



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

## (12) ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

(21), (22) Заявка: 2007135216/13, 05.05.2005

(30) Конвенционный приоритет:  
23.02.2005 US 60/655,836

(43) Дата публикации заявки: 27.03.2009 Бюл. № 9

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу:  
24.09.2007(86) Заявка РСТ:  
US 2005/015638 (05.05.2005)(87) Публикация РСТ:  
WO 2006/091209 (31.08.2006)

Адрес для переписки:  
129090, Москва, ул.Б.Спасская, 25, стр.3, ООО  
"Юридическая фирма Городисский и Партнеры",  
пат.пов. А.В.Мицу, рег.№ 364

(71) Заявитель(и):  
МЕРРИМАК ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ИНК. (US)(72) Автор(ы):  
НИЛСЕН Улрик Б. (US),  
ШОЗБЕРЛЬ Биргит М. (US)

## (54) БИСПЕЦИФИЧЕСКИЕ СВЯЗЫВАЮЩИЕ АГЕНТЫ ДЛЯ МОДУЛИРОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ

## (57) Формула изобретения

1. Способ модулирования биологической активности или активностей молекул-мишеней на клетке-мишени, включающий в себя

(а) предоставление биспецифического связывающего агента, имеющего первый связывающий домен с константой диссоциации («Kd») в отношении первой молекулы-мишени на поверхности указанной клетки, равной, по меньшей мере,  $10^{-7}$  М, и второй связывающий домен с аффинностью в отношении второй молекулы-мишени на поверхности указанной клетки, которая, по меньшей мере, в 10 раз ниже, чем Kd первого связывающего домена; где указанная первая и указанная вторая молекулы-мишени, каждая, обладает биологической активностью, которая может быть одинаковой или различной, и

(б) приведение в контакт биспецифического связывающего агента с клеткой-мишенью в условиях, позволяющих первому и второму связывающим доменам связываться с первой и второй молекулами-мишенями, соответственно, где указанное связывание указанных первой и второй молекул-мишеней модулирует биологическую активность или биологические активности молекул-мишеней.

2. Способ по п.1, где биспецифический связывающий агент содержит два антитела.

3. Способ по п.2, где антитела представляют собой диатела, два одноцепочечных Fv, соединенных непосредственно или посредством линкера, Fv, стабилизированные дисульфидом, или их комбинации.

4. Способ по п.1, где клетка-мишень представляет собой злокачественную клетку.

5. Способ по п.1, где первая молекула-мишень представляет собой ассоциированный с опухолью антиген, цитокиновый рецептор или рецептор фактора роста.

6. Способ по п.1, где первая молекула-мишень представляет собой рецептор, являющийся тирозинкиназным рецептором.

7. Способ по п.1, где вторая молекула-мишень выбрана из группы, состоящей из ErbB3, ErbB4, любого из рецепторов FGF 1-4, рецептора HGF, IGF1-R, PDGF, рецепторов альфа и бета и C-KIT.

8. Способ по п.1, где Kd первого связывающего домена в отношении первой молекулы-мишени составляет  $10^{-8}$  и  $10^{-12}$  М.

9. Способ по п.1, где Kd второго связывающего домена в отношении второй молекулы-мишени, по меньшей мере, в 20 раз ниже, чем Kd первого связывающего домена в отношении первой молекулы-мишени.

10. Способ модулирования биологической активности или активностей молекул-мишеней на клетках-мишенях в организме, имеющем клетки-мишени и клетки, не являющиеся клетками-мишенями, и где клетки-мишени имеют первую молекулу-мишень на их внешней поверхности и вторую молекулу-мишень на их внешней поверхности, и где (i) указанные первая и вторая молекулы-мишени не имеют общего лиганда, (ii) указанная первая молекула-мишень, по меньшей мере, в 10 раз больше представлена на поверхности клеток-мишеней, чем на клетках, не являющихся клетками-мишенями, которые также несут вторую молекулу-мишень, и (iii) указанная первая молекула-мишень и указанная вторая молекула-мишень, каждая, обладает биологической активностью, которая может быть одинаковой или различной, этот способ включает в себя

(а) предоставление биспецифического связывающего агента, имеющего первый связывающий домен с Kd в отношении первой молекулы-мишени, по меньшей мере,  $10^{-7}$  М и второй связывающий домен с Kd в отношении второй молекулы-мишени, которая, по меньшей мере, в 10 раз ниже Kd первого связывающего домена; и,

(b) приведение в контакт биспецифического связывающего агента с клетками-мишенями в условиях, позволяющих первому и второму связывающим доменам связываться с первой и второй молекулами-мишенями соответственно,

где указанное связывание указанных первого и второго связывающих доменов модулирует биологическую активность или активности указанных первой и второй молекул-мишеней соответственно.

11. Способ по п.10, где биспецифический связывающий агент содержит два антитела.

12. Способ по п.11, где антитела представляют собой диатела, два одноцепочечных Fv, соединенных непосредственно или посредством линкера, Fv, стабилизированные дисульфидом, или их комбинации.

13. Способ по п.10, где клетка-мишень представляет собой злокачественную клетку.

14. Способ по п.10, где первая молекула-мишень представляет собой ассоциированный с опухолью антиген, цитокиновый рецептор или рецептор фактора роста.

15. Способ по п.10, где первая молекула-мишень представляет собой рецептор, являющийся тирозинкиназным рецептором.

16. Способ по п.15, где вторая молекула-мишень представляет собой ErbB3 (HER3), рецептор инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF1-R), любой из рецепторов FGF 1-4, рецептор HGF, инсулиновый рецептор, любой из рецепторов PDGF  $\alpha$  и  $\beta$ , C-KIT или ErbB4.

17. Способ по п.10, где Kd первого связывающего домена в отношении первой молекулы-мишени составляет от  $10^{-8}$  до  $10^{-12}$  М.

18. Способ по п.10, где Kd второго связывающего домена в отношении второй молекулы-мишени, по меньшей мере, в 20 раз меньше Kd первого связывающего домена в отношении первой молекулы-мишени.

19. Способ по п.10, где Kd второго связывающего домена в отношении второй молекулы-мишени, по меньшей мере, в 50 раз ниже Kd первого связывающего домена в отношении первой молекулы-мишени.

20. Способ по п.10, где указанное модулирование представляет собой снижение активности рецептора, являющегося тирозинкиназой.

21. Биспецифический связывающий агент (bsVA), содержащий первый связывающий

домен с Kd, равной, по меньшей мере,  $10^{-7}$  М, в отношении первой молекулы-мишени на клетке-мишени и второй связывающий домен с Kd в отношении второй молекулы-мишени на клетке-мишени, которая, по меньшей мере, в 10 ниже Kd первого связывающего домена в отношении первой молекулы-мишени, где (i) указанные первая и вторая молекулы-мишени не имеют одинакового природного лиганда, (ii) указанная первая молекула-мишень и указанная вторая молекула-мишень, каждая, обладает биологической активностью, которая может быть одинаковой или различной, и (iii) указанный первый и указанный второй связывающие домены при связывании с указанной первой и указанной второй молекулами-мишенями модулируют биологическую активность или активности первой и второй молекул-мишеней соответственно.

22. bsBA по п.21, где указанная Kd указанного второго связывающего домена более чем в 50 раз ниже Kd первого связывающего домена.

23. bsBA по п.21, где указанная Kd указанного второго связывающего домена в 100 и более раз ниже Kd первого связывающего домена.

24. bsBA по п.21, где указанный bsBA содержит два антитела.

25. bsBA по п.24, где антитела представляют собой диатела, два одноцепочечных Fv, соединенных непосредственно или посредством линкера, Fv, стабилизированные дисульфидом, или их комбинации.

26. bsBA по п.21, где первый связывающий домен связывается с ассоциированным с опухолью антигеном, цитокиновым рецептором или рецептором фактора роста.

27. bsBA по п.21, где первый связывающий домен связывается с тирозинкиназным рецептором.

28. bsBA по п.21, где второй связывающий домен связывается с ErbB3 (HER3), рецептором инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF1-R), любым из рецепторов FGF 1-4, рецептором HGF, инсулиновым рецептором, любым из рецепторов PDGF  $\alpha$  и  $\beta$ , C-KIT или ErbB4.

29. bsBA по п.21, где указанный первый связывающий домен связывается с EGFR, а указанный второй связывающий домен связывается с ErbB3 (HER3).

30. bsBA по п.21, где Kd первого связывающего домена составляет от  $10^{-8}$  до  $10^{-12}$  М.

31. bsBA по п.21, где указанная первая молекула-мишень гиперэкспрессируется, по меньшей мере, в 10 раз больше на клетках-мишенях, по сравнению с ее экспрессией на клетках, не являющихся мишенями.

32. Композиция (а) биспецифического связывающего агента (bsBA) по любому из пп. 21-31, и (b) фармацевтически приемлемого носителя.

33. Применение биспецифического связывающего агента (bsBA) по любому из пп.21-31 для производства лекарственного средства.

34. Применение по п.33, где лекарственное средство предназначено для ингибирования пролиферации злокачественных клеток.

35. Набор, содержащий

(а) контейнер и

(b) биспецифический связывающий агент (bsBA) по любому из пп.21-31.