



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2004 117 915** ⁽¹³⁾ **A**
(51) МПК⁷ **C 07 K 16/18, 9/00, C 12 N**
15/13, A 61 K 39/395, 38/04

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21), (22) Заявка: **2004117915/13**, 11.11.2002

(30) Приоритет: **12.11.2001 EP 01126858.8**

(43) Дата публикации заявки: **10.05.2005 Бюл. № 13**

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу: **15.06.2004**

(86) Заявка РСТ:
EP 02/12566 (11.11.2002)

(87) Публикация РСТ:
WO 03/04224 (22.05.2003)

Адрес для переписки:
**101000, Москва, М.Златоустинский пер., 10,
кв.15, "ЕВРОМАРКПАТ", И.А.Веселицкой**

(71) Заявитель(и):
МЕРК ПАТЕНТ ГМБХ (DE)

(72) Автор(ы):
**ХЕЛЛЕНДОРН Коэн (GB),
БЭЙКЕР Маттью (GB),
КАРР Франсис Дж. (GB)**

(74) Патентный поверенный:
Веселицкая Ирина Александровна

(54) **МОДИФИЦИРОВАННОЕ АНТИ-TNF АЛЬФА АНТИТЕЛО**

Формула изобретения

1. Модифицированное моноклональное анти-TNF альфа антитело, которое является существенно неиммуногенным или менее иммуногенным, чем любое немодифицированное антитело, которое имеет существенно такую же биологическую специфичность при использовании *in vivo*, при этом указанное модифицированное антитело включает специфические аминокислотные остатки, имеющие изменения в V-участке тяжелой и/или легкой цепи по сравнению с немодифицированным родительским антителом, где указанные изменения вызывают уменьшение количества или устранение ряда пептидных последовательностей в пределах указанного V-участка, которые действуют в родительском антителе как связывающие лиганды класса II МНС и стимулируют Т-клетки.

2. Модифицированное антитело по п.1, в котором родительское антитело является химерным антителом А2 (сА2).

3. Модифицированное антитело по п.1, в котором изменения в V-участке дополнительно проводят в участках CDR антитела, существенно сохраняющего связывающую аффинность родительского антитела.

4. Модифицированное антитело по п.2, в котором указанные пептидные последовательности, которые изменяют в пределах V-участка немодифицированного антитела, выбраны из группы смежных последовательностей эпитопа Т-клеток, как показано на фигуре 1 и в таблице 1.

5. Модифицированное антитело по п.4, в котором 1-9 аминокислот изменены в любом из указанных эпитопов Т-клеток.

6. Модифицированное антитело по п.5, в котором изменена одна аминокислота.

7. Модифицированное антитело по п.5 или 6, в котором указанное изменение аминокислотных остатков достигается посредством замещения.

8. Модифицированное антитело по п.4, в котором дополнительные изменения аминокислотных остатков осуществляют для восстановления биологической активности указанного антитела.

9. Модифицированное антитело по п.3, в котором указанные изменения аминокислотных остатков в V-участке осуществляют, по крайней мере, на одном участке соседних аминокислотных остатков родительского антитела, выбранном из группы, которая состоит из

- (A) GLVQPPGGSMKLSCVAS;
- (B) WVAEIRSKSINSA;
- (C) SRDDSKSAVYLQMTDLRT;
- (D) RNYYGSTYDYWGQGTTLTVSS;
- (E) DILLTQSPAILSVSPGERVSF;
- (F) HWYQQRTNGSPR;
- (G) LIKYASESMSGIPS;
- (H) DFTLSINTVESEDIADYYCQQ.

10. Модифицированное антитело по п.2 или 3, в котором V-участок тяжелой цепи ("Vh" цепочка) включает последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID 1 (Vh1), SEQ ID 2 (Vh3), SEQ ID 3 (Vh5) и SEQ ID 4 (Vh8).

11. Модифицированное антитело по п.2 или 3, в котором V-участок легкой цепи ("Vk" цепочка) включает последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID 5 (Vk1), SEQ ID 6 (Vk12), SEQ ID 7 (Vk5) и SEQ ID 8 (Vk8).

12. Модифицированное антитело по п.2 или 3, включающее любую цепочку Vh в соответствии с пунктом 10 и любую цепочку Vk в соответствии с п.11.

13. Модифицированное антитело по п.12, включающее Vh5 цепочку (SEQ ID 3) и Vk12 цепочку (SEQ ID 6).

14. Модифицированное антитело по п.12, включающее Vh1 цепочку (SEQ ID 1) и Vk1 цепочку (SEQ ID 5).

15. Модифицированное антитело по п.12, включающее Vh1 цепочку (SEQ ID 1) и Vk5 цепочку (SEQ ID 7).

16. Модифицированное антитело по п.12, включающее Vh1 цепочку (SEQ ID 1) и Vk8 цепочку (SEQ ID 8).

17. Модифицированное антитело по п.12, включающее Vh8 цепочку (SEQ ID 4) и Vk5 цепочку (SEQ ID 7).

18. Модифицированное антитело по п.2 или 3, имеющее измененный V-участок тяжелой цепи, содержащее любое замещение, выбранное из следующей группы замещений аминокислотных остатков, по сравнению с неизменным сA2 антителом:

(a1) M18L, K19R, V23A, I28T, I51T, I56T, S79N, A80S, V81L, T86N, D87S, R89K, L116V;

(a2) K3Q, E5V, M18L, K19R, V23A, I28T, S79N, A80S, V81L, T86N, D87S, R89K, G94A;

(a3) M18L, K19R, V23A, I28T, S79N, A80S, V81L, T86N, D87S, R89K, L116V;

(a4) K3Q, ESV, M18L, K19R, V23A, I28T, I51T, I56T, E64D, S79N, A80S, V81L, T86N, D87S, R89K, G94A, T115L, L116V.

19. Модифицированное антитело по п.2 или 3, имеющее измененный V-участок легкой цепи, содержащее любое замещение, выбранное из следующей группы замещений аминокислотных остатков, по сравнению с неизменным сA2 антителом:

(b1) L3Q, A9D, I10T, L11S, V13A, V19A, Q38H, R39T, I58V, S74T, T77S, V78L, S80A, I83A, D85T;

(b2) L3Q, A9D, I10T, L11S, V13A, I58V, S74T, T77S, V78L, S80A, I83A, D85T, L104V,

(b3) L3Q, A9D, I10T, L11S, V13A, I58V, S74T, T77S, V78L, S80A, I83A, D85T, S100G, N103K, L104V, V106I;

(b4) L3Q, A9D, I10T, L11S, V13A, V19A, Q38H, R39T, I58V, S74T, T77S, V78L, S80A, I83A, D85T, S100G, N103K, L104V, V106I.

20. Модифицированное антитело по п.2 или 3, имеющее измененные V-участки тяжелой и легкой цепей, содержащее одновременно любую из групп аминокислотных замещений a1-a4, как указано в п.18, и любую из групп аминокислотных замещений b1-b4, как указано в п.19.

21. Модифицированное антитело по п.20, имеющее измененные V-участки тяжелой и легкой цепей, содержащее одновременно группы замещений a1 и b1.

22. Модифицированное антитело по п.20, имеющее измененные V-участки тяжелой и легкой цепей, содержащее одновременно группы замещений a2 и b2.

23. Модифицированное антитело по п.20, имеющее измененные V-участки тяжелой и легкой цепей, содержащее одновременно группы замещений a2 и b3.

24. Модифицированное антитело по п.20, имеющее измененные V-участки тяжелой и легкой цепей, содержащее одновременно группы замещений a2 и b4.

25. Модифицированное антитело по п.20, имеющее измененные V-участки тяжелой и легкой цепей, содержащее одновременно группы замещений a4 и b3.

26. Модифицированное антитело по п.2 или 3, в котором домены константного участка имеют происхождение от человеческого IgG и каппа-цепи человека.

27. Модифицированное антитело по п.2 или 3, которое при исследовании цельного белка в биологическом анализе индуцированной пролиферации Т-клеток человека демонстрирует индекс стимуляции, меньший, чем родительское антитело, исследованное в параллельном опыте при использовании клеток от того же донора, при этом указанный индекс представляет собой значение клеточной пролиферации, подсчитанное после стимуляции белком, деленное на значение клеточной пролиферации, подсчитанное в контрольных клетках, которые не получали белка, при этом клеточную пролиферацию измеряют любым из приемлемых способов.

28. Модифицированное антитело по п.2 или 3, включающее последовательности V-участка из пептидов, которые могут получены и протестированы в биологическом анализе индуцированной пролиферации Т-клеток человека и демонстрирует индекс стимуляции, меньший, чем для родительского антитела, исследованного в параллельном опыте при использовании клеток от того же донора, при этом указанный индекс представляет собой значение клеточной пролиферации, подсчитанное после стимуляции белком, деленное на значение клеточной пролиферации, подсчитанное в контрольных клетках, которые не получали белка, при этом клеточную пролиферацию измеряют любым из приемлемых способов.

29. Молекула ДНК, кодирующая антитело по п.1 или 2.

30. Фармацевтическая композиция, содержащая модифицированное анти-TNF альфа антитело по п.1 или 2 необязательно вместе с фармацевтически приемлемым носителем, разбавителем или наполнителем.

31. Применение измененного анти-TNF альфа антитела по п.1 или 2 для производства лекарственного средства для лечения ревматоидного артрита и болезни Крона.

32. Пептидная молекула, состоящая из 9-15 соседних аминокислотных остатков, имеющая потенциальную связывающую активность класса II МНС и полученная из первичной последовательности немодифицированного анти-TNF альфа антитела A2, при этом указанная пептидная молекула имеет индекс стимуляции, по крайней мере, от 1,8 до 2,0, определенный в биологическом анализе клеточной пролиферации, при этом указанный индекс представляет собой значение клеточной пролиферации, подсчитанное после стимуляции белком, деленное на значение клеточной пролиферации, подсчитанное в контрольных клетках, которые не получали белка, при этом клеточную пролиферацию измеряют любым из приемлемых способов.

33. Пептидная молекула по п.32, выбранная из группы смежных последовательностей эпитопа Т-клеток, как показано на фигуре 1 или в таблице 1.

34. Пептидная молекула, полученная путем модификации пептидной молекулы по п.32 или 33 путем замещения аминокислот, и имеющая сниженный или отсутствующий потенциал связывающей активности класса II МНС, которая проявляет индекс стимуляции, меньший, чем 2, при этом указанный индекс представляет собой значение клеточной пролиферации, подсчитанное после стимуляции белком, деленное на значение клеточной пролиферации, подсчитанное в контрольных клетках, которые не получали белка, при этом клеточную пролиферацию измеряют любым из приемлемых способов.

35. Модифицированная пептидная молекула по п.34, которая имеет индекс стимуляции, меньший, чем 1,8.

36. Применение пептида по п.32 или 33 для производства анти-TNF альфа антитела, существенно не имеющего или имеющего меньшую иммуногенность, чем любое немодифицированное родительское антитело при использовании *in vivo*.

RU 2004117915 A

RU 2004117915 A