

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6340019号  
(P6340019)

(45) 発行日 平成30年6月6日(2018.6.6)

(24) 登録日 平成30年5月18日 (2018.5.18)

(51) Int. Cl.

F |

A61K 31/5517 (2006.01)

A61K 31/5517

A61P 35/00 (2006.01)

A 61 P 35/00

CO 7D 519/00 (2006-01)

CO7D 519/00 311

**A61K 47/54 (2017-01)**

CO7D 519/00 C S P

A61K 39/395

A 61 K 47/54

請求項の数 15 (全 147 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-562386 (P2015-562386)
(86) (22) 出願日	平成26年3月13日 (2014. 3. 13)
(65) 公表番号	特表2016-510806 (P2016-510806A)
(43) 公表日	平成28年4月11日 (2016. 4. 11)
(86) 國際出願番号	PCT/IB2014/001029
(87) 國際公開番号	W02014/140862
(87) 國際公開日	平成26年9月18日 (2014. 9. 18)
審査請求日	平成29年3月13日 (2017. 3. 13)
(31) 優先権主張番号	61/856, 351
(32) 優先日	平成25年7月19日 (2013. 7. 19)
(33) 優先権主張國	米国 (US)
(31) 優先権主張番号	61/778, 777
(32) 優先日	平成25年3月13日 (2013. 3. 13)
(33) 優先権主張國	米国 (US)

(73) 特許権者 508098350  
メドイミューン・リミテッド  
MedImmune Limited  
英国シービー21・6ジーエイチ、ケンブ  
リッジ、グラント・パーク、ミルスタイン  
・ビルディング  
Millstein Building, G  
rant a Park, Cambridg  
e CB21 6GH, England  
(74) 代理人 110000523  
アクシス国際特許業務法人

最終頁に続く

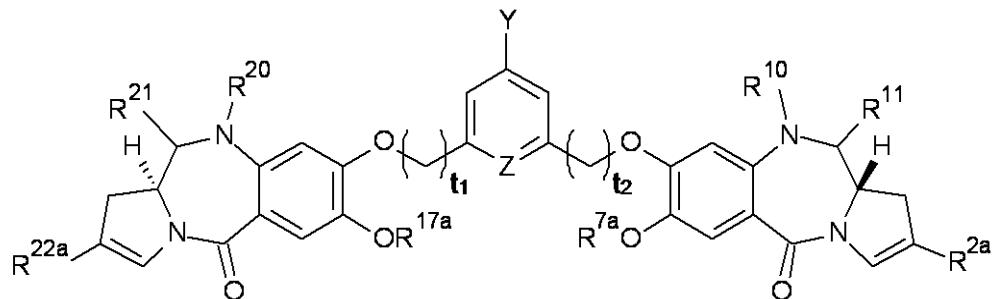
(54) 【発明の名称】 ピロロベンゾジアゼピン及びそのコンjugateト

(57) 【特許請求の範囲】

### 【請求項 1】

式 (I a) のコンジュゲート：

## 【化 1 】



1a

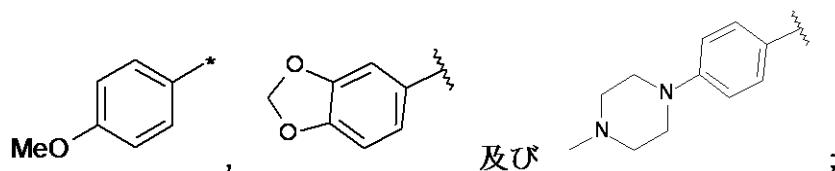
10

(式中、

$R^{2a}$  及び  $R^{22a}$  は、それぞれ独立に以下からなる群から選択され：

( i a )

【化2】



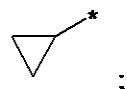
(i b)

【化3】



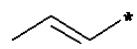
(i c)

【化4】



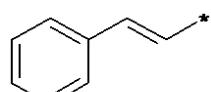
(i d)

【化5】



(i e)

【化6】



(i f)

【化7】



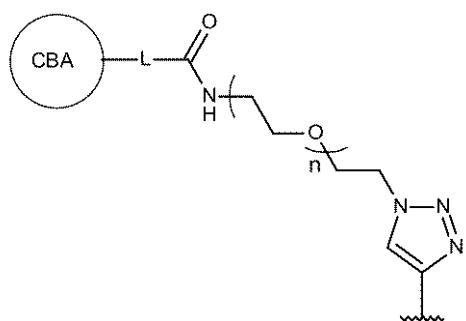
R<sup>7a</sup>及びR<sup>17a</sup>は、それぞれ独立して、メチル及びフェニルから選択され；  
Yは、式A1、A2、A3、A4、A5及びA6から選択され：

10

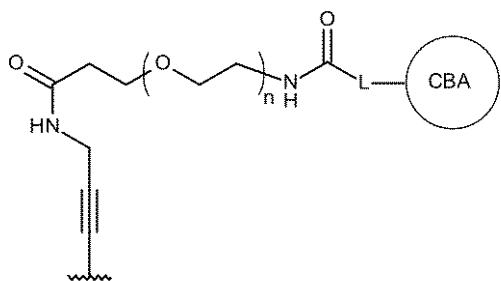
20

30

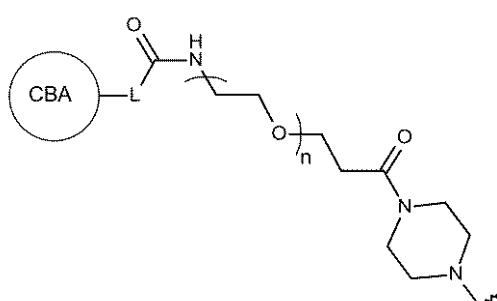
【化 8】



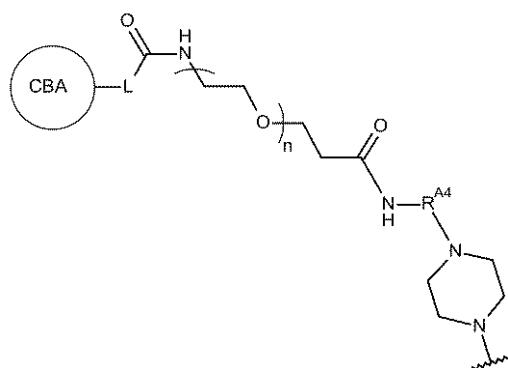
(A 1)



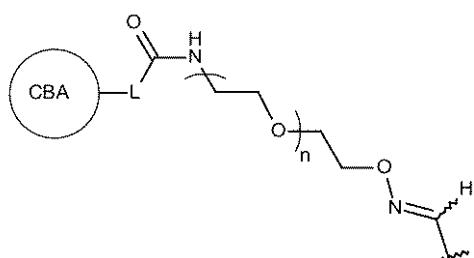
(A 2)



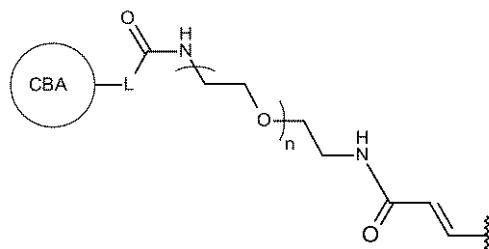
(A 3)



(A 4)



(A 5)



(A 6)

L は、細胞結合因子に結合されたリンカーであり；

C B A は、細胞結合因子であり；

n は、0 から 48 の範囲で選択される整数であり；

R<sup>A4</sup> は C<sub>1-6</sub> アルキレン基であり；

(a) R<sup>10</sup> は H であり、R<sup>11</sup> は OH、OR<sup>A</sup> であり、式中、R<sup>A</sup> は C<sub>1-4</sub> アルキルである；  
又は

(b) R<sup>10</sup> 及び R<sup>11</sup> は、それらが結合されている窒素原子と炭素原子との間に窒素 - 炭素二重結合を形成する；又は

(c) R<sup>10</sup> が H であり、R<sup>11</sup> が OSO<sub>2</sub>M であり、式中、z は 2 又は 3 であり、M は 1 値の医薬的に許容されるカチオンである；

のいずれかであり、

式中、R<sup>20</sup> 及び R<sup>21</sup> は、R<sup>10</sup> 及び R<sup>11</sup> についてそれぞれ規定した通りであり；

式中、Z は、C H 又は N であり；及び

t<sub>1</sub> と t<sub>2</sub> はそれぞれ独立に 0、1 及び 2 から選択される)。

【請求項 2】

R<sup>10</sup> が H であり、R<sup>11</sup> が OH である、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【請求項 3】

10

20

30

40

50

$R^{10}$  及び  $R^{11}$  が、それらが結合されている窒素原子と炭素原子との間に窒素 - 炭素二重結合を形成する、請求項 1 に記載のコンジュゲート。

【請求項 4】

$R^{17a}$ 、 $R^{20}$ 、 $R^{21}$ 及び $t_2$ が、 $R^{7a}$ 、 $R^{10}$ 、 $R^{11}$ 、及び $t_1$ とそれぞれ同じである、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

【請求項 5】

$L$  が次の式である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載のコンジュゲート：

(a)  $-L^A - (CH_2)_m - (L 1)$

式中、 $m$  は 0 から 6 であり；

(b)  $-L^A - (CH_2)_m - O - (L 2)$

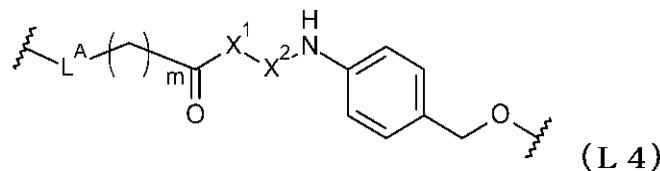
式中、 $m$  は 0 から 6 であり；

(c)  $-L^A - (CH_2)_q - O - C(=O) - NH - (CH_2)_p - (L 3)$

式中、 $q$  が 1 から 3 であり、 $p$  が 1 から 3 であり；

(d)

【化 9】



式中、 $m$  が 0 から 6 であり；

$X^1$  及び  $X^2$  が修飾されていてよい天然アミノ酸から選択されるアミノ酸基であり；

及び  $L^A$  は以下から選択され：

10

20

## 【化 1 0】

(L <sup>A1-1</sup> )		(L <sup>A6</sup> )	
(L <sup>A1-2</sup> )		(L <sup>A7</sup> )	
(L <sup>A2</sup> )		(L <sup>A8-1</sup> )	
(L <sup>A3-1</sup> )		(L <sup>A8-2</sup> )	
(L <sup>A3-2</sup> )		(L <sup>A9-1</sup> )	
(L <sup>A4</sup> )		(L <sup>A9-2</sup> )	
(L <sup>A5</sup> )			

式中、ArはC<sub>5-6</sub>アリーベン基を表す。

## 【請求項6】

前記基-X<sub>1</sub>-X<sub>2</sub>-が以下から選択される、請求項5に記載のコンジュゲート：

- P h e - L y s -、
- V a l - A l a -、
- V a l - L y s -、
- A l a - L y s -、
- V a l - C i t -。

## 【請求項7】

前記細胞結合因子が、抗体又はその活性断片である、請求項1から6のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項8】

前記抗体又は抗体断片が、以下の(1)-(38)から選択される1つ以上の腫瘍関連抗原又は細胞表面受容体に結合する抗体又は抗体断片である、請求項7に記載のコンジュゲート：

- (1) B M P R 1 B (骨形成タンパク質受容体IB型)；
- (2) E 1 6 (L A T 1、S L C 7 A 5)；
- (3) S T E A P 1 (前立腺の6回膜貫通上皮抗原)；
- (4) 0 7 7 2 P (C A 1 2 5、M U C 1 6)；
- (5) M P F (M P F、M S L N、S M R、巨核球増強因子、メソテリン)；

10

20

30

40

50

(6) N a p i 3 b ( N A P I - 3 B 、 N a P i 2 B 、 N P T I I b 、 S L C 3 4 A 2 、 溶質担体ファミリー 3 4 ( リン酸ナトリウム ) 、 メンバー 2 、 I I 型ナトリウム依存性リ

ン酸トランスポータ 3 b ) ;

(7) S e m a 5 b ( F L J 1 0 3 7 2 、 K I A A 1 4 4 5 、 M m . 4 2 0 1 5 、 S E M A 5 B 、 S E M A G 、 セマフォリン 5 b H 1 o g 、 セマドメイン、 7 トロンボスボンジンリピート ( 1 型及び 1 型様 ) 、 膜貫通ドメイン ( 商標 ) 及び短細胞質ドメイン、 ( セマフォリン ) 5 B ) ;

(8) P S C A h 1 g ( 2 7 0 0 0 5 0 C 1 2 R i k 、 C 5 3 0 0 0 8 0 1 6 R i k 、 R I K E N c D N A 2 7 0 0 0 5 0 C 1 2 、 R I K E N c D N A 2 7 0 0 0 5 0 C 1 2 遺伝子 ) ;

10

(9) E T B R ( エンドセリン B 型受容体 ) ;

(10) M S G 7 8 3 ( R N F 1 2 4 、 仮想タンパク質 F L J 2 0 3 1 5 ) ;

(11) S T E A P 2 ( H G N C \_ 8 6 3 9 、 I P C A - 1 、 P C A N A P 1 、 S T A M P 1 、 S T E A P 2 、 S T M P 、 前立腺癌関連遺伝子 1 、 前立腺癌関連タンパク質 1 、 前立腺 2 の 6 回膜貫通上皮抗原、 6 回膜貫通前立腺タンパク質 ) ;

(12) T r p M 4 ( B R 2 2 4 5 0 、 F L J 2 0 0 4 1 、 T R P M 4 、 T R P M 4 B 、 一過性受容体電位カチオンチャネル、 サブファミリー M 、 メンバー 4 ) ;

(13) C R I P T O ( C R 、 C R 1 、 C R G F 、 C R I P T O 、 T D G F 1 、 奇形癌腫由来成長因子 ) ;

(14) C D 2 1 ( C R 2 ( 補体受容体 2 ) 又は C 3 D R ( C 3 d / エプスタインバーウイルス受容体 ) 又は H s 7 3 7 9 2 ) ;

20

(15) C D 7 9 b ( C D 7 9 B 、 C D 7 9 、 I G b ( 免疫グロブリン関連ベータ ) 、 B 2 9 ) ;

(16) F c R H 2 ( I F G P 4 、 I R T A 4 、 S P A P 1 A ( S H 2 ドメイン含有ホスファターゼアンカータンパク質 1 a ) 、 S P A P 1 B 、 S P A P 1 C ) ;

(17) H E R 2 ;

(18) N C A ;

(19) M D P ;

(20) I L 2 0 R ;

(21) ブレビカン ;

30

(22) E p h B 2 R ;

(23) A S L G 6 5 9 ;

(24) P S C A ;

(25) G E D A ;

(26) B A F F - R ( B 細胞活性化因子受容体、 B L y S 受容体 3 、 B R 3 ) ;

(27) C D 2 2 ( B 細胞受容体 C D 2 2 - B アイソフォーム ) ;

(28) C D 7 9 a ( C D 7 9 A 、 C D 7 9 、 免疫グロブリン関連アルファ ) ;

(29) C X C R 5 ( バーキットリンパ腫受容体 1 ) ;

(30) H L A - D O B ( M H C クラス I I 分子 ( I a 抗原 ) のベータサブユニット ) ;

(31) P 2 X 5 ( プリン受容体 P 2 X リガンド開口型イオンチャネル 5 ) ;

40

(32) C D 7 2 ( B 細胞分化抗原 C D 7 2 、 L y b - 2 ) ;

(33) L Y 6 4 ( リンパ球抗原 6 4 ( R P 1 0 5 ) 、 ロイシンリッチリピート ( L R R ) ファミリーの I 型膜タンパク質 ) ;

(34) F c R H 1 ( F c 受容体様タンパク質 1 ) ;

(35) I R T A 2 ( 免疫グロブリンスーパーファミリー受容体転座関連 2 ) ;

(36) T E N B 2 ( 推定膜貫通プロテオグリカン ) ;

(37) C D 3 3 ( C D 3 3 分子、 S I G L E C - 3 、 S I G L E C 3 、 p 6 7 ; C D 3 3 抗原 ( g p 6 7 ) ; g p 6 7 ; 骨髄細胞表面抗原 C D 3 3 ; シアル酸結合 I g 様レクチン 3 ; シアル酸結合 I g 様レクチン ) ; 及び

(38) L G R 5 / G P R 4 9 。

50

## 【請求項 9】

治療に使用するための、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のコンジュゲート。

## 【請求項 10】

請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のコンジュゲート、医薬的に許容される希釈剤、担体又は賦形剤を含む、医薬組成物。

## 【請求項 11】

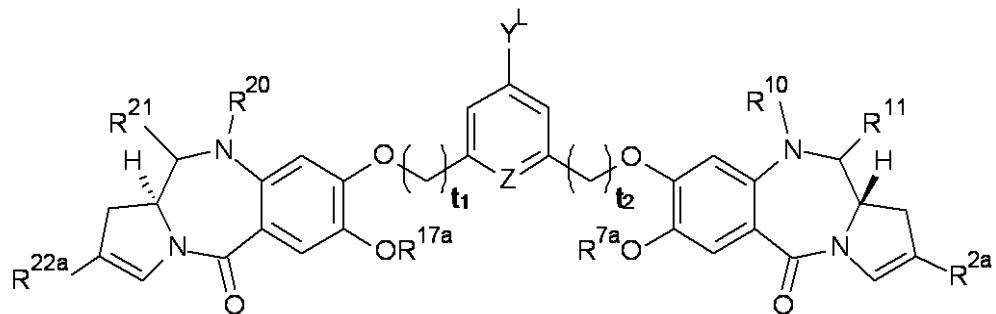
対象の増殖性疾患の処置に使用するための、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載のコンジュゲート又は請求項 10 に記載の医薬組成物。

## 【請求項 12】

次の式 (IIa) の化合物 :

10

## 【化 11】



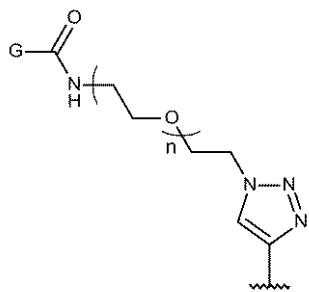
IIa

20

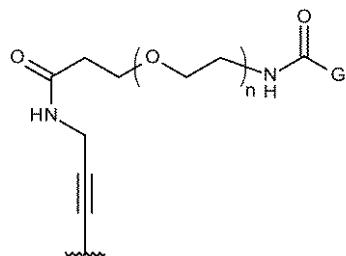
(式中、R<sup>2a</sup>、R<sup>7a</sup>、R<sup>10</sup>、R<sup>11</sup>、R<sup>17a</sup>、R<sup>20</sup>、R<sup>21</sup>、R<sup>22a</sup>、Z、t<sub>1</sub>、及びt<sub>2</sub>は、請求項 1 で定義した通りであり；

Y<sup>L</sup>は、式 B 1、B 2、B 3、B 4、B 5 及び B 6 の群から選択され：

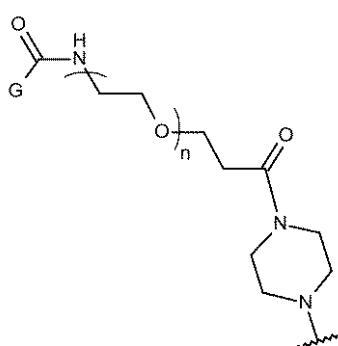
## 【化12】



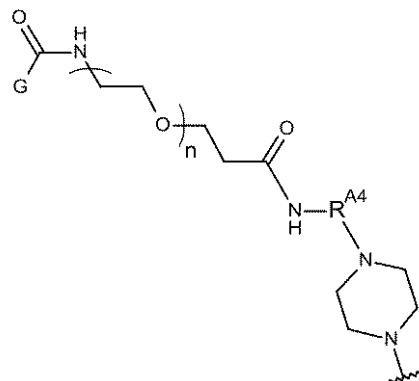
(B1)



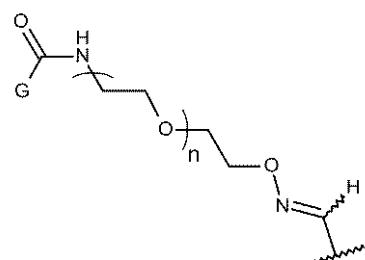
(B2)



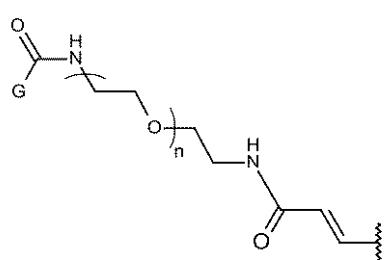
(B3)



(B4)



(B5)



(B6)

G は、細胞結合因子に結合される反応性基であり、式中、n 及び R<sup>A4</sup> は、請求項1で定義した通りである。)。

## 【請求項13】

G が次の式である、請求項12に記載の化合物：

(a) G<sup>A</sup> - (C H<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - (G1)

式中、m は 0 から 6 であり；

(b) G<sup>A</sup> - (C H<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - O - (G2)

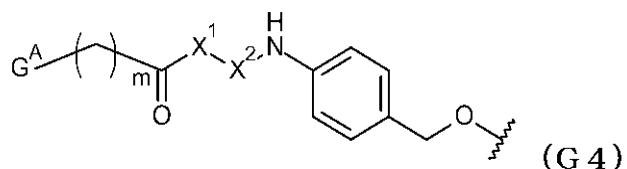
式中、m は 0 から 6 であり；

(c) G<sup>A</sup> - (C H<sub>2</sub>)<sub>q</sub> - O - C(=O) - NH - (C H<sub>2</sub>)<sub>p</sub> - (G3)

式中、q は 1 から 3 であり、p は 1 から 3 であり；

(d)

## 【化13】



(G4)

10

20

30

40

50

式中、 $m$ は0から6であり；  
 $X^1$ 及び $X^2$ は、修飾されていてよい天然アミノ酸から選択されるアミノ酸基であり；  
及び  
 $G^A$ が以下から選択される：  
【化14】

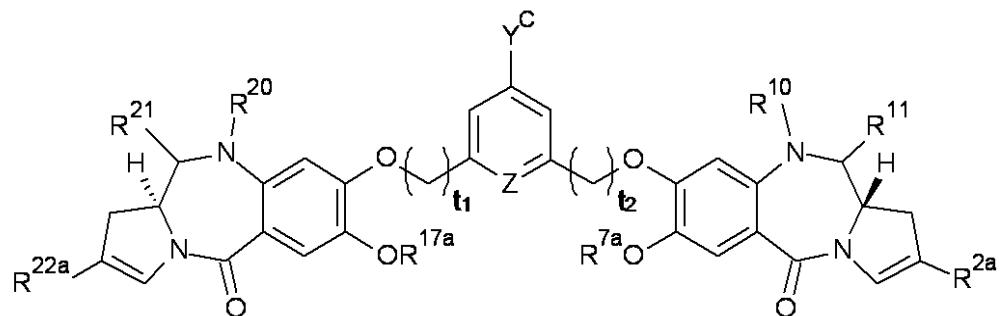
$(G^{A1-1})$		$(G^{A4})$	
$(G^{A1-2})$		$(G^{A5})$	
$(G^{A2})$		$(G^{A6})$	
$(G^{A3-1})$		$(G^{A7})$	
$(G^{A3-2})$		$(G^{A8})$	
$(G^{A3-3})$		$(G^{A9})$	
$(G^{A3-4})$			

式中、 $A^r$ は $C_{5-6}$ アリーレン基を表す。

【請求項14】

次の式(I I I a)の化合物：

【化15】

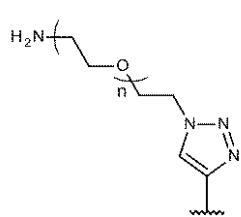


IIIa

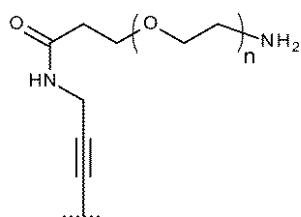
10

(式中、R<sup>2a</sup>、R<sup>7a</sup>、R<sup>10</sup>、R<sup>11</sup>、R<sup>17a</sup>、R<sup>20</sup>、R<sup>21</sup>、R<sup>22a</sup>、Z、t<sub>1</sub>及びt<sub>2</sub>は、請求項1で定義した通りであり；Y<sup>c</sup>は、式C1、C2、C3、C4、C5及びC6の群から選択され：

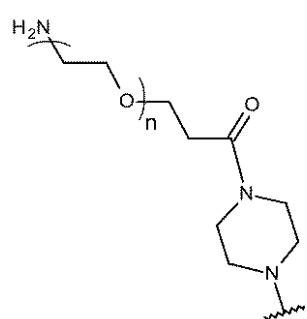
【化16】



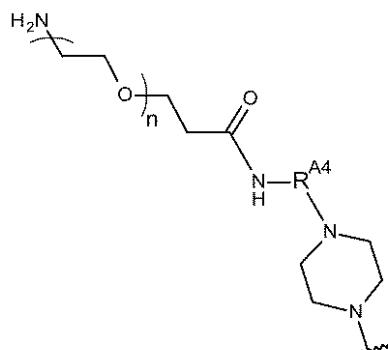
(C 1)



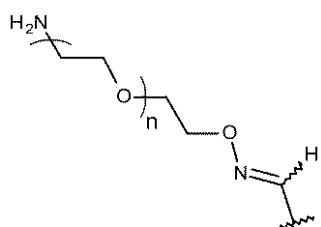
(C 2)



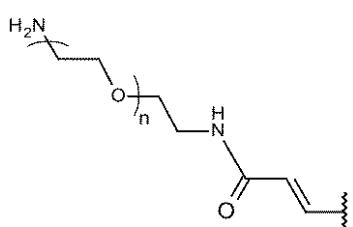
(C 3)



(C 4)



(C 5)



(C 6)

20

30

40

式中、n及びR<sup>A4</sup>は、請求項1で定義した通りであり；  
さらに以下のいずれかであり：

(a) R<sup>30</sup>はHであり、R<sup>31</sup>はOH、OR<sup>A</sup>、であり、式中、R<sup>A</sup>はC<sub>1-4</sub>アルキルである；又は

(b) R<sup>30</sup>及びR<sup>31</sup>は、それらが結合されている窒素原子と炭素原子との間に窒素-炭素二重結合を形成する；又は

(c) R<sup>30</sup>はHであり、R<sup>31</sup>はOSO<sub>z</sub>Mであり、式中、zは2若しく3であり、M

50

は1価の医薬的に許容されるカチオンである；又は

(d)  $R^{30}$ は、窒素保護基であり、 $R^{31}$ は $OProt^0$ であり、式中、 $Prot^0$ はヒドロキシ保護基である；

及び

$R^{40}$ 及び $R^{41}$ は、 $R^{30}$ 及び $R^{31}$ についてそれぞれ定義した通りである。)。

【請求項15】

請求項12又は請求項13に記載の薬剤-リンカーを細胞結合因子にコンジュゲートする工程を含む、請求項1から8のいずれか一項に記載の化合物を合成する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

本発明は、ピロロベンゾジアゼピン(PBD)、特に細胞結合因子に結合されたリンカー基を有するピロロベンゾジアゼピンに関する。

【背景技術】

【0002】

ピロロベンゾジアゼピン

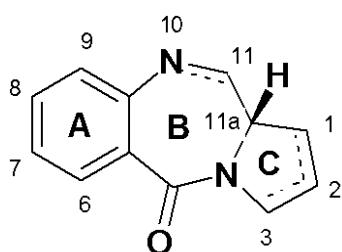
一部のピロロベンゾジアゼピン(PBD)は、DNAの特定の配列を認識し、これに結合する能力を有する。好ましい配列はPuGPuである。最初のPBD抗腫瘍抗生物質であるアントラマイシンは、1965年に発見された(非特許文献1、非特許文献2)。それ以来、いくつかの天然型PBDが報告され、様々な類似体への10を超える合成経路が開発されてきた(非特許文献3、非特許文献4)。ファミリーのメンバーとしては、アッペイマイシン(非特許文献5)、チカマイシン(非特許文献6)、DC-81(特許文献1、非特許文献7、非特許文献8)、マゼトラマイシン(非特許文献9)、ネオトラマイシンA及びB(非特許文献10)、ポロトラマイシン(非特許文献11)、プロトラカルシン(非特許文献12；非特許文献13)、シバノマイシン(DC-102)(非特許文献14、非特許文献15)、シビロマイシン(非特許文献16)及びトママイシン(特許文献17)が含まれる。PBDの一般式は以下の通りである：

20

【0003】

【化1】

30



【0004】

PBDは、その芳香族A環及びピロールC環の両方における置換基の数、種類及び位置が、並びにC環の飽和度が異なる。B環には、DNAのアルキル化に寄与する求電子中心であるN10-C11位に、イミン( $N=C$ )、カルビノールアミン( $NH-CH(OH)$ )又はカルビノールアミンメチルエーテル( $NH-CH(OME)$ )のいずれかが存在する。これらの公知天然物は全て、キラルC11a位に(S)-配置を有し、これは、C環からA環に向かって見た場合に時計回りのねじれを該天然物に与える。これにより、B型DNAの小溝と等しいらせん性とするための適切な三次元形状が該天然物に付与され、結合部位でぴったり適合するようになる(非特許文献18、非特許文献19)。それらが該小溝内で付加体を形成することによって、それらがDNAプロセシングを妨害できるようになり、そのため抗腫瘍剤としてのその使用が可能となる。

40

【0005】

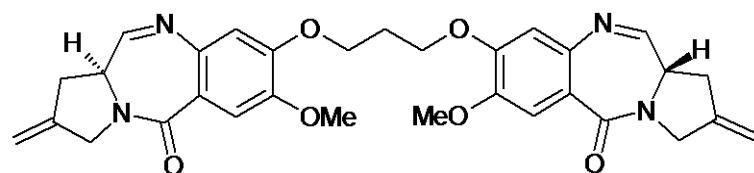
特に有利なピロロベンゾジアゼピン化合物は、Gregsonら(非特許文献20)によって化合物1として、Gregsonら(非特許文献21)によって化合物4aとして

50

記載されている。S J G - 1 3 6 としても公知のこの化合物は、以下のように示される：

【0006】

【化2】

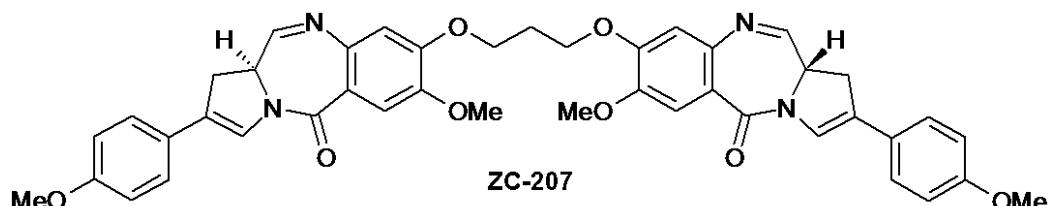


SJG-136

他のダイマー性 P B D 化合物、例えば、特許文献 2 の、C 2 アリール置換基を持つものが開示されていて、例えば：

【0007】

【化3】



である。

【0008】

これらの化合物は、非常に有用な細胞毒性剤であることが示されている。

【0009】

抗体 - 薬剤コンジュゲート

抗体療法は、癌、免疫疾患及び血管新生疾患の患者の標的化処置のために確立されている（非特許文献 22）。細胞毒性剤又は細胞分裂阻害剤、すなわち癌の処置において腫瘍細胞を死滅させる又は阻害するための薬剤を局所送達するための抗体 - 薬剤コンジュゲート（A D C）、すなわち免疫コンジュゲートの使用は、腫瘍への薬剤部分の送達と、腫瘍内での細胞内蓄積を標的とするのに対して、これらの非コンジュゲート薬剤の全身性投与は、正常な細胞並びに根絶が求められる腫瘍細胞に対して許容できないレベルの毒性が生じることがある（非特許文献 23；非特許文献 24；非特許文献 25；非特許文献 26；非特許文献 27；非特許文献 28；非特許文献 29；非特許文献 30；非特許文献 31）。

【0010】

最小限の毒性で最大の効能が求められている。A D C を設計及び改良するための努力が、モノクローナル抗体（m A b）の選択性並びに、薬剤の作用機序、薬剤結合、薬剤 / 抗体比（充填）及び薬剤放出遊離特性に集中されてきた（非特許文献 32；非特許文献 33；特許文献 3；特許文献 4；特許文献 5；非特許文献 34；非特許文献 35；非特許文献 36；非特許文献 37；非特許文献 38；非特許文献 39）。薬剤部分は、チューブリン結合、D N A 結合又はトポイソメラーゼ阻害を含む機序によってその細胞毒性効果又は細胞分裂阻害効果を付与し得る。ある細胞毒性剤は、大型の抗体又はタンパク質受容体リガンドにコンジュゲートされたときに、不活性になるか又は活性が低下する傾向がある。

【0011】

A D C における P B D

ダイマー性 P B D が薬剤コンジュゲートにおける薬剤として開示されてきた。例えば、特許文献 6 では、細胞結合因子、例えば抗体へ結合するためのリンカー基を有するダイマー - P B D 化合物であって、リンカー基が利用可能な N 10 位の 1 つに結合され、一般にリンカー基の酵素の作用によって切断される、ダイマー P B D 化合物が開示されている。

【0012】

これに対して、特許文献 7 及び特許文献 8 では、細胞結合因子、例えば抗体に結合する

10

20

30

40

50

ためのリンカー基を有するダイマー-PBD化合物であって、リンカー基がC2位の1つにおける芳香族基を介して結合され、一般にリンカー基の酵素の作用によって切断される、ダイマー-PBD化合物が開示されている。このような抗体薬剤コンジュゲートは、他の種類の抗体薬剤コンジュゲートについても記載している、非特許文献40にも記載されている。

## 【0013】

更なるアプローチは特許文献9に記載され、このアプローチでは、トママイシン用ダイマーが細胞結合因子、例えば抗体への結合のためのリンカー基を有し、該リンカー基がトママイシン単位間のつなぎ部分(tether)に結合されて、一般にリンカー基の酵素の作用によって切断される。

10

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0014】

【特許文献1】特公昭58-180487号公報

【特許文献2】国際公開第2005/085251号パンフレット

【特許文献3】米国特許第7521541号明細書

【特許文献4】米国特許第7723485号明細書

【特許文献5】国際公開第2009/052249号パンフレット

【特許文献6】国際公開第2011/130598号パンフレット

【特許文献7】国際公開第2011/130613号パンフレット

20

【特許文献8】国際公開第2011/130616号パンフレット

【特許文献9】国際公開第2007/085930号パンフレット

## 【非特許文献】

## 【0015】

【非特許文献1】Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5793-5795 (1965)

【非特許文献2】Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5791-5793 (1965)

【非特許文献3】Thurston, et al., Chem. Rev. 1994, 43 3-465 (1994)

30

【非特許文献4】Antonow, D. and Thurston, D. E., Chem. Rev. 2011 111 (4), 2815-2864

【非特許文献5】Hochlowski, et al., J. Antibiotics, 40, 145-148 (1987)

【非特許文献6】Konishi, et al., J. Antibiotics, 37, 200-206 (1984)

【非特許文献7】Thurston, et al., Chem. Brit., 26, 767-772 (1990)

【非特許文献8】Bose, et al., Tetrahedron, 48, 751-758 (1992)

40

【非特許文献9】Kuminoto, et al., J. Antibiotics, 33, 665-667 (1980)

【非特許文献10】Takeuchi, et al., J. Antibiotics, 29, 93-96 (1976)

【非特許文献11】Tsunakawa, et al., J. Antibiotics, 41, 1366-1373 (1988)

【非特許文献12】Shimizu, et al., J. Antibiotics, 29, 2492-2503 (1982)

【非特許文献13】Langley and 及び Thurston, J. Org. Chem., 52, 91-97 (1987)

50

- 【非特許文献 14】Hara, et al., *J. Antibiotics*, 41, 702 - 704 (1988)
- 【非特許文献 15】Itoh, et al., *J. Antibiotics*, 41, 1281 - 1284 (1988)
- 【非特許文献 16】Leber, et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 110, 2992 - 2993 (1988)
- 【非特許文献 17】Arima, et al., *J. Antibiotics*, 25, 437 - 444 (1972)
- 【非特許文献 18】Kohn, In *Antibiotics III*. Springer-Verlag, New York, pp. 3 - 11 (1975) 10
- 【非特許文献 19】Hurley and Needham-VanDevanter, *Acc. Chem. Res.*, 19, 230 - 237 (1986)
- 【非特許文献 20】Gregson et al., *Chem. Commun.* 1999, 797 - 798
- 【非特許文献 21】Gregson et al., *J. Med. Chem.* 2001, 44, 1161 - 1174
- 【非特許文献 22】Carter, P. (2006) *Nature Reviews Immunology* 6: 343 - 357
- 【非特許文献 23】Xie et al. (2006) *Expert. Opin. Biol. Ther.* 6 (3) : 281 - 291 20
- 【非特許文献 24】Kovtun et al. (2006) *Cancer Res.* 66 (6) : 3214 - 3121
- 【非特許文献 25】Law et al. (2006) *Cancer Res.* 66 (4) : 2328 - 2337
- 【非特許文献 26】Wu et al. (2005) *Nature Biotech.* 23 (9) : 1137 - 1145
- 【非特許文献 27】Lambert J. (2005) *Current Opin. in Pharmacol.* 5 : 543 - 549
- 【非特許文献 28】Hamann P. (2005) *Expert Opin. Ther. Patents* 15 (9) : 1087 - 1103 30
- 【非特許文献 29】Payne, G. (2003) *Cancer Cell* 3 : 207 - 212
- 【非特許文献 30】Trail et al. (2003) *Cancer Immunol. Immunother.* 52 : 328 - 337
- 【非特許文献 31】Syrigos and Epenetos (1999) *Anticancer Research* 19 : 605 - 614
- 【非特許文献 32】Junutula, et al., 2008b *Nature Biotech.*, 26 (8) : 925 - 932
- 【非特許文献 33】Dornan et al. (2009) *Blood* 114 (13) : 2721 - 2729 40
- 【非特許文献 34】McDonagh (2006) *Protein Eng. Design & Sel.* 19 (7) : 299 - 307
- 【非特許文献 35】Doronina et al. (2006) *Bioconj. Chem.* 17 : 114 - 124
- 【非特許文献 36】Erickson et al. (2006) *Cancer Res.* 66 (8) : 1 - 8
- 【非特許文献 37】Sanderson et al. (2005) *Clin. Cancer Res.* 11 : 843 - 852
- 【非特許文献 38】Jeffrey et al. (2005) *J. Med. Chem.* 48 : 1344 - 1358 50

【非特許文献 39】 Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10 : 7063 - 7070

【非特許文献 40】 Flygare, J., et al, Chem. Biol. Drug Des. 81 : 113 - 121 (2013)

【発明の概要】

【0016】

本発明者らは、細胞結合因子とのPBDコンジュゲート、特にPBD抗体コンジュゲートを形成する新規アプローチを開発した。

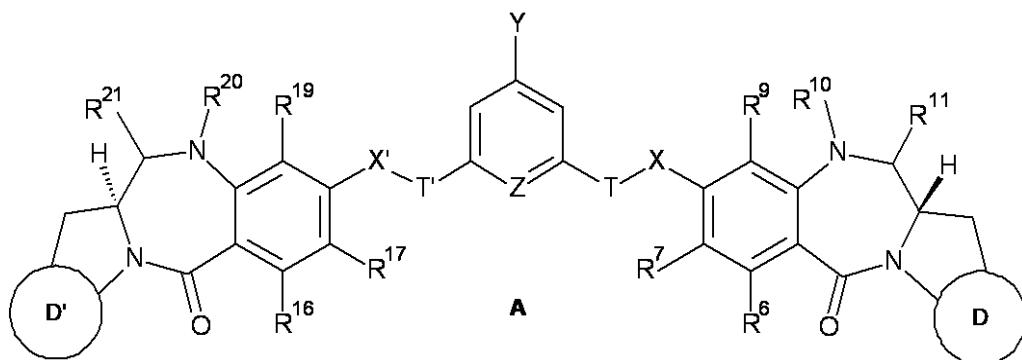
【0017】

一般的な態様において、本発明は、細胞結合因子へ結合するためのリンカーを有するPBDダイマー化合物を含むコンジュゲートであって、該リンカーが2個のPBDモノマーを連結する架橋結合においてフェニレン又はピリイジレン(pyriddylen)に結合されたトリアゾール基、ピペラジン基、プロパルギレン基又はオキシム基を有する、コンジュゲートを提供する。細胞結合因子は、好ましくは抗体である。

【0018】

第1の態様において、本発明は、式(A)の新規コンジュゲート化合物を提供し：

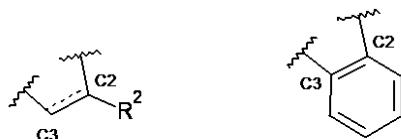
【化4】



【0019】

式中、Dは、基D1又はD2のどちらかを表し：

【化5】



D1

D2

点線は、C2とC3との間の二重結合の任意の存在を示し；

【0020】

C2とC3との間に二重結合がある場合、

R<sup>2</sup>は、

(i a) ハロ、ニトロ、シアノ、エーテル、カルボキシ、エステル、C<sub>1-7</sub>アルキル、C<sub>3-7</sub>ヘテロシクリル及びビス-オキシ-C<sub>1-3</sub>アルキレンを含む群から選択される1個以上の置換基によって任意に(所望により)置換される、C<sub>5-10</sub>アリール基；

(i b) C<sub>1-5</sub>飽和脂肪族アルキル；

(i c) C<sub>3-6</sub>飽和シクロアルキル；

(i d)

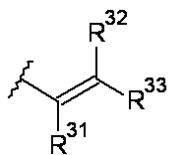
10

20

30

40

## 【化6】

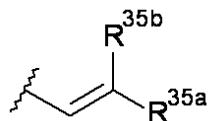


(式中、R<sup>31</sup>、R<sup>32</sup>及びR<sup>33</sup>はそれぞれ、H、C<sub>1-3</sub>飽和アルキル、C<sub>2-3</sub>アルケニル、C<sub>2-3</sub>アルキニル及びシクロプロピルから独立して選択され、R<sup>2</sup>基中の炭素原子の総数は、5以下である。)；

(i e)

10

## 【化7】

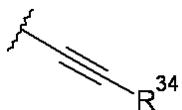


(式中、R<sup>35a</sup>及びR<sup>35b</sup>の一方はHであり、他方は、フェニルであって、ハロ、メチル、メトキシから選択される基によって任意に(所望により)置換されるフェニル；ピリジル；及びチオフェニルである。)；

(i f)

20

## 【化8】



(式中、R<sup>34</sup>は、H；C<sub>1-3</sub>飽和アルキル；C<sub>2-3</sub>アルケニル；C<sub>2-3</sub>アルキニル；シクロプロピル；フェニルであって、ハロ、メチル、メトキシから選択される基によって任意に(所望により)置換されるフェニル；ピリジル；及びチオフェニルから選択される。)；

(i g)ハロ；

からなる群から選択され、

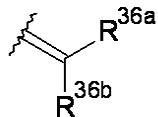
## 【0021】

C<sub>2</sub>とC<sub>3</sub>との間に単結合が存在する場合、

30

R<sup>2</sup>は

## 【化9】



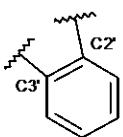
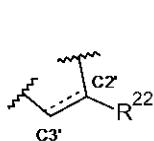
であり、式中、R<sup>36a</sup>及びR<sup>36b</sup>は、H、F、C<sub>1-4</sub>飽和アルキル、C<sub>2-3</sub>アルケニルから独立して選択され、アルキル基及びアルケニル基は、C<sub>1-4</sub>アルキルアミド及びC<sub>1-4</sub>アルキルエステルから選択される基によって任意に(所望により)置換され；又はR<sup>16a</sup>及びR<sup>16b</sup>の一方がHである場合、他方は、ニトリル及びC<sub>1-4</sub>アルキルエステルから選択され；

40

## 【0022】

D'は、基D'1又はD'2のどちらかを表し：

## 【化10】



D'1

D'2

、

50

式中、点線は、C<sub>2</sub>’とC<sub>3</sub>’との間の二重結合の任意の存在を示し；

【0023】

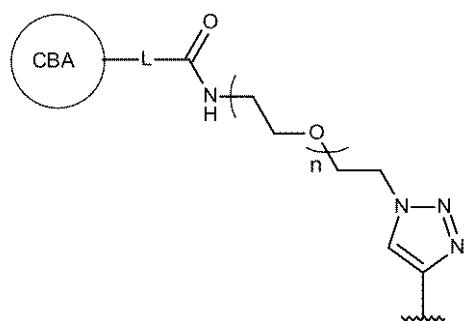
R<sup>6</sup>及びR<sup>9</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR’、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され；

R<sup>7</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR’、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択され；

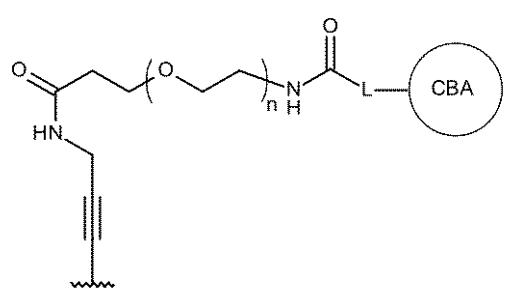
【0024】

Yは、式A1、A2、A3、A4、A5及びA6から選択され；

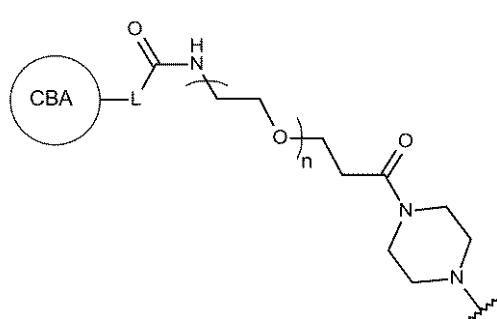
【化11】



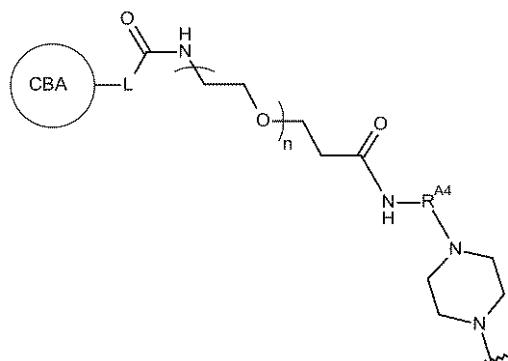
(A 1)



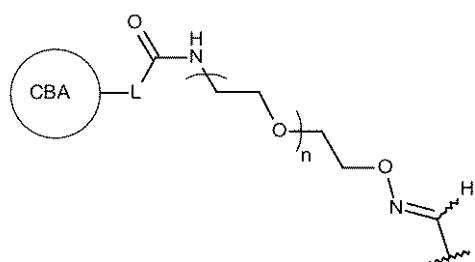
(A 2)



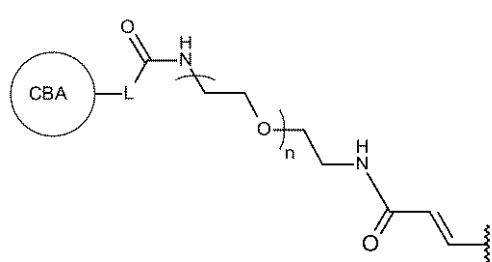
(A 3)



(A 4)



(A 5)



(A 6)

【0025】

Lは、細胞結合因子に結合されたリンカーであり；

CBAは、細胞結合因子であり；

nは、0から48の範囲で選択される整数であり；

R<sup>A4</sup>はC<sub>1-6</sub>アルキレン基であり；

【0026】

さらに以下のいずれかであり：

(a) R<sup>10</sup>はHであり、R<sup>11</sup>はOH、OR<sup>A</sup>であり、式中、R<sup>A</sup>はC<sub>1-4</sub>アルキルである；又は

10

20

30

40

50

(b)  $R^{10}$  及び  $R^{11}$  は、それらが結合されている窒素原子と炭素原子との間に窒素-炭素二重結合を形成する；又は

(c)  $R^{10}$  が H であり、 $R^{11}$  が  $OSO_zM$  であり、式中、 $z$  は 2 又は 3 であり、 $M$  は 1 値の医薬的に許容されるカチオンである；

【0027】

$R$  及び  $R'$  は、任意に（所望により）置換された  $C_{1-12}$  アルキル基、 $C_{3-20}$  ヘテロシクリル基及び  $C_{5-20}$  アリール基よりそれぞれ独立して選択され、任意に（所望により）基 N  $RR'$  について、 $R$  及び  $R'$  は、それらが結合している窒素原子と共に、任意に（所望により）置換された 4 員、5 員、6 員又は 7 員複素環を形成し；

【0028】

式中、 $R^{16}$ 、 $R^{17}$ 、 $R^{19}$ 、 $R^{20}$ 、 $R^{21}$  及び  $R^{22}$  は、 $R^6$ 、 $R^7$ 、 $R^9$ 、 $R^{10}$ 、 $R^{11}$  及び  $R^2$  についてそれぞれ定義した通りであり；

式中、 $Z$  は、 $CH$  又は  $N$  であり；

式中、 $T$  及び  $T'$  は、単結合又は  $C_{1-9}$  アルキレンから独立して選択され、該アルキレン鎖は、1 個以上のヘテロ原子、例えば O、S、N(H)、NMe によって割り込まれてよく、ただし、 $X$  と  $X'$  との間の最も短い原子鎖中の原子の数が 3 ~ 12 個原子であり；

【0029】

$X$  及び  $X'$  は、O、S 及び N(H) から独立して選択され；  
C2 と C3 との間及び C2' と C3' との間の両方に二重結合が存在できないことを除く。

【0030】

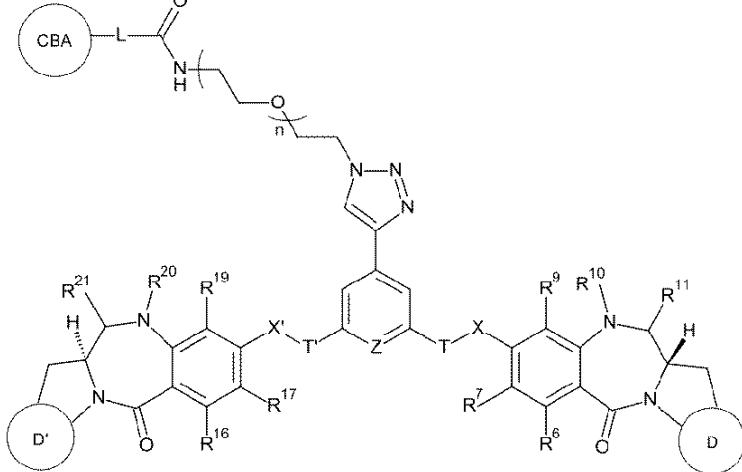
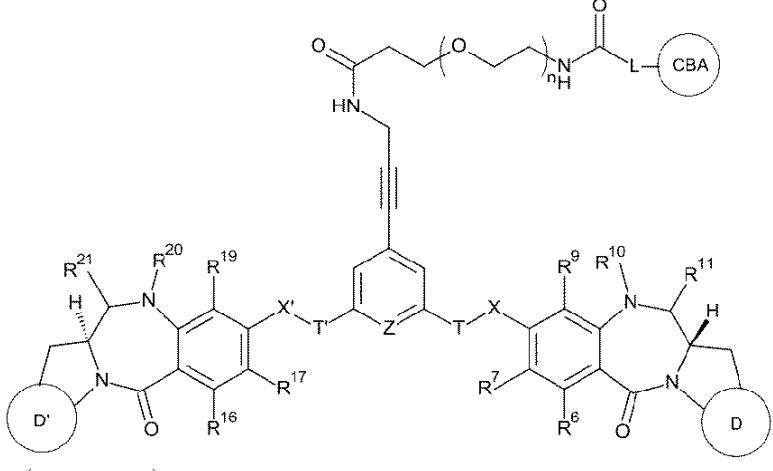
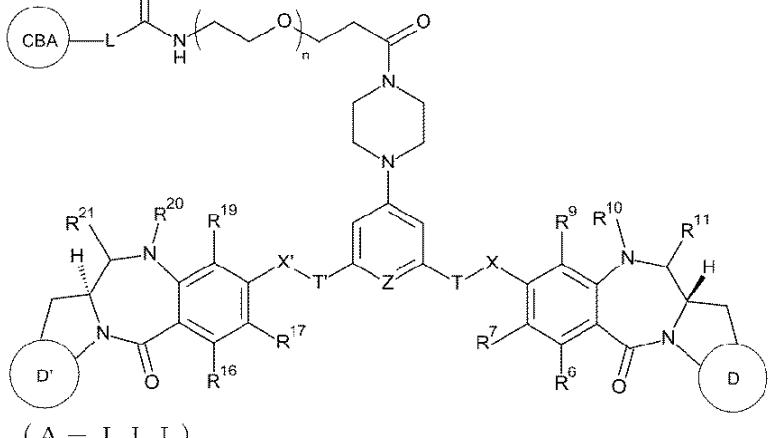
このため、式 A は、Y に応じて、以下の式 A-I、A-II、A-III、A-IV、  
A-V 及び A-VI から選択される：

【0031】

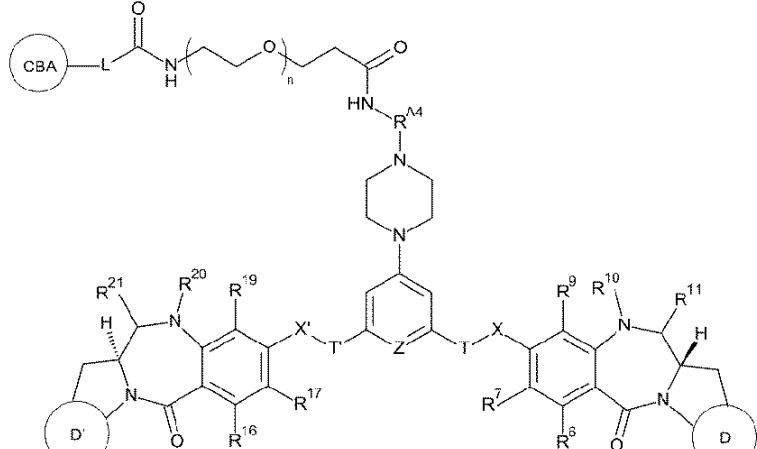
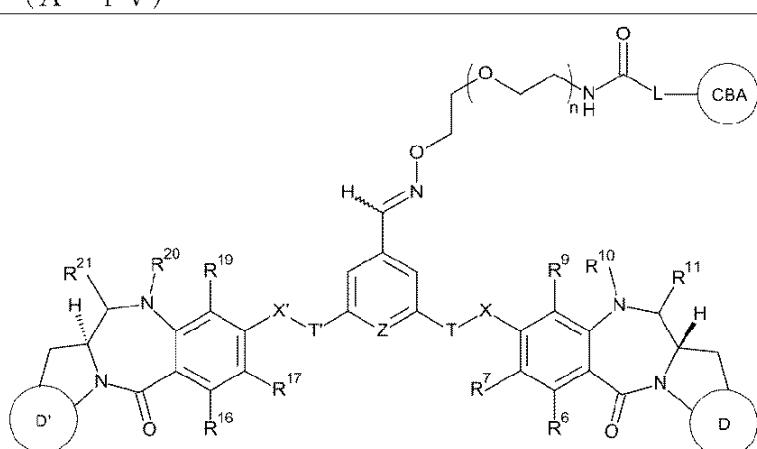
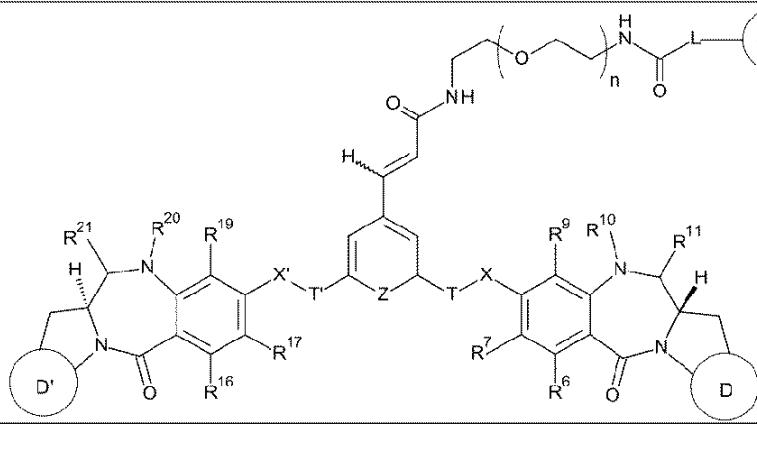
10

20

【表 1 - 1】

Y	A	
A 1	 <p>(A - 1)</p>	10
A 2	 <p>(A - I I)</p>	20
A 3	 <p>(A - I I I)</p>	30

【表 1 - 2】

Y	A	
A 4	 <p>(A - I V)</p>	10
A 5	 <p>(A - V)</p>	20
A 6		30

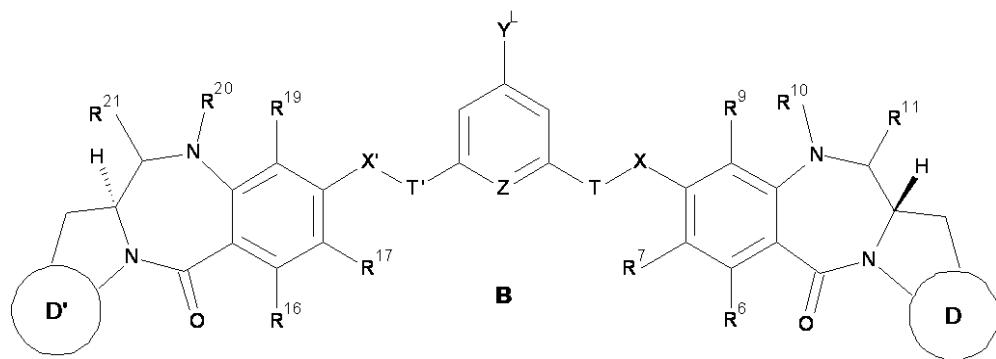
【 0 0 3 2 】

本発明の第 2 の態様は、式 (B) :

の新規薬剤 - リンカー化合物を提供する :

(B) :

## 【化12】



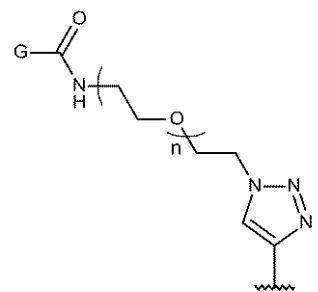
10

式中、全ての基は、本発明の第1の態様で定義する通りであり；

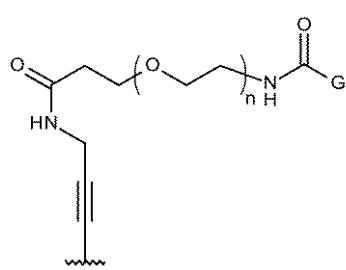
## 【0033】

$Y^L$ は、式B1、B2、B3、B4、B5及びB6の群から選択され：

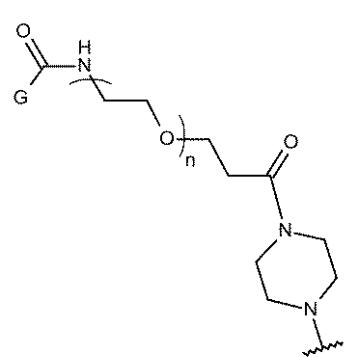
## 【化13】



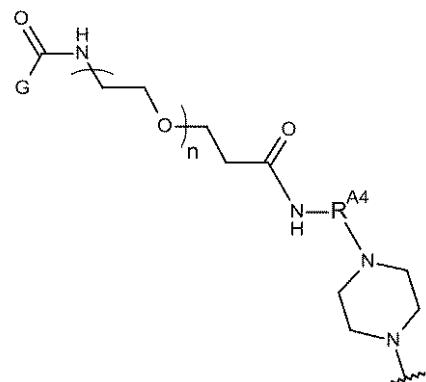
(B 1)



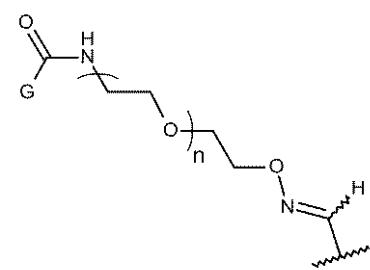
(B 2)



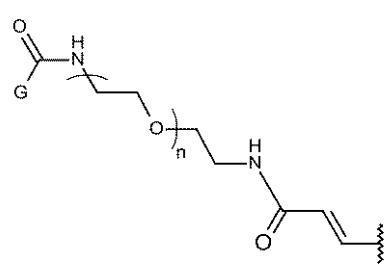
(B 3)



(B 4)



(B 5)



(B 6)

20

30

40

式中、Gは、細胞結合因子へ結合するための反応性基である。

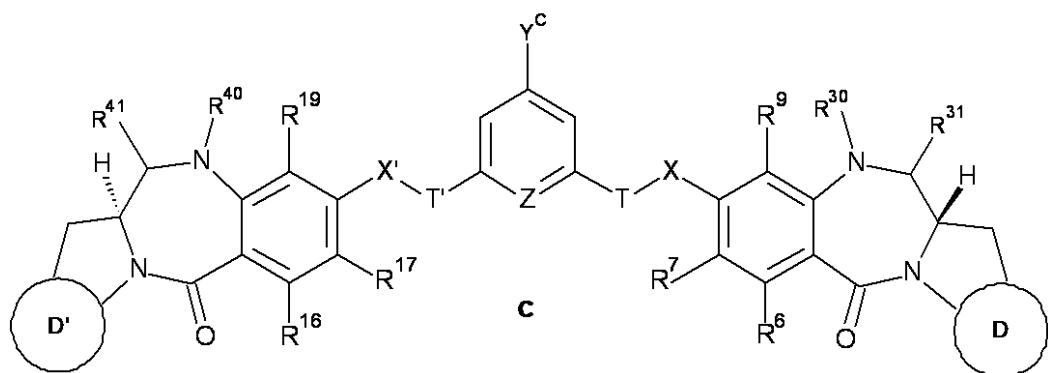
## 【0034】

本発明の第3の態様は、本発明の化合物及びコンジュゲート化合物の調製に使用してよ

50

い式 ( C ) の化合物を提供し :

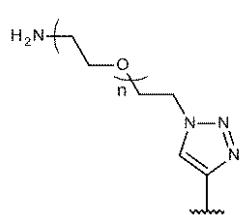
【化 1 4】



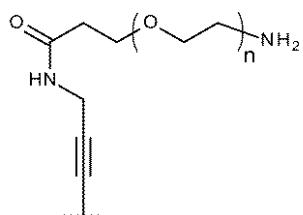
【0035】

式中、Y<sup>C</sup>は、式 C 1、C 2、C 3、C 4、C 5 及び C 6 の群から選択され :

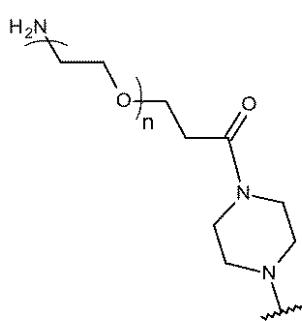
【化 1 5】



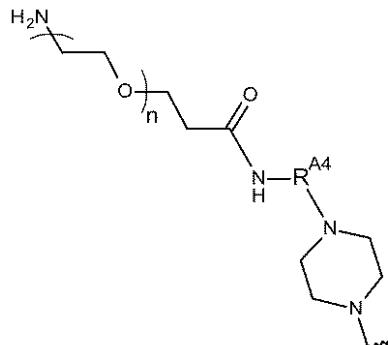
( C 1 )



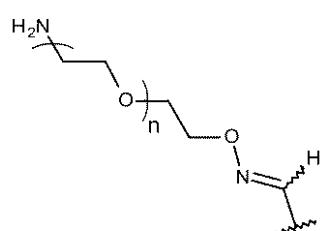
( C 2 )



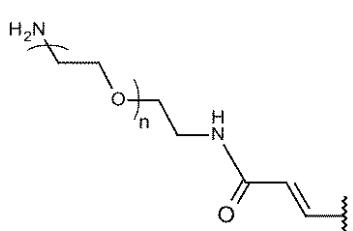
( C 3 )



( C 4 )



( C 5 )



( C 6 )

【0036】

さらに以下のいずれかであり :

( a ) R<sup>30</sup>はHであり、R<sup>31</sup>はOH、OR<sup>A</sup>であり、式中、R<sup>A</sup>はC<sub>1-4</sub>アルキルであり；又は

( b ) R<sup>30</sup>及びR<sup>31</sup>は、それらが結合されている窒素原子と炭素原子との間に窒素-炭素二重結合を形成する；又は

10

20

30

40

50

(c)  $R^{30}$ はHであり、 $R^{31}$ は $OSO_zM$ であり、式中、 $z$ は2又は3であり、Mは1価の医薬的に許容されるカチオンである；又は

(d)  $R^{30}$ は窒素保護基であり、及び $R^{31}$ は $OProt^0$ であり、式中、 $Prot^0$ はヒドロキシ保護基であり；

【0037】

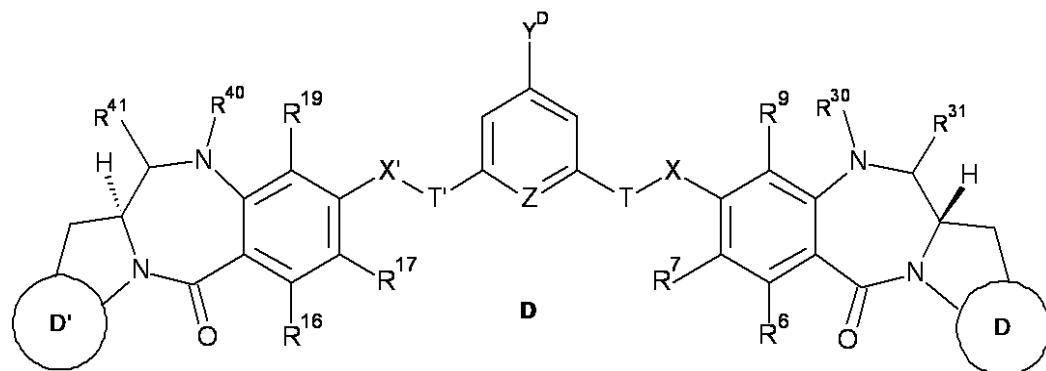
$R^{40}$ 及び $R^{41}$ は、 $R^{30}$ 及び $R^{31}$ でそれぞれ定義した通りであり；

残りの基全ては、本発明の第1の態様で定義した通りである。

【0038】

本発明の第4の態様は、本発明の第2及び第3の態様の化合物の調製で使用してよい、式(D)の化合物を提供し：

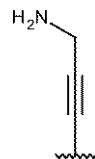
【化16】



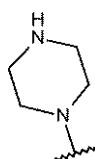
【0039】

$Y^D$ は、式D2、D3、D4及びD6の群から選択され：

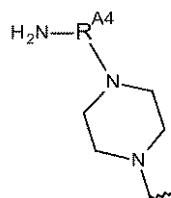
【化17】



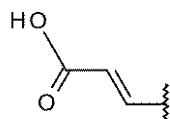
(D2)



(D3)



(D4)



(D6)

残りの基全ては、本発明の第3の態様で定義した通りである。

【0040】

本発明の第5の態様は、本発明の第2、第3及び第4の態様の化合物の調製で使用してよい、式(E)の化合物を提供し：

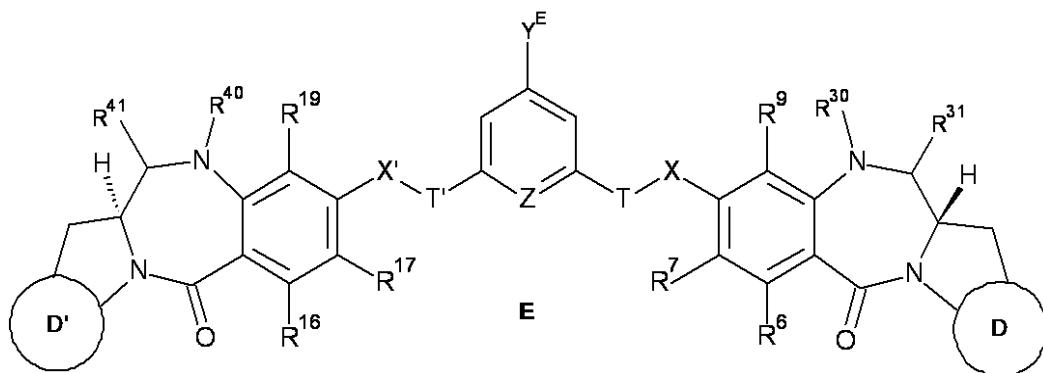
10

20

30

40

## 【化18】

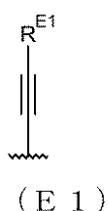


10

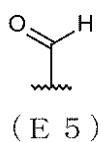
## 【0041】

$Y^E$ は、式E 1、E 2及びE 5の群から選択され：

## 【化19】



20



## 【0042】

式中、 $R^{E1}$ はH及びTMSから選択され；

$R^{E2}$ は、Br、Cl及びIから選択され；

残りの基全ては、本発明の第3の態様で定義した通りである。

## 【0043】

30

本発明の第6の態様は、医療処置方法における、本発明の第1の態様の化合物の使用を提供する。第4の態様は、第1の態様の化合物及び医薬的に許容される賦形剤を含む医薬組成物も提供する。

## 【0044】

本発明の第7の態様は、増殖性疾患の処置方法で使用するための、本発明の第1の態様の化合物又は本発明の第4の態様の医薬組成物を提供する。第5の態様は、増殖性疾患の処置のための医薬品の製造方法での第1の態様の化合物の使用、及び第1の態様の化合物又は第4の態様の医薬組成物の有効量を投与することを含む、増殖性疾患を有する哺乳動物を処置する方法も提供する。

## 【0045】

40

本発明の第8の態様は、第2の態様の薬剤リンカーを細胞結合因子とコンジュゲートする工程を含む、本発明の第1の態様の化合物の合成方法を提供する。

## 【0046】

本発明は、本発明の第3、第4又は第5の態様の化合物からの第2の態様の化合物の合成であって、これらを好適な試薬と反応させることによる合成も提供する。

## 【発明を実施するための形態】

## 【0047】

本発明は、特定のリンカーによりダイマー架橋部を通じて細胞結合因子に結合されているPBDダイマーを含むコンジュゲートを提供する。

本発明は、PBDコンジュゲートを対象の好ましい部位に提供するための使用に好適で

50

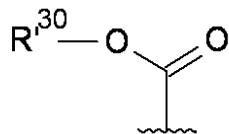
ある。

【0048】

窒素保護基

窒素保護基は、当分野で周知である。本発明で使用するための好ましい窒素保護基は、一般式：

【化20】



10

を有するカルバメート保護基であり、式中、R<sup>30</sup>は、任意に（所望により）置換されたアルキル（例えばC<sub>1-20</sub>アルキル）、アリール（例えばC<sub>5-20</sub>アリール）基又はヘテロアリール（例えばC<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル）基である。

【0049】

多数の考えられるカルバメート窒素保護基が、参照により本明細書に組み入れられている、Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4<sup>th</sup> Edition, John Wiley & Sons, Inc., 2007 (ISBN 978-0-471-69754-1)の706~772頁に挙げられている。

20

【0050】

特に好ましい保護基としては、Alloc、Troc、Teoc、BOC、TcBOC、Fmoc、1-Adoc及び2-Adocが挙げられる。

【0051】

ヒドロキシル保護基

ヒドロキシル保護基は当分野で周知である。多数の好適な基は、参照により本明細書に組み入れられている、Greene's Protective Groups in Organic Synthesis, 4<sup>th</sup> Edition, John Wiley & Sons, Inc., 2007 (ISBN 978-0-471-69754-1)の24~298頁に記載されている。

30

【0052】

特に興味深いクラスとしては、シリルエーテル、メチルエーテル、アルキルエーテル、ベンジルエーテル、エステル、安息香酸塩、炭酸塩及びスルホン酸塩が挙げられる。特に好ましいヒドロキシル保護基としては、THPが挙げられる。

【0053】

好適な実施の態様

以下に示す好適な実施の態様は、上記した通りの本発明の全ての態様に当てはまり得るか、又は単一の態様に関連し得る。該好適な実施の態様は、任意の組合せにおいて、一緒に組み合わせることができる。

【0054】

R<sup>2</sup>

40

R<sup>2</sup>がC<sub>5-10</sub>アリール基である場合、いくつかの実施形態において、R<sup>2</sup>はC<sub>5-7</sub>アリール基であってよい。C<sub>5-7</sub>アリール基は、フェニル基又はC<sub>5-7</sub>ヘテロアリール基、例えばフラニル、チオフェニル及びピリジルであってよい。いくつかの実施形態において、R<sup>2</sup>はフェニルであってよい。他の実施形態において、R<sup>2</sup>はチオフェニル、例えばチオフェン-2-イル及びチオフェン-3-イルである。

【0055】

R<sup>2</sup>がC<sub>5-10</sub>アリール基である場合、いくつかの実施形態において、R<sup>2</sup>はC<sub>8-10</sub>アリール、例えばキノリニル基又はイソキノリニル基である。キノリニル基又はイソキノリニル基は、任意の利用可能な環位を通じてPBDコアに結合されてよい。例えば、キノリニル

50

は、キノリン-2-イル、キノリン-3-イル、キノリン-4イル、キノリン-5-イル、キノリン-6-イル、キノリン-7-イル及びキノリン-8-イルであってよい。これらのうち、キノリン-3-イル及びキノリン-6-イルが好ましいことがある。イソキノリニルは、イソキノリン-1-イル、イソキノリン-3-イル、イソキノリン-4イル、イソキノリン-5-イル、イソキノリン-6-イル、イソキノリン-7-イル及びイソキノリン-8-イルであってよい。これらのうち、イソキノリン-3-イル及びイソキノリン-6-イルが好ましいことがある。

【0056】

$R^2$ が $C_{5-10}$ アリール基である場合、 $R^2$ は任意の数の置換基を有してよい。いくつかの実施形態において、 $R^2$ は1から3個の置換基を有してよい。いくつかの実施形態において、 $R^2$ は1又は2個の置換基を有してよい。いくつかの実施形態において、 $R^2$ は単一の置換基を有してよい。置換基はいずれの位置でもよい。

10

【0057】

$R^2$ が $C_{5-7}$ アリール基である場合、いくつかの実施形態において、単一置換基は化合物の残部への結合に隣接していない環原子にあってよく、すなわち該置換基は化合物の残部への結合に対して又はであってよい。したがって、 $C_{5-7}$ アリール基がフェニルである実施形態において、該置換基はメタ位若しくはパラ位にあってよく、又はパラ位にあってよい。

【0058】

$R^2$ が $C_{8-10}$ アリール基、例えばキノリニル又はイソキノリニルである場合、いくつかの実施形態において、任意の置換基がキノリン環又はイソキノリン環の任意の位置にあってよい。いくつかの実施形態において、 $R^2$ は1個、2個又は3個の置換基を有し、これらは近位環及び遠位環のいずれか又は両方（1個より多い置換基の場合）の上にあってよい。

20

【0059】

$R^2$ が $C_{5-10}$ アリール基である場合の $R^2$ 置換基

$R^2$ が $C_{5-10}$ アリール基である場合の $R^2$ 上の置換基がハロである実施形態において、置換基はF又はC1であってよく、これらの実施形態のいくつかにおいてはC1である。

【0060】

$R^2$ が $C_{5-10}$ アリール基である場合の $R^2$ 上の置換基がエーテルである実施形態において、置換基はいくつかの実施形態において、アルコキシ基、例えば $C_{1-7}$ アルコキシ基（例えばメトキシ、エトキシ）であってよく、又はいくつかの実施形態において、 $C_{5-7}$ アリールオキシ基（例えばフェノキシ、ピリジルオキシ、フラニルオキシ）であってよい。アルコキシ基自体は、例えばアミノ基によって更に置換されてよい（例えばジメチルアミノ）。

30

【0061】

$R^2$ が $C_{5-10}$ アリール基である場合の $R^2$ 上の置換基が $C_{1-7}$ アルキルである実施形態において、置換基は、 $C_{1-4}$ アルキル基（例えばメチル、エチル、プロピル、ブチル）であってよい。

【0062】

40

$R^2$ が $C_{5-10}$ アリール基である場合の $R^2$ 上の置換基が $C_{3-7}$ ヘテロシクリルである実施形態において、置換基は $C_6$ 窒素含有ヘテロシクリル基、例えばモルホリノ、チオモルホリノ、ピペリジニル、ピペラジニルであってよい。これらの基は、PBD部分の残部に窒素原子を介して結合されてよい。これらの基は、例えば $C_{1-4}$ アルキル基によって更に置換されてよい。 $C_6$ 窒素含有ヘテロシクリル基がピペラジニルである場合、前記更なる置換基は、第2の窒素環原子上にあってよい。

【0063】

$R^2$ が $C_{5-10}$ アリール基である場合の $R^2$ 上の置換基がビス-オキシ- $C_{1-3}$ アルキレンである実施形態において、これはビス-オキシ-メチレン又はビス-オキシ-エチレンであってよい。

50

## 【0064】

R<sup>2</sup>がC<sub>5-10</sub>アリール基である場合のR<sup>2</sup>上の置換基がエステルである実施形態において、これは好ましくはメチルエステル又はエチルエステルである。

## 【0065】

いくつかの実施形態において、R<sup>2</sup>がC<sub>5-10</sub>アリール基である場合の置換基としては、メトキシ、エトキシ、フルオロ、クロロ、シアノ、ビス-オキシメチレン、メチビペラジニル、モルホリノ、メチルチオフェニル、ジメチルアミノプロピルオキシ及びカルボキシが挙げられてよい。

## 【0066】

いくつかの実施形態において、R<sup>2</sup>は、4-メトキシフェニル、3-メトキシフェニル、4-エトキシフェニル、3-エトキシフェニル、4-フルオロフェニル、4-クロロフェニル、3,4-ビスオキシメチレンフェニル、4-メチルチオフェニル、4-シアノフェニル、4-フェノキシフェニル、キノリン-3-イル及びキノリン-6-イル、イソキノリン-3-イル及びイソキノリン-6-イル、2-チエニル、2-フラニル、メトキシナフチル、ナフチル、4-ニトロフェニル、4-(4-メチルピペラジン-1-イル)フェニル及び3,4-ビスオキシメチレンフェニルから選択されてよい。

## 【0067】

R<sup>2</sup>がC<sub>1-5</sub>飽和脂肪族アルキルである場合、それはメチル、エチル、プロピル、ブチル又はペンチルであってよい。いくつかの実施形態において、それはメチル、エチル又はブロピル(n-ペンチル又はイソブロピル)であってよい。これらの実施形態のいくつかにおいて、置換基はメチルであってよい。他の実施形態において、それは直鎖又は分枝であってよい、ブチル又はペンチルであってよい。

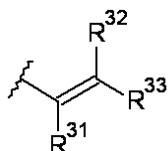
## 【0068】

R<sup>2</sup>がC<sub>3-6</sub>飽和シクロアルキルである場合、それはシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル又はシクロヘキシルであってよい。いくつかの実施形態において、それはシクロプロピルであってよい。

## 【0069】

R<sup>2</sup>が

## 【化21】



である場合、いくつかの実施形態において、R<sup>2</sup>基中の炭素原子の総数は、4以下又は3以下である。

## 【0070】

いくつかの実施形態において、R<sup>31</sup>、R<sup>32</sup>及びR<sup>33</sup>のうち1個がHであり、他の2個の基はH、C<sub>1-3</sub>飽和アルキル、C<sub>2-3</sub>アルケニル、C<sub>2-3</sub>アルキニル及びシクロプロピルから選択される。

## 【0071】

他の実施形態において、R<sup>31</sup>、R<sup>32</sup>及びR<sup>33</sup>のうち2個がHであり、残りの基がH、C<sub>1-3</sub>飽和アルキル、C<sub>2-3</sub>アルケニル、C<sub>2-3</sub>アルキニル及びシクロプロピルから選択される。

## 【0072】

いくつかの実施形態において、Hでない基は、メチル及びエチルから選択される。これらの実施形態のいくつかにおいて、Hでない基はメチルである。

## 【0073】

いくつかの実施形態において、R<sup>31</sup>はHである。

いくつかの実施形態において、R<sup>32</sup>はHである。

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態において、R<sup>33</sup>はHである。

いくつかの実施形態において、R<sup>31</sup>及びR<sup>32</sup>はHである。

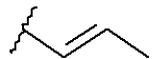
いくつかの実施形態において、R<sup>31</sup>及びR<sup>33</sup>はHである。

いくつかの実施形態において、R<sup>32</sup>及びR<sup>33</sup>はHである。

【0074】

特に好ましいR<sup>2</sup>基は：

【化22】



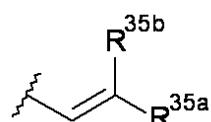
10

である。

【0075】

R<sup>2</sup>が

【化23】



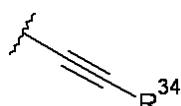
である場合、いくつかの実施形態において、Hでない基(R<sup>35a</sup>又はR<sup>35b</sup>)は、任意に(所望により)置換されたフェニルである。フェニルの任意の置換基がハロである場合、それはフルオロ口であってよい。いくつかの実施形態において、フェニル基は非置換である。

20

【0076】

R<sup>2</sup>が

【化24】



である場合、R<sup>34</sup>がフェニルであるいくつかの実施形態において、フェニルは非置換である。他の実施形態において、フェニル基は単一のフルオロ口置換基を有する。他の実施形態において、R<sup>14</sup>は、H、メチル、エチル、エテニル及びエチニルから選択される。これらの実施形態のいくつかにおいて、R<sup>14</sup>はH及びメチルから選択される。

30

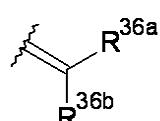
【0077】

R<sup>2</sup>がハロである場合、いくつかの実施形態において、ハロはフルオロ口である。

【0078】

C2とC3との間に単結合が存在する場合、R<sup>2</sup>は

【化25】



40

である。

【0079】

いくつかの実施形態において、R<sup>36a</sup>及びR<sup>36b</sup>はどちらもHである。

他の実施形態において、R<sup>36a</sup>及びR<sup>36b</sup>はどちらもメチルである。

【0080】

更なる実施形態において、R<sup>36a</sup>及びR<sup>36b</sup>の一方はHであり、他方はC<sub>1-4</sub>飽和アルキル、C<sub>2-3</sub>アルケニルから選択され、アルキル基及びアルケニル基は任意に(所望により)置換されている。これらの更なる実施形態のいくつかにおいて、Hでない基は、メチル及びエチルから選択されてよい。

【0081】

50

R<sup>22</sup>

C<sub>2</sub>とC<sub>3</sub>との間に二重結合がある場合のR<sup>2</sup>についての上記の好適な実施の態様は、C<sub>2'</sub>とC<sub>3'</sub>との間に二重結合がある場合に、R<sup>22</sup>に等しく適用される。

## 【0082】

C<sub>2</sub>とC<sub>3</sub>との間に単結合がある場合のR<sup>2</sup>についての上記の好適な実施の態様は、C<sub>2'</sub>とC<sub>3'</sub>との間に単結合がある場合に、R<sup>22</sup>に等しく適用される。

## 【0083】

上記のように、二重結合は、C<sub>2</sub>とC<sub>3</sub>との間及びC<sub>2'</sub>とC<sub>3'</sub>との間の両方に存在できない。

## 【0084】

R<sup>6</sup>

10

一実施形態において、R<sup>6</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn-及びハロから独立して選択される。

一実施形態において、R<sup>6</sup>は、H、OH、OR、SH、NH<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>及びハロから独立して選択される。

一実施形態において、R<sup>6</sup>は、H及びハロから独立して選択される。

一実施形態において、R<sup>6</sup>は独立してHである。

一実施形態において、R<sup>6</sup>及びR<sup>7</sup>は基-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub>-Oを共に形成し、式中、pは1又は2である。

これらの実施形態は、R<sup>16</sup>にも適用される。

20

## 【0085】

R<sup>7</sup>

R<sup>7</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn及びハロから独立して選択される。

一実施形態において、R<sup>7</sup>は独立してORである。

一実施形態において、R<sup>7</sup>は独立してOR<sup>7A</sup>であり、式中、R<sup>7A</sup>は独立して任意に(所望により)置換されたC<sub>1-6</sub>アルキルである。

一実施形態において、R<sup>7A</sup>は独立して任意に(所望により)置換された飽和C<sub>1-6</sub>アルキルである。

一実施形態において、R<sup>7A</sup>は独立して任意に(所望により)置換されたC<sub>2-4</sub>アルケニルである。

30

一実施形態において、R<sup>7A</sup>は独立してMeである。

一実施形態において、R<sup>7A</sup>は独立してCH<sub>2</sub>Phである。

一実施形態において、R<sup>7A</sup>は独立してアリルである。

これらの実施形態は、R<sup>17</sup>にも適用される。

## 【0086】

R<sup>9</sup>

一実施形態において、R<sup>9</sup>は、H、R、OH、OR、SH、SR、NH<sub>2</sub>、NHR、NRR'、NO<sub>2</sub>、Me<sub>3</sub>Sn-及びハロから独立して選択される。

一実施形態において、R<sup>9</sup>は独立してHである。

40

一実施形態において、R<sup>9</sup>は独立してR又はORである。

これらの実施形態は、R<sup>19</sup>にも適用される。

## 【0087】

N<sub>10</sub>-C<sub>11</sub>

いくつかの実施形態において、R<sup>10</sup>はHであり、R<sup>11</sup>はOH、OR<sup>A</sup>であり、式中、R<sup>A</sup>はC<sub>1-4</sub>アルキルである。これらの実施形態のいくつかにおいて、R<sup>11</sup>はOHである。これらの実施形態の他において、R<sup>11</sup>はOR<sup>A</sup>であり、式中、R<sup>A</sup>はC<sub>1-4</sub>アルキルである。これらの実施形態のいくつかにおいて、R<sup>A</sup>はメチルである。

いくつかの実施形態において、R<sup>10</sup>及びR<sup>11</sup>は、それらが結合されている窒素原子と炭素原子との間に窒素-炭素二重結合を形成する。

50

いくつかの実施形態において、 $R^{10}$ はHであり、 $R^{11}$ は $OSO_zM$ であり、式中、 $z$ は2又は3であり、Mは1価の医薬的に許容されるカチオンである。これらの実施形態のいくつかにおいて、Mは、1価の医薬的に許容されるカチオンであり、 $Na^+$ であってよい。更に、いくつかの実施形態において、 $z$ は3である。

上記の好適な実施の態様は、 $R^{20}$ 及び $R^{21}$ に等しく適用される。

#### 【0088】

いくつかの実施形態において、 $R^{30}$ はHであり、 $R^{31}$ は $OH$ 、 $OR^A$ であり、式中、 $R^A$ は $C_{1-4}$ アルキルである。これらの実施形態のいくつかにおいて、 $R^{31}$ は $OH$ である。これらの実施形態の他において、 $R^{31}$ は $OR^A$ であり、式中、 $R^A$ は $C_{1-4}$ アルキルである。これらの実施形態のいくつかにおいて、 $R^A$ はメチルである。

10

いくつかの実施形態において、 $R^{30}$ 及び $R^{31}$ は、それらが結合されている窒素原子と炭素原子との間に窒素-炭素二重結合を形成する。

いくつかの実施形態において、 $R^{30}$ はHであり、 $R^{31}$ は $OSO_zM$ であり、式中、 $z$ は2又は3であり、Mは1価の医薬的に許容されるカチオンである。これらの実施形態のいくつかにおいて、Mは、1価の医薬的に許容されるカチオンであり、 $Na^+$ であってよい。更に、いくつかの実施形態において、 $z$ は3である。

いくつかの実施形態において、 $R^{30}$ は窒素保護基であり、 $R^{31}$ は $OProt^0$ であり、式中、 $Prot^0$ はヒドロキシ保護基である。

#### 【0089】

これらの実施形態のいくつかにおいて、窒素保護基は、 $Alloc$ 、 $Trroc$ 、 $Teoc$ 、 $BOC$ 、 $TcBOC$ 、 $Fmoc$ 、 $1-Adoc$ 及び $2-Adoc$ から選択されてよく、より好ましくは $Booc$ であってよい。

20

これらの実施形態のいくつかにおいて、窒素保護基は $THP$ であってよい。

#### 【0090】

式Dの化合物では、 $R^{30}$ 及び $R^{31}$ が、それらが結合されている窒素原子と炭素原子との間に窒素-炭素二重結合を形成することが好ましいことがある。

#### 【0091】

式Eの化合物では、 $R^{30}$ が窒素保護基であり、 $R^{31}$ が $OProt^0$ であり、 $Prot^0$ がヒドロキシ保護基であることが好ましいことがある。

#### 【0092】

30

$Y^C$ が式C2、C3又はC4である式Cの化合物では、 $R^{30}$ 及び $R^{31}$ が、それらが結合されている窒素原子と炭素原子との間に窒素-炭素二重結合を形成することが好ましいことがある。

$Y^C$ が式C1又はC5である式Cの化合物では、 $R^{30}$ が窒素保護基であり、 $R^{31}$ が $OProt^0$ であり、 $Prot^0$ がヒドロキシ保護基であることが好ましいことがある。

上の好適な実施の態様は、 $R^{40}$ 及び $R^{41}$ に等しく適用される。

#### 【0093】

$T$ 及び $T'$

$T$ 及び $T'$ はそれぞれ、単結合又は $C_{1-9}$ アルキレン基から独立して選択され、該アルキレン鎖は、1個以上のヘテロ原子、例えばO、S、N(H)、 $NMe$ によって割り込まれてよく、ただし、 $X$ と $X'$ との間の最も短い原子鎖中の原子の数が3~12個の原子である。

40

一実施形態において、 $T$ 及び $T'$ の各アルキレン基は、O、S及び $NMe$ から選択される1個以上のヘテロ原子によって任意に(所望により)割り込まれる。

一実施形態において、 $T$ 及び $T'$ はそれぞれ、単結合及び $C_{1-9}$ アルキレン基から独立して選択される。

一実施形態において、 $T$ は単結合、 $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 及び $C_4$ アルキレン基から選択され、 $T'$ は単結合、 $C_1$ 、 $C_2$ 、 $C_3$ 及び $C_4$ アルキレン基から選択される。

一実施形態において、 $T$ は単結合、 $C_1$ 及び $C_2$ アルキレン基から選択され、 $T'$ は単結合、 $C_1$ 及び $C_2$ アルキレン基から選択される。

50

一実施形態において、Tは単結合及びC<sub>1</sub>アルキレン基から選択され、T'は単結合及びC<sub>1</sub>アルキレン基から選択される。

一実施形態において、Tは単結合であり、T'は単結合である。

一実施形態において、TはC<sub>1</sub>アルキレン基であり、T'はC<sub>1</sub>アルキレン基である。

いくつかの実施形態において、T及びT'は同じである。

【0094】

上に挙げたアルキレン基は、1個以上のヘテロ原子によって任意に(所望により)割り込まれてよい。

上に挙げたアルキレン基は、非置換直鎖脂肪族アルキレン基であってよい。

【0095】

X

一実施形態において、XはO、S又はN(H)から選択される。

好ましくはXはOである。

【0096】

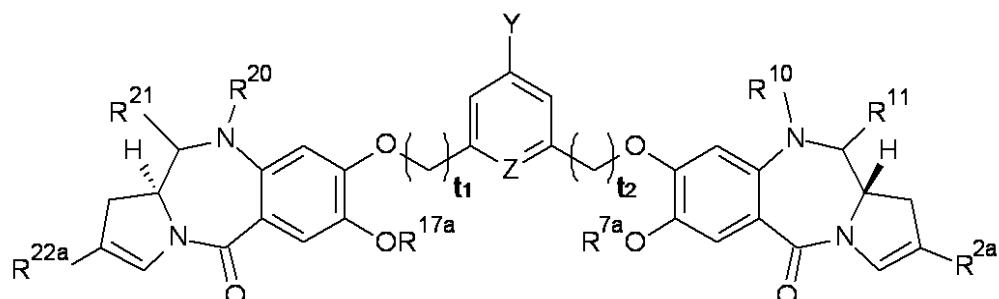
ダイマー

いくつかの実施形態において、基R<sup>22</sup>、R<sup>16</sup>、R<sup>17</sup>、R<sup>19</sup>、R<sup>20</sup>及びR<sup>21</sup>は、基R<sup>2</sup>、R<sup>6</sup>、R<sup>9</sup>、R<sup>7</sup>、R<sup>10</sup>及びR<sup>11</sup>とそれぞれ同じである。これらの実施形態において、PBDモノマー単位は同じ置換基を有する。

【0097】

本発明の第1の態様の特に好ましい化合物は、式Iaの化合物であってよく：

【化26】



20

30

【0098】

式中、R<sup>10</sup>、R<sup>11</sup>、R<sup>20</sup>、R<sup>21</sup>及びYは、上で定義した通りであり；

t<sub>1</sub>及びt<sub>2</sub>は、0、1及び2から独立して選択され；

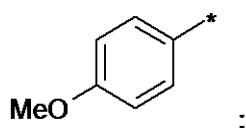
R<sup>7a</sup>及びR<sup>17a</sup>は、メチル及びフェニルから独立して選択され；

【0099】

R<sup>2a</sup>及びR<sup>22a</sup>は：

(a)

【化27】



40

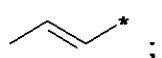
(b)

【化28】



(c)

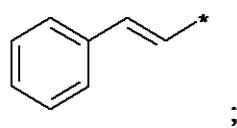
【化29】



50

( d )

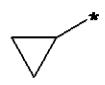
【化30】



;

( e )

【化31】



;

10

( f )

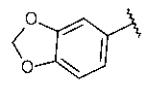
【化32】



;

( g )

【化33】



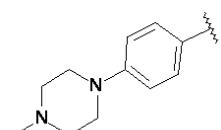
;

20

及び

( h )

【化34】



から独立して選択される。

【0100】

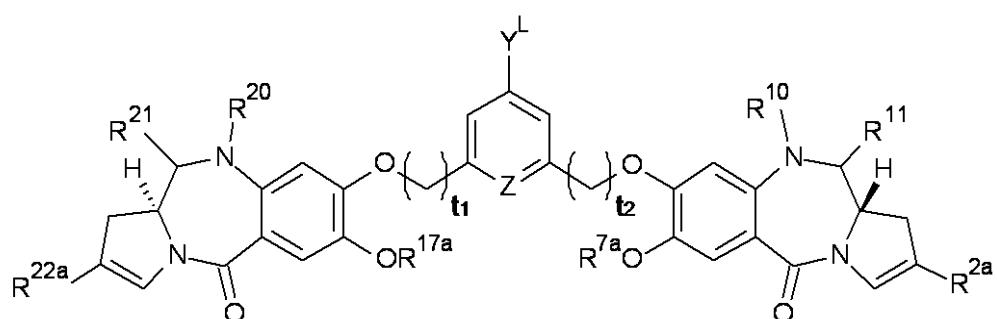
30

これらの化合物は、好ましくは対称であってよい。

【0101】

本発明の第2の態様の特に好ましい化合物は、式IIaの化合物であってよく：

【化35】



IIa

40

【0102】

式中、R<sup>10</sup>、R<sup>11</sup>、R<sup>20</sup>、R<sup>21</sup>及びY<sup>L</sup>は上で定義した通りであり；t<sub>1</sub>及びt<sub>2</sub>は、0、1及び2から独立して選択され；R<sup>7a</sup>及びR<sup>17a</sup>は、メチル及びフェニルから独立して選択され；

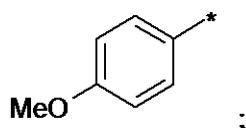
【0103】

R<sup>2a</sup>及びR<sup>22a</sup>は：

( a )

50

【化36】



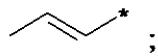
(b)

【化37】



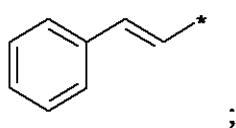
(c)

【化38】



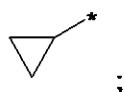
(d)

【化39】



(e)

【化40】



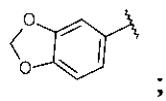
(f)

【化41】



(g)

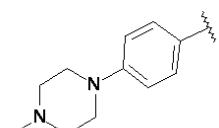
【化42】



及び

(h)

【化43】



から独立して選択される。

【0104】

これらの化合物は、好ましくは対称であってよい。

【0105】

本発明の第3の態様の特に好ましい化合物は、式IIIaの化合物であってよく：

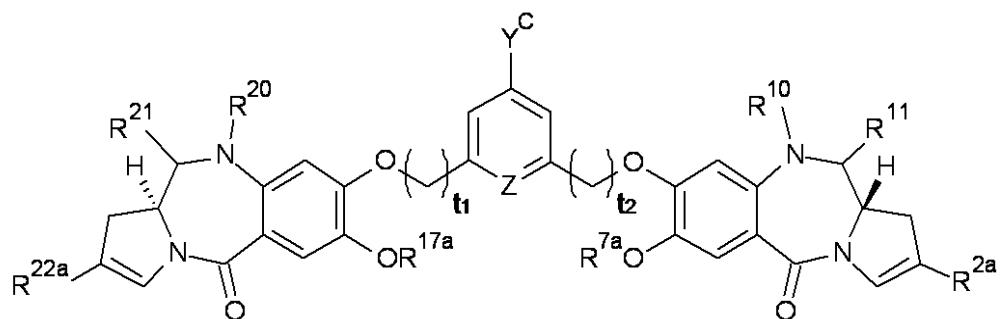
10

20

30

40

## 【化44】



10

IIIa

## 【0106】

式中、R<sup>10</sup>、R<sup>11</sup>、R<sup>20</sup>、R<sup>21</sup>及びY<sup>c</sup>は上で定義した通りであり；

t<sub>1</sub>及びt<sub>2</sub>は0、1及び2から独立して選択され；

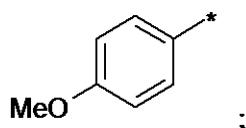
R<sup>7a</sup>及びR<sup>17a</sup>は、メチル及びフェニルから独立して選択され；

## 【0107】

R<sup>2a</sup>及びR<sup>22a</sup>は：

(a)

## 【化45】



20

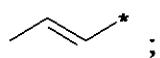
(b)

## 【化46】



(c)

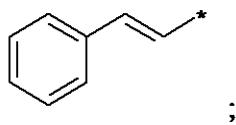
## 【化47】



30

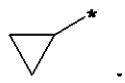
(d)

## 【化48】



(e)

## 【化49】



40

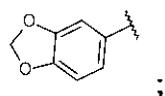
(f)

## 【化50】



(g)

## 【化51】

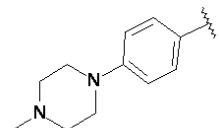


;

及び

(h)

## 【化52】



10

から独立して選択される。

## 【0108】

これらの化合物は、好ましくは対称であってよい。

## 【0109】

n (Y、Y<sup>l</sup>)いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは、0から24の間の整数である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは、0から12の間の整数である。

20

いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは、0から8の間の整数である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは、0から6の間の整数である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは0である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは1である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは2である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは3である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは4である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは5である。

30

いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは6である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは7である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは8である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは9である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは10である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは11である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは12である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは13である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは14である。いくつかの実施形態において、(Y又はY<sup>l</sup>における)nは15である。

40

## 【0110】

いくつかの実施形態において、YがA1である、又はY<sup>l</sup>がB1である場合、nは3から6から選択されてよい。いくつかの実施形態において、YがA2である、又はY<sup>l</sup>がB2である場合、nは4から6から選択されてよい。いくつかの実施形態において、YがA3である、又はY<sup>l</sup>がB3である場合、nは4であってよい。いくつかの実施形態において、YがA4である、又はY<sup>l</sup>がB4である場合、nは4であってよい。いくつかの実施形態において、YがA5である、又はY<sup>l</sup>がB5である場合、nは11

50

であってよい。

いくつかの実施形態において、YがA6である、又はY<sup>L</sup>がB6である場合、nは2であってよい。

【0111】

L及びG

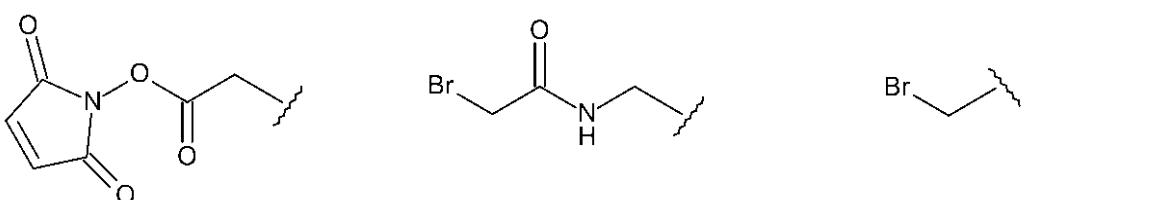
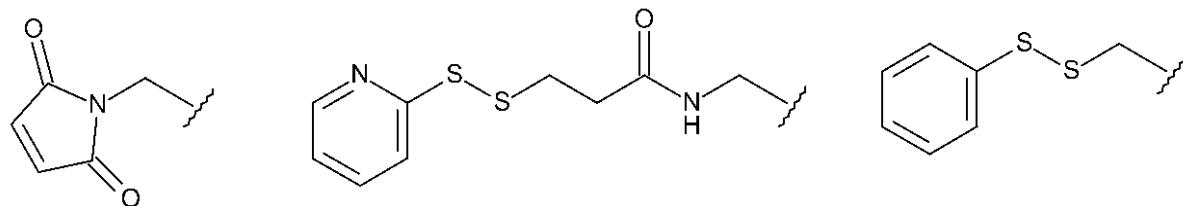
Lは、コンジュゲート化合物（c o n j u g a t e compound）中の細胞結合因子に結合されたリンカーである。Gは、PBDダイマーを細胞結合因子に結合してコンジュゲート化合物を形成するための反応性基である。

【0112】

好ましくは、リンカー／反応性基は、細胞結合因子上の求核性官能基と結合するための求電子性官能基を含有する。抗体上の求核性基としては：(i) N末端アミン基、(ii) 側鎖アミン基、例えばリジン、(iii) 側鎖チオール基、例えばシステイン及び(iv) 抗体がグリコシル化されている糖ヒドロキシル基又はアミノ基が挙げられるが、これに限定されない。アミン基、チオール基及びヒドロキシル基は求核性であり、反応して(i) マレイミド基；(ii) 活性化ジスルフィド；(iii) 活性エステル、例えばNH<sub>2</sub>(N-ヒドロキシスクシンイミド)エステル、HOBr(N-ヒドロキシベンゾトリアゾール)エステル、ハロホルメート及び酸ハライド；(iv) ハロアセトアミドなどのアルキル及びベンジルハライド、例えばハロアセトアミド並びに(v) アルデヒド、ケトン、カルボキシルを含む、リンカー部分及びリンカー試薬上の求電子基と共有結合を形成することが可能であり、そのいくつかを以下に例示する：

【0113】

【化53】



【0114】

ある種の抗体は、還元性鎖間ジスルフィド、すなわちシステイン架橋を有する。抗体は、DTT(ジチオスレイトール)などの還元剤を用いる処理によってリンカー試薬とのコンジュゲーションに対して反応性とされてよい。各システイン架橋はこのため、理論的に2種類の反応性チオール求核試薬を形成する。追加の求核性基を、リジンと2-イミノチオラン(トラウト試薬)との反応を通じて抗体に導入して、アミンのチオールへの変換を生じることができる。1、2、3、4個又はそれ以上のシステイン残基を導入する(例えば、1個以上の非天然システインアミノ酸残基を含む突然変異体抗体を調製する)ことによって、反応性チオール基を抗体(又はその断片)に導入することができる。米国特許第7521541号は、反応性システインアミノ酸の導入による抗体の操作を教示している。いくつかの実施形態において、リンカーは、抗体上に存在する求電子性基と反応性である反応性求核性基を有する。抗体上の有用な求電子性基としては、アルデヒド基及びケトンカルボニル基が挙げられるが、これに限定されない。リンカーの求核性基のヘテロ原子は、抗体上の求電子性基と反応して、抗体単位上に共有結合を形成することができる。リンカー上の有用な求核性基としては、ヒドラジド、オキシム、アミノ、ヒドロキシル、ヒ

10

20

30

40

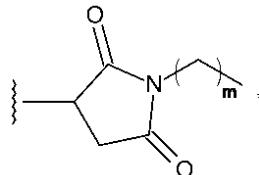
50

ドラジン、チオセミカルバゾン、ヒドラジンカルボキシレート及びアリールヒドラジドが挙げられるが、これに限定されない。抗体上の求電子性基は、リンカーへ結合するための便利な部位を提供する。

【0115】

一実施形態において、基Lは：

【化54】



10

であり、式中、アスタリスクは基Yの残部への結合点を示し、波線は細胞結合因子への結合点を示し、mは0から6の範囲から選択される整数である。一実施形態において、mは2、3、4及び5から選択される。

【0116】

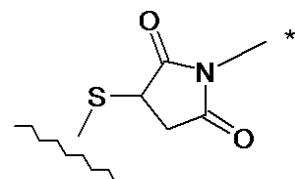
一実施形態において、細胞結合因子とLとの間の結合は、細胞結合因子のチオール残基及びLのマレイミド基を通じて行う。

【0117】

一実施形態において、細胞結合因子とLとの間の結合は：

20

【化55】



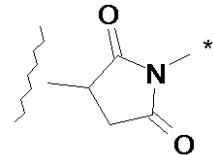
であり、式中、アスタリスクは、L基の残部又はY基の残部への結合点を示し、波線は、細胞結合因子の残部への結合点を示す。本実施形態において、S原子は通例、細胞結合因子から誘導される。

30

【0118】

上の実施形態それぞれにおいて、以下に示すマレイミド誘導基の代わりに、代替官能基を使用してよく：

【化56】



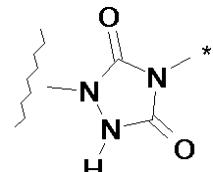
式中、波線は、上と同様に細胞結合因子への結合点を示し、アスタリスクは、L基の残部又はY基の残部への結合を示す。

40

【0119】

一実施形態において、マレイミド誘導基は、基：

【化57】



で代替され、式中、波線は細胞結合因子への結合点を示し、アスタリスクは、L基の残部

50

又はY基の残部への結合を示す。

【0120】

一実施形態において、マレイミド誘導基は、任意に（所望により）細胞結合因子と共に：

- C ( = O ) N H - ,
- C ( = O ) O - ,
- N H C ( = O ) - ,
- O C ( = O ) - ,
- O C ( = O ) O - ,
- N H C ( = O ) O - ,
- O C ( = O ) N H - ,
- N H C ( = O ) N H - ,
- N H C ( = O ) N H ,
- C ( = O ) N H C ( = O ) - ,
- S - ,
- S - S - ,
- C H<sub>2</sub> C ( = O ) - ,
- C ( = O ) C H<sub>2</sub> - ,
- = N - N H - 及び
- N H - N =

10

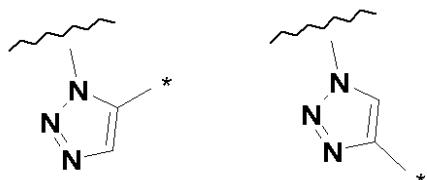
20

から選択される基によって置き換えられる。

【0121】

一実施形態において、マレイミド誘導基は、任意に（所望により）細胞結合因子と共に：

【化58】



30

から選択される基によって置き換えられ、式中、波線は、細胞結合因子への結合点又はL基の残部若しくはY基の残部への結合を示し、アスタリスクは、細胞結合因子への結合点又はL基の残部若しくはY基の残部への結合の他方を示す。

【0122】

Y基の残部を細胞結合因子に結合するためにLとして使用できる他の基は、国際公開第2005/082023号に記載されている。

【0123】

このため、本発明の実施形態において、Lは、式：

- L<sup>A</sup> - ( C H<sub>2</sub> )<sub>m</sub> - ( L 1 )

40

であり、

式中、mは0から6であり；

L<sup>A</sup>は、以下から選択され：

【0124】

【表2】

(L <sup>A1-1</sup> )		(L <sup>A6</sup> )	
(L <sup>A1-2</sup> )		(L <sup>A7</sup> )	
(L <sup>A2</sup> )		(L <sup>A8-1</sup> )	
(L <sup>A3-1</sup> )		(L <sup>A8-2</sup> )	
(L <sup>A3-2</sup> )		(L <sup>A9-1</sup> )	
(L <sup>A4</sup> )		(L <sup>A9-2</sup> )	
(L <sup>A5</sup> )			

## 【0125】

式中、ArはC<sub>5-6</sub>アリーレン基、例えばフェニレンを表す。

## 【0126】

LがL1であるいくつかの実施形態において、mは2、3又は5であってよい。

LがL1であるいくつかの実施形態において、L<sup>A</sup>はL<sup>A1-1</sup>であってよい。

## 【0127】

本発明の実施形態において、Lは、式：

- L<sup>A</sup> - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - O (L2)

であり、

式中、mは0から6であり；

L<sup>A</sup>は上の基から選択される。

## 【0128】

理論に拘束されることを望むものではないが、このような基は、カルバメート基が末端アミンを生じるように、抗体から切断されてよい。

## 【0129】

いくつかの実施形態において、LがL2である場合、L<sup>A</sup>はL<sup>A3-2</sup>であってよい。

いくつかの実施形態において、LがL2である場合、mは1であってよい。

## 【0130】

本発明の実施形態において、Lは、式：

- L<sup>A</sup> - (CH<sub>2</sub>)<sub>q</sub> - O - C(=O) - NH - (CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> - (L3)

10

20

30

40

50

であり、

式中、qは1から3であり、pは1から3であり；

$L^A$ は、上の基から選択される。

【0131】

理論に拘束されることを望むものではないが、このような基は、カルバメート基が基：  
 $H_2N - (CH_2)_p - (L^3')$

を生じるように、抗体から切断されてよい。

いくつかの実施形態において、 $L$ が $L^3$ である場合、qは1であってよく、pは2であってよい。

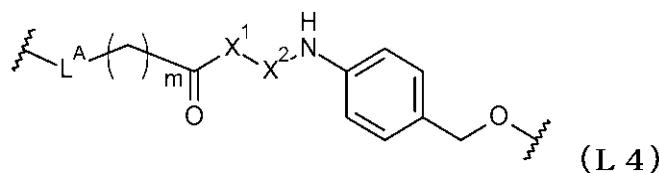
いくつかの実施形態において、 $L$ が $L^3$ である場合、 $L^A$ は、 $L^{A7}$ 、 $L^{A8-1}$ 及び $L^{A8-2}$ から選択されてよい。 10

【0132】

本発明の実施形態において、 $L$ は、式：

であり、

【化59】



20

式中、mは0から6であり；

$X^1$ 及び $X^2$ は、修飾されてよい、天然アミノ酸から選択されるアミノ酸基であり；

$L^A$ は、上の基から選択される。

【0133】

天然アミノ酸は、ジペプチド基がカテプシン不安定性であるように選択されてよい。

一実施形態において、基- $X_1-X_2-$ は：

- Phe-Lys-、
- Val-Ala-、
- Val-Lys-、
- Ala-Lys-、
- Val-Cit-、
- Phe-Cit-、
- Leu-Cit-、
- Ile-Cit-、
- Phe-Arg-、
- Trp-Cit-、

30

から選択され、Citはシトルリンである。

【0134】

好ましくは、基- $X_1-X_2-$ は：

- Phe-Lys-、
- Val-Ala-、
- Val-Lys-、
- Ala-Lys-、
- Val-Cit-、

40

から選択される。

【0135】

最も好ましくは、基- $X_1-X_2-$ は、-Phe-Lys-又は-Val-Ala-である。

【0136】

いくつかの実施形態において、 $L$ が $L^4$ である場合、mは1であってよい。

50

## 【0137】

参照により本明細書に組み入れられている、Dubowchik et al., Bioc conjugate Chemistry, 2002, 13, 855-869によって記載されているものを含む、他のジペプチドの組合せも使用してよい。

## 【0138】

一実施形態において、アミノ酸側鎖は、適切な場合、誘導体化される。例えば、アミノ酸側鎖のアミノ基又はカルボキシル基は誘導体化されてよい。

一実施形態において、側鎖アミノ酸、例えばリジンのアミノ基NH<sub>2</sub>は、NHR及びNR'R'からなる群から選択される誘導体化形態である。

## 【0139】

一実施形態において、側鎖アミノ酸、例えばアスパラギン酸のカルボキシ基COOHは、COOR、CONH<sub>2</sub>、CONHR及びCONRR'からなる群から選択される誘導体化形態である。

## 【0140】

一実施形態において、アミノ酸側鎖は、適切な場合には、化学的に保護される。側鎖保護基は、基R<sup>L</sup>に関して以下で論じられる基であってよい。本発明者らは、保護アミノ酸配列が酵素によって切断可能であることを確認した。例えば、Boc側鎖保護Lys残基を含むジペプチド配列がカテプシンによって切断可能であることを確認した。

## 【0141】

アミノ酸の側鎖のための保護基は当分野において周知であり、Novabiochem Catalogに記載されている。追加の保護基戦略は、Protective Groups in Organic Synthesis, Greene and Wutsで述べられている。

## 【0142】

反応性側鎖官能基を有するアミノ酸の考えられる側鎖保護基を以下に示す：

Arg : Z、Mtr、Tos；

Asn : Trt、Xan；

Asp : Bzl、t-Bu；

Cys : Acm、Bzl、Bzl-OMe、Bzl-Me、Trt；

Glu : Bzl、t-Bu；

Gln : Trt、Xan；

His : Boc、Dnp、Tos、Trt；

Lys : Boc、Z-Cl、Fmoc、Z、Alloc；

Ser : Bzl、TBDMS、TBDPS；

Thr : Bz；

Trp : Boc；

Tyr : Bzl、Z、Z-Br。

## 【0143】

このため、本発明の実施形態において、Gは式：

G<sup>A</sup> - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> -

であり、

式中、mは0から6であり；

G<sup>A</sup>は以下から選択される：

## 【0144】

10

20

30

40

【表3】

(G <sup>A1-1</sup> )		(G <sup>A4</sup> )	
(G <sup>A1-2</sup> )		(G <sup>A5</sup> )	
(G <sup>A2</sup> )		(G <sup>A6</sup> )	
(G <sup>A3-1</sup> )		(G <sup>A7</sup> )	
(G <sup>A3-2</sup> )		(G <sup>A8</sup> )	
(G <sup>A3-3</sup> )		(G <sup>A9</sup> )	
(G <sup>A3-4</sup> )			

【 0 1 4 5 】

式中、 $A_r$  は  $C_{5-6}$  アリーレン基、例えばフェニレンを表す。

【 0 1 4 6 】

いくつかの実施形態において、G が G 1 である場合、m は 2、3 又は 5 であってよい。

いくつかの実施形態において、 $G$  が  $G_1$  である場合、 $G^A$  は  $G^{A_1-1}$  であってよい。

【 0 1 4 7 】

本発明の実施形態において、Gは、式：

$\text{G}^{\text{A}} - (\text{C H}_2)_m - \text{O} -$  (G 2)

であり、

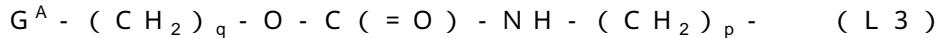
式中、mは0から6であり；  
 $G^A$ は上の基から選択される。

【0148】

いくつかの実施形態において、GがG2である場合、 $G^A$ は $G^{A3-2}$ であってよい。  
 いくつかの実施形態において、GがG2である場合、mは1であってよい。

【0149】

本発明の実施形態において、Gは式：



であり、

式中、qは1から3であり、pは1から3であり；  
 $G^A$ は、上の基から選択される。

【0150】

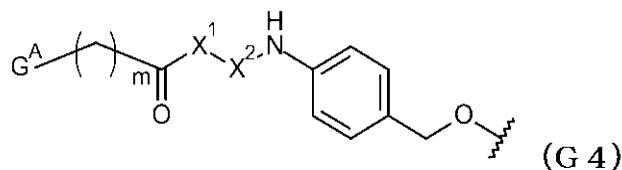
いくつかの実施形態において、GがG3である場合、qは1であってよく、pは2であってよい。

いくつかの実施形態において、GがG3である場合、 $G^A$ は $G^{A7}$ 及び $G^{A8}$ から選択されてよい。

【0151】

本発明の実施形態において、Gは、式：

【化60】



10

20

であり、

式中、mは0から6であり；  
 $X^1$ 及び $X^2$ は、L4について上で定義した通りであり；  
 $G^A$ は、上の基から選択される。

【0152】

R及びR'

30

一実施形態において、Rは、任意に（所望により）置換された $C_{1-12}$ アルキル、 $C_{3-20}$ ヘテロシクリル及び $C_{5-20}$ アリール基から独立して選択される。これらの基はそれぞれ、以下の置換基の節で定義する。

一実施形態において、Rは独立して任意に（所望により）置換された $C_{1-12}$ アルキルである。

一実施形態において、Rは独立して任意に（所望により）置換された $C_{3-20}$ ヘテロシクリルである。

一実施形態において、Rは独立して任意に（所望により）置換された $C_{5-20}$ アリールである。

一実施形態において、Rは独立して任意に（所望により）置換された $C_{1-12}$ アルキルである。

Rについての好適な実施の態様はR'にも適用される。

【0153】

本発明のいくつかの実施形態において、置換基-NRR'を有する化合物が提供される。一実施形態において、R及びR'は、それらが結合されている窒素原子と共に、任意に（所望により）置換された4員、5員、6員又は7員複素環を形成する。環は、更なるヘテロ原子、例えばN、O又はSを含有してよい。

一実施形態において、複素環はそれ自体、基Rによって置換されている。更なるNヘテロ原子が存在する場合、置換基はNヘテロ原子上にあってよい。

【0154】

40

50

$R^{A4}$ 

- 一 実施形態において、 $R^{A4}$ は  $C_{2-4}$  アルキレン基である。
- 一 実施形態において、 $R^{A4}$ は  $C_2$  アルキレン基である。
- 一 実施形態において、 $R^{A4}$ は  $C_3$  アルキレン基である。
- 一 実施形態において、 $R^{A4}$ は 非置換  $C_{1-6}$  アルキレン基である。
- 一 実施形態において、 $R^{A4}$ は 直鎖  $C_{1-6}$  アルキレン基である。
- 一 実施形態において、 $R^{A4}$ は、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH_2CH_2-$  及び  $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$  からなる群から選択される。

## 【0155】

細胞結合因子

10

細胞結合因子は、いずれの種類でもよく、ペプチド及び非ペプチドが挙げられてよい。これらとしては、抗体又は少なくとも1個の結合部位を含有する抗体の断片、リンホカイン、ホルモン、成長因子、栄養素輸送分子、又は他のいずれの細胞結合子又は物質を挙げることができる。

## 【0156】

「抗体」という用語は本明細書において、それらが所望の生物活性を呈する限り、最も広範な意味で使用され、具体的にはモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、ダイマー、マルチマー、多重特異性抗体（例えば二重特異性抗体）及び抗体断片を含む（Miller et al (2003) *Jour. of Immunology* 170: 4854-4861）。抗体は、マウス、ヒト、ヒト化、キメラであってよく、又は他の種に由来してよい。抗体は、特異的抗原を認識及び結合することができる免疫系によって産生されるタンパク質である（Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5th Ed., Garland Publishing, New York）。標的抗原は、一般に、複数の抗体上でCDRによって認識される、エピトープとも呼ばれる多数の結合部位を有する。異なるエピトープに特異的に結合する各抗体は、異なる構造を有する。このため、1種類の抗原は、1を超える対応する抗体を有することがある。抗体には、全長免疫グロブリン分子又は全長免疫グロブリン分子の免疫活性部分、すなわち興味のある標的の抗原又はその一部を免疫特異的に結合する抗原結合部位を含有する分子が含まれ、このような標的としては、癌細胞又は自己免疫疾患と関連する自己免疫抗体を産生する細胞が挙げられるが、これに限定されない。免疫グロブリンは、免疫グロブリン分子の任意の型（例えばIgG、IgE、IgM、IgD及びIgA）、クラス（例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1及びIgA2）、又はサブクラスであることができる。免疫グロブリンは、ヒト、マウス又はウサギ源を含む、いずれの種に由来することもできる。

20

## 【0157】

「抗体断片」は、全長抗体の一部、一般にその抗原結合又は可変領域を含む。抗体断片の例としては、Fab、Fab'、 $F(ab') 及び Fv の断片；ダイアボディ；直鎖抗体；Fab発現ライブリによって産生される断片、抗イディオタイプ（抗Id）抗体、CDR（相補性決定領域）、及び癌細胞抗原、ウイルス性抗原又は微生物抗原に免疫特異的に結合する上記の任意のエピトープ結合断片、单鎖抗体分子；並びに抗体断片から形成される多重特異性抗体が挙げられる。$

30

## 【0158】

「モノクローナル抗体」という用語は、本発明で使用する場合、実質的に均質な抗体の集団から得られる抗体を示し、すなわち該集団を構成する個々の抗体は、少量で存在し得る考えられる自然発生突然変異を除いて、同一である。モノクローナル抗体は、高度に特異的であり、单一の抗原部位に対して作られている。更に、異なる決定因子（エピトープ）に対して作られた異なる抗体を含むポリクローナル抗体調製物とは対照的に、各モノクローナル抗体は、抗原上の单一の決定因子に対して作られている。モノクローナル抗体は、その特異性に加えて、他の抗体によって汚染されずに合成され得る点で有利である。修

40

50

飾語「モノクローナル」は、実質的に均質な抗体集団から得られたような抗体の特徴を示し、いずれかの特定の方法による抗体の産生を必要とするとして解釈すべきではない。例えば、本発明に従って使用されるモノクローナル抗体は、Kohler et al (1975) Nature 256: 495 によって最初に記載されたハイブリドーマ法によつて作製してよく、又は組換えDNA法(米国特許第4816567号を参照のこと。)によって作製してよい。モノクローナル抗体は、Clackson et al (1991) Nature, 352: 624-628; Marks et al (1991) J. Mol. Biol., 222: 581-597 に記載されている技術を使用してファージ抗体ライブラリから単離してもよい。

## 【0159】

10

本明細書のモノクローナル抗体は、具体的には、重鎖及び/若しくは軽鎖の一部が特定の種に由来する又は特定の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一若しくは相同であると同時に、(複数の)鎖の残部が別の種に由来する又は別の抗体クラス若しくはサブクラスに属する抗体中の対応する配列と同一若しくは相同であるキメラ抗体、並びにこのような抗体を、それらが所望の生物活性を呈する限り含む(米国特許第4816567号; 及びMorrison et al (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855)。キメラ抗体としては、非ヒト靈長類(例えば旧世界サル又は類人猿)に由来する可変ドメイン抗原結合配列及びヒト定常領域配列を含む「靈長類化」抗体が挙げられる。

## 【0160】

20

「インタクト抗体」とは本明細書では、VLドメイン及びVHドメイン並びに軽鎖定常ドメイン(CL)及び重鎖定常ドメインCH1、CH2及びCH3を含む抗体である。定常ドメインは、未変性配列定常ドメイン(例えばヒト未変性配列定常ドメイン)又はそのアミノ酸配列変異体であつてよい。インタクト抗体は、抗体のFc領域(未変性配列Fc領域又はアミノ酸配列変異体Fc領域)に起因し得るこれらの生物活性を示す1つ以上の「エフェクタ機能」を有することがある。抗体エフェクタ機能の例としては、C1q結合、補体依存性細胞傷害、Fc受容体結合、抗体依存性細胞媒介細胞毒性(ADCC)、ファゴサイトーシス、並びにB細胞受容体及びBCRなどの細胞表面受容体の下方調節が挙げられる。

## 【0161】

30

インタクト抗体は、その重鎖の定常ドメインのアミノ酸配列に応じて、異なる「クラス」に帰属させることができる。インタクト抗体には5つの主要なクラス: IgA、IgD、IgE、IgG及びIgMがあり、これらのいくつかは更に「サブクラス」(アイソタイプ)、例えばIgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA及びIgA2に細分できる。異なるクラスの抗体に相当する重鎖定常ドメインは、それぞれγ、δ、ε及びμと呼ばれる。免疫グロブリンの異なるクラスのサブユニット構造及び三次元立体配置が周知である。

## 【0162】

細胞結合因子の例としては、本明細書に組み入れられている国際公開第2007/085930号での使用について記載されている因子が挙げられる。

40

細胞結合因子はポリペプチドであつてよいか、又はポリペプチドを含んでよい。該ポリペプチドは、環式ポリペプチドであつてよい。細胞結合因子は抗体であつてよい。このため、一実施形態において、本発明は、抗体-薬剤コンジュゲート(ADC)を提供する。

## 【0163】

## 薬剤負荷

薬剤負荷は、抗体当たりのPBD薬剤の平均数である。薬剤負荷は、抗体(Ab)当たり1から8個の薬剤(D)の範囲に及んでよく、すなわち1、2、3、4、5、6、7及び8個の薬剤部分が抗体に共有結合されている。ADCの組成物には、1から8個の薬剤の範囲でコンジュゲートされた抗体の集合が含まれる。コンジュゲーション反応からのADCの調製物における抗体当たりの薬剤の平均数は、従来の手段、例えば質量分析、EL

50

ISA アッセイ、電気泳動法及び HPLC によって特徴付けることができる。p に関する ADC の定量的分布も決定してよい。ELISA によって、ADC の特定の調製物における p の平均値を決定してよい (Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10: 7063-7070; Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11: 843-852)。しかし、p (薬剤) 値の分布は、抗体 - 抗原結合及び ELISA の検出限界によって識別不可能である。また、抗体 - 薬剤コンジュゲートを検出するための ELISA アッセイは、薬剤部分がどこで、例えば重鎖若しくは軽鎖の断片、又は特定のアミノ酸残基で抗体に結合されているかを決定しない。いくつかの例において、p が他の薬剤負荷を伴う ADC からのある値である、均質な ADC の分離、精製及び特徴付けは、逆相 HPLC 又は電気泳動法などの手段によって達成することができる。

10

## 【0164】

いくつかの抗体 - 薬剤コンジュゲートでは、p は、抗体上の結合部位の数によって限定されることがある。例えば、抗体は、1 個のみ若しくは複数のシステインチオール基を有してよく、又はリンカーがそれを通じて結合してよい 1 個のみの若しくは複数の十分な反応性のチオール基を有してよい。より高い薬剤負荷は、例えば p が 5 より大である場合、ある抗体 - 薬剤コンジュゲートの凝集、不溶性、毒性、又は細胞透過性の損失を引き起こすことがある。

## 【0165】

通例、理論的最大より少ない薬剤部分が、コンジュゲーション反応中に抗体にコンジュゲートされる。抗体は、例えば薬剤 - リンカー中間体 (D - L) 又はリンカー試薬と反応しない多くのリジン残基を含有することがある。最も反応性の高いリジン基のみが、アミン反応性リンカー試薬と反応することがある。また、最も反応性の高いシステインチオール基のみが、チオール反応性リンカー試薬と反応することがある。一般に、抗体は、薬剤部分に連結され得る遊離及び反応性システインチオール基を含有するとしても、多くは含有していない。該化合物の抗体中の大半のシステインチオール残基は、ジスルフィド架橋として存在し、部分又は完全還元条件下にてジチオスレイトール (DTT) 又は TCEP などの還元剤で還元する必要がある。ADC の負荷 (薬剤 / 抗体比) は、(i) 抗体に対する薬剤 - リンカー中間体 (D - L) 又はリンカー試薬のモル過剰を限定すること、(ii) コンジュゲーション反応の時間又は温度を限定すること、及び (iii) システインチオール修飾のための部分又は限定還元的条件を含めて、いくつかの異なる方法において制御されてよい。

20

## 【0166】

システインアミノ酸は、抗体中にあり、鎖内又は分子間のジスルフィド連結を形成しない反応性部位で操作してよい (Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26(8): 925-932; Dornan et al (2009) Blood 114 (13): 2721-2729; 米国特許第 7521541 号; 米国特許第 7723485 号; 国際公開第 2009/052249 号、Shen et al (2012) Nature Biotech., 30(2): 184-191; Junutula et al (2008) Jour. of Immun. Methods 332: 41-52)。操作されたシステインチオールは、リンカー試薬、又はマレイミド若しくはアルファ - ハロアミドなどのチオール反応性求電子性基を有する本発明の薬剤 - リンカー試薬と反応することで、システインを操作された抗体 (Thiomab) 及び PBD 薬剤部分を有する ADC を形成することができる。このため、薬剤部分の位置を設計、制御及び認知することができる。操作されたシステインチオール基が通例、チオール反応性リンカー試薬又は薬剤 - リンカー試薬と高収率で反応するため、薬剤負荷を制御することができる。重鎖又は軽鎖上の単一部位での置換によって、IgG 抗体を操作してシステインアミノ酸を導入することで、対称抗体上に 2 個の新規のシステインを与える。2 に近く、コンジュゲーション生成物 ADC の均質性に近い薬剤負荷を達成することができる。

30

40

50

## 【0167】

抗体の1を超える求核性基又は求電子性基が、薬剤-リンカー中間体又はリンカー試薬、続いて薬剤部分試薬と反応する場合、生じる生成物は、例えば1、2、3などの、抗体に結合された薬剤部分の分布を有するADC化合物の混合物である。ポリマー逆相(PLRP)及び疎水性相互作用(HIC)などの液体クロマトグラフィー法では、薬剤負荷値によって混合物中の化合物を分離し得る。単一の薬剤負荷値(p)を有するADCの調製物は単離され得るが、これらの単一負荷値ADCは、薬剤部分がリンカーを介して抗体上の異なる部位に結合されていることがあるため、未だ不均質混合物であり得る。

## 【0168】

このため、本発明の抗体-薬剤コンジュゲート組成物には、抗体が1個以上のPBD薬剤部分を有し、薬剤部分が各種のアミノ酸残基にて抗体に結合され得る、抗体-薬剤コンジュゲート化合物の混合物が含まれる。 10

## 【0169】

一実施形態において、細胞結合因子当たりのダイマーピロロベンゾジアゼピン基の数は、1から20の範囲にある。いくつかの実施形態において、該範囲は、1から8、2から8、2から6、2から4及び4から8から選択される。

いくつかの実施形態において、細胞結合因子当たり1個のダイマーピロロベンゾジアゼピン基がある。

## 【0170】

ペプチド 20  
一実施形態において、細胞結合因子は、4-20個の、好ましくは6-20個の隣接アミノ酸残基を含む、直鎖又は環状ペプチドである。本実施形態において、1個の細胞結合因子が1個のモノマー又はダイマーピロロベンゾジアゼピン化合物に連結されることが好ましい。

## 【0171】

一実施形態において、細胞結合因子は、インテグリン $\alpha_6$ を結合するペプチドを含む。該ペプチドは、XYS上の $\alpha_6$ に対して選択的であり得る。

一実施形態において、細胞結合因子は、A20FMDV-Cysポリペプチドを含む。A20FMDV-Cysは、配列：NAVPNLRGDLQVLAQKVARTCを有する。又は、A20FMDV-Cys配列の変異体は、1、2、3、4、5、6、7、8、9又は10個のアミノ酸残基が別のアミノ酸残基で置換されている場合に使用してよい。 30

## 【0172】

一実施形態において、抗体はキメラ抗体、ヒト化抗体、完全ヒト抗体又は单鎖抗体である。一実施形態、抗体は、生物活性を有するこれらの抗体のうちの1つの断片である。これらの断片の例としては、Fab断片、Fab'断片、F(ab')<sub>2</sub>断片及びFv断片が挙げられる。

## 【0173】

これらの実施形態において、各抗体は、1個又は複数のダイマーピロロベンゾジアゼピン基に連結されてよい。ピロロベンゾジアゼピンの細胞結合因子に対する好ましい比を上に示している。 40

## 【0174】

抗体はドメイン抗体(DAB)であってよい。

一実施形態において、抗体はモノクローナル抗体である。

## 【0175】

本発明で使用するための抗体としては、本明細書に組み入れられている、国際公開第2005/082023号に記載された抗体が挙げられる。特に好ましいのは、腫瘍関連抗原に対する抗体である。当分野で公知のこれらの抗原の例としては、国際公開第2005/082023号に記載されている腫瘍関連抗原が挙げられるが、これらに限定されない。例えば41-55頁を参照のこと。

## 【0176】

10

20

30

40

50

本発明のコンジュゲートは、その細胞表面抗原によって腫瘍細胞を標的とするように設計されている。抗原は通常、過剰発現されるか、又は異常な回数で発現されるかのどちらかである、正常な細胞表面抗原である。理想的には、標的抗原は、増殖性細胞（好ましくは腫瘍細胞）のみで発現されるが、このことが実際には見られるのはまれである。結果として、標的抗原は、通常、増殖性組織と健常組織との間での発現差に基づいて選択される。

【0177】

腫瘍関連抗原（TAA）は、公知であり、当分野で周知である方法及び情報を使用した抗体の產生に使用するために調製できる。癌の診断及び治療法のための有効な細胞標的を発見する試みにおいて、研究者らは、1種類以上の正常な非癌性細胞上と比較して、1種類以上の特定の型の癌細胞の表面上で特異的に発現される膜貫通ポリペプチド又はそれ以外の様式の腫瘍関連ポリペプチドを同定しようとしてきた。このような腫瘍関連ポリペプチドは、非癌性細胞の表面上と比較して、癌細胞の表面上で豊富に発現されることが多い。このような腫瘍関連細胞表面抗原ポリペプチドの同定によって、抗体ベースの治療法を介して破壊する癌細胞を特異的に標的とすることが可能となる。

【0178】

TAAの例には、下記に列挙されているTAA（1）～（36）が含まれるが、これに限定されない。便宜上、全てが当分野において公知であるこれらの抗原に関連する情報は、下に挙げられ、国立バイオテクノロジー情報センター（NCBI）の核酸及びタンパク質配列同定規約に従った名称、代替名、Genbankアクセション番号及び（複数の）主要文献を含む。TAA（1）～（36）に対応する核酸及びタンパク質配列は、GenBankなどの公開データベースにおいて入手できる。抗体が標的とする腫瘍関連抗原には、引用文献において同定された配列に対して少なくとも約70%、80%、85%、90%又は95%の配列同一性を所有する、又は引用文献において見出された配列を有するTAAと同じ生物学的特性若しくは特徴を実質的に呈する、全てのアミノ酸配列変異体及びアイソフォームが含まれる。例えば、変異体配列を有するTAAは、一般に、挙げられた対応配列を有するTAAに特異的に結合する抗体に、特異的に結合することができる。本明細書で具体的に列挙された参考文献における配列及び開示は、参照により明示的に組み入れられている。

【0179】

腫瘍関連抗原（1）～（36）：

(1) BMP R1B (骨形成タンパク質受容体IB型、Genbankアクセション番号NM\_001203) ten Dijke, P., et al Science 264 (5155) : 101-104 (1994), Oncogene 14 (11) : 1377-1382 (1997) ; WO2004/063362 (Claim 2) ; WO2003/042661 (Claim 12) ; US2003/134790-A1 (Page 38-39) ; WO2002/102235 (Claim 13 ; Page 296) ; WO2003/055443 (Page 91-92) ; WO2002/99122 (Example 2 ; Page 528-530) ; WO2003/029421 (Claim 6) ; WO2003/024392 (Claim 2 ; Fig 112) ; WO2002/98358 (Claim 1 ; Page 183) ; WO2002/54940 (Page 100-101) ; WO2002/59377 (Page 349-350) ; WO2002/30268 (Claim 27 ; Page 376) ; WO2001/48204 (Example ; Fig 4) ; NP\_001194 bone morphogenetic protein receptor, type IB / pid = NP\_001194.1 . Cross-references : MIM : 603248 ; NP\_001194.1 ; AY065994

【0180】

(2) E16 (LAT1、SLC7A5、Genbankアクセション番号NM\_003486) Biochem. Biophys. Res. Commun. 255 (2) , 2

10

20

30

40

50

83-288(1999), Nature 395(6699):288-291(1998), Gaugitsch, H.W., et al(1992) J. Biol. Chem. 267(16):11267-11273; WO2004/048938 (Example 2); WO2004/032842 (Example IV); WO2003/042661 (Claim 12); WO2003/016475 (Claim 1); WO2002/78524 (Example 2); WO2002/99074 (Claim 19; Page 127-129); WO2002/86443 (Claim 27; Pages 222, 393); WO2003/003906 (Claim 10; Page 293); WO2002/64798 (Claim 33; Page 93-95); WO2000/14228 (Claim 5; Page 133-136); US2003/224454 (Fig 3); WO2003/025138 (Claim 12; Page 150); NP\_03477 solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 5 / pid=NP\_003477.3 - Homo sapiens; Cross-references: MIM: 600182; NP\_003477.3; NM\_015923; NM\_003486\_1

## 【0181】

(3) STEAP1 (前立腺の6回膜貫通上皮抗原、Genbank アクセッション番号 NM\_012449); Cancer Res. 61(15), 5857-5860(2001), Hubert, R.S., et al(1999) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 96(25):14523-14528; WO2004/065577 (Claim 6); WO2004/027049 (Fig 1L); EP1394274 (Example 11); WO2004/016225 (Claim 2); WO2003/042661 (Claim 12); US2003/157089 (Example 5); US2003/185830 (Example 5); US2003/064397 (Fig 2); WO2002/89747 (Example 5; Page 618-619); WO2003/022995 (Example 9; Fig 13A, Example 53; Page 173, Example 2; Fig 2A); NP\_036581 six transmembrane epithelial antigen of the prostate; Cross-references: MIM: 604415; NP\_036581.1; NM\_012449\_1

## 【0182】

(4) 0772P (CA125, MUC16, Genbank アクセッション番号 AF361486); J. Biol. Chem. 276(29):27371-27375(2001); WO2004/045553 (Claim 14); WO2002/92836 (Claim 6; Fig 12); WO2002/83866 (Claim 15; Page 116-121); US2003/124140 (Example 16); Cross-references: GI: 34501467; AAK74120.3; AF361486\_1

(5) MPF (MPF, MSLN, SMR、巨核球増強因子、メソテリン、Genbank アクセッション番号 NM\_005823) Yamaguchi, N., et al Biol. Chem. 269(2), 805-808(1994), Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 96(20):11531-11536(1999), Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 93(1):136-140(1996), J. Biol. Chem. 270(37):21984-21990(1995); WO2003/101283 (Claim 14); (WO2002/102235 (Claim 13; Page 287-288); WO2002/101075 (Claim 4; Page 308-309); WO2002/71928 (Page 320-321); WO94/10312 (Page 52-57); Cross-references: MIM: 601051; NP\_005814.2; NM\_005823\_1

## 【0183】

(6) Nap i 3 b (N A P I - 3 B、N a P i 2 B、N P T I I b、S L C 3 4 A 2 , 溶質担体ファミリー34 (リン酸ナトリウム)、メンバー2、II型ナトリウム依存性リン酸トランスポータ3 b、Genbankアクセッション番号N M \_ 0 0 6 4 2 4 ) J . B i o l . C h e m . 2 7 7 ( 2 2 ) : 1 9 6 6 5 - 1 9 6 7 2 ( 2 0 0 2 ) , G e n o m i c s 6 2 ( 2 ) : 2 8 1 - 2 8 4 ( 1 9 9 9 ) , F e i l d , J . A . , e t a l ( 1 9 9 9 ) B i o c h e m . B i o p h y s . R e s . C o m m u n . 2 5 8 ( 3 ) : 5 7 8 - 5 8 2 ) ; W O 2 0 0 4 / 0 2 2 7 7 8 ( C l a i m 2 ) ; E P 1 3 9 4 2 7 4 ( E x a m p l e 1 1 ) ; W O 2 0 0 2 / 1 0 2 2 3 5 ( C l a i m 1 3 ; P a g e 3 2 6 ) ; E P 0 8 7 5 5 6 9 ( C l a i m 1 ; P a g e 1 7 - 1 9 ) ; W O 2 0 0 1 / 5 7 1 8 8 ( C l a i m 2 0 ; P a g e 3 2 9 ) ; W O 2 0 0 4 / 0 3 2 8 4 2 ( E x a m p l e I V ) ; W O 2 0 0 1 / 7 5 1 7 7 ( C l a i m 2 4 ; P a g e 1 3 9 - 1 4 0 ) ; C r o s s - r e f e r e n c e s : M I M : 6 0 4 2 1 7 ; N P \_ 0 0 6 4 1 5 . 1 ; N M \_ 0 0 6 4 2 4 \_ 1 .

## 【0184】

(7) S e m a 5 b (F L J 1 0 3 7 2、K I A A 1 4 4 5、M m . 4 2 0 1 5 , S E M A 5 B、S E M A G、セマフォリン5 b H l o g、セマドメイン、7トロンボスボンジンリピート (1型及び1型様)、膜貫通ドメイン (商標) 及び短細胞質ドメイン、(セマフォリン) 5 B、Genbankアクセッション番号A B 0 4 0 8 7 8 ) ; N a g a s e T . , e t a l ( 2 0 0 0 ) D N A R e s . 7 ( 2 ) : 1 4 3 - 1 5 0 ) ; W O 2 0 0 4 / 0 0 0 9 9 7 ( C l a i m 1 ) ; W O 2 0 0 3 / 0 0 3 9 8 4 ( C l a i m 1 ) ; W O 2 0 0 2 / 0 6 3 3 9 ( C l a i m 1 ; P a g e 5 0 ) ; W O 2 0 0 1 / 8 8 1 3 3 ( C l a i m 1 ; P a g e 4 1 - 4 3 , 4 8 - 5 8 ) ; W O 2 0 0 3 / 0 5 4 1 5 2 ( C l a i m 2 0 ) ; W O 2 0 0 3 / 1 0 1 4 0 0 ( C l a i m 1 1 ) ; A c c e s s i o n : Q 9 P 2 8 3 ; E M B L ; A B 0 4 0 8 7 8 ; B A A 9 5 9 6 9 . 1 . G e n e w ; H G N C : 1 0 7 3 7

## 【0185】

(8) P S C A h 1 g ( 2 7 0 0 0 5 0 C 1 2 R i k , C 5 3 0 0 0 8 0 1 6 R i k , R I K E N c D N A 2 7 0 0 0 5 0 C 1 2 , R I K E N c D N A 2 7 0 0 0 5 0 C 1 2 g e n e , Genbankアクセッション番号A Y 3 5 8 6 2 8 ) ; R o s s e t a l ( 2 0 0 2 ) C a n c e r R e s . 6 2 : 2 5 4 6 - 2 5 5 3 ; U S 2 0 0 3 / 1 2 9 1 9 2 ( C l a i m 2 ) ; U S 2 0 0 4 / 0 4 4 1 8 0 ( C l a i m 1 2 ) ; U S 2 0 0 4 / 0 4 4 1 7 9 ( C l a i m 1 1 ) ; U S 2 0 0 3 / 0 9 6 9 6 1 ( C l a i m 1 1 ) ; U S 2 0 0 3 / 2 3 2 0 5 6 ( E x a m p l e 5 ) ; W O 2 0 0 3 / 1 0 5 7 5 8 ( C l a i m 1 2 ) ; U S 2 0 0 3 / 2 0 6 9 1 8 ( E x a m p l e 5 ) ; E P 1 3 4 7 0 4 6 ( C l a i m 1 ) ; W O 2 0 0 3 / 0 2 5 1 4 8 ( C l a i m 2 0 ) ; C r o s s - r e f e r e n c e s : G I : 3 7 1 8 2 3 7 8 ; A A Q 8 8 9 9 1 . 1 ; A Y 3 5 8 6 2 8 \_ 1

## 【0186】

(9) E T B R (エンドセリンB型受容体、Genbankアクセッション番号A Y 2 7 5 4 6 3 ) ; N a k a m u t a M . , e t a l B i o c h e m . B i o p h y s . R e s . C o m m u n . 1 7 7 , 3 4 - 3 9 , 1 9 9 1 ; O g a w a Y . , e t a l B i o c h e m . B i o p h y s . R e s . C o m m u n . 1 7 8 , 2 4 8 - 2 5 5 , 1 9 9 1 ; A r a i H . , e t a l J p n . C i r c . J . 5 6 , 1 3 0 3 - 1 3 0 7 , 1 9 9 2 ; A r a i H . , e t a l J . B i o l . C h e m . 2 6 8 , 3 4 6 3 - 3 4 7 0 , 1 9 9 3 ; S a k a m o t o A . , Y a n a g i s a w a M . , e t a l B i o c h e m . B i o p h y s . R e s . C o m m u n . 1 7 8 , 6 5 6 - 6 6 3 , 1 9 9 1 ; E l s h o u r b a g y N . A . , e t a l J . B i o l . C h e m . 2 6 8 , 3 8 7 3 - 3 8 7 9 , 1 9 9 3 ; H a e n d l e r B . , e t a l J . C a r d i o v a s c . P h a r m a c o l . 2 0 , s 1 - S 4 , 1 9 9 2 ; T s 50

utsumi M., et al Gene 228, 43-49, 1999; Strausberg R.L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99, 16899-16903, 2002; Bourgeois C., et al J. Clin. Endocrinol. Metab. 82, 3116-3123, 1997; Okamoto Y., et al Biol. Chem. 272, 21589-21596, 1997; Verheij J.B., et al Am. J. Med. Genet. 108, 223-225, 2002; Hofstra R.M.W., et al Eur. J. Hum. Genet. 5, 180-185, 1997; Pufferberger E.G., et al Cell 79, 1257-1266, 1994; Attie T., et al, Hum. Mol. Genet. 4, 2407-2409, 1995; Auricchio A., et al Hum. Mol. Genet. 5: 351-354, 1996; Amiel J., et al Hum. Mol. Genet. 5, 355-357, 1996; Hofstra R.M.W., et al Nat. Genet. 12, 445-447, 1996; Svensson P.J., et al Hum. Genet. 103, 145-148, 1998; Fuchs S., et al Mol. Med. 7, 115-124, 2001; Pingault V., et al (2002) Hum. Genet. 111, 198-206; WO 2004/045516 (Claim1); WO 2004/048938 (Example 2); WO 2004/040000 (Claim151); WO 2003/087768 (Claim1); WO 2003/016475 (Claim1); WO 2003/016475 (Claim1); WO 2002/61087 (Fig1); WO 2003/016494 (Fig6); WO 2003/025138 (Claim12; Page 144); WO 2001/98351 (Claim1; Page 124-125); EP 0522868 (Claim8; Fig2); WO 2001/77172 (Claim1; Page 297-299); US 2003/109676; US 6518404 (Fig3); US 5773223 (Claim1a; Col 31-34); WO 2004/001004

## 【0187】

(10) MSG783 (RNF124, hypothetical protein FLJ20315, Genbank accession no. NM\_017763); WO 2003/104275 (Claim1); WO 2004/046342 (Example 2); WO 2003/042661 (Claim12); WO 2003/083074 (Claim14; Page 61); WO 2003/018621 (Claim1); WO 2003/024392 (Claim2; Fig93); WO 2001/66689 (Example 6); Cross-references: Locus ID: 54894; NP\_060233.2; NM\_017763\_1

## 【0188】

(11) STEAP2 (HGNC\_8639、IPCA-1、PCANAP1、STAM P1、STEAP2、STMP、前立腺癌関連遺伝子1、前立腺癌関連タンパク質1、前立腺2の6回膜貫通上皮抗原、6回膜貫通前立腺タンパク質、Genbank アクセシション番号 AF455138); Lab. Invest. 82(11): 1573-1582 (2002); WO 2003/087306; US 2003/064397 (Claim1; Fig1); WO 2002/72596 (Claim13; Page 54-55); WO 2001/72962 (Claim1; Fig4B); WO 2003/104270 (Claim16); US 2004/005598 (Claim22); WO 2003/042661 (Claim12); US 2003/060612 (Claim12; Fig10); WO 2002/26822 (Claim23; Fig2); WO 2002/16429 (Claim12; Fig10); Cross-references: GI: 22655488; AAN04080.1; AF455138\_1

## 【0189】

(12) TrpM4 (BR22450、FLJ20041、TRPM4、TRPM4B、一過性受容体電位カチオンチャネル、サブファミリーM、メンバー4、Genbankアクセッション番号NM\_017636) ; Xu, X. Z., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98 (19) : 10692 - 10697 (2001), Cell 109 (3) : 397 - 407 (2002), J. Biol. Chem. 278 (33) : 30813 - 30820 (2003) ; US2003/143557 (Claim4) ; WO2000/40614 (Claim14 ; Page 100 - 103) ; WO2002/10382 (Claim1 ; Fig 9A) ; WO2003/042661 (Claim12) ; WO2002/30268 (Claim27 ; Page 391) ; US2003/219806 (Claim4) ; WO2001/62794 (Claim14 ; Fig 1A - D) ; Cross-references : MIM : 606936 ; NP\_060106.2 ; NM\_017636\_1

## 【0190】

(13) CRIPTO (CR、CR1、CRGF、CRIPTO、TDGF1、奇形癌腫由来成長因子、Genbankアクセッション番号NP\_003203又はNM\_003212) ; Ciccodicola, A., et al EMBO J. 8 (7) : 1987 - 1991 (1989), Am. J. Hum. Genet. 49 (3) : 555 - 565 (1991) ; US2003/224411 (Claim1) ; WO2003/083041 (Example 1) ; WO2003/034984 (Claim12) ; WO2002/88170 (Claim2 ; Page 52 - 53) ; WO2003/024392 (Claim2 ; Fig 58) ; WO2002/16413 (Claim1 ; Page 94 - 95, 105) ; WO2002/22808 (Claim2 ; Fig 1) ; US5854399 (Example 2 ; Col 17 - 18) ; US5792616 (Fig 2) ; Cross-references : MIM : 187395 ; NP\_003203.1 ; NM\_003212\_1

## 【0191】

(14) CD21 (CR2 (補体受容体2) 又はCDR (C3d / エプスタインバーウイルス受容体) 又はHs.73792 Genbankアクセッション番号M26004) ; Fujisaku et al (1989) J. Biol. Chem. 264 (4) : 2118 - 2125) ; Weis J. J., et al J. Exp. Med. 167, 1047 - 1066, 1988 ; Moore M., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 84, 9194 - 9198, 1987 ; Barel M., et al Mol. Immunol. 35, 1025 - 1031, 1998 ; Weis J. J., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 83, 5639 - 5643, 1986 ; Sinha S. K., et al (1993) J. Immunol. 150, 5311 - 5320 ; WO2004/045520 (Example 4) ; US2004/005538 (Example 1) ; WO2003/062401 (Claim9) ; WO2004/045520 (Example 4) ; WO91/02536 (Fig 9.1 - 9.9) ; WO2004/020595 (Claim1) ; Accession : P20023 ; Q13866 ; Q14212 ; EMBL ; M26004 ; AAA35786.1.

## 【0192】

(15) CD79b (CD79B、CD79、IGb (免疫グロブリン関連ベータ) 、B29、Genbankアクセッション番号NM\_000626又は11038674) ; Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. (2003) 100 (7) : 4126 - 4131, Blood (2002) 100 (9) : 3068 - 3076, Muller et al (1992) Eur. J. Immunol. 22 (6) : 1621 - 1625) ; WO2004/016225 (Claim2, Fig 140) ; WO2003/087768, US2004/101874 (Claim1, Page 102) ; W

10

20

30

40

50

02003/062401 (Claim 9) ; WO 2002/78524 (Example 2) ; US 2002/150573 (Claim 5, Page 15) ; US 5644033 ; WO 2003/048202 (Claim 1, pages 306 and 309) ; WO 99/58658, US 6534482 (Claim 13, Fig 17A/B) ; WO 2000/55351 (Claim 11, pages 1145-1146) ; Cross-references : MIM : 147245 ; NP\_000617.1 ; NM\_000626\_1

【0193】

(16) FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (SH2ドメイン含有ホスファターゼアンカータンパク質1a)、SPAP1B、SPAP1C、Genbank アクセション番号 NM\_030764, AY358130) ; Genome Res. 13 (10) : 2265-2270 (2003), Immunogenetics 54 (2) : 87-95 (2002), Blood 99 (8) : 2662-2669 (2002), Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98 (17) : 9772-9777 (2001), Xu, M. J., et al (2001) Biochem. Biophys. Res. Commun. 280 (3) : 768-775 ; WO 2004/016225 (Claim 2) ; WO 2003/077836 ; WO 2001/38490 (Claim 5 ; Fig 18D-1-18D-2) ; WO 2003/097803 (Claim 12) ; WO 2003/089624 (Claim 25) ; Cross-references : MIM : 606509 ; NP\_110391.2 ; NM\_030764\_1

【0194】

(17) HER2 (erbB2, Genbank アクセション番号 M11730) ; Coussens L., et al Science (1985) 230 (4730) : 1132-1139) ; Yamamoto T., et al Nature 319, 230-234, 1986 ; Sembra K., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 82, 6497-6501, 1985 ; Swiercz J. M., et al J. Cell Biol. 165, 869-880, 2004 ; Kuhns J. J., et al J. Biol. Chem. 274, 36422-36427, 1999 ; Cho H.-S., et al Nature 421, 756-760, 2003 ; Ehsani A., et al (1993) Genomics 15, 426-429 ; WO 2004/048938 (Example 2) ; WO 2004/027049 (Fig 1I) ; WO 2004/009622 ; WO 2003/081210 ; WO 2003/089904 (Claim 9) ; WO 2003/016475 (Claim 1) ; US 2003/118592 ; WO 2003/008537 (Claim 1) ; WO 2003/055439 (Claim 29 ; Fig 1A-B) ; WO 2003/025228 (Claim 37 ; Fig 5C) ; WO 2002/22636 (Example 13 ; Page 95-107) ; WO 2002/12341 (Claim 68 ; Fig 7) ; WO 2002/13847 (Page 71-74) ; WO 2002/14503 (Page 114-117) ; WO 2001/53463 (Claim 2 ; Page 41-46) ; WO 2001/41787 (Page 15) ; WO 2000/44899 (Claim 52 ; Fig 7) ; WO 2000/20579 (Claim 3 ; Fig 2) ; US 5869445 (Claim 3 ; Col 31-38) ; WO 9630514 (Claim 2 ; Page 56-61) ; EP 1439393 (Claim 7) ; WO 2004/043361 (Claim 7) ; WO 2004/022709 ; WO 2001/00244 (Example 3 ; Fig 4) ; Accession : P04626 ; EMBL ; M11767 ; AAA35808.1. EMBL ; M11761 ; AAA35808.1. ある実施形態において、本発明のコンジュゲート化合物は、抗HER2抗体を含む。本発明の一実施形態において、本発明のADCの抗HER2抗体は、ヒト化抗HER2抗体、例えば US 5821337 の表 3 に記載されているように、humAb4D5-1、hu

MAb4D5-2、hMaB4D5-3、hMaB4D5-4、hMaB4D5-5、hMaB4D5-6、hMaB4D5-7及びhMaB4D5-8を含む。これらの抗体は、ヒトフレームワーク領域を、HER2に結合するマウス抗体(4D5)の相補性決定領域と共に含有する。ヒト化抗体hMaB4D5-8は、商品名ハーセブチンで市販されている、トラスツズマブとも呼ばれる。本発明の別の実施形態において、本発明のADCの抗HER2抗体は、ヒト化抗HER2抗体、例えば米国特許第7862817号に記載されているヒト化2C4を含む。ヒト化2C4抗体の例は、商品名パージェタで市販されているペルツズマブである。

## 【0195】

(18) NCA (CEACAM6、Genbank アクセッション番号 M18728) ;  
 Barnett T., et al Genomics 3, 59-66, 1988; Tawaragi Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 150, 89-96, 1988; Strausberg R. L., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99: 16899-16903, 2002; WO 2004/063709; EP 1439393 (Claim 7); WO 2004/044178 (Example 4); WO 2004/031238; WO 2003/042661 (Claim 12); WO 2002/78524 (Example 2); WO 2002/86443 (Claim 27; Page 427); WO 2002/60317 (Claim 2); Accession: P40199; Q14920; EMBL; M29541; AAA59915.1. EMBL; M18728

10

## 【0196】

(19) MDP (DPEP1、Genbank アクセッション番号 BC017023) ;  
 Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99(26): 16899-16903 (2002); WO 2003/016475 (Claim 1); WO 2002/64798 (Claim 33; Page 85-87); JP 05003790 (Fig 6-8); WO 99/46284 (Fig 9); Cross-references: MIM: 179780; AAH17023.1; BC017023\_1

20

## 【0197】

(20) IL20R (IL20Ra、ZCYTOR7、Genbank アクセッション番号 AF184971) ; Clark H. F., et al Genome Res. 13, 2265-2270, 2003; Mungall A. J., et al Nature 425, 805-811, 2003; Blumberg H., et al Cell 104, 9-19, 2001; Dumoutier L., et al J. Immunol. 167, 3545-3549, 2001; Parrish-Novak J., et al J. Biol. Chem. 277, 47517-47523, 2002; Pletnev S., et al (2003) Biochemistry 42: 12617-12624; Sheikh F., et al (2004) J. Immunol. 172, 2006-2010; EP 1394274 (Example 11); US 2004/005320 (Example 5); WO 2003/029262 (Page 74-75); WO 2003/002717 (Claim 2; Page 63); WO 2002/22153 (Page 45-47); US 2002/042366 (Page 20-21); WO 2001/46261 (Page 57-59); WO 2001/46232 (Page 63-65); WO 98/37193 (Claim 1; Page 55-59); Accession: Q9UHF4; Q6UWA9; Q96SH8; EMBL; AF184971; AAF01320.1.

30

40

## 【0198】

(21) ブレビカン (BCAN、BEHAB、Genbank アクセッション番号 AF229053) ; Gary S. C., et al Gene 256, 139-147, 2000; Clark H. F., et al Genome Res. 13, 2265-2270, 2003; Strausberg R. L., et al Proc. Na

50

t 1 . A c a d . S c i . U . S . A . 9 9 , 1 6 8 9 9 - 1 6 9 0 3 , 2 0 0 2 ; U S  
2 0 0 3 / 1 8 6 3 7 2 ( C l a i m 1 1 ) ; U S 2 0 0 3 / 1 8 6 3 7 3 ( C l a i m  
1 1 ) ; U S 2 0 0 3 / 1 1 9 1 3 1 ( C l a i m 1 ; F i g 5 2 ) ; U S 2 0 0 3 / 1  
1 9 1 2 2 ( C l a i m 1 ; F i g 5 2 ) ; U S 2 0 0 3 / 1 1 9 1 2 6 ( C l a i m 1  
) ; U S 2 0 0 3 / 1 1 9 1 2 1 ( C l a i m 1 ; F i g 5 2 ) ; U S 2 0 0 3 / 1 1 9  
1 2 9 ( C l a i m 1 ) ; U S 2 0 0 3 / 1 1 9 1 3 0 ( C l a i m 1 ) ; U S 2 0 0 3  
/ 1 1 9 1 2 8 ( C l a i m 1 ; F i g 5 2 ) ; U S 2 0 0 3 / 1 1 9 1 2 5 ( C l a i  
m 1 ) ; W O 2 0 0 3 / 0 1 6 4 7 5 ( C l a i m 1 ) ; W O 2 0 0 2 / 0 2 6 3 4 ( C  
l a i m 1 )

## 【 0 1 9 9 】

( 2 2 ) E p h B 2 R ( D R T 、 E R K 、 H e k 5 、 E P H T 3 、 T y r o 5 、 G e n b  
a n k アクセッショ n 番号 N M \_ 0 0 4 4 4 2 ) ; C h a n , J . a n d W a t t , V  
. M . , O n c o g e n e 6 ( 6 ) , 1 0 5 7 - 1 0 6 1 ( 1 9 9 1 ) O n c o g e n e  
1 0 ( 5 ) : 8 9 7 - 9 0 5 ( 1 9 9 5 ) , A n n u . R e v . N e u r o s c i .  
2 1 : 3 0 9 - 3 4 5 ( 1 9 9 8 ) , I n t . R e v . C y t o l . 1 9 6 : 1 7 7 - 2  
4 4 ( 2 0 0 0 ) ) ; W O 2 0 0 3 0 4 2 6 6 1 ( C l a i m 1 2 ) ; W O 2 0 0 0 5 3  
2 1 6 ( C l a i m 1 ; P a g e 4 1 ) ; W O 2 0 0 4 0 6 5 5 7 6 ( C l a i m 1 ) ;  
W O 2 0 0 4 0 2 0 5 8 3 ( C l a i m 9 ) ; W O 2 0 0 3 0 0 4 5 2 9 ( P a g e 1 2  
8 - 1 3 2 ) ; W O 2 0 0 0 5 3 2 1 6 ( C l a i m 1 ; P a g e 4 2 ) ; C r o s s -  
r e f e r e n c e s : M I M : 6 0 0 9 9 7 ; N P \_ 0 0 4 4 3 3 . 2 ; N M \_ 0 0 4  
4 4 2 \_ 1

## 【 0 2 0 0 】

( 2 3 ) A S L G 6 5 9 ( B 7 h 、 G e n b a n k アクセッショ n 番号 A X 0 9 2 3 2 8  
) ; U S 2 0 0 4 / 0 1 0 1 8 9 9 ( C l a i m 2 ) ; W O 2 0 0 3 1 0 4 3 9 9 ( C l  
a i m 1 1 ) ; W O 2 0 0 4 0 0 0 2 2 1 ( F i g 3 ) ; U S 2 0 0 3 / 1 6 5 5 0 4 ( C l  
a i m 1 ) ; U S 2 0 0 3 / 1 2 4 1 4 0 ( E x a m p l e 2 ) ; U S 2 0 0 3 / 0  
6 5 1 4 3 ( F i g 6 0 ) ; W O 2 0 0 2 / 1 0 2 2 3 5 ( C l a i m 1 3 ; P a g e 2  
9 9 ) ; U S 2 0 0 3 / 0 9 1 5 8 0 ( E x a m p l e 2 ) ; W O 2 0 0 2 / 1 0 1 8 7  
( C l a i m 6 ; F i g 1 0 ) ; W O 2 0 0 1 / 9 4 6 4 1 ( C l a i m 1 2 ; F i g 7  
b ) ; W O 2 0 0 2 / 0 2 6 2 4 ( C l a i m 1 3 ; F i g 1 A - 1 B ) ; U S 2 0 0 2  
/ 0 3 4 7 4 9 ( C l a i m 5 4 ; P a g e 4 5 - 4 6 ) ; W O 2 0 0 2 / 0 6 3 1 7 ( E x a  
m p l e 2 ; P a g e 3 2 0 - 3 2 1 , C l a i m 3 4 ; P a g e 3 2 1 - 3 2 2  
) ; W O 2 0 0 2 / 7 1 9 2 8 ( P a g e 4 6 8 - 4 6 9 ) ; W O 2 0 0 2 / 0 2 5 8 7  
( E x a m p l e 1 ; F i g 1 ) ; W O 2 0 0 1 / 4 0 2 6 9 ( E x a m p l e 3 ; P a  
g e s 1 9 0 - 1 9 2 ) ; W O 2 0 0 0 / 3 6 1 0 7 ( E x a m p l e 2 ; P a g e 2 0  
5 - 2 0 7 ) ; W O 2 0 0 4 / 0 5 3 0 7 9 ( C l a i m 1 2 ) ; W O 2 0 0 3 / 0 0 4  
9 8 9 ( C l a i m 1 ) ; W O 2 0 0 2 / 7 1 9 2 8 ( P a g e 2 3 3 - 2 3 4 , 4 5 2  
- 4 5 3 ) ; W O 0 1 / 1 6 3 1 8

## 【 0 2 0 1 】

( 2 4 ) P S C A ( 前立腺幹細胞抗原前駆体、 G e n b a n k アクセッショ n 番号 A J 2  
9 7 4 3 6 ) ; R e i t e r R . E . , e t a l P r o c . N a t l . A c a d .  
S c i . U . S . A . 9 5 , 1 7 3 5 - 1 7 4 0 , 1 9 9 8 ; G u Z . , e t a l  
O n c o g e n e 1 9 , 1 2 8 8 - 1 2 9 6 , 2 0 0 0 ; B i o c h e m . B i o p h  
y s . R e s . C o m m u n . ( 2 0 0 0 ) 2 7 5 ( 3 ) : 7 8 3 - 7 8 8 ; W O 2 0 0  
4 / 0 2 2 7 0 9 ; E P 1 3 9 4 2 7 4 ( E x a m p l e 1 1 ) ; U S 2 0 0 4 / 0 1 8  
5 5 3 ( C l a i m 1 7 ) ; W O 2 0 0 3 / 0 0 8 5 3 7 ( C l a i m 1 ) ; W O 2 0 0  
2 / 8 1 6 4 6 ( C l a i m 1 ; P a g e 1 6 4 ) ; W O 2 0 0 3 / 0 0 3 9 0 6 ( C l  
a i m 1 0 ; P a g e 2 8 8 ) ; W O 2 0 0 1 / 4 0 3 0 9 ( E x a m p l e 1 ; F i g  
1 7 ) ; U S 2 0 0 1 / 0 5 5 7 5 1 ( E x a m p l e 1 ; F i g 1 b ) ; W O 2 0 0 0  
/ 3 2 7 5 2 ( C l a i m 1 8 ; F i g 1 ) ; W O 9 8 / 5 1 8 0 5 ( C l a i m 1 7 ;

10

20

30

40

50

Page 97) ; WO 98/51824 (Claim 10 ; Page 94) ; WO 98/40403 (Claim 2 ; Fig 1B) ; Accession : 043653 ; EMBL ; AF 043498 ; AAC 39607.1

【0202】

(25) GEDA (Genbank アクセッション番号 AY260763) ; AAP14954 脂肪腫HMGIC融合パートナー様タンパク質 / pid = AAP14954.1 - ホモサピエンス (ヒト) ; WO 2003/054152 (Claim 20) ; WO 2003/000842 (Claim 1) ; WO 2003/023013 (Example 3, Claim 20) ; US 2003/194704 (Claim 45) ; Cross-references : GI : 30102449 ; AAP14954.1 ; AY260763 10  
—1

(26) BAFF - R (B細胞活性化因子受容体、BLyS受容体3、BR3、Genbank アクセッション番号 AF116456) ; BAFF receptor / pid = NP\_443177.1 - Homo sapiens : Thompson, J. S. , et al Science 293(5537) , 2108 - 2111 (2001) ; WO 2004/058309 ; WO 2004/011611 ; WO 2003/045422 (Example ; Page 32 - 33) ; WO 2003/014294 (Claim 35 ; Fig 6B) ; WO 2003/035846 (Claim 70 ; Page 615 - 616) ; WO 2002/94852 (Col 136 - 137) ; WO 2002/38766 (Claim 3 ; Page 133) ; WO 2002/24909 (Example 3 ; Fig 3) ; Cross-references : MIM : 606269 ; NP\_443177.1 ; NM\_052945\_1 ; AF132600 20

【0203】

(27) CD22 (B細胞受容体 CD22 - Bアイソフォーム、BL - CAM、Lyb-8、Lyb8、SIGLEC-2、FLJ22814、Genbank アクセッション番号 AK026467) ; Wilson et al (1991) J. Exp. Med. 173 : 137 - 146 ; WO 2003/072036 (Claim 1 ; Fig 1) ; Cross-references : MIM : 107266 ; NP\_001762.1 ; NM\_001771\_1. 30

【0204】

(28) CD79a (CD79A、CD79 、免疫グロブリン関連アルファ、Igベータ (CD79B) と共有結合的に相互作用して、表面で IgM 分子と共に複合体を形成し、B細胞分化に関するシグナルを変換する、B細胞特異的タンパク質)、pI : 4.84、MW : 25028 TM : 2 [P] 遺伝子染色体 : 19q13.2、Genbank アクセッション番号 NP\_001774.10) ; WO 2003/088808 , US 2003/0228319 ; WO 2003/062401 (Claim 9) ; US 2002/150573 (Claim 4, pages 13 - 14) ; WO 99/58658 (Claim 13, Fig 16) ; WO 92/07574 (Fig 1) ; US 5644033 ; Ha et al (1992) J. Immunol. 148(5) : 1526 - 1531 ; Muller et al (1992) Eur. J. Immunol. 22 : 1621 - 1625 ; Hashimoto et al (1994) Immunogenetics 40(4) : 287 - 295 ; Preud'homme et al (1992) Clin. Exp. Immunol. 90(1) : 141 - 146 ; Yu et al (1992) J. Immunol. 148(2) 633 - 637 ; Sakaguchi et al (1988) EMBO J. 7(11) : 3457 - 3464 40

【0205】

(29) CXCR5 (バーキットリンパ腫受容体 1、CXCL13 ケモカインによって活性化され、リンパ球の移動及び体液性防御において機能し、HIV-2 感染及びおそらく AIDS、リンパ腫、骨髄腫及び白血病の発症で役割を果たす、Gタンパク質共役受容体) ; 372aa、pI : 8.54 MW : 41959 TM : 7 [P] 遺伝子染色体 : 1 50

1 q 2 3 . 3 、 Genbank アクセッショ n 番号 NP\_001707 . 1 ) ; WO 2 0  
 0 4 / 0 4 0 0 0 0 ; WO 2 0 0 4 / 0 1 5 4 2 6 ; US 2 0 0 3 / 1 0 5 2 9 2 ( Ex  
 ample 2 ) ; US 6 5 5 5 3 3 9 ( Example 2 ) ; WO 2 0 0 2 / 6 1 0 8 7  
 ( Fig 1 ) ; WO 2 0 0 1 / 5 7 1 8 8 ( Claim 20 , Page 269 ) ; WO 2  
 0 0 1 / 7 2 8 3 0 ( pages 12 - 13 ) ; WO 2 0 0 0 / 2 2 1 2 9 ( Example  
 1 , pages 152 - 153 , Example 2 , pages 254 - 256 ) ;  
 WO 9 9 / 2 8 4 6 8 ( Claim 1 , Page 38 ) ; US 5 4 4 0 0 2 1 ( Example  
 2 , col 49 - 52 ) ; WO 9 4 / 2 8 9 3 1 ( pages 56 - 58 ) ; WO  
 9 2 / 1 7 4 9 7 ( Claim 7 , Fig 5 ) ; Dobner et al ( 1 9 9 2 )  
 Eur . J . Immunol . 2 2 : 2 7 9 5 - 2 7 9 9 ; Barella et al 10  
 ( 1 9 9 5 ) Biochem . J . 3 0 9 : 7 7 3 - 7 7 9

## 【 0 2 0 6 】

( 3 0 ) H L A - D O B ( ペプチドを結合して、それらを C D 4 + T リンパ球に提示する  
 M H C クラス II 分子 ( I a 抗原 ) のベータサブユニット ) ; 2 7 3 a a 、 p I : 6 . 5  
 6 、 M W : 3 0 8 2 0 . T M : 1 [ P ] 遺伝子染色体 : 6 p 2 1 . 3 、 Genbank ア  
 クセッショ n 番号 NP\_002111 . 1 ) ; Tonne lle et al ( 1 9 8 5 )  
 EMBO J . 4 ( 1 1 ) : 2 8 3 9 - 2 8 4 7 ; Jonsson et al ( 1 9  
 8 9 ) Immunogenetics 2 9 ( 6 ) : 4 1 1 - 4 1 3 ; Beck et  
 al ( 1 9 9 2 ) J . Mol . Biol . 2 2 8 : 4 3 3 - 4 4 1 ; Strausberg  
 et al ( 2 0 0 2 ) Proc . Natl . Acad . Sci USA 9 9 : 1 20  
 6 8 9 9 - 1 6 9 0 3 ; Servenius et al ( 1 9 8 7 ) J . Biol . Ch  
 em . 2 6 2 : 8 7 5 9 - 8 7 6 6 ; Beck et al ( 1 9 9 6 ) J . Mol . B  
 iol . 2 5 5 : 1 - 1 3 ; Naruse et al ( 2 0 0 2 ) Tissue Ant  
 igens 5 9 : 5 1 2 - 5 1 9 ; WO 9 9 / 5 8 6 5 8 ( Claim 13 , Fig  
 1 5 ) ; US 6 1 5 3 4 0 8 ( col 35 - 38 ) ; US 5 9 7 6 5 5 1 ( col 1  
 6 8 - 1 7 0 ) ; US 6 0 1 1 1 4 6 ( col 1 4 5 - 1 4 6 ) ; Kasahara  
 et al ( 1 9 8 9 ) Immunogenetics 3 0 ( 1 ) : 6 6 - 6 8 ; La  
 rhammar et al ( 1 9 8 5 ) J . Biol . Chem . 2 6 0 ( 2 6 ) : 1  
 4 1 1 1 - 1 4 1 1 9

## 【 0 2 0 7 】

( 3 1 ) P 2 X 5 ( 細胞外 A T P によって開閉されるイオンチャネルである、プリン受容  
 体 P 2 X リガンド開口型イオンチャネル 5 は、シナプス伝達及びニューロン新生に関与す  
 ることがあり、欠乏すると、特発性排尿筋不安定の病態の一因となることがある ) ; 4 2  
 2 a a ) 、 p I : 7 . 6 3 、 M W : 4 7 2 0 6 T M : 1 [ P ] 遺伝子染色体 : 1 7 p 1  
 3 . 3 、 Genbank アクセッショ n 番号 NP\_002552 . 2 ) ; Le et a  
 1 ( 1 9 9 7 ) FEBS Lett . 4 1 8 ( 1 - 2 ) : 1 9 5 - 1 9 9 ; WO 2 0 0 4  
 / 0 4 7 7 4 9 ; WO 2 0 0 3 / 0 7 2 0 3 5 ( Claim 10 ) ; Touchman  
 et al ( 2 0 0 0 ) Genome Res . 1 0 : 1 6 5 - 1 7 3 ; WO 2 0 0 2 /  
 2 2 6 6 0 ( Claim 20 ) ; WO 2 0 0 3 / 0 9 3 4 4 4 ( Claim 1 ) ; WO 2  
 0 0 3 / 0 8 7 7 6 8 ( Claim 1 ) ; WO 2 0 0 3 / 0 2 9 2 7 7 ( Page 8 2 ) 40  
 ( 3 2 ) C D 7 2 ( B 細胞分化抗原 C D 7 2 、 L y b - 2 ) ; 3 5 9 a a 、 p I : 8 . 6  
 6 , M W : 4 0 2 2 5 、 T M : 1 [ P ] 遺伝子染色体 : 9 p 1 3 . 3 、 Genbank ア  
 クセッショ n 番号 NP\_001773 . 1 ) ; WO 2 0 0 4 0 4 2 3 4 6 ( Claim 6  
 5 ) ; WO 2 0 0 3 / 0 2 6 4 9 3 ( pages 51 - 52 , 57 - 58 ) ; WO 2 0 0  
 0 / 7 5 6 5 5 ( pages 1 0 5 - 1 0 6 ) ; Von Hoegen et al ( 1  
 9 9 0 ) J . Immunol . 1 4 4 ( 1 2 ) : 4 8 7 0 - 4 8 7 7 ; Strausbe  
 rg et al ( 2 0 0 2 ) Proc . Natl . Acad . Sci USA 9 9 :  
 1 6 8 9 9 - 1 6 9 0 3 .

## 【 0 2 0 8 】

( 3 3 ) L Y 6 4 ( ロイシンリッチリピート ( L R R ) ファミリーの I 型膜タンパク質で 50

ある、リンパ球抗原 64 ( R P 105 ) は、B 細胞活性化及びアポトーシスを調節し、機能の損失は全身性紅斑性狼瘡患者における疾患活動性の上昇に関連している ) ; 661a  
a、p I : 6.20、MW : 74147 TM : 1 [ P ] 遺伝子染色体 : 5q12、Genbank アクセッション番号 NP\_005573.1 ) ; US2002/193567 ; WO97/07198 ( Claim 11, pages 39-42 ) ; Miura et al ( 1996 ) Genomics 38 ( 3 ) : 299-304 ; Miura et al ( 1998 ) Blood 92 : 2815-2822 ; WO2003/083047 ; WO97/44452 ( Claim 8, pages 57-61 ) ; WO2000/12130 ( pages 24-26 )

## 【 0209 】

10

( 34 ) FcRH1 ( C2型 Ig 様ドメイン及び ITAM ドメインを含有する免疫グロブリン Fc ドメインに対する推定受容体である、Fc 受容体様タンパク質 1 は、B リンパ球分化で役割を有することがある ) ; 429aa、p I : 5.28、MW : 46925 TM : 1 [ P ] 遺伝子染色体 : 1q21-1q22、Genbank アクセッション番号 NP\_443170.1 ) ; WO2003/077836 ; WO2001/38490 ( Claim 6, Fig 18E-1-18-E-2 ) ; Davis et al ( 2001 ) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98 ( 17 ) : 9772-9777 ; WO2003/089624 ( Claim 8 ) ; EP1347046 ( Claim 1 ) ; WO2003/089624 ( Claim 7 )

## 【 0210 】

20

( 35 ) IRTA2 ( B 細胞発生及びリンパ腫発生で考えられる役割を有する推定免疫受容体である、免疫グロブリンスーパーファミリー受容体転座関連 2 ; 転座による遺伝子の調節解除は、一部の B 細胞悪性腫瘍において生じる ) ; 977aa、p I : 6.88、MW : 106468、TM : 1 [ P ] 遺伝子染色体 : 1q21、Genbank アクセッション番号ヒト : AF343662, AF343663, AF343664, AF343665, AF369794, AF397453, AK090423, AK090475, AL834187, AY358085 ; Mouse : AK089756, AY158090, AY506558 ; NP\_112571.1 ; WO2003/024392 ( Claim 2, Fig 97 ) ; Nakayama et al ( 2000 ) Biochem. Biophys. Res. Commun. 277 ( 1 ) : 124-127 ; WO2003/077836 ; WO2001/38490 ( Claim 3, Fig 18B-1-18B-2 )

30

## 【 0211 】

( 36 ) TENB2 ( TM EFF2 、トモレグリン、TPEF 、HPP1 、TR 、推定膜貫通プロテオグリカン、成長因子及びフォリスタチンの EGF / ヘレグリンファミリー関連 ) ; 374aa、NCBI アクセッション : AAD55776, AAF91397, AG49451, NCBI RefSeq : NP\_057276 ; NCBI Gene : 23671 ; OMIM : 605734 ; SwissProt Q9UIK5 ; Genbank accession No. AF179274 ; AY358907, CAF85723, CQ782436 ; WO2004/074320 ; JP2004113151 ; WO2003/042661 ; WO2003/009814 ; EP1295944 ( pages 69-70 ) ; WO2002/30268 ( Page 329 ) ; WO2001/90304 ; US2004/249130 ; US2004/022727 ; WO2004/063355 ; US2004/197325 ; US2003/232350 ; US2004/005563 ; US2003/124579 ; Horie et al ( 2000 ) Genomics 67 : 146-152 ; Uchida et al ( 1999 ) Biochem. Biophys. Res. Commun. 266 : 593-602 ; Liang et al ( 2000 ) Cancer Res. 60 : 4907-12 ; Glynn et al ( 2001 ) Int. J. Cancer. Oct 15 ; 94 ( 2 ) : 178-84 .

40

50

## 【0212】

(37) CD33 (CD33分子、S I G L E C - 3、S I G L E C 3、p 67; CD33抗原(g p 67); g p 67; 骨髓細胞表面抗原CD33; シアル酸結合Ig様レクチン3; シアル酸結合Ig様レクチン); スクレオチド: Genbankアクセッション番号M\_23197; Genbankバージョン番号NM\_23197.1 GI:180097; Genbank record update date: Jun 23, 2010 08:47 AM; ポリペプチド: Genbankアクセッション番号AAA51948; Genbankバージョン番号AAA51948.1 GI:188098; Genbank record update date: Jun 23, 2010 08:47 AM; Simmons D., et al J. Immunol. 141(8), 2797-2800 (1988); Antibodies: H195 (Lintuzumab) - Raza A., et al Leuk Lymphoma. 2009 Aug; 50(8): 1336-44; US6,759,045 (Seattle Genetics/Immunomedics); mAb OKT9: Sutherland, D. R. et al. Proc Natl Acad Sci USA 78(7): 4515-4519 1981, Schneider, C., et al J Biol Chem 257, 8516-8522 (1982); mAb E6: Hoogenboom, H. R., et al J Immunol 144, 3211-3217 (1990); US6,590,088 (Human Genome Sciences) - 例えれば配列番号1及び2並びにATCCアクセッション番号97521; 米国特許第7,557,189号(ImmunoGen) 例えれば、抗体又は配列番号1-3のアミノ酸配列を有する3個のCDRを含む重鎖可変領域及び配列番号4-6のアミノ酸配列を有する3個のCDRを含む軽鎖可変領域を含むその断片。  
10

## 【0213】

(38) LGR5 / GPR49; スクレオチド: Genbankアクセッション番号NM\_003667; Genbankバージョン番号NM\_003667.2 GI:24475886; Genbank record update date: Jul 22, 2012 03:38 PM; ポリペプチド: Genbankアクセッション番号NP\_003658; Genbankバージョン番号NP\_003658.1 GI:4504379; Genbank record update date: Jul 22, 2012 03:38 PM.  
20

## 【0214】

親抗体は、アルブミン結合ペプチド(ABP)配列を含む融合タンパク質であってよい(Dennis et al. (2002)「Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins」J Biol Chem. 277: 35035-35043; 国際公開第01/45746号)。本発明の抗体には、(i) Dennis et al (2002) J Biol Chem. 277: 35035-35043、35038頁、表III及びIV; (ii) 米国特許出願第2004/0001827号、[0076]; 並びに(iii) 国際公開第01/45746号、12-13頁によって教示されているABP配列を有する融合タンパク質が含まれ、これらの全ては参照により本明細書に組み入れられている。  
40

## 【0215】

一実施形態において、抗体は、腫瘍関連抗原 $\nu_6$ を特異的に標的とするように產生された。

## 【0216】

細胞結合因子は、コンジュゲート又はコンジュゲートの一部のどちらかとして含まれる前に、例えは該因子の検出又は精製を補助するために標識されてよい。標識はビオチン標識であってよい。別の実施形態において、細胞結合因子は、放射性同位体で標識してよい。

## 【0217】

## 置換基

「任意に（所望により）置換された」という句は、本明細書で使用する場合、非置換であってよい又は置換されていてよい親基に関する。

別途規定しない限り、「置換された」という用語は、本明細書で使用する場合、1個以上の置換基を有する親基に関する。「置換基」という用語は、本明細書において従来の意味で使用され、共有結合されているか又は適切な場合には親基に縮合されている化学的部分を示す。多種多様な置換基が周知であり、それらの形成及び様々な親基への導入のための方法も周知である。

## 【0218】

10

好ましい実施形態において、本明細書に記載する置換基（任意の置換基を含む）は、細胞結合因子に対して反応性でない基に限定される。本事例における細胞結合因子への連結は、2個のPBD部分の間の架橋からリンカー基を通じて細胞結合因子まで形成される。PBD構造の他の部分に位置する反応性官能基は、細胞結合因子への追加の結合（これは架橋と呼んでもよい）を形成することができる場合がある。これらの追加の結合は、コンジュゲートの輸送及び生物活性を変更することができる。いくつかの実施形態において、追加の置換基は、反応性官能性がないものに限定される。

## 【0219】

一実施形態において、置換基は、R、OR、SR、NRR'、NO<sub>2</sub>、ハロ、CO<sub>2</sub>R、COR、CONH<sub>2</sub>、CONHR及びCONRR'からなる群から選択される。

20

一実施形態において、置換基は、R、OR、SR、NRR'、NO<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub>R、COR、CONH<sub>2</sub>、CONHR及びCONRR'からなる群から選択される。

一実施形態において、置換基は、R、OR、SR、NRR'、NO<sub>2</sub>及びハロからなる群から選択される。

一実施形態において、置換基は、R、OR、SR、NRR'及びNO<sub>2</sub>からなる群から選択される。

## 【0220】

上述した実施形態のいずれか1つを、本明細書に記載する置換基のいずれか1つに適用してよい。又は、置換基は、下に挙げる基1つ以上から選択してよい。

## 【0221】

30

置換基の例を以下でより詳細に説明する。

C<sub>1-12</sub>アルキル：「C<sub>1-12</sub>アルキル」という用語は、本明細書で使用される場合、脂肪族又は脂環式であってよく、飽和又は不飽和であってよい（例えば部分的不飽和、完全不飽和）1個から12個の炭素原子を有する炭化水素化合物の炭素原子から水素原子を除去することによって得られる一価の部分に関する。このため、「アルキル」という用語は、下で論じるサブクラスのアルケニル、アルキニル、シクロアルキルなどを含む。

飽和アルキル基の例としては、メチル(C<sub>1</sub>)、エチル(C<sub>2</sub>)、プロピル(C<sub>3</sub>)、ブチル(C<sub>4</sub>)、ペンチル(C<sub>5</sub>)、ヘキシル(C<sub>6</sub>)及びヘプチル(C<sub>7</sub>)が挙げられるが、これに限定されない。

## 【0222】

40

飽和直鎖アルキル基の例としては、メチル(C<sub>1</sub>)、エチル(C<sub>2</sub>)、N-プロピル(C<sub>3</sub>)、N-ブチル(C<sub>4</sub>)、N-ペンチル(アミル)(C<sub>5</sub>)、N-ヘキシル(C<sub>6</sub>)及びn-ヘプチル(C<sub>7</sub>)が挙げられるが、これに限定されない。

飽和分枝アルキル基の例としては、イソプロピル(C<sub>3</sub>)、イソブチル(C<sub>4</sub>)、sec-ブチル(C<sub>4</sub>)、tert-ブチル(C<sub>4</sub>)、イソペンチル(C<sub>5</sub>)及びネオペンチル(C<sub>5</sub>)が挙げられるが、これに限定されない。

アルキル基は、O、N(H)及びSから選択される1個以上のヘテロ原子によって任意に（所望により）割り込まれてよい。このような基は、「ヘテロアルキル」と呼んでよい。

## 【0223】

50

$C_{2-12}$ ヘテロアルキル：「 $C_{2-12}$ ヘテロアルキル」という用語は、本明細書で使用する場合、2個から12個の炭素原子並びにO、N(H)及びS、好ましくはO及びSから選択される1個以上のヘテロ原子を有する炭化水素化合物の炭素原子から水素原子を除去することによって得られる1価部分に関する。

ヘテロアルキル基の例としては、- (OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>) - 型の1個以上のエチレングリコール単位を含むものが挙げられるが、これに限定されない。ヘテロアルキル基の末端は、ヘテロ原子の主な形態、例えば-OH、-SH又は-NH<sub>2</sub>であつてよい。好ましい実施形態において、末端は-CH<sub>3</sub>である。

【0224】

$C_{2-12}$ アルケニル：「 $C_{2-12}$ アルケニル」という用語は、本明細書で使用する場合、1個以上の複数の炭素-炭素二重結合を有するアルキル基に関する。

不飽和アルケニル基の例としては、エテニル(ビニル、-CH=CH<sub>2</sub>)、1-プロペニル(-CH=CH-CH<sub>3</sub>)、2-プロペニル(アリル、-CH-CH=CH<sub>2</sub>)、イソプロペニル(1-メチルビニル、-C(CH<sub>3</sub>)=CH<sub>2</sub>)、ブテニル(C<sub>4</sub>)、ペンテニル(C<sub>5</sub>)及びヘキセニル(C<sub>6</sub>)が挙げられるが、これに限定されない。

$C_{2-12}$ アルキニル：「 $C_{2-12}$ アルキニル」という用語は、本明細書で使用する場合、1個以上の炭素-炭素三重結合を有するアルキル基に関する。

不飽和アルキニル基の例としては、エチニル(-CCH)及び2-プロピニル(プロパルギル、-CH<sub>2</sub>-CCH)が挙げられるが、これに限定されない。

【0225】

$C_{3-12}$ シクロアルキル：「 $C_{3-12}$ シクロアルキル」という用語は、本明細書で使用する場合、シクリル基でもあるアルキル基、すなわち環式炭化水素(炭素環)化合物の脂環原子から水素原子を除去することによって得られる1価部分に関し、この部分は、3個から7個の環原子を含めて、3個から7個の炭素原子を有する。

【0226】

シクロアルキル基の例としては、以下から誘導されるものが挙げられるが、これに限定されない：

飽和单環式炭化水素化合物：

シクロプロパン(C<sub>3</sub>)、シクロブタン(C<sub>4</sub>)、シクロ pentan(C<sub>5</sub>)、シクロヘキサン(C<sub>6</sub>)、シクロヘプタン(C<sub>7</sub>)、メチルシクロプロパン(C<sub>4</sub>)、ジメチルシクロプロパン(C<sub>5</sub>)、メチルシクロブタン(C<sub>5</sub>)、ジメチルシクロブタン(C<sub>6</sub>)、メチルシクロ pentan(C<sub>6</sub>)、ジメチルシクロ pentan(C<sub>7</sub>)及びメチルシクロヘキサン(C<sub>7</sub>)；

【0227】

不飽和单環式炭化水素化合物：

シクロプロレン(C<sub>3</sub>)、シクロブテン(C<sub>4</sub>)、シクロ penten(C<sub>5</sub>)、シクロヘキセン(C<sub>6</sub>)、メチルシクロプロレン(C<sub>4</sub>)、ジメチルシクロプロレン(C<sub>5</sub>)、メチルシクロブテン(C<sub>5</sub>)、ジメチルシクロブテン(C<sub>6</sub>)、メチルシクロ penten(C<sub>6</sub>)、ジメチルシクロ penten(C<sub>7</sub>)及びメチルシクロヘキセン(C<sub>7</sub>)；並びに

【0228】

飽和多環式炭化水素化合物：

ノルカラン(C<sub>7</sub>)、ノルピナン(C<sub>7</sub>)、ノルボルナン(C<sub>7</sub>)。

【0229】

$C_{3-20}$ ヘテロシクリル：「 $C_{3-20}$ ヘテロシクリル」という用語は、本明細書で使用する場合、複素環式化合物の環原子から水素原子を除去することによって得られる1価部分に関し、この部分は3から20個の環原子を有し、そのうち1から10個が環ヘテロ原子である。好ましくは、各環は3から7個の環原子を有し、そのうち1から4個が環ヘテロ原子である。

この文脈において、接頭辞(例えばC<sub>3-20</sub>、C<sub>3-7</sub>、C<sub>5-6</sub>など)は、炭素原子又はヘテロ原子に関わらず、環原子の数又は環原子の数の範囲を示す。例えば、「C<sub>5-6</sub>ヘテロシ

10

20

30

40

50

クリル」という用語は、本発明で使用する場合、5又は6個の環原子を有するヘテロシクリル基に関する。

【0230】

単環式ヘテロシクリル基の例としては、以下が挙げられるが、これに限定されない：  
 $N_1$ ：アジリジン（ $C_3$ ）、アゼチジン（ $C_4$ ）、ピロリジン（テトラヒドロピロール）（ $C_5$ ）、ピロリン（例えば3-ピロリン、2,5-ジヒドロピロール）（ $C_5$ ）、2H-ピロール又は3H-ピロール（イソピロール、イソアゾール）（ $C_5$ ）、ピペリジン（ $C_6$ ）、ジヒドロピリジン（ $C_6$ ）、テトラヒドロピリジン（ $C_6$ ）、アゼピン（ $C_7$ ）；  
 $O_1$ ：オキシラン（ $C_3$ ）、オキセタン（ $C_4$ ）、オキソラン（テトラヒドロフラン）（ $C_5$ ）、オキソール（ジヒドロフラン）（ $C_5$ ）、オキサン（テトラヒドロピラン）（ $C_6$ ）、ジヒドロピラン（ $C_6$ ）、ピラン（ $C_6$ ）、オキセピン（ $C_7$ ）；  
 $S_1$ ：チラン（ $C_3$ ）、チエタン（ $C_4$ ）、チオラン（テトラヒドロチオフェン）（ $C_5$ ）、チアン（テトラヒドロチオピラン）（ $C_6$ ）、チエパン（ $C_7$ ）；  
 $O_2$ ：ジオキソラン（ $C_5$ ）、ジオキサン（ $C_6$ ）及びジオキセパン（ $C_7$ ）；  
 $O_3$ ：トリオキサン（ $C_6$ ）；  
 $N_2$ ：イミダゾリジン（ $C_5$ ）、ピラゾリジン（ジアゾリジン）（ $C_5$ ）、イミダゾリン（ $C_5$ ）、ピラゾリン（ジヒドロピラゾール）（ $C_5$ ）、ピペラジン（ $C_6$ ）；  
 $N_1O_1$ ：テトラヒドロオキサゾール（ $C_5$ ）、ジヒドロオキサゾール（ $C_5$ ）、テトラヒドロイソオキサゾール（ $C_5$ ）、ジヒドロイソオキサゾール（ $C_5$ ）、モルホリン（ $C_6$ ）、テトラヒドロオキサジン（ $C_6$ ）、ジヒドロオキサジン（ $C_6$ ）、オキサジン（ $C_6$ ）；  
 $N_1S_1$ ：チアゾリン（ $C_5$ ）、チアゾリジン（ $C_5$ ）、チオモルホリン（ $C_6$ ）；  
 $N_2O_1$ ：オキサジアジン（ $C_6$ ）；  
 $O_1S_1$ ：オキサチオール（ $C_5$ ）及びオキサチアン（チオキサン）（ $C_6$ ）；並びに  
 $N_1O_1S_1$ ：オキサチアジン（ $C_6$ ）。

【0231】

置換単環式ヘテロシクリル基の例としては、環状形態の糖類、例えばフラノース（ $C_5$ ）、例えばアラビノフラノース、リキソフラノース、リボフラノース及びキシロフラノース並びにピラノース（ $C_6$ ）、例えばアロピラノース、アルトロピラノース、グルコピラノース、マンノピラノース、グロピラノース、イドピラノース、ガラクトピラノース及びタロピラノースから誘導されるものが挙げられる。

【0232】

$C_{5-20}$ アリール：「 $C_{5-20}$ アリール」という用語は、本発明で使用する場合、芳香族化合物の芳香環原子から水素原子を除去することによって得られる1価部分に関し、この部分は3個から20個の環原子を有する。好ましくは、各環は5個から7個の環原子を有する。

この文脈において、接頭辞（例えば $C_{3-20}$ 、 $C_{5-7}$ 、 $C_{5-6}$ など）は、炭素原子又はヘテロ原子に関わらず、環原子の数又は環原子の数の範囲を示す。例えば、「 $C_{5-6}$ アリール」という用語は、本発明で使用する場合、5又は6個の環原子を有するアリール基に関する。

【0233】

環原子は、「カルボアリール基」におけるように、全て炭素原子であってよい。

カルボアリール基の例としては、ベンゼン（すなわちフェニル）（ $C_6$ ）、ナフタレン（ $C_{10}$ ）、アズレン（ $C_{10}$ ）、アントラセン（ $C_{14}$ ）、フェナントレン（ $C_{14}$ ）、ナフタセン（ $C_{18}$ ）及びピレン（ $C_{16}$ ）から誘導される基が挙げられるが、これに限定されない。

【0234】

縮合環を含み、その少なくとも1個が芳香環であるアリール基の例としては、インダン（例えば2,3-ジヒドロ-1H-インデン）（ $C_9$ ）、インデン（ $C_9$ ）、イソインデン（ $C_9$ ）、テトラリン（1,2,3,4-テトラヒドロナフタレン）（ $C_{10}$ ）、アセナフテン（ $C_{12}$ ）、フルオレン（ $C_{13}$ ）、フェナレン（ $C_{13}$ ）、アセフェナントレン（ $C_{15}$ ）及

びアセアントレン (C<sub>16</sub>) から誘導される基が挙げられるが、これに限定されない。

【0235】

あるいは、環原子には、「ヘテロアリール基」におけるように、1個以上のヘテロ原子が含まれてよい。単環式ヘテロアリール基の例としては：

N<sub>1</sub> : ピロール (アゾール) (C<sub>5</sub>)、ピリジン (アジン) (C<sub>6</sub>) ;

O<sub>1</sub> : フラン (オキソール) (C<sub>5</sub>) ;

S<sub>1</sub> : チオフェン (チオール) (C<sub>5</sub>) ;

N<sub>1</sub>O<sub>1</sub> : オキサゾール (C<sub>5</sub>)、イソオキサゾール (C<sub>5</sub>)、イソキサジン (C<sub>6</sub>) ;

N<sub>2</sub>O<sub>1</sub> : オキサジアゾール (フラザン) (C<sub>5</sub>) ;

N<sub>3</sub>O<sub>1</sub> : オキサトリアゾール (C<sub>5</sub>) ;

N<sub>1</sub>S<sub>1</sub> : チアゾール (C<sub>5</sub>)、イソチアゾール (C<sub>5</sub>) ;

N<sub>2</sub> : イミダゾール (1, 3-ジアゾール) (C<sub>5</sub>)、ピラゾール (1, 2-ジアゾール) (C<sub>5</sub>)、ピリダジン (1, 2-ジアジン) (C<sub>6</sub>)、ピリミジン (1, 3-ジアジン) (C<sub>6</sub>) (例えばシトシン、チミン、ウラシル)、ピラジン (1, 4-ジアジン) (C<sub>6</sub>) ;

N<sub>3</sub> : トリアゾール (C<sub>5</sub>)、トリアジン (C<sub>6</sub>) ; 及び

N<sub>4</sub> : テトラゾール (C<sub>5</sub>) から誘導される基が挙げられるが、これに限定されない。

【0236】

縮合環を含むヘテロアリールの例としては：

ベンゾフラン (O<sub>1</sub>)、イソベンゾフラン (O<sub>1</sub>)、インドール (N<sub>1</sub>)、イソインドール (N<sub>1</sub>)、インドリジン (N<sub>1</sub>)、インドリン (N<sub>1</sub>)、イソインドリン (N<sub>1</sub>)、プリン (N<sub>4</sub>) (例えばアデニン、グアニン)、ベンゾイミダゾール (N<sub>2</sub>)、インダゾール (N<sub>2</sub>)、ベンゾオキサゾール (N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>)、ベンゾイソオキサゾール (N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>)、ベンゾジオキソール (O<sub>2</sub>)、ベンゾフラン (N<sub>2</sub>O<sub>1</sub>)、ベンゾトリアゾール (N<sub>3</sub>)、ベンゾチオフラン (S<sub>1</sub>)、ベンゾチアゾール (N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>)、ベンゾチアジアゾール (N<sub>2</sub>S) から誘導されるC<sub>9</sub> (2個の縮合環を有する) ;

クロメン (O<sub>1</sub>)、イソクロメン (O<sub>1</sub>)、クロマン (O<sub>1</sub>)、イソクロマン (O<sub>1</sub>)、ベンゾジオキサン (O<sub>2</sub>)、キノリン (N<sub>1</sub>)、イソキノリン (N<sub>1</sub>)、キノリジン (N<sub>1</sub>)、ベンゾオキサジン (N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>)、ベンゾジアジン (N<sub>2</sub>)、ピリドピリジン (N<sub>2</sub>)、キノキサン (N<sub>2</sub>)、キナゾリン (N<sub>2</sub>)、シンノリン (N<sub>2</sub>)、フタラジン (N<sub>2</sub>)、ナフチリジン (N<sub>2</sub>)、ブテリジン (N<sub>4</sub>) から誘導されるC<sub>10</sub> (2個の縮合環を有する) ;

ベンゾジアゼピン (N<sub>2</sub>) から誘導されるC<sub>11</sub> (2個の縮合環を有する) ;

カルバゾール (N<sub>1</sub>)、ジベンゾフラン (O<sub>1</sub>)、ジベンゾチオフェン (S<sub>1</sub>)、カルボリジン (N<sub>2</sub>)、ペリミジン (N<sub>2</sub>)、ピリドインドール (N<sub>2</sub>) から誘導されるC<sub>13</sub> (3個の縮合環を有する) ; 及び

アクリジン (N<sub>1</sub>)、キサンテン (O<sub>1</sub>)、チオキサンテン (S<sub>1</sub>)、オキサントレン (O<sub>2</sub>)、フェノキサチイン (O<sub>1</sub>S<sub>1</sub>)、フェナジン (N<sub>2</sub>)、フェノキサジン (N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>)、フェノチアジン (N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>)、チアントレン (S<sub>2</sub>)、フェナントリジン (N<sub>1</sub>)、フェナントロリン (N<sub>2</sub>)、フェナジン (N<sub>2</sub>) から誘導されるC<sub>14</sub> (3個の縮合環を有する) が挙げられるが、これに限定されない。

【0237】

上記の基は、単独であるか又は別の置換基の一部であるかに関わらず、それら自体及び下に挙げた追加の置換基から選択される1個以上の基でそれら自体が任意に (所望により) 置換されていてよい。

ハロ : - F、- Cl、- Br 及び - I。

ヒドロキシ : - OH。

エーテル : - OR、式中、R はエーテル置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基 (下で論じる、C<sub>1-7</sub>アルコキシ基とも呼ばれる)、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基 (C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリルオキシ基とも呼ばれる) 又はC<sub>5-20</sub>アリール基 (C<sub>5-20</sub>アリールオキシ基とも呼ばれる)、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基である。

【0238】

10

20

30

40

50

アルコキシ：-OR、式中、Rはアルキル基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基である。C<sub>1-7</sub>アルコキシ基の例としては、-OMe(メトキシ)、-OEt(エトキシ)、-O(nPr)(n-プロポキシ)、-O(iPr)(イソプロポキシ)、-O(nBu)(n-ブトキシ)、-O(sBu)(sec-ブトキシ)、-O(iBu)(イソブトキシ)及び-O(tBu)(tert-ブトキシ)が挙げられるが、これに限定されない。

## 【0239】

アセタール：-CH(OR<sup>1</sup>)(OR<sup>2</sup>)、式中、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、独立してアセタール置換基、例えば、C<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基若しくはC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基であるか、又は「環式」アセタール基の場合、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、それらが結合されている2個の酸素原子及びそれらが結合されている炭素原子とひとまとめて、4から8個の環原子を有する複素環を形成する。アセタール基の例としては、-CH(OMe)<sub>2</sub>、-CH(OEt)<sub>2</sub>及び-CH(OMe)(OEt)が挙げられるが、これに限定されない。

## 【0240】

ヘミアセタール：-CH(OH)(OR<sup>1</sup>)、式中、R<sup>1</sup>はヘミアセタール置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基である。ヘミアセタール基の例としては、-CH(OH)(OMe)及び-CH(OH)(OEt)が挙げられるが、これに限定されない。

## 【0241】

ケタール：-CR(OR<sup>1</sup>)(OR<sup>2</sup>)、式中、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、アセタールで定義した通りであり、Rは、水素以外のケタール置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基である。ケタール基の例としては、-C(Me)(OMe)<sub>2</sub>、-C(Me)(OEt)<sub>2</sub>、-C(Me)(OMe)(OEt)、-C(Et)(OMe)<sub>2</sub>、-C(Et)(OEt)<sub>2</sub>及び-C(Et)(OMe)(OEt)が挙げられるが、これに限定されない。

## 【0242】

ヘミケタール：-CR(OH)(OR<sup>1</sup>)、式中、R<sup>1</sup>はヘミアセタールで定義した通りであり、Rは、水素以外のヘミケタール置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基である。ヘミアセタール基の例としては、-C(Me)(OH)(OMe)、-C(Et)(OH)(OMe)、-C(Me)(OH)(OEt)及び-C(Et)(OH)(OEt)が挙げられるが、これに限定されない。

## 【0243】

オキソ(ケト、-オン)：=O。

チオン(チオケトン)：=S。

イミノ(イミン)：=NR、式中、Rはイミノ置換基、例えば水素、C<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくは水素又はC<sub>1-7</sub>アルキル基である。エステル基の例としては、=NH、=NMe、=NEt及び=NPhが挙げられるが、これに限定されない。

## 【0244】

ホルミル(カルバルデヒド、カルボキシアルデヒド)：-C(=O)H。

アシル(ケト)：-C(=O)R、式中、Rはアシル置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基(C<sub>1-7</sub>アルキルアシル又はC<sub>1-7</sub>アルカノイルとも呼ばれる)、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基(C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリルアシルとも呼ばれる)又はC<sub>5-20</sub>アリール基(C<sub>5-20</sub>アリールアシルとも呼ばれる)、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基である。アシル基の例としては、-C(=O)CH<sub>3</sub>(アセチル)、-C(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>(プロピオニル)、-C(=O)C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>(t-ブチリル)及び-C(=O)Ph(ベンゾイル、フェノン)が挙げられるが、これに限定されない。

## 【0245】

カルボキシ(カルボン酸)：-C(=O)OH。

10

20

30

40

50

チオカルボキシ(チオカルボン酸) : - C ( = S ) SH。  
 チオロカルボキシ(チオロカルボン酸) : - C ( = O ) SH。  
 チオノカルボキシ(チオノカルボン酸) : - C ( = S ) OH。  
 イミド酸 : - C ( = NH ) OH。  
 ヒドロキサム酸 : - C ( = NOH ) OH。

## 【0246】

エステル(カルボキシレート、カルボン酸エステル、オキシカルボニル) : - C ( = O ) OR、式中、Rはエステル置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基である。エステル基の例としては、- C ( = O ) OCH<sub>3</sub>、- C ( = O ) OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、- C ( = O ) OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>及び- C ( = O ) OP<sub>h</sub>が挙げられるが、これに限定されない。 10

## 【0247】

アシルオキシ(逆エステル) : - O C ( = O ) R、式中、Rはアシルオキシ置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基である。アシルオキシ基の例としては、- O C ( = O ) CH<sub>3</sub>(アセトキシ)、- O C ( = O ) CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、- O C ( = O ) C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、- O C ( = O ) Ph及び- O C ( = O ) CH<sub>2</sub>Phが挙げられるが、これに限定されない。

## 【0248】

オキシカルボイルオキシ : - O C ( = O ) OR、式中、Rはエステル置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基である。エステル基の例としては、- O C ( = O ) OCH<sub>3</sub>、- O C ( = O ) OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、- O C ( = O ) OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>及び- O C ( = O ) OP<sub>h</sub>が挙げられるが、これに限定されない。 20

## 【0249】

アミノ : - NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>、式中、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、独立してアミノ置換基、例えば水素、C<sub>1-7</sub>アルキル基(C<sub>1-7</sub>アルキルアミノ又はジC<sub>1-7</sub>アルキルアミノとも呼ばれる)、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはH又はC<sub>1-7</sub>アルキル基であるか、又は「環式」アミノ基の場合、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、それらが結合されている窒素原子とひとまとめにされて、4から8個の環原子を有する複素環を形成する。アミノ基は、1級(-NH<sub>2</sub>)、2級(-NHR<sup>1</sup>)又は3級(-NHR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)であってよく、カチオン形態において、4級(-<sup>+</sup>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>R<sup>3</sup>)であってよい。アミノ基の例としては、- NH<sub>2</sub>、- NH<sub>3</sub>、- NH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、- NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、- NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>及び- NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>が挙げられるが、これに限定されない。環式アミノ基の例としては、アジリジノ、アゼチジノ、ピロリジノ、ペリジノ、ペラジノ、モルホリノ及びチオモルホリノが挙げられるが、これに限定されない。 30

## 【0250】

アミド(カルバモイル、カルバミル、アミノカルボニル、カルボキサミド) : - C ( = O ) NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>、式中、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は独立して、アミノ基で定義された通りのアミノ置換基である。アミド基の例としては、- C ( = O ) NH<sub>2</sub>、- C ( = O ) NHCH<sub>3</sub>、- C ( = O ) N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、- C ( = O ) NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>及び- C ( = O ) N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、並びにR<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>が、それらが結合されている窒素原子とひとまとめにされて、例えばペリジノカルボニル、モルホリノカルボニル、チオモルホリノカルボニル及びペラジノカルボニルにおけるような複素環構造を形成するアミド基が挙げられるが、これに限定されない。 40

## 【0251】

チオアミド(チオカルバミル) : - C ( = S ) NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>、式中、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は独立して、アミノ基で定義されたようなアミノ置換基である。アミド基の例としては、- C ( = S ) NH<sub>2</sub>、- C ( = S ) NHCH<sub>3</sub>、- C ( = S ) N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>及び- C ( = S ) NHCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>が挙げられるが、これに限定されない。

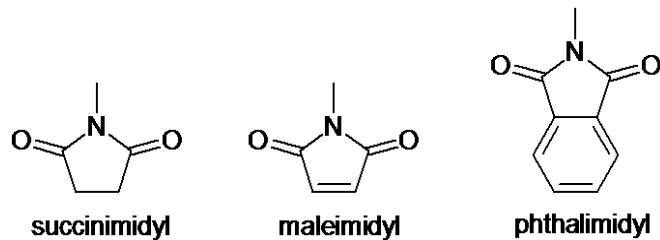
## 【0252】

アシリアミド(アシリアミノ) :  $-N R^1 C(=O) R^2$ 、式中、 $R^1$ はアミド置換基、例えば、水素、 $C_{1-7}$ アルキル基、 $C_{3-20}$ ヘテロシクリル基又は $C_{5-20}$ アリール基、好ましくは水素又は $C_{1-7}$ アルキル基であり、 $R^2$ はアシリル置換基、例えば $C_{1-7}$ アルキル基、 $C_{3-20}$ ヘテロシクリル基又は $C_{5-20}$ アリール基、好ましくは水素又は $C_{1-7}$ アルキル基である。アシリアミド基の例としては、 $-NHC(=O)CH_3$ 、 $-NHC(=O)CH_2CH_3$ 及び $-NHC(=O)Ph$ が挙げられるが、これに限定されない。 $R^1$ 及び $R^2$ は共に、例えばスクシンイミジル、マレイミジル及びフタルイミジルにおけるような環構造を形成することがある。

【0253】

【化61】

10



スクシンイミジル      マレイミジル      フタルイミジル

【0254】

アミノカルボニルオキシ :  $-OC(=O)NR^1R^2$ 、式中、 $R^1$ 及び $R^2$ は独立して、アミノ基で定義した通りのアミノ置換基である。アミノカルボニルオキシ基の例としては、 $-OC(=O)NH_2$ 、 $-OC(=O)NHMe$ 、 $-OC(=O)NMe_2$ 及び $-OC(=O)NEt_2$ が挙げられるが、これに限定されない。

20

【0255】

ウレイド :  $-N(R^1)CONR^2R^3$ 、式中、 $R^2$ 及び $R^3$ は独立して、アミノ基で定義した通りのアミノ置換基であり、 $R^1$ はウレイド置換基、例えば、水素、 $C_{1-7}$ アルキル基、 $C_{3-20}$ ヘテロシクリル基又は $C_{5-20}$ アリール基、好ましくは水素又は $C_{1-7}$ アルキル基である。ウレイド基の例としては、 $-NHC(=O)NH_2$ 、 $-NHC(=O)NHMe$ 、 $-NHC(=O)NHEt$ 、 $-NHC(=O)NMe_2$ 、 $-NHC(=O)NEt_2$ 、 $-NMeC(=O)NH_2$ 、 $-NMeC(=O)NHMe$ 、 $-NMeC(=O)NHEt$ 、 $-NMeC(=O)NMe_2$ 及び $-NMeC(=O)NEt_2$ が挙げられるが、これに限定されない。

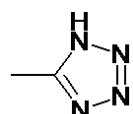
30

【0256】

グアニジノ :  $-NH-C(=NH)NH_2$ 。

テトラゾリル : 4個の窒素原子及び1個の炭素原子を有する5員芳香環、

【化62】



【0257】

40

イミノ :  $=NR$ 、式中、 $R$ はイミノ置換基、例えば、例えば水素、 $C_{1-7}$ アルキル基、 $C_{3-20}$ ヘテロシクリル基又は $C_{5-20}$ アリール基、好ましくはH又は $C_{1-7}$ アルキル基である。イミノ基の例としては、 $=NH$ 、 $=NMe$ 及び $=NEt$ が挙げられるが、これに限定されない。

【0258】

アミジン(アミジノ) :  $-C(=NR)NR_2$ 、式中、各 $R$ は、アミジン置換基、例えば水素、 $C_{1-7}$ アルキル基、 $C_{3-20}$ ヘテロシクリル基又は $C_{5-20}$ アリール基、好ましくはH又は $C_{1-7}$ アルキル基である。アミジン基の例としては、 $-C(=NH)NH_2$ 、 $-C(=NH)NMe_2$ 及び $-C(=NMe)NMe_2$ が挙げられるが、これに限定されない。

【0259】

50

ニトロ : - NO<sub>2</sub>。  
 ニトロソ : - NO。  
 アジド : - N<sub>3</sub>。  
 シアノ(ニトリル、カルボニトリル) : - CN。  
 イソシアノ : - NC。  
 シアナト : - OCN。  
 イソシアナト : - NCO。  
 チオシアノ(チオシアナト) : - SCN。  
 イソチオシアノ(イソチオシアナト) : - NCS。  
 スルフヒドリル(チオール、メルカプト) : - SH。

10

## 【0260】

チオエーテル(スルフィド) : - SR、式中、Rはチオエーテル置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基(C<sub>1-7</sub>アルキルチオ基とも呼ばれる)、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基である。C<sub>1-7</sub>アルキルチオ基の例としては、- SCH<sub>3</sub>及び-SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>が挙げられるが、これに限定されない。

## 【0261】

ジスルフィド : - SS - R、式中、Rはジスルフィド置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基(本明細書でC<sub>1-7</sub>アルキルジスルフィドとも呼ばれる)。C<sub>1-7</sub>アルキルジスルフィド基の例としては、-SSCH<sub>3</sub>及び-SSCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>が挙げられるが、これに限定されない。

20

## 【0262】

スルフィン(スルフィニル、スルホキシド) : - S(=O)R、式中、Rはスルフィン置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基である。スルフィン基の例としては、-S(=O)CH<sub>3</sub>及び-S(=O)CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>が挙げられるが、これに限定されない。

## 【0263】

スルホン(スルホニル) : - S(=O)<sub>2</sub>R、式中、Rはスルホン置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくは、例えばフッ素化又は過フッ素化C<sub>1-7</sub>アルキル基を含む、C<sub>1-7</sub>アルキル基である。スルホン基の例としては、-S(=O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>(メタンスルホニル、メシリル)、-S(=O)<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>(トリフリル)、-S(=O)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>(エシリル)、-S(=O)<sub>2</sub>C<sub>4</sub>F<sub>9</sub>(ノナフリル)、-S(=O)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>(トレシリル)、-S(=O)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>(タウリル)、-S(=O)<sub>2</sub>Ph(フェニルスルホニル、ベシリル)、4-メチルフェニルスルホニル(トシリル)、4-クロロフェニルスルホニル(クロシリル)、4-ブロモフェニルスルホニル(ブロシリル)、4-ニトロフェニル(ノシリル)、2-ナフタレンスルホネート(ナプシリル)及び5-ジメチルアミノ-ナフタレン-1-イルスルホネート(ダンシリル)が挙げられるが、これに限定されない。

30

## 【0264】

スルフィン酸(スルフィノ) : - S(=O)OH、-SO<sub>2</sub>H。

スルホン酸(スルホ) : - S(=O)<sub>2</sub>OH、-SO<sub>3</sub>H。

40

スルフィネート(スルフィン酸エステル) : - S(=O)OR; 式中、Rはスルフィネート置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基である。スルフィネート基の例としては、-S(=O)OC<sub>3</sub>(メトキシスルフィニル; メチルスルフィネート)及び-S(=O)OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>(エトキシスルフィニル; エチルスルフィネート)が挙げられるが、これに限定されない。

## 【0265】

スルホネート(スルホン酸エステル) : - S(=O)<sub>2</sub>OR、式中、Rはスルホネート置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基である。スルホネート基の例としては、-S(=O)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>(

50

メトキシルホニル；メチルスルホネート) 及び - S ( = O )<sub>2</sub> O C H<sub>2</sub> C H<sub>3</sub> (エトキシスルホニル；エチルスルホネート) が挙げられるが、これに限定されない。

スルフィニルオキシ : - O S ( = O ) R、式中、R はスルフィニルオキシ置換基、例えば C<sub>1-7</sub> アルキル基、C<sub>3-20</sub> ヘテロシクリル基又は C<sub>5-20</sub> アリール基、好ましくは C<sub>1-7</sub> アルキル基である。スルフィニルオキシ基の例としては、- O S ( = O ) C H<sub>3</sub> 及び - O S ( = O ) C H<sub>2</sub> C H<sub>3</sub> が挙げられるが、これに限定されない。

#### 【0266】

スルホニルオキシ : - O S ( = O )<sub>2</sub> R、式中、R はスルホニルオキシ置換基、例えば C<sub>1-7</sub> アルキル基、C<sub>3-20</sub> ヘテロシクリル基又は C<sub>5-20</sub> アリール基、好ましくは C<sub>1-7</sub> アルキル基である。スルホニルオキシ基の例としては、- O S ( = O )<sub>2</sub> C H<sub>3</sub> (メシレート) 及び - O S ( = O )<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> C H<sub>3</sub> (エシレート) が挙げられるが、これに限定されない。 10

#### 【0267】

サルフェート : - O S ( = O )<sub>2</sub> O R；式中、R はサルフェート置換基、例えば C<sub>1-7</sub> アルキル基、C<sub>3-20</sub> ヘテロシクリル基又は C<sub>5-20</sub> アリール基、好ましくは C<sub>1-7</sub> アルキル基である。サルフェート基の例としては、- O S ( = O )<sub>2</sub> O C H<sub>3</sub> 及び - S O ( = O )<sub>2</sub> O C H<sub>2</sub> C H<sub>3</sub> が挙げられるが、これに限定されない。

#### 【0268】

スルファミル (スルファモイル；スルフィン酸アミド；スルフィンアミド) : - S ( = O ) N R<sup>1</sup> R<sup>2</sup>、式中、R<sup>1</sup> 及び R<sup>2</sup> は独立して、アミノ基で定義した通りのアミノ置換基である。スルファミル基の例としては、- S ( = O ) N H<sub>2</sub>、- S ( = O ) N H ( C H<sub>3</sub> )、- S ( = O ) N ( C H<sub>3</sub> )<sub>2</sub>、- S ( = O ) N H ( C H<sub>2</sub> C H<sub>3</sub> )、- S ( = O ) N ( C H<sub>2</sub> C H<sub>3</sub> )<sub>2</sub> 及び - S ( = O ) N H P h が挙げられるが、これに限定されない。 20

#### 【0269】

スルホンアミド (スルフィナモイル；スルホン酸アミド；スルホンアミド) : - S ( = O )<sub>2</sub> N R<sup>1</sup> R<sup>2</sup>、式中、R<sup>1</sup> 及び R<sup>2</sup> は独立して、アミノ基で定義した通りのアミノ置換基である。スルホンアミド基の例としては、- S ( = O )<sub>2</sub> N H<sub>2</sub>、- S ( = O )<sub>2</sub> N H ( C H<sub>3</sub> )、- S ( = O )<sub>2</sub> N ( C H<sub>3</sub> )<sub>2</sub>、- S ( = O )<sub>2</sub> N H ( C H<sub>2</sub> C H<sub>3</sub> )、- S ( = O )<sub>2</sub> N ( C H<sub>2</sub> C H<sub>3</sub> )<sub>2</sub> 及び - S ( = O )<sub>2</sub> N H P h が挙げられるが、これに限定されない。

#### 【0270】

スルファミノ : - N R<sup>1</sup> S ( = O )<sub>2</sub> O H、式中、R<sup>1</sup> は、アミノ基で定義した通りのアミノ置換基である。スルファミノ基の例としては、- N H S ( = O )<sub>2</sub> O H 及び - N ( C H<sub>3</sub> ) S ( = O )<sub>2</sub> O H が挙げられるが、これに限定されない。 30

#### 【0271】

スルホンアミノ : - N R<sup>1</sup> S ( = O )<sub>2</sub> R、式中、R<sup>1</sup> は、アミノ基で定義した通りのアミノ置換基であり、R はスルホンアミノ置換基、例えば C<sub>1-7</sub> アルキル基、C<sub>3-20</sub> ヘテロシクリル基又は C<sub>5-20</sub> アリール基、好ましくは C<sub>1-7</sub> アルキル基である。スルホンアミノ基の例としては、- N H S ( = O )<sub>2</sub> C H<sub>3</sub> 及び - N ( C H<sub>3</sub> ) S ( = O )<sub>2</sub> C<sub>6</sub> H<sub>5</sub> が挙げられるが、これに限定されない。

#### 【0272】

スルフィンアミノ : - N R<sup>1</sup> S ( = O ) R、式中、R<sup>1</sup> は、アミノ基で定義した通りのアミノ置換基であり、R はスルフィンアミノ置換基、例えば C<sub>1-7</sub> アルキル基、C<sub>3-20</sub> ヘテロシクリル基又は C<sub>5-20</sub> アリール基、好ましくは C<sub>1-7</sub> アルキル基である。スルフィンアミノ基の例としては、- N H S ( = O ) C H<sub>3</sub> 及び - N ( C H<sub>3</sub> ) S ( = O ) C<sub>6</sub> H<sub>5</sub> が挙げられるが、これに限定されない。 40

#### 【0273】

ホスフィノ (ホスフィン) : - P R<sub>2</sub>、式中、R はホスフィノ置換基、例えば - H、C<sub>1-7</sub> アルキル基、C<sub>3-20</sub> ヘテロシクリル基又は C<sub>5-20</sub> アリール基、好ましくは - H、C<sub>1-7</sub> アルキル基又は C<sub>5-20</sub> アリール基である。ホスフィノ基の例としては、- P H<sub>2</sub>、- P ( C H<sub>3</sub> )<sub>2</sub>、- P ( C H<sub>2</sub> C H<sub>3</sub> )<sub>2</sub>、- P ( t - B u )<sub>2</sub> 及び - P ( P h )<sub>2</sub> が挙げられるが、これに限定されない。 50

## 【0274】

ホスホ：-P(=O)<sub>2</sub>。

ホスフィニル(ホスフィンオキシド)：-P(=O)R<sub>2</sub>、式中、Rはホスフィニル置換基、例えばC<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくはC<sub>1-7</sub>アルキル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基である。ホスフィニル基の例としては、-P(=O)(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-P(=O)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-P(=O)(t-Bu)<sub>2</sub>及び-P(=O)(Ph)<sub>2</sub>が挙げられるが、これに限定されない。

## 【0275】

ホスホン酸(ホスホノ)：-P(=O)(OH)<sub>2</sub>。

ホスホネート(ホスホノエステル)：-P(=O)(OR)<sub>2</sub>、式中、Rはホスホネート置換基、例えば、-H、C<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくは-H、C<sub>1-7</sub>アルキル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基である。ホスホネート基の例としては、-P(=O)(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-P(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-P(=O)(O-t-Bu)<sub>2</sub>及び-P(=O)(OPh)<sub>2</sub>が挙げられるが、これに限定されない。

10

## 【0276】

リン酸(ホスホノオキシ)：-OP(=O)(OH)<sub>2</sub>。

ホスフェート(ホスホノオキシエステル)：-OP(=O)(OR)<sub>2</sub>、式中、Rはホスフェート置換基、例えば、-H、C<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくは-H、C<sub>1-7</sub>アルキル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基である。ホスフェート基の例としては、-OP(=O)(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-OP(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-OP(=O)(O-t-Bu)<sub>2</sub>及び-OP(=O)(OPh)<sub>2</sub>が挙げられるが、これに限定されない。

20

## 【0277】

亜リン酸：-OP(OH)<sub>2</sub>。

ホスファイト：-OP(OR)<sub>2</sub>、式中、Rはホスファイト置換基、例えば-H、C<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくは-H、C<sub>1-7</sub>アルキル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基である。ホスファイト基の例としては、-OP(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-OP(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-OP(O-t-Bu)<sub>2</sub>及び-OP(OPh)<sub>2</sub>が挙げられるが、これに限定されない。

30

## 【0278】

ホスホラミダイト：-OP(OR<sup>1</sup>)-NR<sup>2</sup><sub>2</sub>、式中、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>はホスホラミダイト置換基、例えば、-H、(任意に(所望により)置換された)C<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくは-H、C<sub>1-7</sub>アルキル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基である。ホスホラミダイト基の例としては、-OP(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-OP(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-N(i-Pr)<sub>2</sub>及び-OP(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN)-N(i-Pr)<sub>2</sub>が挙げられるが、これに限定されない。

## 【0279】

ホスホルアミデート：-OP(=O)(OR<sup>1</sup>)-NR<sup>2</sup><sub>2</sub>、式中、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>はホスホルアミデート置換基、例えば、-H、(任意に(所望により)置換された)C<sub>1-7</sub>アルキル基、C<sub>3-20</sub>ヘテロシクリル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基、好ましくは-H、C<sub>1-7</sub>アルキル基又はC<sub>5-20</sub>アリール基である。ホスホルアミデート基の例としては、-OP(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-OP(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-N(i-Pr)<sub>2</sub>及び-OP(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN)-N(i-Pr)<sub>2</sub>が挙げられるが、これに限定されない。

40

## 【0280】

アルキレン

C<sub>3-12</sub>アルキレン：「C<sub>3-12</sub>アルキレン」という用語は、本発明で使用する場合、脂肪族又は脂環式であってよく、飽和、部分不飽和又は完全不飽和であってよい3個から12個の炭素原子(別途規定しない限り)を有する炭化水素化合物の2個の水素原子を、両方

50

とも同じ炭素原子から又は1個ずつ2個の異なる炭素原子それぞれから除去することによって得られる2座部分に関する。このため、「アルキレン」という用語は、下で論じるサブクラスのアルケニレン、アルキニレン、シクロアルキレンなどを含む。

【0281】

直鎖飽和C<sub>3-12</sub>アルキレン基の例としては、nが3から12の整数である- (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>)<sub>n</sub> -、例えば-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>- (プロピレン)、-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>- (ブチレン)、-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>- (ペンチレン)及び-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>- (ヘプチレン)が挙げられるが、これに限定されない。

【0282】

分枝飽和C<sub>3-12</sub>アルキレン基の例としては、-CH(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>)C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-、-CH(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>)C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-、-CH(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>)C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>CH(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>)C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-、-CH(C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>)C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-及び-CH<sub>2</sub>CH(C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>)C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-が挙げられるが、これに限定されない。

【0283】

直鎖部分不飽和C<sub>3-12</sub>アルキレン基(C<sub>3-12</sub>アルケニレン及びアルキニレン基)の例としては、-CH=CH-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-、-CH<sub>2</sub>-CH=CH<sub>2</sub>-、-CH=CH-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-CH-、-CH=CH-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH=CH-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH=CH-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-、-CH=CH-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH-、-CH=CH-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH-及び-CH<sub>2</sub>-CH-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-が挙げられるが、これに限定されない。

【0284】

分枝部分不飽和C<sub>3-12</sub>アルキレン基(C<sub>3-12</sub>アルケニレン及びアルキニレン基)の例としては、-C(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>)=CH-、-C(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>)=CH-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>-、-CH=C(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>)-及び-C-C(C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>)-が挙げられるが、これに限定されない。

【0285】

脂環式飽和C<sub>3-12</sub>アルキレン基(C<sub>3-12</sub>シクロアルキレン)の例としては、シクロペンチレン(例えばシクロペンタ-1,3-イルエン)及びシクロヘキシレン(例えばシクロヘキサ-1,4-イルエン)が挙げられるが、これに限定されない。

【0286】

脂環式部分不飽和C<sub>3-12</sub>アルキレン基(C<sub>3-12</sub>シクロアルキレン)の例としては、シクロペンテニレン(例えば4-シクロペンテン-1,3-イルエン)、シクロヘキセニレン(例えば2-シクロヘキセン-1,4-イルエン；3-シクロヘキセン-1,2-イルエン；2,5-シクロヘキサジエン-1,4-イルエン)が挙げられるが、これに限定されない。

【0287】

他の形態を含む

別途規定しない限り、上記に含まれるのは、これらの置換基の周知のイオン性形態、塩形態、溶媒和物形態及び保護形態である。例えば、カルボン酸(-COOH)と言うと、そのアニオン性(カルボキシレート)形態(-COO<sup>-</sup>)、塩又は溶媒和物、並びに従来の保護形態も含まれる。同様に、アミノ基と言うと、アミノ基のプロトン化形態(-N<sup>+</sup>H R<sup>1</sup> R<sup>2</sup>)塩又は溶媒和物、例えば塩酸塩、並びにアミノ基の従来の保護形態が含まれる。同様に、ヒドロキシル基と言うと、そのアニオン性形態(-O<sup>-</sup>)、塩又は溶媒和物、並びに従来の保護形態も含まれる。

【0288】

塩

該活性化合物の対応する塩、例えば医薬的に許容される塩を調製、精製及び/又は取り扱うことが便利である又は望ましいことがある。医薬的に許容される塩の例は、Berg et al., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977)で論じられている。

【0289】

10

20

30

40

50

例えば、化合物がアニオン性である、又はアニオン性であってよい官能基を有する（例えば - COOH は  $\text{COO}^-$  であってよい）場合、好適なカチオンと共に塩が形成され得る。好適な無機カチオンの例としては、 $\text{Na}^+$  及び  $\text{K}^+$  などのアルカリ金属イオン、 $\text{Ca}^{2+}$  及び  $\text{Mg}^{2+}$  などのアルカリ土類カチオン並びに  $\text{Al}^{3+}$  などの他のカチオンが挙げられるが、これに限定されない。好適な有機カチオンの例としては、アンモニウムイオン（すなわち  $\text{NH}_4^+$ ）及び置換アンモニウムイオン（例えば  $\text{NH}_3\text{R}^+$ 、 $\text{NH}_2\text{R}_2^+$ 、 $\text{NHR}_3^+$ 、 $\text{NR}_4^+$ ）が挙げられるが、これに限定されない。いくつかの好適な置換アンモニウムイオンの例は：エチルアミン、ジエチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、トリエチルアミン、ブチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジン、ベンジルアミン、フェニルベンジルアミン、コリン、メグルミン及びトロメタミン並びにリジン及びアルギニンなどのアミノ酸から誘導されるものである。通常の第4級アンモニウムイオンの一例は  $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$  である。  
10

## 【0290】

化合物がカチオン性である、又はカチオン性であってよい官能基を有する場合（例えば -  $\text{NH}_2$  は  $-\text{NH}_3^+$  であってよい）、好適なアニオンと共に塩が形成され得る。好適な無機アニオンの例としては、以下の無機酸：塩酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、硫酸、亜硫酸、硝酸、亜硝酸、リン酸及び亜リン酸から誘導されるものが挙げられるが、これに限定されない。

## 【0291】

好適な有機アニオンの例としては、以下の有機酸：2-アセチオキシ（acetyl oxy）安息香酸、酢酸、アスコルビン酸、アスパラギン酸、安息香酸、カンファースルホン酸、桂皮酸、クエン酸、エデト酸、エタンジスルホン酸、エタンスルホン酸、フマル酸、グルコヘプタン酸、グルコン酸、グルタミン酸、グリコール酸、ヒドロキシマレイン酸、ヒドロキシナフタレンカルボン酸、イセチオン酸、乳酸、ラクトビオン酸、ラウリン酸、マレイン酸、リンゴ酸、メタンスルホン酸、粘液酸、オレイン酸、シウ酸、パルミチン酸、パモ酸、パントテン酸、フェニル酢酸、フェニルスルホン酸、プロピオン酸、ピルビン酸、サリチル酸、ステアリン酸、コハク酸、スルファニル酸、酒石酸、トルエンスルホン酸、トリフルオロ酢酸及び吉草酸から誘導されるものが挙げられるが、これに限定されない。好適なポリマー有機アニオンの例としては、以下のポリマー酸：タンニン酸、カルボキシメチルセルロースから誘導されるものが挙げられるが、これに限定されない。  
20

## 【0292】

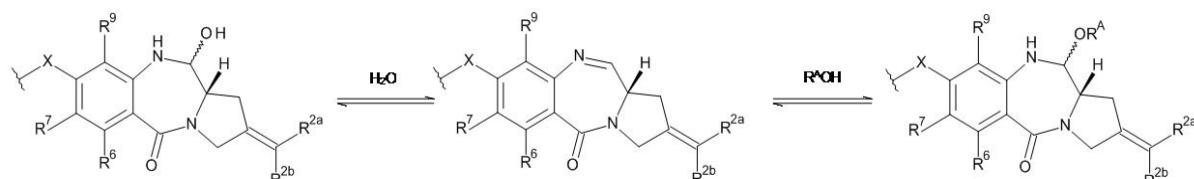
## 溶媒和物

該活性化合物の対応する溶媒和物を調製、精製及び／又は取り扱うことは便利である又は望ましいことがある。「溶媒和物」という用語は、本明細書において、溶質（例えば活性化合物、活性化合物の塩）及び溶媒の複合体を示す従来の意味で使用される。溶媒が水である場合、溶媒和物は、便利には水和物、例えば一水和物、二水和物、三水和物などと呼んでよい。

## 【0293】

本発明には、下に例示する、溶媒が PBD 部分のイミン結合にわたって加わる化合物が含まれ、ここで溶媒は水又はアルコール（ $\text{R}^A\text{OH}$ 、式中、 $\text{R}^A$  は  $\text{C}_{1-4}$  アルキルである）である：  
40

## 【化63】



## 【0294】

これらの形態は、（上記の  $\text{R}^{10}$  に関する項に記載されている通り）PBD のカルビノールアミン形態及びカルビノールアミンエーテル形態と呼ぶことができる。これらの平衡  
50

のバランスは、化合物が見出される条件並びに該部分自体の性質に依存する。

これらの特別な化合物は、例えば凍結乾燥によって固形形態で単離することができる。

### 【0295】

#### 異性体

本発明の特定の化合物は、以下「異性体」(又は「異性体形態」と呼ばれる、シス及びトランス形態、E及びZ形態、c、t及びr形態、エンド及びエキソ形態、R、S及びメソ形態、D及びL形態、d及びl形態、(+)及び(-)形態、ケト、エノール及びエノラート形態、syn及びanti形態、向斜及び背斜形態、及び形態、アキシアル及びエクアトリアル形態、舟、椅子、ねじれ、エンベロープ及び半椅子形態、並びにその組合せを含むが、これに限定されない、1つ以上の特定の幾何形態、光学形態、エナンチオマー形態、ジアステレオマー形態、エピマー形態、アトロブ形態、立体異性体形態、互変異性体形態、立体配座形態又はアノマー形態で存在し得る。)

### 【0296】

「キラル」という用語は、鏡像パートナーの重ねられない特性を有する分子を示し、一方「アキラル」という用語は、鏡像パートナー上に重ねられる分子を示す。

「立体異性体」という用語は、同一の化学構成を有するが、空間における原子又は基の配列に関して異なる化合物を示す。

「ジアステレオマー」は、2つ以上のキラリティー中心を有し、その分子が相互の鏡像ではない立体異性体を示す。ジアステレオマーは、異なる物性、例えば融点、沸点、スペクトル特性及び反応性を有する。ジアステレオマーの混合物は、電気泳動法及びクロマトグラフィーなどの高分解能分析手順の下で分離され得る。

「エナンチオマー」は、相互に重ねられない鏡像化合物の2つの立体異性体を示す。

### 【0297】

本明細書において使用される立体化学的な定義及び慣例は、一般にS. P. Parke, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York; and Eliel, E. 及び Wilen, S., 'Stereochimistry of Organic Compounds', John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994に従う。本発明の化合物は、不斉中心又はキラル中心を含有し、したがって異なる立体異性体形態で存在することがある。ジアステレオマー、エナンチオマー及びアトロブ異性体並びにラセミ混合物などのその混合物を含むが、これに限定されない、本発明の化合物の全ての立体異性体形態は、本発明の一部を形成することが意図される。多くの有機化合物は光学活性形態で存在し、すなわち、それらは平面偏光の平面を回転させる能力を有する。光学活性化合物を説明する際、D及びL又はR及びSという接頭辞は、その(複数の)キラル中心について分子の絶対配置を表すために使用する。d及びl又は(+)及び(-)という接頭辞は、該化合物による平面偏光の回転の符号を示す用いられ、(-)又はlは、化合物が左旋性であることを意味する。(+)又はdが接頭辞として付いた化合物は、右旋性である。所与の化学構造に関して、これらの立体異性体は、互いの鏡像であることを除いて同一である。特異的立体異性体はエナンチオマーと称されることもあり、こうした異性体の混合物はしばしばエナンチオマー混合物と呼ばれる。エナンチオマーの50:50の混合物は、ラセミ混合物又はラセミ体と称され、これは化学反応又は化学プロセスにおいて立体選択又は立体特異性がなかった場合に生じ得る。「ラセミ混合物」及び「ラセミ体」という用語は、光学活性を欠いている二つのエナンチオマー種の等モル混合物を示す。

### 【0298】

互変異性体形態に関して下で論じる場合を除き、本明細書で使用する場合、「異性体」という用語から特に除外されるのは、構造(又は構成)異性体(すなわち、単に空間での原子の位置によってではなく、むしろ原子間の結合が異なる異性体)であることに留意されたい。例えばメトキシ基、-OCH<sub>3</sub>と言う場合、その構造異性体であるヒドロキシメチル基、-CH<sub>2</sub>OHを指すと解釈されるべきではない。同様に、オルト-クロロフェニ

10

20

30

40

50

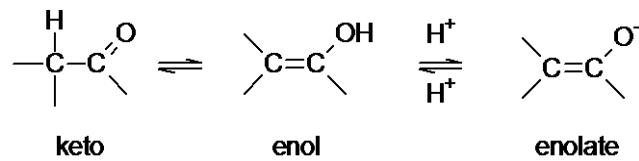
ルという場合、その構造異性体であるメタ・クロロフェニルを指すと解釈されるべきではない。しかし、構造のクラスという場合、そのクラスに含まれている構造異性体形態を含むことも理解できる（例えばC<sub>1-7</sub>アルキルにはn-プロピル及びイソプロピルが含まれ、ブチルにはn-、イソ-、sec-及びtert-ブチルが含まれ、メトキシフェニルにはオルト-、メタ-及びパラ-メトキシフェニルが含まれる）。

## 【0299】

上記の除外は、例えば以下の互変異性対：ケト／エノール（下に示す）、イミン／エナミン、アミド／イミノアルコール、アミジン／アミジン、ニトロソ／オキシム、チオケトン／エンチオール、N-ニトロソ／ヒドロキシアゾ、及びニトロ/a c i-ニトロにおけるような、互変異性体形態、例えばケト形態、エノール形態及びエノラート形態に関するものではない。

## 【0300】

## 【化64】



ケト                    エノール                    エノラート

## 【0301】

「互変異性体」又は「互変異性体形態」という用語は、低いエネルギー障壁を介して相互変換可能である異なるエネルギーの構造異性体を示す。例えばプロトン互変異性体（プロトトロピー互変異性体としても公知）としては、ケト-エノール及びイミン-エナミン異性化などプロトンの移動を介する相互変換が挙げられる。原子価互変異性体としては、結合性電子の一部の再編成による相互変換が挙げられる。

## 【0302】

「異性体」という用語に特に含まれるのは、1つ以上の同位体置換を有する化合物であることに留意されたい。例えばHは、<sup>1</sup>H、<sup>2</sup>H(D)及び<sup>3</sup>H(T)を含むいずれの異性体形態であってもよく；Cは、<sup>12</sup>C、<sup>13</sup>C及び<sup>14</sup>Cを含むいずれの異性体形態であってもよく；Oは、<sup>16</sup>O及び<sup>18</sup>Oを含むいずれの異性体形態であってもよいなどである。

## 【0303】

本発明の化合物中に包含させることができる同位体の例としては、水素、炭素、窒素、酸素、リン、フッ素及び塩素の異性体、例えば<sup>2</sup>H(重水素、D)、<sup>3</sup>H(トリチウム)、<sup>11</sup>C、<sup>13</sup>C、<sup>14</sup>C、<sup>15</sup>N、<sup>18</sup>F、<sup>31</sup>P、<sup>32</sup>P、<sup>35</sup>S、<sup>36</sup>S及び<sup>125</sup>Iであるが、これに限定されない。本発明の各種の同位体標識化合物、例えば放射性同位体、例えば<sup>3</sup>H、<sup>13</sup>C及び<sup>14</sup>Cなどの異性体が組み入れられているもの。このような同位体標識化合物は、薬剤若しくは基質組織分布アッセイを含む、陽電子放射断層撮影法(PET)若しくは単光子放射型コンピューター断層撮影法(SPECT)などの代謝研究、反応動態研究、検出技術若しくは造影技術において、又は患者の放射性治療において有用であり得る。本発明の重水素標識又は重水素置換された治療的化合物は、分布、代謝及び排出(ADME)に関連する改善されたDMPK(薬物代謝及び薬物動態)特性を有することができる。重水素などのより重い同位体での置換は、より大きな代謝的安定性、例えばインビボ半減期の増加又は投薬量要求の低減から生じる、ある治療的利点が得ることがある。<sup>18</sup>F標識化合物は、PET又はSPECTの研究に有用なことがある。本発明の同位体標識化合物及びそのプロドラッグは、非同位体標識試薬をただちに利用可能な同位体標識試薬で代用することによって、下記のスキーム又は実施例及び調製において開示されている手順を実施することによって、一般に調製できる。更に、より重い同位体、特に重水素(すなわち<sup>2</sup>H又はD)での置換で、より大きな代謝的安定性、例えばインビボ半減期の増加又は投薬量要求の低減又は治療指数の向上から生じる、ある治療的利点が得られることがある。重水素は、この文脈において、置換基とみなされると理解される。このようなより重い同位

10

20

30

40

50

体、特に重水素の濃度は、同位体濃縮因子によって定義してよい。本発明の化合物において、特定の同位体として特に指定されていない任意の原子は、その原子の任意の安定同位体を表すことを意味する。

【0304】

別途規定しない限り、特定の化合物を言う場合、(全体的に又は部分的に)そのラセミ混合物及び他の混合物を含む、全てのこのような異性体形態が含まれる。このような異性体形態の調製(例えば不斉合成)及び分離(例えば分別結晶及びクロマトグラフィー手段)の方法は、当分野で公知であるか、又は本明細書で教示されている方法、若しくは公知の方法を公知の様式で適応させることによってただちに得られるかのいずれかである。

【0305】

10

生物活性

インビトロ細胞増殖アッセイ

一般に、抗体-薬剤コンジュゲート(ADC)の細胞毒性活性又は細胞分裂阻害活性は、受容体タンパク質、例えばHER2を有する哺乳動物細胞を、細胞培養培地におけるADCの抗体に曝露し、細胞を約6時間から約5日の期間培養し、細胞生存能を測定することによって測定される。細胞ベースのインビトロアッセイを使用することで、本発明のADCの生存能(増殖)、細胞毒性及びアポトーシスの誘発(カスパーゼ活性化)を測定する。

【0306】

20

抗体-薬剤コンジュゲートのインビトロ効力は、細胞増殖アッセイによって測定することができる。CellTiter-Glo(登録商標)Luminouscent Cell Viabilityアッセイは、鞘翅目ルシフェラーゼの組換え発現に基づく市販(プロメガ社、ウィスコンシン州マディソン)の均質アッセイ法である(米国特許第5583024号;同第5674713号及び同第5700670号)。この細胞増殖アッセイは、存在するATPの定量化に基づく培養液中の生細胞の数、代謝的に活性な細胞の指標を決定する(Crouch et al(1993)J. Immunol. Meth. 160:81-88;米国特許第6602677号)。CellTiter-Glo(登録商標)アッセイは、自動ハイスループットスクリーニング(HTS)に適用できるよう、96ウェルのフォーマット中で行う(Cree et al(1995)Anticancer Drugs 6:398-404)。均質アッセイ手順は、単一試薬(CellTiter-Glo(登録商標)試薬)を、血清補充培地中で培養された細胞に直接添加することを含む。細胞洗浄工程、培地の除去工程及び複数のピペットティング工程は必要とされない。該系は、試薬の添加及び混合の10分後に、384ウェルのフォーマットでわずか15細胞/ウェルを検出する。該細胞はADCで連続的に処理されてよいか、又は細胞は処理されてADCから分離されてよい。一般に、短時間で、すなわち3時間処理された細胞は、連続的に処理された細胞と同じ効力効果を示した。

30

【0307】

均質「添加-混合-測定」フォーマットは、細胞溶解、及び存在するATPの量に比例した発光シグナルの発生をもたらす。ATPの量は、培養液中に存在する細胞の数に直接比例する。CellTiter-Glo(登録商標)アッセイは、これは細胞型及び使用培地に応じて、一般に5時間を超える半減期を有する、ルシフェラーゼ反応によって生成される「グロー型」発光シグナルを発生させる。生細胞は相対発光単位(RLU)に反映される。該基質のカブトムシルシフェリンは、AMPへのATPの同時変換及び光子の発生とともに、組換えホタルルシフェラーゼによって酸化的に脱炭酸される。

40

【0308】

抗体-薬剤コンジュゲートのインビトロ効力も、細胞毒性アッセイによって測定できる。培養した接着細胞をPBSで洗浄して、トリプシンで除去し、10%FCSを含有する完全培地で希釈し、遠心分離して、新しい培地で再懸濁して、血球計でカウントする。懸濁培養物は直接カウントする。カウントに好適な単分散細胞懸濁物では、細胞集塊を破壊するために繰り返し吸引することによる懸濁物の攪拌が必要な場合がある。

50

## 【0309】

細胞懸濁物を所望の播種密度まで希釈して、黒色96ウェルプレート中に分配（1ウェルに付き100μl）する。接着細胞株のプレートを一晩インキュベートして接着させる。播種日には、懸濁細胞培養物を使用できる。

ADC（20μg/m1）のストック溶液（1m1）を適切な細胞培養培地で作製する。100μlを細胞培地900μlに連続的に移して、ストックADCの10倍連続希釈物を15m1遠心管に作製する。

各ADC希釈物（100μl）の4つの複製ウェルを、細胞懸濁物（100μl）を先に平板培養した96ウェル黒色プレートに分配すると、最終体積が200μlとなる。対照ウェルには、細胞培地（100μl）を加える。

10

## 【0310】

細胞系の倍加時間が30時間を超える場合、ADCインキュベーションは5日間にわたり、さもなければ4日間のインキュベーションを行う。

インキュベーション期間の終了時に、アラマーブルーアッセイによって細胞生存能をアッセイする。アラマーブルー（インビトロジェン）をプレート全体に分配し（ウェル当たり20μl）、4時間インキュベートする。アラマーブルー蛍光を励起570nm、発光585nmにて、Varioskanフラッシュプレートリーダーで測定する。細胞生存パーセンテージを、対照ウェルの平均蛍光と比較したADC処置ウェルにおける平均蛍光から計算する。

20

## 【0311】

## インビボ効能

本発明の抗体・薬剤コンジュゲート（ADC）のインビボ効能は、マウスにおける腫瘍異種移植研究によって測定することができる。例えば、本発明の抗HER2 ADCのインビボ効能は、高発現性HER2トランスジェニック外植マウスモデルによって測定することができる。同種移植片は、ハーセプチノン（登録商標）療法に応答しないか、又は応答が不十分であるF05mmtvトランスジェニックマウスから増殖させる。対象を、ある用量レベル（mg/kg）のADC及びPBD薬剤曝露（μg/m<sup>2</sup>）、並びにプラセボ緩衝剤対照（ビヒクル）で1回処置して、2週間以上モニタリングして、腫瘍倍加、対数細胞死滅及び腫瘍収縮までの時間を測定した。

## 【0312】

30

## 使用

本発明のコンジュゲートは、PBD化合物を標的位置に提供するために使用してよい。

標的位置は、好ましくは増殖性細胞集団である。抗体は、増殖性細胞集団中に存在する抗原に対する抗体である。

一実施形態において、抗原は非増殖性細胞集団に、存在しないか、又は増殖性細胞集団、例えば腫瘍細胞集団に存在する抗原の量と比較して低いレベルで存在する。

標的位置はインビトロ、インビボで又はエクスピボであってよい。

## 【0313】

本発明の抗体・薬剤コンジュゲート（ADC）化合物には、抗癌活性に有用性を有するものがある。特に、該化合物は、リンカーによってPBD薬物部分にコンジュゲートされた、すなわち共有結合された抗体を含む。

40

標的位置において、リンカーは切断されなくてよい。本発明の抗体・薬剤コンジュゲート（ADC）化合物は、リンカーを切断することなくPBD薬物部分を放出する細胞毒性効果を有することがある。本発明の抗体・薬剤コンジュゲート（ADC）は、細胞毒性剤の有効量を腫瘍組織に選択的に送達することにより、より高い選択性、すなわちより低い有効用量を達成し得る。

## 【0314】

このため、一態様において、本発明は、治療（療法）で使用するための、本明細書に記載するコンジュゲート化合物を提供する。

## 【0315】

50

更なる態様において、増殖性疾患の処置に使用するための、本明細書に記載するコンジュゲート化合物も提供される。本発明の第2の態様は、増殖性疾患を処置する医薬品の製造におけるコンジュゲート化合物の使用を提供する。

当業者は、候補コンジュゲートが任意の特定の細胞型に対する増殖状態を処置するか否かをただちに判定できる。例えば、特定の化合物によって提供された活性を評価するためには便利に使用され得るアッセイが、下の実施例に記載されている。

【0316】

「増殖性疾患」という用語は、インピトロ又はインピボに関わらず、腫瘍性又は過形成性成長などの、所望されない過剰又は異常な細胞の望まれない又は制御されない細胞増殖に関する。

10

増殖状態の例としては、新生物及び腫瘍（例えば組織球腫、神経膠腫、星状細胞腫、骨腫）、癌（例えば肺癌、小細胞肺癌、消化管癌、腸癌、結腸癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、精巣癌、肝臓癌、腎臓癌、膀胱癌、肺臓癌、脳腫瘍、肉腫、骨肉腫、カポジ肉腫、メラノーマ）、白血病、乾癬、骨疾患、（例えば結合組織の）線維増殖性障害並びにアテローム性動脈硬化を含むが、これに限定されない良性、前悪性及び悪性の細胞増殖が挙げられるが、これに限定されない。特に興味のある癌としては、白血病及び卵巣癌が挙げられるが、これに限定されない。

肺、胃腸管（例えば腸、結腸を含む）、胸部（乳房）、卵巣、前立腺、肝臓（肝性）、腎臓（腎性）、膀胱、肺臓、脳及び皮膚を含むが、これに限定されない、いずれの種類の細胞も処置されてよい。

20

【0317】

一実施形態において、処置は、肺臓癌の処置である。

一実施形態において、処置は、細胞の表面上に  $\alpha_6$  インテグリンを有する腫瘍の処置である。

【0318】

本発明の抗体 - 薬剤コンジュゲート（ADC）は、例えば腫瘍抗原の過剰発現を特徴とする各種の疾患又は障害の処置に使用してよいと考えられる。例示的な状態又は過剰増殖性障害としては、良性又は悪性腫瘍；白血病、血液系及びリンパ系悪性腫瘍が挙げられる。他には、ニューロン、グリア、星状細胞、視床下部、腺性、マクロファージ、上皮、ストロマ、胞胚腔、炎症性、血管新生、及び自己免疫を含む免疫性の障害が挙げられる。

30

【0319】

一般に、処置される疾患又は障害は、癌などの過剰増殖性疾患である。本明細書で処置される癌の例としては、癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、肉腫及び白血病又はリンパ系悪性腫瘍が挙げられるが、これに限定されない。このような癌のより詳細な例としては、扁平細胞癌（例えば上皮扁平細胞癌）、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、肺の腺癌及び肺の扁平癌腫を含む肺癌、腹膜の癌、肝細胞癌、消化管癌を含む胃性癌又は胃癌、肺臓癌、神経膠芽腫、子宮頸癌、卵巣癌、肝臓癌、膀胱癌、肝細胞腫、乳癌、結腸癌、直腸癌、直腸結腸癌、子宮内膜癌腫又は子宮癌腫、唾液腺癌腫、腎臓癌又は腎性癌、前立腺癌、外陰癌、甲状腺癌、肝臓癌腫、肛門癌腫、陰茎癌腫並びに頭頸部癌が挙げられる。

【0320】

ADC化合物が処置に使用され得る自己免疫疾患としては、リウマチ障害（例えば関節リウマチ、シェーグレン症候群、強皮症、SLE及びループス腎炎などのループス、多発性筋炎 / 皮膚筋炎、クリオグロブリン血症、抗リン脂質抗体症候群及び乾癬性関節炎など）、骨関節炎、自己免疫性の胃腸及び肝臓障害（例えば、炎症性腸疾患（例えば潰瘍性大腸炎及びクローン病）、自己免疫性の胃炎及び悪性貧血、自己免疫性肝炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管炎及びセリアック病など）、血管炎（例えばチャーグストラウス血管炎を含むANCAs関連血管炎、ウェゲナー肉芽腫症及び多発動脈炎など）、自己免疫性神経障害（例えば多発性硬化症、眼球クローヌスミオクローヌス症候群、重症筋無力症、視神経脊髄炎、パーキンソン病、アルツハイマー病及び自己免疫性多発ニューロパチーなど）、腎臓障害（例えば糸球体腎炎、グッドパスチャーリー症候群及びベルジェ病など）

40

50

、自己免疫性皮膚障害（例えば乾癬、蕁麻疹、発疹、尋常性天疱瘡、水疱性類天疱瘡及び皮膚エリテマトーデス）、血液障害（例えば血小板減少性紫斑病、血栓性血小板減少性紫斑病、輸血後紫斑病及び自己免疫性溶血性貧血など）、アテローム性動脈硬化、ぶどう膜炎、自己免疫性聴覚疾患（例えば内耳疾患及び難聴など）、ベーチェット病、レイノー症候群、臓器移植並びに自己免疫性内分泌障害（例えばインスリン依存性真性糖尿病（I D D M）などの糖尿病関連自己免疫疾患、アジソン病及び自己免疫性甲状腺疾患（例えばグレーブス病及び甲状腺炎）など）が挙げられる。より好ましいこのような疾患としては、例えば関節リウマチ、潰瘍性大腸炎、A N C A 関連血管炎、ループス、多発性硬化症、シェーグレン症候群、グレーブス病、I D D M、悪性貧血、甲状腺炎、及び糸球体腎炎が挙げられる。

10

### 【 0 3 2 1 】

#### 処置方法

本発明のコンジュゲートは、治療方法で使用してよい。処置の必要がある対象に本発明のコンジュゲート化合物の治療的有効量を投与することを含む、処置方法も提供される。「治療的有効量」という用語は、患者に対する利益を示すのに十分な量である。このような利益は、少なくとも1つの症状の少なくとも寛解であり得る。投与される実際の量並びに投与の速度及び時間経過は、処置されているものの性質及び重症度に依存する。処置の処方、例えば投薬量の決定は、一般の開業医及び他の医師の責任の範囲内である。

本発明の化合物は、単独で又は他の処置と組み合わせて、処置される状態に応じて同時又は順次のどちらかで投与してよい。処置及び療法の例としては、化学療法（化学療法薬などの例えば薬剤を含む、活性剤の投与）、外科手術及び放射線療法が挙げられるが、これに限定されない。

20

### 【 0 3 2 2 】

「化学療法剤」は、作用機序に関わらず、癌の処置に有用な化学化合物である。化学療法剤のクラスとしては、アルキル化剤、代謝拮抗剤、紡錘体毒植物アルカロイド、細胞毒性 / 抗腫瘍性抗生物質、トポイソメラーゼ阻害剤、抗体、光増感剤及びキナーゼ阻害剤が挙げられるが、これに限定されない。化学療法剤としては、「標的療法」及び従来の化学療法に使用される化合物が挙げられる。

### 【 0 3 2 3 】

化学療法剤の例としては、エルロチニブ（タルセバ（登録商標）、ジェネンテック / O S I ファーム）、ドセタキセル（タキソテール（登録商標）、サノフィ - アベンティス）、5 - F U（フルオロウラシル、5 - フルオロウラシル、C A S 番号 5 1 - 2 1 - 8）、ゲムシタビン（ジェムザール（登録商標）、リリー）、P D - 0 3 2 5 9 0 1（C A S 番号 3 9 1 2 1 0 - 1 0 - 9、ファイザー）、シスプラチニン（シス - ジアミン、ジクロロ白金（I I ）、C A S 番号 1 5 6 6 3 - 2 7 - 1）、カルボプラチニン（C A S 番号 4 1 5 7 5 - 9 4 - 4）、パクリタキセル（タキソール（登録商標）、プリストル - マイヤーズスクイップ・オンコロジー、ニュージャージー州プリンストン）、トラスツズマブ（ハーセブチン（登録商標）、ジェネンテック）、テモゾロマイド（4 - メチル - 5 - オキソ - 2 , 3 , 4 , 6 , 8 - ペンタアザビシクロ [ 4 . 3 . 0 ] ノナ - 2 , 7 , 9 - トリエン - 9 - カルボキサミド、C A S 番号 8 5 6 2 2 - 9 3 - 1、テモダール（T E M O D A R ）（登録商標）、テモダール（T E M O D A L ）（登録商標）、シェリング・プラウ）、タモキシフェン（( Z ) - 2 - [ 4 - ( 1 , 2 - ジフェニルブタ - 1 - エニル ) フェノキシ ] - N , N - ジメチルエタンアミン、ノルバデックス（登録商標）、イスツバル（登録商標）、バロデックス（登録商標））、及びドキソルビシン（アドリアマイシン（登録商標））、A k t i - 1 / 2 、H P P D 及びラパマイシンが挙げられる。

30

40

### 【 0 3 2 4 】

化学療法剤の更なる例としては、オキサリプラチニン（エロキサチニン（登録商標）、サノフィ）、ボルテゾミブ（V E L C A D E （登録商標）、ミレニアムファーム）、スーテント（スニチニブ（登録商標）、S U 1 1 2 4 8、ファイザー）、レトロゾール（フェマーラ（登録商標）、ノバルティス）、イマチニブメシレート（グリーベック（登録商標）、

50

ノバルティス)、X L - 518 (M e k 阻害剤、エクセリクシス、国際公開第2007/044515号)、A R R Y - 886 (M e k 阻害剤、A Z D 6244、アレイバイファーマ、アストラゼネカ)、S F - 1126 (P I 3 K 阻害剤、セマフォー・ファーマシューティカルズ)、B E Z - 235 (P I 3 K 阻害剤、ノバルティス)、X L - 147 (P I 3 K 阻害剤、エクセリクシス)、P T K 787 / Z K 222584 (ノバルティス)、フルベストラント (ファスロデックス (登録商標)、アストラゼネカ)、ロイコボリン (フォリン酸)、ラパマイシン (シロリムス、ラパミューン (登録商標)、ワイズ)、ラパチニブ (タイケルブ (登録商標)、G S K 572016、グラクソ・スミス・クライン)、ロナファルニブ (S A R A S A R (商標)、S C H 66336、シェリング・プラウ)、ソラフェニブ (ネクサバール (登録商標)、B A Y 43 - 9006、バイエルL a b s )、ゲフィチニブ (イレッサ (登録商標)、アストラゼネカ)、イリノテカン (カンプトサール (登録商標)、C P T - 11、ファイザー)、チピファルニブ (ザルネストラ (商標)、ジョンソン&ジョンソン)、アブラキサン (商標) (クレモホールフリー)、パクリタキセルのアルブミン操作ナノ粒子処方物 (アメリカン・ファーマシューティカル・パートナーズ、イリノイ州シャンバーグ)、バンデタニブ (r I N N、Z D 6474、Z A C T I M A (登録商標)、アストラゼネカ)、  
 クロラムブシル、A G 1478、A G 1571 (S U 5271; スージエン)、テムシロリムス (トーリセル (登録商標)、ワイズ)、パゾパニブ (グラクソ・スミス・クライン)、カンフォスファミド (テルシタ (登録商標)、テリック)、チオテバ及びシクロホスファミド (c y c l o s p h o s p h a m i d e ) (シトキサン (登録商標)、ネオサール (登録商標) ) ; ブスルファン、インプロスルファン及びピポスルファンなどのアルキルスルホネート ; ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドパ及びウレドパなどのアジリジン ; アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンホスホラミド、トリエチレンチオホスホラミド及びトリメチロメラミンを含む、エチレンイミン及びメチルアメラミン ; アセトゲニン (特にプラタシン及びプラタシノン) ; カンプトテシン (合成類似体トボテカンを含む) ; ブリオスタチン ; カリスタチン ; C C - 1065 (そのアドゼレシン、カルゼルシン及びビゼレシン合成類似体を含む) ; クリプトフィシン (特にクリプトフィシン1及びクリプトフィシン8) ; ドラスタチン ; デュオカルマイシン (合成類似体、K W - 2189 及び C B 1 - T M 1 を含む) ; エリュテロビン ; パンクラチスタチン ; サルコジクチン ; スポンギスタチン ; ナイトロジエンマスター、例えばクロランブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシドヒドロクロライド、  
 メルファラン、ノブエンビキン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスター ; ニトロソ尿素、例えばカルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロリムスチン、ニムスチン及びラニムスチン (r a n i m n u s t i n e ) ; 抗生物質、例えばエンジイン抗生物質 (例えばカリケアマイシン、カリケアマイシンガンマ1 I、カリケアマイシンオメガI1 (A n g e w C h e m . I n t l . E d . E n g l . (1994) 33 : 183 - 186) ; ジネミシン、ジネミシンA ; ピスフォスフォネット、例えばクロドロネット ; エスペラマイシン ; 並びにネオカルチノスタチン発色団及び関連する色素タンパク質エンジイン抗生物質発色団)、アクラシノマイシン (a c l a c i n o m y s i n s )、アクチノマイシン、アントラマイシン (a u t h r a m y c i n )、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、カルジノフィリン、クロモマイシン (c h r o m o m y c i n i s )、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、デトルビシン、6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン、モルホリノ - ドキソルビシン、シアノモルホリノ - ドキソルビシン、2 - ピロリノ - ドキソルビシン及びデオキシドキソルビシン)、エピルビシン、エソルビシン、イダルビシン、ネモルビシン、マルセロマイシン、マイトイシンCなどのマイトイシン、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペブロマイシン、ポルフィロマイシン、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルビシン ; 代謝拮抗物質、例えばメトトレ  
 10  
 20  
 30  
 40  
 50

キセート及び5-フルオロウラシル(5-FU)；葉酸類似体、例えばデノブテリン、メトトレキセート、ブテロブテリン、トリメトレキセート；  
 プリン類似体、例えばフルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニン；ピリミジン類似体、例えばアンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シタラビン、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクシウリジン；アンドロゲン、例えばカルステロン、プロピオニ酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトン；抗副腎剤、例えばアミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタン；葉酸補充剤、例えばフロリン酸；アセグラトン；アルドホスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；エニルウラシル；アムサクリン；ベストラブシル；ビスアントレン；エダトレキセート(edatraxate)；デフォファミン；デメコルシン；ジアジクォン；エフロルニチン(elfornithine)；酢酸エリブチニウム；エポチロン；エトグルシド；硝酸ガリウム；ヒドロキシ尿素；レンチナン；ロニダミン(lonidainine)；メイタンシノイド、例えばメイタンシン及びアンサマイトシン；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダンモール(mopidanmol)；ニトラミン(nitraerine)；ペントスタチン；フェナメット；ピラルビシン；ロソキサントロン；ポドフィリン酸；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；P SK(登録商標)多糖類複合体(JHSナチュラルプロダクツ、オレゴン州ユージーン)；ラゾキサン；リゾキシン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；2,2',2"-トリクロロトリエチルアミン；  
 トリコテセン(特にT-2トキシン、ベラキュリン(verrucurin)A、ロリジンA及びアングイジン)；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトプロニトール；ミトラクトール；ピポブロマン；ガシトシン(gacytosine)；アラビノシド('Ara-C')；シクロホスファミド；チオテバ；6-チオグアニン；メルカプトプリン；メトレキセート；白金類似体、例えばシスプラチニン及びカルボプラチニン；ビンプラスチン；エトポシド(VP-16)；イホスファミド；ミトキサントロン；ビンクリスチン；ビノレルビン(ナベルビン(登録商標))；ノバントロン；テニボシド；エダトレキセート；ダウノマイシン；アミノブテリン；カペシタビン(ゼローダ(登録商標)、ロシュ)；イバンドロネート；CPT-11；トポイソメラーゼ阻害剤RFS-2000；ジフロロメチルオルニチン(DMFO)；レチノイン酸などのレチノイド；並びに上記のいずれかの医薬的に許容される塩、酸及び誘導体が挙げられる。  
 10  
 20  
 30  
 40

## 【0325】

また「化学療法剤」の定義に含まれるのは、(i)腫瘍に対するホルモン作用を調節又は阻害するように作用する抗ホルモン剤、例えばタモキシフェン(ノルバデックス(登録商標)；クエン酸タモキシフェンを含む)、ラロキシフェン、ドロキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン、及びファレストン(FARESTON)(登録商標)(クエン酸トレミフェン)を含む、抗エストロゲン及び選択的エストロゲン受容体モジュレーター(SERM)、(ii)副腎におけるエストロゲン産生を調節する酵素アロマターゼを阻害するアロマターゼ阻害剤、例えば4(5)-イミダゾール、アミノグルテチミド、メガス(MEGA SE)(登録商標)(酢酸メゲストロール)、アロマシン(登録商標)(エキセメスタン；ファイザー)、ホルメスタン(formestanone)、ファドロゾール、リビゾール(RIVISOR)(登録商標)(ボロゾール)、フェマーラ(登録商標)(レトロゾール；ノバルティス)及びアリミデックス(登録商標)(アナストロゾール；アストラゼネカ)、(iii)抗アンドロゲン、例えばフルタミド、ニルタミド、ビカルタミド、ロイプロリド及びゴセレリン；並びにトロキサシタビン(1,3-ジオキソランヌクレオシドシトシン類似体)、(iv)タンパク質キナーゼ阻害剤、例えばMEK阻害剤(国際公開第2007/044515号)、(v)脂質キナーゼ阻害剤、(vi)アンチセンスオリゴヌクレオチド、特に異所性細胞増殖に関与シグナル伝達経路における遺伝子の発現を阻害するもの、例えばPKC-アルファ、Raf及びH-Ras、例えばオブリメルセン(ジェナセンス(登録商標)、ジェンタInc.)、(vii)リボザイム、例えばV  
 50

E G F 発現阻害剤（例えばアンギオザイム（登録商標））及び H E R 2 発現阻害剤、（v i i i ）遺伝子治療ワクチンなどのワクチン、例えばアロベクチン（登録商標）、ロイベクチン（登録商標）及びバキシド（VAXID）（登録商標）；プロロイキン（登録商標）r I L - 2；トポイソメラーゼ 1 阻害剤、例えばラルトテカン（登録商標）などの；アバレリクス（登録商標）r m R H、（i x ）血管新生抑制物質、例えばベバシズマブ（アバスチン（登録商標）、ジェネンテック）；並びに上記のいずれかの医薬的に許容される塩、酸及び誘導体である。

### 【0326】

また「化学療法剤」の定義に含まれるのは、治療用抗体、例えばアレムツズマブ（キャンパス）、ベバシズマブ（アバスチン（登録商標）、ジェネンテック）；セツキシマブ（アービタックス（登録商標）、イムクローン）；パニツムマブ（ベクティビックス（登録商標）、アムジェン）、リツキシマブ（リツキサン（登録商標）、ジェネンテック／バイオジェン・アイデック）、ペルツズマブ（オムニターグ（商標）、2 C 4、ジェネンテック）、トラスツズマブ（ハーセプチン（登録商標）、ジェネンテック）、トシツモマブ（ベキサール、コリキサ）及び抗体薬物コンジュゲート、ゲムツズマブオゾガマイシン（マイロターグ（登録商標）、ワイス）である。

### 【0327】

本発明のコンジュゲートと組み合わせた化学療法剤として治療的可能性を有するヒト化モノクローナル抗体としては、アレムツズマブ、アポリズマブ、アセリズマブ、アトリズマブ、バビネオズマブ、ベバシズマブ、ビバツズマブメルタンシン、カンツズマブメルタンシン、セデリズマブ、セルトリズマブペゴール、シドフシツズマブ、シドツズマブ、ダクリズマブ、エクリズマブ、エファリズマブ、エピラツズマブ、エルリズマブ、フェルビズマブ、フォントリズマブ、ゲムツズマブオゾガマイシン、イノツズマブオゾガマイシン、イピリムマブ、ラベツズマブ、リンツズマブ、マツズマブ、メポリズマブ、モタビズマブ、モトビズマブ、ナタリズマブ、ニモツズマブ、ノロビズマブ、ヌマビズマブ、オクレリズマブ、オマリズマブ、パリビズマブ、パスコリズマブ、ペクフシツズマブ、ペルツズマブ、ペルツズマブ、パキセリズマブ、ラリビズマブ、ラニビズマブ、レスリビズマブ、レスリズマブ、レシビズマブ、ロベリズマブ、ルプリズマブ、シブロツズマブ、シプリズマブ、ソンツズマブ、タカツズマブテトラキセタン、タドシズマブ、タリズマブ、テフィバズマブ、トシリズマブ、トラリズマブ、トラスツズマブ、ツコツズマブセルモロイキン、ツクシツズマブ、ウマビズマブ、ウルトキサズマブ及びビシリズマブが挙げられる。

### 【0328】

本発明による、及び本発明に従う使用のための医薬組成物は、該活性成分、すなわちコンジュゲート化合物に加えて、医薬的に許容される賦形剤、担体、緩衝剤、安定剤又は当業者に周知の他の材料を含んでよい。このような材料は非毒性であるべきであり、活性成分の効能を妨げるべきではない。担体又は他の材料の正確な性質は、投与経路に依存し、投与経路は経口であるか、又は例えば経皮、皮下若しくは静脈内注射によってよい。

### 【0329】

経口投与用の医薬組成物は、錠剤、カプセル、粉末又は液体の形態であってよい。錠剤は、固体担体又はアジュバントを含んでよい。液体医薬組成物は、一般に水、石油、動物性油又は植物性油、鉱油又は合成油などの液体担体を含む。生理的食塩水溶液、デキストロース若しくは他の多糖類溶液、又はエチレングリコール、プロピレングリコール若しくはポリエチレングリコールなどのグリコールが含まれてよい。カプセルは、ゼラチンなどの固体担体を含んでよい。

### 【0330】

静脈内、経皮しくは皮下注射、又は罹患部位での注射では、該活性成分は、発熱物質を含まず、好適な pH、等張性及び安定性を有する非経口的に許容される水溶液の形態となる。当業者は、例えば塩化ナトリウム注入液、リングル注入液、乳酸リングル注入液などの等張ビヒクルを使用して好適な溶液を調製することができる。保存料、安定剤、緩衝剤、抗酸化剤及び／又は他の添加剤は、必要ならば含まれてよい。

10

20

30

40

50

## 【0331】

## 処方物

コンジュゲート化合物を単独で使用する（例えば投与する）ことが可能である場合、該化合物を組成物又は処方物として提供するが多くは好ましい。

一実施形態において、組成物は、本明細書に記載するコンジュゲート化合物及び医薬的に許容される担体、希釈剤又は賦形剤を含む医薬組成物（例えば処方物、調製物、医薬品）である。

一実施形態において、組成物は、本明細書に記載する少なくとも1種類のコンジュゲート化合物を、医薬的に許容される担体、希釈剤、賦形剤、アジュバント、充填剤、緩衝剤、保存料、酸化防止剤、潤滑剤、安定剤、可溶化剤、界面活性剤（例えば湿潤剤）、マスキング剤、着色剤、香味剤及び甘味剤を含むが、これに限定されない、当業者に周知の1種類以上の他の医薬的に許容される成分と共に含む医薬組成物である。10

一実施形態において、組成物は、他の活性剤、例えば他の治療剤又は予防剤を更に含む。。

## 【0332】

好適な担体、希釈剤、賦形剤などは標準医薬文書に見出すことができる。例えば、Handbook of Pharmaceutical Additives, 2nd Edition (eds. M. Ash and I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA), Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; and Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd edition, 1994を参考のこと。20

## 【0333】

本発明の別の態様は、本明細書で定義する通りの、少なくとも1種類の[<sup>11</sup>C]放射標識コンジュゲート又はコンジュゲート様化合物を、当業者に周知の1種類以上の他の医薬的に許容される成分、例えば担体、希釈剤、賦形剤などと共に混和することを含む、医薬組成物を製造する方法に関する。個別の単位（例えば錠剤など）として処方される場合、各単位は、該活性化合物の所定量（投薬量）を含有する。30

## 【0334】

「医薬的に許容される」という用語は、本発明で使用する場合、正常な医学的判断の範囲内において、過剰な毒性、刺激、アレルギー応答又は他の問題若しくは合併症を伴わずに、当該の対象（例えば、ヒト）の組織と接触して使用するのに好適であり、合理的な利益/リスク比に相応する、化合物、成分、材料、組成物、投薬形態などに関する。各担体、希釈剤、賦形剤なども、処方物の他方の成分と相容性であるという意味において、「許容され」なければならない。

## 【0335】

該処方物は、製薬の技術分野において周知のいずれの方法によっても調製してよい。このような方法は、該活性化合物を1種類以上の副成分を構成する担体と会合させるステップを含む。一般に、該処方物は、該活性化合物を担体（例えば液体担体、微粉化固体担体など）と均質及び密接に会合させて、次いで必要な場合は、該生成物を成形することによって調製される。40

処方物は、急速放出若しくは緩徐放出；即時放出、遅延放出若しくは持続放出；又はその組合せを提供するように調製してよい。

## 【0336】

非経口投与（例えば注射による）に好適な処方物としては、水性又は非水性の等張の発熱物質を含まない無菌液体（例えば溶液、懸濁液）が挙げられ、この中に活性成分が溶解、懸濁又はそれ以外の様式で（例えばリポソーム又は他の微粒子で）提供されている。このような液体は、他の医薬的に許容される成分、例えば酸化防止剤、緩衝剤、保存料、安50

定剤、静菌薬、懸濁化剤、増粘剤、及び対象とするレシピエントの血液（又は他の関連する体液）と処方物を等張にする溶質を更に含有してよい。賦形剤の例としては、例えば水、アルコール、ポリオール、グリセロール及び植物油などが挙げられる。このような処方物で使用するための好適な等張性担体の例としては、塩化ナトリウム注射用液、リングル液又は乳酸リングル注射用液が挙げられる。通常、該液体における活性成分の濃度は、約 1 ng / ml から約 10 µg / ml、例えば約 10 ng / ml から約 1 µg / ml である。処方物は、単位用量又は複数回用量の密閉容器、例えばアンプル及びバイアル中に提供することができ、使用直前に注射の滅菌液体担体、例えば水の添加だけを必要とするフリーズドライ（凍結乾燥）状態で保管されてよい。即時注射溶液及び懸濁液は、滅菌粉末、顆粒及び錠剤から調製してよい。

10

### 【 0 3 3 7 】

#### 投薬量

コンジュゲート化合物及びコンジュゲート化合物を含む組成物の適切な投薬量が患者によって変動し得ることは、当業者によって理解されるであろう。最適な投薬量の決定には、一般に何らかのリスク又は有害な副作用に対する治療的利益のレベルのバランスをとることを伴う。選択された投薬量は、特定の化合物の活性、投与経路、投与時間、化合物の排出速度、処置の持続期間、組み合わせて使用される他の薬物、化合物及び / 又は材料、状態の重症度並びに患者の種、性別、年齢、重量、状態、全般的な健康及び前病歴を含むが、これに限定されない、様々な因子に依存するであろう。

### 【 0 3 3 8 】

20

一般に投薬量は、実質的に危険又は有害な副作用を引き起こさずに所望の効果を達成する局所濃度を作用部位にて達成するように選択されるが、化合物の量及び投与経路は、最終的に、医師、獣医又は臨床医の裁量による。

### 【 0 3 3 9 】

投与は、処置の過程を通じて、1回の用量で、連続的に又は断続的に（例えば分割用量にて適切な間隔で）行うことができる。投与の最も有効な手段及び投薬量を決定する方法は当業者に周知であり、療法（治療）に使用される処方物、療法の目的、処置される（複数の）標的細胞及び処置される対象によって変動する。単回又は複数回の投与は、処置を行う医師、獣医又は臨床医によって選択される用量レベル及びパターンで実施することができる。

30

### 【 0 3 4 0 】

一般に、活性化合物の好適な用量は、1日に付き、対象の体重 1 キログラム当たり約 100 ng から約 25 mg（より通例には約 1 µg から約 10 mg）の範囲である。活性化合物が塩、エステル、アミド又はプロドラッグなどである場合、投与される量は親化合物に基づいて算出されるため、使用される実際の重量が比例して増加する。

### 【 0 3 4 1 】

一実施形態において、活性化合物は、以下の投薬計画：約 100 mg、1日 3 回に従って、ヒト患者に投与される。

一実施形態において、活性化合物は、以下の投薬計画：約 150 mg、1日 2 回に従って、ヒト患者に投与される。

40

一実施形態において、活性化合物は、以下の投薬計画：約 200 mg、1日 2 回に従って、ヒト患者に投与される。

しかし、一実施形態において、コンジュゲート化合物は、以下の投薬計画：約 50 又は約 75 mg、1日 3 又は 4 回に従って、ヒト患者に投与される。

一実施形態において、コンジュゲート化合物は、以下の投薬計画：約 100 又は約 125 mg、1日 2 回に従って、ヒト患者に投与される。

### 【 0 3 4 2 】

上に記載した投薬量は、コンジュゲート（抗体への PBD 部分及びリンカーを含む）又は提供される PBD 化合物の有効量、例えばリンカーの切断後に放出可能な化合物の量に適用してよい。

50

## 【0343】

疾患の予防又は処置に関し、本発明のADCの適切な投薬量は、上記で定義されている通りの処置される疾患の型、疾患の重症度及び過程、該分子が予防的・目的のために投与されるのか又は治療的・目的のために投与されるのか、以前の治療法、患者の臨床歴及び抗体に対する応答、並びに主治医の裁量に依存する。分子は、1回で又は一連の処置にわたって患者に好適に投与される。疾患の種類及び重症度に応じて、約1 $\mu$ g/kgから15mg/kg(例えば0.1~20mg/kg)の分子が、例えば1回以上の別個の投与によるか、又は持続注入によるかに関わらず、患者への投与のための初期候補投薬量である。代表的な1日投薬量は、上述した因子に応じて約1 $\mu$ g/kgから100mg/kg以上の範囲に及ぶことがある。患者に投与されるADCの例示的な投薬量は、患者の体重に基づいて約0.1mg/kgから約10mg/kgの範囲である。数日以上にわたる反復投与には、状態に応じて、疾患症状の所望の抑制が生じるまで処置が持続される。例示的な投薬計画は、ADCの約4mg/kgの初期負荷用量、続いて追加の用量を毎週、二週間毎又は三週間毎に投与する過程を含む。他の投薬計画も有用であり得る。療法の進捗は、従来技術及びアッセイによって容易にモニタリングされる。

10

## 【0344】

## 処置

「処置」という用語は、本発明で使用する場合、状態を処置するという文脈において、一般に、ヒト又は動物(例えば、獣医学用途で)に関わらず、いくつかの所望の治療的效果、例えば状態の進行の阻害が達成される処置及び療法(治療)に関し、進行の速度の低減、進行の速度の停止、状態の後退、状態の寛解及び状態の治癒を含む。予防的措置(すなわち予防、防止)としての処置も含まれる。

20

## 【0345】

「治療的有効量」という用語は、本明細書で使用する場合、所望の処置計画に従って投与される場合に、合理的な利益/リスク比に相応する、いくつかの所望の治療的效果を生み出すのに有効である、活性化合物又は活性化合物を含む材料、組成物若しくは投薬形態(dosage from)のその量に関する。

## 【0346】

同様に、「予防的有効量」という用語は、本明細書で使用する場合、所望の処置計画に従って投与される場合に合理的な利益/リスク比に相応する、いくつかの所望の予防的效果を生み出すのに有効である、活性化合物又は活性化合物を含む材料、組成物若しくは投薬形態(dosage from)のその量に関する。

30

## 【0347】

## 抗体-薬剤コンジュゲートの調製

抗体-薬剤コンジュゲートは、当業者に公知の有機化学反応、条件及び試薬を用いて、(1)共有結合を介して抗体-リンカー中間体Ab-Lを形成するための抗体の求核基又は求電子基と二価のリンカー試薬との反応、続いて活性化薬剤部分試薬との反応、及び(2)共有結合を介して薬剤-リンカー試薬D-Lを形成するための薬剤部分試薬とリンカー試薬との反応、続いて抗体の求核基又は求電子基との反応を含む、複数の経路によって調製することができる。コンジュゲーション方法(1)及び(2)を様々な抗体及びリンカーと共に用いることで、本発明の抗体-薬剤コンジュゲートを調製してよい。

40

## 【0348】

抗体上の求核性基としては、側鎖チオール基、例えばシステインが挙げられるが、これに限定されない。チオール基は、求核性であり、反応して、本発明のリンカー部分などのリンカー部分上に求電子性基との共有結合を形成することができる。ある抗体は、還元性鎖間ジスルフィド、すなわちシステイン架橋を有する。抗体は、還元剤、例えばDTT(クリーランド試薬、ジチオスレイトール)又はTCEP(トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィンヒドロクロリド; Getz et al (1999) Anal. Biochem. Vol 273:73-80; ソルテックベンチャーズ、マサチューセッツ州ビバリー)を用いた処理によって、リンカー試薬とコンジュゲートするために反応性にされて

50

よい。各システインジスルフィド架橋はこのため、理論的に2種類の反応性チオール求核試薬を形成する。追加の求核性基を、リジンと2-イミノチオラン(トラウト試薬)との反応を通じて抗体に導入して、アミンのチオールへの変換を生じることができる。

【0349】

対象 / 患者

対象 / 患者は、動物、哺乳動物、胎盤哺乳動物、有袋類(例えばカンガルー、ウォンバット)、単孔類(例えばカモノハシ)、げっ歯類(例えばモルモット、ハムスター、ラット、マウス)、ネズミ類(例えばマウス)、ウサギ類(例えばウサギ)、トリ類(例えばトリ)、イヌ類(例えばイヌ)、ネコ類(例えばネコ)、ウマ類(例えばウマ)、ブタ類(例えばブタ)、ヒツジ類(例えばヒツジ)、ウシ類(例えば雌ウシ)、霊長類、サル類(例えばサル又は類人猿)、サル(例えばマーモセット、ヒヒ)、類人猿(例えばゴリラ、チンパンジー、オランウータン、テナガザル)又はヒトであってよい。

更に、対象 / 患者は、その発生形態のいずれか、例えば胎児であってよい。好ましい一実施形態において、対象 / 患者はヒトである。

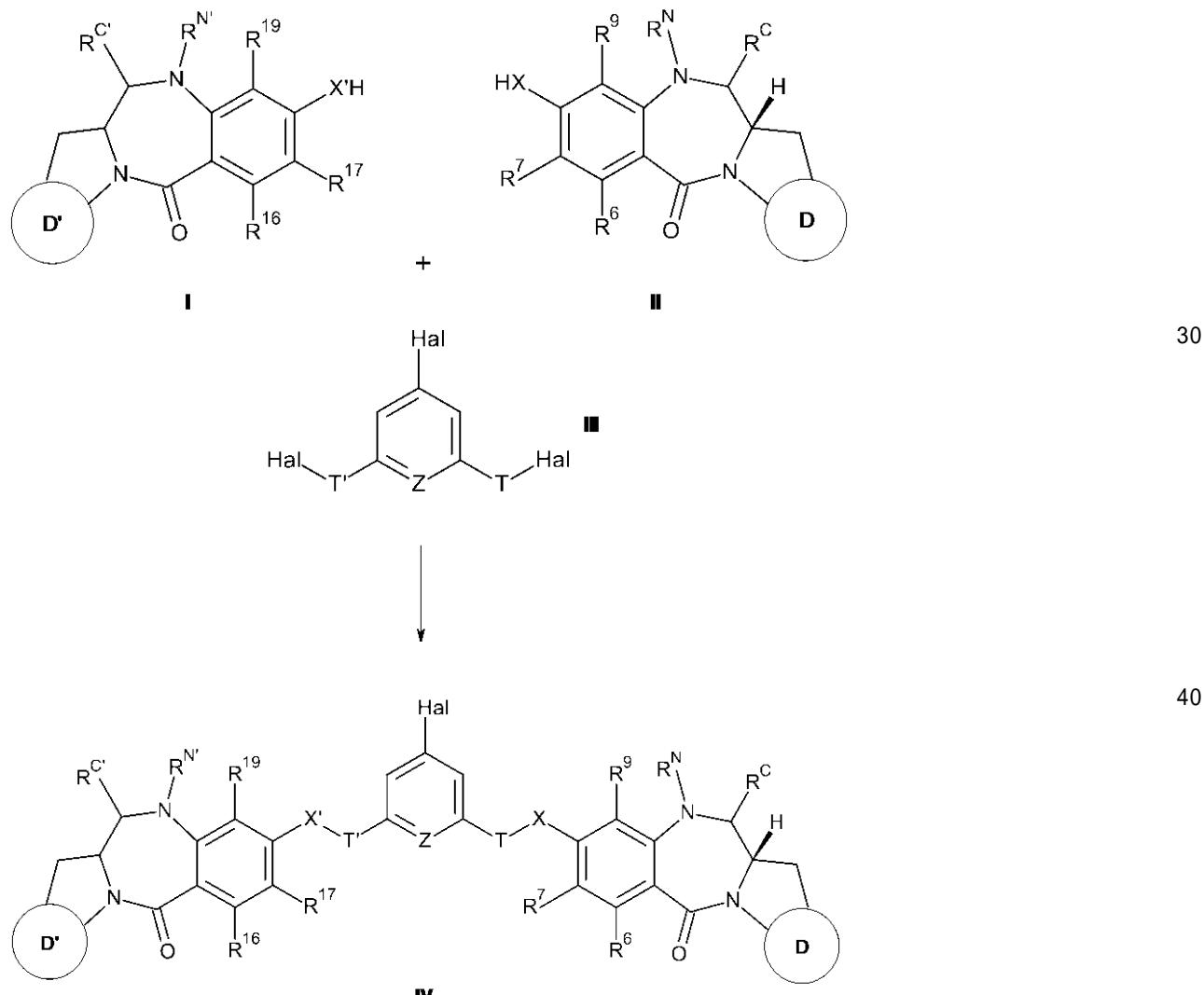
一実施形態において、患者は、各患者が細胞の表面上に $\alpha_6\beta_1$ インテグリンを有する腫瘍を有する集団である。

【0350】

合成

式IVのダイマー中間体への1つの考えられる経路を以下に示す：

【化65】



【0351】

中間体IVを使用して、中間体Vを生成できる。

10

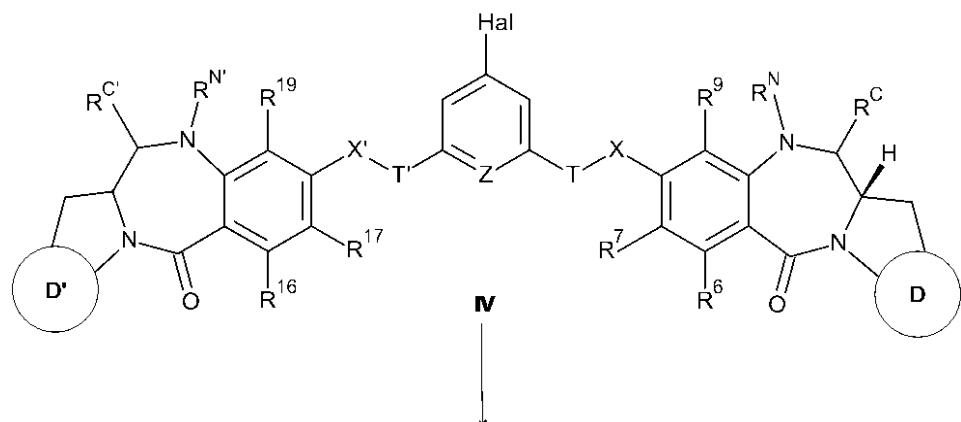
20

30

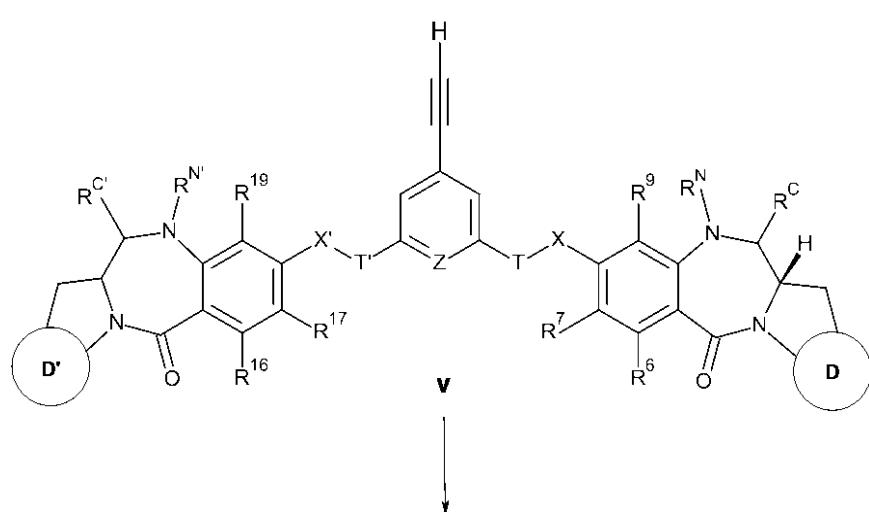
40

50

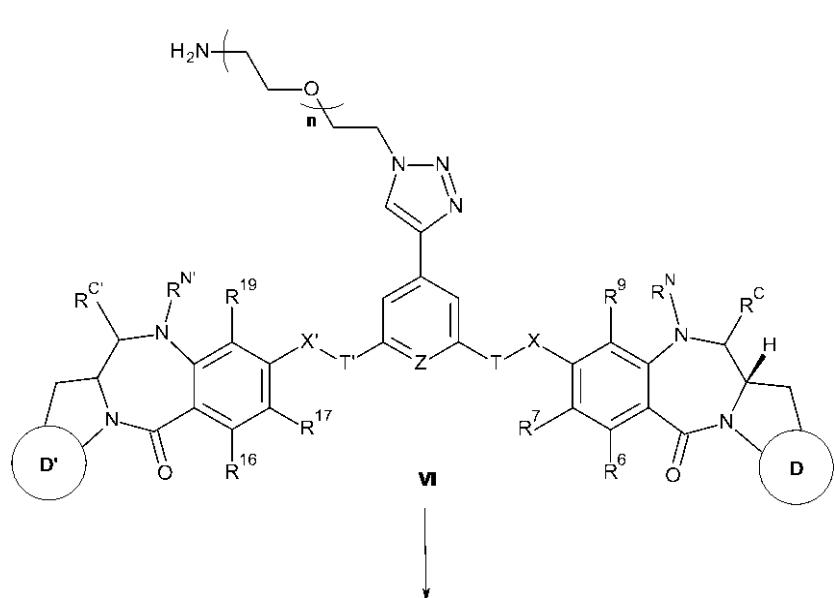
【化 6 6 - 1】



10



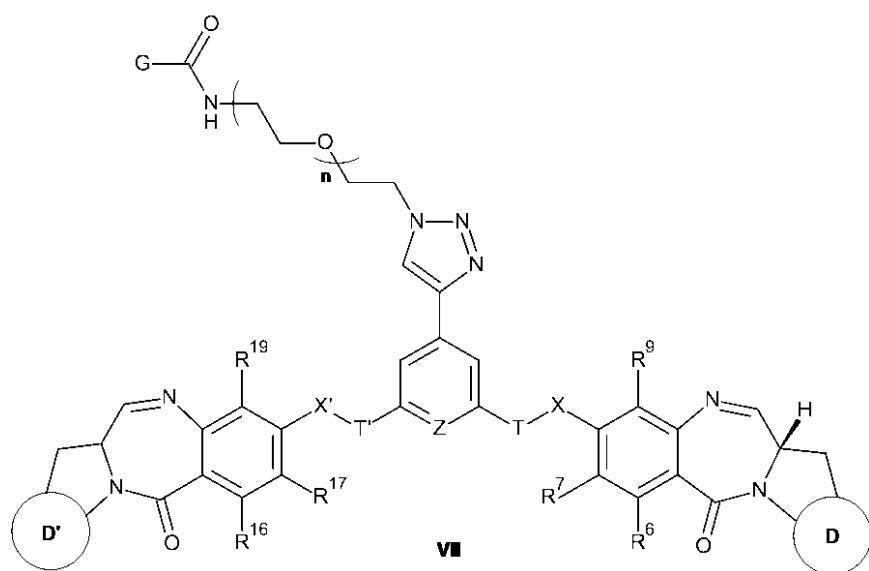
20



30

40

【化 6 6 - 2】

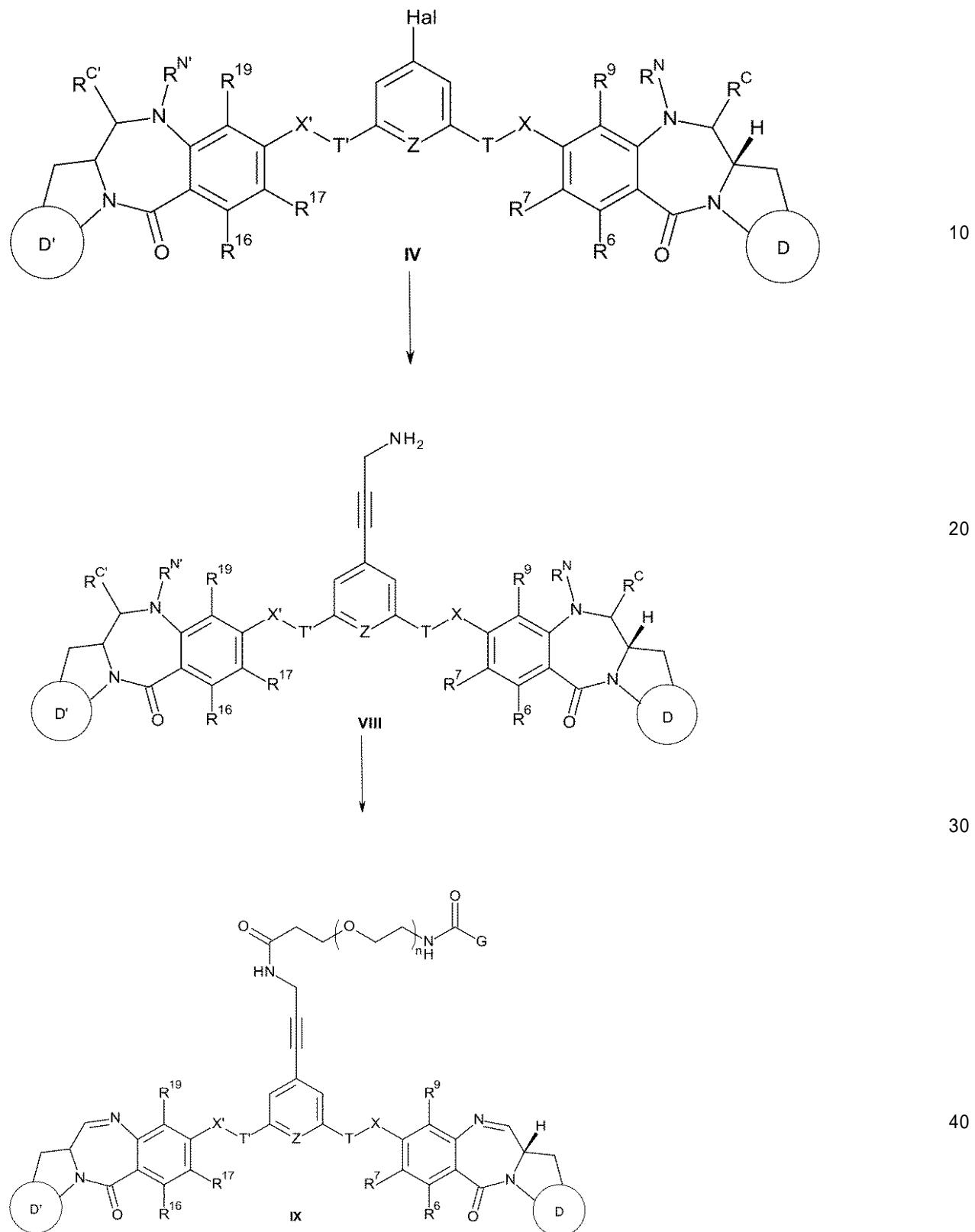


10

【0 3 5 2】

中間体 IV を使用して、中間体 IX を生成できる：

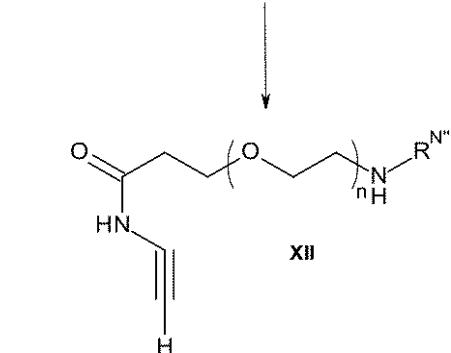
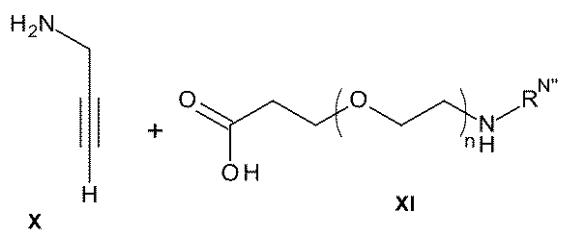
【化 6 7】



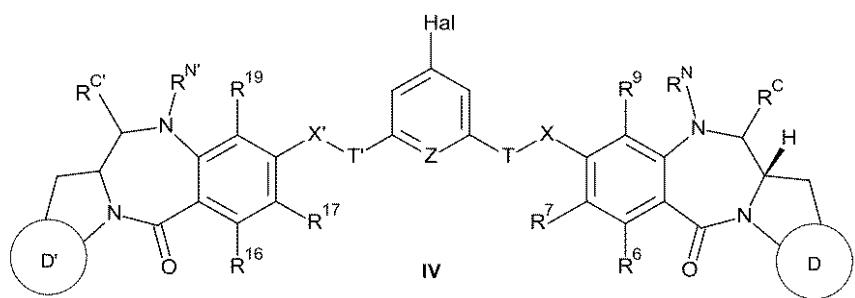
【0353】

又は、中間体IVを中間体Xと結合させて、中間体IXを生成できる：

【化 6 8 - 1 】



10

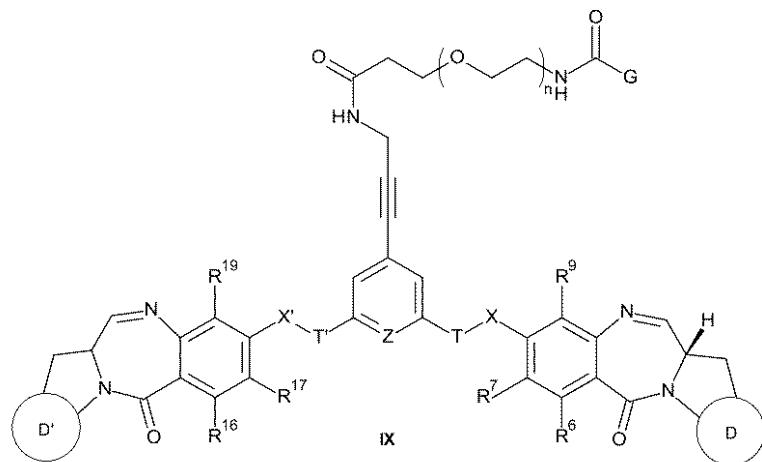


20

40

1. Deprotection  
2. 

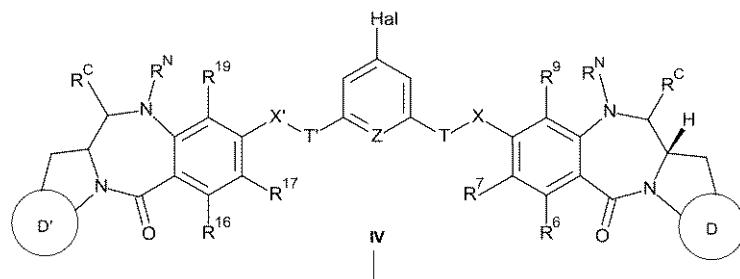
【化 6 8 - 2】



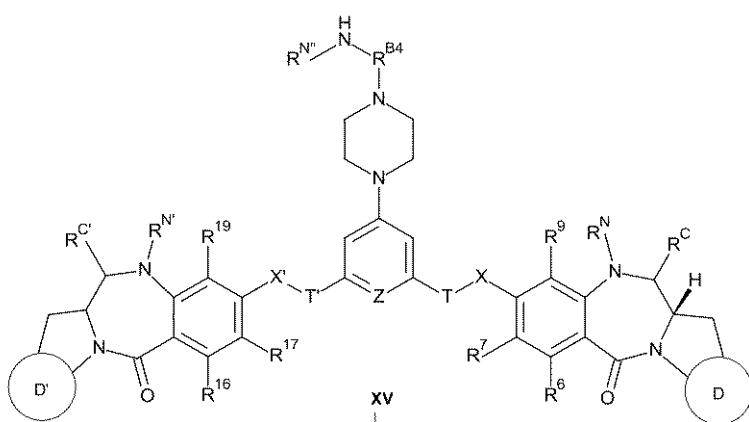
【0354】

中間体 I V を使用して、中間体 X V I を生成できる。

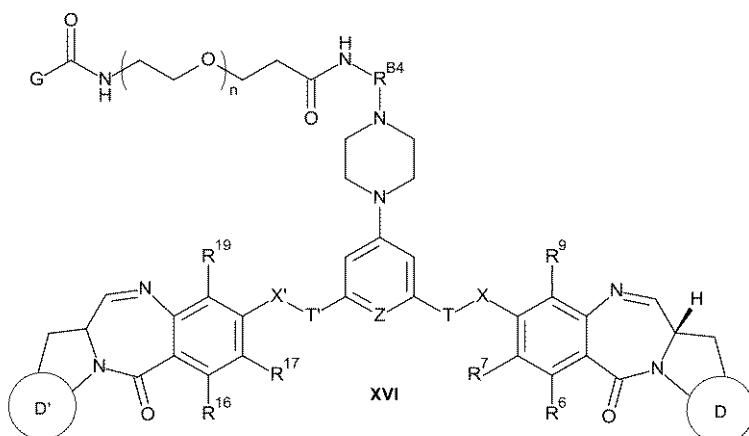
【化 6 9】



10



20

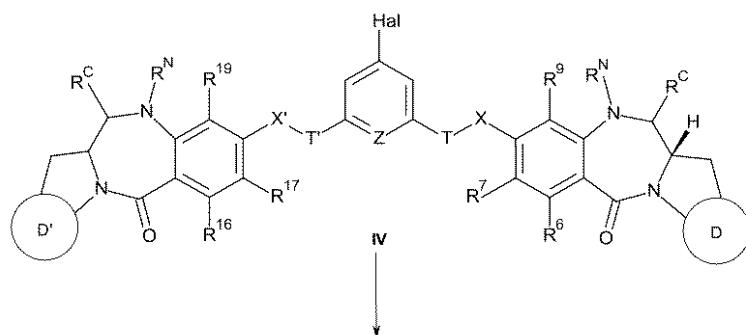


30

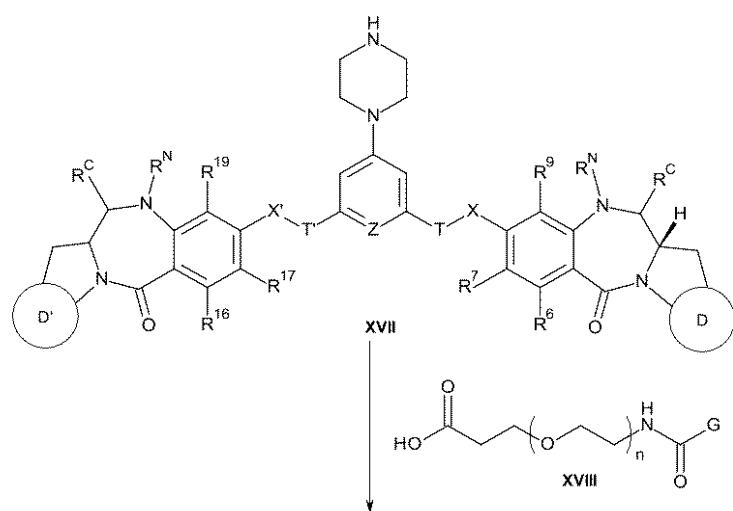
【 0 3 5 5 】

中間体 I V を使用して、中間体 X I X を生成できる。

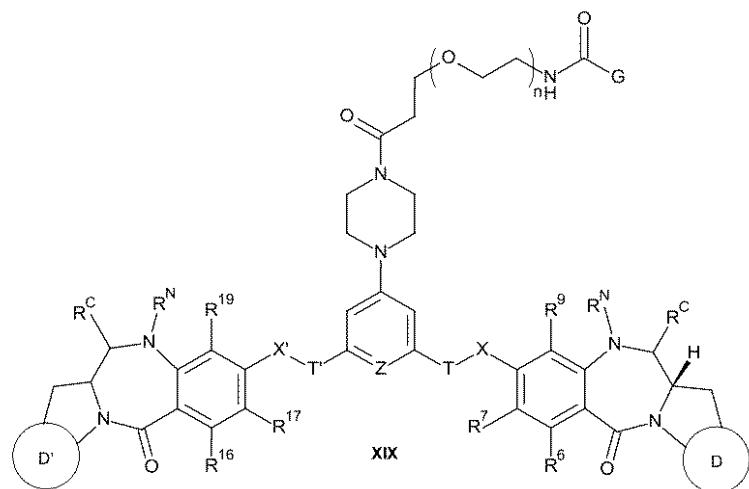
【化70】



10



20



30

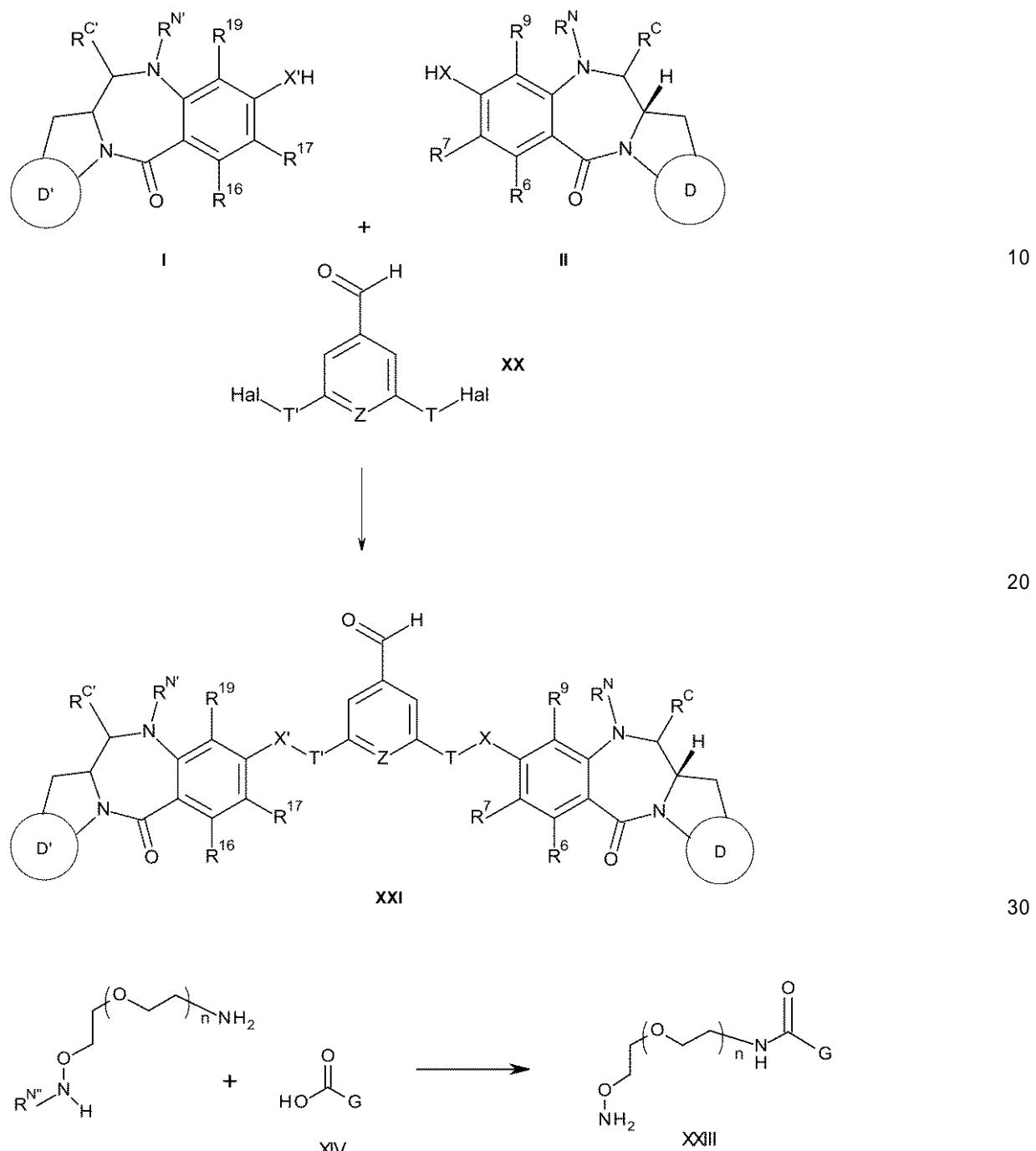


40

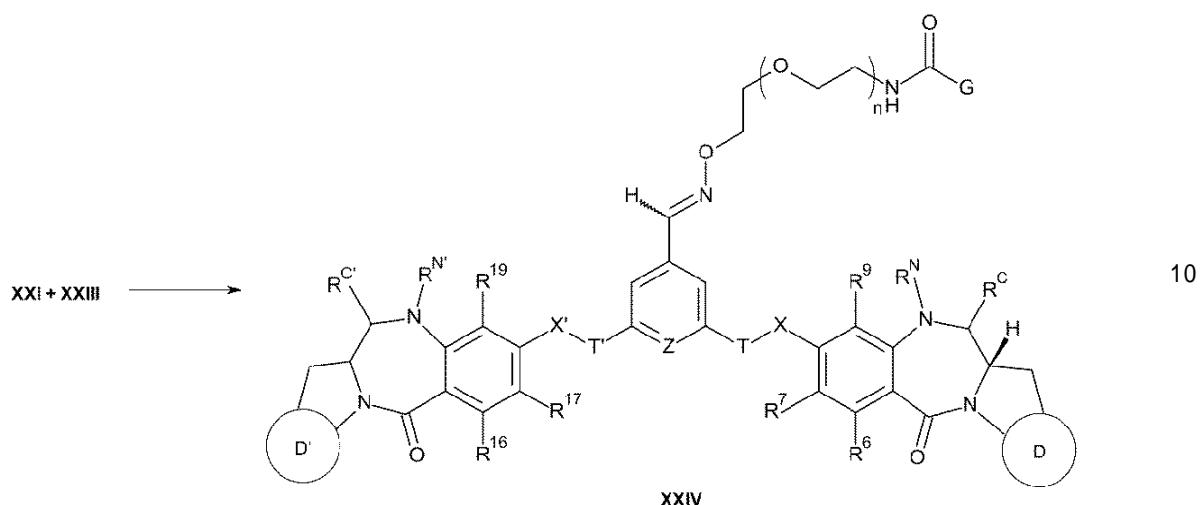
【0356】

式XIVのダイマー中間体への1つの考えられる経路を以下に示す：

【化 7 1 - 1】



【化 7 1 - 2】

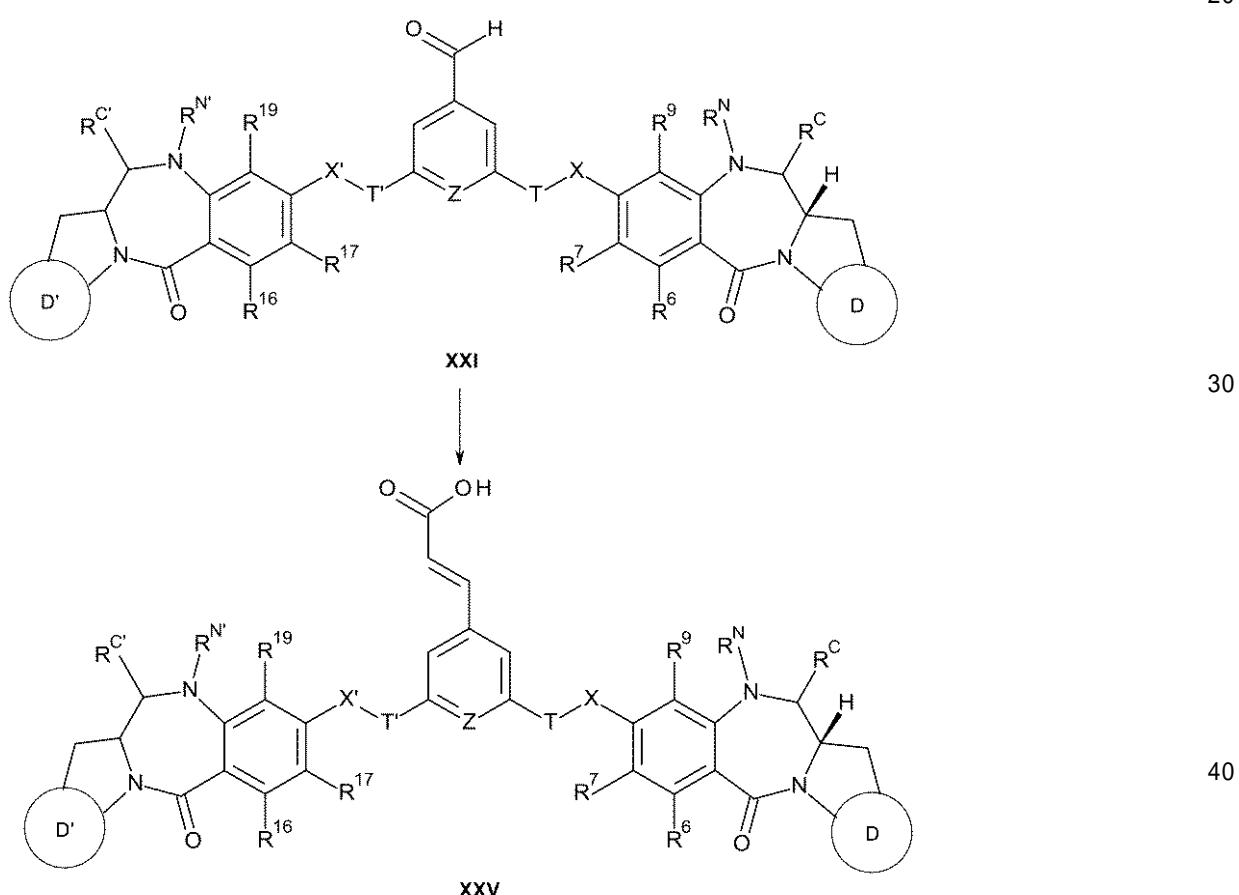


【0 3 5 7】

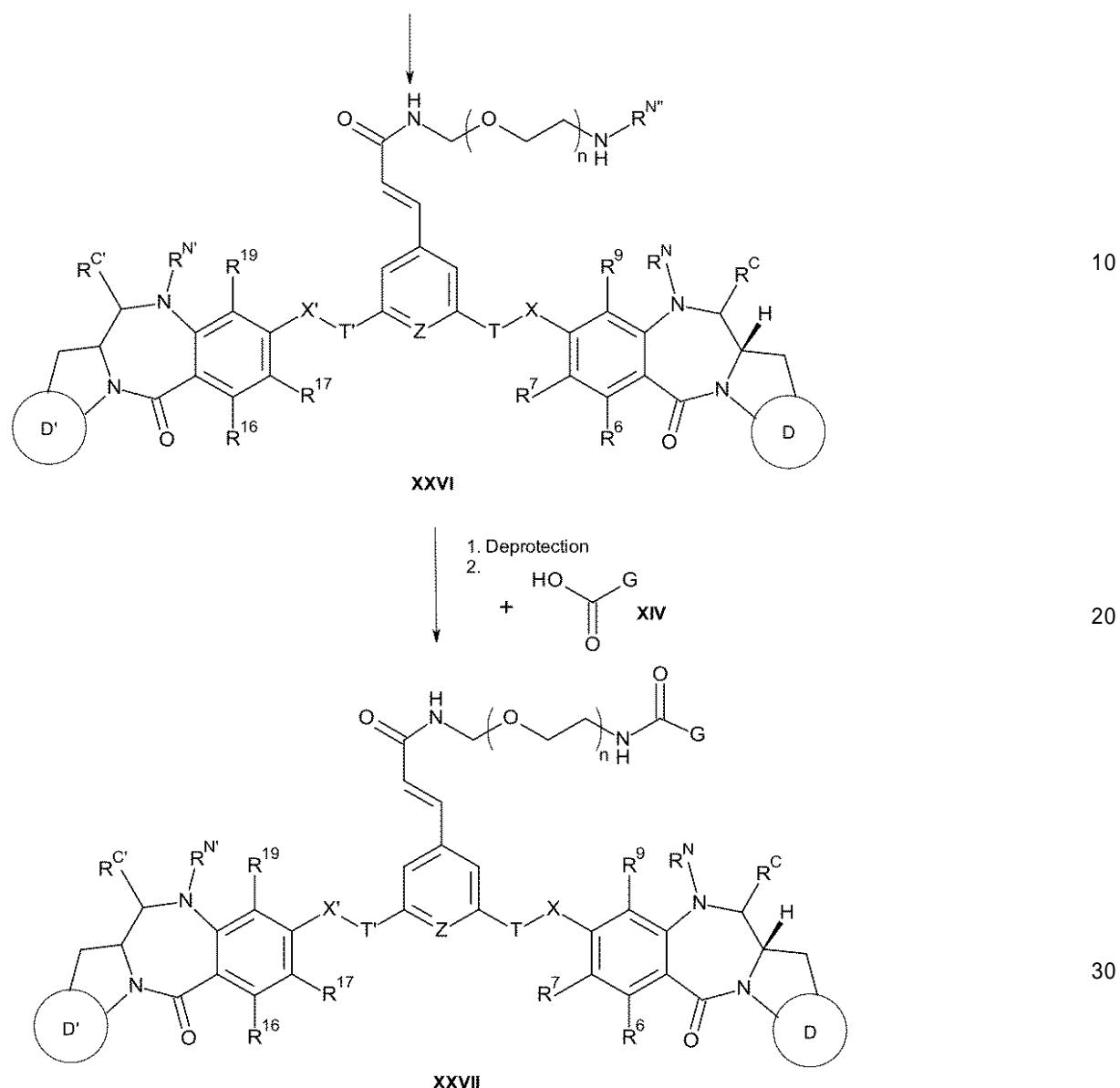
中間体 XXI を使用して、中間体 XXVII を生成できる：

【化 7 2 - 1】

20



## 【化 7 2 - 2】



## 【0358】

上のスキームにおいて、R<sup>N</sup>、R<sup>N'</sup>及びR<sup>N''</sup>はそれぞれ独立して、窒素保護基を表す。R<sup>C</sup>及びR<sup>C'</sup>はそれぞれ独立して、OH又はOProt<sup>0</sup>を表し、式中、Prot<sup>0</sup>はヒドロキシ保護基である。保護基は当分野で周知である。R<sup>N</sup>、R<sup>N'</sup>及びR<sup>N''</sup>は、例えばBOCであってよい。Prot<sup>0</sup>はTHPであってよい。用いた化学作用に応じて、N10-C11イミン結合の保護は、合成方法の、上で示したのと異なる段階で除去されることがある。

## 【0359】

一般に、化合物及びコンジュゲートは、最初に2個のPBDモノマーをフェニレン又はピリジレンダイマー架橋によって連結して中間体IV又はXXIを生成することによって、調製できる。中間体IVのダイマー架橋におけるアリール環上のハロゲン基が次に使用されて、つなぎ部分(tether)（リンカー基G又はLを含む）が形成されて、PBDダイマーを細胞結合因子に結合することがある。

## 【0360】

より詳細には、各PBDモノマーのC8位に-XH基及び-X'H基を有する2個のPBDモノマー（それぞれ中間体I及びII）は、中間体III又は中間体XXの-T-H

a 1 基及び - T ' - H a 1 基と反応してよい。このような合成方法によって、P B D モノマーは異なるようになるため、得られた P B D ダイマーは非対称である。同程度に、P B D モノマーは同じ場合がある。

【 0 3 6 1 】

P B D ダイマー中間体 I V を使用して、架橋中のアリールハロゲン基を 2 、 3 の方法で反応させることによって、本発明の化合物及びコンジュゲートを提供してもよい。

最初に、中間体 I V を菌頭クロスカップリング反応で使用して、ダイマー架橋のアリール基上にアセチレン基を提供できる。菌頭クロスカップリング反応は、パラジウム触媒、例えば P d ( P h <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> 、銅触媒、例えば C u I 及び塩基、例えばジエチルアミンの存在下で末端アルキンをアリールハライドとカップリングするために、当分野で周知である。

10

【 0 3 6 2 】

アセチレンが末端アセチレンとして使用される場合、P B D ダイマーの架橋を防止するために、アセチレン分子の片側は、例えば T M S によって通例保護される。菌頭反応が完了すると、T M S 基が切断されてアルキン中間体 V を提供することができる。

【 0 3 6 3 】

アジド - アルキンヒュスゲン環化付加において、中間体 V をアジド化合物と反応させてトリアゾール誘導体を形成することができる。このような反応は、銅触媒によって触媒されてよい。本発明の化合物及びコンジュゲートを形成するために、アジドはエチレン基及び可変数の P E G 基に結合される。アジドは、アミン基によって終端されて更に反応することができる。中間体 V とアミノ - アジド化合物との反応によって、中間体 V I が提供される。

20

【 0 3 6 4 】

中間体 V I の遊離アミン基は次に、細胞結合単位へ結合するためにリンカー基のカルボン酸基と反応して、P B D ダイマーをリンカー基 G 又は L に連結するアミド基を形成し、化合物 V I I を提供することができる。

【 0 3 6 5 】

中間体 V I I のリンカー基 / 反応性基 G は、細胞結合因子にコンジュゲートされて、本発明のコンジュゲートを提供することができる。

【 0 3 6 6 】

代わりの菌頭反応として、中間体 I V を、パラジウム触媒及び銅触媒並びに塩基の存在下でアセチルアミン、例えばプロパルギルアミンにカップリングさせることができる。このような反応は、アクリン基が保存され、遊離末端アミンが更なる反応に利用できる、P B D ダイマー架橋に結合するつなぎ部 ( t e t h e r ) の一部を提供する。例えば、中間体 I V とプロパルギルアミンとの反応によって、中間体 V I I I が提供される。

30

【 0 3 6 7 】

中間体 V I I I の末端アミンは、( 細胞結合因子への結合のために ) リンカー / 反応性基 G に結合された例えばカルボン酸基と反応して、中間体 I X を提供することができる。

中間体 I X の代わりの合成として、中間体 X I のカルボン酸基をプロパルギルアミンと反応させて、中間体 X I I を形成することができる。菌頭反応における中間体 I V と中間体 X I I との反応によって、中間体 X I I I が生じる。

40

【 0 3 6 8 】

可変 P E G 鎖によって終端された保護アミン基は、リンカー / 反応性基 G を P B D ダイマー上へカップリングして中間体 X I V を生成するために、脱保護されて中間体 X I V のカルボン酸基と反応させることができる。

【 0 3 6 9 】

中間体 I V は、クロスカップリングアミノ化反応、例えばブッファルト - ハートウィッグアミノ化でも使用してよい。炭素 - 窒素結合は、アミンのアリールハライドとのパラジウム触媒クロスカップリングによって形成される。このようなクロスカップリング反応で使用するための 2 、 3 のパラジウム触媒、例えば P d ( P h <sub>3</sub> ) <sub>4</sub> 又は R u P h o s / R u P h o s P d が公知である。

50

## 【0370】

中間体Ⅴは、保護プロパン-1-アミンによって官能化されたピペリジンとの反応によって中間体Ⅴが提供される。中間体Ⅴの保護アミンは、細胞結合因子への結合のために、リンカー／反応性基Gに結合された例えばカルボン酸基と更に反応して、中間体ⅤⅠを提供することができる。

## 【0371】

中間体Ⅴの部分保護ピペラジンによるクロスカップリングアミノ化反応、例えばブッフルバート-ハートウィッガーアミノ化、続いての（例えばトリフルオロ酢酸による）脱保護によって、中間体ⅤⅠⅠが提供される。

## 【0372】

中間体ⅤⅠⅠの脱保護されたピペラジンアミン基は、中間体ⅤⅠⅠⅠ中のカルボン酸基と反応して、中間体ⅤⅠⅡを提供することができる。

## 【0373】

中間体XXIを使用して、オキシム中間体XXIVを形成することができる。例えば部分保護PEG-ジアミンである中間体XXIIを、中間体XIVのカルボン酸基と反応させてよい。脱保護によって、中間体XIIIが生じる。

## 【0374】

中間体XXI及びXXIIの反応によって、オキシム中間体XXIVが生じる。synオキシム及びantiオキシムは、分取HPLCを使用して分割することができる。

## 【0375】

中間体XXIを使用してもクリルアミド中間体XXVIIを形成することができる。例えば、アルデヒド中間体XXIをクネーフェナーゲル縮合においてマロン酸と反応させて、アクリル酸及び中間体XXVを生じることができる。これを部分保護PEG-ジアミンと反応させて、中間体XXVIIを生じることができる。脱保護及び中間体XIVによるカップリングによって、アクリルアミド中間体XXVIIが生じる。

## 【0376】

2個のイミン部分を含有するPBD化合物の合成は、参照により本明細書に組み入れられている、以下の参考文献で広範に論じられている：

a)国際公開第00/12508号(14から30頁)；

b)国際公開第2005/023814号(3から10頁)；

c)国際公開第2005/085259号(31から39頁)

d)国際公開第2011/128650号(2から12頁及び42から51頁)；

e)2012年10月12日に出願されたPCT/EP2012/070232(2から15頁及び49から58頁)。

## 【実施例】

## 【0377】

## 一般実験方法

旋光度はADP220偏光計(ベーリンハム・スタンレイLtd.)で測定し、濃度(c)はg/100mLで示す。融点は、デジタル融点装置(エレクトロサーマル)を使用して測定した。IRスペクトルは、パーキン・エルマースペクトル1000FT-IR分光計で記録した。<sup>1</sup>H及び<sup>13</sup>C-NMRスペクトルは、300KでブルーカーAvancene-NMR分光計を使用して、それぞれ400及び100MHzにて得た。化学シフトは、TMS(=0.0ppm)に対して記録し、シグナルはs(シングレット)、D(ダブルレット)、t(トリプレット)、Dt(ダブルトリプレット)、Dd(ダブルレットのダブルレット)、Ddd(ダブルレットのダブルダブルレット)又はm(マルチプレット)と呼び、カップリング定数をヘルツ(Hz)で示す。質量分析(MS)データは、ウォーターズ2996PDAを備えたウォーターズウォーターズ2695HPLCに連結された、ウォーターズマイクロマスZQ装置を使用して収集した。使用したウォーターズマイクロマスZQパラメータは：キャピラリー(kV)、3.38；コーン(V)、35；エクストラクタ(V)、3.0；ソース温度( )、100；脱溶媒和温度( )、200；コ

10

20

30

40

50

ーン流量 (L/h)、50; 脱溶媒和流量 (L/h)、250であった。高分解能質量分析 (H R M S) データは、ウォーターズマイクロマスク T O F グローバルのポジティブWモードで、サンプルを装置内に導入するために金属コーティングされたホウケイ酸ガラスチップを使用して記録した。薄層クロマトグラフィー (TLC) はシリカゲルアルミニウムプレート (メルク 60、F<sub>254</sub>) 上で行い、フラッシュクロマトグラフィーはシリカゲル (メルク 60、230-400 メッシュ A S T M) を使用した。全ての化学物質及び溶媒はシグマ-アルドリッヂより購入し、更に精製せずに供給した。

#### 【0378】

L C / M S 条件 - 方法 A : H P L C (ウォーターズアライアンス 2695) は、水 (A) (ギ酸 0.1%) 及びアセトニトリル (B) (ギ酸 0.1%) の移動相を使用して実行した。勾配 : 初期組成 : 5% B で 1.0 分間保持して、次に 3 分間以内に 5% B から 95% B。組成を 95% B で 0.5 分間保持して、次に 0.3 分間で 5% B まで戻す。全勾配運転時間は 5 分であった。流量 3.0 mL / 分で、400 μL を質量分析計の内へ通過するゼロデッド体積の T 字片を介して分割した。波長検出範囲 : 220 から 400 nm。関数型 : ダイオードアレイ (535 スキャン)。カラム : フェノメネクス (登録商標) オニキスモノリシック C18 50 × 4.60 mm。

#### 【0379】

L C / M S 条件 - 方法 B : H P L C (ウォーターズアライアンス 2695) は、水 (A) (ギ酸 0.1%) 及びアセトニトリル (B) (ギ酸 0.1%) の移動相を使用して実行した。勾配 : 初期組成 : 5% B で 1.0 分間保持して、次に 2.5 分の期間にわたって 5% B から 95% B まで上昇させた。組成を 95% B で 0.5 分間保持して、次に 0.1 分間で 5% B に戻し、5% で 0.9 分間保持した。全勾配運転時間は 5 分であった。流量 3.0 mL / 分で、400 μL を質量分析計の内へ通過するゼロデッド体積の T 字片を介して分割した。波長検出範囲 : 220 から 400 nm。関数型 : ダイオードアレイ (535 スキャン)。カラム : フェノメネクス・オニキス・モノリシック C18 50 × 4.60 mm。

#### 【0380】

L C / M S 条件 - 方法 C : 島津ネクセラ (登録商標) / プロミネンス (登録商標) L C M S - 2020 を使用して、ポジティブ・モード・エレクトロスプレー質量分析を行った。使用した移動相は、溶媒 A (0.1% ギ酸を含む H<sub>2</sub>O) 及び溶媒 B (0.1% ギ酸を含む C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>CN) であった。勾配 : 初期組成 : 5% B で 0.25 分間保持して、次に 2 分間にわたって 5% B から 100% B まで上昇させた。組成を 100% B で 0.50 分間保持して、次に 0.05 分間で 5% B に戻し、5% で 0.05 分間保持した。全勾配運転時間は 3.0 分であった。流量は 0.8 mL / 分であった。214 nm 及び 254 nm にて検出を行った。カラム : ウォーターズアクリティ U P L C (登録商標) BEH シールド RP18 1.7 μm 2.1 × 50 mm、50 にて。

#### 【0381】

実施例 2 及び 3 の分取 H P L C 条件は、以下の通りであった：逆相超高速液体クロマトグラフィー (U F L C) は、島津プロミネンス (登録商標) 装置で、以下の寸法のフェノメネクス (登録商標) ジェミニ NX 5 μ C18 カラム (50 にて) : 分析用 150 × 4.6 mm 及び分取作業用 150 × 21.2 mm を使用して行った。使用した溶離液は、溶媒 A (0.1% ギ酸を含む H<sub>2</sub>O) 及び溶媒 B (0.1% ギ酸を含む C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>CN) であった。全ての U F L C 実験は、勾配条件を用いて行った：0 から 30 分まで、B の組成を 0 から 100% まで上昇させ、更に 2 分間 100% B で保持した。32.0 分から 32.1 分まで、B の組成を 100% から 0% まで低下させて、35.0 分まで 0% B で保持した。全勾配運転時間は 35.0 分であった。使用した流量は、分析では 1.0 mL / 分、分取 H P L C では 2.0 mL / 分であった。254 nm 及び 280 nm にて検出を行った。

#### 【0382】

L C / M S 条件 - 方法 D : 島津 L C M S - 2020、水 (A) (ギ酸 0.1%) 及びア

10

20

30

40

50

セトニトリル (B) (ギ酸0.1%)の移動相を使用。勾配：初期組成：5% Bで0.25分間保持して、次に2分の期間にわたって5% Bから100% Bまで上昇させた。組成を100% Bで0.50分間保持して、次に0.05分間で5% Bに戻し、5%で0.05分間保持した。全勾配運転時間は3分であった。流量0.8mL/分。波長検出範囲：190から800nm。オープン温度：50。カラム：キネテクス2.6u XB-C 18 100A 50×2.10mm。

## 【0383】

LC/MS条件 - 方法E：島津LCMS-2020、水(A) (ギ酸0.1%)及びアセトニトリル(B) (ギ酸0.1%)の移動相を使用。勾配：初期組成：5% Bで1分間保持して、次に9分の期間にわたって5% Bから100% Bまで上昇させた。組成を100% Bで2分間保持して、次に0.10分間で5% Bに戻し、5%で3分間保持した。全勾配運転時間は15分であった。流量0.6mL/分。波長検出範囲：190から800nm。オープン温度：50。カラム：ジェミニ-NX 3u C18 110A 100×2.00mm。

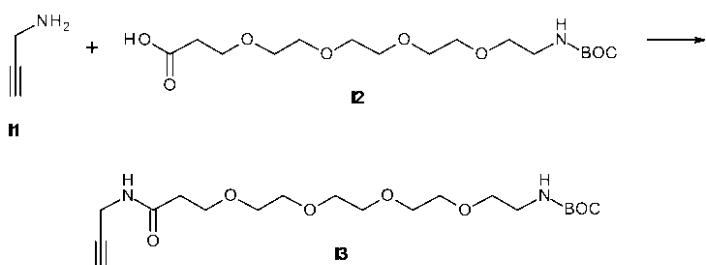
10

## 【0384】

## 中間体の合成

tert-ブチル(15-オキソ-3,6,9,12-テトラオキサ-16-アザノナデカ-18-イン-1-イル)カルバメート(I3)

## 【化73】



## 【0385】

EDCI (263mg、1.37mmol、1当量を、ジクロロメタン(10mL)中のプロパルギルアミン(88μL、1.37mmol、1当量)及びT-boc-N-アミド-dPEG(登録商標)<sub>4</sub>-酸(365.42mmol、1.37mmol、1当量)の溶液に添加した。反応物を室温にて3時間攪拌した後、完全変換をTLCによって確認した。反応混合物をジクロロメタンで希釈して、水及び塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた(シリカゲル；勾配、ジクロロメタン中0%から10%メタノール)。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物I3を得た(490mg、89%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.90 (s, 1H), 5.06 (d, J = 23.2Hz, 1H), 4.03 (dd, J = 5.3, 2.5Hz, 2H), 3.72 (t, J = 5.7Hz, 2H), 3.69 - 3.57 (m, 12H), 3.53 (t, J = 5.1Hz, 2H), 3.30 (d, J = 5.0Hz, 2H), 2.49 (t, J = 5.7Hz, 2H), 2.20 (t, J = 2.5Hz, 1H), 1.43 (s, 9H)。

30

## 【0386】

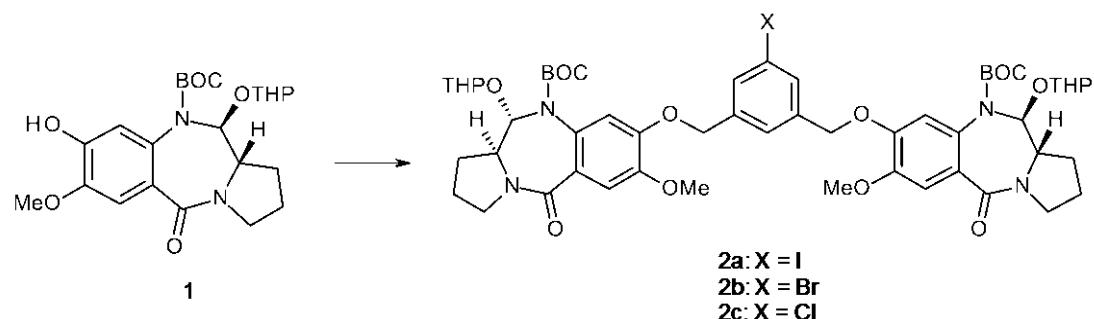
## [実施例1]

(a) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S)-ジ-tert-ブチル8,8'-(((5-ハロ-1,3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ))ビス(7-メトキシ-5-オキソ-11-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)-2,3,11,11a-テトラヒドロ-1Hピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)(2a, 2b, 2c)

40

50

## 【化74】



10

## 【0387】

(i) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S) -ジ-tert-ブチル8, 8' -((5-ヨード-1, 3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ)ビス(7-メトキシ-5-オキソ-11 - ((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)-2, 3, 11, 11a -テトラヒドロ-1Hピロロ[2, 1-c][1, 4]ベンゾジアゼピン-10(5H) -カルボキシレート)(2a)

1, 3 - ビス(プロモメチル) - 5 - ヨードベンゼン(906mg, 2.34mmol)を、無水DMF(30mL)中のBoc / THP保護PBDキャッピング単位1(2.1g, 4.68mmol)、TBAI(86mg, 0.234mmol)及びK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(647mg, 4.68mmol)の攪拌溶液に添加した。反応混合物を60まで加熱して、アルゴン雰囲気下で3時間攪拌し、この時点でのLC / MS分析によって、保持時間4.00分(ES+)m/z 1125([M + H]<sup>+</sup>、約50%相対強度)での実質的な生成物の形成が明らかとなつた。反応混合物を室温まで放冷して、DMFを真空中での蒸発によって除去した。得られた残留物を水(50mL)とEtOAc(50mL)とで分配して、水相をEtOAc(3 × 15mL)で抽出した。合わせた有機層を水(2 × 20mL)、塩水(40mL)で洗浄し、脱水して(MgSO<sub>4</sub>)、濾過して、真空中で蒸発させて、粗生成物を得た。フラッシュクロマトグラフィーによる精製(勾配溶離: 50:50体積/体積EtOAc/ヘキサンから100%EtOAc)によって、ビス-エーテル2aを白色泡(2.05g、78%収率)として得た:(3種類のジアステレオ異性体の混合物) 7.78 - 7.74(m, 2H), 7.50(d, 1H, J = 4.76Hz), 7.26(s, 1H), 7.22(s, 1H), 6.87(s, 1H), 6.51(s, 1H), 5.80(d, 1H, J = 8.52Hz), 5.70(d, 1H, J = 9.44Hz), 5.16 - 4.95(m, 6H), 3.93 - 3.87(m, 8H), 3.74 - 3.40(m, 8H), 2.22 - 1.99(m, 8H), 1.79 - 1.22(m, 30H); <sup>13</sup>C NMR(100MHz, CDCl<sub>3</sub>)(3種類のジアステレオ異性体の混合物) 167.4, 167.2, 154.9, 149.6, 149.4, 149.2, 148.8, 139.6, 139.4, 135.6(x2), 129.8, 129.6, 127.9, 127.4, 125.0, 116.0, 115.8, 111.0, 110.4, 100.8, 95.8, 94.8, 91.2, 88.2, 81.4, 80.9, 70.4, 70.0, 64.9, 63.4, 60.2, 60.0, 56.2, 56.1(x2), 46.3, 31.4, 30.9, 29.2, 28.9, 28.2, 28.1, 25.3, 23.3, 23.2, 20.9, 19.9。

20

## 【0388】

(ii) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S) -ジ-tert-ブチル8, 8' -((5-プロモ-1, 3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ)ビス(7-メトキシ-5-オキソ-11 - ((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)-2, 3, 11, 11a -テトラヒドロ-1Hピロロ[2, 1-c][1, 4]ベンゾジアゼピン-10(5H) -カルボキシレート)(2b)。

1 - プロモ - 3, 5 - ビス(プロモメチル)ベンゼン(331mg, 0.97mmol)を無水DMF(16mL)中のBoc / THP保護PBDキャッピング単位1(876

30

40

50

mg、1.95 mmol)、TBAI (36 mg、97.4  $\mu$ mol) 及び  $K_2CO_3$  (270 mg、1.95 mmol) の攪拌溶液に添加した。反応混合物を60まで加熱して、アルゴン雰囲気下で2.5時間攪拌し、この時点でのLC/MS分析によって、保持時間4.00分 (ES+) m/z 1079 ([M+H]<sup>+</sup>、約95%相対強度) での実質的な生成物の形成が明らかとなった。反応混合物を室温まで放冷して、DMFを真空中での蒸発によって除去した。得られた残留物を水(25 mL)とDCM(25 mL)とで分配して、水相をDCM(3×10 mL)で抽出した。合わせた有機層を水(20 mL)、塩水(30 mL)で洗浄し、脱水して(MgSO<sub>4</sub>)、濾過して、真空中で蒸発させて、粗生成物を得た。フラッシュクロマトグラフィーによる精製(勾配溶離: 50:50 体積/体積 EtOAc/ヘキサンから100% EtOAc)によって、ビス-エーテル2bを白色泡(725 mg、69%収率)として得た:<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (3種類のジアステレオ異性体の混合物) 7.57-7.53 (m, 2H), 7.50 (d, 1H, J = 4.92 Hz), 7.27 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.80 (d, 1H, J = 7.88 Hz), 5.70 (d, 1H, J = 9.36 Hz), 5.18-4.94 (m, 6H), 3.93-3.85 (m, 8H), 3.75-3.40 (m, 8H), 2.14-1.99 (m, 8H), 1.79-1.22 (m, 30H); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (3種類のジアステレオ異性体の混合物) 167.4, 167.2, 154.9, 149.6, 149.4, 149.2, 148.8, 139.6, 139.4, 129.8, 127.9, 128.0, 127.4, 124.2, 123.2, 116.0, 115.8, 111.0, 110.4, 100.9, 95.8, 91.3, 88.2, 81.3, 80.9, 70.5, 70.1, 64.9, 63.4, 60.2, 60.0, 56.2, 56.1, 46.4, 31.4, 30.9, 29.2, 28.9, 28.2, 28.1, 25.3, 23.3, 23.1, 20.9, 19.9。

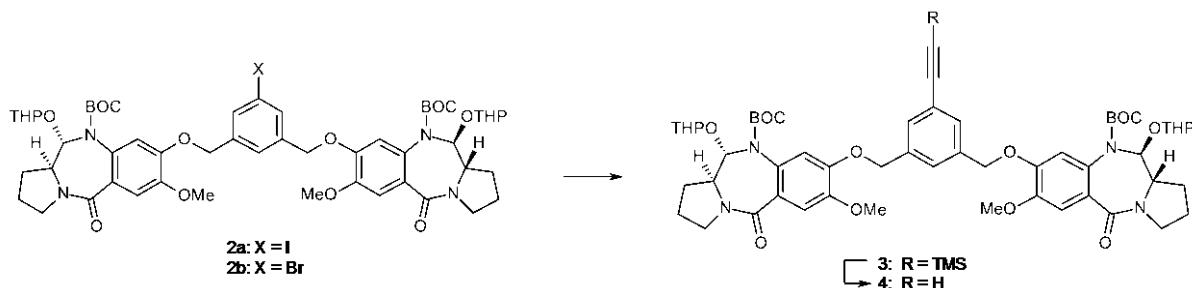
## 【0389】

(iii) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S)-ジ-tert-ブチル8,8'-((5-クロロ-1,3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ)ビス(7-メトキシ-5-オキソ-11-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)-2,3,11,11a-テトラヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート) (2c) 30  
1,3-ビス(ブロモメチル)-5-クロロベンゼン(470 mg、1.57 mmol)を、無水DMF(20 mL)中のBoc/THP保護PBDキャッピング単位1(1.41 g、3.15 mmol)、TBAI(58 mg、0.16 mmol)及び $K_2CO_3$ (435 mg、3.15 mmol)の攪拌溶液に添加した。反応混合物を60まで加熱して、アルゴン雰囲気下で2時間攪拌し、この時点でのLC/MS分析(方法A)によって、保持時間1.94分 (ES+) m/z 1033 ([M+H]<sup>+</sup>、約50%相対強度) での実質的な生成物の形成が明らかとなった。反応混合物を室温まで放冷して、DMFを真空中での蒸発によって除去した。得られた残留物を水(50 mL)とEtOAc(50 mL)とで分配して、水相をEtOAc(3×15 mL)で抽出した。合わせた有機層を水(2×20 mL)、塩水(40 mL)で洗浄し、脱水して(MgSO<sub>4</sub>)、濾過して、真空中で蒸発させて、粗生成物を得た。フラッシュクロマトグラフィーによる精製(勾配溶離: 50:50 体積/体積 EtOAc/ヘキサンから100% EtOAc)によって、ビス-エーテル2cを白色泡(825 mg、51%収率)として得た。

## 【0390】

(b) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S)-ジ-tert-ブチル8,8'-((5-エチニル-1,3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ)ビス(7-メトキシ-5-オキソ-11-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)-2,3,11,11a-テトラヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート) (4)

## 【化75】



## 【0391】

(i) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S) -ジ-tert-ブチル8, 8' -((5 - ((トリメチルシリル)エチニル) - 1, 3 - フェニレン) ピス(メチレン) ) ピス(オキシ) ) ピス(7 - メトキシ - 5 - オキソ - 11 - ((テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル) オキシ) - 2, 3, 11, 11a - テトラヒドロ - 1H - ピロロ[2, 1 - c] [1, 4] ベンゾジアゼピン - 10 (5H) - カルボキシレート) (3)。

触媒量の Pd (PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (14.9 mg, 12.9 μmol) を、オープンで乾燥させた密閉式容器内の無水 DMF (4.8 mL) 中のピス - エーテル 2a (721 mg, 0.64 mmol)、TMS - アセチレン (273 μL, 190 mg, 1.93 mmol)、CuI (4.9 mg, 25.8 μmol)、ジエチルアミン (1.33 mL, 942 mg, 12.9 mmol) 及びオープンで乾燥させた 4 モレキュラーシーブペレットの混合物に添加した。混合物を脱気して、アルゴンを 3 回流し、次に 100 の電子レンジで 1.5 時間加熱し、この時点での LC / MS 分析 (方法 A) によって、保持時間 4.27 分 (ES+) m/z 1096 ([M + H]<sup>+</sup>、約 35% 相対強度) における、出発材料の完全な消費と実質的な生成物の形成が明らかとなった。LC / MS 条件 (方法 A) 下での TMS 切断に相当する、保持時間 3.82 分 (ES+) m/z 1023 ([M + H]<sup>+</sup>、約 35% 相対強度) におけるピークが確認された。反応混合物を室温まで放冷して、次に焼結物で濾過して、シーブ (DMF で洗浄) を除去した。濾液を真空中で蒸発させ、得られた残留物をフラッシュクロマトグラフィー (勾配溶離: 50 : 50 体積 / 体積 EtOAc / ヘキサンから 100% EtOAc) にかけて、TMS - アセチレン 3 を黄色泡 (656 mg, 93% 収率) として得た: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (3 種類のジアステレオ異性体の混合物) 7.52 - 7.46 (m, 3H), 7.26 (s, 1H), 7.21 (s, 1H), 6.87 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.80 (d, 1H, J = 8.68 Hz), 5.69 (d, 1H, J = 9.36 Hz), 5.18 - 4.94 (m, 6H), 3.93 - 3.86 (m, 8H), 3.73 - 3.40 (m, 8H), 2.13 - 1.97 (m, 8H), 1.78 - 1.22 (m, 30H), 0.22, 0.23 and 0.24 (s x 3, 9H); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 167.6, 167.4, 155.2, 155.0, 149.9, 149.6, 149.2, 148.8, 137.8, 137.6, 130.2, 129.9, 129.7, 127.8, 127.2, 125.8, 124.4, 116.0, 115.8, 111.0, 110.4, 104.4, 101.0, 95.8, 91.4, 88.3, 81.4, 81.0, 71.0, 70.6, 65.0, 63.5, 60.3, 60.1, 56.2, 46.4, 31.0, 29.2, 29.0, 28.2, 25.4, 23.4, 23.3, 21.1, 20.0, 0.28, 0.09, 0.00, -0.28。

## 【0392】

(ii) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S) -ジ-tert-ブチル8, 8' -((5 - エチニル - 1, 3 - フェニレン) ピス(メチレン) ) ピス(オキシ) ) ピス(7 - メトキシ - 5 - オキソ - 11 - ((テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル) オキシ) - 2, 3, 11, 11a - テトラヒドロ - 1H - ピロロ[2, 1 - c] [1, 4] ベンゾジアゼピン - 10 (5H) - カルボキシレート) (4)。

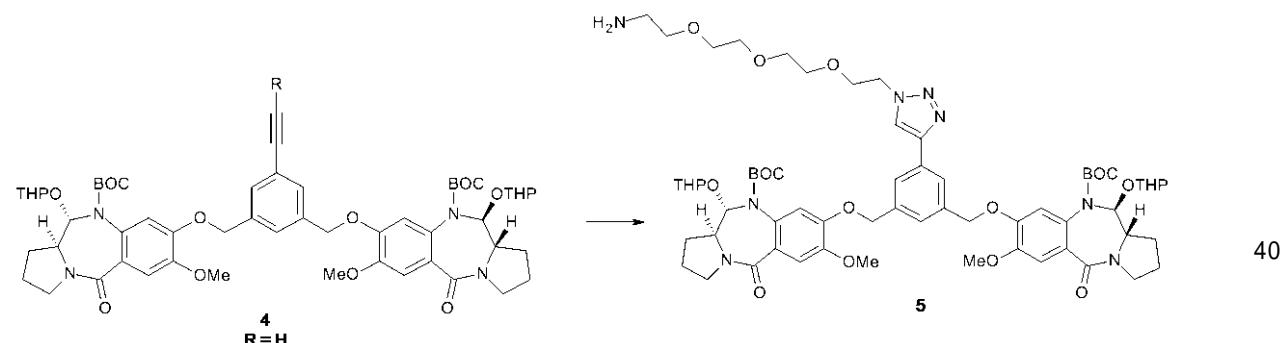
固体 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (296 mg, 2.14 mmol) を、MeOH (20 mL) 中の TMS

保護化合物 3 (1.17 g、1.07 mmol) の攪拌溶液に添加した。室温で3時間攪拌した後、LC/MS (方法A) で判定した通りに、反応が完了したと見なした [保持時間3.82分 (ES+) m/z 1023 ([M+H]<sup>+</sup>、約30%相対強度) での所望の生成物ピーク]。MeOHを真空中での蒸発によって除去し、得られた残留物を水(25 mL)とEtOAc(25 mL)とで分配した。相を分離して、水相をEtOAc(3×15 mL)で抽出した。合わせた有機層を水(3×30 mL)、塩水(40 mL)で洗浄し、脱水して(MgSO<sub>4</sub>)、濾過して、真空中で蒸発させて、粗生成物を得た。フラッシュクロマトグラフィーによる精製(勾配溶離: 50:50 体積/体積 EtOAc/ヘキサンから100% EtOAc)によって、アセチレン4をオレンジ色泡として得た(1.02 g、94%収率: <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (3種類のジアステレオ異性体の混合物) 7.55-7.52 (m, 3H), 7.26 (s, 1H), 7.22 (s, 1H), 6.88 (s, 1H), 6.51 (s, 1H), 5.80 (d, 1H, J = 8.68 Hz), 5.69 (d, 1H, J = 9.48 Hz), 5.18-4.94 (m, 6H), 3.93-3.86 (m, 8H), 3.73-3.40 (m, 8H), 3.09 and 3.08 (s × 3, 1H), 2.13-1.97 (m, 8H), 1.78-1.22 (m, 30H); <sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (mixt ure of 3 diastereoisomers) 167.5, 167.3, 155.2, 149.7, 149.5, 149.1, 148.8, 137.8, 137.7, 130.3, 129.8, 129.6, 127.8, 127.2, 126.1, 123.2, 115.9, 115.7, 110.9, 110.4, 100.9, 100.0, 95.7, 91.3, 88.2, 82.9, 81.3, 80.9, 78.0, 70.7, 70.4, 64.9, 63.4, 60.2, 60.0, 56.1, 46.3, 31.4, 30.9, 29.2, 28.9, 28.1 (×2), 25.3, 23.3, 23.2, 20.9, 19.9。

## 【0393】

(c) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S)-ジ-tert-ブチル8,8'-(((5-(1-(2-(2-(2-アミノエトキシ)エトキシ)エトキシ)エチル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)-1,3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ))ビス(7-メトキシ-5-オキソ-11-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)-2,3,11,11a-テトラヒドロ-1H-ピロ口[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)(5)。

## 【化76】



## 【0394】

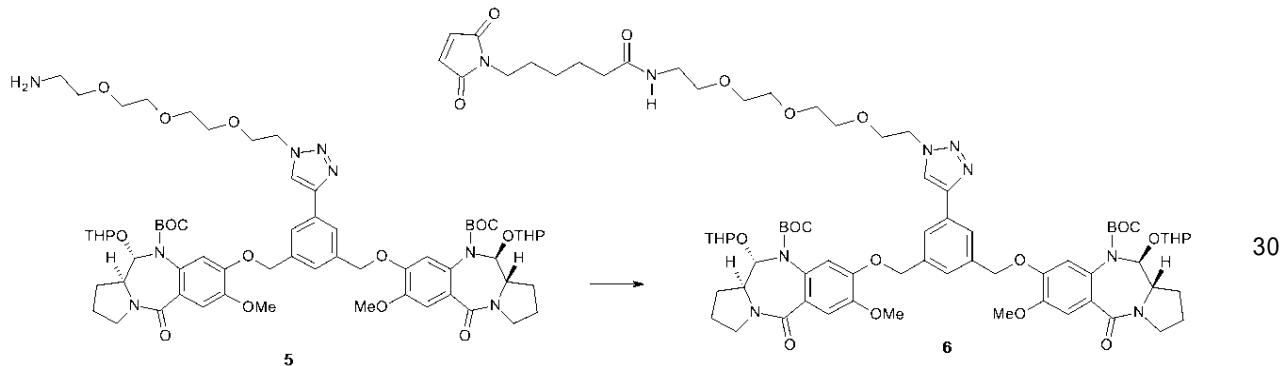
固体CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (10.3 mg、41.4 μmol) 及び (+)-L-アスコルビン酸ナトリウム (33.0 mg、0.17 mmol) をtert-BuOH (5 mL) 及びH<sub>2</sub>O (5 mL) 中の11-アジド-3,6,9-トリオキサウンデカン-1-アミン (181 mg、164 μL、0.83 mmol) 及びアルキン4 (846 mg、0.83 mmol) の攪拌溶液に室温で添加した。反応が進行するにつれて、黄色から緑色への色の変化が確認された。1.5時間攪拌した後、LC/MSによる分析(方法A)によって、保持時間3.02分 (ES+) m/z 1242 ([M+H]<sup>+</sup>、約35%相対強

度)におけるピークに相当する実質的な量の所望の生成物が形成されたことが明らかになった [注記: いくつかの場合で反応の進行が失速したが、更なる  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0.05当量) 及び (+)-L-アスコルビン酸ナトリウム (0.2当量) の添加時に、反応は完了まで推進された]。反応混合物を (分離漏斗を振とうせずに) 水 (50mL) と  $\text{EtOAc}$  (50mL) とで分配した。水相を  $\text{EtOAc}$  ( $3 \times 20\text{mL}$ ) で抽出し、合わせた有機層を水 (20mL)、塩水 (30mL) で洗浄し、脱水し ( $\text{MgSO}_4$ )、濾過して、真空中で蒸発させ、粗生成物 5 を緑色泡として得た (817mg、80%粗収率)。粗生成物を更に精製せずに、次の工程へ移行させた:  $^1\text{H NMR}$  ( $400\text{MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ) (3種類のジアステレオ異性体の混合物) 7.98 - 7.83 (m, 3H), 7.55 - 7.48 (br s, 1H), 7.31 - 7.22 (m, 2H), 6.96 (br s, 1H), 6.57 (s, 1H), 5.85 - 5.78 (m, 1H), 5.72 - 5.68 (m, 1H), 5.18 - 4.94 (m, 6H), 4.60 - 4.50 (m, 2H), 3.93 - 3.80 (m, 12H), 3.73 - 3.40 (m, 12H), 2.13 - 1.80 (m, 8H), 1.71 - 1.10 (m, 30H)。

## 【0395】

(d) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S) -ジ-tert-ブチル 8, 8' -((5-(1-(18-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-13-オキソ-3,6,9-トリオキサ-12-アザオクタデシル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)-1,3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ))ビス(7-メトキシ-5-オキソ-11-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)-2,3,11,11a-テトラヒドロ-1H-ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート) (6)。

## 【化77】



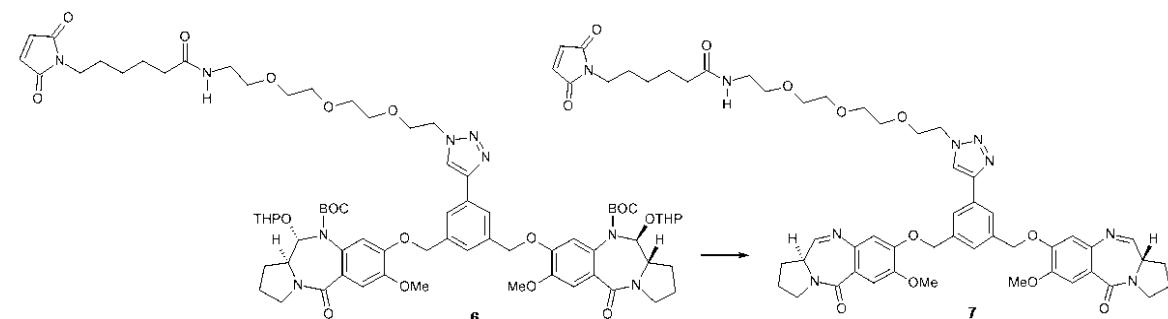
固体 6 - マレイミドヘキサン酸 N - ヒドロキシクシンイミドエステル (136mg、0.44mmol) を無水 DCM (10mL) 中の第1級アミン 5 (523mg、0.42mmol) の攪拌溶液に室温にて添加した。進行を LC / MS (方法 A) によって監視し、3日間の攪拌の後、反応は更に進行せず、実質的な量の所望の生成物が保持時間 3.48 分 (ES+) m/z 1434 ([M + H]<sup>+</sup>、約 30% 相対強度) にて確認され、保持時間 3.40 分におけるショルダーピーク及び保持時間 3.02 分における未反応出発材料を伴っていた。反応混合物をシリカゲルで処理して、溶媒を真空中での蒸発により除去した。得られた残留物をフラッシュクロマトグラフィー (勾配溶離: 100% DCM から 97:3 体積 / 体積 DCM / MeOH) にかけて、マレイミド 6 を白色泡として得た (253mg、42% 収率):  $^1\text{H NMR}$  ( $400\text{MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ) (3種類のジアステレオ異性体の混合物) 8.05 - 7.99 (m, 1H), 7.92 - 7.87 (m, 2H), 7.56, 7.55 and 7.53 (s  $\times$  3, 1H), 7.26 and 7.22 (s  $\times$  2, 2H), 6.94 (s, 1H), 6.66 (s, 2H), 6.58 (s, 1H), 6.04 (br s, 1H), 5.80 (d, 1H,  $J = 6.88\text{Hz}$ ), 5.70 (d, 1H,  $J = 9.16\text{Hz}$ ), 5.24 - 4.94 (m, 6H), 4.60 (t, 2H,  $J = 4.68\text{Hz}$ ), 3.95 - 3.86 (m, 10H), 3.69 - 3.37 (m, 22H), 2.15 - 1.97 (m, 10H), 1.75 - 1.22 50

(m, 36H);  $^{13}\text{C}$  NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) (3種類のジアステレオ異性体の混合物) 172.8, 170.8, 167.6, 167.4, 149.1, 137.9, 134.1, 129.8, 124.2, 115.8, 115.6, 110.3, 95.8, 71.1, 70.8, 70.6, 70.5 (×2), 70.2, 69.9, 69.5, 63.4, 60.2, 56.1, 53.4, 50.5, 46.4, 39.1, 37.7, 36.3, 31.4, 30.9, 29.2, 28.9, 28.3, 28.1, 26.4, 25.3 (×2), 25.1, 23.3, 23.2, 19.9。

## 【0396】

(e) N - (2 - (2 - (2 - (4 - (3,5 - ピス(((S) - 7 - メトキシ - 5 - オキソ - 2,3,5,11a - テトラヒドロ - 1H - ピロロ[2,1-c][1,4]ベンゾジアゼピン - 8 - イル)オキシ)メチル)フェニル) - 1H - 1,2,3 - トリアゾール - 1 - イル)エトキシ)エトキシ)エトキシ)エチル) - 6 - (2,5 - ジオキソ - 2,5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル)ヘキサンアミド (7)。

## 【化78】



95 : 5 体積 / 体積 TFA / H<sub>2</sub>O (3 mL) の溶液を、Boc / THP 保護化合物 6 のサンプル (253 mg, 0.18 mmol) に 0 (氷 / アセトン) にて添加した。0 にて 1 時間攪拌した後、LC / MS (方法 A) で判定した通りに、反応が完了したと見なし、所望の生成物のピークは保持時間 2.63 分 (ES+) m/z 1030 ([M + H]<sup>+</sup>、約 30% 相対強度) であった。反応混合物は、低温のまま保持して、NaHCO<sub>3</sub> (50 mL) の冷却飽和水溶液に滴下添加した。混合物を DCM (3 × 15 mL) で抽出して、合わせた有機層を塩水 (20 mL) で洗浄し、脱水して (MgSO<sub>4</sub>)、濾過して、真空中で蒸発させて粗生成物を得た。フラッシュクロマトグラフィーによる精製 (勾配溶離: 100% CHCl<sub>3</sub> から 97 : 3 体積 / 体積 CHCl<sub>3</sub> / MeOH) によって、表題化合物をオレンジ色泡として得た (127 mg, 70% 収率)。

## 【0397】

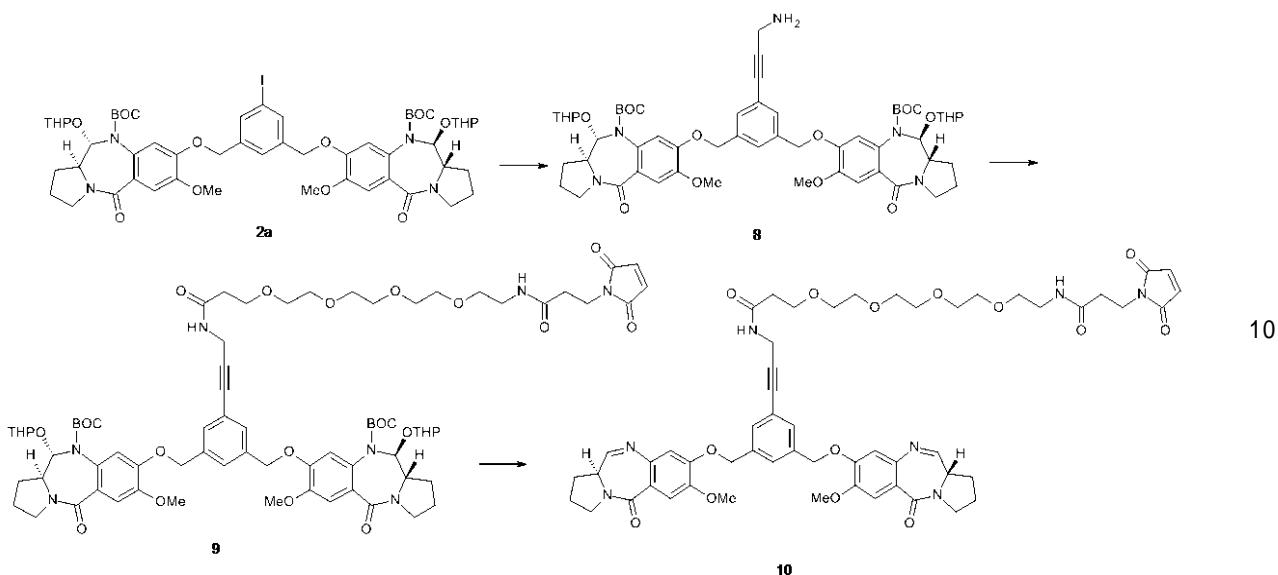
## 【実施例 2】

10

20

30

## 【化79】



## 【0398】

(a) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S) -ジ-tert-ブチル8, 8' -((5-(3-アミノプロパ-1-イン-1-イル)-1, 3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ)ビス(7-メトキシ-5-オキソ-11-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)-2, 3, 11, 11a-テトラヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1, 2-a][1, 4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)(8)

触媒量のPd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(2.05mg、1.75μmol)を、オープンで乾燥させた密閉式容器内の無水DMF(1.5mL)中のビス-エーテル2a(100mg、0.089mmol)、プロパルギルアミン(17μL、15mg、0.26mmol)、CuI(0.65mg、3.5μmol)、ジエチルアミン(18μL、13mg、1.75mmol)及びオープンで乾燥させた4モレキュラーシーブペレットの混合物に添加した。混合物を脱気して、アルゴンを3回流し、次に密閉容器内で100で2時間加熱した。この時点で、LC/MSによる分析(方法C)によって、保持時間1.36分(ES+)m/z 1052.95([M+H]<sup>+</sup>、100%相対強度)における出発材料の完全な消費と実質的な生成物の形成が明らかとなった。反応混合物を室温まで放冷して、次に焼結物で濾過して、シーブ(DMFで洗浄)を除去した。濾液を真空中で蒸発させて、不安定な粗生成物8を得て、これを精製又は分析せずにただちに次の工程で使用した。

## 【0399】

(b) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S) -ジ-tert-ブチル8, 8' -((5-(1-(2, 5-ジオキソ-2, 5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-3, 19-ジオキソ-7, 10, 13, 16-テトラオキサ-4, 20-ジアザトリコス-22-イン-23-イル)-1, 3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ)ビス(7-メトキシ-5-オキソ-11-((テトラヒドロ-2H-ピラン-2-イル)オキシ)-2, 3, 11, 11a-テトラヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1, 2-a][1, 4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)(9)

MAL-dPEG(登録商標)4-酸(37mg、0.089mmol)を、無水DCM(4mL)中のEDCI(17mg、0.089mmol)及び粗第1級アミン8の攪拌溶液に室温にて添加した。反応混合物をアルゴン雰囲気下で3時間攪拌して、この時点でのLC/MSによる分析(方法C)によって、保持時間1.69分(ES+)m/z 1450.55([M+H]<sup>+</sup>、約10%相対強度)、1498([M+Na]<sup>+</sup>、約80%相対強度)にて、実質的な量の所望の生成物が示された。反応混合物をDCM(30mL)で希釈して、H<sub>2</sub>O(3×10mL)、塩水(20mL)で洗浄し、脱水して(M

20

30

40

50

$\text{g SO}_4$ ）、濾過して、真空中で蒸発させて粗生成物を得た。フラッショクロマトグラフィーによる精製（勾配溶離：100% DCM から 96:4 体積/体積 DCM / MeOH）によって、マレイミド 9 を泡として得た（80mg、2 工程で 62% 収率）。

【0400】

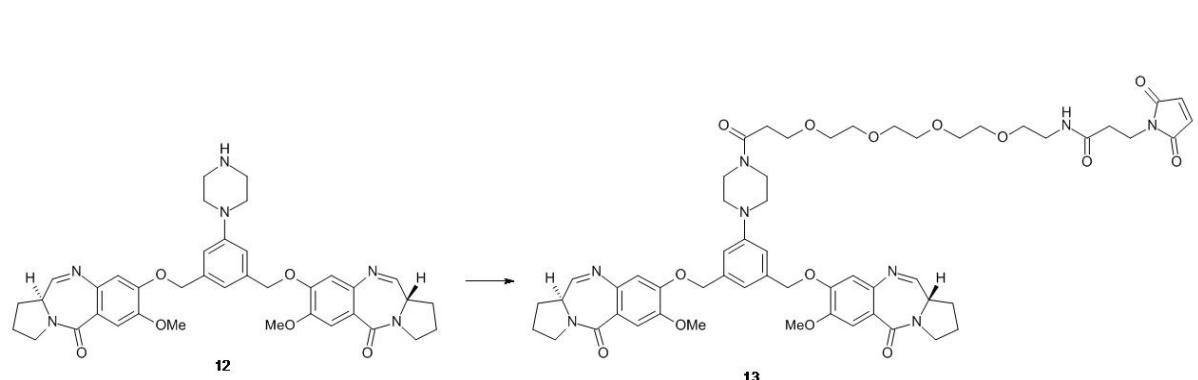
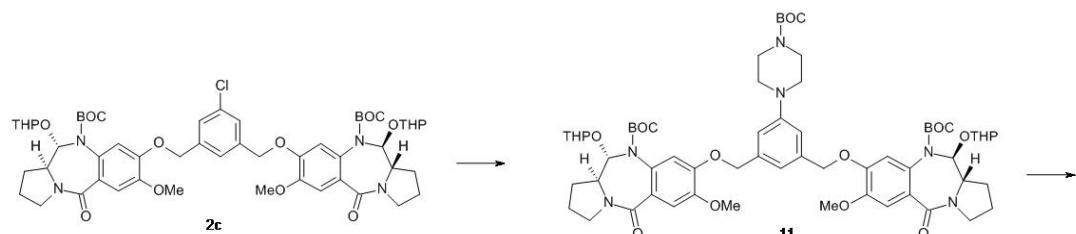
(c) N - (3 - (3,5 - ビス(((S) - 7 - メトキシ - 5 - オキソ - 2,3,5,11a - テトラヒドロ - 1H - ベンゾ[e]ピロロ[1,2 - a][1,4]ジアゼピン - 8 - イル)オキシ)メチル)フェニル)プロパ - 2 - イン - 1 - イル) - 1 - (2,5 - ジオキソ - 2,5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル)プロパンアミド) - 3,6,9,12 - テトラオキサペンタデカン - 15 - アミド (10)

95:5 体積/体積 TFA /  $\text{H}_2\text{O}$  (1mL) の溶液を、Boc / THP 保護化合物 9 のサンプル (80mg, 55  $\mu\text{mol}$ ) に 0 (氷 / アセトン) にて添加した。0 にて 1 時間攪拌した後、LC / MS (方法 C) で判定した通りに、反応が完了したと見なし、所望の生成物のピークは保持時間 1.24 分 (ES+)  $m/z$  1046.35 ([M + H]<sup>+</sup>、100% 相対強度) であった。反応混合物は、低温のまま保持して、NaHCO<sub>3</sub> (50mL) の冷却飽和水溶液に滴下添加した。混合物を DCM (3 × 15mL) で抽出して、合わせた有機層を塩水 (40mL) で洗浄し、脱水して ( $\text{MgSO}_4$ )、濾過して、真空中で蒸発させて粗生成物を得た。フラッショクロマトグラフィーによる精製（勾配溶離：100% CHCl<sub>3</sub> から 96:4 体積/体積 CHCl<sub>3</sub> / MeOH）によって、10 をオレンジ色固体として得た (9mg, 16% 収率)。

【0401】

【実施例 3】

【化 80】



【0402】

(a) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S) - ジ - tert - ブチル 8,8' - ((5 - (4 - (tert - ブトキシカルボニル) ピペラジン - 1 - イル) - 1,3 - フェニレン) ビス(メチレン)) ビス(オキシ)) ビス(7 - メトキシ - 5 - オキソ - 1,1 - ((テトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル)オキシ) - 2,3,11,11a - テトラヒドロ - 1H - ベンゾ[e]ピロロ[1,2 - a][1,4]ジアゼピン - 10 (5H) - カルボキシレート) (11)

触媒量の RuPhosPd (15.8mg, 0.019mmol) を、オープンで乾燥させた密閉式容器内の無水 THF (4mL) 中のビス - エーテル 2c (200mg, 0.19mmol)、1 - Boc - ピペラジン (39.6mg, 0.21mmol)、CsCO<sub>3</sub> (157mg, 0.48mmol) 及び RuPhos (9mg, 0.019mmol)

10

20

30

40

50

) の混合物に添加した。混合物を脱気して、アルゴンを3回流し、次に85℃に予熱したdry system内で2時間加熱して、バイアル内に圧力を蓄積させた。この時点で、LC/MSによる分析(方法C)によって、保持時間1.97分(ES+)m/z 1083.45([M+H]<sup>+</sup>、5%相対強度)における出発材料の完全な消費と実質的な生成物の形成が明らかとなった。反応混合物を室温まで放冷して、酢酸エチル(50mL)で希釈し、有機物をH<sub>2</sub>O(2×25mL)及び塩水(25mL)で洗浄してから、MgSO<sub>4</sub>で脱水し、濾過して、揮発性物質を減圧下で除去した。粗物質をシリカゲルクロマトグラフィーカラム(勾配溶離:100% CHCl<sub>3</sub>から9:1体積/体積 CHCl<sub>3</sub>/MeOH)によって精製し、単離して純粋な白色泡とした(210mg、91%収率)。

## 【0403】

(b) (11aS, 11a'S)-8,8'-(((5-(ピペラジン-1-イル)-1,3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ))ビス(7-メトキシ-2,3-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-5(11aH)-オン)(12)

95:5体積/体積 TFA/H<sub>2</sub>O(1mL)の溶液を、Boc/THP保護化合物11のサンプル(100mg、0.084mmol)に0℃(氷/水)にて添加した。0℃にて1時間攪拌した後、LC/MS(方法C)で判定した通りに、反応が完了したと見なし、保持時間1.02分における所望のピーク(この化合物ではイオン化は確認されなかった)。反応混合物は、低温のまま保持して、NaHCO<sub>3</sub>(50mL)の冷却飽和水溶液に滴下添加した。混合物をDCM(3×15mL)で抽出して、合わせた有機層を塩水(40mL)で洗浄し、脱水して(MgSO<sub>4</sub>)、濾過して、真空中で蒸発させて粗生成物を得て、次の工程でそのまま使用した。

## 【0404】

(c) N-(15-(4-(3,5-ビス(((S)-7-メトキシ-5-オキソ-2,3,5,11a-テトラヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-8-イル)オキシ)メチル)フェニル)ピペラジン-1-イル)-15-オキソ-3,6,9,12-テトラオキサペンタデシリル)-3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロパンアミド(13)

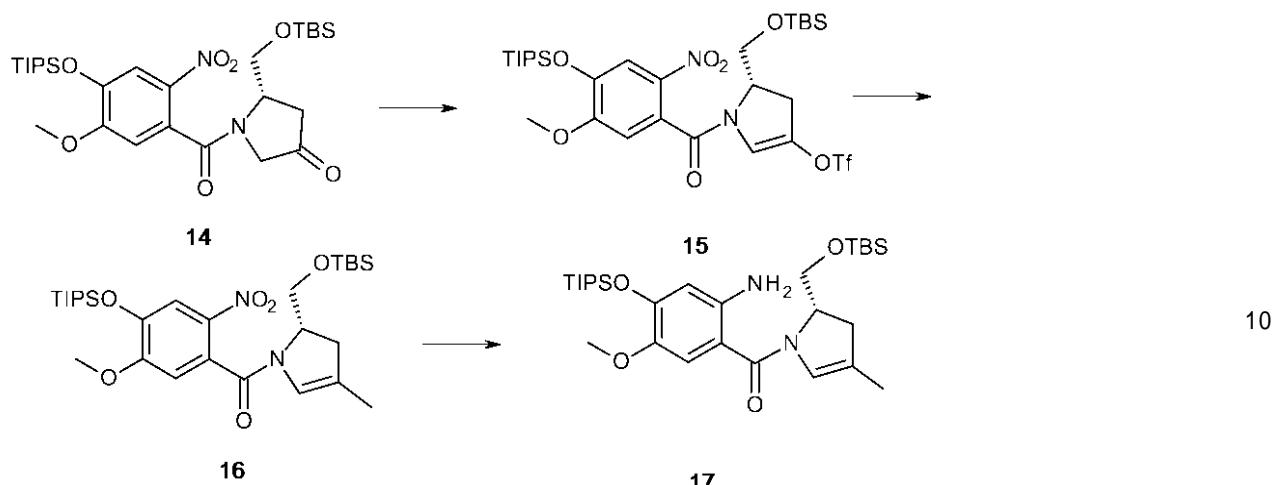
MAL-dPEG(登録商標)4-酸(35mg、0.084mmol)を、無水DCM(3mL)中のEDCI(16mg、0.084mmol)及び粗第1級アミン12の攪拌溶液に室温にて添加した。反応混合物をアルゴン雰囲気下で3時間攪拌して、この時点でのLC/MSによる分析(方法C)によって、保持時間1.24分(ES+)m/z 1077.40([M+H]<sup>+</sup>、90%相対強度)にて、実質的な量の所望の生成物が示された。反応混合物をDCM(30mL)で希釈して、H<sub>2</sub>O(3×10mL)、塩水(20mL)で洗浄し、脱水して(MgSO<sub>4</sub>)、濾過して、真空中で蒸発させて粗生成物を得た。分取UPLCによる精製(勾配溶離:11分間にわたって87:13体積/体積 H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CNから15:75体積/体積 H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN)によって、最終生成物13を、薄褐色油として得た(4.7mg、2ステップでの5%収率)。

## 【0405】

## [実施例4]

(a) (S)-((2-アミノ-5-メトキシ-4-((トリイソプロピルシリル)オキシ)フェニル)(2-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)メチル)-4-メチル-2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)メタノン(17)

## 【化 8 1】



## 【0406】

(i) (S)-5-(((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)メチル)-1-(5-メトキシ-2-ニトロ-4-((トリイソプロピルシリル)オキシ)ベンゾイル)-4,5-ジヒドロ-1H-ピロール-3-イルトリフルオロメタンスルホネート(15)  
 トリフルオロメタンスルホン酸無水物(2.6 mL、155 mmol、3当量)(温度制御)を、無水ジクロロメタン(500 mL)中のケトン14(30 g、52 mmol、1当量)の激しく攪拌されている懸濁物に、2,6-ルチジン(24 mL、207 mmol、4当量、シーブ上で脱水)の存在下で-50 °Cにて(アセトン/ドライアイス浴)注入した。反応混合物を1時間攪拌した。水をまだ低温の反応混合物に添加して、有機層を分離し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液、塩水及び硫酸マグネシウムで洗浄した。有機相を濾過して、過剰な溶媒を減圧下で回転蒸発によって除去した。残留物をカラムフラッシュクロマトグラフィー(シリカゲル; 5%酢酸エチル/ヘキサン)にかけた。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物15(31.5 g、86%)を得た。LC/MS、方法B、4.32分(ES+)m/z(相対強度)712.89([M+H]<sup>+</sup>、100); <sup>1</sup>H NMR(400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)7.71(s, 1H), 6.75(s, 1H), 6.05(d, J = 1.8 Hz, 1H), 4.78(dd, J = 9.8, 5.5 Hz, 1H), 4.15-3.75(m, 5H), 3.17(dd, J = 16.2, 10.4, 2.3 Hz, 1H), 2.99(dd, J = 16.3, 4.0, 1.6 Hz, 1H), 1.45-1.19(m, 3H), 1.15-1.08(m, 18H), 1.05(s, 6H), 0.95-0.87(m, 9H), 0.15-0.08(m, 6H)。

20

30

## 【0407】

(ii) (S)-(2-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)メチル)-4-メチル-2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル(5-メトキシ-2-ニトロ-4-((トリイソプロピルシリル)オキシ)フェニル)メタノン(16)  
 トリフェニアルシン(1.71 g、5.60 mmol、0.4当量)を、無水ジオキサン(80 mL)中トリフレート15(10.00 g、14 mmol、1当量)、メチルボロン酸(2.94 g、49.1 mmol、3.5当量)、酸化銀(13 g、56 mmol、4当量)及び第三リン酸カリウム(17.8 g、84 mmol、6当量)の混合物に、アルゴン雰囲気下で添加した。反応物にアルゴンを3回流し、ビス(ベンゾニトリル)パラジウム(II)クロリド(540 mg、1.40 mmol、0.1当量)を添加した。反応物にアルゴンを更に3回流してから、瞬時に110 °Cまで加温した。10分後、反応物を室温まで冷却して、セライトバッドで濾過した。溶媒を減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をカラムフラッシュクロマトグラフィー(シリカゲル; 10%酢酸エチル/ヘキサン)にかけた。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物16(4.5 g、55%)を得た。LC/MS、方法

40

50

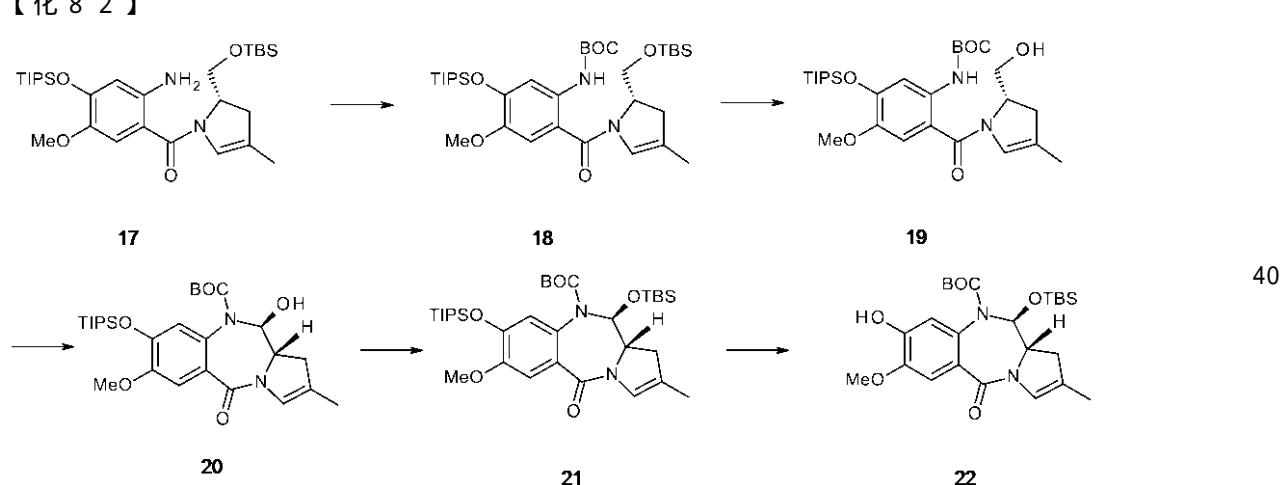
B、4.27分(ES+)m/z(相対強度)579.18([M+H]<sup>+</sup>、100);  
<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.70(s, 1H), 6.77(s, 1H), 5.51(d, J=1.7Hz, 1H), 4.77-4.59(m, 1H), 3.89(s, 3H), 2.92-2.65(m, 1H), 2.55(d, J=14.8Hz, 1H), 1.62(d, J=1.1Hz, 3H), 1.40-1.18(m, 3H), 1.11(s, 9H), 1.10(s, 9H), 0.90(s, 9H), 0.11(d, J=2.3Hz, 6H)。

## 【0408】

(i) (S)-(2-アミノ-5-メトキシ-4-((トリイソプロピルシリル)オキシ)フェニル)(2-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)メチル)-4-メチル-2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)メタノン(17)  
 亜鉛粉末(5.6g、86mmol、5当量)を、メタノール体積/体積(100mL)中の5%ギ酸中の化合物3(10g、17.3mmol)の溶液におよそ15で添加した。30分後、反応混合物をセライトのパッドで濾過した。濾液を酢酸エチルで希釈して、有機相を水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液及び塩水で洗浄した。有機相を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰な溶媒を減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた(シリカゲル;ヘキサン中10%酢酸エチル)。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶媒を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物17(5.1g、80%)を得た。LC/MS、方法B、4.23分(ES+)m/z(相対強度)550.21([M+H]<sup>+</sup>、100);  
<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.28(s, 1H), 6.67(s, 1H), 6.19(s, 1H), 4.64-4.53(m, J=4.1Hz, 1H), 4.17(s, 1H), 3.87(s, 1H), 3.77-3.69(m, 1H), 3.66(s, 3H), 2.71-2.60(m, 1H), 2.53-2.43(m, 1H), 2.04-1.97(m, J=11.9Hz, 1H), 1.62(s, 3H), 1.26-1.13(m, 3H), 1.08-0.99(m, 18H), 0.82(s, 9H), 0.03--0.03(m, J=6.2Hz, 6H)。

## 【0409】

(b) (11S, 11aS)-tert-ブチル11-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-8-ヒドロキシ-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-11, 11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1, 2-a][1, 4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート(22)  
 【化82】



## 【0410】

(i) (S)-tert-ブチル(2-(2-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)メチル)-4-メチル-2,3-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)カルバメート(18)  
 50

ジ - tert - ブチルジカーボネート (2.8 g、12.90 mmol、1.2当量) をアミン 17 (5.9 g、10.75 mmol) と共に 100 度で溶融させた。10 分後、完全変換が確認され、残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた (シリカゲル; ヘキサン中 5 % 酢酸エチル)。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶媒を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物 18 (6 g、86 %)を得た。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 8.22 (s, 1H), 7.72 (s, 1H), 6.72 (s, 1H), 6.15 (s, 1H), 4.63 (s, 1H), 3.91 (s, 1H), 3.79 (s, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.71 (dd, J = 16.1, 10.2 Hz, 1H), 2.60 - 2.46 (m, 1H), 1.64 (s, 3H), 1.46 (s, 9H), 1.33 - 1.15 (m, 3H), 1.10 (s, 9H), 1.08 (s, 9H), 0.87 (s, 9H), 0.02 (s, 6H)。

## 【0411】

(i i) (S) - tert - ブチル (2 - (2 - (ヒドロキシメチル) - 4 - メチル - 2, 3 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - カルボニル) - 4 - メトキシ - 5 - ((トリイソプロピルシリル) オキシ) フェニル) カルバメート (19)

18 (9.87 g、15.2 mmol) を酢酸 / メタノール / テトラヒドロフラン / 水の 7 : 1 : 1 : 2 混合物 (168 : 24 : 24 : 48 mL) に溶解させて、室温で攪拌した。1 時間後、完全変換が確認された。溶媒を減圧下で回転蒸発によって除去した。残留物を酢酸エチルで希釈して、水 (2 × 500 mL)、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (200 mL) 及び塩水で続けて洗浄した。有機相を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰な酢酸エチル減圧下で回転蒸発によって除去して、所望の生成物 19 を得た (7.91 g、97 %)。LC / MS、方法 C、2.13 分 (ES+) m/z (相対強度) 1092.45 ([2M + Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.93 (s, 1H), 7.60 (s, 1H), 6.74 (s, 1H), 6.11 (s, 1H), 4.69 (br, 1H), 4.55 (br, 1H), 3.84 - 3.76 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 2.84 (dd, J = 16.6, 10.3 Hz, 1H), 2.19 (dd, J = 16.4, 4.0 Hz, 1H), 1.67 (s, 3H), 1.46 (s, 9H), 1.32 - 1.19 (m, 3H), 1.09 (s, 9H), 1.08 (s, 9H)。

## 【0412】

(i i i) (11S, 11aS) - tert - ブチル 11 - ヒドロキシ - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 8 - ((トリイソプロピルシリル) オキシ) - 11, 11a - ジヒドロ - 1H - ベンゾ[e]ピロロ[1, 2 - a][1, 4]ジアゼピン - 10 (5H) - カルボキシレート (20)

ジメチルスルホキシド (2.3 mL、32.2 mmol、2.5当量) を、無水ジクロロメタン (70 mL) 中の塩化オキサリル (1.3 mL、15.5 mmol、1.2当量) の溶液に、アルゴン雰囲気中 -78 (ドライアイス / アセトン浴) で滴下添加した。10 分後、無水ジクロロメタン (50 mL) 中の 19 (6.9 g、12.9 mmol) の溶液を、なお -78 の温度でゆっくり添加した。15 分後、トリエチルアミン (9 mL、4 モレキュラーシーブ上で脱水、64.5 mmol、5当量) を滴下添加して、ドライアイス / アセトン浴を除去した。反応混合物を室温に到達させて、冷塩酸 (0.1 M)、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液及び塩水で抽出した。有機相を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物 20 を得た (4.36 g、63 %)。LC / MS、方法 C、2.01 分 (ES+) m/z (相対強度) 1087.45 ([2M + Na]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.17 (s, 1H), 6.70 (d, 1H), 6.65 (s, 1H), 5.74 - 5.61 (m, 1H), 4.03 (s, 1H), 3.82 (s, 3H), 3.75 (td, J = 9.9, 3.3 Hz, 1H), 2.94 (dd, J = 17.1, 10.2 Hz, 1H), 2.57 (d, J = 18.5 Hz, 1H), 1.75 (d, J = 7.5 Hz, 3H), 1.37 (s, 9H), 1.30 - 1.19 (m, 3H), 1.08 (s, 9H)。

10

20

30

40

50

, 1.06 (s, 9H)。

【0413】

(iv) (11S, 11aS)-tert-ブチル11-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-8-((トリイソプロピルシリル)オキシ)-11, 11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1, 2-a][1, 4]ジアゼピン-10 (5H)-カルボキシレート (21)

tert-ブチルジメチルシリルトリフレート (6.5mL, 28.39mmol, 3当量) を、無水ジクロロメタン (60mL) 中の化合物20 (5.04g, 9.46mmol) 及び2, 6-ルチジン (4.4mL, 37.86mmol, 4当量) の溶液に、アルゴン下0 で添加した。10分後、冷浴を除去して、反応混合物を室温にて1時間攪拌した。反応混合物を水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液及び塩水で抽出した。有機相を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰物を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物21を得た (5.18g, 85%)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.17 (s, 1H), 6.67 (s, 1H), 6.63 (s, 1H), 5.79 (d, J = 8.9Hz, 1H), 3.84 (s, 3H), 3.65 (td, J = 9.9, 3.8Hz, 1H), 2.89 (dd, J = 16.9, 10.3Hz, 1H), 2.35 (d, J = 16.7Hz, 1H), 1.75 (s, 3H), 1.31 (s, 9H), 1.28-1.18 (m, 3H), 1.09 (s, 9H), 1.08 (s, 9H), 0.85 (s, 9H), 0.25 (s, 3H), 0.18 (s, 3H)。

【0414】

(v) (11S, 11aS)-tert-ブチル11-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-8-ヒドロキシ-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-11, 11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1, 2-a][1, 4]ジアゼピン-10 (5H)-カルボキシレート (22)

酢酸リチウム (800mg, 7.73mmol) を、含水ジメチルホルムアミド (50mL, 50:1 DMF / 水) 中の化合物21 (5g, 7.73mmol) の溶液に添加した。2時間後、反応が完了し、反応混合物を酢酸エチル (250mL) で希釈して、クエン酸水溶液 (pH約3)、水及び塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水して、濾過して、過剰な酢酸エチルを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた (シリカゲル；勾配、ヘキサン中25%から50%酢酸エチル)。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物22を得た (3.14g, 83%)。LC/MS、方法C、(1.92分 (ES+) m/z (相対強度) 491.25 ([M+H]<sup>+</sup>)。<sup>1</sup>H NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 7.20 (s, 1H), 6.68 (s, 2H), 6.08 (s, 1H), 5.81 (d, J = 8.9Hz, 1H), 3.91 (s, 3H), 3.71 (td, J = 9.8, 3.8Hz, 1H), 2.89 (dd, J = 16.9, 10.3Hz, 1H), 2.36 (d, J = 16.9Hz, 1H), 1.75 (s, 3H), 1.31 (s, 9H), 0.85 (s, 9H), 0.23 (s, 3H), 0.21 (s, 3H)。

【0415】

(c) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S)-ジ-tert-ブチル8, 8'-((5-(1-アミノ-15-オキソ-3, 6, 9, 12-テトラオキサ-16-アザノナデカ-18-イン-19-イル)-1, 3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ))ビス(11-ヒドロキシ-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-11, 11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1, 2-a][1, 4]ジアゼピン-10 (5H)-カルボキシレート) (25)

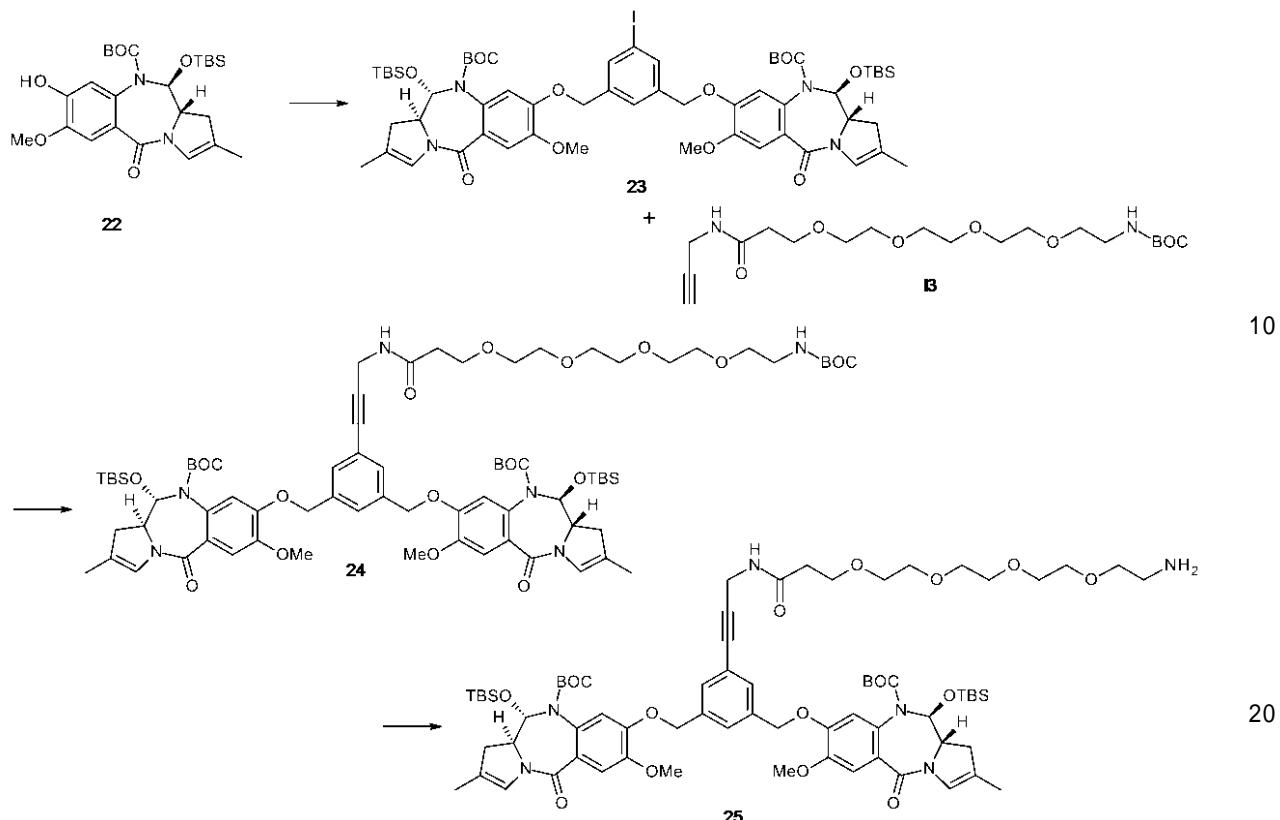
10

20

30

40

## 【化 8 3】



## 【0416】

(i) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S)-ジ-tert-ブチル8,8'-(5-ヨード-1,3-フェニレン)ビス(メチレン)ビス(オキシ)ビス(11-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-11,11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)(23)

1,3-ビス(ブロモメチル)-5-ヨードベンゼン(400mg, 1.02mmol)を無水DMF(10mL)中の22(1g, 2.04mmol、2当量)、TBAI(38mg, 0.102mmol、0.1当量)及びK<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>(282mg, 2.04mmol、2当量)の攪拌溶液に添加した。反応混合物を60まで加熱して、アルゴン雰囲気下で2時間攪拌し、この時点でTLCによる分析により、完全変換が示された。反応混合物を室温まで放冷して、DMFを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をEtOAcで希釈して、水、塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水して、濾過して、過剰な酢酸エチルを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた(シリカゲル；勾配、ヘキサン中50%から80%酢酸エチル)。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物22を得た(1.27g、定量)。LC/MS、方法C、(2.38分(ES+)m/z(相対強度)1232.35.([M+Na]<sup>+</sup>)、<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.75(s, 2H), 7.50(s, 1H), 7.24(s, 2H), 6.67(s, 2H), 6.51(s, 2H), 5.78(d, J=8.8Hz, 2H), 5.03(dd, J=34.2, 12.8Hz, 4H), 3.93(s, 6H), 3.68(td, J=9.8, 3.7Hz, 2H), 2.89(dd, J=16.9, 10.3Hz, 2H), 2.34(d, J=17.0Hz, 2H), 1.75(s, 6H), 1.22(d, J=8.5Hz, 16H), 0.84(s, 18H), 0.22(s, 6H), 0.16(s, 6H)。

## 【0417】

(ii) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S)-ジ-tert-ブチル8,8'

- ((5-(2,2-ジメチル-4,20-ジオキソ-3,8,11,14,17-ペンタオキサ-5,21-ジアザテトラコス-23-イン-24-イル)-1,3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ))ビス(11-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-11,11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)(24)

触媒量のPd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(22.8mg、19.9μmol, 0.02当量)を無水DMF(1mL)中の23(1.2g, 0.995mmol, 1当量)、I3(400mg, 0.995mmol, 1当量)、CuI(7.6mg, 39.6μmol, 0.04当量)、ジエチルアミン(0.20mL, 1.99mmol, 2当量)及びオープンで乾燥させた4モレキュラーシーブレットの混合物に添加した。混合物を脱気して、アルゴンを3回流し、次に電子レンジで100で10分間加熱した。DMFを減圧下で回転蒸発によって除去した。反応混合物を酢酸エチルで希釈して、水及び塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水して、濾過して、過剰な酢酸エチルを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた(シリカゲル;ジクロロメタン中5%メタノール)。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物24を得た(1.17g, 79%)。LC/MS、方法D、(2.43分(ES+)m/z(相対強度)イオン化なし; <sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.49(s, 1H), 7.47(s, 2H), 7.24(s, 2H), 6.68(s, 2H), 6.56(s, 2H), 5.79(d, J=8.9Hz, 2H), 5.04(dd, J=28.9, 12.3Hz, 4H), 4.25(d, J=5.4Hz, 2H), 3.93(s, 6H), 3.79-3.56(m, 16H), 3.52(t, J=5.2Hz, 2H), 3.29(d, J=5.0Hz, 2H), 2.97-2.83(m, 2H), 2.51(t, J=5.7Hz, 2H), 2.35(d, J=16.1Hz, 2H), 1.76(s, 6H), 1.43(s, 9H), 1.22(s, 18H), 0.85(s, 18H), 0.22(s, 6H), 0.17(s, 6H)。

【0418】

(iii)(11S,11aS,11'S,11a'S)-ジ-tert-ブチル8,8'-((5-(1-アミノ-15-オキソ-3,6,9,12-テトラオキサ-16-アザノナデカ-18-イン-19-イル)-1,3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ))ビス(11-ヒドロキシ-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-11,11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)(25)

tert-ブチルジメチルシリルトリフレート(0.77mL, 3.37mmol, 10当量)を無水ジクロロメタン(10mL)中の化合物24(500g, 0.337mmol)及び2,6-ルチジン(0.51mL, 4.38mmol, 12当量)の溶液に添加した。反応物を12時間、周囲温度で攪拌した。反応混合物を飽和塩化アンモニウム水溶液及び塩水で洗浄した。有機相を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰な溶媒を減圧下で回転蒸発によって除去して、TBSカルバメート中間体を得た。残留物をテトラヒドロフラン(10mL)に溶解させて、テトラ-n-ブチルアンモニウムフルオリド(1M, 1.7mL, 1.685mmol, 5当量)及び酢酸(0.1mL, 1.685mmol, 5当量)の混合物を添加した。反応混合物を室温で3時間攪拌して、次に水、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液及び塩水で洗浄した。有機相を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰な溶媒を減圧下で回転蒸発によって除去して、25を粗製として得た。LC/MS、方法D、(1.27分(ES+)m/z(相対強度)1155.30.([M+H]<sup>+</sup>))。

【0419】

(d) N-(3-(3,5-ビス(((S)-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-5,11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピ

10

20

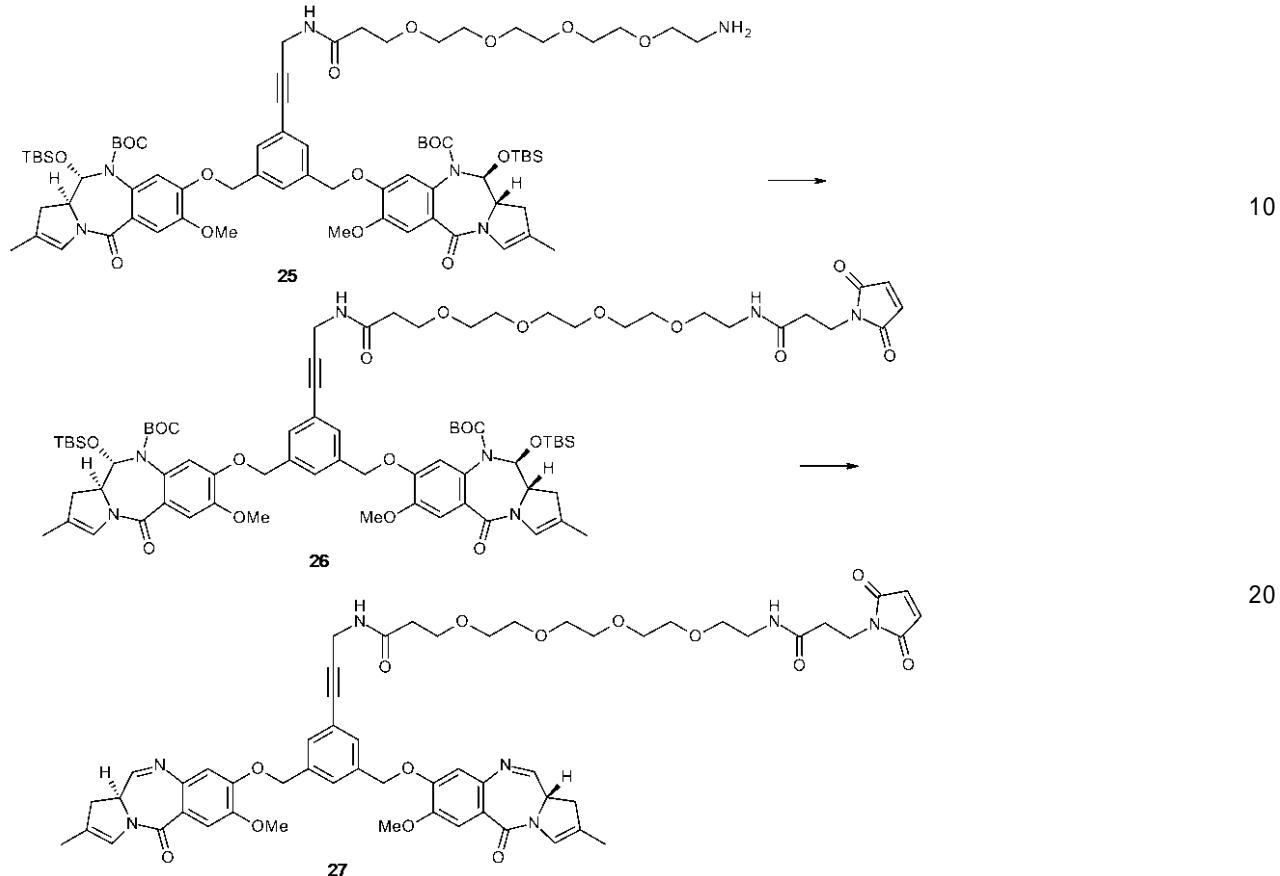
30

40

50

ン - 8 - イル) オキシ) メチル) フェニル) プロペ - 2 - イン - 1 - イル) - 1 - ( 3 - ( 2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) プロパンアミド) - 3 , 6 , 9 , 12 - テトラオキサペンタデカン - 15 - アミド 27 [ SG 3376 ]

【化 8 4】



【 0 4 2 0 】

( i ) ( 11S , 11aS , 11'S , 11a'S ) - ジ - t e r t - ブチル 8 , 8 ' - ( ( ( 5 - ( 1 - ( 2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) - 3 , 19 - ジオキソ - 7 , 10 , 13 , 16 - テトラオキサ - 4 , 20 - ジアザトリコス - 22 - イン - 23 - イル) - 1 , 3 - フェニレン) ビス ( メチレン ) ) ビス ( オキシ ) ) ビス ( 11 - ヒドロキシ - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 11 , 11a - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ [ e ] ピロロ [ 1 , 2 - a ] [ 1 , 4 ] ジアゼピン - 10 ( 5 H ) - カルボキシレート ) 26

EDCI ( 65 mg 、 0.34 mmol 、 1 当量 ) を、ジクロロメタン ( 10 mL ) 中の粗 25 ( 0.34 mmol 、 1 当量 ) 及び 3 - マレイミドプロピオン酸 ( 57.5 mg 、 0.34 mmol 、 1 当量 ) の溶液に添加した。反応物を室温にて 12 時間攪拌した後、完全変換を LCMS によって確認した。反応混合物をジクロロメタンで希釀して、水及び塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去して、化合物 26 を粗製として得た。LC/MS 、方法 D 、 ( 1.49 分 ( ES+ ) m/z ( 相対強度 ) イオン化なし ) 。

【 0 4 2 1 】

( i i ) N - ( 3 - ( 3 , 5 - ビス ( ( ( S ) - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 5 , 11a - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ [ e ] ピロロ [ 1 , 2 - a ] [ 1 , 4 ] ジアゼピン - 8 - イル ) オキシ ) メチル ) フェニル ) プロパ - 2 - イン - 1 - イル ) - 1 - ( 3 - ( 2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル ) プロパンアミド ) - 3 , 6 , 9 , 12 - テトラオキサペンタデカン - 15 - アミド 27

トリフルオロ酢酸 ( 9.5 mL ) を水 ( 0.5 mL ) 中の粗 26 ( 0.337 mmol ) の混合物に 0 で添加した。反応物を 0 で 2 時間攪拌した。次に、反応混合物を冷飽

40

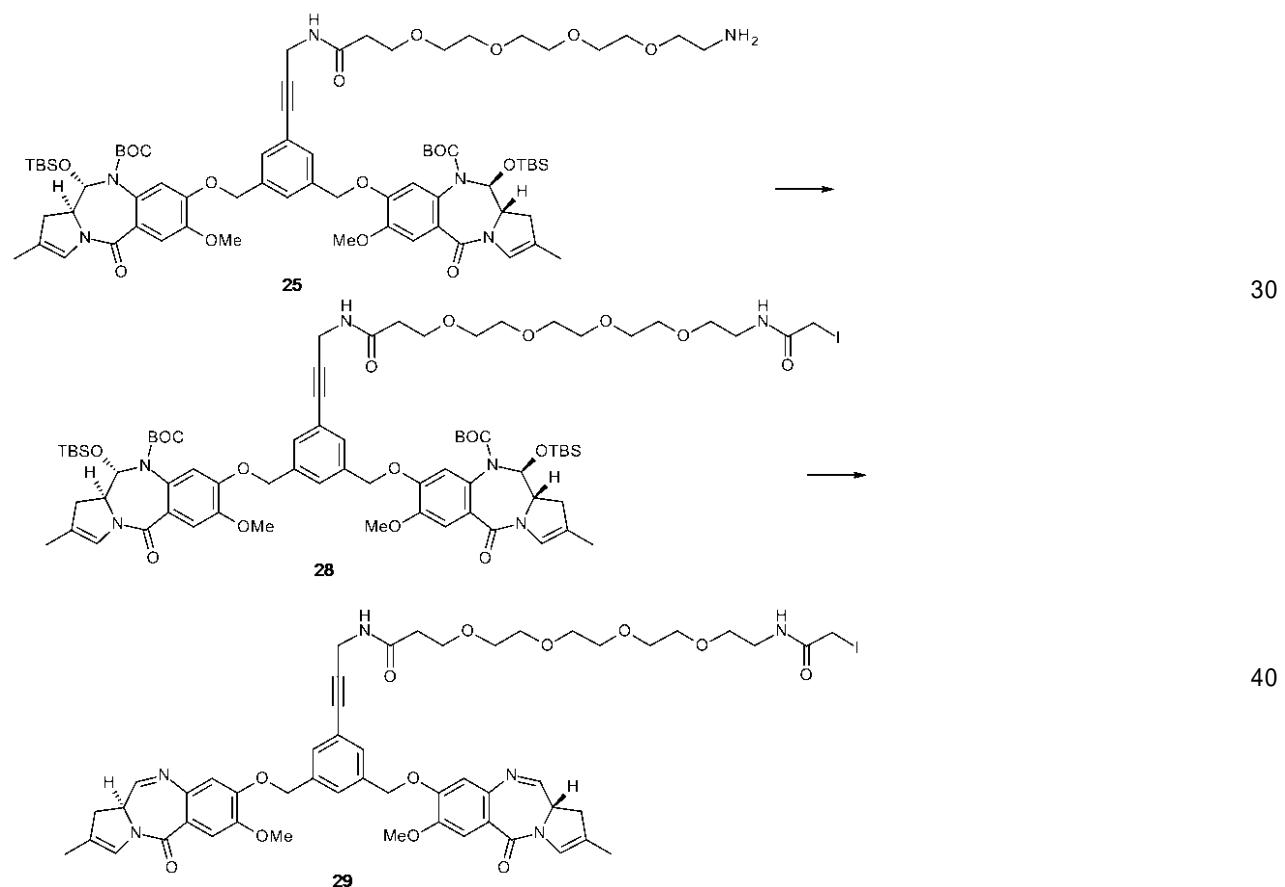
50

和炭酸水素ナトリウム水溶液中に滴下添加した。反応混合物をジクロロメタンで抽出した。有機層を次に塩水で洗浄して、硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた(シリカゲル；勾配；ジクロロメタン中2から5%メタノール)。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物27を得た(70.4mg、20%)。LC/MS、方法E、(4.96分(E S+))  
m/z(相対強度)1070.25。([M+H]<sup>+</sup>)；<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.78(d, J=4.0Hz, 2H), 7.52(s, 2H), 7.44(s, 2H), 7.40(s, 1H), 7.02-6.93(m, 1H), 6.88(s, 1H), 6.77(s, 2H), 6.74(s, 2H), 6.65(s, 2H), 5.22-5.01(m, 4H), 4.31-4.15(m, 4H), 3.94(s, 6H), 3.89-3.72(m, 4H), 3.65-3.54(m, 10H), 3.54-3.45(m, 4H), 3.43-3.34(m, 2H), 3.25-3.12(m, 2H), 2.94(dd, J=27.0, 10.2Hz, 2H), 2.51(dd, J=13.6, 6.7Hz, 4H), 1.83(s, 6H)。

## 【0422】

(e) N-(3-(3,5-ビス(((S)-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-5,11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-8-イル)オキシ)メチル)フェニル)プロパ-2-イン-1-イル)-1-(2-ヨードアセトアミド)-3,6,9,12-テトラオキサペンタデカン-15-アミド29 [SG3378]

## 【化85】



## 【0423】

(i) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S)-ジ-tert-ブチル8,8'-(((5-(1-ヨード-2,18-ジオキソ-6,9,12,15-テトラオキサ-3,19-ジアゾドコス-21-イン-22-イル)-1,3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ))ビス(11-ヒドロキシ-7-メトキシ-2-メチル-5-オキ

ソ - 1 1 , 1 1 a - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ [ e ] ピロロ [ 1 , 2 - a ] [ 1 , 4 ] ジアゼピン - 1 0 ( 5 H ) - カルボキシレート ) 2 8

無水ヨード酢酸 ( 5 3 m g 、 0 . 1 5 0 m m o l 、 1 当量 ) をジクロロメタン ( 5 m L ) 中の粗 2 5 ( 0 . 1 5 0 m m o l 、 1 当量 ) の溶液に添加した。反応物を室温にて 2 0 分間攪拌した後、完全変換を L C M S によって確認した。反応混合物をジクロロメタンで希釈して、水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去して、化合物 2 8 を粗製として得た。 L C / M S 、方法 D 、 ( 1 . 5 0 分 ( E S + ) m / z ( 相対強度 ) イオン化なし ) 。

【 0 4 2 4 】

( i i ) N - ( 3 - ( 3 , 5 - ビス ( ( ( S ) - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 5 , 1 1 a - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ [ e ] ピロロ [ 1 , 2 - a ] [ 1 , 4 ] ジアゼピン - 8 - イル ) オキシ ) メチル ) フェニル ) プロパ - 2 - イン - 1 - イル ) - 1 - ( 2 - ヨードアセトアミド ) - 3 , 6 , 9 , 1 2 - テトラオキサベンタデカン - 1 5 - アミド 2 9

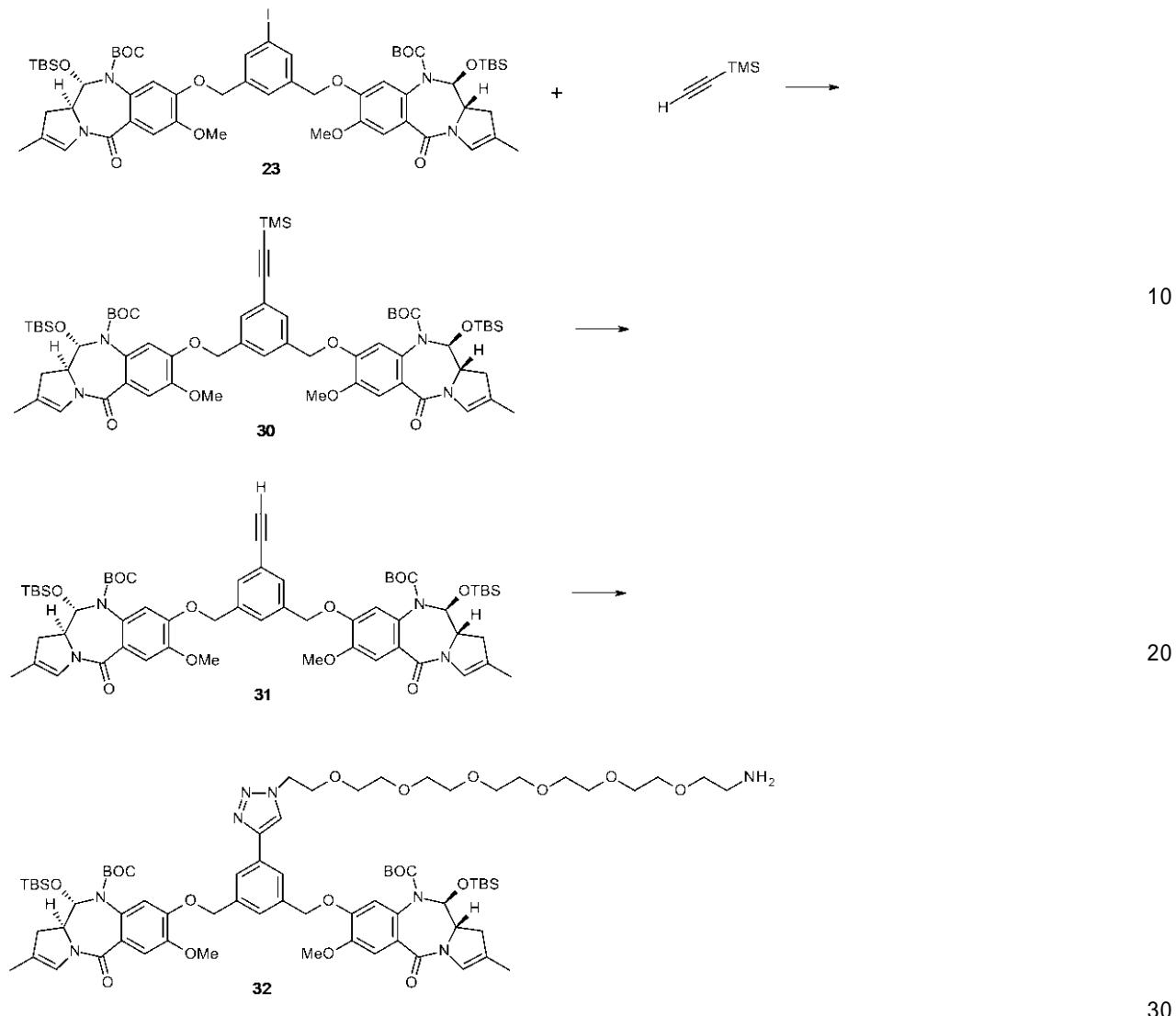
トリフルオロ酢酸 ( 0 . 4 5 m L ) を、水 ( 0 . 0 5 m L ) 中の粗 2 8 ( 0 . 3 3 7 m m o l ) の混合物に 0 で添加した。反応物を 0 で 3 0 分間攪拌した。次に、反応混合物を冷飽和炭酸水素ナトリウム水溶液中に滴下添加した。反応混合物をジクロロメタンで抽出した。有機層を次に塩水で洗浄して、硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた ( シリカゲル ; 勾配 ; ジクロロメタン中 2 から 5 % メタノール ) 。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物 2 9 を得た ( 4 . 2 3 m g 、 5 % ) 。 L C / M S 、方法 D 、 ( 1 . 3 5 分 ( E S + ) m / z ( 相対強度 ) 1 0 8 7 . 2 0 ( [ M + H ] + ) ; <sup>1</sup> H N M R ( 4 0 0 M H z , C D C l <sub>3</sub> ) 7 . 7 9 ( d , J = 4 . 0 H z , 2 H ) , 7 . 5 3 ( s , 2 H ) , 7 . 4 5 ( s , 3 H ) , 7 . 0 7 ( b r , 1 H ) , 6 . 9 4 ( b r , 1 H ) , 6 . 7 8 ( s , 2 H ) , 6 . 7 3 ( s , 2 H ) , 5 . 1 5 ( q , J = 1 2 . 6 H z , 4 H ) , 4 . 3 2 - 4 . 1 9 ( m , 4 H ) , 3 . 9 6 ( s , 6 H ) , 3 . 7 6 ( d d , J = 1 2 . 0 , 6 . 4 H z , 2 H ) , 3 . 6 9 ( s , 2 H ) , 3 . 6 4 ( d , J = 3 . 6 H z , 8 H ) , 3 . 6 0 ( s , 4 H ) , 3 . 5 5 - 3 . 4 9 ( m , 2 H ) , 3 . 4 2 ( d d , J = 1 0 . 3 , 5 . 2 H z , 2 H ) , 3 . 2 3 - 3 . 1 1 ( m , 2 H ) , 3 . 0 0 - 2 . 8 9 ( m , 2 H ) , 2 . 5 3 ( t , J = 5 . 7 H z , 2 H ) , 1 . 8 3 ( s , 6 H ) 。

【 0 4 2 5 】

[ 実施例 5 ]

( a ) ( 1 1 S , 1 1 a S , 1 1 ' S , 1 1 a ' S ) - ジ - t e r t - ブチル 8 , 8 ' - ( ( ( 5 - ( 1 - ( 2 0 - アミノ - 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 , 1 8 - ヘキサオキサイコシリル ) - 1 H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 4 - イル ) - 1 , 3 - フェニレン ) ビス ( メチレン ) ) ビス ( オキシ ) ) ビス ( 1 1 - ( ( t e r t - ブチルジメチルシリル ) オキシ ) - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 1 1 , 1 1 a - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ [ e ] ピロロ [ 1 , 2 - a ] [ 1 , 4 ] ジアゼピン - 1 0 ( 5 H ) - カルボキシレート ) 3 2

## 【化 8 6】



## 【0426】

(i) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S) -ジ-tert-ブチル8,8'-(5-(トリメチルシリル)エチニル)-1,3-フェニレン)ビス(メチレン)ビス(オキシ)ビス(11-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-11,11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロ口[1,2-a][1,4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)30

触媒量のPd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>(11mg、0.01mmol、0.02当量)を、無水DMF(4mL)中23(600mg、0.496mmol)、TMS-アセチレン(0.21mL、1.488mmol、3当量)、CuI(4.0mg、0.02mmol、0.04当量)、ジエチルアミン(0.1mL、0.992mmol、2当量)及びオーブンで乾燥させた4モレキュラーシーブペレットの混合物に添加した。混合物を脱気して、アルゴンを3回流し、次に電子レンジで100°で10分間加熱した。DMFを減圧下で回転蒸発によって除去した。反応混合物を酢酸エチルで希釈して、水及び塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水して、濾過して、過剰な酢酸エチルを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた(シリカゲル；ヘキサン中50%酢酸エチル)。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物30を得た(530mg、91%)。

LC/MS、方法C、(2.45分(ES+)；イオン化なし)；<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.52(s, 1H), 7.49(s, 2H), 7.23(s, 2H), 6.67(s, 2H), 6.54(s, 2H), 5.78(d, J = 8.8H

z, 2 H), 5.06 (dd, J = 41.6, 12.8 Hz, 4 H), 3.93 (s, 6 H), 3.68 (td, J = 9.8, 3.7 Hz, 2 H), 2.90 (dd, J = 17.0, 10.4 Hz, 2 H), 2.35 (d, J = 17.0 Hz, 2 H), 1.76 (s, 6 H), 1.20 (s, 18 H), 0.84 (s, 18 H), 0.22 (s, 15 H), 0.17 (s, 6 H)。

## 【0427】

(i i) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S) - ジ - tert - ブチル 8, 8' - ((5 - エチニル - 1, 3 - フェニレン) ビス (メチレン)) ビス (オキシ) ) ビス (11 - ((tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 11, 11a - ジヒドロ - 1H - ベンゾ [e] ピロロ [1, 2 - a] [1, 4] ジアゼピン - 10 (5 H) - カルボキシレート) 31 10

固体  $K_2CO_3$  (124 mg、0.90 mmol、2 当量) を、MeOH (10 mL) 中 TMS 保護化合物 30 (530 mg、0.449 mmol) の攪拌溶液に添加した。室温での攪拌の 1 時間後、反応が完了した。メタノールを減圧下で回転蒸発によって除去した。反応混合物をジクロロメタンで希釈して、水及び塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物 31 を得た (477 mg、95%)。LC/MS、方法 C、(2.32 分 (ES<sup>+</sup>) ; イオン化なし) ; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 7.53 (s, 3 H), 7.24 (s, 2 H), 6.68 (s, 2 H), 6.54 (s, 2 H), 5.79 (d, J = 8.7 Hz, 2 H), 5.07 (dd, J = 33.2, 12.8 Hz, 4 H), 3.93 (s, 6 H), 3.69 (td, J = 9.7, 3.6 Hz, 2 H), 3.08 (s, 1 H), 2.90 (dd, J = 16.9, 10.3 Hz, 2 H), 2.35 (d, J = 16.8 Hz, 2 H), 1.76 (s, 6 H), 1.25 - 1.13 (m, 18 H), 0.85 (s, 18 H), 0.22 (s, 6 H), 0.16 (m, 6 H)。 20

## 【0428】

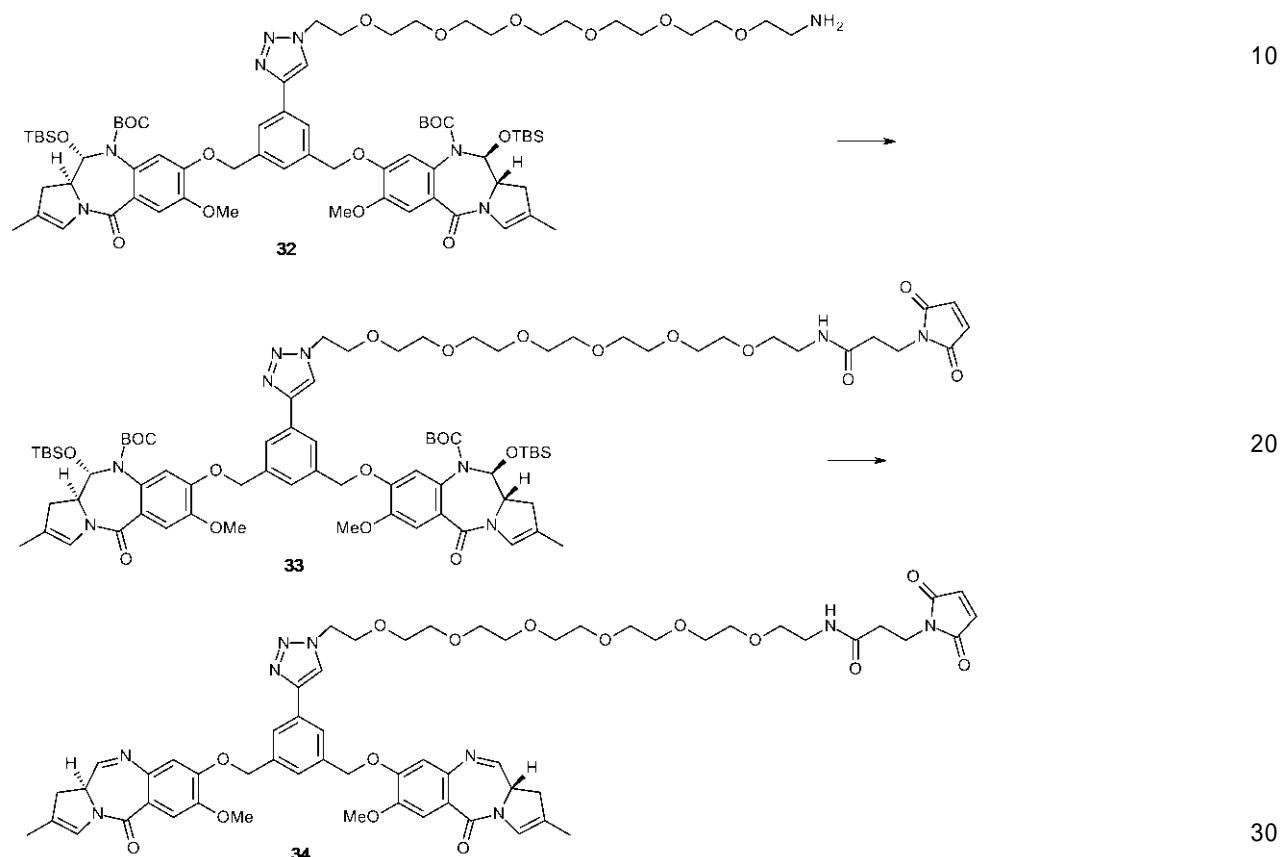
(i i i) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S) - ジ - tert - ブチル 8, 8' - ((5 - (1 - (20 - アミノ - 3, 6, 9, 12, 15, 18 - ヘキサオキサイコシル) - 1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 4 - イル) - 1, 3 - フェニレン) ビス (メチレン)) ビス (オキシ) ) ビス (11 - ((tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 11, 11a - ジヒドロ - 1H - ベンゾ [e] ピロロ [1, 2 - a] [1, 4] ジアゼピン - 10 (5 H) - カルボキシレート) 32 30

固体  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$  (5 mg、0.021 mmol、0.05 当量) 及び (+) - L - アスコルビン酸ナトリウム (17.0 mg、0.086 mmol、0.2 当量) を tert - BuOH (5 mL) 及び  $H_2O$  (5 mL) 中の 20 - アジド - 3, 6, 9, 12, 15, 18 - ヘキサオキサイコサン - 1 - アミン (151 mg、0.43 mmol、1 当量) 及びアルキン 31 (477 mg、0.43 mmol 1 当量) の攪拌溶液に室温で添加した。混合物を脱気して、アルゴンで流した。2 時間攪拌した後、反応が完了した。反応混合物を酢酸エチルで希釈して、水及び塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰な酢酸エチルを減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物 32 を得た (640 mg、定量)。LC/MS、方法 C、(1.67 分 (ES<sup>+</sup>) m/z (相対強度) 1457.35 ([M + H]<sup>+</sup>)) ; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8.10 (s, 1 H), 7.93 (br, 3 H), 7.54 (s, 1 H), 7.25 (s, 2 H), 6.68 (s, 2 H), 6.62 (s, 2 H), 5.79 (d, J = 8.6 Hz, 2 H), 5.14 (dd, J = 30.6, 11.8 Hz, 4 H), 4.68 - 4.59 (m, 2 H), 4.00 - 3.94 (m, 2 H), 3.94 (s, 6 H), 3.75 - 3.47 (m, 24 H), 2.91 (dd, J = 16.9, 10.3 Hz, 2 H), 2.35 (d, J = 16.7 Hz, 2 H), 1.76 (s, 6 H), 1.31 - 1.11 (m, 18 H), 0.85 (d, J = 8.1 Hz, 18 H), 0.20 (s, 6 H), 0.16 (s, 6 H)。 40

## 【0429】

(b) N - (20 - (4 - (3, 5 - ビス(((S) - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 5, 11a - ジヒドロ - 1H - ベンゾ[e]ピロロ[1, 2 - a] [1, 4]ジアゼピン - 8 - イル)オキシ)メチル)フェニル) - 1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 1 - イル) - 3, 6, 9, 12, 15, 18 - ヘキサオキサイコシリル) - 3 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル)プロパンアミド(34) [SG 3387]

## 【化87】



## 【0430】

(i) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S) - ジ - tert - ブチル 8, 8' - ((5 - (1 - (24 - (2, 5 - ジオキソ - 2, 5 - ジヒドロ - 1H - ピロール - 1 - イル) - 22 - オキソ - 3, 6, 9, 12, 15, 18 - ヘキサオキサ - 21 - アザテトラコシリル) - 1H - 1, 2, 3 - トリアゾール - 4 - イル) - 1, 3 - フェニレン) ビス(メチレン) ビス(オキシ) ビス(11 - ((tert - ブチルジメチルシリル) オキシ) - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 11, 11a - ジヒドロ - 1H - ベンゾ[e]ピロロ[1, 2 - a] [1, 4]ジアゼピン - 10 (5H) - カルボキシレート) 33

40  
EDCI (40mg、0.21mmol、1当量)を、ジクロロメタン(10mL)中の32 (300mg、0.206mmol、1当量)及び3 - マレイミドプロピオン酸(35mg、0.21mmol、1当量)の溶液に添加した。反応物を室温にて12時間攪拌した後、完全変換をLCMSによって確認した。反応混合物をジクロロメタンで希釈して、水及び塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去して、化合物33を粗製として得た(320mg、定量)、LC/MS、方法C、(2.13分(ES+)m/z(相対強度)1609.55([M+H]+))。

## 【0431】

(ii) N - (20 - (4 - (3, 5 - ビス(((S) - 7 - メトキシ - 2 - メチル -

50

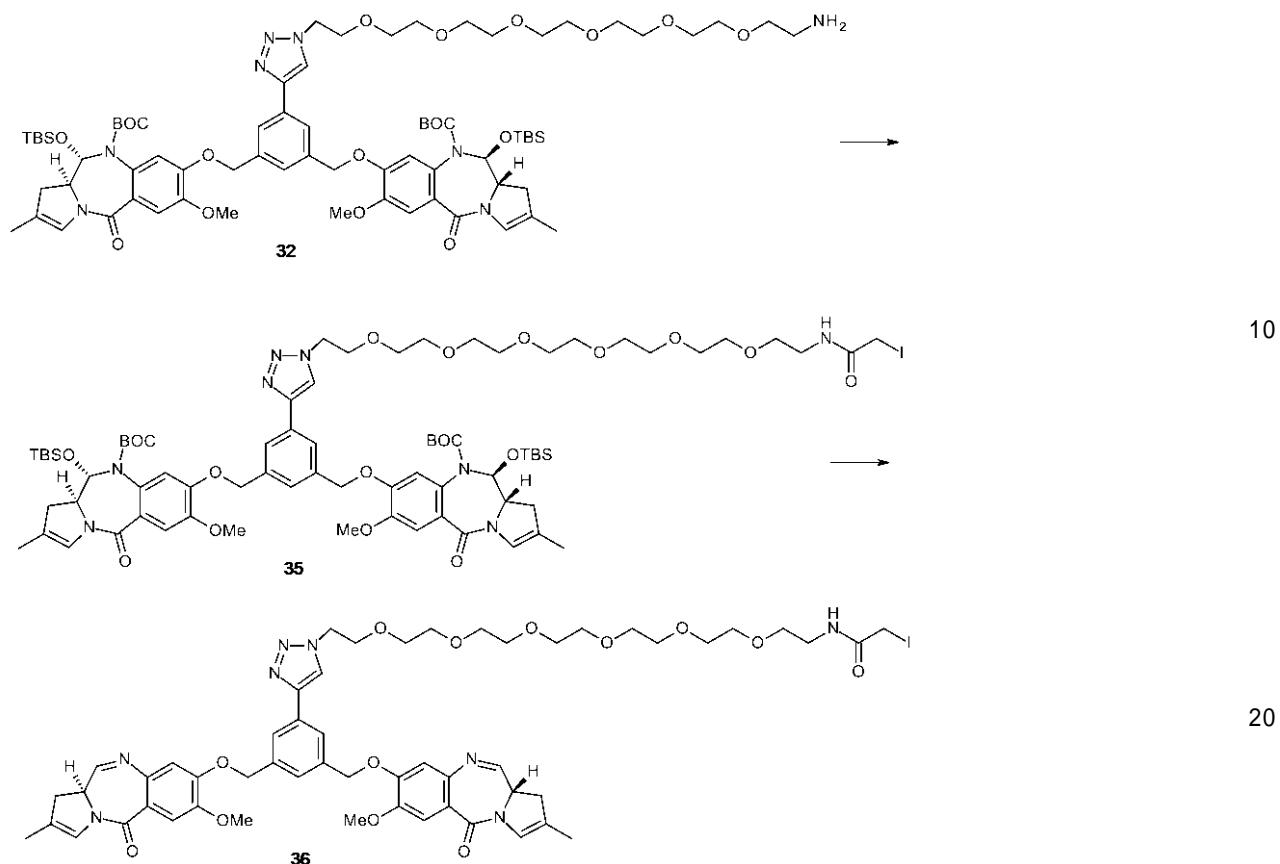
5 - オキソ - 5 , 1 1 a - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ [ e ] ピロロ [ 1 , 2 - a ] [ 1 , 4 ] ジアゼピン - 8 - イル) オキシ) メチル) フェニル) - 1 H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) - 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 , 1 8 - ヘキサオキサイコシル) - 3 - ( 2 , 5 - ジオキソ - 2 , 5 - ジヒドロ - 1 H - ピロール - 1 - イル) プロパンアミド 3 4

トリフルオロ酢酸 (19 mL) を、水 (1 mL) 中の粗 3 3 (0.186 mmol) の混合物に 0 で添加した。反応物を 0 で 30 分間攪拌した。次に、反応混合物を冷飽和炭酸水素ナトリウム水溶液 (約 2 L) に滴下添加した。反応混合物をジクロロメタン (約 1 L) で抽出した。有機層を次に塩水で洗浄して、硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた (シリカゲル；勾配；ジクロロメタン中 2 から 10 0 % メタノール)。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物 3 4 を得た (56 mg、26 %)。LC/MS、方法 E、(4.9 9 分 (ES+) m/z (相対強度) 1144.35 ([M+H]<sup>+</sup>) ; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8.01 (s, 1H), 7.86 (s, 2H), 7.75 (d, J = 3.9 Hz, 2H), 7.50 (s, 2H), 7.48 (s, 1H), 6.81 (s, 2H), 6.71 (s, 2H), 6.65 (s, 2H), 6.39 (br, 1H), 5.21 (q, J = 12.4 Hz, 4H), 4.58 (t, J = 4.8 Hz, 2H), 4.25 - 4.17 (m, 2H), 3.96 - 3.87 (m, 8H), 3.85 - 3.77 (m, 2H), 3.65 - 3.43 (m, 22H), 3.37 (dd, J = 9.9, 4.8 Hz, 2H), 3.20 - 3.08 (m, 2H), 2.92 (dd, J = 16.9, 4.6 Hz, 2H), 2.49 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.81 (s, 6H)。

【0432】

(c) N - (20 - (4 - (3 , 5 - ビス(((S) - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 5 , 1 1 a - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ [ e ] ピロロ [ 1 , 2 - a ] [ 1 , 4 ] ジアゼピン - 8 - イル) オキシ) メチル) フェニル) - 1 H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) - 3 , 6 , 9 , 1 2 , 1 5 , 1 8 - ヘキサオキサイコシル) - 2 - ヨードアセトアミド 3 6 [ SG3389 ]

## 【化 8 8】



## 【0433】

(i) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S)-ジ-tert-ブチル8,8'-(5-(1-(1-ヨード-2-オキソ-6,9,12,15,18,21-ヘキサオキサ-3-アザトリコサン-23-イル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)-1,3-フェニレン)ビス(メチレン)ビス(オキシ)ビス(11-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-11,11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロ口[1,2-a][1,4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)35

30

無水ヨード酢酸(37mg、0.103mmol、1当量)をジクロロメタン(5mL)中の32(150mg、0.103mmol、1当量)の溶液に添加した。反応物を室温にて20分間攪拌した後、完全変換をLCMSによって確認した。反応混合物をジクロロメタンで希釈して、水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去して、化合物35を粗製として得た。

LC/MS、方法C、(2.17分(ES+)m/z(相対強度)1625.35([M+H]<sup>+</sup>))。

40

## 【0434】

(ii) N-(20-(4-(3,5-ビス(((S)-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-5,11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロ口[1,2-a][1,4]ジアゼピン-8-イル)オキシ)メチル)フェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)-3,6,9,12,15,18-ヘキサオキサイコシリル)-2-ヨードアセトアミド36

トリフルオロ酢酸(4.95mL)を、水(0.05mL)中の粗35(0.103mmol)の混合物に0で添加した。反応物を0で30分間攪拌した。次に、反応混合物を冷飽和炭酸水素ナトリウム水溶液中に滴下添加した(200mL)。反応混合物をジクロロメタンで抽出した。有機層を次に塩水で洗浄して、硫酸マグネシウムで脱水し、濾

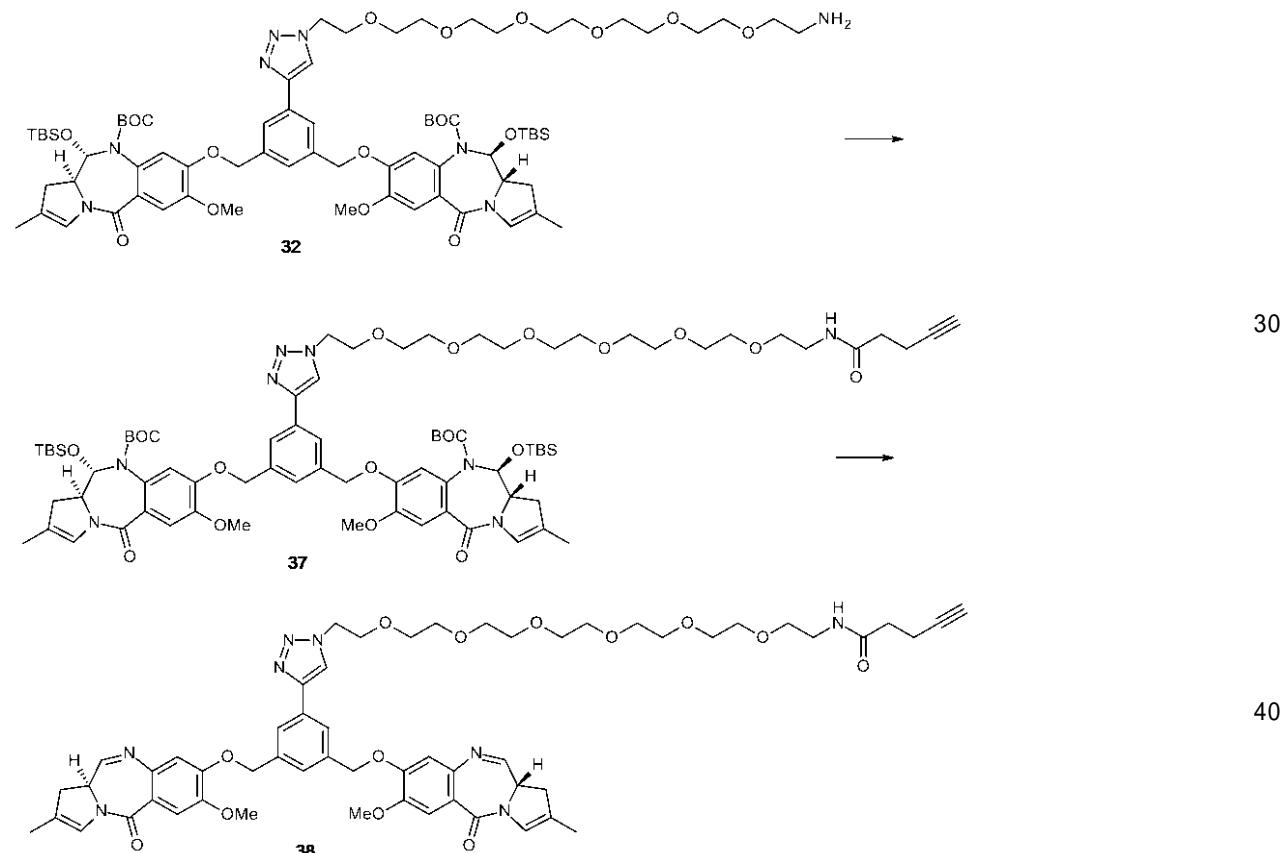
過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた(シリカゲル；勾配；ジクロロメタン中2から10%メタノール)。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物36を得た(32mg、27%)。LC/MS、方法E、(5.16分(ES+)m/z(相対強度)1161.10([M+H]<sup>+</sup>)；<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8.03(s, 1H), 7.87(s, 2H), 7.76(d, J=3.9Hz, 2H), 7.51(s, 2H), 7.48(s, 1H), 6.95(br, 1H), 6.82(s, 2H), 6.72(s, 2H), 5.21(q, J=12.4Hz, 4H), 4.59-4.58(m, 2H), 4.24-4.20(m, 2H), 3.96-3.87(m, 8H), 3.70(s, 2H), 3.66-3.47(m, 22H), 3.41(dd, J=10.3, 5.2Hz, 2H), 3.19-3.07(m, 2H), 2.98-2.85(m, 2H), 1.78(d, J=22.4Hz, 6H)。

## 【0435】

## [実施例6]

N-(20-(4-(3,5-bis(((S)-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-5,11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-8-イル)オキシ)メチル)フェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)-3,6,9,12,15,18-ヘキサオキサイコシリル)ペンタ-4-インアミド(38)

## 【化89】



## 【0436】

(i) (11S, 11aS, 11'S, 11a'S)-ジ-tert-ブチル8,8'-(5-(1-(22-オキソ-3,6,9,12,15,18-ヘキサオキサ-21-アザヘキサコス-25-イン-1-イル)-1H-1,2,3-トリアゾール-4-イル)-1,3-フェニレン)ビス(メチレン)ビス(オキシ)ビス(11-(tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-11

10

20

30

40

50

, 11a -ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)37

EDCI(20mg、0.103mmol、1当量)を、ジクロロメタン(5mL)中の32(150mg、0.103mmol、1当量)及びベンタ-4-イン酸(20mg、0.103mmol、1当量)の溶液に添加した。反応物を室温にて12時間攪拌した後、完全変換をLCMSによって確認した。反応混合物をジクロロメタンで希釈して、水及び塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去して、化合物37を粗製として得た。LC/MS、方法C、(2.16分(ES+)m/z(相対強度)イオン化なし)。

## 【0437】

(ii) N-(20-(4-(3,5-ビス(((S)-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-5,11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-8-イル)オキシ)メチル)フェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)-3,6,9,12,15,18-ヘキサオキサイコシル)ベンタ-4-インアミド38

トリフルオロ酢酸(4.95mL)を、水(0.05mL)中の粗37(0.103mmol)の混合物に0で添加した。反応物を0で30分間攪拌した。次に、反応混合物を冷飽和炭酸水素ナトリウム水溶液中に滴下添加した(200mL)。反応混合物をジクロロメタンで抽出した。有機層を次に塩水で洗浄して、硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた(シリカゲル；勾配；ジクロロメタン中2から10%メタノール)。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物38を得た(40mg、36%)。LC/MS、方法E、(5.11分(ES+)m/z(相対強度)1073.30([M+H]<sup>+</sup>)；<sup>1</sup>H NMR(400MHz, CDCl<sub>3</sub>) 8.01(s, 1H), 7.87(s, 2H), 7.77(d, J=3.8Hz, 2H), 7.52(s, 2H), 7.49(s, 1H), 6.82(s, 2H), 6.72(s, 2H), 6.42(s, 1H), 5.22(q, J=12.3Hz, 4H), 4.59(t, J=4.8Hz, 2H), 4.28-4.17(m, 2H), 3.99-3.88(m, 8H), 3.57(dt, J=9.5, 8.0Hz, 22H), 3.50-3.39(m, 2H), 3.20-3.07(m, 2H), 2.93(dd, J=16.7, 3.9Hz, 2H), 2.51(t, J=6.1Hz, 2H), 2.39(t, J=7.2Hz, 2H), 2.01(dd, J=11.6, 5.4Hz, 1H), 1.82(s, 6H)。

## 【0438】

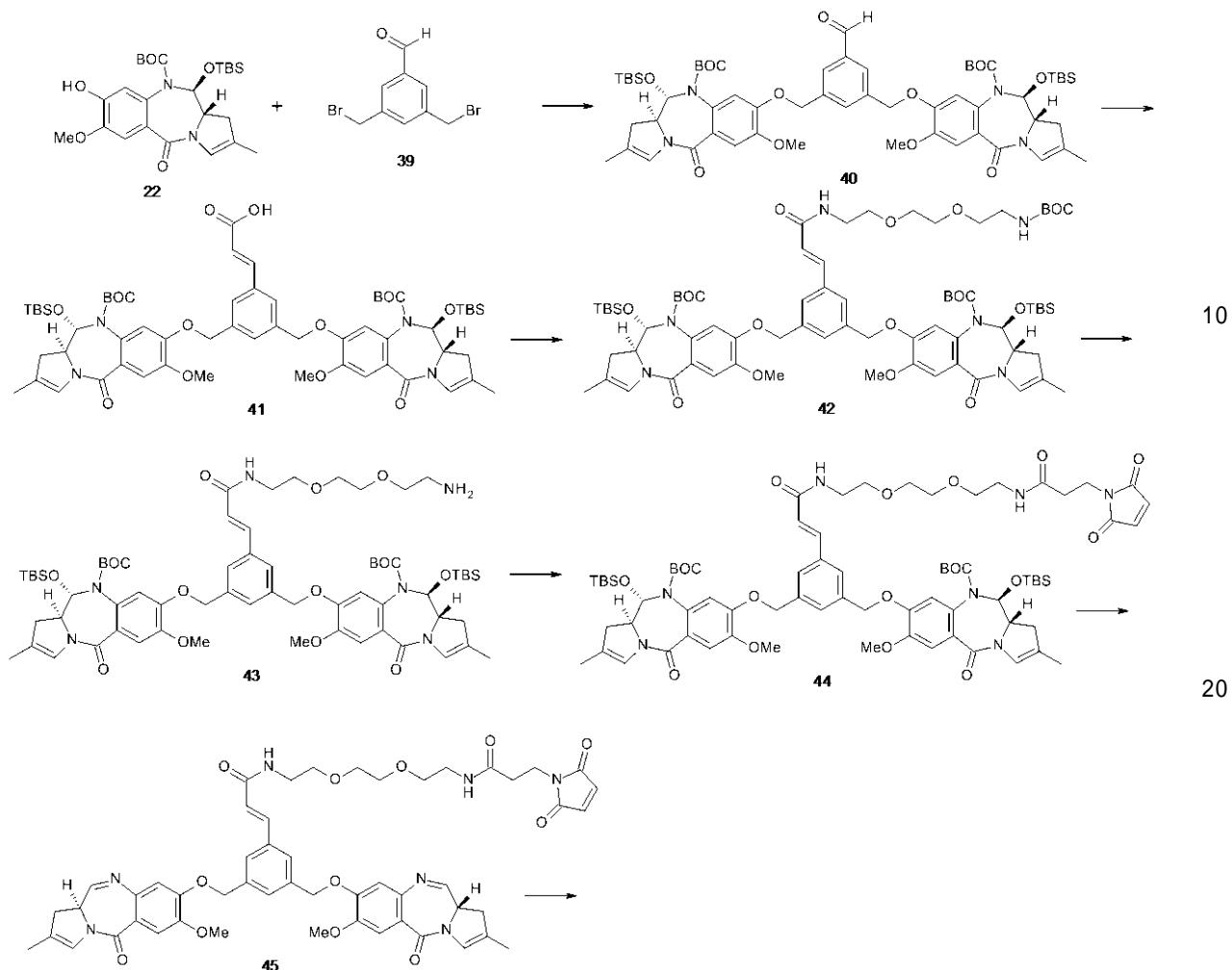
## [実施例7]

10

20

30

## 【化90】



## 【0439】

(i) ジ - tert - ブチル 8 , 8 ' - ( ( ( 5 - ホルミル - 1 , 3 - フェニレン ) ビス ( メチレン ) ) ビス ( オキシ ) ) ( 11S , 11aS , 11'S , 11a'S ) - ビス ( 11 - ( ( tert - ブチルジメチルシリル ) オキシ ) - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 11 , 11a - ジヒドロ - 1H - ベンゾ [ e ] ピロロ [ 1 , 2 - a ] [ 1 , 4 ] ジアゼピン - 10 ( 5H ) - カルボキシレート ) 40 30

3 , 5 - ビス ( ブロモメチル ) ベンズアルデヒド 39 ( 30 mg 、 0 . 102 mmol ) を、無水 DMF ( 2 mL ) 中の 22 ( 100 mg 、 0 . 204 mmol 、 2 当量 ) 、 TBAI ( 7 mg 、 0 . 02 mmol 、 0 . 1 当量 ) 及び  $K_2CO_3$  ( 28 mg 、 0 . 204 mmol 、 2 当量 ) の攪拌溶液に添加した。反応混合物を 60 まで加熱して、アルゴン雰囲気下で周囲温度にて 4 時間及び 12 時間攪拌した。混合物を EtOAc で希釈して、水、塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水して、濾過して、過剰な酢酸エチルを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた (シリカゲル；勾配、ヘキサン中 50 % から 70 % 酢酸エチル)。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物 40 を得た (90 mg 、 79 %)。LC / MS、方法 C、(2.27 分 (ES+) m/z (相対強度) 1111.35。([M + H]<sup>+</sup>)、<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 1.00.05 (s, 1H), 7.95 (s, 2H), 7.86 (s, 1H), 7.26 (s, 2H), 6.69 (s, 2H), 6.58 (s, 2H), 5.80 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 5.17 (s, 4H), 3.94 (s, 6H), 3.72 - 3.68 (m, 2H), 2.91 (dd, J = 16.7, 10.3 Hz, 2H), 2.36 (d, J = 17.4 Hz, 2H), 1.77 (s, 6H), 1.25 (s, 18H), 0.84 (s, 9H) 40

4 ( s , 18 H ) , 0 . 22 ( s , 6 H ) , 0 . 15 ( s , 6 H ) 。

【 0440 】

( i i ) ( E ) - 3 - ( 3 , 5 - ビス ( ( ( 11 S , 11 a S ) - 10 - ( t e r t - プトキシカルボニル ) - 11 - ( ( t e r t - プチルジメチルシリル ) オキシ ) - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 5 , 10 , 11 , 11 a - テトラヒドロ - 1 H - ベンゾ [ e ] ピロ口 [ 1 , 2 - a ] [ 1 , 4 ] ジアゼピン - 8 - イル ) オキシ ) メチル ) フェニル ) アクリル酸 4 1

マロン酸 ( 14 mg 、 0 . 138 mmol 、 2 . 2 当量 ) 及び化合物 4 0 をピペリジン ( 1  $\mu$  L ) 及びピリジン ( 0 . 1 mL ) の混合物に溶解させた。反応混合物を 95 まで加熱して、アルゴン雰囲気下で 2 時間攪拌した。混合物を EtOAc で希釈して、水、塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水して、濾過して、過剰な酢酸エチルを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物をフラッシュカラムクロマトグラフィーにかけた (シリカゲル；勾配、ヘキサン中 50 % から 100 % 酢酸エチル、続いて EtOAc 中 2 % MeOH)。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を減圧下で回転蒸発によって除去して、生成物 4 1 を得た ( 50 mg 、 53 % )。LC/MS、方法 C 、 ( 2 . 21 分 ( E S + ) m / z ( 相対強度 ) 1153 . 35 。 ( [ M + H ] + ) 、  $^1$ H NMR ( 400 MHz , CDCl<sub>3</sub> ) 7 . 73 ( d , J = 15 . 9 Hz , 1 H ) , 7 . 58 ( s , 2 H ) , 7 . 55 ( s , 1 H ) , 7 . 26 ( s , 2 H ) , 6 . 68 ( s , 2 H ) , 6 . 54 ( s , 2 H ) , 6 . 46 ( d , J = 16 . 0 Hz , 1 H ) , 5 . 77 ( d , J = 8 . 6 Hz , 2 H ) , 5 . 11 ( dd , J = 27 . 4 , 12 . 3 Hz , 4 H ) , 3 . 94 ( s , 6 H ) , 3 . 68 ( dd , J = 8 . 9 , 6 . 4 Hz , 2 H ) , 2 . 89 ( dd , J = 16 . 8 , 10 . 3 Hz , 2 H ) , 2 . 34 ( d , J = 16 . 7 Hz , 2 H ) , 1 . 75 ( s , 6 H ) , 1 . 29 - 1 . 09 ( m , 18 H ) , 0 . 82 ( s , 18 H ) , 0 . 21 ( s , 6 H ) , 0 . 13 ( s , 6 H ) 。

【 0441 】

( i i i ) ジ - t e r t - プチル 8 , 8 ' - ( ( ( 5 - ( ( E ) - 2 , 2 - ジメチル - 4 , 15 - ジオキソ - 3 , 8 , 11 - トリオキサ - 5 , 14 - ジアザヘプタデカ - 16 - エン - 17 - イル ) - 1 , 3 - フェニレン ) ビス ( メチレン ) ) ビス ( オキシ ) ) ( 11 S , 11 a S , 11 ' S , 11 a ' S ) - ビス ( 11 - ( ( t e r t - プチルジメチルシリル ) オキシ ) - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 11 , 11 a - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ [ e ] ピロ口 [ 1 , 2 - a ] [ 1 , 4 ] ジアゼピン - 10 ( 5 H ) - カルボキシレート ) 4 2

EDCI ( 9 mg 、 0 . 045 mmol 、 1 当量 ) を、ジクロロメタン ( 2 mL ) 中の 4 1 ( 50 mg 、 0 . 043 mmol 、 1 当量 ) 及び t e r t - プチル ( 2 - ( 2 - ( 2 - アミノエトキシ ) エトキシ ) エチル ) カルバメート ( 11 mg 、 0 . 045 mmol 、 1 当量 ) の溶液に添加した。反応物を室温にて 1 時間攪拌した後、完全変換を LC/MS によって確認した。反応混合物をジクロロメタンで希釈して、水及び塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去して、化合物 4 2 を粗製として得た。LC/MS、方法 C 、 ( 2 . 29 分 ( E S + ) m / z ( 相対強度 ) 1384 . 35 ( [ M + H ] + ) ) 。

【 0442 】

( i v ) ジ - t e r t - プチル 8 , 8 ' - ( ( ( 5 - ( ( E ) - 3 - ( ( 2 - ( 2 - ( 2 - アミノエトキシ ) エトキシ ) エチル ) アミノ ) - 3 - オキソプロパ - 1 - エン - 1 - イル ) - 1 , 3 - フェニレン ) ビス ( メチレン ) ) ビス ( オキシ ) ) ( 11 S , 11 a S , 11 ' S , 11 a ' S ) - ビス ( 11 - ( ( t e r t - プチルジメチルシリル ) オキシ ) - 7 - メトキシ - 2 - メチル - 5 - オキソ - 11 , 11 a - ジヒドロ - 1 H - ベンゾ [ e ] ピロ口 [ 1 , 2 - a ] [ 1 , 4 ] ジアゼピン - 10 ( 5 H ) - カルボキシレート ) 4 3 t e r t - プチルジメチルシリルトリフレート ( 0 . 10 mL 、 0 . 43 mmol 、 10 当量 ) を、無水ジクロロメタン ( 2 mL ) 中の化合物 4 2 ( 0 . 043 mmol ) 及び 2 , 6 - ルチジン ( 0 . 07 mL 、 0 . 56 mmol 、 13 当量 ) の溶液に添加した。反

10

20

30

40

50

応物を2時間、周囲温度で攪拌した。反応混合物を飽和塩化アンモニウム水溶液、水及び塩水で洗浄した。有機相を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰な溶媒を減圧下で回転蒸発によって除去して、アミン43及びモノTBS脱保護化合物の混合物を粗製として得た。LC/MS、方法C、(1.72分(ES+)m/z(相対強度)1283.35([M+H]<sup>+</sup>))。

## 【0443】

(v)ジ-tert-ブチル8,8'-(((5-((E)-16-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)-3,14-ジオキソ-7,10-ジオキサ-4,13-ジアザヘキサデカ-1-エン-1-イル)-1,3-フェニレン)ビス(メチレン))ビス(オキシ))(11S,11aS,11'S,11a'S)-ビス(11-((tert-ブチルジメチルシリル)オキシ)-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-11,11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-10(5H)-カルボキシレート)44

EDCI(9mg、0.045mmol、1当量)を、ジクロロメタン(2mL)中の43(0.043mmol、1当量)及び3-マレイミドプロピオン酸(8mg、0.045mmol、1当量)の溶液に添加した。反応物を室温にて12時間攪拌した後、完全変換をLC/MSによって確認した。反応混合物をジクロロメタンで希釈して、水及び塩水で洗浄した。有機層を硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去して、化合物44を粗製として得た、LC/MS、方法C、(2.19分(ES+)m/z(相対強度)1435.40([M+H]<sup>+</sup>))。

## 【0444】

(vi)(E)-3-(3,5-ビス(((S)-7-メトキシ-2-メチル-5-オキソ-5,11a-ジヒドロ-1H-ベンゾ[e]ピロロ[1,2-a][1,4]ジアゼピン-8-イル)オキシ)メチル)フェニル)-N-(2-(2-(2-(3-(2,5-ジオキソ-2,5-ジヒドロ-1H-ピロール-1-イル)プロパンアミド)エトキシ)エトキシ)エチル)アクリルアミド45

トリフルオロ酢酸(4.95mL)を、水(0.05mL)中の粗44(0.043mmol)の混合物に0で添加した。反応物を0で1時間攪拌した。次に、反応混合物を冷飽和炭酸水素ナトリウム水溶液中に滴下添加した(100mL)。反応混合物をジクロロメタンで抽出した。有機層を次に塩水で洗浄して、硫酸マグネシウムで脱水し、濾過して、過剰なジクロロメタンを減圧下で回転蒸発によって除去した。得られた残留物を分取HPLCにかけた。純粋な画分を収集して合わせ、過剰な溶離液を凍結乾燥によって除去して、生成物45を得た(4.26mg、10%)。LC/MS、方法C、(1.35分(ES+)m/z(相対強度)968.25([M+H]<sup>+</sup>))。

## 【0445】

## [実施例8]

## 一般抗体コンジュゲーション手順

抗体を還元緩衝液(例:リン酸緩衝食塩水PBS、ヒスチジン緩衝液、ホウ酸ナトリウム緩衝液、TRIS緩衝液)で1-5mg/mLまで希釈する。新たに調製したTCEP(トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィンヒドロクロリド)の溶液を添加して、システムインジスルフィド架橋を選択的に還元する。TCEPの量は、標的還元レベルに比例していて、抗体当たり1から4モル当量以内で、2から8つの反応性チオールを生じる。37にて数時間還元した後、混合物を室温まで冷却して、過剰な薬剤-リンカー(7、10)を希釈DMSO溶液として添加した(反応混合物の10%体積/体積までの、最終DMSO含有率)。混合物を4又は室温のどちらかで適切な時間、一般に1から3時間、静かに振とうした。過剰な反応性チオールを、コンジュゲーションの終りにN-エチルマレイミド(NEM)などの「チオールキャッピング試薬」と反応させることができる。抗体-薬剤コンジュゲートは、10kDa以上の分子量カットオフを有する遠心スピンフィルタを使用して濃縮され、次にタンジェンシャルフロー濾過(TFF)又は高速タンパク質液体クロマトグラフィー(FPLC)によって精製される。相当する抗体-薬剤コンジ

10

20

30

40

50

ユゲートは、UV可視蛍光又は質量分析計検出と連結された逆相クロマトグラフィー(RP)又は疎水性相互作用クロマトグラフィー(HIC)を使用して薬剤-抗体比(DAR)を評価するための、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)又は超高速液体クロマトグラフィー(UHPLC)による分析によって決定することができる。凝集レベル及びモノマー純度は、UV可視、蛍光又は質量分析計検出と連結されたサイズ排除クロマトグラフィーを使用してHPLC又はUHPLCによって分析できる。最終コンジュゲート濃度は、分光アッセイ(280、214及び330nmでの吸収)及び生化学アッセイ(ビシンコニン酸アッセイBCA; Smith, P. K., et al. (1985) Anal. Biochem. 150 (1): 76-85; 既知濃度のIgG抗体を参照として使用)の組合せによって決定される。抗体-薬剤コンジュゲートは一般に、0.2μmフィルタを使用して無菌条件下で滅菌濾過されて、+4、-20又は-80にて保存される。  
10

具体的なコンジュゲーションの例を以下で説明する。

#### 【0446】

##### コンジュゲートA(Ab-7、ConjA)

抗体(Ab)(2.0mg、13.3ナノモル)を10mMホウ酸ナトリウムpH8.4、2.5mM EDTAを含有する還元緩衝液1.8mL中へ、最終抗体濃度1.11mg/mLで希釈した。TCEPの10mM溶液を添加して(2モル当量/抗体、26.6ナノモル、2.66μL)を添加して、還元混合物を加熱ブロック内で37にて2.3時間加熱した。室温まで冷却した後、化合物7をDMSO溶液として添加した(3.5モル当量/抗体、46.7ナノモル、0.2mL DMSO中)。溶液を室温で1時間混合して、次にコンジュゲーションをN-エチルマレイミド(1マイクロモル、100mMにて10μL)を、15分後にN-アセチルシステイン(1.5マイクロモル、100mMにて15μL)を添加することによって停止させ、次にスーパー・デックス200PGを充填したGEヘルスケアXK16/70カラムを使用するアクタ(商標)FPLCに注入して、1.5mL/分の滅菌濾過リン酸緩衝食塩水(PBS)で溶離した。ConjAモノマーピークに相当する画分をプールして、15mLアミコンウルトラセル50KDa MWCOスピンフィルタを使用して濃縮し、分析、滅菌濾過した。BCAアッセイにより、1.4mL中1.25mg/mLの最終ConjA濃度が得られ、得られたConjAの質量は1.75mgであった(87%収率)。  
20

280nm及び330nmにおけるConjAの還元サンプル(化合物7に固有)の、水及びアセトニトリルの勾配を用いて溶離させる、フェノメネクス・エアリス3.6uXB-C18 150×2.1mmカラムを使用する島津プロミネンスシステムでのUHPLC分析によって、抗体当たり2.8分子の化合物7の薬剤-抗体比(DAR)と一致する、化合物7の複数の分子に結合した軽鎖及び重鎖の混合物が示される。

280nmにおけるConjAのサンプルの、5%イソプロパノール(体積/体積)を含有する滅菌濾過リン酸緩衝食塩水(PBS)によって溶離させる、ウォーターズ・アクイティUPLC BEH200 SEC 1.7um 4.6×150mmカラムを使用する島津プロミネンスシステムでのUHPLC分析によって、99%を超えるモノマー純度が示され、不純物は検出されていない。  
30

#### 【0447】

##### コンジュゲートB(Ab-10、ConjB)

抗体(Ab)(2.0mg、13.3ナノモル)を10mMホウ酸ナトリウムpH8.4、2.5mM EDTAを含有する還元緩衝液1.8mL中へ、最終抗体濃度1.11mg/mLで希釈した。TCEPの10mM溶液を添加して(2モル当量/抗体、26.6ナノモル、2.66μL)を添加して、還元混合物を加熱ブロック内で37にて1.5時間加熱した。室温まで冷却した後、化合物10をDMSO溶液として添加した(3.5モル当量/抗体、46.7ナノモル、0.2mL DMSO中)。溶液を室温で2時間混合して、次にコンジュゲーションをN-エチルマレイミド(1マイクロモル、100mMにて10μL)を、15分後にN-アセチルシステイン(1.5マイクロモル、100  
40

${}_{\text{mM}}$  にて  $15 \mu\text{L}$  ) を添加することによって停止させ、次にスーパーデックス 200 PG を充填した GE ヘルスケア XK 16 / 70 カラムを使用するアクタ (商標) FPLC に注入して、 $1.5 \text{ mL}$  / 分の滅菌濾過リン酸緩衝食塩水 (PBS) で溶離した。Conj B モノマーピークに相当する画分をプールして、 $15 \text{ mL}$  アミコンウルトラセル 50 KDa

MWCO スピンフィルタを使用して濃縮し、分析、滅菌濾過した。BCA アッセイにより、 $1.4 \text{ mL}$  中  $0.99 \text{ mg} / \text{mL}$  の最終 Conj B 濃度が得られ、得られた Conj B の質量は  $1.39 \text{ mg}$  であった (70% 収率)。

280 nm 及び 330 nm における Conj B の還元サンプル (化合物 10 に固有) の、水及びアセトニトリルの勾配を用いて溶離させる、フェノメネクス・エアリス 3.6 u XB - C 18  $150 \times 2.1 \text{ mm}$  カラムを使用する島津プロミネンスシステムでの UHPLC 分析によって、抗体当たり  $3.8$  分子の化合物 10 の薬剤 - 抗体比 (DAR) と一致する、化合物 7 の複数の分子に結合した軽鎖及び重鎖の混合物が示される。

280 nm における Conj B のサンプルの、5% イソプロパノール (体積 / 体積) を含有する滅菌濾過リン酸緩衝食塩水 (PBS) によって溶離させる、ウォーターズ・アライティ UPLC BEH 200 SEC  $1.7 \text{ um} 4.6 \times 150 \text{ mm}$  カラムを使用する島津プロミネンスシステムでの UHPLC 分析によって、99% を超えるモノマー純度が示され、不純物は検出されていない。

#### 【0448】

##### コンジュゲート C (Ab - 27、Conj C)

抗体 ( $2.5 \text{ mg}$ 、 $16.7 \text{ ナノモル}$ ) を  $10 \text{ mM}$  ホウ酸ナトリウム pH 8.4、 $2.5 \text{ mM}$  EDTA を含有する還元緩衝液  $2.25 \text{ mL}$  中へ、最終抗体濃度  $1.11 \text{ mg} / \text{mL}$  で希釈した。TCEP の  $10 \text{ mM}$  溶液を添加して ( $1.65 \text{ モル当量} / \text{抗体}$ 、 $27.5 \text{ ナノモル}$ 、 $2.75 \text{ mL}$ ) を添加して、還元混合物をインキュベータ内で +37° にて  $1.6$  時間加熱した。室温まで冷却した後、化合物 27 を DMSO 溶液として添加した ( $7.5 \text{ モル当量} / \text{抗体}$ 、 $125 \text{ ナノモル}$ 、 $0.25 \text{ mL}$  DMSO 中)。溶液を室温で  $1.3$  時間混合して、次にコンジュゲーションを N - アセチルシステイン ( $250 \text{ ナノモル}$ 、 $10 \text{ mM}$  にて  $25 \text{ mL}$ ) の添加によって停止させ、次にスーパーデックス 200 PG を充填した GE ヘルスケアハイロード (商標) 26 / 600 カラムを使用するアクタ (商標) ピュア FPLC に注入して、 $2.6 \text{ mL}$  / 分の滅菌濾過リン酸緩衝食塩水 (PBS) で溶離した。Conj C モノマーピークに相当する画分をプールして、 $15 \text{ mL}$  アミコンウルトラセル 50 KDa MWCO スピンフィルタを使用して濃縮し、分析、滅菌濾過した。

280 nm 及び 330 nm における Conj C の還元サンプル (化合物 27 に固有) の、水及びアセトニトリルの勾配を用いて溶離させる、フェノメネクス・エアリス 3.6 u XB - C 18  $150 \times 2.1 \text{ mm}$  カラムを使用する島津プロミネンスシステムでの UHPLC 分析によって、抗体当たり  $2.56$  分子の化合物 27 の薬剤 - 抗体比 (DAR) と一致する、化合物 27 の複数の分子に結合した軽鎖及び重鎖の混合物が示される。

280 nm における Conj C のサンプルの、 $200 \text{ mM}$  リン酸カリウム pH 6.95、 $250 \text{ mM}$  塩化カリウム及び  $10\%$  イソプロパノール (体積 / 体積) を含有する滅菌濾過 SEC 緩衝液によって溶離させる、東ソーバイオサイエンス TSK gel G3000 SWXL  $5 \mu\text{m} 7.8 \times 300 \text{ mm}$  カラム ( $7 \mu\text{m} 6.0 \times 40 \text{ mm}$  ガードカラムを備えた) を使用する島津プロミネンスシステムでの UHPLC 分析によって、99% を超えるモノマー純度が示され、不純物は検出されていない。UHPLC SEC 分析により、 $2.5 \text{ mL}$  中  $0.77 \text{ mg} / \text{mL}$  の最終 Conj C 濃度が得られ、得られた Conj C の質量は  $1.93 \text{ mg}$  であった (77% 収率)。

#### 【0449】

##### コンジュゲート D (Ab - 29、Conj D)

抗体 ( $3.5 \text{ mg}$ 、 $23.3 \text{ ナノモル}$ ) を  $10 \text{ mM}$  ホウ酸ナトリウム pH 8.4、 $2.5 \text{ mM}$  EDTA を含有する還元緩衝液  $3.15 \text{ mL}$  中へ、最終抗体濃度  $1.11 \text{ mg} / \text{mL}$  で希釈した。TCEP の  $10 \text{ mM}$  溶液を添加して ( $2.0 \text{ モル当量} / \text{抗体}$ 、 $46.7$

10

20

30

40

50

ナノモル、4.67 mL)を添加して、還元混合物をインキュベータ内で+37にて1.6時間加熱した。室温まで冷却した後、化合物29をDMSO溶液として添加した(10モル当量/抗体、233ナノモル、0.175mL DMSO中)。溶液を室温にて3.9時間混合して、この時点で化合物29を更にDMSO溶液(10モル当量/抗体、233ナノモル、0.175mL DMSO中)として添加し、溶液を室温にて更に19時間混合した。コンジュゲーションをN-アセチルシステイン(933ナノモル、10mMにて93.3mL)の添加によって停止させ、次にスーパーデックス200PGを充填したGEヘルスケアハイロード(商標)26/600カラムを使用するアクタ(商標)ピュアFPLCに注入して、2.6mL/分の滅菌濾過リン酸緩衝食塩水(PBS)で溶離した。ConjDモノマーピークに相当する画分をプールして、15mLアミコンウルトラセル50KDa MWCOスピンドルタを使用して濃縮し、分析、滅菌濾過した。

280nm及び330nmにおけるConjDの還元サンプル(化合物29に固有)の、水及びアセトニトリルの勾配を用いて溶離させる、フェノメネクス・エアリス3.6u XB-C18 150×2.1mmカラムを使用する島津プロミネンスシステムでのUHPLC分析によって、抗体当たり2.43分子の化合物29の薬剤-抗体比(DAR)と一致する、化合物29の複数の分子に結合した軽鎖及び重鎖の混合物が示される。

280nmにおけるConjBのサンプルの、200mMリン酸カリウムpH6.95、250mM塩化カリウム及び10%イソプロパノール(体積/体積)を含有する滅菌濾過SEC緩衝液によって溶離させる、東ソーバイオサイエンスTSKgel G3000SWXL 5μm 7.8×300mmカラム(7μm 6.0×40mmガードカラムを備えた)を使用する島津プロミネンスシステムでのUHPLC分析によって、99%を超えるモノマー純度が示され、不純物は検出されていない。UHPLC SEC分析により、3.3mL中0.73mg/mLの最終ConjB濃度が得られ、得られたConjBの質量は2.42mgであった(69%収率)。

#### 【0450】

##### コンジュゲートE(Ab-34、ConjE)

抗体(2.5mg、16.7ナノモル)を10mMホウ酸ナトリウムpH8.4、2.5mM EDTAを含有する還元緩衝液2.25mL中へ、最終抗体濃度1.11mg/mLで希釈した。TCEPの10mM溶液を添加して(1.65モル当量/抗体、27.5ナノモル、2.75mL)を添加して、還元混合物をインキュベータ内で+37にて1.6時間加熱した。室温まで冷却した後、化合物34をDMSO溶液として添加した(7.5モル当量/抗体、125ナノモル、0.25mL DMSO中)。溶液を室温で1.3時間混合して、次にコンジュゲーションをN-アセチルシステイン(250ナノモル、10mMにて25mL)の添加によって停止させ、次にスーパーデックス200PGを充填したGEヘルスケアハイロード(商標)26/600カラムを使用するアクタ(商標)ピュアFPLCに注入して、2.6mL/分の滅菌濾過リン酸緩衝食塩水(PBS)で溶離した。ConjEモノマーピークに相当する画分をプールして、15mLアミコンウルトラセル50KDa MWCOスピンドルタを使用して濃縮し、分析、滅菌濾過した。

280nm及び330nmにおけるConjEの還元サンプル(化合物34固有)の、水及びアセトニトリルの勾配を用いて溶離させる、フェノメネクス・エアリス3.6u XB-C18 150×2.1mmカラムを使用する島津プロミネンスシステムでのUHPLC分析によって、抗体当たり2.45分子の化合物34の薬剤-抗体比(DAR)と一致する、化合物34の複数の分子に結合した軽鎖及び重鎖の混合物が示される。

280nmにおけるConjEのサンプルの、200mMリン酸カリウムpH6.95、250mM塩化カリウム及び10%イソプロパノール(体積/体積)を含有する滅菌濾過SEC緩衝液によって溶離させる、東ソーバイオサイエンスTSKgel G3000SWXL 5μm 7.8×300mmカラム(7μm 6.0×40mmガードカラムを備えた)を使用する島津プロミネンスシステムでのUHPLC分析によって、99%を超えるモノマー純度が示され、不純物は検出されていない。UHPLC SEC分析に

10

20

30

40

50

より、2.0mL中1.05mg/mLの最終ConjE濃度が得られ、得られたConjEの質量は2.09mgであった(84%收率)。

【0451】

コンジュゲートF(Ab-36、ConjF)

抗体(3.5mg、23.3ナノモル)を10mMホウ酸ナトリウムpH8.4、2.5mM EDTAを含有する還元緩衝液3.15mL中へ、最終抗体濃度1.11mg/mLで希釈した。TCEPの10mM溶液を添加して(2.0モル当量/抗体、46.7ナノモル、4.67mL)を添加して、還元混合物をインキュベータ内で+37にて1.6時間加熱した。室温まで冷却した後、化合物36をDMSO溶液として添加した(10モル当量/抗体、233ナノモル、0.175mL DMSO中)。溶液を室温にて3.9時間混合して、この時点で化合物36を更にDMSO溶液(10モル当量/抗体、233ナノモル、0.175mL DMSO中)として添加し、溶液を室温にて更に19時間混合した。コンジュゲーションをN-アセチルシステイン(933ナノモル、10mMにて93.3mL)の添加によって停止させ、次にスーパーデックス200PGを充填したGEヘルスケアハイロード(商標)26/600カラムを使用するアクタ(商標)ピュアFPLCに注入して、2.6mL/分の滅菌濾過リン酸緩衝食塩水(PBS)で溶離した。ConjFモノマーピークに相当する画分をプールして、15mLアミコンウルトラセル50KDa MWCOスピンフィルタを使用して濃縮し、分析、滅菌濾過した。

280nm及び330nmにおけるConjEの還元サンプル(化合物36に固有)の、水及びアセトニトリルの勾配を用いて溶離させる、フェノメネクス・エアリス3.6u XB-C18 150×2.1mmカラムを使用する島津プロミネンスシステムでのUHPLC分析によって、抗体当たり2.57分子の化合物36の薬剤-抗体比(DAR)と一致する、化合物36の複数の分子に結合した軽鎖及び重鎖の混合物が示される。

280nmにおけるConjFのサンプルの、200mMリン酸カリウムpH6.95、250mM塩化カリウム及び10%イソプロパノール(体積/体積)を含有する滅菌濾過SEC緩衝液によって溶離させる、東ソーバイオサイエンスTSKgel G3000SWXL 5μm 7.8×300mmカラム(7μm 6.0×40mmガードカラムを備えた)を使用する島津プロミネンスシステムでのUHPLC分析によって、99%を超えるモノマー純度が示され、不純物は検出されていない。UHPLC SEC分析により、3.8mL中0.75mg/mLの最終ConjF濃度が得られ、得られたConjFの質量は2.84mgであった(81%收率)。

【0452】

コンジュゲートG(Ab-45、ConjG)

抗体(2.5mg、16.7ナノモル)を10mMホウ酸ナトリウムpH8.4、2.5mM EDTAを含有する還元緩衝液2.25mL中へ、最終抗体濃度1.11mg/mLで希釈した。TCEPの10mM溶液を添加して(1.65モル当量/抗体、27.5ナノモル、2.75mL)を添加して、還元混合物をインキュベータ内で+37にて1.6時間加熱した。室温まで冷却した後、化合物45をDMSO溶液として添加した(7.5モル当量/抗体、125ナノモル、0.25mL DMSO中)。溶液を室温で1.3時間混合して、次にコンジュゲーションをN-アセチルシステイン(250ナノモル、10mMにて25mL)の添加によって停止させ、次にスーパーデックス200PGを充填したGEヘルスケアハイロード(商標)26/600カラムを使用するアクタ(商標)ピュアFPLCに注入して、2.6mL/分の滅菌濾過リン酸緩衝食塩水(PBS)で溶離した。ConjGモノマーピークに相当する画分をプールして、15mLアミコンウルトラセル50KDa MWCOスピンフィルタを使用して濃縮し、分析、滅菌濾過した。

280nm及び330nmにおけるConjGの還元サンプル(化合物45に固有)の、水及びアセトニトリルの勾配を用いて溶離させる、フェノメネクス・エアリス3.6u XB-C18 150×2.1mmカラムを使用する島津プロミネンスシステムでのUHPLC分析によって、抗体当たり2.13分子の化合物45の薬剤-抗体比(DAR)50

と一致する、化合物45の複数の分子に結合した軽鎖及び重鎖の混合物が示される。

280 nmにおけるConjGのサンプルの、200 mMリン酸カリウムpH 6.95、250 mM塩化カリウム及び10%イソプロパノール(体積/体積)を含有する滅菌濾過SEC緩衝液によって溶離させる、東ソーバイオサイエンスTSKgel G3000SWXL 5 μm 7.8 × 300 mmカラム(7 μm 6.0 × 40 mmガードカラムを備えた)を使用する島津プロミネンスシステムでのUHPLC分析によって、99%を超えるモノマー純度が示され、不純物は検出されていない。UHPLC SEC分析により、2.9 mL中0.67 mg/mLの最終ConjG濃度が得られ、得られたConjGの質量は1.94 mgであった(78%収率)。

上のコンジュゲーションで使用した抗体は、ハーセプチンであった。

10

#### 【0453】

##### [実施例9] インビボADC効能研究

8-12週齢のCB.17 SCIDマウスに、1 mm<sup>3</sup>腫瘍断片を側腹部に皮下注射してよい。腫瘍が100-150 mgの平均サイズに達した場合、処置を開始してよい。マウスを週2回体重測定してよい。腫瘍サイズを週2回測定してよい。動物を個別に監視してよい。実験の終点は、1000 mm<sup>3</sup>の腫瘍体積又は60日のどちらか早いほうである。応答したマウスをより長期に追跡することができる。

異種移植マウス10匹の群に、リン酸緩衝食塩水(ビヒクル)中抗体薬剤コンジュゲート(ADC)若しくはネイキッド抗体0.2 mLを、又はビヒクル単独0.2 mLを静脈内注射することができる。ADCの濃度は、例えば、単回用量で0.3又は1.0 mg ADC/kg体重を与えるように調整することができる。3回分の同一用量を各マウスに、例えば1週間間隔で投与してよい。

20

#### 【0454】

##### [実施例10] インビトロADC効能研究

T75 フラスコ内のサブコンフルエント(約80-90%のコンフルエンシー)SK-BR-3細胞からの培地を吸引して、PBS(約20 mL)を添加して培地をすすぎ流した。PBSを吸引して、トリプシン-EDTA(5 mL)を添加した。フラスコを37脱気インキュベータに最長約5分間戻した。フラスコを激しく叩いて、細胞をプラスチックから除去、解離させた。細胞懸濁物を滅菌50 mLスクリュートップ遠心管に移した。培地(Mัッコイ+10% FCS)を15 mLの最終体積に添加して、次に管を遠心分離にかけた(400 gで5分間)。上清を吸引して、ペレットを10 mL培地に再懸濁させた。細胞集塊を破壊して、カウントに好適な単分散の細胞懸濁物を生成するためには、反復吸引(10 mLピペットでの吸収及び放出)が必要なことがある。細胞懸濁物(10 μL)をトリパンブルー(10 μL)及び血球計でカウントした生/死細胞と混合して、細胞濃度及び生存能力を決定した。細胞懸濁物を20 × 10<sup>4</sup>/mLまで希釈して、50 μLを透明96ウェル平底プレート中に分配した。使用前に細胞を一晩インキュベートして回収した。

30

抗体-薬剤コンジュゲート(ADC)(20 μg/mL)のストック溶液(1 mL)は、濾過滅菌ADCの細胞培地中への希釈によって作製した。ストックADCの8 × 10倍希釈物のセットを、細胞培地900 μLに100 μL連続移送することによって24ウェルプレートに作製した。

40

各ADC希釈物50 μLを、前日に播種した細胞懸濁物50 μLを含有する、96ウェルプレートの4個の複製ウェル中に分配する。対照ウェルには、細胞培地50 μLを加えた。細胞及びADCを含有する96ウェルプレートを、CO<sub>2</sub>通気インキュベータ内で37にて4日間インキュベートした。インキュベーション期間の終わりに、生細胞をMTSアッセイによって測定した。MTS(プロメガ)を各ウェル中に分配し(ウェル当たり20 μL)、CO<sub>2</sub>通気インキュベータ内で37で4時間インキュベートした。ウェル吸光度を490 nmで測定した。細胞生存パーセンテージを、4個の対照ウェル(100%)の平均吸光度と比較した4個のADC処置ウェルにおける平均吸光度から計算する。

#### 【0455】

50

【表4】

ADC	EC <sub>50</sub> ( $\mu$ g/ml)
ConjD	0.001696
ConjE	0.002766
ConjF	0.003576
ConjG	0.006163
ConjC	0.0006929

10

省略形

A c アセチル

A c m アセトアミドメチル

A l l o c アリルオキシカルボニル

B o c ジ-tert-ブチルジカーボネート

t - B u tert - ブチル

B z l ベンジル、ここでB z l - O M e はメトキシベンジルであり、B z l - M e はメチルベンゼンである

C b z 又はZ ベンジルオキシカルボニル、ここでZ - C l 及びZ - B r はそれぞれ、クロロベンジルオキシカルボニル及びプロモベンジルオキシカルボニルである

20

D M F N , N - ジメチルホルムアミド

D n p ジニトロフェニル

D T T ジチオスレイトール

F m o c 9 H - フルオレン - 9 - イルメトキシカルボニル

i m p N - 10 イミン保護基 : 3 - ( 2 - メトキシエトキシ ) プロパノエート - V a l - A l a - P A B

M C - O S u マレイミドカプロイル - O - N - スクシンイミド

M o c メトキシカルボニル

M P マレイミドプロパンアミド

M t r 4 - メトキシ - 2 , 3 , 6 - トリメチルベンゼンスルホニル

30

P A B パラ - アミノベンジルオキシカルボニル

P E G エチレンオキシ

P N Z p - ニトロベンジルカルバメート

P s e c 2 - ( フェニルスルホニル ) エトキシカルボニル

T B D M S tert - ブチルジメチルシリル

T B D P S tert - ブチルジフェニルシリル

T e o c 2 - ( トリメチルシリル ) エトキシカルボニル

T o s トシリル

T r o c 2 , 2 , 2 - トリクロルエトキシカルボニルクロリド

T r t トリチル

40

X a n キサンチル

【0456】

参考文献

以下の参考文献は、その全体が参照により組み入れられている：

E P 0 5 2 2 8 6 8

E P 0 8 7 5 5 6 9

E P 1 2 9 5 9 4 4

E P 1 3 4 7 0 4 6

E P 1 3 9 4 2 7 4

E P 1 3 9 4 2 7 4

50

E P 1 4 3 9 3 9 3	
J P 0 5 0 0 3 7 9 0	
J P 2 0 0 4 1 1 3 1 5 1	
J P 5 8 1 8 0 4 8 7	
U S 2 0 0 1 / 0 5 5 7 5 1	
U S 2 0 0 2 / 0 3 4 7 4 9	
U S 2 0 0 2 / 0 4 2 3 6 6	
U S 2 0 0 2 / 1 5 0 5 7 3	
U S 2 0 0 2 / 1 9 3 5 6 7	
U S 2 0 0 3 / 0 2 2 8 3 1 9	10
U S 2 0 0 3 / 0 6 0 6 1 2	
U S 2 0 0 3 / 0 6 4 3 9 7	
U S 2 0 0 3 / 0 6 5 1 4 3	
U S 2 0 0 3 / 0 9 1 5 8 0	
U S 2 0 0 3 / 0 9 6 9 6 1	
U S 2 0 0 3 / 1 0 5 2 9 2	
U S 2 0 0 3 / 1 0 9 6 7 6	
U S 2 0 0 3 / 1 1 8 5 9 2	
U S 2 0 0 3 / 1 1 9 1 2 1	
U S 2 0 0 3 / 1 1 9 1 2 2	20
U S 2 0 0 3 / 1 1 9 1 2 5	
U S 2 0 0 3 / 1 1 9 1 2 6	
U S 2 0 0 3 / 1 1 9 1 2 8	
U S 2 0 0 3 / 1 1 9 1 2 9	
U S 2 0 0 3 / 1 1 9 1 3 0	
U S 2 0 0 3 / 1 1 9 1 3 1	
U S 2 0 0 3 / 1 2 4 1 4 0	
U S 2 0 0 3 / 1 2 4 5 7 9	
U S 2 0 0 3 / 1 2 9 1 9 2	
U S 2 0 0 3 / 1 3 4 7 9 0 - A 1	30
U S 2 0 0 3 / 1 4 3 5 5 7	
U S 2 0 0 3 / 1 5 7 0 8 9	
U S 2 0 0 3 / 1 6 5 5 0 4	
U S 2 0 0 3 / 1 8 5 8 3 0	
U S 2 0 0 3 / 1 8 6 3 7 2	
U S 2 0 0 3 / 1 8 6 3 7 3	
U S 2 0 0 3 / 1 9 4 7 0 4	
U S 2 0 0 3 / 2 0 6 9 1 8	
U S 2 0 0 3 / 2 1 9 8 0 6	
U S 2 0 0 3 / 2 2 4 4 1 1	40
U S 2 0 0 3 / 2 2 4 4 5 4	
U S 2 0 0 3 / 2 3 2 0 5 6	
U S 2 0 0 3 / 2 3 2 3 5 0	
U S 2 0 0 3 0 0 9 6 7 4 3	
U S 2 0 0 3 0 1 3 0 1 8 9	
U S 2 0 0 3 0 9 6 7 4 3	
U S 2 0 0 3 1 3 0 1 8 9	
U S 2 0 0 4 / 0 0 0 1 8 2 7	
U S 2 0 0 4 / 0 0 5 3 2 0	
U S 2 0 0 4 / 0 0 5 5 3 8	50

U S 2 0 0 4 / 0 0 5 5 6 3	
U S 2 0 0 4 / 0 0 5 5 9 8	
U S 2 0 0 4 / 0 1 0 1 8 9 9	
U S 2 0 0 4 / 0 1 8 5 5 3	
U S 2 0 0 4 / 0 2 2 7 2 7	
U S 2 0 0 4 / 0 4 4 1 7 9	
U S 2 0 0 4 / 0 4 4 1 8 0	
U S 2 0 0 4 / 1 0 1 8 7 4	
U S 2 0 0 4 / 1 9 7 3 2 5	
U S 2 0 0 4 / 2 4 9 1 3 0	10
U S 2 0 0 4 0 0 1 8 1 9 4	
U S 2 0 0 4 0 0 5 2 7 9 3	
U S 2 0 0 4 0 0 5 2 7 9 3	
U S 2 0 0 4 0 1 2 1 9 4 0	
U S 2 0 0 5 / 2 7 1 6 1 5	
U S 2 0 0 6 / 1 1 6 4 2 2	
U S 4 8 1 6 5 6 7	
U S 5 3 6 2 8 5 2	
U S 5 4 4 0 0 2 1	
U S 5 5 8 3 0 2 4	20
U S 5 6 2 1 0 0 2	
U S 5 6 4 4 0 3 3	
U S 5 6 7 4 7 1 3	
U S 5 7 0 0 6 7 0	
U S 5 7 7 3 2 2 3	
U S 5 7 9 2 6 1 6	
U S 5 8 5 4 3 9 9	
U S 5 8 6 9 4 4 5	
U S 5 9 7 6 5 5 1	
U S 6 0 1 1 1 4 6	30
U S 6 1 5 3 4 0 8	
U S 6 2 1 4 3 4 5	
U S 6 2 1 8 5 1 9	
U S 6 2 6 8 4 8 8	
U S 6 5 1 8 4 0 4	
U S 6 5 3 4 4 8 2	
U S 6 5 5 5 3 3 9	
U S 6 6 0 2 6 7 7	
U S 6 6 7 7 4 3 5	
U S 6 7 5 9 5 0 9	40
U S 6 8 3 5 8 0 7	
U S 7 2 2 3 8 3 7	
U S 7 3 7 5 0 7 8	
U S 7 5 2 1 5 4 1	
U S 7 7 2 3 4 8 5	
W O 0 0 / 0 1 2 5 0 8	
W O 0 0 / 1 2 5 0 7	
W O 0 0 / 1 2 5 0 8	
W O 0 1 / 1 6 3 1 8	
W O 0 1 / 4 5 7 4 6	50

WO 0 2 / 0 8 8 1 7 2	
WO 0 3 / 0 2 6 5 7 7	
WO 0 3 / 0 4 3 5 8 3	
WO 0 4 / 0 3 2 8 2 8	
WO 2 0 0 0 / 1 2 1 3 0	
WO 2 0 0 0 / 1 4 2 2 8	
WO 2 0 0 0 / 2 0 5 7 9	
WO 2 0 0 0 / 2 2 1 2 9	
WO 2 0 0 0 / 3 2 7 5 2	
WO 2 0 0 0 / 3 6 1 0 7	10
WO 2 0 0 0 / 4 0 6 1 4	
WO 2 0 0 0 / 4 4 8 9 9	
WO 2 0 0 0 / 5 5 3 5 1	
WO 2 0 0 0 / 7 5 6 5 5	
WO 2 0 0 0 5 3 2 1 6	
WO 2 0 0 1 / 0 0 2 4 4	
WO 2 0 0 1 / 3 8 4 9 0	
WO 2 0 0 1 / 4 0 2 6 9	
WO 2 0 0 1 / 4 0 3 0 9	
WO 2 0 0 1 / 4 1 7 8 7	20
WO 2 0 0 1 / 4 6 2 3 2	
WO 2 0 0 1 / 4 6 2 6 1	
WO 2 0 0 1 / 4 8 2 0 4	
WO 2 0 0 1 / 5 3 4 6 3	
WO 2 0 0 1 / 5 7 1 8 8	
WO 2 0 0 1 / 6 2 7 9 4	
WO 2 0 0 1 / 6 6 6 8 9	
WO 2 0 0 1 / 7 2 8 3 0	
WO 2 0 0 1 / 7 2 9 6 2	
WO 2 0 0 1 / 7 5 1 7 7	30
WO 2 0 0 1 / 7 7 1 7 2	
WO 2 0 0 1 / 8 8 1 3 3	
WO 2 0 0 1 / 9 0 3 0 4	
WO 2 0 0 1 / 9 4 6 4 1	
WO 2 0 0 1 / 9 8 3 5 1	
WO 2 0 0 2 / 0 2 5 8 7	
WO 2 0 0 2 / 0 2 6 2 4	
WO 2 0 0 2 / 0 6 3 1 7	
WO 2 0 0 2 / 0 6 3 3 9	
WO 2 0 0 2 / 1 0 1 0 7 5	40
WO 2 0 0 2 / 1 0 1 8 7	
WO 2 0 0 2 / 1 0 2 2 3 5	
WO 2 0 0 2 / 1 0 3 8 2	
WO 2 0 0 2 / 1 2 3 4 1	
WO 2 0 0 2 / 1 3 8 4 7	
WO 2 0 0 2 / 1 4 5 0 3	
WO 2 0 0 2 / 1 6 4 1 3	
WO 2 0 0 2 / 1 6 4 2 9	
WO 2 0 0 2 / 2 2 1 5 3	
WO 2 0 0 2 / 2 2 6 3 6	50

WO 2 0 0 2 / 2 2 6 6 0	
WO 2 0 0 2 / 2 2 8 0 8	
WO 2 0 0 2 / 2 4 9 0 9	
WO 2 0 0 2 / 2 6 8 2 2	
WO 2 0 0 2 / 3 0 2 6 8	
WO 2 0 0 2 / 3 8 7 6 6	
WO 2 0 0 2 / 5 4 9 4 0	
WO 2 0 0 2 / 5 9 3 7 7	
WO 2 0 0 2 / 6 0 3 1 7	
WO 2 0 0 2 / 6 1 0 8 7 ;	10
WO 2 0 0 2 / 6 4 7 9 8	
WO 2 0 0 2 / 7 1 9 2 8	
WO 2 0 0 2 / 7 2 5 9 6	
WO 2 0 0 2 / 7 8 5 2 4	
WO 2 0 0 2 / 8 1 6 4 6	
WO 2 0 0 2 / 8 3 8 6 6	
WO 2 0 0 2 / 8 6 4 4 3	
WO 2 0 0 2 / 8 8 1 7 0	
WO 2 0 0 2 / 8 9 7 4 7	
WO 2 0 0 2 / 9 2 8 3 6	20
WO 2 0 0 2 / 9 4 8 5 2	
WO 2 0 0 2 / 9 8 3 5 8	
WO 2 0 0 2 / 9 9 0 7 4	
WO 2 0 0 2 / 9 9 1 2 2	
WO 2 0 0 3 / 0 0 0 8 4 2	
WO 2 0 0 3 / 0 0 2 7 1 7	
WO 2 0 0 3 / 0 0 3 9 0 6	
WO 2 0 0 3 / 0 0 3 9 8 4	
WO 2 0 0 3 / 0 0 4 9 8 9	
WO 2 0 0 3 / 0 0 8 5 3 7	30
WO 2 0 0 3 / 0 0 9 8 1 4	
WO 2 0 0 3 / 0 1 4 2 9 4	
WO 2 0 0 3 / 0 1 6 4 7 5	
WO 2 0 0 3 / 0 1 6 4 9 4	
WO 2 0 0 3 / 0 1 8 6 2 1	
WO 2 0 0 3 / 0 2 2 9 9 5	
WO 2 0 0 3 / 0 2 3 0 1 3	
WO 2 0 0 3 / 0 2 4 3 9 2	
WO 2 0 0 3 / 0 2 5 1 3 8	
WO 2 0 0 3 / 0 2 5 1 4 8	40
WO 2 0 0 3 / 0 2 5 2 2 8	
WO 2 0 0 3 / 0 2 6 4 9 3	
WO 2 0 0 3 / 0 2 9 2 6 2	
WO 2 0 0 3 / 0 2 9 2 7 7	
WO 2 0 0 3 / 0 2 9 4 2 1	
WO 2 0 0 3 / 0 3 4 9 8 4	
WO 2 0 0 3 / 0 3 5 8 4 6	
WO 2 0 0 3 / 0 4 2 6 6 1	
WO 2 0 0 3 / 0 4 5 4 2 2	
WO 2 0 0 3 / 0 4 8 2 0 2	50

WO 2 0 0 3 / 0 5 4 1 5 2	
WO 2 0 0 3 / 0 5 5 4 3 9	
WO 2 0 0 3 / 0 5 5 4 4 3	
WO 2 0 0 3 / 0 6 2 4 0 1	
WO 2 0 0 3 / 0 6 2 4 0 1	
WO 2 0 0 3 / 0 7 2 0 3 5	
WO 2 0 0 3 / 0 7 2 0 3 6	
WO 2 0 0 3 / 0 7 7 8 3 6	
WO 2 0 0 3 / 0 8 1 2 1 0	
WO 2 0 0 3 / 0 8 3 0 4 1	10
WO 2 0 0 3 / 0 8 3 0 4 7	
WO 2 0 0 3 / 0 8 3 0 7 4	
WO 2 0 0 3 / 0 8 7 3 0 6	
WO 2 0 0 3 / 0 8 7 7 6 8	
WO 2 0 0 3 / 0 8 8 8 0 8	
WO 2 0 0 3 / 0 8 9 6 2 4	
WO 2 0 0 3 / 0 8 9 9 0 4	
WO 2 0 0 3 / 0 9 3 4 4 4	
WO 2 0 0 3 / 0 9 7 8 0 3	
WO 2 0 0 3 / 1 0 1 2 8 3	20
WO 2 0 0 3 / 1 0 1 4 0 0	
WO 2 0 0 3 / 1 0 4 2 7 0	
WO 2 0 0 3 / 1 0 4 2 7 5	
WO 2 0 0 3 / 1 0 5 7 5 8	
WO 2 0 0 3 0 0 4 5 2 9	
WO 2 0 0 3 0 4 2 6 6 1	
WO 2 0 0 3 1 0 4 3 9 9	
WO 2 0 0 4 / 0 0 0 9 9 7	
WO 2 0 0 4 / 0 0 1 0 0 4	
WO 2 0 0 4 / 0 0 9 6 2 2	30
WO 2 0 0 4 / 0 1 1 6 1 1	
WO 2 0 0 4 / 0 1 5 4 2 6	
WO 2 0 0 4 / 0 1 6 2 2 5	
WO 2 0 0 4 / 0 2 0 5 9 5	
WO 2 0 0 4 / 0 2 2 7 0 9	
WO 2 0 0 4 / 0 2 2 7 7 8	
WO 2 0 0 4 / 0 2 7 0 4 9	
WO 2 0 0 4 / 0 3 1 2 3 8	
WO 2 0 0 4 / 0 3 2 8 2 8	
WO 2 0 0 4 / 0 3 2 8 4 2	40
WO 2 0 0 4 / 0 4 0 0 0 0	
WO 2 0 0 4 / 0 4 3 3 6 1	
WO 2 0 0 4 / 0 4 3 9 6 3	
WO 2 0 0 4 / 0 4 4 1 7 8	
WO 2 0 0 4 / 0 4 5 5 1 6	
WO 2 0 0 4 / 0 4 5 5 2 0	
WO 2 0 0 4 / 0 4 5 5 5 3	
WO 2 0 0 4 / 0 4 6 3 4 2	
WO 2 0 0 4 / 0 4 7 7 4 9	
WO 2 0 0 4 / 0 4 8 9 3 8	50

WO 2 0 0 4 / 0 5 3 0 7 9	
WO 2 0 0 4 / 0 6 3 3 5 5	
WO 2 0 0 4 / 0 6 3 3 6 2	
WO 2 0 0 4 / 0 6 3 7 0 9	
WO 2 0 0 4 / 0 6 5 5 7 7	
WO 2 0 0 4 / 0 7 4 3 2 0	
WO 2 0 0 4 0 0 0 2 2 1	
WO 2 0 0 4 0 2 0 5 8 3	
WO 2 0 0 4 0 4 2 3 4 6	
WO 2 0 0 4 0 6 5 5 7 6	10
WO 2 0 0 5 / 0 2 3 8 1 4	
WO 2 0 0 5 / 0 8 2 0 2 3	
WO 2 0 0 5 / 0 8 5 2 5 1	
WO 2 0 0 6 / 1 1 1 7 5 9	
WO 2 0 0 7 / 0 4 4 5 1 5	
WO 2 0 0 7 / 0 8 5 9 3 0	
WO 2 0 0 9 / 0 5 2 2 4 9	
WO 2 0 1 0 / 0 9 1 1 5 0	
WO 9 1 / 0 2 5 3 6	
WO 9 2 / 0 7 5 7 4	20
WO 9 2 / 1 7 4 9 7	
WO 9 4 / 1 0 3 1 2	
WO 9 4 / 2 8 9 3 1	
WO 9 6 3 0 5 1 4	
WO 9 7 / 0 7 1 9 8	
WO 9 7 / 4 4 4 5 2	
WO 9 8 / 1 3 0 5 9	
WO 9 8 / 3 7 1 9 3	
WO 9 8 / 4 0 4 0 3	
WO 9 8 / 5 1 8 0 5	30
WO 9 8 / 5 1 8 2 4	
WO 9 9 / 2 8 4 6 8	
WO 9 9 / 4 6 2 8 4	
WO 9 9 / 5 8 6 5 8	

Am . J . H u m . G e n e t . 4 9 ( 3 ) : 5 5 5 - 5 6 5 ( 1 9 9 1 )	
Amiel J . , et al Hum . Mol . G e n e t . 5 , 3 5 5 - 3 5 7 , 1	
9 9 6	
Amir et al ( 2 0 0 3 ) A n g e w . C h e m . I n t . E d . 4 2 : 4 4 9	40
4 - 4 4 9 9	
A m s b e r r y , et al ( 1 9 9 0 ) J . O r g . C h e m . 5 5 : 5 8 6 7	
A n g e w C h e m . I n t l . E d . E n g l . ( 1 9 9 4 ) 3 3 : 1 8 3 - 1 8 6	
A n n u . R e v . N e u r o s c i . 2 1 : 3 0 9 - 3 4 5 ( 1 9 9 8 )	
A r a i H . , et al J . B i o l . C h e m . 2 6 8 , 3 4 6 3 - 3 4 7 0 ,	
1 9 9 3	
A r a i H . , et al J p n . C i r c . J . 5 6 , 1 3 0 3 - 1 3 0 7 , 1 9	
9 2	
A r i m a , et al . , J . A n t i b i o t i c s , 2 5 , 4 3 7 - 4 4 4 ( 1 9	
7 2 )	
A t t i e T . , et al , H u m . M o l . G e n e t . 4 , 2 4 0 7 - 2 4 0 9	50

- , 1995  
 Auricchio A., et al *Hum. Mol. Genet.* 5: 351-354, 1996  
 Barel M., et al *Mol. Immunol.* 35, 1025-1031, 1998  
 Barella et al (1995) *Biochem. J.* 309: 773-779  
 Barnett T., et al *Genomics* 3, 59-66, 1988  
 Beck et al (1992) *J. Mol. Biol.* 228: 433-441  
 Beck et al (1996) *J. Mol. Biol.* 255: 1-13  
 Berge, et al., *J. Pharm. Sci.*, 66, 1-19 (1977) 10  
*Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2000) 275 (3): 783-788  
*Biochem. Biophys. Res. Commun.* 255 (2), 283-288 (1999)  
*Blood* (2002) 100 (9): 3068-3076  
*Blood* 99 (8): 2662-2669 (2002)  
 Blumberg H., et al *Cell* 104, 9-19, 2001  
 Bose, et al., *Tetrahedron*, 48, 751-758 (1992)  
 Bourgeois C., et al *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 3116-3123, 1997 20  
 Brinster et al (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A* 85: 836  
 Buchman and Berg (1988) *Mol. Cell. Biol.* 8: 4395  
*Cancer Res.* 61 (15), 5857-5860 (2001)  
 Carl et al (1981) *J. Med. Chem.* 24: 479-480  
 Carlsson et al (1978) *Biochem. J.* 173: 723-737  
 Carter, P. (2006) *Nature Reviews Immunology* 6: 343-357 30  
*Cell* 109 (3): 397-407 (2002)  
*CellTiter Glo Luminescent Cell Viability Assay*, Promega Corp. Technical Bulletin TB288  
 Chakravarty et al (1983) *J. Med. Chem.* 26: 638-644  
 Chan, J. and Watt, V. M., *Oncogene* 6 (6), 1057-1061 (1991)  
 Child et al (1999) *J. Biol. Chem.* 274: 24335-24341 40  
 Cho H.-S., et al *Nature* 421, 756-760, 2003  
 Ciccodicola, A., et al *EMBO J.* 8 (7): 1987-1991 (1989)  
 Clackson et al (1991) *Nature*, 352: 624-628  
 Clark H. F., et al *Genome Res.* 13, 2265-2270, 2003  
 Corey E, Quinn JE, Buhler KR, et al. *LuCap35*: a new model of prostate cancer progression to androgen independence. *The Prostate* 2003; 55: 239-46 50

- Coussens L., et al. *Science* (1985) 230 (4730) : 1132 - 1139
- Cree et al (1995) *AntiCancer Drugs* 6 : 398 - 404
- Crouch et al (1993) *J. Immunol. Meth.* 160 : 81 - 88
- Davis et al (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 (17) : 9772 - 9777
- de Groot et al (2001) *J. Org. Chem.* 66 : 8815 - 8830 10
- de Groot et al (2003) *Angew. Chem. Int. Ed.* 42 : 4490 - 4494
- Dennis et al. (2002) 「Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins」 *J. Biol. Chem.* 277 : 35035 - 35043
- Dobner et al (1992) *Eur. J. Immunol.* 22 : 2795 - 2799
- Dornan et al (2009) *Blood* 114 (13) : 2721 - 2729 20
- Doronina et al (2006) *Bioconj. Chem.* 17 : 114 - 124
- Dubowchik et al. *Bioconjugate Chemistry*, 2002, 13, 855 - 869
- Dubowchik, et al. (1997) *Tetrahedron Letters*, 38 : 5257 - 60
- Dumoutier L., et al *J. Immunol.* 167, 3545 - 3549, 2001
- E. Schroeder and K. Lubke, *The Peptides*, volume 1, pp 76 - 136 (1965) Academic Press 30
- Ehsani A., et al (1993) *Genomics* 15, 426 - 429
- Eliel, E. and Wilen, S., 「Stereochemistry of Organic Compounds」, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1994
- Elshourbagy N.A., et al *J. Biol. Chem.* 268, 3873 - 3879, 1993
- Erickson et al (2006) *Cancer Res.* 66 (8) : 1 - 8
- Feild, J. A., et al (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 258 (3) : 578 - 582
- Fields, G. and Noble, R. (1990) 「Solid phase peptide synthesis utilizing 9-fluorenyl methoxycarbonyl amino acids」, *Int. J. Peptide Protein Res.* 35 : 161 - 214 40
- Fuchs S., et al *Mol. Med.* 7, 115 - 124, 2001
- Fujisaku et al (1989) *J. Biol. Chem.* 264 (4) : 2118 - 2125
- Gary S. C., et al *Gene* 256, 139 - 147, 2000
- Gaugitsch, H.W., et al (1992) *J. Biol. Chem.* 267 (16) : 11267 - 11273
- Geiser et al 「Automation of solid-phase 50

- peptide synthesis in Macromolecular Sequencing and Synthesis, Alan R. Liss, Inc., 1988, pp. 199 - 218
- Genome Res. 13 (10) : 2265 - 2270 (2003)
- Genomics 62 (2) : 281 - 284 (1999)
- Geoghegan & Stroh, (1992) Bioconjugate Chem. 3 : 138 - 146
- Getz et al (1999) Anal. Biochem. Vol 273 : 73 - 80
- Glynnne-Jones et al (2001) Int. J. Cancer. Oct 15 ; 94 (2) : 178 - 84
- Gregson et al., Chem. Commun. 1999, 797 - 798
- Gregson et al., J. Med. Chem. 2001, 44, 1161 - 1174
- Gu Z., et al Oncogene 19, 1288 - 1296, 2000
- Ha et al (1992) J. Immunol. 148 (5) : 1526 - 1531
- Haendler B., et al J. Cardiovasc. Pharmacol. 20, s1 - S4, 1992
- Hamann P. (2005) Expert Opin. Ther. Patents 15 (9) : 1087 - 1103
- Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10 : 7063 - 7070
- Handbook of Pharmaceutical Additives, 2nd Edition (eds. M. Ash and I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, USA)
- Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd edition, 1994
- Hara, et al., J. Antibiotics, 41, 702 - 704 (1988)
- Hashimoto et al (1994) Immunogenetics 40 (4) : 287 - 295
- Hay et al. (1999) Bioorg. Med. Chem. Lett. 9 : 2237
- Herdwijjn, P. et al., Canadian Journal of Chemistry. 1982, 60, 2903 - 7
- Hermanson, G.T. (1996) Bioconjugate Techniques; Academic Press: New York, p 234 - 242
- Hochlowski, et al., J. Antibiotics, 40, 145 - 148 (1987)
- Hofstra R.M.W., et al Eur. J. Hum. Genet. 5, 180 - 185, 1997
- Hofstra R.M.W., et al Nat. Genet. 12, 445 - 447, 1996
- Horie et al (2000) Genomics 67 : 146 - 152
- Hubert, R. S., et al (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96 (25) : 14523 - 14528
- Hurley and Needham-Vandevanter, Acc. Chem. Res., 19, 230 - 237 (1986)
- Immunogenetics 54 (2) : 87 - 95 (2002)

- Int. Rev. Cytol. 196: 177 - 244 (2000)  
 Itoh, et al., J. Antibiotics, 41, 1281 - 1284 (1988)
- J. Biol. Chem. 270 (37): 21984 - 21990 (1995)  
 J. Biol. Chem. 276 (29): 27371 - 27375 (2001)  
 J. Biol. Chem. 277 (22): 19665 - 19672 (2002)  
 J. Biol. Chem. 278 (33): 30813 - 30820 (2003)  
 Janeway, C., Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) Immuno Biology, 5th Ed., Garland Publishing, New York 10  
 Jeffrey et al (2005) J. Med. Chem. 48: 1344 - 1358
- Jonsson et al (1989) Immunogenetics 29 (6): 411 - 413
- Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26 (8): 925 - 932
- Kang, G-D., et al., Chem. Commun., 2003, 1680 - 1689
- Kasahara et al (1989) Immunogenetics 30 (1): 66 - 68 20
- King et al (2002) Tetrahedron Letters 43: 1987 - 1990
- Kingsbury et al (1984) J. Med. Chem. 27: 1447
- Kohler et al (1975) Nature 256: 495
- Kohn, in Antibiotics III. Springer-Verlag, New York, pp. 3 - 11 (1975).
- Konishi, et al., J. Antibiotics, 37, 200 - 206 (1984)
- Kovtun et al (2006) Cancer Res. 66 (6): 3214 - 3218 30
- Kuhns J. J., et al J. Biol. Chem. 274, 36422 - 36427, 1999
- Kumimoto, et al., J. Antibiotics, 33, 665 - 667 (1980)
- Kurebayashi et al (1999) Brit. Jour. Cancer 79 (5 - 6): 707 - 717
- Lab. Invest. 82 (11): 1573 - 1582 (2002)
- Lambert J. (2005) Current Opin. in Pharmacol. 5: 543 - 549
- Langley and Thurston, J. Org. Chem., 52, 91 - 97 (1987) 40
- Larhammar et al (1985) J. Biol. Chem. 260 (26): 14111 - 14119
- Law et al (2006) Cancer Res. 66 (4): 2328 - 2337
- Le et al (1997) FEBS Lett. 418 (1 - 2): 195 - 199
- Leber, et al., J. Am. Chem. Soc., 110, 2992 - 2993 (1988)
- Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5791 - 5793 (1965) 50

- Leimgruber, et al., J. Am. Chem. Soc., 87, 5793 - 5795 (1965)
- Levenson et al (1997) Cancer Res. 57 (15) : 3071 - 3078
- Liang et al (2000) Cancer Res. 60 : 4907 - 12
- Manfre, F. et al., J. Org. Chem. 1992, 57, 2060 - 2065
- Marks et al (1991) J. Mol. Biol., 222 : 581 - 597
- McDonagh (2006) Protein Eng. Design & Sel., 19 (7) : 299 - 307
- Mendoza et al (2002) Cancer Res. 62 : 5485 - 5488
- Miller et al (2003) Jour. of Immunology 170 : 4854 - 4861
- Miura et al (1996) Genomics 38 (3) : 299 - 304
- Miura et al (1998) Blood 92 : 2815 - 2822
- Moore M., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 84, 9194 - 9198, 1987
- Morrison et al (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 81 : 6851 - 6855
- Muller et al (1992) Eur. J. Immunol. 22 (6) : 1621 - 1625
- Mungall A. J., et al Nature 425, 805 - 811, 2003
- Nagase T., et al (2000) DNA Res. 7 (2) : 143 - 150
- Nakamuta M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 177, 34 - 39, 1991
- Nakayama et al (2000) Biochem. Biophys. Res. Commun. 277 (1) : 124 - 127
- Naruse et al (2002) Tissue Antigens 59 : 512 - 519
- Nature 395 (6699) : 288 - 291 (1998)
- Neuberger and Williams (1988) Nucleic Acid Res. 16 : 6713
- Novabiochem Catalog 2006 / 2007
- Ogawa Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 248 - 255, 1991
- Okamoto Y., et al Biol. Chem. 272, 21589 - 21596, 1997
- Oncogene 10 (5) : 897 - 905 (1995)
- Oncogene 14 (11) : 1377 - 1382 (1997)
- Parrish-Novak J., et al J. Biol. Chem. 277, 47517 - 47523, 2002
- Payne, G. (2003) Cancer Cell 3 : 207 - 212
- Phillips et al (2008) Cancer Res. 68 (22) : 9280 - 9290
- Pingault V., et al (2002) Hum. Genet. 111, 198 - 206
- Pletnev S., et al (2003) Biochemistry 42 : 12

- 6 1 7 - 1 2 6 2 4  
Preud'homme et al (1992) Clin. Exp. Immunol. 90 (1): 141-146  
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. (2003) 100 (7): 4126-4131  
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 93 (1): 136-140 (1996)  
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98 (17): 9772-9777 (2001)  
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99 (26): 16899-16903 (2002)  
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 96 (20): 11531-11536 (1999)  
Protective Groups in Organic Synthesis, Greene and Wuts, 3rd Edition, 1999, John Wiley & Sons Inc.  
Puffenberger E. G., et al Cell 79, 1257-1266, 1994  
Rao et al (1997) Breast Cancer Res. and Treatment 45: 149-158  
Reiter R. E., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 95, 1735-1740, 1998  
Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th edition, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000  
Rodrigues et al (1995) Chemistry Biology 2: 223  
Ross et al (2002) Cancer Res. 62: 2546-2553  
S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, New York  
Sakaguchi et al (1988) EMBO J. 7 (11): 3457-3464  
Sakamoto A., Yanagisawa M., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 178, 656-663, 1991  
Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11: 843-852  
Semba K., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 82, 6497-6501, 1985  
Serenius et al (1987) J. Biol. Chem. 262: 8759-8766  
Shamis et al (2004) J. Am. Chem. Soc. 126: 1726-1731  
Sheikh F., et al (2004) J. Immunol. 172, 2006-2010  
Shimizu, et al, J. Antibiotics, 29, 2492-2503 (1982)  
Sinha S. K., et al (1993) J. Immunol. 150, 5311-5320  
Storm et al (1972) J. Amer. Chem. Soc. 94: 5815 10 20 30 40 50

- Strausberg et al (2002) Proc. Natl. Acad. Sci USA 99: 16899 - 16903
- Sun et al (2002) Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 12: 2213 - 2215
- Sun et al (2003) Bioorganic & Medicinal Chemistry 11: 1761 - 1768
- Svensson P. J., et al Hum. Genet. 103, 145 - 148, 1998
- Swiercz J. M., et al J. Cell Biol. 165, 869 - 880, 2004 10
- Syrigos and Epenetos (1999) Anticancer Research 19: 605 - 614
- Takeuchi, et al., J. Antibiotics, 29, 93 - 96 (1976)
- Tawaragi Y., et al Biochem. Biophys. Res. Commun. 150, 89 - 96, 1988
- ten Dijke, P., et al Science 264 (5155) : 101 - 104 (1994)
- Thompson, J. S., et al Science 293 (5537) , 2108 - 2111 (2001) WO2004/058309 20
- Thurston, et al., Chem. Brit., 26, 767 - 772 (1990)
- Thurston, et al., Chem. Rev. 1994, 433 - 465 (1994)
- Toki et al (2002) J. Org. Chem. 67: 1866 - 1872
- Tonnelle et al (1985) EMBO J. 4 (11) : 2839 - 2847
- Touchman et al (2000) Genome Res. 10: 165 - 173
- Trail et al (2003) Cancer Immunol. Immunother. 52: 328 - 337 30
- Tsunakawa, et al., J. Antibiotics, 41, 1366 - 1373 (1988)
- Tsutsumi M., et al Gene 228, 43 - 49, 1999
- Uchida et al (1999) Biochem. Biophys. Res. Commun. 266: 593 - 602
- Verheij J. B., et al Am. J. Med. Genet. 108, 223 - 225, 2002
- Von Hoegen et al (1990) J. Immunol. 144 (12) : 4870 - 4877 40
- Webster et al (1994) Semin. Cancer Biol. 5: 69 - 76
- Weis J. J., et al J. Exp. Med. 167, 1047 - 1066, 1988
- Weis J. J., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 83, 5639 - 5643, 1986
- Wilson et al (1991) J. Exp. Med. 173: 137 - 146
- Wu et al (2005) Nature Biotech. 23 (9) : 1137 - 1145
- Xie et al (2006) Expert. Opin. Biol. Ther. 6 (3) 50

) : 281 - 291  
Xu, M. J., et al (2001) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 280 (3) : 768 - 775 WO 2004 / 016225  
Xu, X. Z., et al *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98 (19) : 10692 - 10697 (2001)  
Yamaguchi, N., et al *Biol. Chem.* 269 (2), 805 - 808 (1994)  
Yamamoto T., et al *Nature* 319, 230 - 234, 1986  
Yu et al (1992) *J. Immunol.* 148 (2) 633 - 637

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I		
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 45/00	(2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
		A 6 1 P 43/00	1 2 1
		A 6 1 K 45/00	

(72)発明者 フィリップ・ウィルソン・ハワード  
イギリス国イー1・2エイエックス・ロンドン、ニュー・ロード42、ザ・キューエムピー・イノベーション・センター、メドミューン・スパイロジエン・ビジネス・ユニット

(72)発明者 ジョン・エイ・フライゲア  
アメリカ合衆国94080カリフォルニア州サウス・サン・フランシスコ、ディーエヌエー・ウェイ1、ジェネンテック・インコーポレイテッド

(72)発明者 トーマス・ピロー  
アメリカ合衆国94080カリフォルニア州サウス・サン・フランシスコ、ディーエヌエー・ウェイ1、ジェネンテック・インコーポレイテッド

(72)発明者 ピン・チン・ウェイ  
アメリカ合衆国94080カリフォルニア州サウス・サン・フランシスコ、ディーエヌエー・ウェイ1、ジェネンテック・インコーポレイテッド

審査官 横山 敏志

(56)参考文献 国際公開第2011/130616 (WO, A1)  
特表2012-516896 (JP, A)  
特表2010-533703 (JP, A)  
国際公開第2012/014147 (WO, A1)

## (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 31 / 00 - 33 / 44  
A 6 1 K 47 / 00 - 47 / 69  
A 6 1 K 9 / 00 - 9 / 72  
A 6 1 P 1 / 00 - 43 / 00  
A 6 1 K 39 / 395  
A 6 1 K 45 / 00  
C 07 D 51 9 / 00  
CAplus / REGISTRY / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)  
JSTplus / JMEDplus / JST7580 (JDreamIII)  
Science Direct  
PubMed