

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-514430

(P2005-514430A)

(43) 公表日 平成17年5月19日(2005.5.19)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395	L 4 C 0 8 5
A 6 1 K 49/00	A 6 1 K 39/395	C 4 H 0 4 5
A 6 1 P 31/00	A 6 1 K 49/00	A
A 6 1 P 31/04	A 6 1 P 31/00	
A 6 1 P 31/12	A 6 1 P 31/04	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 60 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-559416 (P2003-559416)	(71) 出願人	593052785
(86) (22) 出願日	平成14年10月22日 (2002.10.22)		ザ スクリップス リサーチ インスティテュート
(85) 翻訳文提出日	平成16年6月22日 (2004.6.22)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92037 ラ ジョラ ノース トーリー
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/033991		パインズ ロード 10550
(87) 国際公開番号	W02003/059251	(74) 代理人	100082005
(87) 国際公開日	平成15年7月24日 (2003.7.24)		弁理士 熊倉 禎男
(31) 優先権主張番号	60/344,614	(74) 代理人	100084009
(32) 優先日	平成13年10月22日 (2001.10.22)		弁理士 小川 信夫
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100084663
(31) 優先権主張番号	60/412,455		弁理士 稲田 篤
(32) 優先日	平成14年9月19日 (2002.9.19)	(74) 代理人	100093300
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 浅井 賢治

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗体ターゲティング化合物

(57) 【要約】

本発明は、抗体の特異性がターゲティング薬剤を抗体の結合部位に共有結合又は非共有結合することによりリプログラミングされた抗体ターゲティング化合物を提供する。このアプローチにより、共有結合で修飾された抗体がターゲティング薬剤の結合特異性を呈する。その化合物はターゲティング薬剤又は別個の生物学的薬剤により与えられた生物学的活性を有し得る。本発明の化合物の種々の用途が提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

一つ以上のターゲッティング薬剤又は一つ以上の生物学的薬剤を含む抗体ターゲッティング化合物であるか、若しくは一つ以上のターゲッティング薬剤と一つ以上の生物学的薬剤とを含む抗体ターゲッティング化合物であって、前記薬剤が、抗体の結合部位に共有結合されることを特徴とする抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 2】

前記薬剤が、標的と結合するか又は生物学的活性を示す能力を保持する方法で結合されている、請求項 1 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 3】

前記薬剤が、抗体ではない、請求項 1 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 4】

共有結合前の抗体の前記抗原結合特異性が、共有結合後に実質的に変更されない、請求項 1 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 5】

共有結合前の抗体の前記抗原結合特異性が、共有結合後に実質的に変更される、請求項 1 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 6】

前記薬剤が、非免疫グロブリン分子に特異性である、請求項 1 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 7】

前記薬剤が、免疫グロブリン分子に特異性であり、その結合部位の外部で免疫グロブリンと結合する、請求項 1 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 8】

前記抗体が、触媒抗体である、請求項 1 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 9】

前記触媒抗体が、アルドラーゼ抗体、ベータラクタマーゼ抗体、及びエステラーゼ抗体又はアミダーゼ抗体からなる群から選ばれる、請求項 8 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 10】

前記薬剤が、相補性決定領域を介して前記抗体の結合部位に結合される、請求項 1 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 11】

前記薬剤が、可変フレームワーク領域を介して前記抗体の結合部位に結合される、請求項 1 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 12】

前記抗体が、完全長である、請求項 1 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 13】

前記抗体が、完全長抗体のフラグメントである、請求項 1 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 14】

完全長抗体の前記フラグメントが、Fab、Fab' F(ab')₂、Fv又はsFvである、請求項 13 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 15】

前記抗体が、ヒト抗体、ヒト化抗体又はキメラヒト抗体である、請求項 1 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 16】

前記薬剤が、抗体結合部位に共有結合される線状又は分岐リンカーに共有結合される、請求項 1 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 17】

10

20

30

40

50

前記リンカーが、C、H、N、O、P、S、Si、F、Cl、Br、及びIからなる群から選ばれた5-100個の原子の線状ストレッチ、又はその塩を含む、請求項16記載の抗体ターゲット化合物。

【請求項18】

前記リンカーが、アルキル、アルケニル、アルキニル、オキソアルキル、オキソアルケニル、オキソアルキニル、アミノアルキル、アミノアルケニル、アミノアルキニル、スルホアルキル、スルホアルケニル、スルホアルキニル基、ホスホアルキル、ホスホアルケニル、及びホスホアルキニルから選ばれた1個以上の基を含む、請求項16記載の抗体ターゲット化合物。

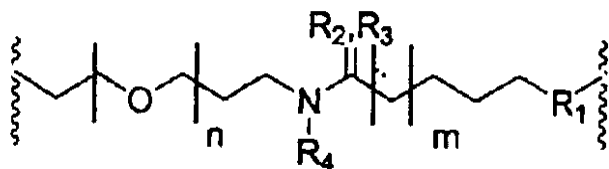
【請求項19】

前記リンカーが、2-100単位の反復エーテル単位を含む、請求項16記載のターゲット化合物-リンカー。

【請求項20】

前記リンカーが、式、

【化1】



10

20

(式中、

$R_2 \sim R_4$ は、C、H、N、O、P、Si、ハロゲン(F、Cl、Br、I)又はこれらの塩であり、

nは、1-100であり、かつ

mは、1-100である。)

のヘテロカルビル構造を含む、請求項16記載のターゲット化合物-リンカー。

【請求項21】

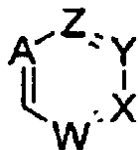
前記リンカーが、一つ以上の環構造を含む、請求項16記載の抗体ターゲット化合物。

30

【請求項22】

前記一つ以上の環構造が、式、

【化2】



(式中、

A、Z、Y、X又はWは、独立にC又はNである。)

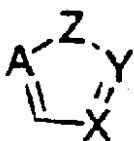
の一つ以上の6員環を含む、請求項21記載の抗体ターゲット化合物。

40

【請求項23】

前記一つ以上の環構造が、式、

【化3】



(式中、

50

A、Z、Y又はXは、独立にC、O、N又はSである。)

の一つ以上の5員環を含む、請求項20記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項24】

二つ以上のターゲッティング薬剤又は二つ以上の生物学的薬剤が、抗体の結合部位に結合される、請求項1記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項25】

前記二つ以上のターゲッティング薬剤又は二つ以上の生物学的薬剤が、同一である、請求項24記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項26】

前記二つ以上のターゲッティング薬剤又は二つ以上の生物学的薬剤が、異なる、請求項24記載の抗体ターゲッティング化合物。 10

【請求項27】

前記抗体ターゲッティング化合物が、二つのターゲッティング薬剤又は二つの生物学的薬剤を含み、前記抗体が、二つの結合部位を有し、前記結合部位の夫々が、ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤に結合される、請求項1記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項28】

前記一つ以上の生物学的薬剤の少なくとも一つが、治療薬である、請求項1記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項29】

前記治療薬が、プロドラッグである、請求項1記載の抗体ターゲッティング化合物。 20

【請求項30】

前記ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤の少なくとも一つが、生物分子に特異性である、請求項1記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項31】

前記生物分子が、細胞表面発現又は粒子表面発現されたりガンド又は受容体である、請求項30記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項32】

前記細胞表面発現されたりガンド又は受容体が、インテグリン、葉酸塩受容体、サイトカイン受容体、インターロイキン受容体、ウイルスタンパク質又は酵素である、請求項31記載の抗体ターゲッティング化合物。 30

【請求項33】

前記生物分子が、液相生物分子である、請求項31記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項34】

前記生物分子が、細胞外マトリックス生物分子である、請求項31記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項35】

前記共有結合が、不可逆性である、請求項1記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項36】

前記共有結合が、可逆性である、請求項1記載の抗体ターゲッティング化合物。 40

【請求項37】

前記共有結合が、不安定である、請求項1記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項38】

前記不安定結合が、pH感受性結合であり、酵素の基質であり、又は放射線による分解を受け易い、請求項1記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項39】

前記薬剤と前記リンカーとの間、前記リンカーと前記抗体との間、又はその両方の前記共有結合が、不可逆性である、請求項16記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項40】

前記薬剤と前記リンカーとの間、前記リンカーと前記抗体との間、又はその両方の前記 50

共有結合が、可逆性である、請求項 1 6 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 4 1】

前記薬剤と前記リンカーとの間、前記リンカーと前記抗体との間、又はその両方の前記共有結合が、不安定である、請求項 1 6 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 4 2】

前記不安定結合が、pH感受性結合であり、酵素の基質であり、又は放射線による分解を受け易い、請求項 1 6 記載の抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 4 3】

一つ以上のターゲッティング薬剤又は一つ以上の生物学的薬剤を含むか、又は一つ以上のターゲッティング薬剤と一つ以上の生物学的薬剤とを含む抗体ターゲッティング化合物の生成方法であって、前記薬剤を抗体の結合部位に共有結合することを特徴とする抗体ターゲッティング化合物の生成方法。 10

【請求項 4 4】

前記薬剤が、標的と結合するか又は生物学的活性を示す能力を保持する方法で結合される、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 4 5】

線状又は分岐リンカーを使用して前記結合を得る、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 4 6】

ターゲッティング薬剤、生物学的薬剤又はその両方と、抗体の結合部位との反応のための反応性基を含むリンカーとを含む薬剤リンカー化合物を調製し、前記薬剤-リンカー化合物の前記リンカーの前記反応性基を抗体の結合部位に共有結合することにより、前記結合を得る、請求項 4 5 記載の方法。 20

【請求項 4 7】

抗体と、前記一つ以上のターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤との反応のための反応性基を含むリンカーとを含む抗体-リンカー化合物を調製し、抗体-リンカー化合物の反応性基を前記一つ以上のターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤と結合することにより、前記結合を得る、請求項 4 5 記載の方法。

【請求項 4 8】

(a)ターゲッティング薬剤、生物学的薬剤又はその両方と、反応性基を含むリンカーとを含む薬剤リンカー化合物を調製し、そして 30

(b)抗体と、工程(a)の反応性基との反応に適した化学基を含むリンカーを含む抗体-リンカー化合物とを調製し、又は

(c)抗体と、反応性基を含むリンカーを含む抗体-リンカー化合物とを調製し、そして

(d)ターゲッティング薬剤、生物学的薬剤又はその両方と、工程(c)の前記反応性基と反応性の化学基を含むリンカーとを含む薬剤リンカー化合物を調製し、そして

(e)前記抗体-リンカー化合物のリンカーを、前記反応性基及び感受性基によりターゲッティング薬剤-リンカー化合物又は生物学的薬剤-リンカー化合物のリンカーに結合することにより、前記結合を得る、請求項 4 5 記載の方法。

【請求項 4 9】

前記薬剤が、抗体ではない、請求項 4 3 記載の方法。 40

【請求項 5 0】

共有結合前の抗体の前記抗原結合特異性が、共有結合後に実質的に変更されない、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 5 1】

共有結合前の抗体の前記抗原結合特異性が、共有結合後に実質的に変更される、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 5 2】

前記薬剤が、非免疫グロブリン分子に特異性である、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 5 3】

前記薬剤が、免疫グロブリン分子に特異性であり、その結合部位の外部で免疫グロブリ 50

ンを結合する、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 5 4】

前記抗体が、触媒抗体である、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 5 5】

前記触媒抗体が、アルドラーゼ抗体、ベータラクタマーゼ抗体及びエステラーゼ抗体又はアミダーゼ抗体からなる群から選ばれる、請求項 5 4 記載の方法。

【請求項 5 6】

前記薬剤を相補性決定領域を介して前記抗体の結合部位に結合する、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 5 7】

前記薬剤を可変フレームワーク領域を介して前記抗体の結合部位に結合する、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 5 8】

前記抗体が、完全長である、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 5 9】

前記抗体が、完全長抗体のフラグメントである、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 6 0】

完全長抗体の前記フラグメントが、Fab、Fab' F(ab')₂、Fv又はsFvである、請求項 5 9 記載の方法。

【請求項 6 1】

前記抗体が、ヒト抗体、ヒト化抗体又はキメラヒト抗体である、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 6 2】

前記リンカーが、C、H、N、O、P、S、Si、F、Cl、Br、及びIからなる群から選ばれた5-100個の原子の線状ストレッチ、又はその塩を含む、請求項 4 5 記載の方法。

【請求項 6 3】

前記リンカーが、アルキル、アルケニル、アルキニル、オキソアルキル、オキソアルケニル、オキソアルキニル、アミノアルキル、アミノアルケニル、アミノアルキニル、スルホアルキル、スルホアルケニル、スルホアルキニル基、ホスホアルキル、ホスホアルケニル、及びホスホアルキニルから選ばれた1個以上の基を含む、請求項 4 5 記載の方法。

【請求項 6 4】

前記リンカーが、2-100単位の反復エーテル単位を含む、請求項 4 5 記載の方法。

【請求項 6 5】

前記リンカーが、式、

X-Y-Z

(式中、

Xは、C、H、N、O、P、S、Si、F、Cl、Br、及びIのいずれかを含む原子の線状又は分岐連結鎖、又はその塩であり、

Y(存在する場合は、単一又は縮合5もしくは6員ホモ又はヘテロ炭素環式飽和又は不飽和環であり、かつ

Zは、反応性基である。)

のものである、請求項 4 5 記載の方法。

【請求項 6 6】

Xが、式、

10

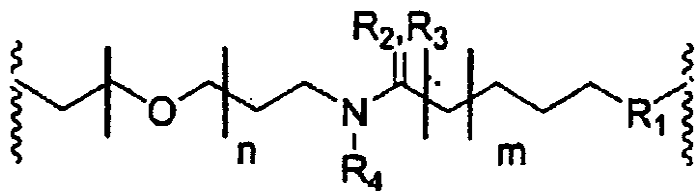
20

30

40

50

【化 4】



(式中、

$R_2 \sim R_4$ は、C、H、N、O、P、Si、ハロゲン(F、Cl、Br、I)又はこれらの塩であり、

nは、1-100であり、かつ

mは、1-100である。)

のヘテロカルビル構造である、請求項65記載の方法。

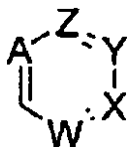
【請求項67】

前記リンカーが、一つ以上の環構造を含む、請求項45記載の方法。

【請求項68】

前記一つ以上の環構造が、式、

【化 5】



(式中、

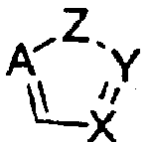
A、Z、Y、X又はWは、独立にC又はNである。)

の一つ以上の6員環を含む、請求項67記載の方法。

【請求項69】

前記一つ以上の環構造が、式、

【化 6】



(式中、

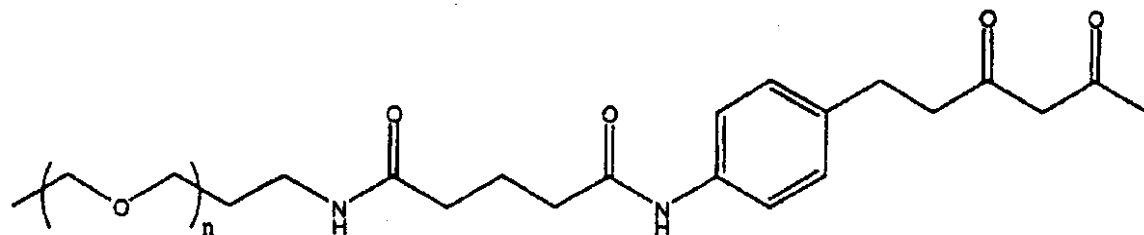
A、Z、Y又はXは、独立にC、O、N又はSである。)

の一つ以上の5員環を含む、請求項67記載の方法。

【請求項70】

前記リンカーが下記の構造

【化 7】



35

(式中、nは、1-100である。)

10

20

30

40

50

を有する、請求項 4 5 記載の方法。

【請求項 7 1】

二つ以上のターゲッティング薬剤又は二つ以上の生物学的薬剤を抗体の結合部位に結合する、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 7 2】

前記二つ以上のターゲッティング薬剤又は二つ以上の生物学的薬剤が、同一である、請求項 7 1 記載の方法。

【請求項 7 3】

前記二つ以上のターゲッティング薬剤又は二つ以上の生物学的薬剤が、異なる、請求項 7 1 記載の方法。

【請求項 7 4】

前記一つ以上の生物学的薬剤の少なくとも一つが、治療薬である、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 7 5】

前記治療薬が、プロドラッグである、請求項 7 4 記載の方法。

【請求項 7 6】

前記リンカーが、一つより多い連結鎖、一つより多い認識基もしくは一つより多い反応性基、又はこれらの組み合わせを含む、請求項 4 5 記載の方法。

【請求項 7 7】

前記ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤の少なくとも一つが、生物分子に特異性である、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 7 8】

前記生物分子が細胞表面発現又は粒子表面発現されたりガンド又は受容体である、請求項 7 7 記載の方法。

【請求項 7 9】

前記細胞表面発現されたりガンド又は受容体が、インテグリン、葉酸塩受容体、サイトカイン受容体、インターロイキン受容体、ウイルスタンパク質又は酵素である、請求項 7 8 記載の方法。

【請求項 8 0】

前記生物分子が、液相生物分子である、請求項 7 7 記載の方法。

【請求項 8 1】

前記生物分子が、細胞外マトリックス生物分子である、請求項 7 7 記載の方法。

【請求項 8 2】

前記共有結合が不可逆性である、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 8 3】

前記共有結合が、可逆性である、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 8 4】

前記共有結合が、不安定である、請求項 4 3 記載の方法。

【請求項 8 5】

前記不安定結合が、pH感受性結合であり、酵素の基質であり、又は放射線による分解を受け易い、請求項 8 4 記載の方法。

【請求項 8 6】

前記薬剤と前記リンカーとの間、前記リンカーと前記抗体との間、又はその両方の前記共有結合が、不可逆性である、請求項 4 5 記載の方法。

【請求項 8 7】

前記薬剤と前記リンカーとの間、前記リンカーと前記抗体との間、又はその両方の前記共有結合が、可逆性である、請求項 4 5 記載の方法。

【請求項 8 8】

前記薬剤と前記リンカーとの間、前記リンカーと前記抗体との間、又はその両方の前記共有結合が、不安定である、請求項 4 5 記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 89】

前記不安定結合が、pH感受性結合であり、酵素の基質であり、又は放射線による分解を受け易い、請求項 88 記載の方法。

【請求項 90】

請求項 43 記載の方法により生成された抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 91】

特別な標的分子に関して低いか又は検出できない結合アフィニティーを示す抗体を、前記特別な標的分子に関する前記抗体の結合特異性を増大するように修飾する方法であって、該特別な標的分子に対して特異性の一つ以上のターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤を該抗体の結合部位に共有結合して、抗体ターゲッティング化合物を生成することを含み、前記薬剤が、前記特別な標的分子と結合する能力を保持する方法で結合されることを特徴とする方法。

10

【請求項 92】

共有結合前の前記抗体が、約 1×10^{-5} モル/リットル未満の前記特別な標的分子に関するアフィニティーを示す、請求項 91 記載の方法。

【請求項 93】

共有結合後の前記抗体が、約 1×10^{-6} モル/リットルより大きい前記特別な標的分子に関するアフィニティーを示す、請求項 91 記載の方法。

【請求項 94】

前記抗体が、触媒抗体である、請求項 91 記載の方法。

20

【請求項 95】

線状又は分岐リンカーを使用して前記結合を得る、請求項 91 記載の方法。

【請求項 96】

一つ以上のターゲッティング薬剤及び抗体の結合部位との反応のための反応性基を含むリンカーを含むターゲッティング薬剤-リンカー化合物を調製し、前記ターゲッティング薬剤-リンカー化合物の前記リンカーの前記反応性基を抗体の結合部位に共有結合することにより、前記結合を得る、請求項 91 記載の方法。

【請求項 97】

抗体及び前記一つ以上のターゲッティング薬剤との反応のための反応性基を含むリンカーを含む抗体-リンカー化合物を調製し、抗体-リンカー化合物の反応性基を前記一つ以上のターゲッティング薬剤に結合することにより、前記結合を得る、請求項 91 記載の方法。

30

【請求項 98】

(a)ターゲッティング薬剤及び反応性基を含むリンカーを含むターゲッティング薬剤リンカー化合物を調製し、そして

(b)抗体及び工程(a)の反応性基との反応に適した化学基を含むリンカーを含む抗体-リンカー化合物を調製し、又は

(c)抗体及び反応性基を含むリンカーを含む抗体-リンカー化合物を調製し、そして

(d)ターゲッティング薬剤及び工程(c)の前記反応性基と反応性の化学基を含むリンカーを含むターゲッティング薬剤-リンカー化合物を調製し、そして

40

(e)前記抗体-リンカー化合物のリンカーを前記反応性基及び感受性基によりターゲッティング薬剤-リンカー化合物のリンカーに結合することにより、前記結合を得る、請求項 91 記載の方法。

【請求項 99】

前記一つ以上のターゲッティング薬剤が、抗体ではない、請求項 91 記載の方法。

【請求項 100】

請求項 91 記載の方法により生成された抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 101】

ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤の少なくとも一つの生物学的特性を変化する方法であって、ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤を抗体の結合部位に共有結合するこ

50

とを含み、前記共有結合が、ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤の少なくとも一つの生物学的特性を変化することを特徴とする生物学的特性の変化方法。

【請求項 102】

前記抗体が、触媒抗体である、請求項 101 記載の方法。

【請求項 103】

線状又は分岐リンカーを使用して前記結合を得る、請求項 101 記載の方法。

【請求項 104】

ターゲッティング薬剤、生物学的薬剤又はその両方及び抗体の結合部位との反応のための反応性基を含むリンカーを含む薬剤リンカー化合物を調製し、前記薬剤-リンカー化合物の前記リンカーの前記反応性基を抗体の結合部位に共有結合することにより、前記結合を得る、請求項 103 記載の方法。

10

【請求項 105】

抗体と、前記一つ以上のターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤との反応のための反応性基を含むリンカーとを含む抗体-リンカー化合物を調製し、抗体-リンカー化合物の反応性基を前記一つ以上のターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤に結合することにより、前記結合を得る、請求項 103 記載の方法。

【請求項 106】

(a)ターゲッティング薬剤、生物学的薬剤又はその両方、及び反応性基を含むリンカーを含む薬剤リンカー化合物を調製し、そして

(b)抗体及び工程(a)の反応性基との反応に適した化学基を含むリンカーを含む抗体-リンカー化合物を調製し、又は

20

(c)抗体及び反応性基を含むリンカーを含む抗体-リンカー化合物を調製し、そして

(d)ターゲッティング薬剤もしくは生物学的薬剤又はその両方及び工程(c)の前記反応性基と反応性の化学基を含むリンカーを含む薬剤リンカー化合物を調製し、そして

(e)前記抗体-リンカー化合物のリンカーを前記反応性基及び感受性基によりターゲッティング剤-リンカー化合物又は生物学的薬剤-リンカー化合物のリンカーに結合することにより、前記結合を得る、請求項 103 記載の方法。

【請求項 107】

前記少なくとも一つの変化された特性が、薬物速度論、薬力学、免疫原性、結合アフィニティー、分解に対する感受性、可溶性、親油性、親水性、疎水性、安定性、及び硬性である、請求項 101 記載の方法。

30

【請求項 108】

請求項 101 記載の方法により生成された抗体ターゲッティング化合物。

【請求項 109】

抗体の結合部位に非共有結合するための薬剤-リンカー-抗原化合物であって、前記薬剤-リンカー-抗原化合物が、抗体ではない二つ以上のターゲッティング薬剤を含むか、二つ以上の生物学的薬剤を含むか、又は少なくとも二つの薬剤であって、少なくとも一つがターゲッティング薬剤であり、かつ別のものが生物学的薬剤である二つの薬剤を含み、前記薬剤-リンカー化合物が、リンカーを介して抗体により認識された抗原に共有結合され、前記リンカーが、C、H、N、O、P、S、Si、F、Cl、Br、及びIのいずれかを含む原子の線状もしくは分岐連結鎖、又はその塩であることを特徴とする薬剤-リンカー-抗原化合物。

40

【請求項 110】

前記薬剤が、標的を結合するか又は生物学的活性を示す能力を保持する方法で結合されている、請求項 109 記載の薬剤-リンカー-抗原。

【請求項 111】

前記リンカーが、アルキル、アルケニル、アルキニル、オキソアルキル、オキソアルケニル、オキソアルキニル、アミノアルキル、アミノアルケニル、アミノアルキニル、スルホアルキル、スルホアルケニル、スルホアルキニル基、ホスホアルキル、ホスホアルケニル、及びホスホアルキニルから選ばれた 1 個以上の基を含む、請求項 109 記載の薬剤-

50

リンカー-抗原化合物。

【請求項 1 1 2】

前記リンカーが、一つ以上のモノ又は縮合ホモ又はヘテロ飽和又は不飽和 5 ~ 7 員炭素環式環を含む、請求項 1 0 9 記載の薬剤-リンカー-抗原化合物。

【請求項 1 1 3】

前記リンカーが、分岐している、請求項 1 0 9 記載の薬剤-リンカー-抗原化合物。

【請求項 1 1 4】

前記薬剤の少なくとも二つが、前記分岐リンカーの異なる分岐に結合される、請求項 1 0 9 記載の薬剤-リンカー-抗原化合物。

【請求項 1 1 5】

抗原に特異性の抗体の結合部位と非共有結合で会合された請求項 1 0 9 記載の薬剤-リンカー-抗原を含むことを特徴とする抗体ターゲティング化合物。

10

【請求項 1 1 6】

抗体を請求項 1 0 9 記載の薬剤-リンカー-抗原と接触させることを含む抗体の結合特異性の変更方法であって、前記抗体が、前記抗原に特異性であり、かつ前記抗体が、ターゲティング薬剤又は生物学的薬剤の結合特異性を獲得することを特徴とする抗体の結合特異性の変更方法。

【請求項 1 1 7】

抗体の結合部位に共有結合するための薬剤-リンカー化合物であって、前記薬剤-リンカー化合物が、一つ以上のターゲティング薬剤、一つ以上の生物学的薬剤又はその両方を含み、前記リンカーが、式、

20

X-Y-Z

(式中、

X は、C、H、N、O、P、S、Si、F、Cl、Br、及び I のいずれかを含む原子の線状又は分岐連結鎖、又はその塩であり、

Y (存在する場合) は、単一又は縮合 5 もしくは 6 員ホモ又はヘテロ炭素環式飽和又は不飽和環であり、かつ

Z は、ケトン、ジケトン、ベータラクタム、活性エステル、ハロケトン、ラクトン、酸無水物、エポキシド、アルデヒド、マレイミド、ジスルフィド、又はアリアルハライドであり、かつ Z は薬剤を抗体の結合部位の反応性アミノ酸の側鎖に共有結合するための反応性基である。) 30

のものであり、前記ターゲティング薬剤又は生物学的薬剤が、X もしくは Y (存在する場合) 又は X と Y の両方 (Y が存在する場合) に結合されることを特徴とする薬剤-リンカー化合物。

【請求項 1 1 8】

前記薬剤が、標的を結合し、又は生物学的活性を示す能力を保持するような方法で結合される、請求項 1 1 7 記載の薬剤-リンカー。

【請求項 1 1 9】

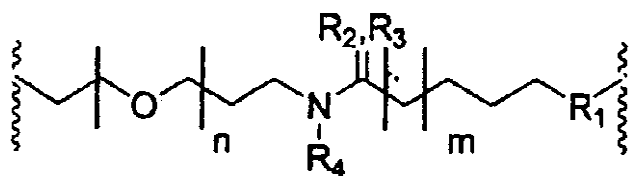
X が、5-200個の原子の線状ストレッチを含む、請求項 1 1 7 記載の薬剤-リンカー。

【請求項 1 2 0】

X が、式、

40

【化 8】



(式中、

R₂ ~ R₄ は、C、H、N、O、P、Si、ハロゲン (F、Cl、Br、I) 又はこれらの塩であ 50

り、

n は、1-100であり、かつ

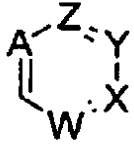
m は、1-100である。)

のヘテロカルビル構造である、請求項 1 1 7 記載のターゲティング薬剤-リンカー。

【請求項 1 2 1】

Y が、式、

【化 9】



10

(式中、

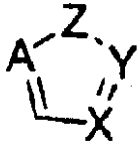
A、Z、Y、X 又は W は、独立に C 又は N である。)

の 6 員環である、請求項 1 1 7 記載の薬剤-リンカー。

【請求項 1 2 2】

Y が、式、

【化 1 0】



20

(式中、

A、Z、Y 又は X は、独立に C、O、N 又は S である。)

の 5 員環である、請求項 1 1 7 記載の薬剤-リンカー。

【請求項 1 2 3】

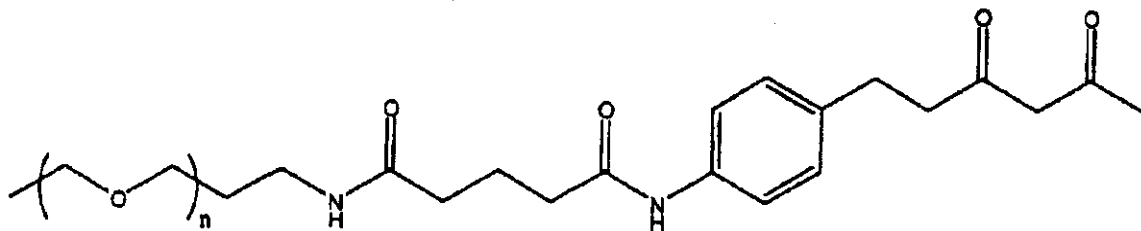
前記リンカーが、一つ以上の連結鎖の付加により分岐され、前記リンカーが、一つより多い認識基を含み、前記リンカーが、一つより多い反応性基、又はこれらの組み合わせを含む、請求項 1 1 7 記載の薬剤-リンカー。

30

【請求項 1 2 4】

前記リンカーが、下記の構造、

【化 1 1】



40

35

(式中、n は、1-100である。)

を有する、請求項 1 1 7 記載の薬剤-リンカー。

【請求項 1 2 5】

抗体の結合部位に共有結合された請求項 1 1 7 記載の薬剤-リンカーを含むことを特徴とする抗体ターゲティング薬剤。

【請求項 1 2 6】

抗体の結合部位に共有結合するための薬剤-リンカー化合物であって、前記薬剤-リンカ

50

ー化合物が、一つ以上のターゲッティング薬剤、一つ以上の生物学的薬剤、又はその両方を含み、前記リンカーが、式、



(式中、

Xは、C、H、N、O、P、S、Si、F、Cl、Br、及びIのいずれか、又はその塩を含み、かつ0-100単位の反復エーテル単位を含む原子の線状又は分岐連結鎖であり、

Yは、Zの1-20個の原子内に位置された単一又は縮合5もしくは6員ホモ又はヘテロ炭素環式飽和又は不飽和環であり、かつ

Zは、薬剤を抗体の結合部位の反応性アミノ酸の側鎖に共有結合するための反応性基である。)

10

のものであることを特徴とする薬剤-リンカー化合物。

【請求項127】

前記薬剤が、標的を結合するか又は生物学的活性を示す能力を保持する方法で結合されている、請求項126記載の薬剤-リンカー。

【請求項128】

Xが、ケトン、ジケトン、ベータラクタム、活性エステル、ハロケトン、ラクトン、酸無水物、エポキシド、アルデヒド、マレイミド、ジスルフィド、及びアリアルハライドからなる群から選ばれる、請求項126記載の薬剤-リンカー。

【請求項129】

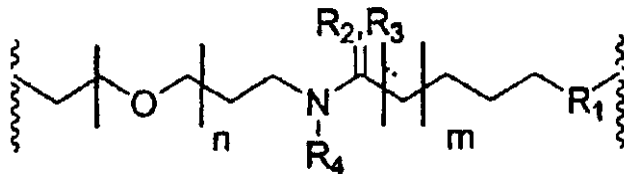
Xが、10-200個の原子の線状ストレッチを含む、請求項126記載の薬剤-リンカー。

20

【請求項130】

Xが、式、

【化12】



(式中、

$R_2 \sim R_4$ は、C、H、N、O、P、S、Si、ハロゲン(F、Cl、Br、I)又はこれらの塩であり、

nは、1-100であり、かつ

mは、1-100である。)

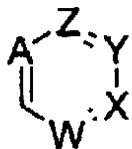
のヘテロカルビルである、請求項126記載の薬剤-リンカー。

30

【請求項131】

Yが、式、

【化13】



40

(式中、

A、Z、Y、X又はWは、独立にC又はNである。)

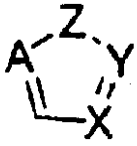
の6員環である、請求項126記載のターゲッティング薬剤-リンカー。

【請求項132】

Yが、式、

50

【化 1 4】



(式中、

A、Z、Y又はXは、独立にC、O、N又はSである。)

の5員環である、請求項126記載のターゲティング薬剤-リンカー。

【請求項133】

前記リンカーが、一つより多い連結鎖、一つより多い認識基、一つより多い反応性基、又はこれらの組み合わせを含む、請求項126記載のターゲティング薬剤-リンカー。

【請求項134】

抗体の結合部位に共有結合された請求項126記載の薬剤-リンカーを含むことを特徴とする抗体ターゲティング薬剤。

【請求項135】

生物学的活性を、細胞、組織細胞外マトリックス生物分子又は個体の液体中の生物分子に送出する方法であって、個体に請求項1、90、120、108、115、125、又は134のいずれかに記載の抗体ターゲティング化合物を投与することを含み、前記抗体ターゲティング化合物が、前記細胞、組織細胞外マトリックス生物分子又は液体生物分子に特異性であり、かつ前記抗体ターゲティング化合物が、生物学的活性を含むことを特徴とする生物学的活性の送出方法。

【請求項136】

疾患又は症状が標的分子を発現する細胞、組織又は液体を伴う、個体の疾患又は症状の治療又は予防方法であって、前記個体に、治療有効量の請求項1、90、120、108、115、125、又は134のいずれかに記載の抗体ターゲティング化合物を投与することを含み、前記抗体ターゲティング化合物が、前記標的分子に特異性であり、かつ前記ターゲティング化合物が、その疾患又は症状に対し有効な生物学的活性を含むことを特徴とする治療又は予防方法。

【請求項137】

前記生物学的薬剤が、サイトカイン、トキシン、薬物、核酸又は同位元素である、請求項136記載の方法。

【請求項138】

前記疾患又は症状が、感染症であり、かつ前記標的分子が、微生物物質又はウイルスにより発現される、請求項136記載の方法。

【請求項139】

前記化合物を *in vivo* 投与する、請求項136記載の方法。

【請求項140】

前記化合物を局所投与する、請求項136記載の方法。

【請求項141】

細胞又は組織が標的分子を発現する個体の細胞又は組織のイメージング方法であって、該個体に、検出可能な標識に結合された請求項1、90、120、108、115、125又は134のいずれかに記載の抗体ターゲティング化合物を投与することを含むことを特徴とするイメージング方法。

【請求項142】

表面に存在する微生物細胞又はウイルス粒子の感染性を低下する方法であって、前記表面を、有効量の請求項1、90、120、108、115、125、又は134のいずれかに記載の抗体ターゲティング化合物と接触させることを含み、前記抗体ターゲッティ

10

20

30

40

50

ング化合物が、前記微生物細胞又はウイルス粒子の受容体に特異性のターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤を含むことを特徴とする感染性の低下方法。

【請求項 1 4 3】

受容体のアゴニスト又はアンタゴニストについて化学ライブラリーをスクリーニングする方法であって、化学ライブラリーの個々の員を、抗体の結合部位に共有結合し、次いで受容体への結合又は受容体と受容体のリガンドの間の結合の抑制について抗体結合ライブラリーを試験することを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項 1 4 4】

前記受容体が、細胞により発現され、かつ前記結合又は結合の抑制が、前記結合又は結合の抑制から生じる細胞シグナルを検出することにより測定される、請求項 1 4 3 記載の方法。

10

【請求項 1 4 5】

サンプル中の分析物の量を測定するためのイムノアッセイであって、以下の工程、

(a)前記サンプルを含む媒体中で、分析物と、該分析物に特異性の少なくとも一種の抗体との間の複合体を形成する工程、

(b)前記媒体を分析して、前記複合体の量を検出する工程、そして

(c)前記複合体の量をサンプル中の分析物の量に関係付ける工程、

ことを含み、前記分析物に特異性の少なくとも一種の抗体ターゲッティング化合物と複合体を形成させ、前記特異性が、該分析物に特異性の非抗体ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤により与えられ、前記ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤が、抗体の結合部位に共有結合されることを特徴とするイムノアッセイ。

20

【請求項 1 4 6】

共有結合前の前記抗体が、約 1×10^{-5} モル/リットル未満の前記分析物に関するアフィニティーを示す、請求項 1 4 5 記載のアッセイ。

【請求項 1 4 7】

共有結合後の前記抗体が、約 1×10^{-6} モル/リットルより大きい前記分析物に関するアフィニティーを示す、請求項 1 4 5 記載のアッセイ。

【請求項 1 4 8】

前記抗体が、触媒抗体である、請求項 1 4 5 記載のアッセイ。

【請求項 1 4 9】

分析物の存在が、該分析物に特異性の抗体を使用することにより測定される直接又は間接結合アッセイにおいて、該分析物に特異性の抗体ターゲッティング化合物を使用して前記分析物の存在を測定し、前記特異性が、前記分析物に特異性の非抗体ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤により与えられ、前記ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤が、抗体の結合部位に共有結合されることを特徴とするアッセイ。

30

【請求項 1 5 0】

共有結合前の前記抗体が、約 1×10^{-5} モル/リットル未満の前記分析物に関するアフィニティーを示す、請求項 1 4 9 記載のアッセイ。

【請求項 1 5 1】

共有結合後の前記抗体が、約 1×10^{-6} モル/リットルより大きい前記分析物に関するアフィニティーを示す、請求項 1 4 9 記載のアッセイ。

40

【請求項 1 5 2】

前記抗体が、触媒抗体である、請求項 1 4 9 記載のアッセイ。

【請求項 1 5 3】

生物学的活性を、細胞、組織細胞外マトリックス生物分子又は個体の液体中の生物分子に送出手法であって、個体に請求項 1 0 9 記載の薬剤-リンカー-抗原化合物及びその抗原に特異性の抗体を別々に投与することを含み、前記薬剤-リンカー-抗原化合物が、in vivoで抗体結合部位と非共有結合で会合し、かつ前記薬剤-リンカー-抗原化合物が、細胞、組織細胞外マトリックス生物分子又は液体生物分子に特異性であることを特徴とする生物学的活性の送出手法。

50

【請求項 154】

疾患又は症状は標的分子を発現する細胞、組織又は液体を伴う、個体の疾患又は症状の治療又は予防方法であって、該個体に、治療有効量の請求項 109 記載の薬剤-リンカー-抗原化合物及びその抗原に特異性の抗体を投与することを含み、前記薬剤-リンカー-抗原が別々に投与され、*in vivo*で非共有結合で会合し、前記薬剤-リンカー-抗原化合物が、細胞、組織細胞外マトリックス生物分子又は液体生物分子に特異性であり、かつ前記薬剤-リンカー-抗原又は抗体が、その疾患又は症状に対し有効な生物学的活性を含むことを特徴とする治療又は予防方法。

【請求項 155】

前記生物学的薬剤が、サイトカイン、トキシン、薬物、核酸又は同位元素である、請求項 154 記載の方法。 10

【請求項 156】

前記疾患又は症状が、感染症であり、かつ前記標的分子が微生物物質又はウイルスにより発現される、請求項 154 記載の方法。

【請求項 157】

前記化合物を *in vivo*投与する、請求項 154 記載の方法。

【請求項 158】

前記化合物を局所投与する、請求項 154 記載の方法。

【請求項 159】

細胞又は組織は標的分子を発現する個体の細胞又は組織のイメージング方法であって、該個体に、検出可能な標識に結合された請求項 109 記載の薬剤-リンカー-抗原化合物及びその抗原に特異性の抗体を別々に投与することを含み、前記薬剤-リンカー-抗原化合物が、*in vivo*で抗体結合部位と非共有結合で会合し、かつ前記薬剤-リンカー-抗原化合物が、前記細胞又は組織中の標的に特異性であることを特徴とするイメージング方法。 20

【請求項 160】

細胞膜を横切る細胞透過ターゲティング薬剤又は生物学的薬剤の能力を抑制又は低下する方法であって、それ自体では細胞膜を横切らない抗体の結合部位をターゲティング薬剤又は生物学的薬剤に共有結合することにより、抗体ターゲティング化合物を生成することを含み、前記ターゲティング薬剤又は生物学的薬剤への前記抗体の結合が、細胞膜を横切る薬剤の能力を低下又は抑制することを特徴とする抑制又は低下方法。 30

【請求項 161】

前記薬剤が、標的を結合するか又は生物学的活性を示す能力を保持する方法で結合される、請求項 160 記載の方法。

【請求項 162】

線状又は分岐リンカーを使用して前記結合を得る、請求項 160 記載の方法。

【請求項 163】

ターゲティング薬剤、生物学的薬剤又はその両方、及び抗体の結合部位との反応のための反応性基を含むリンカーを含む薬剤リンカー化合物を調製し、前記薬剤-リンカー化合物の前記リンカーの前記反応性基を抗体の結合部位に共有結合することにより、前記結合を得る、請求項 162 記載の方法。 40

【請求項 164】

抗体、及び前記一つ以上のターゲティング薬剤又は生物学的薬剤との反応のための反応性基を含むリンカーを含む抗体-リンカー化合物を調製し、抗体-リンカー化合物の反応性基を前記一つ以上のターゲティング薬剤又は生物学的薬剤に結合することにより、前記結合を得る、請求項 162 記載の方法。

【請求項 165】

(a)ターゲティング薬剤、生物学的薬剤又はその両方及び反応性基を含むリンカーを含む薬剤リンカー化合物を調製する工程、及び

(b)抗体及び工程(a)の反応性基との反応を受け易い化学基を含むリンカーを含む抗体-リンカー化合物を調製する工程、又は

(c)抗体及び反応性基を含むリンカーを含む抗体-リンカー化合物を調製する工程、及び
 (d)ターゲッティング薬剤、生物学的薬剤又はその両方、及び工程(c)の前記反応性基との反応を受け易い化学基を含むリンカーを含む薬剤リンカー化合物を調製する工程、及び
 (e)前記工程(a)及び(b)又は工程(c)及び(d)のリンカーを前記反応性かつ感受性基により一緒に共有結合して抗体ターゲッティング化合物を生成することにより、前記結合を得る、請求項162記載の方法。

【請求項166】

前記薬剤が、抗体ではない、請求項162記載の方法。

【請求項167】

細胞内活性薬物の細胞内送出を媒介する方法であって、以下の工程、

10

(a)抗体ターゲッティング化合物であって、抗体の結合部位にリンカーにより共有結合された一つ以上のターゲッティング薬剤、一つ以上の生物学的薬剤又はその両方を含み、前記一つ以上のターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤が細胞受容体に結合し、内在化を媒介し、前記ターゲッティング化合物は又細胞内で活性である薬物を含む化合物を調製する工程、及び

(b)前記受容体を発現する細胞を工程(a)の抗体ターゲッティング化合物と接触させる工程、

を含み、前記接触が、抗体ターゲッティング薬剤の内在化及び前記薬物の細胞内送出をもたらすことを特徴とする薬物の細胞内送出の媒介方法。

【請求項168】

20

前記細胞内活性薬物が、前記薬物が細胞内区画と接触する場合に活性になるプロドラッグである、請求項167記載の方法。

【請求項169】

前記抗体ターゲッティング化合物が、内在化された抗体ターゲッティング化合物を特別な細胞内区画に誘導するためのトラフィックシグナルを更に含む、請求項167記載の方法。

【請求項170】

二つ以上のターゲッティング薬剤、生物学的薬剤又はその両方が、抗体結合部位に共有結合され、それにより前記抗体ターゲッティング化合物と前記細胞受容体の間の結合活性を増大し、増大された受容体媒介内在化及び増大された薬物送出をもたらす、請求項167記載の方法。

30

【請求項171】

抗体ターゲッティング化合物の物理的又は生物学的性質の変更方法であって、以下の工程、

(a)一つ以上のターゲッティング薬剤又は一つ以上の生物学的薬剤が抗体の結合部位にリンカーにより共有結合された抗体を含む抗体ターゲッティング化合物を調製する工程、

(b)リンカーの一つ以上の化学的特性を変更する工程、及び

(c)抗体ターゲッティング化合物の物理的又は生物学的性質が変更されたかを測定する工程、

を含むことを特徴とする方法。

40

【請求項172】

前記物理的又は生物学的性質が、薬物速度論、薬力学、免疫原性、結合アフィニティー、分解に対する感受性、可溶性、親油性、親水性、疎水性、安定性、及び硬性である、請求項171記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、生物学的分子をターゲッティングするための化合物並びにこれらの化合物の製造方法及び使用方法に関する。

【背景技術】

50

【0002】

通常開発された医薬薬物及び生物学的エフェクター分子は、しばしば高毒性のために治療上の使用が制限される。種々のアプローチがこのような薬物又はエフェクターの治療インデックスを改良するために長年にわたって使用されていた。一つのアプローチは薬物又はエフェクターを抗体の如きリガンドターゲット薬剤にカップリングすることであった。この場合、抗体は薬物又はエフェクターの分布を変えるのに使用され、その結果、それが *in vivo* で最も必要とされる場所にその多くが局在化し得る。小分子量薬物又はエフェクターの改良されたターゲットは薬物又はエフェクターを大分子量化合物と複合体形成することにより得られた。例えば、欧州特許EP217577は増大された半減期及び薬剤によるターゲットがハプテン修飾薬剤と抗ハプテン抗体の間の複合体を *in vivo* で形成することにより得られることを開示している。同様に、国際特許出願公開W0 98/22141は治療薬とハプテンのコンジュゲートを開示している。コンジュゲートは被験者に投与され、被験者の血流中で循環する。循環コンジュゲートは被験者中の既存の抗体により認識され、結合される。又、Shokat及びSchultz (J. Am. Chem. Soc., 1991, 113:1862-1864) はリガンド媒介免疫原性と称される方法を使用して免疫応答を再誘導するための方法を開示している。この教示によれば、非変異抗原が特定のリガンドと複合体形成され、被験者に投与される。次いで複合体形成された非変異抗原が被験者中に存在する天然産抗体を結合する。

10

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

20

【0003】

本発明は多くの用途に有益である特異な特異性及び生物学的性質を有する抗体ターゲット化合物を提供する。本発明の抗体ターゲット化合物は抗体結合部位に共有結合又は非共有結合された一つ以上のターゲット薬剤もしくは生物学的薬剤又はその両方を含む。線状又は分岐リンカーが共有結合及び非共有結合に使用されることが好ましい。リンカーの化学的特性が開示される。状況に応じて、結合部位の抗体特異性はターゲット薬剤又は生物学的薬剤への共有結合又は非共有結合後に変更又は排除されてもよい。或る実施態様において、共有結合前の抗体の抗原結合特異性は共有結合後に実質的に保持されてもよい。

抗体ターゲット化合物は種々の利益を成分それら自体に与える。例えば、化合物の抗体部分は一般に *in vivo* で一層小さいサイズのターゲット薬剤又は生物学的薬剤の半減期を延長し得る。又、特別なターゲット薬剤又は生物学的薬剤の生物学的効力又はその他の生物学的特徴が化合物の抗体部分により与えられる一種以上のエフェクター機能（例えば、補体媒介エフェクター機能）の追加により変更し得る。加えて、ターゲット薬剤又は結合剤は、抗体への結合により与えられるその増大されたサイズにより、ターゲット薬剤が新しい能力で機能することを可能にし得る。

30

或る実施態様において、化合物のターゲット薬剤は非免疫グロブリン標的分子又は免疫グロブリン結合部位の外部の免疫グロブリン標的分子に結合し得る。こうして、これらの実施態様において、ターゲット薬剤は非抗体に特異性であり、又は抗体に特異性であるが、その結合部位の外部で抗体に結合する。好ましいアプローチにおいて、触媒抗体が生物分子に特異的に結合する化合物に修飾し得る。抗体ターゲット化合物の抗体部分は全抗体又は特異な抗体フラグメントを含むことができ、非ヒト免疫グロブリン又はヒト免疫グロブリンの如き種々の動物種に由来する配列を有してもよく、後者はヒト抗体、ヒト化抗体又はヒトキメラ抗体を含む。

40

又、本発明の抗体ターゲット化合物の生成方法が提供される。一実施態様において、ターゲット薬剤及び/又は生物学的薬剤を含む薬剤-リンカー化合物が抗体の結合部位との共有結合反応のための反応性基を含むリンカーに結合される。別のアプローチにおいて、抗体-リンカー化合物が調製され、この場合、リンカーは前記一つ以上のターゲット薬剤又は生物学的薬剤との反応のための反応性基を含む。更に別のアプローチにおいて、薬剤及び抗体が適合性の反応性基を有するリンカーに夫々結合でき、その

50

結果、二つのリンカーが共有結合する場合に抗体ターゲッティング化合物が生成する。

【0004】

更に、抗体の結合部位に共有結合し得るターゲッティング薬剤、生物学的薬剤又はその両方を含む薬剤-リンカー化合物が提供される。或る実施態様において、リンカーはターゲッティング薬剤を抗体の結合部位に共有結合するための反応性基を含む。抗体結合部位への結合は結合部位の反応性アミノ酸の側鎖についてであってもよい。或る実施態様において、反応性アミノ酸はリシンであり、一方、リンカー反応性基はケトン、ジケトン、ペーテラクトム、スクシニミド活性エステル、ハロケトン、ラクトン、酸無水物、エポキシド、アルデヒド、ハライド、スルホネート、ホスホネート、グアニジン、アミジン、イミン、エネアミン、ケタール、アセタール、又はマレイミドである。

10

薬剤-リンカー化合物の種々の化学的特徴が記載される。一実施態様において、リンカーは一般式X-Y-Zを有し、式中、XはC、H、N、O、P、S、Si、F、Cl、Br、及びIのいずれか、又はその塩を含み、かつ2-100単位の反復エーテル単位を含む原子の線状又は分岐連結鎖であり、Yは任意であり、Zの1-20個の原子内に位置された単一又は縮合5又は6員ホモ又はヘテロ炭素環式飽和又は不飽和環であり、かつZは一つ以上のターゲッティング薬剤を抗体の結合部位の反応性アミノ酸の側鎖に共有結合するための反応性基である。ターゲッティング薬剤はXもしくはY又はXとY(一つより多いターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤がターゲッティング薬剤-リンカー化合物中に含まれる場合)に結合されてもよい。

更に、抗体の結合部位に非共有結合するためのターゲッティング薬剤-リンカー-抗原化合物が提供される。これらの化合物は二つより多いターゲッティング薬剤、二つより多い生物学的薬剤又は少なくとも二つの薬剤を含み、その一つがターゲッティング薬剤であり、別のものが生物学的薬剤である。薬剤は抗体により認識された抗原にリンカーにより共有結合される。リンカー及び抗原の種々の化学的特徴が開示される。

20

【0005】

更に、特別な標的分子について低結合アフィニティー又は検出できない結合アフィニティーを示す抗体を修飾する方法が提供され、その結果、抗体が特別な標的分子について増大された結合特異性を有する。一実施態様において、特別な標的分子に特異性の一つ以上のターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤が抗体の結合部位に共有結合されて抗体ターゲッティング化合物を生成する。薬剤は特別な標的分子を結合するそれらの能力を保持する

30

ような方法で結合される。幾つかのこのような実施態様において、共有結合前の抗体は約 1×10^{-5} モル/リットル未満の標的分子に関するアフィニティーを有する。共有結合後に、ターゲッティング化合物は約 1×10^{-6} モル/リットルより大きい標的分子に関するアフィニティーを示し得る。

更に、ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤の少なくとも一つの物理的又は生物学的特性を変化する方法が提供される。一実施態様において、薬剤が抗体の結合部位に共有結合されて抗体ターゲッティング化合物を生成する。又、リンカーの一つ以上の化学的特性を変更することにより抗体ターゲッティング化合物の一つ以上の物理的又は生物学的性質を変更するための方法が提供される。或る実施態様において、変更される物理的又は生物学的性質として、薬物速度論、薬力学、免疫原性、結合アフィニティー、分解に対する感受性、可溶性、親油性、親水性、疎水性、安定性、及び硬性が挙げられる。

40

又、生物学的活性を細胞、細胞外マトリックス生物分子又は個体の液体生物分子に送出手法が提供される。一つのアプローチにおいて、生物学的に活性であり、細胞、細胞外マトリックス生物分子又は液体生物分子に特異性である本発明の抗原ターゲッティング化合物が個体に投与される。別のアプローチにおいて、細胞、組織細胞外マトリックス生物分子又は液体生物分子に特異性の、本発明の薬剤-リンカー-抗原化合物、及び抗原に特異性の抗体が個体に別々に投与され、薬剤-リンカー-抗原化合物が抗体結合部位と非共有結合で会合する場合に抗体ターゲッティング薬剤がin vivoで生成する。

【0006】

更に、個体の疾患又は症状を治療又は予防する方法が提供され、その疾患又は症状は標

50

的分子を発現する細胞、組織又は液体を伴う。一つのアプローチにおいて、治療有効量の本発明の抗体ターゲティング化合物が個体に投与される。別のアプローチにおいて、治療有効量の本発明の薬剤-リンカー-抗原化合物、及び抗原に特異性の抗体が個体に別々に投与され、薬剤-リンカー-抗原化合物が抗体結合部位と非共有結合で会合する場合に抗体ターゲティング薬剤が *in vivo* で生成する。両方のアプローチにおいて、抗体ターゲティング化合物又は薬剤-リンカー-抗原化合物は標的分子に特異性であり、その化合物又は抗体は疾患又は症状に対し有効な生物学的活性を含む。

更に、個体中の細胞又は細胞外マトリックスのイメージング方法が提供され、この場合、細胞又は細胞外マトリックスが標的分子を発現する。一つのアプローチにおいて、本発明の抗体ターゲティング化合物が検出できる標識に結合され、個体に投与される。別のアプローチにおいて、薬剤-リンカー-抗原化合物及び抗原に特異性の抗体が個体に別々に投与され、薬剤-リンカー-抗原化合物が抗体結合部位と非共有結合で会合する場合に抗体ターゲティング薬剤が *in vivo* で生成する。両方のアプローチにおいて、標識が抗体、ターゲティング薬剤及び/又は生物学的薬剤に結合されてもよい。

更に、表面に存在する微生物細胞又はウイルス粒子の感染性を低下する方法が提供される。これらの方法によれば、その表面が有効量の本発明の抗体ターゲティング化合物と接触され、この場合、抗体ターゲティング化合物は前記微生物細胞又はウイルス粒子の受容体に特異性のターゲティング薬剤又は生物学的薬剤を含む。

【0007】

又、受容体のアゴニスト又はアンタゴニストについて化学ライブラリーをスクリーニングする方法が提供される。その方法は化学ライブラリーの個々の員を抗体の結合部位に結合し、次いで抗体結合されたライブラリーを受容体への結合又は受容体と受容体のリガンドの間の結合の抑制について試験することを含む。

更に、本発明の抗体ターゲティング化合物を使用する種々のイムノアッセイが提供される。サンプル中の分析物を検出又は測定するための一実施態様において、本発明は本発明の抗体ターゲティング化合物の使用を含み、この場合、分析物に関する抗体特異性がターゲティング薬剤から生じ、これは抗体結合部位に共有結合される。分析物に特異性の抗体を使用して分析物の存在を測定するための直接又は間接結合アッセイを伴う別の実施態様において、本発明は分析物に特異性の抗体を使用して分析物の存在を測定することを含み、この場合、抗体特異性が抗体の結合部位の反応性アミノ酸に結合される分析物に特異性の非抗体ターゲティング薬剤から生じる。

更に、細胞膜を横切るターゲティング薬剤又は生物学的薬剤の能力を抑制又は低下する方法が提供される。これらの方法において、抗体ターゲティング化合物がそれ自体では細胞膜を横切らない抗体の結合部位をターゲティング薬剤又は生物学的薬剤に共有結合することにより生成され、この場合、前記ターゲティング薬剤又は生物学的薬剤への前記抗体の結合が細胞膜を横切る薬剤の能力を低下又は抑制する。

更に、細胞内で活性の薬物の細胞内送出手を媒介する方法が提供される。これらの方法において、抗体ターゲティング化合物が調製され、この場合、前記化合物は抗体の結合部位にリンカーにより共有結合された一つ以上のターゲティング薬剤もしくは一つ以上の生物学的薬剤又はその両方を含む。ターゲティング薬剤又は生物学的薬剤はそれらが細胞受容体に結合し、薬剤の内在化を媒介することを特徴とする。又、抗体ターゲティング化合物は細胞内で活性である薬物を含む。受容体が発現する細胞が抗体ターゲティング化合物と接触する場合に、細胞内薬物送出手が生じる。その接触が抗体ターゲティング薬剤の内在化及び細胞内の前記薬物の送出手をもたらす。或る実施態様において、細胞内で活性の薬物は前記薬物が細胞内区画と接触する場合に活性になるプロドラッグである。抗体ターゲティング化合物は内在化された抗体ターゲティング化合物を特別な細胞内区画に誘導するための細胞内トラフィックシグナルを含んでもよい。

更に、本発明は本発明の抗体ターゲティング化合物及び医薬上許される担体を含む医薬組成物又は薬物を提供する。

【発明を実施するための最良の形態】

10

20

30

40

50

【0008】

本発明はターゲッティング薬剤及び/又は生物学的薬剤が抗体の結合部位に共有結合又は非共有結合される種々の抗体ターゲッティング化合物を提供する。一つ以上のターゲッティング薬剤が結合される場合、ターゲッティング薬剤の少なくとも一つはそれがその標的を結合し得るように結合されるであろう。これはターゲッティング薬剤をその標的についでその結合特異性に影響する様式で結合することにより、又ターゲッティング薬剤をそれが抗体による立体障害なしにその標的を結合し得るように抗体結合部位から十分に隔てることにより得られる。これはこれから詳しく説明される好適なリンカー及び結合戦略を使用することにより得られる。

生物学的薬剤が又ターゲッティング薬剤ではない場合、抗体は一つ以上の生物学的薬剤への結合後に少なくとも或る種の抗原結合特異性を保持することが好ましい。一つ以上の生物学的薬剤が抗体結合部位に結合される抗体化合物は、このような薬剤が抗体に結合されている間に生物学的に活性である場合に、結合された生物学的薬剤のために生物学的活性を示し得る。これは抗体結合部位を生物学的活性に影響しない生物学的薬剤の位置に結合することによるような種々の戦略により得られる。別の戦略は生物学的薬剤が抗体による立体障害なしに活性に必要な別の分子に結合し得るように生物学的薬剤を抗体から離れて位置することである。抗体結合部位に結合された一つ以上の生物学的薬剤の生物学的活性を得るためのその他の戦略は当業者に公知である。或る実施態様において、生物学的薬剤の生物学的活性はその薬剤が抗体結合部位から放出されるまで実現されないかもしれない。これはこれから更に説明されるような不安定結合の助けにより或る実施態様において得られる。

【0009】

或る実施態様において、共有結合前に存在する抗体の自然抗原結合特異性は共有結合後に実質的に変更されないであろう。換言すれば、一つ以上のターゲッティング薬剤又は一つ以上の生物学的薬剤の共有結合から得られる抗体化合物はそれが共有結合前にそうであったのと同様のアフィニティーで同抗原を結合し得る。その他の実施態様において、共有結合前の抗体の結合特異性は共有結合後に実質的に変更されるであろう。共有結合から得られる実質的に変更された抗体結合特異性は抗原に結合する共有結合された抗体の実質的に低下された能力又は抗原に結合する共有結合された抗体の実質的に増大された能力のためであり得る。或る実施態様において、抗原への抗原結合部位の結合は抗体の最初の抗原結合特異性が有効に排除されるように十分に低下される。或る実施態様において、抗原への抗原結合部位は抗体の最初の抗原結合特異性が有効に排除され、抗体結合部位に共有結合された一つ以上のターゲッティング薬剤のそれで置換されるように十分に低下される。抗体の結合特異性が一つ以上のターゲッティング薬剤のそれで有効に置換される実施態様において、抗体は、一つ以上のターゲッティング薬剤への共有結合後に、約 1×10^{-6} モル/リットルより大きい標的分子に関するアフィニティーを示す。

いかなる理論にも束縛されたくないが、抗原への実質的に低下された抗体結合は抗原が抗体結合部位と接触することを立体障害する一つ以上のターゲッティング薬剤又は一つ以上の生物学的薬剤から生じ得る。又、もしくは加えて、実質的に低下された抗原結合は共有結合により変更された抗体結合部位のアミノ酸側鎖が抗原への結合に重要であった場合に生じ得る。抗原への実質的に増大された抗体結合は一つ以上のターゲッティング薬剤又は一つ以上の生物学的薬剤が抗原が抗体結合部位と接触することから立体障害せず、共有結合により変更された抗体結合部位のアミノ酸側鎖が抗原への結合に重要であった場合に生じ得る。

本発明のターゲッティング化合物は単一結合部位を有する抗体又は抗体フラグメント、例えば、Fab抗体フラグメント又はFab'抗体フラグメントを含み得る。このような場合、ターゲッティング薬剤はその抗体分子の単一結合部位に結合されるであろう。ターゲッティング分子の抗体又は抗体フラグメントが二つ以上の結合部位を含む場合、結合部位の少なくとも一つは共有結合されたターゲッティング薬剤を含むであろう。或る場合には、抗体の結合部位の全部又は殆どがターゲッティング薬剤に共有結合し得る。抗体の多重結合

部位がターゲッティング薬剤に結合される場合、結合部位の全てがそれらに結合された同じターゲッティング薬剤を有してもよく、又は同じ抗体に結合された異なるターゲッティング薬剤を有してもよい。多重ターゲッティング薬剤を単一抗体結合部位に共有結合し得ることは容易に理解されるであろう。このような多量体のターゲッティング薬剤は多量体中のターゲッティング薬剤の特異性に関してヘテロ多量体又はホモ多量体であってもよい。

【0010】

本明細書に使用される“ターゲッティング薬剤”又は“ターゲッティング成分”は、例えば、細胞、組織（例えば、細胞外マトリックス）、液体、生物、又はこれらのサブセット中に位置された標的分子の標的部分を認識し、結合し、又は付着する部分を表す。ターゲッティング薬剤及びその標的分子は、例えば、イオン結合、共有結合、疎水性結合、ファン・デル・ワース結合、及び水素結合を含む種々の分子力のいずれかにより互いに相互作用する分子の結合対に相当し、その結果、その対は互いに特異的に結合する性質を有する。特異性結合は結合対がそれらが別の分子に結合しない条件下で互いの結合を示すことを意味する。結合対の例はビオチン-アビジン、ホルモン-受容体、受容体-リガンド、酵素-基質、IgG-プロテインA、抗原-抗体等である。ターゲッティング薬剤及びそのコグネイト標的分子は互いについて有意な会合を示す。この会合は当業界で公知の方法に従って平衡会合定数（又は結合定数）を測定することにより評価し得る。アフィニティーは $K_d = k_{off} / k_{on}$ (k_{off} は解離速度定数であり、 k_{on} は会合速度定数であり、かつ K_d は平衡定数である) として計算される。

アフィニティーは平衡時に種々の濃度(c)における標識リガンドの結合されたフラクション(r)を測定することにより測定し得る。スキッチャード式： $r/c = K(n-r)$ を使用して、データがグラフ化される。

式中、

r = 平衡時の結合されたリガンドのモル数 / 受容体 1 モル

c = 平衡時の遊離リガンド濃度

K = 平衡会合定数、かつ

n = 受容体分子当りのリガンド結合部位の数

グラフ分析により、r/cがY軸にプロットされ、これに対しrがX軸にプロットされ、こうしてスッチャードプロットを生じる。アフィニティーはその線の負の傾斜である。 k_{off} は結合された標識リガンドを過剰の未標識リガンドと競合することにより測定し得る（例えば、米国特許第6,316,409号明細書を参照のこと）。その標的分子に関するターゲッティング薬剤のアフィニティーは少なくとも約 1×10^{-6} モル/リットルであることが好ましく、少なくとも約 1×10^{-7} モル/リットルであることが更に好ましく、少なくとも約 1×10^{-8} モル/リットルであることが更に好ましく、少なくとも約 1×10^{-9} モル/リットルであることが更に好ましく、少なくとも約 1×10^{-10} モル/リットルであることが最も好ましい。

【0011】

ターゲッティング薬剤として、5,000ダルトン以下の小分子有機化合物、例えば、薬物、タンパク質、ペプチド、ペプチド擬態、糖タンパク質、プロテオグリカン、脂質、糖脂質、リン脂質、リポ多糖、核酸、プロテオグリカン、炭水化物等が挙げられるが、これらに限定されない。ターゲッティング薬剤として、抗腫瘍薬を含む公知の治療薬化合物が挙げられる。抗腫瘍ターゲッティング薬剤として、ターゲタクリタキセル、ダウノルピシン、ドキソルピシン、カルミノマイシン、4'-エピアドリアマイシン、4-デメトキシ-ダウノマイシン、11-デオキシダウノルピシン、13-デオキシダウノルピシン、アドリアマイシン-14-ベンゾエート、アドリアマイシン-14-オクタノエート、アドリアマイシン-14-ナフタレンアセテート、ピンブラスチン、ピンクリスチン、マイトマイシンC、N-メチルマイトマイシンC、プレオマイシンA₂、ジデアザテトラヒドロ葉酸、アミノプテリン、メトトレキセート、コルシシン及びシスプラチン等が挙げられる。抗菌薬として、ゲンタマイシンを含むアミノグリコシド、抗ウイルス化合物、例えば、リファムピシン、3'-アジド-3'-デオキシチミジン(AZT)及びアサイクロバー、抗真菌薬、例えば、フルコナゾールを含む

アゾール、プライアーマクロライド (plyre macrolides)、例えば、アンホテリシン B、及びカンジジジン、抗寄生虫化合物、例えば、アンチモニアル等が挙げられる。ホルモントーゲッティング薬剤として、トキシソ、例えば、ジフテリアトキシソ、サイトカイン、例えば、CSF、GSF、GMCSF、TNF、エリスロポイエチン、イムノモジュレーター又はサイトカイン、例えば、インターフェロン又はインターロイキン、ニューロペプチド、生殖ホルモン、例えば、HGH、FSH、又は LH、甲状腺ホルモン、神経伝達物質、例えば、アセチルコリン、及びホルモン受容体、例えば、エストロゲン受容体が挙げられる。

【0012】

幾つかの好ましい実施態様において、ターゲットティング薬剤は抗体ではない。その他の好ましい実施態様において、ターゲットティング薬剤は金属キレートではない。ターゲットティング薬剤は天然免疫グロブリンと較べて小分子であることが好ましい。ターゲットティング薬剤を抗体結合部位のアミノ酸残基に共有結合するのに必要なあらゆる結合部分を含む、ターゲットティング薬剤は、サイズが少なくとも約300ダルトンであることが好ましく、サイズが少なくとも約400、500、600、700、800、900、1,000、1,100、1,200、1,300、1,400、1,500、1,600、1,700、1,800、1,900、2,000、2,500、3,000、3,500、4,000、4,500又は更には5,000ダルトンであることが好ましく、それより大きいサイズも可能である。

本発明のターゲットティング化合物中の好適なターゲットティング薬剤はタンパク質又はペプチドであってもよい。“ポリペプチド”、“ペプチド”及び“タンパク質”はアミノ酸残基のポリマーを表すのに互換可能に使用される。本明細書に使用される、これらの用語は一つ以上のアミノ酸残基が相当する天然産アミノ酸の人工化学類似体であるアミノ酸ポリマーに適用される。又、これらの用語は天然産アミノ酸ポリマーに適用される。アミノ酸はペプチドの結合機能が維持される限り L 形態又は D 形態であってもよい。ペプチドは可変長さのものであってもよいが、一般に長さ約4~200アミノ酸である。ペプチドはペプチド内の二つの非隣接アミノ酸間に分子内結合、例えば、主鎖と主鎖、側鎖と主鎖及び側鎖と側鎖の環化を有して、環状であってもよい。環状ペプチドは当業界で公知の方法により調製し得る。例えば、米国特許第6,013,625号明細書を参照のこと。

【0013】

標的分子について結合活性を示すタンパク質又はペプチドターゲットティング薬剤が当業界で公知である。例えば、ターゲットティング薬剤はウイルスペプチド細胞融合インヒビターであってもよい。これとして、HIV感染細胞の融合受容体を標的とする T-20 HIV-1 gp41 融合インヒビター (T-20について、Kangらの米国特許第6,281,331号及び同第6,015,881号明細書; Nagashimaら, J. Infectious Diseases 183:1121, 2001を参照のこと; その他の HIVインヒビターについて、Barneyの米国特許第6,020,459号明細書及び Jeffsらの WO 0151 673A2を参照のこと)、RSV細胞融合インヒビター (Antczakの WO 0164013A2及び McKimm-Breschkin, Curr. Opin. Invest. Drugs 1:425-427, 2000 (VP-14637)を参照のこと)、ニューモウイルス属細胞融合インヒビター (Nitzらの WO 9938508A1を参照のこと)等が挙げられる。又、ターゲットティング薬剤として、ペプチドホルモン又はペプチドホルモン類似体、例えば、LHRH、ボンベシン/ガストリン放出ペプチド、ソマトスタチン (例えば、RC-121オクタペプチド)等が挙げられ、これらは種々の癌、卵巣癌、乳癌、前立腺癌、肺の小細胞癌、結腸直腸癌、胃癌、及び膵臓癌のいずれかを標的とするのに使用し得る。例えば、Schallyら, Eur. J. Endocrinology, 141:1-14, 1999を参照のこと。

又、本発明のターゲットティング化合物中の使用に適したペプチドターゲットティング薬剤はペプチド配列のランダムライブラリーを示すファージライブラリーの *in vivo* ターゲッティングを使用して同定し得る (例えば、Arapら, Nature Medicine, 2002 8(2):121-7; Arapら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002 99(3):1527-1531; Trepelら, Curr. Opin. Chem. Biol. 2002 6(3):399-404を参照のこと)。

【0014】

或る実施態様において、ターゲットティング薬剤はインテグリンに特異性である。インテグリンは細胞付着イベント及びシグナル伝達プロセスで機能するヘテロダマーの膜貫通糖タンパク質複合体である。インテグリン $\alpha_v \beta_3$ は多くの細胞で発現され、骨マトリック

10

20

30

40

50

スへのオステオクラストの付着、血管平滑筋細胞の移行、及び血管形成を含む、幾つかの生物学的に関係のあるプロセスを媒介することが示されていた。インテグリン $\alpha_3\beta_1$ アンタゴニストはおそらく新血管形成を伴う疾患、例えば、慢性関節リウマチ、癌、及び眼の疾患を含む、幾つかのヒト疾患の治療に用途を有する。

インテグリンに適したターゲティング薬剤として、RGDペプチドもしくはペプチド擬態又は非RGDペプチドもしくはペプチド擬態が挙げられる。本明細書に使用される“Arg-Gly-Aspペプチド”又は“RGDペプチド”についての言及は“受容体のArg-Gly-Aspファミリー”の受容体、例えば、インテグリンの結合部位として機能し得る一つ以上のArg-Gly-Asp含有配列を有するペプチドを表すことが意図される。インテグリン（これはアルファサブユニット及びベータサブユニットを含む）として、 $\alpha_1\beta_1$ 、 $\alpha_2\beta_1$ 、 $\alpha_3\beta_1$ 、 $\alpha_4\beta_1$ 、 $\alpha_5\beta_1$ 、 $\alpha_6\beta_1$ 、 $\alpha_7\beta_1$ 、 $\alpha_8\beta_1$ 、 $\alpha_9\beta_1$ 、 $\alpha_1\beta_2$ 、 $\alpha_6\beta_4$ 、 $\alpha_4\beta_7$ 、 $\alpha_D\beta_2$ 、 $\alpha_D\beta_2$ 、 $\alpha_L\beta_2$ 、 $\alpha_M\beta_2$ 、 $\alpha_V\beta_1$ 、 $\alpha_V\beta_3$ 、 $\alpha_V\beta_5$ 、 $\alpha_V\beta_6$ 、 $\alpha_V\beta_8$ 、 $\alpha_X\beta_2$ 、 $\alpha_{IIb}\beta_3$ 、 $\alpha_{IELb}\beta_7$ 等を含む多くの型が挙げられる。配列RGDは幾つかのマトリックスタンパク質中に存在し、インテグリンによるマトリックスへの細胞結合のための標的である。血小板はタンパク質GP II_b/III_aの多量のRGD細胞表面受容体を含み、これはその他の血小板及び損なわれた血管の内皮表面との相互作用により冠動脈血栓症の発生の主たる原因である。又、RGDペプチドという用語はその機能性均等物（例えば、RLD又はKGD）であるアミノ酸を含むが、但し、それらが同じRGD受容体と相互作用することを条件とする。RGD配列を含むペプチドは当業界で公知の手段により、例えば、自動化ペプチド合成装置、例えば、アプライド・バイオシステムズ社（フォスター・シティ、カリフォルニア）により製造された合成装置を使用してアミノ酸から合成し得る。

【0015】

本明細書に使用される“非RGD”ペプチドはそのリガンド（例えば、フィブロネクチン、ビトロネクチン、ラミニン、コラーゲン等）に結合するインテグリンのアンタゴニスト又はアゴニストであるが、RGD結合部位を伴わないペプチドを表す。非RGDインテグリンペプチドが $\alpha_3\beta_1$ について知られている（例えば、米国特許第5,767,071号及び同第5,780,426号明細書を参照のこと）だけでなく、その他のインテグリン $\alpha_4\beta_1$ (VLA-4)、 $\alpha_4\beta_7$ 等について知られている（例えば、米国特許第6,365,619号明細書；Changら，*Bioorganic & Medicinal Chem Lett*, 12:159-163 (2002)；Linら，*Bioorganic & Medicinal Chem Lett*, 12:133-136 (2002)を参照のこと）。

インテグリンターゲティング薬剤はペプチド擬態アゴニスト又はアンタゴニストであってもよく、これはRGDペプチド又は非RGDペプチドのペプチド擬態アゴニスト又はアンタゴニストであることが好ましい。本明細書に使用される“ペプチド擬態”という用語は天然の親ペプチドの一つ以上の生物学的作用を模擬又は拮抗作用し得る非ペプチド構造要素を含む化合物である。RGDペプチドのペプチド擬態はRGDアミノ酸配列の同様のペプチド鎖薬作用発生団基を保持するが結合部位配列中にアミノ酸又はペプチド結合を欠いている有機分子である。同様に、非RGDペプチドのペプチド擬態は非RGD結合部位配列の同様のペプチド鎖薬作用発生団基を保持するが結合部位配列中にアミノ酸又はペプチド結合を欠いている有機分子である。“薬作用発生団”は化合物が特別な応答を生じ、又は所望の活性を有するのに必要とされる官能基の特別な三次元配置である。“RGDペプチド擬態”という用語は有機/非ペプチド構造により支持されたRGD薬作用発生団を含む分子を含む化合物を表すことが意図される。RGDペプチド擬態（又は非RGDペプチド擬態）はそれ自体がペプチド結合により結合された通常又は修飾アミノ酸を含む一層大きい分子の部分であってもよいことが理解される。

【0016】

RGDペプチド擬態は当業界で公知であり、インテグリン、例えば、GPIIb/IIIa、 $\alpha_3\beta_1$ 及び $\alpha_5\beta_1$ に関して記載されていた（例えば、Millerら，*J. Med. Chem.* 2000, 43:22-26、並びに国際特許公開WO 0110867、WO 9915178、WO 9915170、WO 9815278、WO 9814192、WO 0035887、WO 9906049、WO 9724119及びWO 9600730を参照のこと、又Kumarら，*Cancer Res.* 61:2232-2238 (2000)を参照のこと）。多くのこのような化合物は一種より多いイン

10

20

30

40

50

テグリンに特異性である。RGDペプチド擬態は一般にコアー又は鑄型（又“フィブリノーゲン受容体アンタゴニスト鑄型”と称される）をベースとし、これらにはスパーサーにより一端に酸性基そしてコアーの他端に塩基性基が結合されている。酸性基は一般にカルボン酸官能基であり、一方、塩基性基は一般にN含有部分、例えば、アミジン又はグアニジンである。典型的には、コアー構造は酸性部分と塩基性窒素部分の間に剛性スペーシングの形態を加え、この目的のために一つ以上の環構造（例えば、ピリジン、インダゾール等）又はアミド結合を含む。フィブリノーゲン受容体アンタゴニストについて、一般に、約12~15、更に好ましくは13又は14の介在共有結合がRGDペプチド擬態の酸性基と塩基性基の窒素の間に存在する（最短の分子内経路により）。酸性部分と塩基性部分の間の介在共有結合の数はビトロネクチン受容体アンタゴニストについて一般に一層短く、2~5、好ましくは3又は5である。特別なコアーがフィブリノーゲンアンタゴニスト鑄型の酸性部分とピリジンの窒素原子の間の適当なスペーシングを得るために選択し得る。一般に、フィブリノーゲンアンタゴニストは酸性部分（例えば、プロトンを放出し、電子対を受け入れる原子）と塩基性部分（例えば、プロトンを受け入れ、又は電子対を供与する）の間に約16（1.6nm）の分子内距離を有し、一方、ビトロネクチンアンタゴニストは夫々の酸性中心と塩基性中心の間に約14（1.4nm）を有するであろう。フィブリノーゲン受容体擬態からビトロネクチン受容体擬態に変換することに関する更なる記載が米国特許第6,159,964号明細書に見られる。

10

【0017】

ペプチド擬態RGDコアーは0~6個の二重結合を含み、かつN、O及びSから選ばれた0~6個のヘテロ原子を含む5-11員芳香族又は非芳香族単環式又は多環式環系を含み得る。その環系は未置換であってもよく、又は炭素原子もしくは窒素原子の位置で置換されていてもよい。ビトロネクチン結合に有益な好適な置換基を有する好ましいコアー構造は単環式基及び二環式基、例えば、WO 98/14192に記載されたベンゾアザピン、米国特許第6,239,168号明細書に記載されたベンゾジアザピン、及び米国特許第6,008,213号明細書に記載された縮合三環式化合物を含む。

20

米国特許第6,159,964号明細書はRGDペプチド擬態を調製するのに使用し得るRGDペプチド擬態コアー構造（フィブリノーゲン鑄型と称される）を開示するその明細書の表1中に文献の広範なリストを含む。好ましいビトロネクチンRGDペプチド擬態及びフィブロネクチンRGDペプチド擬態が米国特許第6,335,330号、同第5,977,101号、同第6,088,213号、同第6,069,158号、同第6,191,304号、同第6,239,138号、同第6,159,964号、同第6,117,910号、同第6,117,866号、同第6,008,214号、同第6,127,359号、同第5,939,412号、同第5,693,636号、同第6,403,578号、同第6,387,895号、同第6,268,378号、同第6,218,387号、同第6,207,663号、同第6,011,045号、同第5,990,145号、同第6,399,620号、同第6,322,770号、同第6,017,925号、同第5,981,546号、同第5,952,341号、同第6,413,955号、同第6,340,679号、同第6,313,119号、同第6,268,378号、同第6,211,184号、同第6,066,648号、同第5,843,906号、同第6,251,944号、同第5,952,381号、同第5,852,210号、同第5,811,441号、同第6,114,328号、同第5,849,736号、同第5,446,056号、同第5,756,441号、同第6,028,087号、同第6,037,343号、同第5,795,893号、同第5,726,192号、同第5,741,804号、同第5,470,849号、同第6,319,937号、同第6,172,256号、同第5,773,644号、同第6,028,223号、同第6,232,308号、同第6,322,770号、同第5,760,028号明細書に開示されている。

30

40

【0018】

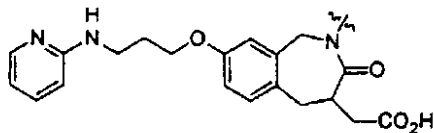
例示のRGDペプチド擬態インテグリンターゲットング薬剤が以下に化合物1、2、及び3として示され、本発明のインテグリンターゲットング化合物を調製するのに使用し得る。三つの化合物において、リンカーが示されるように7員環の窒素に結合される。その他のRGDペプチド擬態インテグリンターゲットング薬剤として、化合物33が挙げられ、式中、P及びLは炭素又は窒素である。リンカーはR1又はR2であってもよく、一方、R3基は-NH基の如き塩基性基を含む。或る実施態様において、R3基は化合物1、2、又は33中で示されたとおりである。或る実施態様において、R3基は複素環基、例えば、ベンゾイミダゾール基、イミダゾール基、ピリジン基等を含む。幾つかのこのような実施態様にお

50

いて、R₃基はアルコキシ基、例えば、プロポキシ基等であり、これはアルキルアミン基、例えば、メチルアミノ基等で置換されている複素環基で置換されており、一方、その他の実施態様において、R₃基は複素環アミノ基、例えば、ピリジニルアミノ基等、例えば、2-ピリジニルアミノ基で置換された、アルコキシ基、例えば、プロポキシ基等である。その他の実施態様において、R₃は式 -C(=O)R_b (式中、R_bは -N(アルキル)-アルキル-複素環基、例えば、-N(Me)-CH₂-ベンゾイミダゾール基等から選ばれる) の基である。

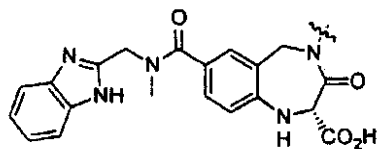
【0019】

【化1】



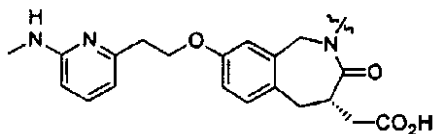
1

10



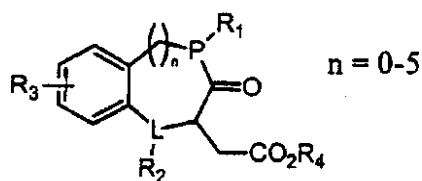
2

20



3

30



31

【0020】

40

その他の例示のインテグリンペプチド擬態ターゲッティング薬剤及びペプチドターゲッティング薬剤が図1に示される。そのリンカーはR₁、R₂、R₃のいずれかであってもよく、一方、R₄はリンカー又は加水分解可能な基、例えば、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、オキソアルキル基、オキソアルケニル基、オキソアルキニル基、アミノアルキル基、アミノアルケニル基、アミノアルキニル基、スルホアルキル基、スルホアルケニル基、又はスルホアルキニル基、ホスホアルキル基、ホスホアルケニル基、ホスホアルキニル基等であってもよい。当業者はその他のインテグリンアゴニスト及びアンタゴニスト擬態が又本発明のターゲッティング化合物中に使用し得ることを容易に理解するであろう。

ターゲッティング化合物のターゲッティング薬剤が結合する標的分子は非免疫グロブリン分子であることが好ましく、又は標的部分が免疫グロブリン結合部位の外にある免疫グ

50

ロブリン分子である。本発明の化合物から抗原として機能し、それ故、免疫グロブリン結合部位に結合するこれらのターゲッティング薬剤を排除することは意図されていない。このようなターゲッティング薬剤が本発明に含まれ、但し、ターゲッティング薬剤が又非免疫グロブリン分子及び/又は免疫グロブリン分子の結合部位の外部に位置される標的部分に結合することを条件とする。一般に、標的分子は有機物、無機物、タンパク質、脂質、炭水化物、核酸等を含むあらゆる型の分子であってもよい。

【0021】

標的分子は生物分子、例えば、タンパク質、炭水化物、脂質又は核酸であることが好ましい。標的分子は細胞（“細胞表面発現された”）、又はその他の粒子（“粒子表面発現された”）、例えば、ウイルスと会合されてもよく、又は細胞外であってもよい。細胞又は粒子と会合される場合、標的分子はターゲッティング化合物のターゲッティング薬剤が生体の液相からの表面受容体と接触することを可能にする様式で細胞又は粒子の表面で発現されることが好ましい。

10

或る好ましい実施態様において、標的分子は症状又は疾患の細胞、組織又は液体と主として、又は専ら会合される。こうして、本発明の抗体ターゲッティング化合物のターゲッティング薬剤は細胞、細胞外マトリックス生物分子又は液体生物分子を標的とすることによりターゲッティング化合物を疾患組織に送付するのに使用し得る。以下に実施例に開示される例示の標的分子として、インテグリン（実施例1）、サイトカイン受容体（実施例2、3及び7）、サイトカイン（実施例4）、ビタミン受容体（実施例5）、細胞表面酵素（実施例6）、並びにHIV-1ウイルス及びHIV-1ウイルス感染細胞（実施例8及び11）等

20

が挙げられる。その他の好ましい実施態様において、標的分子は感染性物質と会合され、微生物細胞の表面又はウイルス粒子の表面で発現される。このようなものとして、ターゲッティング薬剤が細胞表面発現又は粒子表面発現された感染性物質に結合し得る抗体ターゲッティング組成物が、個体の生体内又は表面（例えば、皮膚）の微生物物質を標的とすることにより抗菌薬として使用し得る。後者の場合、本発明の化合物は局所適用し得る。

【0022】

微生物標的分子に特異性の抗体ターゲッティング薬剤が又in vitroで抗菌薬として使用し得る。それ故、表面に存在する微生物細胞又はウイルス粒子の感染性を低下する方法が提供される。或る方法は微生物細胞又はウイルス粒子の表面を有効量の本発明のターゲッティング化合物と接触させることを含む。このような方法におけるターゲッティング化合物は微生物細胞又はウイルス粒子の受容体に特異性のターゲッティング薬剤を含む。適用可能な表面はin vitroのあらゆる表面、例えば、カウンタートップ、コンドーム等である。

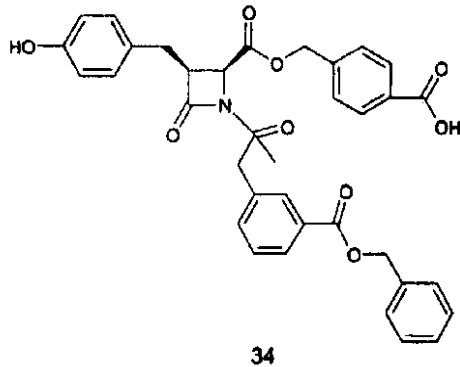
30

本発明のターゲッティング分子に好ましい別の標的分子は前立腺特異性抗原(PSA)、前立腺癌、乳癌及び骨転移を含む種々の症状に関係したセリンプロテアーゼである。PSAの活性部位に結合するPSAの特異性インヒビターが知られている。Adlingtonら, J. Med. Chem., 2001, 44:1491-1508及びAndersonのWO 98/25895を参照のこと。PSTの特異性インヒビターが以下に化合物34として示される。

40

【0023】

【化2】



10

【0024】

ターゲティング薬剤は、標的分子を結合するその能力に加えて、一つ以上の生物学的活性を有することを特徴としてもよく、夫々の活性が細胞器官又は生物の機能に検出可能な生物学的影響として特徴づけられる。こうして、ターゲティング薬剤であることに加えて、このような化合物は生物学的薬剤と考えられる。例えば、上記化合物1、2、3及び33として示されたインテグリンターゲティング薬剤はインテグリンを標的とするだけでなく、インテグリンアンタゴニスト生物学的活性を有する。しかしながら、或る実施態様において、ターゲティング薬剤は生物学的活性を有しない純粋な結合剤であってもよい。

20

本発明のターゲティング化合物は抗体の結合部位に共有結合されるターゲティング薬剤を含む。このようなターゲティング化合物はターゲティング化合物と関連する一つ以上の生物学的活性を有し得る。生物学的活性はターゲティング薬剤それ自体の固有の特徴であってもよく、又はターゲティング化合物中のターゲティング薬剤とは異なる生物学的薬剤により与えられてもよい。生物学的薬剤はターゲティング化合物のその他の分子又は部分と共有結合又は非共有結合で会合されてもよいが、共有結合が好ましい。生物学的薬剤は当業界で公知の手段によりターゲティング薬剤、抗体、又はその両方に結合されてもよい。例えば、Kiarisら, *Eur. J. Cancer* 37:620-628 (2001)及びSchallyら, *Eur. J. Endocrin.* 141:1-14 (1989) (これらはペプチドホルモンターゲティング薬剤とドキソルピシンの間の種々のコンジュゲートを記載している)を参照のこと。又、Canevariら, *Ann Oncol* 1994 Oct;5(8):698-701; Rihova, *Folia Microbiol (Praha)* 1995;40(4):367-84; Vitetta, *Princess Takamatsu Symp* 1988;19:330-40、及びGhoseら, *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 1987;3(4):263-359を参照のこと。こうして、或る実施態様において、本発明の抗体ターゲティング薬剤ターゲティング化合物は固有の生物学的活性を有するターゲティング薬剤の形態の機能性成分を含む。このような実施態様において、ターゲティング薬剤は抗体又は抗体フラグメントの結合部位に結合され、そのターゲティング薬剤は生物学的活性を示す機能性成分である。その他の実施態様において、ターゲティング化合物は抗体又は抗体フラグメントの結合部位に結合されたターゲティング薬剤を含み、又、共有結合によりターゲティング化合物に付着又は結合されることが好ましい別の機能性成分を含む。

30

40

ターゲティング薬剤又は生物学的薬剤は或る条件下で不安定である結合を使用して本発明の抗体ターゲティング化合物に結合し得る。不安定な結合は抗体とターゲティング薬剤又は生物学的薬剤の間であってもよく、一方、リンカーが存在する場合、不安定な結合は抗体とリンカー、ターゲティング薬剤又は生物学的薬剤とリンカーの間、リンカー内、又はこれらの組み合わせであってもよい。

【0025】

不安定なリンカーは、可逆性共有結合、pH感受性結合(酸又は塩基感受性)、酵素感受性結合、分解感受性リンカー、感光性リンカー等、及びこれらの組み合わせを含む。又、これらの特徴は不安定リンカーの型と考えられるプロドラッグの特性である。種々の不安

50

定なリンカーが既に設計されていた。例えば、プロドラッグは米国特許第5,498,729号に記載されたように加水分解により徐々に分解するカルボン酸部分を有する化合物を使用して生成し得る。

不安定なリンカーの特別な設計は生物学的薬剤が意図される標的に達した後にその放出を誘導するのに使用し得る。例えば、結合は抗体ターゲティング化合物が蓄積し得る特別な細胞内区画又は細胞外区画中の放出を誘導するように設計されてもよい。酸不安定リンカー、例えば、シス-アコニチン酸リンカーは異なる細胞内区画、例えば、受容体媒介エンドサイトーシス中に見られるエンドソーム及びリソソームの酸環境を利用し得る。Shenら, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (1981) 102:1048-1054; Yangら, *J. Natl. Cancer Inst.* (1988) 80:1154-1159を参照のこと。リンカー内部又は末端に位置されたペプチドスペーサーアームがリソソームペプチダーゼの如きペプチダーゼの作用によりターゲティング薬剤又は生物学的薬剤の放出を行なうのに使用し得る。例えば、Trouetら, *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1982) 79:626-629を参照のこと。

10

特別なターゲティング薬剤はそれらの使用の状況に応じて生物学的活性を有してもよく、又は有しなくてもよい。例えば、治療薬ドキソルピシン(これはDNAインターカレーターである)は、その薬物が抗体に共有結合され、無細胞形態でDNAに適用される場合に二本鎖DNAのターゲティング薬剤であり得る。しかしながら、ドキソルピシンは細胞に関してターゲティング薬剤と考えられず、その化合物が細胞により摂取し得ない限り、その薬物は抗体に共有結合される。後者の場合、ドキソルピシンはその薬物が細胞核中のDNAに接近し得る場合に摂取後に生物学的活性を有し得る。

20

【0026】

生物学的薬剤機能性成分として、小分子薬物(約5,000ダルトン以下の医薬有機化合物)、有機分子、タンパク質、ペプチド、ペプチド擬態、糖タンパク質、プロテオグリカン、脂質、糖脂質、リン脂質、リポ多糖、核酸、プロテオグリカン、炭水化物等が挙げられるが、これらに限定されない。生物学的薬剤は抗腫瘍薬、抗菌薬、ホルモン、エフェクター等であってもよい。このような化合物として、公知の治療薬化合物、例えば、抗腫瘍薬パクリタキセル、ダウノルピシン、ドキソルピシン、カルシノマイシン、4'-エピアドリマイシン、4-デメトキシ-ダウノマイシン、11-デオキシダウノルピシン、13-デオキシダウノルピシン、アドリアマイシン-14-ベンゾエート、アドリアマイシン-14-オクタノエート、アドリアマイシン-14-ナフタレンアセテート、ピンブラスチン、ピンクリスチン、マイトマイシンC、N-メチルマイトマイシンC、プレオマイシンA₂、ジデアザテトラヒドロ葉酸、アミノプテリン、メトトレキセート、コルシシン及びシスプラチン等が挙げられる。抗菌薬として、ゲンタマイシンを含むアミノグリコシド、抗ウイルス化合物、例えば、リファムピシン、3'-アジド-3'-デオキシチミジン(AZT)及びアサイクロバー、抗真菌薬、例えば、フルコナゾールを含むアゾール、プライアーマルコライド、例えば、アンホテリシンB、及びカンジシジン、抗寄生虫化合物、例えば、アンチモニアル等が挙げられる。ホルモンとして、トキシシン、例えば、ジフテリアトキシシン、サイトカイン、例えば、CSF、GSF、GMCSF、TNF、エリスロポイエチン、イムノモジュレーター又はサイトカイン、例えば、インターフェロン又はインターロイキン、ニューロペプチド、生殖ホルモン、例えば、HGH、FSH、又はLH、甲状腺ホルモン、神経伝達物質、例えば、アセチルコリン、ホルモン受容体、例えば、エストロゲン受容体が挙げられる。又、非ステロイド抗炎症薬、例えば、インドメタシン、サリチル酸アセテート、イブプロフェン、スリダック、ピロキシカム、及びナプロキセン、並びに麻酔薬又は鎮痛剤が含まれる。又、放射性同位元素、例えば、イメージングだけでなく、治療に有益なものが含まれる。

30

40

【0027】

本発明のターゲティング化合物中の使用のための生物学的薬剤機能性成分は天然産又は合成であってもよい。生物学的薬剤はそれらの自然状態で生物学的に活性であってもよく、又は生物学的に不活性であってもよく、もしくはは潜在前駆体状態であってもよく、生物学的薬剤の一部が加水分解され、開裂され、又はそれ以外に修飾される場合に生物学的活性又は治療活性を獲得し得る。プロドラッグは本発明の抗体ターゲティング化合物を

50

使用して細胞の表面又は細胞内に送付でき、そこでそれがその後活性化し得る。これに関して、生物学的薬剤は“プロドラッグ”であってもよく、それらの構造の或る化学的又は酵素的修飾により薬物（活性治療化合物）に変換し得るプロドラッグ分子を意味する。プロドラッグアプローチにおいて、部位特異的薬物送付がプロドラッグの組織特異的活性化から得られ、これはその組織に特異であり、又は高濃度（その他の組織と較べて）で存在する酵素による代謝の結果である。こうして、それはプロドラッグを一層有効に活性化

する。光力学処理が既に記載されたように感光性リンカーを開裂し、又は光応答性酵素を活性化（アシル酵素加水分解）することによりプロドラッグを活性化するのに使用し得る（米国特許第5,114,851号明細書及び同第5,218,137号明細書を参照のこと）。又、光力学処理は薬物活性が所望されない部位（例えば、非標的組織中）で薬物を迅速に失活するのに使用し得る。薬物を共有結合で修飾してプロドラッグを生成する種々の手段が当業界で公知である。

10

【0028】

ターゲティング薬剤は抗体結合部位に直接に、又はリンカーの助けにより共有結合されてもよい。適当なリンカーはターゲティング薬剤がその標的分子に結合し得るためにターゲティング薬剤と抗体結合部位の間に十分な距離を与えるように選ばれる。この距離は、例えば、抗体結合部位の最も外の表面から結合部位の反応性側鎖までの距離、及びターゲティング薬剤の性質を含む幾つかの因子に依存する。一般に、リンカーは長さが約5~10（0.5~1nm）であり、10（1.0nm）以上が更に好ましいが、アミノ酸側鎖が結合部位の最も外の部分に非常に近く、かつ/又はターゲティング薬剤もしくは生物学的薬剤がリンカーの部分として機能し得るセグメントを含む場合には、長さ約3（0.3nm）の短いリンカーが充分であり得る。

20

又、リンカー長さは線状の原子の数（芳香族環等の如き環状部分は最短の経路をとることによりカウントされるべきである）に関して考慮されてもよい。この測定のもとでのリンカー長さは一般に約10~200原子、更に典型的には約30以上の原子であるが、反応性アミノ酸側鎖が結合部位の最も外の部分に非常に近い場合には、2個以上の原子の短いリンカーが充分であり得る。一般に、少なくとも約9個の原子の線状ストレッチを有するリンカーが充分である。その他のリンカーの考慮事項として、得られるターゲティング化合物又はターゲティング薬剤-リンカーの物理的性質又は薬物速度論的性質、可溶性、親油性、親水性、疎水性、安定性（多少安定なだけでなく予定された分解）、硬性、可撓性、免疫原性、抗体結合のモジュレーション、ターゲティング薬剤との化学的適合性、ミセル又はリポソームに混入される能力等に関する効果が挙げられる。

30

リンカーが抗体結合部位間に存在するターゲティング化合物において、ターゲティング薬剤は幾つかのアプローチにより調製されてもよい。一つのアプローチにおいて、ターゲティング薬剤-リンカー化合物及び/又は生物学的薬剤-リンカー化合物は抗体の結合部位のアミノ酸の側鎖との共有結合反応に設計された一つ以上の反応性基を含むリンカーで合成される。薬剤-リンカー化合物及び抗体はリンカー反応性基がアミノ酸側鎖と共有結合を形成する条件下で合わされる。

別のアプローチにおいて、結合は抗体及びリンカーを含む抗体-リンカー化合物を合成することにより得られ、そのリンカーはターゲティング薬剤又は生物学的薬剤の適当な化学部分との共有結合反応に設計された一つ以上の反応性基を含む。ターゲティング薬剤又は生物学的薬剤はリンカー反応性基との反応に適した部分を与えるように修飾される必要があるかもしれない。抗体-リンカー及びターゲティング及び/又は生物学的薬剤はリンカー反応性基がターゲティング薬剤及び/又は生物学的薬剤に共有結合する条件下で合わされる。

40

【0029】

本発明の抗体ターゲティング化合物を生成するための更なるアプローチは二重リンカー設計を使用する。一実施態様において、ターゲティング薬剤及び/又は生物学的薬剤及び反応性基を有するリンカーを含む薬剤-リンカー化合物が合成される。抗体及び第一

50

工程の薬剤-リンカーの反応性基との反応を受け易い化学基を有するリンカーを含む抗体-リンカー化合物が合成される。これらの二つのリンカーを含む化合物がその後リンカーが共有結合する条件下で合わされて、抗体ターゲティング化合物を生成する。

別の実施態様において、抗体及び反応性基を有するリンカーを含む抗体-リンカー化合物が合成される。薬剤及び第一工程の抗体-リンカーの反応性基との反応を受け易い化学基を有するリンカーを含むターゲティング薬剤及び/又は生物学的薬剤-リンカー化合物が調製される。これらの二つのリンカーを含む化合物はその後リンカーが共有結合する条件下で合わされて、抗体ターゲティング化合物を生成する。化学部分に関して本明細書に使用される“受け易い”はその化学部分が適合性反応性基と共有結合することを示す。こうして、親電子基は求核性基との共有結合を受け易く、又、その逆も真である。

説明されたように、リンカーは最初にターゲティング薬剤に複合され、次いでそのターゲティング薬剤-リンカーが抗体結合部位に複合されてもよい。又、リンカーは最初に抗体結合部位に複合され、その抗体-リンカーがターゲティング薬剤に複合されてもよい。当業界で公知の多くの手段がリンカーをターゲティング薬剤又は抗体結合部位に結合するのに使用し得る。結合に関係し得る例示の官能基として、例えば、エステル、アミド、エーテル、ホスフェート、アミノ、ケト、アミジン、グアニジン、イミン、エネアミン、ホスフェート、ホスホネート、エポキシド、アジリジン、チオエポキシド、マスク又は保護されたジケトン(例えば、ケタール)、ラクタム、ハロケトン、アルデヒド、チオカルバメート、チオアミド、チオエステル、スルフィド、ジスルフィド、ホスホルアミド、スルホンアミド、尿素、チオ尿素、カルバメート、カーボネート、キドロキサミド等

【0030】

リンカーは群C、H、N、O、P、S、Si、ハロゲン(F、Cl、Br、I)からのあらゆる原子又はこれらの塩を含む。又、リンカーはアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、オキソアルキル基、オキソアルケニル基、オキソアルキニル基、アミノアルキル基、アミノアルケニル基、アミノアルキニル基、スルホアルキル基、スルホアルケニル基、又はスルホアルキニル基、ホスホアルキル基、ホスホアルケニル基、ホスホアルキニル基の如き基を含んでもよい。又、リンカーは一つ以上の環構造を含んでもよい。本明細書に使用される“環構造”は炭素環式ホモ又はヘテロ、モノ又は縮合、飽和又は不飽和環構造を含む。上記基及び環の組み合わせが又本発明のターゲティング化合物のリンカー中に存在

してもよい。本発明のターゲティング化合物を調製する際の使用のための非分岐リンカーの実施態様の一般設計が図2Aに示される。そのリンカーは式



のものである。式中、Xは連結鎖であり、Yは認識基であり、かつZは反応性基である。図2B-Eは同定されたリンカーX部分、Y部分及びZ部分を有する種々のターゲティング薬剤-リンカー化合物を示す。リンカーは線状であってもよく、又分岐していてもよい。或る実施態様において、リンカーは5-200又は10-200個の原子の線状ストレッチを有するが、別の実施態様において、一層長いリンカー長さが使用されてもよい。一つ以上のターゲティング薬剤がXに結合されてもよい。或る実施態様において、一つより多いターゲティング薬剤が結合され、分岐リンカーが使用される場合、ターゲティング薬剤の幾つかはリンカーの異なる分岐に結合されてもよい。しかしながら、本発明の化合物中に使用されるリンカーは一つ以上の認識基、一つ以上の反応性基及び一つ以上の連結鎖並びにこれらの組み合わせを有してもよいことが理解されるべきである。連結鎖は別の連結鎖又は認識基から分岐してもよい。

【0031】

リンカーの連結鎖Xは群C、H、N、O、P、S、Si、ハロゲン(F、Cl、Br、I)からのいずれかの原子又はその塩を含む。又、Xはアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、オキソアルキル基、オキソアルケニル基、オキソアルキニル基、アミノアルキル基、アミノアルケニル基、アミノアルキニル基、スルホアルキル基、スルホアルケニル基、又

はスルホアルキニル基、ホスホアルキル基、ホスホアルケニル基、ホスホアルキニル基の如き基を含んでもよい。或る実施態様において、Xは一つ以上の環構造を含んでもよい。好ましい実施態様において、Xは2-100単位の反復エーテル単位を含む。Xの種々の実施態様が図9に示される。

リンカーの認識基Yは任意であり、存在する場合には反応性基と連結鎖の間に位置される。好ましい実施態様において、YはZから1-20個の原子に位置される。いかなる理論にも束縛されたくないが、認識基は反応性基を抗体結合部位に適当に配置するように作用し、その結果、それが反応性アミノ酸側鎖と反応し得ると考えられる。

図8は5又は6原子の一つ以上のホモ又はヘテロ環構造を有する種々の例示の認識基を示す。又、一層大きい環構造が使用されてもよい。一つ以上のターゲッティング薬剤がYに結合されてもよい。或る実施態様において、リンカーはターゲッティング薬剤をYに結合するのに使用し得る。二つ以上のターゲッティング薬剤が使用される実施態様において、一つ以上がX及びYの両方に結合されてもよい。又、一つより多いターゲッティング薬剤がYに結合されてもよい。

10

20

30

40

【0032】

リンカー反応性基Zとして、あらゆる求核性基又は親電子基が挙げられる。好ましい実施態様において、Zは抗体の反応性側鎖と共有結合を形成し得る。或る実施態様において、Zとして、ジケトン、アシルベータ-ラクタム、活性エステル、ハロケトン、シクロヘキシルジケトン基、アルデヒド又はマレイミドを形成するのに配置された一つ以上のC=O基が挙げられる。その他の基として、ラクトン、酸無水物、及びアルファ-ハロアセトアミド又はエポキシドが挙げられる。抗体の結合部位の反応性求核性基（例えば、リシン又はシステイン側鎖）に共有結合し得る例示のリンカー親電子反応性基として、アシルベータ-ラクタム、単純ジケトン、スクシンイミド活性エステル、マレイミド、リンカーを含むハロアセトアミド、ハロケトン、シクロヘキシルジケトン、アルデヒド、アミジン、グアニジン、イミン、エネアミン、ホスフェート、ホスホネート、エポキシド、アジリジン、チオエポキシド、マスク又は保護されたジケトン（例えば、ケタール）、ラクタム、スルホネート等、マスクされたC=O基、例えば、イミン、ケタール、アセタール及びあらゆるその他の知られている親電子基が挙げられる。好ましいリンカー反応性基として、アシルベータ-ラクタム、単純ジケトン、スクシンイミド活性エステル、マレイミド、リンカーを有するハロアセトアミド、ハロケトン、シクロヘキシルジケトン、又はアルデヒドを形成するのに配置された一つ以上のC=O基が挙げられる。

Zは可逆性又は不可逆性共有結合を形成する基であってもよい。或る実施態様において、可逆性共有結合はジケトンZ基、例えば、図6に示されたものを使用して形成されてもよい。図6の構造A-C中のR₁及びR₂並びにR₃はC、H、N、O、P、S、Si、ハロゲン（F、Cl、Br、I）又はこれらの塩であってもよい置換基を表す。又、これらの置換基として、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、オキソアルキル基、オキソアルケニル基、オキソアルキニル基、アミノアルキル基、アミノアルケニル基、アミノアルキニル基、スルホアルキル基、スルホアルケニル基、又はスルホアルキニル基、ホスホアルキル基、ホスホアルケニル基、ホスホアルキニル基の如き基が挙げられる。又、R₂及びR₃は構造B及びCに例示されたような環構造を形成し得る。図6中のXはヘテロ原子であってもよい。可逆性共有結合を形成するその他のZ基として、ジケトンアミジン、イミン、並びに図7の構造B及びG中に示されたその他の反応性基が挙げられる。又、図7はその他の好ましいリンカー反応性基の構造を含む。

抗体の結合部位と不可逆性共有結合を形成するZ反応性基として、図6中の構造D-G並びに図7の構造A、C及びDが挙げられる。このような構造はターゲッティング薬剤-リンカーを抗体の結合部位の反応性求核性基（例えば、リシン又はシステイン側鎖）に不可逆的に結合するのに有益である。

【0033】

上記可逆的及び不可逆的共有結合化学は又ターゲッティング薬剤もしくは生物学的薬剤をリンカーの不在下で抗体に結合し、又はターゲッティング薬剤もしくは生物学的薬剤を

50

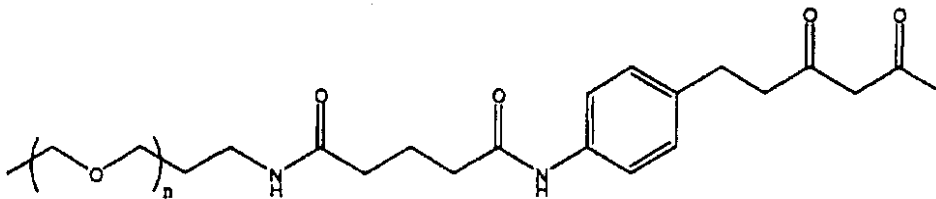
リンカー（例えば、リンカーの連結鎖）に結合するのに適用し得ることが理解されるべきである。例えば、ターゲティング薬剤は好適な反応性基 Z 型要素、例えば、適当な求核性基又は親電子基をリンカー又はターゲティング剤に入れ、又好適な反応性部分、例えば、アミノ基又はスルフヒドリル基をその二つのうちの他方に入れることによりリンカーに結合されてターゲティング薬剤-リンカーを生成し得る。

本発明のターゲティング化合物中の使用及びターゲティング薬剤-リンカー化合物の調製に好ましいリンカーは Z として 1,3-ジケトン反応性基を含む。別の好ましいリンカーは連結鎖 X が 2-100 単位の反復エーテル単位を含むものである。認識基 Y が存在するリンカーが好ましく、Y は反応性基 Z から 1-20 個の原子に配置されることが好ましい。上記の如きインテグリンターゲティング RGD ペプチド擬態部分のコアに結合されたこのようなリンカーは、以下に示されるような構造 28 を有することができ、式中、n は 1-100 又はそれ以上であり、1、2、又は 4 であることが好ましく、3 であることが更に好ましい。或る実施態様において、リンカーはポリエチレングリコールの如き反復ポリマーである。

10

【0034】

【化3】



20

35

【0035】

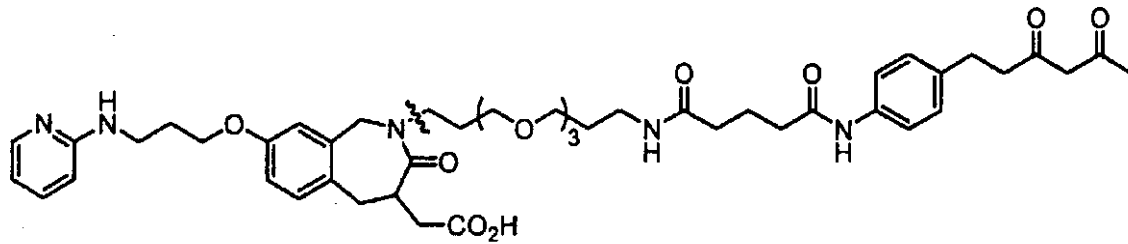
リンカー反応性基又はターゲティング薬剤に固有であってもよい同様のこのような反応性基は、特別な抗体との使用について選ばれる。例えば、アルドラーゼ抗体による修飾のための化学部分はケトン、ジケトン、ベータラクタム、活性エステルハロケトン、ラクトン、酸無水物、マレイミド、アルファ-ハロアセトアミド、シクロヘキシルジケトン、エポキシド、アルデヒド、アミジン、グアニジン、イミン、エネアミン、ホスフェート、ホスホネート、エポキシド、アジリジン、チオエポキシド、マスク又は保護されたジケトン（例えば、ケタール）、ラクタム、ハロケトン、アルデヒド等であってもよい。化合物 SCS-873（以下を参照のこと）又は SCS-864（以下を参照のこと）に示されたジケトンの如き 1,3-ジケトン配置が、アルドラーゼ抗体による修飾のための基質として特に好ましい。

30

40

【0036】

【化4】

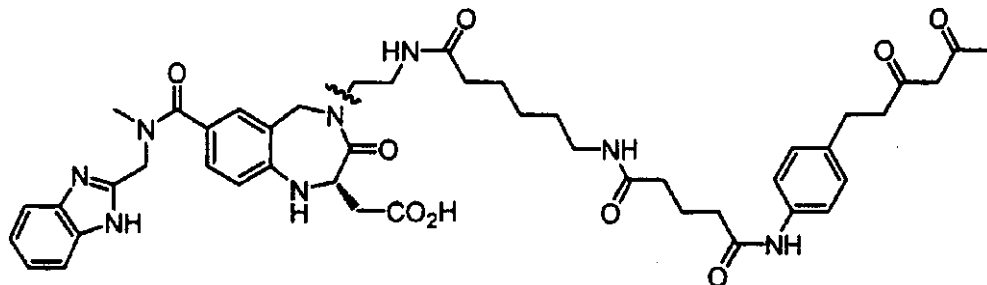


ターゲッティング薬剤

1,3-ジケトン基を有するリンカー

SCS873

10



ターゲッティング薬剤

1,3-ジケトン基を有するリンカー

SCS864

20

【0037】

抗体中の反応性スルフィド基による共有結合修飾に適したリンカー反応性基化学部分(Z)はジスルフィド、アリールハライド、マレイミド、アルファ-ハロアセトアミド、イソシアネート、エポキシド、チオエステル、活性エステル、アミジン、グアニジン、イミン、エネアミン、ホスフェート、ホスホネート、エポキシド、アジリジン、チオエポキシド、マスク又は保護されたジケトン(例えば、ケタール)、ラクタム、ハロケトン、アルデヒド等であってもよい。1,3-ジケトン反応性基として有するリンカーを含む種々のターゲッティング薬剤-リンカー化合物の化学構造が図2-5に示される。

当業者は抗体中の反応性アミノ酸側鎖がターゲッティング薬剤又はそのリンカーの求核性基と反応する親電子基を有してもよいことを容易に認めるであろう。一方、その他の実施態様において、抗体又は抗体フラグメントの結合部位のアミノ酸側鎖中の反応性求核性基はターゲッティング薬剤又はリンカー中の親電子基と反応する。こうして、抗体又は抗体フラグメント結合部位側鎖は親電子体で置換されてもよく(例えば、図6及び図7)、この基はターゲッティング薬剤又はそのリンカーの求核体と反応するのに使用し得る。この実施態様において、抗体及びターゲッティング薬剤の夫々が夫々の末端に適当な反応性部分を有する部分リンカーを有し、その結果、部分リンカーの二つの末端が完全リンカーを形成でき、こうして完全ターゲッティング化合物を生じる。

【0038】

又、当業者は二つ以上のターゲッティング薬剤が単一抗体結合部位に結合されてもよいことを容易に理解するであろう。その二つのターゲッティング薬剤は特別な標的に関するそれらの特異性に関して同じであってもよく、又は異なってもよい。一実施態様において

30

40

50

、夫々のターゲッティング薬剤は抗体結合部位のアミノ酸の別々の反応性側鎖に結合されてもよい。好ましい実施態様において、二つのターゲッティング薬剤が分岐又は線状リンカーに結合され、次いでこれが両方のターゲッティング薬剤を抗体結合部位の同じ反応性アミノ酸側鎖に結合する。分岐リンカーの夫々の分岐は或る実施態様において5-100個の原子の線状ストレッチを含んでもよい。例として、図3-5に開示された構造がリンカー（これは反応性基として1,3-ジケトンを含む）の異なる分岐に結合された二つの薬剤を有する分岐リンカーの実施態様を示す。これらの実施態様に示されたように、分岐位置は連結鎖又は認識基（存在する場合）中であってもよい。

本明細書に使用される“抗体”として、B細胞の産物である免疫グロブリン及びその変異体だけでなく、T細胞の産物であるT細胞受容体(TcR)及びその変異体が挙げられる。免疫グロブリンは免疫グロブリンカッパー及びラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、エプシロン及びミュー定常部遺伝子だけでなく、ミリアド免疫グロブリン可変領域遺伝子により実質的にコードされた一種以上のポリペプチドを含むタンパク質である。L鎖はカッパー又はラムダと分類される。H鎖はガンマ、ミュー、アルファ、デルタ、又はエプシロンと分類され、これらは順に免疫グロブリンクラス、IgG、IgM、IgA、IgD及びIgEを夫々形成する。又、H鎖のサブクラスが知られている。例えば、ヒトのIgG H鎖はIgG1、IgG2、IgG3及びIgG4サブクラスのいずれかであってもよい。

【0039】

典型的な免疫グロブリン構造単位は4量体を含むことが知られている。夫々の4量体はポリペプチド鎖の二つの同じ対を含み、夫々の対が一つの“L鎖”（約25kD）及び一つの“H鎖”（約50-70kD）を有する。夫々の鎖のN末端が抗原認識を主として担う約100-110又はそれ以上のアミノ酸の可変領域を形成する。可変L鎖(V_L)及び可変H鎖(V_H)という用語はこれらのL鎖及びH鎖を夫々表す。

抗体は完全長の無傷抗体又は種々のペプチダーゼもしくは薬品による消化により生成された幾つかの良く特性決定されたフラグメントとして存在する。こうして、例えば、ペプシンは抗体をヒンジ領域中のジスルフィド結合の下で消化してFab（これ自体はジスルフィド結合により V_H-CH_1 に結合されたL鎖である）の2量体である $F(ab')_2$ を生成する。 $F(ab')_2$ は温和な条件下で還元されてヒンジ領域中のジスルフィド結合を分解し、それにより $F(ab')_2$ 2量体をFab'単量体に変換し得る。Fab'単量体は実質的にヒンジ領域の部分を含むFabフラグメントである（その他の抗体フラグメントの更に詳しい記載について、Fundamental Immunology, W.E. Paul編集, Raven Press, N.Y. (1993)を参照のこと）。種々の抗体フラグメントが無傷の抗体の消化に関して特定されるが、当業者は種々の抗体フラグメントのいずれもが化学的に、又は組換えDNA方法を利用することによりde novo合成し得ることを認めるであろう。こうして又、本明細書に使用される抗体という用語は全抗体の修飾により生成され、もしくはde novo合成された抗体フラグメント又は組換えDNA方法を使用することにより得られた抗体及びフラグメントを含む。

【0040】

T細胞受容体(TcR)は鎖もしくは鎖、又は、T細胞のごく少数で、鎖もしくは鎖を含むジスルフィド結合ヘテロダイマーである。その二つの鎖は一般に抗体ヒンジ領域に似ているアミノ酸の短い延長ストレッチ中のT細胞原形質膜の丁度外部でジスルフィド結合される。夫々のTcR鎖は一つの抗体のような可変ドメイン(V 又は V')及び一つの定常ドメイン(C 又は C')を含む。完全TcRはサイズが35kDaから47kDaまで変化する個々の鎖を有する約95kDaの分子質量を有する。又、TCRの意味内に、当業界で公知の方法を使用して可溶性タンパク質として生成し得るこの受容体の可変領域の如き受容体の部分が含まれる。例えば、米国特許第6,080,840号明細書はTcRの細胞外ドメインをThy-1のグリコシルホスファチジルイノシトール(GPI)膜アンカーにスプライシングすることにより調製された可溶性T細胞受容体(TcR)を記載している。その分子は細胞表面でCD3の不在下で発現され、ホスファチジルイノシトール特異性ホスホリパーゼC(PI-PLC)による処理により膜から開裂し得る。又、可溶性TcRは実質的に米国特許第5,216,132号明細書に記載されたようにTcR可変ドメインを抗体H鎖 CH_2 もしくは CH_3 ドメインにカップリングすることに

より、又はSchustaら, Nature Biotech. 18, 754-759 (2000)もしくはHollerら, Proc. Natl. Acad. Sci (USA) 97:5387-5392 (2000)により記載されたように可溶性TcR単一鎖として調製し得る。可溶性産物としてのTcR“抗体”が本発明の化合物をつくるのに抗体に代えて使用し得る。TcRの結合部位は抗体について先に説明されたのと同じ方法を使用してCDR領域及びその他のフレームワーク残基に関して同定し得る。

組換え抗体は通常の完全長抗体、タンパク質分解消化から知られている抗体フラグメント、特異な抗体フラグメント、例えば、Fvもしくは単一鎖Fv(scFv)、ドメイン欠失抗体等であってもよい。Fv抗体はサイズが約50Kdであり、L鎖及びH鎖の可変領域を含む。単一鎖Fv(“scFv”)ポリペプチドは直接結合され、又はペプチドをコードするリンカーにより結合されたV_H及びV_Lをコードする配列を含む核酸から発現し得る共有結合されたV_H::V_Lヘテロダイマーである。Hustonら(1988) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 85:5879-5883を参照のこと。抗体V領域から自然に凝集されたが、化学的に分離されたポリペプチドL鎖及びH鎖をscFv分子(これは抗原結合部位の構造に実質的に類似する三次元構造に折り畳むであろう)に変換するための幾つかの構造について、例えば、米国特許第5,091,513号明細書、同第5,132,405号明細書及び同第4,956,778号明細書を参照のこと。

【0041】

結合部位は抗原結合に関与する抗体分子の部分を表す。抗原結合部位はH鎖及びL鎖のN末端可変(“V”)領域のアミノ酸残基により形成される。抗体可変領域は“フレームワーク領域”(FR)として知られている多くの保存された隣接ストレッチ間に介在される“超可変領域”又は“相補性決定領域”(CDR)と称される三つの高度に分岐したストレッチを含む。抗体分子中で、L鎖の三つの超可変領域(LCDR1、LCDR2、及びLCDR3)及びH鎖の三つの超可変領域(HCDR1、HCDR2及びHCDR3)が三次元スペース中で互いに配置されて抗原結合表面又はポケットを形成する。それ故、抗体結合部位は抗体のCDRを構成するアミノ酸及び結合部位ポケットを構成するあらゆるフレームワーク残基に相当する。

結合部位を構成する特別な抗体中のアミノ酸残基の同一性は当業界で公知の方法を使用して測定し得る。例えば、抗体CDRはKabatらにより最初に特定された超可変領域として同定し得る(“免疫学上重要なタンパク質の配列”, E. Kabatら, U.S. Department of Health and Human Services; Johnson, G.及びWu, TT (2001) Kabat Database and its applications: future directions. Nucleic Acids Research, 29: 205-206; <http://immunome.nwa.edu>を参照のこと)。又、CDRの位置はChothiaらにより最初に記載された構造ループ構造として同定し得る(Chothia及びLesk, J. Mol. Biol. 196, 901 (1987), Chothiaら, Nature 342, 877 (1989)、及びTramontanoら, J. Mol. Biol. 215, 175 (1990)を参照のこと)。その他の方法として、KabatとChothiaの折衷であり、Oxford MolecularのAbM抗体モデリングソフトウェア(現在のAccelrys)を使用して誘導される“AbM特定”又はMacallumらによるCDRの“コンタクト特定”(“抗体-抗原相互作用: コンタクト分析及び結合部位トポグラフィー”, J Mol Biol. 1996 Oct 11;262(5):732-45)が挙げられる。下記のチャートが種々の既知の特定に基づいてCDRを同定する。

【0042】

ループ	Kabat	AbM	Chothia	コンタクト
L1	L24--L34	L24--L34	L24--L34	L30--L36
L2	L50--L56	L50--L56	L50--L56	L46--L55
L3	L89--L97	L89--L97	L89--L97	L89--L96
H1	H31--H35B	H26--H35B	H26--H32..34	H30--H35B
(Kabatナンバリング)				
H1	H31--H35	H26--H35	H26--H32	H30--H35
(Chothiaナンバリング)				
H2	H50--H65	H50--H58	H52--H56	H47--H58
H3	H95--H102	H95--H102	H95--H102	H93--H101

【0043】

10

20

30

40

50

配列単独から抗体中のCDRを同定し得る一般ガイドラインは以下のとおりである。

LCDR1 :

開始 - およその残基 24

前の残基は常に Cys である。

後の残基は常に Trp である。典型的には、TRP に続いて TYR-GLN があるが、又、その後に LEU-GLN、PHE-GLN、又は TYR-LEU があってもよい。

長さは 10 ~ 17 残基である。

LCDR2 :

開始 - L1 の末端後の 16 残基

前の配列は一般に ILE-TYR であるが、又、VAL-TYR、ILE-LYS、又は ILE-PHE であってもよい 10

長さは一般に 7 残基である。

LCDR3 :

開始 - 一般に L2 の末端後の 33 残基

前の残基は Cys である。

後の配列は PHE-GLY-X-GLY である。

長さは 7 ~ 11 残基である。

【 0 0 4 4 】

HCDR1 :

開始 - およその残基 26 の位置 (CYS 後の 4 残基) [Chothia/AbM 特定] Kabat 特定は 5 残基後 20

に開始する。

前の配列は CYS-X-X-X である。

後の残基は TRP、典型的には続いて VAL であるが、又、続いて ILE、又は ALA である。

長さは AbM 特定のもとでは 10 ~ 12 残基であり、一方、Chothia 特定は最後の 4 残基を排除する。

HCDR2 :

開始 - CDR-H1 の Kabat/AbM 特定の末端後の 15 残基

前の配列は典型的には LEU-GLU-TRP-ILE-GLY (配列番号 1) であるが、幾つかの変化が可能 30

である。

後の配列は LYS/ARG-LEU/ILE/VAL/PHE/THR/ALA-THR/SER/ILE/ALA である。

長さは Kabat 特定のもとでは 16 ~ 19 残基である (AbM 特定は 7 残基先に終了する) 。

HCDR3 :

開始 - CDR-H2 の末端後の 33 残基 (CYS 後の 2 残基)

前の配列は CYS-X-X (典型的には CYS-ALA-ARG) である。

後の配列は TRP-GLY-X-GLY である。

長さは 3 ~ 25 残基である。

【 0 0 4 5 】

CDR の外部にあるが、それにもかかわらず結合部位のライニングの部分である側鎖を有することにより結合部位の部分を構成する特別な抗体中のアミノ酸残基の同一性は、当業界で公知である方法、例えば、分子モデリング及び X 線結晶学を使用して測定し得る。例 40

例えば、Riechmann ら、(1988) Nature, 332:323-327 を参照のこと。アルドラーゼ抗体マウス mAb 38C2 (これは HCDR3 の付近であるが、その外部に反応性リシンを有する) が、このような抗体の例である。

抗体結合部位の反応性残基は、残基が抗体をつくと最初に同定されたリンパ系細胞中に存在する核酸によりコードされる場合のように抗体と自然に会合し得る。又、アミノ酸残基は特別な残基をコードするように故意に突然変異することにより生じ得る (例えば、Meares らの WO 01/22922 を参照のこと)。別のアプローチにおいて、アミノ酸残基又はその反応性要素 (例えば、求核性アミノ基又はスルフヒドリル基) は抗体結合部位のアミノ酸残基に結合し得る。こうして、本明細書に使用される “抗体の結合部位のアミノ酸残基により” 生じる抗体との共有結合はその結合が抗体結合部位のアミノ酸残基に直接であっ 50

てもよく、又は抗体結合部位のアミノ酸残基の側鎖に結合される化学部分を介してもよいことを意味する。

説明されたように、本発明の抗体ターゲティング化合物を調製する際に使用し得る抗体は抗体結合部位の反応性側鎖を必要とする。反応性側鎖はあらゆる抗体中に存在してもよく、又は突然変異により入れられてもよい。触媒抗体がこのような抗体の好ましい源である。このような抗体として、アルドラーゼ抗体、ベータラクタマーゼ抗体、エステラーゼ抗体、アミダーゼ抗体等が挙げられる。

抗体結合部位の反応性リシンはターゲティング薬剤又はリンカー-ターゲティング薬剤と関連する、ケトン、ジケトン、ベータラクタム、活性エステルハロケトン、ラクトン、酸無水物、マレイミド、エポキシド、アルデヒドアミジン、グアニジン、イミン、エネアミン、ホスフェート、ホスホネート、エポキシド、アジリジン、チオエポキシド、マスク又は保護されたジケトン（例えば、ケタール）、ラクタム、ハロケトン、アルデヒド等に共有結合し得る。例示かつ好ましいこのような抗体はアルドラーゼ抗体、例えば、マウスモノクローナル抗体 mAb 38C2及びその他の同様の触媒抗体であるだけでなく、このような抗体の好適にヒト化されたバージョン及びキメラバージョンである。マウス mAb 38C2 は反応性免疫化により生成され、天然アルドラーゼ酵素をメカニズム上模擬する触媒抗体の新しいクラスのプロトタイプである（Barbasら、1997、Science 278、2085-2092）。反応性リシンにより、これらの抗体は天然アルドラーゼのエナミンメカニズムを使用してアルドール反応及びレトロ-アルドール反応を触媒作用する（Wagnerら、1995、Science 270、1797-1800；Barbasら、1997、Science 278、2085-2092；Zhongら、1999、Angew. Chem. Int. Ed. 38、3738-3741；Karlstromら、2000、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.、973878-3883）。合成有機化学におけるそれらの融通性及び効力（例えば、Hoffmannら、1998、J. Am. Chem. Soc. 120、2768-2779；Sinhaら、1998、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95、14603-14608）に加えて、アルドラーゼ抗体は抗癌戦略としてカンプトテシン、ドキシソルピシン、及びエトポシドプロドラッグを *in vitro* 及び *in vivo* で活性化するのに使用されていた（Shabatら、1999、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96、6925-6930及び2001、Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98、7528-7533）。

【0046】

別の例において、抗体結合部位の反応性アミノ酸は反応性システイン、セリン又はチロシン残基であってもよい。システインについて、得られる抗体はマレイミド含有成分又はその他のチオール反応性基、例えば、ヨードアセトアミド、アリアルハライド、ジスルフィドリル等と共有結合を形成し得る。反応性システインはJandaら、Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 91:2532-2536、(1994)により記載されたチオエステラーゼ触媒抗体中に見られる。その他のエステラーゼ抗体について、Wirschingら、Science 270:1775-82 (1995)を参照のこと。反応性アミノ酸含有抗体は反応性アミノ酸をコードする抗体結合部位残基を突然変異すること又は抗体結合部位のアミノ酸側鎖を反応性基を含むリンカーで化学的に誘導体化することを含む当業界で公知の手段により調製し得る。

本明細書中の使用に適した抗体は通常免疫化、*in vivo*の反応性免疫化、又は*in vitro*の反応性選択、例えば、ファージディスプレイによる反応性選択により得られてもよい。抗体はヒト又はその他の動物種中で産生し得る。動物の一種からの抗体は動物の別の種を反映するように修飾し得る。例えば、ヒトキメラ抗体は抗体の少なくとも一つの領域がヒト免疫グロブリンからのものである抗体である。ヒトキメラ抗体は典型的にはヒトからの定常領域とともに非ヒト動物、例えば、げっ歯類からの可変領域を有すると理解される。対照的に、ヒト化抗体はヒト免疫グロブリンからの可変フレームワーク領域の殆ど又は全部及びヒト免疫グロブリンからの全ての定常領域とともに非ヒト抗体からのCDRを使用する。キメラ抗体及びヒト化抗体はCDRグラフトアプローチ（例えば、米国特許第5,843,708号、同第6,180,370号、同第5,693,762号、同第5,585,089号、同第5,530,101号明細書を参照のこと）、鎖シャッフリング戦略（例えば、米国特許第5,565,332号、Raderら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1998) 95:8910-8915を参照のこと）、分子モデリング戦略（米国特許第5,639,641号明細書）等を含む当業界で公知の方法により調製し得る。

【 0 0 4 7 】

抗体の典型的な化学誘導体化と違って、反応性免疫化から誘導されたものは特定位置でそれらの結合部位で特異的に標識でき、均一な産物の迅速かつ制御された調製を促進し得る。加えて、抗体の化学誘導体化と違って、1,3-ジケトンによる反応性免疫化から誘導されたものは可逆性である。この可逆性のために、mAb 38Cに結合されたターゲッティング化合物のジケトン誘導体が共有結合ハプテンJW (Wagnerら, 1995, Science 270, 1797-800)、又は関連化合物との競合により抗体から放出し得る。これは逆反応の場合にコンジュゲートを *in vivo* で直ちに中和することを可能にする。又、非可逆性共有結合が、例えば、アルドラーゼ抗体及びターゲッティング化合物のペータラクタム誘導体で可能である。典型的な抗ハプテン抗体と違って、共有ジケトン結合抗体はジケトンと抗体の間で形成される共有結合が低いpH 3又は高いpH 11の極値のpHの大きい変化に対し安定であるという利点を有する。このようなpHシフトはターゲッティング化合物を抗体から放出しない。これは腫瘍ターゲッティングについて利点である。何とならば、腫瘍は典型的には正常な組織と較べて低下されたpHを示すからである。それらのターゲッティング薬剤に共有結合された共有結合抗体の付加された安定性は製剤化、送付、及び長期貯蔵に関して付加的な利点を与えるべきである。

10

【 0 0 4 8 】

本発明のターゲッティング化合物は当業界で公知の技術を使用してつくられる。典型的には、機能性成分(生物学的薬剤)でもあるターゲッティング薬剤の合成が第一工程である。次いでターゲッティング薬剤(又、この場合には機能性成分)が連結成分(リンカー)への結合について誘導体化され、次いでこれが抗体と合わされる。当業者は使用される特定の合成工程が三つの成分の正確な性質に依存することを容易に理解するであろう。

20

例として、第一工程として、化合物15及び4として示されたターゲッティング薬剤-リンカー化合物が、夫々、スキーム1(図10)及びスキーム2(図11)に示されるように、上記化合物1及び2として示されるインテグリンターゲッティング薬剤の誘導体化バージョンとしてつくられた。化合物15及び4はリンカー(連結成分)の一部の付加により誘導体化された(化合物1及び2に対して)。スキーム3(図12)はジケトン反応性部分を有する完全リンカーが誘導体化ターゲッティング薬剤化合物15に付加されてターゲッティング化合物SCS-873及びSCS-1655を得る付加的な合成工程を示す。

化合物15及び4として示されたインテグリンターゲッティング成分が夫々図10(スキーム1)及び図11(スキーム2)に示されるように合成された。ジケトン反応性部分を有するリンカーがスキーム3(図12)に示されるようにこれらのターゲッティング分子に付加されてターゲッティング化合物-リンカー分子SCS-873及びSCS-1655を生成した。SCS-873の合成は三つの工程で化合物14から開始して行なわれた。化合物14がスキーム1に示されるように15に変換され、粗生成物がCH₃CN-DMF中でEt₃Nの存在下でジケトン化合物23のN-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)-エステルと反応させられた。シリカゲルで精製して(CH₂Cl₂-MeOH, 9:1)純粋なSCS-873を得た。

30

【 0 0 4 9 】

化合物SCS-1655が5工程(スキーム2及び3)で14から合成された。化合物14中のBOC基の脱保護続いて2価リンカー24のNHSエステルとの反応により化合物25を得、次いでこれが上記のように脱保護され、23と反応させられてSCS-1655を得た。

40

インテグリンターゲッティング成分-リンカー分子SCS-864及びSCS-789の合成がスキーム4(図13)に示される。SCS-864及びSCS-789が1工程で化合物4から夫々合成された(図13、スキーム4)。化合物4の結合が適当な活性化NHS-エステルで得られた。

ターゲッティング薬剤-リンカー化合物、例えば、SCS-864、SCS-873及びSCS-1655(この場合、リンカーはジケトン反応性部分を含む)が0.5当量のアルドラーゼ抗体、例えば、mAb 38C2とともにインキュベートされて抗体ターゲッティング化合物を生成し得る。追加の例が以下に示される。

又、抗体の結合部位に共有結合するためのターゲッティング薬剤-リンカー化合物が提供される。リンカーはターゲッティング薬剤がリンカーにより抗体に結合される場合にタ

50

ーゲッティング薬剤が標的分子に結合することを可能にするのに十分な長さのものである。或る実施態様において、ターゲッティング薬剤-リンカー化合物は式X-Y-Zのリンカーとともに標的分子に特異性の一つ以上のターゲッティング薬剤を含む。リンカー成分X、Y及びZの構成は上記のとおりである。二つ以上のターゲッティング薬剤がターゲッティング薬剤-リンカー化合物中に含まれる場合、種々のターゲッティング薬剤がリンカーに直接結合されてもよく、又はリンカーが異なるリンカー分岐に結合されたターゲッティング薬剤で分岐されてもよい。

又、抗体の結合部位と非共有結合で会合し得るターゲッティング薬剤-リンカー化合物が提供される。この化合物は本発明のターゲッティング化合物を生成するのに適した抗体と一緒に使用し得る。このようなターゲッティング薬剤-リンカー化合物はリンカーを介して抗体により認識された抗原に共有結合された二つ以上のターゲッティング薬剤を含む。リンカーは線状であってもよく、又は分岐していてもよく、一つ以上のターゲッティング薬剤がリンカーにより抗体に結合される場合に一つ以上のターゲッティング薬剤が標的分子に結合することを可能にするのに十分な長さのものであるべきである。

10

【0050】

或る実施態様において、リンカーはC、H、N、O、P、S、Si、F、Cl、Br、及びIのいずれか、又はその塩を含む。又、リンカーはアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、オキソアルキル基、オキソアルケニル基、オキソアルキニル基、アミノアルキル基、アミノアルケニル基、アミノアルキニル基、スルホアルキル基、スルホアルケニル基、又はスルホアルキニル基、ホスホアルキル基、ホスホアルケニル基、ホスホアルキニル基の如き基を含んでもよい。又、リンカーは一つ以上の環構造を含んでもよい。上記基及び環の組み合わせが又本発明のターゲッティング化合物のリンカー中に存在してもよい。或る実施態様において、リンカーは2-200個の原子の線状ストレッチを有するが、その他の実施態様において、一層長いリンカー長さが使用されてもよい。一つ以上のターゲッティング薬剤はリンカーに結合されてもよく、分岐リンカーが使用される場合には、ターゲッティング薬剤の幾つかがリンカーの異なる分岐に結合されてもよい。

20

或る実施態様において、ターゲッティング薬剤-リンカー化合物のターゲッティング薬剤は生物学的に活性であり、一方、その他の実施態様において、ターゲッティング薬剤-リンカー化合物は別個の生物学的薬剤を更に含み、これはターゲッティング薬剤に共有結合されることが好ましい。或る実施態様において、生物学的薬剤はターゲッティング薬剤をリンカーに結合するのと実質的に同じアプローチを使用して、又は当業界で公知のその他のアプローチを使用してターゲッティング薬剤又はリンカーに結合されてもよい。

30

リンカーの抗原は利用できる抗体により結合し得るあらゆる抗原であってもよい。抗原は当業界で公知であり、有機化合物、薬物、生物分子、例えば、タンパク質、ペプチド、ペプチド擬態、糖タンパク質、プロテオグリカン、脂質、糖脂質、核酸、炭水化物等だけでなく、これらの分子の組み合わせが挙げられる。

【0051】

又、本発明は特別な標的分子について結合特異性を生じるように抗体の結合部位を修飾する方法を含む。このような方法は抗体の結合部位の反応性アミノ酸側鎖をターゲッティング薬剤-リンカー化合物のリンカーの化学部分に共有結合することを含み、この場合、ターゲッティング薬剤は標的分子に特異性である。リンカーの化学部分はターゲッティング薬剤から十分に離され、その結果、ターゲッティング薬剤-リンカー化合物が抗体結合部位に共有結合される場合に、ターゲッティング薬剤が標的分子に結合し得る。典型的には、抗体は標的分子に特異性であるとは考えられないであろう。好ましい実施態様において、共有結合前の抗体は約 1×10^{-5} モル/リットル未満の標的分子に関するアフィニティーを有するであろう。しかしながら、抗体がターゲッティング薬剤-リンカー化合物に共有結合された後に、修飾抗体は好ましくは少なくとも約 1×10^{-6} モル/リットル、更に好ましくは少なくとも約 1×10^{-7} モル/リットル、更に好ましくは少なくとも約 1×10^{-8} モル/リットル、更に好ましくは少なくとも約 1×10^{-9} モル/リットル、最も好ましくは少なくとも約 1×10^{-10} モル/リットルの標的分子に関するアフィニティーを有する。

40

50

又、本発明はターゲッティング薬剤、生物学的薬剤又はリンカーの少なくとも一つの物理的又は生物学的特性を変化する方法を含む。これらの方法はターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤を上記のように抗体の結合部位に共有結合することを含む。或る実施態様において、ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤はリンカーにより抗体結合部位に結合され、これらの特性は上記されている。その方法は5Kd以下の小さいターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤を結合するのに特に有益である。しかしながら、その方法は又一層大きいこのような分子について作用する。ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤の特性として、結合アフィニティー、分解に対する感受性（例えば、プロテアーゼによる）、薬物速度論、薬力学、免疫原性、可溶性、親油性、親水性、疎水性、安定性（多少安定なだけでなく、予定された分解）、硬性、可撓性、抗体結合のモジュレーション等が挙げられる。

10

本明細書に使用される薬物速度論は経時の血清中の投与化合物の濃度を表す。薬力学は経時の標的及び非標的組織中の投与化合物の濃度並びに標的組織に対する効果（効力）及び非標的組織に対する効果（毒性）を表す。例えば、薬物速度論又は薬力学の改良は不安定な結合を使用することにより、又はリンカーの化学的性質を変更する（可溶性、電荷等を変化する）ことによるように特別なターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤について設計し得る。

【0052】

本発明の抗体ターゲッティング化合物の生物学的特性は改良された医薬特性又はその他の特性を得るように変更し得る。これはターゲッティング薬剤もしくは生物学的薬剤、リンカー又は抗体の一つ以上の化学的性質を変えることにより得られてもよい。好ましいアプローチはリンカーの一つ以上の化学的性質を化学的に変更することである。リンカーを含む化合物の化学的性質を変えることにより、改良された特徴、例えば、薬物速度論、薬力学、可溶性、免疫原性等の改良を得ることができる。

20

本発明のターゲッティング化合物は多くの用途を有する。例えば、ターゲッティング化合物の抗体部分は一般に *in vivo* の一層小さいサイズのターゲッティング薬剤の半減期を延長し得る。又、特別なターゲッティング薬剤の生物学的効力がターゲッティング化合物の抗体部分により与えられる一つ以上のエフェクター機能（例えば、補体媒介エフェクター機能）の付加により増大し得る。加えて、ターゲッティング薬剤は、抗体への結合により与えられるその増大されたサイズにより、ターゲッティング薬剤がそうしないと失敗する状況で競合インヒビターとして機能することを可能にし得る。こうして、一局面において、本発明はターゲッティング薬剤の有効な循環半減期を増大する方法を提供する。その方法は先に示されたように結合基を使用してターゲッティング薬剤を抗体に結合することを含む。別の局面において、本発明は抗体を特別な標的に再誘導する方法を提供する。その方法は先に示されたように抗体をリンカーによりターゲッティング薬剤に結合することを含む。

30

【0053】

又、本発明は個体の疾患又は症状の治療又は予防方法を提供し、前記疾患又は症状は標的分子を発現する細胞、組織又は液体を伴う。その方法は患者の如き被験者に、治療有効量の本発明のターゲッティング化合物を投与することを含む。被験者は哺乳類の如き動物であってもよい。或る実施態様において、被験者はヒトである。その化合物はターゲッティング薬剤と同じであり、又はそれとは異なり、かつ本明細書に記載された形態又は活性のいずれかをとり得る生物学的薬剤を含んでもよい。或る好ましい実施態様において、標的分子がインテグリンであり、疾患が癌腫である。癌腫中のインテグリン発現の関連が当業界で公知である（例えば、米国特許第5,753,230号明細書及び同第5,766,591号明細書（これらの開示が参考として本明細書に含まれる）を参照のこと）。ヒト中の治療使用について、ヒト抗体、ヒト化抗体、又はヒトキメラ抗体がターゲッティング化合物の抗体成分として好ましい。ヒトIgG4定常領域を有する抗体はアゴニスト活性が所望される場合に又好ましい。

40

治療適用に加えて、本発明の抗体ターゲッティング化合物は又当業界で公知であるように腫瘍細胞又は組織（例えば、細胞外のマトリックス生物分子）の細胞のイメージングに

50

使用し得る。それ故、個体の細胞又は組織（例えば、細胞外のマトリックス生物分子）のイメージング方法が提供される。このような方法において、細胞又は組織が標的分子を発現する。その方法は被験者に検出できる標識に結合された本発明の抗体ターゲティング化合物を投与することを含む。このような方法における使用のための検出できる標識は放射性同位元素であってもよく、又は核磁気共鳴(NMR)イメージングに使用し得るような非放射性同位元素であってもよい。後者の場合、抗体ターゲティング薬剤をキレート、例えば、Simkinsら、*Nat. Med.*, 4(5):623-6 (1998)に実質的に記載されたような常磁性金属ガドリニウムのジエチレントリアミンペンタアセテート(DTPA)に結合し得る。

ヒトカポジ肉腫SLK細胞へのSCS-873及び38C2の混合物の結合が研究された。SCS-873は38C2の細胞表面結合を有効に媒介した。38C2の結合はSCS-873の不在下で検出できなかつた。対照実験は1,3-ジケトン部分が38CへのSCS-873の結合に必要とされることを確認した。夫々、独立の*i.p.*注射及び*i.v.*注射後に、SCS-873及び38C2は*in vivo*でインテグリン α_3 ターゲティングコンジュゲートを生成する。これらの実験において、SCS-873の循環半減期は38C2への結合により大きさの2より大きいオーダーだけ延長された。SCS-873及び38C2の組み合わせはヒトカポジ肉腫のマウスモデルで腫瘍増殖を有効に抑制し、一方、SCS-873又は38C2単独はそれ程有効ではなく、又は全く有効ではなかつた。

【0054】

又、本発明は生物学的活性を被験者の細胞、組織（例えば、細胞外のマトリックス生物分子）又は液体中の生物分子にターゲティングする方法を提供する。その方法は被験者に、細胞、組織細胞外のマトリックス生物分子又は液体生物分子に特異性のターゲティング薬剤を含むターゲティング化合物を投与することを含む。ターゲティング薬剤は抗体の結合部位のアミノ酸残基に共有結合される。或る実施態様において、リンカーがターゲティング薬剤を抗体に結合するのに使用される。ターゲティング薬剤は抗体ではない。或る実施態様において、その化合物は生物学的活性を有し、一方、その他の実施態様において、ターゲティング薬剤ではない生物学的に活性な分子がその化合物の成分として含まれる。又、ターゲティング化合物の成分部分が別々に投与されてもよく、次いで*in vivo*で共有結合化合物を生成する。このような方法において、ターゲティング薬剤はリンカー/反応性部分を含んでもよく、又は抗体結合部位がターゲティング薬剤に共有結合するように適当に修飾されてもよい。

本発明のターゲティング化合物は医薬上許される担体で製剤化された本発明のターゲティング化合物を含む医薬又は薬物として投与し得る。それ故、これらの化合物は薬物又は医薬組成物の製造に使用し得る。本発明の医薬組成物は非経口投与のための溶液又は凍結乾燥粉末として製剤化し得る。粉末は使用前に好適な希釈剤又はその他の医薬上許される担体の添加により再生し得る。液体製剤は緩衝剤入りの、等張性の、水溶液であってもよい。粉末は又乾燥形態で噴霧されてもよい。好適な希釈剤の例は通常の等張性食塩溶液、水中の標準の5%のデキストロース、又は緩衝された酢酸ナトリウムもしくは酢酸アンモニウム溶液である。このような製剤は非経口投与に特に好適であるが、又経口投与に使用されてもよく、或いはガス注入用の計量投薬吸入器又はネブライザー中に含まれてもよい。賦形剤、例えば、ポリビニルピロリドン、ゼラチン、ヒドロキシセルロース、アカシア、ポリエチレングリコール、マンニトール、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム等を添加することが望ましいかもしれない。

【0055】

又、これらの化合物は封入されてもよく、錠剤にされてもよく、又は経口投与のためにエマルションもしくはシロップ中で調製されてもよい。医薬上許される固体又は液体担体が組成物を増進もしくは安定化し、又は組成物の調製を促進するために添加されてもよい。固体担体として、澱粉、ラクトース、硫酸カルシウム二水和物、テラアルバ(terra alba)、ステアリン酸マグネシウムもしくはステアリン酸、タルク、ペクチン、アカシア、寒天又はゼラチンが挙げられる。液体担体として、シロップ、落花生油、オリーブ油、食塩水及び水が挙げられる。担体は又持続放出物質、例えば、グリセリルモノステアレートもしくはグリセリルジステアレートを単独で、又はワックスとともに含んでもよい。固体担

10

20

30

40

50

体の量は変化するが、投薬単位当り約20mg～約1gであることが好ましいであろう。医薬製剤は錠剤形態について微粉碎、混合、造粒、及び圧縮（必要な場合）、又は硬質ゼラチンカプセル形態について微粉碎、混合及び充填を伴う薬学の通常の技術に従ってつくられる。液体担体を使用される場合、製剤はシロップ、エリキシル剤、エマルジョン、又は水性もしくは非水性の懸濁液の形態であってもよい。直腸投与について、本発明の化合物は賦形剤、例えば、ココアバター、グリセリン、ゼラチン又はポリエチレングリコールと合わされ、座薬に成形されてもよい。

本発明の化合物はその他の医療上有益な薬物又は生物学的薬剤を含むように製剤化されてもよい。又、これらの化合物は本発明の化合物が指示される疾患又は症状に有益なその他の薬物又は生物学的薬剤の投与と連係して投与されてもよい。

本明細書に使用される“有効量”という用語は、そのレシピエントに有益な効果を与えるのに十分に高い濃度を与えるのに十分な用量を表す。特別な被験者に特別な治療上有効な用量レベルは治療される疾患、疾患の重度、特別な化合物の活性、投与の経路、化合物のクリアランスの速度、治療の期間、化合物と組み合わせ、又は同時に使用される薬物、被験者の年齢、体重、性別、食事、及び全般の健康、並びに医療業界及び科学で公知の同様の因子を含む種々の因子に依存するであろう。“治療上有効な量”を決める際に考慮される種々の全般の考慮事項が当業者に知られており、例えば、Gilmanら編集、Goodman及びGilmanの治療薬の薬理学的基礎、第8編、Pergamon Press, 1990、及びRemingtonの医薬科学、第17編、Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990に記載されている。用量レベルは典型的には約0.001～100mg/kg/日の範囲に入る。約0.05～10mg/kg/日の範囲のレベルが一般に適用し得る。化合物は非経口、例えば、血管内、静脈内、動脈内、筋肉内、皮下等で投与し得る。又、投与は経口、鼻内、直腸、経皮又はエアゾールによる吸入であってもよい。組成物は巨丸剤として投与されてもよく、又は徐々に注入されてもよい。

【0056】

免疫適格個体への抗体-ターゲッティング薬剤コンジュゲートの投与はコンジュゲートに対する抗体の産生をもたらし得る。このような抗体は抗体それ自体、例えば、抗体イデオタイプを含む可変領域だけでなく、ターゲッティング薬剤を抗体に複合するのに使用されたターゲッティング薬剤又はリンカーに誘導し得る。抗体-ターゲッティング薬剤コンジュゲートの免疫原性の低下は当業界で公知の方法、例えば、長鎖ポリエチレングリコール(PEG)をベースとするスペーサー等を抗体-ターゲッティング薬剤に結合することにより取り組まれる。長鎖PEG及びその他のポリマーが外来エピトープをマスクし、外来エピトープを示す治療タンパク質の低下された免疫原性をもたらすそれらの能力について知られている(Katreら, 1990, J. Immunol. 144, 209-213; Francisら, 1998, Int. J. Hematol. 68, 1-18)。注目されるように、PEGが同様にリンカーであってもよく、こうして本発明のターゲッティング化合物においてリンカー機能及び低下された免疫原性の両方を与える。又、又は加えて、個体に投与される抗体-ターゲッティング薬剤コンジュゲートは免疫抑制薬、例えば、シクロスポリンA、抗CD3抗体等とともに投与されてもよい。

受容体のアゴニスト又はアンタゴニストについて化学ライブラリーをスクリーニングする方法が更に提供される。その方法は化学ライブラリーの個々の員を抗体の結合部位に結合し、次いで抗体結合されたライブラリーを受容体への結合又は受容体と受容体のリガンドとの間の結合の抑制について試験することを含む。このアプローチにより、本発明の抗体ターゲッティング化合物は、例えば、アンタゴニスト又はアゴニストとして機能する、候補小分子薬品、例えば、薬物ペプチド、ペプチド擬態、有機化合物等を同定するための高処理量スクリーニングのための新しいフォーマットを与える。有益な候補化学分子の相対的に小さいサイズは典型的には置換フォーマット又は競合フォーマットのような間接スクリーニングを必要とする。本明細書に提供されたように、ライブラリー中の個々の薬物を抗体の結合部位に結合することにより、抗体フォーマットに関する化学ライブラリーを構築することができる。

【0057】

抗体結合部位-標識ライブラリーは特別な抗体との共有結合相互作用について設計され

10

20

30

40

50

た特別なリンカー部分を含む好適なリンカーを用いて化学候補を合成することにより調製し得る。このようなリンカーは結合部位の反応性リシンを含むアルドラーゼ抗体と一緒に使用されるジケトン部分を含んでもよい。当業者は本明細書に記載されたその他のリンカー及びリンカー部分（例えば、ビオチン）がこの目的に明らかに有益であることを容易に理解するであろう。

こうして調製された抗体結合部位-標識化学ライブラリーは、例えば、受容体アッセイ又は細胞バイオアッセイに使用でき、この場合、ライブラリー中の夫々の化合物の結合が結合された抗体を検出することにより監視し得る。夫々の化合物の抗体部分の検出は当業界で公知の抗体検出の方法により行ない得る。例えば、抗体が検出できる部分、例えば、酵素、蛍光体、放射性同位元素等に結合し得る。又、間接系、例えば、ビオチン-ストレプトアビジンが使用し得る。ライブラリーが細胞又は不純な抗原、例えば、ウイルス溶解産物だけでなく、精製抗原についてスクリーニングし得る。例えば、ライブラリーが標的として、タンパク質ゲルについて実験された溶解産物を使用して結合又は結合の抑制について試験でき、その分析が特別なゲルバンドについて集中される。受容体が細胞で発現される場合、結合又は結合の抑制が前記結合又は結合の抑制の下流で起こる（抑制の場合には起こらない）細胞シグナリングイベントを検出することにより測定し得る。下流の細胞シグナリングは当業界で公知であるようなりポーター遺伝子の助けにより検出し得る（例えば、米国特許第5,618,720号及び同第5,670,113号を参照のこと）。

【0058】

抗体標識化学ライブラリーのスクリーニングは高処理量装置との使用に容易に適合し得る。スクリーニングは *in vitro* 又は *in vivo* で行ない得る。更に、生物学的ディスプレイライブラリー、例えば、ペプチドファージライブラリーが抗体結合部位-標識ライブラリーを調製するのに使用し得る。このような場合、リンカー部分（例えば、ジケトン）の結合の部位は生物学的キャリアーへのライブラリーの融合位置であってもよい。

又、サンプル中の分析物の量を測定するためのイムノアッセイ方法が提供される。このような方法は

(a) サンプルを含む媒体中で、分析物と分析物に特異性の少なくとも一つの抗体の間の複合体を形成し、

(b) その媒体を分析して複合体の量を検出し、そして

(c) 複合体の量をサンプル中の分析物の量に関係付けることを含む。

又、このような方法は分析物に特異性である少なくとも一つの抗体と複合体を形成することを含んでもよい。抗体の特異性は抗体の結合部位の反応性アミノ酸に共有結合される分析物に特異性の非抗体ターゲティング薬剤により与えられる。こうして、本発明の抗体ターゲティング化合物は通常に調製されたポリクローナル抗体又はモノクローナル抗体で既に行なわれたようにサンプル中の分析物の量を検出し、測定するためのイムノアッセイに使用し得る。このようなアッセイは当業界で公知であり、RIA、EIA、ウェスタン、ELISA等が挙げられる。アッセイフォーマットは競合的又は非競合的であってもよく、直接又は間接であってもよい。抗体ターゲティング化合物は液相中で使用でき、かつ/又は固相担体に結合し得る。担体として、ガラス、ポリスチレン、ポリプロピレン、ポリエチレン、デキストラン、ナイロン、天然セルロース及び変性セルロース、ポリアクリルアミド、アガロース、磁鉄鉱等が挙げられる。担体の性質は可溶性又は不溶性であってもよい。抗体ターゲティング化合物は当業界で公知の種々の方法のいずれかで検出可能に標識し得る。米国特許第4,659,678号明細書、同第4,780,423号明細書及び同第4,298,685号明細書がこのようなアッセイの例示である。

【0059】

一般に考えて、サンプル中の分析物の量は、サンプルを含む媒体中で、分析物と分析物に特異性の少なくとも一つの抗体の間の複合体を形成することにより測定し得る。次いで媒体が分析されて形成される複合体の量を測定する。最後に、形成された複合体の量がサンプル中の分析物の量に関係付けられる。既に記載されたように、この一般的アプローチは直接及び間接、均一又は不均一、並びに競合的及び非競合的の如き多くの形態をとり得

る。全ての場合に、本発明の抗体ターゲッティング化合物が通常に調製された抗体により与えられた機能を置換するのに使用し得る。

又、分析物の存在が分析物に特異性の抗体を使用して測定される直接又は間接結合アッセイが提供される。このような方法において、分析物の存在が分析物に特異性の抗体を使用して測定される。抗体特異性は分析物に特異性である非抗体ターゲッティング薬剤から生じ、ターゲッティング薬剤が抗体の結合部位の反応性アミノ酸に共有結合される。こうして、本発明の抗体ターゲッティング化合物は通常に調製された抗体に代えて定性アッセイに使用し得る。

本発明の化合物はヒトの医療治療及び診断だけでなく、獣医学、農業、環境及びその他の分野に用途があることが容易に明らかであろう。

又、ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤が細胞膜を横切る能力を抑制又は低下する方法が提供される。これらの方法において、抗体ターゲッティング化合物がそれ自体では細胞膜を横切らない抗体の結合部位をターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤に共有結合することにより生成され、この場合、前記ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤への前記抗体の結合が細胞膜を横切る薬剤の能力を低下又は抑制する。細胞表面内在化受容体に誘導されない抗体が細胞膜を横切らない抗体の好ましい源である。

【0060】

更に、細胞内で活性な薬物の細胞内送出手法を媒介する方法が提供される。これらの方法において、抗体ターゲッティング化合物が調製され、この場合、前記化合物はリンカーにより抗体の結合部位に共有結合された一つ以上のターゲッティング薬剤もしくは一つ以上の生物学的薬剤又はその両方を含む。ターゲッティング薬剤又は生物学的薬剤はそれらが細胞受容体に結合し、薬剤の内在化を媒介することを特徴とする。又、抗体ターゲッティング化合物は細胞内で活性である薬物を含む。細胞内薬物送出手法は受容体を発現する細胞が抗体ターゲッティング化合物と接触する場合に起こる。接触は抗体ターゲッティング薬剤の内在化及び細胞内の前記薬物の送出手法をもたらす。

このアプローチは抗体ターゲッティング化合物を細胞内に送出手法のために受容体媒介エンドサイトーシス（即ち、受容体媒介内在化）を利用する。結合リガンドの内在化を媒介する細胞表面受容体が当業界で公知であり、例えば、インテグリン、HER2、EGF受容体、葉酸受容体等が挙げられる。内在化アッセイが容易に利用でき、蛍光検出手法を使用して評価し得る。

或る実施態様において、細胞内で活性な薬物は前記薬物が細胞内区画と接触する場合に活性になるプロドラッグである。抗体ターゲッティング化合物は内在化された抗体ターゲッティング化合物を特別な細胞内区画に誘導するための細胞内トラフィッキングシグナルを含んでもよい。多くのタンパク質はトラフィッキングシグナルとして利用でき、又はタンパク質を正確な細胞内部位にターゲッティングすることに取り組む一つ以上のターゲッティング配列を含む。目的地にある受容体が又トラフィッキングプロセスに関係し得る。

タンパク質及びその他の化合物を異なる細胞内部位、例えば、小胞体、エンドソーム、ゴルジ、又は核等に誘導する配列が当業界で公知である。例えば、小胞体トラフィッキングシグナルとして、KDEL配列又はKKXX配列が挙げられ、ゴルジトラフィッキングシグナルとしてGRIPドメイン（Munroら、Curr Biol 9:377-379、1999を参照のこと）が挙げられ、リポソームトラフィッキングシグナル（ゴルジから）として、マンノース-6-ホスフェート修飾オリゴ糖、及び核局在化トラフィッキングシグナル（これらは一つ又は二つの短い正に荷電された配列（例えば、リシン又はアルギニンに富む）を含む）（Pencoら、Biotech Appl Biochem 34:151-159 2001を参照のこと）が挙げられる。

本発明の融通性が本発明の好ましい実施態様を説明するが、特許請求の範囲又は明細書を何ら限定しない下記の実施例により説明される。

【実施例1】

【0061】

アルドラゼモノクローナル抗体38Cの結合部位に共有結合されたRGDペプチド擬態ターゲッティング薬剤を含む抗体ターゲッティング化合物

10

20

30

40

50

インテグリンターゲット化合物をRGDペプチド擬態のジケトンリンカー誘導体とマウスmAb 38C2の反応性リシンの間の可逆性共有結合の形成に基づいて生成した。マウスmAb 38C2は反応性免疫化により生成された触媒抗体及びメカニズム上模擬する天然アルドラーゼ酵素の新しいクラスのプロトタイプである (Barbasら, Science 278, 2085-2092, 1997)。反応性リシンにより、これらの抗体は天然アルドラーゼのエナミンメカニズムを使用してアルドール反応及びレトロ-アルドール反応を触媒作用する (Wagnerら, Science 270, 1797-1800, 1995; Barbasら, Science 278, 2085-2092, 1997; Zhongら, Angew. Chem. Int. Ed. 38, 3738-3741, 1999)。合成有機化学におけるそれらの融通性及び効力に加えて、アルドラーゼ抗体は抗癌戦略としてin vitro及びin vivoのカンプトテシン、ドキシソルピシン、及びエトポシドプロドラッグの活性化に使用されていた (Shabatら, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 96, 6925-6930, 1999; Shabat, Dら, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98, 7528-7533, 2001)。これらの抗体の更に別の特徴、即ち、ジケトン

を共有結合するそれらの能力が殆ど解明されないで残っていた。
使用したRGDペプチド擬態 (化合物1を参照のこと) は0.9nMにおける v_3 及び0.6nMにおける v_5 に関する高い結合アフィニティー (最小 $a_{11}b_3$ 結合により示された特異性) をもってヒトインテグリンに特異性である (Millerらの上記文献)。SCS-873と称される、化合物1のジケトンリンカー修飾バージョンを上記のように調製した。

【0062】

v_3 又は v_5 結合の両方に関する既知の活性を有するペプチド擬態RGDアンタゴニストが望ましい。何とならば、これらの化合物の幾つかがマウスインテグリン及びヒトインテグリンの両方を結合するからである。このような種間交差反応性がヒト試験の前に動物血管形成モデルで予備臨床in vivo研究を与える。加えて、ターゲット化合物は v_3 インテグリンと関連するカポジ肉腫の治療に使用し得る。

SCS-873を下記の操作により抗体38C2に結合した。食塩加リン酸緩衝液中の抗体38C2 (10 mg/ml) 1mlをSCS-873の10mg/ml原液12 μ lに添加し、得られる混合物を使用前に2時間にわたって室温に維持した。

SLK細胞へのSCS-873及び38C2の混合物の結合を評価した。SCS-873は38C2の細胞表面結合を有効に媒介した。38C2の結合はSCS-873の不在で検出できなかった。対照実験はリンカーのジケトン部分が38C2へのSCS-873の結合に必要なとされることを確かめた。SCS-873はインテグリンターゲット成分のインテグリン特異性を保持することが測定され、即ち、ELISAにおける $a_{11}b_3$ への結合が検出されず、一方、 v_3 及び v_3 への結合が強いことがわかった。マウスへのSCS-873及び38C2で調製されたターゲット化合物v s夫々の成分単独の独立のi.p.注射及びi.v.注射はin vivoのインテグリンターゲットを実証した。これらの実験において、SCS-873の血清半減期が38C2への結合により大きさの2より大きいオーダーだけ延長された。抗体に結合されなかった遊離SCS-873はわずかに数分の血清半減期を有し、一方、抗体及び小分子の組み合わせが数日後に眼ブリードからサンプリングされた血清中に検出し得た。

【実施例2】

【0063】

アルドラーゼモノクローナル抗体38C2の結合部位に共有結合されたターゲット化合物 40

その他のヒト上皮腫瘍細胞の中で、カポジ肉腫腫瘍細胞はIL-4及びシュードモナスエキソトキシンと称される細菌トキシンのトランケート形態からなる組換えキメラタンパク質でターゲットし得るインターロイキン-4(IL-4)受容体を発現する (Husainら, 1999, Nat. Med. 5,817-822)。これらの研究に基づいて、mAb 38C2をカポジ肉腫腫瘍細胞にターゲットするためのIL-4ターゲット化合物を調製する。N-ヒドロキスクシンイミド(NHS)の如きリシン反応性部分を使用して、ジケトン反応性基を有するリンカーをIL-2のリシン側鎖に複合する。

又、付加された遊離システインを含む組換えIL-4をマレイミドの如きシステイン反応性部分への複合のために使用する。ターゲット化合物のリンカー部分と関連する免疫 50

原性を低下するために、一端のジケトン反応性基と他端のNHS又はマレイミド基の間のスパーサー（即ち、リンカー連結鎖）は、ポリエチレングリコール(PEG)鎖である。長鎖PEG及びその他のポリマーが外来エピトープをマスクし、外来エピトープを示す治療タンパク質の低下された免疫原性をもたらすそれらの能力について知られている（Katreら、1990、J. Immunol. 144, 209-213; Francisら、1998、Int. J. Hematol. 68, 1-18）。1～2個以下のジケトンが交差結合された抗体のクレアランスを回避するためにIL-4に複合されるべきである（Rehlaender及びCho、1998、Pharm. Res. 15, 1652-1656）。IL-2の如きその他のインターロイキンがターゲティング薬剤としてIL-4に代えて使用し得る。IL-4が主としてターゲティングモジュールとして使用し得るが、その薬理学的効果の増進（Lussowら、1996、Transplantation 62, 1703-1708）は抗体へのその結合により得られたインターロイキンの延長された血清半減期のためにIL-2受容体誘発から生じ得る。 10

【実施例3】

【0064】

アルドラーゼモノクローナル抗体38C2の結合部位に共有結合されたターゲティング薬剤としてのVEGF-R2結合ペプチドを含む抗体ターゲティング化合物

血管内皮成長因子(VEGF)は腫瘍血管形成の主要モジュレーターである。低酸素により誘発されて、VEGF発現は腫瘍中のVEGF mRNA転写の誘導によりアップレギュレーションされる。腫瘍による生成及び放出後に、VEGFは既存の血管付近の内皮細胞に拡散し、これらがVEGF受容体(VEGFR)を示す。VEGFは2種のチロシンキナーゼ受容体、VEGFR-1及びVEGFR-2に結合し、これらが主として内皮細胞で発現される。内皮細胞の活性化はVEGFR-2へのVEGFの結合と関連し、一方、VEGFR-1はおそらくVEGFの局所濃度を調節するデコイ受容体として機能する（Neufeldら、1999、FASEB J. 13, 9-22）。活性化後に、内皮細胞が増殖し、腫瘍に向かって直接に移行し、最終的にロールアップし、相互連結して新しい血管を形成する。VEGFとVEGFR-2の相互作用を妨げる抗血管形成薬物が癌治療に有望な候補である（Klohs及びHamby、1999、Curr. Opin. Biotechnol. 10, 544-549）。Binetruy-Tournaireら（2000、EMBO J. 19, 1525-1533）はペプチドライブラリーのフェージディスプレイによりVEGFR-2結合線状ペプチドATWLPPR（配列番号2）を同定した。ATWLPPR（配列番号2）はVEGFがVEGFR-2に結合することを有効に妨げ、VEGF媒介血管形成を抑制した。 20

VEGF-R2結合ペプチドを含む抗体ターゲティング化合物を、アミノ末端又はカルボキシ末端に付加的なCys残基を有するペプチドを合成し、夫々、配列ATWLPPRC（配列番号3）及びCATWLPPR（配列4）を有するペプチドを生じることにより調製する。これらのチオール修飾ペプチドをマレイミド/ジケトンリンカー（図14）と反応させてペプチド-リンカー-ジケトン及びジケトン-リンカー-ペプチドを生成する。mAb 38C2と一緒にこれらのジケトン誘導体のインキュベーションがVEGFR-2ペプチドと抗体結合部位の間の共有結合をもたらす。得られる抗体-VEGFR-2ターゲティング化合物を使用して腫瘍血管形成におけるようにVEGFR-2を発現する内皮細胞を標的とする。その化合物はペプチドの半減期を延長し、それに抗体エフェクター機能を備えさせる。 30

【実施例4】

【0065】

アルドラーゼモノクローナル抗体38C2の結合部位に共有結合されたターゲティング薬剤としての中和RNAアプタマーを含む抗体ターゲティング化合物 40

SELEX（指数的濃縮によるリガンドの系統的進化）の方法を使用して、種々の分子標的へのRNAアプタマー及びDNAアプタマーが生成されていた（Jayasena、1999、Clin. Chem. 45, 1628-1650）。例えば、約25ヌクレオチドを含み、100-pM範囲のアフィニティーでVEGFを結合する2'フルオロピリミジンRNAアプタマーが記載されていた（Ruckmanら、1999、J. Biol. Chem. 32, 20556-20567）。先の実施例に記載されたペプチドのように、アプタマーはVEGFとVEGFR-2の相互作用を妨げることがわかった。

市販のチオール誘導体ヌクレオチド、例えば、5'-ホスホロチオエートを使用して、VEGF RNAアプタマーを含む抗体ターゲティング化合物を調製する。ホスホロチオエート基は酸素原子の一つが硫黄原子により置換された修飾ホスフェート基である。RNAアプタ 50

マー内のチオール修飾ヌクレオチドをマレイミドジケトン（例えば、図14）と反応させてRNAアプタマーターゲットジケトンリンカー化合物を生成する。又、市販のアミノ修飾物質を使用して、一級アミノ基をRNAアプタマーに導入する。RNAアプタマー内の一級アミノ基で標識されたヌクレオチドを反応性基としてN-ヒドロキシスクシンイミドジケトンを有するリンカーと反応させる。

mAb38C2と一緒のジケトン誘導体のインキュベーションがRNAアプタマーと抗体結合部位の間の共有結合をもたらす。得られる抗体-RNAアプタマー-VEGFR-2ターゲット化合物を使用して腫瘍血管形成におけるようなVEGFR-2を発現する内皮細胞を標的とする。その化合物はRNAアプタマーの半減期を延長し、それに抗体エフェクター機能を備えさせる。

10

【実施例5】

【0066】

アルドラーゼモノクローナル抗体38C2の結合部位に共有結合されたターゲット化合物としての葉酸塩を含む抗体ターゲット化合物

葉酸塩受容体はエンドサイトーシスによる細胞への葉酸のとり込みを媒介する。それは種々の上皮腫瘍細胞で過剰発現される（Leamon及びLow, 2001, Drug Discov. Today 6, 44-51）。例えば、卵巣癌腫の90%より多くが葉酸塩受容体を発現する（Sudimack及びLee, 2000, Adv. Drug Deliv. Rev. 41, 147-162）。葉酸塩受容体に誘導されたMab、例えば、Mov18及びMov19が卵巣癌治療のための薬物として評価されていた（Coneyら, 1994, Cancer Res. 54, 2448-2455; Molthoffら, 1997, Cancer 80, 2712-2720）。葉酸塩受容体を過剰発現する癌細胞の葉酸塩媒介ターゲット化合物が別の戦略である（Leamon及びLow, 2001, Drug Discov. Today 6, 44-51）。例えば、マイタンシノイド（Ladinoら, 1997, Int. J. Cancer 73, 859-864）の如き化学療法薬が選択的薬物療法のために葉酸塩に複合される。

20

図2Eに示されたジケトンで誘導体化された葉酸塩を含むターゲット化合物-リンカー化合物をmAb 38C2に結合し、使用して卵巣癌細胞を標的とする。大半の卵巣腫瘍細胞は又葉酸塩受容体に加えてインテグリン $\alpha_3\beta_3$ 及び $\alpha_5\beta_1$ を発現するので、二重ターゲット化合物が治療のために使用し得る。葉酸塩及びRGDペプチド擬態アンタゴニストを含むターゲット化合物-リンカー化合物を単一ジケトンリンカーと一緒に誘導体化して図4Bに示された二重ターゲット化合物を生成する。ターゲット化合物-リンカーをmAb 38C2に結合し、卵巣癌細胞を標的とするのに使用する。

30

【実施例6】

【0067】

アルドラーゼモノクローナル抗体38C2の結合部位に共有結合されたターゲット化合物としての前立腺酸ホスファターゼ又は前立腺特異性抗原のインヒビターを含む抗体ターゲット化合物

前立腺酸ホスファターゼ(PAP)及び前立腺特異性抗原(PSA)、セリンプロテアーゼは前立腺腫瘍細胞の細胞表面で発現され、前立腺癌のマーカースとして使用される。PAP及びPSAに誘導されたMabは長年にわたって前立腺癌治療に有望な薬物と考えられていた（Changら, 1999, Curr. Opin. Urol. 9, 391-395）。更に最近、PAP（Beersら, 1996, Bioorg. Med. Chem. 4, 1693-1701）及びPSA（Adlingtonら, 2001, J. Med. Chem. 44, 1491-1508）の特異性インヒビターである小さい合成分子が報告されていた。前立腺腫瘍細胞に特異性のその他の細胞表面酵素、例えば、最近同定されたセリンプロテアーゼヘプシン（Mageeら, 2001, Cancer Res. 61, 5692-5696）は特異性の小さい合成分子又はペプチドターゲット化合物が同定された後に標的として又使用し得る。

40

PAP及び $\alpha_5\beta_1$ 又はPSAインヒビターを含むターゲット化合物-リンカー化合物をジケトンリンカーで誘導体化して図2Cに示された化合物を生成する。そのターゲット化合物-リンカーをmAb 38C2に結合し、前立腺癌を標的とするのに使用する。

【実施例7】

【0068】

50

アルドラーゼモノクローナル抗体38C2の結合部位に共有結合されたトロンボポイエチン
模擬ペプチド又はトロンボキサンチン受容体の小分子アゴニストを含む抗体ターゲッティ
ング化合物

細胞表面トロンボポイエチン受容体 (cMpl、TPOR) は造血成長因子受容体スーパーファミ
リリーの一員である。トロンボポイエチン受容体に結合するサイトカインである、トロンボ
ポイエチン(TPO)は、巨核球造血(megakaryopoiesis)及び血小板生成に重要な役割を果た
す。治療上、組換えTPOが化学療法及び骨髄移植から生じる血小板減少の治療のために診
療所で試験されている。治療化合物として、TPOはin vivoの比較的短い半減期並びに製造
上及び製剤化上の欠点を問題としている。

TPOターゲッティング薬剤抗体化合物を調製して化学療法及び骨髄移植から生じる血小
板減少の治療を措置する。配列IEGPTLRQWLAARA (配列番号5) を有するTPO模擬ペプチドA
F12505 (これは組換えTPOの活性を模擬すると報告されていた) (Cwiralaら, 1997, Scien
ce, 276:1696-9) を、アミノ末端に付加された付加的なCys残基でもって合成してCIEGPTL
RQWLAARA (配列番号6) を生成する。次いでこのチオール標識ペプチドをマレイミド/ジ
ケトンリンカー (図14) と反応させてTPOペプチド-リンカー (ジケトン) 化合物を生成す
る。このジケトン誘導体をmAb38C2とともにインキュベートして抗体-TPO受容体ターゲッ
ティング化合物を生成する。

in vitroアッセイを使用してターゲッティングされた抗体がTPORを発現する生細胞を結
合し、巨核球コロニー形成をペプチドAF12505より大きい程度に刺激したことを実証する
。その他のTPO模擬ペプチドが当業界で知られており、又TPO受容体ターゲッティング薬剤
として使用し得る。加えて、TPO受容体結合を有する小分子擬態がKimuraら (FEBS Lett,
1998, 428(3):250-4) により最近記載されており、又TPORターゲッティング化合物を調製
するのに使用し得る。

上記アプローチは増大された治療効力を有するEPOターゲッティング擬態 (Middletonら
, J Biol Chem., 1999, 274(20):14163-9; Johnsonら, Nephrol Dial Transplant., 2000,
15(9):1274-7) を使用してエリスロポイエチン(EPO)受容体を標的とするのに同様に適
用し得る。

【実施例8】

【0069】

アルドラーゼモノクローナル抗体38C2の結合部位に共有結合されたT-20ペプチド又はHI
V-1のエンベロープタンパク質を結合する小分子を含む抗体ターゲッティング化合物

HIV-1エンベロープタンパク質の膜貫通サブユニットの領域に相当する合成ペプチドで
ある、T-20、N-アセチル-YTSLIHSLIEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWF (配列番号7) は、in
vitroで2ng/ml未満の濃度で細胞融合及びウイルス侵入をブロックする。静脈内投与され
た場合、T-20 (単一療法)、ペプチドは血漿HIV RNAレベルを減少し、ウイルス侵入がin
vivoで成功裏にブロックし得ることを実証する。T-20の投与は現在認可されている抗レト
ロウイルス療法に匹敵するHIV複製の強力な抑制を与える (Kilbyら, Nat Med., 1998,
4(11):1302-7) 。このペプチド薬物は約2時間のin vivoの短い半減期を問題としている
。

ターゲッティング薬剤としてT-20ペプチドを使用する抗体ターゲッティング化合物を生
成してT-20の価、効力、及び半減期を増大した。T-20ペプチドをカルボキシ末端に付加的
なCys残基でもって合成し、得られる修飾T-20ペプチドは配列N-アセチル-YTSLIHSLIEESQN
QQEKNEQELLELDKWASLWNWF (配列番号8) を有していた。次いでこのチオール標識ペプ
チドをマレイミド/ジケトンリンカー (図14) と反応させてT-20-Cys-リンカー化合物を生
成した。このターゲッティング薬剤-ジケトンリンカーをAb38C2とともにインキュベ
ートしてペプチドと抗体の間に共有結合を生じた。in vitroアッセイはターゲッティングされ
た抗体がHIV-1侵入及び感染を抑制するのに増大された効力を示すことを実証した。

HIV-1のエンベロープタンパク質を標的とするペプチドに加えて、エンベロープタンパ
ク質を結合する幾つかの小分子が記載されていた。例えば、ベツリン酸誘導体IC9564はHI
V一次分離株及び実験適合株の両方を抑制し得る強力な抗ヒト免疫不全ウイルス (抗HIV)

10

20

30

40

50

化合物である。証拠はHIV-1 gp120がIC9564の抗HIV-1活性に重要な役割を果たすことを示唆する (Holz-Smithら, Antimicrob Agents Chemother., 2001, 45(1):60-6)。IC9564がターゲティング薬剤である抗体ターゲティング化合物を調製することは価、半減期を増大することにより、又選ばれた抗体の定常領域に基づいてHIV-1感染細胞の免疫死滅を誘導することによりIC9564に対し増大された活性を有すると予想される。同様に、HIV-1エンベロープ糖タンパク質gp41コア構造の最近のX線結晶学的測定はHIV-1感染症及びAIDSの化学療法のための抗ウイルス薬を発見する新しい手段を開拓した。gp41コア内の疎水性キャビティにドッキングするのに最良のフィットを有し、かつ標的部位との最大の可能な相互作用を有する化合物が又ジケトンアームの付加及び抗体への共有結合により改良し得る。このクラスの幾つかの化合物が同定されていた (Debnathら, J Med Chem., 1999, 42(17):3203-9)。

10

【実施例 9】

【0070】

抗体のトランスジェニック発現及びターゲティング薬剤-リンカー誘導体の投与による in vivoの抗体ターゲティング化合物生成

本発明の方法の範囲内に、本発明のターゲティング化合物の in vivo生成がある。一つのアプローチにおいて、mAb 38C2を in vivoで誘導トランスジーンから生成し、ターゲティング薬剤-リンカー誘導体 (例えば、ジケトンリンカー) を投与する。遺伝子送出ベクター、例えば、アデノウイルスを使用して、mAb 38C2のL鎖及びH鎖又は単一鎖フラグメントをコードするcDNAを宿主生物に導入して抗体トランスジーンを樹立することができる。このアプローチは治療の増大された融通性を可能にする。例えば、癌の一般の恐れがある患者はその疾患の実際の検出の前にトランスジーンを受け取ることを選ぶ。癌が一旦診断されると、反応性抗体 (例えば、mAb 38C2) の発現を患者に誘導し、ターゲティング薬剤-リンカー誘導体 (例えば、ジケトンリンカー) (この場合、そのターゲティング薬剤は診断された癌を標的とし、影響するために特別に設計される) を投与する。理想的には、トランスジーン誘導及び薬物投与の両方が経口で行なわれ、こうして入院を回避する。

20

【実施例 10】

【0071】

改良された検出可能性を有する抗体ターゲティング化合物ライブラリー

30

小分子もしくはペプチドアンタゴニスト、アゴニスト、又は簡単な結合分子のスクリーニングは結合イベントの検出に利用できるアッセイによりしばしば妨げられる。しばしば、小分子が標的部位への別の分子の結合を置換又は競合する場合に、置換又は競合アッセイが必要とされる。そのアッセイは特別な標的分子について頻りに特別に設計される必要がある。細胞表面又はタンパク質に結合する小分子の直接検出はしばしば可能ではない。

この問題がライブラリーを抗体ターゲティング化合物の形態で調製することにより取り込まれる。この目的のために、小分子ライブラリーを付加された反応性基、例えば、ジケトン又は高アフィニティー標識、例えば、ビオチンでもって合成する。標的と一緒の標識された分子のインキュベーションが、酵素結合され、又は蛍光体標識された抗体 (例えば、ジケトンについて38C2) 又はストレプトアビジン (ビオチンについて) を使用して行なわれる、結合イベントの簡単かつ感度の良い検出を可能にする。これらの型のアッセイは化合物ライブラリー及びペプチドライブラリーの高処理量スクリーニングに容易に適合される。標識された分子のこの直接スクリーニングの利点は検出方法が良い感度であり、しかも可能な細胞表面分子及びタンパク質標的又はその他の可溶性タンパク質標的の多様性にわたって標準化されることである。一旦同定されると、リンカーアームの結合部位は設計される必要がない。何とならば、それが標識された分子中に既存するからである。それ故、共有結合抗体の直接添加が新規な治療薬を与える。ビオチン標識が検出に使用される場合、ビオチンアームは新規な治療薬を与える共有結合抗体の直接添加のためのジケトンアームに容易に交換される。ライブラリーが生物学的ディスプレイライブラリー、例えば、ペプチドファージライブラリーである場合、ジケトンアームの結合の部位はペプチド

40

50

ライブラリー残基がファージコートタンパク質に結合される位置である。

【実施例 1 1】

【0072】

アルドラーゼモノクローナル抗体38C2の結合部位に共有結合されたHIV-1のエンベロープタンパク質を結合するTAK-779小分子を含む抗体ターゲティング化合物

-ケモキン受容体CCR5はマクロファージトロピック (CCR5使用又はR5) HIV-1複製の抑制に魅力的な標的である。何とならば、非機能性受容体 (CCR5コーディング領域中のホモ接合32-bp欠失) を有する個体は外見上正常であるが、R5 HIV-1による感染に耐性であるからである。TAK-779は低分子量 (Mr 531.13) 非ペプチドCCR5アンタゴニストである (Babaら, 1999, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 96, 5698-5703)。TAK-779をジケトンリンカーで誘導体化して図2Dに示された化合物を得ることにより、ターゲティング薬剤-リンカー化合物を調製した。そのジケト-TAK-779化合物をMab 38C2とともにインキュベートして抗体CCR5ターゲティング化合物 (TAK-799をベースとする) を生成した。この化合物はR5 HIV-1複製の高度に強力かつ選択的抑制を示し、CCR5発現細胞に特異的に結合した。又、抗体CCR5ターゲティング化合物はTAK-799それ自体よりも増大された価、増大された生物学的効力、及び増大された血清半減期を示した。

10

又、その他のCCR5アンタゴニスト (Shiraishiら, 2000, J. Med. Chem., 43, 2049-2063) が共有結合抗体との反応のために修飾されて本発明のターゲティング化合物を生成し得る。又、多種のケモキン受容体アンタゴニストがこのアプローチを使用して修飾し得る。

20

【実施例 1 2】

【0073】

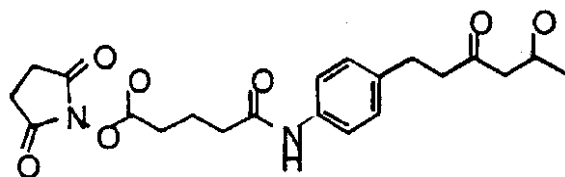
アルドラーゼモノクローナル抗体38C2の結合部位に共有結合されたLHRHペプチドを含む抗体ターゲティング化合物

[D-Lys6] LH-RHアンタゴニストGlp-His-Trp-Ser-Tyr-D-Lys-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂ (配列番号9) (100マイクロモル)を無水DMF1mlに溶解した。1当量のNHS-ジケトンリンカー (化合物35)を一晩にわたって攪拌しながら添加した。溶媒を真空で蒸発させ、生成物をHPLCにより精製した。得られる[D-Lys6] LH-RH-ジケトンリンカー化合物を抗体38C2へのカップリングに直接使用した。得られる共有結合修飾抗体はLH-RH受容体を発現することが知られているOV-1063ヒト上皮卵巢癌系を特異的に結合した。

30

【0074】

【化5】



36

40

【0075】

こうして、本発明が広く開示され、上記の代表的な実施態様を参照して説明された。当業者は種々の改良が本発明の精神及び範囲から逸脱しないで本発明になし得ることを認めるであろう。全ての刊行物、特許出願、及び発行された特許はあたかも夫々個々の刊行物、特許出願又は発行された特許が参考としてそのまま含まれると特別かつ個々に示されたのと同じ程度に参考として本明細書に含まれる。参考として含まれる書籍中に含まれる定義はそれらがこの開示における定義に反する程度で除外される。本明細書に示された全ての構造は全ての鏡像体を与えることが意図される。

【図面の簡単な説明】

【0076】

50

【図1】例示のインテグリンターゲットング薬剤を示し、そのパネルA-EはRGDペプチド擬態であり、一方、パネルFはRGDペプチドである。コア構造は下記の特許からである：米国特許第6,335,330号（パネルA）、米国特許第5,693,636号（パネルB）、米国特許第6,040,311号（パネルC）、及び米国特許第6,001,117号（パネルE）。

【図2】パネルB（SCS-873）、パネルC（PSTインヒビタージケトリンカー；化合物26）、パネルD（TAK-799ジケトリンカー；化合物27）及びパネルE（葉酸塩リガンドジケトリンカー；化合物28）中の特別な実施態様とともに非分岐リンカーを有するターゲットング薬剤-リンカー化合物（パネルA）の一般スキームを示す。

【図3】パネルB（インテグリンターゲットング薬剤ジケトリンカー；化合物29）、及びパネルC（インテグリンターゲットング薬剤ジケトリンカー；化合物30）中の特別な実施態様とともに分岐リンカー及び二つの同じターゲットング薬剤を有するターゲットング薬剤-リンカー化合物（パネルA）の実施態様の一般スキームを示す。分岐位置はリンカーの連結鎖部分中である。

【図4】パネルB（インテグリンターゲットング及び葉酸塩ターゲットング薬剤ジケトリンカー；化合物31）中の特別な実施態様とともに分岐リンカー及び二つの異なるターゲットング薬剤を有するターゲットング薬剤-リンカー化合物（パネルA）の実施態様の一般スキームを示す。分岐位置はリンカーの連結鎖部分中である。

【0077】

【図5】パネルB（インテグリンターゲットング薬剤ジケトリンカー；化合物32）中の特別な実施態様とともに分岐リンカー及び二つの異なるターゲットング薬剤を有するターゲットング薬剤-リンカー化合物（パネルA）の実施態様の一般スキームを示す。分岐位置はリンカーの認識基部分中である。

【図6】リンカー反応性基の構造を示す。構造A-Cは抗体の結合部位の反応性求核性基（例えば、リシン又はシステイン側鎖）と可逆性共有結合を形成する（構造AはXがNであり、かつ R_1 及び R_3 が環構造の部分形成する場合に不可逆性共有結合を形成することができた）。構造A-C中の R_1 及び R_2 並びに R_3 はC、H、N、O、P、S、Si、ハロゲン（F、Cl、Br、I）又はこれらの塩であってもよい置換基を表す。XはN、C、Si、又はあらゆるその他のヘテロ原子である。これらの置換基は又アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、オキソアルキル基、オキソアルケニル基、オキソアルキニル基、アミノアルキル基、アミノアルケニル基、アミノアルキニル基、スルホアルキル基、スルホアルケニル基、又はスルホアルキニル基、ホスホアルキル基、ホスホアルケニル基、ホスホアルキニル基の如き基を含んでもよい。 R_2 及び R_3 は構造B及びCに例示されるように環状であってもよく、一方、Xはヘテロ原子であってもよい。構造D-Gは抗体の結合部位の反応性求核性基（例えば、リシン又はシステイン側鎖）と不可逆性共有結合を形成する。これらの構造中、 R_1 及び R_2 はC、O、N、ハライド及び脱離基、例えば、メシル又はトシルを表す。

【0078】

【図7】抗体の反応性アミノ酸側鎖との反応性修飾に適した種々の親電子体を示す。記号解：(A)アシルペータ-ラクタム；(B)簡単なケトン；(C)スクシンイミド活性エステル；(D)マレイミド；(E)リンカーを有するハロアセトアミド；(F)ハロケトン；(G)シクロヘキシルジケトン；及び(H)アルデヒド。Rはターゲットング薬剤、リンカー又は抗体を含んでもよいその他の構造を表し、一方、Xはハロゲンを表す。

【図8】反応性基部分とリンカーの連結鎖部分の間に位置された、リンカー認識基(Y)の構造を示す。パネルAはリンカー内の認識基Yの関係を示す（図2を参照のこと）。パネルB-DはZからのYの距離、環の置換基及び環員原子を示す。

【図9】リンカー連結鎖(X)の構造を示し、これは一端でパネルAに示されるようにターゲットング薬剤に直接結合する（図2を参照のこと）。置換基 $R_2 \sim R_4$ はC、H、N、O、P、Si、ハロゲン（F、Cl、Br、I）又はこれらの塩であり、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、オキソアルキル基、オキソアルケニル基、オキソアルキニル基、アミノアルキル基、アミノアルケニル基、アミノアルキニル基、スルホアルキル基、スルホアルケニル基、スルホアルキニル基、ホスホアルキル基、ホスホアルケニル基、ホスホアル

10

20

30

40

50

キニル基の如き基だけでなく、炭素環式又は複素環式、モノ又は縮合、飽和又は不飽和環構造を含んでもよい。パネル B：R1はOであり、かつR2はC、H、N、O、P、S、Si、ハロゲン(F、Cl、Br、I)又はこれらの塩である。構造B及びC中の連結鎖中で、n、r又はmは1-100である。構造D及びE中で、nは1、2、4であり、又は更に好ましくは3である。

【図10】SCS-873、ターゲティング薬剤3又はSCS-アミンのアミン前駆体に関する合成スキームである、スキーム1を示す。記号解：(a) BBr_3 、 CH_2Cl_2 、 -20°C 、2時間；(b) DMF、室温 $\sim 80^\circ\text{C}$ 、3時間；(c) BnCOCl 、飽和 NaHCO_3 水溶液、エーテル；(d) TBDPSiCl 、イミダゾール、DMF、16時間；(e) $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ 、(o-tol) $_3\text{P}$ 、i-Pr $_2\text{EtN}$ 、 $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CN}$ 、還流、3時間；(f) 20% (w/w) Pd-C (10%)、 H_2 、 EtOH-AcOH (1:1)、36時間；(g) TBAF、THF、室温、1時間；(h) DEAD、 PPh_3 、THF-ベンゼン(3:1)、16時間；(i) 20% (w/w) Pd-C (10%)、シクロヘキセン-i-PrOH(1:1)、 90°C 、12時間；(j) i. 2N NaOH 水溶液、 MeOH-THF (1:1)、16時間、ii. TFAA、アニソール、 CH_2Cl_2 、 0°C 、2時間

10

【0079】

【図11】化合物4をつくるための合成スキームであるスキーム2を示す(R=ブトキシカルポキシアミノヘキサノイル誘導体)。記号解：(a) DMF、室温；(b) EDC、HOBT、DMF；(c) DMSO中0.01M、 130°C ；(d) TFAA、アニソール、ジクロロメタン；(e) DMF；(f) EDC、HOBT、DMF；(g) (i)工程d、(ii) 2M NaOH 、 MeOH-THF (1:1)

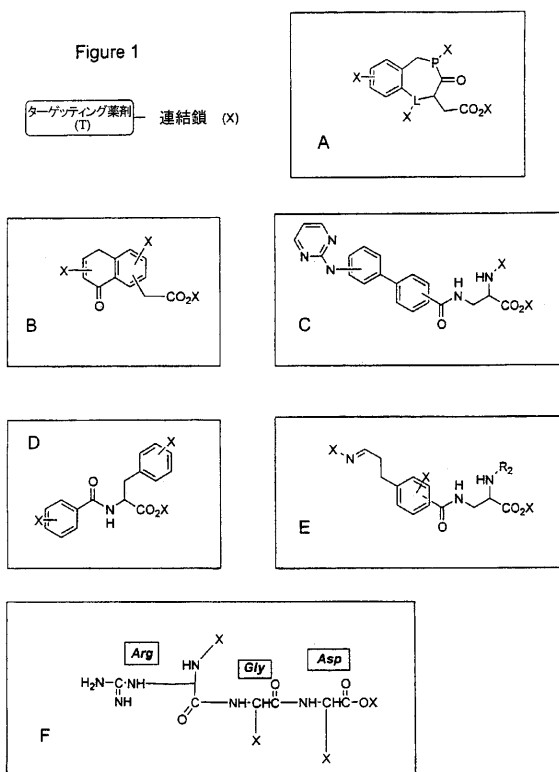
【図12】化合物SCS-873及びSCS-1655をつくるための合成スキームであるスキーム3を示す。

20

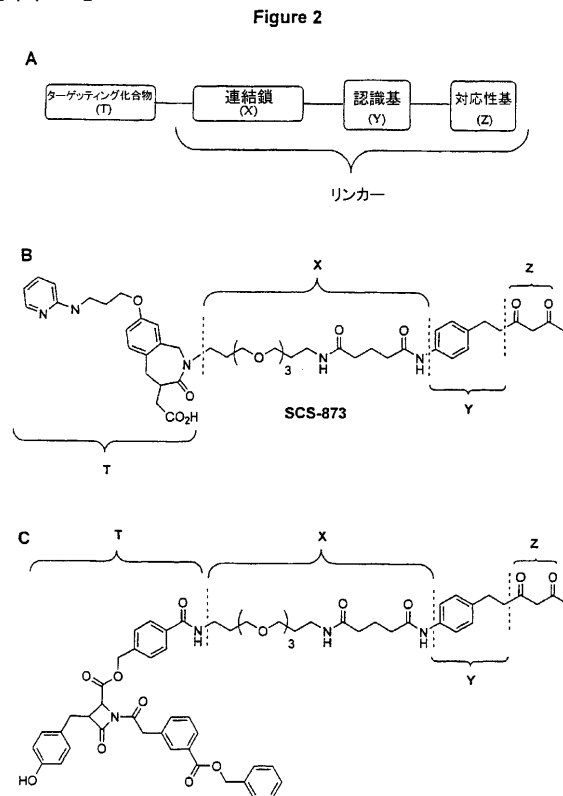
【図13】化合物SCS-864及びSCS-789をつくるための合成スキームであるスキーム4を示す。記号解：(a) Et_3N 、DMF、室温、16時間

【図14】マレイミド-ジケトン反応性基を有するリンカーを使用してターゲティング薬剤-リンカー化合物を生成するためのスキームを示す。

【図1】

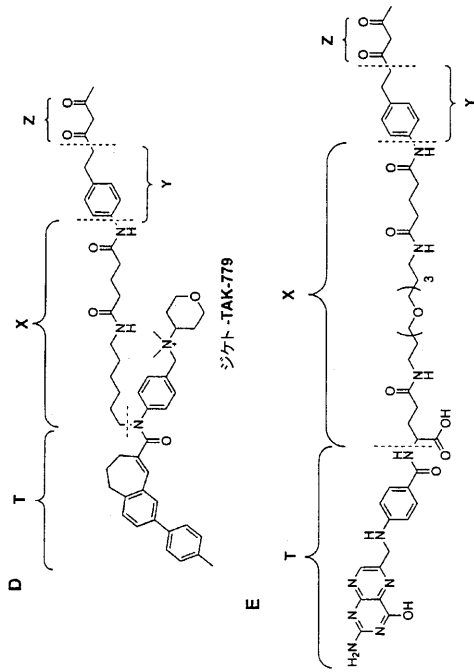


【図2】



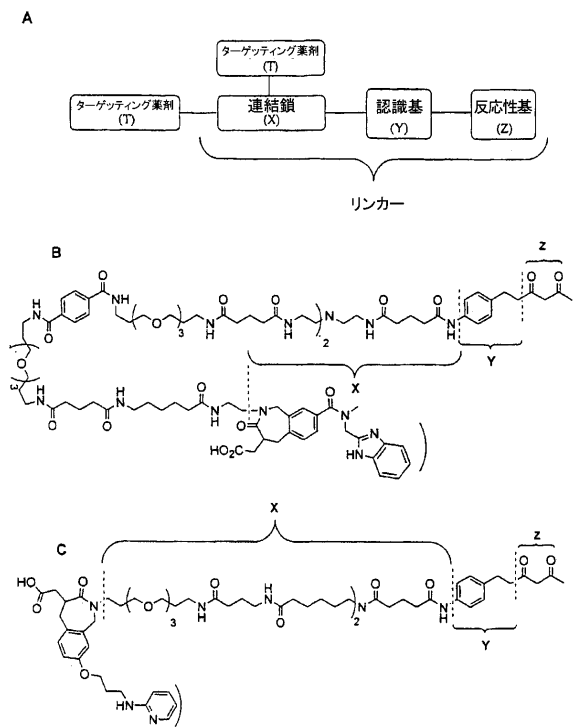
【 図 2 - 1 】

Figure 2 (続き)



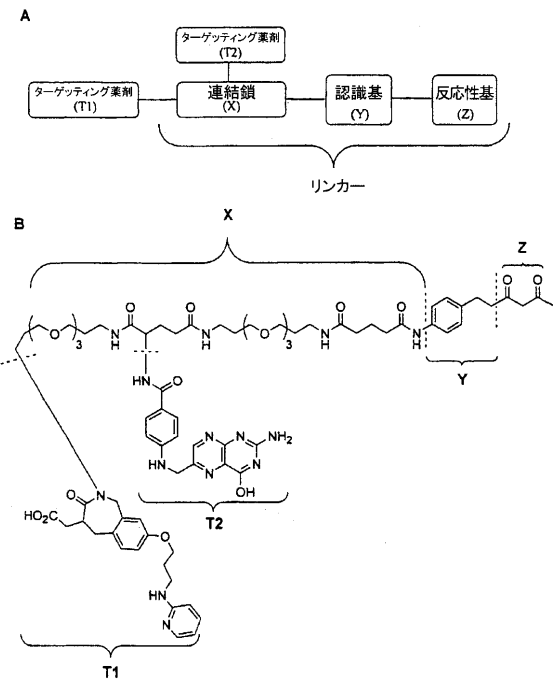
【 図 3 】

Figure 3



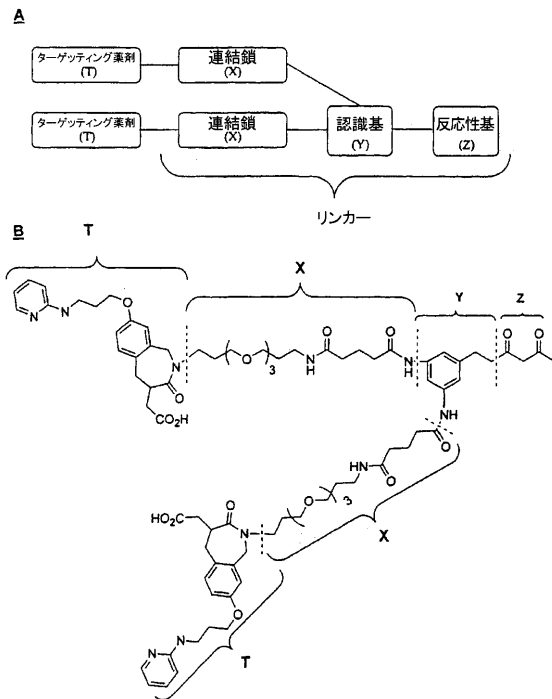
【 図 4 】

Figure 4



【 図 5 】

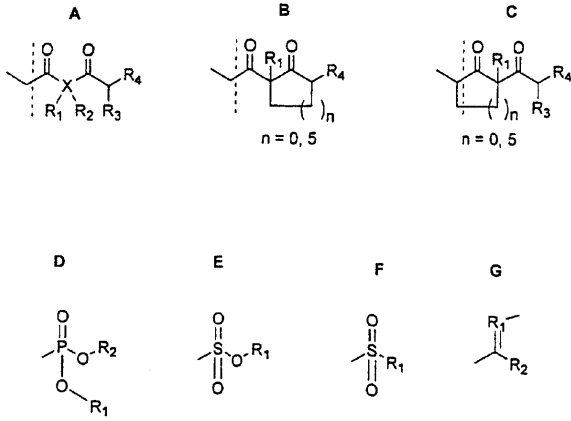
Figure 5



【 図 6 】

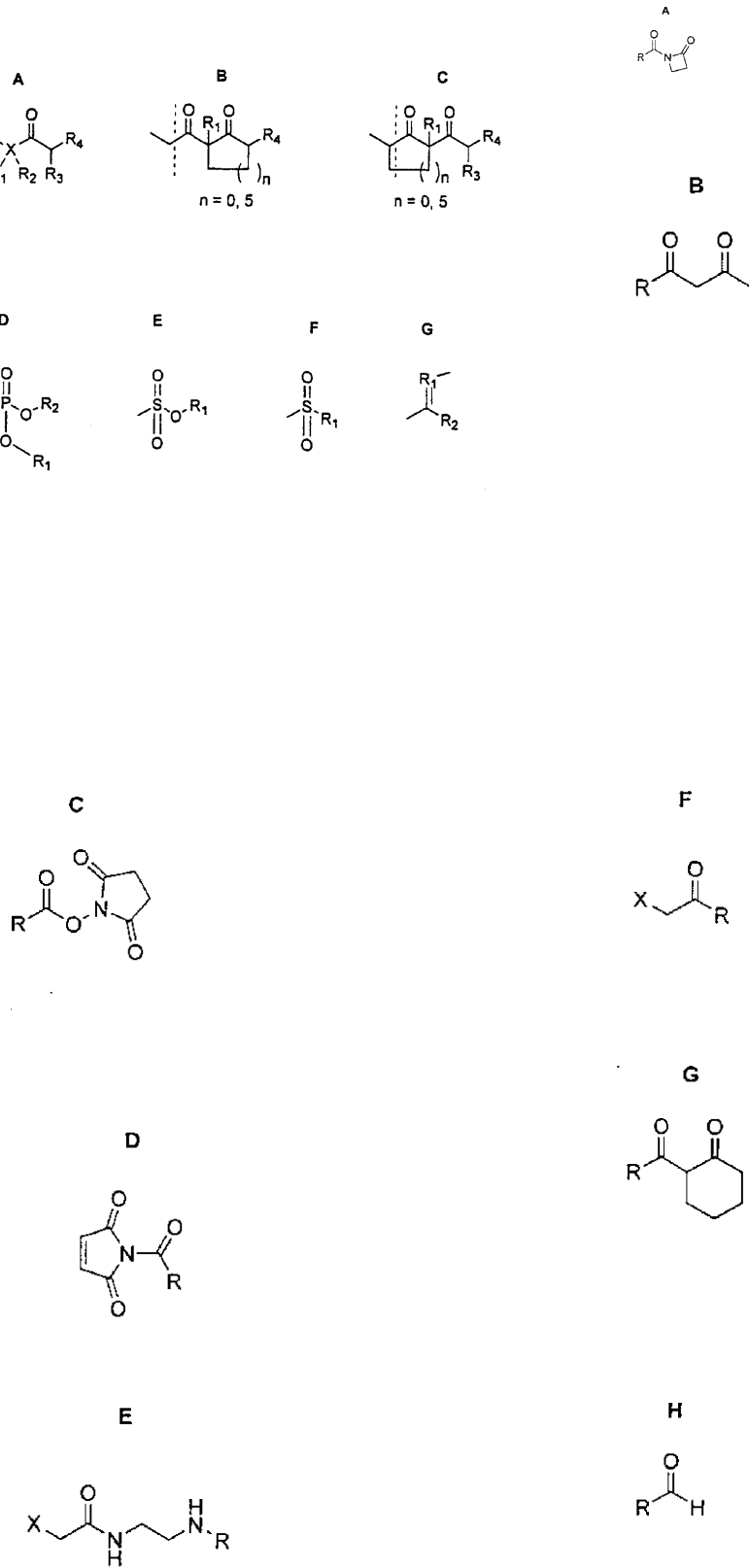
Figure 6

リンカー反応性基 (Z)

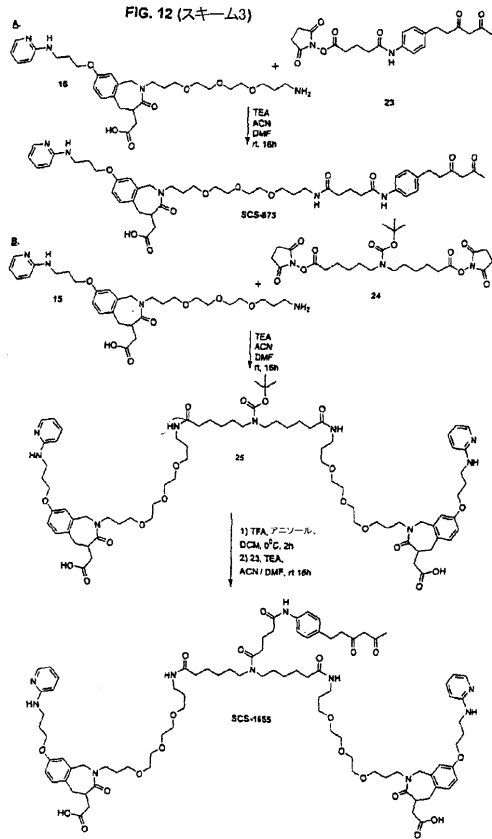


【 図 7 】

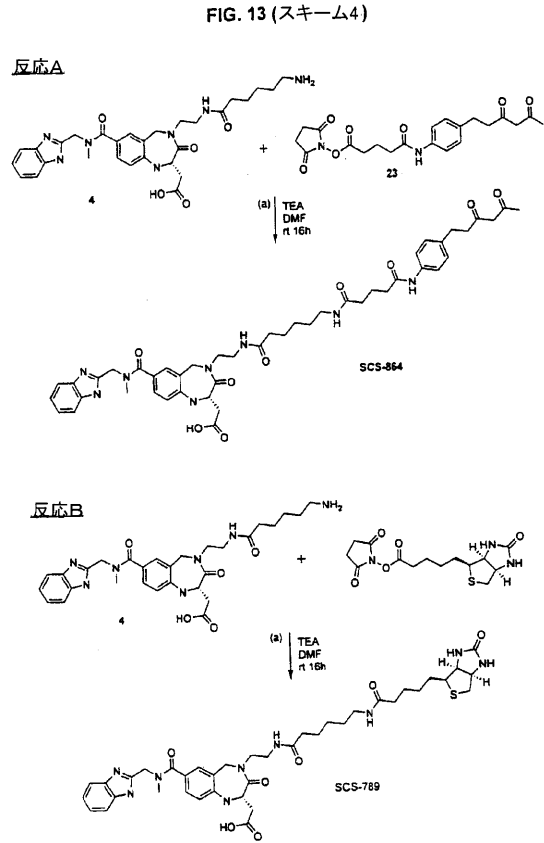
Figure 7



【 図 1 2 】

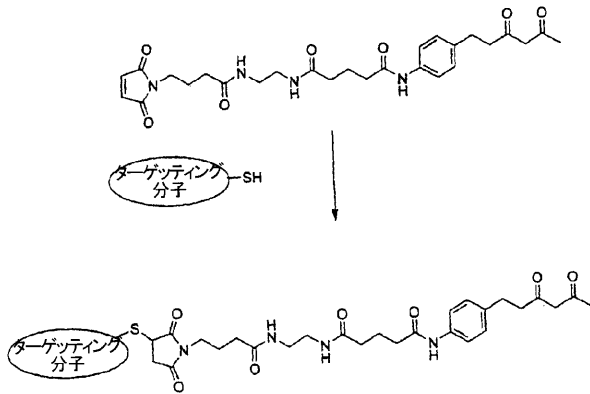


【 図 1 3 】



【 図 1 4 】

FIG. 14



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/33991
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A61K 39/395; C07K 16/00; C12N 15/00 US CL : 530/387.3, 388.22, , 391.3; 435/69.1; 424/133.1 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) U.S. : 530/387.3, 388.22, , 391.3; 435/69.1; 424/133.1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- Y	WO 01/22922 A2 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA) 05 April 2001 (05.04.01), see entire document, especially page 4, 5, 7, 50-61, 63-64, 65-67.	1-5, 10-17, 35, 39, 135-137 ----- 24-29, 43-50, 52, 56-62, 71-75, 82, 86, 91-63, 96-100, 101, 103, 139-141, 145-147, 149-151
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input 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 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 11 September 2003 (11.09.2003)		Date of mailing of the international search report 21 OCT 2003
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703)305-3230		Authorized officer Lanty R. Helms Telephone No. (703) 308-0196

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/33991

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:

CAPLUS, MEDLINE, WEST, BIOSIS

Search terms: inventor name, conjugate, CDR, catalytic antibody, reactive site, combining site of antibody, linker.

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
G 0 1 N 33/15	A 6 1 P 31/12	
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/15	Z
G 0 1 N 33/566	G 0 1 N 33/53	D
// C 0 7 K 16/40	G 0 1 N 33/53	M
	G 0 1 N 33/566	
	C 0 7 K 16/40	

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW, ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES, FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,N O,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100114007

弁理士 平山 孝二

(72)発明者 パーバス カルロス エフ

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 0 7 5 ソラナ ビーチ パシフィック サーフ ドラ
イヴ 7 5 5

(72)発明者 レイダー クリストフ

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 2 2 サン ディエゴ チャーマント ドライヴ 7
2 5 5 # 7 1 6

(72)発明者 シンハ サブハッシュ シー

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 1 3 0 サン ディエゴ ティヴァートン ロード 1
3 4 5 9

(72)発明者 ラーナー リチャード

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 0 3 7 ラ ジョラ ローズランド 7 7 5 0

F ターム(参考) 4C085 AA21 AA25 AA27 BB11 BB22 CC07 CC08 DD62 DD63 DD88

KA03 KA04 KA05 KB82 KB88

4H045 AA11 BA51 DA76 DA89 EA20 EA50 FA50

专利名称(译)	抗体靶向化合物		
公开(公告)号	JP2005514430A	公开(公告)日	2005-05-19
申请号	JP2003559416	申请日	2002-10-22
[标]申请(专利权)人(译)	斯克里普斯研究学院		
申请(专利权)人(译)	斯克里普斯研究所		
[标]发明人	バーバスカルロスエフ レイダークリストフ シンハサブハッシュシー ラーナーリチャード		
发明人	バーバスカルロス エフ レイダー クリストフ シンハ サブハッシュ シー ラーナー リチャード		
IPC分类号	G01N33/53 A61K39/395 A61K47/48 A61K49/00 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/12 C07K16/40 G01N33/15 G01N33/566		
CPC分类号	A61K47/54 A61K47/545 A61K47/642 A61K47/66 A61K47/6813 A61K47/6871 A61K47/6881 A61K47/6889 A61P31/00 A61P31/04 A61P31/12 A61P35/00 B82Y5/00 C07D475/04 C07K14/005 C07K16/40 C12N9/0002 C12N2740/16022 A61K49/0058 C07K5/0817 C07K7/06 C07K14/47 C07K14/5406 C07K14/575 C07K14/71 C12N15/115		
FI分类号	A61K39/395.L A61K39/395.C A61K49/00.A A61P31/00 A61P31/04 A61P31/12 G01N33/15.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C07K16/40		
F-TERM分类号	4C085/AA21 4C085/AA25 4C085/AA27 4C085/BB11 4C085/BB22 4C085/CC07 4C085/CC08 4C085/DD62 4C085/DD63 4C085/DD88 4C085/KA03 4C085/KA04 4C085/KA05 4C085/KB82 4C085/KB88 4H045/AA11 4H045/BA51 4H045/DA76 4H045/DA89 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA50		
代理人(译)	小川伸男		
优先权	60/344614 2001-10-22 US 60/412455 2002-09-19 US		
其他公开文献	JP4750360B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明提供了抗体靶向化合物，其中通过将靶向剂共价或非共价结合至抗体的结合位点来重编程抗体的特异性。通过该方法，共价修饰的抗体呈现靶向剂的结合特异性。该化合物可具有由靶向剂或单独的生物制剂赋予的生物活性。提供了本发明化合物的各种用途。

(51) Int. Cl. ⁷		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 39/395		A 6 1 K 39/395	L 4 C 0 8 5
A 6 1 K 49/00		A 6 1 K 39/395	C 4 H 0 4 5
A 6 1 P 31/00		A 6 1 K 49/00	A
A 6 1 P 31/04		A 6 1 P 31/00	
A 6 1 P 31/12		A 6 1 P 31/04	
		審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 60 頁) 最終頁に続く	
(21) 出願番号	特願2003-559416 (P2003-559416)	(71) 出願人	583052785
(86) (22) 出願日	平成14年10月22日 (2002.10.22)		ザ スクリップス リサーチ インスティテュート
(85) 翻訳文提出日	平成16年6月22日 (2004.6.22)		アメリカ合衆国 カリフォルニア州 92037 ラ ジョラ ノース トーリーハインス ロード 10550
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/033891	(74) 代理人	100082005
(87) 国際公開番号	W02003/059251		弁理士 熊倉 慎男
(87) 国際公開日	平成15年7月24日 (2003.7.24)	(74) 代理人	100084009
(31) 優先権主張番号	60/344,614		弁理士 小川 信夫
(32) 優先日	平成13年10月22日 (2001.10.22)	(74) 代理人	100084663
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 稲田 篤
(31) 優先権主張番号	60/412,455	(74) 代理人	100093300
(32) 優先日	平成14年9月19日 (2002.9.19)		弁理士 浅井 賢治
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗体ターゲティング化合物