



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Předmět: Biofarmaceutika

Kurz: Bioléčiva – biofarmaceutika

4. rok studia

# Terapeutické monoklonální protilátky

doc. PharmDr. Oldřich Farsa, Ph.D.

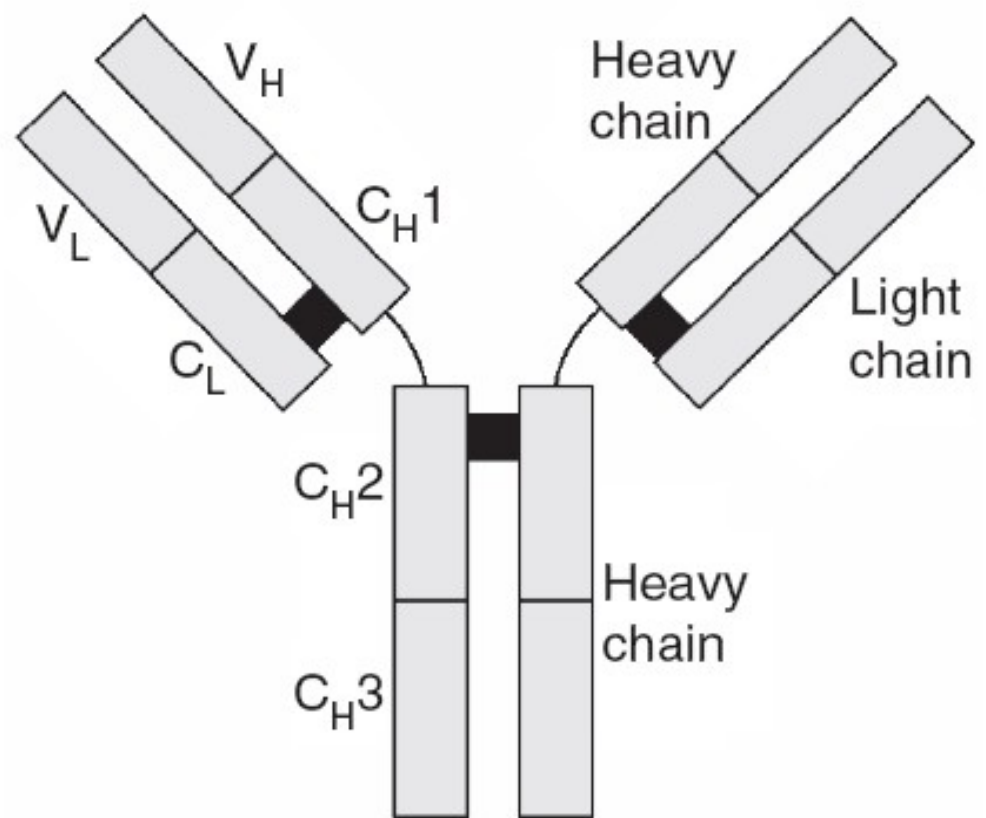
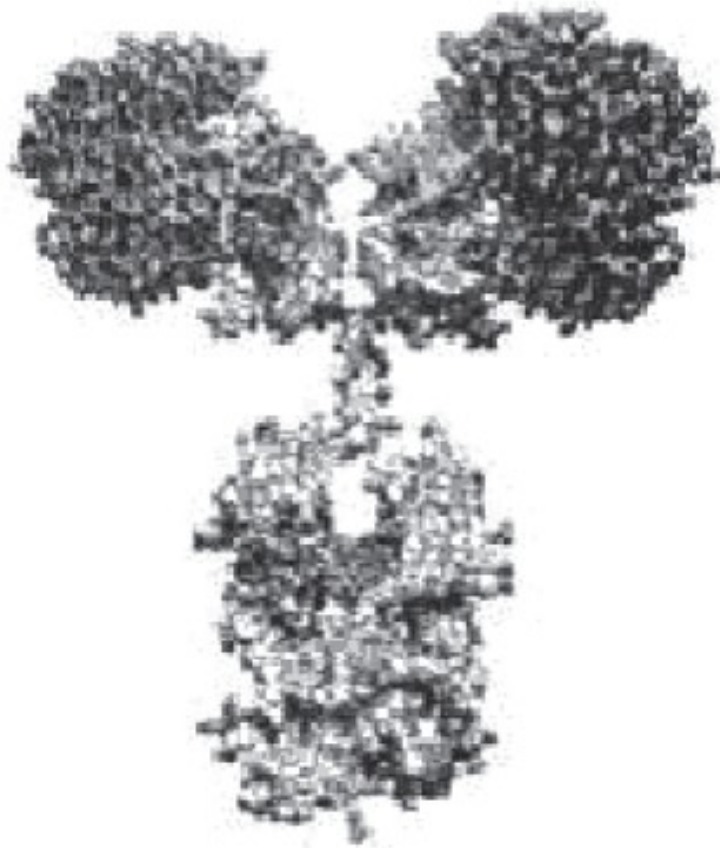
# Protilátky

- produkovány B buňkami (= B lymfocyty, podskupina agranulocytů) imunitního systému
- přirovnávány ke zbraním našeho obranného systému, které se “navedou” na antigen a zničí ho
- imunoglobuliny rozdělujeme do 5 tříd:
  - imunoglobulin G a D (IgG a IgD, ~ 75%)
  - imunoglobulin A (IgA ~ 15%)
  - imunoglobulin M (IgM ~ 15%)
  - imunoglobulin E (IgE < 1%).
- glykoproteiny
- vzájemně se liší ve
  - velikosti molekuly
  - náboji
  - rozsahu glykosylace
  - sekvenci aminokyselin
- v rámci třídy definovány podtřídy; strukturní rozdíly malé

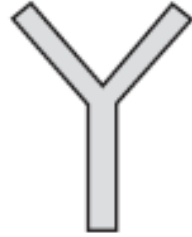
## Struktura protilátky

- obvykle znázorňovaná jako uspořádání do velkého Y
- IgG je nejčastější protilátka: tetramerní molekula ze dvou (normálně) totožných **těžkých (H)** polypeptidových řetězců o asi 440 aminokyselinách a dvou (normálně) totožných **lehkých (L)** řetězců o asi 220 aminokyselinách
- čtyři řetězce drží pohromadě disulfidovými vazbami (mezi Cys) a nekovalentními interakcemi
- na lehkých i těžkých řetězcích se rozlišují úseky zvané **domény**, které se skládají z asi 110 aminokyselin v podobné sekvenci: konstantní domény  $C_H1$ ,  $C_H2$ , a  $C_H3$  těžkého řetězce a konstantní doména  $C_L$  lehkého řetězce
- kde je sekvence aminokyselin proměnná, rozlišují se proměnné (variabilní) domény, jedna na lehkém a jedna na těžkém řetězci  $V_H$  a  $V_L$
- variabilita je omezena na zcela určité oblasti proměnné domény, zvané **oblasti podmiňující komplementaritu**. Tyto oblasti mají odpovídající 3D strukturu, která umožňuje vázat antigen.

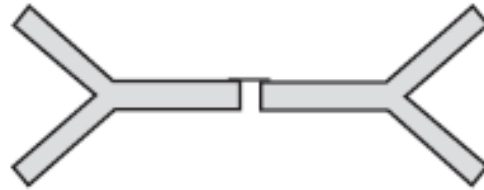
# Struktura protilátky



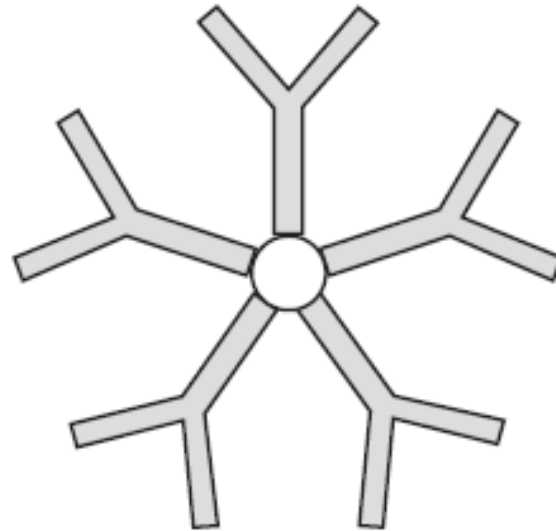
# Typická kvarterní struktura imunoglobulinů jednotlivých tříd



IgG, IgD, IgE  
(monomer)



IgA  
(dimer)



IgM  
(pentamer)

## Další strukturní rysy protilátek

Protilátka může být štěpena proteasami, jako jsou papain nebo pepsin, na rozdílné fragmenty. V principu můžeme rozlišit následující:

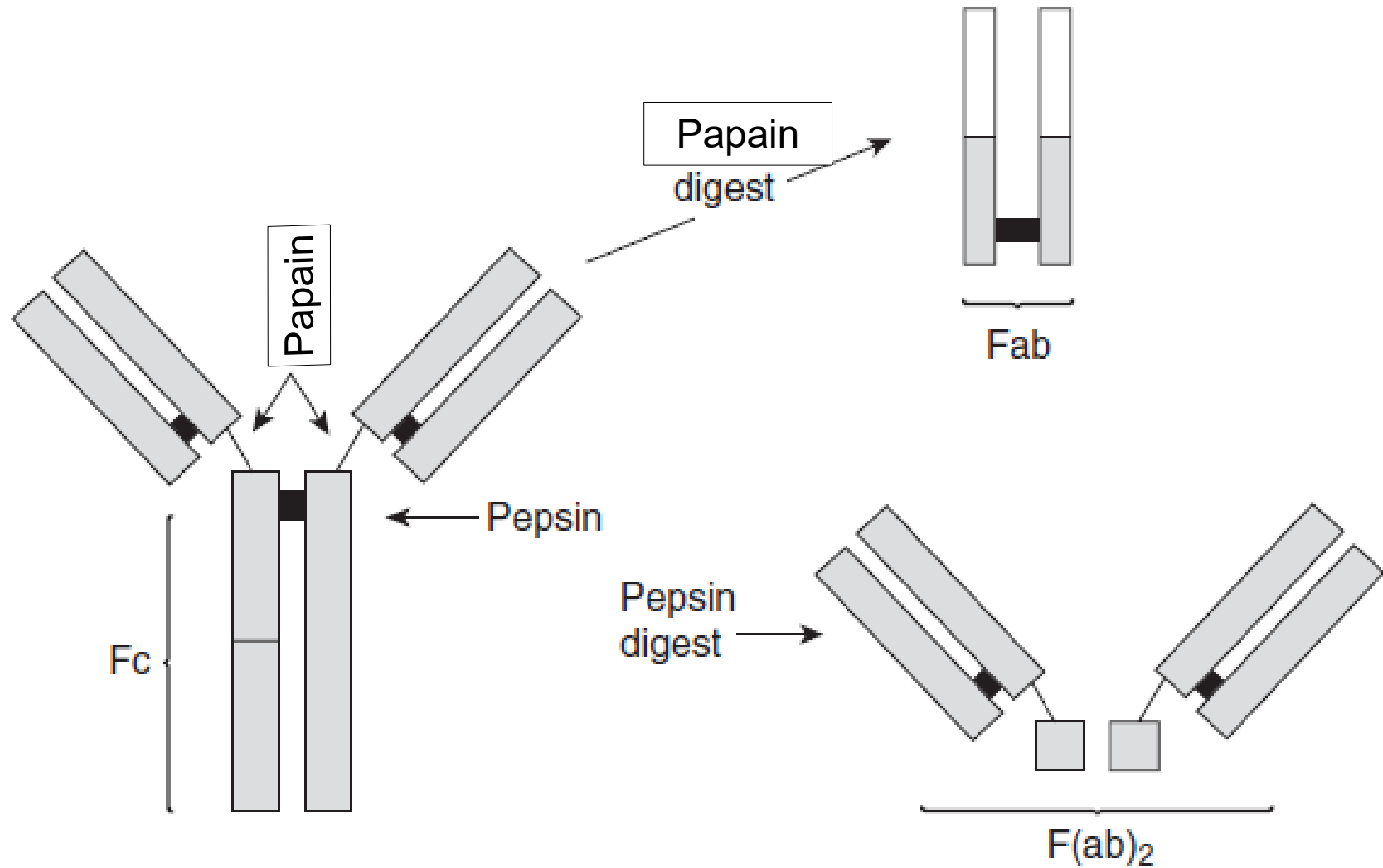
- **Variabilní (proměnný) fragment (Fv):** Konce dvou ramen písmene Y jednotlivých protilátek se významně liší. Jsou to oblasti, jenž váží epitopy antigenů a přinášejí je přirozeným zabíječům (NK) a makrofágům ke zničení.

and bring them to the natural killer cells and macrophages for destruction.

- **Fragmenty vážící antigen (Fab), Fab', a F(ab')<sub>2</sub> :** Různé části, jež obsahují variabilní fragment.

- **Konstantní fragment (Fc):** „Kmen“ písmene Y. Tato část je stejná pro všechny protilátky stejné třídy, např. všechny IgG mají stejný Fc. Fc spojuje protilátku s dalšími receptory a vyvolává imunitní odpověď a destrukci antigenu.

Rozdílné fragmenty molekuly protilátky, jež mohou vzniknout enzymatickou hydrolýzou



**Monoklonální protilátky pro humánní použití** jak je definuje Evropský (EP 10.5) a Český (ČL 2017) lékopis

*Anticorpora monoclonalia ad usum humanum*

Obecný článek č. 2031

Monoklonální protilátky pro humánní použití jsou přípravky charakteru imunoglobulinu nebo fragmentu imunoglobulinu, např.  $F(ab)_2$  s definovanou specifitou, produkované jedním klonem buněk. Mohou být konjugovány s dalšími látkami včetně radioizotopů. Mohou být získávány ze „znesmrtelněných“ B lymfocytů, jež jsou klonovány jako stálé buněčné kultury, nebo z buněčných kultur obsahujících rekombinantní DNA.

V současnosti užívané protilátky, pocházející z rekombinantní DNA, jsou následující:

**Chiménní monoklonální protilátky:** proměnné domény těžkých a lehkých řetězců lidské protilátky jsou nahrazeny doménami nehumánními, jež jsou nositeli požadované antigenní specifity.

**Humanizované monoklonální protilátky:** 3 krátké hypervariabilní sekvence (oblasti podmiňující komplementaritu) z nehumánních variabilních domén v každém řetězci jsou uměle vloženy do variabilní domény lidské protilátky. Vazbu antigenů je možné zlepšit dalšími změnami sekvencí.

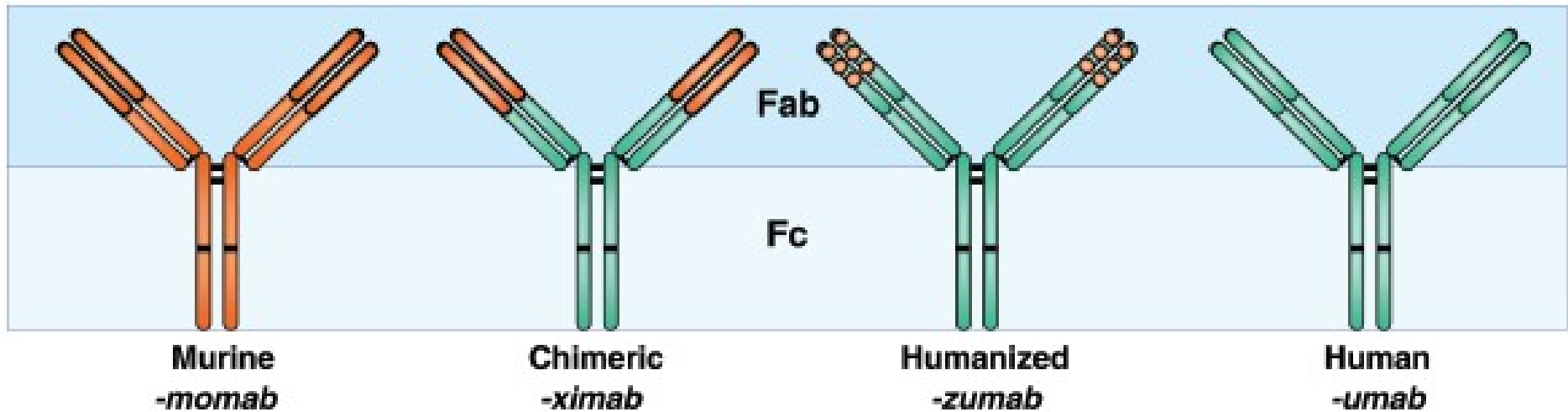
**Rekombinantní humánní monoklonální protilátky:** domény proměnných těžkých a lehkých řetězců lidské protilátky jsou napojeny na konstantní region lidské protilátky



EP nepředpokládá použití plně zvířecích mabů u lidí.



# Ilustrace rozdílu mezi zvířecími, chimérními, humanizovanými a humánními maby a konkrétní příklady



Prefix	Target		Antibody Source		Suffix	Some Examples
Variable	Non-tumor Target	Viral	-vir-	Human	-mab	Pali-vi-zu-mab (humanized antiviral Mab)
		Bacterial	-bac-			
		Immune	-lim-	Murine		Ada-lim-u-mab (human Mab against immune disease target)
		Infectious lesions	-les-			
		Antifungal	-fung-	Rat		E-fung-u-mab (human antifungal Mab)
		Cardiovascular	-ci(r)-			
		Neurologic	-ne(r)-	Hamster		Bapi-neu-zu-mab (humanized Mab against neurobiology target)
		Interleukins	-kin-			
		Musculoskeletal	-mul-	Primate		Uste-kin-u-mab (human anticytokine Mab)
		Bone	-os-			
	Toxin as target	-toxa-	Chimeric	Den-os-u-mab (human antibone target Mab)		
	Tumor target	Colon	-col-		Humanized	Ab-ci-xi-mab (chimeric Mab against CV target)
		Melanoma	-mel-			
		Mammary	-mar-			
Testis		-got-	Rat/murine hybrid		Ore-gov-o-mab (murine Mab for ovarian cancer)	
Ovary		-gov-				
Prostate		-pr(o)-	Chimeric + humanized	Adeca-tum-u-mab (human antibody against miscellaneous tumor target)		
Miscellaneous	-tu(m)-					

Konkrétní příklady terapeutických monoklonálních protilátek  
**Antineoplastika**

Inhibitory (tkáňových) růstových faktorů

# bevacizumab

Avastin®

- humanizovaná
- inhibitor angiogeneze
- protilátka proti vaskulárnímu endoteliálnímu růstovému faktoru (VEGF)
- vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF), pro-angiogenní faktor, váže se na 2 receptory VEGFR-1 (Flt-1) a VEGFR-2 (Flk-1/KDR), aktivuje receptorovou tyrosinkinasu (RTK) a indukuje angiogenezi
- VEGF a jeho receptory jsou často nadexprimovány u nádorů, proto byla angiogeneze navržena jako cíl zásahu protinádorové terapie navržena Folkmanem a kol. již v 70.letech
- bevacizumab r. 2004 povolen v USA jako LČ metastazujícího kolorektálního karcinomu v kombinaci s fluorouracilem; později i proti nemalobuněčnému nádoru plic (2006) a nádoru prsu (2008); pro stejné indikace schválen i v EU
- účinnost, samostatně nebo v kombinacích, prokázána u řady dalších nádorů včetně neuroendokrinních (nádory vycházející z nervového a hormonálního systému, mohou být funkční (sekreční) nebo nefunkční, funkční se obvykle symptomaticky léčí analogy somatostatinu; v metastazujícím stadiu špatně odpovídají na chemoterapii)
- nedávno byly zachyceny padělky Avastinu ® ve Velké Británii

## **ramucirumab**

syn. IMC-1121B

- humanizovaná
- inhibitor angiogeneze
- proti receptoru VEGFR-2
- VEGFR-2 je selektivně exprimován na nádorových endoteliálních buňkách, současně v přímém kontaktu s krví ⇒ slibný terapeutický cíl
- protilátky proti izoformě Flk-1 antagonizovaly vazbu VEGF na receptor, přenos signálu prostřednictvím VEGFR-2 a VEGF indukovaný růst endoteliálních buněk ⇒ antiangiogenní, antitumorová, antimetastatická aktivita
- klinické zkoušení: 2. fáze na kolorektální karcinom, 3. fáze na nemalobuněčný plicní nádor v kombinaci s docetaxelem, 3. fáze na nádor prostaty v kombinaci s mitoxantronem a prednisonem, 3. fáze na nádor žaludku aj.

## trastuzumab

Herceptin® (orig.), Ontruzant® (biosim.)

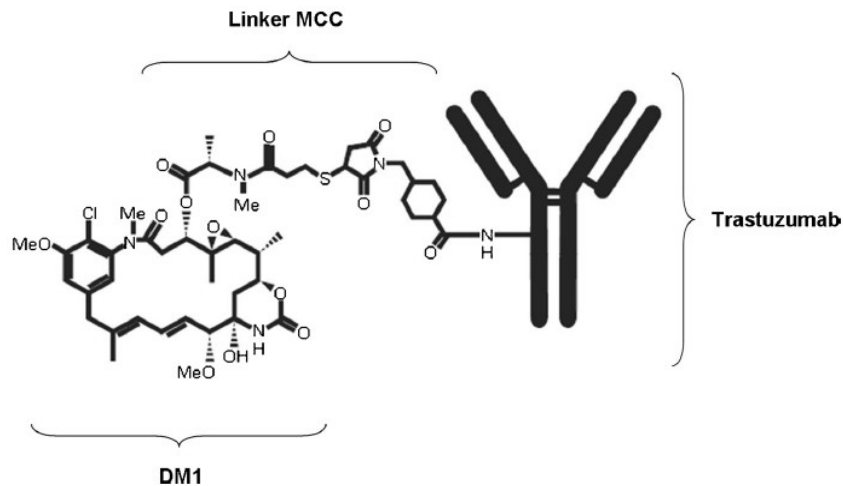
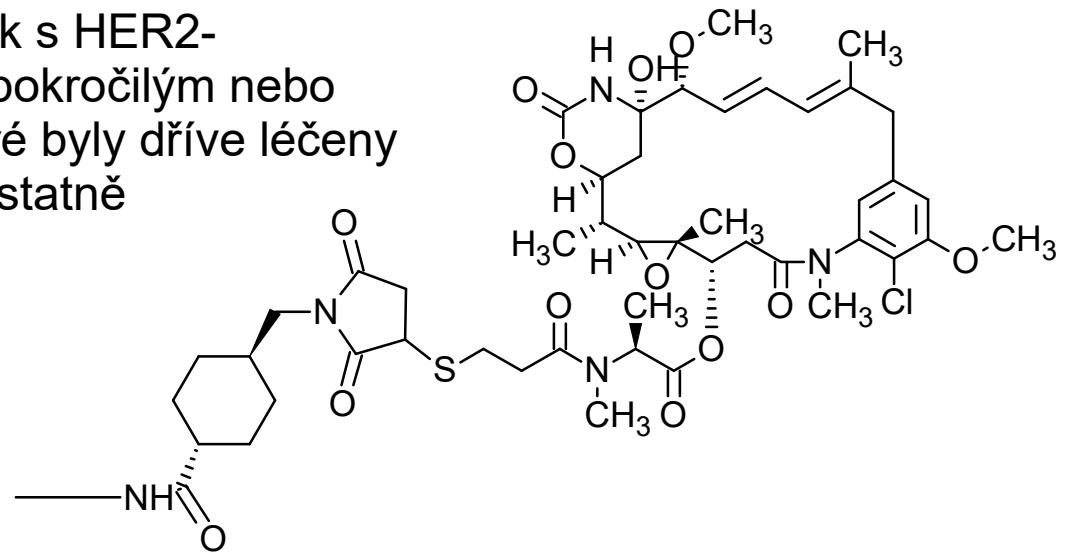
- humanizovaná
- IgG<sub>1</sub> κ proti HER-2 receptoru
- blokuje receptory pro epidermální růstový faktor (EGFR)
- rodina receptorů pro epidermální růstový faktor zahrnuje 4 strukturně velmi podobné receptory: Erb/HER (EGFR; HER-1, a ERBB1), humánní EGFR-2 (HER-2 a ERBB2), HER-3, a HER-4, transmembránové glykoproteiny obsahující doménu vážící extracelulární ligand a intracelulární receptorovou tyrozinkinasovou (RTK) doménu
- dysregulace cesty Erb/HER nadexpresí nebo konstitutivní aktivací může spustit nádorový proces včetně angiogeneze a metastazování a u mnoha typů lidských nádorů má špatnou prognózu
- rané studie s trastuzumabem jako jediným léčivem u HER-2 pozitivních nádorů prsu vyvolaly odezvu u 11,6 % procenta všech pacientek a u 15 % těch, u nichž se nádor znovu objevil
- jako LČ první volby u metastazujícího nádoru prsu dosáhl 26 % odezvy u HER-2 pozitivních pacientek a u 34 % pacientek s nadexpresí HER-2
- klinická studie 3. fáze s trastuzumabem v kombinaci s chemoterapeutiky prokázala celkovou odezvu u 50% (ve srovnání s 32 %), delší trvání odezvy (čas do nové progresse nádoru: 7,4 verus 4,6 měs.), **delší přežívání (25,1 versus 20,3 měsíce)** a 20% snížení rizika smrti ve srovnání s chemoterapií

# trastuzumab emtansin

Kadcyla<sup>®</sup>

- kovalentní konjugát trastuzumabu s maytansinoidem DM1 – dysruptorem výstavby mikrotubulů
- konjugace přes 4-(*N*-maleimidomethyl)cyklohexan-1-karboxyl, napojený přes stabilní thioetherový můstek do pol. 3 maleinimidového fragmentu

• indikován k léčbě dospělých pacientek s HER2-  
pozitivním neresekovatelným lokálně pokročilým nebo  
metastazujícím karcinomem prsu, které byly dříve léčeny  
trastuzumabem a taxanem, a to samostatně  
nebo v kombinaci.



# cetuximab

Erbitux®

- chimérická protilátka typu IgG<sub>1</sub>
- váže se na EGFR s 5 – 10krát vyšší afinitou než endogenní ligandy
- blokuje vazbu endogenních EGFR ligandů, což vede k inhibici funkce receptoru
- způsobuje internalizaci EGFR, což může vést k jejich down-regulaci
- rovněž zasahuje cytotoxické imunitní efektorové buňky, které působí proti nádorovým buňkám, které exprimují EGFR (protilátková buňkami zprostředkovaná cytotoxicita, ADCC)
- ve zkouškách *in vitro* a *in vivo* inhibuje cetuximab proliferaci a indukuje apoptózu u lidských nádorových buněk exprimujících EGFR.
- *in vitro* inhibuje cetuximab produkci faktoru angiogeneze nádorovými buňkami a blokuje endoteliální buněčnou migraci.
- *in vivo* inhibuje cetuximab expresi faktorů angiogeneze nádorovými buňkami a vyvolává snížení nádorové neovaskularizace a metastazování.
- cetuximab povolen FDA i EMA k terapii metastazujícího kolorektálního karcinomu, exprimujících EGFR r. 2004



# panitumumab

Vectibix ®

- plně humánní monoklonální protilátka typu IgG<sub>2</sub> proti EGFR
- vyráběna na savčí buněčné kultuře technologií založenou na rekombinantní DNA
- váže se na ligand-vázající extracelulární doménu receptoru epidermálního růstového faktoru (EGFR) a inhibuje autofosforylaci receptoru indukovanou všemi známými ligandy EGFR.
- vazba na EGFR vede k internalizaci receptoru, inhibici buněčného růstu, indukci apoptózy a snížené produkci interleukinu 8 a vaskulárního endoteliálního růstového faktoru.
- testy *in vitro* a studie *in vivo* na zvířatech prokázaly, že panitimumab inhibuje růst a přežívání nádorových buněk exprimujících EGFR
- v preparátech lidských tumorů, postrádajících expresi EGFR, nebyl protinádorový efekt panitimumabu prokázán
- přidavek panitimumabu zvyšuje účinnost radioterapie, chemoterapie i jiných protinádorových mabů
- nežádoucí kožní reakce se vyskytují u 93 % léčených

**matuzumab**  
syn. EMD 72000

- vyvíjí Merck KgaA (Německo)
- proběhla fáze I na tolerabilitu, bezpečnost, farmakodynamiku, farmakokinetiku u pacientů s pokročilým esogastrickým adenokarcinomem
- humanizovaná typu IgG<sub>1</sub> proti receptoru pro EGFR HER-1
- proběhla fáze II na léčbu esogastrického adenokarcinomu, ovariálního karcinomu a pokročilého karcinomu plic

## **nimotuzumab** Theraloc ®

- humanizovaný myší IgG<sub>1</sub> proti epitopu umístěnému v extracelulární doméně EGFR receptoru
- vyvíjí Wei Guo, Čína
- proběhly studie fáze II na léčbu skvamózního karcinomu hlavy a krku (+ fluorouracil, cisplatina, docetaxel) a další
- probíhá studie
  - fáze II a III na léčbu esofageálního karcinomu skvamózních buněk (+paklitaxel, cisplatina, radioterapie, chirurgie)
  - fáze II na léčbu skvamózního nádoru plic (+ docetaxel, cisplatina)
  - aj.

Protinádorové maby proti různým receptorům a signálním proteinům  
na povrchu buňky

# etaracizumab

Abegrin®

- humanizovaná
- proti  $\alpha_v\beta_3$  integrinu
- integriny: rodina receptorů na povrchu buňky zodpovědných za výměnu informací mezi buňkami a extracelulární matrix(ECM), která je obklopuje
- heterodimery složené z 1 – 10  $\alpha$ -podjednotek a 1 z 8  $\beta$ -podjednotek
- každý subtyp má specifitu pro jiný protein ECM
- jako odpověď na navázání složek ECM, jako jsou kolagen, fibronectin nebo vitronectin, jsou v buňce generovány signály, které ovlivňují růst, schopnost migrace, diferenciaci, invazivitu a přežívání buňky
- hrají důležitou roli v biologii tumoru; použitelný cíl protinádorové terapie
- $\alpha_v\beta_3$  integriny jsou exprimovány více v cévách, které se vyvíjejí, než v „dospělých“, a jsou považovány za významný faktor angiogeneze
- primárním ligandem vitronectin, reagují též s fibronectinem a trombospondinem
- prokázána souvislost  $\alpha_v\beta_3$  mj. s vaskulárním endoteliálním růstovým faktorem (VEGF)
- podání myší monoklonální protilátky proti  $\alpha_v\beta_3$  (LM609) přerušilo angiogenezi na kuřecí chorioalantoické membráně, vyvolanou nádorem
- v dalších studiích potvrzena schopnost zastavovat vaskularizaci nádoru a způsobovat jeho regresi bez poškození normálních zralých cév na myších modelech různých nádorů *in vitro*
- etaracizumab** je plně humanizovaná forma
- byla prokázána exprese  $\alpha_v\beta_3$  u ovariálního karcinomu myši *in vivo* a současně účinnost etaracizumabu vůči němu
- klinické studie 1. - 2. fáze pro léčbu různých nádorů (kolorektální, maligní melanom, na androgenech nezávislý nádor prostaty, nádor ledvin, lymfom) a autoimunitních zánětlivých onemocnění (psoriáza, reumatoidní artritida) byly dokončeny

## **alemtuzumab**

Campath® (orig.), Lemtrada® (biosim.)

- humanizovaná monoklonální protilátka typu IgG<sub>1κ</sub> proti CD52
- CD52 je glykoprotein,  $21\ 000 < M_r < 28\ 000$ , specificky se vyskytující na povrchu lymfocytů B a T a monocytů, thymocytů a makrofágů
- alemtuzumab je produkován na suspenzní kultuře buněk ovarií čínského křečka v živném médiu
- byl vytvořen včleněním šesti oblastí podmiňujících komplementaritu, pocházejících z potkaní monoklonální protilátky IgG<sub>2a</sub>, do molekuly lidského imunoglobulinu IgG<sub>1</sub>
- způsobuje lýzu hlavně lymfocytů vazbou na CD52 zejména tam, kde je CD52 vysoce exprimován
- lýza je zprostředkována fixací komplementu a protilátkově zprostředkovanou cytotoxicitou
- antigen byl nalezen na malém procentu (< 5%) granulocytů, ale ne na erytrocytech nebo krevních destičkách
- u alemtuzumabu se neprojevovalo poškození kmenových buněk hematopoetického systému nebo progenitorových buněk
- indikován pro léčbu pacientů s chronickou lymfocytickou leukémií B-buněk (B-CLL), pro něž není vhodná kombinovaná chemoterapie obsahující fludarabin

# rituximab

Mabthera ®

- chiménní myší/lidská monoklonální protilátka: glykosylovaný imunoglobulin s humánními IgG<sub>1</sub> konstantními oblastmi a myšími sekvencemi variabilních oblastí lehkých i těžkých řetězců
- produkován na suspenzní kultuře savčích buněk: buněk ovarií čínské křečka v živném médiu produced a čištěn afinitní a iontoměničovou chromatografií včetně specifických postupů inaktivace a odstranění virů
- váže se specificky na transmembránový antigen **CD20**, neglykosylovaný fosfoprotein umístěný na nezralých (pre-B) i zralých B-lymfocytech
- antigen je exprimován u >95 B-buněčných non-Hodgkinských lymfomů
- CD20 se nachází na normálních i maligních B-buňkách, ale ne na hematopoetických kmenových buňkách, pro-B buňkách, ostatních „normálních“ krvinkách a buňkách jiných tkání
- antigen navázáním protilátky neinternalizuje a není odstraněn z povrchu buňky
- CD20 necirkuluje v plazmě jako volný antigen, takže nemůže (jako volný) soutěžit o navázání protilátky
- Fab doména rituximabu se váže na antigen CD20 na B lymfocytech a Fc doména zajišťuje efektorové funkce, zprostředkovávají cíl lýzu B-buňky.
- možné mechanismy efektorové zprostředkované buněčné lýzy zahrnují na komplementu závislou cytotoxicitu (CDC) vyplývající z vazby na C1q, a protilátkově zprostředkovanou buněčnou cytotoxicitu (ADCC), zprostředkovanou jedním nebo více Fcγ receptory na povrchu granulocytů, makrofágů a přirozených zabíječů (NK).
- bylo též prokázáno, že vazba rituximabu na antigen CD 20 na B lymfocytech navozuje buněčnou smrt prostřednictvím apoptosy
- indikován pro léčbu folikulárního lymfomu, CD20 pozitivního difuzního B-buněčného non-Hodgkinského lymfomu velkých buněk, chronické lymfocytární leukémie (CLL) a těžké aktivní reumatoidní artritidy

# ofatumumab

Arzerra®

- humánní monoklonální protilátka (IgG<sub>1</sub>), jež se váže specificky na určitý epitop CD20, jenž zahrnuje malé i velké extracelulární klíčky molekuly CD20
- vyráběn na kultuře rekombinantních myších buněk (NS0)
- určen k léčbě chronické lymfocytární leukémie (CLL) u pacientů, u nichž nezabírá fludarabin a alemtuzumab
- schválen v „podmíněném schvalovacím schématu“: EMA očekává další důkazy jeho účinnosti, výhodách oproti jiným léčivům a převaze léčebného přínosu nad nežádoucími účinky
- vazba ofatumumabu na membránově-proximální epitop molekuly CD20 molecule vyvolává nábor a aktivaci komplementové cesty na povrchu buňky, což vede ke komplementem zprostředkované cytotoxicitě a výsledkem je lýza nádorové buňky
- vyvolává zřetelnou lýzu buněk s vysokou úrovní exprese obranných molekul komplementu
- vyvolává lýzu buněk s vysokou i nízkou expresí CD20, i rezistentních na rituximab
- navíc vazba ofatumumabu umožňuje nábor přirozených zabíječů, což může navodit smrt buňky prostřednictvím protilátkou zprostředkované buněčné cytotoxicity

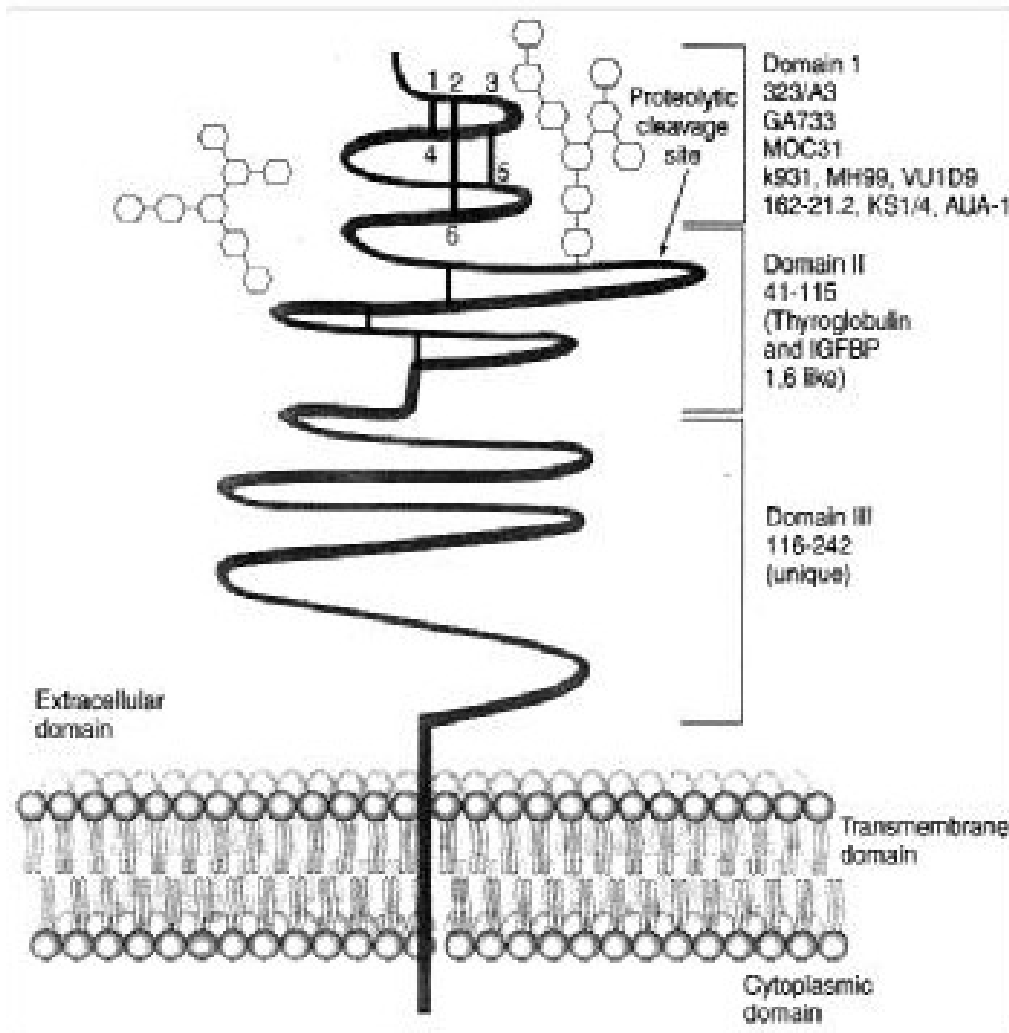




# katumaxomab

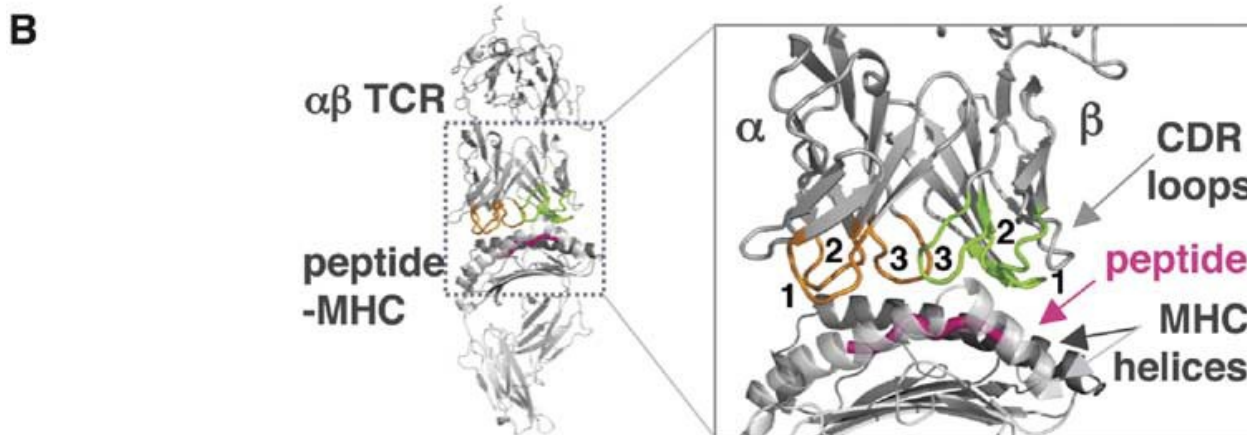
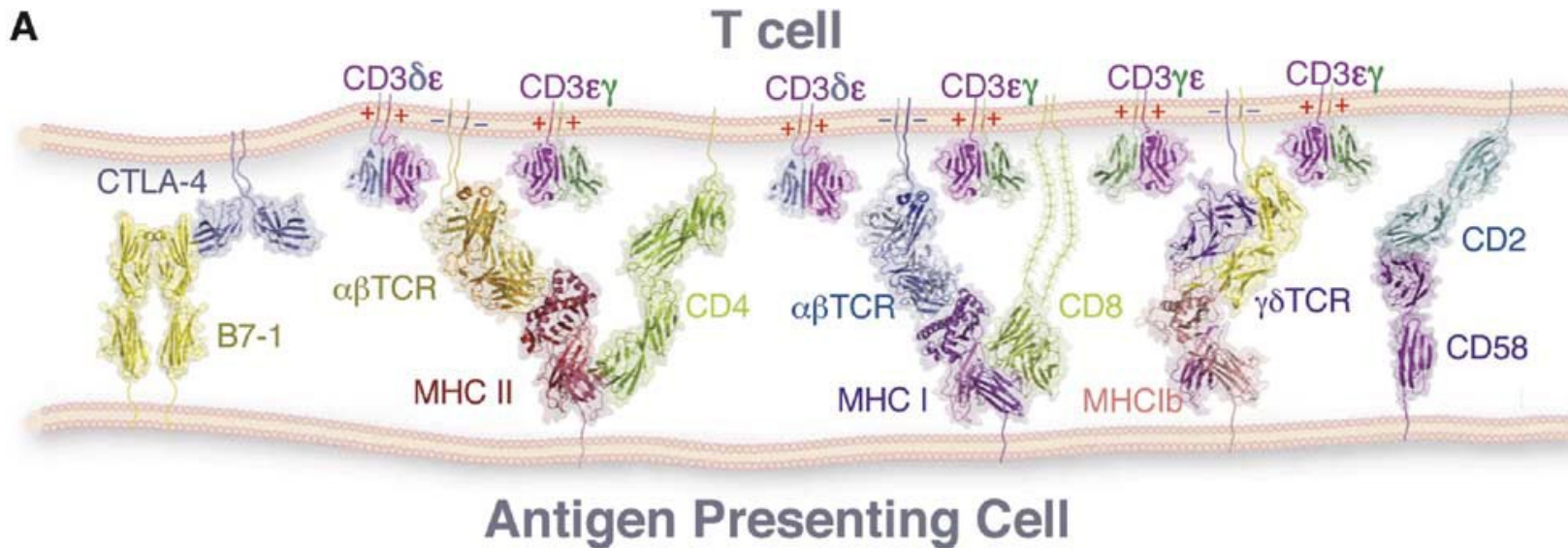
Removab ®

- trojfunkční potkaní-myší hybridní mab typu IgG<sub>2</sub> specificky cílený proti **epiteliální buněčné adhezí molekule (EpCAM)** a proti antigenu **CD3**
- produkovaná potkaní-myší buněčnou linií hybrid-hybridom
- EpCAM: povrchový glykoprotein humánních buněk, exprimovaný u některých „normálních“, zejména ale u nádorových („pankarcinomatický“ antigen – obj. 1979; prakticky u 100 % ovariálních karcinomů rezistentních na chemoterapii)



Terciární struktura EpCAM obsahující 3 extracelulární domény s cysteinovými -S-S- můstky (1-6) a místa glykosylace

- **CD3** je jeden z modulů pro přenos signálu exprimovaný na zralých T-buňkách
- složka receptoru T-buňky; receptor je multimerní komplex na povrchu buňky, za normálních okolností je zodpovědný za rozpoznání antigenu, který je součástí tzv. velkého komplexu histokompatibility (MHC)
- pokud se ligand, jako je katumaxomab, naváže na CD3, T-buňka je stimulována k provedení svých efektorových funkcí (uvolnění cytokinů a/nebo cytotoxicita)



## Struktura a mechanismus účinku katumaxomabu

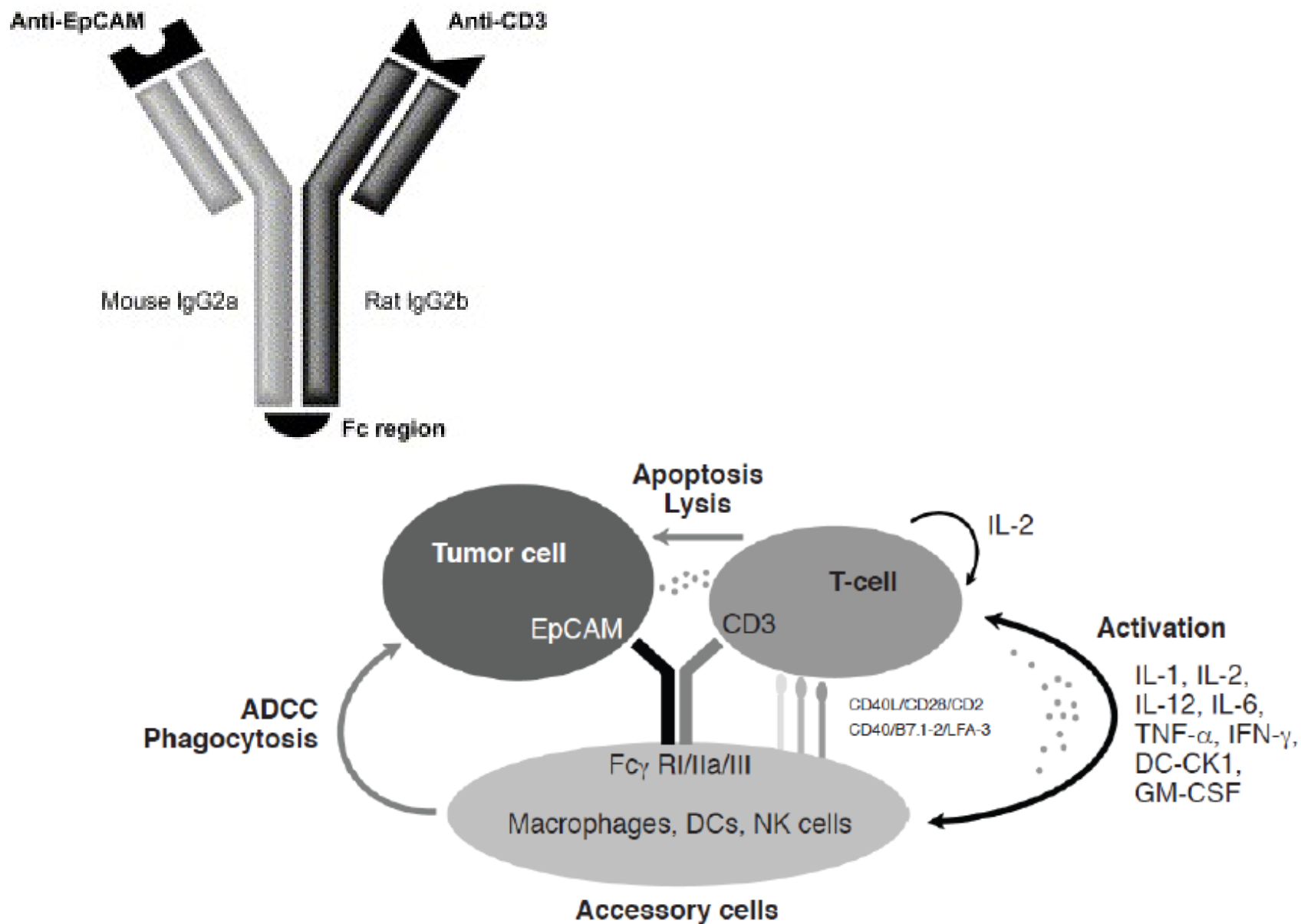


Figure 1. Catumaxomab mechanism of action. ADCC = antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, CK = cytokine, DC = dendritic cell, EpCAM = epithelial cell adhesion molecule, Fc $\gamma$  R = Fc $\gamma$  receptor, GM-CSF = granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, IL = interleukin, IFN = interferon, LFA = lymphocyte function-associated antigen, NK = natural killer, TNF = tumor necrosis factor.

- protinádorová aktivita katumaxomab byla prokázána jak *in vitro*, tak *in vivo*.
- efektivní zabíjení buněk tumoru zprostředkované katumaxomabem *in vitro* bylo pozorováno u cílových buněk s nízkou i vysokou expresí antigenu EpCAM nezávisle na typu tumoru.
- protinádorová aktivita katumaxomabu *in vivo* byla potvrzena v imunologicky narušeném myším modelu karcinomu ovaria, kde byl rozvoj tumoru opožděn intraperitoneální léčbou katumaxomabem a lidskými mononukleárními buňkami z periferní krve.
- katumaxomab je indikován k intraperitoneální léčbě maligního ascitu u pacientů s EpCAM pozitivními karcinomy, kde není k dispozici standardní terapie nebo již není dále použitelná.

## **adecatumumab**

syn. MT201

- humánní
- pouze proti epiteliální buněčné adhesní molekule (EpCAM)
- 2. fáze klinického zkoušení na metastazující nádor prsu probíhala v Německu od března 2009 do listopadu 2011
- monoterapie adecatatumumabem prokázala dávkově a cílově závislou klinickou aktivitu u EpCAM – pozitivních metastazujících nádorů prsu, avšak žádné objektivní zmenšení nádoru. Předpokládá se další výzkum u pacientů s nadexpresí EpCAM a menší nádorovou zátěží.

# ipilimumab

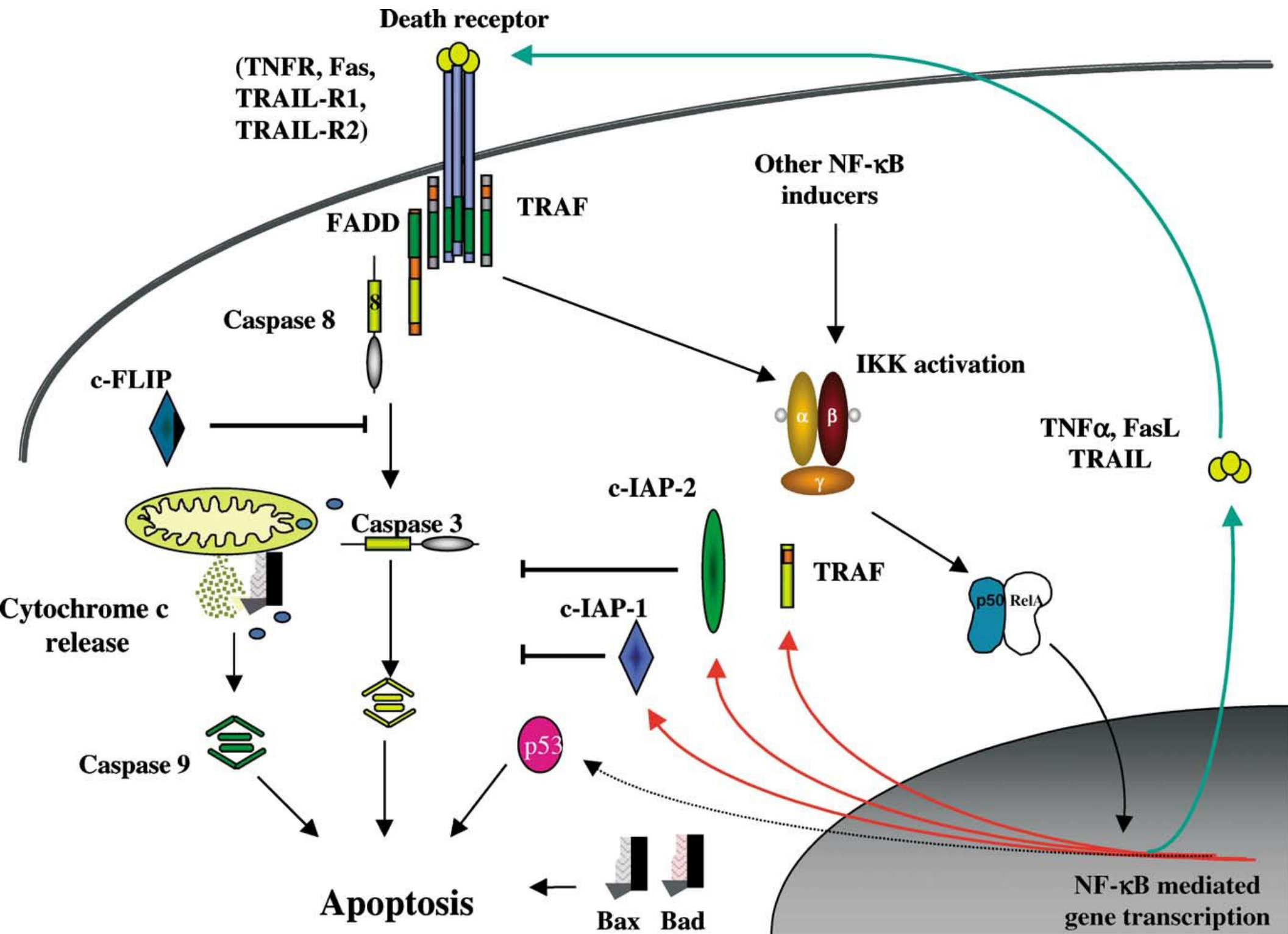
Yervoy ®

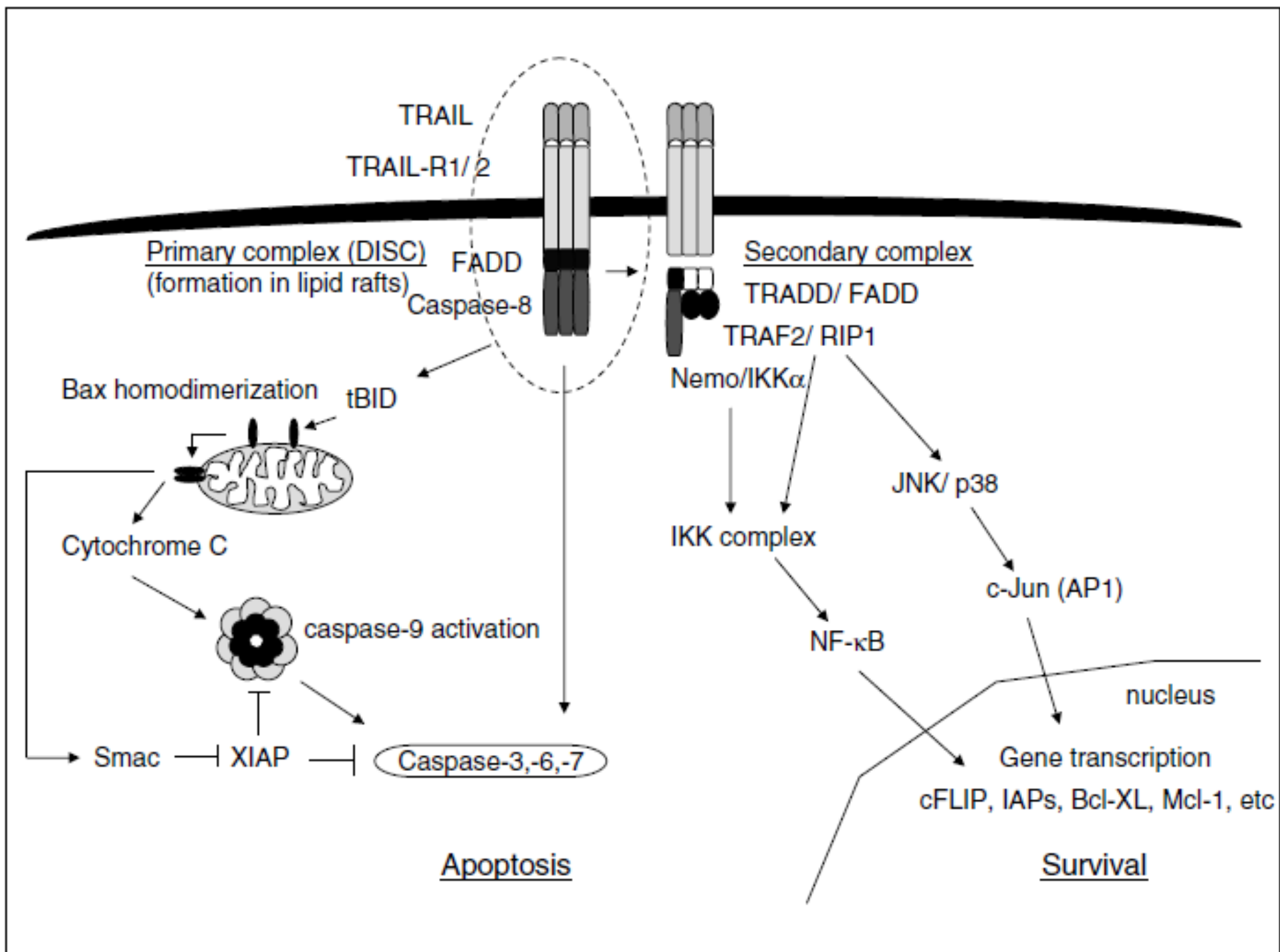
- plně humánní anti-CTLA-4 monoklonální protilátka (IgG<sub>1</sub>κ)
- vyráběná na kulturách buněk ovarií čínské křečka rekombinantní DNA technologií
- **cytotoxický T-lymfocytový antigen 4 (CTLA-4)** je negativní regulátor aktivace T-buněk
- ipilimumab je potenciátor T-buněk, který specificky blokuje inhibiční signál CTLA-4, což vede k aktivaci T-buněk, jejich proliferaci a infiltraci těchto lymfocytů do nádorů, což vede ke smrti nádorových buněk
- mechanismus účinku ipilimumabu je tedy nepřímý, zprostředkovaný posílením imunitní odpovědi prostřednictvím T-buněk
- indikován pro léčbu pokročilého (neoperovatelného nebo metastazujícího) melanomu u dospělých, kteří už prodělali nějakou předchozí terapii

## lexatumumab

- protilátka typu IgG<sub>1</sub> – agonista TRAIL (=Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand)
- TRAIL indukuje apoptosu v tumorigenních a transformovaných buněčných liniích (kulturách), ale zřídka v normálních buňkách; interaguje se specifickými doménovými receptory smrti, DR4 a DR5, a tím navozuje intracelulární tvorbu DISC (Death Inducing Signaling Complex) v cytoplazmě. Syntéza DISC zahrnuje nábor kaspasy 8 prostřednictvím adaptorových proteinů do domény smrti aktivovaného receptoru. Aktivovaná kaspasa 8 spouští vnější apoptickou cestu přímou aktivací efektorů, např. kaspasy 3 a kaspasy 7. Kaspasa 8 může kromě toho iniciovat vnitřní apoptickou cestu aktivací proapoptického proteinu Bid. Obě cesty vedou k aktivaci kaspasy 3 a buněčné smrti.







- lexatumumab byl vyvinut pro léčbu nádorů močového měchýře a prostaty a v těchto indikacích byl úspěšně testován na králících
- klinické studie 1. fáze na dětech a mladých dospělých proběhly od prosince 2006 do prosince 2011 na pevné nádory; samostatně nebo + interferon  $\gamma$
- primárním cílem bylo zjistit rozpětí maximální tolerované dávky a limitující toxicity u pacientů s rezistentním tumorem
- sekundárním cílem bylo kvantifikovat odezvu tumoru na lexatumumab
- výsledky neprokázaly zlepšení stavu, indikovaly však jistou protinádorovou aktivitu

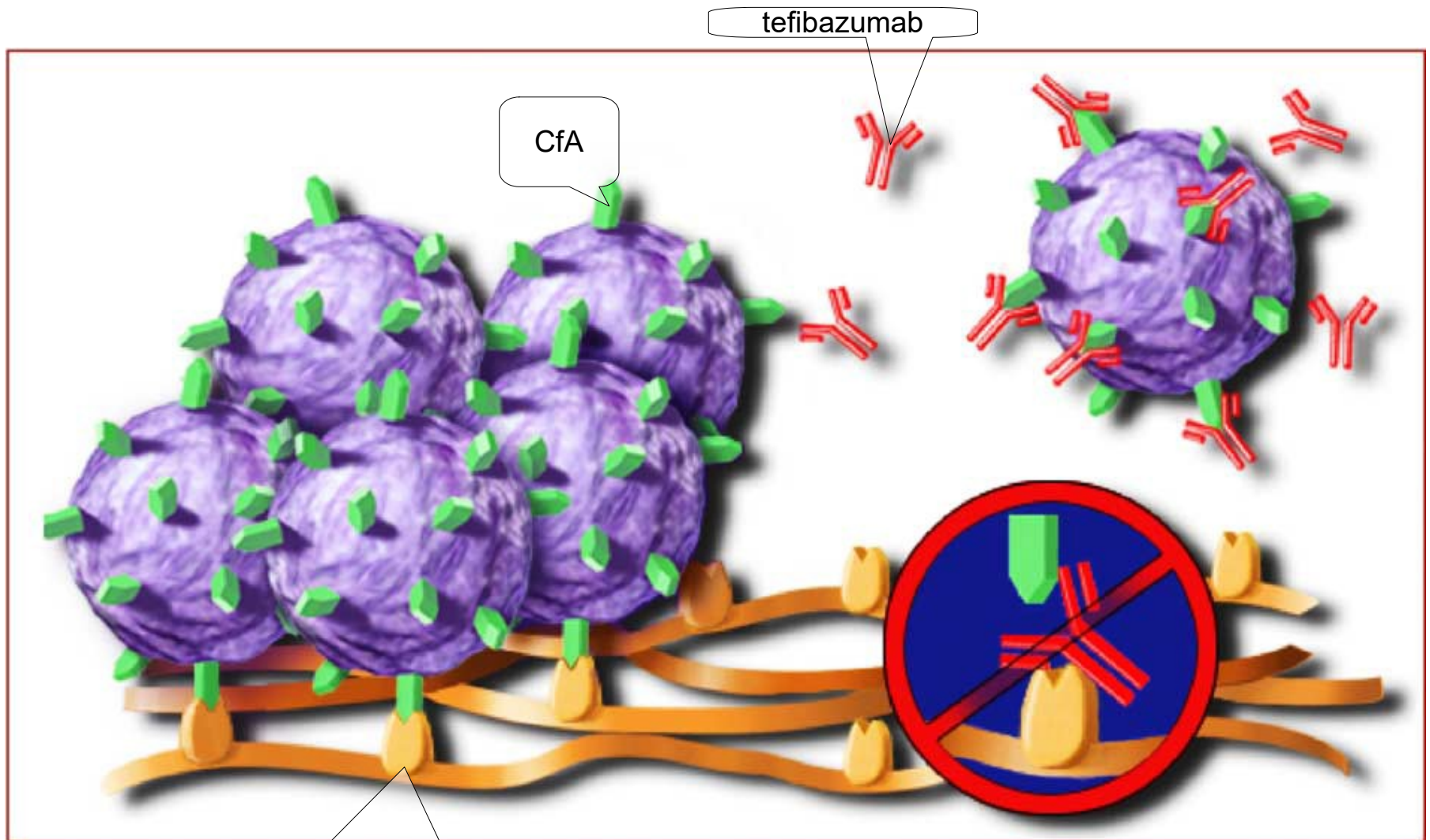
# Antibakteriální látky

## tefibazumab

Aurexis®

- humanizovaná IgG<sub>1</sub>
- $M_r \sim 147\,590$
- léčivo infekcí *Staphylococcus aureus*
- váže se na povrchový epitop fibrinu vážícího **agregačního faktoru A** (= „clumping factor A“; **CfA**) exprimovaného na povrchu mikroba
- CfA patří mezi povrchové adhesiny buňky *S. aureus* typu MSCRAMMs (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules), u nichž byla prokázána schopnost interagovat s vysokou afinitou a specifitou s hostitelskými tkáněmi nebo i implantáty
- CfA je adhesin vážící se na fibrinogen, považovaný za primární faktor přispívající k mikrobiální kolonizaci impantovaných materiálů nebo poškozených endoteliálních povrchů
- ukončena 2. fáze klinického testování proti stafylokokové bakteriémii a cystické fibróze kolonizované zlatým stafylokokem

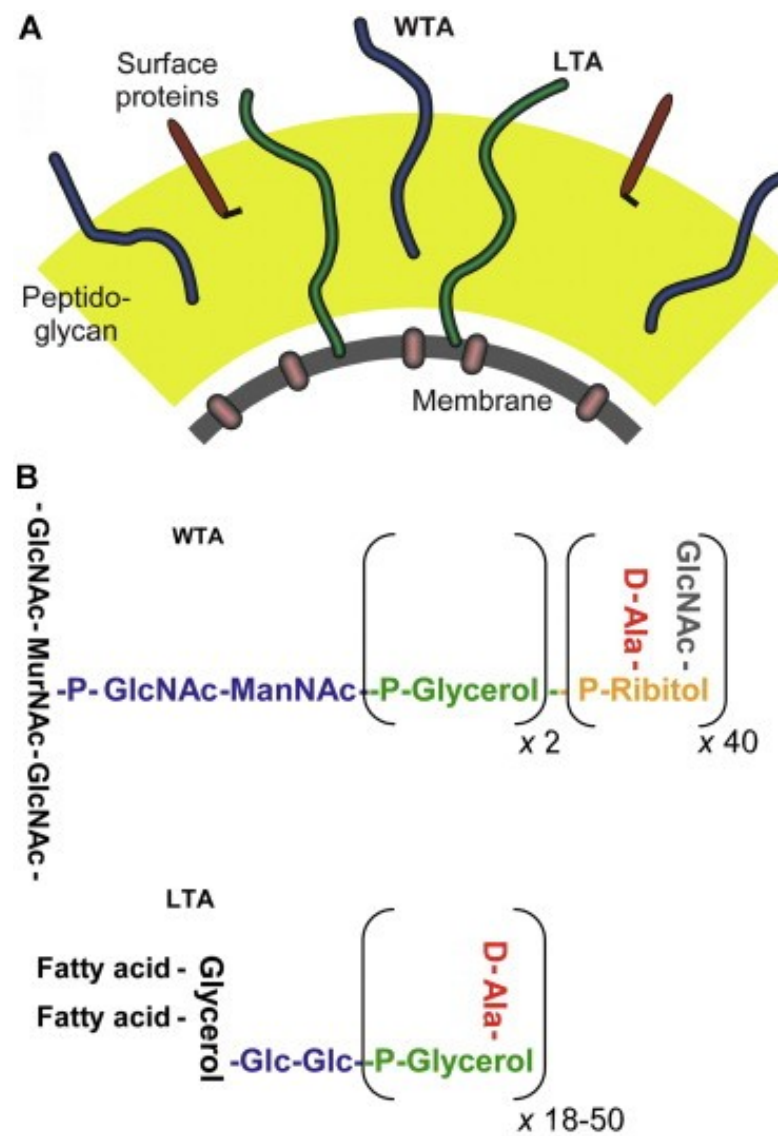
Předpokládaný mechanismus účinku tefibazumabu: inhibice mikrobiální adheze a následná „imunitní očista“ nebo fagocytóza



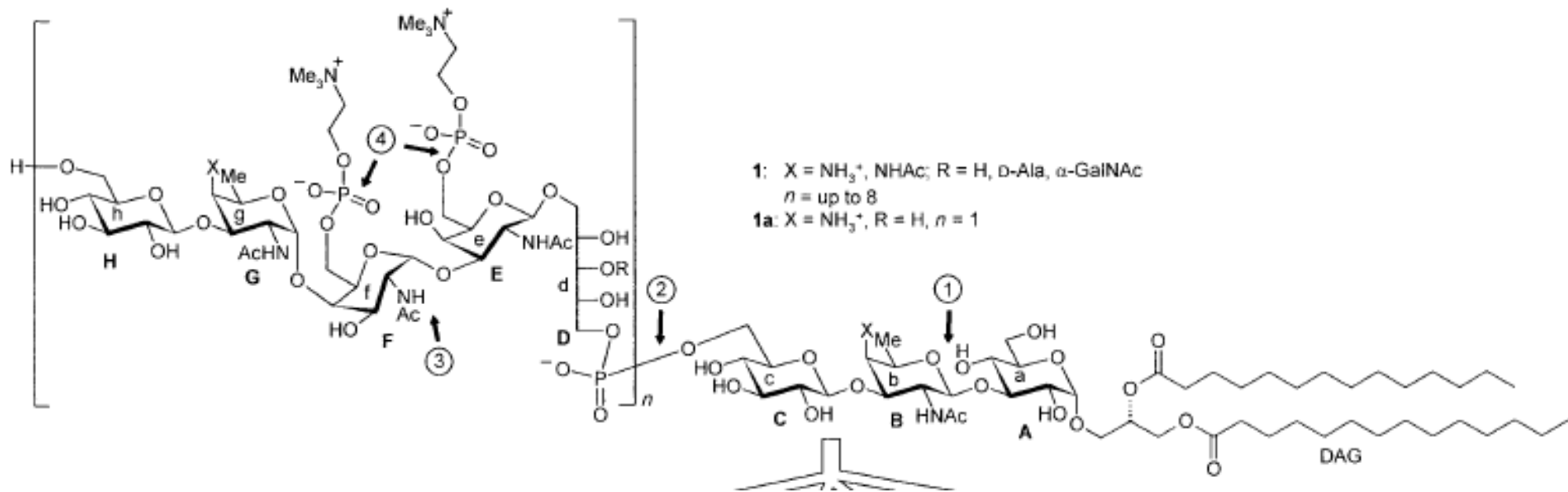
Povrch endotelu s molekulami fibrinogenu

**pagibaximab**  
syn. BSYX-A110

- chimérní
- proti stafylokokové lipoteichové kyselině (LTA) – důležité složce buněčné stěny stafylokoků; LTA je zakotvena v buněčné membráně svým lipofilním koncem, inhibuje fagocytózu bakterií *in vitro*, indukuje kaskádu cytokinů a zdá se být nezbytná pro přežívání stafylokoků, též napomáhá průniku stafylokoků přes hematoencefalickou bariéru
- prevence stafylokokové sepse u nedonošených novorozenců s velmi nízkou porodní váhou – účinnost ověřena zaslepenou klinickou studií







Struktura lipoteichové kyseliny ze *Streptococcus pneumoniae*



## raxibacumab

ABthrax ®

- humánní
- IgG<sub>1λ</sub> proti „protektivnímu antigenu“, jenž je součástí anthraxového toxinu
- úspěšně testován na králících a šimpanzích nakažených vdechovanými sporama *B. anthracis*
- 3. fáze klin. zkoušení, ale na zdravých dobrovolnících – bezpečnostní studie; úspěšná
- prokázána účinnost po vystavení zkoumaného subjektu anthraxovým sporám, a to i když bakteriální toxin byl již uvolněn do krve
- studie bezpečnosti a imunogenicity při opakovaném podání
- 4. fáze: klinický benefit, bezpečnost, farmakokinetika
- součástí strategických zásob civilní obrany USA pro případ bioterorismu

## **edobacomab** syn. E5

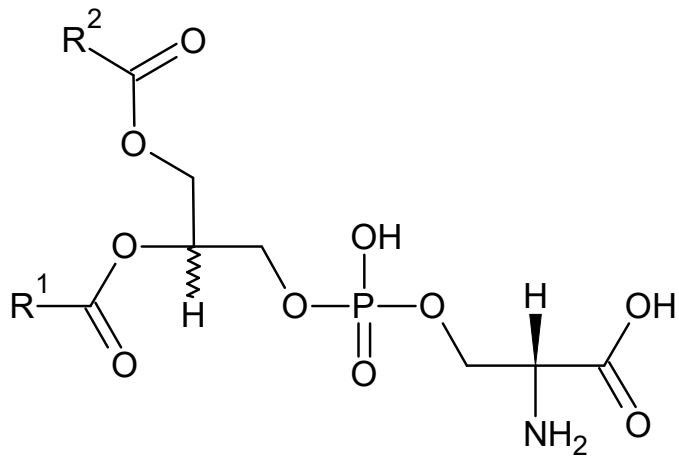
- myší
- IgE proti bakteriálnímu endotoxinu
- endotoxin = lipopolysacharidová složka vnější membrány bakterií; primární iniciátor „gramnegativní seps“: spouští kaskádu prozánětlivých monokinů (např. TNF), což ve svém důsledku stimuluje řadu kaskád pro- a protizánětlivých kaskád ⇒ systémové znaky a orgánové dysfunkce typické pro sepsi
- látka vážící (= neutralizující) endotoxin by měla být schopna tuto kaskádu zastavit
- endotoxiny G- bakterií se od sebe značně liší, E5 se však váže na „jádro“ - sekvenci, kterou mají společnou
- v klinické studii 3. fáze nebylo jednoznačně prokázáno snížení mortality a poškození orgánů v porovnání s placebem

# Protivirová léčiva

# bavituximab

Tarvacin ®

- chiméerní
- proti fosfatidylserinu navázanému na  $\beta_2$ -glykoprotein I
- fosfatidylserin – nejrozšířenější aniontový fosfolipid plazmatické membrány
- normálně uložen intracelulárně, u nádorů ale „trčí“ do luminálního povrchu endotelu
- podobná situace u buněk zasažených viry, kde probíhá replikace: aktivace buňky virem způsobuje ztráty intracelulárních  $\text{Ca}^{2+}$   $\Rightarrow$  aktivace fosfatidylserinových „exportérů“ & inhibice jeho „importu“ do buňky pomocí translokas  $\Rightarrow$  „externalizace“ fosfatidylserinu
- potenciálně protinádorové a antivirové léčivo (HCV, HIV)
- probíhají studie 1. a 2. fáze na nemocných (USA, Indie...); v poslední době proti nádorům (hepatocelulární, melanom, nemalobuněčný plicní karcinom, nádor prostaty rezistentní vůči kastraci, nádor prsu, glioblastom)



Fosfatidylserin

**bamlanivimab**  
Bamlanivimab ®  
syn. LY3819253

- rekombinantní neutralizační humánní
- IgG<sub>1</sub> proti spike proteinu viru SARS-CoV-2
- blokuje navázání spike proteinu na lidský ACE2 receptor, a tedy brání následnému vstupu viru do lidských buněk a replikaci viru
- F<sub>c</sub> část nemodifikována; **má plné efektorové funkce** protilátky.
- neregistrován; v ČR používán na základě povolení dle § 8 odst. 6 zákona č. 378/2007 Sb. o léčivech; u EMA probíhá zrychlené registrační řízení „rolling review“; v USA schválen FDA v režimu EUA (Emergency Use Authorizations)

**Indikace:** samotný nebo s etesevimabem k léčbě potvrzeného onemocnění COVID-19 u pacientů starších 12 let, kteří nevyžadují léčebné podávání kyslíku z důvodu onemocnění COVID-19 a u nichž existuje vysoké riziko progresu do závažného onemocnění COVID-19

- možné podávat pouze v prostředí, v němž mají lékaři okamžitý přístup k lékům k léčbě závažné reakce na infuzi, jako je anafylaxe
  - stav pacientů je sledován v průběhu podání a alespoň jednu hodinu po dokončení infuze
- ⇒ indikuje (= předepisuje) praktický lékař, podávat ale nutno v nemocnici (nehospitalizovaným pacientům)

## **etesevimab**

syn. LY3832479 nebo LY-CoV016

Etesevimab ®

- rekombinantní neutralizační humánní
- IgG<sub>1</sub> proti spike proteinu viru SARS-CoV-2
- blokuje navázání spike proteinu na lidský ACE2 receptor, a tedy brání následnému vstupu viru do lidských buněk a replikaci viru
- F<sub>c</sub> fragment modifikován substitucemi aminokyselin (L234A, L235A) ⇒ efektorové funkce redukovány.
- bamlanivimab a etesevimab se vážou na rozdílné, ale překrývající se epitopy receptor vážící domény (RBD) spike proteinu
- neregistrován; v ČR používán na základě povolení dle § 8 odst. 6 zákona č. 378/2007 Sb. o léčivech; u EMA probíhá zrychlené registrační řízení „rolling review“; v USA schválen FDA v režimu EUA (Emergency Use Authorizations)

**Indikace:** s bamlanivimabem k léčbě potvrzeného onemocnění COVID-19 u pacientů starších 12 let, kteří nevyžadují léčebné podávání kyslíku z důvodu onemocnění COVID-19 a u nichž existuje vysoké riziko progresu do závažného onemocnění COVID-19

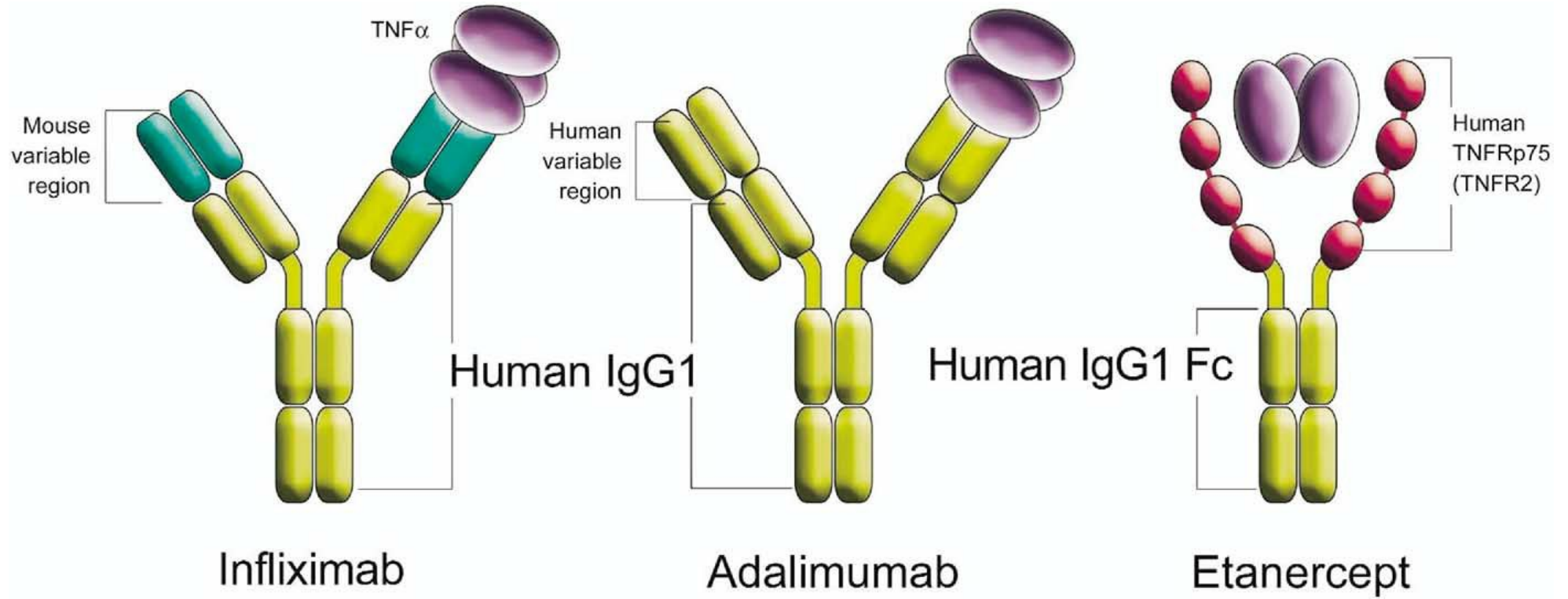
**regdanvimab**  
syn. CT-P59  
CAS 2444308-95-4

- rekombinantní humánní
- neutralizující
- IgG<sub>1</sub>, anti-(severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 spike glycoprotein receptor-binding domain) (human monoclonal CT-P59 gamma-1 chain), disulfide with human monoclonal CT-P59 lambda-chain, dimer
- vyvíjí fa Celltrion, Korea (příhlášku k EMA podala Celltrion Healthcare Hungary Kft., Maďarsko)
- výbor pro humánní léčivé přípravky (CHMP) EMA dospěl k závěru, že regdanvimab může být použit k léčbě potvrzeného onemocnění COVID-19 u dospělých pacientů, kteří nevyžadují doplňkovou léčbu kyslíkem, kteří jsou však ve vysokém riziku zhoršení onemocnění COVID-19
- u EMA probíhá zrychlené registrační řízení „rolling review“

Léčiva chronických zánětlivých onemocnění



# Inhibitory TNF- $\alpha$



„Anti-TNF molekuly“ - váží se na TNF a neutralizují jeho aktivitu

**Infliximab** (Remicade ® ): myší/humánní chiméra, kde jsou variabilní oblasti myší protilátky napojeny na konstantní oblasti lidského IgG<sub>1</sub>

**Adalimumab** (Humira ® ): (rekombinantní) humánní protilátka typu IgG<sub>1</sub> vyráběná na kultuře buněk ovarií čínského křečka

**Golimumab** (Simponi ® ): rekombinantní humánní protilátka typu IgG<sub>1</sub> vyráběná myší hybridomovou buněčnou kulturou

**Certolizumab pegol** (Cimzia ® ): rekombinantní, humanizovaný Fab' fragment protilátky proti TNF exprimovaný na *Escherichia coli* a konjugovaný s polyoxoethylenovým (PEG) řetězcem.

**Etanercept** (Enbrel ® ): rozpustný dimerní fúzní protein, v němž je humánní p75 TNF receptor napojen na Fc fragment humánního IgG<sub>1</sub>

Použití: terapie reumatoidní artritidy, zánětlivých střevních (ulcerativní kolitida, Crohnova choroba...) a dalších zánětlivých onemocnění

## ustekinumab

Stelara ®

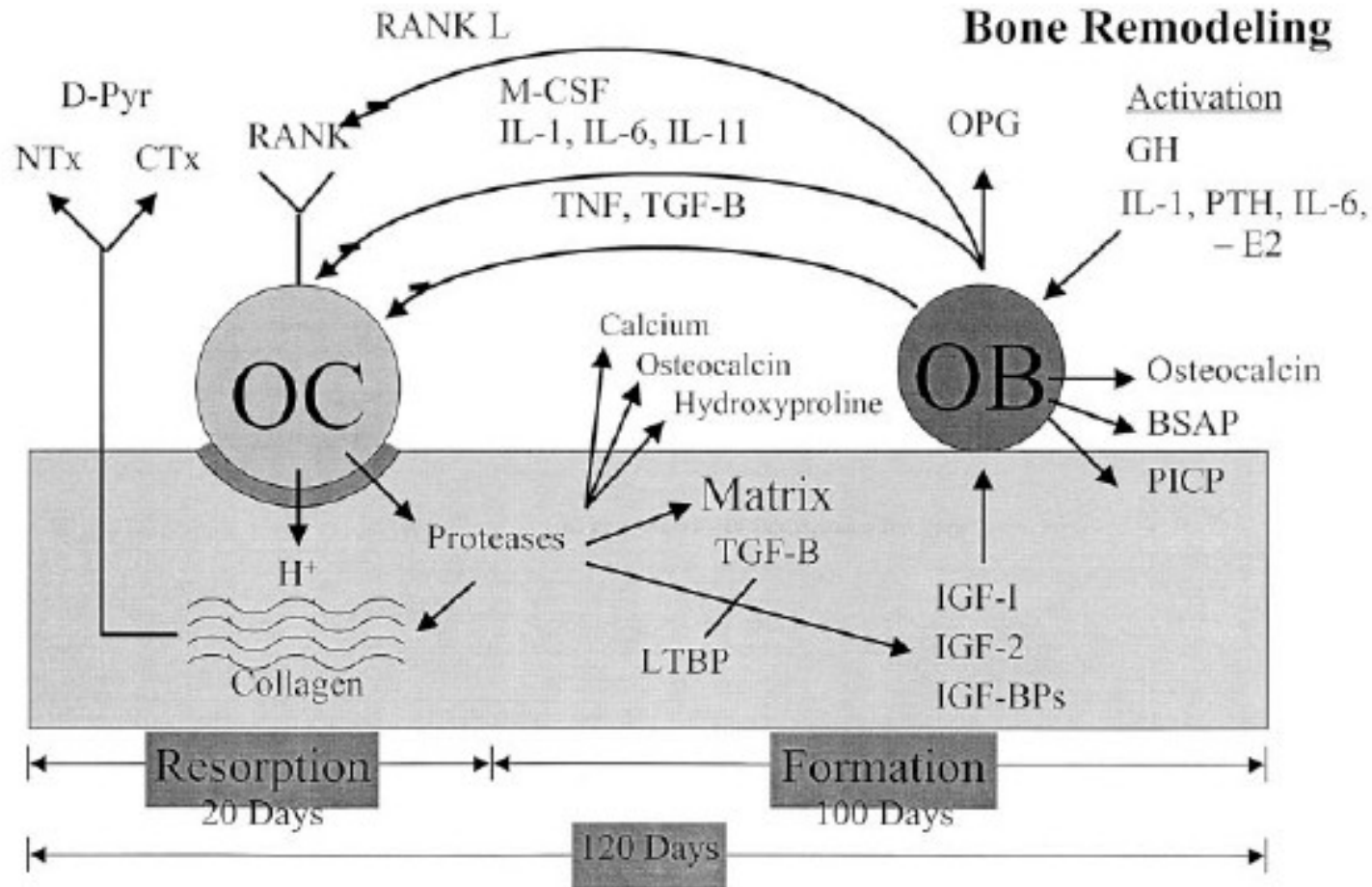
- humanizovaný
  - proti interleukinům IL-12 a IL-23, hrajícím významnou roli v patogenezi mj. psoriázy
  - vazba na b1 receptor T-lymfocytů a „natural killers“ ⇒ migrace do místa vzniku IL, fagocytóza...
  - LČ se váže na jejich společnou p40 podjednotku ⇒ znemožnění vazby na receptor
- Indikace: Crohnova choroba, ulcerativní kolitida, v USA též plaková psoriáza

**briakinumab**  
syn. ABT-874, j695

- humanizovaný
- proti interleukinům IL-12 a IL-23, hrajícím významnou roli v patogenezi mj. psoriázy
- vazba na b1 receptor T-lymfocytů a „natural killers“ ⇒ migrace do místa vzniku IL, fagocytóza...
- LČ se váže na jejich společnou p40 podjednotku ⇒ znemožnění vazby na receptor
- klinické zkoušky 1.- 3. fáze na léčbu psoriázy, Crohnovy nemoci, roztroušené sklerózy skončily kolem r. 2009 - 2011

# Léčiva osteoporózy

## Cyklická přestavba kosti



OC = osteoklast; OB = osteoblast; GH = růstový hormon; IL = interleukiny; E2 = estrogeny; PTH = parathormon; RANK L = osteoprotegerin ligand = ligand receptorového aktivátoru nukleárního faktoru  $\kappa\beta$ ; RANK = receptor pro RANK L; M-CSF = kolonie makrofágů stimulující faktor aj.

## denosumab

- humanizovaný
- IgG<sub>2</sub>
- proti RANKL = ligandu receptorového aktivátoru nukleárního faktoru kappa beta
- specificky se váže na RANKL a blokuje jeho vazbu na RANK ⇒ inhibice tvorby osteoklastu ⇒ pokles resopce kosti
- Prolia ®, Xgeva ®
- indikován při osteoporotické fraktuře nebo nemožnosti jiné léčby
- 60 mg s.c. / 6 měsíců