



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **106492** (13) **C2**
(51) МПК (2014.01)
A61K 39/44 (2006.01)
A61K 47/48 (2006.01)
A61P 35/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки: а 2011 14049	(72) Винахідник(и): Канерт Антьє (DE), Берхьорстер Керстін (DE), Хайслер Ірінг (DE), Копітц Шарлотте Крістіне (DE), Шумахер Йоахім (DE)
(22) Дата подання заявки: 16.04.2010	(73) Власник(и): БАЄР ІНТЕЛЛЕКЧУЕЛ ПРОПЕРТІ ГМБХ, Alfred-Nobel-Str. 10, 40789 Monheim, Germany (DE)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: 10.09.2014	(74) Представник: Шамріна Олена Олексіївна, реєстр. №141
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 09005909.8	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою: US 2005/276812 A1, 15.12.2005 WO 2006/099141 A2, 21.09.2006 WO 99/28471 A2, 10.06.1999 WO 2009/068204 A1, 04.06.2009 WO 2010/008726 A1, 21.01.2010 POLAKIS P: "Arming antibodies for cancer therapy" CURRENT OPINION IN PHARMACOLOGY, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, NL LNKD-DOI:10.1016/J.COPH.2005.04.008, vol. 5, no. 4, 1 August 2005 (2005-08-01), pages 382-387
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції: 29.04.2009	
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку: EP	
(41) Публікація відомостей про заявку: 26.12.2011, Бюл.№ 24	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.09.2014, Бюл.№ 17	
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ: РСТ/EP2010/002342, 16.04.2010	

(54) ІМУНОКОН'ЮГАТИ АНТИ-МЕЗОТЕЛІНУ, ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ ТА ОДЕРЖАННЯ**(57) Реферат:**

Даний винахід забезпечує імунокон'югати, які складаються з антитіл, що зв'язуються з мезотеліном, які є кон'югованими з цитотоксичними агентами, наприклад, майтансином, і є корисними для лікування та/або діагностики, та/або моніторингу раку, наприклад солідних пухлин.

UA 106492 C2

Даний винахід забезпечує імунокон'югати, які включають антитіло або його фрагмент, що має специфічність для білка мезотеліну, та терапевтичний агент. Композиції таких імунокон'югатів можуть використовуватися у лікуванні, запобіганні або діагностиці розладів, пов'язаних із мезотеліном, наприклад, раку.

5 Передумови створення винаходу

Виникнення раку найбільш часто асоціюється зі старінням, у відповідності із цим 65 % усіх нових випадків раку реєструється для пацієнтів у віці 65 років та більше. Рак являє собою другу головну причину смертей у Сполучених Штатах після серцевого захворювання. Так, за оцінками Американського товариства по боротьбі з раком, 1 з 4 людей буде хворіти раком у США, це дає змогу передбачити, що на сьогоднішній день показник смертності залишається статичним.

10 Тільки у США 1437180 нових випадків та 565650 смертей від раку очікується у 2008 році.

Терапія на основі антитіл була схвалена як дуже ефективна у лікуванні різноманітних видів раку, включаючи солідні пухлини. Наприклад, ГЕРЦЕПТИН® успішно використовувався для лікування раку молочної залози. Основним для розробки успішної терапії на основі антитіл є ізоляція антитіл проти білків поверхні клітин, що, як було встановлено, переважно експресуються на пухлинних клітинах. Поліпептид, що є попередником мезотеліну, являє собою глікофосфатидилінозитол(GPI)-закріплений, глікозильований білок поверхні клітин, що протеолітично розщеплюється до 30 кДа N-термінального секретованого поліпептиду та 40 кДа C-термінального поліпептиду, який переважно утворюється у зв'язаній з мембраною, GPI-закріплений форми (Chang, K. та I. Pastan, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, (1996) 93(1):136), та який в даній заявці називається мезотеліном. Мезотелін переважно експресується деякими пухлинними клітинами, зокрема, клітинами мезотеліоми, клітинами раку підшлункової залози та клітинами карциноми яєчника, у той час, як його експресія є обмеженою у нормальній тканині, що робить його привабливою мішенню для розробки терапії пухлин (Argani, P. та ін., Clin. Cancer Res. (2001) 7(12): 3862; Hassan, R., та ін., Clin. Cancer Res. (2004) 10 (12 Pt 1):3937).

25 Функція мезотеліну є невідомою та чітко невідтворюваною, гематологічні або анатомічні патології спостерігали у мишей, дефектних за експресією гена мезотеліну (Bera, T.K. та I. Pastan, Mol. Cell. Biol. (2000) 20(8):2902).

Націлювальна терапія, що базується на антитілах проти експресуючих мезотелін ракових клітин, була запропонована для лікування раку легень, яєчника та підшлункової залози. Mab K1 було першим антитілом до зв'язаного з мембраною поліпептиду мезотеліну, яке було описане (Chang, K., та ін., Int. J. Рак, (1992) 50(3):373). Mab K1 одержували шляхом імунізації мишей. Завдяки низькій афінності та зниженим швидкостям інтерналізації антитіла, імунотоксин, що складається з Mab K1, зв'язаного з хімічно модифікованою вкороченою формою екзотоксину A *Pseudomonas*, не розглядався як прийнятний для клінічної розробки (Hassan, R., та ін., J. Immunother. (2000) 23(4):473; Hassan, R., та ін., Clin. Cancer Res. (2004) 10(12 Pt 1): 3937). Пізніше були розроблені одноланцюгові антитіла з більш високими афінностями, включаючи SS1-(dsFv)-PE38, яке продемонструвало активність знищення пухлинних клітин *in vitro* (Hassan, R., та ін., Clin. Cancer Res. (2002) 8(11): 3520), а також ефективність у мишачій моделі людських пухлин, що експресують мезотелін (Fan, D., та ін., Mol. Cancer Ther. (2002) 1(8): 595). Ці дані підтвердили, що мезотелін являє собою привабливу модель для розробки імунотерапії для лікування багатьох форм раку. SS1-(dsFv)-PE38 був продемонстрований як такий, що має швидке виведення з крові, були також описані спроби підвищити його молекулярну масу шляхом пегілювання гібридного білка (Filpula, D., та ін., Bioconjugate Chem. (2007) 18(3): 773).

45 MS-1, MS-2 та MS-3 являють собою антитіла, що зв'язують мезотелін, які виявляють імунну ефекторну активність на поверхні клітин завдяки своєму людському IgG1 ізотипу та інтерналізуються у клітинах, що експресують мезотелін (WO 2006/099141 A2). Одне з цих антитіл, некон'юговане, химерне (миша/людина) IgG1 анти-мезотелін антитіло MORAb 009 на сьогоднішній день досліджується у клінічних експериментах на терапевтичні ефекти при лікуванні раку підшлункової залози. Постульований механізм дії MORAb 009 полягає у запуску імунних ефекторних функцій, таких як ADCC та функції блокування.

Нові терапевтичні способи лікування з поліпшеною ефективністю щодо боротьби з агресивними видами раку, такими, як рак яєчника, підшлункової залози та легень, є дуже бажаними та будуть представляти прогрес у галузі техніки. Як такий даний винахід розкриває нові імунокон'югатні композиції, що є корисними у лікуванні, запобіганні та/або діагностиці розладів, пов'язаних із мезотеліном, наприклад, раку.

Короткий виклад суті винаходу

Даний винахід відноситься до імунокон'югатів, що включають антитіла, наприклад, моноклональні антитіла, або їх фрагменти, що зв'язуються з мезотеліном, які є кон'югованими з цитотоксичними агентами, наприклад, майтансиноїдами або їх похідними, та/або сумісно

вводяться або рецептуються з одним або більше додатковими протираковими агентами. Імунокон'югати згідно з винаходом можуть використовуватися для лікування та/або діагностики та/або моніторингу розладів, пов'язаних із мезотеліном, наприклад, раку.

Об'єктом даного винаходу є забезпечення імунокон'югатів, що включають антитіла або антигензв'язувальні фрагменти антитіл, або їх варіанти, що є високо селективними для С-термінальної позаклітинної частини поліпептиду 40 кДа, що є попередником мезотеліну, та зв'язують мезотелін у присутності ракового антигену 125 (CA125; MUC16), та ефекторний залишок. Особливі властивості мезотелінових антитіл були описані у РСТ/ЕР2008/009756, в одному аспекті винаходу поєднання їх особливої здатності до специфічної імунологічної реакції з мезотеліном у присутності CA125 у комбінації з цитотоксичним агентом, наприклад, майтансиноїдом, шляхом кон'югації забезпечує поліпшену ефективність у порівнянні із функцією блокуючого антитіла, яке конкурує з CA125 за зв'язування з мезотеліном.

В одному аспекті антитіла або їх фрагменти згідно з винаходом являють собою IgG антитіла або фрагменти IgG. Антитіла або фрагменти можуть також являти собою IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG3, IgM, IgD, IgE, IgA або IgM антитіла, Fab фрагменти, F(ab')₂ фрагменти, scFv фрагменти, Fv фрагменти, діатіла, лінійні антитіла, одноланцюгові антитіла, біспецифічні антитіла, мультиспецифічні антитіла або химерні антитіла (наприклад, включаючи каркас людського антитіла, прищеплений на зв'язувальну ділянку людського або не-людського антитіла, або каркас не-людського антитіла, прищеплений на зв'язувальну ділянку людського або не-людського антитіла). Химерні антитіла можуть включати, наприклад, каркасні ділянки антитіла з не-людських джерел, таких як, наприклад, корова, миша, лама, верблюд або кролик. Додаткова інформація щодо конструювання антитіл може бути знайдена у літературі, наприклад, Holliger та Hudson, Nature Biotechnology, (Sep, 2005) 23: 1126-1136, що є введеним у дану заявку як посилання. Згадані вище фрагменти можуть бути одержані з імуноглобуліну або синтезовані, наприклад, за допомогою рекомбінантної експресії у формі фрагмента.

Антитіла або фрагменти антитіл згідно з винаходом можуть також бути гуманізовані, де CDR послідовності або ділянки (наприклад, CDR1, CDR2, CDR3) можуть бути не-людськими, наприклад, мишачими.

Антитіла або фрагменти антитіл згідно з винаходом, або композиції, що включають антитіла або фрагменти, можуть включати цитотоксичний агент, що є кон'югованим з антитілом або його фрагментом. В одному аспекті цитотоксичний агент являє собою майтансиноїд або його похідну, проте також забезпечуються інші цитотоксичні агенти, які можуть включати, наприклад, інші цитотоксичні агенти, наприклад, аплідін, ауристин, азарибін, анастрозол, азацитидин, блеоміцин, бортезоміб, бріостатин-1, бусульфан, каліхіміцин, камптотецин, 10-гідроксикамптотецин, кармустин, целебрекс, хлорамбуцил, цисплатин, іринотекан (CPT-I 1), SN-38, карбоплатин, кладрибін, циклофосфамід, цитарабін, дакарбазин, доцетаксел, дактиномицин, дауноміцин, глюкуронід, даунорубіцин, дексаметазон, діетилтибестрол, доксорубіцин, доксорубіцин глюкуронід, епірубіцин глюкуронід, етиніл естрадіол, естрамустин, етопозид, етопозид глюкуронід, етопозид фосфат, флоксуридин (FUdR), 3',5'-O-діолеїл-FudR (FUdR-dO), флударабін, флутамід, фторурацил, флуоксиместерон, гемцитабін, гідроксипрогестерон капроат, гідроксисечовину, ідарубіцин, іфосфамід, L-аспарагіназу, лейковорин, ломустин, мехлоретамін, медропрогестерон ацетат, мегестрол ацетат, мелфалан, меркаптопурин, 6-меркаптопурин, метотрексат, мітоксантрон, мітраміцин, мітоміцин, мітотан, фенілбутират, преднізон, прокарбазин, паклітаксел, пентостатин, PSI-341, семустин, стрептозоцин, тамоксифен, таксани, таксол, тестостерон пропіонат, талідомід, тіогуанін, тіотепа, теніпозид, топотекан, урамустин, велкад, вінбластин, вінорелбін, вінкрестин, рицин, абрин, рибонуклеазу, онконазу, garLRI, ДНКазу I, стафілококовий ентеротоксин-A, антивірусний білок фітолаки, гелонін, дифтерійний токсин або їх комбінацію. Будь-який із цитотоксичних агентів може також включати їх функціональні аналоги або їх похідні.

В іншому аспекті даний винахід забезпечує імунокон'югати, в яких цитотоксичний агент є неімуногенним, тобто не підвищує імуногенності вихідного антитіла за рахунок внесення епітопів В-клітин людини або ссавців або епітопів Т-клітин у лікарську композицію.

Композиції згідно з винаходом можуть включати на доповнення до антитіл та фрагментів (з або без згаданих вище кон'югованих цитотоксичних агентів) різноманітні протиракові агенти, які можуть включати, наприклад, блеоміцин, доцетаксел (Таксотер), доксорубіцин, едотрексат, ерлотиніб (Тарцева), етопозид, фінастерид (Проскар), флутамід (Еулексин), гемцитабін (Гемзар), генітиніб (Llgesa), гозерелін ацетат (Золадекс), гранісетрон (Кітрил), іматиніб (Глівек), іринотекан (Кампто/Камптосар), ондасетрон (Зофран), паклітаксел (Таксол), пегаспаргазу (Онкаспар), пілокарпін гідрохлорид (Салаген), порфімер натрію (Фотофрин), інтерлейкін-2 (Пролейкін), ритуксимаб (Ритуксан), топотекан (Хікамин), трастузумаб (Герцептин), Тріапін,

вінкристин та вінорелбін тартрат (Навелбін), або терапевтичні антитіла або їх фрагменти, або анти-ангіогенний агент, такий, як, наприклад, ангіостатин, бевацизумаб (Авастин®), сорафеніб (Нексавар®), бакулостатин, канстатин, маспін, анти-VEGF антитіла або пептиди, антитіла або пептиди до плацентарного фактора росту, анти-Flk-1 антитіла, анти-Fit-1 антитіла або пептиди, ламінінові пептиди, пептиди фібронектину, інгібітори активатора плазміногену, інгібітори тканинної металопротеїнази, інтерферони, інтерлейкін 12, IP-10, Gro- β , тромбоспондин, 2-метоксіестрадіол, споріднений з проліфериним білок, карбоксимідотриазол, CMIOI, марімастат, пентозан полісульфат, ангіоектин 2, інтерферон-альфа, гербіміцин A, PNU145156E, 16K фрагмент пролактину, ліномід, талідомід, пентоксифілін, геністеїн, TNP-470, ендостатин, паклітаксел, акутин, цидофовір, вінкрістин, блеоміцин, AGM-1470, фактор тромбоцитів 4 або міноциклін.

Даний винахід додатково забезпечує в іншому аспекті спосіб лікування пов'язаного з мезотеліом розладу за допомогою введення терапевтично ефективної кількості імункон'югатів згідно з винаходом або композиції згідно з винаходом, яка включає імункон'югати згідно з винаходом. Пов'язаний з мезотеліом розлад може включати, наприклад, рак, такий як рак солідних пухлин. Солідні пухлини можуть знаходитися у або походити від яєчника, підшлункової залози, респіраторного тракту, легень, кишечника, шлунка, стравоходу, шийки матки, печінки, молочної залози, голови та шиї.

Ці та інші втілення розкриваються або є очевидними та охоплюються наступним детальним описом винаходу.

Опис фігур

Фігура 1 показує протипухлинну ефективність анти-мезотелінового імункон'югату MF-T-SPDB-DM4 стосовно мезотелін-трансфікованих клітин карциноми підшлункової залози людини у мезотелін-трансфікованій ксенографтній моделі (A), а також у нетрансфікованих контрольних пухлинах (B).

Фігура 2 показує протипухлинну ефективність анти-мезотелінових імункон'югатів із стабільними та здатними до розщеплення, а також полярними та неполярними, лінкерами у HeLaMATU ксенографтній моделі з клітинами карциноми, що експресують мезотелін ендогенно.

Фігура 3 показує протипухлинну ефективність анти-мезотелінових імункон'югатів із стабільними та здатними до розщеплення, а також полярними та неполярними, лінкерами у мезотелін-трансфікованій ксенографтній моделі (A), а також у нетрансфікованих контрольних пухлинах (B).

Фігура 4 показує приклад кривої залежності ефекту від дози токсичності MF-T-SPDP-DM4 на позитивних за мезотеліном клітинах HelaMatu.

Детальний опис винаходу

Даний винахід базується на відкритті нових імункон'югатів, які є специфічними до або мають високу специфічність для мезотеліну та можуть забезпечувати терапевтичні переваги для суб'єкта. Імункон'югати згідно з винаходом можуть використовуватися у багатьох контекстах, які більш докладно описуються в даній заявці. При цьому є зрозумілим, що даний винахід, як описується в даній заявці, не є обмежений конкретними деталями, представленими в даній заявці стосовно будь-якого аспекту згідно з винаходом, включаючи, анти-мезотелінові антитіла, імункон'югати, способи лікування, прописи, лінії клітин, види або роди тварин, конструкції та описані реагенти, оскільки вказані можуть варіювати. Також є зрозумілим, що термінологія, яка використовується в даній заявці, є призначеною тільки для цілей опису конкретних втілень та не є призначеною для обмеження об'єму згідно з даним винаходом.

Визначення

Якщо не вказано інше, то усі технічні та наукові терміни, що використовуються в даній заявці, мають традиційне значення, зрозуміле для середнього спеціаліста в області техніки, до якої відноситься даний винахід. Проте наступні посилання можуть забезпечувати спеціаліста в області техніки, до якої відноситься винахід, загальним визначенням багатьох термінів, що використовуються у даному винаході, та можуть давати посилання та використовуватися до тих пір, поки такі визначення є послідовними зі значеннями, як традиційно розуміють у галузі техніки. Такі посилання включають, але без обмеження, Singleton та ін., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology (2-е вид., 1994); The Cambridge Dictionary of Science and Technology (Walker ред., 1988); Hale & Marham, The Harper Collins Dictionary of Biology (1991); та Lackie та ін., The Dictionary of Cell & Molecular Biology (3-є вид., 1999); та Cellular and Molecular Immunology, Ред. Abbas, Lichtman та Pober, 2-е вид., W.B. Saunders Company. Будь-які технічні джерела, що є доступними середньому спеціалістові в даній галузі техніки та забезпечують визначення термінів, що використовуються в даній заявці, які мають традиційні значення, як їх розуміють у галузі техніки, можуть братися до уваги. Для цілей даного винаходу наступні

терміни додатково визначаються. Додаткові терміни визначаються у будь-якому місці даного опису. Як використовується в даній заявці та у прикладених пунктах формули, форми "будь-який", "та" і "цей" включають множинне посилання, якщо контекст чітко не визначає інше. Таким чином, наприклад, посилання на "будь-який ген" є посиланням на один або більше генів та включає їх еквіваленти, які є відомими спеціалістові у даній галузі техніки і т.д.

Як використовується в даній заявці, термін "антитіло" включає молекули імуноглобуліну (наприклад, будь-якого типу, включаючи IgG, IgE, IgM, IgD, IgA та IgY, та/або будь-який клас, включаючи IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 та IgA2), ізольовані з природного середовища або одержані рекомбінантними способами. Антитіла також розуміють для охоплення антигензв'язувальних фрагментів антитіла, таких як Fab, F(ab')₂, scFv (одноланцюговий Fvs), Fv, одноланцюгові антитіла, діатіла, зв'язані дисульфідним містком Fvs (sdFv) та фрагменти, що включають VL або VH домени, які одержують з інтактних імуноглобулінів або готують за допомогою рекомбінантних способів.

Антитіла та/або антигензв'язувальні фрагменти антитіл даного винаходу можуть бути моноспецифічними (наприклад, моноклональними), біспецифічними, триспецифічними або мати більш високу мультиспецифічність. Мультиспецифічні антитіла можуть бути специфічними для різних епітопів антигену або можуть бути специфічними для епітопів більше ніж одного антигену. Див., наприклад, PCT публікації WO 93/17715; WO 92/08802; WO 91/00360; WO 92/05793; Tutt, та ін., 1991, J. Immunol. 147:60 69; патенти США №№ 4,474,893; 4,714,681; 4,925,648; 5,573,920; 5,601,819; Kostelny та ін., 1992, J. Immunol. 148:1547 1553, кожний з яких є введеним у дану заявку як посилання.

Антигензв'язувальні фрагменти антитіла можуть включати варіабельну(і) ділянку(и) самостійно або у комбінації з цільними або частиною наступних компонентів: шарнірна ділянка, CH1, CH2, CH3 та CL домени. У винахід також є включеними антигензв'язувальні фрагменти антитіла, які також включають будь-яку комбінацію варіабельної(их) ділянки(ділянок) з шарнірною ділянкою, CH1, CH2, CH3 та CL домени.

Переважно, антитіла або антигензв'язувальні фрагменти антитіл є людськими, гуманізованими, мишачими (наприклад, миші та пацюка), віслюків, овечими, кролячими козячими, морських свинок, верблюда, коня або курки. Як використовується в даній заявці, "людські" антитіла включають антитіла, що мають амінокислотну послідовність людського імуноглобуліну та включають антитіла, ізольовані з бібліотек людського імуноглобуліну, з людських В-клітин або з тварин, трансгенних за одним або більше людських імуноглобулінів, як описано вище та, наприклад, у патенті США № 5,939,598, що відноситься до Kucherlapati та ін. Термін "антитіло" також охоплює інші білкові каркаси, що є здатними орієнтувати інсerti CDR антитіла у такій самій активній зв'язувальній конформації, що є виявленою у природних антитіл, так, що зв'язування цільового антигену, яке спостерігається з цими химерними білками, підтримується стосовно зв'язувальної активності природного антитіла, з якого одержані ці CDR. Як використовується в даній заявці, термін "гуманізовані" форми не-людських (наприклад, мишачих) антитіл являють собою химерні антитіла, що містять мінімальну послідовність, яка одержана з не-людського імуноглобуліну. У більшості випадків гуманізовані антитіла являють собою людські імуноглобуліни (реципієнтне антитіло), в яких залишки гіперваріабельної ділянки (наприклад, ділянки, що визначають комплементарність "CDR") реципієнта замінюються залишками гіперваріабельної ділянки (CDR) з видів, відмінних від людини (донорне антитіло), таких як миша, пацюк, кролик або примат, відмінний від людини, що має бажану специфічність, афінність та ємність. У деяких випадках залишки каркасної ділянки (FR) людського імуноглобуліну можуть бути замінені відповідними не-людськими залишками. Крім того, гуманізовані антитіла можуть включати залишки, які не виявляються у реципієнтного антитіла або у донорного антитіла. Такі модифікації здійснюються до подальшого поліпшення поведінки антитіла. В загальному випадку гуманізовані антитіла можуть включати суттєво всі або принаймні один, або типово два варіабельні домени, в яких усі або суттєво усі гіперваріабельні ділянки відповідають таким не-людського імуноглобуліну, та всі або суттєво всі FR є такими, що мають послідовність людського імуноглобуліну. Гуманізоване антитіло необов'язково також може включати принаймні частину константної ділянки імуноглобуліну (Fc), типово, таку людського імуноглобуліну. Для огляду, див. Jones, та ін., (Nature 321:522-525, 1986); Reichmann, та ін., (Nature 332:323-329, 1988); та Presta, (Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596, 1992). Опис одержання гуманізованих антитіл може бути знайдений у патентах США №№ 7,049,135, 6,828,422, 6,753,136, 6,706,484, 6,696,248, 6,692,935, 6,667,150, 6,653,068, 6,300,064, 6,294,353 та 5,514,548, кожний з яких є введеним в дану заявку у своїй цілісності.

Як використовується в даній заявці, термін "одноланцюгові Fv" або "sFv" фрагменти антитіл включає VH та VL домени антитіла, де ці домени є присутніми в одному поліпептидному

ланцюзі. В загальному випадку Fv поліпептид додатково включає поліпептидний лінкер між VH та VL доменами, що дозволяє sFv формувати бажану структуру для зв'язування антигену. Для огляду, див. Pluckthun (The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, том 113, Rosenberg та Moore, ред. Springer-Verlag, New York, стор. 269-315, 1994), що є введеним в дану заявку як посилання у своїй цілісності.

Термін "діатіла" відноситься до малих фрагментів антитіл з двома антигензв'язувальними сайтами, при цьому ці фрагменти включають варіабельний домен важкого ланцюга (VH), сполучений з варіабельним доменом легкого ланцюга (VL) у тому самому поліпептидному ланцюзі (VH-VL). При використанні лінкера, який є настільки коротким, що дозволяє здійснювати спарювання між двома доменами на тому самому ланцюзі, домени змушують спарюватися з комплементарними доменами іншого ланцюга та створюють два антигензв'язувальні сайти. Діатіла є описаними більш повно, наприклад, у EP 404,097; WO 93/11161; та Hollinger, та ін., (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448, 1993), кожний з яких є введеним в дану заявку як посилання.

Експресія "лінійних антитіл" відноситься до антитіл, описаних у галузі техніки, наприклад, у Zapata, та ін., (Protein Eng. 8(10): 1057-1062, 1995), що є введеним в дану заявку як посилання. Стисло, такі антитіла включають пару тандемних Fd сегментів (VH-CHI-VH-CHI) що утворюють пару антигензв'язувальних ділянок. Лінійні антитіла можуть бути біспецифічними або моноспецифічними.

Термін "моноклональне антитіло", як використовується в даній заявці, відноситься до антитіла, одержаного з популяції суттєво гомогенних антитіл, тобто, 10 індивідуальних антитіл, що складають ідентичну популяцію, за винятком можливих існуючих у природі мутацій, що можуть бути присутніми у мінорних кількостях. Моноклональні антитіла є високо специфічними, тобто, є направленими проти одного антигенного сайту. Крім того, на противагу до препаратів традиційного (поліклонального) антитіла, які типово включають різні антитіла, направлені проти відмінних детермінант (епітопів), кожне моноклональне антитіло є направленим проти однієї детермінанти на антигені. Визначення "моноклональний" вказує на характер антитіла як такого, що є одержаним з суттєво гомогенної популяції антитіл, та не повинно трактуватися як таке, що вимагає продукції антитіла за допомогою будь-якого особливого способу. Наприклад, моноклональні антитіла, що використовуються у відповідності з даним винаходом, можуть бути одержані за допомогою гібридомного способу, який вперше був описаний Kohler, та ін., (Nature 256:495, 1975), або можуть бути одержані за допомогою методів рекомбінантної ДНК (див., наприклад, патент США № 4,816,567). Моноклональні антитіла можуть бути також ізольовані з фагових бібліотек антитіла при використанні методик, описаних, наприклад, у Clackson, та ін., (Nature 352:624-628, 1991) та Marks, та ін., (J. Mol. Biol. 222:581-597, 1991).

Моноклональні антитіла в даній заявці також включають "химерні" антитіла, в яких частина важкого та/або легкого ланцюга є ідентичною або гомологічною відповідній послідовності в антитілі, що походить від певних видів або належить до певного класу або підкласу антитіл, у той час, як інший(і) ланцюг(и) є ідентичними(и) або гомологічним відповідній послідовності в антитілі, що походить від інших видів або належить до іншого класу або підкласу антитіл, а також фрагменти таких антитіл, до тих пір, поки вони демонструють бажану біологічну активність (див., наприклад, патент США № 4,816,567; та Morrison, та ін., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855, 1984, кожний з яких є введеним в дану заявку як посилання).

Як використовується в даній заявці, терміни "біологічний зразок" або "зразок пацієнта", як використовується в даній заявці, відносяться до зразка, одержаного з організму або з компонентів (наприклад, клітин) організму. Зразок може являти собою будь-яку біологічну тканину або рідину. Зразок може бути "клінічним зразком", який є зразком, що є одержаним від пацієнта. Такі зразки включають, але без обмеження, мокротиння, кров, сироватку, плазму, клітини крові (наприклад, лейкоцити), зразки тканини, зразки біопсії, сечу, перитонеальну рідину та плевральну рідину, слину, сперму, ексудат молочної залози, цереброспінальну рідину, сльози, слизовий секрет, лімфу, цитозолі, асцитну рідину, амніотичну рідину, промивну рідину сечового міхура та бронхоальвеолярні змиви або клітини, одержані з них, серед інших зразків рідини організму. Зразок пацієнта може бути свіжим або замороженим та може бути обробленим гепарином, цитратом або ЕДТА. Біологічні зразки можуть також включати зрізи тканин, такі як заморожені зрізи, узяті для гістологічних цілей.

Термін "рак" включає, але без обмеження, солідні пухлини, такі як різні види раку підшлункової залози, молочної залози, респіраторного тракту, мозку, репродуктивних органів, травного тракту, сечового тракту, очей, печінки, шкіри, голови та шиї, щитовидної залози, парашитовидної залози та їх віддалені метастази. Термін також включає саркоми, лімфоми, лейкомі та міеломи плазматичних клітин.

Пухлини респіраторного тракту включають, але без обмеження, дрібноклітинну та недрібноклітинну карциному легень, а також бронхіальну аденому та плевро-легеневу бластоми. Пухлини молочної залози включають, але без обмеження, інвазивну дуктальну карциному, інвазивну лобулярну карциному, дуктальну карциному *in situ* та лобулярну карциному *in situ*. Пухлини мозку включають, але без обмеження, гліому стовбур мозку та гіпоталамуса, церебелярну та церебральну астроцитому, медулобластоми, епендимому, а також нейроектодермальні та пініальні пухлини. Пухлини чоловічих репродуктивних органів включають, але без обмеження, рак простати та яєчок. Пухлини жіночих репродуктивних органів включають, але без обмеження, рак ендометрію, шийки матки, яєчників, вагіни та вульви, а також саркому сечового міхура. Пухлини травного тракту включають, але без обмеження, анальний, кишковий, колоректальний рак, рак стравоходу, жовчного міхура, шлунка, підшлункової залози, ректальний рак, рак тонкого кишечника та рак слинних залоз. Пухлини сечового тракту включають, але без обмеження, рак сечового міхура, пеніальний рак, рак нирки, ниркових мисок, сечоводу, уретральний рак. Різні види раку очей включають, але без обмеження, інтраокулярну меланому та ретинобластоми. Пухлини печінки включають, але без обмеження, гепатоцелюлярну карциному (карциноми печінкових клітин з або без фіброламельярного варіанту), холангіокарциному (карцинома внутрішньопечінкових жовчних протоків), та змішану гепатоцелюлярну холангіокарциному. Види шкірного раку включають, але без обмеження, карциному лускатих клітин, саркому Капоші, злоякісну меланому, шкірний рак клітин Меркеля та не-меланомний шкірний рак. Види раку голови та шиї включають, але без обмеження, ларингеальний / гіпофарингеальний / назофарингеальний / орофарингеальний рак та рак губи та оральної порожнини. Лімфоми включають, але без обмеження, лімфому, пов'язану зі СНІДом, лімфому не-Ходжкіна, шкірну Т-клітинну лімфому, хворобу Ходжкіна та лімфому центральної нервової системи. Саркоми включають, але без обмеження, саркому м'якої тканини, остеосаркому, злоякісну фіброзну гістіоцитоксантому, лімфосаркому та рабдіоміосаркому. Лейкемії включають, але без обмеження, гострий мієлолейкоз, гострий лімфобластний лейкоз, хронічний лімфоцитарний лейкоз, хронічну гранулоцитарну лейкемію та злоякісний ретикулоендотеліоз.

Як використовується у даному винаході, термін "епітоп" означає будь-яку антигенну детермінанту на антигені, наприклад, білок мезотеліну, з яким антитіло зв'язується за допомогою антигенного сайту зв'язування. Детермінанти або антигенні детермінанти звичайно складаються з поверхневих хімічно активних груп молекул, таких як бічні ланцюги амінокислот або цукру, та звичайно мають специфічну трьохвимірну структуру, а також специфічні характеристики заряду.

Термін "специфічно імунореактивний" відноситься до реакції зв'язування між антитілом та білком, сполукою або антигеном, що має епітоп, який впізнається антигенним сайтом зв'язування антитіла. Ця реакція зв'язування є визначальною для присутності білка, антигена або епітопа, що має здатний до впізнання епітоп серед 10, що є присутніми у гетерогенній популяції білків або інших біологічних сполук. У контексті імуноаналізу специфічно імунореактивні антитіла можуть зв'язуватися з білком, що містить здатний до впізнання епітоп, та зв'язуватися, якщо це взагалі відбувається, у значно меншій з іншими білками, що не мають епітопу, які є присутніми у зразку. В контексті *in vivo* "специфічно імунореактивний" може відноситися до умов, за яких тварина формує імунну відповідь проти вакцини або антигену, наприклад, гуморальну відповідь на антиген (одержання антитіл проти вакцини, білка, сполуки або антигену, що є представленим при цьому, за умов імунологічної реактивності) або опосередковану клітинами відповідь (що також згадується в даній заявці як "клітинна імунна відповідь", тобто, відповідь, опосередкована Т-лімфоцитами проти вакцини, білка, сполуки або антигену, що є представленим при цьому). Як використовується в даній заявці, термін "імунологічно реактивні умови" використовується у контексті імуноаналізу або реакції *in vitro*, де фізичні умови реакції, включаючи, наприклад, температуру, концентрацію солі, pH, реагенти та їх концентрації, а також концентрації антигену та спорідненого антитіла, що є специфічно імунореактивним до антигену, забезпечуються або доводяться для того, щоб дозволити здійснювати зв'язування спорідненого антитіла з антигеном. Імунологічно реактивні умови є залежними від формату реакції зв'язування антитіла та, типово, є такими, що використовуються у прописах імуноаналізу. Див. Harlow та Lane (1988) *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Publications, New York, для опису формату імуноаналізів та умов. Термін "пацієнт" або "суб'єкт", як використовується в даній заявці, включає ссавців (наприклад, людей та тварин).

Як використовується в даній заявці, термін "інваріантне зв'язування" певного антитіла з мезотеліном відноситься до його здатності зв'язуватися з мезотеліном на широкому спектрі ліній ракових клітин, що експресують мезотелін та які експресують різні форми мезотеліну.

Інваріантне зв'язування може бути викликане, але без обмеження, тим фактом, що антитіла або антигензв'язувальні фрагменти антитіл, або їх варіанти впізнають епітоп мезотеліну, що не маскується іншим позаклітинним антигеном, таким, як раковий антиген 125 (CA125), який взаємодіє з мезотеліном. Для інваріантного зв'язування антитіл ЕС50 значення, визначені за допомогою FACS титрування на двох різних лініях ракових клітин, можуть відрізнятися не більше, ніж у десять разів або переважно, у п'ять разів, та найбільш бажано від 1 до 3 разів.

Як використовується в даній заявці, термін "імунокон'югат" відноситься до молекули кон'югату, що включає принаймні одне антитіло або його антигензв'язувальний фрагмент, зв'язаний з цитотоксичним агентом, наприклад, а майтансиноїдом або його похідною, переважно за допомогою прийнятної зв'язувальної групи або її попередника.

Імунокон'югати згідно з винаходом

Даний винахід відноситься до способів інгібування росту позитивних за мезотеліном ракових клітин та розвитку неопластичного захворювання шляхом забезпечення анти-мезотелінових імунокон'югатів. Залишки антитіла забезпечуваних імунокон'югатів є специфічно імунореактивними з 40 кДа С-термінальним доменом поліпептиду, що є попередником мезотеліну, (SEQ ID NO 36), який називається в даній заявці "мезотелін".

В одному аспекті винаходу антитіла, антигензв'язувальні фрагменти антитіла та варіанти антитіла та фрагменти згідно з винаходом були описані у РСТ/ЕР2008/009756 та складаються з варіабельної ділянки легкого ланцюга та варіабельної ділянки важкого ланцюга. Варіанти антитіла або антигензв'язувальні фрагменти антитіла, що розглядаються у винаході, являють собою молекули, в яких підтримується зв'язувальна активність антитіла або антигензв'язувального фрагменту антитіла щодо мезотеліну.

Даний винахід також відноситься до імунокон'югатів, які складаються з анти-мезотелінового антитіла, антигензв'язувальних фрагментів антитіла, варіантів антитіла та фрагментів згідно з винаходом, відмінних від тих, що були описані у (РСТ/ЕР2008/009756), та зв'язаних з хіміотерапевтичним агентом, наприклад, майтансиноїдами або їх похідними.

Майтансиноїди, що можуть використовуватися у даному винаході є добре відомими у галузі техніки та можуть бути ізольовані з природних джерел згідно з відомими способами або можуть бути одержані синтетично згідно з відомими способами.

Приклади прийнятних майтансиноїдів включають майтансинол та аналоги майтансинолу. Приклади прийнятних аналогів майтансинолу включають ті, що мають модифіковане ароматичне кільце, та такі, що мають модифікації в інших положеннях.

Специфічні приклади прийнятних аналогів майтансинолу, що мають модифіковане ароматичне кільце, включають:

(1) С-19-дехлор (патент США № 4,256,746) (одержаний шляхом ЛАН відновлення ансамітоцину Р2);

(2) С-20-гідрокси (або С-20-деметил) +/-С-19-дехлор (патенти США №№ 4,361,650 та 4,307,016) (одержаний шляхом деметилювання при використанні *Streptomyces* або *Actinomyces* або дехлорування при використанні ЛАН); та

(3) С-20-деметокси, С-20-ацилокси (-OCOR), +/-дехлор (патент США № 4,294,757) (одержаний шляхом ацилювання при використанні ацилхлоридів).

Специфічні приклади прийнятних аналогів майтансинолу, що мають модифікації інших положень, включають:

(1) С-9-SH (патент США № 4,424,219) (одержаний шляхом реакції майтансинолу з H₂S або P₂S₅);

(2) С-14-алкоксиметил (деметокси/CH₂OR) (патент США № 4,331,598);

(3) С-14-гідроксиметил або ацилоксиметил (CH₂OH або CH₂OAc) (патент США № 4,450,254) (одержані від *Nocardia*);

(4) С-15-гідрокси/ацилокси (патент США № 4,364,866) (одержаний шляхом перетворення майтансинолу за допомогою *Streptomyces*);

(5) С-15-метокси (патенти США №№ 4,313,946 та 4,315,929) (ізольований з *Trewia nudiflora*);

(6) С-18-N-деметил (патенти США №№ 4,362,663 та 4,322,348) (одержаний шляхом деметилювання майтансинолу *Streptomyces*); та

(7) 4,5-дезоксиди (патент США № 4,371,533) (одержаний шляхом відновлення майтансинолу за допомогою трихлориду титану/ЛАН).

Синтез тіолвмісних майтансиноїдів, що є корисними у даному винаході, є повністю розкритим у патентах США №№ 5,208,020, 5,416,064 та 7,276,497.

Майтансиноїди із залишком тіолу у С-3 положенні, С-14 положенні, С-15 положенні або С-20 положенні усі передбачаються як корисні. С-3 положення є бажаним, а С-3 положення майтансинолу є особливо бажаним. Також бажаними є С-3 залишок тіолу майтансиноїду, що

містить N-метилаланін, та С-3 залишок тіолу майтансиноїду, що містить N-метилцистеїн, та аналоги кожного. Бажані майтансиноїди є такими, що описані у патентах США №№ 5,208,020; 5,416,064; 6,333,410; 6,441,163; 6,716,821; RE39,151 та 7,276,497, кожний з яких є введеним у дану заявку як посилання у своїй цілісності. У бажаному втіленні естерифікований майтансинол є вибраним з N2'-деацетил-N2'-(3-меркапто-1-оксопропіл)майтансину (DM1, реєстрац. номер CAS 139504-50-0), N2'-деацетил-N2'-(4-меркапто-1-оксопентил)майтансину (DM3, реєстрац. номер CAS 796073-54-6), та N2'-деацетил-N2'-(4-метил-4-меркапто-1-оксопентил)майтансину (DM4 реєстрац. номер CAS 796073-69-3).

В усьому цьому документі робляться посилання на наступні репрезентативні антитіла згідно з винаходом: "MF-J", "MOR06640", "MF-226" та "MF-T". MF-J представляє собою антитіло, що має варіабельну важку ділянку, яка відповідає SEQ ID NO: 28 (ДНК)/SEQ ID NO: 20 (білок), та варіабельну легку ділянку, що відповідає SEQ ID NO: 32 (ДНК)/SEQ ID NO: 24 (білок). MOR 06640 представляє собою антитіло, що має варіабельну важку ділянку, яка відповідає SEQ ID NO: 29 (ДНК)/SEQ ID NO: 21 (білок), та варіабельну легку ділянку, що відповідає SEQ ID NO: 33 (ДНК)/SEQ ID NO: 25 (білок). MF-226 представляє собою антитіло, що має варіабельну важку ділянку, яка відповідає SEQ ID NO: 30 (ДНК)/SEQ ID NO: 22 (білок), та варіабельну легку ділянку, що відповідає SEQ ID NO: 34 (ДНК)/SEQ ID NO: 26 (білок). MF-T представляє собою антитіло, що має варіабельну важку ділянку, яка відповідає SEQ ID NO: 31 (ДНК)/SEQ ID NO: 23 (білок), та варіабельну легку ділянку, що відповідає SEQ ID NO: 35 (ДНК)/SEQ ID NO: 27 (білок). Винахід не є обмеженим цими антитілами, які використовуються в даній заявці як приклади. Інші корисні антитіла є розкритими, наприклад, у PCT/EP2008/009756.

В одному аспекті винахід забезпечує імунокон'югати, що є специфічно імунореактивними до мезотеліну у присутності ракового антигену 125 (CA 125/MUC 16), та таким чином, є ефективно націленими на ракові клітини, які експресують як мезотелін, так і CA125, наприклад, OVCAR-3 клітини.

В інших аспектах винахід забезпечує імунокон'югати, які є специфічно імунореактивними до однієї або більше амінокислот епітопів антитіл MOR 06640 або MF-T. У деяких аспектах вказані імунокон'югати є специфічно імунореактивними до принаймні двох, принаймні трьох, принаймні чотирьох, принаймні п'яти або принаймні шести амінокислот епітопів антитіл MOR 06640 або MF-T. У деяких аспектах імунокон'югати даного винаходу є специфічно імунореактивними до однієї або більше амінокислот епітопу, що впізнається антитілом MOR 06640. В альтернативних аспектах антитіла даного винаходу є специфічно імунореактивними до однієї або більше амінокислот епітопу, що впізнається антитілом MF-T.

В іншому аспекті винахід забезпечує імунокон'югати, що мають антигензв'язувальну ділянку, яка є специфічно імунореактивною до або має високу афінність для однієї або більше ділянок мезотеліну, амінокислотна послідовність якого є показаною у SEQ ID NO: 36. Імунокон'югат, як кажуть, має "високу афінність" для антигену, якщо вимірювання афінності забезпечує значення принаймні 100 нМ (моновалентна афінність Fab фрагменту). Імунокон'югат згідно з винаходом бажано може бути специфічно імунореактивним до мезотеліну з афінністю менше, ніж приблизно 100 нМ, більш бажано менше, ніж приблизно 60 нМ, та ще більш бажано менше, ніж приблизно 30 нМ. Додатково бажаними є антитіла, що зв'язуються з мезотеліном з афінністю менше, ніж приблизно 10 нМ, та більш бажано менше, ніж приблизно 3 нМ. Наприклад, афінність антитіла згідно з винаходом проти мезотеліну може складати приблизно 9,1 нМ або 0,9 нМ (моновалентна афінність IgG1 формату).

Термін "лікування" включає будь-який процес, дію, застосування, терапію або подібні до них, де суб'єкт (або пацієнт), включаючи людину, забезпечується медичною допомогою за допомогою об'єкту, що поліпшує стан суб'єкта, безпосередньо або опосередковано, або уповільнює розвиток стану або розладу у суб'єкта, або полегшує принаймні один симптом захворювання або розладу при лікуванні.

Термін "комбінаційна терапія" або "співтерапія" означає введення двох або більше терапевтичних агентів для лікування захворювання, стану та/або розладу. Таке введення охоплює сумісне введення двох або більше терапевтичних агентів суттєво одночасно, так, як, наприклад, в одній капсулі, що має фіксоване співвідношення активних інгредієнтів або у декількох окремих капсулах для кожного інгібіторного агента. Крім того, таке введення охоплює застосування кожного типу терапевтичного агенту послідовним чином. Порядок введення двох або більше терапевтичних агентів, що сумісно вводяться послідовно, не є обмеженим. Фраза "терапевтично ефективна кількість" означає кількість кожного агенту, що вводиться, яка буде досягати мети поліпшення захворювання, стану та/або тяжкості розладу та/або його симптому, де усунення або мінімізація шкідливих побічних ефектів асоціюється з даним терапевтичним лікуванням.

Термін "фармацевтично прийнятний" означає, що об'єкт є прийнятним для застосування у фармацевтичному продукті.

Імунокон'югати згідно з даним винаходом передбачаються як цінні терапевтичні агенти. Згідно з цим втілення даного винаходу включає спосіб лікування різноманітних станів у пацієнта (включаючи ссавців), що включає введення вказаному пацієнту композиції, яка містить певну кількість імунокон'югату згідно з винаходом, що є ефективною у лікуванні цільового стану.

Імунокон'югати даного винаходу можуть використовуватися у лікуванні або запобіганні захворювань та/або змін, що асоціюються з білком мезотеліну. Такі захворювання та/або зміни включають, наприклад, рак, такий як карциноми підшлункової залози, яєчника, шлунку, стравоходу, шийки матки, кишечника, печінки, респіраторного тракту та легень. Даний винахід також відноситься до способів полегшення симптомів розладу, в яких рівень мезотеліну є підвищеним або іншим чином патологічно експресується. Такі розлади включають, але без обмеження, карциноми підшлункової залози, яєчника, шлунку, стравоходу, шийки матки, кишечника, печінки, респіраторного тракту та легень (див., наприклад (Liao, Cancer Res. 57:2827-2831, 1997; Turner, Hum. Pathol. 28:740-744, 1997; Liao, та ін., Am. J. Pathol. 145:598-609, 1994; Saarnio, та ін., Am. J. Pathol. 153:279-285, 1998; Vermeylen, та ін., Eur. Respir. J. 14:806-811, 1999). В одному втіленні згідно з винаходом терапевтично ефективна доза імунокон'югату згідно з винаходом вводиться пацієнтові, що має розлад, де рівень мезотеліну є підвищеним. Імунокон'югати даного винаходу можуть вводитися самостійно або у комбінації з одним або більше додаткових терапевтичних агентів. Комбінаційна терапія включає введення одиної фармацевтичної дозованої композиції, що містить імунокон'югат даного винаходу та один або більше додаткових терапевтичних агентів, а також введення імунокон'югату даного винаходу та кожного з додаткових терапевтичних агентів у своїй окремій фармацевтичній дозованій композиції. Наприклад, імунокон'югат даного винаходу та терапевтичний агент можуть вводитися пацієнтові разом в одиній пероральній дозованій композиції або кожен агент може вводитися в окремій пероральній дозованій композиції.

Коли використовуються окремі дозовані композиції, імунокон'югат даного винаходу та один або більше додаткових терапевтичних агентів можуть вводитися суттєво у той самий час (наприклад, одночасно) або в розділені моменти часу (наприклад, послідовно). Порядок введення агентів не є обмеженим.

Наприклад, в одному аспекті сумісне введення анти-мезотелінового імунокон'югату згідно з винаходом разом з одним або більше протиракових агентів для посилення ефекту або анти-мезотелінового імунокон'югату або протиракового(их) агента(ів) або обох передбачається для застосування у лікуванні розладів, пов'язаних із мезотеліном, таких як рак. Такі комбінаційні терапії можуть також використовуватися для запобігання раку, для запобігання рецидивів раку, запобігання поширенню або метастазів раку або для зниження або полегшення симптомів, асоційованих з раком.

Один або більше протиракових агентів можуть включати будь-яку відому та прийнятну у галузі техніки сполуку, таку як, наприклад, хіміотерапевтичні агенти, інші імунотерапевтичні агенти, протиракові вакцини, антиангіогенні агенти, цитокіни, гормональні терапії, генні терапії та способи променевої терапії. Хіміотерапевтичний агент (або "протираковий агент" або "протипухлинний агент" або "протираковий терапевтичний агент") відноситься до будь-якої молекули або сполуки, що допомагає у лікуванні раку. Приклади хіміотерапевтичних агентів, що передбачаються даним винаходом, включають, але без обмеження, цитозин арабінозид, таксоїди (наприклад, паклітаксел, доцетаксел), антитубулінові агенти (наприклад, паклітаксел, доцетаксел, епотілон В або їх аналоги), макроліди (наприклад, ризоксин) цисплатин, карбоплатин, адриаміцин, тенопозид, мітоксантрон, діскодермолід, елеутеробін, 2-хлорозедоксіаденозин, алкілувальні агенти (наприклад, циклофосфамід, мехлоретамін, тіотепа, хлорамбуцил, мелфалан, кармустин (BSNU), ломустин (CCNU), циклофосфамід, бусульфан, дибромоманітол, стрептозотоцин, мітоміцин С та цис-дихлородіамін платини (II) (DDP) цисплатин, тіотепа), антибіотики (наприклад, дактиноміцин (колишній актиноміцин), блеоміцин, мітраміцин, антраміцин), антиметаболіти (наприклад, метотрексат, 6-меркаптопурин, 6-тіогуанін, цитарабін, флавопіридол, 5-фторурацил, флударабін, гемцитабін, дакарбазин, темозоломід), аспарагіназу, бацилу Кальметта-Герена, дифтерійний токсин, гексаметилмеламін, гідроксисечовину, LYSODREN.RTM., аналоги нуклеозидів, рослинні алкалоїди (наприклад, таксол, паклітаксел, камптотецин, топотекан, іринотекан (CAMPTOSAR, CPT-I I), вінкрестин, алкалоїди барвінку, такі як вінбластин), подофілотоксин (включаючи похідні, такі як епіподофілотоксин, VP-16 (етопозид), VM-26 (теніпозид)), цитохалазин В, колхіцин, граміцидин D, бромід етидію, еметин, мітоміцин, прокарбазин, мехлоретамін, антрацикліни (наприклад, даунорубіцин (колишній дауноміцин), доксорубіцин, доксорубіцин ліпосомальний),

дигідроксіантрацидін, мітоксантрон, мітраміцин, актиноміцин D, прокаїн, тетракаїн, лідокаїн, пропранолол, пуроміцин, антимітотичні агенти, абрин, рицин А, екзотоксин *Pseudomonas*, фактор росту нервів, фактор росту гранулоцитів, активатор тканинного плазміногену, альдеслейкін, алутамін, анастрозол, бікалутамід, біоміцин, бусульфан, капецитабін, карбоплатин, хлорабусил, кладрибін, циларабін, дакліоміцин, естрамустин, флоксуридин, гемцитабін, гозерелін, ідарубіцин, ітосфамід, лаупролід ацетат, левамизол, ломустин, мехлоретамін, мегестрол, ацетат, меркаптопурино, месна, мітоланк, пегаспергазу, пентостатин, пікамелін, ритуксимаб, кампт-1, страпозоцин, тіогуанін, третіоноїн, вінорелбін або будь-які фрагменти, члени родини або їх похідні, включаючи їх фармацевтично прийнятні солі.

Композиції, що включають один або більше хіміотерапевтичних агентів (наприклад, FLAG, CHOP), також передбачаються даним винаходом. FLAG включає флударабін, цитозин арабінозид (Ara-C) та G-CSF. CHOP включає циклофосфамід, вінкрисин, доксорубіцин та преднізон.

Хіміотерапевтичний агент може являти собою антиангіогенний агент, такий, як, наприклад, ангіостатин, бевацизумаб (Avastin®), сорафеніб (Nexavar®), бакулостатин, канстатин, маспін, анти-VEGF антитіла або пептиди, антитіла або пептиди до плацентарного фактора росту, анти-Flk-1 антитіла, анти-Fit-1 антитіла або пептиди, ламінінові пептиди, фібронектинові пептиди, інгібітори активатора плазміногену, інгібітори тканинної металопротеїнази, інтерферони, інтерлейкін 12, IP-10, Gro- β , тромбоспондин, 2-метоксіестрадіол, білок, споріднений з проліферіном, карбоксимідотриазол, CMIOI, марімастат, пентозан полісульфат, ангіопоетин 2, інтерферон-альфа, гербіміцин А, PNU145156E, 16K фрагмент пролактину, ліномід, талідомід, пентоксифілін, геністеїн, TNP-470, ендостатин, паклітаксел, акутин, цидофовір, вінкрисин, блеоміцин, AGM-1470, тромбоцитарний фактор 4 або міноциклін.

В одному аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою гемцитабін при дозі, що коливається від 100 до 1000 мг/м²/цикл. В одному втіленні вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою дакарбазин при дозі, що коливається від 200 до 4000 мг/м²/цикл. В іншому аспекті вказана доза коливається від 700 до 1000 мг/м²/цикл. Ще в одному аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою флударабін при дозі, що коливається від 25 до 50 мг/м²/цикл. В іншому аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою цитозин арабінозид (Ara-C) при дозі, що коливається від 200 до 2000 мг/м²/цикл. Ще в одному аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою доцетаксел при дозі, що коливається від 1,5 до 7,5 мг/кг/цикл. Ще в одному аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою паклітаксел при дозі, що коливається від 5 до 15 мг/кг/цикл. У додатковому аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою цисплатин при дозі, що коливається від 5 до 20 мг/кг/цикл. Ще в одному аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою 5-фторурацил при дозі, що коливається від 5 до 20 мг/кг/цикл. В іншому аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою доксорубіцин при дозі, що коливається від 2 до 8 мг/кг/цикл. Ще в іншому аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою епіподофілотоксин при дозі, що коливається від 40 до 160 мг/кг/цикл. Ще в одному аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою циклофосфамід при дозі, що коливається від 50 до 200 мг/кг/цикл. У додатковому аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою іринотекан при дозі, що коливається від 50 до 150 мг/м²/цикл. Ще в одному аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою вінбластин при дозі, що коливається від 3,7 до 18,5 мг/м²/цикл. В іншому аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою вінкрисин при дозі, що коливається від 0,7 до 2 мг/м²/цикл. В одному аспекті вказаний хіміотерапевтичний агент являє собою метотрексат при дозі, що коливається від 3,3 до 1000 мг/м²/цикл.

В іншому аспекті імунокон'югати анти-мезотеліну даного винаходу вводяться у комбінації з одним або більше імунотерапевтичних агентів, таких як антитіла або імуномодулятори, які включають, але без обмеження, Герцептин®, Ретуксан®, ОваРекс, ПаноРекс, ВЕС2, ІМС-С225, Вітаксин, Кампт І/Н, Смарт МІ95, ЛімфоЦид, Смарт І D 10 та онколін, ритуксан, ритуксимаб, гемтузумаб або трастузумаб.

Винахід також передбачає введення імунокон'югатів анти-мезотеліну даного винаходу з одним або більше антиангіогенних агентів, які включають, але без обмеження, ангіостатин, талідомід, крінгл 5, ендостатин, серпін (інгібітор серинпротеази) анти-тромбін, 29 кДа N-термінальний та 40 кДа C-термінальний протеолітичні фрагменти фібронектину, 16 кДа протеолітичний фрагмент пролактину, 7,8 кДа протеолітичний фрагмент тромбоцитарного фактора-4, β -амінокислотний пептид, що відповідає фрагменту тромбоцитарного фактора-4 (Maione та ін., 1990, Cancer Res. 51:2077), пептид, що складається з 14 амінокислот, який відповідає фрагменту колагену І (Tolma та ін., 1993, J. Cell Biol. 122:497), пептид, що складається з 19 амінокислот, який відповідає фрагменту тромбоспондину І (Tolsma та ін., 1993,

J. Cell Biol. 122:497), пептид, що складається з 20 амінокислот, який відповідає фрагменту SPARC (Sage та ін., 1995, J. Cell. Biochem. 57: 1329-), або будь-які фрагменти, члени родини або їх похідні, включаючи їх фармацевтично прийнятні солі. Інші пептиди, які інгібують ангіогенез та відповідають фрагментам ламініну, фібронектину, проколагену та EGF, також були описані (див. огляд Cao, 1998, Prog. Mol. Subcell. Biol. 20:161). Моноклональні антитіла та циклічні пентапептиди, що блокують деякі інтегрини, які зв'язуються з RGD білками (тобто такими, що мають пептидний мотив Arg-Gly-Asp), були продемонстровані як такі, що володіють активністю, направленою проти васкуляризації (Brooks та ін., 1994, Science 264:569; Hammes та ін., 1996, Nature Medicine 2:529). Крім того, інгібування урокіназного рецептора активатора плазміногену за допомогою антагоністів інгібує ангіогенез, ріст пухлин та метастази (Min та ін., 1996, Cancer Res. 56:2428-33; Crowley та ін., 1993, Proc Natl Acad. Sci. USA 90:5021). Застосування таких антиангіогенних агентів також передбачається даним винаходом.

В іншому аспекті анти-мезотелінові імунокон'югати даного винаходу вводяться у комбінації з режимом опромінення.

Імунокон'югати анти-мезотеліну даного винаходу можуть також вводитися у комбінації з одним або більше цитокінів, які включають, але без обмеження, лімфокіни, фактори некрозу пухлин, подібні до фактора некрозу пухлин цитокіни, лімфотоксин- α , лімфотоксин- β , інтерферон- β , запальні білки макрофагів, фактор стимуляції колоній гранулоцитів / моноцитів, інтерлейкіни (включаючи, але без обмеження, інтерлейкін-1, інтерлейкін-2, інтерлейкін-6, інтерлейкін-12, інтерлейкін-15, інтерлейкін-18), OX40, CD27, CD30, CD40 або CD 137 ліганди, Fas-Pas ліганд, 4-1BBL, активувальний білок для моноцитів ендотелію або будь-які їх фрагменти, члени родини або їх похідні, включаючи їх фармацевтично прийнятні солі.

Імунокон'югати анти-мезотеліну даного винаходу можуть також вводитися у комбінації з протираковою вакциною, приклади яких включають, але без обмеження, аутологічні клітини або тканини, неаутологічні клітини або тканини, канцероємбріональний антиген, альфа-фетобілок, людський хоріонічний гонадотропін, BCG живу вакцину, білки, які мають походження від клітинних ліній меланоцитів (наприклад, gp100, MART-1/MelanA, TRP-I (gp75), тирозиназу, широко поширені, асоційовані з пухлинами антигени, включаючи специфічні для пухлин антигени (наприклад, BAGE, GAGE-I, GAGE-2, MAGE-I, MAGE-3, N-ацетилглюкозамінілтрансфераза-V, p15), мутовані антигени, які є асоційованими з пухлинами (β -катенін, MUM-I, CDK4), немеланомні антигени (наприклад, HER-2/neu (карцинома молочної залози та яєчника), людський 5 папіломавірус-E6, E7 (цервікальна карцинома), MUC-1 (карцинома молочної залози, яєчника та підшлункової залози). Для людських пухлинних антигенів, що впізнаються Т-клітинами, див. в загальному випадку Robbins та Kawakami, 1996, Curr. Opin. Immunol. 8:628. Протиракові вакцини можуть бути очищеними препаратами або можуть не бути такими.

Ще в одному втіленні імунокон'югати анти-мезотеліну даного винаходу використовуються у поєднанні з гормональним лікуванням. Гормональні терапевтичні способи лікування включають агоністи гормонів, антагоністи гормонів (наприклад, флутамід, тамоксифен, лейпрорелін ацетат (LUPRON), LH-RH антагоністи), інгібітори біосинтезу та процесингу гормонів та стероїди (наприклад, дексаметазон, ретиноїди, бетаметазон, кортизол, кортизон, преднізон, дегідротестостерон, глюкокортикоїди, мінералокортикоїди, естроген, тестостерон, прогестини), антигестагени (наприклад, міфепристон, онапристон), та антиандрогени (наприклад, ципротерон ацетат).

Імунокон'югати анти-мезотеліну згідно з винаходом можуть використовуватися у комбінації з, наприклад, можуть сумісно вводитися з анти-MDR (множинна стійкість до лікарських засобів) фенотипічним агентом. Багато форм людського раку за своєю природою або спонтанно розвивають стійкість до кількох класів протиракових лікарських засобів одночасно, незважаючи на те, що кожний з класів лікарських засобів має відмінні структури та механізми дії. Цей феномен, який може маскуватися у культивованих клітинах ссавців, в загальному випадку називається множинною стійкістю до лікарських засобів ("MDR") або фенотипом множинної стійкості до лікарських засобів. MDR фенотип представляє значні перешкоди до успішних способів хіміотерапевтичного лікування раку пацієнтів, що являють собою людей. Стійкість злоякісних пухлин до множини хіміотерапевтичних агентів є основною причиною невдалого лікування (Wittes та ін., Cancer Treat. Rep. 70:105 (1986); Bradley, G. та ін., Biochim. Biophys. Acta 948:87 (1988); Griswald, D. P. та ін., Cancer Treat. Rep. 65(S2):51 (1981); Osteen, R. T. (ed.), Cancer Manual, (1990)). Пухлини, що спочатку є чутливими до цитотоксичних агентів, часто дають рецидиви або стають такими, що не піддаються лікуванню множиною хіміотерапевтичних лікарських засобів (Riordan та ін., Pharmacol. Ther. 28:51 (1985); Gottesman та ін., Trends Pharmacol. Sci. 9:54 (1988); Moscow та ін., J. Natl. Cancer Inst. 80:14 (1988); Croop, J. M. та ін., J.

Clin. Invest. 81:1303 (1988)). Клітини або тканини, одержані з пухлин та вирощені у присутності селективного цитотоксичного лікарського засобу, можуть приводити до перехресної резистентності до інших лікарських засобів у цьому класі, а також в інших класах лікарських засобів, включаючи, але без обмеження, антрацикліни, алкалоїди барвінка та епіподофілотоксини (Riordan та ін., Pharmacol. Ther. 28:51 (1985); Gottesman та ін., J. Biol. Chem. 263:12163 (1988)). Таким чином, набута резистентність до одного лікарського засобу приводить до одночасної резистентності різноманітної групи лікарських засобів, що є структурно та функціонально неспорідненими. Така резистентність може бути проблемою як для солідних форм пухлин та рідинних форм пухлин (наприклад, види раку крові та лімфи).

Один з основних механізмів множинної стійкості до лікарських засобів у клітинах ссавців втягує підвищену експресію насосної системи 170 кДа глікопротеїну плазматичної мембрани (Juranka та ін., FASEB J 3:2583 (1989); Bradley, G. та ін., Biochem. Biophys. Acta 948:87 (1988)). Ген, що кодує цю насосну систему, яку іноді називають транспортером множинних лікарських засобів, було клоновано з культивованих людських клітин, в загальному випадку називається *mdr1*. Цей ген експресується в декількох класах нормальних тканин, проте фізіологічні субстрати, що транспортуються для продукту гена *mdr1* у цих тканинах, не були ідентифіковані. MDR1 являє собою члена родини ABC суперродини білка транспортера є групою білків, що мають енергетично залежну функцію експорту. Білковий продукт гена, що в загальному випадку є відомим як Р-глікопротеїн ("P-170", "P-gr"), являє собою 170 кДа трансплазматичний мембранний білок, що утворює згаданий вище енергетично залежний відкачувальний насос. Експресія Р-gr на поверхні клітин є достатньою для забезпечення множинної резистентності клітин до цитотоксичних агентів, включаючи багато протиракових агентів. Р-gr опосередкована MDR виявляється важливим клінічним компонентом пухлинної резистентності у пухлинах різних типів, а експресія гена *mdr1* корелює з резистентністю до хіміотерапії при різних формах раку. Нуклеотидна послідовність гена *mdr1* (Gros, P. та ін., Cell 47:371 (1986); Chen, C. та ін., Cell 47:381 (1986)) показує, що він кодує поліпептид, подібний та ідентичний з Р-глікопротеїном та що такі є членами класу висококонсервативних мембранних білків, подібних до бактеріальних транспортерів та втягнених у процеси нормального фізіологічного транспорту. Аналіз послідовності гена *mdr1* свідчить про те, що Рgr складається з 1280 амінокислот, що розподіляються між двома гомологічними (43 % ідентичності) половинами. Кожна половина молекули має шість гідрофобних трансмембранних доменів та кожна має сайт зв'язування АТФ у межах великої цитоплазматичної петлі. Тільки приблизно 8 % молекули є позаклітинними, а вуглеводневий залишок (розміром приблизно 30 кДа) є зв'язаним із сайтами у цій ділянці.

Таким чином, буде зрозумілим, що клітини ссавців, які мають "множинну резистентність до лікарських засобів" або фенотип "множинної резистентності до лікарських засобів" характеризуються здатністю до ізоляції, експорту або видалення множини цитотоксичних речовин (наприклад, хіміотерапевтичних лікарських засобів) з внутрішньоклітинного середовища. Клітини можуть набувати цього фенотипу в результаті тиску селекції, що здійснюється шляхом піддання впливу одного хіміотерапевтичного лікарського засобу (селективний токсин). Альтернативно, клітини можуть демонструвати фенотип перед піддаванням впливу токсину, оскільки експорт цитотоксичних речовин може втягувати механізм, подібний до нормального експорту клітинних продуктів секреції, метаболітів та подібних до них. Множинна резистентність до лікарських засобів відрізняється від простої набутої резистентності до селективного токсину тим, що клітина набуває компетентності до експорту додаткових цитотоксинів (інших хіміотерапевтичних лікарських засобів), впливу яких клітина раніше не піддавалася. Наприклад, Mirski та ін. (1987), 47 Cancer Res. 2594-2598, описує ізоляцію популяції клітин з множинною резистентністю до лікарських засобів шляхом культивування клітинної лінії H69, що походить від людської дрібноклітинної карциноми легень, у присутності адріаміцину (доксорубіцину) як селективного токсину. Клітини, що вижили, були виявлені резистентними до цитотоксичних ефектів аналогів антрацикліну (наприклад, дауноміцину, епірубіцину, меногарилу та мітоксантрону), ацивіцину, етопозиду, граміцидину D, колхіцину та алкалоїдів барвінка (вінкристин та вінбластин), а також адріаміцину. Подібні методики селективного культивування можуть використовуватися для одержання додаткових популяцій клітин з множинною резистентністю до лікарських засобів. Згідно з цим фармацевтичні композиції згідно з винаходом можуть додатково включати сполуки, які діють для інгібування MDR фенотипу та/або умов, асоційованих з MDR фенотипом. Такі сполуки можуть включати будь-які відомі у галузі техніки сполуки для інгібування MDR, такі як антитіла, специфічні для MDR компонентів (наприклад, антитіла до MDR транспортеру) або дрібні молекули інгібіторів MDR транспортерів, включаючи специфічно, тамоксифен, верапаміл та циклоспорин А, які являють собою агенти, відомі як такі, що переключають або інгібують множинну резистентність

до лікарських засобів. (Lavie та ін. J. Biol. Chem. 271: 19530-10536, 1996, що є введеним у дану заявку як посилання). Такі сполуки можуть бути знайдені у патентах №№ 5,773,280, 6,225,325 та 5,403,574, кожний з яких є введеним у дану заявку як посилання. Такі сполуки, що інгібують MDR, можуть сумісно вводитися з імунокон'югатами анти-мезотеліну згідно з винаходом для різноманітних цілей, включаючи, зміну MDR фенотипу в результаті визначення MDR фенотипу для надання допомоги у лікуванні або поліпшенні хіміотерапевтичного лікування. Інгібітор MDR, такий, як, наприклад, тамоксифен, верапаміл та циклоспорин А, можуть використовуватися у поєднанні зі сполуками згідно з винаходом для допомоги у визначенні MDR фенотипу. У відповідності із цим аспектом інгібітор MDR може поліпшувати поглинання та акумуляцію сполук згідно з винаходом у MDR раковій клітині, оскільки здатність транспортної системи MDR до транспорту або "викачування" сполук, що утворилися, стосовно домену субстрату буде знижуватися у присутності інгібітора MDR.

Ще в одному втіленні анти-мезотелінові імунокон'югати даного винаходу використовуються у поєднанні з програмою генної терапії у лікуванні раку. Генна терапія при використанні рекомбінантних клітин, що секретують інтерлейкін-2, може вводитися у комбінації з імунокон'югатами згідно з винаходом для запобігання або лікування раку, зокрема, раку молочної залози (див., наприклад, Deshmukh та ін., 2001, J. Neurosurg. 94:287).

Для оцінки здатності конкретного імунокон'югату бути терапевтично корисним для лікування раку, імунокон'югат, наприклад, може піддаватися аналізу *in vivo* у мишачій ксенографтній пухлинній моделі. Приклади терапевтичних моделей є докладно приведеними у Прикладах 1 та 2. Активність антитіла може також піддаватися аналізу при використанні в аналізі залежної від антитіла клітинної цитотоксичності, як описується у Прикладі 3.

Фармацевтичні композиції та дозування

Імунокон'югати, описані в даній заявці, можуть забезпечуватися у фармацевтичній композиції, що включає фармацевтично прийнятний носій. Фармацевтично прийнятний носій може бути непірогенним. Композиції можуть вводитися самостійно або у комбінації з принаймні одним іншим агентом, таким, як стабілізувальна сполука, яка може вводитися у стерильному, біосумісному фармацевтичному носії, включаючи, але без обмеження, фізіологічний розчин, забуферений фізіологічний розчин, декстрозу та воду. Може використовуватися різноманітність водних носіїв, включаючи, але без обмеження фізіологічний розчин, гліцин та подібні до них. Такі розчини є стерильними та у загальному випадку вільними від матеріалу у вигляді частинок. Такі розчини можуть піддаватися стерилізації за допомогою традиційних, добре відомих методик стерилізації (наприклад, фільтрування).

В загальному випадку фраза "фармацевтично прийнятний носій" є визнаною у галузі техніки та включає фармацевтично прийнятний матеріал, композиції або носії, прийнятні для введення сполук даного винаходу ссавцям. Такі носії включають рідинний або твердий наповнювач, розріджувач, матеріал наповнювача, розчинника або інкапсулюючого матеріалу, вони є втягненими у перенесення або транспортування у суб'єкті агента від одного органа або частини тіла, в інший орган або частину тіла. Кожний носій має бути "прийнятним" у значенні бути сумісним з іншими інгредієнтами композиції та не бути шкідливим для пацієнта. Деякі приклади матеріалів, що можуть служити як фармацевтично прийнятні носії, включають: цукри, такі як лактоза, глюкоза та цукроза; крохмалі, такі як кукурудзяний крохмаль та картопляний крохмаль; целюлозу, та її похідні, такі як карбоксиметил целюлоза натрію, етилцелюлоза та ацетат целюлози; подрібнену трагакантову камедь; солод; желатин, тальк; наповнювачі, такі як масло какао та воски для супозиторіїв; масла та олії, такі як арахісова олія, олія насіння бавовника, соняшникова олія, сезамова олія, оливкова олія, кукурудзяна олія та соєва олія; гліколи, такі як пропіленгліколь; поліоли, такі як гліцерин, сорбіт, маніт та поліетиленгліколь; естери, такі як етил олеат та етил лаурат; агар; забуферювальні агенти, такі як гідроксид магнію та гідроксид алюмінію; альгінову кислоту; вільну від пірогену воду; ізотонічний фізіологічний розчин; розчин Рінгера; етиловий спирт; розчини фосфатного буфера; та інші нетоксичні сумісні речовини, що використовуються у фармацевтичних композиціях. Зволожувальні агенти, емульгатори та змашувальні агенти, такі як лаурилсульфат натрію та стеарат магнію, а також барвники, агенти, що сприяють вивільненню, агенти для покриття, підсолоджувальні агенти, смакові та ароматичні агенти, консерванти та антиоксиданти можуть також бути присутніми у композиції імунокон'югату згідно з винаходом.

Приклади фармацевтично прийнятних антиоксидантів включають: розчинні у воді антиоксиданти, такі як аскорбінова кислота, гідрохлорид цистеїну, бісульфат натрію, метабісульфіт натрію, сульфат натрію та подібні до них; розчинні в олії антиоксиданти, такі як аскорбілпальмітат, бутильований гідроксианізол (ВНА), бутильований гідрокситолуол (ВНТ), лецитин, пропілгалат, альфа-токоферол та подібні до них; та хелатуючі метали агенти, такі як

лимонна кислота, етилендіамінтетраоцтова кислота (ЕДТА), сорбітол, винна кислота, фосфорна кислота та подібні до них.

Композиції можуть містити фармацевтично прийнятні допоміжні речовини, що є необхідними до наближення до фізіологічних умов, такі як агенти для доведення та буферизації значення рН та подібні до них. Концентрація імунокон'югату згідно з винаходом у такій фармацевтичній композиції може варіювати у широких межах та може бути вибраною на основі об'ємів рідини, густини, тощо, згідно з конкретним вибраним способом введення. Якщо це є бажаним, то у фармацевтичній композиції може включатися більше одного типу антитіла або імунокон'югату (наприклад, антитіло з відмінним значення Ка для зв'язування мезотеліну).

Композиції можуть вводитися пацієнтові окремо або у комбінації з іншими агентами, лікарськими засобами або гормонами. На доповнення до активних інгредієнтів, ці фармацевтичні композиції можуть містити прийнятні фармацевтично сумісні носії, що включають наповнювачі та допоміжні речовини, що сприяють перетворенню активних сполук у препарати, які можуть використовуватися фармацевтично. Фармацевтичні композиції згідно з винаходом можуть вводитися будь-яким шляхом, включаючи, але без обмеження, оральний, внутрішньовенний, внутрішньом'язовий, інтраартеріальний, інтрамедулярний інтратекальний, інтравентрикулярний, трансдермальний, підшкірний, інтраперитонеальний, інтраназальний, парентеральний, місцевий, сублінгвальний або ректальний шляхи.

Композиції згідно з винаходом додатково передбачають використання прийнятних імуноносіїв, таких як, білки, поліпептиди або пептиди, такі як альбумін, гемоціанін, тироглобулін та їх похідні, зокрема, бичачий сироватковий альбумін (BSA) та гемоціанін лімфи равлика (KLH), полісахариди, вуглеводи, полімери та тверді фази. Інші білкові та небілкові речовини є відомими спеціалісту у даній галузі техніки.

В аспектах, що втягують вакцини, наприклад, протиракові вакцини, разом з антитілами згідно з винаходом, композиціями згідно з винаходом можуть вводитися з або без ад'юванта. Введення може проводитися за відсутності ад'юванта для того, щоб уникнути індукованої ад'ювантом токсичності. Спеціаліст у даній галузі техніки, до якої відноситься винахід, наприклад, лікар, який спеціалізується на ракових захворюваннях, зможе оцінити та зрозуміти, як визначити ад'ювант, який може використовуватися або не використовуватися, що залежить від медичної історії суб'єкта, родинних даних, даних щодо токсичності, результатів, пов'язаних з алергією, тощо. У втіленнях, де використовується ад'ювант, є бажаним, щоб ад'ювант сприяв утворенню протективного антитіла, такого, як протективні IgG антитіла. Будь-який прийнятний ад'ювант, який є відомим середньому спеціалісту у даній галузі техніки, передбачається даним винаходом та легко адаптується до даного винаходу. Прийнятні ад'юванти для застосування у вакцинації тварин можуть включати, але без обмеження, гідроксид алюмінію, сапонін та його очищений компонент Quil A, повний ад'ювант Фрейнда (CFA) та неповний ад'ювант Фрейнда (IFA). Сульфат декстрану був продемонстрований як потужний стимулятор IgG2 антитіла проти стафілококових антигенів поверхні клітин, він також є прийнятним як ад'ювант. Спеціаліст у даній галузі техніки зможе оцінити, що деякі ад'юванти можуть бути більш переважними для ветеринарного застосування, у той час як інші ад'юванти будуть бажаними для застосування у людей, та що токсичності ад'ювантів необхідно брати до уваги кваліфікованому спеціалісту перед введенням сполуки людині.

Композиції, прийнятні для парентерального, підшкірного, внутрішньовенного, внутрішньом'язового введення та подібних до них; а також прийнятні фармацевтичні носії; та методики для композицій та введення можуть бути одержані шляхом будь-якого зі способів, що є добре відомими у галузі техніки (див., наприклад, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 20-е видання, 2000). Рідкі дозовані форми для перорального введення сполук згідно з винаходом включають фармацевтично прийнятні емульсії, мікроемульсії, розчини, суспензії, сиропи та еліксири. На доповнення до активного інгредієнту, рідкі дозовані форми можуть містити інертний розріджувач, що звичайно використовується у галузі техніки, такий, як, наприклад, вода або інші розчинники, солюбілізувальні агенти та емульгатори, такі як етиловий спирт, ізопропіловий спирт, етил карбонат, етил ацетат, бензиловий спирт, бензилбензоат, пропіленгліколь, 1,3-бутиленгліколь, олії (зокрема, олія з насіння бавовника, земляного горіху, кукурудзи, зародків, маслин, касторові та сезамові олії), гліцерин, тетрагідрофуриловий спирт, поліетиленгліколи та естери жирної кислоти сорбіту та їх суміші.

Фрази "парентеральне введення" та "вводиться парентерально", як використовується в даній заявці, означає способи введення, відмінні від ентерального та топікального введення, що звичайно вводяться шляхом ін'єкції та включають, без обмеження, внутрішньовенну, внутрішньом'язову, інтраартеріальну, інтратекальну, інтракапсулярну, інтраорбітальну,

інтракардіальну, інтрадермальну, інтраперитонеальну, інтратрахеальну, підшкірну, внутрішньошкірну, інтраартикулярну, субкапсулярну, субарахноїдальну, інтраспінальну та інтратермальну ін'єкцію та інфузію.

Визначення терапевтично ефективної дози знаходиться у межах професійної кваліфікації спеціаліста у даній галузі техніки. Терапевтично ефективна доза відноситься до кількості імункон'югату, що може використовуватися для ефективного лікування захворювання (наприклад, раку), у порівнянні з ефективністю, що є вираженою у разі відсутності терапевтично ефективної дози.

Терапевтично ефективна доза може бути спочатку оцінена на тваринних моделях (наприклад, пацюках, мишах, кролях, собаках або свинях). Тваринна модель може також використовуватися для визначення прийнятного інтервалу концентрації та способу введення. Така інформація може потім використовуватися для визначення корисних доз та способів введення людям. Терапевтична ефективність та токсичність (наприклад, ED50 - доза, що є терапевтично ефективною у 50 % популяції, а LD50 - це доза, що є летальною для 50 % популяції) імункон'югату може бути визначена за допомогою стандартних фармацевтичних процедур у культурі клітин або на експериментальних тваринах. Співвідношення дози токсичності та терапевтичних ефектів являє собою терапевтичний індекс, він може виражатися як співвідношення LD50/ED50. Дані, одержані з дослідження на тваринах, можуть використовуватися для рецептування інтервалу дозувань для використання у людини. Дозування, що міститься у такій композиції, може перебувати у межах інтервалу циркулюючих концентрацій, що включають ED50 з невеликою токсичністю або за її відсутності. Дозування варіюють у межах цього інтервалу в залежності від використовуваної дозованої форми, чутливості пацієнта та способу введення.

Точне дозування може визначатися практикуючим лікарем у зв'язку з факторами, пов'язаними з пацієнтом, який вимагає лікування. Дозування та введення можуть доводитися для забезпечення достатніх рівнів імункон'югату або для підтримання бажаного ефекту. Фактори, що можуть враховуватися, включають тяжкість стану захворювання, загальний стан здоров'я суб'єкта, вік, масу та стать суб'єкта, харчування, час та частоту введення, комбінацію(ї) лікарського засобу, реакції чутливості та толерантності/відповіді на терапію. Полінуклеотиди, що кодують імункон'югати згідно з винаходом, можуть бути сконструйовані та вводитися у клітину або *ex vivo*, або *in vivo* при використанні добре відомих методик включаючи, але без обмеження, трансферин-катіон-опосередкований ДНК перенос, трансфекцію незахищених або інкапсульованих нуклеїнових кислот, опосередковане ліпосомами злиття клітин, внутрішньоклітинне транспортування латексних кульок, вкритих ДНК, злиття протопластів, вірусну інфекцію, електропорацію, "генну гармату" та опосередковану DEAE або фосфатом кальцію трансфекцію.

Ефективні *in vivo* дозування токсифорних компонентів імункон'югату перебувають в інтервалі від приблизно 5 мкг до приблизно 500 мкг/кг від маси тіла пацієнта. Спосіб введення фармацевтичної композиції, що містить імункон'югат даного винаходу, може являти собою будь-який прийнятний спосіб, який доставляє антитіло до хазяїна. Як приклад, фармацевтичні композиції згідно з винаходом можуть бути корисними для парентерального введення (наприклад, підшкірного, внутрішньом'язового, внутрішньовенного або інтраназального введення). Всі патенти та патентні заявки, які згадані у даному розкритті, є чітко введенними у дану заявку як посилання. Приведене вище розкриття у загальних рисах описує даний винахід. Більш повне розуміння може бути одержане з посиланням на наступні специфічні приклади, які забезпечуються тільки з метою ілюстрації та не є призначеними для обмеження об'єму згідно з даним винаходом.

ПРИКЛАДИ

ПРИКЛАД 1: Ефективність імункон'югату у мишачій ксенографтній моделі карциноми підшлункової залози людини, що експресує мезотелін

Для того, щоб проаналізувати, чи є здатними анти-мезотелінові імункон'югати знижувати ріст пухлини залежним від мезотеліну чином, клітини карциноми підшлункової залози людини (MiaPaCa-2) стабільно трансфікували за допомогою мезотеліну та використовували для забезпечення підшкірного росту мишачої моделі пухлини. Клітинну лінію карциноми кишечника людини HT29 використовували для встановлення мезотелін-негативного контролю пухлини у дослідженні ефективності. MiaPaCa клітини підтримували як прикріплені культури у DMEM середовищі з доданням 10 % (об./об.) FCS, 2,5 % (об./об.) сироватки коня, 1,5 г/л карбонату натрію, 4,5 г/л глюкози, 4 мМ глутаміну та 0,4 % (об./об.) гігromіцину. HT29 клітинми культивували у 5a середовищі МакКоя з 1,5 мМ глутаміну, 2,2 г/л карбонату натрію та 10 % (об./об.) FCS. Експресію мезотеліну MiaPaCa-2 клітинами та відсутність мезотеліну у HT29

клітинах підтверджували за допомогою FACS (не представлено). Для оцінки росту *in vivo* пухлинних клітин самок NMRI безтимусних мишей підшкірно інокулювали у праву сторону тулуба за допомогою 3×10^6 MiaPaCa-2 клітин або 1×10^6 HT29 клітин, що були ресуспендовані у 50 % MatrigelTM та 50 % середовища. Як анти-мезотелінові імунотоксофори аналізували MF-J-SPDB-DM4, MF-T-SPDB-DM4, MF226-SPDB-DM4 та MOR6640-SPDB-DM4 при лікувальних дозах 0,01 мг/кг, 0,03 мг/кг, 0,05 мг/кг та 0,2 мг/кг (відносяться до кількості токсифору). MF-J-SPDB-DM4, MF-T-SPDB-DM4, MF226-SPDB-DM4 та MOR6640-SPDB-DM4 одержували при використанні наступної процедури: анти-мезотелінові антитіла модифікували при використанні 4-[2-піридилдитіо]масляної кислоти N-гідроксисукцинімідного естеру (SPDB) для введення груп дитіопіридилу. При концентрації антитіла 8 мг/мл використовували ~6-кратний молярний надлишок SPDB (~20 мМ маточний розчин у EtOH) для модифікації антитіла. Модифіковані антитіла піддавали реакції з 1,7-кратним молярним надлишком вільної форми тіолу майтансінної кислоти з доданням тіопіридилу. Реакцію здійснювали при концентрації антитіла 2,5 мг/мл у присутності 3 % диметилацетаміду (3 % об./об.) протягом 20 годин при кімнатній температурі. Реакційну суміш для кон'югації очищали від лікарського засобу, що не прореагував, та побічні продукти реакції видаляли при використанні знесольовальної колонки Sephadex G25. Кількість молекул майтансінної кислоти на антитіло підраховували шляхом вимірювання поглинання при 252 нм та при 280 нм, використовуючи коефіцієнти екстинкції 224000 М-1 см-1 для антитіла та 5180 М-1 см-1 для DM4 при 280 нм. Співвідношення поглинання 252 нм/280 нм складало 0,37 для антитіла та 5,05 для DM4.

Лікування починали після приживлення пухлини через 5 днів після інокуляції пухлини, після чого проводили два додаткових лікування у дні 8 та 12 після інокуляції пухлиною. Контрольних мишей обробляли або при використанні 0,2 мг/кг нецільового імунотоксофору (анти-лізоцим-SPDB-DM4), або при використанні рівних об'ємів, що містили тільки носій (10 мМ гістидину, 130 мМ гліцину, 5 % (мас./об.) цукрози, рН 5,5). Лікування проводили при використанні об'єму дози 100 мкл/10 г ваги тіла за допомогою внутрішньовенного введення. Групи складалися з 6 тварин кожна. Стан здоров'я мишей перевіряли щоденно. Довжину та ширину підшкірних пухлин вимірювали при використанні електронного штангенциркуля двічі на тиждень. Площу пухлини підраховували за допомогою формули: площа пухлини [мм²] = довжина [мм] x ширина [мм]. Усі одержані в експерименті дані записували. Приклад протипухлинної ефективності анти-мезотелінового імунотоксофору MF-T-SPDB-DM4 стосовно трансфікованих мезотеліном клітин карциноми підшлункової залози людини при різних дозах лікування є представленим на Фігурі 1. Самок NMRI безтимусних мишей інокулювали при використанні 3×10^6 позитивних за мезотеліном клітин карциноми підшлункової залози людини MiaPaCa-2 (А) або 1×10^6 негативних за мезотеліном клітин карциноми кишечника людини HT29 (В), ресуспендованих у 50 % MatrigelTM/50 % середовища, в їх праву частину тулуба. Через 5, 8 та 12 днів після інокуляції пухлинними клітинами миші одержували 0,01, 0,03, 0,05, 0,2 мг/кг MF-T-SPDB-DM4, (усі концентрації відносяться до кількості токсифору) або тільки носій. Вимірювали довжину та ширину пухлини двічі на тиждень, та площу пухлини підраховували шляхом множення ширини на довжину. Будували графік на основі середніх значень та середнього квадратичного відхилення для кожної групи та часу вимірювання. Усі n=6. Зірочка показує Р-значення < 0,05.

Лікування мишей, що несуть пухлини, виявило, що всі проаналізовані анти-мезотелінові імунотоксофори були здатними пригнічувати ріст позитивних за мезотеліном MiaPaCa-2 пухлин *in vivo* при дозах 0,03 мг/кг, 0,05 мг/кг та 0,2 мг/кг. При дозах 0,05 мг/кг та 0,2 мг/кг MF-T-SPDB-DM4 відбувалася повна ерадикація пухлини без її повторного росту до кінця періоду спостереження, що складав 132 дні. 0,05 мг/кг нецільового контролю анти-лізоцим-SPDB-DM4 не виявило впливу на ріст позитивних за мезотеліном MiaPaCa пухлин (Таблиця 1). У порівнянні з необробленими та обробленими носієм пухлинами, ріст негативних за мезотеліном клітин HT29 суттєво не знижувався при найвищій дозі 0,2 мг/кг MF-T-SPDB-DM4. Це демонструє, що сильна інгібіторна ефективність MF-T-SPDB-DM4 є залежною від експресії мезотеліну у пухлині.

Таблиця 1: Ефективність інгібування пухлини за допомогою анти-мезотелінових імунотоксофотів у позитивній за мезотеліном MiaPaCa ксенографтній пухлинній моделі.

++ ерадикація пухлини а) повна ерадикація пухлини протягом 132 днів

+ редукція/регресія б) повторний ріст пухлини в усіх тварин (n=6)

- ніяких ознак ефекту, тривалість експер. 20-30 дн. протягом 132 дн.

не визн. - не визначали

α-лізоцим-DM4 (контроль)

не визн.

не визн.

не визн.

0,2 мг/кг
0,05 мг/кг
0,03 мг/кг
0,01 мг/кг

	MF-J-DM4	MOR-6640-DM4	MF-T-DM4	MF-226-DM4	α Lysozyme-DM4 (control)
DM4/Ab	2.8	3.6	3.6	3.3	4.0-4.1
0.01 mg/kg	-	-	-	-	n.d.
0.03 mg/kg	n.d.	+	+	+	n.d.
0.05 mg/kg	+	+	++ a)	+	-
0.2 mg/kg	+	++ b)	++ a)	++	+ b)

++ tumor eradication
+ reduction / regression
- no sign. Effect, Exp. duration 20-30 d
n.d. not determined

a) Complete eradication over 132 d
b) Tumor regrowth in all animals (n=6) within 132 d

5

ПРИКЛАД 2: Ефективність у пухлинах, що ендogenно експресують мезотелін, та порівняння різних лінкерів

Для того, щоб проаналізувати, чи є здатними анти-мезотелінові імунокон'югати *in vivo* пригнічувати ріст пухлинних клітин, що ендogenно експресують мезотелін, використовували ксенографтну модель при використанні підшкірного вирощування людських клітин карциноми шийки матки (HeLaMATU). HeLaMATU клітини підтримували як прикріплені культури на DMEM/HAMS12 середовищі, доповненому 10 % (об./об.) FCS, 2,5 % (об./об.) конячої сироватки, 1 % пірувату натрію та 1 % (мас./об.) глутаміну. Експресію мезотеліну підтверджували за допомогою FACS аналізу *in vitro*. Самок NMRI безтимусних мишей підшкірно інокулювали у праву сторону тулуба за допомогою $1,5 \times 10^6$ HeLaMATU клітин або 1×10^6 HT29 клітин, що були ресуспендовані у 50 % Matrigel™/50 % середовища. Додатково розглядали, чи приводить заміна розщеплюваного SPDB-лінкера полярним (-сульфо-SPDB), прийнятним лінкером (-SMCC) або полярним прийнятним лінкером (-(PEG)4-mal) до зміни протипухлинної ефективності на основі імунокон'югату MOR6640 *in vivo*. Мишей, що несуть HeLaMATU пухлину, піддавали внутрішньовенному лікуванню при використанні 0,2 мг/кг будь-якого з MOR6640-SPDB-DM4, MOR6640-SMCC-DM1, MOR6640-сульфо-SPDB-DM4 або MOR6640-(PEG)4-mal-DM1 (відносяться до кількості токсифору) у дні 5, 8 та 12 після інокуляції пухлинних клітин. Контрольних мишей обробляли або при використанні 0,2 мг/кг нецільового імунокон'югату (анти-лізоцим-SPDB-DM4), або при використанні рівних об'ємів, що містять тільки носій. Групи складалися з 6 тварин кожна. Стан здоров'я мишей перевіряли щоденно. Довжину та ширину підшкірних пухлин вимірювали при використанні електронного штангенциркуля двічі на тиждень. Площу пухлини підраховували за допомогою формули: площа пухлини [мм²] = довжина [мм] x ширина [мм]. Одержані дані представлені на Фігурі 2. Лікування мишей, що несуть пухлини, показало а) що анти-мезотелінові імунокон'югати були ефективними у супресії росту пухлин, що ендogenно експресують мезотелін *in vivo*, та б) що кон'югати з розщеплюваними лінкерами (MOR6640-SPDB-DM4 та MOR6640) продемонстрували більш високу протипухлинну ефективність, ніж кон'югати з прийнятними лінкерами (MOR6640-SMCC-DM1 та MOR6640-(PEG)4-mal-DM1). Зокрема, MOR6640-SPDB-DM4 та MOR6640-сульфо-SPDB-DM4 приводили до ерадикації пухлини в усіх оброблених тварин через 11 днів після останнього лікування, в той час, як лікування при використанні MOR6640-SMCC-DM1 та MOR6640-(PEG)4-mal-DM1 приводило тільки до відстрочування росту пухлини. Проте через 11 днів після останнього лікування площі пухлин, які були оброблені за допомогою MOR6640-SMCC-DM1 та MOR6640-(PEG)4-mal-DM1, відповідно, були значно меншими у порівнянні із пухлинами, обробленими носієм або анти-лізоцим-SPDB-DM4. Нецільовий контрольний кон'югат не виявляв впливу на ріст пухлин. Для того, щоб порівняти протипухлинну ефективність різноманітних лінкерів у другій ксенографтній моделі, ми використовували модель підшкірного росту клітин MiaPaCa-2, трансфікованих носієм або мезотеліном (#37) (клітини карциноми людської підшлункової залози). MiaPaCa-2-носій та MiaPaCa-2#37 підтримували як прикріплені культури у DMEM середовищі з додаванням 10 % (об./об.) FCS, 1 % глутаміну та 0,1 мМ неесенціальних амінокислот. Експресію мезотеліну підтверджували за допомогою FACS аналізу та за допомогою імунохімічного аналізу підшкірної пухлини *ex vivo*. Самок NMRI безтимусних мишей підшкірно інокулювали у праву сторону тулуба за допомогою 3×10^6 MiaPaCa-2-носія та MiaPaCa-2#37 клітин, ресуспендованих у 50 % Matrigel™/50 % середовища, відповідно, у праву частину тулуба. Мишей, що несуть пухлини, піддавали внутрішньовенному лікуванню при використанні 0,5 мг/кг будь-якого з MOR6640-SPDB-DM4, MOR6640-SMCC-DM1, MOR6640-Sulfo-SPDB-DM4 або MOR6640-(PEG)4-mal-DM1 (відносяться до кількості токсифору) у день 5, 8

та 12 після інокуляції пухлинних клітин. Контрольних мишей обробляли або при використанні 0,05 мг/кг нецільового імунокон'югату (анти-лізоцим-SPDB-DM4), або при використанні рівних об'ємів, що містять тільки носій. Групи склалися з 6 тварин кожна. Стан здоров'я мишей перевіряли щоденно. Довжину та ширину підшкірних пухлин вимірювали при використанні електронного штангенциркуля двічі на тиждень. Площу пухлини підраховували за допомогою формули: площа пухлини [мм²] = довжина [мм] x ширина [мм]. Дані стосовно росту пухлини є представленими на Фігурах 3. У мишей, що несуть пухлини, які експресують мезотелін, лікування при використанні MOR6640-SPDB-DM4 та MOR6640-сульфо-SPDB-DM4 приводило до ерадикації пухлини в усіх оброблених тварин через 12 днів після останнього лікування. Проте повторний ріст цих пухлин одержували через 10 днів (Фігура 3А). Лікування за допомогою MOR6640-SMCC-DM1, MOR6640-(PEG)4-mal-DM1 та анти-лізоцим-SPDB-DM4 значним чином не впливало на ріст пухлини. На противагу до пухлин, які експресують мезотелін, жодна з обробок не приводила до зміни росту трансфікованих носієм клітин MiaPaCa-2 in vivo (Фігура 3В).

ПРИКЛАД 3: In vitro цитотоксичність анти-мезотелінових імунокон'югатів

Для оцінки цитотоксичності анти-мезотелінових імунокон'югатів різноманітні лінії клітин, що експресують мезотелін, вирощували до 80-90 % конфлуентності, піддавали трипсинізації та підраховували. Клітини потім висівали на планшети з плоским дном на 384 комірки при 800 з використанням 25 мкл об'єму на комірку в їх ростовому середовищі для усіх ліній клітин. Комірки, що містили тільки середовище, використовували для встановлення "порожнього" значення для віднімання. Через 24 години після висівання MF-J-SPDB-DM4, MF-226-SPDB-DM4 MOR6640-SPDP-DM4, MF226-SPDP-DM4 та анти-лізоцим-SPDP-DM4 піддавали дозуванню в інтервалі доз від 0,01 до 300 нМ. Здійснювали трьохкратні повторності для кожного розведення. Вимірювання критичних точок здійснювали через 96 годин. Життєздатність клітин оцінювали за допомогою WST-1 аналізу (Roche кат. номер 1644807). IC50 значення є представленими у Таблиці 2. Криві залежності відповіді від дози, які демонструють in vitro цитотоксичність MF-T-SPDP-DM4 на клітинах HelaMatu, є представленими на Фігурі 4.

Таблиця 2:

нМ IC50 значення анти-мезотелінових імунокон'югатів на клітинних лініях, що експресують мезотелін

IC50 (нМ)	MF-J-SPDP-DM4	MOR06640-SPDP-DM4	MF-T-SPDP-DM4	MF-226-SPDP-DM4	α -лізоцим-SPDP-DM4 (контроль)
MiaPaCa-2 (Мезотелін+)	1,4	0,36	1,3	21	>100
MiaPaCa-2 (Мезотелін-)	>100	>100	>100	>100	>100
HT29 C2 (Мезотелін+)	0,3	0,21	1,5	8	18
HT29 V (Мезотелін-)	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
CHO A9* (Мезотелін+)	0,35	1,2	1,0	1,3	> 50
CHO K1* (Мезотелін-)	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
DU145	5,2	5,1	9	10	-
HCT116	9,0	20,7	17,2	26,5	33,1
SW480	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
MDAMB231	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
MCF10a	> 50	> 50	> 50	> 50	> 50
HelaMatu	0,2	0,6	0,45	0,9	0,4
OVCAR-3	0,9	1,07	2,8	14,8	>100
KD Fab (нМ)	9,2	0,19	16,3	58,3	

Таблиця 3:

Послідовності антитіл

Антитіло	HCDR1	HCDR2	HCDR3	LCDR1	LCDR2	LCDR3	VH білкова	VL білкова	VH нуклеотидна	VL нуклеотидна
	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID	SEQ ID
MF-J	1	4	7	10	13	16	20	24	28	32
MOR 06640	1	4	7	10	13	17	21	25	29	33
MF-226	2	5	8	11	14	18	22	26	30	34
MF-T	3	6	9	12	15	19	23	27	31	35

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

<110> БАЄР ФАРМА АКЦІЕНГЕЗЕЛЬШАФТ

<120> Імунокон'югати анти-мезотеліну та їх застосування

<130> ВНС 09 1 008

<160> 36

<170> PatentIn версія 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 1

Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr Trp Ile Gly
 1 5 10

<210> 2

<211> 10

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 2

Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Asn Tyr Ile Asn
 1 5 10

<210> 3

<211> 10

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 3

Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr Trp Ile Gly
 1 5 10

<210> 4

<211> 20

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 4

Trp Met Gly Val Ile Met Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro
 1 5 10 15

Ser Phe Gln Gly
 20

<210> 5

<211> 20

<212> Білок

<213> Homo sapiens

<400> 5

Trp Met Gly Ile Ile Asn Pro His Gly Gly Asp Thr Lys Tyr Ala Gln
1 5 10 15

Lys Phe Gln Gly
20

<210> 6
<211> 20
<212> Блок
<213> Homo sapiens

<400> 6

Trp Met Gly Ile Ile Asp Pro Gly Asp Ser Arg Thr Arg Tyr Ser Pro
1 5 10 15

Ser Phe Gln Gly
20

<210> 7
<211> 12
<212> Блок
<213> Homo sapiens

<400> 7

Tyr Gly His Gly Met Tyr Gly Gly Ala Leu Asp Val
1 5 10

<210> 8
<211> 10
<212> Блок
<213> Homo sapiens

<400> 8

Trp His His Gly Thr Trp Ile Phe Asp Tyr
1 5 10

<210> 9
<211> 11
<212> Блок
<213> Homo sapiens

<400> 9

Gly Gln Leu Tyr Gly Gly Thr Tyr Met Asp Gly
1 5 10

<210> 10
<211> 12
<212> Блок
<213> Homo sapiens

<400> 10

Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Ser Arg Leu Ala
1 5 10

```

<210> 11
<211> 13
<212> БЛЮК
<213> Homo sapiens
<400> 11
Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn Tyr Val Ser
1          5          10

<210> 12
<211> 14
<212> БЛЮК
<213> Homo sapiens
<400> 12
Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Gly Tyr Asn Ser Val Ser
1          5          10

<210> 13
<211> 11
<212> БЛЮК
<213> Homo sapiens
<400> 13
Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Lys Arg Ala Thr
1          5          10

<210> 14
<211> 11
<212> БЛЮК
<213> Homo sapiens
<400> 14
Leu Leu Ile Tyr Asn Asp Asn Gln Arg Pro Ser
1          5          10

<210> 15
<211> 11
<212> БЛЮК
<213> Homo sapiens
<400> 15
Leu Met Ile Tyr Gly Val Asn Asn Arg Pro Ser
1          5          10

<210> 16
<211> 8
<212> БЛЮК
<213> Homo sapiens
<400> 16
Gln Gln Tyr Tyr Asp Phe Pro Pro
1          5

<210> 17

```

```

<211> 9
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<400> 17
Gln Gln Tyr Ser His Asp Pro Ser Gly
1 5

<210> 18
<211> 9
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<400> 18
Ser Thr Tyr Asp Arg Arg Thr Phe Ser
1 5

<210> 19
<211> 10
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<400> 19
Ser Ser Tyr Asp Ile Glu Ser Ala Thr Pro
1 5 10

<210> 20
<211> 121
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<400> 20
Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
20 25 30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Val Ile Met Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Arg Tyr Gly His Gly Met Tyr Gly Gly Ala Leu Asp Val Trp Gly
100 105 110

```



```

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115                      120

<210> 21
<211> 121
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<400> 21
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1          5          10          15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Asn Tyr
      20          25          30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
      35          40          45

Gly Val Ile Met Pro Ser Asp Ser Tyr Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
      50          55          60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
      65          70          75          80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
      85          90          95

Ala Arg Tyr Gly His Gly Met Tyr Gly Gly Ala Leu Asp Val Trp Gly
      100          105          110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115                      120

<210> 22
<211> 119
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<400> 22
Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
1          5          10          15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Asn
      20          25          30

Tyr Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
      35          40          45

Gly Ile Ile Asn Pro His Gly Gly Asp Thr Lys Tyr Ala Gln Lys Phe
      50          55          60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

```

```

65              70              75              80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
      85              90              95

Ala Arg Trp His His Gly Thr Trp Ile Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
      100             105             110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115

<210> 23
<211> 120
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<400> 23

Gln Val Glu Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Glu
1              5              10              15

Ser Leu Lys Ile Ser Cys Lys Gly Ser Gly Tyr Ser Phe Thr Ser Tyr
      20              25              30

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Met
      35              40              45

Gly Ile Ile Asp Pro Gly Asp Ser Arg Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
      50              55              60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Ala Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
      65              70              75              80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
      85              90              95

Ala Arg Gly Gln Leu Tyr Gly Gly Thr Tyr Met Asp Gly Trp Gly Gln
      100             105             110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115              120

<210> 24
<211> 110
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<400> 24

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1              5              10              15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Ser
      20              25              30

```

Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Lys Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Tyr Asp Phe Pro
85 90 95

Pro Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

<210> 25
<211> 111
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<400> 25

Asp Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Ser
20 25 30

Arg Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Lys Arg Ala Thr Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Ser His Asp Pro
85 90 95

Ser Gly Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
100 105 110

<210> 26
<211> 111
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<400> 26

Asp Ile Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

```

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
      20              25              30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
      35              40              45

Ile Tyr Asn Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
      50              55              60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
      65              70              75              80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr Tyr Asp Arg Arg Thr
      85              90              95

Phe Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
      100             105             110

<210> 27
<211> 224
<212> ELMOK
<213> Homo sapiens

<400> 27

Asp Ile Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Pro Gly Gln
 1              5              10              15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Gly Tyr
      20              25              30

Asn Ser Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
      35              40              45

Met Ile Tyr Gly Val Asn Asn Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
      50              55              60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
      65              70              75              80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Asp Ile Glu
      85              90              95

Ser Ala Thr Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
      100             105             110

Gln Asp Ile Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Gly Ala Pro Gly
      115             120             125

Gln Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser
      130             135             140

```

Asn Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
145 150 155 160

Leu Ile Tyr Asn Asp Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
165 170 175

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Thr Gly Leu
180 185 190

Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Thr Tyr Asp Arg Arg
195 200 205

Thr Phe Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly Gln
210 215 220

<210> 28
<211> 363
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 28
caggtggaat tgggtcagag cggcgcgga gtgaaaaaac cgggcgaaag cctgaaaatt 60
agctgcaaag gttccggata ttcctttact aattattgga ttggttggt gcgccagatg 120
cctgggaagg gtctcgagt gatgggcgt atcatgccgt ctgatagcta taccggttat 180

tctccgagct ttcagggcca ggtgaccatt agcgcgata aaagcattag caccgcgtat 240
cttcaatgga gcagcctgaa agcgagcgat acggccatgt attattgcgc gcgttatggt 300
catggtatgt atggtggtgc tcttgatgt tggggccaag gcaccctggt gacgggttagc 360
tca 363

<210> 29
<211> 363
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 29
caggtgcaat tgggtcagag cggcgcgga gtgaaaaaac cgggcgaaag cctgaaaatt 60
agctgcaaag gttccggata ttcctttact aattattgga ttggttggt gcgccagatg 120
cctgggaagg gtctcgagt gatgggcgt atcatgccgt ctgatagcta taccggttat 180

tctccgagct ttcagggcca ggtgaccatt agcgcgata aaagcattag caccgcgtat 240
cttcaatgga gcagcctgaa agcgagcgat acggccatgt attattgcgc gcgttatggt 300
catggtatgt atggtggtgc tcttgatgt tggggccaag gcaccctggt gacgggttagc 360
tca 363

<210> 30
<211> 357
<212> ДНК

```

<213> Homo sapiens

<400> 30
caggtggaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgcgag cgtgaaagtg      60
agctgcaaag cctccgata tacctttact ggtaattata ttaattgggt ccgccaagcc      120
cctgggcagg gtctcgagt gatgggcatt atcaatccgc atgggtggcg tacgaagtac      180
gcgcagaagt ttcaggccg ggtgaccatg acccgtgata ccagcattag caccgcgtat      240
atggaactga gcagcctgcg tagcgaagat acggccgtgt attattgcgc gcgttggcat      300
catggtactt ggatttttga ttattggggc caaggcaccg tggtgacggt tagctca      357

<210> 31
<211> 360
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 31
caggtggaat tggttcagag cggcgcggaa gtgaaaaaac cgggcgaaag cctgaaaatt      60
agctgcaaag gttccgata ttctttact tcttattgga ttggttgggt gcgccaggcc      120
cctgggaagg gtctcgagt gatgggcatt atcgatccgg gtgatagccg taccggttat      180
tctccgagct ttcagggccg ggtgaccatt agcgcggata aaagcattag caccgcgtat      240
cttcaatgga gcagcctgaa agcagagcgt acggccatgt attattgcgc gcgtggtcag      300
ctttatggtg gtacttatat ggatggttgg ggccaaggca ccctggtgac ggttagctca      360

<210> 32
<211> 330
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 32
gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccggggcg acgtgcgacc      60
ctgagctgca gagcgagcca gtctgttcgt tcttctcgtc tggttggta ccagcagaaa      120
ccagggtcaag caccgcgtct attaatattt ggtgcttcta agcgtgcaac tggggtcccg      180
gcgcgtttta gcggctcttg atccggcacg gattttaccc tgaccattag cagcctggaa      240
cctgaagact ttgcgactta ttattgccag cagtattatg attttctctc tacctttggc      300
cagggtagca aagttgaaat taaacgtaag      330

<210> 33
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 33
gatatcgtgc tgaccagag cccggcgacc ctgagcctgt ctccggggcg acgtgcgacc      60
ctgagctgca gagcgagcca gtctgttcgt tcttctcgtc tggttggta ccagcagaaa      120
ccagggtcaag caccgcgtct attaatattt ggtgcttcta agcgtgcaac tggggtcccg      180
gcgcgtttta gcggctcttg atccggcacg gattttaccc tgaccattag cagcctggaa      240

```

cctgaagact ttgcggtgta ttattgccag cagtattctc atgacccctc tggtagcctt 300
ggccagggtg cgaaggtga aattaaacgt acg 333

<210> 34
<211> 333
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 34
gatatcgtgc tgaccagcc gccttcagtg agtggcgac caggtcagcg tgtgaccatc 60
tcgtgttagcg gcagcagcag caacattggt tctaattatg tgtcttggtg ccagcagttg 120
cccggaagcg cgccgaaact tctgatttat aatgataatc agcgtccctc aggcgtgccg 180
gatcgtttta gcggtccaa aagcggcacc agcgcgagcc ttgcgattac gggcctgcaa 240
agcgaagacg aagcggatta ttattgctct acttatgacg gtcgtacttt ttctgtgttt 300
ggcggcggca cgaagttaac cgtcctaggt cag 333

<210> 35
<211> 339
<212> ДНК
<213> Homo sapiens

<400> 35
gatatcgac tgaccagcc agcttcagtg agcggctcac caggtcagag cattaccatc 60
tcgtgtacgg gtactagcag cgaatgttggg ggttataatt atgtgtcttg gtaccagcag 120
catcccgga aggcgcgaa acttatgatt tattctgttt ctaagcgtcc ctcaggcgtg 180
agcaaccgtt ttagcggatc caaaagcggc aacaccgca gcctgaccat tagcggcctg 240
caagcgggaag acgaagcggg ttattattgc gctacttggg atcattctca gatgggtaag 300
gtgtttggcg gcggcacgaa gtttaaccgtc ctaggtcag 339

<210> 36
<211> 327
<212> Білок
<213> Homo sapiens

<400> 36

Glu Val Glu Lys Thr Ala Cys Pro Ser Gly Lys Lys Ala Arg Glu Ile
1 5 10 15

Asp Glu Ser Leu Ile Phe Tyr Lys Lys Trp Glu Leu Glu Ala Cys Val
20 25 30

Asp Ala Ala Leu Leu Ala Thr Gln Met Asp Arg Val Asn Ala Ile Pro
35 40 45

Phe Thr Tyr Glu Gln Leu Asp Val Leu Lys His Lys Leu Asp Glu Leu
50 55 60

```

Tyr Pro Gln Gly Tyr Pro Glu Ser Val Ile Gln His Leu Gly Tyr Leu
65                               70                               75                               80

Phe Leu Lys Met Ser Pro Glu Asp Ile Arg Lys Trp Asn Val Thr Ser
85                               90                               95

Leu Glu Thr Leu Lys Ala Leu Leu Glu Val Asn Lys Gly His Glu Met
100                             105                             110

Ser Pro Gln Val Ala Thr Leu Ile Asp Arg Phe Val Lys Gly Arg Gly
115                             120                             125

Gln Leu Asp Lys Asp Thr Leu Asp Thr Leu Thr Ala Phe Tyr Pro Gly
130                             135                             140

Tyr Leu Cys Ser Leu Ser Pro Glu Glu Leu Ser Ser Val Pro Pro Ser
145                             150                             155                             160

Ser Ile Trp Ala Val Arg Pro Gln Asp Leu Asp Thr Cys Asp Pro Arg
165                             170                             175

Gln Leu Asp Val Leu Tyr Pro Lys Ala Arg Leu Ala Phe Gln Asn Met
180                             185                             190

Asn Gly Ser Glu Tyr Phe Val Lys Ile Gln Ser Phe Leu Gly Gly Ala
195                             200                             205

Pro Thr Glu Asp Leu Lys Ala Leu Ser Gln Gln Asn Val Ser Met Asp
210                             215                             220

Leu Ala Thr Phe Met Lys Leu Arg Thr Asp Ala Val Leu Pro Leu Thr
225                             230                             235                             240

Val Ala Glu Val Gln Lys Leu Leu Gly Pro His Val Glu Gly Leu Lys
245                             250                             255

Ala Glu Glu Arg His Arg Pro Val Arg Asp Trp Ile Leu Arg Gln Arg
260                             265                             270

Gln Asp Asp Leu Asp Thr Leu Gly Leu Gly Leu Gln Gly Gly Ile Pro
275                             280                             285

Asn Gly Tyr Leu Val Leu Asp Leu Ser Met Gln Glu Ala Leu Ser Gly
290                             295                             300

Thr Pro Cys Leu Leu Gly Pro Gly Pro Val Leu Thr Val Leu Ala Leu
305                             310                             315                             320

Leu Leu Ala Ser Thr Leu Ala
325

```

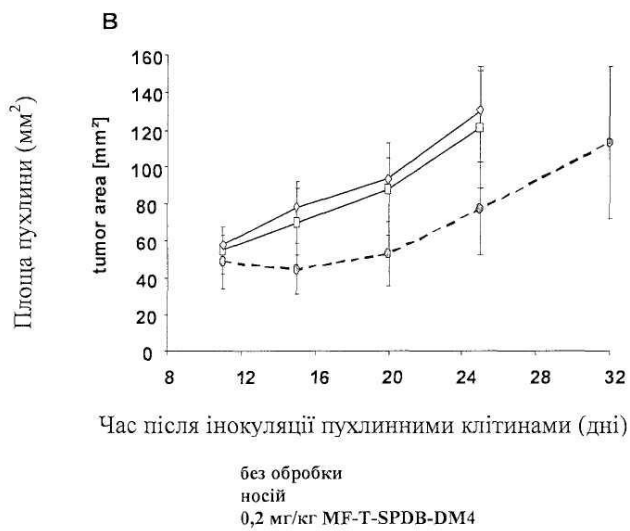
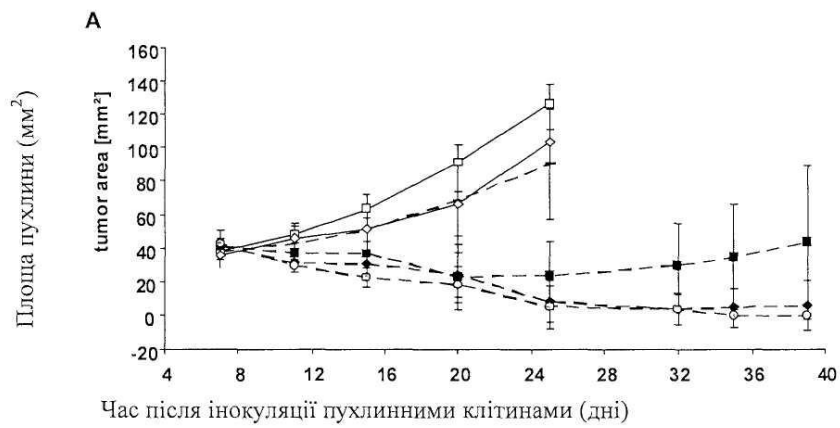
5

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

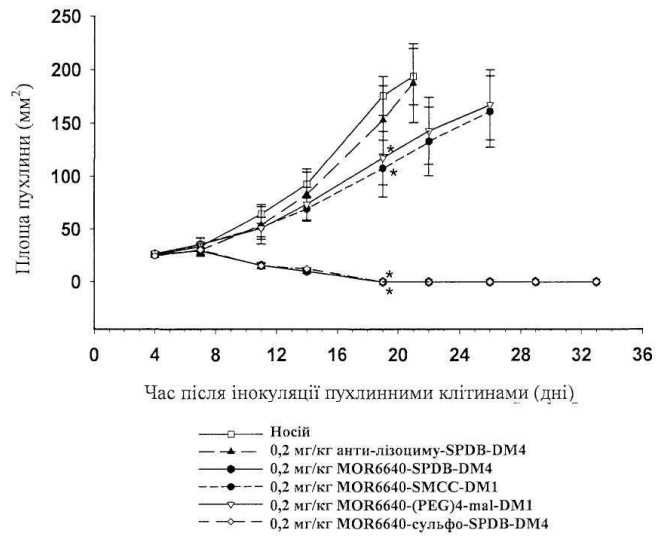
1. Імунокон'югат, що містить цитотоксичний агент та людське або гуманізоване антитіло, або його функціональний фрагмент, який містить антигензв'язувальну ділянку, що є специфічною для мезотеліну (SEQ ID NO: 36), де вказане антитіло або його функціональний фрагмент демонструє інваріантне зв'язування мезотеліну та має антигензв'язувальну ділянку, що містить: у випадку MF-J білкову VH, представлену в SEQ ID NO: 20, та білкову VL, представлену в SEQ ID NO: 24, або у випадку MOR 06640 білкову VH, представлену в SEQ ID NO: 21, та VL білкову, представлену в SEQ ID NO: 25, або у випадку MF-226 білкову VH, представлену в SEQ ID NO: 22, та білкову VL, представлену в SEQ ID NO: 26, або

- у випадку MF-T білкову VH, представлену в SEQ ID NO: 23, та білкову VL, представлену в SEQ ID NO: 27.
2. Імунокон'югат за п. 1, де цитотоксичний агент складається з майтансиноїду або його похідної.
3. Імунокон'югат за п. 1 або 2 для використання в лікуванні пов'язаного з мезотеліном розладу або пов'язаного з мезотеліном раку.
- 5 4. Фармацевтична композиція, що містить імунокон'югат за п. 1 або 2 та фармацевтично прийнятний носій або ексципієнт.
5. Спосіб лікування розладу або стану, пов'язаного з небажаною присутністю мезотеліну, що включає введення суб'єкту, який цього потребує, ефективної кількості фармацевтичної композиції за п. 4.
- 10 6. Спосіб отримання імунокон'югата за п. 1, що включає:
- кон'югування цитотоксичного агента з антитілом або його функціональним фрагментом, що демонструє інваріантне зв'язування мезотеліну та має антигензв'язуючу ділянку, що включає:
- у випадку MF-J білкову VH, представлену в SEQ ID NO: 20, та білкову VL, представлену в SEQ ID NO: 24, або
- 15 у випадку MOR 06640 білкову VH, представлену в SEQ ID NO: 21, та VL білкову, представлену в SEQ ID NO: 25, або
- у випадку MF-226 білкову VH, представлену в SEQ ID NO: 22, та білкову VL, представлену в SEQ ID NO: 26, або
- 20 у випадку MF-T - білкову VH, представлену в SEQ ID NO: 23, та білкову VL, представлену в SEQ ID NO: 27.
7. Спосіб за п. 6, де цитотоксичний агент складається з майтансиноїду або його похідної.

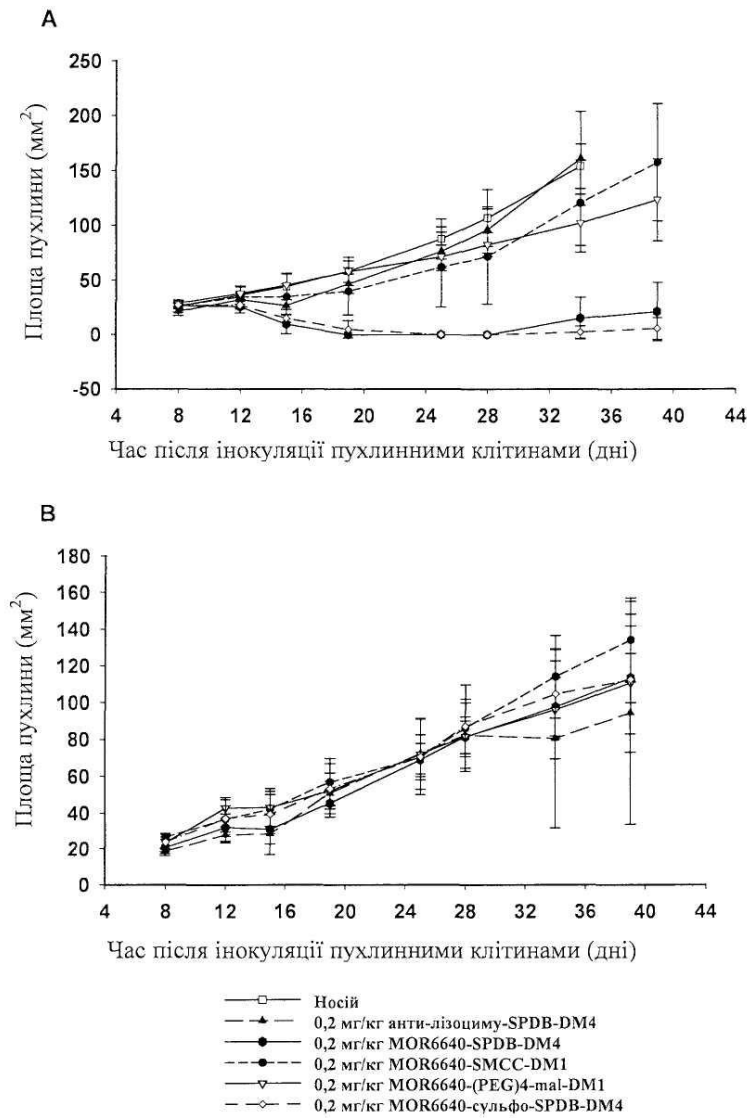
Фігура 1/4



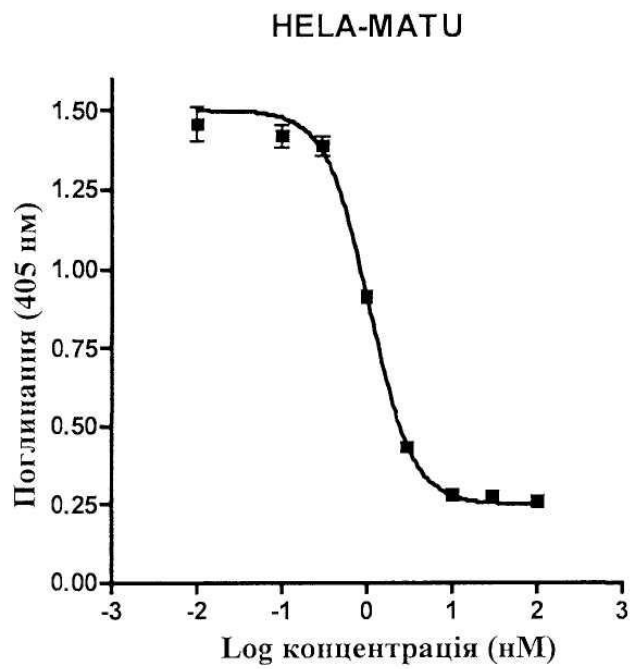
Фігура 2 / 4



Фігура 3 / 4



Фігура 4 / 4



Комп'ютерна верстка І. Скворцова

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601