

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局

(43) 国際公開日  
2024年12月5日(05.12.2024)



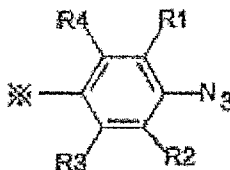
(10) 国際公開番号

WO 2024/247648 A1

- (51) 国際特許分類:  
*A61K 31/27* (2006.01) *A61P 35/00* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2024/017295
- (22) 国際出願日: 2024年5月9日(09.05.2024)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願 2023-087225 2023年5月26日(26.05.2023) JP
- (71) 出願人: 学校法人兵庫医科大学 (HYOGO MEDICAL UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒6638501 兵庫県西宮市武庫川町1番1号 Hyogo (JP). 国立研究開発法人理化学研究所 (RIKEN) [JP/JP]; 〒3510198 埼玉県和光市広沢2番1号 Saitama (JP).
- (72) 発明者: 永橋 昌幸 (NAGAHASHI, Masayuki); 〒6638501 兵庫県西宮市武庫川町1番1号 学校法人兵庫医科大学内 Hyogo (JP). 三好康雄 (MIYOSHI, Yasuo); 〒6638501 兵庫県西宮市武庫川町1番1号 学校法人兵庫医科大学内 Hyogo (JP). 田中 克典 (TANAKA, Katsunori); 〒3510198 埼玉県和光市広沢2番1号 国立研
- 究開発法人理化学研究所内 Saitama (JP). 盛本浩二 (MORIMOTO, Koji); 〒3510198 埼玉県和光市広沢2番1号 国立研究開発法人理化学研究所内 Saitama (JP). プラディプタ アンバラクマット (PRADIPTA, Ambara Rachmat); 〒3510198 埼玉県和光市広沢2番1号 国立研究開発法人理化学研究所内 Saitama (JP).
- (74) 代理人: 弁理士法人 H A R A K E N Z O W O R L D P A T E N T & T R A D E M A R K (HARAKENZO WORLD PATENT & TRADEMARK); 〒5300041 大阪府大阪市北区天神橋2丁目北2番6号 大和南森町ビル Osaka (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK,

(54) Title: TUMOR THERAPEUTIC AGENT, AND COMPLEX

(54) 発明の名称: 腫瘍の治療剤及び複合体



(1)

(57) Abstract: Provided is a novel drug for tumor therapy which targets an S1P signaling pathway. A tumor therapeutic agent according to one embodiment of the present invention which comprises a complex that includes an acrolein reaction site having a chemical structure represented by formula (1), and a detachment site, wherein the detachment site is bonded to the acrolein reaction site via a linker that can be cleaved by a reaction between the acrolein reaction site and acrolein, and the detachment site includes a chemical structure of a compound which exhibits an activity for inhibiting sphingosine-1-phosphate signal transduction in a cell.

(57) 要約: S1Pシグナル伝達経路をターゲットとした腫瘍治療用の新規薬剤を提供する。本発明の一態様に係る腫瘍の治療剤は、式(1)で表される化学構造を持つアクロレイン反応部位及び離脱部位を含む複合体を含む、腫瘍の治療剤であり、前記離脱部位は、前記アクロレイン反応部位とアクロレインとの反応により切断可能なリンカーを介して、前記アクロレイン反応部位と結合しており、前記離脱部位は、細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物の化学構造を含む。

SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,  
UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第21条(3))

## 明 細 書

発明の名称：腫瘍の治療剤及び複合体

### 技術分野

[0001] 本発明は、腫瘍の治療剤及び複合体に関する。

### 背景技術

[0002] スフィンゴシン-1-リン酸（S1P）は、内皮細胞に発現するS1P受容体に結合することで、血管新生、リンパ管形成等に関与することが知られている。また、腫瘍細胞においては、S1Pシグナル伝達経路が、腫瘍細胞の増殖、遊走、生存等に関与することが報告されている（非特許文献1～7）。

[0003] S1P受容体調節薬の1つであるフィンゴリモド（Fingolimod）（「FTY720」とも呼ばれる）は、S1P受容体及びS1P産生酵素を抑制することによってS1Pシグナル伝達経路を阻害する。FTY720は、多発性硬化症の治療薬として日本国で保険適用となっている。また、FTY720は、癌の増殖や転移をよく抑えることが*in vitro*の実験系で示されている（非特許文献8）。

[0004] しかし、次の理由により、S1Pシグナル伝達経路をターゲットとした抗がん剤の開発は進んでいない。まず、FTY720等のS1P受容体調節薬は、生体内では強い免疫抑制作用を発揮するため、正常細胞に対する副作用が問題となる。また、S1P受容体調節薬による免疫抑制作用は、がん治療の観点では、がん細胞に対する抗腫瘍免疫を解除するというがん治療の方法論のひとつに相反する。

[0005] また、S1Pシグナル伝達経路のより上流のスフィンゴシンキナーゼをターゲットとした抗がん剤を開発する試みもなされている。しかし、スフィンゴシンキナーゼ阻害剤には、癌細胞に対する治療効果が期待できないという報告もある（非特許文献9）

[0006] ところで、特許文献1には、アクロレインと反応して活性物質を放出する

複合体及び当該複合体を含む腫瘍の治療剤が記載されている。

[0007] アクロレイン ( $\text{CH}_2=\text{CHCHO}$ ) は、最もサイズが小さい不飽和アルデヒド分子であって、非常に反応性が高い分子である。アクロレインは有機物の燃焼時に発生することが知られている他、例えば、がん、アルツハイマー及び脳梗塞等、酸化ストレスと関わる疾患においては、脂質又はポリアミンの代謝産物としてアクロレインが生体内に発生すると考えられている。腫瘍細胞では、正常細胞と比べてアクロレインが多く発生しており、その量は、正常細胞の炎症部位と比べても1000倍以上にまで至ることも報告されている。(非特許文献10~12)。

[0008] 特許文献1には、既存の抗腫瘍性化合物を複合体に組み込んでプロドラッグの状態とすることで、その抗腫瘍活性(毒性)を減弱させることができること、及び当該複合体は、腫瘍細胞の周囲に存在するアクロレインと反応をして、抗腫瘍性化合物を放出させることができることが記載されている。このように、特許文献1の技術によれば、抗がん剤として確立された既存の抗腫瘍性化合物の抗腫瘍活性が腫瘍細胞の周囲で発揮されるように、コントロールすることができる。

## 先行技術文献

### 特許文献

[0009] 特許文献1：国際公開第2022/085523号

### 非特許文献

[0010] 非特許文献1：Nagahashi M et al., Biomed Research International 2014;2014: 651727

非特許文献2：Takabe K and Nagahashi M, et al. J Biol Chem 2010;285:10477-10486

非特許文献3：Nagahashi M, et al. Cancer Res 2012;72:726-735 ; Nagahashi M, et al. FASEB J 2013;27:1001-1011

非特許文献4：Liang J and Nagahashi M, et al. Cancer Cell 2013;23:107-120

- 非特許文献5 : Nagahashi M, et al. Hepatology 2015;61:1216-1226
- 非特許文献6 : Nagahashi M, et al. Cancer Res 2018
- 非特許文献7 : Tsuchida J and Nagahashi M, et al. J Surg Res 2021
- 非特許文献8 : Chiba K et al. Inflammation and Regeneration 2011;31:167-174
- 非特許文献9 : Schnute ME, et al. Biochem J 2012 444:79-88
- 非特許文献10 : Tanaka, K. et al. Adv. Sci. 2019, 6, 1801479
- 非特許文献11 : Tanaka, K. et al. Bioorg. Med. Chem. 2019, 27, 2228
- 非特許文献12 : Tanaka, K. et al. Adv. Sci. 2020, 1901519

## 発明の概要

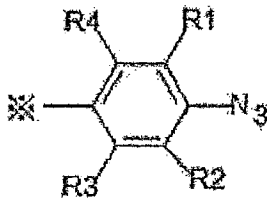
### 発明が解決しようとする課題

- [0011] S 1 Pシグナル伝達経路をターゲットとした、新規の腫瘍治療用薬剤の開発が望まれる。しかし、特許文献1では、既存の抗腫瘍性化合物（既存の抗がん剤）との複合体が記載されているのみである。
- [0012] 本発明の一態様は、S 1 Pシグナル伝達経路をターゲットとした腫瘍治療用の新規薬剤を提供することを目的とする。

### 課題を解決するための手段

- [0013] 上記の課題を解決するために、本発明は、以下に示す態様を含む。
- 式(1)で表される化学構造を持つアクロレイン反応部位及び離脱部位を含む複合体を含む、腫瘍の治療剤であり、前記離脱部位は、前記アクロレイン反応部位とアクロレインとの反応により切断可能なリンカーを介して、前記アクロレイン反応部位と結合しており、前記離脱部位は、細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物の化学構造を含む、腫瘍の治療剤。

[化1]



(1)

(式(1)中で、

R1及びR2は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数1～5のアルキル基を指し、ただし、R1及びR2の少なくとも一方は炭素数1～5のアルキル基であり；

R3及びR4は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、チオール基、置換基を有していてもよいアミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、又は、炭素数1～5のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい）を指し；

※は、リンカーとの結合部位である。）

[0014] また、本発明は、以下に示す態様を含む。

細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物を有効成分とする、多剤耐性腫瘍の治療剤。

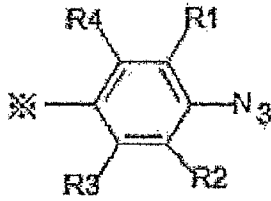
[0015] また、本発明は、以下に示す態様を含む。

式(1)で表される化学構造を持つアクロレイン反応部位及び離脱部位を含む複合体であり、

前記離脱部位は、前記アクロレイン反応部位とアクロレインとの反応により切断可能なリンカーを介して、前記アクロレイン反応部位と結合しており、

前記離脱部位は、スフィンゴシン-1-リン酸受容体調節薬の化学構造を含む、複合体。

[化2]



(1)

(式(1)中で、

R1及びR2は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数1～5のアルキル基を指し、ただし、R1及びR2の少なくとも一方は炭素数1～5のアルキル基であり；

R3及びR4は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、チオール基、置換基を有していてもよいアミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、又は、炭素数1～5のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい）を指し；

※は、リンカーとの結合部位である。）

## 発明の効果

[0016] 本発明の一態様によれば、S1Pシグナル伝達経路をターゲットとした腫瘍治療用の新規薬剤を提供することができる。

## 図面の簡単な説明

[0017] [図1]比較例1～3及び実施例1の各薬剤の通常乳癌株及び多剤耐性乳癌株に対する増殖抑制効果を比較した結果を示す図である。

[図2]実施例2～5の各薬剤の通常乳癌株及び多剤耐性乳癌株に対する増殖抑制効果を比較した結果を示す図である。

[図3]腫瘍重量、血液検体中のリンパ球のパーセンテージ及びリンパ球数を比較した結果を示す図である。

[図4]血漿中のFTY-720、リン酸化FTY-720、又はProdrugs

g-FTY-720の濃度を比較した結果を示す図である。

[図5]組織中のFTY-720、リン酸化FTY-720、又はProdrug-FTY-720の濃度を比較した結果を示す図である。

[図6]比較例1～3及び実施例2の各薬剤の乳癌患者由来オルガノイドに対する増殖抑制効果を比較した結果を示す図である。

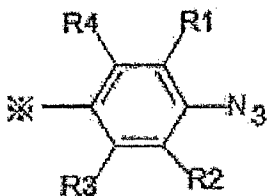
### 発明を実施するための形態

[0018] 以下、本発明の一態様について詳細に説明する。なお、本明細書において特記しない限り、数値範囲を表す「A～B」は、「A以上、B以下」を意図する。

[0019] <1. 腫瘍の治療剤>

本発明の一実施形態に係る腫瘍の治療剤（以下、「第1の腫瘍治療剤」とも称する）は、式（1）で表される化学構造を持つアクロレイン反応部位及び離脱部位を含む複合体を含み、前記離脱部位は、前記アクロレイン反応部位とアクロレインとの反応により切断可能なリンカーを介して、前記アクロレイン反応部位と結合しており、前記離脱部位は、細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物の化学構造を含む。

[化3]



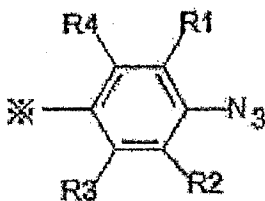
(1)

[0020] 本明細書において、「治療」とは、本発明の一態様に係る腫瘍の治療剤が投与された対象（以下、単に「投与対象」と称する。）において、腫瘍組織における腫瘍細胞を、該腫瘍の治療剤の投与前よりも退縮もしくは減少させること、腫瘍組織における腫瘍細胞を排除する（消失させる）こと、又は腫瘍の進行を防ぐこと、を含む。

[0021] [複合体]

本発明の一実施形態に係る腫瘍の治療剤に含まれている複合体（以下、単に「本複合体」とも称する）は、式（1）で表される化学構造を持つアクロレイン反応部位及び離脱部位を含み、離脱部位は、アクロレイン反応部位とアクロレインとの反応により切断可能なリンカーを介して、アクロレイン反応部位と結合している。

[化4]

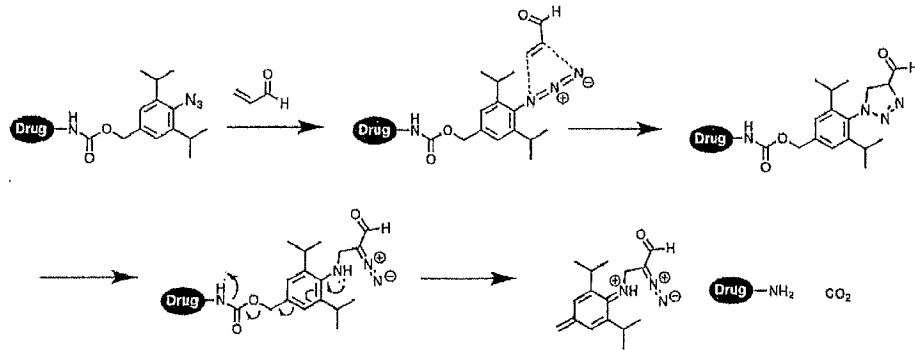


(1)

[0022] 本複合体は、アクロレイン（2-プロペナル、 $\text{CH}_2=\text{CHCHO}$ ）の存在下で、アクロレインと鋭敏に反応してリンカーが切断され、離脱部位を放出する。これは、本複合体のアクロレイン反応部位中のアジド基（ $\text{N}_3$ 基）が1, 3-双極子として、求双極子剤であるアクロレインと1, 3-双極子環化付加反応（クリック反応）を起こして、中間体である5員環（1, 2, 3-トリアゾリン）を生じることによる。

[0023] アクロレイン反応部位とアクロレインとのクリック反応（1, 3-双極子環化付加反応）により生じた1, 2, 3-トリアゾリンは、次いで、異性化反応を経由し、イミンを形成し、引き続き脱炭酸（二酸化炭素の離脱）を伴って、アクロレイン反応部位と離脱部位との間のリンカーの切断がされ、アクロレイン反応部位由来のジアゾ化合物と、離脱部位由来の活性物質とに分離される。

## [化5]



[0024] 上記の反応は、生体内等の温和な条件下で進行可能であり、かつ、高い反応特異性を示す。したがって、本複合体を生体内に投与することにより、内在性のアクロレインと本複合体とが反応する結果、離脱部位に由来する活性物質を生体内に放出することができる。

[0025] (R 1 及び R 2 について)

式 (1) において、R 1 及び R 2 は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数 1～5 のアルキル基を指す。ただし、R 1 及び R 2 の少なくとも一方は炭素数 1～5 のアルキル基である。

[0026] ハロゲン原子の例としては、フッ素原子、塩素原子、及び臭素原子等が挙げられる。なお、フッ素原子は、同位体であってもよい。

[0027] 炭素数 1～5 のアルキル基は、直鎖状又は分岐鎖状のいずれであってもよい。アルキル基は、少なくとも一つの上記したハロゲン原子でその水素原子が置換されていてもよいし、置換されていなくてもよい。水素原子が置換されていない炭素数 1～5 のアルキル基の例としては、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、イソブチル基、*tert*-ブチル基、*n*-ペンチル基、イソペンチル基、*tert*-ペンチル基、及び *sec*-ペンチル基が挙げられる。

[0028] R 1 及び R 2 は同じであっても、異なってもよいが、アクロレインとの反応性向上の観点では、R 1 及び R 2 は何れも、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されているか又は置換されていない炭素数 1～5 のアルキル基

であることが好ましく、互いに同一のアルキル基であることがより好ましい場合がある。なお、アルキル基を構成する炭素数は、1～4個であることが好ましい場合があり、2個、3個、又は4個であることがより好ましい場合がある。

[0029] 他の態様において、R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>の一方が、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されているか又は置換されていない炭素数1～5のアルキル基であり、かつ、R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>の他方がハロゲン原子（特に、フッ素又は同位体）であることが好ましい場合がある。なお、アルキル基を構成する炭素数は、1～4個であることが好ましい場合があり、2個、3個、又は4個であることがより好ましい場合がある。

[0030] (R<sub>3</sub>及びR<sub>4</sub>について)

式(1)において、R<sub>3</sub>及びR<sub>4</sub>は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、チオール基、置換基を有していてもよいアミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、又は、炭素数1～5のアルキル基である。但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい。

[0031] ハロゲン原子の定義及び例示は、R<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>において記載したものと同様である。

[0032] 置換基を有していてもよいアミノ基の例としては、非置換のアミノ基、アルキルアミノ基、及び(ヘテロ)アリアルアミノ基等が挙げられる。アルキルアミノ基に含まれる各アルキル基を構成する炭素数は、例えば、1～5個である。(ヘテロ)アリアルアミノ基とは、アミノ基を構成する少なくとも一つの水素原子が、ヘテロ原子を有していてもよいアリアル基(すなわちアリアル基又はヘテロアリアル基)で置換されている基を指す。(ヘテロ)アリアルアミノ基に含まれる各(ヘテロ)アリアル基は、例えば、3～20個(好ましくは4～12個)の原子によって環構造の骨格が形成されているものが挙げられる。なお、ヘテロアリアル基に含まれるヘテロ原子としては、

例えば、硫黄原子、窒素原子、又は酸素原子が挙げられる。

[0033] 炭素数 1～5 のアルコキシ基の例としては、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、イソプロポキシ基、及びブトキシ基等が挙げられる。

[0034] 炭素数 1～5 のアルキルチオ基の例としては、メチルチオ基、エチルチオ基、プロピルチオ基、ブチルチオ基、及びペンチルチオ基等が挙げられる。

[0035] 水素原子が置換されていない炭素数 1～5 のアルキル基の定義及び例示は、R 1 及び R 2 において記載したものと同様である。なお、アルキル基を構成する炭素数は、1～4 個であることが好ましい場合があり、1～3 個であることがより好ましい場合がある。但し、アルキル基を構成する水素原子の少なくとも一つは、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい。ここで、ハロゲン原子、及び、置換基を有していてもよいアミノ基としては、R 3、及び R 4 として記載したものと同一のものが挙げられる。

[0036] R 3 及び R 4 は同じであっても、異なってもよいが、R 3 及び R 4 が同じであることが好ましい場合がある。

[0037] R 3 及び R 4 は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数 1～5 のアルキル基であることが好ましい場合がある。なお、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数 1～5 のアルキル基の定義及び例示は、R 1 及び R 2 において記載したものと同様である。

[0038] (同一の環上に位置する R 1、R 2、R 3、及び R 4 の好ましい組合せの例示)

・組合せの例示<1>： 式(1)において、R 1、R 2、R 3、及び R 4 は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数 1～5 のアルキル基を指し、ただし、R 1 及び R 2 の少なくとも一方は炭素数 1～5 のアルキル基である。

・組合せの例示<2>： 式(1)において、R 3 及び R 4 は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、少なくとも一つのハロゲン原子で置換

されていてもよい炭素数 1～5 のアルキル基を指し、R 1 及び R 2 は、炭素数 1～5 のアルキル基である。

・組合せの例示<3>： 式（1）において、R 3 及び R 4 は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数 1～5 のアルキル基を指し、R 1 及び R 2 の一方は炭素数 1～5 のアルキル基であり、R 1 及び R 2 の他方はハロゲン原子である。

・組合せの例示<4>： 上記組合せの例示<1>又は<2>において、R 3 及び R 4 は、互いに独立に、水素原子、又はハロゲン原子であり、R 1 及び R 2 は、炭素数 1～5 のアルキル基である。

・組合せの例示<5>： 上記組合せの例示<3>において、R 3 及び R 4 は、互いに独立に、水素原子、又はハロゲン原子である。

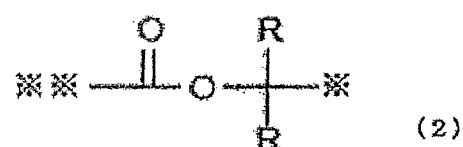
[0039] （※について）

式（1）において、※は、上記の通り、離脱部位を連結するためのリンカーとの結合部位である。このリンカーは、アクロレイン反応部位とアクロレインとの反応により切断可能である。より具体的には、このリンカーは、アクロレイン反応部位とアクロレインとが 1, 3-双極子環化付加反応を起こして 5 員環を生じることによって、切断が促進される構造を有する。

[0040] （リンカー）

アクロレイン反応部位とアクロレインとの反応により切断可能なリンカーの例としては、式（2）で表される化学構造を持つリンカーが挙げられる。

[化6]



[0041] （Rについて）

式（2）において、R は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、チオール基、置換基を有していてもよいアミノ基、炭素数 1～5

のアルコキシ基、炭素数 1～5 のアルキルチオ基、又は、炭素数 1～5 のアルキル基である。但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい。

[0042] ハロゲン原子の定義及び例示は、R 1 及び R 2 において記載したものと同様である。

[0043] 置換基を有していてもよいアミノ基の定義及び例示は、R 3 及び R 4 において記載したものと同様である。

[0044] 炭素数 1～5 のアルコキシ基の例としては、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、イソプロポキシ基、及びブトキシ基等が挙げられる。

[0045] 炭素数 1～5 のアルキルチオ基の例としては、メチルチオ基、エチルチオ基、プロピルチオ基、ブチルチオ基、及びペンチルチオ基等が挙げられる。

[0046] 水素原子が置換されていない炭素数 1～5 のアルキル基の定義及び例示は、R 1 及び R 2 において記載したものと同様である。なお、アルキル基を構成する炭素数は、1～4 個であることが好ましい場合があり、1～3 個であることがより好ましい場合がある。但し、アルキル基を構成する水素原子の少なくとも一つは、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい。ここで、ハロゲン原子、及び、置換基を有していてもよいアミノ基としては、R 3 及び R 4 として記載したものと同一のものが挙げられる。

[0047] 同じ炭素原子に結合している R 同士は同じであっても、異なってもよいが、当該 R 同士が同じであることが好ましい場合がある。

[0048] R は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、炭素数 1～5 のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい）であることが好ましい場合があり、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数 1～5 のアルキル基であることがより好ましい場合

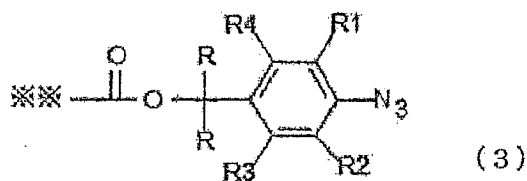
がある。なお、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数 1～5 のアルキル基の定義及び例示は、R 1 及び R 2 において記載したものと同様である。

[0049] (※及び※※について)

式 (2) において、※※は、離脱部位との結合部位である。迅速なリンカーの切断の観点からは、※※は、離脱部位に含まれる窒素原子、硫黄原子、又は酸素原子との結合部位であること (すなわち、 $-N(-)-$ 、 $-S-$ 、又は $-O-$ ) が好ましい場合があり、離脱部位に含まれる窒素原子との結合部位であることがより好ましい場合がある。

[0050] 式 (2) において、※は、アクロレイン反応部位との結合部位である。したがって、式 (2) で表される化学構造を持つリンカーを有する本複合体は、下記式 (3) で表される化学構造を持つ。

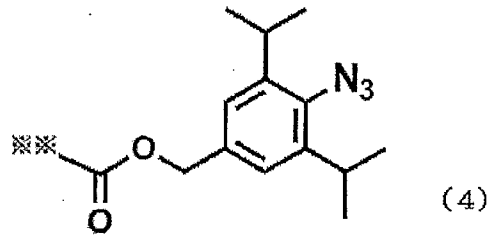
[化7]



[0051] 式 (3) において、R 1、R 2、R 3、R 4、及び R の定義及び例示は、式 (1) 及び式 (2) の説明において記載したものと同様である。また、式 (3) において、※※は、式 (2) の説明において記載したものと同様である。

[0052] 上記式 (3) で表される化学構造を有する本複合体の具体例としては、下記式 (4) で表される、離脱部位と 4-アジドベンジルカルバメート (以下単に「ABC」とも称する) との複合体 (離脱部位-ABC) が挙げられる。

[化8]



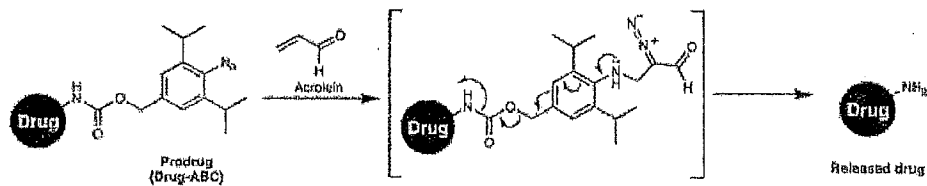
式(4)において、\*\*は、離脱部位に含まれる窒素原子との結合部位である。

なお、\*\*が、離脱部位に含まれる窒素原子との結合部位であるとき、上記式(3)及び(4)で示す化学構造は、アクロレインによって脱保護が可能な、離脱部位に含まれるアミノ基の保護基ととらえることもできる。

[0053] (リンカーの切断の反応機構)

本発明の一態様に係る複合体として、離脱部位に含まれる窒素原子にリンカーが結合した複合体の例を挙げて、式(2)で表される化学構造を持つリンカーが切断されて、離脱部位(活性物質)が放出される反応機構を以下に説明する。

[化9]



[0054] 本複合体がアクロレインに接近すると、本複合体のアジド基とアクロレインとが、1, 3-双極子環化付加反応により、中間体として1, 2, 3-トリアゾリンを生成する。1, 2, 3-トリアゾリンは、その五員環(トリアゾール環)が開環してジアゾ化合物が生成すると共に、分子内電子移動が開始される。これにより、リンカーに含まれるカルボニル炭素と、離脱部位に含まれる窒素原子との間で開裂が生じ、離脱部位が活性物質として放出される。

[0055] (離脱部位)

本複合体の離脱部位は、細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物（以下、「S1Pシグナル伝達阻害化合物」とも称する）の化学構造を含む。離脱部位がS1Pシグナル伝達阻害化合物の化学構造を含むとは、脱離部位の化学構造の少なくとも一部にS1Pシグナル伝達阻害化合物の化学構造が含まれていることを意味する。

[0056] 上述のとおり、スフィンゴシン-1-リン酸（S1P）は、内皮細胞に発現するS1P受容体に結合することで、血管新生、リンパ管形成等に関与することが知られている。また、腫瘍細胞においては、スフィンゴシン-1-リン酸（S1P）は、腫瘍細胞の増殖、遊走、生存等に関与することが知られている（非特許文献1～7）。

[0057] また、腫瘍細胞では、正常細胞と比べてアクロレインが多く発生しており、その量は、正常細胞の炎症部位と比べても1000倍以上にまで至ることが本発明者らにより発見された（非特許文献10～12）。したがって、離脱部位としてS1Pシグナル伝達阻害化合物を有する本複合体は、腫瘍細胞の周囲に存在するアクロレインと反応をして、S1Pシグナル伝達阻害化合物を放出させることができるため、腫瘍の治療剤として好適に用いることができる。

[0058] 離脱部位として用いられるS1Pシグナル伝達阻害化合物としては、細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物であれば、臨床又は臨床試験において使用されているS1Pシグナル伝達阻害化合物、将来開発されるS1Pシグナル伝達阻害化合物を含む全ての化合物を、限定することなく使用することができる。

[0059] S1Pシグナル伝達阻害化合物は、リンカーから迅速に切断され得るように、リンカーとの結合部位として、窒素原子、硫黄原子又は酸素原子を有する化合物であることが好ましい。また、リンカーとの結合を容易にらしめるため、水酸基、カルボキシ基、チオール基、又はアミノ基を有することが好ましい場合がある。これらの官能基は、S1Pシグナル伝達阻害化合物が元々有している官能基であってもよく、リンカーとの結合部位とするために

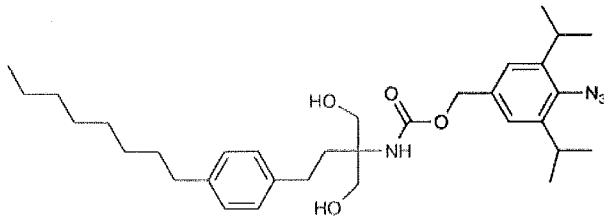
後から付加した官能基であってもよい。

- [0060] S 1 Pシグナル伝達阻害化合物とリンカーとの結合は、アクロレイン反応部位とアクロレインとの反応により迅速に切断され得る態様であることが好ましい。このような観点から、離脱部位とリンカーとの結合は、カルバメート結合、チオカルバメート結合、エステル結合、又はチオエステル結合であることが好ましい。
- [0061] S 1 Pシグナル伝達阻害化合物は、腫瘍細胞内への取り込まれやすさの観点から、疎水性を有する化合物であることが好ましい。
- [0062] S 1 Pシグナル伝達阻害化合物の分子量は特に限定されないが、腫瘍細胞に到達できる程度に低分子量であることが好ましく、例えば、15000Da以下、好ましくは10000Da以下、より好ましくは5000Da以下である。S 1 Pシグナル伝達阻害化合物の分子量の下限値は、特に限定されないが、例えば、1000Da以上であり、好ましくは3000Da以上である。
- [0063] S 1 Pシグナル伝達阻害化合物は、リンカーを介してアクロレイン反応部位と結合した状態では、結合していない状態と比較して、そのS 1 Pシグナル伝達阻害活性（毒性）が減弱されている、すなわちプロドラッグの状態であることが好ましい。S 1 Pシグナル伝達阻害化合物は、S 1 Pシグナル伝達を阻害することによって、免疫抑制効果を発揮する。正常細胞に対する免疫抑制作用を減弱させることにより、正常組織への影響を低減して副作用を軽減することが可能になる。
- [0064] S 1 Pシグナル伝達阻害化合物の種類は、特に限定されない。例えば、スフィンゴシン-1-リン酸受容体調節薬、S 1 P産生酵素阻害薬等を好適に用いることができる。中でも、癌細胞増殖抑制効果の観点から、S 1 Pシグナル伝達阻害化合物は、スフィンゴシン-1-リン酸受容体調節薬であることが好ましい。
- [0065] 離脱部位として好適に用いられるS 1 P受容体調節薬としては、例えば、フィンゴリモド (Fingolimod) (「FTY720」とも呼ばれる)、シポニモド (Siponimod)、オザニモド (Ozanimod)、ポネシモド (Ponesimod) 等

が挙げられるが、これらに限定されない。中でも、癌細胞増殖抑制効果の観点から、S1P受容体調節薬は、フィンゴリモド、シポニモド、オザニモド、又はポネシモドであることが好ましい。また、離脱部位として好適に用いられるS1P産生酵素阻害薬としては、例えば、SK1-1（(2R, 3S, 4E)-N-methyl-5-(4'-pentylphenyl)-2-aminopent-4-ene-1,3-diol.HCl、「BML258」とも呼ばれる）等が挙げられるが、これに限定されない。癌細胞増殖抑制効果の観点から、S1P産生酵素阻害薬は、SK1-1であることが好ましい。

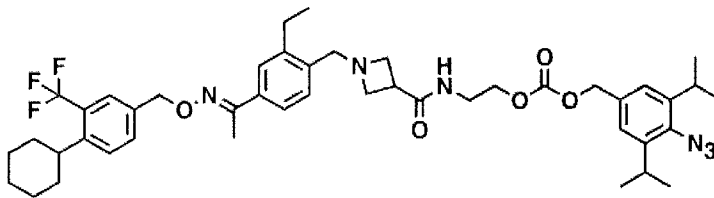
[0066] 離脱部位としてFTY720を持つ本複合体の具体例としては、以下の化学構造式を有するFTY720-ABCが挙げられる。

[化10]



[0067] 離脱部位としてシポニモドを持つ本複合体の具体例としては、以下の化学構造式を有するシポニモド-ABCが挙げられる。

[化11]

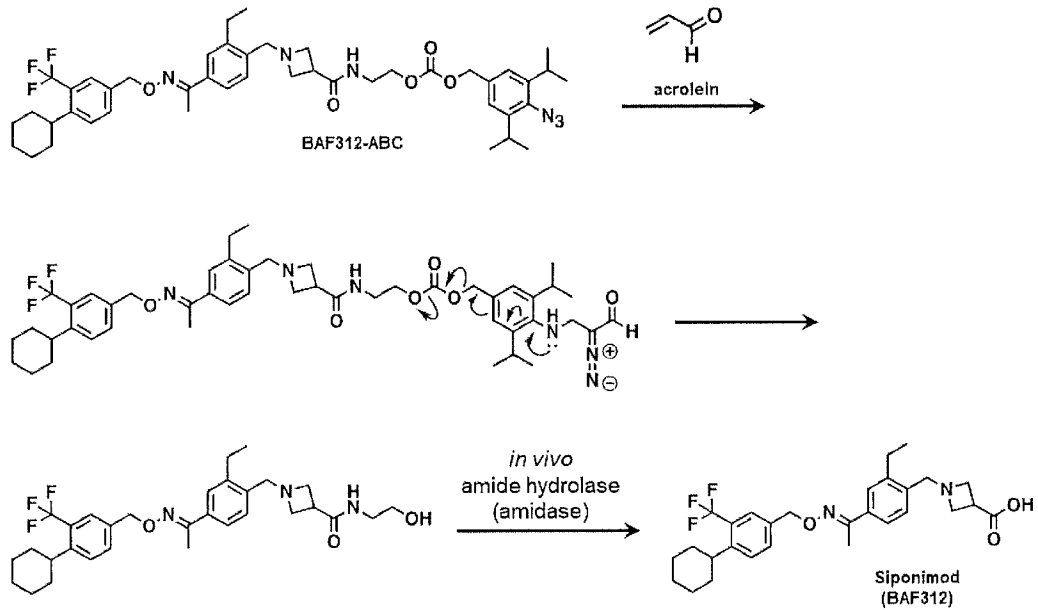


Siponimod-ABC  
(BAF312-ABC)

[0068] シポニモド-ABCは、血中滞留時の安定性を考慮し、シポニモドのカルボキシ基にさらなるリンカーとして「2-エタノールアミン」を介在させたアナログである。このように、脱離部位として、S1Pシグナル伝達阻害化合物にリンカーが付加されたものを採用してもよい。

[0069] 以下に、シポニモドーABCからシポニモド（活性物質）が放出される反応機構を以下に説明する。

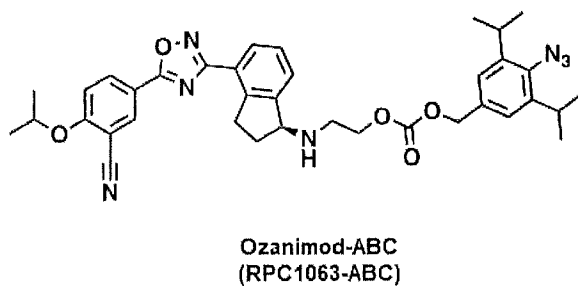
[化12]



[0070] シポニモドーABCは、アクロレインとの反応後のフラグメンテーションにて、直接「シポニモド」となるのではなく、「シポニモドー2-エタノールアミド体」を経た後に、血中アミダーゼにて速やかに活性本体であるシポニモドに変換される。

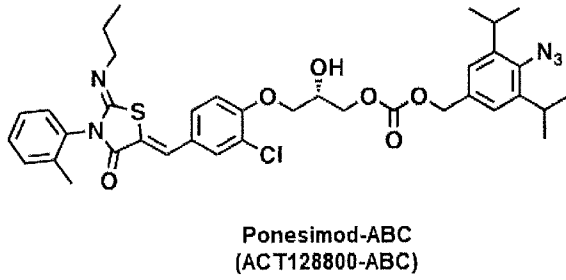
[0071] 離脱部位としてオザニモドを持つ本複合体の具体例としては、以下の化学構造式を有するオザニモドーABCが挙げられる。

[化13]



[0072] 離脱部位としてポネシモドを持つ本複合体の具体例としては、以下の化学構造式を有するポネシモドーABCが挙げられる。

[化14]



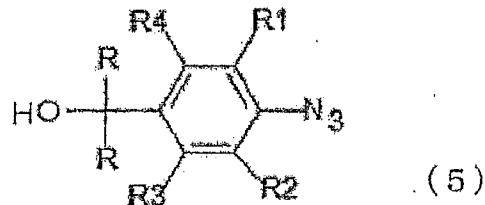
[0073] [複合体の製造方法]

本複合体の製造方法を、式(2)で表される化学構造を持つリンカーが、離脱部位の窒素原子に結合している(すなわち、カルバメート結合を形成している)本複合体の例を挙げて以下に説明する。

[0074] 本複合体は、カルバメート結合を合成する任意の方法により製造することができる。このような方法としては、イソシアネートとアルコールとを反応させる方法、及び、アミンと炭酸エステルとを反応させる方法等が挙げられる。

[0075] イソシアネートとアルコールとを反応させる方法としては、例えば、適切な溶媒の存在下で、離脱部位として用いられる化合物のアミノ基をトリホスゲンと反応させることによりイソシアネートを得、次いで、得られたイソシアネートと式(5)で示すアルコールとを反応させることにより、カルバメート結合を形成している本複合体を製造することができる。

[化15]



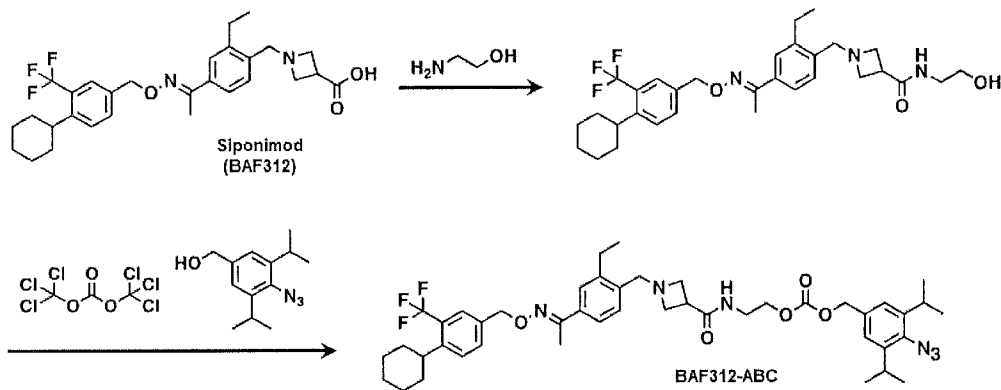
[0076] アミンと炭酸エステルとを反応させる方法としては、例えば、適切な溶媒の存在下で、式(5)で示すアルコールをクロロギ酸エステルと反応させることにより炭酸エステルを得、次いで、得られた炭酸エステルを、離脱部位として用いられる化合物のアミノ基と反応させることにより、カルバメート

結合を形成している本複合体を製造することができる。

[0077] 本複合体の製造方法に関しては、実施例の記載、及び、ACS Sens. 2016, 1, 623-632. (非特許文献5) の記載も参照することができる。例えば、上記に化学構造式を示したFTY720-ABCの製造方法は、実施例に示したとおりである。また、オザニモドは2級アミンを有していることから、上記に化学構造式を示したオザニモド-ABCは、FTY720-ABCと同様の手法で製造することができる。また、ポネシモドはヒドロキシ基を有していることから、上記に化学構造式を示したポネシモド-ABCは、FTY720-ABCと同様の手法で製造することができる。

[0078] 上記に化学構造式を示したシポニモド-ABC (以下、「BAF312-ABC」と呼ぶ。) の製造方法を以下に説明する。

[化16]



[0079] 上述した通り、上記に化学構造式を示したBAF312-ABCは、シポニモドのカルボキシ基にさらなるリンカーとして「2-エタノールアミン」を介在させたアナログである。まず、BAF312-ABCの製造において、まず、シポニモド (BAF312) に2-エタノールアミンを付加してシポニモド-2-エタノールアミド体を合成し、次に、シポニモド-2-エタノールアミド体に (4-アジド-3, 5-ジイソプロピルフェニル) -メタノールを付加してBAF312-ABCを得る。

[0080] (その他の成分)

第1の腫瘍治療剤は、本複合体の他に、本複合体の活性を阻害しない範囲

で、薬学的に受容可能な担体を含んでいてもよい。このような担体としては、例えば、水、電解質液、及び、糖液等が挙げられる。

[0081] 第1の腫瘍治療剤は、補助剤を含んでいてもよい。このような補助剤としては、緩衝剤、無痛化剤、安定化剤、保存剤、酸化防止剤、着色剤等が挙げられる。

[0082] 緩衝剤としては、リン酸塩、酢酸塩、炭酸塩、クエン酸塩等の緩衝液が挙げられる。

無痛化剤としては、プロピレングリコール、塩酸リドカイン、ベンジルアルコール、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカイン等が挙げられる。

安定化剤としては、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコール等が挙げられる。

保存剤としては、ベンジルアルコール、フェノール等が挙げられる。

酸化防止剤としては、亜硫酸塩、アスコルビン酸塩等が挙げられる。

着色剤の好適な例としては、水溶性着色タール色素（例、食用赤色2号及び3号、食用黄色4号及び5号、食用青色1号及び2号等の食用色素）、不溶性レーキ色素（例、前記水溶性食用タール色素のアルミニウム塩）、天然色素（例、 $\beta$ -カロチン、クロロフィル、ベンガラ）等が挙げられる。

[0083] 第1の腫瘍治療剤は、結合剤、賦形剤、潤滑剤、甘味剤、香味剤、防腐剤、崩壊剤、懸濁化剤、溶剤、溶解補助剤、等張化剤、膨化剤等の添加剤を含んでいてもよい。

[0084] 結合剤としては、ゼラチン、コーンスターチ、トラガント、アラビアゴム、 $\alpha$ 化デンプン、ショ糖、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、結晶セルロース、白糖、D-マンニトール、トレハロース、デキストリン、プルラン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン等が挙げられる。

[0085] 賦形剤としては、乳糖、白糖、D-マンニトール、D-ソルビトール、デンプン、 $\alpha$ 化デンプン、デキストリン、結晶セルロース、低置換度ヒドロキ

シプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、アラビアゴム、プルラン、軟質無水ケイ酸、合成ケイ酸アルミニウム、メタケイ酸アルミン酸マグネシウム、キシリトール、ソルビトール、エリスリトール等が挙げられる。

- [0086] 潤滑剤としては、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、タルク、コロイドシリカ、ポリエチレングリコール等が挙げられる。
- [0087] 甘味剤としては、サッカリンナトリウム、グリチルリチン酸二カリウム、アスパルテーム、ステビア等が挙げられる。
- [0088] 香味剤としては、ペパーミント、アカモノ油、チェリー等が挙げられる。
- [0089] 防腐剤としては、パラオキシ安息香酸エステル類、クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェネチルアルコール、デヒドロ酢酸、ソルビン酸等が挙げられる。
- [0090] 崩壊剤としては、乳糖、白糖、デンプン、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターチナトリウム、低置換ヒドロキシプロピルセルロース、軟質無水ケイ酸、炭酸カルシウム等が挙げられる。
- [0091] 懸濁化剤としては、例えば、ステアリルトリエタノールアミン、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリルアミノプロピオン酸、レシチン、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、モノステアリン酸グリセリン等の界面活性剤；例えば、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース等の親水性高分子；ポリソルベート類、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等が挙げられる。
- [0092] 溶剤の好適な例としては、注射用水、生理食塩水、リンゲル液、アルコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ゴマ油、トウモロコシ油、オリーブ油、綿実油等が挙げられる。
- [0093] 溶解補助剤の好適な例としては、ポリエチレングリコール、プロピレング

リコール、D-マンニトール、トレハロース、安息香酸ベンジル、エタノール、トリスアミノメタン、コレステロール、トリエタノールアミン、炭酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、サリチル酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等が挙げられる。

[0094] 等張化剤の好適な例としては、塩化ナトリウム、グリセリン、D-マンニトール、D-ソルビトール、ブドウ糖、キシリトール、果糖等が挙げられる。

[0095] (剤形)

第1の腫瘍治療剤は、経口製剤、注射剤又は経皮製剤として投与可能である。経口製剤としては、錠剤（舌下錠、口腔内崩壊剤を含む）、カプセル剤（ソフトカプセル、マイクロカプセルを含む）、散剤、顆粒剤、トローチ剤、シロップ剤、乳剤、懸濁剤等が挙げられる。また、注射剤としては、皮内注射、皮下注射、静脈内注射、筋肉内注射、脊髄腔内注射、硬膜外注射、局所注射等が挙げられる。また、経皮製剤としては、貼付剤、軟膏剤、散布剤等が挙げられる。これらの製剤は、速放性製剤又は徐放性製剤等の放出制御製剤（例、徐放性マイクロカプセル）であってもよい。

[0096] (製造方法)

第1の腫瘍治療剤は、好適には注射剤として処方される。注射剤のための無菌組成物は、活性物質をビヒクル（注射用水溶液；胡麻油、椰子油等のような天然産出植物油等）中に溶解又は懸濁させる等の通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用水性液としては、例えば、生理食塩水、ブドウ糖又はその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウム等）等が用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例：エタノール）、ポリアルコール（例：プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例：ポリソルベート80TM、HCO-50）等と併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油等が用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコール等と併用してもよい。注射剤は、アンプル又はバイアル

のように単位投与量又は複数回投与量ずつ容器に封入することができる。また、有効成分及び医薬上許容される担体を凍結乾燥し、使用直前に適当な無菌のビヒクルに溶解又は懸濁すればよい状態で保存することもできる。

[0097] (本複合体の含有量)

第1の腫瘍治療剤における本複合体の含有量は、製剤の形態によって相違するが、通常、製剤全体に対して約10～25質量%程度であり、好ましくは約15質量%以上であり、より好ましくは約20質量%以上である。

[0098] (投与量)

第1の腫瘍治療剤の投与量は、投与対象の種類、投与方法、S1Pシグナル伝達阻害化合物の種類、腫瘍細胞の種類、部位等を考慮して適宜決定することができる。ヒトの適切な投与量は、動物実験の結果から求めることができる。例えば、FTY720-ABCを固形癌に対して静脈投与により投与する場合、マウスの実験によれば、投与量は、体重1kg当たりFTY720の量として0.1～5mgが好ましく、0.3mg以上であることがより好ましく、1mg以上であることがさらに好ましい。これを公知の方法によりヒトに換算すると、ヒト等価用量に基づくヒトの適切な投与量は、体重1kg当たりFTY720の量として0.008～0.4mgが好ましく、0.024mg以上であることがより好ましく、0.08mg以上であることがさらに好ましい。これらの有効量は、一回又は数回に分けて投与することができる。

[0099] (投与対象)

第1の腫瘍治療剤は、任意の哺乳動物の腫瘍に適用することができる。哺乳動物の種類としては、非ヒト哺乳動物又はヒトであり得る。非ヒト哺乳動物としては、マウス、ラット、ハムスター、モルモット等のげっ歯類及びウサギ等の実験動物、ブタ、ウシ、ヤギ、ウマ、ヒツジ、ミンク等の家畜、イヌ、ネコ等のペット、ヒト、サル、アカゲザル、マーモセット、オランウータン、チンパンジー等のヒトを除く霊長類等を挙げるることができる。

[0100] 第1の腫瘍治療剤の投与対象は、腫瘍を有する上記対象である。ここで、

腫瘍の種類は特に限定されないが、肺がん（例えば、肺腺がん）、子宮がん（例えば、子宮頸がん、子宮体がん）、胃がん、結腸・直腸がん、膵がん、肝がん、胆嚢・胆管がん、乳がん、膀胱腫瘍、骨肉腫、悪性黒色腫、褐色細胞腫等を挙げることができる。

[0101] 第1の腫瘍治療剤は、多剤耐性腫瘍に対しても有効である。従って、本発明の一態様に係る腫瘍の治療剤は、多剤耐性腫瘍の治療剤であってもよい。本発明の一態様に係る多剤耐性腫瘍の治療剤の投与対象は、多剤耐性腫瘍を有する上記対象である。ここで、本明細書において、「多剤耐性腫瘍」は、少なくとも2種類の化学療法薬剤に対する耐性を有している腫瘍を意味する。化学療法薬剤に対する耐性とは、化学療法薬剤に対する感受性を有している同種の腫瘍よりも化学療法薬剤の効果が低いことであり、例えば、化学療法薬剤に対する感受性を有している同種の腫瘍よりも化学療法薬剤による増殖抑制効果が低いことを意味する。少なくとも2種類の化学療法薬剤は、互いに異なる化学構造を有している化学療法薬剤であってよく、腫瘍に対する作用機序が互いに異なる化学療法薬剤であってもよい。化学療法薬剤は、例えば、抗がん剤である。多剤耐性腫瘍における耐性獲得メカニズムは特に限定されない。

[0102] 多剤耐性腫瘍の種類は特に限定されないが、肺がん（例えば、肺腺がん）、子宮がん（例えば、子宮頸がん、子宮体がん）、胃がん、結腸・直腸がん、膵がん、肝がん、胆嚢・胆管がん、乳がん、膀胱腫瘍、骨肉腫、悪性黒色腫、褐色細胞腫等のあらゆる種類の腫瘍の多剤耐性腫瘍を挙げることができる。

[0103] 多剤耐性腫瘍の一例として、エリブリン、ドキソルビシン及びパクリタキセルからなる群から選択される少なくとも2つの抗がん剤に対する耐性を有する乳がんを挙げることができる。後述する実施例に示すように、本複合体は、脱離部位としてS1Pシグナル伝達阻害化合物を有しているため、前述の多剤耐性乳がんに対して有効である。

[0104] (効果)

第1の腫瘍治療剤は、離脱部位としてS1Pシグナル伝達阻害化合物を有する複合体を含む。第1の腫瘍治療剤は、S1Pシグナル伝達阻害化合物を有効成分とするため、腫瘍を有する患者に投与することによって、患者における腫瘍を治療する効果が期待できる。第1の腫瘍治療剤によれば、従来の抗がん剤では治療効果が得られない多剤耐性腫瘍を治療する効果が期待できる。

[0105] また、離脱部位としてS1Pシグナル伝達阻害化合物を有する複合体は、腫瘍細胞の周囲に存在するアクロレインと反応をして、S1Pシグナル伝達阻害化合物を放出させることができるため、腫瘍の治療剤として好適に用いることができる。

[0106] <2. 多剤耐性腫瘍の治療剤>

本発明の一実施形態に係る多剤耐性腫瘍の治療剤（以下、「第2の腫瘍治療剤」とも称する）は、S1Pシグナル伝達阻害化合物を有効成分とする。第2の腫瘍治療剤の有効成分であるS1Pシグナル伝達阻害化合物は、上述した本複合体に離脱部位として組み込まれていてもよく、本複合体に組み込まれていなくてもよい。離脱部位としてS1Pシグナル伝達阻害化合物を有する複合体については、前記「1. 腫瘍の治療剤」の項で既に説明したとおりであるのでここでは説明を繰り返さない。また、本複合体に組み込まれていないS1Pシグナル伝達阻害化合物は、本複合体に組み込まれていないこと以外は、複合体に離脱部位として組み込まれているS1Pシグナル伝達阻害化合物と同様である。また、第2の腫瘍治療剤の有効成分であるS1Pシグナル伝達阻害化合物は、上述した本複合体とは異なる手法でプロドラッグ化されていてもよい。つまり、式(1)で表される化学構造を持つアクロレイン反応部位とは異なるプローブをS1Pシグナル伝達阻害化合物に付加することによってプロドラッグ化されていてもよい。

[0107] 第2の腫瘍治療剤は、多剤耐性腫瘍の治療剤である。多剤耐性腫瘍については、前記「1. 腫瘍の治療剤」の項で既に説明したとおりであるのでここでは説明を繰り返さない。第2の腫瘍治療剤に含まれているその他の成分、

第2の腫瘍治療剤の剤形、製造方法、第2の腫瘍治療剤中のS1Pシグナル伝達阻害化合物の含有量、投与量、及び投与対象は、第1の腫瘍治療剤と同様であるので説明を省略する。

[0108] (効果)

第2の腫瘍治療剤は、S1Pシグナル伝達阻害化合物を有効成分とするため、多剤耐性腫瘍を有する患者に投与することによって、従来の抗がん剤では治療効果が得られない多剤耐性腫瘍を治療する効果が期待できる。

[0109] <3. 実施形態のまとめ>

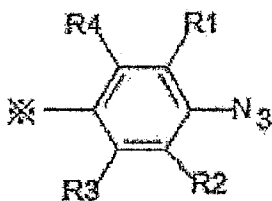
本発明の実施形態は、例えば、以下に示す態様を含む。

[1] 式(1)で表される化学構造を持つアクロレイン反応部位及び離脱部位を含む複合体を含む、腫瘍の治療剤であり、

前記離脱部位は、前記アクロレイン反応部位とアクロレインとの反応により切断可能なリンカーを介して、前記アクロレイン反応部位と結合しており、

前記離脱部位は、細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物の化学構造を含む、腫瘍の治療剤。

[化17]



(1)

(式(1)中で、

R1及びR2は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数1~5のアルキル基を指し、ただし、R1及びR2の少なくとも一方は炭素数1~5のアルキル基であり；

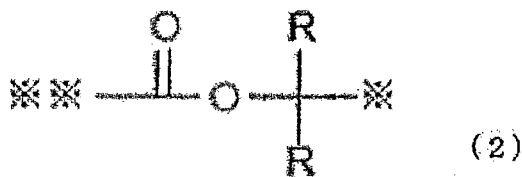
R3及びR4は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基

、チオール基、置換基を有していてもよいアミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、又は、炭素数1～5のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい）を指し；

※は、リンカーとの結合部位である。）

[2] 前記リンカーは、式(2)で表される化学構造を持つリンカーである、[1]に記載の腫瘍の治療剤。

[化18]



(式(2)中で、

Rは、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、チオール基、置換基を有していてもよいアミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、又は、炭素数1～5のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい）を指し；

※は、アクロレイン反応部位との結合部位であり、

※※は、離脱部位との結合部位である。）

[3] 式(2)中の前記※※は、離脱部位に含まれる窒素原子、硫黄原子、又は酸素原子との結合部位である、[2]に記載の腫瘍の治療剤。

[4] 式(2)中のRは、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、炭素数1～5のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基を有していてもよい）を指す、[2]に記載の腫瘍の治療剤。

[5] 式(1)中のR1及びR2は、互いに独立に、少なくとも一つのハロ

ゲン原子で置換されていてもよい炭素数 1～5 のアルキル基を指す、[1]～[4] のいずれか 1 つに記載の腫瘍の治療剤。

[6] 前記複合体は、腫瘍細胞の周囲に存在するアクロレインと反応をして、前記離脱部位が離脱する、[1]～[5] のいずれか 1 つに記載の腫瘍の治療剤。

[7] 前記細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物が、スフィンゴシン-1-リン酸受容体調節薬である、[1]～[6] のいずれか 1 つに記載の腫瘍の治療剤。

[8] 前記スフィンゴシン-1-リン酸受容体調節薬が、フィンゴリモド、シポニモド、オザニモド、又はポネシモドである、[7] に記載の腫瘍の治療剤。

[9] 前記腫瘍が多剤耐性腫瘍である、[1]～[8] のいずれか 1 つに記載の腫瘍の治療剤。

[10] 前記多剤耐性腫瘍が、エリブリン、ドキソルビシン及びパクリタキセルからなる群から選択される少なくとも 2 つの抗がん剤に対する耐性を有する乳がんである、[9] に記載の腫瘍の治療剤。

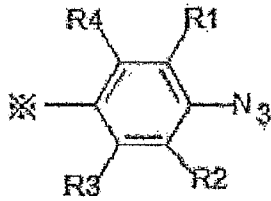
[11] 細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物を有効成分とする、多剤耐性腫瘍の治療剤。

[12] 式(1)で表される化学構造を持つアクロレイン反応部位及び離脱部位を含む複合体であり、

前記離脱部位は、前記アクロレイン反応部位とアクロレインとの反応により切断可能なリンカーを介して、前記アクロレイン反応部位と結合しており、

前記離脱部位は、スフィンゴシン-1-リン酸受容体調節薬の化学構造を含む、複合体。

[化19]



(1)

(式(1)中で、

R1及びR2は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数1～5のアルキル基を指し、ただし、R1及びR2の少なくとも一方は炭素数1～5のアルキル基であり；

R3及びR4は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、チオール基、置換基を有していてもよいアミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、又は、炭素数1～5のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい）を指し；

※は、リンカーとの結合部位である。）

[13] 前記スフィンゴシン-1-リン酸受容体調節薬が、フィンゴリモード、シポニモード、オザニモード、又はポネシモードである、[12]に記載の複合体。

#### [0110] <4. 腫瘍治療用医薬品製品>

上述した第1の腫瘍治療剤又は第2の腫瘍治療剤を備えた腫瘍治療用医薬品製品もまた、本発明の範疇に含まれる。本発明の一態様に係る腫瘍治療用医薬品製品における第1の腫瘍治療剤又は第2の腫瘍治療剤については、既に説明したとおりであるのでここでは説明を繰り返さない。

[0111] 本発明の一態様に係る腫瘍治療用医薬品製品は、腫瘍を治療する用途に用いられる。対象とする腫瘍は、多剤耐性腫瘍であってもよい。本発明の一態様に係る医薬品製品は、第1の腫瘍治療剤又は第2の腫瘍治療剤の、用量、

用法等を記載した添付文書を含む。当該添付文書には、第1の腫瘍治療剤又は第2の腫瘍治療剤を、ヒト固形癌に対して静脈投与により投与する場合、体重1kg当たりS1Pシグナル伝達阻害化合物の量として好ましくは2～5mg、より好ましくは3mg以上、さらに好ましくは4mg以上を投与すること、及びこれらの有効量は、一回又は数回に分けて投与することができることが記載されていることが好ましい。

[0112] また、本発明の一態様に係る腫瘍治療用医薬品製品における第1の腫瘍治療剤又は第2の腫瘍治療剤は、例えば、1回分の投与量毎に別々の容器（バイアル等）に收容されていてもよい。本発明の一態様に係る腫瘍治療用医薬品製品は、1回分の投与量の第1の腫瘍治療剤又は第2の腫瘍治療剤を收容した容器を、治療期間中に必要な投与回数分備えていてもよい。

[0113] <5. 腫瘍の治療方法>

上述した第1の腫瘍治療剤又は第2の腫瘍治療剤を利用した腫瘍の治療方法もまた、本発明の範疇に含まれる。

[0114] すなわち、本発明の一態様に係る腫瘍の治療方法は、以下である。

[21] [1]～[10]のいずれか1つに記載の腫瘍の治療剤又は[21]に記載の多剤耐性腫瘍の治療剤を、投与対象（例えば、非ヒト哺乳動物又はヒト）に投与する投与工程を含む、腫瘍の治療方法。

[22] 腫瘍を有している患者を選択する選択工程をさらに含み、前記投与工程における投与対象は、前記選択工程によって選択された患者である、[21]に記載の腫瘍の治療方法。

[23] 前記選択工程では、多剤耐性腫瘍を有している患者を選択する、[22]に記載の腫瘍の治療方法。

[24] 前記多剤耐性腫瘍が、エリブリン、ドキソルビシン及びパクリタキセルからなる群から選択される少なくとも2つの抗がん剤に対する耐性を有する乳がんである、[23]に記載の腫瘍の治療方法。

[0115] 本発明の一態様に係る腫瘍の治療方法における第1の腫瘍治療剤又は第2の腫瘍治療剤については、既に説明したとおりであるのでここでは説明を繰

り返さない。また、第1の腫瘍治療剤又は第2の腫瘍治療剤の投与対象者、投与経路、製剤及び処方等は、前記「1. 腫瘍の治療剤」の項で説明したとおりである。

[0116] 選択工程は、腫瘍を有している患者を選択する工程である。選択工程では、腫瘍を有している患者の中でも、特に、多剤耐性腫瘍を有している患者を選択してもよい。腫瘍を有している患者を選択する方法は特に限定されないが、例えば、腫瘍の転移・再発巣を有する患者を選択する方法によって腫瘍を有している患者を選択することができる。また、腫瘍が多剤耐性腫瘍であることは、患者の化学療法治療歴と臨床経過から判断する方法によって確認することができる。

[0117] 本発明の一態様に係る腫瘍の治療方法によれば、第1の腫瘍治療剤又は第2の腫瘍治療剤を、投与対象（例えば、非ヒト哺乳動物又はヒト）に投与するので、投与対象（すなわち、患者）における腫瘍を治療することができる。本発明の一態様に係る腫瘍の治療方法によれば、従来の抗がん剤では治療効果が得られない多剤耐性腫瘍も治療することができる。

[0118] また、離脱部位としてS1Pシグナル伝達阻害化合物を有する複合体は、腫瘍細胞の周囲に存在するアクロレインと反応をして、S1Pシグナル伝達阻害化合物を放出させることができるため、腫瘍の治療方法として好適である。

[0119] <6. その他>

本発明の一態様に係る腫瘍の治療剤の製造のための複合体の使用もまた、本発明の範疇に含まれる。

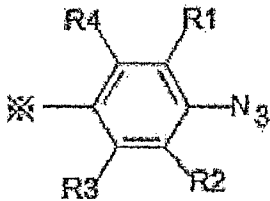
[0120] すなわち、本発明の一態様に係る使用は、以下である。

[31] 腫瘍の治療剤の製造のための複合体の使用であり、前記複合体は、式(1)で表される化学構造を持つアクロレイン反応部位及び離脱部位を含む複合体を含み、

前記離脱部位は、前記アクロレイン反応部位とアクロレインとの反応により切断可能なリンカーを介して、前記アクロレイン反応部位と結合しており

前記離脱部位は、細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物の化学構造を含む、使用。

[化20]



(1)

(式(1)中で、

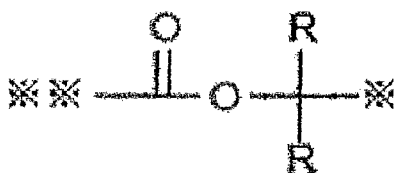
R1及びR2は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数1~5のアルキル基を指し、ただし、R1及びR2の少なくとも一方は炭素数1~5のアルキル基であり；

R3及びR4は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、チオール基、置換基を有していてもよいアミノ基、炭素数1~5のアルコキシ基、炭素数1~5のアルキルチオ基、又は、炭素数1~5のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい）を指し；

※は、リンカーとの結合部位である。）

[32] 前記リンカーは、式(2)で表される化学構造を持つリンカーである、[31]に記載の使用。

[化21]



(2)

(式(2)中で、

Rは、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、チオール基、置換基を有していてもよいアミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、又は、炭素数1～5のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい）を指し；

※は、アクロレイン反応部位との結合部位であり、

※※は、離脱部位との結合部位である。）

[33] 式(2)中の前記※※は、離脱部位に含まれる窒素原子、硫黄原子、又は酸素原子との結合部位である、[32]に記載の使用。

[34] 式(2)中のRは、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、炭素数1～5のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基を有していてもよい）を指す、[32]に記載の使用。

[35] 式(1)中のR<sub>1</sub>及びR<sub>2</sub>は、互いに独立に、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数1～5のアルキル基を指す、[31]～[34]のいずれか1つに記載の使用。

[36] 前記複合体は、腫瘍細胞の周囲に存在するアクロレインと反応をして、前記離脱部位が離脱する、[31]～[35]のいずれか1つに記載の使用。

[37] 前記細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物が、スフィンゴシン-1-リン酸受容体調節薬である、[31]～[36]のいずれか1つに記載の使用。

[38] 前記スフィンゴシン-1-リン酸受容体調節薬が、フィンゴリモド、シポニモド、オザニモド、又はポネシモドである、[37]に記載の使用。

[39] 前記腫瘍が多剤耐性腫瘍である、[31]～[38]のいずれか1つに記載の使用。

[40] 前記多剤耐性腫瘍が、エリブリン、ドキソルビシン及びパクリタキセルからなる群から選択される少なくとも2つの抗がん剤に対する耐性を有する乳がんである、[39]に記載の使用。

[41] 多剤耐性腫瘍の治療剤の製造のための、細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物の使用。

[0121] 腫瘍の治療における使用のための前記複合体もまた、本発明の範疇に含まれる。

[0122] 本発明は上述した各実施形態に限定されるものではなく、請求項に示した範囲で種々の変更が可能であり、異なる実施形態にそれぞれ開示された技術的手段を適宜組み合わせ得られる実施形態についても本発明の技術的範囲に含まれる。

## 実施例

[0123] <化学合成>

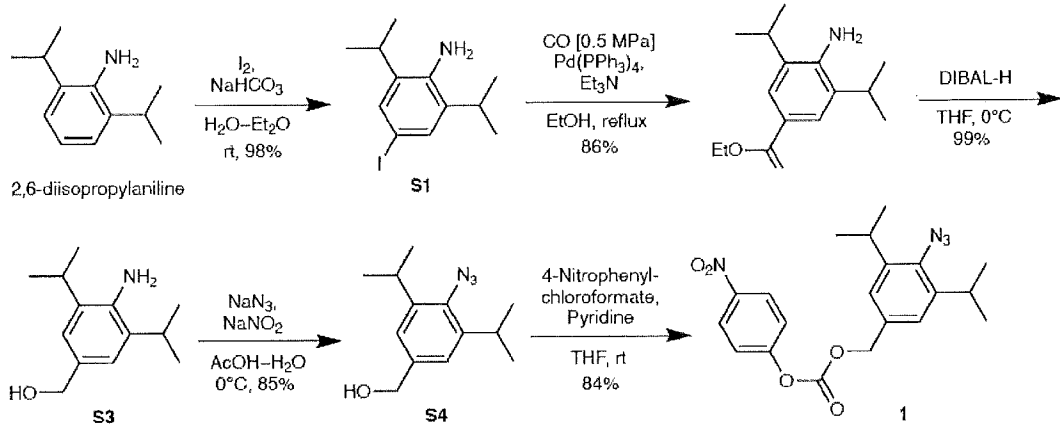
全ての化学的に利用可能な試薬は、さらなる精製は行わずに使用した。分取分離は、メルクシリカゲル60(230~400メッシュ)上のカラムクロマトグラフィーにより行った。<sup>1</sup>H及び<sup>13</sup>C NMRスペクトルは、JEOL RESONANCE AL400 NMRスペクトロメータを用いて記録した。特に言及しない限り、溶媒としてCDCl<sub>3</sub>を使用した。また、化学シフトは、内部標準であるTMSに対するδ値として表した。高分解能質量分析計(HRMS)は、micrOTOF-QIII上で記録した。蛍光スペクトルは、スペクトロフルオロメータ(SpectraMax iD3、Molecular Devices社製)を用いて測定した。アジド含有化合物は爆発の可能性があると予測されたため、全ての操作はフード内で慎重に行った。

[0124] [製造例1] 4-アジド-3,5-ジイソプロピルベンジル-(4-ニトロフェニル)-カルボネート(化合物1)の合成

特許文献1(国際公開第2022/085523号)に記載の方法に従って、4-アジド-3,5-ジイソプロピルベンジル-(4-ニトロフェニル)-カルボネート(化合物1)を合成した。製造例1で合成する4-アジド-3,5-ジイソプロピルベンジル-(4-ニトロフェニル)-カルボネート(

化合物 1) の合成ルートは、以下に示すとおりである。

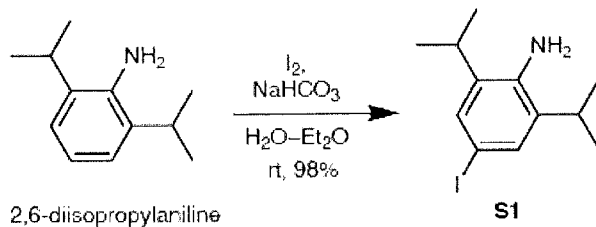
[化22]



各工程について以下に詳細に示す。

[0125] (製造例 1 - 1) 4-ヨード-2,6-ジイソプロピルアニリン (化合物 S1) の合成

[化23]

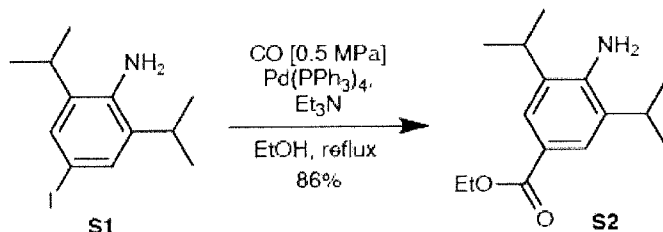


[0126] NaHCO<sub>3</sub> 飽和水溶液及び Et<sub>2</sub>O (1 : 1) 中の 2,6-ジイソプロピルアニリン (8.8 g、44.9 mmol、1.0 当量) の溶液 (200 mL、[2,6-ジイソプロピルアニリン] = 0.2 M) に、ヨウ素 (13.7 g、53.8 mmol、1.2 当量) を添加した。室温で 5 時間攪拌後、Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> · H<sub>2</sub>O を添加し、混合物を 15 分間攪拌した。得られた混合物を Et<sub>2</sub>O で抽出した。合一した有機相を塩水で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 上で乾燥させて、ろ過した。ろ液を減圧下で濃縮乾固させて、所望の 4-ヨード-2,6-ジイソプロピルアニリン (化合物 S1) を赤黒色油状物 (13.4 g、収率 98%) として得た。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C) δ 7.27 (s, 2 H), 3.70 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 2.81 (hept, J = 6.7 Hz, 2H), 1.21 (d, J = 6.8 Hz, 12H); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C) δ 140.27, 135.08, 131.79, 81

.12, 27.82, 22.21; ESI-HRMS  $m/z$   $C_{12}H_{19}IN$  ( $[M+H]^+$ ) についての計算値 304.0557, 検出値 304.0558.

[0127] (製造例 1-2) エチル 4-アミノ-3, 5-ジイソプロピルベンゾエート (化合物 S 2) の合成

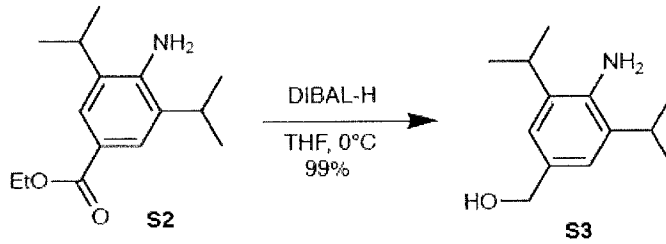
[化24]



[0128] EtOH中の4-ヨード-2, 6-ジイソプロピルアニリン (化合物 S 1) (6.2 g、20.5 mmol、1.0当量) 及びPd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0.5 g、0.41 mmol、0.02当量) の混合物 (17 mL、[S 1] = 1.2 M) に、Et<sub>3</sub>N (4.3 mL、30.7 mmol、1.5当量) を添加した。得られた溶液をCO圧下 (0.5 MPa)、110°Cで8時間攪拌した。懸濁液をセライトに通してろ過し、ろ液を減圧下で濃縮乾固させた。残留物をシリカゲル上のカラムクロマトグラフィーにより、勾配溶離 [n-ヘキサン/酢酸エチル (25 : 1 ~ 15 : 1)] を用いて精製し、所望のエチル 4-アミノ-3, 5-ジイソプロピルベンゾエート (化合物 S 2) を黄色油状物 (4.4 g、収率86%) として得た。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C) δ 7.75 (s, 2H), 4.34 (q, J = 7.1 Hz, 2H), 4.16 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 2.88 (hept, J = 6.9 Hz, 2H), 1.38 (t, J = 7.2 Hz, 3H), 1.29 (d, J = 6.8 Hz, 12H); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25 °C) δ 167.64, 145.10, 131.37, 125.04, 119.77, 60.30, 27.97, 22.24, 14.55; ESI-HRMS  $m/z$   $C_{15}H_{24}NO_2$  ( $[M+H]^+$ ) についての計算値 250.1802, 検出値 250.1805.

[0129] (製造例 1-3) 4-ヒドロキシメチル-2, 6-ジイソプロピルアニリン (化合物 S 3) の合成

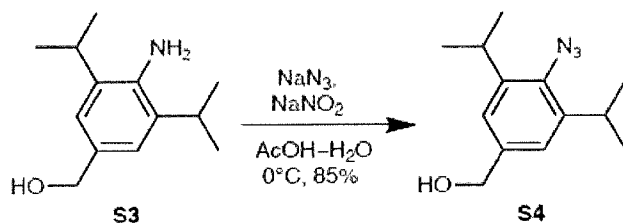
## [化25]



[0130] THF中のエチル4-アミノ-3,5-ジイソプロピルベンゾエート(化合物S2)(764mg、3.1mmol、1.0当量)の0°Cの溶液(30mL、[S2]=0.1M)に、DIBAL-H(トルエン中の1.0M溶液9mL、9.2mmol、3.0当量)をゆっくり添加した。反応液を窒素雰囲気下、0°Cで10分間攪拌し、次いで室温で1時間攪拌した。過剰量のDIBAL-Hを、MeOH(20mL)を用いて0°Cで慎重にクエンチし、30分間攪拌し、室温になるまで放置した。得られた混合物をセライトに通してろ過し(MeOHで洗浄)、ろ液を減圧下で濃縮乾固させた。残留物をシリカゲル上のカラムクロマトグラフィーにより、勾配溶離[n-ヘキサン/酢酸エチル(15:1~7:1)]を用いて精製し、所望の4-ヒドロキシメチル-2,6-ジイソプロピルアニリン(化合物S3)を橙色油状物(627mg、収率99%)として得た。<sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C) δ 7.04 (s, 2H), 4.55 (s, 2H), 3.74 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>), 2.92 (hept, J = 6.7 Hz, 2H), 1.27 (d, J = 6.8 Hz, 12H); <sup>13</sup>C NMR(100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C) δ 140.06, 132.71, 130.89, 122.46, 66.09, 27.99, 22.44; ESI-HRMS m/z C<sub>13</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>2</sub>([M+H]<sup>+</sup>)についての計算値 208.1696, 検出値 208.1699.

[0131] (製造例1-4)(4-アジド-3,5-ジイソプロピルフェニル)メタノール(化合物S4)の合成

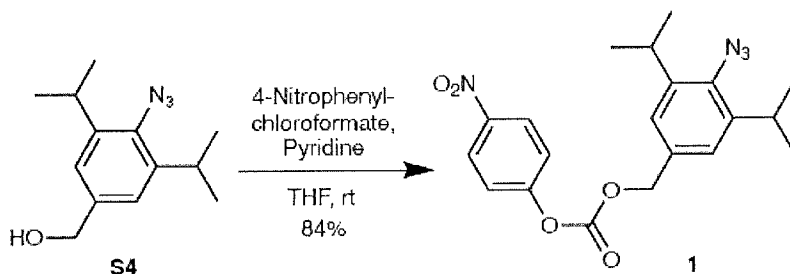
## [化26]



[0132] 酢酸及び蒸留水（5：2）中に溶解している4-ヒドロキシメチル-2,6-ジイソプロピルアニリン（化合物S3）（763mg、3.68mmol、1.0当量）及びアジ化ナトリウム（610mg、9.20mmol、2.5当量）の混合物（35mL、[S3]=0.1M）に、0℃で、亜硝酸ナトリウム（628mg、8.83mmol、2.4当量）をゆっくり添加した。0℃で4時間攪拌後、NaHCO<sub>3</sub>飽和水溶液を混合物がpH7になるまで添加した。混合物をEtOAcで抽出した。合一した有機相を塩水で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>上で乾燥させて、ろ過した。ろ液を減圧下で濃縮乾固させた。残留物をシリカゲル上のカラムクロマトグラフィーにより、勾配溶離[n-ヘキサン/酢酸エチル（30：1～15：1）]を用いて精製し、所望の（4-アジド-3,5-ジイソプロピルフェニル）-メタノール（化合物S4）を黄色油状物（730mg、収率85%）として得た。<sup>1</sup>H NMR（400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25℃）δ 7.13 (s, 2H), 4.64 (s, 2H), 3.36 (p, J = 6.8 Hz, 2H), 1.27 (d, J = 6.7 Hz, 12H); <sup>13</sup>C NMR（100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25℃）δ 143.51, 139.31, 134.84, 122.79, 65.27, 28.90, 23.52; ESI-HRMS m/z C<sub>13</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O（[M+H]<sup>+</sup>）についての計算値 234.1601, 検出値 234.1605.

[0133] （製造例1-5）4-アジド-3,5-ジイソプロピルベンジル-（4-ニトロフェニル）-カルボネート（化合物1）の合成

[化27]



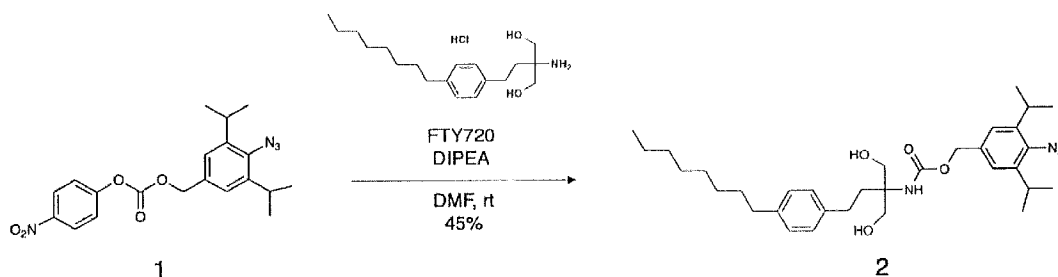
[0134] THF中に溶解している（4-アジド-3,5-ジイソプロピルフェニル）-メタノール（化合物S4）（297mg、1.27mmol、1.0当量）及び4-ニトロフェニルクロロホルメート（321mg、1.53mmol、1.2当量）の0℃の混合物（13mL、[S4]=0.1M）に、

ピリジン (206 mL、2.55 mmol、2.0当量) を添加した。反応混合物を窒素雰囲気下、室温で24時間攪拌した。ロータリーエバポレーターによりTHFを除去し、得られた粗製物を、EtOAc-H<sub>2</sub>Oを用いて分配した。合一した有機相を塩水で洗浄し、Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>上で乾燥させて、ろ過した。ろ液を減圧下で濃縮乾固させた。残留物をシリカゲル上のカラムクロマトグラフィー (n-ヘキサン/酢酸エチル 25:1) により精製し、所望の4-アジド-3,5-ジイソプロピルベンジル-(4-ニトロフェニル)-カルボネート (化合物1) を黄色油状物 (424 mg、収率84%) として得た。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C) δ 8.27 (d, J = 9.1 Hz, 2H), 7.20 (s, 2H), 5.26 (s, 2H), 3.38 (p, J = 6.9 Hz, 2H), 1.29 (d, J = 6.9 Hz, 12H); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 25°C) δ 155.65, 152.50, 145.52, 143.82, 136.11, 132.62, 125.41, 124.63, 121.86, 71.07, 28.94, 23.53.

[0135] [製造例2] プロドラッグFTY720-ABC (化合物2) の合成

製造例2で合成するFTY720-ABC (化合物2) の合成ルートは、以下に示すとおりである。FTY720 (薬剤名:フィンゴリモド (Fingolimod)、化合物名:2-アミノ-2-[-2-(4-オクチルフェニル)エチル]-1,3-プロパンジオール) は、Chayman Chemical社から入手した。

[化28]



[0136] DMF中に溶解している化合物1 (100 mg、0.25 mmol、1.0当量) 及びDIPEA (219 μL、1.3 mmol、5.5当量) の混合物 (2.5 mL、[1] = 0.1 M) に、室温で、FTY720 (95.0 mg、0.28 mmol、1.1当量) を添加した。反応混合物を、室温で20時間攪拌した。DMFを、減圧下で濃縮乾固させた。得られた残留物

をシリカゲル上のカラムクロマトグラフィー (CHCl<sub>3</sub>/MeOH (CHCl<sub>3</sub>のみ10:1まで)) により精製し、所望のプロドラッグFTY720-ABC (化合物2) を白色固体 (63.7 mg、45%) として得た。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.12 (s, 2H), 7.07 (d, J = 1.6 Hz, 4H), 5.30 (s, 1H), 5.04 (s, 2H), 3.92 (dd, J = 11.4, 6.1 Hz, 2H), 3.69 (dd, J = 11.6, 6.6 Hz, 2H), 3.35 (hept, J = 6.8 Hz, 2H), 3.12 (s, 2H), 2.62 - 2.49 (m, 4H), 1.94 - 1.86 (m, 2H), 1.36 - 1.18 (m, 22H), 0.91 - 0.83 (m, 3H). ; <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 143.51, 140.77, 138.48, 135.34, 134.43, 128.55, 128.08, 124.00, 66.96, 66.63, 59.58, 35.53, 31.89, 31.57, 29.48, 29.34, 29.27, 29.04, 28.84, 23.46, 22.67, 14.11. ; ESI-HRMS m/z C<sub>33</sub>H<sub>50</sub>N<sub>4</sub>NaO ([M+Na]<sup>+</sup>) についての計算値 589.3724, 検出値589.3732.

[0137] [試験例1]

<抗がん剤多剤耐性乳癌細胞株の作製>

ヒト乳癌細胞株であるMCF-7乳癌細胞株を低濃度のエリブリン (Eribulin) 存在下に長期間培養し、生存した細胞に対して徐々にEribulin濃度を上げて培養することによって、最終的に675 μMの高濃度Eribulin存在下で生存可能なEribulin耐性MCF-7乳癌細胞株を作製した。この細胞株は、交叉耐性により抗癌剤多剤耐性となっていることを確認した。

[0138] <通常乳癌株及び多剤耐性乳癌株に対する増殖抑制効果の比較>

[実施例1]

通常乳癌株 (MCF-7乳癌細胞株)、及び多剤耐性株 (Eribulin耐性MCF-7乳癌細胞株) を各々96 well plastic plateに2000個/wellの細胞数で90 μL/wellの培地と共に播種した。培地は、DMEM/F12培地 (フェノールレッド含有) (Sigma、#D6434) に10%FBS、2.5 mM L-グルタミン、6 ng/mL インスリンを添加したものを用了。

[0139] インキュベーターにて37℃、CO<sub>2</sub> 5%の条件で24時間培養した後、

最終試験濃度の10倍の濃度に調整したFTY720を含む培地を10 $\mu$ Lずつ各wellに添加して、総容積を100 $\mu$ L/wellとした。インキュベーターにて37 $^{\circ}$ C、CO<sub>2</sub> 5%の条件で各々48時間、72時間、又は96時間培養した後、各wellの培地を取り除き、1wellあたり90 $\mu$ L培地+10 $\mu$ L生細胞数測定試薬SF（ナカライテスク、#07553-44）を添加して37 $^{\circ}$ Cで2時間培養した。

[0140] SPECTRA max PLUS 384 (MOLECULAR DEVICES) で450nm（参照波長：650nm）の吸光度を測定し、FTY720の各濃度における細胞生存率を計算し、IC<sub>50</sub>を算出した。

[0141] [実施例2]

FTY720の代わりに、製造例1で合成したProdrug-FTY-720（化合物1）を用いたこと以外は、実施例1と同様の方法で、Prodrug-FTY-720の各濃度における細胞生存率を計算し、IC<sub>50</sub>を算出した。

[0142] [実施例3～5、比較例1～3]

FTY720の代わりに、表1に示した薬剤を用いたこと以外は、実施例1と同様の方法で、実施例3～5及び比較例1～3の各薬剤の各濃度における細胞生存率を計算し、IC<sub>50</sub>を算出した。

[0143]

[表1]

	薬剤名	化合物名	入手元
実施例 3	シポニモド (Siponimod)	1-[[4-[(E)-N-[[4-cyclohexyl-3-(trifluoromethyl)phenyl]methoxy]-C-methylcarbamimidoyl]-2-ethylphenyl]methyl]azetidine-3-carboxylic acid	Cayman Chemicalより入手
実施例 4	オザニモド (Ozanimod)	5-[3-[(1S)-1-(2-hydroxyethylamino)-2,3-dihydro-1H-inden-4-yl]-1,2,4-oxadiazol-5-yl]-2-propan-2-yloxybenzonitrile	Cayman Chemicalより入手
実施例 5	ポネシモド (Ponesimod)	(5Z)-5-[[3-chloro-4-[(2R)-2,3-dihydroxypropoxy]phenyl]methylidene]-3-(2-methylphenyl)-2-propylimino-1,3-thiazolidin-4-one	Cayman Chemicalより入手
比較例 1	エリブリン (Eribulin)	(1S,3S,6S,9S,12S,14R,16R,18S,20R,21R,22S,26R,29S,31R,32S,33R,35R,36S)-20-[(2S)-3-amino-2-hydroxypropyl]-21-methoxy-14-methyl-8,15-dimethylidene-2,19,30,34,37,39,40,41-octaoxanonacyclo[24.9.2.1 <sup>3,32</sup> .1 <sup>3,33</sup> .1 <sup>6,9</sup> .1 <sup>12,16</sup> .0 <sup>18,22</sup> .0 <sup>29,36</sup> .0 <sup>31,35</sup> ]hentetracontan-24-one;methanesulfonic acid	エーザイ株式会社より入手
比較例 2	ドキシソルビシン (Doxorubicin)	(7S,9S)-7-[(2R,4S,5S,6S)-4-amino-5-hydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy-6,9,11-trihydroxy-9-(2-hydroxyacetyl)-4-methoxy-8,10-dihydro-7H-tetracene-5,12-dione	東京化成工業株式会社より入手
比較例 3	パクリタキセル (Paclitaxel)	[(1S,2S,3R,4S,7R,9S,10S,12R,15S)-4,12-diacetyloxy-15-[(2R,3S)-3-benzamido-2-hydroxy-3-phenylpropanoyl]oxy-1,9-dihydroxy-10,14,17,17-tetramethyl-11-oxo-6-oxatetracyclo[11.3.1.0 <sup>3,10</sup> .0 <sup>4,7</sup> ]heptadec-13-en-2-yl] benzoate	東京化成工業株式会社より入手

## [0144] (結果)

実施例 1～5 及び比較例 1～3 の各薬剤の通常乳癌株及び多剤耐性乳癌株に対する増殖抑制効果を比較検討した。結果を図 1 及び図 2 に示す。図 1 は、比較例 1～3 及び実施例 1 の各薬剤の通常乳癌株及び多剤耐性乳癌株に対する増殖抑制効果を比較した結果を示す図であり、図 2 は、実施例 2～5 の各薬剤の通常乳癌株及び多剤耐性乳癌株に対する増殖抑制効果を比較した結果を示す図である。

[0145] 図 1 及び図 2 に示すように、実施例 1 及び実施例 3～5 の S 1 P 受容体調節薬が、通常乳癌株のみならず、多剤耐性乳癌株に対しても優れた増殖抑制効果を有することが示された。この効果は、実施例 2 のプロドラッグ化した

Prod rug-FTY-720 (化合物1) についても同様であった。このことから、S1P受容体調節薬が、多剤耐性腫瘍に対して有効であることが示された。

[0146] [試験例2]

<同種同所移植乳癌マウスモデルの作製>

マウス由来乳癌細胞株である4T1細胞株 ( $5 \times 10^5$ 細胞) を、BME (Cultrex Reduced Growth Factor Basement Membrane Extract) と細胞培養液 (RPMI) とを1:1 (体積比) に混合した溶液  $50 \mu\text{L}$  と共にBALB/cマウス (9週齢) の乳腺内に移植し、同種同所移植乳癌マウスモデル (以下、「乳癌モデルマウス」と呼ぶ) を作製した。

[0147] <腫瘍重量、並びに血液検体中の白血球数及びリンパ球数の比較>

4T1細胞株を移植しなかったBALB/cマウス又は乳癌モデルマウスを各10匹ずつ、A~Eの5つのグループに分けた。グループA~Eのマウスに対して、表2に示す治療を行った。

[0148] [表2]

グループ	移植	治療
A	4T1細胞株	なし
B	4T1細胞株	FTY-720
C	4T1細胞株	Prod rug-FTY-720
D	なし	Prod rug-FTY-720
E	なし	なし

[0149] FTY-720又はProd rug-FTY-720 (化合物1) は、3日毎、計3回投与した。各薬剤の投与量は、マウス一匹あたり  $240 \text{ nmol}$  (FTY-720: マウス一匹あたり  $81.5 \mu\text{g}$ 、Prod rug-FTY-720:  $135.8 \mu\text{g}$ ) とした。

[0150] 3回目の投薬の翌日 (1日後) 又は3日後にマウスをSacrificeし、血液検体及び腫瘍検体を採取した。各グループのマウスについて、腫瘍の重量及び体積を測定し、血液検体では白血球数及びリンパ球数を測定した。

[0151] 腫瘍の重量及び体積は、次の方法によって測定した。腫瘍の重量は、腫瘍摘出後に精密天秤を用いて計測した。腫瘍の体積は次の近似式を用いて算出した ( $V = (W^2 \times L) / 2$  ( $V$ :体積  $W$ :短径  $L$ :長径))。また、血液検体中のリンパ球のパーセンテージ及びリンパ球数は、外注検査(オリエンタル酵母工業株式会社、自動化法)によって測定した。

[0152] (結果)

結果を図3~5に示す。図3は、腫瘍重量、血液検体中のリンパ球のパーセンテージ及びリンパ球数を比較した結果を示す図である。図3において、「C t」は対照群であるグループAの結果を表し、「F T Y」はF T Y-720投与群であるグループBの結果を表し、「P r o-F T Y」はP r o d r u g-F T Y-720投与群であるグループCの結果を表す。また、図3中の「L I M」はリンパ球を意味する。

[0153] 図3に示すように、対照群と比較して、F T Y-720投与群又はP r o d r u g-F T Y-720投与群で腫瘍重量の減少が認められた。また、P r o d r u g-F T Y-720投与群では、F T Y-720投与群と比較して、血液検体中のリンパ球の減少が大幅に抑えられていた。これらの結果は、F T Y-720をプロドラッグ化することで、腫瘍組織における腫瘍細胞を、該腫瘍の治療剤の投与前よりも退縮もしくは減少させることができ、且つF T Y-720による免疫抑制作用を減弱させることができることを示している。尚、図には示さないが、F T Y-720投与群又はP r o d r u g-F T Y-720投与群のいずれにおいても血液検体中の白血球数は減少しておらず差が認められなかった。

[0154] 図4は、各グループにおける血漿中のF T Y-720、リン酸化F T Y-720、又はP r o d r u g-F T Y-720の濃度を比較した結果を示す図である。図4において、「腫瘍ありF T Y」はグループBの結果を表し、「腫瘍ありP r o-F T Y」はグループCの結果を表し、「腫瘍なしP r o-F T Y」はグループDの結果を表す。また、Bのグラフは、Aのグラフに示したP r o d r u g-F T Y投与群のみの結果を抜き出した図であり、C

のグラフは、グループCにおける血漿中のFTY-720、リン酸化FTY-720、又はProdrug-FTY-720の濃度の経時変化を示す図である。尚、図4においては、FTY-720を「FTY」、リン酸化FTY-720を「FTY-P」、Prodrug-FTY-720を「Prodrug-FTY」と略記する。

[0155] 図4に示すように、FTY-720投与群では血漿中のFTY-720の多くはリン酸化されていた。これに対して、Prodrug-FTY-720投与群では、血漿中の変換されたFTY-720及びリン酸化FTY-720の濃度は、いずれも検出感度以下であった。Prodrug-FTY-720投与群では、3回目の投薬の3日後にも、変換されたFTY-720及びリン酸化FTY-720が血漿中に検出されなかった。また、3回目の投薬の3日後には、Prodrug-FTY-720の血漿中の濃度が、3回目の投薬の1日後の1/3程度まで減少していた。

[0156] 図5は、各グループにおける組織中のFTY-720、リン酸化FTY-720、又はProdrug-FTY-720の濃度を比較した結果を示す図である。図5において、「腫瘍部FTY」はグループBの結果を表し、「非腫瘍部FTY」はグループBの結果を表し、「腫瘍部」はグループCの結果を表し、「腫瘍あり正常部」はグループCの結果を表し、「腫瘍なし正常部」はグループDの結果を表す。また、Bのグラフは、Aのグラフに示したProdrug-FTY投与群のみの結果を抜き出した図であり、Cのグラフは、グループCにおける組織中のFTY-720、リン酸化FTY-720、又はProdrug-FTY-720の濃度の経時変化を示す図である。尚、図5においては、FTY-720を「FTY」、リン酸化FTY-720を「FTY-P」、Prodrug-FTY-720を「Prodrug-FTY」と略記する。

[0157] 図5に示すように、FTY-720投与群では組織中にFTY-720が高濃度に蓄積されていた。組織中のFTY-720の濃度は、血漿中の濃度の100倍程度であった。Prodrug-FTY-720投与群では、変

換されたFTY-720及びリン酸化FTY-720が組織中に集積していることが認められた。組織中の変換されたFTY-720及びリン酸化FTY-720の濃度は、FTY-720投与群の血漿中のFTY-720及びリン酸化FTY-720の濃度と同程度であった。

[0158] また、Prodrug-FTY-720投与群では、腫瘍の周囲の正常部分に変換されたFTY-720及びリン酸化FTY-720が検出されたが、腫瘍部と比較して低濃度であった。また、組織中では、3回目の投薬の3日後にも、変換されたFTY-720及びリン酸化FTY-720がしっかり検出された。これらの結果は、FTY-720をプロドラッグ化することで、腫瘍中でゆっくりと確実にFTY-720をリリースできていることを示している。

[0159] [試験例3]

<乳癌患者由来オルガノイドにおける薬剤感受性の比較>

乳癌患者由来オルガノイドとして、表3に示す3種類のオルガノイドを使用した。サンプル名11-Tのオルガノイドは、多剤耐性乳癌患者由来オルガノイドであった。

[0160] [表3]

サンプル名	検体
09-T	手術
11-T	生検
12-T	生検

[0161] (アッセイスケジュール)

参考文献 (Cell 172, 373-386, e1-e6, 2018) に記載の方法に従ってアッセイを行った。具体的には、各乳癌患者由来オルガノイドをsingle cellにして継代し、継代5日後に96 well plastic plateに約1000~2000個/wellの細胞数で80µL/wellの培地と共に播種した。培地は、細胞培養液 (Advanced DMEM/F12に増殖因子を加えたType1もしくはType2 medium) に100%BME2を1ウェルあたり10µLの量で添加したものをい

た。

[0162] 播種3～4日後に、所定濃度の薬剤を添加した培地を1ウェルあたり10  $\mu$ Lの量で添加した。薬剤は、Prodrug-FTY-720（実施例2の薬剤）、エリ布林（比較例1の薬剤）、ドキソルビシン（比較例2の薬剤）及びパクリタキセル（比較例3の薬剤）を用いた。

[0163] 薬剤添加5日後に、3D Cell-Titer Glo assayを行った。3D Cell-Titer Glo assayは、各ウェルに培地と等量のGlo Titer-Glo試薬を添加し、シェーカーで攪拌後、プレートリーダーで発光を測定し、代謝活性を有する細胞の指標であるATPを測定することで培養中の生存細胞数を測定した。

[0164] （結果）

結果を図6に示す。図6は、比較例1～3及び実施例2の各薬剤の乳癌患者由来オルガノイドに対する増殖抑制効果を比較した結果を示す図である。

[0165] 図6に示すように、FTY-720をプロドラッグ化することで、抗癌剤多剤耐性患者由来オルガノイドに対しても強い増殖抑制効果を示すことが見出された。

### 産業上の利用可能性

[0166] 本発明は、例えば、腫瘍の治療剤として利用することができ、ライフサイエンス研究及び医療用途等に利用することができる。

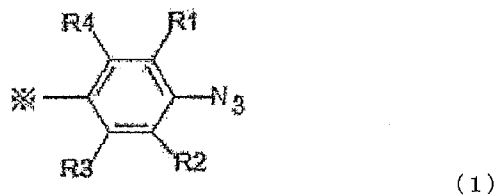
## 請求の範囲

[請求項1] 式（１）で表される化学構造を持つアクロレイン反応部位及び離脱部位を含む複合体を含む、腫瘍の治療剤であり、

前記離脱部位は、前記アクロレイン反応部位とアクロレインとの反応により切断可能なリンカーを介して、前記アクロレイン反応部位と結合しており、

前記離脱部位は、細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物の化学構造を含む、腫瘍の治療剤。

[化1]



（式（１）中で、

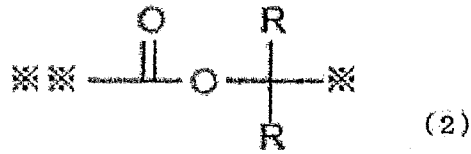
R 1 及び R 2 は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数 1～5 のアルキル基を指し、ただし、R 1 及び R 2 の少なくとも一方は炭素数 1～5 のアルキル基であり；

R 3 及び R 4 は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、チオール基、置換基を有していてもよいアミノ基、炭素数 1～5 のアルコキシ基、炭素数 1～5 のアルキルチオ基、又は、炭素数 1～5 のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい）を指し；

※は、リンカーとの結合部位である。）

[請求項2] 前記リンカーは、式（２）で表される化学構造を持つリンカーである、請求項 1 に記載の腫瘍の治療剤。

[化2]



(式(2)中で、

Rは、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、チオール基、置換基を有していてもよいアミノ基、炭素数1～5のアルコキシ基、炭素数1～5のアルキルチオ基、又は、炭素数1～5のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい）を指し；

※は、アクロレイン反応部位との結合部位であり、  
 ※※は、離脱部位との結合部位である。）

[請求項3] 式(2)中の前記※※は、離脱部位に含まれる窒素原子、硫黄原子、又は酸素原子との結合部位である、請求項2に記載の腫瘍の治療剤。

[請求項4] 式(2)中のRは、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、炭素数1～5のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基を有していてもよい）を指す、請求項2に記載の腫瘍の治療剤。

[請求項5] 式(1)中のR1及びR2は、互いに独立に、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数1～5のアルキル基を指す、請求項1に記載の腫瘍の治療剤。

[請求項6] 前記複合体は、腫瘍細胞の周囲に存在するアクロレインと反応をして、前記離脱部位が離脱する、請求項1に記載の腫瘍の治療剤。

[請求項7] 前記細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物が、スフィンゴシン-1-リン酸受容体調節

薬である、請求項 1 に記載の腫瘍の治療剤。

[請求項8] 前記スフィンゴシン-1-リン酸受容体調節薬が、フィンゴリモド、シポニモド、オザニモド、又はポネシモドである、請求項 7 に記載の腫瘍の治療剤。

[請求項9] 前記腫瘍が多剤耐性腫瘍である、請求項 1 に記載の腫瘍の治療剤。

[請求項10] 前記多剤耐性腫瘍が、エリブリン、ドキソルビシン及びパクリタキセルからなる群から選択される少なくとも 2 つの抗がん剤に対する耐性を有する乳がんである、請求項 9 に記載の腫瘍の治療剤。

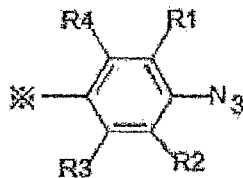
[請求項11] 細胞におけるスフィンゴシン-1-リン酸シグナル伝達を阻害する活性を有する化合物を有効成分とする、多剤耐性腫瘍の治療剤。

[請求項12] 式 (1) で表される化学構造を持つアクロレイン反応部位及び離脱部位を含む複合体であり、

前記離脱部位は、前記アクロレイン反応部位とアクロレインとの反応により切断可能なリンカーを介して、前記アクロレイン反応部位と結合しており、

前記離脱部位は、スフィンゴシン-1-リン酸受容体調節薬の化学構造を含む、複合体。

[化3]



(1)

(式 (1) 中で、

R 1 及び R 2 は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、又は、少なくとも一つのハロゲン原子で置換されていてもよい炭素数 1 ~ 5 のアルキル基を指し、ただし、R 1 及び R 2 の少なくとも一方は炭素数 1 ~ 5 のアルキル基であり；

R 3 及び R 4 は、互いに独立に、水素原子、ハロゲン原子、ヒドロ

キシ基、チオール基、置換基を有していてもよいアミノ基、炭素数 1～5 のアルコキシ基、炭素数 1～5 のアルキルチオ基、又は、炭素数 1～5 のアルキル基（但し、アルキル基を構成する水素原子は、ハロゲン原子、ヒドロキシ基、及び置換基を有していてもよいアミノ基から選択される置換基によって置換されていてもよい）を指し；

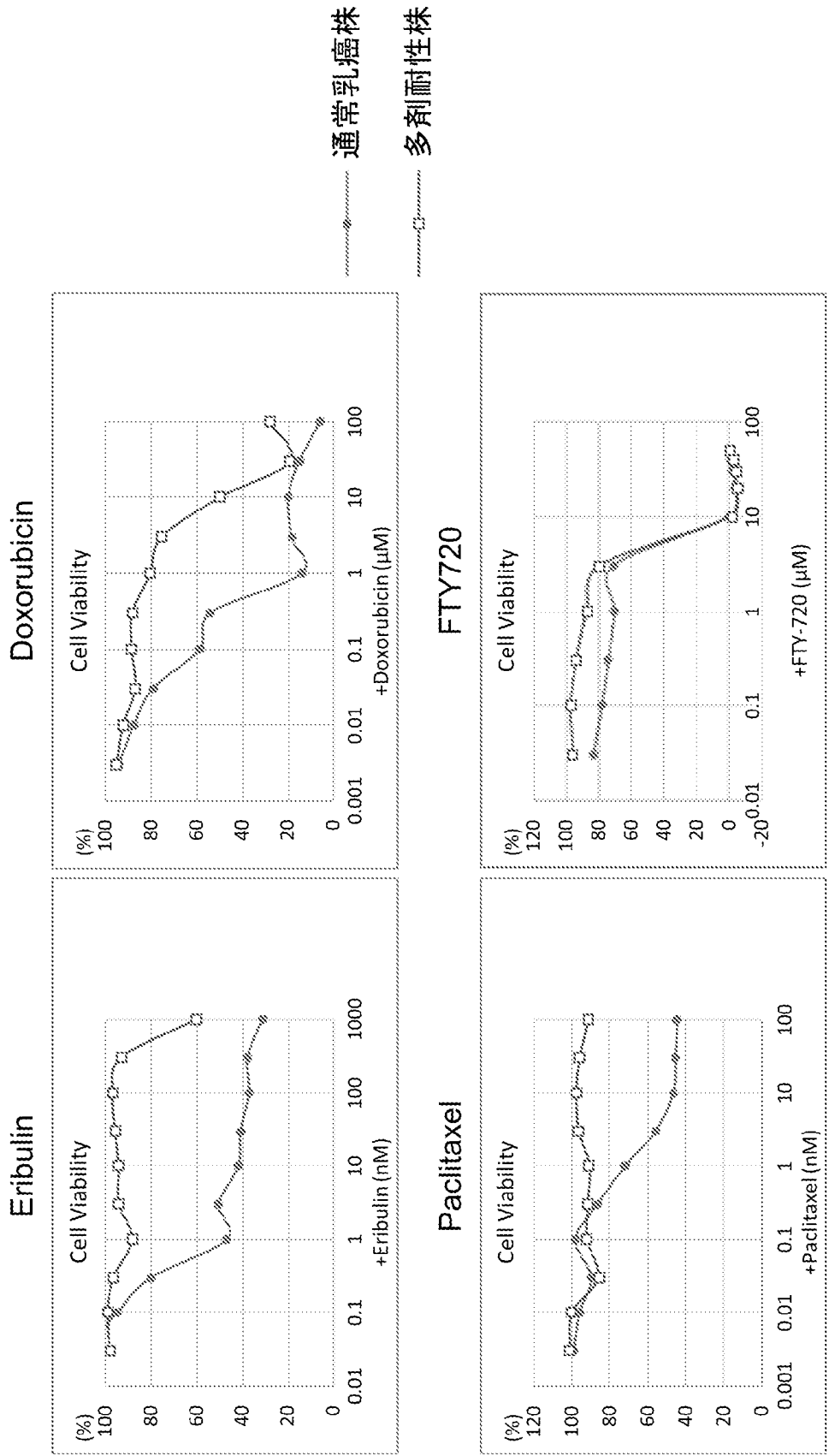
※は、リンカーとの結合部位である。）

[請求項13] 前記スフィンゴシン-1-リン酸受容体調節薬が、フィンゴリモード、シポニモード、オザニモード、又はポネシモードである、請求項 12 に記載の複合体。

[図1]

図 1

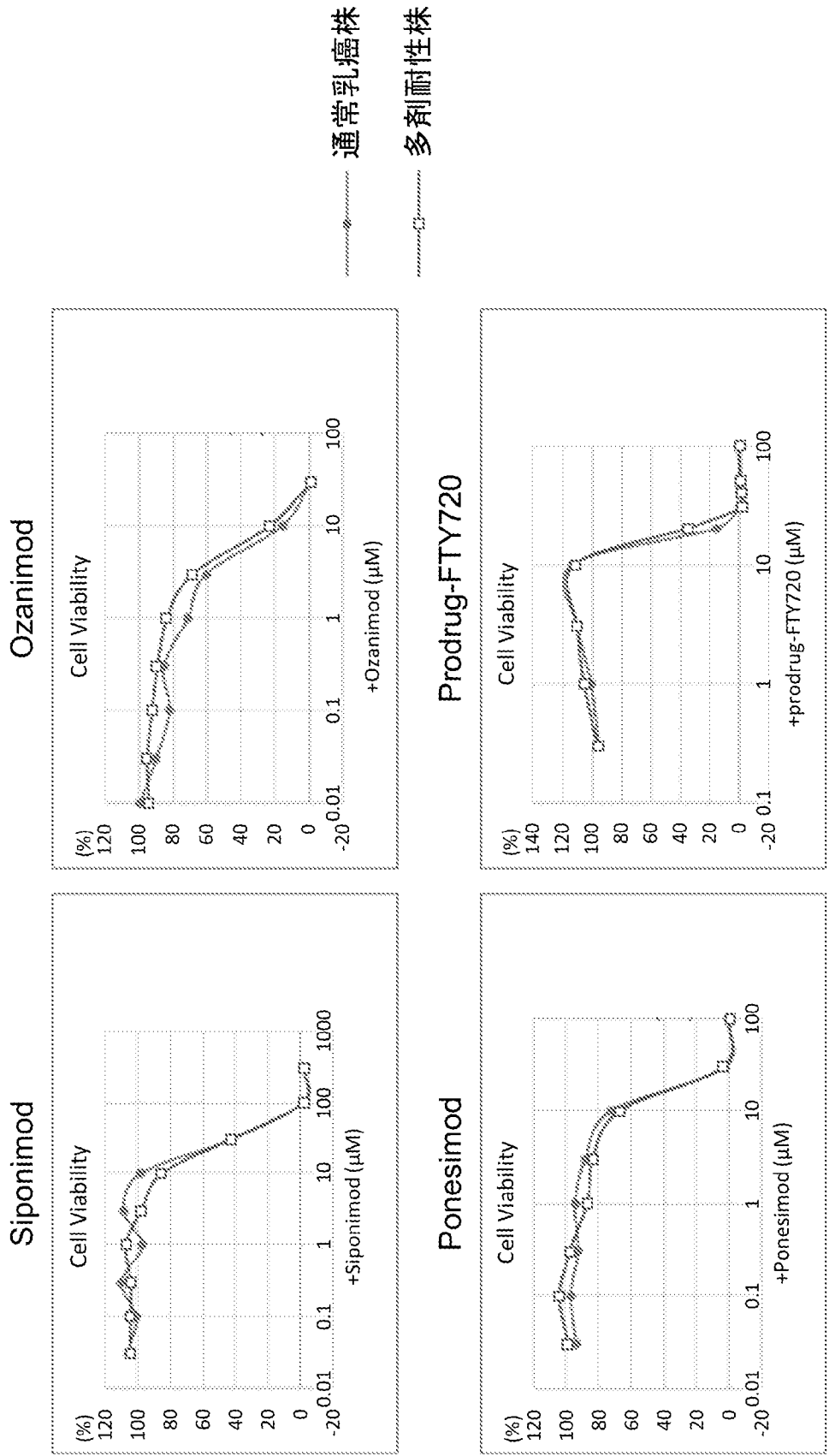
抗癌剤多剤耐性癌細胞株に対する増殖抑制効果の比較結果



[図2]

抗癌剤多剤耐性癌細胞株に対する増殖抑制効果の比較結果

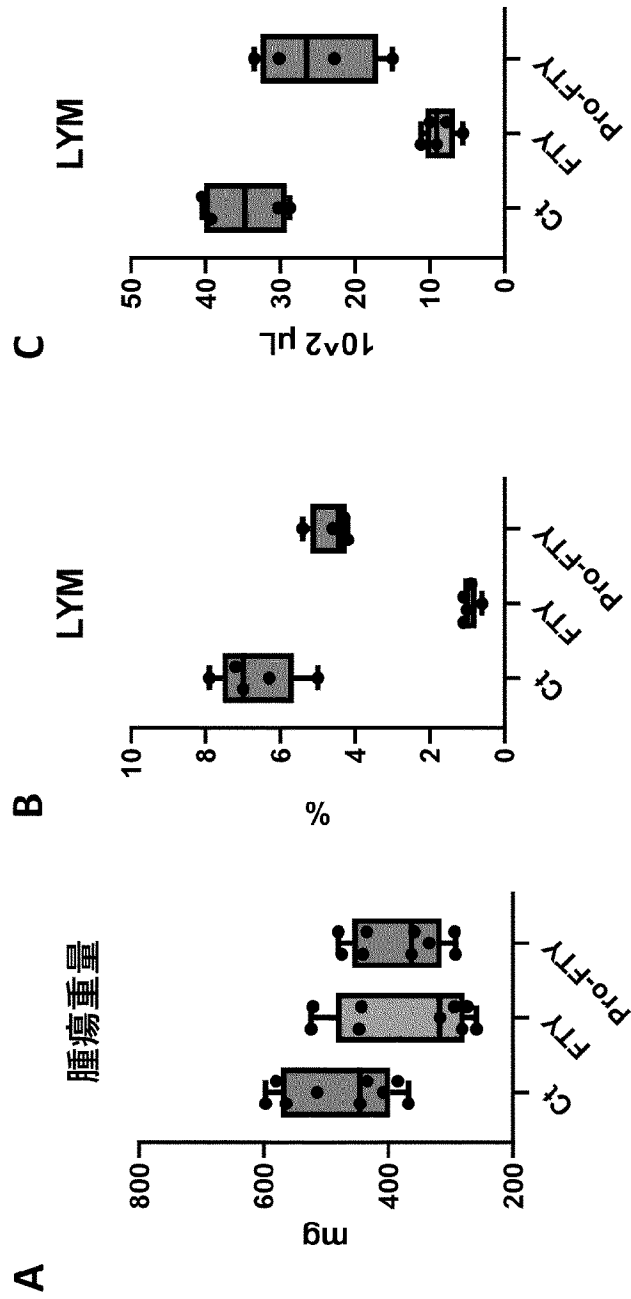
図 2



[図3]

図 3

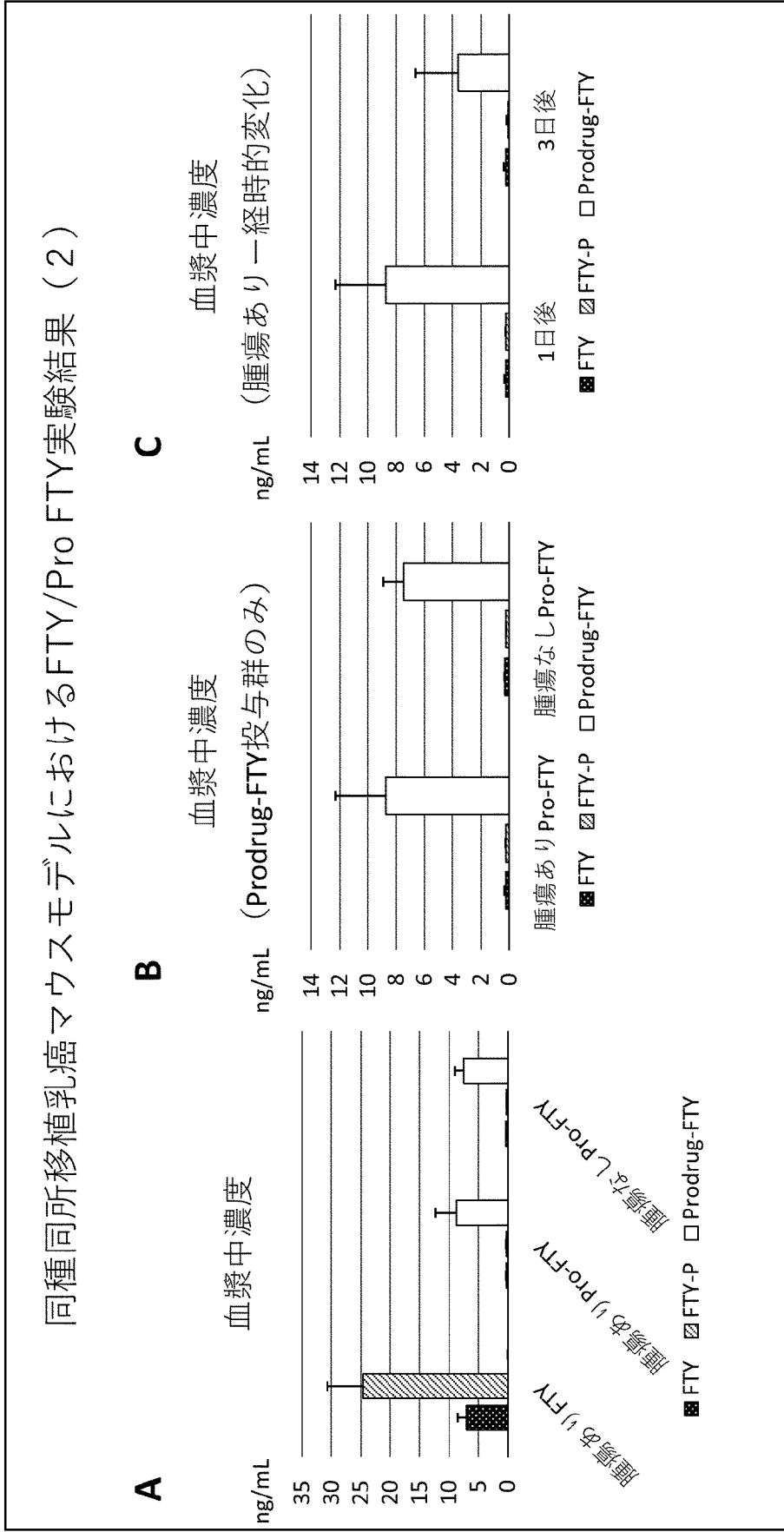
同種同所移植乳癌マウスモデルにおけるFTY/Pro FTY実験結果 (1)



[図4]

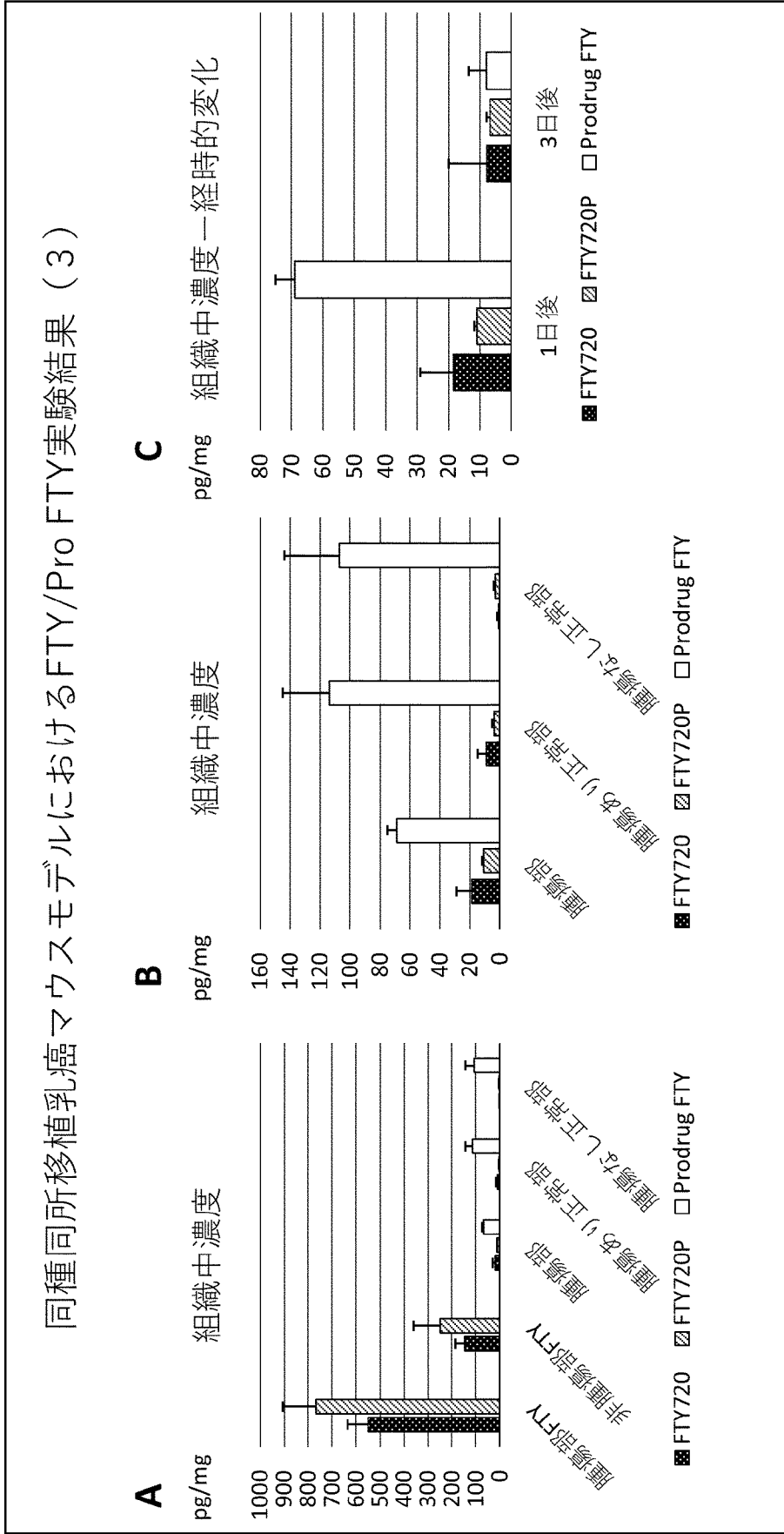
図 4

同種同所移植乳癌マウスモデルにおけるFTY/Pro FTY実験結果 (2)



[図5]

図 5

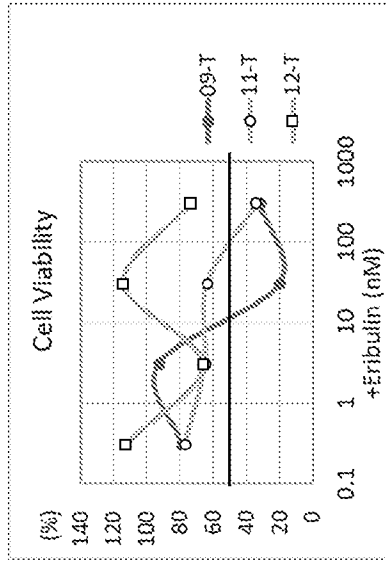


[図6]

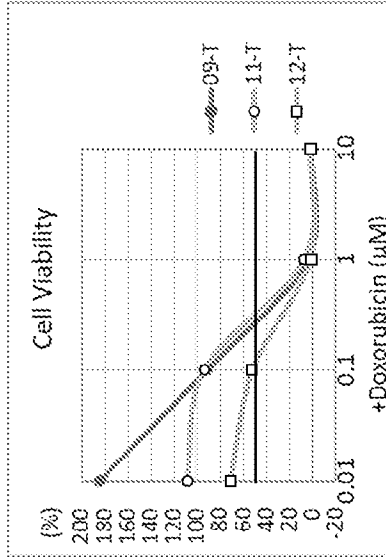
図 6

多剤耐性乳癌患者由来オルガノイドに対する増殖抑制効果の比較結果

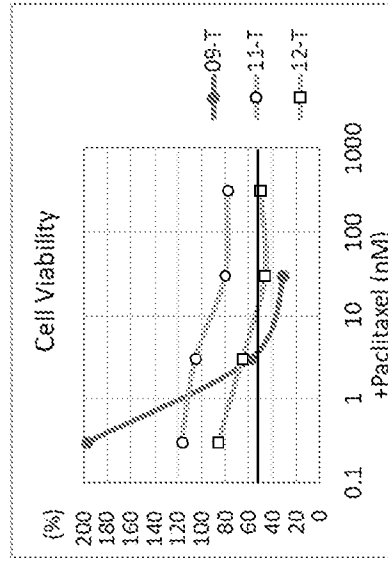
### Eribulin



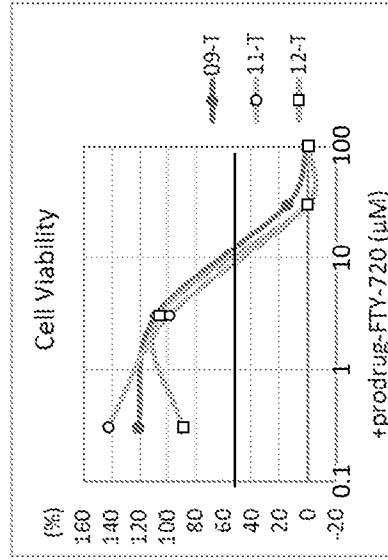
### Doxorubicin



### Paclitaxel



### Prodrug-FTY720



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/017295

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
A61K 31/27(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i FI: A61K31/27; A61P35/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K31/27; A61P35/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2024 Registered utility model specifications of Japan 1996-2024 Published registered utility model applications of Japan 1994-2024		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	YASUI, Hiroshi et al. FTY720 Induces Apoptosis in Multiple Myeloma Cells and Overcomes Drug Resistance. Cancer Research. 2005, vol. 65, no. 16, pp. 7478-7484 abstract, results, fig. 1	11
Y		1-13
X	KREITZBURG, Kelly M. et al. FTY720 enhances the anti-tumor activity of carboplatin and tamoxifen in a patient-derived xenograft model of ovarian cancer. Cancer Letters. 2018, vol. 436, pp. 75-86 abstract, Introduction	11
Y		1-13
X	ALHAMAD, Dima W. et al. The inhibition of autophagy by spautin boosts the anticancer activity of fingolimod in multidrug-resistant hepatocellular carcinoma. Life Sciences. 2022, vol. 304, 120699, pp. 1-10 abstract, results	11
Y		1-13
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search <b>02 July 2024</b>		Date of mailing of the international search report <b>16 July 2024</b>
Name and mailing address of the ISA/JP <b>Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan</b>		Authorized officer  Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2024/017295

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	AOYAMA, Yuka et al. Modulation of the sphingolipid rheostat is involved in paclitaxel resistance of the human prostate cancer cell line PC3-PR. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2017, vol. 486, no. 2, pp. 551-557 abstract, fig. 1	1-13
Y	KATSUTA, Eriko et al. Doxorubicin effect is enhanced by sphingosine-1-phosphate signaling antagonist in breast cancer. Journal of Surgical Research. 2017, vol. 219, pp. 202-213 abstract	1-13
Y	BATALLER, Marina et al. The Role of Sphingolipids Metabolism in Cancer Drug Resistance. Frontiers in Oncology. 2021, vol. 11, article 807636, pp. 1-13 abstract, p. 2, right column, 2nd paragraph, fig. 1	1-13
Y	WO 2022/162088 A2 (PRIOTHERA SAS) 04 August 2022 (2022-08-04) claims, examples	1-13
Y	WO 2022/085523 A1 (RIKEN) 28 April 2022 (2022-04-28) claims, examples	1-13

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**  
**Information on patent family members**

International application No. <b>PCT/JP2024/017295</b>
---

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2022/162088 A2	04 August 2022	JP 2024-506825 A US 2023/0130403 A1 EP 4248958 A2 CN 116723835 A KR 10-2023-0136603 A	
WO 2022/085523 A1	28 April 2022	US 2024/0002398 A1 claims, examples EP 4233916 A1	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61K 31/27(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i FI: A61K31/27; A61P35/00		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A61K31/27; A61P35/00 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2024年 日本国実用新案登録公報 1996-2024年 日本国登録実用新案公報 1994-2024年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII); Cplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	Hiroshi YASUI et al., "FTY720 Induces Apoptosis in Multiple Myeloma Cells and Overcomes Drug Resistance", Cancer Research, 2005, Vol. 65, No. 16, p.7478-7484 Abstract, Results, Figure 1	11
Y		1-13
X	Kelly M. KREITZBURG et al., "FTY720 enhances the anti-tumor activity of carboplatin and tamoxifen in a patient-derived xenograft model of ovarian cancer", Cancer Letters, 2018, Vol. 436, pp.75-86 Abstract, Introduction	11
Y		1-13
X	Dima W. ALHAMAD et al., "The inhibition of autophagy by spautin boosts the anticancer activity of fingolimod in multidrug-resistant hepatocellular carcinoma", Life Sciences, 2022, Vol. 304, 120699, pp.1-10 Abstract, Results	11
Y		1-13
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー "A" 特に関連のある文献ではなく、一般的技术水準を示すもの "D" 国際出願で出願人が先行技術文献として記載した文献 "E" 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの "L" 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） "O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 "P" 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献	"T" 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの "X" 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの "Y" 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの "&" 同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 02.07.2024	国際調査報告の発送日 16.07.2024	
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 三上 晶子 4C 4042 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	Yuka AOYAMA et al., "Modulation of the sphingolipid rheostat is involved in paclitaxel resistance of the human prostate cancer cell line PC3-PR", Biochemical and Biophysical Research Communications, 2017, Vol. 486, No. 2, p.551-557 ABSTRACT, Fig.1	1-13
Y	Eriko KATSUTA et al., "Doxorubicin effect is enhanced by sphingosine-1-phosphate signaling antagonist in breast cancer", Journal of Surgical Research, 2017, Vol. 219, pp.202-213 Abstract	1-13
Y	Marina BATALLER et al., "The Role of Sphingolipids Metabolism in Cancer Drug Resistance", Frontiers in Oncology, 2021, Vol.11, Article 807636, pp.1-13 Abstract, 第2頁右欄第2パラグラフ, Figure 1	1-13
Y	WO 2022/162088 A2 (PRIOTHERA SAS) 04.08.2022 (2022 - 08 - 04) claims, Example	1-13
Y	WO 2022/085523 A1 (国立研究開発法人理化学研究所) 28.04.2022 (2022 - 04 - 28) 請求の範囲、実施例	1-13

国際調査報告  
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2024/017295

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2022/162088	A2	04.08.2022	JP	2024-506825	A	
				US	2023/0130403	A1	
				EP	4248958	A2	
				CN	116723835	A	
				KR	10-2023-0136603	A	
-----							
WO	2022/085523	A1	28.04.2022	US	2024/0002398	A1	
				claims, Example			
				EP	4233916	A1	
-----							