(19) **Bundesrepublik Deutschland**
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 697 37 867 T2** 2007.10.18

(12) # Übersetzung der europäischen Patentschrift

(97) **EP 0 954 340 B1**
(21) Deutsches Aktenzeichen: **697 37 867.5**
(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US97/07395**
(96) Europäisches Aktenzeichen: **97 925 434.9**
(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 1997/041898**
(86) PCT-Anmeldetag: **02.05.1997**
(87) Veröffentlichungstag der PCT-Anmeldung: **13.11.1997**
(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **10.11.1999**
(97) Veröffentlichungstag der Patenterteilung beim EPA: **27.06.2007**
(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **18.10.2007**

(51) Int Cl.[8]: ***A61K 49/00*** (2006.01)
A61K 51/10 (2006.01)

(30) Unionspriorität:
17011 P **03.05.1996** **US**

(84) Benannte Vertragsstaaten:
AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LI, LU, MC, NL, PT, SE

(73) Patentinhaber:
Immunomedics, Inc., Morris Plains, N.J., US

(72) Erfinder:
GRIFFITHS, Gary L., Morristown, NJ 07960, US;
HANSEN, Hans J., Mystic Island, NJ 08087, US

(74) Vertreter:
Dr. Weber, Dipl.-Phys. Seiffert, Dr. Lieke, 65183 Wiesbaden

(54) Bezeichnung: **ZIELGERICHTETE KOMBINATIONS-IMMUNTHERAPIE FÜR KREBS**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

Beschreibung

HINTERGRUND DER ERFINDUNG

Gebiet der Erfindung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft Krebsbehandlungsmethoden, bei denen mehr als ein therapeutisches Mittel eingesetzt wird, wobei jedes der therapeutischen Mittel unterschiedliche Tumorzellen zerstörende Eigenschaften besitzt und wobei die therapeutischen Mittel mittels kombinierter vor-zielender und zielender Verfahren zu den Tumorstellen gebracht werden. Die Methoden der vorliegenden Erfindung erzielen gute Tumor-zu-nicht-Tumor-Verhältnisse der therapeutischen Mittel und sind wirkungsvoll in der Krebstherapie.

Beschreibung ähnlicher Methoden

[0002] Die zielgerichtete Therapie, wie beispielsweise die Antikörper-geleitete Therapie, bietet Vorteile gegenüber einer nicht-zielgerichteten Therapie, wie beispielsweise systemische Therapien per os oder die intravenöse Verabreichung von Arzneistoffen oder Ganzkörper-Therapien, wie zum Beispiel äußere Strahlentherapie (XRT). Der Vorteil einer Antikörper-geleiteten Therapie und insbesondere unter der Verwendung von monoklonalen Antikörpern (MAbs) ist die Möglichkeit höhere Dosen an therapeutischem Mittel zum Tumor zu bringen und das normale Gewebe besser vor den Wirkungen des therapeutischen Mittels zu schützen. Diese zielgerichtete Therapie kann sowohl die Verwendung nackter MAbs als auch mit Arzneistoffen, bakteriellen oder anderen Toxinen, Radionukliden oder Neutronenfängern, wie zum Beispiel Borliganden, konjugierter MAbs umfassen.

[0003] Dennoch haben Antikörper-geleitete Therapien Nachteile, unter anderem: (1) Durch die im Tumor herrschende Heterogenität der Antigene ist es nicht möglich alle Krebszellen im Tumor zu erreichen, insbesondere wenn keine Isotopen als therapeutisches Mittel angewandt werden, (2) eine niedrige vollständige Anreicherung des Antikörpers im Tumor und (3) die Verwendung therapeutischer Konjugate, die eine inakzeptable Toxizität für das normale Gewebe aufweisen. Der Stand der Technik der Behandlungsmethoden hat keine kompletten Lösungsansätze für jedes dieser Probleme geliefert.

[0004] Methoden, die ansteigende Mengen an Isotopen verwenden und in denen das Isotop spezifisch zu einem Tumor geleitet werden kann und gleichzeitig die im Blut zirkulierende Menge des Isotops minimiert wird, so dass wiederum die Toxizität für den Wirt reduziert wird, sind in den US-Patenten mit den Nummern 5,482,698 und 5,525,338 beschrieben. Beispielsweise kann die Wirtstoxizität minimiert werden, indem vor-zielende Techniken angewandt werden, durch die der Isotopen-Zuführungsschritt vom Antikörper-Lokalisierungsschritt entkoppelt wird.

[0005] Außerdem offenbaren diese Patente Verfahren, mit denen die Menge der therapeutischen Mittel, die die Tumorstellen erreichen, erhöht wird. Diese Verfahren sind auch in Übereinstimmung mit dieser Erfindung nützlich.

[0006] US-Patent Nr. 4,624,846 offenbart Methoden, um die Toxizität für den Wirt durch die Verabreichung eines zweiten Antikörpers, der den zirkulierenden radioaktiv markierten ersten Antikörper entfernt, zu reduzieren. Das parallel anhängige US-Patent mit der Anmeldenummer 08/486,166, eingereicht am 7. Juni 1995, zeigt die Anwendung eines Antikörpers, der anti-idiotypisch ist zur zuerst verabreichten (radioaktiv markierten) primären zielenden Gruppe, als Klärungsmittel in vor-zielenden Verfahren. Diese Verfahren können auch gemäß der vorliegenden Erfindung genutzt werden und die Inhalte der genannten Patente hiermit in ihrer Gesamtheit durch die Bezugnahme eingeschlossen.

[0007] Obwohl diese Patente und Patentanmeldungen Methoden offenbaren, die sich mit verschiedenen Problemen der zielgerichteten Therapien befassen, richtet sich keine gegen die mit der Antigenheterogenität des Tumors verbundene Problematik. Zusätzlich besteht ein anhaltender Bedarf die Spezifität einer zielenden Gruppe zu nutzen, um gleichzeitig tumorzerstörende Mengen eines therapeutischen Mittels zu erreichen aber das normale Gewebe vor dem toxischen Effekt dieser Mittel zu schonen. Die vorliegende Erfindung stellt eine Lösung für diese Probleme bereit, indem sie ein Verfahren offenbart, das mehrere zielende und vor-zielende Verabreichungen benutzt, um mehr als ein therapeutisches Mittel zum Tumor zu bringen. Vorzugsweise besitzen die therapeutischen Mittel unterschiedliche tumorzerstörende Eigenschaften, so dass mehr Tumorzellen als Ziel erreicht und zerstört werden. Darüber hinaus maximieren und erhöhen die vorliegenden Verfahren die Molmengen der therapeutischen Mittel pro Molmenge zugeführten Antikörpers um die niedrigen absoluten Ziel-Anreicherungs-Werte des Antikörpers anzugehen. Um das Problem eines niedrigen Verhältnisses von Antikörper zu normalem Gewebe zu lösen, wird wenigstens ein therapeutisches Mittel in einem späteren Schritt zugeführt.

ZUSAMMENFASSUNG DER ERFINDUNG

[0008] Die vorliegende Erfindung stellt eine Tumortherapiemethode bereit, in der ein erstes Konjugat verabreicht wird, welches eine Tumor zielende Gruppe, welche ein Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment ist, ein therapeutisches Mittel, bestehend aus Radionukliden, Arzneistoffen, To-

xinen, Borliganden und einen ersten Partner eines Bindungspaares umfasst, anschließend wahlweise ein Klärungsmittels verabreicht wird, um erste Konjugate zu entfernen, die nicht auf den Tumor gezielt haben, und dann ein zweites Konjugat verabreicht wird, welches den komplementären Bindungspartner des Bindungspaares und ein unterschiedliches zweites therapeutisches Mittel umfasst.

[0009] Das Verfahren der vorliegenden Erfindung bringt durch Verwendung von sowohl zielenden als auch vor-zielenden Verfahren mehr als ein therapeutisches Mittel zu einer Tumorstelle, um eine effektive und effiziente Zuführung der Mittel zu den Tumorstellen zu erreichen. Die vorliegende Erfindung stellt eine Therapiemethode bereit, die das Problem der Tumorheterogenität dadurch angeht, dass mindestens zwei verschiedene therapeutische Mittel mit unterschiedlichen tumorzerstörenden Eigenschaften zu den Tumorstellen gebracht werden.

[0010] Die vorliegende Erfindung stellt weiterhin eine Therapiemethode bereit, die die durch die therapeutischen Mittel verursachte Toxizität für den Patienten durch die Verwendung von zielenden und vor-zielenden Zuführungs-Methoden minimiert.

[0011] Außerdem stellt die vorliegende Erfindung eine Therapiemethode mit reduzierten toxischen Effekten für das normale Gewebe bereit, indem Klärungsmittel mit den zielenden und vor-zielenden Verfahren, die mehr als ein therapeutisches Mittel zuführen, kombiniert werden, damit nicht-lokalisierte zielende Anteile effizient aus dem Kreislauf entfernt werden.

KURZE BESCHREIBUNG DER FIGUREN

[0012] Fig. 1 zeigt den Prozentsatz ID/g des Y-88-DPTA-MN14 (Anti-CEA) Streptavidin Konjugats mit und ohne klärendem anti-idiotypischen Antikörper gegen MN14, WI2 und 111-In-DTPA-pep-Biotin in Tumoren zu fortlaufenden Zeitpunkten.

[0013] Fig. 2 zeigt das Verhältnis Tumor zu Blut für das Konjugat Y-88-DTPA-MN14 (Anti-CEA)-Streptavidin mit und ohne klärendem anti-idiotypischen Antikörper gegen MN14, WI2 und 111-In-DTPA-pep-Biotin zu fortlaufenden Zeitpunkten.

DETAILLIERTE BESCHREIBUNG

[0014] Die vorliegende Therapiemethode umfasst speziell die Schritte gemäß Anspruch 1.

[0015] Das erste und zweite therapeutische Mittel sind unterschiedlich und aus einer Gruppe bestehend aus Radionukliden, Arzneistoffen, Toxinen und Borliganden ausgewählt. Falls beide therapeutische Mittel Radionuklide sind, dann sollte vorzugsweise jedes Radionuklid verschiedene Strahlungsniveaus emittieren. Vorzugsweise wird das erste therapeutische Mittel aus der Gruppe bestehend aus I-131, I-125 und At-211 und das zweite therapeutische Mittel aus der Gruppe bestehend aus P-32, P-33, Sc-47, Cu-64, Cu-67, As-77, Y-90, Ph-105, Pd-109, Ag-111, I-125, Pr-143, Sm-153, Tb-161, Ho-166, Lu-177, Re-186, Re-188, Re-189, Ir-194, Au-199, Pb-212 und Bi-213 ausgewählt.

[0016] Wahlweise ist das zweite therapeutische Mittel ein Borligand und ferner umfasst das Verfahren die Bestrahlung des Tumors mit thermischen oder epithermischen Neutronen nach der Lokalisierung des zweiten Konjugats am Tumor.

[0017] Ferner sind das erste und zweite therapeutische Mittel ein Gemisch aus mindestens zwei Radionukliden, Arzneistoffen, Toxinen oder Borliganden.

[0018] In einer anderen Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das erste therapeutische Mittel ein Radionuklid und das zweite therapeutische Mittel ist ein Arzneistoff, ein Toxin oder ein Borligand. Wie oben beschrieben, ist das erste therapeutische Mittel aus der aus I-131, I-125 und At-211 bestehenden Gruppe ausgewählt. Das zweite therapeutische Mittel ist ein Arzneistoff ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Taxol, Stickstofflosten, Ethylenimin-Derivaten, Alkylsulfonaten, Nitrosoharnstoffen, Triazenen, Folsäure-Analoga, Pyrimidin-Analoga, Purin-Analoga, Vincaalkaloiden, Antibiotika, Enzymen, Platinkoordinationskomplexen, substituiertem Harnstoff, Methylhydrazin-Derivaten, Nebennierenrinden-Suppressoren, Hormonen, Antagonisten, Camptothecin und Endostatin. Alternativ kann das zweite therapeutische Mittel ein Toxin sein, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Abrin, Alphatoxin, Diphterietoxin, Exotoxin, Gelonin, antivirales Kermesbeeren-Protein, Ricin, Saporin und Onconase.

[0019] In einer weiteren Ausführungsform der vorliegenden Erfindung ist das erste therapeutische Mittel ein Arzneistoff oder ein Toxin und das zweite therapeutische Mittel ist ein Radionuklid oder ein Borligand. Beispiele geeigneter Arzneistoffe, Toxine und Radionuklide sind oben beschrieben.

[0020] Die zielende Gruppe ist ein Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment und vorzugsweise ist es ein bispezifischer Antikörper, der in der Lage ist, spezifisch an wenigstens ein Epitop der an die Tumoroberfläche assoziierten, auf ihr befindlichen oder von ihr erzeugten Markersubstanzen oder auf einer Komponente des zweiten Konjugats zu binden.

[0021] Das Bindungspaar wird aus der aus Avidin oder Streptavidin und Biotin, komplementären DNA-Fragmenten, komplementären Peptid-Oligonu-

kleotiden und korrespondierenden Enzymen und Arzneimittelpräkursor-Substraten bestehenden Gruppe ausgewählt. Vorzugsweise ist das Bindungspaar Avidin oder Streptavidin und Biotin. Genauer gesagt, benutzt das Verfahren ein erstes Konjugat, das ein radioaktiv markierter monoklonaler Antikörper ist, der mit Streptavidin konjugiert ist, wobei der monoklonale Antikörper selektiv an die Markersubstanz bindet, und wobei das zweite Konjugat ein radioaktiv markiertes biotinyliertes Chelat ist. Vorzugsweise emittieren die zwei Radionuklide verschiedene Strahlungsniveaus. Das Klärungsmittel bindet an das erste Konjugat. Das Klärungsmittel ist vorzugsweise anti-idiotypisch zu der zielenden Gruppe, genauer gesagt ein anti-idiotypischer monoklonaler Antikörper. Noch bevorzugter wäre ein anti-idiotypischer monoklonaler Antikörper, der mit Galaktose- und Biotin-Resten substituiert ist.

[0022] Dieses Verfahren richtet sich speziell an die Lösung des Problems der Heterogenität der Erkrankung, wie man sie normalerweise in der klinischen Situation vorfindet. Diese Heterogenität wird angegangen, indem in demselben Verfahren sowohl auf große Tumore als auch auf kleine Mikrometastasen gezielt wird. Zum Beispiel werden ein hochenergetischer Betastrahler (hohes Durchdringungsvermögen) und ein niedrig- oder mittelenergetischer Betastrahler, der seine durchdringende Wirkung auf einer viel kürzeren Strecke ausübt, an die Ziel-Tumorstellen verabreicht. Für eine stärker abgegrenzte Erkrankung ist das Durchdringungsvermögen eines mittelenergetischen Betastrahlers eventuell ausreichend um die größeren Tumoren zu behandeln. In dieser Ausführungsform werden entweder beide, ein mittelenergetischer Betastrahler und ein niedrigenergetischer Betastrahler oder vorzugsweise ein Arzneistoff oder ein Toxin den Tumorstellen zugeführt.

[0023] Krebsstellen, auf die gemäß der vorliegenden Erfindung gezielt und die gemäß der vorliegenden Erfindung behandelt werden können, umfassen Karzinome, Melanome, Sarkome, Neuroblastome, Leukämien, Lymphome, Gliome und Myelome. Das Verfahren eignet sich insbesondere, um eine begrenzt metastasierende Erkrankung zu behandeln, zum Beispiel für Patienten, die Tumoren an mehreren Stellen mit bis zu 5 cm Durchmesser aufweisen.

[0024] Tumoren mit bis zu 5 cm Durchmesser gehören zu den Tumoren, die in den höchsten Wirkungsbereich des in der Radioimmuntherapie einsetzbaren Radionuklids mit dem höchsten Durchdringungsvermögen, dem reinen Betastrahler Yttrium-90 (Y-90), fallen. Für den Einsatz dieses Radionuklids beträgt der optimale Tumordurchmesser 3,4 cm und die Effektivität dieses Isotops nimmt dramatisch oberhalb und unterhalb dieses optimalen Durchmessers ab, derartig dass der optimale Bereich für einen Tumor als Ziel für Y-90 zwischen 2,8 und 4,2 cm liegt. O'Donoghue et al., J. Nucl. Med., 36: 1902–1909 (1995). Dieses Isotop wird gegen kleine Tumorablagerungen unwirksam sein und ein Isotop mit einer kürzeren Reichweite wird außerdem für eine duale Isotopenbestrahlung benötigt werden. O'Donoghue et al., supra.

[0025] Ein Tumor mit einem Durchmesser von 5 cm wiegt ungefähr 65 g (4/3 πr^3, wobei 1 cm^3 = 1 g Gewicht) und 6,5 × 10^9 Zellen enthält. Eine Zelle misst durchschnittlich 5–20 Mikrometer im Durchmesser. Um eine optimale Ausmerzung der Tumorzellen zu erreichen, scheint es so zu sein, dass ein Isotop mit einer bestimmten Strahlungsenergie wahrscheinlich nicht dazu in der Lage sein wird, einem Tumor dieser Größe ausreichende Toxizität zuzuführen. Zweiundzwanzig Isotopen, die im Zusammenhang mit einem doppelt radioaktiv markierten Antikörper eingesetzt werden könnten, sind beschrieben worden. O'Donoghue et al., supra. Aber für die kleinsten Tumorablagerungen und für einzelne Zellen eignen sich nur wenige der verfügbaren Isotopen und ein Arzneistoff oder ein Toxin könnten geeigneter sein.

[0026] Das Verfahren der vorliegenden Erfindung umfasst mindestens zwei Schritte. Im ersten Schritt wird ein Konjugat verabreicht, welches eine zielende Gruppe, einen Partner eines Bindungspaares und ein erstes therapeutisches Mittel umfasst. Nachdem das erste Konjugat verabreicht wurde und sich lokalisieren konnte und vorzugsweise nach der nötigen Zeit für eine maximale Aufnahme des Konjugats durch den Tumor, wird ein zweites Konjugat verabreicht. Dieses Konjugat umfasst den komplementären Partner des im ersten Schritt benutzten Bindungspaares und ein zweites therapeutisches Mittel. Dieses Konjugat lokalisiert sich an den Tumorstellen durch das Bindungspaar. Zum Beispiel, wenn ein radioaktiv markiertes MAb-Avidin Konjugat während des ersten Schritts verabreicht wird, umfasst das zweite Konjugat Biotin. Die Bindungsaffinität zwischen Avidin und Biotin hat zur Folge, dass das zweite Konjugat an das bereits an den Tumorstellen lokalisierte Avidin bindet. Demzufolge lokalisiert sich das zweite Konjugat ebenfalls an den Tumorstellen. Weil jedes Avidinmolekül bis zu vier Biotinmoleküle binden kann, wird ein Verstärkungseffekt in diesem Schritt erreicht.

[0027] Wahlweise kann ein Klärungsschritt zwischen den beiden oben beschriebenen Schritten durchgeführt werden. Das heißt, nachdem das erste Konjugat Zeit gehabt hat, sich an den Tumorstellen zu lokalisieren, kann ein Klärungsmittel verabreicht werden, um zirkulierendes Konjugat zu entfernen.

Zielende Gruppen

[0028] Die zielende Gruppe kann zum Beispiel ein Antikörper oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment sein. Wegen ihrer hohen Spezifität werden

monoklonale Antikörper bevorzugt. Sie werden durch das heute als konventionell erachtete Verfahren der Immunisierung von Säugetieren mittels eines immunogenen Antigenpräparats, Fusion von Immunzellen, wie Lymph- oder Milzzellen mit einer immortalen Myelom-Zelllinie und Isolierung von spezifischen Hybridomklonen leicht hergestellt. Unkonventionellere Verfahren zur Herstellung von monoklonalen Antikörpern werden ebenfalls erwogen, so wie interspezifische Fusionen und gentechnische Manipulation hypervariabler Regionen, weil primär die Antigenspezifität der Antikörper ihren Nutzen für die vorliegende Erfindung bestimmt. Es wird angenommen, dass neuere Techniken zur Herstellung von monoklonalen Antikörpern ebenfalls verwendet werden können, z.B. von humanen monoklonalen Antikörpern, interspezifischen monoklonalen Antikörpern, chimären monoklonalen Antikörpern (z.B. Mensch/Maus), gentechnisch veränderten Antikörpern und dergleichen.

[0029] Für die vorliegende Erfindung geeignete Antikörperfragmente umfassen $F(ab')_2$, $F(ab)_2$, Fab', Fab, Fv und dergleichen, Hybridfragmente einschließend. Bevorzugte Fragmente sind Fab', $F(ab')_2$, Fab und $F(ab)_2$. Ebenfalls nützlich sind jene Subfragmente, die die hypervariable, Antigen-bindende Region eines Immunglobulins behalten und eine ähnliche oder geringere Größe als ein Fab' Fragment haben. Dies umfasst gentechnisch veränderte und/oder rekombinante Antikörper und Proteine, ob „single-chain" (Einzelketten) oder „multiple-chain", die eine Antigen-Bindungsstelle umfassen und die ansonsten in vivo als zielendes Vehikel im Wesentlichen auf die gleiche Weise wie natürliche Immunglobulinfragmente funktionieren. Solche Einzelketten Bindungsmoleküle sind in dem US-Patent Nr. 4,946,778 offenbart.

[0030] Fab'-Antikörperfragmente können in geeigneter Weise durch eine reduzierende Spaltung von $F(ab')_2$-Fragmenten hergestellt werden, die wiederum durch einen Verdau mit Pepsin eines intakten Immunglobulins hergestellt werden können. Fab-Antikörperfragmente können durch einen Verdau mit Papain eines intakten Immunglobulins unter reduzierenden Bedingungen hergestellt werden oder durch Spaltung der $F(ab)_2$-Fragmente, die durch einen vorsichtig durchgeführten Verdau mit Papain des vollständigen Immunglobulins entstehen. Die Fragmente können auch gentechnisch hergestellt werden.

[0031] Es sollte bedacht werden, dass ein Gemisch aus Antikörpern und Immunglobulingruppen, ebenso wie Hybrid-Antikörper eingesetzt werden können. Multispezifische, bispezifische und Hybrid-Antikörper umfassend, und Antigen-bindende Antikörperfragmente sind für die Verfahren der vorliegenden Erfindung nützlich. Bispezifische und Hybrid-Antikörper können mindestens an ein Epitop auf den Markersubstanzen oder auf eine Komponente des zweiten Konjugats spezifisch binden. Diese Antikörper umfassen vorzugsweise mindestens zwei verschiedene im Wesentlichen monospezifische Antikörper oder Antikörperfragmente, die spezifisch an wenigstens ein Epitop auf der von den Krebszellen erzeugten oder an sie assoziierten Markersubstanz bindet und bei wenigstens einem Epitop auf einer Komponente des zweiten Konjugats. Multispezifische Antikörper und Antikörperfragmente mit doppelter Spezifität können analog zu den im US-Patent Nr. 4,361,544, dessen Inhalte hiermit in ihrer Gesamtheit durch die Bezugnahme eingeschlossen sind, offenbarten Anti-Tumormarker-Hybriden hergestellt werden. Weitere Techniken für die Herstellung von Hybrid-Antikörpern sind z.B. im US-Patent Nr. 4,474,893 und 4,479,895 und in Milstein et al., Immunol. Today, 5: 299 (1984) offenbart.

[0032] Bevorzugt werden Antikörper, die eine spezifische Immunreaktivität für eine von den Krebszellen erzeugte oder an sie assoziierte Markersubstanz von mindestens 60% und eine Kreuzreaktivität mit anderen Antigenen oder nicht-gezielten Substanzen von weniger als 35% haben. Ein monoklonaler Antikörper, der durch Bindung an von den Tumoren erzeugte oder an sie assoziierte Antigene, spezifisch auf Tumorstellen zielt, wird besonders bevorzugt.

[0033] Antikörper gegen Tumorantigene sind bekannt. Zum Beispiel, sind Antikörper und Antikörperfragmente, die spezifisch an von Tumoren erzeugten oder mit ihnen assoziierten Markern binden, unter anderem in Hansen et al., US-Patent Nr. 3,927,193 und Goldenberg US-Patent Nrn. 4,331,647, 4,348,376, 4,361,544, 4,468,457, 4,444,744, 4,818,709 und 4,624,846 offenbart worden. Insbesondere Antikörper gegen ein Antigen z.B. eines gastrointestinalen, Lungen-, Brust-, Prostata-, Eierstock-, Hoden-, Gehirn- oder lymphatischen Tumors, eines Sarkoms oder eines Melanoms werden vorteilhaft genutzt.

[0034] Die für die Verfahren der vorliegenden Erfindung nützlichen Antikörper und Antigenbindenden Antikörperfragmente können mit einem Partner des Bindungspaares durch verschiedene Methoden, die dem Fachmann bekannt sind, chemische Konjugation und rekombinante Methoden um Fusionsproteine herzustellen umfassend, konjugiert werden. Viele dieser Verfahren wurden in den weiter oben angegebenen US-Patenten und -Patentanmeldungen genannt. Siehe ebenfalls Childs et al., J. Nuc. Med., 26: 293 (1985).

[0035] Ein bevorzugt zu verwendender Antikörper in der vorliegenden Erfindung ist MN-14, ein CEA-Antikörper der zweiten Generation, der eine zehnmal höhere Affinität gegenüber CEA aufweist, als der der ersten Generation, NP-4. Hansen et al., Cancer, 71: 3478–85 (1993). MN-14 internalisiert langsam, was es für eine vor-zielende Methode geeignet macht.

Bindungspaar

[0036] Ein in vor-zielenden Verfahren verbreitetes Bindungspaar ist Avidin oder Streptavidin und Biotin. Das im Eiklar vorkommende Avidin weist eine sehr hohe Bindungsaffinität gegenüber Biotin auf, das ein Vitamin aus dem B-Komplex ist. Wilcheck et al., Anal. Biochem., 171: 1 (1988). Streptavidin, aus Streptomyces avidinii isoliert, ähnelt Avidin, weist jedoch eine niedrigere unspezifische Gewebebindung auf und wird darum oft an Stelle von Avidin eingesetzt. Beide, Avidin und Streptavidin, besitzen jeweils vier Bindungsstellen für Biotin, wodurch bei einer Bindung erstgenannter an Biotin ein Verstärkungseffekt erlaubt wird. Modifizierte Formen von Avidin, wie z.B. deglykosyliertes Avidin, neutralisiertes Avidin oder deglykosyliertes und neutralisiertes Avidin sind ebenfalls nützlich in der Erfindung.

[0037] „Biotin", wie es hier verstanden wird, umfasst Biotin, kommerzielle Biotin-Produkte, bei denen das Biotin durch Hinzufügen von Alkylgruppen modifiziert wurde, und Biotin-Derivate, wie aktive Ester, Amine, Hydrazide und Thiolgruppen, wobei die komplementären reaktiven Gruppen an den Polymeren Amine, Acyl- und Alkylabgangsgruppen, Carbonylgruppen und Alkylhalogenide oder Michael-Akzeptoren sind.

[0038] Das Streptavidin-Biotin-System stellt die stärkste nicht-kovalente biologische Interaktion dar, die zwischen einem Protein und einem Liganden bekannt ist ($K_a = 10^{15}\ M^{-1}$). Rosebrough, Nucl. Med. Biol., 20: 663–68 (1993). Außerdem hat Streptavidin einen pI von ~6 verglichen mit > 10 für Avidin, wodurch die Gesamtladung von SAv bei einem physiologischen pH-Wert fast neutral ist, im Gegensatz zu der hohen positiven Ladung von Avidin. Des Weiteren ist Avidin in vivo und in vitro 'klebrig'. Rosebrough, siehe oben. Aus diesen Gründen wird Streptavidin Avidin vorgezogen, um Konjugate in Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung herzustellen und das Streptavidin/Biotin-System ist das für die Verwendung in der vorliegenden Erfindung bevorzugte Bindungspaar. Es soll jedoch hervorgehoben werden, dass sowohl Avidin als auch Streptavidin in Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung verwendet werden können. Dementsprechend werden hier entweder Avidin oder Streptavidin so verwendet, dass sie sowohl Avidin als auch Streptavidin einschließen sollen.

[0039] Verfahren um Biotin und Avidin mit therapeutischen Mitteln und/oder Antikörpern zu konjugieren sind bekannt und beschrieben, wie zum Beispiel in der parallel anhängigen US-Anmeldung mit der Nummer 08/486,166.

[0040] Falls Streptavidin (oder Avidin) der erste Partner des Bindungspaares ist und Biotin der komplementäre Partner des Bindungspaares ist, kann das zweite Konjugat (das Konjugat aus Biotin und therapeutischem Mittel) zwei oder mehr Biotin-Anteile umfassen. Das verstärkt die Fähigkeit des Konjugats sich an der Zielstelle zu lokalisieren und erlaubt dem Biotin, das radioaktiv markierte, an den Zielstellen vor-gezielte, Streptavidin-MAb Konjugat quer zu vernetzen und dadurch die Internalisierung des zweiten therapeutischen Mittels in die gezielten Tumorzellen zu induzieren.

[0041] Komplementäre DNA-Fragmente können ebenfalls als Bindungspaare verwendet werden. Bos et al., Cancer Res. 54: 3479–3486 (1994). Demnach kann das erste Konjugat gemäß der vorliegenden Erfindung Antikörper, therapeutisches Mittel und ein einzelsträngiges Oligonukleotid umfassen, und das zweite Konjugat kann ein komplementäres einzelsträngiges Oligonukleotid und ein therapeutisches Mittel umfassen. Ein wesentlicher Vorteil dieses Systems gegenüber Biotin/Avidin-Systemen könnte die angenommene niedrigere Immunogenität eines relativ kurzen Stücks DNA sein, verglichen mit den immunogenen Avidin-Molekülen mit 60.000 Dalton.

[0042] In einer anderen bevorzugten Ausführungsform ist der erste Partner des Bindungspaares ein Oligonukleotid-Analogon, beispielsweise eine einzelsträngige Peptidnukleinsäure, und der komplementäre Partner des Bindungspaares ist eine komplementäre Peptidnukleinsäure.

[0043] Alternativ ist ein Enzym oder Enzymsubstrat der erste Partner des Bindungspaares und der komplementäre Partner ist jeweils das entsprechende Enzymsubstrat oder Enzym. Alternativ kann ein Substratanalogon an Stelle des Enzymsubstrates verwendet werden.

[0044] Andere nützliche Bindungspaare in Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung wurden in den anderen Patenten und Patentanmeldungen, die hier erörtert wurden, offenbart oder werden dem Fachmann offenkundig sein, und die Verwendung solcher anderen Bindungspaare wird gesondert betrachtet.

Therapeutische Mittel

[0045] Das erste und das zweite therapeutische Mittel sind unterschiedlich und können zum Beispiel therapeutische Radionuklide, Arzneistoffe, Hormone, Hormonantagonisten, Rezeptorantagonisten, Enzyme oder durch ein anderes Mittel aktivierte Proenzyme, autokrine Faktoren oder Zytokine sein. Toxine können ebenfalls in den Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendet werden. Andere einsetzbare therapeutische Mittel in der vorliegenden Erfindung umfassen Anti-DNA, Anti-RNA, radioaktiv markierte Oligonukleotide, wie beispielsweise zytotoxische Antisense-Oligodesoxy-Ribonukleotide, Antiprotein-

und Anti-Chromatin oder antimikrobielle Mittel. Weitere therapeutische Mittel sind in den bereits genannten US-Patenten und Patentanmeldungen aufgeführt oder sind dem Fachmann bekannt und die Verwendung solcher anderen therapeutischen Mittel wird gesondert betrachtet.

[0046] Isotopen, Arzneistoffe und Toxine sind bevorzugte therapeutische Mittel. Während das erste und das zweite therapeutische Mittel gleich sein können, sind sie in einer bevorzugten Ausführungsform unterschiedlich. Zum Beispiel können das erste und das zweite therapeutische Mittel unterschiedliche Radionuklide umfassen, oder das erste therapeutische Mittel kann einen Arzneistoff umfassen, während das zweite therapeutische Mittel ein Radionuklid umfasst, oder das erste therapeutische Mittel kann ein Radionuklid umfassen, während das zweite therapeutische Mittel einen Arzneistoff umfasst.

[0047] In einer bevorzugten Ausführungsform, werden unterschiedliche Isotopen, die durch ihre individuelle Emissionsenergie eine unterschiedliche Wirkungsreichweite haben, verwendet. Dadurch wird eine effektivere Tumorbehandlung erzielt und ist für Patienten mit multiplen Tumoren unterschiedlicher Größe, wie unter normalen klinischen Umständen, geeignet.

[0048] Wie weiter oben diskutiert, sind wenige der verfügbaren Isotope geeignet, um kleinste Tumorablagerungen und einzelne Zellen zu behandeln, und ein Arzneistoff oder Toxin sind vielleicht das geeignetere therapeutische Mittel in diesen Situationen. Dementsprechend werden in bevorzugten Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung Isotopen zusammen mit nicht radioaktiven Gruppen, wie beispielsweise Arzneistoffe, Toxine und Neutronenfänger verwendet.

[0049] Ein Isotop kann im ersten Schritt verwendet werden oder in einem nachfolgenden Schritt. Wenn das Isotop im ersten Schritt verwendet wird, wird ein leicht metabolisierbares Isotop, wie Jod, bevorzugt. Beispiele geeigneter Isotopen für den ersten Schritt der vorliegenden Erfindung umfassen I-125, I-131 und At-211. Wenn das Isotop im nachfolgenden Schritt verwendet wird, wird die Verwendung eines verbleibenden Isotops, wie Yttrium-90 bevorzugt. Beispiele geeigneter Isotopen für den zweiten Schritt der vorliegenden Erfindung umfassen P-32, P-33, Sc-47, Cu-64, Cu-67, As-77, Y-90, Rh-105, Pd-109, Ag-111, I-125, Pr-143, Sm-153, Tb-161, Ho-166, Lu-177, Re-186, Re-188, Re-189, Ir-194, Au-199, Pb-212 und Bi-213.

[0050] Es sind viele Arzneistoffe und Toxine bekannt, die eine zytotoxische Wirkung auf Zellen haben und die im Zusammenhang mit der vorliegenden Erfindung verwendet werden können. Sie können in Kompendien der Arzneistoffe und Toxine, wie im Merck Index, Goodman & Gilman und dergleichen und in den oben zitierten Literaturangaben gefunden werden.

[0051] Beispiele bekannter zytotoxischer Mittel sind bei Goodman et al., „The Pharmacological Basis of Therapeutics", sechste Ausgabe, A. G. Gilman et al, Hrsg./Macmillan Publishing Co. New York, 1980 aufgeführt. Diese umfassen: Taxol, Stickstofflosten, z.B. Mechlorethamin, Cyclophosphamid, Melphalan, Uracil-Lost, Chlorambucil, Ethylenimin-Derivate, wie z.B. Thiotepa, Alkylsulfonate, wie z.B. Busulfan, Nitrosoharnstoffe, wie z.B. Carmustin, Lomustin, Semustin und Streptozotocin, Triazene, wie z.B. Dacarbazin, Folsäure-Analoga, wie z.B. Methotrexat, Pyrimidin-Analoga, wie z.B. Fluoruracil, Cytarabin und Azaribin, Purin-Analoga, wie z.B. Mercaptopurin und Thioguanin, Vincaalkaloide, wie z.B. Vinblastin und Vincristin, Antibiotika, wie z.B. Dactinomycin, Daunorubicin, Doxorubicin, Bleomycin, Mithramycin und Mitomycin, Enzyme, wie z.B. L-Asparaginase, Platinkoordinationskomplexe, wie z.B. Cisplatin, substituierter Harnstoff, wie z.B. Hydroxyurea, Methylhydrazin-Derivate, wie z.B. Procarbazin, Nebennierenrinden-Suppressoren, wie z.B. Mitotane, Hormone und Antagonisten, wie z.B. Adrenocorticosteroide (Prednison), Progestine (Hydroxyprogesteroncaproat, Medroxyprogesteronacetat und Megestrolacetat), Östrogene (Diethylstilbestrol und Ethinylöstradiol), Antiöstrogene (Tamoxifen) und Androgene (Testosteronpropionat und Fluoxymesteron).

[0052] Arzneistoffe, die die intrazelluläre Proteinsynthese hemmen, können ebenfalls in den Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendet werden, wobei solche Arzneistoffe dem Fachmann bekannt sind und Puromycin, Cycloheximid und Ribonuklease umfassen.

[0053] Arzneimittelpräkursoren sind als inaktive Präkursoren eines therapeutischen Mittels besonders für die vorliegende Erfindung geeignet, weil der Präkursor relativ untoxisch ist, verglichen mit seinem aktiven therapeutischen Metaboliten. In der vorliegenden Erfindung kann der Arzneimittelpräkursor als zweites Konjugat und als komplementärer Partner eines Bindungspaares dienen, weil es das Substrat für ein Enzym ist, das der andere Partner des Bindungspaares ist, und eine Komponente des ersten Konjugats ist. Wenn das erste Konjugat verabreicht ist, zielt es durch die zielende Gruppe auf den Tumor. Nachdem es dem ersten Konjugat ermöglicht wird, sich zu lokalisieren und wahlweise ein Klärungsmittel verabreicht wurde, wird anschließend der Arzneimittelpräkursor, d.h. das zweite Konjugat, verabreicht. Der Arzneimittelpräkursor bindet an die Enzym-Komponente des ersten Konjugats am Tumor und wird in den aktiven Metaboliten, der den Tumor zerstört umgewandelt. Beispiele solcher Enzym-Arzneimittelprä-

kursor-Bindungspartner sind I-131-Antikörper-Carboxypeptidase G2 und Topoisomerasehemmer-Arzneimittelpräkursor CPT-11, Beta-Lactamase und Cephalosporin-Doxorubicin, alkalische Phosphatase und Etoposid-Phosphat, Carboxypeptidase G2 und Glutaminsäurederivate von Lost-Benzoesäure, und beta-Glukuronidase und das Glukuronid eines jeden Arzneimittelstoffes, das Glukuronid bilden kann, wie beispielsweise P-Hydroxyanilinlost. Weitere Beispiele für zielende Enzyme für eine Arzneimittelpräkursoraktivierung sind in Bioconjuate Chem., Bd. 4, (1), 3–9 (1993) und in der US-Patentanmeldung mit der Nummer 07/182,623 diskutiert.

[0054] Die vorliegende Erfindung sieht ebenso die Verwendung von Farbstoffen vor, die zum Beispiel in der photodynamischen Therapie verwendet werden und die zusammen mit geeigneten nichtionisierenden Strahlen verwendet werden. Die Verwendung von Licht und Porphyrinen für Verfahren der vorliegenden Erfindung wird ebenfalls erwogen und ihre Verwendung in der Krebstherapie wurde überprüft. Van den Bergh, Chemistry in Britain, 22: 430–437 (1986).

[0055] Wie oben diskutiert, können auch Toxine für die Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendet werden. Dafür geeignete Toxine sind dem Fachmann bekannt und umfassen Pflanzentoxine und bakterielle Toxine, wie beispielsweise Abrin, Alphatoxin, Diphterietoxin, Exotoxin, Gelonin, antivirales Kermesbeeren-Protein, Ricin und Saporin. Toxine wie beispielsweise RNa-sen können ebenfalls verwendet werden, zum Beispiel kann Onconase verwendet werden.

[0056] Das andere therapeutische Mittel kann getrennt vom Isotopen zugeführt werden. Zum Beispiel kann ein radiojodmarkiertes SAv-MAb-Konjugat dem Patienten, wie oben beschrieben, verabreicht werden. Dann kann wahlweise ein anti-idiotypischer MAb als Klärungsmittel verabreicht werden, um die restlichen zirkulierenden radiojodmarkierten Konjugate zu entfernen. Als nächstes kann ein biotinyliertes-Polymer-Arzneistoff-Konjugat oder ein Biotin-Toxin Konjugat in einem dritten Schritt verabreicht werden. Dieses spezielle Protokoll wird bevorzugt für die Therapie von kleineren Tumoren, Mikrometastasen und sogar bei Erkrankungen von Einzelzellen verwendet.

[0057] Es ist so aufzufassen, dass jede Kombination der oben beschriebenen therapeutischen Mittel verwendet werden kann. Zum Beispiel können sowohl das erste als auch das zweite therapeutische Mittel Radioisotopen sein, das erste therapeutische Mittel kann ein Radioisotop und das zweite therapeutische Mittel kann ein Arzneistoff sein, das erste therapeutische Mittel kann ein Arzneistoff und das zweite therapeutische Mittel kann ein Radioisotop sein, das erste therapeutische Mittel kann ein Radioisotop und das zweite therapeutische Mittel kann ein Toxin sein, das erste therapeutische Mittel kann ein Toxin und das zweite therapeutische Mittel kann ein Radioisotop sein, sowohl das erste als auch das zweite therapeutische Mittel können Arzneistoffe sein oder sowohl das erste als auch das zweite therapeutische Mittel können Toxine sein.

[0058] Während die obige Beschreibung die Verwendung von zwei zielenden Gruppen und zwei therapeutischen Mitteln lehrt, umfasst die vorliegende Erfindung Ausführungsformen, in denen mehr als zwei zielende Gruppen und/oder therapeutische Mittel verwendet werden. Zum Beispiel Radiometall-Gemische mit unterschiedlichen optimalen Reichweiten im Gewebe können mit demselben Biotin-Chelat in einem Einzelschritt verwendet werden. Ein besonderes Beispiel ist das Gemisch aus den Nukliden Y-90 (optimale Reichweite im Gewebe 28–42 mm), Praseodymium-143 (optimale Reichweite im Gewebe 6–11 mm) und Lutetium-177 (optimale Reichweite im Gewebe 1,2–3,0 mm), die alle mit demselben Biotin-Chelat in demselben Reaktionsgefäß radioaktiv markiert werden können (beispielsweise DTPA oder makrozyklische DOTA-Derivate umfassend) um Biotin-Chelat-Komplexe mit vergleichbaren physikochemischen und biologischen Clearance-Eigenschaften zu ergeben, die unterschiedliche Isotope umfassen. Die meisten dieser für eine Radioimmuntherapie geeigneten Radioisotopen sind trägerfrei zu bekommen und viele davon sind schwere trikationische Metalle wie Y-90, was die Herstellung dieser Konjugate erleichtert.

[0059] Wenn ein Gemisch therapeutischer Mittel verwendet wird, wird den Tumorstellen eine Vielzahl therapeutischer Mittel zugeführt, dadurch erhöht sich der Nutzen des Verfahrens. Die Verwendung eines Nuklidgemischs hat den weiteren Vorteil, dass ein größerer Prozentsatz der injizierten biotinylierten Chelate dem Tumor-Ziel eine Nuklid-Nutzlast zuführt.

Klärungsmittel

[0060] Klärungsmittel im Stand der Technik können in Übereinstimmung mit der vorliegenden Erfindung verwendet werden. Zum Beispiel, wenn das erste Konjugat Avidin oder Streptavidin umfasst, kann Biotin als Klärungsmittel verwendet werden. Wenn andererseits das erste Konjugat Biotin umfasst, können Avidin oder Streptavidin als Klärungsmittel verwendet werden.

[0061] In einer bevorzugten Ausführungsform ist das Klärungsmittel ein Antikörper, der an die Bindungsstelle der zielenden Gruppe bindet, wobei die zielende Gruppe ein Antikörper, ein Antigen-bindendes Antikörperfragment oder eine zielende Gruppe, die kein Antikörper ist, sein kann. In einer bevorzugteren Ausführungsform ist das Klärungsmittel ein

MAb, der antiidiotypisch zu dem MAb des im ersten Schritt verwendeten Konjugats ist, wie in der US-Anmeldung mit der Nummer 08/486,166 beschrieben. In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird das Klärungsmittel mit mehreren Kohlenhydratresten substituiert, beispielsweise mit Galaktose, was dem Klärungsmittel erlaubt schnell durch Asialoglykoproteinrezeptoren aus dem Kreislauf entfernt zu werden.

[0062] In einer bevorzugteren Ausführungsform ist das Klärungsmittel ein anti-idiotypischer MAb substituiert mit Galaktose und einer geringen Anzahl von Biotinresten. Verschiedene Zwecke werden hier erfüllt. Der anti-idiotypische MAb entfernt das erste Antikörper-Konjugat (mit Radiojod markiertes MAb-SAv) aus dem Kreislauf und deponiert es in den Hepatozyten. Weil der anti-idiotypische MAb an die MAb-Bindungsstelle des ersten Antikörpers bindet, entfernt er nicht das bereits an den Tumorstellen lokalisierte erste Antikörper-Konjugat. Die mehrfache Galaktose-Substitution stellt eine rasche Entfernung, meist innerhalb von Minuten, des anti-idiotypischen MAb in die Leberhepatozyten sicher. Weil der anti-idiotypische MAb galaktosyliert ist und schnell verschwindet, hat er keine Möglichkeit das tumorlokalisierte erste Antikörper-Konjugat mit der Zeit kompetitiv vom Tumor zu verdrängen. Außerdem ist die Myelotoxizität sehr gering, da beinahe die gesamte zirkulierende Radioaktivität aus dem Blut entfernt wurde.

[0063] Die geringe Anzahl an Biotinresten an dem anti-idiotypischen MAb reichen, um die Streptavidin-Fraktion, die in die Leber entfernt wurde und die durch ihre inhärente Resistenz gegenüber Proteasen über eine längere Zeit erhalten bleibt, zu blockieren.

[0064] Aus der obigen Beschreibung wird ersichtlich, dass die Erfindung mit den in den oben zitierten US-Patenten und -Patentanmeldungen beschriebenen vor-zielenden und Verstärkungs-Verfahren vorteilhaft verwendet werden kann. Zum Beispiel kann das erste Antikörper-Konjugat ein Polymer umfassen, an das eine Vielzahl von Streptavidin-Resten gekoppelt sind, wodurch eine gesteigerte Anzahl an Bindungsstellen für das anschließend verabreichte Biotin zum Binden bereitgestellt werden, wie im US-Patent Nr. 5,482,698 beschrieben.

[0065] Das zweite Konjugat der vorliegenden Erfindung kann ein natürlich vorkommendes, mit Metallionen chelatbildendes Protein umfassen, welches in der Lage ist, eine Vielzahl von Metallionen pro Protein zu transportieren, um die an die Tumorstellen gebrachte Menge an Metallionen als therapeutisches Mittel zu erhöhen, wie in der US-Parallelanmeldung mit der Nummer 08/409,960 beschrieben.

[0066] Die vorliegende Erfindung bietet Vorteile gegenüber vorherigen Verfahren, die durch einen vor-zielenden Schritt, gefolgt von zwei Zuführungen, zwei therapeutische Mittel zu einer Zielstelle gebracht haben. Zum Beispiel hat das Verfahren der vorliegenden Erfindung den Vorteil, dass jede zielende Zusammenstellung ein therapeutisches Mittel dazu angefügt hat. Das ist ein Vorteil, weil jedes der Zielstelle zugeführte Molekül ein therapeutisches Mittel an die Zielstelle bringt und die Therapie der Stellen verstärkt wird. Außerdem erreicht die vorliegende Erfindung die Zuführung einer Vielzahl von therapeutischen Mitteln in weniger Schritten als bei vorherigen Verfahren erforderlich waren.

[0067] Die Verwendung des Avidin/Biotin-Bindungspaares gemäß der vorliegenden Erfindung bietet außerdem einen durch andere Verfahren nicht unbedingt erreichten Verstärkungseffekt. In der vorliegenden Erfindung zum Beispiel, hat das Avidin des Konjugats aus Antikörper Avidin und therapeutischem Mittel vier Bindungsstellen zur Verfügung, um anschließend verabreichte Konjugate aus Biotin und therapeutischem Mittel zu binden. Demgegenüber wird in anderen vor-zielenden Verfahren eine der Biotin-Bindungsstellen verwendet, um das Avidin auf die Zielstelle zu zielen, zum Beispiel, durch Bindung an ein an der Zielstelle vor-gezieltes Biotin. Dadurch stehen für die Bindung des anschließend verabreichten Biotin-Konjugats nur noch drei Biotinbindungsstellen zur Verfügung. Folglich erlaubt die vorliegende Erfindung, dass mehr Konjugat aus Biotin und therapeutischem Mittel an den Tumorstellen lokalisieren kann.

BEISPIELE

[0068] Die Ausführungsformen der Erfindung können ferner durch Beispiele, die Aspekte der Erfindung im Detail zeigen, erläutert werden. Diese Beispiele veranschaulichen spezifische Grundbestandteile der Erfindung.

Beispiel 1

Gezielte doppeltherapeutische Mittel

[0069] Bevorzugte Ausführungsformen der gezielten doppeltherapeutischen Mittel, die zugeführt werden können, indem das Verfahren der vorliegenden Erfindung verwendet wird, umfassen folgende Systeme, sind jedoch nicht auf sie beschränkt:

(1) I-131-Antikörper-Biotin entfernt (und Tumor-avidinyliert) durch neutralisiertes, deglykosyliertes Avidin und durch Y-90-Chelat-Biotin sekundär gezielt.

(2) I-131-Antikörper-Biotin durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt, durch neutralisiertes, deglykosyliertes Avidin Tumor-avidinyliert und durch Y-90-Chelat-Biotin sekundär gezielt.

(3) I-131-Antikörper-Streptavidin durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch

Y-90-Chelat-Biotin sekundär gezielt.
(4) I-131-Antikörper-Streptavidin durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch Lu-177-Chelat-Biotin sekundär gezielt.
(5) I-131-Antikörper-Streptavidin durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch Camptothecin-Biotin sekundär gezielt.
(6) I-131-Antikörper-Streptavidin durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch Onconase-Biotin sekundär gezielt.
(7) I-131-Antikörper-Streptavidin durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch antivirales Kermesbeeren-Protein-Biotin sekundär gezielt.
(8) I-131-Antikörper-Streptavidin durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch Endostatin-Biotin sekundär gezielt.
(9) I-131-Antikörper-Avidin (wahlweise neutralisiert und deglykosyliert) durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch Gelonin-Biotin sekundär gezielt.
(10) I-131-bispezifischer Antikörper (wie beispielsweise anti-CEA und anti-Y-DOTA-Chelat) durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch ein Y-90-DOTA-Derivat sekundär gezielt.
(11) I-131-bispezifischer Antikörper (wie beispielsweise anti-CEA und anti-Doxorubicin) durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch ein Doxorubicin-Analogon sekundär gezielt.
(12) I-131-bispezifischer Antikörper (wie beispielsweise anti-CEA und anti-Ricin-A-Kette) durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch ein Ricin-A-Analogon sekundär gezielt.
(13) I-131-biotinylierter-bispezifischer Antikörper (wie beispielsweise anti-CEA und anti-Y-DOTA-Chelat) durch Streptavidin entfernt (und am Tumor streptavidinyliert) und durch ein Y-90-DOTA-Biotin sekundär gezielt.
(14) I-131-Antikörper-Avidin (wahlweise neutralisiert und deglykosyliert) durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch I-125-Antikörper-(3)-Biotin sekundär gezielt.
(15) I-131-Antikörper-Avidin (wahlweise neutralisiert und deglykosyliert) durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch $(\text{Y-90-DOTA})_8$-Dextran-Biotin sekundär gezielt.
(16) I-131-Antikörper-Carboxypeptidase G2 durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch den topoisomerasehemmenden Arzneimittel-Präkursor CPT-11 sekundär gezielt.
(17) I-131-Antikörper-Avidin (wahlweise neutralisiert und deglykosyliert) durch einen anti-idiotypischen Antikörper entfernt und durch $(^{10}\text{B-Carboran})_8$-Dextran-Biotin sekundär gezielt. Der gezielte Borligand B-10 wird dann mit thermischen oder epithermischen Neutronen bestrahlt, um den Neutronenfang anzuregen und zytotoxische Alpha-Teilchen und Rückstoßkerne zu erzeugen. Beispiele für Borliganden sind in der parallelen US-Patentanmeldung mit der Nummer 08/687,626 beschrieben.

[0070] In all den oben aufgezählten Ausführungsformen sind durch die Ausscheidung und die Verstoffwechselung des ersten Konjugats wenig oder keine sonstigen Bindungsstellen in Nicht-Zielgewebe verfügbar. In einer bevorzugten Ausführungsform ist das verwendete sekundäre Erkennungssystem fremd für den in Behandlung befindlichen Körper, dadurch wird nichtspezifische Bindung minimiert und resultiert in die Erzielung einer effektiveren Form von Tumorspezifischem Zielen.

[0071] Die therapeutischen Mittel können Polymere sein. In der obigen Ausführungsform (11), umfassen Doxorubicin-Analoge den freien Arzneistoff, Doxorubicin-Dextran-Polymere und PEG-Doxorubicin-Derivate. Besonders nennenswert sind PEG-Derivate der zweiten therapeutischen Mittel, weil die Verweildauer solcher Mittel im Serum sorgfältig reguliert werden kann, so dass die Mittel für einen ausreichenden Zeitraum zirkulieren, um alle vor-gezielten Tumorstellen zu sättigen.

[0072] Ausführungsform 13 umfasst zwei Erkennungssysteme für das zweite Konjugat, d.h. eine antikörperbasierte und eine biotin-streptavidinbasierte Erkennung des therapeutischen Mittels Y-90.

[0073] In Ausführungsform (8) ist Endostatin ein Angiogenesehemmer, ähnlich wie Angiostatin.

[0074] Ausführungsformen (5) und (11) sind Beispiele für den Einsatz von üblicherweise verfügbareren Anti-Krebs-Arzneistoffen in den beanspruchten Verfahren, was von Vorteil ist, weil diese Arzneistoffe in niedrigeren Mengen verabreicht werden können und sie dadurch weniger toxisch sind, verglichen mit der Verabreichung ausschließlich des freien Arzneistoffes. Darüber hinaus weist nur der Tumor die Rezeptorstelle für den Arzneistoff auf, wodurch das Tumor-zu-Normalgewebe-Lokalisierungs-Verhältnis verbessert wird. Generell kann jeder chemotherapeutische Standard-Arzneistoff innerhalb des Anwendungsbereiches der vorliegenden Erfindung verwendet werden, aber es wird bevorzugt, dass die hauptsächlich limitierenden Toxizitäten der zwei therapeutischen Mittel unterschiedlich sind. Zum Beispiel, Myelosupression ist die hauptsächlich limitierende Toxizität der Radioimmuntherapie, wird aber durch die Verwendung von Bleomycin als zweitem therapeutischen Mittel nicht weiter verstärkt, weil seine hauptsächlich limitierende Toxizität Lungenfibrose ist.

[0075] Die Ausführungsform 14, wie in US-Patent Nr. 5,525,338 beschrieben, offenbart die Verwendung von sekundär gezielten Antikörpern innerhalb von vor-zielenden Protokollen. In dieser Ausfüh-

rungsform wird die Verwendung der Biotin-Avidin-Erkennung durch eine Antikörper-(3)-Erkennung desselben oder eines unterschiedlichen Epitops an der ursprünglichen Zielzelle ergänzt. Auf eine ähnliche Weise offenbart Ausführungsform 15, wie im US-Patent Nr. 5,482,698 beschrieben, viele Polymerstoffe, die die Erweiterung des Zielens ermöglichen.

[0076] Ausführungsform 16 offenbart eine bevorzugte Ausführungsform, die einen Arzneistoffpräkursor innerhalb des Anwendungsbereiches der vorliegenden Erfindung verwendet. Diese Ausführungsform wendet gezielt das relative Nichtvorhandensein von Toxizität des Arzneistoffpräkursors verglichen mit seinem aktiveren Metaboliten (d.h. SN-38) an, um die Differenz der toxischen Wirkungen zwischen Tumor und normalem Gewebe weiter zu erhöhen.

Beispiel 2

Zielen mit zwei unterschiedlichen Radionukliden auf einen CEA-produzierenden Tumor

[0077] Nacktmäuse, die ungefähr eine Woche alte (CEA-produzierende) humane Tumor-Heterotransplantate vom Typ GW-39 haben, werden mit einer Injektion des Y-88-DTPA-MN14 (Anti-CEA)-Streptavidin-Radioimmunkonjugat behandelt. Achtundvierzig Stunden später werden die Tiere mit einem fünfach molarem Überschuss (zu dem im Kreislauf verbleibenden MN-14) eines zu MN14 anti-idiotypischen Antikörpers, W12, behandelt. Drei Stunden später bekommen die Tiere Biotin-D-Phe-(Epsilon-In-111-Bz-DTPA)-D-LysNH_2 injiziert. Nach Tötung und Nekropsie werden wichtige Gewebe getrennt im Gamma-Szintillationszähler mit einer für beide Radionuklide geeigneten Einstellung des Energiefensters gemessen, wobei beide mit sehr unterschiedlicher Energie zerfallen und daher gleichzeitig gemessen werden können. Fig. 1 zeigt den Prozentsatz ID/g beider Agenzien im Tumor zu fortlaufenden Zeitpunkten, während Fig. 2 die Tumor-zu-Blut-Verhältnisse für die Reagenzien zeigt. Es wurde festgestellt, dass Tumor-zu-Blut-Verhältnisse für das nachfolgend verabreichte Biotin-D-Phe-(Epsilon-In-111-Bz-DTPA)-D-LysNH_2 gut über 100:1 in einer sehr kurzen Zeit erreicht werden. Tumor-zu-Blut-Verhältnisse für Y-88-DTPA-MN14 liegen ebenfalls bei 80–100:1 zu den Testzeitpunkten. Im Vergleich weist Y-88-Streptavidin-MN14 allein (als Modell für eine Standard-Radioimmuntherapie) erst 72 Stunden nach der Injektion nur ein 2:1 Tumor-zu-Blut-Verhältnis auf.

Beispiel 3

Drei-Schritt-Radioimmuntherapie mit Zuführung an Tumorstellen von I-125 oder I-131 und Y-90:

[0078] In diesem Beispiel wird dem Patienten ein erstes Antikörper-Konjugat verabreicht, das einen mit Streptavidin (SAv) konjugierten und mit einem Jod-Isotopen, wie beispielsweise I-131 oder I-125, radioaktiv markierten Anti-Tumor-MAb umfasst.

[0079] Nach einer Zeitspanne maximaler Tumoranreicherung, zum Beispiel ungefähr 24 bis ungefähr 48 Stunden, wird eine Zusammensetzung für die Klärung, die ein Konjugat eines MAb umfasst, der anti-idiotypisch zum Antikörper des ersten Antikörper-Konjugats ist, verabreicht. Dieses Klärungsmittel entfernt das erste Antikörper-Konjugat aus dem Kreislauf.

[0080] Das an den Tumorstellen lokalisierte Radiojod-markierte MAb-SAv verbleibt dort, bestrahlt den Tumor in dem Fall von I-125 über eine sehr kurze Reichweite (Einzelzellendurchmesser) oder in dem Fall von I-131 über eine kurze bis mittlere Reichweite (optimale Reichweite 0,26 bis 0,5 cm). Das in Leberhepatozyten eingeschleuste Radiojod-markierte MAb-SAv wird verstoffwechselt und das Radiojod wird freigegeben und schnell vom Patienten ausgeschieden.

[0081] Dann wird ein Konjugat verabreicht, das als zweites therapeutisches Mittel ein biotinyliertes Chelat umfasst, welches ein therapeutisches Radiometall-Nuklid, wie beispielsweise Y-90 trägt. Durch die große Affinität von Biotin für Streptavidin, bindet das Biotin-Chelat-Y-90-Konjugat schnell über die SAv-Reste an den Tumor, die während vorheriger Schritte an der Tumorstelle lokalisiert wurden. Weil das Biotin-Chelat-Y-90-Konjugat ein niedriges Molekulargewicht hat, wird nicht-lokalisiertes Konjugat schnell mit dem Urin des Patienten ausgeschieden. Dann wird der Tumorstelle eine zweite therapeutische Radionukliddosis mit minimaler Myelotoxizität zugeführt.

Beispiel 4

Drei-Schritt Radioimmuntherapie mit Zuführung an Tumorstellen von I-131 und P-32:

[0082] Dieses Beispiel nutzt den Vorteil der therapeutischen Wirkung langlebiger Nuklide und die Tatsache, dass gemäß der vorliegenden Erfindung an Tumorstellen lokalisierte Nuklide, an der Stelle für einen längeren Zeitraum bleiben. Dieses Beispiel erläutert außerdem die Verwendung eines Paares komplementärer Oligonukleotide als Bindungspartner.

[0083] Im ersten Schritt wird ein radiojodmarkiertes Konjugat eines zielenden MAbs und eines einzelsträngigen Oligonukleotids, wie beispielsweise Polyguanin, verabreicht. Zum Zeitpunkt der maximalen Tumorlokalisierung wird ein galaktosylierter anti-idiotypischer MAb gegeben, um das zirkulierende erste

MAb-Konjugat, wie oben diskutiert, zu entfernen. Das zweite therapeutische Isotop, P-32, wird in der Form von enzymresistenten Phosphorthioatestern verabreicht, die an den Einzelstrang eines Oligonukleotids, welches komplementär zu dem im ersten Schritt verwendeten ist, in diesem Fall Polycytosin, gebunden sind.

[0084] Durch dieses Verfahren werden beide, I-131 und P-32, den Tumorstellen zugeführt.

Beispiel 5

Therapie in der ein Arzneistoff und ein Radioisotop den Tumorstellen zugeführt wird:

[0085] Dem Patienten wird ein mit mehreren Arzneistoffanteilen substituiertes SAv-MAb-Konjugat verabreicht. Indes ein Klärungsmittel-Schritt durchgeführt werden kann, ist er optional. Weil das anfängliche Konjugat kein radioaktives Isotop trägt, sollte das Weglassen des Klärungsmittel-Schritts keine negative Auswirkung auf den Patienten haben.

[0086] Zum Zeitpunkt der maximalen Tumoranreicherung wird ein mehrfach-biotinyliertes-Polymer-Lutetium-177-Konjugat gegeben. Das heißt, das Konjugat umfasst zwei oder mehr Biotin-Anteile. Letzteres Konjugat bindet an das bereits an den Tumorstellen lokalisierte SAv-MAb-Konjugat, quervernetzt das SAv-MAb Konjugat und induziert Apoptose und Internalisierung. Dann wird der Tumor durch das internalisierte, zurückgehaltene Lutetium-177-Radionuklid, aufgrund der Halbwertszeit des Nuklids von 7 Tagen, über einen längeren Zeitraum bestrahlt.

[0087] In einer weiteren Abwandlung dieses Beispiels, wird ein Isotopen-Gemisch oder „Isotopen-Cocktail" im zweiten Schritt verwendet. Vorzugsweise werden Isotopen mit unterschiedlicher Reichweite verwendet.

Beispiel 6

Kombinierte Radioimmuntherapie und Toxin-Immuntherapie in einem Drei-Schritt-Protokoll

[0088] Ein Jod-131-markiertes Streptavidin-MAb-Konjugat wird dem Patienten durch eine Injektion verabreicht. Zum Zeitpunkt der maximalen Tumoranreicherung des Konjugats, wird eine den Kreislauf klärende Dosis eines leicht biotinylierten anti-idiotypischen Antikörpers verabreicht. Dieses Klärungsmittel entfernt nicht-gezieltes Konjugat aus dem Blut und das I-131 wird in der Leber schnell von dem Protein getrennt und wird ausgeschieden. An die Tumorstellen gezieltes Konjugat verbleibt an den Tumorstellen für einen längeren Zeitraum und bestrahlt die Tumorstellen. Im dritten Schritt wird dem Patienten ein Toxinkonjugat aus $(Biotin)_2$-Onconase injiziert. Das Toxin lokalisiert durch die vor-gezielten Streptavidin-Anteile an den Tumorstellen. Die doppelt-biotinylierte Onconase kann das Streptavidin-MAb-Konjugat binden und quervernetzen, induziert dadurch die Internalisierung des Toxins in die Tumorzellen, welche schon durch I-131 bestrahlt wurden, wodurch eine duale Therapie der Tumorzellen bewirkt wird.

Beispiel 7

Kombinierte Radioimmuntherapie und Arzneistoff-Immuntherapie in einem Drei-Schritt Protokoll

[0089] Ein Jod-131-markiertes Streptavidin-MAb-Konjugat wird dem Patienten durch eine Injektion verabreicht. Zum Zeitpunkt der maximalen Tumoranreicherung des Konjugats, wird eine den Kreislauf klärende Dosis eines leicht biotinylierten anti-idiotypischen Antikörpers verabreicht. Dieses Klärungsmittel entfernt nicht-gezieltes Konjugat aus dem Blut und das I-131 wird in der Leber schnell von dem Protein getrennt und wird ausgeschieden. An die Tumorstellen gezieltes Konjugat verbleibt an den Tumorstellen für einen längeren Zeitraum und bestrahlt die Tumorstellen.

[0090] Im dritten Schritt wird dem Patienten ein Arzneistoff-Konjugat aus $(Biotin)_2$-Dextran-(Doxorubicin) injiziert. Der Arzneistoff lokalisiert durch die vor-gezielten Streptavidin-Anteile an den Tumorstellen. Das doppelt-biotinylierte Arzneistoffpolymer kann das Streptavidin-MAb-Konjugat binden und quervernetzen, induziert dadurch die Internalisierung des Doxorubicins in die Tumorzellen, welche schon durch I-131 bestrahlt wurden, wodurch eine duale Therapie der Tumorzellen bewirkt wird.

FIGUREN

Fig. 1

Y Achse Prozent ID/Gramm GW-39
X Achse Stunden nach der Injektion von 88Y-StAv-MN-14 IgG
In der Grafik 88Y-StAv-MN-14 IgG; ohne gal-WI2

Fig. 2

Y Achse Verhältnis Tumor/Nicht-Tumor
X Achse Stunden nach der Injektion von 88Y-StAv-MN-14 IgG
In der Grafik (keine ausreichende Radioaktivität für die Quantifizierung)

BLUT

88Y-StAv-MN-14 IgG; gal-W12 (48 h)
88Y-StAv-MN-14 IgG allein
111In-DTPA-pep-Biotin (vor-zielend)

Patentansprüche

1. Zusammensetzung zur Bewirkung der Therapie eines Tumors in einem Patienten mit:
(A) einem erstem Konjugat umfassend eine zielende Gruppe, einen ersten Partner eines Bindungspaares und ein erstes therapeutisches Mittel, wobei die zielende Gruppe selektiv an eine Markersubstanz, die von einem Tumor erzeugt wird oder die mit diesem assoziiert ist, bindet, und wobei die zielende Gruppe ein Antikörper- oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment ist und wobei das Bindungspaar ausgewählt ist unter Avidin oder Streptavidin und Biotin, komplementären DNA-Fragmenten, komplementären Peptid-Oligonukleotiden und korrespondierenden Enzymen und Arzneimittelpräkursor-Substraten und wobei die ersten und zweiten therapeutischen Mittel ausgewählt sind unter Radionukliden, Arzneistoffen, Toxinen und Borliganden,
(B) wahlweise einem Klärungsmittel und
(C) einem zweiten Konjugat umfassend einen komplementären Partner des Bindungspaares und ein zweites therapeutisches Mittel, wobei das zweite therapeutische Mittel von dem ersten therapeutischen Mittel verschieden ist, zur Verwendung bei einem Verfahren zur Bewirkung der Therapie eines Tumors in einem Patienten, bei dem man:
(a) dem Patienten das erste Konjugat verabreicht und es dem ersten Konjugat ermöglicht, sich bei dem Tumor zu lokalisieren, wodurch die Therapie des Tumors bewirkt wird,
(b) wahlweise dem Patienten das Klärungsmittel verabreicht und es dem Klärungsmittel ermöglicht, dass nicht-lokalisierte erste Konjugat aus dem Kreislauf zu entfernen, und
(c) dem Patienten das zweite Konjugat verabreicht und es ermöglicht, dass sich das zweite Konjugat bei dem Tumor lokalisiert, wodurch die Therapie des Tumors bewirkt wird.

2. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das erste und das zweite therapeutische Mittel Radionuklide sind.

3. Zusammensetzung nach Anspruch 2, wobei jedes der Radionuklide verschiedene Strahlungsniveaus emittiert.

4. Zusammensetzung nach Anspruch 2, wobei das erste therapeutische Mittel ausgewählt ist unter I-131, I-125 und At-211.

5. Zusammensetzung nach Anspruch 2, wobei das zweite therapeutische Mittel ausgewählt ist unter P-32, P-33, Sc-47, Cu-64, Cu-67, As-77, Y-90, Ph-105, Pd-109, Ag-111, I-125, Pr-143, Sm-153, Tb-161, Ho-166, Lu-177, Re-186, Re-188, Re-189, Ir-194, Au-199, Pb-212 und Bi-213.

6. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das zweite therapeutische Mittel ein Borligand ist und das Verfahren weiterhin die Bestrahlung des Tumors mit thermischen oder epithermischen Neutronen nach der Lokalisierung des zweiten Konjugats bei dem Tumor umfasst.

7. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei die ersten und zweiten therapeutischen Mittel Gemische von wenigstens zwei Radionukliden, Arzneistoffen, Toxinen oder Borliganden sind.

8. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das erste therapeutische Mittel ein Radionuklid ist und das zweite therapeutische Mittel ein Arzneistoff, ein Toxin oder ein Borligand ist.

9. Zusammensetzung nach Anspruch 8, wobei das erste therapeutische Mittel ausgewählt ist unter I-131, I-125 und At-211.

10. Zusammensetzung nach Anspruch 8, wobei das zweite therapeutische Mittel ein Arzneistoff ist, der ausgewählt ist unter Taxol, Stickstofflosten, Ethylenimin-Derivaten, Alkylsulfonaten, Nitroharnstoffen, Triazenen, Folsäure-Analoga, Pyrimidin-Analoga, Purin-Analoga, Vincaalkaloiden, Antibiotika, Enzymen, Platin-Koordinationskomplexen, substituiertem Harnstoff, Methylhydrazin-Derivaten, Nebennierenrinden-Suppressoren, Hormonen, Antagonisten, Camptothecin und Endostatin.

11. Zusammensetzung nach Anspruch 8, wobei das zweite therapeutische Mittel ein Toxin ist, das ausgewählt ist unter Abrin, Alphatoxin, Diphterietoxin, Exotoxin und Gelonin, antivirales Kermesbeeren-Protein, Ricin, Saporin und Onconase.

12. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das erste therapeutische Mittel ein Arzneistoff oder ein Toxin ist und das zweite therapeutische Mittel ein Radionuklid oder ein Borligand ist.

13. Zusammensetzung nach Anspruch 12, wobei das erste therapeutische Mittel ein Arzneistoff ist, der ausgewählt ist unter Taxol, Stickstofflosten, Ethylenimin-Derivaten, Alkylsulfonaten, Nitroharnstoffen, Triazenen, Folsäure-Analoga, Pyrimidin-Analoga, Purin-Analoga, Vincaalkaloiden, Antibiotika, Enzymen, Platin-Koordinationskomplexen, substituiertem Harnstoff, Methylhydrazin-Derivaten, Nebennierenrinden-Suppressoren, Hormonen, Antagonisten, Camptothecin und Endostatin.

14. Zusammensetzung nach Anspruch 12, wobei das erste therapeutische Mittel ein Toxin ist, das ausgewählt ist unter Abrin, Alphatoxin, Diphterietoxin, Exotoxin und Gelonin, antivirales Kermesbeeren-Protein, Ricin, Saporin und Onconase.

15. Zusammensetzung nach Anspruch 13, wobei

das zweite therapeutische Mittel ein Radionuklid ist, das ausgewählt ist unter P-32, P-33, Sc-47, Cu-64, Cu-67, As-77, Y-90, Ph-105, Pd-109, Ag-111, I-125, I-131, Pr-143, Sm-153, Tb-161, Ho-166, Lu-177, Re-186, RE-188, Re-189, Ir-194, Au-199, At-211, Pb-212 und Bi-213.

16. Zusammensetzung nach Anspruch 12, wobei das zweite therapeutische Mittel ein Borligand ist und das Verfahren weiterhin die Bestrahlung des Tumors mit thermischen oder epithermischen Neutronen nach der Lokalisierung des Konjugats bei dem Tumor umfasst.

17. Zusammensetzung nach Anspruch 12, wobei das zweite therapeutische Mittel ein Radionuklid ist, das ausgewählt ist unter P-32, P-33, Sc-47, Cu-64, Cu-67, As-77, Y-90, Ph-105, Pd-109, Ag-111, I-125, I-131, Pr-143, Sm-153, Tb-161, Ho-166, Lu-177, Re-186, Re-188, Re-189, Ir-194, Au-199, At-211, Pb-212 und Bi-213.

18. Zusammensetzung nach Anspruch 12, wobei das zweite therapeutische Mittel ein Borligand ist und das Verfahren weiterhin die Bestrahlung des Tumors mit thermischen oder epithermischen Neutronen nach der Lokalisierung des Konjugats bei dem Tumor umfasst.

19. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei der Antikörper ein bispezifischer Antikörper ist, der in der Lage ist, spezifisch an wenigstens ein Epitop auf der Markersubstanz oder auf einer Komponente des zweiten Konjugats zu binden.

20. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das Bindungspaar Avidin oder Streptavidin und Biotin ist.

21. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das Klärungsmittel anti-idiotypisch zu der zielenden Gruppe des ersten Konjugats ist.

22. Zusammensetzung nach Anspruch 21, wobei das Klärungsmittel ein anti-idiotypischer monoklonaler Antikörper ist.

23. Zusammensetzung nach Anspruch 22, wobei der anti-idiotypische monoklonale Antikörper mit Galaktose- und Biotin-Resten substituiert ist.

24. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei das erste Konjugat ein radioaktiv markierter monoklonaler Antikörper ist, der mit Streptavidin konjugiert ist, wobei der monoklonale Antikörper selektiv an die Markersubstanz bindet, und wobei das zweite Konjugat radioaktiv markiertes biotinyliertes Chelat ist.

25. Zusammensetzung nach Anspruch 24, wobei das erste und zweite Konjugat Radionuklide enthalten, die verschiedene Strahlungsniveaus emittieren.

26. Zusammensetzung nach Anspruch 25, wobei das Klärungsmittel ein anti-idiotypischer monoklonaler Antikörper ist, der mit Galaktose- und Biotin-Resten substituiert ist.

27. Zusammensetzung nach Anspruch 1, wobei der erste Partner des Bindungspaares des ersten Konjugats ein Enzym umfasst und das zweite Konjugat einen Arzneimittelpräkursor umfasst, der durch das Enzym in ein Arzneimittel umgewandelt wird, wobei der Arzneimittelpräkursor sowohl den komplementären Partner des Bindungspaares als auch das zweite therapeutische Mittel umfasst.

28. Zusammensetzung nach Anspruch 27, wobei das Enzym Carboxylpeptidase G2 ist und der Arzneimittelpräkursor CPT-11 ist.

29. Zusammensetzung nach Anspruch 28, wobei das erste therapeutische Mittel ein Radionuklid ist.

30. Zusammensetzung zur Verwendung bei der Herstellung eines Mittels zur Bewirkung der Therapie eines Tumors in einem Patienten, wobei die Zusammensetzung umfasst:
(A) ein erstes Konjugat umfassend eine zielende Gruppe, einen ersten Partner eines Bindungspaares und ein erstes therapeutisches Mittel, wobei die zielende Gruppe selektiv an eine Markersubstanz, die von einem Tumor erzeugt wird oder die mit diesem assoziiert ist, bindet, und wobei die zielende Gruppe ein Antikörper- oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment ist und wobei das Bindungspaar ausgewählt ist unter Avidin oder Streptavidin und Biotin, komplementären DNA-Fragmenten, komplementären Peptid-Oligonukleotiden und korrespondierenden Enzymen und Arzneimittelpräkursor-Substraten und wobei die ersten und zweiten therapeutischen Mittel ausgewählt sind unter Radionukliden, Arzneistoffen, Toxinen und Borliganden,
(B) wahlweise ein Klärungsmittel und
(C) ein zweites Konjugat, umfassend einen komplementären Partner des Bindungspaares und ein zweites therapeutisches Mittel, wobei das zweite therapeutische Mittel von dem ersten therapeutischen Mittel verschieden ist.

31. Verwendung einer Zusammensetzung mit:
(A) einem erstem Konjugat umfassend eine zielende Gruppe, einen ersten Partner eines Bindungspaares und ein erstes therapeutisches Mittel, wobei die zielende Gruppe selektiv an eine Markersubstanz, die von einem Tumor erzeugt wird oder die mit diesem assoziiert ist, bindet, und wobei die zielende Gruppe ein Antikörper- oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment ist und wobei das Bindungspaar ausgewählt ist unter Avidin oder Streptavidin und Biotin, komplementären DNA-Fragmenten, komplementä-

ren Peptid-Oligonukleotiden und korrespondierenden Enzymen und Arzneimittelpräkursor-Substraten und wobei die ersten und zweiten therapeutischen Mittel ausgewählt sind unter Radionukliden, Arzneistoffen, Toxinen und Borliganden,
(B) wahlweise einem Klärungsmittel und
(C) einem zweiten Konjugat umfassend einen komplementären Partner des Bindungspaares und ein zweites therapeutisches Mittel, wobei das zweite therapeutische Mittel von dem ersten therapeutischen Mittel verschieden ist,
bei der Herstellung eines Mittels zur Verwendung bei einem Verfahren zur Bewirkung der Therapie eines Tumors in einem Patienten, wobei man bei dem Verfahren:
(a) dem Patienten das erste Konjugat verabreicht und es dem ersten Konjugat ermöglicht, sich bei dem Tumor zu lokalisieren, wodurch die Therapie des Tumor bewirkt wird,
(b) wahlweise dem Patienten das Klärungsmittel verabreicht und es dem Klärungsmittel ermöglicht, dass nicht-lokalisierte erste Konjugat aus dem Kreislauf zu entfernen, und
(c) dem Patienten das zweite Konjugat verabreicht und es ermöglicht, dass sich das zweite Konjugat bei dem Tumor lokalisiert, wodurch die Therapie des Tumors bewirkt wird.

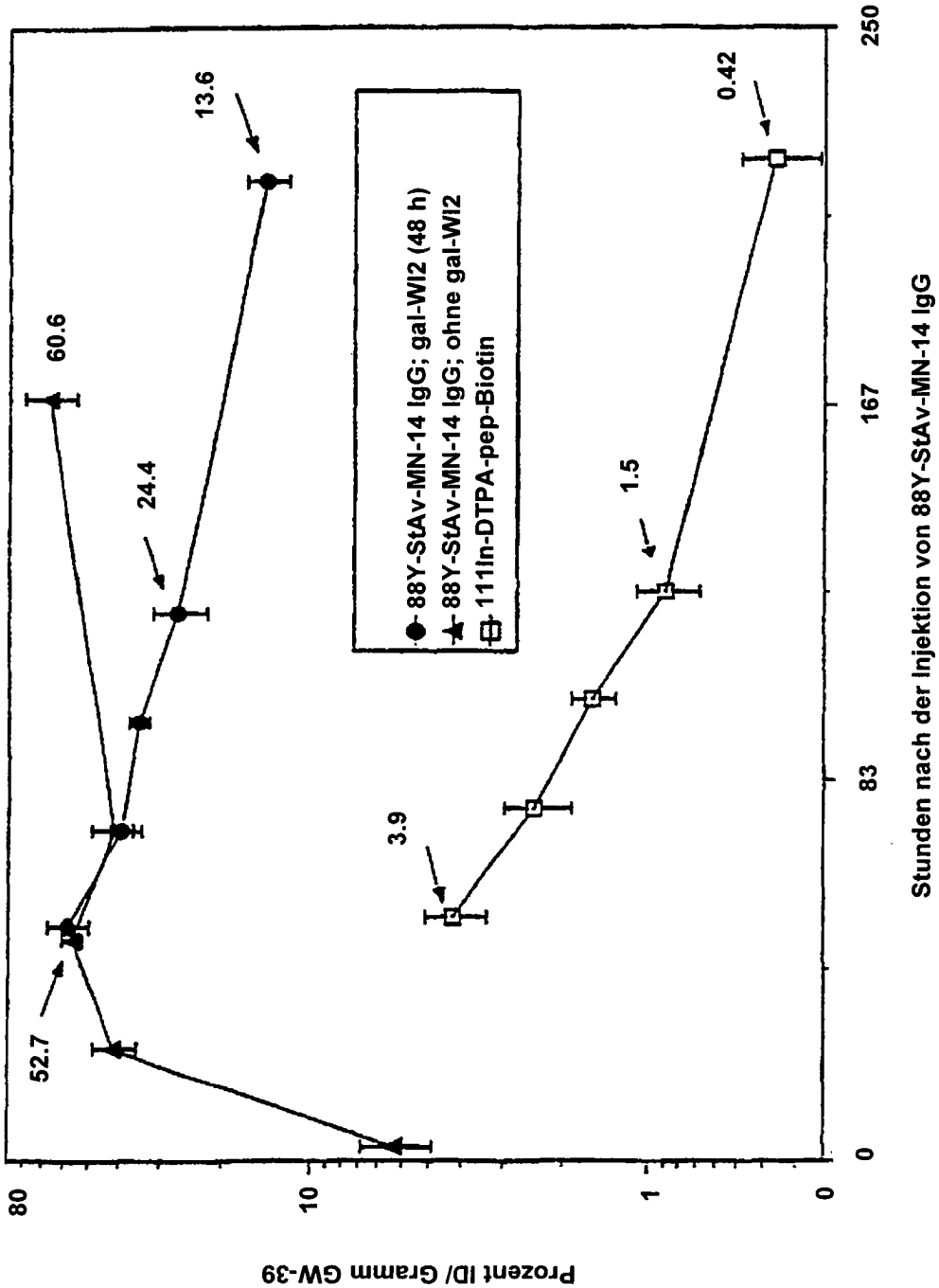
32. Kit zur Bewirkung der Therapie eines Tumors in einem Patienten, umfassend in getrennten Behältern:
(A) ein erstes Konjugat umfassend eine zielende Gruppe, einen ersten Partner eines Bindungspaares und ein erstes therapeutisches Mittel, wobei die zielende Gruppe selektiv an eine Markersubstanz, die von einem Tumor erzeugt wird oder die mit diesem assoziiert ist, bindet, und wobei die zielende Gruppe ein Antikörper- oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment ist und wobei das Bindungspaar ausgewählt ist unter Avidin oder Streptavidin und Biotin, komplementären DNA-Fragmenten, komplementären Peptid-Oligonukleotiden und korrespondierenden Enzymen und Arzneimittelpräkursor-Substraten und wobei die ersten und zweiten therapeutischen Mittel ausgewählt sind unter Radionukliden, Arzneistoffen, Toxinen und Borliganden,
(B) wahlweise ein Klärungsmittel und
(C) ein zweites Konjugat umfassend einen komplementären Partner des Bindungspaares und ein zweites therapeutisches Mittel, wobei das zweite therapeutische Mittel von dem ersten therapeutischen Mittel verschieden ist.

33. Verwendung von:
(A) einem erstem Konjugat umfassend eine zielende Gruppe, einen ersten Partner eines Bindungspaares und ein erstes therapeutisches Mittel, wobei die zielende Gruppe selektiv an eine Markersubstanz, die von einem Tumor erzeugt wird oder die mit diesem assoziiert ist, bindet, und wobei die zielende Gruppe ein Antikörper- oder ein Antigen-bindendes Antikörperfragment ist und wobei das Bindungspaar ausgewählt ist unter Avidin oder Streptavidin und Biotin, komplementären DNA-Fragmenten, komplementären Peptid-Oligonukleotiden und korrespondierenden Enzymen und Arzneimittelpräkursor-Substraten und wobei die ersten und zweiten therapeutischen Mittel ausgewählt sind unter Radionukliden, Arzneistoffen, Toxinen und Borliganden,
(B) wahlweise einem Klärungsmittel und
(C) einem zweiten Konjugat umfassend einen komplementären Partner des Bindungspaares und ein zweites therapeutisches Mittel, wobei das zweite therapeutische Mittel von dem ersten therapeutischen Mittel verschieden ist,
bei der Herstellung eines Medikaments zur Bewirkung der Therapie eines Tumors in einem Patienten, wobei man das erste therapeutische Mittel sich bei dem Tumor lokalisieren lässt und man das Klärungsmittel das nicht-lokalisierte erste Konjugat aus dem Kreislauf entfernen lässt und wobei man das zweite Konjugat sich bei dem Tumor lokalisieren lässt, wodurch die Therapie des Tumors bewirkt wird.

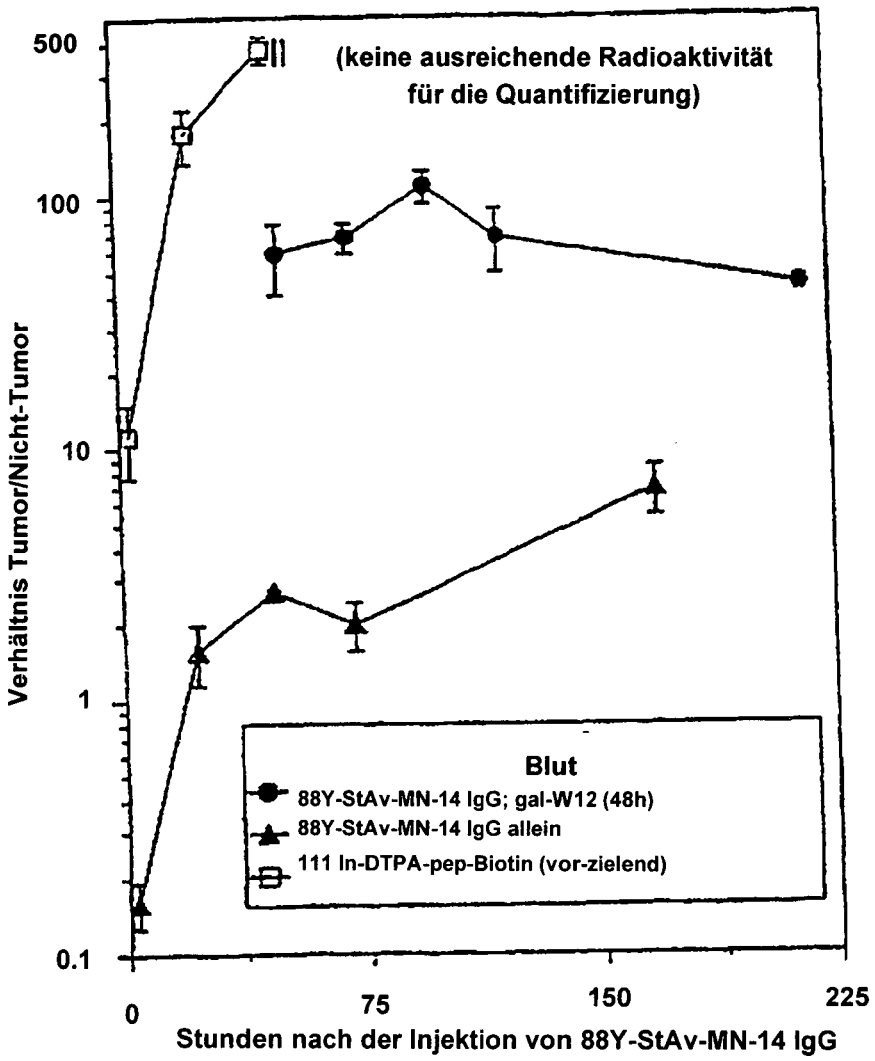
Es folgen 2 Blatt Zeichnungen

Anhängende Zeichnungen

Figur 1



Figur 2


500
100
10
1
0.1
Verhältnis Tumor/Nicht-Tumor
(keine ausreichende Radioaktivität
für die Quantifizierung)
Blut
88Y-StAv-MN-14 IgG; gal-W12 (48h)
88Y-StAv-MN-14 IgG allein
111 In-DTPA-pep-Biotin (vor-zielend)
0
75
150
225
Stunden nach der Injektion von 88Y-StAv-MN-14 IgG