

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6239597号
(P6239597)

(45) 発行日 平成29年11月29日 (2017.11.29)

(24) 登録日 平成29年11月10日 (2017.11.10)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 L
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 C
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00
	A 6 1 P 35/00

請求項の数 9 (全 77 頁)

(21) 出願番号	特願2015-512769 (P2015-512769)	(73) 特許権者	514291864
(86) (22) 出願日	平成25年5月14日 (2013.5.14)		ソレント・セラピューティクス・インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2015-518831 (P2015-518831A)		Sorrento Therapeutics, Inc.
(43) 公表日	平成27年7月6日 (2015.7.6)		アメリカ合衆国92121カリフォルニア州サンディエゴ、ジュディシャル・ドライブ9380番
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/041026	(74) 代理人	100101454
(87) 国際公開番号	W02013/173391		弁理士 山田 卓二
(87) 国際公開日	平成25年11月21日 (2013.11.21)	(74) 代理人	100062144
審査請求日	平成28年5月11日 (2016.5.11)		弁理士 青山 稔
(31) 優先権主張番号	61/652, 512	(74) 代理人	100106518
(32) 優先日	平成24年5月29日 (2012.5.29)		弁理士 松谷 道子
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	61/648, 406		
(32) 優先日	平成24年5月17日 (2012.5.17)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

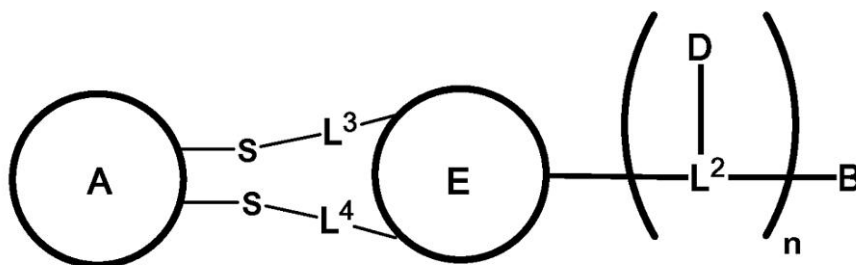
(54) 【発明の名称】 薬物コンジュゲート、コンジュゲーション方法およびその使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 Ia:

【化 1】



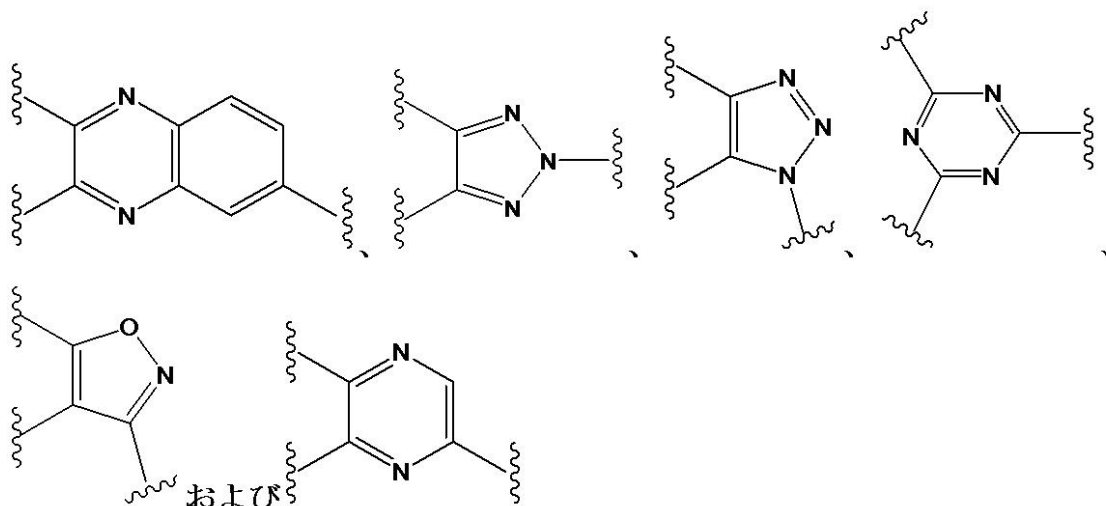
(Ia)

[式中、

構成要素 A は 重鎖および軽鎖を含む抗体または抗体フラグメント であり；

構成要素 E は

【化 2】



からなる群から選択され；

L^3 は所望により置換された $C_1 - C_6$ アルキルであるか、または L^3 は存在せず、 L^3 が存在しないとき、硫黄は、構成要素 E に直接結合しており；

L^4 は所望により置換された $C_1 - C_6$ アルキルであるか、または、 L^4 は存在せず、 L^4 が存在しないとき、硫黄は、構成要素 E に直接結合しており；

D はそれぞれ独立して選択され、ここで、D はそれぞれ活性薬剤を含み；

L^2 はそれぞれ独立してリンカーであり、ここで、 L^2 は E に結合しており；

B はモノクローナル抗体またはペプチドであるかまたは存在せず、

n は 1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 である。]

を含む活性薬剤コンジュゲートまたはその薬学的に許容される塩。

【請求項 2】

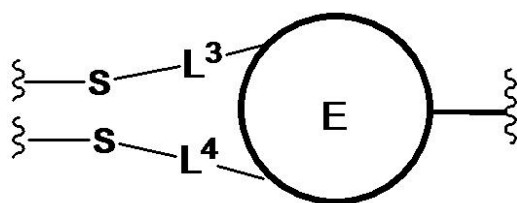
L^3 が $-(CH_2)-$ であり、 L^4 が $-(CH_2)-$ である、請求項 1 に記載の活性薬剤コンジュゲート。

【請求項 3】

L^3 が存在せず、 L^4 が存在しない、請求項 1 に記載の活性薬剤コンジュゲート。

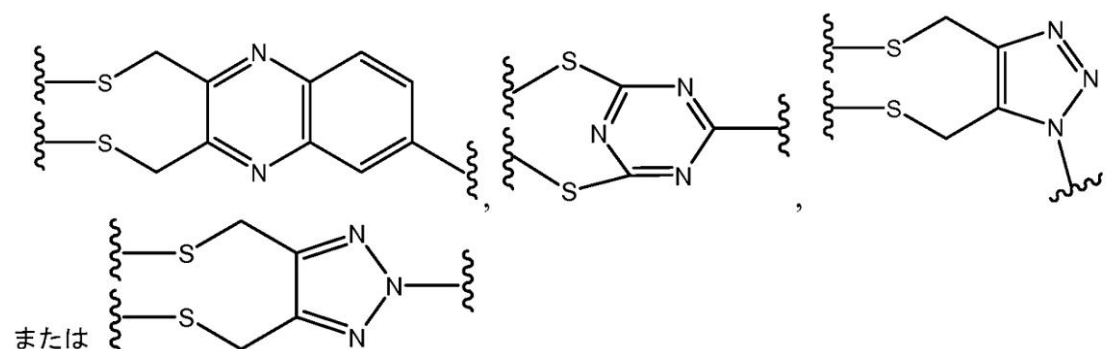
【請求項 4】

【化 3】



が

【化 4】



である、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項に記載の活性薬剤コンジュゲート。

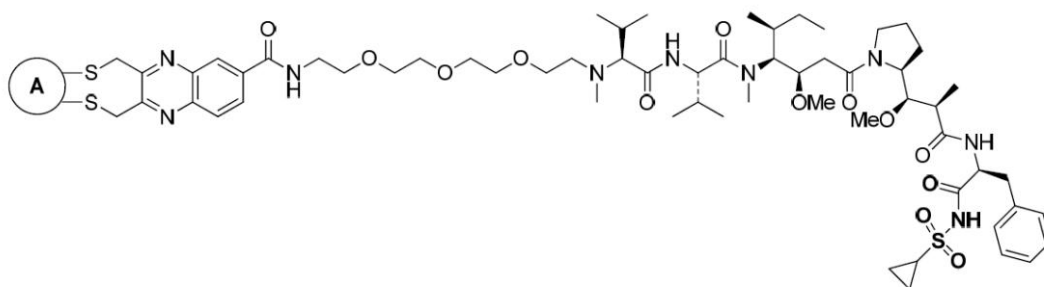
【請求項 5】

当該活性薬剤がチューブリン結合剤、DNA アルキル化剤、DNA 挿入剤、酵素阻害剤
および免疫モジュレーターからなる群から独立して選択される、請求項 1 ～ 4 のいずれか
1 項に記載の活性薬剤コンジュゲート。

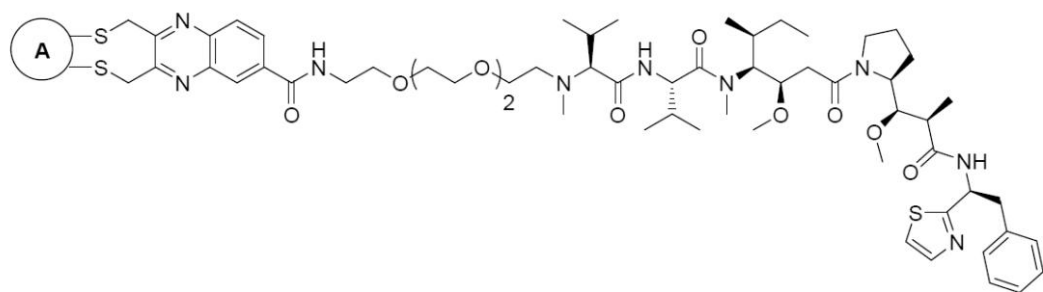
【請求項 6】

式 I a の構造が

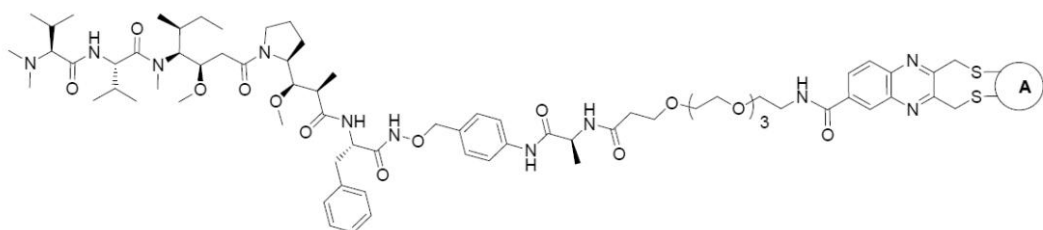
【化 5】



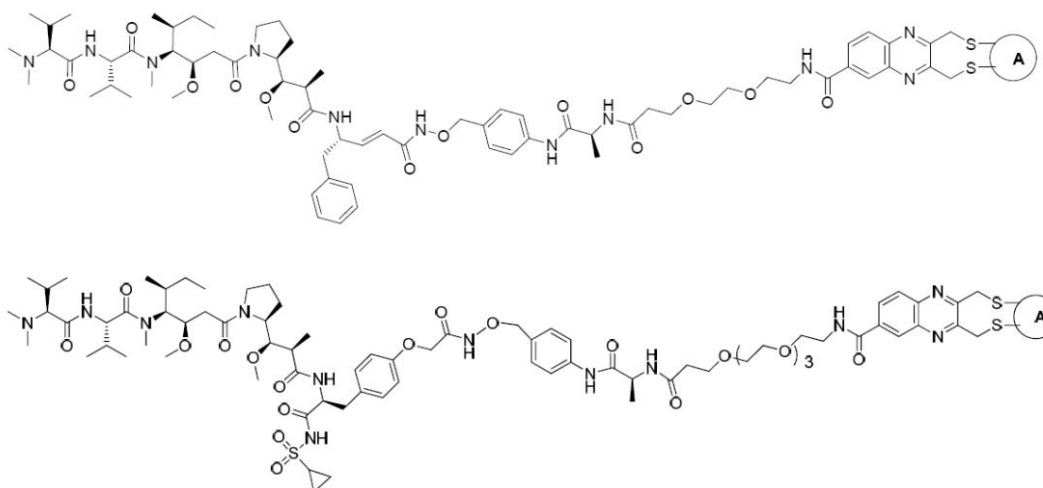
10



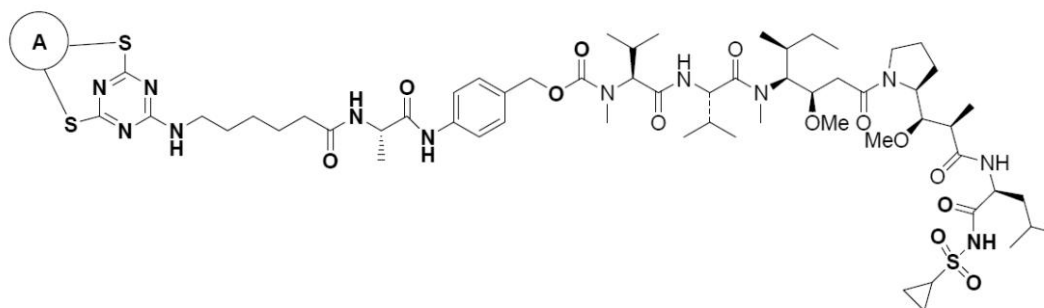
20



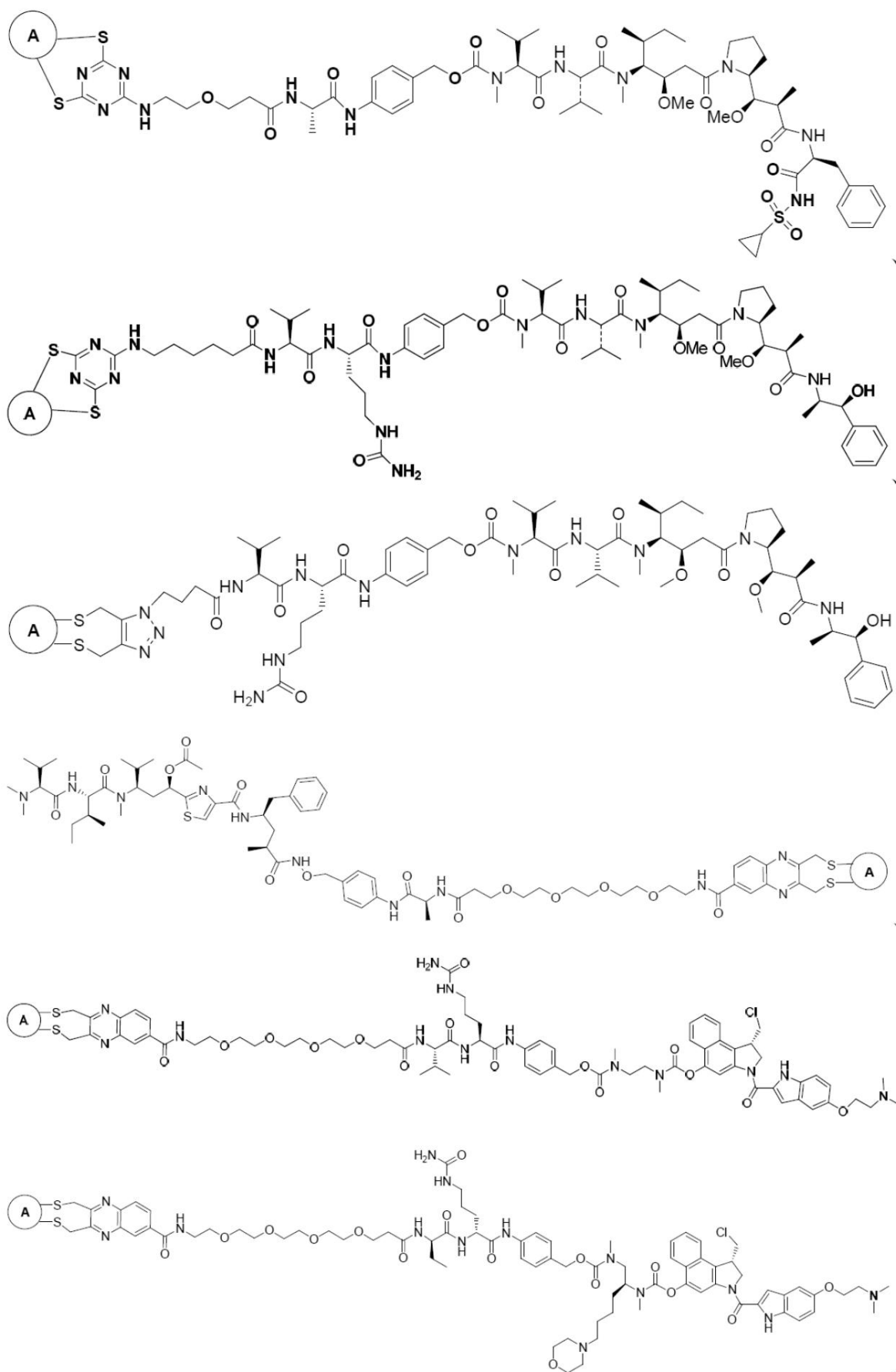
30



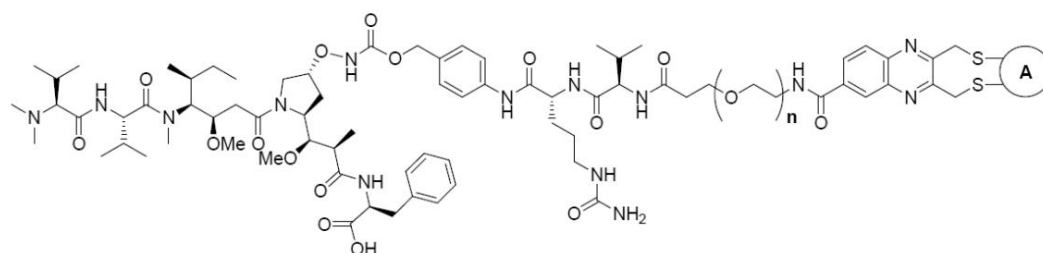
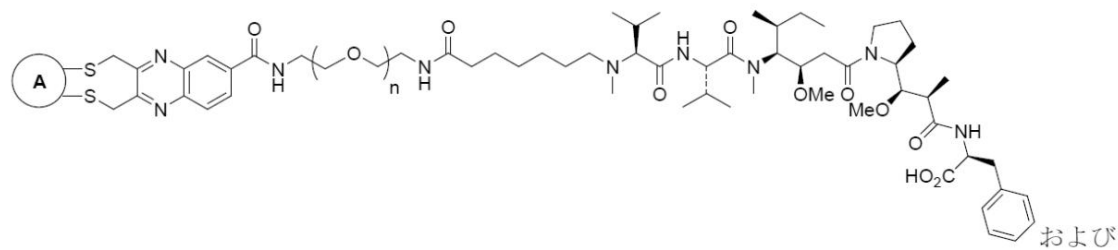
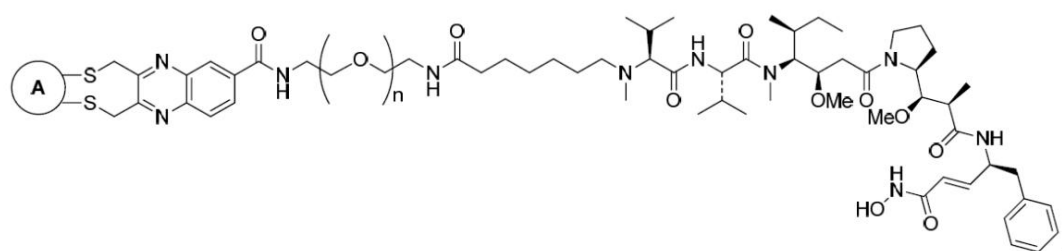
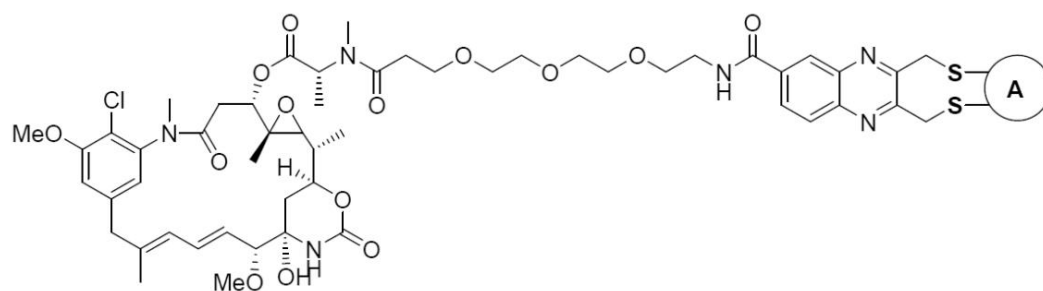
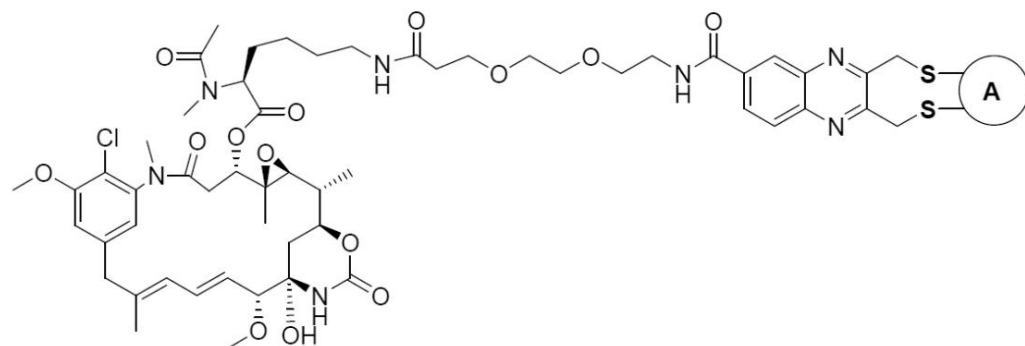
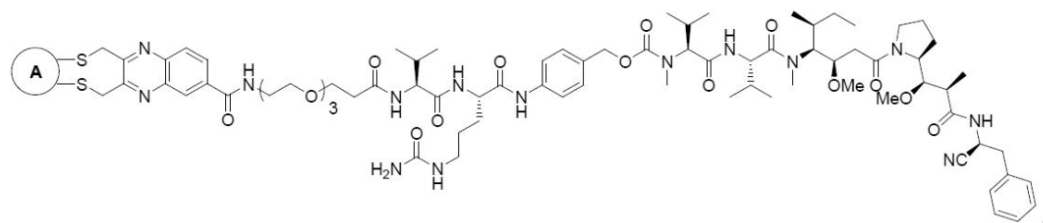
40



【化 6】



【化 7】



からなる群から選択される構造を有する、請求項 1 に記載の活性薬剤コンジュゲート。

【請求項 7】

L^2 が $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Ly 50

s(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、Ala-PAB、PAB、ペプチド、オリゴ糖またはこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 1～6 の何れか 1 項に記載の活性薬剤コンジュゲート。

【請求項 8】

構成要素 A が少なくとも 1 個の修飾 L-アラニン残基を含む、請求項 1 に記載の活性薬剤コンジュゲート。

【請求項 9】

少なくとも 1 個の L^2 が $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、Ala-PAB、PAB、ペプチド、オリゴ糖およびこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 1～8 の何れか 1 項に記載の活性薬剤コンジュゲート。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

背景

近年、抗体(または抗体フラグメント、例えば一本鎖可変フラグメント)をペイロード薬物(payload drug)と結合し、抗体-薬物コンジュゲートまたは ADC と称される免疫複合体を形成し得ることが分かった。抗体は、ADC を標的細胞に結合させる。しばしば、ADC はその後細胞によって内在化され、薬物が放出され、細胞が処置される。このターゲティングのため、副作用は薬物の全身投与の副作用よりも低い可能性がある。

20

【発明の概要】

【0002】

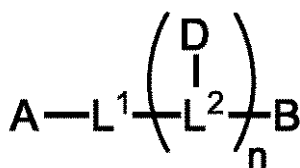
概要

或る態様は、活性薬剤コンジュゲート、活性薬剤コンジュゲートを製造する方法、および活性薬剤コンジュゲートの使用を提供する。

【0003】

或る態様は、式 I :

【化 1】



30

[式中、

A は、ターゲティング部分であってよく；

B は、所望により第 2 ターゲティング部分である補助的部分であるか、または、B は、存在しなくてもよく；

L^1 は、2～5 個の炭素架橋および少なくとも 1 個の硫黄原子を含み；

40

D は、それぞれ独立して選択されてよく、ここで、D は、それぞれ活性薬剤を含み；

L^2 は、それぞれ独立してリンカーであってもよく、ここで、少なくとも 1 個の L^2 は L^1 に結合しており；

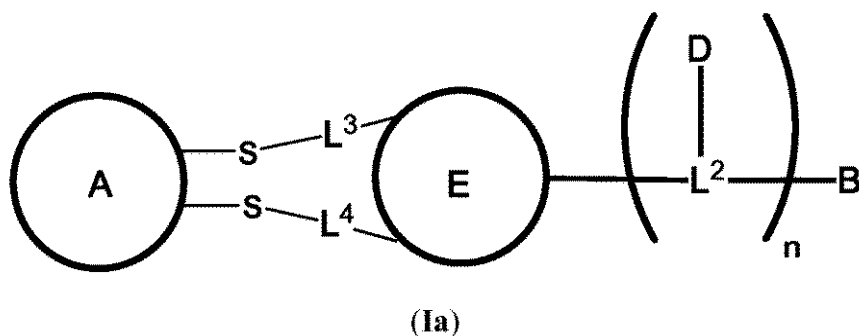
n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 であり得る。]

の構造を有する活性薬剤コンジュゲートまたはその薬学的に許容される塩を提供する。

【0004】

或る態様は、式 Ia :

【化 2】



10

[式中、

構成要素Aは、ターゲティング部分であってよく；

構成要素Eは、所望により置換されたヘテロアリアルまたは所望により置換されたヘテロシクリルであってよく；

Bは、所望により第2ターゲティング部分である補助的部分であるか、または、Bは、存在しなくてもよく；

Dはそれぞれ独立して選択されてよく、ここで、Dはそれぞれ活性薬剤を含み、；

L²はそれぞれ独立してリンカーであってよく、ここで、少なくとも1個のL²がL¹に結合しており；

20

nは、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10であってよく；

L³は、所望により置換されたC₁－C₆アルキルであるか、または、L³は、存在しなくてもよく、L³が存在しないとき、硫黄は、構成要素Eに直接結合しており；L⁴は、所望により置換されたC₁－C₆アルキルであるか、または、L⁴は、存在しなくてもよく、L⁴が存在しないとき、硫黄は、構成要素Eに直接結合している。]

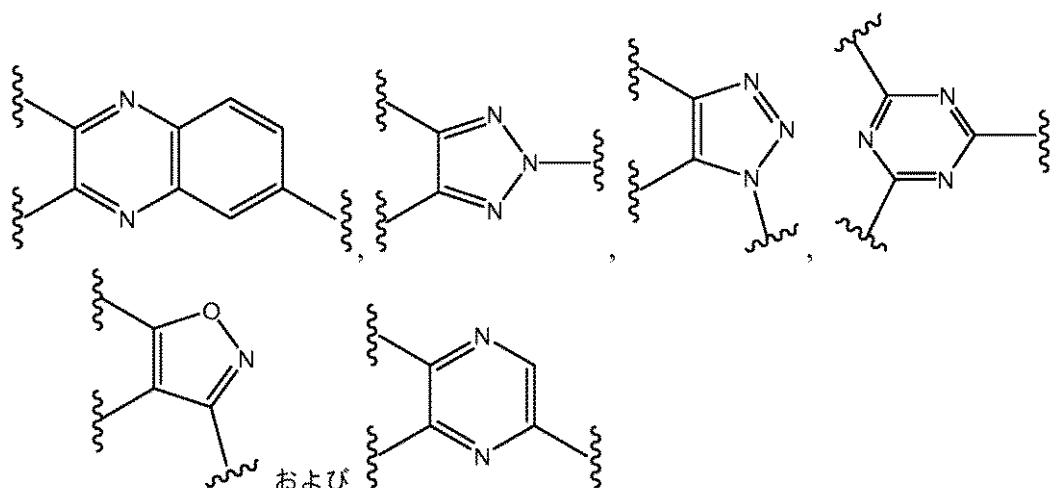
の構造を有する活性薬剤コンジュゲートまたはその薬学的に許容される塩を提供する。

【0005】

或る態様において、構成要素Eは、

【化 3】

30



40

からなる群から選択されるフラグメントを含む。

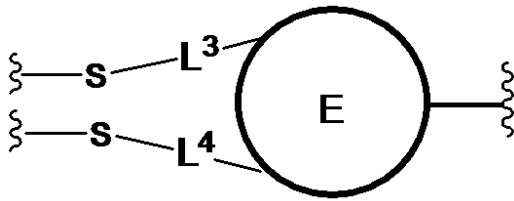
【0006】

或る態様において、L³は、－(CH₂)－であってよく；L⁴は、－(CH₂)－であってよい。或る態様において、L³は、存在しなくてよく；L⁴は、存在しなくてよい。

【0007】

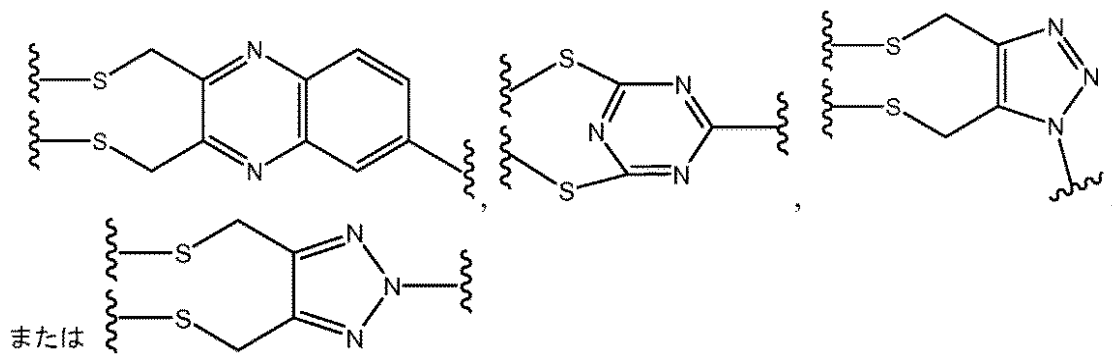
或る態様において、

【化 4】



は、

【化 5】



または

であり得る。

【0008】

或る態様において、 L^2 は、 $-(CH_2)_n-$ (ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 であり得る。) を含む。或る態様において、 L^2 は、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ (ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 であり得る。) を含む。或る態様において、 L^2 は、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、Ala-PAB、または、PAB を含む。或る態様において、 L^2 は、ペプチド、オリゴ糖、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、Ala-PAB、PAB またはこれらの組み合わせを含む。或る態様において、 L^2 は、切断不可能ユニットを含む。或る態様において、切断不可能ユニットは、 $-(CH_2)_n-$ (ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 であり得る。) を含む。或る態様において、切断不可能ユニットは、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ (ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 であり得る。) を含む。或る態様において、 L^2 は、切断可能ユニットを含む。或る態様において、切断可能ユニットは、ペプチドを含む。

【0009】

或る態様において、構成要素 A は、モノクローナル抗体(mAB)を含む。或る態様において、構成要素 A は、抗体フラグメント、サロゲートまたは変異体を含む。或る態様において、構成要素 A は、タンパク質リガンドを含む。或る態様において、構成要素 A は、タンパク質骨格を含む。或る態様において、構成要素 A は、ペプチドを含む。或る態様において、構成要素 A は、小分子リガンドを含む。或る態様において、構成要素 A は、少なくとも 1 個の修飾 L-アラニン残基を含む。或る態様において、構成要素 A は、少なくとも 2 個の修飾 L-アラニン残基を含む。或る態様において、少なくとも 1 個の L^2 は、 $-(CH_2)_n-$ (ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 であり得る。) を含む。或る態様において、少なくとも 1 個の L^2 は、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ (ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9 または 10 であり得る。) を含む。或る態様において、少なくとも 1 個の L^2 は、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、Ala-PAB、または、PAB を含む。或る態様において、少なくとも 1 個の L^2 は、ペプチド、オリゴ糖、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-

10

20

30

40

50

Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-A
sn-PAB、Ala-PAB、PAB、または、これらの組み合わせを含む。

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】図1は、薬物／抗体比5.5：1で薬物と抗体を反応させたH I C－H P L Cク
ロマトグラム生成物を示す。

【図2】図2は、薬物／抗体比6：1で薬物と抗体を反応させたH I C－H P L Cクロマ
トグラム生成物を示す。

【図3】図3は、薬物／抗体比1：6.5で薬物と抗体を反応させたH I C－H P L Cク
ロマトグラム生成物を示す。

10

【図4】図4は、薬物／抗体比1：4で薬物と抗体を反応させたH I C－H P L Cクロマ
トグラム生成物を示す。

【図5】図5は、各F P L CフラクションについてのH I C－H P L Cクロマトグラムお
よび各ピークの相対純度を示すピークのインセット、オーバーレイを示す。

【図6】図6は、図4および5に記載したF P L Cフラクションについての還元S D S－
P A G E分析を示す。

【図7】図7は、7種の抗体－薬物コンジュゲートサンプルにおける、S K－B R－3細
胞の生存能を示す。

【図8】図8は、7種の抗体－薬物コンジュゲートサンプルにおける、H C C 1 9 5 4細
胞の生存能を示す。

20

【図9】図9は、トラスツズマブをコンジュゲートした化合物40についての、還元S D
S－P A G E分析を示す。

【図10】図10は、4種の抗体－薬物コンジュゲートサンプルにおける、S K－B R－
3細胞の生存能を示す。

【図11】図11は、4種の抗体－薬物コンジュゲートサンプルにおける、H C C 1 9 5
4細胞の生存能を示す。

【図12】図12は、4種の抗体－薬物コンジュゲートサンプルにおける、S K－B R－
3細胞の生存能を示す。

【発明を実施するための形態】

【0011】

30

詳細な説明

或る態様は、活性薬剤コンジュゲートを提供する。或る態様において、活性薬剤コンジュゲートは、薬物コンジュゲートである。或る態様において、薬物コンジュゲートは、ターゲティング分子を含む。或る態様において、ターゲティング分子は、モノクローナル抗体(m A B)を含む。或る態様において、薬物コンジュゲートは、スパーサーまたは多官能性リンカーを含む。或る態様において、スパーサーは、スルフィド結合によって、m A Bに結合している。或る態様において、多官能性リンカーは、スルフィド結合によって、m A Bに結合している。或る態様において、スパーサーまたは多官能性リンカーは、所望により補助的部分に結合し得る。或る態様において、補助的部分は、第2ターゲティング分子、例えばm A Bおよびペプチドであり得る。或る態様において、補助的部分は、親水性ポリマー、例えばポリエチレングリコール(P E G)などであり得る。或る態様において、スパーサーまたは多官能性リンカーは、2～5個の原子架橋を含み得る。或る態様において、スパーサーまたは多官能性リンカーは、4 C (4個の炭素)架橋を含み得る。

40

【0012】

ポリペプチドをペイロードで誘導体化するコンジュゲーション方法は、ミカエル付加反応を介して抗体の個々のスルフヒドリル基と反応できるマレイミド部分またはビニル部分を用いて達成できる。遊離スルフヒドリル基は、抗体中のジスルフィド結合を還元することによって形成できる。しかし、ジスルフィド結合を開裂してペイロードを露出した遊離チオールに結合した後、抗体の構造完全性は損なわれ得る。本明細書で提供される組成物および方法は、構造安定性が減少しないシステインを介したコンジュゲーションを提供す

50

る。

【0013】

定義

本明細書で用いられるとき、通常の有機の略語を以下の通り定義する。

【表1】

Ac	アセチル
aq.	水性
BOC または Boc	t e r tーブトキシカルボニル
BrOP	プロモトリス(ジメチルアミノ)ホスホニウム ヘキサフルオロホスフ ェート
Bu	nーブチル
℃	摂氏温度
DCM	塩化メチレン
DEPC	ジエチルシアノホスホネート
DIC	ジイソプロピルカルボジイミド
DIEA	ジイソプロピルエチルアミン
DMA	N,N'ージメチルアセトアミド
DMF	N,N'ージメチルホルムアミド
DTT	ジチオスレイトール
EDC	1ーエチルー3ー(3ージメチルアミノプロピル)カルボジイミド
Et	エチル
EtOAc	酢酸エチル
Eq	当量
Fmoc	9ーフルオレニルメトキシカルボニル
g	グラム
h	時間
HATU	2ー(1Hー7ーアザベンゾトリアゾールー1ーイル)ー1,1,3,3ー テトラメチルウロニウム ヘキサフルオロホスフェート
HOAt	1ーヒドロキシー7ーアザベンゾトリアゾール
HOBT	Nーヒドロキシベンゾトリアゾール
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
LC/MS	液体クロマトグラフィーー質量分析
Me	メチル
MeOH	メタノール
MeCN	アセトニトリル
mL	ミリリットル
MS	質量分析
PAB	pーアミノベンジル
RP-HPLC	逆相H P L C

10

20

30

40

【表 2】

t-Bu	t e r t -ブチル
TCEP	トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン
TEA	トリエチルアミン
Tert, t	第3級
TFA	トリフルオロ酢酸
THF	テトラヒドロフラン
THP	テトラヒドロピラニル
TLC	薄層クロマトグラフィー
μ L	マイクロリットル

10

【0014】

用語“薬学的に許容される塩”は、化合物の生物学的有効性および特性を保持し、医薬で使用するのに生物学的にまたは他の点で望ましくないものではない、塩をいう。多くの場合、ここに開示する化合物は、アミノ基および／またはカルボキシル基またはそれらに類する基の存在により、酸および／または塩基塩を形成できる。薬学的に許容される酸付加塩は無機酸および有機酸と形成できる。塩を形成できる無機酸は、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などを含む。塩を形成できる有機酸は、例えば、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、桂皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸などを含む。薬学的に許容される塩基付加塩は、無機塩基および有機塩基と形成できる。塩を形成できる無機塩基は、例えば、ナトリウム、カリウム、リチウム、アンモニウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、亜鉛、銅、マンガン、アルミニウムなどを含み、特に好ましいのは、アンモニウム塩、カリウム塩、ナトリウム塩、カルシウム塩およびマグネシウム塩である。塩を形成できる有機塩基は、例えば、第1級、第2級および第3級アミン、天然に存在する置換アミンを含む置換アミン、環状アミン、塩基性イオン交換樹脂など、特に、例えばイソプロピルアミン、トリメチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、トリプロピルアミンおよびエタノールアミンを含む。多くのこのような塩は、W0 87/05297 (Johnstonら、1987年9月11日公開)(引用により本明細書にその全体を包含させる)に記載されているように、当分野で知られる。

20

30

【0015】

本明細書で用いられるとき、“ $C_a \sim C_b$ ”または“ C_{a-b} ”であって、ここで、“a”および“b”が整数であるものは、特定の基の炭素原子数をいう。すなわち、該基は、“a”個から“b”個(両端を含む)の炭素原子を含み得る。すなわち、例えば、“ $C_1 \sim C_4$ アルキル”または“ C_{1-4} アルキル”基は、1～4個の炭素を有する全てのアルキル基、すなわち、 CH_3- 、 CH_3CH_2- 、 $CH_3CH_2CH_2-$ 、 $(CH_3)_2CH-$ 、 $CH_3CH_2CH_2CH_2-$ 、 $CH_3CH_2CH(CH_3)-$ および $(CH_3)_3C-$ を含む。

40

【0016】

用語“ハロゲン”または“ハロ”は、本明細書で用いられるとき、元素周期表の第7族の放射安定性原子のいずれか一つ、例えば、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素を意味し、フッ素および塩素が好ましい。

【0017】

本明細書で用いられるとき、“アルキル”は、完全に飽和された(すなわち、二重または三重結合を含まない)直鎖または分枝鎖炭化水素鎖をいう。アルキル基は1～20個の炭素原子を含み得る(本明細書で記載するときは常に、“1～20”のような数値範囲は、ある範囲の各整数をいい、例えば、“1～20個の炭素原子”は、アルキル基が1個の

50

炭素原子、2個の炭素原子、3個の炭素原子など、最大で20個(20個を含む)の炭素原子を含み得るが、本定義はまた数値範囲が指定されていない用語“アルキル”の場合も包含する)。アルキル基は、1～9個の炭素原子を有する中鎖アルキルでもあり得る。アルキル基は、また1～4個の炭素原子を有する低級アルキルであり得る。このアルキル基は“C₁₋₄アルキル”または同様の記載で表示し得る。単なる例として、“C₁₋₄アルキル”は、アルキル鎖に1～4個の炭素原子があることを意味し、すなわち、アルキル鎖はメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチルおよびtert-ブチルからなる群から選択されるが、これらに限定されない。典型的アルキル基は、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、3級ブチル、ペンチル、ヘキシルなどを含むが、これらに限定されない。

10

【0018】

本明細書で用いられるとき、“アルコキシ”は、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、1-メチルエトキシ(イソプロポキシ)、n-ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシおよびtert-ブトキシなどを含むが、これらに限定されない、“C₁₋₉アルコキシ”のような式-OR(ここで、Rは上に定義したアルキルである)をいう。

【0019】

本明細書で用いられるとき、“アルキルチオ”は、メチルメルカプト、エチルメルカプト、n-プロピルメルカプト、1-メチルエチルメルカプト(イソプロピルメルカプト)、n-ブチルメルカプト、イソブチルメルカプト、sec-ブチルメルカプト、tert-ブチルメルカプトなどを含むが、これらに限定されない、“C₁₋₉アルキルチオ”などのような式-SR(ここで、Rは上に定義したアルキルである)をいう。

20

【0020】

本明細書で用いられるとき、“アルケニル”は、1個以上の二重結合を含む直鎖または分枝鎖炭化水素鎖をいう。アルケニル基は2～20個の炭素原子を有し得るが、本定義はまた数値範囲が指定されていない用語“アルケニル”の場合も包含する。アルケニル基は、2～9個の炭素原子を有するアルケニルでもあり得る。アルケニル基はまた2～4個の炭素原子を有する低級アルケニルでもあり得る。このアルケニル基は、“C₂₋₄アルケニル”または同様の記載で指定され得る。単なる例として、“C₂₋₄アルケニル”は、アルケニル鎖に2～4個の炭素原子が存在することを意味し、すなわち、アルケニル鎖はエテニル、プロペン-1-イル、プロペン-2-イル、プロペン-3-イル、ブテン-1-イル、ブテン-2-イル、ブテン-3-イル、ブテン-4-イル、1-メチルプロペン-1-イル、2-メチルプロペン-1-イル、1-エチルエテン-1-イル、2-メチルプロペン-3-イル、ブター1,3-ジエニル、ブター1,2,3-ジエニルおよびブター1,2,3-ジエニル-4-イルからなる群から選択される。典型的アルケニル基は、エテニル、プロペニル、ブテニル、ペンテニルおよびヘキセニルなどを含むが、これらに限定されない。

30

【0021】

本明細書で用いられるとき、“アルキニル”は、1個以上の三重結合を含む直鎖または分枝鎖炭化水素鎖をいう。アルキニル基は2～20個の炭素原子を有し得るが、本定義はまた数値範囲が指定されていない用語“アルキニル”の場合も包含する。アルキニル基は、2～9個の炭素原子を有するアルキニルでもあり得る。アルキニル基はまた2～4個の炭素原子を有する低級アルキニルでもあり得る。このアルキニル基は、“C₂₋₄アルキニル”または同様の記載で指定され得る。単なる例として、“C₂₋₄アルキニル”は、アルキニル鎖に2～4個の炭素原子が存在することを意味し、すなわち、アルキニル鎖はエチニル、プロピン-1-イル、プロピン-2-イル、ブチン-1-イル、ブチン-3-イル、ブチン-4-イルおよび2-ブチニルからなる群から選択される。典型的アルキニル基は、エチニル、プロピニル、ブチニル、ペンチニルおよびヘキシニルなどを含むが、これらに限定されない。

40

【0022】

用語“芳香族”は、共役π電子系を有する環または環系をいい、炭素環式芳香族基(例

50

えば、フェニル)およびヘテロ環式芳香族基(例えば、ピリジン)のいずれも含む。本用語は、環系全体が芳香族である限り、単環式または縮合環多環式(すなわち、原子の隣接する対を共有する環)基を含む。

【0023】

本明細書で用いられるとき、“アリールオキシ”および“アリールチオ”は、フェニルオキシを含むが、これに限定されない、“ C_{6-10} アリールオキシ”または“ C_{6-10} アリールチオ”などのような $RO-$ および $RS-$ (ここで、 R は上に定義したアリールである)をいう。

【0024】

“アラルキル”または“アリールアルキル”は、ベンジル、2-フェニルエチル、3-フェニルプロピルおよびナフチルアルキルを含むが、これらに限定されない、“ C_{7-14} アラルキル”などのような、置換基として、アルキレン基を介して結合しているアリール基をいう。幾つかの例において、アルキレン基は低級アルキレン基(すなわち、 C_{1-4} アルキレン基)である。

【0025】

本明細書で用いられるとき、“ヘテロアリール”は、1個以上のヘテロ原子、すなわち、窒素、酸素および硫黄を含むが、これらに限定されない炭素以外の元素を環骨格に含む、芳香環または環系(すなわち、隣接する2個の原子を共有する2個以上の縮合環)をいう。ヘテロアリールが環系であるとき、該系中の全ての環は芳香族である。ヘテロアリール基は、5~18個の環員(すなわち、炭素原子およびヘテロ原子を含む環骨格を構成する原子の数)を有してよいが、本定義はまた数値範囲が指定されていない用語“ヘテロアリール”も包含する。或る態様において、ヘテロアリール基は、5~10個の環員または5~7個の環員を有する。このヘテロアリール基は“5~7員ヘテロアリール”、“5~10員ヘテロアリール”または同様の記載で指定され得る。ヘテロアリール環の例は、フリル、チエニル、フタラジニル、ピロリル、オキサゾリル、チアゾリル、イミダゾリル、ピラゾリル、イソオキサゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、チアジアゾリル、ピリジニル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、トリアジニル、キノリニル、イソキノリニル、ベンゾイミダゾリル、ベンゾオキサゾリル、ベンゾチアゾリル、インドリル、イソインドリルおよびベンゾチエニルを含むが、これらに限定されない。

【0026】

“ヘテロアラルキル”または“ヘテロアリールアルキル”は、置換基として、アルキレン基を介して結合しているヘテロアリール基をいう。例は、2-チエニルメチル、3-チエニルメチル、フリルメチル、チエニルエチル、ピロリルアルキル、ピリジルアルキル、イソキサゾリルアルキルおよびイミダゾリルアルキルを含むが、これらに限定されない。幾つかの例において、アルキレン基は低級アルキレン基(すなわち、 C_{1-4} アルキレン基)である。

【0027】

本明細書で用いられるとき、“カルボシクリル”は、環系骨格に炭素原子のみを含む、非芳香族環式環または環系をいう。カルボシクリルが環系であるとき、2個以上の環は、縮合、架橋またはスピロ結合形式で一体となっていてよい。カルボシクリルは、環系の少なくとも1個の環が芳香族でない限り、あらゆる飽和度を有し得る。すなわち、カルボシクリルは、シクロアルキル、シクロアルケニルおよびシクロアルキニルを含む。カルボシクリル基は、3~20個の炭素原子を有し得るが、本定義はまた数値範囲が指定されていない用語“カルボシクリル”の場合も包含する。カルボシクリル基は、3~10個の炭素原子を有する中サイズのカルボシクリルでもあり得る。カルボシクリル基はまた3~6個の炭素原子を有するカルボシクリルであり得る。このカルボシクリル基は、“ C_{3-6} カルボシクリル”または同様の記載で指定され得る。カルボシクリル環の例は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、2,3-ジヒドロインデン、ビスクロ[2.2.2]オクタニル、アダマンチルおよびスピロ[4.4]ノナニルを含むが、これらに限定されない。

【0028】

“(カルボシクリル)アルキル”は、“ C_{4-10} (カルボシクリル)アルキル”などのような、置換基としてアルキレン基を介して結合しているカルボシクリル基をいい、シクロプロピルメチル、シクロブチルメチル、シクロプロピルエチル、シクロプロピルブチル、シクロブチルエチル、シクロプロピルイソプロピル、シクロペンチルメチル、シクロペンチルエチル、シクロヘキシルメチル、シクロヘキシルエチル、シクロヘプチルメチルなどを含むが、これらに限定されない。幾つかの例において、アルキレン基は低級アルキレン基である。

【0029】

本明細書で用いられるとき、“シクロアルキル”は、完全に飽和されたカルボシクリル環または環系をいう。例はシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチルおよびシクロヘキシルを含む。

【0030】

本明細書で用いられるとき、“シクロアルケニル”は、少なくとも1個の二重結合を有するカルボシクリル環または環系であって、環系中の環が芳香族でないものを意味する。例はシクロヘキセニルである。

【0031】

本明細書で用いられるとき、“ヘテロシクリル”は、環骨格に少なくとも1個のヘテロ原子を含む非芳香族環式環または環系をいう。ヘテロシクリルは、縮合、架橋またはスピロ結合形式で一体となっていてよい。ヘテロシクリルは、環系の少なくとも1個の環が芳香族でない限り、あらゆる飽和度を有し得る。ヘテロ原子は環系の非芳香族環または芳香環に存在し得る。ヘテロシクリル基は3～20個の環員(すなわち、炭素原子およびヘテロ原子を含む環骨格を構成する原子の数)を有し得るが、本定義はまた数値範囲が指定されていない用語“ヘテロシクリル”も包含する。ヘテロシクリル基は、3～10個の環員を有する中サイズのヘテロシクリルでもあり得る。ヘテロシクリル基はまた3～6個の環員を有するヘテロシクリルでもあり得る。ヘテロシクリル基は、“3～6員ヘテロシクリル”または類似の記号表示で指定され得る。好ましい6員単環式ヘテロシクリルにおいて、ヘテロ原子は3個までのO、NまたはSから選択され、好ましい5員単環式ヘテロシクリルにおいて、ヘテロ原子は2個までのO、NまたはSから選択される。ヘテロシクリル環の例は、アゼピニル、アクリジニル、カルバゾリル、シンノリニル、ジオキソラニル、イミダゾリニル、イミダゾリジニル、モルホリニル、オキシラニル、オキセパニル、チエパニル、ペペリジニル、ペペラジニル、ジオキソペペラジニル、ピロリジニル、ピロリドニル、ピロリジノイル、4-ペペリドニル、ピラゾリニル、ピラゾリジニル、1,3-ジオキシニル、1,3-ジオキサニル、1,4-ジオキシニル、1,4-ジオキサニル、1,3-オキサチアニル、1,4-オキサチイニル、1,4-オキサチアニル、2H-1,2-オキサジニル、トリオキサニル、ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアジニル、1,3-ジオキソリル、1,3-ジオキソラニル、1,3-ジチオリル、1,3-ジチオラニル、イソオキサゾリニル、イソオキサゾリジニル、オキサゾリニル、オキサゾリジニル、オキサゾリジノニル、チアゾリニル、チアゾリジニル、1,3-オキサチオラニル、インドリニル、イソインドリニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロチオフェニル、テトラヒドロチオピラニル、テトラヒドロ-1,4-チアジニル、チアモルホリニル、ジヒドロベンゾフラニル、ベンズイミダゾリジニルおよびテトラヒドロキノリンを含むが、これらに限定されない。

【0032】

“(ヘテロシクリル)アルキル”は、置換基として、アルキレン基を介して結合しているヘテロシクリル基をいう。例は、イミダゾリニルメチルおよびインドリニルエチルを含むが、これらに限定されない。

【0033】

本明細書で用いられるとき、“アシル”は、 $-C(=O)R$ (ここで、Rは本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カ

10

20

30

40

50

ルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルを含む)をいう。非限定的例は、ホルミル、アセチル、プロパノイル、ベンゾイルおよびアクリルを含む。

【0034】

“O-カルボキシ”基は、“ $-OC(=O)R$ ”基(ここで、Rは本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。

【0035】

“C-カルボキシ”基は“ $-C(=O)OR$ ”基(ここで、Rは本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。非限定的例はカルボキシル(すなわち、 $-C(=O)OH$)を含む。

【0036】

“シアノ”基は“ $-CN$ ”基をいう。

“シアナト”基は“ $-OCN$ ”基をいう。

“イソシアナト”基は“ $-NCO$ ”基をいう。

“チオシアナト”基は“ $-SCN$ ”基をいう。

“イソチオシアナト”基は“ $-NCS$ ”基をいう。

【0037】

“スルフィニル”基は“ $-S(=O)R$ ”基(ここで、Rは本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。

【0038】

“スルホニル”基は“ $-SO_2R$ ”基(ここで、Rは本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。

【0039】

“S-スルホンアミド”基は“ $-SO_2NR_A R_B$ ”基(ここで、 R_A および R_B は各々独立して本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。

【0040】

“N-スルホンアミド”基は“ $-N(R_A)SO_2R_B$ ”基(ここで、 R_A および R_B は各々独立して本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。

【0041】

“O-カルバミル”基は“ $-OC(=O)NR_A R_B$ ”基(ここで、 R_A および R_B は各々独立して本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。

【0042】

“N-カルバミル”基は“ $-N(R_A)C(=O)OR_B$ ”基(ここで、 R_A および R_B は各々独立して本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。

【0043】

10

20

30

40

50

“オーチオカルバミル”基は“ $-OC(=S)NR_A R_B$ ”基(ここで、 R_A および R_B は各々独立して本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。

【0044】

“ウレア”基は“ $-N(R_A)C(=O)NR_A R_B$ ”基(ここで、 R_A および R_B は各々独立して本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。

【0045】

“N-チオカルバミル”基は“ $-N(R_A)C(=S)OR_B$ ”基(ここで、 R_A および R_B は各々独立して本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。

【0046】

“C-アミド”基は“ $-C(=O)NR_A R_B$ ”基(ここで、 R_A および R_B は各々独立して本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。

【0047】

“N-アミド”基は“ $-N(R_A)C(=O)R_B$ ”基(ここで、 R_A および R_B は各々独立して本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。

【0048】

“アミノ”基は“ $-NR_A R_B$ ”基(ここで、 R_A および R_B は各々独立して本明細書で定義した水素、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-6} アルケニル、 C_{2-6} アルキニル、 C_{3-7} カルボシクリル、 C_{6-10} アリール、5～10員ヘテロアリールおよび5～10員ヘテロシクリルから選択される)をいう。非限定的例は遊離アミノ(すなわち、 $-NH_2$)を含む。

【0049】

“アミノアルキル”基は、アルキレン基を介して結合しているアミノ基をいう。

“アルコキシアルキル”基は、“ C_{2-8} アルコキシアルキル”などのような、アルキレン基を介して結合しているアルコキシ基である。

【0050】

本明細書で用いられるとき、置換基は、非置換親基に由来し、その中で、1個以上の水素原子の他の原子または基への置換がされている。特に断らない限り、基が“置換”されていると見なされるとき、該基は、 C_1-C_6 アルキル、 C_2-C_6 アルケニル、 C_2-C_6 アルキニル、 C_3-C_7 カルボシクリル(場合によりハロ、 C_1-C_6 アルキル、 C_1-C_6 アルコキシ、 C_1-C_6 ハロアルキルおよび C_1-C_6 ハロアルコキシで置換されてよい)、 C_3-C_7 カルボシクリル- C_1-C_6 アルキル(場合によりハロ、 C_1-C_6 アルキル、 C_1-C_6 アルコキシ、 C_1-C_6 ハロアルキルおよび C_1-C_6 ハロアルコキシで置換されてよい)、5～10員ヘテロシクリル(場合によりハロ、 C_1-C_6 アルキル、 C_1-C_6 アルコキシ、 C_1-C_6 ハロアルキルおよび C_1-C_6 ハロアルコキシで置換されてよい)、5～10員ヘテロシクリル- C_1-C_6 アルキル(場合によりハロ、 C_1-C_6 アルキル、 C_1-C_6 アルコキシ、 C_1-C_6 ハロアルキルおよび C_1-C_6 ハロアルコキシで置換されてよい)、アリール(場合によりハロ、 C_1-C_6 アルキル、 C_1-C_6 アルコキシ、 C_1-C_6 ハロアルキルおよび C_1-C_6 ハロアルコキシで置換されてよい)、アリール(C_1-C_6)アルキル(場合によりハロ、 C_1-C_6 アルキル、 C_1-C_6 アルコキシ、 C_1-C_6 ハロアルキルおよび C_1-C_6 ハロアルコキシで置換されてよい)、

10

20

30

40

50

C₆ ハロアルコキシで置換されていてよい)、5～10員ヘテロアリール(場合によりハロ、C₁－C₆ アルキル、C₁－C₆ アルコキシ、C₁－C₆ ハロアルキルおよびC₁－C₆ ハロアルコキシで置換されていてよい)、5～10員ヘテロアリール(C₁－C₆)アルキル(場合によりハロ、C₁－C₆ アルキル、C₁－C₆ アルコキシ、C₁－C₆ ハロアルキルおよびC₁－C₆ ハロアルコキシで置換されていてよい)、ハロ、シアノ、ヒドロキシ、C₁－C₆ アルコキシ、C₁－C₆ アルコキシ(C₁－C₆)アルキル(すなわち、エーテル)、アリールオキシ、スルフヒドリル(メルカプト)、ハロ(C₁－C₆)アルキル(例えば、－CF₃)、ハロ(C₁－C₆)アルコキシ(例えば、－OCF₃)、C₁－C₆ アルキルチオ、アリールチオ、アミノ、アミノ(C₁－C₆)アルキル、ニトロ、O－カルバミル、N－カルバミル、O－チオカルバミル、N－チオカルバミル、C－アミド、N－アミド、S－スルホンアミド、N－スルホンアミド、C－カルボキシ、O－カルボキシ、アシル、シアナト、イソシアナト、チオシアナト、イソチオシアナト、スルフィニル、スルホニルおよびオキソ(=O)から独立して選択される1個以上の置換基で置換されていることを意図する。基が“場合により置換されていてよい”と記載されているときは常に、該基は上記置換基で置換されていてよい。

10

【0051】

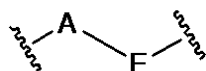
特定の基の命名法は、文脈によって、モノラジカルまたはジラジカルを含み得ることは理解されるべきである。例えば、置換基が、分子の残りへの2個の結合点を必要とするならば、該置換基はジラジカルであると理解される。例えば、2個の結合点を必要とするアルキルと見なされる置換基は、－CH₂－、－CH₂CH₂－、－CH₂CH(CH₃)CH₂－などのようなジラジカルを含む。他の基の命名法は、“アルキレン”または“アルケニレン”のように該基がジラジカルであることを明確に示す。

20

【0052】

置換基がジラジカル(すなわち、分子の残りへの2個の結合点を有する)として記載されているときは常に、該置換基は、特に断らない限り、いずれかの指向性(directional configuration)を持って結合できる。すなわち、例えば、－AE－または

【化6】



として記載した置換基は、Aが分子の最左結合点で結合するように配向されている置換基ならびにAが分子の最右結合点で結合する場合を含む。

30

【0053】

本明細書で用いられるとき、“対象”は、ヒトまたは非ヒト哺乳動物、例えば、イヌ、ネコ、マウス、ラット、ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、非ヒト霊長類または鳥類、例えば、ニワトリ、ならびに何らかの他の脊椎動物または無脊椎動物を意味する。

【0054】

関与するコンジュゲーション方法、スぺーサーおよびリンカー

或る態様は、スぺーサーまたは多官能性リンカーを介してターゲティング分子にコンジュゲートする方法を提供する。或る態様において、該スぺーサーまたは多官能性リンカーは2～5個の原子架橋を含み得る。或る態様において、該方法は1工程または連続的コンジュゲーション法を含む。或る態様において、薬物コンジュゲートは、スぺーサーまたは多官能性リンカーを含む。或る態様において、該スぺーサーまたは多官能性リンカーは、ペプチドのような開裂不可能または開裂可能ユニット、例えばペプチドを含み得る。

40

【0055】

有用性および適用

或る態様は、本明細書に開示し、記載した活性薬剤コンジュゲートを患者に投与することを含む、処置を必要とする患者を処置する方法を提供する。或る態様において、患者は、癌、免疫疾患または糖尿病を有し得る。

【0056】

或る態様は、本明細書に開示し、記載した活性薬剤コンジュゲートを個人に投与するこ

50

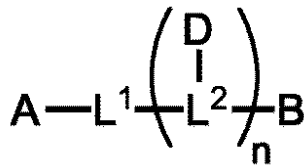
とを含む、診断または画像診断法を提供する。

【0057】

構造

或る態様は、式 I :

【化7】



(I)

10

[式中、

Aは、ターゲティング分子であってよく、

Bは、所望により第2ターゲティング部分である補助的部分であるか、または、Bは、存在せず；

L¹は、2～5個の炭素架橋および少なくとも1個の硫黄原子を含み；

Dは、それぞれ独立して選択され、ここで、Dは、それぞれ活性薬剤を含み；

L²は、それぞれ独立してリンカーであり、ここで、少なくとも1個のL²はL¹に結合しており；

nは、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10である。]

20

の構造を有する活性薬剤コンジュゲートまたはその薬学的に許容される塩を提供する。

【0058】

或る態様において、Aは、モノクローナル抗体(mAB)であり得る。

或る態様において、Aは、抗体フラグメント、サロゲートまたは変異体であり得る。

或る態様において、Aは、タンパク質リガンドであり得る。

或る態様において、Aは、タンパク質骨格であり得る。

或る態様において、Aはペプチドであり得る。

或る態様において、Aは小分子リガンドであり得る。

【0059】

或る態様において、Bは、親水性ポリマーであり得る。或る態様において、親水性ポリマーは、ポリエチレングリコール(PEG)などであり得る。或る態様において、Bは、生分解性ポリマーであり得る。或る態様において、生分解性ポリマーは、非構造化タンパク質、ポリアミノ酸、ポリペプチド、多糖類およびこれらの組み合わせであり得る。

30

【0060】

或る態様において、Bは、モノクローナル抗体(mAB)であり得る。

或る態様において、Bは、抗体フラグメント、サロゲートまたは変異体であり得る。

或る態様において、Bは、タンパク質リガンドであり得る。

或る態様において、Bは、タンパク質骨格であり得る。

或る態様において、Bは、ペプチドであり得る。

或る態様において、Bは、RNAまたはDNAであり得る。

40

或る態様において、Bは、RNAまたはDNAフラグメントであり得る。

或る態様において、Bは、小分子リガンドであり得る。

【0061】

或る態様において、Dは、生物学的活性化合物であり得る。

或る態様において、Dは、薬物であり得る。

或る態様において、Dは、化学療法剤であり得る。

或る態様において、Dは、天然産物であり得る。

或る態様において、Dは、免疫モジュレーターであり得る。

或る態様において、Dは、チューブリン結合剤であり得る。

或る態様において、Dは、DNAアルキル化剤であり得る。

50

或る態様において、Dは、HSP90阻害剤であり得る。

或る態様において、Dは、DNAトポイソメラーゼ阻害剤であり得る。

或る態様において、Dは、抗エピジェネティック剤であり得る。

或る態様において、Dは、HDAC阻害剤であり得る。

或る態様において、Dは、代謝拮抗剤であり得る。

或る態様において、Dは、プロテアソーム阻害剤であり得る。

或る態様において、Dは、ペプチドであり得る。

或る態様において、Dは、ペプチド模倣薬であり得る。

或る態様において、Dは、siRNAであり得る。

或る態様において、Dは、アンチセンスDNAであり得る。

10

或る態様において、Dは、エポチロンA、エポチロンBまたはパクリタキセルであり得る。

【0062】

或る態様において、 L^2 は、スペーサーまたは多官能性リンカーを含み得る。或る態様において、 L^2 は、スペーサーおよび多官能性リンカーを含み得る。或る態様において、 L^2 は、多官能性リンカーを含み得る。或る態様において、 L^2 はそれぞれ、リンカーであってよく、ここで、リンカーは、生物学的条件下で切断可能であっても切断可能でなくともよい。或る態様において、リンカーは酵素によって切断され得る。或る態様において、 L^2 はリンカーを含み得る。

【0063】

20

或る態様において、 L^1 は、2～5個の炭素架橋および少なくとも1個の硫黄原子を含む。或る態様において、 L^1 は、2～5個の炭素架橋および少なくとも2個の硫黄原子を含む。或る態様において、 L^1 は、2～5個の炭素架橋およびスペーサーを含む。或る態様において、 L^1 は、2～5個の炭素架橋、少なくとも2個の硫黄原子およびスペーサーを含む。或る態様において、 L^1 は、1個以上の硫黄を含み得る。或る態様において、 L^1 は、2個以上の硫黄を含み得る。或る態様において、 L^1 は、正確に2個の硫黄を含み得る。或る態様において、 L^1 は、4個の炭素架橋および／またはスペーサーを含み得る。或る態様において、 L^1 は、4個の炭素架橋またはスペーサーを含む。或る態様において、 L^1 は、4個の炭素架橋およびスペーサーを含み得る。或る態様において、 L^1 は、4個の炭素架橋および少なくとも2個の硫黄原子を含む。或る態様において、スペーサーは、スルフィド結合によってmABに結合している。或る態様において、スペーサーは、チオエーテルを介してmABに結合している。

30

【0064】

或る態様において、Aは、少なくとも1個の修飾L-アラニン残基を含む。或る態様において、Aは、少なくとも2個の修飾L-アラニン残基を含む。或る態様において、 L^1 は、少なくとも1個の硫黄を含む。或る態様において、 L^1 は、少なくとも2個の硫黄を含む。或る態様において、Aは、 L^1 の少なくとも1個の硫黄に結合した少なくとも1個の修飾L-アラニン残基を含む。或る態様において、少なくとも1個の修飾L-アラニン残基は、コンジュゲートする前のペプチドのL-システイン残基に由来するものである。或る態様において、 L^1 の少なくとも1個の硫黄は、コンジュゲートする前のペプチドのL-システインに由来する。或る態様において、Aおよび L^1 は、一体となって、少なくとも1個のチオエーテルを含む。

40

【0065】

或る態様において、リンカーは、ペプチドであり得る。

或る態様において、リンカーは、オリゴ糖を含み得る。例えば、リンカーは、キトサンを含み得る。或る態様において、 L^2 は、リンカーおよび $-(CH_2)_n-$ （ここで、nは、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10である。）を含み得る。或る態様において、 L^2 は、リンカーおよび $-(CH_2CH_2O)_n-$ （ここで、nは、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10である。）を含み得る。

【0066】

50

或る態様において、リンカーは、 $-(CH_2)_n-$ (ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10である。)を含み得る。

或る態様において、リンカーは、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ (ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10である。)を含み得る。

【0067】

或る態様において、リンカーは、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、Ala-PAB、PABなどを含み得る。

【0068】

或る態様において、リンカーは、ペプチド、オリゴ糖、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、Ala-PAB、PABなどのあらゆる組み合わせを含み得る。

10

【0069】

或る態様において、スペーサーは、ペプチドを含み得る。

或る態様において、スペーサーは、オリゴ糖を含み得る。例えば、スペーサーは、キトサンを含み得る。

【0070】

或る態様において、スペーサーは、 $-(CH_2)_n-$ (ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10である。)を含み得る。或る態様において、 L^1 は、4個の炭素架橋および $-(CH_2)_n-$ (ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10である。)を含む構成要素を含み得る。

20

【0071】

或る態様において、スペーサーは、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ (ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10である。)を含み得る。或る態様において、 L^1 は、4個の炭素架橋および $-(CH_2CH_2O)_n-$ (ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10である。)を含む構成要素を含み得る。

【0072】

或る態様において、スペーサーは、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、Ala-PAB、PABなどを含み得る。

30

【0073】

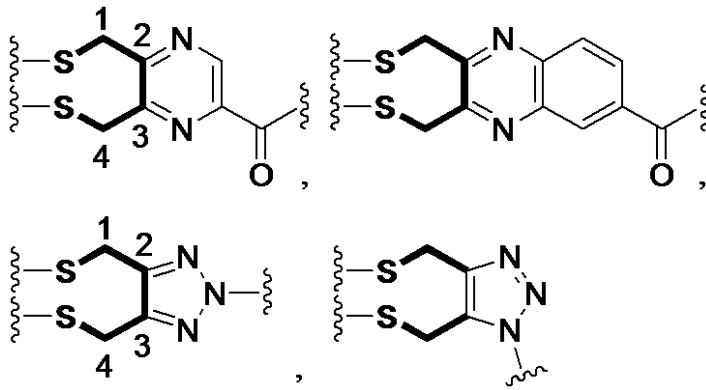
或る態様において、スペーサーは、ペプチド、オリゴ糖、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、Ala-PAB、PABなどのあらゆる組み合わせを含み得る。

【0074】

或る態様において、 L^1 は、4個の炭素架橋を含み得る。或る態様において、 L^1 は、縮合芳香環を介した4個の炭素架橋を含み得る。或る態様において、 L^1 は、スペーサー、および、縮合芳香環を介した4個の炭素架橋を含む構成要素を含み得る。或る態様において、 L^1 は、

40

【化 8】



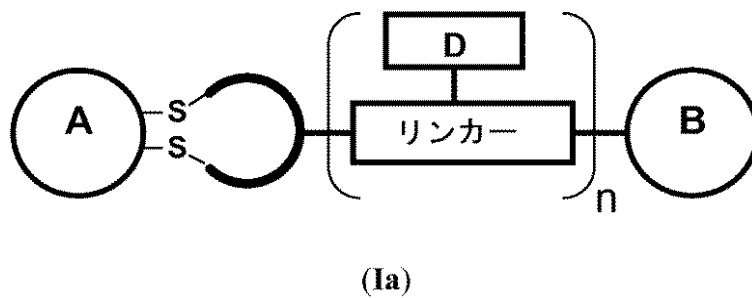
10

などを含み得るが、これらに限定されない。

【0075】

或る態様において、式 I の構造を有する薬剤コンジュゲートは、式 Ia:

【化 9】

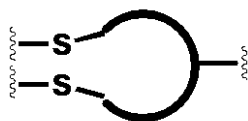


20

[式中、

A の S 結合部分は、修飾 L-アラニン残基を含み、

【化 10】

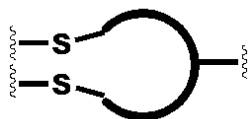


30

は、2～5 個の原子を含む架橋を介して、還元されたジスルフィド結合の硫黄に結合し得る。]

の構造またはその薬学的に許容される塩を有する。例えば、

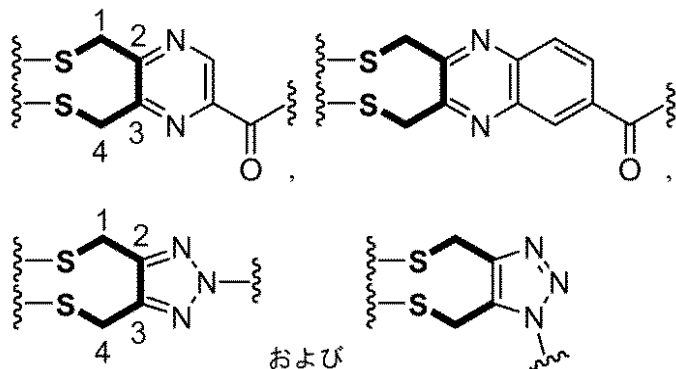
【化 11】



40

によって示される構造は、

【化 1 2】



10

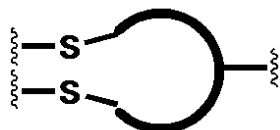
からなる群から選択されるフラグメントを含む。

【0076】

或る態様において、AのS結合(硫黄結合)部分は、修飾L-アラニン残基を含む。或る態様において、AのS結合(硫黄結合)部分は、L¹の硫黄に結合している修飾L-アラニン残基を含む。或る態様において、AのS結合(硫黄結合)部分は、Aの修飾L-アラニン構成要素がコンジュゲートする前のペプチドのL-システイン残基に由来するものである、修飾L-アラニン残基を含む。或る態様において、L¹の硫黄は、コンジュゲートする前のペプチドのL-システインに由来するものである。或る態様において、AおよびL¹は、チオエーテルを含む。或る態様において、式Iaの構造を有する化合物は、L-システインが、Aの修飾L-アラニン、および、

20

【化 1 3】



の硫黄を提供する少なくとも1個のL-システインを含むペプチドから形成され得る。或る態様において、式Iaの構造を有する化合物は、Aの2個の修飾L-アラニン、および、

30

【化 1 4】



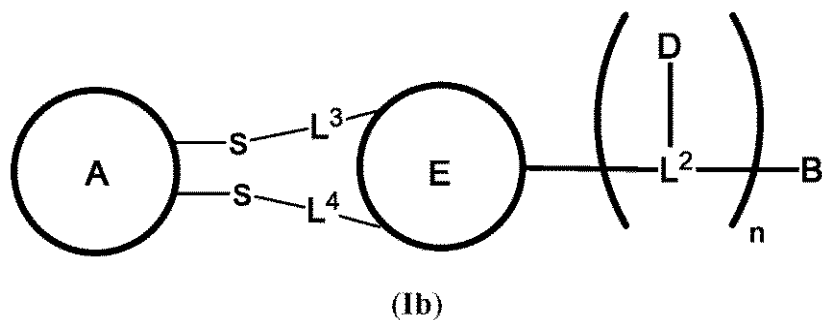
の2個の硫黄を提供する少なくとも2個のL-システインを含むペプチドから形成され得る。

【0077】

或る態様において、式Iの構造を有する薬剤コンジュゲートは、式Ib：

40

【化 1 5】



50

[式中、

構成要素Aは、ターゲティング部分であってよく、

構成要素Eは、ヘテロアリアルまたはヘテロシクリルであってよく、

L^3 は、所望により置換された $C_1 - C_6$ アルキルであるか、または、 L^3 は、存在しなくてよく、 L^3 が存在しないとき、硫黄は、構成要素Eに直接結合しており；

L^4 は、所望により置換された $C_1 - C_6$ アルキルであるか、または、 L^4 は、存在しなくてよく、 L^4 が存在しないとき、硫黄は、構成要素Eに直接結合している。]

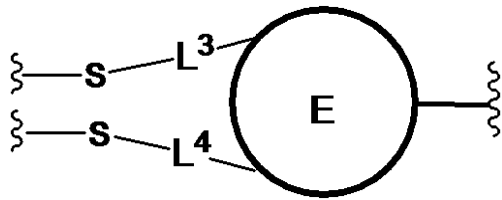
の構造またはその薬学的に許容される塩を有する。或る態様において、 L^3 は、 $-(CH_2)-$ であってよく； L^4 は、 $-(CH_2)-$ であってよい。或る態様において、 L^3 は、存在しなくてよく； L^4 は、存在しなくてよい。

10

【0078】

式Ibの構造の或る態様において、構造：

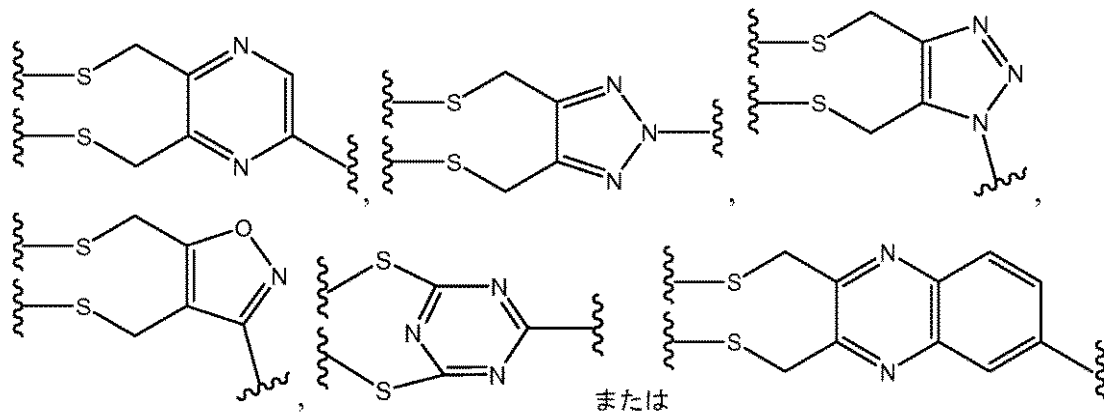
【化16】



は、

20

【化17】



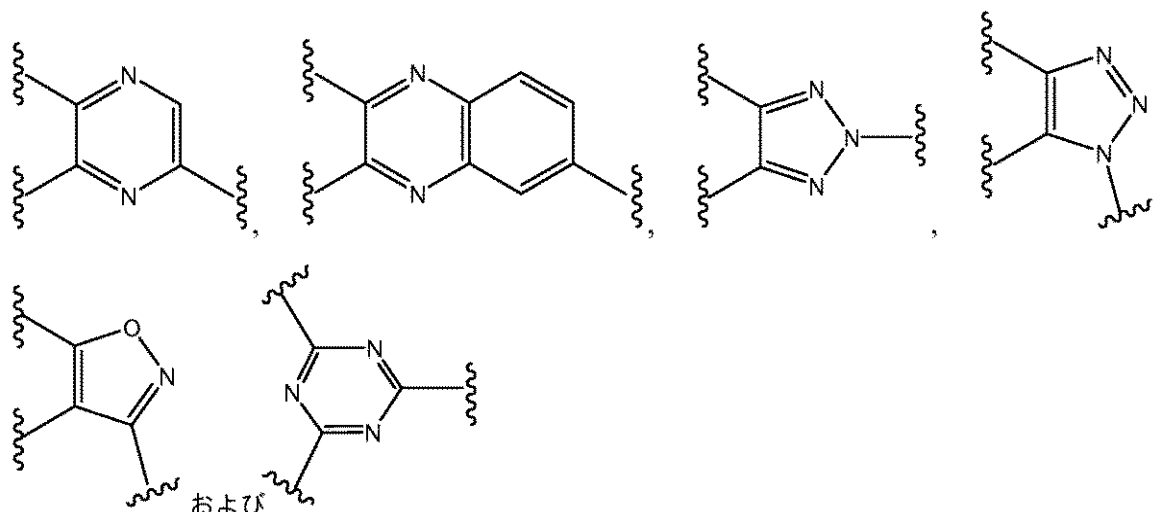
30

であり得る。

【0079】

或る態様において、構成要素Eは、

【化 1 8】



10

からなる群から選択されるフラグメントを含む。

【0080】

或る態様において、活性薬剤は、チューブリン結合剤、DNAアルキル化剤、DNA挿入剤、酵素阻害剤、免疫モジュレーター、ペプチドおよびヌクレオチドからなる群から選択され得る。

20

【0081】

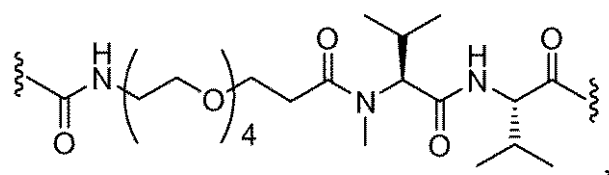
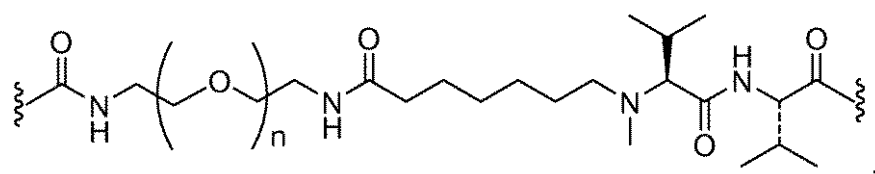
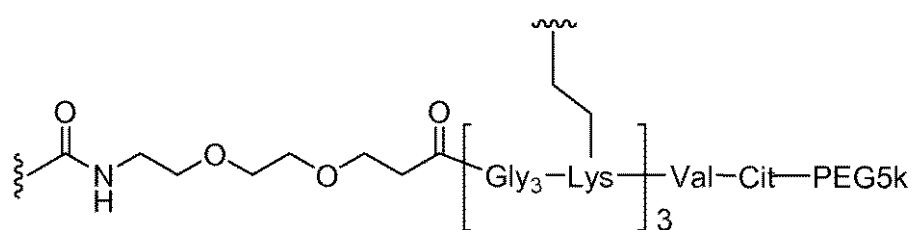
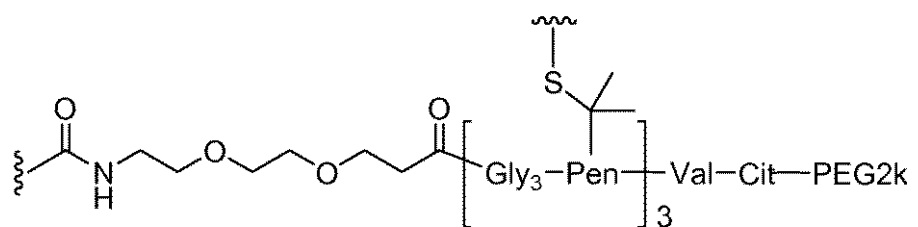
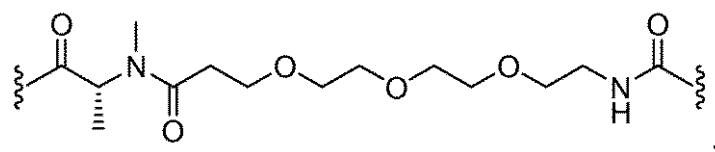
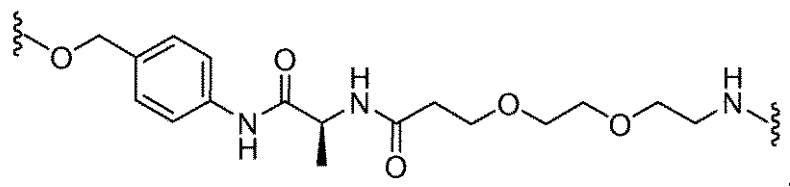
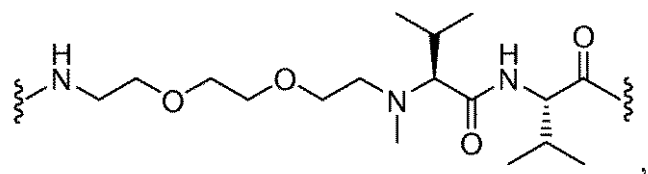
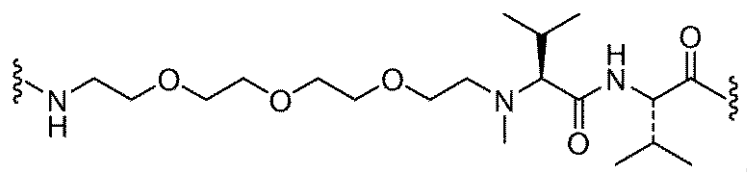
或る態様において、少なくとも1個の L^2 は、 $-(CH_2)_n-$ （ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10である。）を含む。或る態様において、少なくとも1個の L^2 は、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ （ここで、 n は、1、2、3、4、5、6、7、8、9または10である。）を含む。或る態様において、少なくとも1個の L^2 は、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、Ala-PAB または PABを含む。或る態様において、少なくとも1個の L^2 は、ペプチド、オリゴ糖、 $-(CH_2)_n-$ 、 $-(CH_2CH_2O)_n-$ 、Val-Cit-PAB、Val-Ala-PAB、Val-Lys(Ac)-PAB、Phe-Lys-PAB、Phe-Lys(Ac)-PAB、D-Val-Leu-Lys、Gly-Gly-Arg、Ala-Ala-Asn-PAB、Ala-PAB または PABを含む。

30

【0082】

或る態様において、少なくとも1個の L^2 は、下記のものを含むか、これらからなるか、あるいは、本質的にこれらからなり得る：

【化 1 9】



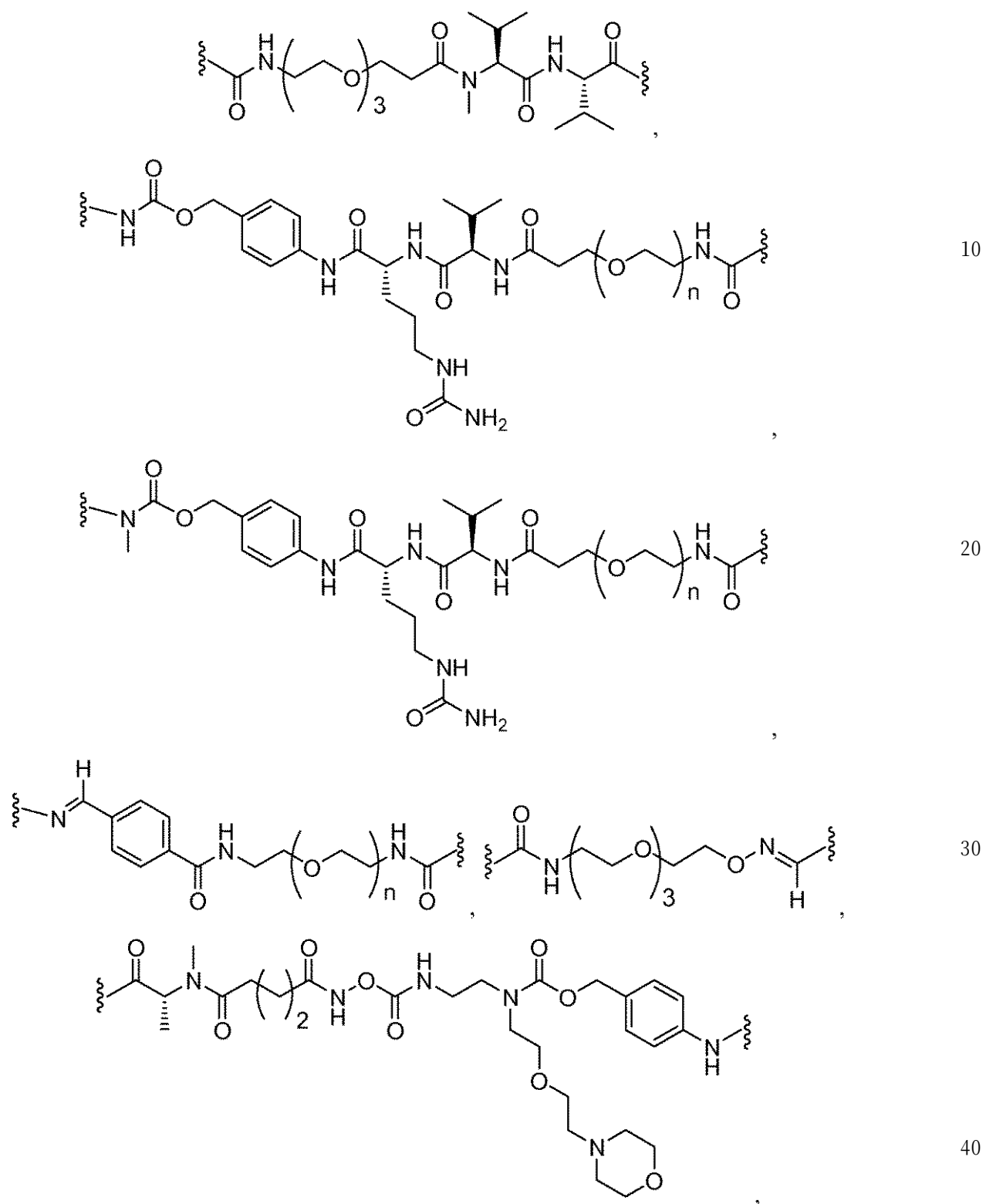
10

20

30

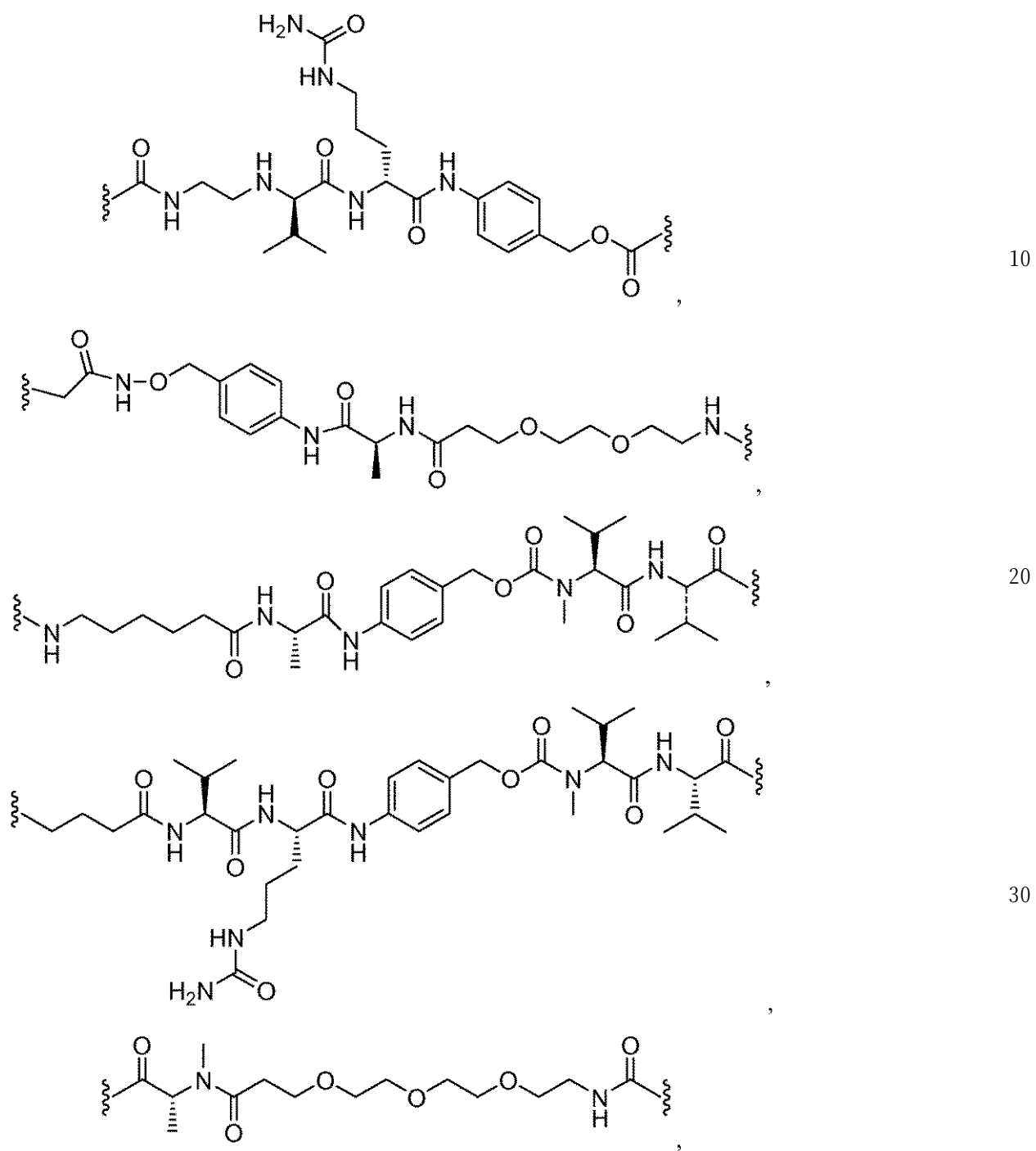
40

【化 2 0】

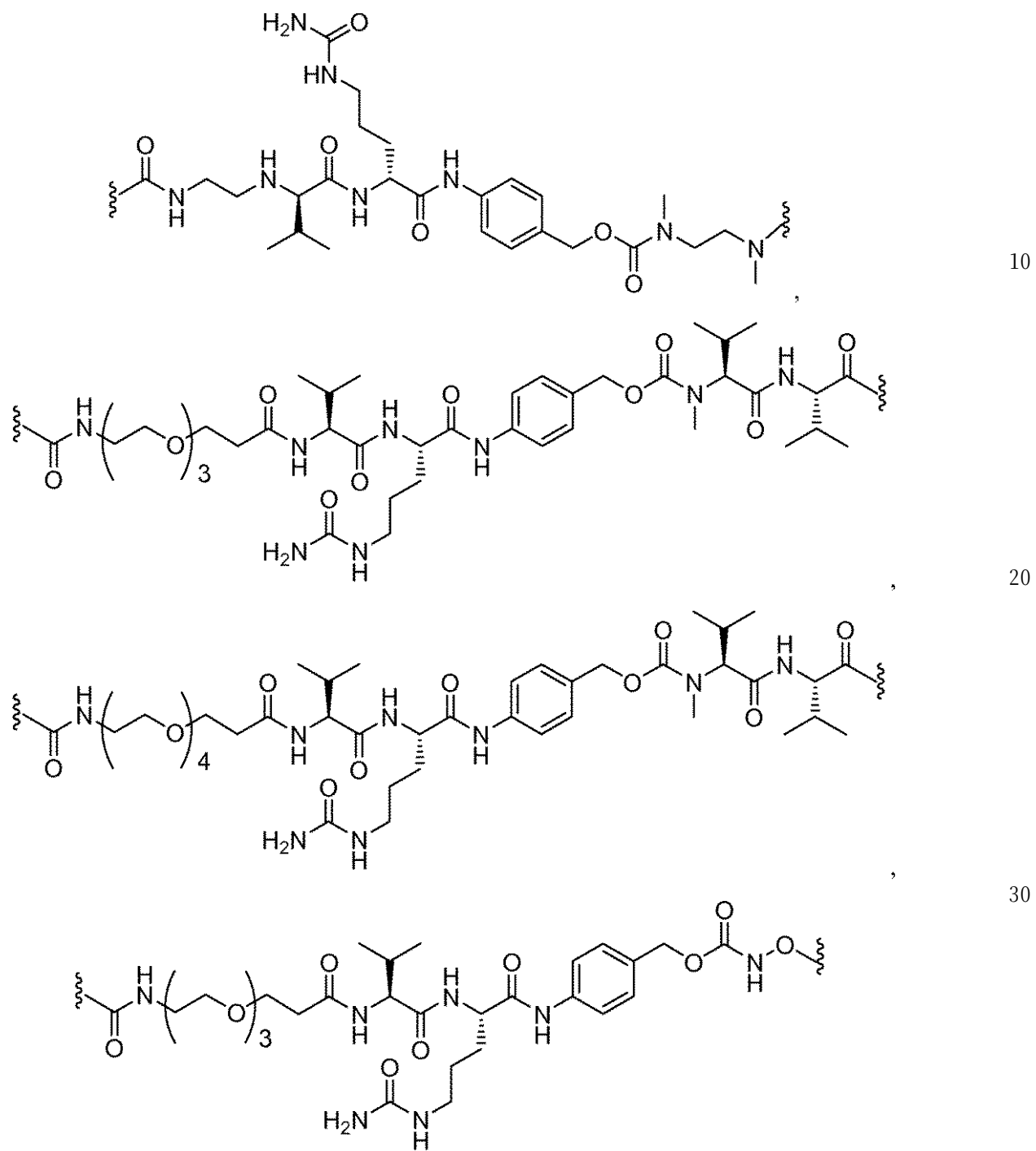


【 0 0 8 3】

【化 2 1】



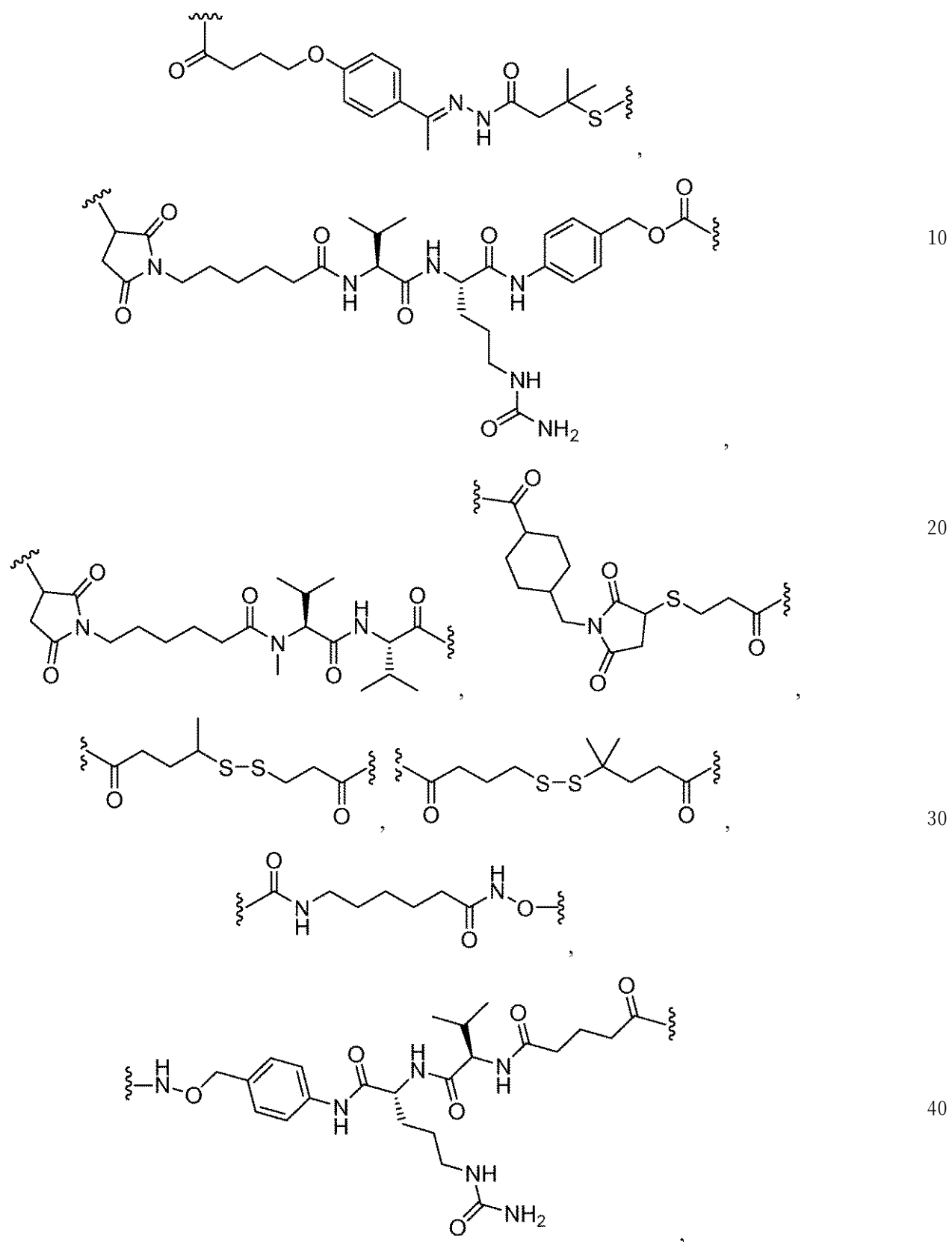
【化 2 2】



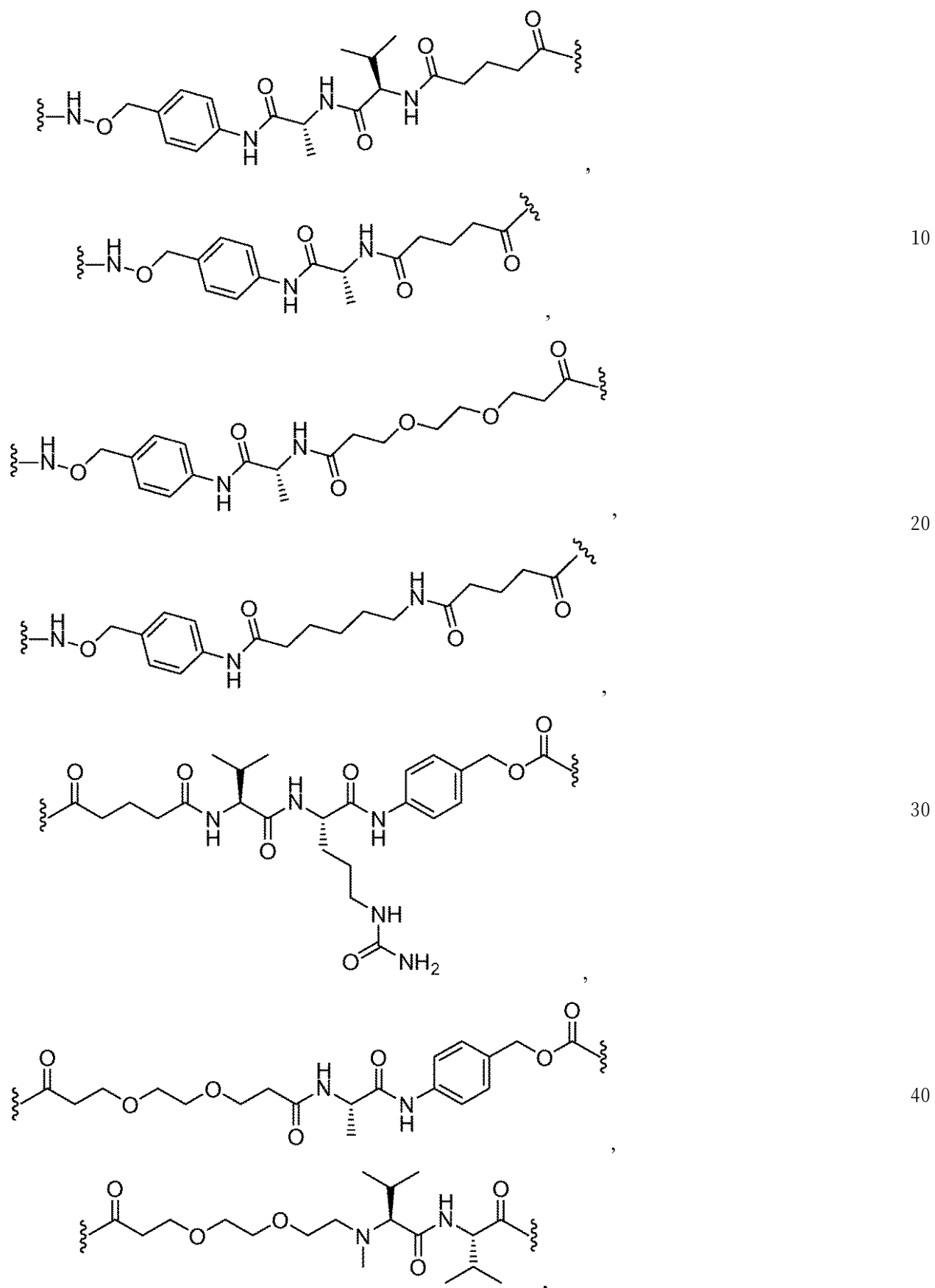
【0084】

40

【化 2 3】

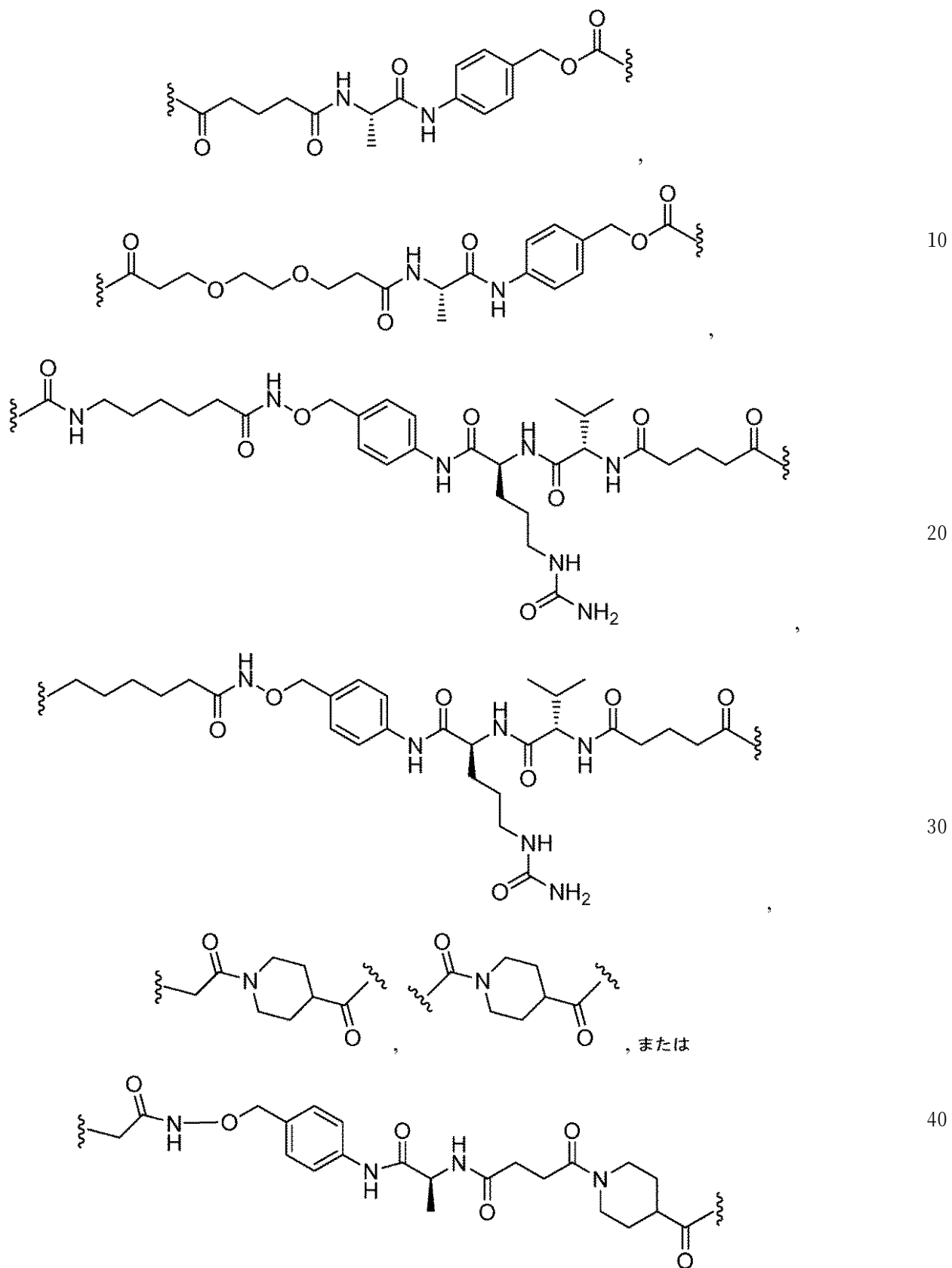


【化 2 4】



【0085】

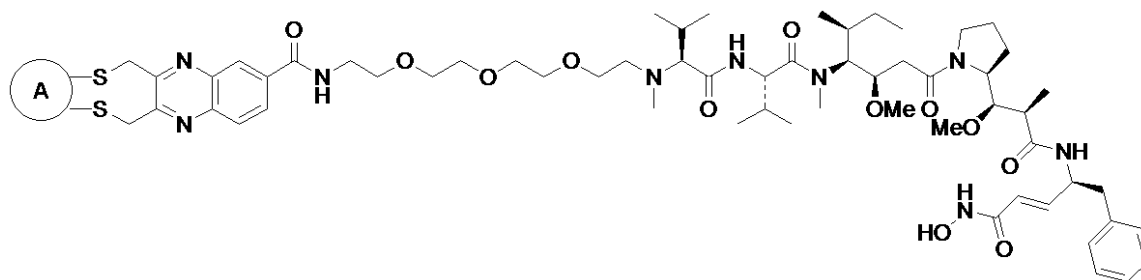
【化 2 5】



【0086】

或る態様において、式 I の構造を有する薬剤コンジュゲートは、

【化 2 6】



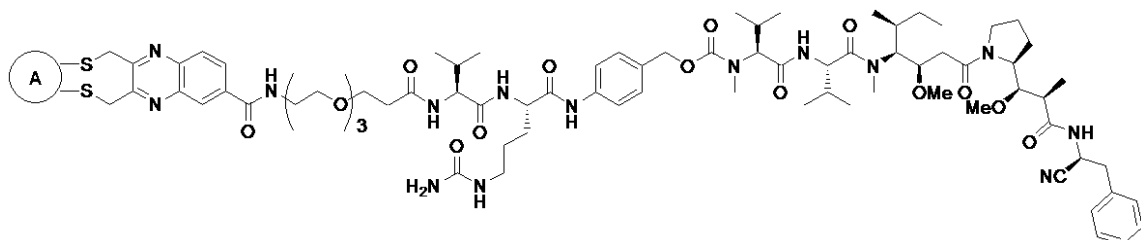
の構造を有する。

10

【0087】

或る態様において、式 I の構造を有する薬剤コンジュゲートは、

【化 2 7】



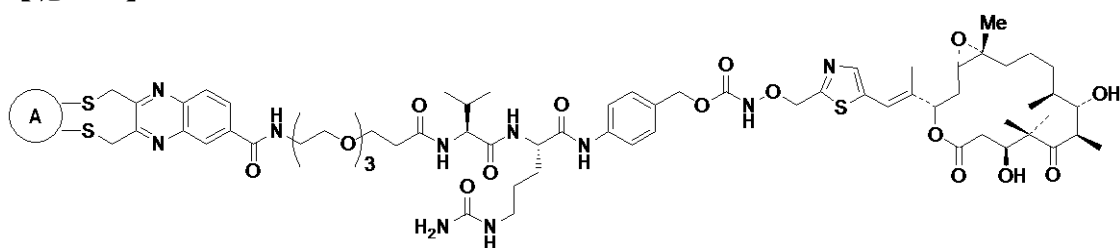
20

の構造を有する。

【0088】

或る態様において、式 I の構造を有する薬剤コンジュゲートは、

【化 2 8】



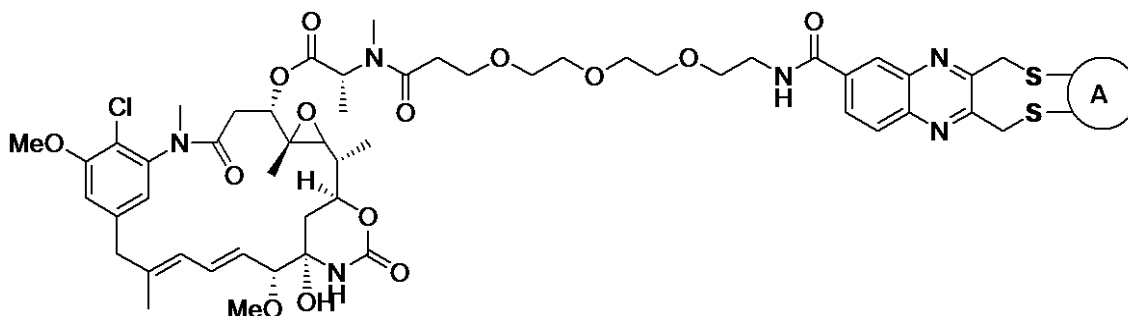
30

の構造を有する。

【0089】

或る態様において、式 I の構造を有する薬剤コンジュゲートは、

【化 2 9】



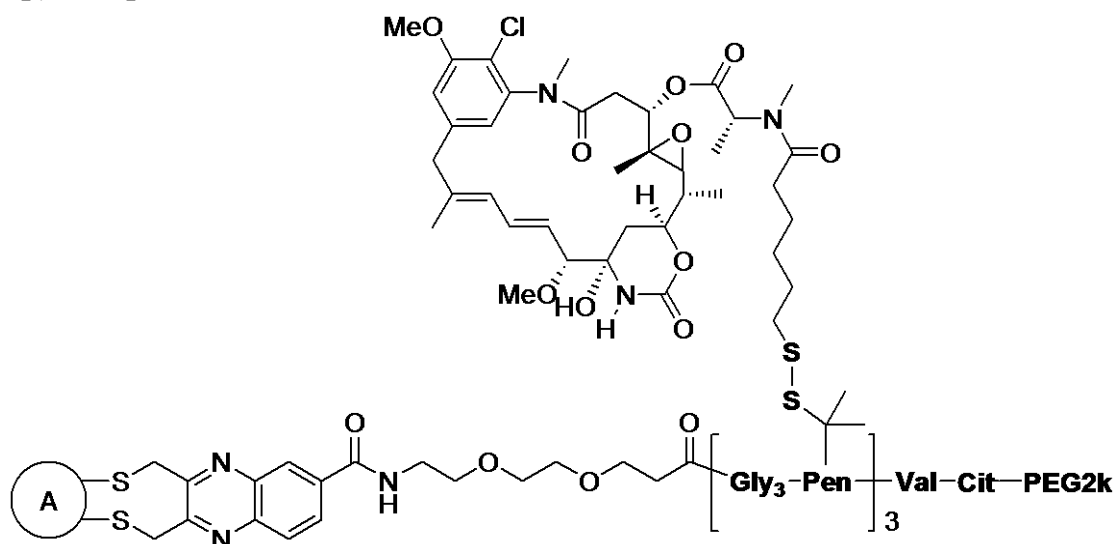
40

の構造を有する。

【0090】

或る態様において、式 I の構造を有する薬剤コンジュゲートは、

【化 3 0】



10

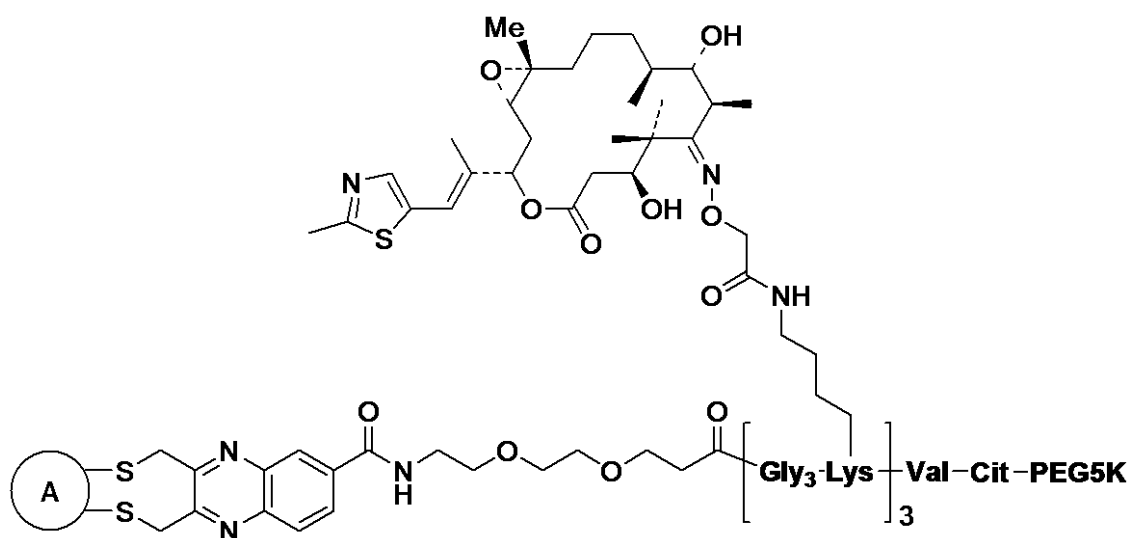
の構造を有する。

【0091】

或る態様において、式 I の構造を有する薬剤コンジュゲートは、

【化 3 1】

20



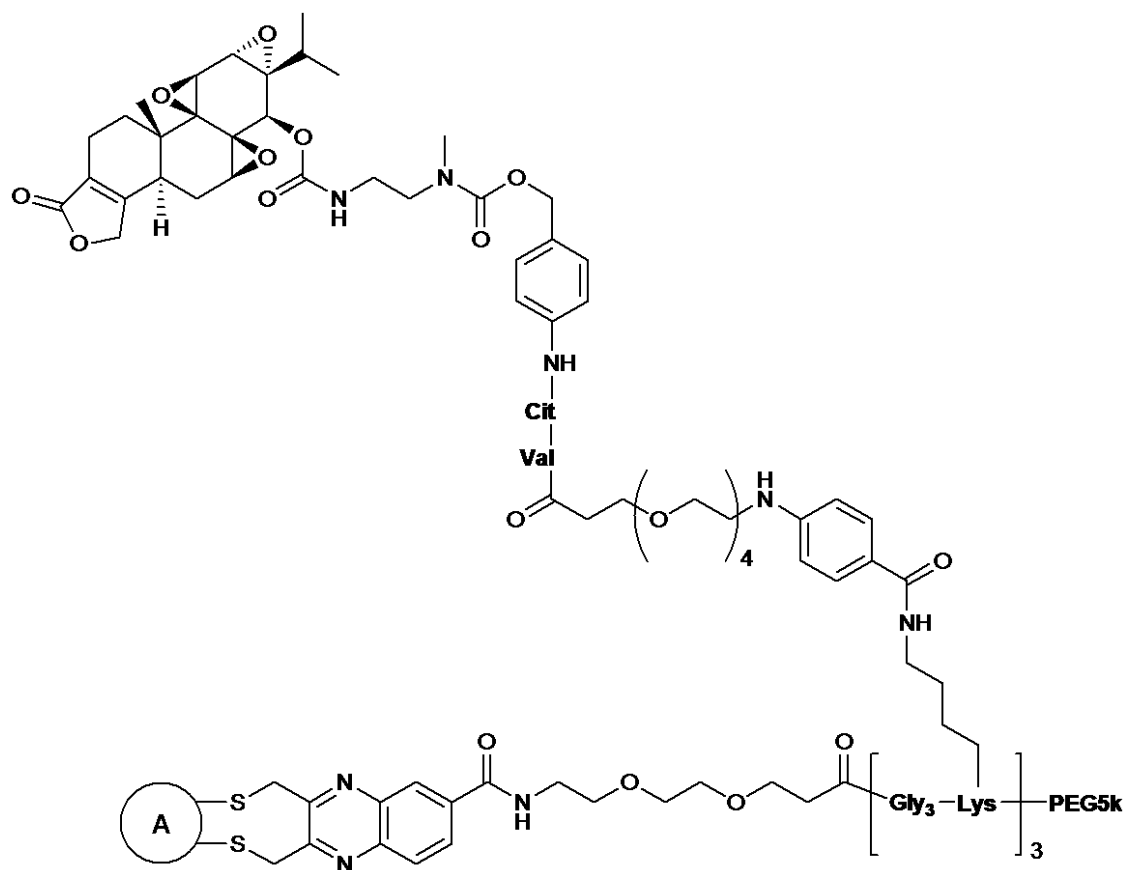
30

の構造を有する。

【0092】

或る態様において、式 I の構造を有する薬剤コンジュゲートは、

【化 3 2】

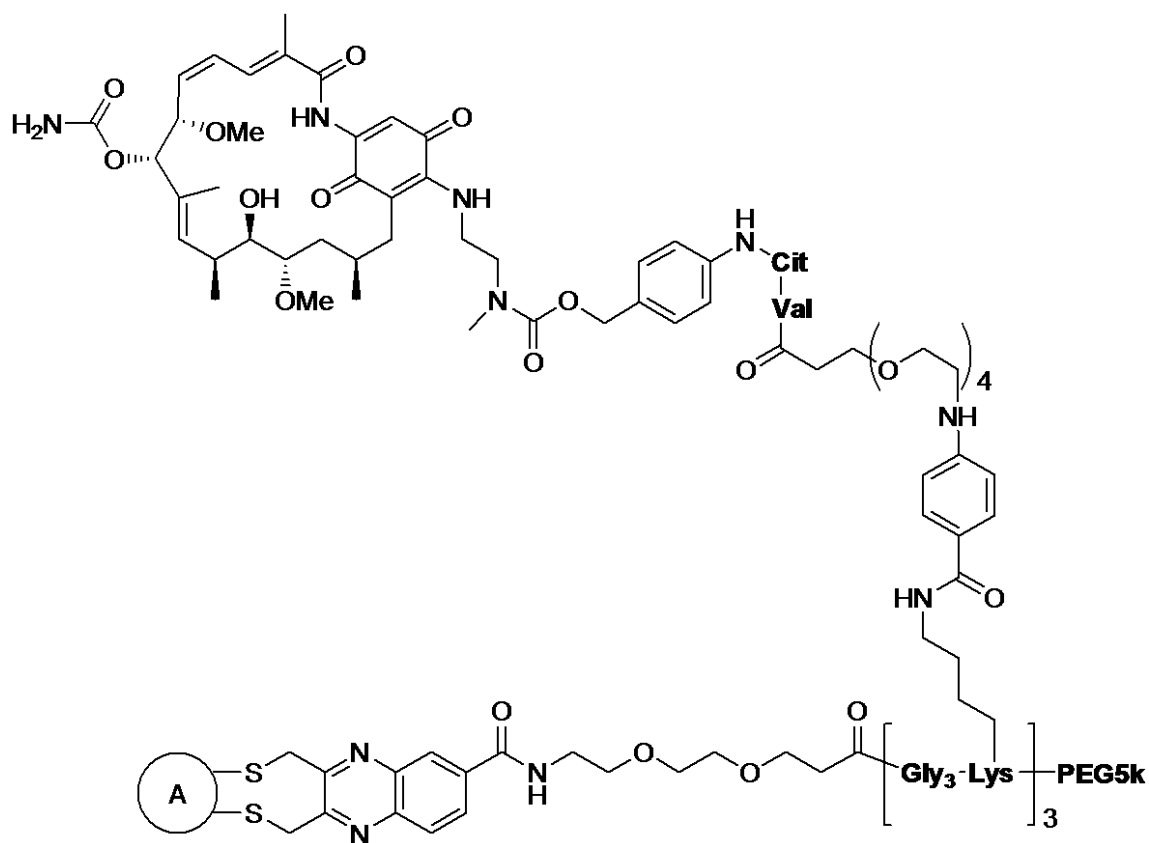


の構造を有する。

【0093】

或る態様において、式 I の構造を有する薬剤コンジュゲートは、

【化 3 3】

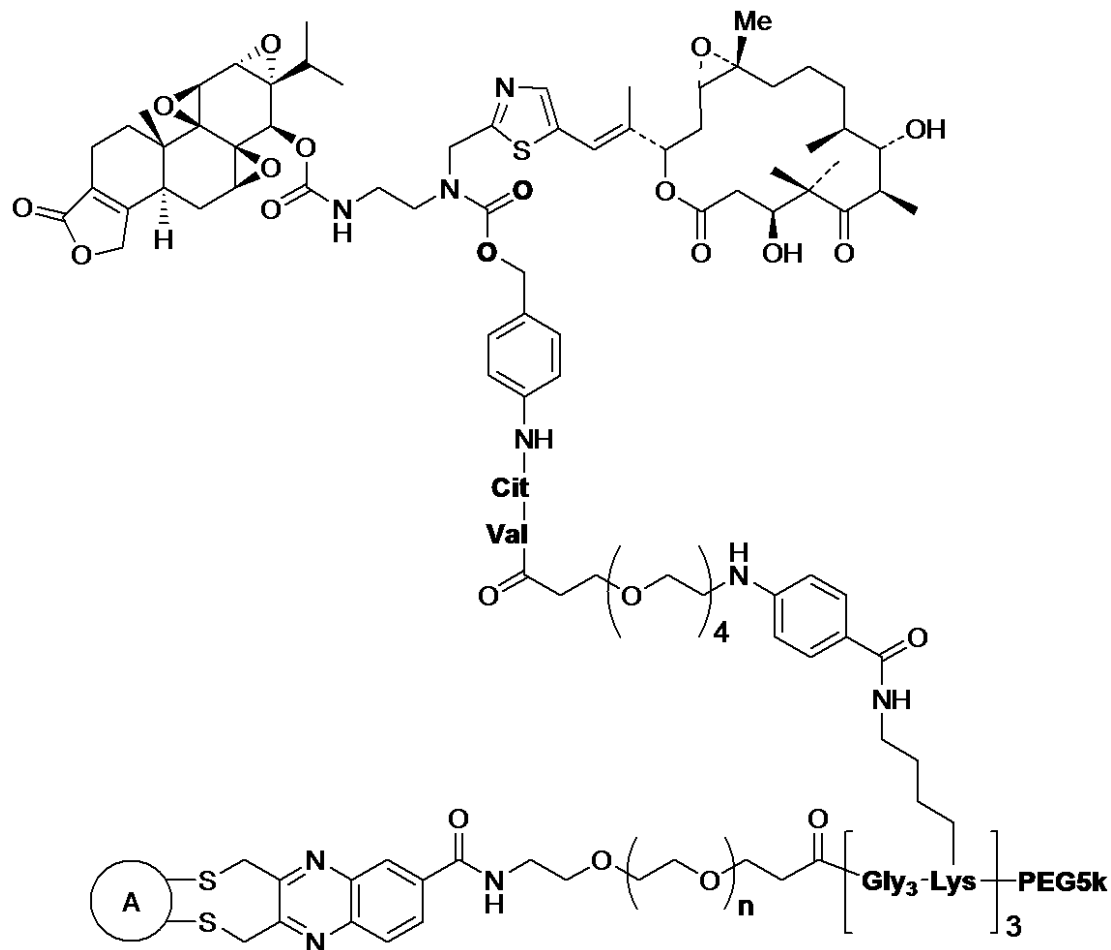


の構造を有する。

【0094】

或る態様において、式 I の構造を有する薬剤コンジュゲートは、

【化 3 4】



の構造を有する。

【0095】

或る態様において、薬剤コンジュゲートは、アミノ酸、アミノ酸残基、アミノ酸アナログ、および修飾アミノ酸からなる群から選択される 1 個以上の構成要素を含み得る。

【0096】

本明細書で用いられるとき、用語“ターゲティング部分”は、生物学的部分またはそのフラグメントと結合するまたは結びつく構造をいう。

【0097】

或る態様において、ターゲティング部分は、抗体であり得る。或る態様において、ターゲティング部分は、モノクローナル抗体(mAb)であり得る。或る態様において、ターゲティング部分は、抗体フラグメント、サロゲートまたは変異体であり得る。或る態様において、ターゲティング部分は、タンパク質リガンドであり得る。或る態様において、ターゲティング部分は、タンパク質骨格であり得る。或る態様において、ターゲティング部分は、ペプチドであり得る。或る態様において、ターゲティング部分は、RNA または DNA であり得る。或る態様において、ターゲティング部分は、RNA または DNA フラグメントであり得る。或る態様において、ターゲティング部分は、小分子リガンドであり得る。

【0098】

或る態様において、ターゲティング部分は、Janthur et al., “Drug Conjugates Such as Antibody Drug Conjugates (ADCs), Immunotoxins and Immunoliposomes Challenge Daily Clinical Practice,” Int. J. Mol. Sci. 2012, 13, 16020-16045 (その開示は、

引用によりその全体を本明細書に組み込まれる)に記載された抗体フラグメントであり得る。或る態様において、ターゲティング部分は、Trail, PA, “Antibody Drug Conjugates as Cancer Therapeutics”, Antibodies 2013, 2, 113-129 (その開示は、引用によりその全体を本明細書に組み込まれる)に記載された抗体フラグメントであり得る。

【0099】

或る態様において、ターゲティング部分は、HuM195-Ac-225、HuM195-Bi-213、Anyara (ナプツモマブ・エスタフェナトクス; ABR-217620)、AS1409、ゼバリン(イブリツモマブ チウキセタン)、BIIB015、BT-062、Neuradiab、CDX-1307、CR011-vcMMAE、トラスツズマブ-DM1 (R3502)、ベキサール(トシツモマブ)、IMGN242、IMGN388、IMGN901、¹³¹I-ラベツズマブ、IMMU-102 (⁹⁰Y-エブラツズマブ)、IMMU-107 (⁹⁰Y-クリバツズマブ テトラキセタン(clivatuzumab tetraxetan))、MDX-1203、CAT-8015、EMD 273063 (hu14.18-IL2)、ツコツズマブ セルモロイキン(Tucotuzumab celmoleukin)(EMD 273066; huKS-IL2)、¹⁸⁸Re-PTI-6D2、コタラ(Cotara)、L19-IL2、Teleukin (F16-IL2)、Tenarad (F16-¹³¹I)、L19-¹³¹I、L19-TNF、PSMA-ADC、DI-Leu16-IL2、SAR3419、SGN-35、または、CMC544であり得る。或る態様において、ターゲティング部分は、HuM195-Ac-225、HuM195-Bi-213、Anyara (ナプツモマブ・エスタフェナトクス; ABR-217620)、AS1409、ゼバリン(イブリツモマブ チウキセタン)、BIIB015、BT-062、Neuradiab、CDX-1307、CR011-vcMMAE、トラスツズマブ-DM1 (R3502)、ベキサール(トシツモマブ)、IMGN242、IMGN388、IMGN901、¹³¹I-ラベツズマブ、IMMU-102 (⁹⁰Y-エブラツズマブ)、IMMU-107 (⁹⁰Y-クリバツズマブ テトラキセタン)、MDX-1203、CAT-8015、EMD 273063 (hu14.18-IL2)、ツコツズマブ セルモロイキン(EMD 273066; huKS-IL2)、¹⁸⁸Re-PTI-6D2、コタラ、L19-IL2、Teleukin (F16-IL2)、Tenarad (F16-¹³¹I)、L19-¹³¹I、L19-TNF、PSMA-ADC、DI-Leu16-IL2、SAR3419、SGN-35、または、CMC544の抗体部分を含むか、これら抗体部分からなるか、または、本質的にこれら抗体部分からなり得る。

【0100】

或る態様において、ターゲティング部分は、ブレンツキシマブベドチン、トラスツズマブエムタンシン、イノツズマブオゾガマイシン、ロルボツズマブ メルタンシン(Lorvotuzumab mertansine)、グレムバツムマブベドチン(Glembatumumab vedotin)、SAR3419、モキセツモマブ パスドトクス(Moxetumomab pasudotox)、モキセツモマブ パスドトクス、AGS-16M8F、AGS-16M8F、BIIB-015、BT-062、IMGN-388、または、IMGN-388であり得る。

【0101】

或る態様において、ターゲティング部分は、ブレンツキシマブベドチン、トラスツズマブエムタンシン、イノツズマブオゾガマイシン、ロルボツズマブ メルタンシン、グレムバツムマブベドチン、SAR3419、モキセツモマブ パスドトクス、モキセツモマブ パスドトクス、AGS-16M8F、AGS-16M8F、BIIB-015、BT-062、IMGN-388、または、IMGN-388の抗体部分を含むか、これら抗体部分からなるか、または、本質的にこれら抗体部分からなり得る。

【0102】

或る態様において、ターゲティング部分は、ブレンツキシマブ、イノツズマブ、ゲムツズマブ、ミラツズマブ、トラスツズマブ、グレムバツムマブ(Glembatumomab)、ロルボツズマブ(Lorvotuzumab)、または、ラベツズマブ(Labestuzumab)を含むか、これらからなるか、あるいは、本質的にこれらからなり得る。

【0103】

本明細書で用いられるとき、用語“ペプチド”は、アミノ酸、アミノ酸残基、アミノ酸アナログおよび修飾アミノ酸からなる群からそれぞれ独立して選択される1個以上の構成要素を含む構造をいう。該構成要素は、典型的に、アミド結合を介して互いに結合している。

【0104】

或る態様において、ペプチド、例えば抗体は、PEG化されている。PEG化は、例えば、向上したポリペプチドの安定性および/または効果を提供できる。当技術分野で知ら

10

20

30

40

50

れているPEG化方法は、本明細書で提供される方法および組成物で用いられ得る。当該方法は、“Comparative Binding of Disulfide-Bridged PEG-Fabs” Khalili et al., Bioconjugate Chemistry (2012), 23(11), 2262-2277; “Site-Specific PEGylation at Histidine Tags” Cong et al., Bioconjugate Chemistry (2012), 23(2), 248-263; “Disulfide bridge based PEGylation of proteins” Brocchini et al., Advanced Drug Delivery Reviews (2008), 60(1), 3-12; “Site-Specific PEGylation of Protein Disulfide Bonds Using a Three-Carbon Bridge” Balan et al., Bioconjugate Chemistry (2007), 18(1), 61-76; “Site-specific PEGylation of native disulfide bonds in therapeutic proteins” Shaunak et al., Nature Chemical Biology (2006), 2(6), 312-313; “PEG derivative conjugated proteins and peptides for use in pharmaceuticals” Godwin et al., WO 2010/100430で提供される方法を含むが、これらに限定されない。上記のPEG化引用文献は全て、その全体が引用により組み込まれる。

10

【0105】

本明細書で用いられるとき、用語“アミノ酸”は、天然に存在するアミノ酸、アミド結合形成に利用可能な窒素およびカルボン酸を有する分子、一般式 $\text{NH}_2-\text{CHR}-\text{COOH}$ の分子または親アミノ酸を担持するペプチド内の残基であって、ここで、“R”は多くの種々の側鎖の一つである。“R”は、天然に存在するアミノ酸に見られる置換基であり得る。“R”はまた、天然に存在するアミノ酸の置換基ではないものに関連する置換基でもよい。

【0106】

20

本明細書で用いられるとき、用語“アミノ酸残基”は、他のアミノ酸に結合したとき、水分子の喪失後に残るアミノ酸の部分を用いる。

【0107】

本明細書で用いられるとき、用語“アミノ酸アナログ”は、アミノ酸親化合物の構造誘導体をいい、これは、しばしば親化合物と一元素異なる。

【0108】

本明細書で用いられるとき、用語“修飾アミノ酸”は、20種の遺伝子によりコードされるアミノ酸に対応しない“R”置換基を担持するアミノ酸を用いる。

【0109】

本明細書で用いられるとき、遺伝子によりコードされたL-エナンチオマーアミノ酸の略語は、慣用のものであり、下記の通りである。D-アミノ酸は小文字で指定し、例えばD-プロリン=pなどである。

30

【表 3】

表 1

アミノ酸	一文字表記	一般的な略語
アラニン	A	Ala
アルギニン	R	Arg
アスパラギン	N	Asn
アスパラギン酸	D	Asp
システイン	C	Cys
グルタミン	Q	Gln
グルタミン酸	E	Glu
グリシン	G	Gly
ヒスチジン	H	His
イソロイシン	I	Ile
ロイシン	L	Leu
リジン	K	Lys
フェニルアラニン	F	Phe
プロリン	P	Pro
セリン	S	Ser
スレオニン	T	Thr
トリプトファン	W	Trp
チロシン	Y	Tyr
バリン	V	Val

10

20

【0110】

活性薬剤コンジュゲートにおける特定のアミノ酸残基は、顕著に有害に影響することなく他のアミノ酸残基と置き換えることができ、多くの場合ペプチドの活性を増強させさえする。従って、好ましい態様により意図されるのは、また、構造内の少なくとも1個の定義したアミノ酸残基が他のアミノ酸残基またはその誘導体および／またはアナログで置換された、活性薬剤コンジュゲートの改変または変異形態である。好ましい態様において、アミノ酸置換は保存的であり、すなわち、置換するアミノ酸残基は、置換されるアミノ酸残基と類似の物理的および化学的性質を有すると認識される。

30

【0111】

保存的アミノ酸置換を定義する目的で、アミノ酸は、アミノ酸側鎖の物理的・化学的特徴に主に依存して、親水性および疎水性の2個の主カテゴリーに都合よく分類できる。これらの2個の主カテゴリーは、さらに、アミノ酸側鎖の特徴によりさらに明瞭に定義されたサブカテゴリーに分類できる。例えば、親水性アミノ酸のクラスは、酸性、塩基性および極性アミノ酸にさらに細分できる。疎水性アミノ酸の群は、非極性および芳香族アミノ酸に細分できる。アミノ酸の種々のカテゴリーの定義は次のとおりである。

40

【0112】

用語“親水性アミノ酸”は、Eisenberg et al., 1984, J. Mol. Biol. 179:125-142の標準化合意済疎水性尺度に従い、0未満の疎水性を示すアミノ酸をいう。遺伝子によりコードされる親水性アミノ酸は、Thr (T)、Ser (S)、His (H)、Glu (E)、Asn (N)、Gln (Q)、Asp (D)、Lys (K) および Arg (R) を含む。

【0113】

用語“疎水性アミノ酸”は、Eisenberg, 1984, J. Mol. Biol. 179:1.25-142の標準化合意済疎水性尺度に従い、0より大きい疎水性を示すアミノ酸をいう。遺伝子によりコードされる疎水性アミノ酸は、Pro (P)、Ile (I)、Phe (F)、Val (V)、Leu (L)、Trp (W)、

50

Met (M)、Ala (A)、Gly (G) および Tyr (Y)を含む。

【0114】

用語“酸性アミノ酸”は、7未満の側鎖pK値を有する親水性アミノ酸をいう。酸性アミノ酸は、典型的に、水素イオンの喪失により、生理的pHで負に荷電した側鎖を有する。遺伝子によりコードされる酸性アミノ酸は、Glu (E) および Asp (D)を含む。

【0115】

用語“塩基性アミノ酸”は、7より大きい側鎖pK値を有する親水性アミノ酸をいう。塩基性アミノ酸は、典型的に、ヒドロニウムイオンとの結合により、生理的pHで正に荷電された側鎖を有する。遺伝子によりコードされる塩基性アミノ酸は、His (H)、Arg (R) および Lys (K)を含む。

10

【0116】

用語“極性アミノ酸”は、生理的pHでは荷電していないが、2個の原子により共有されている電子対が、原子の一方により近接して維持された少なくとも1個の結合を有する側鎖を有する親水性アミノ酸をいう。遺伝子によりコードされる極性アミノ酸は、Asn (N)、Gln (Q)、Ser (S) および Thr (T)を含む。

【0117】

用語“非極性アミノ酸”は、生理学的pHで荷電しておらず、2個の原子により共有されている電子対が、一般に2個の原子のそれぞれに均等に維持された結合を有する側鎖(すなわち側鎖は極性ではない)を有する疎水性アミノ酸をいう。遺伝子によりコードされる非極性アミノ酸は、Leu (L)、Val (V)、Ile (I)、Met (M)、Gly (G) および Ala (A)を含む。

20

【0118】

用語“芳香族アミノ酸”は、少なくとも1個の芳香環またはヘテロ芳香環を有する側鎖を有する疎水性アミノ酸をいう。或る態様において、芳香環またはヘテロ芳香環は、1個以上の置換基、例えば-OH、-SH、-CN、-F、-Cl、-Br、-I、-NO₂、-NO、-NH₂、-NHR、-NRR、-C(O)R、-C(O)OH、-C(O)OR、-C(O)NH₂、-C(O)NHR、-C(O)NRRなど(ここで、Rは、それぞれ独立して、(C₁-C₆)アルキル、置換(C₁-C₆)アルキル、(C₁-C₆)アルケニル、置換(C₁-C₆)アルケニル、(C₁-C₆)アルキニル、置換(C₁-C₆)アルキニル、(C₅-C₂₀)アリール、置換(C₅-C₂₀)アリール、(C₆-C₂₆)アルカアリール、置換(C₆-C₂₆)アルカアリール、5~20員ヘテロアリール、置換5~20員ヘテロアリール、6~26員アルカヘテロアリールまたは置換6~26員アルカヘテロアリールである。)を含み得る。遺伝子によりコードされる芳香族アミノ酸は、Phe (F)、Tyr (Y) および Trp (W)を含む。

30

【0119】

用語“脂肪族アミノ酸”は、脂肪族炭化水素側鎖を有する疎水性アミノ酸をいう。遺伝子によりコードされる脂肪族アミノ酸は、Ala (A)、Val (V)、Leu (L) および Ile (I)を含む。

【0120】

アミノ酸残基Cys (C)は、他のCys (C)残基または他のスルファニル含有アミノ酸とジスルフィド架橋を形成できる点で、独特である。Cys (C)残基(および-SH含有側鎖を有する他のアミノ酸)が、ペプチド内で、還元遊離-SHまたは酸化ジスルフィド架橋形態で存在できる能力は、Cys (C)残基がペプチドの正味の疎水性または親水性特徴のいずれに寄与するかに影響する。Cys (C)は、Eisenberg(Eisenberg, 1984, 上掲)の標準化合意済尺度に従い0.29の疎水性を示すが、好ましい態様の目的で、Cys (C)は、上に定義した一般的分類に関わらず、極性親水性アミノ酸として分類されることは理解されるべきである。

40

【0121】

当業者に認識される通り、上に定義したカテゴリーは相互排他的ではない。従って、2種以上の物理化学的性質を示す側鎖を有するアミノ酸が、複数カテゴリーに含まれ得る。

50

例えば、極性置換基でさらに置換された芳香族部分を有するアミノ酸側鎖、例えばTyr (Y)は、芳香族疎水性と極性または親水性の両方を示し得て、そのため、芳香族性および極性カテゴリーの両方に含まれ得る。あらゆるアミノ酸の適切な分類は、特に本明細書に提供される詳細な記載を考慮して、当業者に明らかであり得る。

【0122】

上に定義したカテゴリーは、遺伝子によりコードされるアミノ酸に関して例示されているが、アミノ酸置換は、遺伝子によりコードされるアミノ酸に必ずしも限定されず、特定の態様において、好ましくは、遺伝子によりコードされるアミノ酸に限定されない。或る態様において、活性薬剤コンジュゲートは、遺伝子によりコードされないアミノ酸を含み得る。従って、天然に存在する遺伝子によりコードされるアミノ酸に加えて、活性薬剤コンジュゲート中のアミノ酸残基は、天然に存在するコードされないアミノ酸や合成アミノ酸で置換され得る。

10

【0123】

活性薬剤コンジュゲートに有用な置換を提供する通常遭遇するアミノ酸は、 β -アラニン(β -Ala)および他の ω -アミノ酸、例えば3-アミノプロピオン酸、2,3-ジアミノプロピオン酸(Dpr)、4-アミノ酪酸など； α -アミノイソ酪酸(Aib)； ϵ -アミノヘキサン酸(Aha)； δ -アミノ吉草酸(Ava)；N-メチルグリシンまたはサルコシン(MeGly)；オルニチン(Orn)；シトルリン(Cit)；t-ブチルアラニン(t-BuA)；t-ブチルグリシン(t-BuG)；N-メチルイソロイシン(MeIle)；フェニルグリシン(Phg)；シクロヘキシルアラニン(Cha)；ノルロイシン(Nle)；ナフチルアラニン(Nal)；4-フェニルフェニルアラニン、4-クロロフェニルアラニン(Phe(4-Cl))；2-フルオロフェニルアラニン(Phe(2-F))；3-フルオロフェニルアラニン(Phe(3-F))；4-フルオロフェニルアラニン(Phe(4-F))；ペニシラミン(Pen)；1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸(Tic)； β -2-チエニルアラニン(Thi)；メチオニン スルホキシド(MSO)；ホモアルギニン(hArg)；N-アセチルリジン(AcLys)；2,4-ジアミノ酪酸(Dbu)；2,3-ジアミノ酪酸(Dab)；p-アミノフェニルアラニン(Phe(pNH₂))；N-メチルバリン(MeVal)；ホモシステイン(hCys)、ホモフェニルアラニン(hPhe)、および、ホモセリン(hSer)；ヒドロキシプロリン(Hyp)、ホモプロリン(hPro)、N-メチル化アミノ酸およびペプチド(N-置換グリシン)を含むが、これらに限定されない。

20

【0124】

本明細書に具体的に記載していない他のアミノ酸残基は、その観察される物理的および化学的性質に基づいて、本明細書で提供される定義を考慮して容易に分類できる。

30

【0125】

上に定義したカテゴリーに従って、遺伝子によりコードされるアミノ酸および一般的なコードされないアミノ酸の分類を、下記の表2に要約する。表2は、説明の目的のためのみであり、本明細書に記載された活性薬剤コンジュゲートを置換するのに用いられ得るアミノ酸残基および誘導体の網羅的リストであることを意図しないことが理解されるべきである。

【0126】

【表 4】

表 2. 一般に見られるアミノ酸の分類

分類	遺伝子によりコードされる	遺伝子によりコードされない
<u>疎水性</u>		
芳香族	F、Y、W	Phg、Nal、Thi、Tic、Phe(4-Cl)、Phe(2-F)、Phe(3-F)、Phe(4-F)、hPhe
非極性	L、V、I、M、G、A、P	t-BuA、t-BuG、Melle、Nle、MeVal、Cha、McGly、Aib
脂肪族	A、V、L、I	b-Ala、Dpr、Aib、Ahx、McGly、t-BuA、t-BuG、Melle、Cha、Nle、MeVal
<u>親水性</u>		
酸性	D、E	
塩基性	H、K、R	Dpr、Orn、hArg、Phe(p-NH ₂)、Dbu、Dab
極性	C、Q、N、S、T	Cit、AcLys、MSO、bAla、hSer
ヘリックス遮断	P、G	D-Proおよび他のD-アミノ酸(L-ペプチド中)

10

【0127】

20

本明細書に具体的に記載していない他のアミノ酸残基は、本明細書で提供される定義を考慮して、その観察される物理的および化学的特性に基づいて、容易に分類できる。

【0128】

ほとんどの場合、活性薬剤コンジュゲートのアミノ酸は、L-エナンチオマーアミノ酸で置換されるが、この置換はL-エナンチオマーアミノ酸に限定されない。或る態様において、ペプチドは、好都合には、少なくとも1個のD-エナンチオマーアミノ酸からなり得る。このようなD-アミノ酸を含むペプチドは、L-アミノ酸だけからなるペプチドよりも、口腔、腸または血清での分解に安定であると考えられる。

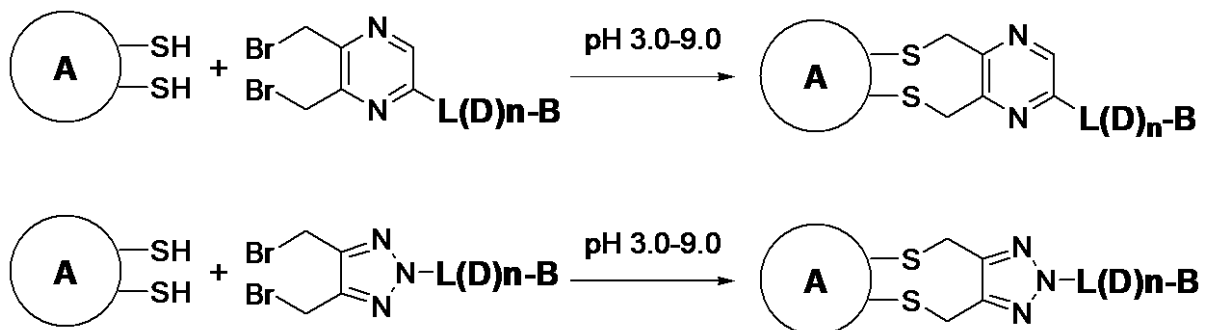
【0129】

コンジュゲーション方法

30

1 工程コンジュゲーション

【化 35】

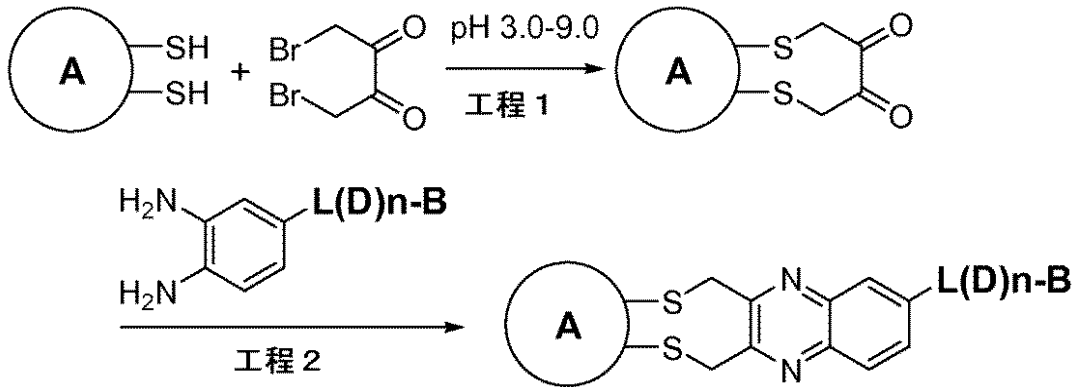


40

【0130】

2 工程コンジュゲーション，薬物前負荷

【化 3 6】

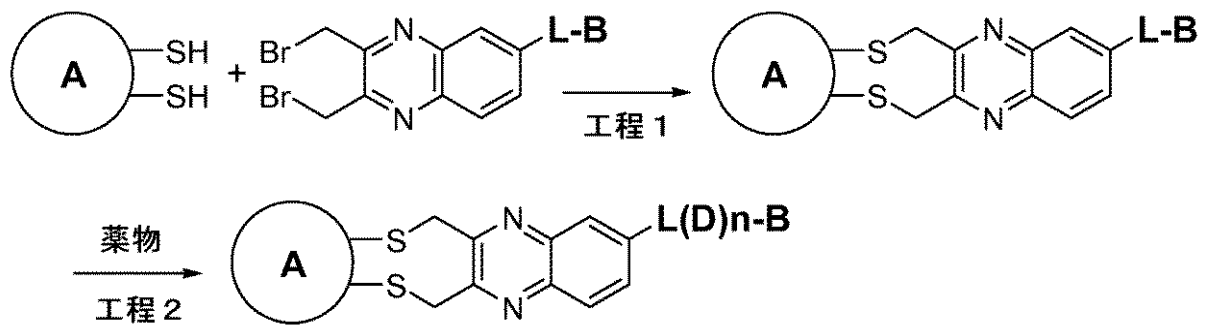


10

【0 1 3 1】

2 工程コンジュゲーション，最終工程で薬物添加

【化 3 7】



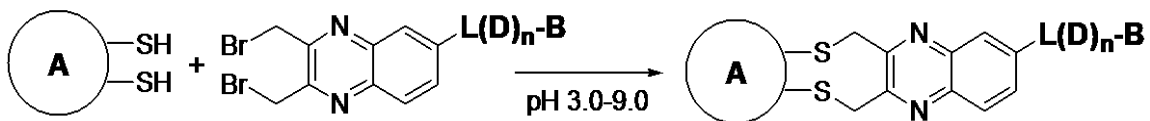
20

【0 1 3 2】

1 工程コンジュゲーションの例

一般的手順 I

【化 3 8】

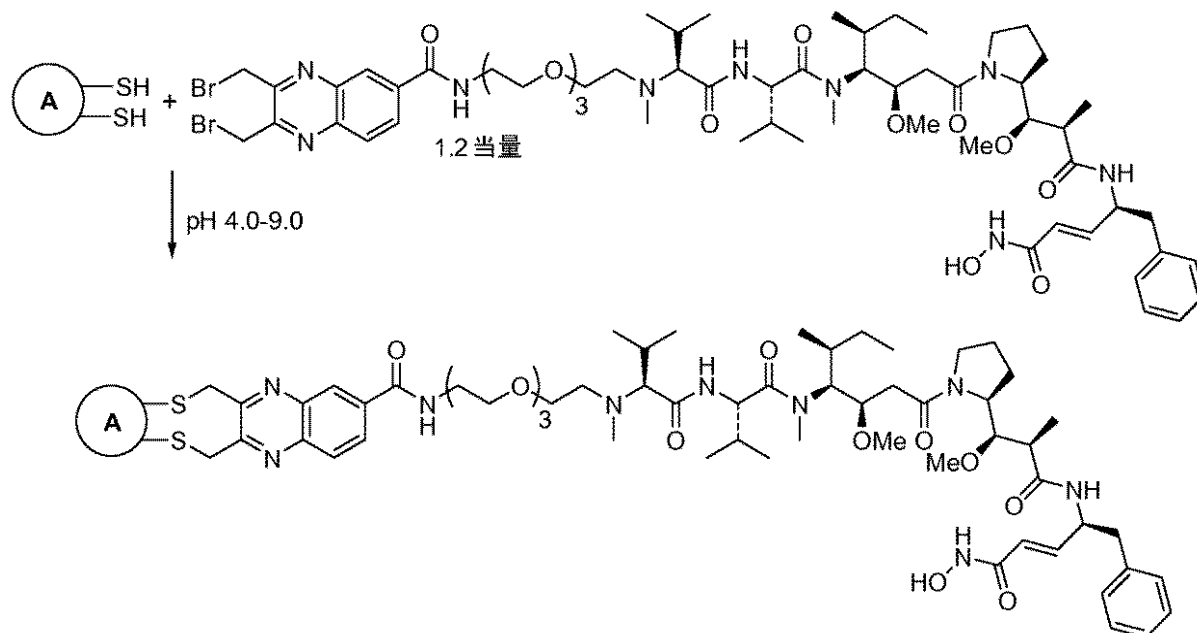


30

【0 1 3 3】

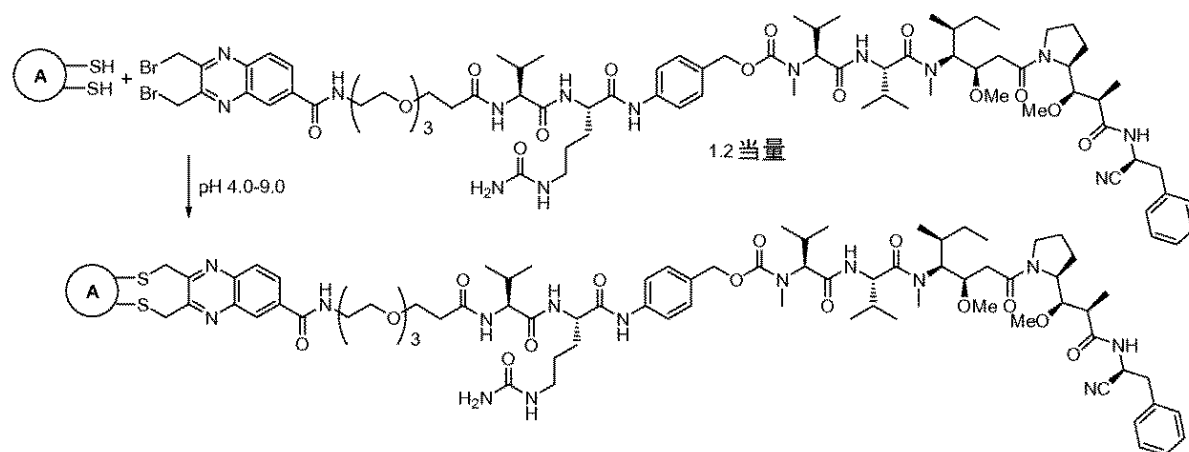
例は、下記のものを含むが、これらに限定されない：

【化 3 9】



10

【化 4 0】



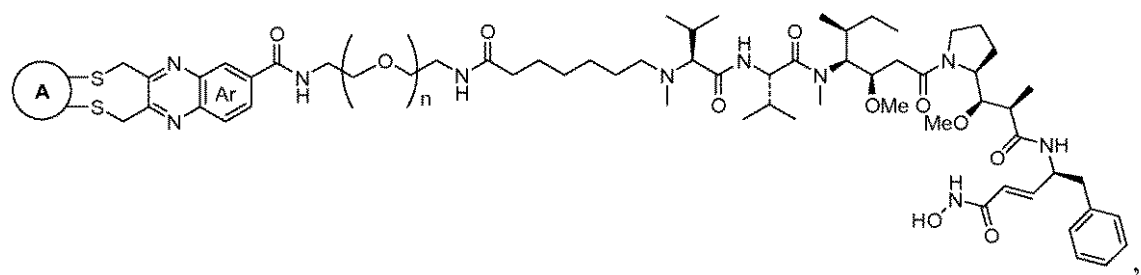
20

30

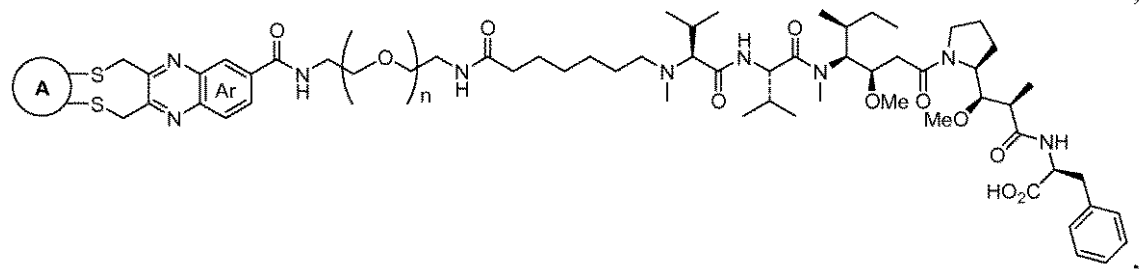
【0134】

一般的手順に従って合成できるさらなる化合物は、下記のものを含むが、これらに限定されない：

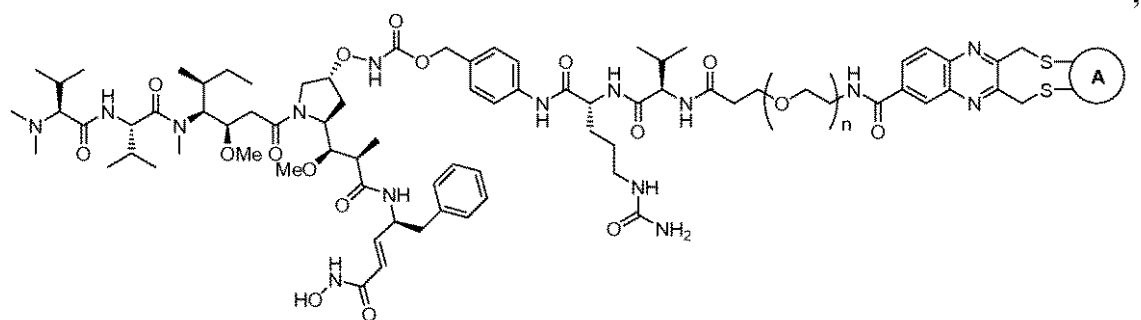
【化 4 1】



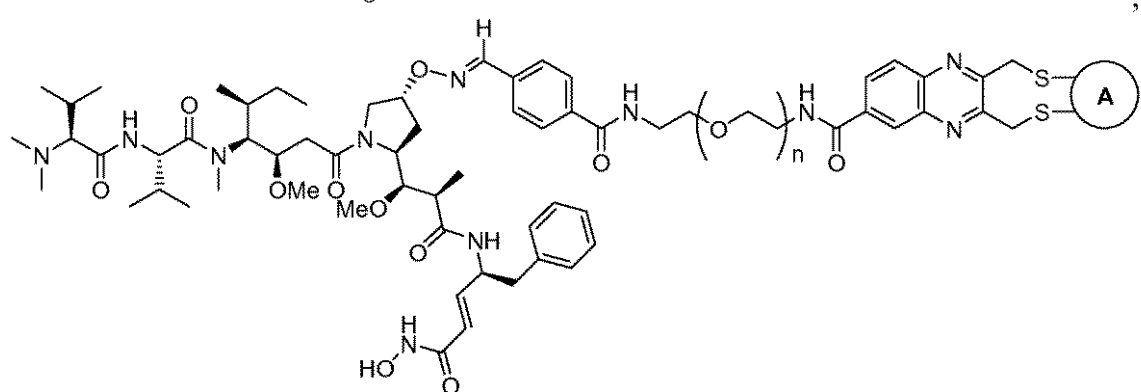
10



20



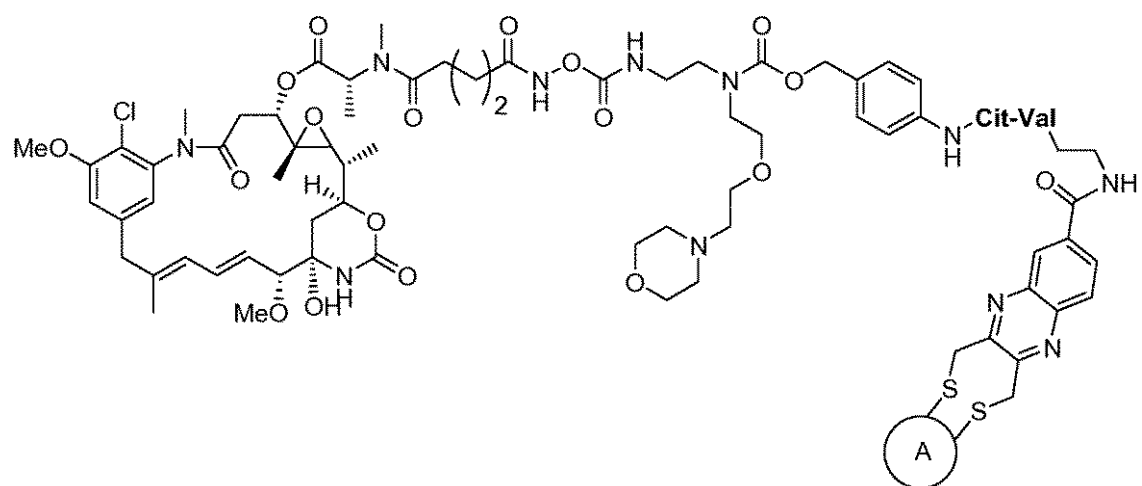
30



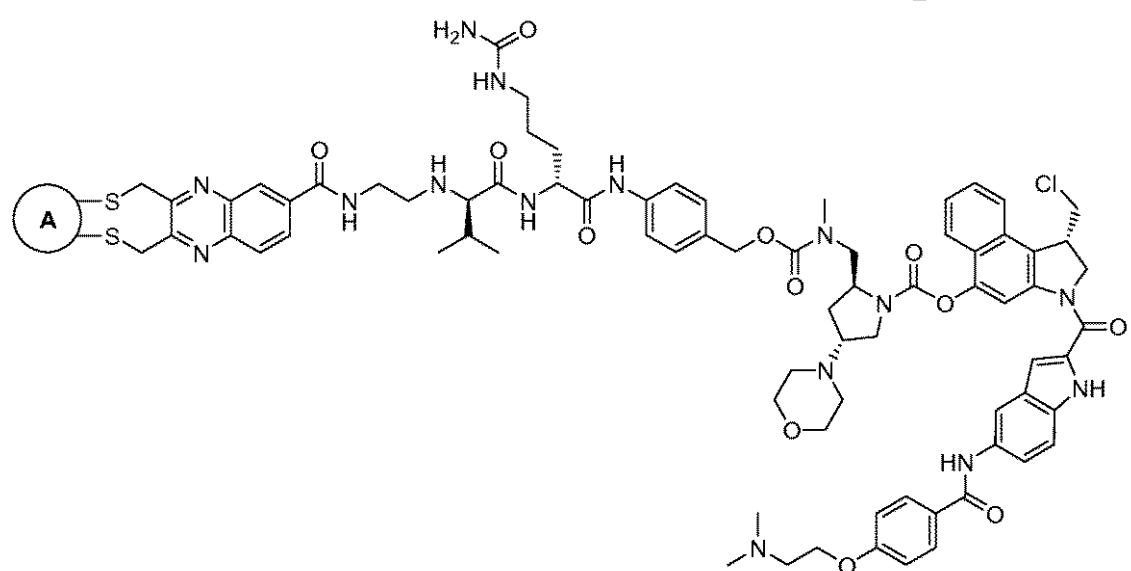
40

【 0 1 3 5】

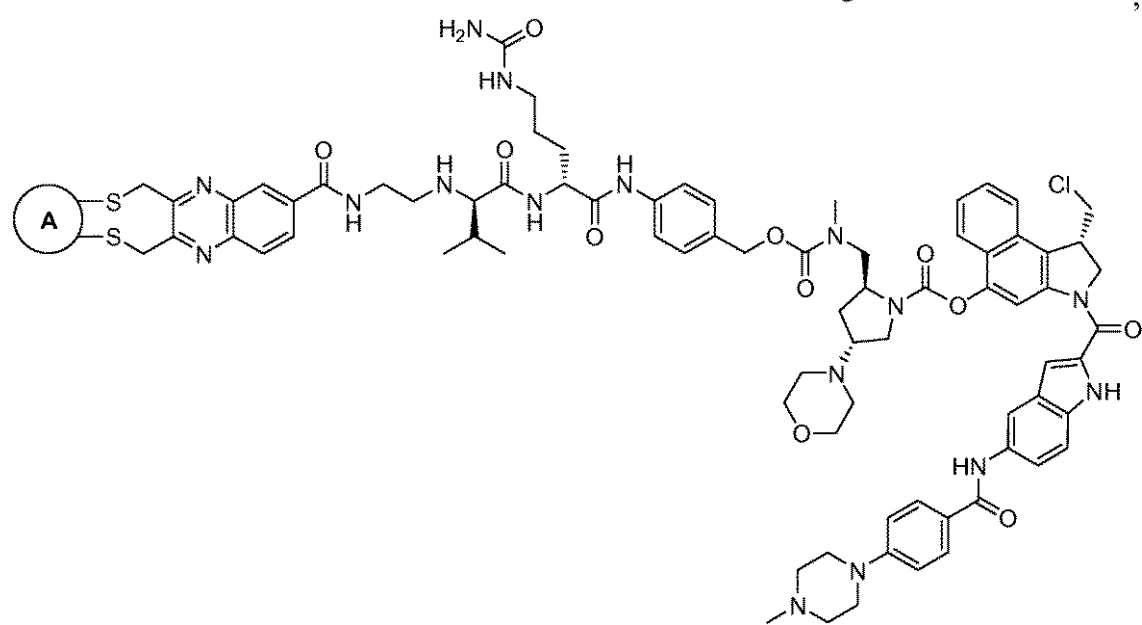
【化 4 2】



10



20

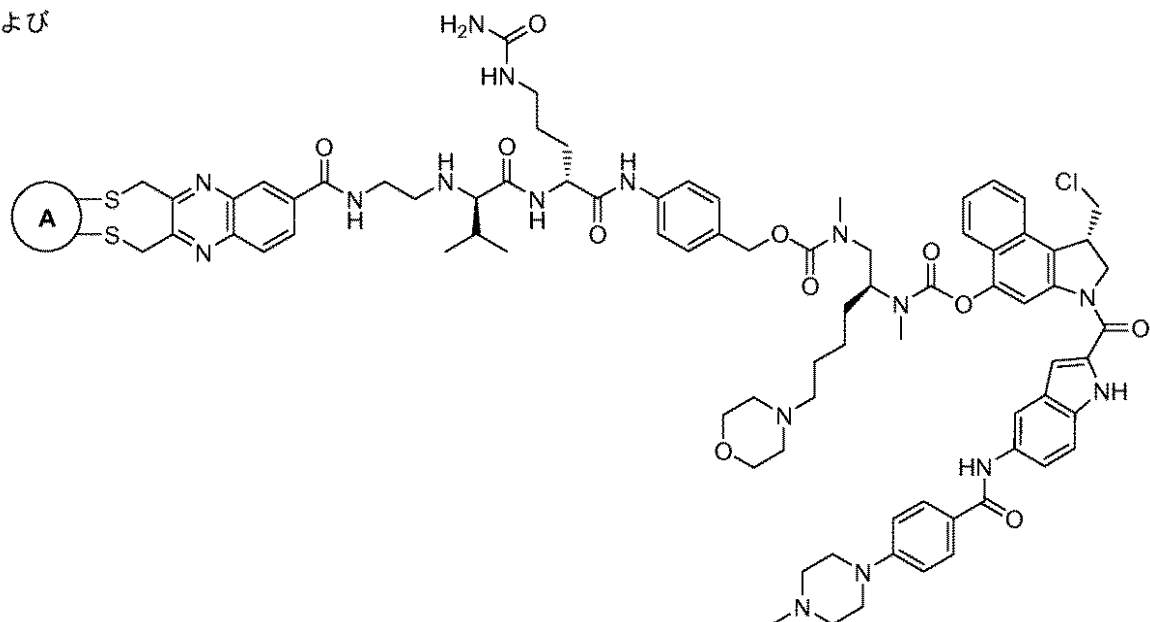


30

40

【化 4 3】

および



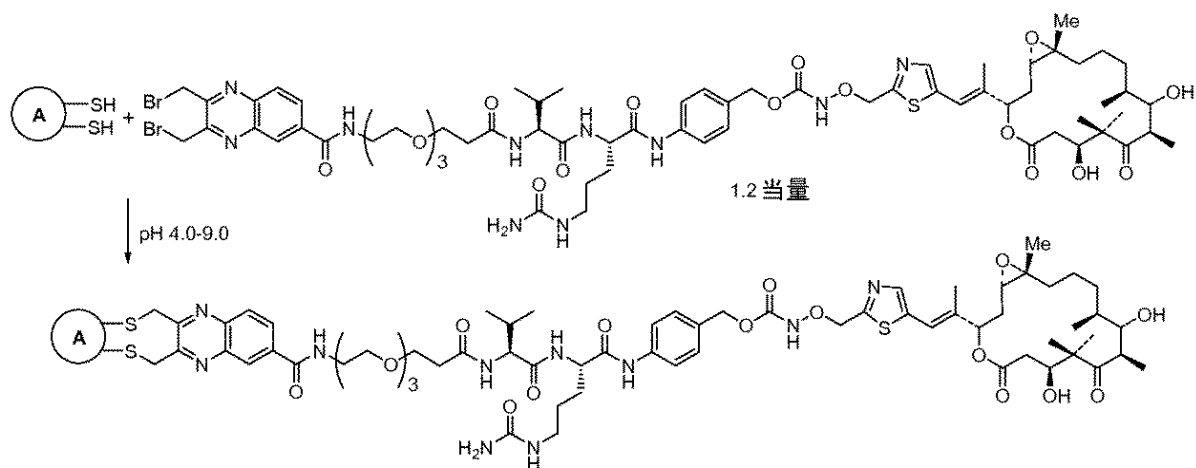
10

【 0 1 3 6】

例は、下記のものを含むが、これらに限定されない：

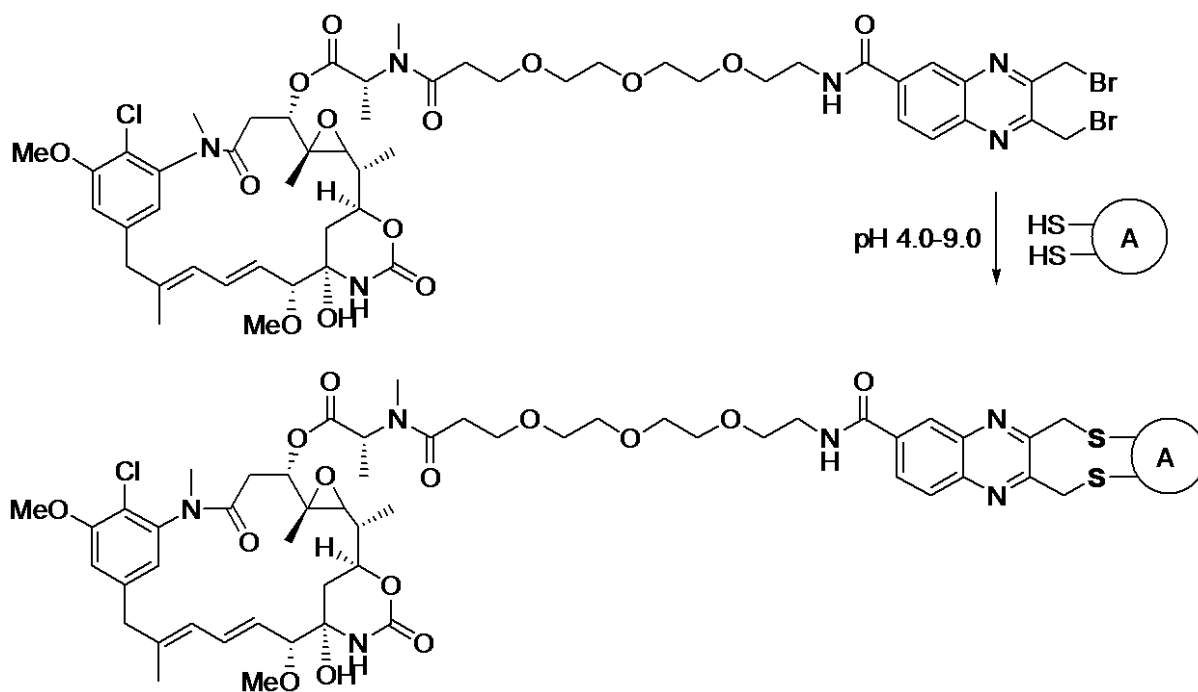
20

【化 4 4】



30

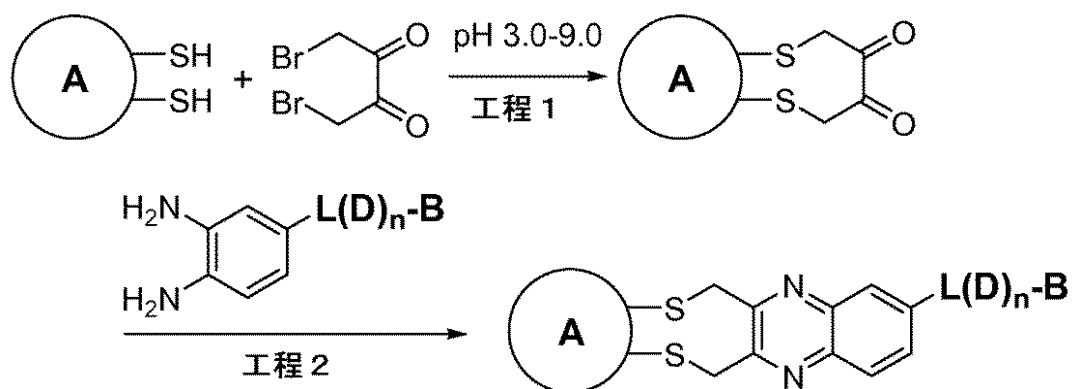
【化 4 5】



【 0 1 3 7】

2 工程コンジュゲーション，薬物前負荷
アプローチ：

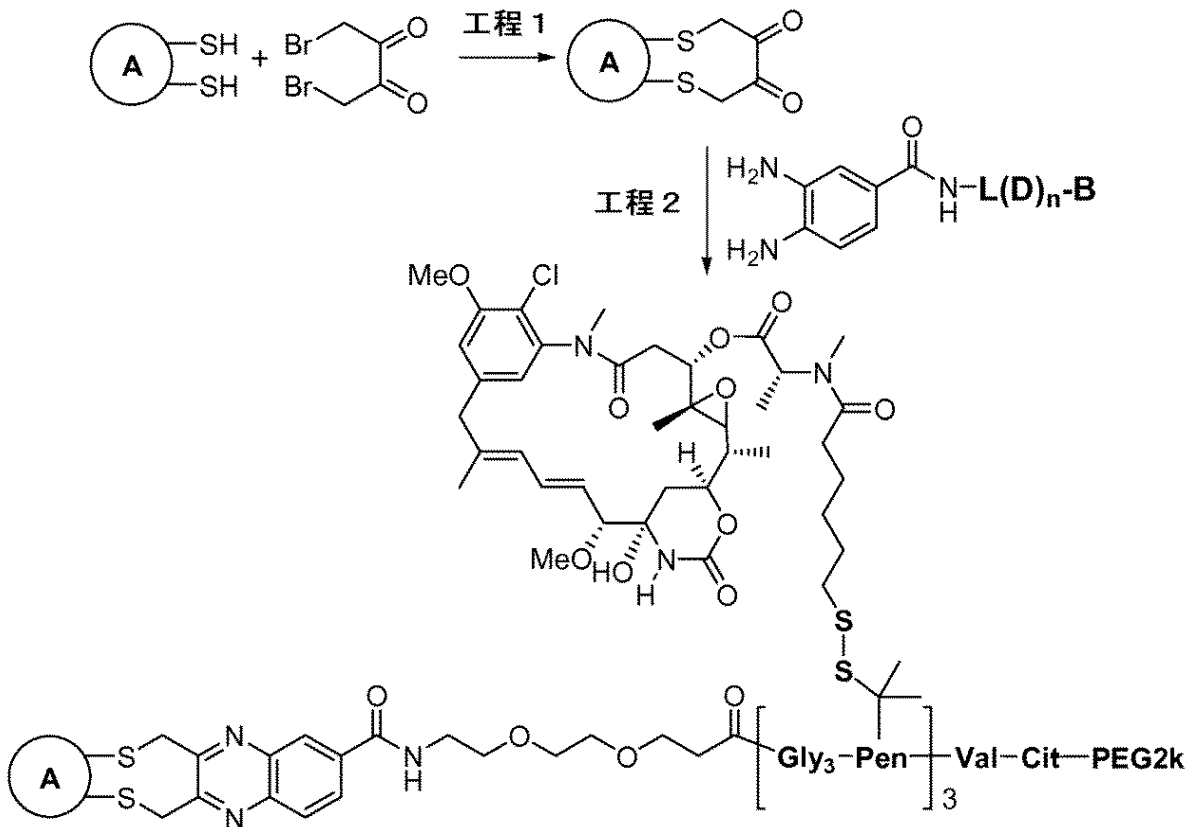
【化 4 6】



【 0 1 3 8】

例は、

【化 4 7】



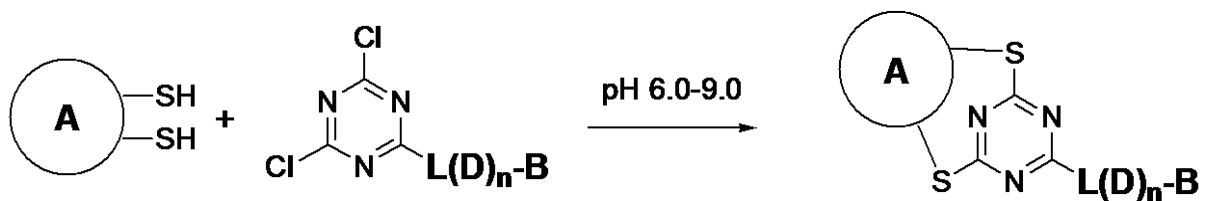
を含むが、これらに限定されない。

【0139】

コンジュゲーション方法

一般的スキームII

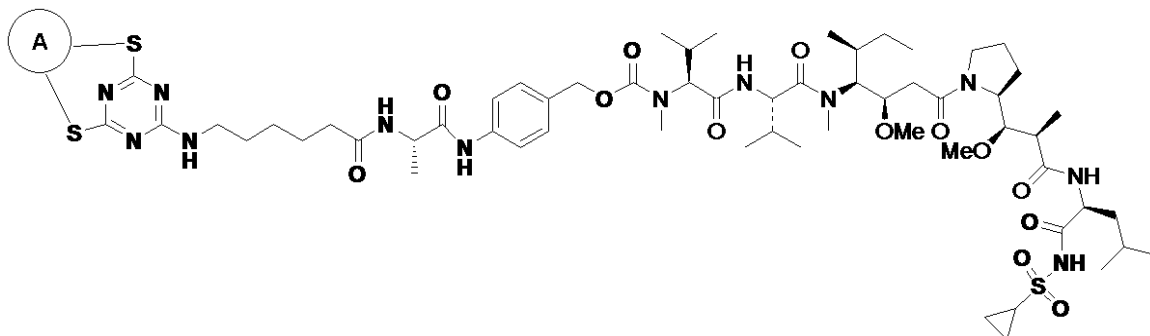
【化 4 8】



【0140】

例は、

【化 4 9】



を含むが、これらに限定されない。

【0141】

コンジュゲーション方法

一般的スキームIII

10

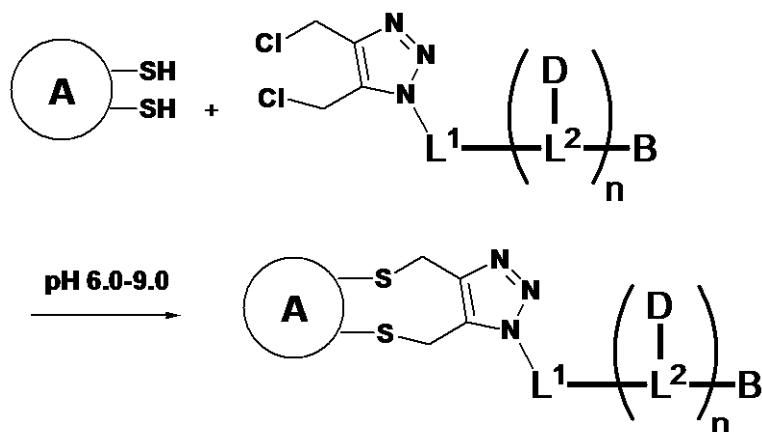
20

30

40

50

【化 5 0】

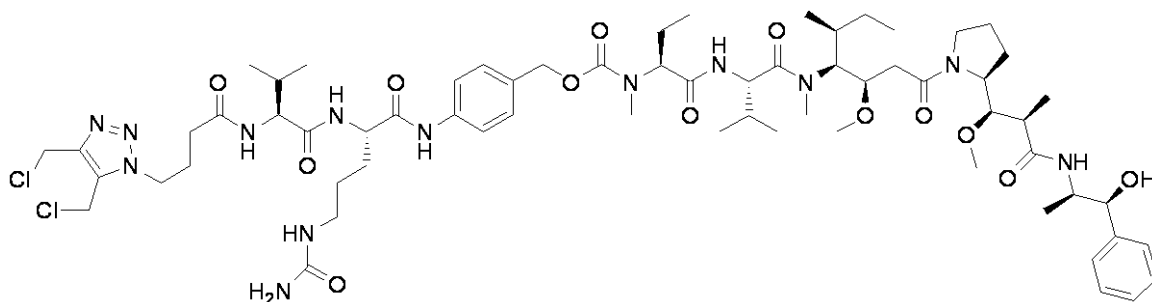


10

【0 1 4 2】

例は、

【化 5 1】



20

を含むが、これらに限定されない。

【実施例】

【0 1 4 3】

抗体－薬物コンジュゲーション

一般的コンジュゲーション手順：

標的抗体 0.5～50 mg/mL に、pH 5.0～9.0 の特定の緩衝液中で、例えば PBS 中で、0.5～100 当量の還元剤、例えば TCEP および DTT を加えた。0～40℃ で 0.5～40 時間、穏やかに攪拌しながらまたは振盪しながら還元を行い、次いで、還元剤を、カラムまたは限外ろ過によって除去した。部分的に還元された抗体 0.5～50 mg/mL に、0～30% の有機共溶媒、例えば DMA を含む pH 5.0～9.0 の特定の緩衝液中で、例えば PBS 中で、0.5～10 当量のジブromo官能基またはジクロロ官能基を有する活性化薬物リンカーを加えた。0～40℃ で 0.5～40 時間、穏やかに攪拌しながらまたは振盪しながら反応を行い、HIC-HPLC によってモニターした。得られた粗製の ADC 生成物について、常法により、脱塩、緩衝液交換／製剤化および所望により精製といった必要な下流の工程を行った。最終 ADC 生成物を、HIC-HPLC、SEC、RP-HPLC および所望により LC-MS によって特性決定した。平均 DAR を、UV 吸収および／または質量分析によって計算した。

30

40

【0 1 4 4】

一般的合成手順

一般的手順 A-HATU 媒介アミド結合形成

無水 DMF 中の酸(アミンに関して 1.1 当量)に、HATU(酸に関して 1 当量)および DIEA(酸に関して 2 当量)を加え、混合物を室温で 1 分間攪拌した。混合物を、DMF 中のアミンの溶液に加え、反応混合物を、反応が完了するまで(LC/MS によってモニターした)、室温で攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、残渣を所望により逆相 HPLC によって精製し、純粋な最終生成物を得た。

【0 1 4 5】

50

一般の手順B：D I C / H O A t 媒介アミド結合形成

無水DMF中のカルボン酸(1.1当量)、アミンおよびH O A t (1.1当量)の溶液に、攪拌しながら、D I C (1.1当量)を加え、反応混合物を室温で攪拌した。完了後(L C / M S によってモニターした)、溶媒を減圧下で除去し、残渣を所望により逆相H P L C によって精製し、純粋な最終生成物を得た。

【0146】

一般の手順C：H C l / ジオキサンを用いた酸感受性保護基(B o c、T H P、t - B u)の除去

酸感受性保護基含有化合物を4 N H C l / ジオキサンに溶解し、混合物を室温で2時間攪拌した。溶液を減圧下で濃縮し、残渣を冷エーテルで2回洗浄した。必要ならば逆相H P L C で精製を行った。

【0147】

一般の手順D：F m o c 基の除去

F m o c 含有化合物を、DMF中2～5% ピペリジンに溶解した。混合物を室温で1時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去した。必要ならば逆相H P L C で精製を行った。

【0148】

一般の手順E：還元的アルキル化

アミンをDMFに溶解し、アルデヒド(5当量)を加え、続いてシアノ水素化ホウ素ナトリウム(5当量)を添加した。反応混合物のp Hを4～5に調節するために、H O A c を加えた。混合物を、完了するまで(1～4時間、H P L C によってモニターした)、室温で攪拌した。必要ならば逆相H P L C で精製を行った。

【0149】

一般の手順F：鹼化－エステルからのM e / E t の除去

M e O H 中のエステルの溶液に、攪拌しながら、混合物のp Hが約13～14になるまで、1 M L i O H 水溶液を加え、反応混合物を、完了するまで(約16時間、H P L C によってモニターした)、室温で攪拌した。反応物を中和するために、クエン酸(約10%水溶液)を加え、溶媒を減圧下で除去した。粗生成物を、所望によりR P - H P L C によって精製するか、または、次の工程に直接用いた。

【0150】

一般の手順G：ビス(p - ニトロフェニル)カーボネートでのヒドロキシル / フェノール基の活性化

T H F / D M F (2 / 1)中のアルコール / フェノールの溶液に、攪拌しながら、ビス(p - ニトロフェニル)カーボネート(3～5当量)を加え、続いてD I E A (2～4当量)を加え、大部分の出発物質が消費されるまで、反応混合物を室温で攪拌した。反応の進行をL C / M S によってモニターした。粗生成物を、所望によりフラッシュカラムクロマトグラフィーによって、または、沈殿および洗浄によって精製した。

【0151】

一般の手順H：アミンの環状無水物(無水グルタル酸または無水コハク酸)との反応

アミン含有化合物をDMFに溶解した。無水グルタル酸(3当量)を加え、続いてD I E A (4当量)を添加した。反応混合物を、大部分の出発物質が消費されるまで、室温で攪拌した。反応の進行をL C / M S によってモニターした。粗生成物をR P - H P L C によって精製し、純粋なカルボン酸を得た。

【0152】

一般の手順I：p - ニトロフェニルカーボネート(例えばFmocVC-PAB-PNP)でのカルバメートの形成

アミン含有化合物をDMFに溶解し、アルキル / アリール p - ニトロフェニルカーボネート(1.5当量)を加え、続いてD I E A (2当量)およびH O B t (触媒量, 5%)を添加した。反応混合物を、大部分のアミンが消費されるまで、室温で攪拌した。反応の進行をL C / M S によってモニターした。粗生成物を所望によりR P - H P L C によって精製し、純粋なカルバメートを得た。

10

20

30

40

50

【0153】

一般的手順J：酸からの活性化エステル(例えばNHS)の形成

酸をDCMに溶解し、必要ならば溶解を助けるためにDMFを加えた。N-ヒドロキシスクシンイミド(1.5当量)を、続いてEDC・HCl(1.5当量)を加えた。反応混合物を、大部分の酸が消費されるまで、室温で1時間攪拌した。反応の進行をRP-HPLCによってモニターした。混合物をDCMで希釈し、クエン酸(10%水溶液)で、そして塩水で連続して洗浄した。有機層を乾燥し、濃縮乾固した。粗生成物を、所望により、RP-HPLCまたはシリカゲル・カラム・クロマトグラフィーによって精製した。

【0154】

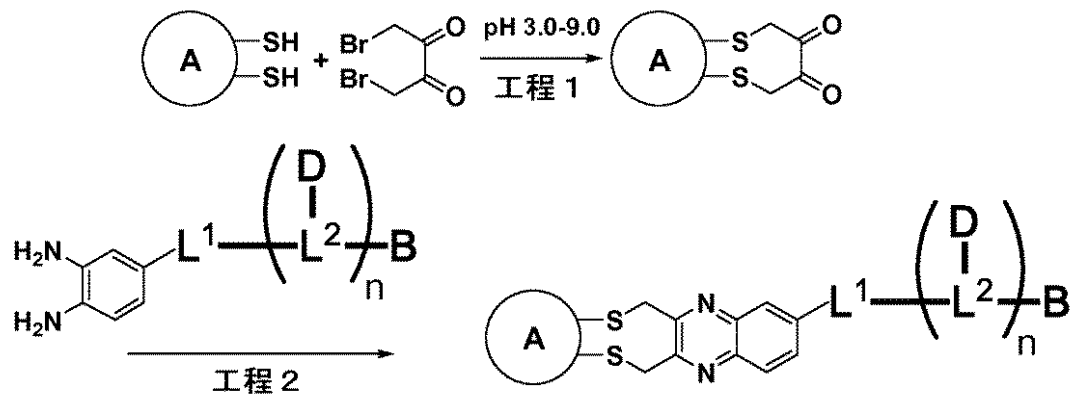
コンジュゲーション方法

10

環状構造の形成による2個のCys残基でのコンジュゲーション

2工程方法

【化52】

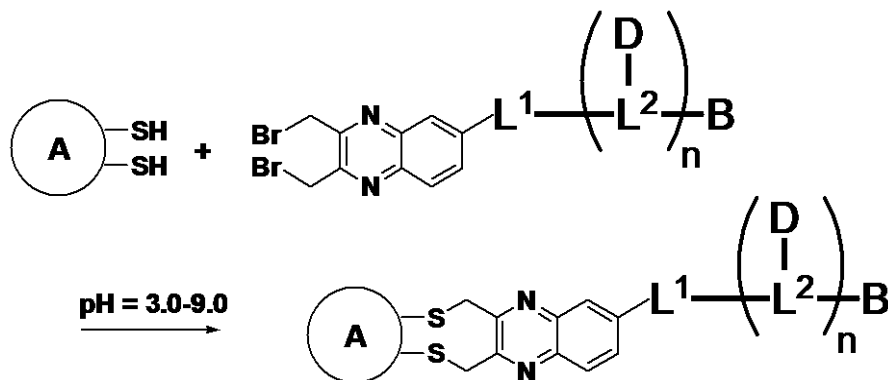


20

【0155】

1工程方法

【化53】



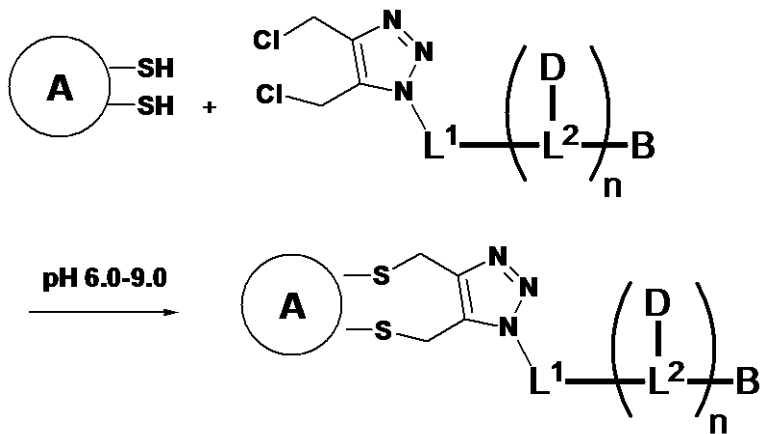
30

【0156】

トリアゾール 1工程方法

40

【化 5 4】

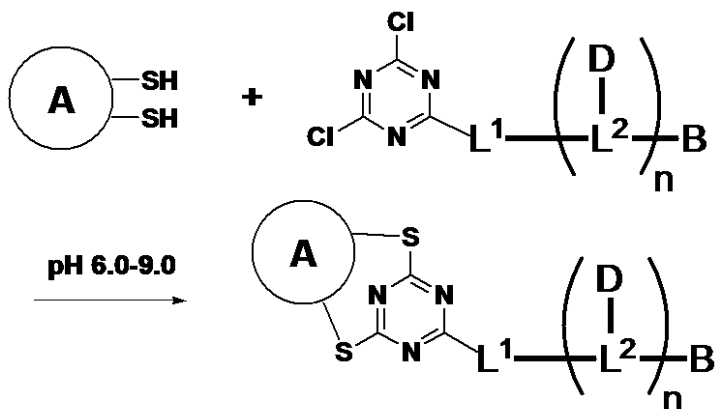


10

【0157】

トリアジン 1 工程方法

【化 5 5】



20

【0158】

実験の説明

工程 1：薬物リンカー構築物合成(−L²−D)

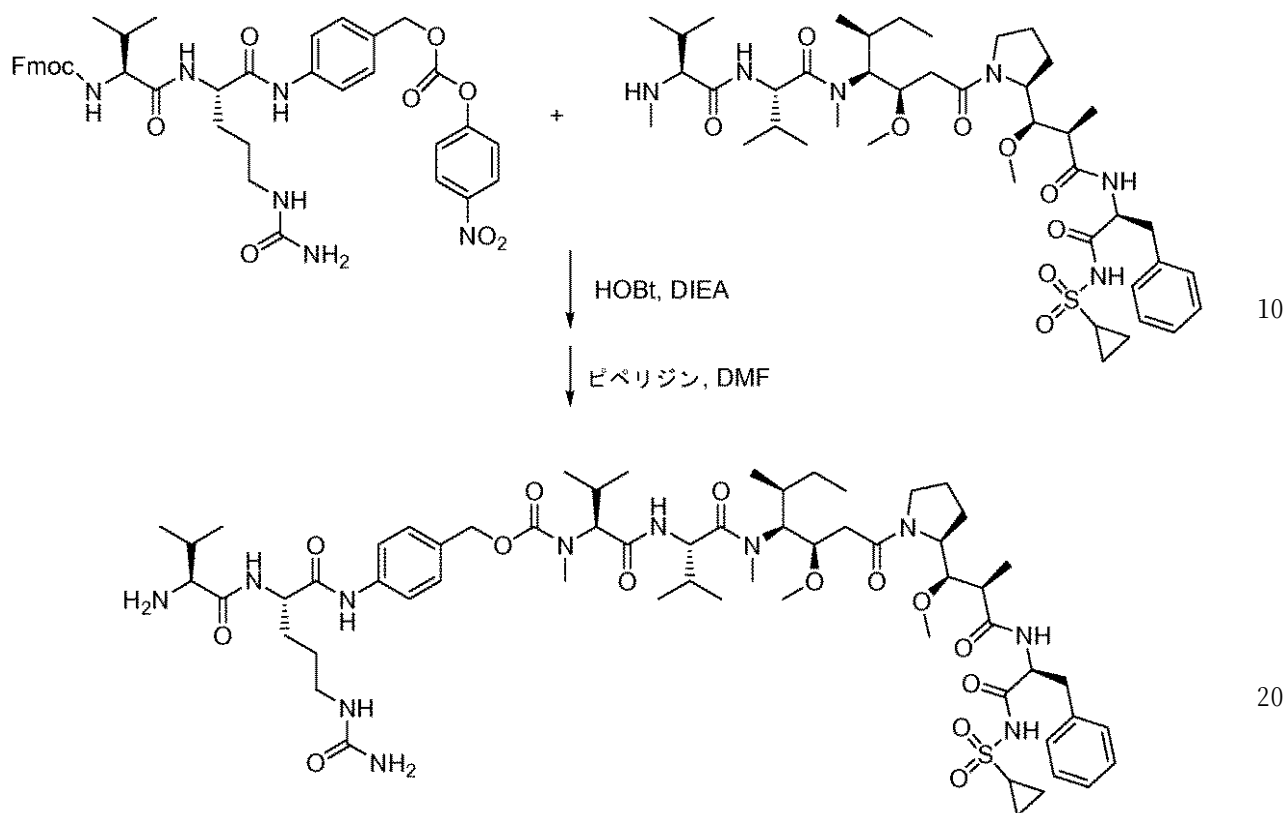
薬物リンカー構築物合成方法(次のものに限定されない)：

方法 1-1：活性化およびカルバメート形成のために一般的手順 G または I を、そして保護基の除去のために一般的手順 C、D または F を用いた、カルバメート結合を介して結合したリンカーおよび薬物

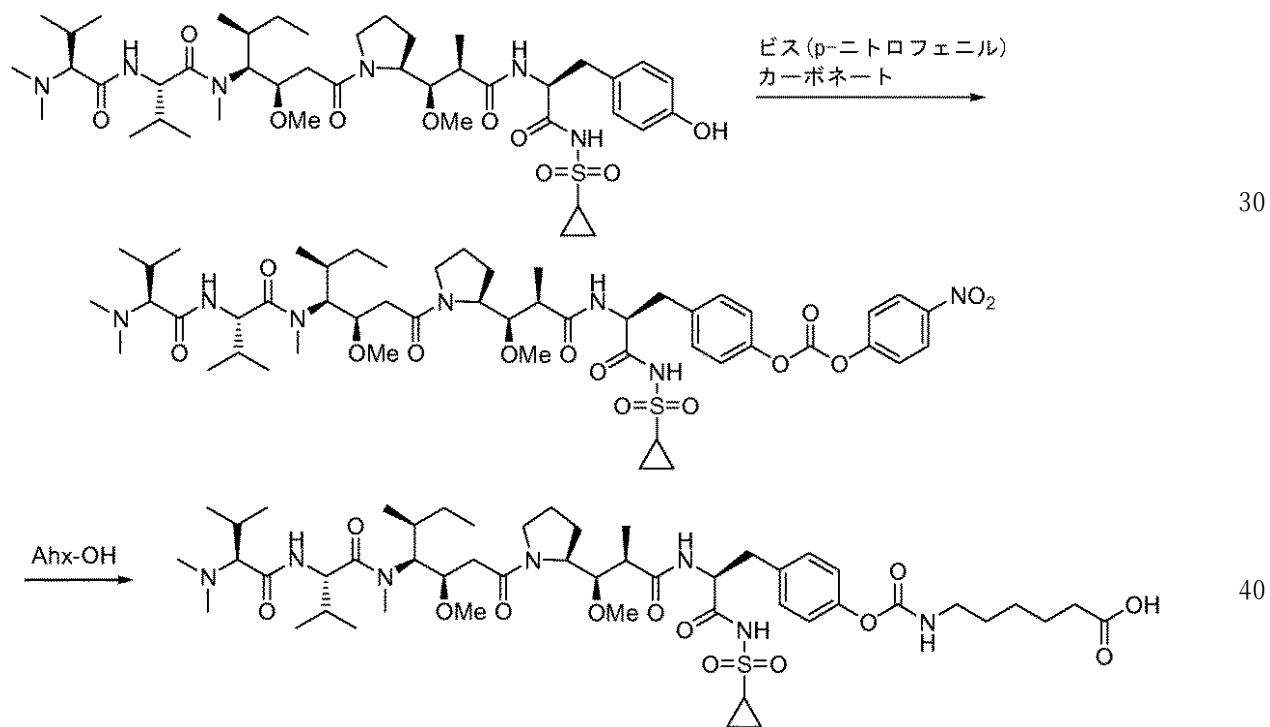
一般的手順スキーム I

30

【化 5 6】



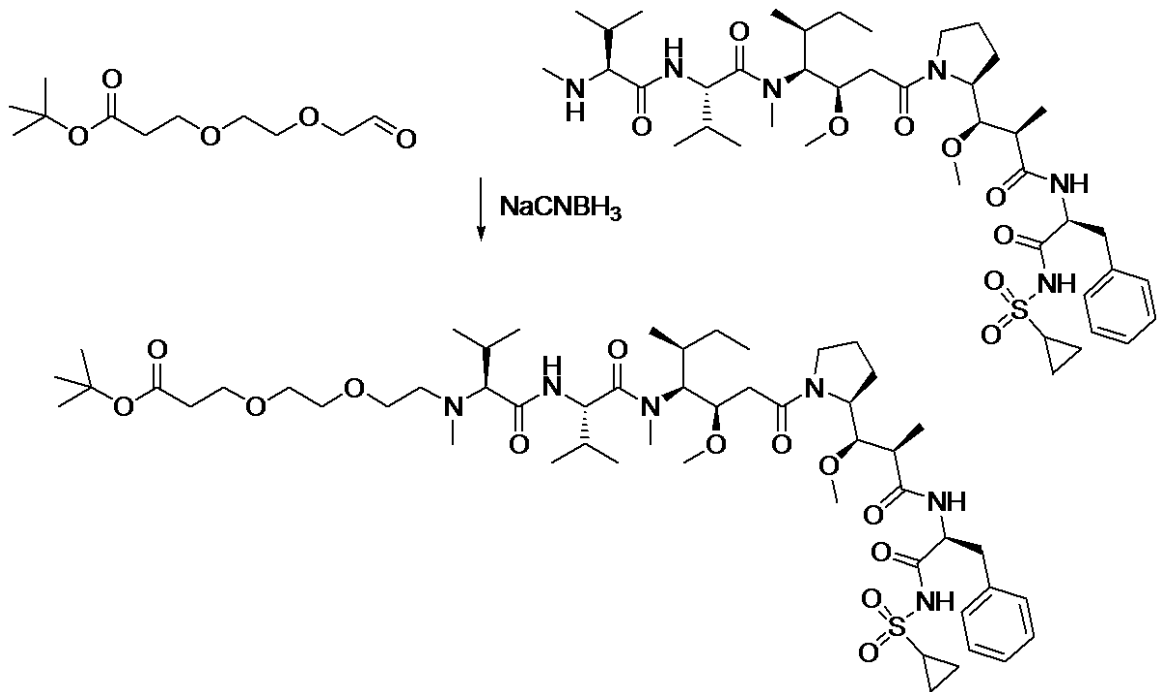
【化 5 7】



【0159】

方法 1-2: 還元的アルキル化反応(一般的手順 E)を介して結合したリンカーおよび薬物
一般的手順スキーム II

【化 5 8】



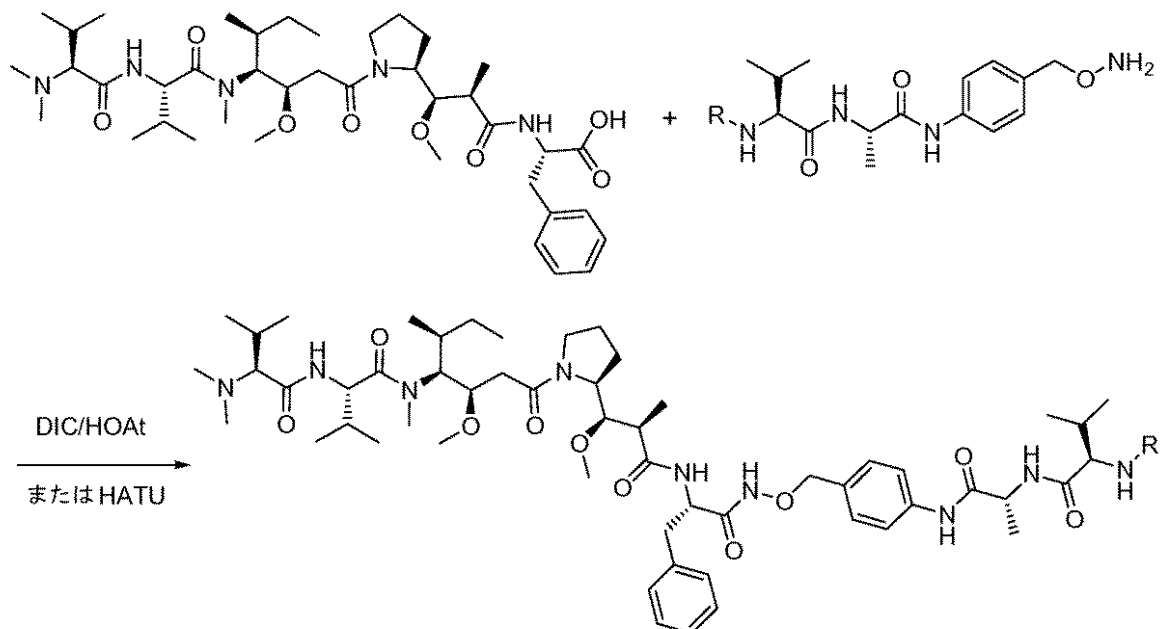
10

【0160】

方法1-3：ヒドロキシメートの形成(一般的手順AまたはB)、続いて保護基の除去によりアルコキシアミノリンカーに結合したカルボン酸部分を含む活性分子

一般的手順スキームIII

【化 5 9】



30

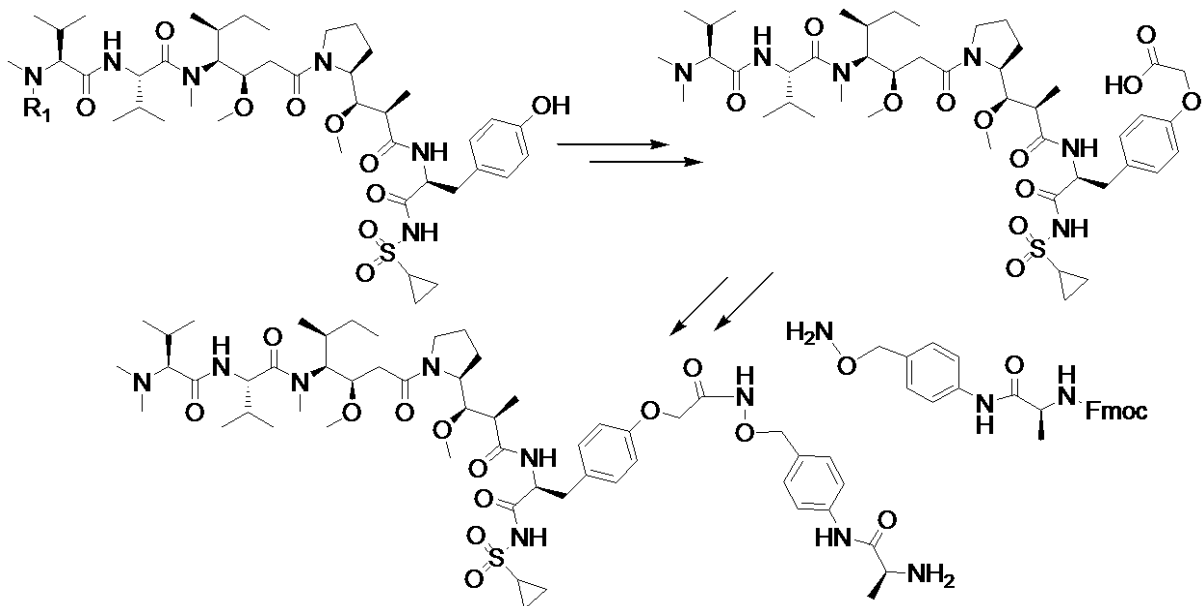
40

ヒドロキサム酸である活性分子において、構築物が酵素切断条件下でヒドロキサム酸を放出するので、上記方法を用いることができる。反応は、対応するカルボン酸から出発する必要がある。

【0161】

一般的手順スキームIV

【化 6 0】



10

【 0 1 6 2】

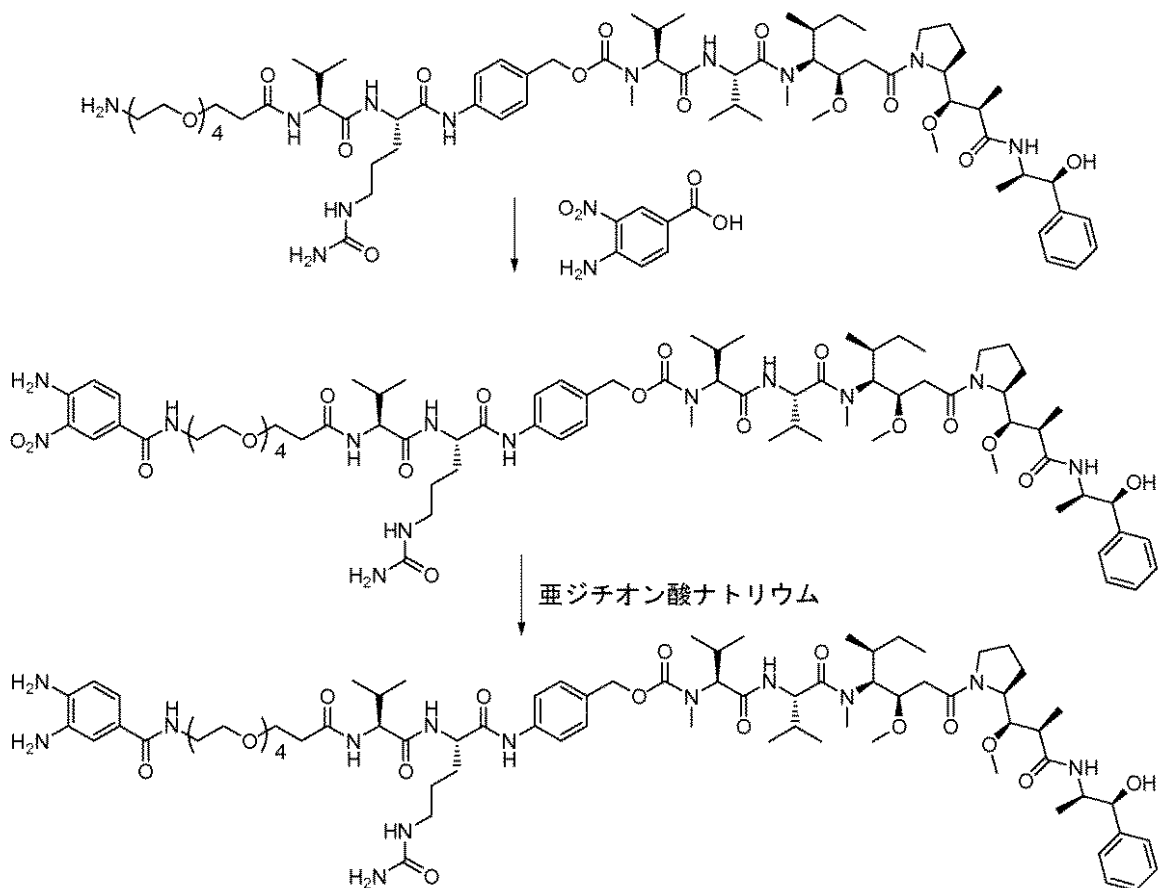
工程 2 : $L^1 - (L^2 - D)$ への官能基の導入

方法 2 : o-フェニレンジアミン部分の導入

一般的手順スキーム V

20

【化 6 1】



30

40

【 0 1 6 3】

3-ニトロ-4-アミノ安息香酸を、標準的アミド化(一般的手順B)を用いて組み込んだ。ニトロ基を、アセトニトリル/水中の亜ジチオン酸ナトリウム(3当量)を用いて還元し、望ましいo-フェニレンジアミンを得た。

50

MS 実測値: 1504.8 (M+H)⁺.

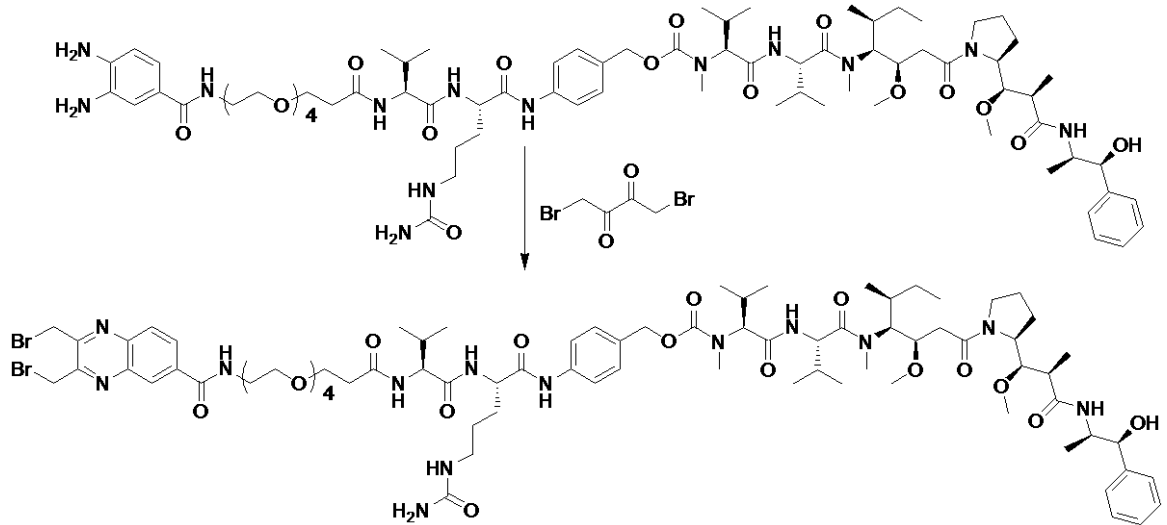
【0164】

工程3: コンジュゲーション前の最終官能基の導入

コンジュゲーション反応前の最終反応基の導入方法(次のものに限定されない)

方法3-1: ジブロモメチル キノキサリンの形成

【化62】



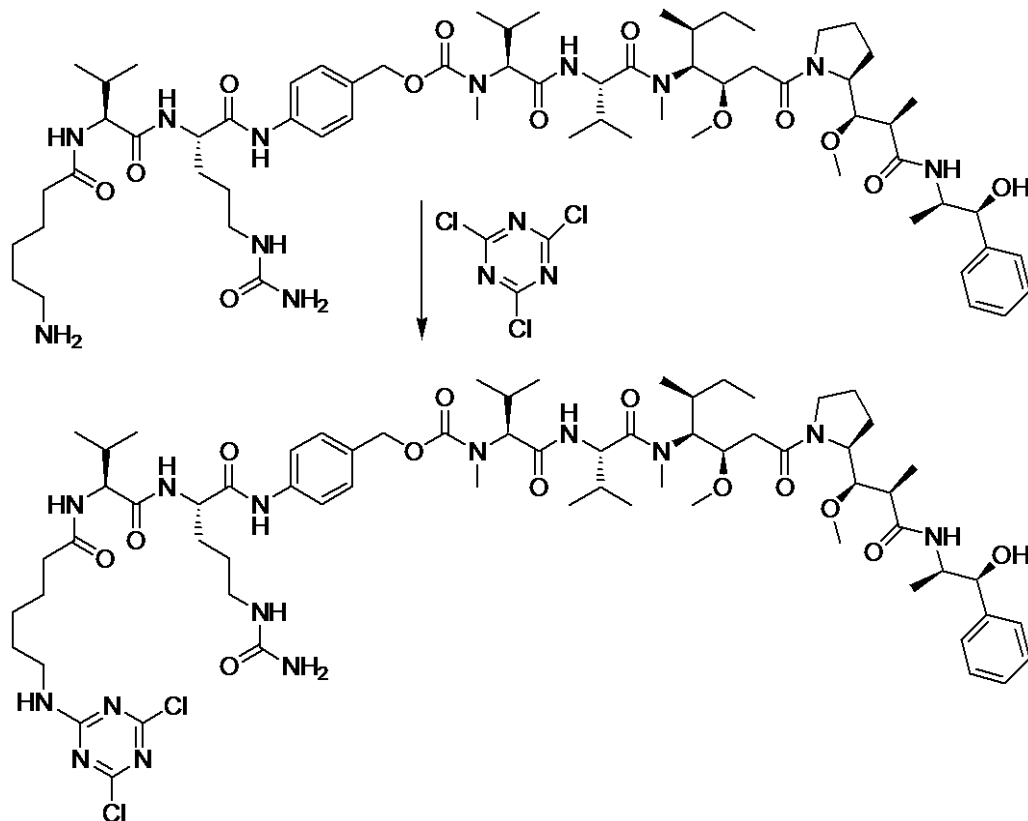
【0165】

オーフェニレンジアミン化合物をアセトニトリル/水に溶解した。ジブロモメチル ジケトンを加えた。混合物を室温で攪拌し、R P-H P L Cによって直接精製し、望ましいキノキサリンを得た。

【0166】

方法3-2: ジクロロトリアジンの形成

【化63】



【0167】

10

20

30

40

50

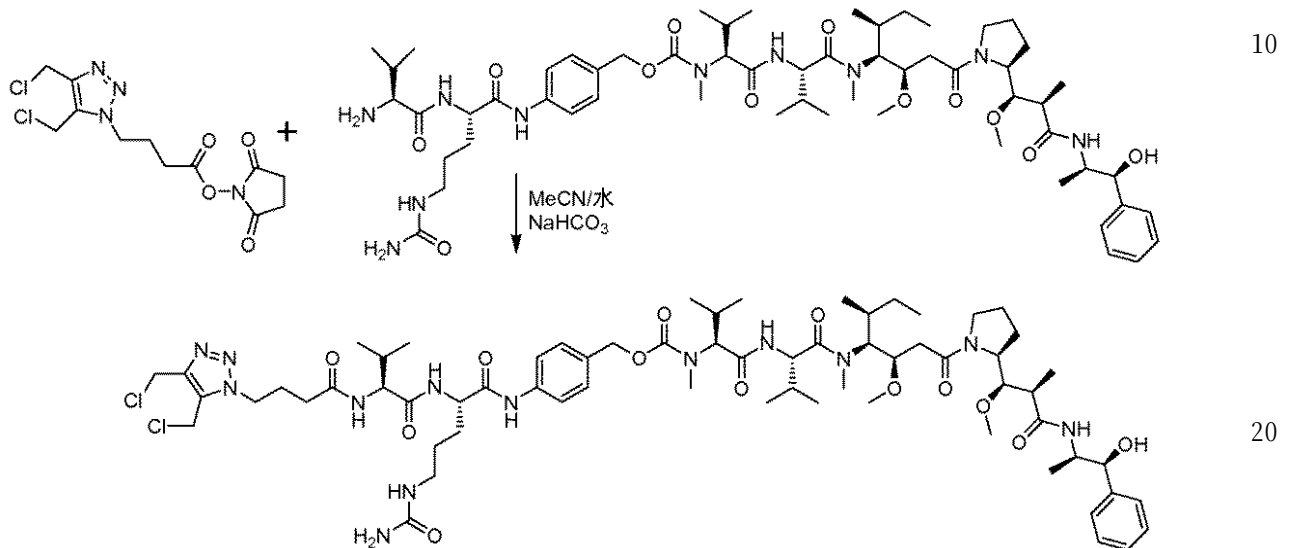
D M F (1 m L) 中のアミン化合物 (1 2 m g) の冷却 (氷浴) 溶液に、攪拌しながら、T H F (0 . 5 m L) 中の塩化シアヌル (1 0 m g) の溶液および D I E A (5 μ L) を加えた。反応混合物を室温で 1 0 分間攪拌し、減圧下で濃縮した。残渣を R P - H P L C によって精製し、凍結乾燥後、望ましいジクロロトリアジン (1 1 m g) を白色粉末として得た。

MS 実測値 1383.9 (M+H)⁺。

【 0 1 6 8 】

方法 3 - 3 : ジクロロメチルトリアゾールの形成

【 化 6 4 】



【 0 1 6 9 】

アセトニトリル / 水 (2 m L , 6 / 4 , v / v) 中の VC-PAB-MMAE (3 0 m g) の溶液に、攪拌しながら、アセトニトリル (0 . 5 m L) 中のトリアゾール N H S エステル (1 5 m g) の溶液および飽和 N a H C O ₃ 水溶液 (0 . 1 m L) を加えた。反応混合物を R P - H P L C によって精製し、凍結乾燥後、望ましい生成物を白色粉末として得た (2 8 m g) 。

MS 実測値: 1356.9 (M+H)⁺

【 0 1 7 0 】

実施例 I : 化合物 1 0 の合成

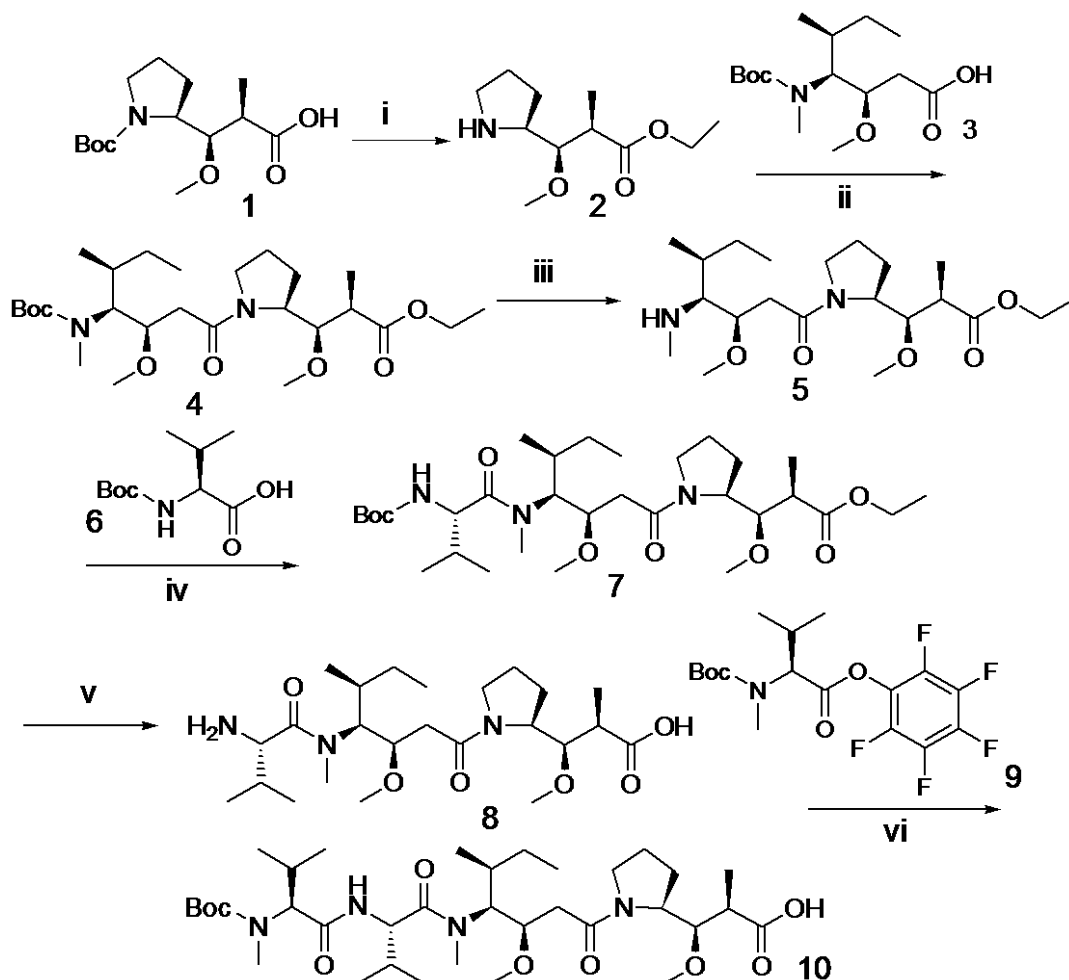
スキーム I

10

20

30

【化 6 5】



スキーム I の試薬および条件：i. SOCl_2 、EtOH；ii. DEPC、TFA、DCM；iii. TFA、DCM；iv. DIEA、DCM、HOBT；v. BrOP、DCM、DIEA；vi. TFA、DCM。

【0171】

乾燥 EtOH (200 ml) 中の化合物 1 (23.4 g, 81.53 mmol) の溶液に、 SOCl_2 (100 mL) を 0°C で加えた。混合物を一夜攪拌し、溶媒を真空で蒸発させることによって除去した。残渣をさらに精製することなくすぐに次の工程に用いた。乾燥 DMF (150 mL) 中の化合物 2 (81.53 mmol)、化合物 3 (50 g, 163.1 mmol) の溶液に、DEPC (15.9 g, 97.8 mmol)、TEA (41 g, 0.408 mol) を 0°C で加えた。混合物を 0°C で 2 時間攪拌した。次いで、混合物を室温で一夜攪拌した。溶媒を真空で蒸発によって除去した。残渣を酢酸エチル：トルエン (2 : 1, 900 ml) で希釈し、1 M KHSO_4 で、水で、飽和 NaHCO_3 で、そして塩水で洗浄した。有機層を乾燥し、濃縮し、残渣を得た。これをカラムによって精製し (ヘキサン：酢酸エチル：DCM = 5 : 1 : 1)、38 g の化合物 4 を得た。

【0172】

DCM (400 mL) 中の Boc-Val-OH (30.6 g, 0.142 mol)、化合物 5 (25 g の化合物 4 より) の溶液に、BrOP (28 g, 70.87 mmol)、DIEA (30 g, 0.236 mol) を 0°C で加えた。混合物を光から保護し、 0°C で 0.5 時間攪拌した。次いで、混合物を室温で 48 時間攪拌した。溶媒を真空で蒸発することによって除去した。残渣を酢酸エチル：トルエン (3 : 1, 900 mL) で希釈し、1 M KHSO_4 で、水で、飽和 NaHCO_3 で、そして塩水で洗浄した。有機層を乾燥し、濃縮し、残渣を得た。これをシリカゲルカラムによって精製し (ヘキサン：酢酸エチル：DCM = 3 : 1 : 1)、22 g の化合物 7 を得た。

【0173】

THF (600 mL)中の化合物7 (40 g, 66.7 mmol)の溶液に、水 (300 mL)中のLiOH (14 g, 0.33 mol)の混合物を10℃未満で加えた。混合物を25℃で5日間攪拌した。THFを蒸発することによって除去した。水層をEt₂O (200 mL×3)で洗浄した。1N HClで0℃で水層をpH 2まで酸性にし、混合物を酢酸エチルで抽出し、有機層を、水で、そして塩水で洗浄した。有機層を乾燥し、濃縮し、残渣を得た。これを分取HPLCによって精製し、14 gの化合物8を得た。

【0174】

DCM (100 mL)中の化合物8 (3 g)の溶液に、化合物9 (3 g, 一般的手順Jに従ってBoc-N-Me-Val-OHからEDCおよびペンタフルオロフェノールを用いて製造)を加えた。DIEA (2.6 mL)を、続いてHOBT (触媒量, 100 mg)を加え、反応混合物を室温で16時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、残渣をシリカゲルカラムで精製し、化合物10を白色粉末として得た (3.1 g)。

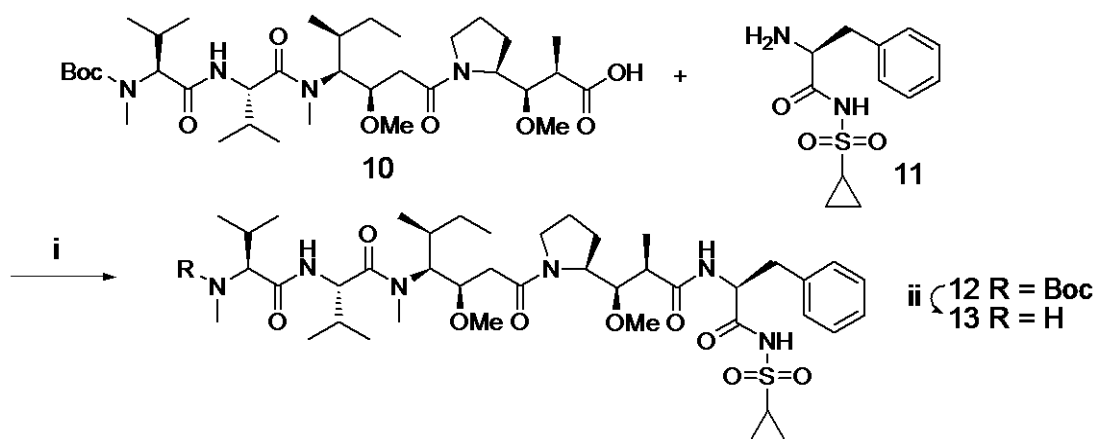
MS m/z C₃₅H₆₄N₄O₉についての計算値 684.5, 実測値 707.6 ([M+Na]⁺).

【0175】

実施例II-1: 化合物13の合成

スキームII-1

【化66】



スキームII-1の試薬および条件: i. DIC/HOAt, DMF, 室温, 16時間; ii. HCl/ジオキサン

【0176】

アミノ酸スルホンアミド誘導体11を、以前に報告された手順(ARKIVOC 2004 (xii) 14-22 または WO 2007146695)に従って、Boc保護アミノ酸およびシクロプロピル/メチルスルホンアミドを用いて合成し、続いてBocを除去した(一般的手順C)。

【0177】

化合物13を、上記一般的手順のBoc-N-Me-Val-Val-Dil-Dap-OH (化合物1)およびアミン11の間のDIC/HOAt媒介アミド結合形成(一般的手順B)を用いて合成し、続いてBocを除去した(一般的手順C)。最終化合物を逆相HPLCによって精製し、凍結乾燥後、化合物13を白色粉末として得た。

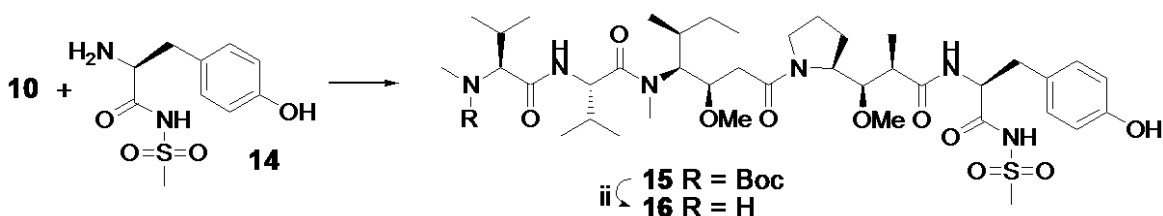
MS m/z C₄₂H₇₀N₆O₉Sについての計算値 834.5, 実測値 835.6 ([M+H]⁺).

【0178】

実施例II-2: 化合物16の合成

スキームII-2

【化67】



10

20

30

40

50

スキームII-2の試薬および条件：i. DIC/HOAt、DMF、室温、16時間；ii. HCl/ジオキサン
【0179】

アミノ酸スルホンアミド誘導体14を、以前に報告された手順(ARKIVOC 2004 (xii) 14-22 または WO 2007146695)に従って、Boc保護アミノ酸およびシクロプロピル／メチルスルホンアミドを用いて合成し、続いてBocを除去した(一般的手順C)。

【0180】

化合物16を、上記一般的手順のBoc-N-Me-Val-Val-Dil-Dap-OH (化合物10)およびアミン14の間のDIC/HOAt媒介アミド結合形成(一般的手順B)を用いて合成し、続いてBocを除去した(一般的手順C)。最終化合物を逆相HPLCによって精製し、凍結乾燥後、化合物16を白色粉末として得た。

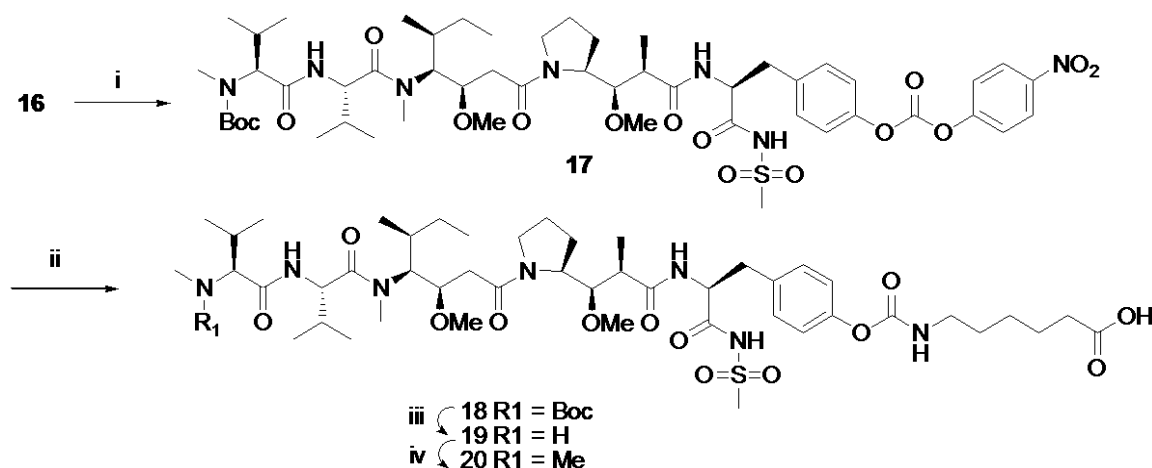
MS m/z $C_{41}H_{70}N_6O_{10}S$ についての計算値 838.5, 実測値 839.6 ($[M+H]^+$).

【0181】

実施例II-3：化合物20の合成

スキームIIC

【化68】



スキームIIcの試薬および条件：i. ビス(ニトロフェニル)カーボネート、DIEA、THF/DMF、室温；ii. 6-アミノヘキサン酸、 $NaHCO_3$ (水性)；iii. HCl/ジオキサン(4N)；iv. HCHO、 $NaCNBH_3$ 、DMF、HOAc。

【0182】

フェノール16(1mmol)を、3当量のビス(p-ニトロフェニル)カーボネートで処理し、活性化カーボネート17(一般的手順G)を形成した。粗生成物を、さらに精製することなく直接用いた。6-アミノヘキサン酸(5当量)を、飽和 $NaHCO_3$ 水溶液(5mL)に溶解し、溶液を加えた。反応混合物を室温で16時間攪拌した。クエン酸(10%水溶液)を加えて反応物を酸性にし($pH = 4 \sim 5$)、次いでEtOAc(150mL)で希釈した。有機層を乾燥し(Na_2SO_4)、濃縮し、粗生成物18を得た。これについて、Bocの除去(一般的手順C)、HCHOを用いた還元的アルキル化を行った。最終生成物をRPHPLCによって精製し、凍結乾燥後、化合物20を白色粉末として得た。

MS m/z $C_{48}H_{81}N_7O_{13}S$ についての計算値 995.6, 実測値 996.4 ($[M+H]^+$).

【0183】

実施例III：アルコキシルアミンリンカー24、25、26および27の合成

【表 5】

ID	構造
2 4	
2 5	
2 6	
2 7	

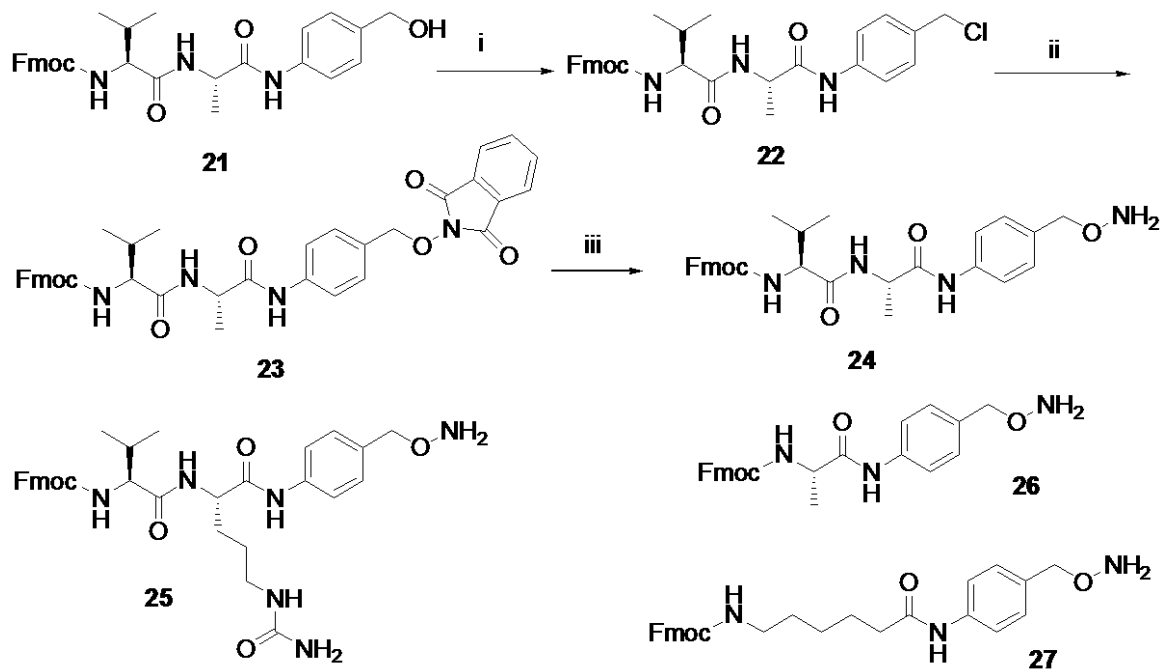
10

20

【 0 1 8 4 】

スキーム III

【化 6 9】



30

40

スキーム III の試薬および条件：i. SOCl_2 、THF、1 時間；ii. N-ヒドロキシフタルイミド、 NaHCO_3 、DMF、室温、48 時間；iii. $\text{NH}_2\text{NH}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、HOAc、DMF.

【 0 1 8 5 】

実施例 III-1：化合物 2 4 の合成

50

THF (200 mL)中のFmoc-VA-PAB (21) (Bioconjugate Chem., 2002, 13, 855-859) (9 g, 15 mmol)の溶液に、攪拌しながら、塩化チオニル(18 mmol)を滴下した。添加完了後、反応混合物を室温で1時間攪拌した。TLC分析(酢酸エチル/ヘキサン, 1/1, v/v)は、反応の完了を示した。溶媒を減圧下で除去し、残渣をヘキサン(100 mL)で洗浄し、化合物22を僅かに黄色がかった固体として得た(8.8 g)。

【0186】

化合物22(6.2 g, 10 mmol)を無水DMF(100 mL)に溶解した。N-ヒドロキシ-フタルイミド(3.2 g, 20 mmol)を、続いて固体NaHCO₃(3.4 g, 40 mmol)を加えた。反応混合物を室温で48時間攪拌した。TLC分析は、大部分の化合物61が消費されたことを示した。反応物を酢酸エチル(500 mL)で希釈し、飽和NaHCO₃水溶液(3×200 mL)で、そして塩水(200 mL)で連続して洗浄した。有機層を乾燥し、濃縮し、化合物23を黄褐色の固体として得た。これをさらに精製することなく直接用いた。

10

【0187】

前述の工程の粗製の化合物23をDMF(100 mL)に溶解した。HOAc(6 mL)を、続いてヒドラジン水和物(5 mL)を加えた。反応物を室温で1時間攪拌した。LC/MSは、反応の完了を示した。反応混合物を、1 Lの水を含むビーカーに攪拌しながら注いだ。沈殿した固体を濾過によって集め、水で2回洗浄し、化合物24を白色固体として得た(純度>85%, 直接用いられる)。純粋な化合物63をRP-HPLC精製後に得た。

MS m/z C₃₀H₃₄N₄O₅についての計算値 530.3, 実測値 531.4 ([M+H]⁺).

【0188】

20

実施例III-2: 化合物25の合成

化合物25を、化合物Fmoc-VC-PAB (Bioconjugate Chem., 2002, 13, 855-859)から出発して、化合物25の合成について上で記載した手順を用いて合成した。

MS m/z C₃₃H₄₀N₆O₆についての計算値 616.3, 実測値 617.5 ([M+H]⁺).

【0189】

実施例III-3: 化合物26の合成

化合物26を、化合物Fmoc-A-PAB (Bioconjugate Chem., 2002, 13, 855-859に報告された手順に従って合成)から出発して、化合物26の合成について上で記載した手順を用いて合成した。

MS m/z C₂₅H₂₅N₃O₄についての計算値 431.2, 実測値 432.6 ([M+H]⁺).

30

【0190】

実施例III-4: 化合物27の合成

化合物27を、化合物Fmoc-Ahx-PABから出発して、化合物27の合成について上で記載した手順を用いて合成した。

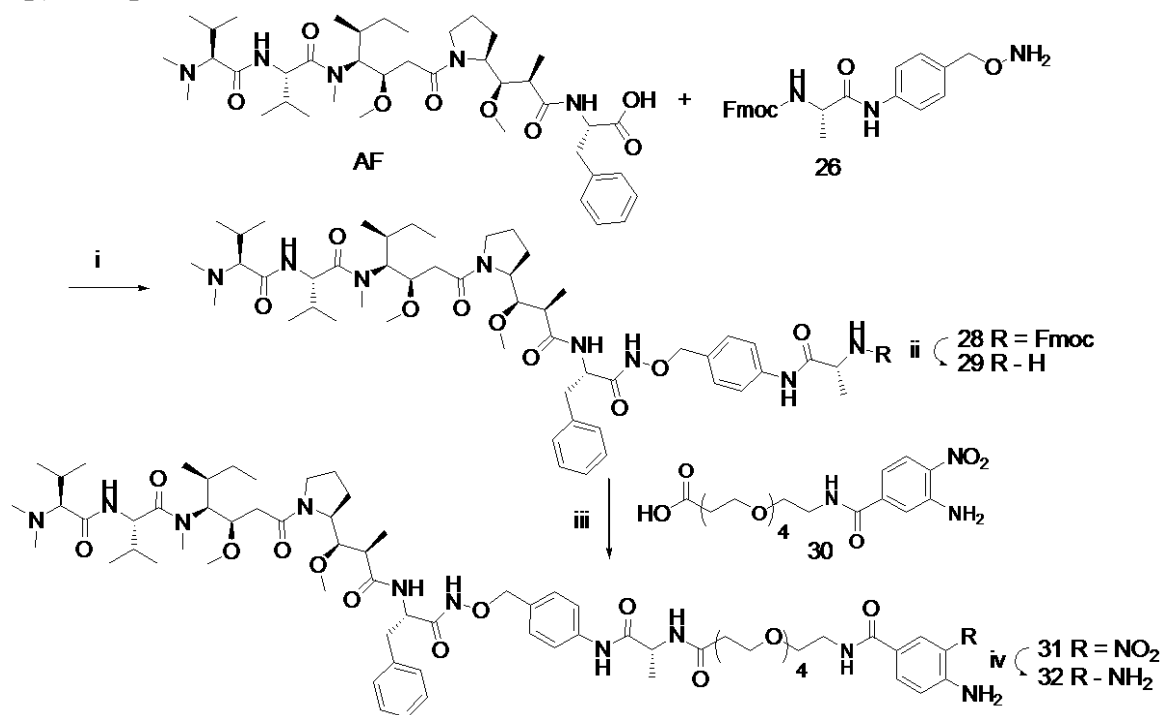
MS m/z C₂₈H₃₁N₃O₄についての計算値 473.2, 実測値 474.3 ([M+H]⁺).

【0191】

実施例IV: -L¹-(L²-D)の合成

スキームIV

【化 7 0】



スキームIVの試薬および条件：i. DIC、HOAt、DMF、室温；ii. ピペリジン、DMF；iii. HATU、DIEA、DMF；iv. Na₂S₂O₄、MeCN、H₂O、pH=6.

【0192】

実施例IV-1：化合物32の合成

化合物32を、上記一般的手順のオーリスタチンFと化合物26の間のDIC/HOAt媒介アミド結合形成(一般的手順B)を用いて合成し、Fmocを除去し(一般的手順D)、酸30と反応させて(一般的手順A)、ニトロ基をアミノ基に還元した。

【0193】

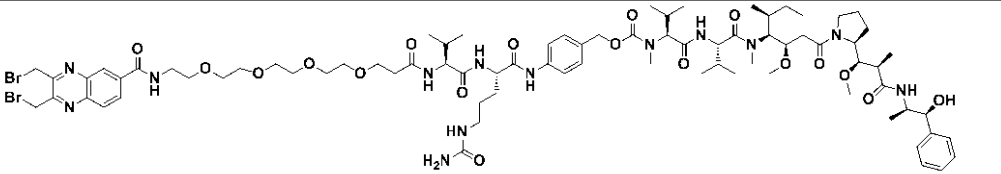
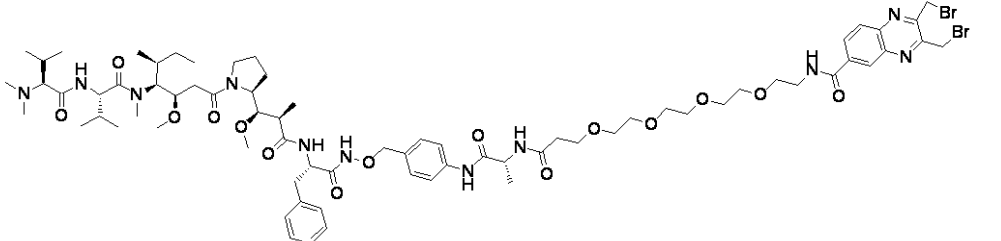
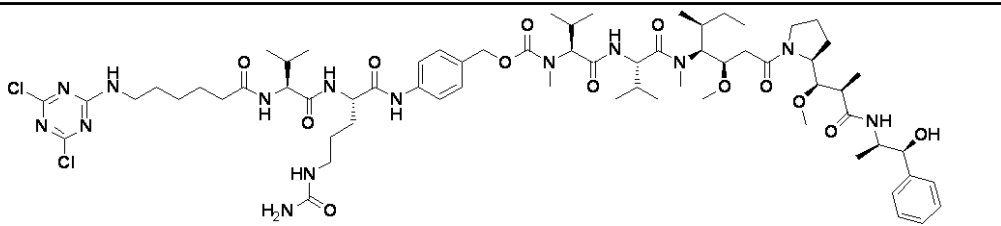
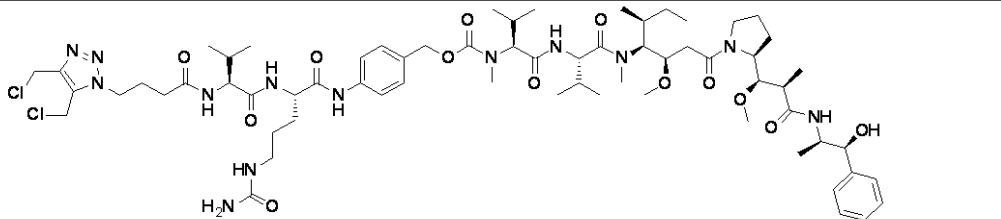
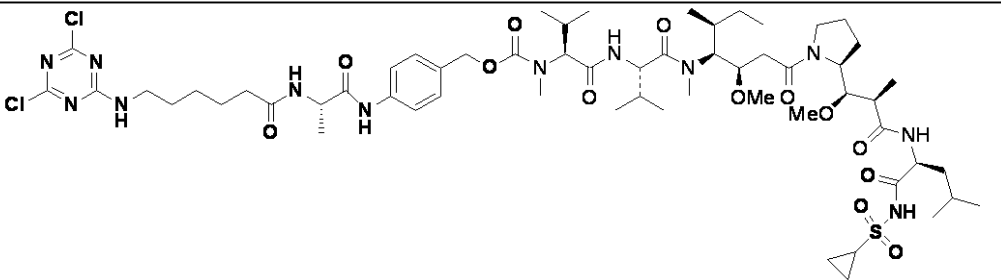
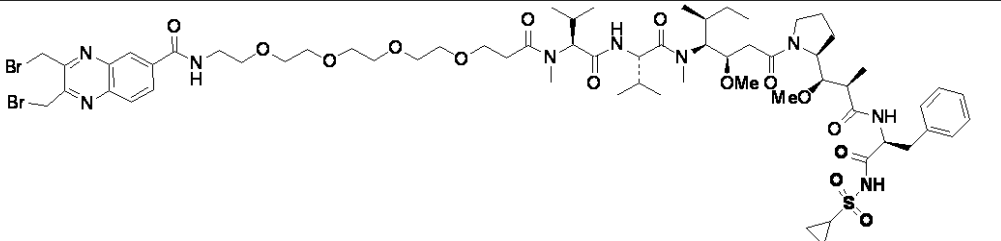
ニトロ化合物31(32mg)を、アセトニトリル/水(6/4, v/v)に溶解し、亜ジチオン酸ナトリウム溶液(水中1M, 0.2mL)を加えた。MES緩衝液の添加によって、反応物のpHを6~6.5に制御した。混合物を室温で2時間攪拌し、RP-HPLCによって直接精製し、凍結乾燥後、望ましい生成物を白色固体として得た(18mg)。

MS 実測値 1319.0 (M+H)⁺.

【0194】

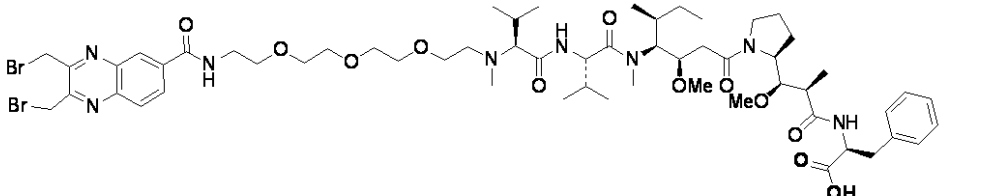
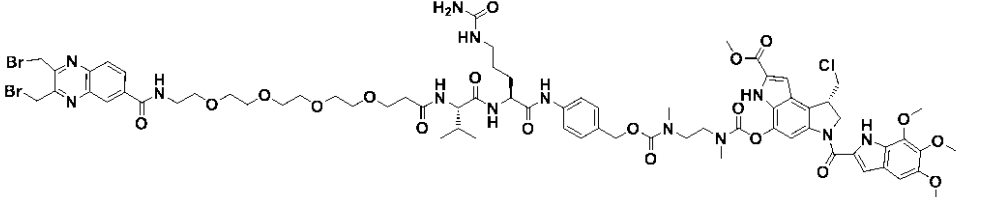
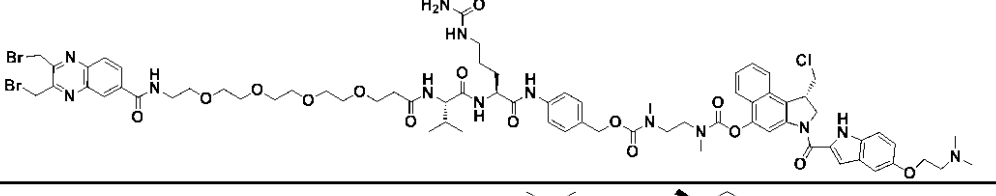
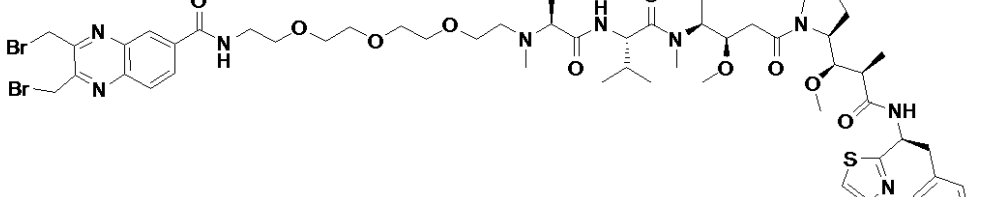
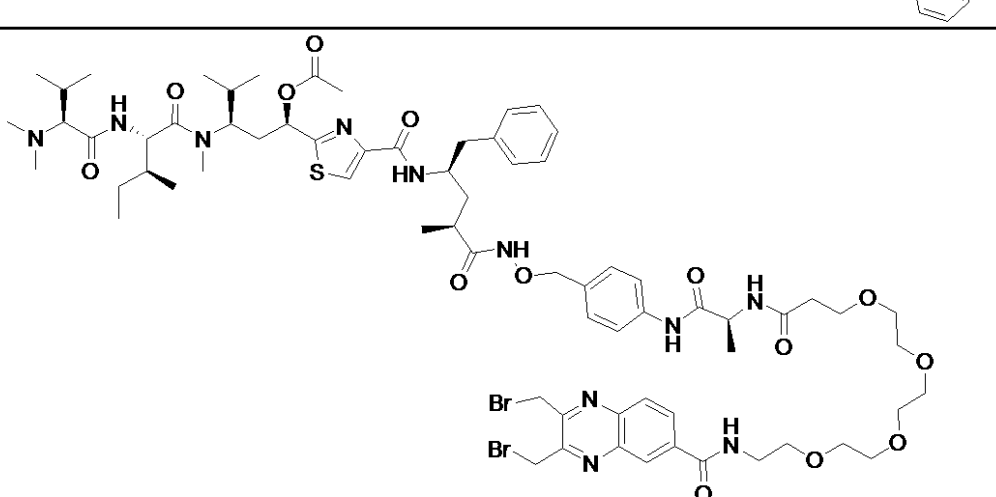
実施例V：コンジュゲーション反応前の最終官能基の導入

【表 6】

ID	$-L^1-(L^2-D)$ の構造	MS 実測 値 (M^+ H^+)
34		1713 .0
40		1526 .4
36		1383 .9
39		1356 .9
41		1281 .2
42		1424 .5

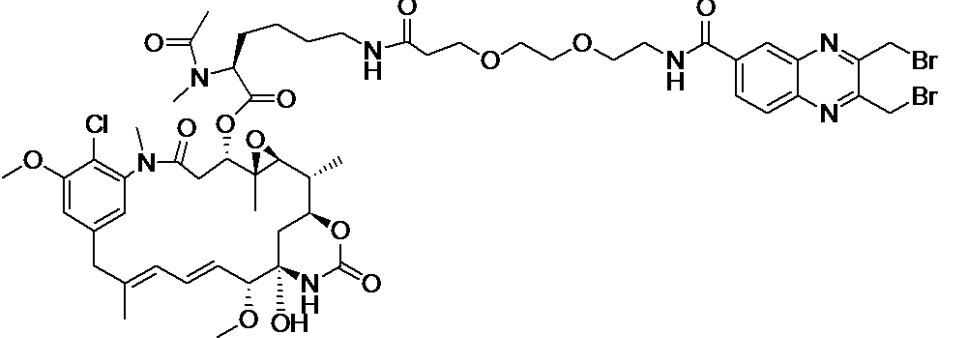
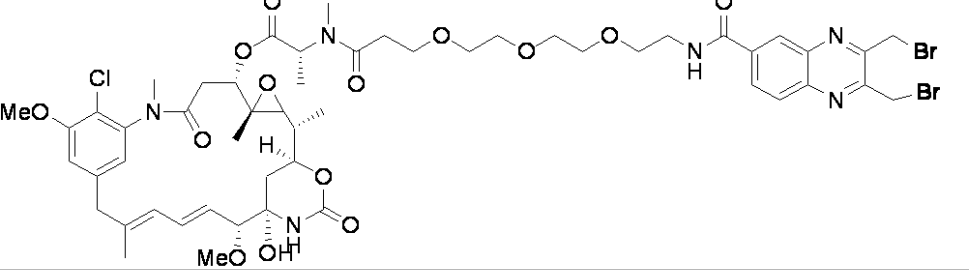
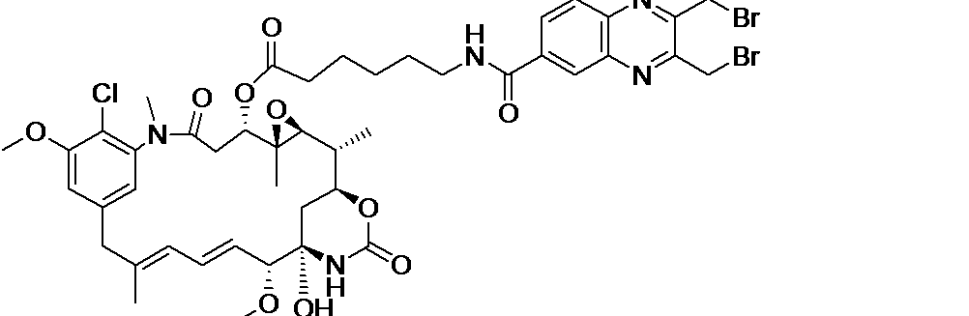
【 0 1 9 5 】

【表 7】

43		1249 .5
44		1621 .7
45		1572 .7
46		1288 .3
47		1510 .8

【 0 1 9 6 】

【表 8】

48		1250. 6
49		1195. 4
50		1020. 4

10

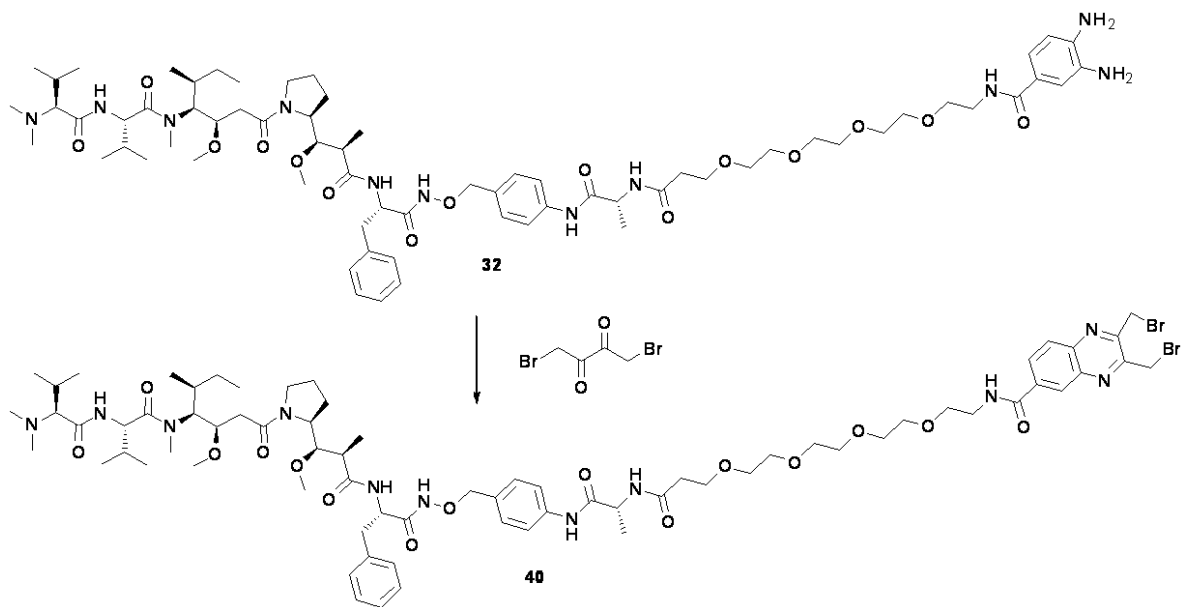
20

【0197】

実施例V-1: ジブロモメチル キノキサリンの形成

30

【化71】



40

【0198】

オーフェレンジアミン化合物 32 (12 mg) を、アセトニトリル/水 (1 mL) に溶解した。ジブロモメチル ジケトン (10 mg) を加えた。混合物を室温で攪拌し、R P-H P L C

50

によって直接精製し、凍結乾燥後、望ましいキノキサリン40(12mg)を白色粉末として得た。

MS 実測値 1526.4 (M+H)⁺.

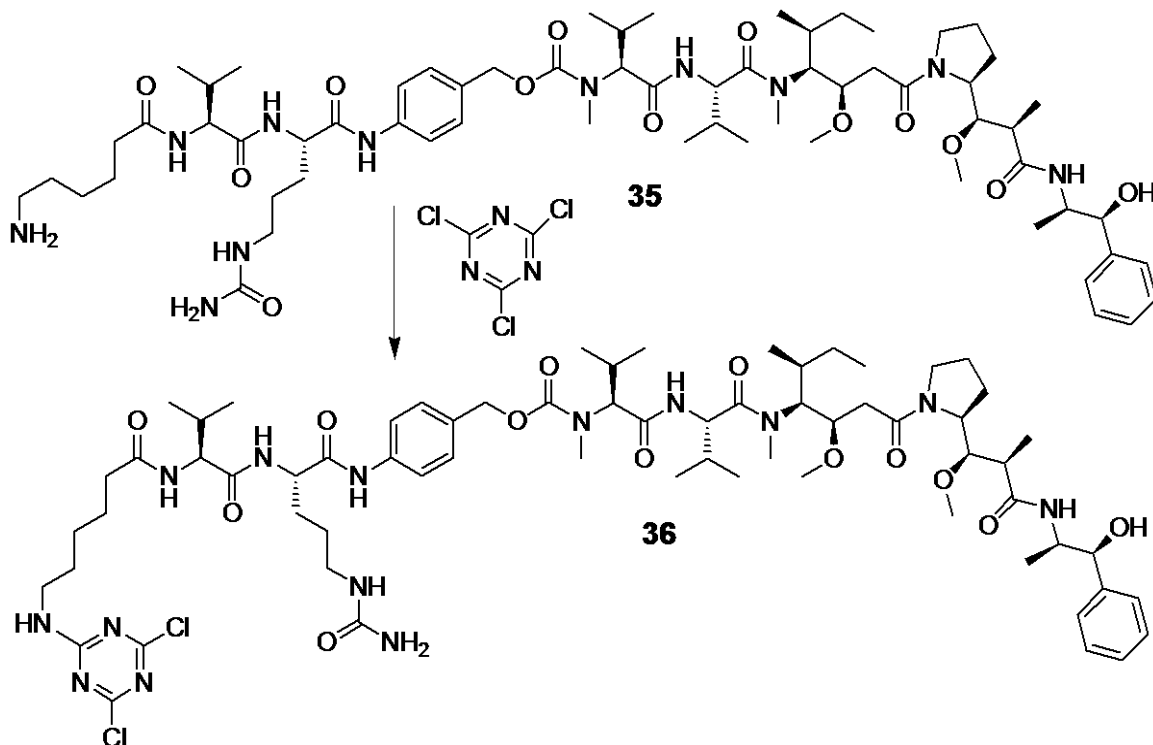
【0199】

化合物34、42、43、44、45、46および47を、対応するオーフェニレンジアミンから、化合物40の合成について上で記載した合成手順を用いて合成した。

【0200】

実施例V-2: ジクロロトリアジンの形成

【化72】



【0201】

DMF(1mL)中のアミン化合物35(12mg)の冷却溶液に、攪拌しながら、THF(0.5mL)中の塩化シアヌル(10mg)の溶液およびDIEA(5μL)を加えた。反応混合物を室温で10分間攪拌し、次いで減圧下で濃縮した。残渣をRP-HPLCによって精製し、凍結乾燥後、望ましいジクロロトリアジン36(11mg)を白色の粉末として得た。

MS 実測値 1383.9 (M+H)⁺.

【0202】

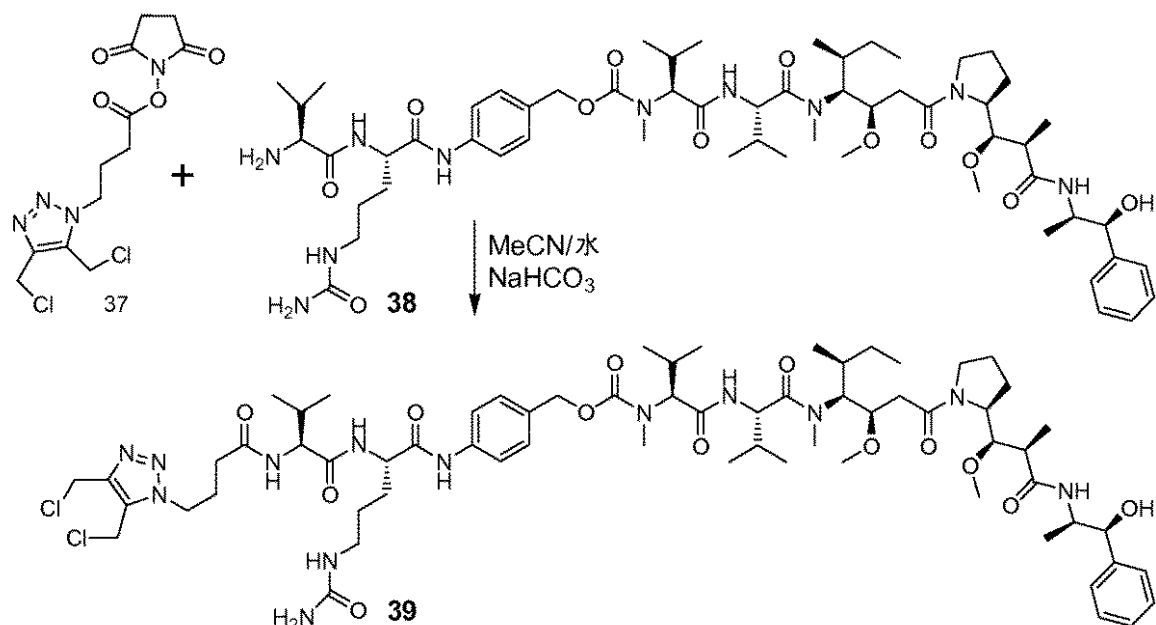
化合物41を、化合物36の合成について上で記載した手順と同じ手順を用いて合成した。

MS 実測値 1281.2 (M+H)⁺.

【0203】

実施例V-3: ジクロロメチルトリアゾールの形成

【化 7 3】



10

【0204】

アセトニトリル／水(2 mL, 6 / 4, v/v)中のVC-PAB-MMAE(38, 30 mg)の溶液に、攪拌しながら、アセトニトリル(0.5 mL)中のトリアゾールNHSEステル(37, 15 mg)および飽和NaHCO₃水溶液(0.1 mL)を加えた。反応混合物をRP-HPLCによって精製し、凍結乾燥後、望ましい生成物39を白色粉末として得た(28 mg)。

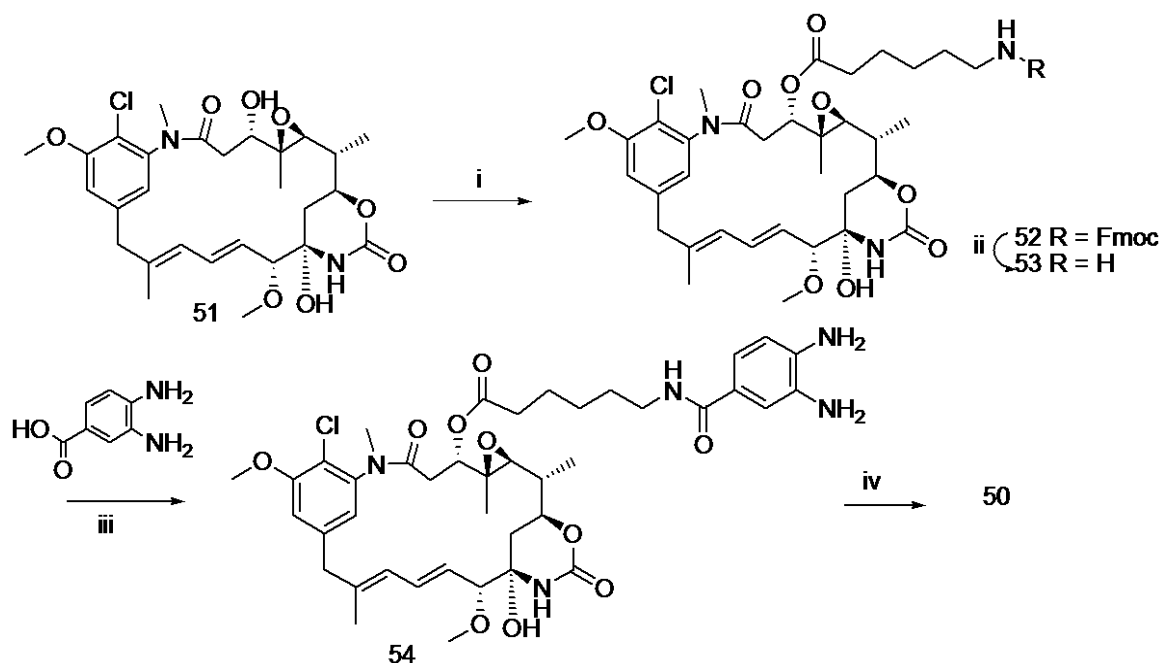
20

MS 実測値: 1356.9 (M+H)⁺.

【0205】

実施例V-4: 化合物50の合成

【化 7 4】



30

40

スキームV-4の試薬および条件: i. Fmoc-Ahx-OH (アミノヘキサノ酸)、DIC、DCM、Py、室温、48時間; ii. ピペリジン、DMF; iii. DIC、HOBT; iv. ジブロモメチル ジケトン

【0206】

Fmoc-Ahx-OH(353 mg)を無水DCM(5 mL)に懸濁し、DIC(0.5 mmol)を加えた。混合物を室温で1時間攪拌した。メイタンシノール(化合物51, 56 mg)を混合物に加え

50

、続いて0.5 mLのピリジンを添加した。反応混合物を室温で48時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去し、残渣をカラムクロマトグラフィー(シリカゲル, EA/ヘキサン)によって精製し、化合物52を白色固体として得た(45 mg)。これをピペリジンで処理してFmocを除去し(一般的手順D)、続いてDIC/HOBtを用いて3,4-ジアミノ安息香酸(1当量)とアミド化反応させ(一般的手順B, HOAtの代わりにHOBtを用いる)、HPLC精製し、凍結乾燥した後、化合物54(22 mg)を僅かに黄色がかった粉末として得た。化合物54を、化合物40の合成について上で記載した手順と同じ手順を用いて、望ましい化合物50に変換した。

MS 実測値 1020.4 (M+H)⁺.

【0207】

抗体-薬物コンジュゲーション

一般的コンジュゲーション手順:

標的抗体0.5~50 mg/mLに、pH 5.0~9.0の特定の緩衝液中で、例えばPBS中で、0.5~100当量の還元剤、例えばTCEPおよびDTTを加えた。0~40℃で0.5~40時間、穏やかに攪拌しながらまたは振盪しながら還元を行い、次いで、還元剤を、カラムまたは限外ろ過によって除去した。部分的に還元された抗体0.5~50 mg/mLに、0~30%の有機共溶媒、例えばDMAを含むpH 5.0~9.0の特定の緩衝液中で、例えばPBS中で、0.5~10当量のジブromo官能基またはジクロロ官能基を有する活性化薬物リンカーを加えた。0~40℃で0.5~40時間、緩やかに攪拌しながらまたは振盪しながら反応を行い、HIC-HPLCによってモニターした。得られた粗製のADC生成物について、常法により、脱塩、緩衝液交換/製剤化および所望により精製といった必要な下流の工程を行った。最終ADC生成物を、HIC-HPLC、SEC、RP-HPLCおよび所望によりLC-MSによって特性決定した。平均DARを、UV吸収および/または質量分析によって計算した。

【0208】

トラスツズマブおよび化合物34を、一般的コンジュゲーション手順に記載された通りに、様々な薬物/抗体比で結合させた。トラスツズマブを、10 mM TCEPストック溶液と共に、37℃で0.5~40時間インキュベートした。還元後、ゲル濾過カラムによって、過剰のTCEPを除去した。次いで、還元したトラスツズマブを化合物34と混合し、薬物/抗体比の範囲1~10で、0~40℃で混合した。一夜反応させた後、過剰の化合物34を、ゲル濾過カラムによって、トラスツズマブ-c-34コンジュゲートから除去した。精製トラスツズマブ-c-34コンジュゲートを4℃~-20℃で保存し、インビトロ試験およびインビボ試験に用いた。

【0209】

コンジュゲーション反応生成物を、HIC-HPLCを用いて、条件: HPLCカラム=Tosoh TSKgel プチル-NPR, 4.6mm×3.5cm, 2.5mm; 緩衝液A=20 mM リン酸ナトリウム, 1.5 M 硫酸アンモニウム, pH 7.0; 緩衝液B=20 mM リン酸ナトリウム, 25%(v/v) イソプロナール, pH 7.0; 流速=1 mL/分; 濃度勾配=10分 10%緩衝液B~80%緩衝液B, 4分 100%緩衝液B; 20 μl サンプルの下で分析した。

【0210】

図1は、薬物/抗体比5.5:1で薬物と抗体を反応させたHIC-HPLCクロマトグラム生成物を示す。ここで、DARは、1抗体につきコンジュゲートした薬物の数を示す。図2は、薬物/抗体比6:1で薬物と抗体を反応させたHIC-HPLCクロマトグラム生成物を示す。ここで、DARは、1抗体につきコンジュゲートした薬物の数を示す。図3は、薬物/抗体比1:6.5で薬物と抗体を反応させたHIC-HPLCクロマトグラム生成物を示す。ここで、DARは、1抗体につきコンジュゲートした薬物の数を示す。図4は、薬物/抗体比1:4で薬物と抗体を反応させたHIC-HPLCクロマトグラム生成物を示す。ここで、DARは、1抗体につきコンジュゲートした薬物の数を示す。オーバーレイにおいて、図4は、さらに、FPLCを用いて精製した個別に単離したフラクションのDAR 1、DAR 2、DAR 3、DAR 4 および DAR 5ピークについてのHIC-HP

10

20

30

40

50

LCクロマトグラムを示す。図5は、各FPLCフラクションについてのHIC-HPLCクロマトグラムおよび各ピークの相対純度を示すピークのインセット、オーバーレイを示す。

【0211】

図4および図5に記載した精製フラクションを、さらに還元SDS-PAGEによって分析した。ADCサンプルを20mM DTTで還元し、NuPAGE 4~12% ビスートリスゲル(Life Technology)に負荷した。結果を図6に示す。ここで、略号は、以下の通りである：

H-抗体重鎖

L-抗体軽鎖

HH-重鎖ダイマー

HL-重鎖および軽鎖ダイマー

HHL-重鎖-重鎖および軽鎖トリマー

IgG- 2つの重鎖- 2つの軽鎖テトラマー

【0212】

インビトロ細胞毒性実験

抗体-薬物コンジュゲートを細胞毒性について分析した。使用した細胞株は、SK-BR-3ヒト乳腺癌(HER2三重陽性)、HCC1954ヒト腺管癌(HER2三重陽性)であった。これらの細胞はATCCから入手可能であった。SK-BR-3細胞を、10%

ウシ胎児血清を添加したマッコイ5A培地(Caisson Labs, North Logan, UT)中で増殖させた。HCC1954細胞を、10% ウシ胎児血清を添加したRPMI-1640培地(Caisson Labs, North Logan, UT)で増殖させた。SK-BR-3細胞を、約7,500細胞/ウェルで96ウェルプレートに平板培養し、HCC1954細胞を、約20,000細胞/ウェルで96ウェルプレートに平板培養した。抗体-薬物コンジュゲートを、同日に2組加えた。37℃で72時間インキュベーションした後、CellTiter-Glo(Promega, Madison, WI)を加え、製造者のプロトコルに記載の通りに、細胞生存能を決定した。生存能パーセントを次の通り決定した。

生存能% = 2組(処理ウェル)の平均発光値 / 未処理ウェルの平均発光値

【0213】

図7は、7個のサンプル、すなわちADC_C1 (図4および図5のDAR1)、ADC_C2 (図4および図5のDAR2)、ADC_C3 (図4および図5のDAR3)、ADC_C4 (図4および図5のDAR4)、ADC_C5 (図4および図5のDAR5)、SeaGen (公表されたSeattle Genetics法に従って製造したADC)およびT-DM1 (公表された免疫原法に従って製造したADC)のSK-BR-3細胞の生存能を示す。

【0214】

図8は、7個のサンプル、すなわちADC_C1 (図4および図5のDAR1)、ADC_C2 (図4および図5のDAR2)、ADC_C3 (図4および図5のDAR3)、ADC_C4 (図4および図5のDAR4)、ADC_C5 (図4および図5のDAR5)、ADC_VC-M (公表されたSeattle Genetics法に従って製造したMAE)およびT-DM1 (公表された免疫原法に従って製造したADC)のHCC1954細胞の生存能を示す。

【0215】

図10は、4個のサンプル、すなわちADC_C6 (DAR2.4)およびADC_C7 (DAR3.1)(両方とも一般的コンジュゲーション手順を用いて製造し、ゲル濾過カラムによって精製した)、SeaGen (公表されたSeattle Genetics法に従って製造したADC)、および、T-DM1 (公表された免疫原法に従って製造したADC)のSK-BR-3細胞の生存能を示す。

【0216】

図11は、4個のサンプル、すなわちADC_C6 (図10のDAR2.4)、ADC_C7 (図10のDAR3.1)、ADC_VC-M (公表されたSeattle Genetics法に従って製造したMAE)、および、T-DM1 (公表された免疫原法に従って製造したADC)のHCC1954細胞の生存能を示す。

【0217】

抗体－薬物コンジュゲーション

トラスツズマブおよび化合物 4 2 を、様々な薬物／抗体比で、トラスツズマブを 1 0 m M T C E P ストック溶液と共に 3 7 °C で 0 . 5 ～ 4 0 時間インキュベートする条件下で結合させた。還元後、過剰の T C E P をゲル濾過カラムによって除去した。還元したトラスツズマブを、化合物 4 2 と、薬物／抗体比の範囲 1 ～ 1 0 で、0 ～ 4 0 °C で混合した。一夜反応させた後、過剰の化合物 4 2 を、ゲル濾過カラムによって、トラスツズマブ-c-3 4 コンジュゲートから除去した。精製したトラスツズマブ-c-42 コンジュゲートを、4 °C から - 2 0 °C で保存し、インビトロ試験およびインビボ試験に用いた。

【 0 2 1 8 】

トラスツズマブおよび化合物 4 0 を、様々な薬物／抗体比で、トラスツズマブを 1 0 m M T C E P ストック溶液と共に 3 7 °C で 0 . 5 ～ 4 0 時間でインキュベートする条件下で結合させた。還元後、過剰の T C E P をゲル濾過カラムによって除去した。次いで、還元したトラスツズマブを、化合物 4 0 と、薬物／抗体比の範囲 1 ～ 1 0 で、0 ～ 4 0 °C で混合した。一夜反応させた後、過剰の化合物 4 0 を、ゲル濾過カラムによって、トラスツズマブ-c-34 コンジュゲートから除去した。精製したトラスツズマブ-c-40 コンジュゲートを、4 °C から - 2 0 °C で保存し、インビトロ試験およびインビボ試験に用いた。

【 0 2 1 9 】

コンジュゲーション反応生成物を、還元 S D S - P A G E を用いて分析した。A D C サンプルを 2 0 m M D T T で還元し、N u P A G E 4 ～ 1 2 % ビスートリスゲル(Life Technology)に負荷した。この結果を図 9 に示す。ここで、略号は以下の通りである：

H-抗体重鎖

L+vc-MMAE-抗体軽鎖-vc-MMAE

L-抗体軽鎖

HH-重鎖ダイマー

HL-重鎖および軽鎖ダイマー

HHL-重鎖－重鎖および軽鎖トリマー

IgG- 2 つの重鎖－2 つの軽鎖テトラマー

cL-Duo3：トラスツズマブ－化合物 4 2 コンジュゲート

cL-Duo6：トラスツズマブ－化合物 4 0 コンジュゲート

【 0 2 2 0 】インビトロ細胞毒性実験

トラスツズマブ－化合物 4 2 およびトラスツズマブ－化合物 4 2 コンジュゲートを、細胞毒性について分析した。細胞毒性法は、上記の通り行った。

【 0 2 2 1 】

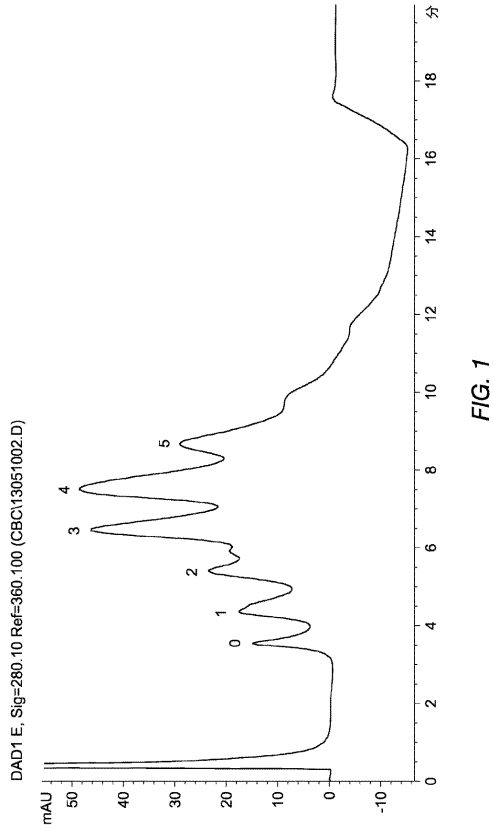
図 1 2 は、4 個のサンプル、すなわちトラスツズマブ-c-Duo3 (トラスツズマブ－化合物 4 2 コンジュゲート)、トラスツズマブ-c-Duo6 (トラスツズマブ－化合物 4 0 コンジュゲート)、トラスツズマブ-vc-MMAE (公表されたSeattle Genetics法に従って製造)およびトラスツズマブ-c-MMAE (トラスツズマブ－化合物 3 4 コンジュゲート, 公表されたSeattle Genetics法に従って製造)における S K - B R - 3 細胞の生存率を示す。

10

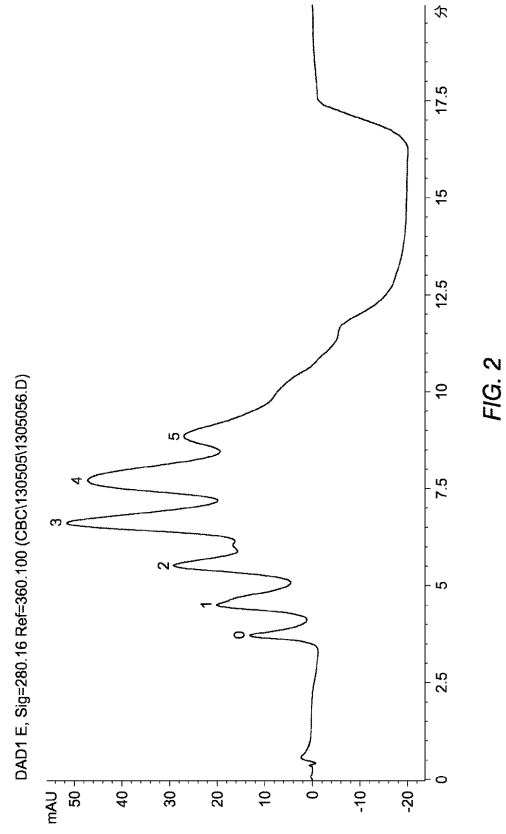
20

30

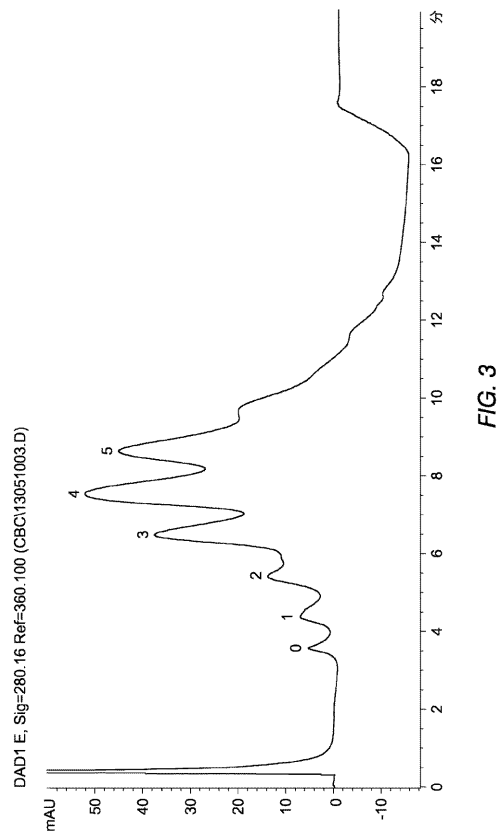
【図 1】



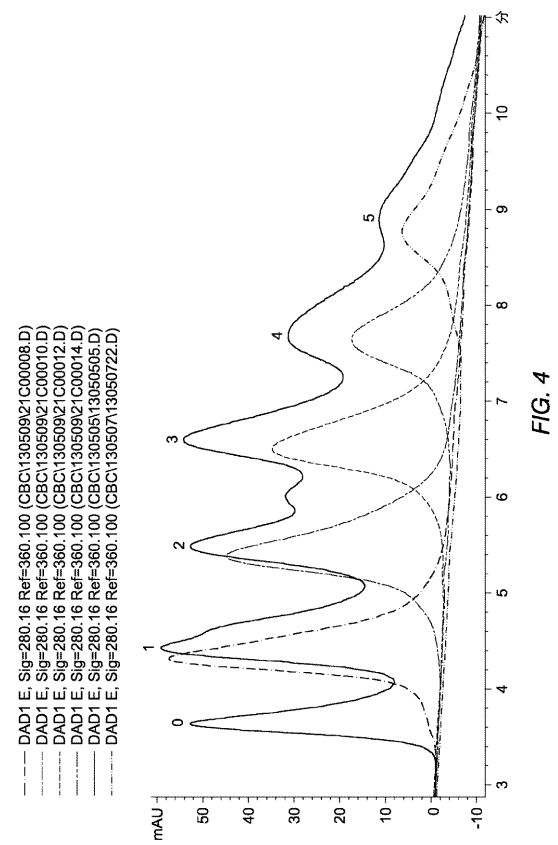
【図 2】



【図 3】



【図 4】



【図 5】

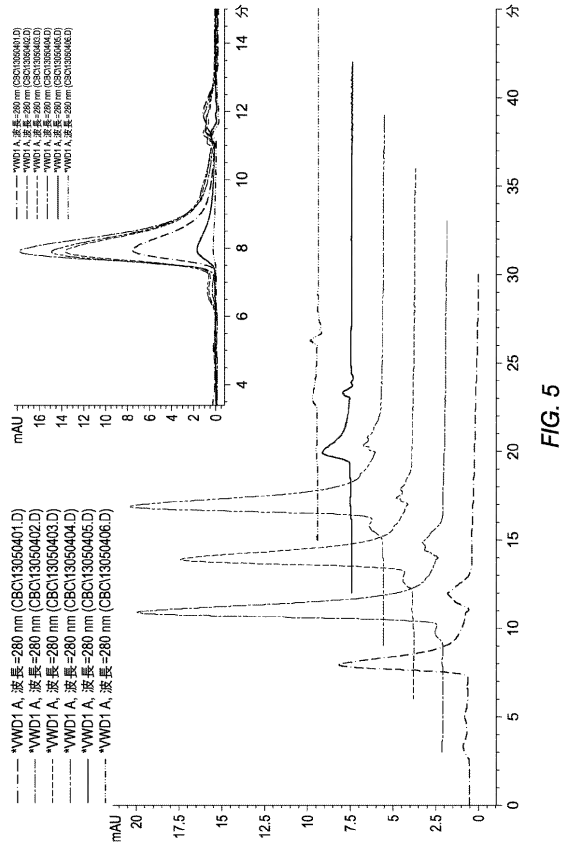


FIG. 5

【図 7】

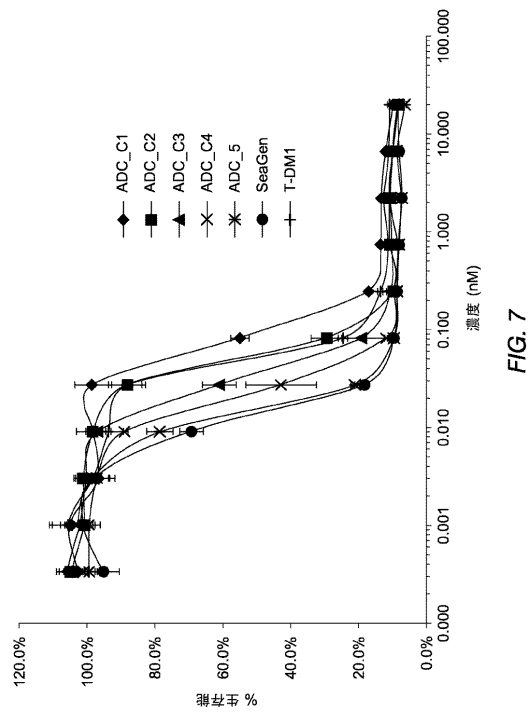


FIG. 7

【図 6】

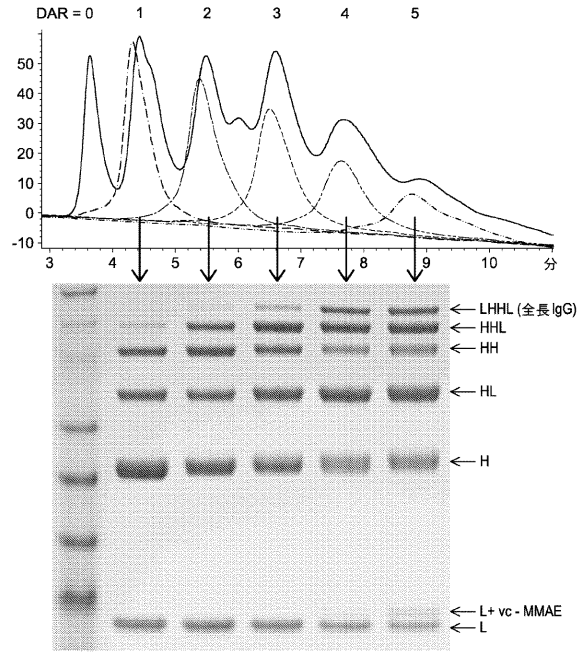


FIG. 6

【図 8】

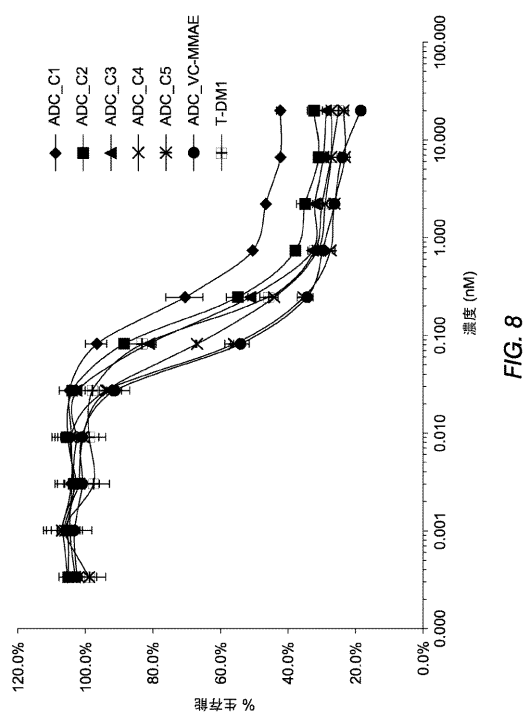


FIG. 8

【図 9】

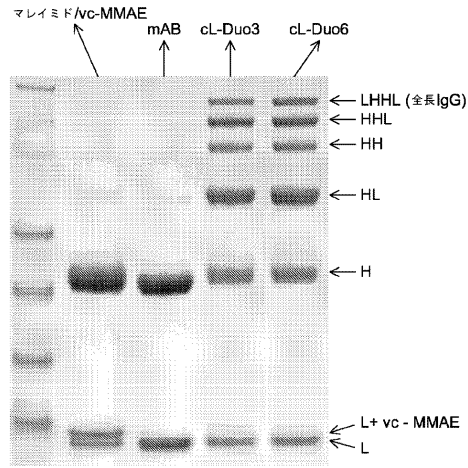


FIG. 9

【図 10】

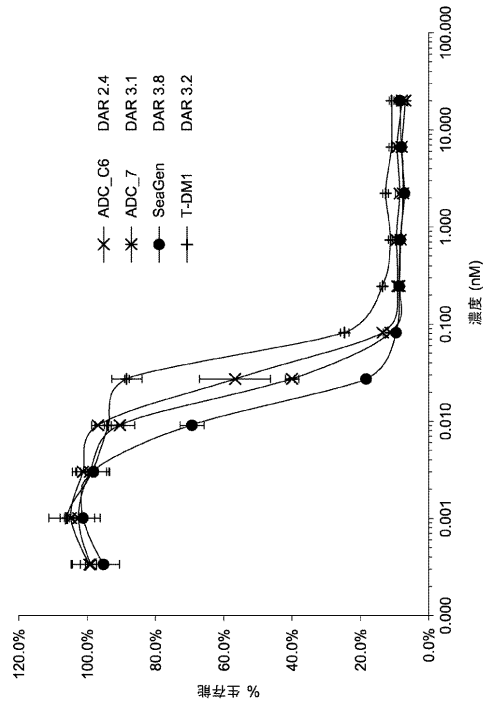


FIG. 10

【図 11】

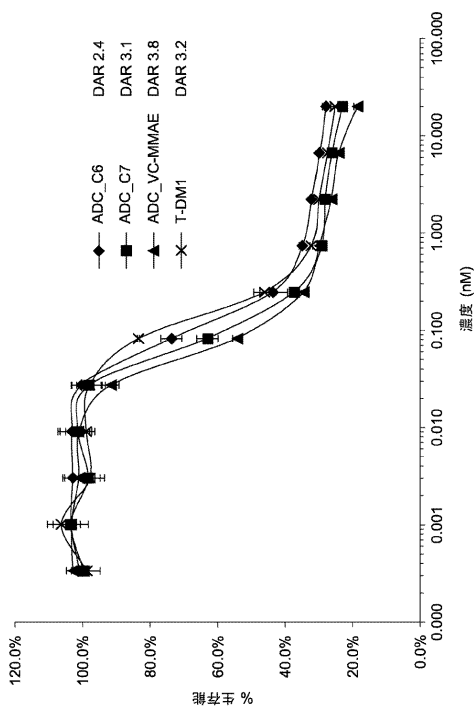


FIG. 11

【図 12】

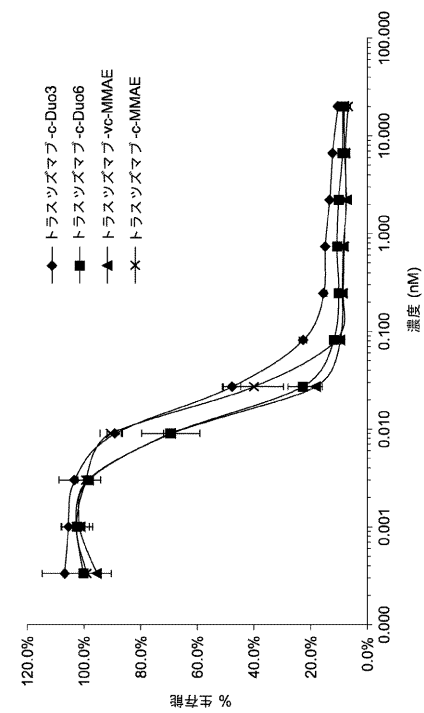


FIG. 12

【配列表】

0006239597000001.app

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 61/648,532

(32)優先日 平成24年5月17日(2012.5.17)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 61/647,300

(32)優先日 平成24年5月15日(2012.5.15)

(33)優先権主張国 米国(US)

(74)代理人 100067035

弁理士 岩崎 光隆

(74)代理人 100156144

弁理士 落合 康

(72)発明者 ジェンウェイ・ミャオ

アメリカ合衆国92127カリフォルニア州サンディエゴ、サニーフィールド・プレイス1588
7番

(72)発明者 ユーフォン・ホン

アメリカ合衆国92128カリフォルニア州サンディエゴ、アシュリー・プレイス11980番

(72)発明者 トン・ジュウ

アメリカ合衆国92127カリフォルニア州サンディエゴ、シマロン・クレスト・ドライブ166
57番

(72)発明者 アレクサンダー・ウィルヘルム・チャコロフスキー

アメリカ合衆国92130カリフォルニア州サンディエゴ、エル・プレシディオ・トレイル134
54番

審査官 幸田 俊希

(56)参考文献 特表2011-515069 (JP, A)

国際公開第2013/085925 (WO, A1)

Smith, M.E. et al., Protein modification, bioconjugation, and disulfide bridging using
bromomaleimides., J. Am. Chem. Soc., 2010年 2月17日, Vol.132, No.6, p.1960-5

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 39/00

A61K 47/00

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamII)