

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年6月13日(13.06.2024)



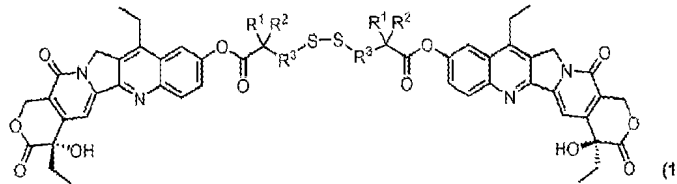
(10) 国際公開番号

WO 2024/122113 A1

- (51) 国際特許分類:
C07D 519/00 (2006.01) A61K 31/4745 (2006.01)
A61K 9/10 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2023/029978
- (22) 国際出願日: 2023年8月21日(21.08.2023)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2022-197306 2022年12月9日(09.12.2022) JP
- (71) 出願人: 国立研究開発法人科学技術振興機構(JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY) [JP/JP]; 〒3320012 埼玉県川口市本町四丁目1番8号 Saitama (JP).
- (72) 発明者: 笠井 均(KASAI Hitoshi); 〒9808577 宮城県仙台市青葉区片平二丁目1番1号 国立大学法人東北大学内 Miyagi (JP). 小関 良卓(KOSEKI Yoshitaka); 〒9808577 宮城県仙台市青葉区片平二丁目1番1号 国立大学法人東北大学内 Miyagi (JP).
- (74) 代理人: 松沼 泰史, 外(MATSUNUMA Yasushi et al.); 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 Tokyo (JP).
- (81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF,

(54) Title: COMPOUND, NANOPARTICLES, MEDICINE AND METHOD FOR PRODUCING NANOPARTICLES

(54) 発明の名称: 化合物、ナノ粒子、医薬、及びナノ粒子の製造方法



(57) Abstract: Disclosed is a compound represented by general formula (1) or a salt thereof. In the formula, each of R¹ and R² independently represents an alkyl group having 1 to 4 carbon atoms; R¹ and R² may combine with each other to form a ring together with carbon atoms to which R¹ and R² are bonded; and each R³ independently represents an alkylene group having 1 to 4 carbon atoms. Also disclosed are nanoparticles that each contain the compound or a salt thereof. Also disclosed is a medicine that contains the compound or a salt thereof. Also disclosed is a method for producing nanoparticles, the method comprising a step in which a water-miscible organic solvent solution of the compound or a salt thereof is injected into water.

(57) 要約: 一般式(1)で表される化合物又はその塩。R¹及びR²は、それぞれ独立に、炭素原子数1~4のアルキル基を表す。R¹及びR²は、相互に結合してR¹及びR²が結合する炭素原子と共に環を形成してもよい。R³は、それぞれ独立に、炭素原子数1~4のアルキレン基を表す。また、前記化合物又はその塩を含むナノ粒子。また、前記化合物又はその塩を含む医薬。また、前記化合物又はその塩の水混和性有機溶媒溶液を水に注入する工程を含む、ナノ粒子の製造方法。

WO 2024/122113 A1

CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

添付公開書類：

- 一 国際調査報告（条約第21条(3)）

明 細 書

発明の名称：化合物、ナノ粒子、医薬、及びナノ粒子の製造方法
技術分野

- [0001] 本発明は、化合物、ナノ粒子、医薬、及びナノ粒子の製造方法に関する。
本願は、2022年12月9日に、日本に出願された特願2022-197306号に基づき優先権を主張し、その内容をここに援用する。

背景技術

- [0002] 近年、キャリアに起因する様々な問題点を回避するため、キャリアフリーなナノ薬剤の開発が行われている。ナノ薬剤の製法としては、薬物血漿を粉碎・破碎するトップダウン法、分子からナノ粒子を作製するボトムアップ法等いくつかの手法が知られている。かかる状況の下、本発明者らは、既に、界面活性剤を構成要件とするミセルとは異なり、界面活性剤を構成要件としない独自の有機ナノ粒子作製手法を開発している（特許文献1）。本発明者らは、さらに、上記ナノ粒子作製手法により作製したSN-38誘導体のナノ粒子が、優れた抗癌活性を有することを報告している（特許文献2）。

先行技術文献

特許文献

- [0003] 特許文献1：特開2019-094260号公報
特許文献2：国際公開第2022/190626号

発明の概要

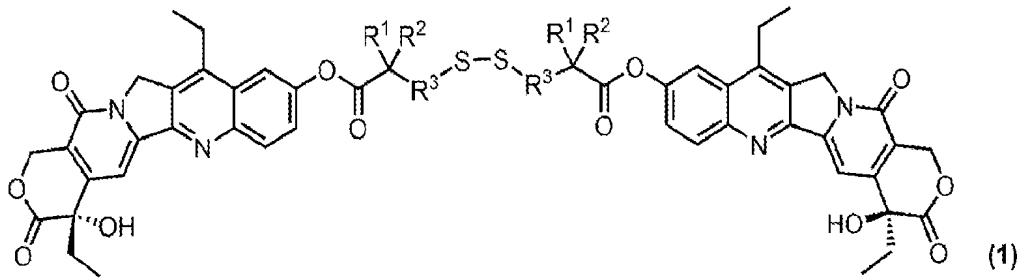
発明が解決しようとする課題

- [0004] 本発明は、腫瘍細胞において薬物放出が可能な新規化合物又はその塩、前記化合物又はその塩を含むナノ粒子、前記化合物又はその塩を含む医薬、及び前記ナノ粒子の製造方法を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

- [0005] 本発明は以下の態様を含む。
[1] 下記一般式（1）で表される化合物又はその塩。

[0006] [化1]



[式中、 R^1 及び R^2 は、それぞれ独立に、炭素原子数1～4のアルキル基を表す。 R^1 及び R^2 は、相互に結合して R^1 及び R^2 が結合する炭素原子と共に環を形成してもよい。 R^3 は、それぞれ独立に、炭素原子数1～4のアルキレン基を表す。]

[0007] [2] ClogPが5.0～14.0である、[1]に記載の化合物又はその塩。

[3] 前記一般式(1)中の R^1 及び R^2 がメチル基である、[1]又は[2]に記載の化合物又はその塩。

[4] 前記一般式(1)中の R^1 及び R^2 がエチル基である、[1]又は[2]に記載の化合物又はその塩。

[5] 前記一般式(1)中の R^3 がエチレン基である、[1]～[4]のいずれか1つに記載の化合物又はその塩。

[6] 前記一般式(1)中の R^3 がプロピレン基である、[1]～[4]のいずれか1つに記載の化合物又はその塩。

[7] [1]～[6]のいずれか1つに記載の化合物又はその塩を含むナノ粒子。

[8] [1]～[6]のいずれか1つに記載の化合物又はその塩を含む医薬。

[9] [7]に記載のナノ粒子を含む、医薬。

[10] 癌の予防又は治療のための[8]に記載の医薬。

[11] 癌の予防又は治療のための[9]に記載の医薬。

[12] [1]～[6]のいずれか1つに記載の化合物又はその塩の水混和

性有機溶媒溶液を水に注入する工程を含む、ナノ粒子の製造方法。

発明の効果

[0008] 本発明によれば、腫瘍細胞において薬物放出が可能な新規化合物又はその塩、前記化合物又はその塩を含むナノ粒子、前記化合物又はその塩を含む医薬、及び前記ナノ粒子の製造方法が提供される。

図面の簡単な説明

[0009] [図1]実施例において作製された化合物(1-1)のナノ粒子及び化合物(2-1)のナノ粒子のSEM写真を示す。図中の目盛り全体幅は $1.0\mu\text{m}$ であり、1目盛りの幅は $0.1\mu\text{m}$ である。

[図2] *in vitro* 活性試験において化合物(1-1)、化合物(2-1)、及びSN-38のヒト乳がん細胞株MCF-7に対する細胞傷害活性を評価した結果を示す。

[図3]還元型ジチオスレイトールを添加したPBS中での化合物(1-1)からのSN-38放出を評価した結果を示す。

[図4]還元型ジチオスレイトールを添加したPBS中での化合物(2-1)からのSN-38放出を評価した結果を示す。

[図5]還元型ジチオスレイトール非添加のPBS中での化合物(1-1)からのSN-38放出を評価した結果を示す。

[図6]還元型ジチオスレイトール非添加のPBS中での化合物(2-1)からのSN-38放出を評価した結果を示す。

[図7]還元型グルタチオンを添加したPBS中での化合物(1-1)からのSN-38放出を評価した結果を示す。

[図8]還元型グルタチオンを添加したPBS中での化合物(2-1)からのSN-38放出を評価した結果を示す。

[図9]還元型グルタチオンを添加したPBS中での化合物(2-2)からのSN-38放出を評価した結果を示す。

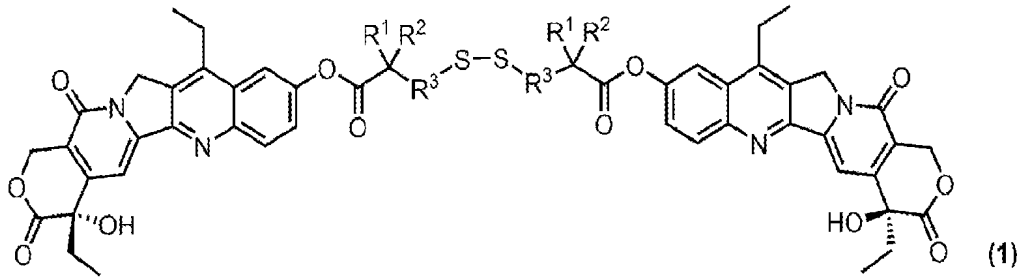
[図10]還元型グルタチオンを添加したPBS中での化合物(2-3)からのSN-38放出を評価した結果を示す。

発明を実施するための形態

[0010] [化合物又はその塩]

本発明の第1の態様は、下記一般式(1)で表される化合物(以下、「化合物(1)」ともいう)又はその塩である。

[0011] [化2]



[式中、 R^1 及び R^2 は、それぞれ独立に、炭素原子数1~4のアルキル基を表す。 R^1 及び R^2 は、相互に結合して R^1 及び R^2 が結合する炭素原子と共に環を形成してもよい。 R^3 は、それぞれ独立に、炭素原子数1~4のアルキレン基を表す。]

[0012] 前記式(1)中、 R^1 及び R^2 は、直鎖状アルキル基でもよく、分岐鎖状アルキル基でもよいが、直鎖状アルキル基が好ましい。 R^1 及び R^2 における直鎖状アルキル基は、炭素原子数1~3が好ましく、炭素原子数1又は2がより好ましく、炭素原子数1がさらに好ましい。直鎖状アルキル基としては、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、*n*-ブチル基が挙げられる。 R^1 及び R^2 における分岐鎖状アルキル基は、炭素原子数3又は4が好ましく、炭素原子数3がより好ましい。分岐鎖状アルキル基としては、イソプロピル基、イソブチル基、*tert*-ブチル基、*sec*-ブチル基が挙げられる。

[0013] R^1 及び R^2 は、互いに同じでもよく、異なってもよい。合成の容易さの観点から、 R^1 及び R^2 は互いに同じであることが好ましい。2つの R^1 は、互いに同じでもよく、異なってもよい。合成の容易さの観点から、2つの R^1 は互いに同じであることが好ましい。2つの R^2 は、互いに同じでもよく、異なってもよい。合成の容易さの観点から、2つの R^2 は互いに同じであることが好ましい。

[0014] R^1 及び R^2 の好ましい組合せとしては、 R^1 及び R^2 が全てメチル基； R^1 及び R^2 が全てエチル基； R^1 及び R^2 が全て n -プロピル基； R^1 及び R^2 が全て n -ブチル基； R^1 及び R^2 が全てイソプロピル基； R^1 及び R^2 が全てイソブチル基； R^1 及び R^2 が全て $tert$ -ブチル基； R^1 及び R^2 が全て sec -ブチル基； R^1 がメチル基で R^2 がエチル基； R^1 がメチル基で R^2 が n -プロピル基； R^1 がメチル基で R^2 が n -ブチル基； R^1 がエチル基で R^2 が n -プロピル基； R^1 がエチル基で R^2 が n -ブチル基； R^1 が n -プロピル基で R^2 が n -ブチル基；等が挙げられる。中でも R^1 及び R^2 は、メチル基又はエチル基が好ましく、 R^1 及び R^2 の全てがメチル基であるか、 R^1 及び R^2 の全てがエチル基であることがより好ましく、 R^1 及び R^2 の全てがメチル基であることがさらに好ましい。

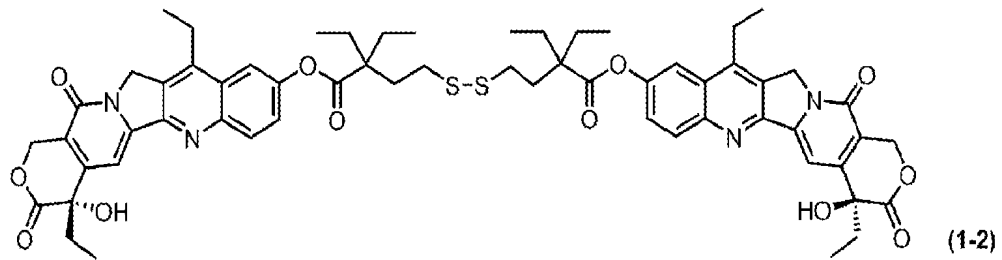
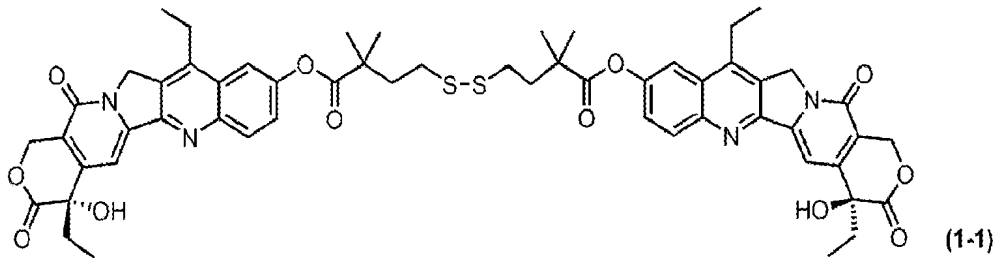
[0015] R^1 及び R^2 は、相互に結合して R^1 及び R^2 が結合する炭素原子と共に環を形成してもよい。 R^1 及び R^2 が相互に結合して形成する基としては、炭素原子数4~5のアルキレン基が好ましく挙げられる。 R^1 及び R^2 が、 R^1 及び R^2 が結合する炭素原子と共に形成する環式基としては、より具体的には、シクロブチル基、シクロヘキシル基等が挙げられる。

[0016] 前記式(1)中、 R^3 は、直鎖状アルキレン基でもよく、分岐鎖状アルキレン基でもよいが、直鎖状アルキレン基が好ましい。 R^3 における直鎖状アルキレン基は、炭素原子数2又は3が好ましく、炭素原子数2がより好ましい。 R^3 における直鎖状アルキレン基としては、メチレン基、エチレン基、 n -プロピレン基、 n -ブチレン基が挙げられる。 R^3 における分岐鎖状アルキレン基は、炭素原子数2~4が好ましく、炭素原子数3がより好ましい。 R^3 における分岐鎖状アルキレン基としては、 $-CH(CH_3)-$ 、 $-CH(CH_2CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2-$ 、 $-C(CH_3)(CH_2CH_3)-$ 等のアルキルメチレン基； $-CH(CH_3)CH_2-$ 、 $-CH(CH_3)CH(CH_3)-$ 、 $-C(CH_3)_2CH_2-$ 、 $-CH(CH_2CH_3)CH_2-$ 等のアルキルエチレン基； $-CH(CH_3)CH_2CH_2-$ 、 $-CH_2CH(CH_3)CH_2-$ 等のアルキルトリメチレン基等が挙げられる。

[0017] 2つのR³は、互いに同じでもよく、異なってもよい。合成の容易さの観点から、2つのR³は、同じであることが好ましい。R³は、エチレン基又はn-プロピレン基が好ましく、2つのR³の両方がエチレン基又はn-プロピレン基であることがより好ましく、2つのR³の両方がエチレン基であることがさらに好ましい。

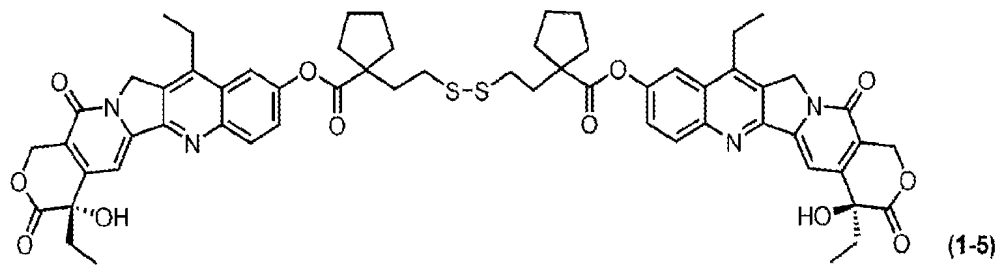
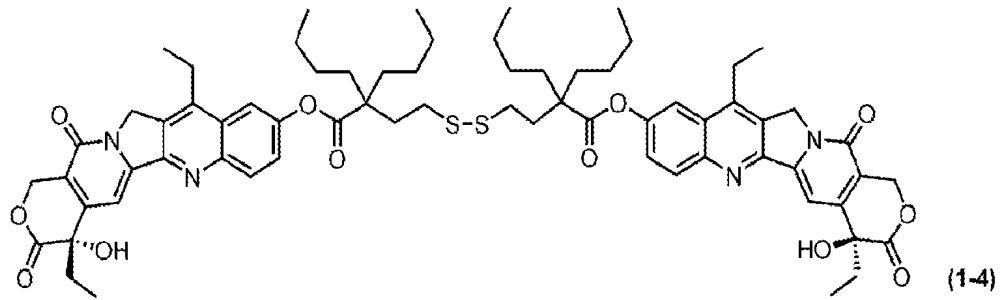
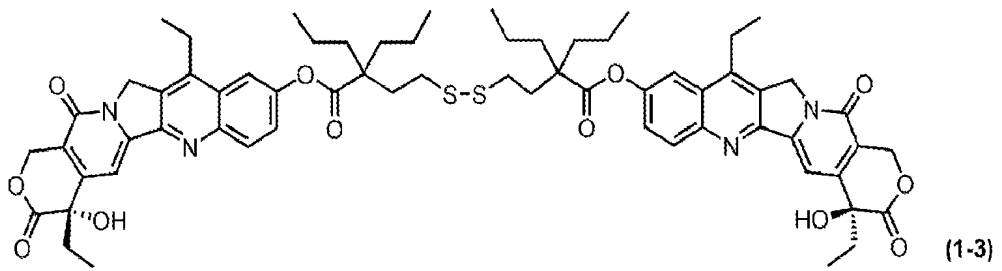
[0018] 化合物(1)の具体例を以下に示すが、これらに限定されない。

[0019] [化3]

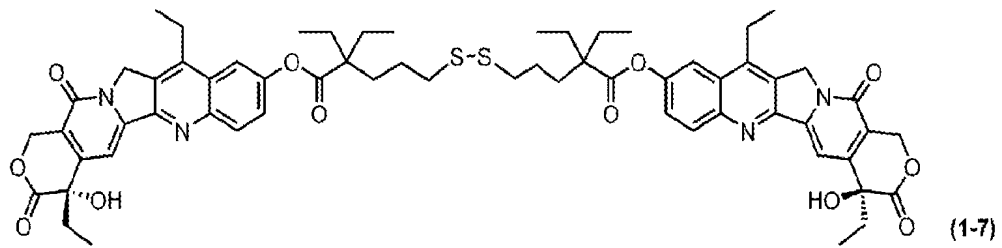
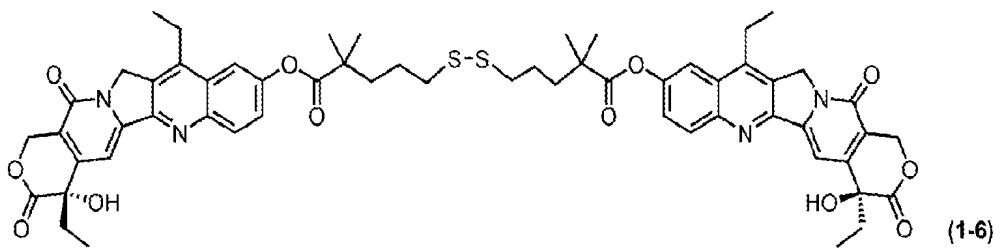


[0020]

[化4]

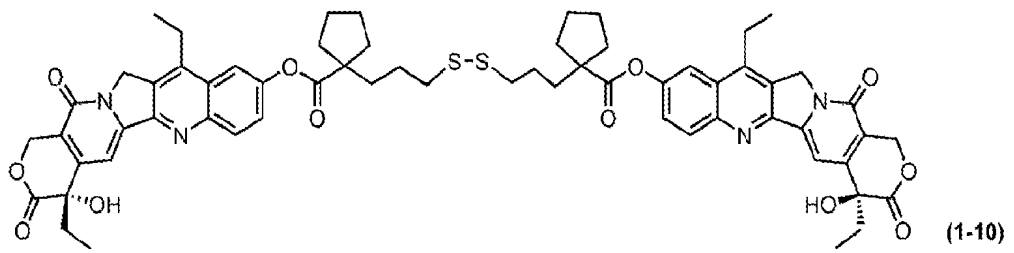
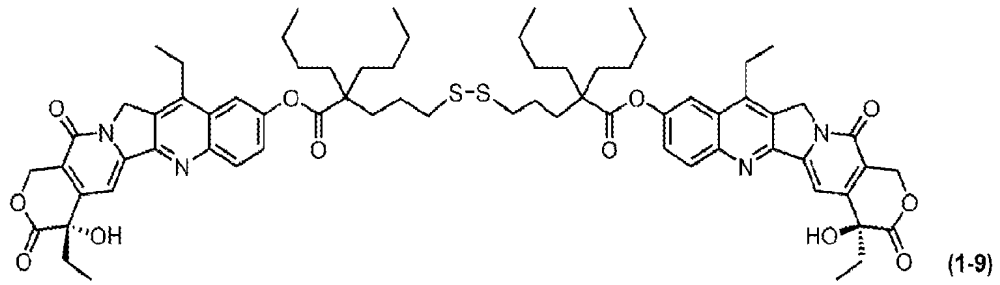
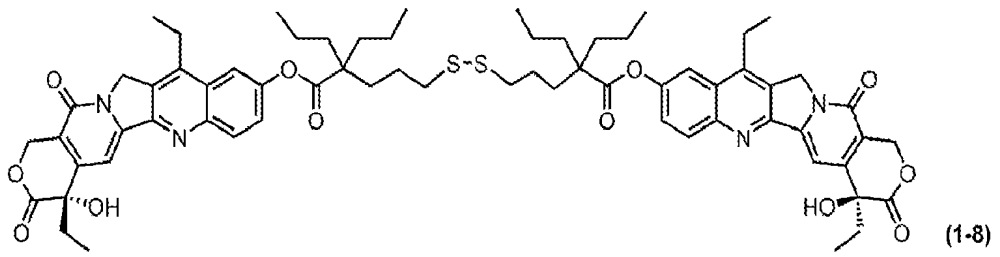


[0021] [化5]

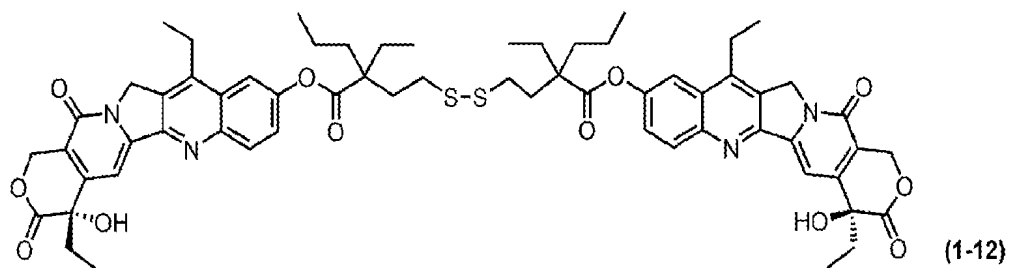
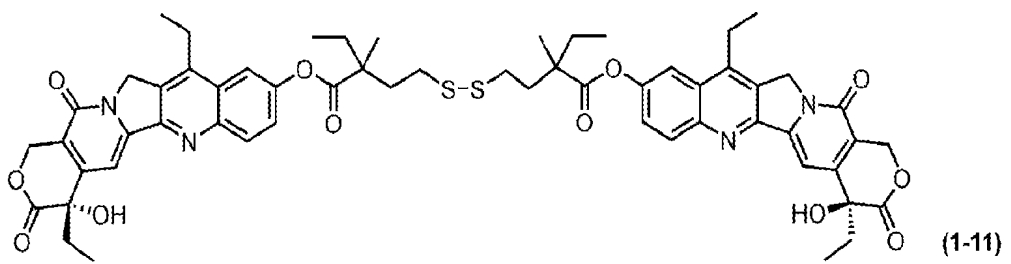


[0022]

[化6]

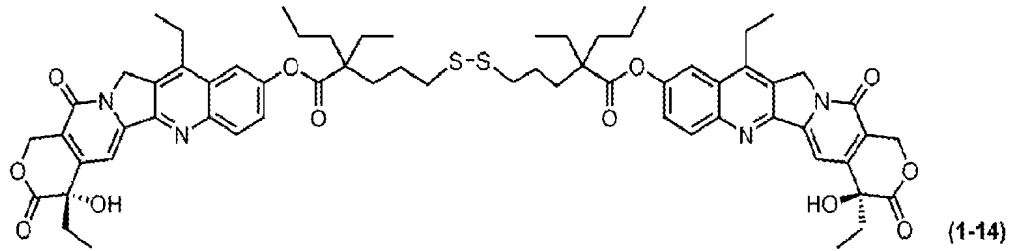
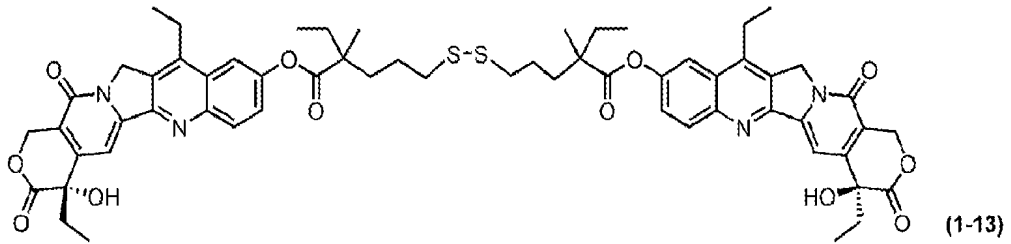


[0023] [化7]



[0024]

[化8]



[0025] 化合物（１）は、塩の形態であってもよい。「塩」とは、薬学的に許容され得る塩を意図する。化合物（１）の塩は、酸付加塩と塩基との塩を包含する。酸付加塩の具体例としては、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、過塩素酸塩、リン酸塩等の無機酸塩；シュウ酸塩、マロン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、乳酸塩、リンゴ酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、安息香酸塩、トリフルオロ酢酸塩、酢酸塩、メタンスルホン酸塩、*p*-トルエンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩等の有機酸塩；及びグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩等の酸性アミノ酸塩が挙げられる。塩基との塩の具体例としては、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩；ピリジン塩、トリエチルアミン塩等の有機塩基との塩；リジン、アルギニン等の塩基性アミノ酸との塩等が挙げられる。

[0026] 化合物（１）又はその塩は、水和物又は溶媒和物の形態であってもよい。溶媒和物を形成する溶媒としては、エタノール、プロパノール等のアルコール；酢酸等の有機酸；酢酸エチル等のエステル類；テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル等のエーテル類；アセトン等のケトン類；ジメチルスルホキシド（DMSO）等が挙げられる。

[0027] 化合物（１）に、幾何異性体、立体異性体、光学異性体等の異性体が存在

する場合、特に明記しない限り、これらの異性体は化合物（１）に包含される。

[0028] 化合物（１）又はその塩は、抗腫瘍剤、より具体的には、抗腫瘍剤のプロドラッグとして使用される。従って、化合物（１）又はその塩は、血中での加水分解（カーボネート部位の開裂によるプロドラッグ分子からの活性成分の放出）が抑制され、かつ腫瘍細胞内では加水分解されて活性成分であるSN-38又はその誘導体を生成することが好ましい。

[0029] 後述する実施例で示すように、化合物（１）は、還元剤（還元型ジチオスレイトール（DTT）、還元型グルタチオン（GSH））の非存在下では安定であり、活性成分（SN-38又はその誘導体）の放出は生じない。一方、化合物（１）は、還元剤（還元型DTT、還元型GSH）の存在下では、活性成分（SN-38又はその誘導体）を放出する。

生体のメタボリズムにとって重要な役割を果たすGSHは、低分子量の生体内還元剤である。一般的に、腫瘍細胞内のGSH濃度は、正常細胞内のGSH濃度よりも高い。腫瘍細胞におけるGSH濃度では、細胞外のGSH濃度の100~1000倍にもなること等が報告されている。これは、腫瘍細胞が増殖するために必要な酸化ストレスから自己を保護するために、腫瘍細胞が、細胞内のGSH濃度を上昇させる機構を獲得することが主な原因であると言われている（Traverso, N. et al., *Oxid Med Cell Longev.* 2013; 2013: 972913; 科学研究費助成事業 研究成果報告書 平成29年6月3日、課題番号：15H06175、研究課題名（和文）：グルタチオン感受性蛍光プローブを用いた頭頸部癌における酸化ストレス耐性機構の解明、研究代表者：吉田昌史）。細胞内のGSHは、通常、ほとんど（98%以上）が還元型として存在している。

腫瘍細胞は、増殖と生存に必要なエネルギーを生成するために、正常な細胞とは異なる代謝経路を獲得している。正常な細胞では、通常、酸素を使用してATPを生成する酸化的リン酸化によりエネルギーを生成している。一方、腫瘍細胞では、好氣的解糖（Warburg効果）によりエネルギーを

生成している。好氣的解糖の経路では、グルコースをピルビン酸に代謝し、ピルビン酸を乳酸に代謝する。腫瘍細胞では、好氣的解糖の側副路であるペントースリン酸回路により還元型グルタチオンが合成され、細胞内の還元型グルタチオン濃度が増加するといわれている。腫瘍細胞では、正常細胞よりも還元型グルタチオン濃度が高く、これにより酸化ストレス耐性を示すといわれている。

[0030] 後述の実施例で示すように、化合物(1)は、還元型グルタチオンの存在下で、活性成分であるSN-38又はその誘導体を放出する(図7参照)。また、化合物(1)は、正常細胞内では、SN-38を放出することなく、安定に維持される(図6参照)。

そのため、化合物(1)は、腫瘍細胞において特異的に活性成分を放出するプロドラッグ型抗癌剤として好適に用いることができる。化合物(1)を含むナノ粒子は、還元型グルタチオン等の還元剤の存在下でSN-38又はその誘導体を持続的に放出する。そのため、化合物(1)を含むナノ粒子を含む薬剤は、SN-38又はその誘導体の徐放性剤として用いることができる。

[0031] 血中の加水分解耐性、ナノ粒子作製の際に要求される分散安定性、及びがん細胞内での選択的な薬物放出性等の観点から、化合物(1)としては、 $C\log P$ が5.0~14.0であるものが好ましく、5.0~12.0であるものがより好ましい。 $C\log P$ とは、ChemDraw Professional 16.0の「 $C\log P$ 」プログラムを用いて対象化合物の構造式から算出した、オクタノール/水分配係数である $\log P$ である。

[0032] 化合物(1)の代表的な化合物(上記化合物(1-1)~(1-14))について $C\log P$ の値を表1に示す。

[0033]

[表1]

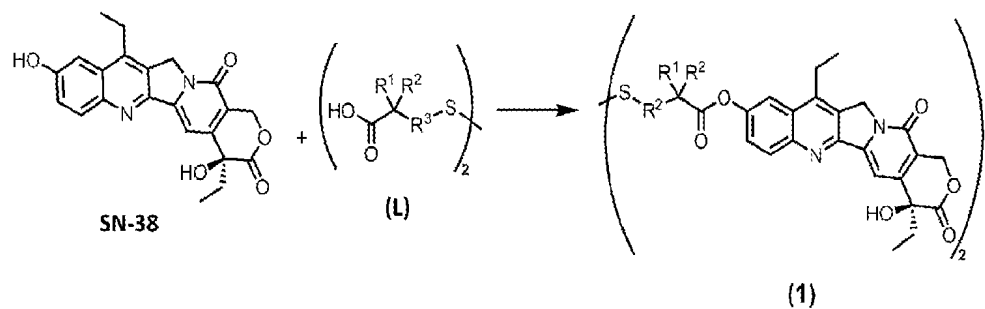
化合物	ClogP
化合物(1-1)	5.9
化合物(1-2)	8.0
化合物(1-3)	10.1
化合物(1-4)	11.9
化合物(1-5)	7.4
化合物(1-6)	6.5
化合物(1-7)	8.7
化合物(1-8)	10.8
化合物(1-9)	12.5
化合物(1-10)	8.1
化合物(1-11)	7.0
化合物(1-12)	9.1
化合物(1-13)	7.6
化合物(1-14)	9.7

[0034] <化合物(1)の製造方法>

化合物(1)は、種々の方法により製造され得る。化合物(1)は、例えば、下記式(1)の反応(以下、「反応(1)」ともいう)により製造することができる。

[0035] [化9]

(I)



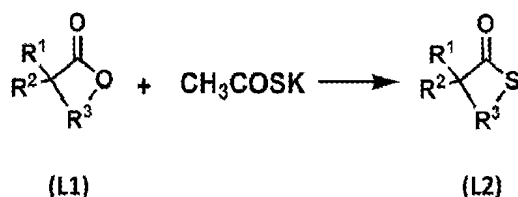
[式中、 R^1 及び R^2 は、それぞれ独立に、炭素原子数1~4のアルキル基を表す。 R^1 及び R^2 は、相互に結合して R^1 及び R^2 が結合する炭素原子と共に環を形成してもよい。 R^3 は、それぞれ独立に、炭素原子数1~4のアルキル

ン基を表す。]

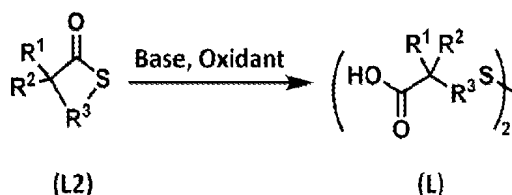
- [0036] 反応(1)においては、SN-38と、化合物(L)とを反応させて、化合物(1)を得る。SN-38と上記化合物(L)との使用割合は特に限定されないが、例えば、前者1モルに対し後者を0.4~0.5モルの範囲で使用することができる。反応(1)の反応温度は特に限定されず、通常、室温、冷却又は加熱下で反応が行われる。反応温度としては、例えば、0~90℃等が挙げられ、20~90℃が好ましい。反応(1)の反応時間は特に限定されないが、例えば、1~50時間とすることができる。
- [0037] 反応(1)は、4-ジメチルアミノピリジン(DMAP)、トリエチルアミン(TEA)、ピリジン等の塩基の存在下で行うことができる。反応(1)には、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC·HCl)等のカルボジイミド系縮合剤を用いてもよい。
- [0038] 反応(1)は、通常、反応に悪影響を及ぼさない慣用の溶媒中で行うことができる。反応溶媒としては、例えば、ジクロロメタン、トリエチルアミン、アセトン、メチルエチルケトン、テトラヒドロフラン、ジオキサン、ジエチルエーテルジグライム、アセトニトリル、N,N-ジメチルホルムアミド、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらから選択される2種以上の混合溶媒等が挙げられる。
- [0039] 反応(1)で用いられる化合物(L)は、種々の方法により製造され得る。化合物(L)は、例えば、下記式(11)の反応(以下、「反応(11)」ともいう)及び下記式(111)の反応(以下、「反応(111)」ともいう)により製造することができる。
- [0040]

[化10]

(II)



(III)



[式中、R¹及びR²は、それぞれ独立に、炭素原子数1～4のアルキル基を表す。R¹及びR²は、相互に結合してR¹及びR²が結合する炭素原子と共に環を形成してもよい。R³は、それぞれ独立に、炭素原子数1～4のアルキレン基を表す。]

[0041] 反応(11)においては、化合物(L1)とチオ酢酸カリウム(CH₃CO SK)とを反応させて化合物(L2)を得る。化合物(L1)とチオ酢酸カリウムとの使用割合は特に限定されないが、例えば、前者1モルに対し後者を1モル以上の範囲で使用することができる。好ましくは、前者1モルに対し後者を1.2～1.6モルの範囲で使用することがよい。反応(11)の反応温度は特に限定されず、通常、加熱下で反応が行われる。反応温度としては、例えば、100～200℃等が挙げられ、120～170℃が好ましい。反応(11)の反応時間は特に限定されないが、例えば、1～24時間とすることができる。

尚、化合物(L1)は、市販の製品を購入し用いてもよく、当該化合物の合成方法が記載される公知文献等に基づき調製してもよい。

[0042] 反応(11)は、通常、反応に悪影響を及ぼさない慣用の溶媒中で行うことができる。反応溶媒としては、例えば、ジメチルアセトアミド(DMA)

等の高沸点の極性溶媒が挙げられる。

[0043] 反応(111)においては、化合物(L2)を塩基の存在下で加水分解させた後、酸化剤の存在下でジスルフィド結合を形成させて、化合物(L)を得る。塩基としては、例えば、水酸化カリウム、水酸化ナトリウムが挙げられる。酸化剤としては、例えば、ヨウ素が挙げられる。ヨウ素は、ヨウ化カリウムに溶解して、反応液に添加することができる。反応(111)の反応温度は特に限定されず、通常、室温、冷却又は加熱下で反応が行われる。加水分解反応の反応温度としては、例えば、0~120℃等が挙げられ、20~110℃が好ましい。酸化反応の反応温度としては、例えば、0~50℃が挙げられ、20~50℃が好ましい。反応(111)の反応時間は特に限定されない。例えば、加水分解反応について、1~24時間とすることができる。例えば、酸化反応について、1~24時間とすることができる。

[0044] 反応(111)は、通常、反応に悪影響を及ぼさない慣用の溶媒中で行うことができる。反応溶媒としては、例えば、水、ジクロロメタン、トリエチルアミン、アセトン、メチルエチルケトン、テトラヒドロフラン、ジオキサン、ジエチルエーテルジグライム、アセトニトリル、N,N-ジメチルホルムアミド、及びジメチルスルホキシド、並びにこれらから選択される2種以上の混合溶媒等が挙げられる。

[0045] [ナノ粒子]

本発明の第2の態様は、化合物(1)又はその塩を含むナノ粒子である。「ナノ粒子」とは、平均粒子径が1 μ m未満の粒子を示す。典型的な実施形態において、ナノ粒子は、略球形である。ナノ粒子の平均粒子径は、走査型電子顕微鏡(SEM)又は動的光散乱法(DLS)により測定することができる。ナノ粒子の平均粒子径は、好ましくは10~500nmであり、より好ましくは10~100nmである。ナノ粒子は、典型的には、後述する方法により化合物(1)又はその塩の水混和性有機溶媒溶液を水に注入し、分散させることにより調製することができる。従って、典型的な実施形態において、本態様のナノ粒子は、化合物(1)又はその塩の有機ナノ結晶である

ため、実質的に化合物（１）又はその塩のみからなる。ただし、本発明の効果が得られる範囲において、本態様のナノ粒子は、化合物（１）又はその塩以外の成分（例えば、ナノ粒子の製造に用いた水混和性有機溶媒に対する添加物等）を含んでいてもよい。ナノ粒子における化合物（１）又はその塩の含有量は、例えば、９５質量以上が好ましく、９９質量％以上がより好ましく、９９．９質量％以上がさらに好ましい。

[0046] [ナノ粒子の製造方法]

本発明の第３の態様は、第２の態様のナノ粒子の製造方法である。本態様の製造方法は、化合物（１）又はその塩の水混和性有機溶媒溶液を水に注入する工程（以下、「注入工程」）を含む。

[0047] <注入工程>

化合物（１）又はその塩の水混和性有機溶媒溶液（以下、単に「水混和性有機溶媒溶液」ともいう）を水に注入する方法は特に限定されない。例えば、シリンジ等を用いて、水混和性有機溶媒溶液を水に注入することができる。水混和性有機溶媒溶液の水への注入により、化合物（１）又はその塩が結晶化又は粒子化する。その結果、化合物（１）又はその塩のナノ粒子の水分散液を得ることができる。

[0048] 「水混和性有機溶媒」とは、水との混和性を有する有機溶媒である。水混和性有機溶媒は、化合物（１）又はその塩の良溶媒であれば特に限定されない。水混和性有機溶媒としては、例えば、テトラヒドロフラン、アセトン、ジオキサン、アセトニトリル、メタノール、エタノール、プロパノール、N-メチルピロリドン、ジメチルスルホキシド等が挙げられる。水混和性有機溶媒は、化合物（１）の溶解性及び安全性の観点から、アセトン、テトラヒドロフラン、エタノール、ジメチルスルホキシド等が好ましい。これらの溶媒は一種単独で又は複数種類を混合して使用することができる。

[0049] 水混和性有機溶媒溶液における化合物（１）又はその塩の含有量は特に限定されないが、例えば、０．１～１５質量％、好ましくは０．１～１０質量％の範囲で適宜設定できる。水混和性有機溶媒溶液には、化合物（１）又は

その塩以外に、ポリソルベート 80 (PS80)、ポリビニルピロリドン (PVP) 等を添加してもよい。水に注入する、化合物 (1) 又はその塩の水混和性有機溶媒溶液の量は特に限定されないが、例えば、水 10 mL に対し、水混和性有機溶媒溶液を 0.1~1 mL、好ましくは 0.1~0.2 mL 添加することができる。注入時間は特に限定されないが、例えば、0.1~1 秒で注入することが好ましく、0.1~0.2 秒で注入することがより好ましい。注入工程を実施する際の温度は特に限定されないが、例えば、0~30℃、好ましくは 10~20℃の範囲で適宜設定できる。

[0050] 本態様の製造方法により得られるナノ粒子の分散液において、化合物 (1) 又はその塩の濃度としては、例えば、0.01~100 mM が挙げられ、0.05~10 mM が好ましい。

[0051] <他の工程>

本態様の製造方法は、上記注入工程に加えて、他の工程を含んでもよい。他の工程としては、例えば、攪拌工程、水混和性有機溶媒除去工程、ナノ粒子単離工程等が挙げられる。

[0052] 攪拌工程：

本態様の製造方法は、上記注入工程後に、攪拌工程を含んでもよい。攪拌工程は、化合物 (1) 又はその塩の水混和性有機溶媒溶液を水に注入後、攪拌する工程である。攪拌工程を行うことで、化合物 (1) 又はその塩の結晶化又は粒子化を促進することができる。攪拌速度は特に限定されないが、例えば、1000~1500 rpm、好ましくは 1200~1500 rpm の範囲で適宜設定できる。攪拌工程における温度としては、注入工程と同様のものが挙げられる。攪拌時間は特に限定されないが、例えば、1~10 秒、好ましくは 1~3 秒の範囲で適宜設定できる。

[0053] 水混和性有機溶媒除去工程：

上記注入工程及び任意に攪拌工程を行って得られた、化合物 (1) 又はその塩のナノ粒子の分散液は、水混和性有機溶媒を含む。ナノ粒子の分散液をそのまま使用する場合、安全性等の観点から、使用前に、水混和性有機溶媒

を除去してもよい。したがって、本態様の製造方法は、水混和性有機溶媒除去工程を含んでもよい。水混和性有機溶媒の除去方法は特に限定されず、公知の方法を使用することができる。水混和性有機溶媒の除去方法としては、例えば、減圧（あるいは常圧）下での留去、透析等が挙げられる。

[0054] ナノ粒子単離工程：

本態様の製造方法は、ナノ粒子の分散液からナノ粒子を単離する工程を含んでもよい。例えば、ナノ粒子の分散液に対し、濾過等の固液分離操作を行うことで、ナノ粒子を微粒子粉末として単離することができる。

[0055] 本態様の製造方法は、例えば、上述の工程を適宜組合せて実施することができる。本態様の製造方法は、原料として化合物（1）又はその塩を用いて、特開2019-94260号公報の記載を参照して実施することができる。

[0056] [医薬]

本発明の第4の態様は、化合物（1）又はその塩を含む医薬である。

[0057] 本態様の医薬においては、化合物（1）又はその塩そのものを医薬として用いてもよい。あるいは、化合物（1）又はその塩を含む上述のナノ粒子そのものを医薬として用いてもよい。

[0058] 本態様の医薬は、化合物（1）又はその塩と、薬学的に許容される担体と、を含有する医薬組成物であってもよい。一実施形態において、化合物（1）又はその塩は、上述のナノ粒子として医薬組成物に含有されてもよい。前記医薬組成物は、化合物（1）若しくはその塩を、有効成分として含有する。「薬学的に許容される担体」とは、有効成分の生理活性を阻害せず、且つ、その投与対象に対して実質的な毒性を示さない担体を意味する。「実質的な毒性を示さない」とは、その成分が通常使用される投与量において、投与対象に対して毒性を示さないことを意味する。薬学的に許容される担体は、典型的には非活性成分とみなされる、公知のあらゆる薬学的に許容され得る成分を包含する。薬学的に許容される担体の具体例としては、例えば、等張化剤、キレート剤、安定化剤、pH調節剤、防腐剤、抗酸化剤、溶解補助剤

、粘稠化剤等が挙げられる。

- [0059] 等張化剤としては、例えば、グルコース、トレハロース、ラクトース、フルクトース、マンニトール、キシリトール、ソルビトール等の糖類；グリセリン、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール等の多価アルコール類；塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム等の無機塩類等が挙げられる。
- [0060] キレート剤としては、例えば、エデト酸二ナトリウム、エデト酸カルシウム二ナトリウム、エデト酸三ナトリウム、エデト酸四ナトリウム、エデト酸カルシウム等のエデト酸塩類；エチレンジアミン四酢酸塩；ニトリロ三酢酸又はその塩；ヘキサメタリン酸ソーダ；クエン酸等が挙げられる。
- [0061] 安定化剤としては、例えば、亜硫酸水素ナトリウム等が挙げられる。
- [0062] pH調節剤としては、例えば、塩酸、炭酸、酢酸、クエン酸等の酸；水酸化ナトリウム、水酸化カリウム等のアルカリ金属水酸化物；炭酸ナトリウム等のアルカリ金属炭酸塩又は炭酸水素塩；酢酸ナトリウム等のアルカリ金属酢酸塩；クエン酸ナトリウム等のアルカリ金属クエン酸塩；トロメタモール等の塩基等が挙げられる。
- [0063] 防腐剤としては、例えば、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸エチル、パラオキシ安息香酸プロピル、パラオキシ安息香酸ブチル等のパラオキシ安息香酸エステル；グルコン酸クロルヘキシジン、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、塩化セチルピリジニウム等の第4級アンモニウム塩；アルキルポリアミノエチルグリシン；クロロブタノール；ポリクォード；ポリヘキサメチレンピグアニド；クロルヘキシジン等が挙げられる。
- [0064] 抗酸化剤としては、例えば、亜硫酸水素ナトリウム、乾燥亜硫酸ナトリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、濃縮混合トコフェロール等が挙げられる。
- [0065] 溶解補助剤としては、例えば、安息香酸ナトリウム、グリセリン、D-ソルビトール、ブドウ糖、プロピレングリコール、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、マクロゴール、D-マンニトール等が

挙げられる。

- [0066] 粘稠化剤としては、例えば、ポリエチレングリコール、メチルセルロース、エチルセルロース、カルメロースナトリウム、キサントガム、コンドロイチン硫酸ナトリウム、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール等が挙げられる。
- [0067] 医薬組成物は、化合物（1）又はその塩に加えて、抗腫瘍効果を有することが知られている化合物をさらに含んでもよい。抗腫瘍効果を有することが知られている化合物としては、例えば、ポドフィロトキシン（PPT）、ドキソルビシン（DOX）、フルオロウラシル（5-FU）等の化学療法剤が挙げられるが、これらに限定されない。
- [0068] 医薬組成物中の化合物（1）又はその塩の含有量は特に限定されず、化合物（1）の含有量換算で、例えば、90質量%以上、70質量%以上、50質量%以上、30質量%以上、10質量%以上、5質量%以上、1質量%以上等の条件から適宜設定できる。医薬組成物は、化合物（1）又はその塩を治療的有効量含有してもよい。「治療的有効量」とは、対象疾患の治療又は予防のために有効な薬剤の量を意味する。例えば、化合物（1）又はその塩の治療的有効量は、腫瘍の治療又は予防に有効な量であり得る。治療的有効量は、患者の症状、体重、年齢、及び性別等、並びに医薬組成物の剤型、及び投与方法等によって適宜決定すればよい。
- [0069] 医薬組成物の製剤形態は、特に限定されず、例えば錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、シロップ剤、舌下剤等の経口投与剤；注射剤（静脈注射、筋肉注射、局所注射等）、含嗽剤、点滴剤、外用剤（軟膏、クリーム、貼付薬、吸入薬）、座剤等の非経口投与剤等の各種製剤形態が挙げられる。上記製剤形態のうち、好ましいものとしては、例えば、経口投与剤、注射剤（静脈注射）、点滴剤等が挙げられる。一実施形態において、化合物（1）又はその塩は、腫瘍に直接注射する投与方法でも抗腫瘍効果を示すため有用である。

[0070] 本態様の医薬は癌の予防又は治療のために用いることができる。予防又は治療の対象となる癌としては、特に限定されないが、好ましくは固形腫瘍が挙げられる。具体的には食道癌、胃癌、結腸癌、大腸癌、直腸癌、膵臓癌、肝臓癌、喉頭癌、肺癌、前立腺癌、膀胱癌、乳癌、子宮癌又は卵巣癌等の体腔内器官（所謂、内臓）に生じる癌を挙げることができる。標的部位としては、腫瘍細胞、腫瘍組織、腫瘍組織が存在する器官又は臓器及びそれらの内部等が挙げられる。

尚、本態様の医薬は、その物性や薬理作用の観点から、一般的な薬剤投与（例えば、経口投与、静脈投与、経皮投与、局所投与等）の場合には、小腸での吸収および血液脳関門の存在等の理由に基づいて、標的器官としては、消化器、循環器、呼吸器、泌尿器、生殖器等の体腔内器官（所謂、内臓）；感覚器（目、耳、鼻、皮膚等）、運動器（骨、筋肉、関節等）等を好ましく挙げることができる。

[0071] 本態様の医薬の投与量は、投与経路、患者の年齢、体重、症状等によって異なり一概に規定できないが、例えば、化合物（1）又はその塩の1日投与量として、10～5000mg程度が挙げられ、好ましくは100～1000mg程度が挙げられる。本態様の医薬を1日1回投与する場合は、1製剤中にこの量が含まれていればよく、1日3回投与する場合は、1製剤中にこの3分の1量が含まれていればよい。

[0072] 本態様の医薬は、哺乳動物等の患者又は患畜に投与される。哺乳動物としては、例えば、ヒト、サル、マウス、ラット、ウサギ、ネコ、イヌ、ブタ、ウシ、ウマ、ヒツジ等が挙げられるが、これらに限定されない。

[0073] 本態様の医薬は、化合物（1）又はその塩を含むナノ粒子を含むため、還元型GSHの存在下等の還元条件下で、持続的にSN-38を放出する。化合物（1）を含むナノ粒子からのSN-38の放出は比較的徐々に生じ、SN-38が急激に過剰放出される懸念を抑制することができる予測される。そのため、1回の投与における化合物（1）の投与量を多くしても、副作用が生じるリスクを回避することができる。また、投与回数を減らし、投与

間隔を長くすることも期待される。SN-38は、DNAトポイソメラーゼⅠ阻害剤であり、抗腫瘍効果を有する化合物である。そのため、本態様の医薬は、徐放性抗癌剤として用いることが期待できる。

[0074] [他の態様]

一態様において、本発明は、化合物(1)若しくはその塩、又は上述のナノ粒子を、対象に投与することを含む、癌の治療又は予防方法を提供する。投与量としては、治療的有効量が挙げられ、具体例として上述の投与量が挙げられる。

一態様において、本発明は、癌の治療又は予防のための、化合物(1)若しくはその塩、又は上述のナノ粒子を提供する。

一態様において、本発明は、癌の治療又は予防に用いる医薬組成物を製造するための、化合物(1)若しくはその塩、又は上述のナノ粒子の使用を提供する。

実施例

[0075] 以下、実施例により本発明を説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

[0076] [合成例1]

化合物(A1) (2.00g、17.5mmol)及びチオ酢酸カリウム(CH_3COSK) (3.14g、27.5mmol)を、ジメチルアセトアミド(DMA) (12.6mL)に溶解した。得られた溶解物を、150℃で、4時間反応させた。得られた反応物(B1) (2.24g)を精製せずに次の工程に使用した。

次に、化合物(B1) (1.00g、7.7mmol)及び水酸化ナトリウム(620mg、15.4mmol)を、テトラヒドロフラン(THF) (39mL)及び水(39mL)の混合溶媒に溶解した。得られた溶解物を室温で、20時間反応させた。次いで、得られた反応物にヨウ素及びヨウ化カリウムを添加した。得られた混合物を、室温で、1時間反応させた。得られた反応物(C1) (727mg)を精製せずに次の工程に使用した。

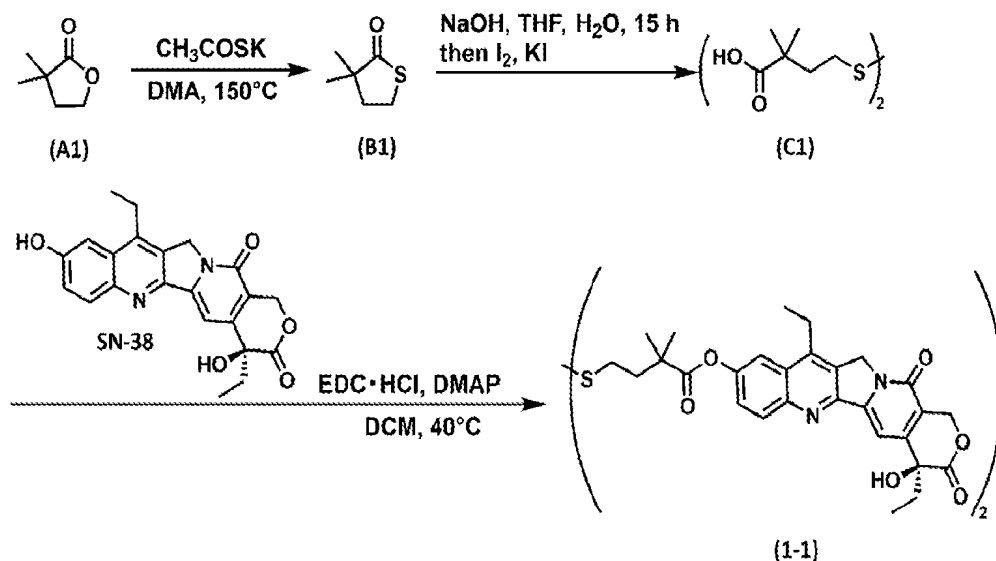
次に、SN-38 (220 mg、0.56 mmol)、化合物 (C1) (83 mg、0.28 mmol)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (EDC·HCl) (214 mg、1.12 mmol)、及び4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) (14 mg、0.11 mmol) をジクロロメタン (DCM) (5.6 mL) に溶解させた。得られた溶解物を40°Cで16時間攪拌した後、得られた反応物から溶媒を減圧留去することにより残渣を回収した。次いで、回収された残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー (クロロホルム→クロロホルム/メタノール=50:1) を用いて精製することにより化合物 (1-1) (149 mg、収率51%、総収率32%) を淡黄色固体として得た。

[0077] 化合物 (1-1) の¹H NMR測定結果を以下に示す。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) : δ = 7.66 (d, 2H, J = 2.5 Hz), 7.63 (d, 2H, J = 9.1 Hz), 7.30 (s, 2H), 7.23 (dd, 2H, J = 9.1 Hz, 2.5 Hz), 5.66 (d, 4H, J = 16.3 Hz), 5.26–5.19 (m, 4H), 5.09 (d, 4H, J = 18.7 Hz), 4.23 (s, 2H), 3.14–3.10 (m, 4H), 2.90–2.84 (m, 4H), 2.15–2.27 (m, 4H), 1.90–1.81 (m, 4H), 1.47–1.42 (m, 18H), 0.99 (t, 6H, J = 7.4 Hz) ppm.

[0078]

[化11]



[0079] [ナノ粒子の作製]

(化合物(1-1); 実施例1)

5 mMに調製した化合物(1-1)のジメチルスルホキシド溶液 $100\ \mu\text{L}$ を水 $10\ \text{mL}$ 中に注射器を用いて室温下注入し、これを2秒間、 $1500\ \text{rpm}$ で攪拌することにより、ナノ粒子の水分散液を得た。ナノ粒子の水分散液中の化合物(1-1)の最終的な濃度は、 $0.05\ \text{mM}$ となった。SEM及びDL Sにより粒径が約 $100\ \text{nm}$ であることが明らかになった。化合物(1-1)のナノ粒子のSEM写真を図1に示す。化合物(1-1)の Cl o g P は 5.92 である。

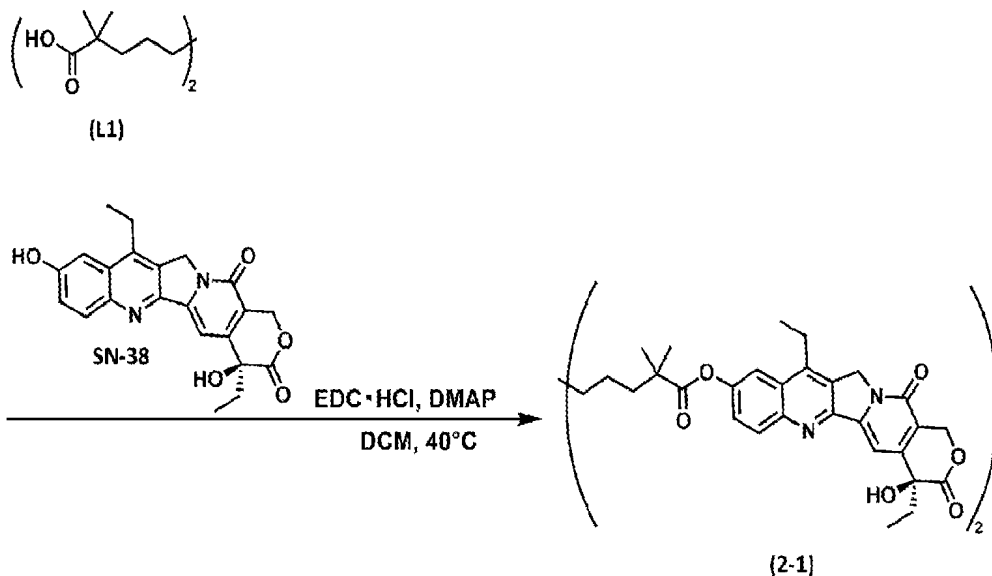
[0080] (化合物(2-1); 比較例1)

化合物(1-1)に代えて、下記化合物(2-1)を用いたこと以外は、実施例1と同様の方法により、ナノ粒子の水分散液を得た。ナノ粒子の水分散液中の化合物(2-1)の最終的な濃度は、 $0.05\ \text{mM}$ となった。化合物(2-1)のナノ粒子のSEM写真を図1に示す。

化合物(2-1)は、化合物(C1)に代えて、化合物(L1)を用いたこと以外は、上記合成例1と同様の方法により合成した。化合物(2-1)の Cl o g P は 6.56 である。

[0081]

[化12]



[0082] (化合物(2-2); 比較例2)

化合物(1-1)に代えて、下記化合物(2-2)を用いたこと以外は、上記実施例1と同様の方法により、ナノ粒子の水分散液を得た。ナノ粒子の水分散液中の化合物(2-2)の最終的な濃度は、0.05mMとなった。

化合物(2-2)は、化合物(C1)に代えて、化合物(L2)を用いたこと以外は、上記合成例1と同様の方法(下記参照)により合成した。化合物(2-2)のClogPは4.50である。

[0083] 詳細には、化合物(2-2)は、以下の方法で合成した。

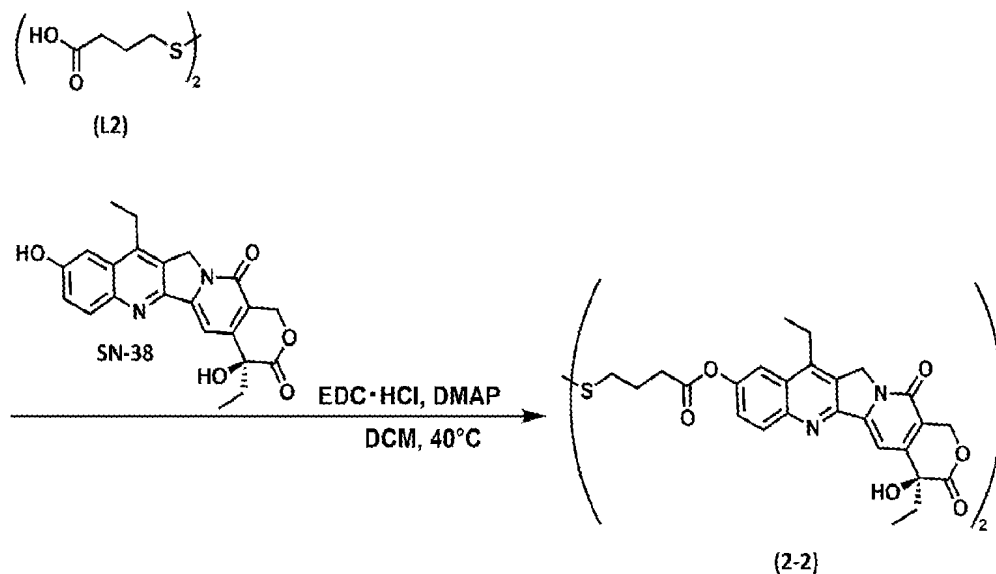
SN-38(580mg、1.48mmol)、4,4-ジチオ二酪酸(176mg、0.74mmol)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC·HCl)(564mg、2.96mmol)、及び4-ジメチルアミノピリジン(DMAP)(72mg、0.59mmol)をジクロロメタン(DCM)(30mL)に溶解させた。得られた溶解物を室温で19時間攪拌した後、得られた反応物から溶媒を減圧留去することにより残渣を回収した。次いで、回収された残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム→クロロホルム/メタノール=50:1)を用いて精製し、さらにシリカゲルカラムクロマトグラフィー

(酢酸エチル)を用いて精製することにより化合物(2-2)(97mg、収率13%)を淡黄色固体として得た。

[0084] 化合物(2-2)の¹H NMR測定結果を以下に示す。

¹H NMR (CDCl₃, 400MHz) : δ = 7.73 (d, 2H, J = 9.1 Hz), 7.64 (d, 2H, J = 2.4 Hz), 7.36 (s, 2H), 7.31 (dd, 2H, J = 9.1 Hz, 2.5 Hz), 5.65 (d, 2H, J = 16.3 Hz), 5.26–5.07 (m, 6H), 4.33 (s, 2H), 3.09 (t, 4H, J = 7.7 Hz), 2.96–2.90 (m, 4H), 2.89–2.84 (m, 4H), 2.29–2.22 (m, 4H), 1.92–1.78 (m, 4H), 1.43 (t, 6H, J = 7.7 Hz), 0.98 (t, 6H, J = 7.4 Hz) ppm.

[0085] [化13]



[0086] (化合物(2-3); 比較例3)

化合物(1-1)に代えて、下記化合物(2-3)を用いたこと以外は、上記実施例1と同様の方法により、ナノ粒子の水分散液を得た。ナノ粒子の水分散液中の化合物(2-3)の最終的な濃度は、0.05mMとなった。

化合物(2-3)は、化合物(C1)に代えて、化合物(L3)を用いたこと以外は、上記合成例1と同様の方法(下記参照)により合成した。化

合物(2-3)のCl o g Pは5.14である。

[0087] 詳細には、化合物(2-3)は、以下の方法で合成した。

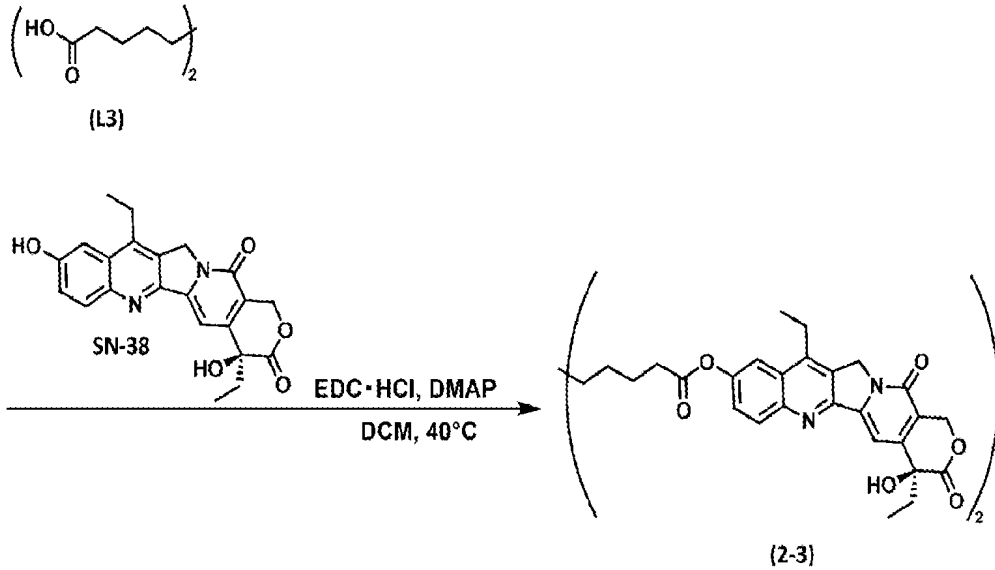
SN-38(100mg、0.26mmol)、セバシン酸(26mg、0.13mmol)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC·HCl)(97mg、0.51mmol)、及び4-ジメチルアミノピリジン(DMAP)(6mg、0.05mmol)をジクロロメタン(DCM)(5.1mL)に溶解させた。得られた溶解物を室温で19時間攪拌した後、得られた反応物から溶媒を減圧留去することにより残渣を回収した。次いで、回収された残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム→クロロホルム/メタノール=50:1)を用いて精製することにより化合物(2-3)(109mg、収率90%)を淡黄色固体として得た。

[0088] 化合物(2-3)の¹H NMR測定結果を以下に示す。

¹H NMR(CDC13, 400MHz): δ=7.97(d, 2H, J=9.1Hz), 7.77(d, 2H, J=2.5Hz), 7.49(s, 2H), 7.43(dd, 2H, J=9.1Hz, 2.5Hz), 5.72(d, 2H, J=16.3Hz), 5.29-5.16(m, 6H), 3.92(s, 2H), 3.15(q, 4H, J=7.8Hz), 2.68(t, 4H, J=7.2Hz), 1.93-1.82(m, 8H), 1.53-1.49(m, 8H), 1.43(t, 6H, J=7.7Hz), 1.02(t, 6H, J=7.4Hz) ppm.

[0089]

[化14]



[0090] (SN-38; 比較例4)

化合物(1-1)に代えて、SN-38を用いたこと以外は、実施例1と同様の方法により、ナノ粒子の水分散液を得た。ナノ粒子の水分散液中のSN-38の最終的な濃度は、0.1mMとなった。

[0091] [in vitro 活性試験]

ヒト乳がん細胞株MCF-7を10%のウシ胎児血清(FBS)を添加したダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)に懸濁することにより、 2×10^5 cells/mLの細胞懸濁液を調製した。前記細胞懸濁液を、96ウェルプレートのウェルに100 μ Lずつ播種した。翌日、上記のように調製した化合物(1-1)のナノ粒子の水分散液、化合物(2-1)のナノ粒子の水分散液又はSN-38のナノ粒子の水分散液を、0.04~10 μ M(SN-38換算)となるようにMCF-7細胞培養液に添加した。その後、これを37 $^{\circ}$ C、5%CO₂で、48時間培養した。その後、Cell Counting Kit-8(DOJINDO社製)およびマイクロプレートリーダーを用いて、比色法により細胞生存率を測定した。

[0092] 結果を図2に示す。化合物(1-1)及び化合物(2-1)は、SN-38と比較して、MCF-7の細胞生存率が高かった。この結果は、化合物(

S (−) 」とは、NaCl (137 mM)、KCl (2.7 mM)、Na₂HPO₄ (10 mM)、KH₂PO₄ (1.76 mM) を含むリン酸緩衝生理食塩水 (pH 7.4) である。

前記反応液を、37℃で1時間又は24時間インキュベートした。インキュベーション後の反応液200 μLを採取した。採取された反応液とアセトニトリル/メタノール (1/1) 3%酢酸溶液800 μLとを混合した。得られた混合液を分析対象試料として、高速液体クロマトグラフィー (検出波長: 365 nm) により分析した。

[0096] 結果を図3及び図4に示す。図3は、化合物(1-1)における結果であり、図4は化合物(2-1)における結果である。化合物(1-1)では、DTT処理により、ジスルフィド結合が切断されて、SN-38が放出されることが確認された。一方、化合物(2-1)では、SN-38の放出は確認されなかった。

[0097] さらに、化合物(2-2)及び(2-3)についても、上記と同様の方法に準じて、還元型ジチオスレイトール処理によるPBS中での薬物放出試験を行った。その結果、上述の化合物(1-1)及び(2-1)における結果を含めて、下記の還元型グルタチン処理によるPBS中での薬物放出試験における結果と同様の結果であることが確認された。即ち、化合物(2-2)では、時間の経過とともに、化合物(2-2)とSN-38とはほぼ同量になり、更なる時間の経過により、化合物(2-2)は消失した。このことから、化合物(2-2)は、非常に分解されやすいことが示された。また、化合物(2-3)では、時間の経過とともに化合物(2-3)が減少し、SN-38が増加したが、SN-38の増加速度は、化合物(1-1)よりも遅かった。

[0098] [還元型ジチオスレイトール非処理下におけるPBS中での薬物放出試験 (その1)]

化合物(1-1)のナノ粒子の水分散液 (5 μM、500 μL) 又は化合物(2-1)のナノ粒子の水分散液 (5 μM、500 μL) を、PBS (−

) 500 μ Lに添加することにより、反応液を調製した。

前記反応液を、37°Cで1時間又は24時間インキュベートした。インキュベーション後の反応液200 μ Lを採取した。採取された反応液とアセトニトリル/メタノール(1/1)3%酢酸溶液800 μ Lとを混合した。得られた混合液を分析対象試料として、高速液体クロマトグラフィー(検出波長:365 nm)により分析した。

[0099] 結果を図5及び図6に示す。図5は、化合物(1-1)における結果であり、図6は化合物(2-1)における結果である。

化合物(1-1)及び化合物(2-1)のいずれにおいても、ジチオスレイトール非処理下におけるPBS中で、化合物が安定であることが確認された。

さらに、化合物(2-2)及び(2-3)についても、上記と同様の方法に準じて、ジチオスレイトール非処理下によるPBS中での薬物放出試験を行った。その結果、化合物(2-2)及び化合物(2-3)のいずれにおいても、ジチオスレイトール非処理下におけるPBS中で、化合物が安定であることが確認された。

[0100] [還元型ジチオスレイトール処理下および非処理下によるPBS中での薬物放出試験(その2)]

上述の「還元型ジチオスレイトール処理下および非処理下によるPBS中での薬物放出試験(その1)」において、供試する化合物(1-1)及び化合物(2-1)~(2-3)のそれぞれのナノ粒子の水分散液におけるナノ粒子の濃度を「5 μ M」から「50 μ M」に変えて、かつ、反応液中の「PBS(-)」を「PBS/EtOH(7/3)(pH7.4)」に変えたこと以外は、上記と同様の方法に準じて薬物放出試験を行った。その結果、化合物(1-1)及び化合物(2-1)~(2-3)のいずれにおいても、後述の「還元型グルタチオン処理下および非処理下によるPBS中での薬物放出試験」における結果と同等な結果が得られることが確認された。PBS/EtOH(7/3)(pH7.4)は、PBS(-)とエタノールとを体積

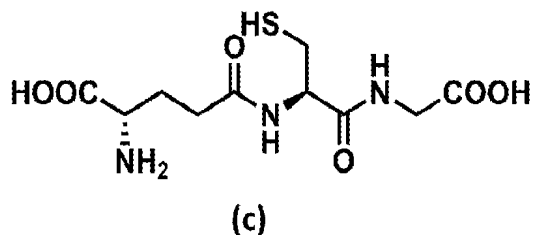
比 7 : 3 で混合した溶媒である。

[0101] [還元型グルタチン処理によるPBS中での薬物放出試験]

グルタチオン (GSH) は、3つのアミノ酸 (グルタミン酸、システイン、グリシン) から成るトリペプチドである。通常はあまり見られないシステインのアミノ基とグルタミン酸の側鎖側のカルボキシ基との間にアミド結合を有する。還元型GSH (下記式 (c)) は電子供与体として作用し、タンパク質のジスルフィド結合をシステインに還元する。このため、還元型GSHはタンパク質のシステイン残基の間で分子内または分子間のジスルフィド結合が形成されないようにするために使われることがある。

本試験では、還元型GSHを添加したPBS中で、化合物 (1-1) 及び化合物 (2-1) ~ (2-3) からのSN-38の放出を評価した。

[0102] [化16]



[0103] 化合物 (1-1) のナノ粒子の水分散液 (50 μ M、500 μ L)、又は化合物 (2-1) ~ (2-3) のいずれかのナノ粒子の水分散液 (50 μ M、500 μ L) を、10 mMの還元型グルタチン (GSH) を添加したPBS (-) / EtOH (7/3) (pH 7.4) 500 μ Lに添加することにより、反応液を調製した。

前記反応液を、37°Cで1時間、6時間、24時間又は48時間インキュベートした。インキュベーション後の反応液200 μ Lを採取した。採取された反応液とアセトニトリル/メタノール (1/1) 3%酢酸溶液800 μ Lとを混合した。得られた混合液を分析対象試料として、高速液体クロマトグラフィー (検出波長: 365 nm) により分析した。

[0104] 結果を図7~図10に示す。図7~10は、化合物 (1-1)、及び化合物 (2-1) ~ (2-3) における結果をそれぞれ示す。化合物 (1-1)

では、時間の経過とともに化合物(1-1)が減少し、SN-38が増加した(図7)。これは、GSHにより、ジスルフィド結合が切断されてSN-38が放出されるためと考えられた。

一方、化合物(2-1)では、48時間後でも、化合物SN-38の放出は確認されなかった(図8)。この結果は、化合物(2-1)は、GSHにより分解されないことを示す。

化合物(2-2)では、1時間後において、化合物(2-2)とSN-38とはほぼ同量であり、6時間後には化合物(2-2)は消失した(図9)。この結果は、化合物(2-2)は、非常に分解されやすいことを示す。

化合物(2-3)では、時間の経過とともに化合物(2-3)が減少し、SN-38が増加した(図10)。しかしながら、SN-38の増加速度は、化合物(1-1)よりも遅かった。

[0105] [還元型グルタチオン非処理下におけるPBS中での薬物放出試験]

化合物(1-1)、及び(2-1)~(2-3)のそれぞれのナノ粒子の水分散液(50 μ M、500 μ L)を、PBS(-)/EtOH(7/3)(pH7.4)500 μ Lに添加することにより、反応液を調製した。

前記反応液を、37 $^{\circ}$ Cで1時間、6時間、又は24時間インキュベートした。インキュベーション後の反応液200 μ Lを採取した。採取された反応液とアセトニトリル/メタノール(1/1)3%酢酸溶液800 μ Lとを混合した。得られた混合液を分析対象試料として、高速液体クロマトグラフィー(検出波長:365nm)により分析した。

化合物(1-1)、及び(2-1)~(2-3)のいずれにおいても、GSH非処理下におけるPBS中で、化合物が安定であることが確認された。

[0106] 以上の結果から、化合物(1-1)を含むナノ粒子は、GSH濃度の低い健常組織内では、SN-38を放出せず、GSH濃度の高い癌組織内においてSN-38を持続的に放出すると推測された。そのため、癌の治療に好適に使用できると考えられた。一方、化合物(2-1)及び(2-3)を含むナノ粒子は、癌組織内でもSN-38の放出が進まない又は充分に進まない

と推測された。化合物(2-2)を含むナノ粒子は、GSH濃度の高い癌組織内においてSN-38を放出すると推測されるが、SN-38は短時間で放出されてしまい、十分な持続性には劣ると推測された。

[0107] [合成例2]

アリルブロミド(25.6 mL、25.6 mmol)を、リチウムビス(トリメチルシリル)アミド(LHMDS)(25.6 mL、25.6 mmol)のテトラヒドロフラン(THF)溶液(12 mL)に -78°C で滴下し、 -25°C で0.5時間反応させた後、反応液を -78°C に再冷却した。続いて、 γ -ブチロラクトン(1.0 g、11.6 mmol)を滴下した後、徐々に室温(RT)まで昇温し、同温度で一晩反応させた。反応物に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、反応を停止させた後、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。有機溶媒を減圧留去して得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製することにより化合物(A2)(1.53 g、収量79%)を淡黄褐色の油状物質として得た。化合物(A2)の各スペクトルは参考文献(Organic Letters(2015), 17(14), 3604-3607)と一致した。

次に、化合物(A2)(300 mg、1.80 mmol)及びHoveyda-Grubbs第二世代触媒(HG-11)(15.0 mg、0.0177 mmol)を、ジクロロメタン(DCM)(7.50 mL)に溶解した。得られた溶解物を室温で、1時間反応させた。反応物の溶媒を減圧留去し得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製することにより化合物(B2)(212 mg、収量85%)を無色油状物質として得た。

次いで、得られた化合物(B2)(221 mg、1.53 mmol)をメタノール(5.0 mL)に溶解し、このメタノール溶液に水素及びパラジウム炭素(Pd/C)(21 mg)を室温で添加した。得られた混合物を、水素ガス雰囲気下、同温度で3時間反応させた。反応終了後、セライトろ過に

より得られた濾液を減圧留去することにより、化合物 (C 2) の粗生成物 (220 mg) を得た。

次いで、化合物 (C 2) (220 mg、1.57 mmol) のジメチルアセトアミド (DMA) (1.1 mL) 溶液に、チオ酢酸カリウム (CH_3COSK) (896 mg、7.85 mmol) を室温で加えた後、得られた混合物を 150°C で、5 時間反応させた。得られた反応物に水を加え、反応を停止させた後、目的物を酢酸エチルで抽出した。有機層を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。乾燥後の有機層から有機溶媒を減圧留去して得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製することにより、化合物 (D 2) (235 mg、収量 96%) を暗褐色の油状物質として得た。

[0108] 次に、得られた化合物 (D 2) (176 mg、1.12 mmol) の水溶液 (5.6 mL) に水酸化カリウム (139 mg、2.48 mmol) を室温で加えた後、得られた混合物を 110°C で、0.5 時間反応させた。得られた反応液を室温に冷却した後、これにヨウ素 (85.3 mg、0.366 mmol) 及びヨウ化カリウム (55.8 mg、0.366 mmol) を添加し、さらに室温で 1.5 時間攪拌した。得られた反応物に水および無水チオ硫酸ナトリウムを加え、反応を停止させた。得られた反応物に 1M 塩酸水溶液を加え、溶液を酸性にした後、目的物を酢酸エチルで抽出した。有機層を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。乾燥後の有機層から有機溶媒を減圧留去することにより、化合物 (E 2) の粗生成物 (180 mg) を黒色のガム状物質として得た。

次に、SN-38 (158 mg、0.403 mmol)、化合物 (E 2) (55.9 mg、0.161 mmol)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩 (EDC·HCl) (154 mg、0.805 mmol)、及び 4-ジメチルアミノピリジン (DMAP) (1.9 mg、0.0161 mmol) をジクロロメタン (DCM) (2.7 mL) に溶解させた後、得られた溶解物を 40°C で 2 日間反応させた。得られ

た反応物に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、反応を停止させた後、目的物をクロロホルムで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸マグネシウムで乾燥させた。乾燥後の有機層から有機溶媒を減圧留去して得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム→クロロホルム/メタノール=80:1）で精製することにより化合物（1-5）（41, 2 mg、総収率23%）を淡黄色固体として得た。

[0109] 化合物（1-5）のHR-MS（ESI-TOF）による分析結果を以下に示す。

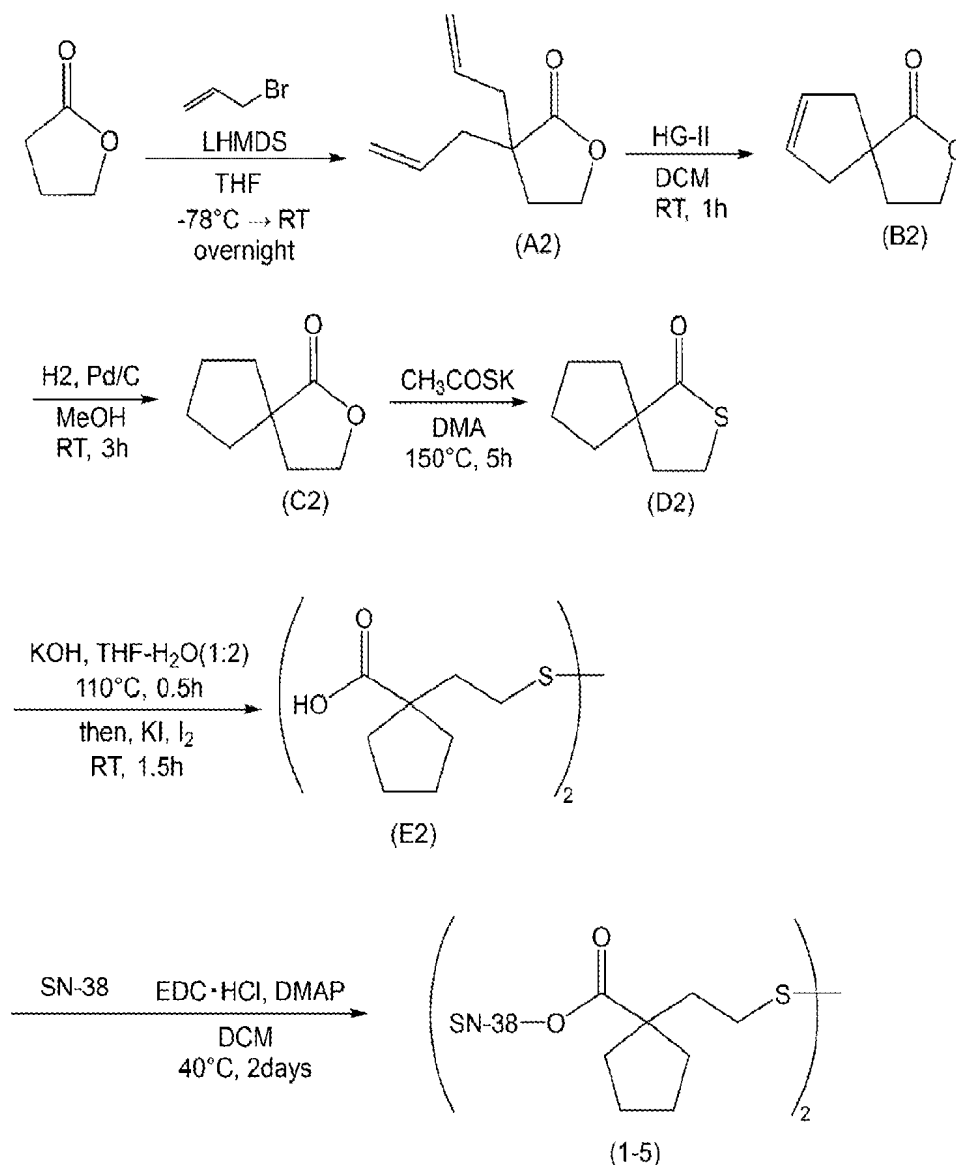
m/z C₆₀H₆₃N₄O¹²S₂⁺ ([M+N]⁺) calcd for 1095.3878 found 1095.3871

[0110] 化合物（1-5）の¹H NMR測定結果を以下に示す。

¹H NMR (DMSO-d₆, 400MHz) : δ=0.87 (t, J=7.4 Hz, 6H)、1.27 (t, J=7.6 Hz, 6H)、1.69 (br s, 12H)、1.82-1.90 (m, 4H)、2.18-2.26 (m, 8H)、2.85-2.89 (m, 4H)、3.08-3.13 (m, 4H)、5.16 (s, 4H)、5.40 (s, 4H)、6.51 (s, 2H)、7.21 (s, 2H)、7.50 (dd, J=9.1, 2.5 Hz, 2H)、7.87 (d, J=2.4 Hz, 2H)、7.99 (d, J=9.1, 2H) ppm.

[0111]

[化17]



[0112] [合成例3]

δ -バロラクトン (455 mg、4.55 mmol) 及びヨードメタン (1.42 g、10 mmol) をテトラヒドロフラン (THF) (8 mL) に溶解した。得られた溶液に -78°C 下でリチウムビス(トリメチルシリル)アミド (LiHMDS) (1.0 M THF 溶液) (10 mL) を加えた。得られた溶解物を、 -78°C で40分間反応させ、 -78°C から -40°C に昇温し、 -40°C でさらに4.5時間反応させた。得られた反応物をシリカゲルクロマトグラフィーで精製することにより化合物 (A3) (330 mg)

、収量57%)を黄色オイルとして得た。

次いで、化合物(A3)(285mg、2.23mmol)及びチオ酢酸カリウム(CH_3COSK)(407mg、3.56mmol)を、ジメチルアセトアミド(DMA)(5mL)に溶解した。得られた溶解物を、150°Cで、2.5時間反応させた。得られた反応物をシリカゲルクロマトグラフィーで精製することにより化合物(B3)(190mg、収量60%)を黄色オイルとして得た。

次に、化合物(B3)(184mg、1.28mmol)及び水酸化ナトリウム(102mg、2.55mmol)を、テトラヒドロフラン(THF)-水の混合溶媒(1:1;16mL)に溶解した。得られた溶解物を室温で、25時間反応させた。次いで、得られた反応物にヨウ素及びヨウ化カリウムを添加した後、得られた混合物を室温で、1.25時間反応させた。得られた反応物(C3)を精製せずに次の工程に使用した。

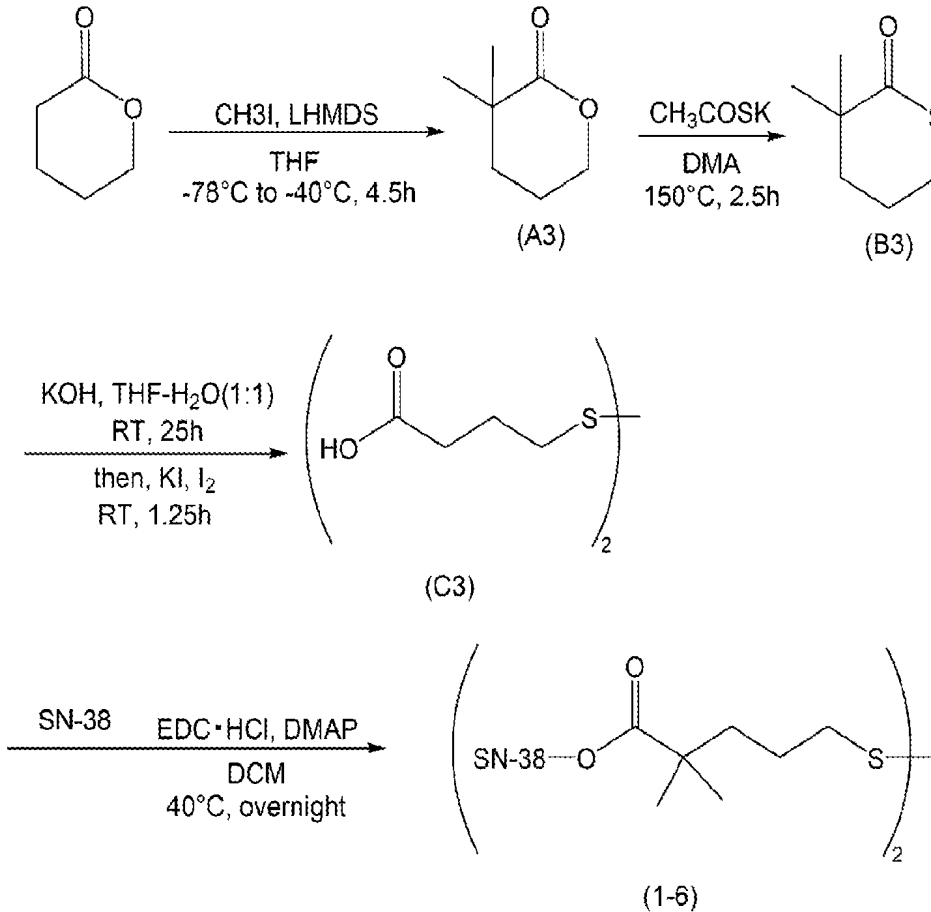
次に、SN-38(235mg、0.6mmol)、化合物(C3)(97mg、0.3mmol)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC·HCl)(230mg、1.2mmol)、及び4-ジメチルアミノピリジン(DMAP)(146mg、1.2mmol)をジクロロメタン(DCM)(6mL)に溶解させた。得られた溶解物を40°Cで一晩反応させた後、得られた反応物から溶媒を減圧留去することにより残渣を回収した。次いで、回収された残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム→クロロホルム/メタノール=29:1)を用いて精製することにより化合物(1-6)(230mg、収率72%)を淡黄色固体として得た。

[0113] 化合物(1-6)の ^1H NMR測定結果を以下に示す。

^1H NMR(CDCl_3 , 400MHz): δ =1.00(t, J =7.4 Hz, 6H)、1.37-1.42(m, 18H)、1.83-1.92(m, 12H)、2.78-2.80(m, 4H)、3.04-3.10(m, 4H)、4.09(s, 2H)、5.10-5.28(m, 6H)、5.

7.1 (d, $J=16.3$ Hz, 2H), 7.41 (dd, $J=9.1$ Hz, 2.5 Hz, 2H), 7.48 (s, 2H), 7.69 (d, $J=9.1$ Hz, 2H), 7.97 (d, $J=2.5$ Hz, 2H).

[0114] [化18]



[0115] [合成例4]

アリルブロミド (25.6 mL, 25.6 mmol) を、リチウムビス(トリメチルシリル)アミド (LHMDS) (25.6 mL, 25.6 mmol) のテトラヒドロフラン (THF) 溶液 (12 mL) に -78°C で滴下し、 -25°C で 0.5 時間反応させた後、反応液を -78°C に再冷却した。続いて、 γ -ブチロラクトン (1.0 g, 11.6 mmol) を滴下した後、徐々に室温 (RT) まで昇温し、同温度で一晩反応させた。反応物に飽和塩化アンモニウム水溶液を加え、反応を停止させた後、酢酸エチルで抽出した。有機層を飽和食塩水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。有機溶

媒を減圧留去して得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製することにより化合物(A2)(1.53g、収量79%)を淡黄褐色の油状物質として得た。化合物(A2)の各スペクトルは参考文献(Organic Letters(2015), 17(14), 3604-3607)と一致した。

次に、化合物(A2)(150mg、0.902mmol)をメタノール(4.5mL)に溶解し、このメタノール溶液に水素及びパラジウム炭素(Pd/C)(15mg)を室温で添加した。得られた混合物を、水素ガス雰囲気下、同温度で3時間反応させた。反応終了後、セライトろ過により得られた濾液を減圧留去することにより、化合物(B4)の粗生成物を得た。

次いで、化合物(B4)の粗生成物(0.902mmol)のジメチルアセトアミド(DMA)(0.9mL)溶液に、チオ酢酸カリウム(CH₃CO₂SK)(237mg、2.07mmol)を室温で加えた後、得られた混合物を150℃で、5時間反応させた。得られた反応物に水を加え、反応を停止させた後、目的物を酢酸エチルで抽出した。有機層を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥させた。乾燥後の有機層から有機溶媒を減圧留去して得られた粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製することにより、化合物(C4)(67.9mg、収量40%)を淡黄色の油状物質として得た。

[0116] 次に、得られた化合物(C4)(67.9mg 0.364mmol)のTHF水溶液(2.4mL)に水酸化カリウム(45.0mg、0.803mmol)の水溶液(4.8mL)を室温で加えた後、得られた混合物を110℃で、1時間反応させた。得られた反応液を室温に冷却した後、これにヨウ素(25.3mg、0.109mmol)及びヨウ化カリウム(12.0mg、0.728mmol)を添加し、さらに室温で1.5時間攪拌した。得られた反応物に水および無水チオ硫酸ナトリウムを加え、反応を停止させた。得られた反応物に1M塩酸水溶液を加え、溶液を酸性にした後、目的物を酢酸エチルで抽出した。有機層を水で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥

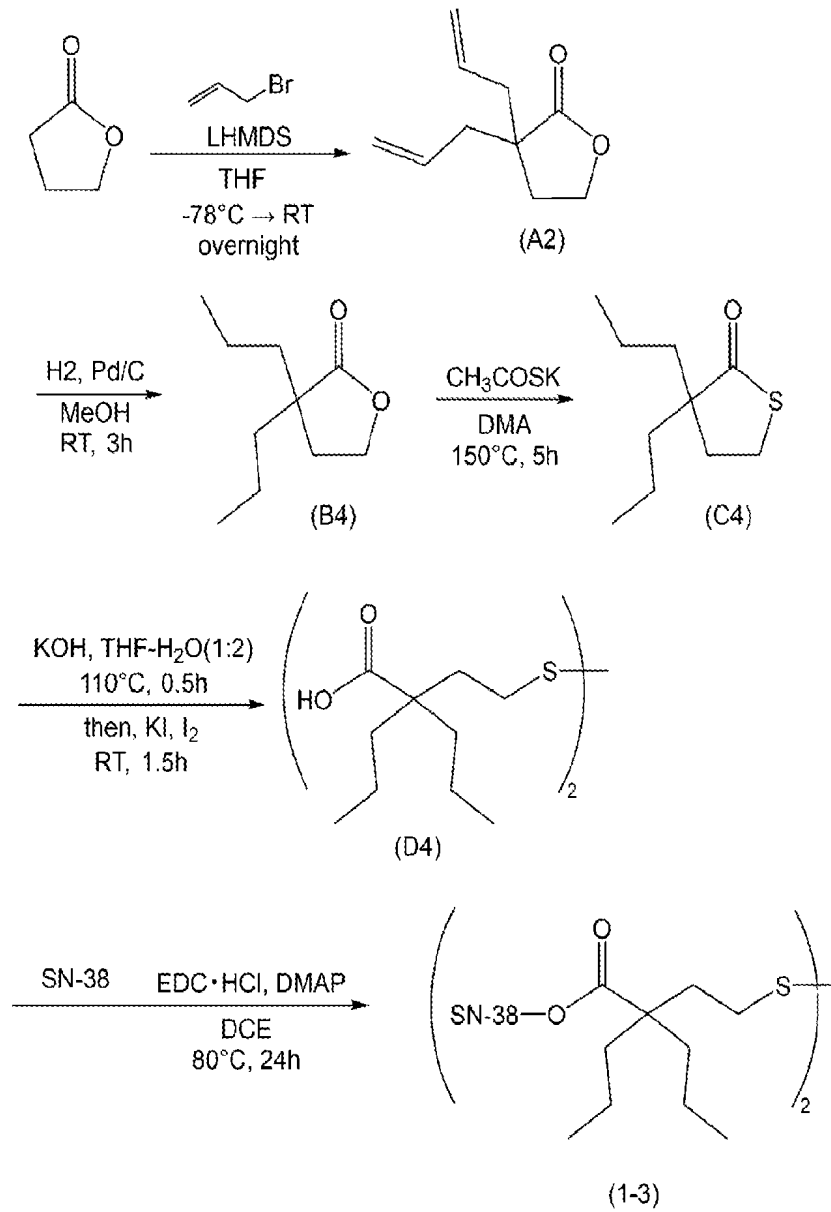
させた。乾燥後の有機層から有機溶媒を減圧留去することにより、化合物（D4）の粗生成物（63.6 mg）を黄色のガム状物質として得た。

次に、SN-38（135 mg、0.334 mmol）、化合物（D4）（63.6 mg、0.157 mmol）、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩（EDC·HCl）（75.2 mg、0.397 mmol）、及び4-ジメチルアミノピリジン（DMAP）（3.80 mg、0.0314 mmol）をジクロロエタン（DCE）（3.4 mL）に溶解させた後、得られた溶解物を80℃で24時間反応させる。得られる反応物から溶媒を減圧留去することにより残渣を回収する。次いで、回収される残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（クロロホルム→クロロホルム/メタノール=50:1）を用いて精製することにより化合物（1-3）を得る。

[0117] 得られる化合物（1-3）の確認は、¹H NMR測定（DMSO-d₆, 400 MHz）により行う。

[0118]

[化19]

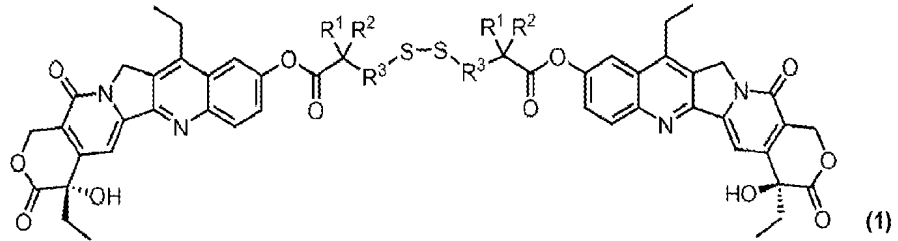


[0119] 以上、本発明の好ましい実施例を説明したが、本発明はこれら実施例に限定されることはない。本発明の趣旨を逸脱しない範囲で、構成の付加、省略、置換、およびその他の変更が可能である。本発明は前述した説明によって限定されることはなく、添付のクレームの範囲によってのみ限定される。

請求の範囲

[請求項1] 下記一般式(1)で表される化合物又はその塩。

[化1]



[式中、 R^1 及び R^2 は、それぞれ独立に、炭素原子数1~4のアルキル基を表す。 R^1 及び R^2 は、相互に結合して R^1 及び R^2 が結合する炭素原子と共に環を形成してもよい。 R^3 は、それぞれ独立に、炭素原子数1~4のアルキレン基を表す。]

[請求項2] ClogP が5.0~14.0である、請求項1に記載の化合物又はその塩。

[請求項3] 前記一般式(1)中の R^1 及び R^2 がメチル基である、請求項1又は2に記載の化合物又はその塩。

[請求項4] 前記一般式(1)中の R^1 及び R^2 がエチル基である、請求項1又は2に記載の化合物又はその塩。

[請求項5] 前記一般式(1)中の R^3 がエチレン基である、請求項1又は2に記載の化合物又はその塩。

[請求項6] 前記一般式(1)中の R^3 がプロピレン基である、請求項1又は2に記載の化合物又はその塩。

[請求項7] 請求項1又は2に記載の化合物又はその塩を含むナノ粒子。

[請求項8] 請求項1又は2に記載の化合物又はその塩を含む医薬。

[請求項9] 請求項7に記載のナノ粒子を含む、医薬。

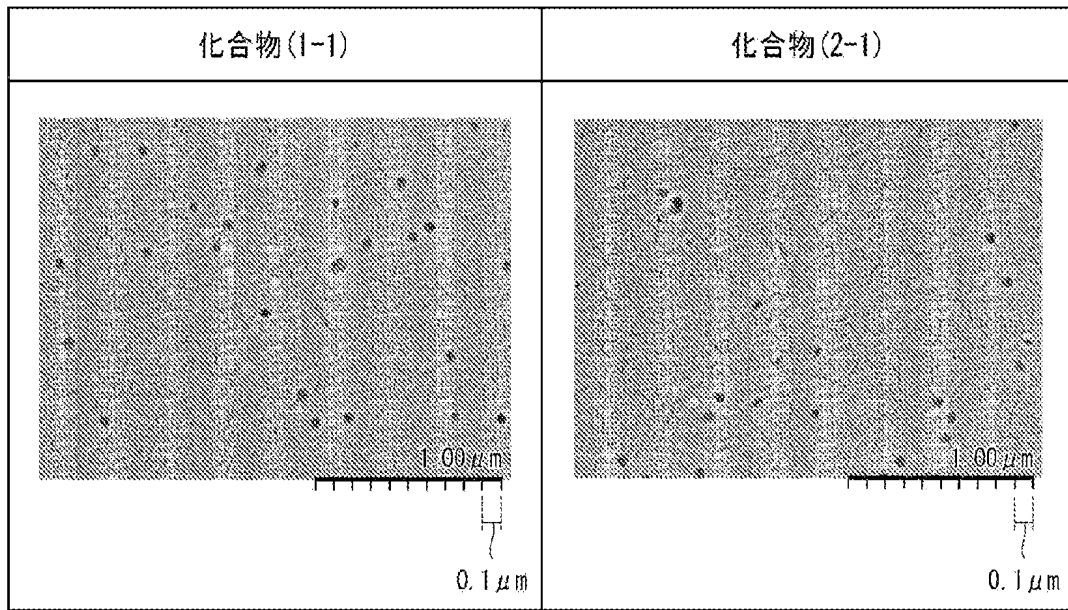
[請求項10] 癌の予防又は治療のための請求項8に記載の医薬。

[請求項11] 癌の予防又は治療のための請求項9に記載の医薬。

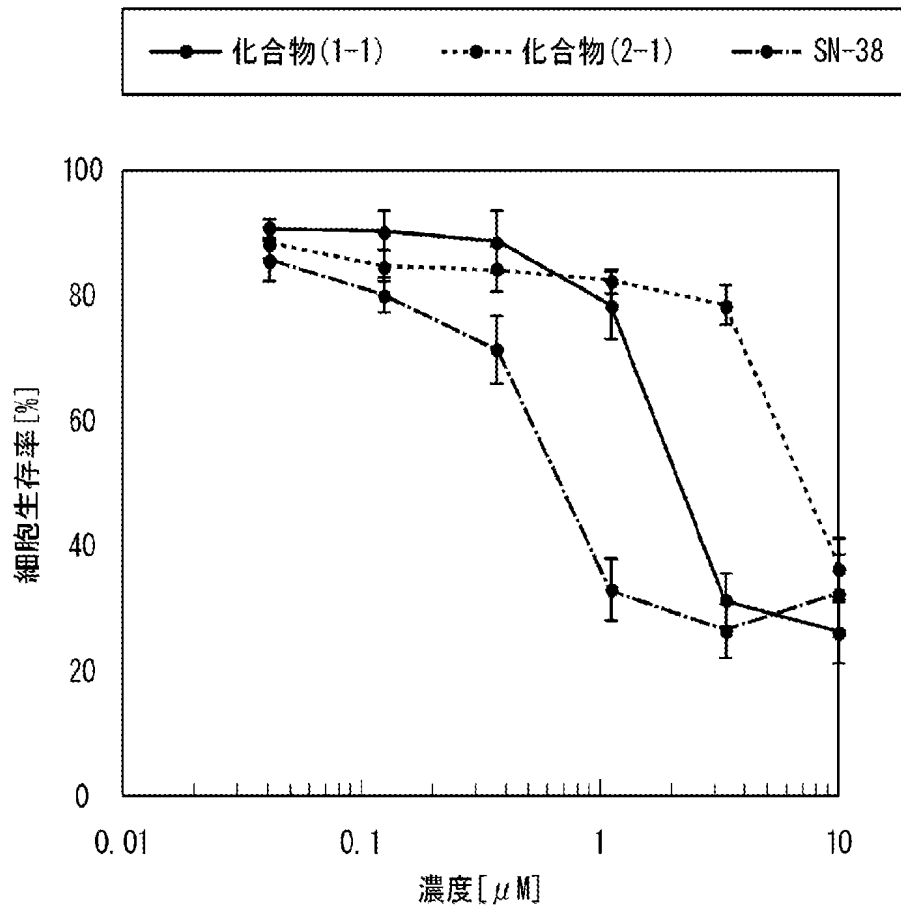
[請求項12] 請求項1又は2に記載の化合物又はその塩の水混和性有機溶媒溶液

を水に注入する工程を含む、ナノ粒子の製造方法。

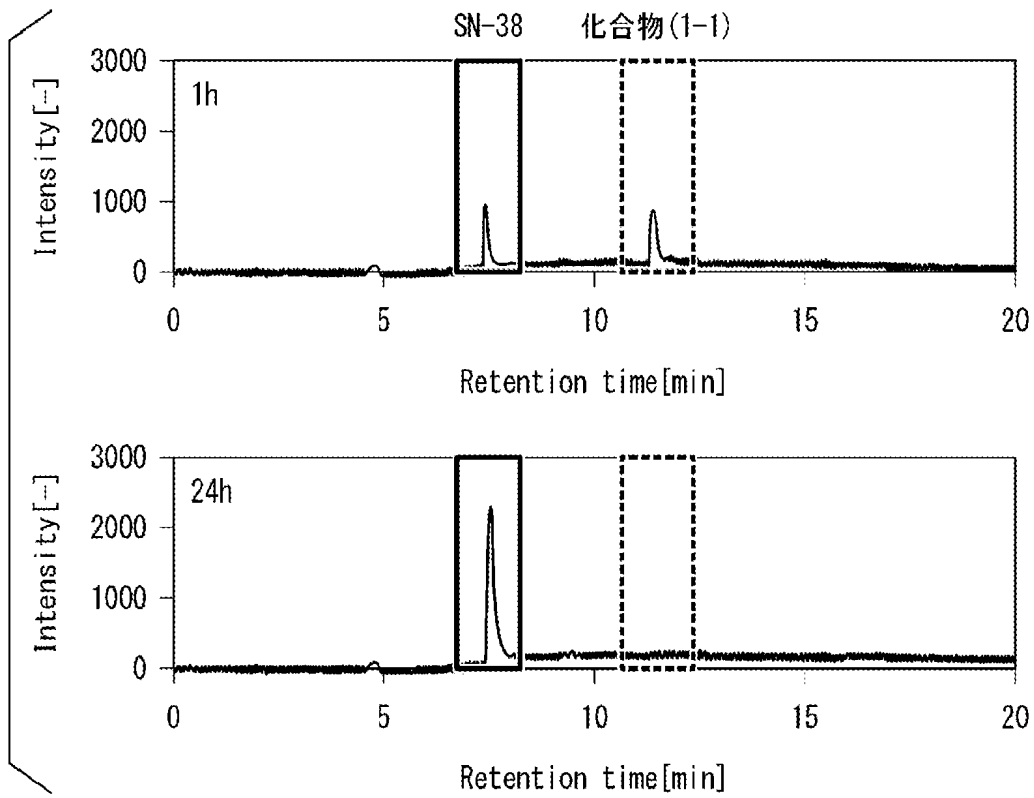
[図1]



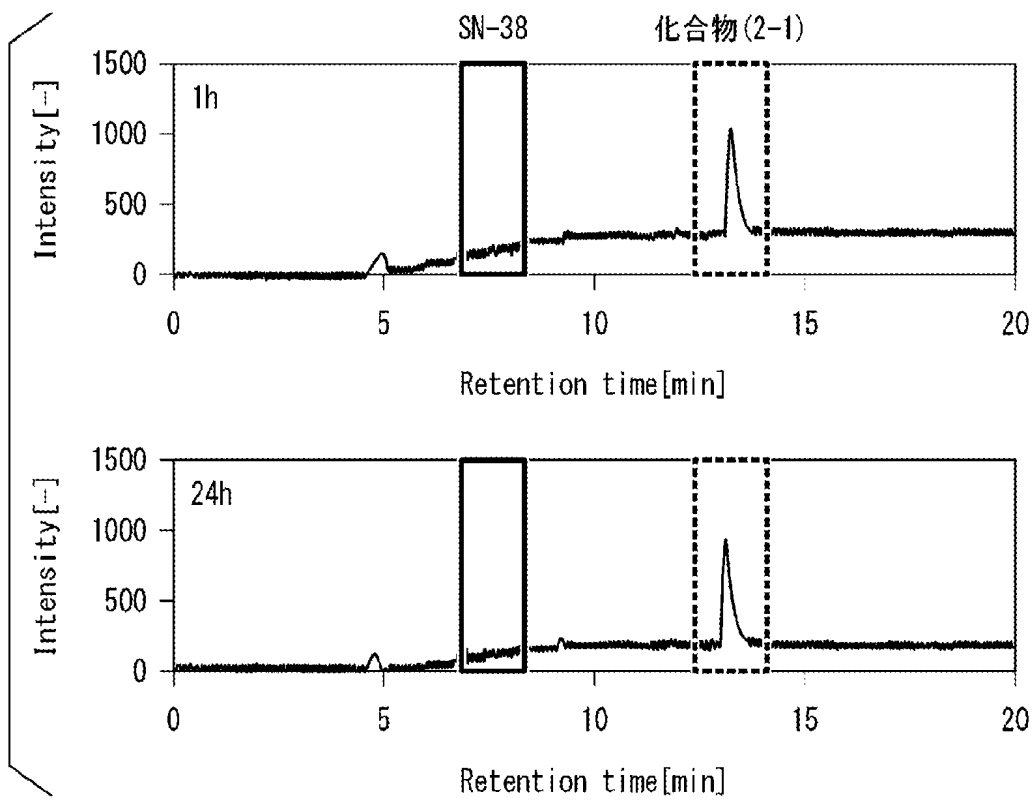
[図2]



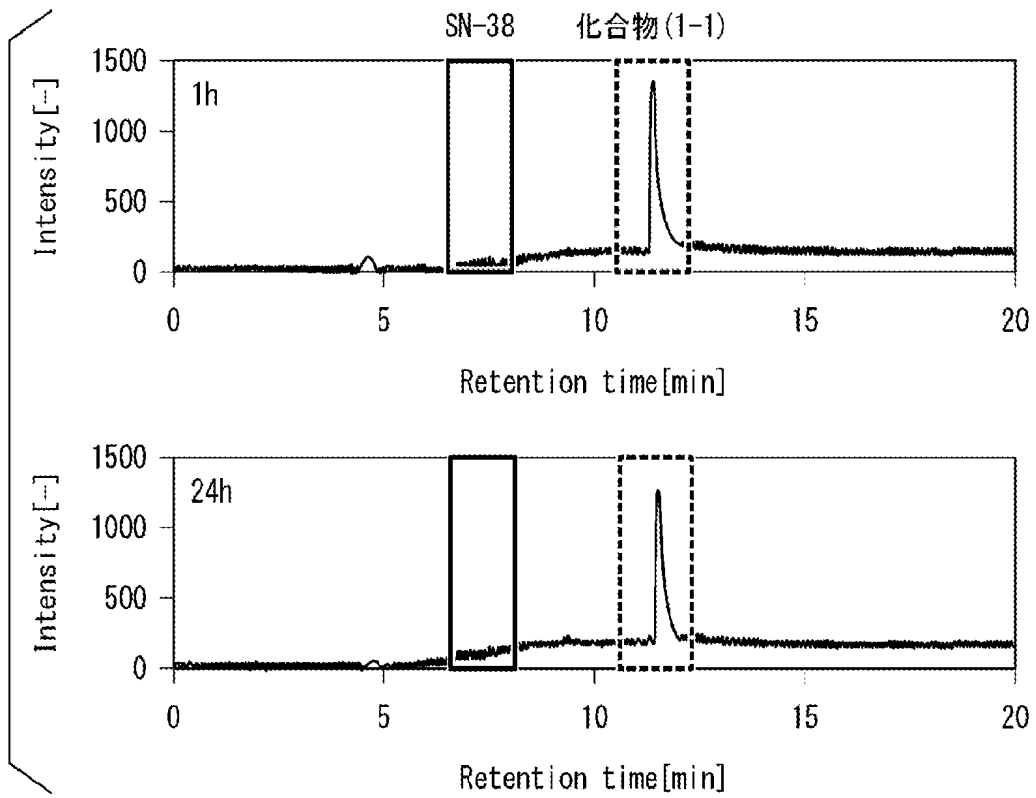
[図3]



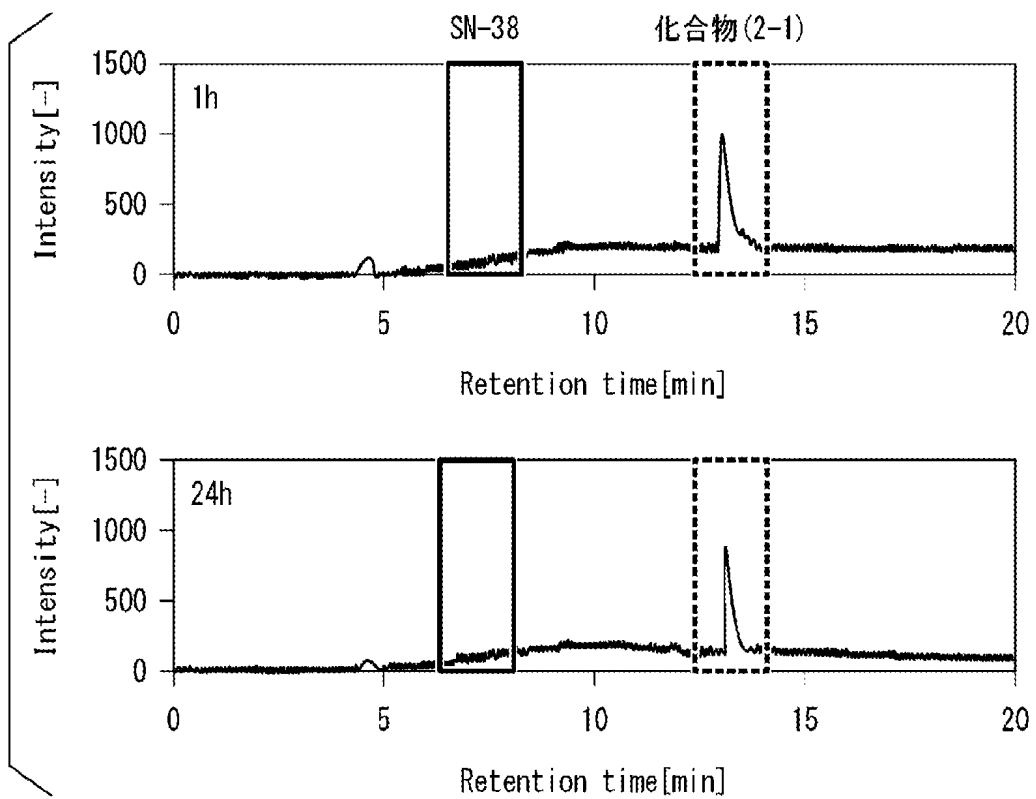
[図4]



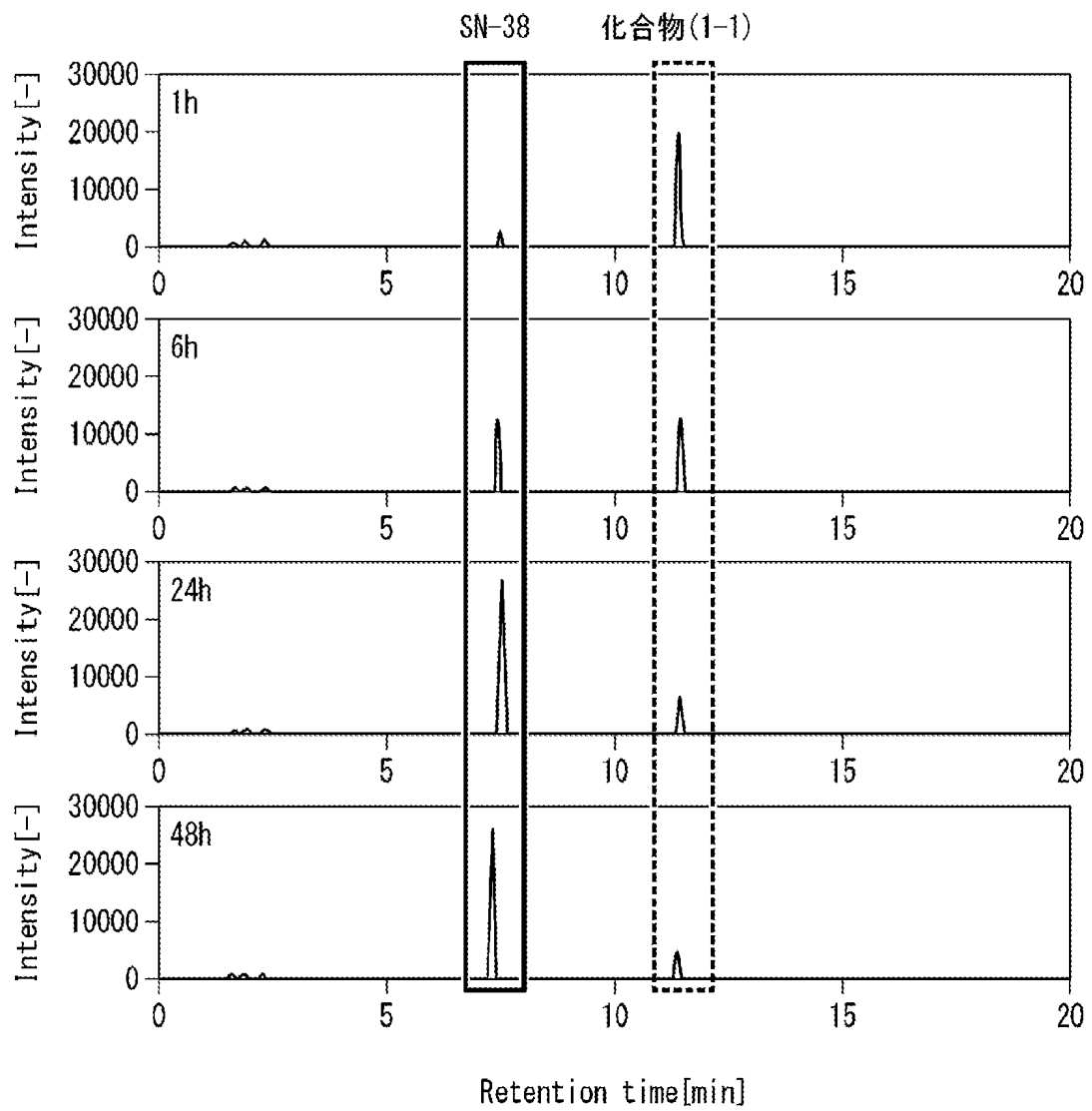
[図5]



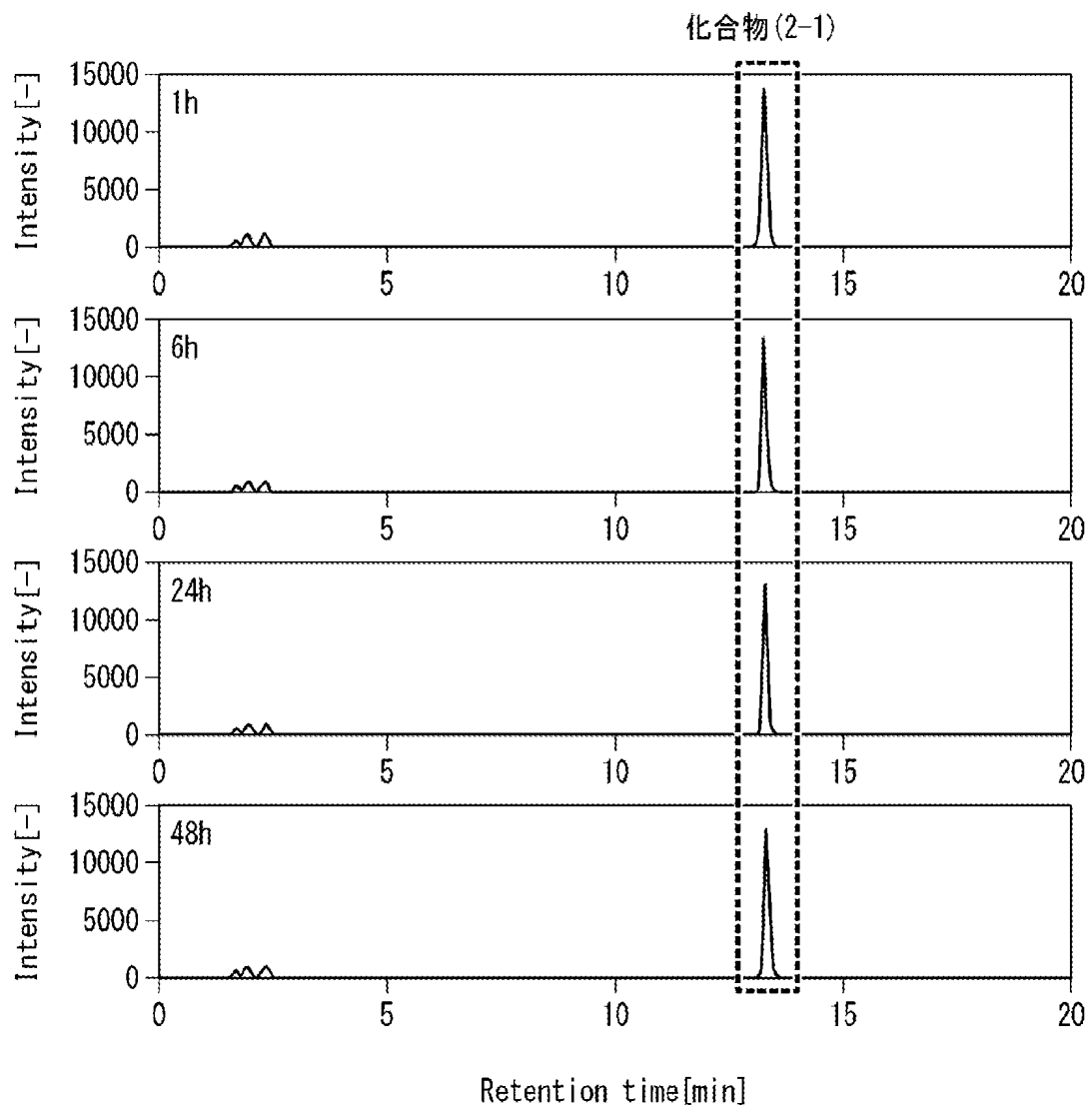
[図6]



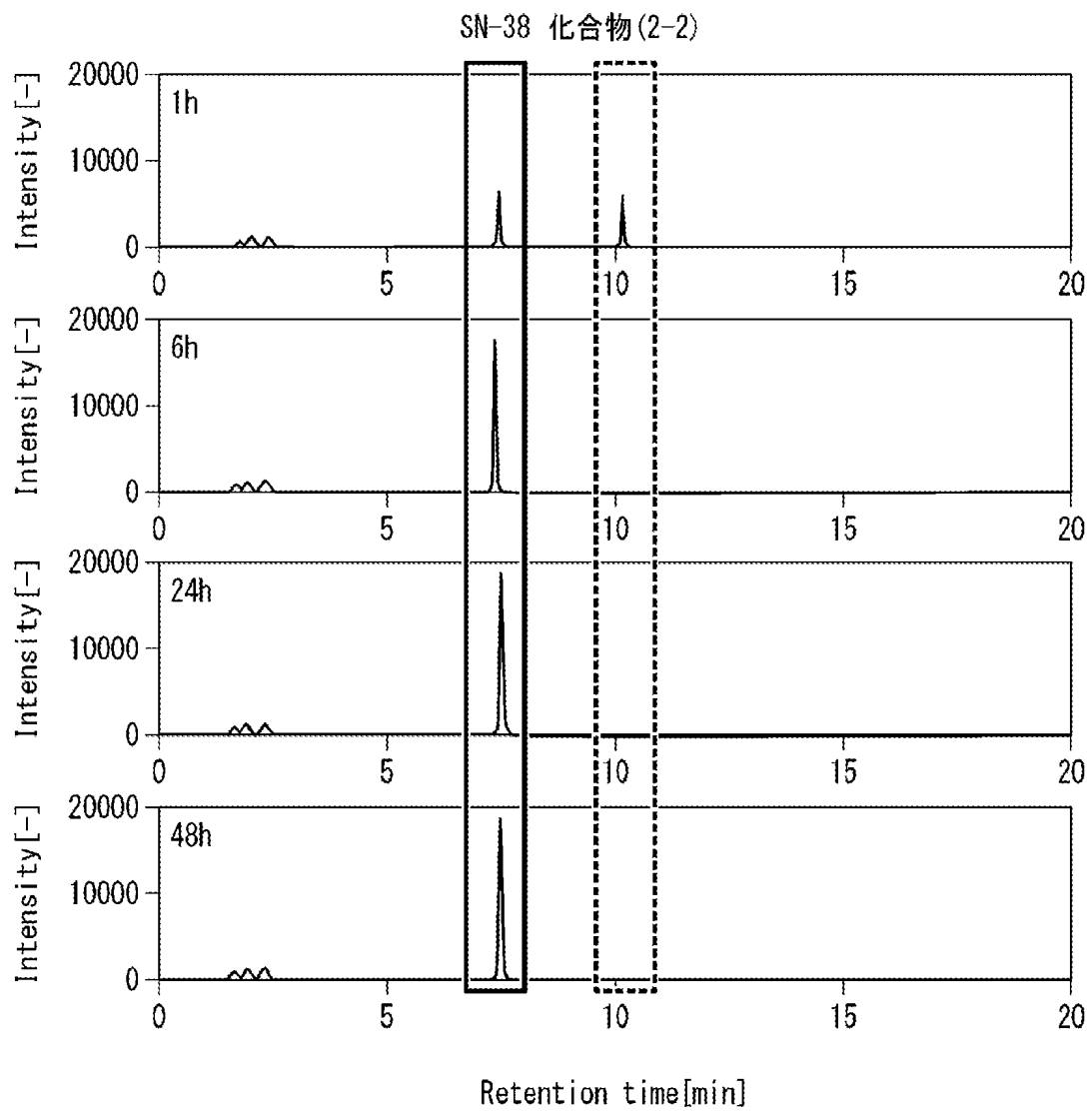
[図7]



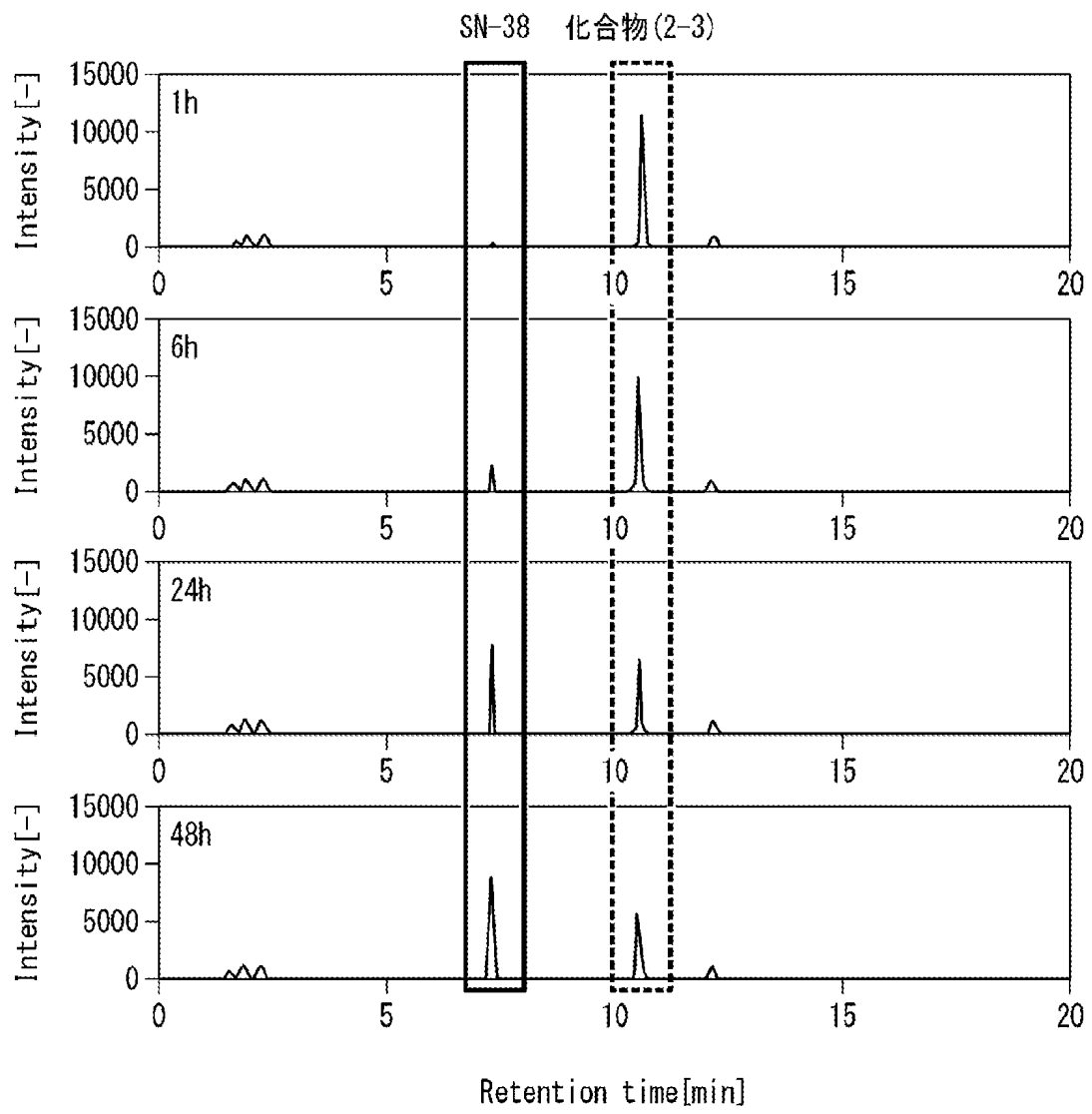
[図8]



[9]



[図10]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2023/029978

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07D 519/00(2006.01); A61K 9/10(2006.01); A61K 31/4745(2006.01); A61P 35/00(2006.01) FI: C07D519/00 CSP; A61K31/4745; A61P35/00; A61K9/10		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07D519/00; A61K9/10; A61K31/4745; A61P35/00		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023 Registered utility model specifications of Japan 1996-2023 Published registered utility model applications of Japan 1994-2023		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAplus/REGISTRY (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2007/0141093 A1 (SONUS PHARMACEUTICALS, INC.) 21 June 2007 (2007-06-21) claims, paragraphs [0050]-[0051], example 1, fig. 3	1-12
Y	BLEVINS, D J et al. The effects of cell culture conditions on premature hydrolysis of traceless ester-linked disulfide linkers. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 05 November 2022, vol. 78, pp. 1-10 abstract, p. 1, left column, line 1 to p. 2, left column, line 22, p. 8, right column, lines 14-18, scheme 1-2, compound 3	1-12
A	WO 2022/190626 A1 (UNIV TOHOKU) 15 September 2022 (2022-09-15) claims, examples	1-12
A	WO 2011/155501 A1 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY) 15 December 2011 (2011-12-15) claims, examples	1-12
A	US 6011042 A (ENZON, INC.) 04 January 2000 (2000-01-04) claims, examples	1-12
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 25 September 2023		Date of mailing of the international search report 17 October 2023
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2023/029978

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
US	2007/0141093	A1	21 June 2007	WO 2007/075825 A2 claims, p. 5, lines 1-9, example 1, fig. 3	
WO	2022/190626	A1	15 September 2022	(Family: none)	
WO	2011/155501	A1	15 December 2011	US 2013/0096097 A1 claims, examples EP 2586463 A1 CN 103068404 A	
US	6011042	A	04 January 2000	(Family: none)	

<p>A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））</p> <p>C07D 519/00(2006.01)i; A61K 9/10(2006.01)i; A61K 31/4745(2006.01)i; A61P 35/00(2006.01)i FI: C07D519/00 CSP; A61K31/4745; A61P35/00; A61K9/10</p>																				
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））</p> <p>C07D519/00; A61K9/10; A61K31/4745; A61P35/00</p> <p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922 - 1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971 - 2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996 - 2023年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994 - 2023年</td> </tr> </table> <p>国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）</p> <p>Caplus/REGISTRY (STN)</p>			日本国実用新案公報	1922 - 1996年	日本国公開実用新案公報	1971 - 2023年	日本国実用新案登録公報	1996 - 2023年	日本国登録実用新案公報	1994 - 2023年										
日本国実用新案公報	1922 - 1996年																			
日本国公開実用新案公報	1971 - 2023年																			
日本国実用新案登録公報	1996 - 2023年																			
日本国登録実用新案公報	1994 - 2023年																			
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>US 2007/0141093 A1 (SONUS PHARMACEUTICALS, INC.) 21.06.2007 (2007-06-21) 請求の範囲、[0050] - [0051]、実施例1、図3</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>BLEVINS, D J et al., The effects of cell culture conditions on premature hydrolysis of traceless ester-linked disulfide linkers, Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2022, 11, 05, Vol. 78, pp. 1-10 ABSTRACT、第1頁左欄第1行目 - 第2頁左欄第2行目、第8頁右欄第14-18行目、Scheme 1-2, compound 3</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2022/190626 A1 (国立大学法人東北大学) 15.09.2022 (2022-09-15) 請求の範囲、実施例</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 2011/155501 A1 (独立行政法人科学技術振興機構) 15.12.2011 (2011-12-15) 請求の範囲、実施例</td> <td>1-12</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US 6011042 A (ENZON, INC.) 04.01.2000 (2000-01-04) 請求の範囲、実施例</td> <td>1-12</td> </tr> </tbody> </table> <p><input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p> <p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの</p> <p>"E" 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</p> <p>"I" 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）</p> <p>"O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</p> <p>"P" 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献</p> <p>"T" 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</p> <p>"X" 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</p> <p>"Y" 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</p> <p>"&" 同一パテントファミリー文献</p>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	Y	US 2007/0141093 A1 (SONUS PHARMACEUTICALS, INC.) 21.06.2007 (2007-06-21) 請求の範囲、[0050] - [0051]、実施例1、図3	1-12	Y	BLEVINS, D J et al., The effects of cell culture conditions on premature hydrolysis of traceless ester-linked disulfide linkers, Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2022, 11, 05, Vol. 78, pp. 1-10 ABSTRACT、第1頁左欄第1行目 - 第2頁左欄第2行目、第8頁右欄第14-18行目、Scheme 1-2, compound 3	1-12	A	WO 2022/190626 A1 (国立大学法人東北大学) 15.09.2022 (2022-09-15) 請求の範囲、実施例	1-12	A	WO 2011/155501 A1 (独立行政法人科学技術振興機構) 15.12.2011 (2011-12-15) 請求の範囲、実施例	1-12	A	US 6011042 A (ENZON, INC.) 04.01.2000 (2000-01-04) 請求の範囲、実施例	1-12
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号																		
Y	US 2007/0141093 A1 (SONUS PHARMACEUTICALS, INC.) 21.06.2007 (2007-06-21) 請求の範囲、[0050] - [0051]、実施例1、図3	1-12																		
Y	BLEVINS, D J et al., The effects of cell culture conditions on premature hydrolysis of traceless ester-linked disulfide linkers, Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2022, 11, 05, Vol. 78, pp. 1-10 ABSTRACT、第1頁左欄第1行目 - 第2頁左欄第2行目、第8頁右欄第14-18行目、Scheme 1-2, compound 3	1-12																		
A	WO 2022/190626 A1 (国立大学法人東北大学) 15.09.2022 (2022-09-15) 請求の範囲、実施例	1-12																		
A	WO 2011/155501 A1 (独立行政法人科学技術振興機構) 15.12.2011 (2011-12-15) 請求の範囲、実施例	1-12																		
A	US 6011042 A (ENZON, INC.) 04.01.2000 (2000-01-04) 請求の範囲、実施例	1-12																		
<p>国際調査を完了した日</p> <p>25.09.2023</p>	<p>国際調査報告の発送日</p> <p>17.10.2023</p>																			
<p>名称及びあて先</p> <p>日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>	<p>権限のある職員（特許庁審査官）</p> <p>吉森 晃 4P 2565</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3443</p>																			

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2023/029978

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
US 2007/0141093 A1	21.06.2007	WO 2007/075825 A2 請求の範囲、第5頁第1－ 9行目、実施例1、図3	
WO 2022/190826 A1	15.09.2022	(ファミリーなし)	
WO 2011/155501 A1	15.12.2011	US 2013/0096097 A1 請求の範囲、実施例	
		EP 2586463 A1	
		CN 103068404 A	
US 6011042 A	04.01.2000	(ファミリーなし)	