

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4390845号  
(P4390845)

(45) 発行日 平成21年12月24日(2009.12.24)

(24) 登録日 平成21年10月16日(2009.10.16)

(51) Int. Cl.		F I	
A 6 1 K	47/34	(2006.01)	A 6 1 K 47/34
A 6 1 K	47/18	(2006.01)	A 6 1 K 47/18
A 6 1 K	9/107	(2006.01)	A 6 1 K 9/107
A 6 1 K	9/51	(2006.01)	A 6 1 K 9/51
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00

請求項の数 27 (全 154 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2008-504516 (P2008-504516)	(73) 特許権者	507135881
(86) (22) 出願日	平成18年4月3日(2006.4.3)		インテザイン テクノロジーズ, インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2008-537943 (P2008-537943A)		アメリカ合衆国 フロリダ 33606, タンパ, ルサーン アベニュー 489
(43) 公表日	平成20年10月2日(2008.10.2)	(74) 代理人	100078282
(86) 国際出願番号	PCT/US2006/012382		弁理士 山本 秀策
(87) 国際公開番号	W02006/107903	(74) 代理人	100062409
(87) 国際公開日	平成18年10月12日(2006.10.12)		弁理士 安村 高明
審査請求日	平成21年3月25日(2009.3.25)	(74) 代理人	100113413
(31) 優先権主張番号	60/667, 260		弁理士 森下 夏樹
(32) 優先日	平成17年4月1日(2005.4.1)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/741, 780		
(32) 優先日	平成17年12月1日(2005.12.1)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
早期審査対象出願			最終頁に続く

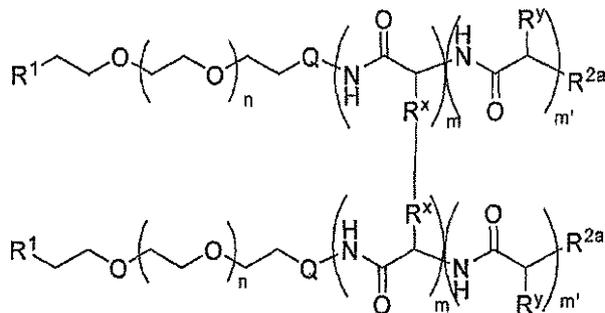
(54) 【発明の名称】 薬物送達のためのポリマーミセル

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ポリマー親水性ブロック、架橋されたポリ(アミノ酸ブロック)、およびポリ(アミノ酸ブロック)を含むマルチブロックコポリマーを含むミセルであって、該ミセルは非架橋内側コア、架橋された外側コア、および親水性シェルを有することを特徴とし、該マルチブロックコポリマーが、式 I I :

【化1】



II

のものであり、  
式中、

n は 10 ないし 2500 であり；

m は 5 ないし 50 であり；

m' は 5 ないし 500 であり；

R<sup>x</sup> はグルタミン酸側鎖、アスパラギン酸側鎖、システイン側鎖、セリン側鎖、アルデヒド含有側鎖、リシン側鎖、アルギニン側鎖、およびヒスチジン側鎖からなる群から選択される架橋された天然または非天然のアミノ酸側鎖基であり；

R<sup>y</sup> は保護されたチロシン側鎖、保護されたセリン側鎖、保護されたスレオニン側鎖、フェニルアラニン側鎖、アラニン側鎖、バリン側鎖、ロイシン側鎖、トリプトファン側鎖、およびプロリン側鎖からなる群より選択される疎水性アミノ酸側鎖であるか、あるいは R<sup>y</sup> はリシン側鎖、アルギニン側鎖、保護されたリシンまたはアルギニン側鎖、アスパラギン酸側鎖、グルタミン酸側鎖、および保護されたアスパラギン酸またはグルタミン酸からなる群より選択されるイオン性アミノ酸側鎖基であるか、あるいは R<sup>y</sup> はフェニルアラニン/チロシン、フェニルアラニン/セリン、およびロイシン/チロシンからなる群より選択される疎水性アミノ酸側鎖基と親水性アミノ酸側鎖基との混合物であり；

R<sup>1</sup> は - Z ( CH<sub>2</sub> CH<sub>2</sub> Y )<sub>p</sub> ( CH<sub>2</sub> )<sub>t</sub> R<sup>3</sup> であり、ここで：

Z は - O - 、 - S - 、 - C C - 、または - CH<sub>2</sub> - であり；

各 Y は、独立して - O - または - S - であり；

p は 0 ないし 10 であり；

t は 0 ないし 10 であり；

R<sup>3</sup> は - N<sub>3</sub>、 - CN、モノ保護アミン、ジ保護アミン、保護されたアルデヒド、保護されたヒドロキシル、保護されたカルボン酸、保護されたチオール、9 ないし 30 員クラウンエーテル、あるいは脂肪族、窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 5 ないし 8 員の飽和、部分的な飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する 8 ないし 10 員の飽和、部分的な飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択される置換または非置換の基であり；

Q は原子価結合または二価の、飽和または不飽和の直鎖または分枝鎖 C<sub>1-12</sub> アルキレン鎖であり、ここで、Q の 0 ないし 6 個のメチレン単位は、独立して、 - Cy - 、 - O - 、 - NH - 、 - S - 、 - OC ( O ) - 、 - C ( O ) O - 、 - C ( O ) - 、 - SO - 、 - SO<sub>2</sub> - 、 - NH SO<sub>2</sub> - 、 - SO<sub>2</sub> NH - 、 - NHC ( O ) - 、 - C ( O ) NH - 、 - OC ( O ) NH - 、または - NHC ( O ) O - によって置き換えられ、ここで：

- Cy - は窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する置換または非置換の 5 ないし 8 員の二価の、飽和、部分的な飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する置換または非置換の 8 ないし 10 員の二価の、飽和、部分的な飽和、またはアリール二環式環であり；

R<sup>2a</sup> はモノ保護アミン、ジ保護アミン、 - N ( R<sup>4</sup> )<sub>2</sub>、 - NR<sup>4</sup> C ( O ) R<sup>4</sup>、 - NR<sup>4</sup> C ( O ) N ( R<sup>4</sup> )<sub>2</sub>、 - NR<sup>4</sup> C ( O ) OR<sup>4</sup>、または - NR<sup>4</sup> SO<sub>2</sub> R<sup>4</sup> であり；そして

各 R<sup>4</sup> は、独立して、水素、脂肪族、窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 5 ないし 8 員の飽和、部分的な飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する 8 ないし 10 員の飽和、部分的な飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択される置換または非置換の基であり、あるいは

同一窒素原子上の 2 つの R<sup>4</sup> が該窒素原子と一緒にあって、窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 1 ないし 4 個のヘテロ原子を有する置換または非置換の 4 ないし 7 員の飽和、部分的な飽和、またはアリール環を形成する、ミセル。

【請求項 2】

R<sup>3</sup> が置換または非置換の脂肪族基である、請求項 1 記載のミセル。

【請求項 3】

10

20

30

40

50

R<sup>3</sup> が CN、N<sub>3</sub>、トリメチルシリル、トリイソプロピルシリル、t-ブチルジメチルシリル、N-メチルプロピオールアミド、N-メチル-4-アセチレニルアニリン、N-メチル-4-アセチレニルベンゾアミド、ビス-(4-エチニル-ベンジル)-アミノ、ジプロパルギルアミノ、ジ-ヘキサ-5-イニル-アミノ、ジ-ペンタ-4-イニル-アミノ、ジ-ブタ-3-イニル-アミノ、プロパルギルオキシ、ヘキサ-5-イニルオキシ、ペンタ-4-イニルオキシ、ジ-ブタ-3-イニルオキシ、N-メチル-プロパルギルアミノ、N-メチル-ヘキサ-5-イニル-アミノ、N-メチル-ペンタ-4-イニル-アミノ、N-メチル-ブタ-3-イニル-アミノ、2-ヘキサ-5-イニルジスルファニル、2-ペンタ-4-イニルジスルファニル、2-ブタ-3-イニルジスルファニル、または2-プロパルギルジスルファニルのうちのうちの1以上で置換された脂肪族基である、請求項2記載のミセル。

10

## 【請求項4】

R<sup>3</sup> が置換または非置換のアリール基である、請求項1記載のミセル。

## 【請求項5】

R<sup>3</sup> が CN、N<sub>3</sub>、NO<sub>2</sub>、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>、-CH=CH<sub>2</sub>、-C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、Br、I、F、ビス-(4-エチニル-ベンジル)-アミノ、ジプロパルギルアミノ、ジ-ヘキサ-5-イニル-アミノ、ジ-ペンタ-4-イニル-アミノ、ジ-ブタ-3-イニル-アミノ、プロパルギルオキシ、ヘキサ-5-イニルオキシ、ペンタ-4-イニルオキシ、ジ-ブタ-3-イニルオキシ、2-ヘキサ-5-イニルオキシ-エチルジスルファニル、2-ペンタ-4-イニルオキシ-エチルジスルファニル、2-ブタ-3-イニルオキシ-エチルジスルファニル、2-プロパルギルオキシ-エチルジスルファニル、ビス-ベンジルオキシ-メチル、[1,3]ジオキサラン-2-イル、または[1,3]ジオキサラン-2-イルのうちの1以上で置換されたフェニルまたはピリジルである、請求項4記載のミセル。

20

## 【請求項6】

R<sup>3</sup> が

## 【化1A】



30

である、請求項1記載のミセル。

## 【請求項7】

Qが原子価結合である、請求項1記載のミセル。

## 【請求項8】

Qが二価のC<sub>1-12</sub>飽和アルキレン鎖であり、ここで、Qの0ないし6個のメチレン単位は、独立して、-Cy-、-O-、-NH-、-S-、-OC(O)-、-C(O)O-、または-C(O)-によって置き換えられ、ここで、-Cy-は窒素、酸素および硫黄から独立して選択される4ないし0個のヘテロ原子を有する置換または非置換の5ないし8員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素および硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する置換または非置換の8ないし10員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環である、請求項1記載のミセル。

40

## 【請求項9】

R<sup>2a</sup>が-NHR<sup>4</sup>または-N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>であり、ここで、各R<sup>4</sup>が置換または非置換の脂肪族基である、請求項1記載のミセル。

## 【請求項10】

R<sup>2a</sup>が-NHR<sup>4</sup>または-N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>であり、ここで、各R<sup>4</sup>が、独立して、メチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、2-(テトラヒドロピラン-2-イルオキシ)エチル、ピリジン-2-イルジスルファニルメチル、メチルジスルファニルメチル、(4-アセチレニルフェニル)メチル、3-(メトキシカルボニル)-プロパ-

50

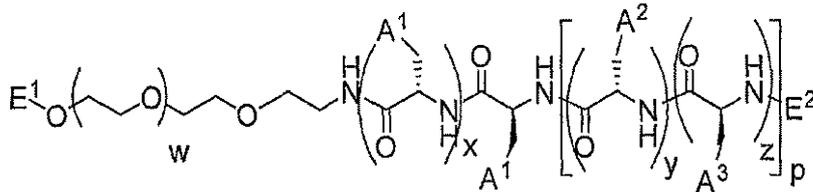
2 - イニル、メトキシカルボニルメチル、2 - (N - メチル - N - (4 - アセチレニルフェニル)カルボニルアミノ) - エチル、2 - フタルイミドエチル、4 - プロモベンジル、4 - クロロベンジル、4 - フルオロベンジル、4 - ヨードベンジル、4 - プロパルギルオキシベンジル、2 - ニトロベンジル、4 - (ビス - 4 - アセチレニルベンジル)アミノメチル - ベンジル、4 - プロパルギルオキシ - ベンジル、4 - ジプロパルギルアミノ - ベンジル、4 - (2 - プロパルギルオキシ - エチルジスルファニル)ベンジル、2 - プロパルギルオキシ - エチル、2 - プロパルジスルファニル - エチル、4 - プロパルギルオキシ - ブチル、2 - (N - メチル - N - プロパルギルアミノ)エチル、2 - (2 - ジプロパルギルアミノエトキシ) - エチル、ビニル、アリル、クロチル、2 - プロペニル、ブタ - 3 - エニル、 $-\text{CH}_2\text{CN}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CN}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OCH}_3)_2$ 、4 - (ビスベンジルオキシメチル)フェニルメチル、 $-\text{CC}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2$ 、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_3$ 、または  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2$  である、請求項 9 記載のミセル。

10

## 【請求項 11】

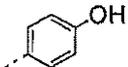
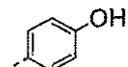
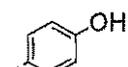
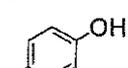
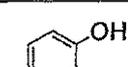
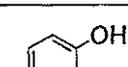
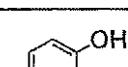
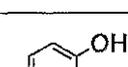
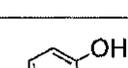
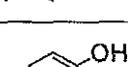
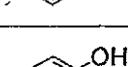
ポリマー親水性ブロック、架橋されたポリ(アミノ酸ブロック)、およびポリ(アミノ酸ブロック)を含むマルチブロックコポリマーを含むミセルであって、該ミセルは非架橋内側コア、架橋された外側コア、および親水性シェルを有することを特徴とし、該マルチブロックコポリマーが、以下の式：

## 【化 2】



20

## 【化3】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					

10

20

30

## 【化4】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					

10

20

30

40

## 【化5】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
28					
29					
30					
31					
32					
33					
34					
35					
36					
37					
38					
39					
40					
41					
42					
43					

10

20

30

40

## 【化6】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
44					
45					
46					
47					
48					
49					
50					
51					
52					
53					
54					
55					
56					
57					
58					
59					

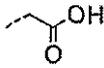
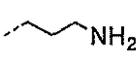
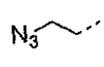
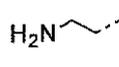
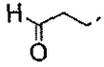
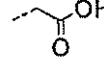
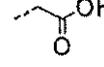
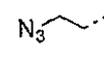
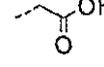
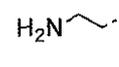
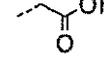
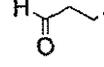
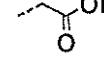
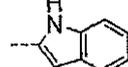
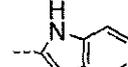
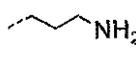
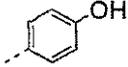
10

20

30

40

## 【化7】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
60					
61					
62					
63					
64					
65					
66					
67					
68					
69					
70					
71					
72					
73					
74					
75					

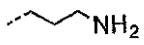
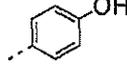
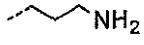
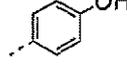
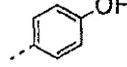
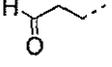
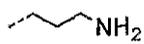
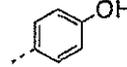
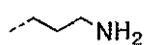
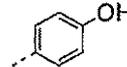
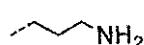
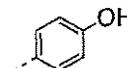
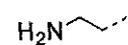
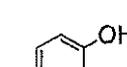
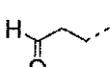
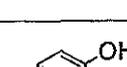
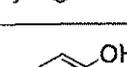
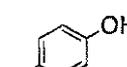
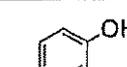
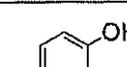
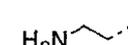
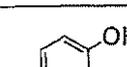
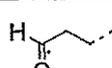
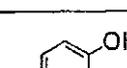
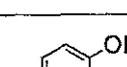
10

20

30

40

## 【化 8】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
76					
77					
78					
79					
80					
81					
82					
83					
84					
85					
86					
87					
88					
89					
90					

10

20

30

40

## 【化9】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
91					
92					
93					
94					
95					
96					
97					
98					

10

20

の化合物から選択され、

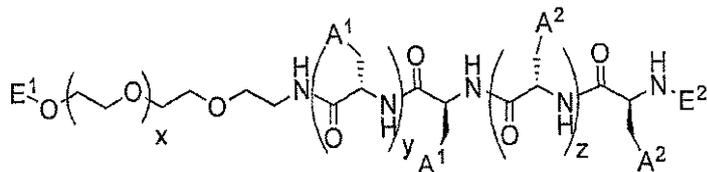
各wは25ないし1000であり、各xは1ないし50であり、各yは1ないし50であり、各zは1ないし100であり、pはyおよびzの合計であり、および各点線の結合は分子の残りへの結合点を表し、A<sup>1</sup>が架橋されている、ミセル。

30

## 【請求項12】

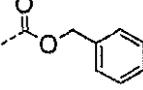
ポリマー親水性ブロック、架橋されたポリ(アミノ酸ブロック)、およびポリ(アミノ酸ブロック)を含むマルチブロックコポリマーを含むミセルであって、該ミセルは非架橋内側コア、架橋された外側コア、および親水性シェルを有することを特徴とし、該マルチブロックコポリマーが、以下の式：

## 【化10】

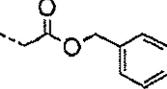
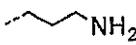
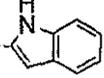
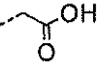
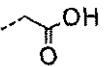
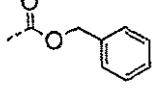
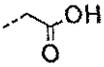
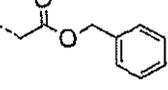
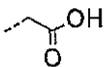
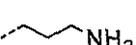
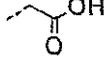
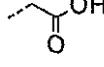
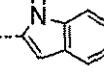
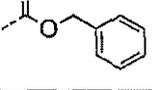
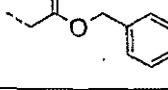
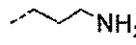


40

## 【化 1 1】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
99				
100				

## 【化 1 2】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
101				
102				
103				
104				
105				
106				
107				
108				
109				
110				
111				
112				
113				
114				

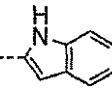
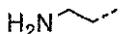
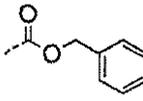
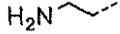
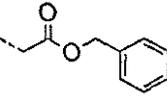
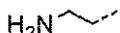
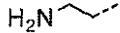
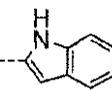
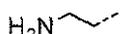
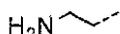
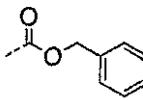
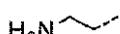
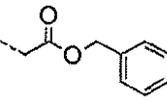
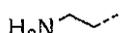
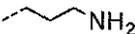
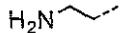
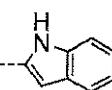
10

20

30

40

## 【化 1 3】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
115				
116				
117				
118				
119				
120				
121				
122				
123				
124				
125				
126				
127				
128				
129				

10

20

30

40

## 【化 1 4】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
130				
131				
132				
133				
134				
135				
136				
137				
138				
139				
140				
141				
142				
143				

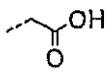
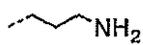
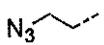
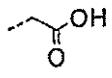
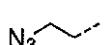
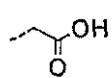
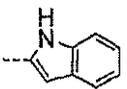
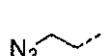
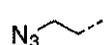
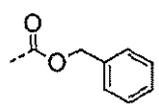
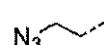
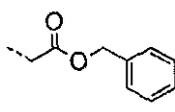
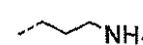
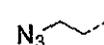
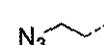
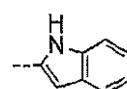
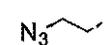
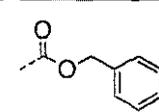
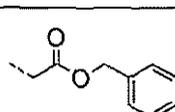
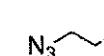
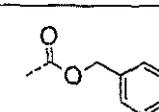
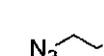
10

20

30

40

## 【化 15】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
144				
145				
146				
147				
148				
149				
150				
151				
152				
153				
154				
155				
156				
157				
158				

10

20

30

40

## 【化 1 6】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
159				
160				
161				
162				
163				
164				
165				
166				
167				
168				
169				
170				
171				
172				

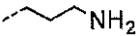
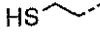
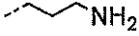
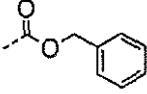
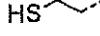
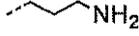
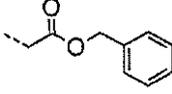
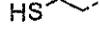
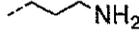
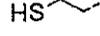
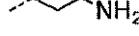
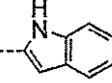
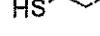
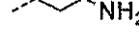
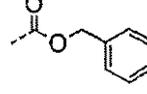
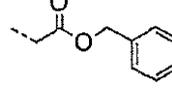
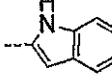
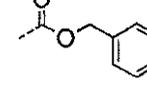
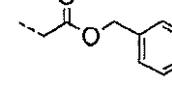
10

20

30

40

## 【化 17】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
173				
174				
175				
176				
177				
178				
179				
180				
181				
182				
183				
184				
185				
186				

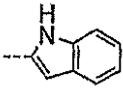
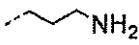
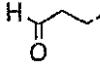
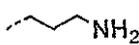
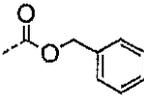
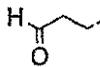
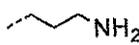
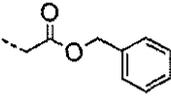
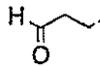
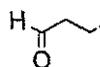
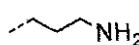
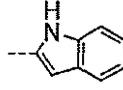
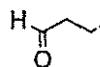
10

20

30

40

## 【化18】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
187				
188				
189				
190				
191				
192				

10

20

の化合物から選択され、

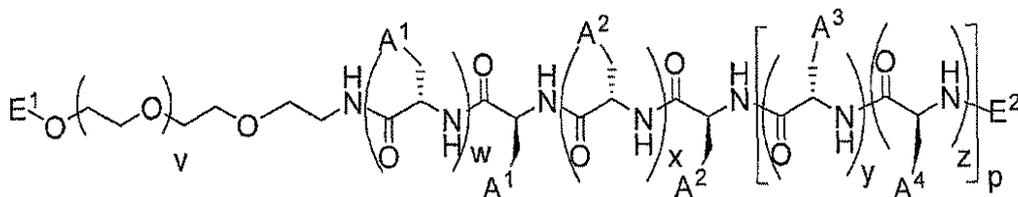
各xは100ないし500であり、各yは4ないし20であり、各zは5ないし50であって、各点線の結合は分子の残りへの結合点を表し、A<sup>1</sup>が架橋されている、ミセル。

## 【請求項13】

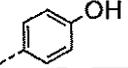
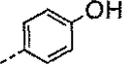
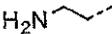
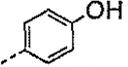
ポリマー親水性ブロック、架橋されたポリ(アミノ酸ブロック)、およびポリ(アミノ酸ブロック)を含むマルチブロックコポリマーを含むミセルであって、該ミセルは非架橋内側コア、架橋された外側コア、および親水性シェルを有することを特徴とし、該マルチブロックコポリマーが、以下の式：

30

## 【化19】



## 【化20】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	A <sup>4</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
193						
194						
195						

40

## 【化 2 1】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	A <sup>4</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
196		-SH				
197		-SH			H <sub>3</sub> C-	
198		-SH				
199		-SH			H <sub>2</sub> N-	
200		-SH			N <sub>3</sub> -	
201		-SH				
202		-SH			H <sub>3</sub> C-	
203		-SH				-H
204		-SH			H <sub>2</sub> N-	-H
205		-SH			N <sub>3</sub> -	-H
206		-SH				-H
207		-SH			H <sub>3</sub> C-	-H
208		-SH				-H
209		-SH			H <sub>2</sub> N-	-H
210		-SH			N <sub>3</sub> -	-H
211		-SH				-H
212		-SH			H <sub>3</sub> C-	-H

10

20

30

40

の化合物から選択され、

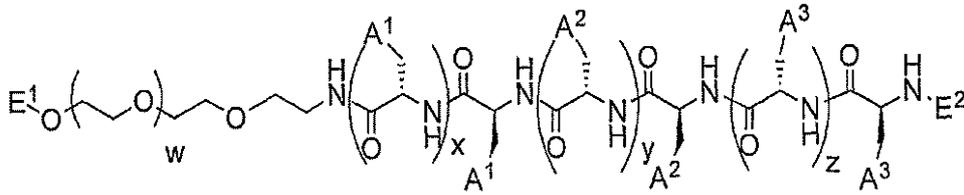
式中、各vは100ないし500であり、各wは4ないし20であり、xは4ないし20であり、各yは5ないし50であり、各zは5ないし50であり、pはyおよびzの合計であって、各点線の結合は分子の残りへの結合点を表し、A<sup>1</sup>が架橋されている、ミセル

## 【請求項 1 4】

50

ポリマー親水性ブロック、架橋されたポリ(アミノ酸ブロック)、およびポリ(アミノ酸ブロック)を含むマルチブロックコポリマーを含むミセルであって、該ミセルは非架橋内側コア、架橋された外側コア、および親水性シェルを有することを特徴とし、該マルチブロックコポリマーが、以下の式：

【化 2 2】



10

【化 2 3】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
213					
214					
215					
216					
217					
218					
219					
220					
221					
222					
223					
224					
225					
226					

20

30

40

50

## 【化 2 4】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
227		-SH			-H
228		-SH			-H
229		-SH			-H
230		-SH			-H
231		-SH			-H
232		-SH			-H
233		-SH			-H
234		-SH			-H
235		-SH			-H
236		-SH			-H
237		-SH			-H
238		-SH			-H
239		-SH			-H
240		-SH			-H
241		-SH			
242		-SH			
243		-SH			

10

20

30

40

【化 2 5】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
244		-SH			
245		-SH			
246		-SH			
247		-SH			
248		-SH			
249		-SH			
250		-SH			
251		-SH			
252		-SH			
254		-SH			
255		-SH			
256		-SH			-H
257		-SH			-H
258		-SH			-H
259		-SH			-H
260		-SH			-H
261		-SH			-H

10

20

30

40

## 【化 2 6】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
262		-SH			-H
263		-SH			-H
264		-SH			-H
265		-SH			-H
266		-SH			-H
267		-SH			-H
268		-SH			-H
269		-SH			-H
270		-SH			
271		-SH			
272		-SH			
273		-SH			
274		-SH			
275		-SH			
276		-SH			
277		-SH			
278		-SH			

10

20

30

40

## 【化 27】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
279		-SH			
280		-SH			
281		-SH			
282		-SH			
283		-SH			
284		-SH			-H
285		-SH			-H
286		-SH			-H
287		-SH			-H
288		-SH			-H
289		-SH			-H
290		-SH			-H
291		-SH			-H
292		-SH			-H
293		-SH			-H
294		-SH			-H
295		-SH			-H

10

20

30

40

## 【化28】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
296					
297					

10

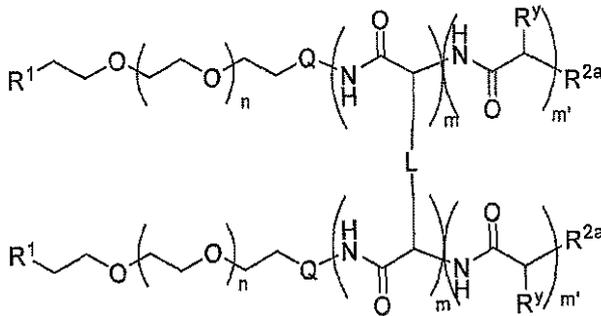
の化合物から選択され、

式中、各wは25ないし1000であり、各xは1ないし50であり、yは1ないし50であり、各zは1ないし100であって、各点線の結合は分子の残りへの結合点を表し、A<sup>1</sup>が架橋されている、ミセル。

## 【請求項15】

式III:

## 【化29】



20

## III

の架橋されたマルチブロックコポリマーであって、  
式中、

nは10ないし2500であり；

mは5ないし50であり；

m'は5ないし500であり；

Lは二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝状C<sub>1-12</sub>アルキレン鎖であり、  
ここで、Lの0ないし6個のメチレン単位は、独立して、-M-、-Cy-、-O-、  
-NH-、-S-、-OC(O)-、-C(O)O-、-C(O)-、-SO-、-SO<sub>2</sub>-、  
NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>-、-SO<sub>2</sub>NH-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-OC(O)NH-、  
または-NHC(O)O-によって置き換えられ、ここで：

-M-は適切な二価金属であり；

-Cy-は窒素、酸素および硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する置換または非置換の5ないし8員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリアル環、あるいは窒素、酸素および硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する置換または非置換の8ないし10員の二価の飽和、部分的不飽和、またはアリアル二環式環であり；

30

40

R<sup>y</sup>は保護されたチロシン側鎖、保護されたセリン側鎖、保護されたスレオニン側鎖、フェニルアラニン側鎖、アラニン側鎖、バリン側鎖、ロイシン側鎖、トリプトファン側鎖、およびプロリン側鎖からなる群より選択される疎水性アミノ酸側鎖であるか、あるいはR<sup>y</sup>はリシン側鎖、アルギニン側鎖、保護されたリシンまたはアルギニン側鎖、アスパラギン酸側鎖、グルタミン酸側鎖、および保護されたアスパラギン酸またはグルタミン酸からなる群より選択されるイオン性アミノ酸側鎖基であるか、あるいはR<sup>y</sup>はフェニルアラ

50

ニンノチロシン、フェニルアラニンノセリン、およびロイシンノチロシンからなる群より  
選択される疎水性アミノ酸側鎖基と親水性アミノ酸側鎖基との混合物であり；

$R^1$  は  $-Z(CH_2CH_2Y)_p(CH_2)_tR^3$  であり、ここで：

Z は  $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C-C-$ 、または  $-CH_2-$  であり；

各 Y は、独立して、 $-O-$  または  $-S-$  であり；

p は 0 ないし 10 であり；

t は 0 ないし 10 であり；そして

$R^3$  は  $-N_3$ 、 $-CN$ 、モノ保護アミン、ジ保護アミン、保護されたアルデヒド、保護されたヒドロキシル、保護されたカルボン酸、保護されたチオール、9 ないし 30 員クラウンエーテル、あるいは脂肪族、窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 5 ないし 8 員の飽和、部分的不飽和、またはアリアル環、あるいは窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する 8 ないし 10 員の飽和、部分的不飽和、またはアリアル二環式環、あるいは検出可能な基から選択される置換または非置換の基であり；

Q は原子価結合または二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝状  $C_{1-12}$  アルキレン鎖であり、ここで、Q の 0 ないし 6 個のメチレン単位は、独立して、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-NHSO_2-$ 、 $-SO_2NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 、または  $-NHC(O)O-$  によって置き換えられ、ここで：

$-Cy-$  は窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する置換または非置換の 5 ないし 8 員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリアル環、あるいは窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する置換または非置換の 8 ないし 10 員の二価の飽和、部分的不飽和、またはアリアル二環式環であり；

$R^{2a}$  はモノ保護アミン、ジ保護アミン、 $-N(R^4)_2$ 、 $-NR^4C(O)R^4$ 、 $-NR^4C(O)N(R^4)_2$ 、 $-NR^4C(O)OR^4$ 、または  $-NR^4SO_2R^4$  であり；

および

各  $R^4$  は、独立して、水素、脂肪族、窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 5 ないし 8 員の飽和、部分的不飽和、またはアリアル環、窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する 8 ないし 10 員の飽和、部分的不飽和、またはアリアル二環式環、あるいは検出可能な基から選択される置換または非置換の基であり；あるいは

同一窒素原子上の 2 つの  $R^4$  は該窒素原子と一緒になって窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 1 ないし 4 個のヘテロ原子を有する置換または非置換の 4 ないし 7 員の飽和、部分的不飽和、またはアリアル環を形成する、コポリマー。

【請求項 16】

L が金属架橋アミノ酸側鎖基、ヒドラゾン架橋アミノ酸側鎖基、エステル架橋アミノ酸側鎖基、アミド架橋側鎖基、イミン架橋側鎖基、またはジスルフィド架橋側鎖基である、請求項 15 記載のコポリマー。

【請求項 17】

L が二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝鎖  $C_{1-12}$  アルキレン鎖であり、ここで、L の二つのメチレン単位は、独立して、 $-C(O)-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)NHN-$ 、 $=NNHC(O)-$ 、 $=N-$ 、 $-N=-$ 、 $-M-OC(O)-$ 、または  $-C(O)O-M-$  によって置き換えられる、請求項 16 記載のコポリマー。

【請求項 18】

$R^{2a}$  が、以下：

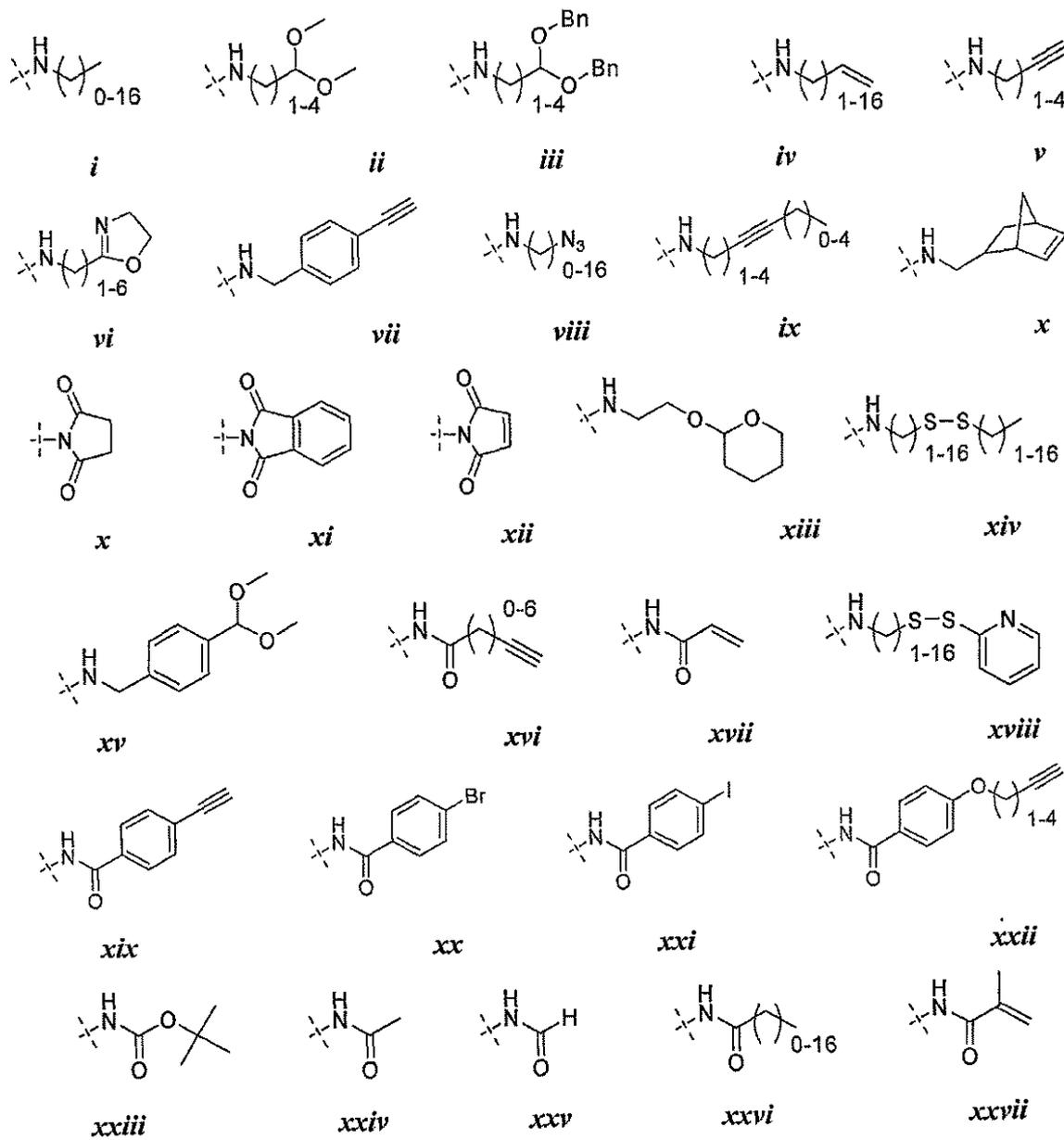
10

20

30

40

【化 3 0】

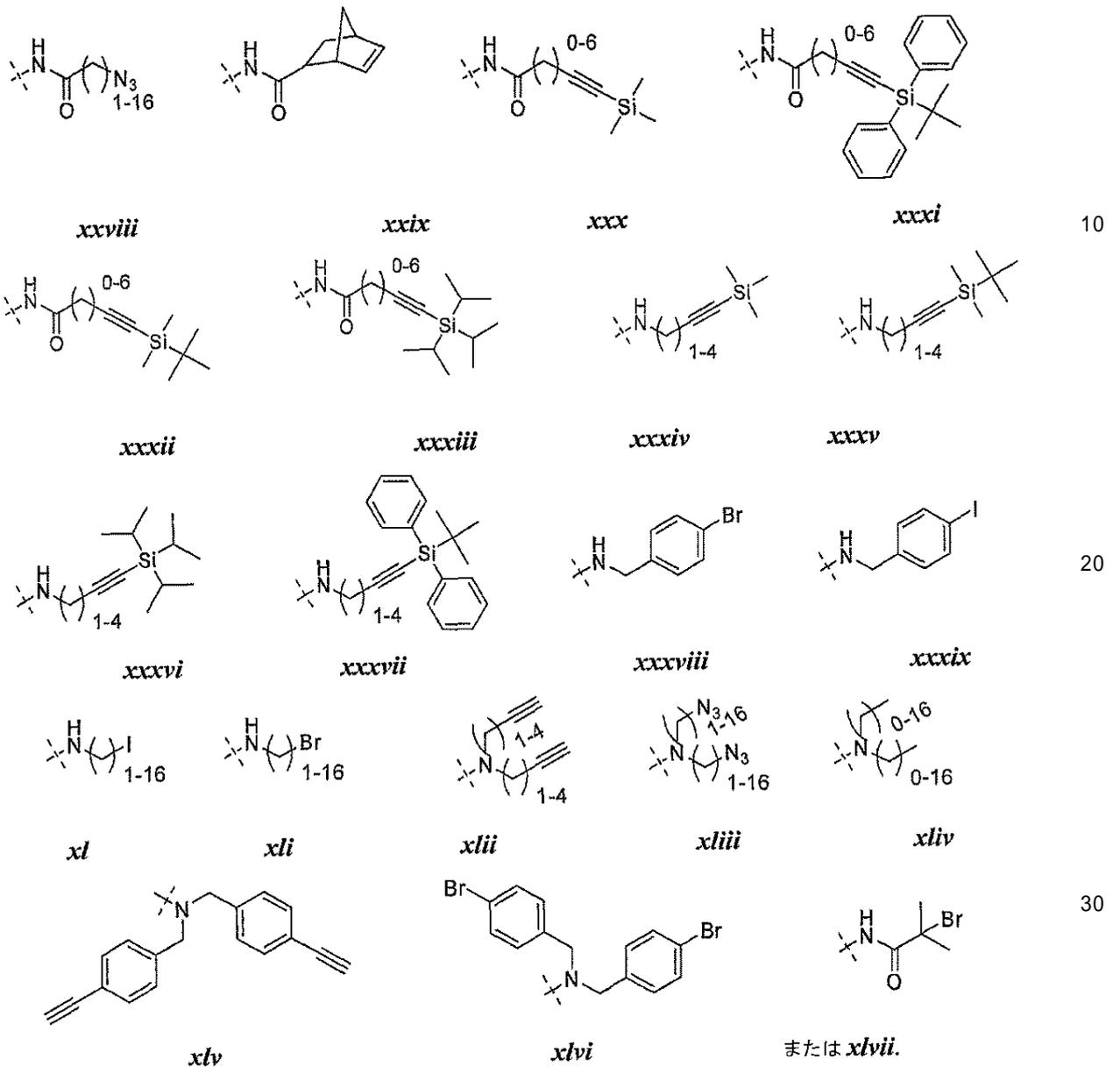


10

20

30

## 【化 3 1】



から選択される、請求項 1 5 記載のコポリマー。

## 【請求項 1 9】

ポリマー親水性ブロック、架橋されたポリ(アミノ酸ブロック)、およびポリ(アミノ酸ブロック)を含むマルチブロックコポリマーを含む薬物充填ミセルであって、該ミセルは薬物充填非架橋内側コア、架橋された外側コア、および親水性シェルを有し、該マルチブロックコポリマーが請求項 1 5 または 1 6 に規定される式 I I I のものである、薬物充填ミセル。

40

## 【請求項 2 0】

前記ミセルが混合ミセルである、請求項 1 9 記載の薬物充填ミセル。

## 【請求項 2 1】

R<sup>1</sup> が一次標識、色素、タンパク質、オリゴペプチド、抗体、単糖、オリゴ糖、およびビタミンから選択される基にコンジュゲートされる、請求項 1 9 記載の薬物充填ミセル。

## 【請求項 2 2】

前記ミセルが疎水性薬物を封入する、請求項 1 9 記載の薬物充填ミセル。

## 【請求項 2 3】

50

前記疎水性薬物が鎮痛剤、抗炎症剤、駆虫薬、抗不整脈剤、抗菌剤、抗ウイルス剤、抗凝固剤、抗鬱剤、抗糖尿病剤、抗癲癇剤、抗真菌剤、抗痛風剤、抗高血圧剤、抗マラリア剤、抗偏頭痛剤、抗ムスカリン剤、抗新形成剤、勃起不全改良剤、免疫抑制剤、抗原生動物剤、抗チロイド剤、抗不安剤、鎮痛薬、催眠薬、神経弛緩薬、β-ブロッカー、心臓変力剤、コルチコステロイド、利尿剤、抗パーキンソン病剤、胃腸剤、ヒスタミン受容体アンタゴニスト、角質溶解剤、脂質調節剤、抗狭心症剤、Cox-2阻害剤、ロイコトリエン阻害剤、マクロライド、筋肉弛緩剤、栄養剤、オピオイド鎮痛剤、プロテアーゼ阻害剤、性ホルモン、刺激剤、筋肉弛緩剤、抗骨粗鬆症剤、抗肥満剤、認識増強剤、抗泌尿系失禁剤、抗良性前立腺肥大剤、必須脂肪酸、非-必須脂肪酸、およびそれらの混合物から選択されるか、あるいは、前記疎水性薬物がアセトレチン、アルペンダゾール、アルブテロール、アミノグルテチミド、アミオダロン、アムロジピン、アンフェタミン、アンフォテリシンB、アトルバスタチン、アトバクオン、アジトロマイシン、バクロフェン、ベクロメタゾン、ベネゼプリル、ベンゾナテート、ベタメタゾン、ビカルタミド、ブデソニド、ブプロピオン、ブスルファン、ブテナフィン、カルシフェディオール、カルシポトリエン、カルシトリオール、カンプトテシン、カンデサルタン、カブサイシン、カルバメザピン、カロテン、セレコキシブ、セリバスタチン、セチリジン、クロルフェニラミン、コレカルシフェロール、シロスタゾール、シメチジン、シンナリジン、シプロフロキサシン、シサプリド、クラリトロマイシン、クレマスチン、クロミフェン、クロミプラミン、クロピドグレル、コデイン、コエンチウムQ10、シクロベンザプリン、シクロスポリン、ダナゾール、ダントロレン、デクスクロルフェニラミン、ジクロフェナック、ジクマロール、ジゴキシン、デヒドロエピアンドロステロン、ジヒドロエルゴタミン、ジヒドロタキステロール、ジリトロマイシン、ドネゼピル、エファビレンツ、エプロサルタン、エルゴカルシフェロール、エルゴタミン、必須脂肪酸源、エトドラッグ、エトポシド、ファモチジン、フェノフィブラート、フェンタニル、フェキソフェナジン、フィナステライド、フルコナゾール、フルルピプロフェン、フルバスタチン、フォスフェニトイン、フロバトリプタン、フラゾリドン、ガバペンチン、ゲムフィブロジル、グリベンクラミド、グリピジド、グリブリド、グリメピリド、グリセオフルピン、ハロファントリン、イブプロフェン、イルベサルタン、イリノテカン、イソソルバイドジニトレート、イソトレチノイン、イトラコナゾール、イベルメクチン、ケトコナゾール、ケトロラック、ラモトリジン、ランソウプラゾール、レフルノミド、リシノプリル、ロペラミド、ロラタジン、ロバスタチン、L-チリロキシン、ルテイン、メドロキシプロゲステロン、ミフェプリストン、メフロキン、メゲストロール酢酸、メタドン、メトクスサレン、メトロニダゾール、ミコナゾール、ミダゾラム、ミグリトール、ミノキシジル、マイトキサントロン、モンテルカスト、ナブメトン、ナルブフィン、ナラトリプタン、ネルフィナビル、ニフェジピン、ニルソリジピン、ニルタニド、ニトロフランチン、ニザチジン、オメプラゾール、オペレベキシン、エストラジオール、オキサプロジン、パクリタキセル、パラカルシトール、パロキセチン、ペンタゾシン、ピオグリタゾン、ピゾフェチン、プラバスタチン、ブレドニゾロン、プロブコール、プロゲステロン、プロイドエフェドリン、ピリドスチグミン、ラベプラゾール、ラロキシフェン、ロフェコキシブ、レパグリミド、リファブチン、リファペンチン、リメキソロン、リタノビル、リザトリプタン、ロシグリタゾン、サキナビル、セルトラリン、シブトラミン、シルденаフィルクエン酸、シムバスタチン、シロリムス、スピロラクトン、スマトリプタン、タクリン、タクロリムス、タモキシフェン、タムスロシン、タルグレチン、タザロテン、テルミサルタン、テニボシド、テルピナフィン、テラゾシン、テトラヒドロカンナビノール、チアガピン、チクロピジン、チロフィبران、チザニジン、トピラメート、トボテカン、トレミトフェン、トラマドール、トレチノイン、トログリタゾン、トロバフロキサチン、ウビデカレノン、バルサルタン、ベンラファキシン、ベルテポルフィン、ピガバトリン、ビタミンA、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンK、ザフィルルカスト、ジレウトン、ゾルミトリプタン、ゾルピデム、ゾピクロン、それらの薬学的に受容可能な塩、異性体、および誘導体、ならびにそれらの混合物から選択される、請求項19記載の薬物充填ミセル。

10

20

30

40

50

## 【請求項 2 4】

前記疎水性薬物が抗増殖薬物または化学療法薬物である、請求項 1 9 記載の薬物充填ミセル。

## 【請求項 2 5】

前記抗増殖薬物または化学療法薬物がアバレリクス、アルデスロイキン、アルデスロイキン、アレムツツマブ、アリトレチノイン、アロプリノール、アルトレタミン、アミフォスチン、アナストロゾール、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、アザシチジン、生 B C G、ベバシズマブ、アバスチン、フルオロウラシル、ベキサロテン、プレオマイシン、ボルテゾミブ、ブスルファン、カルステロン、カベシタピン、カンプトテシン、カルボプラチン、カルムスチン、セレコキシブ、セツキシマブ、クロラムブシル、シスプラチン、クラドリピン、クロファラピン、シクロフォスファミド、シタラピン、ダクチノマイシン、ダルベポエチンアルファ、ダウノルピシン、デニロイキン、デクスラゾキサン、ドセタキセル、ドキシソルピシン（中性）、ドキシソルピシン塩酸、ドロモスタノロンプロピオン酸、エピルピシン、エポエチンアルファ、エルロチニブ、エストラムスチン、エトポシドリン酸、エトポシド、エキサメスタン、フィルグラスチム、フロキシリジンフルダラピン、フルベストラント、ゲフィチニブ、ゲムシタピン、ゲムツツマブ、ゴセレリン酢酸、ヒストレリン酢酸、ヒドロキシ尿素、イブリツモマブ、イダルピシン、イフォスファミド、イマチニブメシレート、インターフェロンアルファ - 2 a、インターフェロンアルファ - 2 b、イリノテカン、レナリドミド、レトロゾール、ロイコボリン、ロイプロリド酢酸、レバミゾール、ロムスチン、メゲストロール酢酸、メルファラン、メルカプトプリン 6 - M P、メスナ、メトトレキセート、メトキサレン、マイトマイシン C、ミトタン、マイトキサントロン、ナンドロロン、ネララピン、ノフェツモマブ、オブレルベキン、オキサリプラチン、パクリタキセル、パリフェルミン、パミドロネート、ペガデマラーゼ、ペガスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセドニナトリウム、ペントスタチン、ピボプロマン、プリカマイシン、ポルフィメールナトリウム、プロカルバジン、キナクリン、ラスブリカーゼ、リツキシマブ、サルブラモスチム、ソラフェニブ、ストレプトゾシン、スニチニブマレイン酸、タルク、タモキシフェン、テモゾロマイド、テニポシド、VM - 2 6、テストラクトン、チオグアニン、6 - T G、チオテパ、トポテカン、トレミフェン、トシツモマブ、トラスツツマブ、トレチノイン、ATRA、ウラシルマスタード、バルルピシン、ピンブラスチン、ピンクリスチン、ピノレルピン、ゾレドノネートまたはゾレドロン酸から選択される、請求項 2 4 記載の薬物充填ミセル。

10

20

30

## 【請求項 2 6】

前記ミセルがイオン性薬物を封入するか、あるいは該ミセルが DNA プラスミド、短い干渉性 RNA ( s i R N A ) ミクロ RNA ( m i R N A )、短いヘアピン RNA ( s h R N A )、アンチセンス RNA、オリゴペプチド、ペプチド、モノクローナル抗体、またはサイトカインを封入する、請求項 2 4 記載の薬物充填ミセル。

## 【請求項 2 7】

患者において癌を治療するのに使用するための請求項 2 4 に記載の薬物充填ミセル。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

40

## 【0 0 0 1】

## 関連出願の相互参照

本願は、米国仮特許出願番号第 6 0 / 6 6 7 , 2 6 0 号 ( 2 0 0 5 年 4 月 1 日出願 )、および同第 6 0 / 7 4 1 , 7 8 0 号 ( 2 0 0 5 年 1 2 月 1 日出願 ) に対する優先権を主張する。これらの仮特許出願の各々の全体は、参考として本明細書に援用される。

## 【0 0 0 2】

## 発明の分野

本発明は、ポリマー化学の分野、さらに詳しくはミセルおよびその使用に関する。

## 【背景技術】

## 【0 0 0 3】

50

### 発明の背景

新しい治療剤の開発は、種々の障害に罹った患者の生活の質および生存率を劇的に改良してきた。しかしながら、薬物送達の革新が、これらの治療の成功率を改良するために必要とされる。具体的には、治療剤の未熟な排出および/または代謝を効果的に最小化し、これらの剤を病気の細胞に送達し、それにより、それらの健康な細胞に対する毒性を低下させる、送達システムが依然として必要とされる。

#### 【0004】

合理的に設計された、ナノスコピン薬物担体、または「ナノベクター」は、多くの生物学的バリアーを克服するそれらの固有の能力のためこれらの目標を達成する有効なアプローチを供する。さらに、それらのマルチ-機能性は単一の送達システムへの細胞-標的基、診断剤、および多数の薬物の取込みを可能とする。機能的な両親媒性ブロックコポリマーの分子組み立てによって形成されるポリマーミセルは1つの顕著なタイプのマルチ機能ナノベクターを表す。

10

#### 【0005】

ポリマーミセルは、種々の薬物（例えば、小分子、タンパク質、およびDNA/RNA治療剤）の大きなペイロードを送達するそれらの能力、他のコロイド担体（例えば、リボソーム）と比較したそれらの改良されたイン・ビボ安定性、および増強された浸透および滞留（EPR）効果によって、固体腫瘍のような病気となった組織における受動的な蓄積を可能とするそれらのナノコピーサイズのため特に魅力的である。適切な表面機能を用い、ポリマーミセルは、さらに、細胞-標的基、および活発に病気の細胞を標的し、細胞の進入を助けることができる浸透増強剤で修飾され、その結果、改良された細胞-特異的送達をもたらされる。

20

#### 【0006】

自己組み立ては、ナノベクターのボトムアップ設計のための便宜な方法を表すが、ポリマーミセルの組み立てを駆動し、それを維持する力は濃度依存性であって、固有に可逆的である。臨床的な適用において、ポリマーミセルが投与に続いて迅速に希釈される場合、高濃度のミセル-脱安定化血液成分（例えば、タンパク質、脂質、およびリン脂質）、と共にこの可逆性は、しばしば、能動的または受動的標的が有効に達成される前に、薬物充填ミセルの未成熟な解離に導く。それらの細胞-標的ポテンシャルに十分到達し、およびそれらの考えられるマルチ-機能を開発するためのポリマーミセルについては、イン・ビボ循環時間が改良されなければならない。投与後希釈に対して無限に安定であり、生物学的バリアー（例えば、網内皮系（RES）取込み）を回避することができ、固体腫瘍のような病気の組織において遭遇する生理学的環境に応答して薬物を送達する、薬物送達ビヒクルが必要である。

30

#### 【発明の開示】

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0007】

発明の特定の実施形態の詳細な説明

##### 1. 一般的な記載:

バイオナノテクノロジーは生物学、化学、物理学およびエンジニアリング科学を含む広いマルチ-学問的分野であって、ナノメートルサイズのスケールに対する生体物質の設計および操作に貢献している。これらの「ナノデバイス」は、癌のような病気の検出、診断、および個人的な治療が可能な高度に進歩したマルチ-機能ツールとなるポテンシャルを供する。薬物送達の場合には、ナノスコピー治療担体、または「ナノベクター」は、癌性および他の病気の組織へ化学治療剤を選択的に送達するための潜在的に有望な方法である。ナノサイズの封入デバイスの利点は多数ある。例えば、単一分子薬物または診断剤と比較した場合、「ナノベクター」はそのような剤のかなり大量を輸送することができる。ナノスコピー薬物送達システムは、一般には、生物学的バリアーをより避ける傾向があり、その結果、封入された治療剤の低下した不活化または排出がもたらされる。マルチ-機能性はナノベクターの共通の特徴であり、それにより、複数の薬物、診断剤および標的基を

40

50

単一のシステムにパッケージすることができる。ナノスコピー薬物送達システムのボトムアップ設計は、しばしば、複雑なマルチ-機能デバイスを作成するための単一分子またはポリマーユニットの正確な自己組み立てを含む。

【0008】

ポリマーミセルは、親水性および疎水性双方の部分を含有するポリマー鎖であるブロックコポリマーの水性組み立てによって形成される1つのタイプのナノベクターである。これらの構造は、しばしば、コア-シェル形態およびサブミクロン直径を持つ球形粒子として存在する。それらのサイズおよび構造的均一性は、完全な送達システムの天然のバージョンであって、細胞および組織に高度に効率的に送達できるウイルス粒子に対して顕著な類似性を付与する。ウイルスのナノスコピーサイズ（直径がほぼ20ないし400ナノメートル）は、ウイルス表面のタンパク質が特定の細胞の高度に選択的な標的および感染を可能としつつ、身体の天然の防御システムを避けるそれらの能力に貢献すると考えられる。ウイルス粒子の選択性および侵入性を効果的に模倣するブロックコポリマーミセルのようなナノベクターの設計は、薬物送達研究の主な目標のままである。ポリマーミセルはブロックコポリマーの固有のモジュール性のため可変な代替物を表し、これは、ミセルサイズおよび表面機能のかなりのチューニングを供する。特定の実施形態において、後に詳細に記載する本発明のミセルは直径が約20ないし約200ナノメートルである。他の実施形態において、後に詳細に記載する本発明のミセルは直径が約20ないし約250ナノメートルである。

【0009】

ポリマーミセルのモジュール性の1つの利点は、コアおよびシェル成分をチューニングする能力である。これは薬物送達で特に有用である。なぜならば、アセンブリーのコアは、親水性シェルは水性アセンブリーに対して溶解性および安定性を付与しつつ、種々の治療剤に対する貯蔵庫として働くことができるからである。ファルマコキネティックの観点からは、薬物充填ミセルの分布はミセルのサイズおよび表面化学によって大いに決定され、薬物自体によっては決定されない。かくして、疎水性コアを保有するポリマーミセルは、貧弱な水性溶解性のため以前は棚上げにされていた優れた小分子薬物の封入で利用される。ミセルコアにおける疎水性化学治療剤の単離もまた、癌細胞において多薬物耐性（MDR）メカニズムを克服するための新しい戦略を提供した。正に荷電したコア-形成ブロックを持つポリマーミセルを用いて、プラスミドDNAおよびsiRNAのような生体分子を封入する。このタイプの治療剤は迅速なイン・ビボ分解に対して通常は感受性であって、ポリマーミセルへのそれらの封入はそれらの生体内分布プロフィールを改良し、かくして、将来の臨床的成功に導く。

【0010】

いずれかの薬物送達システムに対する1つの生物学的バリアー、細胞-応答性ナノベクターが取り組む別の論点は、網内皮細胞系による非特異的取込みである。RESは、細胞デブリスおよび外来性粒子を血流から除去するように設計された細胞の宿主よりなる。ウイルスと同様に、合成ナノベクターは、それらのサイズの性質によってRES検出をより逃れる傾向がある。加えて、ポリ（エチレングリコール）の共有結合は、小分子、タンパク質、およびナノ粒状薬物担体のオプソニン化および非特異的RES取込みを低下させるために通常に使用される方法である。Harris, J. M.; Martin, N. E.; Modi, M. Clin. Pharmacokin. 2001, 40, 539-551; Bhadra, D.; Bhadra, S.; Jain, P.; Jain, N. K. Pharmazie 2002, 57, 5-29; Shenoy, D. B.; Amiji, M. A. Int. J. Pharm. 2005, 293, 261-270;そしてTorchilin, V. Adv. Drug. Del. Rev. 2002, 54, 235-252参照。

【0011】

PEGは、ブロックコポリマーミセルの親水性コロナ-形成セグメントに対する標準的な選択となり、多数の研究が、ミセル送達システムのRES取込みを低下させるその能力

10

20

30

40

50

を確認している。Kwon, G.; Suwa, S.; Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y.; Kataoka, K. *J. Cont. Rel.* 1994, 29, 17 - 23; Caliceti, P.; Veronese, F. M. *Adv. Drug Del. Rev.* 2003, 55, 1261 - 1277; Ichikawa, K.; Hikita, T.; Maeda, N.; Takeuchi, Y.; Namba, Y.; Oku, N. *Bio. Pharm. Bull.* 2004, 27, および 443 - 444 参照。PEG鎖の長さを仕立てる能力は薬物担体設計において多数の利点を供する。というのは、研究は、循環時間およびRES取込みはPEGブロックの長さによって影響されることを示しているからである。一般に、より長いPEG鎖はより長い循環時間および増強された隠密特性に導く。5,000ないし20,000 Daの範囲のPEG分子量を持つPEG-b-ポリ(乳酸-コ-グリコール酸)(PLGA)ミセルの系統的研究において、Langerおよび共同研究者は、20,000 Da PEG鎖を被覆したミセルが肝臓取込みに対して最も低い感受性であったことを見出した。5時間の循環の後、ミセルの30%未満が肝臓で蓄積された。Gref, R.; Minamitake, Y.; Peracchia, M. T.; Trubetsky, V.; Torchilin, V.; Langer, R. *Science* 1994, 263, 1600 - 1603 参照。

10

## 【0012】

ナノベクターのPEG化はRES取込みを低下させ、イン・ビボ循環寿命を延長するための効果的な方法であるが、コロイド状薬物担体の究極の有効性を制限する他の挑戦が存在する。1つのそのようなバリアーは、それらの自己組み立て、および引き続いてのイン・ビボ安定性に関する。自己組み立ては、ナノベクター設計に対する便宜なボトムアップアプローチを表す。ポリマーミセルおよびリポソームのようなコロイド状薬物担体の水性組み立てを駆動する疎水性力は相対的に弱く、これらの組み立てられた構造は臨界ミセル濃度(「CMC」として知られた有限の濃度未満で解離する。これらのシステムのCMC値は臨床的適用において非常に重要である。というのは、薬物充填コロイド状担体は投与後に血流中で希釈され、CMC( $\mu\text{M}$ 以下)未満の濃度に迅速に到達し、ミセルの解離に導くからである。加えて、血液中の界面活性剤-様成分(例えば、タンパク質、脂質等)との非特異的相互作用は薬物充填ミセルを脱安定化するように作用する。Savic, R.; Azzam, T.; Eisenberg, A.; Maysinger, D. *Langmuir* 2006, ASAP論文参照。これらの事象は、しばしば、標的領域外部の未成熟薬物放出に導き、薬物担体および細胞-標的戦略を効果のないものとする。

20

30

## 【0013】

ミセル薬物担体に対する多大な研究にもかかわらず、希釈に対するそれらのイン・ビボ安定性の改良に対してはほとんど努力が当てられていなかった。ほとんどの場合、両親媒性ブロックコポリマーは、組み立て後架橋戦略に必要な官能基を欠如する。Woolleyおよび共同研究者は、ポリマーミセルのポリ(アクリル酸)コロナを架橋し、シェル-架橋ナノ粒子を形成することによってこの問題に取り組んできた。Thurmond, K. B.; Huang, H. Y.; Clark, C. G.; Kowalewski, T.; Woolley, K. L. *Coll. Surf. B.* 1999, 16, 45 - 54 参照。共有結合架橋は改良された安定性を持つナノ粒子を生じ、増強された治療ペイロードのさらなる利点を供する。というのは、コア-形成ブロックは架橋後に化学的に除去されるからである。Zhang, Q.; Remsen, E. E.; Woolley, K. L. *J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 3642 - 3651 参照。

40

## 【0014】

別のアプローチにおいて、Kataokaおよび共同研究者は、ジブロックポリマーミセルのコアを可逆的に架橋させて、安定性を改良するための方法を開発した。例えば、化学療法薬物シスプラチンは、PEG-b-ポリ(アスパラギン酸)コポリマーを用いて封入され、ミセルコアにおいて可逆的結合を形成した。Nishiyama, N.; Yokoyama, M.; Aoyagi, T.; Okano, T.; Sakurai, Y.

50

; Kataoka, K. Langmuir 1999, 15, 377-383 参照。ミセルは、動的光散乱によって測定されたように希釈に対して安定であって、コア-架橋は塩化物イオンの存在下で可逆的であり、ポリマーミセルの解離およびシスプラチンの放出をもたらした。しかしながら、腫瘍-担持マウスを用いるイン・ビボ実験は、シスプラチン充填ミセルの顕著に速い崩壊を示し、その結果、肝臓および脾臓への薬物の蓄積をもたらした。Nishiyama, N.; Kato, Y.; Sugiyama, Y.; Kataoka, K. Pharm. Res. 2001, 18, 1035-1041 参照。Kataokaのグループもまた、ジスルフィド化学を利用する別のコア架橋戦略を報告している。この場合、システインユニットはPEG-b-ポリ(L-リシン)コポリマーのリシン部分にランダムに取り込まれ、アンチセンスRNAの封入で用いた。Kakizawa, Y.; Harada, A.; Kataoka, K. J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 11247-11248; および Kakizawa, Y.; Harada, A.; Kataoka, K. Biomacromolecules 2001, 2, 491-497 参照。システイン側鎖をコア中で引き続いて酸化して、ジスルフィド架橋RNA充填ミセルを形成した。これらのミセルは、グルタチオン(GSH)、細胞質中に認識可能な量で見出される還元剤の存在下で選択的に解離することが示され、治療剤の細胞内送達のための効果的な方法を供する。他のコア架橋技術が工夫されており、これは、フリーラジカルによって架橋されるメタクリレートおよびオレフィン性官能性のようなポリマー末端-基を利用する。Iijima, M.; Nagasaki, Y.; Okada, T.; Kato, M.; Kataoka, K. Macromolecules 1999, 32, 1140-1146; and Tian, L.; Yam, L.; Wang, J. Z.; Tat, H.; Uhrich, K. E. J. Mat. Chem. 2004, 14, 2317-2324 参照。コア架橋アプローチの1つの顕著な不利はミセルコアにおける自由-容量の固有の低下であり、ミセルにおいて結局は薬物充填を制限する。

#### 【0015】

Armes および共同研究者は、ポリ[(エチレンオキサイド)-ブロック-2-(ジメチルアミノ)エチルメタクリレート-ブロック-2-(ジエチルアミノ)メタクリレート]コポリマーから作成されたミセルの外側コアを架橋する共有結合化学を用いた。二官能性架橋剤である1,2-ビス(2-ヨードエトキシ)エタンの付加は、2-(ジメチルアミノ)エチルメタクリレートブロックを効果的に架橋させ、不可逆的第四級アンモニウム架橋を形成することが示された。Liu, S.; Weaver, J. V. M.; Tang, Y.; Billingham, N. C.; Armes, S. P. Macromolecules, 2002, 35, 6121-6131 参照。McCormick および共同研究者は、ポリ(エチレンオキサイド)-ブロック-[ (N,N-ジメチルアクリルアミド)-stat-(N-アクリロイルスクシンイミド)]-ブロック-(N-イソプロピルアクリルアミド)コポリマーを合成し、ここで、N-アクリルオキシスクシンイミドユニットはシスタミンと反応して、可逆的ジスルフィド結合を介してミセルの外側コアを架橋する。Li, Y.; Lokitz, B. S.; Armes, S. P.; McCormick, C. L. Macromolecules 2006, ASAP 論文参照。

#### 【0016】

これらの緊急の問題に取り組み、改良された病気と闘うシステムを開発するために、本出願は、循環において希釈に対して安定であり、病気の細胞により効果的に蓄積でき、かつ病気の組織および細胞で通常見出される環境変化の範囲に応答して解離することができる「スマートな」薬物充填ポリマーミセルの設計および合成を記載する。

#### 【0017】

特定の実施形態において、本発明は、pH 7.4 (血液)において疎水性またはイオン性治療剤を効果的に封入するが、5.0 (エンドソーム pH) ないし 6.8 (細胞外腫瘍 pH) の範囲の標的された酸性 pH 値で薬物を解離させ、放出させる架橋されたミセルを提供する。なお他の実施形態において、pH 値は 4.0 および 7.0 の間で調整することができる。これらの pH-標的ナノベクターは化学治療剤の癌-特異的送達を劇的に改良

10

20

30

40

50

し、優れた化学治療薬物で通常遭遇する有害な副作用を最小化する。加えて、ある範囲の pH 値にわたって解離するように仕立てることができる化学の利用は、薬物耐性となった固体腫瘍および悪性疾患を治療するにおいてこれらの薬物充填ミセルを適用可能とする。

【0018】

本明細書中に記載された pH - 応答性ブロックコポリマーおよびポリマーミセルは、モジューラ性およびマルチ - 官能性が強調されて設計される。ドキシソルピシンおよびカンプトテシンの封入および送達为例示されるが、本発明は技術プラットフォームも提供し、それにより、多数のナノベクターが、ポリ(アミノ酸)のタイプおよび長さ、架橋化学、および表面標的官能性における単純な変動によって設計され、仕立てられると考えられる。その例は、siRNA のための仕立てられたイオンブロックおよびタンパク質封入、MRI コントラスト剤(例えば、鉄およびガドリニウム誘導体)を取り込む可逆的金属架橋戦略、および薬物、浸透増強剤、および標的基の結合のための反応性表面官能性のミセルへの適用を具備したポリマーミセルを含む。

10

【0019】

1つの実施形態によると、本発明は、ポリマー親水性ブロック、架橋されたポリ(アミノ酸ブロック)、およびポリ(アミノ酸ブロック)を含むマルチブロックコポリマーを含むミセルを提供し、該ミセルは内側コア、架橋された外側コア、および親水性シェルを有する。ポリマー親水性ブロックは親水性シェルに対応し、架橋されたポリ(アミノ酸ブロック)は架橋された外側コアに対応し、ポリ(アミノ酸)ブロックは内側コアに対応することが認識されよう。別の態様によると、本発明は、ポリマー親水性ブロック、架橋されたポリ(アミノ酸ブロック)、およびポリ(アミノ酸ブロック)を含むマルチブロックコポリマーを含む薬物充填ミセルを提供し、該ミセルは薬物充填内側コア、架橋された外側コア、および親水性シェルを有する。

20

【0020】

2. 定義

本発明の化合物は一般的には前記したものを含み、本明細書中で開示された実施形態、サブ - 実施形態およびスピーシーズによってさらに説明される。本明細書中で用いるように、特に断りのない限り、以下の定義が適用されるべきである。本発明の目的では、化学元素は the Periodic Table of the Elements, CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed に従って確認される。加えて、有機化学の一般的原理は、その全内容をここに引用して援用する、“Organic Chemistry”, Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999, および “March’s Advanced Organic Chemistry”, 5th Ed., Ed.; Smith, M. B. and March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001 に記載されている。

30

【0021】

本明細書中で用いるように、用語「引き続いての重合」およびその変形とは、最初のモノマー(例えば、NCA、ラクタムまたはイミド)をポリマーに取り込み、かくしてアミノ酸「ブロック」を形成した後に、第二のモノマー(例えば、NCA、ラクタム、またはイミド)を反応に加えて、第二のアミノ酸ブロックを形成し、このプロセスを同様に継続して、さらなるアミノ酸ブロックを得られたマルチ - ブロックコポリマーに導入することができる方法をいう。

40

【0022】

本明細書中で用いるように、用語「マルチブロックコポリマー」とは、1つの合成ポリマー部分および2以上のポリ(アミノ酸)部分を含むポリマーをいう。そのようなマルチ - ブロックコポリマーは式  $W - X' - X$  を有するものを含み、ここで、W は合成ポリマー部分であって、X および X' はポリ(アミノ酸)鎖または「アミノ酸ブロック」である。特定の実施形態において、本発明のマルチブロックコポリマーはトリブロックコポリマ

50

ーである。本明細書中で記載するように、1以上のアミノ酸ブロックは「混合されたブロック」であってよく、これらのブロックはアミノ酸モノマーの混合物を含有することができ、それにより、本発明のマルチブロックコポリマーを生じることを意味する。いくつかの実施形態において、本発明のマルチブロックコポリマーは混合されたアミノ酸ブロックを含み、テトラブロックコポリマーである。

【0023】

本明細書中で用いるように、用語「トリブロックコポリマー」とは、1つの合成ポリマー部分および2つのポリ(アミノ酸)部分を含むポリマーをいう。

【0024】

本明細書中で用いるように、用語「テトラブロックコポリマー」とは、1つの合成ポリマー部分およびいずれかの2つのポリ(アミノ酸)部分を含むポリマーをいい、ここで、1つのポリ(アミノ酸)部分は混合されたブロックであるか、あるいは1つの合成ポリマー部分および3つのポリ(アミノ酸)部分を含むポリマーである。

【0025】

本明細書中で用いるように、用語「内側コア」とは、本発明のミセルに適用されるように、第二の(すなわち、末端)ポリ(アミノ酸)ブロックによって形成されたミセルの中心をいう。本発明によると、内側コアは架橋されない。説明のために、前記したように、式 $W-X'-X''$ のトリブロックポリマーにおいては、内側コアは $X''$ ブロックに対応する。該 $X''$ ブロックは混合されたブロックであり得ると考えられる。

【0026】

本明細書中で用いるように、用語「外側コア」とは、本発明のミセルに適用されるように、第一のポリ(アミノ酸)ブロックによって形成された層をいう。外側コアは、内側コアと親水性シェルとの間に存在する。本発明によると、外側コアは架橋可能であるか、または架橋されている。説明として、前記したように、式 $W-X'-X''$ のトリブロックポリマーにおいて、外側コアは $X'$ ブロックに対応する。 $X'$ ブロックは混合されたブロックであり得ると考えられる。

【0027】

本明細書中で用いるように、用語「薬物充填された」および「封入された」、およびその誘導語は相互交換可能に用いられる。本発明によると、「薬物充填」ミセルとは、ミセルのコア内に位置した、薬物または治療剤を有するミセルをいう。これはミセル内に「封入」された薬物または治療剤もいう。

【0028】

本明細書中で用いるように、用語「ポリマー親水性ブロック」とは、ポリ(アミノ酸)ではなく、性質が親水性であるポリマーをいう。そのような親水性ポリマーは当該分野でよく知られており、ポリエチレンオキサイド(ポリエチレングリコールまたはPEGともいう)、およびその誘導体、ポリ(N-ビニル-2-ピロリドン)、およびその誘導体、ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、およびその誘導体、ポリ(ヒドロキシエチルアクリレート)およびその誘導体、ポリ(ヒドロキシエチルメタクリレート)、およびその誘導体およびN-(2-ヒドロキシプロピル)メタクリルアミド(HMPA)のポリマーおよびその誘導体を含む。

【0029】

本明細書中で用いるように、用語「ポリ(アミノ酸)」または「アミノ酸ブロック」とは、各モノマーがアミノ酸ユニットである共有結合により連結されたアミノ酸鎖をいう。そのようなアミノ酸ユニットは天然および非天然アミノ酸を含む。特定の実施形態において、各アミノ酸ユニットはL-立体配置のものである。そのようなポリ(アミノ酸)は、適切に保護された官能基を有するものを含む。例えば、アミノ酸モノマーは、適切には、適切なヒドロキシル保護基または適切なアミン保護基によって所望により保護され得るヒドロキシルまたはアミノ基を有することができる。そのような適切なヒドロキシル保護基および適切なアミン保護基は後により詳細に本明細書中で記載する。本明細書中で用いるように、アミノ酸ブロックは1以上のモノマー、あるいは2以上のモノマーの組を含む。

10

20

30

40

50

特定の実施形態において、アミノ酸ブロックは、全てのブロックは親水性となるように、1以上のモノマーを含む。他の実施形態において、アミノ酸ブロックは、全ブロックが疎水性となるように1以上のモノマーを含む。なお他の実施形態において、本発明のアミノ酸ブロックはランダムアミノ酸ブロック、すなわち、アミノ酸残基の混合物を含むブロックを含む。

#### 【0030】

本明細書中で用いるように、フレーズ「天然アミノ酸側鎖基」とは、タンパク質中で天然に生じる20アミノ酸のいずれかの側鎖基をいう。そのような天然アミノ酸は非極性または疎水性アミノ酸、グリシン、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、トリプトファンおよびプロリンを含む。システインは、非極性または疎水性として、および他の時には極性として時々分類される。天然アミノ酸はチロシン、セリン、スレオニン、(荷電された場合にはアスパルテートとしても知られている)アスパラギン酸、(荷電された場合にはグルタメートとしても知られている)グルタミン酸、アスパラギン、およびグルタミンのような極性または親水性アミノ酸を含む。ある種の極性または親水性アミノ酸は荷電した側鎖を有する。そのような荷電したアミノ酸はリシン、アルギニン、およびヒスチジンを含む。当業者であれば、極性または親水性アミノ酸側鎖の保護はそのアミノ酸を非極性とできることを認識するであろう。例えば、適切に保護されたチロシンのヒドロキシル基はそのチロシンを、ヒドロキシル基を保護することによって非極性かつ疎水性とすることができる。

10

#### 【0031】

本明細書中で用いるように、フレーズ「非天然アミノ酸側鎖基」とは、前記したように、タンパク質において天然に生じる20のアミノ酸のリストに含まれないアミノ酸をいう。そのようなアミノ酸は20の天然に生じるアミノ酸のいずれかのD-異性体を含む。非天然アミノ酸はホモセリン、オルニチンおよびチロキシンも含む。他の非天然アミノ酸側鎖は当業者によく知られており、非天然脂肪族側鎖を含む。他の非天然アミノ酸は、N-アルキル化された、環化された、リン酸化された、アセチル化された、アミド化された、アジド化された、標識されたものを含めた修飾されたアミノ酸を含む。

20

#### 【0032】

本明細書中で用いるように、フレーズ「リビングポリマー鎖-末端」とは、さらなるモノマーと、または重合ターミネーターとさらに反応する能力を維持する重合反応から得られた末端をいう。

30

#### 【0033】

本明細書中で用いるように、用語「停止」とは、リビングポリマーと適切な化合物との反応による、ポリマー鎖-末端へ末端基を付着させることをいう。別法として、用語「停止」とは、ポリマー鎖のアミンまたはヒドロキシル末端、またはその誘導体への末端基を付着させることをいう。

#### 【0034】

本明細書中で用いるように、用語「重合ターミネーター(terminator)」は用語「重合停止剤(terminating agent)」と相互交換可能に用いられ、リビングポリマー鎖-末端と反応して、末端基を持つポリマーを供する化合物をいう。別法として、用語「重合ターミネーターとは」、ポリマー鎖のアミンまたはヒドロキシル末端、またはその誘導体と反応して、末端基を持つポリマーを供する化合物をいう。

40

#### 【0035】

本明細書中で用いるように、用語「重合開始剤」とは、モノマーの重合が起こるように、所望のモノマーと反応し、またはそのアニオンまたは遊離塩基形態がそれと反応する化合物をいう。特定の実施形態において、重合開始剤は、アルキレンオキシドと反応して、ポリアルキレンオキシドブロックを供する化合物である。他の実施形態において、ポリマー開始剤は本明細書中に記載されたアミン塩である。

#### 【0036】

本明細書中で用いるように、用語「脂肪族」または「脂肪族基」は、直鎖(すなわち、

50

非分枝)、分枝、環状(縮合、架橋、およびスピロ-縮合多環を含む)であってよく、かつ完全に飽和しているか、または1以上の不飽和の単位を含み得るが、芳香族ではない炭化水素基をいう。特に断りのない限り、脂肪族基は1ないし20個の炭素原子を含有する。いくつかの実施形態において、脂肪族基は1ないし10個の炭素原子を含有する。他の実施形態において、脂肪族基は1ないし8個の炭素原子を含有する。なお他の実施形態において、脂肪族基は1ないし6個の炭素原子を含有し、なお他の実施形態において、脂肪族基は1ないし4個の炭素原子を含有する。適切な脂肪族基は、限定されるものではないが、線状または分枝したアルキル、アルケニル、およびアルキニル基、および(シクロアルキル)アルキル、(シクロアルケニル)アルキル、(シクロアルキル)アルケニルのようなそのハイブリッドを含む。

10

## 【0037】

用語「ヘテロ原子」は酸素、硫黄、窒素、リンまたはケイ素の1以上を意味する。これは窒素、硫黄、リンまたはケイ素の酸化された形態；いずれかの塩基性窒素の第四級化された形態；または3,4-ジヒドロ-2H-ピロリルにおける=N-、ピロリジニルにおける-NH-、またはN-置換ピロリジニルにおける=N(R<sup>+</sup>)-を含めた複素環の置換可能な窒素を含む。

## 【0038】

本明細書中で用いるように、用語「不飽和」は、基が不飽和の1以上のユニットを有することを意味する。

## 【0039】

単独で用いられる、あるいは「アラルキル」、「アラルコキシ」、または「アリアルオキシアルキル」におけるようなより大きな部位の部分としての用語「アリアル」とは、合計5ないし14の環員を有する単環式、二環式および三環式環系をいい、ここで、該系における少なくとも1つの環は芳香族であり、ここで、該系における各環は3ないし7の環員を含有する。用語「アリアル」は用語「アリアル環」と相互交換可能に用いることができる。

20

## 【0040】

本明細書中に記載したように、本発明の化合物は「必要に応じて置換される」基を含有することができる。一般に、用語「置換された」は、用語「所望により」が先行するか否かを問わず、示された基の1以上の水素が適切な置換基で置き換えられていることを意味する。特に断りのない限り「必要に応じて置換される」基は基の各置換可能な位置において適切な置換基を有することができ、いずれかの与えられた構造中の1を超える位置が特定の基から選択される1を超える置換基で置換できる場合、置換基は各位置において同一であっても異なってもよい。本発明によって考えられる置換基の組合せは、好ましくは、安定なまたは化学的に可能な化合物の形成をもたらすものである。本明細書中で用いるように、用語「安定な」とは、それらの生産、検出および、特定の実施形態においては、それらの回収、精製、および本明細書中に開示された目的の1以上での使用を可能とする条件に付された場合に実質的に改変されない化合物をいう。

30

## 【0041】

「必要に応じて置換される」基の置換可能な炭素原子上の適切な一価置換基は、独立して、ハロゲン； $-(CH_2)_{0-4}R$ ； $-(CH_2)_{0-4}OR$ ； $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR$ ； $-(CH_2)_{0-4}CH(OR)_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}SR$ ； $R$ で置換され得る $-(CH_2)_{0-4}Ph$ ； $R$ で置換され得る $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ ； $R$ で置換され得る $-CH=CHPh$ ； $-NO_2$ ； $-CN$ ； $-N_3$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R)_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R)C(O)R$ ； $-N(R)C(S)R$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R)C(O)NR_2$ ； $-N(R)C(S)NR_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R)C(O)OR$ ； $-N(R)N(R)C(O)R$ ； $-N(R)N(R)C(O)NR_2$ ； $-N(R)N(R)C(O)OR$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)R$ ； $-C(S)R$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR$ ； $-(CH_2)_{0-4}C$

40

50

$O)OSiR_3$ ;  $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R$ ;  $-OC(O)(CH_2)_{0-4}$   
 $SR-$ 、 $SC(S)SR$ ;  $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R$ ;  $-(CH_2)_{0-4}C$   
 $(O)NR_2$ ;  $-C(S)NR_2$ ;  $-C(S)SR$ ;  $-SC(S)SR$ 、 $-(C$   
 $H_2)_{0-4}OC(O)NR_2$ ;  $-C(O)N(OR)R$ ;  $-C(O)C(O)R$   
 $;$   $-C(O)CH_2C(O)R$ ;  $-C(NOR)R$ ;  $-(CH_2)_{0-4}SSR$   
 $;$   $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R$ ;  $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR$ ;  $-(C$   
 $H_2)_{0-4}OS(O)_2R$ ;  $-S(O)_2NR_2$ ;  $-(CH_2)_{0-4}S(O)R$   
 $;$   $-N(R)S(O)_2NR_2$ ;  $-N(R)S(O)_2R$ ;  $-N(OR)R$   
 $;$   $-C(NH)NR_2$ ;  $-P(O)_2R$ ;  $-P(O)R_2$ ;  $-OP(O)R_2$   
 $;$   $-OP(O)(OR)_2$ ;  $SiR_3$ ;  $-(C_{1-4}$  直鎖または分枝鎖アルキレン)  
 $O-N(R)_2$ ; または  $-(C_{1-4}$  直鎖または分枝鎖アルキレン) $C(O)O-N(R)$   
 $R)_2$  であり、ここで、R は後に定義されたように置換されていてもよく、かつ独立  
して、水素、 $C_{1-6}$  脂肪族、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 、または窒素、  
酸素もしくは硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 5 - 6 員の  
飽和、部分的不飽和、またはアリール環、あるいは前記定義に拘らず、R の 2 つの独立  
した出現はそれらの介入原子と一緒にあって、後に定義され得るように、窒素、酸素、ま  
たは硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 3 - 12 員の飽和、  
部分的不飽和、またはアリール単環または二環式環である。

10

【0042】

R (それらの介入する原子と共に R の 2 つの独立した出現を取ることによって形成  
された環)上の適切な一価置換基は、独立して、ハロゲン、 $-(CH_2)_{0-2}R$ 、 $-$   
 $(ハロR)$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}OR$ 、 $-(CH_2)_{0-2}$   
 $CH(OR)_2$ ;  $-O(ハロR)$ 、 $-CN$ 、 $-N_3$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)$   
 $R$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR$ 、 $-(CH$   
 $2)_{0-2}SR$ 、 $-(CH_2)_{0-2}SH$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NH_2$ 、 $-(CH_2)$   
 $0-2NHR$ 、 $-(CH_2)_{0-2}NR_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-SiR_3$ 、 $-OSiR$   
 $3$ 、 $-C(O)SR$ 、 $-(C_{1-4}$  直鎖または分枝鎖アルキレン) $C(O)OR$ 、ま  
たは  $-SSR$  であり、ここで、各 R は置換されておらずまたは「ハロ」によって先行  
されている場合、1 以上のハロゲンのみで置換されており、および、独立して、 $C_{1-4}$   
脂肪族、 $-CH_2Ph$ 、 $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ 、または独立して窒素、酸素もしくは  
硫黄から選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 5 ないし 6 員の飽和、部分的に不  
飽和、またはアリール環から選択される。R の飽和炭素原子上の適切な二価置換基は =  
O および = S を含む。

20

30

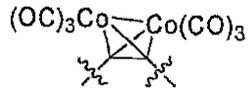
【0043】

「必要に応じて置換される」基の飽和した炭素原子上の適切な二価置換基は以下の：  
 $=O$ 、 $=S$ 、 $=NNR^*_2$ 、 $=NNHC(O)R^*$ 、 $=NNHC(O)OR^*$ 、 $=NNHS$   
 $(O)_2R^*$ 、 $=NR^*$ 、 $=NOR^*$ 、 $-O(C(R^*_2))_{2-3}O-$ 、または  $-S(C$   
 $(R^*_2))_{2-3}S-$  を含み、ここで、R\* の各独立した出現は水素、以下に定義す  
るように置換され得る  $C_{1-6}$  脂肪族、または窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択  
される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する置換されていない 5 ないし 6 員の飽和、部分的  
不飽和、またはアリール環から選択される。「必要に応じて置換される」基の隣接する置  
換可能な炭素に結合した適切な二価置換基は： $-O(CR^*_2)_{2-3}O-$  を含み、こ  
こで、R\* の各独立した出現は水素、以下に定義されるように置換され得る  $C_{1-6}$  脂肪族  
、または窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有  
する置換されていない 5 ないし 6 員の飽和、部分的に飽和またはアリール環から選択され  
る。「必要に応じて置換される」基の隣接置換可能メチレン炭素に結合した適切な四価  
置換基は、それを担うメチレンと共に描いた場合には、

40

【0044】

## 【化32A】



によって表されるジコバルトヘキサカルボニルクラスターである。

## 【0045】

R<sup>\*</sup>の脂肪族基上の適切な置換基はハロゲン、-R、-(ハロR)、-OH、-OR、-O(ハロR)、-CN、-C(O)OH、-C(O)OR、-NH<sub>2</sub>、-NHR、-NR<sub>2</sub>、または-NO<sub>2</sub>を含み、ここで、各Rは置換されておらず、あるいは「ハロ」によって先行されている場合、1以上のハロゲンのみで置換されており、独立して、C<sub>1-4</sub>脂肪族、-CH<sub>2</sub>Ph、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-1</sub>Ph、または窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし6員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環である。

## 【0046】

「必要に応じて置換される」基の置換可能な窒素上の適切な置換基は-R<sup>†</sup>、-NR<sup>†</sup><sub>2</sub>、-C(O)R<sup>†</sup>、-C(O)OR<sup>†</sup>、-C(O)C(O)R<sup>†</sup>、-C(O)CH<sub>2</sub>C(O)R<sup>†</sup>、-S(O)<sub>2</sub>R<sup>†</sup>、-S(O)<sub>2</sub>NR<sup>†</sup><sub>2</sub>、-C(S)NR<sup>†</sup><sub>2</sub>、-C(NH)NR<sup>†</sup><sub>2</sub>、または-N(R<sup>†</sup>)S(O)<sub>2</sub>R<sup>†</sup>を含み；ここで、各R<sup>†</sup>は、独立して、水素、以下に定義されるように置換され得るC<sub>1-6</sub>脂肪族、置換されていない-OPh、または窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択された0ないし4個のヘテロ原子を有する置換されていない5ないし6員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環であり、あるいは前記定義に拘らず、R<sup>†</sup>の2つの独立した出現は、それらの介入する原子と一緒に、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択された0ないし4個のヘテロ原子を有する置換されていない3ないし12員の飽和、部分的不飽和、またはアリール単環または二環式環を形成する。

## 【0047】

R<sup>†</sup>の脂肪族基上の適切な置換基は、独立して、ハロゲン、-R、-(ハロR)、-OH、OR、-O(ハロR)、-CN、-C(O)OH、-C(O)OR、-NH<sub>2</sub>、-NHR、-NR<sub>2</sub>、または-NO<sub>2</sub>であり、ここで、各Rは置換されておらず、あるいは「ハロ」によって先行されている場合には、1以上のハロゲンのみで置換されており、および独立してC<sub>1-4</sub>脂肪族、-CH<sub>2</sub>Ph、-O(CH<sub>2</sub>)<sub>0-1</sub>Ph、または窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ分子を有する5ないし6員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環である。

## 【0048】

保護されたヒドロキシル基は当該分野でよく知られており、ここに引用してその全体を援用するProtecting Groups in Organic Synthesis, T.W. Greene and P.G.M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999に詳細に記載されているものを含む。適切に保護されたヒドロキシル基の例は、限定されるものではないが、エステル、カルボネート、スルホネートアリルエーテル、エーテル、シリルエーテル、アルキルエーテル、アリールアルキルエーテル、およびアルコキシアリルエーテルを含む。適切なエステルの例はホルメート、アセテート、プロピオネート、ペンタノエート、クロトネートおよびベンゾエートを含む。適切なエステルの具体的な例はホルメート、ベンゾイルホルメート、クロロアセテート、トリフルオロアセテート、メトキシアセテート、トリフェニルメトキシアセテート、p-クロロフェノキシアセテート、3-フェニルプロピオネート、4-オキソペンタノエート、4,4-(エチレンジチオ)ペンタノエート、ピバロエート(トリメチルアセテート)、クロトネート、4-メトキシ-クロトネート、ベンゾエート、p-ベンジルベンゾエート、2,4,6-トリメチルベンゾエートを含む。適切なカルボネートの例は9-フルオレニルメチル、エチル、2,2,2-トリクロロエチル、2-(ト

リメチルシリル)エチル、2-(フェニルスルホニル)エチル、ビニル、アリル、および p-ニトロベンジルカルボネートを含む。適切なシリルエーテルの例はトリメチルシリル、トリエチルシリル、t-ブチルジメチルシリル、t-ブチルジフェニルシリル、トリイソプロピルシリルエーテル、および他のトリアルキルシリルエーテルを含む。適切なアルキルエーテルの例はメチル、ベンジル、p-メトキシベンジル、3,4-ジメトキシベンジル、トリチル、t-ブチル、およびアリルエーテル、またはその誘導体を含む。アルコキシアルキルエーテルはメトキシメチル、メチルチオメチル、(2-メトキシエトキシ)メチル、ベンジルオキシメチル、ベータ-(トリメチルシリル)エトキシメチル、およびテトラヒドロピラン-2-イルエーテルのようなアセタールを含む。適切なアリールアルキルエーテルの例はベンジル、p-メトキシベンジル(MPM)、3,4-ジメトキシベンジル、O-ニトロベンジル、p-ニトロベンジル、p-ハロベンジル、2,6-ジクロロベンジル、p-シアノベンジル、2-および4-ピコリルエーテルを含む。

#### 【0049】

保護されたアミンは当該分野で良く知られており、Greene(1999)に詳細に記載されたものを含む。適切なモノ保護アミンは、さらに、限定されるものではないが、アラルキルアミン、カルバメート、アリルアミン、アミド等を含む。適切なモノ保護アミノ基の例はt-ブチルオキシカルボニルアミノ(-NHBOC)、エチルオキシカルボニルアミノ、メチルオキシカルボニルアミノ、トリクロロエチルオキシカルボニルアミノ、アリルオキシカルボニルアミノ(-NHAllyl)、ベンジルオキシカルボニルアミノ(-NHCBZ)、アリルアミノ、ベンジルアミノ(-NHBN)、フルオレニルメチルカルボニル(-NHFMOC)、ホルムアミド、アセトアミド、クロロアセトアミド、ジクロロアセトアミド、トリクロロアセトアミド、フェニルアセトアミド、トリフルオロアセトアミド、ベンズアミド、t-ブチルジフェニルシリル等を含む。適切なジ保護アミンは、モノ保護アミンとして前記したのものから独立して選択される2つの置換基で置換されたアミンを含み、さらに、フタルイミド、マレイミド、スクシンイミド等のような環状イミドを含む。適切なジ保護アミンはピロール等、2,2,5,5-テトラメチル-[1,2,5]アザジシロリジン等、およびアジドも含む。

#### 【0050】

保護されたアルデヒドは当該分野で良く知られており、Greene(1999)に詳細に記載されたものを含む。適切な保護されたアルデヒドは、さらに、限定されるものではないが、非環状アセタール、環状アセタール、ヒドラゾン、イミン等を含む。そのような基の例はジメチルアセタール、ジエチルアセタール、ジイソプロピルアセタール、ジベンジルアセタール、ビス(2-ニトロベンジル)アセタール、1,3-ジオキサソラン、1,3-ジオキサソラン、セミカルバゾン、およびその誘導体を含む。

#### 【0051】

保護されたカルボン酸は当該分野で良く知られており、Greene(1999)に詳細に記載されたものを含む。適切に保護されたカルボン酸は、さらに、限定されるものではないが、必要に応じて置換されるC<sub>1-6</sub>脂肪族エステル、必要に応じて置換されるアリールエステル、シリルエステル、活性化されたエステル、アミド、ヒドラジド等を含む。そのようなエステル基の例はメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、ベンジルおよびフェニルエステルを含み、ここで、各基は必要に応じて置換される。さらなる適切な保護されたカルボン酸はオキサゾリンおよびオルトエステルを含む。

#### 【0052】

保護されたチオールは当該分野で良く知られており、Greene(1999)に詳細に記載されたものを含む。適切な保護されたチオールは、さらに、限定されるものではないが、ジスルフィド、チオエーテル、シリルチオエーテル、チオエステル、チオカルボネート、およびチオカルバメート等を含む。そのような基の例は、限定されるものではないが、少数の名前を挙げれば、アルキルチオエーテル、ベンジルおよび置換されたベンジルチオエーテル、トリフェニルメチルチオエーテル、およびトリクロロエトキシカルボニルチオエステルを含む。

10

20

30

40

50

## 【0053】

「クラウンエーテル基」はクラウンエーテルの基である。クラウンエーテルは、 $-CH_2CH_2O-$ の反復単位から構成される単環ポリエーテルである。クラウンエーテルの例は12-クラウン-4、15-クラウン-5、および18-クラウン-6を含む。

## 【0054】

特に断りのない限り、本明細書中に描いた構造は、該構造の全ての異性体（例えば、エナンチオマー、ジアステレオマー、および幾何学（または立体配座））形態；例えば、各不斉中心についてのRおよびS立体配置、ZおよびE二重結合異性体、およびZおよびE立体配座異性体を含むことも意味する。従って、本発明の単一立体化学異性体ならびにエナンチオマー、ジアステレオマーおよび幾何学（または立体配座）混合物は本発明の範囲内のものである。特に断りのない限り、本発明の化合物の全ての互変異性体は本発明の範囲内のものである。加えて、特に断りのない限り、本明細書中に描いた構造は、1以上の同位体的に豊富な原子の存在においてのみ異なる化合物を含むことも意味する。例えば、ジューテリウムまたはトリチウムによる水素の置換、または $^{13}C$  - または $^{14}C$  - 豊富化炭素による炭素の置換を除いて本構造を有する化合物は本発明の範囲内のものである。そのような化合物は、例えば、中性子散乱実験におけるように、生物学的アッセイにおける分析ツールまたはプローブとして有用である。

10

## 【0055】

本明細書中に記載するように、用語「検出可能な部位」は用語「標識」と相互交換可能に用いられ、検出できるいずれかの基（例えば、一次標識および二次標識）に関する。「検出可能な基」または「標識」は検出可能な化合物の基である。

20

## 【0056】

「一次」標識は放射性同位体 - 含有基（例えば、 $^{32}P$ 、 $^{33}P$ 、 $^{35}S$ 、または $^{14}C$ を含有する基）、質量タグ、および蛍光標識を含み、さらなる修飾なくして検出することができるシグナル - 発生レポーター基である。

## 【0057】

他の一次標識は、放射性同位体（例えば、 $^{18}F$ ）を含有する分子、または結合した放射性金属（例えば、 $^{62}Cu$ ）を持つリガンドを含めた陽電子射出断層撮影法で有用なものを含む。他の実施形態において、一次標識は、ガドリニウム、ガドリニウムキレート、または鉄酸化物（例えば、 $Fe_3O_4$  および  $Fe_2O_3$ ）粒子のような磁気共鳴イメージングのためのコントラスト剤である。同様に、半導性ナノ粒子（例えば、セレン化カドミウム、硫化カドミウム、テルル化カドミウム）は蛍光標識として有用である。他の金属ナノ粒子（例えばコロイド状金）もまた一次標識として働く。

30

## 【0058】

「二次」標識は、検出可能なシグナルを生じるのに第二の化合物の存在を必要とする、ビオチンまたはタンパク質抗原のような部位を含む。例えば、ビオチン標識の場合には、第二の化合物はストレプトアビジン - 酵素コンジュゲートを含むことができる。抗原標識の場合には、第二の化合物は抗体 - 酵素コンジュゲートを含むことができる。加えて、ある種の蛍光基は、非放射性蛍光共鳴エネルギー移動（FRET）のプロセスにおいてエネルギーを別の化合物または基に移動させ、次いで、第二の化合物または基が検出されるシグナルを発生させるようにすることによって、二次標識として作用することができる。

40

## 【0059】

特に断りのない限り、放射性同位体 - 含有基は、少なくとも1つの放射性同位体を含有する必要に応じて置換される炭化水素基である。特に断りのない限り、放射性同位体 - 含有基は1ないし40個の炭素原子および1個の放射性同位体を含有する。特定の実施形態において、放射性同位体 - 含有基は1ないし20個の炭素原子および1つの放射性同位体を含有する。

## 【0060】

本明細書中で用いるように用語「蛍光標識」、「蛍光基」、「蛍光化合物」、「蛍光色素」および「フルオロフォア」とは、規定された励起波長において光エネルギーを吸収し

50

、異なる波長で光エネルギーを発する化合物または基をいう。蛍光化合物の例は、限定されるものではないが、Alexa Fluor色素 (Alexa Fluor 350、Alexa Fluor 488、Alexa Fluor 532、Alexa Fluor 546、Alexa Fluor 568、Alexa Fluor 594、Alexa Fluor 633、Alexa Fluor 660およびAlexa Fluor 680)、AMCA、AMCA-S、BODIPY色素 (BODIPY FL、BODIPY R6G、BODIPY TMR、BODIPY TR、BODIPY 530/550、BODIPY 558/568、BODIPY 564/570、BODIPY 576/589、BODIPY 581/591、BODIPY 630/650、BODIPY 650/665)、カルボキシローダミン6G、カルボキシ-X-ローダミン (ROX)、カスケードブルー、カスケードイエロー、クマリン343、シアニン色素 (Cy3、Cy5、Cy3.5、Cy5.5)、ダンシル、ダボキシル、ジアルキルアミノクマリン、4', 5'-ジクロロ-2', 7'-ジメトキシ-フルオレセイン、DM-NERF、エオシン、エリスロシン、フルオレセイン、FAM、ヒドロキシクマリン、IRDyes (IRD40、IRD700、IRD800)、JOE、リッサミンローダミンB、マリナブルー、メトキシクマリン、ナフトフルオレセイン、オレゴングリーン488、オレゴングリーン500、オレゴングリーン514、パシフィックブルー、PyMPO、ピレン、ローダミンB、ローダミン6G、ローダミングリーン、ローダミンレッド、ロドルグリーン、2', 4', 5', 7'-テトラ-プロモスルホン-フルオレセイン、テトラメチル-ローダミン (TMR)、カルボキシテトラメチルローダミン (TAMRA)、テキサスレッド、テキサスレッド-Xを含む。

10

20

## 【0061】

本明細書中で用いるように、用語「質量タグ」とは、マススペクトロメトリー (MS) 検出技術を用いてその質量によりユニークに検出できるいずれの部位もいう。質量タグの例はN-[3-[4'-[(p-メトキシテトラフルオロベンジル)オキシ]フェニル]-3-メチルグリセロニル]イソニコチン酸、4'-[2, 3, 5, 6-テトラフルオロ-4-(ペンタフルオロフェノキシ)]メチルアセトフェノン、およびそれらの誘導体のようなエレクトロフォア放出タグを含む。これらの質量タグの合成および有用性は米国特許第4, 650, 750号、第4, 709, 016号、第5, 360, 8191号、5, 516, 931号、第5, 602, 273号、第5, 604, 104号、第5, 610, 020号、および第5, 650, 270号に記載されている。質量タグの他の例は、限定されるものではないが、ヌクレオチド、ジデオキシヌクレオチド、種々の長さおよび塩基組成のオリゴヌクレオチド、オリゴペプチド、オリゴ糖、および種々の長さおよびモノマー組成の他の合成ポリマーを含む。適切な質量範囲 (100ないし2000ダルトン) の中性および荷電 (生体分子または合成化合物) 双方の非常に種々の有機分子が質量タグとして用いることもできる。

30

## 【0062】

本明細書中で用いるように、用語「基材」とは、ブロックコポリマーの官能性化末端基を付着させることができるいずれの物質またはマクロ分子複合体もいう。通常に使用される基材の例は、限定されるものではないが、ガラス表面、シリカ表面、プラスチック表面、金属表面、金属または化学コーティングを含有する表面、膜 (例えば、ナイロン、ポリスルホン、シリカ)、マイクロビーズ (例えば、ラテックス、ポリスチレン、または他のポリマー)、多孔性ポリマーマトリックス (例えば、ポリアクリルアミドゲル、多糖、ポリメタクリレート)、マクロ分子複合体 (例えば、タンパク質、多糖) を含む。

40

## 【0063】

## 3. 例示的实施形態の記載:

## A. マルチブロックコポリマー

一般に前記したように、本発明の1つの実施形態は、ポリマー親水性ブロック、架橋されたポリ(アミノ酸ブロック)、およびポリ(アミノ酸)ブロックを含むマルチブロックコポリマーを含むミセルを提供し、該ミセルは内側コア、架橋された外側コア、および親

50

水性シェルを有する。

【0064】

本明細書中に記載したように、両親媒性マルチブロックコポリマーは水性溶液中で自己-組み立てをして、ナノ-およびマイクロン-サイズの構造を形成することができる。水中においては、これらの両親媒性マルチブロックコポリマーは、臨界ミセル濃度(CMC)を超えて溶液中で存在する場合、マルチ-分子ミセル化によって組み立てられる。いずれかの特定の理論に拘束されるつもりはないが、コポリマーの疎水性ポリ(アミノ酸)部分または「ブロック」は崩壊して、ミセルコアを形成し、他方、親水性PEGブロックは周囲コロナを形成し、水への溶解性を付与すると考えられる。特定の実施形態において、本発明によるマルチブロックコポリマーは、ミセルを形成する区別される疎水性および親水性セグメントを保有する。加えて、これらのマルチブロックポリマーは、架橋に適した官能性を含有するポリ(アミノ酸)ブロックを含む。この官能性は対応するアミノ酸側鎖で見出されることが認識されよう。

10

【0065】

本発明のマルチブロックコポリマーはポリ(アミノ酸)ブロックおよび水溶性ポリマーブロックを含有する。ポリ(アミノ酸)(PAA)セグメントは広い範囲の官能性を保有し、固有の生体適合性を持つ天然形成ブロックである。加えて、PAAコポリマーは加水分解的に安定であって、ほとんどの化学的変換条件に耐えることができるが、酵素により分解可能である。

【0066】

特定の実施形態において、PEGブロックはほぼ10,000Da(225反復単位)の分子量を保有し、ポリ(アミノ酸)マルチ-ブロックコポリマーの合成を開始するのに用いられる少なくとも1つの末端アミン塩酸塩を含有する。理論によって拘束されるつもりはないが、この特定のPEG鎖長さはミセルに適切な水-溶解性を付与し、相対的に長いイン・ビボ循環時間を提供する。

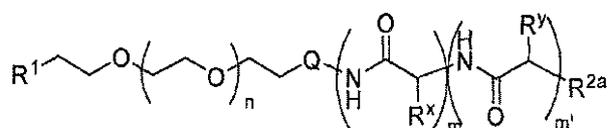
20

【0067】

特定の実施形態において、本発明は、式I:

【0068】

【化33】



I

(式中、

nは10ないし2500であり；

mは1ないし1000であり；

m'は1ないし1000であり；

R<sup>x</sup>は架橋できる天然または非天然のアミノ酸側鎖基であり；

R<sup>y</sup>は疎水性またはイオン性の天然または非天然のアミノ酸側鎖基であり；

R<sup>1</sup>は-Z(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Y)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>R<sup>3</sup>であり、ここで；

Zは-O-、-S-、-C-C-、または-CH<sub>2</sub>-であり；

各Yは独立して-O-または-S-であり；

pは0ないし10であり；

tは0ないし10であり；そして

R<sup>3</sup>は-N<sub>3</sub>、-CN、モノ保護アミン、ジ保護アミン、保護されたアルデヒド、保護されたヒドロキシル、保護されたカルボン酸、保護されたチオール、9ないし30員クラウンエーテル、あるいは脂肪族、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし8員の飽和、部分的に不飽和、またはアリール環、

40

50

窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する8ないし10員飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基であり；

Qは原子価結合または二価の飽和または不飽和、直鎖または分枝鎖 $C_{1-12}$ アルキレン鎖であり、ここで、Qの0ないし6個メチレン単位は、独立して、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $NHSO_2-$ 、 $-SO_2NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 、または $-NHC(O)O-$ によって置き換えられ、ここで：

$-Cy-$ は窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される8ないし10員の二価の飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環であり；

$R^{2a}$ はモノ保護アミン、ジ保護アミン、 $-N(R^4)_2$ 、 $-NR^4C(O)R^4$ 、 $-NR^4C(O)N(R^4)_2$ 、 $-NR^4C(O)OR^4$ 、または $-NR^4SO_2R^4$ であり；そして

各 $R^4$ は独立して、水素、脂肪族、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし8員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する8ないし10員の飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基であり；あるいは

同一窒素原子上の2つの $R^4$ は該窒素原子と一緒にあって、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される1ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される4ないし7員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環を形成する)

のマルチブロックコポリマーを含むミセルを提供する。

#### 【0069】

別の実施形態によると、本発明は前記した式Iの化合物を提供し、ここで、該化合物は約1.0ないし約1.2の多分散性指標(「PDI」)を有する。別の実施形態によると、本発明は前記した式Iの化合物を提供し、ここで、該化合物は約1.03ないし約1.15の多分散性指標(「PDI」)を有する。なお別の実施形態によると、本発明は前記した式Iの化合物を提供し、ここで、該化合物は約1.10ないし約1.20の多分散性指標(「PDI」)を有する。他の実施形態によると、本発明は約1.10未満のPDIを有する式Iの化合物を提供する。

#### 【0070】

特定の実施形態によると、本発明は前記した式Iの化合物を提供し、ここで、 $n$ は約225である。他の実施形態において、 $n$ は約200ないし約300である。なお他の実施形態において、 $n$ は約200ないし約250である。なお他の実施形態において、 $n$ は約100ないし約150である。なお他の実施形態において、 $n$ は約400ないし約500である。他の実施形態において $n$ は約10ないし約40である。他の実施形態において、 $n$ は約40ないし約60である。なお他の実施形態において、 $n$ は約90ないし約150である。なお他の実施形態において、 $n$ は約200ないし約250である。他の実施形態において、 $n$ は約300ないし約375である。なお他の実施形態において、 $n$ は約650ないし約750である。

#### 【0071】

特定の実施形態において、式Iの $m'$ 基は約5ないし約500である。特定の実施形態において、式Iの $m'$ 基は約10ないし約250である。他の実施形態において、 $m'$ は約10ないし約50である。なお別の実施形態によると、 $m'$ は約15ないし約40である。他の実施形態において、 $m'$ は約20ないし約40である。なお別の実施形態によると、 $m'$ は約50ないし約75である。他の実施形態において、 $m$ および $m'$ は、独立して、約10ないし約100である。特定の実施形態において、 $m$ は5ないし50である。

他の実施形態において、 $m$ は5ないし25である。特定の実施形態において、 $m'$ は5ないし50である。他の実施形態において、 $m'$ は5ないし10である。他の実施形態において、 $m'$ は10ないし20である。特定の実施形態において、 $m$ および $m'$ は約30ないし約60に合計される。なお他の実施形態において、 $m$ は1ないし20反復単位であって、 $m'$ は10ないし50反復単位である。

## 【0072】

特定の実施形態において、式Iの $R^1$ 基の $R^3$ 基は $-N_3$ である。

## 【0073】

特定の実施形態において、式Iの $R^1$ 基の $R^3$ 基は $-CN$ である。

## 【0074】

なお他の実施形態において、式Iの $R^1$ 基の $R^3$ 基はモノ保護アミンまたはジ保護アミンである。

## 【0075】

特定の実施形態において、式Iの $R^1$ 基の $R^3$ 基は必要に応じて置換される脂肪族基である。その例は $t$ -ブチル、5-ノルボルネン-2-イル、オクタン-5-イル、アセチレニル、トリメチルシリルアセチレニル、トリイソプロピルシリルアセチレニル、および $t$ -ブチルジメチルシリルアセチレニルを含む。いくつかの実施形態において、該 $R^3$ 基は必要に応じて置換されるアルキル基である。他の実施形態において、該 $R^3$ 基は必要に応じて置換されるアルキニルまたはアルケニル基である。該 $R^3$ 基が置換された脂肪族基である場合、 $R^3$ 上の適切な置換基は $CN$ 、 $N_3$ 、トリメチルシリル、トリイソプロピルシリル、 $t$ -ブチルジメチルシリル、 $N$ -メチルプロピオールアミド、 $N$ -メチル-4-アセチレニルアニリノ、 $N$ -メチル-4-アセチレニルベンゾアミド、ビス(4-エチニル-ベンジル)-アミノ、ジプロパルギルアミノ、ジ-ヘキサ-5-イニル-アミノ、ジ-ペンタ-4-イニル-アミノ、ジ-ブタ-3-イニル-アミノ、プロパルギルオキシ、ヘキサ-5-イニルオキシ、ペンタ-4-イニルオキシ、ジ-ブタ-3-イニルオキシ、 $N$ -メチル-プロパルギルアミノ、 $N$ -メチル-ヘキサ-5-イニル-アミノ、 $N$ -メチル-ペンタ-4-イニル-アミノ、 $N$ -メチル-ブタ-3-イニル-アミノ、2-ヘキサ-5-イニルジスルファニル、2-ペンタ-4-イニルジスルファニル、2-ブタ-3-イニルジスルファニル、および2-プロパルギルジスルファニルを含む。特定の実施形態において、 $R^1$ 基は2-( $N$ -メチル- $N$ -(エチニルカルボニル)アミノ)エトキシ、4-エチニルベンジルオキシ、または2-(4-エチニルフェノキシ)エトキシである。

## 【0076】

特定の実施形態において、式Iの $R^1$ 基の $R^3$ 基は必要に応じて置換されるアリール基である。その例は必要に応じて置換されるフェニルおよび必要に応じて置換されるピリジルを含む。該 $R^3$ 基が置換され得るアリール基である場合、 $R^3$ 上の適切な置換基は $CN$ 、 $N_3$ 、 $NO_2$ 、 $-CH_3$ 、 $-CH_2N_3$ 、 $-CH=CH_2$ 、 $-C(CH_3)_2$ 、 $Br$ 、 $I$ 、 $F$ 、ビス-(4-エチニル-ベンジル)-アミノ、ジプロパルギルアミノ、ジ-ヘキサ-5-イニル-アミノ、ジ-ペンタ-4-イニル-アミノ、ジ-ブタ-3-イニル-アミノ、プロパルギルオキシ、ヘキサ-5-イニルオキシ、ペンタ-4-イニルオキシ、ジ-ブタ-3-イニルオキシ、2-ヘキサ-5-イニルオキシ-エチルジスルファニル、2-ペンタ-4-イニルオキシ-エチルジスルファニル、2-ブタ-3-イニルオキシ-エチルジスルファニル、2-プロパルギルオキシ-エチルジスルファニル、ビス-ベンジルオキシ-メチル、[1,3]ジオキサラン-2-イル、および[1,3]ジオキサソラン-2-イルを含む。

## 【0077】

他の実施形態において、 $R^3$ 基は適切に保護されたアミノ基で置換されたアリール基である。別の態様によると、 $R^3$ 基は適切に保護されたアミノ基で置換されたフェニルである。

## 【0078】

他の実施形態において、式Iの $R^1$ 基の $R^3$ 基は保護されたヒドロキシル基である。特

10

20

30

40

50

定の実施形態において  $R^3$  基の保護されたヒドロキシルはエステル、カルボネート、スルホネート、アリルエーテル、エーテル、シリルエーテル、アルキルエーテル、アリーラルキルエーテル、またはアルコキシアリルエーテルである。特定の実施形態において、エステルはホルメート、アセテート、プロピオネート、ペンタノエート、クロトネート、またはベンゾエートである。例示的なエステルはホルメート、ベンゾイルホルメート、クロロアセテート、トリフルオロアセテート、メトキシアセテート、トリフェニルメトキシアセテート、*p*-クロロフェノキシアセテート、3-フェニルプロピオネート、4-オキソペンタノエート、4,4-(エチレンジチオ)ペンタノエート、ピバロエート(トリメチルアセテート)、クロトネート、4-メトキシ-クロトネート、ベンゾエート、*p*-ベンジルベンゾエート、2,4,6-トリメチルベンゾエートを含む。例示的なカルボネートは9-フルオレニルメチル、エチル、2,2,2-トリクロロエチル、2-(トリメチルシリル)エチル、2-(フェニルスルホニル)エチル、ビニル、アリル、および *p*-ニトロベンジルカルボネートを含む。適切なシリルエーテルの例はトリメチルシリル、トリエチルシリル、*t*-ブチルジメチルシリル、*t*-ブチルジフェニルシリル、トリイソプロピルシリルエーテル、および他のトリアルキルシリルエーテルを含む。例示的なアルキルエーテルはメチル、ベンジル、*p*-メトキシベンジル、3,4-ジメトキシベンジル、トリチル、*t*-ブチル、およびアリルエーテル、またはその誘導体を含む。例示的なアルコキシアリルエーテルはメトキシメチル、メチルチオメチル、(2-メトキシエトキシ)メチル、ベンジルオキシメチル、ベータ-(トリメチルシリル)エトキシメチル、およびテトラヒドロピラン-2-イルエーテルのようなアセタールを含む。例示的なアリーラルキルエーテルはベンジル、*p*-メトキシベンジル(MPM)、3,4-ジメトキシベンジル、*o*-ニトロベンジル、*p*-ニトロベンジル、*p*-ハロベンジル、2,6-ジクロロベンジル、*p*-シアノベンジル、2-および4-ピコリルエーテルを含む。

#### 【0079】

特定の実施形態において、式Iの  $R^1$  基の  $R^3$  基はモノ保護またはジ保護アミノ基である。特定の実施形態において、 $R^3$  はモノ保護アミンである。特定の実施形態において、 $R^3$  はアラルキルアミン、カルバメート、アリルアミン、またはアミドから選択されるモノ保護アミンである。例示的なモノ保護アミノ基は *t*-ブチルオキシカルボニルアミノ、エチルオキシカルボニルアミノ、メチルオキシカルボニルアミノ、トリクロロエチルオキシカルボニルアミノ、アリルオキシカルボニルアミノ、ベンジルオキシカルボニルアミノ、アリルアミノ、ベンジルアミノ、フルオレニルメチルカルボニル、ホルムアミド、アセトアミド、クロロアセトアミド、ジクロロアセトアミド、トリクロロアセトアミド、フェニルアセトアミド、トリフルオロアセトアミド、ベンズアミド、および *t*-ブチルジフェニルシリルアミノを含む。他の実施形態において、 $R^3$  はジ保護アミンである。例示的なジ保護アミンはジ-ベンジルアミン、ジ-アリルアミン、フタルイミド、マレイミド、スクシンイミド、ピロール、2,2,5,5-テトラメチル-[1,2,5]アザジシロリジン、およびアジドを含む。特定の実施形態において、 $R^3$  基はフタルイミドである。他の実施形態において、 $R^3$  基はモノ-またはジ-ベンジルアミノまたはモノ-またはジ-アリルアミノである。特定の実施形態において、 $R^1$  基は2-ジベンジルアミノエトキシである。

#### 【0080】

他の実施形態において、式Iの  $R^1$  基の  $R^3$  基は保護されたアルデヒド基である。特定の実施形態において、 $R^3$  の保護されたアルデヒド基は非環状アセタール、環状アセタール、ヒドラゾンまたはイミンである。例示的な  $R^3$  基はジメチルアセタール、ジエチルアセタール、ジイソプロピルアセタール、ジベンジルアセタール、ビス(2-ニトロベンジル)アセタール、1,3-ジオキサソラン、1,3-ジオキサソラン、およびセミカルバゾンを含む。特定の実施形態において、 $R^3$  は非環状アセタールまたは環状アセタールである。他の実施形態において、 $R^3$  はジベンジルアセタールである。

#### 【0081】

なお他の実施形態において、式Iの  $R^1$  基の  $R^3$  基は保護されたカルボン酸基である。

特定の実施形態において、 $R^3$ の保護されたカルボン酸基は $C_{1-6}$ 脂肪族またはアリアル、またはシリルエステル、活性化されたエステル、アミド、またはヒドラジドから選択される必要に応じて置換されるエステルである。そのようなエステル基の例はメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、ベンジル、およびフェニルエステルを含む。他の実施形態において、 $R^3$ の保護されたカルボン酸基はオキサゾリンまたはオルトエステルである。そのような保護されたカルボン酸基の例はオキサゾリン-2-イルおよび2-メトキシ-[1,3]ジオキシン-2-イルを含む。特定の実施形態において、 $R^1$ 基はオキサゾリン-2-イルメトキシまたは2-オキサゾリン-2-イル-1-プロポキシである。

【0082】

別の実施形態によると、式Iの $R^1$ 基の $R^3$ 基は保護されたチオール基である。特定の実施形態において、 $R^3$ の保護されたチオールはジスルフィド、チオエーテル、シリルチオエーテル、チオエステル、チオカルボネート、またはチオカルバメートである。そのような保護されたチオールの例はトリイソプロピルシリルチオエーテル、*t*-ブチルジメチルシリルチオエーテル、*t*-ブチルチオエーテル、ベンジルチオエーテル、*p*-メチルベンジルチオエーテル、トリフェニルメチルチオエーテル、および*p*-メトキシフェニルジフェニルメチルチオエーテルを含む。他の実施形態において、 $R^3$ はアルキル、ベンジル、またはトリフェニルメチル、またはトリクロロエトキシカルボニルチオエステルから選択された必要に応じて置換されるチオエーテルである。特定の実施形態において、 $R^3$ は-S-S-ピリジン-2-イル、-S-SBn、-S-SCH<sub>3</sub>、または-S-S(*p*-エチニルベンジル)である。他の実施形態において、 $R^3$ は-S-S-ピリジン-2-イルである。なお他の実施形態において、 $R^1$ 基は2-トリフェニルメチルスルファニル-エトキシである。

【0083】

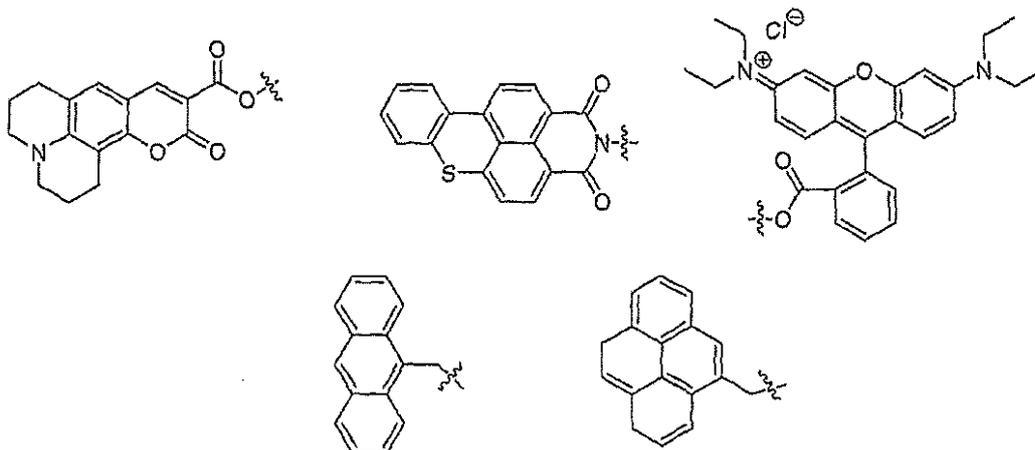
特定の実施形態において、式Iの $R^1$ 基の $R^3$ 基はクラウンエーテルである。そのようなクラウンエーテルの例は12-クラウン-4、15-クラウン-5、および18-クラウン-6を含む。

【0084】

なお他の実施形態において、式Iの $R^1$ 基の $R^3$ 基は検出可能な基である。本発明の1つの態様によると、式Iの $R^1$ 基の $R^3$ 基は蛍光基である。そのような蛍光基は当該分野で良く知られており、少数の名前を挙げれば、クマリン、キノロン、ベンゾイソキノロン、ホスタゾル、およびローダミン色素を含む。 $R^1$ の $R^3$ 基の例示的な蛍光基はアントラセン-9-イル、ピレン-4-イル、9-H-カルバゾール-9-イル、ローダミンBのカルボキシレート、およびクマリン343のカルボキシレートを含む。特定の実施形態において、式Iの $R^1$ 基の $R^3$ 基は：

【0085】

【化34】



10

20

30

40

50

から選択される検出可能な基である。

【0086】

特定の実施形態において、式 I の  $R^1$  基の  $R^3$  基はクリック化学に適した基である。クリック反応は、よく規定された反応座標を持つ高エネルギー（「パネ - 荷重」）試薬を含む傾向があり、広い範囲の選択的結合 - 形成事象を生起する。その例は、歪んだ - 環親電子体（エポキシド、アジリジン、アジリジニウムイオン、エピスルホニウムイオン）の求核捕獲、カルボニル反応性のある種の形態（例えば、アルデヒドおよびヒドラジンまたはヒドロキシルアミン）、およびいくつかのタイプのシクロ付加反応を含む。アジド - アルキン 1, 3 - ジ極性シクロ付加は 1 つのそのような反応である。クリック化学は当該分野で知られており、当業者であれば本発明のある  $R^3$  基がクリック化学で適していることを認識するであろう。

10

【0087】

クリック化学に適した  $R^3$  基を有する式 I の化合物は、少数の名前を挙げれば、タンパク質、ウイルスおよび細胞のような生物学的系またはマクロ分子へ該化合物をコンジュゲートするのに有用である。クリック反応は生理学的条件下で素早くかつ選択的に進行することが知られている。対照的に、ほとんどのコンジュゲーション反応は、タンパク質に対する第一級アミン官能性（例えば、リシンまたはタンパク質末端 - 基）を用いて行われる。ほとんどのタンパク質は多数のリシンおよびアルギニンを含有するゆえに、そのようなコンジュゲーションはタンパク質上の複数の部位において制御不可能に起こる。これは、リシンまたはアルギニンが酵素または他の生体分子の活性部位の周りに位置する場合に特に問題である。かくして、本発明の別の実施形態は、クリック化学を介して、式 I の化合物の  $R^1$  基をマクロ分子にコンジュゲートさせる方法を提供する。本発明のなお別の実施形態は、 $R^1$  基を介して式 I の化合物にコンジュゲートしたマクロ分子を提供する。

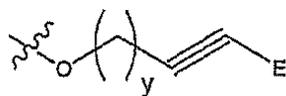
20

【0088】

1 つの実施形態によると、式 I の  $R^1$  基の  $R^3$  基はアジド - 含有基である。別の実施形態によると、式 I の  $R^1$  基の  $R^3$  基はアルキン - 含有基である。特定の実施形態において、式 I の  $R^1$  基の  $R^3$  基は末端アルキン基を有する。他の実施形態において、式 I の  $R^1$  基の  $R^3$  基は電子吸引基を有するアルキン基である。従って、そのような実施形態において、式 I の  $R^1$  基の  $R^3$  基は

【0089】

【化35】

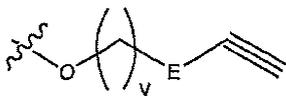


であり、ここで、E は電子吸引基であって、y は 0 ないし 6 である。そのような電子吸引基は当業者に知られている。特定の実施形態において、E はエステルである。他の実施形態において、式 I の  $R^1$  基の  $R^3$  基は

30

【0090】

【化36】



であり、ここで、E は  $-C(O)O-$  基のような電子吸引基であって、y は 0 ないし 6 である。

40

【0091】

一般に前記で定義したように、Q は原子価結合または二価の、飽和または不飽和の、直鎖または分枝鎖  $C_{1-12}$  アルキレン鎖であり、ここで、Q の 0 ないし 6 個のメチレン単位は

$-C_y-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-NHSO_2-$ 、 $-SO_2NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-C($

50

O) NH -、-OC(O)NH -、または-NHC(O)O - によって独立して置き換えられており、ここで、-Cy - は窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5 - 8員の二価の、飽和、部分的に不飽和、またはアリアル環、あるいは窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される8ないし10員の二価の飽和、部分的に不飽和、またはアリアル二環式環である。特定の実施形態において、Qは原子価結合である。他の実施形態においてQは二価の飽和C<sub>1-12</sub>アルキレン鎖であり、ここで、Qの0ないし6個のメチレン単位は-Cy -、-O -、-NH -、-S -、-OC(O) -、-C(O)O -、または-C(O) - によって独立して置き換えられており、ここで、-Cy - は窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択された0ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の、飽和、部分的に不飽和、またはアリアル環、あるいは窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される8ないし10員の二価の飽和、部分的に不飽和、またはアリアル二環式環である。

10

#### 【0092】

特定の実施形態において、Qは-Cy - (すなわち、メチレン単位が-Cy - によって置き換えられたC<sub>1</sub>アルキレン鎖)であり、ここで、-Cy - は窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の、飽和、部分的に不飽和、またはアリアル環である。本発明の1つの態様によると、-Cy - は必要に応じて置換される二価アリアル基である。本発明の別の態様によると、-Cy - は必要に応じて置換される二価フェニル基である。他の実施形態において、-Cy - は必要に応じて置換される5ないし8員二価飽和炭素環である。なお他の実施形態において、-Cy - は、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される1ないし2個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員二価飽和複素環である。例示的な-Cy - 基はフェニル、ピリジル、ピリミジニル、シクロヘキシル、シクロペンチル、またはシクロプロピルから選択される二価環を含む。

20

#### 【0093】

特定の実施形態において、R<sup>x</sup>は架橋可能なアミノ酸側鎖基であって、R<sup>y</sup>は疎水性アミノ酸側鎖基である。そのような架橋可能なアミノ酸側鎖基はチロシン、セリン、システイン、スレオニン、アスパラギン酸(荷電された場合にはアスパルテートとしても知られている)、グルタミン酸(荷電された場合にはグルタメートとしても知られている)、アスパラギン、ヒスチジン、リシン、アルギニンおよびグルタミンを含む。そのような疎水性アミノ酸側鎖基は適切に保護されたチロシン側鎖、適切に保護されたセリン側鎖、適切に保護されたスレオニン側鎖、フェニルアラニン、アラニン、バリン、ロイシン、トリプトファン、プロリン、ベンジルおよびアルキルグルタメート、またはベンジルおよびアルキルアスパルテートまたはそれらの混合物を含む。他の実施形態において、R<sup>y</sup>はイオン性アミノ酸側鎖基である。そのようなイオン性アミノ酸側鎖基はリシン側鎖、アルギニン側鎖、または適切に保護されたリシンまたはアルギニン側鎖、アスパラギン酸側鎖、グルタミン酸側鎖、または適切に保護されたアスパラギン酸またはグルタミン酸側鎖を含む。当業者であれば、極性または親水性アミノ酸側鎖の保護はそのアミノ酸を非極性とすることができるのを認識するであろう。例えば、適切に保護されたチロシンヒドロキシル基は、該ヒドロキシル基を保護することによって、そのチロシンを非極性かつ疎水性とすることができる。R<sup>x</sup>およびR<sup>y</sup>のヒドロキシル、アミノ、およびチオール、およびカルボキシレート官能基についての適切な保護基は本明細書中に記載した通りである。

30

40

#### 【0094】

他の実施形態において、R<sup>y</sup>は、R<sup>y</sup>を含む全ポリ(アミノ酸)ブロックが疎水性となるように、疎水性および親水性アミノ酸側鎖基の混合物を含む。アミノ酸側鎖基のそのような混合物はフェニルアラニン/チロシン、フェニルアラニン/セリン、ロイシン/チロシン等を含む。別の実施形態によると、R<sup>y</sup>はフェニルアラニン、アラニン、またはロイシン、およびチロシン、セリンまたはスレオニンの1以上から選択される疎水性アミノ酸

50

側鎖基である。

【0095】

前記にて定義したように、 $R^x$  は架橋を形成することができる天然または非天然のアミノ酸側鎖基である。限定されるものではないが、カルボキシレート、ヒドロキシル、チオールおよびアミノ基を含めた、種々のアミノ酸側鎖官能基はそのような架橋が可能であると認識されるであろう。架橋を形成することができる官能基を有する  $R^x$  基の例はグルタミン酸側鎖、 $-CH_2C(O)CH_2$ 、アスパラギン酸側鎖、 $-CH_2CH_2C(O)OH$ 、システイン側鎖、 $-CH_2SH$ 、セリン側鎖、 $-CH_2OH$ 、アルデヒド含有側鎖、 $-CH_2C(O)H$ 、リシン側鎖、 $-(CH_2)_4NH_2$ 、アルギニン側鎖、 $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 、ヒスチジン側鎖、 $-CH_2$ -イミダゾール-4-イルを含む

10

【0096】

一般的に前記で定義したように、式 I の  $R^{2a}$  基はモノ保護アミン、ジ保護アミン、 $-NHR^4$ 、 $-N(R^4)_2$ 、 $-NHC(O)R^4$ 、 $-NR^4C(O)R^4$ 、 $-NHC(O)NHR^4$ 、 $-NHC(O)N(R^4)_2$ 、 $-NR^4C(O)NHR^4$ 、 $-NR^4C(O)N(R^4)_2$ 、 $-NHC(O)OR^4$ 、 $-NR^4C(O)OR^4$ 、 $-NHSO_2R^4$ 、または  $-NR^4SO_2R^4$  であり、ここで、各  $R^4$  は、独立して、脂肪族、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 5 ないし 8 員飽和、部分的不飽和、またはアリール環、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する 8 ないし 10 員飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基であり、あるいは同一窒素原子上の 2 つの  $R^4$  は該窒素原子と一緒にあって、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される 1 ないし 4 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 4 ないし 7 員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環を形成する。

20

【0097】

特定の実施形態において、式 I の  $R^{2a}$  基は  $-NHR^4$  または  $-N(R^4)_2$  であり、ここで、各  $R^4$  は必要に応じて置換される脂肪族基である。1 つの例示的な  $R^4$  基は 5-ノルボルネン-2-イル-メチルである。本発明のなお別の態様によると、式 I の  $R^{2a}$  基は  $-NHR^4$  であり、ここで、 $R^4$  は  $N_3$  で置換された  $C_{1-6}$  脂肪族基である。その例は  $-CH_2N_3$  を含む。いくつかの実施形態において、 $R^4$  は必要に応じて置換される  $C_{1-6}$  アルキル基である。その例はメチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、2-(テトラヒドロピラン-2-イルオキシ)エチル、ピリジン-2-イルジスルファニルメチル、メチルジスルファニルメチル、(4-アセチレニルフェニル)メチル、3-(メトキシカルボニル)-プロパ-2-イニル、メトキシカルボニルメチル、2-(N-メチル-N-(4-アセチレニルフェニル)カルボニルアミノ)-エチル、2-フタルイミドエチル、4-ブロムベンジル、4-クロロベンジル、4-フルオロベンジル、4-ヨードベンジル、4-プロパルギルオキシベンジル、2-ニトロベンジル、4-(ビス-4-アセチレニルベンジル)アミノメチル-ベンジル、4-プロパルギルオキシ-ベンジル、4-ジプロパルギルアミノ-ベンジル、4-(2-プロパルギルオキシ-エチルジスルファニル)ベンジル、2-プロパルギルオキシ-エチル、2-プロパルギルジスルファニル-エチル、4-プロパルギルオキシ-ブチル、2-(N-メチル-N-プロパルギルアミノ)エチル、および 2-(2-ジプロパルギルアミノエトキシ)-エチルを含む。他の実施形態において、 $R^4$  は必要に応じて置換される  $C_{2-6}$  アルケニル基である。その例はビニル、アリル、クロチル、2-プロペニル、およびブタ-3-エニルを含む。 $R^4$  基が置換された脂肪族基である場合、 $R^4$  上の適切な置換基は  $N_3$ 、 $CN$  およびハロゲンを含む。特定の実施形態において、 $R^4$  は  $-CH_2CN$ 、 $-CH_2CH_2CN$ 、 $-CH_2CH(OCH_3)_2$ 、4-(ビスベンジルオキシメチル)フェニルメチル等である。

30

40

【0098】

本発明の別の態様によると、式 I の  $R^{2a}$  基は  $-NHR^4$  であり、ここで、 $R^4$  は必要に応じて置換される  $C_{2-6}$  アルキニル基である。その例は  $-CC\equiv CH$ 、 $-CH_2C$

50

CH、 $-CH_2C(C)CH_3$ 、および $-CH_2CH_2C(C)H$ を含む。

【0099】

特定の実施形態において、式Iの $R^{2a}$ 基は $-NHR^4$ であり、ここで、 $R^4$ は必要に応じて置換される5ないし8員アリール環である。特定の実施形態において、 $R^4$ は必要に応じて置換されるフェニルまたは必要に応じて置換されるピリジルである。その例はフェニル、4-t-ブトキシカルボニルアミノフェニル、4-アジドメチルフェニル、4-プロパルギルオキシフェニル、2-ピリジル、3-ピリジル、および4-ピリジルを含む。特定の実施形態において、 $R^{2a}$ は4-t-ブトキシカルボニルアミノフェニルアミノ、4-アジドメチルフェナミノ、または4-プロパルギルオキシフェニルアミノである。

【0100】

特定の実施形態において、式Iの $R^{2a}$ 基は $-NHR^4$ であり、ここで、 $R^4$ は必要に応じて置換されるフェニル環である。 $R^4$ フェニル環上の適切な置換基はハロゲン；

$-(CH_2)_{0-4}R$ ； $-(CH_2)_{0-4}OR$ ； $-(CH_2)_{0-4}CH(OR)_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}SR$ ； $R$ で置換され得る $-(CH_2)_{0-4}Ph$ ； $R$ で置換され得る $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ ； $R$ で置換され得る $-CH=CHPh$ ； $-NO_2$ ； $-CN$ ； $-N_3$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R)_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R)C(O)R$ ； $-N(R)C(S)R$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R)C(O)NR_2$ ； $-N(R)C(S)NR_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R)C(O)R$ ； $-N(R)N(R)C(O)R$ ； $-N(R)N(R)C(O)NR_2$ ； $-N(R)N(R)C(O)OR$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)R$ ； $-C(S)R$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR_3$ ； $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R$ ； $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR_2$ ； $-C(S)NR_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR_2$ ； $-C(O)N(OR)R$ ； $-C(O)C(O)R$ ； $-C(O)CH_2C(O)R$ ； $-C(NOR)R$ ； $-(CH_2)_{0-4}SSR$ ； $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R$ ； $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR$ ； $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R$ ； $-S(O)_2NR_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}S(O)R$ ； $-N(R)S(O)_2NR_2$ ； $-N(R)S(O)_2R$ ； $-N(OR)R$ ； $-C(NH)NR_2$ ； $-P(O)_2R$ ； $-P(O)R_2$ ； $-OP(O)R_2$ ； $SiR_3$ を含み；ここで、 $R$ の各独立した出現は前記定義の通りである。他の実施形態において、式Iの $R^{2a}$ 基は $-NHR^4$ であり、ここで、 $R^4$ は1以上の必要に応じて置換される $C_{1-6}$ 脂肪族基で置換されたフェニルである。さらに他の実施形態において、 $R^4$ はビニル、アリル、アセチレニル、 $-CH_2N_3$ 、 $-CH_2CH_2N_3$ 、 $-CH_2C(C)CH_3$ 、または $-CH_2C(C)H$ で置換されたフェニルである。

【0101】

特定の実施形態において、式Iの $R^{2a}$ 基は $-NHR^4$ であり、ここで、 $R^4$ は $N_3$ 、 $N(R)_2$ 、 $CO_2R$ 、または $C(O)R$ で置換されたフェニルであり、ここで、各 $R$ は独立して前記で定義した通りである。

【0102】

特定の実施形態において、式Iの $R^{2a}$ 基は $-N(R^4)_2$ であり、ここで、各 $R^4$ は、独立して、脂肪族、フェニル、ナフチル、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される1ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし6員のアリール環、または窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される1ないし5個のヘテロ原子を有する8ないし10員二環式環アリール環、または検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基である。

【0103】

他の実施形態において、式Iの $R^{2a}$ 基は $-N(R^4)_2$ であり、ここで、2つの $R^4$ は該窒素原子と一緒にあって、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される1ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される4ないし7員飽和、部分的不飽和、またはアリール環を形成する。別の実施形態によると、2つの $R^4$ 基は一緒にあって、1つ

10

20

30

40

50

の窒素を有する5ないし6員の飽和または部分的不飽和の環を形成し、ここで、該環は1または2のオキソ基で置換されている。そのような $R^{2a}$ 基は、限定されるものではないが、フタルイミド、マレイミドおよびスクシンイミドを含む。

【0104】

特定の実施形態において、式Iの $R^{2a}$ 基はモノ保護またはジ保護アミノ基である。特定の実施形態において、 $R^{2a}$ はモノ保護アミンである。特定の実施形態において、 $R^{2a}$ はアラルキルアミン、カルバメート、アリルアミンまたはアミドから選択されるモノ保護アミンである。例示的なモノ保護アミノ基はt-ブチルオキシカルボニルアミノ、エチルオキシカルボニルアミノ、メチルオキシカルボニルアミノ、トリクロロエチルオキシカルボニルアミノ、アリルオキシカルボニルアミノ、ベンジルオキシカルボニルアミノ、アリルアミノ、ベンジルアミノ、フルオレニルメチルカルボニル、ホルムアミド、アセトアミド、クロロアセトアミド、ジクロロアセトアミド、トリクロロアセトアミド、フェニルアセトアミド、トリフルオロアセトアミド、ベンズアミド、およびt-ブチルジフェニルシリルアミノを含む。他の実施形態において、 $R^{2a}$ はジ保護アミンである。例示的なジ保護アミノ基はジ-ベンジルアミノ、ジ-アリルアミノ、フタルイミド、マレイミド、スクシンイミド、ピロロ、2,2,5,5-テトラメチル-[1,2,5]アザジシロリジノおよびアジドを含む。特定の実施形態において、 $R^{2a}$ 基はフタルイミドである。他の実施形態において、 $R^{2a}$ 基はモノ-またはジ-ベンジルアミノまたはモノ-またはジ-アリルアミノである。

【0105】

特定の実施形態において、式Iの $R^{2a}$ 基はクリック化学に適した基を含む。当業者であれば、本発明のある $R^{2a}$ 基はクリック化学に適していることを認識するであろう。

【0106】

クリック化学に適した基を含む $R^{2a}$ 基を有する式Iの化合物は、少数ではあるが名称を挙げれば、タンパク質、ウイルスおよび細胞のような生物学的系に該化合物をコンジュゲートするのに有用である。生体分子、薬物、細胞、基材等へのコンジュゲーションの後に、式Iの $R^1$ 基に対応する他の末端-基官能性を用いて、限定されるものではないが、蛍光色素、表面への共有結合、ヒドロゲルへの取込みを含めた、細胞特異的送達用の標的基を付着させることができる。かくして、本発明の別の実施形態は、クリック化学を介して、蛍光色素、小分子薬物、またはマクロ分子へ、式Iの化合物の $R^{2a}$ 基をコンジュゲートする方法を提供する。本発明のなお別の実施形態は、 $R^{2a}$ 基を介して、式Iの化合物にコンジュゲートしたマクロ分子を提供する。

【0107】

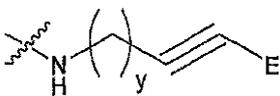
1つの実施形態によると、式Iの $R^{2a}$ 基はアジド-含有基である。別の実施形態によると、式Iの $R^{2a}$ 基はアルキン-含有基である。

【0108】

特定の実施形態において、式Iの $R^{2a}$ 基は末端アルキン基を有する。他の実施形態において、式Iの $R^{2a}$ 基は、電子吸引基を有するアルキン-含有基である。従って、そのような実施形態において、式Iの $R^{2a}$ 基は

【0109】

【化37】



であり、ここで、Eは電子吸引基であって、yは0ないし6である。そのような電子吸引基は当業者に知られている。特定の実施形態において、Eはエステルである。他の実施形態において、式Iの $R^{2a}$ 基は

【0110】

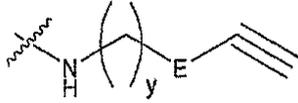
10

20

30

40

## 【化38】



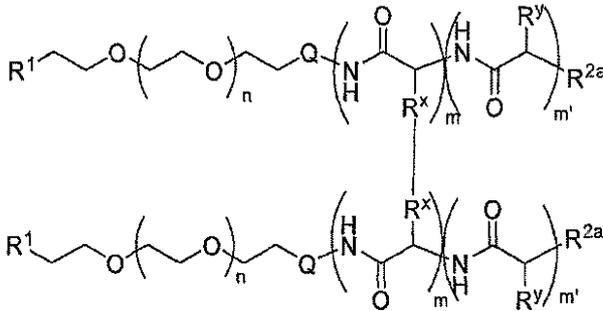
であり、ここで、Eは-C(O)O-基のような電子吸引基であって、yは0ないし6である。

## 【0111】

特定の実施形態において、本発明は、式II:

## 【0112】

## 【化39】



## II

(式中、

nは10ないし2500であり；

mは1ないし1000であり；

m'は1ないし1000であり；

R<sup>2</sup>は架橋された天然または非天然のアミノ酸側鎖基であり；

R<sup>y</sup>は疎水性またはイオン性の、天然または非天然のアミノ酸側鎖基であり；

R<sup>1</sup>は-Z(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Y)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>R<sup>3</sup>であり、ここで：

Zは-O-、-S-、-C-C-、または-CH<sub>2</sub>-であり；

各Yは独立して-O-または-S-であり；

pは0ないし10であり；

tは0ないし10であり；

R<sup>3</sup>は-N<sub>3</sub>、-CN、モノ保護アミン、ジ保護アミン、保護されたアルデヒド、保護されたヒドロキシル、保護されたカルボン酸、保護されたチオール、9ないし30員クラウンエーテル、あるいは脂肪族、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし8員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する8ないし10員の飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能の基から選択される必要に応じて置換される基であり；

Qは原子価結合または二価の、飽和または不飽和の直鎖または分枝鎖をC<sub>1-12</sub>アルキレン鎖であり、ここで、Qの0ないし6個のメチレン単位は-Cy-、-O-、-NH-、-S-、-OC(O)-、-C(O)O-、-C(O)-、-SO-、-SO<sub>2</sub>-、-NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>-、-SO<sub>2</sub>NH-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-OC(O)NH-、または-NHC(O)O-によって独立して置き換えられ、ここで：

-Cy-は窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される8ないし10員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環であり；

10

20

30

40

50

$R^2$  はモノ保護アミン、ジ保護アミン、 $-N(R^4)_2$ 、 $-NR^4C(O)R^4$ 、 $-NR^4C(O)N(R^4)_2$ 、 $-NR^4C(O)R^4$ 、または $-NR^4SO_2R^4$ であり；そして

各 $R^4$ は、独立して、水素、脂肪族、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし8員の飽和、部分的不飽和、またはアリアル環、あるいは窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する8ないし10員の飽和、部分的不飽和、またはアリアル二環式環、あるいは検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基であり、あるいは

同一窒素原子上の2つの $R^4$ が該窒素原子と一緒に、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される1ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される4ないし7員の飽和、部分的不飽和、またはアリアル環を形成する)のマルチブロックコポリマーを含むミセルを提供する。

#### 【0113】

別の実施形態によると、本発明は前記した式IIの化合物を提供し、ここで、該化合物は約1.0ないし約1.2の多分散性指標(「PDI」)を有する。別の実施形態によると、本発明は前記した式IIの化合物を提供し、ここで、該化合物は約1.03ないし約1.15の多分散性指標(「PDI」)を有する。なお別の実施形態において、本発明は前記した式IIの化合物を提供し、ここで、該化合物は約1.10ないし約1.20の多分散性指標(「PDI」)を有する。他の実施形態によると、本発明は約1.10未満のPDIを有する式IIの化合物を提供する。

#### 【0114】

一般に前記で定義したように、式IIのn基は0ないし2500である。特定の実施形態において、本発明は前記した式IIの化合物を提供し、ここで、nは約225である。他の実施形態において、nは約10ないし約40である。他の実施形態において、nは約40ないし約60である。なお他の実施形態において、nは約90ないし約150である。なお他の実施形態において、nは約200ないし約250である。他の実施形態において、nは約300ないし約375である。他の実施形態において、nは約400ないし約500である。なお他の実施形態において、nは約650ないし約750である。

#### 【0115】

特定の実施形態において、式IIのm'基は約5ないし約500である。特定の実施形態において、式IIのm'基は約10ないし約250である。他の実施形態において、m'は約10ないし約50である。他の実施形態において、m'は約20ないし約40である。なお別の実施形態によると、m'は約50ないし約75である。他の実施形態によるとmおよびm'は、独立して、約10ないし約100である。特定の実施形態において、m'は5ないし50である。他の実施形態において、m'は5ないし10である。他の実施形態において、m'は10ないし20である。特定の実施形態において、mおよびm'は合計して約30ないし約60である。なお他の実施形態において、mは1ないし20反復単位であって、m'は10ないし50反復単位である。

#### 【0116】

特定の実施形態において、式IIの $R^1$ 基の $R^3$ 基は $-N_3$ である。

#### 【0117】

特定の実施形態において、式IIの $R^1$ 基の $R^3$ 基は $-CN$ である。

#### 【0118】

なお他の実施形態において、式IIの $R^1$ 基の $R^3$ 基はモノ保護アミンまたはジ保護アミンである。

#### 【0119】

特定の実施形態において、式IIの $R^1$ 基の $R^3$ 基は必要に応じて置換される脂肪族基である。その例はt-ブチル、5-ノルボルネン-2-イル、オクタン-5-イル、アセチレニル、トリメチルシリルアセチレニル、トリイソプロピルシリルアセチレニル、およびt-ブチルジメチルシリルアセチレニルを含む。いくつかの実施形態において、該 $R^3$

基は必要に応じて置換されるアルキル基である。他の実施形態において、該 R<sup>3</sup> 基は必要に応じて置換されるアルキニルまたはアルキニル基である。該 R<sup>3</sup> 基が置換された脂肪族基である場合、R<sup>3</sup> 上の適切な置換基は CN、N<sub>3</sub>、トリメチルシリル、トリイソプロピルシリル、t-ブチルジメチルシリル、N-メチルプロピオールアミド、N-メチル-4-アセチレニルアニリン、N-メチル-4-アセチレニルベンゾアミド、ビス-(4-エチニル-ベンジル)-アミノ、ジプロパルギルアミノ、ジ-ヘキサ-5-イニル-アミノ、ジ-ペンタ-4-イニル-アミノ、ジ-ブタ-3-イニル-アミノ、プロパルギルオキシ、ヘキサ-5-イニルオキシ、ペンタ-4-イニルオキシ、ジ-ブタ-3-イニルオキシ、N-メチル-プロパルギルアミノ、N-メチル-ヘキサ-5-イニル-アミノ、N-メチル-ペンタ-4-イニル-アミノ、N-メチル-ブタ-3-イニル-アミノ、2-ヘキサ-5-イニルジスルファニル、2-ペンタ-4-イニルジスルファニル、2-ブタ-3-イニルジスルファニル、および2-プロパルギルジスルファニルを含む。特定の実施形態において、R<sup>1</sup> 基は2-(N-メチル-N-(エチニルカルボニル)アミノ)エトキシ、4-エチニルベンジルオキシ、または2-(4-エチニルフェノキシ)エトキシである。

10

#### 【0120】

特定の実施形態において、式 I I の R<sup>1</sup> 基の R<sup>3</sup> 基は必要に応じて置換されるアリール基である。その例は必要に応じて置換されるフェニルおよび必要に応じて置換されるピリジルである。該 R<sup>3</sup> 基が置換されたアリール基である場合、R<sup>3</sup> 上の適切な置換基は CN、N<sub>3</sub>、NO<sub>2</sub>、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>、-CH=CH<sub>2</sub>、-C≡CH、Br、I、F、ビス-(4-エチニル-ベンジル)-アミノ、ジプロパルギルアミノ、ジ-ヘキサ-5-イニル-アミノ、ジ-ペンタ-4-イニル-アミノ、ジ-ブタ-3-イニル-アミノ、プロパルギルオキシ、ヘキサ-5-イニルオキシ、ペンタ-4-イニルオキシ、ジ-ブタ-3-イニルオキシ、2-ヘキサ-5-イニルオキシ-エチルジスルファニル、2-ペンタ-4-イニルオキシ-エチルジスルファニル、2-ブタ-3-イニルオキシ-エチルジスルファニル、2-プロパルギルオキシ-エチルジスルファニル、ビス-ベンジルオキシ-メチル、[1,3]ジオキサラン-2-イル、および[1,3]ジオキサラン-2-イルを含む。

20

#### 【0121】

他の実施形態において、R<sup>3</sup> 基は適切に保護されたアミノ基で置換されたアリール基である。別の態様によると、R<sup>3</sup> は適切に保護されたアミノ基で置換されたフェニルである。

30

#### 【0122】

他の実施形態において、式 I I の R<sup>1</sup> 基の R<sup>3</sup> 基は保護されたヒドロキシル基である。特定の実施形態において、R<sup>3</sup> 基の保護されたヒドロキシルはエステル、カルボネート、スルホネート、アリルエーテル、エーテル、シリルエーテル、アルキルエーテル、アリールアルキルエーテル、またはアルコキシアリルエーテルである。特定の実施形態において、エステルはホルメート、アセテート、プロピオネート、ペンタノエート、クロトネート、またはベンゾエートである。例示的なエステルはホルメート、ベンゾイルホルメート、クロロアセテート、トリフルオロアセテート、メトキシアセテート、トリフェニルメトキシアセテート、p-クロロフェノキシアセテート、3-フェニルプロピオネート、4-オキソペンタノエート、4,4-(エチレンジチオ)ペンタノエート、ピバロエート(トリメチルアセテート)、クロトネート、4-メトキシ-クロトネート、ベンゾエート、p-ベンジルベンゾエート、2,4,6-トリメチルベンゾエートを含む。例示的なカルボネートは9-フルオレニルメチル、エチル、2,2,2-トリクロロエチル、2-(トリメチルシリル)エチル、2-(フェニルスルホニル)エチル、ビニル、アリル、およびp-ニトロベンジルカルボネートを含む。適切なシリルエーテルの例はトリメチルシリル、トリエチルシリル、t-ブチルジメチルシリル、t-ブチルジフェニルシリル、トリイソプロピルシリルエーテル、および他のトリアルキルシリルエーテルを含む。例示的なアルキルエーテルはメチル、ベンジル、p-メトキシベンジル、3,4-ジメトキシベンジル

40

50

、トリチル、*t*-ブチル、およびアリルエーテル、またはその誘導体を含む。例示的なアルコキシアルキルエーテルはメトキシメチル、メチルチオメチル、(2-メトキシエトキシ)メチル、ベンジルオキシメチル、ベータ-(トリメチルシリル)エトキシメチル、およびテトラヒドロピラン-2-イルエーテルのようなアセタールを含む。例示的なアリーラルキルエーテルはベンジル、*p*-メトキシベンジル(MPM)、3,4-ジメトキシベンジル、*o*-ニトロベンジル、*p*-ニトロベンジル、*p*-ハロベンジル、2,6-ジクロロベンジル、*p*-シアノベンジル、2-および4-ピコリルエーテルを含む。

#### 【0123】

特定の実施形態において、式IIのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基はモノ保護またはジ保護アミノ基である。特定の実施形態において、R<sup>3</sup>はモノ保護アミンである。特定の実施形態において、R<sup>3</sup>はアリーラルアミン、カルバメート、アリルアミンまたはアミドから選択されたモノ保護アミンである。例示的なモノ保護アミノ基は*t*-ブチルオキシカルボニルアミノ、エチルオキシカルボニルアミノ、メチルオキシカルボニルアミノ、トリクロロエチルオキシカルボニルアミノ、アリルオキシカルボニルアミノ、ベンジルオキシカルボニルアミノ、アリルアミノ、ベンジルアミノ、フルオレニルメチルカルボニル、ホルムアミド、アセトアミド、クロロアセトアミド、ジクロロアセトアミド、トリクロロアセトアミド、フェニルアセトアミド、トリフルオロアセトアミド、ベンズアミド、および*t*-ブチルジフェニルシリルアミノを含む。他の実施形態において、R<sup>3</sup>はジ保護アミノである。例示的なジ保護アミンはジ-ベンジルアミン、ジ-アリルアミン、フタルイミド、マレイミド、スクシンイミド、ピロール、2,2,5,5-テトラメチル-[1,2,5]アザジシロリジンおよびアジドを含む。特定の実施形態において、R<sup>3</sup>基はフタルイミドである。他の実施形態において、R<sup>3</sup>基は、モノ-またはジ-ベンジルアミノあるいはモノ-またはジ-アリルアミノである。特定の実施形態において、R<sup>1</sup>基は、2-ジベンジルアミノエトキシである。

#### 【0124】

他の実施形態において、式IIのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基は保護されたアルデヒド基である。特定の実施形態において、R<sup>3</sup>の保護されたアルデヒド基は、非環状アセタール、環状アセタール、ヒドラゾン、またはイミンである。例示的なR<sup>3</sup>基は、ジメチルアセタール、ジエチルアセタール、ジイソプロピルアセタール、ジベンジルアセタール、ビス(2-ニトロベンジル)アセタール、1,3-ジオキサン、1,3-ジオキソラン、およびセミカルバゾンを含む。特定の実施形態において、R<sup>3</sup>は非環状アセタールまたは環状アセタールである。他の実施形態において、R<sup>3</sup>はジベンジルアセタールである。

#### 【0125】

なお他の実施形態において、式IIのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基は保護されたカルボン酸基である。特定の実施形態において、R<sup>3</sup>の保護されたカルボン酸基は、C<sub>1-6</sub>脂肪族またはアリール、またはシリルエステル、活性化されたエステル、アミド、またはヒドラジドから選択される必要に応じて置換されるエステルである。そのようなエステル基の例はメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、ベンジル、およびフェニルエステルを含む。他の実施形態において、R<sup>3</sup>の保護されたカルボン酸基はオキサゾリンまたはオルトエステルである。そのような保護されたカルボン酸基の例はオキサゾリン-2-イルおよび2-メトキシ-[1,3]ジオキシン-2-イルを含む。特定の実施形態において、R<sup>1</sup>基はオキサゾリン-2-イルメトキシまたは2-オキサゾリン-2-イル-1-プロボキシである。

#### 【0126】

別の実施形態によると、式IIのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基は保護されたチオール基である。特定の実施形態において、R<sup>3</sup>の保護されたチオールはジスルフィド、チオエーテル、シリルチオエーテル、チオエステル、チオカルボネート、またはチオカルバメートである。そのような保護されたチオールの例はトリイソプロピルシリルチオエーテル、*t*-ブチルジメチルシリルチオエーテル、*t*-ブチルチオエーテル、ベンジルチオエーテル、*p*-メチルベンジルチオエーテル、トリフェニルメチルチオエーテル、および*p*-メトキシフェニル

ジフェニルメチルチオエーテルを含む。他の実施形態において、 $R^3$  はアルキル、ベンジル、またはトリフェニルメチル、またはトリクロロエトキシカルボニルチオエステルから選択された必要に応じて置換されるチオエーテルである。特定の実施形態において、 $R^3$  は - S - S - ピリジン - 2 - イル、- S - S B<sub>n</sub>、- S - S C H<sub>3</sub>、または - S - S ( p - エチニルベンジル ) である。他の実施形態において、 $R^3$  は - S - S - ピリジン - 2 - イルである。なお他の実施形態において、 $R^1$  基は 2 - トリフェニルメチルスルファニル - エトキシである。

## 【 0 1 2 7 】

特定の実施形態において、式 I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基はクラウンエーテルである。そのようなクラウンエーテルの例は、1 2 - クラウン - 4、1 5 - クラウン - 5、および 1 8 - クラウン - 6 を含む。

10

## 【 0 1 2 8 】

なお他の実施形態において、式 I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基は検出可能な基である。本発明の 1 つの態様によると、式 I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基は蛍光基である。そのような蛍光基は当該分野でよく知られており、少数の名前を挙げれば、クマリン、キノロン、ベンゾイソキノロン、ホスタゾル、およびローダミン色素を含む。 $R^1$  の  $R^3$  基の例示的な蛍光基はアントラセン - 9 - イル、ピレン - 4 - イル、9 - H - カルバゾール - 9 - イル、ローダミン B のカルボキシレートおよびクマリン 3 4 3 のカルボキシレートを含む。

## 【 0 1 2 9 】

特定の実施形態において、式 I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基はクリック化学に適した基である。クリック反応は、よく規定された反応座標を持つ高エネルギー ( 「バネ - 荷重」 ) 試薬を含み、広い範囲の選択的結合 - 形成事象を生起させることを含む傾向がある。その例は歪んだ - 環の親電子体 ( エポキシド、アジリジン、アジリジニウムイオン、エピスルホニウムイオン ) の求核性捕獲、カルボニル反応性のある形態 ( 例えば、アルデヒドおよびヒドラジンまたはヒドロキシルアミン )、およびいくつかのタイプのシクロ付加反応を含む。アジド - アルキン 1 , 3 - ジ極性シクロ付加は 1 つのそのような反応である。クリック化学は当該分野で知られており、当業者であれば、本発明のある  $R^3$  基がクリック化学に適していることを認識するであろう。

20

## 【 0 1 3 0 】

特定の実施形態において、式 I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基は、クリック反応に適した基である。クリック反応は、よく規定された反応座標を持つ高エネルギー ( 「バネ - 荷重」 ) 試薬を含み、広い範囲の選択的結合 - 形成事象を生起させることを含む傾向がある。その例は歪んだ - 環の親電子体 ( エポキシド、アジリジン、アジリジニウムイオン、エピスルホニウムイオン ) の求核性捕獲、カルボニル反応性のある形態 ( 例えば、アルデヒドおよびヒドラジンまたはヒドロキシルアミン )、およびいくつかのタイプのシクロ付加反応を含む。アジド - アルキン 1 , 3 - ジ極性シクロ付加は 1 つのそのような反応である。クリック化学は当該分野で知られており、当業者であれば、本発明のある  $R^3$  基がクリック化学に適していることを認識するであろう。

30

## 【 0 1 3 1 】

クリック化学に適した  $R^3$  基を有する式 I I の化合物は、少数の名前を挙げれば、タンパク質、ウイルスおよび細胞のような生物学的系またはマクロ分子に該化合物をコンジュゲートするのに有用である。クリック反応は生理学的条件下で迅速かつ選択的に進行することが知られている。対照的に、ほとんどのコンジュゲーション反応は、タンパク質に対する第一級アミン官能基 ( 例えば、リシン、またはタンパク質末端 - 基 ) を用いて行われる。ほとんどのタンパク質は膨大なリシンおよびアルギニンを含有するゆえに、そのようなコンジュゲーションはタンパク質上の複数の部位にて制御不可能に起こる。これは、リシンまたはアルギニンが酵素または他の生体分子の活性部位の周りに位置する場合に特に問題である。かくして、本発明の別の実施形態は、クリック化学を介して、式 I I の化合物の  $R^1$  基をマクロ分子にコンジュゲートさせる方法を提供する。本発明のなお別の実施形態は、 $R^1$  基を介して、式 I I の化合物にコンジュゲートしたマクロ分子を提供する。

40

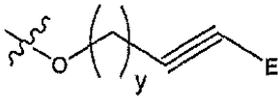
50

## 【0132】

1つの実施形態によると、式I IのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基はアジド-含有基である。別の実施形態によると、式I IのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基はアルキン-含有基である。特定の実施形態において式I IのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基は末端アルキン基を有する。他の実施形態において式I IのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基は電子吸引基を有するアルキン基である。従って、そのような実施形態において、式I IのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基は

## 【0133】

## 【化40】

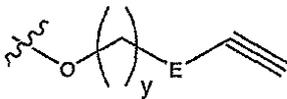


10

であり、ここで、Eは電子吸引基であって、yは0ないし6である。そのような電子吸引基は当業者に知られている。特定の実施形態において、Eはエステルである。他の実施形態において、式I IのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基は

## 【0134】

## 【化41】



であり、ここで、Eは-C(O)O-基のような電子吸引基であって、yは0ないし6である。

20

## 【0135】

一般に、前記で定義したように、式I IのQ基は原子価結合または二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝状C<sub>1-12</sub>アルキレン鎖であり、ここで、Qの0ないし6個のメチレン単位は、独立して、-Cy-、-O-、-NH-、-S-、-OC(O)-、-C(O)O-、-C(O)-、-SO-、-SO<sub>2</sub>-、NH<sub>2</sub>-、-SO<sub>2</sub>NH-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-OC(O)NH-、または-NHC(O)O-によって置き換えられ、ここで、-Cy-は窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリアル環、あるいは窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される8ないし10員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリアル二環式環である。特定の実施形態において、Qは原子価結合である。他の実施形態において、Qは二価飽和C<sub>1-12</sub>アルキレン鎖であり、ここで、Qの0ないし6個のメチレン単位は、独立して、-Cy-、-O-、-NH-、-S-、-OC(O)-、-C(O)O-、または-C(O)-によって置き換えられ、ここで、-Cy-は窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリアル環、あるいは窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される8ないし10員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリアル二環式環である。

30

40

## 【0136】

特定の実施形態において、Qは-Cy-（すなわち、メチレン単位が-Cy-によって置き換えられたC<sub>1</sub>アルキレン鎖）であり、ここで、-Cy-は窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリアル環である。本発明の1つの態様によると、-Cy-は必要に応じて置換される二価アリアル基である。本発明の別の態様によると、-Cy-は必要に応じて置換される二価フェニル基である。他の実施形態において、-Cy-は必要に応じて置換される5ないし8員の二価の飽和炭素環である。なお他の実施形態において、-Cy-は窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される1ないし2個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の飽和複素環

50

である。例示的な - C y - 基は、フェニル、ピリジル、ピリミニジル、シクロヘキシル、シクロペンチル、またはシクロプロピルから選択される二価環を含む。

【 0 1 3 7 】

特定の実施形態において、式 I I の R <sup>x</sup> 基は架橋可能なアミノ酸側鎖であって、R <sup>y</sup> は疎水性アミノ酸側鎖基である。そのような親水性または架橋可能なアミノ酸側鎖基はチロシン、セリン、システイン、スレオニン、アスパラギン酸（荷電された場合はアスパルテートとしても知られている）、グルタミン酸（荷電された場合には、グルタメートとしても知られている）、アスパラギン、ヒスチジン、リシン、アルギニンおよびグルタミンを含む。そのような疎水性アミノ酸側鎖基は適切に保護されたチロシン側鎖、適切に保護されたセリン側鎖、適切に保護されたスレオニン側鎖、フェニルアラニン、アラニン、バリン、ロイシン、トリプトファン、プロリン、ベンジルおよびアルキルグルタメート、またはベンジルまたはアルキルアルパルテート、またはそれらの混合物を含む。そのようなイオン性アミノ酸側鎖基はリシン側鎖、アルギニン側鎖、または適切に保護されたリシンまたはアルギニン側鎖、アスパラギン酸側鎖、グルタミン酸側鎖、適切に保護されたアスパラギン酸またはグルタミン酸側鎖、ヒスチジンまたは適切に保護されたヒスチジン側鎖を含む。当業者であれば、極性または親水性アミノ酸側鎖の保護はそのアミノ酸を非極性とすることができることを認識するであろう。例えば、適切に保護されたチロシンヒドロキシル基は、該ヒドロキシル基を保護することによってそのチロシンを非極性かつ疎水性とすることができる。R <sup>x</sup> および R <sup>y</sup> のヒドロキシル、アミノ、およびチオール、およびカルボキシレート官能基についての適切な保護基は本明細書中で記載した通りである。

10

20

【 0 1 3 8 】

他の実施形態において、式 I I の R <sup>y</sup> 基は、R <sup>y</sup> を含む全ポリ（アミノ酸ブロック）が疎水性となるように、疎水性および親水性アミノ酸側鎖基の混合物を含む。アミノ酸側鎖基のそのような混合物はフェニルアラニン/チロシン、フェニルアラニン/セリン、ロイシン/チロシンなどを含む。別の実施形態によると、R <sup>y</sup> はフェニルアラニン、アラニン、またはロイシン、およびチロシン、セリン、またはスレオニンの 1 以上から選択される疎水性アミノ酸側鎖基である。

【 0 1 3 9 】

前記で定義したように、R <sup>x</sup> は架橋を形成することができる天然または非天然のアミノ酸側鎖基である。限定されるものではないが、カルボキシレート、ヒドロキシル、チオール、およびアミノ基を含めた、種々のアミノ酸側鎖官能基がそのような架橋が可能であることは認識されよう。架橋を形成することができる官能基を有する R <sup>x</sup> 基の例は、グルタミン酸側鎖、- C H <sub>2</sub> C ( O ) C H、アスパラギン酸側鎖、- C H <sub>2</sub> C H <sub>2</sub> C ( O ) O H、システイン側鎖、- C H <sub>2</sub> S H、セリン側鎖、- C H <sub>2</sub> O H、アルデヒド含有側鎖、- C H <sub>2</sub> C ( O ) H、リシン側鎖、- ( C H <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> N H <sub>2</sub>、アルギニン側鎖、- ( C H <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> N H C ( = N H ) N H <sub>2</sub>、ヒスチジン側鎖、- C H <sub>2</sub> - イミダゾール - 4 - イルを含む。

30

【 0 1 4 0 】

他の実施形態において、R <sup>x</sup> は親水性アミノ酸側鎖基の混合物を含む。アミノ酸側鎖基のそのような混合物は、カルボン酸官能性、ヒドロキシル官能性、チオール官能性、および/またはアミン官能性を有するものを含む。R <sup>x</sup> が親水性アミノ酸側鎖官能性の混合物を含む場合、複数の架橋が起こり得ることは認識されるであろう。例えば、R <sup>x</sup> がカルボン酸 - 含有側鎖（例えば、アスパラギン酸またはグルタミン酸）およびチオール - 含有側鎖（例えば、システイン）を含む場合、アミノ酸ブロックは亜鉛架橋およびシステイン架橋（ジチオール）を有することができる。この種類の混合された架橋ブロックは、病気の細胞のサイトゾルへの治療薬物の送達で有意である。R <sup>x</sup> がアミン - 含有側鎖（例えば、リシンまたはアルギニン）およびチオール - 含有側鎖（例えば、システイン）を含む場合、アミノ酸ブロックはイミン（例えば、シッフ塩基）架橋およびシステイン架橋（ジチオール）を共に有することができる。亜鉛およびエステル架橋カルボン酸官能性およびイミン（例えば、シッフ塩基）架橋アミン官能性は、酸性オルガネラ（すなわち、エンドソー

40

50

ム、リソソーム)において可逆的であり、他方、ジスルフィドはグルタチオンまたは他の還元剤によってサイトゾル中で還元され、その結果、専ら細胞質で薬物が放出される。

【0141】

一般には、前記で定義したように、式IIの $R^{2a}$ 基はモノ保護アミン、ジ保護アミン、 $-NHR^4$ 、 $-N(R^4)_2$ 、 $-NHC(O)R^4$ 、 $-NR^4C(O)R^4$ 、 $-NHC(O)NHR^4$ 、 $-NHC(O)N(R^4)_2$ 、 $-NR^4C(O)NHR^4$ 、 $-NR^4C(O)N(R^4)_2$ 、 $-NHC(O)OR^4$ 、 $-NR^4C(O)OR^4$ 、 $-NH SO_2 R^4$ 、または $-NR^4 SO_2 R^4$ であり、ここで、各 $R^4$ は、独立して、脂肪族、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし8員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する8ないし10員の飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基であるか、あるいは同一窒素原子上の2つの $R^4$ は該窒素原子と一緒にあって、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される1ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される4ないし7員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環を形成する。

10

【0142】

特定の実施形態において、式IIの $R^{2a}$ 基は $-NHR^4$ または $-N(R^4)_2$ であり、ここで、各 $R^4$ は必要に応じて置換される脂肪族基である。1つの例示的な $R^4$ 基は5-ノルボルネン-2-イル-メチルである。本発明のなお別の態様によると、式IIの $R^{2a}$ 基は $-NHR^4$ であり、ここで、 $R^4$ は $N_3$ で置換された $C_{1-6}$ 脂肪族基である。その例は $-CH_2N_3$ を含む。いくつかの実施形態において、 $R^4$ は必要に応じて置換される $C_{1-6}$ アルキル基である。その例はメチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、2-(テトラヒドロピラン-2-イルオキシ)エチル、ピリジン-2-イルジスルファニルメチル、メチルジスルファニルメチル、(4-アセチレニルフェニル)メチル、3-(メトキシカルボニル)-プロパ-2-イニル、メトキシカルボニルメチル、2-(N-メチル-N-(4-アセチレニルフェニル)カルボニルアミノ)-エチル、2-フタルイミドエチル、4-プロモベンジル、4-クロロベンジル、4-フルオロベンジル、4-ヨードベンジル、4-プロパルギルオキシベンジル、2-ニトロベンジル、4-(ビス-4-アセチレニルベンジル)アミノメチル-ベンジル、4-プロパルギルオキシ-ベンジル、4-ジプロパルギルアミノ-ベンジル、4-(2-プロパルギルオキシ-エチルジスルファニル)ベンジル、2-プロパルギルオキシ-エチル、2-プロパルギルジスルファニル-エチル、4-プロパルギルオキシ-ブチル、2-(N-メチル-N-プロパルギルアミノ)-エチル、および2-(2-ジプロパルギルアミノエトキシ)-エチルを含む。他の実施形態において、 $R^4$ は必要に応じて置換される $C_{2-6}$ アルケニル基である。その例はビニル、アリル、クロチル、2-プロペニル、およびブタ-3-エニルを含む。 $R^4$ 基が置換された脂肪族基である場合、 $R^4$ 上の適切な置換基は $N_3$ 、 $CN$ 、およびハロゲンを含む。特定の実施形態において、 $R^4$ は $-CH_2CN$ 、 $-CH_2CH_2CN$ 、 $-CH_2CH(OCH_3)_2$ 、4-ビスベンジルオキシメチル)フェニルメチルなどである。

20

30

【0143】

本発明の別の態様によると、式IIの $R^{2a}$ 基は $-NHR^4$ であり、ここで、 $R^4$ は必要に応じて置換される $C_{2-6}$ アルキニル基である。その例は $-CC \equiv CH$ 、 $-CH_2C \equiv CH$ 、 $-CH_2C \equiv CCH_3$ 、および $-CH_2CH_2C \equiv CH$ を含む。

40

【0144】

特定の実施形態において、式IIの $R^{2a}$ 基は $-NHR^4$ であり、ここで、 $R^4$ は必要に応じて置換される5ないし8員のアリール環である。特定の実施形態において、 $R^4$ は必要に応じて置換されるフェニルまたは必要に応じて置換されるピリジルである。その例はフェニル、4-t-ブトキシカルボニルアミノフェニル、4-アジドメチルフェニル、4-プロパルギルオキシフェニル、2-ピリジル、3-ピリジル、および4-ピリジルを含む。特定の実施形態において、 $R^{2a}$ は4-t-ブトキシカルボニルアミノフェニルア

50

ミノ、4-アジドメチルフェナミノ、または4-プロパルギルオキシフェニルアミノである。

【0145】

特定の実施形態において、式IIの $R^{2a}$ 基は $-NHR^4$ であり、ここで、 $R^4$ は必要に応じて置換されるフェニル環である。 $R^4$ フェニル環上の適切な置換基はハロゲン；

$-(CH_2)_{0-4}R$ ； $-(CH_2)_{0-4}OR$ ； $-(CH_2)_{0-4}CH(OR)_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}SR$ ； $R$ で置換され得る $-(CH_2)_{0-4}Ph$ ； $R$ で置換され得る $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$ ； $R$ で置換され得る $-CH=CHPh$ ； $-NO_2$ ； $-CN$ ； $-N_3$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R)_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R)C(OR)$ ； $-N(R)C(S)R$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R)C(ONR_2)$ ； $-N(R)C(S)NR_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}N(R)C(OR)$ ； $-N(R)N(R)C(OR)$ ； $-N(R)N(R)C(O)NR_2$ ； $-N(R)N(R)C(O)OR$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(OR)$ ； $-C(S)R$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)SR$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR_3$ ； $-(CH_2)_{0-4}OC(OR)$ ； $-(CH_2)_{0-4}SC(OR)$ ； $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR_2$ ； $-C(S)NR_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR_2$ ； $-C(O)N(OR)R$ ； $-C(O)C(OR)$ ； $-C(O)CH_2C(OR)$ ； $-C(NOR)R$ ； $-(CH_2)_{0-4}SSR$ ； $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R$ ； $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR$ ； $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R$ ； $-S(O)_2NR_2$ ； $-(CH_2)_{0-4}S(O)R$ ； $-N(R)S(O)_2NR_2$ ； $-N(R)S(O)_2R$ ； $-N(OR)R$ ； $-C(NH)NR_2$ ； $-P(O)_2R$ ； $-P(O)R_2$ ； $-OP(O)R_2$ ； $SiR_3$ を含み；ここで、 $R$ の各独立した出現は本明細書中において前記で定義した通りである。他の実施形態において、式IIの $R^{2a}$ 基は $-NHR^4$ であり、ここに $R^4$ は1以上の必要に応じて置換される $C_{1-6}$ 脂肪族基で置換されたフェニルである。なお他の実施形態において、 $R^4$ はビニル、アリル、アセチレニル、 $-CH_2N_3$ 、 $-CH_2CH_2N_3$ 、 $-CH_2C\equiv CCH_3$ 、または $-CH_2C\equiv CH$ で置換されたフェニルである。

【0146】

特定の実施形態において、式IIの $R^{2a}$ 基は $-NHR^4$ であり、 $R^4$ は $N_3$ 、 $N(R)_2$ 、 $CO_2R$ 、または $C(OR)$ で置換されたフェニルであり、各 $R$ は独立して本明細書中において前記で定義した通りである。

【0147】

特定の実施形態において、式IIの $R^{2a}$ 基は、 $-N(R^4)_2$ であり、ここで、各 $R^4$ は、独立して、脂肪族、フェニル、ナフチル、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される1ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし6員アリール環、または窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される1ないし5個のヘテロ原子を有する8ないし10員二環式アリール環、または検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基である。

【0148】

他の実施形態において、式IIの $R^{2a}$ 基は $-N(R^4)_2$ であり、ここで、2つの $R^4$ 基は該窒素原子と一緒にあって、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される1ないし4個の必要に応じて置換される4ないし7員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環を形成する。別の実施形態によると、2つの $R^4$ の基は一緒にあって、1つの窒素を有する5ないし6員の飽和または部分的不飽和環を形成し、ここで、該環は1または2のオキソ基で置換されている。そのような $R^{2a}$ 基は、限定されるものではないが、フタルイミド、マレイミドおよびスクシンイミドを含む。

【0149】

特定の実施形態において、式IIの $R^{2a}$ 基は、モノ保護またはジ保護アミノ基である。特定の実施形態において、 $R^{2a}$ はモノ保護アミンである。特定の実施形態において、

$R^{2a}$  はアラルキルアミン、カルバメート、アリールアミン、またはアミドから選択されるモノ保護アミンである。例示的なモノ保護アミノ基は *t*-ブチルオキシカルボニルアミノ、エチルオキシカルボニルアミノ、メチルオキシカルボニルアミノ、トリクロロエチルオキシカルボニルアミノ、アリルオキシカルボニルアミノ、ベンジルオキシカルボニルアミノ、アリルアミノ、ベンジルアミノ、フルオレニルメチルカルボニル、ホルムアミド、アセトアミド、クロロアセトアミド、ジクロロアセトアミド、トリクロロアセトアミド、フェニルアセトアミド、トリフルオロアセトアミド、ベンズアミド、および *t*-ブチルジフェニルシリルアミノを含む。他の実施形態において、 $R^{2a}$  はジ保護アミンである。例示的なジ保護アミノ基はジベンジルアミノ、ジアリルアミノ、フタルイミド、マレイミド、スクシンイミド、ピロロ、2,2,5,5-テトラメチル-[1,2,5]アザジシロリジノ、およびアジドを含む。特定の実施形態において、 $R^{2a}$  基はフタルイミドである。他の実施形態において、 $R^{2a}$  基はモノ-またはジベンジルアミノまたはモノ-またはジアリルアミノである。

10

## 【0150】

特定の実施形態において、式 I I の  $R^{2a}$  基は、クリック化学に適した基を含む。当業者であれば、本発明のある  $R^{2a}$  基はクリック化学に適していることを認識するであろう。

## 【0151】

クリック化学に適した基を含む  $R^{2a}$  基を有する式 I I の化合物は、少数の名称を挙げれば、タンパク質、ウイルス、および細胞のような生物学的系に該化合物をコンジュゲートさせるのに有用である。生体分子、薬物、細胞、基材などへのコンジュゲーションの後に、式 I I の  $R^1$  基に対応する他の末端官能性を用いて、限定されるものではないが、蛍光色素、表面への共有結合、およびヒドロゲルへの取込みを含めた、細胞特異的送達のための標的基を結合させることができる。かくして、本発明の別の実施形態は、クリック化学を介して、式 I I の化合物の  $R^{2a}$  基をマクロ分子にコンジュゲートする方法を提供する。本発明のなもう一つの実施形態は、 $R^{2a}$  基を介して式 I I の化合物にコンジュゲートされたマクロ分子を提供する。

20

## 【0152】

1つの実施形態によると、式 I I の  $R^{2a}$  基はアジド含有基である。別の実施形態によると、式 I I の  $R^{2a}$  基はアルキン含有基である。

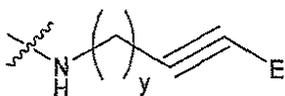
30

## 【0153】

特定の実施形態において、式 I I の  $R^{2a}$  基は末端アルキン基を有する。他の実施形態において、式 I I の  $R^{2a}$  基は電子吸引基を有するアルキン含有基である。従って、そのような実施形態において、式 I I の  $R^{2a}$  基は

## 【0154】

## 【化42】

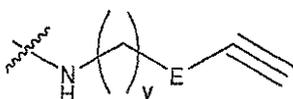


であり、ここで、E は電子吸引基であって、 $y$  は 0 ないし 6 である。そのような電子吸引基は当業者に知られている。特定の実施形態において、E はエステルである。他の実施形態において、式 I I の  $R^{2a}$  基は

40

## 【0155】

## 【化43】



であり、ここで、E は  $-C(O)O-$  基のような電子吸引基であって、 $y$  は 0 ないし 6 である。

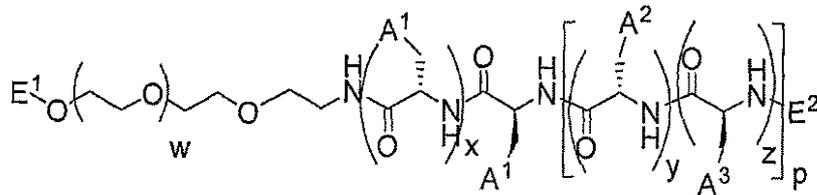
## 【0156】

50

本発明の例示的な化合物を以下の表 1 ないし 4 に記載する。表 1 は式：

【 0 1 5 7 】

【 化 4 4 】



の例示的化合物を記載し、ここで、各 w は、25 ないし 1000 であり、各 x は 1 ないし 50 であり、各 y は 1 ないし 50 であり、z は 1 ないし 100 であり、p は y および z の合計であって、各点線の結合は分子の残りへの結合点を表す。 10

【 0 1 5 8 】

【 化 4 5 】

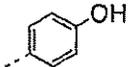
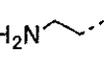
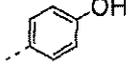
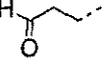
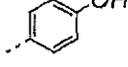
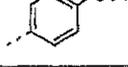
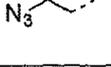
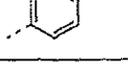
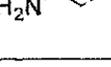
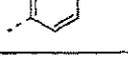
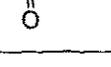
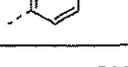
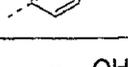
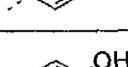
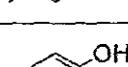
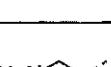
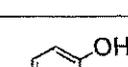
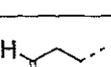
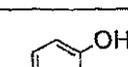
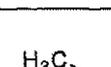
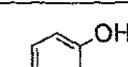
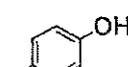
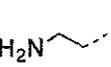
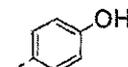
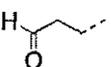
表 1

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
1					
2					

20

【 0 1 5 9 】

## 【化46】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					

10

20

30

40

## 【化47】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
19	-SH				-H
20	-SH			H <sub>3</sub> C-	-H
21					
22					
23					
24					
25				H <sub>3</sub> C-	
26					-H
27					-H
28					-H
29					-H
30				H <sub>3</sub> C-	-H
31	-SH				
32	-SH				
33	-SH				
34	-SH				

10

20

30

40

## 【0161】

## 【化48】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
35	-SH			H <sub>3</sub> C-	
36	-SH			N <sub>3</sub> -	-H
37	-SH			H <sub>2</sub> N-	-H
38	-SH				-H
39	-SH				-H
40	-SH			H <sub>3</sub> C-	-H
41					
42				N <sub>3</sub> -	
43				H <sub>2</sub> N-	
44					
45				H <sub>3</sub> C-	
46				N <sub>3</sub> -	-H
47				H <sub>2</sub> N-	-H
48					-H
49					-H
50				H <sub>3</sub> C-	-H

10

20

30

40

## 【0162】

## 【化49】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
51					
52					
53					
54					
55					
56					
57					
58					
59					
60					
61					
62					
63					
64					
65					
66					

## 【0163】

10

20

30

40

【化50】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
67					
68					
69					
70					
71					
72					
73					
74					
75					
76					
77					
78					
79					
80					
81					
82					

10

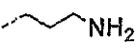
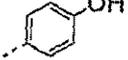
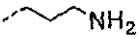
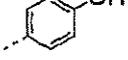
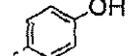
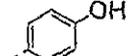
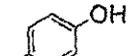
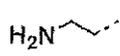
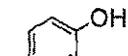
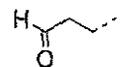
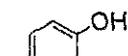
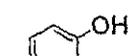
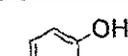
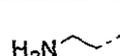
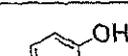
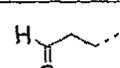
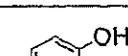
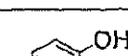
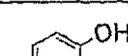
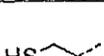
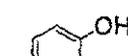
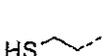
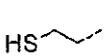
20

30

40

【0164】

【化51】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
83					
84					
85					
86					
87					
88					
89					
90					
91					
92					
93					
94					
95					
96					
97					

【0165】

10

20

30

40

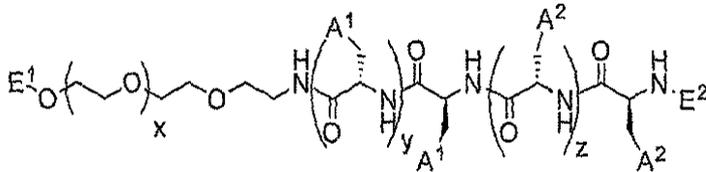
## 【化52】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
98					

表2は式：

【0166】

【化53】



の例示的化合物を記載し、ここで、各xは100ないし500であり、各yは4ないし20であり、各zは5ないし50であり、および各点線の結合は分子の残りへの結合点を表す。

【0167】

【化54】

表2

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
99				
100				
101				
102				
103				
104				
105				
106				

【0168】

10

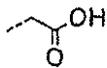
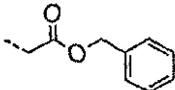
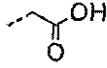
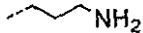
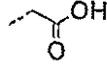
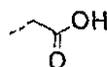
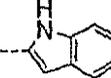
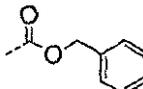
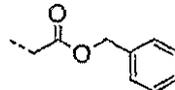
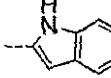
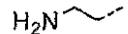
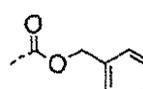
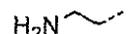
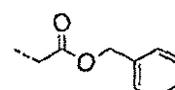
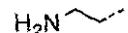
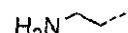
20

30

40

50

【化55】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
107				
108				
109				
110				
111				
112				
113				
114				
115				
116				
117				
118				
119				
120				

【0169】

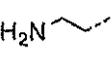
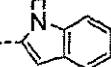
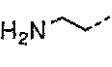
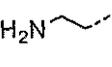
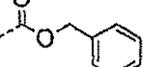
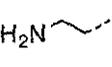
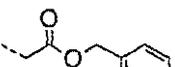
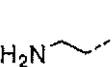
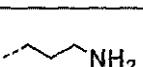
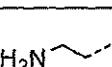
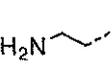
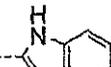
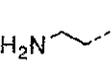
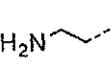
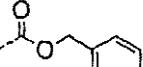
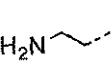
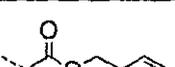
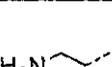
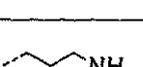
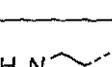
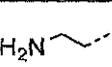
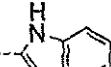
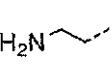
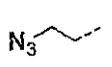
10

20

30

40

## 【化56】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
121				
122				
123				
124				
125				
126				
127				
128				
129				
130				
131				
132				
133				
134				
135				

【0170】

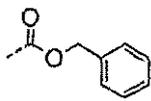
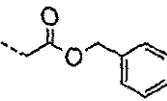
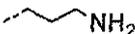
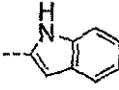
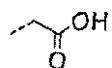
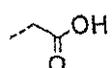
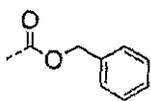
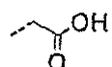
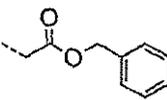
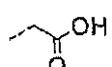
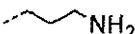
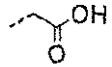
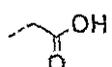
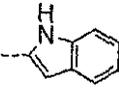
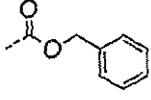
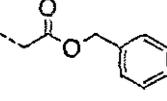
10

20

30

40

## 【化57】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
136				
137				
138				
139				
140				
141				
142				
143				
144				
145				
146				
147				
148				
149				

10

20

30

40

## 【0171】

【化58】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
150				
151				
152				
153				
154				
155				
156				
157				
158				
159				
160				
161				
162				
163				
164				

10

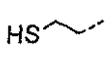
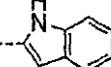
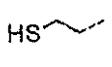
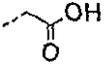
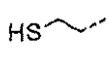
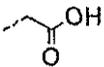
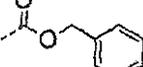
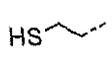
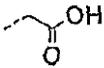
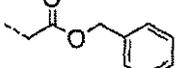
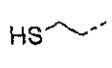
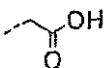
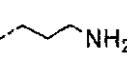
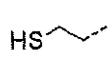
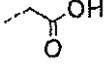
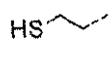
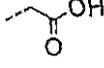
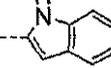
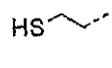
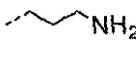
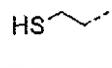
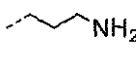
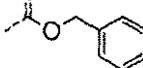
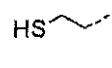
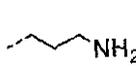
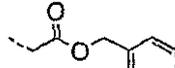
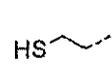
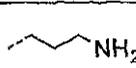
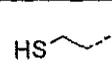
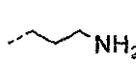
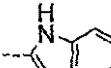
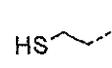
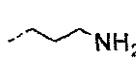
20

30

40

【0172】

【化59】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
165				
166				
167				
168				
169				
170				
171				
172				
173				
174				
175				
176				
177				
178				

【0173】

10

20

30

40

## 【化60】

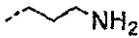
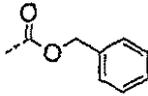
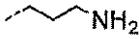
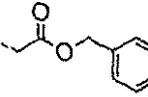
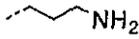
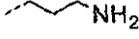
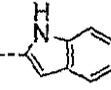
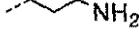
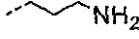
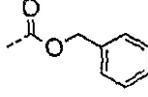
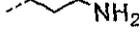
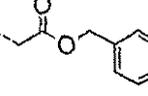
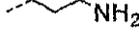
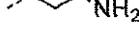
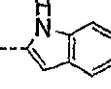
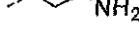
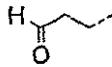
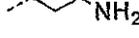
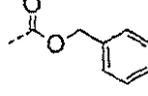
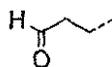
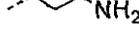
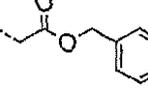
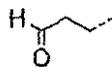
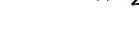
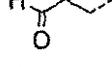
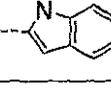
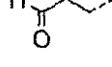
化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
179				
180				
181				
182				
183				
184				
185				
186				
187				
188				
189				
190				
191				
192				

表3は式：

【0174】

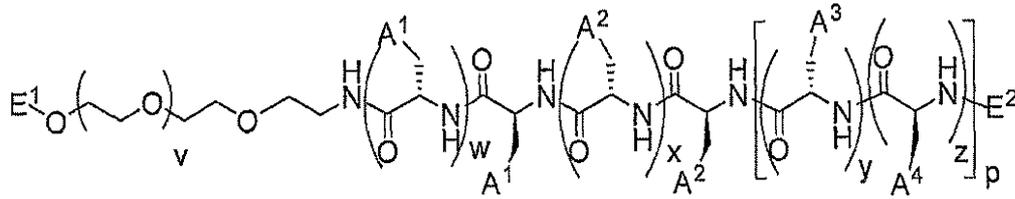
10

20

30

40

## 【化61】



の例示的化合物を記載し、ここで、各  $v$  は 100 ないし 500 であり、各  $w$  は 4 ないし 20 であり、 $x$  は 4 ないし 20 であり、各  $y$  は 5 ないし 50 であり、各  $z$  は 5 ないし 50 であり、 $p$  は  $y$  および  $z$  の合計であり、および各点線の結合は分子の残りへの結合点を表す

10

## 【0175】

## 【化62】

表3

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	A <sup>4</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
193		-SH				
194		-SH			H <sub>2</sub> N-	
195		-SH			N <sub>3</sub> -	
196		-SH			H-C(=O)-	
197		-SH			H <sub>3</sub> C-	
198		-SH				
199		-SH			H <sub>2</sub> N-	
200		-SH			N <sub>3</sub> -	
201		-SH			H-C(=O)-	
202		-SH			H <sub>3</sub> C-	
203		-SH				-H
204		-SH			H <sub>2</sub> N-	-H
205		-SH			N <sub>3</sub> -	-H

20

30

40

## 【0176】

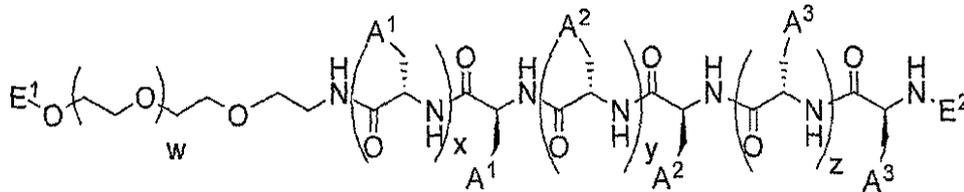
## 【化63】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	A <sup>4</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
206		-SH				-H
207		-SH			H <sub>3</sub> C-	-H
208		-SH				-H
209		-SH			H <sub>2</sub> N-	-H
210		-SH			N <sub>3</sub> -	-H
211		-SH				-H
212		-SH			H <sub>3</sub> C-	-H

表4は式：

【0177】

【化64】



の例示的化合物を記載し、ここで、各wは25ないし1000であり、各xは1ないし50であり、yは1ないし50であり、各zは1ないし100であって、および各点線の結合は分子の残りへの結合点を表す。

【0178】

【化65】

表4

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
213		-SH			
214		-SH			
215		-SH			
216		-SH			
217		-SH			

10

20

30

40

50

【 0 1 7 9 】

【 化 6 6 】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
218		-SH			
219		-SH			
220		-SH			
221		-SH			
222		-SH			
223		-SH			
224		-SH			
225		-SH			
226		-SH			
227		-SH			-H
228		-SH			-H
229		-SH			-H
230		-SH			-H
231		-SH			-H
232		-SH			-H
233		-SH			-H
234		-SH			-H

【 0 1 8 0 】

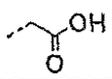
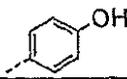
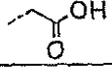
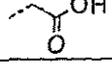
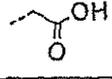
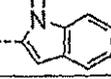
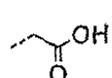
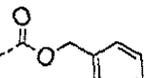
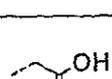
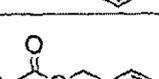
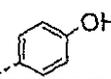
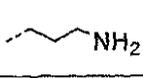
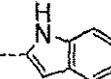
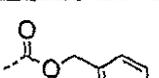
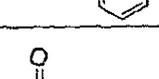
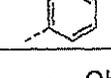
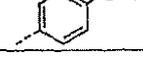
10

20

30

40

【化67】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
235		-SH			-H
236		-SH			-H
237		-SH			-H
238		-SH			-H
239		-SH			-H
240		-SH			-H
241		-SH			
242		-SH			
243		-SH			
244		-SH			
245		-SH			
246		-SH			
247		-SH			
248		-SH			
249		-SH			
250		-SH			
251		-SH			

10

20

30

40

【0181】

【化68】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
252		-SH			
254		-SH			
255		-SH			
256		-SH			-H
257		-SH			-H
258		-SH			-H
259		-SH			-H
260		-SH			-H
261		-SH			-H
262		-SH			-H
263		-SH			-H
264		-SH			-H
265		-SH			-H
266		-SH			-H
267		-SH			-H
268		-SH			-H

10

20

30

40

【0182】

【化69】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
269		-SH			-H
270		-SH			
271		-SH			
272		-SH			
273		-SH			
274		-SH			
275		-SH			
276		-SH			
277		-SH			
278		-SH			
279		-SH			
280		-SH			
281		-SH			
282		-SH			
283		-SH			
284		-SH			-H
285		-SH			-H

10

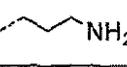
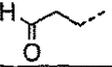
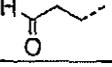
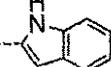
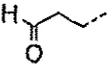
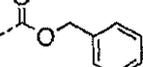
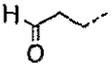
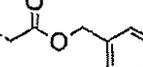
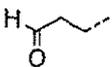
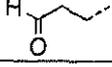
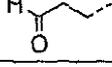
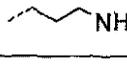
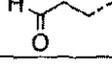
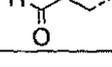
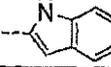
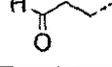
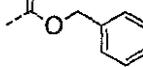
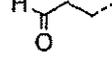
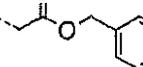
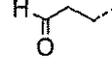
20

30

40

【0183】

## 【化70】

化合物	A <sup>1</sup>	A <sup>2</sup>	A <sup>3</sup>	E <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
286		-SH			-H
287		-SH			-H
288		-SH			-H
289		-SH			-H
290		-SH			-H
291		-SH			-H
292		-SH			-H
293		-SH			-H
294		-SH			-H
295		-SH			-H
296		-SH			-H
297		-SH			-H

10

20

30

## B. 架橋化学

ポリマーミセル技術における進歩に加えて、環境pH変化に応答できる刺激-応答性ポリマー物質の開発においてかなりの努力がなされてきた。Chatterjee, J.; Haik, Y.; Chen, C. J. J. App. Polym. Sci. 2004, 91, 3337-3341; Du, J. Z.; Armes, S. P. J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 12800-12801; and Twaites, B. R.; de las Heras Alarcon, C.; Cunliffe, D.; Lavigne, M.; Pennadam, S.; Smith, J. R.; Gorecki, D. C.; Alexander, C. J. Control. Release 2004, 97, 551-566参照。これは、酸性細胞内区画(すなわち、エンドソームおよびリソソーム)からの回避および細胞質放出が治療価値を達成するのに必要な感受性タンパク質および核酸-ベースの薬物で重要である。Murthy, N.; Campbell, J.; Fausto, N.; Hoffman, A. S.; Stayton, P. S. J. Control. Release 2003, 89, 365-374; El-Sayed, M. E. H.; Hoffman, A. S.; Stayton, P. S. J. Control

40

50

Release 2005, 104, 417-427;そしてLiu, Y.;Wenning, L.;Lynch, M.;Reineke, T. J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 7422-7423参照。エンドソームから首尾よく逃れ、小-分子化学治療薬物を細胞質へ輸送できる酸-感受性送達系も興味があるものである。というのは、これらの担体は多薬剤耐性の原因となる細胞メカニズムの多くを回避できるからである。これらの場合のいくつかにおいて、ポリマーは、血液(pH 7.4)および後期-初期エンドソーム(pH ~ 5.0 - 6.0)の間の有意なpHグラジエントに応答するように設計される。

【0184】

治療剤の癌-特異的pH-感受性標的を開発するにおいてさらに興味がある。例えば、10  
 固体腫瘍において見出される迅速に成長する細胞は、健康な細胞と比較した場合、上昇した解糖速度を有し、乳酸の生産を増大させた。これらの因子は、癌性組織に存在する貧弱なリンパ系ドレイナージと共に、血液および固体腫瘍のミクロ環境の間の過剰な乳酸、および安定したpHグラジエント(pH 6.5 - 7.0)をもたらす。Kallinowski, F.;Schlenger, K. H.;Runkel, S.;Kloes, M.;Stohrer, M.;Okunieff, P.;Vaupel, P. Cancer Res. 1989, 49, 3759-3764参照。そのような小さなpH変動に応答することができる物質の設計は明らかに挑戦的であるが、EPR効果とカップリングさせたこのメカニズムは、固体腫瘍への薬物放出を制限する有効な方法を表す。

【0185】

特定の実施形態において、本発明の両親媒性ブロックコポリマーおよび細胞-応答性ポリマーミセルは、血流中での希釈に対して無限に安定であるが、固体腫瘍および癌細胞で通常見出されるpH変化に応答してそれらの治療ペイロードを放出するように化学的にプログラムされた「スマートな」ナノベクターを構築するための架橋されたポリマーミセルおよびpH-感受性薬物標的の概念を組み合わせるように設計される。優れた化学治療剤と組み合わせて癌-応答性ナノベクターを利用することによって、注射後ミセル安定性および封入された治療剤の癌細胞への標的送達のような長く存在した臨床的問題に取り組む。ミセル架橋(すなわち、コアおよびシェル架橋)の従前の例とは異なり、本発明のマルチ-ブロックアプローチは、図1に示すように、疎水性および親水性ポリマーブロックの界面に位置するポリマーセグメントの効果的な架橋を可能とする。充填効率を犠牲にしたり、30  
 コア架橋の間に薬物分子を変化させることなく、安定なミセルが調製されるが故に、このアプローチは有意である。

【0186】

シェル-架橋ミセルとは対照的に、本発明によるマルチブロックコポリマーミセルの架橋は大きな希釈容量なくして達成される。なぜならば、ミセル-ミセルカップリングは起こらないからである。そのような架橋は投与後循環時間を増強させ、EPR効果によるより有効な受動的薬物標的、および癌-特異的標的基を用いる改良された能動的標的に導く。加えて、刺激-応答性架橋は、腫瘍組織および癌細胞の細胞質内で専ら化学療法薬物放出を単離する別の標的メカニズムを供することができる。

【0187】

薬物送達のために設計された架橋反応は、好ましくは、イン・ビボ適用で安全かつ有用であるとみなされる要件のある組を満足する。例えば、他の実施形態において、架橋反応は非-細胞傷害性試薬を利用し、水に対して非感受性であり、送達すべき薬物を変化させず、癌療法の場合には、腫瘍組織(pH ~ 6.8)または癌細胞における酸性オルガネラ(pH ~ 5.0 - 6.0)で通常遭遇するpHレベルにおいて可逆的であろう。

【0188】

特定の実施形態において、本発明のミセルは式III:

【0189】

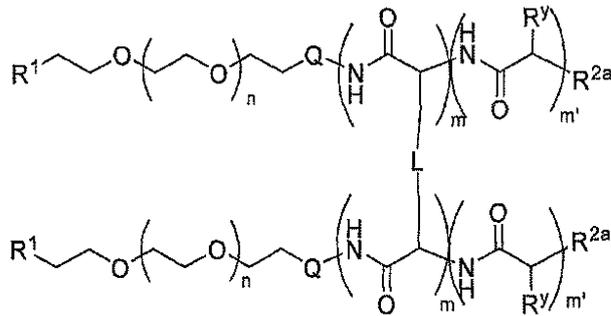
10

20

30

40

## 【化71】



## III

(式中、

$n$  は 10 ないし 2500 であり；

$m$  は 1 ないし 1000 であり；

$m'$  は 1 ないし 1000 であり；

$L$  は二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝状  $C_{1-12}$  アルキレン鎖であり、

ここで、 $L$  の 0 ないし 6 個のメチレン単位は、独立して、 $-M-$ 、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-NHSO_2-$ 、 $-SO_2NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 、または  $-NHC(O)O-$  によって置き換えられ、ここで：

$-M-$  は適切な二価金属であり；

$-Cy-$  は窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 5 ないし 8 員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 8 ないし 10 員の二価の飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環であり；

$R^y$  は疎水性またはイオン性の天然または非天然のアミノ酸側鎖基であり；

$R^1$  は  $-Z(CH_2CH_2Y)_p(CH_2)_tR^3$  であり、ここで：

$Z$  は  $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C-C-$ 、または  $-CH_2-$  であり；

各  $Y$  は独立して  $-O-$  または  $-S-$  であり；

$p$  は 0 ないし 10 であり；

$t$  は 0 ないし 10 であり；そして

$R^3$  は  $-N_3-$ 、 $-CN$ 、モノ保護アミン、ジ保護アミン、保護されたアルデヒド、保護されたヒドロキシル、保護されたカルボン酸、保護されたチオール、9 ないし 30 員クラウンエーテル、あるいは脂肪族、窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 0 ないし

4 個のヘテロ原子を有する 5 ないし 8 員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する 8 ないし 10 員の飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基であり；

$Q$  は原子価結合または二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝状  $C_{1-12}$  アルキレン鎖であり、ここで、 $Q$  の 0 ないし 6 個のメチレン単位は、独立して、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-NHSO_2-$ 、 $-SO_2NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 、または  $-NHC(O)O-$  によって置き換えられ、ここで：

$-Cy-$  は窒素、酸素および硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 5 ないし 8 員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 8 ないし 10 員の二価の飽和、部分的不飽和、ま

10

20

30

40

50

たはアリール二環式環であり；

$R^{2a}$  はモノ保護アミン、ジ保護アミン、 $-N(R^4)_2$ 、 $-NR^4C(O)R^4$ 、 $-NR^4C(O)N(R^4)_2$ 、 $-NR^4C(O)OR^4$ 、または $-NR^4SO_2R^4$ であり；

および

各 $R^4$ は、独立して、水素、脂肪族、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし8員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する8ないし10員の飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基であり；あるいは

同一窒素原子上の2つの $R^4$ は該窒素原子と一緒に窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される1ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される4ないし7員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環を形成する)

の架橋されたマルチブロックポリマーを含む。

#### 【0190】

別の実施形態によると、本発明は前記した式IIIの化合物を提供し、ここで、該化合物は約1.0ないし約1.2の多分散性指標(「PDI」)を有する。別の実施形態によると、本発明は前記した式IIIの化合物を提供し、ここで、該化合物は約1.03ないし約1.15の多分散性指標(「PDI」)を有する。本発明のなお別の実施形態によると、本発明は前記した式Iの化合物を提供し、ここで、該化合物は約1.10ないし約1.20の多分散性指標(「PDI」)を有する。他の実施形態によると、本発明は、約1.10未満のPDIを有する式IIIの化合物を提供する。

#### 【0191】

一般的には、前記で定義されたように、式IIIのn基は10ないし2500である。特定の実施形態において、本発明は前記した式IIIの化合物を提供し、ここで、nは約225である。他の実施形態において、nは約10ないし約40である。他の実施形態において、nは約40ないし約60である。なお他の実施形態において、nは約90ないし約150である。なお他の実施形態において、nは約200ないし約250である。他の実施形態において、nは約300ないし約375である。他の実施形態において、nは約400ないし約500である。なお他の実施形態において、nは約650ないし、約750である。

#### 【0192】

特定の実施形態において、式IIIのm'基は約5ないし約500である。特定の実施形態において、式IIIのm'は約10ないし約250である。他の実施形態において、m'は約10ないし約50である。他の実施形態において、m'は約20ないし約40である。なお別の実施形態において、m'は約50ないし約75である。他の実施形態によると、mおよびm'は、独立して、約10ないし約100である。特定の実施形態においてmは5ないし50である。他の実施形態において、mは5ないし10である。他の実施形態においてmは10ないし20である。特定の実施形態において、mおよびm'は合計して約30ないし約60である。なお他の実施形態において、mは1ないし20の反復単位であって、m'は10ないし50反復単位である。

#### 【0193】

一般に前記して定義したように、式IIIのL基は二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝状 $C_{1-12}$ アルキレン鎖であり、ここで、Lの0ないし6個のメチレン単位は、独立して、 $-M-$ 、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 、または $-NHC(O)O-$ によって置き換えられ、ここで、 $-M-$ は適切な二価の金属であって、 $-Cy-$ は窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子0

10

20

30

40

50

- 4 を有する必要に応じて置換される 8 ないし 10 員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環である。式 I I I の L 基は架橋されたアミノ酸側鎖基を表すことが認識されよう。特定の実施形態において、架橋されたアミノ酸側鎖基は本明細書中に記載された式 I および I I の化合物の R<sup>x</sup> 基に対応する。特定の実施形態において、式 I I I の L 基は金属架橋アミノ酸側鎖基、ヒドラゾン架橋アミノ酸側鎖基、エステル架橋アミノ酸側鎖基、アミド架橋側鎖基、イミン（例えば、シッフ塩基）架橋側鎖基、またはジスルフィド架橋側鎖基を表す。

【 0 1 9 4 】

特定の実施形態において、式 I I I の L 基は - M - を含む。他の実施形態において、M - は亜鉛、カルシウム、鉄またはアルミニウムである。なお他の実施形態において、M - はストロンチウム、マンガン、パラジウム、銀、金、カドミウム、クロム、インジウムまたは鉛である。

【 0 1 9 5 】

他の実施形態において、式 I I I の L 基は二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝状 C<sub>1-12</sub> アルキレン鎖であり、ここで、L の 2 つのメチレン単位は、独立して、- C ( O ) - 、 - C ( O ) N H - 、 - N H C ( O ) - 、 - S - 、 - C ( O ) O - 、 - O C ( O ) - 、 - C ( O ) N H N - 、 - = N N H C ( O ) - 、 - = N - 、 - N = - 、 - M - O C ( O ) - 、または - C ( O ) O - M - によって置き換えられる。別の実施形態によると、式 I I I の L 基は二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝状 C<sub>1-6</sub> アルキレン鎖であり、ここで、L の 2 つのメチレン単位は、- C ( O ) - または - C ( O ) N H - によって置き換えられる。他の実施形態において、式 I I I の L 基は少なくとも 2 単位の不飽和を有する二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝状 C<sub>1-12</sub> アルキレン鎖である。なお別の実施形態によると、式 I I I の L 基は二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝状 C<sub>1-12</sub> アルキレン鎖であり、L の 2 つのメチレン単位は、- N H - によって置き換えられる。なお別の実施形態によると、式 I I I の L 基は二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝状 C<sub>1-12</sub> アルキレン鎖であり、ここで、L の 2 つのメチレン単位は、- C ( O ) N H N によって置き換えられる。

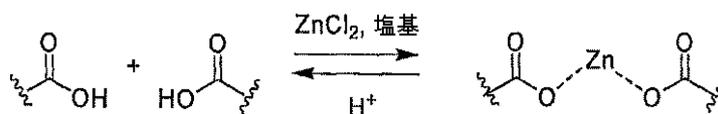
【 0 1 9 6 】

特定の実施形態において、式 I I I の L 基の - M - 基は亜鉛である。他の実施形態において、L は亜鉛 - ジカルボキシレート架橋基を形成する。特定の実施形態において、架橋はカルボン酸の亜鉛 - 媒介カップリング、水中で行われる高度に選択的かつ pH - 感受性反応を利用する。咳ロゼンジ適用で広く用いられているこの反応は、塩基性 pH における、亜鉛イオンとカルボン酸との会合を含む。Bakar, N. K. A. ; Taylor, D. M. ; Williams, D. R. Chem. Spec. Bioavail. 1999, 11, 95 - 101 ; そして Eby, G. A. J. Antimicrob. Chem. 1997, 40, 483 - 493 参照。これらの亜鉛 - カルボキシレート結合は酸の存在下で容易に解離する。

【 0 1 9 7 】

【 化 7 2 】

スキーム 1



前記スキーム 1 は亜鉛ジカルボキシレートを形成するための（例えば、塩化亜鉛からの）水性亜鉛イオンと 2 等量の適切なカルボン酸との反応を示す。この反応は酸性化の際を除いてわずかに塩基性 pH の環境において迅速かつ不可逆的に起こり、pH 4 . 0 ないし 6 . 8 の調整可能な範囲内では可逆的であって、ZnX<sub>2</sub> を再度形成し、ここで、X は共役塩基である。当業者であれば、種々の天然および非天然アミノ酸側鎖が、亜鉛または別

10

20

30

40

50

の適切な金属によって架橋することができるカルボン酸基を有することを認識するであろう。

【0198】

特定の実施形態において、Lは亜鉛で架橋されたアスパラギン酸側鎖を表す。理論に拘束されるつもりはないが、アスパラギン酸亜鉛架橋は血液区画(pH 7.4)において安定であり、受動的および能動的標的メカニズムによって固体腫瘍への薬物充填ミセルの効果的な蓄積を可能とすると考えられる。固体腫瘍において、または癌細胞の酸性オルガネラにおいて通常遭遇する乳酸濃度の存在下で、金属架橋の迅速な分解は、腫瘍部位におけるミセルの解離および薬物の放出に導く。予備的に、定量的な実験は、架橋されたアスパラギン酸亜鉛セグメントが - ヒドロキシ酸の存在下で可逆的であることを示した。

10

【0199】

架橋金属としての亜鉛の選択は、効果的なミセル架橋で有利である。塩化亜鉛および乳酸亜鉛副産物は、一般には、非毒性であることが認められており、他の安全性の懸念は予測されない。医薬グレードの塩化亜鉛は通常マウスウォッシュにおいて、およびクロロフィル安定化剤として植物で用いられており、他方、乳酸亜鉛は練り歯磨き、および薬物製剤において添加剤として用いられている。反応は調整可能なpH範囲内で可逆的であり、カルボン酸に対して選択的であって、封入された化学療法剤を変化させるべきできない。亜鉛をミセル架橋のための例示的な金属として選択したが、多くの他の金属はカルボン酸との酸感受性カップリングをうけることは注意すべきである。これらの金属は、少数の名称を挙げれば、カルシウム、鉄およびアルミニウムを含む。これらの金属の1以上を亜鉛の代わりに置き換えることができる。

20

【0200】

金属-媒介架橋の究極的な目標は、血液(pH 7.4)に希釈された場合のミセルの安定性、および引き続いて、癌細胞で見出されるもののような有限のpH変化に应答して迅速に解離され、薬物放出することを確保することである。以前の報告は、用いるカルボン酸および形成される結合の数に依存した、(ほぼ2.0ないし7.0からの)亜鉛-酸結合についての広く可変の調整可能な解離pHを示唆する。Cannan, R. K.; Kibrick, A. J. Am. Chem. Soc. 1938, 60, 2314-2320参照。理論に拘束されるつもりはないが、塩化亜鉛の濃度およびアスパラギン酸の数、または他のカルボン酸-含有アミノ酸、架橋ブロックにおける反復単位は、結局は、完全なミセルの解離が起こるpHを制御するであろうと考えられる。ブロックコポリマー設計の合成多様性は有利である。というのは、1以上の変数を調整して、所望のpH可逆性を達成するからである。塩化亜鉛/ポリマー化学量論の単純な調整によって、pH可逆的架橋は注目するpH範囲にわたって微妙に調整される。例えば、より高い亜鉛濃度は解離するのにより高い酸濃度を必要とする(すなわち、より低いpH)より多くの亜鉛架橋を生じる。亜鉛/

30

ポリマー化学量論における調整は所望のpH可逆性を生じるが、ポリ(アスパラギン酸)ブロック長さ(すなわち、15ないし25反復単位)の増加のような他の変数は、もし必要であれば、可逆的架橋反応をさらに調整する。

【0201】

他の実施形態において、Lは架橋された親水性アミノ酸側鎖基の混合物を含む。アミノ酸側鎖基のそのような混合物は、カルボン酸官能性、ヒドロキシル官能性、チオール官能性および/またはアミン官能性を有するものを含む。Lが架橋された親水性アミノ酸側鎖官能性の混合物を含む場合、複数の架橋が起こり得ると認められる。例えば、Lがカルボン酸-含有側鎖(例えば、アスパラギン酸またはグルタミン酸)およびチオール-含有架橋側鎖(例えば、システイン)を含む場合、アミノ酸ブロックは亜鉛架橋およびシステイン架橋(ジチオール)を共に有することができる。この種類の混合された架橋ブロックは、治療薬物の病気細胞のサイトゾルへの送達で有利である。なぜならば、薬物放出を可能とするためには第二の刺激を存在させなければならないからである。例えば、カルボン酸-亜鉛架橋およびシステインジチオール架橋を共に保有するミセルは酸性環境(例えば、

40

50

腫瘍)に入り、および高濃度のグルタチオン(例えば、細胞質中)での環境に入るために必要であろう。Lがアミン-含有側鎖(例えば、リシンまたはアルギニン)およびチオール-含有側鎖(例えば、システイン)を含む場合、アミノ酸ブロックはイミン(例えば、シッフ塩基)架橋およびシステイン架橋(ジチオール)の双方を有することができる。亜鉛およびエステル架橋カルボン酸官能性およびイミン(例えば、シッフ塩基)架橋アミン官能性は酸性オルガネラ(すなわち、エンドソーム、リソソーム)中で可逆的であり、他方、ジスルフィドはグルタチオンまたは他の還元剤によってサイトゾルにおいて低下し、専ら細胞質において薬物放出がもたらされる。

【0202】

例示的な架橋反応および得られるL基を図2ないし10に示す。

10

【0203】

特定の実施形態において、式IIIのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基は-N<sub>3</sub>である。

【0204】

他の実施形態において、式IIIのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基は-CNである。

【0205】

なお他の実施形態において、式IIIのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基はモノ保護アミンまたはジ保護アミンである。

【0206】

特定の実施形態において、式IIIのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基は必要に応じて置換される脂肪族基である。その例はt-ブチル、5-ノルボルネン-2-イル、オクタン-5-イル、アセチレニル、トリメチルシリルアセチレニル、トリイソプロピルシリルアセチレニル、およびt-ブチルジメチルシリルアセチレニルを含む。いくつかの実施形態において、該R<sup>3</sup>基は、必要に応じて置換されるアルキル基である。他の実施形態において、該R<sup>3</sup>基は、必要に応じて置換されるアルキニルまたはアルケニル基である。該R<sup>3</sup>基が置換された脂肪族基である場合、R<sup>3</sup>上の適切な置換基はCN、N<sub>3</sub>、トリメチルシリル、トリイソプロピルシリル、t-ブチルジメチルシリル、N-メチルプロピオニルアミド、N-メチル-4-アセチレニルアニリノ、N-メチル-4-アセチレニルベンゾアミド、ビス-4-エチニル-ベンジル)-アミノ、ジプロパルギルアミノ、ジ-ヘキサ-5-イミル-アミノ、ジ-ペンタ-4-イミル-アミノ、ジ-ブタ-3-イミル-アミノ、プロパルギルオキシ、ヘキサ-5-イニルオキシ、ペンタ-4-イニルオキシ、ジ-ブタ-3-イニルオキシ、N-メチル-プロパルギルアミノ、N-メチル-ヘキサ-5-イニル-アミノ、N-メチル-ペンタ-4-イニル-アミノ、N-メチル-ブタ-3-イニル-アミノ、2-ヘキサ-5-イニルジスルファニル、2-ペンタ-4-イニルジスルファニル、2-ブタ-3-イニルジスルファニル、および2-プロパルギルジスルファニルを含む。特定の実施形態においてR<sup>1</sup>基は2-(N-メチル-N-(エチニルカルボニル)アミノ)エトキシ、4-エチニルベンジルオキシ、または2-(4-エチニルフェノキシ)エトキシである。

20

30

【0207】

特定の実施形態において、式IIIのR<sup>1</sup>基のR<sup>3</sup>基は必要に応じて置換されるアリアル基である。その例は必要に応じて置換されるフェニルおよび必要に応じて置換されるピリジルを含む。該R<sup>3</sup>基が置換されたアリアル基である場合、R<sup>3</sup>上の適切な置換基はCN、N<sub>3</sub>、NO<sub>2</sub>、-CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>、-CH=CH<sub>2</sub>、-C≡CH、Br、I、F、ビス-(4-エチニル-ベンジル)-アミノ、ジプロパルギルアミノ、ジ-ヘキサ-5-イニル-アミノ、ジ-ペンタ-4-イニル-アミノ、ジ-ブタ-3-イニル-アミノ、プロパルギルオキシ、ヘキサ-5-イニルオキシ、ペンタ-4-イニルオキシ、ジ-ブタ-3-イニルオキシ、2-ヘキサ-5-イニルオキシ-エチルジスルファニル、2-ペンタ-4-イニルオキシ、エチルジスルファニル、2-ブタ-3-イニルオキシ-エチルジスルファニル、2-プロパルギルオキシ-エチルジスルファニル、ビス-ベンジルオキシ-メチル、[1,3]ジオキサラン-2-イル、および[1,3]ジオキサソラン-2-イルを含む。

40

50

## 【 0 2 0 8 】

他の実施形態において、 $R^3$  基は適切に保護されたアミノ酸で置換されたアリール基である。別の態様によると、 $R^3$  基は適切に保護されたアミノ基で置換されたフェニルである。

## 【 0 2 0 9 】

他の実施形態において、式 I I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基は保護されたヒドロキシル基である。特定の実施形態において、 $R^3$  基の保護されたヒドロキシルはエステル、カルボネート、スルホネート、アリルエーテル、エーテル、シリルエーテル、アルキルエーテル、アリールアルキルエーテル、またはアルコキシアルキルエーテルである。特定の実施形態において、エステルはホルメート、アセテート、プロピオネート、ペンタノエート、クロトネート、またはベンゾエートである。例示的なエステルはホルメート、ベンゾイルホルメート、クロロアセテート、トリフルオロアセテート、メトキシアセテート、トリフェニルメトキシアセテート、*p*-クロロフェノキシアセテート、3-フェニルプロピオネート、4-オキソペンタノエート、4,4-(エチレンジチオ)ペンタノエート、ピバロエート(トリメチルアセテート)、クロトネート、4-メトキシ-クロトネート、ベンゾエート、*p*-ベンジルベンゾエート、2,4,6-トリメチルベンゾエートを含む。例示的なカルボネートは9-フルオレニルメチル、エチル、2,2,2-トリクロロエチル、2-(トリメチルシリル)エチル、2-(フェニルスルホニル)エチル、ビニル、アリル、および *p*-ニトロベンジルカルボネートを含む。適切なシリルエーテルの例はトリメチルシリル、トリエチルシリル、*t*-ブチルジメチルシリル、*t*-ブチルジフェニルシニル、トリスプロピルシリルエーテルおよび他のトリアルキルシリルエーテルを含む。例示的なアルキルエーテルはメチル、ベンジル、*p*-メトキシベンジル、3,4-ジメトキシベンジル、トリチル、*t*-ブチル、およびアリルエーテル、またはその誘導体を含む。例示的なアルコキシアルキルエーテルはメトキシメチル、メチルチオメチル、(2-メトキシエトキシ)メチル、ベンジルオキシメチル、ベータ-(トリメチルシリル)エトキシメチル、およびテトラヒドロピラン-2-イルエーテルのようなアセタールを含む。例示的なアリールアルキルエーテルはベンジル、*p*-メトキシベンジル(MPM)、3,4-ジメトキシベンジル、*O*-ニトロベンジル、*p*-ニトロベンジル、*p*-ハロベンジル、2,6-ジクロロベンジル、*p*-シアノベンジル、2-および4-ピコリルエーテルを含む。

## 【 0 2 1 0 】

特定の実施形態において、式 I I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基はモノ-保護またはジ-保護アミノ酸である。特定の実施形態において、 $R^3$  はモノ-保護アミンである。特定の実施形態において、 $R^3$  はアラキルアミン、カルバメート、アリルアミンまたはアミドから選択されるモノ-保護アミンである。例示的なモノ-保護アミノ基は *t*-ブチルオキシカルボニルアミノ、エチルオキシカルボニルアミノ、メチルオキシカルボニルアミノ、トリクロロエチルオキシ-カルボニルアミノ、アリルオキシカルボニルアミノ、ベンジルオキシカルボニルアミノ、アリルアミノ、ベンジルアミノ、フルオレニルメチルカルボニル、ホルマミド、アセトアミド、クロロアセトアミド、ジクロロアセトアミド、トリクロロアセトアミド、フェニルアセトアミド、トリフルオロアセトアミド、ベンゾアミド、および *t*-ブチルジフェニルシリルアミノを含む。他の実施形態において、 $R^3$  はジ-保護アミン、例示的なジ-保護アミンはジ-ベンジルアミン、ジ-アリルアミン、フタルイミド、マレイミド、スクシンイミド、ピロール、2,2,5,5-テトラメチル-[1,2,5]アザジシロリジンおよびアジドを含む。特定の実施形態において、 $R^3$  基はフタルイミドである。他の実施形態において、 $R^3$  基はモノ-またはジ-ベンジルアミノまたはモノ-またはジ-アリルアミノである。ある具他例において、 $R^1$  基は2-ジベンジルアミノエトキシである。

## 【 0 2 1 1 】

他の実施形態において、式 I の  $R^1$  基の  $R^3$  基は保護されたアルデヒド基である。特定の実施形態において、 $R^3$  の保護されたアルデヒド基は非環状アセタール環状アセタール、ヒドラゾンまたはイミンである。例示的な  $R^3$  基はジメチルアセタール、ジエチルアセ

10

20

30

40

50

タール、ジイソプロピルアセタール、ジベンジルアセタール、ビス(2-ニトロベンジル)アセタール、1,3-ジオキサン、1,3-ジオキソラン、およびセミカルバゾンを含む。特定の実施形態において、 $R^3$  は非環状アセタールまたは環状アセタールである。他の実施形態において、 $R^3$  はジベンジルアセタールである。

【0212】

なお、他の実施形態において、式IIIの $R^1$ 基の $R^3$ 基は保護されたカルボン酸基である。特定の実施形態において、 $R^3$ の保護されたカルボン酸基は $C_{1-6}$ 脂肪族またはアリール、またはシリルエステル、活性化されたエステル、アミド、またはヒドラジドから選択される必要に応じて置換されるエステルある。そのようなエステル基の例はメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、ベンジルおよびフェニルエステルを含む。他の実施形態において、 $R^3$ の保護されたカルボン酸基はオキサゾリンまたはオルトエステルである。そのような保護されたカルボン酸基の例はオキサゾリン-2-イルおよび2-メトキシ-[1,3]ジオキシン-2-イルを含む。特定の実施形態において、 $R^1$ 基はオキサゾリン-2-イルメトキシまたは2-オキサゾリン-2-イル-1-プロポキシである。

10

【0213】

別の実施形態によると、式IIIの $R^1$ 基の $R^3$ 基は保護されたチオール基である。特定の実施形態において、 $R^3$ の保護されたチオールはジスルフィド、チオエーテル、シリルチオエーテル、チオエステル、チオカルボネート、またはチオカルバメートである。そのような保護されたチオールの例はトリイソプロピルシリルチオエーテル、t-ブチルジメチルシリルチオエーテル、t-ブチルチオエーテル、ベンジルチオエーテル、p-メチルベンジルチオエーテル、トリフェニルメチルチオエーテル、およびp-メトキシフェニルジフェニルメチルチオエーテルを含む。他の実施形態において、 $R^3$ はアルキル、ベンジル、またはトリフェニルメチル、またはトリクロロエトキシカルボニルチオエステルから選択された必要に応じて置換されるチオエーテルである。特定の実施形態において、 $R^3$ は-S-S-ピリジン-2-イル、-S-S-Bn、-S-S-CH<sub>3</sub>、または-S-S(p-エチルベンジル)である。他の実施形態において、 $R^3$ は-S-S-ピリジン-2-イルである。なお他の実施形態において、 $R^1$ 基は2-トリフェニルメチルスルファニル-エトキシである。

20

【0214】

特定の実施形態において、式IIIの $R^1$ 基の $R^3$ 基はクラウンエーテルである。そのようなクラウンエーテルの例は12-クラウン-4、15-クラウン-5、および18-クラウン-6を含む。

30

【0215】

なお他の実施形態において、式IIIの $R^1$ 基の $R^3$ 基は検出可能な基である。本発明の1つの態様によると、式IIIの $R^1$ 基の $R^3$ 基は蛍光基である。そのような蛍光基は当該分野でよく知られており、少数の名称を挙げれば、クマリン、キノロン、ベンゾイソキノロン、ホスタゾル、およびローダミン色素を含む。 $R^1$ の $R^3$ 基の例示的な蛍光基はアントラセン-9-イル、ピレン-4-イル、9-H-カルバゾール-9-イル、ローダミンBのカルボキレートおよびクマリン343のカルボキシレートを含む。

40

【0216】

特定の実施形態において、式IIIの $R^1$ 基の $R^3$ 基はクリック化学に適した基である。クリック反応はよく規定された反応座標を持つ高エネルギー(「バネ-荷重」)試薬を含み、広い範囲の選択的結合-形成事象を生起する傾向がある。その例は歪んだ-環親電子体(エポキシド、アジリジン、アジリジニウムイオン、エピスルホニウムイオン)の求核捕獲、カルボニル反応性のある形態(例えば、アルデヒドおよびヒドラジンまたはヒドロキシルアミン)、およびいくつかのタイプのシクロ付加反応を含む。アジド-アルキン1,3-ジ極性シクロ付加は1つのそのような反応である。クリック化学は当該分野で知られており、当業者であれば、本発明のある $R^3$ 基がクリック化学で適していることを認識するであろう。

50

## 【0217】

特定の実施形態において、式 I I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基はクリック化学に適した基である。クリック反応はよく規定された反応座標を持つ高エネルギー（「バネ - 荷重」）試薬を含み、広い範囲の選択的結合 - 形成事象を生起する傾向がある。その例は歪んだ - 環親電子体（エポキシド、アジリジン、アジリジニウムイオン、エピスルホニウムイオン）の求核捕獲、カルボニル反応性のある形態（例えば、アルデヒドおよびヒドラジンまたはヒドロキシルアミン）、およびいくつかのタイプのシクロ付加反応を含む。アジド - アルキン 1, 3 - ジ極性シクロ付加は 1 つのそのような反応である。クリック化学は当該分野で知られており、当業者であれば、本発明のある  $R^3$  基がクリック化学で適していることを認識するであろう。

10

## 【0218】

クリック化学に適した  $R^3$  基を有する式 I I I の化合物は、少数の名称を挙げれば、タンパク質、ウイルスおよび細胞のような生物学的系またはマクロ分子に該化合物をコンジュゲートするのに有用である。クリック反応は生理学的条件下で迅速かつ選択的に進行することが知られている。対照的に、ほとんどのコンジュゲーション反応は、タンパク質上の第一級アミン官能性（例えば、リシンまたはタンパク質末端 - 基）を用いて行われる。ほとんどのタンパク質は膨大なリシンおよびアルギニンを含有するゆえに、そのようなコンジュゲーションはタンパク質上の複数の部位において制御不可能に起こる。これは、リシンまたはアルギニンが酵素または他の生体分子の活性部位の周りに位置する場合に特に問題である。かくして、本発明の別の実施形態は、クリック化学を介して、マクロ分子へ式 I I I の化合物の  $R^1$  基をコンジュゲートする方法を提供する。本発明のなお別の実施形態は、 $R^1$  基を介して、式 I I I の化合物にコンジュゲートされたマクロ分子を提供する。

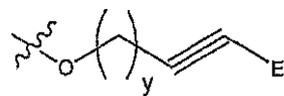
20

## 【0219】

1 つの実施形態によると、式 I I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基はアジド - 含有基である。別の実施形態によると、式 I I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基はアルキン - 含有基である。特定の実施形態において、式 I I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基は、末端アルキン基を有する。他の実施形態において、式 I I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基は電子吸引基を有するアルキン基である。従って、そのような実施形態において、式 I I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基は

## 【0220】

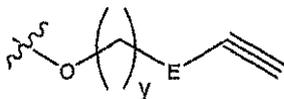
## 【化73】



であり、ここで、E は電子吸引基であって、y は 0 ないし 6 である。そのような電子吸引基は当業者に知られている。特定の実施形態において、E はエステルである。他の実施形態において、式 I I I の  $R^1$  基の  $R^3$  基は

## 【0221】

## 【化74】



であり、ここで、E は  $-C(O)O-$  基のような電子吸引基であって、y は 0 ないし 6 である。

## 【0222】

一般には前記で定義したように、Q は原子価結合または二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝鎖  $C_{1-6}$  アルキン鎖であり、ここで、Q の 0 ないし 6 のメチレン単位は、独立して、 $-C_y-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、-

50

C(O)-、-SO-、-SO<sub>2</sub>-、-NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>-、-SO<sub>2</sub>NH-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-OC(O)NH-、または-NHC(O)O-によって置き換えられ、-Cy-は窒素、酸素、硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された0ないし5個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される8ないし10員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環である。特定の実施形態において、Qは原子価結合である。他の実施形態において、Qは二価の飽和C<sub>1-12</sub>アルキレン鎖であり、ここで、Qの0ないし6のメチレン単位は、独立して、-Cy-、-O-、-NH-、-S-、-OC(O)-、-C(O)O-、または-C(O)-によって置き換えられ、ここで、-Cy-は窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される8ないし10員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環である。

10

## 【0223】

特定の実施形態において、Qは-Cy-（すなわち、メチレン単位が-Cy-によって置き換えられたC<sub>1</sub>アルキレン鎖）であり、ここで、-Cy-は窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択された0ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール環である。本発明の1つの態様によると、-Cy-は必要に応じて置換される二価のアリール基である。本発明の別の態様によると、-Cy-は必要に応じて置換される二価のフェニル基である。他の実施形態によると-Cy-は必要に応じて置換される5ないし8員の二価の飽和炭素環である。なお他の実施形態において、-Cy-は窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される1ないし2個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の飽和複素環である。例示的な-Cy-基はフェニル、ピリジル、ピリミジニル、シクロヘキシル、シクロペンチルまたはシクロプロピルから選択される二価の環を含む。

20

## 【0224】

特定の実施形態において、R<sup>y</sup>は疎水性アミノ酸側鎖基である。そのような疎水性アミノ酸側鎖基は適切に保護されたチロシン側鎖、適切に保護されたセリン側鎖、適切に保護されたスレオニン側鎖、フェニルアラニン、アラニン、バリン、ロイシン、トリプトファン、プロリン、ベンジルおよびアルキルグルタメートまたはベンジルおよびアルキルアスパルテートまたはそれらの混合物を含む。そのようなイオン性アミノ酸側鎖基はリシン側鎖、アルギニン側鎖、または適切に保護されたリシンまたはアルギニン側鎖、アスパラギン酸側鎖、グルタミン酸側鎖、または適切に保護されたアスパラギン酸またはグルタミン酸側鎖を含む。当業者であれば、極性または親水性アミノ酸側鎖の保護はそのアミノ酸を非極性とすることができるのを認識するであろう。例えば、適切に保護されたチロシンヒドロキシル基は該ヒドロキシル基を保護することによってそのチロシンを非極性かつ疎水性とすることができる。R<sup>y</sup>のヒドロキシル、アミノ、およびチオール、官能基についての適切な保護基は本明細書中に記載した通りである。

30

40

## 【0225】

他の実施形態において、R<sup>y</sup>は、R<sup>y</sup>を含む全ポリ（アミノ酸）ブロックが疎水性となるように、疎水性および親水性アミノ酸側鎖基の混合物を含む。アミノ酸側鎖基のそのような混合物は、フェニルアラニン/チロシン、フェニルアラニン/セリン、ロイシン/チロシンなどを含む。別の実施形態によると、R<sup>y</sup>はフェニルアラニン、アラニンまたはロイシン、およびチロシン、セリンまたはスレオニンの1以上から選択された疎水性アミノ酸側鎖基である。

## 【0226】

一般には前記定義したように、式IIIのR<sup>2a</sup>基はモノ-保護アミン、ジ-保護アミン-NHR<sup>4</sup>、-N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>、-NHC(O)R<sup>4</sup>、-NR<sup>4</sup>C(O)R<sup>4</sup>、-NHC

50

(O)NHR<sup>4</sup>、-NHC(O)N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>、-NR<sup>4</sup>C(O)NHR<sup>4</sup>、-NR<sup>4</sup>C(O)N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>、-NHC(O)OR<sup>4</sup>、-NR<sup>4</sup>C(O)OR<sup>4</sup>、-NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>、または-NR<sup>4</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>である。ここで、各R<sup>4</sup>は、独立して、脂肪族、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし8員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する8ないし10員の飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基であるか、あるいは同一窒素原子上の2つのR<sup>4</sup>は該窒素原子と一緒にあって、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択される1ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される4ないし7員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環を形成する。

10

## 【0227】

特定の実施形態において、式IIIのR<sup>2a</sup>基は-NHR<sup>4</sup>または-N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>であり、ここで、各R<sup>4</sup>は必要に応じて置換される脂肪族基である。1つの例示的なR<sup>4</sup>基は5-ノルボルネン-2-イル-メチルである。本発明のなお別の態様によると、式IIIのR<sup>2a</sup>基は-NHR<sup>4</sup>であり、ここで、R<sup>4</sup>はN<sub>3</sub>で置換されたC<sub>1-6</sub>脂肪族基である。その例は-CH<sub>2</sub>N<sub>3</sub>を含む。いくつかの実施形態において、R<sup>4</sup>は必要に応じて置換されるC<sub>1-6</sub>アルキル基である。その例はメチル、エチル、プロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、2-(テトラヒドロピラン-2-イルオキシ)エチル、ピリジン、2-イルジスルファニルメチル、メチルジスルファニルメチル、(4-アセチレニルフェニル)メチル、3-(メトキシカルボニル)-プロパ-2-イニル、メトキシカルボニルメチル、2-(N-メチル-N-(4-アセチレニルフェニル)カルボニルアミノ)-エチル、2-フタルイミドエチル、4-プロモベンジル、4-クロロベンジル、4-フルオロベンジル、4-ヨードベンジル、4-プロパルギルオキシベンジル、2-ニトロベンジル、4-(ビス-4-アセチレニルベンジル)アミノメチル-ベンジル、4-プロパルギルオキシ-ベンジル、4-ジプロパルギルアミノ-ベンジル、4-(2-プロパルギルオキシ-エチルジスルファニル)ベンジル、2-プロパルギルオキシ-エチル、2-プロパルギルジスルファニル-エチル、4-プロパルギルオキシ-ブチル、2-(N-メチル-N-プロパルギルアミノ)エチル、および2-(2-ジプロパルギルアミノエトキシ)-エチルを含む。他の実施形態において、R<sup>4</sup>は必要に応じて置換されるC<sub>2-6</sub>アルケニル基である。その例はビニル、アリル、クロチル、2-プロペニル、およびブタ-3-エニルを含む。R<sup>4</sup>基が置換された脂肪族基である場合、R<sup>4</sup>上の適切な置換基はN<sub>3</sub>、CN、およびハロゲンを含む。特定の実施形態において、R<sup>4</sup>には-CH<sub>2</sub>CN、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN、-CH<sub>2</sub>CH(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、4-(ビスベンジルオキシメチル)フェニルメチルなどである。

20

30

## 【0228】

本発明の別の態様によると、式IIIのR<sup>2a</sup>基は-NHR<sup>4</sup>であり、ここで、R<sup>4</sup>が必要に応じて置換されるC<sub>2-6</sub>アルキニル基である。その例は-CCCH、-CH<sub>2</sub>CCCH、-CH<sub>2</sub>CCCH<sub>3</sub>、および-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CCCHを含む。

## 【0229】

特定の実施形態において、式IIIのR<sup>2a</sup>基は-NHR<sup>4</sup>であり、ここで、R<sup>4</sup>は必要に応じて置換される5ないし8員のアリール環である。特定の実施形態において、R<sup>4</sup>が必要に応じて置換されるフェニルまたは必要に応じて置換されるピリジルである。その例はフェニル、4-t-ブトキシカルボニルアミノフェニル、4-アジドメチルフェニル、4-プロパルギルオキシフェニル、2-ピリジル、3-ピリジルおよび4-ピリジルを含む。特定の実施形態において、R<sup>2a</sup>は4-t-ブトキシカルボニルアミノフェニルアミノ、4-アジドメチルフェナミノ、または4-プロパルギルオキシフェニルアミノである。

40

## 【0230】

特定の実施形態において、式IIIのR<sup>2a</sup>基は、-NHR<sup>4</sup>であり、ここで、R<sup>4</sup>は必要に応じて置換されるフェニル環である。R<sup>4</sup>フェニル環上の適切な置換基はハロゲン

50

$-(CH_2)_{0-4}R$  ;  $-(CH_2)_{0-4}OR$  ;  $-(CH_2)_{0-4}CH(OR)_2$  ;  $-(CH_2)_{0-4}SR$  ;  $R$  で置換され得る  $-(CH_2)_{0-4}Ph$  ;  $R$  で置換され得る  $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$  ;  $R$  で置換され得る  $-CH=CHPh$  ;  $-NO_2$  ;  $-CN$  ;  $-N_3$  ;  $-(CH_2)_{0-4}N(R)_2$  ;  $-(CH_2)_{0-4}N(R)C(O)R$  ;  $-N(R)C(S)R$  ;  $-(CH_2)_{0-4}N(R)C(O)NR_2$  ;  $-N(R)C(S)NR_2$  ;  $-(CH_2)_{0-4}N(R)C(O)R$  ;  $-N(R)N(R)C(O)R$  ;  $-N(R)N(R)C(O)NR_2$  ;  $-N(R)N(R)C(O)OR$  ;  $-(CH_2)_{0-4}C(O)R$  ;  $-C(S)R$  ;  $-(CH_2)_{0-4}C(O)OR$  ;  $-(CH_2)_{0-4}C(O)S$  ;  $-(CH_2)_{0-4}C(O)OSiR_3$  ;  $-(CH_2)_{0-4}OC(O)R$  ;  $-(CH_2)_{0-4}SC(O)R$  ;  $-(CH_2)_{0-4}C(O)NR_2$  ;  $-C(S)NR_2$  ;  $-(CH_2)_{0-4}OC(O)NR_2$  ;  $-C(O)N(OR)R$  ;  $-C(O)C(O)R$  ;  $-C(O)CH_2C(O)R$  ;  $-C(NOR)R$  ;  $-(CH_2)_{0-4}SSR$  ;  $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2R$  ;  $-(CH_2)_{0-4}S(O)_2OR$  ;  $-(CH_2)_{0-4}OS(O)_2R$  ;  $-S(O)_2NR_2$  ;  $-(CH_2)_{0-4}S(O)R$  ;  $-N(R)S(O)_2NR_2$  ;  $-N(R)S(O)_2R$  ;  $-N(OR)R$  ;  $-C(NH)NR_2$  ;  $-P(O)_2R$  ;  $-P(O)R_2$  ;  $-OP(O)R_2$  ;  $SiR_3$  であり；ここで、 $R$  の各独立した出現は本明細書中において前記で定義した通りである。他の実施形態において、式 I I I の  $R^{2a}$  基は  $-NHR^4$  であり、ここで、 $R^4$  は  $1$  以上の必要に応じて置換される  $C_{1-6}$  脂肪族基で置換されたフェニルである。なお、他の実施形態において、 $R^4$  はビニル、アリル、アセチレニル、 $-CH_2N_3$ 、 $-CH_2CH_2N_3$ 、 $-CH_2C \equiv CCH_3$ 、または  $-CH_2C \equiv CH$  で置換されたフェニルである。

10

20

【0231】

特定の実施形態において、式 I I I の  $R^{2a}$  基は  $-NHR^4$  であり、ここで、 $R^4$  は  $N_3$ 、 $N(R)_2$ 、 $CO_2R$ 、または  $C(O)R$  で置換されたフェニルであり、ここで、各  $R$  は独立して本明細書中において前記で定義した通りである。

【0232】

特定の実施形態において、式 I I I の  $R^{2a}$  基は  $-N(R^4)_2$  であり、ここで、各  $R^4$  が、独立して、脂肪族、フェニル、ナフチル、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 1 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 5 ないし 6 員アリアル環、または窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 1 ないし 5 個のヘテロ原子を有する 8 ないし 10 員の二環式環アリアル、または検出可能な基から選択された必要に応じて置換される基である。

30

【0233】

他の実施形態において、式 I I I の  $R^{2a}$  基は  $-N(R^4)_2$  であり、ここで、2 つの  $R^4$  基は該窒素原子と一緒にあって、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 1 ないし 4 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 4 ないし 7 員の飽和、部分的不飽和、またはアリアル環を形成する。別の実施形態によると、2 つの  $R^4$  基は一緒にあって、1 つの窒素を有する 5 ないし 6 員の飽和または部分的不飽和の環を形成し、ここで、該環は 1 または 2 のオキソ基で置換されている。そのような  $R^{2a}$  基は、限定されるものではないが、フタルイミド、マレイミドおよびスクシンイミドを含む。

40

【0234】

特定の実施形態において、式 I I I の  $R^{2a}$  基はモノ保護またはジ保護アミノ基である。特定の実施形態において、 $R^{2a}$  はモノ保護アミンである。特定の実施形態において、 $R^{2a}$  はアラルキルアミン、カルバメート、アリルアミン、またはアミドから選択されるモノ保護アミンである。例示的なモノ-保護アミノ基は  $t$ -ブチルオキシカルボニルアミノ、エチルオキシカルボニルアミノ、メチルオキシカルボニルアミノ、トリクロロエチルオキシ-カルボニルアミノ、アリルオキシカルボニルアミノ、ベンジルオキシカルボニルアミノ、アルキルアミノ、ベンジルアミノ、フルオレニルメチルカルボニル、ホルムアミ

50

ド、アセトアミド、クロロアセトアミド、ジクロロアセトアミド、トリクロロアセトアミド、フェニルアセトアミド、トリフルオロアセトアミド、ベンズアミド、および *t*-ブチルジフェニルシリルアミノを含む。他の実施形態において、 $R^{2a}$  はジ保護アミンである。例示的なジ保護アミノ基はジ-ベンジルアミノ、ジ-アリルアミノ、フタルイミド、マレイミド、スクシンイミド、ピロール、2,2,5,5-テトラメチル-[1,2,5]アザジシロリジノ、およびアジドを含む。特定の実施形態において、 $R^{2a}$  基はフタルイミドである。他の実施形態において、 $R^{2a}$  基はモノ-またはジ-ベンジルアミノまたはモノ-ジ-アリルアミノである。

## 【0235】

特定の実施形態において、式 I I I の  $R^{2a}$  基はクリック化学に適した基を含む。当業者であれば、本発明のある  $R^{2a}$  基がクリック化学に適していることを認識するであろう。

10

## 【0236】

クリック化学に適した基を含む  $R^{2a}$  基を有する式 I I I の化合物は、少数の名称を挙げれば、タンパク質、ウイルス、および細胞のような生物学的系に該化合物をコンジュゲートするのに有用である。生体分子、薬物、細胞、基材などへのコンジュゲーションの後に、式 I I I の  $R^1$  基に対応する他の末端-基官能性を用いて、限定されるものではないが、蛍光色素、表面への共有結合、およびヒドロゲルへの取込みを含めた、細胞特異的送達のための標的基を結合させることができる。従って、本発明の別の実施形態は、クリック化学を介して、マクロ分子へ式 I I I の化合物の  $R^{2a}$  基をコンジュゲートさせる方法を提供する。本発明のなお別の実施形態は、 $R^{2a}$  基を介して式 I I I の化合物にコンジュゲートしたマクロ分子を提供する。

20

## 【0237】

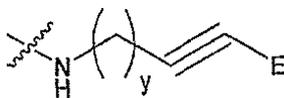
1つの実施形態によると、式 I I I の  $R^{2a}$  基はアジド-含有基である。別の実施形態によると、式 I I I の  $R^{2a}$  基はアルキン-含有基である。

## 【0238】

特定の実施形態において、式 I I I の  $R^{2a}$  基は末端アルキン基を有する。他の実施形態において、式 I I I の  $R^{2a}$  基は電子吸引基を有するアルキン-含有基である。従って、そのような実施形態において、式 I I I の  $R^{2a}$  基は

## 【0239】

## 【化75】

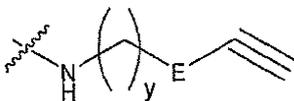


であり、ここで、E は電子吸引基であって、 $y$  は 0 ないし 6 である。そのような電子吸引基は当業者に知られている。特定の実施形態において、E はエステルである。他の実施形態において、式 I I I の  $R^{2a}$  基は

30

## 【0240】

## 【化76】



であり、ここで、E は  $-C(O)O-$  基のような電子吸引基であって、 $y$  は 0 ないし 6 である。

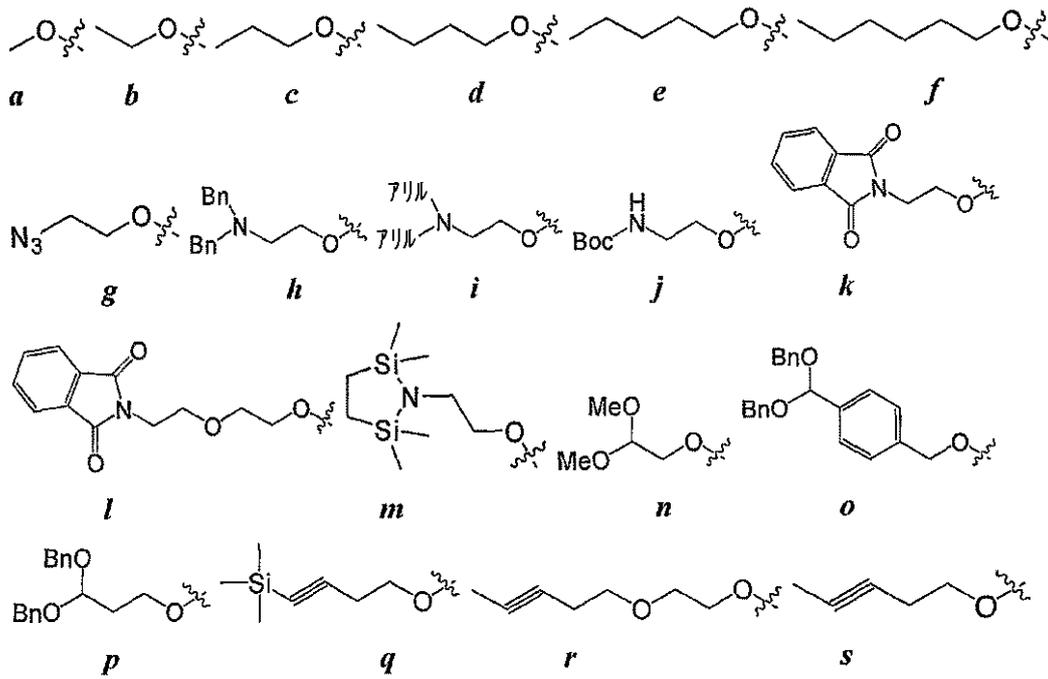
40

## 【0241】

式 I、II および III のいずれもの例示的  $R^1$  基を以下の表 5 に記載する。

## 【0242】

【化 7 7】

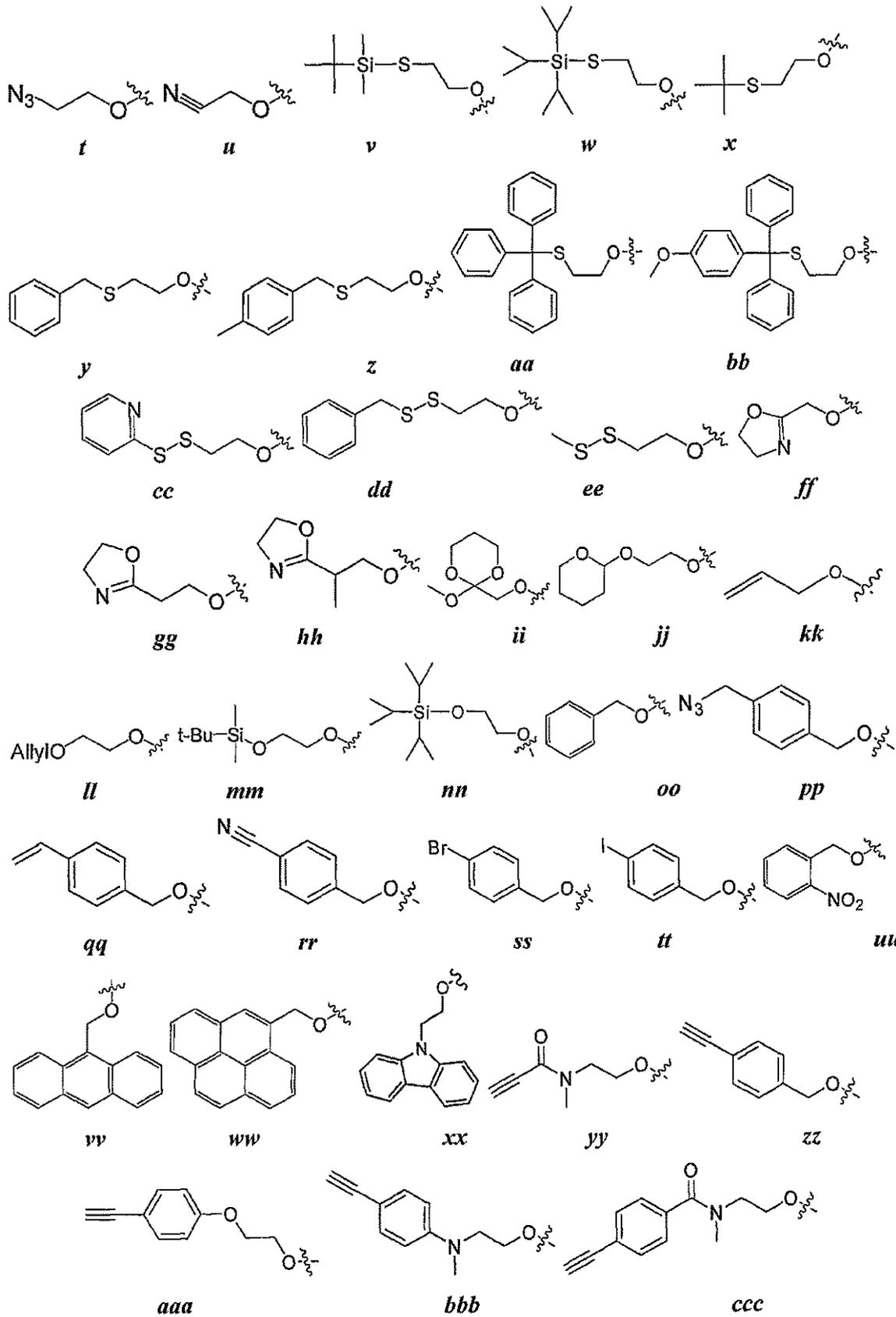
表 5 : 代表的なR<sup>1</sup>基

10

20

【 0 2 4 3 】

【化78】



10

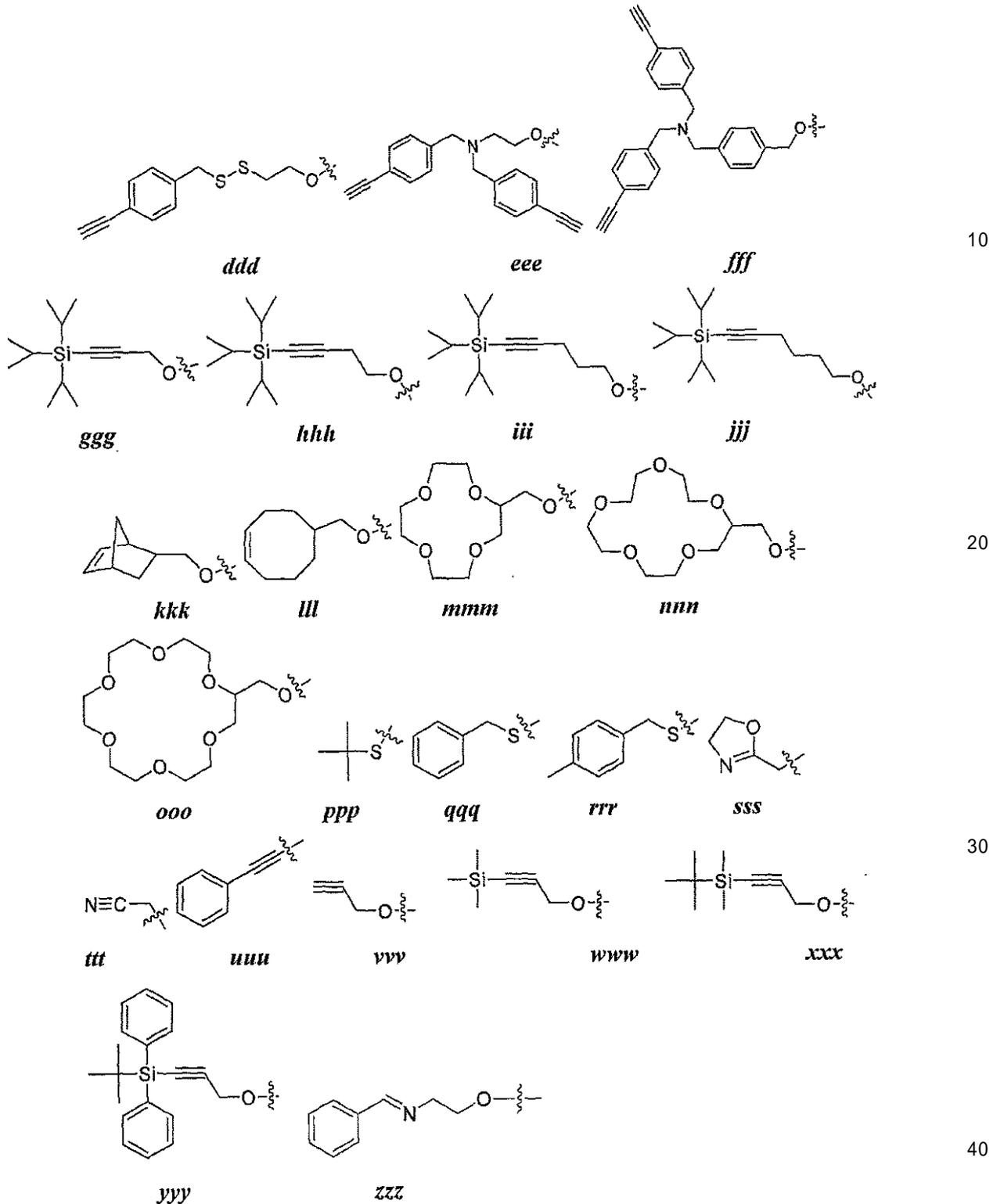
20

30

40

【0244】

【化79】



当業者であれば、表5に描かれたあるR<sup>1</sup>基は保護された基、例えば、保護されたアミン、保護されたヒドロキシル、保護されたチオール、保護されたカルボン酸、または保護されたアルキン基であることを認識するであろう。これらの保護された基の各々は容易に脱保護される（例えば、Green参照）。従って、表5に記載された保護された基に対応する脱保護された基もまた考えられる。別の実施形態によると、式I、II、IIIのいずれものR<sup>1</sup>基は表5の脱保護された基から選択される。

【0245】

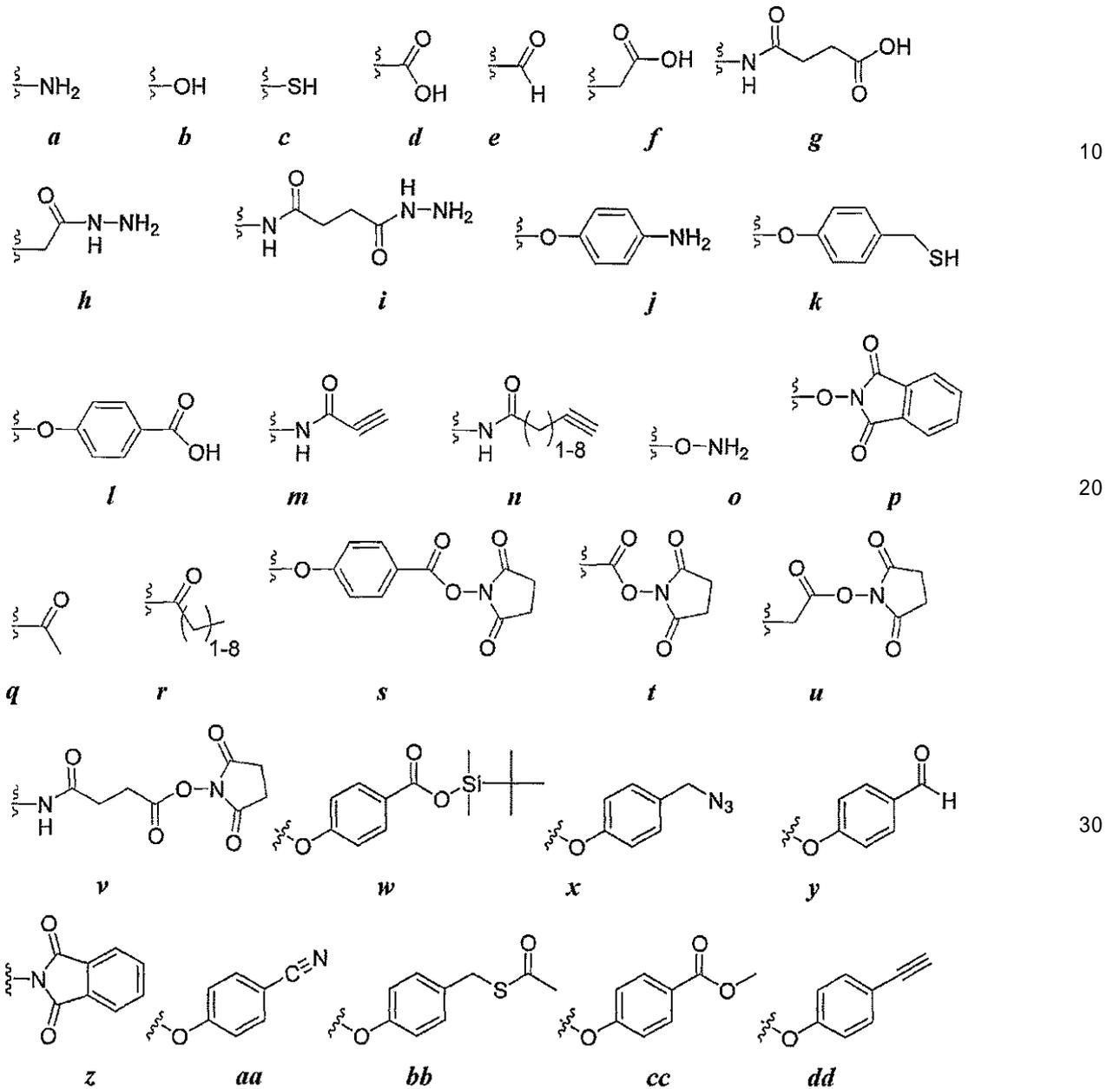
式I、IIおよびIIIのいずれものさらなる例示的R<sup>1</sup>基を以下の表5aに記載する

50

。【 0 2 4 6 】

【 化 8 0 】

表 5 a : 代表的なR<sup>1</sup>基



【 0 2 4 7 】

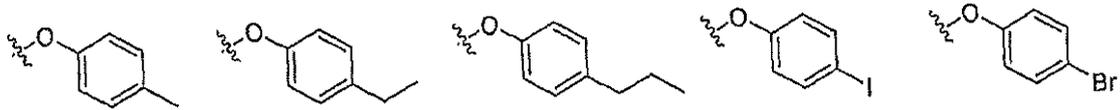
10

20

30

40

【化 8 1】



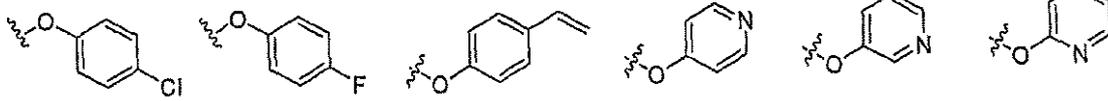
*ee*

*ff*

*gg*

*hh*

*ii*



*jj*

*kk*

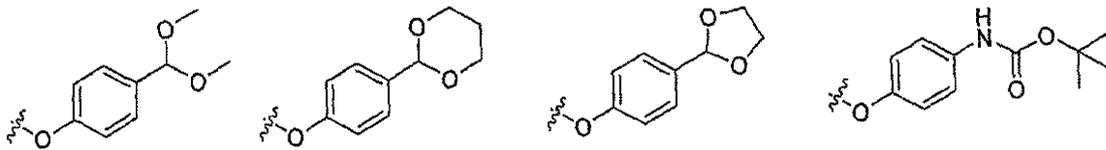
*ll*

*mm*

*nn*

*oo*

10



*pp*

*qq*

*rr*

*ss*



*tt*

*uu*

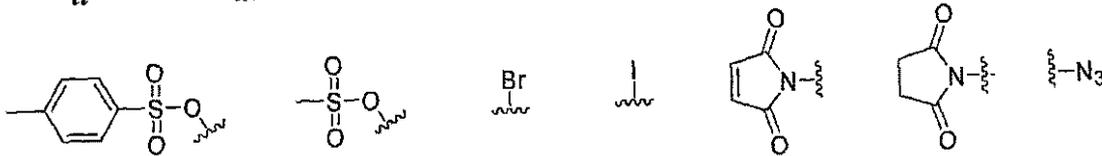
*vv*

*ww*

*xx*

*yy*

20



*zz*

*aaa*

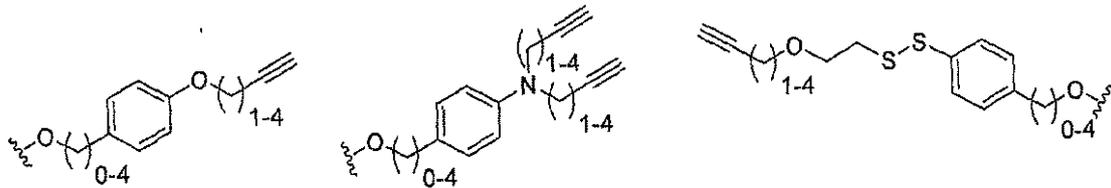
*bbb*

*ccc*

*ddd*

*eee*

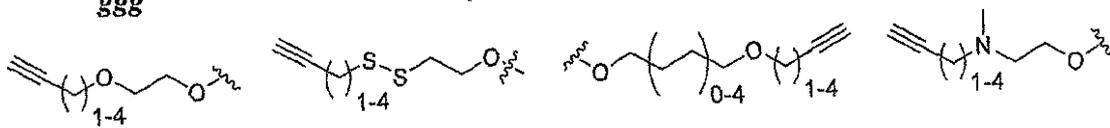
*fff*



*ggg*

*hhh*

*iii*

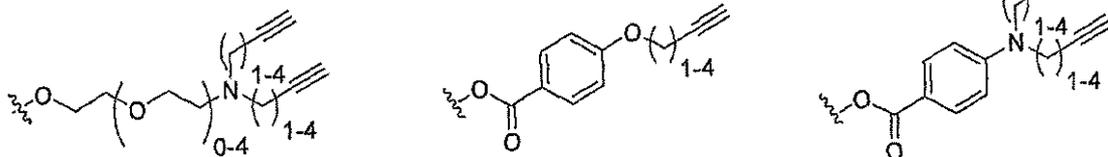


*jjj*

*kkk*

*lll*

*mmm*



*nnn*

*ooo*

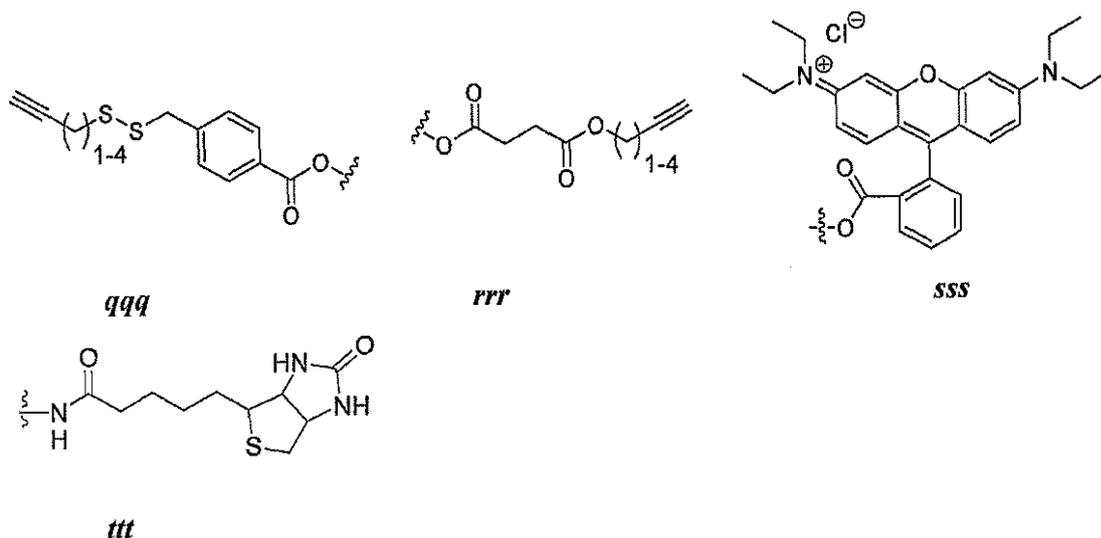
*ppp*

30

40

【 0 2 4 8 】

## 【化 8 2】



10

特定の実施形態において、式 I、II、および III のいずれもの R<sup>1</sup> 基は前記表 5 に描かれた R<sup>1</sup> 基のいずれかから選択される。他の実施形態において、式 I、II および III のいずれもの R<sup>1</sup> 基は基 k または l である。なお他の実施形態において、式 I、II および III のいずれもの R<sup>1</sup> 基は n、o、cc、dd、ee、ff、hh、h、ii、jj、ll、または uu である。なお他の実施形態において、式 I、II および III のいずれもの R<sup>1</sup> 基は h、aa、yy、zz、または aaa である。

20

## 【0249】

本発明の別の態様によると、式 I、II、および III のいずれもの R<sup>1</sup> 基は q、r、s、t、www、xxx、または yyy である。

## 【0250】

他の実施形態において、式 I、II、および III のいずれもの R<sup>1</sup> 基は前記表 1 ないし 4 に描かれた R<sup>1</sup> 基のいずれかから選択される。

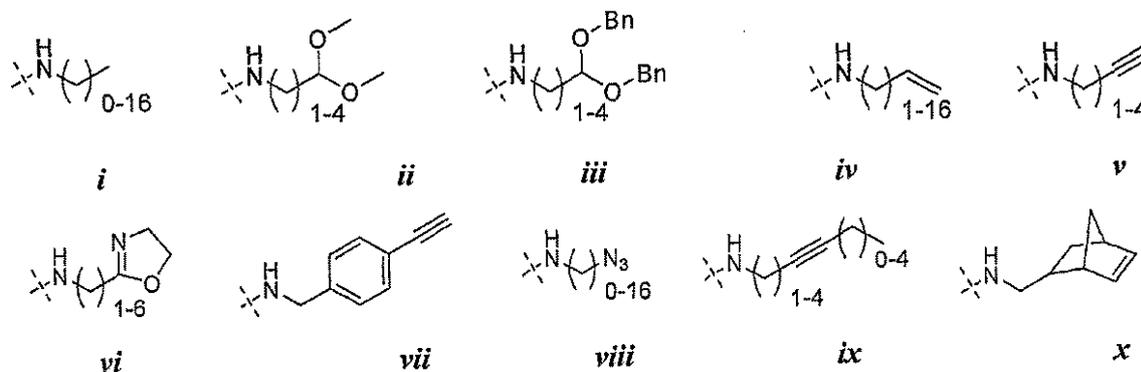
## 【0251】

式 I、II および III のいずれもの例示的 R<sup>2a</sup> 基を以下の表 6 に記載する。

30

## 【0252】

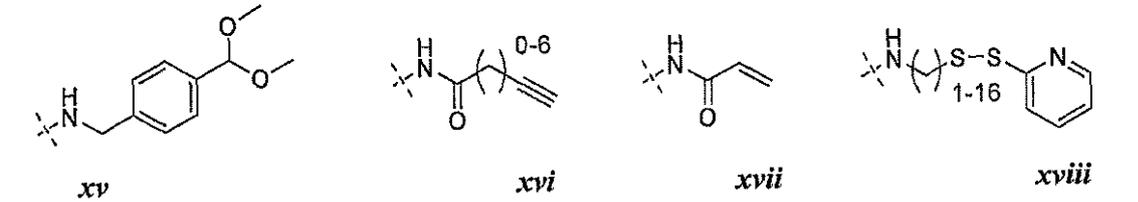
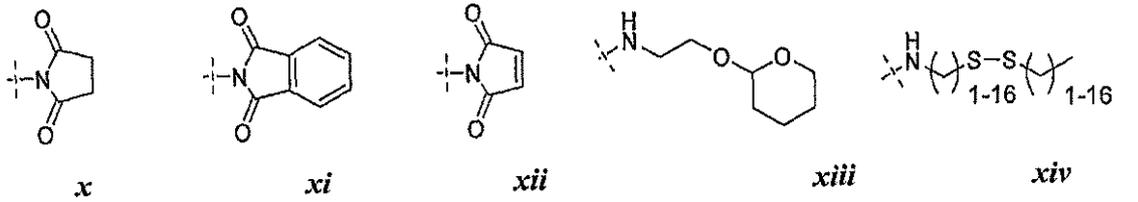
## 【化 8 3】

表 6：代表的な R<sup>2a</sup> 基

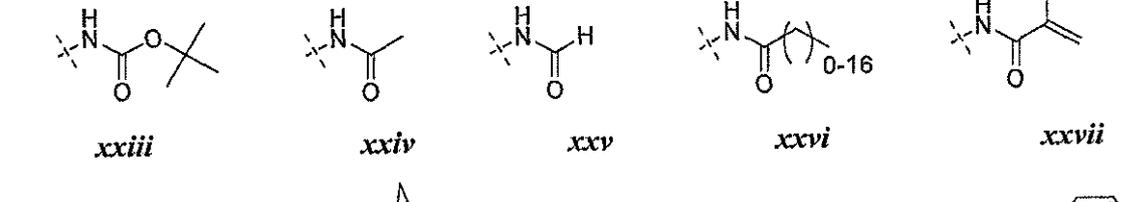
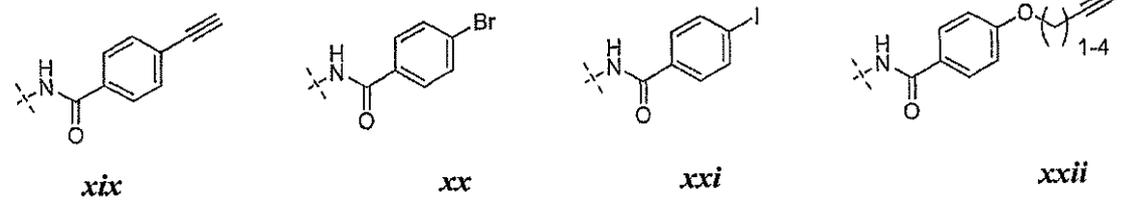
40

## 【0253】

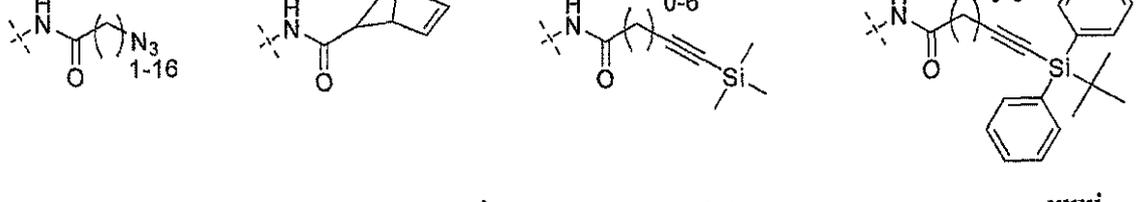
【化 8 4】



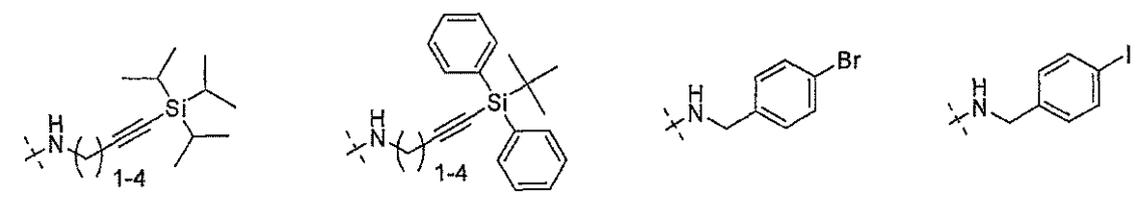
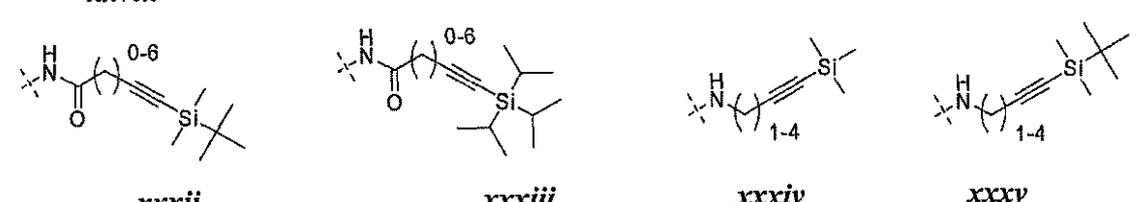
10



20



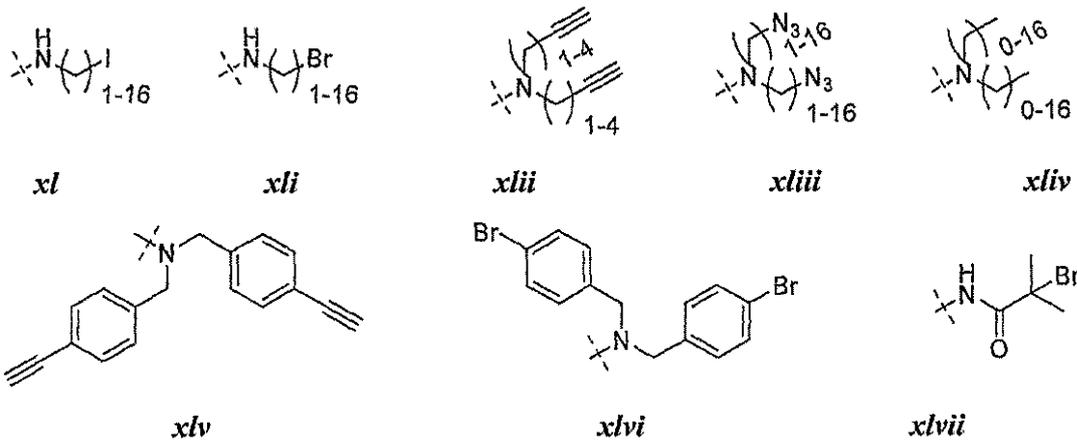
30



40

【 0 2 5 4 】

【化 8 5】



10

特定の実施形態において、式 I、II および III のいずれもの R<sup>2a</sup> 基は前記表 6 に描かれた R<sup>2a</sup> 基のいずれかから選択される。他の実施形態において、式 I、II および III のいずれもの R<sup>2a</sup> 基は基 v、viii、xvi、xix、xxii、xxx、xxxi、xxxii、xxxiii、xxxiv、xxxv、xxxvi、xxxvii、および xlii である。なお他の実施形態において、式 I、II および III のいずれもの R<sup>2a</sup> 基は xv、xviii、xx、xxi、xxxviii、および xxxix である。特定の実施形態において、式 I、II および III のいずれもの R<sup>2a</sup> 基は xxxiv v である。

20

【0255】

別の実施形態によると、式 I、II および III のいずれもの R<sup>2a</sup> 基は前記表 1 ないし 4 に描かれた R<sup>2a</sup> 基のいずれかから選択される。

【0256】

当業者であれば、表 6 に描かれたある R<sup>2a</sup> 基は保護された基、例えば、保護されたアミン、保護されたヒドロキシル、保護されたチオール、保護されたカルボン酸、または保護されたアルキル基であることを認識するであろう。これらの保護された基の各々は容易に脱保護される（例えば、Green 参照）。従って、表 6 に記載された保護された基に対応する脱保護された基も考えられる。他の実施形態によると、式 I、II および III のいずれもの R<sup>2a</sup> 基は表 6 の脱保護された基から選択される。

30

【0257】

C. 薬物充填

一般に前記したように、特定の実施形態において、本発明は、ポリマー親水性ブロック、架橋されたポリ（アミノ酸ブロック）およびポリ（アミノ酸ブロック）を含むマルチブロックコポリマーを含む薬物充填ミセルを提供し、該ミセルは薬物充填内側コア、架橋された外側コア、および親水性シェルを有する。本明細書中に記載するように、本発明のミセルはいずれかの疎水性またはイオン性治療剤を充填することができる。

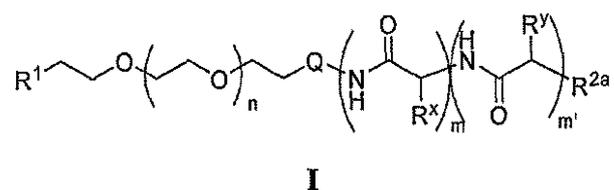
【0258】

別の実施形態によると、本発明は式 I :

40

【0259】

【化 8 6】



I

(式中、  
n は 10 ないし 2500 であり；

50

mは1ないし1000であり；  
 m'は1ないし1000であり；  
 R<sup>x</sup>は架橋することができる天然または非天然のアミノ酸側鎖基であり；  
 R<sup>y</sup>は疎水性またはイオン性の天然または非天然のアミノ酸側鎖基であり；  
 R<sup>1</sup>は-Z(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Y)<sub>p</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub>R<sup>3</sup>であり、ここで：  
 Zは-O-、-S-、-C-C-、または-CH<sub>2</sub>-であり；  
 各Yは独立して-O-または-S-であり；  
 pは0ないし10；  
 tは0ないし10であり；そして

R<sup>3</sup>は-N<sub>3</sub>、-CN、モノ保護アミン、ジ保護アミン、保護されたアルデヒド、保護されたヒドロキシル、保護されたカルボン酸、保護されたチオール、9ないし30員クラウンエーテル、あるいは脂肪族、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択された0ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし8員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された0ないし5個のヘテロ原子を有する8ないし10員の飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択された必要に応じて置換される基であり；

Qは原子価結合または二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝鎖C<sub>1-12</sub>アルキレン鎖であり、ここで、Qの0ないし6個のメチレン単位は独立して、-Cy-、-O-、-NH-、-S-、-OC(O)-、-C(O)O-、-C(O)-、-SO-、-SO<sub>2</sub>-、-NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>-、-SO<sub>2</sub>NH-、-NHC(O)-、-C(O)NH-、-OC(O)NH-、または-NHC(O)O-によって置き換えられ、ここで：

-Cy-は窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された0ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される5ないし8員の二価の、飽和、部分的不飽和またはアリール環、あるいは窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された0ないし5個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される8ないし10員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環であり；

R<sup>2a</sup>はモノ保護アミン、ジ保護アミン、-N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>、-NR<sup>4</sup>C(O)R<sup>4</sup>、-NR<sup>4</sup>C(O)N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>、-NR<sup>4</sup>C(O)OR<sup>4</sup>、または-NR<sup>4</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>であり；および

各R<sup>4</sup>は、独立して、水素、脂肪族、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし8員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される0ないし5個のヘテロ原子を有する8ないし10員の飽和、部分的不飽和、または二環式環、または検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基であるか；あるいは

同一の窒素原子上の2つのR<sup>4</sup>は該窒素原子と一緒に、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される1ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される4ないし7員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環を形成する)のマルチブロックコポリマーを含む薬物充填ミセルを提供する。

#### 【0260】

式IのR<sup>1</sup>、R<sup>2a</sup>、Q、R<sup>x</sup>、R<sup>y</sup>、n、m、m'基の各々に関する実施形態は、単独で、および組み合わせたの双方にて、ここで、種々のクラスおよびサブクラスに記載されている。

#### 【0261】

特定の実施形態において、R<sup>x</sup>は架橋可能なアミノ酸側鎖基であってR<sup>y</sup>は疎水性アミノ酸側鎖基である。そのような親水性または架橋可能なアミノ酸側鎖基はチロシン、セリン、システイン、スレオニン、(荷電された場合にはアスパルテートとしても知られた)アスパラギン酸、(荷電された場合にはグルタメートとしても知られた)グルタミン酸、アスパラギンおよびグルタミンを含む。そのような疎水性アミノ酸側鎖基は適切に保護されたチロシン側鎖、適切に保護されたセリン側鎖、適切に保護されたスレオニン側鎖、フェニルアラニン、アラニン、バリン、ロイシン、トリプトファン、プロリン、ベンジルお

よびアルキルグルタメート、またはベンジルおよびアルキルアスパルテート、またはそれらの混合物を含む。そのようなイオン性アミノ酸側鎖基はリシン側鎖、アルギニン側鎖、または適切に保護されたリシンまたはアルギニン側鎖、アスパラギン酸側鎖、グルタミン酸側鎖、または適切に保護されたアスパラギン酸、またはグルタミン酸側鎖を含む。当業者であれば、極性または親水性アミノ酸側鎖の保護がそのアミノ酸を非極性とすることができるのを認識するであろう。例えば、適切に保護されたチロシンヒドロキシル基は、該ヒドロキシル基を保護することによってそのチロシンを非極性かつ疎水性とすることができる。R<sup>x</sup> および R<sup>y</sup> のヒドロキシル、アミノ、およびチオール、およびカルボキシレート官能基についての適切な保護基は本明細書中に記載した通りである。

#### 【0262】

10

他の実施形態において、R<sup>y</sup> は、R<sup>y</sup> を含む全ポリ(アミノ酸)ブロックが疎水性となるように、疎水性および親水性アミノ酸側鎖基の混合物を含む。アミノ酸側鎖基のそのような混合物はフェニルアラニン/チロシン、フェニルアラニン/セリン、ロイシン/チロシンなどを含む。別の実施形態によると、R<sup>y</sup> はフェニルアラニン、アラニンまたはロイシン、およびチロシン、セリンまたはスレオニンの1以上から選択される疎水性アミノ酸側鎖基である。

#### 【0263】

前記で定義したように、R<sup>x</sup> は架橋を形成することができる天然または非天然のアミノ酸側鎖基である。限定されるものではないが、カルボキシレート、ヒドロキシル、チオールおよびアミノ基を含めた、種々のアミノ酸側鎖官能基がそのような架橋が可能であると認識されるであろう。架橋を形成することができる官能基を有するR<sup>x</sup> 基の例はグルタミン酸側鎖、-CH<sub>2</sub>C(O)CH<sub>2</sub>、アスパラギン酸側鎖、-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(O)OH、システイン側鎖、-CH<sub>2</sub>SH、セリン側鎖、-CH<sub>2</sub>OH、アルデヒド含有側鎖、-CH<sub>2</sub>C(O)H、リシン側鎖、-(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>NH<sub>2</sub>、アルギニン側鎖、-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NHC(=NH)NH<sub>2</sub>、ヒスチジン側鎖、-CH<sub>2</sub>-イミダゾール-4-イルを含む。

20

#### 【0264】

一般には前記で定義したように、式IのR<sup>2a</sup> 基はモノ保護アミン、ジ保護アミン、-NHR<sup>4</sup>、-N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>、-NHC(O)R<sup>4</sup>、-NR<sup>4</sup>C(O)R<sup>4</sup>、-NHC(O)NHR<sup>4</sup>、-NHC(O)N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>、-NR<sup>4</sup>C(O)NHR<sup>4</sup>、-NR<sup>4</sup>C(O)N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>、-NHC(O)OR<sup>4</sup>、-NR<sup>4</sup>C(O)OR<sup>4</sup>、-NH<sub>2</sub>SO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>、または-NR<sup>4</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>4</sup>であり、ここで、各R<sup>4</sup> は、独立して、脂肪族、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択された0ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし8員の飽和、部分的不飽和、またはアリアル環、窒素、酸素、硫黄から独立して選択された0ないし5個のヘテロ原子を有する8ないし10員の飽和、部分的不飽和、またはアリアル二環式環、あるいは検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基であるか、あるいは同一窒素原子上のふたつのR<sup>4</sup> は該窒素原子と一緒にあって、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される1ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される4ないし7員の飽和、部分的不飽和、またはアリアル環を形成する。

30

#### 【0265】

当業者であれば、R<sup>2a</sup> 基は封入された薬物と相互作用できることを認識するであろう。特定の実施形態において、R<sup>2a</sup> 基は、封入された薬物が疎水性である場合は疎水性である。そのような疎水性R<sup>2a</sup> 基は線状および分枝状アルカンを含む。他の実施形態において、封入された薬物はイオン性である場合、R<sup>2a</sup> 基はイオン性である。そのようなイオン性R<sup>2a</sup> 基は、封入された薬物がカチオン性治療剤(すなわち、DNAおよびRNA治療剤、オリゴペプチドおよびタンパク質治療剤)である場合にはアルキルアミンを含む。他のイオン性R<sup>2a</sup> 基は、封入された薬物がアニオン性治療剤(すなわち、オリゴペプチドおよびタンパク質治療剤)である場合は、アルキルカルボン酸、スルホン酸、およびホスホン酸を含む。

40

#### 【0266】

本発明のミセル内への構造的に多様な治療剤の蓄積は、ポリ(アミノ酸)ブロック、す

50

なわち、R<sup>Y</sup>を含むブロックを調整することによって行われる。例えば、R<sup>Y</sup>が疎水性の天然または非天然のアミノ酸側鎖である場合には、本発明のミセルは、疎水性治療剤を封入するのに有用である。

【0267】

特定の実施形態において、本発明のミセルには疎水性薬物が充填される。そのような実施形態において、R<sup>Y</sup>は天然または非天然疎水性アミノ酸側鎖基である。そのような疎水性アミノ酸側鎖基は適切に保護されたチロシン側鎖、適切に保護されたセリン側鎖、適切に保護されたスレオニン側鎖、フェニルアラニン、アラニン、バリン、ロイシン、トリプトファン、プロリン、ベンジルおよびアルキルグルタメートまたはベンジルおよびアルキルアスパルテートまたはそれらの混合物を含む。当業者であれば、極性または親水性アミノ酸側鎖の保護はそのアミノ酸を非極性とすることができるのを認識するであろう。例えば、適切に保護されたチロシンヒドロキシル基は、ヒドロキシル基を保護することによって、そのチロシンを非極性かつ疎水性とすることができる。R<sup>Y</sup>のヒドロキシル、アミノ、およびチオール、およびカルボキシレート官能基についての適切な保護基は本明細書中に記載した通りである。

10

【0268】

他の実施形態において、式IのR<sup>Y</sup>基は、R<sup>Y</sup>を含む全ポリ(アミノ酸)ブロックが疎水性となるように、疎水性および親水性アミノ酸側鎖基の混合物を含む。アミノ酸側鎖基のそのような混合物はフェニルアラニン/チロシン、フェニルアラニン/セリン、ロイシン/チロシンなどを含む。別の実施形態によると、R<sup>Y</sup>はフェニルアラニン、アラニンまたはロイシン、およびチロシン、セリンまたはスレオニンの1以上から選択される疎水性アミノ酸側鎖基である。

20

【0269】

本発明のミセルに充填するのに適した疎水性の小分子薬物は当該分野でよく知られている。特定の実施形態において、本発明は、本明細書中に記載された薬物充填ミセルを提供し、ここで、該薬物は後に本明細書中に開示するものから選択される疎水性薬物である。

【0270】

他の実施形態において、式IのR<sup>Y</sup>基がイオン性の天然または非天然のアミノ酸側鎖である場合、本発明のミセルはイオン性の、または荷電した治療剤を封入するのに有用である。例示的なイオンR<sup>Y</sup>基はポリリシン、ポリアルギニン、ポリアスパラギン酸、ポリヒスチジン、およびポリグルタミン酸を含む。

30

【0271】

例示的なイオン性または荷電した治療剤はDNAプラスミド、短い干渉性RNA(s iRNA)、マイクロRNA(miRNA)、短いヘアピンRNA(shRNA)、アンチセンスRNAおよび他のRNA-ベースの治療剤を含む。他のイオン性、または荷電した治療剤はオリゴペプチド、ペプチド、モノクローナル抗体、サイトカイン、および他のタンパク質治療剤を含む。

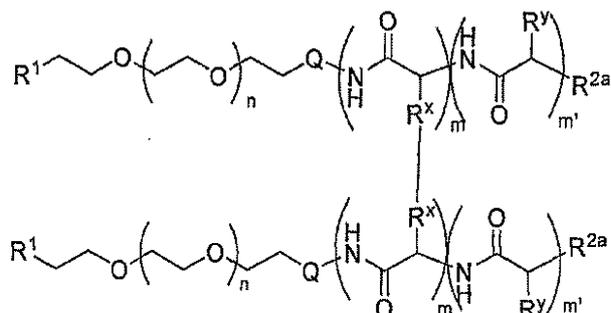
【0272】

他の実施形態において、本発明は式II:

【0273】

40

【化 8 7】



## II

(式中、

n は 10 ないし 2500 であり；

m は 1 ないし 1000 であり；

m' は 1 ないし 1000 であり；

R<sup>x</sup> は架橋された天然または非天然のアミノ酸側鎖基であり；R<sup>y</sup> は疎水性またはイオン性の天然または非天然のアミノ酸側鎖であり；R<sup>1</sup> は - Z (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Y)<sub>p</sub> (CH<sub>2</sub>)<sub>t</sub> R<sup>3</sup> であり、ここで；Z は - O -、- S -、- C - C -、または - CH<sub>2</sub> - であり；

各 Y は独立して - O - または - S - であり；

p は 0 ないし 10 であり；

t は 0 ないし 10 であり；

R<sup>3</sup> は - N<sub>3</sub>、- CN、モノ保護アミン、ジ保護アミン、保護されたアルデヒド、保護されたヒドロキシル、保護されたカルボン酸、保護されたチオール、9 ないし 30 員のクラウンエーテル、または脂肪族、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 5 ないし 8 員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する 8 ないし 10 員の飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択された必要に応じて置換される基であり；

Q は原子価結合または二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝鎖 C<sub>1-12</sub> アルキレン鎖であり、ここで、Q の 0 ないし 6 個のメチレン単位は独立して、- Cy -、- O -、- NH -、- S -、- OC(O) -、- C(O)O -、- C(O) -、- SO -、- SO<sub>2</sub> -、NH SO<sub>2</sub> -、- SO<sub>2</sub> NH -、- NHC(O) -、- C(O)NH -、- OC(O)NH -、または - NHC(O)O - によって置き換えられ、ここで；

- Cy - は窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 5 ないし 8 員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 8 ないし 10 員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環であり；

R<sup>2a</sup> はモノ保護アミン、ジ保護アミン、- N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>、- NR<sup>4</sup>C(O)R<sup>4</sup>、- NR<sup>4</sup>C(O)N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>、- NR<sup>4</sup>C(O)OR<sup>4</sup>、または - NR<sup>4</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>4</sup> であり；そして

各 R<sup>4</sup> は、独立して、水素、脂肪族、窒素、酸素もしくは硫黄から独立して選択された 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 5 ないし 8 員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する 8 ないし 10 員の飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基であるか；あるいは

同一窒素原子上の 2 つの R<sup>4</sup> は該窒素原子と一緒に、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 1 ないし 4 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 4 ない

10

20

30

40

50

し7員の飽和、部分的不飽和、またはアリアル環を形成する)のマルチブロックコポリマーを含む薬物充填ミセルを提供する。

【0274】

式IIの $R^1$ 、 $R^{2a}$ 、 $Q$ 、 $R^x$ 、 $R^y$ 、 $n$ 、 $m$ 、 $m'$ 基の各々に関する実施形態は、単独および組み合わせでの双方にて、ここで、種々のクラスおよびサブクラスに記載された通りである。

【0275】

特定の実施形態において、 $R^x$ は架橋されたアミノ酸側鎖基であって $R^y$ は疎水性アミノ酸側鎖基である。そのような親水性または架橋可能なアミノ酸側鎖基は、チロシン、セリン、システイン、スレオニン、(荷電した場合にはアスパルテートとしても知られた)アスパラギン酸、(荷電した場合にはグルタメートとしても知られた)グルタミン酸、アスパラギンおよびグルタミンを含む。そのような疎水性アミノ酸側鎖基は適切に保護されたチロシン側鎖、適切に保護されたセリン側鎖、適切に保護されたスレオニン側鎖、フェニルアラニン、アラニン、バリン、ロイシン、トリプトファン、プロリン、ベンジルおよびアルキルグルタメート、またはベンジルおよびアルキルアスパルテート、またはそれらの混合物を含む。そのようなイオン性アミノ酸側鎖基はリシン側鎖、アルギニン側鎖、または適切に保護されたリシンまたはアルギニン側鎖、アスパラギン酸側鎖、グルタミン酸側鎖、または適切に保護されたアスパラギン酸またはグルタミン酸側鎖を含む。当業者であれば、極性または親水性アミノ酸側鎖保護はそのアミノ酸を非極性とすることができるのを認識するであろう。例えば、適切に保護されたチロシンヒドロキシル基は、該ヒドロキシル基を保護することによって、そのチロシンを非極性かつ疎水性とすることができる。 $R^x$ および $R^y$ のヒドロキシル、アミノ、およびチオール、およびカルボキシレート官能基のための適切な保護基は本明細書中に記載した通りである。

【0276】

他の実施形態において、 $R^y$ は、 $R^y$ を含む全ポリ(アミノ酸)ブロックが疎水性となるように、疎水性および親水性アミノ酸側鎖基の混合物を含む。アミノ酸側鎖基のそのような混合物はフェニルアラニン/チロシン、フェニルアラニン/セリン、ロイシン/チロシンなどを含む。別の実施形態によると、 $R^y$ はフェニルアラニン、アラニン、またはロイシン、およびチロシン、セリンまたはスレオニンの1以上から選択される疎水性アミノ酸側鎖基である。

【0277】

前記で定義したように、 $R^x$ は架橋された天然または非天然のアミノ酸側鎖基である。限定されるものではないが、カルボキシレート、ヒドロキシル、チオールおよびアミノ基を含めた、種々のアミノ酸側鎖官能基がそのような架橋が可能であることは認識されるであろう。架橋を形成できる官能基を有する $R^x$ 基の例はグルタミン酸側鎖、 $-CH_2C(O)CH_2$ 、アスパラギン酸側鎖、 $-CH_2CH_2C(O)OH$ 、システイン側鎖、 $-CH_2SH$ セリン側鎖、 $-CH_2OH$ アルデヒド含有側鎖、 $-CH_2C(O)H$ 、リシン側鎖、 $-(CH_2)_4NH_2$ アルギニン側鎖、 $-(CH_2)_3NHC(=NH)NH_2$ 、ヒスチジン側鎖、 $-CH_2$ -イミダゾール-4-イルを含む。

【0278】

なお他の実施形態において、本発明は式III:

【0279】

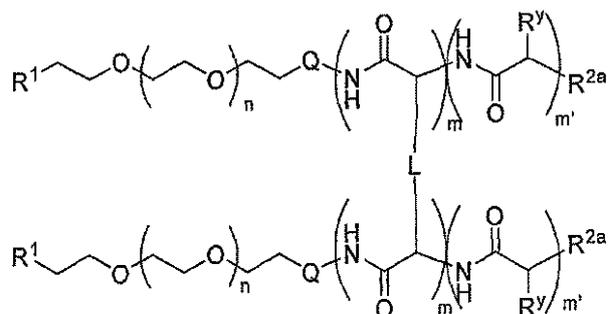
10

20

30

40

## 【化 8 8】



## III

(式中、

$n$  は 10 ないし 2500 であり；

$m$  は 1 ないし 1000 であり；

$m'$  は 1 ないし 1000 であり；

$L$  は二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝鎖  $C_{1-12}$  アルキレン鎖であり、ここで、 $L$  の 0 ないし 6 個のメチレン単位は、独立して  $-M-$ 、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $NHSO_2-$ 、 $-SO_2NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 、または  $-NHC(O)O-$  によって置き換えられ、ここで：

$-M-$  は適切な二価金属であり；

$-Cy-$  は窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 5 ないし 8 員の二価の飽和、部分的不飽和、またはアリール環、あるいは窒素、酸素、または硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 8 ないし 10 員の二価の、飽和、部分的不飽和またはアリール環であり；

$R^y$  は疎水性またはイオン性の天然または非天然のアミノ酸側鎖基であり；

$R^1$  は  $-Z(CH_2CH_2Y)_p(CH_2)_tR^3$  であり、ここで：

$Z$  は  $-O-$ 、 $-S-$ 、 $-C-C-$ 、または  $-CH_2-$  であり；

各  $Y$  は独立して  $-O-$  または  $-S-$  であり；

$p$  は 0 ないし 10；

$t$  は 0 ないし 10 であり；

$R^3$  は  $-N_3$ 、 $-CN$ 、モノ保護アミン、ジ保護アミン、保護されたアルデヒド、保護されたヒドロキシル、保護されたカルボン酸、保護されたチオール、9 ないし 30 員のクラウンエーテル、または脂肪族、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 5 ないし 8 員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する 8 ないし 10 員の飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基であり；

$Q$  は原子価結合または二価の飽和または不飽和の直鎖または分枝鎖  $C_{1-12}$  アルキレン鎖であり、ここで、 $Q$  の 0 ないし 6 個のメチレン単位は、独立して、 $-Cy-$ 、 $-O-$ 、 $-NH-$ 、 $-S-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)O-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-SO-$ 、 $-SO_2-$ 、 $-NHSO_2-$ 、 $-SO_2NH-$ 、 $-NHC(O)-$ 、 $-C(O)NH-$ 、 $-OC(O)NH-$ 、または  $-NHC(O)O-$  によって置き換えられ、ここで：

$-Cy-$  は窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 5 ないし 8 員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール環、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 8 ないし 10 員の二価の、飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環であり；

10

20

30

40

50

$R^{2a}$  はモノ保護アミン、ジ保護アミン、 $-N(R^4)_2$ 、 $-NR^4C(O)R^4$ 、 $-NR^4C(O)N(R^4)_2$ 、 $-NR^4C(O)OR^4$ 、または $-NR^4SO_2R^4$ であり；そして

各 $R^4$ は、独立して、水素、脂肪族、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された0ないし4個のヘテロ原子を有する5ないし8員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された0ないし5個のヘテロ原子を有する8ないし10員の飽和、部分的不飽和、またはアリール二環式環、あるいは検出可能な基から選択された必要に応じて置換される基であるか；あるいは

同一窒素原子上の2つの $R^4$ は該窒素原子と一緒に、窒素、酸素、または硫黄から独立して選択された1ないし4個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される4ないし7員の飽和、部分的不飽和、またはアリール環を形成する)のマルチブロックコポリマーを含む薬物充填ミセルを提供する。

#### 【0280】

式IIIの $R^1$ 、 $R^{2a}$ 、L、Q、 $R^y$ 、n、m、 $m'$ 基の各々に関する実施形態は、単独および組み合わせて双方にて、ここで、種々のクラスおよびサブクラスに記載したとおりである。

#### 【0281】

特定の実施形態において、 $R^y$ は疎水性アミノ酸側鎖基である。そのような疎水性アミノ酸側鎖基は適切に保護されたチロシン側鎖、適切に保護されたセリン側鎖、適切に保護されたスレオニン側鎖、フェニルアラニン、アラニン、バリン、ロイシン、トリプトファン、プロリン、ベンジルおよびアルキルグルタメート、またはベンジルおよびアルキルアスパルテート、またはそれらの混合物を含む。そのようなイオン性アミノ酸側鎖基はリシン側鎖、アルギニン側鎖、または適切に保護されたリシンまたはアルギニン側鎖、アスパラギン酸側鎖、グルタミン酸側鎖、または適切に保護されたアスパラギン酸またはグルタミン酸側鎖を含む。当業者であれば、極性または親水性アミノ酸側鎖の保護はそのアミノ酸を非極性とすることができるのを認識するであろう。例えば、適切に保護されたチロシンヒドロキシル基は、該ヒドロキシル基を保護することによって、そのチロシンを非極性かつ疎水性とすることができる。 $R^y$ のヒドロキシル、アミノ、およびチオール官能基のための適切な保護基は本明細書中に記載した通りである。

#### 【0282】

他の実施形態において、 $R^y$ は、 $R^y$ を含む全ポリ(アミノ酸)ブロックが疎水性となるように、疎水性および親水性アミノ酸側鎖基の混合物を含む。アミノ酸側鎖基のそのような混合物はフェニルアラニン/チロシン、フェニルアラニン/セリン、ロイシン/チロシンなどを含む。別の実施形態によると、 $R^y$ はフェニルアラニン、アラニンまたはロイシン、およびチロシン、セリンまたはスレオニンの1以上から選択される疎水性アミノ酸側鎖基である。

#### 【0283】

特定の実施形態において、本発明のミセルには疎水性薬物を充填する。そのような実施形態によると、式IIIの $R^y$ 基は天然または非天然疎水性アミノ酸側鎖基である。そのような疎水性アミノ酸側鎖基は適切に保護されたチロシン側鎖、適切に保護されたセリン側鎖、適切に保護されたスレオニン側鎖、フェニルアラニン、アラニン、バリン、ロイシン、トリプトファン、プロリン、ベンジルおよびアルキルグルタメート、またはベンジルおよびアルキルアスパルテート、またはそれらの混合物を含む。当業者であれば、極性または親水性アミノ酸側鎖の保護がそのアミノ酸を非極性とすることができるのを認識するであろう。例えば、適切に保護されたチロシンヒドロキシル基は、該ヒドロキシル基を保護することによって、そのチロシンを非極性かつ疎水性とすることができる。 $R^y$ のヒドロキシル、アミノ、およびチオール、およびカルボキシレート官能基のための適切な保護基は本明細書中に記載した通りである。

#### 【0284】

特定の実施形態において、式IIIの $R^y$ 基は、 $R^y$ を含む全ポリ(アミノ酸)ブロッ

10

20

30

40

50

クが疎水性となるように、疎水性および親水性アミノ酸側鎖基の混合物を含む。他の実施形態において、R<sup>Y</sup>はフェニルアラニンおよびチロシンの混合物を含む。例として、この特定の copolymer を用いて、DOX、CPTおよびパクリタキセルの1以上を疎水性フェニルアラニン/チロシン内側コアに封入する。水にわずかに溶解するにすぎないが、これらの薬物は極性官能性（例えば、アミン、アルコールおよびフェノール）を保有し、これはチロシン、極性アミノ酸の取込みを効果的な封入のために有利とする。この特定のコア組成物を利用することによって、比較的高いDOX、CPT、およびパクリタキセルの充填が達成される。特定の実施形態において、本発明は、DOX、CPT、およびパクリタキセルが疎水性フェニルアラニン - チロシン内側コアに封入され、ポリ（アスパラギン酸）外側コアが亜鉛で架橋された、式IIIの化合物を含むミセルを提供する。特定の実施形態において、mおよびm'は合計して約30ないし約60である。なお他の実施形態において、mは1ないし20の反復単位であって、m'は10ないし50反復単位である。特定の実施形態において、m'のフェニルアラニン - チロシン比率は4 : 1である。他の実施形態において、m'のフェニルアラニン - チロシン比率は9 : 1である。なお他の実施形態において、m'のフェニルアラニン - チロシン比率は3 : 1である。他の実施形態において、R<sup>Y</sup>は4ないし8のチロシン反復単位および20ないし32のフェニルアラニンを含む。なお他の実施形態において、R<sup>Y</sup>は2ないし40のチロシンおよび10ないし100のフェニルアラニン反復単位を含む。

10

## 【0285】

本発明のミセルに充填するのに適した疎水性小分子薬物は当該分野で良く知られている。特定の実施形態において、本発明は本明細書中に記載された薬物充填ミセルを提供し、ここで、該薬物は鎮痛剤、抗炎症剤、駆虫薬、抗不整脈剤、抗菌剤、抗ウイルス剤、抗凝固剤、抗鬱剤、抗糖尿病剤、抗癲癇剤、抗真菌剤、抗痛風剤、抗高血圧剤、抗マラリア剤、抗偏頭痛剤、抗ムスカリン剤、抗新形成剤、勃起不全改良剤、免疫抑制剤、抗原生動物剤、抗チロイド剤、抗不安剤、鎮痛薬、催眠薬、神経弛緩薬、 $\beta$ -ブロッカー、心臓変力剤、コルチコステロイド利尿剤、抗パーキンソン病剤、胃腸剤、ヒスタミン受容体アンタゴニスト、角質溶解剤、脂質調節剤、抗狭心症剤、Cox-2阻害剤、ロイコトリエン阻害剤、マクロライド、筋肉弛緩剤、栄養剤、オピオイド鎮痛剤、プロテアーゼ阻害剤、性ホルモン、刺激剤、筋肉弛緩剤、抗骨粗鬆症剤、抗肥満剤、認識増強剤、抗泌尿系失禁剤、抗良性前立腺肥大剤、必須脂肪酸、非-必須脂肪酸、およびそれらの混合物から選択される疎水性薬物である。

20

30

## 【0286】

他の実施形態において、疎水性薬物は1以上の鎮痛剤、抗菌剤、抗ウイルス剤、抗炎症剤、抗鬱剤、抗糖尿病剤、抗癲癇剤、抗高血圧剤、抗偏頭痛剤、免疫抑制剤、抗不安剤、鎮痛剤、催眠薬、神経弛緩薬、 $\beta$ -ブロッカー、胃腸剤、脂質調節剤、抗狭心症剤、Cox-2阻害剤、ロイコトリエン阻害剤、マクロライド、筋肉弛緩剤、オピオイド鎮痛剤、プロテアーゼ阻害剤、性ホルモン、認識増強剤、抗泌尿系失禁剤、およびそれらの混合物から選択される。

## 【0287】

1つの態様によると、本発明は、アセトレチン、アルベンダゾール、アルブテロール、アミノグルテチミド、アミオダロン、アムロジピン、アンフェタミン、アンフォテリシンB、アトルバスタチン、アトバクオン、アジトロマイシン、パクロフェン、ベクロメタゾン、ベネゼプリル、ベンゾナテート、ベタメタゾン、ピカルタミド、ブデソニド、ブプロピオン、ブスルファン、ブテナフィン、カルシフェディオール、カルシボトリエン、カルシトリオール、カンプトテシン、カンデサルタン、カブサイシン、カルバメザピン、カロテン、セレコキシブ、セリバスタチン、セチリジン、クロルフェニラミン、コレカルシフェロール、シロスタゾール、シメチジン、シンナリジン、シプロフロキサシン、シサプリド、クラリトロマイシン、クレマスチン、クロミフェン、クロミプラミン、クロピドグレル、コデイン、コエンチウムQ10、シクロベンザプリン、シクロスポリン、ダナゾール、ダントロレン、デクスクロルフェナニラミン、ジクロフェナック、ジクマロール、ジゴ

40

50

キシ、デヒドロエピアンドロステロン、ジヒドロエルゴタミン、ジヒドロタキステロール、ジリトロマイシン、ドネゼピル、エファビレンツ、エプロサルタン、エルゴカルシフェロール、エルゴタミン、必須脂肪酸源、エトドラッグ、エトポシド、ファモチジン、フェノフィブラート、フェンタニル、フェキソフェナジン、フィナステライド、フルコナゾール、フルルピプロフェン、フルバスタチン、フォスフェニトイン、フロバトリプタン、フラゾリドン、ガバペンチン、ゲムフィプロジル、グリベンクラミド、グリピジド、グリブリド、グリメピリド、グリセオフルビン、ハロファントリン、イブプロフェン、イルベサルタン、イリノテカン、イソソルバイドジニトレート、イソトレチノイン、イトラコナゾール、イベルメクチン、ケトコナゾール、ケトロラック、ラモトリジン、ランソウプラゾール、レフルノミド、リシノプリル、ロベラミド、ロラタジン、ロバスタチン、L-チリロキシ、ルテイン、リコペン、メドロキシprogesterone、ミフェプリストン、メフロキン、メゲストロール酢酸、メタドン、メトクスサレン、メトロニダゾール、ミコナゾール、ミダゾラム、ミグリトール、ミノキシジル、マイトキサントロン、モンテルカスト、ナブメトン、ナルブフィン、ナラトリプタン、ネルフィナビル、ニフェジピン、ニルソリジピン、ニルタニド、ニトロフラントイン、ニザチジン、オメプラゾール、オプレベルキン、エストラジオール、オキサプロジン、パクリタキセル、パラカルシトール、パロキセチン、ペンタゾシン、ピオグリタゾン、ピゾフェチン、プラバスタチン、プレドニゾン、プロブコール、progesterone、プソイドエフェドリン、ピリドスチグミン、ラベプラゾール、ラロキシフェン、ロフェコキシブ、レパグリミド、リファブチン、リファペンチン、リメキシロン、リタノビル、リザトリプタン、ロシグリタゾン、サキナビル、セルトラリン、シブトラミン、シルデナフィルクエン酸、シムバスタチン、シロリムス、スピロラクトン、スマトリプタン、タクリン、タクロリムス、タモキシフェン、タムスロシン、タルグレチン、タザロテン、テルミサルタン、テニポシド、テルピナフィン、テラゾシン、テトラヒドロカンナビノール、チアガビン、チクロピジン、チロフィبران、チザニジン、トピラメート、トポテカン、トレミトフェン、トラマドール、トレチノイン、トログリタゾン、トロバフロキサチン、ウビデカレノン、バルサルタン、ベンラファキシ、ベルテポルフィン、ビガバトリン、ビタミンA、ビタミンD、ビタミンE、ビタミンK、ザフィルルカスト、ジレウトン、ゾルミトリプタン、ゾルピデム、ゾピクロン、その薬学的に受容可能な塩、異性体、およびその誘導体、およびそれらの混合物のいずれかの1以上から選択された疎水性薬物を充填された本明細書中に記載されたミセルを提供する。

10

20

30

#### 【0288】

別の実施形態によると本発明は、疎水性抗増殖薬物または化学療法薬物を充填した本明細書中に記載されたミセルを提供する。当業者であれば、多くの抗癌剤は疎水性であることを認識するであろう。特定の実施形態において、疎水性抗増殖薬物または化学療法薬物は、とりわけ、タキサン（例えば、パクリタキセル）、ピンクリスチン、アドリアマイシン、ピンカルカロイド（例えば、ピンプラスチン）、アントラサイクリン（例えば、ドキシソルピシン）、エピポドフィロトキシ（例えば、エトポシド）、シスプラチン、メトトレキセート、アクチノマイシンD、アクチノマイシンD、ダラスタチン10、コルヒチン、エメチン、トリメトトレキセート、メトプリン、サイクロスポリン、ダウノルピシン、テニポシド、アンフォテリシン、アルキル化剤（例えば、クロラムブシル）、5-フルオロウラシル、カンプトテシン、シスプラチンおよびメトロニダゾールのいずれかの1以上から選択される。

40

#### 【0289】

特定の実施形態において、本発明は、アバレリクス、アルデスロイキン、アルデスロイキン、アレムツツマブ、アリトレチノイン、アロプリノール、アルトレタミン、アミフォスチン、アナストロゾール、三酸化ヒ素、アスパラギナーゼ、アザシチジン、生BCG、ベバシズマブ、アバスタチン、フルオロウラシル、ベキサロテン、プレオマイシン、ボルテゾミブ、ブスルファン、カルステロン、カベシタピン、カンプトテシン、カルボプラチン、カルムスチン、セレコキシブ、セツキシマブ、クロラムブシル、シスプラチン、クラド

50

リビン、クロファラビン、シクロフォスファミド、シタラビン、ダクチノマイシン、ダルベポエチンアルファ、ダウノルピシン、デニロイキン、デクスラゾキサソ、ドセタキセル、ドキシソルピシン（中性）、ドキシソルピシン塩酸、ドロモスタノロンプロピオン酸、エビルピシン、エポエチンアルファ、エルロチニブ、エストラムスチン、エトポシドリン酸、エトポシド、エキサメスタン、フィルグラスチム、フロキシリジンフルダラビン、フルベストラント、ゲフィチニブ、ゲムシタピン、ゲムツツマブ、ゴセレリン酢酸、ヒストレリン酢酸、ヒドロキシ尿素、イブリツモマブ、イダルピシン、イフォスファミド、イマチニブメシレート、インターフェロンアルファ - 2 a、インターフェロンアルファ - 2 b、イリノテカン、レナリドミド、レトロゾール、ロイコボリン、ロイプロリド酢酸、レパミゾール、ロムスチン、メゲストロール酢酸、メルファラン、メルカプトプリン 6 - MP、メスナ、メトトレキセート、メトキサレン、マイトマイシン C、ミトタン、マイトキサントロン、ナンドロロン、ネララビン、ノフェツモマブ、オブレルベキン、オキサリプラチン、パクリタキセル、パリフェルミン、パミドロネート、ペガデマラーゼ、ペガスパルガーゼ、ペグフィルグラスチム、ペメトレキセドニナトリウム、ペントスタチン、ピボプロマン、プリカマイシン、ポルフィメールナトリウム、プロカルバジン、キナクリン、ラスブリカーゼ、リツキシマブ、サルブラモスチム、ソラフェニブ、ストレプトゾシン、スニチニブマレイン酸、タルク、タモキシフェン、テモゾロマイド、テニボシド、VM - 26、テストラクトン、チオグアニン、6 - TG、チオテパ、トポテカン、トレミフェン、トシツモマブ、トラスツツマブ、トレチノイン、ATRA、ウラシルマスタード、バルルピシン、ピンブラスチン、ピンクリスチン、ビノレルピン、ゾレドノネートまたはゾレドロン酸のいずれかの 1 以上から選択される抗増殖または化学療法剤を充填した本明細書中に記載されたミセルを提供する。

#### 【0290】

別の実施形態によると、本発明は、Aricept（登録商標）またはExelon（登録商標）のようなアルツハイマー病のための治療で；L-DOPA/カルビドパ、エンタカボン、ロピンロール、プラミペキソール、プロモクリプチン、ペルゴリド、トリヘキセフェンジル、またはアマンタジンのようなパーキンソン病のための治療；ベータインターフェロン（例えば、Avonex（登録商標）、Rebif（登録商標）Copaxone（登録商標）、またはマイトキサントロンのような多発性硬化症（MS）を治療するための剤；ステロイド、アルブテロールまたは Singulair（登録商標）のような喘息のための治療；ジブレキサ、リステルダール、セロクエル、またはハロペリドールのような精神分裂症を治療するための剤；コルチコステロイド、TNFブロッカー、IL - 1 RA、またはスルファサラジンのような抗炎症剤；サイクロスポリン、タクロリムス、ラパマイシン、マイコフェノラート、モフェチルインターフェロン、コルチコステロイド、シクロフォスファミド、アザチオプリン、またはスルファサラジンのような免疫変調および免疫抑制剤；アセチルコリンエステラーゼ阻害剤、MAO阻害剤、インターフェロン、抗癌剤、イオンチャネルブロッカー、リルゾール、または抗パーキンソン病剤のような神経栄養因子；ベータ - ブロッカー、ACE阻害剤、利尿剤、ニトレート、カルシウムチャネルブロッカーまたはスタリンのような心血管病を治療するための剤；コルチコステロイド、コレステラミン、インターフェロン、または抗ウイルス剤のような肝臓病を治療するための剤；コルチコステロイド、抗白血病剤、または成長因子のような血液障害を治療するための剤；そしてガンマグロブリンのような免疫不全障害を治療するための因子を充填した本明細書中に記載されたミセルを提供する。

#### 【0291】

他の実施形態において、式IIIのR<sup>y</sup>基がイオン性天然または非天然のアミノ酸側鎖である場合、本発明のミセルはイオン性、または荷電した治療剤を封入するのに有用である。例示的なイオン性R<sup>y</sup>基はポリリシン、ポリアルブミン、ポリアスパラギン酸、ポリヒスチジン、およびポリグルタミン酸を含む。

#### 【0292】

例示的なイオン性または荷電した治療剤はDNAプラスミド、短い干渉性RNA（si

10

20

30

40

50

RNA)、ミクロRNA(miRNA)、短いヘアピンRNA(shRNA)、アンチセンスRNA、および他のRNA-ベースの治療剤を含む。他のイオン性または荷電した治療剤はオリゴペプチド、ペプチド、モノクローナル抗体、サイトカイン、および他のタンパク質治療剤を含む。

#### 【0293】

応答性ナノベクターを用いる癌細胞への特異的な優れた細胞傷害性剤の送達の標的は、癌の治療のために伝統的な小分子治療剤に頼る何千人もの人々の健康に明瞭なインパクトを有するであろう。特定の実施形態において、本発明は、通常の化学療法薬物、ドキソルビシン(アドリアマイシン)、トポイソメラーゼII阻害剤、カンプトテシン(CPT)、トポイソメラーゼI阻害剤、または-パクリタキセル(タキソール)、微小管組み立ての阻害剤のミセル-封入形態を提供する。これらの薬物は、癌-特異的送達によって有効に取り込まれる臨床的問題がある以外は共に効果的な化学療法剤である。例えば、これらの薬物の細胞傷害性性質は同様に腫瘍および健康な組織に影響し、皮膚炎、毛髪喪失、および嘔吐のような多数の副作用をもたらす。急性心臓毒性および骨髄抑制のようなDOX副作用が特に問題である。中性ドキソルビシン、カンプトテシン、およびパクリタキセルは水に貧弱にしか溶けず(すなわち、疎水性)、それらをミセル送達のための候補とする。加水分解により分解可能なラクトン環を保有するカンプトテシンは、特に上昇したpHにおいて水性溶液中で短い半減期を有する。いずれかの特定の理論に拘束されるつもりはないが、疎水性ミセルコアへの封入は薬物の半減期を有意に増加させるであろうと考えられる。膨大な数の薬物送達系が、種々の程度の成功を持って、ドキソルビシン、カンプトテシン、およびパクリタキセルに伴う前記した問題を低下させるのに用いられてきた。

#### 【0294】

##### D. ポリマーコンジュゲーション

それらのコア-シェル形態に加えて、ポリマーミセルを修飾して、受動的および能動的細胞-標的を可能として、現在のおよび将来の治療剤の利点を最大化することができる。薬物充填ミセルは典型的には20nmよりも大きな直径を保有する故に、それらは、最小化された腎臓クリアランスのために独立型薬物と比較した場合に、増大した循環時間を劇的に呈する。ナノベクターおよびポリマー薬物のこのユニークな特徴は、増強された浸透および滞留効果(「EPR」)のため、病気となった組織、特に癌性組織における選択的蓄積に導く。該EPR効果は腫瘍血管系の乱れた性質の結果であり、これは、腫瘍部位におけるポリマー治療剤の増大した浸透性および薬物滞留をもたらす。EPR効果による受動的細胞標的に加えて、ミセルは、標的基のミセル周辺への化学的結合を介して能動的に腫瘍細胞を標的するように設計される。そのような基の取込みは、最もしばしばは、化学的コンジュゲーション技術を用いる親水性ブロックの末端-基の官能性化を通じて達成される。ウイルス粒子のように、標的基で官能性化されたミセルは受容体-リガンド相互作用を利用して、投与後にミセルの空間的分布を制御し、さらに、治療剤の細胞-特異的送達を増強させる。癌療法において、標的基は、葉酸、オリゴペプチド、糖、およびモノクローナル抗体のような正常な組織に対して癌性組織において過剰発現される受容体と相互作用するように設計される。Pan, D.; Turner, J. L.; Woolley, K. L. Chem. Commun. 2003, 2400-2401; Gabizon, A.; Shmeeda, H.; Horowitz, A. T.; Zalipsky, S. Adv. Drug Deliv. Rev. 2004, 56, 1177-1202; Reynolds, P. N.; Dmitriev, I.; Curriel, D. T. Vector. Gene Ther. 1999, 6, 1336-1339; Derycke, A. S. L.; Kamuhabwa, A.; Gijsens, A.; Roskams, T.; De Vos, D.; Kasran, A.; Huwyler, J.; Missiaen, L.; de Witte, P. A. M. T. J. Nat. Cancer Inst. 2004, 96, 1620-30; Nasongkla, N., Shuai, X., Ai, H., Weinberg, B. D. P., J.; Boothman, D. A.; Gao, J. Angew. Chem. Int. Ed. 2004, 43, 6323-6327; Jule, E.;

Nagasaki, Y.; Kataoka, K. *Bioconj. Chem.* 2003, 14, 177-186; Stubenrauch, K.; Gleiter, S.; Brinkmann, U.; Rudolph, R.; Lilie, H. *Biochem. J.* 2001, 356, 867-873; Kurschus, F. C.; Kleinschmidt, M.; Fellows, E.; Dornmair, K.; Rudolph, R.; Lilie, H.; Jenne, D. E. *FEBS Lett.* 2004, 562, 87-92; and Jones, S. D.; Marasco, W. A. *Adv. Drug Del. Rev.* 1998, 31, 153-170 参照。

#### 【0295】

クリック化学に適した $R^3$ 基を有する式I、IIおよびIIIのいずれの化合物も、少数の名称を挙げれば、タンパク質、ウイルスおよび細胞のような生物学的系またはマクロ分子へ該化合物をコンジュゲートするのに有用である。クリック反応が、生理学的条件下で迅速かつ選択的に進行することが知られている。対照的に、ほとんどのコンジュゲーション反応は、タンパク質上の第一級アミン官能性（例えば、リシンまたはタンパク質末端-基）を用いて行われる。ほとんどのタンパク質は膨大なリシンおよびアルギニンを含有する故に、そのようなコンジュゲーションがタンパク質上の多数の部位において制御不可能に起こる。これは、酵素または他の生体分子の活性部位の周りにリシンまたはアルギニンが位置する場合に特に問題である。かくして、本発明の別の実施形態は、クリック化学を介して、式I、II、およびIIIのいずれかの化合物の $R^1$ 基をマクロ分子にコンジュゲートする方法を提供する。本発明のなお別の実施形態は $R^1$ 基を介して、式I、II、およびIIIのいずれかの化合物にコンジュゲートされたマクロ分子を提供する。

#### 【0296】

ポリ(アミノ酸)ブロック部分を本発明のマルチ-ブロックコポリマーへ取り込み、その結果、形態W-X-X'のマルチ-ブロックコポリマーがもたらされた後に、式I、II、およびIIIのいずれかの $R^1$ 基に対応する他の末端-基本官能性を用いて、限定されるものではないが、タンパク質、オリゴペプチド、抗体、単糖、オリゴ糖、ビタミンまたは他の小さな生体分子を含めた、細胞特異的送達のための標的基を付着させることができる。そのような標的基は、限定されるものではないが、モノクローナルおよびポリクローナル抗体（例えば、IgG、IgA、IgM、IgD、IgE抗体）、糖（例えば、マンノース、マンノース-6-リン酸、ガラクトース）、タンパク質（例えば、トランスフェリン）、オリゴペプチド（例えば、環状および非環状RGD-含有オリゴペプチド）、およびビタミン（例えば、葉酸）を含む。別法として、式I、IIおよびIIIのいずれかの $R^1$ 基を生体分子、薬物、細胞または他の適切な基材に結合させる。

#### 【0297】

他の実施形態において、式I、II、およびIIIのいずれかの $R^1$ 基を、細胞の進入および/またはエンドソーム逃避を促進する生体分子に結合する。そのような生体分子は、限定されるものではないが、HIV Tatペプチド配列(GRKKRRQR)またはオリゴアルギニン(RRRRRRRRR)のようなタンパク質変換ドメインを含有するオリゴペプチドを含む。オリゴヒスチジン(HHHHH)のような、変化させるpH環境において立体配座変化を受けるオリゴペプチドもまた細胞の進入およびエンドソーム逃避を受ける。

#### 【0298】

他の実施形態において、式I、II、およびIIIのいずれかの $R^1$ 基は、放射性同位体（例えば、 $^{18}\text{F}$ ）を含有する分子、または放射性金属（例えば、 $^{62}\text{Cu}$ ）が結合したリガンドを含めた、陽電子射出断層撮影法のための蛍光色素または標識のような検出可能な基に結合させる。他の実施形態において、式I、II、およびIIIのいずれかの $R^1$ 基は、ガドリニウム、ガドリニウムキレート、または鉄酸化物（例えば、 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ および $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ）粒子のような磁気共鳴イメージング用のコントラスト剤に結合させる。他の実施形態において、式I、II、およびIIIのいずれかの $R^1$ 基は、セレン

化カドミウム、硫化カドミウム、または - テルル化カドミウムのような半導性ナノ粒子に結合させるか、あるいはコロイド状金のような他の金属ナノ粒子に結合させる。他の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基を、天然または - 合成表面、細胞、ウイルス、色素、薬物、キレート化剤に結合させるか、あるいはヒドロゲルまたは - 他の組織足場への取込みで用いる。

【0299】

1つの実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、相補的アジド - 担持分子および生体分子との [3 + 2] シクロ付加反応を受けることができるアセチレンまたは - アセチレン誘導体である。別の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、相補的アルキン - 担持分子および生体分子との [3 + 2] シクロ付加反応を受けることができるアジドまたは - アジド誘導体である（すなわち、クリック化学）。

10

【0300】

クリック化学は、生物学的媒体においてさえ、その高い反応性および選択性のためバイオコンジュゲーションのポピュラーな方法となった。Kolb, H. C.; Finn, M. G.; Sharpless, K. B. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2001, 40, 2004 - 2021; and Wang, Q.; Chan, T. R.; Hilgراف, R.; Fokin, V. V.; Sharpless, K. B.; Finn, M. G. *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 3192 - 3193 参照。加えて、現在利用可能な組換え技術は、アジドおよびアルキン - 担持非 - カノニカルアミノ酸の、タンパク質、細胞、ウイルス、細菌、およびディスプレイタンパク質よりなる他の生物学的存在への導入を可能とする。Link, A. J.; Vink, M. K. S.; Tirrell, D. A. *J. Am. Chem. Soc.* 2004, 126, 10598 - 10602; Deiters, A.; Cropp, T. A.; Mukherji, M.; Chin, J. W.; Anderson, C.; Schultz, P. G. *J. Am. Chem. Soc.* 2003, 125, 11782 - 11783 参照。

20

【0301】

別の実施形態において、アジドまたは - アセチレン - 担持ナノベクターおよび相補的アジドまたは - アセチレン - 担持生体分子の [3 + 2] シクロ付加反応は遷移金属に触媒される。[クリック] 反応を触媒する銅 - 含有分子は、限定されるものではないが、臭化銅 (CuBr)、塩化銅 (CuCl)、硫酸銅 (CuSO<sub>4</sub>)、ヨウ化銅 (CuI)、[Cu(MeCN)<sub>4</sub>](OTf) および [Cu(MeCN)<sub>4</sub>](PF<sub>6</sub>) を含む。有機および無機金属 - 結合リガンドを金属触媒と組み合わせて用いることができ、限定されるものではないが、ナトリウムアスコルベート、トリス(トリアゾリル)アミンリガンド、トリス(カルボキシエチル)ホスフィン (TCPEP)、およびスルホン化バソフェナントロリンリガンドを含む。

30

【0302】

別の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、アルデヒドまたは - ケトンを含む生体分子との反応を受けて、ヒドラゾン結合を形成することができるヒドラジンまたは - ヒドラジン誘導体である。別の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、ヒドラジンまたは - ヒドラジン誘導体を含む生体分子との反応を受けて、ヒドラゾン結合を形成することができるアルデヒドまたは - ケトン誘導体である。

40

【0303】

別の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、アルデヒドまたは - ケトンを含む生体分子との反応を受けることができるヒドロキシルアミン誘導体である。別の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、ヒドロキシルアミン、または - ヒドロキシルアミン誘導体を含む生体分子との反応を受けることができるアルデヒドまたは - ケトンである。

【0304】

50

なお別の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、第一級または - 第二級アミンを含有する生体分子との反応を受けて、イミン結合を形成することができるアルデヒドまたは - ケトン誘導体である。別の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、アルデヒドまたは - ケトン官能性を含有する生体分子との反応を受けて、イミン結合を形成することができる第一級または - 第二級アミンである。イミン結合は、適切な還元剤（例えば、水素化リチウムアルミニウム、ホウ水素化ナトリウム、シアノホウ水素化ナトリウム等）での処理によってさらに安定なアミン結合に変換することができることは認識されよう。

【0305】

なお別の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、活性化されたエステル（例えば、4 - ニトロフェノールエステル、N - ヒドロキシスクシンイミド、ペンタフルオロフェニルエステル、オルト - ピリジルチオエステル）を含有する生体分子との反応を受けて、アミドまたは - エステル結合を形成することができるアミン（第一級または - 第二級）または - アルコールである。なお他の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、アミン（第一級または - 第二級）または - アルコールを保有する生体分子との反応を受けて、アミドまたは - エステル結合を形成することができる活性化されたエステルである。

【0306】

なお他の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、適切なカップリング剤を用いてカルボン酸を持つ生体分子に結合されるアミンまたは - アルコールである。なお他の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、適切なカップリング剤を用いてアミンまたは - アルコール官能性を含有する生体分子に結合されるカルボン酸官能性である。そのようなカップリング剤は限定されるものではないが、カルボジイミド（例えば、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - カルボジイミド (EDC)、ジイソプロピルカルボジイミド (DIC)、ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC)、アミニウムまたは - ホスホニウム誘導体（例えば、PyBOP、PyAOP、TBTU、HATU、HBTU）、または - 1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBT) およびアミニウムまたは - ホスホニウム誘導体の組合せを含む。

【0307】

別の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、チオールまたは - アミンを含有する生体分子との反応が可能である、マレイミド、マレイミド誘導体、または - プロモアセトアミド誘導体のような親電子体である。別の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、マレイミド、マレイミド誘導体、または - プロモアセトアミド誘導体のような、親電子体官能性を含有する生体分子と反応できるアミンまたは - チオールのような求核体である。

【0308】

なお他の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、チオール官能性を含有する生体分子とのジスルフィド交換を受けるオルト - ピリジルジスルフィド基である。なお他の実施形態において、式 I、II、および III のいずれかの R<sup>1</sup> 基は、オルト - ピリジルジスルフィド官能性を含有する生体分子とのジスルフィド交換を受けるチオールまたは - チオール誘導体である。そのような交換反応の結果、適切な還元剤（例えば、グルタチオン、ジチオスレイトール (DTT)、等）の存在下で可逆的であるジスルフィド結合がもたらされることは認識されよう。

【0309】

特定の実施形態において本発明のミセルは式 I、II、または - III の 1 以上の化合物を含む混合されたミセルである。本明細書中に記載されたように、異なる R<sup>1</sup> 基を有する混合ミセルを多数の他の化合物および / または - マクロ分子にコンジュゲートさせることができるのが認識されよう。例えば、本発明の混合ミセルは、クリック化学に適した 1 つの R<sup>1</sup> 基および種々のカップリング反応を介する共有結合に適した別の R<sup>1</sup> 基を有することができる。そのような混合ミセルは、これらの異なる R<sub>1</sub> 基を介して異なる化合物お

10

20

30

40

50

よび/または - マクロ分子にコンジュゲートさせることができる。そのようなコンジュゲーション反応は当業者によく知られており、本明細書中に記載されたものを含む。

【0310】

4. 本発明の化合物を提供するための一般的な方法

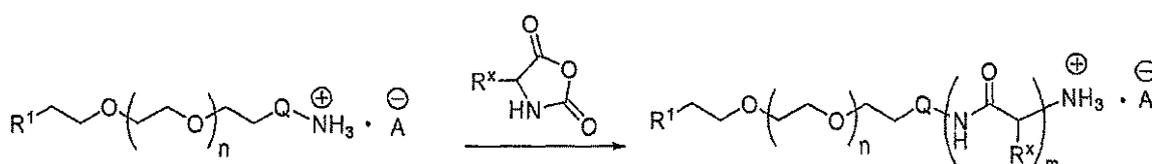
本発明のマルチブロックポリマーは当業者に知られた方法、およびここに引用してその全体を援用する、2006年1月4日に出願された米国特許出願第11/325,020号に詳細に記載された方法によって調製される。一般に、そのようなマルチブロックポリマーは、末端アミン塩を有する親水性ポリマー上で1以上の環状アミノ酸モノマーを順次重合することによって調製され、ここで、該重合は該アミン塩によって開始される。特定の実施形態において、該重合は、環状アミノ酸モノマーの開環重合によって起こる。他の実施形態において、環状アミノ酸モノマーはアミノ酸NCA、ラクタムまたは-イミドである。

10

【0311】

【化89】

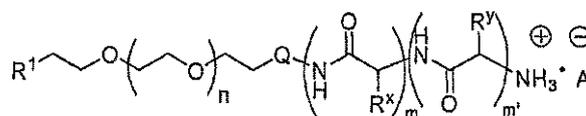
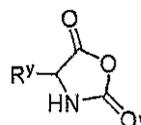
スキーム2



A

B

20



I'

30

前記スキーム2は、本発明のマルチブロックポリマーを調製するための一般的な方法を示す。式Aのマクロイニシエーターを第一のアミノ酸NCAで処理して、第一のアミノ酸ブロックを有する式Bの化合物を形成する。第二のアミノ酸NCAを式Bのリビングポリマーに加えて、2つの異なるアミノ酸ブロックを有する式I'の化合物を形成する。スキーム2に示されたR<sup>1</sup>、A、n、Q、R<sup>x</sup>、R<sup>y</sup>、mおよびm'基の各々は、単独および組み合わせて、ここで、クラスおよびサブクラスにおいて定義され、記載された通りである。

【0312】

式Iの化合物の調製における1工程は、式I'の化合物のリビングポリマー鎖-末端を適切な重合ターミネーターで停止させて、式Iの化合物を得る。当業者であれば、重合ターミネーターは式IのR<sup>2a</sup>基を供することを認識するであろう。従って、前記にておよびここに記載された式IのR<sup>2a</sup>基に向けられた実施形態もまた、適切な重合ターミネーターそれ自体に向けられ、同様に、前記およびここに記載された適切な重合ターミネーターに向けられた実施形態もまた式IのR<sup>2a</sup>に向けられる。

40

【0313】

前記したように、式Iの化合物は、適切な停止剤での処理によって式I'の化合物から調製される。当業者であれば、式Iの化合物は式I'の化合物からやはり容易に直接的に調製されることを認識するであろう。そのような場合、特定の実施形態において、式I'の化合物を塩基で処理して、適切な停止剤での処理に先立って、または-それと同時に遊

50

離塩基化合物を形成する。例えば、式 I' の化合物を同一反応において塩基および適切な停止剤で処理して、その化合物の遊離塩基を形成すると考えられる。そのような場合、該塩基は反応媒体としても働かせることができると考えられる。

【0314】

また、当業者であれば、式 I の化合物を調製する前記方法は、リビングポリマー鎖 - 末端を利用して、式 I の R<sup>2</sup> 基を取り込む式 I の化合物も「ワン - ポット」合成として行うことができるのも認識するであろう。別法として、式 I の化合物は複数工程で調製することもできる。例えば、式 I' の化合物のリビングポリマー鎖 - 末端をクエンチして、アミノ基が得られ、次いで、これを公知の方法に従ってさらに誘導体化して、式 I の化合物を得ることができる。

10

【0315】

当業者であれば、種々の重合停止剤が本発明で適当であることを認識するであろう。そのような重合停止剤は、式 I' の化合物のリビングポリマー鎖 - 末端、または - 式 I' の遊離 - 塩基アミノ基と反応して、式 I の化合物を供することができるいずれの R<sup>2a</sup> - 含有基も含む。かくして、重合停止剤は酸無水物、および他のアシル化剤、および求核置換に付される適切な脱離基 LG を含有する基を含む。

【0316】

別法として、式 I' の化合物をカルボン酸 - 含有基にカップリングさせて、そのアミドを形成することができる。かくして、式 I' のアミノ基または - その遊離塩基をカルボン酸基とカップリングさせて、R<sup>2a</sup> が - NHC(O)R<sup>4</sup> である式 I の化合物を得ることができる。そのようなカップリング反応は当該分野でよく知られている。特定の実施形態において、カップリングは適切なカップリング試薬で達成される。そのような試薬は当該分野でよく知られており、例えば、とりわけ、DCC および EDC を含む。別の実施形態において、カルボン酸基をカップリング反応で用いるために活性化する。そのような活性化はアシルハライドの形成、ムカイヤマ試薬の使用等を含む。これらの方法および他の方法は当業者に知られている。例えば、“Advanced Organic Chemistry,” Jerry March, 5th Ed., pp. 351 - 357, John Wiley and Sons, N.Y. 参照。

20

【0317】

「求核置換に付される適切な脱離基」は、所望の新しく入る化学基によって容易に置き換えられる化学基である。適切な脱離基は当該分野でよく知られている。例えば、March 参照。そのような脱離基は、限定されるものではないが、ハロゲン、アルコキシ、スルホニルオキシ、必要に応じて置換されるアルキルスルホニルオキシ、必要に応じて置換されるアルケニルスルホニルオキシ、必要に応じて置換されるアリールスルホニルオキシ、およびジアゾニウム基を含む。適切な脱離基の例はクロロ、ヨード、プロモ、フルオロ、メタンスルホニルオキシ（メシルオキシ）、トシルオキシ、トリフリルオキシ、ニトロ - フェニルスルホニルオキシ（ノシルオキシ）、およびプロモ - フェニルスルホニルオキシ（プロシルオキシ）を含む。

30

【0318】

別の実施形態によると、適切な脱離基は反応媒体中でイン・サイチュで生じさせることができる。例えば、脱離基はその化合物の前駆体からイン・サイチュにて生じさせることができ、ここで、該前駆体はイン・サイチュにて該脱離基によって容易に置き換えられる基を含有する。

40

【0319】

別法として、式 I の R<sup>2a</sup> 基がモノ - または - ジ保護アミンである場合、保護基を除去し、その官能基を異なる保護基で誘導体化し、または保護することができる。式 I の R<sup>2a</sup> 基のいずれの保護基の除去も、その保護基に適した方法によって行われるのは認識されるであろう。そのような方法は Green に詳細に記載されている。

【0320】

他の実施形態において、式 I の R<sup>2a</sup> 基は、所望により適切には塩基の存在下で、無水

50

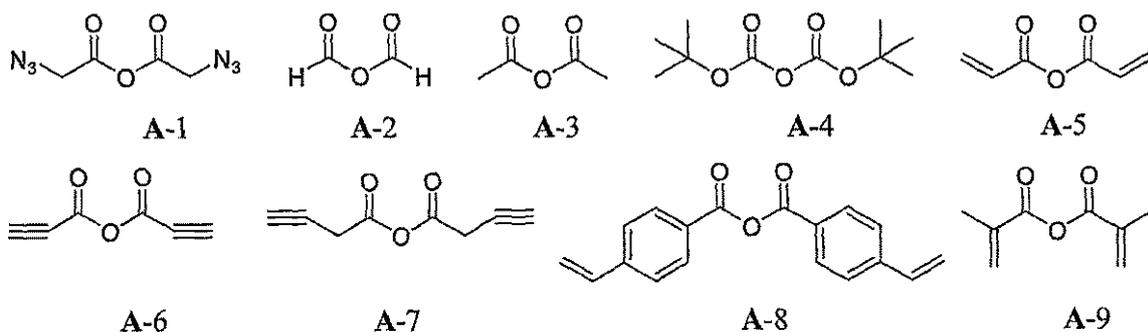
物カップリングを介する、式 I' のアミノ基または - その遊離塩基の誘導体化によって取り込まれる。当業者であれば、アジド、アルデヒド、ヒドロキシル、アルキン、および他の基または - その保護形態を含有する無水物重合停止剤を用いて、該アジド、該アルデヒド、該保護されたヒドロキシル、該アルキン、および他の基を式 I の化合物の R<sup>2a</sup> 基に取り込むことができるのを認識するであろう。また、そのような無水物重合停止剤は式 I' の化合物のリビングポリマー鎖 - 末端、または - その遊離塩基を停止させるのにも適していることも認識されよう。そのような無水物重合停止剤は限定されるものではないが、以下の表 7 に記載されたものを含む。

【 0 3 2 1 】

【 化 9 0 】

10

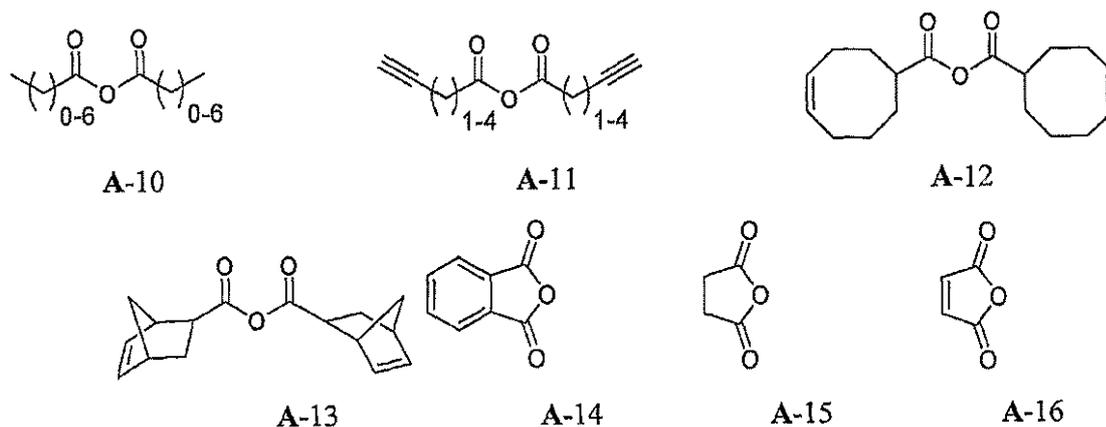
表 7 : 代表的な無水重合停止剤



20

【 0 3 2 2 】

【 化 9 1 】



30

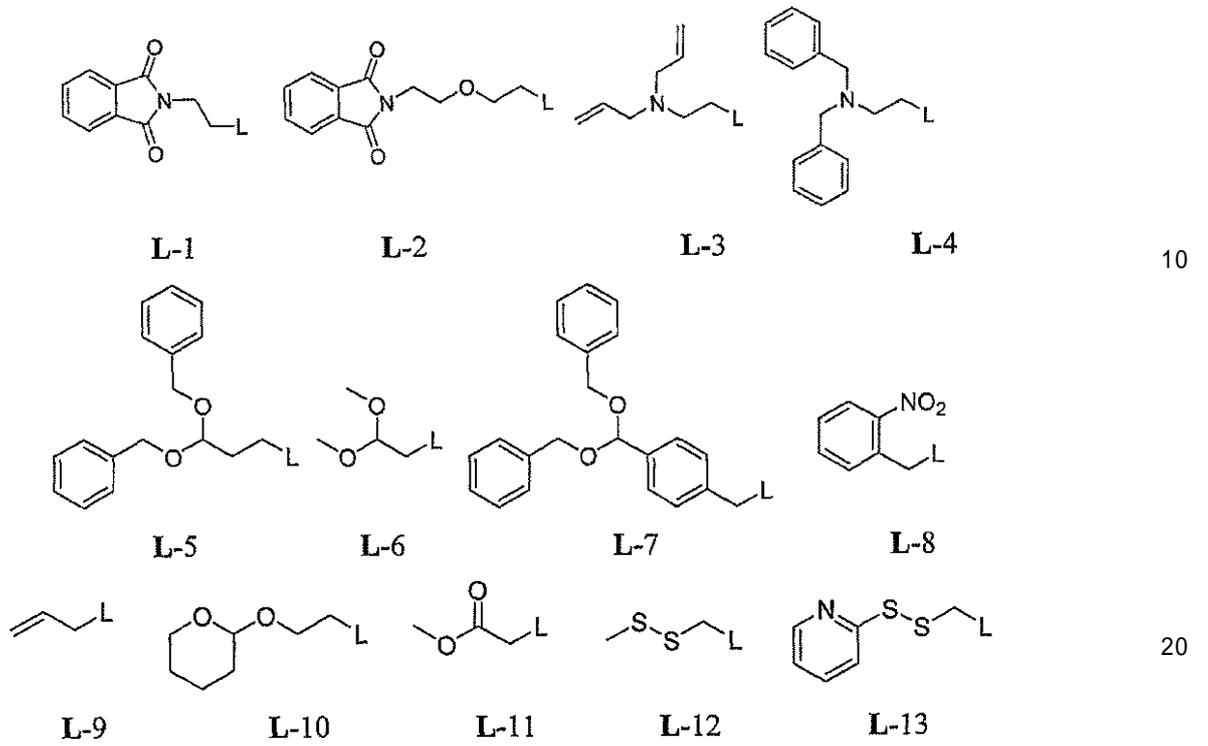
他の実施形態において、式 I I I の R<sup>2a</sup> 基の R<sup>4</sup> 基は、適切な脱離基を有する重合停止剤との反応を介して、式 I' のアミノ基、または - その遊離塩基の誘導体化によって取り込まれる。また、そのような重合停止剤は式 I' の化合物のリビングポリマー鎖 - 末端、または - その遊離塩基を停止させるのにも適していることが認識されよう。これらの重合停止剤の例は、限定されるものではないが、以下の表 8 に記載されたものを含む。

【 0 3 2 3 】

40

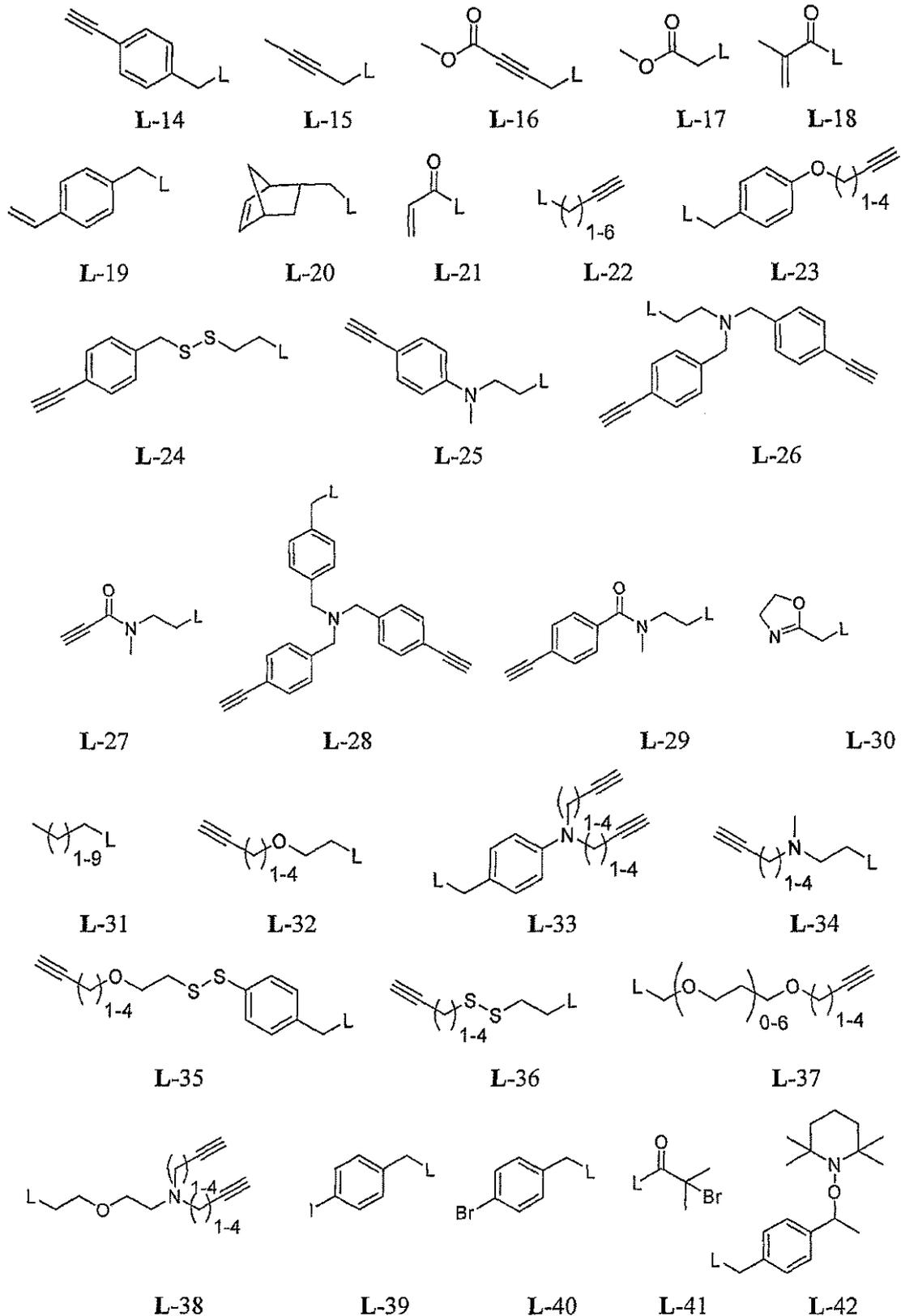
【化 9 2】

表 8 : 代表的な重合停止剤



【 0 3 2 4 】

## 【化93】



10

20

30

40

(式中、各Lは、前記で定義し、かつ前記およびここに記載されたクラスおよびサブクラスにおける適切な脱離基である)

特定の実施形態において、親水性ポリマーブロックは、末端アミン塩を有するポリ(エチレングリコール)(PEG)(「PEGマクロイニシエーター」)である。このPEGマクロイニシエーターは、NCAの重合を開始させて、本発明のマルチブロックコポリマーを提供する。末端アミン塩を有するそのようなポリマーは、末端アミンを有する合成ポ

50

リマーから調製することができる。末端アミン基を有するそのような合成ポリマーは当該分野で知られており、PEG-アミンを含む。PEG-アミンは適切に保護されたPEG-アミンの脱保護によって得ることができる。そのような適切に保護されたPEG-アミンの調製、およびそれを脱保護する方法は、ここに引用してその全体を援用する、2005年10月24日出願された米国特許出願第11/256,735号に詳細に記載されている。

【0325】

US 2005/0112567, 735に記載されているように、適切に保護されたPEG-アミンは、PEGのリビングポリマー鎖末端を、適切に保護されたアミンを含有する停止剤で提示させることによって形成することができる。次いで、適切に保護されたアミンを脱保護して、PEGを生じさせ、これを、引き続いて対応するPEG-アミン塩マクロイニシエーターに変換することができる遊離アミンで停止させる。特定の実施形態において、本発明のPEG-アミン塩マクロイニシエーターは、該保護されたアミンを酸で脱保護することによって、適切に保護されたPEG-アミンから直接的に調製される。従って、他の実施形態において、停止剤は、保護基が酸に不安定な適切に保護されたアミノ基を有する。

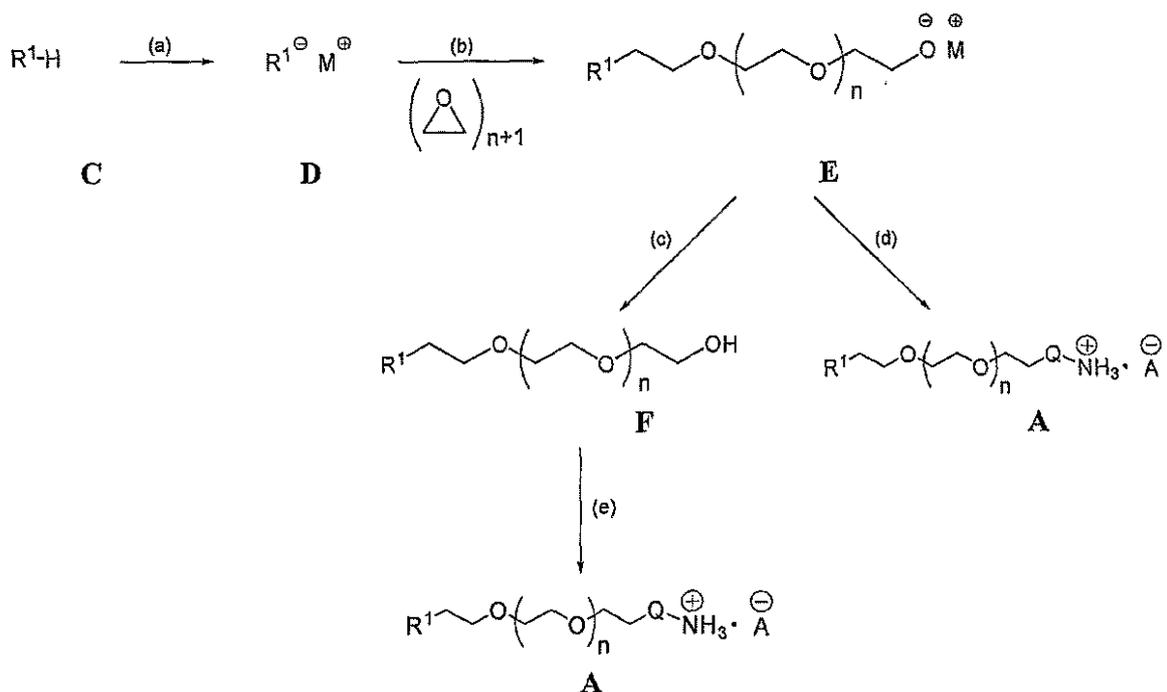
【0326】

別法として、末端アミン塩を有する適切な合成ポリマーは、公知の合成経路によってアミン塩に変換することができるある種の末端官能基を含有する合成ポリマーから調製することができる。特定の実施形態において、末端官能基のアミン塩への変換は単一の合成工程で行われる。他の実施形態において、末端官能基のアミン塩への変換はマルチ-工程系列によって達成される。アミン、アミン塩、または保護されたアミンを供する官能基変換は当該分野で良く知られており、Larock, R. C., "Comprehensive Organic Transformations," John Wiley & Sons, New York, 1999に記載されたものを含む。

【0327】

【化94】

スキーム3



前記スキーム3は、本発明のマルチブロックコポリマーを調製するのに用いられる二官能性PEGを調製するための1つの例示的な方法を示す。工程(a)において、重合イニシエーターを適切な塩基で処理して、Dを形成する。種々の塩基が工程(a)における反

応で適している。そのような塩基は、限定されるものではないが、カリウムナフタレナイド、ジフェニルメチルカリウム、トリフェニルメチルカリウム、および水素化カリウムを含む。工程 (b) において、得られたアニオンをエチレンオキサイドで処理して、ポリマー E を形成する。ポリマー E は、E のリビングポリマー鎖 - 末端を適切な重合ターミネーターで停止させて、化合物 A の化合物を得ることによって、工程 (d) において式 A の化合物に変換することができる。別法として、ポリマー E を工程 (c) においてクエンチして、ヒドロキシル化合物 F を形成することができる。次いで、本明細書中に記載されたものを含めた、当該分野で公知の方法によって、化合物 F を誘導体化して、式 A の化合物を得る。スキーム 3 に示された R<sup>1</sup>、A、n および Q 基の各々は、単独でおよび組み合わせで、ここで、クラスおよびサブクラスにおいて定義され、記載されている。

10

**【0328】**

ある例示的な実施形態を前記およびここに示し、記載したが、本発明の化合物は、一般的に当業者に利用できる方法によって適切な出発物質を用い、一般的に前記した方法に従って調製することができることと認識されるであろう。さらなる実施形態は本明細書中においてより詳細に例示される。

**【0329】**

ミセルを調製する方法は当業者に公知である。ミセルは、多数の異なる解離方法によって調製することができる。直接的解離方法によって、ブロックコポリマーを、加熱しつつ、または - 加熱することなく水性媒体に直接的に加え、ミセルは解離に際して自然に形成される。透析方法は、ミセルが水に難溶性のコポリマーから形成される場合にしばしば用いられる。コポリマーを、N - メチルピロリドン、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、テトラヒドロフラン、または - ジメチルアセトアミドのような水混和性有機溶媒に溶解させ、次いで、この溶液を水または - 別の水性媒体に対して透析する。透析の間に、ミセル形成が誘導され、有機溶媒は除去される。別法として、ブロックコポリマーを N - メチルピロリドン、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、テトラヒドロフラン、または - ジメチルアセトアミドのような水混和性有機溶媒に溶解させ、水または - 別の水性媒体に滴下することができる。次いで、濾過または - 凍結乾燥によってミセルを単離することができる。

20

**【0330】**

1 つの実施形態において、外側コアにカルボン酸官能性を保有する薬物充填ミセルは、少量の炭酸水素ナトリウムと共に塩化亜鉛をミセル溶液に加えて、いずれの塩酸副産物も中和することによって架橋される。この塩基性 pH 環境においては、塩化亜鉛とポリ (アスパラギン酸) 架橋ブロックとの反応は迅速かつ不可逆的ではなくである。

30

**【0331】**

別の実施形態において、外側コアにアミン官能性を保有する薬物充填ミセルは、pH - 可逆的イミン架橋を形成する二官能性または - 多 - 官能性アルデヒド - 含有分子を加えることによって架橋される。別の実施形態において、外側コアにアルデヒド官能性を保有する薬物充填ミセルは、pH - 可逆的イミン架橋を形成する二官能性または - 多 - 官能性アミン - 含有分子を加えることによって架橋される。

**【0332】**

別の実施形態において、外側コアにアルコールまたは - アミン官能性を保有する薬物充填ミセルは、二官能性または - 多 - 官能性カルボン酸 - 含有分子およびカップリング剤を加えて、アミドまたは - エステル架橋を形成することによって架橋される。なお別の実施形態において、外側コアにカルボン酸官能性を保有する薬物充填ミセルは、二官能性または - 多 - 官能性アミンまたは - アルコール - 含有分子およびカップリング剤を加えて、アミドまたは - エステル架橋を形成することによって架橋される。そのようなカップリング剤は、限定されるものではないが、カルボジイミド (例えば、1 - エチル - 3 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - カルボジイミド (EDC)、ジイソプロピルカルボジイミド (DIC)、ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC))、アミニウムまたは - ホスホニウム誘導体 (例えば、PyBOP、PyAOP、TBTU、HATU、HBTU)、また

40

50

は - 1 - ヒドロキシベンゾトリアゾール ( H O B t ) およびアミニウムまたは - ホスホニウム誘導体の組合せを含む。

【 0 3 3 3 】

別の実施形態において、外側コアにアルデヒドまたは - ケトン官能性を保有する薬物充填ミセルは、二官能性または - 多官能性ヒドラジンまたは - ヒドラジド - 含有分子を加えて、p H - 可逆的ヒドラゾン架橋を形成することによって架橋される。なお他の実施形態において、外側コアにヒドラジンまたは - ヒドラジド - 官能性を保有する薬物充填ミセルは、二官能性または - 多官能性アルデヒドまたは - ケトン - 含有分子を加えて、p H - 可逆的ヒドラゾン架橋を形成することによって架橋される。

【 0 3 3 4 】

別の実施形態において、外側コアにチオール官能性を保有する薬物充填ミセルは、酸化剤 ( 例えば、金属酸化剤、ハロゲン、酸素、ペルオキシド、オゾン、ペルオキシ酸等 ) を加えて、ジスルフィド架橋を形成することによって架橋される。ジスルフィド架橋は適切な還元剤 ( 例えば、グルタチオン、ジチオスレイトール ( D T T ) 等 ) の存在下で可逆的であることは認識されよう。

【 0 3 3 5 】

なお別の実施形態において、外側コアにカルボン酸およびチオール官能性の双方を保有する薬物充填ミセルは、酸化剤 ( 例えば、金属化合物、ハロゲン、酸素、ペルオキシド、オゾン、ペルオキシ酸等 ) を加えて、ジスルフィド架橋を形成し、続いて、少量の炭酸水素ナトリウムと共に塩化亜鉛をミセル溶液に加えて、いずれの塩酸副産物も中和することによって二重に架橋することができる。そのような二重 - 架橋されたミセルは酸および還元剤 ( 例えば、グルタチオン、ジチオスレイトール ( D T T ) 、等 ) の存在下でのみ可逆的であると認識される。

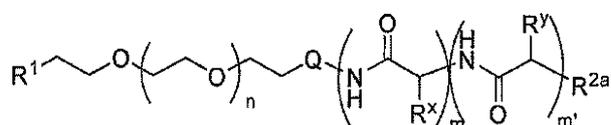
【 0 3 3 6 】

別の態様によると、本発明は、ポリマー親水性ブロック、架橋されたポリ ( アミノ酸ブロック ) およびポリ ( アミノ酸 ) ブロックを含むマルチブロックコポリマーを含むミセルの調製方法を提供し、該ミセルは内側コア、架橋された外側コア、および親水性シェルを有することを特徴とし、該方法は：

( a ) 式 I :

【 0 3 3 7 】

【 化 9 5 】



I

( 式中、

n は 1 0 ないし 2 5 0 0 であり；

m は 1 ないし 1 0 0 0 であり；

m ' は 1 ないし 1 0 0 0 であり；

R <sup>x</sup> は架橋が可能な天然または - 非天然アミノ酸側鎖基であり；

R <sup>y</sup> は疎水性または - イオン性の天然または - 非天然アミノ酸側鎖基であり；

R <sup>1</sup> は - Z ( C H <sub>2</sub> C H <sub>2</sub> Y ) <sub>p</sub> ( C H <sub>2</sub> ) <sub>t</sub> R <sup>3</sup> であり、ここで：

Z は - O - 、 - S - 、 - C - C - 、または - C H <sub>2</sub> - であり；

各 Y は独立して - O - または - S - であり；

p は 0 ないし 1 0 であり；

t は 0 ないし 1 0 であり；そして

R <sup>3</sup> は - N <sub>3</sub> 、 - C N 、モノ保護アミン、ジ保護アミン、保護されたアルデヒド、保護されたヒドロキシル、保護されたカルボン酸、保護されたチオール、 9 ないし 3 0 員のク

10

20

30

40

50

ラウンエーテル、脂肪族、または - 窒素、酸素、または - 硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 5 ないし 8 員の飽和、部分的不飽和または - アリール環、窒素、酸素、または - 硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する 8 ないし 10 員の飽和、部分的不飽和、または - アリール二環式環、または - 検出可能な基空選択される必要に応じて置換される基であり；

Q は原子価結合または - 二価の飽和または - 不飽和の直鎖または - 分枝鎖  $C_{1-12}$  アルキレン鎖であり、ここで、Q の 0 ないし 6 個のメチレン単位は、独立して、- Cy -、- O -、- NH -、- S -、- OC(O) -、- C(O)O -、- C(O) -、- SO -、- SO<sub>2</sub> -、- NH SO<sub>2</sub> -、- SO<sub>2</sub> NH -、- NHC(O) -、- C(O) NH -、- OC(O) NH -、または - NHC(O)O - によって置き換えられ、ここで：

- Cy - は窒素、酸素、または - 硫黄から独立して選択された 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 5 ないし 8 員の二価の、飽和、部分的不飽和、または - アリール環、または - 窒素、酸素、または - 硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 8 ないし 10 員の二価の飽和、部分的不飽和、または - アリール二環式環であり；

$R^{2a}$  はモノ保護アミン、ジ保護アミン、- N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>、- NR<sup>4</sup>C(O)R<sup>4</sup>、- NR<sup>4</sup>C(O)N(R<sup>4</sup>)<sub>2</sub>、- NR<sup>4</sup>C(O)OR<sup>4</sup>、または - NR<sup>4</sup>SO<sub>2</sub>R<sup>4</sup> であり；そして

各 R<sup>4</sup> は、独立して水素、脂肪族、窒素、酸素、または - 硫黄から独立して選択される 0 ないし 4 個のヘテロ原子を有する 5 ないし 8 員の飽和、部分的不飽和または - アリール環、窒素、酸素、または - 硫黄から独立して選択される 0 ないし 5 個のヘテロ原子を有する 8 ないし 10 員の飽和、部分的不飽和、または - アリール二環式環または - 検出可能な基から選択される必要に応じて置換される基であるか；あるいは

同一窒素原子上の 2 つの R<sup>4</sup> は該窒素原子と一緒に窒素、酸素、または - 硫黄から独立して選択される 1 ないし 4 個のヘテロ原子を有する必要に応じて置換される 4 ないし 7 員の飽和、部分的不飽和、または - アリール環を形成する )

のマルチブロックコポリマーを供し；

( b ) 式 I の該化合物を治療剤と合わせ；次いで、

( c ) 得られたミセルを架橋剤で処理して、R<sup>x</sup> を架橋する；

工程を含む。

【 0 3 3 8 】

一つの実施形態において、水中のコポリマー溶液のアリコットを取り込むべき薬物に加えることによって、薬物をミセル内側コアに充填する。例えば、極性有機溶媒中の薬物のストック溶液を作成し、蒸発させ、次いで、コポリマー / 水溶液を加える。別の実施形態において、水中油型エマルジョン技術を用いて薬物を取り込む。この場合、薬物を有機溶媒に溶解させ、水中のミセル溶液に滴下し、溶媒の蒸発の間に薬物がミセルに取り込まれる。別の実施形態において、薬物をコポリマーと共に通常の極性有機溶媒に溶解させ、水または - 別の水性媒体に対して透析する。Allen, C. ; Maysinger, D. ; Eisenberg A. Colloid Surface B 1999, 16, 3 - 27 参照。

【 0 3 3 9 】

なお別の実施形態において、薬物充填ミセルの充填および架橋は、中性ドキシソルピシン、カンプトテシン、または - バクリタキセルおよびブロックコポリマーを、アセトンまたは - エタノールのような極性溶媒に溶解させ、続いて、水または - 緩衝液にゆっくりと加えることによって行われる。DOX および CPT の水への限定された溶解性のため、薬物はミセルのコアに入れられ、薬物を効果的に封入する。

【 0 3 4 0 】

5 . 使用、方法および組成物

本明細書中に記載したように、本発明のミセルは、広く種々の病気を治療するのに有用な広く種々の治療剤を封入することができる。特定の実施形態において、本発明は本明細

10

20

30

40

50

書中に記載された薬物充填ミセルを提供し、ここで、該ミセルは、薬物が治療するのが知られている障害を治療するのに有用である。1つの実施形態によると、本発明は、ポリマー親水性ブロック、架橋されたポリ(アミノ酸ブロック)、およびポリ(アミノ酸ブロック)を含むマルチブロックコポリマーを含むミセルであって、該ミセルは薬物充填内側コア、架橋された外側コア、および親水性シェルを有することを特徴とし、該ミセルは障害を治療するのに適した治療剤を封入する該ミセルを患者に投与する、疼痛、炎症、不整脈、関節炎(慢性関節リウマチまたは-変形性関節炎)、アテローム性動脈硬化症、再狭窄、細菌感染、ウイルス感染、鬱病、糖尿病、癩癧、真菌感染、通風、高血圧、マラリア、偏頭痛、癌または-他の増殖性障害、勃起不全、甲状腺障害、神経学的障害、およびホルモン-関連病、パーキンソン病、ハンチントン病、アルツハイマー病、胃腸障害、アレルギー、喘息または-乾癬のような自己免疫疾患、骨粗鬆症、肥満および共存症、認識障害、発作、AIDS-関連認知症、筋萎縮性側索硬化症(ALS、ローゲッリッヒ病)、多発性硬化症(MS)、精神分裂症不安、二極障害、タウオポシー(tauopathy)、脊髄または-末梢神経負傷、心筋梗塞、心筋細胞肥大、緑内障、注意欠乏障害(ADDまたはADHD)、睡眠障害、再灌流/虚血症、脈管形成障害、泌尿器系失禁から選択される1以上の障害を治療する方法を提供する。

10

#### 【0341】

他の実施形態において、本発明は、ポリマー親水性ブロック架橋されたポリ(アミノ酸ブロック)、およびポリ(アミノ酸ブロック)を含むマルチブロックコポリマーを含むミセルであって、該ミセルは薬物充填内側コア、架橋された外側コアおよび親水性コアを有し、該ミセルは障害を治療するのに適した治療剤を封入するミセルを患者に投与する、自己免疫疾患、炎症病、代謝障害、精神障害、糖尿病、脈管形成障害、タオポシー、神経学的または-神経変性障害、脊髄負傷、緑内障、盲目、または-心血管病から選択される1以上の障害を治療する方法を提供する。

20

#### 【0342】

特定の実施形態において、本発明の薬物充填ミセルは癌を治療するのに有用である。従って、本発明の別の態様は、ポリマー親水性ブロック架橋されたポリ(アミノ酸ブロック)およびポリ(アミノ酸ブロック)を含むマルチブロックコポリマーを含むミセルであって、該ミセルは薬物充填内側コア、架橋された外側コア、および親水性シェルを有し、該ミセルは化学治療剤を封入するミセルを患者に投与する、患者において癌を治療する方法を提供する。別の実施形態によると、本発明は、本発明によるミセルであって、該ミセルは癌を治療するのに適切な化学治療剤を封入するミセルを投与する、乳房、卵巣、頸部、前立腺、精巣、尿生殖器管、食道、喉頭、神経膠芽細胞腫、神経芽細胞腫、胃、皮膚、角化棘細胞腫、肺、類表皮癌腫、大細胞癌腫、小細胞癌腫、肺腺癌、骨、結腸、アデノーマ、膵臓、腺癌、甲状腺、小胞、癌腫、身分化癌腫、乳頭癌腫、セミノーマ、メラノーマ、肉腫、膀胱癌腫、肝臓癌腫および胆管通路、腎臓癌腫、骨髄系障害、リンパ系障害、ホジキン、毛様細胞、頬腔および咽頭(口腔)、唇、舌、口、咽頭、小腸、結腸-直腸、大腸、直腸、脳および中枢神経系、および白血病から選択される癌を治療する方法に関する。

30

#### 【0343】

P-糖タンパク質(多薬剤耐性タンパク質とも呼ばれるPgp)は高等真核生物の原形質膜に見出され、そこで、それは疎水性分子のATP加水分解-駆動輸送を担っている。動物においては、Pgpは環境トキシンの分泌、および該トキシンからの保護において重要な役割を演じ、癌細胞の原形質膜で発現された場合、疎水性化学療法薬物は細胞内のそれらの標的に到達するのを妨げることによって、それは化学療法失敗に導きかねない。事実、Pgpは疎水性化学療法薬物を腫瘍細胞から輸送することが知られている。1つの態様によると、本発明は、疎水性化学療法薬物を充填した本発明のマルチブロックポリマーを含む薬物充填ミセルを投与することを、その化学療法剤のPgp分泌を妨げ、または-減らしつつ、疎水性化学療法薬物を癌細胞に投与するための方法を提供する。そのような疎水性化学療法薬物は当該分野で良く知られており、本明細書中に記載されたものを含む。

40

50

## 【0344】

## 組成物

別の実施形態によると、本発明は、本発明のミセルまたは - その薬学的に受容可能な誘導体、および薬学的に受容可能な担体、補助剤または - ビークルを含む組成物を提供する。特定の実施形態において、本発明の組成物は、そのような組成物を必要とする患者に投与するために処方される。他の実施形態において、本発明の組成物は患者への経口投与のために処方される。

## 【0345】

本明細書中で用いるように、用語「患者」は動物、好ましくは哺乳動物、最も好ましくはヒトを意味する。

10

## 【0346】

用語「薬学的に受容可能な担体、補助剤または - ビークル」とは、それと共に処方される化合物の薬理的活性を破壊しない非毒性の担体、補助剤または - ビークルをいう。本発明の組成物で用いることができる薬学的に受容可能な担体、補助剤またはビークルは、限定されるものではないが、イオン交換体、アルミナ、ステアリン酸アルミニウム、レシチン、ヒト血清アルブミンのような血清タンパク質、ホスフェートのような緩衝液物質、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、飽和された植物脂肪酸の部分的グリセリド混合物、水、硫酸カリウム、リン酸水素二ナトリウム、リン酸水素カリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩のような塩または - 電解質、コロイド状シリカ、三ケイ酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン、セルロース - 系物質、ポリエチレングリコール、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ポリアクリレート、ワックス、ポリエチレン - ポリプロピレン - ブロックポリマー、ポリエチレングリコールおよび羊毛脂肪を含む。

20

## 【0347】

本発明の化合物の薬学的に受容可能な塩は、薬学的に受容可能な無機および有機酸および塩基に由来するものを含む。適切な酸の塩の例はアセテート、アジペート、アルギネート、アスパルテート、ベンゾエート、ベンゼンスルホネート、ビスルフェート、ブチレート、シトレート、カンフォレート、カンフォールスルホネート、シクロペンタンプロピオネート、ジグルコネート、ドデシルスルフェート、エタンスルホネート、ホルメート、フマレート、グルコヘプタノエート、グリセロホスフェート、グルコレート、ヘミスルフェート、ヘプタノエート、ヘキサノエート、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、2 - ヒドロキシエタンスルホネート、ラクテート、マレエート、マロネート、メタンスルホネート、2 - ナフタレンスルホネート、ニコチネート、ニトレート、オキサレート、パルモエート、ペクチネート、ペルスルフェート、3 - フェニルプロピオネート、ホスフェート、ピクレート、ピバレート、プロピオネート、サリシレート、スクシネート、スルフェート、タルトレート、チオシアネート、トシレートおよびウンデカノエートを含む。それ自体は薬学的に受容可能なものではないが、シュウ酸のような他の酸を、本発明の化合物およびそれらの薬学的に受容可能な酸付加塩を得るにおいて中間体として有用な塩の調製で使用できる。

30

## 【0348】

適切な塩基に由来する塩はアルカリ金属（例えば、ナトリウムおよびカリウム）、アルカリ土類金属（例えば、マグネシウム）、アンモニウムおよび  $N^+(C_1 - 4 \text{ アルキル})_4$  塩を含む。本発明では、本明細書中に開示された化合物のいずれかの塩基性窒素 - 含有基の第四級化が考えられる。水または - 油 - 溶解性または - 分散性産物もそのような第四級化によって得られる。

40

## 【0349】

本発明の組成物は経口、非経口、吸入スプレーによって、局所、直腸、鼻、頬、膺、または - 移植された貯蔵庫を介して投与することができる。本明細書中で用いるように、用語「非経口」は皮下、静脈内、筋肉内、関節内、滑膜内、胸骨内、クモ膜下腔内、肝臓内、病巣内および頭蓋内注射または - 注入技術を含む。好ましくは、組成物は経口、腹腔内または - 静脈内注射される。本発明の組成物の滅菌注射形態は水性または - 油性懸濁液で

50

あり得る。これらの懸濁液は、適切な分散剤または - 湿潤剤および沈殿防止剤を用いて当該分野で公知の技術に従って処方することができる。滅菌注射製剤は、非毒性の非経口的に許容される希釈剤または - 溶媒中にて、例えば、1, 3 - ブタンジオール中の溶液としての滅菌注射溶液または - 懸濁液であり得る。使用できる許容されるビークルおよび溶媒の中には、水、リングル液および等張塩化ナトリウム溶液がある。加えて、滅菌不揮発性油は、便宜には、溶媒または - 沈殿防止媒体として使用される。

#### 【0350】

この目的では、合成モノ - または - ジ - グリセリドを含めたいずれの口当たりのよい不揮発性油も使用できる。オレイン酸およびそのグリセリド誘導体のような脂肪酸は、特にそのポリオキシエチル化バージョンでの、オリーブ油または - ヒマシ油のような天然の薬学的に受容可能な油がそうであるように、注射剤の調製で有用である。これらの油溶液または - 懸濁液は、カルボキシメチルセルロース、または - エマルジョンおよび懸濁液を含めた薬学的に受容可能な投与単位の処方通常使用される同様な分散剤のような、長鎖アルコール希釈剤または - 分散剤も含有することができる。Tween、Spanのような他の通常使用される界面活性剤および薬学的に受容可能な固体、液体、または - 他の投与形態の製造で通常使用される他の乳化剤または - 生物学的利用性増強剤も処方の目的で使用することができる。

10

#### 【0351】

本発明の薬学的に受容可能な組成物は、限定されるものではないが、カプセル剤、錠剤、水性懸濁液または - 溶液を含めた、いずれかの経口的に許容される投与形態で経口投与することができる。経口使用のための錠剤の場合には、通常使用される担体はラクトースおよびトウモロコシ澱粉を含む。ステアリン酸マグネシウムのような滑沢剤も典型的には加えられる。カプセル形態での経口投与では、有用な希釈剤はラクトースおよび乾燥したトウモロコシ澱粉を含む。水性懸濁液が経口使用で必要とされる場合、有効成分は乳化および沈殿防止剤と組み合わせられる。所望であれば、ある種の甘味剤、フレーバー剤または - 着色剤も加えることができる。特定の実施形態において、本発明の薬学的に受容可能な組成物は腸溶コーティングされる。

20

#### 【0352】

別法として、本発明の薬学的に受容可能な組成物は、直腸投与のための座薬の形態で投与することができる。これらは、剤を、室温では固体であるが、直腸温度では液体であり、従って、直腸では融解して薬物を放出する適切な非刺激性賦形剤と混合することによって調製することができる。そのような物質はカカオバター、蜜蝋およびポリエチレングリコールを含む。

30

#### 【0353】

本発明の薬学的に受容可能な組成物は、特に、治療の標的が、目、皮膚または - 下部腸管の病気を含めた、局所適用によって容易に接近可能な領域または - 器官を含む場合には局所投与することもできる。適切な局所処方はいずれの領域または - 器官の各々のために容易に調製される。

#### 【0354】

下部腸管のための局所適用は、直腸座薬処方（前記参照）にて、または - 適切な浣腸処方にて行うことができる。局所 - 経皮パッチも用いることができる。

40

#### 【0355】

局所適用では、薬学的に受容可能な組成物は、1以上の担体に懸濁または - 溶解させた活性成分を含有する適切な軟膏に処方することができる。本発明の化合物の局所投与のための担体は、限定されるものではないが、鉱油、液体ペテロラタム、白色ペテロラタム、プロピレングリコール、ポリオキシエチレン、ポリオキシプロピレン化合物、乳化ワックスおよび水を含む。別法として、薬学的に受容可能な組成物は、1以上の薬学的に受容可能な担体に懸濁または - 溶解させた活性成分を含有する適切なローションまたは - クリームに処方することができる。適切な担体は、限定されるものではないが、鉱油、ソルビタンモノステアレート、ポリソルベート60、セチルエステルワックス、ステアリルアル

50

コール、2 - オクチルドデカノール、ベンジルアルコールおよび水を含む。

【0356】

眼科的使用では、薬学的に受容可能な組成物は、等張 pH 調整滅菌セーライン中のミクロン化懸濁液として、または - 好ましくは、塩化ベンジルアルコニウムのような保存剤の有りまたは - 無しにて、等張 pH 調整滅菌セーライン中の溶液として処方することができる。別法として、眼科的使用では、薬学的に受容可能な組成物はペテロラタムのような軟膏中に処方することができる。

【0357】

本発明の薬学的に受容可能な組成物は鼻エアロゾルまたは - 吸入によって投与することもできる。そのような組成物は医薬処方分野でよく知られた技術に従って調製され、ベンジルアルコールまたは - 他の適切な保存剤、生物学的利用性を増強させるための吸収促進剤、フルオロカーボン、および / または - 他の慣用的可溶化剤または - 分散剤を使用して、セーライン中の溶液として調製することができる。

10

【0358】

特定の実施形態において、本発明の薬学的に受容可能な組成物は経口投与のために処方される。

【0359】

担体物質と組み合わせて、単一投与単位の組成物を生じさせることができる本発明の化合物の量は、治療すべき宿主、投与の特定の形態に依存して変化するであろう。好ましくは、組成物は、薬物の 0.01 ないし 100 mg / kg 体重 / 日の間の用量をこれらの組成物を受ける患者に投与することができるように処方すべきである。

20

【0360】

封入された薬物で典型的に使用される用量が本発明によって考えられることは認識されるであろう。特定の実施形態において、患者には本発明の薬物充填ミセルが投与され、ここで、薬物の用量は、典型的にはその薬物のために投与されるものと同等である。他の実施形態において、患者には本発明の薬物充填ミセルが投与され、ここで、薬物の用量は、典型的にはその薬物のために投与されるよりも低い。

【0361】

いずれかの特定の患者のための特別な用量および治療養生法は、使用される具体的な化合物の活性、年齢、体重、一般的な健康、性別、ダイエット、投与の時間、排出速度、薬物の組み合わせ、および治療する医師の判断、および治療すべき特定の病気の重症度を含めた種々の因子に依存するであろう。組成物中の本発明の化合物の量は、組成物中の特定の化合物にも依存するであろう。

30

【0362】

本明細書中に記載された発明がより十分に理解され得るように、以下の実施例を記載する。これらの実施例は説明目的のためだけであり、断じて本発明を制限するものとして解釈されるべきではないことは理解されるであろう。

【実施例】

【0363】

本発明の二官能性 PEG およびマルチブロックコポリマーの調製

40

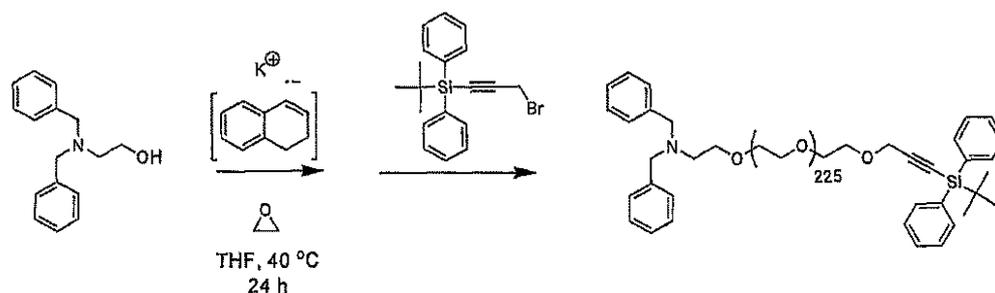
一般に前記したように、本発明のマルチブロックコポリマーは、本明細書中において、およびここに引用してその全体を援用する、2005年10月24日に出願された米国特許出願第 11 / 256,735 号に記載されたヘテロ二官能性 PEG を用いて調製される。本発明によるマルチブロックポリマーの調製は、ここに引用してその全体を援用する、2006年1月4日に出願された米国特許出願第 11 / 325,020 号に詳細に記載されたものを含めた、当該分野で公知の方法によって達成される。

【0364】

実施例 1

【0365】

## 【化96】



ジベンジルアミノ - ポリ (エチレングリコール) - t - ブチルジフェニルシリルプロピ  
ン : 無水 THF ( 200 mL ) 中のジベンジルアミノエタノール ( 482 mg , 2 ミリモ  
ルの攪拌溶液に、THF 中のカリウムナフタレニドの溶液 ( 0.2 M , 10 mL , 2 ミ  
リモル ) を加えた。得られた溶液を 0 °C まで冷却し、次いで、エチレンオキサイド ( 20  
g , 454 ミリモル ) をシュレンク技術を用いてアルコキシド溶液に導入した。エチレン  
オキサイドの完全な添加に際して、フラスコにアルゴンを逆充填し、シールし、40 °C  
で攪拌した。24 時間後に、臭化 t - ブチルジフェニルシリルプロパルギル ( 3.54 g ,  
10 ミリモル ) をシュレンク技術を用いて反応に加えた。溶液を 40 °C にてさらに 12 時  
間攪拌し、冷却し、溶媒を除去した。得られた粘性液体を固相抽出 ( 液体を、CHCl<sub>3</sub>  
( 1 L ) 中の 3% MeOH、続いて、ポリマー生成物を含有する CHCl<sub>3</sub> ( 1 L ) 中の  
10% MeOH ですすいだ 400 mL シリカゲルに充填した )、次いで、冷ジエチルエー  
テルへの沈殿によって精製して、白色粉末 ( 14.4 g , 72% 収率 ) を得た。

【0366】

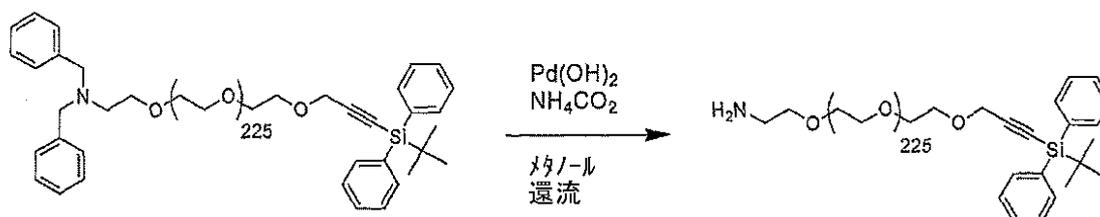
## 【化97】

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ) 7.8-7.2 (m, Ar-H), 4.39 (s, CH<sub>2</sub>-7ルキ), 3.7-3.3

(br-m, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-) 1.03 (s, t-ブチル). Mn ~ 9800 (<sup>1</sup>H NMR による)

【0367】

## 【化98】



アミノ - ポリ (エチレングリコール) - t - ブチルジフェニルシリルプロピ  
ン : 100 mL 丸底フラスコに、炭素 ( 0.2 g ) 上の 10% 水酸化パラジウムおよびメタノール ( 200 mL ) を加えた。ジベンジルアミノ - ポリ (エチレングリコール) - t - ブチルジ  
フェニルシリルプロパン ( 2 g ) およびギ酸アンモニウム ( 2 g ) を加え、反応を加熱還  
流した。6 時間後に、炭酸カリウム ( 4 g ) を加え、溶液を還流下でさらに 3 時間攪拌し  
た。溶液をクロロホルム ( 200 mL ) で希釈し、冷却し、次いで、塩基性アルミナで濾  
過した。溶媒を蒸発させ、ポリマー生成物を冷ジエチルエーテル中に沈殿させ、濾過に続  
いて白色粉末として回収した ( 1.2 g , 60% 収率 ) 。

【0368】

## 【化99】

<sup>1</sup>H NMR (400

MHz, DMSO-d<sub>6</sub>, δ) 7.6-7.3 (m, Ar-H), 4.19 (s, CH<sub>2</sub>-7ルキ), 3.7-3.3 (br-m, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-),

0.96 (s, t-ブチル).

10

20

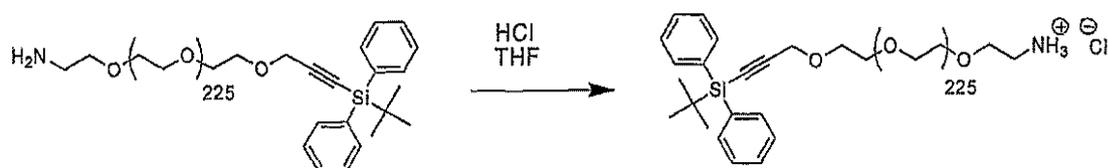
30

40

50

【 0 3 6 9 】

【 化 1 0 0 】



塩化アンモニウム - ポリ(エチレングリコール) - t - ブチルジフェニルシリルプロピ  
ン：攪拌棒を備えた 50 mL 丸底フラスコに、アミノ - ポリ(エチレングリコール) - t  
- ブチルジフェニルシリルプロパン (1.2 g, 0.1 ミリモル) および THF (5 mL)  
を加えた。溶液を、均一な溶液が存在するまで室温で攪拌した。次いで、ジオキサン (5 mL) 中の 4 M HCl を加え、溶液を 1 時間攪拌した。ポリマーを冷エーテル中に沈殿させて、白色粉末 (1 g, 83% 収率) を得た。

10

【 0 3 7 0 】

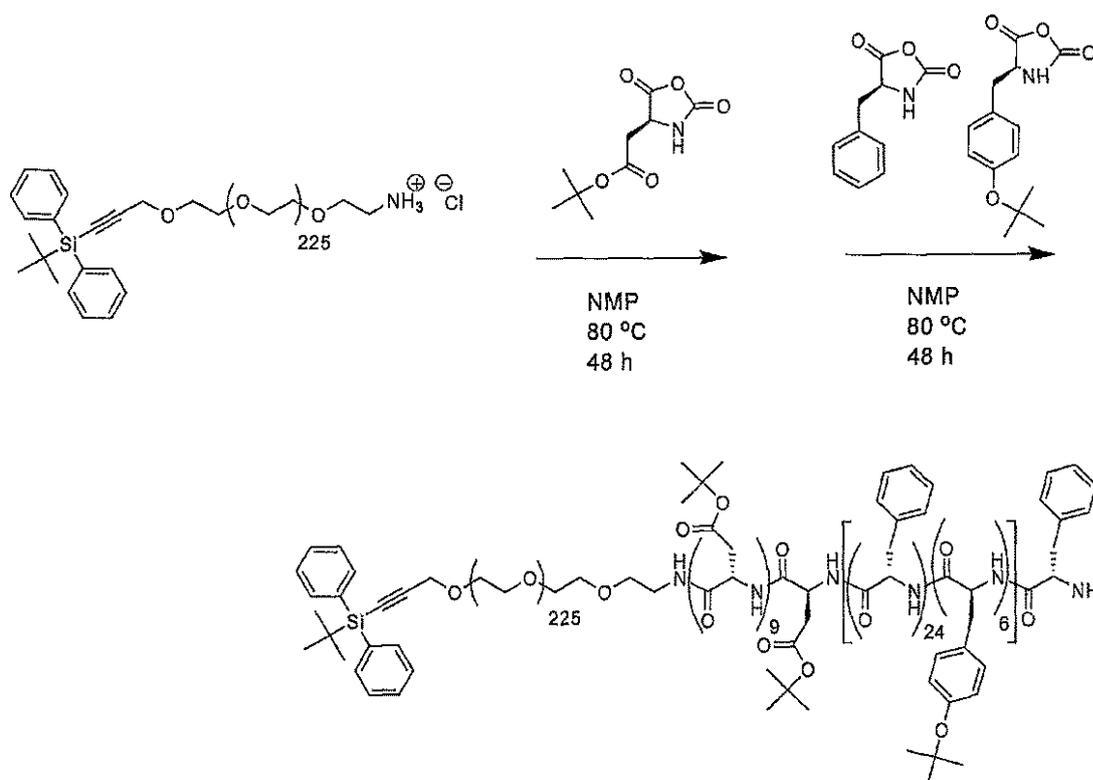
【 化 1 0 1 】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ) 7.85 (br-s,  $-\text{NH}_3\text{Cl}$ ), 7.58 (m, Ar-H), 7.45 (m, Ar-H), 7.41 (m, Ar-H), 4.17 (s,  $\text{CH}_2$ -7 $\mu\text{m}$ ), 3.7-3.3 (br-m,  $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ ), 0.97 (s, t-ブチル).

20

【 0 3 7 1 】

【 化 1 0 2 】



30

40

TBDPS - プロピン - ポリ(エチレングリコール) - b - ポリ(t - ブチルアスパ  
ラギン酸) - b - [ポリ(フェニルアラニン) - コ - ポリ(t - ブチルチロシン)]：ガラ  
ス攪拌棒およびテフロン(登録商標)バルブを備えた 100 mL 反応容器に、塩化アンモ  
ニウム - ポリ(エチレングリコール) - t - ブチルジフェニルシリルプロピン (0.6 g  
, 0.05 ミリモル) および t - ブチルアスパラギン酸 NCA (0.11 g, 0.5 ミリ

50

モル)を加えた。フラスコを1時間真空に引き、次いで、アルゴンで逆充填した。水性NMP(7mL)をシリンジを介して加え、次いで、アルゴン雰囲気下でフラスコをシールし、80℃にて攪拌した。48時間後、フェニルアラニンNCA(0.32g, 1.2ミリモル)およびt-ブチルチロシン(0.08g, 0.3ミリモル)を真空下で乾燥し、無水NMP(4mL)に溶解させ、シュレンク技術を用いて反応溶液に加えた。得られた溶液を80℃にてさらに48時間攪拌した。次いで、重合を行い、冷却し、生成物を冷エーテルに沈殿させて、白色粉末(0.7g, 65%)を得た。

【0372】

【化103】

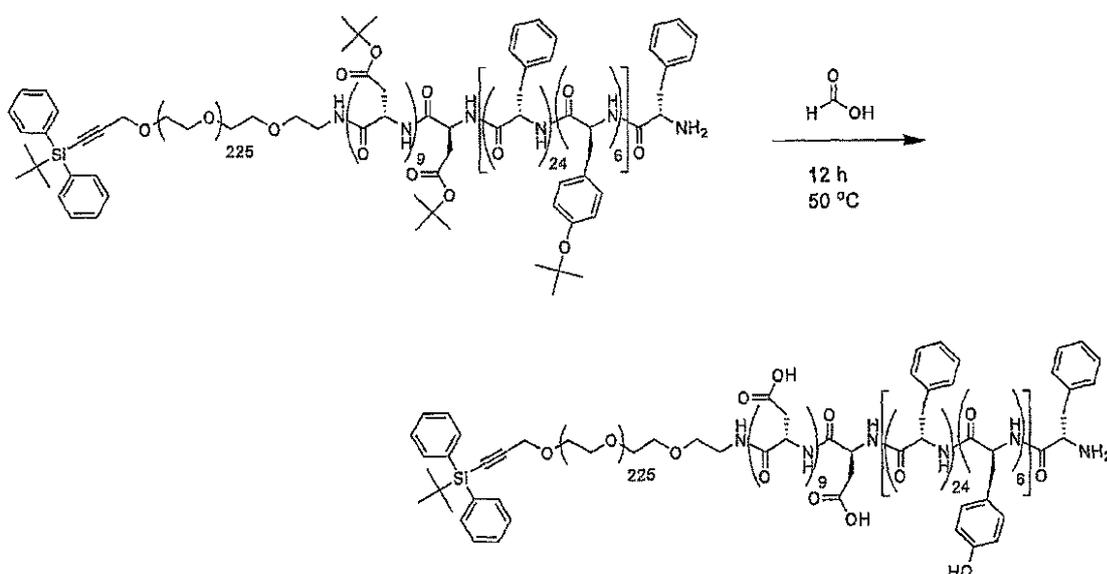
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$ ) 9.10,

8.04, 7.56, 7.41, 7.14, 6.95, 6.60, 4.51, 3.7-3.2, 2.92, 2.70, 1.37, 1.31, 0.97.  $M_n \sim 14,500$

( $^1\text{H NMR}$ による)

【0373】

【化104】



TBDPS-プロピン-ポリ(エチレングリコール)-b-ポリ(アスパラギン酸)-b-[ポリ(フェニルアラニン)-co-ポリ(チロシン)]: 攪拌棒を備えた50mL丸底フラスコにTBDPS-プロピン-ポリ(エチレングリコール)-b-ポリ(t-ブチルアスパラギン酸)-b-[ポリ(フェニルアラニン)-co-ポリ(t-ブチルチロシン)](0.5g)およびギ酸(10mL)を加えた。溶液を50℃にて12時間攪拌し、次いで、溶媒を蒸発させた。残渣をメタノールに溶解させ、溶媒を再度蒸発させた。残渣を再度メタノールに溶解させ、次いで、冷エーテルに沈殿させ、白色粉末(0.4g, 80%収率)を得た。

【0374】

【化105】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$ ) 9.17, 8.14,

8.05, 7.56, 7.41, 7.21, 7.15, 6.96, 6.60, 4.51, 3.7-3.2, 2.93, 2.71, 0.97.

実施例2

【0375】

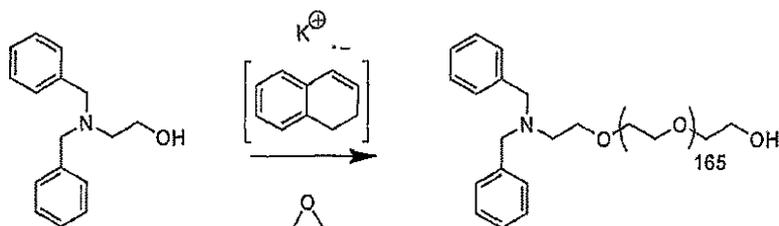
10

20

30

40

## 【化106】



ジベンジルアミノ - ポリエチレングリコール - アルコール：無水THF (100 mL) 中のジベンジルアミノエタノール (242 mg, 1ミリモル) の攪拌溶液に、THF中の 10 11  
カリウムナフタレニドの溶液 (0.2 M, 1 mL, 1ミリモル) を加えた。得られた溶液を5分間攪拌し、次いで、0℃に冷却した。エチレンオキサイド (10 g, 227ミリモル) をシュレンク技術を用いてアルコキシド溶液に導入した。エチレンオキサイドの完全な 20  
添加に際して、フラスコをアルゴンで逆充填し、シールし、40℃にて24時間攪拌した。反応を水 (1 mL) でクエンチし、続いて、減圧下で溶媒を除去した。得られた粘性液体を、固相抽出 (液体を、CHCl<sub>3</sub> (1 L) 中の3% MeOH、続いて、ポリマー生成物を含む CHCl<sub>3</sub> (1 L) 中の10% MeOHですすいだ200 mL シリカゲルに 20  
充填した)、次いで、冷ジエチルエーテルへの沈殿によって精製して、白色粉末 (6.8 g, 68% 収率) を得た。

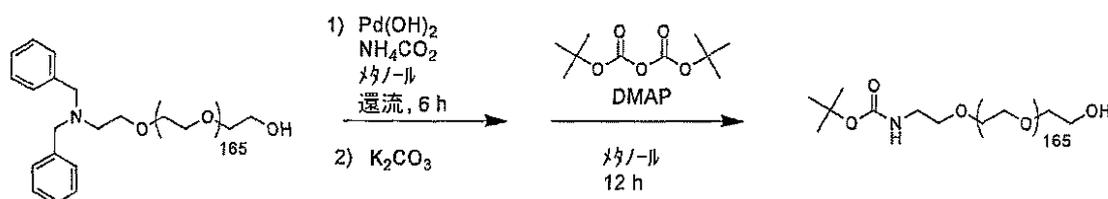
【0376】

【化107】

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ) 7.4-7.2(m, Ar-H), 4.63 (t, CH<sub>2</sub>OH), 3.7-3.3 (br-m, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-). GPC (DMF, PEG 標準)M<sub>n</sub>=7,300; PDI=1.03.

【0377】

【化108】



BOC - アミノ - ポリ (エチレングリコール) - アルコール：250 mL 丸底フラスコに、炭素 (1 g) 上の10%水酸化パラジウムおよびメタノール (100 mL) を加えた。ジベンジルアミノ - ポリ (エチレングリコール) - アルコール (5 g) およびギ酸アンモニウム (5 g) を加え、反応を加熱還流した。6時間後に、炭酸カリウム (10 g) を加え、溶液を還流下でさらに3時間攪拌した。溶液をクロロホルム (300 mL) で希釈し、冷却し、次いで、塩基性アルミナで濾過した。溶媒を蒸発させ、ポリマーをメタノール (100 mL) に再度溶解させた。BOC無水物 (3 g) およびDMAP (1 g) を加え、溶液を室温にて12時間攪拌した。溶媒を除去し、残渣を固相抽出 (液体を、CHCl<sub>3</sub> (1 L) 中の3% MeOH、続いて、ポリマー生成物を含む CHCl<sub>3</sub> (1 L) 中の10% MeOHですすいだ200 mL シリカゲルに充填した)、次いで、冷ジエチルエーテルへの沈殿によって精製して、白色粉末 (4.2 g, 84% 収率) を得た。 40

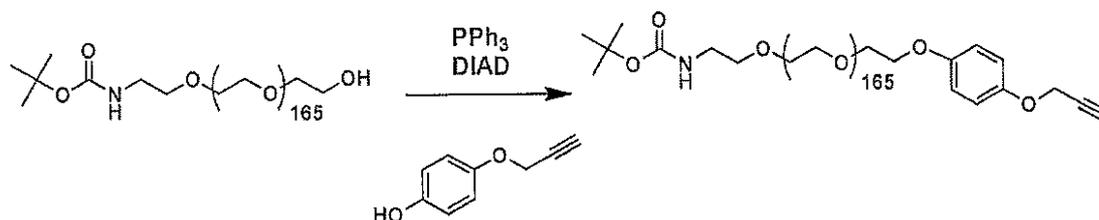
【0378】

【化109】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$ ) 6.82 (br-s,  $\text{CH}_2\text{-NH-CO-}$ ), 4.63 (t,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3.7-3.3 (br-m,  $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-}$ ), 1.40 (s,  $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).

【0379】

【化110】



10

BOC - アミノ - ポリ (エチレングリコール) - アリール - プロパン : 攪拌棒を備えた 50 mL 丸底フラスコに、プロパルギルフェノール (0.37 g, 2.5 ミリモル)、トリフェニルホスフィン (0.53 g, 2 ミリモル)、BOC - アミノ - ポリ (エチレングリコール) - アルコール (3.6 g, 0.5 ミリモル) および THF (10 mL) を加えた。反応を、均一な溶液が存在するまで室温にて攪拌し、次いで、DIAD (0.3 g, 1.5 ミリモル) を加え、反応を室温にて 16 時間攪拌した。次いで、溶媒を減圧下で除去し、得られた粘性液体を固相抽出 (液体を、 $\text{CHCl}_3$  (1 L) 中の 3% MeOH、続いて、ポリマー生成物を含有する  $\text{CHCl}_3$  (1 L) 中の 10% MeOH ですすいだ 200 mL シリカゲルに充填した) によって精製した。純粋な生成物は、冷エーテルへの沈殿後に白色粉末として得た (2.8 g, 77% 収率)。

20

【0380】

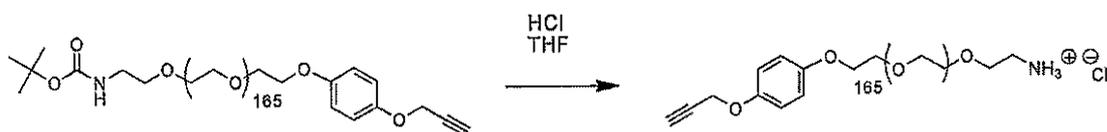
【化111】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$ ) 6.92 (m, Ar-H), 4.68 (s,  $\text{O-CH}_2\text{-7}$ ルキン), 4.04 (s, Ar-O- $\text{CH}_2$ ), 3.7-3.3 (br-m,  $-\text{O-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$ ), 2.55 (t,  $\text{7}$ ルキン-H), 1.42 (s,  $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ )

30

【0381】

【化112】



プロピン - アリール - ポリ (エチレングリコール) - 塩化アンモニウム : 攪拌棒を備えた 50 mL 丸底フラスコに BOC - アミノ - ポリ (エチレングリコール) - アリール - プロピン (2 g, 0.1 ミリモル) および THF (5 mL) を加えた。溶液を、均一な溶液が存在するまで室温で攪拌した。次いで、ジオキサン (5 mL) 中の 4 M HCl を加え、溶液を 2 時間攪拌した。ポリマーを冷エーテルに沈殿させて、白色粉末 (1.7 g, 85% 収率) を得た。

40

【0382】

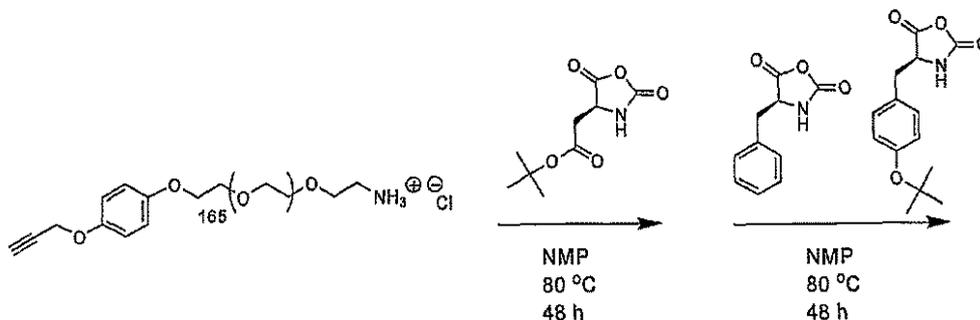
【化 1 1 3】

<sup>1</sup>H NMR

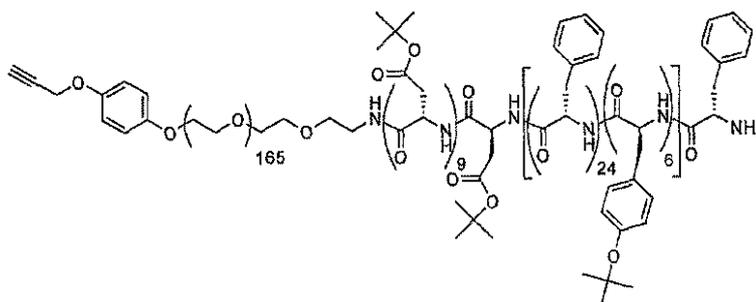
(400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ) 7.76 (br-s, -NH<sub>3</sub>Cl), 6.90 (s, Ar-H), 4.71 (s, O-CH<sub>2</sub>-7ルキン), 4.02 (s, Ar-O-CH<sub>2</sub>), 3.7-3.3 (br-m, -O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-).

【 0 3 8 3】

【化 1 1 4】



10



20

プロピン - アリール - ポリ (エチレングリコール) - b - ポリ (t - ブチルアスパラギン酸) - b - [ポリ (フェニルアラニン) - コ - ポリ (t - ブチルチロシン)] : ガラス攪拌棒およびテフロン (登録商標) バルブを備えた 100 mL 反応容器にプロピン - アリール - ポリ (エチレングリコール) - 塩化アンモニウム (1.46 g, 0.2 ミリモル) および t - ブチルアスパラギン酸 NCA (0.43 g, 2 ミリモル) を加えた。フラスコを 1 時間真空に引き、次いで、アルゴンで逆充填した。無水 NMP (20 mL) をシリンジを介して加え、次いで、フラスコをアルゴン雰囲気下でシールし、80 で攪拌した。48 時間後に、フェニルアラニン NCA (1.26 g, 4.8 ミリモル) および t - ブチルチロシン (0.3 g, 1.2 ミリモル) を真空下で乾燥し、無水 NMP (15 mL) に溶解させ、シュレンク技術を用いて反応溶液に加えた。得られた溶液を 80 にてさらに 48 時間攪拌した。次いで、重合を行い、冷却し、生成物を冷エーテルに沈殿させて、白色固体 (1.6 g, 54%) を得た。

30

【 0 3 8 4】

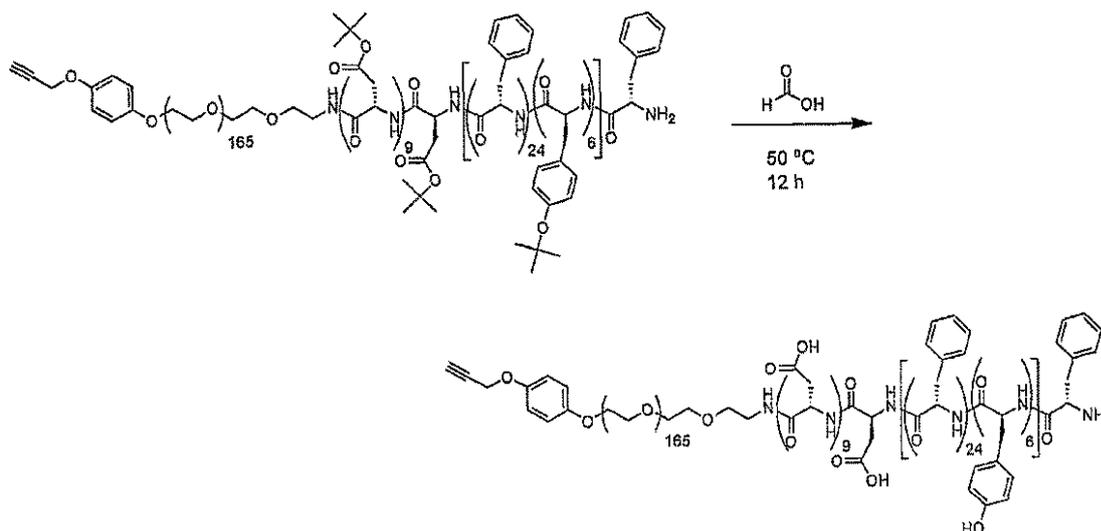
【化 1 1 5】

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>, δ) 8.16, 8.08, 7.95, 7.21, 7.16, 6.91, 6.67, 4.70, 4.52, 4.02, 3.7-3.2, 3.04, 2.69, 2.19, 1.91, 1.37. Mn ~ 11,600 (<sup>1</sup>H NMR による)

40

【 0 3 8 5】

## 【化 1 1 6】



10

プロピン - アリール - ポリ(エチレングリコール) - b - ポリ(アスパラギン酸) - b - [ポリ(フェニルアラニン) - コ - ポリ(チロシン)] : 攪拌棒を備えた 50 mL 丸底フラスコにプロピン - アリール - ポリ(エチレングリコール) - b - ポリ(t - ブチルアスパラギン酸) - b - [ポリ(フェニルアラニン) - コ - ポリ(t - ブチルチロシン)] (1 g) およびギ酸(10 mL)を加えた。溶液を 50 にて 12 時間攪拌し、次いで、溶媒を蒸発させた。残渣をメタノールに溶解させ、溶媒を再度蒸発させた。残渣を再度メタノールに溶解させ、次いで、冷エーテルに沈殿させ、白色粉末を得た。

20

【 0 3 8 6】

【化 1 1 7】

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO- $d_6$ ,  $\delta$ ) 8.13, 8.07, 7.21, 7.18, 7.15, 7.00, 6.87, 6.60, 4.71, 4.52, 4.02, 3.7-3.2, 2.94, 2.74.

## 実施例 3

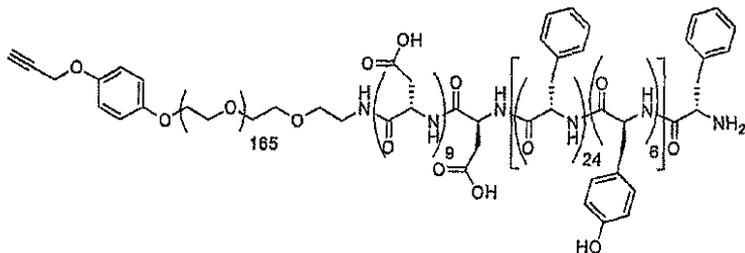
CMC 計算 : マルチブロックコポリマーから調製されたミセルの CMC を、Eisenberg (Astafieva, I.; Zhong, X. F.; Eisenberg, A. "Critical Micellization Phenomena in Block Copolymer Polyelectrolyte Solutions" *Macromolecules* 1993, 26, 7339 - 7352) によって記載された方法を用いて決定した。これらの実験を行うために、一定濃度のピレン ( $5 \times 10^{-7}$  M) を水中の種々の濃度のブロックコポリマー ( $5 \times 10^{-4}$  M ないし  $1 \times 10^{-8}$  M) で 50 にて 2 時間平衡化し、次いで、一晩攪拌した。各試料の蛍光励起スペクトル (390 nm において励起) を調べると、ピレンがジブロックコポリマーミセルに封入されている ( $\lambda_{\text{max}} = 338$  nm) か、あるいは水性溶液中で遊離している ( $\lambda_{\text{max}} = 333$  nm) かが明らかにされた。338 nm および 333 nm の間の強度の比率 ( $I_{338} / I_{333}$ ) をブロックコポリマー濃度の  $\log$  に対してプロットすると、CMC 値のグラフ解釈が可能となる。これらの実験において、1.3 ないし 1.5 の  $I_{338} / I_{333}$  値はブロックコポリマーミセルに封入されたピレンを表し、0.5 ないし 0.6 の  $I_{338} / I_{333}$  値は溶液中で遊離したピレンに対応する (ミセルは存在しない)。プロピン - アリール - ポリ(エチレングリコール) - b - ポリ(アスパラギン酸) - b - [ポリ(フェニルアラニン) - コ - ポリ(チロシン)] についての CMC 実験 (後に示す) は、 $5 \times 10^{-6}$  M の CMC 値を与えた。図 11 参照。

30

40

【 0 3 8 7】

【化 1 1 8】

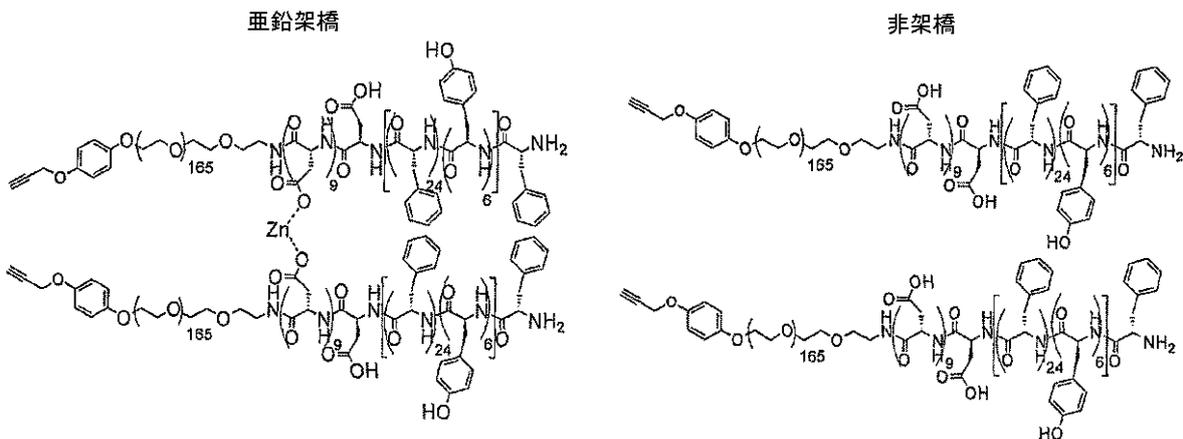


実施例 4

【 0 3 8 8】

【化 1 1 9】

10



20

封入ピレンでの亜鉛架橋ミセルの調製：封入されたピレンを含有する架橋されたミセルは、塩化亜鉛水溶液中のピレンおよびプロピン - アリール - ポリ(エチレングリコール) - b - ポリ(アスパラギン酸) - b - [ポリ(フェニルアラニン) - コ - ポリ(チロシン)]を50 にて2時間、次いで、室温にてさらに16時間攪拌することによって調製した(2.5 × 10<sup>-4</sup> Mポリマー, 0.5 M ZnCl<sub>2</sub>, 5 × 10<sup>-7</sup> Mピレン)。2 mLの0.5 M NaHCO<sub>3</sub>を加え、pHを3.1から8.2まで上昇させ、得られた溶液をさらに2時間攪拌した。溶液を希釈して、1 × 10<sup>-4</sup>、5 × 10<sup>-5</sup>、1 × 10<sup>-5</sup>、5 × 10<sup>-6</sup> Mのポリマー濃度の試料を得た。各試料の蛍光励起スペクトル(390 nmで励起)を調べると、ピレンがジブロックコポリマーミセル中に封入されている(λ<sub>max</sub> = 338 nm)か、または水性溶液中で遊離している(λ<sub>max</sub> = 333 nm)かが明らかとされた。338 nmおよび333 nmの間の強度の比率(I<sub>338</sub>/I<sub>333</sub>)をブロックコポリマー濃度のlogに対してプロットすると、CMC値のグラフ解釈が可能となる。これらの実験において、1.3ないし1.5のI<sub>338</sub>/I<sub>333</sub>値はブロックコポリマーミセルに封入されたピレンを表し、0.5ないし0.6のI<sub>338</sub>/I<sub>333</sub>値は溶液中で遊離しているピレンに対応する(ミセルは存在しない)。対照実験を塩化亜鉛の不存在下で行って、非架橋ミセルに対する希釈の効果を示した。亜鉛架橋ミセルおよび非架橋対照実験の間の比較を図12に示す。

30

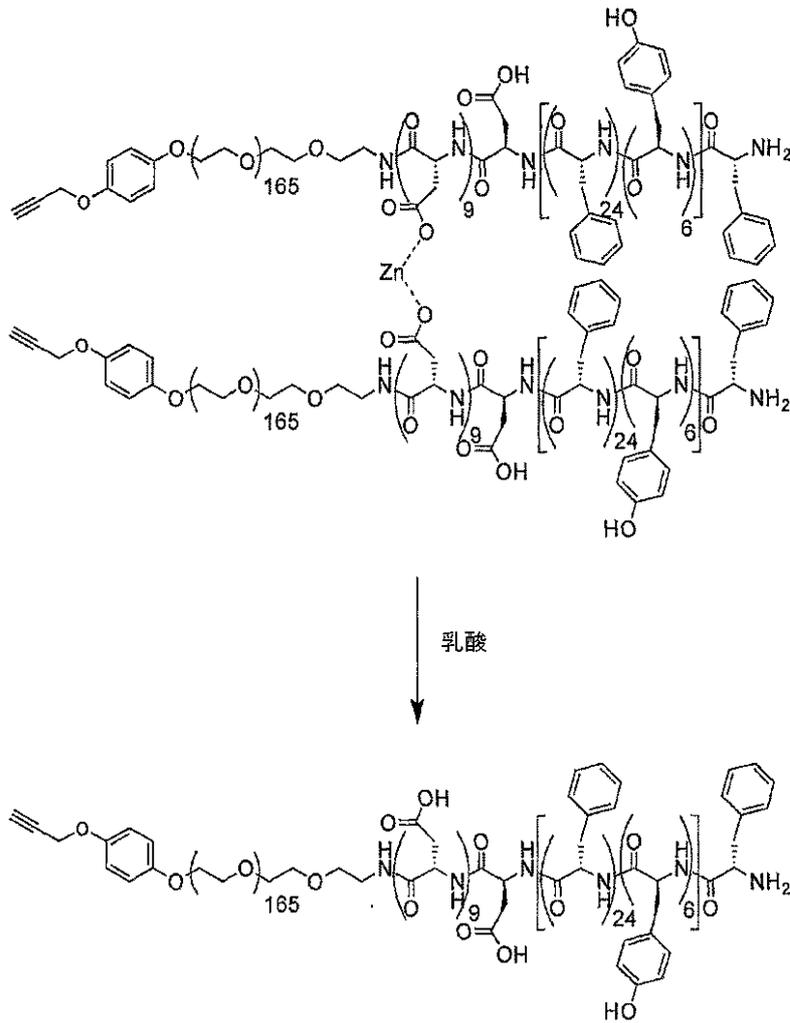
40

【 0 3 8 9】

実施例 5

【 0 3 9 0】

【化 1 2 0】



10

20

pHで調整による亜鉛架橋の逆行：ピレン充填架橋ミセルを酸の添加で架橋解除した。これらの実験では、乳酸（100  $\mu$ L）を架橋したミセル試料の各々に加え、ピレンの蛍光励起スペクトルを記録した。試料のpHは（架橋したミセルについての8.2から）乳酸の添加後におけるpH 3.1まで降下した。乳酸の添加の前および後のピレン充填架橋ミセルのグラフを図13に示す。

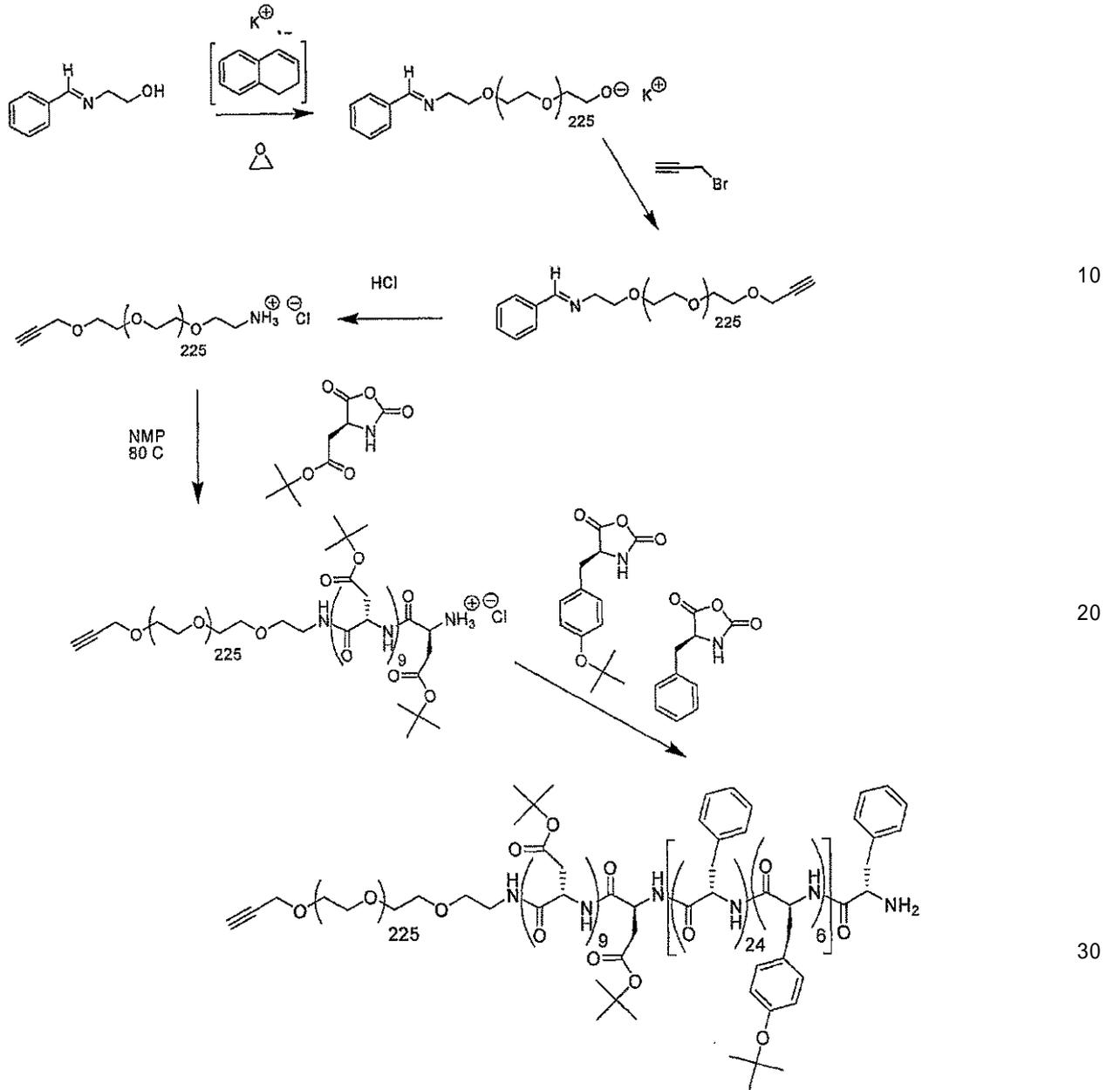
30

【 0 3 9 1】

実施例 6

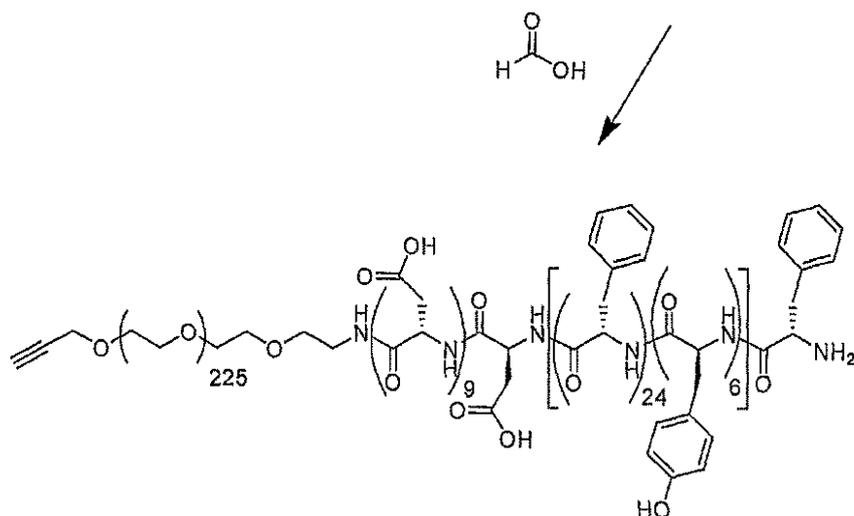
【 0 3 9 2】

【化 1 2 1】



【 0 3 9 3 】

## 【化 1 2 2】



10

## 実施例 7

薬物充填および架橋：実験的には、薬物充填ミセルの充填および架橋は、中性ドキソルピシンおよびブロックコポリマーをエタノールのような極性溶媒に溶解させ、続いて、水を緩衝液にゆっくりと加えることによって行われる。水へのDOXおよびCPTの限定された溶解性のため、薬物がミセルのコアに入れられ、薬物を効果的に封入する。架橋は、少量の炭酸水素ナトリウムと共に塩化亜鉛をミセル溶液に加えて、いずれの塩酸副産物も中和することによって達成される。この塩基性pH環境において、塩化亜鉛とポリ(アスパラギン酸)架橋ブロックとの反応は迅速かつ不可逆的である。架橋されたナノベクターは、限外濾過(Amicon Ultracel YM-30膜)を用いて単離し、引き続いて貯蔵および/または-特徴付け前に凍結乾燥する。未封入薬物は限外濾過プロセスによって除去し、薬物充填を、既知の量の薬物充填ミセル粉末をDMFに溶解させ、従前に決定された消光係数(中性DOXおよびCPTについての(485nmにおけるDOX吸収、370nmにおけるCPT吸収))に基づいてUV-Vis分光法によって薬物濃度を定量することによって定量する。

20

## 【0394】

薬物充填ポリマーミセルを塩化亜鉛添加の前および後に特徴付けて、架橋の有効性を確認し、ミセルの解離が起こるpHを定量する。蛍光分光法は、環境の変化に応答しての架橋されたポリマーミセルからの薬物放出を決定する適切な方法である。というのは、ミセル封入DOXおよびCPTの蛍光は、ミセルコアにおける自己-消光のため無視できるが、その遊離形態においては高度に蛍光性だからである。可逆的架橋の後、定量的蛍光実験を行って、薬物充填ミセルの効果的な架橋および安定性を確認する。例えば、架橋されたミセルを、非架橋ミセルを破壊することが知られている通常の界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム(SDS)で処理する。SDSでの処理の後に、架橋されたおよび非架橋双方の薬物充填ミセルを蛍光顕微鏡を用いて評価して、放出されたDOX(485nmにおける励起、590nmにおける発光)または-CPT(370nmにおける励起、432nmにおける発光)の存在を検出する。非架橋ミセルの場合には、水中の遊離DOXまたは-CPTに生じる蛍光はSDS-誘導ミセル解離のため観察される。

30

40

## 【0395】

## 実施例 8

## 蛍光アッセイ

実験の別の組において、架橋されたポリマーミセル、非架橋ポリマーミセル、および遊離ドキソルピシンの各々の試料を、10%胎児ウシ血清(FBS)を補足したダルベッコの修飾イーグル培地(DMEM)中で37℃にて別々に24時間インキュベートする。この通常に用いられる細胞成長培地を用いて、生理学的条件において遭遇するイオンおよびpH環境を刺激する。3つの試料中のDOXまたは-CPTの濃度を等しい値(例えば、

50

100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) に調整し、蛍光スペクトロスコピーを用いて希釈安定性について評価する。これらの実験において、全ての3つの試料を、(後に記載するピレン蛍光実験を用いて測定された) ポリマーミセルのCMC未満の濃度まで希釈する。蛍光は遊離DOX試料および解離された非架橋ミセルから放出されたDOXで観察されるはずである。もし金属-媒介架橋が先行すれば、架橋されたミセルからの蛍光は観察されるはずがなく、増強されたミセル安定性および限定された薬物放出を示す。

#### 【0396】

定量的な酸滴定実験を架橋された薬物充填ミセルで行って、可逆的ミセル架橋が起こる正確なpH値または-pH範囲を決定する。これらの滴定実験は、 $\sim 7.4$  (血清を含むDMEEM) から4.0までの範囲のpH値において(相対的蛍光単位で報告する) 蛍光を測定することによって行う。DOX充填架橋ミセル溶液のpHは、乳酸または-塩酸(HCl)の増大させる添加によって調整し、小さなpHプローブ(Lazar Ultra-MマイクロpH電極)を用いて攪拌された蛍光細胞において直接的に測定する。滴定曲線は、蛍光-対-溶液pHをプロットすることによって作成し、可逆的架橋が起こるpHは、事項Dに記載されたピレン-CMC実験と同様な外挿によって決定する。コポリマーCMC値未満である希釈容量の利用が必要である。というのは、量子収率の増加によって決定される迅速なミセル解離および薬物放出が、pH可逆性を定量するのに必要である。滴定実験を、いずれのミセル処方がpH6.8(固体腫瘍マイクロ環境)およびpH5.0ないし5.5(エンドソーム区画)において迅速な解離を受けるかを決定するのを最終目標とし、種々の塩化亜鉛/ブロックコポリマー比率にて作成された架橋されたミセルで反復する。遊離薬物-対-pH(対照実験)の量子収率の変化を分析する蛍光実験も行って、擬陽性結果の尤度を最小化する。同定実験は、封入されたカンプトテシンおよび遊離CPTを用い、成功した処方で反復して、pH-感受性解離および放出が異なる封入薬物で変化するかを決定する。我々は、可逆的架橋が利用した薬物とは独立しており、広い範囲の疎水性薬物の使用を可能とすると予測する。カルボン酸-含有治療剤は、亜鉛-媒介架橋と組み合わせて用いる場合、さらなる考慮を必要とするであろうことは理解される。

#### 【0397】

蛍光実験に加えて、ポリマーミセルの光散乱分析を行って、将来のファルマコキネティックおよび生体内分布実験に重要なミセルのサイズおよび形態双方を測定する。ポリマーミセルは、薬物充填の前および後における平均ミセルサイズ(例えば、水力学半径(Rh))およびミセルサイズ分布を測定するためのリン酸緩衝液中の37°Cにおける動的および静的光散乱実験によって分析される。Rhに対する、静的光散乱によって得られる、回転半径(Rg)の比率は、架橋反応の前および後における粒子形態(すなわち、球状ミセル、虫-様ミセル、小胞等)についての重要な情報を供する。

#### 【0398】

##### 実施例9

##### 癌-応答性薬物充填ミセルのイン・ビトロ実験

ブロックコポリマーミセルおよび薬物充填ナノベクターのイン・ビトロテストは、ナノベクターの細胞取込み、およびブロックコポリマー、架橋試薬、および可逆的架橋反応の副産物の潜在的毒性双方についての直接的フィードバックを提供する。ドキシソルピシンおよびカンプトテシンの双方、ならびに他の通常の色素の固有の蛍光を利用し、細胞取込みをモニターし、共焦点レーザー操作型顕微鏡観察を用い、MCF-7(乳癌)、DOX-耐性MCF-7(乳癌)、HeLa(頸癌)、HepG2(肝臓癌)、およびチャイニーズハムスター卵巣(対照)のような細胞系における薬物充填および色素充填ナノベクターのトラフィックをモニターする。加えて、細胞の生存性実験を行い、前記した5つの細胞系における遊離薬物に対してCPTおよびDOXのミセル-封入形態を比較する。

#### 【0399】

##### ナノベクターの細胞取込み、およびイン・ビトロにおける小分子治療剤の放出

蛍光顕微鏡は、リポソームおよびミセルのようなナノ粒子薬物担体の標的細胞内における相互作用および細胞内運命を調べるための頻繁に使用される方法である。癌-応答性ナ

10

20

30

40

50

ノベクターの取込みおよび細胞トラフィッキングを評価するために、ミセル内部で蛍光を  
 発する封入された色素（オレゴングリーンまたは - Cy 5）でミセルを調製し、CLSM  
 で観察する。少量のCy 5は、ミセルコアにおける高濃度での、その高い量子収率および  
 自己 - 消光するその傾向のため取り込まれる。色素充填ミセルをMCF - 7（ATCC、  
 HTB - 22<sup>T M</sup>）、DOX - 耐性MCF - 7（文献のプロトコルに従って調製）、He  
 La（ATCC、CCL - 2<sup>T M</sup>）、Hep G2（ATCC、HB - 8065<sup>T M</sup>）、お  
 よびチャニーズハムスター卵巣（ATCC、CCL - 61<sup>T M</sup>）細胞系において評価し  
 て、ピノサイトーシスによる架橋されたミセルの取込みのバックグラウンド速度をアッセ  
 イする。特に断りのない限り、HeLa、Hep G2、およびチャニーズハムスター卵  
 巣細胞は、10%胎児ウシ血清（FBS）を細くしたDMEM中で成長させる。MCF -  
 7およびDOX - 耐性MCF - 7細胞が、10%加熱 - 不活化FBSを含むRoswell  
 1 Park Memorial Institute（RPMI）培地中で成長させる。共焦点実験では、細胞を、カバーガラス上の（いずれかのバックグラウンド蛍光を確立  
 するための）非充填架橋ミセル、および色素充填架橋ミセル（色素 - 1 μg / mLの存在  
 下で直接的に60ないし70%の密集までインキュベートし、蛍光ナノベクターと共に0  
 .5、1、または - 4時間インキュベートし、フルオロフォア - フリーの設置培地を用い  
 てスライドグラス上に設置する。MCF - 7およびDOX - 耐性MCF - 7細胞の場合に  
 、細胞をPBS pH 7.4で3回洗浄し、次いで、スライドグラス上で設置するに先立  
 って、PBS中の1%ホルムアルデヒド溶液でカバーガラスに10分間固定した。DOX  
 およびCPTは共に治療的に価値があるような細胞進入および細胞質送達を必要とし、種  
 々の細胞培養におけるこれらの基本的な取込み実験は、それらの潜在的臨床的有用性を決定  
 するにおいて重要なホールマークである。一般に、100 nm以下の直径を持つミセル  
 は、ピノサイトーシスによって、区別されないにもかかわらず、細胞によって取り込まれ  
 る。しかしながら、最近の研究は、もしエンドソーム逃避が達成されなければ、薬物充填  
 ナノ粒子もまた迅速なエクソサイトーシスを受けることを示しており、この現象は、結局  
 は、封入された薬物の低下した効率をもたらす。この現象にもかかわらず、これらの同一  
 実験は、受容体 - 媒介エンドサイトーシス（RME）による取込みを受ける標的ナノベク  
 ターは、エクソサイトーシスをより回避する傾向があり、異なる細胞内経路を通して細胞  
 に進入することができる。<sup>7 8</sup>

10

20

細胞 - 標的ナノベクターを含む予備的実験を行って、ピノサイトーシスおよびRMEに  
 よるミセル取込みを比較する。これを達成するためには、アセチレン官能化ミセルを、図  
 14に示すように、クリック化学によってアジド - 含有葉酸または - アジド - 含有GRG  
 DSオリゴペプチドとコンジュゲートさせる。正常な細胞および組織に対して、葉酸受容  
 体は卵巣、結直腸、および乳癌のような多くの表皮悪性疾患において過剰発現され、腫瘍  
 マーカーとして同定されている。RGD - 含有オリゴペプチドは、癌性組織の周りの活発  
 に増殖する内皮で過剰発現される<sup>3</sup>。インテグリンに結合することが示されている。  
 双方の標的基は薬物送達系で広く用いられ、癌細胞になる細胞取込みを促進することが示  
 されている。細胞 - 標的色素充填ミセルの細胞取込みおよび分布は、5つの先に記載した  
 細胞系において評価される。葉酸 - コンジュゲートドポリマーミセルが関連する従前の  
 研究は、受容体 - 媒介エンドサイトーシスは、単純なピノサイトーシスと比較すると、細胞  
 進入のより効果的な方法であることを示唆する。細胞内蛍光によって判断して、高レベ  
 ルの細胞進入を達成する。ミセル処方は、最も有望であるとみなされる。クリックコンジュ  
 ゲーションアプローチを用い、ある範囲のアジド - 官能性細胞 - 標的基を付着させ、こ  
 のアプローチが、多数の異なる細胞系において標的基を迅速に評価するのに有利とする。

30

40

#### 【0400】

色素充填または - 色素 - コンジュゲートド架橋ナノベクターを用いる細胞取込み実験  
 は、取込みおよび放出双方を示すシグナルを供するドキシソルピシンおよびカンプトテシン  
 充填ミセルを含む他の共焦点実験で行われた。先に議論したように、DOXおよびCPT  
 は固有に蛍光性であるが、それらの量子収率は自己消光のためミセルコアにおいて有意に  
 低下する。この特徴を用い、DOX - およびCPT充填ミセルの薬物分布分析は、共焦点

50

顕微鏡観察を用いて5つの先に記載された細胞系で行われる。各細胞系を、DOXまたはCPT無しで(対照)、遊離DOXまたはCPT(1 $\mu$ M)および薬物充填ミセルと共に2ないし24時間インキュベートする(1 $\mu$ M DOXおよびCPTを達成するように調整された非架橋および亜鉛-架橋ミセル濃度)。細胞の核をHoechst 33342(Molecular Probes)で染色し、共焦点顕微鏡観察に先立って培養基をリン酸緩衝液で置き換える。DOXおよびCPTはトポイソメラーゼ阻害剤であって、治療効果を達成するのに核への接近を必要とする。もし薬物充填ミセルが細胞によって取り込まれ、かつエンドソーム区画から逃れることができるならば、DOXおよびCPTからの蛍光が細胞の細胞質および核双方で観察されるはずである。成功したミセル処方の結果、細胞核において高濃度の放出された薬物がもたらされる。DOX-耐性MCF-7細胞における葉酸-標的ミセルおよび非-標的ミセルを含む実験において特別な観察を行う。薬物-耐性癌細胞は、化学療法剤の進入(例えば、P-糖タンパク質(Pgp)発現)または-メカニズムを最小化して、弱塩基性薬物を酸性オルガネラ(例えば、リサイクリングオルガネラ、リソソームおよびトランス-ゴルジネットワーク)に隔離するタンパク質を過剰発現した。

10

## 【0401】

薬物充填ナノベクター、特に、葉酸-標的ミセルはDOX-耐性MCF-7細胞によって取り込まれ、癌細胞に対して実質的に見えないようにし、多薬物耐性を克服するのに対する潜在的に有効なアプローチを供する。薬物充填ミセルを用いる実験もまた、亜鉛-架橋ミセルからの時間依存性放出に関する疑問に答えることができる。例えば、遊離DOXおよびCPTと比較して、架橋されたミセル処方からの薬物放出はかなり長い期間維持されえる。架橋されていないDOX充填ミセルについての従前に報告された実験は、同様な治療効果がより少数の用量およびより低い濃度のミセルDOXで達成されることを示唆する<sup>84</sup>。

20

## 【0402】

## 実施例11

## 細胞傷害性分析

これらの実験で用いるブロックコポリマー成分および試薬は一般には安全と認められるが、実験を行って、もしあれば、5つの細胞系:MCF-7、DOX-耐性MCF-7、HeLa、HepG2およびチャニーズハムスター卵巣におけるそれらの細胞傷害性濃度限界を決定する。細胞生存率テストは、ルシフェラーゼ反応を用いて、培養中の生きた細胞の数を測定する高度に感受性のATP-ベースのアッセイ(Celltiter-Glo<sup>TM</sup>, Promega)を用いて行う。試薬は、適切な緩衝液と混合することによって調製され、次いで、テストすべき細胞を含有するマルチ-ウェルプレートに直接的に加える。2分間混合した後、プレートを室温にて10分間平衡化させ、次いで、プレートリーダーを備えたルミノメーターを用いてルミネセンスを測定する。この特別な方法は、それが少数のプレート-取扱工程に関して均一である故に選択し、データはCelltiter-Glo<sup>TM</sup>試薬を加えて後に数分内に収集し、それは伝統的な比色およびフルオロメーターアッセイ(例えば、MTT、alamarBlue、カルセイン-AM)よりも感受性である。アポトーシスまたは-壊死によるルミネセンス応答に加えて、この特別なアッセイを用いるルミネセンス関係に対する細胞数を変化させることができる他の変数を考慮しなければならない。これらは、ルミネセンス測定に適したマルチ-ウェルプレートの使用、細胞密度によるATP変動、溶解、および細胞からのATPの抽出を確保するための適切な混合を含む。細胞傷害性測定を行う前に、各細胞系を、ウェル当たり0ないし50,

30

40

000細胞の範囲の10の異なる密度で蒔き、前記した細胞生存率アッセイを用いて細胞生存率をテストする。ルミネセンス(相対的ルミネセンス単位)および培養中の細胞の数の間に直線的な関係が存在するので、潜在的なアッセイの問題は標準的な直線的関係からの大きな偏差によって明らかにはずである。また、増殖基における変化させた濃度のATPでのマルチ-ウェルプレートおよびCelltiter-Glo<sup>TM</sup>試薬の添加後のル

50

ミネセンスの記録を用いて調製されたATP標準曲線もまた、アッセイにおける種々の誤差を同定するのに有用である。一般に、ミトコンドリア機能を測定するテトラゾリウム塩MTT細胞生存率アッセイをATP-ベースのアッセイの代わりに用いる。

#### 【0403】

ナノベクターおよび架橋試薬の細胞傷害性を確認するために、前記した5つの細胞系を用いて(DOXまたは-CPTなくして)ブロックコポリマーミセルの種々の濃度を比較する生存実験は、先に詳細に述べたATP-ベースのアッセイを用いて三連で行う。実施形態には、5つの細胞系の各々を80%密集まで成長させ、ウェル当たり7000細胞で蒔き、5%CO<sub>2</sub>での湿潤雰囲気中で37℃にて1日間インキュベートした。インキュベーションの後に、培養基を、0(対照)、5、10、20、または40μg/mL濃度のマルチブロックコポリマーを含有する等しい容量の培地と交換する。これらの濃度の全ては臨界ミセル濃度(保護3μg/mL)を超え、従って、ブロックコポリマーの大部分はミセル形態で存在することに注意すべきである。(DOXまたは-CPT無しの)亜鉛-架橋ミセルもまた、前記した同様な濃度にて細胞系の各々において評価する。5日間にわたって培地を交換せずに1、3および5日にアッセイを行い、細胞生存率を、ブロックコポリマー無しで成長する試料(対照)に対するパーセンテージとして表す。

#### 【0404】

一旦、亜鉛-架橋および非架橋マルチ-ブロックコポリマーミセルの生体適合性が示されると、詳細な細胞生存率実験を行い、それらの架橋および非架橋ミセルアナログに対して遊離DOXおよびCPTを比較する。MCF-7、DOX-耐性MCF-7、HeLa、HepG2およびチャニーズハムスター卵巣細胞を96-ウェルプレートに平板培養し(7,000細胞/ウェル)、適切な培地中で1日間インキュベートする。遊離DOXおよびCPTを0、0.001、0.01、0.1、1、および10μMの濃度にて培地に加え、培地を変化させることなく細胞を1、3、および5日間インキュベートする。先に記載されたプロトコルに従ってCelltiter-Glo<sup>TM</sup>試薬を用いて細胞生存率アッセイを三連で行い、データを平均し、非線形曲線-フィッティングアルゴリズムを用いることによって、最良のフィットシグモイド曲線として薬物濃度に対してプロットする。IC<sub>50</sub>値は、50%細胞生存率をもたらす薬物濃度として報告する。これらの実験を見架橋ミセル、架橋ミセル、および(MCF-7細胞における)葉酸または(HepG2

細胞における)RGD-コンジュゲートド架橋ミセルで反復する。マルチブロックコポリマーの量は、計算されたミセル薬物充填値に基づいて調整して、0、0.001、0.01、0.1、1および10μMの匹敵する薬物濃度を達成する。IC<sub>50</sub>値を各試料組で計算して、いずれの処方がある細胞の殺傷において最も効果的であるかを決定する。細胞生存率を5日間にわたってモニターして、適切なデータ点が得られて、全てのミセル処方を適切に評価することを確保する。例えば、24時間後に、遊離DOXは架橋されたミセル処方と比較すると増強された細胞傷害性を示すが、より長い時間(すなわち5日)にわたるものであり、処方、ミセルコアからの遅い放出のためより効果的であることが判明するであろう。

#### 【0405】

種々の濃度の中性ドキシソルピシンおよびカンプトテシンを薬物充填ミセルと比較する溶血を行って、全ヒト血液から単離された赤血球細胞(RBC)を用いて行う。5.8、6.6、7.4のpH値のPBS中の単離されたRBC(200μL当たり108RBC)を含有するストック溶液を調製し、種々の濃度の薬物、ポリマーミセル、および薬物充填ミセルを3つのRBCストック溶液の各々において、37℃で1時間インキュベートする。インキュベーションの後に、各RBC溶液を遠心に付し、ヘモグロビンの放出を541nmにおいて分光光度法により測定する。変化させるpH値における各試料の溶血活性を、100%近くの溶血を与えると推測される1%v/vトリトンX-100溶液(陽性対照)に対するヘモグロビン放出のパーセンテージとして表す。遊離DOXおよびCPTは、3つのpH値の各々における0(陰性対照)、50、100、200、および4

00  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の濃度で評価する。薬物充填マルチ - ブロックコポリマーミセル ( 亜鉛 - 架橋および非架橋双方 ) を pH 5 . 8、6 . 6、および 7 . 4 でアッセイし、遊離薬物の溶血活性と比較する。合計ポリマー濃度は、公知のミセル薬物充填に依存して、0、50、100、200、および 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  の匹敵する DOX および CPT 濃度を達成する。我々は、ミセル - 封入薬物の溶血活性は、遊離薬物と比較すると劇的に低下すると予測する。DOX 充填 PEG - b - ポリ ( カプロラクトン ) ( PCL ) の以前の溶血実験は同様な濃度で遊離 DOX で観察された有意な溶血 ( > 10% ) と比較して、225  $\mu\text{g}/\text{mL}$  までのミセル形態における DOX の溶血活性を示さない。

【 0 4 0 6 】

我々は本発明の多数の実施形態を記載してきたが、我々の基本的な実施例を改変して、本発明の化合物および方法を利用する他の実施形態を提供できるのは明らかである。従って、本発明の範囲は、実施例によって表された特別な実施形態によるよりはむしろ特許請求の範囲によって定義されるべきであることは認識されよう。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 4 0 7 】

【 図 1 】 図 1 は、本発明のコア架橋ミセル、シェル架橋ミセルおよび外側 - コア架橋ミセルを示す。

【 図 2 】 図 2 は、例示的なジスルフィド架橋反応を示す。

【 図 3 】 図 3 は、例示的なエステル架橋反応を示す。

【 図 4 】 図 4 は、例示的なエステル架橋反応を示す。

【 図 5 】 図 5 は、例示的なヒドラゾン架橋反応を示す。

【 図 6 】 図 6 は、例示的なヒドラゾン架橋反応を示す。

【 図 7 】 図 7 は、例示的なシッフ塩基架橋反応を示す。

【 図 8 】 図 8 は、例示的なシッフ塩基架橋反応を示す。

【 図 9 】 図 9 は、例示的な亜鉛架橋反応を示す。

【 図 10 】 図 10 は、例示的なデュアル架橋反応を示す。

【 図 11 】 図 11 は、プロピン - アリール - ポリ ( エチレングリコール ) - b - ポリ ( アスパラギン酸 ) - b - [ ポリ ( フェニルアラニン ) - コ - ポリ ( チロシン ) ] についての CMC 実験データを示す。

【 図 12 】 図 12 は、亜鉛架橋ミセルおよび非架橋対照実験の間のグラフによる比較を示す。

【 図 13 】 図 13 は、乳酸の添加の前および後におけるピレン充填架橋ミセルのグラフを示す。

【 図 14 】 図 14 は、クリック化学による、アジド - 含有フォレートまたはアジド - 含有 GRGDS オリゴペプチドとアセチレン官能化ミセルとのコンジュゲーションを示す。

10

20

30

【 図 1 】

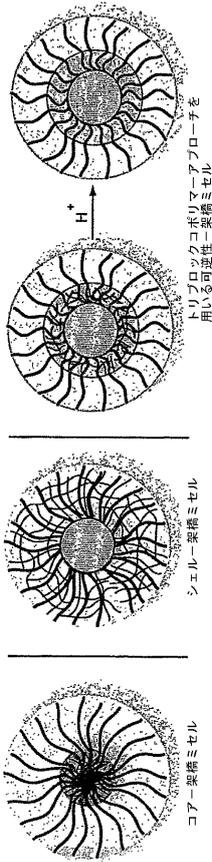


FIGURE 1

【 図 2 】

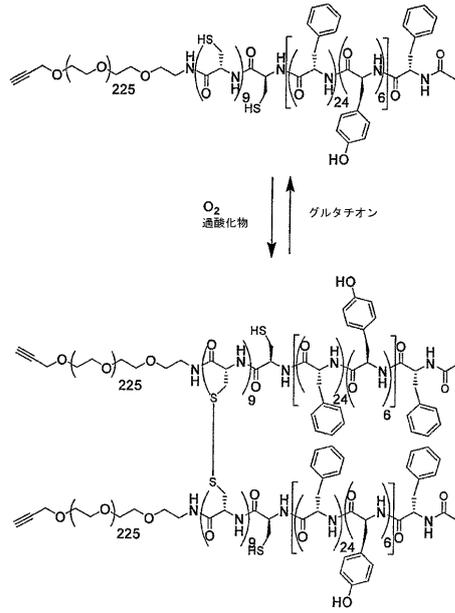


FIGURE 2

【 図 3 】

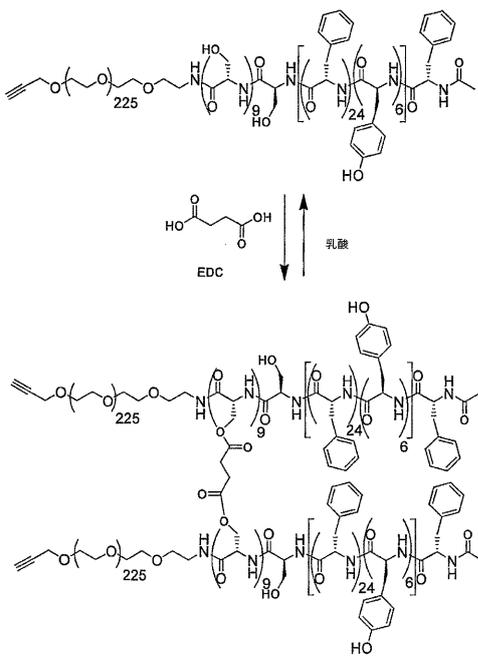


FIGURE 3

【 図 4 】

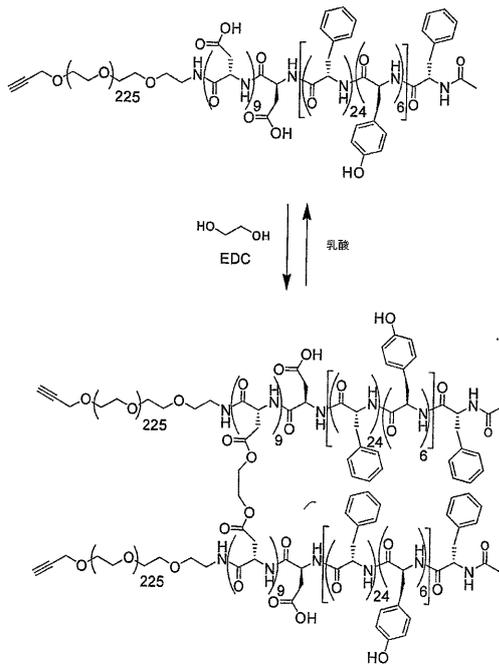


FIGURE 4

【 図 5 】

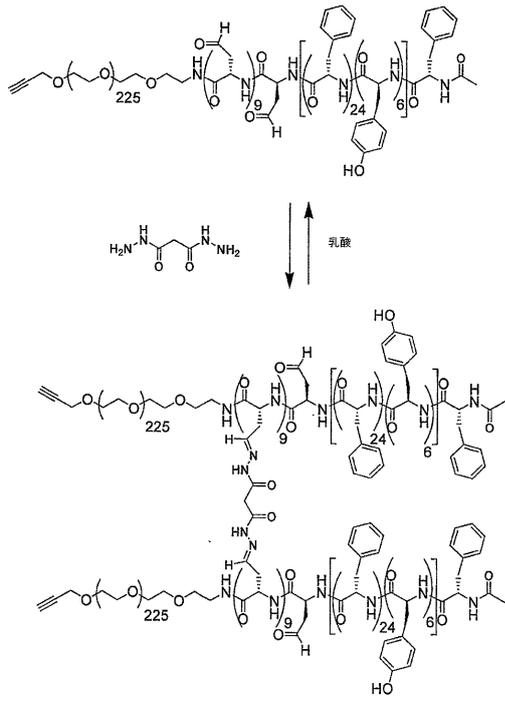


FIGURE 5

【 図 6 】

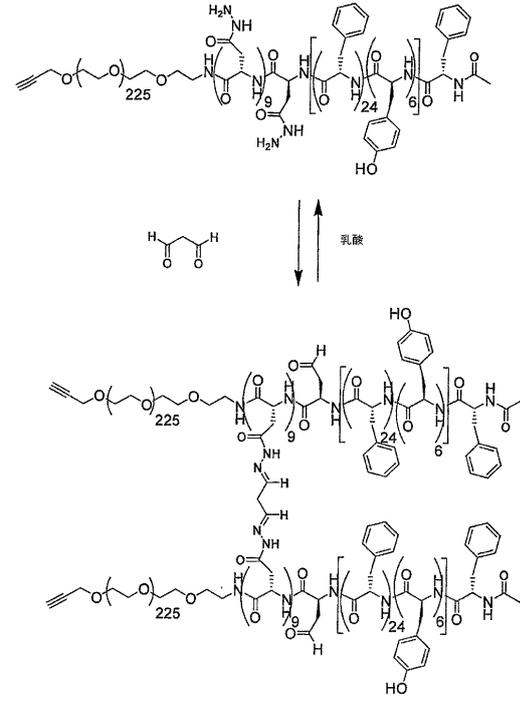


FIGURE 6

【 図 7 】

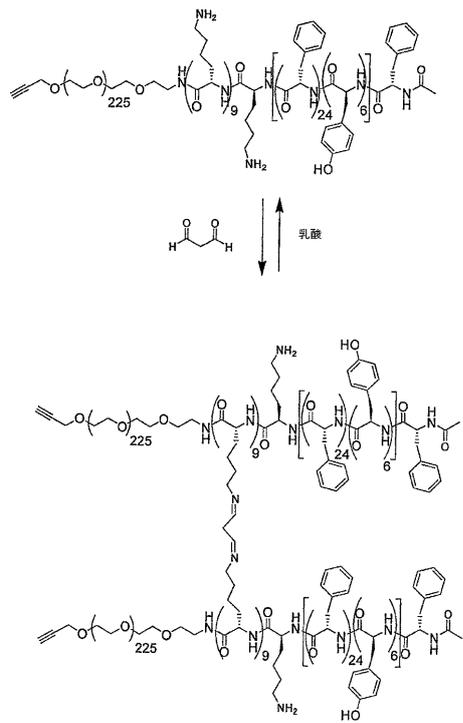


FIGURE 7

【 図 8 】

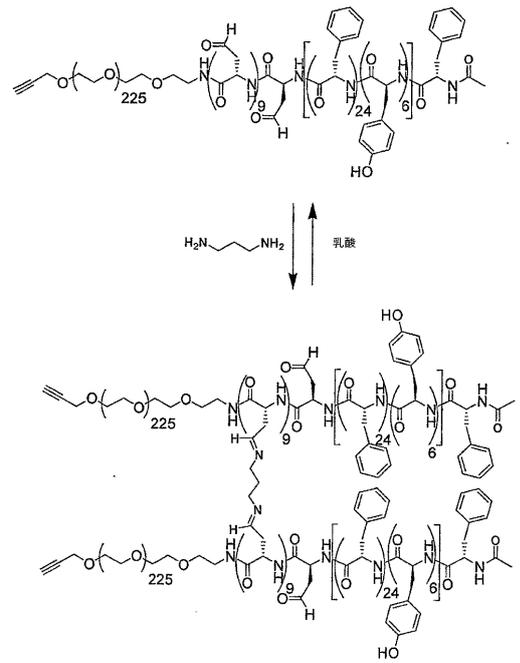


FIGURE 8

【 図 9 】

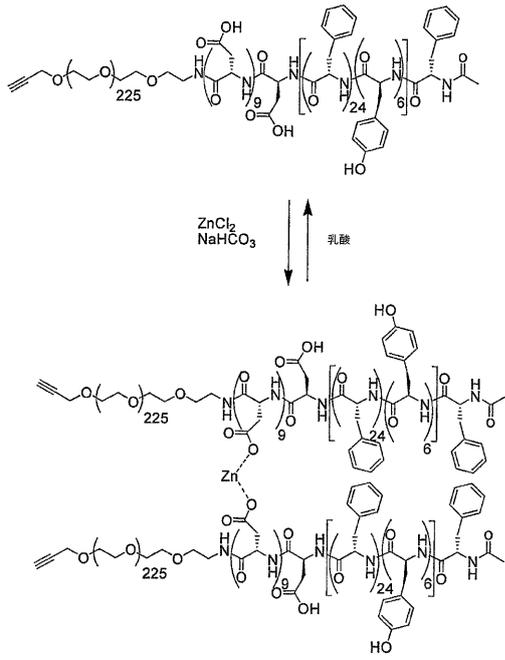


FIGURE 9

【 図 10 】

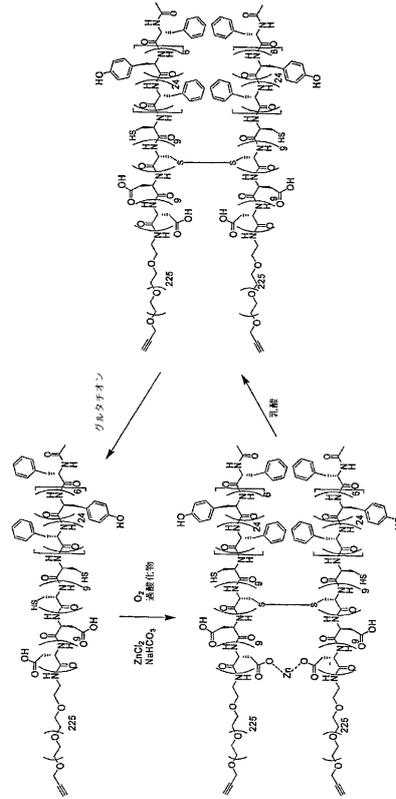


FIGURE 10

【 図 11 】

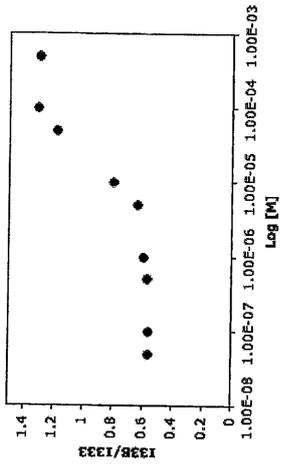


FIGURE 11

【 図 12 】

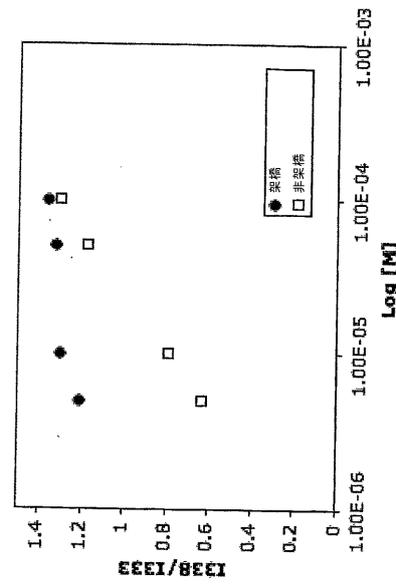


FIGURE 12

【 13 】

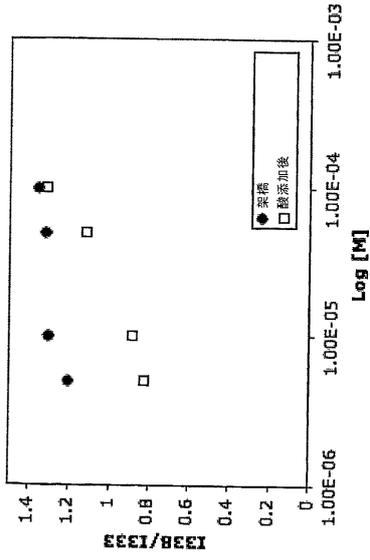


FIGURE 13

【 14 】

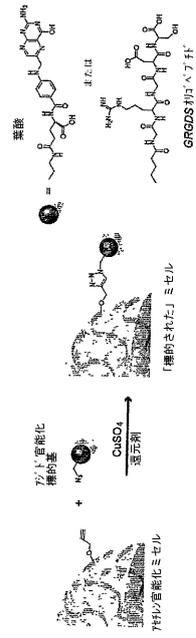


FIGURE 14

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
<b>C 0 8 G 69/40 (2006.01)</b>		C 0 8 G 69/40
<b>C 0 8 G 65/333 (2006.01)</b>		C 0 8 G 65/333
<b>A 6 1 K 31/704 (2006.01)</b>		A 6 1 K 31/704

- (72)発明者 ブライテンカンブ, カート  
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01060, ノーサンプトン, パレット ストリート  
 73, ナンバー2095
- (72)発明者 シル, ケビン  
 アメリカ合衆国 フロリダ 33634, タンパ, ベル チェース サークル 1503
- (72)発明者 スカフ, ハビブ  
 アメリカ合衆国 フロリダ 33606, タンパ, ルサーン アベニュー 489
- (72)発明者 ブライテンカンブ, レベッカ  
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01060, ノーサンプトン, パレット ストリート  
 73 ナンバー2095

審査官 辰己 雅夫

- (56)参考文献 特開2006-199590(JP,A)  
 特開2001-146556(JP,A)  
 Kitazawa Y. et al., Biomacromolecules, 2001年, 2, p.491-497  
 Kitazawa Y. et al., J. Am. Chem. Soc., 1999年, 121, p.11247-11248

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
 A61K 9/00-9/72  
 A61K 47/00-47/48