(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202191728 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2021.10.12

(22) Дата подачи заявки
2019.12.20

(51) Int. Cl. ***C07K 16/46*** (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)

(54) КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ARM И ЕСТЕСТВЕННЫМИ КЛЕТКАМИ-КИЛЛЕРАМИ

(31) **62/783,036**
(32) **2018.12.20**
(33) **US**
(86) **PCT/US2019/068086**
(87) **WO 2020/132588 2020.06.25**

(71) Заявитель:
КЛЕО ФАРМАСЬЮТИКАЛС, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Растелли Лука, Бунин Анна (US)

(74) Представитель:
Гизатуллин Ш.Ф., Угрюмов В.М., Гизатуллина Е.М., Строкова О.В., Костюшенкова М.Ю. (RU)

(57) Настоящее изобретение обеспечивает, помимо всего прочего, технологии, включающие иммунные клетки и антитело-рекрутирующие молекулы. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки представляют собой память-подобные естественные клетки-киллеры. В некоторых вариантах осуществления обеспеченные технологии особенно применимы для лечения состояния, расстройства или заболевания, такого как рак. В некоторых вариантах осуществления обеспеченные технологии обеспечивают высокую эффективность. В некоторых вариантах осуществления обеспеченные технологии обеспечивают меньше побочных эффектов или менее серьезные побочные эффекты, связанные с терапией естественными клетками-киллерами.

202191728 A1

202191728 A1

КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ ARM И ЕСТЕСТВЕННЫМИ КЛЕТКАМИ-КИЛЛЕРАМИ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет заявки США № 62/783,036, поданной 20 декабря 2018 года, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Активности иммунной системы можно использовать для предотвращения или лечения различных состояний, нарушений и заболеваний, включая рак.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Естественные клетки-киллеры (natural killer (NK)) способны вызывать клеточную гибель различных мишеней, например, больных клеток, таких как раковые клетки. Среди прочего в настоящее время разрабатываются NK-клетки (например, размноженные *in vitro* и/или предварительно активированные NK-клетки) для применения в противораковой терапии. В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие охватывает признание того, что терапия NK-клетками может быть значительно улучшена с помощью средств, которые могут облегчать распознавание мишеней NK-клетками и/или способствовать ему. В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие обеспечивает технологии (например, способы, композиции и т. д.), включающие NK-клетки и такие средства, в частности, в некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие обеспечивает технологии, содержащие NK-клетки и антитело-рекрутирующие молекулы (antibody-recruiting molecules (ARM)), которые включают (i) антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, (ii) мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с клеткой, и необязательно (iii) линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

[0004] В некоторых вариантах осуществления ARM могут значительно повышать эффективность терапии NK-клетками, например, облегчая распознавание клеток-мишеней NK-клетками. В некоторых вариантах осуществления ARM могут усиливать

взаимодействия между NK-клетками и клетками-мишенями и/или способствовать гибели клеток-мишеней, индуцированной NK-клетками. В некоторых случаях ARM способствуют активации NK-клеток, например, путем привлечения к клеткам-мишеням антител, которые затем могут рекрутировать и активировать NK-клетки.

[0005] Дополнительно или альтернативно, в некоторых вариантах осуществления ARM снижают и/или задерживают начало одного или нескольких побочных эффектов терапии NK-клетками, например, направляя NK-клетки к клеткам-мишеням и уменьшая ненаправленные эффекты. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки обычно активируются, обогащаются и/или размножаются перед введением субъекту. Такие предварительно активированные NK-клетки являются более мощными и могут быть необходимы для эффективного уничтожения клеток-мишеней, однако из-за их активации такие клетки могут вызывать значительно больше побочных эффектов, например, уничтожение непредусмотренных клеток. Среди прочего, в настоящем раскрытии обеспечены технологии, с помощью которых ARM могут направлять NK-клетки к клеткам-мишеням и уменьшать побочные эффекты и токсичность, связанные с терапией NK-клетками. Кроме того, ввиду уменьшения ненаправленного действия, в некоторых вариантах осуществления может использоваться больше активированных NK-клеток для дополнительного повышения терапевтической эффективности.

[0006] Среди прочего, антитело-связывающий фрагмент (в некоторых вариантах осуществления называемый антитело-связывающим концом (antibody binding terminus (ABT)), может связываться с антителами (или их фрагментами). В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающие фрагменты связываются с вариабельными областями. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающие фрагменты связываются с участками Fab (участками связывания антигена (fragment antigen binding)). В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающие фрагменты могут, среди прочего, рекрутировать антитела (или их фрагменты) с различной антиген-специфичностью («универсальные ABT» или «uABT»), например, посредством связывания с Fc-областями (кристаллизующимися фрагментами иммуноглобулина (fragment crystallizable region)). В некоторых вариантах осуществления использование uABT может позволять обходить зависимость от конкретных антител и избегать нежелательных эффектов, которые могут возникать в результате индивидуальных вариаций популяций конкретных антител. В некоторых вариантах осуществления uABT обеспечивает преимущественное

рекрутирование IgG1, IgG2 и/или IgG4. В некоторых вариантах осуществления рекрутирование антител, например, подклассов IgG, ограничивается введенной дозой ARM и/или не ограничивается уровнями антител, имеющих конкретную область Fab у индивидуума. В некоторых вариантах осуществления ABT связываются с эндогенными антителами и рекрутируют их. В некоторых вариантах осуществления uABT связываются с молекулами IgG, предпочтительно с человеческими IgA или IgM. Обычно после связывания антитело-связывающими фрагментами антитела остаются способными выполнять одну или несколько своих иммунных функций, например, взаимодействовать с NK-клетками, что может приводить к уничтожению NK-клетками клеток-мишеней.

[0007] Как правило, мишень-связывающий фрагмент (в некоторых вариантах осуществления называемый мишень-связывающим концом (target binding terminus (TBT))) может придавать специфичность ARM по отношению к его мишени, например, представляющей интерес больной клетки, посредством, например, связывания объекта (например, рецептора клеточной поверхности), отличающего мишень от не-мишени (например, больные клетки от других типов клеток).

[0008] Среди прочего, ARM может обеспечить мишень-специфическое рекрутирование антител, например, эндогенных антител, введенных антител и т. д., посредством ABT и/или инициировать, генерировать, поощрять и/или усиливать иммунные активности, связанные с NK-клетками, например, уничтожение NK-клетками клеток-мишеней. Доступны различные технологии, например, анализы, реагенты, методы и т. д. для оценки антитело-связывающих фрагментов, мишень-связывающих фрагментов и ARM, и их можно использовать в соответствии с настоящим раскрытием.

[0009] В некоторых вариантах осуществления ARM включает:

антитело-связывающий фрагмент,

мишень-связывающий фрагмент и

необязательно линкерный фрагмент,

где антитело-связывающий фрагмент может связываться с Fab-областью антитела.

[0010] В некоторых вариантах осуществления ARM включает:

антитело-связывающий фрагмент,

мишень-связывающий фрагмент и

необязательно линкерный фрагмент,

где антитело-связывающий фрагмент может связываться с Fc-областью антитела.

[0011] В некоторых вариантах осуществления ARM включает:

антитело-связывающий фрагмент,

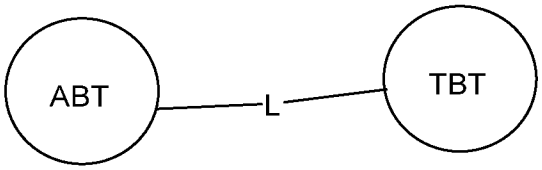
мишень-связывающий фрагмент и

необязательно линкерный фрагмент,

где антитело-связывающий фрагмент может связываться с двумя или более антителами, которые имеют различные Fab-области.

[0012] В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент, например, универсальный антитело-связывающий фрагмент, связывается с Fc-областью антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент, например, универсальный антитело-связывающий фрагмент, связывается с консервативной областью Fc антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент связывается с Fc-областью антитела IgG.

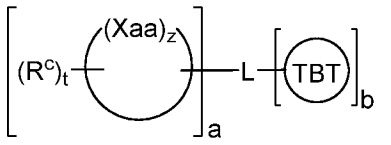
[0013] В некоторых вариантах осуществления средство, например, ARM, по настоящему раскрытию представляет собой соединение, имеющее структуру формулы **I:**



I

или его фармацевтически приемлемую соль, где каждая переменная такая, как определено и описано в данном документе. Средство представляет собой соединение формулы I или его фармацевтически приемлемую соль.

[0014] В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой соединение формулы **I-a:**



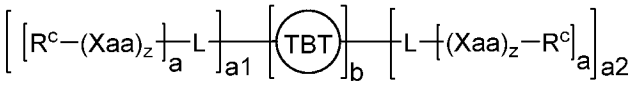
,

I-a

или его соль, где каждая переменная такая, как определено и описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления средство, например, ARM, имеет

формулу **I-a** или его фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **I** представляет собой соединение формулы **I-a.**

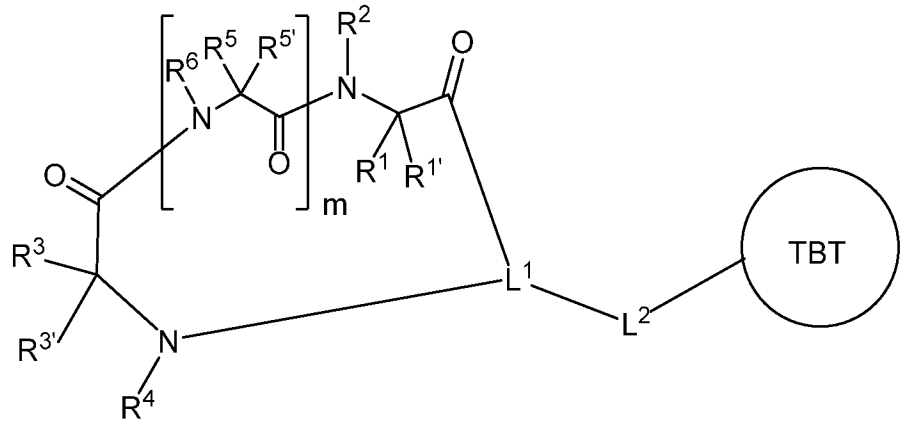
[0015] В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой соединение формулы **I-b:**



I-b

или его соль, где каждая переменная такая, как определено и описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления средство, например, ARM, имеет формулу **I-b** или его фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления обеспеченное соединение формулы I представляет собой соединение формулы **I-b.**

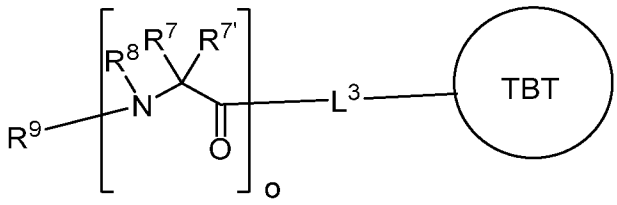
[0016] В некоторых вариантах осуществления средство, например, ARM, представляет собой соединение, имеющее структуру формулы **II:**



II

или его фармацевтически приемлемую соль, где каждая переменная такая, как определено и описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой соединение формулы **II** или его соль. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **I** представляет собой соединение формулы **II** или его соль. В некоторых вариантах осуществления соединение, имеющее структуру формулы **I-a,** представляет собой соединение формулы **II.**

[0017] В некоторых вариантах осуществления средство, например, ARM, представляет собой соединение, имеющее структуру формулы **III:**



III

или его фармацевтически приемлемую соль, где каждая переменная такая, как определено и описано в данном документе. В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой соединение формулы **III** или его соль. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **I** представляет собой соединение формулы **III** или его соль. В некоторых вариантах осуществления соединение, имеющее структуру формулы **I-b,** представляет собой соединение формулы **III.**

[0018] Комбинация из NK-клеток и средств по настоящему изобретению, например, ARM, может быть особенно эффективной при лечении различных состояний, расстройств или заболеваний, включая рак. В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие представляет собой комбинацию, содержащую:

увеличенную, обогащенную и/или предварительно активированную популяцию естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующую молекулу (ARM), где:

ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с объектом-мишенью, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

[0019] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения обеспечивается способ индукции гибели клеток, ингибирования роста клеток и/или уменьшения количества клеток в системе, включающий введение в систему:

одного или обоих из:

множества естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующей молекулы (ARM),

где ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с клеткой, и необязательно

линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

так что система подвергается воздействию обоих, и количество клеток в системе уменьшается по сравнению с таковым в отсутствии как естественных клеток-киллеров, так и антитело-рекрутирующей молекулы.

[0020] Специалисты в данной области техники оценят, подходят ли обеспеченные технологии для различных систем, как описано в данном документе. Например, в некоторых вариантах осуществления система представляет собой организм. В некоторых вариантах осуществления система представляет собой субъекта. В некоторых вариантах осуществления система представляет собой человека. В некоторых вариантах осуществления система представляет собой пациента. В некоторых вариантах осуществления система представляет собой животное, не относящееся к человеку. В некоторых вариантах осуществления система представляет собой животное, не относящееся к человеку, в качестве модели заболевания. В некоторых вариантах осуществления система представляет собой орган. В некоторых вариантах осуществления система представляет собой ткань. В некоторых вариантах осуществления система представляет собой систему in vivo. В некоторых вариантах осуществления система представляет собой систему ex vivo. В некоторых вариантах осуществления система представляет собой систему in vitro. В некоторых вариантах осуществления система представляет собой культуру клеток или включает ее.

[0021] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения обеспечивается способ лечения рака, включающий введение субъекту, страдающему от него:

одного или обоих из:

множества естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующей молекулы (ARM),

где ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с клеткой, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

так что система подвергается воздействию обоих.

[0022] В некоторых вариантах осуществления субъектом является человек. В некоторых вариантах осуществления субъект представляет собой человека-пациента. В некоторых вариантах осуществления субъектом является животное, не относящееся к человеку. В некоторых вариантах осуществления субъектом является животное, не относящееся к человеку, которое можно использовать в качестве модели заболевания.

[0023] В некоторых вариантах осуществления количество раковых клеток у субъекта снижено по сравнению с таковым в отсутствии как естественных клеток-киллеров, так и антитело-рекрутирующей молекулы. В некоторых вариантах осуществления рост раковых клеток у субъекта снижен по сравнению с таковым в отсутствии как естественных клеток-киллеров, так и антитело-рекрутирующей молекулы. В некоторых клетках пролиферация раковых клеток у субъекта снижена по сравнению с таковой в отсутствии как естественных клеток-киллеров, так и антитело-рекрутирующей молекулы. В некоторых вариантах осуществления объемы раковых клеток у субъекта уменьшены по сравнению с таковыми в отсутствии как естественных клеток-киллеров, так и антитело-рекрутирующей молекулы.

[0024] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения обеспечивается способ лечения рака, включающий введение субъекту, страдающему от него:

множества естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующей молекулы,

где ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с раковыми клетками, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

[0025] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения обеспечивается способ снижения токсичности или побочных эффектов лечения с использованием естественных клеток-киллеров, включающий введение субъекту:

множества естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующей молекулы

где ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с объектом-мишенью лечения, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий связывающую часть антитела с мишенью связывания часть.

[0026] В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие обеспечивает, в способе лечения субъекта путем введения множества естественных клеток-киллеров, улучшение, которое также включает введение антитело-рекрутирующей молекулы (ARM), где ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с клеткой, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент со связывающим мишень фрагментом.

[0027] Средства, например, ARM, по настоящему изобретению могут быть введены до, одновременно с, и/или после NK-клеток, например, размноженных, обогащенных и/или предварительно активированных NK-клеток.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0028] Фигура 1. Обеспеченные технологии обладают низкой токсичностью. A. Частоты мертвых NK-клеток. B. Частоты мертвых NK-клеток, нормализованные к контролю, обработанному DMSO.

[0029] Фигура 2. Обеспеченные технологии могут эффективно убивать раковые клетки. A. Частоты мертвых клеток SUDHL-4 в совместных культурах NK-SUDHL-4. B. Частоты мертвых клеток SUDHL-4 в совместных культурах NK-SUDHL-4, нормализованные к контролям, обработанным DMSO.

[0030] Фигура 3. Обеспеченные технологии могут уменьшить количество плазматических клеток.

[0031] Фигура 4. Отсутствие или низкий уровень фратрицида (взаимного уничтожения) NK-клеток обеспеченными технологиями.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ НЕКОТОРЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

1. Общее описание некоторых вариантов осуществления изобретения:

[0032] Как отмечалось выше, в некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие обеспечивает технологии для индукции гибели клеток, ингибирования роста клеток и/или уменьшения количества клеток в системе. Альтернативно или дополнительно, в некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие обеспечивает технологии лечения рака и/или снижения токсичности и/или побочных эффектов клеточной иммунотерапии (например, терапии NK-клетками).

[0033] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения используются АРМ-средства вместе с клеточной иммунотерапией: такой как терапия NK-клетками (например, включение *in vitro* размножения NK-клеток). В некоторых вариантах осуществления одно или несколько АРМ-средств, как описано в данном документе, вводят субъекту, который получил, получает или будет получать терапию NK-клетками, или иным образом имеет или будет иметь популяцию NK-клеток, направленных на интересующий участок (например, на опухоль). Напротив, в некоторых вариантах осуществления клеточная иммунотерапия (например, терапия NK-клетками) назначается субъекту, который получал, получает или будет получать терапию АРМ-средством, как описано в данном документе.

[0034] В некоторых вариантах осуществления в настоящем описании используются АРМ-средства, содержащие антитело-связывающие фрагменты, которые могут связываться с антителами (или их фрагментами) с различными структурами Fab («uABT»). В частности, в некоторых вариантах осуществления АРМ-средства включают антитело-связывающие фрагменты, которые связываются с Fc-областью антител; в некоторых вариантах осуществления такое связывание с Fc-областями антител не препятствует одной или нескольким иммунным активностям антител, например, взаимодействию с Fc-рецепторами (например, CD16a), привлечению эффекторных клеток, таких как NK-клетки, для ADCC и т. д. Как оценят специалисты в данной области техники, обеспеченные технологии (средства, соединения, композиции, способы и т. д.) по настоящему изобретению, содержащие uABT, могут обеспечить различные преимущества, например, обеспеченные технологии могут использовать антитела с различными Fab-областями в иммунной системе, чтобы избежать или минимизировать нежелательные эффекты вариаций антител в популяции у пациентов, и могут вызывать и/или усиливать иммунную активность в отношении мишеней, например, убивать больные клетки-мишени, такие как раковые клетки.

[0035] В некоторых вариантах осуществления технологии по настоящему изобретению применимы для привлечения антител и NK-клеток к различным мишеням, например, к раковым клеткам. В некоторых вариантах осуществления обеспеченные технологии применимы для модуляции иммунной активности, такой как ADCC с участием NK-клеток, против мишеней (больных клеток, инородных объектов или субъектов и т. д.). В некоторых вариантах осуществления обеспеченные технологии применимы для модулирования

активности NK-клеток против клеток-мишеней, например, больных клеток, таких как раковые клетки. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент представляет собой фрагмент ингибитора. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент представляет собой фрагмент ингибитора фермента. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент связывается с объектом на клеточной поверхности, например, с белком, углеводом, липидом и т. д.

[0036] В некоторых вариантах осуществления средство, например, ARM, включает:

антитело-связывающий фрагмент,

мишень-связывающий фрагмент и

необязательно линкерный фрагмент,

где антитело-связывающий фрагмент может связываться с Fab-областью.

[0037] В некоторых вариантах осуществления средство, например, ARM, включает:

антитело-связывающий фрагмент,

мишень-связывающий фрагмент и

необязательно линкерный фрагмент,

где антитело-связывающий фрагмент может связываться с областью Fc.

[0038] В некоторых вариантах осуществления средство, например, ARM, включает:

антитело-связывающий фрагмент,

мишень-связывающий фрагмент и

необязательно линкерный фрагмент,

где антитело-связывающий фрагмент может связываться с двумя или более антителами, которые имеют различные Fab-области.

[0039] В некоторых вариантах осуществления средства, применимые на практике технологий настоящего раскрытия, содержат два или более антитело-связывающих фрагментов. В некоторых вариантах осуществления применимые средства содержат два или более мишень-связывающих фрагментов.

[0040] Антитело-связывающий фрагмент может взаимодействовать с любой частью антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент связывается с Fc-областью антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент связывается с консервативной областью Fc антитела. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент связывается с Fc-областью антитела IgG. Как известно специалистам в данной области техники, различные антитело-

связывающие фрагменты, линкеры и мишень-связывающие фрагменты могут быть использованы в соответствии с настоящим раскрытием. Среди прочего, как показано в примерах, в некоторых вариантах осуществления настоящего описания обеспечиваются антитело-связывающие фрагменты, линкеры и мишень-связывающие фрагменты и их комбинации, которые особенно применимы и эффективны для конструирования молекул ARM для привлечения антител к клеткам-мишеням и/или для запуска, генерации, поощрения и/или усиления активности иммунной системы по отношению к клеткам-мишеням, например, больным клеткам, таким как раковые клетки.

[0041] В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающие фрагменты могут связываться с Fc-областью, которая связана с Fc-рецепторами, например, FcγRIII-a, CD16a и т. д. В некоторых вариантах осуществления обеспеченные фрагменты и/или средства (например, соединения/ARM различных формул, как описано в настоящем раскрытии) содержат антитело-связывающие фрагменты, которые связываются с комплексом, включающим Fc-область и Fc-рецептор. В некоторых вариантах осуществления комплекс включает:

средство, содержащее:

антитело-связывающий фрагмент,

мишень-связывающий фрагмент и

необязательно линкерный фрагмент,

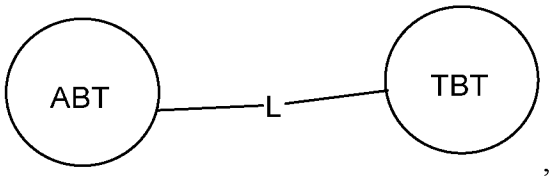
Fc-область, и

Fc-рецептор,

где антитело-связывающий фрагмент средства может связываться с двумя или более антителами, которые имеют различные Fab-области.

[0042] В некоторых вариантах осуществления изобретения Fc-область является Fc-областью эндогенного антитела субъекта. В некоторых вариантах осуществления изобретения Fc-область является Fc-областью экзогенного антитела. В некоторых вариантах осуществления изобретения Fc-область является Fc-областью вводимого средства. В некоторых вариантах осуществления изобретения Fc-рецептор принадлежит больной клетке субъекта. В некоторых вариантах осуществления изобретения Fc-рецептор принадлежит раковой клетке субъекта.

[0043] В некоторых вариантах осуществления средство, например, ARM, имеет формулу **I:**



,

I

или его фармацевтически приемлемой соли, где:

ABT представляет собой антитело-связывающий фрагмент;

L представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, который связывает ABT с TBT; и

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент.

[0044] В некоторых вариантах осуществления ABT представляет собой универсальный антитело-связывающий фрагмент.

[0045] В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент содержит один или несколько аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент представляет собой пептидный фрагмент или содержит его. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает циклический пептидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления такой антитело-связывающий фрагмент содержит один или несколько природных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления такой антитело-связывающий фрагмент содержит один или несколько неприродных природных аминокислотных остатков.

[0001] В некоторых вариантах осуществления аминокислота имеет структуру формулы A-I:

$$NH(R^{a1})–L^{a1}–C(R^{a2})(R^{a3})–L^{a2}–COOH,$$

A-I

или его соли, при этом:

каждый из R^{a1}, R^{a2}, R^{a3} независимо представляет собой $-L^{a}-R'$;

каждый из L^{a1} и L^{a2} независимо представляет собой L^{a};

каждый L^{a} независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько

метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на −C(R')$_2$−, −Cy−, −O−, −S−, −S−S−, −N(R')−, −C(O)−, −C(S)−, −C(NR')−, −C(O)N(R')−, −N(R')C(O)N(R')−, −N(R')C(O)O−, −S(O)−, −S(O)$_2$−, −S(O)$_2$N(R')−, −C(O)S− или −C(O)O−;

каждый -Cy- независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния;

каждый R' независимо представляет собой −R, −C(O)R, −CO_2R или −SO_2R;

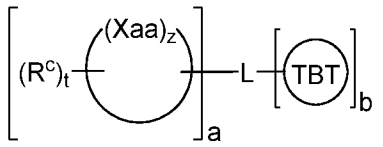
каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, от 5 до 30-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или:

две или более группы R у одного и того же атома необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[0046] В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент представляет собой циклический пептидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления соединение, например, средство, ARM, имеет формулу **I-a:**



,

I-a

или его соли, при этом:

каждый Xaa независимо представляет собой аминокислотный остаток;

t равен от 0 до 50;

z равен от 1 до 50;

L представляет собой линкерный фрагмент;

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент;

каждый R^c независимо представляет собой $-L^a-R'$;

каждый из a и b независимо равен от 1 до 200;

каждый L^a независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$;

каждый -Cy- независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния;

каждый R' независимо представляет собой -R, -C(O)R, $-CO_2R$ или $-SO_2R$;

каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы,

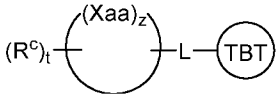
фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, от 5 до 30-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или:

две или более группы R у одного и того же атома необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

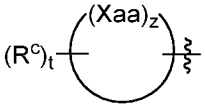
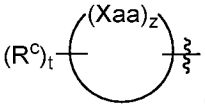
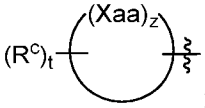
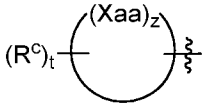
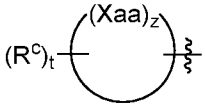
две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

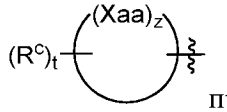
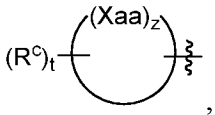
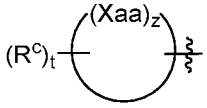
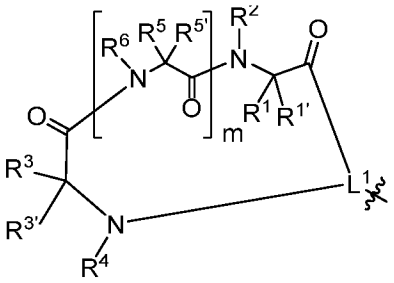
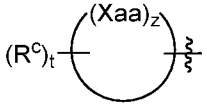
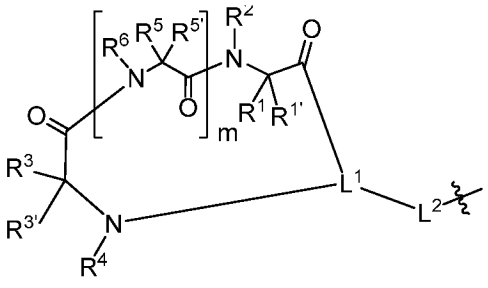
[0047] В некоторых вариантах осуществления a равен 1. В некоторых вариантах осуществления b равен 1. В некоторых вариантах осуществления a равен 1 и b равен 1, и соединение формулы **I-a** имеет структуру.



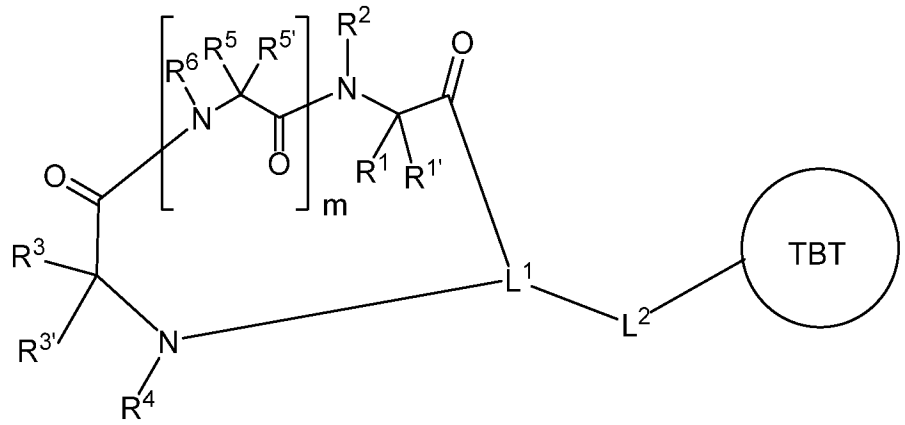
[0048] В некоторых вариантах осуществления каждый аминокислотный остаток, например, каждый Xaa в формуле I-a, независимо представляет собой аминокислотный остаток, имеющий структуру формулы A-I. В некоторых вариантах осуществления каждый Xaa независимо имеет структуру $-N(R^{a1})-L^{a1}-C(R^{a2})(R^{a3})-L^{a2}-CO-$. В некоторых вариантах осуществления две или несколько боковых цепей аминокислотных остатков, например, в соединениях формулы I-a, (например, R^{a2} или R^{a3} одного аминокислотного остатка с R^{a2} или R^{a3} другого аминокислотного остатка) необязательно взяты вместе с образованием мостика

(например, соединения I-10, I-12, I-14, I-18, I-19, I-22, I-23, I-25 и т. д.), например, в некоторых вариантах осуществления два остатка цистеина образуют мостик -S-S-, как это обычно наблюдается в природных белках. В некоторых вариантах осуществления образованный мостик имеет структуру L^b, где L^b представляет собой L^a как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления каждый конец L^b независимо соединяется с атомом основной цепи циклического пептида (например, с кольцевым атомом кольца, образованного посредством $-(Xaa)_z-$ в формуле I-a). В некоторых вариантах осуществления L^b содержит группу R (например, когда метиленовая единица в L^b заменена на $-C(R)_2-$ или -N(R)-), группа R берется вместе с группой R, присоединенной к атому основной цепи (например, R^{a1}, R^{a2}, R^{a3} и т. д., если является R), и промежуточными между ними атомами с образованием кольца. В некоторых вариантах осуществления L^b присоединяется к кольцу, например, к кольцу, образованному посредством $-(Xaa)_z-$ в формуле I-a, через боковую цепь аминокислотного остатка (например, Xaa в формуле I-a). В некоторых вариантах осуществления такая боковая цепь содержит аминогруппу или группу карбоновой кислоты.

[0049] В некоторых вариантах осуществления  представляет собой антитело-связывающий фрагмент ( связывается с антителом). В некоторых вариантах осуществления  представляет собой универсальный антитело-связывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления  представляет собой универсальный антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с антителами, имеющими различные Fab-области. В некоторых вариантах осуществления  представляет собой универсальный антитело-связывающий фрагмент, который может связываться связываться с антителами, имеющими различные

Fab-области. В некоторых вариантах осуществления  представляет собой универсальный антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с областью Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент, например, универсальный антитело-связывающий фрагмент, имеющий структуру  , может связываться с областью Fc, связанной с рецептором Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент, например, антитело-связывающий фрагмент, имеющий структуру  , имеет структуру  . В некоторых вариантах осуществления  имеет структуру  .

[0050] В некоторых вариантах осуществления соединение, например, средство, ARM и т. д., имеет формулу **II:**



II

или его фармацевтически приемлемой соли, где:

каждый из R^1, R^3 и R^5 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или:

R^1 и $R^{1'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца, или 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

R^3 и $R^{3'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточными атомом углерода, с образованием 3-8-членного необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца, или 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического

гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

группа R^5 и группа $R^{5'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца, или 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или

две группы R^5 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием C_{1-10} необязательно замещенной двухвалентной линейной или разветвленной насыщенной или ненасыщенной углеводородной цепи, в которой от 1 до 3 метиленовых звеньев цепи независимо и необязательно заменены на –S–, –SS–, –N(R)–, –O–, –C(O)–, –OC(O)–, –C(O)O–, –C(O)N(R)–, –N(R)C(O)–, –S(O)–, $–S(O)_2–$ или $–Cy^1–$, где каждый $–Cy^1–$ независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы;

каждый из $R^{1'}$, $R^{3'}$ и $R^{5'}$ независимо представляет собой водород или необязательно замещенную C_{1-3} алифатическую группу;

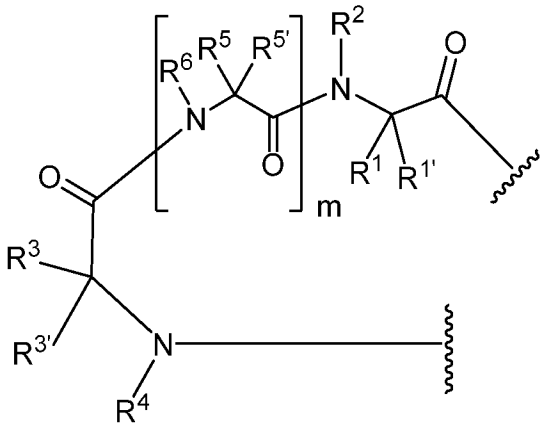
каждый из R^2, R^4 и R^6 независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_{1-4} алифатический радикал, или:

R^2 и R^1 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного, необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

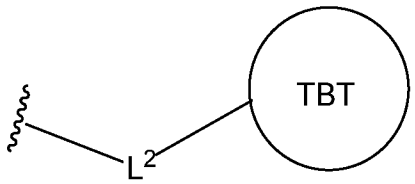
R^4 и R^3 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или

группа R^6 и соседняя с ней группа R^5 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

L^1 представляет собой трехвалентный линкерный фрагмент, который соединяет

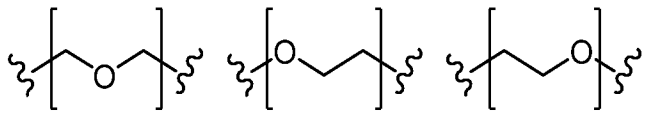


и



;

L^2 представляет собой ковалентную связь или C_{1-30} необязательно замещенную двухвалентную линейную или разветвленную насыщенную или ненасыщенную углеводородную цепь, где от 1 до 10 метиленовых звеньев цепи независимо друг от друга и необязательно заменены на –S–, –N(R)–, –O–, –C(O)–, –OC(O)–, –C(O)O–, –C(O)N(R)–, –N(R)C(O)–, –S(O)–, –$S(O)_2$–,

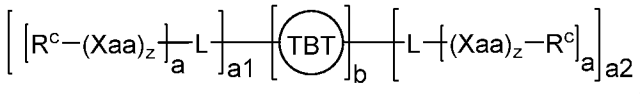


или –Cy^1–, где каждый –Cy^1– независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы;

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент; и

каждый из m и n независимо равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

[0051] В некоторых вариантах осуществления связывания антитела фрагмент представляет собой или содержит пептидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления соединения, например, средство, ARM и т. д., имеет структуру формулы **I-b:**



,

I-b

или его соли, при этом:

каждый Xaa независимо представляет собой аминокислотный остаток;

каждый z независимо равен от 1 до 50;

каждый L независимо представляет собой линкерный фрагмент;

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент,

каждый R^c независимо представляет собой $-L^a-R'$;

каждый из a1 и a2 независимо равен 0 или 1, где по меньшей мере один из a1 и a2 не равен 0;

каждый из a и b независимо равен от 1 до 200;

каждый L^a независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$;

каждый -Cy- независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния;

каждый R' независимо представляет собой $-R$, $-C(O)R$, $-CO_2R$ или $-SO_2R$;

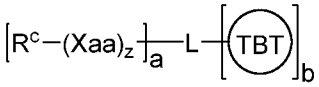
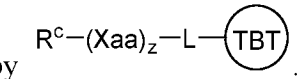
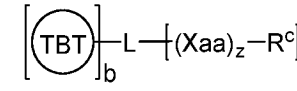
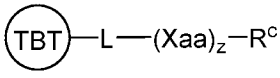
каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, от 5 до 30-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклильного кольца,

имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или:

две или более группы R у одного и того же атома необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

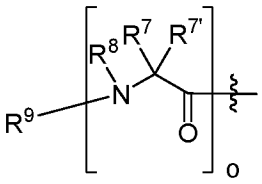
две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[0052] В некоторых вариантах осуществления a1 равен 1. В некоторых вариантах осуществления a2 равен 1. В некоторых вариантах осуществления b равен 1. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **I-b** имеет структуру  . В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **I-b** имеет структуру  . В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **I-b** имеет структуру  . В некоторых вариантах осуществления соединение формулы **I-b** имеет структуру  .

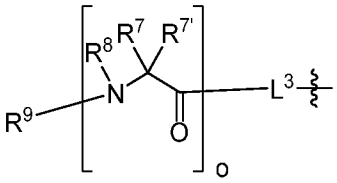
[0053] В некоторых вариантах осуществления каждый аминокислотный остаток, например, каждый Xaa в формуле I-b, независимо представляет собой аминокислотный остаток, имеющий структуру формулы A-I. В некоторых вариантах осуществления каждый Xaa независимо имеет структуру $-N(R^{a1})-L^{a1}-C(R^{a2})(R^{a3})-L^{a2}-CO-$. В некоторых вариантах осуществления две или несколько боковых цепей аминокислотных остатков, например, в соединениях формулы I-a, (например, R^{a2} или R^{a3} одного аминокислотного остатка с R^{a2} или R^{a3} другого аминокислотного остатка) необязательно взяты вместе с образованием мостика

(например, соединения I-10, I-12, I-14, I-18, I-19, I-22, I-23, I-25 и т. д.), например, в некоторых вариантах осуществления два остатка цистеина образуют мостик -S-S-, как это обычно наблюдается в природных белках. В некоторых вариантах осуществления образованный мостик имеет структуру L^b, где L^b представляет собой L^a как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления каждый конец L^b независимо соединяется с атомом основной цепи циклического пептида (например, с кольцевым атомом кольца, образованного посредством $-(Xaa)_z-$ в формуле I-a). В некоторых вариантах осуществления L^b содержит группу R (например, когда метиленовая единица в L^b заменена на $-C(R)_2-$ или -N(R)-), группа R берется вместе с группой R, присоединенной к атому основной цепи (например, R^{a1}, R^{a2}, R^{a3} и т. д., если является R), и промежуточными между ними атомами с образованием кольца. В некоторых вариантах осуществления L^b присоединяется к кольцу, например, к кольцу, образованному посредством $-(Xaa)_z-$ в формуле I-a, через боковую цепь аминокислотного остатка (например, Xaa в формуле I-a). В некоторых вариантах осуществления такая боковая цепь содержит аминогруппу или группу карбоновой кислоты.

[0054] В некоторых вариантах осуществления $R^c-(Xaa)z-$ представляет собой антитело-связывающий фрагмент ($R^c-(Xaa)z-H$ связывается с антителом). В некоторых вариантах осуществления $R^c-(Xaa)z-$ представляет собой универсальный антитело-связывающий фрагмент. В некоторых вариантах осуществления $R^c-(Xaa)z-$ представляет собой универсальный антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с антителами, имеющими различные Fab-области. В некоторых вариантах осуществления $R^c-(Xaa)z-$ представляет собой универсальный антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с областью Fc. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент, например, универсальный антитело-связывающий фрагмент, имеющий структуру $R^c-(Xaa)z-$, может связываться с областью Fc, которая связывается с рецептором Fc. В некоторых вариантах осуществления $R^c-(Xaa)z-$ имеет структуру

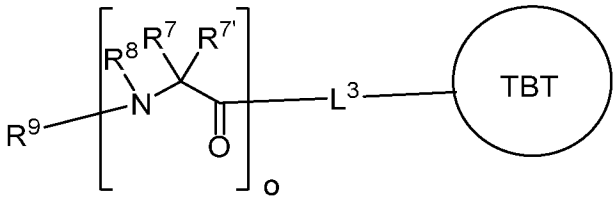


. В некоторых вариантах осуществления R^c–(Xaa)z–L– имеет структуру



.

[0055] В некоторых вариантах осуществления соединение, например, средство, ARM и т. д., имеет формулу **III:**



III

или его фармацевтически приемлемой соли, где:

Каждый из R^7 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или:

группа R^7 и группа $R^{7'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца, или 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического

гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

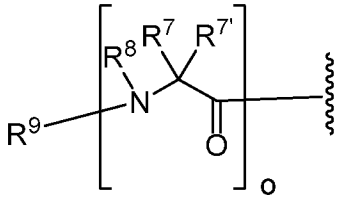
каждый из $R^{7'}$ независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C1-3 алифатический радикал;

каждый из R^8 независимо представляет собой водород, или необязательно замещенный C1-4-алифатический радикал, или:

группа R^8 и соседняя с ней группа R^7 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

R^9 представляет собой водород, необязательно замещенную C_{1-3} алифатическую группу или -C(O)-(необязательно замещенную C_{1-3} алифатическую группу);

L3 представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, который соединяет



с TBT;

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент; и

o равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

2. Определения:

[0056] Соединения по настоящему изобретению включают соединения, описанные в данном документе в целом, и дополнительно проиллюстрированы классами, подклассами и видами, раскрытыми в данном документе. В контексте настоящего описания применяются следующие определения, если не указано иное. Для целей настоящего изобретения химические элементы идентифицируются в соответствии с Периодической таблицей элементов, версия CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75th Ed. Кроме того, общие принципы органической химии описаны в "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999 и "March's Advanced Organic Chemistry", 5th Ed., Ed.: Smith,

M.B. and March, J., John Wiley & Sons, New York: 2001, полное содержание которых включено в данное описание посредством ссылки.

[0057] *Введение:* Используемый в данном описании термин «введение» обычно относится к введению композиции субъекту или системе. Специалистам в данной области техники известно множество путей, которые при соответствующих обстоятельствах могут быть использованы для введения субъекту, например человеку. Например, в некоторых вариантах осуществления введение может быть глазным, пероральным, парентеральным, местным и т. д. В некоторых вариантах осуществления введение может быть бронхиальным (например, путем инстилляции бронхов), буккальным, дермальным (которое может представлять собой или включать, например, один или несколько продуктов местного действия для кожного, внутрикожного, межкожного, трансдермального введения и т. д.), энтеральным, внутриартериальным, внутрикожным, внутрижелудочным, интрамедуллярным, внутримышечным, интраназальным, внутрибрюшинным, интратекальным, внутривенным, внутрижелудочковым, внутри конкретного органа (например, внутрипеченочным), через слизистую оболочку, назальным, пероральным, ректальным, подкожным, сублингвальным, местным, трахеальным (например, путем внутритрахеальной инстилляции), вагинальным, витреальным и т. д. В некоторых вариантах осуществления введение может включать прерывистое (например, множество доз, разделенных во времени) и/или периодическое (например, индивидуальные дозы, разделенные общим периодом времени) дозирование. В некоторых вариантах осуществления введение может включать непрерывное дозирование (например, перфузию) в течение по меньшей мере выбранного периода времени.

[0058] *Средство:* Как правило, используемый термин «средство» может использоваться для обозначения соединения или объекта любого химического класса, включая, например, полипептид, нуклеиновую кислоту, сахарид, липид, небольшую молекулу, металл или их комбинацию или комплекс. В соответствующих обстоятельствах, как будет ясно из контекста специалистам в данной области техники, данный термин может использоваться для обозначения объекта, который представляет собой или включает клетку или организм, или их фракцию, экстракт или компонент. Альтернативно или дополнительно, как станет ясно из контекста, данный термин может использоваться для обозначения натурального продукта в том смысле, что он обнаружен в природе и/или получен из природы. В некоторых вариантах осуществления, опять же, как будет ясно из контекста, данный термин может

использоваться для обозначения одного или нескольких объектов, созданных человеком в том смысле, что он спроектирован, сконструирован и/или произведен посредством действия руки человека и/или не встречается в природе. В некоторых вариантах осуществления средство может быть использовано в чистом виде; в некоторых вариантах осуществления средство может быть использовано в неочищенной форме. В некоторых вариантах осуществления потенциальные средства могут быть предоставлены в виде коллекций или библиотек, например, те, которые могут подвергаться скринингу для идентификации или характеристики активных средств в них. В некоторых вариантах осуществления термин «средство» может относиться к соединению или объекту, который является или включает полимер; в некоторых вариантах осуществления термин может относиться к соединению или объекту, который содержит один или несколько полимерных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления термин «средство» может относиться к соединению или объекту, который не является полимером и/или практически не содержит какого-либо полимера и/или одного или нескольких конкретных полимерных фрагментов. В некоторых вариантах осуществления термин может относиться к соединению или объекту, в котором отсутствует или практически отсутствует какой-либо полимерный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой соединение. В некоторых вариантах осуществления средство представляет собой ARM, как описано в данном документе.

[0059] *Алифатический:* В данном контексте «алифатический» означает линейную (т.е. неразветвленную) или разветвленную, замещенную или незамещенную углеводородную цепь, которая является полностью насыщенной или которая содержит одну или несколько единиц ненасыщенности, или замещенное или незамещенное моноциклическое, бициклическое или полициклическое углеводородное кольцо, которое является полностью насыщенным или содержит одну или несколько единиц ненасыщенности, или их комбинации. Если не указано иное, алифатические группы содержат от 1 до 100 алифатических атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления алифатические группы содержат от 1 до 20 алифатических атомов углерода. В других вариантах осуществления алифатические группы содержат от 1 до 10 алифатических атомов углерода. В других вариантах осуществления алифатические группы содержат от 1 до 9 алифатических атомов углерода. В других вариантах осуществления алифатические группы содержат от 1 до 8 алифатических атомов углерода. В других вариантах осуществления алифатические группы содержат от 1 до 7 алифатических атомов углерода. В других

вариантах осуществления алифатические группы содержат от 1 до 6 алифатических атомов углерода. В еще других вариантах осуществления алифатические группы содержат от 1 до 5 алифатических атомов углерода, и еще в других вариантах осуществления алифатические группы содержат 1, 2, 3 или 4 алифатических атома углерода. Подходящие алифатические группы включают, но не ограничиваются ими, линейные или разветвленные, замещенные или незамещенные алкильные, алкенильные, алкинильные группы и их гибриды.

[0060] *Алкенил:* В данном контексте термин «алкенил» относится к алифатической группе, как определено в данном описании, имеющей одну или несколько двойных связей.

[0061] *Алкенилен:* Термин «алкенилен» относится к двухвалентной алкенильной группе.

[0062] *Алкил:* Термин «алкил», используемый в данной заявке, имеет обычное значение в данной области техники и может включать насыщенные алифатические группы, включая алкильные группы с прямой цепью, алкильные группы с разветвленной цепью, циклоалкильные (алициклические) группы, алкильные заместители. циклоалкильные группы и алкильные группы, замещенные циклоалкилом. В некоторых вариантах осуществления алкил имеет от 1 до 100 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления алкил с прямой или разветвленной цепью имеет от около 1 до 20 атомов углерода в своей основной цепи (например, C_1-C_{20} для прямой цепи, C_2-C_{20} для разветвленной цепи) и, альтернативно, от около 1 до 10 атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления циклоалкильные кольца содержат от около 3 до 10 атомов углерода в кольцевой структуре, где такие кольца являются моноциклическими, бициклическими или полициклическими, и, альтернативно, около 5, 6 или 7 атомов углерода в кольцевой структуре. В некоторых вариантах осуществления алкильная группа может быть низшей алкильной группой, где низшая алкильная группа содержит от 1 до 4 атомов углерода (например, C_1-C_4 для низших алкилов с прямой цепью).

[0063] *Алкилен:* Термин «алкилен» относится к двухвалентной алкильной группе.

[0064] *Аминокислота*: В самом широком смысле, как используется в данном описании, относится к любому соединению и/или веществу, которое может быть включено в полипептидную цепь, например, посредством образования одной или нескольких пептидных связей. В некоторых вариантах осуществления аминокислота содержит аминогруппу и группу карбоновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления аминокислота имеет общую структуру $NH(R')–C(R')_2–COOH$, где каждый R' независимо является таким, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах

осуществления аминокислота имеет общую структуру $H_2N–C(R')_2–COOH$, где R' является таким, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления аминокислота имеет общую структуру $H_2N–C(H)(R')–COOH$, где R' является таким, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления аминокислота представляет собой встречающуюся в природе аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислота является неприродной аминокислотой; в некоторых вариантах осуществления аминокислота представляет собой D-аминокислоту; в некоторых вариантах осуществления аминокислота является L-аминокислотой. «Стандартная аминокислота» относится к любой из двадцати стандартных L-аминокислот, обычно встречающихся в природных пептидах. «Нестандартная аминокислота» относится к любой аминокислоте, отличной от стандартных аминокислот, независимо от того, получена ли она синтетическим путем или из природного источника. В некоторых вариантах осуществления аминокислота, включая карбокси- и/или аминоконцевую аминокислоту в полипептиде, может содержать структурную модификацию по сравнению с общей структурой, приведенной выше. Например, в некоторых вариантах осуществления аминокислота может быть модифицирована метилированием, амидированием, ацетилированием, пегилированием, гликозилированием, фосфорилированием и/или заменой (например, аминогруппы, группы карбоновой кислоты, одного или нескольких протонов, одного или более атомов водорода и/или гидроксильной группы) по сравнению с общей структурой. В некоторых вариантах осуществления такая модификация может, например, изменить время полужизни в кровотоке полипептида, содержащего модифицированную аминокислоту, по сравнению с полипептидом, содержащим в остальном идентичную немодифицированную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления такая модификация существенно не изменяет релевантную активность полипептида, содержащего модифицированную аминокислоту, по сравнению с полипептидом, содержащим в остальном идентичную немодифицированную аминокислоту. Как будет ясно из контекста, в некоторых вариантах осуществления термин «аминокислота» может использоваться для обозначения свободной аминокислоты; в некоторых вариантах осуществления он может использоваться для обозначения аминокислотного остатка полипептида.

[0065] *Животное:* Используется в отношении любого представителя животного мира. В некоторых вариантах осуществления «*животное*» относится к людям любого пола и на любой стадии развития. В некоторых вариантах осуществления «*животное*» относится к

животным, не относящимся к человеку, на любой стадии развития. В некоторых вариантах осуществления животное, не относящееся к человеку, является млекопитающим (например, грызун, мышь, крыса, кролик, обезьяна, собака, кошка, овца, крупный рогатый скот, примат и/или свинья). В некоторых вариантах осуществления животные включают, но не ограничиваются ими, млекопитающих, птиц, рептилий, земноводных, рыб, насекомых и/или червей. В некоторых вариантах осуществления животное может быть трансгенным животным, генно-инженерным животным и/или клоном.

[0066] *Антитело*: Используемый в данном описании термин «антитело» относится к полипептиду, включающему элементы последовательности канонического иммуноглобулина, достаточные для обеспечения специфического связывания с конкретной мишенью. Как известно в данной области техники, интактные антитела, полученные в природе, представляют собой тетрамеры с молекулярной массой приблизительно 150 кДа, состоящие из двух идентичных полипептидов тяжелой цепи (около 50 кДа каждый) и двух идентичных полипептидов легкой цепи (около 25 кДа каждый), которые связываются друг с другом в то, что обычно называют «Y-образной» структурой. Каждая тяжелая цепь состоит по меньшей мере из четырех доменов (каждый длиной около 110 аминокислот) - аминоконцевого вариабельного (VH) домена (расположенного на концах структуры Y), за которым следуют три константных домена: CH1, CH2 и карбокси-концевой CH3 (расположенный в основании стержня Y). Короткая область, известная как «переключатель (switch)», соединяет вариабельную и константную области тяжелой цепи. «Шарнир» соединяет домены CH2 и CH3 с остальной частью антитела. Две дисульфидные связи в данной шарнирной области соединяют два полипептида тяжелой цепи друг с другом в интактном антителе. Каждая легкая цепь состоит из двух доменов - амино-концевого вариабельного (VL) домена, за которым следует карбокси-концевой константный (CL) домен, отделенных друг от друга другим «переключателем». Тетрамеры интактных антител состоят из двух димеров тяжелая цепь-легкая цепь, в которых тяжелая и легкая цепи связаны друг с другом одной дисульфидной связью; две другие дисульфидные связи соединяют шарнирные области тяжелой цепи друг с другом, так что димеры соединяются друг с другом и образуется тетрамер. Антитела, продуцируемые естественным путем, также гликозилируются, как правило, по домену CH2. Каждый домен в природном антителе имеет структуру, характеризующуюся «иммуноглобулиновой складкой», образованной двумя бета-листами (например, 3-, 4- или 5-нитевыми листами), упакованными друг против друга

в антипараллельной ориентации в сжатый бета-цилиндр. Каждый вариабельный домен содержит три гипервариабельные петли, известные как «определяющие комплемент области (complement determining regions)» (CDR1, CDR2 и CDR3), и четыре в некоторых вариантах осуществления инвариантные «каркасные (framework)» области (FR1, FR2, FR3 и FR4). Когда естественные антитела складываются, области FR образуют бета-листы, которые обеспечивают структурную основу для доменов, и области петель CDR как тяжелой, так и легкой цепей объединяются в трехмерном пространстве, так что они создают единственный гипервариабельный сайт связывания антигена, расположенный на конце Y-структуры. Fc-область встречающихся в природе антител связывается с элементами системы комплемента и с рецепторами на эффекторных клетках, включая, например, эффекторные клетки, которые опосредуют цитотоксичность. Как известно в данной области техники, сродство и/или другие атрибуты связывания Fc-областей с рецепторами Fc можно модулировать посредством гликозилирования или другой модификации. Некоторые из антител, продуцируемых и/или используемых в соответствии с настоящим раскрытием, включают гликозилированные домены Fc, включая домены Fc с модифицированным или таким сконструированным гликозилированием. Для целей настоящего раскрытия некоторые из любых полипептидов или комплексов полипептидов, которые включают в себя достаточные последовательности иммуноглобулиновых доменов, которые обнаруживаются в природных антителах, могут называться и/или использоваться как «антитело», независимо от того, продуцируется ли такой полипептид в природе (например, генерируется организмом, реагирующим на антиген), или производится рекомбинантной инженерией, химическим синтезом или другой искусственной системой или методологией. В некоторых вариантах осуществления антитело является поликлональным; в некоторых вариантах осуществления антитело является моноклональным. В некоторых вариантах осуществления антитело имеет последовательности константной области, которые характерны для антител мыши, кролика, приматов или человека. В некоторых вариантах осуществления элементы последовательности антитела являются гуманизированными, приматизированными, химерными и т. д., как известно в данной области техники. Более того, термин «антитело», используемый в данном описании, может относиться в подходящих вариантах осуществления (если не указано иное или ясно из контекста) к любой из известных или разработанных конструкций или форматов для использования структурных и функциональных признаков антитела в альтернативном представлении.

Например, антитело, используемое в соответствии с настоящим описанием, имеет формат, выбранный из, но не ограничиваясь ими, интактных антител IgA, IgG, IgE или IgM; би- или мультиспецифических антител (например, Zybodies® и т. д.); фрагментов антител, таких как фрагменты Fab, фрагменты Fab', фрагменты F(ab')2, фрагменты Fd', фрагменты Fd и изолированные CDR или их наборы; одноцепочечные Fv; слияния полипептид-Fc; однодоменные антитела (например, однодоменные антитела акулы, такие как IgNAR или его фрагменты); камелоидные антитела; замаскированные антитела (например, Probodies®); малые модульные иммунофармацевтические препараты ("SMIP™"); одноцепочечные тандемные формы димерных антител ("diabody") (TandAb®); VHH; Anticalins®; Nanobodies®; миниантитела; BiTE®; анкириновые повторы белков или DARPIN®; Avimers®; DART; TCR-подобные антитела; Adnectins®; Affilins®; Trans-bodies®; Affibodies®; TrimerX®; Микропротеины; Финомеры®, Центирины®; Kalbitor®s; CovX-Bodies; и CrossMab. В некоторых вариантах осуществления в антителе может отсутствовать ковалентная модификация (например, присоединение гликана), которая была бы у него при естественном производстве. В некоторых вариантах осуществления антитело может содержать ковалентную модификацию (например, присоединение гликана, применимую нагрузку [например, детектируемый фрагмент, терапевтический фрагмент, каталитический фрагмент и т. д.] или другую боковую группу [например, полиэтиленгликоль и т. д.]).

[0067] *Приблизительно:* используемый в термине «приблизительно» или «около» применительно к одному или нескольким интересующим значениям относится к значению, аналогичному установленному эталонному значению. В некоторых вариантах осуществления термин «приблизительно» или «около» относится к диапазону значений, которые находятся в пределах 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% или менее в любом направлении (больше или меньше чем) заявленное эталонное значение, если иное не указано или иное не очевидно из контекста (кроме случаев, когда такое число превышает 100% от возможного значения).

[0068] *Арил:* Термин «арил», используемый отдельно или как часть более крупного фрагмента, как в «аралкиле», «аралкокси», «арилоксиалкиле», и т. д., относится к моноциклической, бициклической или полициклической кольцевой системе, имеющей всего от пяти до тридцать кольцевых членов, где по меньшей мере одно кольцо в системе является ароматическим. В некоторых вариантах осуществления арильная группа представляет собой моноциклическую, бициклическую или полициклическую кольцевую

систему, имеющую в общей сложности от пяти до четырнадцати кольцевых членов, где по меньшей мере одно кольцо в системе является ароматическим и где каждое кольцо в системе содержит от 3 до 7 кольцевых членов. В некоторых вариантах осуществления арильная группа представляет собой биарильную группу. Термин «арил» может использоваться взаимозаменяемо с термином «арильное кольцо». В некоторых аспектах настоящего описания «арил» относится к ароматической кольцевой системе, которая включает, но не ограничивается ими, фенил, бифенил, нафтил, бинафтил, антрацил и тому подобное, которые могут иметь один или несколько заместителей. В некоторых вариантах осуществления в объем термина «арил», как он используется, входит группа, в которой ароматическое кольцо конденсировано с одним или несколькими неароматическими кольцами, такими как инданил, фталимидил, нафтимидил, фенантридинил или тетрагидронафтил и т. п., где радикал или точка присоединения находится на арильном кольце.

[0069] *Ассоциировано с:* Два события или объекта «ассоциированы» друг с другом, как понимается под термином, используемым в том случае, если присутствие, уровень и/или форма одного коррелируют с таковым другого. Например, конкретный объект (например, нуклеиновая кислота (например, геномная ДНК, транскрипты, мРНК и т. д.), полипептид, генетическая сигнатура, метаболит, микроб, клетки и т. д.) считается ассоциированным с конкретным заболеванием, расстройством или состоянием, если его наличие, уровень и/или форма коррелируют с частотой и/или предрасположенностью к заболеванию, расстройству или состоянию (например, в соответствующей популяции).

[0070] *Носитель:* как используется в контексте данного раскрытия, относится к разбавителю, адъюванту, вспомогательному веществу или носителю, с которым вводят композицию. В некоторых примерных вариантах осуществления носители могут включать стерильные жидкости, такие как, например, вода и масла, включая масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как, например, арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло и подобное, аналогичное, похожее. В некоторых вариантах осуществления носители представляют собой или включают один или несколько твердых компонентов.

[0071] *Сопоставимый:* Используемый в контексте данного раскрытия термин «сопоставимый» относится к двум или более средствам, объектам, ситуациям, наборам условий и т. д., которые не могут быть идентичны друг другу, но достаточно похожи, чтобы

позволить сравнение между ними, так что специалист в данной области техники поймет, что выводы могут быть разумно сделаны на основе наблюдаемых различий или сходств. В некоторых вариантах осуществления сопоставимые наборы условий, обстоятельства, люди или популяции характеризуются множеством по существу идентичных признаков и одним или небольшим количеством различных признаков. Специалисты в данной области техники поймут в контексте, какая степень идентичности требуется в любых данных обстоятельствах для того, чтобы два или более таких средства, сущности, ситуации, наборы условий и т. д. считались сопоставимыми. Например, специалисты в данной области техники поймут, что совокупность обстоятельств, индивидов или популяций сопоставимы друг с другом, если они характеризуются достаточным количеством и типом по существу идентичных признаков, чтобы сделать обоснованный вывод о том, что различия в полученных результатах или явлениях, наблюдаемые при различных стечениях обстоятельств или при различных обстоятельствах, у различных лиц или в различных популяциях, вызваны или указывают на вариацию в тех признаках, которые варьируются.

[0072] *Циклоалифатический:* Термин «циклоалифатический» в контексте настоящего описания относится к насыщенным или частично ненасыщенным алифатическим моноциклическим, бициклическим или полициклическим кольцевым системам, имеющим, например, от 3 до 30 членов, где алифатическая кольцевая система необязательно замещена. Циклоалифатические группы включают, без ограничения, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклопентенил, циклогексил, циклогексенил, циклогептил, циклогептенил, циклооктил, циклооктенил, норборнил, адамантил и циклооктадиенил. В некоторых вариантах осуществления циклоалкил имеет от 3 до 6 атомов углерода. Термин «циклоалифатический» может также включать алифатические кольца, которые конденсированы с одним или несколькими ароматическими или неароматическими кольцами, такими как декагидронафтил или тетрагидронафтил, где радикал или точка присоединения находится на алифатическом кольце. В некоторых вариантах осуществления карбоциклическая группа является бициклической. В некоторых вариантах осуществления карбоциклическая группа является трициклической. В некоторых вариантах осуществления карбоциклическая группа является полициклической. В некоторых вариантах осуществления «циклоалифатический» (или «карбоцикл», или «циклоалкил») относится к моноциклическому C3-C6 углеводороду или бициклическому углеводороду C8-C10, который является полностью насыщенным или который содержит одну или несколько

единиц ненасыщенности, но который не является ароматическим, или трициклический углеводород C9-C16, который является полностью насыщенным или который содержит одну или несколько единиц ненасыщенности, но не является ароматическим.

[0073] *Производное:* Термин «производное» в контексте настоящего описания относится к структурному аналогу стандартного вещества. То есть «производное» представляет собой вещество, которое демонстрирует значительное структурное сходство с эталонным веществом, например, разделяет основную или согласованную структуру, но также отличается некоторыми дискретными особенностями. В некоторых вариантах осуществления производное представляет собой вещество, которое может быть получено из эталонного вещества путем химических манипуляций. В некоторых вариантах осуществления производное представляет собой вещество, которое может быть получено посредством выполнения синтетического процесса, по существу аналогичного (например, совместного использования нескольких стадий) процесса, при котором образуется эталонное вещество.

[0074] *Лекарственная форма* или *стандартная лекарственная форма:* специалисты в данной области техники поймут, что термин «лекарственная форма» может использоваться для обозначения физически дискретной единицы активного средства (например, терапевтического или диагностического средства) для введения субъекту. Обычно каждая такая единица содержит заранее определенное количество активного средства. В некоторых вариантах осуществления такое количество представляет собой единичную дозу (или ее целую часть), подходящую для введения в соответствии с режимом дозирования, который, как было установлено, коррелирует с желаемым или благоприятным результатом при введении соответствующей популяции (т. е. терапевтический режим дозирования). Специалистам в данной области техники понятно, что общее количество терапевтической композиции или средства, вводимого конкретному субъекту, определяется одним или несколькими лечащими врачами и может включать введение нескольких лекарственных форм.

[0075] *Режим дозирования:* Специалистам в данной области техники будет понятно, что термин «режим дозирования» может использоваться для обозначения набора стандартных доз (обычно более одной), вводимых индивидуально субъекту, обычно разделенных периодами времени. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство имеет рекомендуемый режим дозирования, который может включать одну или несколько

доз. Режим дозирования включает множество доз, каждая из которых отделена во времени от других доз. В некоторых вариантах осуществления индивидуальные дозы отделены друг от друга периодом времени одинаковой продолжительности; в некоторых вариантах осуществления режим дозирования включает множество доз и по меньшей мере два различных периода времени, разделяющих индивидуальные дозы. В некоторых вариантах осуществления все дозы в режиме дозирования имеют одинаковое количество разовой дозы. В некоторых вариантах осуществления с разными дозами в рамках режима дозирования используются различные количества. В некоторых вариантах осуществления режим дозирования включает первую дозу в количестве первой дозы, за которой следуют одна или несколько дополнительных доз в количестве второй дозы, отличном от количества первой дозы. В некоторых вариантах осуществления режим дозирования включает первую дозу в количестве первой дозы, за которой следуют одна или несколько дополнительных доз в таком же количестве второй дозы, что и количество первой дозы. В некоторых вариантах осуществления режим дозирования коррелирует с желаемым или благоприятным результатом при введении соответствующей популяции (т.е. является терапевтическим режимом дозирования).

[0076] *Галоген:* Термин «галоген» означает F, Cl, Br или I.

[0077] *Гетероалифатический:* Термин «гетероалифатический» имеет обычное значение в данной области техники и относится к алифатическим группам, как описано в данном документе, в которых один или несколько атомов углерода заменены одним или несколькими гетероатомами (например, кислородом, азотом, серой, кремнием, фосфором и т. п.).

[0078] *Гетероарил*: Термины «*гетероарил*» и «*гетероар*-», используемые отдельно или как часть более крупного фрагмента, например, «гетероаралкил» или «гетероаралкокси», относятся к моноциклической, бициклической или полициклической кольцевой системе, имеющей, например, всего от пяти до тридцати, например, 5, 6, 9, 10, 14 и т. д., кольцевых членов, где по меньшей мере одно кольцо в системе является ароматическим и по меньшей мере один атом ароматического кольца является гетероатомом. В некоторых вариантах осуществления гетероатомом является азот, кислород или сера. В некоторых вариантах осуществления гетероарильная группа представляет собой группу, имеющую от 5 до 14 кольцевых атомов (т.е. моноциклическую, бициклическую или полициклическую), в некоторых вариантах осуществления 5, 6, 9, 10 или 14 кольцевых атомов. В некоторых

вариантах осуществления гетероарильная группа имеет 6, 10 или 14 π-электронов, совместно используемых в циклическом массиве; и имеет, помимо атомов углерода, от одного до пяти гетероатомов. Гетероарильные группы включают, без ограничения, тиенил, фуранил, пирролил, имидазолил, пиразолил, триазолил, тетразолил, оксазолил, изоксазолил, оксадиазолил, тиазолил, изотиазолил, тиадиазолил, пиридил, пиридазинил, пиримидинил, пиразинил, индолизинил, пуринил, нафтиридинил и птеридинил. В некоторых вариантах осуществления гетероарил представляет собой гетеробиарильную группу, такую как бипиридил и тому подобное. Термины «гетероарил» и «гетероар–», как они используются в данном описании, также включают группы, в которых гетероароматическое кольцо конденсировано с одним или несколькими арильными, циклоалифатическими или гетероциклильными кольцами, где радикал или точка присоединения находится на гетероароматическом кольце. Не ограничивающие примеры включают индолил, изоиндолил, бензотиенил, бензофуранил, дибензофуранил, индазолил, бензимидазолил, бензтиазолил, хинолил, изохинолил, циннолинил, фталазинил, хиназолинил, хиноксалинил, 4*H*-хинолизинил, карбазолил, акридинил, феназинил, фенотиазинил, феноксазинил, тетрагидрохинолинил, тетрагидроизохинолинил и пиридо[2,3–b]–1,4–оксазин–3(4H)–он. Гетероарильная группа может быть моноциклической, бициклической или полициклической. Термин «гетероарил» может использоваться взаимозаменяемо с терминами «гетероарильное кольцо» или «гетероарильная группа», любой из которых включает кольца, которые необязательно замещены. Термин «гетероаралкил» относится к алкильной группе, замещенной гетероарильной группой, где алкильная и гетероарильная части независимо необязательно замещены.

[0079] *Гетероатом:* Термин «гетероатом» означает атом, который не является углеродом и не является водородом. В некоторых вариантах осуществления гетероатом представляет собой кислород, серу, азот, фосфор, бор или кремний (включая любую окисленную форму азота, серы, фосфора или кремния; кватернизованную форму любого основного азота или замещаемый азот гетероциклического кольца (для например, N как в 3,4-дигидро-2*H*-пирролиле), NH (как в пирролидиниле) или NR^+ (как в N-замещенном пирролидиниле) и т. д.). В некоторых вариантах осуществления гетероатом представляет собой бор, азот, кислород, кремний, серу или фосфор. В некоторых вариантах осуществления гетероатом представляет собой азот, кислород, кремний, серу или фосфор. В некоторых вариантах осуществления гетероатом представляет собой азот, кислород, серу или фосфор. В

некоторых вариантах осуществления гетероатом представляет собой азот, кислород или серу.

[0080] *Гетероциклил:* В данном контексте термины «гетероцикл», «гетероциклил», «гетероциклический радикал» и «гетероциклическое кольцо» используются взаимозаменяемо и относятся к моноциклическому, бициклическому или полициклическому кольцевому фрагменту (например, 3-30-членному), который является насыщенным или частично ненасыщенным и имеет один или несколько кольцевых атомов гетероатома. В некоторых вариантах осуществления гетероатомом является бор, азот, кислород, кремний, сера или фосфор. В некоторых вариантах осуществления гетероатомом являются азот, кислород, кремний, сера или фосфор. В некоторых вариантах осуществления гетероатомом являются азот, кислород, сера или фосфор. В некоторых вариантах осуществления гетероатомом является азот, кислород или сера. В некоторых вариантах осуществления гетероциклическая группа представляет собой стабильную 3-7-членную моноциклическую или 7-10-членную бициклическую гетероциклическую группу, которая является либо насыщенной, либо частично ненасыщенной и имеет, помимо атомов углерода, один или несколько, предпочтительно от одного до четырех, гетероатомов, как определено выше. При использовании в отношении кольцевого атома гетероцикла, термин «азот» включает замещенный азот. Например, в насыщенном или частично ненасыщенном кольце, содержащем от 0 до 3 гетероатомов, выбранных из кислорода, серы или азота, азот может быть N (как в 3,4-дигидро-2*H*-пирролиле), NH (как в пирролидиниле) или $^{+}$NR (как в *N*-замещенном пирролидиниле). Гетероциклическое кольцо может быть присоединено к своей боковой группе у любого гетероатома или атома углерода, что приводит к стабильной структуре, и любой из атомов кольца может быть необязательно замещен. Примеры таких насыщенных или частично ненасыщенных гетероциклических радикалов включают, без ограничения, тетрагидрофуранил, тетрагидротиенил, пирролидинил, пиперидинил, пирролинил, тетрагидрохинолинил, тетрагидроизохинолинил, декагидрохинолинил, оксазолидинил, пиперазинил, диоксанил, диоксоланил, диазепинил, оксазепинил, тиазепинил, морфолинил и хинуклидинил. Термины «гетероцикл», «гетероциклил», «гетероциклильное кольцо», «гетероциклическая группа», «гетероциклический фрагмент» и «гетероциклический радикал» используются взаимозаменяемо и также включают группы, в которых гетероциклильное кольцо конденсировано с одним или несколькими арильными, гетероарильными или циклоалифатическими кольцами, такими как индолинил, 3*H*-

индолил, хроманил, фенантридинил или тетрагидрохинолинил, где радикал или точка присоединения находится на гетероалифатическом кольце. Гетероциклическая группа может быть моноциклической, бициклической или полициклической. Термин «гетероциклилалкил» относится к алкильной группе, замещенной гетероциклилом, где алкильная и гетероциклильная части независимо друг от друга необязательно замещены.

[0081] *«Улучшенный», «увеличенный» или «уменьшенный»:* В контексте настоящего описания данные термины или грамматически сопоставимые сравнительные термины обозначают значения, относящиеся к сопоставимому эталонному измерению. Например, в некоторых вариантах осуществления оценочная ценность, полученная с помощью интересующего средства, может быть «улучшена» по сравнению с оценкой, полученной с помощью сопоставимого эталонного средства. Альтернативно или дополнительно, в некоторых вариантах осуществления оценочная ценность, достигнутая у интересующего субъекта или системы, может быть «улучшена» по сравнению с оценкой, полученной у того же субъекта или системы в других условиях (например, до или после такого события, как введение средства, представляющего интерес), или у другого сопоставимого субъекта (например, в сопоставимом субъекте или системе, которая отличается от субъекта или системы, представляющей интерес, наличием одного или нескольких индикаторов конкретного заболевания, расстройства или состояния, представляющего интерес, или при предшествующем воздействии состояния или средства и т. д.). В некоторых вариантах осуществления сравнительные термины относятся к статистически значимым различиям (например, которые имеют распространенность и/или величину, достаточную для достижения статистической значимости). Специалисты в данной области техники будут знать или легко смогут определить в данном контексте степень и/или преобладание различий, которые требуются или достаточны для достижения такой статистической значимости.

[0082] *Частично ненасыщенный:* Используемый в данном описании термин «частично ненасыщенный» относится к фрагменту, который включает по меньшей мере одну двойную или тройную связь. Термин «частично ненасыщенный» предназначен для охвата групп, имеющих несколько участков ненасыщенности, но не предназначен для включения арильных или гетероарильных фрагментов.

[0083] *Фармацевтическая композиция:* Используемый в данном документе термин «фармацевтическая композиция» относится к активному средству, например, к соединению,

составленному вместе с одним или несколькими фармацевтически приемлемыми носителями. В некоторых вариантах осуществления активное средство присутствует в количестве стандартной дозы, подходящем для введения в терапевтическом режиме, который показывает статистически значимую вероятность достижения заданного терапевтического эффекта при введении соответствующей популяции. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции могут быть специально составлены для введения в твердой или жидкой форме, включая те, которые адаптированы для следующего: пероральное введение, например, вливания (водные или неводные растворы или суспензии), таблетки, например, предназначенные для буккального введения, сублингвальная и системная абсорбция, болюсы, порошки, гранулы, пасты для нанесения на язык; парентеральное введение, например, путем подкожной, внутримышечной, внутривенной или эпидуральной инъекции в виде, например, стерильного раствора или суспензии, или состава с замедленным высвобождением; местное применение, например, в виде крема, мази или пластыря или спрея с контролируемым высвобождением, наносимых на кожу, легкие или полость рта; интравагинально или интраректально, например, в виде пессария, крема или пены; сублингвально; окулярно; трансдермально; или носовые, легочные и другие поверхности слизистой оболочки.

[0084] *Фармацевтически приемлемый:* Используемый в данном документе термин «фармацевтически приемлемый» относится к тем соединениям, материалам, композициям и/или лекарственным формам, которые, в рамках здравого медицинского заключения, подходят для применения в контакте с тканями человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений, соизмеримых с разумным соотношением польза/риск.

[0085] *Фармацевтически приемлемый носитель:* Используемый в данном документе термин «фармацевтически приемлемый носитель» означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, эксципиент или инкапсулирующий материал, участвующий в переносе или доставке рассматриваемого соединения из одного органа или части тела в другой орган или часть тела. Каждый носитель должен быть «приемлемым» в том смысле, что он совместим с другими ингредиентами препарата и не причиняет вреда пациенту. Некоторые примеры материалов, которые могут служить фармацевтически приемлемыми носителями, включают: сахара, такие как лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный

крахмал и картофельный крахмал; целлюлозу и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; порошкообразный трагакант; солод; желатин; тальк; вспомогательные вещества, такие как масло какао и воски для суппозиториев; масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар; буферные средства, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновую кислоту; апирогенную воду; изотонический физиологический раствор; раствор Рингера; этиловый спирт; pH-буферные растворы; полиэфиры, поликарбонаты и/или полиангидриды; и другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических составах.

[0086] *Фармацевтически приемлемая соль:* Термин «фармацевтически приемлемая соль», используемый в данном документе, относится к солям таких соединений, которые подходят для использования в фармацевтических контекстах, т.е. к солям, которые в рамках здравого медицинского заключения подходят для использования в контакте с тканями люди и низшие животные без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции и т. п. и соизмеримы с разумным соотношением польза/риск. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны. Например, S. M. Berge, et al. подробно описывает фармацевтически приемлемые соли в J. Pharmaceutical Sciences, 66: 1-19 (1977). В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые соли включают, но не ограничиваются ими, нетоксичные кислотно-аддитивные соли, которые представляют собой соли аминогруппы, образованные с неорганическими кислотами, такими как соляная кислота, бромистоводородная кислота, фосфорная кислота, серная кислота и хлорная кислота, или с органическими кислотами. такими как уксусная кислота, малеиновая кислота, винная кислота, лимонная кислота, янтарная кислота или малоновая кислота, или с использованием других известных способов, таких как ионный обмен. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые соли включают, но не ограничиваются ими, адипат, альгинат, аскорбат, аспартат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанепропионат, диглюконат, додецилсульфат, глюсульфонат, этанцефосфонат, глюконат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, гидроиодид, 2-гидроксиэтансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, оксалотинат, нитрат, никотинат,

пескалотинат, нитрат, никотинат персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пикрат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, п-толуолсульфонат, ундеканоат, валератные соли и т. п. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые соли включают, но не ограничиваются ими, нетоксичные соли присоединения оснований, такие как соли, образованные кислотными группами предоставленных соединений с основаниями. Типичные соли щелочных или щелочноземельных металлов включают соли натрия, лития, калия, кальция, магния и т. п. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые соли представляют собой соли аммония (например, $-N(R)_3^+$). В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые соли представляют собой соли натрия. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые соли представляют собой соли кальция. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые соли включают, при необходимости, нетоксичные катионы аммония, четвертичного аммония и амина, образованные с использованием противоионов, таких как галогенид, гидроксид, карбоксилат, сульфат, фосфат, нитрат, алкил, имеющий от 1 до 6 атомов углерода, сульфонат и арилсульфонаты. В некоторых вариантах осуществления предоставленное соединение находится в форме фармацевтически приемлемой соли.

[0087] *Защитная группа:* Фраза «защищающая группа» или «защитная группа», как они используются в данном документе, относится к временным заместителям, которые защищают потенциально реакционноспособную функциональную группу от нежелательных химических превращений. Примеры таких защитных групп включают сложные эфиры карбоновых кислот, силиловые эфиры спиртов и ацетали и кетали альдегидов и кетонов, соответственно. «Si-защитная группа» представляет собой защитную группу, содержащую атом Si, такую как Si-триалкил (например, триметилсилил, трибутилсилил, трет-бутилдиметилсилил), Si-триарил, Si-алкилдифенил (например, трет-бутилдифенилсилил) или Si-арилдиалкил (например, Si-фенилдиалкил). Обычно к атому кислорода присоединена защитная группа Si. Был проведен обзор области химии защитных групп (Greene, T. W.; Wuts, P. G. M. Protective Groups in Organic Synthesis, 2nd ed.; Wiley: New York, 1991). Такие защитные группы (и связанные с ними защищенные фрагменты) подробно описаны ниже.

[0088] Защищенные гидроксильные группы хорошо известны в данной области техники и включают группы, подробно описанные в книге *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Т.

W. Greene and P. G. M. Wuts, 3rd edition, John Wiley & Sons, 1999, которая полностью включено в данное описание посредством ссылки. Примеры соответственно защищенных гидроксильных групп включают, но не ограничиваясь ими, сложные эфиры, карбонаты, сульфонаты, аллиловые эфиры, простые эфиры, силиловые эфиры, простые алкиловые эфиры, арилалкиловые эфиры и алкоксиалкиловые эфиры. Примеры подходящих сложных эфиров включают форматы, ацетаты, пропионаты, пентаноаты, кротонаты и бензоаты. Конкретные примеры подходящих сложных эфиров включают форматы, форматы бензоила, хлорацетат, трифторацетат, метоксиацетат, трифенилметоксиацетат, п-хлорфеноксиацетат, 3-фенилпропионат, 4-оксопентаноат, 4,4-(этилендитио)пентаноат, пивалоат (триметилацетат), кротонат, 4-метоксикротонат, бензоат, п-бензилбензоат, 2,4,6-триметилбензоат. Примеры подходящих карбонатов включают 9-флуоренилметил, этил, 2,2,2-трихлорэтил, 2-(триметилсилил) этил, 2-(фенилсульфонил) этил, винил, аллил и п-нитробензилкарбонат. Примеры подходящих силиловых эфиров включают триметилсилил, триэтилсилил, трет-бутилдиметилсилил, трет-бутилдифенилсилил, триизопропилсилиловый эфир и другие триалкилсилиловые эфиры. Примеры подходящих простых алкиловых эфиров включают метиловый, бензиловый, п-метоксибензиловый, 3,4-диметоксибензиловый, тритиловый, трет-бутиловый и аллиловый эфиры или их производные. Алкоксиалкиловые эфиры включают ацетали, такие как метоксиметил, метилтиометил, (2-метоксиэтокси)метил, бензилоксиметил, бета-(триметилсилил)этоксиметил и тетрагидропиран-2-иловый эфир. Примеры подходящих арилалкиловых эфиров включают бензил, п-метоксибензил (MPM), 3,4-диметоксибензил, О-нитробензил, п-нитробензил, п-галогенбензил, 2,6-дихлорбензил, п-цианобензил, 2- и 4-пиколиловые эфиры.

[0089] Защищенные амины хорошо известны в данной области техники и включают те, которые описаны подробно у Greene (1999). Подходящие монозащищенные амины дополнительно включают, но не ограничиваются ими, аралкиламины, карбаматы, аллиламины, амиды и тому подобное. Примеры подходящих моно-защищенных аминокислотных фрагментов включают трет-бутилоксикарбониламины (-NHBOC), этилоксикарбониламино, метилоксикарбониламино, трихлорэтилоксикарбониламино, аллилоксикарбониламино (–NHAlloc), бензилоксикарбониламино (–NHCBZ), аллиламино, бензиламино (–NHBn), флуоренилметоксикарбониламино (–NHFmoc), формамидо, ацетамидо, хлорацетамидо, дихлорацетамидо, трихлорацетамидо, фенилацетамидо,

трифторацетамидо, бензамидо, трет-бутилдифенилсилил и тому подобное. Подходящие ди-защищенные амины включают амины, которые замещены двумя заместителями, независимо выбранными из тех, что описаны выше как монозащищенные амины, и дополнительно включают циклические имиды, такие как фталимид, малеимид, сукцинимид и тому подобное. Подходящие ди-защищенные амины также включают пирролы и тому подобное, 2,2,5,5-тетраметил-[1,2,5]азадисилолидин и тому подобное и азид.

[0090] Защищенные альдегиды хорошо известны в данной области техники и включают те, которые подробно описаны у Greene (1999). Подходящие защищенные альдегиды дополнительно включают, но не ограничиваются ими, ациклические ацетали, циклические ацетали, гидразоны, имины и т. п. Примеры таких групп включают диметилацеталь, диэтилацеталь, диизопропилацеталь, дибензилацеталь, бис(2-нитробензил)ацеталь, 1,3-диоксаны, 1,3-диоксоланы, семикарбазоны и их производные.

[0091] Защищенные карбоновые кислоты хорошо известны в данной области техники и включают те, которые описаны подробно у Greene (1999). Подходящие защищенные карбоновые кислоты дополнительно включают, но не ограничиваются ими, необязательно замещенные C_{1-6} алифатические сложные эфиры, необязательно замещенные ариловые сложные эфиры, силиловые сложные эфиры, активированные сложные эфиры, амиды, гидразиды и т. п. Примеры таких сложноэфирных групп включают метиловый, этиловый, пропиловый, изопропиловый, бутиловый, изобутиловый, бензиловый и фениловый эфир, где каждая группа необязательно замещена. Дополнительные подходящие защищенные карбоновые кислоты включают оксазолины и ортоэфиры.

[0092] Защищенные тиолы хорошо известны в данной области техники и включают те, которые описаны подробно у Greene (1999). Подходящие защищенные тиолы дополнительно включают, но не ограничиваются ими, дисульфиды, тиоэфиры, силилтиоэфиры, тиоэфиры, тиокарбонаты и тиокарбаматы и тому подобное. Примеры таких групп включают, но не ограничиваются ими, простые алкилтиоэфиры, бензиловые и замещенные бензилтиоэфиры, трифенилметилтиоэфиры и трихлорэтоксикарбонилтиоэфир, и это лишь некоторые из них.

[0093] *Эталон:* В данном контексте используется в описании стандарта или контроля, относительно которого выполняется сравнение. Например, в некоторых вариантах осуществления средство, животное, индивидуум, популяцию, образец, последовательность или значение, представляющее интерес, сравнивают с эталонным или контрольным

средством, животным, индивидуумом, популяцией, образцом, последовательностью или значением. В некоторых вариантах осуществления эталонный или контрольный образец тестируется и/или определяется по существу одновременно с тестированием или определением, представляющим интерес. В некоторых вариантах осуществления эталон или контроль представляет собой исторический эталон или контроль, необязательно воплощенный на материальном носителе. Обычно, как будет понятно специалистам в данной области техники, эталон или контроль определяют или характеризуют в условиях или обстоятельствах, сравнимых с теми, которые проходят оценку. Специалисты в данной области техники оценят наличие достаточного сходства, чтобы оправдать доверие и/или сравнение с конкретным возможным эталоном или контролем.

[0094] *Замещение:* Как описано в данном документе, соединения по раскрытию могут содержать необязательно замещенные и/или замещенные фрагменты. В общем, термин «замещенный», независимо от того, предшествует ли ему термин «необязательно» или нет, означает, что один или несколько атомов водорода обозначенного фрагмента заменены подходящим заместителем. Если не указано иное, «необязательно замещенная» группа может иметь подходящий заместитель в каждом замещаемом положении группы, и когда более чем одно положение в любой данной структуре может быть замещено более чем одним заместителем, выбранным из указанной группы, заместитель может быть одинаковым или различным в каждом положении. Комбинации заместителей, предусмотренные в данном раскрытии, предпочтительно представляют собой такие, которые приводят к образованию стабильных или химически возможных соединений. Термин «стабильный», используемый в данном документе, относится к соединениям, которые существенно не изменяются при воздействии условий, позволяющих их продуцировать, обнаруживать и, в некоторых вариантах осуществления, их извлечение, очистку и применение для одной или нескольких целей, раскрытых в данном описании.

[0095] Подходящие заместители включают галоген; $-(CH_2)_{0-4}R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}OR^\circ$; $-O(CH_2)_{0-4}R^\circ$, $-O-(CH_2)_{0-4}C(O)OR^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}CH(OR^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}Ph$, который может быть замещен R°; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}Ph$, который может быть замещен R°; –CH=CHPh, который может быть замещен R°; $-(CH_2)_{0-4}O(CH_2)_{0-1}$-пиридил, который может быть замещен R°; $-NO_2$; –CN; $-N_3$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)C(S)R^\circ$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)N(R^\circ)_2$; $-N(R^\circ)C(S)N(R^\circ)_2$; $-(CH_2)_{0-4}N(R^\circ)C(O)OR^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)R^\circ$; $-N(R^\circ)N(R^\circ)C(O)N(R^\circ)_2$;

−N(R°)N(R°)C(O)OR°; –$(CH_2)_{0-4}$C(O)R°; –C(S)R°; –$(CH_2)_{0-4}$C(O)OR°; –$(CH_2)_{0-4}$C(O)SR°; -$(CH_2)_{0-4}$C(O)OSi(R°)$_3$; –$(CH_2)_{0-4}$OC(O)R°; –OC(O)$(CH_2)_{0-4}$SR°, −$(CH_2)_{0-4}$SC(O)R°; –$(CH_2)_{0-4}$C(O)N(R°)$_2$; –C(S)N(R°)$_2$; –C(S)SR°; −SC(S)SR°, -$(CH_2)_{0-4}$OC(O)N(R°)$_2$; -C(O)N(OR°)R°; –C(O)C(O)R°; –C(O)CH_2C(O)R°; −C(NOR°)R°; -$(CH_2)_{0-4}$SSR°; –$(CH_2)_{0-4}$S(O)$_2$R°; –$(CH_2)_{0-4}$S(O)$_2$OR°; –$(CH_2)_{0-4}$OS(O)$_2$R°; −S(O)$_2$N(R°)$_2$; -$(CH_2)_{0-4}$S(O)R°; –N(R°)S(O)$_2$N(R°)$_2$; –N(R°)S(O)$_2$R°; –N(OR°)R°; −C(NH)N(R°)$_2$; –Si(R°)$_3$; –OSi(R°)$_3$; –OSi(OR°)$_3$; −P(R°)$_2$; −P(OR°)$_2$; −OP(R°)$_2$; −OP(OR°)$_2$; −N(R°)P(R°)$_2$; −OP(O)(R°)$_2$; −OP(O)(OR°)$_2$; −N(R°)P(O)(R°)$_2$; −N(R°)P(O)(OR°)$_2$; −B(R°)$_2$; −OB(R°)$_2$; −OB(OR°)$_2$; −P(O)(R°)$_2$; −OP(O)(R°)$_2$; –(C_{1-4} прямой или разветвленный алкилен)O–N(R°)$_2$; или –(C_{1-4} линейный или разветвленный алкилен)C(O)O–N(R°)$_2$; где каждый R° может быть замещен, как определено ниже, и независимо представляет собой водород, C_{1-20} алифатическую группу, C_{1-20} гетероалифатическую группу, содержащую от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода, серы, фосфора и кремния, –CH_2–(C_{6-14} арил), –O$(CH_2)_{0-1}$(C_{6-14} арил), −CH_2-(5-14-членное гетероарильное кольцо), 5-20-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое, насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, имеющее от 0 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода, серы, фосфора и кремния, или, несмотря на определения выше, два независимых R°, взятые вместе с их промежуточным(и) атомом(ами), образуют 3-20-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое, насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, имеющее от 0 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода, серы, кремния и фосфора, которые могут быть замещены, как определено ниже.

[0096] Подходящие одновалентные заместители на R° (или кольце, образованном двумя независимыми включениями R° вместе с их промежуточными атомами) независимо представляют собой галоген, –$(CH_2)_{0-2}$R•, –(галоR•), –$(CH_2)_{0-2}$OH, –$(CH_2)_{0-2}$OR•, –$(CH_2)_{0-2}$CH(OR•)$_2$; −O(галоR•), –CN, –N_3, –$(CH_2)_{0-2}$C(O)R•, –$(CH_2)_{0-2}$C(O)OH, –$(CH_2)_{0-2}$C(O)OR•, –$(CH_2)_{0-2}$SR•, –$(CH_2)_{0-2}$SH, –$(CH_2)_{0-2}$$NH_2$, –$(CH_2)_{0-2}$NHR•, –$(CH_2)_{0-2}$NR•$_2$, –$NO_2$, –SiR•$_3$, −OSiR•$_3$, -C(O)SR•, –($C_{1-4}$ линейный или разветвленный алкилен)C(O)OR• или –SSR•, если каждый R• незамещен или, если ему предшествует «галоген», замещен только одним или несколькими галогенами и независимо выбран из C_{1-4}-алифатической группы, –CH_2Ph, –O$(CH_2)_{0-1}$Ph и 5-6-членного насыщенного, частично ненасыщенного или арильного кольца, имеющего от 0 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

Подходящие двухвалентные заместители у насыщенного атома углерода в R° включают = O и = S.

[0097] Подходящие двухвалентные заместители, например, у подходящего атома углерода, атома азота и т. д., включают следующие: =O, =S, $=CR^*_2$, $=NNR^*_2$, $=NNHC(O)R^*$, $=NNHC(O)OR^*$, $=NNHS(O)_2R^*$, $=NR^*$, $=NOR^*$, $-O(C(R^*_2))_{2-3}O-$ или $-S(C(R^*_2))_{2-3}S-$, где каждый R^* может быть замещен, как определено ниже, и независимо представляет собой водород, C_1-C_{20} алифатическую или C_1-C_{20} гетероалифатическую группу, имеющую от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода, серы, кремния и фосфора, $-CH_2-(C_{6-20}$ арил), $-O(CH_2)_{0-1}(C_{6-20}$ арил), $-CH_2$-(5-20-членное гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода, серы, кремния и фосфора), 5-20-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое, насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, имеющее от 0 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода, серы, кремния и фосфора, или, не подпадающие под определение выше, два независимых включения R^*, взятых вместе с их промежуточным(и) атомом(ами), образуют 3-20-членное, моноциклическое, бициклическое или полициклическое, насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, имеющее от 0 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода, серы, кремния и фосфора, которые могут быть замещены как определено ниже. Подходящие двухвалентные заместители, которые связаны с вицинальными замещаемыми атомами «необязательно замещенной» группы, включают: $-O(CR^*_2)_{2-3}O-$.

[0098] Подходящие одновалентные заместители на R^* (или кольце, образованном путем взятия двух независимо включенных R^* вместе с их промежуточным атомом), представляют собой независимо галоген, $-(CH_2)_{0-2}R^\bullet$, $-(галоR^\bullet)$, $-(CH_2)_{0-2}OH$, $-(CH_2)_{0-2}OR^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}CH(OR^\bullet)_2$; $-O(галоR^\bullet)$, $-CN$, $-N_3$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)R^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)OH$, $-(CH_2)_{0-2}C(O)OR^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}SR^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}SH$, $-(CH_2)_{0-2}NH_2$, $-(CH_2)_{0-2}NHR^\bullet$, $-(CH_2)_{0-2}NR^\bullet_2$, $-NO_2$, $-SiR^\bullet_3$, $-OSiR^\bullet_3$, $-C(O)SR^\bullet$, $-(C_{1-4}$ линейный или разветвленный алкилен)$C(O)OR^\bullet$ или $-SSR^\bullet$, где каждый $R^\bullet$ незамещен или, если ему предшествует «галоген», замещен только одним или несколькими атомами галогена, и независимо выбран из C_{1-4}-алифатической группы, $-CH_2Ph$, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ и 5-6-членного насыщенного, частично ненасыщенного или арильного кольца, имеющего от 0 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. Подходящие двухвалентные заместители R^* включают = O и = S.

[0099] В некоторых вариантах осуществления подходящие заместители у замещаемого азота «необязательно замещенной» группы включают $-R^{\dagger}$, $-NR^{\dagger}_2$, $-C(O)R^{\dagger}$, $-C(O)OR^{\dagger}$, $-C(O)C(O)R^{\dagger}$, $-C(O)CH_2C(O)R^{\dagger}$, $-S(O)_2R^{\dagger}$, $-S(O)_2NR^{\dagger}_2$, $-C(S)NR^{\dagger}_2$, $-C(NH)NR^{\dagger}_2$ или $-N(R^{\dagger})S(O)_2R^{\dagger}$; где каждый $R^{\dagger}$ независимо представляет собой водород, C_{1-6} алифатическую группу, которая может быть замещена, как определено ниже, незамещенный -OPh или незамещенное 5-6-членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, имеющее от 0 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или, несмотря на определение выше, два независимых включения $R^{\dagger}$, взятые вместе с их промежуточным(и) атомом(ами), образуют незамещенное от 3 до 12-членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное моно- или бициклическое кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[00100] В некоторых вариантах осуществления подходящие заместители на алифатической группе $R^{\dagger}$ представляют собой независимо друг от друга галоген, $-R^{\bullet}$, -(галоR$^{\bullet}$), $-OH$, $-OR^{\bullet}$, $-O$(галоR$^{\bullet}$), $-CN$, $-C(O)OH$, $-C(O)OR^{\bullet}$, $-NH_2$, $-NHR^{\bullet}$, $-NR^{\bullet}_2$, or $-NO_2$, где каждый $R^{\bullet}$ незамещен или, если ему предшествует «галоген», замещен только одним или несколькими атомами галогена, и независимо представляет собой C_{1-4} алифатическую группу, CH_2Ph, $-O(CH_2)_{0-1}Ph$ или 5-6-членное насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо, имеющее от 0 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[00101] *Субъект:* Термин «субъект» или «испытуемый субъект» относится к любому организму, которому вводят предоставленное соединение или композицию в соответствии с настоящим раскрытием, например, для экспериментальных, диагностических, профилактических и/или терапевтических целей. Типичные субъекты включают животных (например, млекопитающих, таких как мыши, крысы, кролики, не относящиеся к человеку приматы и люди; насекомые, черви и т. д.) и растения. В некоторых вариантах осуществления субъект может страдать и/или быть предрасположенным к заболеванию, нарушению и/или состоянию. В некоторых вариантах осуществления субъект является человеком.

[00102] *Восприимчивость к:* Индивидуум, который «предрасположен к» заболеванию, расстройству и/или состоянию, представляет собой человека, у которого имеется более высокий риск развития заболевания, расстройства и/или состояния, чем у представителей основного населения. В некоторых вариантах осуществления у индивидуума, который

подвержен заболеванию, расстройству и/или состоянию, может не быть диагностировано заболевание, расстройство и/или состояние. В некоторых вариантах осуществления индивидуум, который подвержен заболеванию, расстройству и/или состоянию, может проявлять симптомы заболевания, расстройства и/или состояния. В некоторых вариантах осуществления у индивидуума, который предрасположен к заболеванию, расстройству и/или состоянию, могут не проявляться симптомы заболевания, расстройства и/или состояния. В некоторых вариантах осуществления у индивидуума, который предрасположен к заболеванию, расстройству и/или состоянию, разовьется заболевание, нарушение и/или состояние. В некоторых вариантах осуществления у индивидуума, который предрасположен к заболеванию, расстройству и/или состоянию, не разовьется заболевание, нарушение и/или состояние.

[00103] *Терапевтическое средство:* Термин «терапевтическое средство» относится к средству, которое при введении субъекту оказывает терапевтический эффект и/или вызывает желаемый биологический и/или фармакологический эффект. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой любое вещество, которое можно использовать для облегчения, улучшения, смягчения, подавления, предотвращения, отсрочки начала, уменьшения тяжести и/или уменьшения частоты одного или нескольких симптомов или признаков заболевания, расстройства и/или состояния. В некоторых вариантах осуществления обеспеченные соединения применимы в качестве терапевтических средств.

[00104] *Схема лечения:* «Схема лечения», как данный термин используется в данном документе, относится к режиму дозирования, введение которого в соответствующей популяции может коррелировать с желаемым или благоприятным терапевтическим результатом.

[00105] *Терапевтически эффективное количество:* Используемый в данном документе термин «терапевтически эффективное количество» означает количество вещества (например, терапевтического средства, композиции и/или препарата), которое вызывает желаемый биологический ответ при введении в рамках схемы лечения. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество вещества представляет собой количество, которое является достаточным при введении субъекту, страдающему или предрасположенному к заболеванию, расстройству и/или состоянию, для лечения, диагностики, предотвращения и/или отсрочки начала заболевания. заболевания,

расстройства и/или состояния. Как будет понятно специалистам в данной области техники, эффективное количество вещества может варьироваться в зависимости от таких факторов, как желаемый биологический результат, вещество, которое должно быть доставлено, клетки-мишени или ткани, и т. д. Например, эффективное количество соединения в составе для лечения заболевания, расстройства и/или состояния представляет собой количество, которое облегчает, улучшает, ослабляет, подавляет, предотвращает, задерживает начало, снижает тяжесть и/или снижает частоту одного или нескольких симптомов или признаков. болезни, расстройства и/или состояния. В некоторых вариантах осуществления терапевтически эффективное количество вводится в виде однократной дозы; в некоторых вариантах осуществления требуется несколько стандартных доз для доставки терапевтически эффективного количества. В некоторых вариантах осуществления обеспеченные соединения вводят в терапевтически эффективном количестве либо в виде однократной дозы, либо в виде нескольких стандартных доз.

[00106] *Лечить:* Используемый в данном документе термин «лечить», «лечение» или «леченный» относится к любому способу, используемому для частичного или полного облегчения, улучшения, ослабления, подавления, предотвращения, отсрочки начала, уменьшения тяжести и/или уменьшить частоту одного или нескольких симптомов или признаков заболевания, расстройства и/или состояния. Лечение может быть назначено субъекту, у которого нет признаков заболевания, расстройства и/или состояния. В некоторых вариантах осуществления лечение может быть назначено субъекту, у которого проявляются только ранние признаки заболевания, расстройства и/или состояния, например, с целью снижения риска развития патологии, связанной с заболеванием, нарушением и/или состоянием.

[00107] *Стандартная доза*: Выражение «стандартная доза», используемое в данном документе, относится к количеству, введенному в виде однократной дозы и/или в виде физически дискретной единицы фармацевтической композиции. Во многих вариантах осуществления стандартная доза содержит заранее определенное количество активного средства. В некоторых вариантах осуществления стандартная доза содержит полную однократную дозу средства. В некоторых вариантах осуществления вводят более одной стандартной дозы для достижения общей однократной дозы. В некоторых вариантах осуществления требуется или ожидается введение нескольких стандартных доз для достижения желаемого эффекта. Стандартная доза может представлять собой, например,

объем жидкости (например, приемлемый носитель), содержащий заранее определенное количество одного или нескольких терапевтических средств, заранее определенное количество одного или нескольких терапевтических средств в твердой форме, состав с замедленным высвобождением или устройство для доставки лекарств, содержащее заранее определенное количество одного или нескольких терапевтических средств и т. д. Следует понимать, что стандартная доза может присутствовать в составе, который включает любой из множества компонентов в дополнение к терапевтическому средству (средствам). Например, приемлемые носители (например, фармацевтически приемлемые носители), разбавители, стабилизаторы, буферы, консерванты и т. д. могут быть включены, как описано ниже. Специалистам в данной области техники будет понятно, что во многих случаях общая подходящая суточная доза конкретного терапевтического средства может включать часть или множество стандартных доз и может быть определена, например, лечащим врачом в рамках здравого медицинского заключения. В некоторых вариантах осуществления конкретный эффективный уровень дозы для любого конкретного субъекта или организма может зависеть от множества факторов, включая заболевание, которое лечат, и тяжесть нарушения; активность конкретного применяемого активного соединения; конкретный используемый состав; возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол и диету субъекта; время введения и скорость выведения конкретного применяемого активного соединения; продолжительность лечения; лекарственные средства и/или дополнительные способы лечения, используемые в комбинации или одновременно с конкретным используемым соединением(ями), и подобными факторами, хорошо известными в области медицины.

[00108] *Ненасыщенный:* Термин «ненасыщенный», используемый в данном описании, означает, что фрагмент имеет одну или несколько единиц ненасыщенности.

[00109] *Дикий тип:* Используемый в данном описании термин «дикий тип» имеет свое понятное в данной области техники значение, которое относится к объекту, имеющему структуру и/или активность, которые встречаются в природе в «нормальном» (в отличие от мутантного , больного, измененного и т. д.) состоянии или контексте. Специалисты в данной области техники поймут, что гены и полипептиды дикого типа часто существуют в нескольких различных формах (например, аллелях).

[00110] Если не указано иное, включены соли, такие как фармацевтически приемлемые соли присоединения кислот или оснований, стереоизомерные формы и таутомерные формы предлагаемых соединений (например, средств, ARM и т. д.). Если не указано иное,

структуры, изображенные в данном описании, также включают соединения, которые содержат различные изотопы, например, замену водорода дейтерием или тритием, замену углерода на ^{13}C или ^{14}C и т. д. В некоторых вариантах осуществления композиция, содержащая соединение, содержит повышенный уровень изотопа в соединении. Такие соединения и композиции применимы, среди прочего, в качестве аналитических инструментов, зондов в биологических анализах или терапевтических агентов и т. д.

[00111] Если иное не ясно из контекста, в настоящем раскрытии (i) термин «a» может пониматься как означающий «по меньшей мере один»; (ii) термин «или» может пониматься как означающий «и/или»; (iii) термины «содержащий» и «включающий» могут пониматься как охватывающие детализированные компоненты или стадии, независимо от того, обеспечиваются они сами по себе или вместе с одним или несколькими дополнительными компонентами или стадиями; и (iv) термины «около» и «приблизительно» можно понимать как допускающие стандартные вариации, как это будет понятно специалистам в данной области техники; и (v) если указаны диапазоны, включаются конечные точки.

3. Клеточная иммунотерапия

[00112] Различные иммунные клетки, в частности NK-клетки, можно использовать вместе со средствами, описанными в данном документе, для лечения различных состояний, нарушений или заболеваний, включая рак. Такие клетки можно вводить до, одновременно и/или после средств, описанных в данном документе, например, ARM. В некоторых вариантах осуществления такие клетки, например, NK-клетки, вводят одновременно со средством, например, ARM, в одной и той же композиции, содержащей как NK-клетки, так и ARM. В некоторых вариантах осуществления такие клетки, например, NK-клетки, вводят одновременно со средством, например, ARM, в отдельных композициях, например, в одной композиции, содержащей NK-клетки, но без ARM, и в одной композиции, содержащей ARM, но без NK-клеток.

[00113] Как понятно специалистам в данной области техники, применимые иммунные клетки, такие как NK-клетки, могут быть получены из различных источников и/или могут быть сконструированы различными способами. Например, в некоторых вариантах осуществления NK-клетки происходят из стволовых клеток. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки происходят из линий iPSC. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки происходят из клональной основной линии iPSC. В некоторых

вариантах осуществления NK-клетки сконструированы для экспрессии определенных рецепторов, например, высокоаффинного, необязательно нерасщепляемого рецептора CD16. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки сконструированы для экспрессии химерных антигенных рецепторов (CAR), например, в некоторых вариантах осуществления NK-клетки могут быть сконструированы для экспрессии CAR против CD19. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки представляют собой CAR-NK-клетки. В некоторых вариантах осуществления изобретения NK-клетки сконструированы для экспрессии рецептора цитокина. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки содержат слитый рецептор IL-15, который увеличивает способность к устойчивости и размножению, не требуя совместного введения цитокиновой поддержки. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки сконструированы для предотвращения экспрессии определенных клеточных белков, например определенных белков клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки сконструированы для предотвращения экспрессии CD38. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки происходят из плаценты. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки являются донорскими NK-клетками. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки представляют собой гаплоидентичные донорские NK-клетки. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки представляют собой несовпадающие донорские NK-клетки. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки являются родственными донорскими NK-клетками, например, несовпадающими родственными донорскими NK-клетками. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки являются неродственными донорскими NK-клетками. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки получены от субъекта, например, пациента. В некоторых вариантах осуществления обеспечиваемые технологии включают в себя привлекающего врожденные клетки активатора, например, привлекающего врожденные клетки активатора, связывающегося с врожденными клетками (например, NK-клетками и макрофагами) при одновременном связывании со специфическими опухолевыми клетками. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки происходят из стволовых клеток пуповинной крови и клеток-предшественников. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки происходят с модуляцией сигнального пути, например сигнального пути Notch. В некоторых вариантах осуществления наночастицы используются для улучшения и/или поддержания роста NK-клеток. В некоторых вариантах осуществления, как описано в данном документе, NK-клетки генерируются ex vivo. В

некоторых вариантах осуществления NK-клетки можно криоконсервировать и хранить в нескольких дозах в качестве стандартной клеточной терапии. Примеры некоторых таких технологий включают те, которые используются у Fate Therapeutics, NantKwest Inc., Celularity, Inc., GC Pharma, Sorrento Therapeutics, Inc., Affimed GmbH/MD Anderson Cancer Center, Gamida Cell Ltd., Nohla Therapeutics, KI-adis Pharma NV, и т. д. Специалисты в данной области техники поймут, что антитела и/или CAR к специфическим антигенам, используемым в некоторых таких технологиях, могут не потребоваться в обеспеченных технологиях, содержащих ARM, как описано в данном документе, и при необходимости их можно использовать.

Клеточные популяции/препараты

[00114] В некоторых вариантах осуществления применимые клетки, например, NK-клетки, обрабатываются перед введением субъекту. Во многих случаях NK-клетки обогащают, предварительно активируют и/или размножают *in vitro* перед введением субъекту. В некоторых вариантах осуществления композиция, содержащая NK-клетки для введения, обогащена NK-клетками по сравнению с эталонной композицией, например, кровью от субъекта, которому такая композиция должна быть введена. В некоторых вариантах осуществления обогащение представляет собой или включает увеличенное количество клеток в единице объема, например, на мл. В некоторых вариантах осуществления обогащение представляет собой или включает повышенный процент NK-клеток в таком составе. В некоторых вариантах осуществления обогащение представляет собой или включает увеличенное количество клеток в единице объема, и увеличенный процент NK-клеток представляет собой композицию. В некоторых вариантах осуществления композиция представляет собой по существу чистую композицию NK-клеток в том смысле, что не-NK-клетки в композиции представляют собой «примеси» от производственного процесса (например, из-за неполного выделения, очистки и т. д.). Специалисты в данной области техники признают, что химические и биологические процессы редко, если вообще когда-либо, доводятся до завершения и/или переходят к завершению или достигают или избегают абсолютного результата. Таким образом, термин «по существу» используется в настоящем раскрытии, чтобы уловить потенциальную неполноту, присущую многим биологическим и/или химическим явлениям.

[00115] Различные технологии обогащения NK-клеток доступны в данной области техники и могут использоваться в соответствии с настоящим раскрытием. Например, в некоторых вариантах осуществления, NK-клетки выделяют с помощью лейкафереза, необязательно с такими стадиями очистки, как истощение по CD3 и/или положительный отбор по CD56. В некоторых вариантах осуществления, по сравнению с эталонной популяцией NK-клеток (например, NK-клеток в крови донора или субъекта), NK-клетки, например, предварительно активированные, «память-подобные (memory-like)» NK-клетки обогащены в отношении CD56 и истощены по CD3-экспрессирующим клеткам.

[00116] Перед введением субъекту NK-клетки обычно предварительно активируют, например, предварительной активацией цитокинами, такими как IL-12, IL-15 и IL-18 в течение подходящего периода времени (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 или более часов, например, около 16 часов). В некоторых клетках вариантах осуществления перед введением NK-клетки обрабатывают цитокинами. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки обрабатывают подходящим количеством IL-12 (например, около 10 нг/мл), IL-15 (например, 50 нг/мл) и IL-18 (например, 50 нг/мл) в течение подходящего периода времени (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 или более часов, например, около 16 часов), чтобы они были предварительно активированы. Условия для предварительной активации NK-клеток и предварительно активированные NK-клетки могут быть оценены путем оценки одного или нескольких маркеров, например, CD94, NKG2A, NKp46, CD25, NKp30, NKp44, CD62L, CD27, TRA-IL, цитотоксических молекул проорина и гранзима B и т. д. Некоторые применимые маркеры описаны в Romee et al., Blood 120, 4751–4760, (2012); Leong et al., Biol. Blood Marrow Transplant. 20, 463–473 (2014); Romee et al., Sci Transl Med. 2016 Sep 21;8(357):357ra123. doi: 10.1126/scitranslmed.aaf2341; и т. д. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки представляют собой первичные NK-клетки человека, которые дифференцировались in vitro в память-подобные NK-клетки с помощью предварительной активации с IL-12, IL-15 и IL-18.

[00117] Среди прочего, такие индуцированние цитокинами память-подобные NK-клетки демонстрируют усиленный ответ на цитокин или рестимуляцию активирующего рецептора в течение от недель до месяцев после предварительной активации и могут быть особенно применимы для лечения различных состояний, нарушений или заболеваний, включая рак. В некоторых вариантах осуществления такие предварительно активированные память-

подобные NK-клетки обладают повышенной продукцией интерферона-γ (IFN-γ) и/или цитотоксичностью в отношении клеток-мишеней, например, раковых клеток. Примеры процедур для получения, оценки и введения таких NK-клеток можно найти в Romee et al., Blood 120, 4751–4760, (2012); Leong et al., Biol. Blood Marrow Transplant. 20, 463–473 (2014); Romee et al., Sci Transl Med. 2016 Sep 21;8(357):357ra123. doi: 10.1126/scitranslmed.aaf2341; и т. д. В некоторых вариантах осуществления такие NK-клетки обладают повышенной пролиферацией, экспрессируют или экспрессируют на более высоком уровне высокоаффинный рецептор IL-2 αβγ и/или обеспечивают повышенную продукцию IFN-γ после повторной стимуляции (например, цитокинами или посредством активации рецепторов и т. д.) по сравнению с сопоставимыми эталонными NK-клетками, например, NK-клетками, которые получают аналогичным образом, но не подвергают предварительной активации (например, необработанные цитокинами, обработанные только низкими дозами IL-15 и т. д.).

[00118] Предварительно активированные память-подобные NK-клетки могут обладать значительными отличиями в экспрессии ряда белков по сравнению с эталонными NK-клетками, например, CD94, NKG2A, NKp46, CD25, NKp30, NKp44, CD62L, CD27, TRA-IL, цитотоксических молекул профорина и гранзима B и т. д. В некоторых из таких NK-клеток наблюдается снижение экспрессии NKp80. Такие маркеры, среди прочего, можно использовать для обогащения, очистки и/или идентификации память-подобных NK-клеток либо по отдельности, либо в комбинации. Примеры применимых маркеров можно идентифицировать с использованием различных технологий, например, массовой цитометрии и многомерного анализа. Типичные процедуры для идентификации белков, которые могут отличать предварительно активированные память-подобные NK-клетки от эталонных (например, контрольных) NK-клеток, и типичные такие белки описаны в Romee et al., Sci Transl Med. 2016 Sep 21; 8 (357): 357ra123. DOI: 10.1126/scitranslmed.aaf 2341.

[00119] В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки, например, NK-клетки, вводят в контакт с ингибитором GSK3α/β. В некоторых вариантах осуществления такие клетки предварительно активируются ингибитором GSK3α/β.

[00120] В некоторых вариантах осуществления изобретения иммунные клетки представляют собой индуцированные цитокинами память-подобные NK-клетки. В некоторых вариантах осуществления иммунными клетками являются NK-клетки, предварительно активированные IL-12, IL-15 и IL-18. В некоторых иммунных клетках

присутствуют аллогенные, HLA-гаплоидентичные, IL-12, IL-15 и IL-18-предварительно активированные NK-клетки. Без намерения быть ограниченным какими-либо из них, память-подобные NK-клетки после предварительной активации IL-12, IL-15 и IL-18 могут быть результатом процесса, включающего дифференцировку, которая приводит к долгосрочному изменению функциональной способности. Память-подобные NK-клетки с такой функциональной способностью могут быть получены обработкой другими средствами (например, другими цитокинами или другими небольшими молекулами, пептидами, белками и т. д.). Технологии (например, белковые маркеры, анализы и т. д.) для оценки лечения такими средствами и/или результирующими NK-клетками доступны в данной области техники и могут использоваться в соответствии с настоящим раскрытием (например, те, которые описаны в Romee et al., Sci Transl Med., 2016, 21 сентября; 8(357): 357ra123.doi: 10.1126/scitranslmed.aaf 2341). В некоторых вариантах осуществления память-подобные NK-клетки обладают повышенной экспрессией ингибирующих, активирующих и цитокиновых рецепторов (например, CD94/NKG2A, NKp30, NKp44, NKp46, NKG2D, CD62L и CD25 и т. д.) и/или сниженной экспрессией некоторых белков (например, NKp80). В некоторых вариантах осуществления уровни содержания некоторых рецепторов практически не изменены (например, KIR, CD57, NKG2C, DNAM-1, CD137, CD11b и т. д.). В некоторых вариантах осуществления изменения активирующих, ингибирующих, цитокиновых и адгезионных рецепторов согласуются с дифференцировкой. В некоторых вариантах осуществления предварительная активация цитокинами обеспечивает эпигенетическую модуляцию определенных генов, например, IFN-γ. Например, в некоторых вариантах осуществления активация IL-12, IL-15 и IL-18 (например, в течение 5 дней) приводит к снижению метилирования локуса IFN-γ консервативной некодирующей последовательности 1 в человеческих NK-клетках. В некоторых вариантах осуществления определенные предварительно активированные NK-клетки (например, индуцированные цитокинами клетки) существуют в состоянии повышенной активации без существенной дифференцировки.

[00121] В некоторых вариантах осуществления NK-клетки вводят в пределах 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, или 20 недель, или 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или месяцев после предварительной активации.

[00122] Среди прочего, настоящее раскрытие включает признание того, что такие NK-клетки с их улучшенными свойствами и/или активностями, которые могут обеспечивать

усиленное ингибирование или уничтожение раковых клеток, могут приводить к большему количеству и/или более серьезным побочным эффектам и/или токсичности, например, токсичности, выходящей за пределы клеток-мишеней, в отношении нормальных клеток. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие обеспечивает технологии для снижения таких побочных эффектов и/или токсичности, включающие введение одного или нескольких средств, в частности ARM, которые, среди прочего, могут стимулировать, поощрять и/или усиливать взаимодействия NK-клеток со своими мишенями и уменьшать побочные эффекты и/или токсичность, связанные с введением NK-клеток.

[00123] В некоторых вариантах осуществления NK-клетки размножают, например, до, во время и/или после предварительной активации. В некоторых вариантах осуществления NK-клетки очищают перед введением для удаления, например, определенной среды (или ее компонентов), активации цитокинов и т. д.

[00124] В некоторых вариантах осуществления NK-клетки, подлежащие введению субъекту, выделяют и/или размножают от субъекта (аутологичные). В некоторых вариантах осуществления NK-клетки, которые должны быть введены субъекту, выделяют и/или размножают от другого субъекта (аллогенные; например, от HLA-гаплоидентичного донора).

[00125] В некоторых вариантах осуществления NK-клетки, как описано выше, подвергаются обработке (например, выделение, очистка, предварительная активация и т. д.) перед введением. В некоторых вариантах осуществления композиция NK-клеток для введения включает определенную искусственную среду или ее компоненты, например, полную среду RPMI-1640, содержащую L-глутамин, HEPES, NEAA, пенициллин/стрептомицин и 10% сыворотку АВ человека, необязательно с добавлением rhIL-15 (1 нг/мл) для поддержания выживаемости.

Введение

[00126] Иммунные клетки, например, предварительно активированные память-подобные NK-клетки, могут быть составлены в различных форматах, известных в данной области техники, для введения субъекту. В зависимости от субъектов и/или состояний, расстройств или заболеваний, подлежащих лечению, вводят количество клеток, чтобы обеспечить подходящие клинические преимущества. В некоторых вариантах осуществления уровень дозы клеток составляет от 0,01 до 100, от 0,1 до 50, от 0,1 до 20, от 0,1 до 10, 0,05, 0,1, 0,2,

0,3, 0,3, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80 или 90 миллионов на килограмм. В некоторых вариантах осуществления уровень дозы составляет 0,5 x 10^6 на кг. В некоторых вариантах осуществления уровень дозы составляет 1 x 10^6 на кг. В некоторых вариантах осуществления уровень дозы составляет не более 10 x 10^6 на кг. Как понятно специалистам в данной области техники, предварительно активированные память-подобные NK-клетки можно вводить на более низком уровне для достижения той же или большей клинической пользы или обеспечения большей клинической пользы при введении на том же уровне по сравнению с неактивированными NK-клетками или предварительно активированными NK-клетками, которые не являются «память-подобными» (например, обрабатываются только с IL-2 или IL-15, например, в течение ночи).

[00127] Во многих вариантах осуществления клетки вводят посредством внутривенной инфузии. В некоторых вариантах осуществления композиции, содержащие клетки, например, предварительно активированные NK-клетки, вводят посредством инфузии. В некоторых вариантах осуществления такие композиции вводят путем адоптивного переноса.

[00128] В некоторых вариантах осуществления изобретения субъектов, например, пациентов с диагнозом AML, предварительно подготавливают (например, в день 0) химиотерапевтическим препаратом для введения клеток. Например, в некоторых вариантах осуществления пациентам с AML в день 0 вводят предварительное кондиционирование флударабином/циклофосфамидом.

[00129] В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки, например, предварительно активированные NK-клетки, вводят до введения средств, таких как ARM. В некоторых вариантах осуществления они вводятся одновременно с такими средствами, как ARM. В некоторых вариантах осуществления они вводятся после таких средств, как ARM. В некоторых вариантах осуществления, когда они не вводятся одновременно, иммунные клетки, например, предварительно активированные NK-клетки, и средства, такие как ARM, вводятся таким образом, что субъект подвергается воздействию обоих. Некоторые технологии введения NK-клеток описаны в Miller et al., Blood 105, 3051-3057 (2005) и могут использоваться в соответствии с настоящим раскрытием.

[00130] В некоторых вариантах осуществления после или одновременно с введением иммунных клеток вводят определенные цитокины для поддержки введенных иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления rhIL-2, обычно в низких дозах, вводится для

поддержки память-подобных NK-клеток через их индуцированный высокоаффинный IL-2Rαβγ. В качестве примера, см. Leong, et al., Biol. Blood Marrow Transplant, 20, 463-473 (2014).

[00131] В некоторых вариантах осуществления донорские память-подобные NK-клетки отслеживаются в крови субъекта с помощью информативного HLA, например, с использованием донорских или специфичных для пациента моноклональных антител к HLA. В некоторых вариантах осуществления частота таких клеток достигает пика, например, спустя от 7 до 14 дней после инфузии и может уменьшаться в количестве после восстановления Т-клеток реципиента. При желании может быть введена дополнительная доза таких NK-клеток (в некоторых вариантах осуществления можно вводить 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более доз). В некоторых вариантах осуществления память-подобные NK-клетки составляют по меньшей мере 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% NK-клеток крови сразу после введения (например, на 7-й день). В некоторых вариантах осуществления уровень превышает 10%. В некоторых вариантах осуществления уровень превышает 20%. В некоторых вариантах осуществления уровень превышает около 30%. В некоторых вариантах осуществления уровень превышает около 40%. В некоторых вариантах осуществления уровень превышает около 50%. В некоторых вариантах осуществления уровень превышает около 60%. В некоторых вариантах осуществления уровень превышает около 70%. В некоторых вариантах осуществления уровень превышает около 80%. В некоторых вариантах осуществления уровень превышает около 90%. В некоторых вариантах осуществления количество память-подобных NK-клеток например, в крови, увеличивается по меньшей мере в 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800., 850, 900, 950 или 1000 раз по сравнению с днем 1 и более поздней временной точкой (например, днем 7). В некоторых вариантах осуществления прирост составляет по меньшей мере 100 раз. В некоторых вариантах осуществления прирост составляет по меньшей мере 200 раз. В некоторых вариантах осуществления прирост составляет по меньшей мере 300 раз. В некоторых вариантах осуществления прирост составляет по меньшей мере 400 раз. В некоторых вариантах осуществления прирост составляет по меньшей мере 500 раз. В некоторых вариантах осуществления прирост составляет по меньшей мере 600 раз. В некоторых вариантах осуществления прирост составляет по меньшей мере 700 раз. В некоторых вариантах осуществления прирост составляет по меньшей мере 800 раз. В некоторых вариантах

осуществления прирост составляет по меньшей мере 900 раз. В некоторых вариантах осуществления прирост составляет по меньшей мере 1000 раз. Как правило, процентные и абсолютные числа (подсчеты) память-подобных NK-клеток также увеличиваются, например, до процентного содержания (например, не менее чем около 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%)., 45%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90%; в некоторых вариантах осуществления по меньшей мере 90%) и подсчетов (например, в 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 750, 800, 850, 900, 950 или 1000 раз или более; в некоторых вариантах осуществления в 700, 100, 200, 300, 400, 500, 600 раз или более), описанных выше, после введения память-подобных NK-клеток (например, на 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 и/или 14 день).

[00132] В некоторых вариантах осуществления после введения память-подобные NK-клетки обладают улучшенными функциями, например, как это демонстрируется увеличением продукции IFN-γ при стимуляции.

[00133] В некоторых вариантах осуществления память-подобные NK-клетки обладают повышенной пролиферацией ($Ki\text{-}67^{+}$) после введения (например, в дни 3 и/или 7).

[00134] В некоторых вариантах осуществления предварительно активированные память-подобные NK-клетки представляют собой индуцированные цитокинами память-подобные NK-клетки. В некоторых вариантах осуществления память-подобные NK-клетки экспрессируют ингибирующий рецептор KIR. В некоторых вариантах осуществления такие клетки могут выполнять одну или несколько функций (например, ингибирование и/или уничтожение клеток-мишеней, таких как раковые клетки), независимо от взаимодействий KIR-лиганд.

[00135] В некоторых вариантах осуществления вводимые иммунные клетки, например, память-подобные NK-клетки, обнаруживаются в крови и костном мозге субъекта в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 дней или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 недель или более. В некоторых вариантах осуществления такие клетки пролиферируют и/или разрастаются in vivo после введения субъекту. В некоторых вариантах осуществления такие клетки дифференцируются у субъекта in vivo и проявляют функциональность против таких мишеней, как раковые клетки (например, лейкозные клетки).

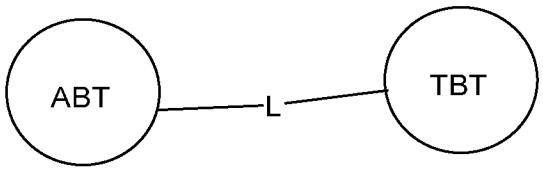
[00136] В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки, например, предварительно активированные NK-клетки, вводятся одновременно с ARM. В некоторых вариантах осуществления их вводят в виде единой композиции. В некоторых вариантах осуществления их вводят в виде отдельных композиций.

[00137] В некоторых вариантах осуществления вместе с ARM можно вводить подходящее количество антител либо в одной композиции, либо в отдельных композициях (и необязательно можно вводить до или одновременно с ARM). В некоторых вариантах осуществления вводят композицию, содержащую ARM, предварительно активированные NK-клетки и, необязательно, антитело или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления вводят композицию, содержащую ARM, содержащую uABT, предварительно активированные NK-клетки и, необязательно, IgM. В некоторых вариантах осуществления обеспеченная композиция включает комплекс, содержащий NK-клетку, антитело или его фрагмент и ARM. В некоторых вариантах осуществления в таком комплексе рецептор CD16a NK-клеток взаимодействует с антителом или его фрагментом и антитело-связывающий фрагмент ARM взаимодействует с тем же антителом или его фрагментом.

4. Примеры ARM-средств

[00138] Различные АРМ-средства могут использоваться в соответствии с настоящим раскрытием. В некоторых вариантах осуществления ARM содержат антитело-связывающие фрагменты, которые взаимодействуют с Fab-областями, и могут предпочтительно связываться с различными антителами (и/или их фрагментами) и рекрутировать антитела (и/или их фрагменты), которые содержат такие Fab-области. В некоторых вариантах осуществления ARM содержат антитело-связывающие фрагменты, которые взаимодействуют с Fc-областями (например, uABT, описанные в данном документе), и могут связываться с различными антителами (и/или их фрагментами) и рекрутировать различные антитела (и/или их фрагменты), которые содержат такие Fc-области. Как понятно специалистам в данной области техники, антитела (и/или их фрагменты), рекрутируемые такими ARM, могут содержать различные Fab-области и могут иметь различную специфичность. В некоторых вариантах осуществления отдельные рекрутированные антитела (или их фрагменты) не превышают 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15%, 20%., 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 70%, 80% или 90% всех рекрутированных антител и их фрагментов.

[00139] В некоторых вариантах осуществления применимая ARM представляет собой соединение формулы **I:**



I

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

ABT представляет собой антитело-связывающий фрагмент;

L представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, который связывает ABT с TBT; и

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент.

[00140] В некоторых вариантах осуществления применимая ARM представляет собой соединение формулы **I-a** или его соль. В некоторых вариантах осуществления применимая ARM представляет собой соединение формулы **I-b** или его соль.

[00141] В некоторых вариантах осуществления изобретения применимая ARM представляет собой соединение формулы **II** или его фармацевтически приемлемую соль, где:

каждый из R^1, R^3 и R^5 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или:

R^1 и $R^{1'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца, или 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического

гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

R^3 и $R^{3'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточными атомом углерода, с образованием 3-8-членного необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца, или 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

группа R^5 и группа $R^{5'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца, или 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или

две группы R^5 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием C_{1-10} необязательно замещенной двухвалентной линейной или разветвленной насыщенной или ненасыщенной углеводородной цепи, в которой от 1 до 3 метиленовых звеньев цепи независимо и необязательно заменены на –S–, –SS–, –N(R)–, –O–, –C(O)–, –OC(O)–, –C(O)O–, –C(O)N(R)–, –N(R)C(O)–, –S(O)–, $–S(O)_2–$ или $–Cy^1–$, где каждый $–Cy^1–$ независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы;

каждый из $R^{1'}$, $R^{3'}$ и $R^{5'}$ независимо представляет собой водород или необязательно замещенную C_{1-3} алифатическую группу;

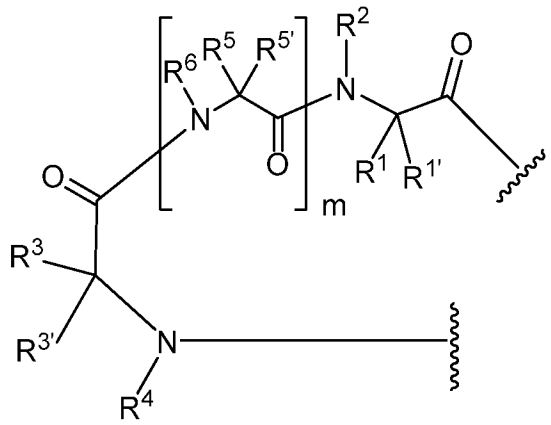
каждый из R^2, R^4 и R^6 независимо представляет собой водород или необязательно замещенный C_{1-4} алифатический радикал, или:

R^2 и R^1 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного, необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

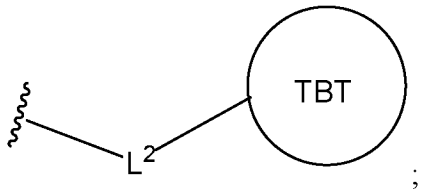
R^4 и R^3 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или

группа R^6 и соседняя с ней группа R^5 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

L^1 представляет собой трехвалентный линкерный фрагмент, который соединяет

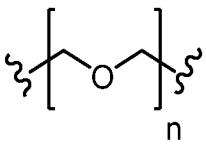


и

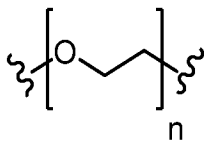


;

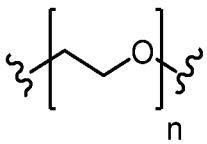
L^2 представляет собой ковалентную связь или двухвалентную прямую или разветвленную насыщенную или ненасыщенную C_{1-10} углеводородную цепь, в которой от 1 до 3 метиленовых звеньев цепи независимо и необязательно заменены на S–, –N(R)–, –O–, –C(O)–, –OC(O)–, –C(O)O–, –C(O)N(R)–, –N(R)C(O)–, –S(O)–, $–S(O)_2–$,



,



,

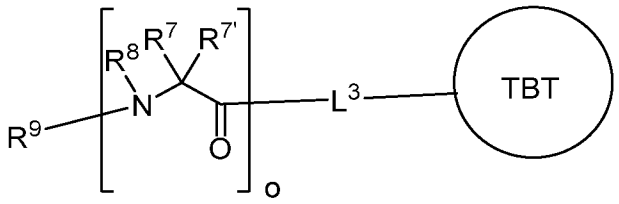


или $–Cy^1–$, где каждый $–Cy^1–$ независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы;

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент; и

каждый из m и n независимо равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

[00142] В некоторых вариантах осуществления применимая ARM представляет собой соединение формулы **III:**



III

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

каждый из R^7 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или:

группа R^7 и группа $R^{7'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца или 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

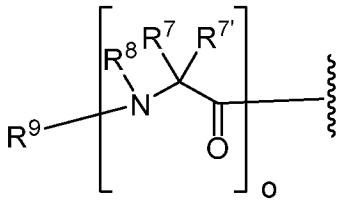
каждый из $R^{7'}$ независимо представляет собой водород или C_{1-3} алифатическую группу;

каждый из R^8 независимо представляет собой водород или C_{1-4} алифатическую группу, или:

группа R^8 и смежная с ней группа R^7 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

R^9 представляет собой водород, C_{1-3} алифатическую группу или $-C(O)C_{1-3}$ алифатическую группу;

L^3 представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, который соединяет



с TBT;

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент; и

o равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

Антитело-связывающие фрагменты

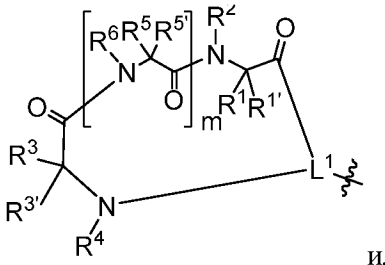
[00143] Различные антитело-связывающие фрагменты известны в данной области техники и могут быть использованы в соответствии с настоящим раскрытием.

[00144] В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающие фрагменты в первую очередь взаимодействуют с Fab-областями. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающие фрагменты взаимодействуют с антителами и/или их фрагментами, которые содержат определенные Fab-структуры и/или направлены на определенные антигены.

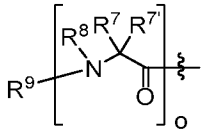
[00145] В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающие фрагменты взаимодействуют с Fc-областями. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающие фрагменты, описанные в данном документе, например, uABT, взаимодействуют с Fc-областями и могут рекрутировать Fc-области, связанные с Fab-областями, имеющими различные структуры и/или антигенную специфичность. Некоторые применимые средства содержат универсальные антитело-связывающие фрагменты, которые могут связываться с антителами, имеющими различные Fab-области и различную специфичность. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающие фрагменты представляют собой универсальные антитело-связывающие фрагменты, которые связываются с Fc-областями. В некоторых вариантах осуществления связывание антитело-связывающих фрагментов с антителами (или их фрагментами), например, uABT с Fc-областями, может происходить одновременно со связыванием рецепторов Fc, например, CD16a, с теми же антителами (или их фрагментами) (например, возможно в различных

местах/аминокислотных остатках одних и тех же Fc-областей в случае связывания uABT с Fc). В некоторых вариантах осуществления, при связывании универсальных антитело-связывающих фрагментов, Fc-область все еще может взаимодействовать с рецепторами Fc и выполнять одну или несколько или все свои иммунные функции, включая рекрутирование иммунных клеток (например, эффекторных клеток, таких как NK-клетки), и/или запуск, генерирование, поощрение и/или усиление активности иммунной системы по отношению к клеткам-мишеням, тканям, объектам и/или объектам, например, антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (ADCC) и/или ADCP.

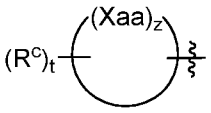
[00146] Различные универсальные антитело-связывающие фрагменты могут быть использованы в соответствии с настоящим раскрытием, и многие технологии, например, описанные в примерах, доступны для идентификации и/или оценки универсальных антитело-связывающих фрагментов. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент содержит один или несколько аминокислотных остатков, каждый независимо природный или неприродный. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент имеет структуру



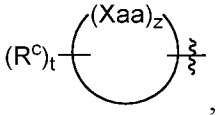
или ее солевую форму. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент имеет структуру



или ее солевую форму. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает пептидный фрагмент, например, фрагмент, имеющий структуру R^c–(Xaa)z–. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает циклический пептидный фрагмент, например, фрагмент, имеющий структуру



. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-

связывающий фрагмент представляет собой R^c–(Xaa)z– или 

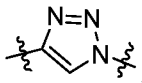
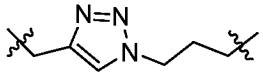
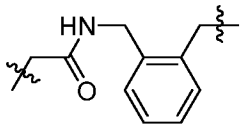
, и представляет собой или включает пептидное звено. В некоторых вариантах осуществления -(Xaa)z- представляет собой или включает пептидное звено. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено включает аминокислотный остаток, например, остаток аминокислоты формулы **A-I,** который имеет положительно заряженную боковую цепь (например, при физиологическом pH около 7,4, «положительно заряженный аминокислотный остаток», Xaa^P). В некоторых вариантах осуществления пептидное звено включает R. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один Xaa представляет собой R. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает APAR. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает RAPA. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено включает аминокислотный остаток, например, остаток аминокислоты формулы **A-I,** которая имеет боковую цепь, содержащую ароматическую группу («остаток ароматической аминокислоты», Xaa^A). В некоторых вариантах осуществления пептидное звено включает положительно связанный аминокислотный остаток и ароматический аминокислотный остаток. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено включает W. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено включает положительно заряженный аминокислотный остаток и ароматический аминокислотный остаток. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает $Xaa^AXaaXaa^PXaa^P$. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает $Xaa^PXaa^PXaaXaa^A$. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает $Xaa^PXaa^AXaa^P$. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает два или более $Xaa^PXaa^AXaa^P$. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает $Xaa^PXaa^AXaa^PXaaXaa^PXaa^AXaa^P$.. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает $Xaa^PXaa^PXaa^AXaa^AXaa^P$. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает $Xaa^PXaa^PXaa^PXaa^A$. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает два или более $Xaa^AXaa^AXaa^P$. В некоторых вариантах осуществления пептидный остаток включает один или несколько остатков пролина. Пептидное звено представляет собой или

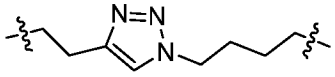
включает HWRGWA. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает WGRR. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает RRGW. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает NRFRGKYK. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает NARKFYK. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено включает положительно заряженный аминокислотный остаток, ароматический аминокислотный остаток и аминокислотный остаток, например, остаток аминокислоты формулы **A-I,** которая имеет отрицательно заряженную боковую цепь (например, при физиологическом pH около 7,4, «отрицательно заряженный аминокислотный остаток», Xaa^N). В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой RHRFNKD. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой TY. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой TYK. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой RTY. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой RTYK. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает последовательность, выбранную из PAM. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой WHL. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой ELVW. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает последовательность, выбранную из AWHLGELVW. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает последовательность, выбранную из DCAWHLGELVWCT, в которой два цистеиновых остатка могут образовывать дисульфидную связь, как обнаружено в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает последовательность, выбранную из Fc-III. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает последовательность, выбранную из DpLpAWHLGELVW. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает последовательность, выбранную из FcBP-1. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает последовательность, выбранную из DpLpDCAWHLGELVWCT. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает последовательность, выбранную из FcBP-2. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает

последовательность, выбранную из CDCAWHLGELVWCTC, где первый и последний цистеины и два цистеина в середине последовательности могут, каждый независимо, образовывать дисульфидную связь, как в природных белках. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает последовательность, выбранную из Fc-III-4c. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает последовательность, выбранную из FcRM. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено представляет собой или включает циклическую пептидную единицу. В некоторых вариантах осуществления циклическое пептидное звено включает амидную группу, образованную аминогруппой боковой цепи и С-концевой -COOH.

[00147] В некоторых вариантах осуществления -(Xaa)z- представляет собой или включает $[X^1]_{p1}[X^2]_{p2}$-$X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}$-$[X^{13}]_{p13}$-$[X^{14}]_{p14}[X^{15}]_{p15}[X^{16}]_{p16}$, где каждый из X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}, X^{12} и X^{13} независимо представляют собой аминокислотный остаток, например, аминокислоты формулы **A-I,** и каждый из p1, p2, p13, p14, p15 и p16 независимо представляют собой 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10. В некоторых вариантах осуществления каждый из X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}, X^{12} и X^{13} независимо представляет собой аминокислотный остаток. аминокислоты формулы **A-I.** В некоторых вариантах осуществления каждый из X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}, X^{12} и X^{13} независимо представляет собой природный аминокислотой. остаток. В некоторых вариантах осуществления один или несколько из X^1, X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}, X^{12} и X^{13} независимо представляют собой неприродный аминокислотный остаток, как описано в настоящем раскрытии.

[00148] В некоторых вариантах осуществления пептидное звено содержит функциональную группу в аминокислотном остатке, которая может вступать в реакцию с функциональной группой другого аминокислотного остатка. В некоторых вариантах осуществления пептидное звено содержит включает аминокислотный остаток с боковой цепью, которая содержит функциональную группу, которая может вступать в реакцию с другой функциональной группой боковой цепи другого аминокислотного остатка с образованием связи (например, см. соединения в Таблице 1) . В некоторых вариантах осуществления одна функциональная группа одного аминокислотного остатка связана с функциональной группой другого аминокислотного остатка с образованием связи (или мостика). Связи связаны с атомами основной цепи пептидных единиц и не содержат атомов

основной цепи. Пептидное звено включает связь, образованную двумя боковыми цепями несоседних аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления связь связана с двумя атомами основной цепи двух несоседних аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления оба атома основной цепи, связанные со связью, являются атомами углерода. В некоторых вариантах осуществления связь имеет структуру L^b, где L^b представляет собой L^a, как описано в настоящем раскрытии, где L^a не является ковалентной связью. В некоторых вариантах осуществления L^a включает -Cy-. В некоторых вариантах осуществления L^a включает -Cy-, где -Cy- представляет собой необязательно замещенный гетероарил. В некоторых вариантах осуществления −Cy− представляет собой  . В некоторых L^a представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления такой L^a может быть образован группой $-N_3$ боковой цепи одного аминокислотного остатка и группой -≡- боковой цепи другого аминокислотного остатка. В некоторых вариантах осуществления связь образуется за счет соединения двух тиоловых групп, например, двух остатков цистеина. В некоторых вариантах осуществления L^a содержит −S-S−. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой $-CH_2-S-S-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления связь образуется через соединение аминогруппы (например, $-NH_2$ в боковой цепи остатка лизина) и группы карбоновой кислоты (например, -COOH в боковой цепи остатка аспарагиновой кислоты или глутаминовой кислоты). В некоторых вариантах осуществления L^a включает −C(O)−N(R')−. В некоторых вариантах осуществления L^a включает -C(O)-NH-. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой $-CH_2CONH-(CH_2)_3-$. В некоторых вариантах осуществления L^a включает −C(O)−N(R')−, где R' представляет собой R и взят вместе с группой R на пептидном остове с образованием кольца (например, в I-27). В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой $-(CH_2)_2-N(R')-CO--(CH_2)_2-$. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенный фенилен. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенный 1,2-фенилен. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой


. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой необязательно замещенную двухвалентную C_{2-20} двухвалентную алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления L^a необязательно замещен $-(CH_2)_9-CH=CH-(CH_2)_9-$. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой $-(CH_2)_3-CH=CH-(CH_2)_3$

[00149] В некоторых вариантах осуществления два аминокислотных остатка, связанных со связью, разделены 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или более чем 15 аминокислотными остатками между ними (исключая два аминокислотных остатка, связанных со связью). В некоторых вариантах осуществления число равно 1. В некоторых вариантах осуществления число равно 2. В некоторых вариантах осуществления число равно 3. В некоторых вариантах осуществления число равно 4. В некоторых вариантах осуществления число равно 5. В некоторых вариантах осуществления число равно 6. В некоторых вариантах осуществления число равно 7. В некоторых вариантах осуществления число равно 8. В некоторых вариантах осуществления число равно 9. В некоторых вариантах осуществления число равно 10. В некоторых вариантах осуществления число равно 11. В некоторых вариантах осуществления число равно 12. В некоторых вариантах осуществления число равно 13. В некоторых вариантах осуществления число равно 14. В некоторых вариантах осуществления число равно 15.

[00150] В некоторых вариантах осуществления каждый из p1, p2, p13, p14, p15 и p16 равен 0. В некоторых вариантах осуществления -(Xaa)z- представляет собой или включает $-X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}-$, при этом:

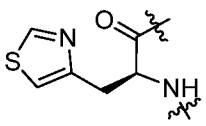
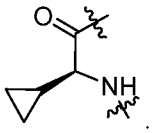
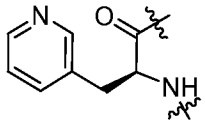
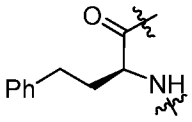
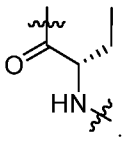
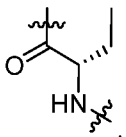
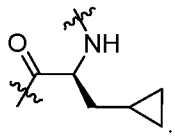
каждый из X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток;

X^6 представляет собой Xaa^A или Xaa^P;

X^9 представляет собой Xaa^N; и

X^{12} представляет собой Xaa^A собой Xaa^P

В некоторых вариантах осуществления каждый из X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I,** как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой Xaa^A или Xaa^P. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой Xaa^A. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой Xaa^P. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого

включает необязательно замещенное насыщенное, частично насыщенное или ароматическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Xaa^A. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Xaa^P. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой His. В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой Xaa^A. В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой Xaa^P. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Glu. В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления каждый из X^7, X^{10}, and X^{11} представляет собой аминокислотный остаток с гидрофобной боковой цепью («гидрофобный аминокислотный остаток», Xaa^H). В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой Val. В некоторых вариантах осуществления X^{10} представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^{10} представляет собой Met. В некоторых вариантах осуществления X^{10} представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Gly. В некоторых вариантах осуществления X^4 представляет собой Pro. В некоторых вариантах осуществления X^3

представляет собой Lys. В некоторых вариантах осуществления COOH в X^{12} образует амидную связь с аминогруппой боковой цепи Lys (X^3), и другая аминогруппа Lys (X^3) связана с линкерным фрагментом и затем с мишень-связывающим фрагментом.

[00151] В некоторых вариантах осуществления -(Xaa)z- представляет собой или включает $-X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}-$, при этом:

каждый из X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток;

по меньшей мере два аминокислотных остатка связаны через одну или несколько связей L^b;

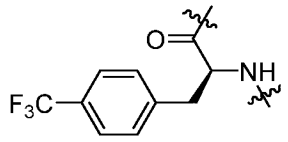
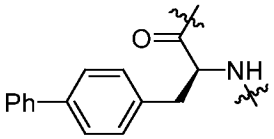
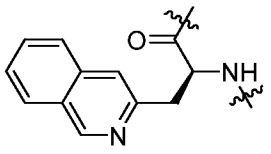
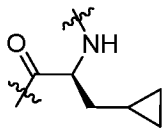
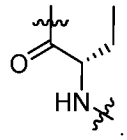
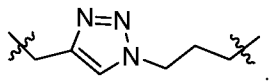
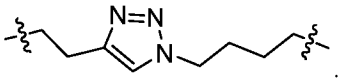
L^b представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$, где L^b связан с атомом основной цепи одного аминокислотного остатка и атомом основной цепи другого аминокислотного остатка и не содержит атомов основной цепи;

X^6 представляет собой Xaa^A или Xaa^P;

X^9 представляет собой Xaa^N; и

X^{12} представляет собой Xaa^A собой Xaa^P.

В некоторых вариантах осуществления каждый из X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I,** как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления два несоседних аминокислотных остатка соединены посредством L^b. В некоторых вариантах осуществления X^5 и X^{10} соединены L^b. В некоторых вариантах осуществления имеется одна связь L^b. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Xaa^A. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Xaa^P. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой His. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Glu. В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой Xaa^A. В некоторых

вариантах осуществления X^{12} представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления каждый из X^4, X^7 и X^{11} независимо представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^4 представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^4 представляет собой Ала. В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Gly. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Lys. В некоторых вариантах осуществления -COOH в X^{12} образует амидную связь с аминогруппой боковой цепи Lys (X^3), и другая аминогруппа Lys (X^3) связана с линкерным фрагментом и затем с мишень-связывающим фрагментом.В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^b соединяет два альфа-углеродных атома двух различных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления оба X^5 и X^{10} представляют собой Cys, и две группы -SH их боковых цепей образуют −S−S− (L^b представляет собой $-CH_2-S-S-CH_2-$).

[00152] В некоторых вариантах осуществления -(Xaa)z- представляет собой или включает $-X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}-$, при этом:

каждый из X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток;

по меньшей мере два аминокислотных остатка связаны через одну или несколько связей L^b;

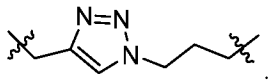
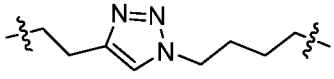
L^b представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$, где L^b связан с атомом основной цепи одного аминокислотного остатка и атомом основной цепи другого аминокислотного остатка и не содержит атомов основной цепи;

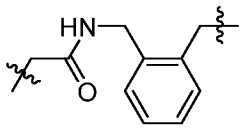
X^4 представляет собой Xaa^A;

X^5 представляет собой Xaa^A или Xaa^P;

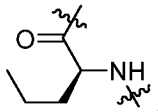
X^8 представляет собой Xaa^N; и

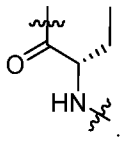
X^{11} представляет собой Xaa^A.

В некоторых вариантах осуществления каждый из X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I,** как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления два несоседних аминокислотных остатка соединены посредством L^b. В некоторых вариантах осуществления имеется одна связь L^b. В некоторых вариантах осуществления X^2 и X^{12} соединены L^b. В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой $-CH_2-S-S-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой $-CH_2-CH_2-S-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой $-CH_2CH_2CO-N(R')-CH_2CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления R' взяты вместе с группой R атома основной цепи, так что $-N(R')-CH_2CH_2-$ связывается с образованием

кольца, например, как в I-27. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является 3-, 4-, 5-, 6-, 7- или 8-членным. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является моноциклическим. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является насыщенным. В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой 

.

В некоторых вариантах осуществления L^b соединяет два альфа-углеродных атома двух различных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления X^4 представляет собой Xaa^A. В некоторых вариантах осуществления X^4 представляет собой Tyr. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой Xaa^A. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой Xaa^P. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой His. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Glu. X^{11} представляет собой Tyr. В некоторых вариантах осуществления оба X^2, и X^{12} представляют собой Cys, и две группы -SH их боковых цепей образуют -S-S- (L^b представляет собой $-CH_2-S-S-CH_2-$). В некоторых вариантах осуществления каждый из X^3, X^6, X^9 и X^{10} независимо представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Ала. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Leu. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Leu. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой 

. В некоторых вариантах осуществления X^{10} представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^{10} представляет собой Val. В некоторых вариантах осуществления X^{10} представляет собой 

. В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой Gly. В некоторых p1 равен 1. В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой Asp. В некоторых p13 равен 1. В некоторых p14, p15 и p16 равны 0. В

некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой аминокислотный остаток, содержащий полярную незаряженную боковую цепь (например, при физиологическом pH «полярный незаряженный аминокислотный остаток», Xaa^L). В некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой Val. В некоторых вариантах осуществления p13 равен 0. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой $-NHCH_2CH(OH)CH_3$. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой (*R*)-$NHCH_2CH(OH)CH_3$. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой (*S*)-$NHCH_2CH(OH)CH_3$.

[00153] В некоторых вариантах осуществления -(Xaa)z- представляет собой или включает $-X^2X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}-$, при этом:

каждый из X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток;

по меньшей мере два аминокислотных остатка связаны через одну или несколько связей L^b;

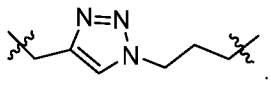
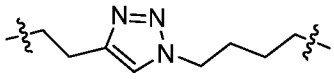
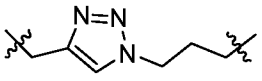
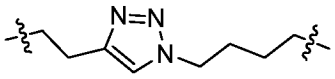
L^b представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$, где L^b связана с атомом основной цепи одного аминокислотного остатка и атомом основной цепи другого аминокислотного остатка и не содержит атомов основной цепи;

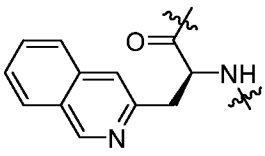
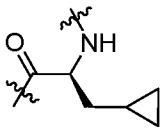
X^5 представляет собой Xaa^A или Xaa^P;

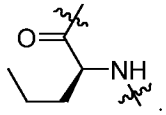
X^8 представляет собой Xaa^N; и

X^{11} представляет собой Xaa^A.

В некоторых вариантах осуществления каждый из X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I,** как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления два несоседних аминокислотных остатка соединены посредством L^b. В некоторых вариантах осуществления имеется связь L^b. В некоторых вариантах осуществления имеется две или более связей L^b. В некоторых вариантах осуществления имеется две связи L^b. В некоторых вариантах осуществления X^2 и X^{12} соединены посредством L^b. В некоторых вариантах осуществления X^4 и X^9 соединены посредством L^b. В некоторых вариантах осуществления X^4 и X^{10}

соединены посредством L^b. В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой $-CH_2-S-S-CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления оба X^2 и X^{12} представляют собой Cys, и две группы -SH их боковых цепей образуют -S-S- (L^b представляет собой $-CH_2-S-S-CH_2-$). В некоторых вариантах осуществления оба X^4 и X^{10} представляют собой Cys, и две группы -SH их боковых цепей образуют -S-S- (L^b представляет собой $-CH_2-S-S-CH_2-$). В некоторых вариантах осуществления X^4 и X^9 соединены посредством L^b, где L^b представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления X^4 и X^9 соединены L^b, где L^b представляет собой  .

В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой Xaa^A. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой Xaa^P. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой His. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Glu. В некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой Tyr. В некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления X^2 и X^{12} связаны посредством L^b, где L^b представляет собой $-CH_2-S-CH_2CH_2-$. В некоторых вариантах осуществления L^b соединяет два альфа-углеродных атома двух различных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления каждый из X^3, X^6 и X^9 независимо представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Ала. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Leu. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления

X^9 представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Leu. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления X^{10} представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^{10} представляет собой Val. В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой Gly. В некоторых вариантах осуществления p1 равен 1. В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой Glu. В некоторых вариантах осуществления p13 равен 1. В некоторых вариантах осуществления p14, p15 и p16 равен 0. В некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой Xaa^L. В некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой Val.

[00154] В некоторых вариантах осуществления -(Xaa)z- представляет собой или включает $-X^2 X^3 X^4 X^5 X^6 X^7 X^8 X^9 X^{10} X^{11} X^{12} X^{13} X^{14} X^{15} X^{16}-$, где:

каждый из X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}, X^{12}, X^{13}, X^{14}, X^{15} и X^{16} независимо представляет собой аминокислотный остаток;

по меньшей мере два аминокислотных остатка связаны посредством связи L^b;

L^b представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$, где L^b связан с атомом основной цепи одного аминокислотного остатка и атомом основной цепи другого аминокислотного остатка и не содержит атомов основной цепи;

X^3 представляет собой Xaa^N;

X^6 представляет собой Xaa^A;

X^7 представляет собой Xaa^A или Xaa^P;

X^9 представляет собой Xaa^N; и

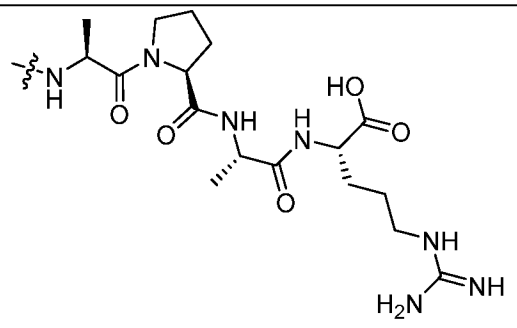
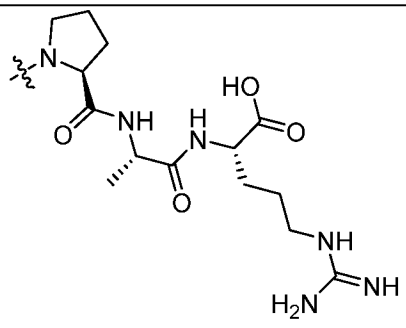
X^{13} представляет собой Xaa.

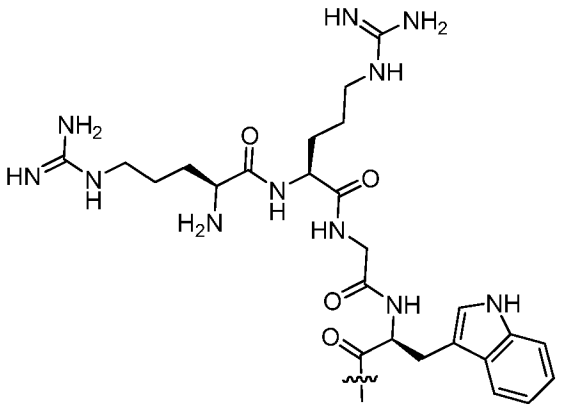
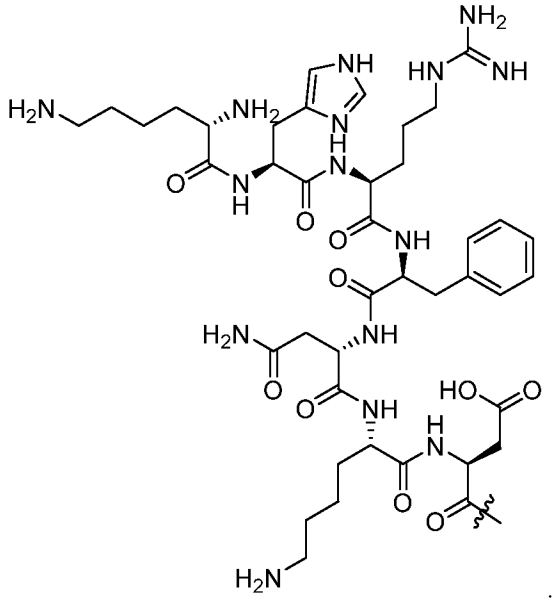
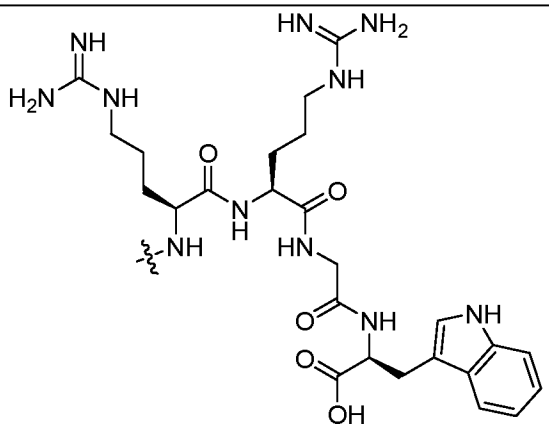
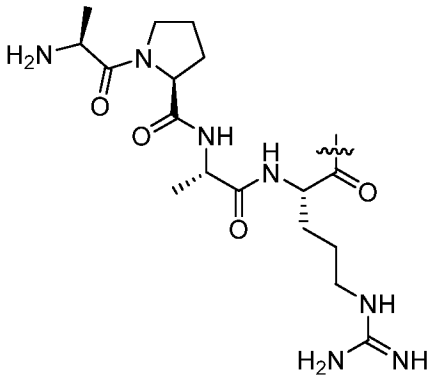
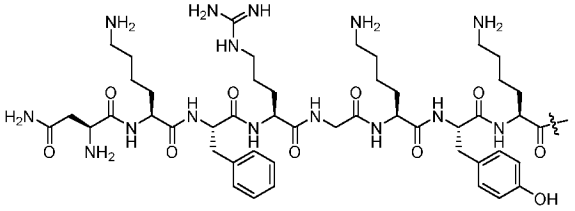
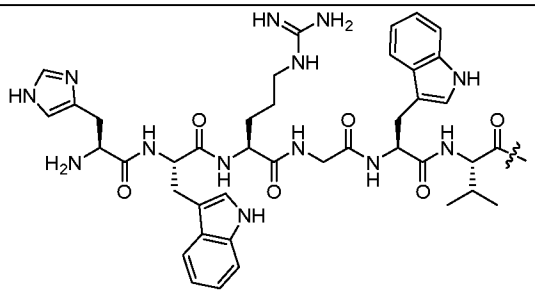
В некоторых вариантах осуществления каждый из X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I,** как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления два несоседних аминокислотных остатка соединены посредством L^b. В некоторых вариантах осуществления имеется связь L^b. В некоторых вариантах осуществления имеется две или более связей L^b. В некоторых вариантах осуществления имеется две связи L^b. В некоторых вариантах осуществления X^2 соединены с X^{16} посредством L^b. В некоторых вариантах осуществления X^4 соединены с X^{14} посредством L^b. В некоторых вариантах осуществления и X^2, и X^{16} представляют собой Cys, и две группы -SH их боковых цепей образуют -S-S- (L^b представляет собой $-CH_2-S-S-CH_2-$). В некоторых вариантах осуществления и X^4, и X^{14} представляют собой Cys, и две группы -SH их боковых цепей образуют -S-S- (L^b представляет собой собой $-CH_2-S-S-CH_2-$). В некоторых вариантах осуществления L^b соединяет два альфа-углеродных атома двух различных аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^3 представляет собой Glu. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^5 представляет собой Ala. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Xaa^A. В некоторых вариантах осуществления X^6 представляет собой Tyr. В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой Xaa^A. В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой Xaa^P. В некоторых вариантах осуществления X^7 представляет собой His. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^8 представляет собой Ala. В некоторых вариантах осуществления X^9 представляет собой Gly. В некоторых вариантах осуществления X^{10} представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^{10} представляет собой Glu. В некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^{11} представляет собой Leu. В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^{12} представляет собой Val. В некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой Xaa^A. В некоторых вариантах осуществления X^{13} представляет собой Tyr. В некоторых вариантах осуществления X^{15} представляет собой аминокислотный остаток, содержащий полярную незаряженную боковую цепь (например, при физиологическом pH, «полярный незаряженный аминокислотный остаток», Xaa^L). В некоторых вариантах осуществления X^{15}

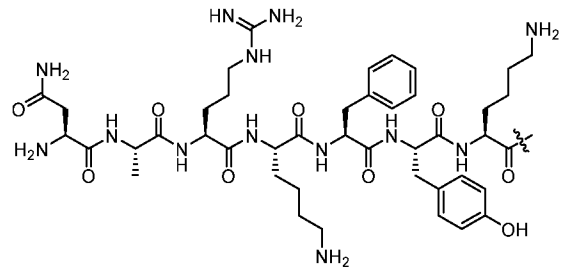
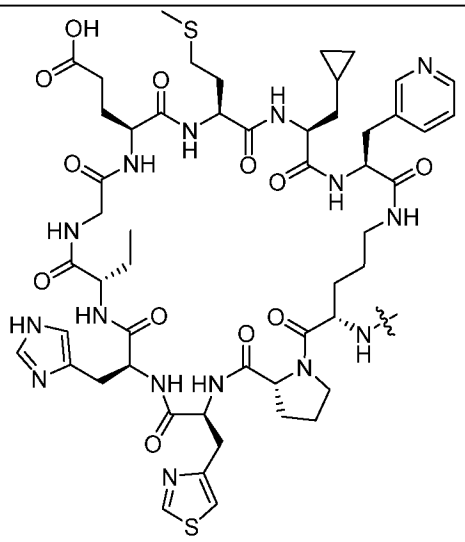
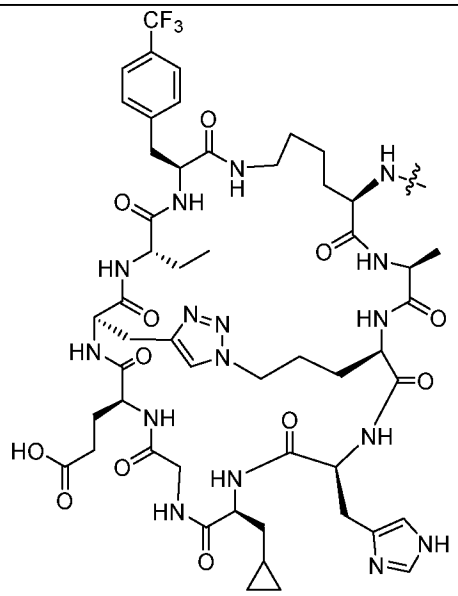
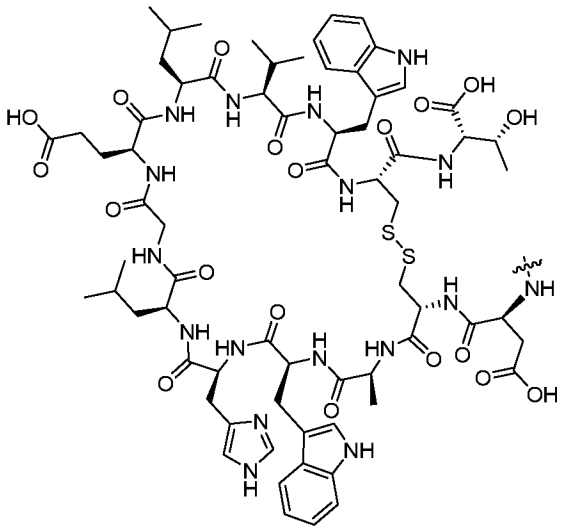
представляет собой Val. В некоторых вариантах осуществления p1 равен 1. В некоторых вариантах осуществления изобретения X^1 представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой Asp. В некоторых вариантах осуществления X^1 представляет собой Glu.

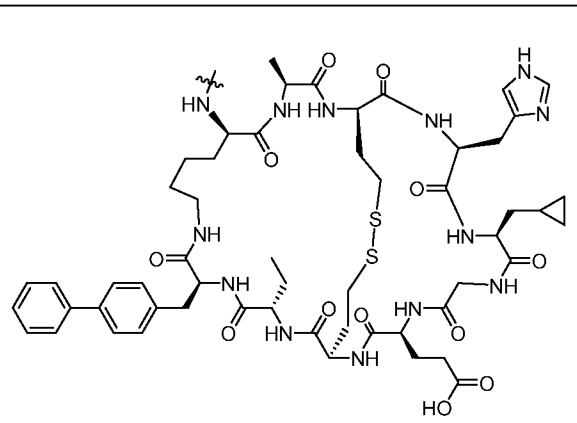
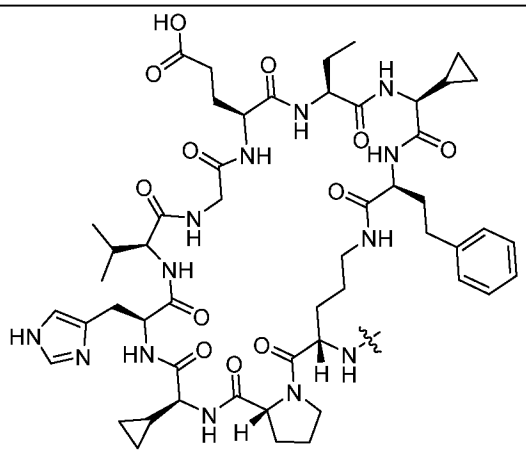
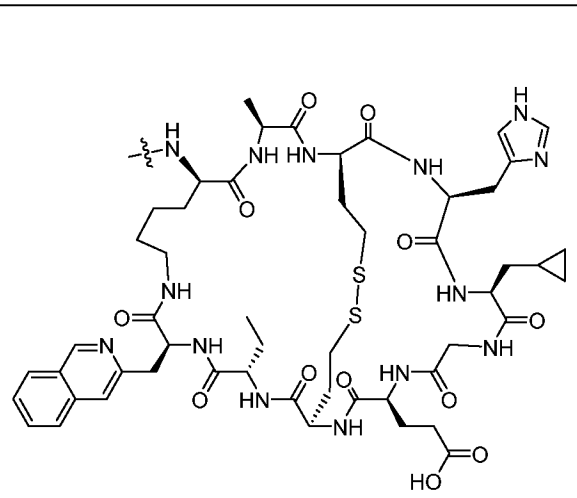
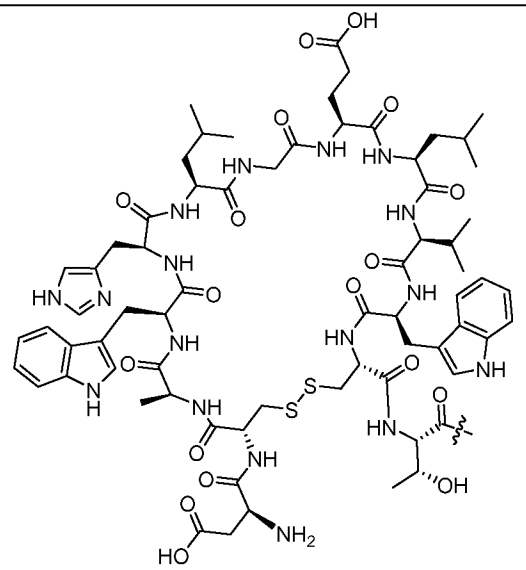
[00155] Как понятно специалистам в данной области техники, аминокислотный остаток может быть заменен другим аминокислотным остатком, имеющим аналогичные свойства, например, один Xaa^H (например, Val, Leu и т. д.) может быть заменен другим Xaa^H (например, Leu, Ile, Ala и т. д.), один Xaa^A может быть заменен другим Xaa^A, один Xaa^P может быть заменен другим Xaa^P, один Xaa^N может быть заменен другим Xaa^N, один Xaa^L может быть заменен другим Xaa^L и т. д.

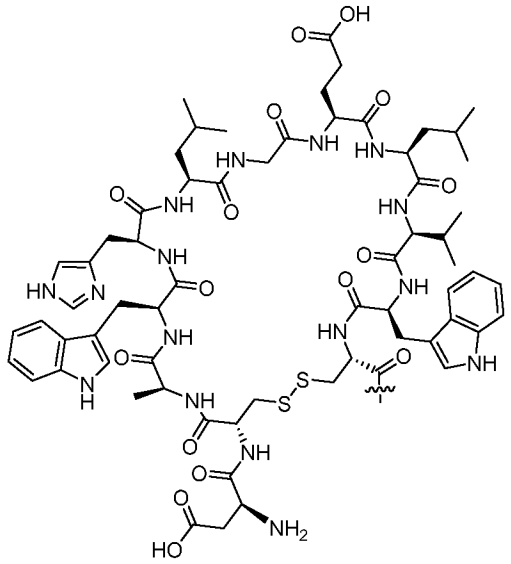
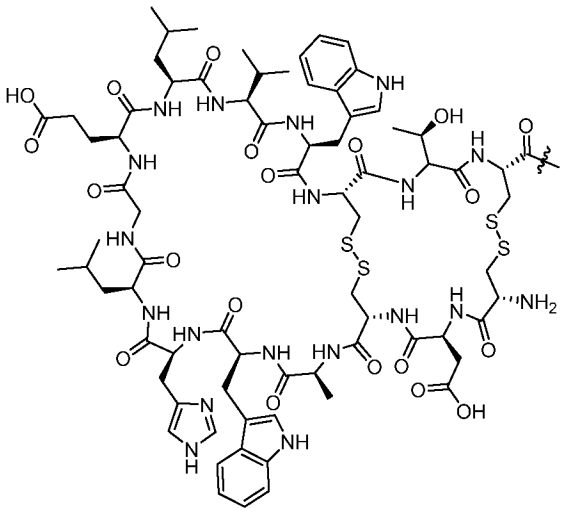
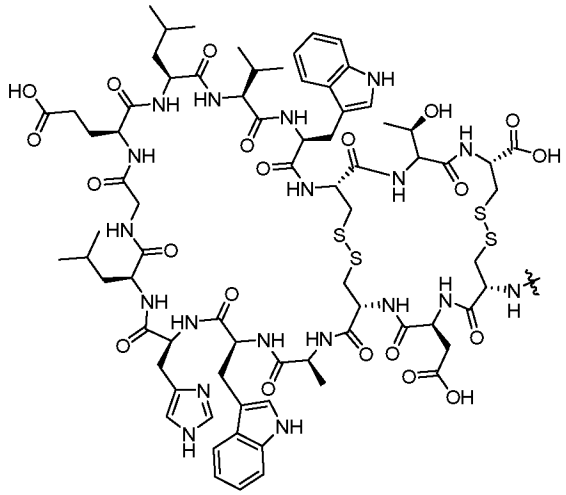
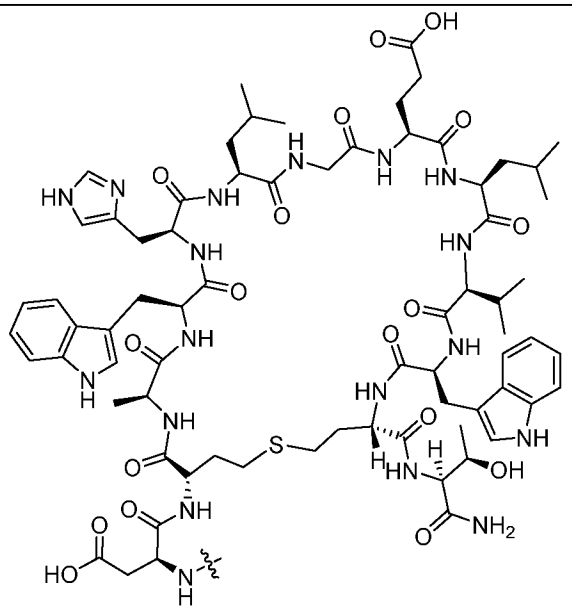
[00156] В некоторых варианты осуществления антитело-связывающий фрагмент, например универсальный антитело-связывающий фрагмент, представляет собой универсальный антитело-связывающий фрагмент соединения в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент, например универсальный антитело-связывающий фрагмент, представляет собой или содержит необязательно замещенный

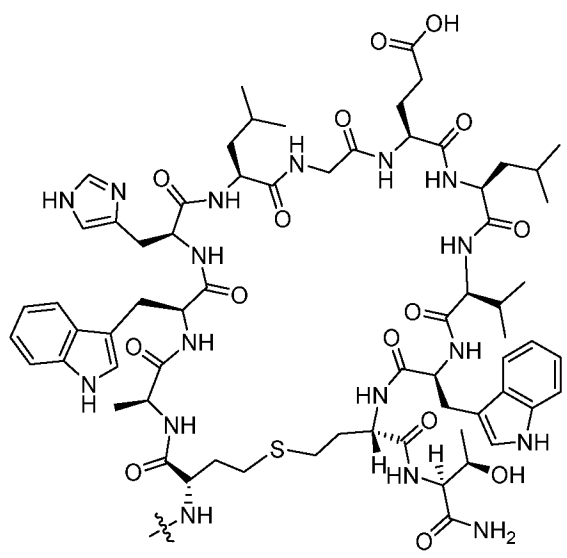
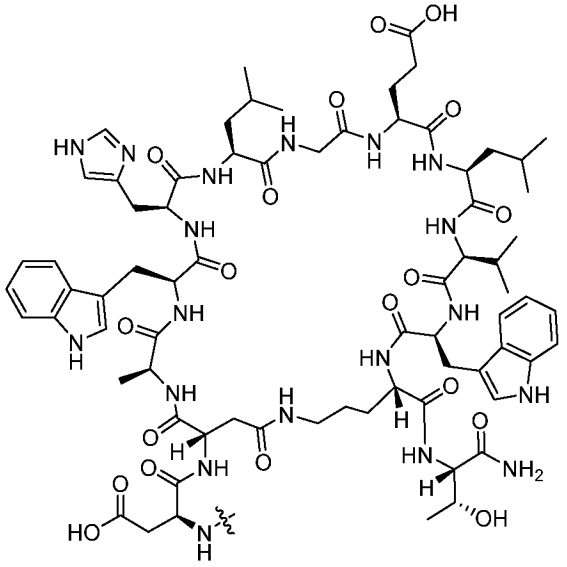
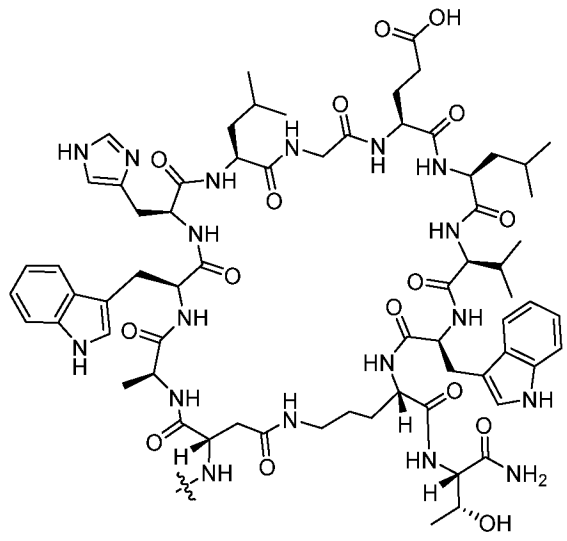
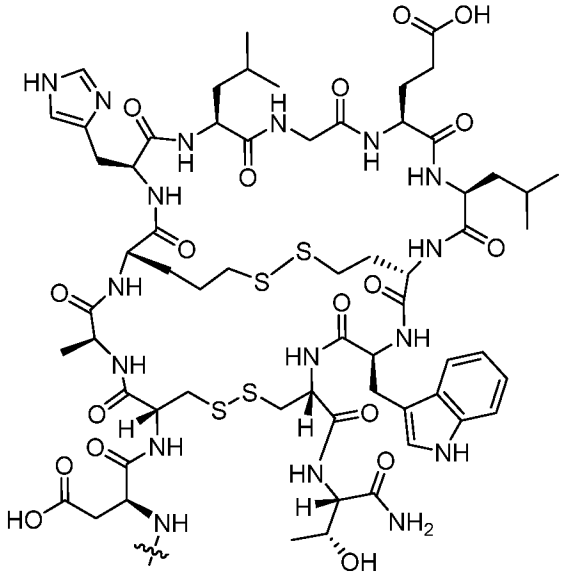
	
A-1	A-2

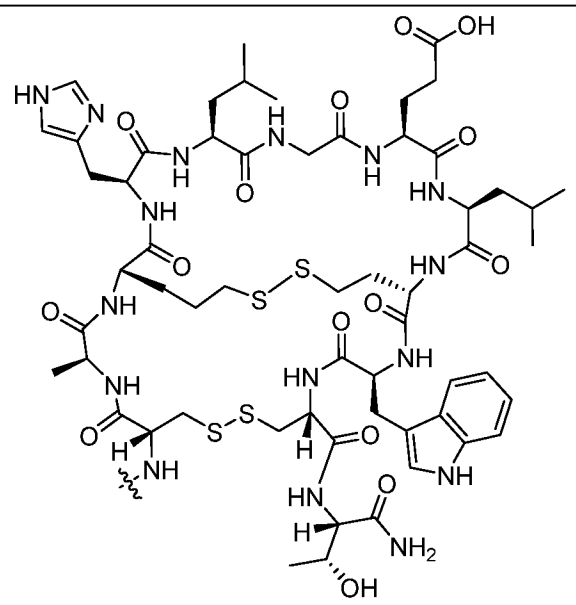
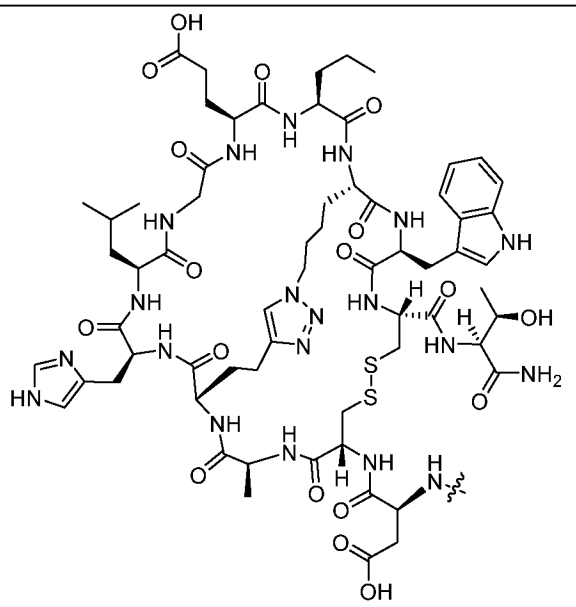
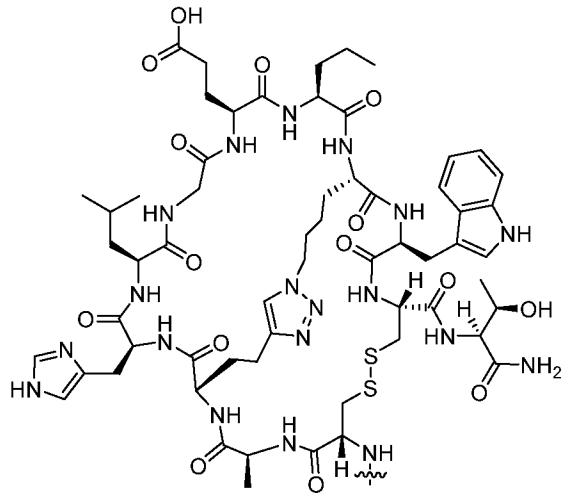
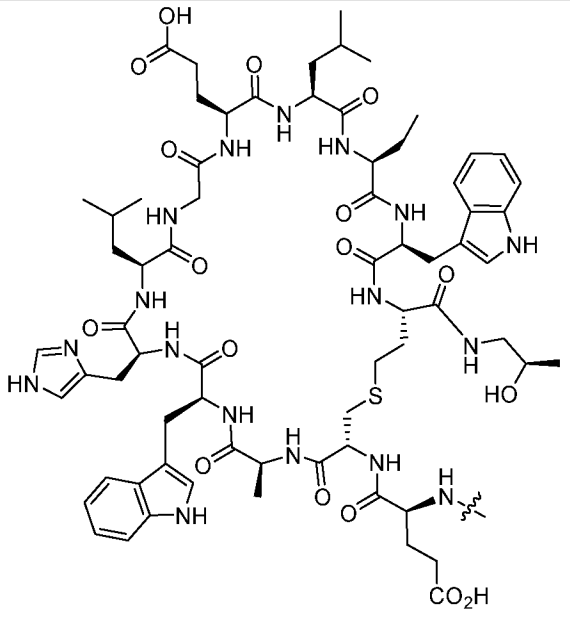
	
A-3	A-4
	
A-5	A-6
	
A-7	A-8

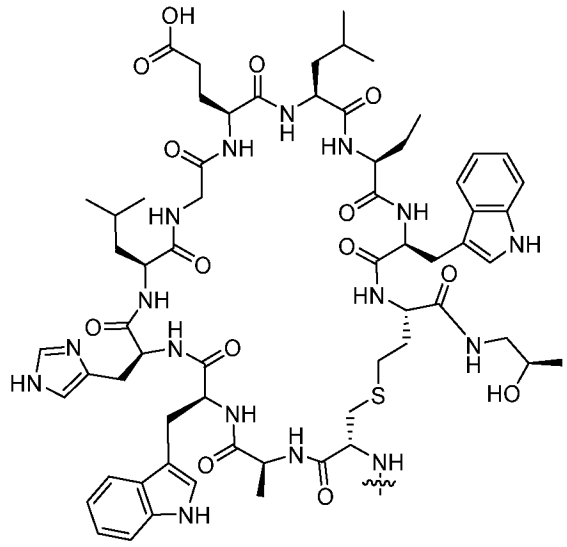
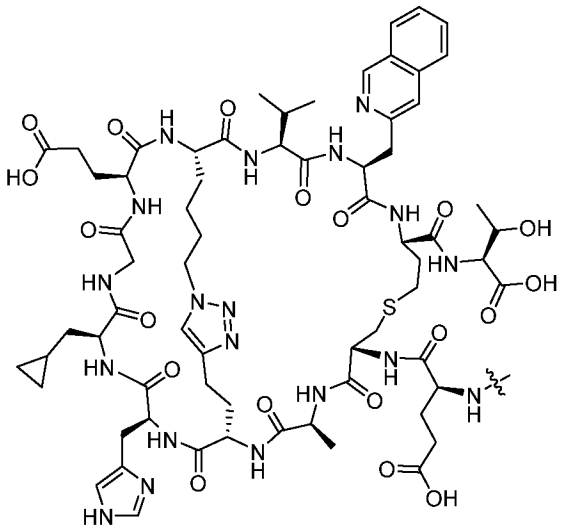
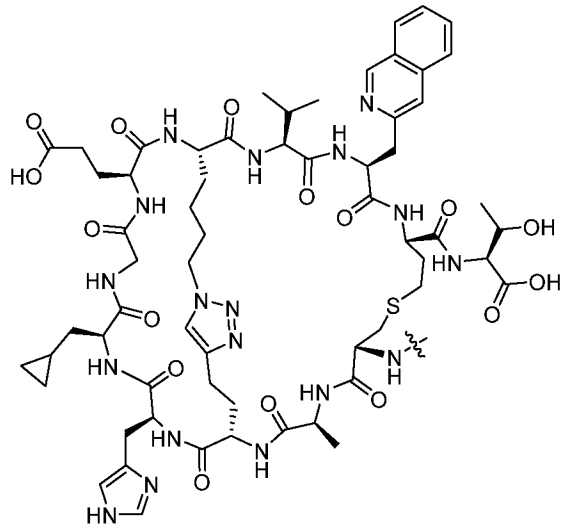
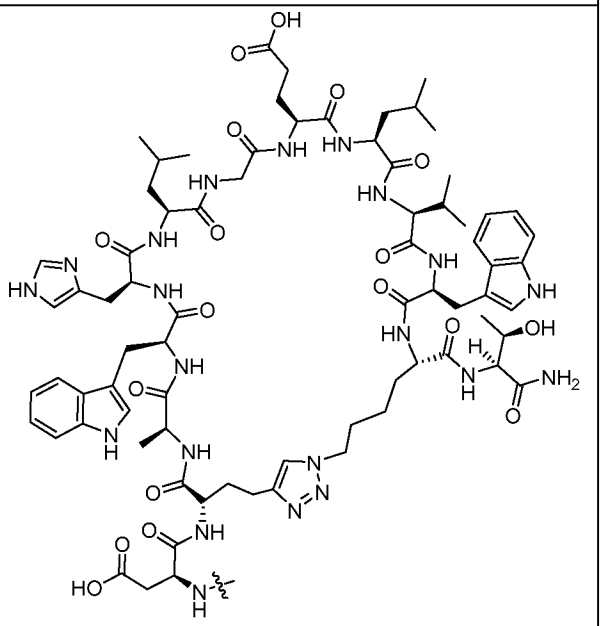
	
A-9	A-10
	
A-11	A-12

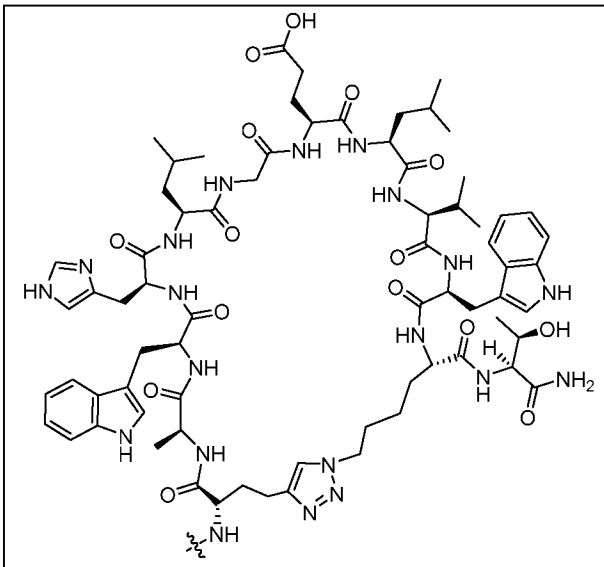
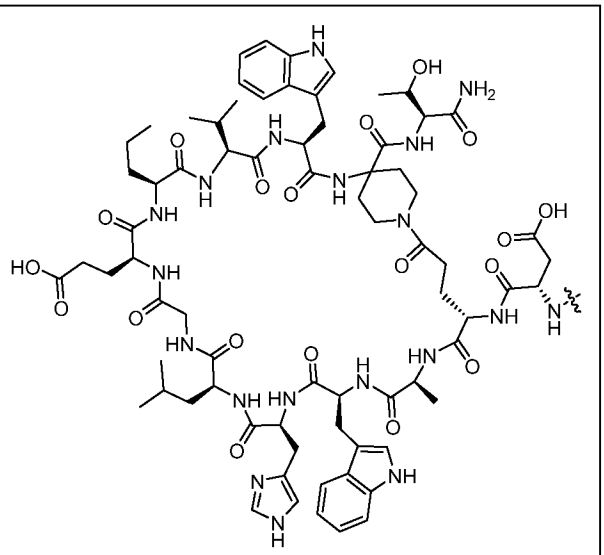
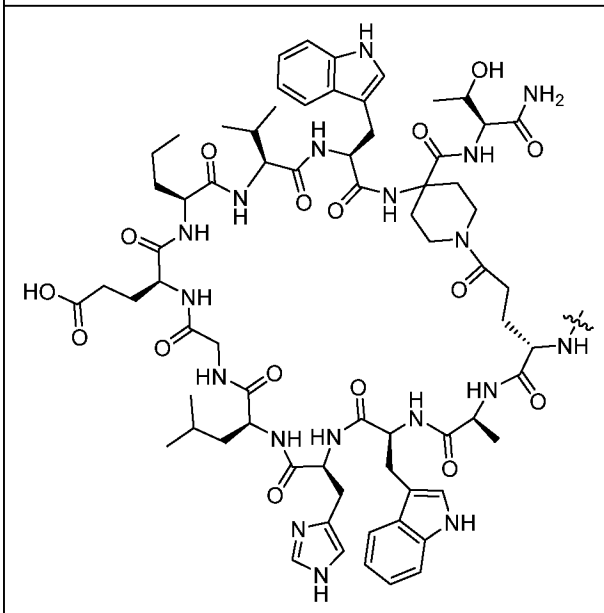
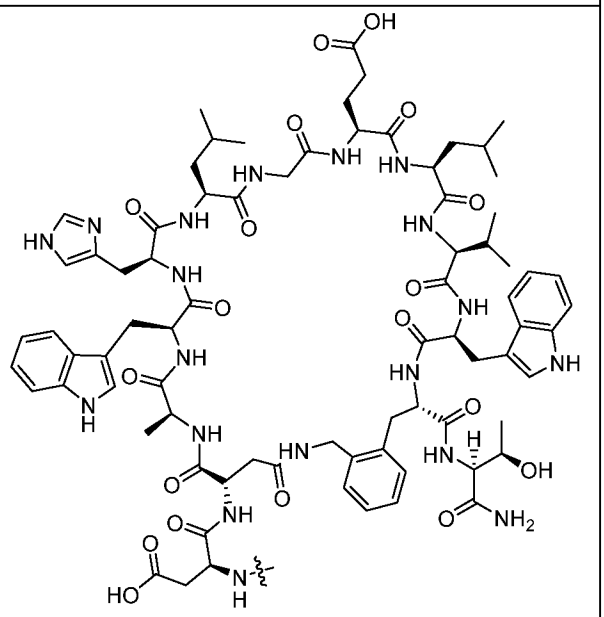
	
A-13	A-14
	
A-15	A-16

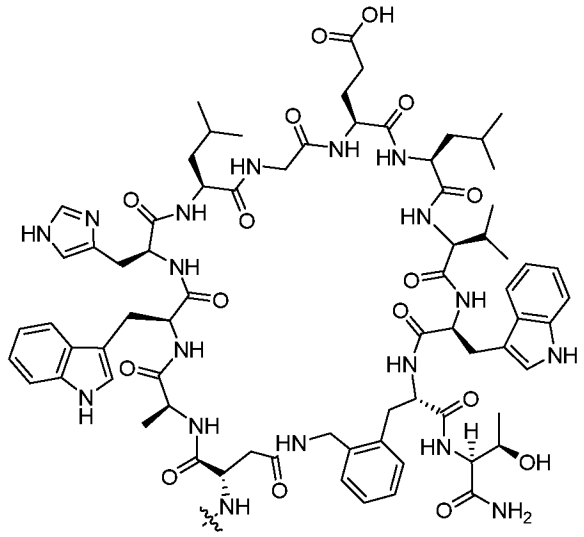
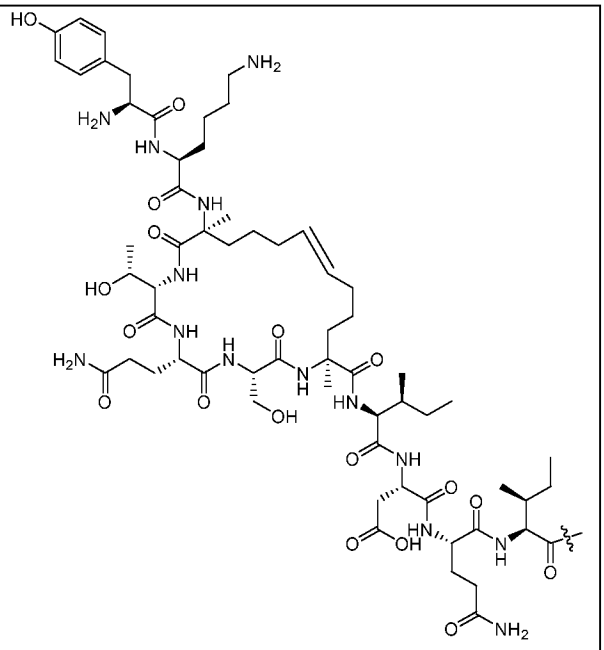
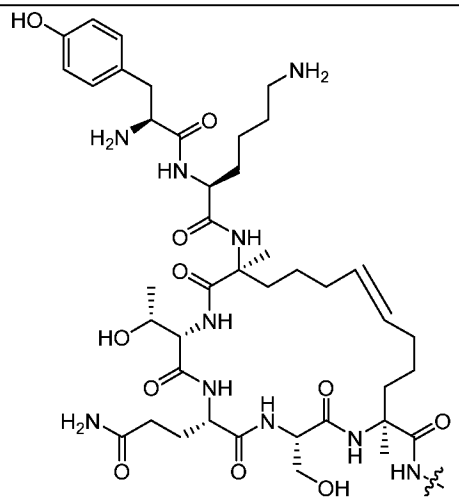
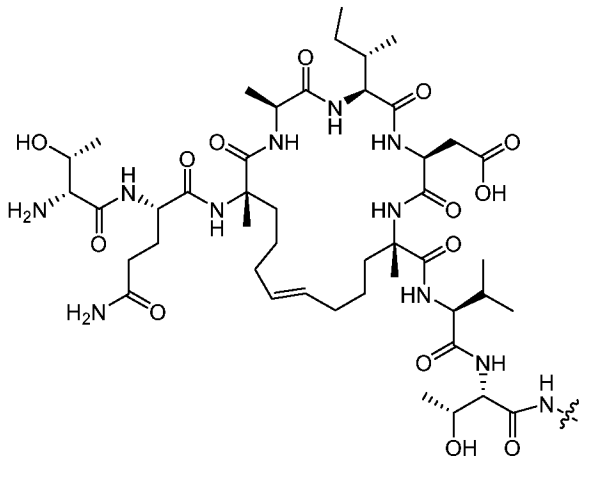
	
A-17	A-18
	
A-19	A-20

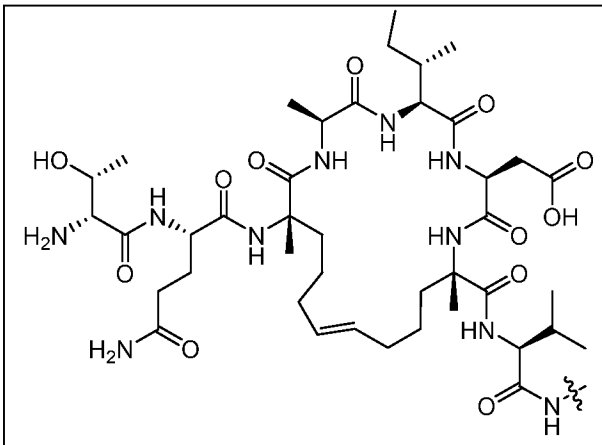
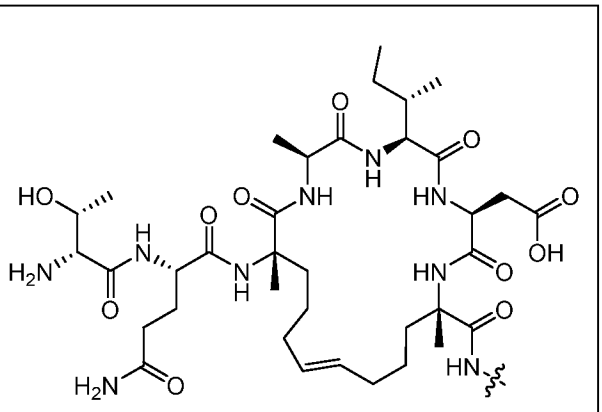
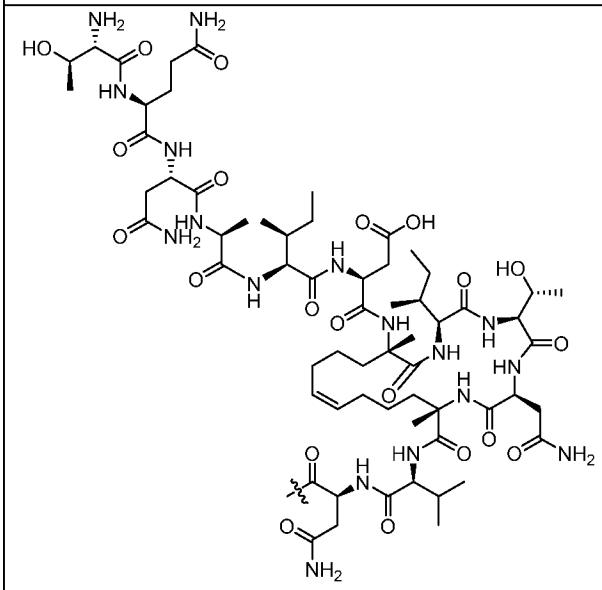
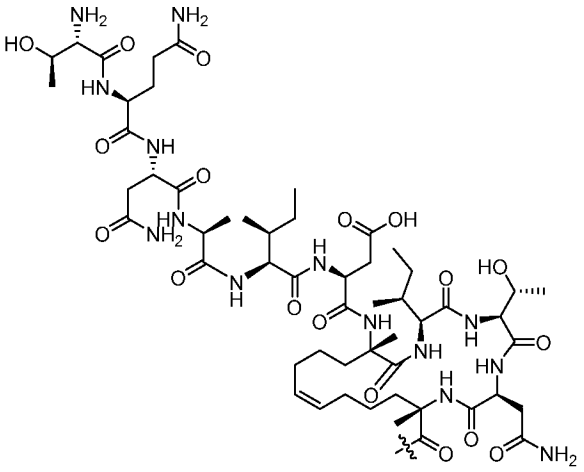
	
A-21	A-22
	
A-23	A−24

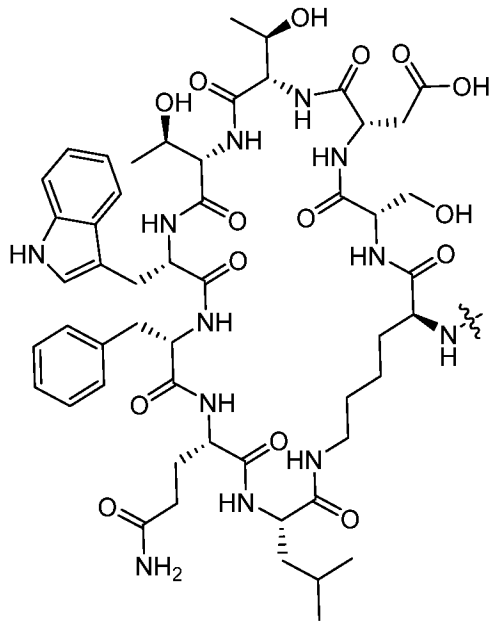
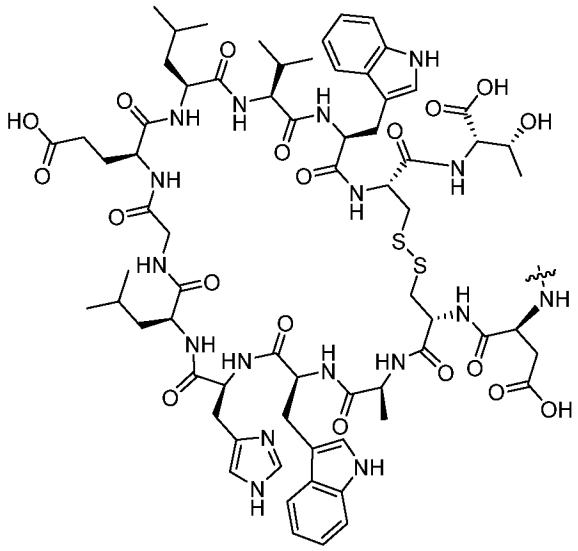
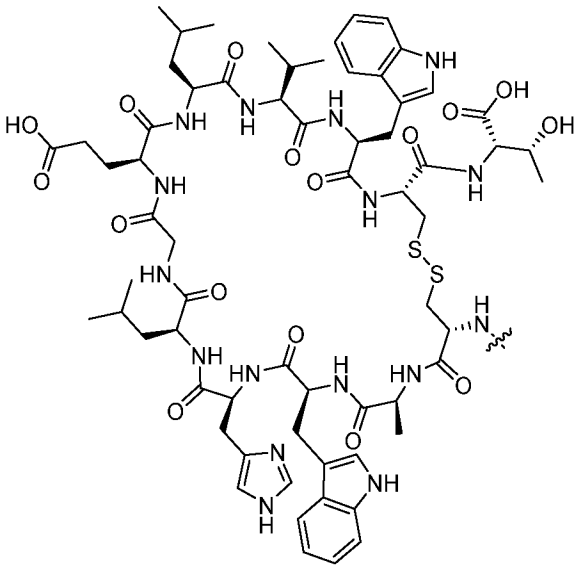
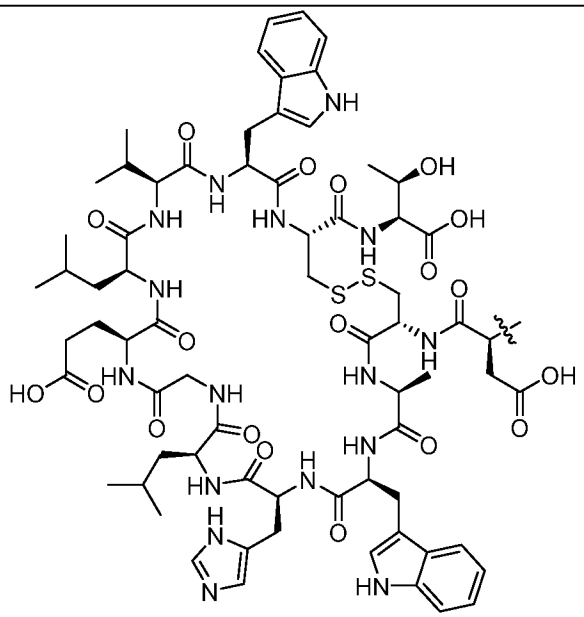
	
A-25	A-26
	
A-27	A-28

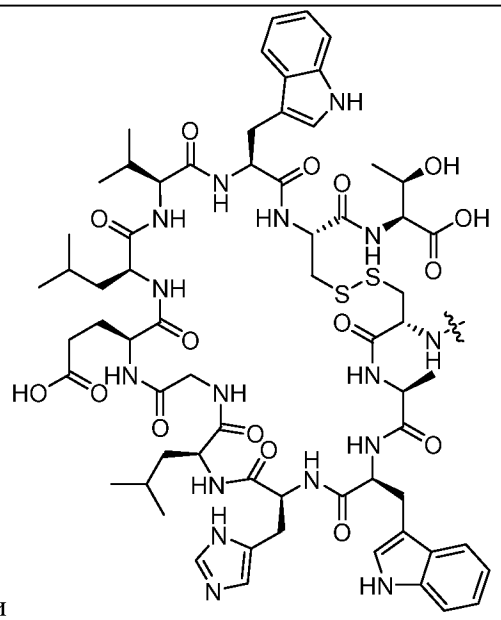
	
A-29	A-30
	
A-31	A-32

	
A-33	A-34
	
A-35	A-36

	
A-37	A-38
	
A-39	A-40

	
A-41	A-42
	
A-43	A-44

	
A-45	A-46
	
A-47	A-48

 или	
A-49	

[00157] В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-1. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-2. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-3. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-4. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-5. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-6. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-7. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-8. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-9. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-10.

В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-11. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-12. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-13. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-14. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-15. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-16. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-17. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-18. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-19. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-20. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-21. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-22. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-23. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-24. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-25. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-26. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-27. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или

включает необязательно замещенный A-28. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-29. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-30. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-31. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-32. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-33. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-34. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-35. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-36. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-37. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-38. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-39. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-40. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-41. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-42. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-43. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-44. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-45. В некоторых вариантах осуществления

универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-46. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-47. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-48. В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает необязательно замещенный A-49. В некоторых вариантах осуществления он незамещенный. В некоторых вариантах осуществления он замещенный.

[00158] В некоторых вариантах осуществления универсальный антитело-связывающий фрагмент включает пептидное звено и соединен с линкерным фрагментом через C-конец пептидного звена. В некоторых вариантах осуществления он соединен с линкерным фрагментом через N-конец пептидного звена. В некоторых вариантах осуществления он соединен через группу боковой цепи пептидного звена.

[00159] В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающий фрагмент, например, универсальный антитело-связывающий фрагмент, представляет собой или включает низкомолекулярный объект с молекулярной массой, например, менее чем 10000, 9000, 8000, 7000, 6000, 5000, 4000, 3000, 2000, 1500, 1000 и т. д. Подходящие такие антитело-связывающие фрагменты включают низкомолекулярные Fc-связывающие фрагменты, например, те, которые описаны в патенте США 9,745,339, патенте США 20130131321 и т. д.

[00160] Как понятно специалистам в данной области техники, антитела с различными свойствами и активностями (например, антитела, распознающие различные антигены, имеющие необязательные модификации и т. д.) могут быть рекрутированы антитело-связывающими фрагментами, описанными в настоящем раскрытии. Некоторые из таких антител включают антитела, вводимые субъекту, например, в терапевтических целях. В некоторых вариантах осуществления антитела, рекрутируемые антитело-связывающими фрагментами, содержат антитела к различным антигенам. В некоторых вариантах осуществления антитела, рекрутируемые антитело-связывающими фрагментами, содержат антитела, антигены которых не присутствуют на поверхности или клеточной мембране клеток-мишеней (например, клеток-мишеней, таких как раковые клетки). В некоторых вариантах осуществления антитела, рекрутируемые антитело-связывающими фрагментами, содержат антитела, которые не нацелены на антигены, присутствующие на поверхности или

клеточной мембране мишеней (например, клеток-мишеней, таких как раковые клетки). Некоторые антигены на поверхности клеток-мишеней могут влиять на структуру, конформацию и/или одно или несколько свойств и/или активности рекрутированных антител, которые связывают такие антигены. В некоторых вариантах осуществления, как понятно специалистам в данной области техники, обеспеченные технологии включают универсальные антитело-связывающие фрагменты, которые рекрутируют антитела с различной специфичностью, и не более 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25 %, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% процентов рекрутированных антител направлено на один и тот же антиген, белок, липид, углевод и т. д. Среди прочего, одним из преимуществ настоящего изобретения является то, что обеспеченные технологии, включающие универсальные антитело-связывающие фрагменты, могут использовать различные пулы антител, такие как присутствующие в сыворотке крови. В некоторых вариантах осуществления универсальные антитело-связывающие фрагменты согласно настоящему раскрытию (например, таковые в ARM) вступают в контакт с множеством антител, причем не более 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 99% процентов множества антитела направлено на один и тот же антиген, белок, липид, углевод и т. д.

Аминокислоты

[00161] В некоторых вариантах осуществления применимые соединения и средства, например, ARM могут содержать одну или несколько аминокислотных групп, например, в универсальных антитело-связывающих фрагментах, линкерных фрагментах и т. д. Аминокислотные фрагменты могут быть либо фрагментами природных аминокислот, либо неприродных аминокислот. В некоторых вариантах осуществления аминокислота имеет структуру формулы **A-I:**

$$NH(R^{a1})–L^{a1}–C(R^{a2})(R^{a3})–L^{a2}–COOH,$$

A-I

или ее соли, где каждая переменная независима, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления аминокислотный остаток имеет структуру $–N(R^{a1})–L^{a1}–C(R^{a2})(R^{a3})–L^{a2}–CO–$.

[00162] В некоторых вариантах осуществления L^{a1} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы A-I имеет структуру $NH(R^{a1})–C(R^{a2})(R^{a3})–L^{a2}–COOH$.

[00163] В некоторых вариантах осуществления L^{a2} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы A-I имеет структуру $NH(R^{a1})–C(R^{a2})(R^{a3})–L^{a2}–COOH$.

[00164] В некоторых вариантах осуществления L^{a1} представляет собой ковалентную связь и L^{a2} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления соединение формулы A-I имеет структуру $NH(R^{a1})–C(R^{a2})(R^{a3})–COOH$.

[00165] В некоторых вариантах осуществления L^{a} представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^{a} представляет собой необязательно замещенную двухвалентную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления L^{a} представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкилен. В некоторых вариантах осуществления L^{a} представляет собой $–CH_2–$. В некоторых вариантах осуществления L^{a} представляет собой $–CH_2CH_2–$. В некоторых вариантах осуществления L^{a} представляет собой $–CH_2CH_2CH_2–$.

[00166] В некоторых вариантах осуществления R’ представляет собой R. В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой R, где R такой, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R, где R такой, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R, где R такой, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^{a1}, R^{a2} и R^{a3} независимо представляет собой R, где R такой, как описано в настоящем раскрытии.

[00167] В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой водород и по меньшей мере один из R^{a2} и R^{a3} представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой водород, один из R^{a2} и R^{a3} представляет собой водород и другой не является водородом.

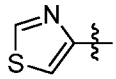
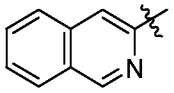
[00168] В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $-L^{a}-R$, где R такой, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $-L^{a}-R$, где R представляет собой необязательно замещенную группу,

выбранную из C_{3-30} циклоалифатической группы, C_{5-30} арила, 5-30-членного гетероарила, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклила, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $-L^a-R$, где R представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{6-30} арила и 5-30-членного гетероарила, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой боковую цепь аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой боковую цепь стандартной аминокислоты.

[00169] В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $-L^a-R$, где R такой, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $-L^a-R$, где R представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{3-30} циклоалифатической группы, C_{5-30} арила, 5-30-членного гетероарила, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероарила, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $-L^a-R$, где R представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{6-30} арила и 5-30-членного гетероарила, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой боковую цепь аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой боковую цепь стандартной аминокислоты.

[00170] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{3-30} циклоалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклопропил.

[00171] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой ароматическую группу и аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I** представляет собой Xaa^A. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный фенил. В

некоторых вариантах осуществления R представляет собой 4-трифторметилфенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 4-фенилфенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-30-членный гетероарил, имеющий от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 5-14-членный гетероарил, имеющий от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный пиридинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 1-пиридинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 2-пиридинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 3-пиридинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой  .

[00172] В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой -COOH. В некоторых вариантах осуществления соединение аминокислотного остатка аминокислоты формулы **A-I** представляет собой Xaa^H.

[00173] В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой $-NH_2$. В некоторых вариантах осуществления соединение аминокислотного остатка аминокислоты формулы **A-I** представляет собой Xaa^P.

[00174] В некоторых вариантах осуществления R^{a2} или R^{a3} представляет собой R, где R представляет собой C_{1-20} алифатическую группу, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления соединение аминокислотного остатка аминокислоты формулы **A-I** представляет собой Xaa^H. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $-CH_3$. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой пропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклопропил.

[00175] В некоторых вариантах осуществления два или более из R^{a1}, R^{a2} и R^{a3} представляют собой R и взяты вместе с образованием необязательно замещенного кольца, как описано в настоящем раскрытии.

[00176] В некоторых вариантах осуществления R^{a1} и один из R^{a2} и R^{a3} представляют собой R и взяты вместе с образованием необязательно замещенного 3-6-членного кольца, не имеющего дополнительного кольцевого гетероатома, кроме атома азота, с которым связан R^{a1}. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо представляет собой 5-членное кольцо, как в пролине.

[00177] В некоторых вариантах осуществления R^{a2} и R^{a3} представляют собой R и взяты вместе с образованием необязательно замещенного 3-6-членного кольца, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} и R^{a3} представляют собой R и взяты вместе с образованием необязательно замещенного 3-6-членного кольца, содержащего один или несколько кольцевых атомов азота. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} и R^{a3} представляют собой R и взяты вместе с образованием необязательно замещенного 3-6-членного кольца, имеющего один и не более одного кольцевого гетероатома, который представляет собой атом азота. В некоторых вариантах осуществления кольцо представляет собой насыщенное кольцо.

[00178] В некоторых вариантах осуществления аминокислота представляет собой природную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислота представляет собой неприродную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислота является альфа-аминокислотой. В некоторых вариантах осуществления аминокислота является бета-аминокислотой.

Мишень

[00179] В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие обеспечивает технологии для селективно направляющих средств, включающих мишень-связывающие фрагменты (например, соединения ARM), антитела и иммунные клетки, например, NK-клетки, к желаемым участкам-мишеням, содержащим одну или несколько мишеней. Специалисты в данной области техники поймут, что обеспеченные технологии применимы для различных типов мишеней.

[00180] Некоторые мишени представляют собой поврежденные или дефектные ткани. В некоторых вариантах осуществления мишенью является поврежденная ткань. В некоторых вариантах осуществления мишень представляет собой дефектную ткань. В некоторых вариантах осуществления мишень связана с заболеванием, нарушением или состоянием, например, раком, раной и т. д. В некоторых вариантах осуществления мишень представляет

собой опухоль. В некоторых вариантах осуществления мишени представляют собой больные клетки или содержат их. В некоторых вариантах осуществления мишени представляют собой раковые клетки или содержат их. В некоторых вариантах осуществления мишень представляет собой посторонний объект. В некоторых вариантах осуществления мишень представляет собой инфекционное средство или содержит его. В некоторых вариантах осуществления мишень представляет собой микроб. В некоторых вариантах осуществления мишень представляет собой или содержит бактерии. В некоторых вариантах осуществления мишень представляет собой или содержит вирусы.

[00181] Во многих вариантах осуществления мишенями являются ткани и/или клетки, связанные с заболеваниями, расстройствами или состояниями, особенно с различными типами рака. Некоторые мишени представляют собой раковые клетки или содержат их. Среди прочего, в настоящем раскрытии обеспечены технологии, которые особенно применимы для избирательного нацеливания иммунной системы на раковые клетки, например, путем рекрутирования антител (например, эндогенных антител) и иммунных клеток, например, NK-клеток, с использованием ARM.

[00182] Во многих вариантах осуществления мишенями являются клетки рака или пролиферативного состояния, расстройства или заболевания. В некоторых вариантах осуществления рак или пролиферативное состояние, нарушение или заболевание выбрано из доброкачественной опухоли, злокачественной опухоли, солидной опухоли, карциномы мозги, почек, печени, надпочечников, мочевого пузыря, груди, желудка, опухолей желудка, яичников, толстой кишки, прямой кишки, предстательной железы, поджелудочной железы, легкого, влагалища, шейки матки, яичка, мочеполовых путей, пищевода, гортани, кожи, кости или щитовидной желези, саркомы, глиобластомы, нейробластомы, множественной миеломы, рака желудочно-кишечного тракта, особенно рака толстой кишки или колоректальной аденомы, опухоли шеи и головы, гиперпролиферации эпидермиса, псориаза, гиперплазии предстательной железы, неоплазии, неоплазии эпителиального характера, аденомы, аденокарциномы, кератоакантомы, эпидермоидной карциномы, крупноклеточной карциномы, немелкоклеточной карциномы, лимфомы Ходжкина и неходжкинской лимфомы, карциномы молочной железы, фолликулярной карциномы, недифференцированной карциномы, папиллярной карциномы, семиномы, меланомы, гематологических злокачественных новообразований (включая лейкоз, диффузную В-крупноклеточную лимфому (DLBCL), ABC DLBCL, хронический лимфоцитарный лейкоз

(CLL), хроническую лимфоцитарную лимфому, первичную выпотную лимфому, лимфому/лейкоз Беркитта, острый лимфоцитарный лейкоз, В-клеточную пролимфоцитарную лимфому, лимфоплазмоцитарную лимфому, макроглобулинемию Вальденстрема (WM), лимфому маргинальной зоны селезенки, множественную миелому, плазмоцитому и внутрисосудистую крупноклеточную лимфому).

[00183] Участки-мишени, как правило, содержат один или несколько физических, химических и/или биологических маркеров, которые могут быть использованы, например, с помощью мишень-связывающих фрагментов соединений (например, ARM), для селективного набора антител и/или их фрагментов, и/или иммунных клеток к мишеням.

[00184] В некоторых вариантах осуществления клетки участков-мишеней содержат один или несколько характерных агентов, действительно применимых для нацеливания. В некоторых вариантах осуществления такие агенты представляют собой белки и/или их фрагменты. В некоторых вариантах осуществления такие агенты представляют собой антигены, которые специфически связаны с заболеваниями, расстройствами или состояниями.

[00185] Например, в некоторых вариантах осуществления раковые клетки могут содержать один или несколько опухолеспецифических антигенов или связанных с опухолью антигенов. Мишень-связывающие фрагменты, как описано в настоящем раскрытии, могут избирательно связываться с такими маркерами. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающие фрагменты настоящего раскрытия представляют собой небольшие молекулы, которые применимы для связывания с белками клеточной поверхности и/или белками внутри клеток.

[00186] В некоторых вариантах осуществления характерные агенты, например, клеток-мишеней и т. д., представляют собой или содержат углеводы, например, те, что находятся на поверхности клетки, в гликозилированных белках и т. д. В некоторых вариантах осуществления характерные агенты представляют собой или содержат липиды.

[00187] В некоторых вариантах осуществления характерные агенты, например, клеток-мишеней и т. д., являются внеклеточными. Некоторые характерные агенты представляют собой внеклеточные белки. В некоторых вариантах осуществления характерные агенты находятся на поверхности клеток. В некоторых вариантах осуществления характерными агентами являются белки, присутствующие на поверхности клетки. Например, во многих опухолевых тканях муцины клеточной поверхности и/или внеклеточные муцины

демонстрируют различные уровни и/или паттерны гликозилирования и могут использоваться для нацеливания.

[00188] В некоторых вариантах осуществления сайты нацеливания, например, пораженные ткани и т. д., обладают одним или несколькими физическими, биологическими и/или химическими свойствами, которые могут быть использованы мишень-связывающими фрагментами. В некоторых вариантах осуществления таким свойством является pH. В некоторых вариантах осуществления таким свойством является концентрация одного или нескольких химических веществ. Например, микроокружение опухоли часто бывает гипоксическим и/или кислым (например, pH 6,5-6,9 против 7,2-7,4).

[00189] В некоторых вариантах осуществления изобретения мишенями являются пептиды или их фрагменты. В некоторых вариантах осуществления мишени представляют собой или содержат белки или их фрагменты-мишени. В некоторых вариантах осуществления мишенью является авидин. В некоторых вариантах осуществления мишенью является стрептавидин. В некоторых вариантах осуществления мишень представляет собой или содержит антиген. В некоторых вариантах осуществления мишень представляет собой опухолеспецифический антиген или содержит его. В некоторых вариантах осуществления мишень представляет собой или содержит опухоль-ассоциированный антиген (tumor-associated antigen (TAA)).

[00190] В некоторых вариантах осуществления опухоль-ассоциированные антигены представляют собой или содержат углеводы. В некоторых вариантах осуществления указанные мишень-связывающие фрагменты нацелены на такие TAA. В некоторых вариантах осуществления углевод входит в состав гликопротеина. В некоторых вариантах осуществления углевод входит в состав гликолипида. Многие состояния, расстройства и заболевания, например, различные типы рака, связаны с аберрантным гликозилированием. В некоторых вариантах осуществления опухоль-ассоциированные углеводные антигены (tumor-associated carbohydrate antigens (TACA)) включают и/или связаны с измененной экспрессией сиаловой кислоты, измененной экспрессией углеводного антигена Льюиса, измененной экспрессией ганглиозидов и т. д. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающие фрагменты настоящего раскрытия могут нацеливаться на различные типы TACA, включая те, которые описаны в данной области, например, в Chua and Durrant, Monoclonal Antibodies Against Tumour-Associated Carbohydrate Antigens, Carbohydrate Mahmut Caliskan, IntechOpen, DOI: 10.5772/66996.

[00191] В некоторых вариантах осуществления опухоль-ассоциированный антиген представляет собой рецептор клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления TAA выбран из следующего: BMPR1B (костный морфогенетический белок рецептора типа I-B, номер доступа в Genbank NM_001203), E16 (LAT1, SLC7A5, номер доступа в Genbank NM_003486), STEAP1 (шестой трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы, номер доступа в Genbank NM_012449), 0772P (CA125, MUC16, номер доступа в Genbank AF361486), MPF (MPF, MSLN, SMR, фактор потенцирования мегакариоцитов, мезотелин, номер доступа в Genbank NM_005823), Napi3b (NAPI-3B, NPTII-b, SLC34A2, семейство носителей растворенного вещества 34 (фосфат натрия), член 2, тип II натрий-зависимый транспортер фосфата 3b, номер доступа в Genbank NM_006424), Sema 5b (FLJ10372, KI-AA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, Семафорин 5b Hlog, домен sema, семь тромбоспондиновых повторов (тип 1 и подобные типу 1), трансмембранный домен (TM) и короткий цитоплазматический домен, (семафорин) 5B, номер доступа в Genbank AB040878), PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008016Rik, кДНК RIKEN 2700050C12, кДНК RIKEN ген 2700050C12, номер доступа в Genbank AY35 8628), ETBR (рецептор эндотелина тип B, номер доступа в Genbank AY275463), MSG783 (RNF124, гипотетический белок FLJ20315, номер доступа в Genbank NM_017763), STEAP2 (HGNC--8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMPI, STEAP2, STMP, ген 1, связанный с раком предстательной железы, белок 1, связанный с раком предстательной железы, шестой трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы 2, шестой трансмембранный белок предстательной железы, номер доступа в Genbank AF455138), TrpM4 (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, транзиторный рецептор катионного канала потенциала, подсемейство M, компонент 4, номер доступа в Genbank NM_ 017636), CRIPTO (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, тератокарциномный фактор роста, номер доступа в Genbank NP - 003203 или NM_003212), CD21 (CR2 (рецептор комплемента 2) или C3DR (C3d/рецептор вируса Эпштейна-Барр) или Hs.73792 номер доступа в Genbank M26004), CD79b (CD79B, CD79 β, IGb (иммуноглобулин-связанный бета), B29, номер доступа в Genbank NM_000626), FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (SH2 домен, содержащий якорный белок фосфатазы 1a), SPAP1B, SPAP1C, номер доступа в Genbank NM_030764), HER2 (номер доступа в Genbank M1730), NCA (номер доступа в Genbank M18728), MDP (номер доступа в Genbank BC017023), IL20Rα (номер доступа в Genbank AF184971), Бревикан (номер доступа в Genbank AF229053, EphB2R (номер доступа в Genbank NM_004442),

ASLG659 (номер доступа в Genbank AX092328), PSCA (номер доступа в Genbank AJ297436), GEDA (номер доступа в Genbank AY260763, BAFF-R (рецептор фактора, активирующего B-клетки, BLyS рецептор 3, BR3, NP - 443177.1), CD22 (B-клеточный рецептор CD22-B изоформа, NP - - 001762.1), CD79a (CD79A, CD79.alpha, иммуноглобулин-связанный альфа, специфичный для B-клеток белок, который ковалентно взаимодействует с Ig бета (CD79B) и образует комплекс на поверхности с молекулами IgM, трансдуцирует сигнал, участвующий в B-дифференциации клеток, инвентарный номер Genbank NP - 001774.1), CXCR5 (рецептор 1 лимфомы Беркитта, рецептор, связанный с G-белком, который активируется хемокином CXCL13, действует в миграции лимфоцитов и гуморальной защите, играет роль в инфекции ВИЧ-2 и, возможно, в развитии СПИД, лимфомы, миеломы и лейкоза, номер доступа в Genbank NP - 001707.1), HLA-DOB (бета-субъединица молекулы MHC класса II (антиген I-a), которая связывает пептиды и представляет их CD4+ T-лимфоцитам, номер доступа в Genbank NP - 002111.1), P2X5 (пуринергический рецептор P2X, лиганд-зависимый ионный канал 5, ионный канал, управляемый внеклеточным АТФ, может участвовать в синаптической передаче и нейрогенезе, дефицит может вносить вклад в патофизиологию идиопатическую нестабильности детрузора, номер доступа в Genbank NP_002552.2), CD72 (антиген дифференцировки B-клеток CD72, Lyb-2, номер доступа в Genbank NP_001773.1), LY64 (лимфоцитарный антиген 64 (RP105), тип I мембранный белок семейства, богатого лейциновыми повторами (LRR), регулирует активацию B-клеток и апоптоз, потеря функции связана с повышенной активностью заболевания у пациентов с системной красной волчанкой, номер доступа в Genbank No. NP - 005573.1), FcRH1 (белок 1, подобный Fc рецептору, предполагаемый рецептор Fc-домена иммуноглобулина, который содержит Ig-подобные домены C2 и ITAM-домены, может играть роль в дифференцировке B-лимфоцитов, номер доступа в Genbank NP - 443170.1), IRTA2 (рецептор суперсемейства иммуноглобулинов, связанный с транслокацией 2, предполагаемый иммунорецептор с возможной ролью в развитии B-клеток и лимфомагенезе; дерегуляция гена путем транслокации происходит при некоторых злокачественных новообразованиях B-клеток, номер доступа в Genbank No. NP - 112571.1); и TENB2 (предполагаемый трансмембранный протеогликан, относящийся к семейству факторов роста EGF/херегулин и фоллистатин, номер доступа в Genbank AF 179274.

[00192] В некоторых вариантах осуществления мишени представляют собой или содержат нуклеиновые кислоты.

[00193] В некоторых вариантах осуществления мишени представляют собой или содержат липиды.

[00194] Некоторые мишени являются углеводами или содержат их. В некоторых вариантах осуществления мишени представляют собой или содержат углеводы, связанные с заболеваниями, расстройствами или состояниями. В некоторых вариантах осуществления мишени представляют собой или содержат углеводы, связанные с раком, например, углеводы в виде гликановых модификаций белков, например, на поверхности или вне раковых клеток.

Мишень-связывающие фрагменты

[00195] Мишень-связывающие фрагменты различных типов и химических классов могут быть использованы в соответствии с настоящим раскрытием и рядом технологий (например, анализы, реагенты, наборы и т. д.) для идентификации и/или оценки свойств мишень-связывающих фрагментов, которые можно использовать в соответствии с настоящим раскрытием. Обычно мишень-связывающие фрагменты взаимодействуют с сайтами-мишенями через одно или несколько физических, биологических и/или химических свойств. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающие фрагменты связываются с характерными агентами, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающие фрагменты связываются с поверхностными, внеклеточными и/или внутриклеточными белками, углеводами и/или нуклеиновыми кислотами. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающие фрагменты связываются с поверхностными белками клеток-мишеней. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающие фрагменты представляют собой небольшие молекулы. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающие фрагменты представляют собой антительные агенты. В некоторых вариантах осуществления связывающие мишень фрагменты представляют собой агенты-нуклеиновые кислоты, такие как аптамеры. В некоторых вариантах осуществления связывающие мишень фрагменты представляют собой липидные фрагменты. Некоторые типы мишень-связывающих фрагментов описаны ниже; Специалистам в данной области техники понятно, что другие типы мишень-связывающих фрагментов, включая многие известные в данной области техники, также могут быть использованы в соответствии с настоящим раскрытием.

[00196] В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающие фрагменты связываются с мишенями через один или несколько белков, липидов, нуклеиновых кислот, углеводов, малых молекул и т. д. мишеней. Например, в некоторых вариантах осуществления мишень-связывающие фрагменты связываются с опухолеспецифическими антигенами раковых клеток-мишеней. В некоторых вариантах осуществления опухолеспецифический антиген представляет собой или включает углевод или его фрагмент. В некоторых вариантах осуществления опухолеспецифический антиген представляет собой или включает белок или его фрагмент.

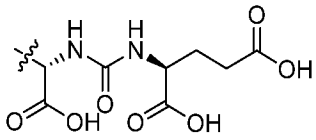
[00197] В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающие фрагменты связываются с белками, углеводами или липидами клеточной поверхности. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент связывается с CD19. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент связывается с CD20. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент связывается с CD22. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент связывается с CD30. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент связывается с CD33. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент связывается с CD123.

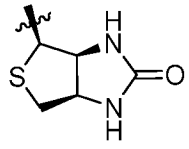
a. Небольшие молекулы

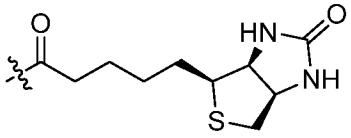
[00198] В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент представляет собой низкомолекулярный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 8000, 7000, 6000, 5000, 4000, 3000, 2000, 1500, 1000, 900, 800, 700 или 600. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 8000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 7000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 6000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 5000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 4000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 3000. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 2000. В некоторых

низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 1500. В некоторых низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 1000. В некоторых низкомолекулярный фрагмент имеет молекулярную массу не более 900. Среди прочего, настоящее раскрытие охватывает признание того факта, что небольшие молекулы, связывающие мишень, могут быть способны связываться с маркерами вне, на поверхности и/или внутри мишеней, например, раковых клеток.

[00199] В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный мишень-связывающий фрагмент представляет собой или включает группу, которая избирательно связывается с белком или его фрагментом, например, антигеном рака. Например, мишень-связывающий фрагмент представляет собой или включает фрагмент, который избирательно связывается с простатоспецифическим мембранным антигеном (PSMA). В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент представляет собой или включает.



[00200] В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный мишень-связывающий фрагмент представляет собой или включает биотиновый фрагмент. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный мишень-связывающий фрагмент представляет собой или включает  . В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный мишень-связывающий фрагмент представляет собой или включает

 .

b. Пептидные агенты

[00201] В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент представляет собой или включает пептидный агент. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент представляет собой пептидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления пептидный фрагмент может быть линейным или циклическим. В

некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент представляет собой или включает циклический пептидный фрагмент. Различные пептидные мишень-связывающие фрагменты известны в данной области техники и могут быть использованы в соответствии с настоящим раскрытием.

[00202] В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент представляет собой или включает пептидный аптамерный агент.

c. Аптамерные агенты

[00203] В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент представляет собой или включает агент нуклеиновой кислоты. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент представляет собой или включает олигонуклеотидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления мишень-связывающий фрагмент представляет собой аптамерный агент или содержит его. Различные аптамерные агенты известны в данной области техники или могут быть легко разработаны с использованием обычных технологий и могут использоваться в предлагаемых технологиях в соответствии с настоящим раскрытием.

Линкерные фрагменты

[00204] В некоторых вариантах осуществления антитело-связывающие фрагменты необязательно связаны с мишень-связывающими фрагментами через линкерные фрагменты. Линкерные фрагменты различных типов и/или для различных мишеней, например, те, которые используются в конъюгатах антитело-лекарственное средство и т. д., могут использоваться в соответствии с настоящим описанием.

[00205] Линкерные фрагменты могут быть двухвалентными или поливалентными. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент является двухвалентным. В некоторых вариантах осуществления линкер является поливалентным и соединяет более двух частей.

[00206] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент представляет собой L. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь или двухвалентную или поливалентную, необязательно замещенную, линейную или разветвленную группу C_{1-100}, содержащую одну или несколько алифатических, арильных, гетероалифатических групп, имеющих от 1 до 20 гетероатомов, гетероароматических,

имеющих от 1 до 20 гетероатомов, или любые их комбинации, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на C_{1-6} алкилен, C_{1-6} алкенилен, двухвалентную C_{1-6} гетероалифатическую группу, имеющую от 1 до 5 гетероатомов, —C≡C—, –Cy–, $-C(R')_2-$, –O–, –S–, –S–S–, –N(R')–, –C(O)–, –C(S)–, –C(NR')–, –C(O)N(R')–, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, –N(R')C(O)N(R')–, –N(R')C(O)O–, –S(O)–, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, –C(O)S–, –C(O)O–, –P(O)(OR')–, –P(O)(SR')–, –P(O)(R')–, –P(O)(NR')–, –P(S)(OR')–, –P(S)(SR')–, –P(S)(R')–, –P(S)(NR')–, –P(R')–, –P(OR')–, –P(SR')–, –P(NR')– или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2-)_n]-$, где n равен от 1 до 20.

[00207] В некоторых вариантах осуществления L является двухвалентным. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную или необязательно замещенную, линейную или разветвленную группу, выбранную из C_{1-00} алифатической группы и C_{1-100} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 50 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на C_{1-6} алкилен, C_{1-6} алкенилен, двухвалентную C_{1-6} гетероалифатическую группу, имеющую от 1 до 5 гетероатомов, —C≡C—, –Cy–, $-C(R')_2-$, –O–, –S–, –S–S–, –N(R')–, –C(O)–, –C(S)–, –C(NR')–, –C(O)N(R')–, $-C(O)C(R')_2N(R')-$, –N(R')C(O)N(R')–, –N(R')C(O)O–, –S(O)–, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, –C(O)S–, –C(O)O–, –P(O)(OR')–, –P(O)(SR')–, –P(O)(R')–, –P(O)(NR')–, –P(S)(OR')–, –P(S)(SR')–, –P(S)(R')–, –P(S)(NR')–, –P(R')–, –P(OR')–, –P(SR')–, –P(NR')– или $-[(-O-C(R')_2-C(R')_2-)_n]-$.

[00208] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную необязательно замещенную линейную или разветвленную C_{1-100} алифатическую группу, в которой одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную необязательно замещенную линейную или разветвленную C_{6-100} арилалифатическую группу, в которой один или более метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную необязательно замещенную, линейную или разветвленную C_{5-100} гетероарилалифатическую группу, имеющую от 1 до 20 гетероатомов, в которой одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентную необязательно замещенную, линейную или разветвленную C_{1-100} гетероалифатическую группу, имеющую от 1 до 20 гетероатомов, в

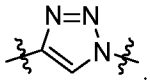
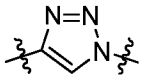
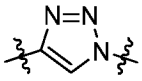
которой одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены.

[00209] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент (например, L) представляет собой или содержит одно или несколько звеньев полиэтиленгликоля. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент представляет собой или включает $-(CH_2CH_2O)_n-$, где n такой, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько метиленовых звеньев L независимо заменены $-(CH_2CH_2O)_n-$. В некоторых вариантах осуществления n равен 1. В некоторых вариантах осуществления n равен 2. В некоторых вариантах осуществления n равен 3. В некоторых вариантах осуществления n равен 4. В некоторых вариантах осуществления n равен 5. В некоторых вариантах осуществления n равен 6. В некоторых вариантах осуществления n равен 7. В некоторых вариантах осуществления n равен 9. В некоторых вариантах осуществления n равен 10. В некоторых вариантах осуществления n равен 11. В некоторых вариантах осуществления n равен 12. В некоторых вариантах осуществления n равен 13. В некоторых вариантах осуществления n равен 14. В некоторых вариантах осуществления n равен 15. В некоторых вариантах осуществления n равен 16. В некоторых вариантах осуществления n равен 17. В некоторых вариантах осуществления n равен 18. В некоторых вариантах осуществления n равен 19. В некоторых вариантах осуществления n равен 20.

[00210] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, содержащий один или несколько фрагментов, например, амино, карбонил и т. д., может быть использован для соединения с другими фрагментами. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент включает один или несколько -NR'-, где R' такой, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления -NR'- улучшает растворимость. В некоторых вариантах осуществления -NR'- служит точками соединения с другим фрагментом. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой -H. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько метиленовых звеньев L независимо заменены на -NR'-, где R' такой, как описано в настоящем раскрытии.

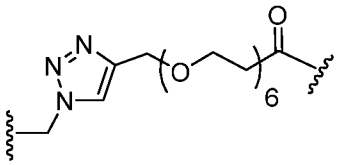
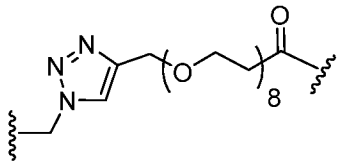
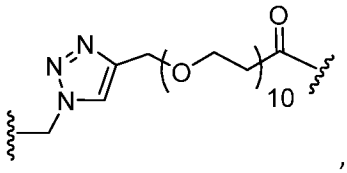
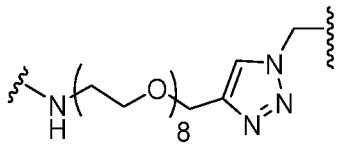
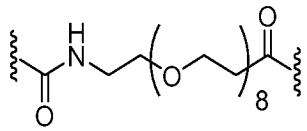
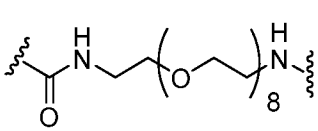
[00211] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L, содержит -C(O)- группу, которая может быть использована для соединений с фрагментом. В некоторых вариантах осуществления одно или несколько метиленовых звеньев L независимо заменены на -C(O)-.

[00212] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент представляет собой или содержит один или несколько кольцевых фрагментов, например, одно или несколько метиленовых звеньев L заменены на -Cy-. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L, содержит арильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L, содержит гетероарильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L, содержит алифатическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L, содержит гетероциклильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент, например, L, содержит полициклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления кольцо линкерного фрагмента, например, L, является 3-20-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо является 5-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо является 6-членным. В некоторых вариантах осуществления кольцо в линкере является продуктом реакции циклоприсоединения (например, химии щелчка и ее вариантов), используемой для связывания различных фрагментов вместе.

[00213] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент (например, L) представляет собой или включает  . В некоторых вариантах осуществления метиленовая единица L заменяется на  . В некоторых вариантах осуществления –Cy– представляет собой 

[00214] В некоторых вариантах осуществления линкерный фрагмент имеет такое же значение, как описано в таблице 1. Дополнительный линкерный фрагмент, например, включает те, которые описаны для L^2. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой L^1 в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой L^2, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой L^3, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой L^b, как описано в настоящем раскрытии.

[00215] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой


,

,

,

,

или

.

Некоторые варианты осуществления переменных

[00216] В качестве примеров в настоящем раскрытии описаны примерные варианты осуществления переменных. Как понятно специалистам в данной области техники, различные переменные могут быть необязательно объединены.

[00217] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, АВТ представляет собой антитело-связывающий фрагмент.

[00218] В некоторых вариантах осуществления АВТ представляет собой антитело-связывающий фрагмент.

[00219] В некоторых вариантах осуществления АВТ выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00220] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, L представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, который соединяет АВТ с ТВТ.

[00221] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, который соединяет АВТ с ТВТ.

[00222] В некоторых вариантах осуществления L выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

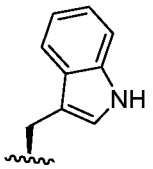
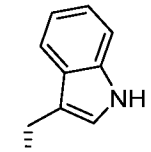
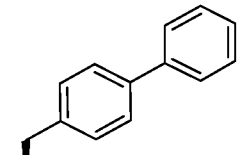
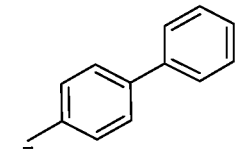
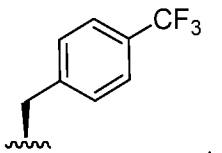
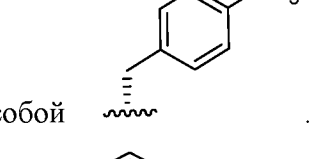
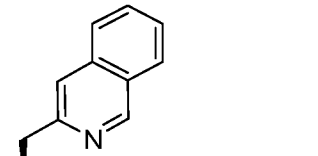
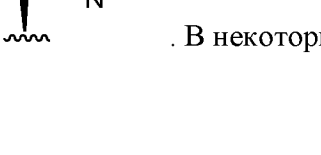
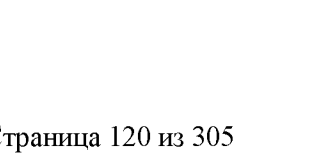
[00223] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, ТВТ представляет собой мишень-связывающий фрагмент.

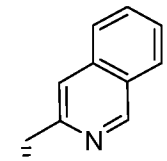
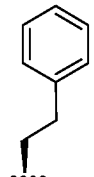
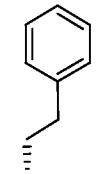
[00224] В некоторых вариантах осуществления ТВТ представляет собой мишень-связывающий фрагмент.

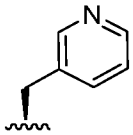
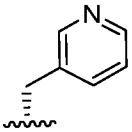
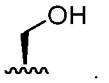
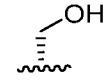
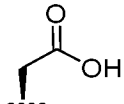
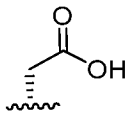
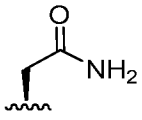
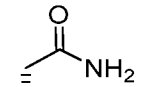
[00225] В некоторых вариантах осуществления ТВТ выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

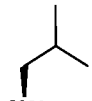
[00226] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, каждый из R^1, R^3 и R^5 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или: R^1 и $R^{1'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного необязательно замещенного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца, или 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; R^3 и $R^{3'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца или 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; группа R^5 и группа $R^{5'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца или 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или две группы R^5 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием двухвалентной прямой или разветвленной насыщенной или ненасыщенной углеводородной цепи C_{1-10}, в которой 1-3 метиленовые звенья цепи независимо и необязательно заменены на –S–, –SS–, –N(R)–, –O–, –C(O)–, –OC(O)–, –C(O)O–, –C(O)N(R)–, –N(R)C(O)–, –S(O)–, $–S(O)_2–$ или $–Cy^1-$, где каждый $–Cy^1-$ независимо представляет собой 5-6 гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы.

[00227] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой необязательно замещенное 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое ароматическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой необязательно замещенное 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероароматическое кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое гетероароматическое кольцо, имеющее от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[00228] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления

R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  .

[00229] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  .

[00230] В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^1 представляет собой .

[00231] В некоторых вариантах осуществления R^1 и $R^{1'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного карбоциклического спироциклического кольца. В некоторых вариантах осуществления R^1 и $R^{1'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

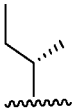
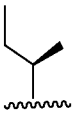
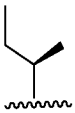
[00232] В некоторых вариантах осуществления R^1 выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

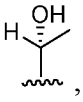
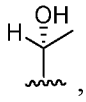
[00233] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^1, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^1, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^1, как описано в настоящем раскрытии.

[00234] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенное 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое ароматическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенное 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо,

имеющее от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероароматическое кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое гетероароматическое кольцо, имеющее от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[00235] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой .

[00236] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой  , где сайт присоединения имеет (*S*) стереохимию. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой , где сайт присоединения имеет (*R*) стереохимию. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой  , где сайт присоединения имеет (*S*) стереохимию. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой  , где сайт присоединения имеет (*R*) стереохимию.

[00237] В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой  , где сайт присоединения имеет (*S*) стереохимию. В некоторых из R^3 представляет собой  , где сайт присоединения имеет (*R*) стереохимию.

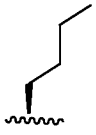
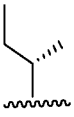
[00238] В некоторых вариантах осуществления R^3 и $R^{3'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного карбоциклического спироциклического кольца. В некоторых вариантах осуществления R^3 и $R^{3'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

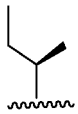
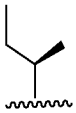
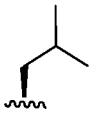
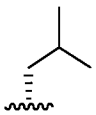
[00239] В некоторых вариантах осуществления R^3 выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

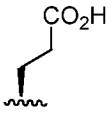
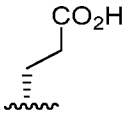
[00240] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^2, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^2, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^2, как описано в настоящем раскрытии.

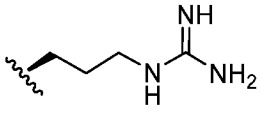
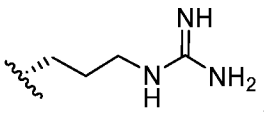
[00241] В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой необязательно замещенное 3-8-членное насыщенное

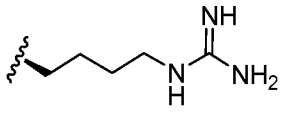
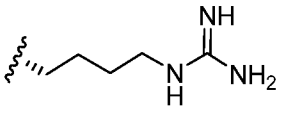
или частично ненасыщенное моноциклическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое ароматическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой необязательно замещенное 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероароматическое кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое гетероароматическое кольцо, имеющее от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

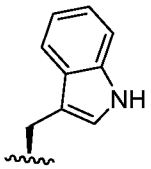
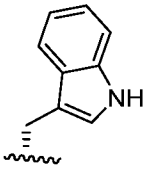
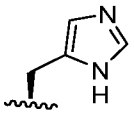
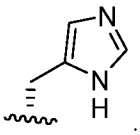
[00242] В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  , где сайт присоединения имеет (*S*) стереохимию. В некоторых вариантах

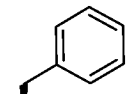
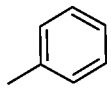
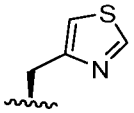
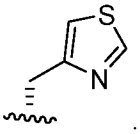
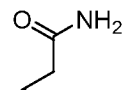
осуществления R^5 представляет собой , где сайт присоединения имеет (*R*) стереохимию. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  , где сайт присоединения имеет (*S*) стереохимию. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  , где сайт присоединения имеет (*R*) стереохимию. В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  .

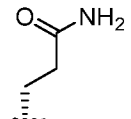
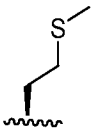
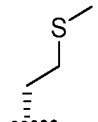
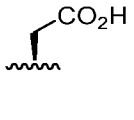
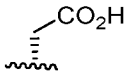
[00243] В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  .

[00244] В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В

некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  .

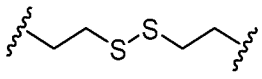
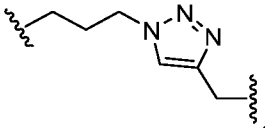
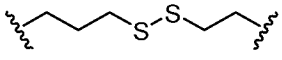
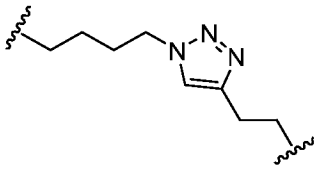
[00245] В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  .

[00246] В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет

собой 5  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^5 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой , где сайт присоединения имеет *(S)* стереохимию. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой , где сайт присоединения имеет *(R)* стереохимию.

[00247] В некоторых вариантах осуществления группы R^5 и $R^{5'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного карбоциклического спироциклического кольца. В некоторых вариантах осуществления группы R^5 и $R^{5'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[00248] В некоторых вариантах осуществления две группы R^5 взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием двухвалентной линейной или разветвленной насыщенной или ненасыщенной углеводородной цепи C_{1-10}, где от 1 до 3 метиленовых звеньев цепи независимо и необязательно заменены на –S–, –SS–, –N(R)–, –O–, –C(O)–, –OC(O)–, –C(O)O–, –C(O)N(R)–, –N(R)C(O)–, –S(O)–, $–S(O)_2–$ или $–Cy^1-$, где каждый $–Cy^1-$ независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы.

[00249] В некоторых вариантах осуществления две группы R^5, взятые вместе с их промежуточными атомами, образуют  . В некоторых вариантах осуществления две группы R^5, взятые вместе с их промежуточными атомами, образуют  . В некоторых вариантах осуществления две группы R^5, взятые вместе с их промежуточными атомами, образуют  . В некоторых вариантах осуществления две группы R^5, взятые вместе с их промежуточными атомами, образуют  .

[00250] В некоторых вариантах осуществления R^5 выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00251] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^5, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^5, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^5, как описано в настоящем раскрытии.

[00252] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, каждый из $R^{1'}$, $R^{3'}$ и $R^{5'}$ независимо представляет собой водород или C_{1-3} алифатическую группу.

[00253] В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой C_{1-3} алифатическую группу.

[00254] В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой н-пропил. В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ представляет собой циклопропил.

[00255] В некоторых вариантах осуществления $R^{1'}$ выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00256] В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой C_{1-3} алифатическую группу.

[00257] В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой н-пропил. В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ представляет собой циклопропил.

[00258] В некоторых вариантах осуществления $R^{3'}$ выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00259] В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой C_{1-3} алифатическую группу.

[00260] В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой н-пропил. В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ представляет собой циклопропил.

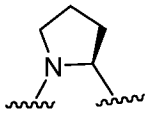
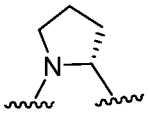
[00261] В некоторых вариантах осуществления $R^{5'}$ выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00262] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, каждый из R^2, R^4 и R^6 независимо представляет собой водород или C_{1-4} алифатическую группу, или: R^2 и R^1 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; R^4 и R^3 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или группа R^6 и смежная с ней группа R^5 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[00263] В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой C_{1-4} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^2

представляет собой н-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой н-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой изобутил. В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой трет-бутил.

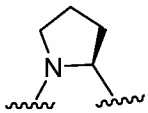
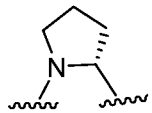
[00264] В некоторых вариантах осуществления R^2 и R^1 взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода или серы.

[00265] В некоторых вариантах осуществления R^2 и R^1 взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием  . В некоторых вариантах осуществления R^2 и R^1 взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием  .

[00266] В некоторых вариантах осуществления R^2 выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00267] В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой C_{1-4} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой н-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой н-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой изобутил. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой трет-бутил.

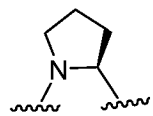
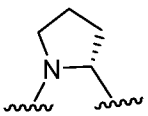
[00268] В некоторых вариантах осуществления R^4 и R^3 взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода или серы.

[00269] В некоторых вариантах осуществления R^4 и R^3 взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием  . В некоторых вариантах осуществления R^4 и R^3 взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием  .

[00270] В некоторых вариантах осуществления R^4 выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00271] В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой C_{1-4} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой н-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой н-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой изобутил. В некоторых вариантах осуществления R^6 представляет собой трет-бутил.

[00272] В некоторых вариантах осуществления группа R^6 и смежная с ней группа R^5 взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода, или сера.

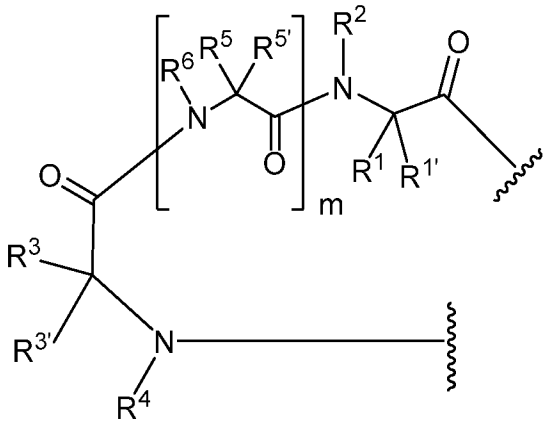
[00273] В некоторых вариантах осуществления группа R^6 и смежная с ней группа R^5 взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием  . В некоторых вариантах осуществления группа R^6 и смежная с ней группа R^5 взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием  .

[00274] В некоторых вариантах осуществления R^6 выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

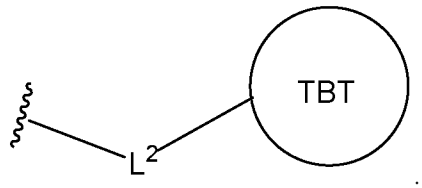
[00275] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $R^{1'}$, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $R^{1'}$,

как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $R^{1'}$, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $R^{3'}$, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $R^{3'}$, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $R^{3'}$, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^2, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^2, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^2, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^4, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^4, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^4, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^6, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^6, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^6, как описано в настоящем раскрытии.

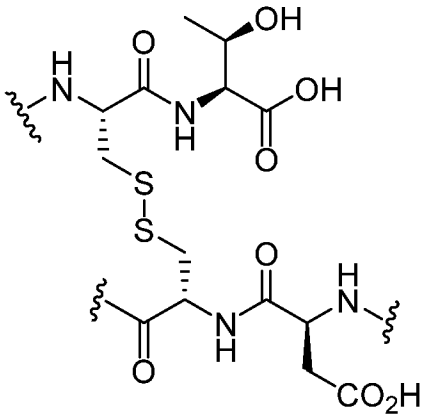
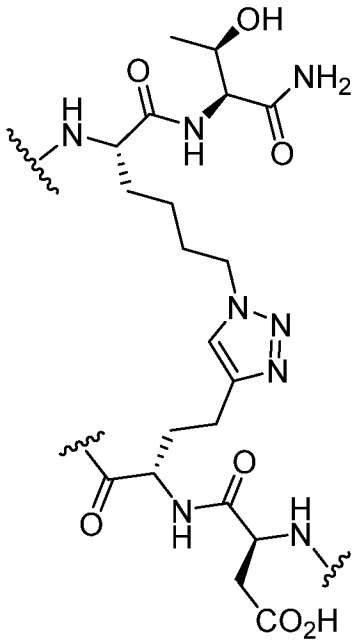
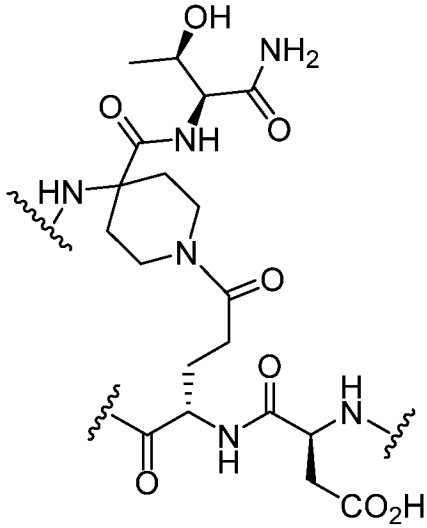
[00276] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, L^1 представляет собой трехвалентный линкерный фрагмент, который соединяет

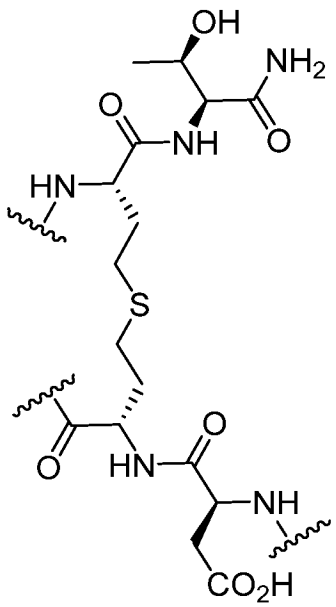
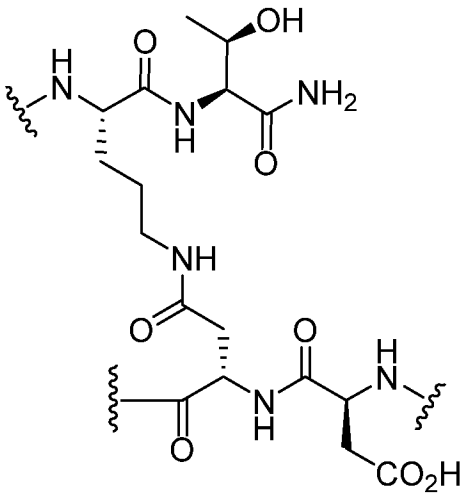
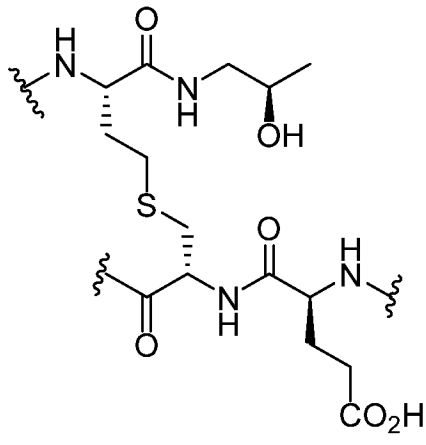


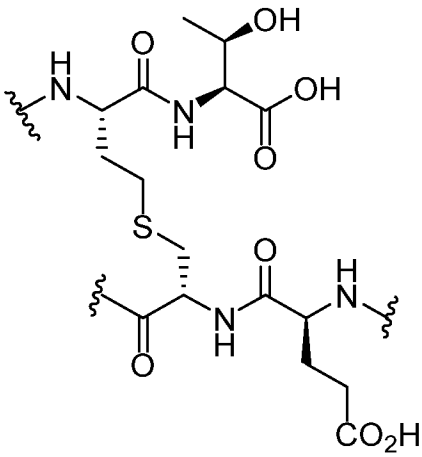
и



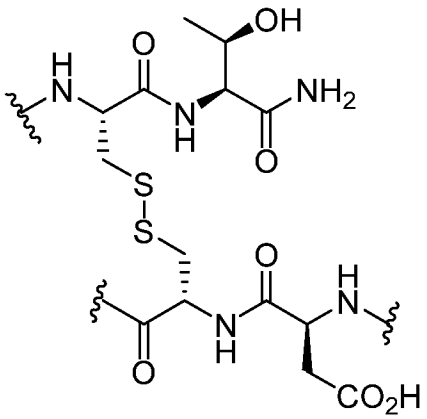
.

[00277] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^1

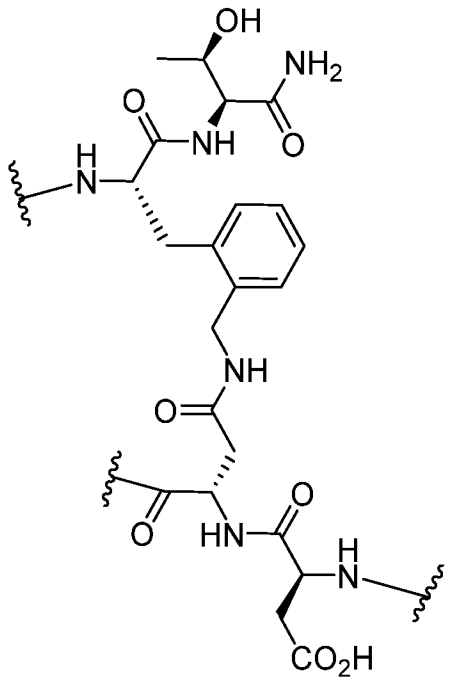
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой  . В некоторых



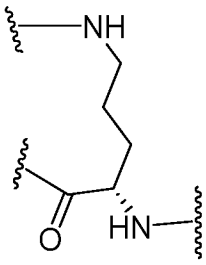
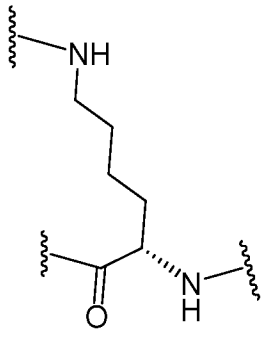
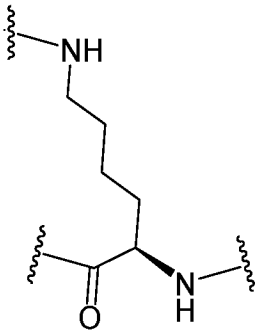
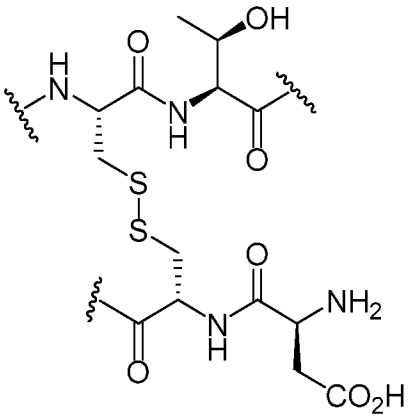
вариантах осуществления L^1 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой

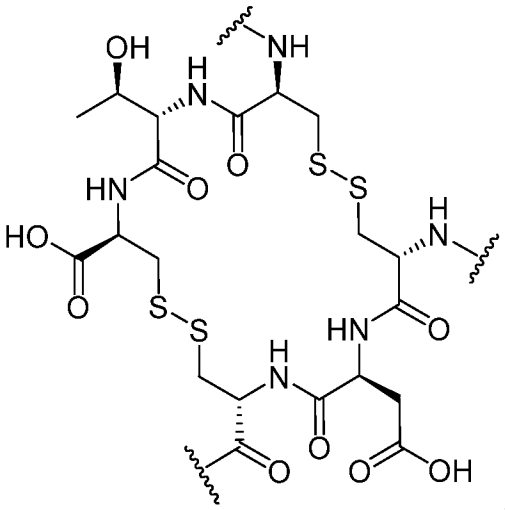
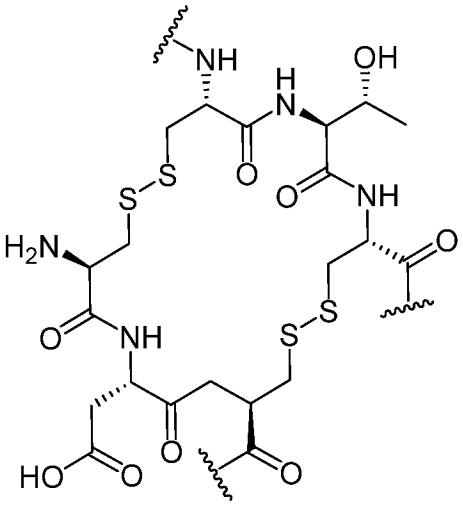


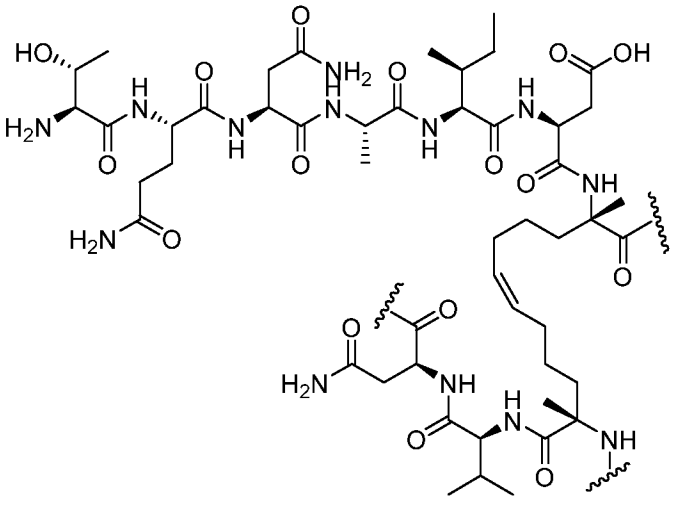
. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой

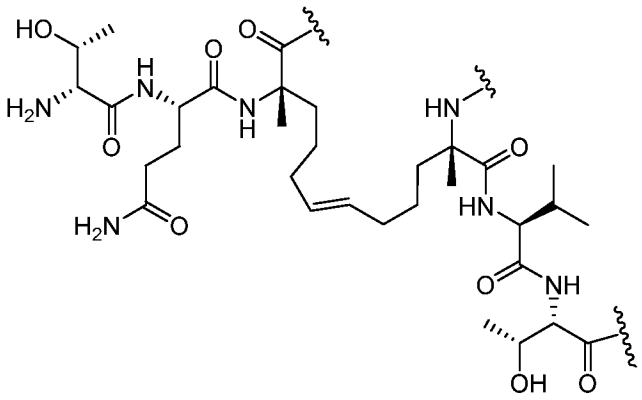


. В некоторых вариантах осуществления L^1

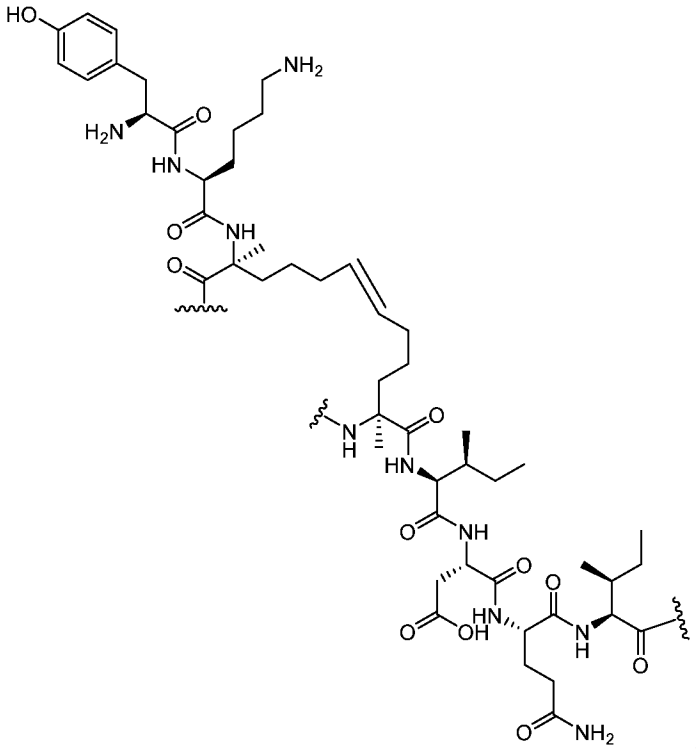
представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет

собой  . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой  .

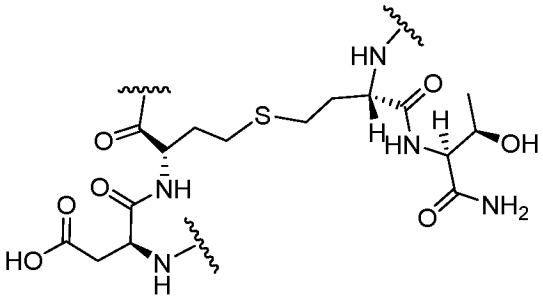
[00278] В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления



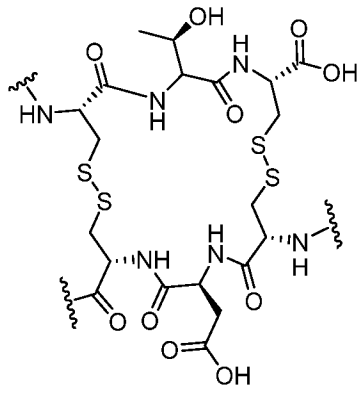
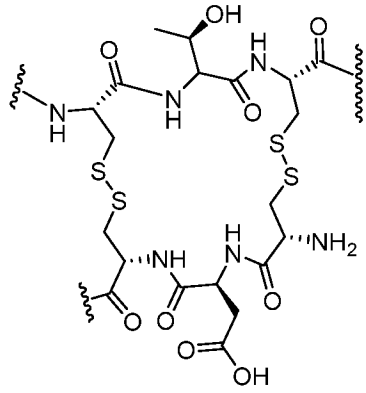
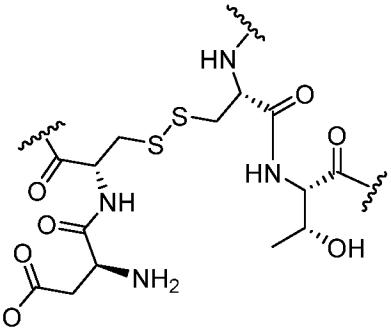
L^1 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой



. В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой

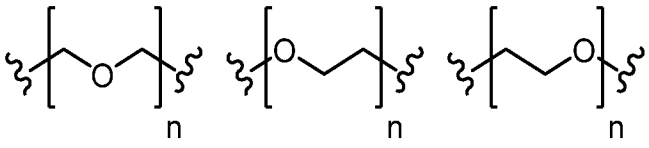


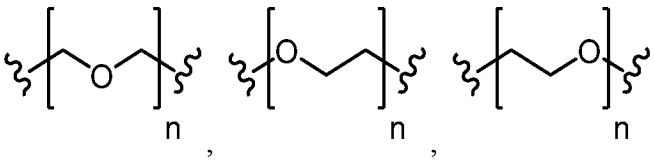
. В

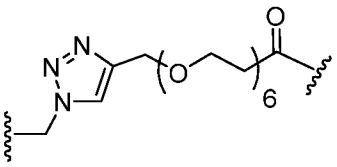
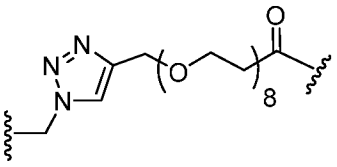
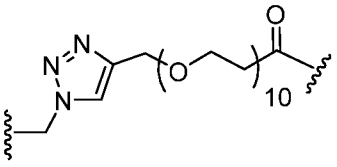
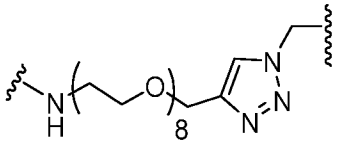
некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^1 представляет собой  .

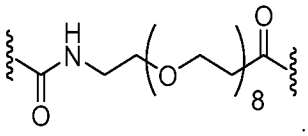
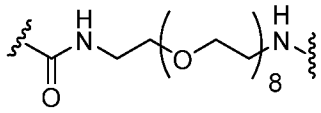
[00279] В некоторых вариантах осуществления L^1 выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00280] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, L^2 представляет собой ковалентную связь или двухвалентную прямую или разветвленную C_{1-10} насыщенную или ненасыщенную углеводородную цепь, в которой от 1 до 3 метиленовых звеньев цепи независимо и необязательными заменены на –S–, –N(R)–, –O–, –C(O)–, –OC(O)–, –C(O)O–,

–C(O)N(R)–, –N(R)C(O)–, –S(O)–, –S(O)$_2$–, 
или -CY^1-, где каждый -CY^1- независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы.

[00281] В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой двухвалентную линейную или разветвленную насыщенную или ненасыщенную углеводородную цепь C$_{1-10}$, в которой от 1 до 3 метиленовых звеньев цепи независимо и необязательными заменены на –S–, –N(R)–, –O–, –C(O)–, –OC(O)–, –C(O)O–, –C(O)N(R)–, –N(R)C(O)–, –S(O)–, –S(O)$_2$–, 
или -CY^1-, где каждый -CY^1- независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы.

[00282] В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой 
. В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой 
. В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой 
. В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой 
. В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой

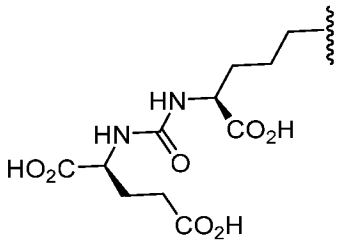
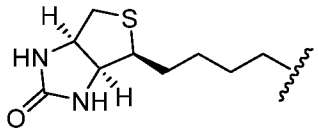

. В некоторых вариантах осуществления L^2 представляет собой

.

[00283] В некоторых вариантах осуществления L^2 выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00284] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой L^2, как описано в настоящем раскрытии.

[00285] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент.

[00286] В некоторых вариантах осуществления TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент.

[00287] В некоторых вариантах осуществления TBT представляет собой

. В некоторых вариантах осуществления TBT представляет собой

.

[00288] В некоторых вариантах осуществления TBT выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00289] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, каждый из m и n независимо равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

[00290] В некоторых вариантах осуществления m равен 1. В некоторых вариантах осуществления m равен 2. В некоторых вариантах осуществления m равен 3. В некоторых вариантах осуществления m равен 4. В некоторых вариантах осуществления m равен 5. В некоторых вариантах осуществления m равен 6. В некоторых вариантах осуществления m

равен 7. В некоторых вариантах осуществления m равен 8. В некоторых вариантах осуществления m равен 9. В некоторых вариантах осуществления m равен 10.

[00291] В некоторых вариантах осуществления m выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00292] В некоторых вариантах осуществления n равен 1. В некоторых вариантах осуществления n равен 2. В некоторых вариантах осуществления n равен 3. В некоторых вариантах осуществления n равен 4. В некоторых вариантах осуществления n равен 5. В некоторых вариантах осуществления n равен 6. В некоторых вариантах осуществления n равен 7. В некоторых вариантах осуществления n равен 8. В некоторых вариантах осуществления n равен 9. В некоторых вариантах осуществления n равен 10.

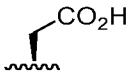
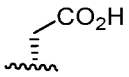
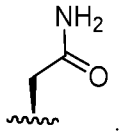
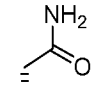
[00293] В некоторых вариантах осуществления n выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

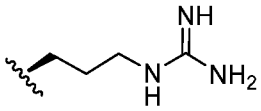
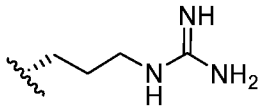
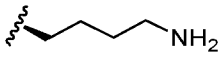
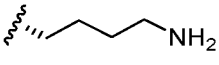
[00294] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, каждый из R^7 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или: группа R^7 и группа $R^{7'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца или 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

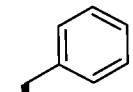
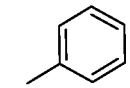
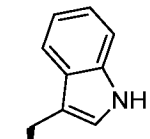
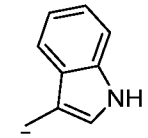
[00295] В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного

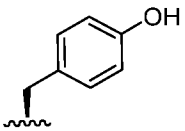
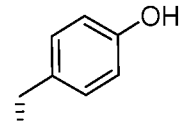
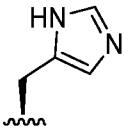
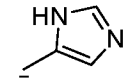
бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенное 3-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое ароматическое карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенное 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное моноциклическое гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероароматическое кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое гетероароматическое кольцо, имеющее от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[00296] В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой .

[00297] В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  .

[00298] В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  .

[00299] В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^7

представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой  .

[00300] В некоторых вариантах осуществления группа R^7 и группа $R^{7'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного карбоциклического спироциклического кольца. В некоторых вариантах осуществления группа R^7 и группа $R^{7'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, взятые вместе с их промежуточным атомом углерода, образуют 4-8-членное насыщенное или частично ненасыщенное спироциклическое гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[00301] В некоторых вариантах осуществления R^7 выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00302] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, каждый из $R^{7'}$ независимо представляет собой водород или C_{1-3} алифатическую группу.

[00303] В некоторых вариантах осуществления $R^{7'}$ представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления $R^{7'}$ представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления $R^{7'}$ представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления $R^{7'}$ представляет собой н-пропил. В некоторых вариантах осуществления $R^{7'}$ представляет собой изопропил.

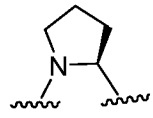
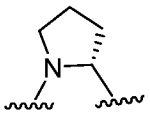
[00304] В некоторых вариантах осуществления $R^{7'}$выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00305] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, каждый из R^8 независимо представляет собой водород или C_{1-4} алифатическую группу, или: группа R^8 и смежная с ней группа R^7 необязательно взяты вместе с промежуточным между ними атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического

гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы.

[00306] В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой C_{1-4} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой н-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой н-бутил. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой изобутил. В некоторых вариантах осуществления R^8 представляет собой трет-бутил.

[00307] В некоторых вариантах осуществления группа R^8 и смежная с ней группа R^7 взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода или серы.

[00308] В некоторых вариантах осуществления группа R^8 и смежная с ней группа R^7 взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием  . В некоторых вариантах осуществления группа R^8 и смежная с ней группа R^7 взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием  .

[00309] В некоторых вариантах осуществления R^8 выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00310] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, R^9 представляет собой водород, C_{1-3} алифатическую группу или $-C(O)C_{1-3}$ алифатическую группу.

[00311] В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой C_{1-3} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой $-C(O)C_{1-3}$ алифатическую группу.

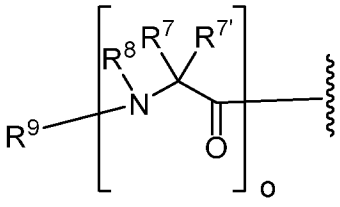
[00312] В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой н-пропил. В некоторых вариантах осуществления R^9

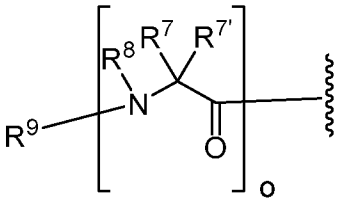
представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой циклопропил.

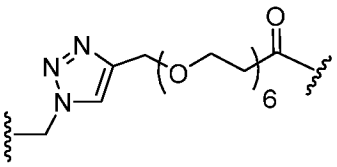
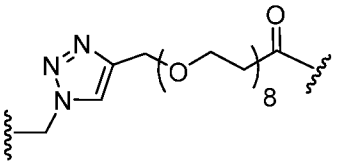
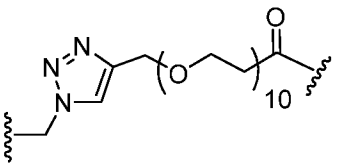
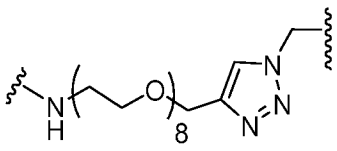
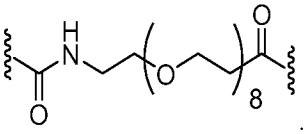
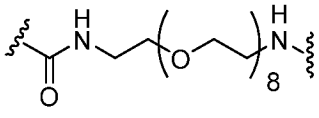
[00313] В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой -C(O)Me. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой -C(O)Et. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой $–C(O)CH_2CH_2CH_3$. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляет собой $–C(O)CH(CH_3)_2$. В некоторых вариантах осуществления R^9 представляют собой -C(O)циклопропил.

[00314] В некоторых вариантах осуществления R^9 выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

[00315] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^7, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^7, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^7, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $R^{7'}$, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $R^{7'}$, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $R^{7'}$, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^8, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^8, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^8, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $R^{8'}$, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой $R^{8'}$, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой $R^{8'}$, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой R^9, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R^9, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R^9, как описано в настоящем раскрытии.

[00316] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, L^3 представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, который соединяет  с TBT.

[00317] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, который соединяет  с TBT.

[00318] В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой  . В некоторых вариантах осуществления L^3 представляет собой  .

[00319] В некоторых вариантах осуществления L^3 выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

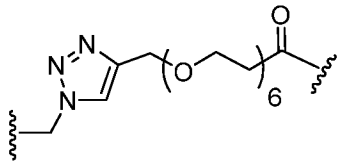
[00320] В некоторых вариантах осуществления L представляет собой L^3, как описано в настоящем раскрытии.

[00321] Как определено выше и описано в настоящем раскрытии, о равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

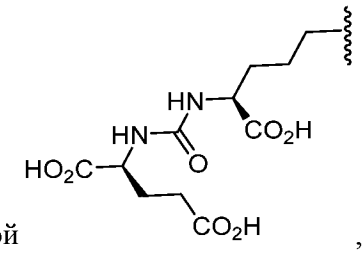
[00322] В некоторых вариантах осуществления о равен 1. В некоторых вариантах осуществления о равен 2. В некоторых вариантах осуществления о равен 3. В некоторых вариантах осуществления о равен 4. В некоторых вариантах осуществления о равен 5. В некоторых вариантах осуществления о равен 6. В некоторых вариантах осуществления о равен 7. В некоторых вариантах осуществления о равен 8. В некоторых вариантах осуществления о равен 9. В некоторых вариантах осуществления о равен 10.

[00323] В некоторых вариантах осуществления о выбран из тех, которые изображены в **таблице 1** ниже.

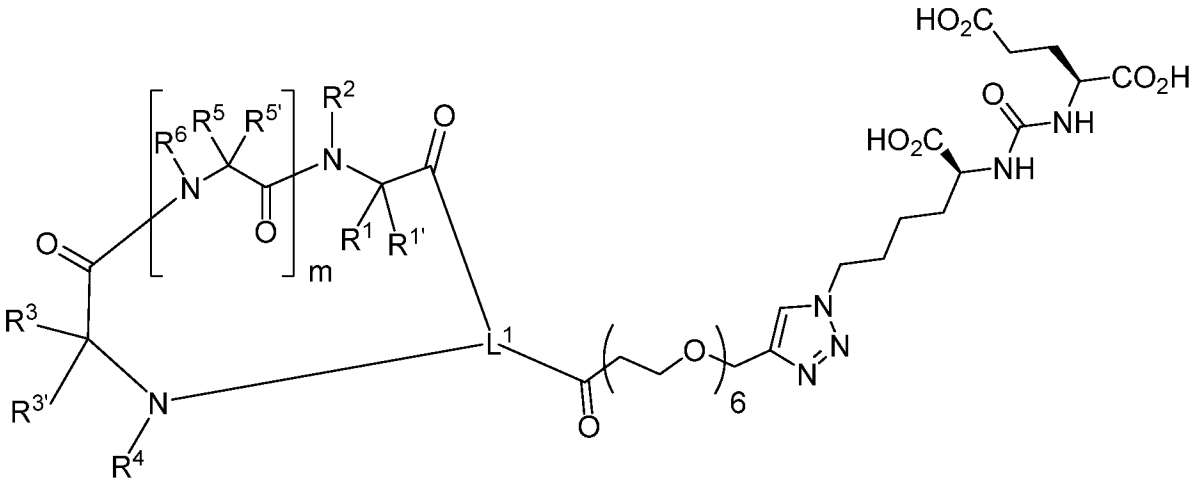
[00324] В некоторых вариантах осуществления применимое средство, например, ARM, представляет собой соединение формулы **II,** где L^2 представляет собой



и TBT представляет собой



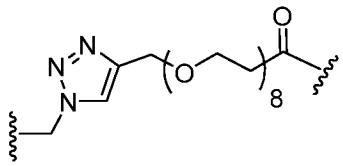
, тем самым образуя соединение формулы **II-a:**



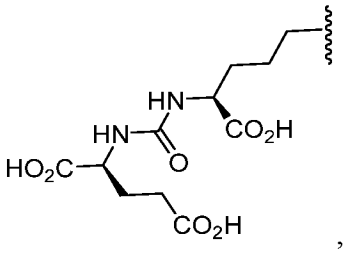
II-a

или его фармацевтически приемлемую соль, где каждый из L^1, R^1, $R^{1'}$, R^2, R^3, $R^{3'}$, R^4, R^5, $R^{5'}$, R^6 и m является таким, как определено выше, и описаны в данном документе как по отдельности, так и в комбинации.

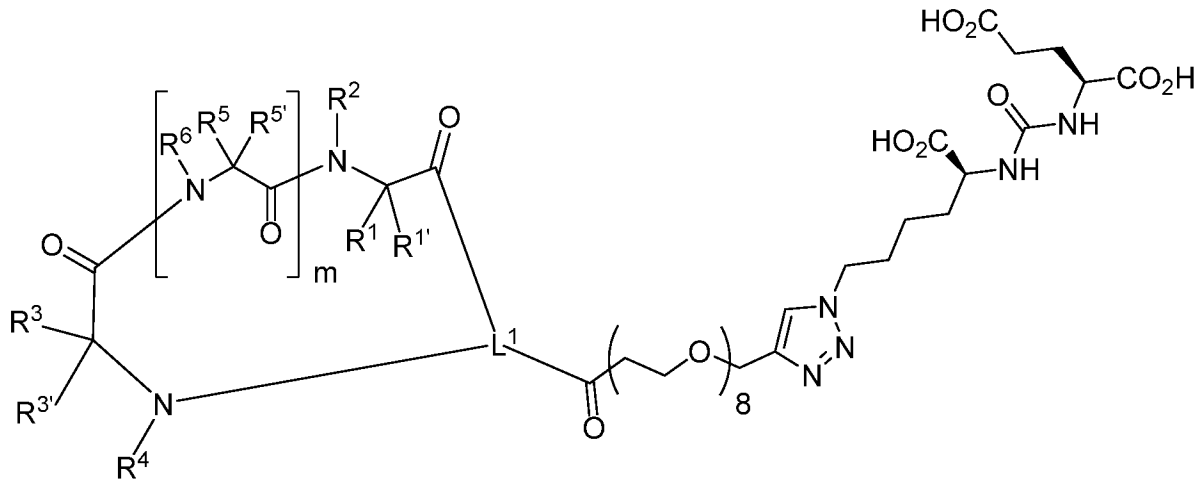
[00325] В некоторых вариантах осуществления применимое средство, например, ARM, представляет собой соединение формулы **II,** где L^2 представляет собой



и TBT представляет собой



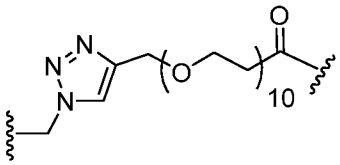
, тем самым образуя соединение формулы **II-b:**

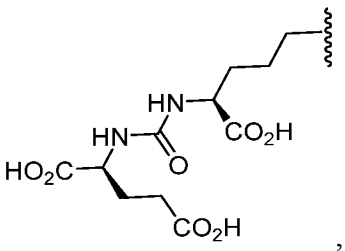


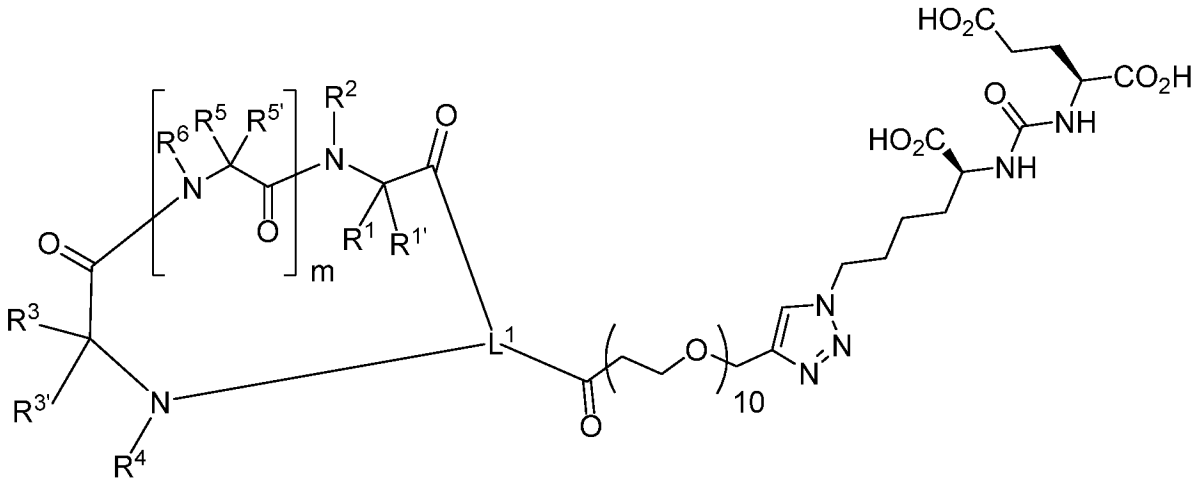
II-b

или его фармацевтически приемлемую соль, где каждый из L^1, R^1, $R^{1'}$, R^2, R^3, $R^{3'}$, R^4, R^5, $R^{5'}$, R^6 и m является таким, как определено выше, и описаны в данном документе как по отдельности, так и в комбинации.

[00326] В некоторых вариантах осуществления применимое средство, например, ARM, представляет собой соединение формулы **II,** где L^2 представляет собой



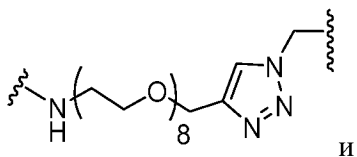
и TBT представляет собой  , таким образом образуя соединение формулы **II-c:**

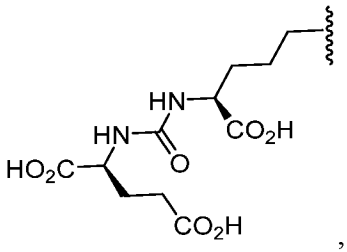


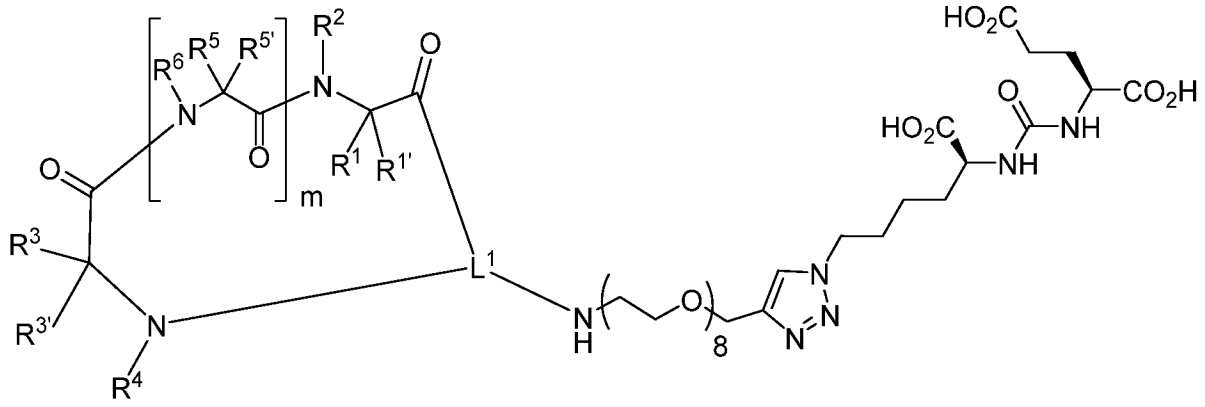
II-c

или его фармацевтически приемлемую соль, где каждый из L^1, R^1, $R^{1'}$, R^2, R^3, $R^{3'}$, R^4, R^5, $R^{5'}$, R^6 и m является таким, как определено выше, и описаны в данном документе как по отдельности, так и в комбинации.

[00327] В некоторых вариантах осуществления применимое средство, например, ARM, представляет собой соединение формулы **II,** где L^2 представляет собой

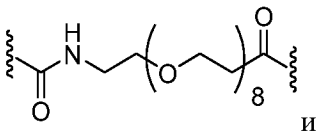
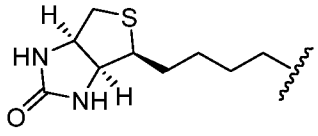


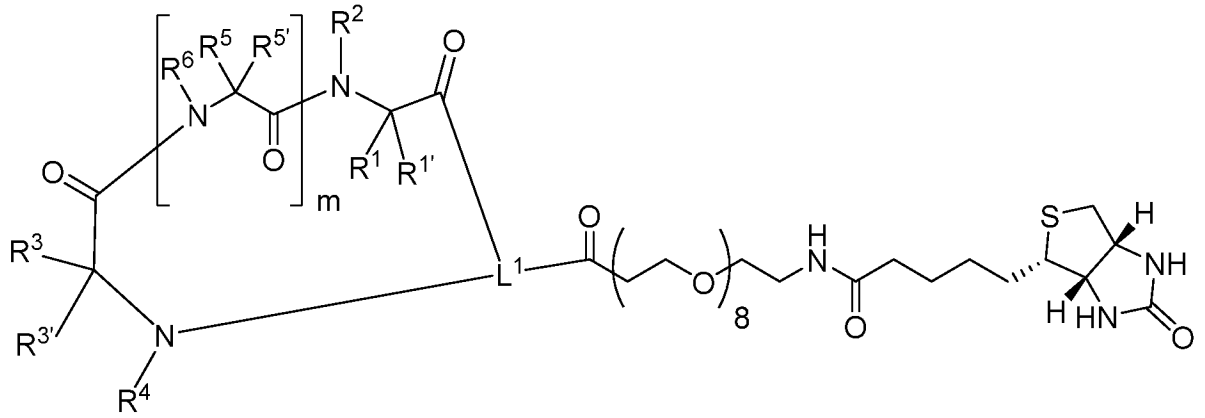
и TBT представляет собой  , тем самым образуя соединение формулы **II-d:**



II-d

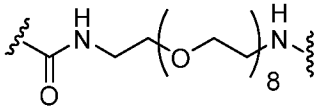
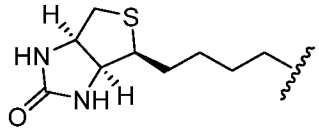
или его фармацевтически приемлемая соль, где каждый из L^1, R^1, $R^{1'}$, R^2, R^3, $R^{3'}$, R^4, R^5, $R^{5'}$, R^6 и m является является таким, как определено выше, и описаны в данном документе как по отдельности, так и в комбинации.

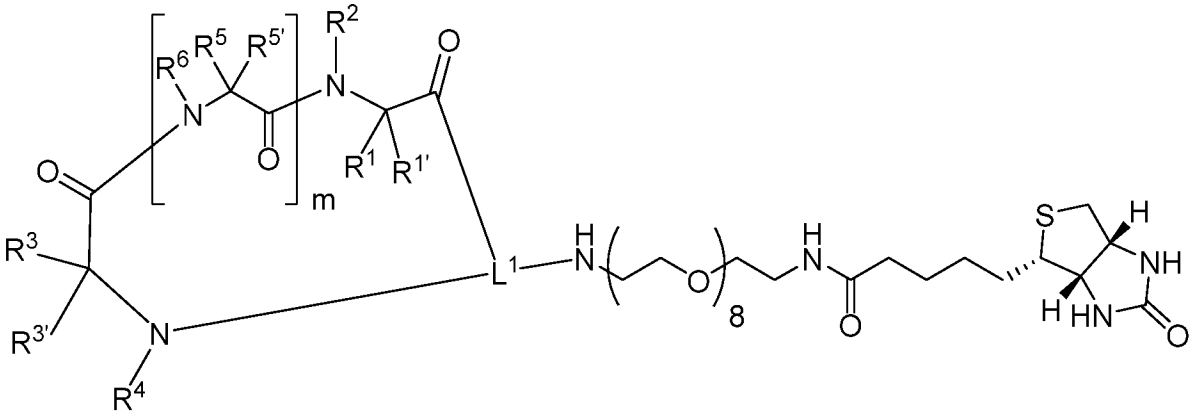
[00328] В некоторых вариантах осуществления применимое средство, например, ARM, представляет собой соединение формулы **II,** где L^2 представляет собой  и TBT представляет собой  , тем самым образуя соединение формулы **II-e:**



II-e

или его фармацевтически приемлемую соль, где каждый из L^1, R^1, $R^{1'}$, R^2, R^3, $R^{3'}$, R^4, R^5, $R^{5'}$, R^6 и m является таким, как определено выше, и описаны в данном документе как по отдельности, так и в комбинации.

[00329] В некоторых вариантах осуществления применимое средство, например, ARM, представляет собой соединение формулы **II,** где L^2 представляет собой  и TBT представляет собой  , таким образом образуя соединение формулы **II-f:**



II-f

или его фармацевтически приемлемую соль, где каждый из L^1, R^1, $R^{1'}$, R^2, R^3, $R^{3'}$, R^4, R^5, $R^{5'}$, R^6 и m является таким, как определено выше, и описаны в данном документе как по отдельности, так и в комбинации.

[00330] В некоторых вариантах осуществления R^{a1} представляет собой R, как описано в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления R^{a1} необязательно замещен C_{1-4} алифатической группой.

[00331] В некоторых вариантах осуществления L^{a1} представляет собой L^a, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления L^{a1} представляет собой ковалентную связь.

[00332] В некоторых вариантах осуществления L^{a2} представляет собой L^a, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления L^{a2} представляет собой ковалентную связь.

[00333] В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой ковалентную связь. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{10} алифатической или C_1-C_{10} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько

метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на −C(R')$_2$−, −Cy−, −O−, −S−, −S−S−, −N(R')−, −C(O)−, −C(S)−, −C(NR')−, −C(O)N(R')−, −N(R')C(O)N(R')−, −N(R')C(O)O−, −S(O)−, −S(O)$_2$−, −S(O)$_2$N(R')−, −C(O)S− или −C(O)O−. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_5 алифатической или C_1-C_5 гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на −C(R')$_2$−, −Cy−, −O−, −S−, −S−S−, −N(R')−, −C(O)−, −C(S)−, −C(NR')−, −C(O)N(R')−, −N(R')C(O)N(R')−, −N(R')C(O)O−, −S(O)−, −S(O)$_2$−, −S(O)$_2$N(R')−, −C(O)S− или −C(O)O−. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой необязательно замещенную двухвалентную C_1-C_5 алифатическую группу, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на −C(R')$_2$−, −Cy−, −O−, −S−, −S−S−, −N(R')−, −C(O)−, −C(S)−, −C(NR')−, −C(O)N(R')−, −N(R')C(O)N(R')−, −N(R')C(O)O−, −S(O)−, −S(O)$_2$−, −S(O)$_2$N(R')−, −C(O)S− или −C(O)O−. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой необязательно замещенную двухвалентную C_1-C_5 алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления L^a представляет собой необязательно замещенную двухвалентную C_1-C_5 гетероалифатическую группу, имеющую 1-3 гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[00334] В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой R, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a2} представляет собой боковую цепь природной аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой R, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^{a3} представляет собой боковую цепь природной аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления один из R^{2a} и R^{3a} представляет собой водород.

[00335] В некоторых вариантах осуществления каждый -Cy- независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, выбранных независимо из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное

кольцо, как описано в настоящем раскрытии, например, для R и Cy^L, но является двухвалентным.

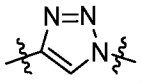
[00336] В некоторых вариантах осуществления -Cy- является моноциклическим. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является бициклическим. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является полициклическим. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является насыщенным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является частично насыщенным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является ароматическим. В некоторых вариантах осуществления -Cy- включает насыщенный циклический фрагмент. В некоторых вариантах осуществления -Cy- включает частично ненасыщенный циклический фрагмент. В некоторых вариантах осуществления -Cy- включает ароматический циклический фрагмент. В некоторых вариантах осуществления -Cy- включает комбинацию насыщенного, частично ненасыщенного и/или ароматического циклического фрагмента. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 3-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 4-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 5-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 6-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 7-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 8-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 9-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 10-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 11-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 12-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 13-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 14-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 15-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 16-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 17-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 18-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 19-членным. В некоторых вариантах осуществления –Cy– является 20-членным.

[00337] В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное C_{3-20} циклоалифатическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное насыщенное C_{3-20} циклоалифатическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное, частично ненасыщенное C_{3-20} циклоалифатическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления -Cy-H представляет

собой необязательно замещенную циклоалифатическую группу, как описано в настоящем раскрытии, например, циклоалифатическую группу для R.

[00338] В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенный C_{6-20} кольцевой арил. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенный фенилен. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенный 1,2-фенилен. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенный 1,3-фенилен. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенный 1,4-фенилен. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное нафталиновое кольцо. В некоторых вариантах осуществления -Cy-H представляет собой необязательно замещенный арил, как описано в настоящем раскрытии, например, арил для R.

[00339] В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное 5-20-членное гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 10 гетероатомов, выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное 5-20-членное гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероарильное кольцо, имеющее один гетероатом, независимо выбранный из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления -Cy-H представляет собой необязательно замещенный гетероарил, как описано в настоящем раскрытии, например,

варианты осуществления гетероарила для R. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой  .

[00340] В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное 3-20-членное гетероциклильное кольцо, имеющее от 1 до 10 гетероатомов, выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное 3-20-членное гетероциклильное кольцо, имеющее от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное 3-6-членное гетероциклильное кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероциклильное кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероциклильное кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероциклильное кольцо, имеющее от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенное двухвалентное 5-6-членное гетероциклильное кольцо, имеющее один гетероатом, независимо выбранный из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенную насыщенную двухвалентную гетероциклильную группу. В некоторых вариантах осуществления -Cy- представляет собой необязательно замещенную частично ненасыщенную двухвалентную гетероциклильную группу. В некоторых вариантах осуществления -Cy-H представляет собой необязательно замещенный гетероциклил, как описано в настоящем раскрытии, например, варианты осуществления гетероциклила для R.

[00341] В некоторых вариантах осуществления каждый Xaa независимо представляет собой аминокислотный остаток. В некоторых вариантах осуществления каждый Xaa независимо представляет собой аминокислотный остаток аминокислоты формулы **A-I.**

[00342] В некоторых вариантах осуществления t равен 0. В некоторых вариантах осуществления t равен от 1 до 50. В некоторых вариантах осуществления t равен z, как описано в настоящем раскрытии.

[00343] В некоторых вариантах осуществления z равен 1. В некоторых вариантах осуществления z равен 2. В некоторых вариантах осуществления z равен 3. В некоторых вариантах осуществления z равен 4. В некоторых вариантах осуществления z равен 5. В некоторых вариантах осуществления z равен 6. В некоторых вариантах осуществления z равен 7. В некоторых вариантах осуществления z равен 8. В некоторых вариантах осуществления z равен 9. В некоторых вариантах осуществления z равен 10. В некоторых вариантах осуществления z равен 11. В некоторых вариантах осуществления z равен 13. В некоторых вариантах осуществления z равен 14. В некоторых вариантах осуществления z равен 15. В некоторых вариантах осуществления z равен 16. В некоторых вариантах осуществления z равен 18. В некоторых вариантах осуществления z равен 18. В некоторых вариантах осуществления z равен 19. В некоторых вариантах осуществления z больше 20.

[00344] В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой R', как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой R, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой $-N(R')_2$, где каждый R' независимо является таким, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R^c равен $-NH_2$. В некоторых вариантах осуществления R^c представляет собой R-C(O)-, где R такой, как описано в настоящем раскрытии.

[00345] В некоторых вариантах осуществления a равен 1. В некоторых вариантах осуществления a равен от 2 до 100. В некоторых вариантах осуществления a равен 5. В некоторых вариантах осуществления a равен 10. В некоторых вариантах осуществления a равен 20. В некоторых вариантах осуществления a равен 50.

[00346] В некоторых вариантах осуществления b равен 1. В некоторых вариантах осуществления b равен от 2 до 100. В некоторых вариантах осуществления b равен 5. В некоторых вариантах осуществления b равен 10. В некоторых вариантах осуществления b равен 20. В некоторых вариантах осуществления b равен 50.

[00347] В некоторых вариантах осуществления a1 равен 0. В некоторых вариантах осуществления a1 равен 1

[00348] В некоторых вариантах осуществления a2 равен 0. В некоторых вариантах осуществления a2 равен 1.

[00349] В некоторых вариантах осуществления L^b представляет собой L^a, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления L^b включает -Cy-. В некоторых вариантах осуществления L^b содержит двойную связь. В некоторых вариантах осуществления L^b включает -S-. В некоторых вариантах осуществления L^b включает −S-S−. В некоторых вариантах осуществления L^b включает −C(O)−N(R')−.

[00350] В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой -R, -C(O)R, -C(O)OR или $-S(O)_2R$, где R такой, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R, где R такой, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой -C(O)R, где R такой, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой -C(O)OR, где R такой, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой $-S(O)_2R$, где R такой, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой водород. В некоторых вариантах осуществления R' не является водородом. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R, где R представляет собой необязательно замещенную C_{1-20} алифатическую группу, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R, где R представляет собой необязательно замещенную C_{1-20} гетероалифатическую группу, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R, где R представляет собой необязательно замещенный C_{6-20} арил, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R, где R представляет собой необязательно замещенную C_{6-20} арилалифатическую группу, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R, где R представляет собой необязательно замещенную C_{6-20} арилгетероалифатическую группу, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R, где R представляет собой необязательно замещенный 5-20-членный гетероарил, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления R' представляет собой R, где R представляет собой необязательно замещенный 3-20-членный гетероциклил, как описано в настоящем раскрытии. В некоторых вариантах осуществления два или более R'

представляют собой R и необязательно и независимо взяты вместе с образованием необязательно замещенного кольца, как описано в настоящем раскрытии.

[00351] В некоторых вариантах осуществления каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или:

две или более группы R у одного и того же атома необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[00352] В некоторых вариантах осуществления каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или:

две или более группы R у одного и того же атома необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[00353] В некоторых вариантах осуществления каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-20} алифатической группы, C_{1-20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-20} арила, C_{6-20} арилалифатической группы, C_{6-20} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или:

две или более группы R у одного и того же атома необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-20-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-20-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего,

помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[00354] В некоторых вариантах осуществления каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния

[00355] В некоторых вариантах осуществления каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-20} алифатической группы, C_{1-20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-20} арила, C_{6-20} арилалифатической группы, C_{6-20} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[00356] В некоторых вариантах осуществления R является водородом. В некоторых вариантах осуществления R не является водородом. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арила, 5-30-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[00357] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-20} алифатической группы, фенила, 3-7-членного насыщенного или частично ненасыщенного карбоциклического кольца, 8-10-

членного насыщенного бициклического кольца или частично ненасыщенного арильного кольца, 5-6-членного моноциклического гетероарильное кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, 4-7-членного насыщенного или частично ненасыщенного гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, 7-10-членного бициклическое насыщенного или частично ненасыщенного гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы, или 8-10-членного бициклического гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[00358] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-30} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-20} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-15} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-10} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-6} алифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C_{1-6} алкил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный гексил, пентил, бутил, пропил, этил или метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный гексил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный пентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный пропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой гексил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой пентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой пропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой этил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой изопропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет

собой *н*-пропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой *трет*-бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой *втор*-бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой *н*-бутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой $-(CH_2)_2CN$.

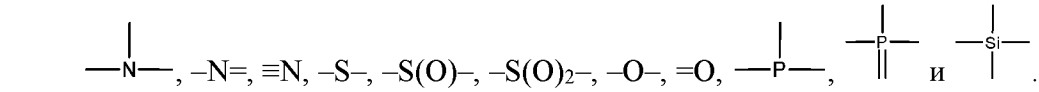
[00359] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{3-30} циклоалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{3-20} циклоалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{3-10} циклоалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклогексил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклогексил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклопентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклопентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклобутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклобутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклопропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклопропил.

[00360] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 3-30-членное насыщенное или частично ненасыщенное карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 3-7-членное насыщенное или частично ненасыщенное карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 3-членное насыщенное или частично ненасыщенное карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 4-членное насыщенное или частично ненасыщенное карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное насыщенное или частично ненасыщенное карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное насыщенное или частично ненасыщенное карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 7-членное насыщенное или частично ненасыщенное карбоциклическое кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклогептил. В

некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклогептил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклогексил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклогексил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклопентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклопентил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклобутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклобутил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный циклопропил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой циклопропил.

[00361] В некоторых вариантах осуществления когда R представляет собой или содержит кольцевую структуру, например, циклоалифатическую, циклогетероалифатическую, арил, гетероарил и т. д., кольцевая структура может быть моноциклической, бициклической или полициклической. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой или содержит моноциклическую структуру. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой или содержит бициклическую структуру. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой или содержит полициклическую структуру.

[00362] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-30} гетероалифатическую группу, имеющую от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-20} гетероалифатическую группу, имеющую от 1 до 10 гетероатомов. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-20} гетероалифатическую группу, имеющую от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора или кремния, необязательно включая одну или несколько окисленных форм азота, серы, фосфора или селена. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{1-30} гетероалифатическую группу, содержащую от 1 до 10 групп, независимо выбранных из



[00363] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный C_{6-30} арил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет

собой фенил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой замещенный фенил.

[00364] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое насыщенное, частично ненасыщенное или арильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое насыщенное кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое частично ненасыщенное кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое арильное кольцо. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный нафтил.

[00365] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-30-членное гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 10 гетероатомов, выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-30-членное гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-30-членное гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-30-членное гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы.

[00366] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой незамещенное 5-6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо

выбранных из азота, серы и кислорода. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой замещенное 5-6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой незамещенное 5-6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, серы и кислорода.

[00367] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[00368] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное моноциклическое гетероарильное кольцо, имеющее один гетероатом, выбранный из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный пирролил, фуранил или тиенил.

[00369] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное гетероарильное кольцо, имеющее два гетероатома, выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное гетероарильное кольцо, имеющее один атом азота и дополнительный гетероатом, выбранный из серы или кислорода. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное гетероарильное кольцо, имеющее три гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное гетероарильное кольцо, имеющее четыре гетероатома, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[00370] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, имеющее 1-4 атома азота. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, имеющее 1-3 атома азота. R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, имеющее 1-2 атома азота. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное

гетероарильное кольцо, имеющее четыре атома азота. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, имеющее три атома азота. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, имеющее два атома азота. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероарильное кольцо, имеющее один атом азота.

[00371] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5,6-конденсированное гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6,6 - конденсированное гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[00372] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 3-30-членное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 10 гетероатомов, выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 3-30-членное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 3-30-членное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой 3-30-членное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы.

[00373] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 3-7-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой замещенное 3-7-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой незамещенное 3-7-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо

выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-7-членное частично ненасыщенное моноциклическое кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное частично ненасыщенное моноциклическое кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное частично ненасыщенное моноциклическое кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное частично ненасыщенное моноциклическое кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 7-членное частично ненасыщенное моноциклическое кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 3-членное гетероциклическое кольцо, имеющее один гетероатом, выбранный из азота, кислорода или серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 4-членное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 7-членное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[00374] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 3-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 2 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 4-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, имеющее от

1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 6-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 7-членное насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[00375] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5-6-членное частично ненасыщенное моноциклическое кольцо, имеющее от 1 до 2 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную тетрагидропиридинильную, дигидротиазолильную, дигидрооксазолильную или оксазолинильную группу.

[00376] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 7-10-членное бициклическое насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо, имеющее от 1 до 5 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный индолинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный изоиндолинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 1,2,3,4-тетрагидрохинолинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный 1,2,3,4-тетрагидроизохинолинил. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенный азабицикло[3.2.1]октанил.

[00377] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 8-10-членное бициклическое гетероарильное кольцо, имеющее от 1 до 5 гетероатомов, выбранных из азота, кислорода и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенное 5,6-конденсированное гетероарильное кольцо, имеющее 1–5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода и серы.

[00378] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{6-30} арилалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{6-20} арилалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{6-10} арилалифатическую группу. В некоторых вариантах осуществления арильный фрагмент арилалифатической группы имеет 6, 10 или 14 арильных атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления арильный фрагмент арилалифатической группы имеет 6 арильных атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления арильный фрагмент арилалифатической группы имеет 10 арильных атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления арильный фрагмент арилалифатической группы имеет 14 арильных атомов углерода. В некоторых вариантах осуществления арильный фрагмент представляет собой необязательно замещенный фенил.

[00379] В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{6-30} арилгетероалифатическую группу, имеющую от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{6-30} арилгетероалифатическую группу, имеющую от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{6-20} арилгетероалифатическую группу, имеющую от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{6-20} арилгетероалифатическую группу, имеющую от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{6-10} арилгетероалифатическую группу, имеющую от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления R представляет собой необязательно замещенную C_{6-10} арилгетероалифатическую группу, имеющую от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота и серы.

[00380] В некоторых вариантах осуществления две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи. В некоторых вариантах осуществления

образуется −C=O. В некоторых вариантах осуществления образуется −C = C−. В некоторых вариантах осуществления образуется —C≡C—.

[00381] В некоторых вариантах осуществления две или более группы R на одном и том же атоме необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, имеющего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления две или более группы R на одном и том же атоме необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-20-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления две или более группы R на одном и том же атоме необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-10-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, имеющего, помимо атома, от 0 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления две или более группы R на одном и том же атоме необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-6-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления две или более группы R на одном и том же атоме необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-5-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[00382] В некоторых вариантах осуществления две или более группы R на двух или более атомах необязательно и необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, имеющего, помимо промежуточных атомов, от 1 до 10 гетероатомов, необязательно и независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами

с образованием необязательно замещенного 3-20-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, необязательно и независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-10-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, необязательно и независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-10-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 5 гетероатомов, необязательно и независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-6-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 3 гетероатомов, необязательно и независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния. В некоторых вариантах осуществления две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-5-членного моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 3 гетероатомов, необязательно и независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

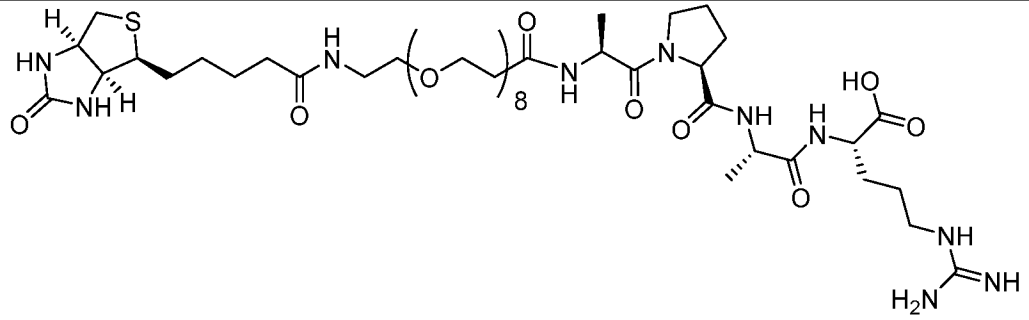
[00383] В некоторых вариантах осуществления гетероатомы в группах R или в структурах, образованных двумя или более группами R, взятыми вместе, выбраны из кислорода, азота и серы. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20-членным. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является насыщенным. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является частично насыщенным. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо является ароматическим. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо содержит насыщенный, частично насыщенный или

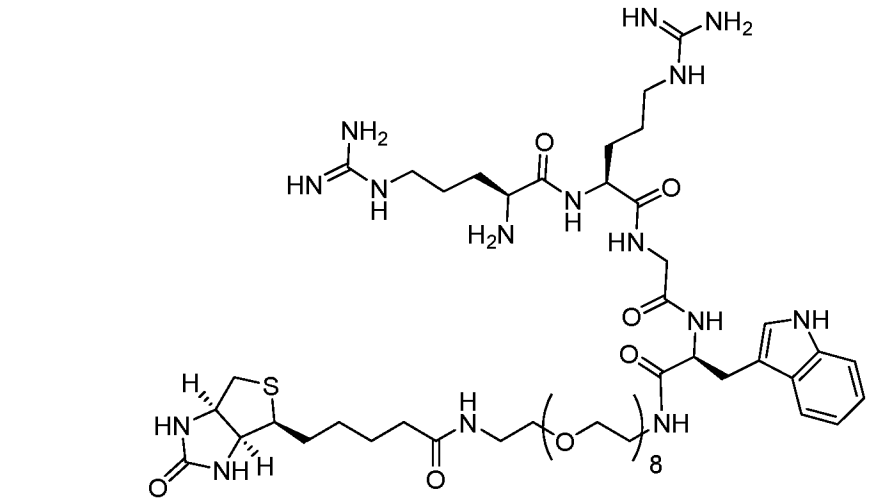
ароматический кольцевой фрагмент. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо содержит 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 ароматических кольцевых атомов. В некоторых вариантах осуществления образованное кольцо содержит не более 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 ароматических кольцевых атомов В некоторых вариантах осуществления атомы ароматического кольца выбраны из углерода, азота и кислорода.

[00384] В некоторых вариантах осуществления кольцо, образованное двумя или более группами R (или двумя или более группами, выбранными из R и переменной, которая может быть R), взятыми вместе, представляет собой C_{3-30} циклоалифатическую группу, C_{6-30} арил, 5-30-членный гетероарил, имеющий от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или 3-30-членный гетероарил, имеющий от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, кольцо, как описано для R, но двухвалентный или многовалентный.

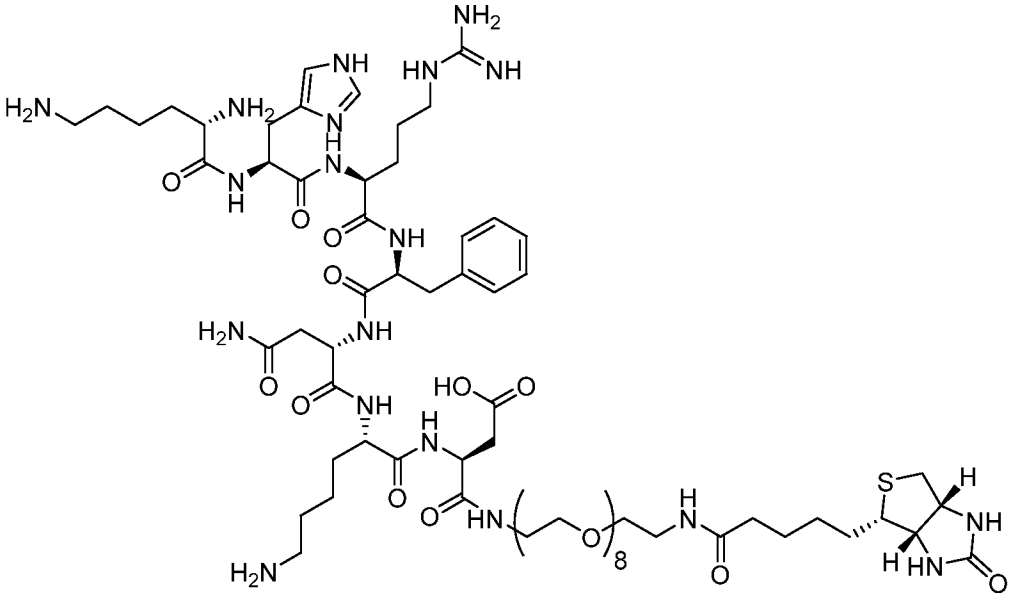
[00385] Примеры соединений изобретения представлены в **таблице 1** ниже.

Таблица 1. Примеры соединений

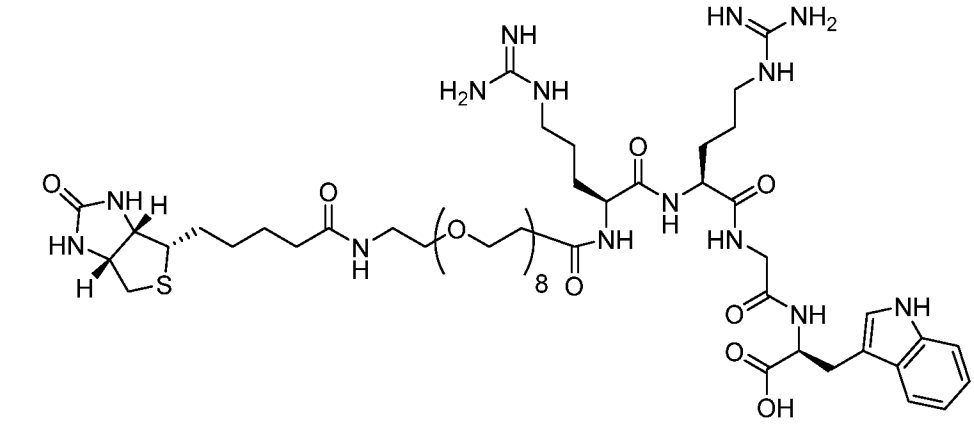
	
I-1	

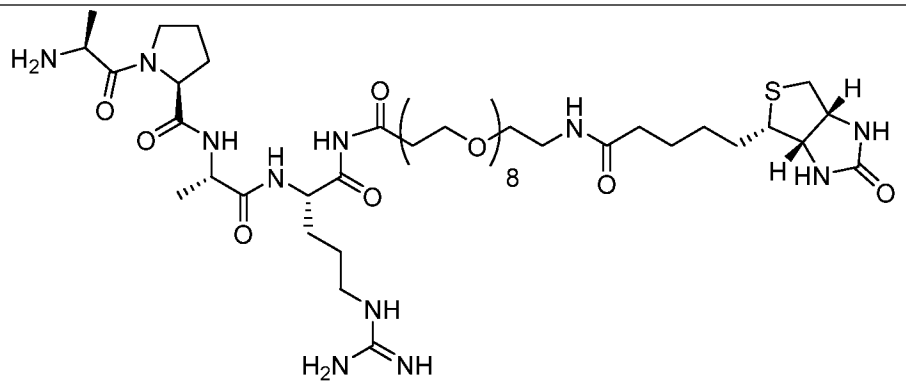
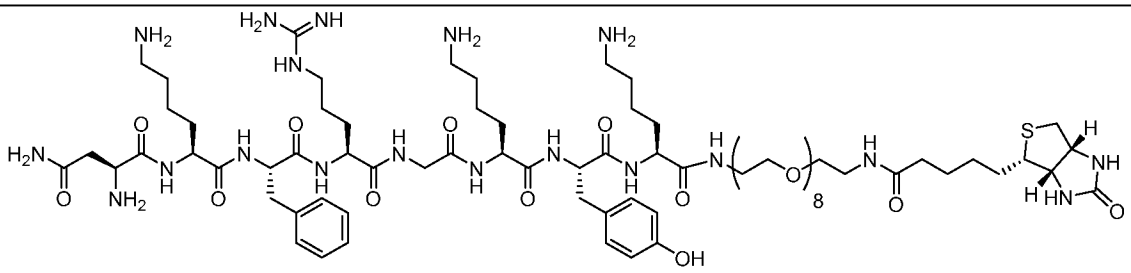
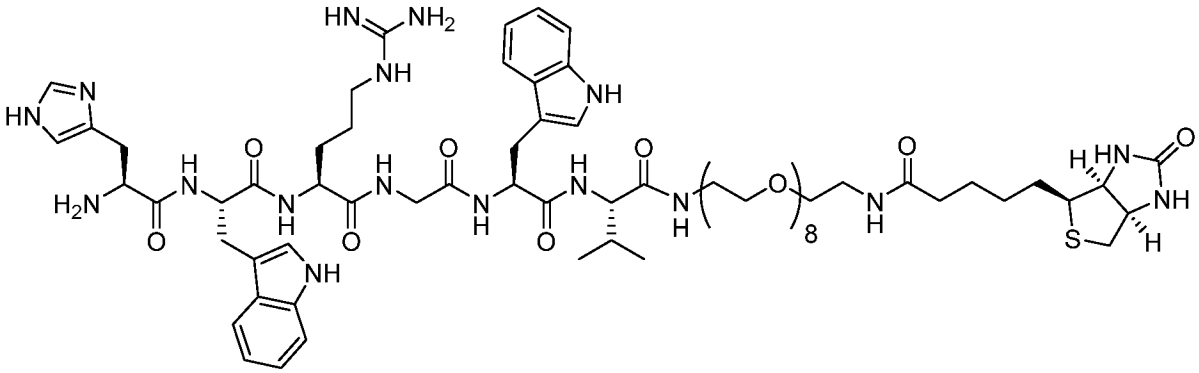
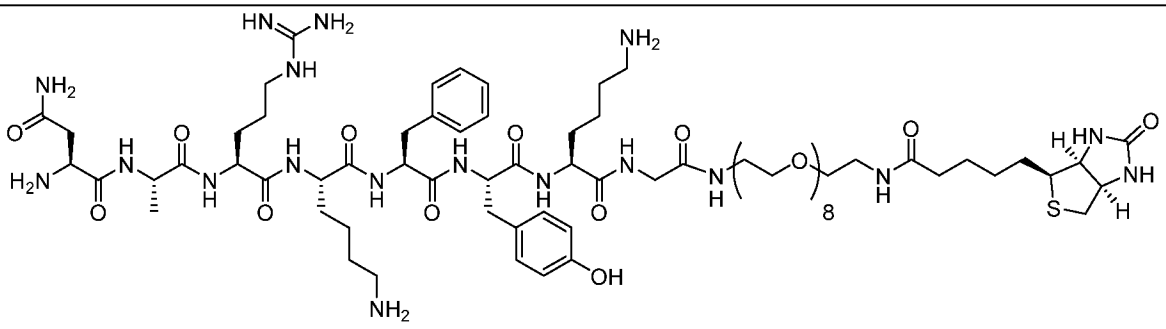


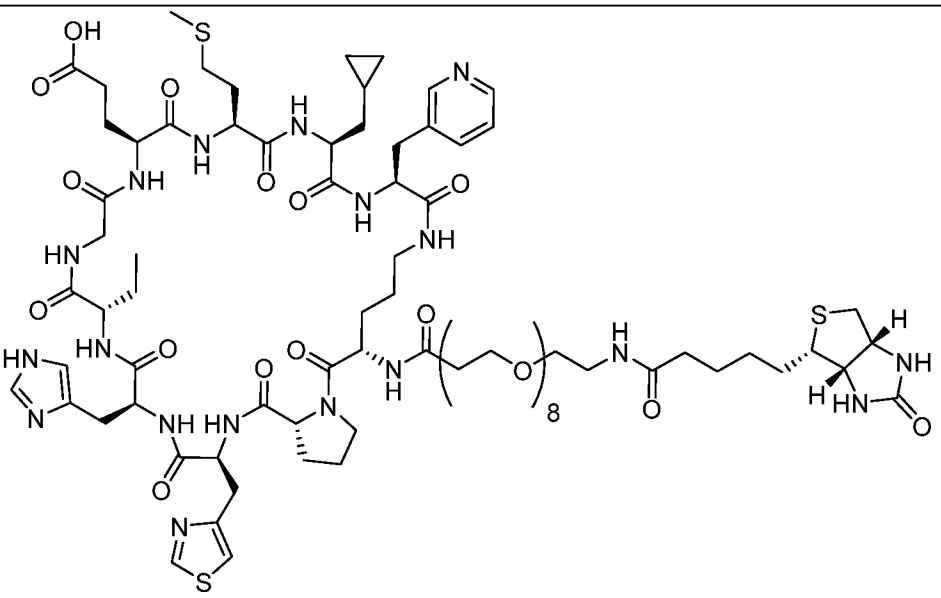
I-2



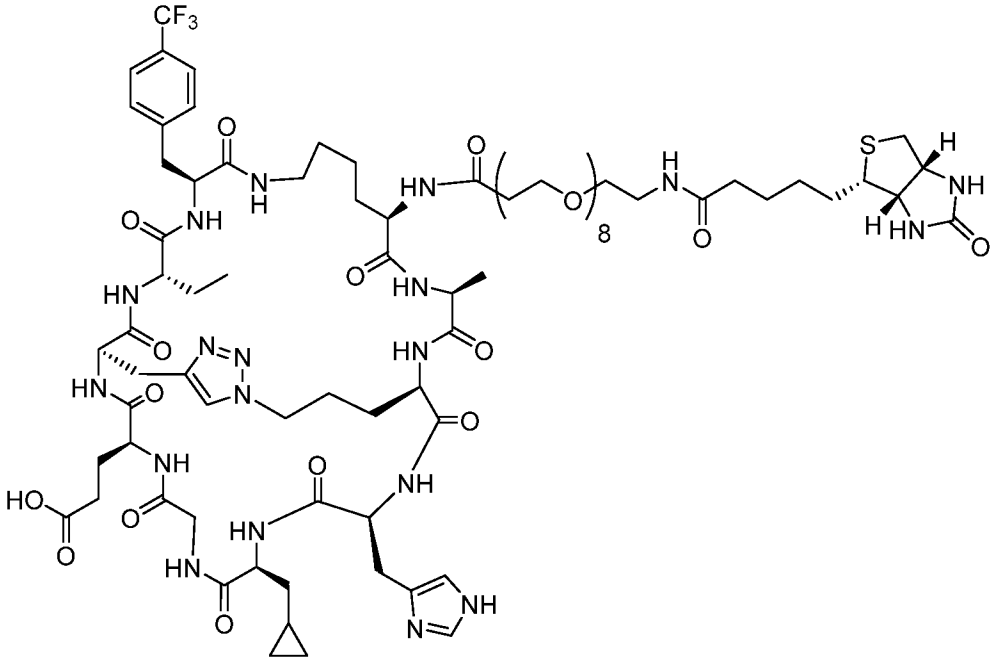
I-3



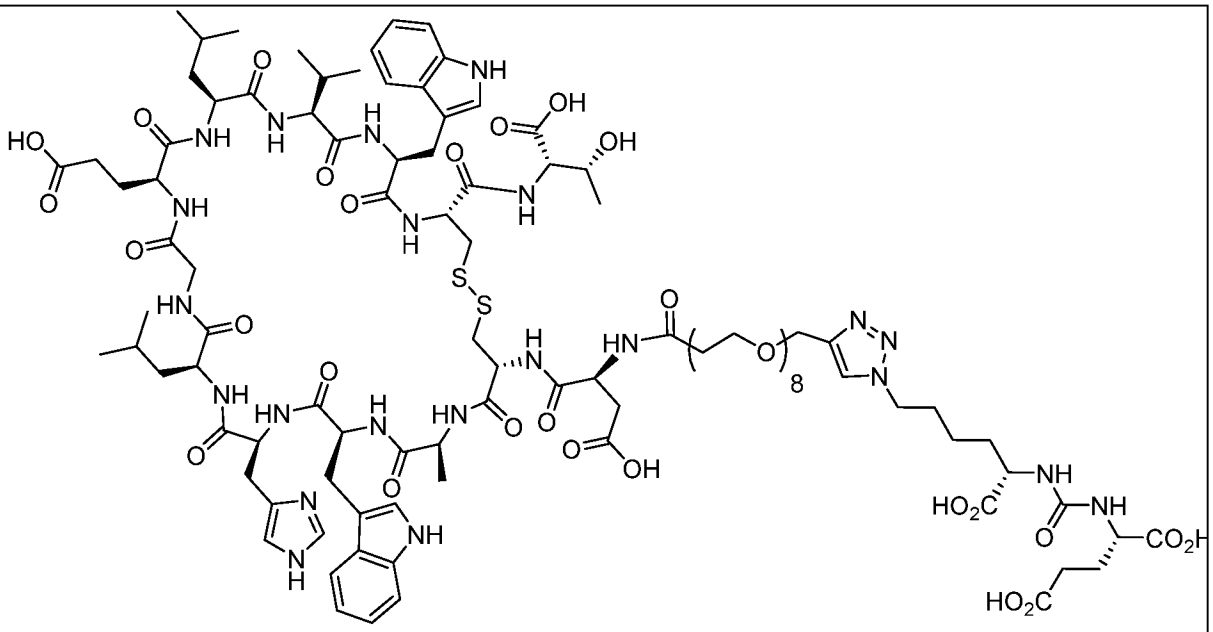
I-4

I-5

I-6

I-7

I-8



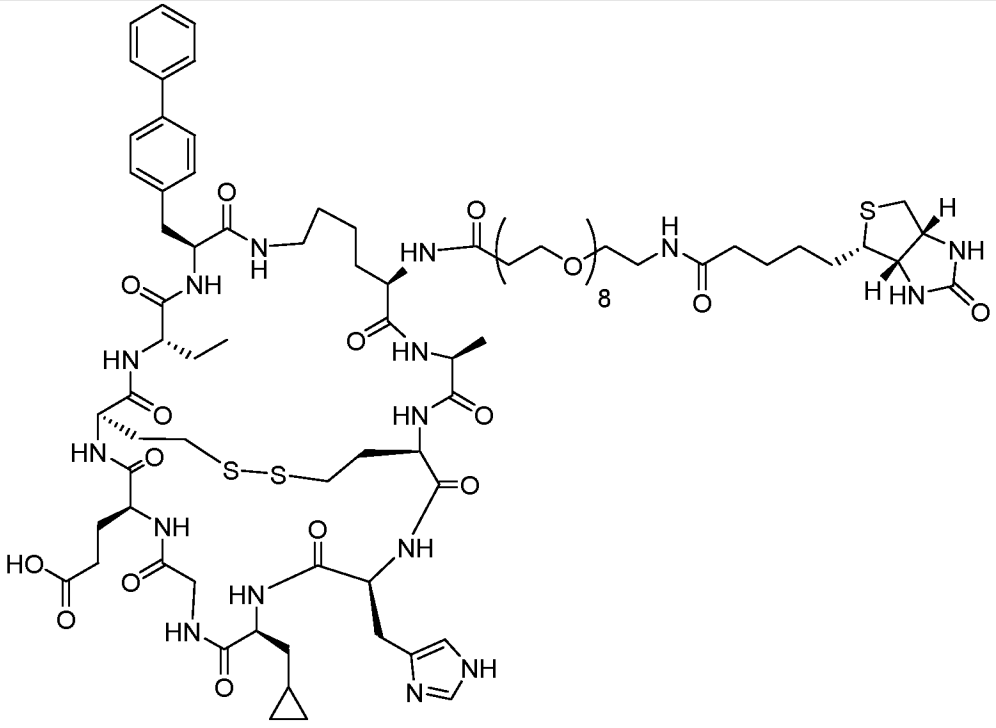
I-9



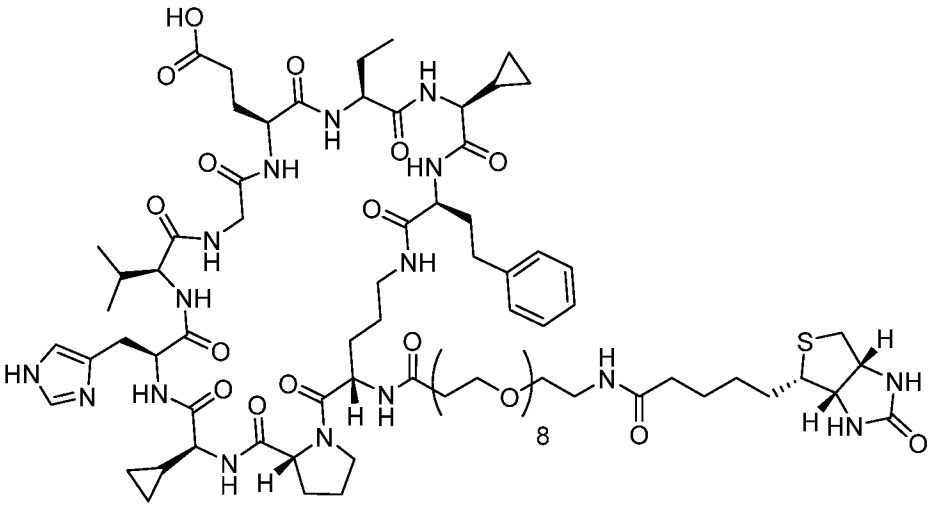
I-10



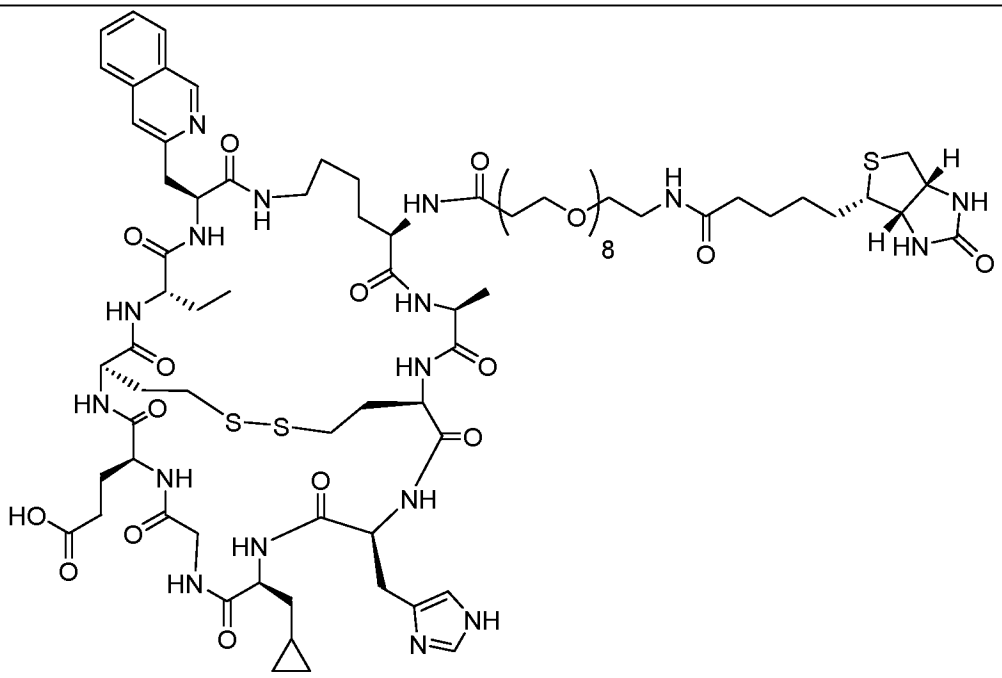
I-11



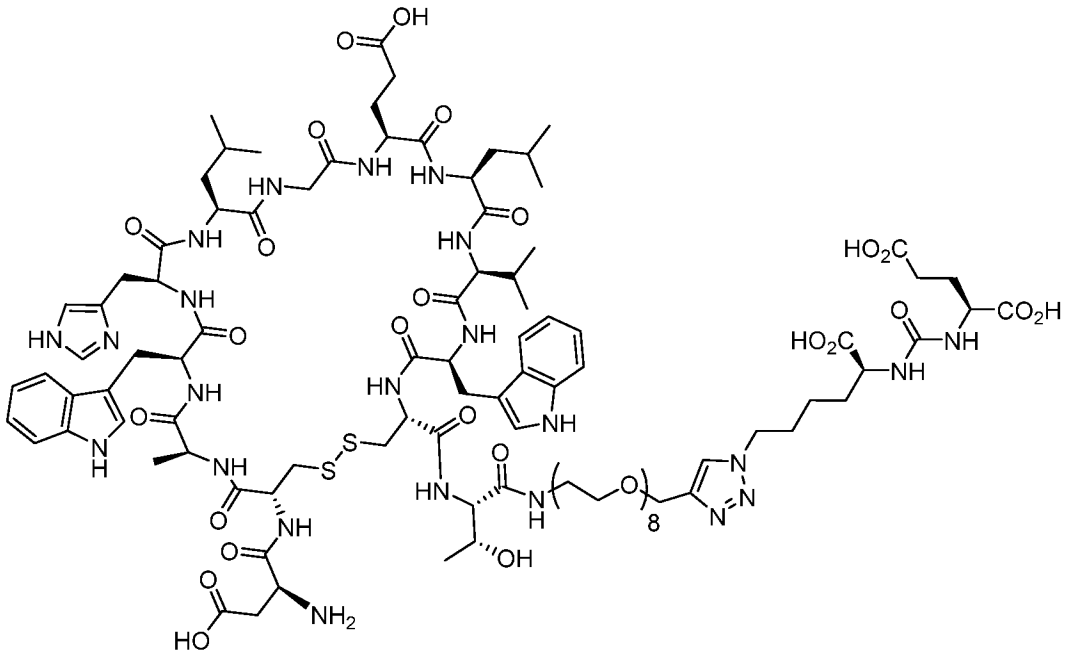
I-12



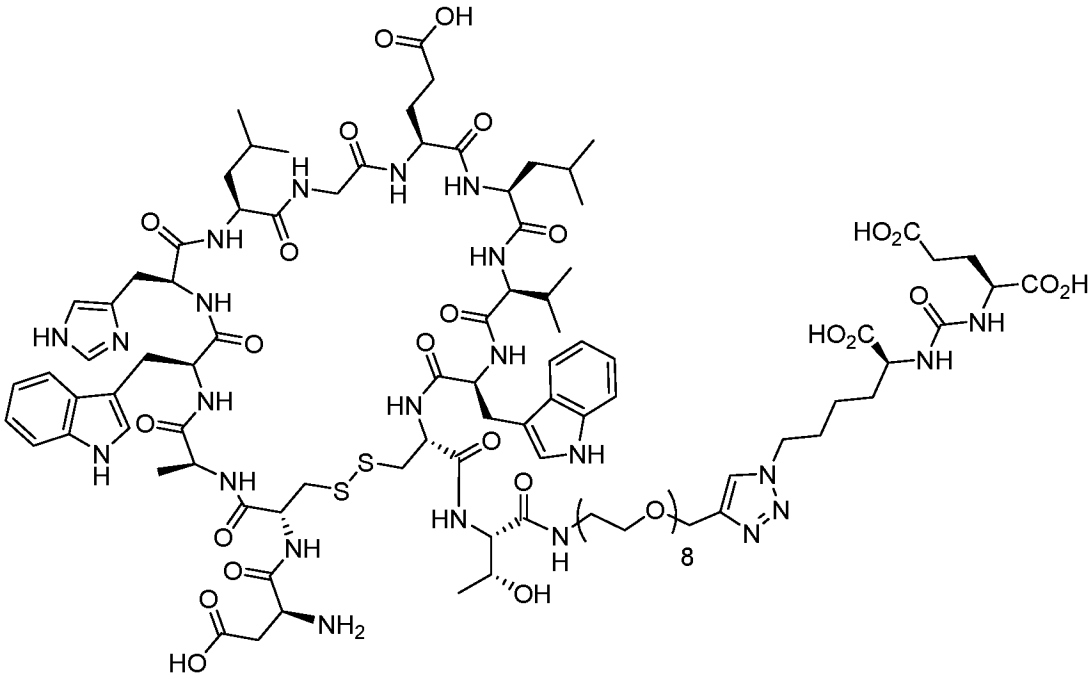
I-13



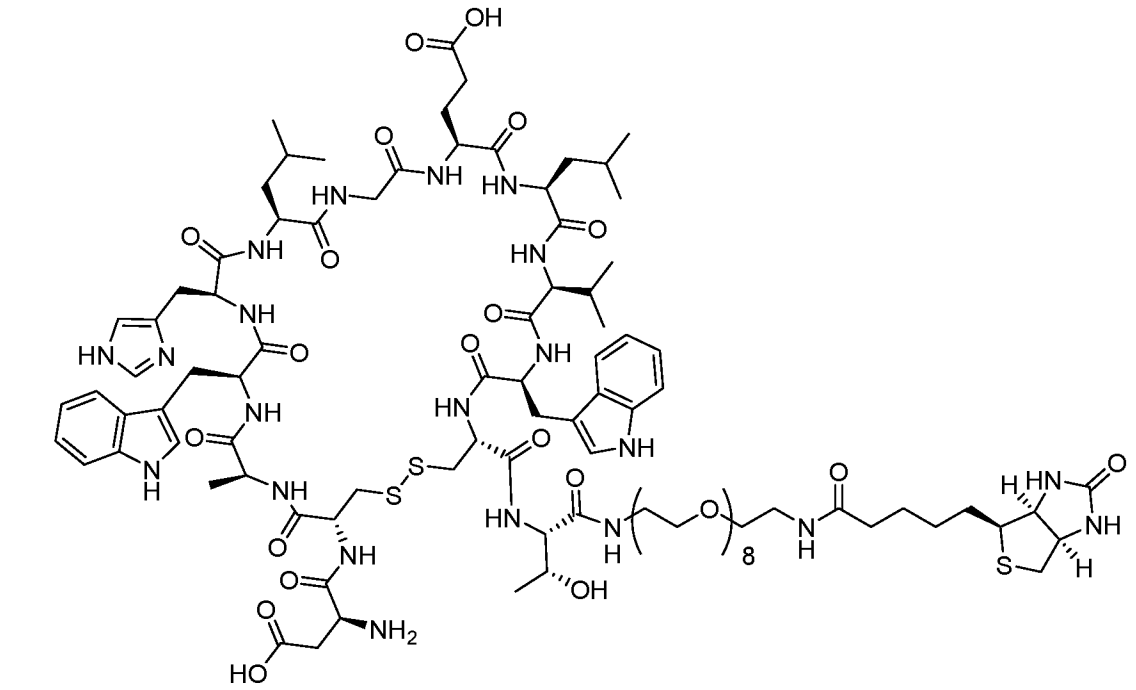
I-14



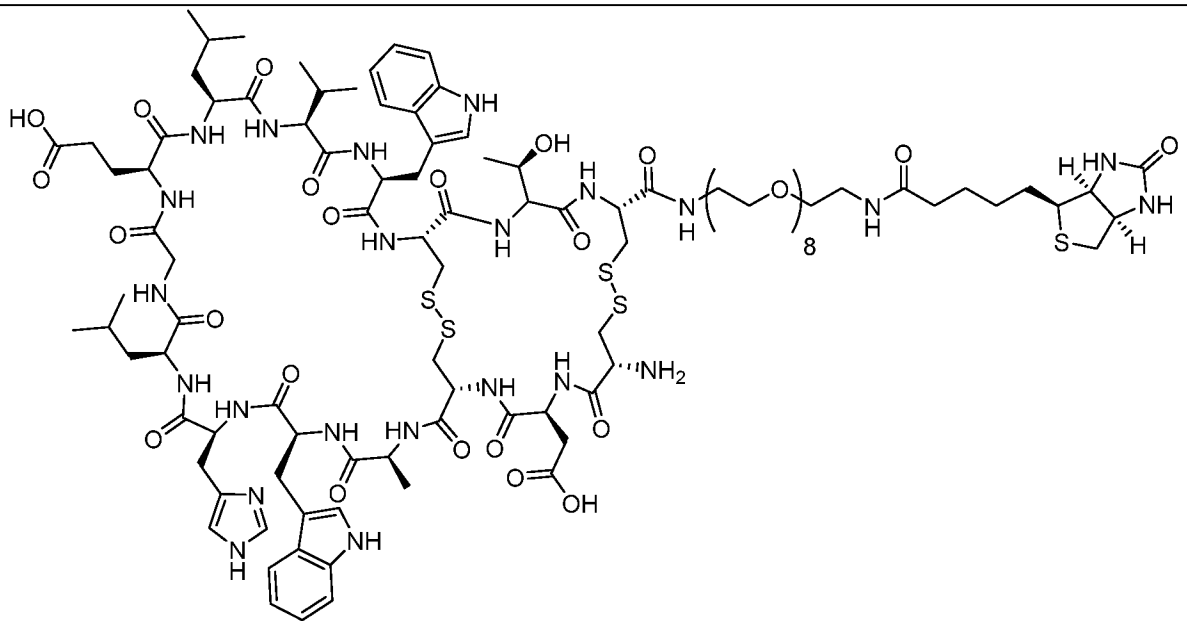
I-15



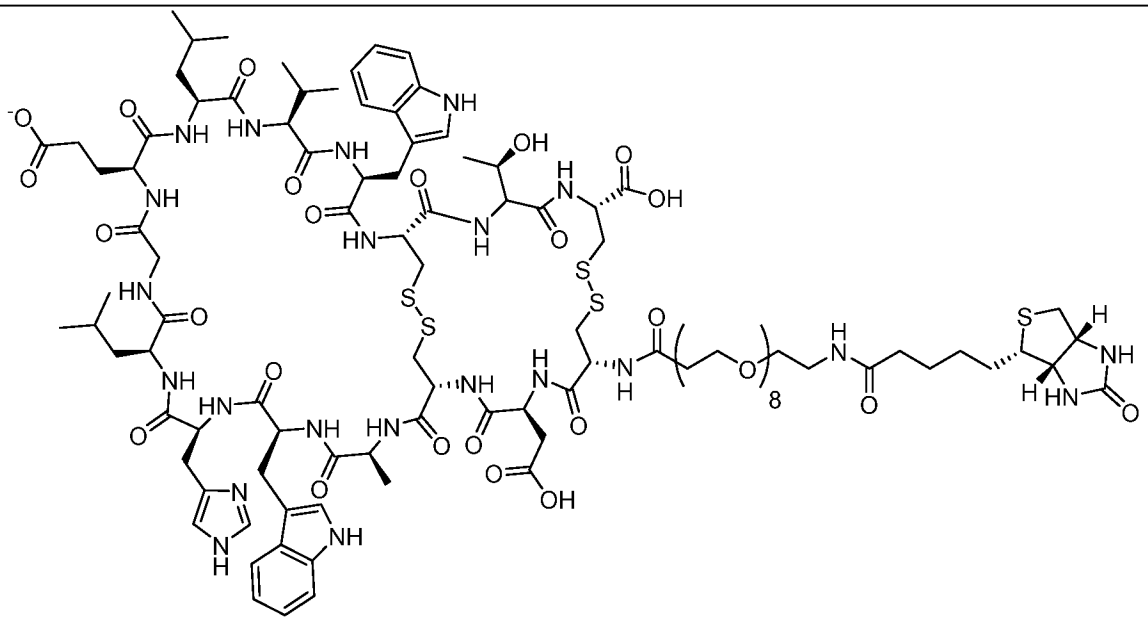
I-16



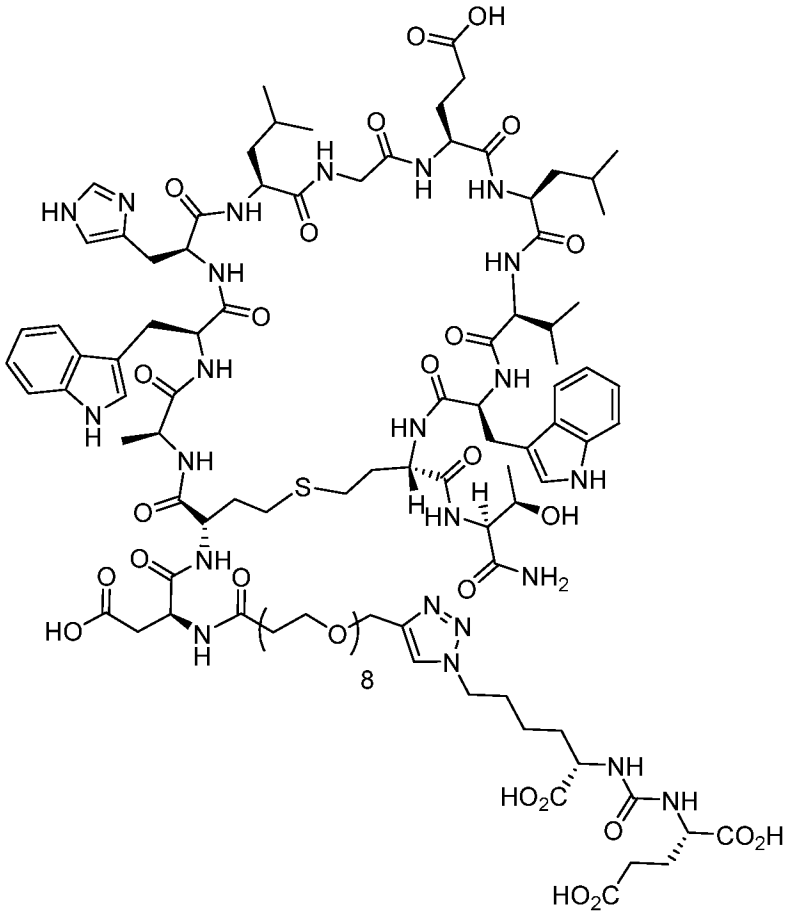
I-17



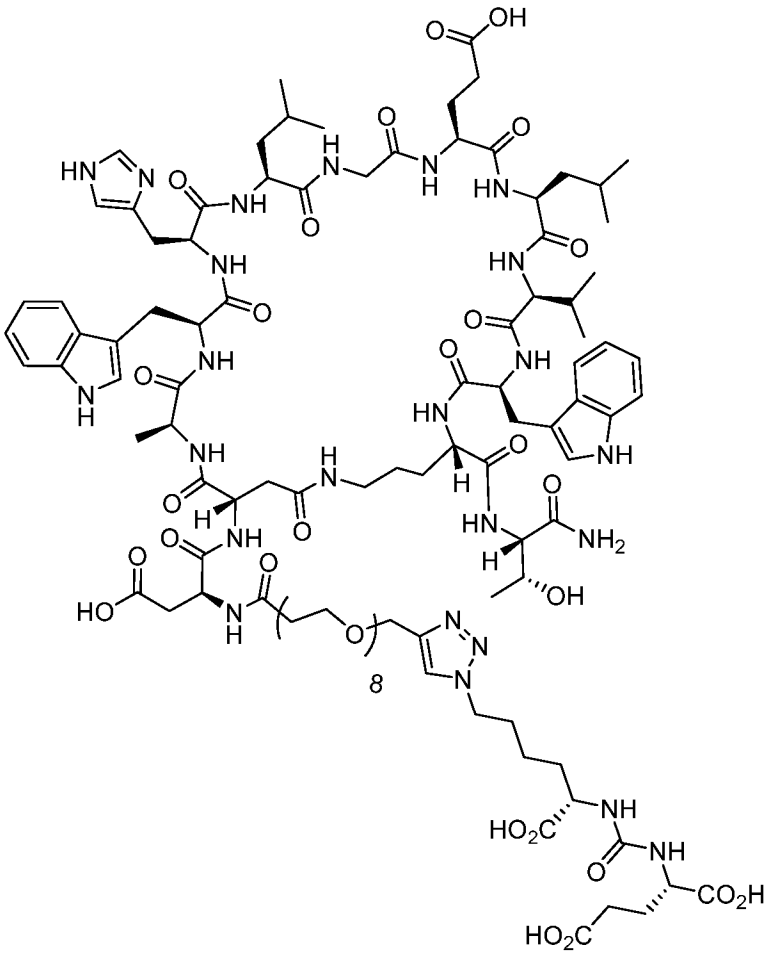
I-18



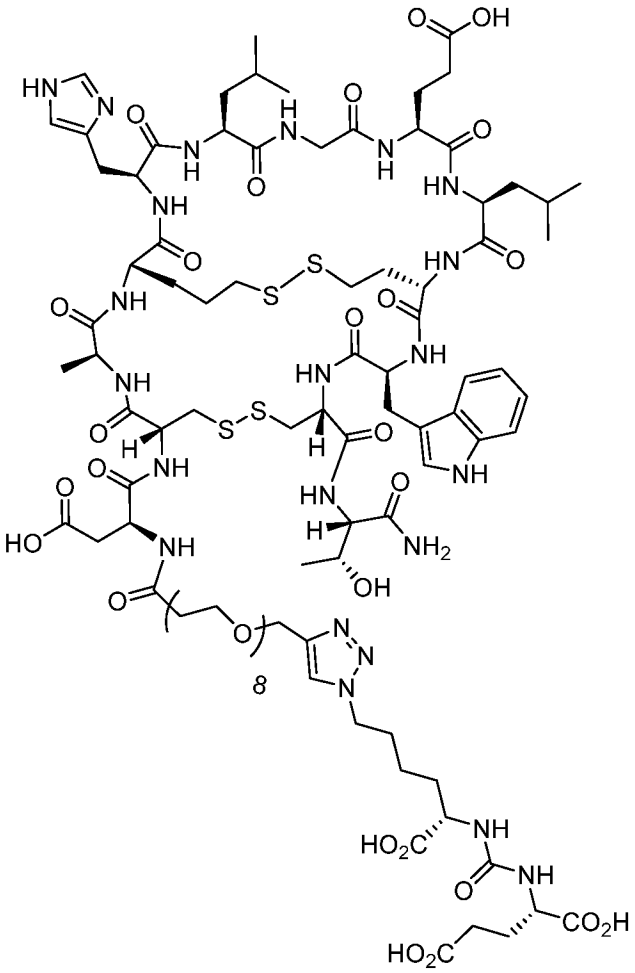
I-19



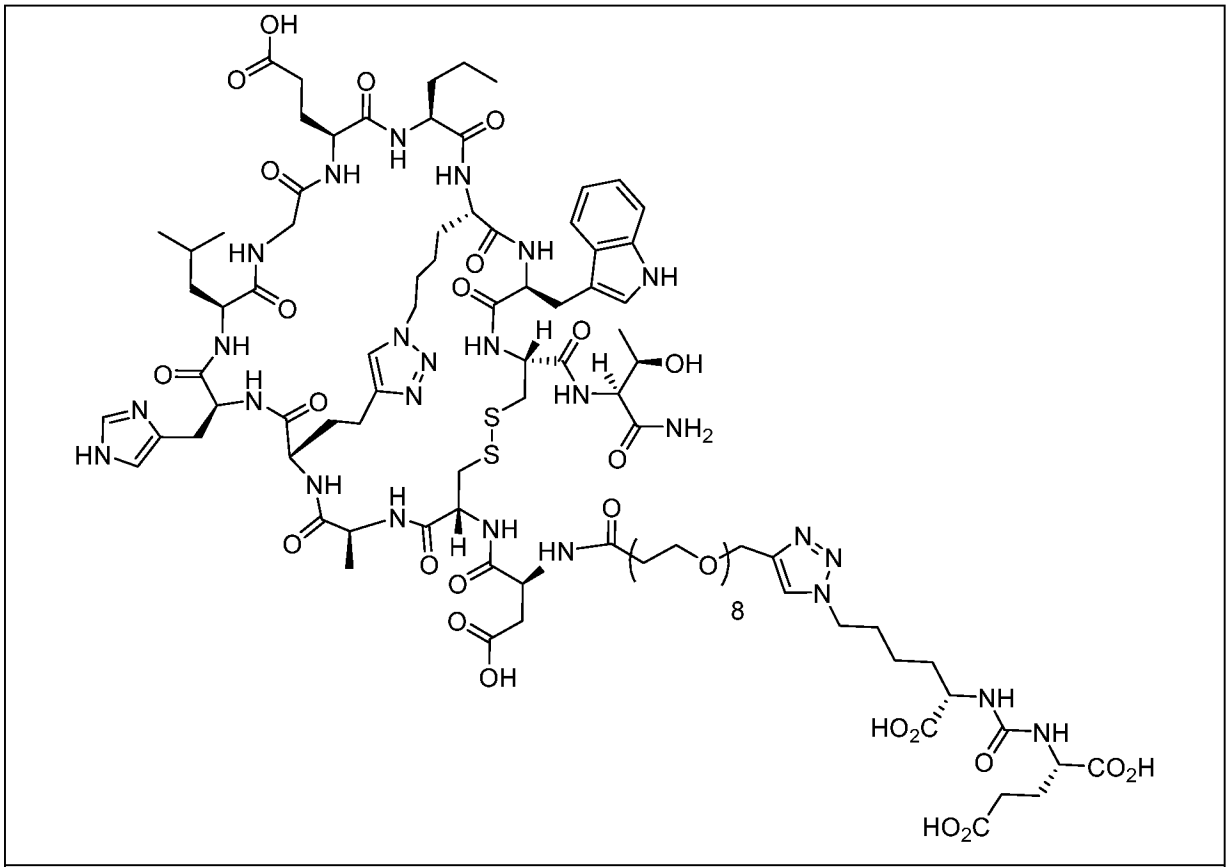
I-20



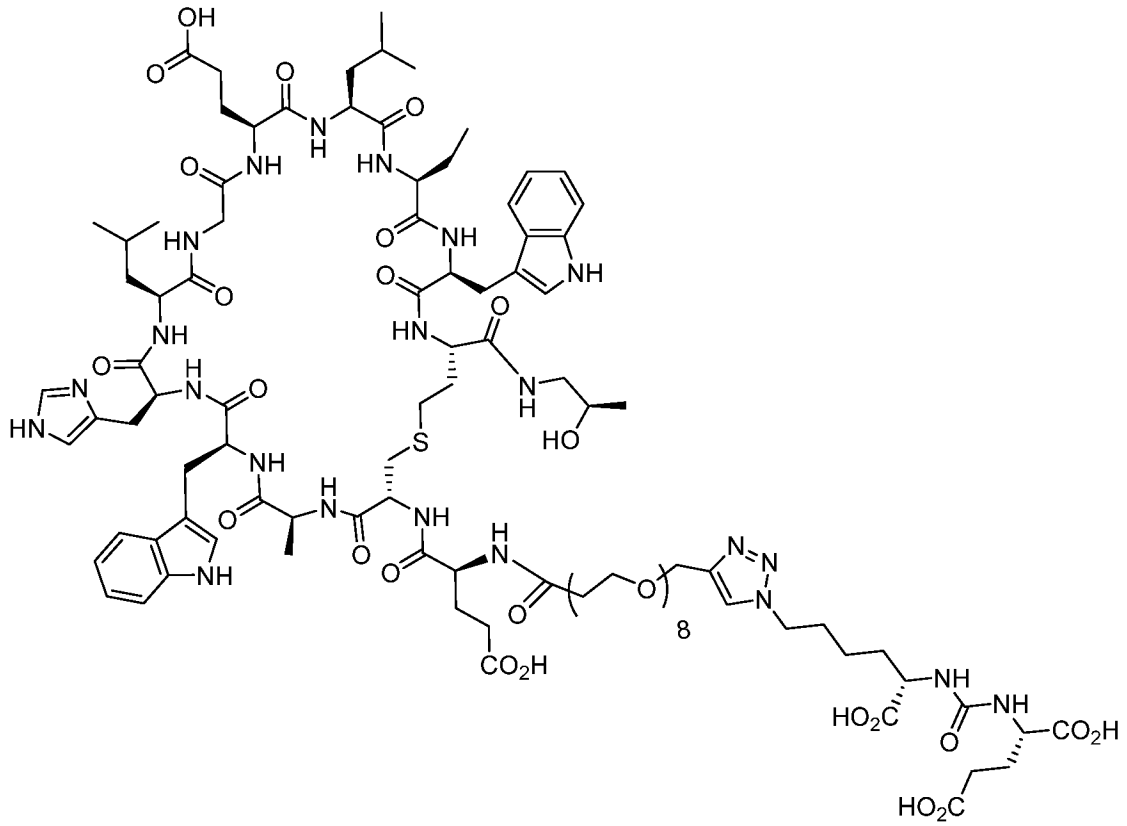
I-21



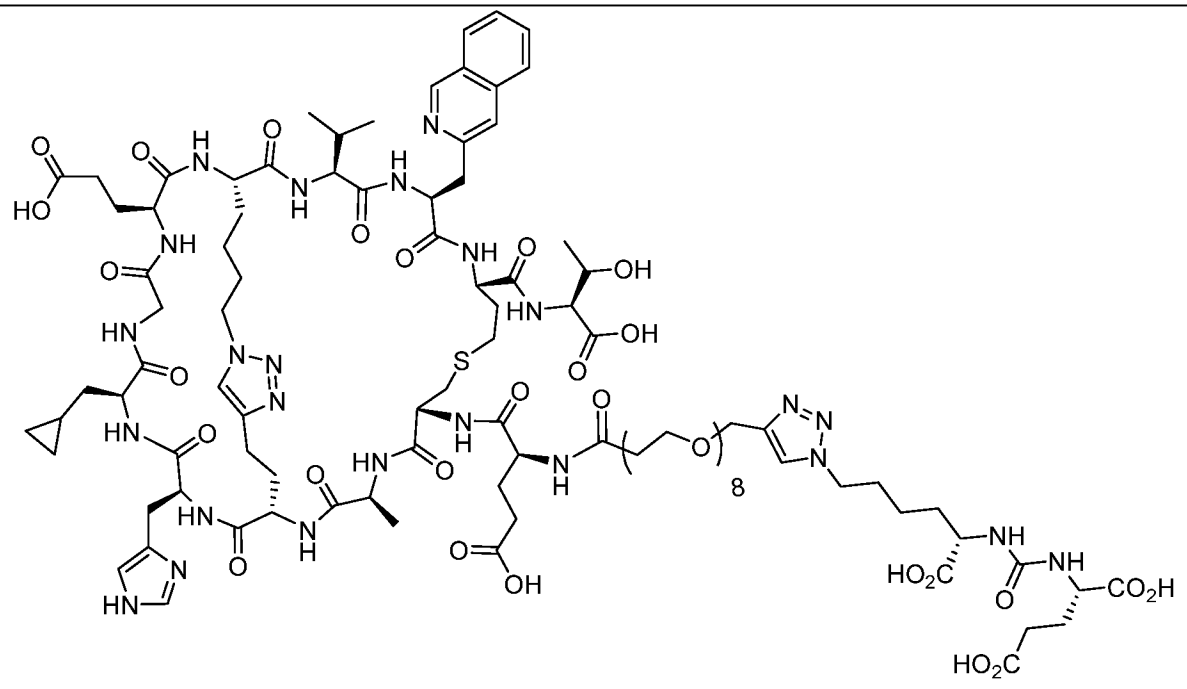
I-22



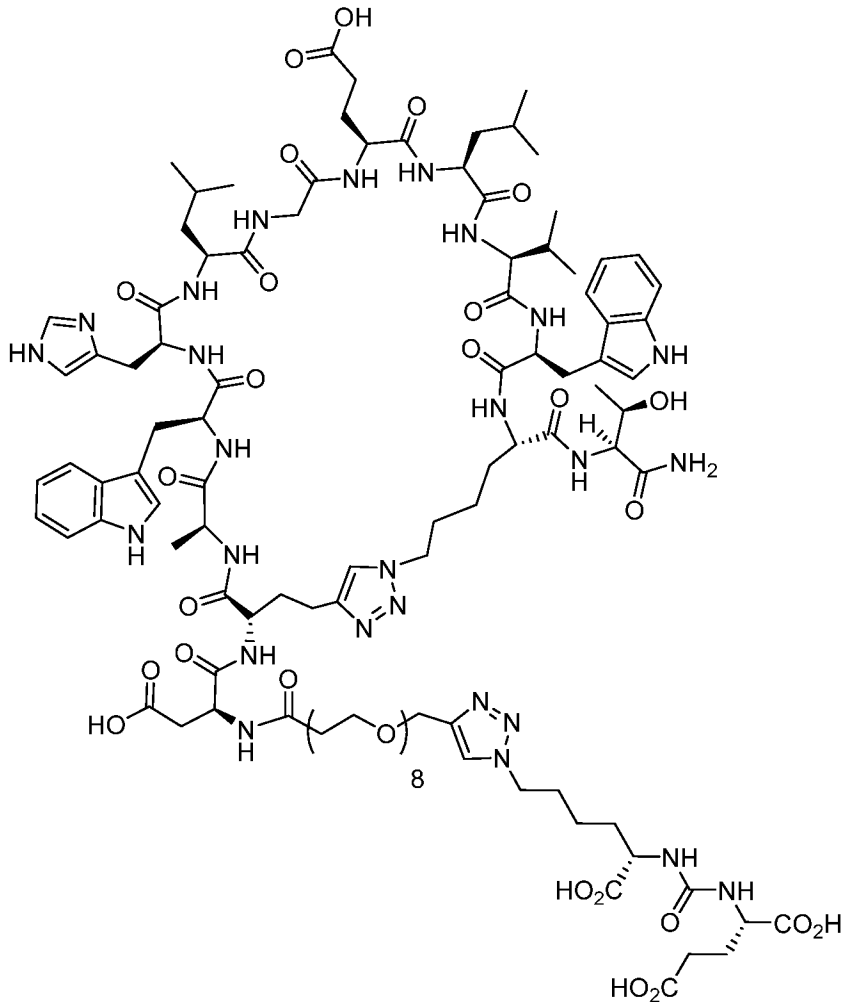
I-23



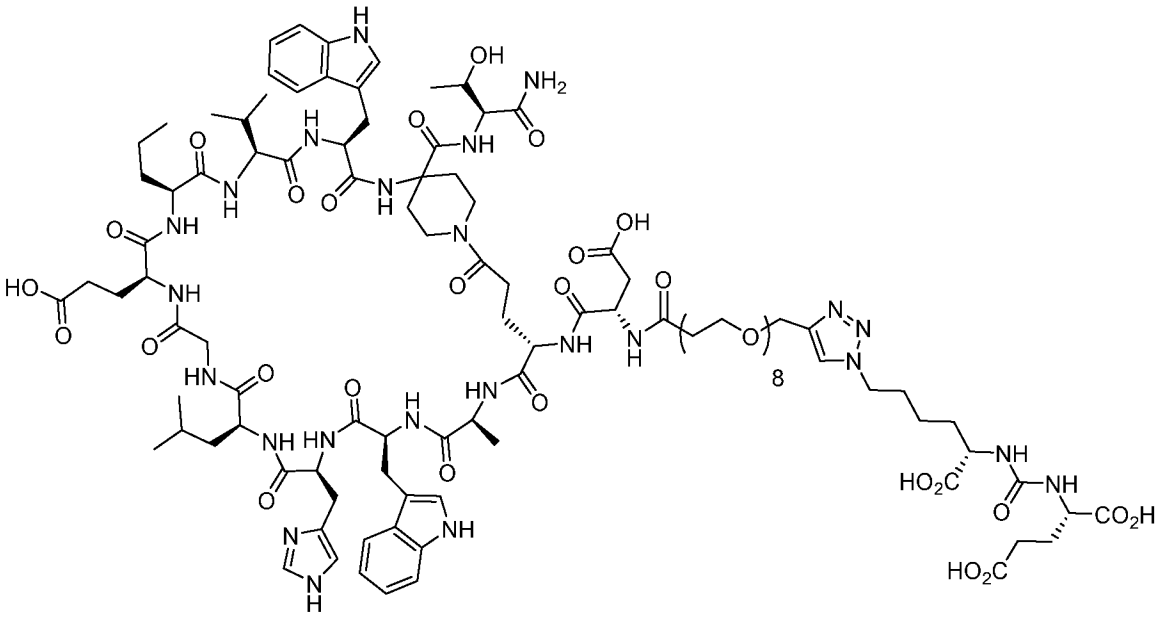
I-24



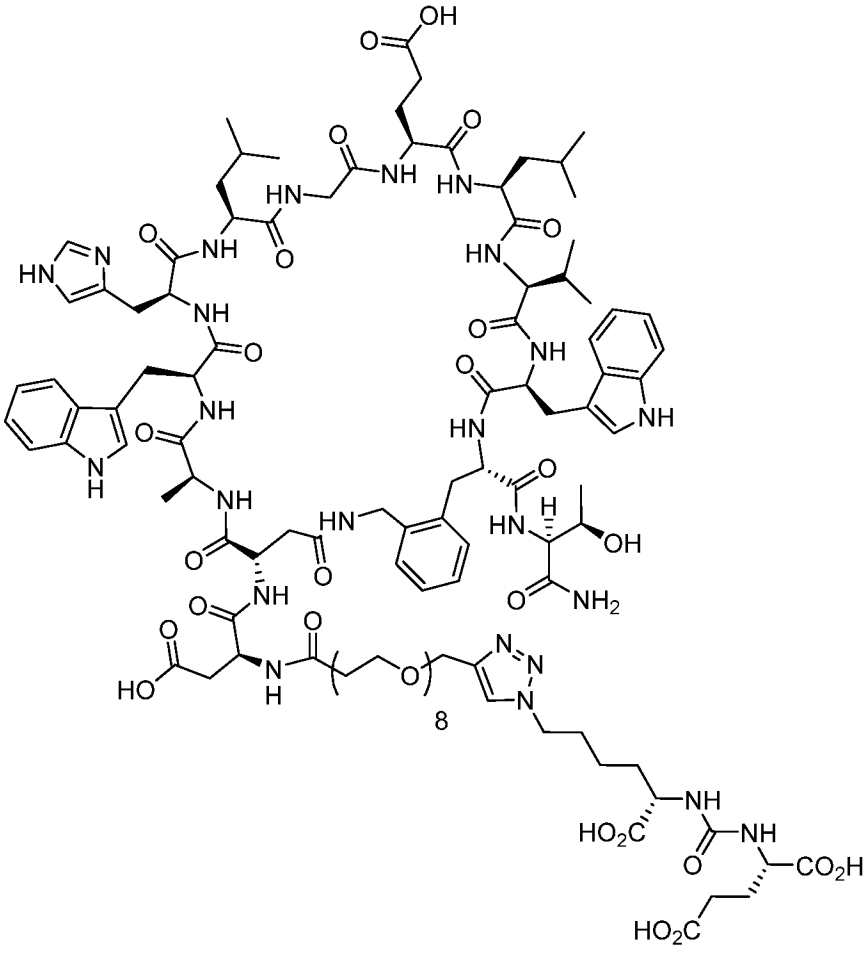
I-25

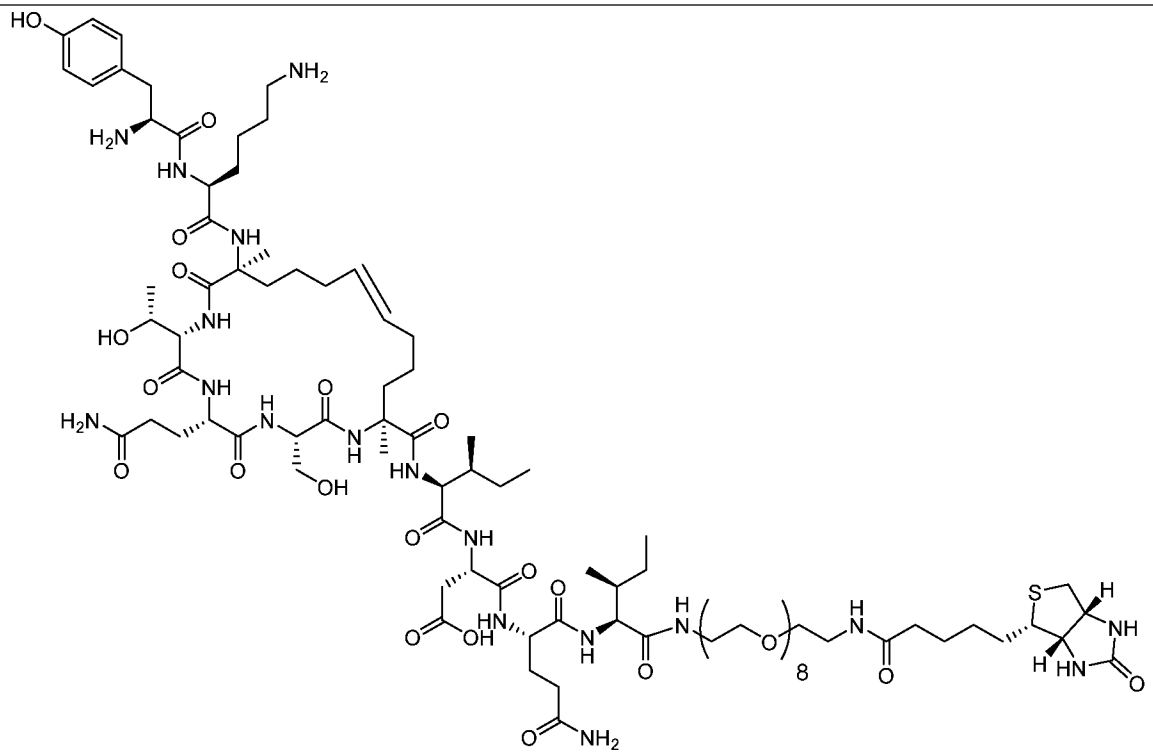
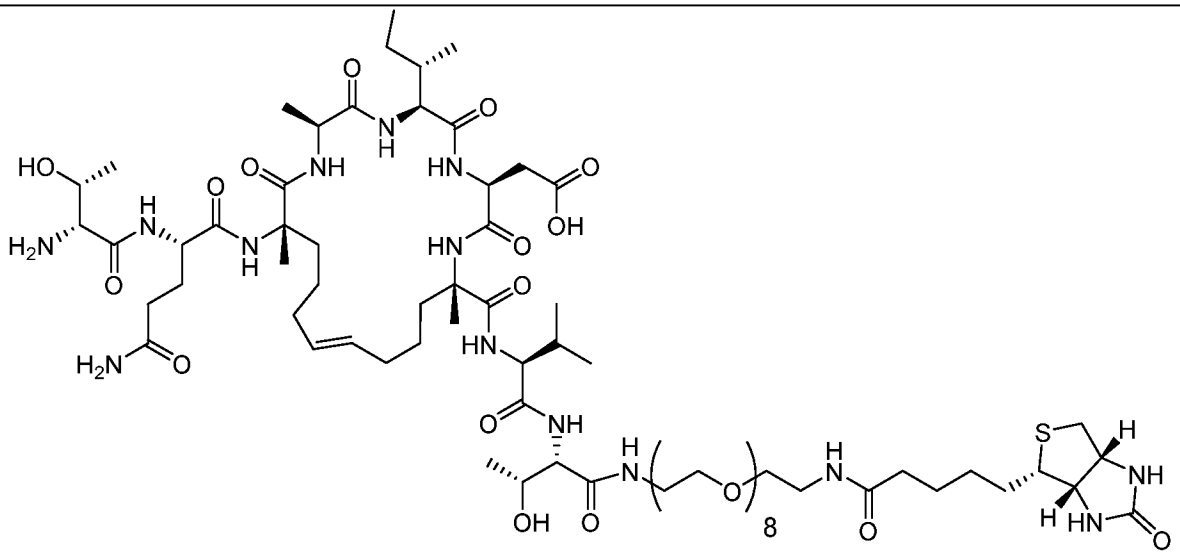


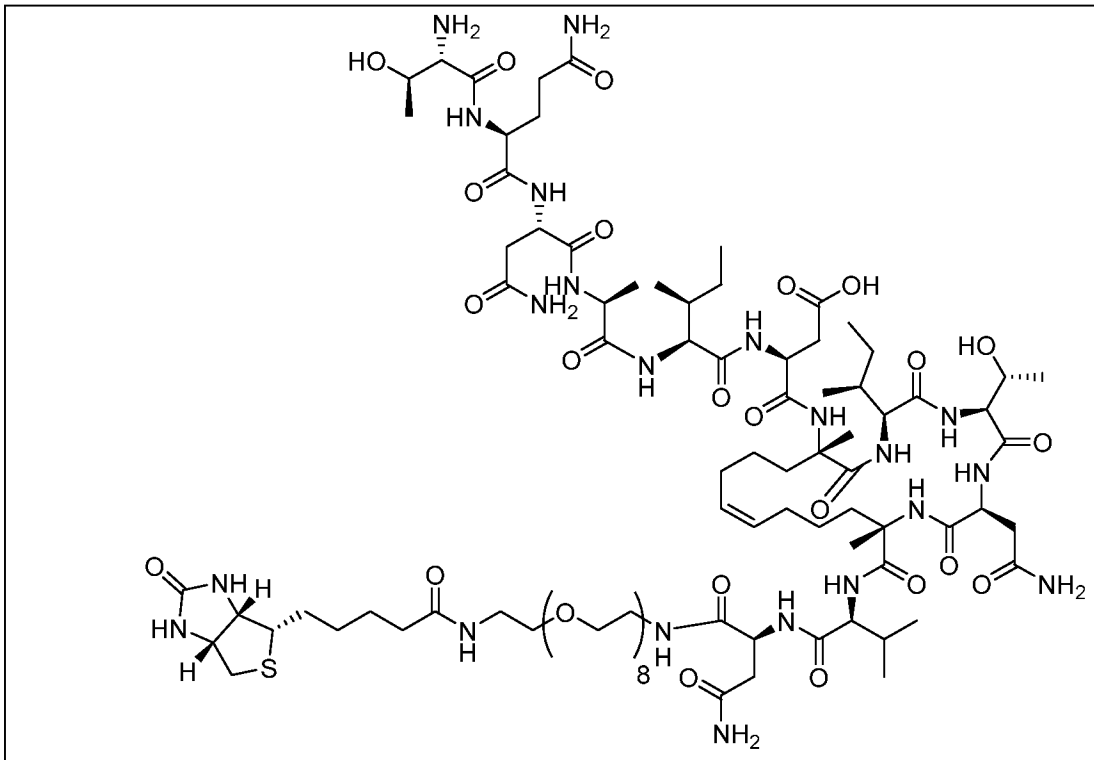
I-26



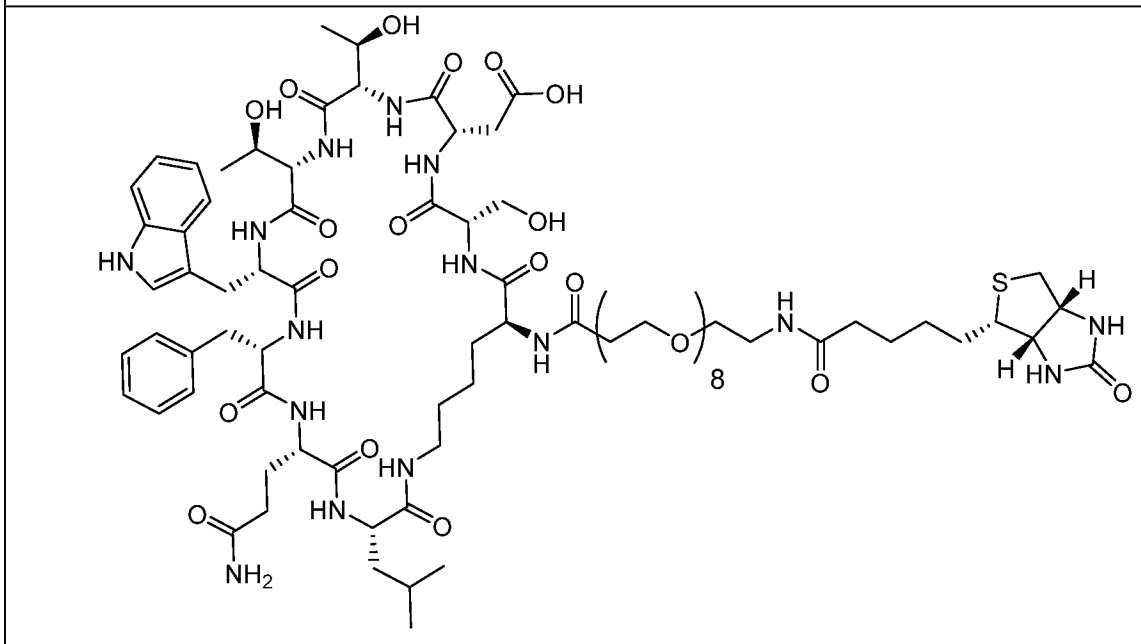
I-27



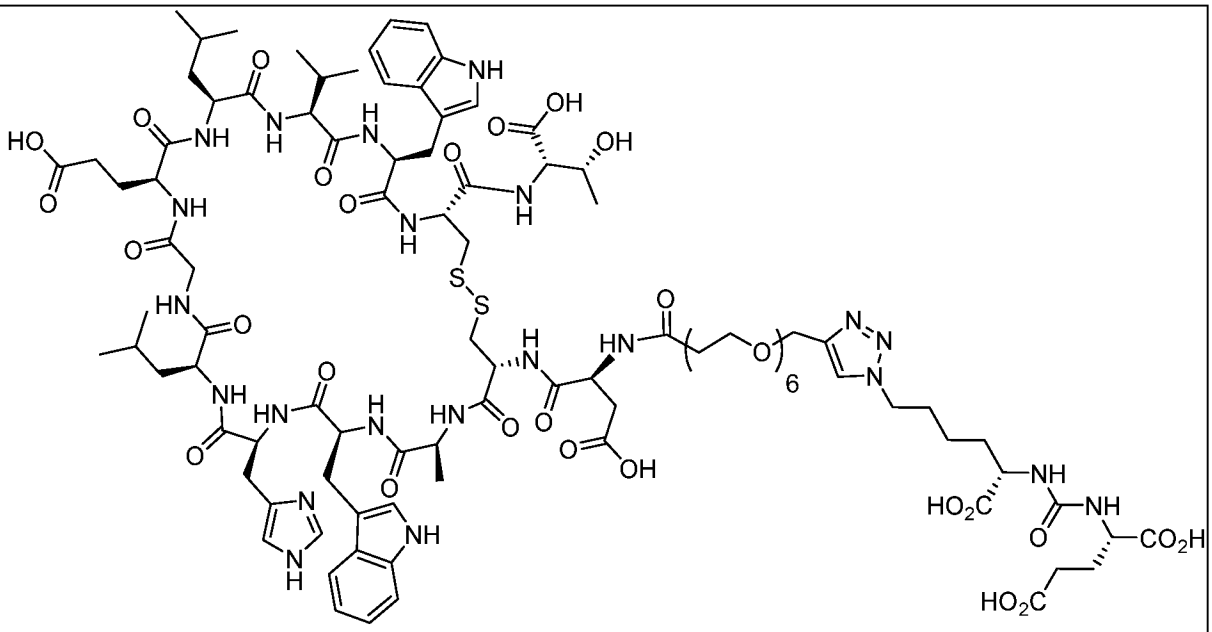
I-28

I-29

I-30



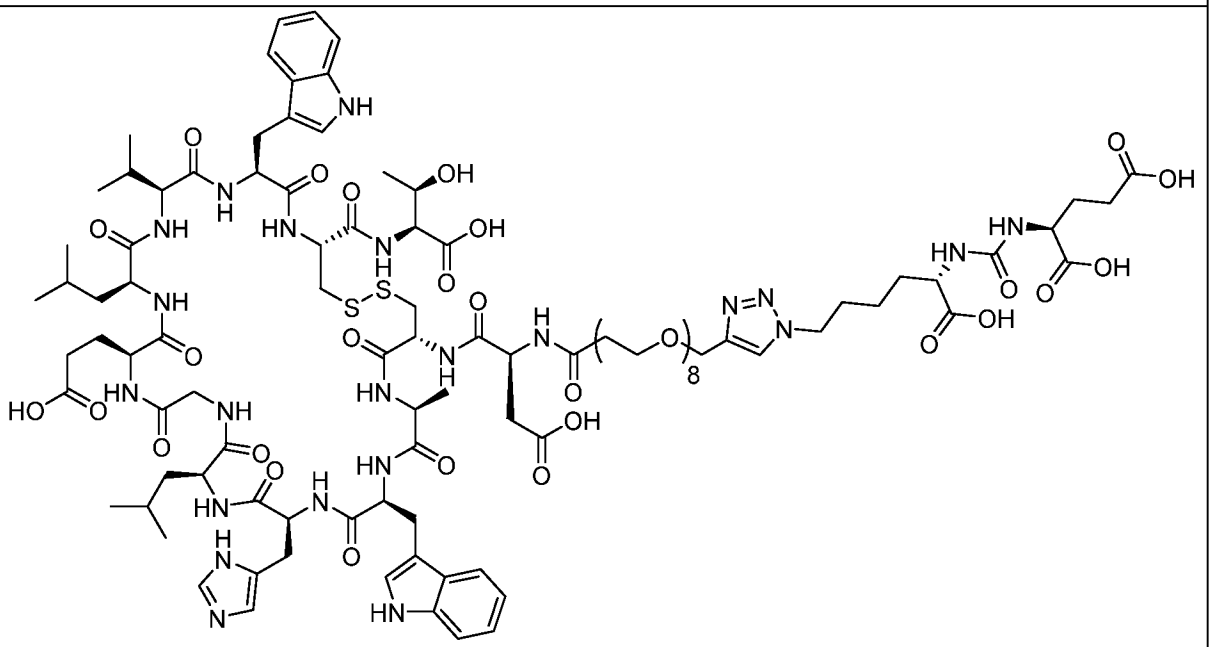
I-31



I-32



I-33



I-34

[00386] В некоторых вариантах осуществления применимая ARM представляет собой соединение, указанное в таблице 1 выше, или его фармацевтически приемлемую соль.

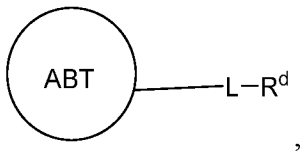
5. Примеры способов получения иммунных клеток и ARM-средств

[00387] Для получения иммунных клеток, например, NK-клеток и средств согласно настоящему раскрытию, можно использовать различные технологии в данной области техники. Некоторые способы, включая выделение, очистку, предварительную активацию, характеризацию, оценку и т. д., описаны в Romee et al., Blood 120, 4751–4760, (2012); Leong et al., Biol. Blood Marrow Transplant. 20, 463–473 (2014); Romee et al., Sci Transl Med. 2016 Sep 21;8(357):357ra123. doi: 10.1126/scitranslmed.aaf2341; и т. п.

[00388] Средства, такие как ARM, могут быть получены, например, с помощью синтетических способов, как проиллюстрировано в примерах.

[00389] Например, в некоторых вариантах осуществления применимые соединения, например, ARM, конструируются посредством реакций циклоприсоединения, например, «химии щелчка» или ее вариантов.

[00390] В некоторых вариантах осуществления соединение, например, применимое для получения средства согласно настоящему раскрытию, например, ARM, имеет структуру формулы **IV:**



,

IV

или его соли, при этом

ABT представляет собой антитело-связывающий фрагмент;

L представляет собой линкерный фрагмент;

R^d представляет собой -L^a-R', где R^d включает -C≡C- или -N_3;

каждый L^a независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, −Cy−, −O−, −S−, −S−S−, −N(R')−, −C(O)−, −C(S)−, −C(NR')−, −C(O)N(R')−, −N(R')C(O)N(R')−, −N(R')C(O)O−, −S(O)−, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, −C(O)S− или −C(O)O−;

каждый -Cy- независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, от 5 до 20-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и от 3 до 20-членного

гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния;

каждый R' независимо представляет собой −R, −C(O)R, $-CO_2R$ или $-SO_2R$;

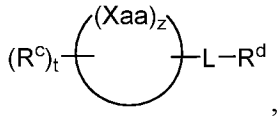
каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или:

две или более группы R у одного и того же атома необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

[00391] В некоторых вариантах осуществления соединение, например, применимое для получения средства согласно настоящему раскрытию, например, ARM, имеет структуру формулы **IV-a:**

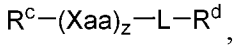


,

IV-a

или его соли, где каждая переменная независимо является такой, как описано в настоящем раскрытии.

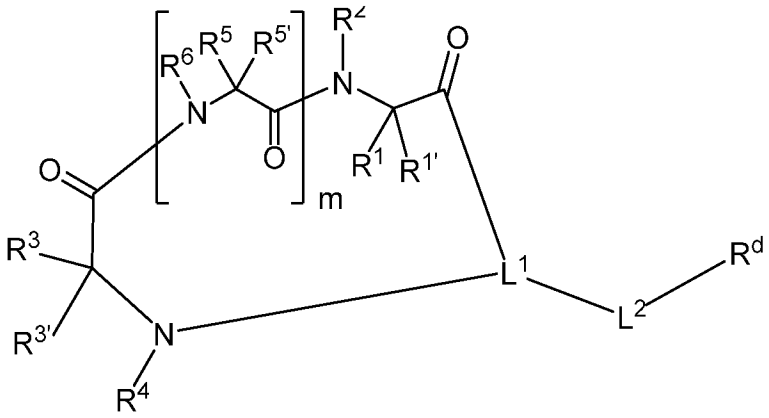
[00392] В некоторых вариантах осуществления соединение, например, применимое для получения средства по настоящему раскрытию, например, ARM, имеет структуру формулы **IV-b:**



IV-b

или его соли, где каждая переменная независимо является такой, как описано в настоящем раскрытии.

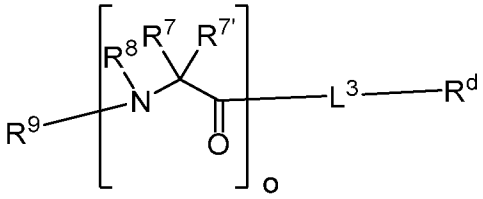
[00393] В некоторых вариантах осуществления соединение, например, применимое для получения средства согласно настоящему раскрытию, например, ARM, имеет структуру формулы **IV-c:**



IV-c

или его соли, где каждая переменная независимо является такой, как описано в настоящем раскрытии.

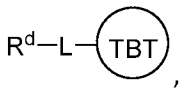
[00394] В некоторых вариантах осуществления соединение, например, применимое для получения средства согласно настоящему раскрытию, например, ARM, имеет структуру формулы **IV-d:**



IV-d

или его соли, где каждая переменная независимо является такой, как описано в настоящем раскрытии.

[00395] В некоторых вариантах осуществления соединение, например, применимое для получения средства согласно настоящему раскрытию, например, ARM, имеет структуру формулы **V:**



V

или его соли, где каждая переменная независимо является такой, как описано в настоящем раскрытии.

[00396] В некоторых вариантах осуществления способ получения соединения, например, ARM, включает следующие стадии:

получение первого соединения формулы IV, IV-a, IV-b, IV-c или IV-d или его соли, где соединение содержит первую реакционноспособную группу;

получение второго соединения формулы V, содержащего вторую реакционноспособную группу, или его соли; и

реакцию взаимодействия первого соединения со вторым соединением, где первая реакционноспособная группа вступает во взаимодействие со второй реакционной группой посредством реакции циклоприсоединения.

[00397] Многие реакции циклоприсоединения могут быть использованы в соответствии с настоящим раскрытием. Реакция циклоприсоединения представляет собой реакцию [4+2]. Реакция циклоприсоединения представляет собой реакцию [3+2]. В некоторых вариантах осуществления реакция [3+2] является химической реакцией щелчка. В некоторых вариантах осуществления первая реакционноспособная группа представляет собой -C≡C- и вторая реакционноспособная группа представляет собой $-N_3$. В некоторых вариантах осуществления первая реакционноспособная группа представляет собой $-N_3$ и вторая реакционноспособная группа представляет собой -C≡C-.

6. Применения, приготовление и введение

Фармацевтически приемлемые композиции

[00398] В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении обеспечивается композиция, содержащая иммунные клетки, например, предварительно активированные память-подобные NK-клетки и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или наполнитель. В некоторых вариантах осуществления в настоящем изобретении обеспечивается композиция, содержащая средство и его фармацевтически приемлемое производное и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или наполнитель. В некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие обеспечивает композицию, содержащую иммунные клетки и средство и его фармацевтически приемлемое производное и также фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или наполнитель. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки и применимые средства, например, ARM, обеспечиваются в отдельных композициях. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки и применимые средства, например, ARM, обеспечиваются в одних и тех же композициях.

[00399] Во многих вариантах осуществления иммунные клетки обычно вводят в количествах, достаточных для обеспечения благоприятного терапевтического эффекта без серьезных побочных эффектов. Например, в некоторых вариантах осуществления иммунные клетки вводят в количестве от 0,01 до 100, от 0,1 до 50, от 0,1 до 20, от 0,1 до 10, 0,05, 0,1, 0,2, 0,3, 0,3, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80 или 90 миллионов на килограмм массы тела субъекта.

[00400] Средства, например, ARM, обычно вводятся в количествах, которые эффективны для перенаправления эндогенных антител (например, эндогенных антител) и/или их фрагментов селективно на клетки-мишени, например, раковые клетки, тем самым индуцируя направленный антителами, опосредованный клетками иммунитет, например, цитотоксичность. В некоторых вариантах осуществления количества соединений в композициях по настоящему раскрытию таковы, что они эффективны для селективного перенаправления эндогенных антител на раковые клетки, тем самым индуцируя антитело-направленную, клеточно-опосредованную цитотоксичность в биологическом образце или у субъекта. В некоторых вариантах осуществления количество составляет от 0,01 до 100 мг/кг массы тела. В некоторых вариантах осуществления количество составляет от 0,01 до 50 мг/кг массы тела. В некоторых вариантах осуществления количество составляет от около 1 мг/кг до около 25 мг/кг.

[00401] В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или наполнитель представляет собой нетоксичный носитель, адъювант или наполнитель, которые не нарушают фармакологическую активность соединения, с которым он составлен. Фармацевтически приемлемые носители, адъюванты или носители, которые можно использовать в композициях по настоящему изобретению, включают, но не ограничиваются ими, ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки, такие как сывороточный альбумин человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновую кислоту, сорбат калия, смеси неполных глицеридов насыщенных жирных кислот растительного происхождения, воду, соли или электролиты, такие как сульфат протамина, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, карбоксиметилцеллюлозу натрия, полиакрилаты, воски, блок-полимеры полиэтилен-полиоксипропилен, полиэтиленгликоль и шерстяной жир. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки могут содержаться в подходящей среде.

[00402] В некоторых вариантах осуществления средство может быть обеспечено в виде фармацевтически приемлемого производного, которое может быть нетоксичной солью, сложным эфиром, солью сложного эфира или другим производным соединения по настоящему раскрытию, которое при введении реципиенту, может прямо или косвенно обеспечить средство.

[00403] Композиции по настоящему изобретению можно вводить перорально, парентерально, с помощью ингаляционного спрея, местно, ректально, назально, буккально, вагинально или через имплантированный резервуар. В некоторых вариантах осуществления парентеральное введение включает подкожные, внутривенные, внутримышечные, внутрисуставные, внутрисиновиальные, внутригрудинные, интратекальные, внутрипеченочные, внутричерепные и внутричерепные инъекции или способы инфузии. Предпочтительно композиции вводят перорально, внутрибрюшинно или внутривенно. Предпочтительно композиции, содержащие иммунные клетки, вводят внутривенно. Стерильные формы для инъекций композиций по настоящему изобретению могут представлять собой водную или масляную суспензию. Суспензии могут быть составлены согласно методикам, известным в данной области техники, с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов.

Стерильный инъекционный препарат может также быть стерильным инъекционным раствором или суспензией в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. К приемлемым носителям и растворителям, которые можно использовать, относятся вода, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, стерильные нелетучие масла обычно используются в качестве растворителя или суспендирующей среды.

[00404] В некоторых вариантах осуществления средства, например, ARM, составлены в виде композиций для отсроченного и/или длительного высвобождения. Технологии замедленного высвобождения и/или замедленного всасывания широко доступны в данной области техники и могут использоваться в соответствии с настоящим раскрытием.

[00405] В некоторых вариантах осуществления можно использовать мягкое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Жирные кислоты, такие как олеиновая кислота и ее глицеридные производные, могут быть применимы при приготовлении инъекционных препаратов, и могут быть натуральные фармацевтически приемлемые масла, такие как оливковое масло или касторовое масло, особенно в их полиоксиэтилированных версиях. Такие масляные растворы или суспензии могут также содержать разбавитель или диспергатор на основе длинноцепочечного спирта, такой как карбоксиметилцеллюлоза или аналогичные диспергирующие средства, которые обычно используются в составлении фармацевтически приемлемых дозированных форм, включая эмульсии и суспензии. Другие обычно используемые поверхностно-активные вещества, такие как Tweens, Spans и другие эмульгирующие средства или усилители биодоступности, которые обычно используются при производстве фармацевтически приемлемых твердых, жидких или других лекарственных форм, также могут быть использованы для мишеней приготовления.

[00406] Фармацевтически приемлемые композиции средств по настоящему раскрытию, например, ARM, можно вводить перорально в перорально приемлемой дозированной форме, например, в капсулах, таблетках, водных суспензиях или растворах. В случае таблеток для перорального применения обычно используемые носители включают лактозу и кукурузный крахмал. Также могут быть добавлены смазывающие средства, такие как стеарат магния. Для перорального введения в форме капсул подходящие разбавители включают лактозу и сушеный кукурузный крахмал. Когда для перорального применения требуются водные суспензии, активный ингредиент комбинируют с эмульгирующими и

суспендирующими средствами. При желании также могут быть добавлены определенные подсластители, ароматизаторы или красители.

[00407] Твердые лекарственные формы, например, для перорального введения, включают капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы. В некоторых вариантах осуществления агент, который должен быть доставлен, например, ARM, смешан по меньшей мере с одним инертным, фармацевтически приемлемым наполнителем или носителем, таким как цитрат натрия или дикальцийфосфат, и/или a) наполнителями или сухими разбавителями, такими как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и кремниевая кислота, b) связующими, такие как, например, карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидинон, сахароза и гуммиарабик, c) увлажнителями, такие как глицерин, d) разрыхляющими средствами, такими как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые силикаты и карбонат натрия, e) средствами, замедляющими растворение, такие как парафин, f) ускорителями абсорбции, такими как соединения четвертичного аммония, g) смачивающими средствами, такими как, например, цетиловый спирт и моностеарат глицерина, h) абсорбентами, такими как каолин и бентонитовая глина, и i) смазывающими веществами, такими как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и их смеси. В случае капсул, таблеток и пилюль лекарственная форма может также содержать буферные средства.

[00408] Таким образом, твердые композиции могут использоваться в качестве наполнителей в мягких и твердых желатиновых капсулах с использованием вспомогательных веществ, таких как лактоза или молочный сахар, и полиэтиленгликоль с высокой молекулярной массой и т. п. В некоторых вариантах осуществления твердые лекарственные формы таблеток, драже, капсул, пилюль и гранул могут быть приготовлены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области составления фармацевтических препаратов. В некоторых вариантах осуществления твердые композиции могут необязательно содержать непрозрачные средства и могут высвобождать средства, которые должны быть доставлены только или предпочтительно в определенную часть субъекта (например, определенную часть кишечного тракта), возможно, замедленным образом. Примеры композиций для заливки, которые можно использовать, включают полимерные вещества и воски.

[00409] В некоторых вариантах осуществления средства, например, ARM, могут быть в микрокапсулированной форме с одним или несколькими вспомогательными веществами, как указано выше. В некоторых вариантах осуществления твердые лекарственные формы таблеток, драже, капсул, пилюль и гранул могут быть приготовлены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия, покрытия, контролирующие высвобождение, и другие покрытия, хорошо известные в области фармацевтических препаратов. В таких твердых дозированных формах доставляемые средства могут быть смешаны по меньшей мере с одним инертным разбавителем, таким как сахароза, лактоза или крахмал. Такие лекарственные формы могут также содержать, как в обычной практике, дополнительные вещества, например, смазывающие вещества для таблетирования и другие вспомогательные вещества для таблетирования, такие как стеарат магния и микрокристаллическая целлюлоза. В некоторых вариантах осуществления в случае капсул, таблеток и пилюль лекарственные формы могут содержать буферные средства.

[00410] Альтернативно, фармацевтически приемлемые композиции можно вводить в форме суппозиториев для ректального введения. Их можно приготовить путем смешивания средства с подходящим нераздражающим наполнителем, который является твердым при комнатной температуре, но жидким при ректальной температуре и, следовательно, плавится в прямой кишке с высвобождением лекарственного средства. Такие материалы включают масло какао, пчелиный воск и полиэтиленгликоли.

[00411] Фармацевтически приемлемые композиции по настоящему изобретению, следовательно, можно вводить местно, особенно когда цель лечения включает области или органы, легко доступные для местного применения, включая заболевания глаз, кожи или нижних отделов кишечного тракта. Подходящие составы для местного применения можно легко приготовить для каждой из этих областей или органов.

[00412] Для местного применения фармацевтически приемлемые композиции могут быть составлены в виде подходящей мази, содержащей суспендированный или растворенный активный компонент в одном или нескольких носителях. Носители для местного введения соединений по настоящему изобретению включают, но не ограничиваются ими, минеральное масло, жидкий вазелин, белый вазелин, пропиленгликоль, полиоксиэтилен, соединение полиоксипропилена, эмульгирующий воск и воду. Альтернативно, фармацевтически приемлемые композиции могут быть составлены в виде подходящего лосьона или крема, содержащего активные компоненты, суспендированные или

растворенные в одном или нескольких фармацевтически приемлемых носителях. Подходящие носители включают, но не ограничиваются ими, минеральное масло, моностеарат сорбитана, полисорбат 60, цетиловый эфиры воска, цетеариловый спирт, 2-октилдодеканол, бензиловый спирт и воду.

[00413] Для офтальмологического применения фармацевтически приемлемые композиции могут быть составлены в виде микронизированных суспензий в изотоническом стерильном физиологическом растворе с отрегулированным pH или, предпочтительно, в виде растворов в изотоническом стерильном физиологическом растворе с отрегулированным pH, либо с консервантом, таким как хлорид бензилалкония либо без него. Альтернативно, для офтальмологического применения фармацевтически приемлемые композиции могут быть приготовлены в виде мази, такой как вазелин.

[00414] Таким образом, фармацевтически приемлемые композиции можно вводить с помощью назального аэрозоля или ингаляции. Такие композиции готовят согласно методикам, хорошо известным в области составления фармацевтических препаратов, и могут быть приготовлены в виде растворов в физиологическом растворе с использованием бензилового спирта или других подходящих консервантов, промоторов абсорбции для повышения биодоступности, фторуглеродов и/или других обычных солюбилизирующих или диспергирующих средств.

[00415] Фармацевтически приемлемые композиции агентов, например, ARM, могут быть составлены для перорального введения. Такие составы можно вводить с пищей или без нее. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые композиции вводят без еды. В других случаях фармацевтически приемлемые композиции вводят с пищей.

[00416] Также следует понимать, что конкретная дозировка и схема лечения для конкретного субъекта будут зависеть от множества факторов, например, активности конкретных иммунных клеток и/или используемых агентов, возраста, массы тела, общего состояния здоровья, пола, диеты, времени приема, скорости выведения, комбинации лекарств, заключения лечащего врача и тяжести конкретного заболевания, которое лечат, и т. д.

Применения

[00417] Среди прочего, настоящее раскрытие включает признание того, что определенные иммунные клетки, такие как предварительно активированные память-подобные NK-клетки,

обладают улучшенными свойствами и/или активностью в отношении своих мишеней, например, раковых клеток, и могут быть особенно эффективными для лечения состояний, нарушений или заболеваний, таких как рак; однако такие иммунные клетки, например, из-за их повышенной цитотоксичности, также могут вызывать более серьезные побочные эффекты, например, в результате нецелевого воздействия. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления настоящее раскрытие обеспечивает технологии, которые подвергают субъекта воздействию как таких иммунных клеток, так и средств, например, ARM, которые могут способствовать нацеливанию иммунных клеток на желаемые мишени (например, раковые клетки) и уменьшать побочные эффекты такой терапии иммунными клетками.

[00418] В некоторых вариантах осуществления применимые средства селективно направляют антитела, например, эндогенные антитела, к больным клеткам, например, раковым клеткам, тем самым вызывая и/или способствуя антитело-направленному, клеточно-опосредованному иммунному ответу, например, цитотоксичности иммунными клетками, такими как предварительно активированные память-подобные NK-клетки, (например, цитокин-индуцированные память-подобные NK-клетки). В некоторых вариантах осуществления рекрутированные антитела содержат одно или несколько эндогенных антител. В некоторых вариантах осуществления рекрутированные антитела обладают специфичностью в отношении одного или нескольких антигенов. В некоторых вариантах осуществления рекрутированные антитела обладают специфичностью в отношении одного или нескольких пептидных антигенов или белков. В некоторых вариантах осуществления рекрутированные антитела являются гетерогенными в том смысле, что они не являются антителами к одному и тому же антигену или белку.

[00419] В некоторых вариантах осуществления применимые средства, например, ARM, запускают, стимулируют и/или усиливают одну или несколько активностей иммунной системы по отношению к мишени. В некоторых вариантах осуществления активность иммунной системы представляет собой или содержит ADCC NK-клетками. В некоторых вариантах осуществления активность иммунной системы представляет собой или содержит ADCC предварительно активированными память-подобными NK-клетками, (например, цитокин-индуцированными память-подобными NK-клетками). В некоторых вариантах осуществления цель представляет собой раковую клетку. В некоторых вариантах осуществления цель представляет собой раковые клетки субъекта.

[00420] Как описано в данном документе, иммунные клетки, такие как предварительно активированные память-подобные NK-клетки (например, цитокин-индуцированные память-подобные NK-клетки), и средства, такие как ARM, вводятся таким образом, что субъект может подвергаться воздействию обоих. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки (или их дозу) вводят перед средством ARM (или его дозой). В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки (или их дозу) вводят после средства ARM (или его дозы). В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки (или их дозу) вводят одновременно с средством ARM (или его дозой). При одновременном введении иммунные клетки и ARM можно вводить в одной композиции или в виде отдельных композиций. В некоторых вариантах осуществления иммунные клетки и ARM вводятся в пределах 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24 часов, или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 дней или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 недель друг от друга. Иммунные клетки и средства (например, ARM) можно вводить независимо в виде однократной дозы или множественных доз. В некоторых вариантах осуществления введенные иммунные клетки, например, предварительно активированные память-подобные NK-клетки образуют комплексы с введенными ARM вместе с мишенями (например, раковыми клетками) и антителами (или их фрагментами) у субъекта, причем антитела (или их фрагменты) взаимодействуют с иммунными клетками и ARM, и ARM взаимодействуют с антителами (или их фрагментами) и мишенями (например, раковыми клетками).

[00421] В некоторых вариантах осуществления «лечить» или «лечение», при использовании в данном документе, включает в себя обращение, облегчение, отсрочку начала или ингибирование развития состояния, расстройства или заболевания или одного или нескольких их симптомов. В некоторых вариантах осуществления лечение может быть назначено после развития одного или нескольких симптомов. В других случаях лечение можно проводить при отсутствии симптомов. Например, лечение может быть назначено восприимчивому индивиду до появления симптомов (например, в свете симптомов в анамнезе и/или в свете генетических или других факторов восприимчивости). Лечение также может быть продолжено после исчезновения симптомов, например, для предотвращения или отсрочки их повторения.

[00422] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение обеспечивает способ лечения одного или нескольких расстройств, заболеваний и/или состояний, связанных с расстройством, заболеванием или состоянием, которое представляет собой рак.

Среди прочего, обеспеченные технологии (например, соединения, композиции, способы и т. д.) применимы для предотвращения и/или лечения рака.

[00423] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой патологический процесс, который приводит к образованию и росту ракового или злокачественного новообразования, т.е. аномальная ткань действительно растет за счет клеточной пролиферации, часто быстрее, чем обычно, и продолжает расти после прекращения стимулов, которые инициировали новый рост. Злокачественные новообразования могут демонстрировать частичное или полное отсутствие структурной организации и функциональной координации с нормальной тканью, и большинство из них проникает в окружающие ткани, метастазирует в несколько участков и, вероятно, рецидивирует после попытки удаления и может привести к смерти пациента без надлежащего лечения. В некоторых вариантах осуществления термин неоплазия включает все злокачественные болезненные состояния и охватывает или охватывает патологический процесс, связанный со злокачественными гематогенными, асцитическими и солидными опухолями. Репрезентативные виды рака включают, например, рак предстательной железы, метастатический рак предстательной железы, рак желудка, толстой кишки, прямой кишки, печени, поджелудочной железы, легких, груди, шейки матки, тела матки, яичников, семенников, мочевого пузыря, почек, головного мозга/ЦНС, головы и шеи, горла, болезнь Ходжкина, неходжкинскую лимфому, множественную миелому, лейкоз, меланому, немеланомный рак кожи, острый лимфолейкоз, острый миелогенный лейкоз, саркому Юинга, мелкоклеточный рак легкого, хориокарциному, рабдомиосаркому, опухоль Вильмса, нейробластому, волосатоклеточный лейкоз, рак слизистой оболочки, рта/глотки, пищевода, гортани, рак почки и лимфому , среди прочего, которые можно лечить одним или несколькими соединениями в соответствии с настоящим изобретением.

[00424] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой лейкоз. В некоторых вариантах осуществления обеспеченные технологии особенно применимы для лечения лейкемии. В некоторых вариантах осуществления обеспеченные технологии особенно применимы для лечения острого миелоидного лейкоза (ОМЛ). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой лимфому. Некоторые виды рака представляет собой меланому.

[00425] В некоторых вариантах осуществления до введения настоящей терапии (например, воздействия как введенных предварительно активированных, память-подобных NK-клеток,

так и ARM) субъект мог лечиться другой терапией, например, химиотерапией, иммунотерапией, хирургическим вмешательством и т. д. В некоторых вариантах осуществления субъект подвержен рецидиву или рефрактерному раку или страдает от него. В некоторых вариантах осуществления субъект подвержен рецидиву или рефрактерному лейкозу или страдает от него. В некоторых вариантах осуществления субъект подвержен рецидиву или рефрактерному ОМЛ или страдает им.

[00426] В некоторых вариантах осуществления лечение можно вводить субъектам, проходящим режим лимфодеплеции. В некоторых вариантах осуществления истощение иммунных регуляторных элементов, например, цитотоксическими средствами или облучением всего тела, может усиливать активность вводимых иммунных клеток. В некоторых вариантах осуществления субъектам вводят цитотоксическое средство, такое как флударабин, циклофосфамид и/или алемтузумаб.

Комбинированная терапия

[00427] В некоторых вариантах осуществления обеспеченные технологии, например, содержащие иммунные клетки (например, память-подобные NK-клетки) и ARM, вводятся в сочетании с одним или несколькими другими видами лечения. В некоторых вариантах осуществления, в дополнение к иммунным клеткам (например, память-подобным NK-клеткам) и средству ARM, субъекту назначают другую терапию. В некоторых вариантах осуществления субъект страдает раком, и такой другой терапией является противораковая терапия, например, химиотерапия, иммунотерапия, хирургия и т. д.

[00428] Среди прочего, технологии по настоящему изобретению, содержащие иммунные клетки (например, память-подобные NK-клетки) и ARM, могут использоваться в комбинации с другими видами лечения, то есть такие технологии могут применяться одновременно с, до или после одного или нескольких других терапевтических средств или медицинских процедур, особенно для лечения различных видов рака. Такие технологии можно использовать в сочетании с другими антипролиферативными соединениями. Терапевтическое средство, применимое для комбинации, представляет собой химиотерапевтическое средство или антипролиферативные соединения. Примеры химиотерапевтических средств включают, но не ограничиваются ими, алкилирующие средства, нитрозомочевины, антиметаболиты, противоопухолевые антибиотики, алкалоиды, полученные из растений, ингибиторы топоизомеразы, лекарственные средства

для гормональной терапии, антагонисты гормонов, ингибиторы ароматазы, ингибиторы Р-гликопротеина, производные комплекса платины, другие иммунотерапевтические препараты и другие противораковые средства. Кроме того, обеспеченные технологии могут использоваться вместе с лекарствами от гиполейкоцитоза (нейтрофилов), которые являются адъювантами для лечения рака, лекарствами от тромбопении, противорвотными лекарствами и лекарствами от рака для восстановления качества жизни пациента или могут быть приготовлены в виде смеси с ними. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой антитело. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой иммуномодулирующее средство. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство нацеливает сигнальные молекулы клеточной поверхности на иммунные клетки. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство нацеливает сигнальные молекулы клеточной поверхности на иммунные клетки, причем средство является антагонистом, блокирующим путь совместного ингибирования. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство является средством, блокирующим контрольные точки. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой антитело, нацеленное на сигнальный белок клеточной поверхности, экспрессируемый иммунными клетками. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой антитело, нацеленное на белок, выбранный из PD-1, PD-L1, CTLA4, TIGIT, BTLA, TIM-3, LAG3, B7-H3 и B7-H4. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой антитело против PD-1 (например, ниволумаб, пембролизумаб, пидилизумаб, BMS 936559, MPDL328OA и т. д.). В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой антитело против PD-L1. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой антитело против CTLA4 (например, ипилимумаб). В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой антитело против TIGIT. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой антитело против BTLA. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой антитело против Tim-3. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой антитело против LAG3. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой антитело

против B7-H3. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой антитело против B7-H4. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство нацеливает сигнальные молекулы клеточной поверхности на иммунные клетки, при этом средство является агонистом, участвующим в костимуляторном пути. В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующее средство представляет собой или включает антитело, нацеленное на костимуляторный рецептор. В некоторых вариантах осуществления антитело активирует костимуляторный рецептор Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления антитело нацелено на члена суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNF). В некоторых вариантах осуществления антитело нацелено на белок, выбранный из CD137 (4-1BB), CD357 (GITR, TNFRS18, A-ITR), CD134 (OX40) и CD40 (TNFRSF5). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело против CD137 (например, урелумаб). В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело против CD357. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело против CD40. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело против CD134. Дополнительные иллюстративные костимулирующие и коингибиторные рецепторы Т-клеток описаны в Chen L, Flies DB., Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat. Rev. Immunol.* **2013**, *13*(4), 227-42, и Yao S, *et al.*, Advances in targeting cell surface signalling molecules for immune modulation. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2013**, *12*(2), 136-40. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой антитела, активирующие такой стимулирующий рецептор или блокирующие такой ингибирующий рецептор.

[00429] В некоторых вариантах осуществления, при гематологических злокачественных новообразованиях применимым дополнительным терапевтическим средством для комбинации может быть ритуксимаб (Rituxan®), циклофосфамид (Cytoxan®), доксорубицин (Hydrodaunorubicin®), винкристин (Oncovin®), преднизон, ингибитор передачи сигналов hedgehog, ингибитор BTK, ингибитор JAK/ингибитор пан-JAK, ингибитор TYK2, ингибитор PI3K, ингибитор SYK и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления для солидных опухолей применимое терапевтическое средство для комбинации выбрано из ритуксимаба (Rituxan®), циклофосфамида (Cytoxan®), доксорубицина (Hydrodaunorubicin®), винкристина (Oncovin®), преднизона, ингибитора передачи сигналов hedgehog, ингибитора BTK, ингибитора JAK/pan-JAK, ингибитора

TYK2, ингибитора PI3K, ингибитора SYK и их комбинации. В некоторых вариантах осуществления применимое терапевтическое средство для комбинации представляет собой ингибитор сигнального пути Hedgehog (Hh).

[00430] В некоторых вариантах осуществления состояние, расстройство или заболевание представляет собой диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (DLBCL). В некоторых вариантах осуществления применимое дополнительное средство для комбинации для DLBCL выбрано из ритуксимаба (Rituxan®), циклофосфамида (Cytoxan®), доксорубицина (Hydrodaunorubicin®), винкристина (Oncovin®), преднизона, ингибитора передачи сигналов hedgehog, и их комбинаций.

[00431] В другом варианте осуществления состояние, нарушение или заболевание представляет собой множественную миелому. В некоторых вариантах осуществления применимое дополнительное средство для комбинации выбрано из бортезомиба (Velcade®) и дексаметазона (Decadron®), ингибитора передачи сигналов hedgehog, ингибитора BTK, ингибитора JAK/pan-JAK, ингибитора TYK2, ингибитора PI3K, ингибитора SYK в сочетании с леналидомидом (Revlimid®) и их комбинаций.

[00432] В другом варианте осуществления состояние, нарушение или заболевание представляет собой макроглобулинемию Вальденстрема. В некоторых вариантах осуществления применимое дополнительное терапевтическое средство выбрано из хлорамбуцила (Leukeran®), циклофосфамида (Cytoxan®, Neosar®), флударабина (Флудар), кладрибина (Leustatin®), ритуксимаба (Rituxan®), ингибитора передачи сигналов hedgehog, ингибитора BTK, ингибитора JAK/pan-JAK, ингибитора TYK2, ингибитора PI3K, ингибитора SYK и их комбинации.

[00433] В некоторых вариантах осуществления одно или несколько других терапевтических средств для комбинации представляют собой или содержат опухолеспецифические иммунные клетки. В некоторых вариантах осуществления композиция для комбинации содержит иммунопотенцирующее вещество. Типичные иммунопотенцирующие вещества, которые могут быть использованы в комбинации с обеспеченными технологиями, содержащими иммунные клетки и ARM, включают различные цитокины и опухолевые антигены. Цитокины, которые стимулируют иммунные реакции, включают, например, GM-CSF, M-CSF, G-CSF, интерферон-α, β, γ, IL-1, IL-2, IL-3, IL-12 и т. д. Антитела для блокирования ингибирующих рецепторов и/или для активации стимулирующих рецепторов, которые широко известны в данной области техники и

описаны в данном документе, например, производные лиганда B 7, антитела против CD3, антитела против CD28 и антитела против CTLA-4, могут улучшить желаемые иммунные реакции. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство для комбинации содержит или представляет собой небольшую молекулу для модуляции. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой небольшую молекулу, которая опосредует противоопухолевую иммунную активность. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой небольшую молекулу, нацеленную на фермент, непосредственно участвующий в иммунной регуляции. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой ингибитор индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO). В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой ингибитор IDO1, например, F001287, индоксимод, NLG-919 и INCB024360. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой ингибитор триптофан-2,3-диоксигеназы (TDO). В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой двойной ингибитор IDO/TDO. В некоторых вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой IDO-селективный ингибитор. В некоторых вариантах осуществления, в некоторых других вариантах осуществления терапевтическое средство представляет собой селективный ингибитор TDO. В некоторых вариантах осуществления обеспеченная композиция содержит ингибитор IDO. В некоторых вариантах осуществления обеспеченная композиция содержит ингибитор IDO.

[00434] В некоторых вариантах осуществления медицинская процедура, которая может быть использована в сочетании с соединениями, композициями и способами, включает хирургию, лучевую терапию (например, гамма-излучение, нейтронно-лучевую терапию, электронно-лучевую терапию, протонную терапию, брахитерапию, системные радиоактивные изотопы и т. д.), эндокринную терапию, модификаторы биологического ответа (например, интерфероны, интерлейкины и фактор некроза опухоли (TNF) и т. д.), гипертермию, криотерапию и адоптивный перенос Т-клеток (например, терапия TIL, трансгенные TCR, терапия CAR Т-клетками и т. д.) . В некоторых вариантах осуществления медицинская процедура представляет собой хирургическое вмешательство. В некоторых вариантах осуществления медицинская процедура представляет собой лучевую терапию.

[00435] В некоторых вариантах осуществления антипролиферативные соединения, которые можно использовать для комбинирования, включают, но не ограничиваются ими,

ингибиторы ароматазы; антиэстрогены; ингибиторы топоизомеразы I; ингибиторы топоизомеразы II; активные соединения микротрубочек; алкилирующие соединения; ингибиторы гистондеацетилазы; соединения, которые вызывают процессы дифференцировки клеток; ингибиторы циклооксигеназы; ингибиторы ММП; ингибиторы mTOR; противоопухолевые антиметаболиты; соединения платины; соединения, нацеленные на/снижающие активность протеин или липидкиназы, и другие антиангиогенные соединения; соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность протеиновой или липидной фосфатазы; агонисты гонадорелина; антиандрогены; ингибиторы метионинаминопептидазы; ингибиторы матриксной металлопротеиназы; бисфосфонаты; модификаторы биологического ответа; антипролиферативные антитела; ингибиторы гепараназы; ингибиторы онкогенных изоформ Ras; ингибиторы теломеразы; ингибиторы протеасом; соединения, используемые при лечении гематологических злокачественных новообразований; соединения, которые нацелены на снижение или ингибирование активности Flt-3; ингибиторы Hsp90, такие как 17-AAG (17-аллиламиногельданамицин, NSC330507), 17-DMAG (17-диметиламиноэтиламино-17-деметокси-гельданамицин, NSC707545), IPI-504, CNF1010, CNF2024, CNF1010 от Conforma Therapeutics; темозоломид (Темодал®); ингибиторы белка кинезинового веретена, такие как SB715992 или SB743921 от GlaxoSmithKline или пентамидин/хлорпромазин от CombinatoRx; ингибиторы MEK, такие как ARRY142886 от Array BioPharma, AZD6244 от AstraZeneca, PD181461 от Pfizer и лейковорин. В некоторых вариантах осуществления ингибитор ароматазы представляет собой соединение, которое ингибирует выработку эстрогена, например, превращение субстратов андростендиона и тестостерона в эстрон и эстрадиол, соответственно. В некоторых вариантах осуществления это включает стероиды, особенно атаместан, экземестан и форместан, и, в частности, нестероиды, особенно аминоглутетимид, роглетимид, пиридоглютетимид, трилостан, тестолактон, кетоконазол, ворозол, фадрозол, анастолозол и летрозол. В некоторых вариантах осуществления комбинация с химиотерапевтическим средством, который является ингибитором ароматазы, особенно применима для лечения опухолей, положительных по рецепторам гормонов, таких как опухоли груди.

[00436] В некоторых вариантах осуществления антиэстроген представляет собой соединение, которое противодействует действию эстрогенов на уровне рецептора

эстрогена. В некоторых вариантах осуществления он выбран из тамоксифена, фулвестранта, ралоксифена и гидрохлорида ралоксифена. В некоторых вариантах осуществления комбинация с химиотерапевтическим средством, которое представляет собой антиэстроген, особенно применима для лечения опухолей, положительных по рецепторам эстрогена, таких как опухоли груди.

[00437] В некоторых вариантах осуществления антиандроген представляет собой вещество, которое способно ингибировать биологические эффекты андрогенных гормонов. В некоторых вариантах осуществления он представляет собой бикалутамид (Casodex™). В некоторых вариантах осуществления агонист гонадорелина представляет собой абареликс, гозерелин или гозерелин ацетат.

[00438] В некоторых вариантах осуществления ингибитор топоизомеразы I выбран из топотекана, гиматекана, иринотекана, камптотециана и его аналогов, 9-нитрокамптотецина и макромолекулярного конъюгата камптотецина PNU-166148.

[00439] В некоторых вариантах осуществления ингибитор топоизомеразы II выбран из антрациклинов: таких как доксорубицин (включая липосомальный состав, такой, как Caelyx™), даунорубицин, эпирубицин, идарубицин и неморубицин, антрахиноны, митоксантрон, пантоксантрон и лозотоксилоксилоксантрон, эмодоксантрон и тенипозид.

[00440] В некоторых вариантах осуществления активный агент микротрубочек выбран из соединений, стабилизирующих микротрубочки, или соединений, дестабилизирующих микротрубочки, и ингибиторов полимеризации микротрубочек, например, таксанов, таких как паклитаксел и доцетаксел; алкалоидов барвинка, таких как винбластин или сульфат винбластина, винкристин или сульфат винкристина и винорелбин; дискодермолидов; кохицина и эпотилонов и их производных.

[00441] В некоторых вариантах осуществления алкилирующее средство представляет собой циклофосфамид, ифосфамид, мелфалан или нитрозомочевину (BCNU или глиадель).

[00442] В некоторых вариантах осуществления ингибитор гистондеацетилазы или ингибитор HDAC представляет собой соединение, которое ингибирует гистондеацетилазу и которое обладает антипролиферативной активностью. В некоторых вариантах осуществления ингибитор HDAC представляет собой субероиланилид гидроксамовую кислоту (SAHA). В некоторых вариантах осуществления ингибитор HDAC, применимый для комбинации, представляет собой MS275, SAHA, FK228 (ранее FR901228), трихостатин A или соединение, описанное в US 6,552065, например, N-гидрокси-3-[4-[[[2-(2-метил -1H-

индол-3-ил)этил]амино]метил]фенил]-2E-2-пропенамид или его фармацевтически приемлемая соль, N-гидрокси-3-[-[(2-гидроксиэтил){2-(1H-индол-3-ил)этил]амино]метил]фенил]-2E-2-пропенамид или его фармацевтически приемлемая соль (в частности, лактатная соль).

[00443] В некоторых вариантах осуществления противоопухолевый антиметаболит выбран из 5-фторурацила или 5-ФУ, капецитабина, гемцитабина, деметилирующих ДНК соединений, таких как 5-азацитидин и децитабин, метотрексат и эдатрексат, и антагонистов фолиевой кислоты, таких как пеметрексед.

[00444] В некоторых вариантах осуществления соединение платины представляет собой карбоплатин, цис-платину, цисплатину или оксалиплатин.

[00445] В некоторых вариантах осуществления соединения, оказывающие направленное воздействие на активность/уменьшающие активность протеин- или липидкиназы; или активность протеин- или липидфосфатазы; или другие антиангиогенные соединения представляют собой ингибиторы протеинтирозинкиназы, и/или серин и/или треонинкиназы, или ингибиторы липидкиназы, такие как a) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность рецепторов тромбоцитарного фактора роста (PDGFR), такие как соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность PDGFR, особенно соединения, которые ингибируют рецептор PDGF, такие как производное N-фенил-2-пиримидин-амина, такое как иматиниб, SU101, SU6668 и GFB-111; b) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность рецепторов фактора роста фибробластов (FGFR); c) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность рецептора I инсулиноподобного фактора роста (IGF-IR), такие как соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность IGF-IR, особенно соединения, которые ингибируют киназную активность рецептора IGF-I, или антитела, которые оказывают направленное воздействие на внеклеточный домен рецептора IGF-I или его факторы роста; d) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность Trk-рецептора семейства тирозинкиназ или ингибиторов эфрина B4; e) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность Axl-рецептора семейства тирозинкиназ; f) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность рецепторной

тирозинкиназы Ret; g) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность рецепторной тирозинкиназы kit/SCFR, такие как иматиниб; h) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность рецепторных тирозинкиназ C-kit, которые являются частью семейства PDGFR, такие как соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность рецептора c-kit семейства тирозинкиназ, особенно соединения которые ингибируют рецептор c-Kit, такие как иматиниб; i) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность членов семейства c-Abl, их продуктов слияния генов (например, киназы BCR-Abl) и мутантов, таких как соединения, которые нацелены на снижение или ингибирование активности членов семейства c-AbLи их продукты слияния генов, такие как производное N-фенил-2-пиримидин-амина, такое как иматиниб или нилотиниб (AMN107); PD180970; AG957; NSC 680410; PD173955 от ParkeDavis; или дазатиниб (BMS-354825); j) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность членов семейства протеинкиназы C (PKC) и Raf серин/треониновых киназ, членов MEK, SRC, JAK/pan-JAK, FAK, PDK1, PKB/Akt, семейства Ras/MAPK, PI3K, SYK, TYK2, BTK и TEC и/или членов семейства циклин-зависимых киназ (CDK), включая производные стауроспорина, такие как мидостаурин; примеры других соединений включают UCN-01, сафингол, BAY 43-9006, бриостатин 1, перифозин; ильмофозин; RO 318220 и RO 320432; GO 6976; lsis 3521; LY333531/LY379196; изохинолиновые соединения; FTI; PD184352 или QAN697 (ингибитор P13K) или AT7519 (ингибитор CDK); k) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность ингибиторов протеин-тирозинкиназ, такие как соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность ингибиторов протеин-тирозинкиназы, включают мезилат иматиниба (Gleevec™) или тирфостин, такой как тирфостин A23/RG-50810; AG 99; тирфостин AG 213; тирфостин AG 1748; тирфостин AG 490; тирфостин B44; (+) энантиомер тирфостина B44; тирфостин AG 555; AG 494; тирфостин AG 556, AG957 и адапостин (адамантиловый эфир 4-{[(2,5-дигидроксифенил)метил]амино}бензойной кислоты; NSC 680410, адапостин); l) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность семейства эпидермальных факторов роста рецепторных тирозинкиназ ($EGFR_1$ ErbB2, ErbB3, ErbB4 в виде гомо- или гетеродимеров) и их мутанты, такие как соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие

или ингибирующие активность семейства рецепторов эпидермального фактора роста, представляют собой, в частности, соединения, белки или антитела, которые ингибируют членов семейства рецепторных тирозинкиназ EGF, таких как рецептор EGF, ErbB2, ErbB3 и ErbB4, или связываются с EGF или родственными лигандами EGF, CP 358774, ZD 1839, ZM 105180; трастузумаб (Герцептин™), цетуксимаб (Эрбитукс™), Иресса, Тарцева, OSI-774, Cl-1033, EKB-569, GW-2016, E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3 или E7.6.3 и производные 7H-пирроло[2,3-d]пиримидина; m) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность рецептора c-Met, такие как соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность c-Met, особенно соединения, которые ингибируют киназную активность рецептора c-Met, или антитела, которые нацелены на внеклеточный домен c-Met или связываются с HGF, n) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие киназную активность одного или нескольких членов семейства JAK (JAK1/JAK2/JAK3/TYK2 и/или pan-JAK), включая PRT-062070 SB-1578, барицитиниб, пакритиниб, момелотиниб, VX-509, AZD-1480, TG-101348, тофацитиниб и руксолитиниб; o) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие киназную активность киназы PI3 (PI3K), включая ATU-027, SF-1126, DS-7423, PBI-05204, GSK-2126458, ZSTK-474, бупарлисиб, пиктрелисиб, PF-4691502, BYL-719, дактолизиб, XL-147, XL-765 и иделалисиб; и q) соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие сигнальные эффекты путей белка hedgehog (Hh) или сглаженного рецептора (SMO), включая циклопамин, висмодегиб, итраконазол, эрисмодегиб и IPI-926 (саридегиб).

[00446] В некоторых вариантах осуществления ингибиторы PI3K представляют собой соединения, обладающие ингибирующей активностью в отношении одного или нескольких ферментов семейства фосфатидилинозитол-3-киназ, включая, но не ограничиваясь ими, PI3Kα, PI3Kγ, PI3Kδ, PI3Kβ, PI3K-C2α, PI3K-C2β, PI3K-C2γ, Vps34, p110-α, p110-β, p110-γ, p110-δ, p85-α, p85-β, p55-γ, p150, p101 и p87. Примеры ингибиторов PI3K, применимых для комбинации, включают ATU-027, SF-1126, DS-7423, PBI-05204, GSK-2126458, ZSTK-474, бупарлисиб, пиктрелисиб, PF-4691502, BYL-719, дактолизиб, XL-147, XL-765 и иделалисиб.

[00447] В некоторых вариантах осуществления ингибитор BTK представляет собой соединения, обладающие ингибирующей активностью в отношении тирозинкиназы Брутона (BTK), например, AVL-292, ибрутиниб и т. д.

[00448] В некоторых вариантах осуществления ингибиторы BTK представляют собой соединения, обладающие ингибирующей активностью в отношении тирозинкиназы селезенки (SYK), например, PRT-062070, R-343, R-333, Excellair, PRT-062607, фостаматиниб и т. д. Дополнительные примеры соединений, ингибирующих BTK, можно найти в WO2008039218 и WO2011090760.

[00449] Примеры соединений, ингибирующих Syk, можно найти в WO2003063794, WO2005007623 и WO2006078846.

[00450] Примеры соединений, ингибирующих PI3K, можно найти в WO2004019973, WO2004089925, WO2007016176, US8138347, WO2002088112, WO2007084786, WO2007129161, WO2006122806, WO2005113554 и WO2007044729.

[00451] Примеры соединений, ингибирующих JAK, можно найти в WO2009114512, WO2008109943, WO2007053452, WO2000142246 и WO2007070514.

[00452] В некоторых вариантах осуществления антиангиогенные соединения имеют другой механизм активности, например, не связанный с ингибированием протеинкиназы или липидкиназы, например, талидомид (Тгаломid™) и TNP-470.

[00453] Примеры ингибиторов протеасом, применимых для использования в комбинации, включают бортезомиб, дисульфирам, эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG), салиноспорамид А, карфилзомиб, ONX-0912, CEP-18770 и MLN9708.

[00454] В некоторых вариантах осуществления соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность протеин- или липидфосфатазы, представляют собой, например, ингибиторы фосфатазы 1, фосфатазы 2А или CDC25, такие как окадаиновая кислота или ее производное. В некоторых вариантах осуществления соединениями, которые вызывают процессы дифференцировки клеток, являются, например, ретиноевая кислота, α- γ- или δ-токоферол, или α- γ- или δ-токотриенол и т. д.

[00455] В некоторых вариантах осуществления ингибитор циклооксигеназы выбран из ингибиторов Cox-2, 5-алкилзамещенной 2-ариламинофенилуксусной кислоты и производных, таких как целекоксиб (Celebrex™), рофекоксиб (Vioxx™), эторикоксиб, валдекоксиб или 5-алкил-2-ариламинофенилуксусная кислота, такая как 5-метил-2-(2'-хлор-6'-фторанилино)фенилуксусная кислота, лумиракоксиб.

[00456] В некоторых вариантах осуществления бисфосфонаты выбраны из этридоновой, клодроновой, тилудроновой, памидроновой, алендроновой, ибандроновой, ризедроновой и золедроновой кислоты. В некоторых соединениях ингибиторы mTOR представляют собой

соединения, которые ингибируют мишень рапамицина (mTOR) у млекопитающих и обладают антипролиферативной активностью, такие как сиролимус (Rapamune®), эверолимус (Certican™), CCI-779 или ABT578.

[00457] В некоторых вариантах осуществления ингибитор гепараназы оказывает направленное воздействие, уменьшает или ингибирует разложение сульфата гепарина. В некоторых вариантах осуществления ингибитор гепараназы представляет собой PI-88. В некоторых вариантах осуществления модификатор биологического ответа представляет собой лимфокин или интерфероны.

[00458] В некоторых вариантах осуществления ингибиторы онкогенных изоформ Ras, такие как H-Ras, K-Ras и/или N-Ras, представляют собой соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие онкогенную активность Ras; например, «ингибитор фарнезилтрансферазы», такой как L-744832, DK8G557 или R115777 (Zarnestra™). В некоторых вариантах реализации ингибиторы теломеразы представляют собой соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность теломеразы. В некоторых вариантах реализации соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность теломеразы, представляют собой соединения, которые ингибируют рецептор теломеразы, такие как теломестатин.

[00459] В некоторых вариантах осуществления ингибиторы метионинаминопептидазы представляют собой соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность метионинаминопептидазы. В некоторых вариантах осуществления соединение, которое оказывает направленное воздействие, уменьшает или ингибирует активность метионинаминопептидазы, представляет собой бенгамид или его производное.

[00460] В некоторых вариантах осуществления ингибиторы протеасомы представляют собой соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность протеасомы. В некоторых вариантах осуществления ингибитором протеасомы является бортезомиб (Velcade™) или MLN 341.

[00461] В некоторых вариантах осуществления ингибитор матриксной металлопротеиназы (ингибитор «MMP») представляет собой выбранные коллагеновые ингибиторы из класса пептидомиметиков и непептидомиметиков, производные тетрациклина, например, гидроксаматный ингибитор-пептидомиметик батимастат и его пероральный биодоступный

аналог маримастат (BB-2516), приномастат (AG-2516), приномастат этастат (NSC 683551) BMS-279251, BAY 12-9566, TAA211, MMI270B и AAJ996.

[00462] В некоторых вариантах осуществления соединения, используемые для лечения гематологических злокачественных новообразований, выбраны из FMS-подобных ингибиторов тирозинкиназы, которые представляют собой соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность FMS-подобных рецепторов тирозинкиназы (Flt-3R); интерферон, 1-β-D-арабинофурансилцитозин (ara-c) и бисульфан; и ингибиторы ALK, которые представляют собой соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность киназы анапластической лимфомы.

[00463] В некоторых вариантах осуществления соединения, оказывающие направленное воздействие, уменьшающие или ингибирующие активность FMS-подобных рецепторов тирозинкиназы (Flt-3R), представляют собой соединения, белки или антитела, которые ингибируют членов семейства киназ рецептора Flt-3R, таких как PKC412, мидостаурин, производное стауроспорина, SU11248 и MLN518.

[00464] В некоторых вариантах осуществления ингибиторы HSP90 представляют собой соединения, которые оказывают направленное воздействие, уменьшают или ингибируют внутреннюю АТФазную активность HSP90; или разрушают, оказывают направленное воздействие, уменьшают или ингибируют клиентские белки HSP90 через убиквитин-протеосомный путь. В некоторых вариантах осуществления такие соединения выбраны из 17-аллиламино,17-деметоксигельданамицина (17AAG), производного гелданамицина; и родственных гелданамицину соединений; радицикола и ингибиторов HDAC.

[00465] В некоторых вариантах осуществления антипролиферативное антитело выбрано из трастузумаба (Herceptin™), трастузумаб-DM1, эрбитукса, бевацизумаба (Авастин™), ритуксимаба (Ритуксан ®), PRO64553 (анти-CD40) и 2C4 антитела.

[00466] В некоторых вариантах осуществления, для лечения острого миелоидного лейкоза (AML), технологии, содержащие иммунные клетки (например, память-подобные NK-клетки) и ARM, могут применяться в сочетании с различными видами лечения лейкоза, особенно в сочетании с терапиями, применяемыми для лечения AML, такими как ингибиторы фарнезилтрансферазы и/или другие лекарственные средства, применимые для лечения AML, такие как даунорубицин, адриамицин, Ara-C, VP-16, тенипозид, митоксантрон, идарубицин, карбоплатин или PKC412. В некоторых вариантах

осуществления противолейкозное соединение представляет собой Ara-C, аналог пиримидина, который является 2'-альфа-гидрокси-рибозным (арабинозид) производным деоксицитидина. В некоторых вариантах осуществления противолейкозное соединение представляет собой пуриновый аналог гипоксантина, 6-меркаптопурин (6-МП) или флударабин фосфат.

[00467] В некоторых вариантах осуществления антагонисты рецептора соматостатина оказывают направленное воздействие, лечат или ингибируют рецептор соматостатина: такой как октреотид и SOM230. В некоторых вариантах осуществления облучение при повреждении клеток включает или представляет собой ионизирующее излучение. Ионизирующее излучение может быть либо в виде электромагнитных лучей (например, рентгеновских лучей и гамма-лучей), либо в виде частиц (таких как альфа- и бета-частицы). В некоторых вариантах реализации ионизирующее излучение применяется в лучевой терапии.

[00468] В некоторых вариантах осуществления средствами, подходящими для комбинирования, являются связывающие EDG агенты и ингибиторы рибонуклеотидредуктазы. В некоторых вариантах осуществления связывающие EDG агентов представляют собой класс иммунодепрессантов, которые модулируют рециркуляцию лимфоцитов, например, FTY720. В некоторых вариантах осуществления ингибиторы рибонуклеотидредуктазы представляют собой аналоги пиримидиновых или пуриновых нуклеозидов, такие как флударабин и/или цитозинарабинозид (ara-C), 6-тиогуанин, 5-фторурацил, кладрибин, 6-меркаптопурин (особенно в сочетании с ara-C против ALL) и/или пентостатин. В некоторых вариантах осуществления ингибиторы рибонуклеотидредуктазы выбраны из производных гидроксимочевины и 2-гидрокси-1H-изоиндол-1,3-диона.

[00469] В некоторых вариантах осуществления применимые соединения, белки или моноклональные антитела, например, те, которые направлены на VEGF, выбраны из 1-(4-хлоранилино)-4-(4-пиридилметил)фталазина или его фармацевтически приемлемой соли, 1-(4-хлоранилино)-4-(4-пиридилметил)фталазин сукцината; Ангиостатина™; Эндостатина™; амидов антраниловой кислоты; ZD4190; ZD6474; SU5416; SU6668; бевацизумаба; или антител против VEGF, или антител против рецептора VEGF, таких как rhuMAb и RHUFab, аптамера VEGF, такого как Macugon; ингибиторов FLT-4, ингибиторов FLT-3, антитела IgGI к VEGFR-2, ангиозима (RPI 4610) и бевацизумааба (Avastin ™).

[00470] В некоторых вариантах осуществления фотодинамическая терапия, применимая для комбинированной терапии, относится к терапии, которая использует определенные химические вещества, известные как фотосенсибилизирующие соединения, для лечения или профилактики рака. Примеры фотодинамической терапии включают лечение такими соединениями, как Visudyne™ и порфимер натрия.

[00471] В некоторых вариантах осуществления применимыми ангиостатическими стероидами являются соединения, которые блокируют или ингибируют ангиогенез, такие как анекортав, триамцинолон, гидрокортизон, 11-α-эпигидрокотизол, кортексолон, 17α-гидроксипрогестерон, кортикостерон, дезоксикортикостерон, эстерон, тестостерон и дексаметазон.

[00472] В некоторых вариантах осуществления имплантаты, содержащие кортикостероиды, представляют собой имплантаты, содержащие флуоцинолон и/или дексаметазон.

[00473] В некоторых вариантах осуществления химиотерапевтическое соединение выбрано из растительных алкалоидов, гормональных соединений и антагонистов; модификаторов биологического ответа, предпочтительно лимфокинов или интерферонов; антисмысловых олигонуклеотидов или производных олигонуклеотидов; shРНК или миРНК; или различных соединений или соединений с другим или неизвестным механизмом действия.

[00474] В некоторых вариантах осуществления дополнительное средство для комбинации выбрано из противовоспалительных, бронхолитических или антигистаминных лекарственных веществ. В некоторых вариантах осуществления подходящее противовоспалительное лекарство выбрано из стероидов, в частности глюкокортикостероидов, таких как будесонид, беклометазона дипропионат, флутиказона пропионат, циклесонид или мометазона фуроат; агонистов нестероидных рецепторов глюкокортикоидов; антагонистов LTB4, таких как LY293111, CGS025019C, CP-195543, SC-53228, BIIL284, ONO 4057, SB 209247; антагонистов LTD4, таких как монтелукаст и зафирлукаст; ингибиторов PDE4, таких как циломиласт (Ariflo® GlaxoSmithKline), рофлумиласт (Byk Gulden), V-11294A (Napp), BAY19-8004 (Bayer), SCH-351591 (Schering-Plough), Арофиллин (AlmiralLProdesfarma)/PD169659/PD169879/PD16987 PD16879659/PD16879659 (Parke -Davis), AWD-12-281 (Asta Medica), CDC-801 (Celgene), SeICID(TM) CC-10004 (Celgene), VM554/UM565 (Vernalis), T-440 (Tanabe), KW-4490

(Kyowa Hakko Kogyo); агонистов A2a; антагонистов A2b; и агонистов бета-2-адренорецепторов, таких как альбутерол (сальбутамол), метапротеренол, тербуталин, салметерол, фенотерол, прокатерол и особенно формотерол и их фармацевтически приемлемые соли. В некоторых вариантах осуществления подходящее бронхолитическое средство выбрано из антихолинергических или антимускариновых соединений, в частности, из бромида ипратропия, бромида окситропия, тиотропия и CHF 4226 (Chiesi) и гликопирролата. В некоторых вариантах осуществления антигистаминное лекарственное вещество выбрано из цетиризина гидрохлорида, ацетаминофена, клемастина фумарата, прометазина, лоратидина, дезлоратидина, дифенгидрамина и фексофенадина гидрохлорида, активастина, астемизола, азеластина, эбастина, эпинастина, тефеноластина и тефеноластина.

[00475] В некоторых вариантах осуществления противовоспалительные препараты, которые можно использовать в комбинации, представляют собой препараты с антагонистами хемокиновых рецепторов, например, CCR-1, CCR-2, CCR-3, CCR-4, CCR-5, CCR-6, CCR-7., CCR-8, CCR-9 и CCR10, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, особенно антагонисты CCR-5, такие как антагонисты Schering-Plough SC-351125, SCH-55700 и SCH-D, и антагонисты Takeda, такие как N-[[4-[[[6,7-дигидро-2-(4-метилфенил)-5H-бензоциклогептен-8-ил]карбонил]амино]фенил]метил]тетрагидро-N,N-диметил-2H-пиран-4-аминия хлорид (ТАК-770).

[00476] При использовании в комбинации композиции можно вводить отдельно или в комбинации с одним или несколькими другими терапевтическими средствами. Такие дополнительные средства можно вводить отдельно, например, как часть схемы множественного дозирования. Альтернативно, данные средства могут быть частью единой лекарственной формы, смешанной вместе с композицией, содержащей иммунные клетки и/или ARM. Средства можно вводить одновременно, последовательно или разделенными определенным периодом времени, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17., 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 часов, или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 дней, или 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 недель, друг от друга. Некоторые субъекты одновременно подвергаются воздействию всех средств (например, иммунных клеток, ARM и дополнительного средства) в комбинации.

[00477] В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство и технологии, содержащие иммунные клетки и ARM, действуют синергетически.

Следовательно, количество дополнительного терапевтического средства в таких комбинациях может быть меньше, чем количество, требуемое при монотерапии с применением только терапевтического средства.

[00478] Среди прочего, настоящее раскрытие обеспечивает следующие примеры вариантов осуществления:

1. Способ индукции гибели клеток, ингибирования роста клеток и/или уменьшения количества клеток в системе, включающий введение в систему:

одного или обоих из:

множества естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующей молекулы (ARM),

где ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с клеткой, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

так что система подвергается воздействию обоих, и количество клеток в системе уменьшается по сравнению с таковым в отсутствии как естественных клеток-киллеров, так и антитело-рекрутирующей молекулы .

2. Способ лечения состояния, расстройства или заболевания, включающий введение страдающему от этого субъекту:

множества естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующей молекулы (ARM),

где ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с раковыми клетками, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

3. Способ согласно варианту осуществления 2, где состояние, нарушение или заболевание представляет собой рак.

4. Способ снижения токсичности/побочных эффектов лечения с использованием естественных клеток-киллеров, включающий введение субъекту:

множества естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующей молекулы (ARM),

где ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с объектом-мишенью лечения, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий связывающую часть антитела с мишень-связывающим фрагментом.

5. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором естественные клетки-киллеры представляют собой память-подобные естественные клетки-киллеры.

6. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором естественные клетки-киллеры представляют собой индуцированные цитокинами память-подобные естественные клетки-киллеры.

7. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором естественные клетки-киллеры имеют повышенный уровень экспрессии ингибирующих, активирующих и цитокиновых рецепторов по сравнению с контрольными естественными клетками-киллерами.

8. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором естественные клетки-киллеры имеют повышенный уровень экспрессии одного или нескольких из CD94/NKG2A, NKp30, NKp44, NKp46, NKG2D, CD62Lи CD25 по сравнению с контрольными естественными клетками-киллерами.

9. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором естественные клетки-киллеры имеют пониженный уровень экспрессии NKp80 по сравнению с контрольными естественными клетками-киллерами.

10. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором естественные клетки-киллеры обладают повышенной пролиферацией по сравнению с контрольными естественными клетками-киллерами.

11. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором естественные клетки-киллеры имеют повышенную продукцию IFN-γ при стимуляции по сравнению с контрольными естественными клетками-киллерами.

12. Способ согласно любому из вариантов осуществления 7-11, в котором контрольные естественные клетки-киллеры представляют собой естественные клетки-киллеры, выделенные от субъекта без обработки цитокинами.

13. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором естественные клетки-киллеры индуцируются IL-12, IL-15 и IL-18.

14. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором естественные клетки-киллеры и антитело-рекрутирующую молекулу вводят одновременно.

15. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором естественные клетки-киллеры и антитело-рекрутирующую молекулу вводят как одну композицию.

16. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-13, в котором естественные клетки-киллеры вводят до антитело-рекрутирующей молекулы .

17. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-13, в котором естественные клетки-киллеры вводят после антитело-рекрутирующей молекулы.

18. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором естественные клетки-киллеры вводят в дозе от 0,01 до 100×10^6 на кг массы тела субъекта.

19. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором естественные клетки-киллеры и ARM вводят таким образом, что субъект подвергается воздействию обоих.

20. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором антитело-связывающий фрагмент антитело-рекрутирующей молекулы представляет собой универсальный антитело-связывающий фрагмент.

21. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, в котором мишень-связывающий фрагмент антитело-рекрутирующей молекулы связывается с поверхностным белком клетки-мишени.

22. Способ по любому из предшествующих вариантов осуществления, в котором мишень-связывающий фрагмент антитело-рекрутирующей молекулы связывается с CD22.

23. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-21, в котором мишень-связывающий фрагмент антитело-рекрутирующей молекулы связывается с CD33.

24. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором клетки представляют собой раковые клетки.

25. Способ согласно варианту осуществления 24, в котором раковые клетки представляют собой гематологические опухолевые клетки.

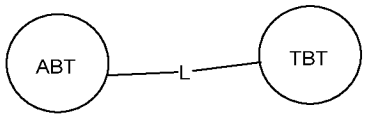
26. Способ согласно варианту осуществления 24, в котором раковые клетки представляют собой клетки солидных опухолей.

27. Способ согласно варианту осуществления 24, в котором рак представляет собой ОМЛ.

28. Способ согласно варианту осуществления 24, в котором рак выбран из группы, состоящей из рака предстательной железы, метастатического рака предстательной железы, рака желудка, толстой кишки, прямой кишки, печени, поджелудочной железы, легкого, груди, шейки матки, тела матки, яичника, яичка, мочевого пузыря, почек, головного мозга/ЦНС, головы и шеи, горла, болезни Ходжкина, неходжкинской лимфомы, множественной миеломы, лейкоза, меланомы, немеланомного рака кожи, острого лимфолейкоза, острого миелогенного лейкоза, саркомы Юинга, мелкоклеточного рака легкого, хориокарциномы, рабдомиосаркомы, опухоли Вильмса, нейробластомы, волосатоклеточного лейкоза, рака слизистой оболочки, рта/глотки, пищевода, гортани, рака почки и лимфомы .

29. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором естественные клетки-киллеры контактируют с ингибитором GSK3α/β.

30. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором ARM представляет собой соединение формулы **I:**



I

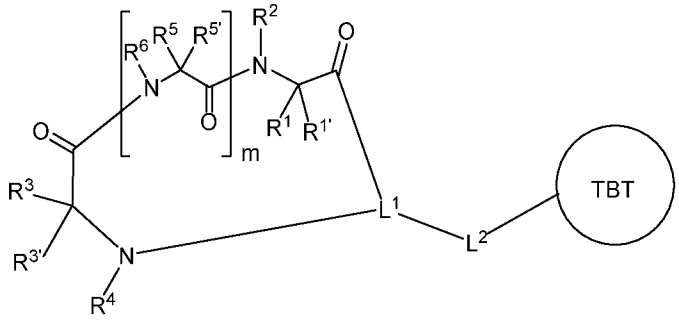
или его фармацевтически приемлемую соль, где:

ABT представляет собой антитело-связывающий фрагмент;

L представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, который связывает ABT с TBT; и

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент.

31. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-29, в котором ARM представляет собой соединение формулы **II:**



II

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

каждый из R^1, R^3 и R^5 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или от 8 до 10-членного бициклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или:

R^1 и $R^{1'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца или 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

R^3 и $R^{3'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца или 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

группа R^5 и группа $R^{5'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца или 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или

две группы R^5 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием двухвалентной прямой или разветвленной насыщенной или ненасыщенной C_{1-10} углеводородной цепи, в которой от 1 до 3 метиленовых звеньев цепи независимо и необязательно заменены на –S–, –SS–, –N(R)–, –O–, –C(O)–, –OC(O)–, –C(O)O–, –C(O)N(R)–, –N(R)C(O)–, –S(O)–, $–S(O)_2–$ или $–Cy^1–$, где каждый $–Cy^1–$ независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы. ;

каждый из $R^{1'}$, $R^{3'}$ и $R^{5'}$ независимо представляет собой водород или C_{1-3} алифатическую группу;

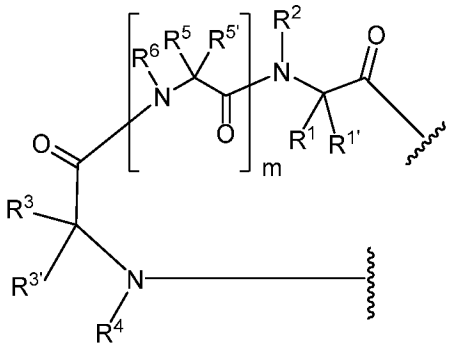
каждый из R^2, R^4 и R^6 независимо представляет собой водород или C_{1-4} алифатическую группу, или:

R^2 и R^1 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

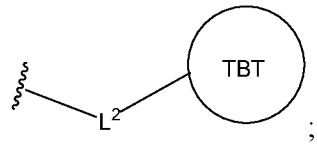
R^4 и R^3 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или

группа R^6 и соседняя с ней группа R^5 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

L^1 представляет собой трехвалентный линкерный фрагмент, который соединяет

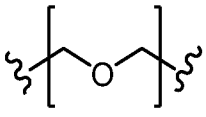


и

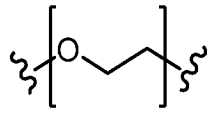


;

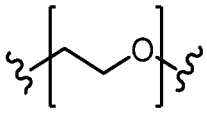
L^2 представляет собой ковалентную связь или двухвалентную прямую или разветвленную насыщенную или ненасыщенную C_{1-10} углеводородную цепь, в которой от 1 до 3 метиленовых звеньев цепи независимо и необязательно заменены на S–, –N(R)–, –O–, –C(O)–, –OC(O)–, –C(O)O–, –C(O)N(R)–, –N(R)C(O)–, –S(O)–, $–S(O)_2–$,



,



,

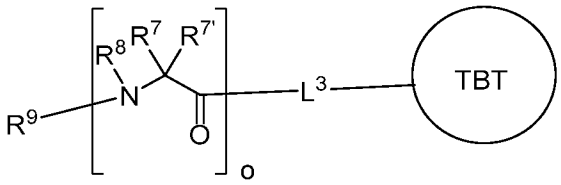


или $–Cy^1–$, где каждый $–Cy^1–$ независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы;

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент; и

каждый из m и n независимо равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

32. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-29, где ARM представляет собой соединение формулы **III:**



III

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

каждый из R^7 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-

членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или:

группа R^7 и группа $R^{7'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца или 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

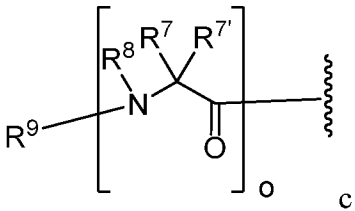
каждый из $R^{7'}$ независимо представляет собой водород или C_{1-3} алифатическую группу;

каждый из R^8 независимо представляет собой водород или C_{1-4} алифатическую группу, или:

группа R^8 и смежная с ней группа R^7 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

R^9 представляет собой водород, C_{1-3} алифатическую группу или $-C(O)C_{1-3}$ алифатическую группу;

L^3 представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, который соединяет



с ТВТ;

ТВТ представляет собой мишень-связывающий фрагмент; и

o равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

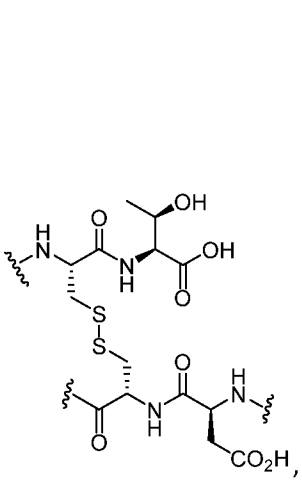
33. Способ согласно варианту осуществления 31, в котором R^2 представляет собой водород.

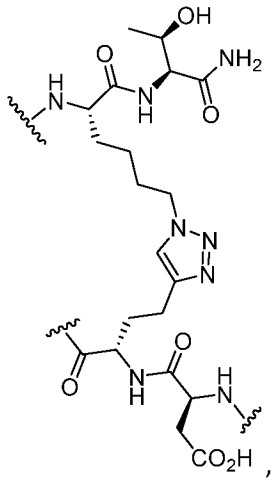
34. Способ согласно варианту осуществления 31, в котором R^4 представляет собой водород.

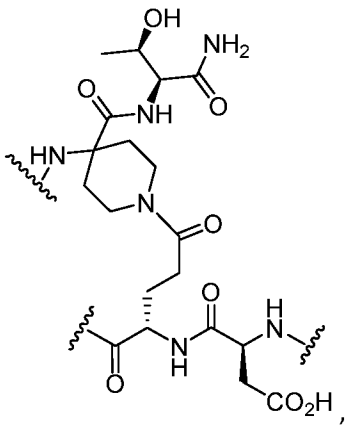
35. Способ согласно варианту осуществления 31, в котором $R^{1'}$ представляет собой водород.

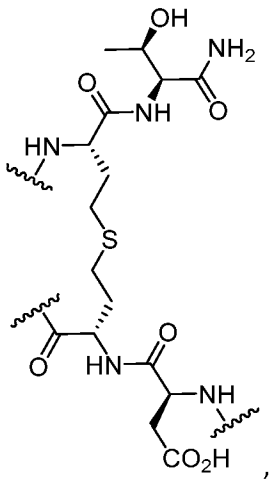
36. Способ согласно варианту осуществления 31, в котором $R^{3'}$ представляет собой водород.

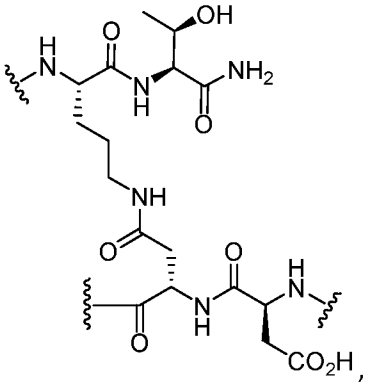
37. Способ согласно варианту осуществления 31, в котором L^1 представляет собой

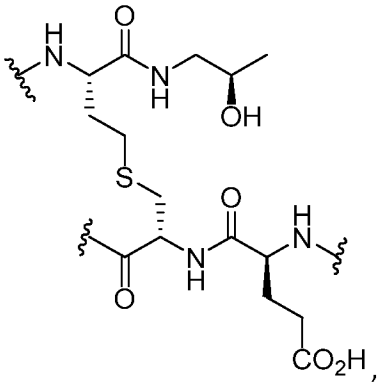


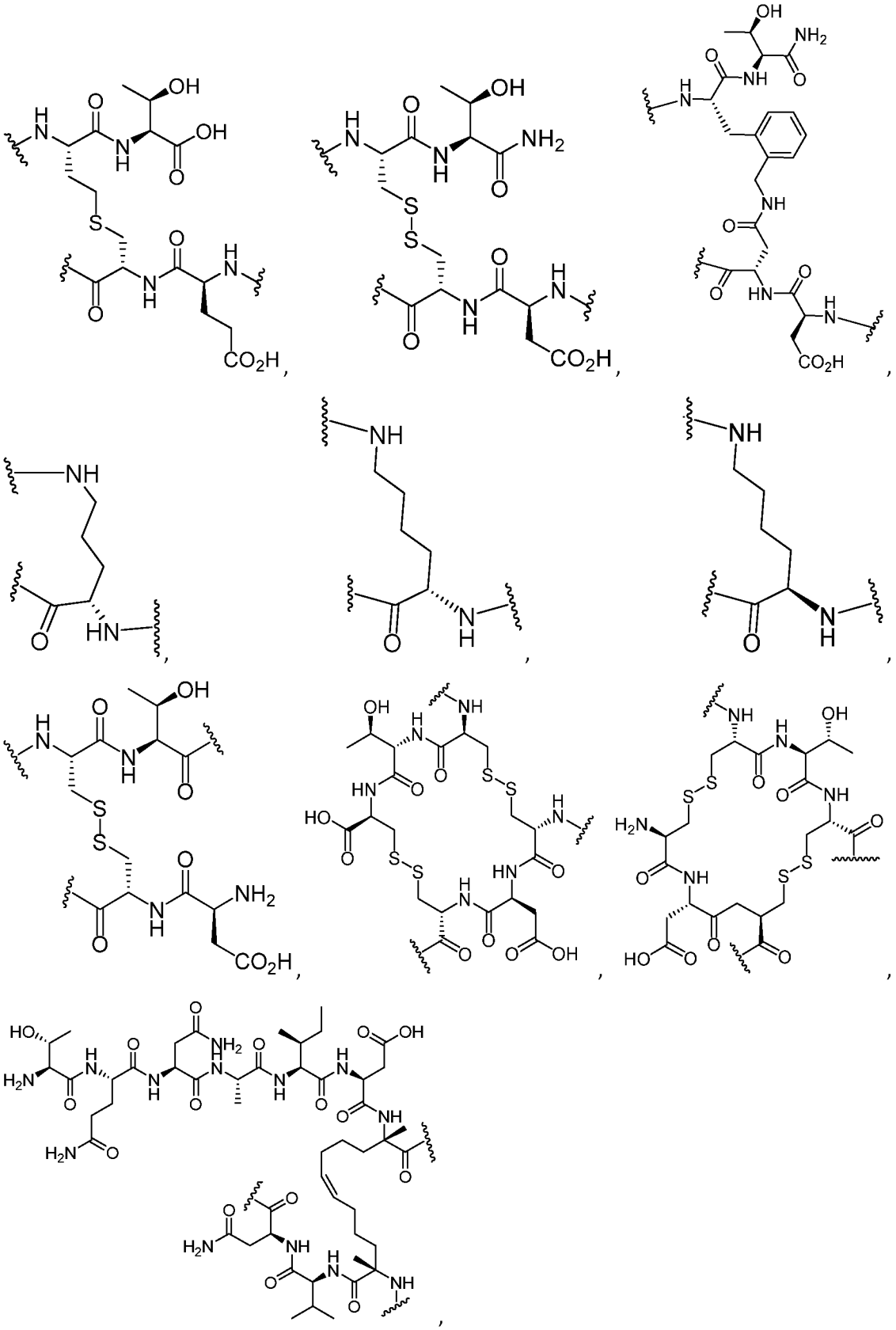


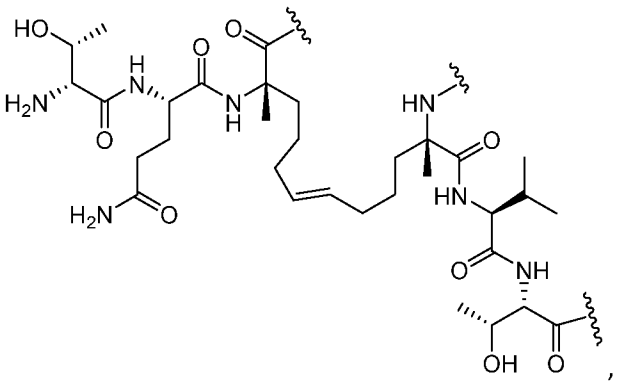




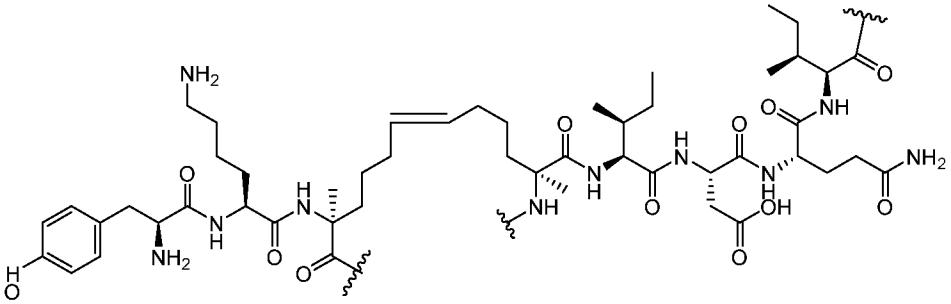




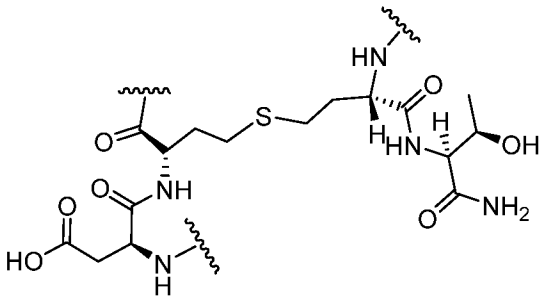




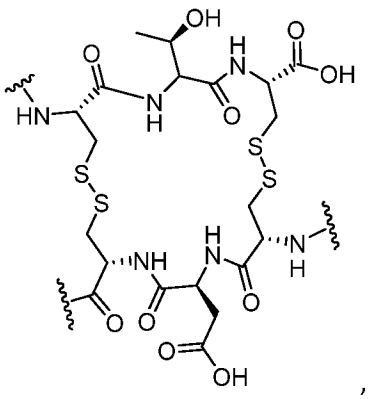
,



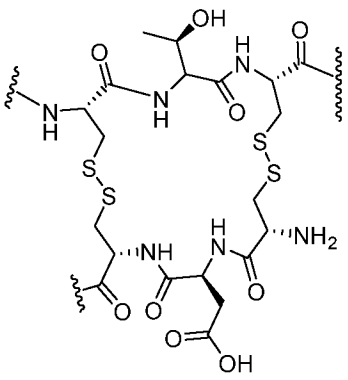
,



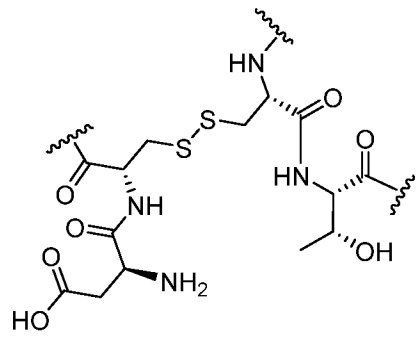
,



,

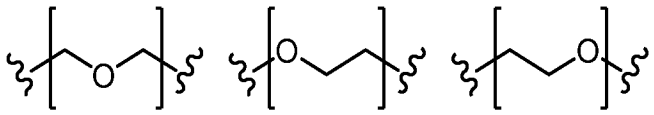


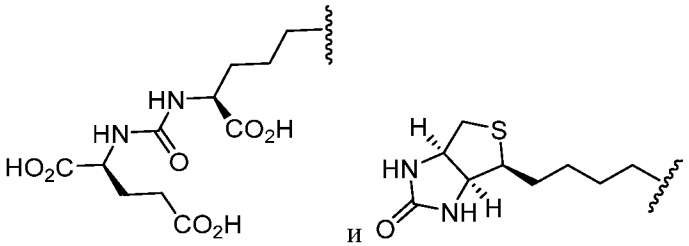
или



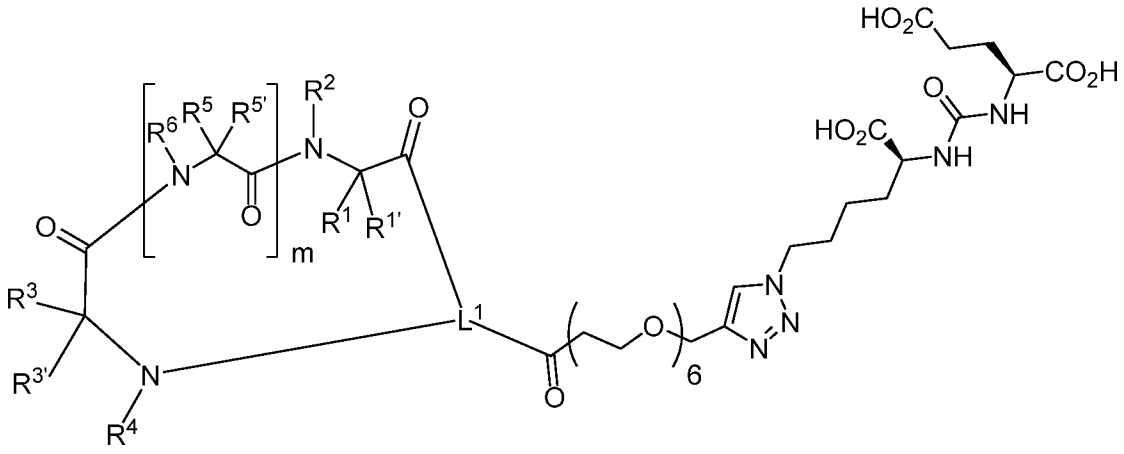
.

38. Способ согласно варианту осуществления 31, в котором L^2 представляет собой двухвалентную прямую или разветвленную насыщенную или ненасыщенную углеводородную цепь C_{1-10}, в которой от 1 до 3 метиленовых звеньев цепи независимо и

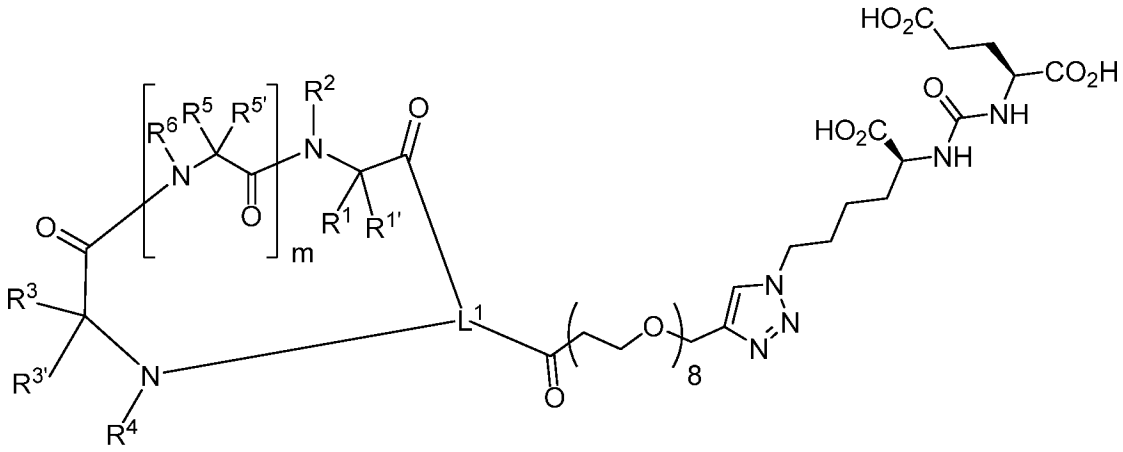
необязательно заменены на –S–, –N(R)–, –O–, –C(O)–, –OC(O)–, –C(O)O–, –C(O)N(R)–, –N(R)C(O)–, –S(O)–, –S(O)$_2$–,  или -Cy^1-, где каждый -Cy^1- независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы. .

39. Способ согласно любому из вариантов осуществления 30-38, в котором TBT выбран из группы, состоящей из  и .

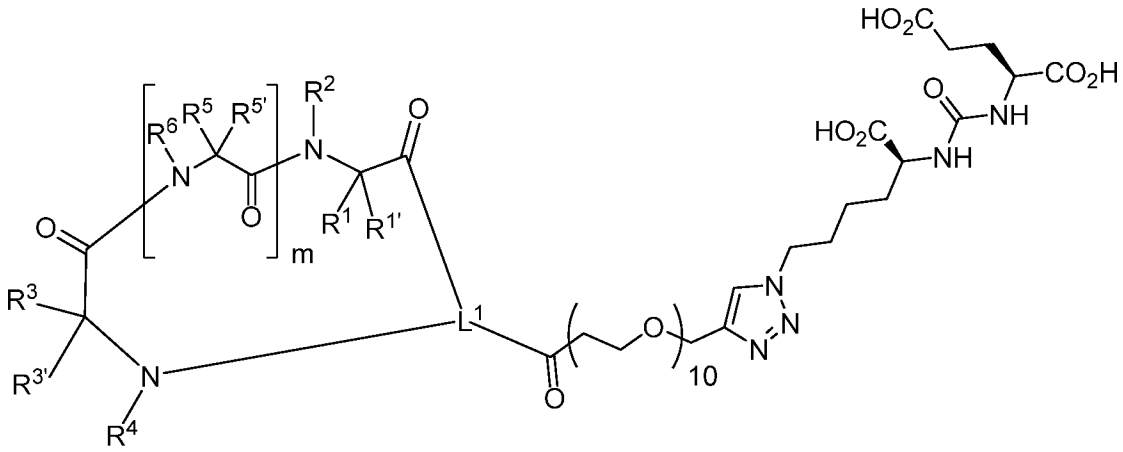
40. Способ согласно варианту осуществления 31, в котором соединение имеет одну из формул **II-a, II-b, II-c, II-d, II-e** или **II-f:**



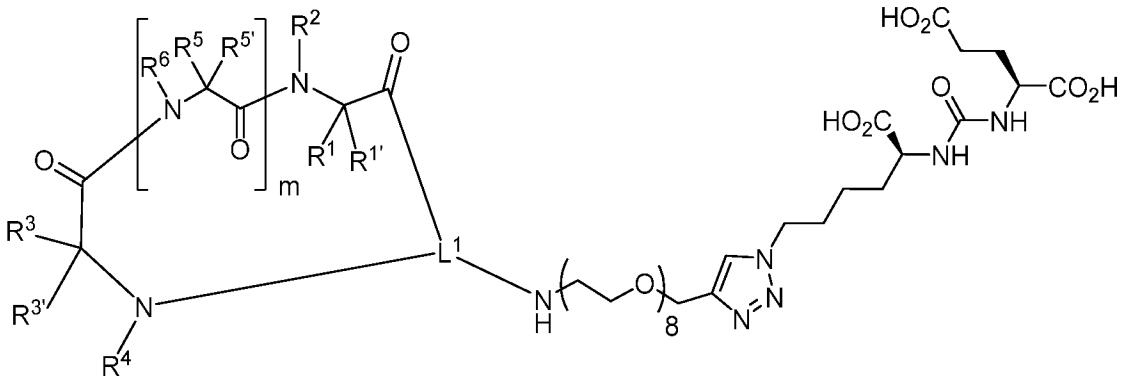
II-a



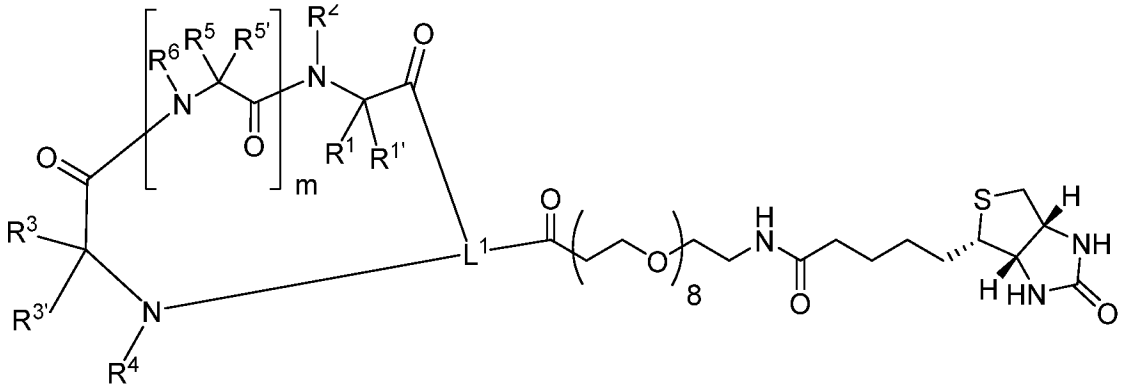
II-b



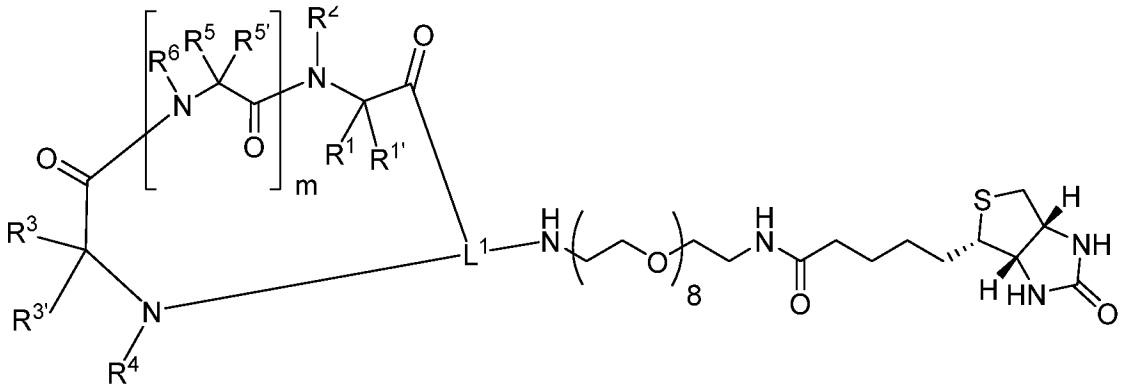
II-c



II-d

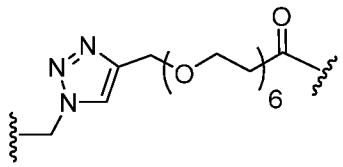
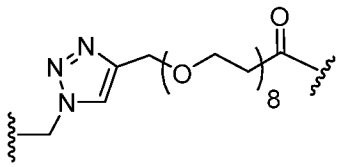
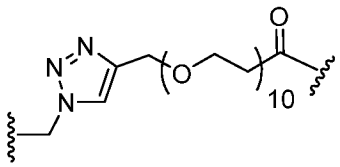
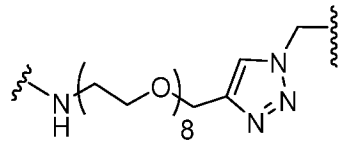
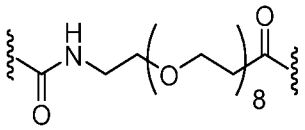
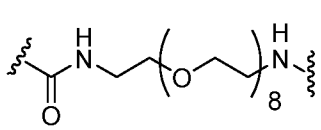


II-e

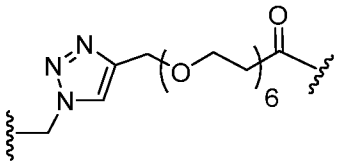


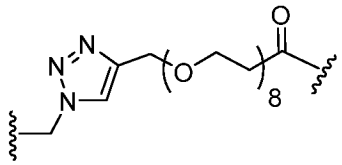
II-f.

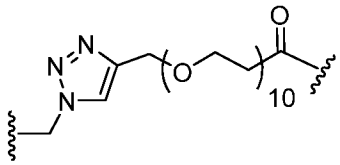
41. Способ согласно варианту осуществления 31, в котором L^2 представляет собой


,

,

,

,

или

.

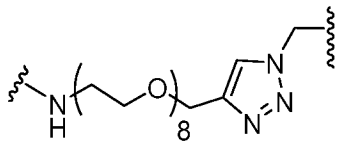
42. Способ согласно варианту осуществления 32, в котором L^3 представляет собой

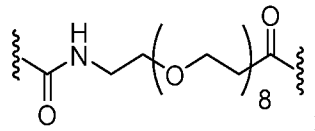


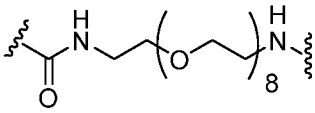
,


,


,



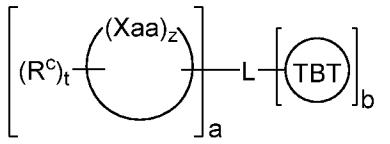
,


или


.

43. Способ согласно любому из вариантов осуществления 29-42, в котором соединение выбрано из соединений, изображенных в **таблице 1.**

44. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-29, в котором ARM представляет собой соединение, имеющее структуру формулы **I-a:**



,

I-a

или его соль, при этом:

каждый Xaa независимо представляет собой аминокислотный остаток;

t равен от 0 до 50;

z равен от 1 до 50;

L представляет собой линкерный фрагмент;

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент;

каждый R^c независимо представляет собой $-L^a-R'$;

каждый из a и b независимо равен от 1 до 200;

каждый L^a независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$;

каждый -Cy- независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния;

каждый R' независимо представляет собой −R, −C(O)R, $-CO_2R$ или $-SO_2R$;

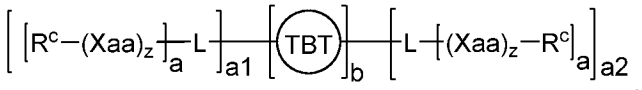
каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или:

две или более группы R у одного и того же атома необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

45. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-29, в котором ARM представляет собой соединение, имеющее структуру формулы **I-b:**



,

I-b

или его соль, при этом:

каждый Xaa независимо представляет собой аминокислотный остаток;

каждый z независимо равен от 1 до 50;

каждый L независимо представляет собой линкерный фрагмент;

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент,

каждый R^c независимо представляет собой $-L^a-R'$;

каждый из a1 и a2 независимо равен от 0 до 200, где по меньшей мере один из a1 и a2 не равен 0;

b равен от 1 до 200;

каждый L^a независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$;

каждый -Cy- независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния;

каждый R' независимо представляет собой $-R$, $-C(O)R$, $-CO_2R$ или $-SO_2R$;

каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или:

две или более группы R у одного и того же атома необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

46. Способ согласно варианту осуществления 45, в котором a1 равен 1 и a2 равен 0.

47. Способ согласно варианту осуществления 45, в котором a1 равен 0 и a2 равен 1.

48. Способ согласно любому из вариантов осуществления 44-47, в котором a равен 1.

49. Способ согласно любому из вариантов осуществления 44-48, в котором b равен 1.

50. Способ согласно любому из вариантов осуществления 44-49, в котором -(Xaa)z- представляет собой или включает $-X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}-$, при этом:

каждый из X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток;

X^6 представляет собой Xaa^A или Xaa^P;

X^9 представляет собой Xaa^N; и

X^2 представляет собой Xaa^A или Xaa^P,

где каждый Xaa^A независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает ароматическую группу, каждый Xaa^P независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает положительно заряженную боковую цепь, и каждый Xaa^N независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает отрицательно заряженную боковую цепь.

51. Способ согласно варианту 50, в котором X^5 представляет собой Xaa^A.

52. Способ согласно варианту 50, в котором X^5 представляет собой Xaa^P.

53. Способ согласно любому из вариантов осуществления 50-52, в котором X^{12} представляет собой Xaa^A.

54. Способ согласно любому из вариантов осуществления 50-52, в котором X^{12} представляет собой Xaa^P.

55. Способ согласно любому из вариантов осуществления 50-54, котором каждый из X^7, X^{10} и X^{11} независимо представляет собой аминокислотный остаток с гидрофобной боковой цепью («гидрофобный аминокислотный остаток», Xaa^H).

56. Способ согласно любому из вариантов осуществления 44-49, в котором -(Xaa)z- представляет собой или включает $-X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}-$, при этом:

по меньшей мере два аминокислотных остатка связаны через одну или несколько связей L^b;

L^b представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$, где L^b связан с атомом основной цепи одного аминокислотного остатка и атомом основной цепи другого аминокислотного остатка и не содержит атомов основной цепи;

X^6 представляет собой Xaa^A или Xaa^P;

X^9 представляет собой Xaa^N; и

X^2 представляет собой Xaa^A или Xaa^P,

где каждый Xaa^A независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает ароматическую группу, каждый Xaa^P независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает положительно заряженную боковую цепь, и каждый Xaa^N независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает отрицательно заряженную боковую цепь.

57. Способ согласно варианту осуществления 56, в котором X^5 и X^{10} соединены посредством L^b.

58. Способ согласно любому из вариантов осуществления 56-57, в котором X^6 представляет собой Xaa^A.

59. Способ согласно любому из вариантов осуществления 56-57, в котором X^6 представляет собой Xaa^P.

60. Способ согласно любому из вариантов осуществления 56-59, в котором X^{12} представляет собой Xaa^{A}.

61. Способ согласно любому из вариантов осуществления 56-59, в котором X^{12} представляет собой Xaa^{P}.

62. Способ согласно любому из вариантов осуществления 56-61, в котором каждый из X^4, X^7 и X^{11} независимо представляет собой аминокислотный остаток с гидрофобной боковой цепью («гидрофобный аминокислотный остаток», Xaa^{H}).

63. Способ согласно любому из вариантов осуществления 44-49, в котором -(Xaa)z- представляет собой или включает $-X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}-$, при этом:

X^2 и X^{12} связаны через одну или несколько связей L^b;

L^b представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$, где L^b связан с атомом основной цепи одного аминокислотного остатка и атомом основной цепи другого аминокислотного остатка и не содержит атомов основной цепи;

X^4 представляет собой Xaa^{A};

X^5 представляет собой Xaa^{A} или Xaa^{P};

X^8 представляет собой Xaa^{N};

X^{11} представляет собой Xaa^{A}; и

где каждый Xaa^{A} независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает ароматическую группу, каждый Xaa^{P} независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает положительно заряженную боковую цепь, и каждый Xaa^{N} независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает отрицательно заряженную боковую цепь.

64. Способ согласно варианту осуществления 63, в котором X^5 представляет собой Xaa^{P}.

65. Способ согласно любому из вариантов осуществления 63-64, в котором X^5 представляет собой Xaa^{A}.

66. Способ согласно любому из вариантов осуществления 63-65, где каждый из X^3, X^6, X^9 и X^{11} независимо представляет собой аминокислотный остаток с гидрофобной боковой цепью («гидрофобный аминокислотный остаток», Xaa^H).

67. Способ согласно любому из вариантов осуществления 44-49, в котором -(Xaa)z- представляет собой или включает $-X^2X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}-$, при этом:

каждый из X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11} и X^{12} независимо представляет собой аминокислотный остаток;

по меньшей мере два аминокислотных остатка связаны через одну или несколько связей L^b;

L^b представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$, где L^b связан с атомом основной цепи одного аминокислотного остатка и атомом основной цепи другого аминокислотного остатка и не содержит атомов основной цепи;

X^5 представляет собой Xaa^A или Xaa^P;

X^8 представляет собой Xaa^N;

X^{11} представляет собой Xaa^A; и

где каждый Xaa^A независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает ароматическую группу, каждый Xaa^P независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает положительно заряженную боковую цепь, и каждый Xaa^N независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает отрицательно заряженную боковую цепь.

68. Способ согласно варианту 67 осуществления, в котором X^2 и X^{12} соединены посредством L^b.

69. Способ согласно любому из вариантов осуществления 67-68, в котором X^4 и X^9 соединены L^b.

70. Способ согласно любому из вариантов осуществления 67-69, в котором X^5 представляет собой Xaa.

71. Способ согласно любому из вариантов осуществления 67-69, в котором X^5 представляет собой Xaa^P.

72. Способ согласно любому из вариантов осуществления 67-71, в котором каждый из X^3, X^6 и X^9 независимо представляет собой аминокислотный остаток с гидрофобной боковой цепью («гидрофобный аминокислотный остаток», Xaa^H).

73. Способ согласно любому из вариантов осуществления 44-49, в котором -(Xaa)z- представляет собой или включает $-X^2X^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}-$, при этом:

каждый из X^2, X^3, X^4, X^5, X^6, X^7, X^8, X^9, X^{10}, X^{11}, X^{12}, X^{13}, X^{14}, X^{15} и X^{16} независимо представляет собой аминокислотный остаток;

по меньшей мере два аминокислотных остатка связаны посредством связи L^b;

L^b представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$, при этом L^b связан с атомом основной цепи одного аминокислотного остатка и атомом основной цепи другого аминокислотного остатка и не содержит атомов основной цепи;

X^3 представляет собой Xaa^N;

X^6 представляет собой Xaa^A;

X^7 представляет собой Xaa^A или Xaa^P;

X^9 представляет собой Xaa^N;

X^{13} представляет собой Xaa^A; и

где каждый Xaa^A независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает ароматическую группу, каждый Xaa^P независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает положительно заряженную боковую цепь, и каждый Xaa^N независимо представляет собой аминокислотный остаток, боковая цепь которого включает отрицательно заряженную боковую цепь.

74. Способ согласно варианту осуществления 73, в котором X^2 соединены с X^{16} посредством L^b.

75. Способ согласно варианту осуществления 73 или 74, в котором X^2 соединены с X^{16} посредством L^b.

76. Способ согласно любому из вариантов осуществления 73-75, в котором X^7 представляет собой Xaa^A.

77. Способ согласно любому из вариантов осуществления 73-75, в котором X^7 представляет собой Xaa^P.

78. Способ согласно любому из вариантов осуществления 73-76, в котором каждый из X^5, X^8 и X^{11} независимо представляет собой аминокислотный остаток с гидрофобной боковой цепью («гидрофобный аминокислотный остаток», Xaa^H).

79. Способ согласно любому из вариантов осуществления 44-78, в котором каждый аминокислотный остаток независимо представляет собой остаток аминокислоты, имеющей структуру формулы A-I:

$$NH(R^{a1})–L^{a1}–C(R^{a2})(R^{a3})–L^{a2}–COOH,$$

A-I

или его соль, при этом:

каждый из R^{a1}, R^{a2}, R^{a3} независимо представляет собой -L^a-R';

каждый из L^{a1} и L^{a2} независимо представляет собой L^a;

каждый L^a независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $–C(R')_2–$, –Cy–, –O–, –S–, –S–S–, –N(R')–, –C(O)–, –C(S)–, –C(NR')–, –C(O)N(R')–, –N(R')C(O)N(R')–, –N(R')C(O)O–, –S(O)–, $–S(O)_2–$, $–S(O)_2N(R')–$, –C(O)S– или –C(O)O–;

каждый -Cy- независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния;

каждый R' независимо представляет собой –R, –C(O)R, $–CO_2R$ или $–SO_2R$;

каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы,

фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или:

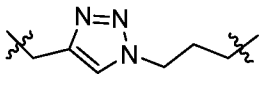
две или более группы R у одного и того же атома необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

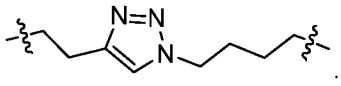
две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

80. Способ согласно варианту осуществления 79, в котором каждый L^a независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную C_1-C_5 алифатическую группу, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$.

81. Способ согласно варианту осуществления 79, в котором каждый из L^{a1} и L^{a2} представляет собой ковалентную связь.

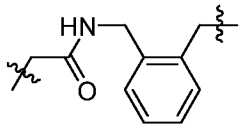
82. Способ согласно любому из вариантов осуществления 56-81, в котором L^b связан с двумя атомами углерода основной цепи двух различных аминокислотных остатков.

83. Способ согласно любому из вариантов осуществления 56-82, в котором L^b представляет собой  .

84. Способ согласно любому из вариантов осуществления 56-83, в котором L^b представляет собой  .

85. Способ согласно любому из вариантов осуществления 56-84, в котором L^b представляет собой $-CH_2-S-S-CH_2-$.

86. Способ согласно любому из вариантов осуществления 56-85, в котором L^b представляет собой $-CH_2-CH_2-S-CH_2-$.

87. Способ согласно любому из вариантов осуществления 56-86, в котором L^b представляет собой  .

88. Способ согласно любому из вариантов осуществления 56-86, в котором L^b представляет собой $-CH_2CH_2CO-N(R')-CH_2CH_2-$.

89. Способ согласно варианту осуществления 59, в котором R' взяты вместе с группой R на атоме основной цепи, с которым связан $-N(R')-CH_2CH_2-$ с образованием кольца.

90. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-29, в котором ARM представляет собой средство, содержащее:

антитело-связывающий фрагмент,

мишень-связывающий фрагмент и

необязательно линкерный фрагмент,

где антитело-связывающий фрагмент связывается с двумя или более антителами, которые имеют различные Fab-области.

91. Способ согласно любому из вариантов осуществления 1-29, в котором ARM представляет собой средство, содержащее:

антитело-связывающий фрагмент,

мишень-связывающий фрагмент и

необязательно линкерный фрагмент,

где антитело-связывающий фрагмент связывается с Fc-областями антител.

92. Способ согласно любому из вариантов осуществления 90 или 91, в котором средство представляет собой соединение по любому из вариантов осуществления 29-89 или его соль.

93. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором ARM вводят с антителом или его фрагментом.

94. Способ согласно любому из предыдущих вариантов осуществления, в котором ARM вводят с IgM или его фрагментом.

95. В способе лечения субъекта путем введения препарата естественных клеток-киллеров усовершенствование, которое включает также введение антитело-рекрутирующей молекулы (ARM), где ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с объектом-мишенью, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

96. Усовершенствование варианта осуществления 95, в котором естественные клетки-киллеры являются естественными клетками-киллерами согласно любому из предыдущих вариантов осуществления и/или ARM представляет собой ARM согласно любому из предыдущих вариантов осуществления.

97. Комбинация, включающая:

множество естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующую молекулу (ARM), где:

ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с объектом-мишенью, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

98. Комбинация согласно варианту осуществления 97, в которой естественные клетки-киллеры являются естественными клетками-киллерами согласно любому из вариантов осуществления 1-94 и/или ARM представляет собой ARM согласно любому из вариантов осуществления 1-94.

99. Композиция, содержащая:

множество естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующую молекулу (ARM), где:

ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с объектом-мишенью, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

100. Композиция по варианту осуществления 99, в которой естественные клетки-киллеры представляют собой естественные клетки-киллеры согласно любому из вариантов осуществления 1-94, и/или ARM представляет собой ARM согласно любому из вариантов осуществления 1-94.

101. Композиция согласно варианту осуществления 99 или 100, где композиция содержит антитело или его фрагмент.

102. Композиция в соответствии с вариантом осуществления 99 или 100, где композиция содержит IgM.

103. Композиция по любому из вариантов осуществления 99-102, где композиция содержит среду, которая поддерживает естественные клетки-киллеры.

ПРИМЕРЫ

[00479] Доступны различные технологии для получения, характеристики, оценки и/или использования иммунных клеток (например, память-подобных NK-клеток) и ARM для использования в соответствии с настоящим раскрытием. Некоторые такие технологии описаны ниже. Будет понятно, что доступны и могут быть использованы многие другие технологии.

Пример 1. Синтез АРМ-средств.

[00480] Как понятно специалистам в данной области техники, в данной области техники доступно множество химических технологий для получения и определения характеристик ARM-средств. Некоторые АРМ-средства представляют собой пептиды или содержат их. В некоторых вариантах осуществления такие пептиды были получены с использованием стандартных автоматизированных процедур твердофазного пептидного синтеза с помощью фторенилметилоксикарбонила (Fmoc).

Синтез пептидов

[00481] В некоторых вариантах осуществления пептиды были синтезированы с использованием стандартной химии Fmoc. Примерная процедура описана ниже.

1) Добавляют DCM в сосуд, содержащий смолу CTC (0,1 ммоль) и Fmoc-Trp(Boc)-OH (42,5 мг, 0,08 ммоль, 0,80 экв) с барботажем N_2.
2) Добавляют по каплям DIEA (4,0 экв.) и перемешивают в течение 2 часов.
3) Добавляют MeOH (0,1 мл) и перемешивают в течение 30 мин.

4) Слив и промывка с DMF 5 раз.

5) Добавляют 20% пиперидина/DMF и оставляют взаимодействовать на 30 мин.

6) Слив и промывка с DMF 5 раз.

7) Добавляют раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивают 30 секунд, затем добавляют активационный буфер, барботируя N_2 в течение около 1 часа.

8) Повторяют стадии с 4 по 7 для связывания следующей аминокислоты.

[00482] В некоторых вариантах осуществления связывали биотин-PEG8-CH_2CH_2COOH (1,5 экв.) с использованием HATU (1,5 экв.) и DIEA (3,0 экв.). В некоторых вариантах осуществления аминокислоты были соединены 3 эквивалентами с использованием HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6 экв.). В некоторых вариантах осуществления 20% пиперидин в DMF использовали для снятия защиты Fmoc в течение подходящего периода времени, например, 30 мин. За реакциями связывания обычно следили с помощью нингидринового теста. Смолу обычно промывали DMF 5 раз.

Расщепление и очистка пептидов

[00483] Примерная процедура расщепления и очистки пептидов описана ниже.

1) Добавляют буфер для расщепления (95%TFA/2,5%TIS/2,5%H_2O) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью при комнатной температуре и перемешивают в течение 3 часов.

2) Пептид осаждали холодным изопропиловым эфиром и центрифугировали (3 мин при 3000 об/мин).

3) Промывка изопропиловым эфиром еще два раза.

4) Сушка неочищенного пептида в вакууме 2 часа.

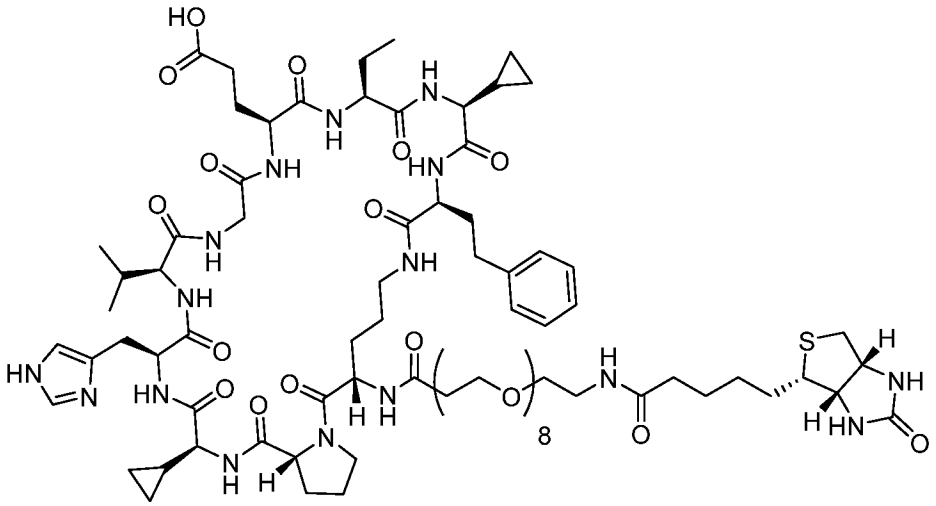
5) Неочищенный пептид очищают с помощью Prep-HPLC (A: 0.1% TFA в H_2O, B: ACN) и лиофилизируют, получая конечный продукт (64,3 мг, выход 52,3%).

Условия очистки

[00484] В типовой процедуре ВЭЖХ с обращенной фазой (Gilson 281) выполняли последовательно на Luna C18 (200 × 25 мм; 10 мкм) и Gemini C18 (150 × 30 мм; 5 мкм). Растворитель A: вода с 0,075% трифторуксусной кислоты; Растворитель B: ацетонитрил. Градиент: при комнатной температуре от 15% B до 45% B в течение 60 мин при 20 мл/мин; затем 90% B со скоростью 20 мл/мин в течение 10 минут, УФ-детектирование (длина волны = 215 нм). Пептид лиофилизировали с получением желаемого продукта (64,3 мг, выход 52,3%) в виде белого твердого вещества.

[00485] Все конечные соединения показали правильную массу для желаемого соединения.

Пример 2. Синтез I-13.



I-13

Синтез пептида

[00486] Пептид синтезировали с использованием стандартной химии Fmoc.

1) Добавляют DCM в сосуд, содержащий смолу CTC (0,4 ммоль) и Fmoc-Trp(Boc)-OH (42,5 мг, 0,08 ммоль, 0,80 экв) с барботажем N_2.

2) Добавляют по каплям DIEA (6,0 экв.) и перемешивают в течение 2 часов.

3) Добавляют MeOH (2 мл) и перемешивают в течение 30 мин.

4) Слив и промывка с DMF 5 раз.

5) Добавляют 20% пиперидина/DMF и оставляют взаимодействовать на 30 мин.

6) Слив и промывка с DMF 5 раз.

7) Добавляют раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивают 30 секунд, затем добавляют активационный буфер, барботируя N_2 в течение около 1 часа.

8) Повторяют стадии с 4 по 7 для связывания следующей аминокислоты.

9) Защитную группу Dde снимали с помощью 3% гидразина в DMF 2 раза по 20 мин каждый.

[00487] Синтезированная шкала: 0,4 ммоль.

Таблица 2. Fmoc-аминокислоты, используемые в синтезе I-13.

#	Материалы	Реагенты для связывания
1	Fmoc-Gly-OH (3 экв.)	DIEA (6 экв.)

2	Fmoc-Abu-OH (2 экв.)	HBTU (1,95 экв.) и DIEA (4 экв.)
3	Fmoc-His(Trt)-OH (2 экв.)	HBTU (1,95 экв.) и DIEA (4 экв.)
4	(S)-2-((((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-2-(тиазол-4-ил)уксусная кислота (2 экв.)	HBTU (1,95 экв.) и DIEA (4 экв.)
5	Fmoc-D-Pro-OH (2 экв.)	HBTU (1,95 экв.) и DIEA (4 экв.)
6	Fmoc-Orn(Dde)-OH (2 экв.)	HBTU (1,95 экв.) и DIEA (4 экв.)
7	Fmoc-NH-PEG8-CH_2CH_2COOH (1,5 экв.)	HBTU (1,45 экв.) и DIEA (4 экв.)
8	D-биотин (2 экв.)	HBTU (1,95 экв.) и DIEA (4 экв.)
9	(S)-2-((((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-4-фенилбутановая кислота (2 экв.)	HBTU (1,95 экв.) и DIEA (4 экв.)
10	Fmoc-циклопропилаланин (2 экв.)	HBTU (1,95 экв.) и DIEA (4 экв.)
11	(S)-2-((((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)бутановая кислота (2 экв.)	HBTU (1,95 экв.) и DIEA (4 экв.)
12	Fmoc-Glu(OtBu)-OH (2 экв.)	HBTU (1,95 экв.) и DIEA (4 экв.)

[00488] 20% пиперидин в DMF использовали для снятия защиты Fmoc в течение 30 минут. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, и смолу промывали с DMF 5 раз.

Расщепление пептида, циклизация и очистка

6) Добавляют буфер для расщепления (1% TFA/99% DCM, 14 мл) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре и перемешивают в течение 0,5 часа.

7) Реакционную смесь фильтровали, и полученный фильтрат разбавляли сухим DCM до 1 мМ. Добавляли DIEA, чтобы довести pH до около 8. К вышеуказанному раствору добавляли TBTU (835,30 мг, 1,2 ммоль, 3,0 экв.) и HOBT (162,15 мг, 1,2 ммоль, 3,0 экв.), и полученный раствор подвергали реакции в течение от 3 до 4 часов при комнатной температуре. За реакцией следили с помощью ЖХМС.

8) После полного прохождения реакции реакционную смесь промывали 1 н. HCL (200 мл) один раз. Органическую фазу сушили в вакууме, чтобы получить неочищенный пептид, который обрабатывали смесью 95% TFA/2,5% H_2O/2,5% TIPS в течение около 1 часа.

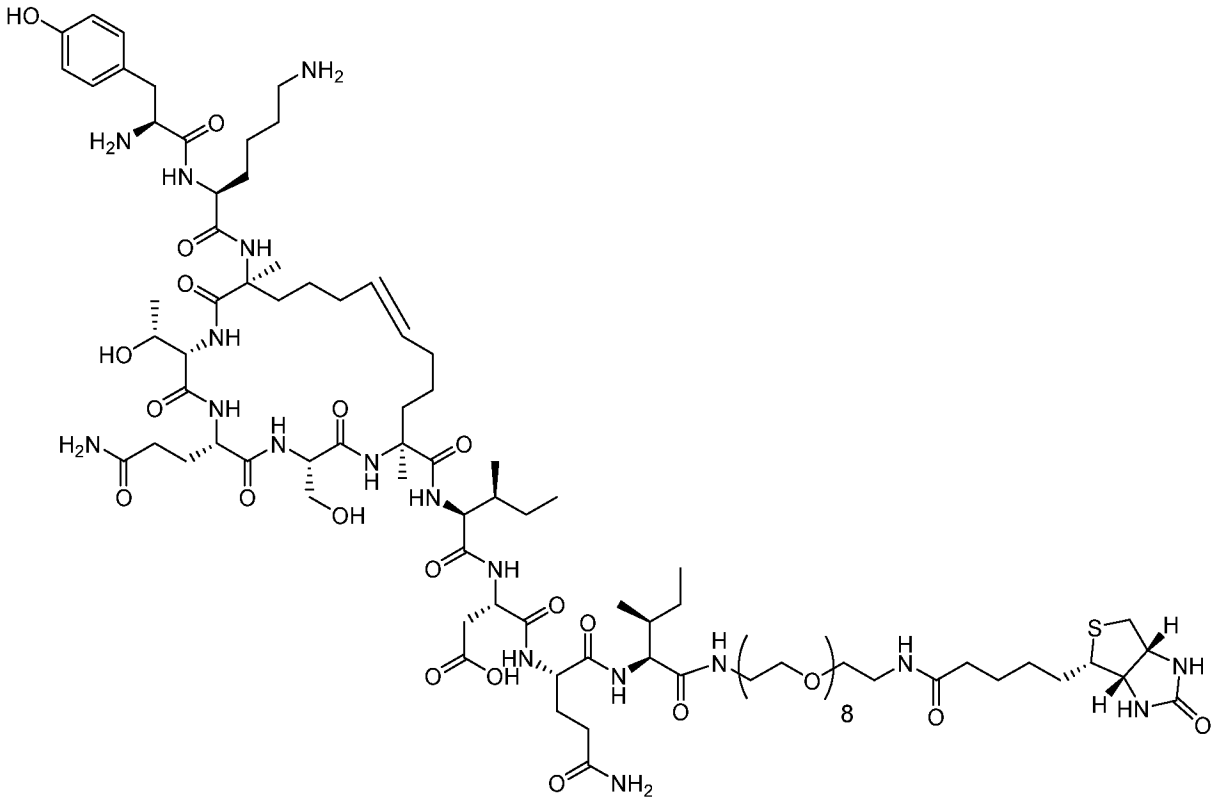
9) Неочищенный пептид осаждали метил-трет-бутиловым эфиром.

10) Неочищенный пептид очищают с помощью ВЭЖХ (A: H_2O, B: ACN) с получением конечного продукта (78,90 мг, выход 11,44%).

Условия очистки

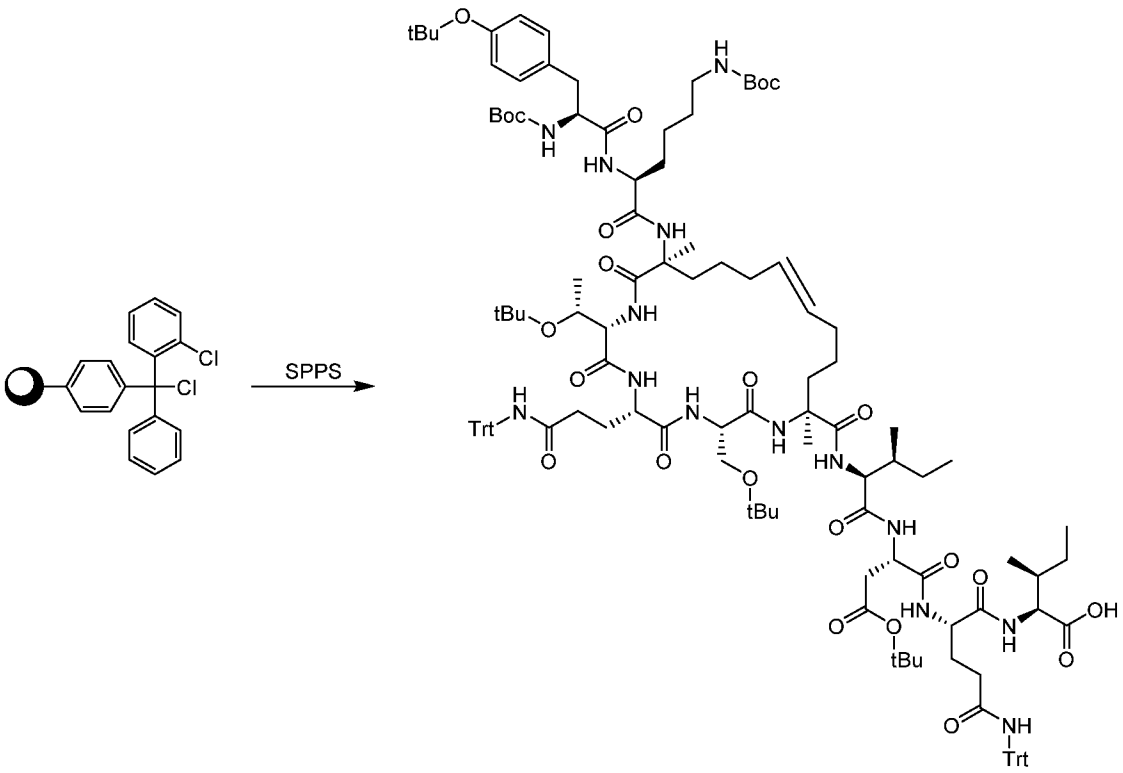
[00489] ВЭЖХ с обращенной фазой (Gilson 281) проводили на Luna C18 (200 × 25 мм; 10 мкм) и Gemini C18 (150 × 30 мм; 5 мкм). Растворитель A: вода с 0,1% трифторуксусной кислотой; Растворитель B: ацетонитрил с 0,1% трифторуксусной кислотой. Градиент: при комнатной температуре от 5% B до 35% B в течение 60 мин при 20 мл/мин; затем 90% B со скоростью 20 мл/мин в течение 10 минут, УФ-детектирование (длина волны = 215 нм). Пептид лиофилизировали с получением желаемого продукта, **I-13** (78,90 мг, 11,44%) в виде твердого вещества белого цвета.

Пример 3. Синтез I-29.



I-29

[00490] Общая процедура получения Соединения 3.1.



3.1

Синтез пептида

[00491] Пептид синтезировали с использованием стандартной химии Fmoc.

[00492] Шкала синтеза: 0,2 ммоль.

1) Добавляют DCM в сосуд, содержащий смолу CTC (0,4 ммоль) и Fmoc-Ile-OH (70,68 мг, 200,00 мкмоль, 1 экв) с барботажем N_2.

2) Слив и затем промывка с DMF 30 сек 3 раза.

3) Добавляют 20% пиперидина/DMF и перемешивают в течение 30 мин.

4) Слив и затем промывка с DMF 5 раз в течение 30 сек.

5) Добавляют раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивают 30 секунд, затем добавляют реагенты для связывания с барботированием N_2 в течение около 1 часа.

6) Повторяют стадию от 2 до 5 для следующего аминокислотного связывания.

7) После завершения связывания к смоле в DCE добавляли Grubb's 1st (20%) с барботированием N_2 в течение 16 часов при 25°C.

Таблица 3. Fmoc-аминокислоты, использованные при получении I-29.

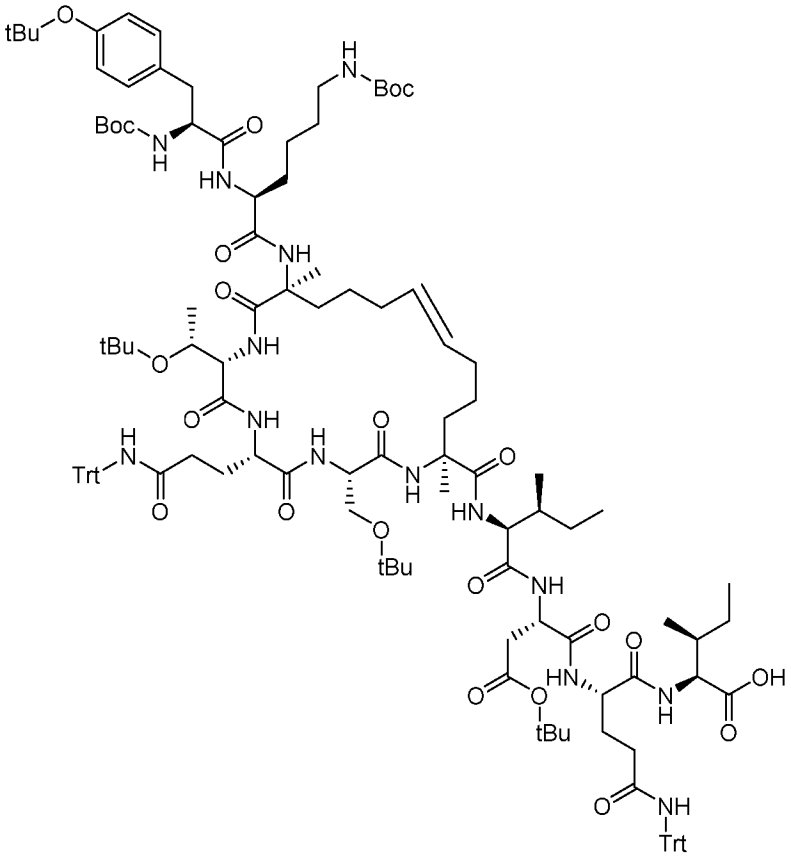
#	**Материалы**	**Реагенты для связывания**
1	Fmoc-Ile-OH (1 экв.)	DIEA (4 экв.)
2	Fmoc-Gln(Trt)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
3	Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
4	Fmoc-Ile-OH(3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
5	S5 (1,5 экв.)	H A TU (1,5 экв.) и DIEA (3 экв.)
6	Fmoc-Ser(tBu)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
7	Fmoc-Gln(Trt)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
8	Fmoc-Thr(tBu)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
9	S5 (1,5 экв.)	HBTU (1,5 экв.) и DIEA (3 экв.)
10	Fmoc-Lys(Boc)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
11	Fmoc-Tyr(tBu)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
12	$(Boc)_2O$ (3 экв.)	DIEA (6 экв.)

[00493] 20% пиперидин в ДМФ использовали для снятия защиты Fmoc в течение 30 минут. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, и смолу промывали с DMF 5 раз.

Расщепление и обработка пептида

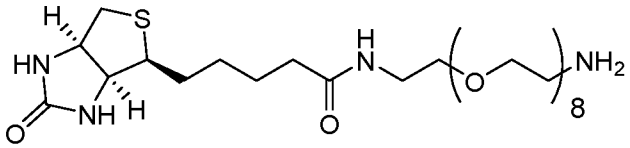
1) Добавляют буфер для расщепления (1%TFA/99%DCM) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре, перемешивают в течение 0,5 часа и отфильтровывают.
2) После фильтрации добавляют DIEA для нейтрализации и дважды экстрагируют водой.
3) Неочищенный пептид сушат в вакууме в течение 16 часов с получением неочищенного соединения в виде коричневого твердого вещества (290 мг, выход 64%).

[00494] Общая процедура получения Соединения 3.3

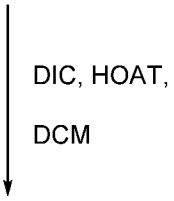


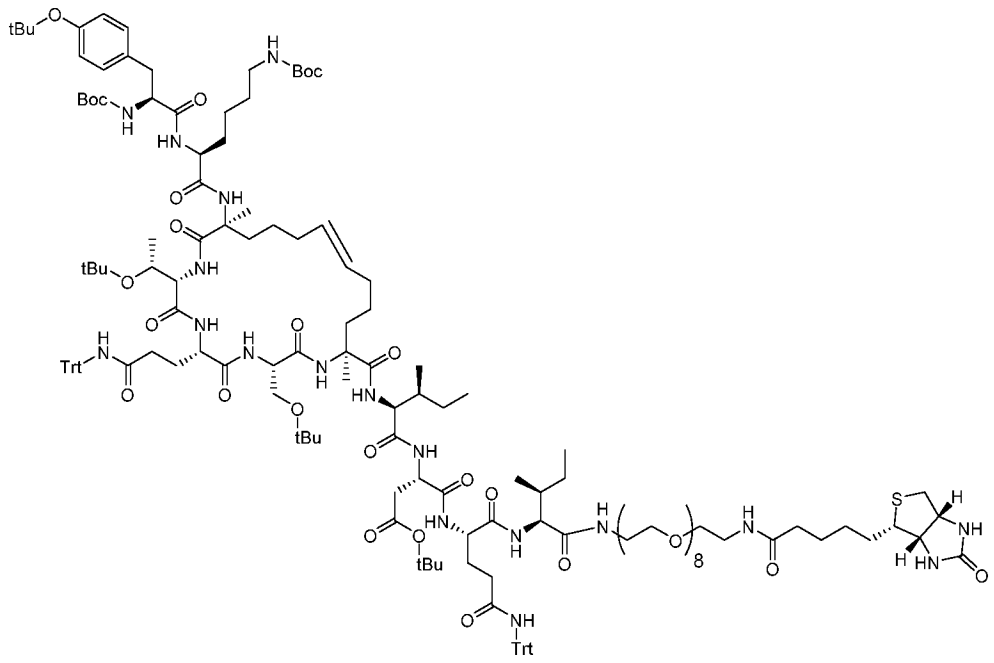
3.1

+



3.2

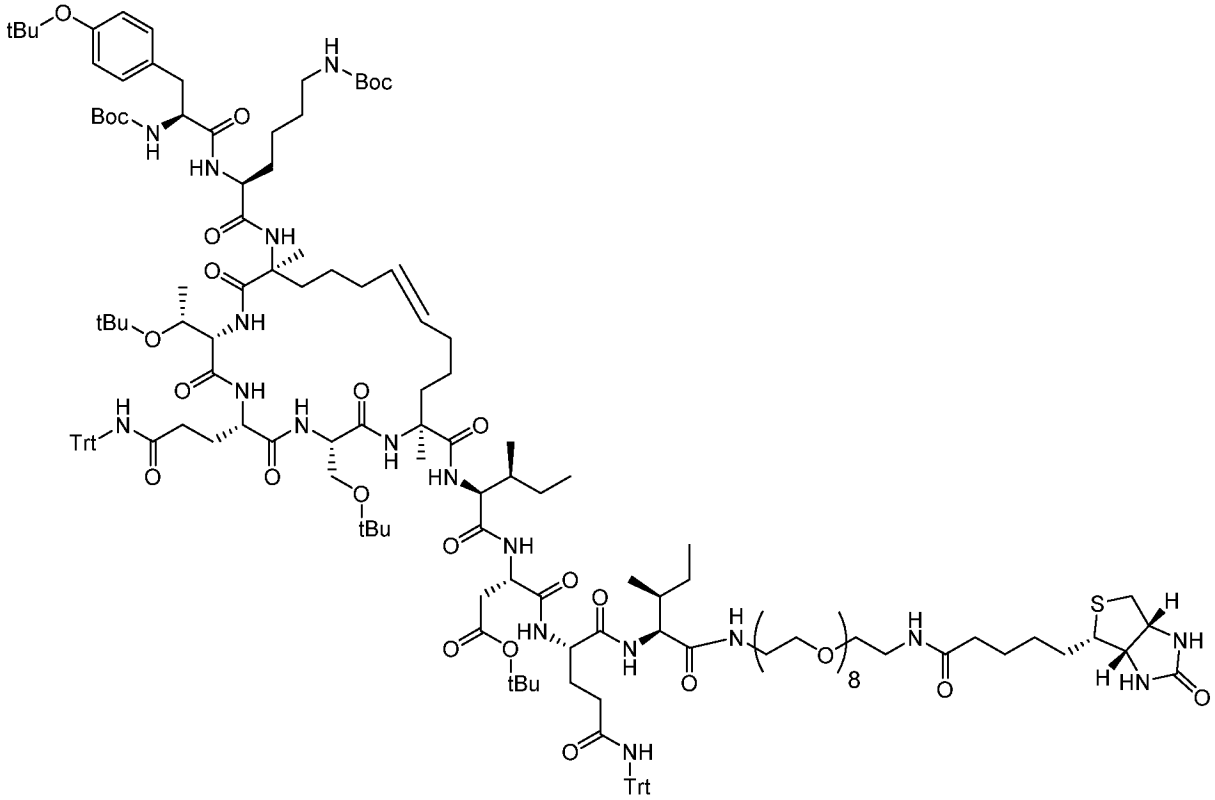




3.3

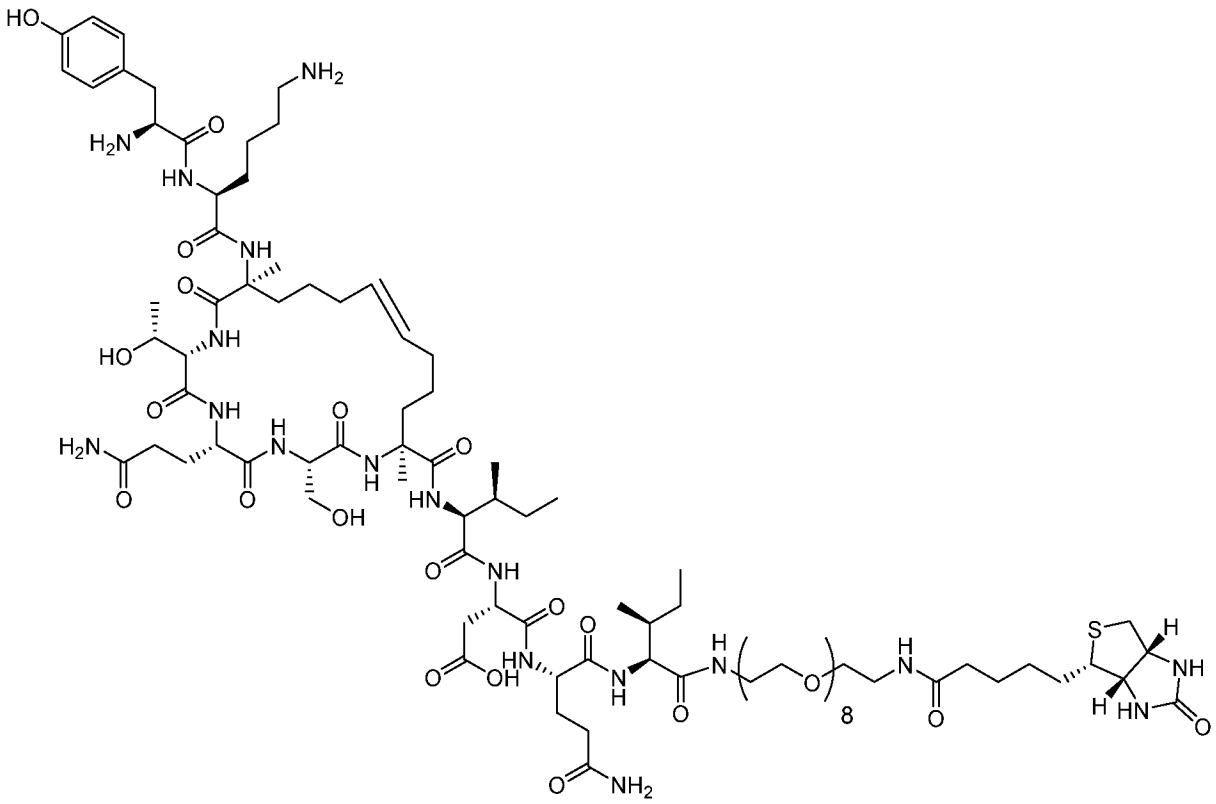
[00495] К смеси соединения **3.1** (290 мг, 128,61 мкмоль, 1 экв), соединения **3.2** (164,32 мг, 257,23 мкмоль, 2 экв) и HOAt (35,01 мг, 257,23 мкмоль, 2 экв) в DCM (10 мл) добавляли DIC (32,46 мг, 257,23 мкмоль, 39,83 мкл, 2 экв.) одной порцией при 25°C в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при 25°C в течение 5 часов. ЖХ-МС показала, что соединение **3.1** полностью израсходовано. Реакционную смесь экстрагировали 30 мл 1M HCL (3 раза по 10 мл) и сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения **3.3** (300 мг, выход 81%).

[00496] Общая процедура получения I-29



3.3

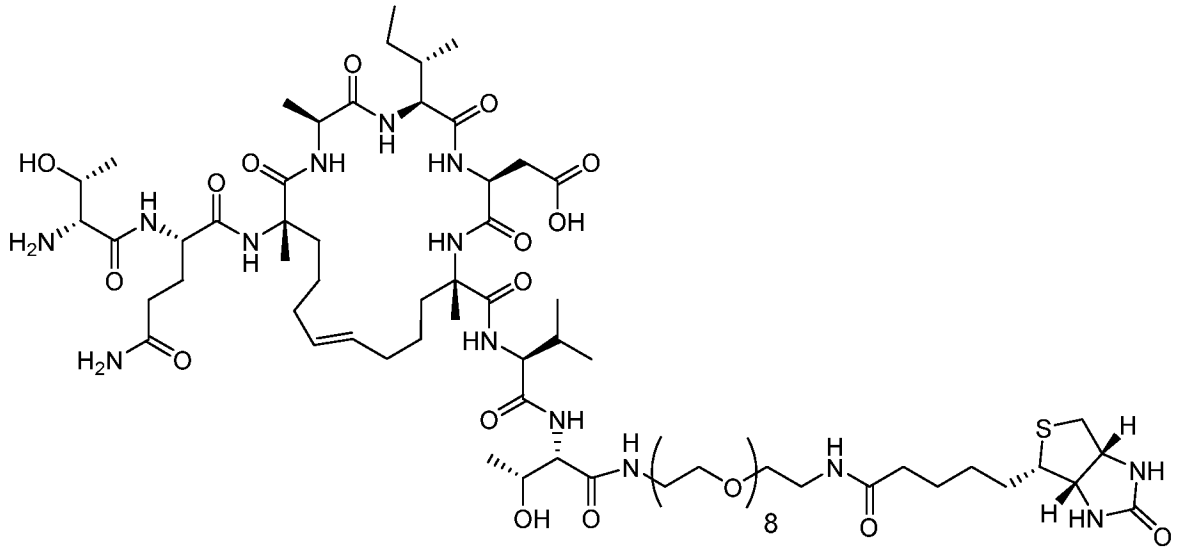
TFA



I-29

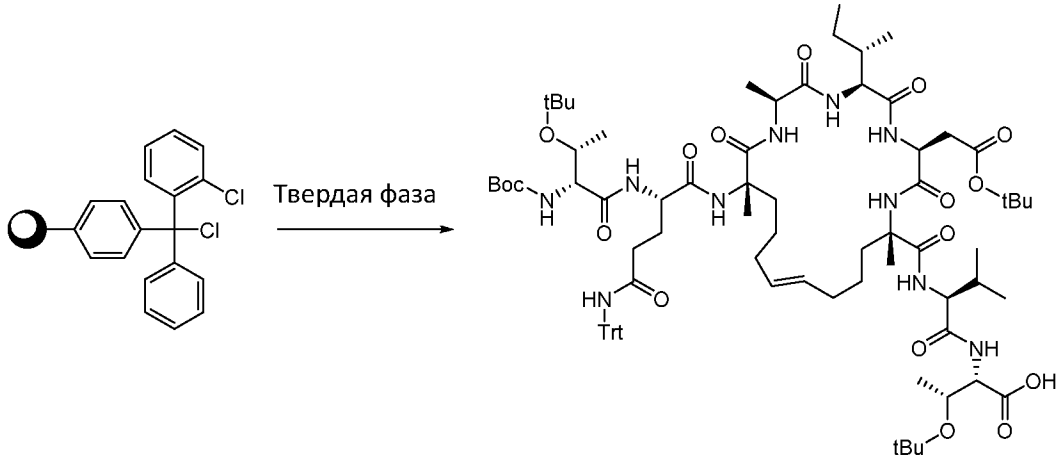
[00497] К смеси соединения **3.3** (300 мг, 113,93 мкмоль, 1 экв.) добавляли 95% TFA/2,5% TIS/2,5% H_2O в виде одной порции при 25°C. Смесь перемешивали при 25°C в течение 2 часов. ЖХ-МС показала, что соединение **3.3** было израсходовано полностью. Пептид осаждали холодным трет-бутилметиловым эфиром и центрифугировали (2 мин при 3000 оборотов в минуту). Остаток очищали препаративной ВЭЖХ (0,075**%**TFA/H_2O, ACN) с получением **I-29** (75,5 мг, 38,40 мкмоль, выход 33,70%) в виде белого твердого вещества.

Пример 4. Синтез I-30.



I-30

[00498] Общая процедура получения Соединения 4.1



4.1

Синтез пептида

[00499] Пептид синтезировали с использованием стандартной химии Fmoc.

[00500] Шкала синтеза: 0,2 ммоль.

1) Добавляют DCM в сосуд, содержащий смолу CTC и Fmoc-Thr(tBu)-OH (79,68 мг, 200,00 пмоля, 1 экв) с барботажем N_2.

2) Слив и затем промывка с DMF 30 сек 3 раза.

3) Добавляют 20% пиперидина/DMF и перемешивают в течение 30 мин.

4) Слив и затем промывка с DMF 5 раз в течение 30 сек.

5) Добавляют раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивают 30 секунд, затем добавляют реагенты для связывания с барботированием N_2 в течение около 1 часа.

6) Повторяют стадию от 2 до 5 для следующего аминокислотного связывания.
7) После завершения связывания к смоле в DCE добавляли Grubb's 1st (20%) с барботированием N_2 в течение 16 часов при 25°C.

Таблица 4. Fmoc-аминокислоты, используемые в синтезе **I-30.**

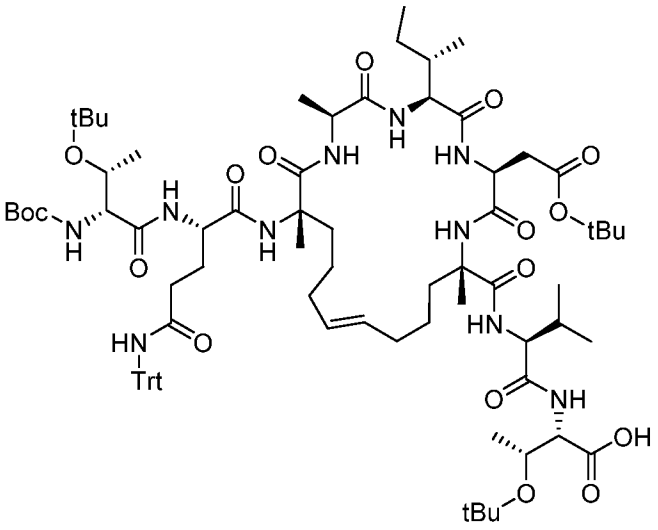
#	**Материалы**	**Реагенты для связывания**
1	Fmoc-Thr(tBu)-OH (1 экв.)	DIEA (4 экв.)
2	Fmoc-Val-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
3	S5 (1,5 экв.)	HATU (1,5 экв.) и DIEA (3 экв.)
4	Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
5	Fmoc-Ile-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
6	Fmoc-Ala-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
7	S5 (1,5 экв.)	HATU (1,5 экв.) и DIEA (3 экв.)
8	Fmoc-Gln(Trt)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
9	Fmoc-Thr(tBu)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
10	$(Boc)_2O$ (3 экв.)	DIEA (6 экв.)

[00501] 20% пиперидин в DMF использовали для снятия защиты Fmoc в течение 30 минут. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, и смолу промывали с DMF 5 раз.

Расщепление и обработка пептида

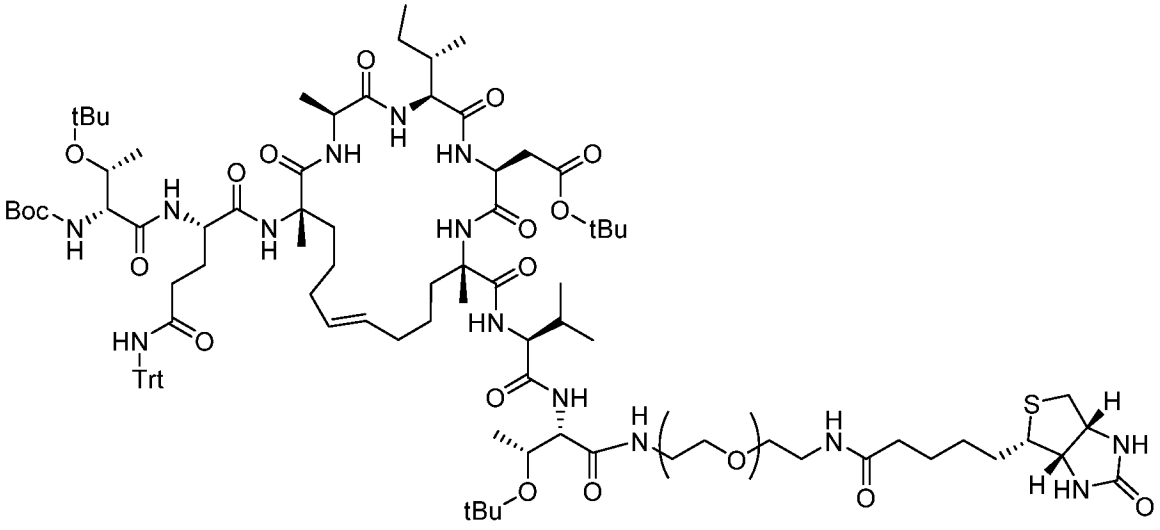
1) Добавляют буфер для расщепления (1%TFA/99%DCM) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре, перемешивают в течение 0,5 часа и отфильтровывают.
2) После фильтрации добавляют DIEA для нейтрализации и дважды экстрагируют водой.
3) Неочищенный пептид сушат в вакууме в течение 16 часов с получением неочищенного соединения в виде коричневого твердого вещества (110 мг, выход 36%).

[00502] Общая процедура получения Соединения 4.2



4.1

NH2-PEG8-D-
Биотин

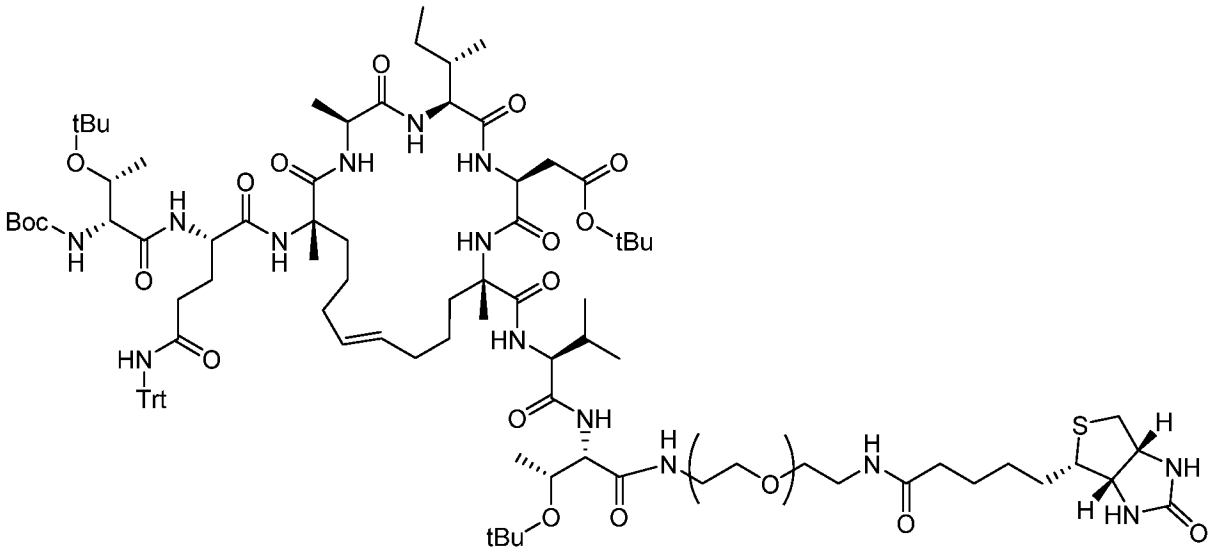


4.2

[00503] К смеси соединения **4.1** (110 мг, 72,9 мкмоль, 1 экв.), NH_2-PEG8-D-биотина (93,2 мг, 145,9 мкмоль, 2 экв.) и HOAt (19,86 мг, 145,9 мкмоль, 2 экв.) в DCM (10 мл) добавляли DIC (18,41 мг, 145,9 мкмоль, 22,59 мкл, 2 экв.) одной порцией при 25°C в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при 25°C в течение 5 часов. ЖХ-МС показала, что соединение **4.1** было израсходовано полностью. Реакционную смесь экстрагировали 30 мл 1M HCL (3 раза

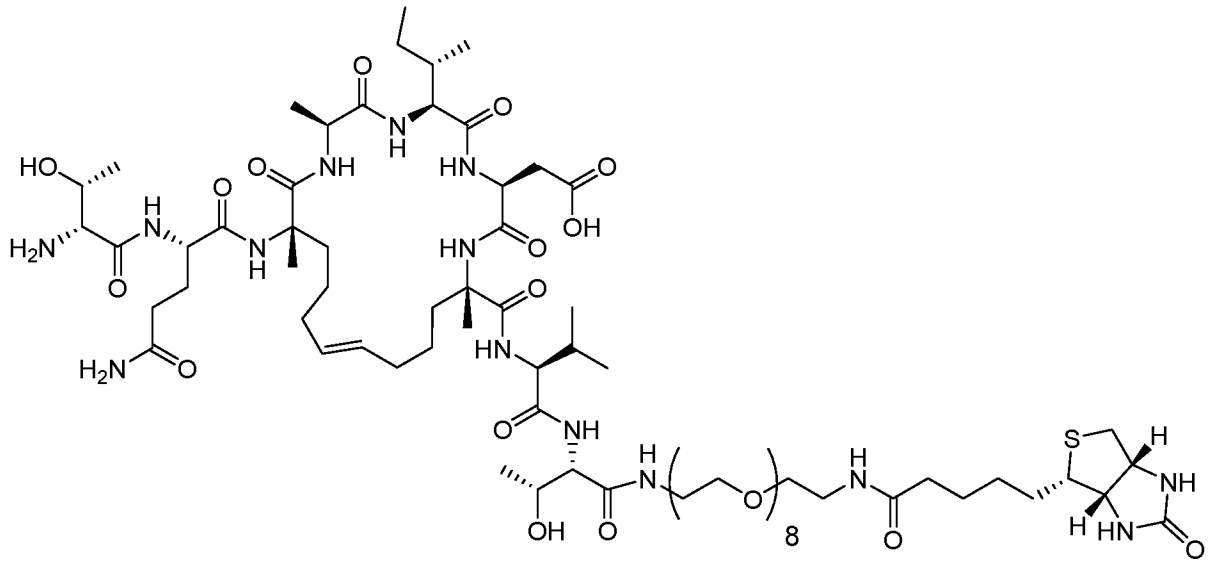
по 10 мл) и сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения **4.2** (100 мг, выход 64,4%).

[00504] Общая процедура приготовления I-30



4.2

расщепление

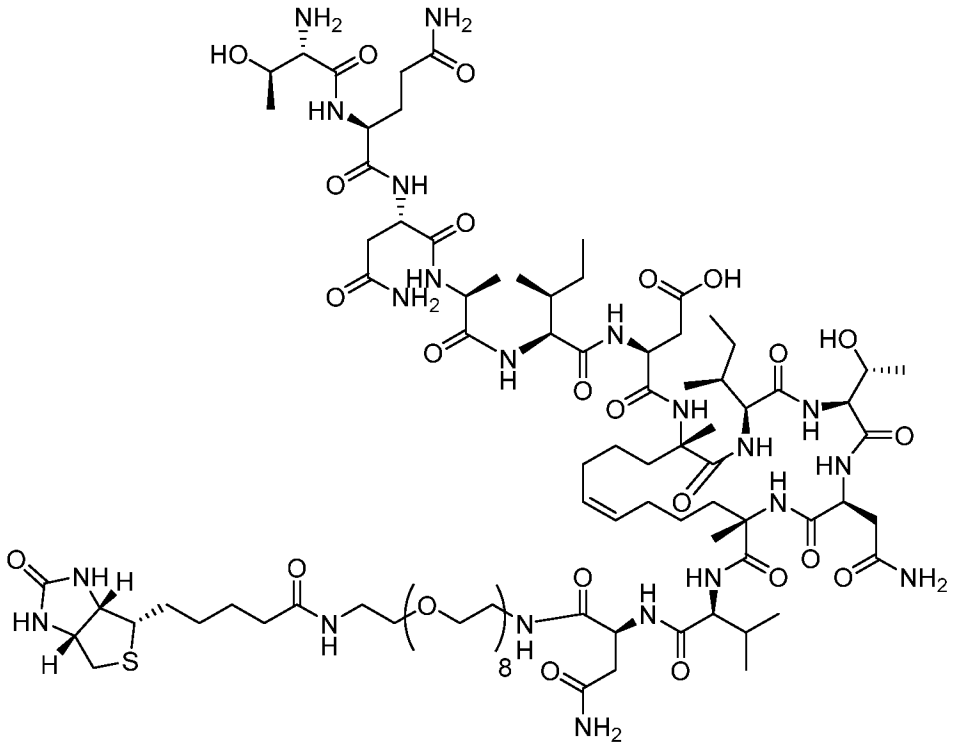


I-30

[00505] К смеси соединения **4.2** (1 00 мг, 47 мкмоль, 1 экв) добавляли 95% 95%TFA/TIS/EDT/H2O одной порцией при 25°C. Смесь перемешивали при 25°C в течение

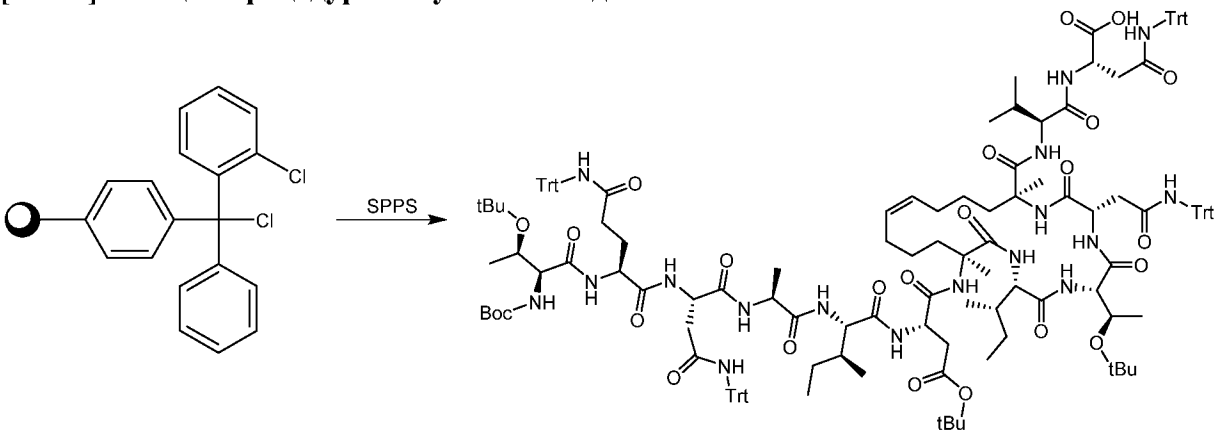
2 часов. ЖХ-МС показала, что соединение **3** израсходовано полностью. Пептид осаждали холодным трет-бутилметиловым эфиром и центрифугировали (2 мин при 5000 об/мин). Остаток очищали с помощью препаративной ВЭЖХ (0,075% TFA/H_2O, ACN) с получением **I-30** (24,2 мг, 15,00 мкмоль, выход 32 %) в виде белого твердого вещества.

Пример 5. Синтез I-31.



I-31

[00506] Общая процедура получения Соединения 5.1



5.1

Синтез пептида

[00507] Пептид синтезировали с использованием стандартной химии Fmoc.

[00508] Шкала синтеза: 0,2 ммоль.

1) Добавляют DCM в сосуд, содержащий смолу CTC и Fmoc-Asn(Trt)-OH (119,2 мг, 200,00 мкмоль, 1 экв) с барботажем N_2.
2) Слив и затем промывка с DMF 30 сек 3 раза.
3) Добавляют 20% пиперидина/DMF и перемешивают в течение 30 мин.
4) Слив и затем промывка с DMF 5 раз в течение 30 сек.
5) Добавляют раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивают 30 секунд, затем добавляют реагенты для связывания с барботированием N_2 в течение около 1 часа.
6) Повторяют стадию от 2 до 5 для следующего аминокислотного связывания.
7) После завершения связывания к смоле в DCE добавляли Grubb's 1st (20%) с барботированием N_2 в течение 16 часов при 25°C.

Таблица 5. Fmoc-аминокислоты, используемые в синтезе **I-31.**

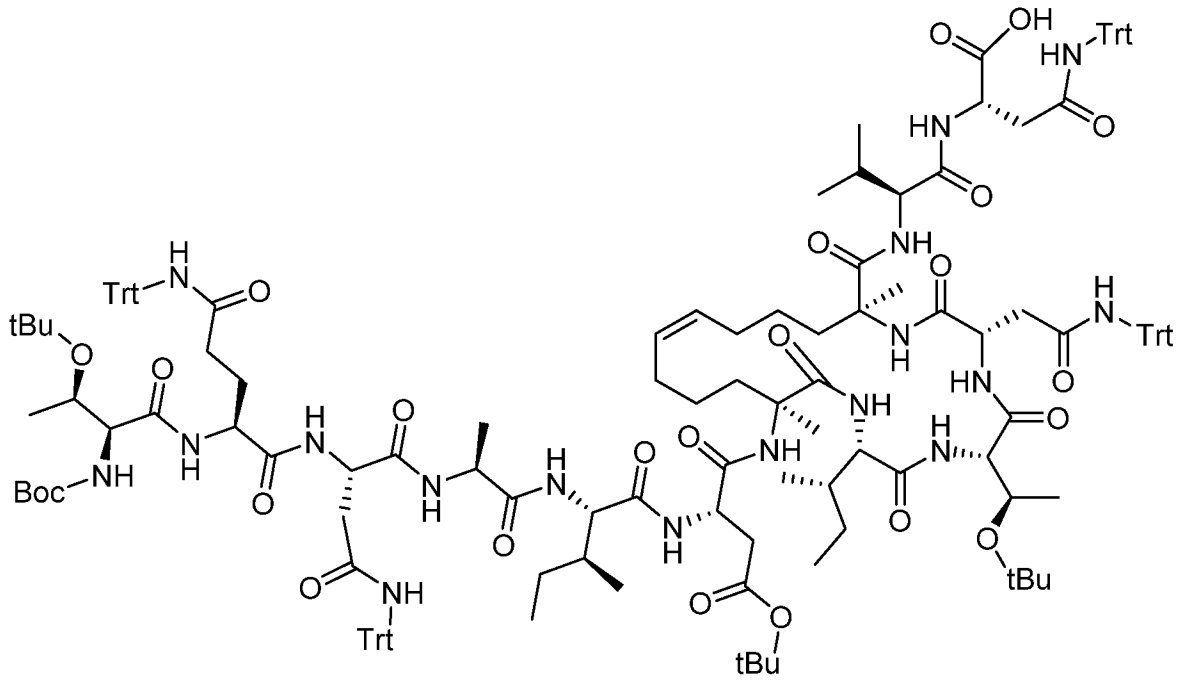
#	**Материалы**	**Реагенты для связывания**
1	Fmoc-Asn(Trt)-OH(1 экв.)	DIEA (4 экв.)
2	Fmoc-Val-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
3	S5 (1,5 экв.)	HATU (1,5 экв.) и DIEA (3 экв.)
4	Fmoc-Asn(Trt)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
5	Fmoc-Thr(tBu)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
6	Fmoc-Ile-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
7	S5 (1,5 экв.)	HATU (1,5 экв.) и DIEA (3 экв.)
8	Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
9	Fmoc-Ile-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
10	Fmoc-Ala-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
11	Fmoc-Asn(Trt)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
12	Fmoc-Gln(Trt)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
13	Fmoc-Thr(tBu)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
14	$(Boc)_2O$ (3 экв.)	DIEA (6 экв.)

[00509] 20% пиперидин в DMF использовали для снятия защиты Fmoc в течение 30 минут. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, и смолу промывали с DMF 5 раз.

Расщепление и обработка пептида

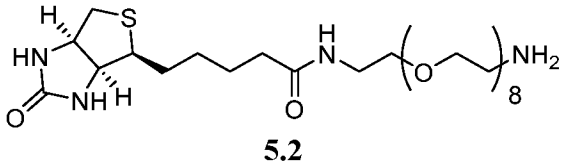
1) Добавляют буфер для расщепления (1%TFA/99%DCM) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре, перемешивают в течение 0,5 часа и отфильтровывают.
2) После фильтрации добавляют DIEA для нейтрализации и дважды экстрагируют водой.
3) Неочищенный пептид сушат в вакууме в течение 16 часов с получением неочищенного соединения в виде коричневого твердого вещества (335 мг, выход 62,29%).

[00510] Общая процедура получения Соединения 5. 3

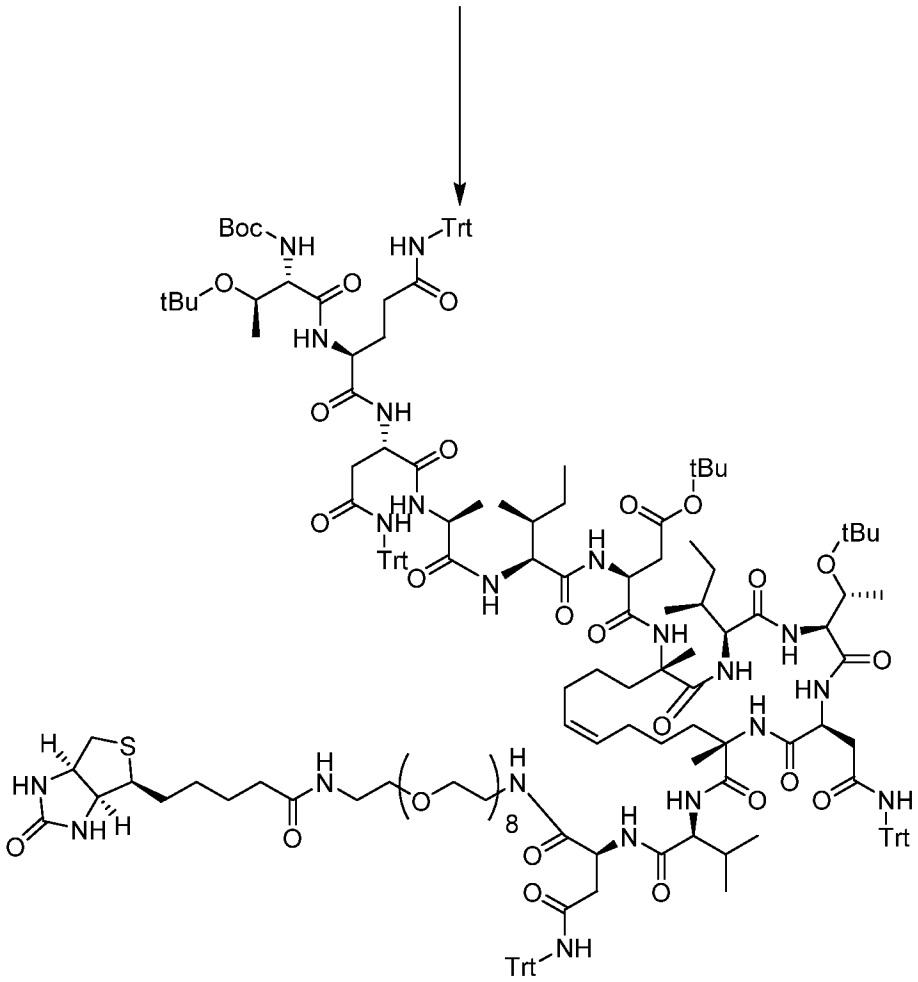


5.1

+



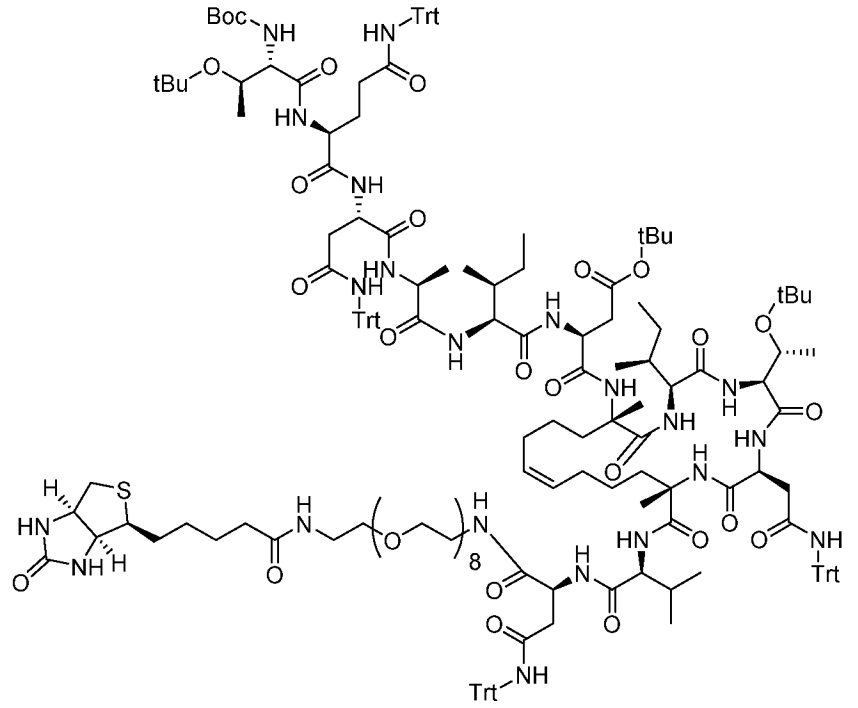
5.2



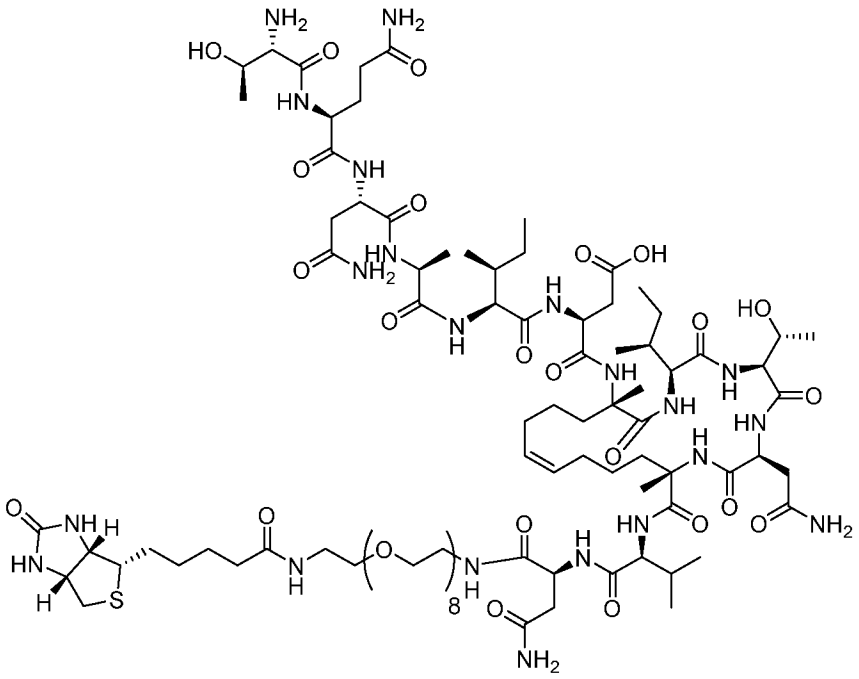
5.3

[00511] К смеси соединения **5.1** (335 мг, 124,52 мкмоль, 1 экв), соединения **5.2** (159,09 мг, 249,04 мкмоль, 2 экв) и HOAt (33,9 мг, 249,04 мкмоль, 2 экв) в DCM (10 мл) добавляли DIC (249,04 мкмоль, 38,59 мкл, 2 экв.) одной порцией при 25°C в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при 25°C в течение 5 часов. ЖХ-МС показала, что соединение **5.1** было полностью израсходовано. Реакционную смесь экстрагировали 30 мл 1M HCL (3 раза по 10 мл). Сушили над Na_2SO_4, фильтровали и концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения **5.3** (350 мг, выход 84,89 %).

[00512] Общая процедура получения I-31



5.3

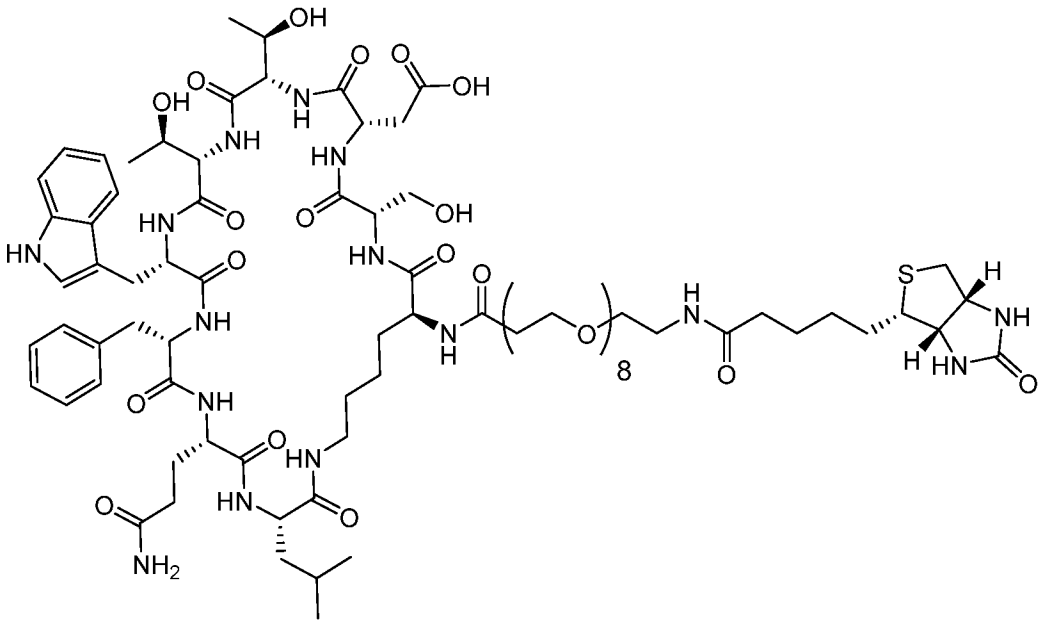


I-31

[00513] К смеси соединения **5.3** (350 мг, 105,71 мкмоль, 1 экв.) добавляли 95% 95%TFA/TIS/EDT/H_2O одной порцией при 25°C. Смесь перемешивали при 25°C в течение 2

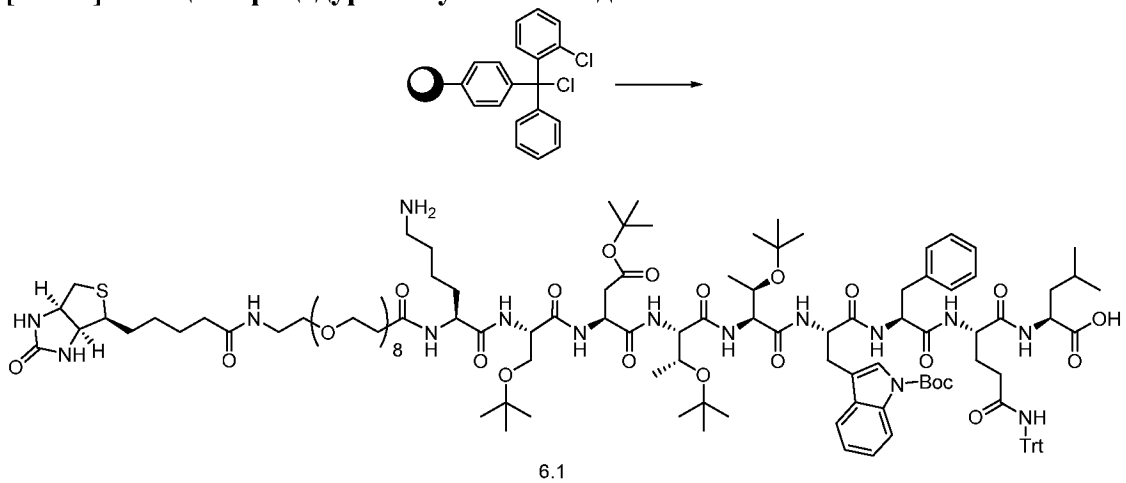
часов. ЖХ-МС показала, что соединение **5.3** полностью израсходовано. Пептид осаждали холодным трет-бутилметиловым эфиром и центрифугировали (2 мин при 5000 об/мин). Остаток очищали препаративной ВЭЖХ (0,075% TFA/H_2O, ACN) с получением **I-31** (43,8 мг, 21,1 мкмоль, выход 20%) в виде белого твердого вещества.

Пример 6. Синтез I-32.



I-32

[00514] Общая процедура получения Соединения 6.1



6.1

Синтез пептида

[00515] Пептид синтезировали с использованием стандартной химии Fmoc.

[00516] Шкала синтеза: 0,2 ммоль.

1) Добавляют DCM в сосуд, содержащий смолу CTC и Fmoc-Leu-OH (70,68 мг, 200,00 мкмоль, 1 экв) с барботажем N_2.

2) Слив и затем промывка с DMF 30 сек 3 раза.

3) Добавляют 20% пиперидина/DMF и перемешивают в течение 30 мин.

4) Слив и затем промывка с DMF 5 раз в течение 30 сек.

5) Добавляют раствор Fmoc-аминокислоты и перемешивают 30 секунд, затем добавляют реагенты для связывания с барботированием N_2 в течение около 1 часа.

6) Повторяют стадию от 2 до 5 для следующего аминокислотного связывания.

Таблица 6. Fmoc-аминокислоты, используемые в синтезе **I-32**

#	**Материалы**	**Реагенты для связывания**
1	Fmoc-Leu-OH(1 экв.)	DIEA (4 экв.)
2	Fmoc-Gln(Trt)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
3	Fmoc-Phe-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
4	Fmoc-Tyr(Boc)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
5	Fmoc-Thr(tBu)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
6	Fmoc-Thr(tBu)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
7	Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
8	Fmoc-Ser (tBu)-OH (3 экв.)	HBTU (2,9 экв.) и DIEA (6 экв.)
9	Fmoc-Lys (Dde)-OH (1,5 экв.)	HATU (1,5 экв.) и DIEA (3 экв.)
10	Peg (1,5 экв.)	HATU (1,5 экв.) и DIEA (3 экв.)
11	Биотин (1,5 экв.)	HATU (1,5 экв.) и DIEA (3 экв.)

[00517] 20% пиперидин в DMF использовали для снятия защиты Fmoc в течение 30 минут. Реакцию связывания контролировали с помощью нингидринового теста, и смолу промывали с DMF 5 раз.

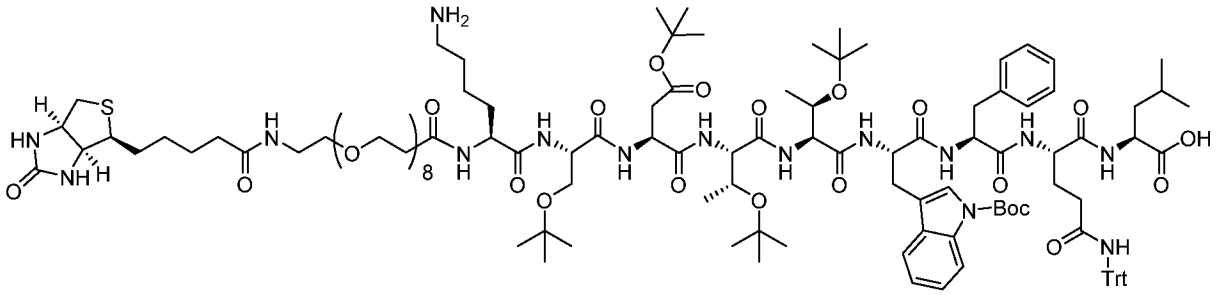
Расщепление и обработка пептида:

1) Добавляют буфер для расщепления (1%TFA/99%DCM) в колбу, содержащую пептид с защищенной боковой цепью, при комнатной температуре, перемешивают в течение 0,5 часа и отфильтровывают.

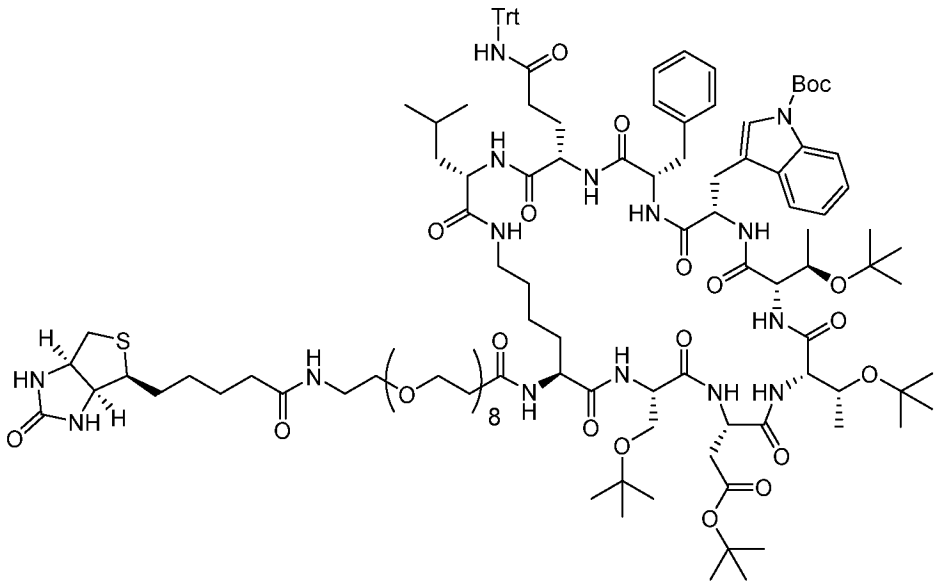
2) После фильтрации добавляют DIEA для нейтрализации и дважды экстрагируют водой.

3) Неочищенный пептид сушат в вакууме в течение 16 часов с получением неочищенного соединения в виде белого твердого вещества (300 мг, выход 64%).

[00518] Общая процедура получения Соединения 6.2



6.1

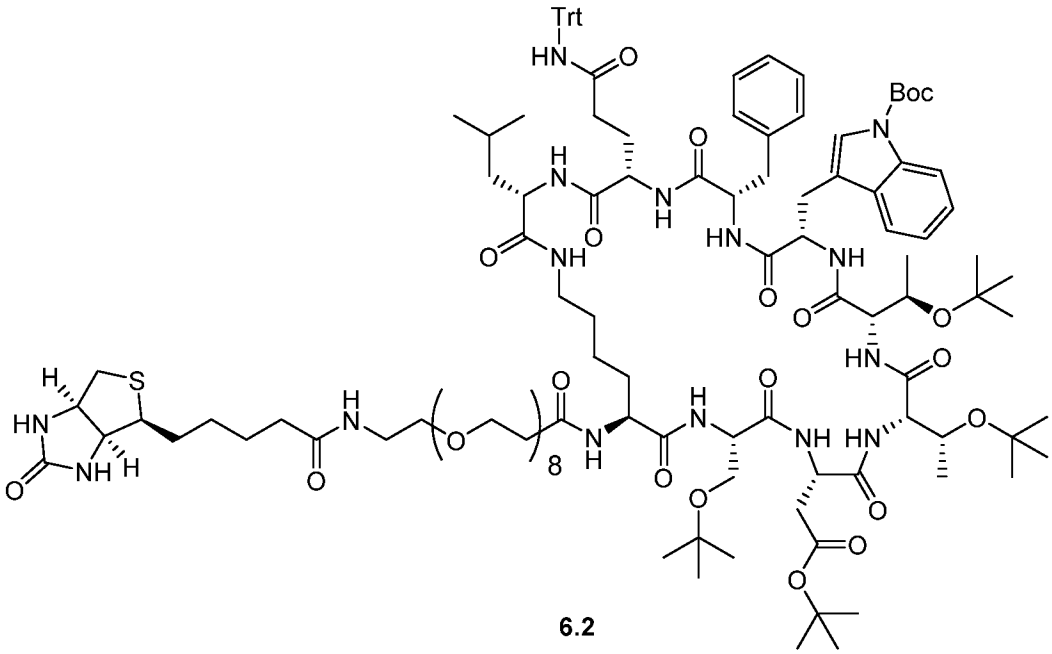


6.2

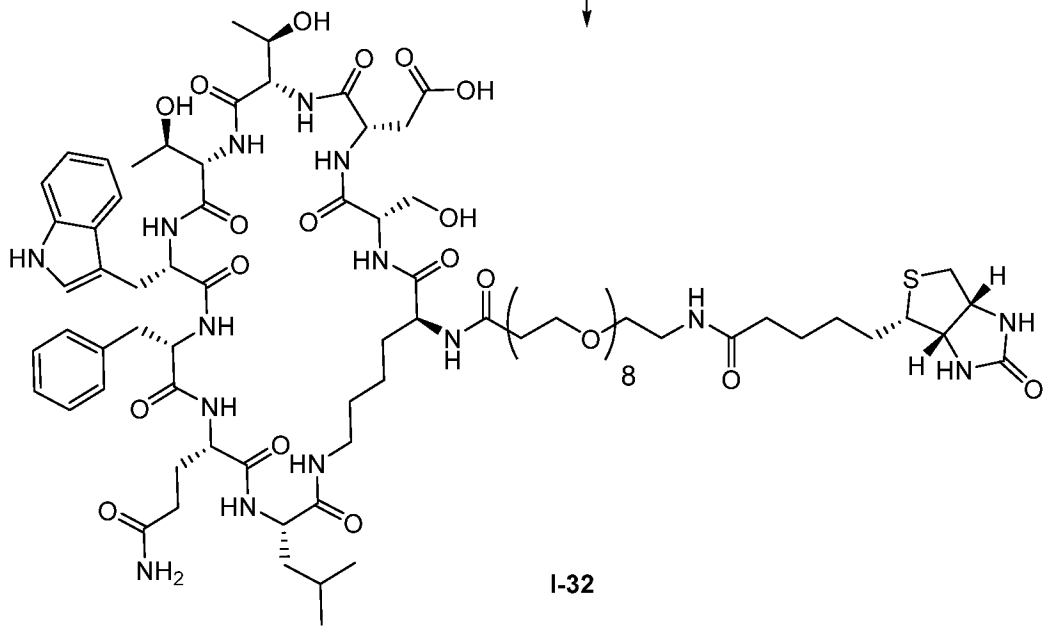
[00519] К смеси соединения **6.1** (300 мг, 128,10 мкмоль, 1 экв), HOBt (34,62 мг, 256,21 мкмоль, 2 экв) и TBTU (82,26 мг, 256,21 мкмоль, 2 экв) в DCM (200 мл) по каплям добавляли DIEA (66,22 мг, 512,41 мкмоль, 89,25 мкл, 4 экв.) при 25°C в атмосфере N_2. Смесь перемешивали при 25°C в течение 30 мин. ЖХ-МС показала, что соединение **6.1** было израсходовано полностью. Реакционную смесь разбавляли 200 мл EtOAc и экстрагировали 200 мл воды (2 раза по 100 мл). Объединенные органические слои промывали насыщенным солевым раствором 200 мл (2 раза по 100 мл), сушили над Na_2SO_4, фильтровали и

концентрировали при пониженном давлении с получением неочищенного соединения **6.2** (180 мг, 77,46 мкмоль, выход 60,47%).

[00520] Общая процедура получения I-32



6.2



I-32

[00521] К смеси соединения **6.2** (180 мг, 77,46 мкмоль, 1 экв) добавляли 95% 95%TFA/TIS/EDT/H_2O одной порцией при 25°C. Смесь перемешивали при 25°C в течение 2

часов. ЖХ-МС показала, что соединение **6.2** полностью израсходовалось. Пептид осаждали холодным трет-бутилметиловым эфиром и центрифугировали (2 мин при 5000 об/мин). Остаток очищали препаративной ВЭЖХ (0,075% TFA/H_2O, ACN) с получением **I-32** (2 мг, выход 1,5 %) в виде белого твердого вещества.

[00522] Другие соединения в таблице 1 были получены и аналогичным образом охарактеризованы с использованием технологий, проиллюстрированных в примерах в соответствии с настоящим описанием.

Пример 7. ELISA анализ связывания IgG Fc.

[00523] Как показано в данном документе, ARM-средства по настоящему изобретению могут связываться с Fc-областями антител или их фрагментами. Служащий примером анализ для оценки взаимодействий между ARM и Fc-областями описан ниже.

[00524] Биотинилированные тестируемые соединения или контрольный белок A (Pierce 29989) добавляли в планшеты для анализа ELISA, покрытые стрептавидином (Thermo Fisher: 15502), в количестве 100 мкл/лунку (PBS 0,05% твин-20 - PBST с 0,2% BSA). Планшет инкубировали в течение 2 ч при 25°C с вращением перед удалением растворов и дважды промывали планшет равными объемами PBST. Конъюгированный с флуоресцеином человеческий IgG FC (50 нМ в PBST с 0,2% BSA, Rockland: 009-0203) добавляли в планшет при (100 мкл/лунку) и инкубировали при 25°C в течение 45 минут. Планшет дважды промывали PBST, промокали насухо и считывали со сканированием площади каждой лунки (ридер для микропланшетов Biotek Synergy H1, 490/525 ex/em).

[00525] **Таблица 7** показывает активность выбранных соединений по настоящему изобретению в ELISA анализе связывания Fc IgG. Номера соединений соответствуют номерам соединений в **таблице 1.** Соединения, имеющие активность, обозначенную как «A», обеспечивают % сигнал от 90 до 120% относительно стандартного протеина A при 1000 нМ; соединения, обладающие активностью, обозначенной как «B», обеспечивают % сигнал относительно стандартного протеина A при 1000 нМ > 4 и <90%; соединения с активностью, обозначенной как «C», обеспечивают % сигнал от 2 до 4% относительно стандартного протеина A при 1000 нМ; и соединения, имеющие активность, обозначенную как «D», обеспечивают % сигнал <2% относительно стандартного протеина A при 1000 нМ.

Таблица 7. Данные ELISA по связыванию IgG Fc

ID соединения	% сигнала протеина A при 1000 нМ
I-1	C
I-2	B
I-3	C
I-4	C
I-5	C
I-7	C
I-8	B
I-9	C
I-10	C
I-12	C
I-13	C
I-14	C
I-17	A
I-18	A
I-19	A

Пример 8. Связывание рекрутированных антител с CD16a.

[00526] Некоторые из антител, рекрутируемых ARM, связываются с CD16a. Доступны различные технологии для оценки взаимодействий между антителами и CD16a, и их можно использовать в соответствии с настоящим раскрытием. Примерная процедура описана ниже.

[00527] **Флуоресцентное мечение CD16a** - CD16a158V (Sino Biologicals: 10389-H27H1) при 200 нМ (PBST) и объединенный в равном объеме с набором для мечения Monolith NT His-Tag, красителем RED-трис-NTA (100 нМ). Раствор инкубировали в темноте при 25°C с вращением в течение 45 минут и затем центрифугировали при 12000 об/мин в течение 15 минут для удаления любого непрореагировавшего реагента.

[00528] **Иммобилизация биотинилированной молекулы** - Биотинилированные тестируемые соединения или контрольные антитела (IgG Rockland 009-0602, IgM Rockland, IgA Rockland) добавляли в покрытые стрептавидином планшеты для ELISA (Thermo Fisher:

15502) в количестве 50 мкл/лунку (PBST с 0,2% BSA.). Планшет инкубировали в течение 1 ч при 25°C с вращением перед удалением растворов и трижды промывали планшет с PBST.

[00529] **Рекрутирование сывороточных антител** - объединенную нормальную человеческую сыворотку (Innovative Research, лот: 20966) размораживали на льду и центрифугировали при 12000 об/мин при 4°C в течение 10 минут перед использованием для удаления остатков и осажденного белка. Супернатант использовали для приготовления 2,5% раствора или готовили в виде серии разведений (PBST с 0,2% BSA). Раствор сыворотки добавляли в планшет (50 мкл/лунку) и инкубировали в течение 1 ч при вращении. Растворы удаляли, и планшет трижды промывали PBST.

[00530] **Связывание рекрутированных антител с CD16a** - Меченый CD16a затем добавляли в лунки при 25 нМ и инкубировали в течение 45 мин. Растворы удаляли, и планшет дважды промывали PBST. Затем планшеты считывали со сканированием площади каждой лунки (считывающее устройство для микропланшетов Biotek Synergy H1, 650/665 ex/em).

[00531] **Таблица 8** показывает активность выбранных соединений по настоящему изобретению в анализе связывания CD16a рекрутированными антителами. Показания флуоресценции нормализованы для биотинилированного IgG и соответствующей биотинилированной молекулы, иммобилизованной при 250 нМ. Номера соединений соответствуют номерам соединений в **таблице 1.** Соединения, имеющие активность, обозначенную как «A», обеспечивают показание флуоресценции > 2; соединения, имеющие активность, обозначенную как «B», обеспечивают показание флуоресценции от 1,5 до 2; соединения, имеющие активность, обозначенную как «C», обеспечивают показание флуоресценции от 1,0 до 1,5; и соединения, обладающие активностью, обозначенной как «D», обеспечивают показание флуоресценции <1.

[00532] **Таблица 8. Связывание CD16a рекрутированных антител. Данные анализа**

ID соединения	**Считывание флуоресценции при 250 нМ**
I-17	A
I-18	C
I-19	B

Пример 9. Репортерный анализ на ADCC.

[00533] Как описано в данном документе, обеспеченные технологии применимы для ингибирования и/или уничтожения раковых клеток. Такие функции обеспеченных технологий можно оценить с помощью различных способов, доступных в данной области техники, например, репортерных анализов на ADCC, описанных в данном документе.

[00534] В одном примере клетки LNCaP (полученные из рака предстательной железы человека, ATCC: CRL-1740) отделяли и повторно суспендировали в 1% BSA в RPMI. Раствор клеток фильтровали для удаления агрегатов клеток (полистирольная пробирка с сетчатым фильтром, Corning: 352235) перед подсчетом (счетчик клеток Life Technologies Countless II) и высевом (10000 клеток в 25 мкл/лунку; планшеты Corning: 3917). Планшет центрифугировали (5 мин, 300 мкг) и сразу после этого добавляли растворы соединения (25 мкл/лунку). Растворы антител (25 мкл/лунку, IgG1 FC - Thermo Fisher: 10702HNAH5; поликлональные антитела Dintrophenyl-KLH - Thermo Fisher: A-6430) добавляли после 45 мин инкубации при 37°C. Затем планшет инкубировали с раствором антитела в течение 45 мин, чтобы дать возможность образоваться тройному комплексу клетка-ARM-антитело перед добавлением эффекторных клеток (60 К в 25 мкл/лунку, ADCC-репортерные клетки - набор Promega: G7018). Планшет центрифугировали (5 мин, 300 мкг) и эффекторные клетки инкубировали в течение 5 ч при 37°C. После периода индукции планшет уравновешивали до 25°C с последующим добавлением субстрата люциферазы (75 мкл/лунку, 1 флакон в 10 мл буфера для анализа Bio-Glo, набор Promega: G7018). Затем планшет центрифугировали (5 мин, 300 мкг) и измеряли люминесценцию (ридер для микропланшетов Biotek Synergy H1).

[00535] Результаты анализов с использованием различных клеток (LNCap, 22Rv1) показали, что обеспеченные соединения могут эффективно индуцировать ADCC. Ниже представлен примерный набор данных:

[00536] Клетки-мишени LNCaP и репортерные клетки с вариантом CD16a-158V/V

	Люминесценция (за вычетом фона)					
I-11 [нМ]	анти-DNP (20 мкг/мл)		IgG1 FC (200 нМ)		IgG1 FC (20 нМ)	
2000	1374,5	1253,5	1372	1118	151,5	163,5
400	1842,5	1696,5	1827	1494	797,5	679,5
80	1635,5	1605,5	1708	1823 г.	1251,5	1037,5
16	934,5	855,5	1216	1040	667,5	621,5
3,2	128,5	86,5	172	189	165,5	123,5

0	15,5	-15,5	8-е	-8-е	46,5	-46,5

* Среднее значение лунок антитела/клетки-мишени/репортерные клетки без соединения вычитали как фон для каждой из указанных групп лечения антителами.

Пример 10. ARM образуют комплексы с антителами и клетками-мишенями

[00537] Как продемонстрировано в данном раскрытии, в некоторых вариантах осуществления средства, например, ARM, могут рекрутировать антитела к клеткам-мишеням с образованием тройных комплексов и индуцировать иммунную активность. Для оценки образования комплексов подходят различные технологии. Один из примеров такого анализа описан ниже. Специалисты в данной области техники понимают, что можно регулировать один или несколько параметров и/или условий, и можно использовать другие анализы/реагенты/условия и т. д.

[00538] Прилипшие клетки (LNCap, CRL-1740, примеры результатов ниже) собирали с использованием Accumax (Sigma-Aldrich A7089-100 мл). Соединения разводили в DMSO (MP 191418) до 1000-кратной исходной концентрации, использованной в анализе, в 96-луночном полипропиленовом планшете (Corning 3357). Затем их серийно разводили с шагом 1/2 log для получения от 8 до 12 концентраций в DMSO (в зависимости от анализа). Данные исходные растворы DMSO затем постепенно разбавляли 1/10 в PBS (VWR каталожный номер 20012043). Затем в полипропиленовый планшет для анализа добавляли разбавленные соединения в диапазоне 1/100 объема аналитического объема. Клетки, используемые для анализа, подсчитывали, центрифугировали и ресуспендировали при концентрации 100000 клеток на 200 мкл в проточном буфере: 1% BSA (American Bio AB01088-00100); 0,5 мМ EDTA (VWR 45001-122); PBS (VWR Cat. № 20012043) с 20 мкг/мл кроличьего анти-DNP Alexa 488 (Thermo Fisher Scientific A11097). Затем клетки добавляли в полипропиленовый планшет со ступенчато разбавленными соединениями и инкубировали при 4°C в течение 30 мин. В конце инкубации клетки центрифугировали и дважды промывали проточным буфером, содержащим 0,5% Твин 20 (BP337-500). Образцы анализировали на BD FacsCelesta. Средняя флуоресценция была проанализирована с использованием Graphpad Prism, и кривые были построены с использованием лог(ингибитор) в зависимости от ответа - переменный наклон (четыре параметра).

[00539] Примеры результатов были представлены ниже:

ID соединения	EC50 (нМ)
I-11	6,6
I-33	3
I-34	8,7
I-16	7,4

Пример 11. Продукция память-подобных NK-клеток.

[00540] Для продукции, характеристики и оценки память-подобных NK-клеток могут использоваться различные технологии. Одна процедура получения таких клеток включает индукцию цитокинов и описана ниже. См. также Romee et al., Sci Transl Med. 2016 Sep 21;8(357):357ra123. doi: 10.1126/scitranslmed.aaf2341.

[00541] Для создания память-подобных клеток и контрольных (эталонных) клеток, PBMC или очищенные NK-клетки высевали, например, при 3-5 × 10^6 клеток/мл и предварительно активировали в течение подходящего периода времени (например, 16 ± 2 часа) с использованием цитокинов, например, rhIL-12 (10 нг/мл) плюс rhIL-18 (50 нг/мл) и rhIL-15 (50 нг/мл) или контрольных условий (например, rhIL-15 1 нг/мл), промывали 3 раза для удаления цитокинов и культивировали в полной среде RPMI-1640, содержащей L-глутамин, HEPES, NEAA, пенициллин/стрептомицин и 10% сыворотку AB человека (Sigma) с добавлением rhIL-15 (1 нг/мл) для поддержки выживания. Половину среды заменяют каждые 2 дня с добавлением rhIL-15. См. также Romee, et al., Blood, 120, 4751-4760 (2012).

Пример 12. Обеспеченные технологии могут эффективно уничтожать раковые клетки.

[00542] Применимый анализ для оценки обеспеченных технологий описан ниже. Специалисты в данной области техники понимают, что доступны многие другие технологии, которые можно использовать в соответствии с настоящим раскрытием.

[00543] ADCC Daudi KilR & Raji KilR с анализом Dara & RTX: E:T 7,5:1 (37500: 5000) 18 часов.

[00544] В одном примере объем анализируемой пробы составляет 100 мкл:

4 x клетки-мишени по 25 мкл; клетки Kilr, созданные с помощью DiscoveRx 97-0002

4 x АРМ или среда (контроль) 25 мкл;

4 x антитела 25 мкл; и

4 x эффекторных клетки.

[00545] Используемая среда представляет собой Opti-mem Thermo Fisher 31 985 070 (без сыворотки, чтобы гарантировать отсутствие экзогенных антител).

[00546] Условия и процедуры, использованные в одном эксперименте:

1. Подсчитывают клетки-мишени Раджи или клетки Дауди. 5000/25 мкл = 2 x 10^5/мл
2. Последовательно разбавляют соединения ARM в DMSO – исходный раствор 5 мМ
    a. Разбавление 5 мМ соединения 15 мкл+10,05 мкл DMSO = 3 мМ (1000 x 3 мкМ)
    b. Последовательное разбавление 1/3 10 мкл 3 мМ соединения+20 мкл DMSO = 1 мМ
    c. Последовательное разбавление 1/3,3 10 мкл 1 мМ соединения+23 мкл DMSO = 0,3 мМ
    d. Поочередно повторяют шаги b и c, чтобы получить 8 концентраций.
3. Разбавленное человеческое антитело IgG (Sigma Aldrich 4506-100 MG - повторно суспендировано в 2 мл Opti-mem)
    a. Исходный раствор 50 мг/мл разбавляют 1/1250 = 40 мкг/мл = 4 x 10 мкг/мл - 2 мкл+2,5 мл Opti-mem
    b. Добавляют 25 мкл/лунку во все лунки, предназначенные для приема соединения.
4. Кривая разбавления даратумумаба (Dara): рабочий раствор Creative Bio 1 мг/мл достаточно для 20 лунок X25 мкл = 500 мкл
    a. Разбавление 1/833 = 1200 нг/мл = 4 X300 нг/мл - 4 мкл+1000 мкл Opti-mem
    b. Серийное разбавление ½ 500 мкл+500 мкл Opti-mem
    c. Повторить всего 8 концентраций
5. Кривая разведения ритуксимаба (RTX): рабочий раствор Creative Bio 1 мг/мл, достаточный для 42 лунок = 500 мкл
    a. Разбавление 1/833 = 1200 нг/мл = 4 X300 нг/мл - 1,2 мкл+1000 мкл Opti-mem
    b. Серийное разбавление 1/2 500 мкл+500 мкл Opti-mem
    c. Повторить всего 8 концентраций
6. Постадийно разбавляйте составы непосредственно перед использованием:
    a. 2 мкл DMSO /соединения, полученного на стадии 13, в 500 мкл смеси Opti-mem перед дозированием

b. Добавьте 25 мкл ступенчато разведенного соединения из a. в лунки в трех или четырех повторах.

7. Добавьте 25 мкл Dara/RTX/лунку: в трех или четырех повторах
8. Добавьте 25 мкл контролей-среды в лунки, принимающие только Dara или RTX
9. Добавьте 25 мкл клеток-мишеней во все лунки.
10. Добавьте 25 мкл эффекторных/NK-клеток во все лунки.
11. Сделайте контрольную пластину для анализа, содержащую: с трехкратным пассивным контролем и контролями лизиса.
    a. Клетки-мишени kilr 25 мкл отдельно до 100 мкл
    b. Клетки-мишени 25 мкл+эффекторные клетки 25 мкл до 100 мкл
    c. Мишень 25 мкл+эффектор 25 мкл+ Pan человеческий IgG до 100 мкл
    d. Повторяют контроли a, b и c (они получат 2 мкл реагента для лизиса за 30 минут до реагента обнаружения Kilr)
12. Переместите реагенты Kilr с -20 C на 4 C o/n
13. Инкубируйте при 37°C
14. На следующий день добавьте 2 мкл реагента для лизиса в контрольные образцы для лизиса.
15. Инкубируйте еще 30 мин.
16. Доведите планшет и реагенты до комнатной температуры.
17. Приготовьте смесь реагентов для обнаружения Kilr: 100 мкл/лунку
    a. 2 м L оба # 2 и # 3;
    b. 8 мл # 1
18. Добавьте 100 мкл/лунку
19. Поместите на шейкер в защищенном от света месте.
20. Инкубируйте в темноте при считывании люминесценции в течение 1 часа.

[00547] Примеры результатов показаны ниже:

	2.5:1	5:1	7.5:1	10:1
IC50	0.036	0.044	0.033	0.029

Пример 13. Обеспеченные технологии могут эффективно убивать раковые клетки в vivo

[00548] Многие технологии могут использоваться для оценки обеспеченных технологий в соответствии с настоящим раскрытием. В некоторых вариантах осуществления обеспеченные технологии могут быть оценены на предмет безопасности, эффективности и т. д. в ходе клинических испытаний.

[00549] В одном клиническом испытании аллогенные, HLA-гаплоидентичные, IL-12, IL-15 и IL-18 предварительно активированные NK-клетки с добавлением насыщающего количества ARM, нацеленного на CD33 или CD22, вводят пациентам (ex-vivo дозирование APM) с отн./исх. AML. Донорские NK-клетки очищают истощением по CD3 с последующим CD56-положительным отбором, активировали в течение от 12 до 16 часов с rhIL-12, rhIL-15 и rhIL-18 в лаборатории хорошей производственной практики (GMP) добавлением насыщающего количества ARM, нацеленных на CD33 или CD22, промывали и вводят инфузией больным AML, которым предварительно давали флударабин/циклофосфамид в день 0. После адоптивного переноса вводят низкие дозы rhIL-2 для поддержки память-подобных NK-клеток через их индуцированный высокоаффинный IL-2Rαβγ. В некоторых вариантах осуществления результаты, полученные при введении NK-клеток, сравнивают с результатами, полученными при добавлении соединений ARM ex vivo.

[00550] 3 x 3 эскалация дозы: 0,5 × 10 6/кг, 1,0 × 10 6/кг, и оцениваются все генерируемые клетки NK (блокированные при 10 × 10 6/кг).

[00551] Донорские память-подобные NK-клетки можно отслеживать в крови всех пациентов с информативным HLA, например, с использованием донорских или специфичных для пациента моноклональных антител к HLA, и было продемонстрировано повышение в среднем и пролиферация ($Ki\text{-}67^{+}$). Аналогично, в некоторых вариантах осуществления оценки костного мозга в момент времени, например, на 8-й день после инфузии, показывают большие процентные содержания и абсолютные числа донорских память-подобных NK-клеток.

[00552] Активацию NK-клеток можно оценить, например, путем измерения продукции IFN-γ у пациентов после кратковременной повторной стимуляции ex vivo, вызванной лейкозными клетками K562. В некоторых вариантах осуществления анализы показывают повышенную частоту IFN-γ-положительных донорских NK-клеток по сравнению с реципиентными NK-клетками. В некоторых вариантах осуществления абсолютное количество донорских NK-клеток, продуцирующих IFN-γ, заметно увеличивается по

сравнению с реципиентными NK-клетками в таких образцах. Точно так же количество IFN-γ-положительных донорских память-подобных NK-клеток может быть больше, чем NK-клеток реципиента в костном мозге.

[00553] Противоопухолевый ответ можно оценить с использованием критериев ответа IWG для определения CR/CRi и MLFS путем определения общей скорости ответа и скорости CR/CRi.

[00554] В некоторых вариантах осуществления наблюдается, что технологии с использованием память-подобных NK-клеток совместно с ARM более эффективны при лечении рака, чем технологии, использующие либо только память-подобные NK-клетки, либо только ARM. В некоторых вариантах осуществления наблюдается, что технологии с использованием память-подобных NK-клеток совместно с ARM имеют меньше побочных эффектов и/или менее серьезные побочные эффекты по сравнению с технологиями, использующими только память-подобные NK-клетки.

Пример 14. Обеспеченные технологии могут эффективно убивать раковые клетки без значительных побочных эффектов.

[00555] Противораковые терапии могут иметь различные побочные эффекты. Например, те, которые используют антитела против определенных раковых антигенов, могут повредить, ингибировать или убить нераковые клетки, содержащие те же антигены. Среди прочего, в настоящем раскрытии ниже представлены результаты, подтверждающие, что обеспеченные технологии, будучи эффективными в отношении раковых клеток, экспрессирующих различные антигены, обладают гораздо меньшими побочными эффектами/токсичностью по сравнению с другими технологиями, включая технологии на основе антител, нацеленные на тот же антиген. Например, по сравнению с другими технологиями, обеспеченные технологии не уменьшают значительно количество нераковых клеток, экспрессирующих те же мишени.

Некоторые применимые процедуры

[00556] *Выделение PBMC:* Продукт лейкафереза от донора с индексом массы тела (BMI) от 19 до 25, в возрасте до 50 лет, не принимавшего иммуносупрессивные препараты в течение по меньшей мере 2 недель с расчетным количеством клеток PBMC > 10^10 был получен от Key Biologics (ID субъекта 20982200) и транспортировался при температуре окружающей среды. Пакет для лейкафереза протирали 70% EtOH, делали небольшую щель и содержимое переносили пипеткой в пробирки. Содержимое Leukopak разбавляли 1: 1 PBS

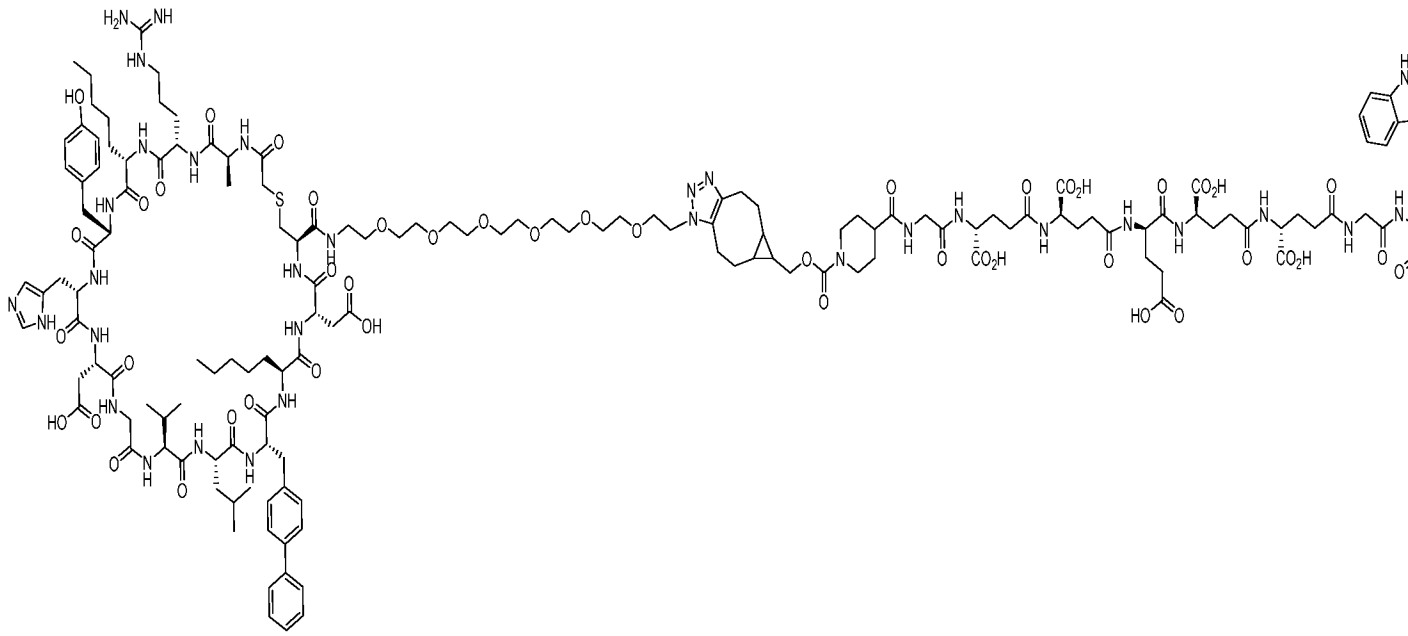
без Ca++/Mg++ и 20 мл этой смеси наносили поверх 25 мл Ficoll. Затем пробирки центрифугировали при 400 g в течение 30 минут без торможения. PBMC собирали с поверхности раздела в отдельные пробирки, и пробирки наполняли до 50 мл PBS. Клетки центрифугировали 10 мин при 120 g для избавления от тромбоцитов. Супернатант сливали, и клетки ресуспендировали в RPMI 10% FBS в концентрации от 7 до 10x10^6 клеток/мл. Клетки культивировали в течение ночи при 37°C в атмосфере 5% CO_2 до выделения NK-клеток.

[00557] *Выделение NK-клеток:* PBMC центрифугировали при 400 g в течение 10 минут и повторно суспендировали в буфере EasySep. NK-клетки выделяли с использованием наборов для выделения NK-клеток от STEMCELL Technologies в соответствии с инструкциями производителей наборов. Чистоту NK-клеток и фенотип оценивали с помощью трипанового синего и проточной цитометрии с использованием следующего коктейля антител: анти-CD56PE, CD3 APC, и жизнеспособность определяли с использованием окрашивания исключением красителя трипанового синего, и с помощью проточной цитометрии с использованием красителя Near Infra-Red Fixable viability (Thermo Fisher).

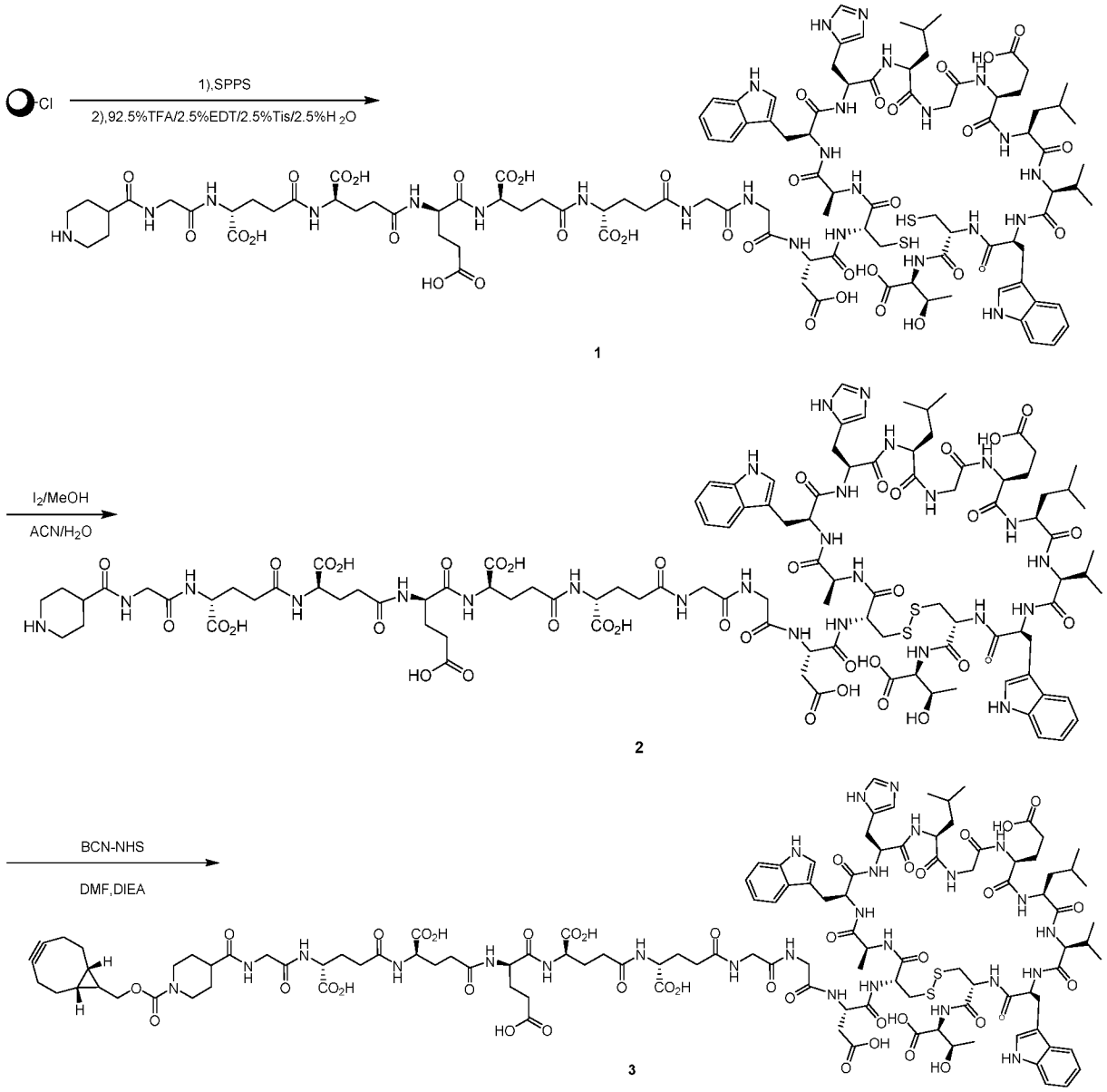
[00558] *Генерация NK-клеток CIML:* изолированные NK-клетки ресуспендировали в концентрации 2×10 6 клеток/мл в XVIVO 10% сыворотке человека и следующих концентрациях IL-15 (50 нг/мл), IL-12 (10 нг/мл), IL-18 (50 нг/мл) в течение от 12 до 18 часов. Клетки собирали и тестировали на чистоту и жизнеспособность окрашиванием трипановым синим и проточной цитометрией с использованием красителя Near Infra-Red Fixable viability (Thermo Fisher), CD3 APC (Biolegend) и CD56 PE (Biolegend).

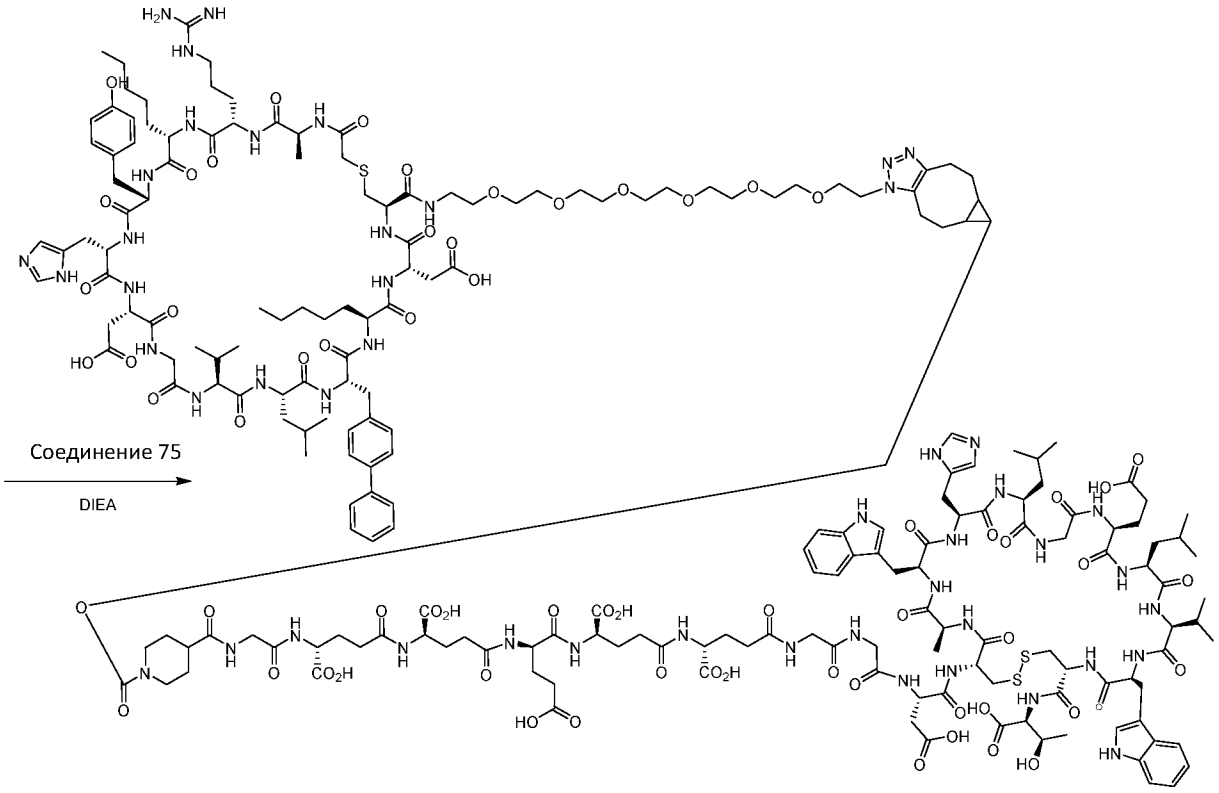
[00559] *Обработка с CD38 ARM:* ARM, нацеленную на CD38, растворяли в DMSO с получением 25 мМ исходного раствора. Затем исходный раствор серийно разбавляли в 100% DMSO для достижения 1000-кратных концентраций, используемых в эксперименте. Затем в пробирку добавляли 100% исходное соединение DMSO , среду добавляли до объема 1000 мкл на 1 мкл соединения и встряхивали в течение 1 минуты для обеспечения гомогенной смеси. Осадки NK-клеток непосредственно ресуспендировали в растворах CD38 ARM при плотности клеток 5 × 10 6 клеток/мл.

[00560] Структура ARM CD38 представляет собой:



[00561] *Пример получения CD38 ARM*





[00562] Примерный синтез пептидов. Пептиды были синтезированы с использованием стандартной химии Fmoc, например:

1) Добавляют DCM в сосуд, содержащий смолу CTC (1,00 ммоль, 1,00 г, 1,0 0 ммоль/г) и Fmoc-Thr (TBU)-OH (3218 мг, 0,800 ммоль, 0,80 экв) с барботажем N_2.
2) Добавляют по каплям DIEA (4,00 экв.) и перемешивают в течение 2 часов.
3) Добавляют MeOH (1,00 мл) и перемешивают в течение 30 мин.
4) Слив и промывка с DMF 5 раз.
5) Добавляют 20% пиперидина/DMF и оставляют взаимодействовать на 30 мин.
6) Слив и промывка с DMF 5 раз.
7) Добавляют раствор Fmoc-аминокислоты и сначала перемешивают в течение 30 секунд, затем добавляют активирующий раствор, и реакция связывания длится 1 час при непрерывном барботировании N_2.
8) Повторяют стадии с 4 по 7 для связывания следующей аминокислоты.

#	Материалы	Реагенты для связывания
1	Fmoc-Thr(tBu)-OH (0,80 экв.)	DIEA (4,00 экв.)

2	Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.)	HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
3	Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,00 экв.)	HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
4	Fmoc-Val-OH (3,00 экв.)	HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
5	Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.)	HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
6	Fmoc-Glu(OtBu)-OH (3,00 экв.)	HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
7	Fmoc-Gly-OH (3,00 экв.)	HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
8	Fmoc-Leu-OH (3,00 экв.)	HBTU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
9	Fmoc-His(Trt)-OH (3,00 экв.)	HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
10	Fmoc-Trp(Boc)-OH (3,00 экв.)	HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
11	Fmoc-Ala-OH (3,00 экв.)	HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
12	Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,00 экв.)	HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
13	Fmoc-Asp(OtBu)-OH (3,00 экв.)	HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
14	Fmoc-Gly-Gly-OH (3,00 экв.)	HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,0 экв.)
15	Fmoc-D-gamaGlu(OtBu)-OH (3,00 экв.)	HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,0 экв.)
16	Fmoc-D-gamaGlu(OtBu)-OH (3,00 экв.)	HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
17	Fmoc-D-Glu(OtBu)-OH (3,00 экв.)	HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
18	Fmoc-D-gamaGlu(OtBu)-OH (3,00 экв.)	HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
19	Fmoc-D-gamaGlu(OtBu)-OH (3,00 экв.)	HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
20	Fmoc-Gly-OH (3,00 экв.)	HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)
21	Fmoc-пиперидин-4-карбоновая кислота (3,00 экв.)	HATU (2,85 экв.) и DIEA (6,00 экв.)

Масштаб синтеза: 0,8 ммоль.

20% пиперидин в DMF использовали для снятия защиты с Fmoc в течение 30 мин.

За реакцией связывания следили с помощью нингидринового теста.

После последнего связывания аминокислоты N-концевой Fmoc удаляли и смолу промывали MeOH 3 раза и затем сушили под вакуумом.

Расщепление и очистка пептидов:

Добавляют коктейль для расщепления (95%ТФК/2,5% EDT/2,5%H_2O/2,5%TIS) в колбу, содержащую защищенный пептид боковой цепи при комнатной температуре и перемешивают в течение 2 часов.

Пептид осаждают холодным изопропиловым эфиром и собирают центрифугированием (3 мин при 3000 об/мин).

Осадок промывают холодным изопропиловым эфиром еще два раза.

Неочищенный пептид сушат в вакууме в течение 2 часов.

Растворяют неочищенный пептид в ACN/H_2O (1: 1, всего 800 мл)

Доводят pH до 8 с помощью $NaHCO_3$ и перемешивают в течение 16 часов, и дисульфидная связь образуется в результате окисления на воздухе, где о завершении реакции свидетельствует ЖХМС.

Лиофилизируют реакционную смесь, чтобы получить неочищенный пептид.

Очищают неочищенный пептид с помощью препаративной ВЭЖХ (условие TFA) с получением соединения 2 (102 мг).

[00563] Смесь соединения 2 (102 мг, 1,0 экв.) и BCN-NHS (13,3 мг, 1,1 экв.) растворяли в DMF (2 мл) и затем медленно добавляли DIEA (6,00 экв.). Смесь перемешивали при 20 °C в течение 8 часов. ЖХМС показала, что реакция завершилась. Затем смесь непосредственно очищали препаративной ВЭЖХ (условия TFA) и получали соединение 3 (43,0 мг, выход 39,4%) в виде белого твердого вещества.

[00564] Смесь соединения 3 (43,0 мг, 1,0 экв.) и соединения 75 (32,6 мг, 1,0 экв., полученного с использованием определенных аналогичных технологий) растворяли в DMF (2,0 мл) и реакционную смесь перемешивали при 20°C в течение 8 час. ЖХМС показала, что реакция завершилась, и затем смесь непосредственно очищали препаративной ВЭЖХ. Фракции с желаемым m/z (например, 1158,8, 927,2, 772,7 и т. д.) объединяли и лиофилизировали с получением CD38 ARM (41,1 мг, выход 56,9%, чистота 98,4%) в виде белого твердого вещества. Условия очистки:

Условие разделения	
Подготовка образца	Растворить в DMF/H_2O

Прибор	Gilson GX-215
Мобильная фаза	A: H_2O (0.075% TFA в H_2O)
	B: CH_3CN
Градиент	от 20 до 50%-60 мин. Время удерживания: 53 мин.
Колонка	Luna C18, 25 * 200 мм, 10 мкм, 110A+Gemin C18, 150 * 30 мм, 5 мкм, 110A
Скорость потока	20 мл/мин
Длина волны	220/254 нм
Темп духовки.	Комнатная температура

[00565] *Анализ фратрицида (взаимного уничтожения) NK-клеток CIML*: NK-клетки непосредственно ресуспендировали в растворах, созданных для каждой концентрации CD38 ARM, при плотности 5 × 10 6 клеток на миллилитр. Точно так же осадки NK-клеток ресуспендировали в растворах контрольных антител даратумумаба (диапазон от 3 мкг/мл до 0,01 мкг/мл в PBS 5% HSA). Полученные суспензии NK-клеток отбирали аликвотами по 55 мкл/лунку 96-луночного планшета с V-образным дном и инкубировали в течение 2 часов при 37°C в атмосфере 5% CO_2.

[00566] *NK-клетки CIML. Анализ ADCC клеток SUDHL-4:* клетки SUDHL-4 метили CFSE и повторно суспендировали в среде XVIVO15, содержащей 20% человеческой сыворотки. Клетки были разделены на аликвоты по 10000 клеток/лунку, 18 мкл/лунку 96-луночных планшетов с V-образным дном. NK-клетки (в PBS 5% HSA) добавляли в соотношении 9:1 (90000 NK-клеток на лунку) в равном объеме (18 мкл на лунку). Совместные культуры инкубировали в течение ночи при 37°C в атмосфере 5% CO_2. На следующий день клетки промывали и окрашивали следующими реагентами: фиксируемый в ближнем инфракрасном диапазоне краситель жизнеспособности (Near Infra-Red Fixable viability dye) (Thermo Fisher), CD3 FITC (Biolegend) и CD56 PE (Biolegend). Процент мертвых клеток SUDHL-4 рассчитывали путем стробирования по клеткам CFSE+, которые также являются положительными в отношении красителя Near Infrared Live Dead.

Некоторые результаты

[00567] *Чистота и жизнеспособность NK-клеток и CIML NK-клеток:* Среди прочего, настоящее описание обеспечивает высокочистые и жизнеспособные популяции NK-клеток после выделения из PBMC. Мононуклеарные клетки периферической крови выделяли из продукта лейкафереза. Жизнеспособность PBMC после выделения составляла > 99%, как определено с помощью трипанового синего и способом проточной цитометрии. После

выделения с использованием отрицательной селекции с помощью магнитных шариков NK-клетки были чистыми на 90% и более чем на 99% жизнеспособны, как определено с помощью трипанового синего и с помощью проточной цитометрии. Было обнаружено, что загрязнение Т-клетками (CD3+CD56-клетки) во фракции NK-клеток составило 2,8% в день выделения. После выделения NK-клеток их разделили на две группы обработки - CIML NK-клетки и не-CIML NK-клетки (контрольные клетки). CIML NK-клетки инкубировали в течение ночи в среде XIVO15, содержащей 10% сыворотки человека и IL-12, IL-15 и IL-18, тогда как контрольные, не-CIML NK-клетки, не получали обработки цитокинами. После инкубации в течение ночи в культивируемых клеточных популяциях оценивали чистоту и жизнеспособность. В одном эксперименте CIML NK-клетки и контрольные не-CIML NK-клетки были на 50% жизнеспособными по окрашиванию трипановым синим. CIML NK-клетки были жизнеспособны на 75% по данным проточной цитометрии, тогда как жизнеспособность контрольных не-CIML NK-клеток по способу проточной цитометрии составляла 78%. Во время сбора загрязнение Т-клетками в обеих культурах составляло от 1,2 до 1,8%.

[00568] *Обеспеченные технологии продемонстрировали значительно низкую токсичность по сравнению с соответствующими технологиями, содержащими антитела к тем же мишеням.*

[00569] Фратрицид NK-клеток (смерть, направленную на NK-клетки в той же культуре) оценивали с помощью проточной цитометрии после 2-часовой инкубации с ARM CD38 при указанных концентрациях в присутствии или в отсутствие 500 мкг/мл внутривенного иммуноглобулина (IVIG). На фигуре 1 показана частота мертвых NK-клеток в зависимости от даратумумаба, CD38-направленного терапевтического антитела или концентраций CD38 ARM в супернатантах культур.

[00570] Как продемонстрировано, обеспеченные технологии показали значительно меньшую токсичность, чем соответствующие технологии с использованием антител, например, при оценке по уменьшению количества нераковых клеток. Например, всего через 2 часа после инкубации, для CIML NK-клеток, обработка даратумумабом в концентрации 3 мкг/мл или 20,1 нМ привела к увеличению на 4% процента мертвых NK-клеток, присутствующих в культуральной среде, по сравнению с отсутствием увеличения с CD38 ARM+/-IVIG, фигура 1. В культуре не-CIML NK-клеток обработка даратумумабом вызвала общее увеличение мертвых NK-клеток на 5,6% по сравнению с контролем, обработанным

DMSO , тогда как обработка самой высокой концентрацией CD38 ARM (25 мкМ) привела к увеличению на 1,7% (25 мкМ CD38 ARM по сравнению с контролем DMSO) и к увеличению количества мертвых NK-клеток на 0,93% (ARM IvIG CD38 по сравнению с контролем DMSO IVIG). На фигуре 1 (B) представлены данные, нормализованные для контроля, обработанного DMSO. Как показано, явного фратрицида NK-клеток не было обнаружено даже при самых высоких дозах CD38 ARM, в отличие от даратумумаба, терапевтического антитела к CD38, одобренного FDA для лечения множественной миеломы.

[00571] *Обеспеченные технологии могут эффективно уменьшить количество раковых клеток-мишеней.*

[00572] Анализ антителозависимой клеточной цитотоксичности, который выполняли для измерения эффектов только NK-клеток CIML и в комбинации с ARM CD38, оказываемых на клеткаи-мишени множественной миеломы SUDHL-4. Базовую активность оценивали с использованием NK-клеток, которые не были стимулированы коктейлем цитокинов (не-CIML NK-клеток). На фигуре 2 представлены частоты мертвых клеток SUDHL-4 в совместных культурах NK-клеток-SUDHL-4 после 18 часов инкубации.

[00573] Как продемонстрировано из данных, представленных на фигуре 2B, CIML NK-клетки являются мощными убийцами клеток-мишеней SUDHL-4 на исходном уровне (контроли, обработанные DMSO). Дополнительное уничтожение клеток-мишеней по сравнению с контрольным уровнем, обработанным DMSO, было достигнуто с помощью CIML NK-клеток в сочетании с CD38 ARM - наблюдалось 66%-ное увеличение гибели по сравнению с фоном. Кроме того, как показано в данном документе, обеспеченные технологии могут эффективно использовать IgG, присутствующий в сыворотке крови человека, и не требуют введения дополнительных антител, например, экзогенных антител, подобных тем, которые используются в терапии на основе антител. Также были включены данные с использованием даратумумаба, нацеленного на CD38. Как показано в данном документе, обеспеченные технологии высокоэффективны в уничтожении раковых клеток, но при этом менее токсичны по сравнению с технологиями на основе антител.

Пример 15. Обеспеченные технологии могут эффективно уничтожать целевые клетки с низкой токсичностью.

[00574] Среди прочего, настоящий пример подтверждает, что обеспеченные технологии могут эффективно снизить количество раковых клеток. В настоящем примере использовали CD38 ARM (как в примере выше), цитокин-индуцированные память-подобные NK-клетки

(CIML NK-клетки), и, необязательно, внутривенный иммуноглобулин (IVIG). Среди прочего, настоящее изобретение подтверждает активность обеспеченных технологий против плазматических клеток костного мозга пациента с множественной миеломой.

[00575] *Материалы, способы и оборудование*

[00576] *Тестовые и контрольные реагенты*

CD38 ARM (25 мМ раствор в DMSO)

Даратумумаб (Дарзалекс) - Парексель DRE0607

Внутривенный иммунный глобулин человека IVIG, флебогамма - Grifols NDC 61935-0005-5

[00577] *Материалы и оборудование*

Бычий сывороточный альбумин (BSA) Heat Shock, фракция V - American Bio AB01088-00100

Солевой раствор с фосфатным буфером (PBS) - Gibco 10010, (-) Ca (-) Mg, pH 7,4

IVIG Human Immune Globulin Intravenous, Flebogamma - Grifols NDC 61935-0005-5, 100 мг/мл - разбавить до 1 мг/мл в PBS

Биотинилированный/меченный His человеческий белок CD38, Avi Tag - Acro Biosystems CD8-H82E7

Нейтравидин - Invitrogen 31000, 1 мг/мл

Диметилсульфоксид (DMSO) Sigma-Aldrich 276855

Бычий сывороточный альбумин (BSA) Heat Shock, фракция V - American Bio AB01088-00100

Этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA) VWR 97062-656

Проточный буфер - PBS pH 7,4+0,05% (мас./об.) BSA, 2 мМ EDTA

Планшет для анализа, 96-луночный с V-образным дном - VWR Corning 3357

Проточный цитометр Attune NxT и программное обеспечение Attune NxT

96-луночный 2-миллилитровый планшет с глубокими лунками USA Scientific, Кат. № 1896-2110

Ficoll(R) Paque Plus, GE Healthcare, № по каталогу 17-1440-03

EasySEP™ Набор для выделения человеческих NK-клеток STEMCELL Technologies № по каталогу 17955

Человеческий IL-15 premium grade Miltenyi Biotec № по каталогу 130-095-764

Человеческий ИЛ-12 premium grade Miltenyi Biotec № по каталогу 130-096-705

Системы исследования и разработки человеческого IL-18 № по каталогу 9124-IL-010

Специальная среда для культивирования клеток, Lonza X-VIVO15, Thermo Fischer Scientific № по каталогу BW04-744Q

Человеческая сыворотка AB со сгустка Gemini Bioproducts, № по каталогу 100-318

Альбумин из сыворотки крови человека, Sigma Aldrich, № по каталогу A5843-5G

Буфер для лизиса эритроцитов 10x (Tonbo Biosciences № по каталогу TNB-4300-L100

[00578] Панель окрашивания антител с минимальным остаточным заболеванием:

Антиген	Флуорофор	Клон	Продавец	№ по каталогу
CD138	BV421	MI15	BD Biosciences	562935
CD27	BV510	O323	Biolegend	302835
CD38 ME	FITC	мультиэпитоп	Cytognos	CYT-38F2
CD56	PE	5.1H111	Biolegend	362508
CD45	PERCPCY5.5	HI30	Biolegend	304028
CD19	PECY7	HI-B19	Biolegend	302216
CD117	APC	104D2	BD	341096

[00579] Костный мозг и кровь пациента были получены от Discovery Life Sciences.

[00580] *Протоколы*

[00581] Костный мозг (3 мл) и кровь (20 мл) пациента были доставлены при температуре окружающей среды от Discovery Biosciences. Костный мозг разводили 1:1 PBS и 50 мкл смеси костный мозг-PBS аликвотировали в 96-луночные планшеты. Клетки костного мозга инкубировали в течение ночи до добавления клеток CIML на следующий день.

[00582] PBMC выделяли из крови центрифугированием в градиенте плотности фиколла. PBMC центрифугировали при 400 g в течение 10 мин и ресуспендировали в буфере EasySep. NK-клетки выделяли с использованием наборов для выделения NK-клеток от STEMCELL Technologies в соответствии с инструкциями производителей наборов.

[00583] NK-клетки ресуспендировали при концентрации 1×10^6 клеток/мл в XVIVO15, 10% сыворотке человека, IL-15 (50 нг/мл), IL-12 (10 нг/мл), IL-18 (50 нг/мл.) и инкубировали 18 часов. После инкубации с цитокинами в течение ночи NK-клетки дважды промывали PBS 5% сывороточного альбумина человека, подсчитывали и повторно суспендировали при плотности клеток 2×10^5 клеток/мл в среде XVIVO15. Двадцать микролитров (4000 клеток)

добавляли в каждую лунку, содержащую 50 мкл смеси костного мозга: PBS. Даратумумаб (3 мкг/мл [20 нМ] до 0,3 мкг/мл [2 нМ]) и CD38 ARM (25 мкМ до конечной концентрации 3 мкМ) готовили до 10х конечной концентрации, которая будет использоваться в анализе и 8 мкл CD38 ARM или 7 мкл 10х растворов даратумумаба добавляли в соответствующие лунки. В лунки, обработанные CD38 ARM, добавляли IVIG человека до конечной концентрации 10 мкг/мл. Контрольные лунки получали среду XVIVO15. Содержимое лунок перемешивали пипетированием вверх и вниз, и планшеты центрифугировали при 400 g в течение 1 мин.

[00584] Анализируемые пробы затем инкубировали в течение 4 часов при температуре 37°C и 5% CO_2. После инкубации в каждую лунку добавляли 1 мл 1X буфера для лизиса эритроцитов и клетки инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре. Планшеты центрифугировали при 400 g в течение 3 минут и выполняли еще один цикл лизиса эритроцитов и центрифугирования. Затем клетки ресуспендировали в 200 мкл буфера FACS и центрифугировали. Буфер удаляли, и клетки ресуспендировали в 100 мкл смеси флуоресцентных антител. Клетки инкубировали в течение 15 минут при 4°C, чтобы вымыть 200 мкл FACS буфера, который добавляли в каждую лунку, клетки центрифугировали при 400 г в течение 3 мин, и надосадочную жидкость отбрасывали. Промывание повторяли еще 2 раза. Наконец, клетки ресуспендировали в 200 мкл буфера FACS и анализировали с помощью проточного цитометра Attune. Данные были проанализированы с помощью программного обеспечения FlowJo и нанесены на график с помощью GraphPad Prism.

[00585] *Обеспеченные технологии уменьшают количество плазматических клеток.*

[00586] На фигуре 3 показано процентное снижение частот CD38+ CD138+клеток в костном мозге пациента после 4-часовой инкубации в присутствии аутологичных NK-клеток CIML пациента и даратумумаба или CD38 ARM. Как показано на фигуре 3, CD38 ARM эффективно снижает частоту появления плазматических клеток (CD38+ CD138+) по сравнению с контрольным необработанным костным мозгом, инкубированным с CIML NK-клетками.

[00587] *Обеспеченные технологии не оказывают значительного воздействия на популяции иммунных клеток.*

[00588] Среди прочего, настоящий пример дополнительно подтверждает, что обеспеченные технологии обладают низкой токсичностью, особенно по сравнению с

терапиями, использующими антитела к тем же мишеням, что и ARM. Как показано на фигуре 4 (частота CD56+CD138-CIML NK-клеток при совместной инкубации с костным мозгом пациентов и даратумумабом или CD38 ARM в течение 4 часов), количество NK-клеток не изменялось в присутствии CD38 ARM, в то время как даратумумаб показал дозозависимое увеличение взаимного уничтожения NK-клеток.

[00589] Хотя были описаны и проиллюстрированы различные варианты осуществления, специалисты в данной области техники легко смогут представить себе множество других средств и/или структур для выполнения функций и/или получения результатов и/или одного или нескольких преимущества, описанные в настоящем раскрытии, и каждый из таких вариантов и/или модификаций считается включенным. В более общем плане специалисты в данной области техники легко поймут, что все параметры, размеры, материалы и конфигурации, описанные в данном документе, предназначены для примера и что фактические параметры, размеры, материалы и/или конфигурации могут зависеть от конкретного приложения или приложений, для которых используются идеи настоящего раскрытия. Специалисты в данной области техники поймут или смогут установить, используя не более чем рутинное экспериментирование, многие эквиваленты настоящего раскрытия. Следовательно, следует понимать, что вышеизложенное представлено только в качестве примера и что в пределах объема прилагаемой формулы изобретения и описанных эквивалентов заявленные технологии могут применяться на практике иначе, чем конкретно и заявлено. Кроме того, любая комбинация двух или более функций, систем, статей, материалов, наборов и/или способов, если такие функции, системы, статьи, материалы, наборы и/или способы не являются взаимно несовместимыми, входит в объем настоящего раскрытия.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ индукции гибели клеток, ингибирования роста клеток и/или уменьшения количества клеток в системе, включающий введение в систему:

одного или обоих из:

множества естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующей молекулы (ARM),

где ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с клеткой, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

так что система подвергается воздействию обоих, и количество клеток в системе уменьшается по сравнению с таковым в отсутствии как естественных клеток-киллеров, так и антитело-рекрутирующей молекулы.

2. Способ лечения состояния, расстройства или заболевания, включающий введение страдающему от этого субъекту:

множества естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующей молекулы (ARM),

где ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с раковыми клетками, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

3. Способ по п. 2, где состояние, нарушение или заболевание представляет собой рак.

4. Способ снижения побочных эффектов лечения с использованием естественных клеток киллеров, включающий введение субъекту:

множества естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующей молекулы (ARM),

где ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с объектом-мишенью лечения, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий связывающую часть антитела с мишень-связывающим фрагментом.

5. Способ снижения токсичности лечения с использованием естественных клеток-киллеров, включающий введение субъекту:

множества естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующей молекулы (ARM),

где ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с объектом-мишенью лечения, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий связывающую часть антитела с мишень-связывающим фрагментом.

6. Способ по любому из предшествующих пунктов, в котором естественные клетки-киллеры представляют собой память-подобные естественные клетки-киллеры.

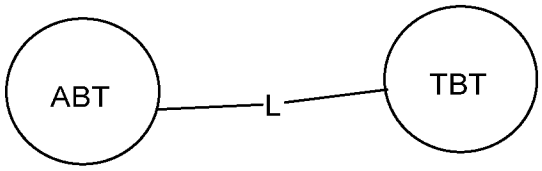
7. Способ по любому из пп. 1-5, в котором естественные клетки-киллеры представляют собой цитокин-индуцированные память-подобные естественные клетки-киллеры, индуцированные IL-12, IL-15 и IL-18.

8. Способ по п. 6, в котором естественные клетки-киллеры и ARM вводят одновременно, необязательно в одной композиции.

9. Способ по п. 6, в котором естественные клетки-киллеры вводят до или после ARM.

10. Способ по п. 6, в котором антитело-связывающий фрагмент в ARM представляет собой универсальный антитело-связывающий фрагмент.

11. Способ по п. 6, в котором АРМ представляет собой соединение формулы **I:**



I

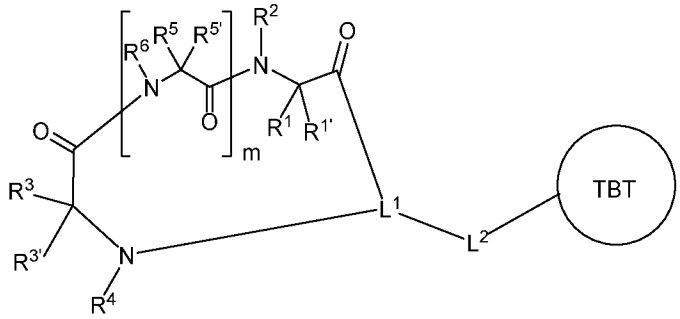
или его фармацевтически приемлемую соль, где:

ABT представляет собой антитело-связывающий фрагмент;

L представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, который связывает ABT с TBT; и

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент.

12. Способ по п. 6, в котором АРМ представляет собой соединение формулы **II:**



II

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

каждый из R^1, R^3 и R^5 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или от 8 до 10-членного бициклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или:

R^1 и $R^{1'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца или 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

R^3 и $R^{3'}$ необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца или 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

группа R^5 и группа $R^{5'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца или 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или

две группы R^5 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием двухвалентной прямой или разветвленной насыщенной или ненасыщенной C_{1-10} углеводородной цепи, в которой от 1 до 3 метиленовых звеньев цепи независимо и необязательно заменены на –S–, –SS–, –N(R)–, –O–, –C(O)–, –OC(O)–, –C(O)O–, –C(O)N(R)–, –N(R)C(O)–, –S(O)–, $–S(O)_2–$ или $–Cy^1–$, где каждый $–Cy^1–$ независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы;

каждый из $R^{1'}$, $R^{3'}$ и $R^{5'}$ независимо представляет собой водород или C_{1-3} алифатическую группу;

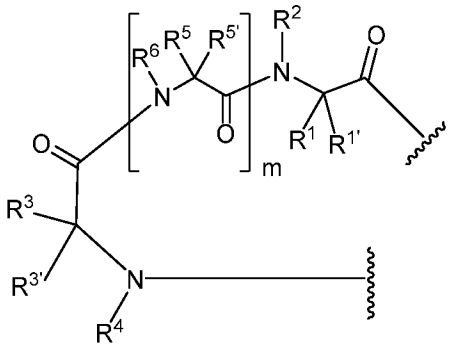
каждый из R^2, R^4 и R^6 независимо представляет собой водород или C_{1-4} алифатическую группу, или:

R^2 и R^1 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

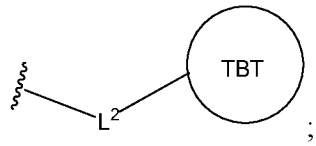
R^4 и R^3 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или

группа R^6 и соседняя с ней группа R^5 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

L^1 представляет собой трехвалентный линкерный фрагмент, который соединяет

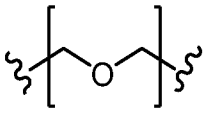


и

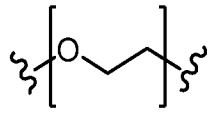


;

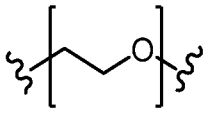
L^2 представляет собой ковалентную связь или двухвалентную прямую или разветвленную насыщенную или ненасыщенную C_{1-10} углеводородную цепь, в которой от 1 до 3 метиленовых звеньев цепи независимо и необязательно заменены на S–, –N(R)–, –O–, –C(O)–, –OC(O)–, –C(O)O–, –C(O)N(R)–, –N(R)C(O)–, –S(O)–, $–S(O)_2–$,



,



,

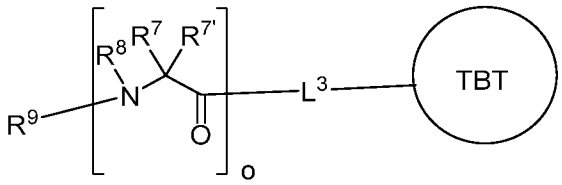


или $–Cy^1–$, где каждый $–Cy^1–$ независимо представляет собой 5-6-членный гетероариленил с 1-4 гетероатомами, независимо выбранными из азота, кислорода или серы;

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент; и

каждый из m и n независимо равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10; или

где ARM представляет собой соединение формулы **III:**



III

или его фармацевтически приемлемую соль, где:

каждый из R^7 независимо представляет собой водород или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-6} алифатической группы, 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического карбоциклического кольца, фенила, 8-10-членного бициклического ароматического карбоциклического кольца, 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического

гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, 5-6-членного моноциклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 4 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы, или 8-10-членного бициклического гетероароматического кольца, имеющего от 1 до 5 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы; или:

группа R^7 и группа $R^{7'}$, присоединенные к одному и тому же атому углерода, необязательно взяты вместе с их промежуточным атомом углерода с образованием 3-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического карбоциклического кольца или 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного спироциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

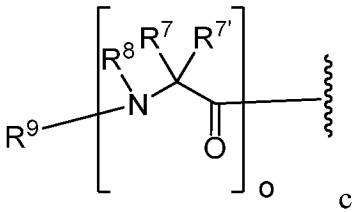
каждый из $R^{7'}$ независимо представляет собой водород или C_{1-3} алифатическую группу;

каждый из R^8 независимо представляет собой водород или C_{1-4} алифатическую группу, или:

группа R^8 и смежная с ней группа R^7 необязательно взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием 4-8-членного насыщенного или частично ненасыщенного моноциклического гетероциклического кольца, имеющего от 1 до 2 гетероатомов, независимо выбранных из азота, кислорода или серы;

R^9 представляет собой водород, C_{1-3} алифатическую группу или $-C(O)C_{1-3}$ алифатическую группу;

L^3 представляет собой двухвалентный линкерный фрагмент, который соединяет

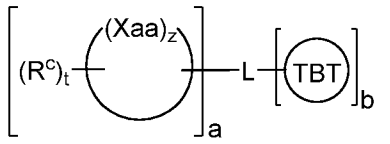


с ТВТ;

ТВТ представляет собой мишень-связывающий фрагмент; и

о равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

13. Способ по п. 6, в котором АРМ представляет собой соединение, имеющее структуру формулы **I-a:**



I-a

или его соль, при этом:

каждый Xaa независимо представляет собой аминокислотный остаток;

t равен от 0 до 50;

z равен от 1 до 50;

L представляет собой линкерный фрагмент;

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент;

каждый R^c независимо представляет собой $-L^a-R'$;

каждый из a и b независимо равен от 1 до 200;

каждый L^a независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на $-C(R')_2-$, $-Cy-$, $-O-$, $-S-$, $-S-S-$, $-N(R')-$, $-C(O)-$, $-C(S)-$, $-C(NR')-$, $-C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)N(R')-$, $-N(R')C(O)O-$, $-S(O)-$, $-S(O)_2-$, $-S(O)_2N(R')-$, $-C(O)S-$ или $-C(O)O-$;

каждый -Cy- независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния;

каждый R' независимо представляет собой $-R$, $-C(O)R$, $-CO_2R$ или $-SO_2R$;

каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарильного

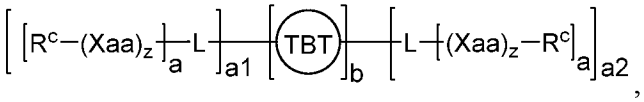
кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или:

две или более группы R у одного и того же атома необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

где ARM представляет собой соединение, имеющее структуру формулы **I-b:**



I-b

или его соль, при этом:

каждый Xaa независимо представляет собой аминокислотный остаток;

каждый z независимо равен от 1 до 50;

каждый L независимо представляет собой линкерный фрагмент;

TBT представляет собой мишень-связывающий фрагмент,

каждый R^c независимо представляет собой $-L^a-R'$;

каждый из a1 и a2 независимо равен от 0 до 200, где по меньшей мере один из a1 и a2 не равен 0;

b равен от 1 до 200;

каждый L^a независимо представляет собой ковалентную связь или необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_1-C_{20} алифатической или C_1-C_{20} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 5 гетероатомов, где одно или несколько

метиленовых звеньев группы необязательно и независимо заменены на −C(R')$_2$−, −Cy−, −O−, −S−, −S−S−, −N(R')−, −C(O)−, −C(S)−, −C(NR')−, −C(O)N(R')−, −N(R')C(O)N(R')−, −N(R')C(O)O−, −S(O)−, −S(O)$_2$−, −S(O)$_2$N(R')−, −C(O)S− или −C(O)O−;

каждый -Cy- независимо представляет собой необязательно замещенную двухвалентную группу, выбранную из C_{3-20} циклоалифатического кольца, C_{6-20} арильного кольца, 5-20-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-20-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния;

каждый R' независимо представляет собой −R, −C(O)R, −CO_2R или −SO_2R;

каждый R независимо представляет собой -H или необязательно замещенную группу, выбранную из C_{1-30} алифатической группы, C_{1-30} гетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, C_{6-30} арила, C_{6-30} арилалифатической группы, C_{6-30} арилгетероалифатической группы, имеющей от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, 5-30-членного гетероарильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, и 3-30-членного гетероциклильного кольца, имеющего от 1 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния, или

две группы R необязательно и независимо взяты вместе с образованием ковалентной связи, или:

две или более группы R у одного и того же атома необязательно и независимо взяты вместе с атомом с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо атома, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния; или

две или более группы R на двух или более атомах необязательно и независимо взяты вместе с их промежуточными атомами с образованием необязательно замещенного 3-30-членного, моноциклического, бициклического или полициклического кольца, содержащего, помимо промежуточных атомов, от 0 до 10 гетероатомов, независимо выбранных из кислорода, азота, серы, фосфора и кремния.

14. Способ по п. 6, в котором АРМ вводят с антителом или его фрагментом.

15. Способ по п. 6, в котором антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает пептидное звено, которое представляет собой или включает DCAWHLGELVWCT, где два остатка цистеина необязательно образуют дисульфидную связь.

16. Способ по п. 6, в котором антитело-связывающий фрагмент представляет собой или включает пептидное звено, которое представляет собой или включает CDCAWHLGELVWCTC, где первый и последний цистеины и два цистеина в середине последовательности, каждый независимо и необязательно, образуют дисульфидную связь.

17. Комбинация, содержащая:

множество естественных клеток-киллеров; и

антитело-рекрутирующую молекулу (ARM), где:

ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с объектом-мишенью, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

18. Комбинация по п. 17, в которой естественные клетки-киллеры представляют собой естественные клетки-киллеры по любому из пп. 1-16 и/или АРМ представляет собой АРМ по любому из пп.1-16.

19. Композиция, содержащая:

множество естественных клеток-киллеров; и

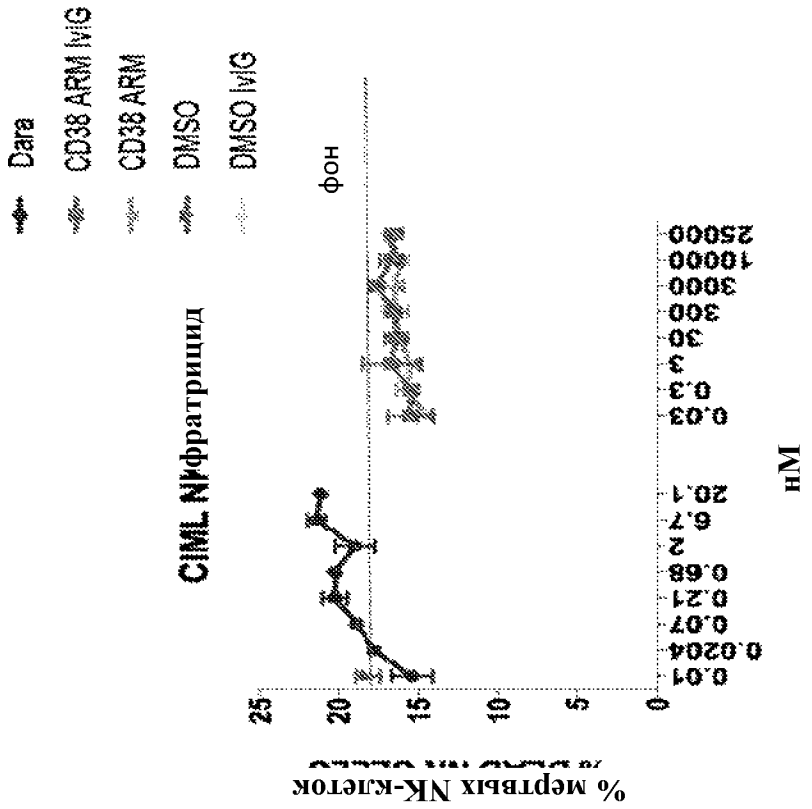
антитело-рекрутирующую молекулу (ARM), где:

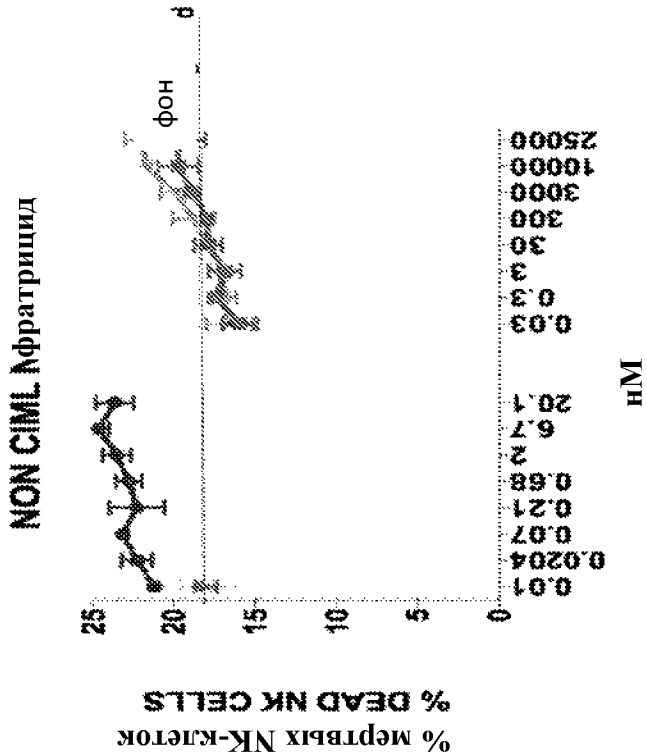
ARM содержит антитело-связывающий фрагмент, который может связываться с одним или несколькими антителами или их фрагментами, мишень-связывающий фрагмент, который может связываться с объектом-мишенью, и необязательно линкерный фрагмент, соединяющий антитело-связывающий фрагмент с мишень-связывающим фрагментом.

20. Композиция по п. 19, в которой естественные клетки-киллеры представляет собой естественные клетки-киллеры по любому из пп. 1-16 и/или АРМ представляет собой АРМ по любому из пп. 1-16.

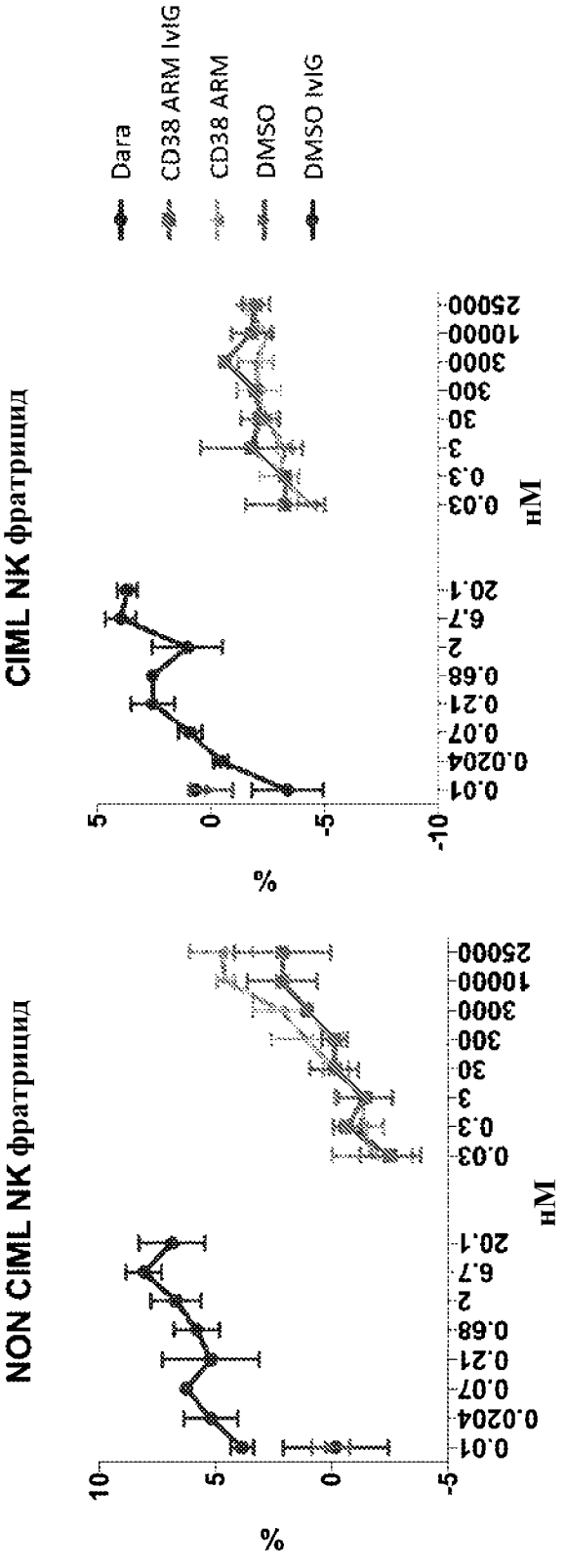
21. Композиция по п. 19 или 20, где композиция содержит антитело или его фрагмент.

22. Способ, улучшение, комбинация или композиция по любому из примерных вариантов осуществления 1-103.


Dara
CD38 ARM IvIG
CD38 ARM
DMSO
DMSO IvIG
CIML Nфратрицид
фон
% мертвых NK-клеток
0.01
0.0204
0.07
0.21
0.68
2
6.7
20.1
0.03
0.3
3
30
300
3000
10000
25000
нМ
(A)

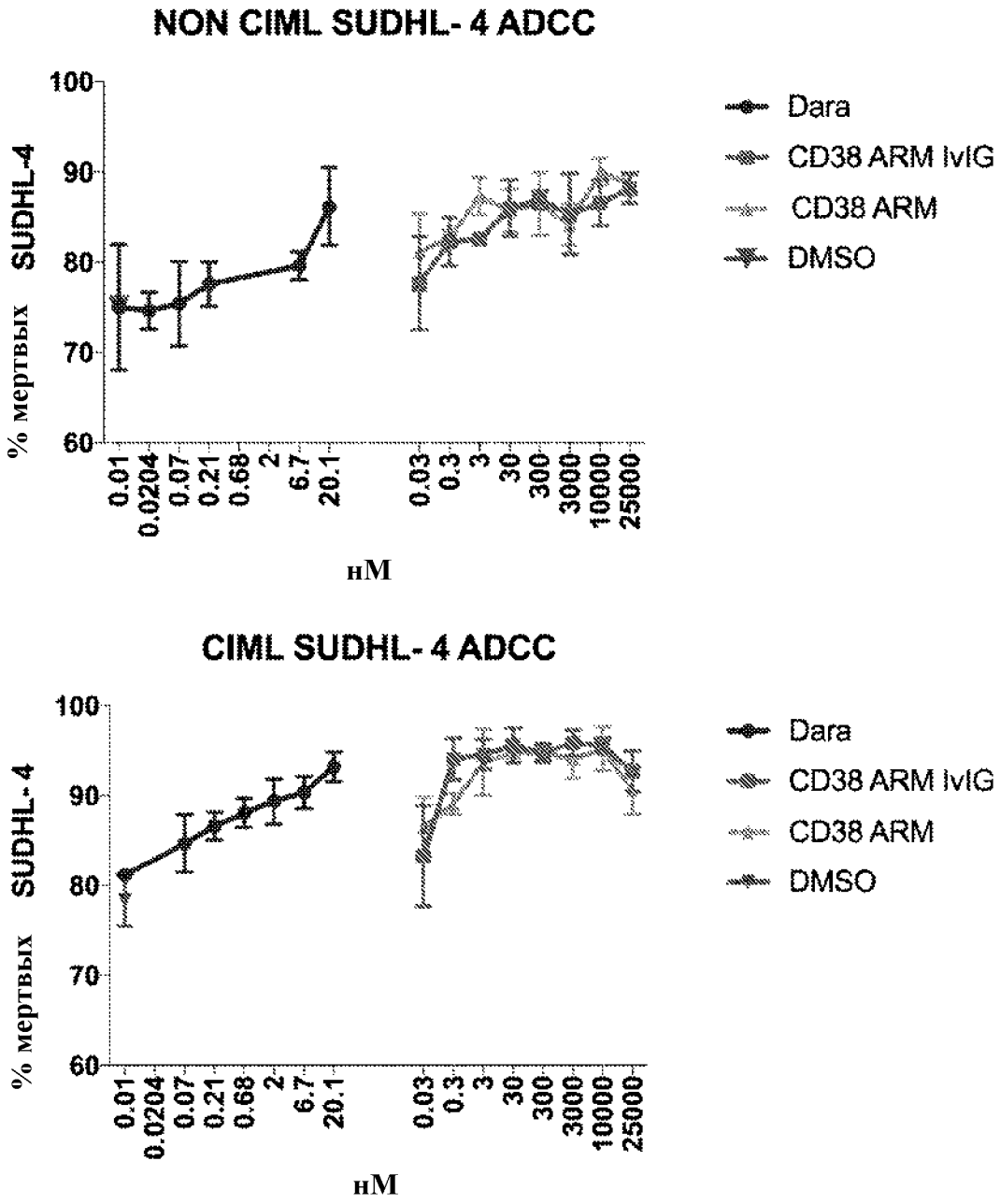

NON CIML Nфратрицид
фон
% мертвых NK-клеток
% DEAD NK CELLS
0.01
0.0204
0.07
0.21
0.68
2
6.7
20.1
0.03
0.3
3
30
300
3000
10000
25000
нМ

Фигура 1



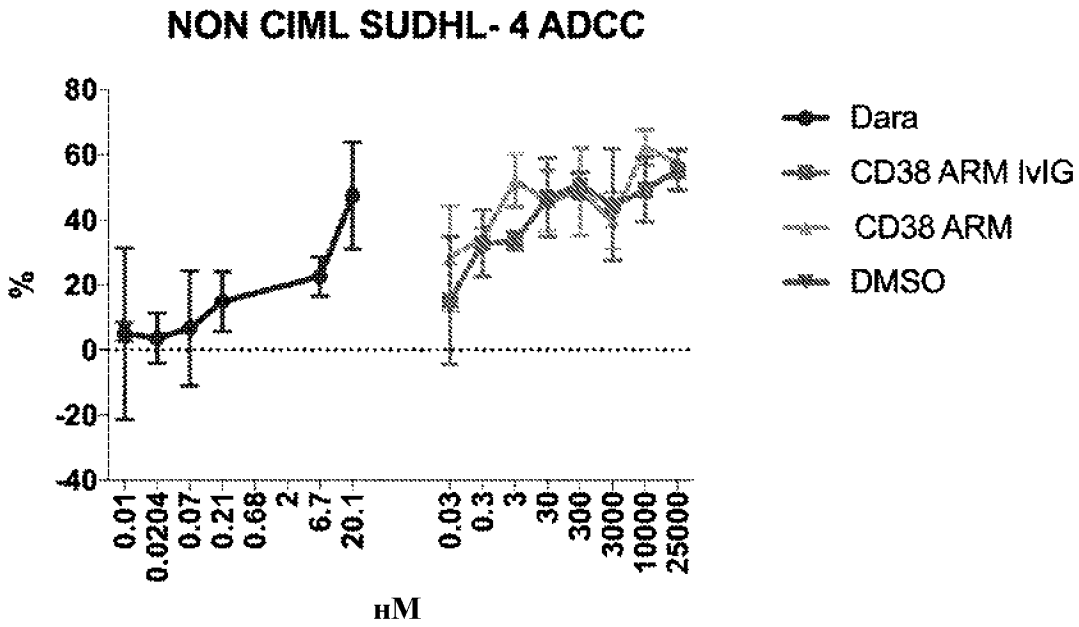
(B)

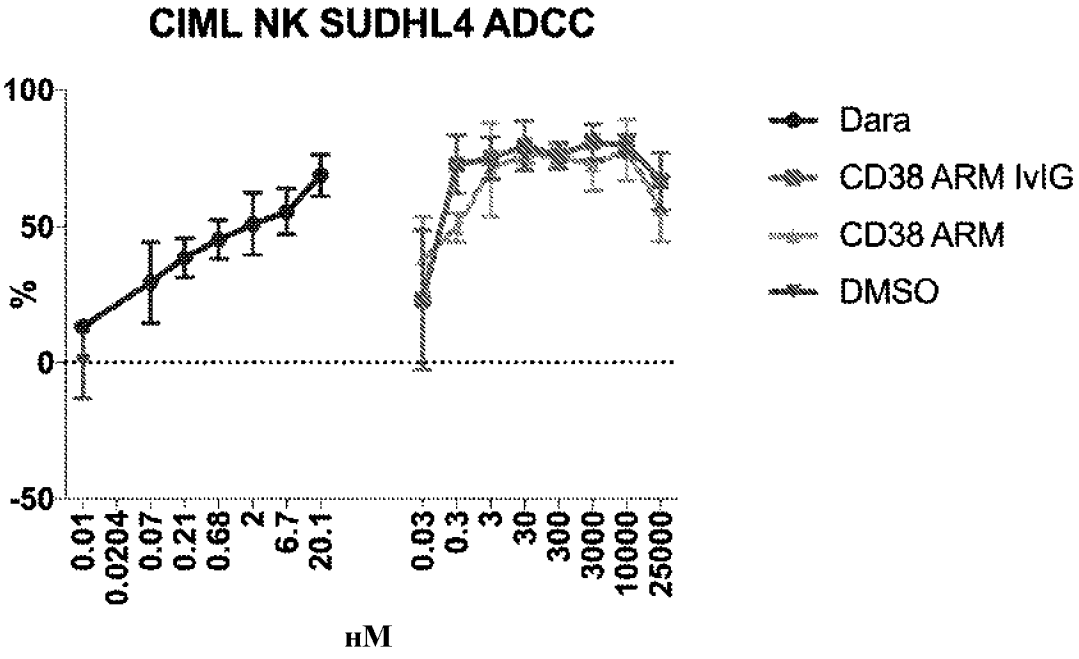
Фигура 1 (Продолжение)


NON CIML SUDHL- 4 ADCC
% мертвых SUDHL-4
100
90
80
70
60
0.01
0.0204
0.07
0.21
0.68
2
6.7
20.1
0.03
0.3
3
30
300
3000
10000
25000
нМ
Dara
CD38 ARM IvIG
CD38 ARM
DMSO
CIML SUDHL- 4 ADCC
% мертвых SUDHL- 4
100
90
80
70
60
0.01
0.0204
0.07
0.21
0.68
2
6.7
20.1
0.03
0.3
3
30
300
3000
10000
25000
нМ
Dara
CD38 ARM IvIG
CD38 ARM
DMSO

(A)

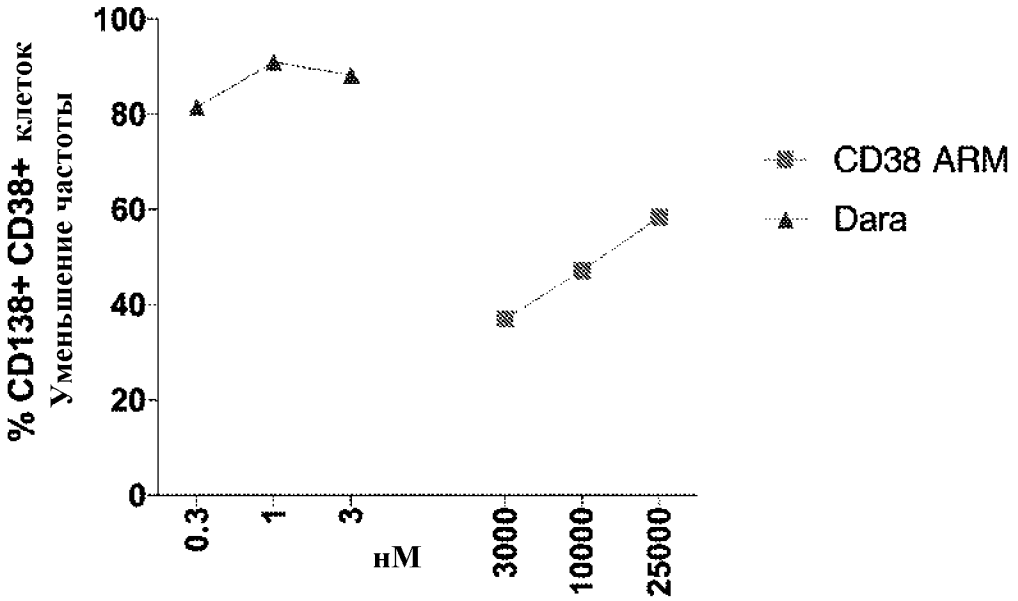
Фигура 2



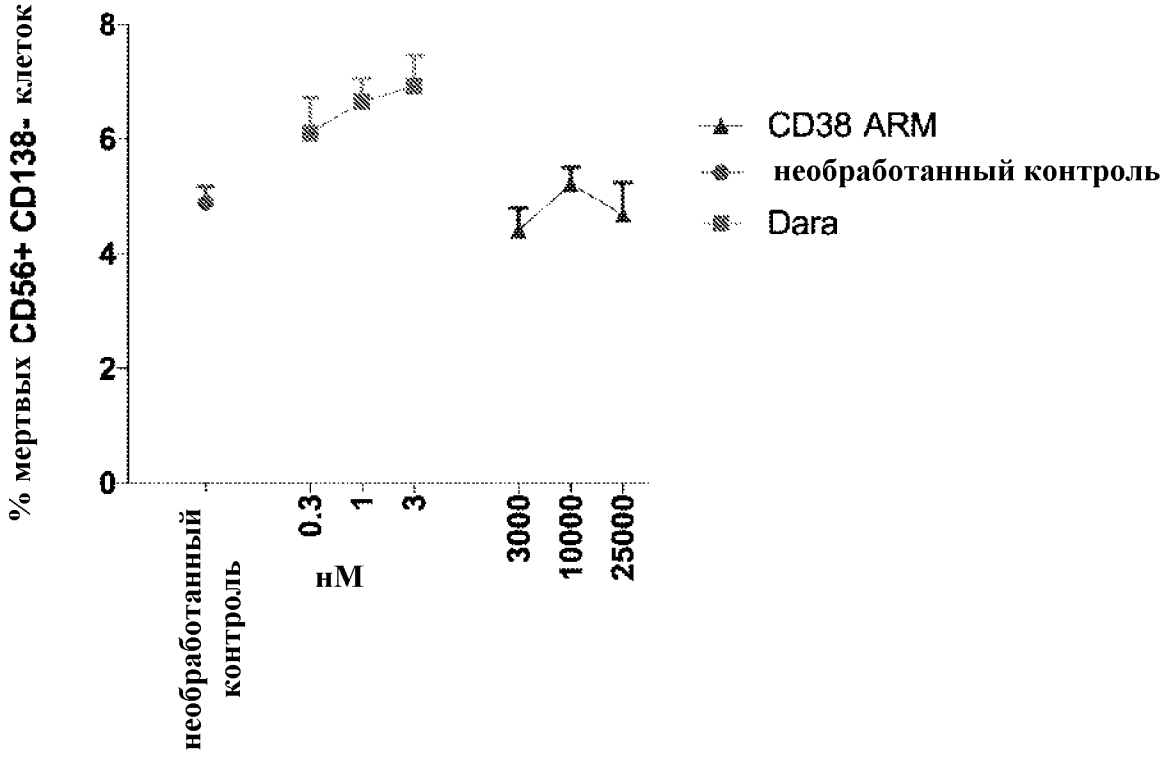


(B)

Фигура 2 (Продолжение)



Фигура 3



Фигура 4