

明 細 書

発明の名称：抗体薬物複合体用リンカーおよび抗体薬物複合体
技術分野

[0001] 本発明は、抗体薬物複合体用リンカーおよび抗体薬物複合体などに関する。

背景技術

[0002] 抗体薬物複合体 (Antibody Drug Conjugate : ADC) は、疾患部位に高発現している抗原に対する抗体にリンカーを介して抗がん剤等の細胞毒性などの強い薬理作用を示す薬物を結合させた化合物である。そのため、抗体薬物複合体は目的とする部位に高確率で到達することができ、当該部位に存在する代謝酵素により、リンカーに組み込まれた開裂部位が切断されることにより、薬物が放出され、薬物に応じた活性、例えば、細胞殺傷作用、抗免疫炎症作用を示す。なお、抗体薬物複合体に搭載された薬物は、抗体薬物複合体として存在している間は、その活性が低下している。したがって、抗体薬物複合体は薬物を疾患部位に効率的に送達することができる理想的な方法である (特許文献 1 ～ 3、非特許文献 1 ～ 4)。

多くの場合、抗体のシステイン残基またはリジン残基にリンカーを介して薬物を結合させるが、この反応を制御するのは容易ではなく、均一構造の抗体薬物複合体を作製する手法の開発が試みられている。

抗体薬物複合体の調製方法として、重鎖重鎖間または軽鎖重鎖間のジスルフィド結合を開裂させて生成するシステインのチオール基を介してマレイミド基と結合させる例がある (特許文献 1)。

先行技術文献

特許文献

[0003] 特許文献1：W02017/002776

特許文献2：W02013/132268

特許文献3：W02018/094414

非特許文献

[0004] 非特許文献1 : Bioconjugate Chem. 2021, 32, 1525

非特許文献2 : Nature Commun. 2015, 6, 6645

非特許文献3 : ACS Omega 2020, 5, 1557

非特許文献4 : Bioconjugate Chem. 2021, 32, 595

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明は、血液中で安定性を有し、均一構造の抗体薬物複合体を取得することが容易な抗体薬物複合体用リンカー、当該リンカーの形成に用いる化合物またはその塩、当該リンカーを用いた抗体薬物複合体およびこれらを製造する方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

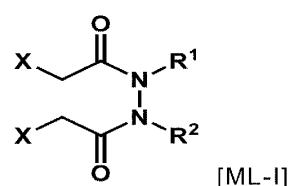
[0006] 本発明者らは、上記課題を解決するために検討を重ねた結果、下記の式で示される化合物またはその塩を見出し、当該化合物またはその塩を用いた抗体薬物結合リンカー、抗体薬物複合体およびこれらを製造する方法を見出した。

[0007] 本発明は、以下の態様を含む。

[1 - 1]

一般式[ML-I]

[化1]



[ここで、

Xは脱離基であり；

R¹およびR²は、各々独立して、水素、1つ以上の置換基で置換されていてもよ

い C_{1-6} アルキルまたは1つ以上の置換基で置換されていてもよい C_{1-6} アルキレン- R^{11} であり（ただし、 R^1 と R^2 は同時に水素ではない）；

または、 R^1 および R^2 は、隣接する窒素原子とともに、さらに窒素原子を環構成原子として含有する7員環を形成し、該環はさらに1つ以上の置換基で置換されていてもよい $-C(=O)-C_{1-6}$ アルキレン- R^{11} を置換基として有しており；

R^{11} は $COOH$ 、 SO_3H もしくは PO_3H_2 またはそのエステル基である]

で表される化合物またはその塩。

[0008] [1-2]

X はハロゲン、アルカンスルホニルオキシまたはアリールスルホニルオキシであり；

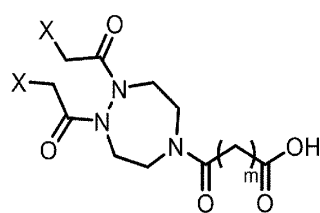
R^1 および R^2 は、各々独立して、水素、 C_{1-6} アルキルまたは C_{1-6} アルキレン- R^{11} であり（ただし、 R^1 と R^2 は同時に水素ではない）；

または、 R^1 および R^2 は、隣接する窒素原子とともに、さらに窒素原子を環構成原子として含有する7員環を形成し、該環はさらに $-C(=O)-C_{1-6}$ アルキレン- R^{11} を置換基として有している [1-1] に記載の化合物またはその塩。

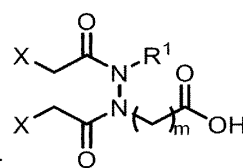
[0009] [1-3]

一般式[ML-Ia]または[ML-Ib]

[化2]



[ML-Ia]または



[ML-Ib]

[ここで、

m は1~6の整数であり；

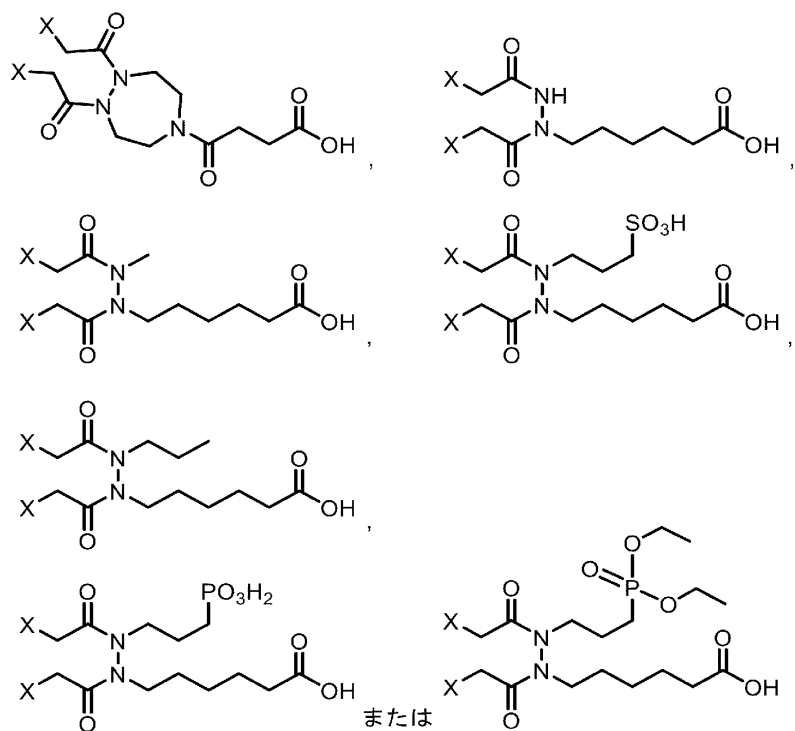
X および R^1 は前記と同意義である]

で表される化合物またはその塩である [1-1] または [1-2] に記載の化合物またはその塩。

[0010] [1-4]

下記の化合物またはその塩から選ばれる [1 - 1] から [1 - 3] のいずれかに記載の化合物またはその塩。

[化3]



[ここで、Xは前記と同意義である]

[0011] [1 - 5]

Xがハロゲンである [1 - 1] から [1 - 4] のいずれかに記載の化合物またはその塩。

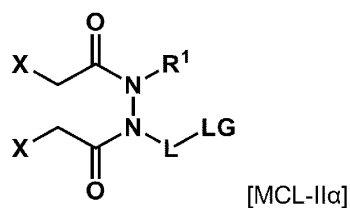
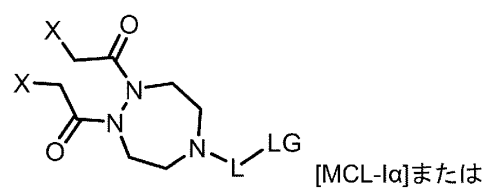
[0012] [1 - 6]

Xが塩素、臭素またはヨウ素である [1 - 1] から [1 - 5] のいずれかに記載の化合物またはその塩。

[0013] [2 - 1]

一般式[MCL-I α]または一般式[MCL-II α]

[化4]



[ここで、

Xは脱離基であり；

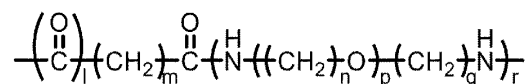
R¹は水素、1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキルまたは1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキレン-R¹¹であり；

R¹¹はSO₃H、PO₃H₂もしくはCOOHまたはそのエステル基であり；

LはL¹、L²およびL³を含むリンカーであり；

L¹は

[化5]

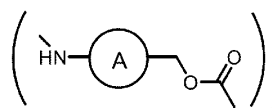


であり、各メチレンは1つ以上の置換基〔例えばポリエチレングリコール、糖（例えばオリゴ糖）、クラウンエーテル、ポリサルコシン、スルホン酸含有基、ホスホン酸含有基またはアミンもしくはアンモニウム塩含有基〕で置換されていてもよく；

L²は結合または開裂可能リンカーであり；

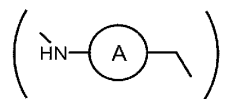
L³は結合、アミノ（アリアルまたはヘテロアリアル）メチルオキシカルボニル

[化6]



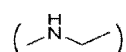
アミノ(アリールまたはヘテロアリール)メチル

[化7]



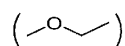
アミノメチル

[化8]



またはオキシメチル

[化9]



であり；

Aは1つ以上の置換基で置換されていてもよいアリールまたはヘテロアリールであり；

ただし、L²およびL³は同時に結合ではない；

LGはハロゲンまたはO-電子吸引基であり；

lおよびrは各々独立して、0または1であり、

m、n、pおよびqは各々独立して、1～6の整数である]

で表される化合物またはその塩である薬物リンカー中間体。

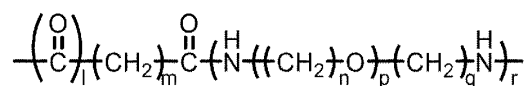
[0014] [2-2]

LはL¹-L²-L³である [2-1] に記載の薬物リンカー中間体。

[0015] [2-3]

L¹は

[化10]

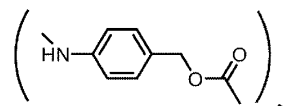


であり、各メチレンはポリエチレングリコールまたは糖（例えばオリゴ糖）で置換されていてもよく；

L²は結合または開裂可能リンカーであり；

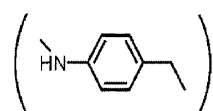
L³は結合、p-アミノベンジルオキシカルボニル

[化11]



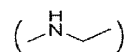
p-アミノベンジル

[化12]



またはアミノメチル

[化13]



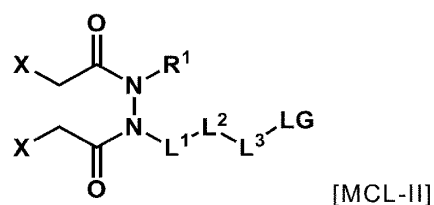
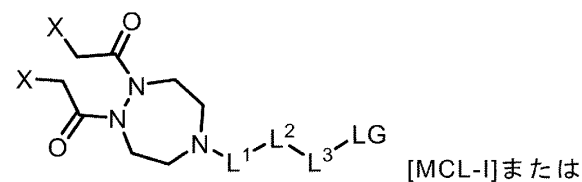
であり；

p-アミノベンジルオキシカルボニルおよびp-アミノベンジルにおけるベンゼン環は各々独立して、1つ以上の置換基で置換されていてもよい〔2-1〕または〔2-2〕に記載の薬物リンカー中間体。

[0016] 〔2-4〕

一般式[MCL-I]または一般式[MCL-II]

[化14]



[ここで、

Xはハロゲン、アルカンスルホニルオキシまたはアールスルホニルオキシで

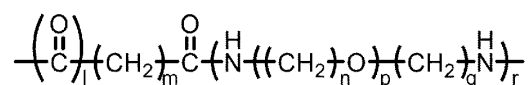
あり；

R¹は水素、C₁₋₆アルキルまたはC₁₋₆アルキレン-R¹¹であり；

R¹¹はSO₃H、PO₃H₂もしくはCOOHまたはそのエステル基であり；

L¹は

[化15]



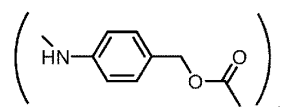
であり、各メチレンはポリエチレングリコールまたは糖（例えばオリゴ糖）

で置換されていてもよく；

L²は結合または開裂可能リンカーであり；

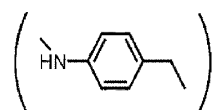
L³は結合、p-アミノベンジルオキシカルボニル

[化16]



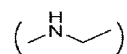
p-アミノベンジル

[化17]



またはアミノメチル

[化18]



であり；

p-アミノベンジルオキシカルボニルおよびp-アミノベンジルにおけるベンゼ

ン環は各々独立して、1つ以上の置換基で置換されていてもよい；

ただし、L²およびL³は同時に結合ではない；

LGはハロゲンまたは0-電子吸引基であり；

lおよびrは各々独立して、0または1であり、

m、n、pおよびqは各々独立して、1～6の整数である]

で表される化合物またはその塩である [2-1] から [2-3] のいずれかに記載の薬物リンカー中間体。

[0017] [2-5]

開裂可能リンカーはカテプシン開裂リンカー、ピロホスファターゼ/ホスホエステラーゼ開裂リンカー、グリコシダーゼ開裂リンカー (β -グルクロニダーゼ開裂リンカー)、カルボキシエステラーゼ開裂リンカー、レグマイン開裂リンカー、好中球エラスターゼ開裂リンカー、マトリックスメタロプロテイナーゼ開裂リンカーまたは繊維芽細胞活性化タンパク質開裂リンカーである [2-1] から [2-4] のいずれかに記載の薬物リンカー中間体。

[0018] [2-6]

開裂可能リンカーはグルクロン酸で置換されているヒドロキシメチル安息香酸残基、ペプチド残基、ピロリン酸 (ニリン酸) 残基またはジスルフィドである [2-1] から [2-4] のいずれかに記載の薬物リンカー中間体。

[0019] [2-7]

グルクロン酸で置換されているヒドロキシメチル安息香酸が、2-(1-D-グルクロニル)-5-ヒドロキシメチル安息香酸である [2-6] に記載の薬物リンカー中間体。

[0020] [2-8]

ペプチドがバリンおよびシトルリンからなるジペプチド、2個のアラニンからなるジペプチド、グルタミン酸、D-アラニンおよびアラニンからなるトリペプチド、グルタミン酸の末端カルボン酸にポリエチレングリコールまたはオリゴ糖が付加したグルタミン酸、D-アラニンおよびアラニンからなるトリペプチドまたはフェニルアラニンおよび3個のグリシンからなるテトラペプチドである [2-6] に記載の薬物リンカー中間体。

[0021] [2-9]

Xはハロゲンである〔2-1〕から〔2-8〕のいずれかに記載の薬物リンカー中間体。

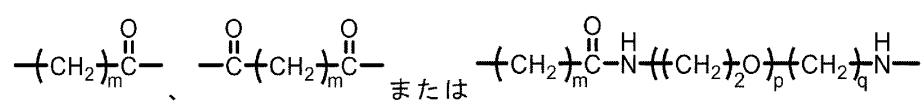
[0022] 〔2-10〕

Xは塩素、臭素またはヨウ素である〔2-1〕から〔2-9〕のいずれかに記載の薬物リンカー中間体。

[0023] 〔2-11〕

L¹が

[化19]



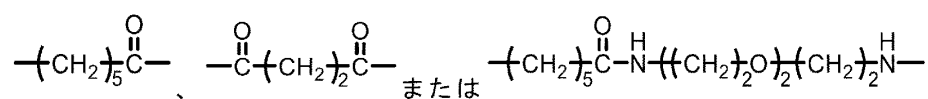
〔ここで、m、pおよびqは前記と同意義である〕

である〔2-1〕から〔2-10〕のいずれかに記載の薬物リンカー中間体。

[0024] 〔2-12〕

L¹が

[化20]

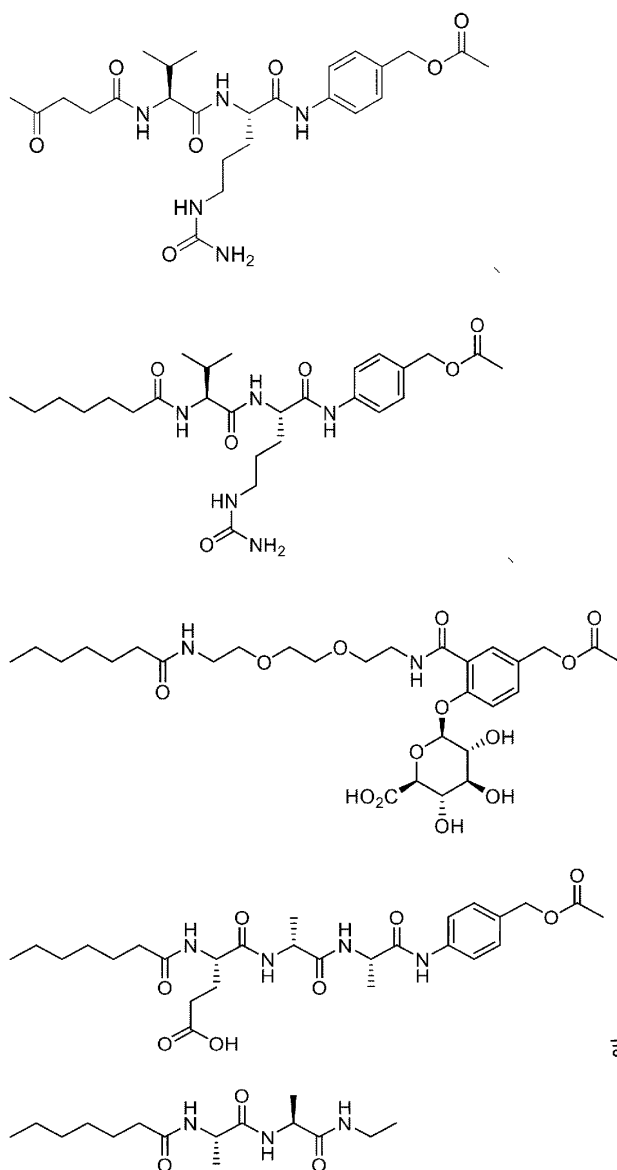


である〔2-1〕から〔2-11〕のいずれかに記載の薬物リンカー中間体。

[0025] 〔2-13〕

LがL¹-L²-L³であり、L¹-L²-L³が、

[化21]



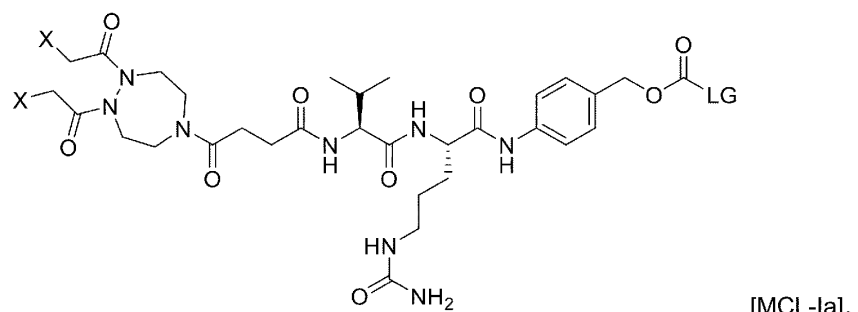
である [2-1] から [2-12] のいずれかに記載の薬物リンカー中間体

。

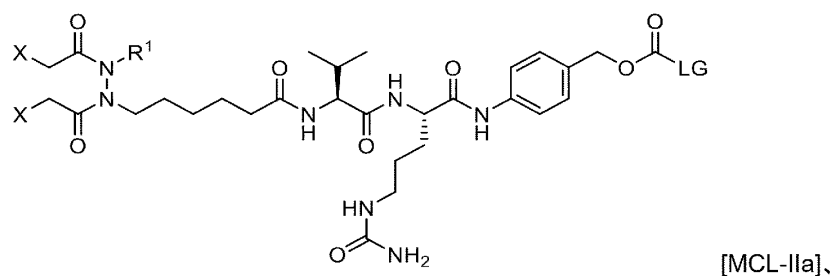
[0026] [2-14]

一般式[MCL-Ia]、一般式[MCL-IIa]、一般式[MCL-IIb]、一般式[MCL-IIc]または一般式[MCL-IId]

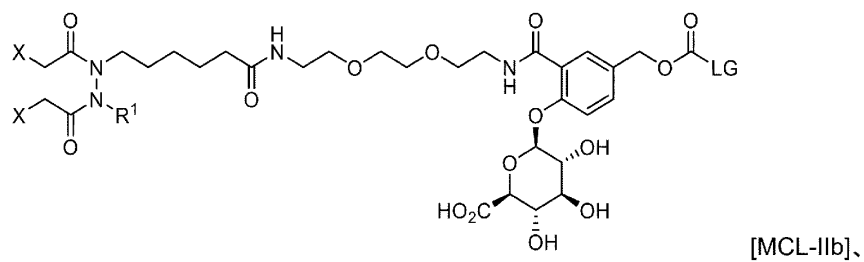
[化22]



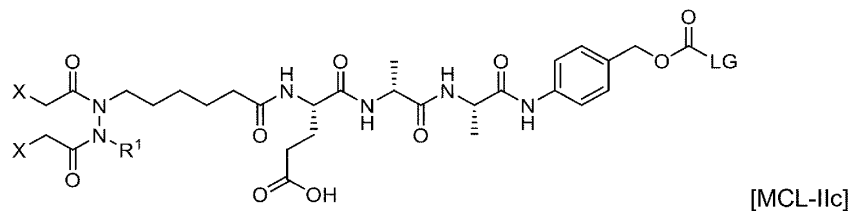
[MCL-Ia],



[MCL-IIa],

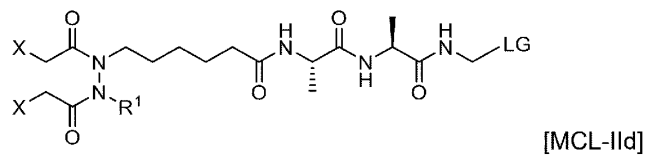


[MCL-IIb],



[MCL-IIc]

または



[MCL-IIId]

[ここで、X、R¹およびLGは前記と同意義である]

で表される化合物またはその塩である [2-1] から [2-13] のいずれかに記載の薬物リンカー中間体。

[0027] [2-15]

0-電子吸引基が、1つ以上の置換基で置換されていてもよいアシルオキシまたは1つ以上の置換基で置換されていてもよいアリールオキシである [2-1] から [2-14] のいずれかに記載の薬物リンカー中間体。

[0028] [2-16]

1つ以上の置換基で置換されていてもよいアシルオキシがアセトキシである [2-15] に記載の薬物リンカー中間体。

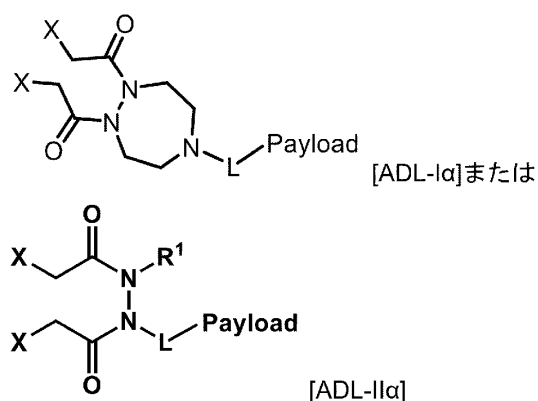
[0029] [2-17]

1つ以上の置換基で置換されていてもよいアリールオキシがp-ニトロフェニルオキシである [2-15] に記載の薬物リンカー中間体。

[0030] [3-1]

一般式[ADL-I α]または一般式[ADL-II α]

[化23]



[ここで、

Payloadは薬物残基であり；

Xは脱離基であり；

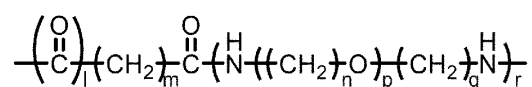
R¹は水素、1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキルまたは1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキレン-R¹¹であり；

R¹¹はSO₃H、PO₃H₂もしくはCOOHまたはそのエステル基であり；

LはL¹、L²およびL³を含むリンカーであり；

L¹は

[化24]

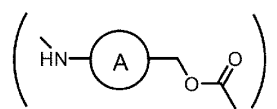


であり、各メチレンは1つ以上の置換基〔例えばポリエチレングリコール、糖（例えばオリゴ糖）、クラウンエーテル、ポリサルコシン、スルホン酸含有基、ホスホン酸含有基またはアミンもしくはアンモニウム塩含有基〕で置換されているように；

L²は結合または開裂可能リンカーであり；

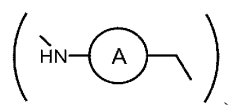
L³は結合、アミノ（アリールまたはヘテロアリール）メチルオキシカルボニル

[化25]



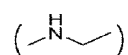
アミノ（アリールまたはヘテロアリール）メチル

[化26]



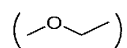
アミノメチル

[化27]



またはオキシメチル

[化28]



であり；

Aは1つ以上の置換基で置換されているよいアリールまたはヘテロアリールであり；

ただし、L²およびL³は同時に結合ではない；

lおよびrは各々独立して、0または1であり、

m、n、pおよびqは各々独立して、1～6の整数である]

で表される化合物またはその塩である薬物リンカー。

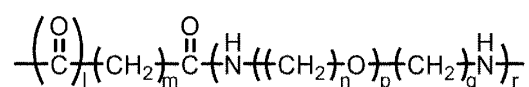
[0031] [3-2]

LはL¹-L²-L³である [3-1] に記載の薬物リンカー。

[0032] [3-3]

L¹は

[化29]



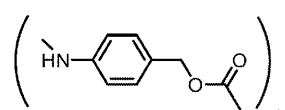
であり、各メチレンはポリエチレングリコールまたは糖（例えばオリゴ糖）

で置換されていてもよく；

L²は結合または開裂可能リンカーであり；

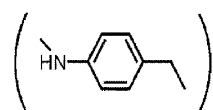
L³は結合、p-アミノベンジルオキシカルボニル

[化30]



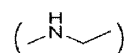
p-アミノベンジル

[化31]



またはアミノメチル

[化32]



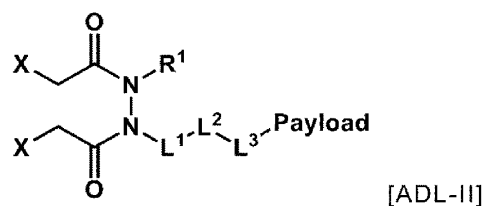
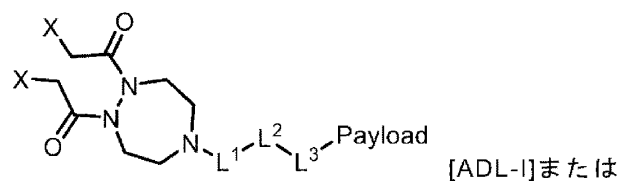
であり；

p-アミノベンジルオキシカルボニルおよびp-アミノベンジルにおけるベンゼン環は各々独立して、1つ以上の置換基で置換されていてもよい [3-1] または [3-2] に記載の薬物リンカー。

[0033] [3-4]

一般式[ADL-I]または一般式[ADL-II]

[化33]



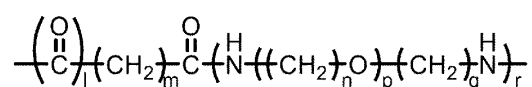
[ここで、

Payloadは薬物残基であり；

Xはハロゲン、アルカンスルホニルオキシまたはアリールスルホニルオキシであり；

R¹は水素、C₁₋₆アルキルまたはC₁₋₆アルキレン-R¹¹であり；R¹¹はSO₃H、PO₃H₂もしくはCOOHまたはそのエステル基であり；L¹は

[化34]

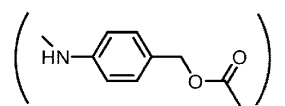


であり、各メチレンはポリエチレングリコールまたは糖（例えばオリゴ糖）

で置換されていてもよく；

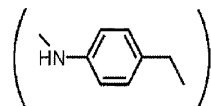
L²は結合または開裂可能リンカーであり；L³は結合、p-アミノベンジルオキシカルボニル

[化35]



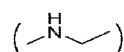
p-アミノベンジル

[化36]



またはアミノメチル

[化37]



であり；

p-アミノベンジルオキシカルボニルおよびp-アミノベンジルにおけるベンゼン環は各々独立して、1つ以上の置換基で置換されていてもよい；

ただし、L²およびL³は同時に結合ではない；

lおよびrは各々独立して、0または1であり、

m、n、pおよびqは各々独立して、1～6の整数である]

で表される化合物またはその塩である [3-1] から [3-3] のいずれかに記載の薬物リンカー。

[0034] [3-5]

開裂可能リンカーはカテプシン開裂リンカー、ピロホスファターゼ/ホスホエステラーゼ開裂リンカー、グリコシダーゼ開裂リンカー（β-グルクロニダーゼ開裂リンカー）、カルボキシエステラーゼ開裂リンカー、レグマイン開裂リンカー、好中球エラスターゼ開裂リンカー、マトリックスメタロプロテイナーゼ開裂リンカーまたは繊維芽細胞活性化タンパク質開裂リンカーである [3-1] から [3-4] のいずれかに記載の薬物リンカー。

[0035] [3-6]

開裂可能リンカーはグルクロン酸で置換されているヒドロキシメチル安息香酸残基、ペプチド残基、ピロリン酸（ニリン酸）残基またはジスルフィドである [3-1] から [3-4] のいずれかに記載の薬物リンカー。

[0036] [3-7]

グルクロン酸で置換されているヒドロキシメチル安息香酸が、2-(1-D-グルクロニル)-5-ヒドロキシメチル安息香酸である [3-6] に記載の薬物リンカー。

[0037] [3-8]

ペプチドがバリンおよびシトルリンからなるジペプチド、2個のアラニンからなるジペプチド、グルタミン酸、D-アラニンおよびアラニンからなるトリペプチド、グルタミン酸の末端カルボン酸にポリエチレングリコールまたはオリゴ糖が付加したグルタミン酸、D-アラニンおよびアラニンからなるトリペプチドまたはフェニルアラニンおよび3個のグリシンからなるテトラペプチドである [3-6] に記載の薬物リンカー。

[0038] [3-9]

Xはハロゲンである [3-1] から [3-8] のいずれかに記載の薬物リンカー。

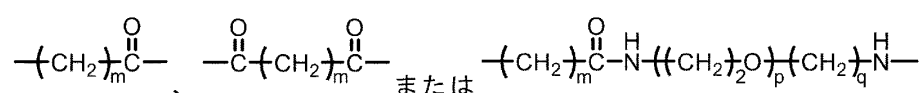
[0039] [3-10]

Xは塩素、臭素またはヨウ素である [3-1] から [3-9] のいずれかに記載の薬物リンカー。

[0040] [3-11]

L¹が

[化38]



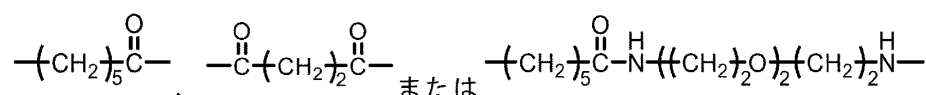
[ここで、m、pおよびqは前記と同意義である]

である [3-1] から [3-10] のいずれかに記載の薬物リンカー。

[0041] [3-12]

L¹が

[化39]

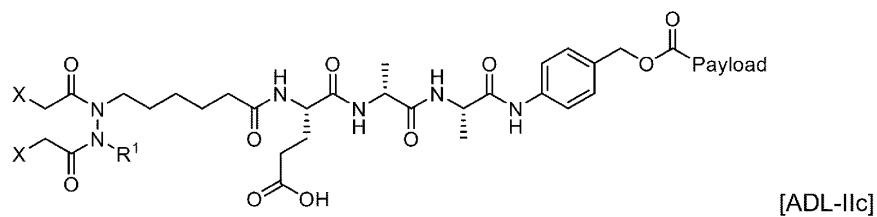
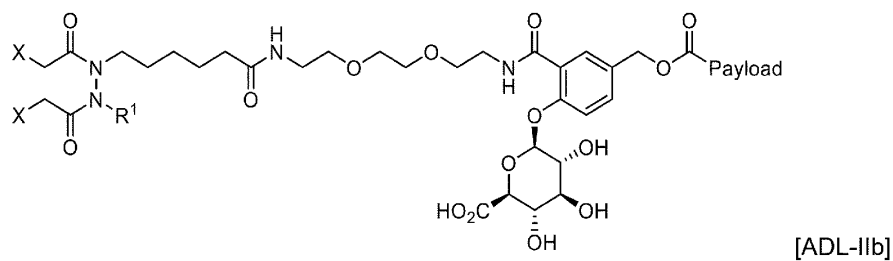
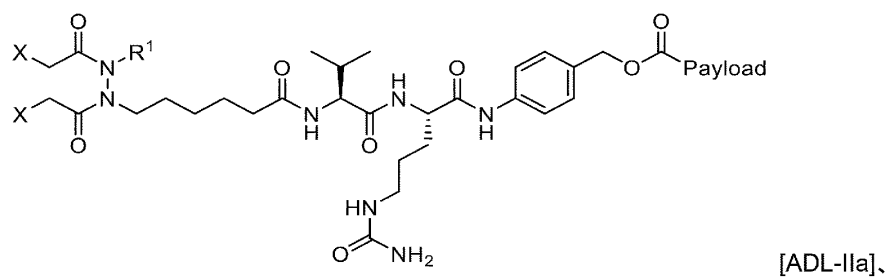
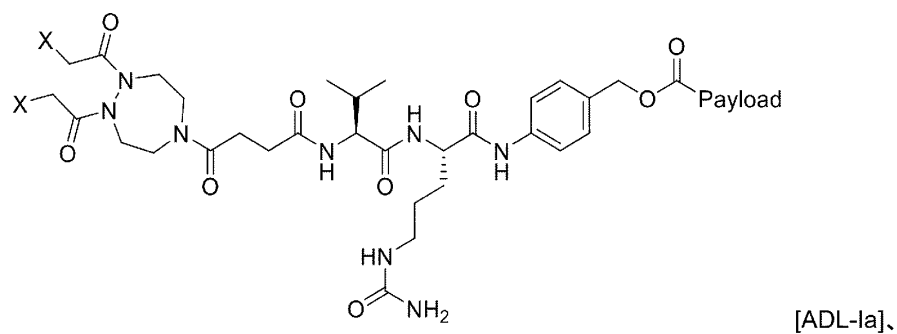


である [3-1] から [3-11] のいずれかに記載の薬物リンカー。

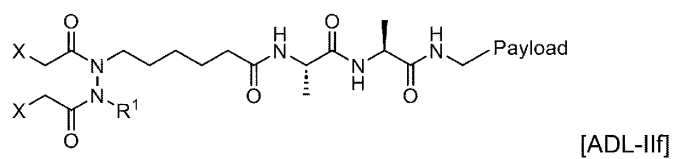
[0042] [3-13]

一般式[ADL-Ia]、一般式[ADL-IIa]、一般式[ADL-IIb]、一般式[ADL-IIc]または一般式[ADL-IIf]

[化40]



または



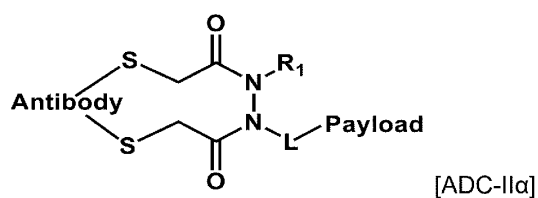
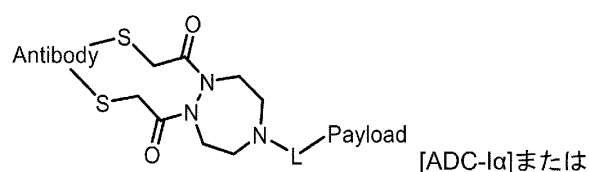
[ここで、Payload、XおよびR¹は前記と同意義である]

で表される化合物またはその塩である [3-1] から [3-12] のいずれかに記載の薬物リンカー。

[0043] [4-1]

一般式[ADC-I α]または一般式[ADC-II α]

[化41]



[ここで、

Payloadは薬物残基であり；

Antibodyは抗体残基であり；

Sは抗体部分のシステイン残基の硫黄原子であり；

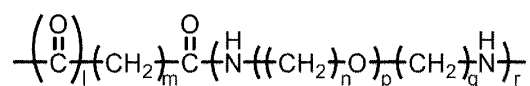
R¹は水素、1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキルまたは1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキレン-R¹¹であり；

R¹¹はSO₃H、PO₃H₂もしくはCOOHまたはそのエステル基であり；

LはL¹、L²およびL³を含むリンカーであり；

L¹は

[化42]



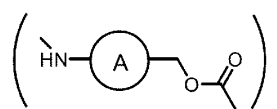
であり、各メチレンは1つ以上の置換基 [例えばポリエチレングリコール、糖 (例えばオリゴ糖)、クラウンエーテル、ポリサルコシン、スルホン酸含有基、ホスホン酸含有基またはアミンもしくはアンモニウム塩含有基] で置換

されていてもよく；

L^2 は結合または開裂可能リンカーであり；

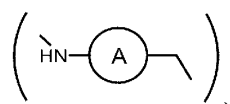
L^3 は結合、アミノ（アリールまたはヘテロアリール）メチルオキシカルボニル

[化43]



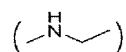
アミノ（アリールまたはヘテロアリール）メチル

[化44]



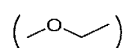
アミノメチル

[化45]



またはオキシメチル

[化46]



であり；

Aは1つ以上の置換基で置換されていてもよいアリールまたはヘテロアリール

であり；

ただし、 L^2 および L^3 は同時に結合ではない；

l および r は各々独立して、0または1であり、

m 、 n 、 p および q は各々独立して、1～6の整数である]

で表される化合物またはその塩である抗体薬物複合体。

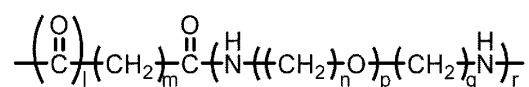
[0044] [4-2]

L は L^1 - L^2 - L^3 である [4-1] に記載の抗体薬物複合体。

[0045] [4-3]

L^1 は

[化47]



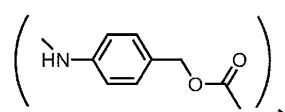
であり、各メチレンはポリエチレングリコールまたは糖（例えばオリゴ糖）

で置換されていてもよく；

L²は結合または開裂可能リンカーであり；

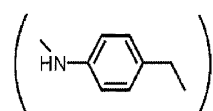
L³は結合、p-アミノベンジルオキシカルボニル

[化48]



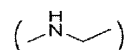
p-アミノベンジル

[化49]



またはアミノメチル

[化50]



であり；

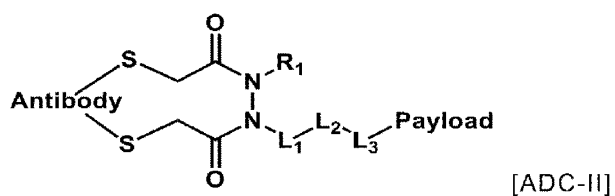
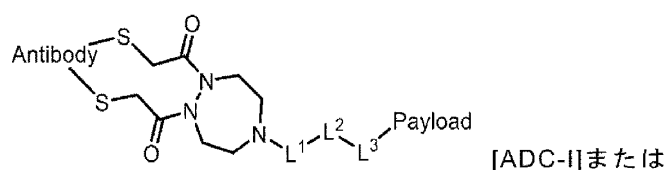
p-アミノベンジルオキシカルボニルおよびp-アミノベンジルにおけるベンゼン環は各々独立して、1つ以上の置換基で置換されていてもよい [4-1] ま

または [4-2] に記載の抗体薬物複合体。

[0046] [4-4]

一般式[ADC-I]または一般式[ADC-II]

[化51]



[ここで、

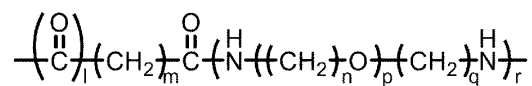
Payloadは薬物残基であり；

Antibodyは抗体残基であり；

Sは抗体部分のシステイン残基の硫黄原子であり；

R¹は水素、C₁₋₆アルキルまたはC₁₋₆アルキレン-R¹¹であり；R¹¹はSO₃H、PO₃H₂もしくはCOOHまたはそのエステル基であり；L¹は

[化52]

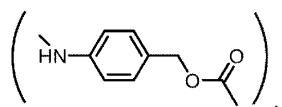


であり、各メチレンはポリエチレングリコールまたは糖（例えばオリゴ糖）

で置換されていることもよく；

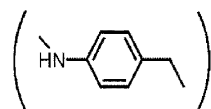
L²は結合または開裂可能リンカーであり；L³は結合、p-アミノベンジルオキシカルボニル

[化53]



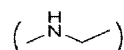
p-アミノベンジル

[化54]



またはアミノメチル

[化55]



であり；

p-アミノベンジルオキシカルボニルおよびp-アミノベンジルにおけるベンゼン環は各々独立して、1つ以上の置換基で置換されていてもよい；

ただし、L²およびL³は同時に結合ではない；

lおよびrは各々独立して、0または1であり、

m、n、pおよびqは各々独立して、1～6の整数である]

で表される化合物またはその塩である [4-1] から [4-3] のいずれかに記載の抗体薬物複合体。

[0047] [4-5]

開裂可能リンカーはカテプシン開裂リンカー、ピロホスファターゼ/ホスホエステラーゼ開裂リンカー、グリコシダーゼ開裂リンカー (β-グルクロニダーゼ開裂リンカー)、カルボキシエステラーゼ開裂リンカー、レグマイン開裂リンカー、好中球エラスターゼ開裂リンカー、マトリックスメタロプロテイナーゼ開裂リンカーまたは繊維芽細胞活性化タンパク質開裂リンカーである [4-1] から [4-4] のいずれかに記載の抗体薬物複合体。

[0048] [4-6]

開裂可能リンカーはグルクロン酸で置換されているヒドロキシメチル安息香酸残基、ペプチド残基、ピロリン酸 (ニリン酸) 残基またはジスルフィドである [4-1] から [4-4] のいずれかに記載の抗体薬物複合体。

[0049] [4-7]

グルクロン酸で置換されているヒドロキシメチル安息香酸が、2-(1-D-グルク

ロニル)-5-ヒドロキシメチル安息香酸である〔4-6〕に記載の抗体薬物複合体。

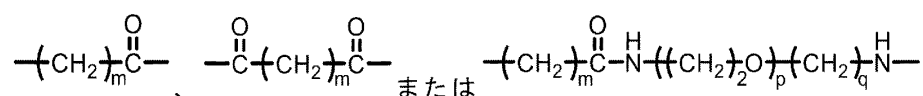
[0050] 〔4-8〕

ペプチドがバリンおよびシトルリンからなるジペプチド、2個のアラニンからなるジペプチド、グルタミン酸、D-アラニンおよびアラニンからなるトリペプチド、グルタミン酸の末端カルボン酸にポリエチレングリコールまたはオリゴ糖が付加したグルタミン酸、D-アラニンおよびアラニンからなるトリペプチドまたはフェニルアラニンおよび3個のグリシンからなるテトラペプチドである〔4-6〕に記載の抗体薬物複合体。

[0051] 〔4-9〕

Ⅱが

[化56]



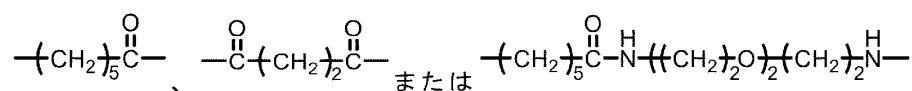
〔ここで、m、pおよびqは前記と同意義である〕

である〔4-1〕から〔4-8〕のいずれかに記載の抗体薬物複合体。

[0052] 〔4-10〕

Ⅱが

[化57]

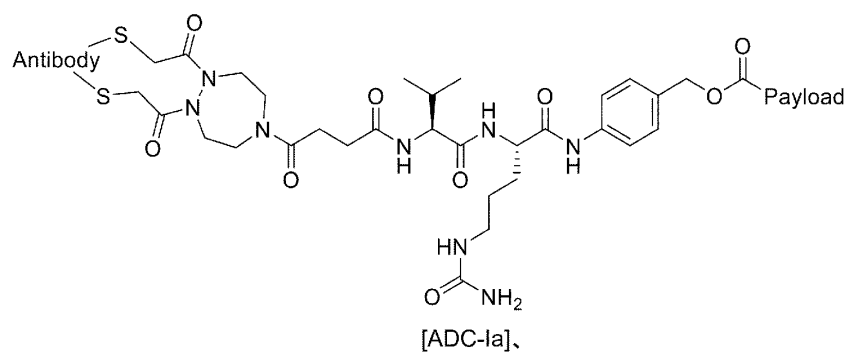


である〔4-1〕から〔4-9〕のいずれかに記載の抗体薬物複合体。

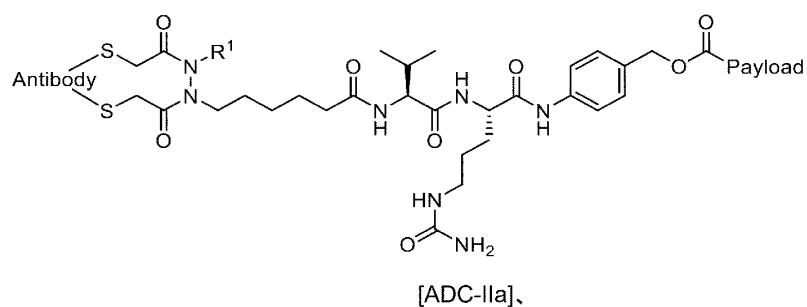
[0053] 〔4-11〕

一般式[ADC-Ia]、一般式[ADC-IIa]、一般式[ADC-IIb]、一般式[ADC-IIc]または一般式[ADC-IIId]

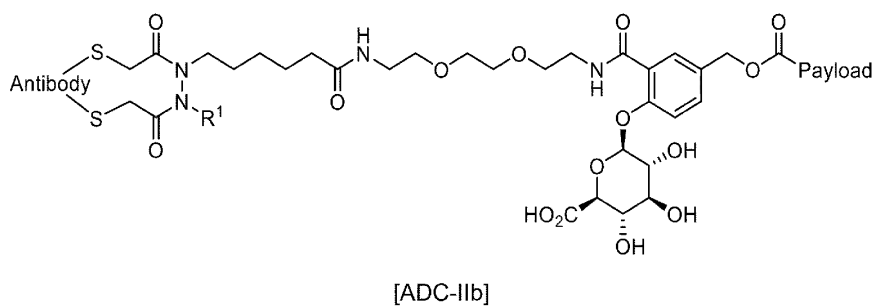
[化58]



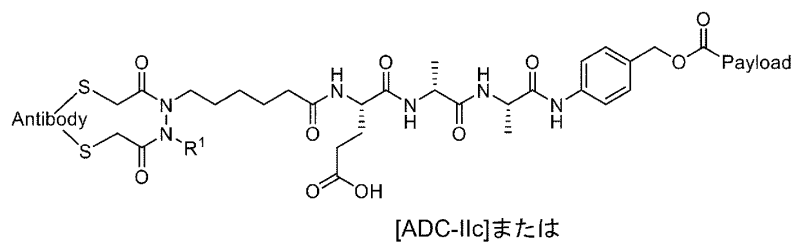
[ADC-1a]、



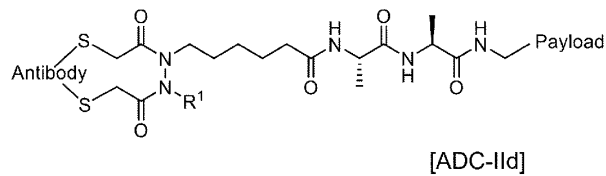
[ADC-IIa]、



[ADC-IIb]



[ADC-IIc]または



[ADC-IIId]

[ここで、Payload、Antibody、SおよびR¹は前記と同意義である]

で表される化合物またはその塩である [4-1] から [4-10] のいずれかに記載の抗体薬物複合体。

[0054] [5-1]

抗体がIgG、IgM、IgAまたはIgDである [4-1] から [4-11] のいずれかに記載の抗体薬物複合体。

[0055] [5-2]

抗体がIgGである [4-1] から [4-11] のいずれかに記載の抗体薬物複合体。

[0056] [5-3]

抗体がリツキシマブ、トラスツズマブ、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、イピリムマブ、ミリキズマブ、デュピルマブ、ベバシズマブ、インフリキシマブ、アダリムマブ、アブシキシマブ、ダクリズマブ、パリビズマブ、エタネルセプト、バシリキシマブ、ゲムツズマブ、アレムツズマブ、イブリツモマブ、アレファセプト、オマリズマブ、エファリズマブ、トシツモマブ、セツキシマブ、ナタリズマブ、ラニビズマブ、パニツムマブ、エクリズマブ、リロナセプト、セルトリズマブ、ロミプロスチム、ベリムマブ、トシリズマブ、アトリズマブ、ミラツズマブ、メポリズマブ、ペルツズマブ、トレメリムマブ、イノツズマブ、アフリベルセプト、カツマキソマブ、オレゴボマブ、モタビズマブ、エファングマブ、またはラキシバクマブである [4-1] から [4-11] のいずれかに記載の抗体薬物複合体。

[0057] [6-1]

薬物が低分子化合物または中分子化合物（好ましくは分子量が約15000以下である化合物（siRNA、アンチセンス核酸などを含む）、または分子量が約6000以下である化合物（ペプチドなどを含む）、または分子量が約2000以下である化合物（天然物などを含む））である [4-1] から [4-11] のいずれかに記載の抗体薬物複合体。

[0058] [6-2]

薬物が抗がん剤、殺細胞剤、免疫調節剤または毒素である [4-1] から [

4-11] のいずれかに記載の抗体薬物複合体。

[0059] [6-3]

抗がん剤または殺細胞剤がモノメチルアウリスタチンE、モノメチルアウリスタチンF、ドラスタチン、メイタンシノイド(例えば、メイタンシン若しくはアンサミトシン)、カンプトテシン(例えば、合成アナログトポテカン、イリノテカン、RFS2000)、クリプトフィシン(例えば、クリプトフィシン1又はクリプトフィシン8)、デュオカルマイシン(例えば、合成アナログ、KW-2189、C C-1065、カルゼレシン、ビゼレシン及びCB1-TM1)、抗生物質(例えば、エンジン抗生物質、例えば、カリケアマイシン γ 1I及びカリケアマイシン ω 1Iから選択されるカリケアマイシン又はダイネマイシン、例えば、ダイネマイシンA)、エポチロン、リゾキシソ、タキソイド(例えば、パクリタキセル、ドキシセタキセル)、白金アナログ(例えば、シスプラチン又はカルボプラチン)、ドキソルビシン及びその誘導体(例えば、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、ピラルビシン、ダウノルビシン又はデオキシドキソルビシン)、ベネトクラクス、エルロチニブ、ボルテゾミブ、スーテント、イマチニブメシレート、ラパチニブ、ロナファルニブ、ソラフェニブ、ゲフィチニブ、ビスホスホネート(例えば、クロドロネート、イバンドロネート)、ネオカルチノスタチンクロモフォア、又は関連する色素タンパク質、エンジン抗生物質クロモフォア、ダクチノマイシン、ビンブラスチン、ピンクリスチン、ビノレルビン、ブリオスタチン、エトポシド、テニポシド、ラパマイシン、デフォファミン、抗代謝物質(例えば、5-フルオロウラシル(5-FU)、カベシタビン、ゲムシタビン、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、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、エノシタビン又はフロクスウリジン)、葉酸アナログ(例えば、デノプテリン、メトトレキセート、エダトレキサート、プテロプテリン、アミノプテリン又はトリメトトレキセート)、アンドロゲン(例えば、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール又はテスト

ラクトン)、抗副腎薬(例えば、アミノグルテチミド)である [6 - 2] に記載の抗体薬物複合体。

[0060] [6 - 4]

免疫調節剤がTLR7アゴニスト (例えば、イミキモド、レシキモドなど)、TLR8アゴニスト (例えば、VTX-2337など)、TLR9アゴニスト (例えば、ODN2216、ODN1826、ODN2006、ODN2395、ODN21798など)、STINGアゴニスト (例えば、cGAMP、diABZI、SR-717など)、ステロイド (例えば、ブデソニド、デキサメタゾン、ブデノシド、トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニドなど) またはPDE4阻害剤 (例えば、GSK256066など)、LCK阻害剤 (例えば、ダサチニブなど) である [6 - 2] に記載の抗体薬物複合体。

[0061] [6 - 5]

毒素がジフテリア毒素、ボツリヌス毒素、破傷風毒素、赤痢毒素、コレラ毒素、テトロド毒素、ブレベ毒素、シガ毒素、リシンまたはAM-毒素である [6 - 2] に記載の抗体薬物複合体。

[0062] [7 - 1]

薬物抗体比 (DAR) が2~6である [4 - 1] から [4 - 1 1] のいずれかに記載の抗体薬物複合体。

[0063] [7 - 2]

薬物抗体比 (DAR) が3.2~4.8である [4 - 1] から [4 - 1 1] のいずれかに記載の抗体薬物複合体。

[0064] [8 - 1]

抗体薬物複合体の製造方法であって、

a) 抗体のジスルフィドをキレート剤存在下で、還元剤を用いて還元する工程、および

b) 前記還元物に [2 - 1] から [2 - 1 7] のいずれかに記載の薬物リンカー中間体を架橋させる工程

を含む抗体薬物複合体の製造方法。

[0065] [8 - 2]

工程b)がヨウ化ナトリウム非存在下で架橋させる工程である〔8－1〕に記載の製造方法。

[0066] 〔8－3〕

工程b)がヨウ化ナトリウム存在下で架橋させる工程である〔8－1〕に記載の製造方法。

[0067] 〔8－4〕

抗体1モル当量に対して、ヨウ化ナトリウムが100～40000モル当量である〔8－3〕に記載の製造方法。

[0068] 〔8－5〕

工程b)の反応時間が0.5日から7日間である〔8－1〕から〔8－4〕のいずれかに記載の製造方法。

発明の効果

[0069] 本発明の化合物またはその塩は、抗体と強固に結合して血液中で安定な抗体薬物複合体を形成することができる。また、本発明の化合物またはその塩は、均一構造の抗体薬物複合体を容易に取得することができる。

図面の簡単な説明

[0070] [図1]図1は実施例12の高速液体クロマトグラフィー(HIC)チャートである。

[図2]図2は実施例21のHICチャートである。

[図3]図3は実施例25のHICチャートである。

[図4]図4は実施例25のマスペクトル(MS)チャートである。

[図5]図5は実施例26の抗体および薬物リンカーを用いて、ヨウ化ナトリウム(NaI)12000当量添加時の、2日後のHICチャートである。

[図6]図6は実施例17のヒト血漿中の安定性を示すグラフである。

[図7]図7は実施例17のマウス血漿中の安定性を示すグラフである。

[図8]図8は実施例17のDSCチャートである。

[図9]図9は実施例37のMSチャートである。

[図10]図10は実施例37のHICチャートである。

[図11]図11は実施例29のHICチャートである。

[図12]図12は実施例29のMSチャートである。

[図13]図13は実施例33のHICチャートである。

[図14]図14は実施例33のMSチャートである。

[図15]図15は実施例36のHICチャートである。

[図16]図16は実施例36のMSチャートである。

発明を実施するための形態

[0071] 本明細書中で用いる語句および用語について、以下に詳述する。

[0072] 本明細書中、「ハロゲン」は、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素である。

好ましくは塩素またはヨウ素であり、より好ましくは塩素である。

[0073] 本明細書中、「 C_{1-6} アルキル」は炭素数1～6(C_{1-6})の直鎖または分枝鎖状アルキルであり、その具体例としては、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、*n*-ペンチル、イソペンチル、ネオペンチル、*n*-ヘキシル、イソヘキシル、3-メチルペンチル等を例示できる。

また、「 C_{1-6} アルキル」には、1～7個の水素原子が重水素原子に置換された C_{1-6} アルキルも包含される。

[0074] 本明細書中、「 C_{1-6} アルキレン」は炭素数1～6(C_{1-6})の直鎖または分枝鎖状アルキレンを含み、その具体例は、メチレン、エチレン、1-メチルエチレン、2-メチルエチレン、トリメチレン、2-メチルトリメチレン、2,2-ジメチルトリメチレン、1-メチルトリメチレン、メチルメチレン、エチルメチレン、ジメチルメチレン、テトラメチレン、ペンタメチレン、ヘキサメチレン等である。

[0075] 本明細書中、「アリール」の例としては、6～14個の炭素原子を有するアリール(C_{6-14} アリール)、好ましくは C_{6-10} アリールが挙げられ、具体的には、フェニル、ナフチル、アンスリル、フェナントリル等の単環式、二環式または三環式の芳香族炭化水素環基が挙げられる。

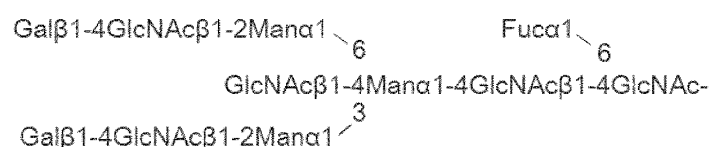
[0076] 本明細書中、「ヘテロアリール」の例としては、環構成原子として窒素、酸素および硫黄からなる群から独立して選択されるヘテロ原子を1～5個含有

する（単環式または多環式）芳香族複素環基が挙げられ、例えば3～15員の単環式、二環式または三環式の芳香族複素環基を含む。好ましいヘテロアリールは、5～10員ヘテロアリールである。ヘテロアリールの具体例としては、ピリジル、イミダゾリル、トリアゾリル、インドリル、キノリニル、オキサゾリル、チアゾリル等が挙げられる。

[0077] 本明細書中、「ポリエチレングリコール」はエチレングリコールが重合した構造をもつポリエーテルであり、好ましくは重合度が2～96であり、さらに好ましくは重合度が4～48であり、より好ましくは重合度が8～24である。ポリエチレングリコールは、異なる重合度を有するものの混合物であってもよいが、単一の重合度を有するものが好ましい。

[0078] 本明細書中、「オリゴ糖」は単糖がグリコシド結合によって2～約10個結合した糖類のオリゴマーであり、その具体例は、スクロース、マルトース、ラクトース、トレハロース、マルトトリオース、ラフィノース、パノース、メレジトース、スタキオース、マルトオリゴ糖、オリゴシアル酸、ヒアルロン酸、オリゴ（GlcNAc β 1-4GlcA β 1-3）、キトサン、オリゴ（ β 1→4-N-グルコサミン）、オリゴ（ β 1→4-N-アセチルグルコサミン）、シクロデキストリンまたは

[化59]



などである。

[0079] 本明細書中、アミノ酸またはアミノ酸残基は、L体とD体とを区別する場面において、特に断りのない限り、L-アミノ酸またはL-アミノ酸残基と表記していなくてもL体を意味することがあり、D体を意味する場合にはD-アミノ酸またはD-アミノ酸残基と表記することがある。

[0080] 本明細書中、アミノ酸またはアミノ酸残基は、ポリエチレングリコール、糖（例えばオリゴ糖）、クラウンエーテル、ポリサルコシン、スルホン酸含

有基、ホスホン酸含有基および／またはアミンもしくはアンモニウム塩含有基で置換されているものも含まれる。

- [0081] 本明細書中、クラウンエーテルは、エチレングリコールの環状ポリエーテルである。これらの一部は全体がエチレングリコール単位からなるとともにこれらの一部は環内に追加原子（窒素原子等）、置換基（例えばカルボキシ基、ヒドロキシ基、アミノ基、アルデヒド基、ベンゼン環）を含有していてもよい。クラウンエーテルの具体例としては、国際公開第2017/178828号に記載のものが挙げられる。
- [0082] 本明細書中、ポリサルコシンは、サルコシン（N-メチルグリシン）をモノマーとするポリマーである。ポリサルコシンの具体例としては、国際公開第2019/081455号に記載のものが挙げられる。
- [0083] 本明細書中、スルホン酸含有基は、例えば末端に $-SO_3H$ を有する基であり得る。ホスホン酸含有基は、例えば末端に $-PO_3H_2$ を有する基であり得る。アミンまたはアンモニウム塩含有基は、例えば末端に $-NH_2$ または $-N^+(CH_3)_3$ を有する基であり得る。これらの具体例としては、国際公開第2019/094395号に記載のものが挙げられる。
- [0084] 本明細書中、「開裂可能リンカー」は生体内の酵素で開裂可能なリンカーであれば特に制限されないが、標的とする部位に存在する酵素により開裂可能なリンカーが好ましい。開裂可能なリンカーの例としてカテプシン開裂リンカー、ピロホスファターゼ/ホスホエステラーゼ開裂リンカー、グリコシダーゼ開裂リンカー（ β -グルクロニダーゼ開裂リンカー）、カルボキシエステラーゼ開裂リンカー、レグマイン開裂リンカー、好中球エラスターゼ開裂リンカー、マトリックスメタロプロテイナーゼ開裂リンカー、繊維芽細胞活性化タンパク質開裂リンカーが挙げられる。
- [0085] 本明細書中、「カテプシン開裂リンカー」はカテプシンBによって開裂するリンカーであり、例えば、バリン残基-シトルリン残基からなるジペプチド残基、バリン残基-アラニン残基からなるジペプチド残基が挙げられる。
- [0086] 本明細書中、「ピロホスファターゼ/ホスホエステラーゼ開裂リンカー」は

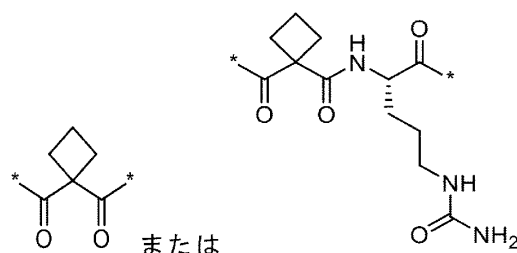
ピロホスファターゼ/ホスホエステラーゼによって開裂するリンカーであり、例えば、ピロリン酸残基、トリリン酸残基が挙げられる。

が挙げられる。

[0087] 本明細書中、「グリコシダーゼ開裂リンカー（ β -グルクロニダーゼ開裂リンカー）」はグリコシダーゼ（ β -グルクロニダーゼ）によって開裂するリンカーであり、例えば、2-(1-D-グルクロニル)-5-ヒドロキシメチル安息香酸残基が挙げられる。

[0088] 本明細書中、「カルボキシエステラーゼ開裂リンカー」はカルボキシエステラーゼによって開裂するリンカーであり、例えば、バリン-シトルリン（当該リンカーは、バリン残基-シトルリン残基と同義であり、便宜上、「残基」を省略している。以下のリンカーについても同じである）、フェニルアラニン-リジン、バリン-リジン、アラニン-リジン、フェニルアラニン-シトルリン、ロイシン-シトルリン、イソロイシン-シトルリン、トリプトファン-シトルリン、フェニルアラニン-アルギニン、バリン-アラニン、アラニン-アラニン、アラニン-D-アラニン-アラニン、グルタミン酸-D-アラニン-アラニン、グルタミン酸-バリン-シトルリン、

[化60]



が挙げられる。

[0089] 本明細書中、「レグマイン開裂リンカー」はレグマインによって開裂するリンカーであり、例えばアスパラギン-アスパラギン、アスパラギン-アラニン、アラニン-D-アラニン-アスパラギンが挙げられる。

[0090] 本明細書中、「好中球エラスターゼ開裂リンカー」は好中球エラスターゼによって開裂するリンカーであり、例えば、アスパラギン-プロリン-バリン

、アラニン-プロリン-バリン、D-アラニン-プロリン-バリン、アラニン-プロリン-ノルバリン、アラニン-アラニン-バリン、アラニン-アラニン-プロリン-アラニンが挙げられる。

[0091] 本明細書中、「マトリックスメタロプロテイナーゼ開裂リンカー」はマトリックスメタロプロテイナーゼによって開裂するリンカーであり、例えば、セリン-グリシン-アラニン-アルギニン-チロシン-アルギニン-トリプトファン-ロイシン-スレオニン-アラニン、セリン-グリシン-アルギニン-セリン-チロシン-アラニン-イソロイシン-ロイシン-スレオニン-アラニン、セリン-アルギニン-セリン-グリシン-アルギニン-セリン-プロリン-アラニン-イソロイシン-フェニルアラニン-スレオニン-アラニン-スレオニン-グリシン、グリシン-セリン-セリン-グリシン-アルギニン-セリン-プロリン-アラニン-イソロイシン-フェニルアラニン-スレオニン-アラニン-グリシン-セリン、セリン-グリシン-フェニルアラニン-イソロイシン-アラニン-アスパラギン-プロリン-バリン-スレオニン-アラニン、イソロイシン-セリン-セリン-グリシン-ロイシン-ロイシン-セリン-セリン、グルタミン-アスパラギン-グルタミン-アラニン-ロイシン-アルギニン-メチオニン-アラニン、アラニン-グルタミン-アスパラギン-ロイシン-ロイシン-グリシン-メチオニン-バリン、セリン-スレオニン-フェニルアラニン-プロリン-フェニルアラニン-グリシン-メチオニン-フェニルアラニン、プロリン-バリン-グリシン-チロシン-スレオニン-セリン-セリン-ロイシン、アスパラギン酸-トリプトファン-ロイシン-チロシン-トリプトファン-プロリン-グリシン-イソロイシン、メチオニン-イソロイシン-アラニン-プロリン-バリン-アラニン-チロシン-アルギニン、アルギニン-プロリン-セリン-プロリン-メチオニン-トリプトファン-アラニン-チロシン、トリプトファン-アラニン-スレオニン-プロリン-アルギニン-プロリン-メチオニン-アルギニン、フェニルアラニン-アルギニン-ロイシン-ロイシン-アスパラギン酸-トリプトファン-グルタミン-トリプトファン、ロイシン-リジン-アラニン-アラニン-プロリン-アルギニン-トリプトファン-アラニン、グリシン-プロリン-セリン-ヒスチジン-ロイシン-バリン-ロイシン-スレオニン

、ロイシン-プロリン-グリシン-グリシン-ロイシン-セリン-プロリン-トリプトファン、メチオニン-グリシン-ロイシン-フェニルアラニン-セリン-グルタミン酸-アラニン-グリシン、セリン-プロリン-ロイシン-プロリン-ロイシン-アルギニン-バリン-プロリン、アルギニン-メチオニン-ヒスチジン-ロイシン-アルギニン-セリン-ロイシン-グリシン、ロイシン-アラニン-アラニン-プロリン-ロイシン-グリシン-ロイシン-ロイシン、アラニン-バリン-グリシン-ロイシン-ロイシン-アラニン-プロリン-プロリン、ロイシン-ロイシン-アラニン-プロリン-セリン-ヒスチジン-アルギニン-アラニン、プロリン-アラニン-グリシン-ロイシン-トリプトファン-ロイシン-アスパラギン酸-プロリン、イソロイシン-セリン-セリン-グリシン-ロイシン-セリン-セリンが挙げられる。

[0092] 本明細書中、「繊維芽細胞活性化タンパク質開裂リンカー」は繊維芽細胞活性化タンパク質によって開裂するリンカーであり、例えば、D-アラニン-プロリン、グリシン-プロリン、アラニン-プロリン、アルギニン-プロリン、リジン-プロリン、セリン-プロリン、チロシン-プロリン、プロリン-ロイシン、プロリン-アスパラギンが挙げられる。

[0093] 本明細書中、「グルクロン酸で置換されているヒドロキシメチル安息香酸」はヒドロキシメチル安息香酸にグルクロン酸が置換されている化合物であり、例えば、2-(1-D-グルクロニル)-5-ヒドロキシメチル安息香酸が挙げられる。

[0094] 本明細書中、「置換基」の例としては、ポリエチレングリコール、糖（例えばオリゴ糖）、または、ポリエチレングリコール、糖（例えばオリゴ糖）、カルボン酸、スルホン酸もしくはホスホン酸で置換されていてもよい以下の群からなる。

(A) ハロゲン、

(B) -CN、

(C) -NO₂、

(E) -OH、

- (F) $-\text{CHO}$ 、
- (G) $-\text{COOH}$ またはそのエステル基、
- (H) $-\text{SO}_3\text{H}$ またはそのエステル基、
- (I) $-\text{SO}_2\text{H}$ 、
- (J) $-\text{SH}$ 、
- (K) $=\text{O}$ 、
- (L) $=\text{S}$ 、
- (M) $-\text{PO}_3\text{H}_2$ またはそのエステル基、
- (N) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル、
- (O) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルケニル、
- (P) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキニル、
- (Q) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルコキシ、
- (R) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルケニル- O -、
- (S) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキニル- O -、
- (T) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル- CO -、
- (U) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルケニル- CO -、
- (V) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキニル- CO -、
- (W) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル- COO -、

(X) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルコキシ-CO-

(Y) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル-S-

(Z) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル-SO-

(AA) 置換基群 (Ia) および (Ib) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル-SO₂-

(BB) 置換基群 (Ia)、(Ib)、(Ic) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいシクロアルキル、

(CC) 置換基群 (Ia)、(Ib)、(Ic) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいシクロアルコキシ、

(DD) 置換基群 (Ia)、(Ib)、(Ic) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいシクロアルケニル、

(EE) 置換基群 (Ia)、(Ib)、(Ic) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいシクロアルケニル-O-

(FF) 置換基群 (Ia)、(Ib)、(Ic) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいシクロアルキル-CO-

(GG) 置換基群 (Ia)、(Ib)、(Ic) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいシクロアルコキシ-CO-

(HH) 置換基群 (Ia)、(Ib) および (Ic) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアリール、

(II) 置換基群 (Ia)、(Ib) および (Ic) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアリール-O-

(JJ) 置換基群 (Ia)、(Ib) および (Ic) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアリール-CO-

(KK) 置換基群 (Ia)、(Ib) および (Ic) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアリール-O-CO-

(LL) 置換基群 (Ia)、(Ib) および (Ic) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル、

(MM) 置換基群 (Ia)、(Ib) および (Ic) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル-0-

(NN) 置換基群 (Ia)、(Ib) および (Ic) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル-C0-

(OO) 置換基群 (Ia)、(Ib) および (Ic) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル-0-C0-

(PP) 置換基群 (Ia)、(Ib)、(Ic) および=0から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいヘテロ環基、

(QQ) 置換基群 (Ia)、(Ib)、(Ic) および=0から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいヘテロ環-0-

(RR) 置換基群 (Ia)、(Ib)、(Ic) および=0から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいヘテロ環-C0-

(SS) 置換基群 (Ia)、(Ib)、(Ic) および=0から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいヘテロ環-0-C0-

(TT) 置換基群 (Ia) および (Ic) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアミノ、及び

(UU) 置換基群 (Ia) および (Ic) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいカルバモイル

からなる群から独立して選ばれる少なくとも1つの基が挙げられる。

置換基の数は、化学的に許容される限り制限されないが、例えば1~4個、1~3個、1または2個が挙げられる。

[0095] 「置換基群 (Ia)」は、

(a) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル-C0-

(b) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルケニル-C0-

- (c) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキニル-CO-
- (d) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルコキシ-CO-
- (e) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル-S-
- (f) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル-SO-
- (g) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル-SO₂-
- (h) 置換基群 (IIa)、(IIb)、(IIc) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいシクロアルキル、
- (i) 置換基群 (IIa)、(IIb)、(IIc) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいシクロアルコキシ、
- (j) 置換基群 (IIa)、(IIb)、(IIc) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいシクロアルケニル、
- (k) 置換基群 (IIa)、(IIb)、(IIc) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいシクロアルキル-CO-
- (l) 置換基群 (IIa)、(IIb)、(IIc) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいシクロアルコキシ-CO-
- (m) 置換基群 (IIa)、(IIb) および (IIc) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアリール、
- (n) 置換基群 (IIa)、(IIb) および (IIc) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアリール-CO-
- (o) 置換基群 (IIa)、(IIb) および (IIc) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアリール-O-CO-
- (p) 置換基群 (IIa)、(IIb) および (IIc) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアラルキル、

- (q) 置換基群 (IIa)、(IIb) および (IIc) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアラルキル-CO-
- (r) 置換基群 (IIa)、(IIb) および (IIc) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアラルキル-O-CO-
- (s) 置換基群 (IIa)、(IIb)、(IIc) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいヘテロ環基、
- (t) 置換基群 (IIa)、(IIb)、(IIc) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいヘテロ環-CO-
- (v) 置換基群 (IIa)、(IIb)、(IIc) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいヘテロ環-O-CO-ならびに
- (w) 置換基群 (IIa) および (IIc) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいカルバモイル
- からなる群である。

[0096] 「置換基群 (Ib)」は、

- (a) ハロゲン、
- (b) -CN、
- (c) -NO₂、
- (d) -OH、
- (e) -CHO、
- (f) -COOH、
- (g) -SO₃H、
- (h) -SH、
- (i) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルコキシ、
- (j) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルケニル-O-
- (k) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキニル-O-

- (l) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル-CO-、
 - (m) 置換基群 (IIa)、(IIb)、(IIc) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいシクロアルケニル-O-、
 - (n) 置換基群 (IIa)、(IIb) および (IIc) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアリール-O-、
 - (o) 置換基群 (IIa)、(IIb) および (IIc) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアラルキル-O-、
 - (p) 置換基群 (IIa)、(IIb)、(IIc) および=Oから独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいヘテロ環-O-ならびに
 - (q) 置換基群 (IIa) および (IIc) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアミノ
- からなる群である。

[0097] 「置換基群 (Ic)」は、

- (a) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキル、
 - (b) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルケニルならびに
 - (c) 置換基群 (IIa) および (IIb) から独立して選ばれる少なくとも1つの基を有していてもよいアルキニル
- からなる群である。

[0098] 「置換基群 (IIa)」は、-CHO、アルキル-CO-、アルケニル-CO-、アルキニル-CO-、アルコキシ-CO-、アルキル-SO₂-、シクロアルキル、シクロアルコキシ、シクロアルケニル、シクロアルキル-CO-、シクロアルコキシ-CO-、アリール、アリール-CO-、アリール-O-CO-、アラルキル、アラルキル-CO-、アラルキル-O-CO-、ヘテロ環、ヘテロ環-CO-、ヘテロ環-O-CO-、モノー又はジ- (アルキル-CO) -カルバモイルおよびモノー又はジ-アルキルカルバモイルからなる群である。

- [0099] 「置換基群 (IIb)」は、ハロゲン、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{NO}_2$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、アルコキシ、アルケニル- O -、アルキニル- O -、アルキル- C OO -、アルキル- S -、アルキル- SO -、シクロアルケニル- O -、アリール- O -、アラルキル- O -、ヘテロ環- O -、モノー又はジールキルアミノ、モノー又はジールキル- CO -アミノ、モノー又はジールコキシカルボニルアミノ、モノー又はジールキルカルボニルアミノおよびモノー又はジールアラルキルカルボニルアミノからなる群である。
- [0100] 「置換基群 (IIc)」は、アルキル、アルケニルおよびアルキニルからなる群である。
- [0101] 本明細書中、「抗体」は目的とする部位に存在する抗原と高い親和性を有すれば特に限定されないが、IgG、IgM、IgAまたはIgDが挙げられ、好ましくはIgGである。IgGは、IgG1、IgG2、IgG3またはIgG4を例示することができ、好ましくはIgG1またはIgG4である。抗体はポリクローナル抗体であってもよいがモノクローナル抗体であることが好ましい。抗体は、例えば、マウス抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体またはヒト抗体のいずれであってもよい。抗体は抗原結合フラグメントであってもよい。抗原結合フラグメントとしては、例えば、Fab、Fab'、 F(ab')_2 、Fv、scFv、scFv-Fc、diabody、triabody、tetrabody、minibody、nanobody (VHH)が挙げられる。
- [0102] 本発明に用いることができる抗体は、抗体自身が薬効を有していてもよい。このような抗体は、目的とする部位に存在する抗原との親和性がより高められているので、ADCを効率的に目的部位に送達することができ、薬物が効果的に目的部位に放出されるとともに、抗体自身の効力により、目的部位を治療することができる。このような抗体の例として、リツキシマブ、トラスツズマブ、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、イピリムマブ、ミリキズマブ、デュピルマブ、ベバシズマブ、インフリキシマブ、アダリムマブ、アブシキシマブ、ダクリズマブ、パリビズマブ、エタネルセプト、バシリキシマブ、ゲムツズマブ、アレムツズマブ、イブリツモマブ、アレファセプト、オマリズマブ、エファリズマブ、トシツモマブ、セツキシマブ、ナタリズマブ、

ラニビズマブ、パニツムマブ、エクリズマブ、リロナセプト、セルトリズマブ、ロミプロスチム、ベリムマブ、トシリズマブ、アトリズマブ、ミラツズマブ、メポリズマブ、ペルツズマブ、トレメリムマブ、イノツズマブ、アフリベルセプト、カツマキソマブ、オレゴボマブ、モタビズマブ、エファンゲマブ、及びラキシバクマブが挙げられる。

[0103] 本明細書中、「Payload（薬剤または薬物）」は抗体薬物複合体に搭載可能であり、標的とする組織で、生体内の酵素で開裂可能リンカーが切断され、該組織で薬効を発揮することができる遊離される低分子化合物または中分子化合物であり得る。

[0104] 本明細書中、「低分子化合物」とは、分子量が約500以下の化合物であり、「中分子化合物」は分子量が約500～約2000の化合物であることが好ましい。本明細書中、「約」とは、示された値に対して許容可能な誤差範囲内を意味し、例えば、示された値に対して±10%（好ましくは±5%）の範囲内を意味する。

また、Payloadは、所望の薬効を維持する限りにおいて、修飾してもよい。特に、薬物リンカー中間体との共有結合を形成するために、末端にアミノ基、カルボン酸、ヒドロキシ基を有する修飾が好ましい。

[0105] 薬剤の具体例として抗がん剤、殺細胞剤、免疫調節剤、毒素を挙げることができる。

[0106] 抗がん剤または殺細胞剤は、モノメチルアウリスタチンE、モノメチルアウリスタチンF、ベネトクラクス、エルロチニブ、ボルテゾミブ、フルベストラント、スーテント、レトロゾール、イマチニブメシレート、オキサリプラチン、ロイコボリン、ラパマイシン、ラパチニブ、ロナファルニブ、ソラフェニブ、ゲフィチニブ、アルキル化剤（例えば、チオテパ、シロホスファミド）、アルキルスルフォネート（例えば、ブスルファン、インプロスルファン又はピポスルファン）、アジリジン（例えば、ベンゾドパ、カルボコン、メツレドパ、又はウレドパ）、エチレンイミン、メチラメラミン、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、トリメチロメラミン、アセトゲニン（例えば、プラタシン又はプラタシノン）、カンプトテシン（例えば、合成アナログトポテカン、イリノテカン、トポイソメラーゼ阻害剤(RFS2000)）、ブリオスタチン、カリスタチン、アドゼレシン、クリプトフィシン（例えば、クリプトフィシン1又はクリプトフィシン8）、ドラスタチン、デュオカルマイシン（例えば、合成アナログ、KW-2189、CC-1065、カルゼレシン、ビゼレシン及びCB1-TM1）、エロイテロビン、パンクラチスタチン、サルコジクチン、スポンジスタチン、ナイトロジェンマスタード（例えば、クロラムブシル、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、塩酸メクロレタミンオキシド、メルファラン、ノベンピチン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、又はウラシルマスタード）、ニトロソウレア（例えば、カルムスチン、クロロゾトシン、フォテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、又はラニムスチン）、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 γ 1I及びカリケアマイシン ω 1Iから選択されるカリケアマイシン又はダイネマイシン、例えば、ダイネマイシンA）、ビスホスホネート（例えば、クロドロネート、イバンドロネート、エスペラマイシン、ネオカルチノスタチンクロモフォア、又は関連する色素タンパク質、エンジイン抗生物質クロモフォア、アクラシノマイシン、アクチノマイシン、アントラマイシン、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、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、ドキシソルビシン（例えば、モルホリノドキシソルビシン、シアノモルホリノドキシソルビシン、2-ピロリノ-ドキシソルビシン、リポソーマルドキシソルビシン又はデオキシドキシソルビシン）、エピルビシン、エソルビシン、マルセロマイシン、マイトマイシン（例えば、マイトマイシンC、ミコフェノール酸、ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルビシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタ

チン又はゾルピシン)、抗代謝物質(例えば、5-フルオロウラシル(5-FU)、カベシタビン、ゲムシタビン、葉酸アナログ(例えば、デノプテリン、メトトレキセート、エダトレキセート、プテロプテリン、アミノプテリン又はトリメトレキセート)、プリンアナログ(例えば、フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン又はチオグアニン)、ピリミジンアナログ(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、エノシタビン又はフロクスウリジン)、アンドロゲン(例えば、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン)又はテストラクトン)、抗副腎薬(例えば、アミノグルテチミド、ミトタン又はトリロスタン)、葉酸補充薬(例えば、フォリン酸)、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、ピサントレン、エダトラキセート、デフォファミン、デメコルシン、ジアジコン、エルフォルニチン、酢酸エリプチニウム、エボチロン、エトグルシド、硝酸ガリウム、ヒドロキシ尿素、レンチナン、ロニダイニン、メイタンシノイド(例えば、メイタンシン若しくはアンサミトシン)、トリコテセン(特に、T-2毒素、ベラクリンA、ロリジンA又はアングイジン)、ミトグアゾン、ミトキサントロン、モピダンモール、ニトラエリン、ペントスタチン、フェナメット、ピラルピシン、ロソキサントロン、2-エチルヒドラジド、プロカルバジン、ラゾキサン、リゾキシン、シゾフラン、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、ウレタン、ビンデシン、ダカルバジン、マンノムスチン、ミトブロニトール、ミトラクトール、ピポブロマン、ガシトシン、アラビノシド(「Ara-C」)、シクロホスファミド、チオテパ、タキソイド(例えば、パクリタキセル、ドキシタキセル)、クロラムブシル、6-チオグアニン、メルカプトプリン、白金アナログ(例えば、シスプラチン又はカルボプラチン)、ビンブラスチン、白金、エトポシド、イホスファミド、ミトキサントロン、ビンクリスチン、ビノレルピン、ノバントロン、テニポシド、ダウノマイシン、キセ

ローダ、CPT-11、ジフルオロメチルオルニチン(DFMO)、レチノイド（例えば、レチノイン酸）が挙げられる。

[0107] 免疫調節剤は、TLR7アゴニスト（例えば、イミキモド、レシキモドなど）、TLR8アゴニスト（例えば、VTX-2337など）、TLR9アゴニスト（例えば、ODN 2216、ODN1826、ODN2006、ODN2395、ODN21798など）、STINGアゴニスト（例えば、cGAMP、diABZI、SR-717など）、ステロイド（例えば、ブデソニド、デキサメタゾン、ブデノシド、トリアムシノロン、トリアムシノロンアセトニドなど）、PDE4阻害剤（例えば、GSK256066など）、LCK阻害剤（例えば、ダサチニブなど）が挙げられる。

[0108] 毒素は、植物毒素及び動物毒素を含む。動物毒素の例としては、ジフテリア毒素、ボツリヌス毒素、破傷風毒素、赤痢毒素、コレラ毒素、テトロド毒素、ブレベ毒素、及びシガ毒素が挙げられる。植物毒素の例としては、リシン及びAM-毒素が挙げられる。

[0109] 抗体薬物複合体では、薬剤が抗体と一体化している間は、薬効がない、または弱いため、細胞毒性が強く、薬剤単体で投与できないようなものであっても、投与可能である。

[0110] 本明細書中、「薬物抗体比（Drug-Antibody Ratio : DAR）」は、抗体1分子あたりに搭載している薬物数の平均値を表す。本発明におけるDARは、好ましくは、1、2、3、4、5、6、7または8であり、より好ましくは、2、4、6または8であり、さらに好ましくは4である。本発明におけるDARは、好ましくは2～6であり、より好ましくは3.2～4.8であり、さらに好ましくは3.6～4.4である。

[0111] 本明細書中、「保護基」は、保護基として機能すれば特に限定されないが、例えば、アルキル基類（例えば、メチル、エチル、イソプロピル、tert-ブチル、トリフルオロメチル、ヒドロキシメチル、2-ヒドロキシエチル、アセチルメチル）；アルキル（アルケニル）カルボニル基類（例えば、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、ペンタノイル、ピバロイル、バレリル、イソバレリル、クロロアセチル、ジクロロアセチル、トリクロロア

セチル、トリフルオロアセチル、メトキシアセチル、アクリロイル、プロピ
オイル、メタクリロイル、クロトノイル、イソクロトノイル、(E)-2-メチ
ル-2-ブテノイル) ; アリールカルボニル基類 (例えば、ベンゾイル、 α -ナ
フトイル、 β -ナフトイル、2-ブロモベンゾイル、4-クロロベンゾイル、2,4,
6-トリメチルベンゾイル、4-トルオイル、4-アニソイル、4-ニトロベンゾイ
ル、2-ニトロベンゾイル、2-(メトキシカルボニル)ベンゾイル、4-フェニ
ルベンゾイル) ; テトラヒドロ (チオ) ピラニル (フラニル) 基類 (例えば
、テトラヒドロピラン-2-イル、3-ブモテトラヒドロピラン-2-イル) ; シ
リル基類 (例えば、トリメチルシリル、トリエチルシリル、イソプロピルジ
メチルシリル、tert-ブチルジメチルシリル、tert-ブチルジフェニルシリル
、メチルジイソプロピルシリル、メチルジtert-ブチルシリル、トリイソプロ
ピルシリル、ジフェニルメチルシリル、ジフェニルブチルシリル、ジフェニ
ルイソプロピルシリル、フェニルジイソプロピルシリル、トリフェニルシリ
ル、ジtert-ブチルイソブチルシリル) ; アルコキシメチル基類 (例えば、メ
トキシメチル、1,1-ジメチル-1-メトキシメチル、エトキシメチル、プロポキ
シメチル、イソプロポキシメチル、ブトキシメチル、tert-ブトキシメチル、
2-メトキシエトキシメチル、2,2,2-トリクロロエトキシメチル、ビス (2-ク
ロロエトキシ) メチル) ; アラルキル基類 (例えば、ベンジル、 α -ナフチル
メチル、 β -ナフチルメチル、ジフェニルメチル、トリフェニルメチル、 α -
ナフチルジフェニルメチル、9-アンスリルメチル、4-メチルベンジル、2,4,6
-トリメチルベンジル、3,4,5-トリメチルベンジル、4-メトキシベンジル、4-
メトキシフェニルジフェニルメチル、2-ニトロベンジル、4-ニトロベンジル
、4-クロロベンジル、4-ブロモベンジル、4-シアノベンジル) ; カルバマー
ト基類 (例えば、tert-ブチルカルバマート、アリルカルバマート、ベンジル
カルバマート) 等が挙げられる。

[0112] 本明細書中、「保護剤」は、目的の官能基に保護基を導入することができ
れば特に限定されないが、例えば、アルキル化剤 (例えば、ジメチル硫酸、
ジアゾメタン、メチルブロミド、メチルヨージド、Meerwein試薬、メチルト

リフルオロメタンスルホナート、エチルブロミド、イソブチレン、2-ヒドロキシエチルブロミド）；アルキル（アルケニル）カルボニル化剤（例えば、無水酢酸、アセチルクロリド、ケテン、プロピオニルクロリド、ブチリルクロリド、ピバロイルクロリド、クロロアセチルクロリド、トリフルオロ酢酸無水物）；アリールカルボニル化剤（例えば、ベンゾイルクロリド、安息香酸無水物、ベンゾイルシアニド、 α -ナフトイルクロリド）；テトラヒドロ（チオ）ピラニル（フラニル）化剤（3,4-ジヒドロ-2H-ピラン、2,3-ジヒドロフラン、2-クロロテトラヒドロフラン）；シリル化剤（例えば、トリメチルシリルクロリド、トリエチルシリルクロリド、イソプロピルジメチルシリルクロリド、tert-ブチルジメチルシリルクロリド、メチルジイソプロピルシリルクロリド、メチルジtert-ブチルシリルクロリド、トリイソプロピルシリルクロリド、ジフェニルメチルシリルクロリド、ジフェニルブチルシリルクロリド、ジフェニルイソプロピルシリルクロリド、フェニルジイソプロピルシリルクロリド、トリフェニルシリルクロリド、ジtert-ブチルイソブチルシリルトリフラートをを用い、塩基としてイミダゾール、ピリジン、2,6-ルチジンなどを用いる）；アルコキシメチル化剤（例えば、メトキシメチルクロリド、メトキシメチルブロミド、ジジメトキシメタン、エトキシメチルクロリド、2-メトキシエトキシメチルクロリド、2,2,2-トリクロロエトキシメチルクロリド、2-トリメチルシリルエトキシメチルクロリド、ベンジルオキシメトキシメチルクロリド、エチルビニルエーテル）；アラルキル化剤（例えば、ベンジルクロリド、ベンジルブロミド、ベンジル2,2,2-トリクロロアセトイミダート、4-メトキシベンジルクロリド、トリフェニルメチルクロリド、トリフェニルメチルブロミド）；カルバマート基類（例えば、二炭酸ジ-tert-ブチル、クロロギ酸アリル、二炭酸ジアリル、クロロギ酸ベンジル、二炭酸時ベンジル）が挙げられる。

[0113] 本明細書中、「脱保護剤」は、保護基を脱保護することができれば特に限定されないが、例えば、アルキル基類（例えば、トリメチルシリルヨージド、三臭化ホウ素、塩化アルミニウム/エタンチオール）；アルキル（アルケニ

ル)カルボニル基類(例えば、強アルカリ水溶液、アンモニア水、メチルアミン、2-アミノエタンチオール、チオウレア、テトラブチルアンモニウムヒドロキシド、ジイソブチルアルミニウムヒドリド、リチウムアルミニウムヒドリド、ヒドラジン、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体/ジメチルスルフィド)；アリールカルボニル基類[アルキル(アルケニル)カルボニル基類の脱保護剤を用いることが出来る]；テトラヒドロピラニル(フラニル)基類(例えば、ピリジニウムp-トルエンスルホナート、p-トルエンスルホン酸、酢酸、塩酸、トリフルオロ酢酸)；シリル基類(例えば、フッ化テトラ-n-ブチルアンモニウム/テトラヒドロフラン、炭酸カリウム/メタノール、2%フッ化水素酸、フッ化水素酸/ピリジン)；アルコキシメチル基類(例えば、ピリジニウムp-トルエンスルホナート、チオフェノール/三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体、カテコールボロンブロミド、トリメチルシリルブロミド、ブロモジメチルボラン、リチウムテトラフルオロボラート、塩酸、トリフルオロ酢酸、二臭化亜鉛、四塩化チタン、トリメチルシリルクロリド/ヨウ化ナトリウム、テトラフルオロホウ酸、亜鉛、亜鉛/銅、リチウム/アンモニア)；アリル基類(例えば、水素/パラジウム炭素、ギ酸アンモニウム/パラジウム炭素、ラネーニッケル、トリメチルシリルヨージド、三臭化ホウ素、三塩化ホウ素、ジクロロジシアノキノン、セリウムアンモニウムナイトライト)；カルバマート基類(tert-ブチルカルバマート基の脱保護は、例えば、塩酸/酢酸エチル、トリフルオロ酢酸、トリメチルシリルヨージド、塩化アルミニウム/アニソールなどが挙げられ、アリルカルバマート基の脱保護は、例えば、パラジウム(0)触媒(テトラキストリフェニルホスフィンパラジウムやトリスジベンジリデンアセトンジパラジウムなど)と求核剤(モルホリン、ジメドン、ギ酸、2-エチルヘキサン酸など)の組み合わせ、ヨウ素/含水アセトニトリルなどが挙げられ、ベンジルカルバマート基の脱保護には、例えば、パラジウム炭素を用いる接触水素化分解、トリメチルシリルヨージド、トリフルオロ酢酸などが挙げられる)などが挙げられる。

[0114] 本明細書中、「縮合剤」は、特に限定されないが、具体的には、1-[3-(ジ

メチルアミノ)プロピル]-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (WSC・HCl)、N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC)、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド (DIC)、N,N'-カルボニルジイミダゾール (CDI)、4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリド (DMTMM)、ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリス(ジメチルアミノ)ホスホニウムヘキサフルオロリン酸塩 (BOP)、ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリピロリジノホスホニウムヘキサフルオロリン酸塩 (PyBOP)、0-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸塩 (HATU)、(1-シアノ-2-エトキシ-2-オキソエチリデンアミノオキシ)ジメチルアミノモルホリノカルベニウムヘキサフルオロホスファート (COMU) 等であり、好ましくは、WSC・HCl、HATU、COMUである。

[0115] 本明細書中、「酸」は、特に限定されないが、例えば、無機酸、有機酸等が挙げられる。「無機酸」の例としては、塩酸、硫酸、硝酸、臭化水素酸、リン酸等が挙げられる。「有機酸」の例としては、酢酸、トリフルオロ酢酸、シュウ酸、フタル酸、フマル酸、酒石酸、マレイン酸、クエン酸、コハク酸、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、10-カンファースルホン酸等が挙げられる。これらから1種または2種以上を適宜選択、混合して使用することができる。

[0116] 本明細書中、「塩基」は、例えば、無機塩基、有機塩基等が挙げられる。「無機塩基」の例としては、アルカリ金属水酸化物（例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム）、アルカリ土類金属水酸化物（例えば、水酸化マグネシウム、水酸化カルシウム）、アルカリ金属炭酸塩（例えば、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム）、アルカリ土類金属炭酸塩（例えば、炭酸マグネシウム、炭酸カルシウム）、アルカリ金属炭酸水素塩（例えば、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム）、アルカリ金属リン酸塩（例えば、リン酸ナトリウム、リン酸カリウム）、アルカリ土類金属リン酸塩（例えば、リン酸ナトリウム、リン酸カリウム）等が挙げられる。「有機塩基」の例としては、トリアルキルアミン（例えば、トリメチルアミン、トリエチルアミン、ジイソ

プロピルエチルアミン)、ピコリン、1,5-ジアザビシクロ[4.3.0]ノン-5-エン、1,4-ジアザビシクロ[2.2.2]オクタン及び1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデカ-7-エン等が挙げられる。

- [0117] 本明細書中、「還元剤」は、目的の官能基を還元することができれば特に限定されないが、例えば、リチウムアルミニウムヒドリド、ジイソブチルアルミニウムヒドリド、ナトリウムジヒドロビス(2-メトキシエトキシ)アルミナート、水素化ホウ素リチウム等が用いられる。
- [0118] 本明細書において「脱離基」は、例えば、ハロゲン、1つ以上の置換基で置換されていてもよいアルカンスルホニル(例えば、メタンスルホニルなどの C_{1-18} アルカンスルホニル)、 σ -電子吸引基(例えば、1つ以上の置換基で置換されていてもよいアシルオキシ、1つ以上の置換基で置換されていてもよいアリールオキシ(例えば、フェニルオキシなどの C_{6-14} アリールオキシ)、1つ以上の置換基で置換されていてもよいアルカンスルホニルオキシ(例えば、メチルスルホニルオキシ、エチルスルホニルオキシなどの C_{1-6} アルカンスルホニルオキシ)、1つ以上の置換基で置換されていてもよいアリールスルホニルオキシ(例えば、ベンゼンスルホニルオキシ、*p*-トルエンスルホニルオキシ、2,4,6-トリメチルベンゼンスルホニルオキシ、2-ニトロベンゼンスルホニルオキシ、4-ニトロベンゼンスルホニルオキシなどの C_{6-14} アリールスルホニルオキシ)、アラルキルスルホニルオキシ、ペルハロアルカンスルホニルオキシ(例えば、トリフルオロメチルスルホニルオキシなどのペルハロ C_{1-6} アルカンスルホニルオキシ)、スルホニオ、1つ以上の置換基で置換されていてもよいアリールスルホキシ(例えば、トルエンスルホキシなどの C_{6-14} アリールスルホキシ))を挙げることができ、好ましくはハロゲンが挙げられる。
- [0119] 上記「ハロゲン」は、フッ素、塩素、臭素又はヨウ素である。
- [0120] 上記「アルカンスルホニル」の例としては、炭素数1~18の直鎖又は分枝鎖状アルカンスルホニル(C_{1-18} アルカンスルホニル)を含み、その具体例は、メタンスルホニル、1-プロパンスルホニル、2-プロパンスルホニル、ブタンスルホニル、シクロヘキサンスルホニル、ドデカンスルホニル、オクタデカン

スルホニル等である。

- [0121] 上記「電子吸引基」は、ハメット則の置換基定数 (σ) が正の値である基を意味する。電子吸引基の例としては、トリフルオロメチル、シアノ、アシル、置換基で置換されていてもよいフェニル、 C_{1-6} アルカンスルホニル、アリールスルホニル、アラキルスルホニル、ペルハロアルカンスルホニル等が挙げられる。
- [0122] 上記「アシルオキシ」の例としては、炭素数1~6の直鎖又は分岐鎖状アルキルカルボニルオキシを含み、その具体例は、アセトキシ、プロピオニルオキシ等である。
- [0123] 上記「1つ以上の置換基で置換されていてもよいアリールオキシ」の例としては、フェニル環上に置換基として炭素数1~6の直鎖又は分岐鎖状アルキル、炭素数1~6の直鎖又は分岐鎖状アルコキシ、ニトロ及びハロゲンからなる群より選ばれた基を1~3個有することのあるフェニルオキシ等を含み、その具体例はp-ニトロフェニルオキシ等である。
- [0124] 上記「アルカンスルホニルオキシ」の例としては、炭素数1~6の直鎖又は分岐鎖状アルカンスルホニルオキシ (C_{1-6} アルカンスルホニルオキシ) を含み、その具体例は、メタンスルホニルオキシ、エタンスルホニルオキシ、1-プロパンスルホニルオキシ、2-プロパンスルホニルオキシ、1-ブタンスルホニルオキシ、3-ブタンスルホニルオキシ、1-ペンタンスルホニルオキシ、1-ヘキサンスルホニルオキシ等である。
- [0125] 上記「アリールスルホニルオキシ」の例としては、フェニル環上に置換基として炭素数1~6の直鎖又は分岐鎖状アルキル、炭素数1~6の直鎖又は分岐鎖状アルコキシ、ニトロ及びハロゲンなる群より選ばれた基を1~3個有することのあるフェニルスルホニルオキシ、ナフチルスルホニルオキシ等を含む。上記「置換基を有することのあるフェニルスルホニルオキシ」の具体例は、フェニルスルホニルオキシ、4-メチルフェニルスルホニルオキシ、2-メチルフェニルスルホニルオキシ、4-ニトロフェニルスルホニルオキシ、4-メトキシフェニルスルホニルオキシ、2-ニトロフェニルスルホニルオキシ、3-ク

ロロフェニルスルホニルオキシ等である。上記「ナフチルスルホニルオキシ」の具体例は、 α -ナフチルスルホニルオキシ、 β -ナフチルスルホニルオキシ等である。

[0126] 上記「アラルキルスルホニルオキシ」の例としては、フェニル環上に置換基として炭素数1～6の直鎖又は分枝鎖状アルキル、炭素数1～6の直鎖又は分枝鎖状アルコキシ、ニトロ及びハロゲンなる群より選ばれた基を1～3個有することのあるフェニルで置換された炭素数1～6の直鎖又は分枝鎖状アルカンスルホニルオキシ、ナフチルで置換された炭素数1～6の直鎖又は分枝鎖状アルカンスルホニルオキシ等を含む。上記「フェニルで置換されたアルカンスルホニルオキシ」の具体例は、ベンジルスルホニルオキシ、2-フェニルエチルスルホニルオキシ、4-フェニルブチルスルホニルオキシ、4-メチルベンジルスルホニルオキシ、2-メチルベンジルスルホニルオキシ、4-ニトロベンジルスルホニルオキシ、4-メトキシベンジルスルホニルオキシ、3-クロロベンジルスルホニルオキシ等である。上記「ナフチルで置換されたアルカンスルホニルオキシ」の具体例は、 α -ナフチルメチルスルホニルオキシ、 β -ナフチルメチルスルホニルオキシ等である。

[0127] 上記「ペルハロアルカンスルホニルオキシ」の具体例は、トリフルオロメタンスルホニルオキシ等のペルフルオロアルカンスルホニルオキシである。

[0128] 上記「スルホニオ」の具体例は、ジメチルスルホニオ、ジエチルスルホニオ、ジプロピルスルホニオ、ジ(2-シアノエチル)スルホニオ、ジ(2-ニトロエチル)スルホニオ、ジ-(アミノエチル)スルホニオ、ジ(2-メチルアミノエチル)スルホニオ、ジ-(2-ジメチルアミノエチル)スルホニオ、ジ-(2-ヒドロキシエチル)スルホニオ、ジ-(3-ヒドロキシプロピル)スルホニオ、ジ-(2-メトキシエチル)スルホニオ、ジ-(2-カルバモイルエチル)スルホニオ、ジ-(2-カルバモイルエチル)スルホニオ、ジ-(2-カルボキシエチル)スルホニオ、ジ-(2-メトキシカルボニルエチル)スルホニオ又はジフェニルスルホニオ等である。

[0129] 本明細書中、「溶媒」は、反応に不活性な溶媒を含み、例えば、水、エーテル（例えば、ジオキサン、テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル、1,2-

ジメトキシエタン、ジエチレングリコールジメチルエーテル、エチレングリコールジメチルエーテル)、ハロ炭化水素(例えば、塩化メチレン、クロロホルム、1,2-ジクロロエタン、四塩化炭素)、芳香族炭化水素(例えば、ベンゼン、トルエン、キシレン)、 C_{1-6} アルコール(例えば、メタノール、エタノール、イソプロパノール)、極性溶剤(例えば、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)、N-メチルピロリドン(NMP)、ジメチルスルホキシド(DMSO)、ヘキサメチルリン酸トリアミド、アセトニトリル)が挙げられる。これらの溶媒は、1種単独で又は2種以上混合して使用される。また、無溶媒で反応させることもできる。

[0130] 本明細書中、「緩衝液」は、所定の範囲内においてpHを維持することができる緩衝作用のある溶液であれば特に限定されないが、例えば、リン酸緩衝液、ホウ酸緩衝液を挙げることができる。該緩衝液には、キレート剤を含んでいてもよい。キレート剤としては例えば、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、グリコールエーテルジアミン四酢酸(EGTA)を挙げることができる。

[0131] 本発明の一般式[ML-I]で表される化合物(以下、「本発明の化合物[ML-I]」と称する。)における各置換基について、以下に説明する。

[0132] 本発明の化合物[ML-I]におけるXは脱離基であり、脱離して抗体等を結合可能な基であれば特に制限されない。Xは、好ましくはハロゲン、アルカンスルホニルオキシまたはアリアルスルホニルオキシであり、より好ましくはハロゲンであり、さらに好ましくは塩素、臭素またはヨウ素であり、さらにより好ましくは塩素またはヨウ素であり、特に好ましくは塩素である。

[0133] 本発明の化合物[ML-I]における R^1 および R^2 は、同一または異なって、各々独立して、水素、1つ以上の置換基で置換されていてもよい C_{1-6} アルキルまたは1つ以上の置換基で置換されていてもよい C_{1-6} アルキレン- R^{11} であり、水素、 C_{1-6} アルキルまたは C_{1-6} アルキレン- R^{11} であることが好ましい(ただし、 R^1 と R^2 は同時に水素ではない)。ここで、 R^{11} は $COOH$ 、 SO_3H もしくは PO_3H_2 またはそのエステル基である。当該エステル基は、好ましくはアルキルエステル基、より好ましくは C_{1-6} アルキルエステル基、さらに好ましくは C_{1-4} アルキルエステル基であ

る。R¹¹は、COOHまたはSO₃Hであることが好ましく、PO₃H₂またはP(=O)(OC₂H₅)(OC₂H₅)であることも好ましい。R¹およびR²は、各々独立して、水素、メチル、エチル、プロピル、-(CH₂)₃-SO₃Hまたは-(CH₂)₅-COOHであることが好ましく、-(CH₂)₃-PO₃H₂または-(CH₂)₃-P(=O)(OC₂H₅)(OC₂H₅)であることも好ましい。さらに好ましくは、R¹は、水素、メチル、プロピル、-(CH₂)₃-SO₃H、-(CH₂)₃-PO₃H₂または-(CH₂)₃-P(=O)(OC₂H₅)(OC₂H₅)であり、R²は、-(CH₂)₅-COOHである。

[0134] 本発明の化合物[ML-I]におけるR¹およびR²は、隣接する窒素原子とともに、さらに窒素原子を環構成原子として含有する7員環（好ましくはトリアゼパン、さらに好ましくは1, 2, 5-トリアゼパン）を形成してもよい。該環は置換基を有しており、該置換基は1つ以上の置換基で置換されていてもよい-C(=O)-C₁₋₆アルキレン-R¹¹、好ましくは-C(=O)-C₁₋₆アルキレン-R¹¹、より好ましくは-C(=O)-C₁₋₆アルキレン-COOH、さらに好ましくは-C(=O)-(CH₂)₂-COOHである。

[0135] 本発明の化合物[ML-I]は、一般式[ML-Ia]または一般式[ML-Ib]で表される化合物であることが好ましい。

[0136] 本発明の一般式[MCL-I α]、[MCL-I]、[MCL-II α]または[MCL-II]で表される薬物リンカー中間体（以下、「本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I α]、[MCL-I]、[MCL-II α]または[MCL-II]」と称する。）における各置換基について、以下に説明する。

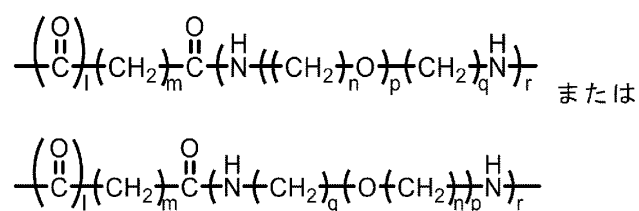
[0137] 本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I α]、[MCL-I]、[MCL-II α]または[MCL-II]におけるXは脱離基であり、好ましくはハロゲン、アルカンスルホニルオキシまたはアリールスルホニルオキシであり、より好ましくはハロゲンであり、さらに好ましくは塩素、臭素またはヨウ素であり、さらにより好ましくは塩素またはヨウ素であり、特に好ましくは塩素である。

[0138] 本発明の薬物リンカー中間体[MCL-II α]または[MCL-II]におけるR¹は、水素、1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキルまたは1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキレン-R¹¹であり、水素、C₁₋₆アルキルまたはC₁₋₆アルキレン-R¹¹であることが好ましい。ここで、R¹¹はCOOH、SO₃HもしくはPO₃H₂またはそのエステル基であり、好ましくはCOOH、SO₃H、-(CH₂)₃-PO₃H₂また

は $-(\text{CH}_2)_3-\text{P}(=\text{O})(\text{OC}_2\text{H}_5)(\text{OC}_2\text{H}_5)$ であり、さらに好ましくは SO_3H 、 $-(\text{CH}_2)_3-\text{PO}_3\text{H}_2$ または $-(\text{CH}_2)_3-\text{P}(=\text{O})(\text{OC}_2\text{H}_5)(\text{OC}_2\text{H}_5)$ である。好ましくは、 R' は、水素、メチル、プロピル、 $-(\text{CH}_2)_3-\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3-\text{PO}_3\text{H}_2$ または $-(\text{CH}_2)_3-\text{P}(=\text{O})(\text{OC}_2\text{H}_5)(\text{OC}_2\text{H}_5)$ である。

[0139] 本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I α]、[MCL-I]、[MCL-II α]または[MCL-II]における L^1 は、

[化61]

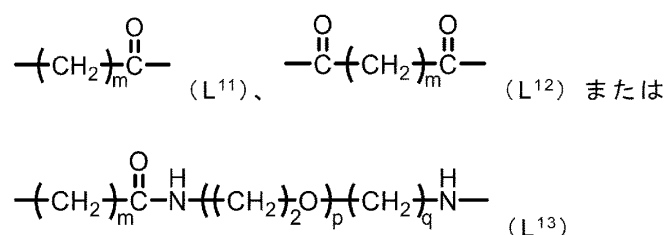


である。上記式の右末端が L^2 に結合することが好ましい。

上記式中、各メチレン $(-\text{CH}_2-)$ は1つ以上の置換基、好ましくはポリエチレングリコール、糖（例えばオリゴ糖）、クラウンエーテル、ポリサルコシン、スルホン酸含有基、ホスホン酸含有基またはアミンもしくはアンモニウム塩含有基で置換されていてもよい。一実施形態において、糖は、単糖、二糖またはシクロデキストリンであり、これらの中の1個の糖で置換されていてもよく、互いに同一又は異なる複数の糖（例えば、2個の二糖、2個のシクロデキストリン）で置換されていてもよい。

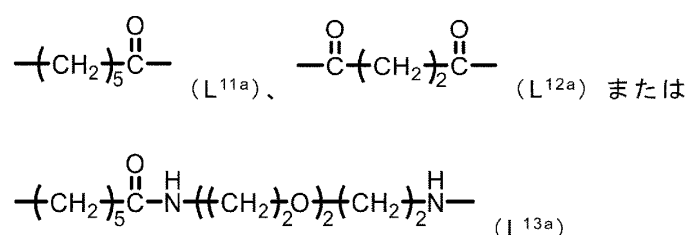
l および r は各々独立して、0または1であり、 m 、 n 、 p および q は各々独立して、1～6の整数である。 l と r の組合せ (l, r) は $(0, 0)$ 、 $(1, 0)$ または $(0, 1)$ であることが好ましい。薬物リンカー中間体[MCL-I α]または[MCL-I]の場合、 l が1であることが好ましい。薬物リンカー中間体[MCL-II α]または[MCL-II]の場合、 l が0であることが好ましい。 m は2～5の整数であることが好ましい。 n 、 p および q は各々独立して、2～5の整数であることが好ましい。 L^1 は、好ましくは

[化62]



であり、さらに好ましくは

[化63]



である。薬物リンカー中間体[MCL-I α]または[MCL-I]の場合、L¹はL¹²であることが好ましく、L^{12a}であることがさらに好ましい。薬物リンカー中間体[MCL-II α]または[MCL-II]の場合、L¹はL¹¹またはL¹³であることが好ましく、L^{11a}またはL^{13a}であることがさらに好ましい。

[0140] 本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I α]、[MCL-I]、[MCL-II α]または[MCL-II]におけるL²は、結合または開裂可能リンカーである。

[0141] 本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I α]、[MCL-I]、[MCL-II α]または[MCL-II]における開裂可能リンカーは、カテプシン開裂リンカー、ピロホスファターゼ/ホスホエステラーゼ開裂リンカー、グリコシダーゼ開裂リンカー（ β -グルクロニダーゼ開裂リンカー）、カルボキシエステラーゼ開裂リンカー、レグマイン開裂リンカー、サルファターゼ開裂リンカー、好中球エラスターゼ開裂リンカー、マトリックスメタロプロテイナーゼ開裂リンカーまたは繊維芽細胞活性化タンパク質開裂リンカーであることが好ましい。

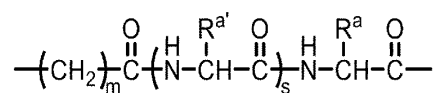
[0142] 本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I α]、[MCL-I]、[MCL-II α]または[MCL-II]における開裂可能リンカーは、グルクロン酸で置換されているヒドロキシメチル安息香酸残基、ペプチド残基、ピロリン酸（ニリン酸）残基またはジ

スルフィドであることが好ましい。グルクロン酸で置換されているヒドロキシメチル安息香酸残基は、好ましくは2-(1-D-グルクロニル)-5-ヒドロキシメチル安息香酸残基である。ペプチド残基は、モノペプチド残基、ジペプチド残基およびポリペプチド残基（例えば、トリペプチド残基、テトラペプチド残基）を含み、1個または2～20個のアミノ酸残基で構成されることが好ましい。

[0143] 本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I α]、[MCL-I]、[MCL-II α]または[MCL-II]における開裂可能リンカーの一つであるペプチド残基は、バリンおよびシトルリンからなるジペプチド (Val-Cit)、アラニンおよび/またはD-アラニンからなるジペプチド（例えばAla-Ala、D-Ala-D-Ala、Ala-D-Ala、D-Ala-Ala）、グルタミン酸、D-アラニンおよび/またはアラニンからなるトリペプチド（例えばGlu-D-Ala-Ala、Glu-Ala-Ala）、グルタミン酸の末端カルボン酸にポリエチレングリコール(PEG)または糖（例えばオリゴ糖(Oligo)）が付加したグルタミン酸、D-アラニンおよび/またはアラニンからなるトリペプチド（例えばGlu(PEG)-D-Ala-Ala、Glu(PEG)-Ala-Ala、Glu(Oligo)-D-Ala-Ala、Glu(Oligo)-Ala-Ala）またはフェニルアラニンおよび3個のグリシンからなるテトラペプチド（例えばGly-Gly-Phe-Gly）であることが好ましい。これらのリンカーは、左末端がL¹に結合し、右末端がL³に結合する（例えば、Val-Citの場合、バリン残基がL¹に結合し、シトルリン残基がL³に結合する）ことが好ましい。

[0144] 本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I]または[MCL-II]におけるL¹-L²は、一実施形態において、

[化64]



[ここで、

R^aおよびR^{a'} は各々独立してアミノ酸の側鎖を表し；

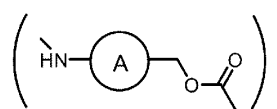
sは1～5の整数であり；

mは前記と同意義である]

であることが好ましい。

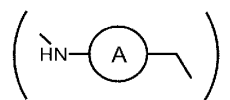
[0145] 本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I α]、[MCL-I]、[MCL-II α]または[MCL-II]におけるL³は結合、アミノ(アリールまたはヘテロアリール)メチルオキシカルボニル

[化65]



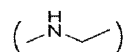
アミノ(アリールまたはヘテロアリール)メチル

[化66]



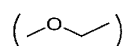
アミノメチル

[化67]



またはオキシメチル

[化68]



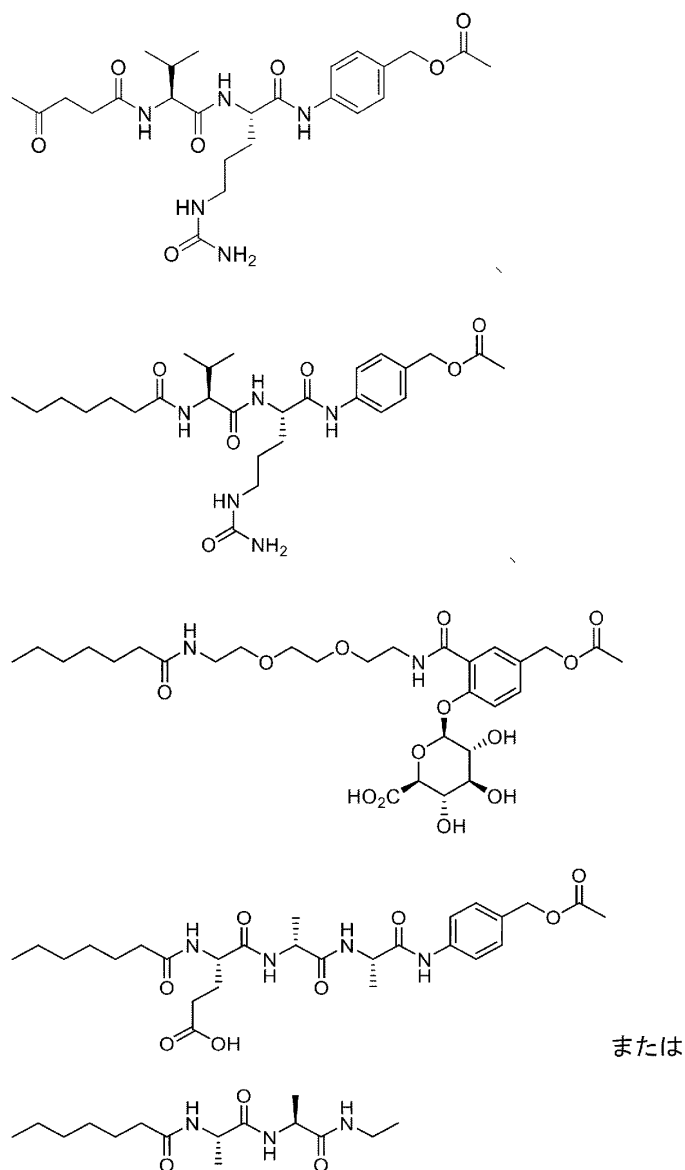
であり、Aは1つ以上（例えば1または2個）の置換基で置換されていてもよいアリールまたはヘテロアリールであり、好ましくはフェニルである。置換基は、好ましくはポリエチレングリコール、糖またはこれらを末端に有する基である。L³は、好ましくは結合、p-アミノベンジルオキシカルボニル、p-アミノベンジル、アミノメチルまたはオキシメチルであり、さらに好ましくはp-アミノベンジルオキシカルボニルである。これらのリンカーは、左末端がL²に結合することが好ましい。

[0146] 本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I α]、[MCL-I]、[MCL-II α]または[MCL-II]におけるLGは脱離基であることが好ましい。LGは、ハロゲンまたはO-電子

吸引基であることが好ましく、これらは脱離基であり得る。LGは、好ましくはハロゲン、1つ以上の置換基で置換されていてもよいアシルオキシまたは1つ以上の置換基で置換されていてもよいアリールオキシであり、より好ましくはハロゲン、アシルオキシまたはアリールオキシであり、さらに好ましくは塩素、アセトキシまたはp-ニトロフェニルオキシである。

[0147] 本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I α]または[MCL-II α]におけるLは、L¹、L²およびL³を含む限り、特に制限されず、L¹、L²およびL³が順不同に直鎖又は分岐鎖状に連結したもの（例えばL¹-L²-L³）であり得る。本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I]または[MCL-II]におけるL¹-L²-L³は、

[化69]



であることが好ましい。

[0148] 本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I α]、[MCL-I]、[MCL-II α]または[MCL-II]は、一般式[MCL-Ia]、一般式[MCL-IIa]、一般式[MCL-IIb]または一般式[MCL-IIc]で表される薬物リンカー中間体であることが好ましい。

[0149] 本発明の一般式[ADL-I α]、[ADL-I]、[ADL-II α]または[ADL-II]で表される薬物リンカー（以下、「本発明の薬物リンカー[ADL-I α]、[ADL-I]、[ADL-

II α]または[ADL-II]」と称する。)における各置換基について、以下に説明する。

[0150] 本発明の薬物リンカー[ADL-I α]、[ADL-I]、[ADL-II α]または[ADL-II]におけるX、R¹、L¹、L²およびL³は、本発明の薬物リンカー中間体[MCL-I α]、[MCL-I]、[MCL-II α]または[MCL-II]と同様の基が挙げられ、好ましい基も同じである。

[0151] 本発明の薬物リンカー[ADL-I α]、[ADL-I]、[ADL-II α]または[ADL-II]において、Payloadで示される薬物は、抗体薬物複合体に搭載可能であり、標的とする組織で、生体内の酵素で開裂可能リンカーが切断され、該組織で薬効を発揮することができる遊離される薬物であれば、特に限定されない。該薬物としては、低分子化合物または中分子化合物を挙げることができ、分子量は、例えば約15000以下、約6000以下、又は約2000以下である。低分子化合物は、通常、分子量が約500以下の化合物である。中分子化合物としては、分子量が約500～約2000の化合物（天然物等）、分子量が約600～約6000の化合物（ペプチド等）、分子量が約3000～15000の化合物（siRNA、アンチセンス核酸等）を挙げることができる。該薬物としては、抗がん剤、殺細胞剤、免疫調節剤、毒素等を挙げることができる。

[0152] 本発明の薬物リンカー[ADL-I α]、[ADL-I]、[ADL-II α]または[ADL-II]において、Payloadで示される薬物は、例えば、下記(1)～(3)の薬物を挙げることができる。

(1) 抗がん剤または殺細胞剤

モノメチルアウリスタチンE、モノメチルアウリスタチンF、ドラスタチン、メイタンシノイド（例えば、メイタンシン若しくはアンサミトシン）、カンプトテシン（例えば、合成アナログトポテカン、イリノテカン、RFS2000）、クリプトフィシン（例えば、クリプトフィシン1又はクリプトフィシン8）、デュオカルマイシン（例えば、合成アナログ、KW-2189、CC-1065、カルゼレシン、ビゼレシン及びCB1-TM1）、抗生物質（例えば、エンジン抗生物質、例えば、カリケアマイシン γ I1及びカリケアマイシン ω I1から選択される

カリケアマイシン又はダイネマイシン、例えば、ダイネマイシンA)、エポチロン、リゾキシム、タキソイド(例えば、パクリタキセル、ドキシタキセル)、白金アナログ(例えば、シスプラチン又はカルボプラチン)、ドキシソルビン及びその誘導体(例えば、モルホリノドキシソルビン、シアノモルホリノドキシソルビン、2-ピロリノドキシソルビン、ピラルビン、ダウノルビン又はデオキシドキシソルビン)、ベネトクラクス、エルロチニブ、ボルテゾミブ、スーテント、イマチニブメシレート、ラパチニブ、ロナファルニブ、ソラフェニブ、ゲフィチニブ、ビスホスホネート(例えば、クロドロネート、イバンドロネート)、ネオカルチノスタチンクロモフォア、又は関連する色素タンパク質、エンジン抗生物質クロモフォア、ダクチノマイシン、ピンブラスチン、ピンクリスチン、ビノレルビン、ブリオスタチン、エトポシド、テニポシド、ラパマイシン、デフォファミン、抗代謝物質(例えば、5-フルオロウラシル(5-FU)、カペシタビン、ゲムシタビン、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、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、エノシタビン又はフロクスウリジン)、葉酸アナログ(例えば、デノプテリン、メトトレキサート、エダトレキサート、プテロプテリン、アミノプテリン又はトリメトレキサート)、アンドロゲン(例えば、カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール又はテストラクトン)、抗副腎薬(例えば、アミノグルテチミド)

(2) 免疫調節剤

TLR7アゴニスト(例えば、イミキモド、レシキモドなど)、TLR8アゴニスト(例えば、VTX-2337など)、TLR9アゴニスト(例えば、ODN2216、ODN1826、ODN2006、ODN2395、ODN21798など)、STINGアゴニスト(例えば、cGAMP、diABZI、SR-717など)、ステロイド(例えば、ブデソニド、デキサメタゾン、ブデノシドなど)またはPDE4阻害剤(例えば、GSK256066など)、LCK阻害剤(例えば、ダサチニブなど)

(3) 毒素

ジフテリア毒素、ボツリヌス毒素、破傷風毒素、赤痢毒素、コレラ毒素、テトロド毒素、ブレベ毒素、シガ毒素、リシンまたはAM-毒素。

[0153] 本発明の薬物リンカー[ADL-I α]、[ADL-I]、[ADL-II α]または[ADL-II]は、一般式[ADL-Ia]、一般式[ADL-IIa]、一般式[ADL-IIb]または一般式[ADL-IIc]で表される薬物リンカーであることが好ましい。

[0154] 本発明の一般式[ADC-I α]、[ADC-I]、[ADC-II α]または[ADC-II]で表される抗体薬物複合体（以下、「本発明の抗体薬物複合体[ADC-I α]、[ADC-I]、[ADC-II α]または[ADC-II]」と称する。）における各置換基について、以下に説明する。

[0155] 本発明の抗体薬物複合体[ADC-I α]、[ADC-I]、[ADC-II α]または[ADC-II]におけるR¹、L¹、L²、L³およびPayloadは、本発明の薬物リンカー[ADL-I α]、[ADL-I]、[ADL-II α]または[ADL-II]と同様の基が挙げられ、好ましい基も同じである。

[0156] 本発明の抗体薬物複合体[ADC-I α]、[ADC-I]、[ADC-II α]または[ADC-II]において、Sは抗体部分のシステイン残基の硫黄原子である。

[0157] 本発明の抗体薬物複合体[ADC-I α]、[ADC-I]、[ADC-II α]または[ADC-II]において、Antibodyで示される抗体は、好ましくはIgG、IgM、IgAまたはIgDであり、さらに好ましくはIgG（特にIgG1またはIgG4）である。

[0158] 本発明の抗体薬物複合体[ADC-I α]、[ADC-I]、[ADC-II α]または[ADC-II]において、Antibodyで示される抗体は、例えば、リツキシマブ、トラスツマブ、ニボルマブ、ペムブロリズマブ、イピリムマブ、ミリキズマブ、デュピルマブ、ベバシズマブ、インフリキシマブ、アダリムマブ、アブシキシマブ、ダクリズマブ、パリビズマブ、エタネルセプト、バシリキシマブ、ゲムツズマブ、アレムツズマブ、イブリツモマブ、アレファセプト、オマリズマブ、エファリズマブ、トシツモマブ、セツキシマブ、ナタリズマブ、ラニビズマブ、パニツムマブ、エクリズマブ、リロナセプト、セルトリズマブ、ロミブロスチム、ベリムマブ、トシリズマブ、アトリズマブ、ミラツズマブ、メボリズマブ、ペルツズマブ、トレメリムマブ、イノツズマブ、アフリベル

セプト、カツマキソマブ、オレゴボマブ、モタビズマブ、エファングマブ、ラキシバクマブを挙げることができる。

[0159] 本発明の抗体薬物複合体[ADC-I α]、[ADC-I]、[ADC-II α]または[ADC-II]は、一般式[ADC-Ia]、一般式[ADC-IIa]、一般式[ADC-IIb]または一般式[ADC-IIc]で表される抗体薬物複合体であることが好ましい。

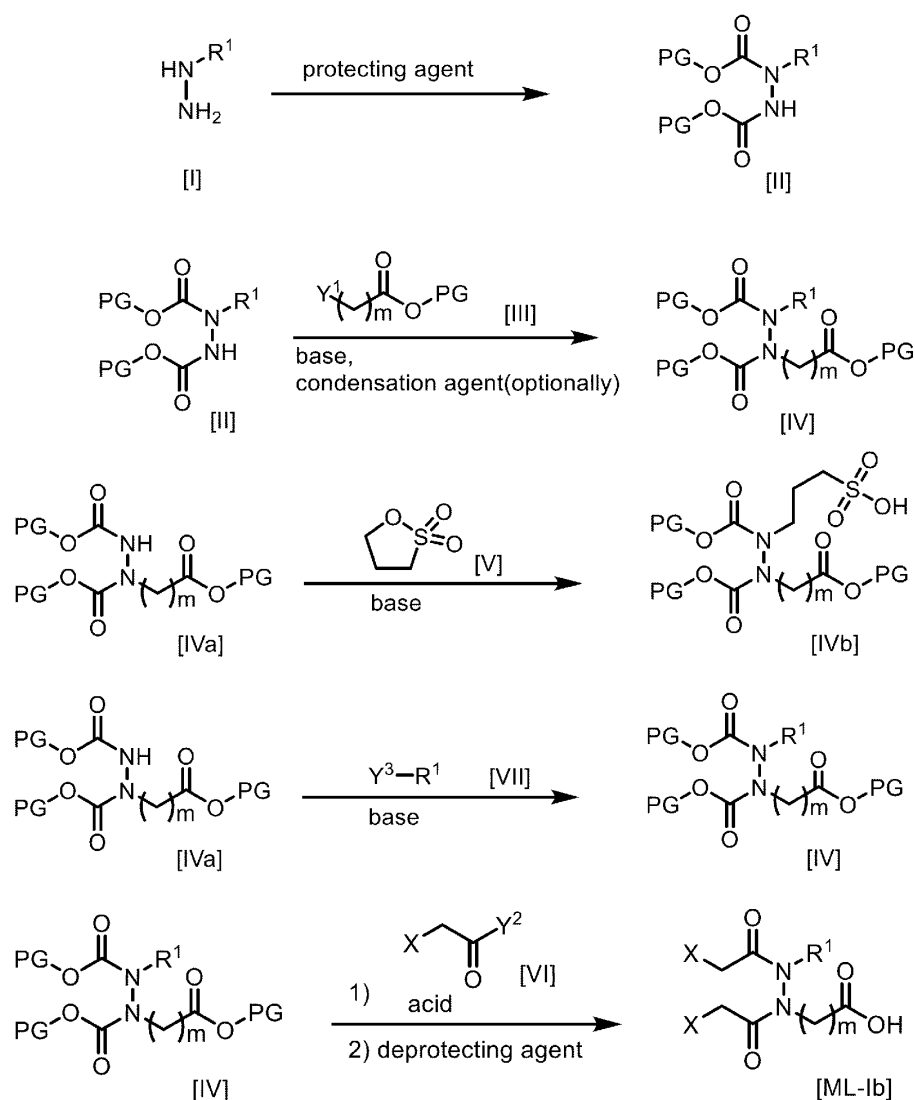
[0160] 本明細書において、本発明の化合物、方法および組成物の異なる特徴に関する好ましい態様および選択肢の提示は、これらが組合せ可能であって矛盾のない限り、当該異なる特徴についての好ましい態様および選択肢の組合せの提示も含む。

[0161] 以下、本発明の化合物[ML-I]の製造法について説明する。本発明の化合物[ML-I]は、例えば下記に示す製造方法に基づき製造することができる。下記に示す製造方法は例示であって、化合物[ML-I]の製造方法はこれらに限定されない。

[0162] 以下の反応式において、アルキル化反応、加水分解反応、アミノ化反応、エステル化反応、アミド化反応、エーテル化反応、求核置換反応、付加反応、酸化反応、還元反応等を行う場合、これらの反応は、自体公知の方法に従って行われる。このような方法としては、例えば、実験化学講座（第5版、日本化学会編、丸善株式会社）、オーガニック・ファンクショナル・グループ・プレパレーションズ (ORGANIC FUNCTIONAL GROUP PREPARATIONS) 第2版、アカデミックプレス社 (ACADEMIC PRESS, INC.) 1989年刊；コンプリヘンシブ・オーガニック・トランスフォーメーションズ (Comprehensive Organic Transformations) VCH Publishers Inc.、1989年刊、ウッツ (P.G.M. Wuts) およびグリーン (T.W. Greene) 著、「Greene's Protective Groups in Organic Synthesis」(第4版、2006年)等に記載の方法等が挙げられる。

[0163] 化合物[ML-I]の一般的な合成経路 (1)

[化70]



[ここで、 Y^1 、 Y^2 および Y^3 は脱離基であり、PGは保護基であり、その他の記号は前記と同意義である]

[0164] Step 1 化合物[II]の製造

上記で示される反応により、本発明の化合物[ML-I]に含まれる化合物[ML-I b]の中間体化合物[II]を製造することができる。具体的には、化合物[I]に保護基剤を反応に不活性な溶媒中で導入することにより、中間体化合物[II]を製造することができる。中間体化合物[II]は、市販品を利用してもよい。

[0165] Step 2 化合物[IV]の製造

上記で示される反応により、本発明の化合物[ML-I]に含まれる化合物[ML-I b]の中間体化合物[IV]を製造することができる。具体的には、化合物[II]に化合物[III]を塩基および縮合剤（任意）存在下、反応に不活性な溶媒中で縮合反応により、中間体化合物[IV]を製造することができる。

[0166] Step 3 化合物[IVb]の製造

上記で示される反応により、本発明の化合物[ML-I]に含まれる化合物[ML-I b]の中間体化合物[IV]に含まれる化合物[IVb]を製造することができる。具体的には、化合物[IVa]に化合物[V]を塩基存在下、反応に不活性な溶媒中で反応させることにより、化合物[IVb]を製造することができる。

[0167] Step 3b 化合物[IV]の製造2

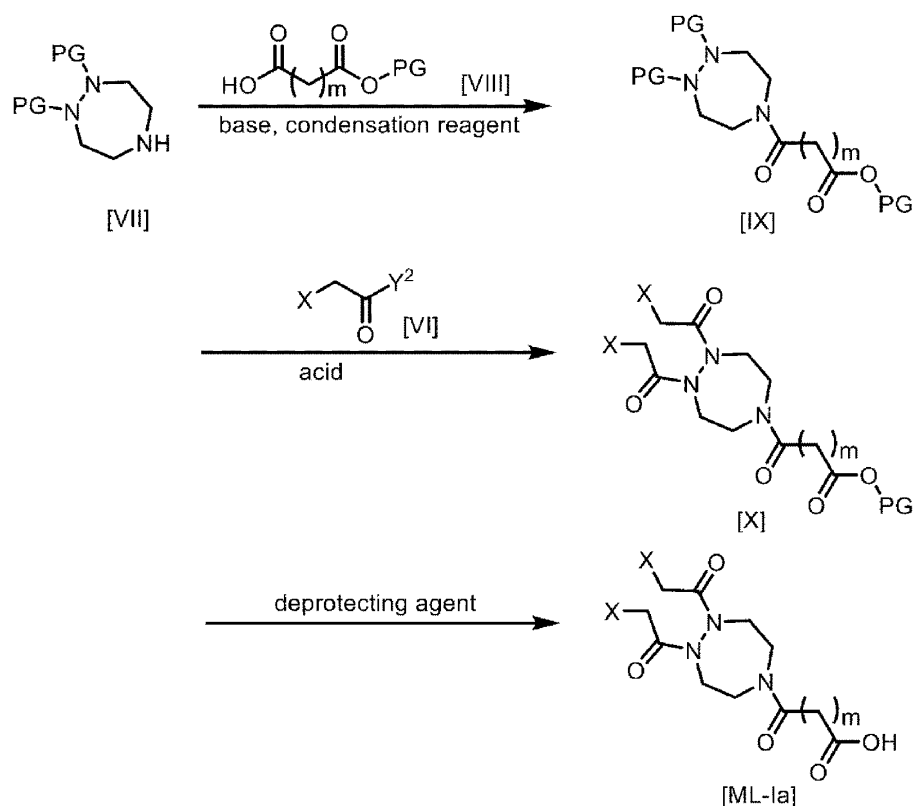
上記で示される反応により、本発明の化合物[ML-I]に含まれる化合物[ML-I b]の中間体化合物[IV]を製造することができる。具体的には、化合物[IVa]に化合物[VII]を塩基存在下、反応に不活性な溶媒中で反応させることにより、中間体化合物[IV]を製造することができる。

[0168] Step 4 化合物[ML-Ib]の製造

上記で示される反応により、本発明の化合物[ML-I]に含まれる化合物[ML-I b]を製造することができる。具体的には、化合物[IV]に化合物[VI]の酸存在下、反応に不活性な溶媒中で置換反応させることにより、化合物[ML-Ib]を製造することができる。この反応において、脱保護反応も同時に進行するが、脱保護反応が進行しないとき、または一部しか進行しないときは、脱保護剤を用いて脱保護反応を完了させることができる。

[0169] 化合物[ML-I]の一般的な合成経路 (2)

[化71]



[ここで、全ての記号は前記と同意義である]

[0170] Step 1 化合物[IX]の製造

上記で示される反応により、本発明の化合物[ML-I]に含まれる[ML-Ia]の中間体化合物[IX]を製造することができる。具体的には、化合物[I]に化合物[I]を塩基および縮合剤存在下、反応に不活性な溶媒中で縮合反応させることにより、中間体化合物[IX]を製造することができる。

[0171] Step 2 化合物[X]の製造

上記で示される反応により、本発明の化合物[ML-I]に含まれる[ML-Ia]の中間体化合物[X]を製造することができる。具体的には、化合物[IX]に化合物[VI]を酸存在下で反応に不活性な溶媒中で置換反応させることにより、中間体化合物[X]を製造することができる。

[0172] Step 3 化合物[ML-Ia]の製造

上記で示される反応により、本発明の化合物[ML-I]に含まれる[ML-Ia]を製造することができる。具体的には、化合物[X]に脱保護剤を反応に不活性な溶媒中で脱保護反応させることにより、化合物[ML-Ia]を製造することができる。

- [0173] 上記反応式における各反応において、生成物は反応液のまま、または粗生成物として次反応に用いることもできるが、常法に従って反応混合物から単離することもでき、通常の分離手段により容易に精製することもできる。通常の分離手段としては、例えば、再結晶、蒸留、クロマトグラフィーが挙げられる。
- [0174] 本発明の化合物[ML-I]は、上記の各反応式にて示された合成方法またはそれに準ずる方法により製造することができる。
- [0175] 本発明の化合物[ML-I]の製造における原料化合物は具体的製法を述べない場合、市販のものを用いてもよく、自体公知の方法またはそれに準ずる方法に従って製造したものを用いてもよい。
- [0176] 上記各工程における出発原料化合物および目的化合物を適切な塩形態で 사용할ことができる。このような塩としては、下記に本発明の化合物[I]の塩として例示されるものと同様のものが挙げられる。
- [0177] 本発明の化合物[ML-I]には、その塩（好ましくは薬学的に許容可能な塩）の形態が含まれ、酸付加塩または置換基の種類によっては塩基との塩を形成する場合もある。かかる「酸」の例としては、無機酸（例えば、塩酸、臭化水素酸、硝酸、硫酸、リン酸等）；および有機酸（例えば、メタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、クエン酸、酒石酸、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、乳酸等）等が挙げられる。かかる「塩基」の例としては、無機塩基（例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウム等）；および有機塩基（例えば、メチルアミン、ジエチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、エチレンジアミン、トリス(ヒドロキ

シメチル)メチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、N,N'-ジベンジルエチレンジアミン、グアニジン、ピリジン、ピコリン、コリン等) ; およびアンモニウム塩等が挙げられる。また、本発明の化合物[ML-I]は、例えばリジン、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸等のアミノ酸と塩を形成してもよい。

[0178] 本発明の化合物[ML-I]は、水和物、溶媒和物、結晶多形、その塩の水和物や溶媒和物および結晶多形の物質をも包含する。

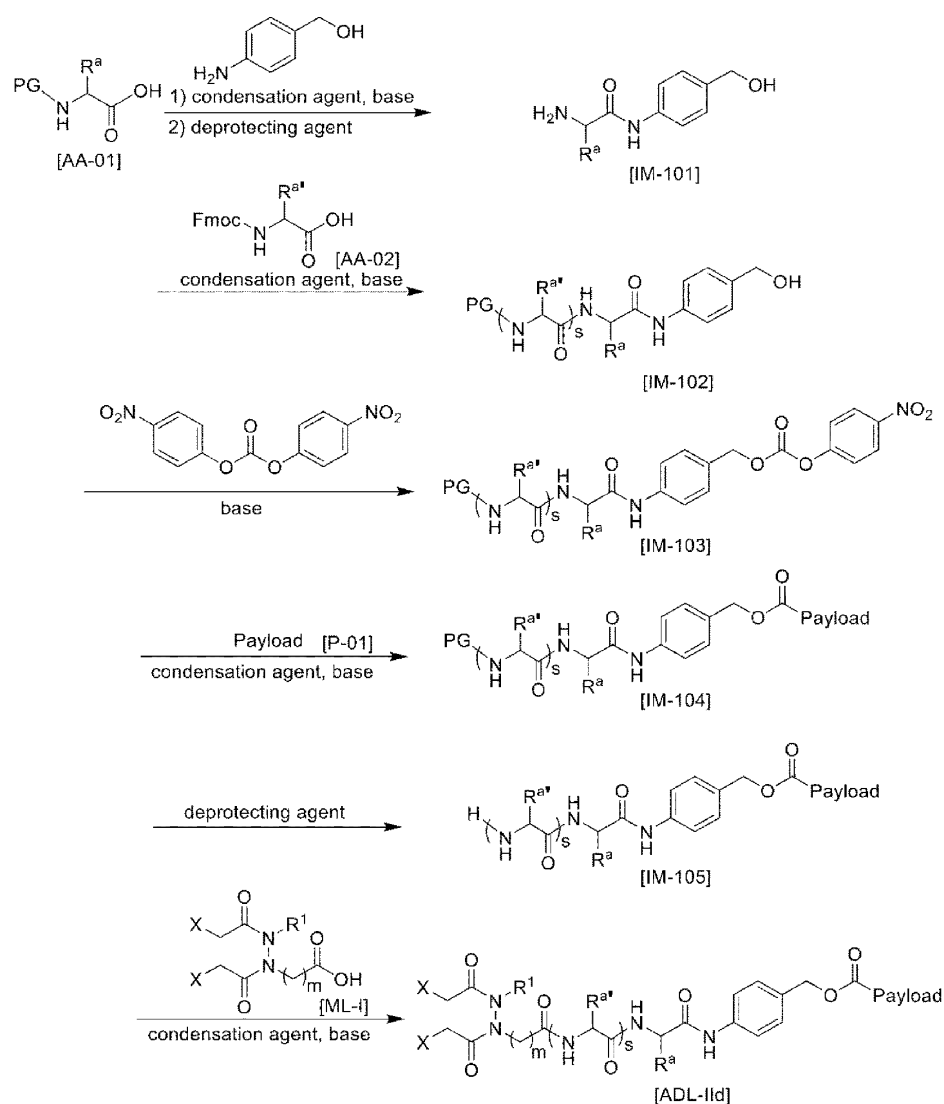
[0179] 本発明の化合物[ML-I]には、1つまたは複数の原子を1つまたは複数の同位体原子で置換された化合物が含まれる。同位体原子の例としては重水素(^2H)、三重水素(^3H)、 ^{13}C 、 ^{15}N 、 ^{18}O 等が挙げられる。

[0180] 本発明の化合物[ML-I]またはその塩としては、共結晶または共結晶塩であってもよい。ここで、共結晶または共結晶塩とは、各々が異なる物理的特性(例えば、構造、融点、融解熱など)を持つ、室温で2種もしくはそれ以上の独特な固体から構成される結晶性物質を意味する。共結晶および共結晶塩は、公知の共結晶化法を適用して製造することができる。

[0181] 薬物リンカー (ADL-II) の一般的製法 (1)

開裂可能リンカーがペプチド残基である薬物リンカー[ADL-IIId]の製造方法の一例を示す。

[化72]



[ここで、全ての記号は前記と同意義である]

[0182] Step 1 化合物IM-101の製造

p-ベンジルアルコールとアミノ基に保護基が導入された所望のアミノ酸 (A-01) を縮合剤および塩基存在下、反応に不活性な溶媒中で縮合反応させ、次に脱保護反応させることにより、化合物IM-101を合成することができる。

[0183] Step 2 化合物IM-102の製造

化合物IM-101とアミノ基に保護基が導入された所望のアミノ酸 (AA-02) を

縮合剤および塩基存在下、反応に不活性な溶媒中で縮合反応させることにより、化合物IM-102を合成することができる。

本反応および脱保護反応を繰り返すことにより、所望の数のアミノ酸残基を有する化合物IM-102を製造することができる。

[0184] Step 3 化合物IM-103の製造

化合物IM-102、ビス（4-ニトロフェニル）カーボネートを塩基存在下、反応に不活性な溶媒中で反応させることにより、化合物IM-103（ L^2-L^3 を有する化合物）を製造することができる。

[0185] Step 4 化合物IM-104の製造

化合物IM-103、Payload（P-01）（特に無置換又は一置換アミノ基を有する薬物）を縮合剤および塩基存在下、反応に不活性な溶媒中で縮合反応させることにより、化合物IM-104（ L^2-L^3 -Payloadを有する化合物）を製造することができる。

[0186] Step5 化合物IM-105の製造

化合物IM-104を脱保護剤存在下、反応に不活性な溶媒中で脱保護反応させることにより、化合物IM-105を製造することができる。

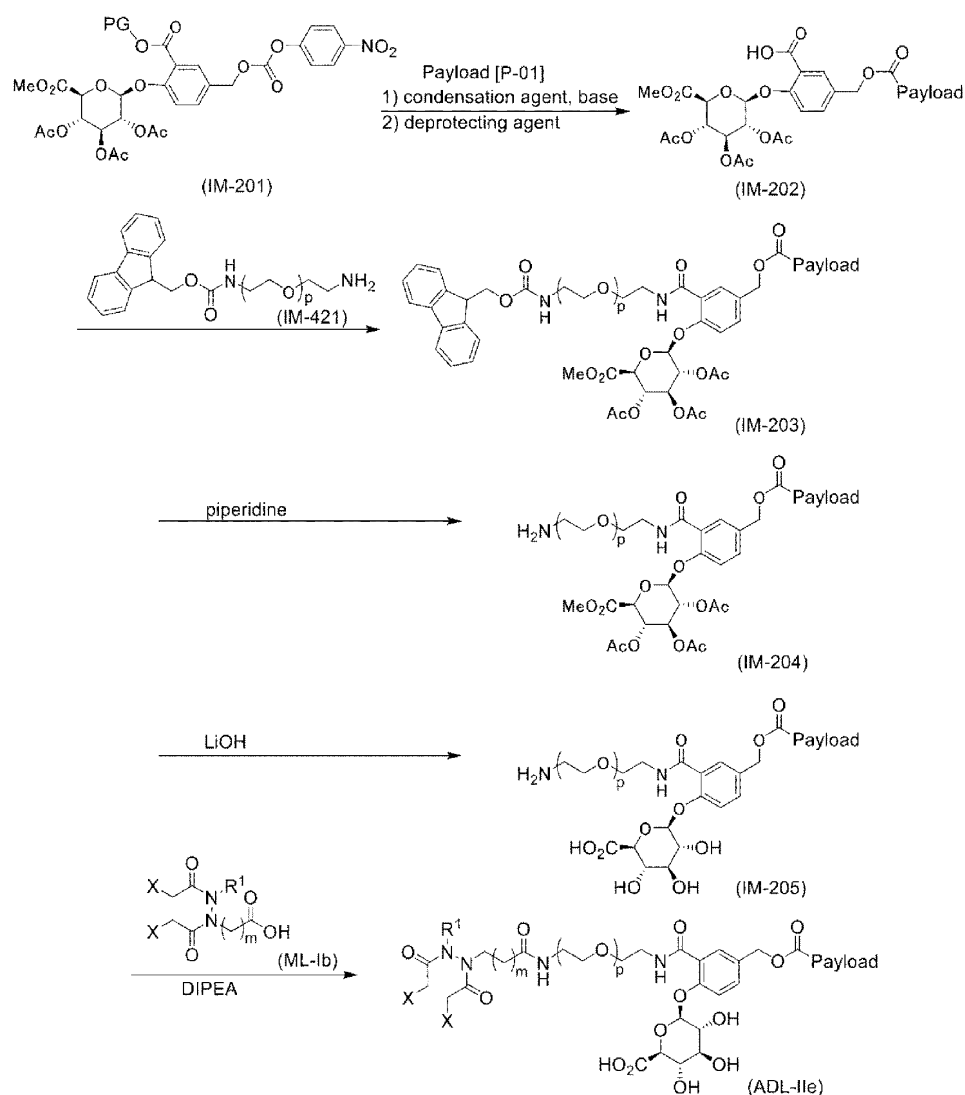
[0187] Step6 化合物ADL-IIIdの製造

化合物IM-105と化合物ML-Ibを縮合剤および塩基存在下、反応に不活性な溶媒中で縮合反応させることにより、化合物ADL-IIId（薬物リンカー）を製造することができる。

[0188] 薬物リンカー（ADL-II）の一般的製法（2）

開裂可能リンカーがグルクロン酸で置換されているヒドロキシメチル安息香酸残基である薬物リンカー[ADL-IIe]の製造方法の一例を示す。

[化73]



[ここで、全ての記号は前記と同意義である]

[0189] Step 1 化合物IM-202の製造

化合物IM-201とPayload(P-01)（特に無置換又は一置換アミノ基を有する薬物）を縮合剤および塩基存在下、反応に不活性な溶媒中で縮合反応させ、次に脱保護反応させることにより、化合物IM-202（L²-L³-Payloadを有する化合物）を合成することができる。

[0190] Step 2 化合物IM-203の製造

化合物IM-202と化合物IM-421を反応に不活性な溶媒中で縮合反応させることにより、化合物IM-203を合成することができる。なお、本反応において、縮合剤および塩基を添加してもよいし、添加しなくてもよい。

[0191] Step 3 化合物IM-204の製造

IM-203を塩基存在下、反応に不活性な溶媒中で脱保護させることにより、化合物IM-204を合成することができる。

[0192] Step 4 化合物IM-205の製造

IM-204を塩基存在下、反応に不活性な溶媒中で脱保護させることにより、化合物IM-205を合成することができる。

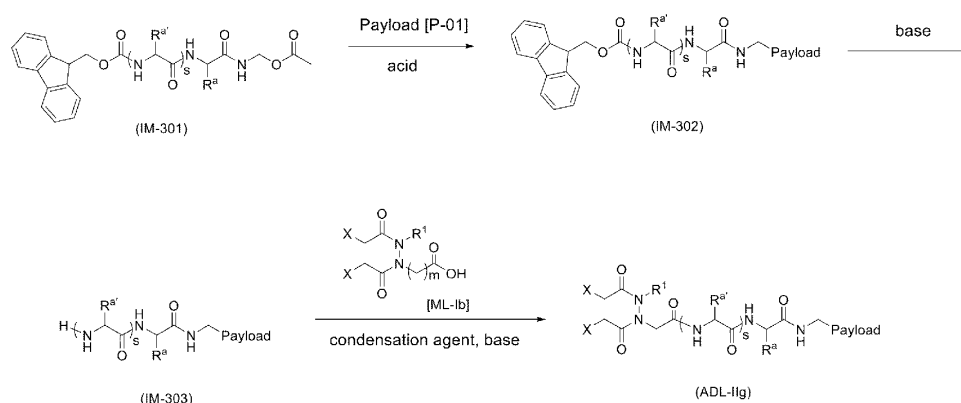
[0193] Step5 化合物ADL-IIeの製造

IM-205とML-Ibを縮合剤および塩基存在下、反応に不活性な溶媒中で縮合反応させることにより、化合物ADL-IIe（薬物リンカー）を合成することができる。

[0194] 薬物リンカー（ADL-II）の一般的製法（3）

L³がアミノメチルである薬物リンカー[ADL-IIg]の製造方法の一例を示す。

[化74]



[0195] Step 1 化合物IM-302の製造

化合物IM-301とPayload(P-01)（特にヒドロキシ基を有する薬物）を酸性（TFA等）条件下、反応に不活性な溶媒中で反応させることにより、化合物IM-302を合成することができる。

[0196] Step 2 化合物IM-303の製造

IM-302を塩基存在下、反応に不活性な溶媒中で脱保護させることにより、化合物IM-303を合成することができる。

[0197] Step 3 化合物ADL-IIgの製造

IM-303とML-Ibを縮合剤および塩基存在下、反応に不活性な溶媒中で縮合反応させることにより、化合物ADL-IIg（薬物リンカー）を合成することができる。

[0198] 抗体薬物複合体（ADC-I、ADC-II）の一般的製法

抗体のジスルフィド結合（好ましくは重鎖 - 軽鎖および重鎖 - 重鎖間の共有結合を形成しているジスルフィド結合）を切断（還元）する工程、および、ヨウ化ナトリウムの存在下又は非存在下、前記還元物（好ましくはそのチオール）にPayloadを含有する薬物リンカー（ADL-IまたはADL-II）を導入（架橋）する工程を含む方法により、目的とする抗体薬物複合体を形成させることができる。特に薬物リンカーのXが塩素の場合、ヨウ化ナトリウムの存在下で実施することが好ましい。別の形態では、ヨウ化ナトリウムの非存在下で実施することが好ましい。

具体的には、抗体に還元剤（TCEP）および緩衝液（PBS、EDTA）を加え、20～40℃（好ましくは約37℃）で5分～5時間（好ましくは約2時間）振とう攪拌等することにより、ジスルフィド結合を還元する。

前記還元物を必要により精製した後、薬物リンカー、ヨウ化ナトリウムおよびホウ酸塩緩衝液を加え、20℃で1時間から10日間振とう攪拌等することにより、抗体薬物複合体を形成することができる。

ヨウ化ナトリウムの添加量は、例えば抗体に対して0～100000モル当量（好ましくは10～60000モル当量、より好ましくは50～50000モル当量、さらに好ましくは100～40000モル当量）である。反応時間は、例えば1時間から10日間、好ましくは0.5日から7日間である。ヨウ化ナトリウムは無添加であっても反応は進行するが、ヨウ化ナトリウムの添加量を増加させると、反応が迅速に進行する。ただし、薬物リンカーの抗体への結合数(DAR)も増加する傾向が

ある。

- [0199] 本発明の化合物が構造の一部として含まれる抗体薬物複合体は、治療目的に応じて、全身的または局所的に、種々の形態の中から選択することができる。その代表的なものとして注射剤、経粘膜剤、坐剤、経鼻剤、経肺剤、経皮剤等が挙げられる。注射剤としては、液剤、懸濁剤、乳濁剤等が挙げられる。また、使用時に溶剤を加えることにより、溶解、懸濁または乳濁して使用できるように、薬学的に許容できる賦形剤および/または担体とともに、製剤化され固形または粉末の形態としていてもよい。注射剤の投与方法として、例えば静脈、筋肉、皮下、皮内投与を挙げることができる。
- [0200] 薬学的に許容される賦形剤および/または担体としては、例えば、安定化剤、溶解補助剤、懸濁化剤、乳化剤、界面活性剤、無痛化剤、緩衝剤、保存剤、pH調整剤、酸化防止剤等が挙げられる。これらは1種を単独でまたは2種以上を組み合わせる用いることができる。
- [0201] 安定化剤としては、例えば、各種アミノ酸、アルブミン、グロブリン、ゼラチン、マンニトール、グルコース、デキストラン、エチレングリコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、アスコルビン酸、亜硫酸水素ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、ジブチルヒドロキシトルエン等を挙げることができる。
- [0202] 溶解補助剤としては、例えば、アルコール（例えば、エタノール）、ポリアルコール（例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例えば、ポリソルベート）等を挙げることができる。
- [0203] 懸濁化剤としては、例えば、モノステアリン酸グリセリン、モノステアリン酸アルミニウム、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ラウリル硫酸ナトリウム等を挙げることができる。
- [0204] 乳化剤としては、例えば、アラビアゴム、アルギン酸ナトリウム、トラガント等を挙げることができる。

- [0205] 無痛化剤としては、例えば、ベンジルアルコール、クロロブタノール、ソルビトール等を挙げることができる。
- [0206] 緩衝剤としては、例えば、リン酸緩衝液、酢酸緩衝液、ホウ酸緩衝液、炭酸緩衝液、クエン酸緩衝液、トリス緩衝液、グルタミン酸緩衝液、イプシロンアミノカプロン酸緩衝液等を挙げることができる。
- [0207] 保存剤としては、例えば、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチル、パラオキシ安息香酸プロピル、パラオキシ安息香酸ブチル、クロロブタノール、ベンジルアルコール、塩化ベンザルコニウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、エデト酸ナトリウム、ホウ酸、ホウ砂等を挙げることができる。
- [0208] pH調整剤としては、例えば、塩酸、水酸化ナトリウム、リン酸、酢酸等を挙げることができる。
- [0209] 酸化防止剤として、例えば、アスコルビン酸、システインヒドロクロライド、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム等のような水溶性抗酸化剤、アスコルビルパルミテート、ブチル化ヒドロキシアニソール、ブチル化ヒドロキシトルエン、レシチン、プロピルガレート、 α -トコフェロール等のような油溶性抗酸化剤およびクエン酸、エチレンジアミン四酢酸、ソルビトール、酒石酸、リン酸等のような金属キレート剤等を挙げることができる。
- [0210] 注射剤として調製される場合は、液剤、乳剤及び懸濁剤は殺菌され、かつ血液と等張であるのが好ましい。これらの液剤、乳剤及び懸濁剤の形態に成形する際に用いられる希釈剤としては、公知のものを広く使用することができ、例えば、水、エタノール、プロピレングリコール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルベタン脂肪酸エステル類等が挙げられる。この場合、等張性の溶液を調製するのに十分な量の食塩、ブドウ糖あるいはグリセリンを医薬製剤中に含有させてもよく、また通常の溶解補助剤、緩衝剤、無痛化剤等を、更に必要に応じて着色剤、保存剤、香料等、及び／又は他の医薬品を含有させ

てもよい。

[0211] 抗体薬物複合材の投与方法としては特に制限はなく、各種製剤形態、対象又は患者（特にヒト）の年齢、性別、疾患の状態、その他の条件に応じた方法で投与される。例えば、注射剤の場合には、単独であるいはブドウ糖、アミノ酸等の通常の補液と混合して静脈内に投与したり、更には必要に応じて単独で筋肉内、皮内、皮下若しくは腹腔内に投与することができる。

[0212] 抗体薬物複合体の投与量は、用法、対象又は患者（特にヒト）の年齢、性別、疾患の程度、その他の条件に応じて適宜選択すればよく、通常、1日あたり体重1 kgに対して0.001～100 mg程度、好ましくは0.001～50 mg程度を1回または数回（例えば2回または3回）に分けて投与される。

[0213] 上記投与量は、種々の条件で変動するので、上記範囲より少ない投与量で十分な場合もあるし、また上記範囲を超えた投与量が必要な場合もある。

[0214] 本明細書において引用されるすべての特許文献および非特許文献の開示は、全体として本明細書に参照により組み込まれる。

実施例

[0215] 本発明は、更に以下の試験例、参考例および実施例によって詳しく説明されるが、これらは本発明を限定するものではなく、また本発明の範囲を逸脱しない範囲で変化させてもよい。

[0216] 本明細書において、以下の略語を用いることがある。

[0217]

略語	語句
REx	参考例番号
Ex	実施例番号
CEx	比較例番号
STR	構造式（式中、「chiral」で示される構造は絶対配置を示す）
RProp	製造方法（数字は、その数字を参考例番号として有する参考例化合物と同様に、対応する原料を用いて製造したことを示す）
Prop	製造方法（数字は、その数字を実施例番号として有する実施例化合物と同様に、対応する原料を用いて製造したことを示す）
Data	物性データ（NMR1:DMSO-d ₆ 中の ¹ H-NMRにおけるδ(ppm)；NMR2:CDCl ₃ 中の ¹ H-NMRにおけるδ(ppm)；NMR3:CD ₃ OD中の ¹ H-NMRにおけるδ(ppm)；MS:マスペクトル）
AcOEt	酢酸エチル
t-BuOH	三級ブタノール
Cs ₂ CO ₃	炭酸セシウム
DCM	ジクロロメタン
DEA	ジエチルアミン
DIPEA	N, N-ジイソプロピルエチルアミン (hunig's base)
DMF	N,N-ジメチルホルムアミド
DMSO	ジメチルスルホキシド
DMTMM	4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロライド
EDTA	エチレンジアミン四酢酸
EtOH	エタノール
Fmoc	9-フルオレニルメチルオキシカルボニル
HATU	1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-1H-1,2,3-トリアゾロ[4,5-b]ピリジニウム3-オキシドヘキサフルオロホスフェイト
HCl	塩酸
Hexane	ヘキサン
H ₂ O	水
HOBt	1-ヒドロキシベンゾトリアゾール
MeCN	アセトニトリル
MESNa	メルカプトエタンスルホン酸ナトリウム
MMAE	モノメチルアウリスタチンE
NaHCO ₃	炭酸水素ナトリウム
NaI	ヨウ化ナトリウム
PBS	リン酸緩衝液
Pd/C	パラジウム担持炭素
TCEP	トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン
TFA	トリフルオロ酢酸
THF	テトラヒドロフラン

[0218] 以下の実施例中の「室温」は、通常、約10℃～約35℃を示す。混合溶媒において示した比は、特に断らない限り容量比を示す。％は、特に断らない限り質量％を示す。

[0219] ¹HNMR（プロトン核磁気共鳴スペクトル）はフーリエ変換型NMR（Bruker AVA

NCE III 400 (400MHz) およびBruker AVANCE III HD (500MHz) の何れかで測定した。

[0220] MS (マスペクトル) は、LC/MS (ACQUITY UPLC H-Class/Waters Xevo G2-XS QToF) により測定した。イオン化法としては、ESI法を用い、データは実測値(found)を記載した。通常、分子イオンピーク ($[M+H]^+$ 、 $[M-H]^-$ など) が観測される。塩の場合は、通常、フリー体の分子イオンピークもしくはフラグメントイオンピークが観測される。

[0221] 逆相カラムクロマトグラフィーは、フラッシュ自動精製装置 (Biotage (登録商標) Isolera OneおよびBiotage (登録商標) Selektの何れか) および高速液体クロマトグラフィー精製装置 (Waters (登録商標) AutoPurification System with 2767 Sample manager and 2489 UV/Vis Detector) の何れかを用いた。フラッシュ自動精製においては、ODSカラム (Biotage (登録商標) Sfar BioC18) を用いた。高速液体クロマトグラフィー精製においては、ODSカラム (YMC-Actus Triart C18、250 X 20 mmI.D.) を用いた。

[0222] シリカゲルカラムクロマトグラフィーにおいて、塩基性と記載した場合は、アミノプロピルシラン結合シリカゲルを用いた。

[0223] 化合物の絶対配置は、公知のX線結晶構造解析法 (例えば大場茂および矢野重信著、「化学者のための基礎講座12 X線結晶構造解析」 (第1版、1999年)) により決定、または史不斉エポキシ化の経験則 (Waldemar Adam, Rainer T. Fell, Chantu R. Saha-Moller and Cong-Gui Zhao: Tetrahedron: Asymmetry 1998, 9, 397-401. およびYuanming Zhu, Yong Tu, Hongwu Yu, Yian Shi :Tetrahedron Lett. 1988, 29, 2437-2440) から推定した。

[0224] [参考例]

参考例1. di-tert-butyl 5-(4-(benzyloxy)-4-oxobutanoyl)-1,2,5-triazepane-1,2-dicarboxylateの製造

di-tert-butyl 1,2,5-triazepane-1,2-dicarboxylate (150 mg)、3-(benzyloxycarbonyl)propanoic acid (114 mg)およびDCM (3 mL)の混合物に、DIPEA (0.217 mL)およびHATU (208 mg)を加え室温で2時間攪拌した。反応液を濃縮

後、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (hexane/AcOEt) にて精製して、目的物 (227 mg) を得た。

[0225] 参考例2. benzyl 4-(1,2-bis(2-chloroacetyl)-1,2,5-triazepan-5-yl)-4-oxobutanoateの製造

di-tert-butyl 5-(4-(benzyloxy)-4-oxobutanoyl)-1,2,5-triazepane-1,2-dicarboxylate (227 mg) のToluene (3 mL) 懸濁液にchloroacetyl chloride (0.368 mL) および4 M HCl/AcOEt (2 mL) を添加し80℃で終夜攪拌した。反応液を濃縮後、中圧シリカゲルカラムクロマトグラフィー (hexane/AcOEt) およびフラッシュ自動精製装置 (H₂O/MeCN(0.1%TFA), Sfar BioC18) で精製し、凍結乾燥して目的物 (182 mg) を得た。

[0226] 参考例3. di-tert-butyl 1-(6-(tert-butoxy)-6-oxohexyl)hydrazine-1,2-dicarboxylateの製造

tert-butyl 6-bromohexanoate (2.23 g) およびN'-[(tert-butoxy)carbonyl](tert-butoxy)carbohydrazide (4.12 g) のDMF (15 mL) 溶液に、Cs₂CO₃ (5.79 g) を加え終夜攪拌した。反応液にH₂Oを加えAcOEtにて抽出し、有機層を濃縮した。残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (Hexane/AcOEt) を用いて精製して、目的物(2.1 g)を得た。

[0227] 参考例4. di-tert-butyl 1-methylhydrazine-1,2-dicarboxylateの製造

Methylhydrazine (1.155 mL) およびEtOH (15 mL) の溶液に、Boc-anhydride (10.58 mL) を加え室温で3日間攪拌した。反応液を濃縮して、目的物 (5.7 g) を得た。

[0228] 参考例8. 3-(2-(6-(benzyloxy)-6-oxohexyl)-1,2-bis(tert-butoxycarbonyl)hydrazineyl)propane-1-sulfonic acidの製造

di-tert-butyl 1-(6-(benzyloxy)-6-oxohexyl)hydrazine-1,2-dicarboxylate (1.26 g) およびt-BuOH (10 mL) に1,3-propane sultone (0.760 mL) およびsodium hydroxide (0.346 g) を加え、室温にて攪拌した。これに飽和 NH₄Cl水溶液および水を加えて、AcOEtで抽出し、有機層を濃縮した。残渣をフラッシュ自動精製装置 (H₂O/MeCN(0.1%TFA)、Sfar BioC18) で精製して、目的物(102

.3 mg)を得た。

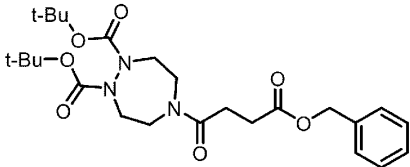
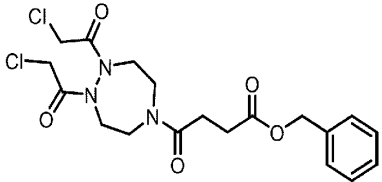
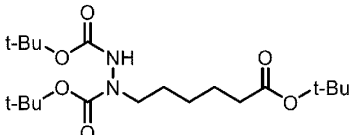
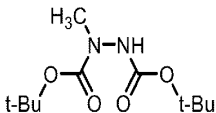
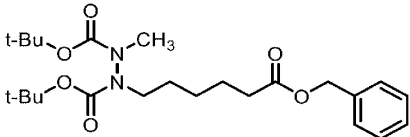
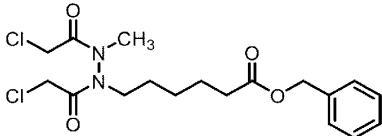
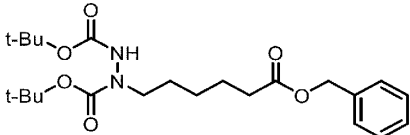
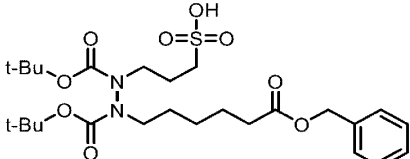
[0229] 参考例10. di-tert-butyl 1-(6-(tert-butoxy)-6-oxohexyl)-2-propylhydrazine-1,2-dicarboxylateの製造

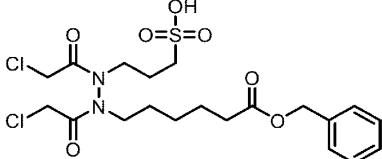
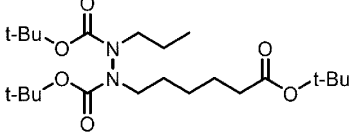
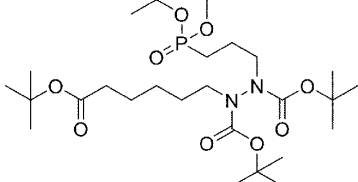
di-tert-butyl 1-(6-(tert-butoxy)-6-oxohexyl)hydrazine-1,2-dicarboxylate (150 mg)および1-Iodopropane (0.073 mL)のTHF(3 mL)溶液に、potassium tert-butoxide (50.2 mg)を加え室温で1時間、50℃で2時間攪拌した。フラッシュ自動精製装置 (H₂O/MeCN(0.1%TFA)、Sfar BioC18) で精製して、目的物(153 mg)を得た。

[0230] 参考例1～4、8または10と同様にして、参考例5～7、9および11の化合物をそれぞれ製造した。参考例(REx)1～11の化合物の構造式および物理化学的データを表1に示す。

[0231]

[表1]

REx	Str	RProp	Data
1		1	MS m/z 492.6 (M+1).
2		2	MS m/z 444.4, 446.4 (M+1).
3		3	MS m/z 425.5 (M+Na).
4		4	NMR2; 6.62-6.11 (1H, m), 3.11 (3H, s), 1.50-1.43 (18H, m).
5		3	MS m/z 473.5 (M+Na).
6		2	MS m/z 403.3, 405.3 (M+1).
7		3	MS m/z 459.5 (M+Na).
8		8	MS m/z 581.1 (M+Na).

9		2	MS m/z 511.0, 512.9 (M+1).
10		10	MS m/z 445.5 (M+H).
11		10	MS m/z 581.6 (M+H).

[0232] [実施例]

実施例1. 4-(1,2-bis(2-chloroacetyl)-1,2,5-triazepan-5-yl)-4-oxobutanoic acidの製造

benzyl 4-(1,2-bis(2-chloroacetyl)-1,2,5-triazepan-5-yl)-4-oxobutanoate (180 mg)をEtOH-THF(2:1) (6 mL)に溶解し、Pd/C (21.56 mg)を加え、水素雰囲気下、室温にて2時間攪拌した。反応液をセライトろ過し、ろ液を濃縮した。残渣をフラッシュ自動精製装置 (H₂O/MeCN(0.1%TFA)、Sfar BioC18) で精製して、目的物 (136 mg)を得た。

[0233] 実施例2. 6-(1,2-bis(2-chloroacetyl)hydrazineyl)hexanoic acidの製造

di-tert-butyl 1-(6-(tert-butoxy)-6-oxohexyl)hydrazine-1,2-dicarboxylate (634 mg)のToluene (7 mL)溶液にchloroacetyl chloride (1.253 mL)、4 M HCl in AcOEt (2 mL)を添加し80℃で攪拌した。さらに4 M HCl 2mL追加して、室温で、終夜攪拌した。反応液に水を加えて、反応液を濃縮した。残渣をフラッシュ自動精製装置 (H₂O/MeCN(0.1%TFA)、Sfar BioC18) で精製して、目的物 (320 mg)を得た。

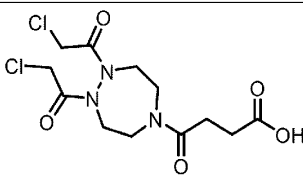
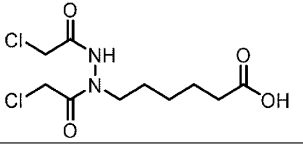
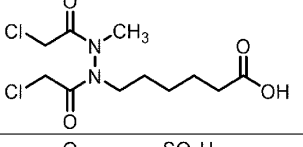
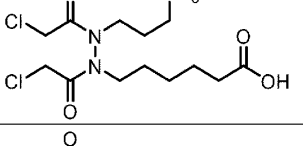
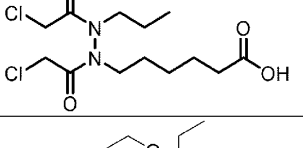
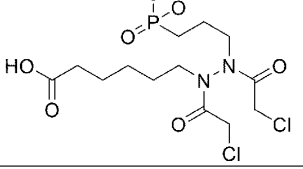
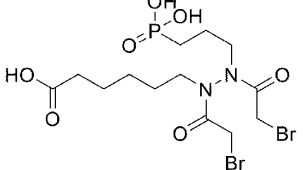
[0234] 実施例31. 6-(1,2-bis(2-bromoacetyl)-2-(3-phosphonopropyl)hydrazineyl)hexanoic acidの製造

実施例30の化合物 (65 mg)をMeCN (3 mL)に溶解し、Bromotrimethylsilane

(0.539 ml)を加え、室温にて終夜攪拌した。反応液を濃縮した。残渣をフラッシュ自動精製装置 (H₂O/MeCN(0.1%TFA)、Sfar BioC18) で精製して、凍結乾燥して目的物 (67 mg)を得た。

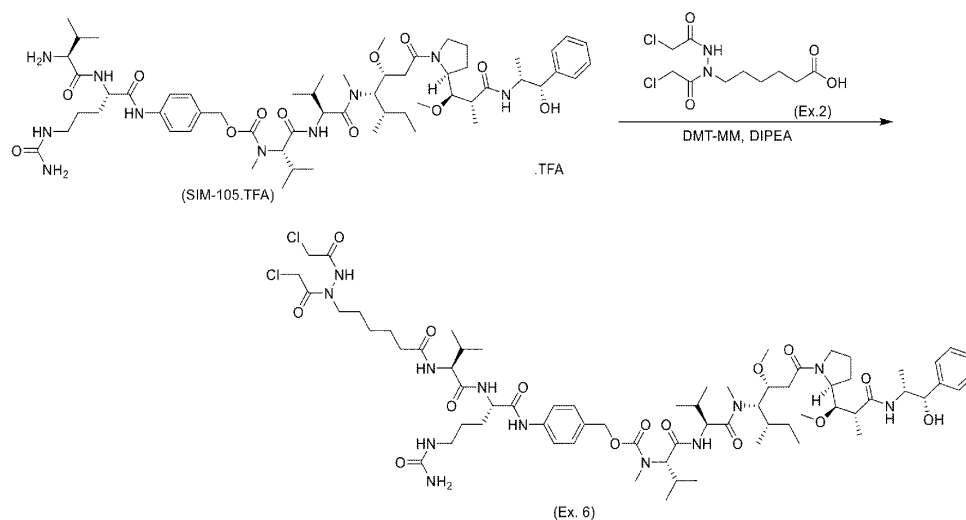
[0235] 実施例1または2と同様にして、実施例3、4、27および30の化合物をそれぞれ製造した。実施例(Ex)1~4、27、30および31の化合物の構造式および物理化学的データを表2に示す。

[0236] [表2]

Ex	Str	Prop	Data
1		1	NMR1; 4.72-3.93 (6H, m), 3.76-2.95 (6H, m), 2.67-2.37 (4H, m). MS m/z 354.1, 356.4 (M+1).
2		2	NMR2; 8.74 (1H, s), 4.15 (2H, s), 4.03 (2H, s), 3.75-3.52 (2H, m), 2.41 (2H, t, J = 8.9 Hz), 1.74-1.55 (4H, m), 1.46-1.34 (2H, m). MS m/z 299.3, 301.2 (M+1).
3		1	NMR1; 4.62-4.02 (4H, m), 3.70-2.93 (5H, m), 2.27-2.16 (2H, m), 1.70-1.41 (4H, m), 1.37-1.21 (2H, m). MS m/z 313.2, 315.2 (M+1).
4		1	NMR3; 4.60-3.49 (8H, m), 2.96-2.78 (2H, m), 2.39-2.01 (4H, m), 1.81-1.56 (4H, m), 1.50-1.30 (2H, m). MS m/z 420.9, 423.0 (M+1).
27		2	NMR1; 4.67-4.29 (4H, m), 4.06-3.32 (4H, m), 2.26-2.14 (2H, m), 1.71-1.19 (8H, m), 0.95-0.78 (3H, m). MS m/z 341.3, 343.3 (M+1).
30		2	MS m/z 477.3 (M+H).
31		31	NMR1; 5.23 (2H, brs), 4.39-3.34 (8H, m), 2.26-2.14 (2H, m), 1.94-1.16 (10H, m). MS m/z 511.2, 513.2 (M+1).

[0237] 実施例6

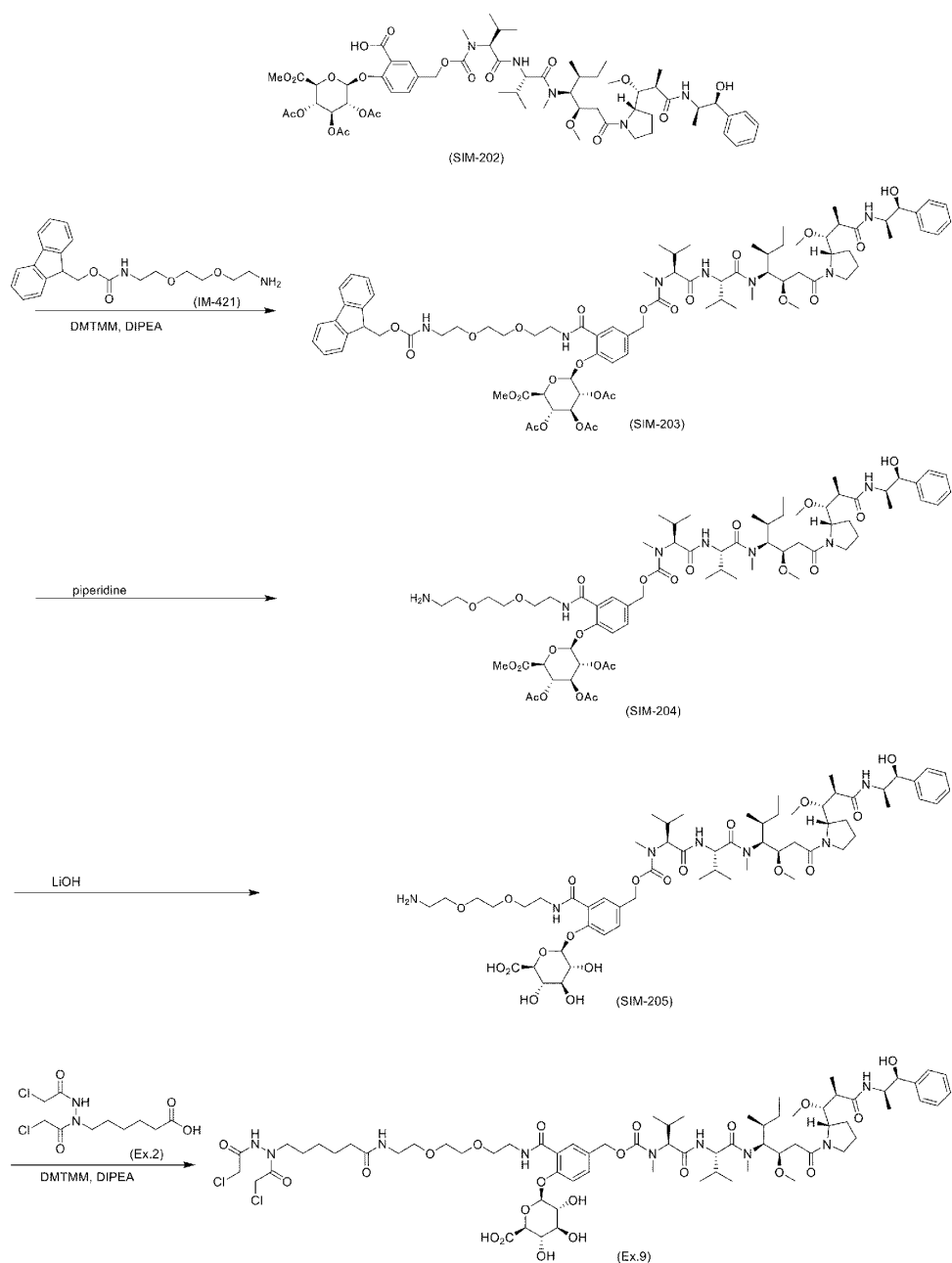
[化75]



[0238] 実施例2の化合物(2.68 mg)、DIPEA (20 μ L)、DMTMM (2.091 mg)およびDMF (450 μ L)の混合物を室温にて5分間攪拌し、その後、化合物SIM-105のTFA塩(8.5 mg)を加え、室温にて30分間攪拌した。反応液を濃縮し、残渣を高速液体クロマトグラフィー (H₂O/MeCN(0.1%TFA)、YMC-Actus Triart C18、250 X 20 mmI.D.) で精製して、凍結乾燥して目的物を得た。

[0239] 実施例9

[化76]



[0240] Step 1. 化合物SIM-203の製造

化合物SIM-202 (40 mg)と化合物IM-421 (20.51 mg)のDMF (2 mL)溶液に、D
MTMM (13.52 mg) とDIPEA (12.48 μ L) を加え、30分間室温で撹拌した。反
応液を濃縮し、残渣をフラッシュ自動精製装置 ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}(0.1\%\text{AcOH})$)、Sfar B

ioC18) で精製して、目的物 (44.7 mg) を得た。

[0241] Step 2. 化合物SIM-204の製造

化合物SIM-203 (44 mg) のDMSO (1 mL)-MeCN (2 mL) 溶液にpiperidine (6.06 μ L) を加えて、0°C で3時間攪拌した。さらにpiperidineを攪拌開始から1および3時間後に各々3.03 μ L、2.009 μ L追加した。反応液に酢酸 (1 mL) を加えた後に濃縮し、残渣をフラッシュ自動精製装置 (H₂O/MeCN(0.1%AcOH)、Sfar BioC18) で精製し、凍結乾燥させて目的物 (42.9 mg) を得た。

[0242] Step 3. 化合物SIM-205の製造

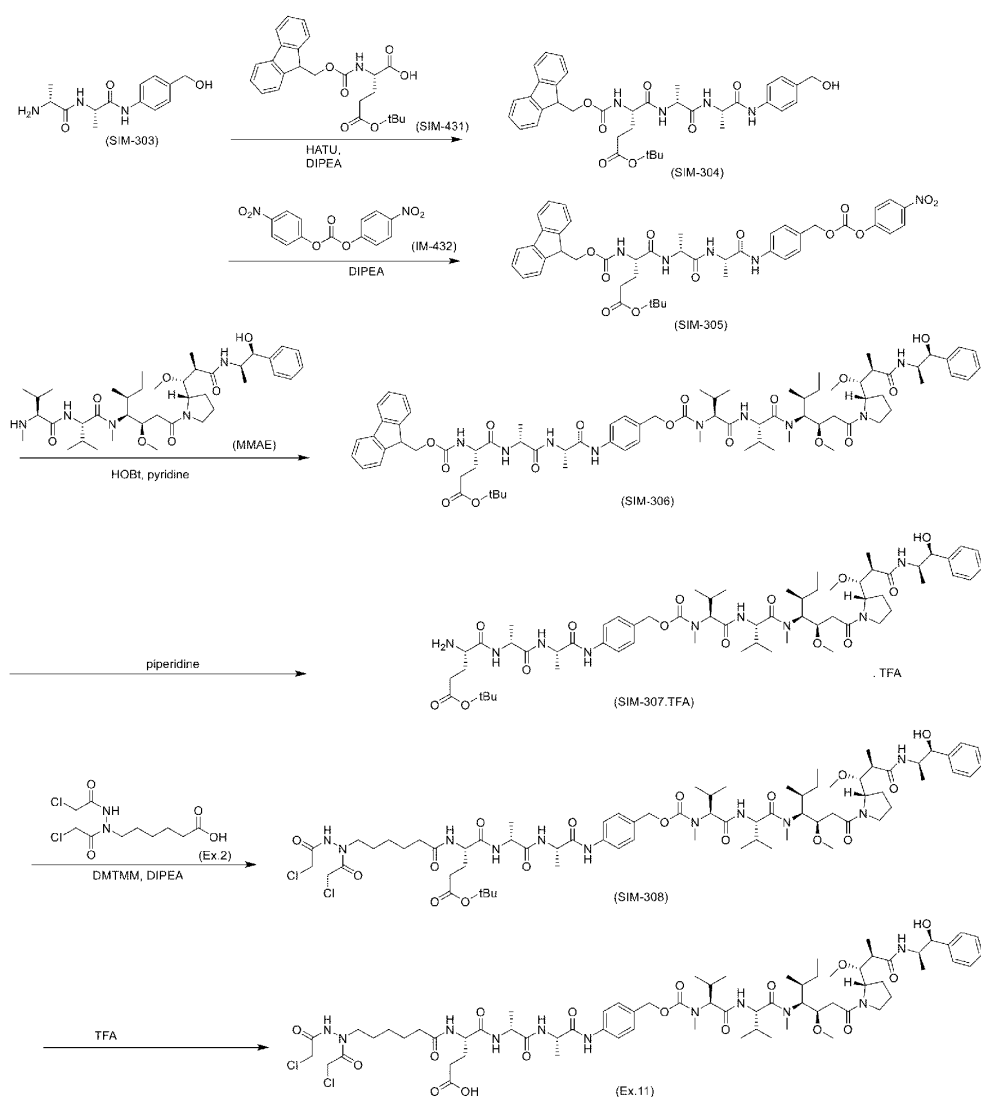
化合物SIM-204 (42 mg) のTHF (2 mL) 溶液に、LiOH $\cdot$ H₂O (240 μ L) およびH₂O (240 μ L) を0°C で加えた後、室温で1時間攪拌した。LiOH $\cdot$ H₂O (120 μ L) およびDMSO (500 μ L) を加え、さらに2時間攪拌した。反応液に酢酸 (20 μ L) を加えた後、濃縮した。残渣をフラッシュ自動精製装置 (H₂O/MeCN(0.1%TFA)、Sfar BioC18) で精製して、目的物 (34.1 mg) を得た。

[0243] Step 4. 実施例9の化合物の製造

実施例2の化合物 (4.04 mg) のDMF (0.5 mL) 溶液にDMTMM (3.74 mg) およびDIPEA (7.84 μ L) を加えて室温で2分攪拌した。さらにSIM-205 (12 mg) のDMF (0.5 mL $\times$ 2) 溶液を加え、15分間室温で攪拌した。反応液を濃縮し、残渣をフラッシュ自動精製装置 (H₂O/MeCN(0.1%AcOH)、Sfar BioC18) で精製して、目的物 (11.5 mg) を得た。

[0244] 実施例11

[化77]

[0245] Step 1. 化合物SIM-304の製造

化合物SIM-303 (400 mg)、化合物SIM-431 (418 mg)、HATU (491 mg)およびDIPEA (429 μ L)をDMF (5 mL)に溶解させて、室温で38時間攪拌した。反応液に飽和 NaHCO_3 水溶液を加え、分散洗浄して、析出した固体をろ取した。固体をDMSOに溶解し、これをフラッシュ自動精製装置 ($\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}(0.1\%\text{AcOH})$ 、Sfar BioC18)で精製して、目的物 (63 mg)を得た。

[0246] Step 2. 化合物SIM-305の製造

化合物SIM-304 (120 mg)、bis(4-nitrophenyl) carbonate (110 mg)のTHF (5 mL)にDIPEA (45.8 μ L)を添加して、室温で終夜攪拌した。Bis(4-nitrophenyl) carbonate (55 mg)、DIPEA (22 μ L)を追加して、合計30時間攪拌した。反応液を濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィー (Hexane/AcOEt) で精製して、目的物 (198 mg)を得た

[0247] Step 3. 化合物SIM-306の製造

化合物SIM-305 (198 mg)、MMAE (161 mg) をDMF (10 mL)に溶解させ、HOBt (31.1 mg)およびpyridine (468 μ L)を加えて、室温で終夜攪拌した。反応液を濃縮し、フラッシュ自動精製装置 (H₂O/MeOH、Sfar BioC18) で精製して、目的物 (174 mg)を得た。

[0248] Step 4. 化合物SIM-307 (TFA塩) の製造

化合物SIM-306 (35 mg)を20 % piperidine (6719 μ L)/MeCNに加え、室温で12時間攪拌した。反応液を濃縮し、フラッシュ自動精製装置 (H₂O/MeOH(0.1 %TFA)、Sfar BioC18) で精製して、目的物のTFA塩 (38.4 mg)を得た。

[0249] Step 5. 化合物SIM-308の製造

実施例2の化合物 (7.89 mg)とSIM-307.TFA塩(23 mg)のDMF (1 mL)溶液に DMTMM (7.30 mg)とDIPEA (4.59 μ L)を加え、室温で10分間攪拌した。DIPEA (8 μ L)を追加し、さらに10分間攪拌した。反応液を濃縮し、フラッシュ自動精製装置 (H₂O/MeOH、Sfar BioC18) で精製して、目的物 (20.9 mg)を得た

[0250] Step 6. 実施例11の化合物の製造

TFA (1398 μ L)のDCM (5.6 mL)溶液に化合物SIM-308 (20.9 mg)を0℃で4時間攪拌した。反応液に飽和NaHCO₃水溶液(3 mL)を加えた後、反応液を濃縮した。残渣を、フラッシュ自動精製装置 (H₂O/MeOH(0.1%TFA)、Sfar BioC18) で精製して、目的物 (12.7 mg)を得た。

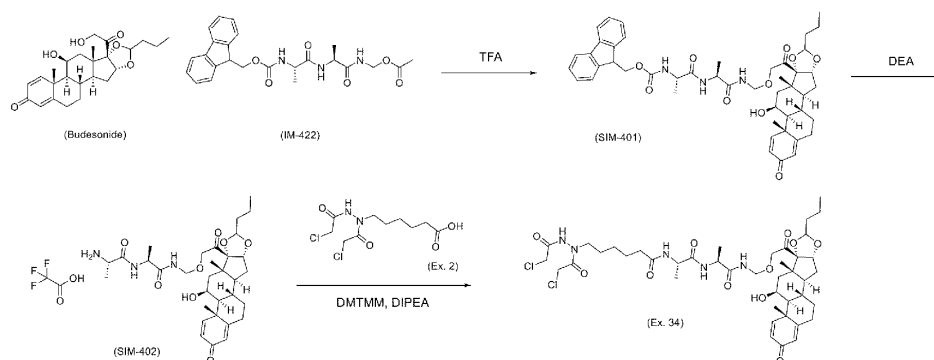
[0251] 実施例32

実施例31の化合物(6.18 mg)、DIPEA (10.6 μ L)、DMTMM (5.03 mg)およびDMF (400 μ L)の混合物を、化合物SIM-105のTFA塩(15 mg)のDMF (100 μ L)溶液に加え、室温にて10分間攪拌した。さらに、実施例31の化合物(6.18 mg)、

DIPEA (10.6 μ L)、DMTMM (5.03 mg)およびDMF (400 μ L)の混合物を別途調製し、反応液に添加した。Potassium chloride (9.04 mg)を加え、1時間攪拌した。反応液を0.1%TFA水溶液、DMSOで希釈し、高速液体クロマトグラフィー (H₂O/MeCN(0.1%TFA)、YMC-Actus Triart C18、250 X 20 mmI.D.) で精製して、凍結乾燥して目的物(3.5mg)を得た。

[0252] 実施例34

[化78]



[0253] Step 1. 化合物SIM-401の製造

Budesonide (20 mg)、IM-422 (37.9 mg)、DCM (400 μ L)の懸濁液に、TFA (7.16 μ L)を加え終夜攪拌した。DMSOで反応液を希釈し、高速液体クロマトグラフィー (H₂O/MeCN(0.1%TFA)、YMC-Actus Triart C18、250 X 20 mmI.D.) で精製して、凍結乾燥して目的物(8mg)を得た。

[0254] Step 2. 化合物SIM-402の製造

SIM-401 (8 mg)、THF (500 μ L)の懸濁液に、DEA (100 μ L)を加え室温で3時間攪拌した。反応液を濃縮した。残渣を、高速液体クロマトグラフィー (H₂O/MeCN(0.1%TFA)、YMC-Actus Triart C18、250 X 20 mmI.D.) で精製して、凍結乾燥して目的物 (4.3 mg)を得た。

[0255] Step 3. 実施例34の化合物の製造

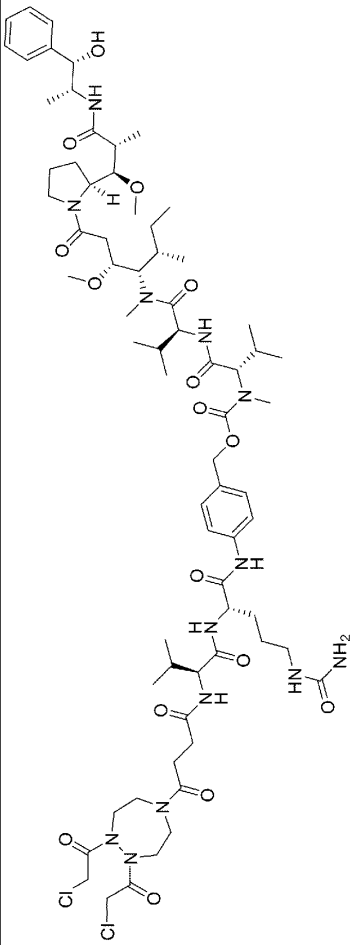
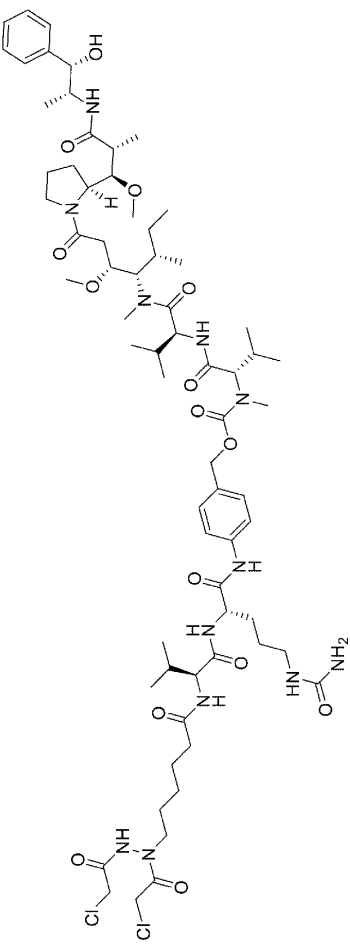
化合物SIM-402 (4 mg)のDMF溶液 (400 μ L) に、実施例2の化合物の1 M DMSO溶液 (10.06 μ L)、DMTMM (2.320 mg)、DIPEA (4.87 μ L)のDMF溶液 (100 μ L) を添加して、室温で15分攪拌した。DMSOで反応液を希釈し、高速液体ク

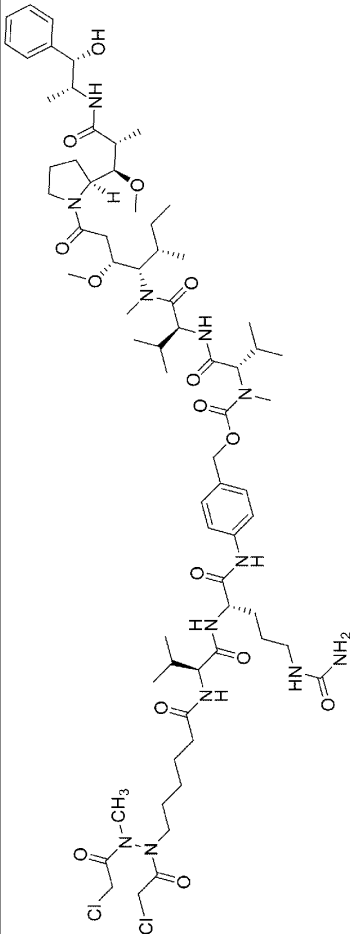
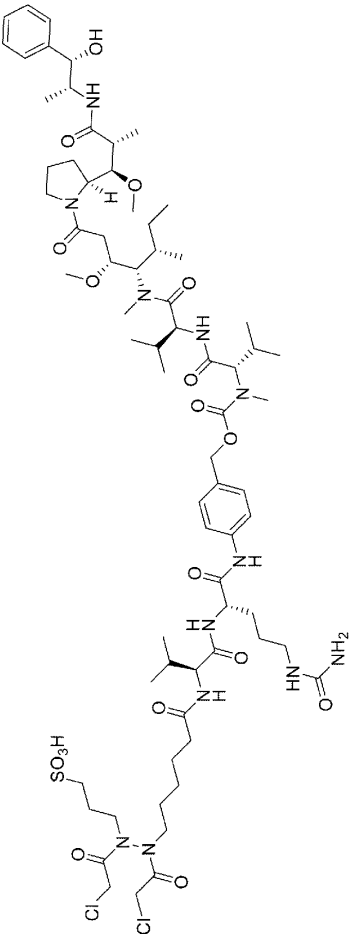
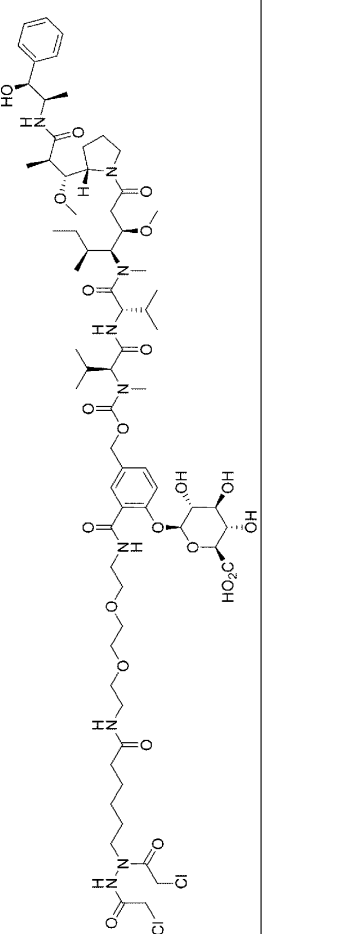
ロマトグラフィー (H₂O/MeCN(0.1%TFA)、YMC-Actus Triart C18、250 X 20 mm I.D.) で精製して、凍結乾燥した。さらに、含水DMSOで希釈し、高速液体クロマトグラフィー (H₂O/MeCN、YMC-Actus Triart C18、250 X 20 mmI.D.) で精製して、凍結乾燥して目的物 (2 mg)を得た。

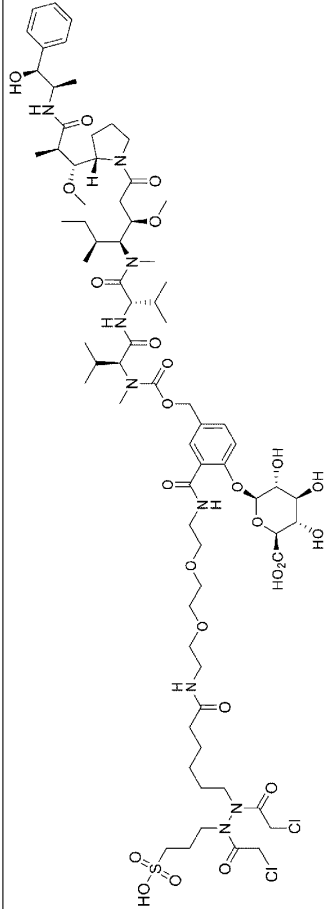
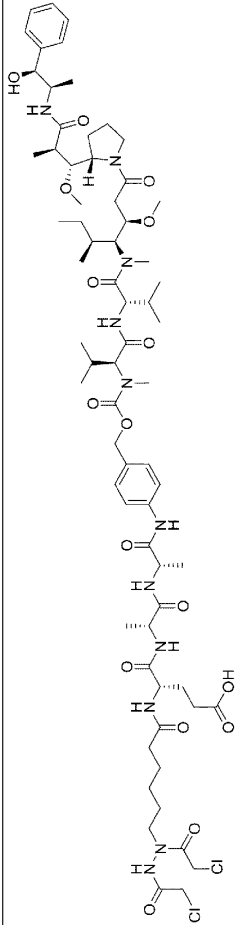
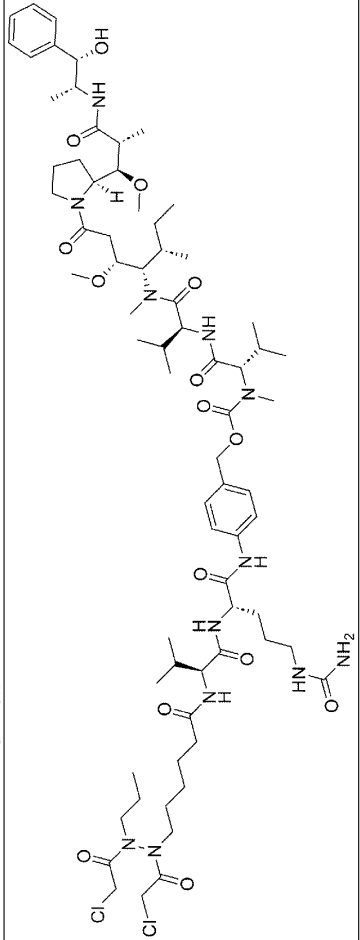
[0256] 実施例6、9または11と同様にして、実施例5、7～10および28の化合物をそれぞれ製造した。実施例5～11、28および32の化合物の構造式および物理化学的データを表3に示す。

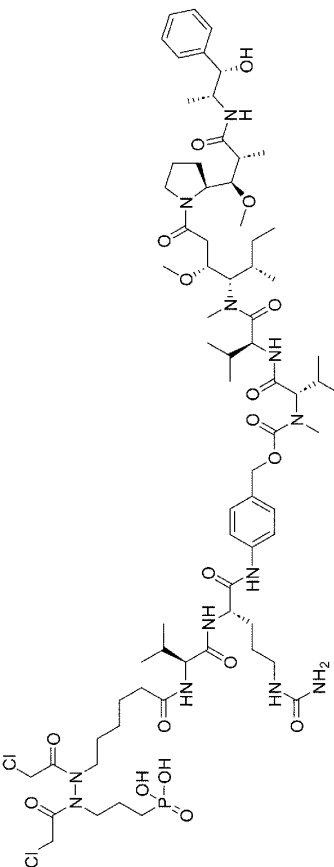
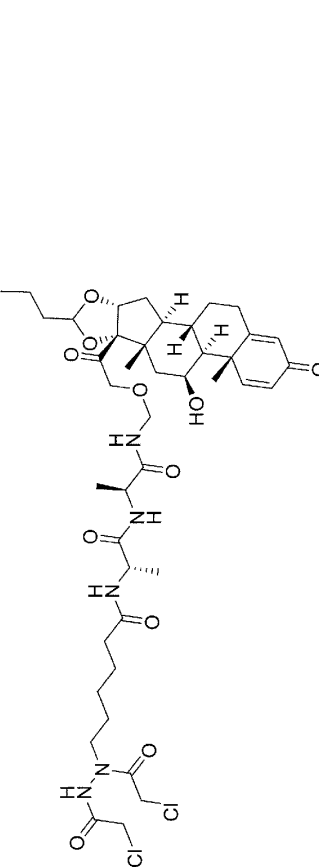
[0257]

[表3]

Ex	Str	Data
5		MS m/z 1460.6 (M+1).
6		MS m/z 1404.6 (M+1).

7		MS m/z (M+1). 1420.0
8		MS m/z (M+1). 1527.5
9		MS m/z (M+1). 1500.1

10	 Chemical structure of compound 10, a complex molecule featuring a central benzene ring substituted with a hydroxyl group and a side chain containing a sulfonamide group, a carbamate, and a hydroxyl group. The molecule is further substituted with a long chain containing a carbamate, a hydroxyl group, and a sulfonamide group.	MS m/z (M+1). 1621.9
11	 Chemical structure of compound 11, a complex molecule featuring a central benzene ring substituted with a hydroxyl group and a side chain containing a sulfonamide group, a carbamate, and a hydroxyl group. The molecule is further substituted with a long chain containing a carbamate, a hydroxyl group, and a sulfonamide group.	MS m/z (M+1). 1421.5
28	 Chemical structure of compound 28, a complex molecule featuring a central benzene ring substituted with a hydroxyl group and a side chain containing a sulfonamide group, a carbamate, and a hydroxyl group. The molecule is further substituted with a long chain containing a carbamate, a hydroxyl group, and a sulfonamide group.	MS m/z (M+1). 1445.9

32	 Chemical structure of compound 32, a complex molecule featuring a central core with multiple amide, ester, and phosphate groups, and a terminal hydroxyl group.	MS m/z 1526.7 (M+1).
34	 Chemical structure of compound 34, a complex molecule featuring a central core with multiple amide, ester, and phosphate groups, and a terminal hydroxyl group.	MS m/z 904.4 (M+Na)

[0258] 実施例12～26、29、33および35～37

実施例12

トラスツズマブ(0.300 mg)水溶液 (15.69 μ L)にPBS溶液 (44.3 μ L)およ

び10 mM TCEP水溶液 (2.024 μ L)の0.5 M EDTA緩衝液(pH8.0) (2.83 μ L)に加え、37°Cで4時間振動撹拌した。

次に、反応液にホウ酸緩衝液(0.1 M、pH 8.7) (315 μ L)および実施例5の化合物 (1.619 μ L)のDMSO溶液を加え、20°Cで1日撹拌した。

反応液にMESNa水溶液 (1.214 μ L)を加え、37°Cで2時間撹拌した。

反応液をPBSで平衡化したNAP-5カラム (Cytiva社) にロードし、マニュアルにしたがってPBSで溶出させた。目的の画分をAmicon Ultra 0.5 mL、50 kDa (Merck社) で遠心濃縮 (Model 3740、KUBOTA社) した。濃縮した溶液の280 nmの吸光度を測定し (NanoDrop One、ThermoFisher社)、抗体のモル吸光係数から濃度を計算して、溶液の体積を乗じること、収量を1.943 mg/mL $\times$ 100 μ L = 194 μ gとした。計算に当たり、実施例5の280 nmの吸光係数は抗体のものに比べて極めて小さいため、考慮しなかった。

濃縮した溶液についてHIC分析を行った。DAR3, 4, 5のピークが観察されたため、その生成比から加重平均値を計算し、平均DAR値を4.06とした。計算に当たり、実施例5の280 nmの吸光係数は抗体のものに比べて極めて小さいため、考慮しなかった。測定条件は以下のものを用いた。

•System:	Acquity UPLC H-Class Bio (Waters)
•Column:	Protein-Pak Hi Res HIC, 2.5 μ m, 2.1 mm x 100 mm
•Temperature:	30 °C
•Flow rate:	0.3 mL/min
•Mobile phase A:	1.5 M (NH ₄) ₂ SO ₄ , 25 mM Phosphate buffer pH 7.0
•Mobile phase B:	25 mM Phosphate buffer pH 7.0 / 2-propanol (8/2)
•Gradient:	20% B to 99% B over 15 min, 99% B for 0.5 min, 99% B to 20% B over 0.1 min, then 20% B for 6.4 min

[0259] 実施例24

トラスツズマブ(0.300 mg)水溶液 (15.58 μ L)にPBS溶液 (44.4 μ L)および10 mM TCEP水溶液 (2.024 μ L)のEDTA緩衝液(pH 8.0) (2.4 μ L)に加え、25°Cで3時間振動撹拌した。

次に、反応液にホウ酸緩衝液(0.1 M、pH 8.7) (315 μ L)、1 M NaI水溶液

(48.6 μL)および実施例9の化合物 (3.24 μL)のDMSO溶液を加え、20°Cで1.5日撹拌した。

反応液にMESNa水溶液 (1.214 μL)を加え、37°Cで1時間撹拌した。

反応液をPBSで平衡化したNAP-5カラム (Cytiva社)にロードし、マニュアルにしたがってPBSで溶出させた。目的の画分をAmicon Ultra 0.5 mL、50 kDa (Merck社)を用いて遠心濃縮 (Model 3740、KUBOTA社)した。濃縮した溶液の280 nmの吸光度を測定し (NanoDrop One、ThermoFisher社)、抗体のモル吸光係数から濃度を計算して、溶液の体積を乗じることで、収量を1.684 mg/mL $\times$ 150 μL = 252 μg とした。計算に当たり、実施例9の280 nmの吸光係数は抗体のものに比べて極めて小さいため、考慮しなかった。

濃縮した溶液について実施例12と同様の条件にてHIC分析を行った。

[0260] 実施例25

トラスツズマブ(0.300 mg)のPBS水溶液 (59.4 μL)に10 mM TCEP 水溶液 (2.024 μL)および0.5 M EDTA緩衝液(pH 8.0) (2.83 μL)を加え、37°Cで3時間振動撹拌した。

次に、反応液にホウ酸緩衝液(0.1 M, pH8.7) (315 μL)、1 M NaI水溶液 (2.429 μL)および実施例10の化合物 (3.24 μL)の10 mM DMSO溶液を加え、20°Cで3日撹拌した。

反応液にMESNa水溶液 (1.214 μL)を加え、37°Cで1時間撹拌した。

反応液をPBSで平衡化したHiPrep Desalting 26/10 (Cytiva社)にロードし、PBSを移動相としてAKTA Explorer S10 (Cytiva社)を用いて溶出させた。目的の分画をAmicon Ultra 4 mL、50 kDa (Merck社)を用いて遠心濃縮 (Model 3740、KUBOTA社)した。濃縮した溶液の280 nmの吸光度を測定し (NanoDrop One、ThermoFisher社)、抗体のモル吸光係数から濃度を計算して、溶液の体積を乗じることで、収量を1.04 mg/mL $\times$ 180 μL = 187 μg とした。計算に当たり、実施例10の280 nmの吸光係数は抗体のものに比べて極めて小さいため、考慮しなかった。

濃縮した溶液について実施例12と同様の条件にてHIC分析を行った。

HIC分析と同一溶液にてSEC/MS分析を行った。DAR4に対応するMSが主要な成分として観察された。測定条件は以下のものを用いた。

LC conditions

- System: ACQUITY UPLC H-Class Bio
- Column: ACQUITY UPLC Protein BEH SEC (1.7 μ m, 2.1 $\times$ 150 mm)
- Temp.: 25 $^{\circ}$ C
- Solvent A: 5% IPA / 100 mM NH_4OAc aq.
- Gradient: Isocratic 100% A in 10 min
- Flow Rate: 0.065 mL/min
- Inj.: 8 μ L (1.04 mg/mL sample)
- UV: 280 nm

MS conditions

- System: Waters Xevo G2-XS QTof
- Ion Mode: ESI⁺ (TOF-MS)
- MS: 500-8000
- Capillary: 3 kV
- Sampling cone: 200 V
- Source offset: 150 V
- Source temp.: 150 $^{\circ}$ C
- Desolvation temp.: 500 $^{\circ}$ C
- Cone gas flow: 0 L/hr
- Desolvation gas flow: 800 L/hr
- Calibration: NaI in 50% IPA aq. (m/z = 400 to 7000 amu)
- Lockmass: Leucine-Enkephalin

[0261] 実施例29

トラスツズマブのPBS溶液 (300 μ g, 59.1 μ L)に10 mM TCEP水溶液 (2.024 μ L)およびEDTA緩衝液(pH 8.0) (2.48 μ L)を加え、37 $^{\circ}$ Cで1.5時間振動撹拌した。

次に、反応液にホウ酸緩衝液(0.1 M、pH 8.7) (315 μ L)、および実施例28の化合物 (3.24 μ L)の10 mM DMSO溶液を加え、20 $^{\circ}$ Cで44時間撹拌した。

反応液に20 mM MESNa水溶液 (2.429 μ L)を加え、37°Cで1時間攪拌した。

反応液をPBSで平衡化したNAP-5カラム (Cytiva社) にロードし、PBSで溶出させた。目的の分画をAmicon Ultra 0.5 mL、50 kDa (Merck社) を用いて遠心濃縮 (Model 3740、KUBOTA社) した。この溶液の280 nmの吸光度を測定し (NanoDrop One, Thermo Scientific社)、抗体のモル吸光係数から濃度を計算して、溶液の体積を乗じることで、収量を $2.630 \text{ mg/mL} \times 100 \text{ } \mu\text{L} = 263 \text{ } \mu\text{g}$ とした。計算に当たり、実施例28の280 nmの吸光係数は抗体のものに比べて極めて小さいため、考慮しなかった。

濃縮した溶液について実施例12と同様の条件にてHIC分析を行った。DAR2, 3, 4, 5のピークが観察されたため、その生成比から加重平均値を計算し、平均DAR値を3.94とした。計算に当たり、実施例28の280 nmの吸光係数は抗体のものに比べて極めて小さいため、考慮しなかった。測定条件は以下のものを用いた。

- System: Acquity UPLC H-Class Bio (Waters)
- Column: Protein-Pak Hi Res HIC, 2.5 μ m, 2.1 mm x 100 mm
- Temperature: 30 °C
- Flow rate: 0.3 mL/min
- Mobile phase A: 1.5 M (NH₄)₂SO₄, 25 mM Phosphate buffer pH 7.0
- Mobile phase B: 25 mM Phosphate buffer pH 7.0 / 2-propanol (8/2)
- Gradient: 20% B to 99% B over 15 min, 99% B for 0.5 min, 99% to 20% B over 0.1 min, then 20% B for 6.4 min

HIC分析と同一サンプル溶液にてSEC/MS分析を行った。DAR4に対応するMSが主要な成分として観察された。測定条件は以下のものを用いた。

LC conditions

System: Vanquish Flex
Column: XBridge Premier SEC (Particle size; 2.5 μm , Pore size; 25 nm)
(4.6 mm ID x 15 cm) + Guard column
Temp.: 25 °C
Solvent A: 5% IPA / 100 mM NH_4OAc aq.
Gradient: Isocratic 100% A for 35 min
Flow Rate: 0.1 mL/min

MS conditions

- System: Orbitrap Exploris 240
- Ion Mode: ESI+
- MS: 500-8000
- Capillary: 3 kV
- Sampling cone: 200 V
- Source offset: 150 V
- Source temp.: 150 °C
- Desolvation temp.: 500 °C
- Cone gas flow: 0 L/Hr
- Desolvation gas flow: 800 L/Hr
- Calibration: AHFP

[0262] 実施例33

トラスツズマブのPBS溶液 (300 μg , 59.1 μL)に10 mM TCEP水溶液 (2.024 μL)およびEDTA緩衝液(pH 8.0) (2.48 μL)を加え、37°Cで1.5時間振動攪拌した。

次に、反応液にホウ酸緩衝液(0.1 M、pH 8.7) (315 μL)、および実施例32の化合物 (3.24 μL)の10 mM DMSO溶液を加え、20°Cで45時間攪拌した。

反応液に20 mM MESNa水溶液 (2.429 μL)を加え、37°Cで1時間攪拌した。

反応液をPBSで平衡化したNAP-5カラム (Cytiva社) にロードし、PBSで溶出させた。目的の分画をAmicon Ultra 0.5 mL, 50 kDa (Merck社) を用いて遠心濃縮 (Model 3740, KUBOTA社) した。この溶液の280 nmの吸光度を測定し (NanoDrop One, Thermo Scientific社)、抗体のモル吸光係数から濃度を計算して、溶液の体積を乗じること、収量を2.493 mg/mL x 100 μL = 249 μg とした。計算に当たり、実施例32の280 nmの吸光係数は抗体のものに比べて極めて小さいため、考慮しなかった。

濃縮した溶液について実施例12と同様の条件にてHIC分析を行った。DAR2, 3, 4, 5のピークが観察されたため、その生成比から加重平均値を計算し、平均DAR値を3.89とした。計算に当たり、実施例32の280 nmの吸光係数は抗体のものに比べて極めて小さいため、考慮しなかった。

[0263] 実施例35

トラスツズマブのPBS溶液 (300 μ g, 59.1 μ L)に10 mM TCEP水溶液 (2.024 μ L)およびEDTA緩衝液(pH 8.0) (2.8 μ L)を加え、25℃で2時間振動撹拌した。

次に、反応液にホウ酸緩衝液(0.1 M, pH 8.7) (315 μ L)、および実施例34の化合物 (3.24 μ L)のDMSO溶液を加え、20℃で19時間撹拌した。

反応液にMESNa水溶液 (5.06 μ L)を加え、37℃で1.5時間撹拌した。

反応液をPBSで平衡化したHiPrep Desalting 26/10 (Cytiva社) にロードし、PBSを移動相としてAKTA Explorer S10 (Cytiva社) を用いて溶出させた。

目的の分画をAmicon Ultra 4 mL, 50 kDa (Merck社) を用いて遠心濃縮 (Model 3740, KUBOTA社) した。この溶液の280 nmの吸光度を測定し(NanoDrop One, Thermo Scientific社)、抗体のモル吸光係数から濃度を計算して、溶液の体積を乗じることで、収量を $1.27 \text{ mg/mL} \times 160 \text{ } \mu\text{L} = 203 \text{ } \mu\text{g}$ とした。計算に当たり、実施例34の280 nmの吸光係数は抗体のものに比べて極めて小さいため、考慮しなかった。

濃縮した溶液について実施例12と同様の条件にてHIC分析を行った。DAR3, 4, 5のピークが観察されたため、その生成比から加重平均値を計算し、平均DAR値を3.89とした。計算に当たり、実施例34の280 nmの吸光係数は抗体のものに比べて極めて小さいため、考慮しなかった。測定条件は以下のものを用いた。

- System: Acquity UPLC H-Class Bio (Waters)
- Column: Protein-Pak Hi Res HIC, 2.5 μ m, 2.1 mm x 100 mm
- Temperature: 30 °C
- Flow rate: 0.3 mL/min
- Mobile phase A: 1.5 M (NH₄)₂SO₄, 25 mM Phosphate buffer pH 7.0
- Mobile phase B: 25 mM Phosphate buffer pH 7.0 / 2-propanol (8/2)
- Gradient: 20% B to 99% B over 15 min, 99% B for 0.5 min, 99% to 20% B over 0.1 min, then 20% B for 6.4 min

HIC分析と同一溶液にてSEC/MS分析を行った。DAR4に対応するMSが主要な成分として観察された。測定条件は以下のものを用いた。

LC conditions

- System: Vanquish Flex
- Column: XBridge Premier SEC (Particle size; 2.5 μ m, Pore size; 25 nm) (4.6 mm ID x 15 cm) + Guard column
- Temp.: 25 °C
- Solvent A: 5% IPA / 100 mM NH₄OAc aq.
- Gradient: Isocratic 100% A for 35 min
- Flow Rate: 0.1 mL/min

MS conditions

- System: Orbitrap Exploris 240
- Ion Mode: ESI+
- MS: 500-8000
- Capillary: 3 kV
- Sampling cone: 200 V
- Source offset: 150 V
- Source temp.: 150 °C
- Desolvation temp.: 500 °C
- Cone gas flow: 0 L/Hr
- Desolvation gas flow: 800 L/Hr
- Calibration: AHFP

[0264] 実施例37

PBS溶液 (65 μ L) にニボルマブのPBS溶液 (1.044 mg, 145 μ L) (BioXcell 社InVivoSIM anti-human PD-1 (Nivolumab Biosimilar) SIM0003)、0.5 M EDTA緩衝液 (pH 8.0) (9.5 μ L) および10 mM TCEP水溶液 (1.5 μ L) を加え、37°Cで2時間回転攪拌した。

次に、反応液にホウ酸緩衝液 (0.1 M, pH 8.7) (857.5 μ L) および実施例6の化合物のDMSO溶液 (11.5 μ L, 0.115 μ mol) を加え、20°Cで73時間攪拌し

た。

反応液にPBS溶液 (1.5 mL)を加え、Amicon Ultra 4 mL、30kDa (Merck社)で遠心濃縮 (Model 3740, KUBOTA社) した。濃縮した溶液 (約0.2 mL)を、Hi Prep 26/10 Desalting (Cytiva)カラムを用いて、AKTA explorerにて溶離液PBSによりゲルろ過精製を行った。目的の画分を、Vivaspin Turbo 15, 50kDa (Sartorius社)を用いて、遠心濃縮した。濃縮後、PBSで溶液量が530 μ Lとなるようサンプル調製した。この溶液の280 nmの吸光度を測定し (NanoDrop One, Thermo Scientific社)、抗体のモル吸光係数 (1.53) から濃度を計算して、溶液の体積を乗じることで、収量を $1.77 \text{ mg/mL} / 1.53 \times 530 \text{ } \mu\text{L} = 0.53/1.54 = 609 \text{ } \mu\text{g}$ とした。計算に当たり、実施例6の280 nmの吸光係数は抗体のものに比べて極めて小さいため、考慮しなかった。

濃縮した溶液についてHIC分析を行った。DAR3, 4, 5のピークが観察されたため、その生成比から加重平均値を計算し、平均DAR値を3.93とした。計算に当たり、実施例6の280 nmの吸光係数は抗体のものに比べて極めて小さいため、考慮しなかった。測定条件は以下のものを用いた。

- System: Acquity UPLC H-Class Bio (Waters)
- Column: Protein-Pak Hi Res HIC, 2.5 μ m, 2.1 mm x 100 mm
- Temperature: 30 degC
- Flow rate: 0.3 mL/min
- Mobile phase A: 1.5 M (NH₄)₂SO₄, 25 mM Phosphate buffer pH 7.0
- Mobile phase B: 25 mM Phosphate buffer pH 7.0 / 2-propanol (8/2)
- Gradient: 20% B to 99% B over 15 min, 99% B for 0.5 min, 99% to 20% B over 0.1 min, then 20% B for 6.4 min

[0265] 実施例12、24または25と同様にして、実施例13～23および26の化合物をそれぞれ製造した。比較例(CEx)1および2の構造は表8に示す。表4に実施例12～26、29、33および35～37で各々の反応に用いた抗体および薬物リンカー、反応時間、NaIの添加量(抗体一当量に対する当量数)、平均薬物抗体比(DAR)ならびにDAR4率を示す。

[0266]

[表4]

	抗体	薬物リンカー	反応時間	NaI (eq)	DAR Ave	DAR4 率 (%)
Ex12	トラスツズマブ	実施例 5	1d	0	4.06	86.3
Ex13	BB4	実施例 5	1d	0	4.04	85.2
Ex14	VIS832	実施例 5	1d	0	4.01	85.5
Ex15	トラスツズマブ	実施例 6	1d	0	4.15	78.6
Ex16	BB4	実施例 6	2d	0	4.11	80.3
Ex17	VIS832	実施例 6	2d	0	4.08	77.1
Ex18	トラスツズマブ	実施例 7	0.5d	0	4.17	77.2
Ex19	BB4	実施例 7	0.5d	0	4.14	77.2
Ex20	VIS832	実施例 7	0.5d	0	4.12	77.0
Ex21	トラスツズマブ	実施例 8	1d	0	4.09	84.3
Ex22	BB4	実施例 8	1d	0	4.06	82.2
Ex23	VIS832	実施例 8	1d	0	4.03	80.9
Ex24	トラスツズマブ	実施例 9	1.5d	24000	4.05	69.0
Ex25	トラスツズマブ	実施例 10	3d	1200	3.87	69.8
Ex26	トラスツズマブ	実施例 11	1.5d	24000	4.12	68.8
Ex29	トラスツズマブ	実施例 28	2d	0	3.94	76.1
Ex33	トラスツズマブ	実施例 32	2d	0	3.89	74.8
Ex35	トラスツズマブ	実施例 34	2d	0	3.89	70.6
Ex36	トラスツズマブ	実施例 34	2d	12000	3.98	70.0
Ex37	ニボルマブ	実施例 34	2d	0	3.93	70.1
CEx1	VIS832	Mal-vcMMAE	1h	0	4.30	33.0
CEx2	VIS832	DBM-vcMMAE*	1h	0	4.33	56.1

[0267] 実施例12、21および25のHICチャートを、それぞれ、図1、2および3に示す。
また、実施例25のマスペクトルチャートを図4に示す。

[0268] 実施例15の抗体および薬物リンカーを用いて、NaIの添加量(抗体一当量に対する当量数)および反応時間を変更して反応させたときの、抗体薬物比(DAR)2~5の生成比を表5に示す。

[0269] [表5]

NaI (eq)	反応時間 (日)	DAR2	DAR3	DAR4	DAR5
0	1.5	0	6.14	78.1	15.8
12	1.5	0	5.56	78.3	16.1
120	1.5	0	5.42	78.6	16
12600	0.5	0	5.6	77.4	17
40000	0.5	0	3.42	70.1	26.5

[0270] 実施例24の抗体および薬物リンカーを用いて、NaIの添加量(抗体一当量に対する当量数)および反応時間を変更して反応させたときの、抗体薬物比3～5の生成比を表6に示す。

[0271] [表6]

NaI (eq)	時間	DAR3	DAR4	DAR5
120	2 日	23.8	72.5	3.68
	3 日	14.3	80	5.68
	4 日	9.42	83.4	7.21
	7 日	5.71	84.7	9.64
1200	2 日	22.3	71.7	5.96
	3 日	10.2	80.2	9.64
	4 日	7.29	80.5	12.2
12000	1 日	11.2	76.8	12
	2 日	5.26	74.1	20.7
	3 日	5.05	72.9	22.1

[0272] 実施例26の抗体および薬物リンカーを用いて、NaIの添加量(抗体一当量に対する当量数)および反応時間を変更して反応させたときの、抗体薬物比3～5の生成比を表7に示す。また、NaI 12000当量添加時の2日後のHICチャートを図5に示す。

[0273]

[表7]

Nal (eq)	時間	DAR3	DAR4	DAR5
120	2 日	29.6	61.6	6.28
	3 日	21.5	68.3	10.2
	4 日	16.1	74.6	9.29
	7 日	11.9	77.6	10.6
1200	2 日	28.7	62	7.37
	3 日	14.8	74.9	10.3
	4 日	12.9	75.4	11.7
12000	1 日	24.8	64.4	9.09
	2 日	8.25	71.4	20.4
	3 日	7.41	69.4	23.2

[試験例]

[0274] 試験例1. 血漿中安定性評価

試薬の調製

・ PBS-T (PBS + 0.05%Tween-20)

PBS500 mLにPolysorbate 20 (Cat No. 103168) 250 μ Lを加えた。・ ビオチン化ペプチド溶液 (Biotin-GGGGENTAVVAVEPDRNQ)

ビオチン化ペプチドを水/アセトニトリル (7:3、v/v) に溶解して0.5 mg/mLとした。・ 0.1 M Glycine

Glycine 3.75 mgを秤量し、精製水に溶解して0.5 Lとした。

・ 0.1 M Glycine-HCl (pH 3.0)

1M HCl 1020 μ Lを取り、0.1 M Glycineで50 mLとした。

[0275] 操作方法

(1) 磁気ビーズ (10 mg/mL) を容器ごと30秒以上ボルテックス後、0.05 mLを1.5 mLタンパク質低吸着チューブに採取。

(2) 1 mLのPBS-Tを添加/混合し下記の操作を2回繰り返して洗浄

・ 2分間マグネットと反応後、上清を除去。

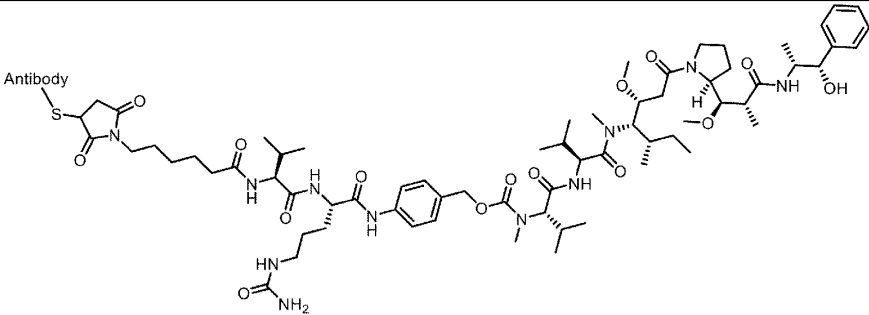
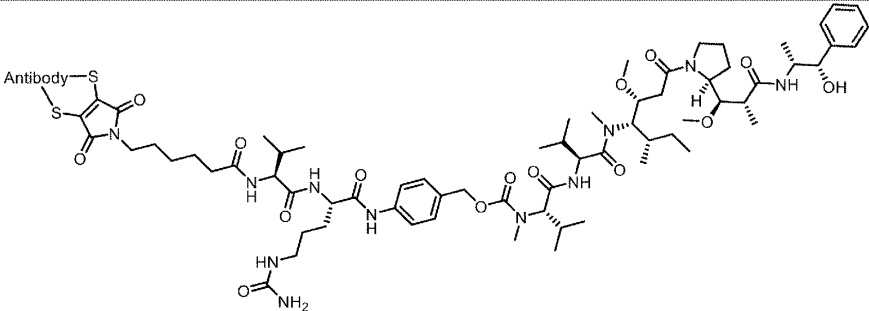
・ マグネットから外し、再度1 mLのPBS-Tを添加、混合。

- (3) 1 mLのPBS-T、5 μ Lのビオチン化ペプチド溶液 (0.5 mg/mL) をビーズに添加/混合し、室温で1時間回転。
- (4) 上清を除去し、(2)の手順に従い磁気ビーズを1 mLのPBS-Tで2回洗浄。(5) ヒトまたはマウス血漿試料50 μ Lに被験物質 (ADC) 10 μ g及び1 mLのPBS-Tを添加/混合。
- (6) (5)を磁気ビーズに加えて混合し、室温で1時間回転。
- (7) 上清を除去し、(2)の手順に従い磁気ビーズをPBS-T(1mL)で1回、PBS(1 mL)で2回洗浄。
- (8) 0.1 mLの0.1 M Glycine-HCl (pH3.0)を添加/混合し、マイクロチューブミキサー (model: MT-400) で室温5分間振とう。
- (9) (8)の上清を採取し、遠心式限外ろ過フィルタユニットへ添加。
- (10) 遠心 (14000 g、25°C、5分間) し、通過画分を除去。
- (11) (10)へ精製水400 μ Lを添加。
- (12) 遠心 (14000 g、25°C、5分間) し、通過画分を除去。
- (13) (12)へ精製水400 μ Lを添加。
- (14) 遠心 (14000 g、25°C、5分間) し、通過画分を除去。
- (15) 新しいチューブへ(14)を転倒してセットし、遠心 (1000 g、25°C、2分間) 遠心。
- (16) 血漿試料からのADC抽出液約25 μ Lを得る。

[0276] 被験物質として、実施例17で調製したADCおよび表8の比較例1及び比較例2で示したADCを用いた。なお、抗体はVIS832を用いた。ヒト血漿の結果を図6、マウス血漿の結果を図7に示す。

[0277]

[表8]

CEx	Str
1	
2	

[0278] 試験例2. 構造安定性評価

示差走査熱量計（DSC）分析法を用いて、被験物質の構造安定性を評価した。その結果を表9及び図8に示す。

[0279] [表9]

被験物質	Tm (°C)
VIS832	79.5
実施例 17	77.1
比較例 1	75.5
比較例 2	77.5

[0280] 試験例3. 増殖試験

ADC増殖試験（U266B1細胞）

培地にRPMI-1640（10% FBS、1%ペニシリン-ストレプトマイシン）を使用し、マイクロプレート（グライナー社、655098）に 2×10^4 cells/well、90 μ L/wellで細胞を播種した。被験物質溶液10 μ Lを添加して順次10倍公比で段階希釈を行った後、37℃で培養した。5日後、Cell Titer Glo 2.0（Promega

社、G9242)を添加後、Infinite M1000 PRO (TECAN社)を用いて発光を測定した。その結果を表10に示す。

[0281] [表10]

被験物質	IC ₅₀ (nM)
実施例 17	0.057
比較例 1	0.075
比較例 2	0.069

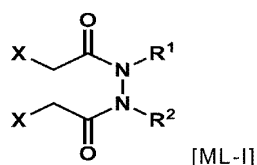
産業上の利用可能性

[0282] 本発明の化合物またはその塩は、抗体薬物複合体用リンカー用および抗体薬物複合体用として有用である。

請求の範囲

[請求項1] 一般式[ML-I]

[化1]



[ここで、

Xは脱離基であり；

R¹およびR²は、各々独立して、水素、1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキルまたは1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキレン-R¹¹であり（ただし、R¹とR²は同時に水素ではない）；

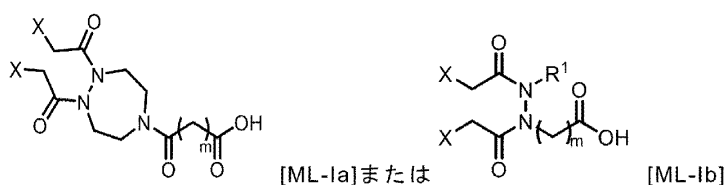
または、R¹およびR²は、隣接する窒素原子とともに、さらに窒素原子を環構成原子として含有する7員環を形成し、該環はさらに1つ以上の置換基で置換されていてもよい-C(=O)-C₁₋₆アルキレン-R¹¹を置換基として有しており；

R¹¹はCOOH、SO₃HもしくはPO₃H₂またはそのエステル基である]

で表される化合物またはその塩。

[請求項2] 一般式[ML-Ia]または[ML-Ib]

[化2]



[ここで、

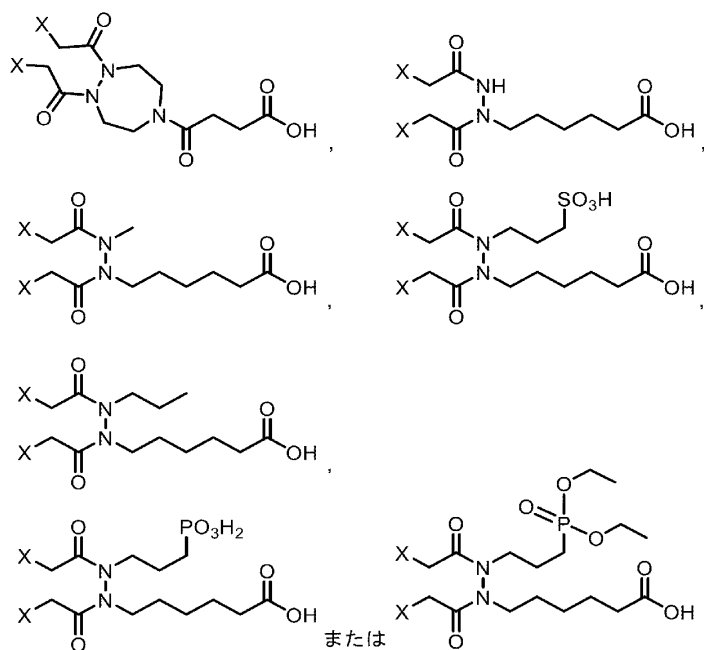
mは1～6の整数であり；

XおよびR¹は前記と同意義である]

で表される化合物またはその塩である請求項1に記載の化合物またはその塩。

[請求項3] 下記の化合物またはその塩から選ばれる請求項 1 に記載の化合物またはその塩。

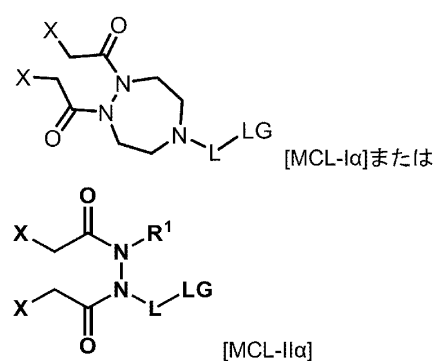
[化3]



[請求項4] Xがハロゲンである請求項 1 から 3 のいずれかに記載の化合物またはその塩。

[請求項5] 一般式[MCL-I α]または一般式[MCL-II α]

[化4]



[ここで、
Xは脱離基であり；

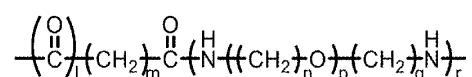
R¹は水素、1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキルまたは1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキレン-R¹¹であり

;

R¹¹はSO₃H、PO₃H₂もしくはCOOHまたはそのエステル基であり;

L¹は

[化5]

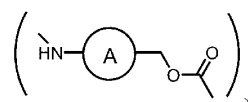


であり、各メチレンは1つ以上の置換基で置換されていてもよく;

L²は結合または開裂可能リンカーであり;

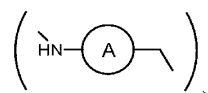
L³は結合、アミノ(アリールまたはヘテロアリール)メチルオキシカルボニル

[化6]



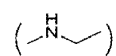
アミノ(アリールまたはヘテロアリール)メチル

[化7]



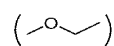
アミノメチル

[化8]



またはオキシメチル

[化9]



であり;

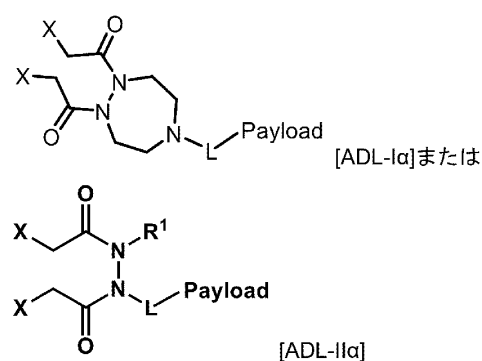
Aは1つ以上の置換基で置換されていてもよいアリールまたはヘテロアリールであり;

ただし、 L^2 および L^3 は同時に結合ではない；
 LGはハロゲンまたは0-電子吸引基であり；
 l および r は各々独立して、0または1であり、
 m 、 n 、 p および q は各々独立して、1～6の整数である]
 で表される化合物またはその塩である薬物リンカー中間体。

[請求項6]

一般式[ADL-I α]または一般式[ADL-II α]

[化10]



[ここで、

Payloadは薬物残基であり；

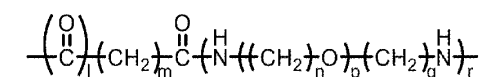
Xは脱離基であり；

R^1 は水素、1つ以上の置換基で置換されていてもよい C_{1-6} アルキルまたは1つ以上の置換基で置換されていてもよい C_{1-6} アルキレン- R^{11} であり；

R^{11} は SO_3H 、 PO_3H_2 もしくは $COOH$ またはそのエステル基であり；

L^1 は

[化11]



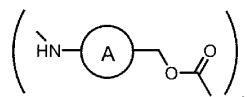
であり、各メチレンは1つ以上の置換基で置換されていてもよく；

L^2 は結合または開裂可能リンカーであり；

L^3 は結合、アミノ(アリールまたはヘテロアリール)メチルオキシカル

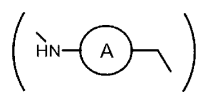
ボニル

[化12]



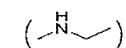
アミノ(アリールまたはヘテロアリール)メチル

[化13]



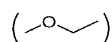
アミノメチル

[化14]



またはオキシメチル

[化15]



であり；

Aは1つ以上の置換基で置換されていてもよいアリールまたはヘテロアリールであり；

ただし、L²およびL³は同時に結合ではない；

lおよびrは各々独立して、0または1であり、

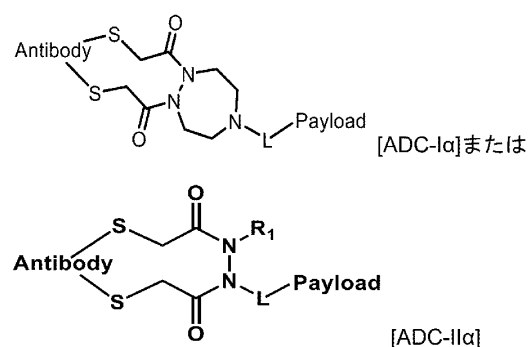
m、n、pおよびqは各々独立して、1～5の整数である]

で表される化合物またはその塩である薬物リンカー。

[請求項7]

一般式[ADC-I α]または一般式[ADC-II α]

[化16]



[ここで、

Payloadは薬物残基であり；

Antibodyは抗体残基であり；

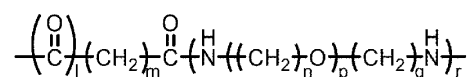
Sは抗体部分のシステイン残基の硫黄原子であり；

R¹は水素、1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキルまたは1つ以上の置換基で置換されていてもよいC₁₋₆アルキレン-R¹¹であり

；

R¹¹はSO₃H、PO₃H₂もしくはCOOHまたはそのエステル基であり；L¹は

[化17]

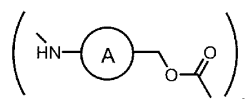


であり、各メチレンは1つ以上の置換基で置換されていてもよく；

L²は結合または開裂可能リンカーであり；

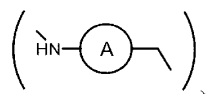
L³は結合、アミノ(アリールまたはヘテロアリール)メチルオキシカルボニル

[化18]



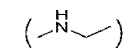
アミノ(アリールまたはヘテロアリール)メチル

[化19]



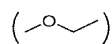
アミノメチル

[化20]



またはオキシメチル

[化21]



であり；

Aは1つ以上の置換基で置換されていてもよいアリールまたはヘテロアリールであり；

ただし、 L^2 および L^3 は同時に結合ではない；

l および r は各々独立して、0または1であり、

m 、 n 、 p および q は各々独立して、1～6の整数である]

で表される化合物またはその塩である抗体薬物複合体。