

(19)日本国特許庁(JP)

## (12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7023933号

(P7023933)

(45)発行日 令和4年2月22日(2022.2.22)

(24)登録日 令和4年2月14日(2022.2.14)

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 D 487/04 (2006.01)

C 0 7 D 487/04 1 3 7

A 6 1 K 31/407(2006.01)

C 0 7 D 487/04 C S P

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/407

A 6 1 K 47/68 (2017.01)

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 39/395(2006.01)

A 6 1 K 47/68

請求項の数 16 (全89頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-509530(P2019-509530)

(86)(22)出願日 平成29年8月18日(2017.8.18)

(65)公表番号 特表2019-524845(P2019-524845  
A)

(43)公表日 令和1年9月5日(2019.9.5)

(86)国際出願番号 PCT/US2017/047465

(87)国際公開番号 WO2018/035391

(87)国際公開日 平成30年2月22日(2018.2.22)

審査請求日 令和2年8月17日(2020.8.17)

(31)優先権主張番号 62/377,052

(32)優先日 平成28年8月19日(2016.8.19)

(33)優先権主張国・地域又は機関  
米国(US)

(73)特許権者 391015708

ブリistol - マイヤーズ スクイブ カン  
パニーBRISTOL - MYERS SQUI  
BB COMPANYアメリカ合衆国 0 8 5 4 3 ニュージャ  
ージー州 プリンストン、ルート 2 0 6 ア  
ンド・プロビンス・ライン・ロード

(73)特許権者 501244222

ザ スクリプス リサーチ インスティテ  
ュートアメリカ合衆国 カリフォルニア 9 2  
0 3 7 , ラ ホヤ , ノース トーリー  
バインズ ロード 1 0 5 5 5

(74)代理人 100145403

最終頁に続く

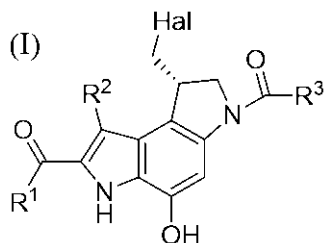
(54)【発明の名称】 セコ - シクロプロパピロロインドール化合物、その抗体 - 薬物コンジュゲート、ならびに  
製造および使用方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

構造式 ( I ) :

【化 1】

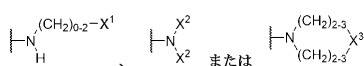


[ 式中 :

H a l は、C l または B r であり ;

R 1 は

【化 2】

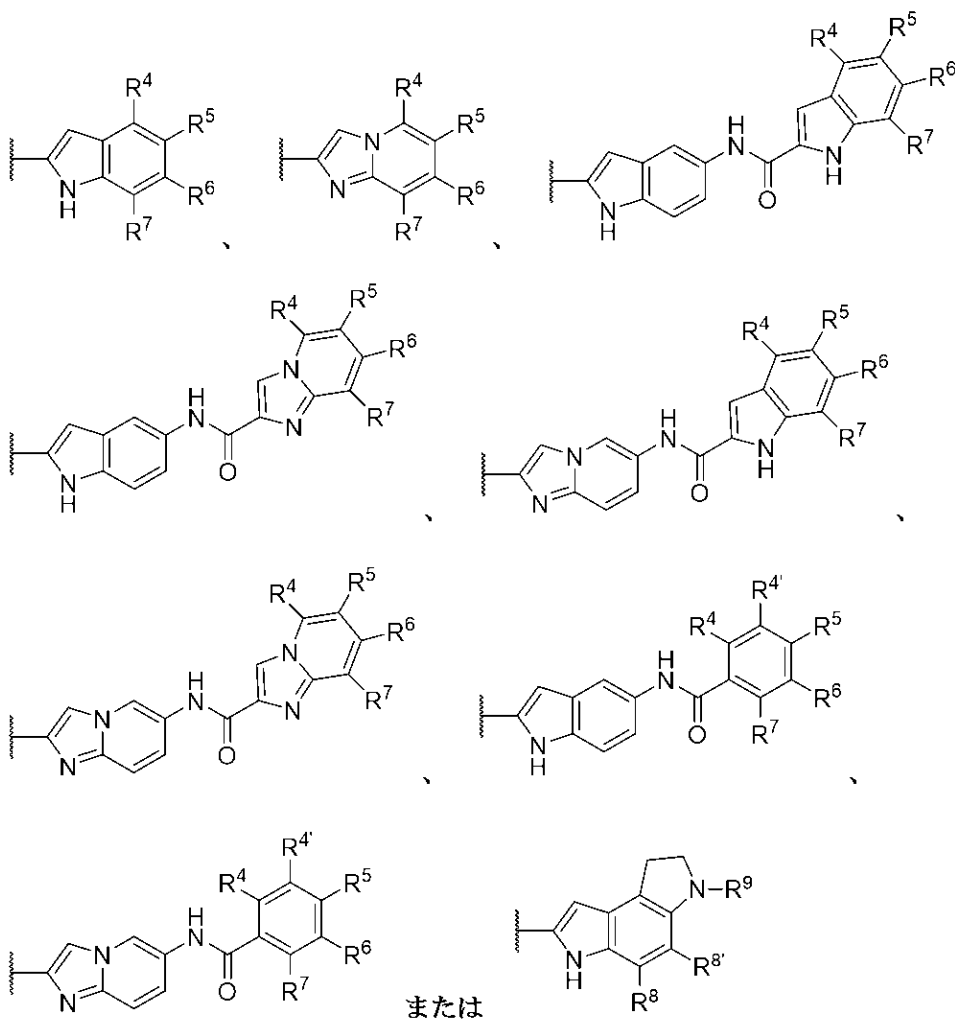


であり ;

R<sup>2</sup> は、H、C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル、CO<sub>2</sub>H、CO<sub>2</sub>(C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)、C(=O)NH<sub>2</sub>、C(=O)NH(C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)、またはC(=O)N(C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)<sub>2</sub> であり；

R<sup>3</sup> は

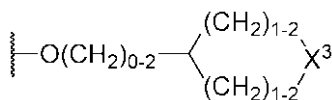
【化 3】



であり；

R<sup>4</sup>、R<sup>4'</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、またはR<sup>7</sup>は、独立して、H、OMe、OH、6員のアリール基、5員または6員のヘテロアリール基、NH<sub>2</sub>、NHMe、NMe<sub>2</sub>、NH(C<sub>2</sub> - C<sub>4</sub> アルキル)、N(C<sub>2</sub> - C<sub>4</sub> アルキル)<sub>2</sub>、NHC(=O)X<sup>1</sup>、O(C<sub>2</sub> - C<sub>4</sub> アルキル)、O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-2</sub>(C<sub>3</sub> - C<sub>6</sub> シクロアルキル)、O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-2</sub>X<sup>1</sup>、または

【化 4】



であり；

ここで、C<sub>2</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基は、置換されていないか、OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、OH、またはNH<sub>2</sub>で置換されていてもよく、アリールまたはヘテロアリール基は、C<sub>1</sub> - C<sub>2</sub> アルキル、OH、NH<sub>2</sub>、NH(C<sub>1</sub> - C<sub>2</sub> アルキル)、N(C<sub>1</sub> - C<sub>2</sub> アルキル)<sub>2</sub>、F、Cl、Br、NO<sub>2</sub>、またはCNで置換されてもよい；

10

20

30

40

50

ただし、 $R^4$ 、 $R^4'$ 、 $R^5$ 、 $R^6$ 、および $R^7$ のうち少なくとも1つはH以外の基であり；

$R^8$ および $R^8'$ は、独立して、H、OH、O( $C_1$ - $C_3$ アルキル)、Cl、Br、F、O( $CH_2$ )<sub>2</sub>-4NH<sub>2</sub>、またはO( $CH_2$ )<sub>2</sub>-4OHであり；

$R^9$ は、H、C(=O)( $C_1$ - $C_3$ アルキル)、C(=O)NH<sub>2</sub>、C(=O)NH( $C_1$ - $C_3$ アルキル)、C(=O)( $C_1$ - $C_3$ アルキル)<sub>2</sub>、( $CH_2$ )<sub>2</sub>-4OH、( $CH_2$ )<sub>2</sub>-4O( $C_1$ - $C_3$ アルキル)、( $CH_2$ )<sub>2</sub>-4NH<sub>2</sub>、( $CH_2$ )<sub>2</sub>-4NH( $C_1$ - $C_3$ アルキル)、または( $CH_2$ )<sub>2</sub>-4N( $C_1$ - $C_3$ アルキル)<sub>2</sub>であり；

$X^1$ は、各々独立して、6員のアリール、または5ないし6員のヘテロアリール基であって、置換されていないか、 $C_1$ - $C_3$ アルキル、OH、O( $C_1$ - $C_3$ アルキル)、NH<sub>2</sub>、NH( $C_1$ - $C_3$ アルキル)、N( $C_1$ - $C_3$ アルキル)<sub>2</sub>、F、Cl、Br、NO<sub>2</sub>、またはCNで置換されており；

$X^2$ は、各々独立して、H、Me、または $C_2$ - $C_4$ アルキル基であって、置換されていないか、OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、OH、またはNH<sub>2</sub>で置換されていてもよく；ならびに

$X^3$ は、各々独立して、O、NH、N( $C_1$ - $C_3$ アルキル)、またはSである]

で示される化合物またはその医薬的に許容される塩。

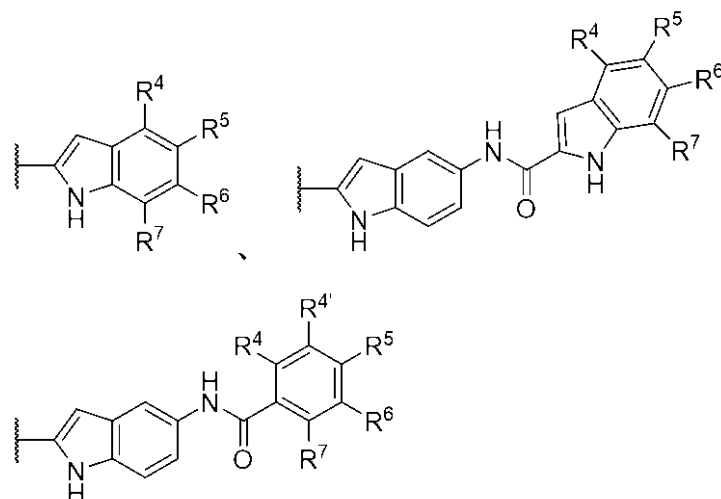
【請求項2】

$R^2$ がHであり、HalがClである、請求項1に記載の化合物。

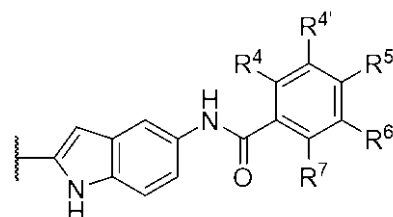
【請求項3】

$R^3$ が

【化5】



または

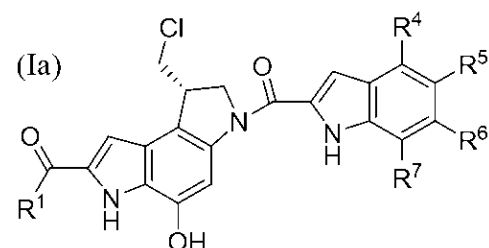


である、請求項1に記載の化合物。

【請求項4】

構造式(Ia)：

【化6】



10

20

30

40

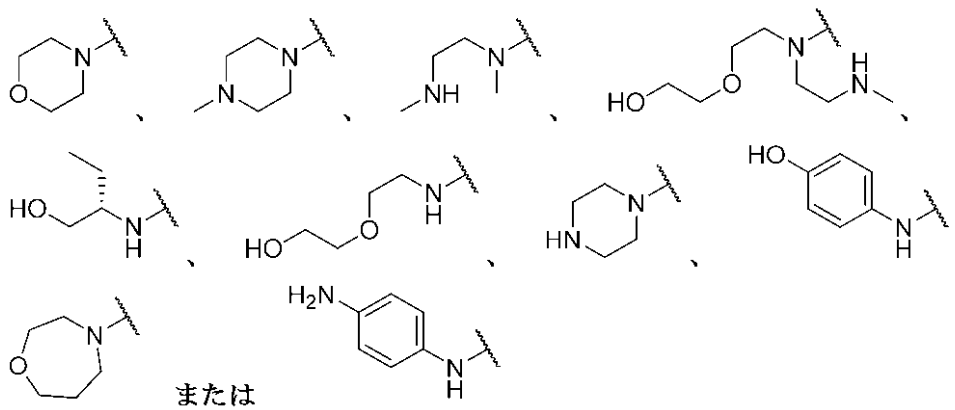
50

で示される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

R 4、R 6、および R 7 が、各々、Hであり、R 1 が

【化 7】

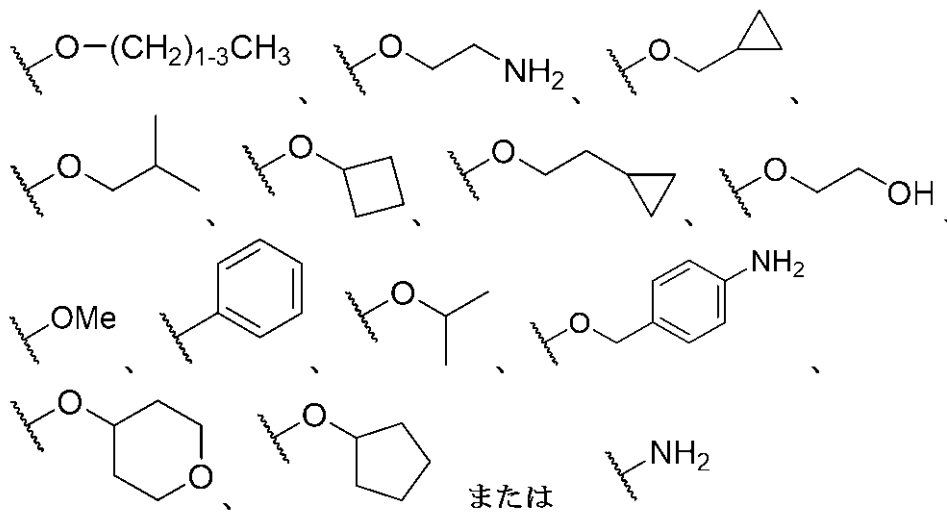


10

であり；および

R 5 が

【化 8】



20

30

である、請求項 4 に記載の化合物。

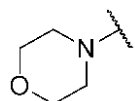
【請求項 6】

R 1 が、その対応する R 1 H の化合物にて、0.300 未満の C L o g P 値を有する、基である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 7】

R 1 が

【化 9】



40

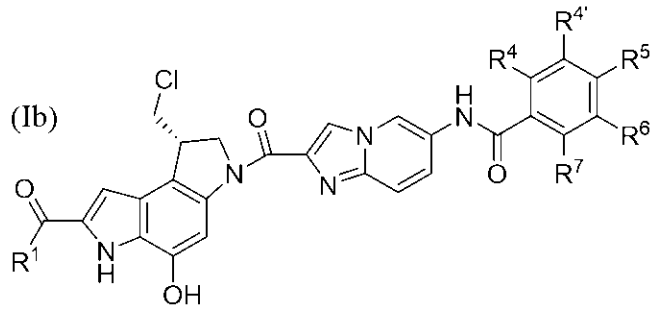
である、請求項 4 に記載の化合物。

【請求項 8】

構造式 (I b) :

50

【化 1 0】



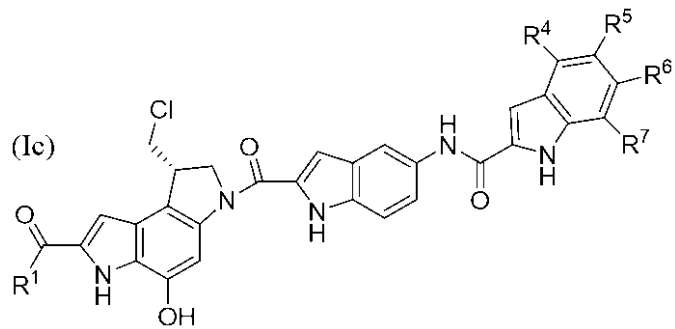
10

で示される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 9】

構造式 ( I c ) :

【化 1 1】



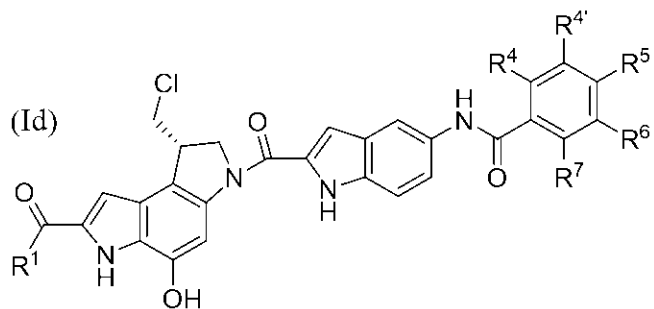
20

で示される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 1 0】

構造式 ( I d ) :

【化 1 2】



30

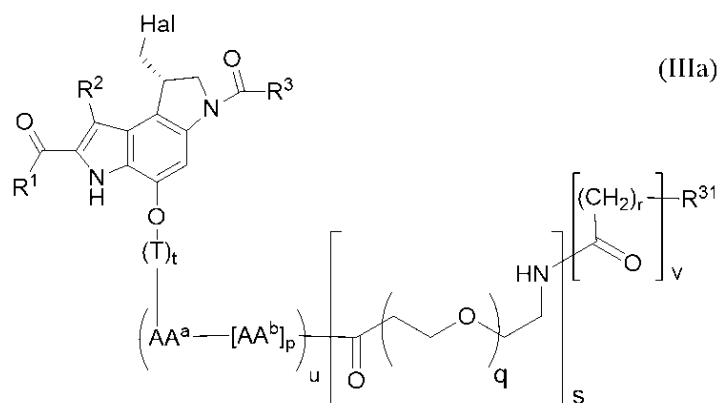
で示される、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 1 1】

構造式 ( I I I a ) :

40

## 【化 1 3】

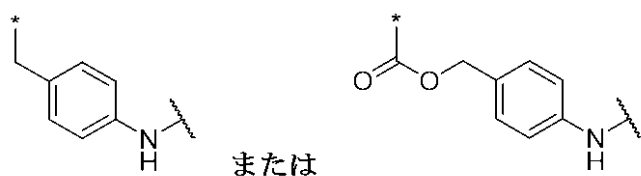


10

[ 式中 :

T は、

## 【化 1 4】



20

の構造で示される基であり、ここで、星印 ( \* ) は、セコ - C P I 化合物のフェノール性酸素と結合する末端を示し、波線

## 【化 1 5】

(~~~~~)

はポリペプチド - A A <sup>a</sup> - [ A A <sup>b</sup> ] <sub>p</sub> - に結合する末端を示し ;

30

t は 0 または 1 であり ;

A A <sup>a</sup> および各 A A <sup>b</sup> は、アラニン、 - アラニン、 - アミノ酪酸、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、 - カルボキシグルタミン酸、シトルリン、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リシン、メチオニン、ノルロイシン、ノルバリン、オルニチン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、およびバリンからなる群より独立して選択され ;

u は 0 または 1 であり ;

p は 1、2、3、または 4 であり ;

q は 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または 12 であり ;

40

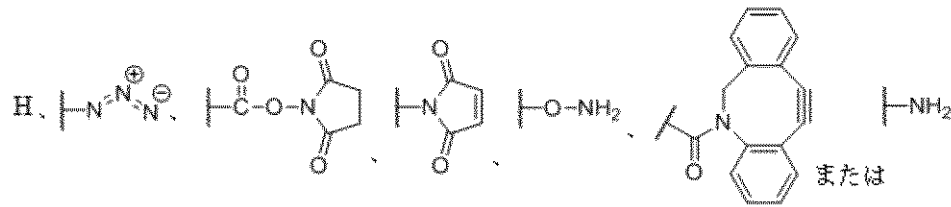
r は 1、2、3、4、または 5 であり ;

s は 0 または 1 であり ;

v は 0 または 1 であり ;

R <sup>3 1</sup> は、

## 【化 1 6】



である；

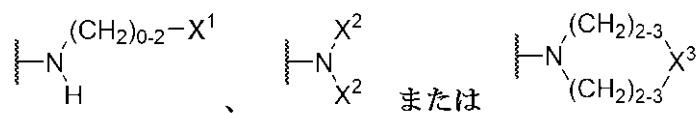
ただし、 $s$  が 1 で、 $v$  が 0 の場合にのみ、 $R^{31}$  は H とすることができ、そして  $s$  が 1 で、 $R^{31}$  が H である場合にのみ、 $v$  は 0 とすることができ；

10

$Hal$  は Cl または Br であり；

$R^1$  は

## 【化 1 7】



であり；

20

$R^2$  は H、 $C_1 - C_3$  アルキル、 $CO_2H$ 、 $CO_2(C_1 - C_3 \text{ アルキル})$ 、 $C(=O)NH_2$ 、 $C(=O)NH(C_1 - C_3 \text{ アルキル})$ 、または  $C(=O)N(C_1 - C_3 \text{ アルキル})_2$  であり；

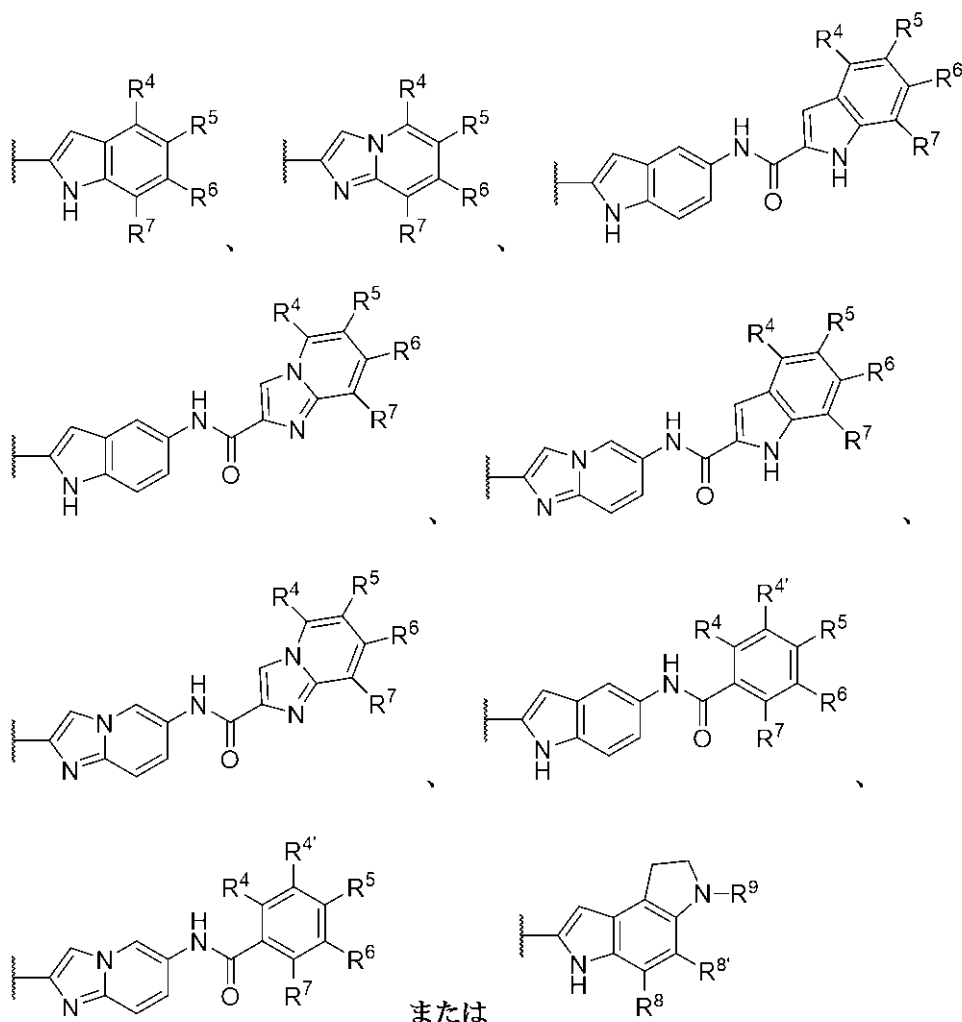
$R^3$  は

30

40

50

## 【化 1 8】



10

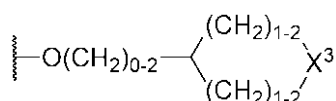
20

であり；

30

R<sup>4</sup>、R<sup>4'</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、またはR<sup>7</sup>は、独立して、H、OMe、OH、6員のアリール基、5員または6員のヘテロアリール基、NH<sub>2</sub>、NHMe、NMe<sub>2</sub>、NH(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル)、N(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル)<sub>2</sub>、NHC(=O)X<sup>1</sup>、O(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル)、O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-2</sub>(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>シクロアルキル)、O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-2</sub>X<sup>1</sup>、または

## 【化 1 9】



40

であり；

ここで、C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基は置換されていないか、またはOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、OH、またはNH<sub>2</sub>で置換されていてもよく、アリールまたはヘテロアリール基は、C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>アルキル、OH、NH<sub>2</sub>、NH(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>アルキル)、N(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>アルキル)<sub>2</sub>、F、Cl、Br、NO<sub>2</sub>、またはCNで置換されていてもよい；ただし、R<sup>4</sup>、R<sup>4'</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、およびR<sup>7</sup>のうち少なくとも1つはH以外の基であり；

R<sup>8</sup>およびR<sup>8'</sup>は、独立して、H、OH、O(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキル)、Cl、Br、F、O(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>NH<sub>2</sub>、またはO(CH<sub>2</sub>)<sub>2-4</sub>OHであり；

50



R<sup>9</sup> は、H、C(=O)(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキル)、C(=O)NH<sub>2</sub>、C(=O)NH(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキル)、C(=O)(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキル)<sub>2</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-4OH、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-4O(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキル)、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-4NH<sub>2</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-4NH(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキル)、または(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-4N(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキル)<sub>2</sub>であり；

X<sup>1</sup> は、各々独立して、6員のアリール、または5ないし6員のヘテロアリール基であって、置換されていないか、またはC<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキル、OH、O(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキル)、NH<sub>2</sub>、NH(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキル)、N(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキル)<sub>2</sub>、F、Cl、Br、NO<sub>2</sub>、またはCNで置換されており；

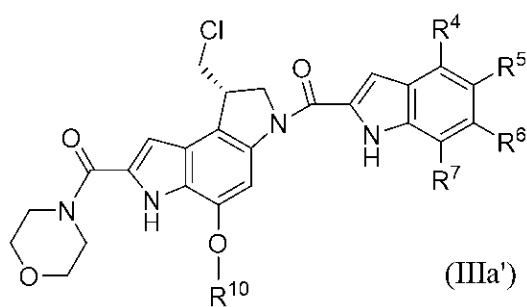
X<sup>2</sup> は、各々独立して、H、Me、またはC<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基であって、置換されていないか、またはOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、OH、またはNH<sub>2</sub>で置換されていてもよく；および

X<sup>3</sup> は、各々独立して、O、NH、N(C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキル)、またはSである]  
で示されるセコ-CPI-リンカー化合物またはその医薬的に許容される塩。

【請求項12】

構造式(IIIa')：

【化20】

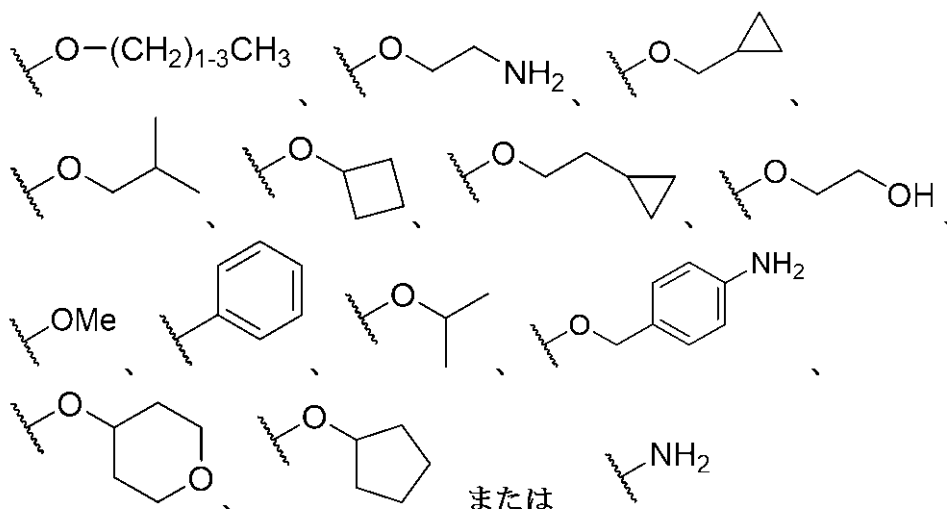


[式中：

R<sup>4</sup>、R<sup>6</sup>、およびR<sup>7</sup>は、各々、Hであり；および

R<sup>5</sup>は、

【化21】



であり；

R<sup>10</sup>は

10

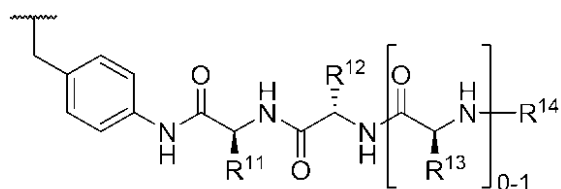
20

30

40

50

## 【化 2 2】

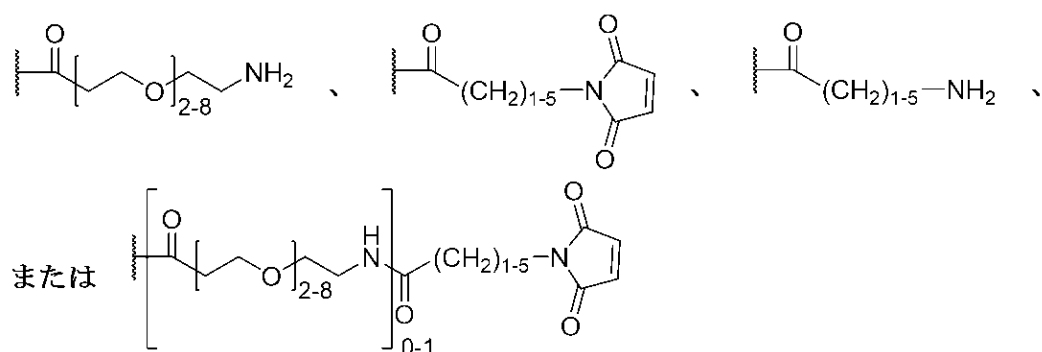


であり；

R 1 1、R 1 2、および R 1 3 は、独立して、H、CH<sub>3</sub>、CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H、CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H、CH<sub>2</sub>C(=O)NH<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(=O)NH<sub>2</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>、または (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=O)NH<sub>2</sub> であり；および

R 1 4 は

## 【化 2 3】

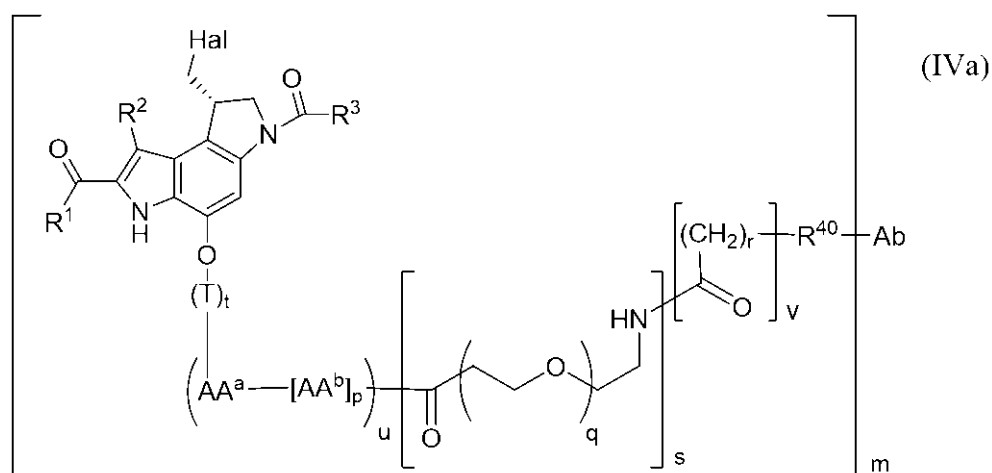


である、請求項 1 1 に記載のセコ - C P I - リンカー化合物。

## 【請求項 1 3】

構造式 ( I V a )：

## 【化 2 4】



[ 式中

A b は抗体であり；

R 4 0 は、結合手、

10

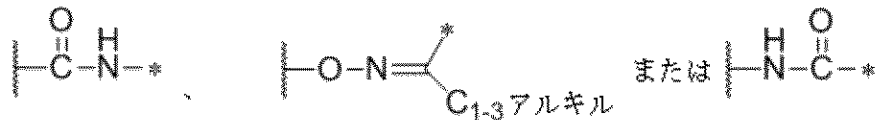
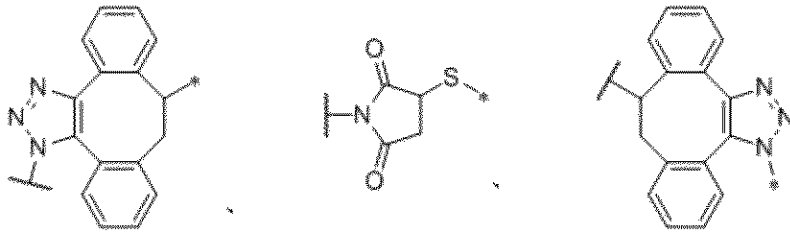
20

30

40

50

## 【化 2 5】



10

であり、ここで A b と結合する R<sup>40</sup> の共有結合部位は星印 ( \* ) で示され、( C H<sub>2</sub> )<sub>r</sub> と結合する R<sup>40</sup> の共有結合部位は波線

## 【化 2 6】

(~~~~~)

20

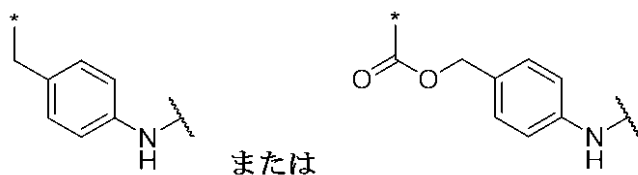
で示され；

m は 1、2、3、または 4 であり；

v は 0 または 1 である：ただし、s が 1 で、R<sup>40</sup> が結合手の場合にのみ、v は 0 とすることができ、そして v が 0 で、s が 1 である場合にのみ、R<sup>40</sup> は結合手とすることができ；

T は、

## 【化 2 7】



30

の構造で示される基であり、ここで、星印 ( \* ) は、セコ - C P I 化合物のフェノール性酸素と結合する末端を示し、波線

## 【化 2 8】

(~~~~~)

40

はポリペプチド - A A<sup>a</sup> - [ A A<sup>b</sup> ]<sub>p</sub> - に結合する末端を示し；

t は 0 または 1 であり；

A A<sup>a</sup> および各 A A<sup>b</sup> は、アラニン、 - アラニン、 - アミノ酪酸、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、 - カルボキシグルタミン酸、シトルリン、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リシン、メチオニン、ノルロイシン、ノルバリン、オルニチン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、およびバリンからなる群より独立して選択され；

u は 0 または 1 であり；

p は 1、2、3、または 4 であり；

50

q は 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または 12（好ましくは、2、3、4、または 8）であり；

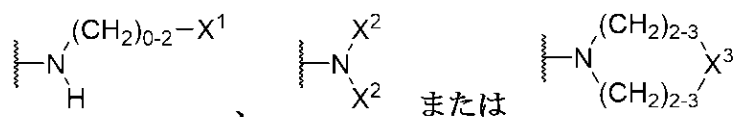
r は 1、2、3、4、または 5 であり；

s は 0 または 1 であり；

Hal は Cl または Br であり；

R<sup>1</sup> は

【化 29】



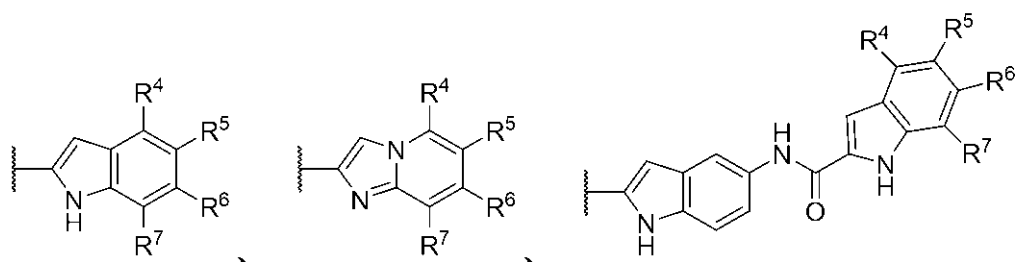
10

であり；

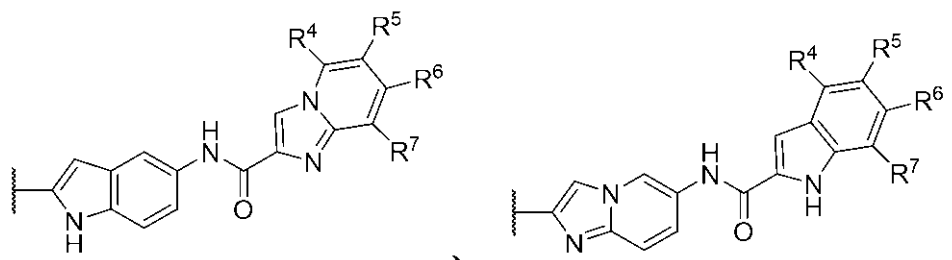
R<sup>2</sup> は、H、C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル、CO<sub>2</sub>H、CO<sub>2</sub> (C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)、C(=O)NH<sub>2</sub>、C(=O)NH(C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)、または C(=O)N(C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)<sub>2</sub> であり；

R<sup>3</sup> は

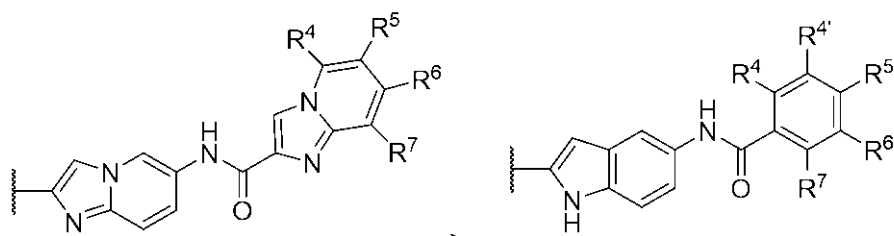
【化 30】



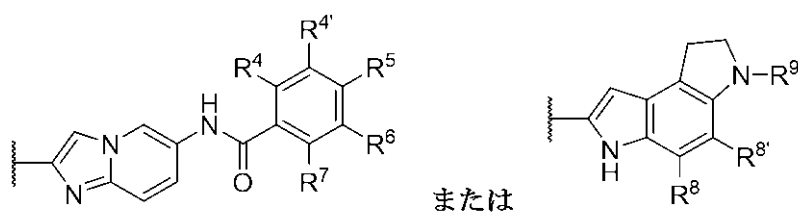
20



30



40



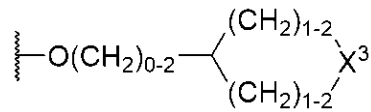
であり；

R<sup>4</sup>、R<sup>4'</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、または R<sup>7</sup> は、独立して、H、OMe、OH、6 員のアリーール

50

基、5員または6員のヘテロアリール基、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{NHMe}$ 、 $\text{NMe}_2$ 、 $\text{NH}(\text{C}_2 - \text{C}_4 \text{ アルキル})$ 、 $\text{N}(\text{C}_2 - \text{C}_4 \text{ アルキル})_2$ 、 $\text{NHC}(=\text{O})\text{X}^1$ 、 $\text{O}(\text{C}_2 - \text{C}_4 \text{ アルキル})$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_{0-2}(\text{C}_3 - \text{C}_6 \text{ シクロアルキル})$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_{0-2}\text{X}^1$ 、または

【化31】



であって、

ここで $\text{C}_2 - \text{C}_4$ アルキル基は、置換されていなくても、 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、 $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、 $\text{OH}$ 、または $\text{NH}_2$ によって置換されてもよく、アリールまたはヘテロアリール基は $\text{C}_1 - \text{C}_2$ アルキル、 $\text{OH}$ 、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{NH}(\text{C}_1 - \text{C}_2 \text{ アルキル})$ 、 $\text{N}(\text{C}_1 - \text{C}_2 \text{ アルキル})_2$ 、 $\text{F}$ 、 $\text{Cl}$ 、 $\text{Br}$ 、 $\text{NO}_2$ 、または $\text{CN}$ で置換されてもよい；

ただし、 $\text{R}^4$ 、 $\text{R}^{4'}$ 、 $\text{R}^5$ 、 $\text{R}^6$ 、および $\text{R}^7$ のうち少なくとも1つはH以外の基であり；

$\text{R}^8$ および $\text{R}^{8'}$ は、独立して、 $\text{H}$ 、 $\text{OH}$ 、 $\text{O}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ アルキル})$ 、 $\text{Cl}$ 、 $\text{Br}$ 、 $\text{F}$ 、 $\text{O}(\text{CH}_2)_2 - 4 \text{ NH}_2$ 、または $\text{O}(\text{CH}_2)_2 - 4 \text{ OH}$ であり；

$\text{R}^9$ は、 $\text{H}$ 、 $\text{C}(=\text{O})(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ アルキル})$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$ 、 $\text{C}(=\text{O})\text{NH}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ アルキル})$ 、 $\text{C}(=\text{O})(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ アルキル})_2$ 、 $(\text{CH}_2)_2 - 4 \text{ OH}$ 、 $(\text{CH}_2)_2 - 4 \text{ O}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ アルキル})$ 、 $(\text{CH}_2)_2 - 4 \text{ NH}_2$ 、 $(\text{CH}_2)_2 - 4 \text{ NH}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ アルキル})$ 、または $(\text{CH}_2)_2 - 4 \text{ N}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ アルキル})_2$ であり；

$\text{X}^1$ は、各々独立して、6員のアリールまたは5ないし6員のヘテロアリール基であって、置換されていないか、または $\text{C}_1 - \text{C}_3$ アルキル、 $\text{OH}$ 、 $\text{O}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ アルキル})$ 、 $\text{NH}_2$ 、 $\text{NH}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ アルキル})$ 、 $\text{N}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ アルキル})_2$ 、 $\text{F}$ 、 $\text{Cl}$ 、 $\text{Br}$ 、 $\text{NO}_2$ 、または $\text{CN}$ で置換されており；

$\text{X}^2$ は、各々独立して、 $\text{H}$ 、 $\text{Me}$ 、または $\text{C}_2 - \text{C}_4$ アルキル基であって、置換されていないか、 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、 $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ 、 $\text{OH}$ 、または $\text{NH}_2$ で置換されていてもよく；および

$\text{X}^3$ は、各々独立して、 $\text{O}$ 、 $\text{NH}$ 、 $\text{N}(\text{C}_1 - \text{C}_3 \text{ アルキル})$ 、または $\text{S}$ である]で示される、抗体-薬物コンジュゲート、またはその医薬的に許容される塩。

【請求項14】

がんを治療するための、請求項1に記載の化合物、またはその抗体とのコンジュゲートを含む医薬組成物。

【請求項15】

化合物が抗体とコンジュゲートしている、請求項14に記載の医薬組成物。

【請求項16】

がんが、肺がん、胃がん、卵巣がん、または結腸がんである、請求項14または15に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願の相互参照)

本願は、35 U.S.C. § 119(e)の下に、2016年8月19日付け出願の米国仮特許出願番号62/377,052の利益を主張するものであり；その内容を出典明示により本明細書に組み込むものとする。

【背景技術】

【0002】

10

20

30

40

50

本願は、セコ - シクロプロパピロロインドール化合物、そのコンジュゲート、ならびにかかる化合物およびコンジュゲートの製造および使用方法に関する。

【 0 0 0 3 】

二重らせん DNA は、その外側に沿って長手方向に走る、2 本の螺旋溝を有し、それは理髪店のボールにある縞とよく似ている。2 本の溝は同一ではなく：一方は主溝と呼ばれ、副溝と称される他方よりもずっと大きい。

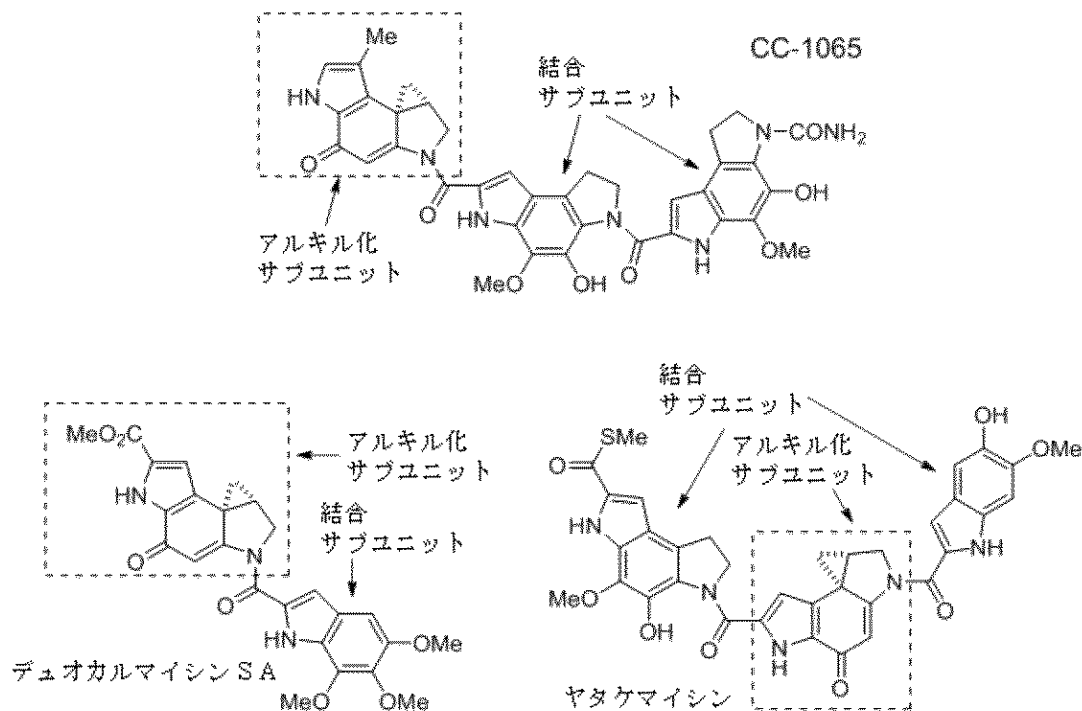
【 0 0 0 4 】

副溝の幅はベンゼン環の厚みとほとんど同じである。生物学的に活性な DNA 結合分子の多くは、弓形の痕跡を有する実質的に平坦な多芳香族分子であり、かかる形状によりそれらが副溝中をぴったりと摺動することを可能とする。一連のこれらの分子は、DNA と結合するだけでなく、それをアルキル化することもでき、DNA 副溝結合体 - アルキレーター (「MGBA」) と称される。

【 0 0 0 5 】

MGBA のサブクラスは、天然物である、CC - 1065、デュオカルマイシン SA (Duocarmycin SA)、およびヤタケマイシン (yatakemycin) によって代表される (Boger および Johnson、1995 ; Tichenor ら、2007)。(本明細書にて引用される刊行物について第 1 の著者または発明者と、発表年とによる十分な記載を本明細書の末尾に列挙する。)それらの化合物は、アルキル化サブユニット、および 1 または複数の結合サブユニットを含み、後者のサブユニットは DNA との結合に寄与するが、それとは化学的に反応しない。CC - 1065 およびデュオカルマイシン SA では、アルキル化サブユニットは分子の一端にあり、結合サブユニットは他端にある。ヤタケマイシンでは、アルキル化サブユニットはその両側面が結合サブユニットによって位置づけられる。全体の MGBA 構造に対応するように、アルキル化および結合サブユニットはそれ自体がポリ芳香族であり、実質的に平坦である。アルキル化サブユニットは、シクロプロパピロロ - インドール (「CPI」) コア構造を有するため、このサブクラスでの MGBA は、エポニム的に CPI 化合物と称される。

【 化 1 】

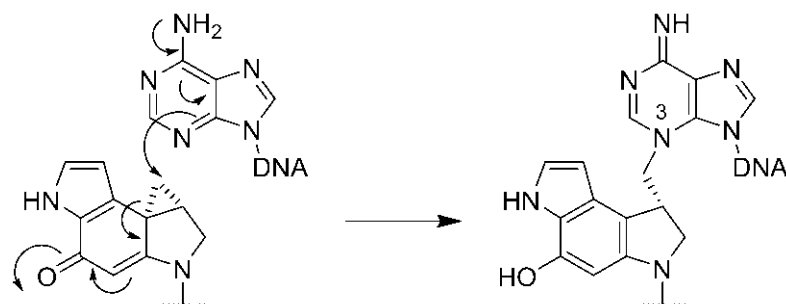


【 0 0 0 6 】

DNA と結合すると、その CPI のシクロプロピル環は活性化され、DNA をアデニンの N3 窒素でアルキル化する (Hurley ら、1984)。その活性化を説明するために提案され

た一の理論が、結合が既に歪んだシクロプロピル環にさらなる立体配座歪みを導入し、その反応性を増大させるというものである (Boger 2001 ; Bogerら、1997 ; Tichenorら 1997)。

#### 【化 2】



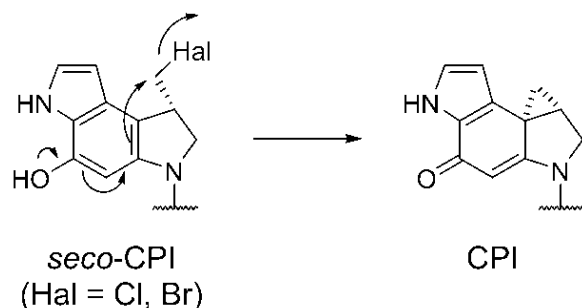
10

#### 【0007】

セコ - C P I 化合物は、シクロプロピル環が開環し、ハロメチル基で置換された、C P I 化合物の変種である。セコ - C P I 化合物それ自体は DNA をアルキル化しないが、それらはインビトロまたはインビボにて C P I 化合物に容易に変換可能であり、その生物学的活性は本質的に後者と同じである (Liら、2012)。かくして、セコ - C P I 化合物は、C P I 化合物の合成に都合のよい機能的等価物として、またはその合成のための中間体として興味のある化合物である (Bogerら、2000)。

20

#### 【化 3】



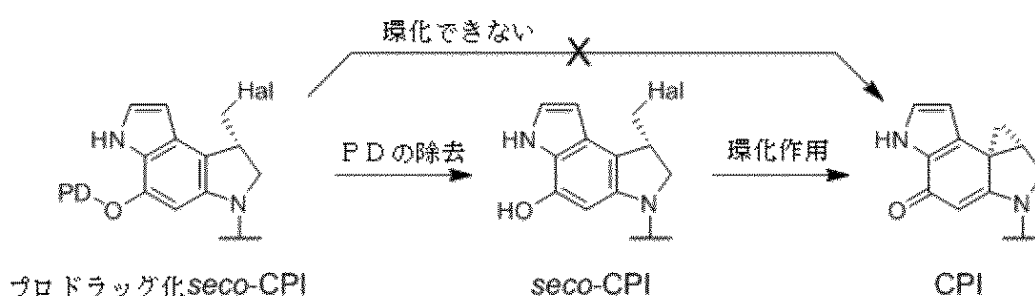
30

#### 【0008】

セコ - C P I 化合物の利点は、該化合物をプロドラッグとし、C P I 形態への変換を調整しうることである。プロドラッグ化基 P D をフェノール性ヒドロキシル基と結合させることで、P D がまず切断されない限り、C P I 形態への変換が防止される。P D は、腫瘍などの、それが意図する生物学的作用の部位で、またはその付近で見つかる、剤で切断され、全身毒性の危険性を減少させるように、選択され得る。P D は、好ましくは、カルバマート、ホスファート、グリコシド、またはグルクロニドなどの、酵素で切断できる基であり、それは、各々、カルボキシエステラーゼ、ホスファターゼ、グリコシダーゼ、またはグルクロニダーゼによって切断される。例えば、Kobayashiら、1994 ; Lajinessら、2010 ; Sufiら、2013 ; Tietzeら、2001 ; Zhangら、2014 を参照のこと。

40

#### 【化 4】

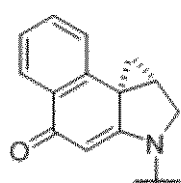


50

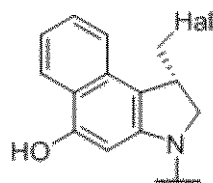
## 【 0 0 0 9 】

C P I 化合物のアナログについて研究することで、C P I ピロール基がベンゼン環と置き換えられる、もう一つ別の M G B A サブクラスが開発されるに至った。かかる化合物は、以後、アルキル化サブユニットがシクロプロパベンズインドール (「C B I」) コアである、C B I 化合物と称される。C P I 化合物と同様に、C B I 化合物は、セコおよびプロドラッグ化されたセコ形態で存在し得る。C B I 構造を簡素化するほどに、合成においてアクセスがより多くなされ、C B I 化合物は安定性および生物学的強度の両方を有することが明らかにされた (Lajinessら、2010 ; Bogerら、1990および1999)。

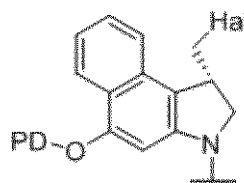
## 【 化 5 】



CBI



seco-CBI



プロドラッグ化seco-CBI

10

## 【 0 0 1 0 】

C P I および C B I の化合物は、共に、抗がん剤として魅力的な候補体となる、強力な細胞傷害性を有する。実質的な研究努力は、かかる化合物を、およびかかる使用のためにそのセコ変種を合成し、評価することに専念された。例えば、Boger 2003 ; Kobayashiら、1994 ; Liら、1992 ; NagamuraおよびSaito、1998 ; Nagamuraら、1996 ; Tichenorら、2007 ; Tietzeら、2008を参照のこと。

20

## 【 0 0 1 1 】

強い興味をかき立てる一型の抗がん剤が、がん細胞上にあるリガンドと結合する標的剤と薬物が付着している、コンジュゲートである。標的剤はこうして薬物をがん細胞に指向させ、そこで数種の作用機構の一つで薬物が放出され、がん細胞に対して作用する。

## 【 0 0 1 2 】

一般的な型のコンジュゲートが抗体 - 薬物コンジュゲート (A D C、免疫コンジュゲートとも称される) である。A D C 中で、薬物 (治療剤、細胞毒素、ペイロード、または弾頭とも称される) は抗体と共有結合しており、それに対する抗原は、腫瘍関連抗原、すなわち、腫瘍細胞によって発現される抗原である。

30

## 【 0 0 1 3 】

抗体と薬物を共有結合させる部分はリンカーと称される。各抗体が1の薬物と付着する場合、A D C の構造は

[ 抗体 ] - [ リンカー ] - [ 薬物 ]

で表すことができる。

## 【 0 0 1 4 】

抗体は、抗原と結合すると、A D C をがん部位にデリバリーする。そこで、リンカーを切断するか、または抗体を分解して、薬物を放出する。A D C がエンドサイトーシスにより標的細胞に内在化され、薬物の放出がその内部で起こることが多い。A D C が血中を循環している間は、抗体と結合しているため、その薬物は不活性を保持する。結果として、A D C 中にある薬物は、その局所化された放出が全身毒性を軽減するため、通常の化学療法剤よりもずっと強力 (細胞傷害性) であることができる。

40

## 【 0 0 1 5 】

C P I および C B I 化合物が、そのセコであるカウンターパートと共に、A D C 中の薬物として提案されてきた。例えば、Boydら、2008 ; Chariら、1995 ; Chenら、2014 ; Ducryら、2010 ; Gangwarら、2011 ; Ngら、2006、2009および2011 ; Sufiら、2013 ; Zhang et al.ら、2014 ; Zhaoら、2010を参照のこと。

## 【 発明の概要 】

50



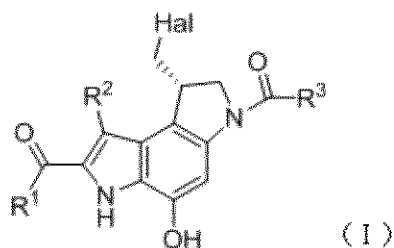
## 【 0 0 1 6 】

本発明は、ADCまたは他のコンジュゲート中の薬物として用いるのに適する、新規で、かつ非常に強力なセコ - C P I 化合物を提供する。これらの化合物は、セコ - C P I サブユニットのピロール基に結合するアミド基と、その他の末端に結合する1または複数の結合サブユニットとを有する。

## 【 0 0 1 7 】

1の態様において、本発明は、構造式 ( I ) :

## 【 化 6 】



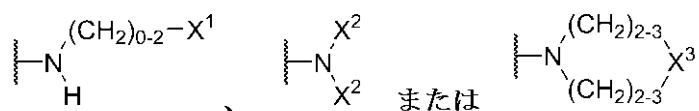
10

[ 式 中

H a l は C l または B r であり ;

R 1 は、

## 【 化 7 】



20

であり ;

R 2 は、H、C 1 - C 3 アルキル、C O 2 H、C O 2 ( C 1 - C 3 アルキル )、C ( = O ) N H 2、C ( = O ) N H ( C 1 - C 3 アルキル )、または C ( = O ) N ( C 1 - C 3 アルキル ) 2 であり ;

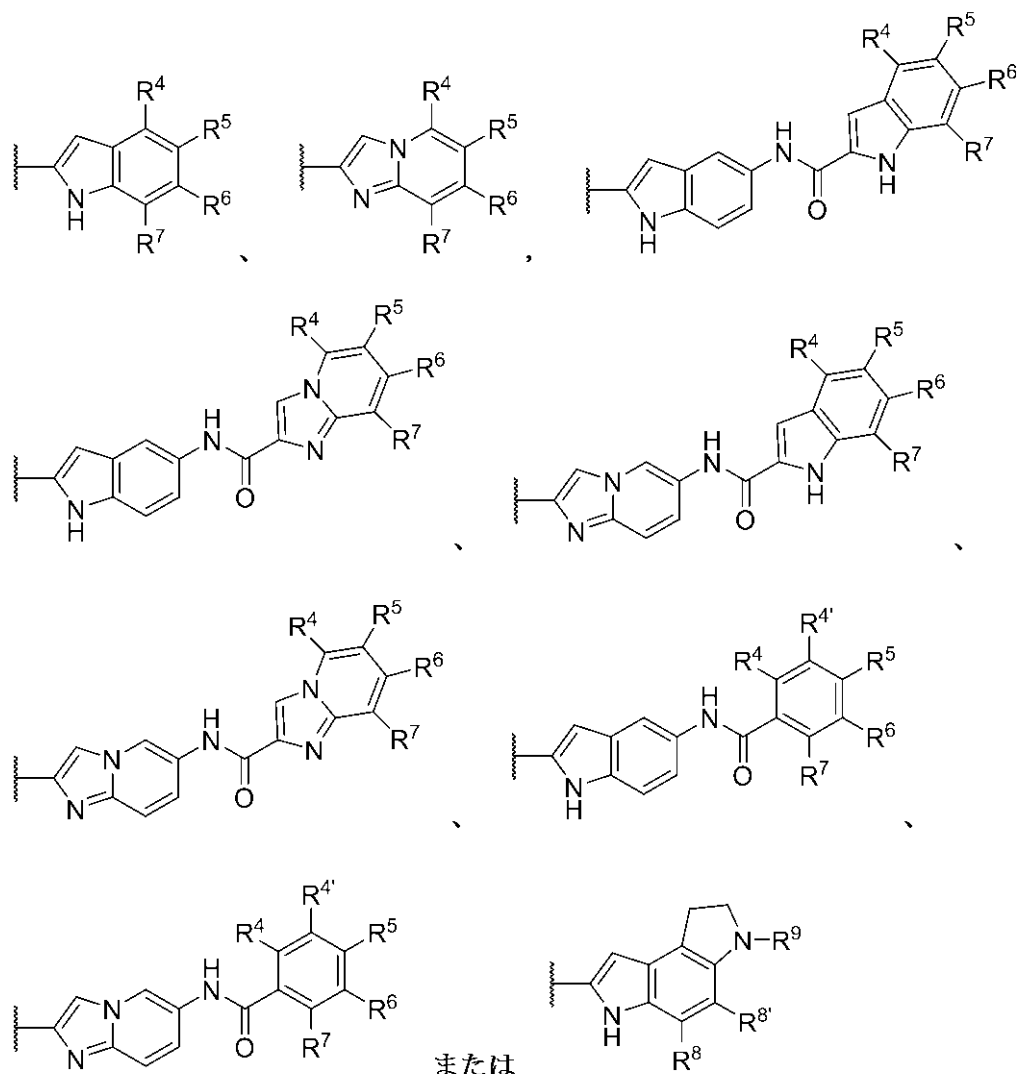
R 3 は、

30

40

50

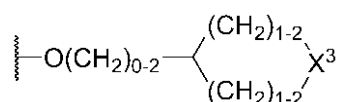
## 【化 8】



であり；

R<sup>4</sup>、R<sup>4'</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、またはR<sup>7</sup>は、独立して、H、OMe、OH、6員のアリール（好ましくは、フェニル）基、5員または6員のヘテロアリール基、NH<sub>2</sub>、NHMe、NMe<sub>2</sub>、NH(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル)、N(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル)<sub>2</sub>、NHC(=O)X<sup>1</sup>、O(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル)、O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-2</sub>(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>シクロアルキル)、O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-2</sub>X<sup>1</sup>、または

## 【化 9】



であり；

ここで、C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基は、置換されていなくても、またはOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、OH、またはNH<sub>2</sub>で置換されてもよく、アリールまたはヘテロアリール基は、C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>アルキル、OH、NH<sub>2</sub>、NH(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>アルキル)、N(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>アルキル)<sub>2</sub>、F、Cl、Br、NO<sub>2</sub>、またはCNで置換されてもよい；

ただし、R<sup>4</sup>、R<sup>4'</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、およびR<sup>7</sup>のうち少なくとも1つはH以外の基であり；

10

20

30

40

50

R<sup>8</sup> および R<sup>8'</sup> は、独立して、H、OH、O (C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)、Cl、Br、F、O (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - 4 NH<sub>2</sub>、または O (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - 4 OH であり；

R<sup>9</sup> は、H、C (= O) (C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)、C (= O) NH<sub>2</sub>、C (= O) NH (C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)、C (= O) (C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)<sub>2</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - 4 OH、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - 4 O (C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - 4 NH<sub>2</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - 4 NH (C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)、または (CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub> - 4 N (C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)<sub>2</sub> であり；

X<sup>1</sup> は、各々独立して、6 員のアリール（好ましくは、フェニル）または 5 ないし 6 員のヘテロアリール基であって、置換されていないか、または C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル、OH、O (C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)、NH<sub>2</sub>、NH (C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)、N (C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)<sub>2</sub>、F、Cl、Br、NO<sub>2</sub>、または CN で置換されており；

X<sup>2</sup> は、各々独立して、H、Me、または C<sub>2</sub> - C<sub>4</sub> アルキル基であって、置換されていないか、または OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、OH、または NH<sub>2</sub> で置換されてもよく；および

X<sup>3</sup> は、各々独立して、O、NH、N (C<sub>1</sub> - C<sub>3</sub> アルキル)、または S である ]  
で示されるセコ - C P I 化合物、またはその医薬的に許容される塩を提供する。

#### 【0018】

もう一つ別の態様において、本発明は、標的とする部分、特に抗体とのコンジュゲーションに適する、リンカーに付着する本発明のセコ - C P I 化合物を提供する。

#### 【0019】

もう一つ別の態様において、本発明は、標的とする部分に、特に抗体にリンカーを介してコンジュゲートした、本発明のセコ - C P I 化合物のコンジュゲートを提供する。

#### 【0020】

もう一つ別の態様において、本発明は、がん罹患している対象においてそのがんを治療する方法であって、治療的に効果的な量の本発明の化合物、またはそれと抗体とのコンジュゲートを該対象に投与することを含む、方法を提供する。好ましい実施態様において、治療されるがんは、肺、胃、卵巣または結腸がんである。

#### 【0021】

もう一つ別の態様において、本発明は、がん罹患している対象を治療するのに用いるための、本発明のセコ - C P I 化合物、またはそれと抗体とのコンジュゲートを提供する。該がんは、肺、胃、卵巣または結腸がんであり得る。

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0022】

【図1】図1Aおよび1Bは、本発明の化合物を製造するのに用いることができる、セコ - C P I コアの化合物を合成するためのスキームを示す。

【図2】本発明のセコ - C P I 化合物を合成するための例示としてのスキームを示す。当業者は、ある場合に、そのスキームが主に、化合物の種々のセグメントを組み立てる順序にて、または保護基を除去する順序にて異なり、これらの工程を行う順序が個々の好みの問題であり得ることが分かるであろう。

【図3】図3Aおよび3Bは、本発明のセコ - C P I リンカー化合物を合成するための例示としてのスキームを示す。またも、当業者であれば、特定の工程を行う順序の変更が個々の好みに供されることが分かるであろう。

【図4】本発明のセコ - C P I 化合物を合成するための例示としてのスキームを示す。

#### 【0023】

【図5】本発明のセコ - C P I リンカー化合物を合成するための例示としてのスキームを示す。

【図6】本発明のセコ - C P I 化合物を合成するための例示としてのスキームを示す。

【図7】本発明のセコ - C P I 化合物を合成するための例示としてのスキームを示す。

【図8】本発明のセコ - C P I 化合物を合成するための例示としてのスキームを示す。

#### 【0024】

【図 9】本発明のセコ - C P I 化合物を合成するための例示としてのスキームを示す。

【図 10】本発明のセコ - C P I 化合物を合成するための例示としてのスキームを示す。

【図 11】本発明のセコ - C P I 化合物を合成するための例示としてのスキームを示す。

【図 12】本発明のセコ - C P I 化合物を合成するための例示としてのスキームを示す。

【発明を実施するための形態】

【0025】

#### 定義

「抗体」は、全抗体、およびいずれかの抗原結合フラグメント（すなわち、「抗原結合部」）またはその単一鎖変種を意味する。全抗体は、ジスルフィド結合により相互に結合した、少なくとも 2 本の重鎖（H 鎖）と 2 本の軽鎖（L 鎖）とを含むタンパク質である。各重鎖は、重鎖可変領域（V<sub>H</sub>）と、3 種のドメイン、C<sub>H</sub>1、C<sub>H</sub>2 および C<sub>H</sub>3 を含む重鎖定常領域とを含む。各軽鎖は、軽鎖可変領域（V<sub>L</sub> または V<sub>K</sub>）と、1 つの単一ドメイン、C<sub>L</sub> を含む軽鎖定常領域とを含む。V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> 領域はさらに、相補性決定領域（CDR）と称される超可変領域と、保存性のより高い散在したフレームワーク領域（FR）に細分割することができる。V<sub>H</sub> および V<sub>L</sub> は、各々、3 個の CDR と 4 個の FR とを含み、アミノ末端からカルボキシ末端の方向に、次の順序：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、および FR4 で配列されている。可変領域は抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。定常領域は、抗体の、宿主組織または因子（免疫系の種々の細胞（例えば、エフェクター細胞）および典型的な補体系の第一成分（C1q）を含む）との、結合を媒介してもよい。抗体が、抗原 X と、 $5 \times 10^{-8}$  M 未満、より好ましくは  $6 \times 10^{-9}$  M 未満、さらにより好ましくは  $3 \times 10^{-9}$  M 未満、その上より好ましくは  $2 \times 10^{-9}$  M 未満の K<sub>D</sub> で、抗原 X と結合するならば、その抗体はその抗原 X に「特異的に結合する」と言える。抗体はキメラ、ヒト化と、または好ましくはヒトとすることができる。重鎖定常領域は、グリコシル化の型または程度に影響を及ぼし、抗体の半減期を延ばし、エフェクター細胞または補体系との相互作用を強化または軽減し、あるいは他のいくつかの特性を調整するように操作され得る。その工学操作は、1 または複数のアミノ酸を置換、付加または欠失することにより、またはドメインをもう一つ別の免疫グロブリン型からのドメインと置換すること、あるいはそれらの組み合わせにより達成され得る。

【0026】

抗体の「抗原結合フラグメント」および「抗原結合部」（あるいは簡単に「抗体部」または「抗体フラグメント」）は、抗体と特異的に結合する能力を保持する、抗体の 1 または複数のフラグメントを意味する。抗体の抗原と結合する作用は、(i) Fab フラグメント、V<sub>L</sub>、V<sub>H</sub>、C<sub>L</sub> および C<sub>H</sub>1 ドメインからなる一価フラグメント；(ii) F(ab')<sub>2</sub> フラグメント、ヒンジ領域でジスルフィド架橋により連結した 2 つの Fab フラグメントを含む二価フラグメント；(iii) 本質的に、Fab と、ヒンジ領域の一部とを含む、Fab' フラグメント（例えば、Abbas ら、Cellular and Molecular Immunology、6th Ed.、Saunders Elsevier 2007 を参照のこと）；(iv) V<sub>H</sub> および C<sub>H</sub>1 ドメインからなる Fd フラグメント；(v) 抗体の一本のアームの V<sub>L</sub> および V<sub>H</sub> ドメインからなる Fv フラグメント；(vi) V<sub>H</sub> ドメインからなる、dAb フラグメント（Ward ら、(1989) Nature 341: 544-546）；(vii) 単離された相補性決定領域（CDR）；および (viii) ナノボディ、単一の可変ドメインと 2 つの定常ドメインを含有する重鎖可変領域、などの全長抗体のフラグメントによって実施され得ることが示された。好ましい抗原結合フラグメントは、Fab、F(ab')<sub>2</sub>、Fab'、Fv、および Fd フラグメントである。さらには、Fv フラグメントの 2 つのドメイン、V<sub>L</sub> および V<sub>H</sub> は、別の遺伝子によりコードされるが、それらのフラグメントは、組換え技法を用い、それらの中の V<sub>L</sub> および V<sub>H</sub> 領域が組み合わさって一価の分子を形成する、単一のタンパク鎖（単一鎖 Fv、または scFv として知られる）として製造され得るようにする、合成リンカーによって接合させることができる；例えば、Bird ら (1988) Science 242: 423-426；および Huston ら (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 5879-5883）

を参照のこと。かかる単一鎖抗体はまた、抗体の「抗原結合部」なる語の範囲内にも含まれる。

【 0 0 2 7 】

「単離された抗体」は、異なる抗原特異性を有する他の抗体を実質的に含まない抗体を意味する（例えば、抗原 X と特異的に結合する単離された抗体は抗原 X 以外の抗原と特異的に結合する抗体を実質的に含まない）。しかしながら、抗原 X と特異的に結合する単離された抗体は、他の種から由来の抗原 X 分子などの他の抗原に対して交差反応性を有するかもしれない。特定の実施態様において、単離された抗体はヒト抗原 X と特異的に結合し、他の（ヒト以外の）抗原 X の抗原と交差反応しない。さらには、単離された抗体は他の細胞材料および / または化学物質を実質的に含まないかもしれない。

10

【 0 0 2 8 】

「モノクローナル抗体」または「モノクローナル抗体組成物」は、特定のエピトープに対して単一の結合特異性および親和性を示す、単一分子組成の抗体分子の調製物を意味する。

【 0 0 2 9 】

「ヒト抗体」は、フレームワーク領域および C D R 領域の両方（そしてあるとすれば、定常領域）が、ヒト生殖系列免疫グロブリン配列より誘導される、可変領域を有する抗体を意味する。ヒト抗体は、自然のまたは合成による修飾を含む、後の修飾を包含し得る。ヒト抗体はヒト生殖系列免疫グロブリン配列によってコードされないアミノ酸残基（例えば、インビトロでのランダムまたは部位特異的変異誘発、あるいはインビボでの体細胞変異によって導入される変異）を含んでもよい。しかしながら、「ヒト抗体」は、マウスなどの他の哺乳動物種の生殖系より由来の C D R 配列がヒトフレームワーク配列に移植されている、抗体を含まない。

20

【 0 0 3 0 】

「ヒトモノクローナル抗体」は、フレームワーク領域および C D R 領域の両方がヒト生殖系列免疫グロブリン配列から由来の可変領域を有する、単一の結合特異性を示す抗体を意味する。1の実施態様において、ヒトモノクローナル抗体は、不死化細胞と融合したヒト重鎖導入遺伝子および軽鎖導入遺伝子を含むゲノムを有する、ヒト以外の遺伝子導入動物、例えば、遺伝子導入マウスより得られる B 細胞を含む、ハイブリドーマによって産生される。

【 0 0 3 1 】

「脂肪族」は、直鎖または分岐鎖の、飽和または不飽和の、特定数の炭素原子（例えば、「C<sub>3</sub>脂肪族」、「C<sub>1-5</sub>脂肪族」、「C<sub>1-C5</sub>脂肪族」または「C<sub>1</sub>ないしC<sub>5</sub>脂肪族」のように、後者の3つの用語は1～5個の炭素原子を有する脂肪族部分の同意語である）を有するか、あるいは炭素原子の数が明示的に特定されていない場合には、1～4個の炭素原子（不飽和脂肪族部分の場合には、2～4個の炭素）を有する、芳香族ではない炭化水素部分を意味する。C<sub>2-4</sub>アルケン、C<sub>4-C7</sub>脂環式等にあるような、他の型における炭素数にも同様の理解が適用される。同様にして、「(CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>」なる語は、かかる語がCH<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>、およびCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>を表すように、下付き文字が1、2または3である場合の省略形であるものと理解されるべきである。

30

【 0 0 3 2 】

「アルキル」は、炭素原子の数を指定するのに同じ慣例が適用され得る、飽和脂肪族部分を意味する。例として、C<sub>1-C4</sub>アルキル部分は、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、イソブチル、t-ブチル、1-ブチル、2-ブチル等を包含するが、これらに限定されない。「アルキレン」は、CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>、およびCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>などのアルキル基の二価のカウンターパートを意味する。

40

【 0 0 3 3 】

「アルケニル」は、炭素原子の数を指定するのに同じ慣例が適用され得る、少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を有する脂肪族部分を意味する。例として、C<sub>2-C4</sub>アルケニル部分は、エテニル（ビニル）、2-プロベニル（アリルまたはプロパ-2-エニル）、シス-1-プロベニル、トランス-1-プロベニル、E-（またはZ-）2-ブテニル、

50

3 - ブテニル、1, 3 - ブタジエニル (ブタ - 1, 3 - ジエニル) 等を包含するが、これらに限定されない。

【0034】

「アルキニル」は、炭素原子の数を指定するのに同じ慣例が適用され得る、少なくとも1つの炭素 - 炭素三重結合を有する脂肪族部分を意味する。例として、C<sub>2</sub> - C<sub>4</sub> アルキニル基は、エチニル (アセチレニル)、プロパルギル (プロパ - 2 - イニル)、1 - プロピニル、ブタ - 2 - イニル等を包含する。

【0035】

「脂環式」は、1 ~ 3 個の環を有し、各環が3 ~ 8 個 (好ましくは、3 ~ 6 個) の炭素原子を有する、飽和または不飽和の非芳香族炭化水素部分を意味する。「シクロアルキル」は、各環が飽和している脂環式部分を意味する。「シクロアルケニル」は、少なくとも1個の環が少なくとも1つの炭素 - 炭素二重結合を有する、脂環式部分を意味する。「シクロアルキニル」は、少なくとも1個の環が少なくとも1つの炭素 - 炭素三重結合を有する、脂環式部分を意味する。例として、脂環式部分は、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロペンテニル、シクロヘキシル、シクロヘキセニル、シクロヘプチル、シクロオクチル、およびアダマンチルを包含するが、これらに限定されない。好ましい脂環式部分は、シクロアルキル部分、特にシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、およびシクロヘキシルである。「シクロアルキレン」はシクロアルキル基の二価のカウンターパートを意味する。

【0036】

「ヘテロ脂環式」は脂環式部分を意味し、ここで、その中の少なくとも1個の環では、3個まで (好ましくは1ないし2個) の炭素が、N、OまたはSより独立して選択されるヘテロ原子と置き換えられており、そのNおよびSは所望により酸化されてもよく、Nは所望により四級化されてもよい。好ましい脂環式部分は、大きさが5ないし6員の1個の環からなる。同様に、「ヘテロシクロアルキル」、「ヘテロシクロアルケニル」および「ヘテロシクロアルキニル」は、その少なくとも1個の環が上記のように修飾されている、各々、シクロアルキル、シクロアルケニル、またはシクロアルキニル部分を意味する。代表的なヘテロ脂環式部分は、アジリジニル、アゼチジニル、1, 3 - ジオキサニル、オキセタニル、テトラヒドロフリル、ピロリジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、テトラヒドロピラニル、テトラヒドロチオピラニル、テトラヒドロチオピラニル スルホン、モルホリニル、チオモルホリニル、チオモルホリニル スルホキシド、チオモルホリニル スルホン、1, 3 - ジオキソラニル、テトラヒドロ - 1, 1 - ジオキソチエニル、1, 4 - ジオキサニル、チエタニル等を包含する。「ヘテロシクロアルキレン」はヘテロシクロアルキル基の二価のカウンターパートを意味する。

【0037】

「アルコキシ」、「アリーロキシ」、「アルキルチオ」および「アリーロチオ」は、各々、- O (アルキル)、- O (アリール)、- S (アルキル)、および - S (アリール) を意味する。一例が、各々、メトキシ、フェノキシ、メチルチオ、およびフェニルチオである。

【0038】

「ハロゲン」または「ハロ」は、より狭い意味が示されない限り、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素を意味する。

【0039】

「アリール」は、単環、二環または三環式環系 (好ましくは、単環式環系) の炭化水素部分であって、ここで各環が3ないし7個の炭素原子を有し、少なくとも1個の環が芳香族である、炭化水素部分を意味する。該環系の環は、(ナフチルのように) 相互に縮合しても、あるいは (ビフェニルのように) 相互に結合してもよく、(インダニルまたはシクロヘキシルフェニルのように) 非芳香族環と縮合しても、結合してもよい。さらなる例として、アリール部分は、フェニル、ナフチル、テトラヒドロナフチル、インダニル、ビフェニル、フェナントリル、アントラセニル、およびアセナフチルを包含するが、これらに限

10

20

30

40

50

定されない。「アリーレン」はアリール基の二価のカウンターパート、例えば 1,2 - フェニレン、1,3 - フェニレン、または 1,4 - フェニレンを意味する。

#### 【0040】

「ヘテロアリール」は、単環、二環または三環式環系（好ましくは、5 ないし 7 員の単環）の部分であって、ここで各環が 3 ないし 7 個の炭素原子を有し、少なくとも 1 個の環が、N、O または S より独立して選択される 1 ~ 4 個のヘテロ原子を含有し、その N および S は所望により酸化されてもよく、N は所望により四級化されてもよい、芳香族環である、部分を意味する。そのような少なくとも 1 個のヘテロ原子を含有する芳香族環は、（ベンゾフラニルまたはテトラヒドロイソキノリルのように）別の型の環に縮合しても、あるいは（フェニルピリジルまたは 2 - シクロベンチルピリジルのように）別の型の環に直接結合してもよい。さらなる例として、ヘテロアリール部分は、ピロリル、フラニル、チオフェニル（チエニル）、イミダゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、ピリジル、N - オキシピリジル、ピリダジニル、ピリミジニル、ピラジニル、キノリニル、イソキノリニル、キナゾリニル、シンノリニル、キノザリニル、ナフチリジニル、ベンゾフラニル、インドリル、バンゾチオフェニル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、フェノチアゾリル、ベンズイミダゾリル、ベンゾトリアゾリル、ジベンゾフラニル、カルバゾリル、ジベンゾチオフェニル、アクリジニル等を包含する。「ヘテロアリーレン」は、ヘテロアリール基の二価のカウンターパートを意味する。

#### 【0041】

「置換されていないか、置換されている C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> アルキル」または「所望により置換されてもよいヘテロアリール」にあるような「置換されていないか、置換されている」または「所望により置換されてもよい」なる語を用いることによるなどの、部分が置換されてもよいことを示す場合、かかる部分は、1 または複数の、好ましくは 1 ~ 5 個の、より好ましくは 1 または 2 個の、独立して選択される置換基を有してもよい。置換基および置換パターンは、置換基が結合する部分に配慮して、化学的に安定しており、当該分野にて公知の技法、ならびに本明細書に記載の方法によって合成され得る化合物を提供するように、当業者により選択され得る。部分が「置換されていないか、置換されている」または「所望により置換されてもよい」として特定される場合、好ましい実施態様は、かかる部分は置換されていない化合物である。

#### 【0042】

「アリールアルキル」、「（ヘテロ脂環式）アルキル」、「アリールアルケニル」、「アリールアルキニル」、「ビアリールアルキル」等は、場合によっては、例えば、ベンジル、フェネチル、N - イミダゾイルエチル、N - モルホリノエチル等のように、アルキル、アルケニル、またはアルキニル部分で原子価がオープンである（満足の行かない）（open valence）、場合によっては、アリール、ヘテロ脂環式、ビアリール等の部分で置換されているものを意味する。反対に、「アルキルアリール」、「アルケニルシクロアルキル」等は、場合によっては、例えば、メチルフェニル（トリル）またはアリルシクロヘキシルのように、アリール、シクロアルキル等の部分が、場合によっては、アルキル、アルケニル等の部分で置換されているものを意味する。「ヒドロキシアルキル」、「ハロアルキル」、「アルキルアリール」、「シアノアリール」等は、アルキル、アリール等の部分が、場合によっては、1 または複数の特定される置換基（場合によっては、ヒドロキシル、ハロ等）で置換されるものである。

#### 【0043】

例えば、許容される置換基は、アルキル（特にメチルまたはエチル）、アルケニル（特にアリル）、アルキニル、アリール、ヘテロアリール、脂環式、ヘテロ脂環式、ハロ（特にフルオロ）、ハロアルキル（特にトリフルオロメチル）、ヒドロキシル、ヒドロキシアルキル（特にヒドロキシエチル）、シアノ、ニトロ、アルコキシ、- O（ヒドロキシアルキル）、- O（ハロアルキル）（特員 - OCF<sub>3</sub>）、- O（シクロアルキル）、- O（ヘテロシクロアルキル）、- O（アリール）、アルキルチオ、アリールチオ、= O、= NH、

= N (アルキル)、= NOH、= NO (アルキル)、- C (= O) (アルキル)、- C (= O) H、- CO<sub>2</sub> H、- C (= O) NHOH、- C (= O) O (アルキル)、- C (= O) O (ヒドロキシアルキル)、- C (= O) NH<sub>2</sub>、- C (= O) NH (アルキル)、- C (= O) N (アルキル)<sub>2</sub>、- OC (= O) (アルキル)、- OC (= O) (ヒドロキシアルキル)、- OC (= O) O (アルキル)、- OC (= O) O (ヒドロキシアルキル)、- OC (= O) NH<sub>2</sub>、- OC (= O) NH (アルキル)、- OC (= O) N (アルキル)<sub>2</sub>、アジド、- NH<sub>2</sub>、- NH (アルキル)、- N (アルキル)<sub>2</sub>、- NH (アリール)、- NH (ヒドロキシアルキル)、- NHC (= O) (アルキル)、- NHC (= O) H、- NHC (= O) NH<sub>2</sub>、- NHC (= O) NH (アルキル)、- NHC (= O) N (アルキル)<sub>2</sub>、- NHC (= NH) NH<sub>2</sub>、- OSO<sub>2</sub> (アルキル)、- SH、  
 - S (アルキル)、- S (アリール)、- S (シクロアルキル)、- S (= O) アルキル、- SO<sub>2</sub> (アルキル)、- SO<sub>2</sub> NH<sub>2</sub>、- SO<sub>2</sub> NH (アルキル)、- SO<sub>2</sub> N (アルキル)<sub>2</sub> 等を包含するが、これらに限定されない。

10

#### 【0044】

置換される部分が脂肪族の部分である場合、好ましい置換基は、アリール、ヘテロアリール、脂環式、ヘテロ脂環式、ハロ、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、アルコキシ、- O (ヒドロキシアルキル)、- O (ハロアルキル)、- O (シクロアルキル)、- O (ヘテロシクロアルキル)、- O (アリール)、アルキルチオ、アリールチオ、= O、= NH、= N (アルキル)、= NOH、= NO (アルキル)、- CO<sub>2</sub> H、- C (= O) NHOH、  
 - C (= O) O (アルキル)、- C (= O) O (ヒドロキシアルキル)、- C (= O) NH<sub>2</sub>、- C (= O) NH (アルキル)、- C (= O) N (アルキル)<sub>2</sub>、- OC (= O) (アルキル)、- OC (= O) (ヒドロキシアルキル)、- OC (= O) O (アルキル)、  
 - OC (= O) O (ヒドロキシアルキル)、- OC (= O) NH<sub>2</sub>、- OC (= O) NH (アルキル)、- OC (= O) N (アルキル)<sub>2</sub>、アジド、- NH<sub>2</sub>、- NH (アルキル)、- N (アルキル)<sub>2</sub>、- NH (アリール)、- NH (ヒドロキシアルキル)、- NHC (= O) (アルキル)、  
 - NHC (= O) H、- NHC (= O) NH<sub>2</sub>、- NHC (= O) NH (アルキル)、- NHC (= O) N (アルキル)<sub>2</sub>、- NHC (= NH) NH<sub>2</sub>、- OSO<sub>2</sub> (アルキル)、- SH、- S (アルキル)、- S (アリール)、- S (= O) アルキル、  
 - S (シクロアルキル)、- SO<sub>2</sub> (アルキル)、- SO<sub>2</sub> NH<sub>2</sub>、- SO<sub>2</sub> NH (アルキル)、および - SO<sub>2</sub> N (アルキル)<sub>2</sub> である。より好ましい置換基は、ハロ、ヒドロキシル、シアノ、ニトロ、アルコキシ、- O (アリール)、= O、= NOH、  
 = NO (アルキル)、- OC (= O) (アルキル)、- OC (= O) O (アルキル)、- OC (= O) NH<sub>2</sub>、- OC (= O) NH (アルキル)、- OC (= O) N (アルキル)<sub>2</sub>、アジド、- NH<sub>2</sub>、- NH (アルキル)、- N (アルキル)<sub>2</sub>、- NH (アリール)、  
 - NHC (= O) (アルキル)、- NHC (= O) H、- NHC (= O) NH<sub>2</sub>、- NHC (= O) NH (アルキル)、- NHC (= O) N (アルキル)<sub>2</sub>、および - NHC (= NH) NH<sub>2</sub> である。フェニル、シアノ、ハロ、ヒドロキシル、ニトロ、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> アルコキシ、O (C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> アルキレン) OH、および - O (C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> アルキレン) ハロが特に好ましい。

20

30

#### 【0045】

置換される部分が脂環式、ヘテロ脂環式、アリール、またはヘテロアリール部分である場合、好ましい置換基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、ハロ、ハロアルキル、ヒドロキシル、ヒドロキシアルキル、シアノ、ニトロ、アルコキシ、- O (ヒドロキシアルキル)、  
 - O (ハロアルキル)、- O (アリール)、- O (シクロアルキル)、- O (ヘテロシクロアルキル)、アルキルチオ、アリールチオ、- C (= O) (アルキル)、- C (= O) H、- CO<sub>2</sub> H、- C (= O) NHOH、- C (= O) O (アルキル)、- C (= O) O (ヒドロキシアルキル)、  
 - C (= O) NH<sub>2</sub>、- C (= O) NH (アルキル)、- C (= O) N (アルキル)<sub>2</sub>、- OC (= O) (アルキル)、- OC (= O) (ヒドロキシアルキル)、- OC (= O) O (アルキル)、- OC (= O) O (ヒドロキシアルキル)、  
 - OC (= O) NH<sub>2</sub>、- OC (= O) NH (アルキル)、- OC (= O) N (アルキル)<sub>2</sub>、アジド、- NH<sub>2</sub>、- NH (アルキル)、- N (アルキル)<sub>2</sub>、- NH (アリール)、- NHC (= O) (アルキル)、  
 - NHC (= O) H、- NHC (= O) NH<sub>2</sub>、- NHC (= O) NH (アルキル)、- NHC (= O) N (アルキル)<sub>2</sub>、および - NHC (= NH) NH<sub>2</sub> である。フェニル、シアノ、ハロ、ヒドロキシル、ニトロ、C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> アルコキシ、O (C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> アルキレン) OH、および - O (C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub> アルキレン) ハロが特に好ましい。

40

50



ルキル)<sub>2</sub>、アジド、-NH<sub>2</sub>、-NH(アルキル)、-N(アルキル)<sub>2</sub>、-NH(アリール)、-NH(ヒドロキシアルキル)、-NHC(=O)(アルキル)、-NHC(=O)H、-NHC(=O)NH<sub>2</sub>、-NHC(=O)NH(アルキル)、-NHC(=O)N(アルキル)<sub>2</sub>、-NHC(=NH)NH<sub>2</sub>、-OSO<sub>2</sub>(アルキル)、-SH、-S(アルキル)、-S(アリール)、-S(シクロアルキル)、-S(=O)アルキル、-SO<sub>2</sub>(アルキル)、-SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、-SO<sub>2</sub>NH(アルキル)、および-SO<sub>2</sub>N(アルキル)<sub>2</sub>である。より好ましい置換基は、アルキル、アルケニル、ハロ、ハロアルキル、ヒドロキシル、ヒドロキシアルキル、シアノ、ニトロ、アルコキシ、-O(ヒドロキシアルキル)、-C(=O)(アルキル)、-C(=O)H、-CO<sub>2</sub>H、-C(=O)NHOH、-C(=O)O(アルキル)、-C(=O)O(ヒドロキシアルキル)、-C(=O)NH<sub>2</sub>、-C(=O)NH(アルキル)、-C(=O)N(アルキル)<sub>2</sub>、-OC(=O)(アルキル)、-OC(=O)(ヒドロキシアルキル)、-OC(=O)O(アルキル)、-OC(=O)O(ヒドロキシアルキル)、-OC(=O)NH<sub>2</sub>、-OC(=O)NH(アルキル)、-OC(=O)N(アルキル)<sub>2</sub>、-NH<sub>2</sub>、-NH(アルキル)、-N(アルキル)<sub>2</sub>、-NH(アリール)、-NHC(=O)(アルキル)、-NHC(=O)H、-NHC(=O)NH<sub>2</sub>、-NHC(=O)NH(アルキル)、-NHC(=O)N(アルキル)<sub>2</sub>、および-NHC(=NH)NH<sub>2</sub>である。C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルキル、シアノ、ニトロ、ハロ、およびC<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>アルコキシが特に好ましい。

【0046】

「C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>アルキル」または「5～10%」のように範囲が特定されている場合、かかる範囲は、第1の例のC<sub>1</sub>およびC<sub>5</sub>、および第2の例の5%および10%のように、その範囲の両端を含む。

【0047】

特定の立体異性体が(例えば、構造式中の関連する立体中心で太字または破線での結合により、構造式中で二重結合をEまたはZ配置で記載することにより、あるいは立体化学を特定する命名法を用いることにより)具体的に示されていない限り、あらゆる立体異性体が、純粋な化合物として、ならびにその混合物として本発明の範囲内に含まれる。特記されない限り、個々のエナンチオマー、ジアステレオマー、幾何異性体、ならびにそれらの組み合わせおよび混合物はすべて本発明に含まれる。

【0048】

当業者は、化合物が、本明細書で使用される構造式で示される形態と均等である、互変異性体の形態(例えば、ケトおよびエノール形態)、共鳴形態、および両性イオン形態を有し、その構造式がかかる互変異性形態、共鳴形態または両性イオン形態を包含し得ることを認識するであろう。

【0049】

「医薬的に許容されるエステル」は、インビボにて(例えば、人体にて)加水分解して親化合物またはその塩を生成するか、それ自体が親化合物と同様の活性を有する、エステルを意味する。適切なエステルは、C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>アルキル、C<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>アルケニルまたはC<sub>2</sub>-C<sub>5</sub>アルキニルエステル、特にメチル、エチルまたはn-プロピルを包含する。

【0050】

「医薬的に許容される塩」は、医薬製剤に適する化合物の塩を意味する。化合物が1または複数の塩基性基を有する場合、該塩は、硫酸塩、臭化水素酸塩、酒石酸塩、メシル酸塩、マレイン酸塩、クエン酸塩、リン酸塩、酢酸塩、パモ酸塩(エンボン酸塩)ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、塩酸塩、乳酸塩、メチル硫酸塩、フマル酸塩、安息香酸塩、コハク酸塩、メシル酸塩、ラクトビオン酸塩、スベリン酸塩、トシル酸塩等などの酸付加塩であり得る。化合物が1または複数の酸性基を有する場合、該塩は、カルシウム塩、カリウム塩、マグネシウム塩、メグルミン塩、アンモニウム塩、亜鉛塩、ピペラジン塩、トロメタミン塩、リチウム塩、コリン塩、ジエチルアミン塩、4-フェニルシクロヘキシルアミン塩、ベンザチン塩、ナトリウム塩、テトラメチルアンモニウム塩等などの塩であり得る。多形結晶形態および溶媒和物も本発明の範囲内に包含される。

【 0 0 5 1 】

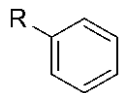
本明細書の式中、結合を横断する波線

【 化 1 0 】



または結合の末端にある星印（＊）は、共有結合部位を示す。例えば、式

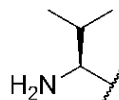
【 化 1 1 】



10

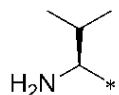
で、R が

【 化 1 2 】



である、またはR が

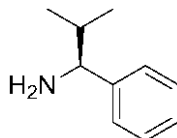
【 化 1 3 】



20

である状況は、

【 化 1 4 】



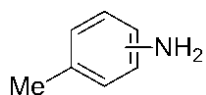
30

を意味する。

【 0 0 5 2 】

本明細書の式において、芳香族環の２個の炭素間を横切る結合手は、その結合手と結合する基がその芳香族環の利用可能ないずれの位置に配置されてもよいことを意味する。例示として、式：

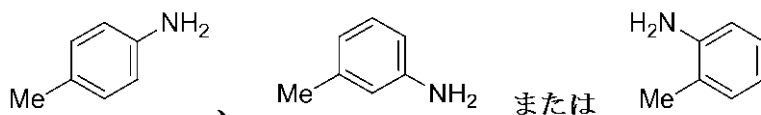
【 化 1 5 】



40

は、

【 化 1 6 】



を表す。

【 0 0 5 3 】

50

## セコ - C P I 化合物

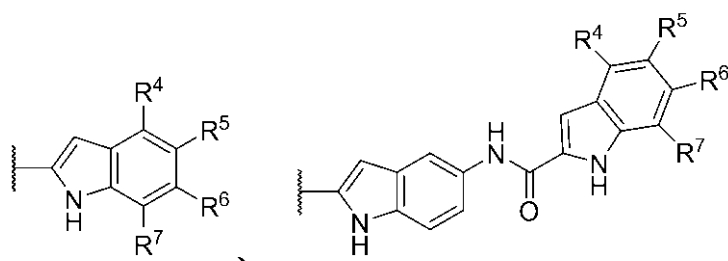
式 ( I ) およびこれらの可変基が存在する他の式において、文脈上、異なる好ましい実施態様または好ましい実施態様の組み合わせが適用され得ることが示されない限り、以下の好ましい実施態様が、個々に、または他の好ましい実施態様と組み合わせるかのいずれかで適用される。

( i ) H a l が C l である。

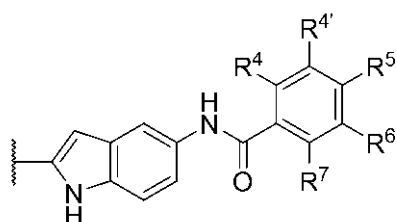
( i i ) R <sup>2</sup> が H である。

( i i i ) R <sup>3</sup> が、

【化 1 7】



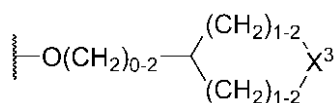
または



である。

( i v ) R <sup>5</sup> が、OMe、OH、フェニル、NH<sub>2</sub>、NHMe、NMe<sub>2</sub>、NH(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル)、N(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル)<sub>2</sub>、NHC(=O)X<sup>1</sup>、O(C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル)、O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-2</sub>(C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>シクロアルキル)、O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-2</sub>X<sup>1</sup>、または式：

【化 1 8】



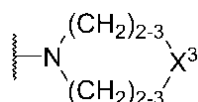
で示される基であり；

ここで、C<sub>2</sub>-C<sub>4</sub>アルキル基は、置換されていなくても、あるいはOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH、NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>、OH、またはNH<sub>2</sub>で置換されてもよく、フェニル基はC<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>アルキル、OH、NH<sub>2</sub>、NH(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>アルキル)、N(C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub>アルキル)<sub>2</sub>、F、Cl、Br、NO<sub>2</sub>、またはCNで置換されてもよい；

(すなわち、R<sup>5</sup>はR<sup>4</sup>、R<sup>4'</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、またはR<sup>7</sup>の一つであり、H以外の基である)。

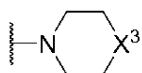
( v ) R <sup>1</sup> が

【化 1 9】



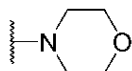
であり、より好ましくは、

## 【化 2 0】



であり、最も好ましくは、

## 【化 2 1】



である。

10

(v i) R<sup>4</sup>、R<sup>4</sup>′、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、およびR<sup>7</sup>のうち3個未満は、より好ましくは2個未満は、H以外の基である。

(v i i) X<sup>1</sup>中にあるアリールまたはヘテロアリール基は、フェニル、ピロリル、フランニル、チエニル、イミダゾリル、ピラゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、テトラゾリル、ピリジル、ピリダジニル、またはピラジニルであり；より好ましくは、フェニル、特にNH<sub>2</sub>またはOHで置換されるフェニルである。

(v i i i) R<sup>1</sup>が、

## 【化 2 2】



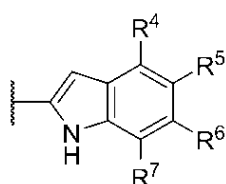
20

である場合、X<sup>2</sup>のうち少なくとも1つはH以外の基である。

## 【0054】

上記した選択肢(i i i)について、R<sup>3</sup>は、より好ましくは、

## 【化 2 3】



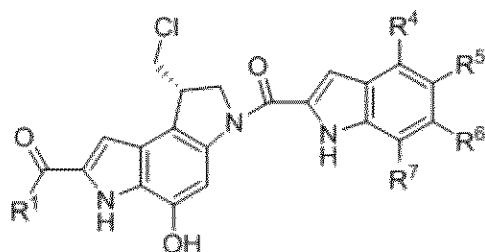
30

であり、さらにより好ましくは、R<sup>4</sup>、R<sup>6</sup>、およびR<sup>7</sup>の各々がHである場合である。

## 【0055】

本発明の好ましい態様において、式(I)の化合物は、式(I a)

## 【化 2 4】



(I a)

40

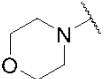
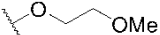
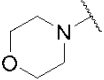

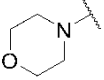

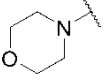
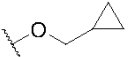
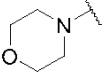
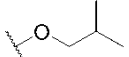
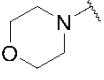
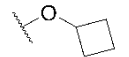
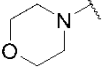
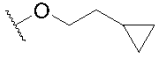
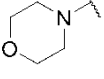
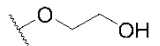
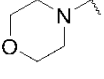

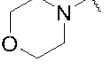
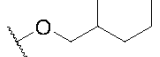
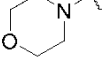

で示される構造(式中、R<sup>1</sup>、R<sup>4</sup>、R<sup>5</sup>、R<sup>6</sup>、およびR<sup>7</sup>は、上記の「発明の概要」のセクションにおいて式(I)について定義されるとおりである)を有する。

## 【0056】

式(I a)の化合物の例を表Iに列挙する。特記されない限り、R<sup>4</sup>、R<sup>6</sup>、およびR<sup>7</sup>

50

は、各々、Hである。  
【表 1】

表 I 式 ( I a ) の化合物		
化合物 番号	R <sup>1</sup>	R <sup>5</sup>
Ia-01		
Ia-02		
Ia-03		
Ia-04		
Ia-05		
Ia-06		
Ia-07		
Ia-08		
Ia-09		
Ia-10		
Ia-11		

10

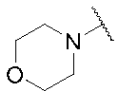
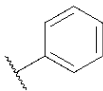
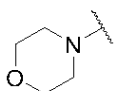
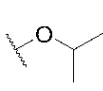
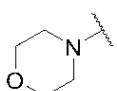
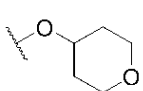
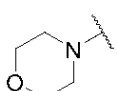
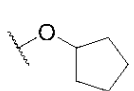
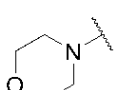
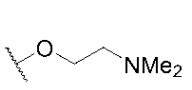
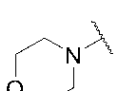
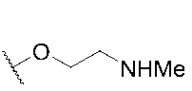
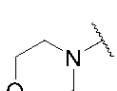
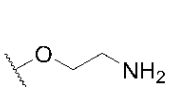
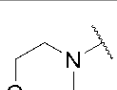

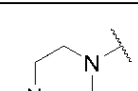

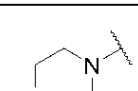

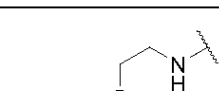

20

30

40

50

【表 2】

<b>Ia-12</b>		
<b>Ia-13</b>		
<b>Ia-14</b>		
<b>Ia-15</b>		
<b>Ia-16</b>		
<b>Ia-17</b>		
<b>Ia-18</b>		
<b>Ia-19</b>		
<b>Ia-20</b>		
<b>Ia-21</b>		
<b>Ia-22</b>		

10

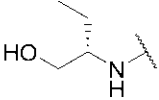

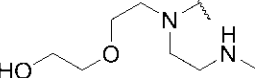

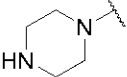

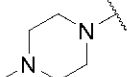

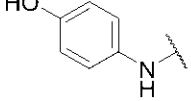
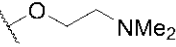
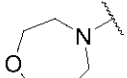

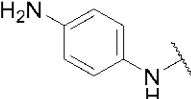
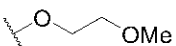
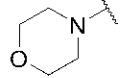

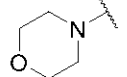
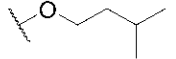
20

30

40

50

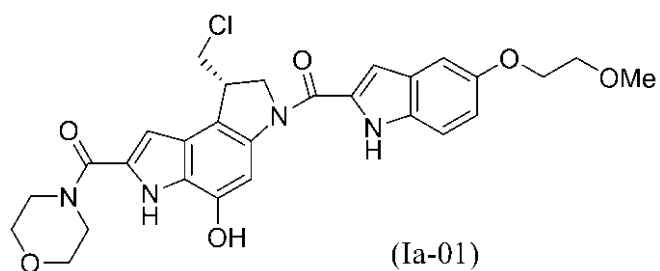
【表 3】

<b>Ia-23</b>		
<b>Ia-24</b>		
<b>Ia-25</b>		
<b>Ia-26</b>		
<b>Ia-27</b>		
<b>Ia-28</b>		
<b>Ia-29</b>		
<b>Ia-30</b>		 <b>(R<sup>4</sup> = H, R<sup>6</sup> = R<sup>7</sup> = OMe)</b>
<b>Ia-31</b>		

【 0 0 5 7 】

好ましいセコ - C P I 化合物は ( I a - 0 1 ) であり、その完全な構造を次に示す。

【 化 2 5 】



【 0 0 5 8 】

好ましいセコ - C P I 化合物は ( I a - 0 2 ) であり、その完全な構造を次に示す。

10

20

30

40

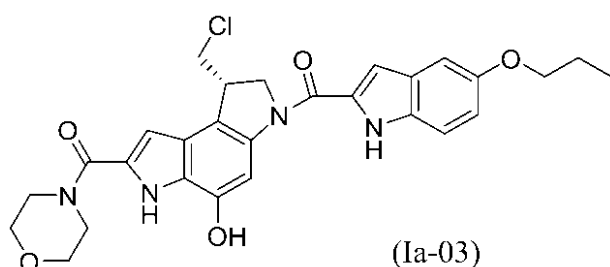
50

CCOc1ccc2c(c1)c[nH]c2C(=O)N3[C@H](Cl)[C@@H](C(=O)c4c[nH]c5cc(O)ccc45)C3

(Ia-02)

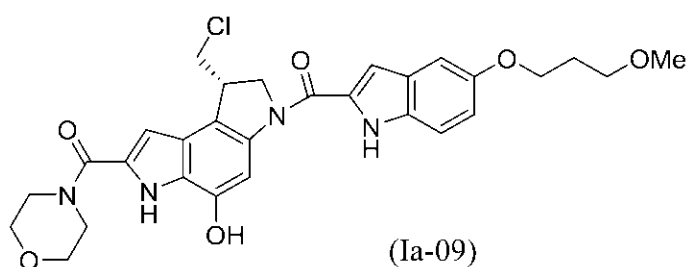
10

【化 2 7】



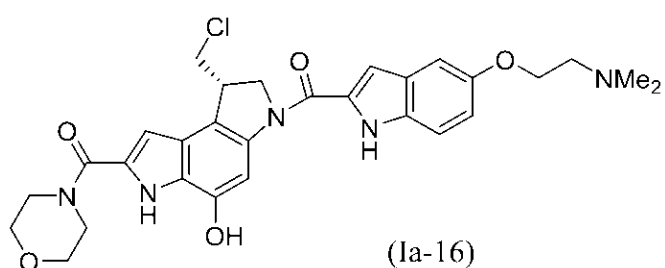
20

【化 2 8】



30

【化 2 9】

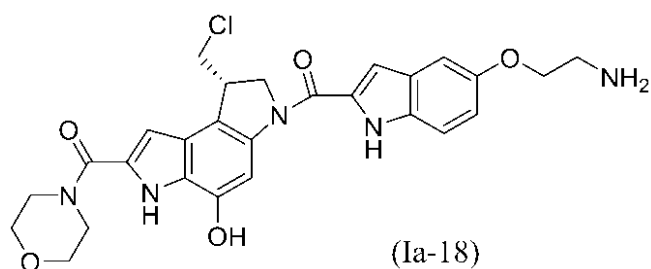


40

好ましいセコ - C P I 化合物は ( I a - 0 1 8 ) であり、その完全な構造を次に示す。



【化 3 0】

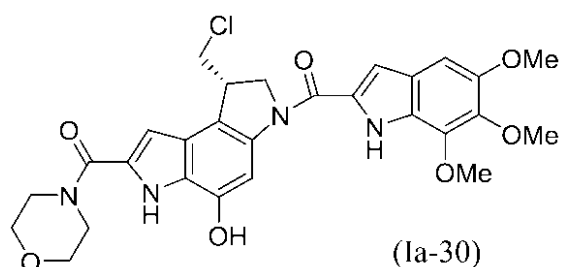


【 0 0 6 3】

10

好ましいセコ - C P I 化合物は ( I a - 3 0 ) であり、その完全な構造を次に示す。

【化 3 1】

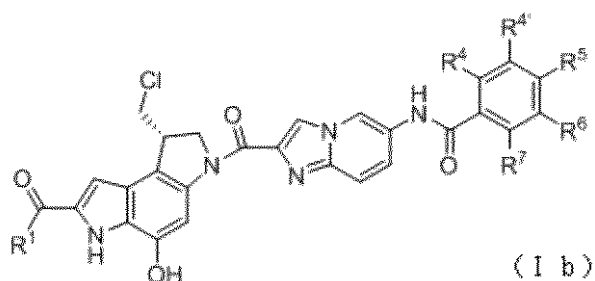


20

【 0 0 6 4】

もう一つ別の好ましい実施態様において、式 ( I ) に係る化合物は、式 ( I b ) :

【化 3 2】



30

で示される構造 ( 式中、 R 1、R 4、R 5、R 6、および R 7 は、上記の「発明の概要」のセクションにおいて式 ( I ) について定義されるとおりである ) を有する。

【 0 0 6 5】

式 ( I b ) で示される化合物の例を表 I I において列挙する ( R 4、R 4'、R 6、および R 7 は、各々、Hである )。

【表 4】

表 I I 式 ( I b ) の化合物		
化合物 番号	R <sup>1</sup>	R <sup>5</sup>
Ib-01		
Ib-02		

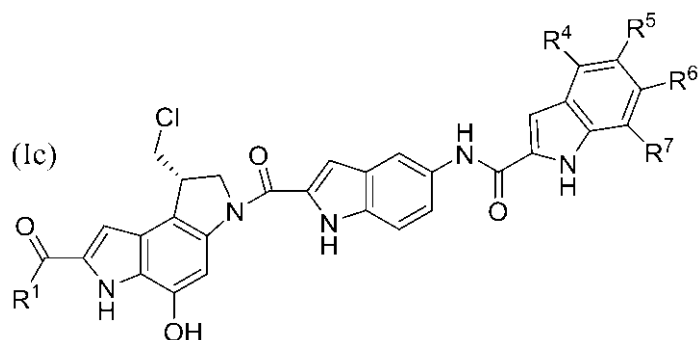
40

50

【 0 0 6 6 】

もう一つ別の好ましい実施態様において、式 ( I ) に係る化合物は、式 ( I c ) :

【 化 3 3 】



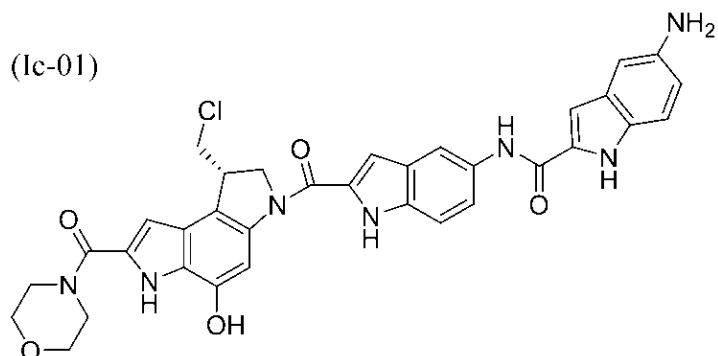
10

で示される構造 ( 式中、 R 1、 R 4、 R 5、 R 6、 および R 7 は、上記の「発明の概要」のセクションにおいて式 ( I ) について定義されるとおりである ) を有する。

【 0 0 6 7 】

化合物 ( I c ) の一例が、

【 化 3 4 】



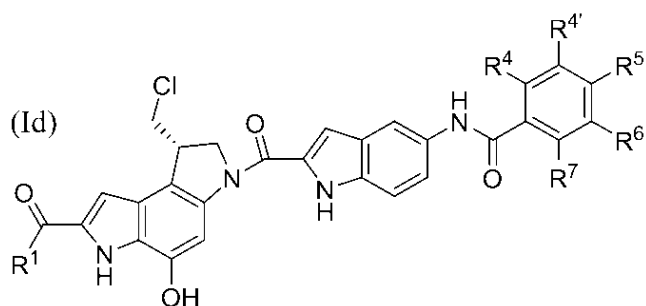
20

で示される化合物 ( I c - 0 1 ) である。

【 0 0 6 8 】

もう一つ別の好ましい実施態様において、化合物 ( I ) は、式 ( I d ) :

【 化 3 5 】



40

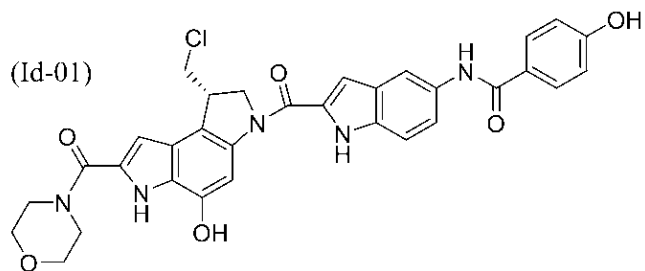
で示される構造 ( 式中、 R 1、 R 4、 R 4 '、 R 5、 R 6、 および R 7 は、上記の「発明の概要」のセクションにおいて式 ( I ) について定義されるとおりである ) を有する。

【 0 0 6 9 】

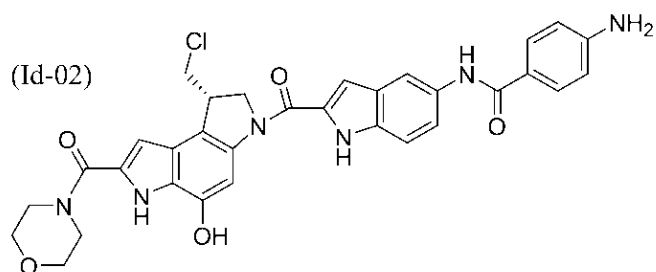
化合物 ( I d ) の例が、 ( I d - 0 1 ) および ( I d - 0 2 ) :

50

## 【化 3 6】



10



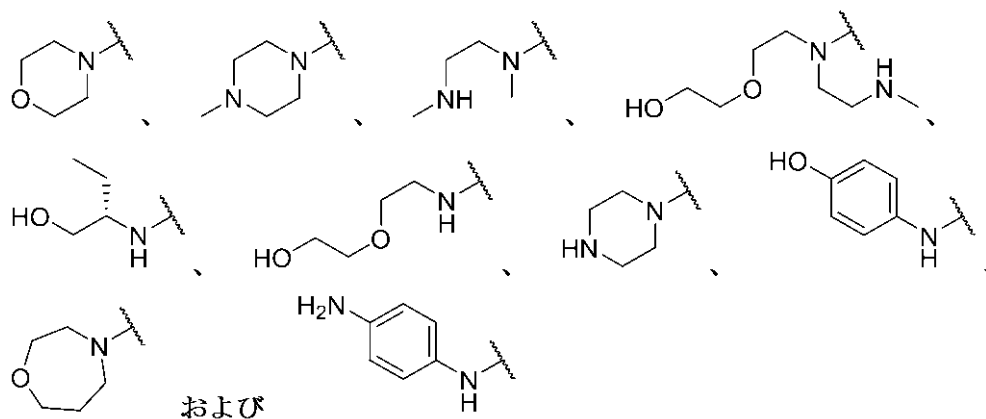
20

である。

## 【 0 0 7 0】

R<sup>1</sup> の特に好ましい実施態様が、

## 【化 3 7】



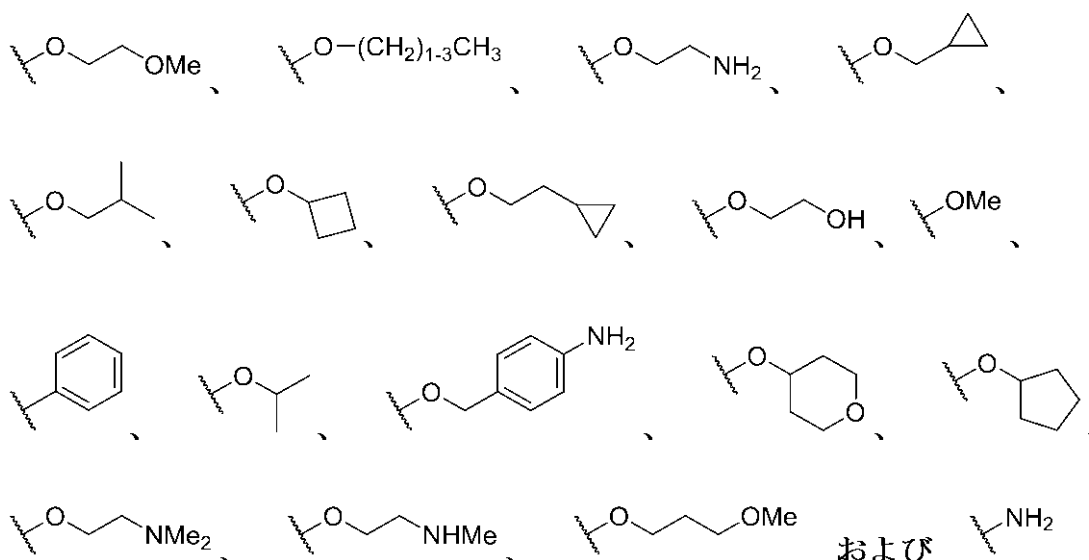
30

であり； R<sup>5</sup> の特に好ましい実施態様が、

40

50

## 【化 3 8】



10

である。

## 【 0 0 7 1】

20

理論により束縛されるものではないが、本発明の  $R^1$  基は、親水性で、有利にはその改善された特性を有すると考えられる。C L o g P の低い  $R^1$  基を有することが有利である。というのも、それはセコ - C P I 化合物およびそのリンカー構造物の水溶性を増大させるからである。下記の実施例 1 および 2 に示されるように、抗体とのコンジュゲーションは、本質的に、水性媒体中で行われ、より可溶性のセコ - C P I 化合物 - リンカー化合物はより効果的にコンジュゲートすることができる。さらには、セコ - C P I 化合物を血中に放出する A D C の時期尚早な意図しない切断が生じた場合には、親水性の増加は、該化合物が細胞膜に浸透し、外的な傷害性を惹起するであろう可能性を減少させる。( A D C の細胞へのエンタリーは異なる工程によるものであり：抗体とその抗原とが結合することによってエンドサイトーシスが作動する。)

30

## 【 0 0 7 2】

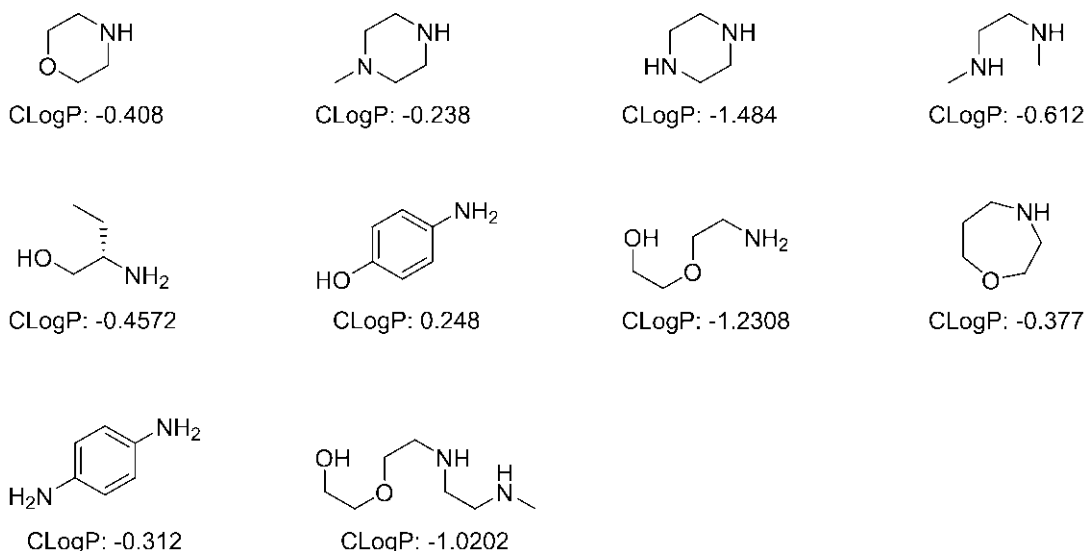
各  $R^1$  基の原子価がオープンであるのは(例えば、表 I を参照のこと)、それがセコ - C P I コアのカルボキシル基とアミド結合を形成するように、窒素にある。その親水性は、対応するアミン  $R^1$  H の親水性を介して推定することができる。

## 【 0 0 7 3】

化合物の親水性(または、逆に、疎水性)は、その構造から算定可能な値である、その C L o g P より推定することができる：値が小さいほど親水性の大きな分子を示し、一方で値が大きいほど疎水性の大きな分子を示す。表 I に示される  $R^1$  基に対応するアミン  $R^1$  H についての C L o g P 値を次に示す。C L o g P 値はすべて 0.300 未満であり、- 1.484 ~ 0.248 の範囲にある。(C L o g P 値は、パーキン・エルマー社からの C H E M B I O D R A W (登録商標) Ultraソフトウェア (Version 14.0.0.126) を用いて算定された。(同じソフトウェアを用い、この明細書のどのような箇所においても引用される C L o g P 値を算定した。))

40

## 【化 3 9】



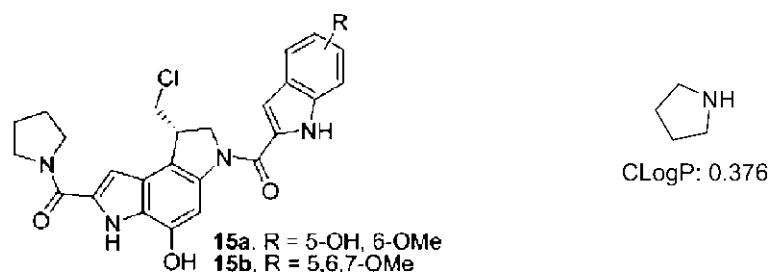
10

## 【0074】

比較のために、Tichenorら、2007は、セコ - C P I コアと結合した、ピロロジニルアミドを有する化合物 15 a および 15 b を開示するが、その対応するアミン (ピロリン) の C L o g P 値は有意に高い ( 0 . 3 7 6 ) 。

20

## 【化 4 0】



30

## 【0075】

かくして、1の実施態様において、基 R<sup>1</sup> は、上記したCHEMBIODRAW (登録商標) ソフトウェアを用いて算定した場合に、その対応するアミン R<sup>1</sup> H の C L o g P 値が、0.300未満のものである。

## 【0076】

コンジュゲート

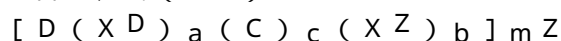
概要

本発明のセコ - C P I 化合物は、それ自体で治療薬として用いることができるが、コンジュゲートにて使用されるのが好ましい。より好ましくは、そのコンジュゲートの標的部分が抗体またはその抗原結合部であり、その抗原が腫瘍関連抗原、すなわち、腫瘍細胞により発現される抗原である。腫瘍関連抗原は、正常細胞と比べて、がん細胞によって独自に発現されるか、または過剰発現されることが好ましい。腫瘍関連抗原はがん細胞の表面に位置付けられるか、またはがん細胞によりその近辺に分泌されることが好ましい。

40

## 【0077】

かくして、本発明のもう一つ別の態様は、本発明のセコ - C P I 化合物、およびリガンドを含む、式 ( I I ) :



[式中、Zは標的部分であり、Dは本発明のセコ - C P I 化合物であり、-(X<sup>D</sup>)<sub>a</sub>(

50

C) c (X Z) b - は、ZとDを連結するために、総称して「リンカー部分」または「リンカー」と称される。リンカーの中で、CはDの意図する生物学的作用の部位で、またはその近辺で切断されるように設計された設計可能な基であり；X DおよびX Zは、各々、DとCおよびCとZの間に間隔を設ける、スペーサー部分（または「スペーサー」）であり；a、bおよびcの下付き文字は、独立して、0または1である（すなわち、X D、X Z、およびCの存在は任意である）。下付き文字のmは1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10（好ましくは、1、2、3、または4）である。D、X D、C、X ZおよびZは、下記においてさらに十分に記載される。

#### 【0078】

標的組織または細胞に結合することにより、その抗原または受容体は位置付けられ、Zはコンジュゲートをそこに向くように指示する。標的組織または細胞でのC基の切断は、Dを放出し、その細胞傷害性作用を局所的に発揮する。ある場合には、コンジュゲートは、エンドサイトーシスにより標的細胞中に内在化され、切断が標的細胞内で起こる。この場合、Dの正確なデリバリーが意図する作用部位で達成され、必要とされる用量が減る。また、Dはそのコンジュゲートした状態で正常では生物学的に不活性（または活性が有意に低い）であり、そのため標的としない組織または細胞に対する望ましくない傷害性が減少する。

#### 【0079】

下付き文字のmによって示されるように、Zは、各々、コンジュゲーションのために利用できるZの部位の数、および利用される実験条件に応じて、1個より多くのDとコンジュゲートし得る。当業者にとって、個々のZが、各々、整数のDとコンジュゲートするとはいえ、コンジュゲートの製造は、統計的平均を反映する、DのZに対する非整数割合について分析し得る。この割合は置換割合（「SR」）または薬物 - 抗体割合（「DAR」）と称される。

#### 【0080】

標的とする部分Z

好ましくは、標的とする部分Zは抗体である。便宜および簡潔のためであって、限定するものではなく、本明細書中で、Zおよびそのコンジュゲートに関する詳細な考察は、その文脈にて、抗体であると記載されているが、当業者であれば、変更すべきところは変更して、他の型のZがコンジュゲートし得ることを理解するであろう。例えば、標的とする部分としての葉酸とのコンジュゲートは、その表面に葉酸レセプターを有する細胞を標的としうる（Leamonら、Cancer Res. 2008, 68 (23), 9839）。同じ理由で、本明細書中の詳細な考察は、主に、ZがDに対して1：1の割合の単位で記載されている（m = 1）。

#### 【0081】

好ましくは、Zは腫瘍関連抗原に対する抗体であり、がん細胞を選択的に標的化することができる。かかる抗原の例として、メソテリン、前立腺特異的膜抗原（PSMA）、CD19、CD22、CD30、CD70、B7H3、B7H4（O8Eとしても公知）、タンパク質チロシンキナーゼ7（PTK7）、グリピカン - 3、RG1、フコシル - GM1、CTLA4、およびCD44を挙げることができる。抗体は動物（例、ネズミ）、キメラ、ヒト化、または、好ましくは、ヒト抗体とすることができる。抗体はモノクローナル、特にモノクローナルヒト抗体であることが好ましい。上記したいくつかの抗原に対するヒトモノクローナルヒト抗体の製造が、Kormanら、US 8,609,816 B2（2013；B7H4、O8Eとしても知られる；特に抗体2A7、1G11、および2F9）；Rao - Naikら、8,097,703 B2（2012；CD19；特に抗体5G7、13F1、46E8、21D4、21D4a、47G4、27F3、および3C10）；Kingら、US 8,481,683 B2（2013；CD22；特に抗体12C5、19A3、16F7、および23C6）；Kelerら、US 7,387,776 B2（2008；CD30；特に抗体5F11、2H9、および17G1）；Terrettら、US 8,124,738 B2（2012；CD70；特に抗体2H5、10B4、8B5、18E7、および69A7）；Kormanら、US 6,984,720 B1（2006；CTLA4 - 4；特に抗体10D1、4B6、および1E2）；Visticaら、US 8,383,118 B2（2

10

20

30

40

50

013、フコシル - GM 1、特に抗体 5 B 1、5 B 1 a、7 D 4、7 E 4、1 3 B 8、および 1 8 D 5 ) ; Kormanら、US 8,008,449 B2 ( 2011 ; PD - 1 ; 特に抗体 1 7 D 8、2 D 3、4 H 1、5 C 4、4 A 1 1、7 D 3、および 5 F 4 ) ; Huangら、US 2009 / 0297438 A1 ( 2009 ; PSMA . 特に抗体 1 C 3、2 A 1 0、2 F 5、2 C 6 ) ; Cardarelliら、US 7,875,278 B2 ( 2011 ; PSMA ; 特に抗体 4 A 3、7 F 1 2、8 C 1 2、8 A 1 1、1 6 F 9、2 A 1 0、2 C 6、2 F 5、および 1 C 3 ) ; Terrettら、US 8,222,375 B2 ( 2012 ; PTK 7 ; 特に抗体 3 G 8、4 D 5、1 2 C 6、1 2 C 6 a、および 7 C 8 ) ; Terrettら、US 8,680,247 B2 ( 2014 ; グリピカン - 3 ; 特に抗体 4 A 6、1 1 E 7、および 1 6 D 1 0 ) ; Harkinsら、US 7,335,748 B2 ( 2008 ; RG 1 ; 特に抗体 A、B、C、および D ) ; Terrettら、US 8,268,970 B2 ( 2012 ; メソテリン ; 特に抗体 3 C 1 0、6 A 4、および 7 B 1 ) ; Xuら、US 2010 / 0092484 A1 ( 2010 ; CD 4 4 ; 特に抗体 1 4 G 9 . B 8 . B 4、2 D 1 . A 3 . D 1 2、および 1 A 9 . A 6 . B 9 ) ; Deshpandeら、US 8,258,266 B2 ( 2012 ; IP 1 0 ; 特に抗体 1 D 4、1 E 1、2 G 1、3 C 4、6 A 5、6 A 8、7 C 1 0、8 F 6、1 0 A 1 2、1 0 A 1 2 S、および 1 3 C 4 ) ; Kuhneら、US 8,450,464 B2 ( 2013 ; CXCR 4 ; 特に抗体 F 7、F 9、D 1、および E 2 ) ; および Kormanら、US 7,943,743 B2 ( 2011 ; PD - L 1 ; 特に抗体 3 G 1 0、1 2 A 4、1 0 A 5、5 F 8、1 0 H 1 0、1 B 1 2、7 H 1、1 1 E 6、1 2 B 7、および 1 3 G 4 ) にて開示されており ; それらの開示は出典を明示することで本明細書に組み込まれる。

#### 【 0 0 8 2 】

抗体であることに加えて、Zは、抗原フラグメント ( Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>、Fd、またはFvなど) と、あるいはアフィボディ (affibody)、ドメイン抗体 (dAb)、ナノボディ、ユニボディ、DARPin、アンチカリン、ベルサボディ、デュオカリン、リボカリン、またはアビマーとすることもできる。

#### 【 0 0 8 3 】

リシン残基上の - アミノ基、ペンダント炭水化物部分、アスパラギン酸またはグルタミン酸側鎖上のカルボン酸基、システイン - システインのジスルフィド基、およびシステインチオール基を含め、Zにある数種の異なる反応基のいずれの基もコンジュゲーション部位であり得る。コンジュゲーションに適する抗体反応基を再検討するために、例えば、Garrett, Adv. Drug Delivery Rev. 2001, 53, 171 - 216、ならびにDubowchikおよびWalker, Pharmacology & Therapeutics 1999, 83, 67 - 123を参照のこと ; それらの開示は、その出典を明示することにより本明細書に組み込まれる。

#### 【 0 0 8 4 】

大抵の抗体は複数のレジン残基を有し、それはその - アミノ基を介して、アミド、尿素、チオ尿素、またはカルバマート結合を通してコンジュゲートしうる。

#### 【 0 0 8 5 】

もう一つ別の実施態様において、Zは、多数の抗体がグリコシル化されるように、炭水化物側鎖を介してコンジュゲートされうる。炭水化物側鎖は過ヨウ素酸塩を用いて酸化されてアルデヒド基を生成し、それは順次にアミンと反応してセミカルバゾン、オキシムまたはヒドラゾンにあるようなイミン基を形成し得る。所望により、該イミン基は、シアノ水素化ホウ素ナトリウムを用いて還元することでより安定したアミン基に変換され得る。炭水化物側鎖を介するコンジュゲーションに対するさらなる開示については、例えば、Rodwellら、Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 83, 2632 - 2636 ( 1986 ) を参照のこと ; その内容を出典明示により本明細書の一部とする。

#### 【 0 0 8 6 】

もう一つ別の実施態様において、Zはアスパラギン酸またはグルタミン酸側鎖を介して、例えば、カルボヒドラジドへの変換によってコンジュゲートし、次にそれをアルデヒド担持のリンカーと反応させることができる。Fischら、Bioconjugate Chemistry 1992, 3, 147 - 153を参照のこと。

#### 【 0 0 8 7 】

システインの側鎖にあるチオール ( - S H ) 基を、数種の方法によって用い、コンジュゲートを形成することができる。それを用いてそれとリンカーにあるチオール基との間でジスルフィド結合を形成することができる。もう一つ別の方法は、それをマイケル ( Michael ) 付加を介してリンカーにあるマレイミド基に付加することである。

#### 【 0 0 8 8 】

典型的には、抗体はシステイン残基を有するが、そのすべてのシステインが鎖内または鎖間ジスルフィド結合に携わっているため、それらは遊離チオール基を欠く。遊離チオール基を生成するには、本来あるジスルフィド基を還元することができる。例えば、Packard ら、*Biochemistry* 1986, 25, 3548 ; King ら、*Cancer Res.* 1994, 54, 6176 ; および Doronina ら、*Nature Biotechnol.* 2003, 21, 778 を参照のこと。あるいはまた、遊離 - S H 基を有するシステインは、抗体を変異させるか、システインを他のアミノ酸と置換するか、または遊離基をポリペプチド鎖に挿入することにより導入することができる。例えば、Eigenbrot ら、US 7,521,541 B2 ( 2009 ) ; Chilkoti ら、*Bioconjugate Chem.* 1994, 5, 504 ; Urnovitz ら、US 4,698,420 ( 1987 ) ; Stimmel ら、*J. Biol. Chem.* 2000, 275, 30445 ; Bam ら、US 7,311,902 B2 ( 2007 ) ; Kuan ら、*J. Biol. Chem.* 1994, 269, 7610 ; Poon ら、*J. Biol. Chem.* 1995, 270, 8571 ; Junutula ら、*Nature Biotechnology* 2008, 26, 925 および Rajpal ら、US 仮出願番号 62/270245 ( 2015 年 12 月 21 日出願 ) を参照のこと。さらにもう一つ別の方法において、システインを重鎖または軽鎖の C - 末端に付加する。例えば、Liu ら、US 8,865,875 B2 ( 2014 ) ; Cumber ら、*J. Immunol.* 1992, 149, 120 ; King ら、*Cancer Res.* 1994, 54, 6176 ; Li ら、*Bioconjugate Chem.* 2002, 13, 3, 985 ; Yang ら、*Protein Engineering* 2003, 16, 761 ; および Olafson ら、*Protein Engineering Design & Selection* 2004, 17, 21 を参照のこと。この段落で引用される文献の開示内容は出典明示により本明細書の一部とされる。

#### 【 0 0 8 9 】

リンカーおよびその成分

上記されるように、リンカーは、3 個までの因子：切断可能な基 C、および任意のスペーサー X Z および X D を含む。

#### 【 0 0 9 0 】

基 C は生理学的条件で切断可能である。コンジュゲートが血中において循環している間は、該基は相対的に安定しているが、一旦、該コンジュゲートが標的細胞の付近の、標的細胞の、またはその内部にある意図する作用部位に到達すると、容易に切断されることが好ましい。該コンジュゲートは、抗体 Z の、標的細胞の表面で提示される抗原と結合して、標的細胞により内在化されることが好ましい。その後で、C の切断が標的細胞の小胞体 ( 初期エンドソーム、後期エンドソーム、または特にリソソーム ) で生じる。

#### 【 0 0 9 1 】

1 の実施態様において、C は pH 感受性基である。リソソーム内部の pH は酸性であり、約 5 であるが、血漿中の pH は中性よりも若干上である。かくして、酸感受的な C は、血中よりもリソソーム内部で桁違いに速い速度で切断するであろう。酸感受性基の例は、Shen ら、US 4,631,190 ( 1986 ) ; Shen ら、US 5,144,011 ( 1992 ) ; Shen ら、*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1981, 102, 1048 ; および Yang ら、*Proc. Natl Acad. Sci ( USA )* 1988, 85, 1189 ( それらの開示を出典明示により本明細書の一部とする ) に記載されるように、シス - アコニチルアミドおよびヒドラゾンである。

#### 【 0 0 9 2 】

もう一つ別の実施態様において、C はジスルフィドである。ジスルフィドは、周辺のチオール濃度に依存する速度で、チオール - ジスルフィド交換機構により切断され得る。グルタチオンおよび他のチオールの細胞内濃度はその血清中濃度よりも高いため、ジスルフィドの切断速度は細胞内においてより速いであろう。さらには、チオール - ジスルフィドの交換速度は、血清中安定性および特定の切断速度を強化する、ジスルフィドの連結を設計することを可能とする、ジスルフィドの立体特性および電子的特性を調整すること ( 例、



アルキル - アリールのジスルフィド v s アルキル - アルキルジスルフィド ; アリール環での置換等)により制御され得る。例えば、Thorpeら、Cancer Res. 2008, 48, 6396 - 6403 ; Santiら、US 7,541,530 B2 (2009) ; Ngら、US 6,989,452 B2 (2006) ; Ngら、WO 2002/096910 A1 ; Boydら、US 7,691,962 B2 (2010) ; およびSufiら、US 8,461,117 B2 (2013) (それらの開示を出典明示により本明細書の一部とする)を参照のこと。

#### 【0093】

好ましい基Cは、血清中のプロテアーゼによる切断とは対照的に、標的細胞の内部にあるプロテアーゼにより選択的に切断されるペプチドである。典型的には、該ペプチドは1 ~ 20個のアミノ酸、好ましくは、1 ~ 6個のアミノ酸、より好ましくは、2 ~ 3個のアミノ酸を含む。アミノ酸は、天然および/または非天然の - アミノ酸とすることができる。天然アミノ酸は、遺伝コードによってコード化されるアミノ酸、ならびに天然アミノ酸より誘導されるアミノ酸、例えば、ヒドロキシプロリン、 - カルボキシグルタマート、シトルリン、およびO - ホスホセリンである。本明細書において、「アミノ酸」なる語はまた、アミノ酸アナログおよび模倣体を包含する。アナログは、R基が天然アミノ酸の内で見られる基とは異なることを除いて、天然アミノ酸と同じ一般構造： $H_2N(R)CHCO_2H$ を有する化合物である。アナログの例として、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニン - スルホキシド、およびメチオニンメチルスルホニウムが挙げられる。アミノ酸模倣体は、 - アミノ酸の一般的化学構造とは異なる構造を有するが、 - アミノ酸と類似する様式にて機能する化合物である。アミノ酸は、遺伝的にコードされたアミノ酸の「L」立体化学とすることができ、ならびにエナンチオマー「D」立体化学とすることもできる。

#### 【0094】

C基は、プロテアーゼに対して切断可能な認識配列である、アミノ酸配列を含有することが好ましい。多くの切断可能な認識配列は当該分野にて知られている。例えば、Matayoshiら、Science 247: 954 (1990) ; Dunnら、Meth. Enzymol. 241: 254 (1994) ; Seidahら、Meth. Enzymol. 244: 175 (1994) ; Thornberry、Meth. Enzymol. 244: 615 (1994) ; Weberら、Meth. Enzymol. 244: 595 (1994) ; Smithら、Meth. Enzymol. 244: 412 (1994) ; およびBouvierら、Meth. Enzymol. 248: 614 (1995) (それらの開示を出典明示により本明細書の一部とする)を参照のこと。

#### 【0095】

細胞によって内在化されることを意図としないコンジュゲートでは、C基は、それががんの近辺にある細胞外マトリックス中に存在するプロテアーゼにより、例えば、がん細胞の死亡により付近に放出されるプロテアーゼ、またはがん細胞により分泌される腫瘍関連性プロテアーゼにより切断されるように選択され得る。代表的な細胞外腫瘍関連性プロテアーゼは、プラスミン、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)、チメットオリゴペプチダーゼ(thimet oligopeptidase)(TOP)およびCD10である。例えば、Trouetら、US 7,402,556 B2 (2008) ; Duboisら、US 7,425,541 B2 (2008) ; およびBebbingtonら、US 6,897,034 B2 (2005)を参照のこと。

#### 【0096】

細胞により内在化されるように設計されたコンジュゲートでは、Cは、好ましくは、エンドソームまたはリソソームのプロテアーゼ、特に後者によって切断されるように選択されたアミノ酸配列を含む。限定されないが、かかるプロテアーゼの例として、カテプシンB、C、D、H、LおよびSが、特にカテプシンBが挙げられる。カテプシンBで切断可能な典型的なペプチドは、Val - Ala、Val - Cit、Val - Lys、Lys - Val - Ala、Asp - Val - Ala、Val - Ala、Lys - Val - Cit、Ala - Val - Cit、Val - Gly、Val - Gln、およびAsp - Val - Citを包含する。(ここで、アミノ酸配列は、文脈にてそうでないと明確に記載されない限り、 $H_2N-AA^2-AA^1-CO_2H$ にあるように、NからCへの方で記載される。) Dubowchikら、Biorg. Med. Chem. Lett. 1998, 8, 3341 ; Dubowchikら、Bioorg.

Med. Chem. Lett. 1998, 8, 3347 ; および Dubowchikら、Bioconjugate Chem. 2002, 13, 855 ( それらの開示を出典明示により本明細書の一部とする )。

【 0 0 9 7 】

ペプチドリナーを切断するのに利用され得るもう一つ別の酵素が、Ala - Ala - Asn を優先的に切断する、レグマイン、リソソームシステインプロテアーゼである。

【 0 0 9 8 】

1 の実施態様において、基 C は、2 個のアミノ酸配列 - AA<sup>2</sup> - AA<sup>1</sup> - を含むペプチドであり、ここで AA<sup>1</sup> はリシン、アルギニン、またはシトルリンであり、AA<sup>2</sup> はフェニルアラニン、バリン、アラニン、ロイシンまたはイソロイシンである。もう一つ別の実施態様において、C は、Val - Cit、Ala - Val、Val - Ala - Val、Lys - Lys、Ala - Asn - Val、Val - Leu - Lys、Cit - Cit、Val - Lys、Ala - Ala - Asn、Lys、Cit、Ser、および Glu からなる群より選択される 1 ~ 3 個のアミノ酸の配列より構成される。より好ましくは、上記の群より選択される 2 ないし 3 個のアミノ酸ペプチドである。

10

【 0 0 9 9 】

単一のアミノ酸からなる切断可能な基 C の製造および設計は、その開示が出典明示により本明細書の一部を形成する、Chenら、US 8,664,407 B2 ( 2014 ) に開示される。

【 0 1 0 0 】

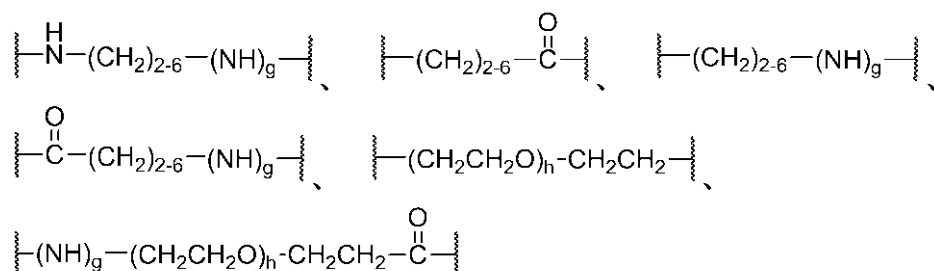
基 C は、Z または D に直接結合され得る ; すなわち、スパーサー X<sup>Z</sup> または X<sup>D</sup> が、場合によっては、不在とすることができる。

20

【 0 1 0 1 】

存在する場合、スパーサー X<sup>Z</sup> は、前者が立体的に後者による抗原結合を立体的に干渉しないように、または後者が立体的に前者の切断を干渉しないように、C と Z の間に空間的隔離を提供する。さらには、スパーサー X<sup>Z</sup> は、コンジュゲートに対して安定性を増やすか、凝集を減らす特性を付与するのに使用され得る。スパーサー X<sup>Z</sup> は、1 または複数のモジュラーセグメントを含み、それはある数の組み合わせにてアセンブルされ得る。スパーサー X<sup>Z</sup> について適切なセグメントの例として、

【 化 4 1 】



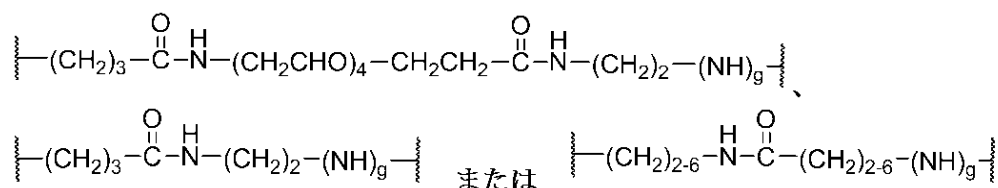
30

およびその組み合わせであり、

ここで、下付き文字の g は 0 または 1 であり、下付き文字の h は 1 ~ 24 であり、好ましくは 2 ~ 4 である。これらのセグメントは、下記 :

40

【 化 4 2 】



に示されるように組み合わせることができる。

【 0 1 0 2 】

スパーサー X<sup>D</sup> は、存在するならば、後者が立体的または電子的に前者の切断を干渉しな

50

いように、CとZの間に空間的隔離を提供する。スペーサーX<sup>D</sup>はまた、分子量を付加し、化学官能性をコンジュゲートに導入するのに供することもできる。一般的に、質量および機能性の付加は血清の半減期およびコンジュゲートの他の特性に影響を及ぼすであろう。かくしてスペーサー基の思慮深い選択を通して、コンジュゲートの血清中半減期は調整され得る。スペーサーX<sup>D</sup>もまた、スペーサーX<sup>Z</sup>について上記されるのと同様にモジュール式セグメントより組み立てることができる。

【0103】

スペーサーX<sup>Z</sup>および/またはX<sup>D</sup>は、存在する場合には、各々、ZとC、またはDとCの間で、好ましくは4～25個の、より好ましくは4～20個の原子のリンカー分離を提供する。

10

【0104】

リンカーは、抗体と薬物とを共有結合させるのに加えて、他の機能も果たしうる。例えば、リンカーはポリ(エチレングリコール)(「PEG」)基を含有しうる。コンジュゲーション工程は、典型的には、水性媒体中で薬物-リンカーを抗体にカップリングさせることを含むため、PEG基は薬物-リンカーの水溶解度を向上させ得る。また、PEG基は、ADCを得るにおいて、溶解度を向上させるか、または凝集を減らすかもしれない。PEG基が存在する場合、それはスペーサーX<sup>Z</sup>またはX<sup>D</sup>のいずれかに、あるいはその両方に導入されてもよい。PEGの繰り返し単位の数、2～20、好ましくは4～10とすることができる。

【0105】

20

スペーサーX<sup>Z</sup>またはX<sup>D</sup>のいずれかに、あるいはその両方に自己犠牲部分を含めることができる。自己犠牲部分は、場合によっては、(1)Cに結合し、そしてZおよびDのいずれかに結合し、および(2)基Cから切断されることで反応シーケンスが始まり、それ自体をZまたはDから剥離する自己犠牲部分をもたらしうな構造を有する、部分である。言い換えれば、ZまたはDから遠く離れた部位での反応(基Cからの切断)はX<sup>Z</sup>-ZまたはX<sup>D</sup>-D結合を、その上に断裂をも引き起こす。自己犠牲部分の存在は、スペーサーX<sup>D</sup>の場合には望ましい。というのも、コンジュゲートの切断後に、仮にスペーサーX<sup>Z</sup>またはその一部がDに結合したまま残った場合、Dの生物学的活性が損なわれるかもしれないからである。自己犠牲部分の使用は、切断可能な基Cがポリペプチドである場合、その際には自己犠牲部分は、Dがペプチドの切断を立体的に、または電子的に干渉することを防止するように、典型的には、それに隣接して配置されることが特に望ましい。

30

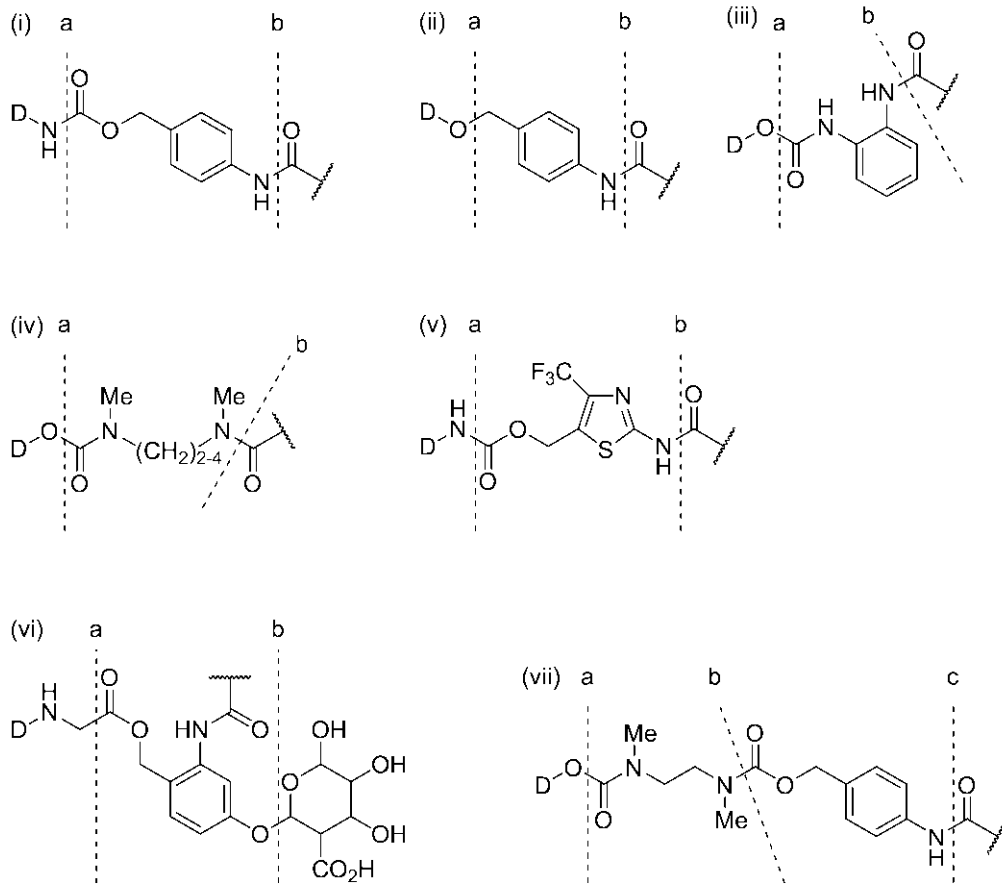
【0106】

Dのヒドロキシル基またはアミノ基と結合する例示としての自己犠牲部分(i)-(v)は以下のとおりである。

40

50

## 【化 4 3】



10

20

## 【 0 1 0 7】

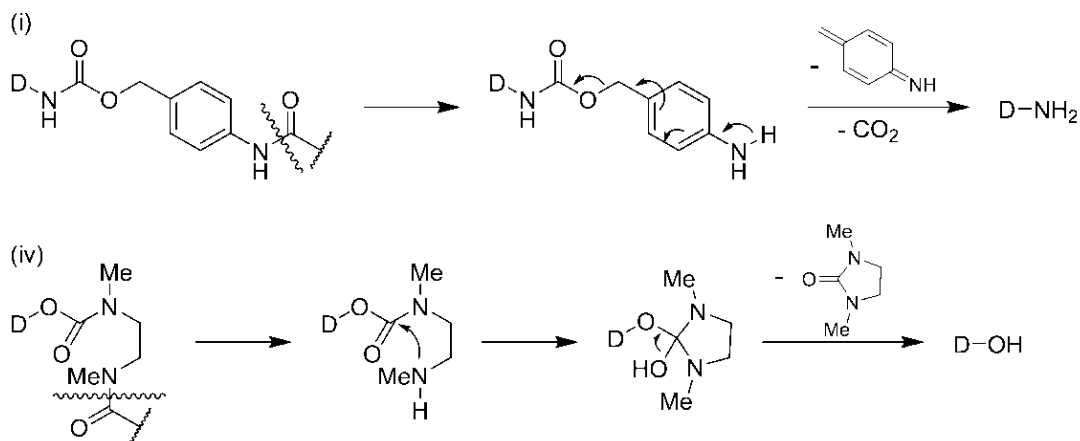
自己犠牲部分は、点線の a と b (または点線の b と c) の間の構造式で示される部分であり、隣接する構造的特徴を一緒に示すことで前後関係を明確にする。自己犠牲部分 (i) および (v) は D - NH<sub>2</sub> と結合し (すなわち、コンジュゲーションはアミノ基を介してなされている)、その一方で自己犠牲部分 (ii)、(iii) および (iv) は D - OH に結合する (すなわち、コンジュゲーションはヒドロキシルまたはカルボキシル基を介してなされている)。点線 b での酵素による結合の切断、構造式 (i) - (v) の場合にはペプチダーゼ、および構造式 (vi) の場合には  $\alpha$ -グルクロニダーゼによる切断は、場合によっては、自己犠牲の一連の反応を開始し、点線 a で結合が切断され、その結果として D - OH または D - NH<sub>2</sub> の放出が始まる。具体的には、構造式 (i) および (iv) の自己犠牲機構を以下に示す：

30

40

50

## 【化 4 4】



10

## 【0108】

言い換えれば、自己犠牲基の一部分で第1の化学結合が切断されて、自己犠牲基を薬物と接続する結合である、第2の化学結合が自己犠牲基の異なる部分で切断され、それにより薬物の放出がなされる、一連の工程が始まる。

20

## 【0109】

ある場合には、自己犠牲基は、構造式(vii)に示されるように、タンデムで使用され得る。そのような場合には、点線cでの切断がトリガーとなり、1,6-脱離反応によって点線bとcの間にある部分を自己犠牲に付し、つづいて環化脱離反応によって点線aとbの間にある部分が自己犠牲に付される。自己犠牲部分に関するさらなる開示については、Carlら、J. Med. Chem. 1981, 24, 479; Carlら、WO 81/01145 (1981); Dubowchikら、Pharmacology & Therapeutics 1999, 83, 67; Firestoneら、US 6,214,345 B1 (2001); Tokiら、J. Org. Chem. 2002, 67, 1866; Doroninaら、Nature Biotechnology 2003, 21, 778 (誤字、p. 941); Boydら、US 7,691,962 B2; Boydら、US 2008/0279868 A1; Sufiら、WO 2008/083312 A2; Feng、US 7,375,078 B2; Jeffreyら、US 8,039,273; およびSenterら、US 2003/0096743 A1 (それらの開示を出典明示により本明細書の一部とする)を参照のこと。

30

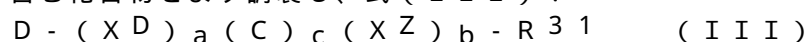
## 【0110】

もう一つ別の実施態様は、ZとDが、切断できないリンカーで連結されている、すなわち、Cが不在の場合である。Dの代謝作用は、最終的には、リンカーを、Dの生物学的活性に干渉しない小さな添付部分にまで縮小する。

## 【0111】

## コンジュゲーション技法

本発明のコンジュゲートは、好ましくは、Dおよびリンカー： $(X^D)_a(C)_c(X^Z)_b$  (ここで、 $X^D$ 、C、 $X^Z$ 、aおよびbは式(III)で定義されたとおりである)を含む化合物をまず調製し、式(III)：

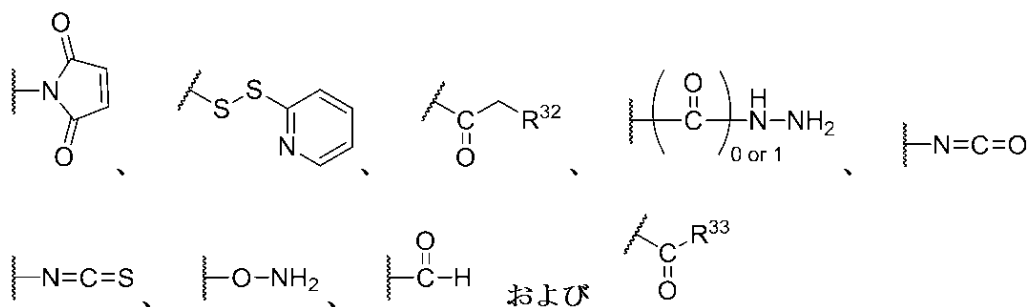


[式中、 $R^{31}$ は、Zにある補足的官能基と反応するのに適する官能基である]

で示される薬物-リンカーの化合物を形成することにより製造される。適切な基 $R^{31}$ の例として、アミノ、アジド、チオール、シクロオクテン、

40

## 【化 4 5】



10

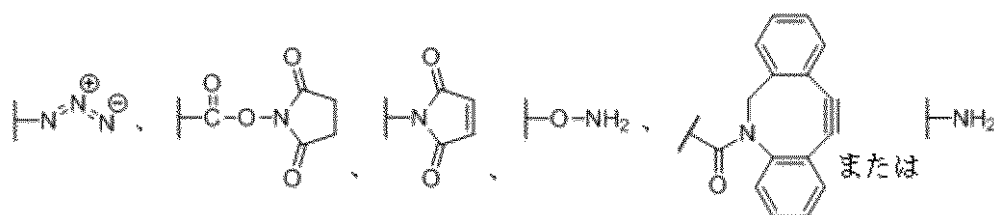
が挙げられ、ここで  $R^{32}$  は  $Cl$ 、 $Br$ 、 $F$ 、メシラート、またはトシラートであり、 $R^{33}$  は  $Cl$ 、 $Br$ 、 $I$ 、 $F$ 、 $OH$ 、 $-O-N$ -スクシニミジル、 $-O-(4-ニトロフェニル)-O-$ ペンタフルオロフェニル、または $-O-$ テトラフルオロフェニルである。適切な部分の  $D-(X^D)_a C(X^Z)_b - R^{31}$  を製造するのに一般的に使用できる化学が、Ngら、US 7,087,600 B2 (2006) ; Ngら、US 6,989,452 B2 (2006) ; Ngら、US 7,129,261 B2 (2006) ; Ngら、WO 02/096910 A1 ; Boydら、US 7,691,962 B2 ; Chenら、US 7,517,903 B2 (2009) ; Gangwarら、US 7,714,016 B2 (2010) ; Boydら、US 2008/0279868 A1 ; Gangwarら、US 7,847,105 B2 (2010) ; Gangwarら、US 7,968,586 B2 (2011) ; Sufiら、US 8,461,117 B2 (2013) ; およびChenら、US 8,664,407 B2 (2014) (それらの開示を出典明示により本明細書の一部とする) に開示されている。

20

## 【0112】

好ましくは、反応性官能基 -  $R^{31}$  は、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-CO_2H$ 、 $-SH$ 、マレイミド、シクロオクチン、アジド ( $-N_3$ )、ヒドロキシルアミノ ( $-ONH_2$ ) または  $N$ -ヒドロキシスクシンイミドである。特に好ましい官能基  $R^{31}$  は：

## 【化 4 6】



30

である。

## 【0113】

$-OH$  基は、抗体にある、例えば、アスパラギン酸またはグルタミン酸側鎖にあるカルボキシ基でエステル化され得る。

## 【0114】

$-CO_2H$  基は、抗体にある、 $-OH$  基でエステル化されるか、アミノ基でアミド化され得る (例えば、リシン側鎖にある)。

40

## 【0115】

$N$ -ヒドロキシスクシンイミド基は、機能的に、活性化されたカルボキシル基であり、都合よくは (例えば、リシンからの) アミノ基との反応によってアミド化され得る。

## 【0116】

マレイミド基は、抗体にある  $-SH$  基 (例えば、システインから由来の、または抗体を化学的に修飾してスルフヒドリル官能基を導入してから由来の  $-SH$  基) と、マイケル付加反応にてコンジュゲートされ得る。

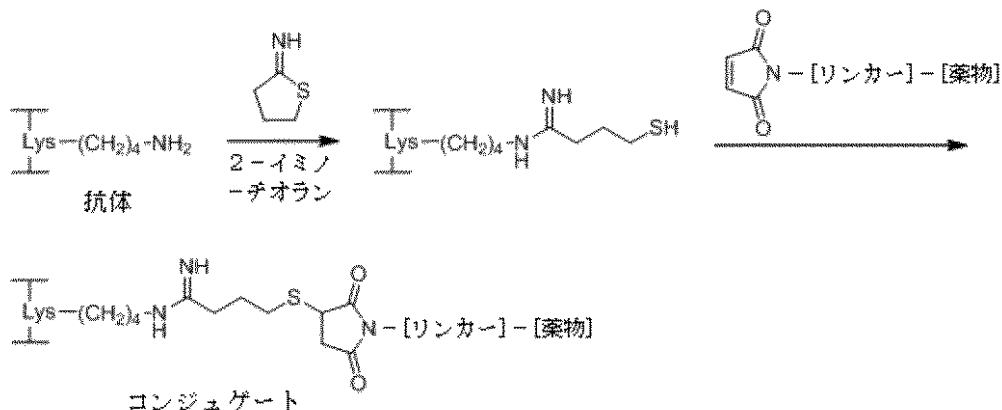
## 【0117】

抗体がコンジュゲーションに利用できるシステイン -  $SH$  を有しない場合、リシン残基の

50

側鎖にある - アミノ基を 2 - イミノチオランまたは N - スクシンイミジル - 3 - ( 2 - ピリジルジチオ ) プロピオナート ( 「 S P D P 」 ) と反応させて、遊離チオール ( - S H ) 基を作り出すシステインサロゲートを導入することができる。そのチオール基はマレイミドまたは他の求核アクセプター基と反応してコンジュゲーションを行うことができる。下記に 2 - イミノチオランとの反応機構で例証する。

【化 4 7】



10

【 0 1 1 8】

典型的には、抗体に付き 2 ないし 3 個のチオールのチオール化レベルが達成される。典型的な操作については、Congら、US 8,980,824 B2 ( 2015 ) ( その開示を出典明示により本明細書の一部とする ) を参照のこと。

20

【 0 1 1 9】

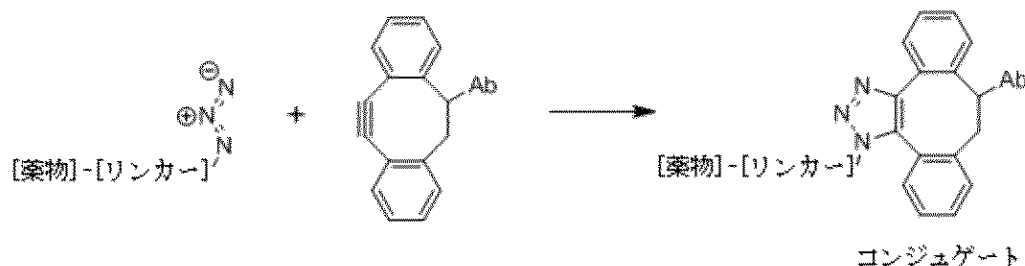
逆の順序で、抗体 Z を N - スクシンイミジル 4 - ( マレイミドメチル ) - シクロヘキサンカルボキシレート ( 「 S M C C 」 ) またはそのスルホン酸化変種のスルホ - S M C C ( 両方とも Sigma - Aldrich より入手可能である ) を用いて修飾し、マレイミド基をその中に導入することができる。次に、コンジュゲーションは、リンカーに - S H 基のある薬物 - リンカー化合物を用いて行われうる。

【 0 1 2 0】

別のコンジュゲーション方法は、銅不含の「クリックケミストリー」を利用するものであり、それではアジド基をストレインの ( strained ) シクロオクチンをアクロスして加え、1,2,3 - トリアゾール環を形成する。例えば、Agardら、J. Amer. Chem. Soc. 2004, 126, 15046 ; Best, Biochemistry 2009, 48, 6571 ( それらの開示を出典明示により本明細書の一部とする ) を参照のこと。アジドを抗体に、シクロオクチンを薬物 - リンカー部分に位置付けること、またはその逆にすることができる。好ましいシクロオクチン基はジベンゾシクロオクチン ( D I B O ) である。D I B O 基を有する種々の試薬が Invitrogen / Molecular Probes, Eugene, Oregon より入手可能である。次の反応は、D I B O 基が抗体 ( A b ) と結合した、例示としてのクリックケミストリーのコンジュゲーションを例証する。

30

【化 4 8】



40

【 0 1 2 1】

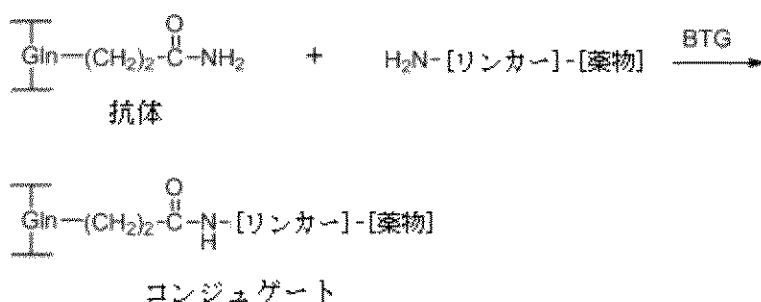
50

さらにもう一つ別のコンジュゲーション技法は、非天然アミノ酸を抗体中に導入することを含み、ただしその非天然アミノ酸は薬物部分の反応性官能基とコンジュゲーションするために官能基を導入するものである。例えば、TianらがWO 2008/030612 A2 (2008)において教示するように、非天然アミノ酸のp-アセチルフェニルアラニンを抗体または他のポリペプチドの中に組み込むことができる。p-アセチルフェニルアラニン中のケトン基は、リンカー-薬物部分にあるヒドロキシルアミン基とで、オキシムを形成することを介するコンジュゲーション部位とすることができる。あるいはまた、非天然アミノ酸のp-アジドフェニルアラニンは、上記されるように、抗体に組み込まれ、クリックケミストリーを介するコンジュゲーションのためのアジド官能基を提供することができる。非天然アミノ酸はまた、GoerkeらがUS 2010/0093024 A1 (2010)にて、およびGoerkeらがBiotechnol. Bioeng. 2009, 102 (2), 400 - 416にて教示するように、細胞不含の方法を用いて、抗体または他のポリペプチドに組み込むこともできる。上記文献の開示を出典明示により本明細書の一部とする。かくして、1の実施態様において、本発明の薬物とのコンジュゲートを製造するのに使用される抗体は、1または複数のアミノ酸が非天然アミノ酸、好ましくはp-アセチルフェニルアラニンまたはp-アジドフェニルアラニン、より好ましくはp-アセチルフェニルアラニンと置き換えられている。

#### 【0122】

さらに別のコンジュゲーション技法は、Jegerら、Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49, 9995を通して、酵素トランスグルタミナーゼ（好ましくは、ストレプトマイセス・モバラエンス（*Streptomyces mobaraensis*）から由来の細菌性トランスグルタミナーゼ、またはBTG）を用いる。BTGはグルタミンのカルボキシアミド側鎖（アミンレセプター）と、例えば、リシンの-アミノ基または5-アミノ-n-ペンチル基であり得る、アルキレン基（アミンドナー）との間でアミド結合を形成する。典型的なコンジュゲーション反応において、下記に示されるように、グルタミン残基は抗体上に位置付けられ、その一方でアルキレンアミノ基はリンカー-薬物部分に位置付けられる。

#### 【化49】



#### 【0123】

ポリペプチド鎖上にグルタミン残基を配置することは、BTG介在のトランスアミド化に対するその感受性に対して大きな効果を有する。抗体にあるグルタミン残基は、正常では、一つとしてBTG基質ではない。しかしながら、抗体が脱グリコシル化されると、重鎖のアスパラギン297（N297；EUIンデックスによる番号付け、Kabatら、「免疫学的に関心のあるタンパク質の配列（Sequences of proteins of immunological interest）、第5版、Pub. No. 91-3242、U.S. Dept. Health & Human Services, NIH, Bethesda, Md., 1991；以下「Kabat」という）-近接するグルタミン295（Q295）であるグリコシル化部位はBTGに感受性とされる。抗体はPNGaseF（ペプチド-N-グリコシダーゼF）を用いて処理されると酵素的に脱グリコシル化され得る。あるいはまた、抗体は、N297A変異を定常領域に導入し、N297グリコシル化部位を排除することによって、グリコシド不含で合成され得る。さらには、N297Q置換はグリコシル化を排除するだけでなく、（297位で）アミンレセプターでもある、第2のグルタミン残基を導入することも明らかにされた。かくして、1の実施態様において、本発明の薬物とコンジュゲートする抗体は、脱グリコシル化される。もう一つ別の実施態様にお



いて、抗体はN 2 9 7 Q置換を有する。当業者にとって、合成後に修飾することで、またはN 2 9 7 A変異を導入することによる脱グリコシル化は、抗体当たり2個のB T G反応性グルタミン残基(2 9 5位で、重鎖に付き1個)を作製し、一方でN 2 9 7 Q置換のあった抗体は4個のB T G反応性グルタミン残基を有するであろう(2 9 5と2 9 7位で、重鎖に付き2個)。

【0124】

抗体は、例えば、Ponsら、US 2013/0230543 A1(2013)およびRao - Naikら、PCT Application No. PCT/US2016/020192(2016年3月1日出願)にて教示されるように、グルタミン含有のペプチドを、または「タグ」を導入することによって、B T G介在性コンジュゲーションに対して感受的とすることもできる。

10

【0125】

補足的な解決方法において、B T Gの基質特異性は、Rao - Naikら、US仮出願No. 62/236274(2015年10月2日出願)にて教示されるように、それが修飾された抗体におけるグルタミン2 9 5と反応できるようにするために、そのアミノ酸配列を変えることによって改変させることができる

【0126】

最後に、一般に最も利用可能な細菌性トランスグルタミナーゼは、エス・モバラエンシス(*S. mobaraensis*)から由来の細菌性トランスグルタミナーゼであり、少し違う基質特異性を有する、他の細菌から由来のトランスグルタミナーゼ、例えば、ストレプトベルチシリウム・ラダカム(*Streptovorticillium ladakanum*)から由来のトランスグルタミナーゼ(Huら、US 2009/0318349 A1(2009)、US 2010/0099610 A1(2010)、およびUS 2010/0087371 A1(2010))を考慮することもできる。

20

【0127】

コンジュゲーションはまた、Levaryら、PLoS One 2011、6(4)、e18342; Proft、Biotechnol. Lett. 2010、32、1-10; Ploeghら、WO 2010/087994 A2(2010); およびMaoら、WO 2005/051976 A2(2005)にて教示されるように、酵素ソルターゼAを用いて行うこともできる。ソルターゼA認識モチーフ(典型的には、LPXTGであり、ここでXは任意の天然アミノ酸である)がリガンドZに位置付け、求核アクセプターモチーフ(典型的にはGGG)が式(I)中の基R<sup>3</sup>1であってもよく、その逆であってもよい。

30

【0128】

セコ - C P I - リンカー化合物

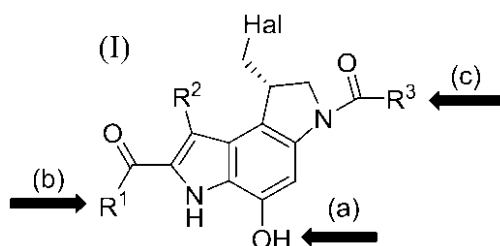
本発明のセコ - C P I化合物のADCは、セコ - C P I化合物にある官能基に結合したリンカーを含み、そのリンカーは抗体と結合している。当該分野にて知られるコンジュゲーション技法の多様性を鑑みて、本発明のセコ - C P I化合物は、抗体とのコンジュゲーションに適する多数の異なるセコ - C P I化合物 - リンカー化合物を構成することができる。

【0129】

一般に、リンカーと、本発明のセコ - C P I化合物との結合には、下記に示されるように、3つの異なる部位がある。

【化50】

40



【0130】

(a)型のセコ - C P I - リンカー化合物において、リンカーは結合サブユニットのフェ

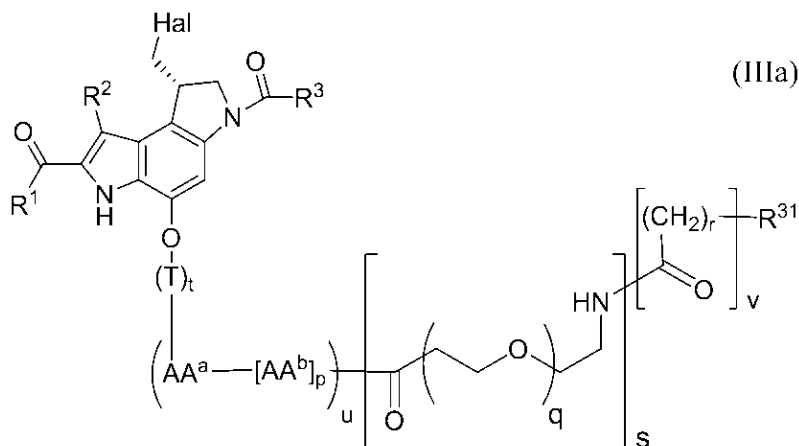
50

ニール性ヒドロキシルに結合し、結合するも、C P I 構造との環化を妨げるプロドラッグ基として作用する。(b)型のセコ-C P I-リンカー化合物において、リンカーはR<sup>1</sup>基にある、アミノ、カルボキシ、またはヒドロキシル基などの、適切な官能基を介して結合する。(c)型のセコ-C P I-リンカー化合物において、リンカーはR<sup>3</sup>基にある、アミノ、カルボキシ、またはヒドロキシル基などの、適切な官能基を介して結合する。(b)および(c)型において、フェニール性ヒドロキシル基が、所望により、上記されるように、プロドラッグ化され得る。

【0131】

1の実施態様において、(a)型セコ-C P I-リンカー化合物は、式(IIIa)：

【化51】



[式中：

Tは自己犠牲基であり；

tは0または1であり；

AA<sup>a</sup>および各AA<sup>b</sup>は、アラニン、 $\alpha$ -アラニン、 $\beta$ -アミノ酪酸、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、 $\gamma$ -カルボキシグルタミン酸、シトルリン、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リシン、メチオニン、ノルロイシン、ノルバリン、オルニチン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、and バリンからなる群より独立して選択され；

uは0または1であり；

pは1、2、3、または4であり；

qは1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12（好ましくは、2、3、4、または8）であり；

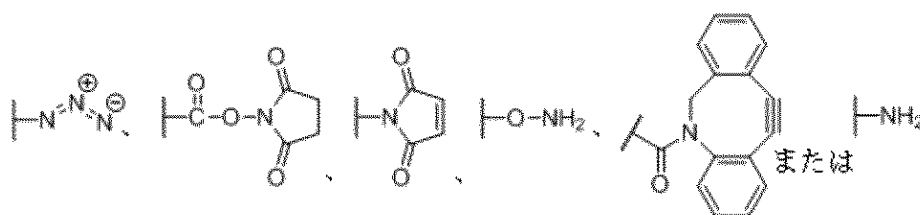
rは1、2、3、4、または5であり；

sは0または1であり；

vは0または1であり；

R<sup>31</sup>はH、

【化52】



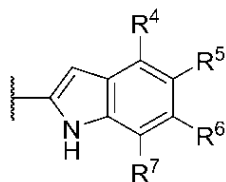
である；ただし、sが1で、vが0の場合にのみ、R<sup>31</sup>はHと、そしてsが1で、R<sup>31</sup>がHである場合にのみ、vは0とすることができ；および

R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、およびR<sup>3</sup>は、式(I)に関して、上記の「発明の概要」のセクションにて定義されるとおりである]  
で示されうる。

【0132】

式(IIIa)に関するセコ-CPIリンカーの1の実施態様において、R<sup>3</sup>は、

【化53】



10

であり、とりわけR<sup>4</sup>、R<sup>6</sup>、およびR<sup>7</sup>の各々がHの場合である。

【0133】

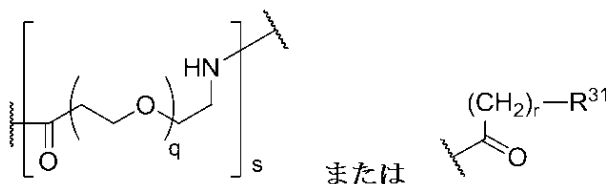
1の実施態様において、uは、式(IIIa)において、1である。

【0134】

部分-AA<sup>a</sup>-[AA<sup>b</sup>]<sub>p</sub>-は、その長さがp値によって定められるポリペプチド(pが1ならば、ジペプチドを、pが3ならばテトラペプチド等)を表す。AA<sup>a</sup>は、ポリペプチドのカルボキシ末端にあり、そのカルボキシル基は、セコ-CPI化合物のアミン窒素とペプチド(アミド)結合を形成する。逆に、最後のAA<sup>b</sup>はポリペプチドのアミノ末端にあり、その - アミノ基は、sが1または0のいずれであるかに応じて、各々、

20

【化54】



とペプチド結合を形成する。好ましいポリペプチド-AA<sup>a</sup>-[AA<sup>b</sup>]<sub>p</sub>-は、Val-Ala、Val-Cit、Val-Lys、Lys-Val-Ala、Asp-Val-Ala、Val-Ala、Lys-Val-Cit、Ala-Val-Cit、Val-Gly、Val-Gln、およびAsp-Val-Cit(慣用的にN末端からC末端方向に、H<sub>2</sub>N-Val-Cit-CO<sub>2</sub>Hのように記載される)である。より好ましくは、該ポリペプチドは、Val-Cit、Val-Lys、またはVal-Alaである。好ましくは、ポリペプチド-AA<sup>a</sup>-[AA<sup>b</sup>]<sub>p</sub>-は、標的とする(がん)細胞内にある酵素、例えば、カテプシン、特にカテプシンBによって切断され得る。

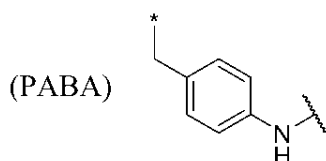
30

【0135】

下付き文字tが0または1であることで示されるように、自己犠牲基Tが所望により存在してもよい。好ましい自己犠牲基Tは、p-アミノベンジルアルコール(PABA)基であり、下記：

40

【化55】



に示される構造を有し(フェノール性酸素は示されない)、星印(\*)はセコ-CPI化合物のフェノール性酸素と結合する末端を示し、波線

50

【化 5 6】

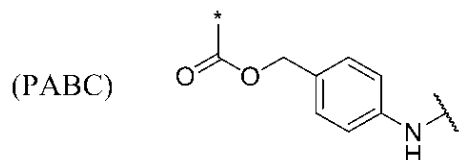
(~~~~~)

はポリペプチド - A A <sup>a</sup> - [ A A <sup>b</sup> ] <sub>p</sub> - に結合する末端を示す。

【 0 1 3 6】

もう一つ別の好ましい自己犠牲基 T は、p - アミノベンジルオキシカルボニル ( P A B C ) 基であり、下記：

【化 5 7】



10

に示される構造を有する。

【 0 1 3 7】

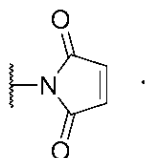
ある場合には、P A B A 基が、加水分解に対してより安定しているため、P A B C 基よりも好ましいかもしれない。

【 0 1 3 8】

好ましい実施態様において、基 R <sup>3 1</sup> は

20

【化 5 8】



である。

【 0 1 3 9】

もう一つ別の好ましい実施態様において、基 R <sup>3 1</sup> は

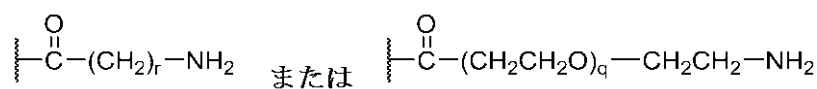
【化 5 9】

30



であるか、または v が 0 で、s が 1 であると同時に R <sup>3 1</sup> は H である。各場合において、その結果が、各々、トランスグルタミナーゼ介在のコンジュゲーションに関するアミンドナーとして適する、構造式

【化 6 0】



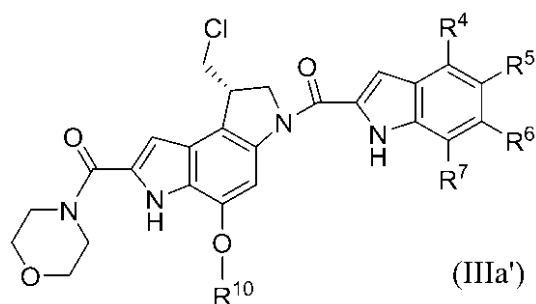
40

で示される、アミノ末端基を有するセコ - C P I - リンカー化合物である。

【 0 1 4 0】

好ましい ( a ) 型のセコ - C P I - リンカー化合物は、式 ( I I I a ' )：

## 【化 6 1】



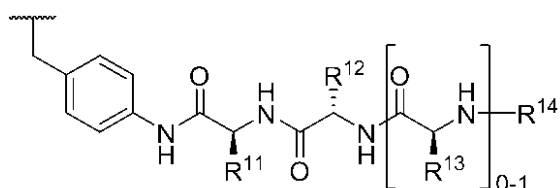
10

[ 式中：

R 4、R 5、R 6、および R 7 は、上記した「発明の概要」のセクションにおいて式 ( I ) にて定義されるとおりであり；

R 1 0 は

## 【化 6 2】



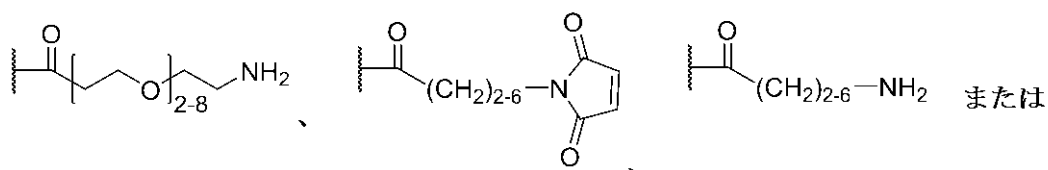
20

であり；

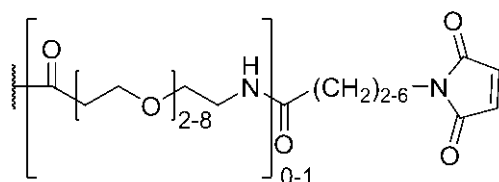
R 1 1、R 1 2 および R 1 3 は、独立して、H、CH<sub>3</sub>、CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H、CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H、CH<sub>2</sub>C(=O)NH<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(=O)NH<sub>2</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>、(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>、または (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=O)NH<sub>2</sub> であり (すなわち、R 1 1、R 1 2、および R 1 3 は、アミノ酸のグリシン、バリン、アスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、グルタミン、リシン、アルギニン、およびシトルリンの側鎖残基に相当する)；および

R 1 4 は

## 【化 6 3】



30



40

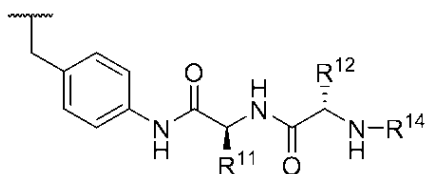
で示される化合物である。

## 【 0 1 4 1】

好ましくは、R 1 0 にあるペプチドが、すなわち、式：

50

## 【化 6 4】

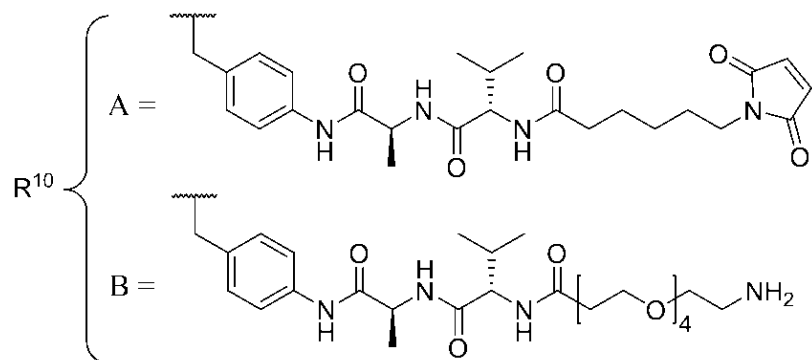


に相当する、ペプチドにあるアミノ酸  $\text{HO}_2\text{CCH}(\text{R}^{13})\text{NH}_2$  に関する接尾辞が 0 である、ジペプチドである。

## 【 0 1 4 2】

式 (I I I a') で示される特定の化合物を表 I I I に示し、ここで  $\text{R}^4$ 、 $\text{R}^6$ 、および  $\text{R}^7$  は、特記されない限り、H であり、 $\text{R}^{10}$  は A または B である：

## 【化 6 5】



10

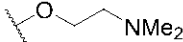
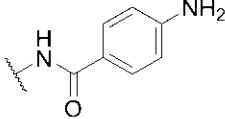



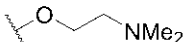
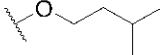
20

30

40

50

【表 5】

表 I I I    セコ-C P I -リンカー化合物		
セコ-C P I -リンカー	R <sup>10</sup>	R <sup>5</sup>
IIIa-01	A	
IIIa-02	A	
IIIa-03	A	
IIIa-04	A	
IIIa-05	B	
IIIa-06	B	
IIIa-07	B	

10

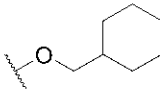

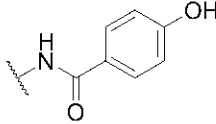
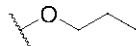
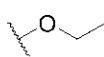
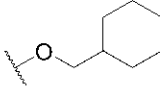
20

30

40

50

【表 6】

IIIa-08	B	
IIIa-09	B	 (R <sup>4</sup> = H, R <sup>6</sup> = R <sup>7</sup> = OMe)
IIIa-10	B	
IIIa-11	B	
IIIa-12	B	
IIIa-13	A	

10

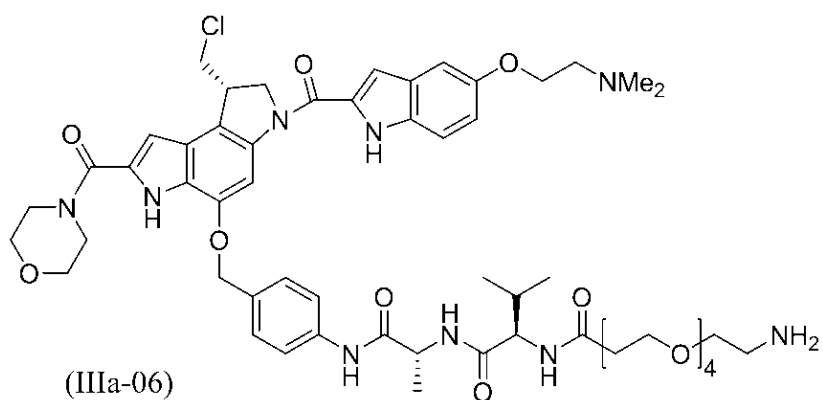
20

【 0 1 4 3 】

好ましいセコ - C P I - リンカー化合物は、その完全な構造が次式：

30

【化 6 6】



40

で示される ( I I I a - 0 6 ) である。

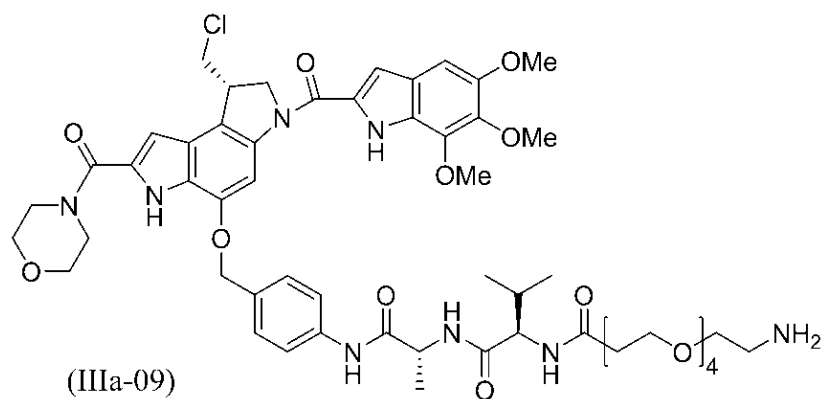
【 0 1 4 4 】

好ましいセコ - C P I - リンカー化合物は、その完全な構造が次式：

50



【化 6 7】



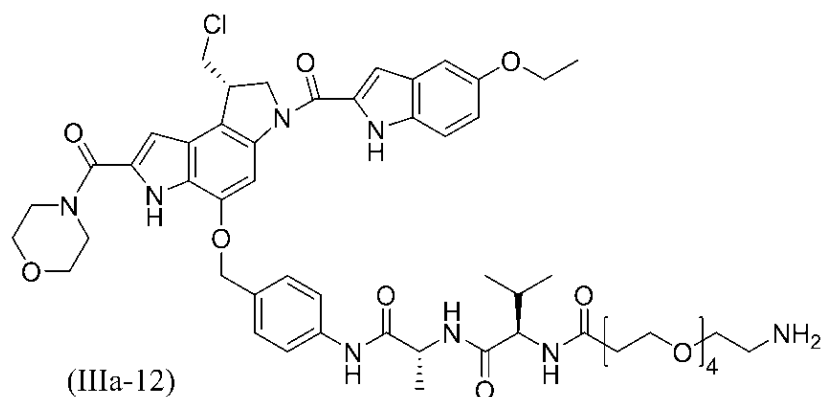
10

で示される ( I I I a - 0 9 ) である。

【 0 1 4 5】

好ましいセコ - C P I - リンカー化合物は、その完全な構造が次式：

【化 6 8】



20

で示される ( I I I a - 1 2 ) である。

【 0 1 4 6】

A 型のリンカーを有するセコ - C P I - リンカー化合物は、上記されるように、抗体にあるチオール基と、マイケル付加反応をコンジュゲートするように設計される。B 型のリンカーを有する化合物も、上記されるように、トランスグルタミナーゼを介在してコンジュゲートするように設計される。

30

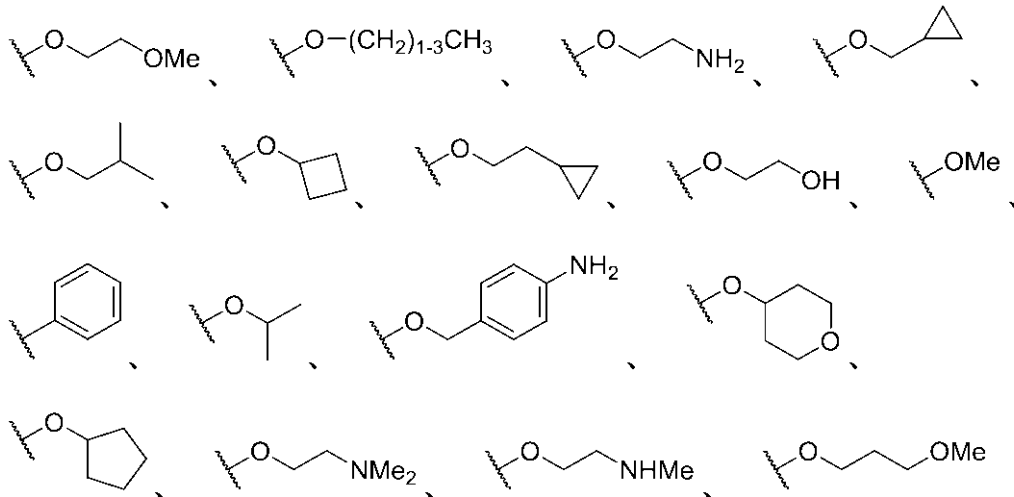
【 0 1 4 7】

さらに好ましくは、式 ( I I I a ' ) において、 $R^4$ 、 $R^6$ 、および  $R^7$  は、各々、H であり； $R^5$  は

40

50

## 【化 6 9】



10

または  $\text{---NH}_2$

である。

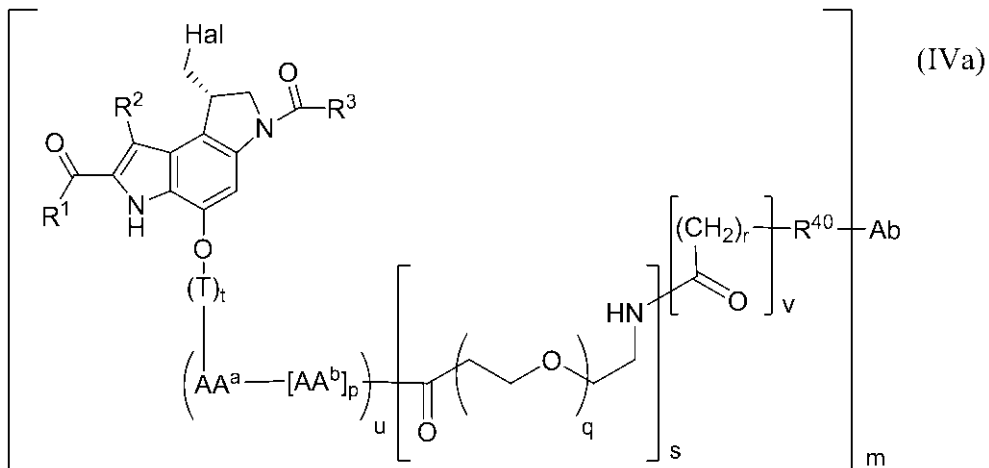
## 【 0 1 4 8】

20

コンジュゲート

1の実施態様において、本発明のコンジュゲートは、(a)型のセコ-CPI-リンカー化合物より誘導され、式(IVa)：

## 【化 7 0】



30

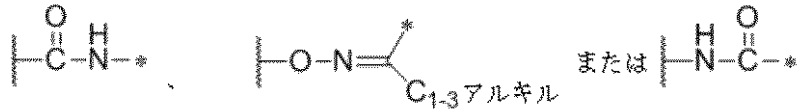
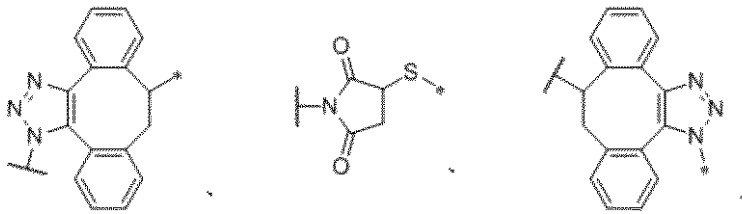
[ 式中：

A b は抗体であり；

R 4 0 は、結合手、

40

## 【化 7 1】



10

であり；ここで A b と結合する R<sup>40</sup> の原子価がオープンであるのは星印 ( \* ) で示され、( CH<sub>2</sub> )<sub>r</sub> と結合する R<sup>40</sup> の原子価がオープンであるのは波線

## 【化 7 2】

(~~~~~)

で示され；

20

m は 1、2、3、または 4 であり；

v は 0 または 1 である：ただし、s が 1 で、R<sup>40</sup> が結合手の場合にのみ、v は 0 と、そして v が 0 で、s が 1 である場合にのみ、R<sup>40</sup> は結合手とすることができ；

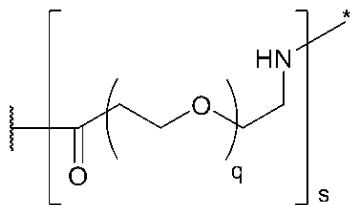
T、t、A A a、A A b、u、p、q、s、r、および X A は、式 ( I I I a ) に関して定義されるとおりであり；および

R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、および R<sup>3</sup> は、上記の「発明の概要」のセクションにて定義されるとおりである。

## 【 0 1 4 9】

R<sup>40</sup> が結合手である場合、

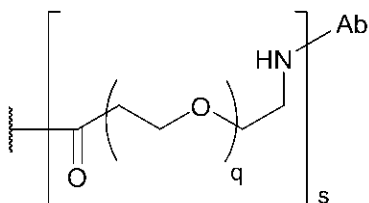
## 【化 7 3】



30

にある窒素は、下記の式：

## 【化 7 4】



40

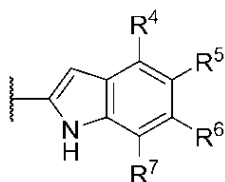
に付き、抗体 A b と直に結合する。

## 【 0 1 5 0】

式 ( I V a ) に係るコンジュゲートの 1 の実施態様において、R<sup>3</sup> は

50

【化 7 5】



であり、とりわけ、 $R^4$ 、 $R^6$ 、および $R^7$ は、各々、Hである。

【0151】

好ましい実施態様は、式(IVa)におけるuが1の場合である。

【0152】

式(IVa)において、下付き文字のtとuが共に0であるならば、その場合リンカーは非切断型のものであり、抗体Abの分解に応じて薬物を放出する。ポリエチレングリコール成分は、もしその存在が、例えばコンジュゲーションの間に薬物-リンカー化合物の溶解性を高め、薬物の生物学的活性に干渉しないことによって有益であるならば、存在してもよい(すなわち、sが1である)。

【0153】

医薬組成物

もう一つ別の態様において、本開示は、本発明の化合物、またはそのコンジュゲートの化合物が、医薬的に許容される担体または賦形剤と一緒に処方されて含む、医薬組成物を提供する。該医薬組成物は、所望により、抗体または他の薬物などの、1または複数の医薬的に活性なさらなる成分を含有してもよい。該医薬組成物は、もう一つ別の治療剤、特にもう一つ別の抗がん剤との併用療法にて投与され得る。

【0154】

医薬組成物は1または複数の賦形剤を含んでもよい。使用されてもよい賦形剤として、担体、界面活性剤、増粘剤または乳化剤、固形結合剤、分散剤または沈殿防止助剤、可溶化剤、着色剤、矯味矯臭剤、被覆剤、崩壊剤、滑沢剤、甘味剤、保存剤、等張剤、およびそれらの組み合わせが挙げられる。適切な賦形剤の選択および使用は、Gennaro編、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 2003) において教示されており、その開示を出典明示により本明細書の一部とする。

【0155】

好ましくは、医薬組成物は、静脈内、筋肉内、皮下、非経口、脊髄または表皮投与(例えば、注射または注入)に適する。投与経路に応じて、該活性な化合物は、それを酸の作用から、およびそれを不活化し得る他の自然条件から該化合物を保護するためにある材料にて被覆されてもよい。「非経口投与」なる語は、腸内投与、および一般に注射による局所投与以外の投与方法を意味し、限定するものではなく、静脈内、筋肉内、動脈内、髄腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、皮膜下、くも膜下、髄腔内、硬膜外および胸骨下注射および注入を包含する。あるいはまた、医薬組成物は、局所、表皮または粘膜経路による、例えば、鼻腔内、経口、経膣、経直腸、舌下または局所投与などの非経口以外の経路を通して投与され得る。

【0156】

医薬組成物は滅菌水溶液または水性分散液の形態とすることができる。それらはマイクロエマルジョン、リポソームまたは高い薬物濃度を達成するのに適する他の秩序だった構造物にて製剤化することもできる。該粗製物はまた、投与前に水中に復元する、凍結乾燥体の形態にて提供され得る。

【0157】

単回剤形を製造するのに担体材料と合わせることのできる活性成分の量は、治療される対象、および個々の投与形式に応じて変化するであろうし、一般に、治療作用を生じさせる組成物の量であろう。この量は、一般に100%ではなく、約0.01%~約99%の活性

10

20

30

40

50

成分の範囲、好ましくは約 0.1 % ~ 約 70 % の、最も好ましくは約 1 % ~ 約 30 % の活性成分の範囲であり、医薬的に許容される担体と組み合わせられるであろう。

#### 【0158】

投薬計画は治療応答を提供するように調整される。例えば、単一のボールスを投与してもよく、複数に分割した用量を経時的に投与してもよく、あるいはその投与量はその状況の緊急性によって、指示されるように比例して減少または増加させてもよい。投与の容易性および投与量の均一性のために、単位投与形 of 非経口用組成物に処方するのが特に有利である。「単位投与形」なる語は、治療される対象のために、単位投与量として適する物理的に分離した単位をいい；各単位は、必要とされる医薬担体と合わせて、所望の治療応答を惹起するように計算された、所定量の活性化合物を含有する。

10

#### 【0159】

投与量の範囲は、宿主の体重 1 kg 当たり約 0.0001 ~ 100 mg、より一般的には 0.01 ~ 5 mg の範囲である。例えば、投与量は、体重 1 kg 当たり 0.3 mg、体重 1 kg 当たり 1 mg、体重 1 kg 当たり 3 mg、体重 1 kg 当たり 5 mg、または体重 1 kg 当たり 10 mg、あるいは 1 ~ 10 mg / kg、あるいはまた 0.1 ~ 5 mg / kg とすることができる。典型的な治療方法は、週に 1 回、2 週毎に 1 回、3 週毎に 1 回、4 週毎に 1 回、月に 1 回、3 ヶ月毎に 1 回、または 3 ないし 6 ヶ月毎に 1 回の投与である。好ましい投薬計画は、体重 1 kg に付き 1 mg または体重 1 kg に付き 3 mg を次の投薬スケジュール：(i) 4 週間毎に 6 回投与し、次に 3 ヶ月毎に投与する；(ii) 3 週間毎に投与する；(iii) 体重 1 kg に付き 3 mg を 1 回投与し、つづいて 3 週間毎に体重 1 kg に付き 3 mg を投与する、の 1 つを用いて静脈内投与することを含む。ある方法においては、投与量を調整し、約 1 - 1000  $\mu$ g / mL の、ある方法においては約 25 - 300  $\mu$ g / mL の血漿中抗体濃度を達成する。

20

#### 【0160】

本発明の化合物の「治療的に効果的な量」は、好ましくは、疾患症状の重篤度の減少、疾患症状のない状態の頻度および持続期間の増加、あるいは疾患に起因する損傷または障害の予防をもたらす。例えば、腫瘍を担持する対象を治療する場合、「治療的に効果的な量」は、好ましくは、腫瘍の成長を、未処理の対象と比較して、少なくとも約 20 %、より好ましくは少なくとも約 40 %、さらにより好ましくは少なくとも約 60 %、その上より好ましくは少なくとも約 80 % 阻害する。治療用化合物を治療的に効果的な量で用い、腫瘍の大きさを減少させ、あるいはまた対象における症状を改善することができ、それは典型的にはヒトにおいてであるが、他の哺乳動物とすることもできる。

30

#### 【0161】

医薬組成物は、インプラント、経皮パッチ、およびマイクロカプセル化された送達システムを含め、制御または持続放出性製剤とすることができる。エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸などの生物分解性、生体適合性ポリマーを用いることができる。例えば、Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems、J.R. Robinson 編、Marcel Dekker, Inc., New York, 1978 を参照のこと。

#### 【0162】

投与は (1) 無針皮下注射装置 (US 5,399,163 ; 5,383,851 ; 5,312,335 ; 5,064,413 ; 4,941,880 ; 4,790,824 ; and 4,596,556) ; (2) マイクロ輸液ポンプ (US 4,487,603) ; (3) 経皮装置 (US 4,486,194) ; (4) 注入装置 (US 4,447,233 および 4,447,224) ; および (5) 浸透装置 (US 4,439,196 および 4,475,196) (それらの開示は出典明示により本明細書の一部とされる) などの医療装置を介して行うことができる。

40

#### 【0163】

特定の実施態様において、医薬組成物を処方して、インビボにおける適切な分布を保証することができる。例えば、本発明の治療用化合物が血液 - 脳関門を確実に通過するように、それらは、特定の細胞または器官への選択的輸送を強化するために標的とする部分をさ

50

らに含んでもよい、リポソームに処方することができる。例えば、US 4,522,811 ; 5,374,548 ; 5,416,016 ; および5,399,331 ; Ranade、J. Clin. Pharmacol. 1989, 29, 685 ; Umezawaら、Biochem. Biophys. Res. Commun. 1988, 153, 1038 ; Bloemanら、FEBS Lett. 1995, 357, 140 ; Briscoeら、Am. J. Physiol. 1995, 1233, 134 ; Schreierら、J. Biol. Chem. 1994, 269, 9090 ; KeinonenおよびLaukkanen、FEBS Lett. 1994, 346, 123 ; ならびにKillionおよびFidler、Immunomethods 1994, 4, 273を参照のこと。

#### 【 0 1 6 4 】

##### 使用

本発明の化合物またはそのコンジュゲートは、限定されないが、頭部、頸部、鼻腔、鼻洞、副鼻腔、鼻咽頭、口腔、中咽頭、喉頭、下咽頭、唾液腺、および傍神経節腫の腫瘍を含む、頭頸部がん；肝臓および胆管がん、特に肝細胞がん；腸がん、特に大腸がん；卵巣がん；小細胞および非小細胞肺癌（SCLCおよびNSCLC）；繊維肉腫、悪性繊維性組織細胞腫、胚性横紋筋肉腫、骨髄肉腫、神経繊維肉腫、骨肉腫、滑膜肉腫、脂肪肉腫、および肺軟部肉腫などの乳がん肉腫；急性前骨髄性白血病（APL）、急性骨髄性白血病（AML）、急性リンパ芽球性白血病（ALL）、および慢性骨髄性白血病（CML）などの白血病；中枢神経系の新生物、特に脳がん；多発性骨髄腫（MM）、リンパ腫、例えばホジキンリンパ腫、リンパ球黄斑性リンパ腫、毛嚢リンパ腫、粘膜関連性リンパ組織リンパ腫、マントル細胞リンパ腫、B系列大細胞リンパ腫、パーキットリンパ腫、およびT細胞未分化大細胞リンパ腫を含む高増殖性疾患などの疾患を治療するために使用され得る。

臨床的に、本明細書に記載の方法の実施および組成物の使用は、がん性腫瘍の大きさまたは数の減少、および／または（適用される場合に）関連する徴候の減少をもたらすであろう。病理学的には、本明細書に記載の方法の実施および組成物の使用は、がん細胞増殖の阻害、がんまたは腫瘍の大きさの減少、さらなる転移の防止、および腫瘍血管新生の阻害などの病理学的に関連する応答を惹起するであろう。かかる疾患の治療方法は治療的に効果的な量の本発明の組み合わせを対象に投与することを含む。該方法は必要に応じて繰り返すことができる。

#### 【 0 1 6 5 】

本発明の化合物またはそれらのコンジュゲートは、抗体、アルキル化剤、血管新生阻害剤、抗代謝剤、DNA切断剤、DNA架橋剤、DNA干渉剤、DNA小溝結合剤、エンジシン、熱ショックタンパク質90阻害剤、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、免疫調整剤、微小管安定化剤、ヌクレオシド（プリンまたはピリミジン）アナログ、核外輸送阻害剤、プロテアソーム阻害剤、トポイソメラーゼ（IまたはII）阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、およびセリン／スレオニンキナーゼ阻害剤を含む、他の治療剤と組み合わせて投与され得る。特定の治療剤として、アダリムマブ、アンサミトシンP3、アウリスタチン、ベンダムスチン、ベバシズマブ、ピカルタミド、プレオマイシン、ボルテゾミブ、ブスルファン、カリスタチンA、カンプトテシン、カペシタビン、カルボプラチン、カルムスチン、セツキシマブ、シスプラチン、クラドリビン、シタラビン、クリプトフィシン、ダカルバジン、ダサチニブ、ダウノルビシン、ドセタキセル、ドキソルビシン、デュオカルマイシン、ジネマイシンA、エポチロン、エトポシド、フロクスウリジン、フルダラビン、5-フルオロウラシル、ゲフィチニブ、ゲムシタビン、イピリムマブ、ヒドロキシ尿素、イマチニブ、インフリキシマブ、インターフェロン、インターロイキン、 - ラパコン、レナリドミド、イリノテカン、マイタンシン、メクロレタミン、メルファラン、6-メルカプトプリン、メトトレキサート、ミトマイシンC、ニロチニブ、ビボルマブ、オキサリプラチン、パクリタキセル、プロカルバジン、スペロイルアニリドヒドロキサム酸（SAHA）、6-チオグアニジン、チオテパ、テニポシド、トポテカン、トラスツズマブ、トリコスタチンA、ピンブラスチン、ピンクリスチン、およびピンデシンが挙げられる。

#### 【 0 1 6 6 】

##### 実施例

本発明の実施は、限定ではなく、例示として提供される、以下の実施例を参照することによりさらに理解され得る。

#### 【0167】

##### 実施例1 - マイケル付加反応によるコンジュゲーション

この一般的な操作は、リシン - アミノ基と2 - イミノチオランとの反応により、遊離チオール基を抗体に導入し、つづいて上記されるような、マレイミド含有の薬物 - リンカー部分と反応させることを基礎とする。抗体を、最初に、50 mM NaClおよび2 mM ジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA) 含有の0.1 Mリン酸緩衝液 (pH 8.0) に緩衝液交換に付し、5 - 10 mg/mLに濃縮する。チオール化は2 - イミノチオランの抗体への添加を通して達成される。2 - イミノチオランの添加量は予備実験により決定され得、抗体ごとに変化する。予備実験では、漸増する量の2 - イミノチオランを抗体に添加して滴定し、該抗体と一緒に室温 (「RT」、約25 °C) で1時間インキュベートした後、該抗体をSEPHADEX (登録商標) G - 25カラムを用い、50 mM HEPES、5 mMグリシン、2 mM DTPA、pH 5.5中に脱塩し、ジチオジピリジン (DTDP) と反応させることによって、導入されたチオール基の数を迅速に測定する。チオール基とDTDPとの反応はチオピリジンの遊離をもたらし、それは324 nmで分光学的にモニター観察され得る。典型的には、サンプルは、0.5 - 1.0 mg/mLのプロトン濃度で使用される。280 nmでの吸光度を用いてサンプル中のタンパク質の濃度を正確に測定することができ、次に各サンプル (0.9 mL) のアリコート0.1 mL DTDP (エタノール中5 mMストック溶液) と一緒に室温で10分間インキュベートした。緩衝液単独にDTDPを加えたブランクサンプルも並行してインキュベートされた。10分後、324 nmでの吸光度を測定し、チオール基の数をチオピリジンについて19,800 M<sup>-1</sup>での吸光係数を用いて定量した。

#### 【0168】

典型的には、チオール化レベルは、抗体当たり約2ないし3個のチオール基であることが望ましい。例えば、いくつかの抗体で、このことは15倍モル過剰の2 - イミノチオランを添加し、つづいて室温で1時間インキュベートすることで達成され得る。次に該抗体を2 - イミノチオランと所望のモル割合でインキュベートし、次にコンジュゲーション緩衝液 (50 mM HEPES、5 mMグリシン、2 mM DTPA、pH 5.5) 中に脱塩する。導入されたチオールの数を上記されるように定量しながら、そのチオール化材料を氷上で維持する。

#### 【0169】

導入されたチオールの数を確認した後に、セコ - C P I - リンカー部分をチオール当たり2.5倍モルの過剰量で添加する。コンジュゲーション反応は25%プロピレングリコールおよび5%トレハロースを最終濃度で含有するコンジュゲーション緩衝液中で進行させることができる。通常は、薬物 - リンカーのストック溶液を100% DMSOに溶かす。そのストック溶液をチオール化抗体に直接加える。

#### 【0170】

そのコンジュゲーション反応混合物を緩やかに攪拌しながら室温で2時間インキュベートする。次に10倍モル過剰のN - エチルマレイミド (DMSO中100 mMストック) を該コンジュゲーション混合物に加え、さらに1時間攪拌して未反応のいずれのチオールも遮断する。次に該サンプルを0.2 μmフィルターを通して濾過する。該サンプルをTF F Vi vaFlow 50 Sartorius 30 MWCO PES膜を介して10 mg/mLグリシン、20 mg/mLソルビトール、15%アセトニトリル (「ACN」)、pH 5.0 (5x TF F 緩衝液交換容量) に緩衝液交換に付し、未反応のいずれの薬物も除去した。最終の製剤化は、TF Fによって20 mg/mLソルビトール、10 mg/mLグリシン、pH 5.0にて実施された。

#### 【0171】

##### 実施例2 - トランスグルタミナーゼ介在のコンジュゲーション

次の操作は、リンカーがアミンドナーとして作用しうるアミノ基を有する際の、セコ - C

10

20

30

40

50

PI-リンカー化合物のトランスグルタミナーゼ介在のコンジュゲーションに用いることができる。抗体は、トランスグルタミナーゼ反応性グルタミンを有する抗体、例えば、N297AまたはN297Q置換の抗体とすることができる。コンジュゲーションは、抗体：酵素のモル比を5：1として、組換え細菌性トランスグルタミナーゼによって実施される。該コンジュゲーションは、50 mM トリス緩衝液、pH 8.0 中で標準的プロトコルを用い、37 で一夜インキュベートして実施される。得られたコンジュゲートを、50 mM トリス、pH 8.0 で予め平衡状態にしたプロテイン A (Protein A) カラムで精製した。該コンジュゲートを0.1 M クエン酸ナトリウム緩衝液、pH 3.5 で溶出する。溶出したフラクションを1 M トリス、pH 9.0 を用いて中和する。該コンジュゲートは、20 mg/mL ソルビトール、10 mg/mL グリシン、pH 5.0 にて処方され得る。

10

【0172】

当業者は、これら2つの実施例における条件および方法が、例示であって、限定するものではなく、そのコンジュゲーションのための変法または他の方法が当該分野にて公知であり、本発明において使用可能であることを理解するであろう。

【0173】

実施例3 - セコ-CPI化合物の特性

表IVは、種々のがん細胞株に対する増殖阻害効果およびCLogPを含め、本発明の化合物の特性を示す。増殖阻害は72時間のATP発光アッセイを用いて測定された(Chenら、US 8,394,922 B2 (2013))。

【0174】

20

(a) H226 (ヒト中皮腫(肺)がん細胞株)；(b) N87 (ヒト胃がん細胞株)；(c) OVCAR3 (ヒト卵巣がん細胞株)；(d) HCT116 (ヒト大腸がん細胞株)；および(e) HCT116/VM46 (HCT116の多剤およびパクリタキセル耐性下位細胞株)に対する増殖阻害を測定した。

【表7】

表IV セコ-CPI化合物の特性						
化合物 番号	がん細胞の増殖阻害(細胞株& EC <sub>50</sub> , nM)					CLogP
	H226	N87	OVCAR3	HCT116	HCT116/ VM46	
Ia-01	0.014	0.007	—	—	—	1.81
Ia-02	0.042	0.097	0.048	0.045	0.045	2.45
Ia-03	0.038	0.048	0.026	0.034	0.034	2.97
Ia-04	0.11	0.15	0.11	0.12	0.12	2.89
Ia-05	0.18	0.21	0.076	0.17	0.17	3.37
Ia-06	0.47	0.56	0.32	0.36	0.36	2.83
Ia-07	0.72	0.81	0.41	0.67	0.67	3.41
Ia-08	3.4	1.3	2.1	—	—	1.04

30

40

50



【表 8】

Ia-09	0.055	0.016	0.025	—	—	2.19
Ia-10	0.25	0.15	—	—	—	4.57
Ia-11	1.0	1.2	0.52	0.58	0.92	1.92
Ia-12	0.53	1.3	0.54	0.40	0.29	3.68
Ia-13	0.32	0.48	0.12	0.18	0.24	2.75
Ia-14	0.43	0.36	0.10	0.26	0.77	1.55
Ia-15	0.28	0.32	0.21	0.22	0.26	3.39
Ia-16	0.40	0.50	—	—	—	2.01
Ia-17	1.6	36	18	19	25	1.42
Ia-18	32	48	12	25	19	1.12
Ia-19	4.2	3.1	1.1	3.2	3.5	0.78
Ia-20	6.5	3.5	1.5	1.9	2.6	2.36
Ia-21	0.99	2.2	1.2	0.85	0.50	1.81
Ia-22	5.1	1.9	1.1	1.2	1.2	1.65
Ia-23	7.5	2.6	1.1	0.9	1.9	2.42
Ia-24	250	—	250	250	250	1.60
Ia-25	23	38	22	13	24	0.78
Ia-26	9.5	—	2.7	4.1	12	1.34
Ia-27	1.4	3.5	—	—	—	3.37
Ia-28	0.30	0.066	0.058	0.079	0.090	2.85

10

20

30

40

50

【表 9】

<b>Ib-01</b>	<b>2.39</b>	<b>3.6</b>	<b>2.8</b>	<b>3.2</b>	<b>3.5</b>	<b>1.92</b>
<b>Ib-02</b>	<b>1.0</b>	<b>0.96</b>	<b>0.53</b>	<b>0.64</b>	<b>1.9</b>	<b>1.83</b>
<b>Ic-01</b>	<b>0.91</b>	<b>1.5</b>	<b>0.89</b>	<b>0.43</b>	<b>0.75</b>	<b>1.93</b>
<b>Id-01</b>	—	<b>2.3</b>	<b>1.1</b>	<b>0.93</b>	—	<b>2.18</b>
<b>Id-02</b>	<b>1.2</b>	<b>1.4</b>	—	—	—	<b>1.60</b>

10

## 【0175】

## 実施例4 - 化合物10

この実施例および図1Aは化合物10の合成に関する。

## 【0176】

3,5 - ジニトロベンジルアルコール1 (5 g、25.2ミリモル) の EtOAc (160 mL) 中溶液を 2 - ヨードキシ安息香酸 (「SIBX」、Sigma-Aldrichより入手可能、17.67 g、63.1ミリモル) に加えた。反応混合物を 90 で 20 時間還流させ、室温に冷却して濾過した。固体を捨て、濾液を真空下で濃縮し、粗生成物2を黄色の固体として得、それを 100 mL の EtOAc に溶かし、飽和 NaHCO<sub>3</sub> 溶液で、ついで水で洗浄した。次にそれを無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させた。該溶液を真空下で濃縮し、4.2 g (81%) の 3,5 - ジニトロベンズアルデヒド2を黄色の固体として得た。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz、DMSO - d<sub>6</sub>) 10.24 (s, 1H)、9.08 - 9.06 (m, 1H)、9.04 (d, J = 2.0 Hz, 2H) ; C<sub>7</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub> としての分析：計算値：196.01；測定値：194.99 [M - H]<sup>+</sup>

20

## 【0177】

syn - ベンズアルデヒド オキシム (6.18 g、51.0ミリモル) の N,N - ジメチル - ホルムアミド (「DMF」、50 mL) 中の攪拌した溶液を K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (14.38 g、102ミリモル) で処理し、10 分間攪拌した。3,5 - ジニトロベンズアルデヒド2 (5 g、25.5ミリモル) の DMF (50 mL) 中溶液を添加した。該反応混合物を 90 で 2 時間攪拌し、室温に冷却した。(プロモメチル) ベンゼン (7.12 mL、58.6ミリモル) を該反応混合物に加え、次にそれを 18 時間攪拌した。該反応混合物を Et<sub>2</sub>O (200 mL) で希釈した。水性 HCl (1N、100 mL) を攪拌しながらゆっくりと添加した。エーテル層を厚め、水層を Et<sub>2</sub>O (80 mL x 2) および EtOAc (80 mL) で抽出した。有機相を合わせ、NaHCO<sub>3</sub> 飽和溶液で、次にブラインで洗浄し、MgSO<sub>4</sub> で乾燥させ、濾過し、真空下で濃縮し、16 g の褐色の油を得、それを Biotage からの 330 g カラム (45 ~ 55% ジクロロメタン / ヘキサン) に付して精製し、3.41 g (52.1%) の 3 - (ベンジルオキシ) - 5 - ニトロベンズアルデヒド3を白色の固体として得た。<sup>1</sup>H NMR (500 MHz、クロロホルム - d) 10.07 (s, 1H)、8.37 - 8.29 (m, 1H)、8.10 (t, J = 2.2 Hz, 1H)、7.82 (dd, J = 2.4、1.2 Hz, 1H)、7.53 - 7.36 (m, 5H)、5.24 (s, 2H) ; C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>N<sub>1</sub>O<sub>4</sub> としての分析：計算値：257.0；測定値：279.3 [M + Na]<sup>+</sup>

30

40

## 【0178】

ナトリウムメタノレート (25%) (1.313 mL、5.91ミリモル) を 3 - (ベンジルオキシ) - 5 - ニトロベンズアルデヒド3 (400 mg、1.555ミリモル) およびメチル 2 - アジド - アセタート4 (Sigma-Aldrichから入手可能、591 mg、5.13ミ

50

リモル)のテトラヒドロフラン(「THF」、3 mL)およびMeOH(3 mL)の混合液中の攪拌した溶液に-25℃で20分間にわたって滴下して加えた。該反応混合物を-20℃で64時間、ついで0℃で1時間攪拌した。該反応混合物を氷と水の混合物中に注ぎ、ジクロロメタン(「DCM」、15 mL x 3)で抽出し、水で、ついでブラインで洗浄した。有機相をMgSO<sub>4</sub>で乾燥させて粗生成物を得、それをBiotageからの330 g カラム(5%~9% EtOAc/ヘキサン)に付して精製し、323 mg(58.6%)の化合物5を得た。<sup>1</sup>H NMR(500 MHz、クロロホルム-d) 8.22(s, 1H)、7.84(s, 1H)、7.80(t, J=2.1 Hz, 1H)、7.53-7.33(m, 5H)、6.86(s, 1H)、5.20(s, 2H)、3.96(s, 3H); <sup>13</sup>C NMR(126 MHz、クロロホルム-d) 163.4、159.1、149.2、135.6、135.3、128.8、128.5、128.2、127.6、122.8、122.0、118.0、109.8、70.9、53.3; C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>としての分析: 計算値: 354.09; 測定値: 377.30 [M+Na]<sup>+</sup>

# 【0179】

化合物5(313 mg、0.883ミリモル)をキシレン(80 mL)に加え、5分間超音波処理に付した。均質な溶液を形成し、それを2回脱気処理に付した。該反応混合物を160℃で20時間還流させ、室温に冷却した。キシレンを真空下で蒸発させて黄色の固体を得、それをBiotageからの24 g カラム(5%~15% EtOAc/ヘキサン)に付して精製し、47.3 mg(16.41%)の化合物6aおよび160.3 mg(55.6%)の化合物6bを得た。

化合物6a: <sup>1</sup>H NMR(500 MHz、クロロホルム-d) 10.19(brs, 1H)、8.06(d, J=2.2 Hz, 1H)、7.63(d, J=1.9 Hz, 1H)、7.52-7.47(m, 2H)、7.44(t, J=7.4 Hz, 2H)、7.41-7.35(m, 1H)、5.20(s, 2H)、4.01(s, 3H); <sup>13</sup>C NMR(126 MHz、クロロホルム-d) 161.2、152.7、136.2、133.2、131.2、130.5、128.8、128.3、127.6、125.6、115.2、112.0、108.9、71.5、52.4; C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>としての分析: 計算値: 327.1; 測定値: 327.3 [M+H]<sup>+</sup>

化合物6b: <sup>1</sup>H NMR(500 MHz、クロロホルム-d) 9.38(brs, 1H)、8.38(s, 1H)、7.75(d, J=1.3 Hz, 1H)、7.57-7.51(m, 2H)、7.51-7.42(m, 3H)、7.38(d, J=2.0 Hz, 1H)、5.32(s, 2H)、3.99(s, 3H); <sup>13</sup>C NMR(126 MHz、クロロホルム-d) 161.4、145.2、143.3、135.3、130.9、129.7、128.9、128.8、128.2、126.7、113.2、111.0、100.5、71.1、52.4; C<sub>17</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>としての分析: 計算値: 327.1; 測定値: 327.3 [M+H]<sup>+</sup>

# 【0180】

化合物6b(150 mg、0.460ミリモル)のTHF(4 mL)中の攪拌した溶液に、Boc-無水物(0.192 mL、0.827ミリモル)および4-ジメチルアミノピリジン(「DMAP」、11.23 mg、0.092ミリモル)を添加した。反応混合物を室温で18時間攪拌した。ブライン(5 mL)およびEtOAc(5 mL)を加え、攪拌を5分間続けた。有機層を集めた。水層を10 mLのEtOAcで抽出した。有機相を合わせ、MgSO<sub>4</sub>で乾燥させ、濾過し、真空下で濃縮して、黄色の固体を得、それをBiotageからの24 g カラム(5%~40% EtOAc/ヘキサン)に付して精製し、184.2 mg(94%)の化合物7を得た。<sup>1</sup>H NMR(500 MHz、クロロホルム-d) 8.29(d, J=1.7 Hz, 1H)、7.70(d, J=1.6 Hz, 1H)、7.50(d, J=7.3 Hz, 2H)、7.45-7.39(m, 2H)、7.39-7.33(m, 2H)、5.35(s, 2H)、3.97(s, 3H)、1.50(s, 9H); <sup>13</sup>C NMR(126 MHz、クロロホルム-d) 160.4、149.2、145.5、143.5、135.1、130.1、130.0、128.8、128.6、128.1、126.3、1

12.6、112.4、102.1、86.4、71.2、52.4、27.2； $C_{22}H_{22}N_2O_7$ としての分析：計算値：426.1；測定値：449.4  $[M+Na]^+$   
【0181】

亜鉛粉末（130mg、1.982ミリモル）および $NH_4Cl$ （212mg、3.96ミリモル）を化合物7（169mg、0.396ミリモル）のアセトン（4mL）/水（0.800mL）中の攪拌した溶液に添加した。反応混合物を室温で18時間攪拌した。該反応混合物を真空下で濃縮し、180mgの粗化合物8を得、それをEtOAc（8mL）に再び溶かし、水（8mL）で、ついでブライン（8mL）で洗浄し、 $MgSO_4$ で乾燥させた。それを真空下で濃縮し、160mgの粗化合物8（褐色）を得、それをBiotageからの12gカラム（15%to 35% EtOAc / ヘキサン）に付して精製し、138.1mg（88%）の化合物8を得た。 $^1H$  NMR（500MHz、クロロホルム-d）7.46（d, J = 7.3 Hz, 2H）、7.39（t, J = 7.4 Hz, 2H）、7.35 - 7.30（m, 1H）、7.03（s, 1H）、6.50（d, J = 1.4 Hz, 1H）、6.29（d, J = 1.4 Hz, 1H）、5.22（s, 2H）、3.91（s, 3H）、3.53（brs, 2H）、1.49（s, 9H）； $C_{22}H_{24}N_2O_5$ としての分析：計算値：397.17；測定値：397.13  $[M+H]^+$

10

【0182】

Boc - 無水物（0.112mL、0.484ミリモル）を化合物8（128mg、0.323ミリモル）のTHF（3.5mL）中の攪拌した溶液に添加した。該反応混合物を室温で20時間攪拌し、真空下で濃縮し、178mgの褐色で、ワックス状の粗化合物9を得、それをBiotageからの12gカラム（5%～15% EtOAc / ヘキサン）に付して精製し、156mg（97%）の化合物9を得た。 $^1H$  NMR（500MHz、クロロホルム-d）7.48（d, J = 7.3 Hz, 2H）、7.39（t, J = 7.4 Hz, 2H）、7.36 - 7.30（m, 2H）、7.13（s, 1H）、6.86（s, 1H）、6.41（brs, 1H）、5.24（s, 2H）、3.92（s, 3H）、1.54（s, 9H）、1.47（s, 9H）； $C_{27}H_{32}N_2O_7$ としての分析：計算値：496.2；測定値：497.5  $[M+H]^+$

20

【0183】

N - ヨードスクシンイミド（127mg、0.564ミリモル）および酢酸（0.065mL、1.128ミリモル）を化合物9（140mg、0.282ミリモル）のトルエン（8mL）中の攪拌した溶液に添加した。その反応フラスコをアルミホイルで覆い、室温で18時間攪拌した。該反応混合物を水（20mL）中に注いだ。EtOAc（10mL）を添加し、該混合物を2分間攪拌した。有機層を集めた。水層をEtOAc（10mL）で抽出した。有機層を合わせ、 $MgSO_4$ で乾燥させ、濾過し、真空下で濃縮して暗紫色のワックスを得、それをBiotageからの12gカラム（5%～12% EtOAc / ヘキサン）に付して精製し、110.6mg（63.0%）の化合物10を黄色のワックスとして得た。 $^1H$  NMR（500MHz、クロロホルム-d）7.81（brs, 1H）、7.50（d, J = 7.1 Hz, 2H）、7.43 - 7.36（m, 2H）、7.35 - 7.30（m, 1H）、7.12（s, 1H）、6.79（brs, 1H）、5.27（s, 2H）、3.94（s, 3H）、1.56（s, 9H）、1.43（s, 9H）； $C_{27}H_{31}IN_2O_7$ としての分析：計算値：622.1；測定値：623.4  $[M+H]^+$

30

40

【0184】

#### 実施例5 - エステル12

この実施例および図3Bはエステル12の調製に関する。

【0185】

$NaH$ （7.71mg、0.193ミリモル）および1,3 - ジクロロプロペン（23.50μL、0.241ミリモル）を化合物10（100mg、0.161ミリモル）のDMF中の0での攪拌した溶液に添加した。該反応混合物を3時間攪拌した。該反応混合物を $NH_4Cl$ 飽和溶液（100mL）中に注ぎ、Et<sub>2</sub>O（2×80mL）で抽出した。抽出液を $MgSO_4$ で乾燥させ、濾過し、真空下で濃縮して褐色のワックスを得、それをBiotag

50

eからの12 gカラム(5%~12% EtOAc/ヘキサン)に付して精製し、88.7 mg(79%)の化合物1.1を得た。<sup>1</sup>H NMR(500 MHz、クロロホルム-d)  
7.47-7.31(m, 5H)、7.21(s, 1H)、6.53(d, J=18.3 Hz, 1H)、6.03-5.83(m, 3H)、5.34-5.21(m, 2H)、3.96(s, 2H)、4.57-3.70(m, 2H)、1.58(s, 9H)、1.30(d, J=9.8 Hz, 9H); C<sub>30</sub>H<sub>34</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>としての分析: 計算値: 696.1; 測定値: 719.5 [M+Na]<sup>+</sup>

【0186】

水素化トリ-n-ブチルスズ(1.793 mL、6.59ミリモル)および2,2'-アゾビス(2-メチルプロピオニトリル)(「AIBN」、0.085 g、0.507ミリモル)を、化合物1.1(3.5305 g、5.07ミリモル)のベンゼン(100 mL)中の攪拌した溶液に添加した。反応混合物を1回脱気処理に付し、80 で4時間攪拌した。該反応混合物を真空下で室温に冷却し、褐色のワックスを得、それをBiotageからの120 gカラム(5%~10% EtOAc/ヘキサン)に付して精製し、2.7552 gの化合物1.2と1.2 aの混合物を得た。該混合物をSFCキラル分離: キラルパック(Chiralpak): AD-H分取用カラム、30 x 250 mm、5 μm; 移動相: 35% MeOH/CO<sub>2</sub>、130 パール; 温度: 35 ; 流速: 70.0 mL/分、13分間; UVモニター(220 nm)により分離した。この操作により0.9562 g(33.1%)の化合物1.2; <sup>1</sup>H NMR(500 MHz、クロロホルム-d) 7.52-7.30(m, 6H)、7.11(s, 1H)、5.27(s, 2H)、4.20-4.13(m, 1H)、4.01-3.82(m, 6H)、3.53(t, J=9.9 Hz, 1H)、1.57(s, 9H)、1.43(b r s, 9H); C<sub>30</sub>H<sub>35</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>としての分析: 計算値: 570.2; 測定値: 571.5 [M+H]<sup>+</sup>; [ ]<sup>20</sup><sub>D</sub> -17.06(c 2.45、CHCl<sub>3</sub>)、および0.9252 g(32.0%)の化合物1.2 b; <sup>1</sup>H NMR(500 MHz、クロロホルム-d) 7.53-7.30(m, 6H)、7.11(s, 1H)、5.27(s, 2H)、4.22-4.13(m, 1H)、4.12-3.83(m, 6H)、3.53(t, J=10.1 Hz, 1H)、1.57(s, 9H)、1.43(b r s, 9H); C<sub>30</sub>H<sub>35</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>7</sub>としての分析: 計算値: 570.2; 測定値: 571.5 [M+H]<sup>+</sup>; [ ]<sup>20</sup><sub>D</sub> +17.06(c 2.45、CHCl<sub>3</sub>)を得た。

【0187】

実施例6 - 化合物16

この実施例および図2は化合物1.6の製造に関する。

【0188】

エステル1.2(1 g、1.751ミリモル)のACN(Aldrich、40 mL)中溶液を製造した。LiOH(0.125 g、5.22ミリモル)/蒸留水(10 mL)を加えた。該反応混合物を50 で2時間攪拌した。LCMS分析は反応が完了していることを示した。該反応混合物を6N HClでpH4の酸性にし、真空下で濃縮し、ACNを除去した。該反応混合物をEtOAc(2 x 50 mL)で抽出した。有機相を水およびブラインで洗浄し、無水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>で乾燥させ、高真空下で一夜濃縮して乾燥させ、粗製酸1.3(0.98 g)を得た。ESI-LCMS (M+H): 557.0

【0189】

N,N-ジイソプロピルエチルアミン(「DIEA」、Aldrich、0.612 mL、3.50ミリモル)を、酸1.3(0.98 g)、モルホリン1.3 a(Aldrich、0.458 g、5.25ミリモル)およびN,N,N',N'-テトラメチル-O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)ウロニウム ヘキサフルオロホスファート(「HATU」、CAS Reg. No. 148893-10-1、Oakwood Chemical、0.999 g、2.63ミリモル)の無水DMF(Acros、5 mL)中溶液に添加した。該反応混合物を室温で45分間攪拌した。LCMS分析は反応が完了していることを示した。該反応混合物をEtOAc、水およびブラインで後処理した。有機相を合わせ、2 gのシリカゲルと一緒にスラリーに濃縮した。該スラリーを24 g COMBIFLASH(登録商標)カラムに付し、ヘキサン中0-35% EtOAc

の勾配で溶出して精製した。生成物を含有すると考えられるフラクションを合わせ、高真空下で濃縮して乾燥させ、化合物 1.4 (0.872 g、2 工程にわたって収率 80%) を固体として得た。ESI - LCMS (M + H) : 626.1

【0190】

化合物 1.4 (396 mg、0.633 ミリモル) の無水 THF (Acros、5 mL) 中溶液を製造した。ギ酸アンモニウム (Aldrich、1.104 g、8.76 ミリモル) / 蒸留水 (1 mL) を添加した。窒素気体を 5 分間にわたって該反応混合物に吹き込み、次に Pd / 炭素 (Aldrich-Sigma、10%、60 mg) を添加した。該反応混合物を室温で 0.5 時間攪拌した。LCMS 分析は反応が完了していることを示した。該反応混合物を EtOAc (50 mL) で希釈して濾過した。濾液を水およびブラインで洗浄し、無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、真空下で濃縮して残渣を得、それを ACN および水と一緒に凍結乾燥させ、化合物 1.5 (白色の固体、225 mg、収率 66%) を得た。ESI - LCMS (M + H) : 536.2

【0191】

トリフルオロ酢酸 (「TFA」、Aldrich、1 mL) を、化合物 1.5 (78 mg、0.146 ミリモル) の無水 DCM (Acros、1 mL) 中溶液に添加した。該反応混合物を室温で 30 分間攪拌した。LCMS 分析は反応が完了していることを示した。該反応混合物を真空下で濃縮し、ACN および水と一緒に凍結乾燥させ、化合物 1.6 (81 mg、二 TFA 塩、98%) を緑色の固体として得た。ESI - LCMS (M + H) : 336.0

【0192】

実施例 7 - 化合物 1.8

この実施例は、図 2 に示されるように、化合物 1.8 の製造に関する。

【0193】

エチルエステル 1.7.a (Alfa Aesar、300 mg、1.46 ミリモル) およびトリフェニルホスフィン (「TPP」、Aldrich-Sigma、767 mg、2.92 ミリモル) の無水 THF (Acros Organics、10 mL) 中溶液を製造した。ジ-tert-ブチル アゾジカルボキシレート (「DBAD」、Aldrich、673 mg、2.92 ミリモル) / 無水 THF (Acros、無水物、2 mL) を 10 分間にわたって、つづいて 2 - メトキシエタノール 1.7.b (Aldrich、445 mg、5.85 ミリモル) を滴下して加えた。該反応混合物を室温で一夜攪拌した。LCMS 分析は、反応がほとんど完了していることを示した。該反応混合物を EtOAc、水、およびブラインで後処理した。有機相を合わせ、シリカゲル (1 g) と一緒に真空下で濃縮してスラリーを得た。該スラリーを 24 g COMBIFLASH (登録商標) カラムに付し、ヘキサン中 0 - 30% EtOAc の勾配で溶出して精製した。生成物を含有すると考えられるフラクションを合わせ、高真空下で濃縮して乾燥させ、化合物 1.7 (314 mg、1.19 ミリモル、82%) を固体として得た。ESI - LCMS (M + H) : 264.1

【0194】

LiOH (Aldrich、50 mg) / 蒸留水 (1 mL) を化合物 1.7 (314 mg、1.19 ミリモル) の ACN (Acros、10 mL) 中溶液に添加した。該反応混合物を 40 °C で 3 時間攪拌した。LCMS 分析は反応が完了していることを示した。該反応混合物を酢酸 (0.5 mL) で中和し、真空下で濃縮して 2 mL とした。得られた混合物を COMBIFLASH (登録商標) AQ Gold の 50 g カラムにロードし、水中 0 - 60% ACN の勾配 (共に 0.05% ギ酸を含む、50 mL / 分) で溶出した。生成物を含有すると考えられるフラクションを合わせ、凍結乾燥させて化合物 1.8 (226 g、0.961 ミリモル、81%) を白色の粉末として得た。ESI - LCMS (M + H) : 236.0

【0195】

実施例 8 - セコ - CPI 化合物 Ia - 0.1

この実施例および図 2 はセコ - CPI 化合物 Ia - 0.1 の製造に関する。

【0196】

化合物 1.6 (5 mg、0.015 ミリモル) および 1.8 (7.0 mg、0.030 ミリモル)

の無水DMF (Acros、1 mL) 中溶液を製造した。N - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) - N ' - エチルカルボジミド・塩酸塩 (「EDC」、Aldrich、5.71 mg、0.030 ミリモル) を添加した。該反応混合物を室温で2時間攪拌した。LCMS分析は反応が完了していることを示した。該反応混合物を分取性HPLCによって、KINETEX (登録商標) 5  $\mu$ m EVO C18 150 x 2 1.2 mmカラムに供し、水中45 - 60% ACN (0.1% TFAを含む、20 mL / 分) で溶出して精製した。生成物を含有すると考えられるフラクションを合わせ、凍結乾燥させて Ia-01 (4.1 mg、7.4 マイクロモル、収率50%) をオフホワイトの固体として得た。ESI-LCMS (M+H): 553.1; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-d<sub>6</sub>、400 MHz) 11.54 (1H, s)、11.29 (1H, s)、9.75 (1H, s)、7.75 (1H, s)、7.39 (1H, d)、7.15 (1H, d)、7.02 (1H, d)、6.91 (2H, d)、4.74 (1H, t)、4.45 (1H, d)、4.14 (4H, m)、3.89 (2H, m)、3.40 - 3.80 (12H, m)

【0197】

一般に、この実施例の操作および図2に従うが、別の先駆体の材料を用いて、下記の表Vに列挙されるさらなるセコ-CPI化合物を製造した。

【表10】

表V 図2のスキームに従って製造したセコ-CPI化合物		
化合物 番号	質量スペクトル	備考
Ia-02	[M-H] <sup>-</sup> = 521.2	エタノールを化合物17bの代わりに用いた。
Ia-08	[M+H] <sup>+</sup> = 541.1	エタン1,2-ジオールを化合物17bの代わりに用いた。
Ia-09	[M+H] <sup>+</sup> = 567.1	3-メトキシ-1-プロパノールを化合物17bの代わりに用いた。
Ia-10	[M+H] <sup>+</sup> = 591.1	シクロヘキシルメタノールを化合物17bの代わりに用いた。
Ia-16	[M+H] <sup>+</sup> = 566.1	2-(ジメチルアミノ)エタノールを化合物17bの代わりに用いた。
Ia-30	[M+H] <sup>+</sup> = 569	5,6,7-トリメトキシ-1H-インドール-2-カルボン酸 (CAS Reg. No. 128781-0707) を化合物18の代わりに用いた。
Ia-31	[M+H] <sup>+</sup> = 565.0	3-メチルブタン-1-オールを化合物17bの代わりに用いた。

【0198】

実施例9 - 化合物26

この実施例および図3Aは化合物26の合成に関する。

【0199】

化合物19a (Bachem、7.5 g、24.09 ミリモル) および(4-アミノフェニル)メタノール19b (Aldrich、3.86 g、31.3 ミリモル) の無水DCM (Acros、50 mL) および無水メタノール (Acros、50 mL) 中溶液を製造した。2-エトキシ-1-

エトキシカルボニル - 1,2 - ジヒドロキノリン (「EEDQ」、Bachem、8.94 g、36.1 ミリモル) を添加した。該反応混合物を室温で一夜攪拌した。LCMS 分析は反応がほとんど完了していることを示した。該反応混合物を EtOAc (400 mL) で希釈し、得られた溶液を水およびブラインで洗浄した。有機相を無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、真空下で濃縮して 100 mL の容量とした。沈殿した白色の固体を濾過で集め、週末にわたって風乾させて化合物 2.0 (白色の固体、8.9 g、21.37 ミリモル、89%) を得た。ESI - LCMS (M + H): 417.1

【0200】

ピペリジン (Aldrich、1 mL) を化合物 2.0 (2.2 g、5.28 ミリモル) の DMF (Acros、無水物、10 mL) 中溶液に添加した。該反応混合物を室温で 1 時間攪拌した。LCMS 分析は反応が完了していることを示した。該反応混合物を ACN および水と一緒に凍結乾燥させ、粗製化合物 2.1 (2.12 g) を Fmoc 残渣と共に白色の固体として得た。ESI - LCMS (M + H): 195.0

【0201】

化合物 2.1 (2.12 g、粗製物) および化合物 2.2a (Aldrich、1.610 g、5.28 ミリモル) の DMF (Acros、無水物、10 mL) 中溶液を製造した。DIPEA (Aldrich) を添加して反応混合物の pH を 8 より上に調整した。該反応混合物を室温で 2 時間攪拌した。LCMS 分析は反応が完了していることを示した。該反応混合物を EtOAc、水およびブラインで後処理した。有機相を合わせ、濃縮して残渣を得た。該残渣を ACN (Aldrich、5 mL) および蒸留水 (10 mL) に再び溶かした。その懸濁液を濾過した。濾液を 130 g COMBIFLASH (登録商標) AQ Gold カラムにロードし、75 mL / 分で 25 - 40% ACN (0.05% ギ酸を含む) および水 (同様に 0.05% ギ酸を含む) を用いて溶出した。生成物を含有すると考えられるフラクションを合わせ、凍結乾燥させて化合物 2.2 (0.89 g、2.262 ミリモル、42.8%) を白色の固体として得た。ESI - LCMS (M + H): 394.1

【0202】

化合物 2.2 (147 mg、0.374 ミリモル) およびベルブプロメタン (Aldrich、217 mg、0.653 ミリモル) の無水 DCM (Acros、4 mL) 中溶液を製造した。TPP (Aldrich、171 mg、0.653 ミリモル) を添加した。該反応混合物を室温で 5 分間攪拌し、その後で透明な溶液を形成した。LCMS 分析は反応が完了していることを示した。該反応混合物を 12 g COMBIFLASH (登録商標) Gold カラムにロードし、ヘキサン中 50 - 100% EtOAc (25 mL / 分) で溶出した。生成物を含有すると考えられるフラクションを合わせ、高真空下で濃縮して 15 分間乾燥させ、化合物 2.3 (92 mg、54%) を固体として得た。ESI - LCMS (M + H): 456.1

【0203】

メチルリチウム / ジエチルエーテル (Aldrich、1.6 M、0.233 mL、0.373 ミリモル) を化合物 1.5 (図 2、100 mg、0.187 ミリモル) の無水 THF (Acros、1 mL) 中溶液に添加した。該反応混合物を室温で 5 分間攪拌した。化合物 2.3 (92 mg、0.202 ミリモル) を加えた。該反応混合物を室温で 10 分間攪拌した。LCMS は反応が完了していることを示した。該反応混合物を EtOAc、水およびブラインで後処理した。有機相を無水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で乾燥させ、高真空下で濃縮して乾燥させ、化合物 2.4 (153 mg、粗製物) を得た。ESI - LCMS (M + H): 911.2

【0204】

TFA (Aldrich、2 mL) を粗化合物 2.4 (153 mg) の無水 DCM (Acros、0.5 mL) 中溶液に添加した。該反応混合物を室温で 30 分間攪拌した。LCMS 分析は反応が完了していることを示した。反応混合物を濃縮し、COMBIFLASH (登録商標) AQ Gold 30 g カラムに付し、脱イオン水 (0.05% ギ酸を含む) 中 15 - 30% ACN (0.05% ギ酸を含む) で 35 mL / 分にて溶出して精製した。生成物を含有すると考えられるフラクションを合わせ、凍結乾燥させて化合物 2.5 (61 mg、53.5%) を白色の固体として得た。ESI - LCMS (M + H): 611.2

10

20

30

40

50



## 【0205】

化合物 2.5 (61 mg、0.100 ミリモル) および BOC 無水物 (Oakwood、0.030 mL、0.130 ミリモル) の無水 DMF (Acros、1 mL) 中溶液を製造した。DIPEA (Aldrich、0.060 mL、0.348 ミリモル) を添加した。反応混合物を室温で 30 分間攪拌した。LCMS 分析は反応が完了していることを示した。該反応混合物を分取性 HPLC によって、KINETEX (登録商標) C18 EVO5  $\mu$ m 150  $\times$  22.1 mm カラムに供し、水中 30 - 50 % ACN (0.1 % TFA を含む、20 mL / 分) を用いて精製した。生成物を含有すると考えられるフラクションを合わせ、凍結乾燥させて化合物 2.6 (60 mg、84.4 %) を白色の固体として得た。ESI - LCMS (M + H) : 711.2

10

## 【0206】

実施例 10 - セコ - C P I - リンカー化合物 I I I a - 03

この実施例および図 3 B は化合物 I I I a - 03 の製造に関する。

## 【0207】

DIPEA (Aldrich、0.074 mL、0.422 ミリモル) を化合物 1.8 (図 2、29.8 mg、0.127 ミリモル) および HATU (Oakwood、48.1 mg、0.127 ミリモル) の無水 DMF (Acros、0.7 mL) 中溶液に加えた。該反応混合物を室温で 5 分間攪拌した。化合物 2.6 (図 3 B、30 mg、0.042 ミリモル) を添加した。該反応混合物を室温で一晩攪拌した。LCMS 分析は反応が 70 % 完了していることを示した。反応物を分取性 HPLC によって、KINETEX (登録商標) C18 EVO5  $\mu$ m 150  $\times$  22.1 mm カラムに供し、水中 50 - 65 % ACN (0.1 % TFA を含む、20 mL / 分) で溶出して精製した。生成物を含有すると考えられるフラクションを合わせ、凍結乾燥させて化合物 2.7 (27 mg、68.8 %) を粉末として得た。ESI - LCMS (M + H) : 928.3

20

## 【0208】

TFA (Sigma、1 mL) を化合物 2.7 (27 mg、0.029 ミリモル) の無水 DCM (Acros、1 mL) 中溶液に添加した。該反応混合物を室温で 15 分間攪拌した。LCMS 分析は反応が完了していることを示した。反応物を分取性 HPLC によって、KINETEX (登録商標) C18 EVO5  $\mu$ m 150  $\times$  22.1 mm カラムに供し、水中 40 - 50 % ACN (0.1 % TFA を含む、20 mL / 分) で溶出して精製した。生成物を含有すると考えられるフラクションを合わせ、凍結乾燥させて化合物 2.8 (20 mg、83.0 %) を粉末として得た。ESI - LCMS (M + H) : 828.2

30

## 【0209】

DIPEA (Sigma、20  $\mu$ L、0.114 ミリモル) を化合物 2.8 (20 mg、0.024 ミリモル) および 6 - マレイミドヘキサン酸 N - ヒドロキシスクシンイミドエステル 2.9 (SIGMA-Aldrich より入手可能、11.17 mg、0.036 ミリモル) の無水 DMF (Acros、0.7 mL) 中溶液に添加した。該反応混合物を室温で 30 分間攪拌した。LCMS 分析は反応が完了していることを示した。該反応混合物を分取性 HPLC によって、KINETEX (登録商標) C18 EVO5  $\mu$ m 150  $\times$  22.1 mm カラムに供し、水中 50 - 65 % アセトニトリル (0.1 % TFA を含む、20 mL / 分) で溶出して精製した。生成物を含有すると考えられるフラクションを合わせ、凍結乾燥させてセコ - C P I - リンカー化合物 I I I a - 03 (12.8 mg、51.9 %) を粉末として得た。ESI - LCMS (M + H) : 1021.5 ;  $^1\text{H}$  NMR (DMSO -  $d_6$ ) : 11.98 (s, 1H)、11.77 (s, 1H)、9.79 (s, 1H)、8.11 (d, 1H, J = 6.9 Hz)、7.79 (d, 1H, J = 8.6 Hz)、7.42 (d, 1H, J = 8.8 Hz)、7.29 (d, 3H, J = 8.3 Hz)、7.19 (s, 1H)、6.98 - 7.03 (m, 4H)、6.61 (d, 1H, J = 7.19 Hz)、6.53 (d, 2H, J = 8.5 Hz)、5.05 (t, 2H, J = 4.7 Hz)、4.45 (d, 1H, J = 10.7 Hz)、4.34 (d, 1H, J = 7.1 Hz)、4.11 - 4.17 (m, 3H)、3.52 - 3.72 (m, 10H)、3.09 - 3.38 (m, 9H)、2.15 (m, 2H)、1.95 (m, 1H)、1.48 (

40

50

m, 4 H), 1.27 (m, 3 H), 1.17 (m, 2 H), 0.84 (m, 6 H)

【0210】

以下の表 V I に列挙されるようなさらなるセコ - C P I - リンカー化合物は、一般に、この実施例の操作および図 3 A - 3 B のスキームに従うが、別の先駆体の材料を用いて製造された。

【表 1 1】

表 V I 図 3 A - 3 B のスキームに従って製造したセコ - C P I - リンカー化合物		
化合物 番号	質量スペクトル	備考
IIIa-01	$[M+H]^+ = 1034.4$	図 2 において化合物 1 8 と同様にして製造した <div data-bbox="874 622 1228 728" data-label="Chemical-Block"> </div> を代わりに用いた
IIIa-02	$[M+H]^+ = 1081.4$	後で保護基を除去する、化合物 6 6 を化合物 1 8 の代わりに用いた。化合物 6 6 の合成スキームは後記される
IIIa-04	$[M+H]^+ = 991.4$	図 2 において化合物 1 8 と同様にして製造した <div data-bbox="874 996 1165 1102" data-label="Chemical-Block"> </div> を代 わりに用いた
IIIa-13	$[M+H]^+ = 1059.4$	図 2 において化合物 1 8 と同様にして製造した <div data-bbox="874 1220 1228 1370" data-label="Chemical-Block"> </div> を代わりに用いた

化合物 6 6 の製造

10

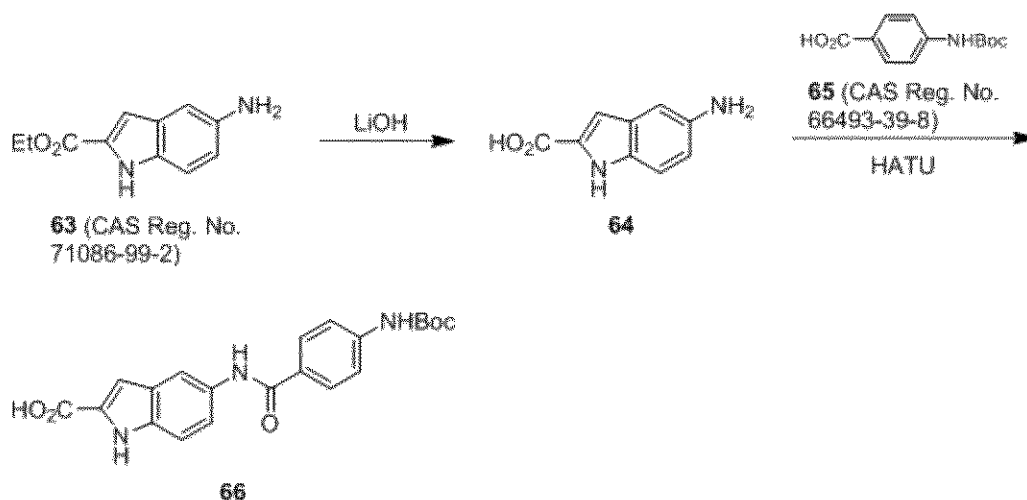
20

30

40

50

## 【化 7 6】



10

## 【0211】

実施例 11 - セコ - C P I 化合物 I a - 2 1

この実施例および図 4 は、セコ - C P I 化合物 I a - 2 1 の製造に関する。

## 【0212】

H C l / ジオキサン ( 4 N 、 1 5 m L ) をエステル 1 2 ( 0 . 2 5 g 、 0 . 4 3 8 8 ミリモ  
ル ) に添加した。該反応混合物を 5 0 で 5 時間攪拌した。L C M S 分析は反応が完了し  
ていることを示した。該反応混合物を窒素下でブローして乾燥させ、暗青色の残渣 3 0 を  
粗製酸として得、次の工程にさらに精製することなく用いた。E S I - L C M S ( M +  
H ) : 3 7 1 . 1

20

## 【0213】

N , N - ジメチルアセトアミド ( 「 D M A 」 、 5 m L ) を、粗製酸 3 0 ( 塩酸塩、 1 7 8 m  
g 、 0 . 4 3 7 ミリモル ) 、 5 - メトキシ - 1 H - インドール - 2 - カルボン酸 3 0 a ( C  
A S Reg. No. 4382-54-1、Sigma-Aldrich より入手可能、 1 2 5 m g 、 0 . 6 5 6 ミリモ  
ル ) 、 E D C ( 2 5 1 m g 、 1 . 3 1 1 ミリモル ) 、 1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール (  
「 H O B T 」 、 2 0 1 m g 、 1 . 3 1 1 ミリモル ) 、 および N a H C O 3 ( 1 8 4 m g 、 2  
、 1 8 5 ミリモル ) に添加した。その黒色の溶液を室温で 4 . 5 時間攪拌した。L C M S 分  
析は生成物のピークの出現を示した。該反応混合物を水 ( 1 5 m L ) で希釈し、室温で 1  
5 分間攪拌し、濾過した。粗生成物を褐色の固体として集め、D C M / メタノールに再び  
溶かした。得られた溶液をシリカゲル ( 1 . 3 g ) と共に濃縮乾固させてスラリーを形成さ  
せた。該スラリーを 1 5 g シリカゲルカラムに付し、D C M 中 0 - 3 % 酢酸エチルの溶  
出液の勾配を用いて精製した。期待の生成物を含有するフラクションを合わせ、濃縮し、  
真空下で乾燥させて粗生成物 ( 2 0 6 m g ) を得た。該粗生成物をクロロホルム中 2 0 %  
メタノールに再び溶かし、 1 . 3 g のシリカゲルと共にスラリーになるまで濃縮した。その  
スラリーをシリカゲルカラムに付し、 1 0 0 % D C M およびヘキサン中 1 - 5 % 酢酸エチ  
ルの溶出液を用いて精製した。期待の生成物を含有するフラクションを合わせ、高真空下  
で濃縮して乾燥させ、若干不純物の混ざった化合物 3 1 ( 0 . 1 0 8 g 、 0 . 1 9 9 ミリモ  
ル、 4 5 . 4 % ) を得た。E S I - L C M S ( M + H ) : 5 4 4 . 4

30

40

## 【0214】

T H F ( 3 m L ) 、 水 ( 1 . 0 0 0 m L ) 、 および M e O H ( 2 . 0 0 0 m L ) を化合物 3 1  
( 1 0 4 m g 、 0 . 1 9 1 ミリモル ) に加え、水酸化リチウム水和物 ( 1 3 8 m g 、 3 . 2  
9 ミリモル ) を添加した。その黄色の不均一な混合物を一夜攪拌した。L C / M S は官能  
が完了していることを示した。該反応混合物を 1 N H C l で酸性にし、ついで濾過した  
。固体を集め、乾燥させて粗化合物 3 2 ( 0 . 1 6 8 g 、 8 8 % ) を得た。E S I - L C M  
S ( M + H ) : 5 2 9 . 9

## 【0215】

50

DMA (0.5 mL) を、化合物 3.2 (15 mg、0.028 ミリモル)、N,N'-ジメチル-エタン-1,2-ジアミン 3.2a (CAS Reg. No. 110-70-3、Sigma-Aldrich より入手可能、1.247 mg、0.014 ミリモル)、EDC (10.85 mg、0.057 ミリモル)、HOBt (8.67 mg、0.057 ミリモル)、および NaHCO<sub>3</sub> (9.51 mg、0.113 ミリモル) に加えた。LC/MS は反応が 50% 完了していることを示す。該反応混合物を MeOH で希釈し、分取性 LC に付し、水中 15 - 100% ACN (共に 0.1% TFA を含む、40 mL/分) の勾配を用いて精製した。期待の生成物を含有するフラクションを合わせ、凍結乾燥させて化合物 3.3 (5.8 mg、7.98 マイクロモル、28.2%) を得た。ESI-LCMS (M+H): 600.10

【0216】

MeOH (0.5 mL) を化合物 3.3 (TFA 塩、5.7 mg、7.98 マイクロモル)、ギ酸アンモニウム (15.10 mg、0.239 ミリモル)、および Pd-C (1.699 mg、1.596 マイクロモル) に添加した。該反応混合物を加熱して 30 秒間還流させた。10 分後、LC/MS は反応が完了していることを示した。該反応混合物を濾過し、濾液を分取性 HPLC によって、ウォーターズ-YMC-ODS 5 20 x 100 mm カラムに供し、水中 0 - 75% ACN (共に 0.1% TFA を含む、25 mL/分) を用いて精製した。期待の生成物を含有するフラクションを合わせ、凍結乾燥させてセコ-CPI 化合物 Ia-2.1 (1.5 mg、2.12 マイクロモル、26.5%) を琥珀色の固体として得た。ESI-LCMS (M+H): 510.15; <sup>1</sup>H NMR (MeOD、500 MHz) 7.92 (1H, s)、7.41 (1H, d, J = 5 Hz)、7.18 (1H, d, J = 1 Hz)、7.14 (1H, s)、7.07 (1H, s)、6.96 (1H, dd, J = 10 Hz)、4.76 (1H, t)、4.61 (1H, dd)、4.09 (2H, m)、3.86 (3H, s)、3.80 (3H, m)、3.40 (2H, t, J = 5 Hz)、3.03 (6H, s)

【0217】

一般に、この実施例の操作および図 4 に従うが、別の先駆体の材料を用いて、以下の表 V II に列挙されるようなさらなるセコ-CPI 化合物が製造された。

10

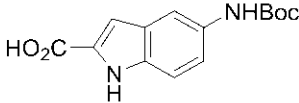
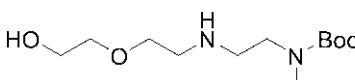
20

30

40

50

【表 1 2】

表 V I I 図 4 のスキームに従って製造したセコ-C P I 化合物		
化合物 番号	質量スペクトル	備考
Ia-11	$[M+H]^+ = 509.3$	モルホリンを化合物 3 2 a の代わりに用いた
Ia-19	$[M+H]^+ = 494.1$	モルホリンを化合物 3 2 a の代わりに用い、 <div style="text-align: center;">  </div> を化合物 3 0 a の代わりに用い、後で Boc 保護基を除去した
Ia-20	$[M+H]^+ = 522.2$	1-メチルピペラジンを化合物 3 2 a の代わりに用いた
Ia-22	$[M+H]^+ = 527.2$	2-(2-アミノエトキシ)エタノールを化合物 3 2 a の代わりに用いた
Ia-23	$[M+H]^+ = 511.2$	(S)-2-アミノブタン-1-オールを化合物 3 2 a の代わりに用いた
Ia-24	$[M+H]^+ = 584.4$	<div style="text-align: center;">  </div> を化合物 3 2 a の代わりに用い、後で Boc 保護基を除去した

## 【0 2 1 8】

実施例 1 2 - セコ - C P I - リンカー化合物 I I I a - 0 5

この実施例および図 5 はセコ - C P I - リンカー化合物 I I I a - 0 5 の製造に関する。

## 【0 2 1 9】

D I P E A (Sigma、0.052 mL、0.299 ミリモル) を化合物 2 5 (61 mg、0.100 ミリモル) およびヒドロキシスクシンイミドエステル 2 5 a (QuiantaBioscience、76 mg、0.130 ミリモル) の DMF (Acros、無水物、1 mL) 中溶液に添加した。該反応混合物を室温で 60 分間攪拌した。LCMS 分析は反応が完了していることを示した。該反応混合物を酢酸 (40 μL) で中性にし、30 g COMBIFLASH (登録商標) AQ Gold カラムにロードし、水中 50 - 75 % ACN (共に 0.05 % 酢酸を含む、35 mL / 分) を用いて精製した。期待の生成物を含むフラクションを合わせ、凍結乾燥させて化合物 3 4 (52 mg、0.048 ミリモル、収率 48.2 %) を得た。ESI-LCMS (M+H): 1080.3

## 【0 2 2 0】

D I P E A (Sigma、0.042 mL、0.241 ミリモル) を、酸 1 8 (34.0 mg、0.144 ミリモル)、化合物 3 4 (52 mg、0.048 ミリモル) および H A T U (Oakwood、54.9 mg、0.144 ミリモル) の DMF (Acros、無水物、0.7 mL) 中溶液に添加した。該反応混合物を室温で一夜攪拌した。LCMS 分析は反応が 70 % 完了して

いることを示した。該反応混合物を分取性HPLCによって、KINETEX（登録商標）5  $\mu$  C18 EVO 150  $\times$  2.1.2 mmカラムに供し、水中45 - 65 % ACN（0.1 % TFAを含む、20 mL / 分）を用いて精製した。生成物を含有するフラクションを合わせ、凍結乾燥させて化合物35（31 mg、49.8 %）を得た。ESI-LCMS（M + H）：1297.3

【0221】

ピペリジン（Aldrich、50  $\mu$  L）を化合物35（31 mg）のDMF（Acros、無水物、0.5 mL）中溶液に添加した。該反応混合物を室温で30分間攪拌した。LCMS分析は反応が完了していることを示した。該反応混合物をAcOH（50  $\mu$  L）で中性にし、分取性HPLCによって、KINETEX（登録商標）C18 5  $\mu$  150  $\times$  2.1.2 mmカラムに供し、水中30 - 40 % ACN（0.1 % TFAを含む、20 mL / 分）の勾配を用いて精製した。期待の生成物を含有するフラクションを合わせ、凍結乾燥させてセコ - C P I - リンカー化合物IIIIa - 05（22 mg、64.2 %）をTFA塩として得た。ESI-LCMS（M + H）：1075.6；<sup>1</sup>H NMR（DMSO - d<sub>6</sub>）：11.97（s, 1H）、11.77（s, 1H）、9.81（s, 1H）、8.15（d, 1H, J = 3.1 Hz）、7.88（d, 1H, J = 8.8 Hz）、7.79（s, 3H）、7.42（d, 1H, J = 9.1 Hz）、7.30（d, 3H, J = 8.6 Hz）、7.19（s, 1H）、6.96 - 7.02（m, 2H）、6.63（d, 1H, J = 1.9 Hz）、6.53（d, 2H, J = 8.6 Hz）、5.06（t, 2H, J = 4.9 Hz）、4.45（d, 1H, J = 10.7 Hz）、4.34（d, 1H, J = 7.1 Hz）、4.21（m, 1H）、4.12（s, 2H）、2.96 - 3.72（m, 3.2H）、2.36 - 2.48（m, 4H）、1.97（m, 2H）、1.28（d, 3H, J = 7.1 Hz）、0.85（m, 6H）

【0222】

以下の表VIIIに列挙されるようなさらなるセコ - C P I - リンカー化合物は、一般に、この実施例の操作および図5のスキームに従うが、別の先駆体の材料を用いて製造された。

10

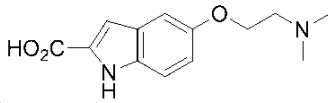
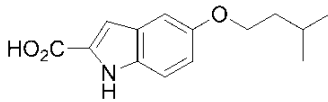
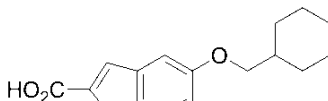
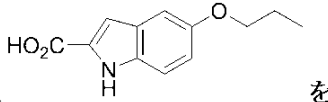
20

30

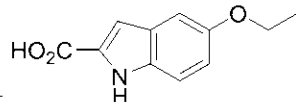
40

50

【表 1 3】

表V I I I 図5のスキームに従って製造したセコ-C P I -リンカー化合物		
化合物 番号	質量スペクトル	備考
IIIa-06	$[M+H]^+ = 1088.4$	図2において化合物18と同様にして製造したを代わりに用いた 
IIIa-07	$[M+H]^+ = 1087.3$	図2において化合物18と同様にして製造したを代わりに用いた 
IIIa-08	$[M+H]^+ = 1113.4$	図2において化合物18と同様にして製造したを代わりに用いた 
IIIa-09	$[M+H]^+ = 1091.3$	5,6,7-トリメトキシ-1H-インドール-2-カルボン酸 (CAS Reg. No. 128781-0707) を化合物18の代わりに用いた。
IIIa-10	$[M+H]^+ = 1134.5$	化合物48a (図9) を化合物18の代わりに用い、つづいてBoc保護基を除去し、4-ヒドロキシ安息香酸とのHATU介在性カップリングに付した
IIIa-11	$[M+H]^+ = 1059.5$	図2において化合物18と同様にして製造したを代わりに用いた 

【表 1 4】

IIIa-12	$[M+H]^+ = 1045.4$	図2において化合物18と同様にして製造したを代わりに用いた 
---------	--------------------	---

10

20

30

40

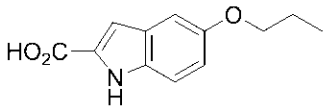
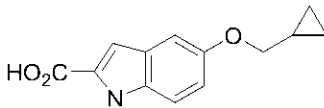
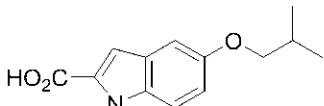
50

## 【 0 2 2 3 】

実施例 1 3 - セコ - C P I 化合物 I a - 1 5

図 6 は、セコ - C P I 化合物 I a - 1 5 の合成についてのスキームを示す。使用の試薬、およびその使用のための条件は、当該分野において知られており、および / または上記の実施例において例示されている。表 I X は化合物 I a - 1 5 について、同様にして製造された他の化合物についての分析データを示す。

【表 1 5】

表 I X 図 6 のスキームに従って製造したセコ - C P I 化合物		
化合物 番号	質量スペクトル	備考
Ia-03	$[M+H]^+ = 537.3$	図 2 において化合物 1 8 と同様にして製造した  を化合物 3 8 の代わりに用いた
Ia-04	$[M+H]^+ = 549.1$	図 2 において化合物 1 8 と同様にして製造した  を化合物 3 8 の代わりに用いた
Ia-05	$[M+H]^+ = 551.3$	図 2 において化合物 1 8 と同様にして製造した  を化合物 3 8 の代わりに用いた

10

20

30

40

50



10

20

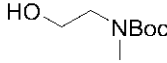
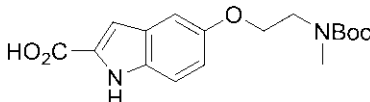
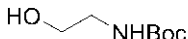
30

40

実施例 14 - セコ - C P I 化合物 I a - 18

図 7 は、セコ - C P I 化合物 I a - 1 8 の合成についてのスキームを示す。使用の試薬、およびその使用のための条件は、当該分野において知られており、および / または上記の実施例において例示されている。表 X は化合物 I a - 1 8 について、同様にして製造された他の化合物についての分析データを示す。

【表 1 7】

表 X 図 7 のスキームに従って製造したセコ-CPI 化合物		
化合物 番号	質量スペクトル	備考
Ia-17	$[M+H]^+ = 552.2$	<p>   を用いて化合物 18 (図 2) と同様にして製造した </p> <p>   を化合物 40 の代わりに用いた </p>
Ia-18	$[M+H]^+ = 538.2$	<p>   を用いて化合物 18 (図 2) と同様にして製造した化合物 40 を用いた </p>

10

20

【 0 2 2 5 】

実施例 15 - セコ - C P I 化合物 I b - 0 1 および I b - 0 2

図 8 は、セコ - C P I 化合物 I b - 0 1 および I b - 0 2 の合成についてのスキームを示す。使用の試薬、およびその使用のための条件は、当該分野において知られており、および / または上記の実施例において例示されている。I b - 0 1  $[M + H]^+ = 615.0$  ; I b - 0 2  $[M + H]^+ = 659.4$

【 0 2 2 6 】

実施例 16 - セコ - C P I 化合物 I d - 02

図 9 は、セコ - C P I 化合物 I d - 0 2 の合成についてのスキームを示す。使用の試薬、およびその使用のための条件は、当該分野において知られており、および / または上記の実施例において例示されている。表 X I は化合物 I d - 0 2 および同様にして製造された他の化合物についての分析データを示す。

30

【表 18】

表 X I 図 9 のスキームに従って製造したセコ-C P I 化合物		
化合物 番号	質量スペクトル	備考
Ic-01	$[M+H]^+ = 652.3$	化合物 4 8 a を化合物 5 0 の代わりに用いた
Id-01	$[M+H]^+ = 614.1$	4-ヒドロキシ安息香酸を化合物 5 0 の代わりに用いた
Id-02	$[M+H]^+ = 613.1$	記載とおり

40

【 0 2 2 7 】

実施例 17 - セコ - C P I 化合物 I a - 25

図 10 は、セコ - C P I 化合物 I a - 25 の合成についてのスキームを示す。使用の試薬、およびその使用のための条件は、当該分野において知られており、および / または上記

50

の実施例において例示されている。

【0228】

化合物 I a - 26 は、1 - C b z - ピペラジンの代わりに 1 - メチルピペラジンをを用いて同様にして製造された。

【0229】

2つの化合物についての質量スペクトルデータは：I a - 25  $[M+H]^+ = 493.2$  ; I a - 26  $[M+H]^+ = 507.3$  であった。

【0230】

実施例 18 - セコ - C P I 化合物 I a - 27

図 11 は、セコ - C P I 化合物 I a - 27 の合成についてのスキームを示す。使用の試薬、およびその使用のための条件は、当該分野において知られており、および / または上記の実施例において例示されている。化合物 I a - 27 についての質量スペクトルデータ：

$[M+H]^+ = 588.1$

【0231】

実施例 19 - セコ - C P I 化合物 I a - 29

図 12 は、セコ - C P I 化合物 I a - 29 の合成についてのスキームを示す。使用の試薬、およびその使用のための条件は、当該分野において知られており、および / または上記の実施例において例示されている。化合物 I a - 29 についての質量スペクトルデータ：

$[M+H]^+ = 574.1$

【0232】

実施例 20 - コンジュゲートの生物学的活性

セコ - C P I - リンカー化合物 II I a - 01、II I a - 02、II I a - 03、および II I a - 04 を、上記した実施例 1 のマイケル付加反応と略同様にして、抗メソテリン抗体 6 A 4 (Terrett ら、US 8,268,970 B2 (2012)) とコンジュゲートさせた。得られた抗体 - 薬物のコンジュゲートを、各々、6 A 4 / II I a - 01 ADC、6 A 4 / II I a - 02 ADC、6 A 4 / II I a - 03 ADC、および 6 A 4 / II I a - 04 ADC と称した。

【0233】

さらには、セコ - C P I - リンカー化合物 II I a - 06 および II I a - 12 を、一般的に実施例 2 のトランスグルタミナーゼ介在のコンジュゲーション操作に従って、重鎖にて N 2 9 7 A (Kabat にて E U で示される番号) 置換を施すように遺伝子操作した抗メソテリン抗体 6 A 4 とコンジュゲートさせた。N 2 9 7 A 置換は、抗体のグリコシル化を無効にし、その近くにあるグルタミン 2 9 5 (Q 2 9 5) をトランスグルタミン触媒によるアミノ基転移反応のアミンアクセプターとして利用できるようにする (Jeger ら、Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49, 9995)。得られた抗体 - 薬物のコンジュゲートは、各々、6 A 4 (N 2 9 7 A) / II I a - 06 ADC および 6 A 4 (N 2 9 7 A) / II I a - 12 ADC と称された。

【0234】

これらの ADC の、H 2 2 6 および N 8 7 がん細胞 (共にメソテリンを発現する) に対する活性を、<sup>3</sup>H チミジン組み込みアッセイ (Cheng ら、US 8,394,922 B2 (2013)) を用いて測定した。結果を表 X I I において表示する。

10

20

30

40

【表 19】

表X I I      コンジュゲートの生物活性		
コンジュゲート	E C 5 0 (nM)	
	H 2 2 6細胞	N 8 7細胞
6A4/IIIa-01 ADC	1.2 0.45	256
6A4/IIIa-02 ADC	5.8	—
6A4/IIIa-03 ADC	0.3	3.5
6A4/IIIa-04 ADC	0.10	0.12
6A4(N297A)/IIIa-06 ADC	0.18	—
6a4(N297A)/IIIa-12 ADC	0.20	—

10

## 【0235】

20

上記した発明の詳細な記載は、本発明の特定の部分または態様と主にまたは独占的に関連付けられる記載を包含する。これは、明確化および利便性のためであり、特定の特徴は、単に開示されている記載よりもより多くの記載と関連付けられることができ、本明細書の開示はその異なる記載において見られる情報の適切なすべての組み合わせを包含することを理解すべきである。同様に、本明細書における種々の数値および記載は本発明の特定の実施態様に関するものであるが、具体的な特徴が特定の数値または実施態様の文脈の中で開示される場合に、かかる特徴はまた、もう一つ別の数値または実施態様の文脈において、ある適切な程度まで、もう一つ別の特徴と組み合わせて、あるいは一般に本発明において、使用され得ると理解すべきである。

## 【0236】

30

さらには、本発明は、特に、特定の好ましい実施態様に関して記載されるが、本発明はそのような好ましい実施態様に限定されるものではない。どちらかと言えば、発明の範囲は添付した特許請求の範囲によって限定される。

## 【0237】

## 参考文献

第1著者（または発明者）および本明細書よりも早い日付で、省略された形式で引用される次の参考文献についての十分な引用部を以下において提供する。これらの参考文献は、各々、あらゆる目的のために、出典明示により本明細書に組み込まれる。

## 【0238】

Boger、US 6,281,354 B1 (2001) ;  
 Boger、US 6,548,530 B1 (2003) ;  
 BogerおよびJohnson、Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 1995, 92, 3642 ;  
 Bogerら、J. Org. Chem. 1990, 55, 5823 ;  
 Bogerら、J. Am. Chem. Soc. 1997, 119, 4987 ;  
 Bogerら、Synthesis 1999, SI, 1505 ;  
 Bogerら、J. Org. Chem. 2000, 65, 4101 ;  
 Boydら、US 2008 / 0279868 A1 (2008) ;  
 Chari ら、Cancer Res. 1995, 55, 4079 ;  
 Chenら、US 8,664,407 B2 (2014) ;  
 Ducryら、Bioconjug. Chem. 2010, 21, 5 ;

40

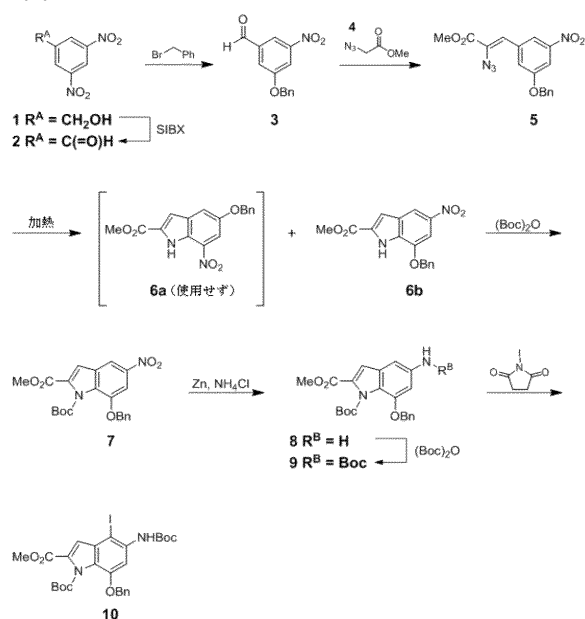
50

Gangwarら、US 7,968,586 B2 (2011) ;  
 Hurleyら、Science 1984, 226, 843 ;  
 Kobayashiら、Cancer Res. 1994, 54, 2404 ;  
 Lajinessら、J. Med. Chem. 2010, 53, 7731 ;  
 Liら、Cancer Res. 1992, 52, 4904 ;  
 NagamuraおよびSaito、Chem. Heterocyclic Compounds 1998, 34 (12), 1386 ;  
 Nagamuraら、Chem. Pharm. Bull. 1996, 44 (9), 1723 ;  
 Ngら、US 7,129,261 B2 (2006) ;  
 Ngら、US 7,507,420 B2 (2009) ;  
 Ngら、US 8,034,959 B2 (2011) ;  
 Schramaら、Nature Rev. Drug Disc. 2006, 5, 147-159 ;  
 Sufiら、US 8461,117 B2 (2013) ;  
 Tichenorら、J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 10858 ;  
 Tietzeら、ChemBioChem 2001, 2, 758 ;  
 Tietzeら、Bioorg. Med. Chem. 2008, 16, 6312 ;  
 Zhangら、US 8,852,599 B2 (2014) ;  
 Zhaoら、US 7,655,660 B2 (2010)

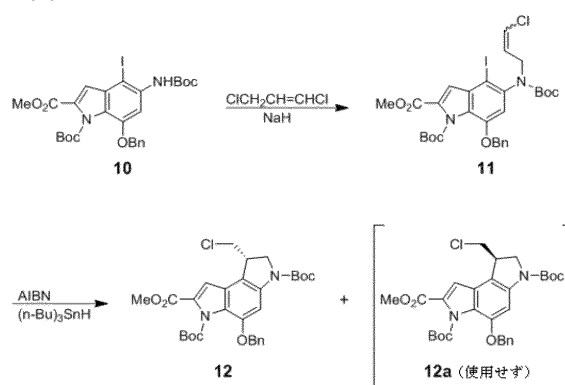
10

## 【図面】

## 【図 1 A】



## 【図 1 B】



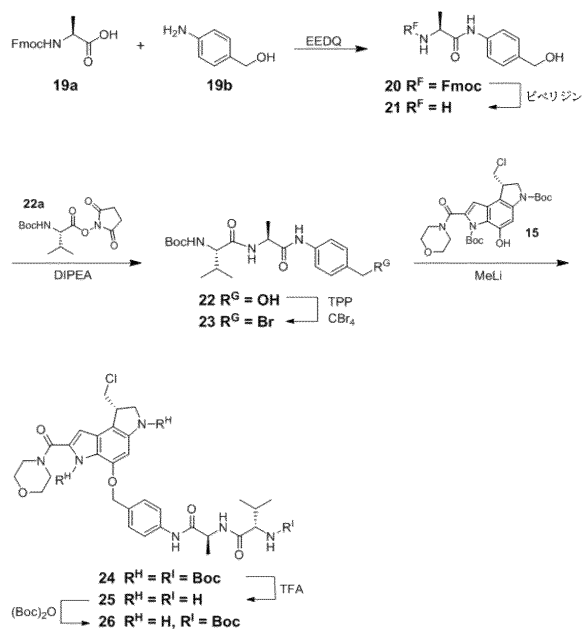
20

30

40

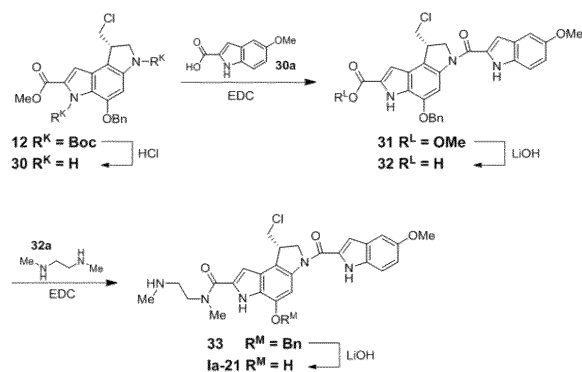
50

【 図 3 A 】



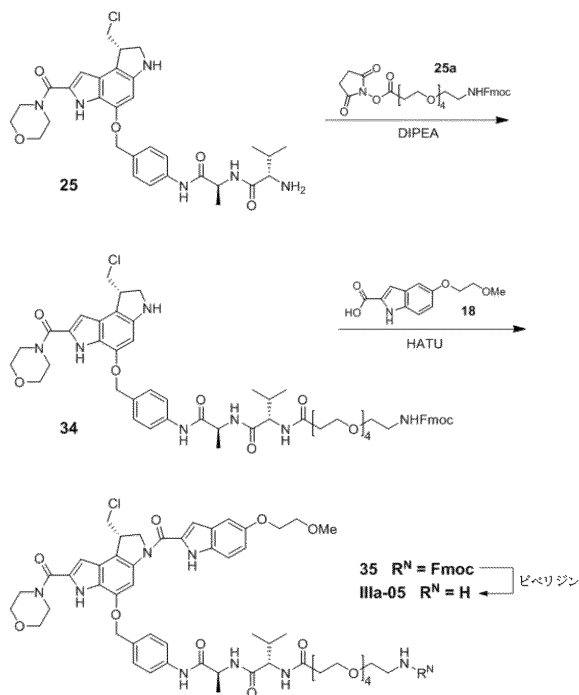
20

【圖 4】

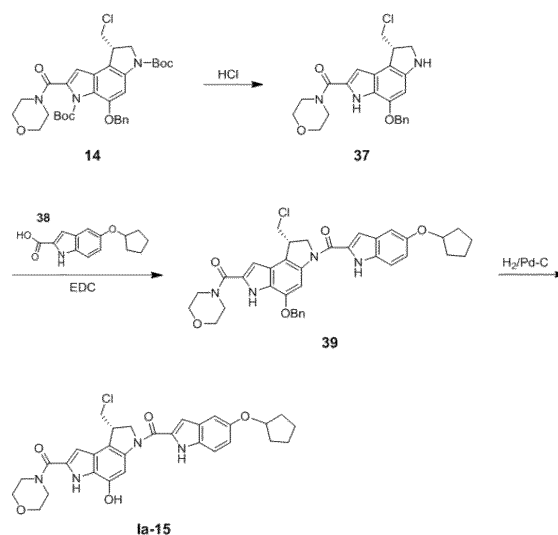


40

## 【 図 5 】



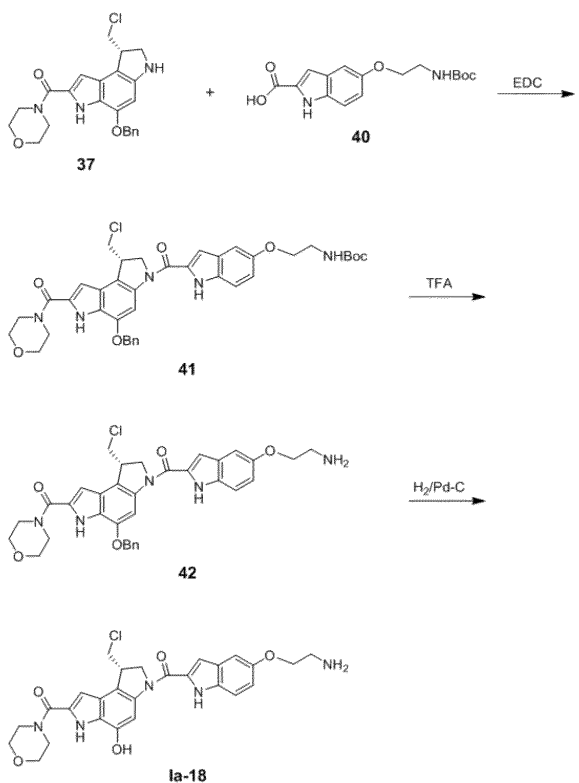
## 【 図 6 】



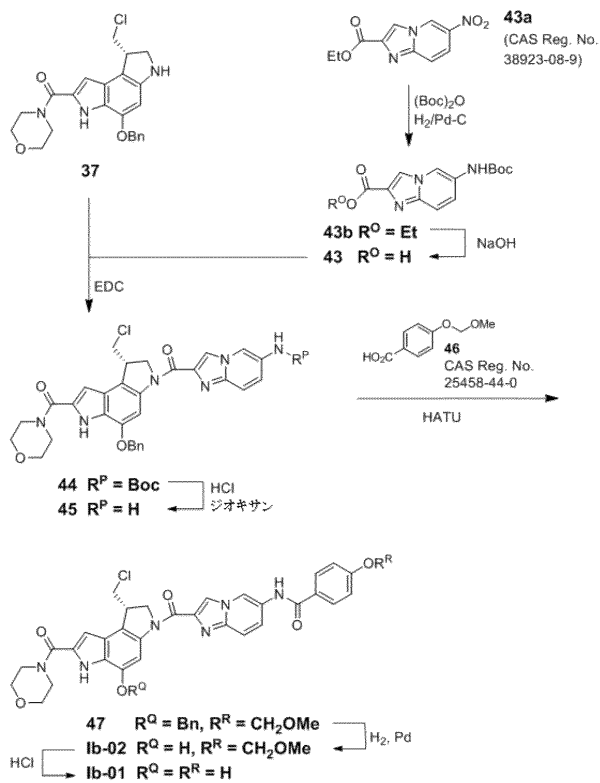
10

20

## 【 図 7 】



## 【 図 8 】



30

40

50

【 ㊦ 1 0 】



【 図 1 2 】





## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

**C 0 7 D 519/00 (2006.01)**  
**A 6 1 K 31/5377(2006.01)**

## F I

A 6 1 K 39/395 T  
 A 6 1 K 39/395 E  
 C 0 7 D 519/00 3 1 1  
 A 6 1 K 31/5377

弁理士 山尾 憲人

(74)代理人 100126778

弁理士 品川 永敏

(74)代理人 100156155

弁理士 水原 正弘

(72)発明者 フカン・ヤン

アメリカ合衆国 0 8 5 4 3 ニュージャージー州プリンストン、ルート 2 0 6 アンド・プロビンス・  
 ライン・ロード、プリストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72)発明者 チアン・ジャン

アメリカ合衆国 9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード 7 0 0 番、プリ  
 ストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72)発明者 ローレンス・ビー・スナイダー

アメリカ合衆国 0 6 4 1 9 コネチカット州キリングワース、ローレル・リッジ・トレイル 8 5 番

(72)発明者 サンジープ・ギャングウォー

アメリカ合衆国 9 4 0 6 3 カリフォルニア州レッドウッド・シティ、ベイ・ロード 7 0 0 番、プリ  
 ストル・マイヤーズ・スクイブ・カンパニー内

(72)発明者 デイル・エル・ボジャー

アメリカ合衆国 9 2 0 3 7 カリフォルニア州ラ・ホヤ、ノース・トリー・パインズ・ロード 1 0  
 5 5 0 番

審査官 伊佐地 公美

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 1 / 1 0 3 5 5 7 ( W O , A 1 )

特表 2 0 1 6 - 5 2 0 5 3 3 ( J P , A )

特表 2 0 1 3 - 5 2 5 3 4 7 ( J P , A )

TICHENOR, M. S. et al. , Journal of the American Chemical Society , 2007年 , Vol. 129 , pp.  
 10858-10869

STEPHENSON, M. J. et al. , The Journal of Organic Chemistry , 2015年 , Vol. 80 , pp. 945  
 4-9467

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C 0 7 D

A 6 1 P

A 6 1 K

C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )