、81-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、82-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、83-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、84-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、85-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、86-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、87-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、88-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、89-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、90-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、91-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、92-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、93-ペンチル（-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH₂CH(CH₃)₂CH₂CH₃）、94-ペンチル（-CH₂CH₂CH_{2</sub}

$C_2CH_3)_2$)、2 - メチル - 2 - ブチル (- C (CH_3) $_2CH_2CH_3$)、3 - メチル - 2 - ブチル (- CH (CH_3) CH (CH_3) $_2$)、3 - メチル - 1 - ブチル (- CH $_2CH_2CH$ (CH_3) $_2$)、2 - メチル - 1 - ブチル (- CH $_2CH_2CH$ (CH_3) CH $_2CH_3$)、1 - ヘキシリル (- CH $_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$)、2 - ヘキシリル (- CH (CH_3) CH $_2CH_2CH_2CH_2CH_3$)、3 - ヘキシリル (- CH (CH_2CH_3) (CH $_2CH_2CH_3$) $_2$)、2 - メチル - 2 - ペンチル (- C (CH_3) $_2CH_2CH$)、3 - メチル - 2 - ペンチル (- CH (CH_3) CH $_2CH$ (CH_3) $_2$)、3 - メチル - 3 - ペンチル (- C (CH_3) (CH $_2CH_3$) $_2$)、2 - メチル - 3 - ペンチル (- CH (CH_2CH_3) - CH (CH_3) $_2$)、2, 3 - ジメチル - 2 - ブチル (- C (CH_3) C (CH_3) $_3$) を含むがそれらに限定されない。アルキル基は、非置換であってよく、または - O - (C_1 ~ C_8 アルキル)、アリール、- C (O) R '、- O C (O) R '、- C (O) OR '、- C (O) NH $_2$ 、- C (O) NHR '、- C (O) N (R ') $_2$ 、- NH C (O) R '、- SO $_3$ R '、- S (O) $_2$ R '、- S (O) R '、- OH、- ハロゲン、- N $_3$ 、- NH $_2$ 、- NH (R ')、- N (R ') $_2$ および - CN を含むがそれらに限定されない 1 つ以上の基で置換されていてよい。式中、各 R ' は、独立して、H、非置換 C_1 ~ C_8 アルキルおよびアリールから選択される。
10

【0052】

用語「アルケニル」は、少なくとも 1 つの不飽和部位、すなわち炭素 - 炭素、s p 2 二重結合を有するノルマル、2 級、3 級または環状炭素原子を含む C_2 ~ C_{18} 炭化水素を指す。例は、エチレンまたはビニル (- CH = CH $_2$)、アリル (- CH $_2CH$ = CH $_2$)、シクロペンテニル (- C $_5$ H $_7$) および 5 - ヘキセニル (- CH $_2CH_2CH_2CH_2CH$ $_2CH$ = CH $_2$) を含むがそれらに限定されない。
20

【0053】

用語「アルキニル」は、少なくとも 1 つの不飽和部位、すなわち炭素 - 炭素、s p 三重結合を有するノルマル、2 級、3 級または環状炭素原子を含む C_2 ~ C_{18} 炭化水素を指す。例は、アセチレン (- C C H) およびプロパルギル (- CH $_2C$ C H) を含むがそれらに限定されない。
30

【0054】

用語「アルキレン」は、1 ~ 18 の炭素原子の飽和、分枝、直鎖または環状炭化水素ラジカルを指し、親アルカンの同じ炭素原子または 2 つの異なる炭素原子から 2 つの水素原子を除去して誘導された 2 つの一価ラジカル中心を有する。典型的なアルキレンは、メチレン (- CH $_2$ -)、1, 2 - エチル (- CH $_2CH_2$ -)、1, 3 - プロピル (- CH $_2CH_2CH_2$ -)、1, 4 - ブチル (- CH $_2CH_2CH_2CH_2$ -) および類似物を含むがそれらに限定されない。
30

【0055】

用語「アルケニレン」は 2 ~ 18 の炭素原子の不飽和、分枝、直鎖または環状炭化水素ラジカルを指し、親アルケンの同じ炭素原子または 2 つの異なる炭素原子から 2 つの水素原子を除去して誘導された 2 つの一価ラジカル中心を有する。典型的なアルケニレンラジカルは、1, 2 - エチレン (- CH = CH -) を含むがそれらに限定されない。
40

【0056】

用語「アルキニレン」は、2 ~ 18 の炭素原子の不飽和、分枝、直鎖または環状炭化水素ラジカルを指し、親アルキンの同じ炭素原子または 2 つの異なる炭素原子から 2 つの水素原子を除去して誘導された 2 つの一価ラジカル中心を有する。典型的なアルキニレンラジカルは、アセチレン (- C C -)、プロパルギル (- CH $_2C$ C -) および 4 - ペンチニル (- CH $_2CH_2CH_2C$ C -) を含むがそれらに限定されない。
40

【0057】

用語「アリール」は、親の芳香環系の 1 つの炭素原子から 1 つの水素原子を除去して誘導された 6 ~ 20 の炭素原子の一価芳香族炭化水素ラジカルを指す。構造の例で、いくつ
50

かのアリール基は「Ar」と表される。アリール基は置換されていなくてよく、または置換されていてよい。典型的なアリール基は、ベンゼン、置換ベンゼン、フェニル、ナフタレン、アントラセン、ビフェニルおよび類似物から誘導されたラジカルを含むがそれらに限定されない。アリールは、-C₁~C₈アルキル、-O-(C₁~C₈アルキル)、-C(O)R'、-OC(O)R'、-C(O)OR'、-C(O)NH₂、-C(O)NHR'、-C(O)N(R')₂、-NHC(O)R'、-S(O)₂R'、-S(O)R'、-OH、-ハロゲン、-N₃、-NH₂、-NH(R')、-N(R')₂および-CNを含むがそれらに限定されない1つ以上の基で置換されていてよい。式中、各R'は、独立して、H、-C₁~C₈アルキルおよび非置換アリールから選択される。

【0058】

10

用語「アリールアルキル」は、炭素原子、通常は末端炭素原子またはs p³炭素原子に結合した水素原子の1つがアリールラジカルで置換された非環式アルキルラジカルを指す。典型的なアリールアルキル基は、ベンジル、2-フェニルエタン-1-イル、2-フェニルエテン-1-イル、ナフチルメチル、2-ナフチルエタン-1-イル、2-ナフチルエテン-1-イル、ナフトベンジル、2-ナフトフェニルエタン-1-イルおよび類似基を含むがそれらに限定されない。アリールアルキル基は、6から20の炭素原子を含み、例えば、アルカニル基、アルケニル基またはアルキニル基を含むアリールアルキル基のアルキル部分は、1から6の炭素原子であり、アリール部分は、5から14の炭素原子である。

【0059】

20

用語「ヘテロアリールアルキル」は、炭素原子、通常は末端炭素原子またはs p³炭素原子に結合した水素原子の1つがヘテロアリールラジカルで置換された非環式アルキルラジカルを指す。典型的なヘテロアリールアルキル基は、2-ベンゾイミダゾリルメチル、2-フリルエチルおよび類似基を含むがそれらに限定されない。ヘテロアリールアルキル基は、6から20の炭素原子を含み、例えば、アルカニル基、アルケニル基またはアルキニル基を含むヘテロアリールアルキル基のアルキル部分は、1から6の炭素原子であり、ヘテロアリール部分は、5から14の環原子、通常1から3のN、O、PおよびSから選ばれたヘテロ原子であり、他は炭素原子である。ヘテロアリールアルキル基のヘテロアリール部分は、3から7の環原子(2から6の炭素原子)を有する单環、または7から10の環原子(4から9の炭素原子)とN、O、PおよびSから選ばれた1から3のヘテロ原子とを有する二環、例えば、ビシクロ[4,5],[5,5],[5,6]または[6,6]系であってよい。

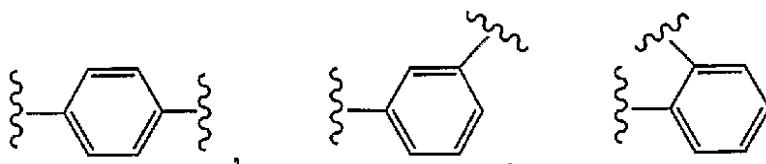
【0060】

30

用語「アリーレン」は、2つの共有結合を有し、以下の構造式：

【0061】

【化27】



40

に示されるパラ、メタまたはオルト配置であってよいアリール基を指す。フェニル基は、置換されていなくてよく、または-C₁~C₈アルキル、-O-(C₁~C₈アルキル)、-アリール、-C(O)R'、-OC(O)R'、-C(O)OR'、-C(O)NH₂、-C(O)NHR'、-C(O)N(R')₂、-NHC(O)R'、-S(O)₂R'、-S(O)R'、-OH、-ハロゲン、-N₃、-NH₂、-NH(R')、-N(R')₂および-CNを含むがそれらに限定されない最大4つの基で置換されていてよい。式中、各R'は、独立して、H、-C₁~C₈アルキルおよびアリールから選択される。

50

【0062】

用語「置換アルキル」、「置換アリール」および「置換アリールアルキル」は、1つ以上の水素原子がそれぞれ独立に置換基で置換されたアルキル、アリールおよびアリールアルキルをそれぞれ指す。典型的な置換基は、-X、-R、-O⁻、-OR、-SR、-S⁻、-NR₂、-NR₃、=NR、-CX₃、-CN、-OCN、-SCN、-N=C=O、-NCS、-NO、-NO₂、=N₂、-N₃、NR₂C(=O)R、-C(=O)R、-C(=O)NR₂、-SO₃⁻、-SO₃H、-S(=O)₂R、-OS(=O)₂OR、-S(=O)₂NR、-S(=O)R、-OP(=O)(OR)₂、-P(=O)(OR)₂、-PO₃⁻、-PO₃H₂、-C(=O)R、-C(=O)X、-C(=S)R、-CO₂R、-CO₂⁻、-C(=S)OR、-C(=O)SR、-C(=S)S⁻R、-C(=O)NR₂、-C(=S)NR₂および-C(=NR)NR₂を含むがそれらに限定されない。式中、各Xは、独立して、ハロゲン、すなわち、F、Cl、BrまたはIであり、各Rは、独立して、-H、C₂~C₁₈アルキル、C₆~C₂₀アリール、C₃~C₁₄複素環、保護基またはプロドラッグ部分である。上記に記載したアルキレン、アルケニレンおよびアルキニレン基も、同様に置換されていてよい。

【0063】

用語「ヘテロアリール」および「複素環」は、1つ以上の環原子がヘテロ原子、例えば窒素、酸素、リン酸塩および硫黄である環系を指す。複素環ラジカルは、1から20の炭素原子と、N、O、PおよびSから選ばれた1から3のヘテロ原子とを含む。複素環は、3から7の環原子（2から6の炭素原子と、N、O、PおよびSから選ばれた1から3のヘテロ原子）を有する単環、または7から10の環原子（4から9の炭素原子と、N、O、PおよびSから選ばれた1から3のヘテロ原子）を有する二環、例えば、ビシクロ[4,5,5]、[5,5,5]、[5,6,6]または[6,6,6]系であってよい。複素環は、Paquette, "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W. A. Benjamin, New York, 1968)、特に第1、3、4、6、7および9章；"The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950から現在まで)、特に第13、14、16、19および28巻、およびJ. Am. Chem. Soc. 82: 5566 (1960)に記載されている。

【0064】

複素環化合物の例は、例えば、ピリジル、ジヒドロキシピリジル、テトラヒドロピリジル（ピペリジル）、チアゾリル、テトラヒドロチオフェニル、硫黄酸化テトラヒドロチオフェニル、ピリミジニル、フラニル、チエニル、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、テトラゾリル、ベンゾフラニル、チアナフタレニル、インドリル、インドレニル、キノリニル、イソキノリニル、ベンゾイミダゾリル、ピペリジニル、4-ピペリドニル、ピロリジニル、2-ピロリドニル、ピロリニル、テトラヒドロフラニル、ビス-テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、ビス-テトラヒドロピラニル、テトラヒドロキノリニル、テトラヒドロイソキノリニル、デカヒドロキノリニル、オクタヒドロイソキノリニル、アゾシニル、トリアジニル、6H-1,2,5-チアジアジニル、2H,6H-1,5,2-ジチアジニル、チエニル、チアントレニル、ピラニル、イソベンゾフラニル、クロメニル、キサンテニル、フェノキサンテニル、2H-ピロリル、イソチアゾリル、イソオキサゾリル、ピラジニル、ピリダジニル、インドリジニル、イソインドリル、3H-インドリル、1H-インダゾリル、プリニル、4H-キノリジニル、フタラジニル、ナフチリジニル、キノキサリニル、キナゾリニル、シンノリニル、ブテリジニル、4aH-カルバゾリル、カルバゾリル、-カルボリニル、フェナントリジニル、アクリジニル、ピリミジニル、フェナントロリニル、フェナジニル、フェノチアジニル、フラザニル、フェノキサジニル、イソクロマニル、クロマニル、イミダゾリジニル、イミダゾリニル、ピラゾリジニル、ピラゾリニル、ピペラジニル、インドリニル、イソインドリニル、キヌクリジニル、モルホリニル、オキサゾリジニル、ベンゾトリアゾリル、ベンゾイソオキサゾリル、オ

10

20

30

40

50

キサインドリル、ベンゾオキサゾリニル、およびイサチノイルを含むがそれらに限定されない。

【0065】

例えば、炭素結合複素環は、以下の位置、すなわち、ピリジンの2、3、4、5または6位；ピリダジンの3、4、5または6位；ピリミジンの2、4、5または6位；ピラジンの位2、3、5または6；フラン、テトラヒドロフラン、チオフラン、チオフェン、ピロールまたはテトラヒドロピロールの2、3、4または5位；オキサゾール、イミダゾールまたはチアゾールの2、4または5位；イソオキサゾール、ピラゾールまたはイソチアゾールの3、4または5位；アジリジンの2または3位；アゼチジンの2、3または4位；キノリンの2、3、4、5、6、7または8位；またはイソキノリンの1、3、4、5、6、7または8位で結合されるがそれらに限定されない。さらにより一般的には、炭素結合複素環は、2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、5-ピリジル、6-ピリジル、3-ピリダジニル、4-ピリダジニル、5-ピリダジニル、6-ピリダジニル、2-ピリミジニル、4-ピリミジニル、5-ピリミジニル、6-ピリミジニル、2-ピラジニル、3-ピラジニル、5-ピラジニル、6-ピラジニル、2-チアゾリル、4-チアゾリルおよび5-チアゾリルを含む。

【0066】

例えば、窒素結合複素環は、アジリジン、アゼチジン、ピロール、ピロリジン、2-ピロリン、3-ピロリン、イミダゾール、イミダゾリジン、2-イミダゾリン、3-イミダゾリン、ピラゾール、ピラゾリン、2-ピラゾリン、3-ピラゾリン、ピペリジン、ピペラジン、インドール、インドリンまたは1H-インダゾールの1位、イソインドールまたはイソインドリンの2位、モルホリンの4位およびカルバゾールまたは-カルボリンの9位を含むがそれらに限定されない位置に結合する。さらにより一般的には、窒素結合複素環は、1-アジリジル、1-アゼテジル、1-ピロリル、1-イミダゾリル、1-ピラゾリルおよび1-ピペリジニルを含む。

【0067】

用語「炭素環」は、3から7の炭素原子を単環として有するか、7から12の炭素原子を二環として有する飽和または不飽和環を指す。単環炭素環化合物は、3から6の環原子を有し、さらに一般的には5または6の環原子を有する。二環炭素環は、例えば、ビシクロ[4,5]、[5,5]、[5,6]または[6,6]系として配置された7から12の環原子、あるいはビシクロ[5,6]または[6,6]系として配置された9または10の環原子を有する。単環炭素環の例は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、1-シクロペント-1-エニル、1-シクロペント-2-エニル、1-シクロペント-3-エニル、シクロヘキシル、1-シクロヘキス-1-エニル、1-シクロヘキス-2-エニル、1-シクロヘキス-3-エニル、シクロヘプチルおよびシクロオクチルを含む。

【0068】

「C₃～C₈炭素環」は、3、4、5、6、7または8員飽和または不飽和非芳香族である。代表的なC₃～C₈炭素環式化合物は、-シクロプロピル、-シクロブチル、-シクロペンチル、-シクロヘンタジエニル、-シクロヘキシル、-シクロヘキセニル、-1,3-シクロヘキサジエニル、-1,4-シクロヘキサジエニル、-シクロヘプチル、-1,3-シクロヘプタジエニル、-1,3,5-シクロヘプタトリエニル、-シクロオクチルおよび-シクロオクタジエニルを含むがそれらに限定されない。C₃～C₈炭素環基は、置換されていくなくてよく、または-C₁～C₈アルキル、-O-(C₁～C₈アルキル)、-アリール、-C(O)R'、-OC(O)R'、-C(O)OR'、-C(O)NH₂、-C(O)NHR'、-C(O)N(R')₂、-NHC(O)R'、-S(O)₂R'、-S(O)R'、-OH、-ハロゲン、-N₃、-NH₂、-NH(R')、-N(R')₂および-CNを含むがそれらに限定されない1つ以上の基で置換されていてよい。式中、各R'は、独立して、H、-C₁～C₈アルキルおよびアリールから選択される。

10

20

30

40

50

【0069】

「C₃ ~ C₈ カルボシクロ」は、炭素環基の水素原子の1つが結合によって置換された、上記で定義されるC₃ ~ C₈ 炭素環基を指す。

【0070】

「C₁ ~ C₁₀ アルキレン」は、直鎖、飽和炭化水素基 - (C H₂)_{1 ~ 10} - である。C₁ ~ C₁₀ アルキレンの例は、メチレン、エチレン、プロピレン、ブチレン、ペンチレン、ヘキシレン、ヘプチレン、オクチレン、ノニレンおよびデカレンを含む。

【0071】

「C₃ ~ C₈ 複素環」は、環炭素原子の1つから4つが、独立して、O、SおよびNからなる群からのヘテロ原子で置換された芳香族または非芳香族C₃ ~ C₈ 炭素環を指す。C₃ ~ C₈ 複素環の代表的な例は、ベンゾフラニル、ベンゾチオフェン、インドリル、ベンゾピラゾリル、クマリニル、イソキノリニル、ピロリル、チオフェニル、フラニル、チアゾリル、イミダゾリル、ピラゾリル、トリアゾリル、キノリニル、ピリミジニル、ピリジニル、ピリドニル、ピラジニル、ピリダジニル、イソチアゾリル、イソオキサゾリルおよびテトラゾリルを含むがそれらに限定されない。C₃ ~ C₈ 複素基は、置換されていないくてよく、または - C₁ ~ C₈ アルキル、- O - (C₁ ~ C₈ アルキル)、- アリール、- C(O)R'、- OC(O)R'、- C(O)OR'、- C(O)NH₂、- C(O)NHR'、- C(O)N(R')₂、- NH₂、- NH(R')₂、- S(O)R'、- S(O)R'、- OH、- ハロゲン、- N₃、- NH₂、- NH(R')₂、- N(R')₂ および - CN を含むがそれらに限定されない最大7つの基で置換されていてよい。式中、各R'は、独立して、H、- C₁ ~ C₈ アルキルおよびアリールから選択される。

10

【0072】

「C₃ ~ C₈ ヘテロシクロ」は、複素環基の水素原子の1つが結合によって置換された、上記で定義されるC₃ ~ C₈ 複素環基を指す。C₃ ~ C₈ ヘテロシクロは、置換されていないくてよく、または - C₁ ~ C₈ アルキル、- O - (C₁ ~ C₈ アルキル)、- アリール、- C(O)R'、- OC(O)R'、- C(O)OR'、- C(O)NH₂、- C(O)NHR'、- C(O)N(R')₂、- NH₂、- NH(R')₂、- S(O)R'、- S(O)R'、- OH、- ハロゲン、- N₃、- NH₂、- NH(R')₂、- N(R')₂ および - CN を含むがそれらに限定されない最大6つの基で置換されていてよい。式中、各R'は、独立して、H、- C₁ ~ C₈ アルキルおよびアリールから選択される。

20

【0073】

句「薬学的に許容される塩」は、リガンド薬物結合体またはリンカー薬物結合体の薬学的に許容される有機または無機塩を指す。結合体は、少なくとも1つのアミノ基を含んでよく、従って、アミノ基との酸付加塩を形成させることができる。塩の例は、硫酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硝酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、酸性リン酸塩、イソニコチン酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、酸性クエン酸塩、酒石酸塩、オレイン酸塩、タンニン酸塩、パントテン酸塩、重酒石酸塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチシン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルクロン酸塩、糖酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p - トルエンスルホン酸塩およびパモ酸塩(すなわち1,1'メチレンビス-(2ヒドロキシ3ナフトエ酸塩))塩を含むがそれらに限定されない。薬学的に許容される塩は、酢酸塩イオン、コハク酸塩イオンまたはその他の対イオンなど、別の分子の包接を含んでよい。対イオンは、親化合物上の電荷を安定化させる任意の有機または無機部分であってよい。さらに、薬学的に許容される塩は、その構造中に2つ以上の荷電原子を有してよい。複数の荷電原子が薬学的に許容される塩の一部である例は、複数の対イオンを有してよい。従って、薬学的に許容される塩は、1つ以上の荷電原子および/または1つ以上の対イオンを有してよい。

30

【0074】

句「薬学的に許容される溶媒和物」または「溶媒和物」は、1つ以上の溶媒分子とリガンド薬物結合体またはリンカー薬物結合体との会合を指す。薬学的に許容される溶媒和物

40

50

を形成する溶媒の例は、水、イソプロパノール、エタノール、メタノール、DMSO、酢酸エチル、酢酸およびエタノールアミンを含むがそれらに限定されない。

【0075】

「患者」または「被験者」の例は、ヒト、ラット、マウス、モルモット、サル、ブタ、ヤギ、ウシ、ウマ、イヌ、ネコ、鳥類および家禽類を含むがそれらに限定されない。実施態様の例においては、患者または被験者は、ヒトである。

【0076】

用語「治療する」または「治療」は、状況によって別の意味を示さない限り、治療上の処置と予防対策または再発防止策との療法を指し、目的は、癌の発症または広がりなどの望ましくない生理的变化または障害を防ぐか、または遅らせる（軽減させる）ことである。有益な臨床成績または所望の臨床成績は、症状の緩和、疾患の度合いの低下、疾患の状態の安定化（すなわち、悪化しない）、疾患の憎悪を遅らせ、または遅らせること、疾患状態の回復または寛解、および検出可能または検知不可能によらず鎮静（部分的または全体的にによらず）、を含むがそれらに限定されない。「治療」は、また、治療を受けない場合に予想される生存率と比較して生存率を長くすることを意味してよい。治療を必要とするものは、既に病態または障害を有するもの、ならびに病態または障害を有する傾向のあるもの、あるいは病態または障害を防ぐことになるものを含む。

10

【0077】

癌の場合、用語「治療する」は、腫瘍細胞、癌細胞または腫瘍の成長を防ぐこと、腫瘍細胞または癌細胞の複製を妨げること、腫瘍の負担全体の軽減または癌細胞の数を減少させること、および癌に関連する1つ以上の症状を改善することの任意のものまたはすべてを含む。

20

【0078】

自己免疫疾患の場合、用語「治療する」は、自己免疫抗体を産生する細胞を含むがそれらに限定されない自己免疫疾患状態に関連する細胞の複製を妨げること、自己免疫抗体負荷を軽減することおよび自己免疫疾患の1つ以上の症状を改善することの任意のものまたはすべてを含む。

30

【0079】

感染症の場合、用語「治療する」は、感染症を引き起こす病原体の成長、増殖または複製を防ぐこと、および感染症の1つ以上の症状を改善することの任意のものまたはすべてを含む。

【0080】

本明細書では、以下の省略形を用いる。MMAEは、モノメチルアウリスタチンE(MW718)、MMAFは、N-メチルバリン-バリン-ドライソロイシン-ドラプロイン-フェニルアラニン(MW731.5)、AEVBは、AEのC末端による酸不安定リンカー(MW732)であるアウリスタチンEバレリルベンジルヒドラゾンで、DMSOは、ジメチルスルホキシド、DMFは、N、Nジメチルホルムアミド、HPLCは、高速液体クロマトグラフィー、THFは、テトラヒドロフラン、Mc-OSuは、マレイミドカプロイルN-ヒドロキシスクシミジルエステルである。

40

【0081】

（リガンド薬物結合体）

本発明は、薬物化合物(-D)と、グルクロニド単位(-W-)を含むリンカー単位とを含む、一連の薬物リンカー化合物および結合体化合物を目的とする。薬物-リンカー化合物は、個別の実体として有用であり、あるいはリガンド(L、実施態様によっては抗体)に結合体化させてよい。リンカー単位は、適当な、標的を定めた薬物化合物(单数または複数)の放出を提供するように機能させることができる。さらに、リンカー単位によっては、複数の薬物を結合することができる(例えば、1つから4つの薬物を結合させ、-LU-(D)_{1~4}で表してよい)。

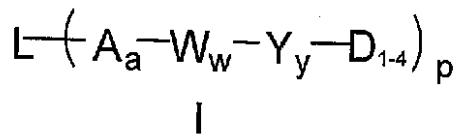
【0082】

1群の実施態様では、リガンド薬物結合体化合物は、全体として、以下の式I、

50

【0083】

【化28】



または薬学的に許容されるその塩または溶媒和物を含む。

【0084】

式中、

L - は、リガンド単位、

- A_a - W_w - Y_y - は、リンカー単位 (L U) 、

- A - は、任意選択の伸長体単位、

a は、0、1 または 2 、

各 - W - は、独立にグルクロニド単位、

w は、1 から 2 の範囲の整数、

- Y - は、任意選択の自己犠牲スペーサー単位、

y は、0、1 または 2 、

p は、1 から 20 の範囲にあり、

- D は、薬物単位である。

10

【0085】

実施態様によって、a は 0 または 1 、 w は 1 、 y は 0 、 1 または 2 である。実施態様によって、a は 0 または 1 、 w は 1 、 y は 0 または 1 である。実施態様によって、a は 0 、 w は 1 、 y は 0 である。実施態様によって、a は 0 または 1 、 w は 1 、 y は 1 である。実施態様によって、a は 1 、 w は 1 、 y は 0 である。実施態様によって、a は 1 、 w は 1 、 y は 1 である。実施態様によって、p は 1 から 10 、 1 から 8 、 1 から 6 、 1 から 4 、 6 、 4 または 2 である。本明細書では、これらの単位のそれぞれについて、さらに詳細に記載する。

【0086】

(リンカー単位)

30

「リンカー単位」 (L U) は、薬物単位とリガンド単位とに結合してリガンド薬物結合体化合物 (リガンド - リンカー - 薬物体結合体化合物とも呼ばれる) を形成するか、薬物単位に結合してリンカー - 薬物単位を形成するために用いることができ、あるいは、免疫結合体の形成において有用な、二官能化合物である。実施態様によって、リンカー単位は、式 :

【0087】

【化29】

 $-A_a - W_w - Y_y -$

を有する。

40

【0088】

式中、 - A - は、任意選択の伸長体単位、

a は 0 、 1 または 2 、

各 - W - は、独立して、グルクロニド単位、

w は、1 から 2 の範囲の整数、

- Y - は、任意選択の自己犠牲スペーサー単位、

y は、0、1 または 2 である。

実施態様によって、a は 0 または 1 、 w は 1 、 y は 0 、 1 または 2 である。実施態様によって、a は 0 または 1 、 w は 1 、 y は 0 または 1 である。

【0089】

50

(グルクロニド単位)

グルクロニド単位 (- W -) は、伸長体単位とスペーサー単位とが存在する場合は伸長体単位をスペーサー単位に結合させ、スペーサー単位が存在しない場合は伸長体単位を薬物部分に結合させ、伸長体もスペーサー単位も存在しない場合はリガンド単位を薬物単位に結合させる。グルクロニド単位は、 - グルクロニダーゼ酵素によって開裂させることができる部位を含む。

【0090】

実施態様によって、グルクロニド単位は、式：

【0091】

【化30】

10

-[Su-O'-Z]-

lla

のグリコシド結合 (- O' -) を介して自己犠牲基 (Z) に結合した糖部分 (Su) を含む。通常、グリコシド結合 (- O' -) は、ヒト、リソソーム - グルクロニダーゼによって開裂可能な結合など、 - グルクロニダーゼ開裂部位である。

【0092】

グルクロニド単位に関する場合、用語「自己犠牲基」は、2つまたは3つの離間した化学的部分 (すなわち、糖部分 (グリコシド結合を介して) 、薬物単位 (直接的に、またはスペーサー単位を介して間接的に) 、実施態様によってリガンド単位 (直接的に、または伸長体を介して間接的に) を共有結合によって一緒に結合させて安定な分子とすることができる、二官能または三官能の化学的部分を指す。自己犠牲基は、糖部分との結合が開裂すれば、第一の化学的部分 (例えばスペーサーまたは薬物単位) から自発的に分離することになる。

20

【0093】

実施態様によって、糖部分 (Su) は、ピラノースなどの環状ヘキソース、またはフランノースなどの環状ペントースである。実施態様によって、ピラノースは、グルクロニドまたはヘキソースである。糖部分は、通常、 - D 立体配座である。特定の実施態様では、ピラノースは、 - D - グルクロニド部分 (すなわち - グルクロニダーゼで開裂可能なグリコシド結合を介して自己犠牲基 - Z - に結合した - D - グルクロン酸) である。実施態様によって、糖部分は、非置換 (例えば天然環状ヘキソースまたは環状ペントース) である。他の実施態様では、糖部分は、置換 - D - グルクロニド (すなわち、水素、ヒドロキシル、ハロゲン、硫黄、窒素または低級アルキルなど、1つ以上の基で置換されたグルクロン酸であってよい) 。

30

【0094】

実施態様によって、自己犠牲基 Z は、 p - アミノベンジルアルコール (PAB) 単位であり、本明細書でさらに説明する。当分野では、その他の適当な自己犠牲基が知られている。

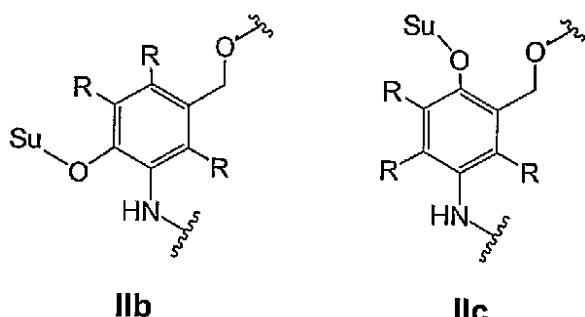
【0095】

実施態様によって、グルクロニド単位は、以下の式

【0096】

40

【化31】



IIb

IIc

10

の1つを有する。式中、Suは、糖部分であり、グリコシド結合は、Suと自己犠牲基Zとの間の酸素結合を含み、グルクロニド単位（および特にZ）がグリコシド結合の開裂によって自己犠牲を行うとすると、各Rは、独立して、水素、ハロ（例えばクロロ、ブロモ、フルオロ等）、-CN、-NO₂またはその他の電子吸引基または電子供与基である。実施態様によって、各Rは、独立して、水素、ハロ（例えばクロロ、ブロモ、フルオロ等）、-CNまたは-NO₂である。

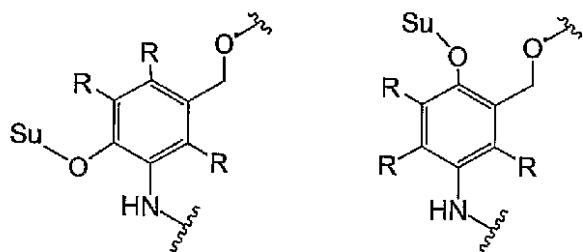
【0097】

実施態様によって、グルクロニド単位は、以下の式

【0098】

【化32】

20



IId

IIe

30

の1つを有する。式中、Suは、糖部分であり、グリコシド結合（-O'-）は、Suと自己犠牲基Zとの間の酸素結合を含み、各Rは、独立して、水素である。

【0099】

実施態様によって、自己犠牲基（Z）は、共有結合によって糖部分、薬物単位（直接的に、またはスペーサー単位（単数または複数）を介して間接的に）、およびリガンド単位（直接的に、またはスペーサー単位（単数または複数）を介して間接的に）に結合される。実施態様によって、薬物リンカー結合体は、以下の式

【0100】

【化33】

40

Su-O'-Z-Y_y-D

|

A_a

IIf

を有する。式中、Su、O'、Z、Y、y、D、Aおよびaは、上記と同じく定義される。通常、1から20のそのような薬物-リンカー結合体をリガンド単位に結合することができる。

【0101】

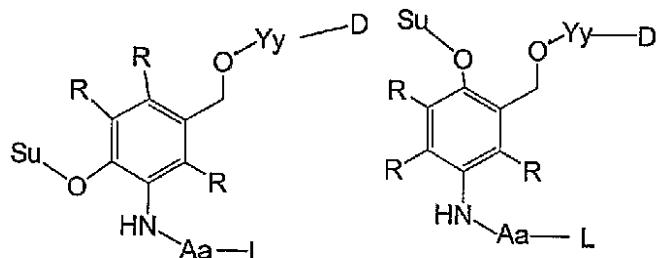
実施態様によって、グルクロニド単位を含むリガンド薬物結合体化合物（例えば抗体薬

50

物結合体(ADC)は、以下の式

【0102】

【化34】



IIg

Ih

10

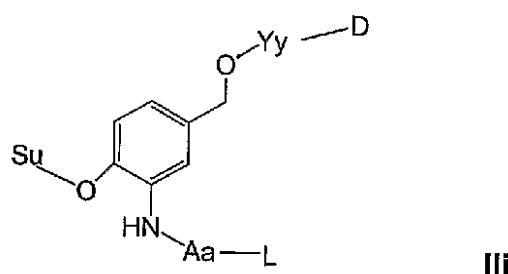
の1つを有する。式中、Su、Y、y、D、A、a、RおよびLは、上記と同じく定義される。

【0103】

実施態様によって、グルクロニド単位を含むリガンド薬物結合体化合物は、以下の式

【0104】

【化35】



III

20

を有する。式中、Su、Y、y、D、A、aおよびLは、上記と同じく定義される。

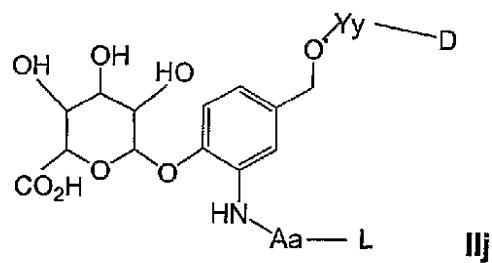
【0105】

実施態様によって、グルクロニド単位を含むリガンド薬物結合体化合物は、以下の式

30

【0106】

【化36】



IIIj

40

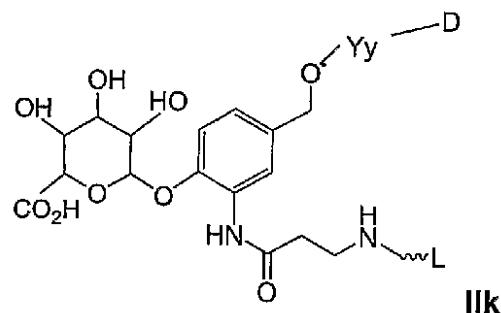
を有する。式中、Y、y、D、A、aおよびLは、上記と同じく定義される。

【0107】

実施態様によって、グルクロニド単位を含むリガンド薬物結合体化合物は、以下の式

【0108】

【化37】



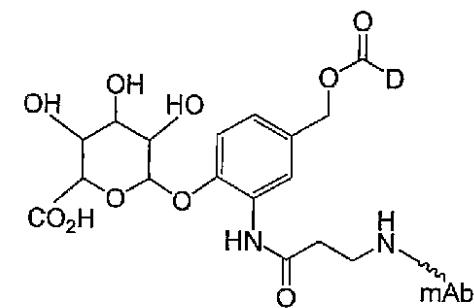
を有する。式中、Y、y、DおよびLは、上記に記載したと同じく定義される。

【0109】

実施態様によって、グルクロニド単位を含むリガンド薬物結合体化合物は、以下の式

【0110】

【化38】



IIIm

を有する。式中、Dは、上記に記載したと同じであり、mAbは、モノクローナル抗体である。

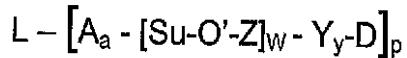
30

【0111】

別の実施態様の群では、以下の式：

【0112】

【化39】



III

によって、リガンド単位は糖部分（単数または複数）に結合（直接または間接に）され、糖部分は自己犠牲基（Z）に結合され、自己犠牲基は薬物単位に結合（直接または間接に）される。式中、A、a、Su、O'、Z、w、Y、y、DおよびLは、上記に記載したと同じく定義される。例えば、糖部分（Su）は、直接的に、または伸長体単位を介して間接的にリガンド単位に接続してよい。自己犠牲基（Z）は、直接的に、またはスペーサー単位を介して間接的に薬物単位に結合してよい。

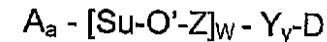
40

【0113】

関連実施態様では、薬物-リンカー化合物は、以下の式：

【0114】

【化40】



III

を有する。式中、A、a、Su、O'、Z、w、Y、yおよびDは、上記と同じく定義さ

50

れる。通常、1から20のそのような薬物-リンカー化合物をリガンド単位に連結してよい。

【0115】

(伸長体単位)

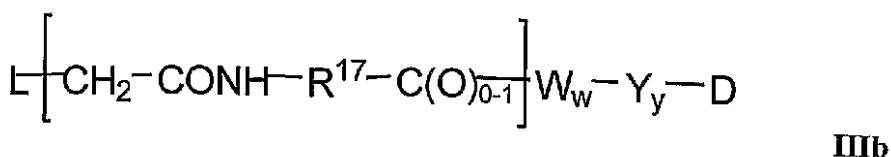
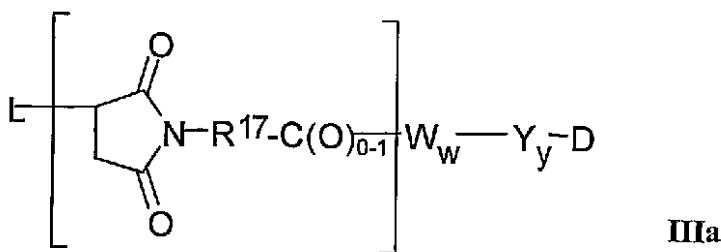
存在するとき、伸長体単位(-A-)は、リガンド単位をグルクロニド単位(-W-)に結合させてよい。このため、リガンド単位(L)は、伸長体の官能基と結合を形成することができる官能基を有する。天然にまたは化学操作によるかのどちらかによってリガンド単位上に存在してよい有用な官能基は、スルフヒドリル(-SH)、アミノ、ヒドロキシル、カルボキシ、炭水化物のアノマー-ヒドロキシル基およびカルボキシルを含むがそれらに限定されない。実施態様によって、リガンド単位官能基は、スルフヒドリルおよび/またはアミノである。スルフヒドリル基は、リガンドの分子内ジスルフィド結合の還元によって発生させてよい。スルフヒドリル基は、2-イミノチオラン(Trautの試薬)または別のスルフヒドリル発生試薬を用いるリガンドのリシン部分のアミノ基の反応によって発生させてよい。

【0116】

一実施態様では、伸長体単位は、リガンド単位の硫黄原子と結合を形成する。硫黄原子は、リガンドのスルフヒドリル基から誘導してよい。この実施態様の代表的な伸長体単位は、式IIIaおよびIIIbの角括弧内に示される。式中、L-、-W-、-Y-、-D、wおよびyは、上記で定義され、R₁₋₇は、直接結合、または-C₁~C₁₀アルキレン-、-C₃~C₈カルボシクロ-、-O-(C₁~C₈アルキル)-、-アリーレン-、-C₁~C₁₀アルキレン-アリーレン-、-アリーレン-C₁~C₁₀アルキレン-、-C₁~C₁₀アルキレン-(C₃~C₈カルボシクロ)-、-(C₃~C₈カルボシクロ-C₁~C₁₀アルキレン-、-C₃~C₈ヘテロシクロ-、-C₁~C₁₀アルキレン-(C₃~C₈ヘテロシクロ)-、-(C₃~C₈ヘテロシクロ)-C₁~C₁₀アルキレン-、-(CH₂CH₂O)_r-、-(CH₂CH₂O)_r-CH₂-および-(CH₂CH₂O)_r-CH₂-CH₂-から選択され、rは、1~10の範囲の整数である。III~Vなどの式Iの実施態様のすべての例から、明示されていない場合でも、1から20の薬物部分がリガンドに結合している(p=1~20)と理解するべきである。

【0117】

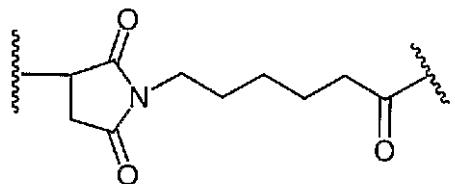
【化41】



伸長体単位の説明例は、式IIIaにおいてR¹⁻⁷が-(CH₂)₅-のもの

【0118】

【化42】



である。

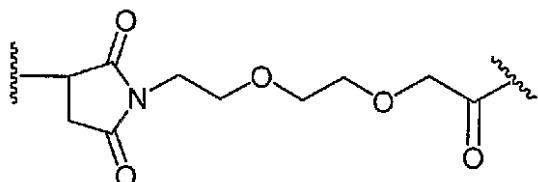
【0119】

伸長体単位の別の例示は、式IIIaにおいて R^{1-7} が $-\left(CH_2CH_2O\right)_r-CH_2-$ 、 r が2のもの

10

【0120】

【化43】



20

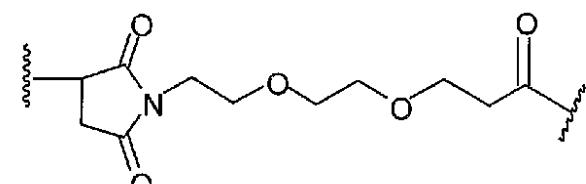
である。

【0121】

伸長体単位の別の例示は、式IIIaにおいて R^{1-7} が $-\left(CH_2CH_2O\right)_r-CH_2-$ 、 r が2のもの

【0122】

【化44】



30

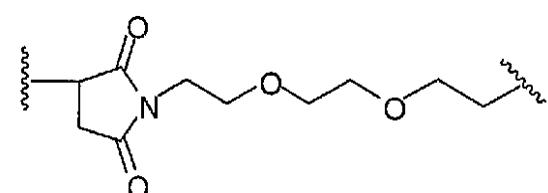
である。

【0123】

伸長体単位の別の例示は、式IIIaにおいて R^{1-7} が $-\left(CH_2CH_2O\right)_r-CH_2-$ 、 r が2のもの

【0124】

【化45】



40

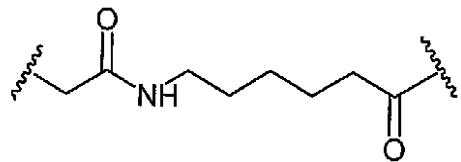
である。

【0125】

伸長体単位のさらに別の例示は、式IIIbにおいて R^{1-7} が $-\left(CH_2\right)_5-$ のもの

【0126】

【化46】



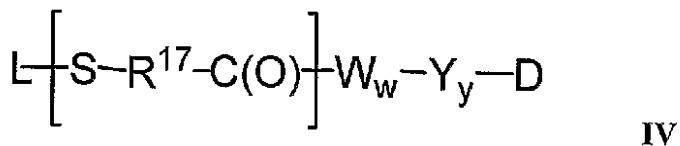
である。

【0127】

別の実施態様では、伸長体単位は、リガンド単位の硫黄原子と伸長体単位の硫黄原子との間のジスルフィド結合を介してリガンド単位に結合される。式IV 10

【0128】

【化47】



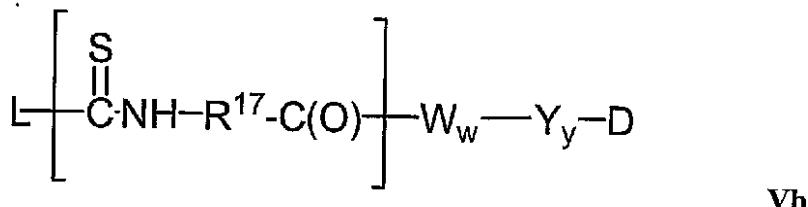
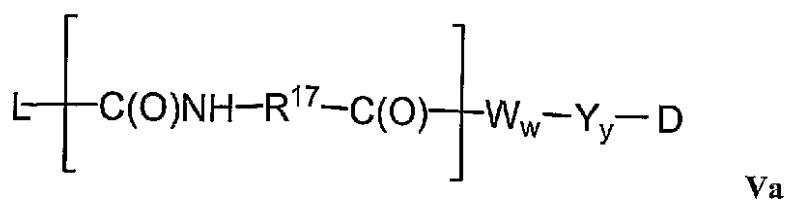
の角括弧の中に、この実施態様の代表的な伸長体単位を示す。式中、 R^{17} 、 L - 、 - W - 、 - Y - 、 - D 、 w および y は、上記で定義したと同じである。 20

【0129】

さらに別の実施態様では、伸長体の反応基は、リガンドの第一アミノ基または第二アミノ基と結合を形成することができる反応部位を含む。これらの反応部位の例は、スクシンイミドエステル、4-ニトロフェニルエステル、ペンタフルオロフェニルエステル、テトラフルオロフェニルエステルなどの活性化エステル、無水物、酸塩化物、塩化スルホニル、イソシアネートおよびイソチオシアネートを含むがそれらに限定されない。式Va およびVb

【0130】

【化48】



の角括弧の中に、この実施態様の代表的な伸長体単位を示す。式中、 - R^{17} - 、 L - 、 - W - 、 - Y - 、 - D 、 w および y は、上記で定義したと同じである。 40

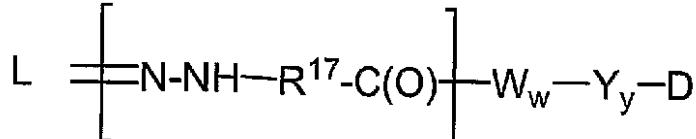
【0131】

実施態様によって、伸長体の反応基は、リガンド上に存在してよい被修飾炭水化物 (- CH_2O) 基に対して反応する反応部位を含む。例えば、炭水化物は、過ヨウ素酸ナトリウムなどの試薬を用いて穏やかに酸化することができ、その結果得られる酸化された炭水化 50

物(-CHO)単位を、Kaneiko et al., 1991, Bioconjugate Chem. 2: 133-41が記載しているようなヒドラジド、オキシム、第一アミンまたは第二アミン、ヒドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレートおよびアリールヒドラジドなどの官能基を含む伸長体と縮合させてよい。別の例によれば、還元アミノ化によって被修飾炭水化物を調製してよい。式VIa、VIb、VIc

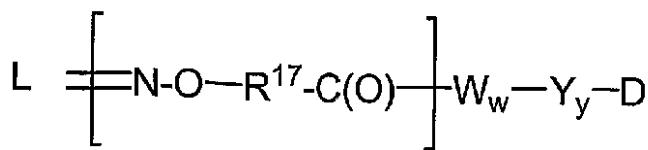
【0132】

【化49】



VIa

10

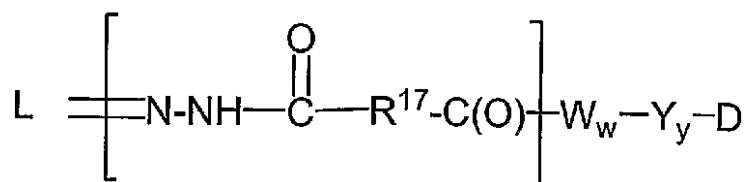


VIb

20

【0133】

【化50】



VIc

の角括弧の中に、この実施態様の代表的な伸長体単位を示す。式中、-R₁₇-、L-、-W-、-Y-、-D、wおよびyは、上記で定義したと同じである。

30

【0134】

(スペーサー単位)

存在するとき、スペーサー単位(-Y-)は、グルクロニド単位を薬物部分に結合させる。実施態様によって、スペーサー単位(単数または複数)は、自己犠牲スペーサーである。この場合、用語「自己犠牲スペーサー」は、共有結合によって2つの離間した化学部分を結合させて通常は安定な3つ組分子を形成させることができる二官能化学部分を指す。この部分は、第1の部分との結合が切断されると、第2の化学部分から自発的に分離する。

【0135】

実施態様によって、-Y-は、自己犠牲基のメチレン炭素原子を介して-W_w-に結合し、カーボネート、カルバメートまたはエーテル基を介して-Dに直接結合され、接続する。いかなる特定の理論または機構にも拘泥しないが、スキーム1は、カーボネート基を介して-Dと直接的に結合されたグルクロニド系リンカーの薬物放出の機構を示す。

40

【0136】

実施態様によって、-Y_y-は、p-アミノベンジルアルコール(PAB)単位(例えば、下記のスキーム1および2を参照すること)である。フェニレン部分はQ_mで置換され、Qは、-C₁~C₈アルキル、-O-(C₁~C₈アルキル)、-ハロゲン、-ニトロまたは-シアノであり、mは、0~4の範囲の整数である。別の実施態様では、-Y_y-は、カーボネート基であってよい。

【0137】

50

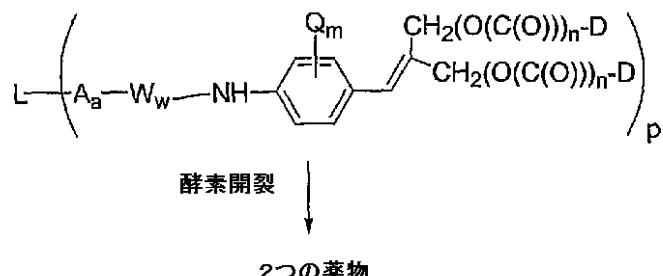
自己犠牲スペーサーの他の例は、2-アミノイミダゾール-5-メタノール誘導体およびオルトまたはパラ-アミノベンジルアセタールなどのPAB基に電子的に類似の芳香族化合物(Hay et al., 1999, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 9: 2237を参照すること)を含むがそれらに限定されない。置換および非置換4-アミノ酪酸アミド(Rodrigues et al., 1995, *Chemistry Biology* 2: 223を参照すること)、適切に置換されたビシクロ[2.2.1]およびビシクロ[2.2.2]環系(Storm et al., 1972, *J. Amer. Chem. Soc.* 94: 5815を参照すること)および2-アミノフェニルプロピオン酸アミド(Amsberry et al., 1990, *J. Org. Chem.* 55: 5867を参照すること)など、アミド結合を加水分解すると環化するスペーサーを用いてよい。グリシンのα-位置換アミン含有薬物の脱離(Kingsbury et al., 1984, *J. Med. Chem.* 27: 1447を参照すること)も、自己犠牲スペーサーの例である。

【0138】

一実施態様では、スペーサー単位は、次のスキーム

【0139】

【化51】



に示される、複数の薬物を組み込み、放出するために用いることができる分枝ビス(ヒドロキシメチル)スチレン(BHMS)単位である。式中、Qは、-C₁~C₈アルキル、-O-(C₁~C₈アルキル)、-ハロゲン、-ニトロまたは-シアノ、mは、0から4の範囲の整数、nは、0または1、pは、1から20の範囲にある。一実施態様では、-D部分は、同じである。さらに別の実施態様では、-D部分は、異なっている。

【0140】

米国特許出願公開第2005-0238649号に、他の適当なスペーサー単位が開示されている。この公開特許の開示は、参照によって本明細書に組み込まれる。

【0141】

(リガンド単位)

リガンド単位は、所定の標的細胞または細胞集団と会合する受容体、抗原またはその他の受容部分と結合、反応会合または複合体形成する任意の分子を適用範囲に含む。一態様では、リガンド単位は、リガンド単位が反応する特定の標的細胞または細胞集団に薬物単位を送達する(下記参照)ように作用する。そのようなリガンド単位は、例えば全長抗体などの大分子量蛋白質、抗体フラグメント、小分子量蛋白質、ポリペチドまたはペプチド、レクチン、糖蛋白質、非ペプチド、ビタミン、栄養輸送分子および任意のその他の細胞結合分子または物質を含むがそれらに限定されない。

【0142】

有用な非免疫反応蛋白質、ポリペチドまたはリガンドペプチドは、トランスフェリン、上皮細胞成長因子(「EGF」)、ボンベシン、ガストリン、ガストリン放出ペプチド、血小板由来成長因子、IL-2、IL-6、TGF- およびTGF- などの形質転換成長因子(「TGF」)、牛痘成長因子(「VGF」)、インシュリンおよびインシュリン様成長因子IおよびII、レクチン、ソマトスタチンおよび低密度リボ蛋白質由来のアポ蛋白質を含むがそれらに限定されない。

10

20

30

40

50

【0143】

有用なポリクローナル抗体は、免疫化動物の血清由来のものなどの、抗体分子の不均一集団である。当分野において既知のさまざまな手順を用いて対象抗原に対するポリクローナル抗体を作り出してよい。例えば、ポリクローナル抗体を作り出すために、対象抗原またはその誘導体を注射して、ウサギ、マウス、ラットおよびモルモットを含むがそれらに限定されないさまざまな宿主動物を免疫化してよい。宿主種に依存して、フロインドの（完全および不完全）アジュvant、水酸化アルミニウムなどの鉱物ゲル、リソレシチンなどの表面活性物質、プルロニック（pluronic）ポリオール、ポリアニオン、ペプチド、油乳化物、キーホールリンペットヘモシニアン、ジニトロフェノール、およびBCG（bacille Calmette-Guerin）およびCorynebacterium parvumなどの潜在的に有用なヒトアジュvantを含むがそれらに限定されない、さまざまなアジュvantを用いて免疫応答を増加させてよい。そのようなアジュvantも、当分野では公知である。

【0144】

有用なモノクローナル抗体は、特定の抗原決定基（例えば、細胞抗原（癌または自己免疫細胞抗原）、ウイルス抗原、微生物抗原、蛋白質、ペプチド、炭水化物、化学物質、核酸またはそれらの抗原結合フラグメント）に対する抗体の均一な集団である。当分野において既知の任意の技法を用いて対象抗原に対するモノクローナル抗体（mAb）を調製してよい。これらは、Kohler and Milstein（1975, Nature 256, 495-497）が最初に記載したハイブリドーマ技法、ヒトB細胞ハイブリドーマ技法（Kozbor et al., 1983, Immunology Today 4:72）およびEBV-ハイブリドーマ技法（Cole et al., 1985, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96）を含むがそれらに限定されない。そのような抗体は、IgG、IgM、IgE、IgAおよびIgDを含む任意の免疫グロブリンの種類およびそれらの任意の亜種であってよい。本発明において用いられるmAbを產生するハイブリドーマは、インビトロまたはインビボで培養してよい。

【0145】

有用なモノクローナル抗体は、ヒトモノクローナル抗体、ヒト化モノクローナル抗体、キメラモノクローナル抗体および機能活性抗体フラグメントを含むがそれらに限定されない。ヒトモノクローナル抗体は、当分野で既知の多数の技法のうちの任意のもの（例えば、Teng et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80:7308-7312, Kozbor et al., 1983, Immunology Today 4:72-79, Olsson et al., 1982, Meth. Enzymol. 92:3-16、および米国特許第5,939,598号および第5,770,429号を参照すること）によって作ってよい。

【0146】

さらに、ヒト部分と非ヒト部分との両方を含む、キメラモノクローナル抗体およびヒト化モノクローナル抗体などの組み換え抗体は、標準的な組み換えDNA技法を用いて作ることができ、有用な抗体である。（例えば、参照によって本明細書に全体として組み込まれるCabillyらの米国特許第4,816,567号およびBossらの米国特許第4,816,397号を参照のこと。）ヒト化抗体は、1つ以上の非ヒト種由来の相補性決定領域（CDR）とヒト免疫グロブリン分子由来の骨格領域とを有する非ヒト種由来の抗体分子である。（Queenの米国特許第5,585,089号を参照のこと。参照によってこの特許を本明細書に全体として組み込む。）例えば、国際特許出願公開第87/02671号、欧州特許出願公開第0 184 187号、欧州特許出願公開第0 171 496号、欧州特許出願公開第0 173 494号、国際特許出願公開第86/01533号、米国特許第4,816,567号、欧州特許出願公開第0 12 023号、

Berter et al., 1988, Science 240:1041-1043、Liu et al., 1987, Proc. Natl Acad. Sci. USA 84:3439-3443、Liu et al., 1987, J. Immunol. 139:3521-3526、Sun et al., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:214-218、Nishimura et al., 1987, Cancer. Res. 47:99-1005、Wood et al., 1985, Nature 314:446-449、Shaw et al., 1988, J. Natl. Cancer Inst. 80:1553-1559、Morrison, 1985, Science 229:1202-1207、Oi et al., 1986, Biotechniques 4:214、米国特許第5,225,539号、Jones et al., 1986, Nature 321:552-525、Verhoeven et al., 1988, Science 239:1534およびBeidler et al., 1988, J. Immunol. 141:4053-4060に記載されている方法を用いる当分野で既知の組み換えDNA技法によって、そのようなキメラモノクローナル抗体およびヒト化モノクローナル抗体を產生させることができる。これらの文献を参照によって本明細書に全体としてそれぞれ組み込む。

【0147】

トランスジェニックマウスを用いて、内因性免疫グロブリン重鎖遺伝子および軽鎖遺伝子を発現することはできないが、ヒト重鎖遺伝子および軽鎖遺伝子を発現することはできる完全ヒト抗体を產生させることができる。選択された抗原、例えば、本発明のポリペチドのすべてまたは一部によって通常の方法でトランスジェニックマウスを免疫化する。通常のハイブリドーマ技法を用いて、抗原に対するモノクローナル抗体を得ることができる。トランスジェニックマウスに宿されたヒト免疫グロブリン導入遺伝子は、B細胞分化時に再構成され、続いてクラススイッチ動作および体細胞変異する。従って、そのような技法を用いると、治療効力のあるIgG、IgA、IgMおよびIgE抗体を作り出すことができる。ヒト抗体を製造するためのこの技法の概要については、Lönnberg and Huszar (1995, Int. Rev. Immunol. 13:65-93)を参考すること。ヒト抗体およびヒトモノクローナル抗体を作り出すためのこの技法と、そのような抗体を作り出すためのプロトコルとの詳細な考察について(例えば、米国特許第5,625,126号、第5,633,425号、第5,569,825号、第5,661,016号および第5,545,806号を参考すること。これらの特許は、参考によって本明細書に全体としてそれぞれ組み込まれる)。例えば、Abgenix, Inc (Freemont, CA)およびMedarex (Sunnyvale, CA)から、他のヒト抗体が市販されている。

【0148】

「誘導選択」と呼ばれる技法を用いて、選択されたエピトープを認識する完全ヒト抗体を作り出すことができる。この手法では、選択された非ヒトモノクローナル抗体、例えばマウス抗体を用いて同じエピトープを認識する完全ヒト抗体の選択を誘導する。(例えば、Jaspers et al., 1994, Biotechnology 12:899-903を参考すること)。ファージ提示ライプラリ(Hoogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol. 227:381、Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222:581、Quan and Carter, 2002. The rise of monoclonal antibodies as therapeutics, In Anti-19E and Allergic Disease, Jardieu and Fick Jr., eds., Marcel Dekker, New York, NY, Chapter 20, pp. 427-469)を含む、当分野で既知のさまざまな技法を用いて、ヒト抗体を作り出すことができる。

【0149】

10

20

30

30

40

50

実施態様によって、抗体は、单一特異的である。抗体は、二重特異性抗体であってもよい。二重特異性抗体を作るための方法は、当分野で既知である。従来の完全長二重特異性抗体の作製方法は、2つの鎖が異なる特異性を有する場合の2つの免疫グロブリン重鎖-軽鎖対の同時発現を利用している (Milestone et al., 1983, *Nature* 305: 537-539を参照すること)。免疫グロブリン重鎖と軽鎖とはランダムに並んでいるので、これらのハイブリドーマ(クアドローマ)は、可能性として10の異なる抗体分子の混合物を產生し、うち1つだけが正しい二重特異性構造を有する。国際特許出願公開第93/08829号およびTraunec ker et al., 1991, *EMBO J.* 10: 3655-3659に同様な手順が開示されている。

10

【0150】

別の手法によると、所望の結合特異性(抗体-抗原結合部位)を有する抗体可変分域を免疫グロブリン不变分域配列と融合させる。通常、融合は、ヒンジ分域、C_H2分域およびC_H3分域の少なくとも一部を含む免疫グロブリン重鎖不变領域と行われる。軽鎖結合に必要な部位を含む第1の重鎖不变領域(C_H1)が融合体の少なくとも1つの中に存在すると好ましい。免疫グロブリン重鎖融合体、および望むなら、免疫グロブリン軽鎖をコード化する配列を有する核酸を、別々の発現ベクターに挿入し、適当な宿主生物に同時形質移入する。構築に用いられる3つのポリペプチド鎖の等しくない比が最適な収率を提供する実施態様では、これによって、3つのポリペプチドフラグメントの相互比率を調節する上で大きな柔軟性が得られる。しかし、少なくとも2つのポリペプチド鎖を等比で発現させると高い収率の結果が得られるとき、2つまたは3つすべてのポリペプチド鎖のコード化配列を1つの発現ベクターに挿入することが可能である。

20

【0151】

例えば、二重特異性抗体は、第1の結合特異性を有するハイブリッド免疫グロブリン重鎖を一方のアームに、ハイブリッド免疫グロブリン重鎖-軽鎖対(第2の結合特異性を提供する)を他方のアームに有してよい。二重特異性分子の一方の半分にしか免疫グロブリン軽鎖が存在しないため分離が容易になるので、この非対称構造によって、所望の二重特異性化合物を望ましくない免疫グロブリン鎖結合から分離しやすくなる(国際特許出願公開第94/04690号を参照すること。この特許は、参照によって本明細書に全体として組み込まれる)。

30

【0152】

二重特異性抗体を產生させる方法のこれ以上の詳細については、Suresh et al., 1996, *Methods in Enzymology* 121: 210、Rodrigues et al., 1993, *J. Immunology* 151: 6954-6961、Carter et al., 1992, *Bio/Technology* 10: 163-167、Carter et al., 1995, *J. Hematology* 4: 463-470、Merchant et al., 1998, *Nature Biotechnology* 16: 677-681を参照すること。そのような技法を用いて、本明細書に定義される。疾患の治療または予防のための二重特異性抗体を調製してよい。

40

【0153】

欧州特許出願公開第0 105 360号にも、二元機能抗体が記載されている。この参考文献が開示しているように、ハイブリッド抗体または二元機能抗体を、生物学的に、例えば細胞融合技法によるか、または化学的に、特に架橋剤またはジスルフィド橋かけ形成試薬を用いるかのどちらかによって誘導してよく、抗体全体または抗体フラグメントを含んでよい。例えば、国際特許出願公開第83/03679号および欧州特許出願公開第0 217 577号に、そのようなハイブリッド抗体を得るための方法が開示されている。参照によってこれらの公開特許をともに本明細書に組み込む。

【0154】

抗体は、所望の標的抗原(例えば、癌細胞抗原、ウイルス抗原または微生物抗原)ある

50

いは標的細胞（単数または複数）またはマトリックスに結合したその他の抗体に免疫特異性結合する抗体の機能的に活性なフラグメント、誘導体または類縁体でもあってよい。この点で、「機能的に活性な」とは、フラグメント、誘導体または類縁体が、フラグメント、誘導体または類縁体を誘導した元の抗体が認識した同じ抗原を認識する抗・抗イディオタイプ抗体を誘発させることを意味する。実施態様の例では、抗原を特異的に認識するCDR配列のC末端である、骨格およびCDR配列を削除して、免疫グロブリン分子のイディオタイプの抗原性を強めることができる。どのCDR配列が抗原に結合するか特定するために、当分野で既知の任意の結合アッセイ法（例えばBIAcoreアッセイ）による抗原との結合アッセイで、CDR配列を含む合成ペプチドを用いてよい（Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md, Kabat et al., 1980, J. Immunology 125 (3) : 961 - 969を参照すること）。

【0155】

その他の有用な抗体は、 $F(ab')_2$ フラグメント、 Fab' フラグメント、 Fab フラグメント、 Fvs 、单鎖抗体（SCA）（例えば、米国特許第4,946,778号、Bird, 1988, Science 242: 423 - 42, Huston et al., 1988, Proc. Natl. Acad. Sot USA 85: 5879 - 5883およびWard et al., 1989, Nature 334: 544 - 54に記載されている）、 $scFv$ 、 $sc-Fv-Fc$ 、 $FvdsFv$ 、ミニボディー、ダイアボディー、トライアボディー、テトラボディー、およびCDRを含み、抗体と同じ特異性を有する任意の他の分子など、しかしそれらに限定されない抗体のフラグメントを含む。

【0156】

他の実施態様では、抗体は、例えば、抗体がN末端またはC末端のどちらかで、共有結合（例えばペプチド結合）を介して、抗体でない別の蛋白質のアミノ酸配列（または一部、通常、蛋白質の少なくとも10、20または50のアミノ酸部分）と融合している、抗体の融合蛋白質または機能的に活性なそのフラグメントである。実施態様によって、抗体またはそのフラグメントは、不变分域のN末端で、共有結合によって他の蛋白質に結合してよい。

【0157】

抗体は、例えば、共有結合によって結合しても抗体が抗原結合免疫特異性を保持することが許される限り、任意の種類の分子の共有結合連結によってどちらか一方を修飾した類縁体および誘導体も含んでよい。例えば、抗体の誘導体および類縁体は、例えばグリコシル化、アセチル化、PEG化、リン酸化、アミド化、既知の保護基/遮蔽基による誘導体化、蛋白分解開裂、細胞抗体単位またはその他の蛋白質への結合等によってさらに修飾されたものを含む。特異的化学開裂、アセチル化、ホルミル化、ツニカマイシン存在下の代謝合成または類似法を含むがそれらに限定されない多数の化学修飾法の任意のものを既知の技法で実行してよい。さらに、類縁体または誘導体は、1つ以上の非天然アミノ酸を含んでよい。

【0158】

特定の実施態様では、抗体の結合親和力および/またはその他の生物的性質を改善することが望ましいことがある。例えば、米国特許出願公開第2006/0003412号および第2006/0008882号を参照すること。抗体核酸中に適切なヌクレオチド変化を導入するか、またはペプチド合成によって、抗体のアミノ酸配列変化形を調製する。そのような変更は、例えば、抗体のアミノ酸配列内の残基の削除、および/または挿入、および/または置換を含む。最終構築物が所望の特性を所有するものとして、削除、挿入および置換の任意の組み合わせを施して最終構築物に到達する。アミノ酸変化は、グリコシル化部位の数または位置を変化させるなど、抗体の翻訳後プロセスも変化させること

10

20

30

40

50

がある。

【0159】

Cunningham and Wells (1989, Science 244: 1081-1085) によって記載された、変異に有利な位置である抗体の特定の残基または領域を特定するための有用な方法は、「アラニン走査型変異」と呼ばれる。この方法では、残基（例えば、arg、asp、his、lys および glu などの荷電残基）または標的残基の群を特定し、中性または負荷電アミノ酸（通常、アラニンまたはポリアラニン）で置換し、アミノ酸と抗原との相互干渉を変化させる。次に、さらに別の変形または他の変形を置換部位に導入して、置換に対して機能感受性を示すアミノ酸位置を詳しく調べる。従って、アミノ酸配列変化を導入するための部位を予め決めるが、変異の性質そのものを予め決める必要はない。例えば、所定の部位における変異の働きを解析するために、標的コドンまたは領域でアラニン走査型変異またはランダム変異を実行し、発現した抗体変形を所望の活性で検索する。10

【0160】

アミノ酸配列挿入は、長さが 1 残基から 100 以上の残基を含むポリペチドの範囲のアミノ末端融合および / または C 末端融合、ならびに単一または複数アミノ酸残基の配列内挿入を含む。末端挿入の例は、N 末端メチオニル残基を有する抗体、または細胞毒性ポリペチドに融合した抗体を含む。

【0161】

別の種類の変形は、アミノ酸置換変形である。これらの変形では、抗体分子中の少なくとも 1 つのアミノ酸残基が異なる残基によって置換されている。置換変異にとって最も重要な部位は、高頻度可変領域を含むが、骨格領域変化も含まれる。20

【0162】

(a) 例えばシート立体配座またはヘリックス立体配座としての置換区域のポリペチド主鎖の構造、(b) 標的部位における分子の電荷または疎水性、あるいは (c) 側鎖のかさ（嵩）を維持することに対する効果が顕著に異なる置換を選べば、抗体の生物学的性質の顕著な変更が実現される。天然残基は、共通の側鎖特性によって、

- (1) 疎水性：ノルロイシン、met、ala、val、leu、ile、
- (2) 中性親水性：cys、ser、thr、
- (3) 酸性：asp、glu、
- (4) 塩基性：asn、gln、his、lys、arg、
- (5) 主鎖配向に影響する残基：gly、pro、
- (6) 芳香族：trp、tyr、phe

30

に分類される。非保存置換は、これらの種類の 1 つの構成残基を別の種類に交換することになる。

【0163】

置換変形の特定の種類は、親抗体（例えばヒト化抗体またはヒト抗体）の 1 つ以上の高頻度可変領域残基を置換することを含む。通常、さらに開発を続けるために選択される、結果として得られた変形（単数または複数）は、元になっている親抗体と比較して、生物学的性質が改善されたものである。そのような置換変形を発生させるための簡便な方法は、ファージ提示を用いる親和性成熟を含む。簡単に言えば、いくつかの高頻度可変領域部位（例えば 6 ~ 7 部位）を変異させて各部位の可能なアミノ置換をすべて発生させる。こうして発生させた抗体変形を、各粒子内の M13 パッケージ化遺伝子 I II 産物への融合体として、線維状ファージ粒子から一価法で提示させる。次に、ファージ提示変形の生物活性（例えば結合親和力）を検索する。変更するための高頻度可変領域部位の候補を特定するために、アラニン走査変異生成を実行して抗原結合に顕著に寄与する高頻度可変領域残基を特定してよい。あるいは、さらに、抗原 - 抗体複合体の結晶構造を解析して抗体と抗原との間の接觸点を特定すると有益なことがある。そのような接觸残基および隣接残基は、本明細書の精密化技法による置換の候補である。そのような変形を発生させたら、変形のパネルを検索試験に付し、1 つ以上の関連アッセイにおいて優れた特40

50

性を有する抗体を選び出し、さらに開発してよい。

【0164】

例えば、抗体の抗原依存性細胞媒介細胞毒性（A D C C）および／または補体依存性細胞毒性（C D C）を強めるように抗体のエフェクター機能を変更すると望ましいことがある。抗体のF c領域に1つ以上のアミノ酸置換を導入することによってこれを実現してよい。あるいは、さらに、F c領域にシステイン残基（単数または複数）を導入し、それによって、この領域における鎖間ジスルフィド結合形成を可能にしてよい。こうして生成したホモ二量体抗体は、内部取り込み能力が改善され、および／または補体媒介殺細胞および抗体依存性細胞毒性（A D C C）が増加することがある。例えば、Caron et al. , 1992, J. Exp. Med. 176:1191-1195およびShopes, 1992, J. Immunol. 148:2918-2922を参考すること。Wolff et al. , 1993, Cancer Research 53:2560-2565に記載されているヘテロ二元機能架橋剤を用いて、抗腫瘍活性が強化されたホモ二量体抗体も調製してよい。あるいは、重複F c領域を有し、それによって、補体溶菌作用およびA D C C能力が改善された抗体を設計してよい。例えば、Stevenson et al. , 1989, Anti-Cancer Drug Design 3:219-230を参考すること。

【0165】

抗体の血清半減期を増加させるために、例えば米国特許第5,739,277号に記載されているように、抗体（特に抗体フラグメント）にサルベージ受容体結合エピトープを組み込んでよい。本明細書で用いられる用語「サルベージ受容体結合エピトープ」は、Ig G分子のインビボ血清半減期を増加させる原因となる、Ig G分子のF c領域のエピトープ（例えばIg G₁、Ig G₂、Ig G₃またはIg G₄）を指す。

【0166】

抗体の不变領域中の保存位置をグリコシル化してよい（Jeffris and Lund, 1997, Chem. Immunol. 65:111-128、Wright and Morrison, 1997, TibTECH 15:26-32を参考すること）。免疫グロブリンのオリゴ糖側鎖は、蛋白質の機能（Boyd et al. , 1996, Mol. Immunol. 32:1311-1318、Wittwe and Howard, 1990, Biochem. 29:4175-4180を参考すること）と、糖蛋白質の立体配座および示される三次元表面を左右する糖蛋白質の部分間の分子内相互作用（上記のJeffris and Lund、Wylls and Wagner, 1996, Current Opin. Biotech. 7:409-416を参考すること）とに影響する。オリゴ糖は、特異的な認識構造によって、所定の糖蛋白質を特定の分子への標的とするようにも働いてよい。例えば、ガラクトース欠損Ig Gでは、オリゴ糖部分は、C_H2間空間から「反転して」飛び出し、末端N-アセチルグルコサミン残基がマンノース結合蛋白質と結合するために利用可能になる（Malhotra et al. , 1995, Nature Med. 1:237-243を参考すること）ことが報告された。チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞中で產生されたCAMPATH-1H（ヒトリソウ球のCDw52抗原を認識する組み換えヒト化マウスモノクローナルIg G1抗体）から、グリコペプチダーゼによってオリゴ糖を除去すると、補体媒介溶菌（CMCL）が完全に減少する結果となつた（Boyd et al. , 1996, Mol. Immunol. 32:1311-1318）が、ノイラミニダーゼを用いてシアル酸残基を選択除去しても、CMCLの低下はまったくなかった。抗体のグリコシル化が抗体依存性細胞毒性（A D C C）に影響することも報告された。詳しくは、二分割G1cNAcの形成を触媒するグリコシルトランスフェラーゼである（1,4）-N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼIII（GnT III）をテトラサイクリン調節発現するCHO細胞では、A D C C活性が改善されることが報告された（Umana et al. , 1999, Mature Biotech. 17:176-180を参考）。

10

20

30

40

50

【0167】

抗体のグリコシル化は、通常、N-結合またはO-結合のどちらかである。N-結合は、炭水化物部分がアスパラギン残基の側鎖に結合することを指す。アスパラギン-X-セリンおよびアスパラギン-X-スレオニンのトリペプチド配列が炭水化物部分のアスパラギン側鎖への酵素結合のための認識配列である。ここで、Xは、プロリン以外の任意のアミノ酸である。従って、これらのトリペプチド配列のどちらかがポリペプチド中に存在すると、グリコシル化可能な部位が作り出される。O-結合グリコシル化は、N-アセチルガラクトサミン、ガラクトースまたはキシロースといった糖の1つがヒドロキシアミノ酸、最も普通にはセリンまたはスレオニンへの結合することを指すが、5-ヒドロキシプロリンまたは5-ヒドロキシリシンも用いてよい。

10

【0168】

抗体のグリコシル化変形は、抗体のグリコシル化パターンが変更された変形である。変更するとは、抗体中の1つ以上の炭水化物部分を削除し、1つ以上の炭水化物部分を抗体に加え、グリコシル化の組成（グリコシル化パターン）、グリコシル化の程度または類似の変数を変化させることを意味する。

【0169】

グリコシル化部位を抗体へ加えることは、上記に記載のトリペプチド配列（N-結合グリコシル化部位の場合）の1つ以上を含むようにアミノ酸配列を変えることによって簡便に実現される。変更は、1つ以上のセリンまたはスレオニン残基を元の抗体（O-結合グリコシル化部位の場合）の配列へ加えること、または置換することによっても行ってよい。同様に、抗体の野生型グリコシル化部位内のアミノ酸変更によってグリコシル化部位を除去することを実現してよい。

20

【0170】

通常、根底となる核酸配列を変更することによってアミノ酸配列を変更する。これらの方法は、天然源からの単離（天然アミノ酸配列変形の場合）またはオリゴヌクレオチド媒介（または部位指向的）変異誘発による調製、PCR変異誘発、および既に調製済みの抗体の変形または非変形抗体のカセット変異誘発を含むがそれらに限定されない。

【0171】

抗体のグリコシル化（グリコシル化パターンを含む）は、アミノ酸配列または根底となるヌクレオチド配列を変えないで変更してもよい。グリコシル化は、抗体を発現するためには用いられる宿主細胞に大いに依存する。治療薬候補としての組み換え糖蛋白質、例えば抗体の発現に用いられる細胞型は、野生型細胞であることはほとんどなく、抗体のグリコシル化パターンには顕著な変化を期待してよい。例えば、Hse et al. , 1997, J. Biol. Chem. 272: 9062-9070を参照すること。宿主細胞の選択に加えて、抗体の組み換え產生時のグリコシル化に影響を及ぼす因子は、成長モード、培地調製物、培養密度、酸素供給、pH、精製方式および類似因子を含む。オリゴ糖産生に関与する特定の酵素を導入するかまたは過剰発現させることを含む、特定の宿主生物中に実現されるグリコシル化パターンを変更するためのさまざまな方法が提案された（例えば、米国特許第5,047,335号、第5,510,261号および第5,278,299号を参照すること）。例えば、エンドグリコシダーゼH（Endo H）を用いて、グリコシル化、または特定の種類のグリコシル化を糖蛋白質から酵素的に除去してよい。さらに、組み換え宿主細胞を遺伝子操作して、例えば、特定の種類の多糖類の処理を欠失させてよい。これらの技法および類似の技法は、当分野で公知である。

30

【0172】

レクチンクロマトグラフィー、NMR、質量スペクトル分析、HPLC、GPC、単糖類組成分析、逐次酵素消化、および高pH陰イオン交換クロマトグラフィーを用いて電荷によりオリゴ糖を分離するHPAEC-PADを含む、通常の炭水化物分析技法によって、抗体のグリコシル化構造を容易に分析することができる。分析用にオリゴ糖を放出させるための方法も既知であり、酵素処理法（通常、ペプチド-N-グリコシダーゼF/エンド-β-ガラクトシダーゼを用いて実行される）、強アルカリ性環境を用いて主にO-結

40

50

合構造を放出させる脱離法、および無水ヒドラジンを用いてN-結合オリゴ糖とO-結合オリゴ糖との両方を放出させる化学法を含むがそれらに限定されない。

【0173】

抗体は、Fc受容体と相互作用するアミノ酸残基を変更（例えば、置換、削除または添加）してよい。詳しくは、抗体は、抗Fc分域とFcRn受容体との間の相互作用に関与すると特定されるアミノ酸残基を変更した抗体を含む（例えば、国際特許出願公開第97/34631号を参照すること。この特許は、参照によって本明細書に全体として組み込まれる）。

【0174】

癌細胞抗原に免疫特異的な抗体は、例えば、販売会社から購入するか、あるいは、例えば化学合成または組み換え発現技法などの当業者に既知の任意の方法によって作り出してよい。癌細胞抗原に免疫特異的な抗体をコード化するヌクレオチド配列は、例えば、GenBankデータベースまたは類似データベース、学術刊行物、または定型的クローン化および配列解析によって入手してよい。

10

【0175】

特定の実施態様では、癌の治療または予防のための既知の抗体を用いてよい。癌細胞抗原に免疫特異的な抗体は、購入するか、あるいは、例えば組み換え発現技法などの当業者に既知の任意の方法によって作り出してよい。癌細胞抗原に免疫特異的な抗体をコード化するヌクレオチド配列は、例えば、GenBankデータベースまたは類似データベース、学術刊行物、または定型的クローン化および配列解析によって入手してよい。

20

【0176】

発現が癌、細胞増殖障害または腫瘍の細胞上での発現と相関関係にある任意の標的蛋白質を含む、事実上すべての標的蛋白質を、抗体の標的とすることができます。実施態様によって、抗原は、1つ以上の正常な非癌細胞（単数または複数）上と比較すると、1つ以上の特定の種類（単数または複数）の癌細胞の表面上に特異的に発現されるポリペチド、蛋白質またはその他の分子などの腫瘍関連抗原である。多くの場合、そのような腫瘍関連抗原は、癌細胞の表面では非癌細胞の表面より多く発現する。そのような腫瘍関連細胞表面抗原を特定することによって、抗体利用治療による崩壊のために癌細胞を特異的に標的化することが可能になった。

【0177】

30

適当な標的蛋白質は、T細胞によって認識されるヒト腫瘍抗原（Robbins and Kawakami, 1996, Curr. Opin. Immunol. 8: 628-636、参照によって本明細書に全体として組み込まれる）；gp100、MART-1/MelanA、TRP-1（gp75）、チロシナーゼを含むメラニン細胞系統蛋白質；腫瘍特異性広域共有抗原、MAGE-1、MAGE-3、BAGE、GAGE-1、GAGE-1、N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ-V、p15；腫瘍特異性変異抗原、ベータ-カテニン、MUM-1、CDK4；乳腺、卵巣、子宮頸部およびすい臓癌腫のための非メラノーマ抗原、HER-2/neu、ヒト乳頭腫ウイルス-E6、-E7、MUC-1；KS1/4汎癌腫抗原などの癌抗原（Perez and Walker, 1990, J. Immunol. 142:3662-3667、Bumal, 1988, Hybridoma 7(4):407-415）；卵巣癌腫抗原（CA125）（Yu et al., 1991, Cancer Res. 51(2):468-475）；前立腺酸性リン酸塩（Tailor et al., 1990, Nucl. Acids Res. 18(16):4928）；前立腺特異性抗原（Henttu and Vihko, 1989, Biochem. Biophys. Res. Comm. 160(2):903-910、Israel et al., 1993, Cancer Res. 53:227-230）；メラノーマ関連抗原p97（Estin et al., 1989, J. Natl. Cancer Inst. 81(6):445-446）；メラノーマ抗原gp75（Vijayasardahl et al., 1990, J. Exp. 40

40

50

Med. 171(4):1375-1380);高分子量メラノーマ抗原(HMW-MAA)(Natali et al., 1987, Cancer 59:55-63;Mittelman et al., 1990, J Clin. Invest. 86:2136-2144);前立腺特異性膜抗原;癌胎児性抗原(CEA)(Foon et al., 1994, Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 13:294);多形性上皮ムチン抗原;人乳脂肪球抗原;CEA、TAG-72(Yokata et al., 1992, Cancer Res. 52:3402-3408)、CO17-1A(Ragnhammar et al., 1993, Int. J. Cancer 53:751-758)などの結直腸腫瘍関連抗原;GICA19-9(Herlyn et al., 1982, J. Clin. Immunol. 2:135)、CTA-1およびLEA;バーキットリンパ腫抗原-38.13;CD19(Ghetie et al., 1994, Blood 83:1329-1336);ヒトB-リンパ腫抗原-CD20(Reff et al., 1994, Blood 83:435-445);CD33(Sgouros et al., 1993, J. Nucl. Med. 34:422-430);ガングリオシドGD2(Saleh et al., 1993, J. Immunol. 151, 3390-3398)、ガングリオシドGD3(Shitara et al., 1993, Cancer Immunol. Immunother. 36:373-380)、ガングリオシドGM2(Livingston et al., 1994, J. Clin. Oncol. 12:1036-1044)、ガングリオシドGM3(Hoop et al., 1993, Cancer Res. 53:5244-5250)などのメラノーマ特異性抗原;T抗原DNA腫瘍ウイルスおよびRNA腫瘍ウイルスの外皮抗原を含むウイルス誘起腫瘍抗原などの腫瘍特異性移植型の細胞表面抗原(TSTA);結腸のCEA、膀胱腫瘍癌胎児性抗原などの癌胎児性抗原-アルファ-胎児性蛋白質(Helstrom et al., 1985, Cancer Res. 45:2210-2188);ヒト肺癌腫抗原L6、L20(Helstrom et al., 1986, Cancer Res. 46:3917-3923)などの分化抗原;纖維肉腫の抗原、ヒト白血病T細胞抗原-Gp37(Bhattacharya-Chatterjee et al., 1988, J. Immunol. 141:1398-1403);ネオ糖蛋白質、スフィンゴリピド、EGFR(上皮成長因子受容体)などの乳癌抗原、HER2抗原(p185HER2)、多形性上皮ムチン(PEM)(Hilkens et al., 1992, Trends in Bio. Chem. Sci. 17:359);悪性ヒトリンパ球抗原-APO-1(Bernhard et al., 1989, Science 245:301-304);胎児赤血球、初期内胚葉に見いだされるI抗原、成体赤血球および未着床胚に見いだされるI抗原、胃腺癌に見いだされるI(Ma)、乳房上皮に見いだされるM18、M39、骨髄細胞に見いだされるSSEA-1、結直腸癌に見いだされるVEP8、VEP9、My1、VIM-D5、D156-22、TRA-1-85(血液型H)、結腸腺癌に見いだされるC14、肺腺癌に見いだされるF3、胃癌に見いだされるAH6、Yハブテン、胎生がん細胞に見いだされるLey、TL5(血液型A)、A431細胞に見いだされるEGF受容体、すい臓癌に見いだされるE1シリーズ(血液型B)、胎生癌腫細胞に見いだされるFC10.2、胃腺癌抗原、腺癌に見いだされるCO-514(血液型Ley)、腺癌に見いだされるNS-10、CO-43(血液型Ley)、A431細胞のEGF受容体に見いだされるG49、結腸腺癌に見いだされるMH2(血液型ALey/Ley)、結腸癌に見いだされる19.9、胃癌ムチン、骨髄細胞に見いだされるT5A7、メラノーマに見いだされるR24、胎生癌腫細胞に見いだされる4.2、GD3、D1.1、OFA-1、GM2、OFA-2、GD2およびM1:22:25:8、ならびにSSEA-3およびSSEA-4などの分化抗原(Feizzi, 1985, Nature 314:53-57)を含む。

実施態様によって、抗体は、癌の治療に有用である。癌の治療に利用可能な抗体の例は、非ホジキンリンパ腫を有する患者の治療のためのキメラ抗CD20モノクローナル抗体であるリツキサン（登録商標）（リツキシマブ、ジェネンテック）、卵巣癌の治療のためのマウス抗体であるオバレックス（アルタレックス社、マサチューセッツ州）、結直腸癌の治療のためのマウスIgG_{2a}抗体であるパノレックス（グラクソウェルカム、ノースカロライナ州）、頭部癌および頸部癌などの上皮細胞成長因子陽性癌の治療のための抗EGFR IgGキメラ抗体であるセツキシマブエルビツクス（イムクローンシステムズ社、ニューヨーク州）、肉腫の治療のためのヒト化抗体であるビタキシン（メドイミューン社、メリーランド州）、慢性リンパ球白血病（CLL）の治療のためのヒト化IgG₁抗体であるキャンパスI/H（ロイコサイト、マサチューセッツ州）、急性骨髓性白血病（AML）の治療のためのヒト化抗CD33 IgG抗体であるスマートM195（プロテインデザインラブズ社、カリフォルニア州）、非ホジキンリンパ腫の治療のためのヒト化抗CD22 IgG抗体であるリンフォサイド（イムノメディックス社、ニュージャージー州）、非ホジキンリンパ腫の治療のためのヒト化抗HLA-DR抗体であるスマートID10（プロテインデザインラブズ社、カリフォルニア州）、非ホジキンリンパ腫の治療のための放射性元素標識化マウス抗HLA-DR10抗体であるオンコリム（テクニクローン社、カリフォルニア州）、ホジキン氏病または非ホジキンリンパ腫の治療のためのヒト化抗CD2 mAbであるアロミューン（バイオトランスplant、カリフォルニア州）、肺癌および結直腸癌の治療のための抗VEGFヒト化抗体であるアバスチン（ジェネンテック社、カリフォルニア州）、非ホジキンリンパ腫の治療のための抗CD22抗体であるエプラツザマブ（イムノメディックス社、ニュージャージー州およびアムジェン、カリフォルニア州）、および結直腸癌の治療のためのヒト化抗CEA抗体であるシーサイド（イムノメディックス社、ニュージャージー州）を含むがそれらに限定されない。
10

【0179】

実施態様によって、抗体は、以下の抗原に対する抗体である（癌の例は括弧の中に示される）。CA125（卵巣癌）、CA15-3（癌腫）、CA19-9（癌腫）、L6（癌腫）、ルイスY（癌腫）、ルイスX（癌腫）、アルファフェト蛋白質（癌腫）、CA242（結直腸癌）、胎盤アルカリホスファターゼ（癌腫）、前立腺特異性膜抗原（前立腺癌）、EpHB2、TMEFF2、前立腺酸性ホスファターゼ（前立腺癌）、上皮増殖因子（癌腫）、MAGE-1（癌腫）、MAGE-2（癌腫）、MAGE-3（癌腫）、MAGE-4（癌腫）、抗トランスフェリン受容体（癌腫）、p97（メラノーマ）、MUC1-KLH（乳癌）、CEA（結直腸癌）、gp100（メラノーマ）、MART1（メラノーマ）、前立腺特異性抗原（前立腺癌）、IL-2受容体（T細胞白血病およびリンパ腫）、CD20（非ホジキンリンパ腫）、CD52（白血病）、CD33（白血病）、CD22（リンパ腫）、ヒト絨毛膜ゴナドトロピン（癌腫）、CD38（多発性骨髓腫）、CD40（リンパ腫）、ムチン（癌腫）、P21（癌腫）、MPG（メラノーマ）およびNeu癌遺伝子産物（癌腫）。いくつかの特異的な有用抗体は、BR96 mAb（Trail et al., 1993, Science 261:212-215）、BR64（Trail et al., 1997, Cancer Research 57:100-105）、S2C6 mAb（Francisco et al., 2000, Cancer Res. 60:3225-3231）などのCD40抗原に対するmAb、または米国特許出願公開第2003-0211100号および第2002-0142358号に開示されているようなその他の抗CD40抗体、1F6 mAbおよび2F2 mAbなどのCD70抗原に対するmAb、およびAC10（Bowen et al., 1993, J. Immunol. 151:5896-5906）、Wahl et al., 2002, Cancer Res., 62(13):3736-42）またはMDX-0060（米国特許出願公開第2004-0006215号）などのCD30抗原に対するmAbを含むがそれらに限定されない。腫瘍関連抗原に結合するその他の内在化抗体を用いてよく、概説されている（Franke et al., 2000, Cancer Biother. Radiopharm. 15: 20

459 76、Murray, 2000, Semin. Oncol. 27:64
 70; Breitling, F., and Dubel, S., Recombinant Antibodies, John Wiley, and Sons, New York, 1998).

【0180】

別の特定の実施態様では、自己免疫疾患の治療または予防のために既知の抗体を用いる。自己免疫抗体の產生を担当する細胞の抗原に免疫特異性の抗体は、任意の組織（例えば大学の科学者または会社）から入手することができ、あるいは、例えば化学合成法または組み換え発現技法など、当業者に既知の任意の方法によって作り出してよい。

【0181】

自己免疫疾患の治療に免疫特異的である有用な抗体は、抗核抗体、抗d s DNA抗体、抗s s DNA抗体、抗カルジオリピン抗体IgM、IgG、抗リン脂質抗体IgM、IgG、抗S M抗体、抗ミトコンドリア抗体、甲状腺自己抗体、抗マイクロゾーム抗体、抗チログロブリン抗体、抗S CL - 70抗体、抗J o抗体、抗U 1 R N P抗体、抗L a / S S B抗体、抗S S A抗体、抗S S B抗体、抗壁細胞抗体、抗ヒストン抗体、抗R N P抗体、抗C - A N C A抗体、抗P - A N C A抗体、抗セントロメア抗体、抗フィブリラリン抗体および抗G B M抗体を含むがそれらに限定されない。

【0182】

特定の実施態様では、有用な抗体は、標的細胞上に発現した受容体または受容体複合体と結合してよい。受容体または受容体複合体は、免疫グロブリン遺伝子スーパーファミリーメンバー、TNF受容体スーパーファミリーメンバー、インテグリン、サイトカイン受容体、ケモカイン受容体、主要組織適合蛋白質、レクチンまたは補体制御蛋白質を含んでよい。適当な免疫グロブリンスーパーファミリーメンバーの非限定的な例は、CD 2、CD 3、CD 4、CD 8、CD 19、CD 22、CD 28、CD 79、CD 90、CD 152 / CTLA - 4、PD - 1およびICOSである。適当なTNF受容体スーパーファミリーメンバーの非限定的な例は、CD 27、CD 40、CD 95 / Fas、CD 134 / OX 40、CD 137 / 4 - 1BB、TNF - R 1、TNFR - 2、RANK、TACI、BCMA、破骨細胞分化抑制因子、Apo 2 / TRAIL - R 1、TRAIL - R 2、TRAIL - R 3、TRAIL - R 4およびAPO - 3である。適当なインテグリンの非限定的な例は、CD 11a、CD 11b、CD 11c、CD 18、CD 29、CD 41、CD 49a、CD 49b、CD 49c、CD 49d、CD 49e、CD 49f、CD 103およびCD 104である。適当なレクチンの非限定的な例は、C型、S型およびI型レクチンである。

【0183】

ある実施態様では、リガンドは、自己免疫疾患に関連する活性化リンパ球と結合する。

【0184】

別の特定の実施態様では、ウイルス抗原または微生物抗原に免疫特異的な有用なリガンドは、モノクローナル抗体である。本明細書で用いられる用語「ウイルス抗原」は、免疫応答を誘発することができる任意のウイルスペプチド、ポリペチド蛋白質（例えばHIV g p 120、HIV nef、RSV F糖蛋白質、インフルエンザウイルスノイラミニダーゼ、インフルエンザウイルスヘムアグルチニン、HTLV tax、単純ヘルペスウイルス糖蛋白質（例えばg B、g C、g Dおよびg E）およびB型肝炎表面抗原）を含むがそれらに限定されない。本明細書で用いられる用語「微生物抗原」は、免疫応答を誘発することができる任意の微生物ペプチド、ポリペチド、蛋白質、糖、多糖類または脂質分子（例えば、細菌、真菌、病原性原生動物、あるいは例えばLPSおよび莢膜多糖5 / 8を含む酵母ポリペチド）を含むがそれらに限定されない。

【0185】

ウイルス抗原または微生物抗原に対して免疫特異的な抗体は、購入してよく、または、例えば化学合成技法または組み換え発現技法などの当業者に既知の任意の方法によって作り出してよい。ウイルス抗原または微生物抗原に対して免疫特異的な抗体をコード化する

10

20

30

40

50

スクレオチド配列は、例えば、GenBankデータベースまたは類似データベース、学術刊行物、または定型的クローン化および配列解析によって入手してよい。

【0186】

特定の実施態様では、有用なリガンドは、本明細書に開示されている方法によるウイルス感染または微生物感染の治療または予防に有用なリガンドである。ウイルス感染または微生物感染の治療に有用な入手可能な抗体の例は、ヒト化抗呼吸系発疹ウイルス（RSV）モノクローナル抗体であり、RSV感染を有する患者の治療に有用なSYNAGIS（MedImmune, Inc., MD）、HIV感染症の治療に有用なCD4融合抗体であるPRO542（Progenics）、B型肝炎ウイルスの治療に有用なヒト抗体であるOSTAVIR（Protein Design Labs, Inc., CA）、サイトメガロウイルス（CMV）の治療に有用なヒト化IgG1抗体であるPROTOVIR（Protein Design Labs, Inc., CA）および抗LPS抗体を含むがそれらに限定されない。

【0187】

感染症の治療において有用なその他の抗体は、細菌（例えば、化膿連鎖球菌、肺炎連鎖球菌、淋菌、髄膜炎菌、ジフテリア菌、ポツリヌス菌、ウェルシュ菌、破傷風菌、インフルエンザ菌、肺炎桿菌、クレブシエラオツェーナ、鼻硬腫菌、黄色ブドウ球菌、コレラ菌、大腸菌、緑膿菌、カンピロバクター（ビブリオ）フィタス、アエロモナスハイドロフィラ、セレウス菌、エドバルシエラタルダ、エルシニアエンテロコリチカ、ペスト菌、偽結核エルシニア菌、志賀赤痢菌、フレキシネル赤痢菌、ソンネ赤痢菌、ネズミチフス菌、梅毒トレポネーマ、トレポネーマペルテヌエ、トレポネーマカラテネウム、ボレリアビンセンチイ、ボレリアブルグドルフェリ、レプトスピライクテロヘモラギアエ、ヒト結核菌、ニューモシスチスカリニ、野兎病菌、ウシ流産菌、ブタ流産菌、ブルセラメリテンシス、マイコプラズマ属、リケッチアプロワゼキ、ツツガムシ病リケッチア、およびクラミジア属）の病原性株、病原性真菌類（例えば、コクシジオイデスイミティス、アスペルギルスフミガーツス、鶯口瘡カンジダ、プラストミセスデルマチチジス、クリプトコッカスネオフォルマンス、ヒストプラスマカプスラーツム）、原生動物（エントモエーバヒストリチカ、トキソプラズマ原虫、トリコモナステナス、トリコモナスホミニス、腔トリコモナス、トリパノソーマガンビエンセ、トリパノソーマローデシエンセ、クルーズトリパノソーマ、ドノバンリーシュマニア、熱帯リーシュマニア、ブラジルリーシュマニア、ニューモシスチス肺炎、三日熱マラリア、熱帯熱マラリア原虫またはマラリア病原虫）、または蠕虫（ヒトギヨウチュウ、ヒト鞭虫、回虫、旋毛虫、糞線虫、日本住血吸虫、マンソン住血吸虫、ビルハルツ住血吸虫、および十二指腸虫）由来の抗原に対する抗体を含むがそれらに限定されない。

【0188】

本発明においてウイルス疾患の治療に有用なその他の抗体は、例えば、プロクスウイルス科、ヘルペスウイルス科、1型単純ヘルペスウイルス、2型単純ヘルペスウイルス、アデノウイルス科、パポバウイルス科、エンテロウイルス科、ピコルナウイルス科、パルボウイルス科、レオウイルス科、レトロウイルス科、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、おたふくかぜ、はしか、呼吸系発疹ウイルス、風疹、アルボウイルス科、ラブドウイルス科、アレナウイルス科、A型肝炎ウイルス、B型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、E型肝炎ウイルス、非A型/非B型肝炎ウイルス、ライノウイルス科、コロナウイルス科、ロトウイルス科、およびヒト免疫不全ウイルスなどの病原性ウイルスの抗原に対する抗体を含むがそれらに限定されない。

【0189】

薬物単位

薬物単位は、任意の細胞毒性薬物、細胞増殖抑制薬物または免疫調節薬物であってよい。Dは、 $y = 1$ または 2 のときにはスペーサー単位と、あるいは $y = 0$ のときにはグルクロン酸部分と結合を形成することができる原子を有する薬物単位（部分）である。実施態様によって、薬物単位Dは、スペーサー単位と結合を形成することができる窒素原子を有

10

20

30

40

50

する。本明細書で用いられる用語「薬物単位」および「薬物部分」は、同義語であり、区別なく用いられる。

【0190】

有用な細胞毒性剤または免疫調節剤の種類は、例えば、抗チューブリン剤、アウリストチン類、DNA副溝結合剤、DNA複製阻害剤、アルキル化剤（例えば、シス・プラチン、モノ（白金）、ビス（白金）および三核白金錯体およびカルボプラチンなどの白金錯体）、アンスラサイクリン類、抗生物質、抗葉酸剤、抗代謝剤、カルモジュリン阻害剤、化学療法増感剤、デュオカルマイシン類、エトポシド類、フッ素化ピリミジン類、イオノフォア、レキシトロブシン類、メイタンシノイド、ニトロソ尿素類、プラチノール類、細孔形成化合物、プリン抗代謝剤、ピューロマイシン類、放射線増感剤、ラパマイシン類、ステロイド、タキサン、トポイソメラーゼ阻害剤、ピンカアルカロイドまたは類似化合物を含む。

【0191】

個々の細胞毒性剤または免疫調節剤は、例えば、アンドロゲン、アントラマイシン（AMC）、アスパラギナーゼ、5-アザシチジン、アザチオプリン、ブレオマイシン、ブスルファン、ブチオニンスルホキシミン、カリケアマイシン、カリケアマイシン誘導体、カンプトセシン、カルボプラチン、カルムスチン（BSNU）、CC-1065、クロラムブシル、シスプラチン、コルヒチン、シクロホスファミド、シタラビン、シチジンアラビノシド、サイトカラシンB、デカルバジン、ダクチノマイシン（以前はアクチノマイシン）、ダウノルビシン、デカルバジン、DM1、DM4、ドセタキセル、ドキソルビシン、エトポシド、エストロゲン、5-フルオルデオキシウリジン、5-フルオロウラシル、ゲムシタビン、グラミシジンD、ヒドロキシ尿素、イダルビシン、イホスファミド、イリノテカン、ロムスチン（CCNU）、メイタンシン、メクロレタミン、メルファラン、6-メルカプトプリン、メトトレキセート、ミトラマイシン、マイトマイシンC、ミトキサントロン、ニトロイミダゾール、パクリタキセル、パリトキシン、プリカマイシン、プロカルビジン、リゾキシン、ストレプトゾトシン、テノポシド、6-チオグアニン、チオテバ、トポテカン、ビンプラスチン、ビンクリスチン、ビノレルビン、VP-16およびVM-26を含む。

【0192】

いくつかの一般的な実施態様では、適当な細胞毒性剤は、例えば、DNA副溝結合剤（例えばエンジイン類およびレキシトロブシン類、CB1化合物、米国特許第6,130,237号も参照すること）、デュオカルマイシン類、タキサン類（例えばパクリタキセルおよびドセタキセル）、ピューロマイシン類、ピンカアルカロイド、CC-1065、SN-38、トポテカン、モルホリノ-ドキソルビシン、リゾキシン、シアノモルホリノ-ドキソルビシン、エキノマイシン、コンプレスタスタチン、ネトロブシン、エポチロンAおよびB、エストラムスチン、クリプトフィシン、セマドチン、メイタンシノイド、ディスコデルモリド、エリューセロビンおよびミトキサントロンを含む。

【0193】

実施態様によって、薬物は、抗チューブリン剤である。抗チューブリン剤の例は、タキサン類（例えばタキソール（登録商標）（パクリタキセル）、タキソテール（登録商標）（ドセタキセル））、T67（ツラリク）およびピンカアルカロイド（例えばビンクリスチン、ビンプラスチン、ビンデシンおよびビノレルビン）を含むがそれらに限定されない。その他の抗チューブリン剤は、例えば、バッカチン誘導体、タキサン類縁体、エポチロン（例えばエポチロンAおよびB）、ノコダゾール、コルヒチンおよびコルシミド、エストラムスチン、クリプトフィシン、セマドチン、メイタンシノイド、コンプレスタスタチン、ディスコデルモリドおよびエリューセロビンを含む。

【0194】

特定の実施態様では、細胞毒性剤は、別の種類の抗チューブリン剤であるメイタンシノイドである。例えば、特定の実施態様では、メイタンシノイドは、メイタンシンまたはDM-1であってよい（ImmunoGen, Inc., Charlestown, MA, USA）。

10

20

30

40

50

1992, Cancer Res. 52: 127-131も参考すること)。

【0195】

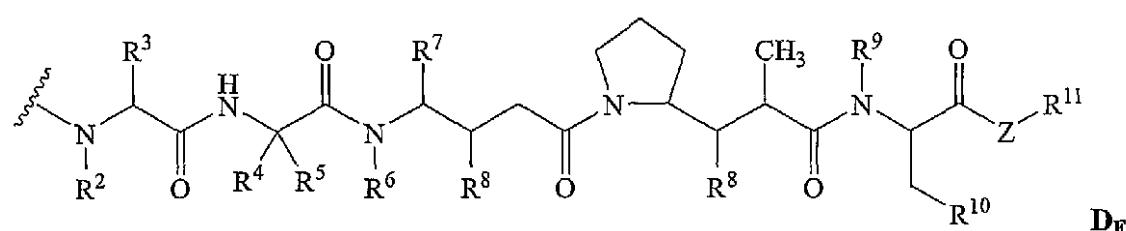
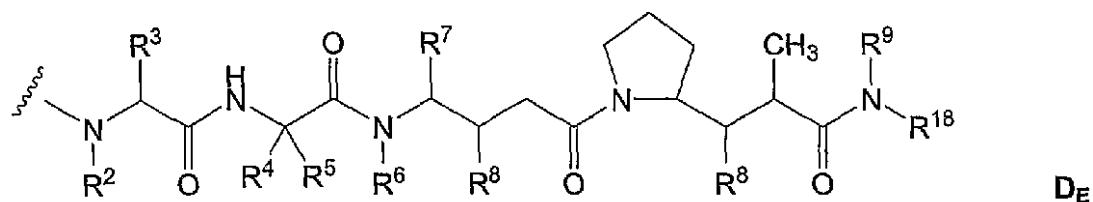
実施態様によって、薬物は、アウリスタチンEまたはその誘導体などのアウリスタチンである。例えば、アウリスタチンE誘導体は、アウリスタチンEとケト酸との間で形成されたエステルであってよい。例えば、アウリスタチンEをパラアセチル安息香酸またはベンゾイル吉草酸と反応させてAEBおよびAEVBを作り出してよい。その他の一般的なアウリスタチン誘導体は、AFP、MMAFおよびMMAEを含む。アウリスタチン誘導体の合成および構造は、米国特許出願公開第2003-0083263号、第2005-0238649号および第2005-0009751号、国際特許出願公開第04/010957号、国際特許出願公開第02/088172号、および米国特許第6,323,315号、第6,239,104号、第6,034,065号、第5,780,588号、第5,665,860号、第5,663,149号、第5,635,483号、第5,599,902号、第5,554,725号、第5,530,097号、第5,521,284号、第5,504,191号、第5,410,024号、第5,138,036号、第5,076,973号、第4,986,988号、第4,978,744号、第4,879,278号、第4,816,444号、および第4,486,414号に記載されている。

【0196】

実施態様によって、-Dは、式D_EまたはD_F

【0197】

【化52】



のどちらかである。式中、各位置において独立して、

R²は、HおよびC₁～C₈アルキルから選択され、

R³は、H、C₁～C₈アルキル、C₃～C₈炭素環、アリール、X¹-アリール、X¹-(C₃～C₈炭素環)、C₃～C₈複素環およびX¹-(C₃～C₈複素環)から選択され、

R⁴は、H、C₁～C₈アルキル、C₃～C₈炭素環、アリール、X¹-アリール、X¹-(C₃～C₈炭素環)、C₃～C₈複素環およびX¹-(C₃～C₈複素環)から選択され、

R⁵は、Hおよびメチルから選択され、

または、R⁴とR⁵とは一緒に炭素環を形成し、式-(CR^aR^b)-を有し、式中、R^aおよびR^bは、独立して、H、C₁～C₈アルキルおよびC₃～C₈炭素環から選択され、nは、2、3、4、5および6から選択され、

R⁶は、HおよびC₁～C₈アルキルから選択され、

R⁷は、H、C₁～C₈アルキル、C₃～C₈炭素環、アリール、X¹-アリール、X

40

50

1 - (C₃ ~ C₈ 炭素環)、C₃ ~ C₈ 複素環およびX¹ - (C₃ ~ C₈ 複素環)から選択され、

各R⁸は、独立して、H、OH、C₁ ~ C₈ アルキル、C₃ ~ C₈ 炭素環およびO - (C₁ ~ C₈ アルキル)から選択され、

R⁹は、HおよびC₁ ~ C₈ アルキルから選択され、

R¹⁰は、アリールおよびC₃ ~ C₈ 複素環から選択され、

Zは、O、S、NHまたはNR¹²であり、R¹²は、C₁ ~ C₈ アルキルであり、

R¹¹は、H、C₁ ~ C₂₀ アルキル、アリール、C₃ ~ C₈ 複素環、- (R¹³O)_m - R¹⁴ および- (R¹³O)_m - CH(R¹⁵)₂から選択され、

mは、1 ~ 1000の範囲の整数であり、

R¹³は、C₂ ~ C₈ アルキルであり、

R¹⁴は、HまたはC₁ ~ C₈ アルキルであり、

R¹⁵の各位置は、独立して、H、COOH、- (CH₂)_n - N(R¹⁶)₂、- (CH₂)_n - SO₃Hまたは- (CH₂)_n - SO₃ - C₁ ~ C₈ アルキルであり、

R¹⁶の各位置は、独立して、H、C₁ ~ C₈ アルキルまたは- (CH₂) - COOH であり、

R¹⁸は、- C(R⁸)₂ - C(R⁸)₂ - アリール、- C(R⁸)₂ - C(R⁸)₂ - (C₃ ~ C₈ 複素環) および- C(R⁸)₂ - C(R⁸)₂ - (C₃ ~ C₈ 炭素環) から選択され、

X¹は、C₁ ~ C₁₀ アルキレンであり、

nは、0から6の範囲の整数である。

【0198】

一実施態様では、R³、R⁴ およびR⁷は、独立して、イソプロピルまたはsec-ブチルであり、R⁵は-Hである。ある実施態様の例では、R³ およびR⁴ はそれぞれイソプロピルであり、R⁵はHであり、R⁷はsec-ブチルである。

【0199】

別の実施態様では、R² およびR⁶ はそれぞれメチルであり、R⁹はHである。

【0200】

さらに別の実施態様では、R⁸の各位置は- OCH₃ である。

【0201】

実施態様のある例では、R³ およびR⁴ はそれぞれイソプロピルであり、R² およびR⁶ はそれぞれメチルであり、R⁵はHであり、R⁷はsec-ブチルであり、R⁸の各位置は- OCH₃ であり、R⁹はHである。

【0202】

一実施態様では、Zは-O- または-NH- である。

【0203】

一実施態様では、R¹⁰はアリールである。

【0204】

ある実施態様の例では、R¹⁰は-フェニルである。

【0205】

ある実施態様の例では、Zが-O-のとき、R¹¹はH、メチルまたはt-ブチルである。

【0206】

一実施態様では、ZがNH-のとき、R¹¹はCH(R¹⁵)₂ であり、- R¹⁵ は- (CH₂)_n - N(R¹⁶)₂、R¹⁶は- C₁ ~ C₈ アルキルまたは- (CH₂)_n - COOH である。

【0207】

別の実施態様では、Zが-NHのとき、R¹⁵は- CH(R¹⁵)₂ であり、R¹⁵は- (CH₂)_n - SO₃Hである。

【0208】

10

20

30

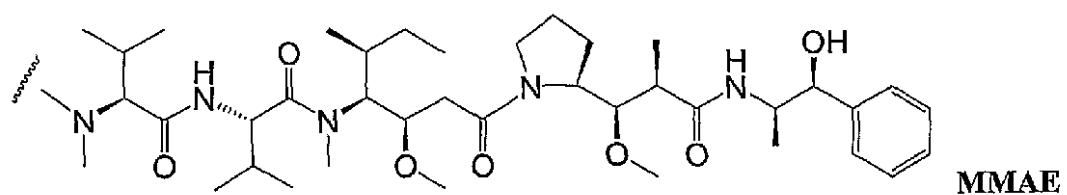
40

50

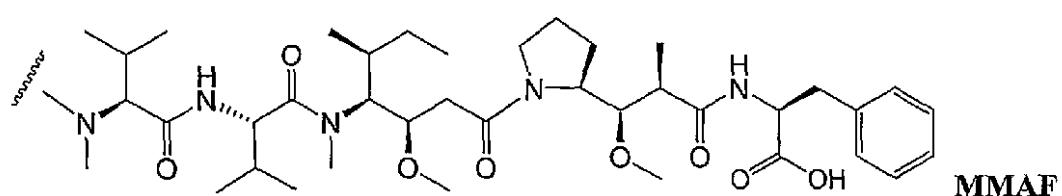
薬物単位 (- D) の例示は、以下の構造式

【0209】

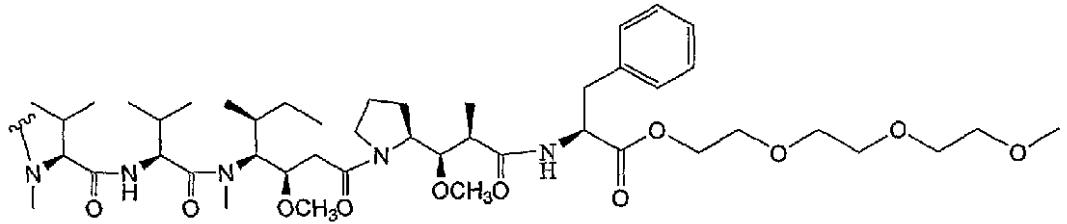
【化53】



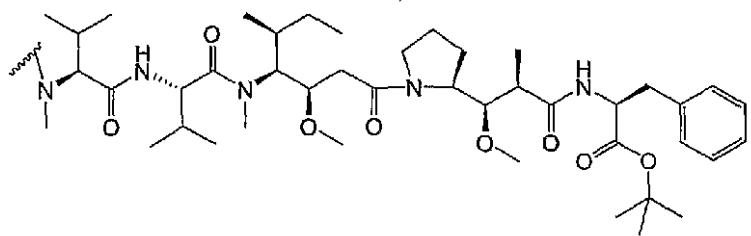
10



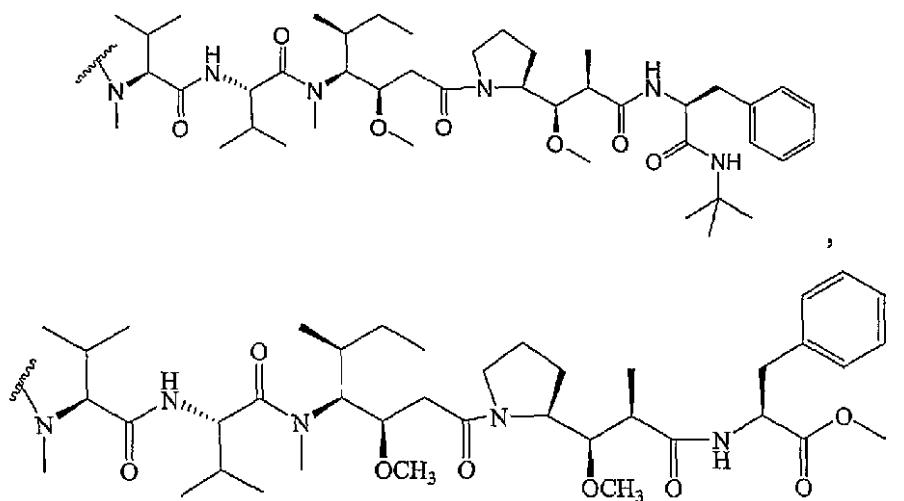
20



30



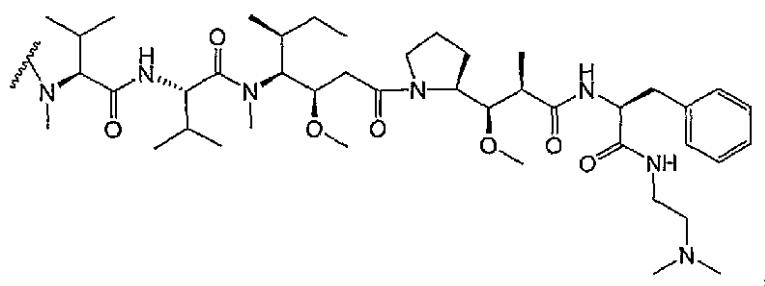
40



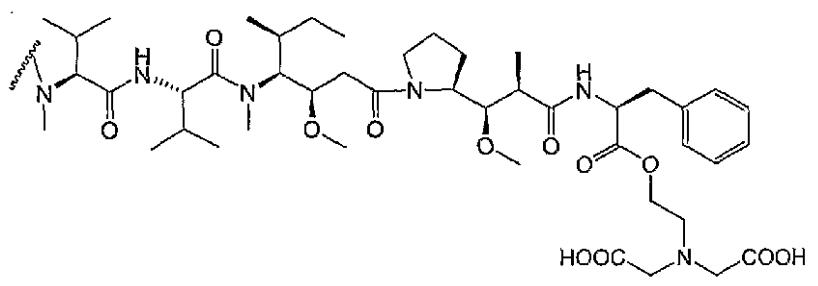
50

【0210】

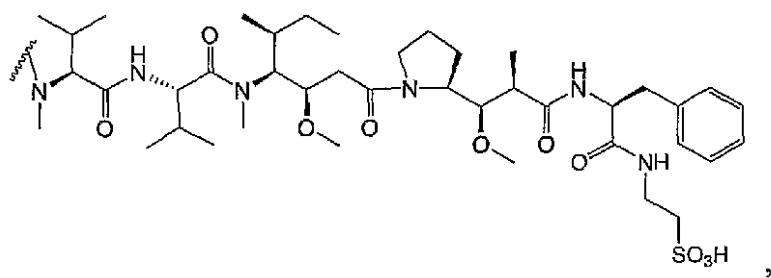
【化54】



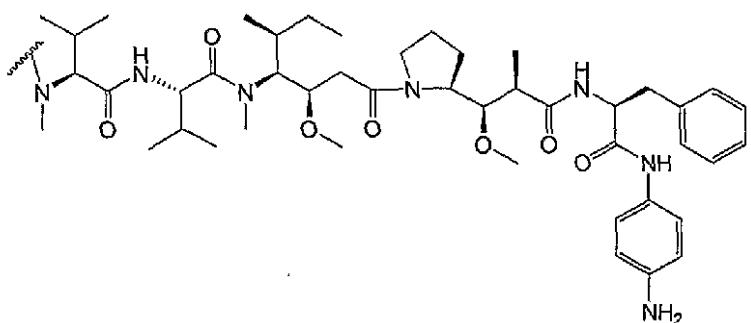
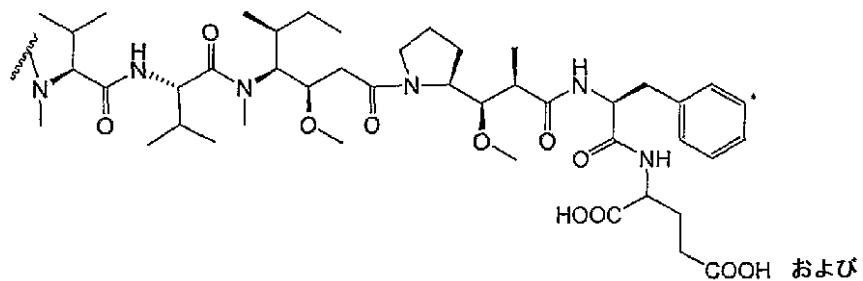
10



20



30



40

を有する薬物単位および薬学的に許容されるその塩または溶媒和化合物を含む。

【0211】

50

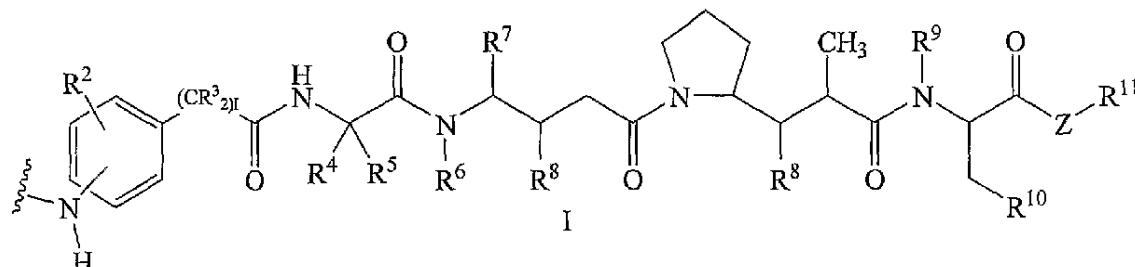
一態様では、上記に示したトリエチレングリコールエステル(TEG)などであるがそれらに限定されない親水基をR¹のところで薬物単位に結合させてよい。理論に拘泥するわけではないが、親水基は、薬物単位の内部取り込みおよび凝塊防止に役立つ。

【0212】

別の態様では、薬物単位は、以下の式

【0213】

【化55】



のアウリスタチンのアミノ安息香酸誘導体である。式中、各位置で独立して、

R²は、-水素、-C₁～C₈アルキル、-O- (C₁～C₈アルキル)、-ハロゲン、-NO₂、-COOHおよび-C(O)OR¹から選択され、

各R³は、独立して、-水素および-C₁～C₈アルキルから選択され、

1は、0～10の範囲の整数であり、

R⁴は、-水素、-C₁～C₈アルキル、-C₃～C₈炭素環、-アリール、X¹-アリール、X¹- (C₃～C₈炭素環)、C₃～C₈複素環およびX¹- (C₃～C₈複素環から選択され、R⁵は、-Hおよび-メチルから選択され、または、R⁴とR⁵とは一緒になって、式-(CR^aR^b)_n-を有し、R^aおよびR^bは、独立して、-H、-C₁～C₈アルキルおよび-C₃～C₈炭素環から選択され、nは、2、3、4、5および6から選択され、結合する先の炭素原子と環を形成し、

R⁶は、-Hおよび-C₁～C₈アルキルから選択され、

R⁷は、-H、-C₁～C₈アルキル、-C₃～C₈炭素環、アリール、X¹-アリール、X¹- (C₃～C₈炭素環)、-C₃～C₈複素環およびX¹- (C₃～C₈複素環)から選択され、

各R⁸は、独立して、-H、-OH、-C₁～C₈アルキル、-C₃～C₈炭素環、-O-アルキル-(C₁～C₈)炭素環)および-O-(C₁～C₈アルキル)から選択され、

R⁹は、-Hおよび-C₁～C₈アルキルから選択され、

R¹⁰は、アリールおよび-C₃～C₈複素環から選択され、

Zは、-O-、-S-、-NH-または-NR¹²-であり、R¹²は、C₁～C₈アルキルまたはアリールであり、

R¹¹は、-H、C₁～C₈アルキル、アリール、-C₃～C₈複素環、-(CH₂CH₂O)_r-H、-(CH₂CH₂O)_r-CH₃および-(CH₂CH₂O)_r-CH₂CH₂C(O)OHから選択され、rは、1～10の範囲の整数であり、

X¹は、C₁～C₁₀アルキレンである。

【0214】

実施態様によって、薬物単位は、以下の式

【0215】

10

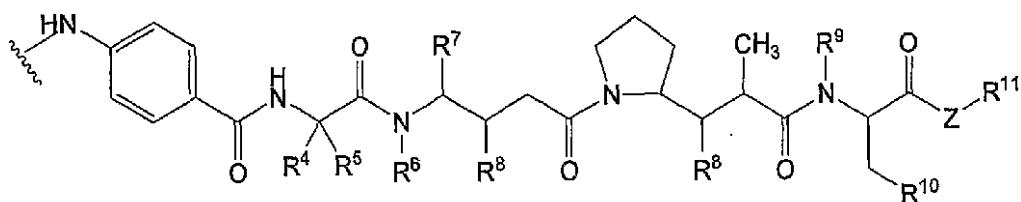
20

30

40

【化56】

I



のものであり、式中、各位置で独立して、

R^4 は、-水素、-C₁～C₈アルキル、-C₃～C₈炭素環、-アリール、X¹-アリール、X¹- (C₃～C₈炭素環)、-C₃～C₈複素環およびX¹- (C₃～C₈複素環)から選択され、R⁵は、-Hおよび-メチルから選択され、または、R⁴とR⁵とは一緒になって、式-(CR^aR^b)_n-を有し、R^aおよびR^bは、独立して、-H、-C₁～C₈アルキルおよび-C₃～C₈炭素環から選択され、nは、2、3、4、5および6から選択され、結合先の炭素原子と環を形成し、

R⁶は、-Hおよび-C₁～C₈アルキルから選択され、

R⁷は、-H、-C₁～C₈アルキル、-C₃～C₈炭素環、アリール、X¹-アリール、X¹- (C₃～C₈炭素環)、-C₃～C₈複素環およびX¹- (C₃～C₈複素環)から選択され、

各R⁸は、独立して、-H、-OH、-C₁～C₈アルキル、-C₃～C₈炭素環、-O-アルキル-(C₁～C₈)炭素環および-O-(C₁～C₈アルキル)から選択され、

R⁹は、-Hおよび-C₁～C₈アルキルから選択され、

R¹⁰は、アリールおよび-C₃～C₈複素環から選択され、

Zは、-O-、-S-、-NH-または-NR¹²-であり、R¹²は、C₁～C₈アルキルまたはアリールであり、

R¹¹は、-H、C₁～C₈アルキル、アリール、-C₃～C₈複素環、-(CH₂CH₂O)_r-H、-(CH₂CH₂O)_r-CH₃および-(CH₂CH₂O)_r-CH₂CH₂C(O)OHから選択され、rは、1～10の範囲の整数であり、

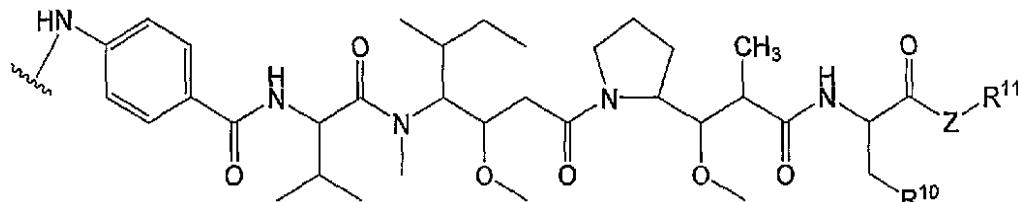
X¹は、C₁～C₁₀アルキレンである。

【0216】

実施態様によって、薬物単位は、以下の式

【0217】

【化57】



のものであり、各位置で独立して、

R¹⁰は、アリール基および-C₃～C₈複素環から選択され、

Zは、-O-、-S-、-NH-または-NR¹²-であり、R¹²は、C₁～C₈アルキルまたはアリールであり、

R¹¹は、-H、C₁～C₈アルキル、アリール、-C₃～C₈複素環、-(CH₂CH₂O)_r-H、-(CH₂CH₂O)_r-CH₃および-(CH₂CH₂O)_r-CH₂CH₂C(O)OHから選択され、rは、1～10の範囲の整数である。

【0218】

10

20

30

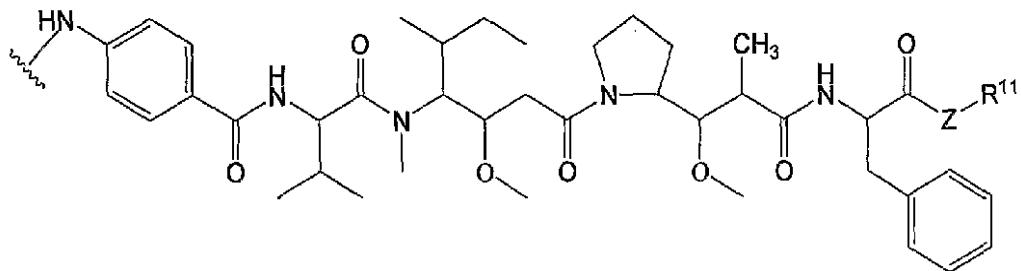
40

50

実施態様によって、薬物単位は、以下の式

【0219】

【化58】



10

のものであり、式中、

Zは、-O-、-S-、-NH-または-NR¹⁻²-であり、R¹⁻²は、C₁~C₈アルキルまたはアリールであり、

R¹⁻¹は、-H、C₁~C₈アルキル、アリール、-C₃~C₈複素環、-(CH₂CH₂O)_r-H、-(CH₂CH₂O)_r-CH₃および-(CH₂CH₂O)_r-CH₂CH₂C(O)OHから選択され、rは、1~10の範囲の整数である。

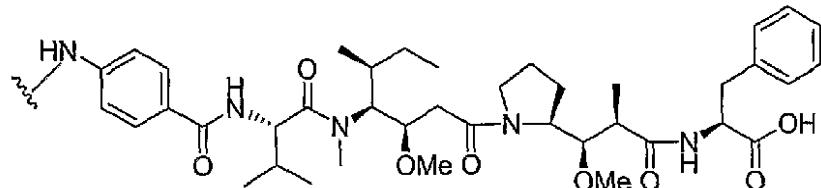
【0220】

実施態様によって、薬物単位は、以下の式

20

【0221】

【化59】



のものである。

30

【0222】

実施態様によって、薬物単位は、放射性同位元素ではない。実施態様によって、薬物単位は放射性でない。

【0223】

実施態様によって、薬物単位は、抗代謝剤である。抗代謝剤は、例えば、プリン拮抗薬（例えばアゾチオプリンまたはミコフェノール酸モフェチル）、ジヒドロ葉酸レダクターゼ阻害剤（例えばメトトレキセート）、アシクロビル、ガングシクロビル、ジドブジン、ビダラビン、リババリン、アジドチミジン、シチジンアラビノシド、アマンタジン、ジデオキシウリジン、ヨードデオキシウリジン、ポスカルネまたはトリフルリジンであってよい。

40

【0224】

その他の実施態様では、薬物単位は、タクロリムス、サイクロスボリン、FUS06またはラパマイシンである。さらに別の実施態様では、薬物は、アルデスロイキン、アレムツズマブ、アリトレチノイン、アロブリノール、アルトレタミン、アミホスチン、アナストロゾール、三酸化ヒ素、ベキサロテン、ベキサロテン、カルステロン、カベシタビン、セレコキシブ、クラドリビン、ダルベポエチンアルファ、デニロイキンジフチトックス、デクスラゾキサン、プロピオニ酸ドロモスタノロン、エビルビシン、エポエチンアルファ、エストラムスチン、エクセメスタン、フィルグラスチム、フロクスウリジン、フルダラビン、フルベストラント、ゲムシタビン、ゲムツズマブオゾガマイシン（マイロターグ）、ゴセレリン、イダルビシン、イホスファミド、イマチニブメシレート、インターフェロ

50

ンアルファ - 2 a、イリノテカン、レトロゾール、ロイコボリン、レバミゾール、メクロルエタミンまたはナイトロジエンマスター、メゲストロール、メスナ、メトレキセート、メトキサレン、マイトマイシン C、ミトタン、ナンドロロンフェンプロピオネート、オプレルベキン、オキサリプラチン、パミドロネート、ペグアデマーゼ、ペグアスバルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペントスタチン、ピボプロマン、プリカマイシン、ポルフィマーナトリウム、プロカルバジン、キナクリン、ラスブリカーゼ、リツキシマブ、サルグラモスチム、ストレプトゾシン、タモキシフェン、テモゾロマイド、テニポシド、テストラクトン、チオグアニン、トレミフェン、トシツモマブ、トラスツズマブ（ハーセブチン）、トレチノイン、ウラシルマスター、バルルビシン、ビンプラスチン、ビンクリスチン、ビノレルビンまたはゾレドロネートである。

10

【0225】

実施態様によって、薬物部分は、免疫調節剤である。免疫調節剤は、例えば、ガングリコビル、エタナーセプト、タクロリムス、サイクロスボリン、ラパマイシン、シクロホスファミド、アザチオプリン、ミコフェノール酸モフェチルまたはメトレキセートであってよい。あるいは、免疫調節性剤は、例えば、糖コルチコイド（例えばコルチゾールまたはアルドステロン）または糖コルチコイド類縁体（例えばプレドニゾンまたはデキサメザゾン）であってよい。

【0226】

実施態様によって、免疫調節性剤は、アリールカルボン酸誘導体、ピラゾール含有誘導体、オキシカム誘導体およびニコチン酸誘導体などの抗炎症剤である。抗炎症剤の種類は、例えば、シクロオキシゲナーゼ阻害剤、5 - リポキシゲナーゼ阻害剤およびロイコトリエン受容器拮抗剤を含む。

20

【0227】

適当なシクロオキシゲナーゼ阻害薬は、メクロフェナム酸、メフェナム酸、カルプロフェン、ジクロフェナク、ジフルニサル、フェンブフェン、フェノプロフェン、インドメタシン、ケトプロフェン、ナブメトン、スリンダック、テノキシカムおよびトルメチソムを含む。

【0228】

適当なリポキシゲナーゼ阻害剤は、酸化還元阻害剤（例えばカテコールブタン誘導体、ノルジヒドログアヤレト酸（N D G A）、マソプロコール、フェニドン、ラノパレン、インダゾリノン、ナファザトロム、ベンゾフラノール、アルキルヒドロキシルアミン）、および非酸化還元阻害剤（例えば、ヒドロキシチアゾール、メトキシアルキルチアゾール、ベンゾピランおよびそれらの誘導体、メトキシテトラヒドロピラン、ボスウェリア酸およびボスウェリア酸のアセチル化誘導体、ならびにシクロアルキルラジカルで置換したキノリンメトキシフェニル酢酸）、ならびに酸化還元阻害剤の前駆体を含む。

30

【0229】

その他の適当なリポキシゲナーゼ阻害剤は、酸化防止剤（例えば、フェノール、没食子酸プロピル、フラボノイドおよび/またはフラボノイドを含む天然基質、フラボンのヒドロキシル化誘導体、フラバノール、ジヒドロクエルセチン、ルテオリン、ガランギン、オロボール、カルコンの誘導体、4 , 2 ' , 4 ' - トリヒドロキシカルコン、オルト - アミノフェノール類、N - ヒドロキシ尿素類、ベンゾフラノール類、エプセレン、および還元性セレノ酵素の活性を増加させる化学種）、鉄キレート化剤（例えばヒドロキサム酸およびその誘導体、N - ヒドロキシ尿素類、2 - ベンジル - 1 - ナフトール、カテコール類、ヒドロキシルアミン類、カルノソール・トロロックス C、カテコール、ナフトール、スルファサラジン、ザイロイトン、5 - ヒドロキシアントラニル酸および4 - (オメガ - アリールアルキル)フェニルアルカン酸）、イミダゾール含有化合物（例えばケトコナゾールおよびイトラコナゾール）、フェノチアジンおよびベンゾピラン誘導体を含む。

40

【0230】

さらにその他の適当なリポキシゲナーゼ阻害剤は、エイコサノイドの阻害剤（例えば、オクタデカテトラエン酸、エイコサテトラエン酸、ドコサペンタエン酸、エイコサヘキサ

50

エン酸およびドコサヘキサエン酸およびそれらのエステル、PGE1(プロスタグランジンE1)、PGA2(プロスタグランジンA2)、ビプロストール、15-モノヒドロキシエイコサテトラエン酸、15-モノヒドロキシエイコサトリエン酸および15-モノヒドロキシエイコサペンタエン酸、ならびにロイコトリエンB5、C5およびD5)、カルシウムの流れを干渉する化合物、フェノチアジン、ジフェニルブチルアミン類、ベラパミル、フコシド、クルクミン、クロロゲン酸、コーヒー酸、5,8,11,14-エイコサテトライエン酸(ETYA)、ヒドロキシフェニルレチンアミド、ロナパレン、エスクリン、ジエチルカルバマジン、フェナントロリン、バイカレイン、プロキシクロミル、チオエーテル、ジアリルスルフィドおよびジ-(1-プロペニル)スルフィドを含む。

【0231】

10

ロイコトリエン受容体拮抗薬は、カルシリオール、オントゾラスト、バイエルBay-x-1005、チバガイギーCGS-25019C、エブセレン、レオデンマークETH-615、リリーLY-293111、小野ONO-4057、テルモTMK-688、ベーリンガーインゲルハイムBI-RM-270、リリーLY213024、リリーLY264086、リリーLY292728、小野ONO-LB457、ファイザー-105696、パーデューフレデリックPF-10042、ローヌ-ブランロレRP-66153、スミスクライインビーチャムSB-201146、スミスクライインビーチャムSB-201993、スミスクライインビーチャムSB-209247、サールSC-53228、スミタモSM-15178、アメリカンホームプロダクツWAY-121006、バイエルBay-o-8276、ワーナーランパートCI-987、ワーナーランパートCI-987BPC-15LY-223982、リリーLY-233569、リリーLY-255283、マクロネックスMNX-160、メルク社MK591、メルク社MK886、小野ONO-LB-448、パーデューフレデリックPF-5901、ローヌ-ブランロレRG-14893、ローヌ-ブラン・ロレRP-66364、ローヌ-ブランロレRP-69698、塩野義S-2474、サールSC-41930、サールSC-50505、サールSC-51146、サールSC-52798、スミスクライインビーチャムSK&F-104493、レオデンマークSR-2566、田辺T-757および帝人TEI-1338を含む。

20

【0232】

30

リガンド薬物単位の合成

グルクロニド単位およびグルクロニド系リンカー-薬物結合体は、任意の適当な技法によつて合成してよい。例えば、Desbene et al., 1998, Anticancer Drug Des. 13: 955-68に、グルクロニド系プロドラッグの合成が開示されている。

【0233】

40

グルクロニド系リンカー-薬物結合体を含むリガンド薬物化合物結合体は、当分野における技法によつて合成してよい。例えば、グルクロニド系リンカー-薬物結合体は、リガンド単位への結合体化のためのアセトアミド官能基を含んでよい。スキーム1を参照する。スキーム1に、ドキソルビシンの-グルクロニドプロドラッグ(3)を示す。アミン前駆体を経由してアミドを改変し、抗体などのリガンドへの結合用のプロモアセトアミドまたはマレイミドなどの反応基を持たせてよい。さらに、スキーム1に開示するように、この-グルクロニダーゼ-不安定薬物リンカーシステムは、-グルクロニダーゼを作用させるとグリコシド結合開裂し、続いて1,6-脱離と二酸化炭素の放出とを行い、リガンド薬物結合体から薬物を放出する。

【0234】

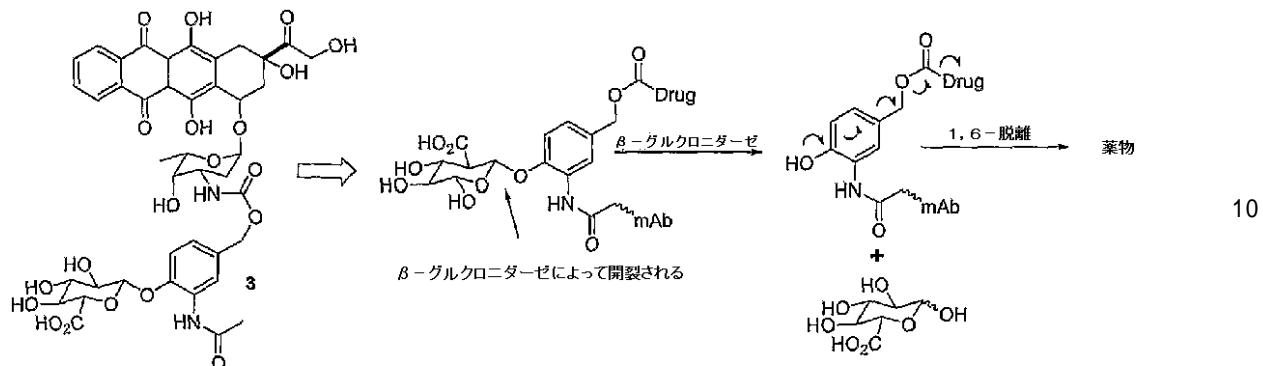
実施態様の他の例で、スキーム2に、MMAEおよびMMAFと、別の強力なドキソルビシン誘導体であるドキソルビシンプロピルオキサゾリン(DPO、2)の抗体薬物結合体の例を開示する。DPOは、スキーム2に示すように、2-ピロリノドキソルビシン(4)への前駆体である。さらに、スキーム2aに、MMAEの-グルクロニドプロドラッグを示す。

50

【0235】

【化60】

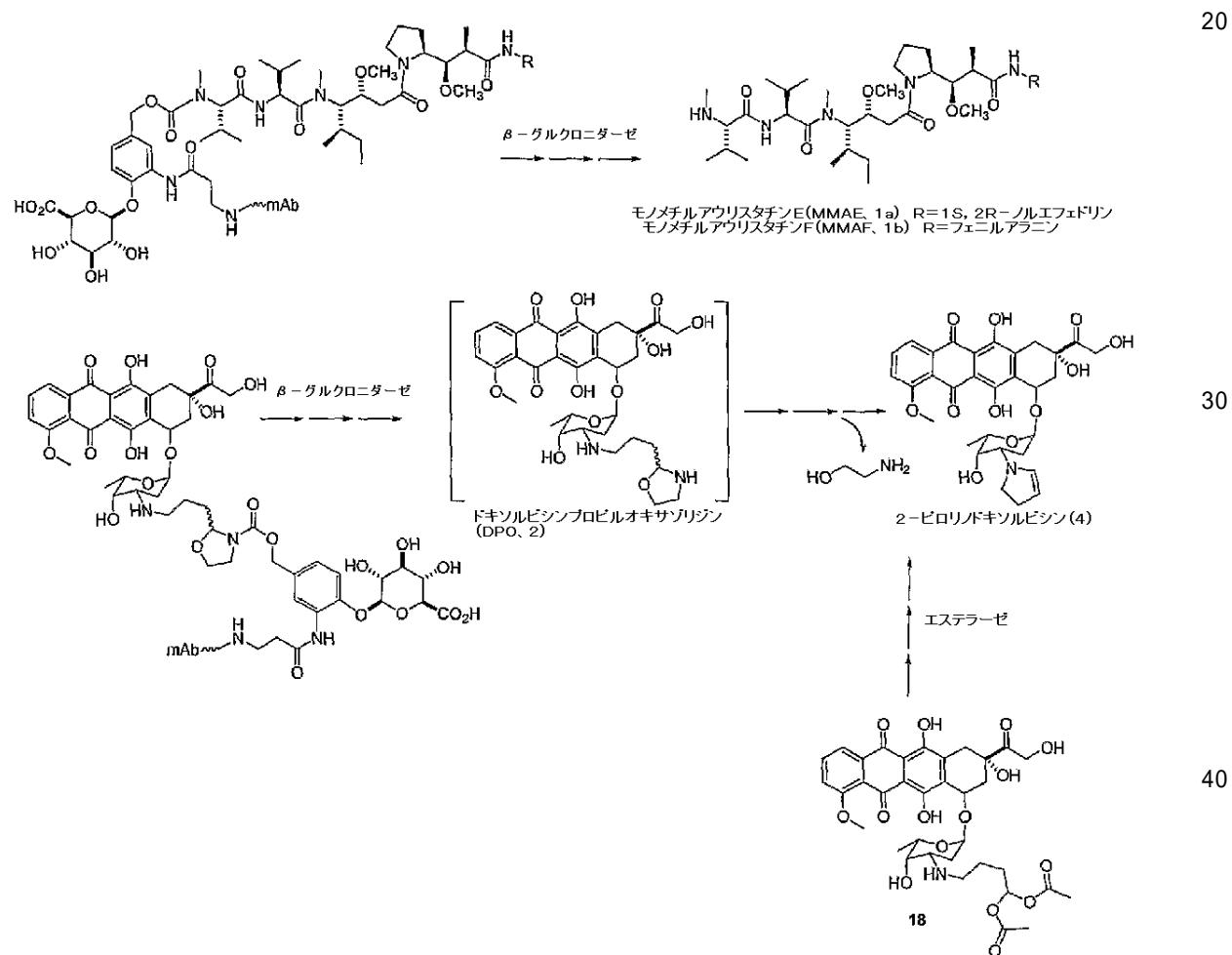
スキーム1



【0236】

【化61】

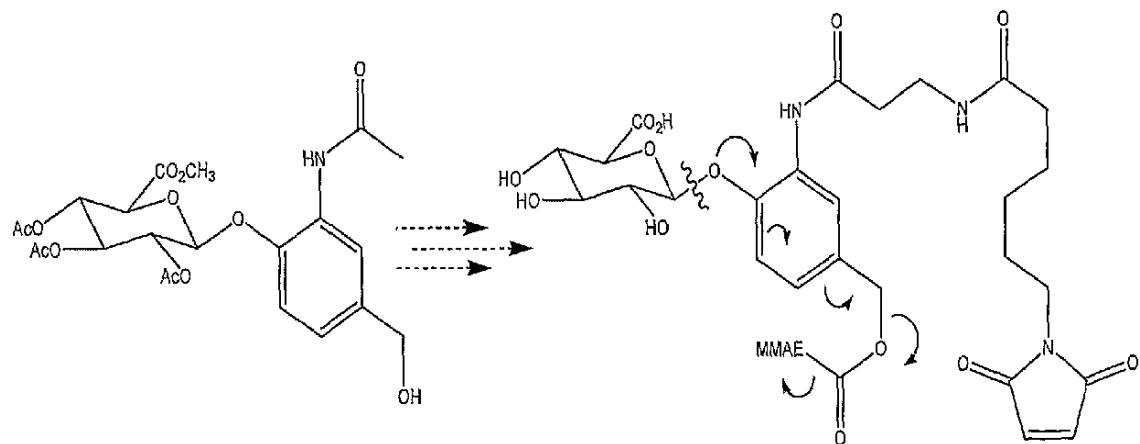
スキーム2



【0237】

スキーム2 a

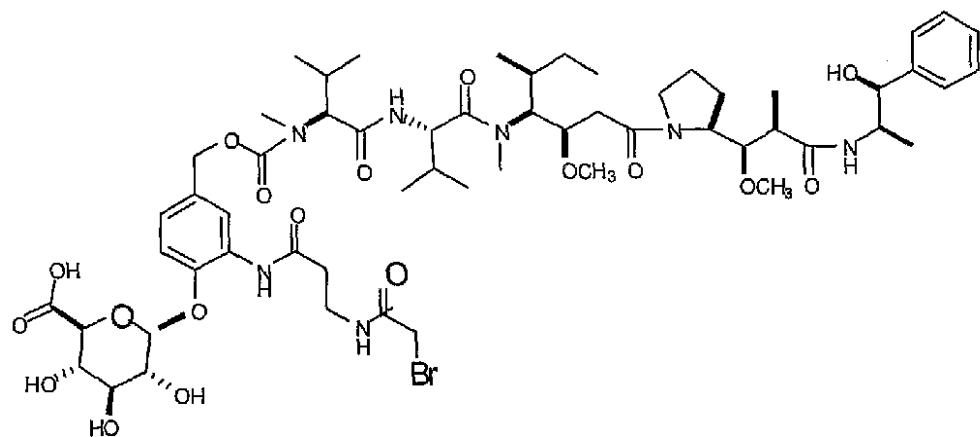
【化 6 2】



他の実施態様で、グルクロニド系リンカー - 薬物結合体は、例えば、以下の式

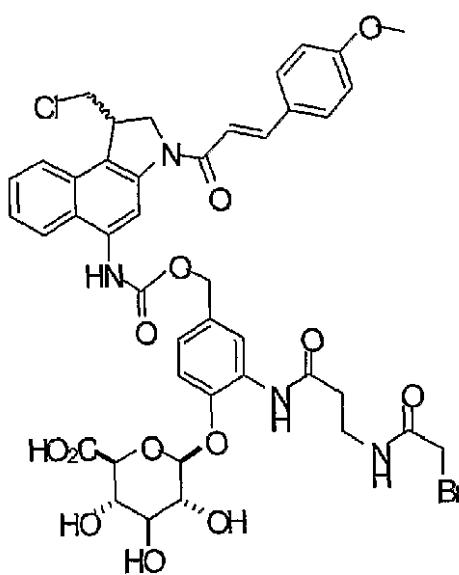
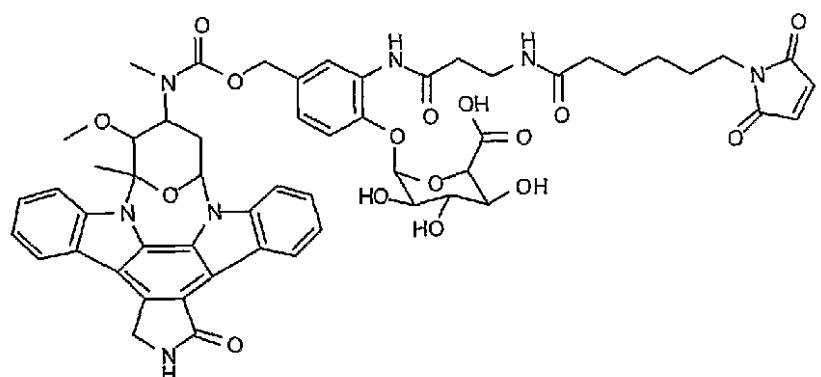
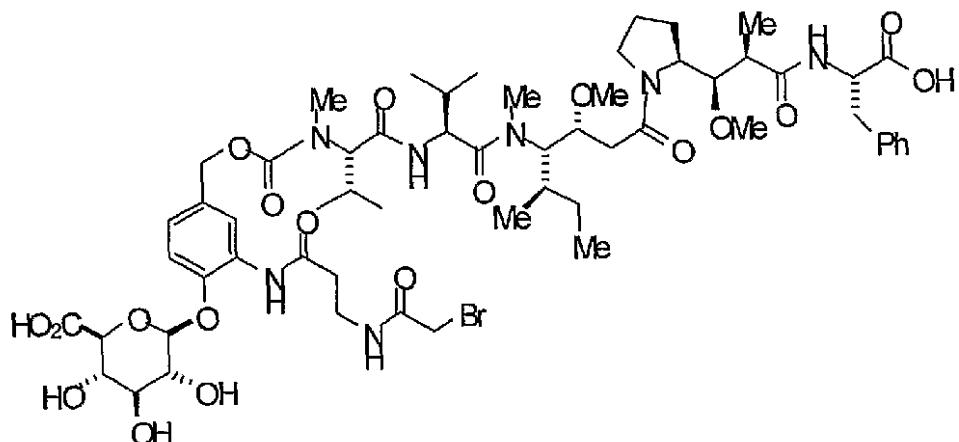
【0 2 3 8】

【化 6 3】



【0 2 3 9】

【化 6 4】



10

20

30

40

に示す、プロモアセトアミド - グルクロニド - MMAE、プロモアセトアミド - グルクロニド - MMAF、グルクロニド - スタウロスボリン、またはグルクロニド - アミノ C B I 副溝バインダー (S N 2 6 5 9 7) であってよい。

【0240】

組成物および投与方法

本組成物は、本組成物を患者に投与することができる任意の形であってよい。例えば、組成物は、固体、液体または気体（エーロゾル）の形であってよい。通常の投与経路は、

50

経口、局所、非経口、舌下、直腸、膣、眼球、腫瘍内および鼻腔内を含むがそれらに限定されない。非経口投与は、皮下注射、静脈内、筋肉内、胸骨内注射または注入技法を含む。一態様では、本組成物を非経口投与する。さらに別の態様では、本化合物を静脈内投与する。実施態様によっては、 - グルクロニダーゼを投与しない状態で、リガンド薬物結合体化合物を投与する。

【0241】

医薬品組成物は、その組成物を患者に投与したとき化合物を生物利用可能にすることができるよう調合してよい。組成物は、1つ以上の用量単位の形をとってよく、例えば、錠剤が一分の用量単位であってよく、エーロゾル形の化合物の容器に複数の用量単位を保持させてよい。

10

【0242】

本医薬品組成物を調製する際に用いられる物質は、用いられる量で非毒性であってよい。本医薬品組成物中の活性成分（単数または複数）の最適用量がさまざまな因子に依存することは、当業者には自明である。関連する因子は、動物の種類（例えばヒト）、化合物の特定の形、投与方法および使用される組成物を含むがそれらに限定されない。

【0243】

薬学的に許容されるキャリアまたはベヒクルは、本組成物が例えば錠剤または粉体形の中にあるように、粒子であってよい。キャリア（単数または複数）は、液体であってよく、本組成物は、例えば、経口シロップまたは注射用液体である。さらに、キャリア（単数または複数）は、例えば吸入投与において有用なエーロゾル組成物を提供するように、気体または粒子であってよい。

20

【0244】

経口投与用を意図するときは、本組成物は、好ましくは、固体形または液体形であり、半固体、半液体で、懸濁液およびゲル形は、本明細書において固体または液体のどちらかであるとされる形の範囲に含まれる。

【0245】

経口投与用の固体組成物として、本組成物は、粉体、顆粒、圧縮錠剤、丸薬、カプセル、チューイングガム、ウエハまたは類似形に調合してよい。通常、そのような固体組成物は、1つ以上の不活性希釈剤を含む。さらに、以下、すなわち、カルボキシメチルセルロース、エチルセルロース、微結晶セルロースまたはゼラチンなどのバインダー；澱粉、ラクトースまたはデキストリンなどの賦形剤、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、ブリモゲル、コーンスタークチおよび類似物などの崩壊剤；ステアリン酸マグネシウムまたはステロテックスなどの潤滑剤；コロイド二酸化ケイ素などの滑剤；スクロースまたはサッカリントなどの甘味料、ペパーミントなどの香料、サリチル酸メチルまたはオレンジ香料および着色剤の一つ以上が存在してよい。

30

【0246】

本組成物は、カプセル、例えば、ゼラチンカプセルの形のとき、上記の種類の物質に加えて、ポリエチレングリコール、シクロデキストリンまたは脂肪油などの液体キャリアを含んでよい。

【0247】

本組成物は、液体、例えばエリキシル、シロップ、溶液、乳化液または懸濁液の形であってよい。液体は、経口投与または注射による投薬に有用なことがある。経口投与を意図するとき、組成物が甘味料、防腐剤、染料/着色剤および香味料の1つ以上を含んでよい。注射投与用の組成物では、界面活性剤、防腐剤、湿潤剤、分散剤、懸濁剤、緩衝液、安定剤および等張剤の1つ以上も含んでよい。

40

【0248】

本液体組成物は、溶液、懸濁液または他の類似形であろうと、以下、すなわち、注射用蒸留水、食塩水、好ましくは生理的食塩水、リングル液、等張食塩水、溶媒または懸濁媒として働いてよい合成モノまたはジグリセリドなどの不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、シクロデキストリン、プロピレングリコールまたはその他の溶媒などの

50

無菌希釈剤；ベンジルアルコールまたはメチルパラベンなどの抗菌剤；アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウムなどの酸化防止剤；エチレンジアミン四酢酸などのキレート剤；酢酸塩、クエン酸塩またはリン酸塩などの緩衝剤、および塩化ナトリウムまたはデキストロースなどの弾力性調節用の剤の1つ以上も含んでよい。非経口組成物は、ガラス、プラスチックまたはその他の材料で作られたアンプル、使い捨て注射器または多回用量バイアル中に封入してよい。生理食塩水がアジュvantの例である。注射用組成物は、好みくは無菌とする。

【0249】

特定の障害または病状の治療において有効な化合物の量は、障害または病状の性質に依存し、標準的な臨床技法によって決定してよい。さらに、任意選択として、インピトロまたはインピボアッセイを使用して最適用量範囲を特定する助けとしてよい。本組成物中に使用される精確な用量は、投与経路および疾患または障害の重さにも依存し、担当医および各患者の状況の判断による必要がある。

10

【0250】

本組成物は、適当な用量が得られるように化合物の有効な量を含む。通常、この量は、少なくとも組成物の約0.01重量%の化合物である。経口投与を意図するとき、この量は、組成物の約0.1%から約80重量%の範囲にあるように変化させてよい。一態様では、経口組成物は、組成物の約4%から約50重量%の化合物を含んでよい。さらに別の態様では、非経口用量単位が約0.01%から約2重量%の化合物を含むように本組成物を調製する。

20

【0251】

静脈内投与の場合、本組成物は、動物の体重のkgあたり約0.01から約100mgの化合物を含んでよい。一態様では、本組成物は、動物の体重のkgあたり約1から約100mgの化合物を含んでよい。別の態様では、投与される量は、約0.1から約25mg/kg体重の化合物の範囲とする。

【0252】

総体として、通常、患者に投与する化合物の用量は、約0.01mg/kgから約2000mg/kg動物体重である。実施態様によって、投与する用量は、約0.01mg/kgから約10mg/kg動物体重の間である。実施態様によって、投与する用量は、約0.1mg/kgから約250mg/kg動物体重の間である。実施態様によって、投与する用量は、約0.1mg/kgから約20mg/kg動物体重の間である。実施態様によって、投与する用量は、約0.1mg/kgから約10mg/kg動物体重の間である。実施態様によって、投与する用量は、約1mg/kgから約15mg/kg動物体重の間である。実施態様によって、投与する用量は、約1mg/kgから約10mg/kg動物体重の間である。

30

【0253】

本化合物または組成物は、任意の簡便な経路、例えば、注入または急速静脈注射によって、上皮または皮膚粘膜内壁（例えば口腔粘膜、直腸および腸の粘膜等）経由吸収によって投与してよい。投与は全身投与であってよく、または局所投与であってよい。さまざまな投薬システム、例えば、リポソーム、微粒子、マイクロカプセル、カプセル等へのカプセル化が知られ、これらを用いて化合物を投与してよい。特定の実施態様では、2つ以上の化合物または組成物を患者に投与する。

40

【0254】

特定の実施態様では、治療を必要とする区域に1つ以上の化合物または組成物を局所投与することが望ましいことがある。これは、例えば、手術時の局所注入によって；例えば、手術後の創傷被覆材とともに局所塗布によって；注射によって；カテーテルによって；坐薬によって；または、シアラスチック膜などの膜を含む多孔質、非多孔、または、ゼラチン状材料または繊維のインプラントによって実現してよい。一実施態様では、投与は、癌、腫瘍または新生組織または前新生組織の部位（または前部位）に直接注射してよい。別の実施態様では、投与は、自己免疫疾患顕在化部位（または前部位）に直接注射してよ

50

いがそれに限定されない。

【0255】

特定の実施態様では、心室内注射および髄腔内注射を含む任意の適当な経路によって、1つ以上の化合物または組成物を中枢神経系に導入するのが望ましいことがある。例えば、心室内注射は、O m m a y a リザーバなどのリザーバに取り付けられた心室内カテーテルによって容易にしてよい。

【0256】

例えば、吸入器または噴霧器と、エアロゾル化剤を有する製剤とを用いて、またはフルオロカーボンまたは合成肺胞界面活性剤中の灌流によって、肺投与も使用してよい。

【0257】

さらに別の実施態様では、ポンプまたはさまざまな重合体材料などであるがそれに限定されない制御放出システムを用いて本化合物または組成物を送達してよい。さらに別の実施態様では、本化合物または組成物の標的、例えば脳の近傍に制御放出システムを配置してよい。こうすると、全身用量の一部しか必要でなくなる（例えば、上掲の*Medical Applications of Controlled Release, vol. 2, pp. 115 - 138 (1984)* のGoodsonを参照すること）。Langerによる総説（1990，*Science* 249:1527 - 1533）中で考察されている他の制御放出システムを用いてよい。

【0258】

用語「キャリア」は、化合物とともに投与される希釈剤、アジュバントまたは賦形剤を指す。そのような医薬品キャリアは、水、および落花生油、ダイズ油、鉱油、ゴマ油および類似物など、石油、動物、植物または合成起源油を含む油などの液体であってよい。キャリアは、食塩水、アラビアゴム、ゼラチン、デンプンペースト、タルク、ケラチン、コロイドシリカ、尿素および類似物であってよい。さらに、補助剤、安定剤、増粘剤、潤滑剤および着色剤を用いてよい。一実施態様では、患者に投与するとき、本化合物または組成物および薬学的に許容されるキャリアは、無菌とする。化合物を静脈内投与するとき、水がキャリアの例である。特に注射用溶液に用いるとき、食塩水溶液ならびにデキストロースおよびグリセリン水溶液も液体キャリアとして使用してよい。適当な医薬品キャリアは、澱粉、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、モルト、米、フラワー、チヨーク、シリカゲル、ステアリン酸ナトリウム、グリセロールモノステアレート、タルク、塩化ナトリウム、乾燥脱脂乳、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノールおよび類似物などの賦形剤も含む。望むなら、本組成物は、少量のぬれ剤または乳化剤、あるいはpH緩衝剤を含んでよい。

【0259】

本組成物は、溶液、懸濁液、乳化液、錠剤、丸薬、ペレット、カプセル、液体を含むカプセル、粉体、持効性製剤、坐薬、乳化液、エアロゾル、スプレイ、懸濁液、または使用に適するその他の任意の形をとってよい。E. W. Martinによる”*Remington's Pharmaceutical Sciences*”には、適当な医薬品キャリアのその他の例が記載されている。

【0260】

ある実施態様では、動物、特に人間への静脈内投与に適した医薬品組成物として、本化合物を定常手順によって調合する。通常、静脈内投与用のキャリアまたはベヒクルは、無菌等張緩衝水溶液である。必要な場合、本組成物は、溶解剤も含んでよい。静脈内投与用の組成物は、任意選択として、注射部位における痛みを和らげるリグノカインなどの局所麻酔剤を含んでよい。一般に、成分は、別々に、または一緒に混合して単位用量形として、例えば、活性剤の量を表示するアンプルまたは小形試料ビンなどの密封容器中の乾いた凍結乾燥粉体または無水濃縮物として、供給する。化合物を注入によって投与する場合、例えば、無菌医薬等級級水または食塩水を含む注入ビンを用いて分注してよい。化合物を注射によって投与する場合、投与前に成分を混合することができるよう、注射用蒸留水または食塩水のアンプルを準備してよい。

10

20

30

40

50

【0261】

経口投与用の組成物は、例えば、錠剤、トローチ剤、水性懸濁液または油性懸濁液、顆粒、粉体、乳剤、カプセル、シロップまたはエリキシルの形であってよい。経口投与組成物は、薬学的に好ましい製剤を提供するために、任意選択として、1つ以上の剤、例えば、フラクトース、アスパルテームまたはサッカリンなどの甘味料、；ペパーミント、ウインターグリーン油またはサクランボなどの芳香剤；着色剤；および防腐剤を含んでよい。さらに、錠剤または丸薬の形の場合、本組成物は、被膜して胃腸管中の崩壊および吸収を遅らせ、それによって、長時間にわたって持続する作用を提供してよい。浸透活性推進化合物の周囲の選択透過膜も、経口投与化合物に適する。これらの最近のプラットホームでは、カプセルの周囲の環境からの流体が推進化合物に吸収され、推進化合物を膨潤させ、剤または剤組成物が開口経由で放出される。これらの投与プラットホームは、即時放出製剤のスパイク型プロフィルと異なり、基本的にゼロ次放出プロフィルを提供することができる。グリセロールモノステアレートまたはグリセロールステアレートなどの時間遅延材料も用いてよい。

10

【0262】

本組成物は、局所投与を意図してよく、その場合、キャリアは、溶液、乳剤、軟膏またはゲル基材の形であってよい。経皮投与を意図するなら、本組成物は、経皮パッチまたはイオン泳動デバイスの形であってよい。局所用製剤は、約0.05%から約50%w/v（組成物の単位体積あたりの重量）、別の態様では0.1%から10%w/vの濃度の化合物を含んでよい。

20

【0263】

本組成物は、例えば、坐薬の形の直腸投与を意図してよい。座薬は、直腸中に融解して化合物を放出する。

【0264】

本組成物は、固体または液体の用量単位の物理的形状を変化させるさまざまな物質を含んでよい。例えば、本組成物は、活性成分の周りに塗膜殻を形成する物質を含んでよい。塗膜殻を形成する物質は、通常、不活性であり、例えば、砂糖、シェラック、およびその他の腸溶性塗膜剤から選択してよい。あるいは、活性成分をゼラチンカプセルの中に収容してよい。

30

【0265】

本組成物は、気体用量単位からなってよく、例えば、エーロゾルの形であってよい。用語エーロゾルを用いて、コロイド性のものから、加圧パッケージからなるシステムまでの範囲にある、さまざまなシステムを示す。投与は、液化ガスまたは圧縮ガスによって、あるいは有効成分を分注する適当なポンプシステムによってであってよい。

【0266】

固体形、液体形または気体形であろうと、本組成物は、癌、自己免疫疾患または感染症の治療において用いられる薬物を含んでよい。

【0267】

結合体の治療使用

本結合体は、患者の癌、自己免疫疾患、感染症またはその他の疾患を治療するために有用である。実施態様によって、本結合体は、単独投与される。他の実施態様では、本結合体は、別の治療剤とともに同時投与される。実施態様によって、本結合体は、保護化学療法剤の標準物とともに同時投与される。

40

【0268】

癌の治療

本結合体は、腫瘍細胞または癌細胞の増殖を阻害し、腫瘍細胞または癌細胞中にアポトーシスを引き起こし、または、患者の癌を治療するために有用である。従って、本化合物は、動物癌の治療のためのさまざまな環境で用いてよい。化合物によって治療してよい特定の種類の癌のいくつかの例は、表1に開示されているものを含むがそれらに限定されない。

50

【0269】

(表1)

以下を含む固形腫瘍。ただし、以下に限定されない。

【0270】

線維肉腫	
粘液肉腫	
脂肪肉腫	
軟骨肉腫	
骨肉腫	
脊索腫	10
血管肉腫	
内皮肉腫	
リンパ管肉腫	
リンパ管内皮肉腫	
滑液腫瘍	
中皮腫	
ユーリング腫瘍	
平滑筋肉腫	
横紋筋肉腫	
結腸癌	20
直腸癌	
結直腸癌	
腎臓癌	
膵臓癌	
骨癌	
乳癌	
卵巣癌	
前立腺癌	
陰茎癌腫	
食道癌	30
胃癌	
胃腸癌	
胃癌	
腹膜癌	
肝癌腫	
肝細胞癌	
肝臓癌	
口腔癌	
鼻癌	
喉頭癌	40
扁平細胞癌腫（例えば、上皮癌腫）	
基底細胞癌腫	
腺癌腫	
汗腺癌腫	
皮脂腺癌腫	
乳頭癌腫	
乳頭腺癌腫	
囊胞腺癌腫	
髓様癌腫	
気管支癌腫	50

腎細胞癌腫	
肝癌	
胆道癌腫	
絨毛癌腫	
精腫腫	
胎児癌腫	
ウィルムス腫瘍	
子宮頸癌	
子宮癌	
子宮内膜癌腫または子宮癌腫	10
陰門癌	
精巣癌	
膀胱癌腫	
小細胞肺癌腫、肺非小細胞癌、肺の腺癌腫および肺の扁平癌腫を含む肺癌	
上皮癌腫	
神経膠腫	
膠芽腫	
多形性膠芽腫	
星状細胞腫	
髓芽腫	20
頭蓋咽頭腫	
上衣腫	
松果体腫	
血管芽腫	
聴神経腫	
乏突起膠腫	
髓膜腫	
皮膚癌	
メラノーマ	
神経芽腫	30
網膜芽腫	
唾液腺癌腫	
甲状腺癌	
頭部癌	
頸部癌	
肛門癌	
以下を含む血液系の癌。ただし、以下に限定されない。	
【0271】	
急性リンパ性白血病「ALL」	
急性リンパ性B細胞白血病	40
急性リンパ性T細胞白血病	
急性骨髓性白血病「AML」	
急性前骨髓性白血病「APL」	
急性単球性白血病	
急性赤白血病性白血病	
急性巨核芽球性白血病	
急性骨髓単球性白血病	
急性非リンパ性白血病	
急性未分化白血病	
慢性骨髓性白血病「CML」	50

慢性リンパ球性白血病「C L L」
 有毛細胞性白血病
 多発性骨髄腫
 急性白血病および慢性白血病、すなわち
 リンパ芽球性白血病
 骨髄性白血病
 リンパ性白血病
 骨髄性白血病
 リンパ腫、すなわち、
 ホジキン病

10

非ホジキンリンパ腫
 多発性骨髄腫
 ワルデンシュトレームマクログロブリン血症
 重鎖疾患
 真性赤血球増加症

本結合体を用いると、結合体特異的腫瘍または癌を標的とすることができます、従って、これらの化合物の総合的な毒性が低下する。リンカーは、血中で結合体を安定化するが、細胞内の酵素（例えばリソソーム酵素）によって開裂し、薬物（単数または複数）を放出することができる。

【0272】 20

癌のための多角療法

本発明に記載の結合体の投与によって、腫瘍、転移、または制御されない細胞成長を特徴とするその他の疾患または障害を含むがそれらに限定されない癌を治療または予防することができる。

【0273】 30

実施態様によって、必要とする患者に有効な量の結合体および化学療法剤を投与することを含む、癌を治療するかまたは予防するための方法が提供される。一実施態様では、化学療法薬は、癌の治療が難治でないことが分ったものである。別の実施態様では、化学療法剤は、癌の治療が難治であると分ったものである。本結合体は、癌の治療のために手術を受けた患者にも投与してよい。

【0274】 30

一実施態様では、追加の治療方法は、放射線療法である。

【0275】 30

特定の実施態様では、本結合体は、化学療法薬とともに、または放射線療法とともに並行投与される。別の特定の実施態様では、化学療法薬または放射線療法は、本結合体の投与前、または投与後に投与される。実施態様によって、本結合体の投与の少なくとも1時間、5時間、12時間、1日、1週間、1月、数ヶ月（例えば、最大3ヶ月）前、または後に化学療法薬または放射線療法を投与する。

【0276】 40

化学療法剤は、一連の期間にわたって投与してよい。以下の化学療法剤の任意の1つまたは組み合わせを投与してよい（下記を参照すること）。放射線については、治療する癌の種類によって、任意の放射線治療プロトコルを用いてよい。例えば、X線放射を投与してよく、詳しくは、高エネルギーが電圧（1 MeVより大きなエネルギーの放射線）を深部腫瘍に用いてよく、電子ビームおよび常用電圧X線放射線を皮膚癌に用いてよいがそれらに限定されない。ラジウム、コバルトおよびその他の元素の放射性同位元素などのガンマ線放出放射性同位元素も投与してよい。

【0277】 40

さらに、化学療法または放射線治療の毒性が強すぎることが証明されたかまたは証明することができる場合、例えば、治療を受ける被験者にとって受け入れがたいまたは耐えられない副作用を生じる結果となる場合、化学療法または放射線療法に代えて、結合体によ

50

る癌の治療方法を提供する。治療を受ける動物は、任意選択として、どの治療が受け入れられるかまたは耐えられるかによって、手術、放射線療法または化学療法などの、癌治療方で治療してよい。

【0278】

本結合体は、白血病およびリンパ腫を含むがそれらに限定されない特定の癌の治療の場合など、インビトロまたはエクスピボ法でも用いてよく、そのような治療は、自己由来幹細胞移植を含む。これは、動物の自己由来造血幹細胞を集め、すべての癌細胞を除去し、次に、高線量の放射線療法を併用して、または併用せずに、高用量の結合体を投与して動物の残る骨髄細胞集団を根絶し、幹細胞移植片を動物中に注入して戻す多段プロセスを含んでよい。次に、骨髄機能が回復し、動物が回復する間、支援介護を提供する。

10

【0279】

癌の多薬剤治療

有効な量の結合体と、抗癌剤である別の療法剤とを、それらを必要とする患者に投与することを含む、癌を治療するための方法を開示する。

【0280】

化学治療剤の例は、チオテパおよびシトキサン（登録商標）シクロスフォファミドなどのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファン、ピボスルファンおよびトレオスルファンなどのアルキルスルホネート；デカルバジン；ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパおよびウレドーパなどのアジリジン；エチレンイミン類、およびアルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホルアミド、トリエチレンチオホスホルアミドおよびトリメチロロメラミンを含むメチラメラミン類；T L K 2 8 6 (T E L C Y T A TM)；アセトゲニン類（特にプラタシンおよびプラタシノン）；デルタ-9-テトラヒドロカンナビノール（ドロナビノール、マリノール（登録商標））；ベータ-ラバコン；ラバコール；コルヒチン類；ベツリン酸；カンプトセシン（合成類縁体トボテカン（ハイカムチン（登録商標））、C P T - 1 1 （イリノテカン、カンプトサー（登録商標））、アセチルカンプトセシン、スコポレクチンおよび9-アミノカンプトセシンを含む）；ブリオスタチン；カリスタチン；C C - 1 0 6 5 （アドゼレスチン、カルゼレスチンおよびビゼレスチン合成類縁体を含む）；ポドフィロトキシン；ポドフィリニン酸；テニポシド；クリプトフィシン類（特にクリプトフィシン1およびクリプトフィシン8）；ドラスタチン；デュオカルマイシン（合成類縁体K W - 2 1 8 およびC 1 3 1 - T M 1 を含む）；エリューセロピン；パンクラチスタチン；サルコジクチン；スponジスタチン；クロラムブシル、クロルナファジン、コロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、酸化メクロレタミン塩酸塩、メルファラン、ノベンピチン、フェネステリン、ブレドニマスチン、トロホスファミド、ウラシルマスターなどのナイトロジエンマスター；カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチンおよびラミムヌスチンなどのニトロソ尿素；クロドロネートなどのビスホスホネート；エンジイン抗生物質などの抗生物質（例えば、カリケアマイシン、特に、カリケアマイシンガンマ11およびカリケアマイシンオメガ11（A g n e w , C h e m . I n t l . E d . E n g l . 3 3 : 1 8 3 - 1 8 6 (1 9 9 4) を参照すること）、およびアンナマイシン、A D 3 2 、アルカルビシン、ダウノルビシン、デクスラゾキサン、D X - 5 2 - 1 、エピルビシン、G P X - 1 0 0 、イダルビシン、K R N 5 5 0 0 、メノガリル、ダイネミシンAを含むダイネミシン、エスペラミシン、ネオカルジノスタチン発色団および関連発色蛋白質エンジイン抗生物質発色団、アクラシノミシン類、アクチノマイシン、アウスラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン（例えばブレオマイシンA 2 、ブレオマイシンB 2 およびペプロマイシン）、カクチノマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、カルチノフィリン、クロモマイシニ類、ダクチノマイシン、デトルビシン、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、アドリアマイシン（登録商標）ドキソルビシン（モルホリノ - ドキソルビシン、シアノモルホリノ - ドキソルビシン、2 - ピロリノ - ドキソルビシン、リポソームドキソルビシンおよびデオキシドキソルビシンを含む）、エソルビシン、マルセロマイシン、マイトイマイシンCなどのマイトイマイシン、ミコフェノール酸、チア

20

30

40

50

ゾフリン、リババリン、E I C A R、ノガラマイシン、オリボマイシン類、ペプロマイシン、ポットフィロマイシン、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチンおよびゾルビシンなどのアンスラサイクリン；デノブテリン、ブテロブテリンおよびトリメトレキサートなどの葉酸類縁体；フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリンおよびチオグアニンなどのプリン類縁体；アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビンおよびフロクスウリジンなどのピリミジン類縁体；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタンおよびテストラクトンなどのアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタンおよびトリロスタンなどの抗アドレナリン剤；フォリン酸（ロイコボリン）などの葉酸補助剤；アセグラトン；A L I M T A R（登録商標）、ペメトレキセドLY231514などの抗葉酸抗腫瘍薬、メトトレキセートおよびトリメトレキセートなどのジヒドロ葉酸レダクターゼ阻害剤、5-フルオロウラシル（5-FU）およびUFT、S-1およびカペシタビンなどのそのプロドラッグなどの抗代謝剤、およびチミジル酸シンターゼ阻害剤およびラルチトレキセド（TOMUDEXRM、TDX）などのグリシンアミドリボヌクレオチドホルミルトランスフェラーゼ阻害剤；エニルウラシルなどのジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼの阻害剤；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；アムサクリン；ベストラブシル；ビサントレン；エダトラキセート；デフォファミン；デメコルチン；ジアジコン；エルフォルニチン；酢酸エリプチニウム；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；デスフェリオキサミン；レンチナン；ロニダイニン；メイタンシンおよびアンサミトシン類などのメイタンシノイド；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール；ニトラエリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ロソキサントロン；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；P S K（登録商標）多糖類複合体（JHSナチュラルプロダクツ、オレゴン州ユージン）；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジコン；2,2',2"-トリクロロトリエチルアミン；トリコテセン類（特にT-2トキシン、ベラクリンA、ロリジンAおよびアンゲイジン）；ウレタン；ビンデシン（エルジシン（登録商標）、フィルデシン（登録商標））；デカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン；シトシンアラビノシド（「アラ-C」）；シクロホスファミド；チオテパ；タキソイドおよびタキサン、例えば、タキソール（登録商標）パクリタキセル（ブリストル-マイヤーズスクイブオンコロジー、ニュージャージー州プリンストン）、パクリタキセルの無クレモフォルのアルブミン操作ナノ粒子製剤であるアブラキサン（登録商標）（アメリカンファーマシューティカルパートナーズ、イリノイ州ショーンバーグ）およびタキソテール（登録商標）ドキセタキセル（ローヌ-ブランロレ、フランス、アントニ）；クロランブシル；ゲムシタビン（ゲムザール（登録商標）；6-チオグアニン；メルカプトプリン；白金；シスプラチニン、オキサリプラチニンおよびカルボプラチニンなどの白金類縁体または白金系類縁体；ビンプラスチニン（ベルバン（登録商標））；エトポシド（VP-16）、テニポシド、テポテカン、9-アミノカンプトセシン、カンプトセシンおよびクリスナトールなどのエピポドフィリン類；イホスファミド；ミトキサントロン；ビンクリスチニン（オンコビン（登録商標））、ビンデシン、ビンカアルカロイドおよびビノレルビン（ナベルビン（登録商標））などのビンカアルカロイド；ノバントロン；エダトレキセート；ダウノマイシン；アミノブテリン；キセローダ；イバンドロネット；トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000；ジフルオロメチルオルニチン（DMFO）；レチノイン酸などのレチノイド；上記の任意のものの薬学的に許容される塩、酸または誘導体、ならびに、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ビンクリスチニンおよびプレドニソロンの併用療法の省略形であるCHOPおよび5-FUおよびロイコボリンと組み合わせたオキサリプラチニン（エロキサチニン（登録商標））による治療計画の省略形であるFOLFOXなど、上記の2つ以上の組み合わせを含む。

実施態様によって、抗癌剤は、メトトレキセート、タキソール、L-アスパラギナーゼ、メルカプトプリン、チオグアニン、ヒドロキシ尿素、シタラビン、シクロホスファミド、イホスファミド、ニトロソ尿素、シスプラチニ、カルボプラチニ、マイトマイシン、デカルバジン、プロカルバジン、トポテカン、ナイトロジエンマスター、シトキサン、エトポシド、5-フルオロウラシル、BCNU、イリノテカン、カンプトセシン、ブレオマイシン、ドキソルビシン、イダルビシン、ダウノルビシン、ダクチノマイシン、プリカマイシン、ミトキサントロン、アスパラギナーゼ、ビンプラスチニ、ビンクリスチニ、ビノレルビン、パクリタキセルまたはドセタキセルである。

【0282】

実施態様によって、本抗癌剤は、表2に挙げたがそれらに限定されない薬物を含む。

10

【0283】

【化65】

表2

アルキル化剤	
ナイトロジエンマスター:	シクロホスファミド イホスファミド トロホスファミド クロラムブシリ メルファラン
ニトロソ尿素:	カルムスチン(BCNU) ロムスチン(CCNU)
アルキルスルホネート	ブスルファン トレオスルファン
トリアゼン:	デカルバジン

20

【0284】

【化66】

アルキル化剤		
白金含有化合物:	シスプラチン カルボプラチン	
植物アルカロイド		
ピンカアルカロイド:	ピンクリスチン ピンプラスチン ピンデシン ビノレルビン	10
タキソイド:	パクリタキセル ドセタキソール	
DNAトポイソメラーゼ阻害剤		
エピポドフィリン:	エトポシド テニポシド トポテカン 9-アミノカンプトセシン カンプトセシン クリスナトール	
マイトマイシン:	マイトマイシンC	
抗代謝剤		20
抗葉酸剤:		
DHFR阻害剤:	メトレキセート トリメトレキサート	
IMPデヒドロゲナーゼ阻害剤:	ミコフェノール酸 チアゾフリン リバビリン EICAR	
リボヌクレオチドレダクターゼ阻害剤:	ヒドロキシ尿素 デフェロキサミン	
ピリミジン類縁体:		
ウラシル類縁体	5-フルオロウラシル フロクスウリジン ドキシフルリジン ラチトレキセド	30
シトシン類縁体	シタラビン(アラC) シトシンアラビノシド フルダラビン	
プリン類縁体:	メルカブトプリン チオグアニン	
ホルモン療法:		
受容体拮抗薬:		
抗エストロゲン剤	タモキシフェン ラロキシフェン メゲストロール	40
LHRHアゴニスト:	ゴスクルクリン 酢酸ロイプロリド	
抗アンドロゲン物質:	フルタミド ピカルタミド	
レチノイド/デルトイド		
ビタミンD3類縁体:	EB 1089 CB 1093	

【化 6 7】

アルキル化剤		
	KH 1060	
光力学療法:	ベルトポルフィン(BPD-MA) フタロシアニン 光増感剤Pc4 デメキシーハイポクレリンA (2BA-2-DMHA)	10
サイトカイン:	インターフェロン- α インターフェロン- γ 腫瘍壞死因子	
その他:	ゲムシタビン ベルケイド レバミド タラミド	
イソプレニル化阻害剤:	ロバスタチン	
ドーパミン作動性神経毒:	1-メチル-4-フェニルピリジニウムイオン	
細胞周期阻害剤:	スタウロスボリン	
アクチノマイシン:	アクチノマイシンD	20
	ダクチノマイシン	
ブレオマイシン:	ブレオマイシンA2 ブレオマイシンB2 ペプロマイシン	
アンスラサイクリン:	ダウノルビシン ドキソルビシン(アドリアマイシン) イダルビシン エピルビシン ピラルビシン ゾルビシン ムトキサントロン	
MDR阻害剤:	ペラバミル	30
Ca^{2+} ATPアーゼ阻害剤:	タブシガルジン	

自己免疫疾患の治療

本結合体は、自己免疫疾患を引き起こす細胞を死滅させるかまたは複製を阻害するため、あるいは自己免疫疾患を治療するために有用である。従って、患者の自己免疫疾患の治療のためのさまざまな状況において、本結合体を用いてよい。

【0286】

本結合体によって治療してよい自己免疫疾患の特定の種類は、Th2リンパ球関連障害(例えばアトピー皮膚炎、アトピー喘息、鼻結膜炎、アレルギー性鼻炎、オーメン氏症候群、全身性硬化症および対宿主性移植片病)、Th1リンパ球関連障害(例えばリウマチ性関節炎、多発性硬化症、乾せん症、シェーグレン症候群、橋本甲状腺炎、グレープ疾患、原発性胆管萎縮症、ウェーベナー肉芽腫症および結核)、活性化Bリンパ球関連障害(例えば全身性エリテマトーデス、グッドパスチャー症候群、リウマチ性関節炎およびI型糖尿病)ならびに表3に開示されている障害を含むがそれらに限定されない。

【0287】

(表3)

活動性慢性肝炎

アジソン病

アレルギー性肺胞炎

アレルギー性反応

40

50

アレルギー性鼻炎	
アルポート症候群	
過敏症	
強直性脊椎炎	
抗リン脂質症候群	
関節炎	
回虫症	
アスペルギルス症	
アトピーアレルギー	10
アトピー皮膚炎	
アトピー鼻炎	
ベーチェット病	
鳥飼病	
気管支喘息	
カプラン症候群	
心筋症	
腹腔疾患	
シャガス病	
慢性糸球体腎炎	20
コーガン症候群	
寒冷凝集疾患	
先天性風疹感染	
クレスト症候群	
クローン病	
クリオグロブリン血症	
クッシング症候群	
皮膚筋炎	
円板状狼瘍	
ドレスラー症候群	
イートン・ランバート症候群	30
エコーウイルス感染	
脳脊髄炎	
内分泌眼障害	
エプステインバーウイルス感染	
馬肺気腫	
エリテマトーデス	
エバン症候群	
フェルティー症候群	
線維症	
フックス毛様体炎	40
胃萎縮症	
消化管アレルギー	
巨細胞性動脈炎	
糸球体腎炎	
グッドパスチャー症候群	
移植片対宿主疾患	
グレーブス病	
ギラン・バー疾患	
橋本甲状腺炎	
溶血性貧血	50

ヘノッホシェーンライン紫斑病	
特発性副腎萎縮症	
特発性肺線維症	
IgA腎障害	
炎症性腸疾患	
インスリン依存型糖尿病	
若年性関節炎	
若年性真正糖尿病（I型）	
ランバート・イートン症候群	
蹄葉炎	10
扁平苔癬	
ルポイド肝炎	
狼瘡	
リンパ球減少症	
メニエール病	
混合性結合組織病	
多発性硬化症	
重症筋無力症	
悪性貧血	
多腺性症候群	20
初老期痴呆	
原発性無ガンマグロブリン血症	
原発性胆管萎縮症	
乾せん症	
乾癬性関節炎	
レイノー現象	
反復流産	
ライター症候群	
リウマチ熱	
リウマチ性関節炎	30
サンプター症候群	
住血吸虫症	
シュミット症候群	
強皮症	
シュルマン症候群	
ショルゲン症候群	
全身強直性症候群	
交感性眼炎	
全身性エリテマトーデス	
高安動脈炎	40
側頭動脈炎	
甲状腺炎	
血小板減少症	
甲状腺中毒症	
中毒性表皮壊死症	
B型インシュリン耐性	
I型糖尿病	
潰瘍性大腸炎	
ブドウ膜炎	
白斑	50

ワルデンストロームマクログロブリン血症

ウェーゲナー肉芽腫症

自己免疫疾患の多薬剤治療

有効な量の結合体と、自己免疫疾患の治療用に知られている別の療法剤とを、それらを必要とする患者に投与することを含む、自己免疫疾患を治療するための方法を開示する。一実施態様では、抗自己免疫疾患剤は、表4に挙げた薬剤を含むがそれらに限定されない。

【0288】

(表4)

サイクロスボリン	10
サイクロスボリンA	
ミコフェニレートモフェチル	
シロリムス	
タクロリムス	
エナナーセプト	
プレドニゾン	
アザチオブリン	
メトトレキセート	
シクロホスファミド	
プレドニゾン	20
アミノカブロン酸	
クロロキン	
ヒドロキシクロロキン	
ハイドロコーチゾン	
デキサメサゾン	
クロラムブシル	
D H E A	
ダナゾール	
プロモクリプチン	
メロキシカム	30
インフリキシマブ	

本結合体は、感染症を引き起こす細胞を死滅させるかまたは複製を阻害するため、あるいは感染症を治療するために有用である。

【0289】

一実施態様では、本結合体は、特定の感染症を引き起こす細胞を死滅させるかまたは増殖を阻害する。

【0290】

本結合体によって治療することができる特定の種類の感染症は、表5に開示されているものを含むがそれらに限定されない。

【0291】

40

(表5)

細菌性疾患：

ジフテリア

百日咳

潜在性菌血症

尿路感染症

胃腸炎

蜂巣炎

喉頭蓋炎

気管炎

50

アデノイド肥大症	
咽頭後方膿瘍	
インペチゴ	
膿瘍	
肺炎	
心内膜炎	
敗血性関節炎	
肺炎球菌性	
腹膜炎	10
菌血症	
髄膜炎	
急性化膿性髄膜炎	
尿道炎	
子宮頸炎	
直腸炎	
咽頭炎	
耳管炎	
副睾丸炎	
淋病	
梅毒	20
リストリア症	
炭疽病	
ノカルジア症	
サルモネラ	
腸チフス	
赤痢	
結膜炎	
副鼻腔炎	
ブルセラ症	
ツラレミア	30
コレラ	
腺ペスト	
破傷風	
壊死性腸炎	
放線菌症	
混合嫌気性感染	
梅毒	
回帰熱	
レプトスピラ症	
ライム病	40
鼠咬熱	
結核	
リンパ節炎	
らい病	
クラミジア症	
クラミジア肺炎	
トラコーマ	
封入体結膜炎	
全身性真菌疾患：	
ヒストプラスマ症	50

コクシジオイデス症	
プラスミセス症	
スプロトリクム症	
クリプトコックス症	
全身性カンジダ症	
アスペルギルス症	
ムコール菌症	
菌腫	
クロモミセス症	
リケッチャ疾患：	10
チフス	
ロッキー山班点熱	
エールリッヒ症	
東部ダニ媒介リケッチャ症	
リケッチャ痘	
キュー熱	
バルトネラ症	
寄生虫疾患：	
マラリア	
バベシア症	20
アフリカ眠り病	
シャガス病	
リーシュマニア症	
ダムダム熱	
トキソプラズマ症	
髄膜脳炎	
角膜炎	
アメーバ症	
ジアルジア症	
クリプトスボリジウム症	30
イソスボーラ症	
シクロスボリア症	
微胞子虫症	
回虫症	
鞭虫感染	
十二指腸虫感染	
線虫感染	
眼幼虫移行症	
旋回虫症	
糸状虫疾患	40
リンパ管フィラリア症	
ロア糸状虫症	
糸状虫症	
犬心糸状虫感染	
住血吸虫症	
沼地皮膚症	
東洋肺吸虫	
東洋肝吸虫	
肝蛭症	
肥大吸虫症	50

オピストルキス症	
条虫感染	
包虫症	
多包虫症	
ウイルス性疾患：	
はしか	
亜急性硬化性全脳炎	
風邪	
おたふくかぜ	
風疹	10
バラ疹	
第五病	
水痘	
呼吸系発疹ウイルス感染	
偽膜性喉頭炎	
細気管支炎	
感染性単核症	
ポリオ	
ヘルパンギナ	
手足口病	20
ボルンホルム疾患	
性器ヘルペス	
性器いぼ	
無菌性髄膜炎	
心筋炎	
心外膜炎	
胃腸炎	
後天性免疫不全症候群（エイズ）	
ヒト免疫不全ウイルス（HIV）	
ライ工症候群	30
川崎病	
インフルエンザ	
気管支炎	
ウイルス性「通院可能」肺炎	
急性発熱呼吸器病	
急性咽頭結膜熱	
流行性角結膜炎	
単純ヘルペスウイルス1（HSV-1）	
単純ヘルペスウイルス2（HSV-2）	
帯状ヘルペス	40
巨細胞性封入体病	
狂犬病	
進行性多病巣性白質脳症	
クールー	
致死性家族性不眠症	
クロイツフェルトヤコブ病	
ゲルストマン-シュトラウスラー-シャインカー疾患	
熱帯痙攣性対性不全麻痺	
西部馬脳炎	
カリフォルニア脳炎	50

セントルイス脳炎
 黄熱病 r
 デング熱
 リンパ球性脈絡髄膜炎
 ラッサ熱
 出血熱
 ハンタウイルス肺症候群
 マールブルグウイルス感染
 エボラウイルス感染
 天然痘

10

感染症の多薬物治療

結合体と、抗感染症剤である別の療法剤とを、それらを必要とする患者に投与することを含む、感染症を治療するための方法を開示する。一実施態様では、抗感染症剤は、表6に挙げた薬剤を含むがそれらに限定されない。

【0292】

(表6)

- ラクタム抗生物質 :	
ペニシリン G	
ペニシリン V	
クロキサシリン	20
ジクロキサシリン	
メチシリン	
ナフシリン	
オキサシリン	
アンピシリン	
アモキシシリン	
バカンピシリン	
アズロシリン	
カルベニシリン	
メズロシリン	30
ピペラシリン	
チカルシリン	
アミノグリコシド :	
アミカシン	
ゲンタミシン	
カナマイシン	
ネオマイシン	
ネチルミシン	
ストレプトマイシン	
トブラマイシン	40
マクロライド :	
アジスロマイシン	
クラリスロマイシン	
エリスロマイシン	
リンコマイシン	
クリンダマイシン	
テトラサイクリン :	
デメクロサイクリン	
ドキシサイクリン	
ミノサイクリン	50

オキシテトラサイクリン	
テトラサイクリン	
キノロン：	
シノキサシン	
ナリジキシン酸	
フルオロキノロン：	
シプロフロキサシン	
エノキサシン	
グレパフロキサシン	
レボフロキサシン	10
ロメフロキサシン	
ノルフロキサシン	
オフロキサシン	
スバルフロキサシン	
トロバフロキサシン	
ポリペプチド：	
バシトラシン	
コリスチン	
ポリミキシン B	
スルホンアミド：	20
スルファイソキサゾール	
スルファメトキサゾール	
スルファジアジン	
スルファメチゾール	
スルファセタミド	
雑抗菌因子：	
トリメトプリム	
スルファメタゾール	
クロラムフェニコール	
バンコマイシン	30
メトロニダゾール	
キヌプリスチン	
ダルフォプリスチン	
リファンピン	
スペクチノマイシン	
ニトロフラントイン	
抗ウイルス因子	
総合抗ウイルス因子：	
イドクスウリジン	
ビダラビン	40
トリフルリジン	
アシクロビル	
ファムシシクロビル	
ペンシシクロビル	
バラシクロビル	
ガンシクロビル	
ホスカルネット	
リバビリン	
アマンタジン	
リマンタジン	50

シドホビル	
アンチセンスオリゴヌクレオチド	
免疫グロブリン	
インターフェロン	
H I V 感染用薬物：	
テノホビル	10
エムトリシタビン	
ジドブジン	
ジダノシン	
ザルシタビン	
スタブジン	
ラミブジン	
ネビラビン	
デラビルジン	
サキナビル	
リトナビル	
インジナビル	
ネルフィナビル	

【実施例】

【0293】

20

以下の実施例において、本発明をさらに説明するが、以下の実施例は、本発明の範囲を限定するものではない。特に明記しない限り、以下の実施例に記載される細胞系統は、アメリカンタイプカルチャーコレクション (ATCC) またはドイツのプラウンシュバイクにあるドイツチェザムルングフォンミクロオルガニズメンウントツェルクルツーレンゲーエムベーハー (DMSZ) が指定する条件で培養維持した。細胞培養試薬は、特に明記しない限り、カリフォルニア州カールスバッドのインビトロジェン社から入手した。

【0294】

特に明記しない限り、すべての無水溶媒は、市販品を入手し、シュア - シール (登録商標) のビン中に窒素下で保管した。他の試薬および溶媒は、すべて入手できる最高等級を購入し、それ以上精製せずに用いた。NMRスペクトルは、バリアンマーキュリー 400 MHz 装置で記録した。化学シフト () は、テトラメチルシランを 0.00 基準とするパーツパーミリオン (ppm) で報告し、結合定数 (J) は、Hz で報告する。低分解能質量スペクトルデータは、LC - MS 用の HPLC アジレント 1100 高性能液体クロマトグラフィー装置と連動したマイクロマス ZMD 質量分析計で取得した。生成物は、フェノモネックスシナジヤイの 2.0 × 150 mm、4 μ、80 の MAX RP カラム上で、A (0.05% HCO₂H 水溶液) 中の B (CH₃CN と 0.05% の HCO₂H) の移動相の直線濃度グラジエントを 0.4 mL / 分で用いて溶出させた。特に明記しない限り、報告する保持時間 (t_R) は、LCMS によるものである。高分解能 (精密質量) データは、the University of Washington Medicinal Chemistry Mass Spectrometry Center のブルーカエイペックス II 47e [FT (ICR)] MS 上で得た。分析 HPLC は、ウォーターズ 2695 装置上でウォーターズ 2996 PDA とミレニアムソフトウェアとを用いて行った。

【0295】

分析 HPLC に用いた固定相は、フェノモネックスシナジヤイの 4.6 × 150 mm、4 μ、80 の MAX RP カラムであった。生成物は、A (0.05% TFA 水溶液) 中の移動相 B (CH₃CN と 0.05% の HCO₂H、8 分間で 10% から 95% へ) の酸性直線グラジエント (グラジエント A と命名)、または A (5.0 mM の NH₄H₂PO₄) 中の移動相 B (CH₃CN、10 分間で 10% から 90% へ、次いで 90% に 5 分間保持する) の 1.0 mL / 分の流速の中性直線グラジエント (グラジエント N と命名)

30

40

50

のどちらかで溶出させた。調製規模 H P L C 精製は、C 1 2 フェノメネックスシナジー M A X - R P 4 μ 逆相カラム 2 5 0 \times 2 1 . 2 mm を備えたバリアン社装置上で実行し、水 - アセトニトリルグラジエント中の 0 . 1 % T F A で溶出させた。円盤クロマトグラフィーは、クロマトトロン（登録商標）（ハリスンリサーチ、カリフォルニア州パロアルト）装置上で順相シリカプレート（アナルテック、デラウェア州ニューアーク）を用いて実行した。調製規模薄層クロマトグラフィーは、ワットマンの 2 0 \times 2 0 cm、5 0 0 μ の 6 0 シリカゲルプレート上で実行した。その他の調製規模の順相精製は、すべてワットマンサイエンスの 6 0 の 2 3 0 ~ 4 0 0 メッシュのシリカゲルを吸着媒として用いる標準的フラッシュシリカゲルクロマトグラフィーによって実行した。

【0296】

10

実施例 1 合成

(2 S, 3 S, 4 S, 5 R, 6 S) - メチル - 6 - (2 - (3 - ((9 H - フルオレン - 9 イル) メトキシ) カルボニル - アミノ) プロパンアミド) - 4 - (ヒドロキシメチル) フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリアセトキシ - テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - カルボキシレート (11)。アニリン 5 (7.4 mg, 0 . 163 ミリモル) のジクロロメタン (6 mL) 溶液に、D I P E A (5.7 μ L, 0 . 33 ミリモル) を加えた。酸塩化物 6 (6.5 mg, 0 . 20 ミリモル) を加え、混合物を 30 分間攪拌した。混合物を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液中に投入し、酢酸エチル (3 \times 5.0 mL) で抽出した。抽出液を集め、水、および食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させた。ろ過および濃縮して粗生成物を得た後、ジクロロメタン中 5 % メタノールを移動相として用いる円盤クロマトグラフィーによって組成生物を精製し、106 mg (87 %) の 11 を白色の固体として得た。

20

【0297】

【化 6 8】

¹H NMR (d6-DMSO) δ 1.98 (s, 3H), 1.99 (s, 6H), 2.52 (m, 2H) 3.27 (m, 2H), 3.32 (s, 3H), 4.20 (m, 1H), 4.26 (m, 1H), 4.39 (d, 2H, J = 6.3 Hz), 4.70 (d, 1H, J = 9.7 Hz), 5.04 (t, 1H, J = 9.6 Hz), 5.15 (m, 2H), 5.48 (t, 1H, J = 9.4 Hz), 5.54 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 5.75 (s, 1H), 7.02 (q, 2H, J = 4.3 Hz) 7.30 (m, 2H), 7.39 (t, 4H, J = 7.72 Hz), 7.67 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 7.80 (s, 1H), 7.87 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 8.72 (s, 1H);

30

L C - M S m / z (E S⁺)、749 . 04 (M + H)⁺。

【0298】

(2 S, 3 S, 4 S, 5 R, 6 S) - メチル - 6 - (2 - (3 - ((9 H - フルオレン - 9 イル) メトキシ) カルボニル - アミノ) プロパンアミド) - 4 - ((4 - ニトロフェノキシ) カルボニルオキシ) メチル) フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリアセトキシ - テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - カルボキシレート (7)。D M F (4 mL) 中のベンジルアルコール 11 (105 mg, 0 . 14 ミリモル) の混合物に、炭酸ビス p - ニトロフェニル (85 mg, 0 . 28 ミリモル) および D I P E A (3.6 μ L, 0 . 21 ミリモル) を加えた。混合物を常温で 16 時間攪拌し、減圧で濃縮して油状残渣とした。この物質を、ジクロロメタンに溶かし、1 mm の円盤クロマトトロンプレート上に直接吸引し、ヘキサン中の 50 % 酢酸エチルとそれに続く酢酸エチルとで溶出させ、83 % の 7 (106 mg) を固体として得た。

40

【0299】

【化69】

¹H NMR (*d*6-DMSO) δ 1.98 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), 2.52 (m, 2H), 3.28 (m, 2H), 3.62 (s, 3H), 4.20 (m, 1H), 4.27 (m, 2H), 4.73 (d, 1H, *J* = 9.8 Hz), 5.05 (t, 1H, *J* = 9.6 Hz), 5.18 (t, 1H, *J* = 9.4 Hz), 5.21 (s, 2H), 5.49 (t, 1H, *J* = 10.2 Hz), 7.10 (d, 1H, *J* = 8.2 Hz), 7.22 (m, 1H), 7.30 (m, 2H), 7.39 (m, 4H, *J* = 7.0 Hz), 7.55 (d, 2H, *J* = 9.2 Hz), 7.67 (d, 2H, *J* = 5.2 Hz), 7.87 (d, 2H, *J* = 7.0 Hz), 7.97 (s, 1H), 8.29 (d, 2H, *J* = 9.0 Hz), 8.83 (s, 1H);

LC-MS m/z (ES⁺)、914.03 (M + H)⁺。

【0300】

モノメチルアウリスタチンE (MMAE)。MMAE (1a)は、オルバニーモレキュールリサーチ社 (ニューヨーク州オルバニー) が合成した。MMAE (1a)の合成は、既に記載されている (Doronina et al., Nat Biotechnol 21:778-84 (2003))。参照によってこの開示を本明細書に組み込む)。

【0301】

モノメチルアウリスタチンF (MMAF)。MMAF (1b) 合成用の中間体は、オルバニーモレキュールリサーチ社 (ニューヨーク州オルバニー) が合成した。MMAF (1b) の合成は、既に記載されている (Doronina et al., Biocion jug Chem. 17(1):114-124 (2006)) および米国特許出願公開第2005-0238649号。参照によってこれらの開示を本明細書に組み込む)。

【0302】

MMAFカーボネート (8)。p-ニトロフェニルカーボネート7 (30mg、0.033ミリモル) とモノメチルアウリスタチンF (MMAF) (1b; 29mg、0.039ミリモル) との混合物にDMF (0.8mL) とピリジン (0.2mL) とを加えた。 (MMAF (1b) の合成は、既に記載されている (Doronina et al., Biocion jug Chem. 17(1):114-124 (2006)) および米国特許出願公開第2005-0238649号。参照によってこれらの開示を本明細書に組み込む)。DIPSEA (7 μ L、0.04ミリモル)、続いてHOAt (1mg、7マイクロモル) を加えた。反応混合物を常温で16時間攪拌した。混合物を減圧で濃縮し、1mmクロマトロンプレート上でクロマトグラフィーに付し、1%酢酸を含むジクロロメタン中の1から5%のメタノールグラジエントで溶出させた。最後に溶出するUV活性 (254nm) バンドが生成物であった。これによって、44% (22mg) の8を固体成分として得た。この物質は、分析キャラクタリゼーションせずにさらに処理した。

【0303】

MMAFグルクロニドアミン。0 のメタノール (1mL) 中のMMAFカルバメート (22mg、0.015ミリモル) の混合物に、水 (1mL) 中のLiOH一水和物 (5.5mg、0.132ミリモル) の溶液を加えた。混合物を0 で15分間攪拌し、酢酸 (8 μ L) を用いて反応混合物を中和し、減圧濃縮した。LC-MS m/z (ES⁺)、1364.09 (M - H)⁺、9.78分。

【0304】

結果として得られた物質をDMF (0.8mL) に溶かし、ピペリジン (0.2mL) で処理した。混合物を5分間攪拌し、減圧で濃縮した。この物質を、水中で集め、調製規模HPLCによって精製し、12mg (72%) を白色の固体として得た。

【0305】

【化70】

¹H NMR (CD₃OD) δ 0.52 (d), 0.59 (d), 0.75-1.1 (m), 1.1-1.35 (m), 1.32-1.67 (m), 1.70-2.10 (m), 2.15-2.50 (m), 2.83-3.05 (m), 3.11 (s), 3.15-3.42 (m), 3.45-3.68 (m), 3.85 (m), 3.95 (m), 4.00-4.18 (m), 4.19-4.30 (m), 4.50-4.97 (m), 5.00-5.20 (m), 7.09-7.29 (m), 7.65 (d), 7.75 (d), 7.82 (d), 7.88 (d), 8.18 (d), 8.25 (m), 8.35 (d), 8.40 (d), 8.59 (d);

L C - M S m / z (E S⁺) 1144.66 (M - H)⁺。

10

【0306】

MMAE グルクロニドマレイミド (9a)。MMAE (1a) と化合物 7 とで出発し、9b (下記を参照) と同一方法で化合物 9a を調製した。化合物 9a は、白色の固体として得られた。

【0307】

【化71】

¹H NMR (CD₃OD); δ 0.64-1.01 (m, 24H), 1.12 (t, J = 6.9 Hz, 3H), 1.16 (d, J = 6.5 Hz, 1H), 1.23 (m, 1H), 1.4 (m, 1H), 1.45-1.63 (m, 5H), 1.67-1.98 (m, 2H), 2.19 (m, 3H), 2.42-2.54 (m, 1H), 2.63 (m, 2H), 2.96 (m, 4H), 3.1 (s, 2H), 3.12-3.39 (m, 3H), 3.40-3.73 (m, 9H), 3.85-3.96 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 4.13-4.27 (m, 2H), 4.52 (m, 1H), 4.59-4.68 (m, 2H), 4.65-5.0 (m, 2H), 5.0-5.17 (m, 2H), 6.78 (s, 2H), 7.09 (m, 1H), 7.20 (m, 3H), 7.3 (m, 3H), 7.38 (d, J = 7.6 Hz, 3H), 7.75-8.01 (m, 2H), 8.26 (d, J = 9.0 Hz, 1H), 8.32 (m, 1H);

L C - M S m / z (E S⁺) 1323.01 (M + H) 6.88 分; H R M S m / z C₆H₉N₈O₂ONa₂ (M - H + 2Na)⁺ 計算値 1367.6615、実測値 1367.6616。

20

【0308】

MMAF グルクロニドマレイミド (9b)。DMF (1 mL) 中のアミン (12 mg、0.011 ミリモル) の混合物に、MC - OSu (1.0、5.2 mg)、続いて DIPPEA (6 μL) を加えた。15 分後、反応混合物を減圧濃縮し、水と DMSO との混合物 (1:1、1 mL) に溶かし、調製規模 HPLC によって精製した。これによって、9.4 mg の 9b (64%) を白色の固体として得た。

【0309】

【化72】

¹H NMR (CD₃OD) δ 0.66-1.05 (m, 22H), 1.10-1.27 (m, 9H), 1.33-1.43 (m, 2H), 1.44-1.62 (m, 6H), 1.66-2.05 (m, 5H), 2.15-2.35 (m, 4H), 2.40-2.50 (m, 2H), 2.60-2.68 (m, 2H), 2.84-2.98 (m, 9H), 3.10 (s, 2H), 3.22 (s, 2H), 3.25-3.68 (m, 12H), 3.85 (dd, J = 8.6, 2.0 Hz), 3.93 (d, J = 10 Hz), 4.05 (m, 1H), 4.13 (m, 1H), 4.22 (q, J = 10 Hz), 4.48-4.58 (m, 1H), 4.63-4.75 (m, 2H), 4.81 (d, J = 7.8 Hz, 2H), 5.02-5.17 (m, 3H), 6.77 (s, 2H), 7.10 (m, 1H), 7.15-7.29 (m, 8H), 7.82-8.01 (m, 2H), 8.16 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.35 (m, 1H);

L C - M S m / z (E S⁺) 1337.03 (M + H)⁺、8.50 分; H R M S

40

50

m/z、C₆H₉N₈O₂Na₂ (M - H + 2Na)⁺ 計算値 1381.640
7、実測値 1381.6428。

【0310】

4-(tert-ブチルジフェニルシリルオキシ)ブタン-1-オール。1,4-ブタンジオールの溶液に、水素化ナトリウム(鉛油中60%分散の1.0g)を加えた。この混合物をそのまま1時間常温で攪拌した後、TB D P S C 1(5.0mL、18.2ミリモル)を加えた。この混合物を常温で一夜攪拌した。反応混合物を水中に投入し、エーテル(3×100mL)で抽出した。抽出液を集め、水、および食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥した。ろ過および濃縮して油状の残渣を得た。油状残渣を、円盤クロマトグラフィーの4mmプレート上でヘキサン中の25%酢酸エチルを用いて精製し、続いてヘキサン中の50%酢酸エチルで溶出させた。これによって、3.36gの所望の生成物(56%)を透明な油として得た。 10

【0311】

【化73-1】

¹H NMR (CDCl₃); δ 1.24 (s, 9H), 1.65 (m, 4H), 3.65 (m, 4H), 7.40 (m, 6H), 7.64 (d, 2H, J = 1.5 Hz).

4-(tert-ブチルジフェニルシリルオキシ)ブタナール。ジクロロメタン(20mL)中の4-(tert-ブチルジフェニルシリルオキシ)ブタン-1-オール(0.5g、1.5ミリモル)の溶液に、Dess-Martinのペルヨージナン(775mg、1.83ミリモル)を加えた。混合物を1時間攪拌した。反応混合物をヘキサン中に投入し、結果として得られた白色沈殿剤をろ過によって除去した。溶液を濃縮してスラリーを形成させ、このスラリーをジクロロメタン(5mL)に溶かし、もう一度ヘキサン中に投入し、その結果、白色の固体の沈殿を得た。ろ過によって固体を除去し、結果として得られた溶液を濃縮した。これによって、475mgの透明な油(97%)を得た。 20

【0312】

【化73-2】

¹H NMR (CDCl₃); δ 1.04 (s, 9H), 1.89 (m, 2H), 2.55 (m, 2H), 3.69 (t, 2H, J = 6.1 Hz), 7.38 (m, 6H), 7.63 (d, 4H, J = 1.7 Hz), 9.79 (t, 1H, J = 1.8 Hz). 30

2-(3-(tert-ブチルジフェニルシリルオキシ)プロピル)オキサゾリジン(12)。ベンゼン(3mL)中の4-(tert-ブチルジフェニルシリルオキシ)ブタナール(23gmg、0.72ミリモル)の混合物を、ベンゼン(3mL)中のヒドロキシエチルアミン(44μL、0.72ミリモル)の溶液に滴下して加えた。粉状のモレキュラーシーブ(4A、600mg)を加え、混合物を1.5時間攪拌した後、20μmミリポアシリソジフィルタを通してろ過し、濃縮した。これによって12を得、そのまますくに13の合成(下記参照)に用いた。 40

【0313】

【化74】

¹H NMR (C₆D₆); δ 1.18 (s, 9H), 1.65-1.82 (m, 2H), 2.62 (m, 2H), 3.33 (dd, 3H, J = 6.1, 7.5 Hz), 3.69 (t, 3H, J = 6.1 Hz), 4.26 (t, 1H), 7.23 (dd, 6H, J = 1.9, 3.1 Hz), 7.79 (m, 4H).

2-(3-(tert-ブチルジフェニルシリルオキシ)プロピル)オキサゾリジン-3-カルボン酸3-(3-((9H-フルオレン-9-イル)メトキシ)カルボニルアミノ)プロパンアミド)-4-((2S,3R,4S,5S,6S)-3,4,5-トリアセトキシ-6-(メトキシカルボニル)-テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イルオキ 50

シ) ベンジル (13)。ジクロロメタン (10 mL) 中のベンジルアルコール (50 mg、0.067 ミリモル) に、ピリジン (63 μ L、0.8 ミリモル) を加えた。混合物を -78 に冷却し、ジホスゲン (16 μ L、0.134 ミリモル) を加えた。混合物を 1 時間攪拌した。オキサゾリジン 12 (65 mg の 4 - (tert - プチルジフェニルシリルオキシ) ブタナールから形成された) を、ジクロロメタン溶液 (3 mL) として反応フラスコの冷却された内壁を流下させて滴加した。反応混合物の温度を、数時間かけてゆっくり -20 に上昇させた。反応混合物を、酢酸エチル中に投入し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、水、および食塩水で洗浄した。有機相を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、ろ過および濃縮した。結果として得られた残渣を円盤クロマトグラフィーによって精製し、ジクロロメタンで溶出させた。主な UV 活性 (254 nm) バンドを集め、濃縮して 54 mg の 13 (70%) を得た。 10

【0314】

【化75】

¹H NMR (*d*6-DMSO); δ 0.95 (s, 9H), 1.55 (m, 2H), 1.63 (m, 1H), 1.82 (m, 1H), 1.98 (m, 9H), 2.4-2.52 (m, 2H), 3.27 (m, 2H), 3.54-3.66 (m, 6H), 3.70 (q, 1H, J = 10.0 Hz), 3.98 (m, 1H), 4.20 (m, 1H), 4.26 (m, 3H), 4.70 (d, 1H, J = 10.0 Hz), 4.90-5.10 (m, 4H), 5.16 (t, 1H, J = 9.6 Hz), 5.48 (t, 1H, J = 9.4 Hz), 5.57 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 7.0-7.15 (m, 3H), 7.29 (m, 2H), 7.36-7.45 (m, 8H), 7.57 (d, 4H, J = 7.2 Hz), 7.66 (d, 2H, J = 7.2 Hz), 7.86 (d, 3H, J = 7.6 Hz), 8.75 (m, 1H); 20

LC - MS m/z (ES⁺)、1143.88 (M + H)⁺、13.76 分。

【0315】

2 - (3 - ヒドロキシプロピル) オキサゾリジン - 3 - カルボン酸 3 - ((9H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニルアミノ) プロパンアミド) - 4 - ((2S, 3R, 4S, 5S, 6S) - 3, 4, 5 - トリアセトキシ - 6 - (メトキシカルボニル) - テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イルオキシ) ベンジル。THF (2 mL) とピリジン (2 mL) との中のシリルエーテル 13 (52 mg、0.042 ミリモル) の混合物に、HF - ピリジン錯体 (400 μ L) を加えた。反応混合物を 3 時間攪拌し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液に投入し、酢酸エチル (3 × 100 mL) で抽出した。抽出液を集め、水、および食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウム上で乾燥させた後、ろ過および濃縮した。結果として得られた油を、円盤クロマトグラフィーの 1 プレート上で精製し、ジクロロメタン中 5% のメタノールで溶出させ、36 mg の固体残渣 (86%) を得た。 30

【0316】

【化76】

¹H NMR (*CD*₃OD); δ 1.55 (bs, 2H), 1.68 (m, 1H), 1.87 (m, 1H), 1.95 (s, 3H), 2.01 (m, 6H), 2.67 (oct, 2H, J = 6.8 Hz), 3.30 (m, 1H), 3.50 (m, 3H), 3.65 (m, 1H), 3.69 (m, 3H), 3.82 (q, 1H, J = 8.0 Hz), 4.01 (m, 1H), 4.23 (m, 1H, J = 7.0 Hz), 4.25-4.40 (m, 2H), 4.47 (d, 1H, J = 10.0 Hz), 5.0-5.15 (m, 3H), 5.19 (t, 1H, J = 9.8 Hz), 5.28 (dd, 1H, J = 6.0, 9.6 Hz), 5.39 (d, 1H, J = 7.6 Hz), 5.49 (m, 3H), 7.11 (m, 2H), 7.17-7.32 (m, 3H), 7.34 (t, 2H, J = 7.4 Hz), 7.62 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 7.77 (d, 2H, J = 7.6 Hz), 8.07 (s, 1H); 40

L C - M S m / z (E S ⁺) 、 9 2 7 . 8 7 (M + N a ⁺) ⁺ 、 9 . 7 9 分。

【 0 3 1 7 】

2 - (3 - オキソプロピル) オキサゾリジン - 3 - カルボン酸 3 - (((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニルアミノ) プロパンアミド) - 4 - ((2 S , 3 R , 4 S , 5 S , 6 S) - 3 , 4 , 5 - トリアセトキシ - 6 - (メトキシカルボニル) - テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) ベンジル (1 4) 。ジクロロメタン (3 m L) 中のアルコール (3 6 m g 、 0 . 0 4 0 ミリモル) の溶液に、 D e s s - M a r t i n のペルヨージナン (2 0 m g 、 0 . 0 4 8 ミリモル) を加えた。1 時間後、追加量の D e s s - M a r t i n 試薬 (2 0 m g) を加え、反応混合物をさらに 1 時間攪拌した。反応混合物を 1 m m の円盤クロマトトロンプレート上に吸引し、ジクロロメタン中の 5 % メタノールで溶出させた。これによって、定量的収量のアルデヒド 1 4 (3 6 m g) を得た。 10

【 0 3 1 8 】

【 化 7 7 】

¹H NMR (d6-DMSO); δ 1.89 (s, 3H),
1.91 (m, 1H), 1.98 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 2.41 (m, 1H), 3.27 (m, 2H), 3.75 (m, 1H0 ,
3.61 (s, 3H), 3.77 (q, 1H , J = 7.8 Hz), 3.95 (m, 1H), 4.15-4.30 (m, 3H), 4.71 (d,
2H , J = 9.0 Hz), 4.97-5.13 (m, 4H), 5.16 (dd, 1H , J = 7.8, 9.9 Hz), 5.45 (t, 1H , J =
9.6 Hz), 5.58 (d, 1H , J = 8.0 Hz), 7.05 (d, 1H , J = 8.4 Hz), 7.12 (d, 1H , J = 7.6 Hz),
7.29 (dd, 2H , J = 5.3, 7.4 Hz), 7.39 (t, 2H , J = 7.4 Hz), 7.67 (d, 2H , J = 5.4 Hz),
8.77 (s, 1H), 9.57 (s, 1H), 11.97 (s, 1H); 20

L C - M S m / z (E S ⁺) 、 9 0 3 . 9 6 (M + H) ⁺ 、 1 0 . 4 8 分。

【 0 3 1 9 】

2 - (3 - (3 - ヒドロキシ - 2 - メチル - 6 - ((3 S) - 3 , 5 , 1 2 - トリヒドロキシ - 3 - (2 - ヒドロキシアセチル) - 1 0 - メトキシ - 6 , 1 1 - ジオキソ - 1 ,
2 , 3 , 4 , 6 , 1 1 - ヘキサヒドロテトラセン - 1 - イルオキシ) - テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 4 - イルアミノ) プロピル) オキサゾリジン - 3 - カルボン酸 3 - ((9 H - フルオレン - 9 - イル) メトキシ) カルボニルアミノ) プロパンアミド) - 4 - ((2 S , 3 R , 4 S , 5 S , 6 S) - 3 , 4 , 5 - トリアセトキシ - 6 - (メトキシカルボニル) - テトラヒドロ - 2 H - ピラン - 2 - イルオキシ) ベンジル (1 6) 。アセトニトリルと水との混合物 (2 : 1 、 4 . 5 m L 合計) 中のアルデヒド 1 4 (3 6 m g 、 0 . 0 4 0 ミリモル) に 0 でドキソルビシン - H C 1 (1 5) を加え、続いてすべての固体が溶解するまで攪拌した。混合物を、ナトリウムシアノボロヒドリド (T H F 中 1 . 0 M 溶液、 2 0 μ L 、 0 . 0 2 ミリモル) の溶液で処理した。反応混合物を 2 時間攪拌し、混合物を水中に投入し、ジクロロメタン (5 \times 5 0 m L) で繰り返し抽出した。有機相を集め、水、および食塩水で洗浄し、減圧下で濃縮した。結果として得られた残渣をジクロロメタン中の 5 % メタノールに溶かし、 1 m m の円盤クロマトトロンプレート上に直接吸引し、ジクロロメタン中 2 0 % メタノールで溶出させた。最初の大きなバンドを集めて 2 3 . 6 m g の 1 6 (4 1 %) を得た。 40

【 0 3 2 0 】

【化78】

¹H NMR (*d*6-DMSO); δ 1.14 (d, 3H, *J* = 6.5 Hz), 1.36-1.60 (b, 2H), 1.62-1.78 (b, 2H), 1.97-1.99 (m, 9H), 2.14 (b, 3H), 2.95 (s, 3H), 3.18-3.32 (m, 2H), 3.52 (b, 1H), 3.60 (s, 3H), 3.75 (q, 1H, *J* = 6.8 Hz), 4.95 (bs, 1H), 3.96 (s, 3H), 4.09 (b, 1H), 4.17 (t, 1H, *J* = 6.5 Hz), 4.25 (d, 2H, *J* = 6.1 Hz), 4.54 (d, 2H, *J* = 6.3 Hz), 4.70 (d, 1H, *J* = 10.0 Hz), 4.86 (t, 1H, *J* = 5.9 Hz), 4.92-5.07 (m, 3H), 5.15 (t, 1H, *J* = 8.2 Hz), 5.25 (bs, 1H), 5.04 (d, 1H, *J* = 2.0 Hz), 5.48 (t, 1H, *J* = 10.0 Hz), 5.55 (d, 1H, *J* = 8.0 Hz), 7.0-7.11 (m, 2H), 7.28 (m, 2H), 7.37 (t, 3H, *J* = 7.3 Hz), 7.65 (d, 3H, *J* = 7.0 Hz), 7.85 (d, 2H, *J* = 7.6 Hz), 8.75 (b, 1H);

L C - M S m/z (ES⁺)、1428.9 (M - H)⁺、7.9分。

【0321】

(2S, 3S, 4S, 5R, 6S) - 6 - (2 - (3 - アミノプロパンアミド) - 4 - ((2 - (3 - (3 - ヒドロキシ - 2 - メチル - 6 - ((3S) - 3, 5, 12 - トリヒドロキシ - 3 - (2 - ヒドロキシアセチル) - 10 - メトキシ - 6, 11 - ジオキソ - 1, 2, 3, 4, 6, 11 - ヘキサヒドロテトラセン - 1 - イルオキシ) - テトラヒドロ - 2H - ピラン - 4 - イルアミノ) プロピル) オキサゾリジン - 3 - カルボニルオキシ) メチル) フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - カルボン酸。メタノール (4 mL) 中のドキソルビシンオキサゾリジン 16 (30 mg、0.021 ミリモル) の 0 の混合物に、水 (2 mL) 中の LiOH - 水和物 (8.8 mg、0.21 ミリモル) の溶液を加えた。混合物を 35 分間攪拌し、酢酸 (8 μ L、0.21 ミリモル) で約 7 の pH に中和した。混合物を減圧下で濃縮して残渣を得た。残渣を DMF (4 mL) に溶かし、ピペリジン (1 mL) で処理した。反応混合物を 5 分間攪拌した後、減圧下で濃縮した。残渣を、調製規模 HPLC によって精製し、6.1 mg の生成物 (27%) を得た。L C - M S m/z (ES⁺)、1069.13 (M + H)⁺、5.64 分。

【0322】

(2S, 3S, 4S, 5R, 6S) - 6 - (2 - (3 - (6 - (2, 5 - ジオキソ - 2H - ピロール - 1 (5H) - イル) ヘキサンアミド) プロパンアミド) - 4 - ((2 - (3 - (3 - ヒドロキシ - 2 - メチル - 6 - ((3S) - 3, 5, 12 - トリヒドロキシ - 3 - (2 - ヒドロキシアセチル) - 10 - メトキシ - 6, 11 - ジオキソ - 1, 2, 3, 4, 6, 11 - ヘキサヒドロテトラセン - 1 - イルオキシ) - テトラヒドロ - 2H - ピラン - 4 - イルアミノ) プロピル) オキサゾリジン - 3 - カルボニルオキシ) メチル) フェノキシ) - 3, 4, 5 - トリヒドロキシ - テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - カルボン酸 (17)。DMF (0.2 mL) 中のアミン (6.1 mg、5.7 μ mol) の混合物に、MC - OSu (10、4 mg、14 μ mol)、続いて DIPSEA (3 μ L、17 μ mol) を加えた。反応混合物を減圧下で濃縮し、次に、水と DMSO との混合物 (1:1、2 mL) に溶かした。混合物を逆相の調製規模 HPLC によって精製し、2.1 mg の 17 (26%) を赤色の固体として得た。

【0323】

【化79】

¹H NMR (*CD₃OD*); δ 1.1-1.25 (b, 2H), 1.29 (d, 3H, *J* = 6.6 Hz), 1.35-1.62 (b, 3H), 1.65-1.90 (b, 3H), 2.02-2.13 (m, 4H), 2.67 (s, 4H, N-ヒドロキシスクシニミド不純物), 3.00-3.10 (m, 4H), 3.41-3.57 (m, 3H), 3.57-3.70 (m, 3H), 3.81 (m, 2H), 3.94 (d, 1H, *J* = 9.6 Hz), 4.02 (b, 1H), 4.05 (s, 3H), 4.29 (q, 1H, *J* = 7.0 Hz), 4.71 (s, 3H), 4.73 (m, 1H), 5.06 (m, 1H), 5.12 (b, 1H), 5.49 (s, 1H), 6.78 (s, 2H), 6.82-7.09 (b, 2H), 7.57 (d, 1H, *J* = 6.4 Hz), 7.84 (t, 1H), *J* = 7.4 Hz), 7.95 (sd, 1H, *J* = 7.4 Hz), 8.08 (bs, 1H);

LC - MS m/z (ES⁺)、1260.24 (M - H)⁺、6.49分。

【0324】

実施例2 - グルクロニド系リンカーおよび抗体 - 薬物結合体の合成

グルクロニド系リンカー単位を抗分裂剤モノメチルアウリスタチンE (MMAE、1a) およびモノメチルアウリスタチンF (MMAF、1b) ならびにドキソルビシンプロピルオキサゾリン (DPO、2) とともに使用する薬物 - リンカーを調製し、評価した。

【0325】

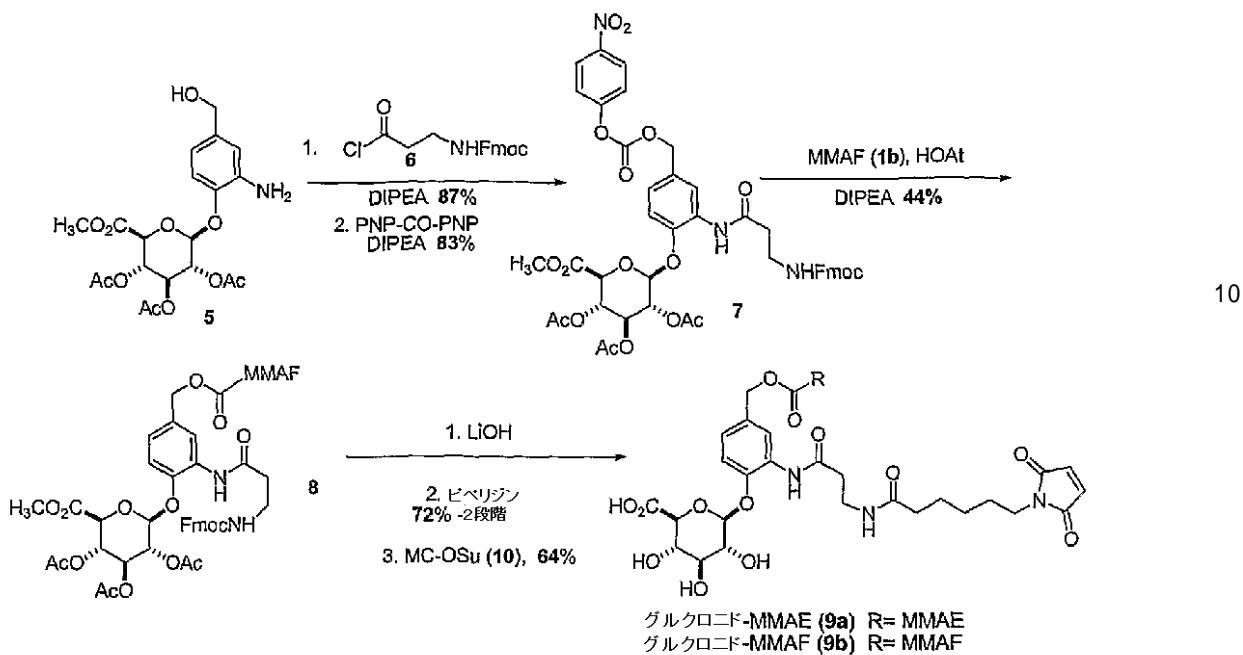
- グルクロニド薬物 - リンカー調製。MMAF (1b) との - グルクロニド薬物 - リンカーを合成するための出発点は、遊離アニリンとヒドロキシ基とを有する - グルクロニド5であった (下のスキーム3)。この化合物を酸塩化物6でアシル化してから、p - ニトロフェニル (PNP) カーボネート7に変換した。MMAF (1b) と反応させ、カルバメート8を得た。この分子を、まず、酢酸エステル保護基とメチルエステル保護基とを水酸化リチウムでけん化 (Leenders et al., 1999, Bioorg. Med. Chem. 7: 1597-610) し、ピペリジンでFmocを除去し、その結果得られた遊離アミンをマレイミドカプロイルN - ヒドロキシスクシミジルエステル (MC - OSu、10) でキャッピングして、所望のグルクロニド薬物 - リンカー9bに変換した。最後に調製規模HPLC精製を行って9bを得た。5と1aとで出発し、同じ方法で、グルクロニド - MMAE薬物リンカー (9a) を合成した。

【0326】

スキーム3

【0327】

【化 8 0】



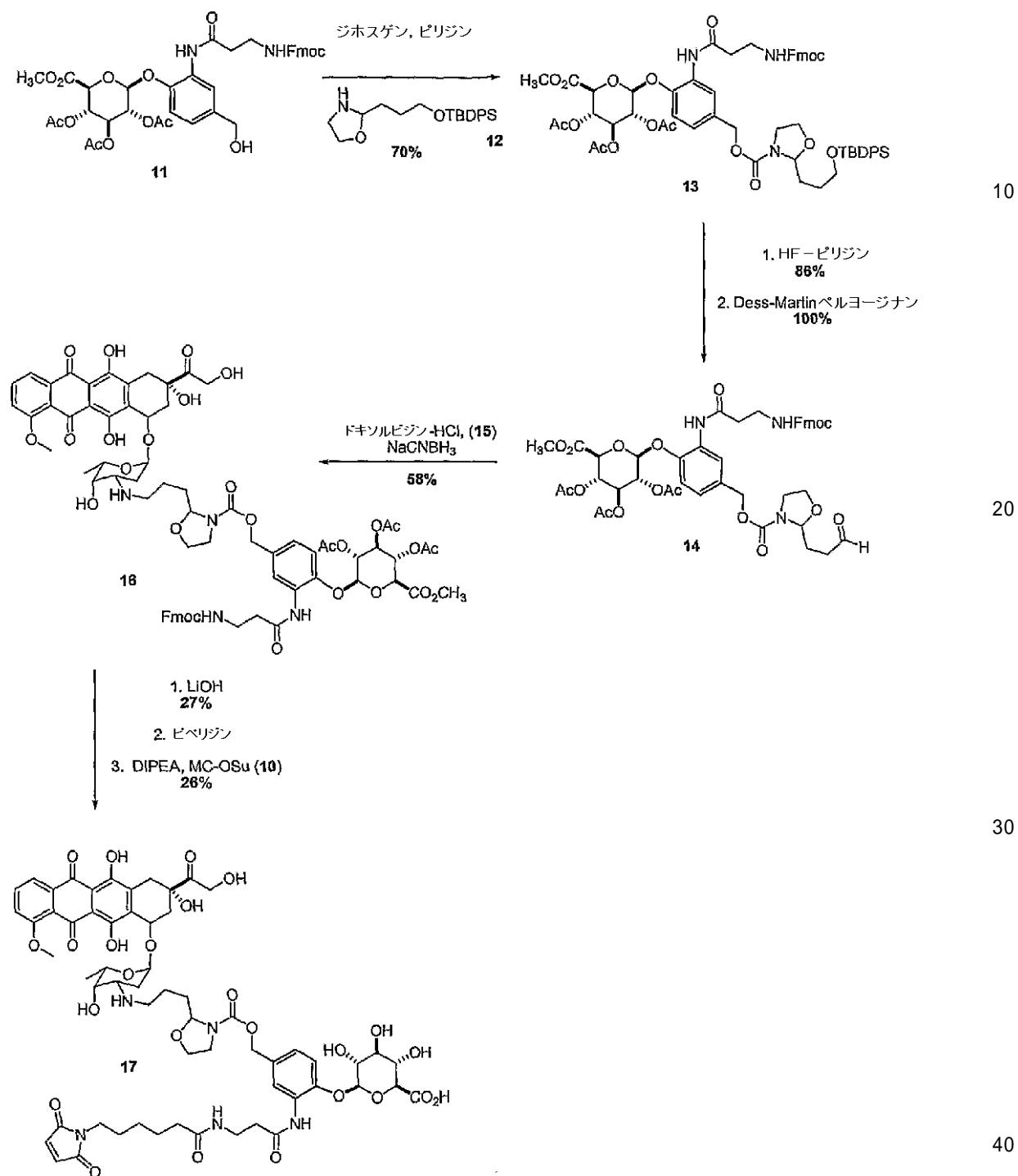
DPO(2)とのグルクロニド系リンカー単位の構築は、違う戦略(スキーム4)を採用した。ジホスゲンで中間体11を活性化してから、オキサゾリン12(1,4-ブタジオールから3段階で合成した)と反応させて所望のオキサゾリンカルバメート13を得た。フッ化物でシリル保護基を除去した後、酸化してアルデヒド14を得た。この化合物をドキソルビシン-HCl(15)との還元アルキル化反応に用いてドキソルビシン誘導体16を得た。最後に、水酸化リチウムと、ピペリジンによる2段階法で、-グルクロニド保護基とFmoc基とを除去し、その結果得られた第1アミンを10でキャッピングして所望の-グルクロニドDPOリンカー17を得た。

【0328】

スキーム4

【0329】

【化 8 1】



ADC 調製。リンカー薬物結合体 9a (MMAE と)、b (MMAF と) および 17 (ドキソルビシンプロピルオキサゾリン (DPO) と) と、キメラ mAb AC10 (CD30 抗原に対する IgG1 (Wahl et al., 2002, Cancer Res. 62: 3736-42) および 1F6 (CD70 抗原に対する IgG1、国際特許出願公開第 04/073656 を参照すること) との抗体薬物結合体 (ADC) を調製した。既報の方法によって、これらの抗体を調製した (Doronina et al., 2003, Nat. Biotechnol. 21: 778-84 を参照すること)。

。

【0330】

50 mMホウ酸ナトリウムを含むpH 8.0のリン酸塩緩衝食塩水(PBS)中のmAb(>5 mg/ml)を、37℃でジチオスレイトール(DTT)またはトリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン塩酸塩(TCEP)(最終的に10 mM)で30分間処理した。ゲルろ過(G-25、1 mMのDTPAを含むPBS)後、5,5'-ジチオビス(2-ニトロ安息香酸)を用いるチオール測定によると、mAbあたり約8つのチオール(TCEPを有するmAbあたり4つのチオール)があった。還元されたmAbに、氷冷DMSO(20%体積/体積)中のマレイミド薬物誘導体(1.2当量/SH基)を4℃で加えた。1時間後、過剰のシステインで反応を停止させ、遠心限外ろ過、ゲルろ過(G-25、PBS)および無菌ろ過によって結合体を濃縮した。既報の方法(Hambale et al., 2004, Clin. Cancer Res. 10:7063-70、Sun et al., 2005, Bioconjug. Chem. 16:1282-90)によって、薬物置換のモル比を測定した。サイズ排除HPLCを用いて各結合体中の単量体を測定し、RP-HPLCによって、システインで反応停止された非結合体化薬物が0.5%より少ないことを確認した。

【0331】

280 nmおよび490 nmの吸光度(ドキソルビシン吸光度)を測定して、ドキソルビシン含有結合体cAC10-17とc1F6-17との薬物保持率を測定した。cAC10およびc1F6のADCは、それぞれ6.8および8.3薬物/mAbを有していた。薬物-リンカー9aおよび9bのUV吸光度が小さいため、各薬物保持率レベル(軽鎖で0~1薬物、重鎖で0~3薬物)での軽鎖および重鎖のクロマトグラフィー分割と、各保持率レベルでのピーク面積からの全平均の計算によって、対応するADCのmAbあたり薬物比を測定した(上掲のHambale et al.、上掲のSunら)。レベルは、cAC10-9a結合体およびc1F6-9a結合体で3.7および4.5、cAC10-9b結合体およびc1F6-9b結合体でそれぞれ7.6および7.0であった。6つのADCは、主に単量体であり、cAC10系結合体では2%以下の凝集体、c1F6系結合体では7%以下の凝集体を観測した。

【0332】

結果。記載の-グルクロニドリンカーシステムを、抗体薬物結合体(ADC)の一部として含めることができる。-グルクロニダーゼ(例えばリソソーム-グルクロニダーゼ)の作用を受けると、薬物-リンカーは、グリコシド結合のところで加水分解され、1,6-脱離して二酸化炭素を失い、リンカーシステムに結合体化していた薬物を解放する(上掲のスキーム1を参照すること)。このリンカー設計を利用する3つのADCは、抗分裂剤MMAE(1a)およびMMAF(1b)、ならびに、スキーム2(上掲)に示すように、非常に強力な2-ピロリノドキソルビシン(4)の不安定前駆体であるドキソルビシンプロピルオキサゾリン(DPO、2)を使用する。化合物4は、二本鎖DNA(33)のアルキル化を通じてアポトーシスに影響を及ぼす。

【0333】

実施例3 大腸菌-グルクロニダーゼ反応性

化合物9bのシステイン付加体を-グルクロニダーゼで処理して、-グルクロニドリンカーの酵素開裂に対する感受性を測定した。この試験では、市販の大腸菌-グルクロニダーゼ(EC3.2.1.31)をヒト酵素の代用とした。これによって、所望の薬物であるMMAF(1b)が放出され、その過程で安定な中間体が形成されれば確認することが可能になった。

【0334】

-グルクロニダーゼ反応性。システイン(0.1 mM溶液12.5 μL)とpH 9のホウ酸塩緩衝液(30 mM溶液12.5 μL)とを水(90 μL)に加えた。続いて9b(10 mM DMSO溶液10 μL)を加えた。5分後にHPLCで検査したところ、cys-9bへの変換は完了していた。440 mLのPBSにcys-9b溶液(50 μL、40ナノモル)、続いて大腸菌-グルクロニダーゼ(シグマ、E.C.3.2.1.50)

31、IX-A型、PBS中1mg/mL溶液10μL、3.6μg、13ピコモル)の溶液を加え、反応混合物を37で培養した。t=0、25、60および90分に試料(50μL)を採取し、LCによって分析した。結果は、各時点における残存cys-9bのAUC下の面積(AUC)の、t=0におけるcys-9bのAUCの百分率によった。

【0335】

結果。上記で説明した-グルクロニダーゼアッセイを実行した。HPLCアッセイを用いて37でcys-9b(MMAF)の減少を追跡した。cys-9bに対する大腸菌-グルクロニダーゼの比活性は、0.13マイクロモル/分/mgであった。図1を参考すると、cys-9bから-グルクロニドが開裂した結果、MMAF(1b)の迅速な1,6-脱離が起こり、LC-MSによって特定された。LC-MSによって、MMAF含有フェノール中間体を検出することはできなかった。従って、1,6-脱離は、迅速なようである。

【0336】

cys-17を用いる同様な試験(ドキソルビシンプロピルオキサゾリン(DPO)との)で、LC-MSによって確認したところ、-グルクロニダーゼで処理すると、2-ピロリノドキソルビシン(4)が直接得られた。対照実験で、-グルクロニダーゼ非存在下でcys-9bもcys-17も安定であった。これらの2つの試験によって、リンカーガ-グルクロニダーゼ酵素の基質であること、および-グルクロニド加水分解が起こると薬物が直ちに放出されることが実証された。

【0337】

実施例4 薬物-リンカー-cys-9bのラット血漿安定性

グルクロニドリンカーガの血漿安定性を測定するために、9b(MMAFとの)の反応性の高いマレイミド二重結合を過剰量のDTTで還元してジヒドロ-9bを得た。この物質をラット血漿に加え、37で7日間間培養した。さまざまな時点で分析試料を採取し、血漿蛋白質を沈殿させ、遠心分離し、上清を回収した。各上清をLC-MSによって分析し、親化合物ジヒドロ-9bと放出されるMMAF(1b)との質量の全陽イオン電流(TIC+)クロマトグラムを調べた。7日後、ジヒドロ-9bのTIC+(開環スクシンイミド加水分解付加体を含む)は、ジヒドロ-9bを血漿中に注入した直後に採取した試料の88%であった。遊離薬物1bを検出することはできたが、定量しれなかった。一次反応を仮定し、これらのデータを外挿すると、ジヒドロ-9bの半減期は81日のようにある。並行した実験で、ジヒドロ-9bの場合とまったく同じに、マレイミド還元Vail-Citt-PABA結合MMAFのラット血漿安定性を測定した。この薬物-リンカーガは、半減期6.25日を示した。

【0338】

この試験は、より短い薬物放出の半減期を有することが報告されているジスルフィドおよびヒドラゾン系システムと比べて、-グルクロニドリンカーシステムの安定性が改善されたことを実証する。

【0339】

実施例5 細胞毒性剤およびADCのインビトロ評価

リンカーガ-薬物結合体と、mAb-ADC10(CD30抗原に対するIgG1)および1F6(CD70抗原に対するIgG1)とのADC化合物9a(MMAEとの)、9b(MMAF)および17(ドキソルビシン・プロピル・オキサゾリン(DPO)とを調製した。CD30+細胞系統(カーパス299)および2つのCD70+腎細胞癌腫(RCC)系統、786-OおよびCaki-1に対するADC(c1F6-9aおよびcAC10-9a、c1F6-9bおよびcAC10-9bならびにc1F6-17およびcAC10-17)の細胞毒性活性を評価した。

【0340】

【化 8 2】

表7. 遊離薬物およびADCのキャラクタリゼーションおよびインピトロ細胞毒性活

化合物	標的 抗原	活性 薬物 n	薬物 保持数	%凝集	Caki-1 (CD70+, CD30-)	786-O (CD70+, CD30-)	Karpas 299 (CD30+, CD70-)
					IC ₅₀ 薬物 nM	IC ₅₀ 薬物 nM	IC ₅₀ 薬物 nM
1a	-	-	-	-	0.11	0.19	0.09
1b	-	-	-	-	270	300	100
15	-	-	-	-	110	65	29
18	-	4	-	-	0.04	0.01	0.1
c1F6-9a	CD70	1a	4.5	2	0.45	-	>30
cAC10-9a	CD30	1a	3.7	2	-	-	0.06
c1F6-9b	CD70	1b	7	7	0.08	0.2	-
cAC10-9b	CD30	1b	7.6	<1	>50	>50	0.05
c1F6-17	CD70	4	8.3	3.5	2.0	2.7	>55
cAC10-17	CD30	4	6.8	<1	>45	>45	1.2

*細胞を試験薬剤に96時間曝露し、細胞毒性活性の指標としてレザズリン代謝を用いて生存率を測定した。無処理細胞と比較してIC50値を決定した。

ADC。上記に記載したように、ADCを調製した。

【0341】

インピトロ成長阻害。細胞を集め、96ウェル側面黒色プレート中150μLの培地に10,000細胞/ウェルの密度で接種した。ADC(50μL)の段階希釈物を加え、37で92時間培養を実行した。ADCを添加した後、培養物を37で96時間培養した。培地中のレザズリン(0.25mM、50μL、シグマ、ミズーリ州セントルイス)を加え、培養を4時間続行した。励起波長525nmおよび発光波長590nmを用いてフュージョンHTマイクロプレートリーダー(パッカード、コネチカット州メリデン)上でプレートを読み取った。GraphPad Prism Version 4 for Windows(登録商標)(グラフパッドソフトウェア、カリフォルニア州サンディエゴ)を用いてすべてのアッセイのデータを換算した。4パラメータ曲線重ね合わせ法を用いて、無処理対照細胞と比較してIC₅₀濃度を決定した。

【0342】

結果。MMAE(1a)と、18(2-ピロリノドキソルビシン(4)のエステラーゼ不安定プロドラッグ)との両方をインピトロ評価したところ、これらの化合物は、CD70+細胞系統Caki-1および786-OならびにCD30+系統カーパス299に対して非常に細胞毒性が強かった(0.2nM未満)(表7)。化合物18は、ドキソルビシン(15)より300~6500倍細胞毒性が強いことが証明された。これは、この種類のドキソルビシン誘導体に関する以前の知見(Farquhar et al., 1998, J. Med. Chem. 41: 965-72)と矛盾しない。1aおよび18とは対照的に、遊離カルボン酸MMAF(1b)は、これらの細胞系統に対して著しく活性が低く、IC₅₀値は、100~200nMの範囲にあった(Doronina et al., 2006, Bioconjug Chem. 17(1): 114-124)。細胞毒性活性は、1bのカルボキシレート基に伴う負電荷によっておそらく細胞内アクセスが低下した結果、低くなる。

【0343】

9aのcAC10結合体およびc1F6結合体のインピトロ評価によって、リンカーが免疫学的特異性をもって活性薬物を標的細胞に送達することが実証された(図2)。CD30+系統カーパス299に対する2つの結合体の活性を比較する(図2A)と、抗CD30結合体cAC10-9aは、IC₅₀値0.06nM(薬物含量)と滴定され、非結合結合体c1F6-9aは、試験した最高濃度の30nMまで、細胞毒性活性を示さないことが明らかになった。抗CD70結合体c1F6-9aは、CD70+細胞系統Caki-1に対して非常に強力であった(IC₅₀ 0.45nM)(図2C)。

【0344】

9bのADCは、1bを標的細胞に効果的に送達した。9bの結合体は、CD70+系統Caki-1および786-Oに対して免疫特異性を示し、非常に有効であり(それぞ

10

20

30

40

50

れ図2Bおよび2C)、IC₅₀値は、それぞれ0.08および0.20nMであった。対応する非結合cAC10-9bは、これらの細胞系に対して不活性であり、>250倍の特異性レベルを表した。抗CD30結合体cAC10-9bは、CD30+系統カーパス299に対して非常に有効であり、IC₅₀値は、50pMであった。ドキソルビシン薬物-リンカー17の結合体は、同じ全体的プロファイルを示し、抗原陽性細胞系に対する効果的な細胞死滅と、>16倍の特異性値を示した。

【0345】

実施例6 cAC10-9aおよびc1F6-9bのインビオ評価

インビオ評価のため、アウリスタチン誘導体9aと9bとの2つのADCを選んだ。メスのBalb/cマウスにおけるcAC10-9a(4薬物/mAb)の最大認容投与量(MTD)を測定した。cAC10-9aは、100mg/kgでは十分に認容性であったが、150mg/kgでは毒性であった。結合体c1F6-1bは、25mg/kgでは十分に認容性であったが、50mg/kg投与量では毒性であった。従って、グルクロニドADCのMTDは、既報の、対応するペプチド結合MMAE(Doronina et al., 2003, Nat. Biotechnol 21:778-84)およびMMAF(Doronina et al., 2006, Bioconjug. Chem. 17(1):114-124)ADCに匹敵するようである。

【0346】

皮下カーパス299ALCL腫瘍を有するヌードマウスにおいて、cAC10-9aによるインビオ治療実験を行った。腫瘍が明らかになり(平均=70mm³)、急速に成長中の腫瘍移植14日後、0.5、1.0および3mg/kg(mAb成分)のcAC10-9aの単回静脈内投与で動物(1群5匹)を治療した。3mg/kg用量で注射したc1F6-9aを非結合対照ADCとして用いて特異性を測定した。3つの投薬レベルのそれぞれで、cAC10-9aで治療したすべての動物において治癒を得た(図3A)。これとは異なり、非結合ADC c1F6-9aは、抗腫瘍効果を示さなかった。cAC10-9aのMTDは、約100mg/kgなので、治療指数は、>200となり、少なくとも既報のVal-Cit PABA系MMAE ADC(Doronina et al., 2003, Nat. Biotechnol 21:778-84)と同程度の強さである。

【0347】

皮下786-O腎細胞癌腫を移植して、マウスにおけるc1F6-9bの効果を測定した。3つの投与レベル(0.75、1.5および3.0mg/kg)のすべてで、顕著な水準の抗腫瘍活性を得た。この場合にも、毒性または有害作用の兆候はまったくなかった(図3B)。c1F6-9a ADCと同じく、これは、小さなMTDの比率で実現された。

【0348】

本発明は、本明細書に記載した特定の実施態様によって範囲を限定されないものとする。実際、上記の説明および添付の図面から、本明細書に記載のものに加えて、本発明のさまざまな変更形が当業者には自明である。そのような変更形は、添付の請求項の範囲に属するものとする。

【0349】

本明細書において参照し、または組み込んだいかかる特許または特許出願に対しても、明示的または非明示的に許諾を供与することはない。上記の考察は、記載、説明および例を示すものであり、いかなる添付の請求項によって定義される範囲も限定すると解釈るべきでない。

【0350】

本明細書では、特許出願、特許および学術刊行物を含むさまざまな参考文献を引用し、それぞれの開示は参照によって本明細書に全体として組み込まれる。

【図面の簡単な説明】

【0351】

10

20

30

40

50

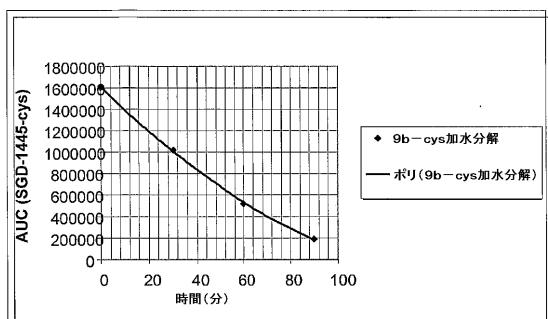
【図1】図1は、大腸菌 - グルクロニダーゼによるシステイン不活性化グルクロニドリンカ - MMAF結合体の反応性を示す。システイン不活性化c1F6-9bを酵素に加え、37で培養した。30分ごとに試料採取してHPLC(254nm)によって遊離薬物への加水分解を追跡した。分解半減期は、41分であった。

【図2】図2は、CD30+およびCD70+癌細胞系に対するADCのインピトロ細胞毒活性を示す。(A)抗CD30 ADC cAC10-9aおよび非結合対照c1F6-9aで96時間処理されたカーパス(Karpus)299(CD30+)ALCL細胞。(B)抗CD70 ADC c1F6-9bおよび非結合対照cAC10-9bで96時間処理された786-O(CD70+)RCC細胞。(C)c1F6-17および非結合対照cAC10-17で処理されたCaki-1(CD70+)RCC細胞。平均±SDとして結果を示す。

【図3】図3は、ADCに関するインピボ試験を示す。パネルAは、CD30+カーパス299(ALCL)皮下腫瘍を有するSCIDマウスに対するcAC10-9a(MMAEを有する)の効果を示す。マウスを0.75(+)、1.0(+)および3(x)mg/kgで単回治療(矢印、第14日)して、各群の5/5動物で治癒を得た。非結合対照結合体c1F6-9a(+)を3mg/kg投与しても、非治療群(*)と同じく、腫瘍応答は得られなかった。パネルBは、CD70+786-O(RCC)皮下腫瘍を有するSCIDマウスに対するc1F6-9b(MMAFを有する)の効果を示す。マウスを0.75(+)、1.5(+)および3.0(+)mg/kg単回投与で単回治療(矢印、第20日)して、腫瘍緩解を得た。0.75および3mg/kg投与群では治癒(2/7)が見られた。非治療群(x)の動物は、第40日以前に犠牲となった。

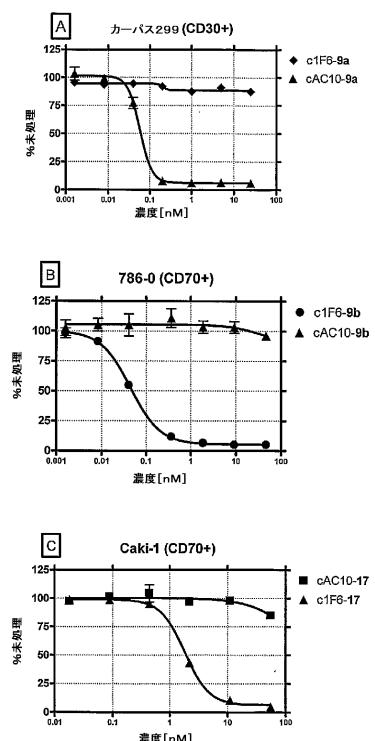
【図1】

Figure 1



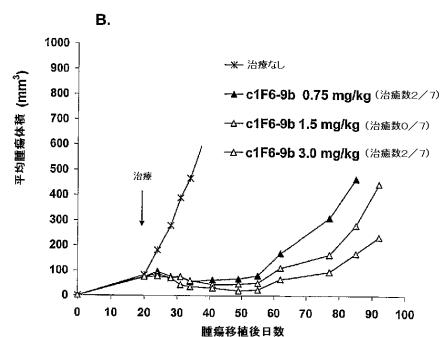
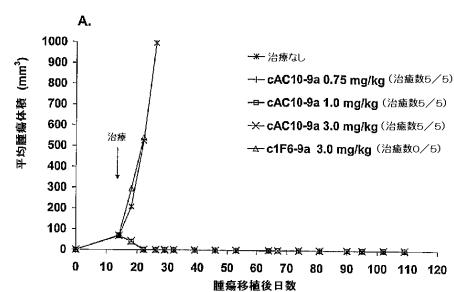
【図2】

Figure 2



【図3】

Figure 3.



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 61 P 37/00 (2006.01) A 61 P 37/00

合議体
審判長 内藤 伸一
審判官 斎藤 恵
審判官 新留 素子

(56)参考文献 国際公開第2003/086312 (WO, A2)
国際公開第2004/010957 (WO, A2)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K