

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202290513** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.07.04

(51) Int. Cl. *C07K 16/28* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 9/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.08.10

(54) ЛЕЧЕНИЕ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КОНЬЮГАТАМИ АНТИТЕЛА-ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА (ADC), КОТОРЫЕ СВЯЗЫВАЮТСЯ С БЕЛКАМИ 191P4D12

(31) 62/886,270

(72) Изобретатель:
Абидуайе Ойевале О. (US)

(32) 2019.08.13

(33) US

(86) PCT/US2020/045567

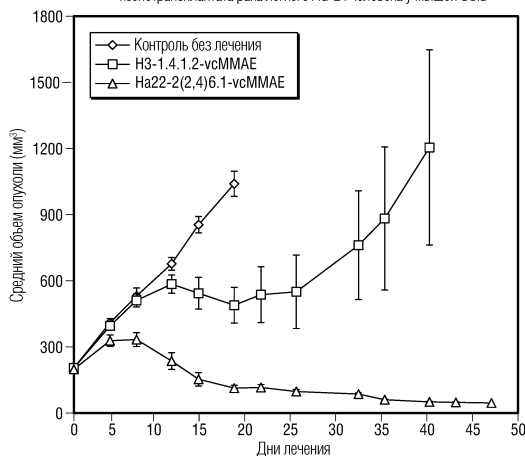
(74) Представитель:
Медведев В.Н. (RU)

(87) WO 2021/030240 2021.02.18

(71) Заявитель:
ЭДЖЕНСИС, ИНК.; СИДЖЕН ИНК.
(US)

(57) В настоящем документе предложены способы лечения онкологических заболеваний с применением конъюгатов антитела-лекарственного средства (ADC), которые связываются с белками 191P4D12.

Эффективность Ha22-2(2,4)6.1-vcMMAE при подкожном приживлении ксенотрансплантата рака легкого AG-L4 человека у мышей SCID



A1

202290513

202290513

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-573158EA/061

ЛЕЧЕНИЕ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ КОНЬЮГАТАМИ АНТИТЕЛА-ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА (ADC), КОТОРЫЕ СВЯЗЫВАЮТСЯ С БЕЛКАМИ 191P4D12

Перекрестная ссылка на родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает преимущества приоритета по предварительной заявке на патент США 62/886,270, поданной 13 августа 2019 года, описание которой включено в настоящий документ посредством отсылки во всей полноте.

1. Область техники

[0001] В настоящем документе предложены способы лечения онкологических заболеваний конъюгатами антитела-лекарственного средства (ADC), которые связываются с белками 191P4D12.

2. Уровень техники

[0002] Рак является главной причиной смерти в США у людей возрастом 35-65 лет, и второй ведущей причиной смерти во всем мире. По некоторым оценкам, в 2019 году будет зарегистрировано приблизительно 1,7 миллиона новых случаев рака и приблизительно 610000 случаев смерти от рака в США (Национальный институт онкологии США. 2019. Cancer Stat Facts: Cancer of Any Site. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/all.html>. В доступе с 5 июня 2019 года). Во всем мире в 2018 зарегистрировали приблизительно 18,1 миллионов новых случаев рака и приблизительно 9,6 миллионов случаев смерти, связанных с раком (Всемирная организация здравоохранения. Пресс-релиз. Сентябрь 2018. <https://www.who.int/cancer/PRGlobocanFinal.pdf>. По состоянию на 5 июня 2019 года). В настоящее время большинство случаев смерти наблюдается у пациентов с метастатическим раком. Фактически, за последние 20 лет успехи в лечении, включая хирургию, лучевую терапию и адъювантную химиотерапию, позволили вылечить большинство пациентов с локализованным раком. Пациенты, у которых рак проявлялся или рецидивировал как метастатический процесс, получали лишь небольшую пользу от традиционных методов лечения исходя из показателей общей выживаемости (OS) и редко полностью излечивались.

[0003] Новые терапевтические стратегии для лечения метастатических форм рака включают таргетное воздействие на молекулярные пути, важные для выживания раковых клеток, и новые цитотоксические соединения. Преимущество этих новых лекарственных средств выражается в увеличении выживаемости; впрочем, результаты лечения у большинства пациентов с отдаленными метастазами все еще плохие, и нужны новые методы лечения.

[0004] 191P4D12 (известный также как нектин-4) представляет собой трансмембранный белок I типа и является представителем семейства родственных иммуноглобулиноподобных молекул адгезии, участвующих в межклеточной адгезии.

191P4D12 принадлежит к семейству молекул адгезии - нектинов. 191P4D12 состоит из внеклеточного домена (ECD), содержащего 3 Ig-подобных субдомена, трансмембранной спирали и внутриклеточной области (Takai Y et al., Annu Rev Cell Dev Biol 2008; 24:309-42). Считается, что нектины опосредуют Ca^{2+} -независимую межклеточную адгезию посредством как гомофильных, так и гетерофильных транс-взаимодействий в адгезионных контактах, где они могут рекрутировать кадгерин и модулировать перестройки цитоскелета (Rikitake & Takai, Cell Mol Life Sci. 2008; 65(2):253-63). Идентичность последовательности 191P4D12 с другими членами семейства нектинов низкая и варьирует от 25% до 30% в ECD (Reymond N et al., J Biol Chem 2001; 43205-15). Облегченная нектином адгезия поддерживает несколько биологических процессов, таких как иммунная модуляция, взаимодействие хозяин-патоген и уклонение от иммунного надзора (Sakisaka T et al., Current Opinion in Cell Biology 2007; 19:593-602).

[0005] **Рак молочной железы**

[0006] В 2018 году во всем мире будет зарегистрировано примерно 2,1 миллиона новых случаев рака молочной железы у женщин, что составляет почти 1 из 4 случаев рака среди женщин. Заболевание является наиболее часто диагностируемой формой рака в подавляющем большинстве стран, а также основной причиной смерти от рака среди женщин. После диагноза метастазирования прогноз неблагоприятный, с 5-летней выживаемостью примерно 15%.

[0007] Выбор подходящей терапии для лечения метастатического рака молочной железы затруднен из-за множества вариантов лечения и биологической гетерогенности заболевания. Потенциальные варианты лечения зависят от эстрогеновых и прогестероновых рецепторов, а также от статуса рецептора эпидермального фактора роста человека 2-го типа (HER2) в опухоли. Варианты лечения для субъектов с метастатическим раком молочной железы также могут зависеть от того, какая адъювантная терапия была использована, как скоро после адъювантной терапии у субъекта возникает рецидив, а также от участков метастазирования.

[0008] **Гормон-рецептор-положительный, рецептор эпидермального фактора роста 2 человека-отрицательный рак молочной железы**

[0009] Гормон-рецептор-положительный (ГР+)/HER2-отрицательный рак молочной железы является наиболее распространенным подтипом рака молочной железы (>70%) и возникает преимущественно у женщин в постменопаузе. Начальное лечение для женщин с метастатической формой заболевания состоит, прежде всего, из эндокринной терапии. Обычно ее применяют отдельно, в комбинации с ингибитором CDK4/6 или в виде двойной эндокринной блокады. Женщинам, которые являются эндокринно рефрактерными, или женщинам, которые имеют симптомы висцерального заболевания, рекомендована системная химиотерапия.

[0010] Несколько цитотоксических химиотерапевтических средств показали активность при метастатическом раке молочной железы, включая антрациклины, таксаны, гемцитабин, капецитабин, винорелбин, эрибулин и иксабепилон. Процент ответа на эти

средства варьирует в зависимости от типа предыдущей терапии, а также от подтипа рака молочной железы. Как правило, наиболее активными считается комбинированная терапия на основе антрациклинов, а также таксаны, такие как паклитаксел и доцетаксел (Piccart M, Clin Breast Cancer 2008; 100-13). Учитывая широкое применение антрациклинов в качестве адъювантной терапии и повышенный риск кардиотоксичности, применение антрациклинов при лечении метастатических форм рака ограничено. Таксаны являются наиболее часто используемыми препаратами у пациентов с местнораспространенным или метастатическим заболеванием, особенно в условиях применения терапии первой линии (Greene & Hennessy, J Oncol Pharm Pract 2015; 201-12). Последовательная монотерапия рекомендована вместо комбинаций из-за более низкой токсичности и ограниченной эффективности по показателю выживаемости. Ответы на стандартно применяемую монокимиотерапию у пациентов с ГР+/HER2-негативным раком молочной железы в основном ограничены анализом подгрупп, они варьируют в пределах от 11% до 36% (Robson M et al, N Engl J Med. 2017; 377(18):1792-3; Kaufman PA et al, J Clin Onco. 2015; 33(6):594-601; Cortes J et al, Lancet. 2011; 377:914-23). В большинстве случаев, более низкие ответы наблюдали у пациентов, ранее получавших лечение, с зарегистрированными диапазонами от 10% до 13% (Perez EA et al, J Clin Oncol. 2007; 25:3407-14; Jones S et al, J Clin Oncol. 1995; 13(10):2567-74).

[0011] Трижды негативный рак молочной железы

[0012] Трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ) определяется отсутствием иммуноокрашивания на эстрогеновый рецептор (ЭР), прогестероновый рецептор (ПР) и HER2. В целом, приблизительно от 15% до 20% рака молочной железы определяют как ТНРМЖ. ТНРМЖ связан с агрессивной биологией опухолей, висцеральным метастазом и неблагоприятным прогнозом (Plasilova ML et al, Medicine (Baltimore). 2016; 95(35):e4614).

[0013] Схемы на основе таксанов считаются стандартом лечения первой линии у больных метастатическим раком молочной железы, включая ТНРМЖ. Недавно FDA выдало ускоренную регистрацию атезолизумабу в комбинации с наб-паклитакселом для лечения пациентов с неоперабельным местнораспространенным или метастатическим ТНРМЖ, при котором опухоли экспрессируют лиганд белка программируемой смерти 1 (PD-L1; медианная выживаемость без прогрессирования [PFS] 7,5 месяцев в сравнении с 5,0 месяцами, процент объективных ответов (ПОО) 56% в сравнении с 46%) (Schmid P et al, N Engl J Med. 2019; 380(10):987-988). Стандартного подхода для лечения второй или последующей линии не существует, при этом варианты химиотерапии остаются такими же, как и в случае других подтипов. Монотерапия цитотоксическими химиотерапевтическими средствами, как правило, предпочтительнее комбинированной химиотерапии из-за отсутствия преимущества в выживаемости и присутствия повышенной токсичности, за исключением случаев агрессивного заболевания и поражения внутренних органов (Cardoso F et al, Ann Oncol. 2017;28(2):208-217; National Comprehensive Cancer Network, 2017, Non-small cell lung cancer, NCCN clinical practice

guidelines in oncology (NCCN guidelines), http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf. По состоянию на 5 июня 2019 года). Стандартная химиотерапия у предварительно проходивших лечение пациентов связана с низкими процентами ответа (от 10% до 15%) и короткой выживаемостью без прогрессирования (от 2 до 3 месяцев) (Hurvitz & Mead, Curr Opin Obstet Gynecol. 2016; 28(1):59-69).

[0014] НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫЙ РАК ЛЕГКОГО

[0015] Рак легкого (как мелкоклеточный, так и немелкоклеточный) является основной причиной смерти от онкологии в США (Американское онкологическое общество. Основные статистические данные по раку легкого. 8 января 2019 года). <https://www.cancer.org/cancer/non-small-cell-lung-cancer/about/key-statistics.html>. По состоянию на 5 июня 2019 года). Возраст большинства пациентов с диагнозом рака легкого составляет 65 лет и старше, а средний возраст на момент постановки диагноза составляет примерно 70 лет.

[0016] Немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) составляет приблизительно 85% всех случаев рака легкого (Tan & Huq, Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC), 13 апреля 2019 года, <https://emedicine.medscape.com/article/279960-overview>, по состоянию на 5 июня 2019 года; Американское онкологическое общество: Что такое немелкоклеточный рак легкого, 16 мая 2016 года, <https://www.cancer.org/cancer/non-small-cell-lung-cancer/about/what-is-non-small-cell-lung-cancer.html>, по состоянию на 5 июня 2019 года) и может быть подразделен на плоскоклеточный (приблизительно 30% случаев НМРЛ) и неплоскоклеточный (приблизительно 40% случаев НМРЛ) гистологические типы (Американское онкологическое общество. Немелкоклеточный рак легкого. 2019b. <http://www.cancer.org/Cancer/LungCancer-Non-SmallCell/DetailedGuide/lung-cancer-non-small-cell-non-small-cell-lung-cancer>. По состоянию на 5 июня 2019 года).

[0017] Плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого

[0018] Плоскоклеточный НМРЛ представляет собой определенный гистологический подтип НМРЛ, который плохо поддается лечению из-за специфических характеристик пациента и заболевания, которые включают пожилой возраст, метастатическое (включая злокачественное или метастатическое злокачественное) заболевание на момент постановки диагноза, сопутствующее заболевание и центральную локализацию опухолей (Socinski M et al, Cell Lung Cancer 2018; 165-183). Эти характеристики влияют на результаты лечения метастатического (включая злокачественный или метастатический злокачественный) плоскоклеточного НМРЛ, что обуславливает медианную выживаемость примерно на 30% меньше, чем у пациентов с другими подтипами НМРЛ.

[0019] Существует ограниченный выбор вариантов лечения, особенно для лечения первой линии метастатического (включая злокачественный или метастатический злокачественный) плоскоклеточного НМРЛ, что в итоге влияет на результаты по выживаемости (National Comprehensive Cancer Network. 2017, Non-small cell lung cancer, NCCN clinical practice guidelines in oncology (NCCN guidelines),

http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf, по состоянию на 5 Jun 2019 года; Novello S et al, Ann Oncol 2016; 27 (Supple 5):v1-v27; Masters GA et al, J Clin Oncol 2015; 33(30):3488-3515). С учетом недавнего одобрения таргетной терапии и иммунотерапии метастатического (в том числе злокачественного или метастатического злокачественного) НМРЛ и продолжения работ в направлении персонализации лечения рака легкого, также нужно оценивать эффективность этих новых методов лечения метастатического (включая злокачественный или метастатический злокачественный) плоскоклеточного НМРЛ.

[0020] **Неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого**

[0021] Неплоскоклеточный НМРЛ представляет собой гетерогенное заболевание с несколькими вариантами лечения, которые зависят от стадии, присутствия метастазов, а также характеристик пациентов, включая наличие сопутствующих заболеваний помимо других факторов. Таким образом, текущие варианты лечения включают хирургическую резекцию, химиотерапию, лучевую терапию, иммунотерапию и таргетную терапию. В настоящее время терапией первой линии для пациентов с метастатическим (в том числе злокачественным или метастатическим злокачественным) неплоскоклеточным НМРЛ без генетических аберраций, которые могут быть мишенями, является двухкомпонентная химиотерапия с применением препарата платины. За исключением бевацизумаба, и несмотря на обширные исследования нескольких таргетных и цитотоксических средств, в рандомизированных исследованиях было показано, что добавление третьего средства к двухкомпонентной химиотерапии с применением препарата платины не улучшает выживаемость без прогрессирования или общую выживаемость по сравнению только с двухкомпонентной химиотерапией, включающей препарат платины (Reck M et al, Ann Oncol 2010; 1804-09; Sandler A et al, N Engl J Med 2006; 355:2542-50).

[0022] **РАК ГОЛОВЫ И ШЕИ**

[0023] Рак головы и шеи представляет собой группу злокачественных опухолей, которые возникают во рту, носу, горле, гортани, пазухах или слюнных железах (Национальный институт онкологии США, Рак головы и шеи, 29 марта 2017 года, <https://www.cancer.gov/types/head-and-neck/head-neck-fact-sheet>, по состоянию на 5 июня 2019 года). Во всем мире рак головы и шеи затронул более 5,5 миллионов человек (опухоли ротовой полости - 2,4 миллиона, горла - 1,7 миллиона и гортани - 1,4 миллиона) и стал причиной более 379000 случаев смерти (GBD. 2016a. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 310 diseases and injuries, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015, по состоянию на 5 июня 2019 года, [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(16\)31678-6/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(16)31678-6/fulltext); GBD. 2016b. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673616310121>, по состоянию на 5 июня 2019 года). Во всем мире в этом году возникнет около 600000 случаев рака головы и шеи, и только 40-60% пациентов

выживут в течение 5 лет (Rene Leemans C, et al. The molecular biology of head and neck cancer, Nature Reviews Cancer, 16 Dec 2011, по состоянию на 5 июня 2019 года, <https://www.nature.com/articles/nrc2982>).

[0024] Наиболее важными факторами риска являются употребление табака и алкоголя, которые, по-видимому, обладают синергическим эффектом (Decker & Goldstein, N Engl J Med. 1982; 1151-1155). Подгруппа злокачественных опухолей головы и шеи, в особенности рак ротоглотки, возникают в результате инфекций, вызванных вирусами папилломы человека (ВПЧ) высокого онкогенного риска (Rene Leemans C, et al. The molecular biology of head and neck cancer, Nature Reviews Cancer, 16 Dec 2011, по состоянию на 5 июня 2019 года, <https://www.nature.com/articles/nrc2982>).

[0025] Лечение в значительной степени определяется стадией на момент первичного обследования, но может включать комбинацию хирургического вмешательства, лучевой терапии, химиотерапии и таргетной терапии (Национальный институт онкологии США, 2019 год, Cancer Stat Facts: Cancer of Any Site, <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/all.html>, по состоянию на 5 июня 2019 года). Однако за последние десятилетия выживаемость не продемонстрировала заметных улучшений, поскольку у пациентов часто развиваются локорегионарные рецидивы, отдаленные метастазы и вторые первичные опухоли. Ограниченная доступная информация о молекулярном канцерогенезе рака головы и шеи, а также генетическая и биологическая гетерогенность заболевания затрудняют разработку новых терапевтических стратегий.

[0026] РАК ЖЕЛУДКА ИЛИ ПИЩЕВОДА

[0027] По имеющимся оценкам, у 17650 взрослых пациентов в США будет диагностирован рак желудка и зарегистрировано приблизительно 16080 случаев смерти от этого заболевания в 2019 году (Американское онкологическое общество, Показатели выживаемости при раке пищевода, 31 января 2019 года, <https://www.cancer.org/cancer/esophagus-cancer/detection-diagnosis-staging/survival-rates.html>, по состоянию на 6 июня 2019 года). По некоторым оценкам, у 27510 взрослых в США будет диагностирован рак пищевода и зарегистрировано приблизительно 11140 случаев смерти от этого заболевания в 2019 году (Американское онкологическое общество, Ключевые статистические данные по раку желудка, 09 января 2019 года, <https://www.cancer.org/cancer/stomach-cancer/about/key-statistics.html>, по состоянию на 6 июня 2019 года). Частота случаев аденокарциномы пищевода и аденокарциномы кардиального отдела желудка выросла, тогда как показатели плоскоклеточного рака пищевода и аденокарциномы некардиального отдела желудка снизились, что указывает на разные этиологии (Crew & Neugut, World J Gastroenterol. 2016; 354-362).

[0028] Химиотерапия может обеспечить значимое уменьшение симптомов у пациентов с нерезектабельным, местнораспространенным или метастатическим заболеванием. Отдельные средства, которые вызывают частичный ответ (ЧО) (цисплатин, доксорубин и митомицин), считаются наиболее активными при злокачественных опухолях желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (Preusser P et al, Oncology 1998; 99-102).

Комбинированные схемы с применением этих средств приводят к более высоким процентам ответа у пациентов (от 30% до 50%), но связаны с более высокой степенью токсического действия и обеспечивают аналогичную ОВ (в диапазоне от 6 до 10 месяцев) по сравнению с монотерапией (Preusser P et al, Oncology 1998; 99 102). Поэтому идентификация новых средств имеет большое значение, если необходимо добиться продления выживаемости пациентов.

[0029] Существует значительная потребность в дополнительных терапевтических способах для лечения рака. К ним относится применение антител и конъюгатов антител-лекарственных средств в качестве методов лечения.

3. Сущность изобретения

[0030] В одном аспекте в настоящем документе предложен способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина Е (ММАЕ), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и где субъект имеет гормон-рецептор-положительный и рецептор эпидермального фактора роста 2 человека-отрицательный (ГР+/HER2-) рак молочной железы.

[0031] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, ГР+/HER2- рак молочной железы является эстроген-рецептор (ЭР) положительным и/или прогестерон-рецептор (ПР) положительным, и HER2-отрицательным.

[0032] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет местнораспространенный или метастатический рак.

[0033] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, субъект ранее получал по меньшей мере одну линию эндокринной терапии и ингибитор циклинзависимой киназы (CDK) 4/6 в схеме лечения метастатического или местнораспространенного рака.

[0034] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, субъект ранее проходил лечение таксаном или антрациклином.

[0035] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет опасную гаметную мутацию в гене предрасположенности к раку молочной железы (BRCA) 1 или BRCA2, и где субъект ранее проходил лечение ингибитором поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP).

[0036] В некоторых аспектах в настоящем документе предложен способ предоупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина E (MMAE), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и где субъект имеет ЭР-отрицательный, ПР-отрицательный и HER2-отрицательный (ЭР-/ПР-/HER2-) рак молочной железы.

[0037] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, в качестве неограничивающего примера, способов, описанных в первом параграфе перед данным параграфом (параграфе [0036]), субъект имеет местнораспространенный или метастатический рак.

[0038] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, субъект ранее получал по меньшей мере две линии системной терапии.

[0039] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, субъект ранее проходил лечение таксаном.

[0040] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, в качестве неограничивающего примера, способов, описанных в первом - четвертом параграфах перед данным параграфом (параграфах [0036]-[0039]), субъект имеет опасную гаметную мутацию в гене предрасположенности к раку молочной железы (BRCA) 1 или BRCA2, и где субъект ранее проходил лечение ингибитором поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP).

[0041] В некоторых аспектах в настоящем документе предложен способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина E (MMAE), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и где субъект имеет плоскоклеточный

немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ).

[0042] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, в качестве неограничивающего примера, способов, описанных в первом параграфе перед данным параграфом (параграфе [0041]), субъект имеет местнораспространенный или метастатический рак.

[0043] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив после терапии препаратами платины.

[0044] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив в течение 12 месяцев после терапии препаратами платины.

[0045] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, субъект ранее получал терапию ингибитором белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-1) или ингибитором лиганда белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-L1), где, необязательно, ингибитором PD-1 является ниволумаб, и где, необязательно, ингибитор PD-L1 выбран из группы, состоящей из атезолизумаба, авелумаба и дурвалумаба.

[0046] В некоторых аспектах в настоящем документе предложен способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина E (MMAE), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и где субъект имеет неплоскоклеточный НМРЛ.

[0047] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, субъект имеет рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) дикого типа и киназу анапластической лимфомы (ALK) дикого типа.

[0048] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, в качестве неограничивающего примера, способов, описанных в первом - втором параграфах перед настоящим параграфом (параграфах [0046]-[0047]), субъект имеет местнораспространенный или метастатический рак.

[0049] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, в качестве неограничивающего примера, способов, описанных в первом - третьем параграфах перед настоящим параграфом (параграфах [0046]-[0048]), у

субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив после терапии препаратами платины.

[0050] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, в качестве неограничивающего примера, способов, описанных в первом - четвертом параграфах перед настоящим параграфом (параграфах [0046]-[0049]), у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив в течение 12 месяцев после терапии препаратами платины.

[0051] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, в качестве неограничивающего примера, способов, описанных в первом - пятом параграфах перед настоящим параграфом (параграфах [0046]-[0050]), субъект ранее получал терапию ингибитором белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-1) или ингибитором лиганда белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-L1), где, необязательно, ингибитором PD-1 является ниволумаб, и где, необязательно, ингибитор PD-L1 выбран из группы, состоящей из атезолизумаба, авелумаба и дурвалумаба.

[0052] В некоторых аспектах в настоящем документе предложен способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина E (MMAE), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и где субъект имеет местнораспространенный или метастатический рак головы и шеи.

[0053] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, в качестве неограничивающего примера, способов, описанных в первом параграфе перед настоящим параграфом (параграфе [0052]), у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив после терапии препаратами платины.

[0054] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив в течение 6 месяцев после терапии препаратами платины.

[0055] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, в качестве неограничивающего примера, способов, описанных в первом - третьем параграфах перед настоящим параграфом (параграфах [0052]-[0054]), субъект ранее получал терапию ингибитором белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-1) или ингибитором лиганда белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-L1),

где, необязательно, ингибитором PD-1 является ниволумаб, и где, необязательно, ингибитор PD-L1 выбран из группы, состоящей из атезолизумаба, авелумаба и дурвалумаба.

[0056] В некоторых аспектах в настоящем документе предложен способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина E (MMAE), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и где субъект имеет рак желудка или пищевода.

[0057] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, в качестве неограничивающего примера, способов, описанных в первом параграфе перед настоящим параграфом (параграфе [0056]), субъект имеет местнораспространенный или метастатический рак.

[0058] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив после терапии препаратами платины или химиотерапии, которая включала фторпиримидин.

[0059] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив в течение 6 месяцев после терапии препаратами платины или химиотерапии, которая включала фторпиримидин.

[0060] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, рак желудка или пищевода является HER2-положительным раком, и где субъект ранее получал HER2-направленную терапию.

[0061] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает CDR H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9, CDR H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10, CDR H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:11; CDR L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:12, CDR L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, и CDR L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14.

[0062] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает CDR

H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, CDR H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18 SEQ; CDR L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, CDR L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20, и CDR L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21.

[0063] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23.

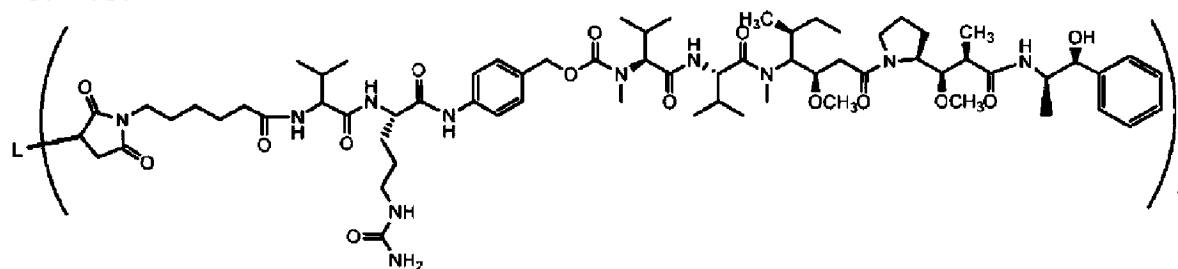
[0064] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, тянущуюся от 20-й аминокислоты (глутаминовой кислоты) до 466-й аминокислоты (лизина) SEQ ID NO:7, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, тянущуюся от 23-й аминокислоты (аспарагиновой кислоты) до 236-й аминокислоты (цистеина) SEQ ID NO:8.

[0065] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, антигенсвязывающим фрагментом является Fab, F(ab')₂, Fv или scFv-фрагмент.

[0066] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, антитело является полностью человеческим антителом.

[0067] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент получены рекомбинантно.

[0068] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства имеет следующую структуру:



где L- представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и p равно от 1 до 10.

[0069] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, p равно от 2 до 8.

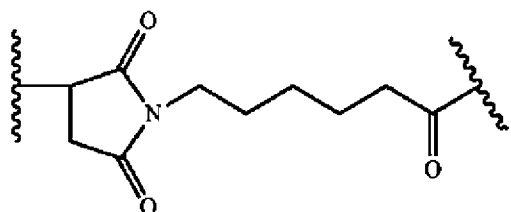
[0070] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, p равно от 3 до 5.

[0071] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент соединены с каждой единицей монометилауристатина Е (ММАЕ) через линкер.

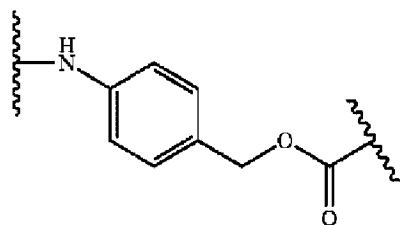
[0072] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, линкер является ферментно расщепляемым линкером, и где линкер образует связь с атомом серы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

[0073] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, линкер имеет формулу: $-Aa-Ww-Yu-$; где $-A-$ представляет собой удлиняющую единицу, a равно 0 или 1; $-W-$ представляет собой аминокислотную единицу, w является целым числом в пределах от 0 до 12; и $-Y-$ представляет собой спейсерную единицу, u равно 0, 1 или 2.

[0074] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, удлиняющая единица имеет структуру Формулы (1) ниже; аминокислотная единица представляет собой валин цитруллин; и спейсерная единица представляет собой группу PAB, включающую структуру следующей Формулы (2):



Формула (1)



Формула (2).

[0075] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, удлиняющая единица образует связь с атомом серы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента; и где спейсерная единица связана с ММАЕ через карбаматную группу.

[0076] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства включает от 1 до 10 единиц ММАЕ на антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0077] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства включает от 2 до 8 единиц ММАЕ на антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0078] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства включает от 3 до 5 единиц ММАЕ на антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

[0079] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в

настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства включают в состав фармацевтической композиции, где фармацевтическая композиция включает фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, включающее L-гистидин, полисорбат 20 (TWEEN-20) и по меньшей мере одно из трегалозы дигидрата и сахарозы.

[0080] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, фармацевтическая композиция включает конъюгат антитела-лекарственного средства в концентрации от 1 до 20 мг/мл, от 5 до 15 мг/мл, от 8 до 12 мг/мл.

[0081] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства присутствует в концентрации приблизительно 10 мг/мл.

[0082] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, L-гистидин присутствует в диапазоне 5-50 мМ, 10-40 мМ, 15-35 мМ, 15-30 мМ или 15-25 мМ.

[0083] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, L-гистидин присутствует на уровне приблизительно 20 мМ.

[0084] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, концентрация TWEEN-20 присутствует в диапазоне от 0,001 до 0,1% (об/об), от 0,0025 до 0,075% (об/об), от 0,005 до 0,05% (об/об) или от 0,01 до 0,03% (об/об).

[0085] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, концентрация TWEEN-20 составляет приблизительно 0,02% (об/об).

[0086] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, фармацевтическая композиция включает трегалозы дигидрат.

[0087] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, трегалозы дигидрат присутствует в диапазоне 1-20% (в/об), 2-15% (в/об), 3-10% (в/об) или 4-6% (в/об).

[0088] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, трегалозы дигидрат присутствует на уровне приблизительно 5,5% (в/об).

[0089] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, трегалозы дигидрат присутствует в диапазоне от 50 мМ до 300 мМ, от 75 мМ до 250 мМ, от 100 мМ до 200 мМ или от 130 мМ до 150 мМ.

[0090] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, трегалозы дигидрат присутствует на уровне приблизительно 146 мМ.

[0091] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, фармацевтическая композиция включает сахарозу.

[0092] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в

настоящем документе, сахара присутствует в диапазоне 1-20% (в/об), 2-15% (в/об), 3-10% (в/об) или 4-6% (в/об).

[0093] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, сахара присутствует на уровне приблизительно 5,5% (в/об).

[0094] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, сахара присутствует в диапазоне от 50 мМ до 300 мМ, от 75 мМ до 250 мМ, от 100 мМ до 200 мМ или от 130 мМ до 150 мМ.

[0095] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, сахара присутствует на уровне приблизительно 146 мМ.

[0096] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, фармацевтическая композиция имеет рН в диапазоне 5,5-6,5 или 5,7-6,3.

[0097] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, фармацевтическая композиция имеет рН приблизительно 6,0.

[0098] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, рН измерен при комнатной температуре, при температуре от 15°C до 27°C, приблизительно при 4°C или приблизительно при 25°C.

[0099] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, фармацевтическая композиция включает соляную кислоту (HCl) или янтарную кислоту.

[00100] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, фармацевтическая композиция включает приблизительно 20 мМ L-гистидина, приблизительно 0,02% (в/об) TWEEN-20, приблизительно 5,5% (в/об) трегалозы дигидрата и HCl; и где рН составляет приблизительно 6,0 при 25°C.

[00101] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, фармацевтическая композиция включает приблизительно 20 мМ L-гистидина, приблизительно 0,02% (в/об) TWEEN-20, приблизительно 5,5% (в/об) трегалозы дигидрата и янтарную кислоту; и где рН составляет приблизительно 6,0 при 25°C.

[00102] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, фармацевтическая композиция включает приблизительно 20 мМ L-гистидина, приблизительно 0,02% (в/об) TWEEN-20, приблизительно 5,5% (в/об) сахарозы и HCl; и где рН составляет приблизительно 6,0 при 25°C.

[00103] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, фармацевтическая композиция включает приблизительно 20 мМ L-гистидина, приблизительно 0,02% (в/об) TWEEN-20, приблизительно 5,5% (в/об) сахарозы и янтарную кислоту; и где рН составляет приблизительно 6,0 при 25°C.

[00104] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства вводят в дозе 1-10 мг/кг массы тела субъекта, 1-5 мг/кг массы тела субъекта, 1-2,5 мг/кг массы тела субъекта

или 1-1,25 мг/кг массы тела субъекта.

[00105] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства вводят в дозе приблизительно 1 мг/кг массы тела субъекта.

[00106] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства вводят в дозе приблизительно 1,25 мг/кг массы тела субъекта.

[00107] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства вводят путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии.

[00108] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства вводят путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии приблизительно в течение 30 минут, два раза в течение каждого трехнедельного курса.

[00109] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства вводят путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии приблизительно в течение 30 минут в Дни 1 и 8 каждого трехнедельного курса.

[00110] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства вводят путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии приблизительно в течение 30 минут, три раза в течение каждого четырехнедельного курса.

[00111] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, конъюгат антитела-лекарственного средства в составе фармацевтической композиции вводят путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии приблизительно в течение 30 минут, в Дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного курса.

4. Краткое описание чертежей

[00112] На **ФИГ. 1А-Е** показаны нуклеотидные и аминокислотные последовательности белка 191P4D12 (**ФИГ. 1А**), нуклеотидные и аминокислотные последовательности тяжелой цепи (**ФИГ. 1В**) и легкая цепь (**ФИГ. 1С**) Na22-2(2,4)6.1, а также аминокислотные последовательности тяжелой цепи (**ФИГ. 1D**) и легкой цепи Na22-2(2,4)6.1 (**ФИГ. 1Е**).

[00113] На **ФИГ. 2** показана эффективность Na22-2(2,4)6.1-vcMMAE при подкожном приживлении ксенотрансплантата рака легкого человека AG-L4 у мышей с ТКИД. Результаты показывают, что лечение с применением Na22-2(2,4)6.1-vcMMAE значительно замедляло рост ксенотрансплантатов рака легкого AG-L4, имплантированных подкожно голым мышам, как в сравнении с обработанной, так и в сравнении с необработанной контрольной группой.

[00114] На **ФИГ. 3** показана эффективность Na22-2(2,4)6.1-vcMMAE в подкожном установленном человеческом ксенотрансплантате BT-483 рака молочной железы у мышей

SCID. Результаты показывают, что лечение с Na22-2(2,4)6.1-vcMMAE значительно затормозило рост ксенотрансплантатов BT-483 опухоли груди, внедренных подкожно в мышечной SCID по сравнению с леченной и невылеченной контрольной группой ADCs.

[00115] **ФИГ. 4А-Н.** Обнаружение белка 191P4D12 в пробах больного раком с помощью ИГХ. На **ФИГ. 4А-В** показаны пробы рака молочной железы. На **ФИГ. 4С-Д** показаны пробы рака легкого. На **ФИГ. 4Е-Г** показаны пробы рака пищевода. На **ФИГ. 4Г-Н** показаны пробы рака головы и шеи.

5. Подробное описание

[00116] Перед дальнейшим описанием настоящего изобретения следует понимать, что изобретение не ограничивается конкретными вариантами осуществления, представленными в настоящем документе, при этом также следует понимать, что используемая в настоящем документе терминология предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления, и не предназначена для ограничения.

5.1 Определения

[00117] Методики и процедуры, описанные или указанные в настоящем документе, включают такие, которые обычно хорошо известны и/или стандартно применяются с использованием традиционной методологии специалистами в данной области, такие как, например, широко используемые методики, описанные в справочниках Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3d ed. 2001); *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel et al. eds., 2003); *Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic* (An ed. 2009); *Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols* (Albitar ed. 2010); и *Antibody Engineering Vols 1 and 2* (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010).

[00118] Если в настоящем документе не определено иное, технические и научные термины, используемые в настоящем описании, имеют значения, которые широко известны специалистам в данной области техники. Для интерпретации настоящего описания будет применяться следующее описание терминов, и, в соответствующих случаях, термины, используемые в единственном числе, также будут включать множественное число, и наоборот. В случае, когда какое-либо описание приведенного термина противоречит какому-либо документу, включенному в настоящий документ посредством отсылки, описание термина, приведенное ниже, имеет преимущественную силу.

[00119] Термины "антитело", "иммуноглобулин" или "Ig" используются в настоящем документе взаимозаменяемо, используются в наиболее широком смысле и конкретно охватывают, например, моноклональные антитела (в том числе агонисты, антагонисты, нейтрализующие антитела, полноразмерные или интактные моноклональные антитела), композиции антител с полиэпитопной или моноэпитопной специфичностью, поликлональные или моновалентные антитела, поливалентные антитела, мультиспецифичные антитела (например, биспецифичные антитела, если они демонстрируют нужную биологическую активность), сформированные по меньшей мере из двух интактных антител, одноцепочечные антитела и их фрагменты, как описано ниже.

Антитело может быть человеческим, гуманизированным, химерным и/или с созревшей аффинностью, а также антителом других видов, например, мышинным и кроличьим, и т.д. Предполагается, что термин "антитело" включает полипептидный продукт В-клеток в пределах иммуноглобулинового класса полипептидов, способный связываться со специфическим молекулярным антигеном и состоящий из двух идентичных пар полипептидных цепей, где каждая пара содержит одну тяжелую цепь (около 50-70 кДа) и одну легкую цепь (около 25 кДа), каждая N-концевая часть каждой цепи включает переменную область, содержащую от приблизительно 100 до приблизительно 130 или больше аминокислот, и каждая C-концевая часть каждой цепи включает константную область. См., например, *Antibody Engineering* (Borrebaeck ed., 2d ed., 1995); и *Kuby, Immunology* (3d ed. 1997). В конкретных вариантах осуществления конкретный молекулярный антиген может быть связан антителом, представленным в настоящем документе, включая полипептид или эпитоп. Антитела также включают, без ограничения перечисленными, синтетические антитела, рекомбинантно полученные антитела, верблюжьи антитела, интратела, антиидиотипические (анти-Id) антитела и функциональные фрагменты (например, антигенсвязывающие фрагменты) любых из вышеперечисленных, которые относятся к части полипептида тяжелой или легкой цепи антитела, которая сохраняет часть или всю связывающую активность антитела, из которого был получен фрагмент. Неограничивающие примеры функциональных фрагментов (например, антигенсвязывающих фрагментов) включают одноцепочечные Fv (scFv) (например, включая моноспецифичные, биспецифичные и т.д.), Fab-фрагменты, F(ab')-фрагменты, F(ab)2 фрагменты, фрагменты F(ab')2, Fv-фрагменты с дисульфидной связью (dsFv), Fd-фрагменты, Fv-фрагменты, диатело, триатело, тетратело и минитело. В частности, антитела, предложенные в настоящем изобретении, включают молекулы иммуноглобулинов и иммунологически активные части молекул иммуноглобулинов, например, антигенсвязывающие домены или молекулы, которые содержат антигенсвязывающий участок, который связывается с антигеном (например, одну или больше CDR-областей антитела). Такие фрагменты антител можно найти, например, в Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (1989); Mol. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference (Myers ed., 1995); Huston et al., 1993, *Cell Biophysics* 22:189-224; Plückthun and Skerra, 1989, *Meth. Enzymol.* 178:497-515; и Day, *Advanced Immunochimistry* (2d ed. 1990). Антитела, представленные в настоящем документе, могут относиться к любому классу (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA) или любому подклассу (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) молекулы иммуноглобулина. Антитела могут быть агонистическими антителами или антагонистическими антителами.

[00120] Термин "моноклональное антитело" относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, то есть отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных природных мутаций, которые могут присутствовать в малых количествах. Моноклональные антитела обладают высокой специфичностью и направлены против одного антигенного участка. В отличие от

препаратов поликлональных антител, которые могут включать разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одной детерминанты на антигене.

[00121] "Антиген" представляет собой структуру, с которой может селективно связываться антитело. Антиген-мишень может быть полипептидом, углеводом, нуклеиновой кислотой, липидом, гаптенем или другим природным или синтетическим соединением. В некоторых вариантах осуществления антиген-мишень является полипептидом. В некоторых вариантах осуществления антиген ассоциирован с клеткой, например, присутствует на клетке или в клетке, например, раковой клетке.

[00122] "Интактное" антитело представляет собой антитело, включающее антигенсвязывающий сайт, а также CL и, по меньшей мере, константные области тяжелой цепи - CH1, CH2 и CH3. Константные области могут включать человеческие константные области или варианты их аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело имеет одну или несколько эффекторных функций.

[00123] Термины "антигенсвязывающий фрагмент", "антигенсвязывающий домен", "антигенсвязывающая область" и аналогичные термины относятся к той части антитела, которая включает аминокислотные остатки, которые взаимодействуют с антигеном и придают связывающему средству его специфичность и аффинность в отношении антигена (например, CDR). При использовании в настоящем документе термин "антигенсвязывающий фрагмент" включает "фрагмент антитела", который включает часть интактного антитела, такую как антигенсвязывающая или переменная область интактного антитела. Примеры фрагментов антител включают, без ограничения, фрагменты Fab, Fab', F(ab')₂ и Fv; диатела и ди-диатела (см., например, Holliger et al., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. 90:6444-48; Lu et al., 2005, J. Biol. Chem. 280:19665-72; Hudson et al., 2003, Nat. Med., 9:129-34, WO 93/11161 и патенты США 5,837,242 и 6,492,123); молекулы одноцепочечных антител (см., например, патенты США 4,946,778, 5,260,203, 5,482,858 и 5,476,786); антитела с двойными переменными доменами (см., например, патент США 7,612,181); антитела с одним переменным доменом (sdAb) (см., например, Woolven et al., 1999, Immunogenetics 50: 98-101; и Streltsov et al., 2004, Proc Natl Acad Sci USA. 101:12444-49); и мультиспецифичные антитела, сформированные из фрагментов антител.

[00124] Термины "связывает" или "связывание" относятся к взаимодействию между молекулами, в том числе, например, с образованием комплекса. Взаимодействия могут быть, например, нековалентными взаимодействиями, включающими водородные связи, ионные связи, гидрофобные взаимодействия и/или взаимодействия Ван-дер-Ваальса. Комплекс также может включать связывание двух или больше молекул, удерживаемых вместе ковалентными или нековалентными связями, взаимодействиями или силами. Сила суммарных нековалентных взаимодействий между одним антигенсвязывающим участком на антителе и одним эпитопом молекулы-мишени, такой как антиген, является аффинностью антитела или функционального фрагмента к этому эпитопу. Отношение скорости диссоциации (k_{off}) к скорости ассоциации (k_{on})

связывающей молекулы (например, антитела) с моновалентным антигеном ($k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$) является константой диссоциации K_D , которая обратно пропорциональна аффинности. Чем ниже значение K_D , тем выше аффинность антитела. Значение K_D отличается для разных комплексов антитела-антигена и зависит как от k_{on} , так и от k_{off} . Константа диссоциации K_D для антитела, предложенного в настоящем документе, может быть определена с помощью любого способа, представленного в настоящем документе, или любого другого способа, хорошо известного специалистам в данной области. Аффинность к одному участку связывания не всегда отражает фактическую силу взаимодействия между антителом и антигеном. Когда сложные антигены, содержащие множество повторяющихся антигенных детерминант, такие как поливалентный антиген, приходят в контакт с антителами, содержащими несколько участков связывания, взаимодействие антитела с антигеном в одном участке увеличивает вероятность реакции во втором участке. Сила таких множественных взаимодействий между мультивалентным антителом и антигеном называется авидностью.

[00125] В отношении антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанного в настоящем документе, такие термины, как "связываться с", "который специфично связывается с" и аналогичные термины, также используются в настоящем документе попеременно и относятся к связывающим молекулам антигенсвязывающих доменов, которые специфично связываются с антигеном, таким как полипептид. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается или специфично связывается с антигеном, может обладать перекрестной реактивностью с родственными антигенами. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается или специфично связывается с антигеном, не вступает в перекрестную реакцию с другими антигенами. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются или специфично связываются с антигеном, можно идентифицировать, например, с помощью иммуноанализов, Octet[®], Biacore[®] или других методов, известных специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связываются или специфично связываются с антигеном, если они связываются с антигеном с более высокой аффинностью, чем с любым перекрестно-реагирующим антигеном, как определено с использованием экспериментальных методов, таких как радиоиммуноанализ (РИА) и твердофазный иммуноферментный анализ (ИФА). Как правило, специфичная или селективная реакция будет по меньшей мере в два раза превышать фоновый сигнал или шум и может быть более чем в 10 раз выше фона. См., например, Fundamental Immunology 332-36 (Paul ed., 2d ed. 1989) по поводу обсуждения специфичности связывания. В некоторых вариантах осуществления степень связывания антитела или антигенсвязывающего фрагмента с "нецелевым" белком составляет меньше чем приблизительно 10% от связывания связывающей молекулы или антигенсвязывающего домена с их конкретным антигеном-мишенью, например, как определено с помощью анализа сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) или РИА. Что

касается таких терминов, как "специфичное связывание", "специфично связывается с" или "является специфичным к" означает связывание, которое измеримо отличается от неспецифичного взаимодействия. Специфичное связывание можно измерить, например, путем определения связывания молекулы по сравнению со связыванием контрольной молекулы, которая обычно является молекулой аналогичной структуры, которая не обладает связывающей активностью. Например, специфичное связывание можно определить по конкуренции с контрольной молекулой, которая похожа на мишень, например, избыток немеченой мишени. В этом случае специфичное связывание присутствует, если связывание меченой мишени с зондом конкурентно ингибируется избытком немеченой мишени. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с антигеном, включают такие, которые способны связывать антиген с достаточной аффинностью, благодаря чему связывающая молекула может применяться, например, в качестве диагностического средства для направленного взаимодействия с антигеном. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с антигеном, имеют константу диссоциации (K_D) меньше или равную 1000 нМ, 800 нМ, 500 нМ, 250 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 10 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ, 1 нМ, 0,9 нМ, 0,8 нМ, 0,7 нМ, 0,6 нМ, 0,5 нМ, 0,4 нМ, 0,3 нМ, 0,2 нМ или 0,1 нМ. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связываются с эпитопом антигена, который является консервативным среди антигенов разных биологических видов (например, между человеком и яванским макаком).

[00126] "Аффинность связывания" обычно относится к сумме сил нековалентных взаимодействий между одним связывающим участком молекулы (например, связывающего белка, такого как антитело) и его партнером по связыванию (например, антигеном). Если не указано иное, при использовании в настоящем документе термин "аффинность связывания" относится к собственной аффинности связывания, которая отражает взаимодействие 1:1 между членами пары связывания (например, антителом и антигеном). Аффинность связывающей молекулы X к ее партнеру по связыванию Y в общем может быть представлена константой диссоциации (K_D). Аффинность можно измерять обычными способами, известными в данной области, включая описанные в настоящем документе. Антитела с низкой аффинностью обычно связывают антиген медленно и легко диссоциируют, тогда как антитела с высокой аффинностью обычно связывают антиген быстрее и дольше остаются связанными. В данной области известны различные способы измерения аффинности связывания, любой из которых можно использовать в рамках настоящего изобретения. Конкретные иллюстративные варианты осуществления включают следующее. В одном варианте осуществления " K_D " или "значение K_D " можно измерять с помощью анализов, известных в данной области, например, с помощью анализа связывания. K_D можно измерить в РИА, который, например, проводят с Fab-версией представляющего интерес антитела и его антигена (Chen et al., 1999, J. Mol Biol 293:865-81). K_D или значение K_D также можно измерять с помощью интерферометрии биослоя (BLI) или анализов поверхностного плазмонного

резонанса (ППР) с помощью Octet[®], при использовании, например, системы Octet[®] QK384, или с помощью Biacore[®], при использовании, например, Biacore[®] TM-2000 или Biacore[®] TM-3000. "Скорость ассоциации" или "кон" также можно определять с помощью тех же способов биослойной интерферометрии (BLI) или поверхностного плазмонного резонанса (ППР), описанных выше, при использовании, например, Octet[®] QK384, Biacore[®] TM-2000 или Biacore[®] TM-3000.

[00127] В некоторых вариантах осуществления антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут содержать "химерные" последовательности, в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих из определенного вида или принадлежащих к определенному классу или подклассу антител, тогда как остальная часть цепи(ей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям антител, происходящих из другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагменты таких антител, если они демонстрируют нужную биологическую активность (см. патент США 4,816,567 и Morrison et al., 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-55).

[00128] В некоторых вариантах осуществления антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут содержать части "гуманизированных" форм нечеловеческих (например, мышиных) антител, которые представляют собой химерные антитела, которые включают человеческие иммуноглобулины (например, реципиентное антитело), в которых нативные остатки CDR заменены остатками из соответствующей CDR не относящегося к человеку вида (например, из донорного антитела), такого как мышь, крыса, кролик или не относящийся к человеку примат, обладающей требуемой специфичностью, аффинностью и связывающей способностью. В некоторых случаях один или больше остатков в FR-области иммуноглобулина человека заменены соответствующими нечеловеческими остатками. Кроме того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, которых нет в реципиентном антителе или в донорном антителе. Эти модификации вводят для дополнительного улучшения характеристик антител. Тяжелая или легкая цепь гуманизированного антитела может включать по существу все из по меньшей мере одной или больше вариабельных областей, в которых все или по существу все CDR-области соответствуют CDR-областям нечеловеческого иммуноглобулина, а все или по существу все FR-области являются FR-областями из последовательности человеческого иммуноглобулина. В некоторых вариантах осуществления гуманизированное антитело будет включать, по меньшей мере, часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, человеческого иммуноглобулина. Дополнительные подробности см. в публикациях Jones et al., 1986, Nature 321:522-25; Riechmann et al., 1988, Nature 332:323-29; Presta, 1992, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-96; Carter et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285-89; и патентах США 6,800,738; 6,719,971; 6,639,055; 6,407,213 и 6,054,297.

[00129] В некоторых вариантах осуществления антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут включать части "полностью человеческого антитела" или "человеческого антитела", где указанные термины используются в настоящем документе

попеременно и относятся к антителу, которое включает человеческую переменную область и, например, человеческую константную область. В конкретных вариантах осуществления данные термины относятся к антителу, которое включает переменную область и константную область человеческого происхождения. "Полностью человеческие" антитела в некоторых вариантах осуществления могут также включать антитела, которые связывают полипептиды и кодируются последовательностями нуклеиновых кислот, которые представляют собой природные соматические варианты гаметной последовательности нуклеиновой кислоты иммуноглобулина человека. Термин "полностью человеческое антитело" включает антитела, содержащие переменные и константные области, соответствующие гаметным последовательностям иммуноглобулина человека, как описано в публикации Кэбата с соавт. (см. Kabat et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). "Человеческое антитело" является антителом, которое обладает аминокислотной последовательностью, соответствующей последовательности антитела, вырабатываемого в организме человека и/или полученного с применением любого из способов получения человеческих антител. Это определение человеческого антитела прямо исключает гуманизированное антитело, включающее нечеловеческие антигенсвязывающие остатки. Человеческие антитела могут быть получены с использованием различных методов, известных в данной области, включая библиотеки фагового дисплея (Hoogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol. 227:381; Marks et al., 1991, J. Mol. Biol. 222: 581) и библиотеки дрожжевого дисплея (Chao et al., 2006, Nature Protocols 1: 755-68). Также доступны для получения человеческих моноклональных антител способы, описанные в Cole et al., Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 77 (1985); Boerner et al., 1991, J. Immunol. 147(1):86-95; и van Dijk and van de Winkel, 2001, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74. Человеческие антитела могут быть получены путем введения антигена трансгенному животному, которое было модифицировано для продукции таких антител в ответ на антигенную стимуляцию, но у которого эндогенные локусы были выключены, например, мышам (см., например, Jakobovits, 1995, Curr. Opin. (Biotechnol. 6(5):561-66; Brüggemann and Taussing, 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8(4):455-58 и патенты США 6,075,181 и 6,150,584, в которых рассматривается технология XENOMOUSE™). См. также, например, Li et al., 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:3557-62 касательно человеческих антител, полученных с помощью технологии гибридом на основе В-клеток человека.

[00130] В некоторых вариантах осуществления антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут включать части "рекомбинантного человеческого антитела", где указанная фраза включает человеческие антитела, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными способами, такие как антитела, экспрессированные с использованием рекомбинантного вектора экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяина, антитела, выделенные из комбинаторной библиотеки рекомбинантных антител человека, антитела, выделенные у животного

(например, мышцы или коровы), которое является трансгенным и/или трансхромосомным по генам иммуноглобулинов человека (см., например, Taylor, L. D. et al. (1992) *Nucl. Acids Res.* 20:6287-6295), или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любыми другими способами, которые включают сплайсинг последовательностей генов иммуноглобулинов человека с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные антитела человека могут иметь переменные и константные области, происходящие из гаметных последовательностей иммуноглобулинов человека (см. Kabat, E. A. et al. (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). Однако в некоторых вариантах осуществления такие рекомбинантные антитела человека подвергают мутагенезу *in vitro* (или, если используется животное, трансгенное по последовательностям Ig человека, соматическому мутагенезу *in vivo*), и, таким образом, аминокислотные последовательности областей VH и VL рекомбинантного антитела представляют собой последовательности, которые, несмотря на то что они происходят из гаметных последовательностей VH и VL человека и являются родственными с ними, могут не существовать в природном гаметном репертуаре человеческих антител *in vivo*.

[00131] В некоторых вариантах осуществления изобретения антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут включать часть "моноклонального антитела", где указанный термин, используемый в настоящем документе, относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, например, отдельные антитела, содержащиеся в популяции, являются идентичными, за исключением возможных природных мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах, при этом каждое моноклональное антитело обычно распознает один эпитоп на антигене. В конкретных вариантах осуществления "моноклональное антитело", при использовании в настоящем документе, является антителом, продуцируемым отдельной гибридомой или другой клеткой. Термин "моноклональное" не ограничен каким-либо конкретным способом получения антитела. Например, моноклональные антитела, используемые в настоящем изобретении, могут быть получены с помощью методики гибридом, впервые описанной в публикации Kohler et al., 1975, *Nature* 256:495, или могут быть получены с использованием методов рекомбинантных ДНК в бактериальных или эукариотических клетках животных или растений (см., например, патент США 4,816,567). "Моноклональные антитела" также могут быть выделены из фаговых библиотек антител с использованием методов, описанных, например, в Clackson et al., 1991, *Nature* 352:624-28 и Marks et al., 1991, *J. Mol. Biol.* 222:581-97. Другие способы получения клональных клеточных линий и экспрессируемых ими моноклональных антител хорошо известны в уровне техники. См., например, *Short Protocols in Molecular Biology* (Ausubel et al. eds., 5th ed. 2002).

[00132] Типичная единица 4-цепочечного антитела представляет собой гетеротетрамерный гликопротеин, состоящий из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. В случае IgG 4-цепочечная единица обычно имеет массу

около 150000 дальтон. Каждая L-цепь связана с H-цепью одной ковалентной дисульфидной связью, при этом две H-цепи связаны друг с другом одной или больше дисульфидными связями, в зависимости от изотипа H-цепи. Каждая цепь H и L также содержит расположенные с регулярными интервалами внутрицепочечные дисульфидные мостики. Каждая H-цепь имеет на N-конце варибельный домен (VH), после которого располагаются три константных домена (CH) для каждой из α и γ цепей и четыре CH-домена для изотипов μ и ϵ . Каждая L-цепь имеет на N-конце варибельный домен (VL), после которого на другом конце располагается константный домен (CL). VL выравнена с VH, а CL выравнена с первым константным доменом тяжелой цепи (CH1). Считается, что определенные аминокислотные остатки образуют поверхность контакта между варибельными доменами легкой цепи и тяжелой цепи. Спаривание VH и VL друг с другом образует один антигенсвязывающий участок. По поводу структуры и свойств различных классов антител см., например, *Basic and Clinical Immunology* 71 (Stites et al. eds., 8th ed. 1994); и *Immunobiology* (Janeway et al. eds., 5th ed. 2001).

[00133] Термин "Fab" или "Fab-область" относится к области антитела, которая связывается с антигенами. Обычный IgG, как правило, содержит две области Fab, каждая из которых расположена на одном из двух плеч Y-образной структуры IgG. Каждая Fab-область обычно состоит из одной варибельной области и одной константной области каждой тяжелой и легкой цепи. Более конкретно, варибельная область и константная область тяжелой цепи в области Fab представляют собой области VH и CH1, а варибельная область и константная область легкой цепи в области Fab представляют собой области VL и CL. VH, CH1, VL и CL в Fab-области могут быть расположены разными способами для придания антигенсвязывающей способности в соответствии с настоящим изобретением. Например, области VH и CH1 могут быть на одном полипептиде, а области VL и CL могут быть на отдельном полипептиде, аналогично Fab-области обычного IgG. В альтернативе все области VH, CH1, VL и CL могут быть на одном и том же полипептиде и ориентированы в разном порядке, как более подробно описано в разделах ниже.

[00134] Термин "варибельная область", "варибельный домен", "V-область" или "V-домен" относится к части легкой или тяжелой цепи антитела, которая обычно расположена на N-конце легкой цепи или тяжелой цепи и имеет длину приблизительно от 120 до 130 аминокислот в тяжелой цепи и приблизительно от 100 до 110 аминокислот в легкой цепи и используется для связывания и специфичности каждого конкретного антитела со своим конкретным антигеном. Варибельная область тяжелой цепи может быть обозначена как "VH". Варибельная область легкой цепи может быть обозначена как "VL". Термин "варибельный" относится к тому факту, что определенные сегменты варибельных областей сильно различаются по последовательности среди антител. V-область опосредует связывание антигена и определяет специфичность конкретного антитела по отношению к его конкретному антигену. Однако варибельность не распределена равномерно по длине 110-аминокислотной последовательности

вариабельных областей. Вместо этого V-области состоят из менее вариабельных (например, относительно инвариантных) участков, называемых каркасными областями (FR), длиной примерно по 15-30 аминокислот, разделенных более короткими областями с более высокой вариабельностью (например, крайней вариабельностью), называемыми "гипервариабельными" областями", каждая из которых имеет длину приблизительно 9-12 аминокислот. Каждая из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей содержит четыре FR, которые в значительной степени имеют конфигурацию β -слоя, соединенные тремя гипервариабельными областями, которые образуют петли, соединяющие структуру β -слоя, и в некоторых случаях являются ее частью. Гипервариабельные области в каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости FR-областями и, вместе с гипервариабельными областями из другой цепи, вносят вклад в формирование антигенсвязывающего участка антител (см., например, Kabat et al., *Sequences of Proteins of Immunological Interest* (5th ed. 1991)). Константные области не участвуют непосредственно в связывании антитела с антигеном, но демонстрируют различные эффекторные функции, такие как участие антитела в антителозависимой клеточной цитотоксичности (ADCC) и комплементзависимой цитотоксичности (CDC). Вариабельные области сильно различаются по последовательности между разными антителами. В конкретных вариантах осуществления вариабельная область представляет собой вариабельную область человека.

[00135] Термин "нумерация остатков вариабельной области по Кэбату" или "нумерация положений аминокислот по Кэбату" и его варианты относятся к системе нумерации, используемой для вариабельных областей тяжелой цепи или вариабельных областей легкой цепи сборки антител в публикации Kabat et al., см. выше. При использовании этой системы нумерации фактическая линейная аминокислотная последовательность может содержать меньше или дополнительные аминокислоты, что соответствует укорочению или вставке в FR или CDR вариабельного домена. Например, вариабельный домен тяжелой цепи может включать вставку одной аминокислоты (остаток 52a по Кэбату) после остатка 52 и три вставленных остатка (например, остатки 82a, 82b и 82c и т.д. по Кэбату) после остатка 82. Нумерация остатков по Кэбату может быть определена для данного антитела при выравнивании участков гомологии последовательности антитела со "стандартной" нумерацией последовательности по Кэбату. Система нумерации Кэбата обычно используется для обозначения остатка в вариабельном домене (приблизительно остатков 1-107 легкой цепи и остатков 1-113 тяжелой цепи) (например, Kabat et al., см. выше). "Система нумерации EU" или "индекс EU" обычно используется применительно к константной области тяжелой цепи иммуноглобулина (например, индекс EU, описанный в публикации Kabat et al., см. выше). "Индекс EU по Кэбату" относится к нумерации остатков человеческого IgG 1 EU антитела. Были описаны другие системы нумерации, например, AbM, Чотиа, Контакт, IMGT и AHon.

[00136] Термин "тяжелая цепь" при использовании в отношении антитела относится к полипептидной цепи массой приблизительно 50-70 кДа, где N-концевая часть

включает вариабельную область длиной приблизительно от 120 до 130 или больше аминокислот, и С-концевая часть включает константную область. Константная область может быть одного из пяти разных типов (например, изотипов), обозначаемых как альфа (α), дельта (δ), эпсилон (ϵ), гамма (γ) и мю (μ), в зависимости от аминокислотной последовательности константной области тяжелой цепи. Отдельные тяжелые цепи отличаются по размеру: α , δ и γ содержат примерно 450 аминокислот, тогда как μ и ϵ содержат примерно 550 аминокислот. В комбинации с легкой цепью эти разные типы тяжелых цепей дают пять хорошо известных классов (например, изотипов) антител: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, соответственно, включая четыре субкласса IgG, а именно IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

[00137] Термин "легкая цепь" при использовании в отношении антитела относится к полипептидной цепи с молекулярной массой около 25 кДа, где N-концевая часть включает вариабельную область, содержащую от приблизительно 100 до приблизительно 110 или больше аминокислот, и С-концевая часть включает константную область. Приблизительная длина легкой цепи составляет от 211 до 217 аминокислот. Существует два разных типа, называемых каппа (κ) или лямбда (λ) в зависимости от аминокислотной последовательности константных доменов.

[00138] При использовании в настоящем документе термины "гипервариабельная область", "HVR", "определяющая комплементарность область" и "CDR" используются взаимозаменяемо. "CDR" относится к одной из трех гипервариабельных областей (H1, H2 или H3) в некаркасной области β -складчатого каркаса VH иммуноглобулина (Ig или антитела) или к одной из трех гипервариабельных областей (L1, L2 или L3) в некаркасной области β -складчатого каркаса VL антитела. Таким образом, CDR-области представляют собой последовательности вариабельной области, распределенные между последовательностями каркасной области.

[00139] CDR-области хорошо известны специалистам и были определены с помощью хорошо известных систем нумерации. Например, определяющие комплементарность области по Кэбату (CDR) основаны на вариабельности последовательностей и наиболее часто используются (см., например, Kabat et al., см. выше). Вместо этого система, предложенная Чотиа, относится к расположению структурных петель (см., например, Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17). Конец петли CDR-H1 Чотиа при нумерации с использованием соглашения по нумерации согласно Кэбату варьирует между H32 и H34 в зависимости от длины петли (это связано с тем, что схема нумерации Кэбата помещает вставки в H35A и H35B; если нет ни 35A, ни 35B, петля заканчивается на 32; если присутствует только 35A, петля заканчивается на 33; если присутствуют и 35A, и 35B, петля заканчивается на 34). Гипервариабельные области AbM представляют собой компромисс между CDR Кэбата и структурными петлями Чотиа и используются в программе моделирования антител Oxford Molecular's AbM (см., например, Antibody Engineering Vol. 2 (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010)). "Контактные" гипервариабельные области основаны на анализе имеющихся сложных

кристаллических структур. Другой универсальной системой нумерации, которая была разработана и получила широкое распространение, является система ImMunoGeneTics (IMGT) Information System[®] (Lefranc et al., 2003, Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77). IMGT представляет собой интегрированную информационную систему, специализирующуюся на иммуноглобулинах (IG), Т-клеточных рецепторах (TCR) и главном комплексе гистосовместимости (МНС) человека и других позвоночных. В настоящем описании CDR-области указаны как в аминокислотной последовательности, так и в положениях в легкой или тяжелой цепи. Поскольку "расположение" CDR-областей в структуре вариабельного домена иммуноглобулина является консервативным у организмов различных видов и присутствует в структурах, называемых петлями, то при помощи систем нумерации, которые выравнивают последовательности вариабельных доменов в соответствии со структурными особенностями, остатки CDR и каркасных областей можно легко идентифицировать. Эта информация может использоваться для перевивания и замены остатков CDR иммуноглобулинов одного вида в акцепторный каркас, как правило, человеческого антитела. Дополнительная система нумерации (AHon) была разработана Аннемарией Хонеггер и Андреасом Плюктуном (Honegger and Plückthun, 2001, J. Mol. Biol. 309: 657-70). Соответствие между системой нумерации, включающей, например, нумерацию Кэбата и уникальную систему нумерации IMGT, хорошо известно специалистам в данной области техники (см., например, Kabat, выше; Chothia and Lesk, выше; Martin, выше; Lefranc et al., выше). Остатки из каждой из этих гипервариабельных областей или CDR-областей указаны ниже в Таблице 1.

Таблица 1

	Кэбат	AbM	Чотиа	Контакт	IMGT
CDR L1	L24-L34	L24-L34	L24-L34	L30-L36	L27-L38
CDR L2	L50-L56	L50-L56	L50-L56	L46-L55	L56-L65
CDR L3	L89-L97	L89-L97	L89-L97	L89-L96	L105-L117
CDR H1	H31-H35B (Нумерация Кэбата)	H26-H35B	H26-H32..34	H30-H35B	H27-H38
CDR H1	H31-H35 (Нумерация Чотиа)	H26-H35	H26-H32	H30-H35	
CDR H2	H50-H65	H50-H58	H52-H56	H47-H58	H56-H65
CDR H3	H95-H102	H95-H102	H95-H102	H93-H101	H105-H117

[00140] Границы данной CDR могут изменяться в зависимости от схемы, используемой для идентификации. Таким образом, если не указано иное, термины "CDR" и "определяющая комплементарность область" данного антитела или его области, такие как вариабельная область, а также отдельные CDR-области (например, CDR-H1, CDR-H2) следует понимать, что антитело или его область охватывают определяющую комплементарность область, определенную с применением любой из известных схем, описанных выше. В некоторых случаях схема идентификации конкретной CDR-области

или CDR-областей указана, например, как CDR, определенная методом Кэбата, Чотиа или Контакт. В других случаях приводится конкретная аминокислотная последовательность CDR.

[00141] Гипервариабельные области могут включать "расширенные гипервариабельные области", такие как следующие: 24-36 или 24-34 (L1), 46-56 или 50-56 (L2) и 89-97 или 89-96 (L3) в VL, и 26-35 или 26-35A (H1), 50-65 или 49-65 (H2) и 93-102, 94-102 или 95-102 (H3) в VH.

[00142] Термин "константная область" или "константный домен" относится к С-концевой части легкой и тяжелой цепи, которая не участвует непосредственно в связывании антитела с антигеном, но демонстрирует различные эффекторные функции, такие как взаимодействие с Fc-рецептором. Термин относится к части молекулы иммуноглобулина, включающей более консервативную аминокислотную последовательность по сравнению с другой частью иммуноглобулина, вариабельной областью, которая содержит участок связывания антигена. Константная область может содержать области CH1, CH2 и CH3 тяжелой цепи и область CL легкой цепи.

[00143] Термин "каркас" или "FR" относится к таким остаткам вариабельной области, которые фланкируют CDR-области. Остатки FR присутствуют, например, в химерных, гуманизированных, человеческих, доменных антителах, диателах, линейных антителах и биспецифичных антителах. Остатки FR представляют собой остатки вариабельного домена, отличные от остатков гипервариабельной области или остатков CDR.

[00144] Термин "Fc-область" в настоящем документе используется для определения С-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, включающей, например, Fc-области с нативной последовательностью, рекомбинантные Fc-области и варианты Fc-области. Хотя границы Fc-области тяжелой цепи иммуноглобулина могут изменяться, часто определяют, что Fc-область тяжелой цепи IgG человека идет от аминокислотного остатка в положении Cys226 или от Pro230 до своего С-конца. С-концевой лизин (остаток 447 в соответствии с системой нумерации EU) Fc-области может быть удален, например, в процессе получения или очистки антитела или путем рекомбинантного конструирования нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела. Таким образом, композиция интактных антител может включать популяции антител с удалением всех остатков K447, популяции антител без удаления остатков K447 и популяции антител, содержащие комбинацию антител с остатком K447 и без него. "Функциональная Fc-область" обладает "эффекторной функцией" Fc-области с нативной последовательностью. Примеры "эффекторных функций" включают связывание C1q; CDC; связывание Fc-рецептора; ADCC; фагоцитоз; снижение рецепторов клеточной поверхности (например, В-клеточного рецептора) и т.д. Такие эффекторные функции обычно требуют, чтобы Fc-область была объединена со связывающей областью или связывающим доменом (например, вариабельной областью или доменом антитела), и могут быть оценены с помощью различных анализов, известных специалистам в данной

области. "Вариантная Fc-область" включает аминокислотную последовательность, которая отличается от нативной последовательности Fc-области присутствием по меньшей мере одной аминокислотной модификацией (например, замены, добавления или делеции). В некоторых вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с Fc-областью с нативной последовательностью или Fc-областью исходного полипептида, например, от приблизительно одной до приблизительно десяти аминокислотных замен или от приблизительно одной до приблизительно пяти аминокислотных замен в Fc-области нативной последовательности или в Fc-области исходного полипептида. Вариантная Fc-область в настоящем документе может обладать по меньшей мере примерно 80% гомологией с Fc-областью с нативной последовательностью и/или с Fc-областью исходного полипептида, или по меньшей мере приблизительно 90% гомологией с ними, например, по меньшей мере приблизительно 95% гомологией с ними.

[00145] При использовании в настоящем документе термин "эпитоп" представляет собой термин из уровня техники и относится к локализованной области антигена, с которой может специфично связываться связывающая молекула (например, антитело). Эпитоп может быть линейным эпитопом или конформационным, нелинейным или прерывистым эпитопом. В случае полипептидного антигена, например, эпитоп может представлять собой последовательные аминокислоты полипептида ("линейный" эпитоп) или эпитоп может включать аминокислоты из двух или более несмежных областей полипептида ("конформационный", "нелинейный" или "прерывистый" эпитоп). Специалисту в данной области будет понятно, что, как правило, линейный эпитоп может зависеть или не зависеть от вторичной, третичной или четвертичной структуры. Например, в некоторых вариантах осуществления связывающая молекула связывается с группой аминокислот независимо от того, свернуты ли они в естественную трехмерную белковую структуру. В других вариантах осуществления связывающая молекула требует, чтобы аминокислотные остатки, составляющие эпитоп, демонстрировали определенную конформацию (например, изгиб, скручивание, поворот или складку) для распознавания и связывания эпитопа.

[00146] Термины "полипептид", "пептид" и "белок" используются в настоящем документе попеременно и относятся к полимерам из аминокислот любой длины. Полимер может быть линейным или разветвленным, он может включать модифицированные аминокислоты и может быть прерван неаминокислотами. Эти термины также охватывают полимер из аминокислот, который был модифицирован естественным путем или путем вмешательства; например, образование дисульфидной связи, гликозилирование, липидирование, ацетилирование, фосфорилирование или любые другие манипуляции или модификации. Также данное определение включает, например, полипептиды, содержащие один или более аналогов аминокислоты, включающие, помимо прочего, неприродные аминокислоты, а также другие модификации, известные в данной области. Следует понимать, что, поскольку полипептиды согласно настоящему описанию могут быть

основаны на антителах или других членах суперсемейства иммуноглобулинов, в некоторых вариантах осуществления "полипептид" может встречаться в виде одной цепи или в виде двух или более связанных цепей.

[00147] Термин "фармацевтически приемлемый" при использовании в настоящем документе, означает получение регистрации, выданной регулирующим органом федерального правительства или правительства штата, или включен в Фармакопею США, Европейскую фармакопею или другую общепризнанную фармакопею для применения у животных, и, в частности, человека.

[00148] "Вспомогательное вещество" означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, растворитель или инкапсулирующий материал. Вспомогательные вещества включают, например, инкапсулирующие материалы или добавки, такие как ускорители абсорбции, антиоксиданты, связующие вещества, буферы, носители, вещества для получения покрытия, красители, разбавители, разрыхлители, эмульгаторы, сухие разбавители, наполнители, ароматизаторы, увлажняющие вещества, смазывающие вещества, отдушки, консерванты, пропелленты, разделительные вещества, стерилизующие вещества, подсластители, солюбилизаторы, смачивающие вещества и их смеси. Термин "вспомогательное вещество" может также относиться к разбавителю, адьюванту (например, адьюванту Фрейнда (полному или неполному) или растворителю.

[00149] В одном варианте осуществления каждый компонент является "фармацевтически приемлемым" в том смысле, что он совместим с другими ингредиентами фармацевтического состава и подходит для применения в контакте с тканями или органами человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции, иммуногенности или других проблем или осложнений, в соответствии с разумным соотношением пользы/риска. См., например, Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005; Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th ed.; Rowe et al., Eds.; The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2009; Handbook of Pharmaceutical Additives, 3rd ed.; Ash and Ash Eds.; Gower Publishing Company: 2007; Pharmaceutical Preformulation and Formulation, 2nd ed.; Gibson Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2009. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества являются нетоксичными для клетки или млекопитающего, подвергающихся их воздействию, в применяемых дозах и концентрациях. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество представляет собой водный pH-буферный раствор.

[00150] Сокращение "ММАЕ" относится к монометилауристатину Е.

[00151] Если не указано иное, термин "алкил" относится к насыщенному углеводороду с прямой или разветвленной цепью, включающему от приблизительно 1 до приблизительно 20 атомов углерода (и все комбинации и подкомбинации диапазонов и конкретных количеств атомов углерода в них), где предпочтительное количество атомов углерода составляет от приблизительно 1 до приблизительно 8. Примерами алкильных

групп является метил, этил, н-пропил, изопропил, н-бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, н-пентил, 2-пентил, 3-пентил, 2-метил-2-бутил, н-гексил, н-гептил, н-октил, н-нонил, н-децил, 3-метил-2-бутил, 3-метил-1-бутил, 2-метил-1-бутил, 1-гексил, 2-гексил, 3-гексил, 2-метил-2-пентил, 3-метил-2-пентил, 4-метил-2-пентил, 3-метил-3-пентил, 2-метил-3-пентил, 2,3-диметил-2-бутил и 3,3-диметил-2-бутил. Алкильные группы, отдельно или в качестве части другой группы, необязательно могут быть замещены одной или больше группами, предпочтительно 1-3 группами (и любыми дополнительными заместителями, выбранными из галогена), включающими, без ограничения перечисленными, -галоген, $-O-(C_1-C_8 \text{ алкил})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкенил})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкинил})$, -арил, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-SR'$, $-SO_3R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $=O$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ и $-CN$, где каждый R' независимо выбран из $-H$, $-C_1-C_8 \text{ алкила}$, $-C_2-C_8 \text{ алкенила}$, $-C_2-C_8 \text{ алкинила}$ или -арила, и где указанные $-O-(C_1-C_8 \text{ алкильные})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкенильные})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкинильные})$, -арильные, $-C_1-C_8 \text{ алкильные}$, $-C_2-C_8 \text{ алкенильные}$ и $-C_2-C_8 \text{ алкинильные}$ группы необязательно могут быть дополнительно замещены одной или более группами, включающими, без ограничения, $-C_1-C_8 \text{ алкил}$, $-C_2-C_8 \text{ алкенил}$, $-C_2-C_8 \text{ алкинил}$, -галоген, $-O-(C_1-C_8 \text{ алкил})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкенил})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкинил})$, -арил, $-C(O)R''$, $-OC(O)R''$, $-C(O)OR''$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR''$, $-C(O)N(R'')_2$, $-NHC(O)R''$, $-SR''$, $-SO_3R''$, $-S(O)_2R''$, $-S(O)R''$, $-OH$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R'')$, $-N(R'')_2$ и $-CN$, где каждый R'' независимо выбран из $-H$, $-C_1-C_8 \text{ алкила}$, $-C_2-C_8 \text{ алкенила}$, $-C_2-C_8 \text{ алкинила}$ или -арила.

[00152] Если не указано иное, термины "алкенил" и "алкинил" относятся к прямым и разветвленным углеродным цепям, включающим от приблизительно 2 до приблизительно 20 атомов углерода (и все комбинации и подкомбинации диапазонов и определенные количества атомов углерода в них), где предпочтительное количество атомов углерода составляет от приблизительно 2 до приблизительно 8. Алкенильная цепь содержит по меньшей мере одну двойную связь в цепи, а алкинильная цепь содержит по меньшей мере одну тройную связь в цепи. Примеры алкенильных групп включают, без ограничения, этилен или винил, аллил, -1-бутенил, -2-бутенил, -изобутиленил, -1-пентенил, -2-пентенил, -3-метил-1-бутенил, -2-метил-2-бутенил и 2,3-диметил-2-бутенил. Примеры алкинильных групп включают, без ограничения, ацетиленовую, пропаргил, ацетиленил, пропилил, -1-бутинил, -2-бутинил, -1-пентинил, -2-пентинил и 3-метил-1-бутинил. Алкенильные и алкинильные группы, отдельно или в качестве части другой группы, могут быть необязательно замещены одной или более группами, предпочтительно 1-3 группами (и любыми дополнительными заместителями, выбранными из галогена), включающими, без ограничения, -галоген, $-O-(C_1-C_8 \text{ алкил})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкенил})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкинил})$, -арил, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-SR'$, $-SO_3R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $=O$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ и $-CN$, где каждый R' независимо выбран из $-H$, $-C_1-C_8 \text{ алкила}$, $-C_2-C_8 \text{ алкенила}$, $-C_2-C_8 \text{ алкинила}$ или -арила, и где указанные $-O-(C_1-C_8 \text{ алкильные})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкенильные})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкинильные})$, -арильные, $-C_1-C_8 \text{ алкильные}$, $-C_2-C_8 \text{ алкенильные}$ и $-C_2-C_8 \text{ алкинильные}$

группы могут быть необязательно дополнительно замещены одним или более заместителями, включающими, без ограничения, $-C_1-C_8$ алкил, $-C_2-C_8$ алкенил, $-C_2-C_8$ алкинил, -галоген, $-O-(C_1-C_8 \text{ алкил})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкенил})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкинил})$, -арил, $-C(O)R''$, $-OC(O)R''$, $-C(O)OR''$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR''$, $C(O)N(R'')_2$, $-NHC(O)R''$, $-SR''$, $-SO_3R''$, $-S(O)_2R''$, $-S(O)R''$, $-OH$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R'')$, $-N(R'')_2$ и $-CN$, где каждый R'' независимо выбран из $-H$, $-C_1-C_8$ алкила, $-C_2-C_8$ алкенила, $-C_2-C_8$ алкинила или -арила.

[00153] Если не указано иное, термин "алкилен" относится к насыщенному углеводородному радикалу с разветвленной или прямой цепью, включающему от приблизительно 1 до приблизительно 20 атомов углерода (и все комбинации и подкомбинации диапазонов и определенные количества атомов углерода в них), где предпочтительное количество атомов углерода составляет от приблизительно 1 до приблизительно 8, и присутствуют два моновалентных радикальных центра, образованных в результате удаления двух атомов водорода от одного или двух разных атомов углерода исходного алкана. Типичные алкилены включают, без ограничения перечисленными, метилен, этилен, пропилен, бутилен, пентилен, гексилен, гептилен, октилен, нонилен, декален, 1,4-циклогексилен и т.п. Алкиленовые группы, отдельно или в качестве части другой группы, могут быть необязательно замещены одной или более группами, предпочтительно 1-3 группами (и любыми дополнительными заместителями, выбранными из галогена), включающими, без ограничения, -галоген, $-O-(C_1-C_8 \text{ алкил})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкенил})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкинил})$, -арил, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-SR'$, $-SO_3R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $=O$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ и $-CN$, где каждый R' независимо выбран из $-H$, $-C_1-C_8$ алкила, $-C_2-C_8$ алкенила, $-C_2-C_8$ алкинила или -арила, и где указанные $-O-(C_1-C_8 \text{ алкильные})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкенильные})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкинильные})$, -арильные, $-C_1-C_8 \text{ алкильные}$, $-C_2-C_8 \text{ алкенильные}$ и $-C_2-C_8 \text{ алкинильные}$ группы могут быть дополнительно необязательно замещены одним или более заместителями, включающими, без ограничения, $-C_1-C_8$ алкил, $-C_2-C_8$ алкенил, $-C_2-C_8$ алкинил, -галоген, $-O-(C_1-C_8 \text{ алкил})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкенил})$, $-O-(C_2-C_8 \text{ алкинил})$, -арил, $-C(O)R''$, $-OC(O)R''$, $-C(O)OR''$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR''$, $-C(O)N(R'')_2$, $-NHC(O)R''$, $-SR''$, $-SO_3R''$, $-S(O)_2R''$, $-S(O)R''$, $-OH$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R'')$, $-N(R'')_2$ и $-CN$, где каждый R'' независимо выбран из $-H$, $-C_1-C_8$ алкила, $-C_2-C_8$ алкенила, $-C_2-C_8$ алкинила или -арила.

[00154] Если не указано иное, термин "алкенилен" относится к необязательно замещенной алкиленовой группе, содержащей по меньшей мере одну углерод-углеродную двойную связь. Примеры алкениленовой группы включают, например, этенилен ($-CH=CH-$) и пропенилен ($-CH=CHCH_2-$).

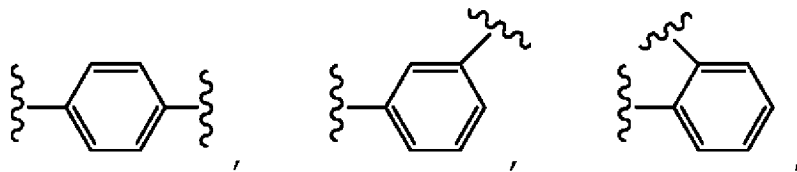
[00155] Если не указано иное, термин "алкинилен" относится к необязательно замещенной алкиленовой группе, содержащей по меньшей мере одну углерод-углеродную тройную связь. Примеры алкиниленовой группы включают, например, ацетилен ($C\equiv C$), пропаргил ($CH_2C\equiv C$) и 4-пентинил ($CH_2CH_2CH_2C\equiv CH$).

[00156] Если не указано иное, термин "арил" относится к моновалентному ароматическому углеводородному радикалу из 6-20 атомов углерода (и все комбинации и

подкомбинации диапазонов и определенные количества атомов углерода в них), образованному в результате удаления одного атома водорода от одного атома углерода исходной ароматической кольцевой системы. Некоторые арильные группы представлены в иллюстративных структурах как "Ar". Типичные арильные группы включают, без ограничения, радикалы, полученные из бензола, замещенного бензола, фенила, нафталина, антрацена, бифенила и т.п.

[00157] Арильная группа, отдельно или в качестве части другой группы, необязательно может быть замещена одной или больше, предпочтительно 1-5, или даже 1-2 группами, включающими, без ограничения, -галоген, $-C_1-C_8$ алкил, $-C_2-C_8$ алкенил, $-C_2-C_8$ алкинил, $-O-(C_1-C_8$ алкил), $-O-(C_2-C_8$ алкенил), $-O-(C_2-C_8$ алкинил), -арил, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $-C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-SR'$, $-SO_3R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-NO_2$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ и $-CN$, где каждый R' независимо выбран из $-H$, $-C_1-C_8$ алкила, $-C_2-C_8$ алкенила, $-C_2-C_8$ алкинила или -арила, и где указанные $-C_1-C_8$ алкильные, $-C_2-C_8$ алкенильные, $-C_2-C_8$ алкинильные, $O-(C_1-C_8$ алкильные), $-O-(C_2-C_8$ алкенильные), $-O-(C_2-C_8$ алкинильные) и -арильные группы могут быть дополнительно необязательно замещены одним или более заместителями, включающими, без ограничения, $-C_1-C_8$ алкил, $-C_2-C_8$ алкенил, $-C_2-C_8$ алкинил, -галоген, $-O-(C_1-C_8$ алкил), $-O-(C_2-C_8$ алкенил), $-O-(C_2-C_8$ алкинил), -арил, $-C(O)R''$, $-OC(O)R''$, $-C(O)OR''$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR''$, $-C(O)N(R'')_2$, $-NHC(O)R''$, $-SR''$, $-SO_3R''$, $-S(O)_2R''$, $-S(O)R''$, $-OH$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R'')$, $-N(R'')_2$ и $-CN$, где каждый R'' независимо выбран из $-H$, $-C_1-C_8$ алкила, $-C_2-C_8$ алкенила, $-C_2-C_8$ алкинила или -арила.

[00158] Если не указано иное, термин "арилен" относится к необязательно замещенной арильной группе, которая является двухвалентной (т.е. образована в результате удаления двух атомов водорода от одного или двух разных атомов углерода исходной ароматической кольцевой системы) и может находиться в орто, мета или пара конфигурациях, как показано в следующих структурах с фенилом в качестве иллюстративной арильной группы.



Типичный " $-(C_1-C_8$ алкилен)арильные", " $-(C_2-C_8$ алкенилен)арильные" и " $-(C_2-C_8$ алкинилен)арильные" группы включают, без ограничения перечисленными, бензил, 2-фенилэтан-1-ил, 2-фенилэтен-1-ил, нафтилметил, 2-нафтилэтан-1-ил, 2-нафтилэтен-1-ил, нафтобензил, 2-нафтофенилэтан-1-ил и т.п.

[00159] Если не указано иное, термин "гетероцикл" относится к моноциклической, бициклической или полициклической кольцевой системе, содержащей от 3 до 14 атомов кольца (также называемых членами кольца), где по меньшей мере один атом кольца, по меньшей мере в одном кольце, представляет собой гетероатом, выбранный из N, O, P или S (и всех комбинаций и подкомбинаций диапазонов и определенных количеств атомов

углерода и гетероатомов в них). Гетероцикл может содержать от 1 до 4 гетероатомов кольца, независимо выбранных из N, O, P или S. Один или несколько атомов N, S или S в гетероцикле могут быть окисленными. Моноциклический гетероцикл предпочтительно содержит от 3 до 7 членов в кольце (например, от 2 до 6 атомов углерода и от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из N, O, P или S), а бициклический гетероцикл предпочтительно содержит от 5 до 10 членов в кольце (например, от 4 до 9 атомов углерода и от 1 до 3 гетероатомов, независимо выбранных из N, O, P или S). Кольцо, которое включает гетероатом, может быть ароматическим или неароматическим. Если не указано иное, гетероцикл присоединен к боковой группе у любого гетероатома или атома углерода, что приводит к стабильной структуре. Гетероциклы описаны в Paquette, "Principles of Modern Heterocyclic Chemistry" (W.A. Benjamin, New York, 1968), в частности в Главах 1, 3, 4, 6, 7 и 9; "The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs" (John Wiley & Sons, New York, 1950 по настоящее время), в частности в Томах 13, 14, 16, 19 и 28; и J. Am. Chem. Soc. 82:5566 (1960). Примеры "гетероциклических" групп включают, в качестве неограничивающего примера, пиридил, дигидропиридил, тетрагидропиридил (пиперидил), тиазолил, пиримидинил, фуранил, тиенил, пирролил, пиразолил, имидазолил, тетразолил, бензофуранил, тианафталинил, индолил, индоленил, хинолинил, изохинолинил, бензимидазолил, пиперидинил, 4-пиперидонил, пирролидинил, 2-пирролидонил, пирролинил, тетрагидрофуранил, бис-тетрагидрофуранил, тетрагидропиранил, бис-тетрагидропиранил, тетрагидрохинолинил, тетрагидроизохинолинил, декагидрохинолинил, октагидроизохинолинил, азоцинил, триазилил, 6H-1,2,5-тиадиазинил, 2H,6H-1,5,2-дитиазинил, тиенил, тиантренил, пиранил, изобензофуранил, хроменил, ксантилил, феноксатинил, 2H-пирролил, изотиазолил, изоксазолил, пиразинил, пиридазинил, индолизинил, изоиндолил, 3H-индолил, 1H-индазолил, пуринил, 4H-хинолизинил, фталазинил, нафтиридинил, хиноксалинил, хиназолинил, циннолинил, птеридинил, 4H-карбазолил, карбазолил, β -карболинил, фенантридинил, акридинил, пиримидинил, фенантролинил, феназинил, фенотиазинил, фуразанил, феноксазинил, изохроманил, хроманил, имидазолидинил, имидазолинил, пиразолидинил, пиразолинил, пиперазинил, индолинил, изоиндолинил, хинуклидинил, морфолинил, оксазолидинил, бензотриазолил, бензизоксазолил, оксиндолил, бензоксазолинил и изатиноил. Предпочтительные группы с "гетероциклом" включают, без ограничения перечисленными, бензофуранил, бензотиофенил, индолил, бензопиразолил, кумаринил, изохинолинил, пирролил, тиофенил, фуранил, тиазолил, имидазолил, пиразолил, триазолил, хинолинил, пиримидинил, пиридинил, пиридонил, пиразинил, пиридазинил, изотиазолил, изоксазолил и тетразолил. Гетероцикл-содержащая группа, отдельно или в качестве части другой группы, может быть необязательно замещена одной или более группами, предпочтительно 1-2 группами, включающими, без ограничения, $-C_1-C_8$ алкил, $-C_2-C_8$ алкенил, $-C_2-C_8$ алкинил, -галогеном, $-O-(C_1-C_8$ алкил), $-O-(C_2-C_8$ алкенил), $-O-(C_2-C_8$ алкинил), -арил, $-C(O)R'$, $-OC(O)R'$, $-C(O)OR'$, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NHR'$, $C(O)N(R')_2$, $-NHC(O)R'$, $-SR'$, $-SO_3R'$, $-S(O)_2R'$, $-S(O)R'$, $-OH$, $-N_3$, $-NH_2$, $-NH(R')$, $-N(R')_2$ и -

CN, где каждый R' независимо выбран из -H, -C₁-C₈ алкила, -C₂-C₈ алкенила, -C₂-C₈ алкинила или -арила, и где указанные -O-(C₁-C₈ алкильные), -O-(C₂-C₈ алкенильные), -O-(C₂-C₈ алкинильные), -C₁-C₈ алкильные, -C₂-C₈ алкенильные, -C₂-C₈ алкинильные и -арильные группы могут быть дополнительно необязательно замещены одним или более заместителями, включающими, без ограничения, -C₁-C₈ алкил, -C₂-C₈ алкенил, -C₂-C₈ алкинил, -галоген, -O-(C₁-C₈ алкил), -O-(C₂-C₈ алкенил), -O-(C₂-C₈ алкинил), -арил, -C(O)R", -OC(O)R", -C(O)OR", -C(O)NH₂, -C(O)NHR", -C(O)N(R")₂, NHC(O)R", -SR", -SO₃R", -S(O)₂R", -S(O)R", -OH, -N₃, -NH₂, -NH(R"), -N(R")₂ и -CN, где каждый R" независимо выбран из -H, -C₁-C₈ алкила, -C₂-C₈ алкенила, -C₂-C₈ алкинила или арила.

[00160] В качестве неограничивающего примера, углерод-связанные гетероциклы могут быть связаны в следующих положениях: положении 2, 3, 4, 5 или 6 пиридина; положении 3, 4, 5 или 6 пиридазина; положении 2, 4, 5 или 6 пиримидина; положении 2, 3, 5 или 6 пиазина; положении 2, 3, 4 или 5 фурана, тетрагидрофурана, тиафена, тиафена, пиррола или пирролидина; положении 2, 4 или 5 оксазола, имидазола или тиазола; положении 3, 4 или 5 изоксазола, пиазола или изотиазола; положении 2 или 3 азиридина; положении 2, 3 или 4 азетидина; положении 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 хинолина; или положении 1, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 изохинолина. Еще более типично, углеродсвязанные гетероциклы включают 2-пиридил, 3-пиридил, 4-пиридил, 5-пиридил, 6-пиридил, 3-пиридазинил, 4-пиридазинил, 5-пиридазинил, 6-пиридазинил, 2-пиримидинил, 4-пиримидинил, 5-пиримидинил, 6-пиримидинил, 2-пиазинил, 3-пиазинил, 5-пиазинил, 6-пиазинил, 2-тиазолил, 4-тиазолил или 5-тиазолил.

[00161] В качестве неограничивающего примера, азотсвязанные гетероциклы могут быть связаны в положении 1 азиридина, азетидина, пиррола, пирролидина, 2-пирролина, 3-пирролина, имидазола, имидазолидина, 2-имидазолина, 3-имидазолина, пиазола, пиазолина, 2-пиазолина, 3-пиазолина, пиперидина, пиперазина, индола, индолина или 1H-индазола; положении 2 изоиндола или изоиндолина; положении 4 тетрагидрооксазина; и положении 9 карбазола или β-карболина. Еще более типично, азотсвязанные гетероциклы включают 1-азиридил, 1-азетидил, 1-пирролил, 1-имидазолил, 1-пиазолил и 1-пиперидинил.

[00162] Если не указано иное, термин "карбоцикл" относится к насыщенной или ненасыщенной неароматической моноциклической, бициклической или полициклической кольцевой системе, содержащей от 3 до 14 атомов в кольце (и все комбинации и подкомбинации диапазонов и определенных количеств атомов углерода в них), где все атомы кольца представляют собой атомы углерода. Моноциклические карбоциклы предпочтительно содержат от 3 до 6 атомов в кольце, еще более предпочтительно 5 или 6 атомов в кольце. Бициклические карбоциклы предпочтительно содержат от 7 до 12 атомов в кольце, например, как в бицикло[4,5], [5,5], [5,6] или [6,6] системе, или 9 или 10 атомов в кольце, расположенных, как в бицикло[5,6] или [6,6] системе. Термин "карбоцикл" включает, например, моноциклическое карбоциклическое кольцо, конденсированное с арильным кольцом (например, моноциклическое карбоциклическое кольцо,

конденсированное с бензольным кольцом). Карбоциклы предпочтительно содержат от 3 до 8 атомов углерода в кольце. Карбоциклические группы, отдельно или в качестве части другой группы, могут быть необязательно замещены, например, одной или несколькими группами, предпочтительно 1 или 2 группами (и любыми дополнительными заместителями, выбранными из галогена), включающими, без ограничения перечисленными, -галоген, -C₁-C₈ алкил, -C₂-C₈ алкенил, -C₂-C₈ алкинил, -O-(C₁-C₈ алкил), -O-(C₂-C₈ алкенил), -O-(C₂-C₈ алкинил), -арил, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -SR', -SO₃R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, =O, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ и -CN, где каждый R' независимо выбран из -H, -C₁-C₈ алкила, -C₂-C₈ алкенила, -C₂-C₈ алкинила или -арила, и где указанные -C₁-C₈ алкильные, -C₂-C₈ алкенильные, -C₂-C₈ алкинильные, -O-(C₁-C₈ алкильные), -O-(C₂-C₈ алкенильные), -O-(C₂-C₈ алкинильные) и -арильные группы могут быть дополнительно необязательно замещены одним или более заместителями, включающими, без ограничения, -C₁-C₈ алкил, -C₂-C₈ алкенил, -C₂-C₈ алкинил, -галоген, -O-(C₁-C₈ алкил), -O-(C₂-C₈ алкенил), -O-(C₂-C₈ алкинил), -арил, -C(O)R'', -OC(O)R'', -C(O)OR'', -C(O)NH₂, -C(O)NHR'', -C(O)N(R'')₂, -NHC(O)R'', -SR'', -SO₃R'', -S(O)₂R'', -S(O)R'', -OH, -N₃, -NH₂, -NH(R''), -N(R'')₂ и -CN, где каждый R'' независимо выбран из -H, -C₁-C₈ алкила, -C₂-C₈ алкенила, -C₂-C₈ алкинила или -арила.

[00163] Примеры моноциклических карбоциклических заместителей включают -циклопропил, -циклобутил, -циклопентил, -1-циклопент-1-енил, -1-циклопент-2-енил, -1-циклопент-3-енил, циклогексил, -1-циклогекс-1-енил, -1-циклогекс-2-енил, -1-циклогекс-3-енил, -циклогептил, -циклооктил, -1,3-циклогексадиенил, -1,4-циклогексадиенил, -1,3-циклогептадиенил, -1,3,5-циклогептатриенил и -циклооктадиенил.

[00164] "Карбоцикло", при использовании отдельно или в качестве части другой группы, относится к необязательно замещенной карбоциклической группе, как определено выше, которая является двухвалентной (т.е. получена в результате удаления двух атомов водорода от одного или от двух разных атомов углерода исходной карбоциклической кольцевой системы).

[00165] Если из контекста не следует иное, дефис (-) обозначает точку присоединения к боковой молекуле. Соответственно, термин "-(C₁-C₈ алкилен)арил" или "-C₁-C₈ алкилен(арил)" относится к C₁-C₈ алкиленовому радикалу, как определено в настоящем документе, где алкиленовый радикал присоединен к боковой молекуле в любом из атомов углерода алкиленового радикала, и один из атомов водорода, связанный с атомом углерода алкиленового радикала, заменен арильным радикалом, как определено в настоящем документе.

[00166] Когда конкретная группа "замещена", эта группа может иметь один или больше заместителей, предпочтительно от одного до пяти заместителей, более предпочтительно от одного до трех заместителей, наиболее предпочтительно от одного до двух заместителей, независимо выбранных из перечня заместителей. Однако группа обычно может иметь любое количество заместителей, выбранных из галогена. Группы,

которые замещены, обозначены таким образом. Предполагается, что определение любого заместителя или переменной в конкретном положении молекулы не зависит от его определений в другом положении этой молекулы. Следует понимать, что заместители и схемы замещения в соединениях согласно настоящему изобретению могут быть выбраны специалистом в данной области для получения соединений, которые являются химически стабильными и которые могут быть легко синтезированы способами, известными в уровне техники, а также способами, представленными в настоящем документе.

[00167] Защитные группы при использовании в настоящем документе относятся к группам, которые селективно блокируют, временно или постоянно, один реакционноспособный сайт в многофункциональном соединении. Подходящие гидроксизащитные группы для применения в настоящем изобретении являются фармацевтически приемлемыми, при этом, чтобы соединение было активным, может требоваться или может не требоваться их отщепление от исходного соединения после введения субъекту. Отщепление происходит посредством нормальных метаболических процессов в организме. Гидроксизащитные группы хорошо известны в уровне техники, см. *Protective Groups in Organic Synthesis* by TW Greene and PGM Wuts (John Wiley & sons, 3rd Edition), включенные в настоящий документ посредством отсылки во всей своей полноте и во всех отношениях, и включают, например, простой эфир (например, алкиловые эфиры и силиловые эфиры, в том числе, например, диалкилсилиловый эфир, триалкилсилиловый эфир, диалкилалкоксисилиловый эфир), сложноэфирные, карбонатные, карбаматные, сульфонатные и фосфатные защитные группы. Примеры гидроксизащитных групп включают, без ограничения перечисленными, метиловый эфир; метоксиметиловый эфир, метилтиометиловый эфир, (фенилдиметилсилил)метоксиметиловый эфир, бензилоксиметиловый эфир, п-метоксибензилоксиметиловый эфир, п-нитробензилоксиметиловый эфир, о-нитробензилоксиметиловый эфир, (4-метоксифенокси)метиловый эфир, гваяколметиловый эфир, трет-бутоксиметиловый эфир, 4-пентенилоксиметиловый эфир, силоксиметиловый эфир, 2-метоксиэтоксиметиловый эфир, 2,2,2-трихлорэтоксиметиловый эфир, бис(2-хлорэтокс)метиловый эфир, 2-(триметилсилил)этоксиметиловый эфир, ментоксиметиловый эфир, тетрагидропираниловый эфир, 1-метоксициклогексильный эфир, 4-метокситетрагидротипираниловый эфир, S, S-диоксид 4-метокситетрагидротипиранилового эфира, 1-[(2-хлор-4-метил)фенил]-4-метоксипиперидин-4-ильный эфир, 1-(2-фторфенил)-4-метоксипиперидин-4-ильный эфир, 1,4-диоксан-2-ильный эфир, тетрагидрофуранильный эфир, тетрагидротифуранильный эфир; замещенные этиловые эфиры, такие как 1-этоксиэтиловый эфир, 1-(2-хлорэтокс)этиловый эфир, 1-[2-(триметилсилил)этокс]этиловый эфир, 1-метил-1-метоксиэтиловый эфир, 1-метил-1-бензилоксиэтиловый эфир, 1-метил-1-бензилокси-2-фторэтиловый эфир, 1-метил-1-феноксиэтиловый эфир, 2-триметилсилиловый эфир, трет-бутиловый эфир, аллиловый эфир, пропаргильные эфиры, п-хлорфениловый эфир, п-

метоксифениловый эфир, бензиловый эфир, п-метоксибензиловый эфир, 3,4-диметоксибензиловый эфир, триметилсилиловый эфир, триэтилсилиловый эфир, трипропилсилиловый эфир, диметилизопропилсилиловый эфир, диэтилизопропилсилиловый эфир, диметилгексилсилиловый эфир, трет-бутилдиметилсилиловый эфир, дифенилметилсилиловый эфир, бензоилформатный эфир, ацетатный эфир, хлорацетатный эфир, дихлорацетатный эфир, трихлорацетатный эфир, трифторацетатный эфир, метоксиацетатный эфир, трифенилметоксиацетатный эфир, фенилацетатный эфир, бензоатный эфир, алкилметилкарбонат, алкил-9-флуоренилметилкарбонат, алкилэтилкарбонат, алкил-2,2,2-трихлорэтилкарбонат, 1,1-диметил-2,2,2-трихлорэтилкарбонат, алкилсульфонат, метансульфонат, бензилсульфонат, тозилат, метиленацеталь, этилиденацеталь и трет-бутилметиленкеталь. Предпочтительные защитные группы представлены формулами $-R^a$, $-\text{Si}(R^a)(R^a)(R^a)$, $-\text{C}(\text{O})\text{Ra}$, $-\text{C}(\text{O})\text{ORa}$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}(R^a)$, $-\text{S}(\text{O})_2R^a$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$, $\text{P}(\text{O})(\text{OH})_2$ и $-\text{P}(\text{O})(\text{OH})\text{OR}^a$, где R^a представляет собой $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ алкил, $\text{C}_2\text{-C}_{20}$ алкенил, $\text{C}_2\text{-C}_{20}$ алкинил, $-\text{C}_1\text{-C}_{20}$ алкилен(карбоцикл), $-\text{C}_2\text{-C}_{20}$ алкенилен(карбоцикл), $-\text{C}_2\text{-C}_{20}$ алкинилен(карбоцикл), $-\text{C}_6\text{-C}_{10}$ арил, $-\text{C}_1\text{-C}_{20}$ алкилен(арил), $-\text{C}_2\text{-C}_{20}$ алкенилен(арил), $-\text{C}_2\text{-C}_{20}$ алкинилен (арил), $-\text{C}_1\text{-C}_{20}$ алкилен(гетероцикл), $-\text{C}_2\text{-C}_{20}$ алкенилен(гетероцикл) или $-\text{C}_2\text{-C}_{20}$ алкинилен(гетероцикл), где указанный алкильные, алкенильные, алкинильные, алкиленовые, алкениленовые, алкиниленовые, арильные, карбоциклические и гетероциклические радикалы, независимо друг от друга или как часть другой группы, необязательно замещены.

[00168] Термин "химиотерапевтическое средство" относится ко всем химическим соединениям, которые эффективно ингибируют рост опухоли. Неограничивающие примеры химиотерапевтических средств включают алкилирующие средства; например, азотистые иприты, производные этиленимина и алкилсульфонаты; антиметаболиты, например, антагонисты фолиевой кислоты, пуринов или пиримидинов; митотические ингибиторы, например, антитубулиновые средства, такие как алкалоиды барвинка, ауристатины и производные подофиллотоксина; цитотоксические антибиотики; соединения, которые повреждают или препятствуют экспрессии или репликации ДНК, например, вещества, связывающие малую бороздку ДНК; и антагонисты рецепторов фактора роста. Кроме того, химиотерапевтические средства включают цитотоксические средства (как определено в настоящем документе), антитела, биологические молекулы и малые молекулы.

[00169] Термин "соединение" относится и охватывает само химическое соединение, а также, независимо от того, предусмотрено это прямо или нет, и если из контекста явно не следует, что следующее нужно исключить: аморфные и кристаллические формы соединения, включая полиморфные формы, где эти формы могут быть частью смеси или при выделении; формы свободной кислоты и свободного основания соединения, которые обычно представляют собой формы, показанные в структурах, представленных в настоящем документе; изомеры соединения, которые относятся к оптическим изомерам, и таутомерные изомеры, где оптические изомеры

включают энантиомеры и диастереомеры, хиральные изомеры и нехиральные изомеры, и оптические изомеры включают изолированные оптические изомеры, а также смеси оптических изомеров, включая рацемические и нерацемические смеси; где изомер может быть в выделенной форме или в смеси с одним или больше другими изомерами; изотопы соединения, включая дейтерий- и тритийсодержащие соединения, и включая соединения, содержащие радиоизотопы, в том числе терапевтически и диагностически эффективные радиоизотопы; мультимерные формы соединения, включая димерные, тримерные и т.д. формы; соли соединения, предпочтительно фармацевтически приемлемые соли, включая соли присоединения кислот и соли присоединения оснований, включая соли, содержащие органические противоионы и неорганические противоионы, и включая цвиттерионные формы, где в том случае, если соединение ассоциировано с двумя или более противоионами, два или более противоиона могут быть одинаковыми или разными; и сольваты соединения, включая полусольваты, моносольваты, дисольваты и т.д., в том числе органические сольваты и неорганические сольваты, где указанные неорганические сольваты включают гидраты; где в случае, если соединение связано с двумя или более молекулами растворителя, две или более молекулы растворителя могут быть одинаковыми или разными. В некоторых случаях в настоящем описании указано, что соединение согласно изобретению будет включать прямую ссылку на одну или более из вышеуказанных форм, например, соли и/или сольваты; впрочем, такая ссылка предназначена только для акцентирования внимания и не должна рассматриваться как исключаящая другие формы, указанные выше.

[00170] При использовании в настоящем документе термин "консервативная замена" относится к заменам аминокислот, которые известны специалистам в данной области и могут быть сделаны, как правило, без изменения биологической активности полученной молекулы. Специалистам в данной области известно, что, как правило, одиночные аминокислотные замены в несущественных областях полипептида не вызывают существенного изменения биологической активности (см., например, Watson, et al., MOLECULAR BIOLOGY OF THE GENE, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Edition, 1987)). Такие иллюстративные замены предпочтительно делают в соответствии с теми, которые представлены в Таблице 2 и Таблице 3. Например, такие замены включают замену изолейцином (I), валином (V) и лейцином (L) любой другой из этих гидрофобных аминокислот; аспарагиновую кислоту (D) вместо глутаминовой кислоты (E) и наоборот; глутамин (Q) вместо аспарагина (N) и наоборот; и серин (S) вместо треонина (T) и наоборот. Другие замены также могут считаться консервативными, в зависимости от окружения конкретной аминокислоты и ее роли в трехмерной структуре белка. Например, глицин (G) и аланин (A) часто могут быть взаимозаменяемыми, как аланин (A) и валин (V). Метионин (M), который относительно гидрофобный, часто можно заменять лейцином и изолейцином, а иногда и валином. Лизин (K) и аргинин (R) часто могут менять друг на друга в положениях, в которых существенным признаком аминокислотного остатка является его заряд, а различные рК этих двух аминокислотных остатков не имеют

значения. Другие изменения можно считать "консервативными" в определенных условиях (см., например, Таблицу 3 в настоящем документе; стр. 13-15 "Biochemistry" 2nd ED. Lubert Stryer ed (Stanford University); Henikoff et al., PNAS 1992 Vol 89 10915-10919; Lei et al., J Biol Chem 1995 May 19; 270(20):11882-11886. Другие замены также возможны и могут быть определены эмпирически или в соответствии с известными консервативными заменами.

Таблица 2: Сокращенные обозначения аминокислот

ОДНОБУКВЕННОЕ	ТРЕХБУКВЕННОЕ	ПОЛНОЕ НАЗВАНИЕ
F	Phe	фенилаланин
L	Leu	лейцин
S	Ser	серин
Y	Tyr	тирозин
C	Cys	цистеин
W	Trp	триптофан
P	Pro	пролин
H	His	гистидин
Q	Gln	глутамин
R	Arg	аргинин
I	Ile	изолейцин
M	Met	метионин
T	Thr	треонин
N	Asn	аспарагин
K	Lys	лизин
V	Val	валин
A	Ala	аланин
D	Asp	аспарагиновая кислота
E	Glu	глутаминовая кислота
G	Gly	глицин

Таблица 3: Матрица аминокислотных замен или подобию

Адаптированная из программы GCG 9,0 матрица аминокислотных замены BLOSUM62 (блочная матрица замен). Чем выше значение, тем с более высокой вероятностью замена присутствует в родственных природных белках.

A	C	D	E	F	G	H	I	K	L	M	N	P	Q	R	S	T	V	W	Y	.
4	0	-2	-1	-2	0	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	-1	-1	1	0	0	-3	-2	A
	9	-3	-4	-2	-3	-3	-1	-3	-1	-1	-3	-3	-3	-3	-1	-1	-1	-2	-2	C
		6	2	-3	-1	-1	-3	-1	-4	-3	1	-1	0	-2	0	-1	-3	-4	-3	D
			5	-3	-2	0	-3	1	-3	-2	0	-1	2	0	0	-1	-2	-3	-2	E
				6	-3	-1	0	-3	0	0	-3	-4	-3	-3	-2	-2	-1	1	3	F
					6	-2	-4	-2	-4	-3	0	-2	-2	-2	0	-2	-3	-2	-3	G
						8	-3	-1	-3	-2	1	-2	0	0	-1	-2	-3	-2	2	H
							4	-3	2	1	-3	-3	-3	-3	-2	-1	3	-3	-1	I
								5	-2	-1	0	-1	1	2	0	-1	-2	-3	-2	K
									4	2	-3	-3	-2	-2	-2	-1	1	-2	-1	L
										5	-2	-2	0	-1	-1	-1	1	-1	-1	M
											6	-2	0	0	1	0	-3	-4	-2	N
												7	-1	-2	-1	-1	-2	-4	-3	P
													5	1	0	-1	-2	-2	-1	Q
														5	-1	-1	-3	-3	-2	R
															4	1	-2	-3	-2	S
																5	0	-2	-2	T
																	4	-3	-1	V
																		11	2	W
																			7	Y

[00171] Термин "гомология" или "гомологичный" предназначен для обозначения подобия последовательностей двух полинуклеотидов или двух полипептидов. Подобие можно определить путем сравнения положения в каждой последовательности, которая может быть выравнена в целях сравнения. Если данное положение в двух полипептидных последовательностях не идентичное, подобие или консервативность этого положения можно определить, оценивая подобие аминокислоты в этом положении, например, согласно Таблице 3. Степень подобия последовательностей зависит от количества совпадающих или гомологичных положений, общих для последовательностей. Выравнивание двух последовательностей для определения их процентного подобия последовательностей может быть выполнено при использовании компьютерных программ, известных в данной области, таких как, например, программы, описанные в публикации Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Baltimore, MD. (1999). Предпочтительно для выравнивания используются параметры по умолчанию, примеры которых приведены ниже. Одной из хорошо известных в данной области программ для выравнивания, которая может использоваться, является BLAST с параметрами, установленными по умолчанию. В частности, в программах BLASTN и BLASTP используются следующие параметры по умолчанию: Генетический код=стандартный; фильтр=нет; цепь=обе; отсечка=60; ожидание=10;

Матрица=BLOSUM62; Описания=50 последовательностей; сортировка по=ВЫСОКАЯ ОЦЕНКА; Базы данных=неизбыточные, GenBank+EMBL+DDBJ+PDB+трансляции CDS GenBank+SwissProtein+SPupdate+PIR. Подробную информацию об этих программах можно найти в Национальном центре биотехнологической информации.

[00172] Термин "гомологи" по отношению к данной аминокислотной последовательности или последовательности нуклеиновой кислоты служит для обозначения того, что соответствующие последовательности "гомологов" обладают существенной идентичностью или гомологией по отношению к данной аминокислотной последовательности или последовательности нуклеиновой кислоты.

[00173] Определение процента идентичности двух последовательностей (например, аминокислотных последовательностей или последовательностей нуклеиновых кислот) может быть выполнено с использованием математического алгоритма. Предпочтительным неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения двух последовательностей, является алгоритм Карлина и Альтшула (Karlin and Altschul, 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 87:2264 2268), с изменениями, описанными в Karlin and Altschul, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:5873 5877. Такой алгоритм включен в программы NBLAST и XBLAST (Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403). Поиск нуклеотидов в BLAST можно проводить с установленными параметрами программы для сравнения нуклеотидных последовательностей NBLAST, например, оценки=100, длины слова=12, с получением нуклеотидных последовательностей, гомологичных молекулам нуклеиновых кислот, описанным в настоящем документе. Поиск белков в BLAST можно проводить с установленными параметрами программы XBLAST, например, оценки 50, длины слова=3, с получением аминокислотных последовательностей, гомологичных молекуле белка, описанной в настоящем документе. Для получения выравниваний с пропусками в целях сравнения можно использовать Gapped BLAST, как описано в Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389 3402. В альтернативе, PSI BLAST можно использовать для выполнения итеративного поиска, который определяет отдаленные отношения между молекулами (Id.). При использовании программ BLAST, Gapped BLAST и PSI Blast могут использоваться параметры по умолчанию соответствующих программ (например, XBLAST и NBLAST) (см., например, Национальный центр биотехнологической информации (NCBI) в сети интернет, ncbi.nlm.nih.gov). Другим неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения последовательностей, является алгоритм Майерса и Миллера (Myers and Miller, 1988, CABIOS 4:11 17). Такой алгоритм включен в программу ALIGN (версия 2.0), которая является частью пакета программ GCG для выравнивания последовательностей. При использовании программы ALIGN для сравнения аминокислотных последовательностей можно использовать таблицу веса остатков PAM120, штраф за продолжение пропуска 12 и штраф за пропуск 4.

[00174] Процентную идентичность двух последовательностей можно определить с использованием методик, аналогичных описанным выше, с допуском введения пропусков

или без них. При вычислении процентной идентичности обычно учитываются только точные совпадения.

[00175] Термин "цитотоксическое средство" относится к веществу, которое ингибирует или блокирует экспрессионную активность клеток, функцию клеток и/или вызывает разрушение клеток. Предполагается, что данный термин включает радиоактивные изотопы, химиотерапевтические средства и токсины, такие как низкомолекулярные токсины или ферментативно активные токсины бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения, включая их фрагменты и/или варианты. Примеры цитотоксических средств включают, без ограничения перечисленными, ауристатины (например, ауристатин Е, ауристатин F, MMAE и MMAF), аурамицины, майтанзиноиды, рицин, А-цепь рицина, комбрестатин, дуокармицины, доластатины, доксорубицин, даунорубицин, таксолы, цисплатин, cc1065, бромистый этидий, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, дигидроксиантрациндион, актиномицин, дифтерийный токсин, экзотоксин *Pseudomonas* (PE) А, PE40, абрин, А-цепь абрина, А-цепь модецина, альфа-сарцин, гелонин, митогеллин, ретстриктоцин, феномицин, эномицин, курицин, кротин, калихеамицин, ингибитор *Saponaria officinalis*, глюкокортикоид и другие химиотерапевтические средства, а также радиоизотопы, такие как At^{211} , I^{131} , I^{125} , Y^{90} , Re^{186} , Re^{188} , Sm^{153} , Bi^{212} или ^{213}P , P^{32} и радиоактивные изотопы Lc, включая Lu^{177} . Антитела также могут быть конъюгированы с ферментом, активирующим противоопухолевое пролекарство, способным превращать пролекарство в его активную форму.

[00176] Термин "эффективное количество" или "терапевтически эффективное количество" при использовании в настоящем документе относится к количеству связывающей молекулы (например, антитела) или фармацевтической композиции, представленной в настоящем документе, которое является достаточным для получения требуемого результата.

[00177] Термины "субъект" и "пациент" могут использоваться попеременно. При использовании в настоящем документе, в некоторых вариантах осуществления субъект является млекопитающим, таким как непраимат (например, корова, свинья, лошадь, кошка, собака, крыса и т.д.) или примат (например, обезьяна и человек). В конкретных вариантах осуществления субъектом является человек. В одном варианте осуществления субъектом является млекопитающее, например, человек, у которого диагностировано состояние или нарушение. В другом варианте осуществления субъектом является млекопитающее, например человек, с риском развития состояния или нарушения.

[00178] "Введение" или "введение" относится к акту инъекции или иной физической доставки вещества в том виде, в котором оно существует вне организма, пациенту, например, путем чресслизистой, внутрикожной, внутривенной, внутримышечной доставки и/или любым другим способом физической доставки, описанной в настоящем документе или известной в данной области.

[00179] При использовании в настоящем документе термины "лечить" и "лечение"

относятся к уменьшению или облегчению прогрессирования, тяжести и/или продолжительности заболевания или состояния, возникающему в результате применения одной или больше терапий. Лечение может быть определено при оценке того, присутствовало ли снижение, облегчение и/или ослабление одного или больше симптомов, связанных с первичным нарушением, в результате чего пациента наблюдается улучшение, несмотря на то, что пациент все еще может страдать первичным нарушением. Термин "лечение" включает как контроль, так и облегчение заболевания. Термины "контролировать", "контролирующий" и "контроль" относятся к положительным эффектам, которые субъект получает в результате терапии, которая не приводит обязательно к полному излечению заболевания.

[00180] Термины "предупреждать" и "предупреждение" относятся к снижению вероятности возникновения (или рецидива) заболевания, нарушения, состояния или ассоциированного(ых) симптома(ов) (например, рака).

[00181] Термин "рак" или "раковая клетка" используется в данном документе для обозначения ткани или клетки, обнаруженной в новообразовании, которая обладает характеристиками, отличающими ее от нормальной ткани или клеток ткани. К таким характеристикам относятся, помимо прочего: степень анаплазии, неправильная форма, нечеткость клеточного контура, размер ядра, изменения структуры ядра или цитоплазмы, другие фенотипические изменения, наличие клеточных белков, указывающих на раковое или предраковое состояние, повышенное количество митозов и способность к метастазированию. Слова, относящиеся к "раку", включают карциному, саркому, опухоль, эпителиому, лейкоз, лимфому, полип и фиброз, трансформацию, новообразование и т.п.

[00182] Термины "примерно" и "приблизительно" означают в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10%, в пределах 9%, в пределах 8%, в пределах 7%, в пределах 6%, в пределах 5%, в пределах 4%, в пределах 3%, в пределах 2%, в пределах 1% или меньше от заданного значения или диапазона.

[00183] При использовании в настоящем описании и формуле изобретения формы единственного числа "a", "an" и "the" включают формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное.

[00184] Следует понимать, что во всех случаях, когда варианты осуществления описаны в настоящем документе с использованием термина "включающий", также представлены аналогичные варианты осуществления, описанные в значении "состоящий из" и/или "состоящий по существу из". Также следует понимать, что во всех случаях, когда варианты осуществления описаны в настоящем документе с использованием фразы "состоящий по существу из", также представлены аналогичные варианты осуществления, описанные в значении "состоящий из".

[00185] Термин "и/или", используемый в такой фразе, как "А и/или В", в настоящем документе, включает как А, так и В; А или В; А (одно); и В (одно). Аналогичным образом, термин "и/или", используемый в такой фразе, как "А, В и/или С", предназначен для охвата каждого из следующих вариантов осуществления: А, В и С; А, В или С; А или С; А или В;

В или С; А и С; А и В; В и С; А (одно); В (одно); и С (одно).

[00186] Термин "вариант" относится к молекуле, которая демонстрирует отклонение от описанного типа или нормы, такой как белок, который имеет один или больше других аминокислотных остатков в соответствующем положении(ях) конкретно описанного белка (например, белка 191P4D12, показанного на Фигуре 1). Аналог является примером вариантного белка. Изоформы сплайсинга и одонуклеотидные полиморфизмы (ОНП) являются дополнительными примерами вариантов.

[00187] "Белки 191P4D12" и/или "родственные белки 191P4D12" согласно изобретению включают такие белки, которые конкретно идентифицированы в настоящем документе (см. Фигуру 1), а также аллельные варианты, варианты с консервативными заменами, аналоги и гомологи, которые могут быть выделены/созданы и исследованы без излишнего экспериментирования в соответствии со способами, описанными в настоящем документе, или легко доступными в уровне техники. Также включены слитые белки, которые объединяют части различных белков 191P4D12 или их фрагменты, а также слитые белки белка 191P4D12 и гетерологичного полипептида. Такие белки 191P4D12 совокупно именуются родственными 191P4D12 белками, белками согласно изобретению или 191P4D12. Термин "родственный белок 191P4D12" относится к полипептидному фрагменту или последовательности белка 191P4D12 из 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или больше чем 25 аминокислот; или по меньшей мере 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 330, 335, 339 или больше аминокислот.

5.2 Способы лечения рака

[00188] В настоящем документе предложены способы лечения различных онкологических заболеваний, включающих рак молочной железы (например, HER+/HER2- рак молочной железы и трижды негативный рак молочной железы, который является ЭР-отрицательным, ПР-отрицательным и HER2-отрицательным (ЭР-/ПР-/HER2-)), рак легкого (например, плоскоклеточный рак легкого, неплоскоклеточный рак легкого, плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого и неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого), рак головы и шеи, и рак желудка или пищевода, с применением конъюгата антитела-лекарственного средства (ADC), который связывает 191P4D12. В некоторых вариантах осуществления ADC представляет собой энфортумаб ведотин (также известный как ADC против 191P4D12, Ha22-2(2,4)6.1vcMMAE, ASG-22CE или AGS-22M6E).

[00189] В одном аспекте, в настоящем документе предложен способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина Е (MMAE), где антитело или его антигенсвязывающий

фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и где субъект имеет гормон-рецептор-положительный и рецептор эпидермального фактора роста 2 человека-отрицательный (ГР+/HER2-) рак молочной железы.

[00190] В некоторых аспектах в настоящем документе предложен способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина Е (ММАЕ), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и где субъект имеет ЭР-отрицательный, ПР-отрицательный и HER2-отрицательный (ЭР-/ПР-/HER2-) рак молочной железы.

[00191] В другом аспекте в настоящем документе предложен способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина Е (ММАЕ), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и где субъект имеет плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (HMPJL).

[00192] В другом аспекте в настоящем документе предложен способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина Е (ММАЕ), где антитело или его антигенсвязывающий

фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и где субъект имеет неплоскоклеточный НМРЛ.

[00193] В некоторых аспектах в настоящем документе предложен способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина Е (ММАЕ), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и где субъект имеет местнораспространенный или метастатический рак головы и шеи.

[00194] В определенном аспекте в настоящем документе предложен способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина Е (ММАЕ), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и где субъект имеет рак желудка или пищевода.

[00195] Во всех способах, представленных в настоящем документе, и особенно в тех, которые описаны в предыдущих семи абзацах (параграфы [00188]-[00194]): терапевтические средства, которые могут использоваться, описаны в Разделе 5.3, отбор пациентов для лечения описан в настоящем документе и проиллюстрирован в Разделе 5.2 и Разделе 6, схемы применения и фармацевтическая композиция для введения терапевтического средства описаны в Разделе 5.4 и Разделе 6 ниже, биомаркеры, которые могут использоваться для идентификации терапевтических средств, отбора пациентов,

определения результата этих способов и/или служить в качестве критериев каким-либо образом для этих способов, описаны в настоящем документе и проиллюстрированы в Разделе 5.2 и Разделе 6, терапевтическими результатами способов, представленных в настоящем документе, может быть улучшение биомаркеров, описанных в настоящем документе, например, описанных и проиллюстрированных в Разделе 5.2 и Разделе 6. Таким образом, специалисту в данной области должно быть понятно, что способы, представленные в настоящем документе, включают все сочетания и комбинации пациентов, терапевтических средств, схем применения, биомаркеры и терапевтические результаты, как описано выше и ниже.

[00196] В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, применяются для лечения рака молочной железы у субъекта. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой гормон-рецептор-положительный и рецептор эпидермального фактора роста 2 человека-отрицательный (ГР+/HER2-) рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы является эстроген-рецептор (ЭР) положительным и/или прогестерон-рецептор (ПР) положительным и HER2-отрицательным. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы является ЭР-положительным, ПР-положительным и HER2-отрицательным. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы является ЭР-положительным и HER2-отрицательным. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы является ПР-положительным и HER2-отрицательным. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы, включающий, например, ГР+/HER2- рак молочной железы, ЭР-положительный, ПР-положительный и HER2-отрицательный рак молочной железы, ЭР-положительный и HER2-отрицательный рак молочной железы, ПР-положительный и HER2-отрицательный рак молочной железы, подтвержден гистологически, цитологически или гистологически и цитологически. В некоторых вариантах осуществления гистологическое, цитологическое или гистологическое и цитологическое подтверждение проводят по рекомендациям Американского общества клинической онкологии/Коллегии американских патологов (ASCO/CAP) на основе последнего исследования ткани.

[00197] В некоторых вариантах осуществления гормон-рецептор-положительный и рецептор эпидермального фактора роста 2 человека-отрицательный (ГР+/HER2-) рак молочной железы представляет собой местнораспространенный или метастатический рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления ЭР-положительный и/или прогестерон-рецептор (ПР) положительный и HER2-отрицательный рак молочной железы представляет собой местнораспространенный или метастатический рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления ЭР-положительный, ПР-положительный и HER2-отрицательный рак молочной железы представляет собой местнораспространенный или метастатический рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления ЭР-положительный и HER2-отрицательный рак молочной железы представляет собой местнораспространенный или метастатический рак молочной железы. В некоторых

вариантах осуществления ПР-положительный и HER2-отрицательный рак молочной железы представляет собой местнораспространенный или метастатический рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления местнораспространенный или метастатический рак молочной железы, включающий, например, ГР+/HER2- рак молочной железы, ЭР-положительный, ПР-положительный и HER2-отрицательный рак молочной железы, ЭР-положительный и HER2-отрицательный рак молочной железы, ПР-положительный и HER2-отрицательный рак молочной железы, подтвержден гистологически, цитологически или гистологически и цитологически. В некоторых вариантах осуществления такое гистологическое, цитологическое или гистологическое и цитологическое подтверждение проводят по рекомендациям Американского общества клинической онкологии/Коллегии американских патологов (ASCO/CAP) на основе последнего исследования ткани.

[00198] В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие рак молочной железы и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, получили ≥ 1 линию эндокринной терапии и ингибитора циклинзависимой киназы (CDK) 4/6 в схеме лечения метастатического или местнораспространенного рака. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие рак молочной железы и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, получали предыдущее лечение таксаном или антрациклином в любой схеме лечения. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие рак молочной железы и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, имеют опасную гаметную мутацию в гене предрасположенности к раку молочной железы (BRCA) 1 или 2, должны быть подвергнуты лечению ингибитором поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP).

[00199] В некоторых определенных вариантах осуществления субъекты, получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, имеют гистологически или цитологически подтвержденный ГР+/HER2- рак молочной железы, который определен как ЭР-положительный и/или прогестерон-рецептор (ПР) положительный и HER2-отрицательный согласно рекомендациям Американского общества клинической онкологии/Коллегии американских патологов (ASCO/CAP) на основе последней исследованной ткани; имеют местнораспространенное или метастатическое заболевание; получили ≥ 1 линию эндокринной терапии и ингибитора циклинзависимой киназы (CDK) 4/6 в схеме лечения метастатического или местнораспространенного рака; прошли предыдущее лечение таксаном или антрациклином в любой схеме лечения; и/или имеют опасную гаметную мутацию в гене предрасположенности к раку молочной железы (BRCA) 1 или 2, должны быть подвергнуты лечению ингибитором поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP).

[00200] В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, применяются для лечения трижды негативного рака молочной железы (ТНРМЖ) у субъекта. В некоторых вариантах осуществления ТНРМЖ является

гистологически и/или цитологически подтвержденным ТНPMЖ. В некоторых вариантах осуществления ТНPMЖ определен согласно гистологии ТНPMЖ (ЭР-отрицательный/ПР-отрицательный/HER2-отрицательный) в соответствии с рекомендациями ASCO/CAP на основе последней исследованной ткани. В некоторых вариантах осуществления ТНPMЖ является местнораспространенным или метастатическим. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие ТНPMЖ и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, получили ≥ 2 линии системной терапии. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие ТНPMЖ и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, получили ≥ 2 линии системной терапии, включающей таксан в любой схеме лечения. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие ТНPMЖ и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, имеют опасную гаметную мутацию в BRCA1, BRCA2 или BRCA1 и BRCA2. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие ТНPMЖ и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, получали лечение ингибитором PARP. В некоторых вариантах осуществления субъекты, получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе для лечения ТНPMЖ, имеют любое сочетание или комбинацию характеристик, описанных в этом параграфе.

[00201] В некоторых определенных вариантах осуществления субъекты, получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, имеют гистологически или цитологически подтвержденный ТНPMЖ, который определен с явной гистологией ТНPMЖ (ЭР-отрицательный/ПР-отрицательный/HER2-отрицательный) в соответствии с рекомендациями ASCO/CAP на основе последней исследованной ткани; имеют местнораспространенное или метастатическое заболевание; получили ≥ 2 линии системной терапии, включающей таксан, в любой схеме лечения; имели опасную гаметную мутацию в BRCA1 и/или BRCA2; и/или прошли лечение ингибитором PARP.

[00202] В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, применяются для лечения плоскоклеточного немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) у субъекта. В некоторых вариантах осуществления плоскоклеточный НМРЛ представляет собой гистологически и/или цитологически подтвержденный плоскоклеточный НМРЛ. В некоторых вариантах осуществления плоскоклеточный НМРЛ является местнораспространенным или метастатическим. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие плоскоклеточный НМРЛ и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, испытали прогрессирование или рецидив после терапии препаратами платины, включающей, например, введение препарата платины в качестве вспомогательного лечения, рассматриваемого в качестве схемы, если рецидив возник в течение 12 месяцев после завершения. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие плоскоклеточный НМРЛ и получавшие лечение с применением способов, предложенных

в настоящем документе, получили предыдущую терапию антителом против белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-1) или против лиганда белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-L1), если соответствовали критериям применения такой терапии на основе экспрессии PD-1 или PD-L1 в опухоли субъекта и местных рекомендаций по лечению.

[00203] В некоторых определенных вариантах осуществления субъекты, получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, имеют гистологически или цитологически подтвержденный плоскоклеточный НМРЛ; имеют местнораспространенное или метастатическое заболевание; испытали прогрессирование или рецидив после терапии препаратами платины включающей, например, введение препарата платины в качестве вспомогательного лечения, рассматриваемого в качестве схемы, если рецидив возник в течение 12 месяцев после завершения; и/или получили предыдущую терапию антителом против белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-1) или против лиганда белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-L1), если соответствовали критериям применения такой терапии на основе экспрессии PD-1 или PD-L1 в опухоли субъекта и местных рекомендаций по лечению.

[00204] В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, применяются для лечения неплоскоклеточного НМРЛ у субъекта. В некоторых вариантах осуществления плоскоклеточный НМРЛ является гистологически и/или цитологически подтвержденным плоскоклеточным НМРЛ. В некоторых вариантах осуществления плоскоклеточный НМРЛ имеет рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) дикого типа и киназу анапластической лимфомы (ALK) дикого типа. В некоторых вариантах осуществления плоскоклеточный НМРЛ имеет EGFR дикого типа и ALK дикого типа по местным лабораторным стандартам. В некоторых вариантах осуществления неплоскоклеточный НМРЛ является местнораспространенным или метастатическим. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие плоскоклеточный НМРЛ и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, испытали прогрессирование или рецидив после терапии препаратами платины при лечении метастатического или местнораспространенного рака, включающей, например, введение препарата платины в качестве вспомогательного лечения, если рецидив произошел в течение 12 месяцев после завершения. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие плоскоклеточный НМРЛ и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, получили терапию антителом против PD-1 или против PD-L1, если соответствовали критериям применения такой терапии на основе экспрессии PD-1 или PD-L1 в опухоли субъекта и местных рекомендаций по лечению.

[00205] В некоторых определенных вариантах осуществления субъекты, получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, имеют гистологически или цитологически подтвержденный неплоскоклеточный НМРЛ,

который имеет EGFR дикого типа и ALK дикого типа по местным лабораторным стандартам; имеют местнораспространенное или метастатическое заболевание; испытали прогрессирование или рецидив после терапии препаратами платины при лечении метастатического или местнораспространенного рака, включающей, например, введение препарата платины в качестве вспомогательного лечения, если рецидив произошел в течение 12 месяцев после завершения; получили терапию антителом против PD-1 или против PD-L1, если соответствовали критериям применения такой терапии на основе экспрессии PD-1 или PD-L1 в опухоли субъекта и местных рекомендаций по лечению.

[00206] В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, применяются для лечения рака головы и шеи у субъекта. В некоторых вариантах осуществления рак головы и шеи представляет собой гистологически и/или цитологически подтвержденный рак головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак головы и шеи является местнораспространенным или метастатическим. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие рак головы и шеи и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, испытали прогрессирование или рецидив после применения схемы, содержащей препарат платины, при лечении метастатического или местнораспространенного рака, где схема, содержащая препарат платины, не включает схемы с применением препаратов платины, вводимые в качестве части мультимодальной терапии с целью излечения, если субъект не испытывал рецидив или прогрессирование в течение 6 месяцев после завершения. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие рак головы и шеи и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, получили терапию антителом против PD-1 или против PD-L1, если соответствовали критериям применения такой терапии на основе экспрессии PD-1 или PD-L1 в опухоли субъекта и местных рекомендаций по лечению.

[00207] В некоторых определенных вариантах осуществления субъекты, получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, имеют гистологически или цитологически подтвержденный рак головы и шеи; имеют местнораспространенное или метастатическое заболевание; испытали прогрессирование или рецидив после применения схемы, содержащей препарат платины, при лечении метастатического или местнораспространенного рака, которая не включает схемы применения препарата платины, вводимого в качестве части мультимодальной терапии с целью излечения, если субъект не испытывал рецидив или прогрессирование в течение 6 месяцев после завершения; получили терапию антителом против PD-1 или против PD-L1, если соответствовали критериям применения такой терапии на основе экспрессии PD-1 или PD-L1 в опухоли субъекта и местных рекомендаций по лечению.

[00208] В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, применяются для лечения рака желудка или рака пищевода у субъекта. В некоторых вариантах осуществления рак желудка или пищевода представляет собой гистологически и/или цитологически подтвержденный рак желудка или пищевода.

В некоторых вариантах осуществления рак желудка или пищевода является местнораспространенным или метастатическим. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие рак головы и шеи и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, испытывали прогрессирование или рецидив после применения схем химиотерапии, которые включали фторпиримидин и препарат платины, для лечения метастатического заболевания или местнораспространенного заболевания, где указанные схемы химиотерапии не включают неоадьювантные или адьювантные схемы, если субъект не испытывал рецидив или прогрессирование в течение 6 месяцев после завершения. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие рак головы и шеи и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, получили HER2-направленную терапию, если субъекты имеют HER2-положительный рак. В некоторых вариантах осуществления субъекты, имеющие рак головы и шеи и получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, имеют HER2-положительный рак и получили HER2-направленную терапию.

[00209] В некоторых определенных вариантах осуществления субъекты, получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, имеют гистологически или цитологически подтвержденный рак желудка или пищевода; имеют местнораспространенное или метастатическое заболевание; испытывали прогрессирование или рецидив после применения схем химиотерапии, которые включали фторпиримидин и препарат платины, для лечения метастатического заболевания или местнораспространенного заболевания, где схемы химиотерапии не включают неоадьювантные или адьювантные схемы, если субъект не испытывал рецидив или прогрессирование в течение 6 месяцев после завершения; имеют HER2-положительный рак и получили HER2-направленную терапию. В другом определенных варианты осуществления субъекты, получавшие лечение с применением способов, предложенных в настоящем документе, имеют гистологически или цитологически подтвержденный рак желудка или пищевода; местнораспространенное или метастатическое заболевание; испытывали прогрессирование или рецидив после применения схем химиотерапии, которые включали фторпиримидин и препарат платины, для лечения метастатического заболевания или местнораспространенного заболевания, где схемы химиотерапии не включают неоадьювантные или адьювантные схемы, если субъект не испытывал рецидив или прогрессирование в течение 6 месяцев после завершения.

[00210] В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, применяются для лечения субъектов, имеющих злокачественные опухоли, которые экспрессируют РНК 191P4D12, экспрессируют белок 191P4D12 или экспрессируют и РНК 191P4D12, и белок 191P4D12. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, применяются для лечения субъектов, имеющих злокачественные опухоли, которые экспрессируют и РНК 191P4D12, и белок 191P4D12, включающие, например, плоскоклеточный НМРЛ,

неплюскоклеточный НМРЛ, рак желудка (гастроэзофагеального перехода или ГЭП), рак пищевода, ПМКГШ, НМРЛ-аденокарциному, рак головы и шеи (например, плюскоклеточный рак головы и шеи) и рак молочной железы (включая ГР+/HER2- рак молочной железы и ТНРМЖ). В некоторых вариантах осуществления экспрессию РНК 191P4D12 в раковых опухолях определяют путем гибридизации полинуклеотидов, секвенирования (оценки относительной представленности последовательностей) и/или ПЦР (включая ОТ-ПЦР). В некоторых вариантах осуществления экспрессию белка 191P4D12 в раковых опухолях определяют с помощью ИГХ, сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) и/или Вестерн-блоттинга. В некоторых вариантах осуществления экспрессию белка 191P4D12 в раковых опухолях определяют с помощью 2 методов ИГХ.

[00211] В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, применяются для лечения субъектов, имеющих злокачественные опухоли, которые экспрессируют РНК 191P4D12, экспрессируют белок 191P4D12 или экспрессируют и РНК 191P4D12, и белок 191P4D12, и где злокачественные опухоли чувствительны к цитотоксическим средствам (таким как алколоиды барвинка и ММАЕ), блокирующим полимеризацию микротрубочек. В некоторых вариантах осуществления способы, предложенные в настоящем документе, применяются для лечения субъектов, имеющие злокачественные опухоли, которые экспрессируют и РНК 191P4D12, и белок 191P4D12, и которые чувствительны к цитотоксическим средствам (таким как алколоиды барвинка и ММАЕ), блокирующим полимеризацию микротрубочек, где злокачественные опухоли включают, например, плюскоклеточный НМРЛ, неплюскоклеточный НМРЛ, рак желудка (ГЭП), рак пищевода, ПМКГШ, НМРЛ-аденокарциному, рак головы и шеи (например, плюскоклеточный рак головы и шеи), и рак молочной железы (включая ГР+/HER2- рак молочной железы и ТНРМЖ).

[00212] В некоторых вариантах осуществления субъекты, которые могут быть подвергнуты лечению способами, предложенными в настоящем документе, являются субъектами, имеющими солидные опухоли, включающими, например, субъектов, имеющих гормон-рецептор-положительный и рецептор эпидермального фактора роста 2 человека-отрицательный (ГР+/HER2-) рак молочной железы, субъектов, имеющих ЭР-отрицательный, ПР-отрицательный и HER2-отрицательный (ЭР-/ПР-/HER2-) рак молочной железы, субъектов, имеющих НМРЛ, субъектов, имеющих неплюскоклеточный НМРЛ, субъектов, имеющих рак головы, субъектов, имеющих рак шеи, субъектов, имеющих рак головы и шеи, субъектов, имеющих рак желудка, субъектов, имеющих рак пищевода, и/или субъектов, имеющих рак желудка или пищевода.

[00213] В некоторых вариантах осуществления субъекты, которые могут быть подвергнуты лечению способами, предложенными в настоящем документе, дополнительно включают субъектов, имеющих солидные опухоли, которые являются местнораспространенными, метастатическими (включая злокачественные метастатические) и местнораспространенными, и метастатическими солидными

опухолями. В некоторых вариантах осуществления обеспечили в настоящем документе солидные опухоли, которые можно лечить в способах, представляют собой местнораспространенный ГР+/HER2- рак молочной железы, местнораспространенный ЭР-/ПР-/HER2- рак молочной железы, местнораспространенный НМРЛ, местнораспространенный неплоскоклеточный НМРЛ, местнораспространенный рак головы, местнораспространенный рак шеи, местнораспространенный рак головы и шеи, местнораспространенный рак желудка, местнораспространенный рак пищевода и/или местнораспространенный рак желудка и пищевода. В других вариантах осуществления солидными опухолями, которые можно лечить в способах, предложенных в настоящем документе, являются метастатический (включая злокачественный или злокачественный метастатический) ГР+/HER2- рак молочной железы, метастатический (включая злокачественный или злокачественный метастатический) ЭР-/ПР-/HER2- рак молочной железы, метастатический (включая злокачественный или злокачественный метастатический) НМРЛ, метастатический (включая злокачественный или злокачественный метастатический) неплоскоклеточный НМРЛ, метастатический (включая злокачественный или злокачественный метастатический) рак головы, метастатический (включая злокачественный или злокачественный метастатический) рак шеи, метастатический (включая злокачественный или злокачественный метастатический) рак головы и шеи, метастатический (включая злокачественный или злокачественный метастатический) рак желудка, метастатический (включая злокачественный или злокачественный метастатический) рак пищевода и/или метастатический (включая злокачественный или злокачественный метастатический) рак желудка и пищевода.

[00214] В некоторых вариантах осуществления местнораспространенные, метастатические (включая злокачественный метастатический), а также местнораспространенные и метастатические солидные опухоли подтверждены гистологически, цитологически или и гистологически, и цитологически.

[00215] В некоторых вариантах осуществления субъекты, которые могут быть подвергнуты лечению способами, предложенными в настоящем документе, испытывали прогрессирование или рецидив после одного или больше других лечений рака. Одно или больше лечений, после которых субъекты испытали прогрессирование или рецидив, включают, например, одну или более линий эндокринной терапии, ингибитор циклинзависимой киназы (CDK) 4/6 (в том числе при лечении метастатического или местнораспространенного рака), лечение таксаном, лечение антрациклином, ингибитором поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP), терапию препаратами платины, терапию ингибитором белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-1), ингибитором лиганда белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-L1), химиотерапию, включающую фторпиримидин, HER2-направленную терапию и/или любое сочетание или комбинацию двух или больше терапий, представленных в этом параграфе и описанных в настоящем документе.

[00216] В некоторых вариантах осуществления субъекты, которые могут быть

подвергнуты лечению способами, предложенными в настоящем документе, ранее получили по меньшей мере две, три, четыре, пять или шесть линий системной терапии. Такие системные терапии могут быть любым лечением с применением веществ, которые мигрируют в кровотоке, достигают и воздействуют на клетки по всему телу. Такие системные терапии могут быть такими, как описанные в предыдущем параграфе (параграфе [00215]). В одном варианте осуществления такой системной терапией является таксан.

[00217] В некоторых вариантах осуществления субъекты, которые могут быть подвергнуты лечению способами, предложенными в настоящем документе, испытали прогрессирование или рецидив после другого лечения рака в течение 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 месяцев после другого лечения, включающего, например, без ограничения, любое лечение или любую комбинацию лечения, описанного во втором параграфе до настоящего параграфа (параграфе [00215]). В некотором конкретном варианте осуществления субъекты испытали прогрессирование или рецидив в течение 6 месяцев после терапии препаратами платины или химиотерапии, которая включала фторпиримидин. В других конкретных вариантах субъекты испытали прогрессирование или рецидив в течение 6 месяцев после терапии препаратами платины. В других вариантах осуществления субъекты испытали прогрессирование или рецидив в течение 12 месяцев после терапии препаратами платины.

[00218] В некоторых вариантах осуществления субъекты, которые могут быть подвергнуты лечению способами, предложенными в настоящем документе, уже получили одно или больше других лечений рака. Одно или больше лечений, которые получили субъекты, включают, например, одну или более линий эндокринной терапии, ингибитор циклинзависимой киназы (CDK) 4/6 (в том числе при лечении метастатического или местнораспространенного рака), лечение таксаном, лечение антрациклином, ингибитором поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP), терапию препаратами платины, терапию ингибитором белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-1), ингибитором лиганда белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-L1), химиотерапию, включающую фторпиримидин, HER2-направленную терапию и/или любое сочетание или комбинацию двух или более терапий, представленных в данном параграфе и описанных в настоящем документе.

[00219] В некоторых вариантах осуществления субъекты, которые могут быть подвергнуты лечению способами, предложенными в настоящем документе, имеют любую комбинацию или сочетание получения одного или больше других лечений рака, как описано в предыдущем параграфе (параграфе [00218]), и прогрессирование или рецидив после одного или больше других лечений рака, как описано в четвертом параграфе до настоящего параграфа (параграфе [00215]).

[00220] В некоторых вариантах осуществления субъекты, которые могут быть подвергнуты лечению способами, предложенными в настоящем документе, имеют некоторые фенотипические или генотипические характеристики. В одном варианте

осуществления субъекты имеют ГР+/HER2- рак молочной железы, который также является эстроген-рецептор (ЭР) положительным и HER2-отрицательным. В одном варианте осуществления субъекты имеют ГР+/HER2- рак молочной железы, который также является прогестерон-рецептор (ПР) положительным и HER2-отрицательным. В одном варианте осуществления субъекты имеют ГР+/HER2- рак молочной железы, который также является эстроген-рецептор (ЭР) положительным, прогестерон-рецептор (ПР) положительным и HER2-отрицательным. В одном варианте осуществления субъекты имеют опасную гаметную мутацию в гене предрасположенности к раку молочной железы (BRCA) 1 и/или BRCA2. В одном варианте осуществления субъекты имеют ЭР-отрицательный, ПР-отрицательный и HER2-отрицательный (ЭР-/ПР-/HER2-) рак молочной железы. В одном варианте осуществления субъекты имеют рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) дикого типа. В одном варианте осуществления субъекты имеют киназу анапластической лимфомы (ALK) дикого типа. В одном варианте осуществления субъекты имеют рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) дикого типа и киназу анапластической лимфомы (ALK) дикого типа. В некоторых вариантах осуществления субъекты имеют любое сочетание и комбинацию фенотипических или генотипических характеристик, описанных в настоящем документе.

[00221] В некоторых вариантах осуществления фенотипические или генотипические характеристики определены гистологически, цитологически или гистологически и цитологически. В одном варианте осуществления ГР+/HER2- рак молочной железы, который также является эстроген-рецептор (ЭР) положительным и HER2-отрицательным, определен гистологически, цитологически или гистологически и цитологически. В одном варианте осуществления ГР+/HER2- рак молочной железы, который также является прогестерон-рецептор (ПР) положительным и HER2-отрицательным, определен гистологически, цитологически или гистологически и цитологически. В одном варианте осуществления ГР+/HER2- рак молочной железы, который также является эстроген-рецептор (ЭР) положительным, прогестерон-рецептор (ПР) положительным и HER2-отрицательным, определен гистологически, цитологически или гистологически и цитологически. В одном варианте осуществления, опасная гаметная мутация в гене предрасположенности к раку молочной железы (BRCA) 1 и/или BRCA2 определена гистологически, цитологически или гистологически и цитологически. В одном варианте осуществления ЭР-отрицательный, ПР-отрицательный и HER2-отрицательный (ЭР-/ПР-/HER2-) рак молочной железы определен гистологически, цитологически или гистологически и цитологически. В одном варианте осуществления рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) дикого типа определен гистологически, цитологически или гистологически и цитологически. В одном варианте осуществления киназа анапластической лимфомы (ALK) дикого типа определена гистологически, цитологически или гистологически и цитологически. В одном варианте осуществления рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) дикого типа и киназа анапластической лимфомы (ALK) дикого типа определены гистологически, цитологически или

гистологически и цитологически.

[00222] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, гистологическое и/или цитологическое определение фенотипических и/или генотипических характеристики проводят, как описано в рекомендациях Американского общества клинической онкологии/Коллегии американских патологов (ASCO/CAP), на основе последней исследованной ткани, включенных в настоящий документ посредством отсылки во всей своей полноте.

[00223] В некоторых вариантах осуществления фенотипические или генотипические особенности определяют с помощью секвенирования, включая секвенирование следующего поколения (например, NGS от Illumina, Inc), гибридизации ДНК и/или гибридизации РНК. В одном варианте осуществления ГР+/HER2- рак молочной железы, который также является эстроген-рецептор (ЭР) положительным и HER2-отрицательным, определяют с помощью секвенирования, включая секвенирование следующего поколения (например, NGS от Illumina, Inc), гибридизации ДНК и/или гибридизации РНК. В одном варианте осуществления ГР+/HER2- рак молочной железы, который также является прогестерон-рецептор (ПР) положительным и HER2-отрицательным, определяют с помощью секвенирования, включая секвенирование следующего поколения (например, NGS от Illumina, Inc), гибридизации ДНК и/или гибридизации РНК. В одном варианте осуществления ГР+/HER2- рак молочной железы, который также является эстроген-рецептор (ЭР) положительным, прогестерон-рецептор (ПР) положительным и HER2-отрицательным, определяют с помощью секвенирования, включая секвенирование следующего поколения (например, NGS от Illumina, Inc), гибридизации ДНК и/или гибридизации РНК. В одном варианте осуществления опасную гаметную мутацию в гене предрасположенности к раку молочной железы (BRCA) 1 и/или BRCA2, определяют с помощью секвенирования, включая секвенирование следующего поколения (например, NGS от Illumina, Inc), гибридизации ДНК и/или гибридизации РНК. В одном варианте осуществления ЭР-отрицательный, ПР-отрицательный и HER2-отрицательный (ЭР-/ПР-/HER2-) рак молочной железы определяют с помощью секвенирования, включая секвенирование следующего поколения (например, NGS от Illumina, Inc), гибридизации ДНК и/или гибридизации РНК. В одном варианте осуществления рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) дикого типа определяют с помощью секвенирования, включая секвенирование следующего поколения (например, NGS от Illumina, Inc), гибридизации ДНК и/или гибридизации РНК. В одном варианте осуществления киназу анапластической лимфомы (ALK) дикого типа определяют с помощью секвенирования, включая секвенирование следующего поколения (например, NGS от Illumina, Inc), гибридизации ДНК и/или гибридизации РНК. В одном варианте осуществления рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) дикого типа и киназу анапластической лимфомы (ALK) дикого типа определяют с помощью секвенирования, включая секвенирование следующего поколения (например, NGS от Illumina, Inc), гибридизации ДНК и/или гибридизации РНК.

[00224] В некоторых вариантах осуществления одно или больше других лечений рака, которые получили субъекты или после которого злокачественные опухоли субъектов прогрессировали или рецидивировали, являются ингибитором PD-1 или ингибитором PD-L1. В некоторых вариантах осуществления ингибитором PD-1 является пембролизумаб или ниволумаб. В других вариантах осуществления ингибитор PD-L1 выбран из группы, состоящей из атезолизумаба, авелумаба и дурвалумаба. Другие примеры ингибиторов PD-1/PD-L1 включают, без ограничения, описанные в патентах США 7,488,802; 7,943,743; 8,008,449; 8,168,757; 8,217,149 и публикациях патентных заявок PCT WO2003042402, WO2008156712, WO2010089411, WO2010036959, WO2011066342, WO2011159877, WO2011082400 и WO2011161699, которые включены в настоящий документ во всей своей полноте.

[00225] В некоторых вариантах осуществления ингибитор PD-1 является антителом против PD-1. В одном варианте осуществления антителом против PD-1 является BGB-A317, ниволумаб (также известный как ONO-4538, BMS-936558 или MDX1106) или пембролизумаб (также известный как MK-3475, SCH 900475 или ламбролизумаб). В одном варианте осуществления антителом против PD-1 является ниволумаб. Ниволумаб представляет собой человеческое моноклональное IgG4 антитело против PD-1 и выпускается под торговым наименованием ОпдивоTM. В другом варианте осуществления антителом против PD-1 является пембролизумаб. Пембролизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное IgG4 антитело и выпускается под торговым наименованием КитрудаTM. В еще одном варианте осуществления антителом против PD-1 является CT-011, гуманизированное антитело. В еще одном варианте осуществления антителом против PD-1 является AMP-224, слитый белок. В другом варианте осуществления антителом к PD-1 является BGB-A317. BGB-A317 представляет собой моноклональное антитело, которое обладает способностью специфично связывать Fc-гамма рецептор I и имеет уникальную сигнатуру связывания с PD-1 с высокой аффинностью и отличной специфичностью к мишени.

[00226] В другом варианте осуществления ингибитор PD-L1 является антителом против PD-L1. В одном варианте осуществления антителом против PD-L1 является MEDI4736 (дурвалумаб). В другом варианте осуществления антителом против PD-L1 является BMS-936559 (также известный как MDX-1105-01). В еще одном варианте осуществления ингибитором PD-L1 является атезолизумаб (также известный как MPDL3280A и Тецентрик[®]).

[00227] В некоторых вариантах осуществления субъекты, которые могут быть подвергнуты лечению способами, предложенными в настоящем документе, являются млекопитающими. В некоторых вариантах осуществления субъектом, который может быть подвергнут лечению способами, предложенными в настоящем документе, является человек.

5.3 Конъюгат антитела-лекарственного средства против 191P4D12

[00228] В основном в способах, предложенных в настоящем документе,

используется ADC против 191P4D12, описанный в настоящем документе и/или в патенте США 8,637,642, включенном в настоящий документ посредством отсылки во всей полноте. Конъюгат антитела-лекарственного средства против 191P4D12, предложенный в настоящем документе, включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами цитотоксических средств (или единицами лекарственного средства). Цитотоксические средства (или единицы лекарственного средства) могут быть ковалентно связаны напрямую или через линкерную единицу (LU).

[00229] В некоторых вариантах осуществления соединение конъюгата антитела-лекарственного средства имеет следующую формулу:



или ее фармацевтически приемлемая соль или сольват; где:

L является единицей антитела, например, антитела против 191P4D12 или его антигенсвязывающего фрагмента, как предусмотрено в Разделе 5.3.1 ниже, и

(LU-D) является фрагментом линкерной единицы-единицы лекарственного средства, где:

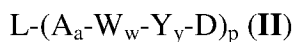
LU- является линкерной единицей, и

D является единицей лекарственного средства, обладающего цитостатической или цитотоксической активностью против клетки-мишени; и

p является целым числом от 1 до 20.

[00230] В некоторых вариантах осуществления p изменяется в пределах 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3 или 1-2. В некоторых вариантах осуществления p изменяется в пределах 2-10, 2-9, 2-8, 2-7, 2-6, 2-5, 2-4 или 2-3. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 1. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 2. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 3. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 4. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 5. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 6. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 7. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 8. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 9. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 10.

[00231] В некоторых вариантах осуществления соединение конъюгата антитела-лекарственного средства имеет следующую формулу:



или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где:

L является единицей антитела, например, антитела против 191P4D12 или его антигенсвязывающего фрагмента, как предусмотрено в Разделе 5.3.1 ниже; и

-A_a-W_w-Y_y- является линкерной единицей (LU), где:

-A- является удлиняющей единицей,

a равно 0 или 1,

каждый -W- независимо является аминокислотной единицей,

w является целым числом от 0 до 12,

-Y- является саморасщепляющейся спейсерной единицей,

y равно 0, 1 или 2;

D является единицей лекарственного средства, обладающего цитостатической или цитотоксической активностью против клетки-мишени; и

r является целым числом от 1 до 20.

[00232] В некоторых вариантах осуществления a равно 0 или 1, w равно 0 или 1, и y равно 0, 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления a равно 0 или 1, w равно 0 или 1, и y равно 0 или 1. В некоторых вариантах осуществления r изменяется в пределах 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3 или 1-2. В некоторых вариантах осуществления r изменяется в пределах 2-8, 2-7, 2-6, 2-5, 2-4 или 2-3. В других вариантах осуществления r равно 1, 2, 3, 4, 5 или 6. В некоторых вариантах осуществления r равно 2 или 4. В некоторых вариантах осуществления, когда w не равно нулю, y равно 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления, когда w равно 1-12, y равно 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления w равно 2-12, и y равно 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления a равно 1, а w и y равны 0.

[00233] Для композиций, включающих множество антител или их антигенсвязывающих фрагментов, нагрузка лекарственного средства представлена r, средним количеством молекул лекарственного средства на единицу антитела. Нагрузка лекарственного средства может варьировать от 1 до 20 молекул лекарственного средства (D) на антитело. Среднее количество молекул лекарственного средства на антитело при подготовке реакций конъюгирования может быть определено с помощью стандартных средств, таких как масс-спектропия, ИФА и ВЭЖХ. Также можно определить количественное распределение конъюгатов антитела-лекарственного средства в единицах r. В некоторых случаях разделение, очистка и анализ гомогенных конъюгатов антитела-лекарственного средства, где r является некоторым значением для конъюгатов антитела-лекарственного средства с другой нагрузкой лекарственного средства, могут быть выполнены с помощью таких методов, как обращенно-фазовая ВЭЖХ или электрофорез. В иллюстративных вариантах осуществления r равно от 2 до 8.

5.3.1 Антитела против 191P4D12 или антигенсвязывающие фрагменты

[00234] В одном варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с родственными 191P4D12 белками, является антителом или антигенсвязывающим фрагментом, которые специфично связываются с белком 191P4D12, включающим аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2 (см. ФИГ. 1A). Соответствующая кДНК, кодирующая белок 191P4D12, имеет последовательность SEQ ID NO:1 (см. ФИГ. 1A).

[00235] Антитело, которое специфично связывается с белком 191P4D12, включающим аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2, включает антитела, которые могут связываться с другими родственными 191P4D12 белками. Например, антитела, которые связывают белок 191P4D12, включающий аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:2, могут связывать родственные 191P4D12 белки, такие как варианты 191P4D12 и их гомологи или аналоги.

[00236] В некоторых вариантах осуществления антитело против 191P4D12, предложенное в настоящем документе, является моноклональным антителом.

[00237] В некоторых вариантах осуществления антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4 (последовательность кДНК SEQ ID NO:3), и/или легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6 (последовательность кДНК SEQ ID NO:5), как показано на ФИГ. 1B и 1C.

[00238] В некоторых вариантах осуществления антитело против 191P4D12 или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22 (которая является аминокислотной последовательностью, идущей от 20-й аминокислоты (глутаминовой кислоты) до 136-й аминокислоты (серина) SEQ ID NO:7), и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23 (которая является аминокислотной последовательностью, идущей от 23-й аминокислоты (аспарагиновой кислоты) до 130-й аминокислоты (аргинина) SEQ ID NO:8). SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO:23, SEQ ID NO:7 и SEQ ID NO:8 показаны на ФИГ. 1D и 1E и перечислены ниже:

SEQ ID NO:22

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYNMNWVRQAPGKGLEWVSYISSS
SSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLSLQMNSLRDEDTAVYYCARAYYYGMDVWGQGT
TVTVSS

SEQ ID NO:23

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISGWLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQ
SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPPTFGGGTKVEIKR

SEQ ID NO:7

MELGLCWVFLVAILEGVQCEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYNMN
WVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLSLQMNSLRDEDTAVY
YCARAYYYGMDVWGQGT TVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPE
PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVD
KRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL
PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
K

SEQ ID NO:8

MDMRVPAQLLGLLLLWFPGRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISGW
 LAWYQQKPGKAPKFLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQAN
 SFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
 ALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNR
 GEC

[00239] Последовательности CDR могут быть определены согласно известным системам нумерации. Как описано выше, CDR-области известны специалистам и были определены с помощью известных систем нумерации. Например, Определяющие комплементарность области (CDR-области) по Кэбату основаны на вариабельности последовательности и используются наиболее часто (см., например, Kabat et al., выше). В отличие от этого, система Чотиа относится к положению структурных петель (см., например, Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17). Конец петли CDR H1 Чотиа, при нумерации согласно системе нумерации Кэбата, варьирует между H32 и H34 в зависимости от длины петли (это обусловлено тем, что схема нумерации Кэбата помещает вставки в положения H35A и H35B; если не присутствуют ни 35A, ни 35B, петля оканчивается в положении 32; если присутствует только 35A, петля оканчивается в положении 33; если присутствуют и 35A, и 35B, петля оканчивается в положении 34). Гипервариабельные участки в системе AbM представляют собой компромисс между CDR-областями Кэбата и структурными петлями Чотиа и используются в программе моделирования антител AbM Oxford Molecular (см., например, Antibody Engineering Vol. 2 (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010)). "Контактные" гипервариабельные области основаны на анализе доступных кристаллических структур комплексов. Еще одной разработанной и широко применяемой универсальной системой нумерации является информационная система ImMunoGeneTics (IMGT) Information System[®] (Lafranc et al., 2003, Dev. Comp. Immunol. 27 (1):55-77). IMGT представляет собой интегрированную информационную систему, специализирующейся на иммуноглобулинах (IG), Т-клеточных рецепторах (TCR) и главном комплексе гистосовместимости (МНС) человека и других позвоночных. В настоящем документе CDR-области обозначены с указанием аминокислотной последовательности и расположения в легкой или тяжелой цепи. Поскольку "расположение" CDR-областей в структуре вариабельного домена иммуноглобулина консервативно у организмов разных видов и присутствует в структурах, называемых петлями, то при помощи систем нумерации, которые выравнивают последовательности вариабельных доменов в соответствии со структурными особенностями, можно легко идентифицировать остатки CDR и каркасной области. Эта информация может использоваться при графтинге и замене остатков CDR из иммуноглобулинов одного вида с переносом в акцепторную каркасную область, как правило, из человеческого антитела. Дополнительная система нумерации (AHon) была разработана Аннемарией Хонеггер и Андреасом Плюктуном (Honegger and Plückthun, 2001, J. Mol. Biol. 309:657-70). Соответствие между системой нумерации, включающей, например, нумерацию Кэбата и уникальную систему нумерации IMGT, хорошо известно

специалисту в данной области (см., например, Kabat, выше; Chothia and Lesk, выше; Martin, выше; Lefranc et al., выше). Остатки из каждой из этих гипервариабельных областей или CDR-областей указаны выше в Таблице 1.

[00240] В некоторых вариантах осуществления антитело против 191P4D12 или его антигенсвязывающий фрагмент включает вариабельную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей вариабельной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, соответствующие нумерации Кэбата, и вариабельную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей вариабельной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23, соответствующие нумерации Кэбата.

[00241] В некоторых вариантах осуществления антитело против 191P4D12 или его антигенсвязывающий фрагмент включает вариабельную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей вариабельной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, соответствующие нумерации AbM, и вариабельную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей вариабельной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23, соответствующие нумерации AbM.

[00242] В других вариантах осуществления антитело против 191P4D12 или его антигенсвязывающий фрагмент включает вариабельную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей вариабельной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, соответствующие нумерации Чотиа, и вариабельную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей вариабельной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23, соответствующие нумерации Чотиа.

[00243] В других вариантах осуществления антитело против 191P4D12 или его антигенсвязывающий фрагмент включает вариабельную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей вариабельной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, соответствующие контактной нумерации, и вариабельную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей вариабельной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23, соответствующие контактной нумерации.

[00244] В других вариантах осуществления антитело против 191P4D12 или его антигенсвязывающий фрагмент включает вариабельную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей вариабельной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, соответствующие нумерации IMGT, и вариабельную

область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей вариабельной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23, соответствующие нумерации IMGT.

[00245] Как описано выше, последовательности CDR, соответствующие различным системам нумерации, могут быть с легкостью определены, например, с помощью онлайн-инструментов, таких как средство, представленное Antigen receptor Numbering And Receptor Classification (ANARCI). Например, CDR-последовательности тяжелой цепи в SEQ ID NO:22 и CDR-последовательности легкой цепи в SEQ ID NO:23 согласно нумерации Кэбата, как определено ANARCI, перечислены в Таблице 4 ниже.

Таблица 4

	VH SEQ ID NO:22	VL SEQ ID NO:23
CDR1	SYNMN (SEQ ID NO:9)	RASQGISGWL (SEQ ID NO:12)
CDR2	YISSSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:10)	AASLQS (SEQ ID NO:13)
CDR3	AYYYGMDV (SEQ ID NO:11)	QANSFPPT (SEQ ID NO:14)

[00246] В качестве другого примера CDR-последовательности тяжелой цепи в SEQ ID NO:22 и CDR-последовательности легкой цепи в SEQ ID NO:23 согласно нумерации IMGT, как определено ANARCI, перечислены в Таблице 5 ниже.

Таблица 5

	VH SEQ ID NO:22	VL SEQ ID NO:23
CDR1	GFTFSSYN (SEQ ID NO:16)	QGISGW (SEQ ID NO:19)
CDR2	ISSSSSTI (SEQ ID NO:17)	ASS (SEQ ID NO:20)
CDR3	ARAYYYGMDV (SEQ ID NO:18)	QANSFPPT (SEQ ID NO:21)

[00247] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает CDR H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9, CDR H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10, CDR H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:11, CDR L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:12, CDR L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, и CDR L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14.

[00248] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает CDR H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, CDR H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18, CDR L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, CDR L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20 и CDR L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21.

[00249] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает вариабельную область тяжелой цепи,

включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23.

[00250] В некоторых вариантах осуществления антитело включает тяжелую цепь, включающую аминокислотную последовательность, идущую от 20-й аминокислоты (глутаминовой кислоты) до 466-й аминокислоты (лизина) SEQ ID NO:7, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, идущую от 23-й аминокислоты (аспарагиновой кислоты) до 236-й аминокислоты (цистеина) SEQ ID NO:8.

[00251] В некоторых вариантах осуществления рассматриваются модификации аминокислотной последовательности(ей) антител, описанных в настоящем документе. Например, может быть желательно оптимизировать аффинность связывания и/или другие биологические свойства антитела, включающие, без ограничения, специфичность, термостабильность, уровень экспрессии, эффекторные функции, гликозилирование, сниженную иммуногенность или растворимость. Таким образом, в дополнение к описанным в настоящем документе антителам предполагается, что могут быть получены варианты антител. Например, варианты антител могут быть получены путем введения соответствующих нуклеотидных изменений в кодирующую ДНК и/или путем синтеза нужного антитела или полипептида. Специалистам в данной области будет понятно, что аминокислотные замены могут менять посттрансляционные процессы антитела, такие как изменение количества или положения сайтов гликозилирования или изменение характеристик закрепления в мембране.

[00252] В некоторых вариантах осуществления антитела, представленные в настоящем документе, химически модифицированы, например, путем ковалентного присоединения любого типа молекулы к антителу. Производные антител могут включать антитела, которые были химически модифицированы, например, путем гликозилирования, ацетилирования, пэгирования, фосфорилирования, амидирования, дериватизации известными защитными/блокирующими группами, протеолитического расщепления, связывания с клеточным лигандом или другим белком и т.д. Любые из многочисленных химических модификаций могут быть выполнены известными методами, включая, без ограничения перечисленным, специфическое химическое расщепление, ацетилирование, изготовление составов, метаболический синтез туникамицина и т.д. Кроме того, антитело может содержать одну или больше неклассических аминокислот.

[00253] Вариации могут быть заменой, делецией или вставкой одного или более кодонов, кодирующих однодоменное антитело или полипептид, что приводит к изменению аминокислотной последовательности по сравнению с исходным антителом или полипептидом. Аминокислотные замены могут быть результатом замены одной аминокислоты другой аминокислотой, обладающей подобными структурными и/или химическими свойствами, такой как замена лейцина на серин, например, консервативные аминокислотные замены. Стандартные методы, известные специалистам в данной области, могут использоваться для введения мутаций в нуклеотидную последовательность, кодирующую молекулу, представленную в настоящем документе,

включающие, например, сайт-направленный мутагенез и ПЦР-опосредованный мутагенез, который приводит к аминокислотным заменам. Вставки или делеции необязательно могут находиться в пределах приблизительно от 1 до 5 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления замена, делеция или вставка включают меньше 25 аминокислотных замен, меньше 20 аминокислотных замен, меньше 15 аминокислотных замен, меньше 10 аминокислотных замен, меньше 5 аминокислотных замен, меньше 4 аминокислотных замен, меньше 3 аминокислотных замен или меньше 2 аминокислотных замен по сравнению с исходной молекулой. В конкретном варианте осуществления замена является консервативной аминокислотной заменой, введенной в одном или больше предсказанных несущественных аминокислотных остатках. Допустимая вариация может быть определена путем систематического введения вставок, делеций или замен аминокислот в последовательности и тестирования полученных вариантов на активность, демонстрируемую исходными антителами.

[00254] Вставки в аминокислотную последовательность включают N- и/или C-концевые слияния протяженностью от одного остатка до полипептидов, содержащих множество остатков, а также вставки внутри последовательности одного или множества аминокислотных остатков. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым метионильным остатком.

[00255] Антитела, полученные с помощью консервативных аминокислотных замен, включены в настоящее описание. При консервативной аминокислотной замене аминокислотный остаток заменяется аминокислотным остатком, содержащим боковую цепь с аналогичным зарядом. Как описано выше, в уровне техники определены семейства аминокислотных остатков, содержащих боковые цепи с аналогичными зарядами. Эти семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (например, лизин, аргинин, гистидин), кислотными боковыми цепями (например, аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту), незаряженными полярными боковыми цепями (например, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярными боковыми цепями (например, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин, триптофан), бета-разветвленными боковыми цепями (например, треонин, валин, изолейцин) и ароматическими боковыми цепями (например, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). В альтернативе мутации могут быть введены случайным образом по всей протяженности или части кодирующей последовательности, например, с помощью насыщающего мутагенеза, после чего полученные мутанты могут быть подвергнуты скринингу на биологическую активность для выявления мутантов, которые сохранили активность. После мутагенеза кодируемый белок может быть экспрессирован, а активность белка может быть определена, причем консервативные (например, внутри группы аминокислот с подобными свойствами и/или боковыми цепями) замены могут быть сделаны так, чтобы сохранить или не вызвать значительного изменения свойств.

[00256] Аминокислоты можно подразделить на следующие группы в соответствии с подобием свойств их боковых цепей (см., например, Lehninger, Biochemistry 73-75 (2d ed.

1975)): (1) неполярные: Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Phe (F), Trp (W), Met (M); 2 - незаряженные полярные: Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q); (3) кислотные: Asp (D), Glu (E); и (4) основные: Lys (K), Arg (R), His(H). В альтернативе природные остатки можно подразделить на группы на основе общих свойств боковой цепи: (1) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile; (2) нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln; (3) кислотные: Asp, Glu; (4) основные: His, Lys, Arg; (5) остатки, влияющие на ориентацию цепи: Gly, Pro; и (6) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

[00257] Например, любой остаток цистеина, не участвующий в поддержании правильной конформации антитела, также можно заменить, например, другой аминокислотой, такой как аланин или серин, для улучшения окислительной стабильности молекулы и предотвращения неправильного перекрестного связывания.

[00258] Вариации могут быть введены с использованием способов, известных в данной области, таких как олигонуклеотид-опосредованный (сайт-направленный) мутагенез, аланиновое сканирование и ПЦР-мутагенез. Сайт-направленный мутагенез (см., например, Carter, 1986, *Biochem J.* 237:1-7; и Zoller et al., 1982, *Nucl. Acids Res.* 10:6487-500), кассетный мутагенез (см., например, Wells et al., 1985, *Gene* 34:315-23), или другие известные методы могут быть применены на клонированной ДНК для получения варианта ДНК антитела против MSLN.

[00259] Ковалентные модификации антител включены в объем настоящего изобретения. Ковалентные модификации включают взаимодействие целевых аминокислотных остатков антитела с органическим дериватизирующим агентом, который способен реагировать с выбранными боковыми цепями или N- или C-концевыми остатками антитела. Другие модификации включают дезамидирование глутаминильных и аспарагинильных остатков до соответствующих глутамиловых и аспартильных остатков соответственно, гидроксилирование пролина и лизина, фосфорилирование гидроксильных групп серильных или треонильных остатков, метилирование α -аминогрупп боковых цепей лизина, аргинина и гистидина (см., например, Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties* 79-86 (1983)), ацетилирование N-концевого амина и амидирование любой C-концевой карбоксильной группы.

[00260] Другие типы ковалентной модификации антитела, включенные в объем настоящего изобретения, включают изменение природного профиля гликозилирования антитела или полипептида (см., например, Beck et al., 2008, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 9:482-501 и Walsh, 2010, *Drug Discov. Today* 15:773-80) и связывание антитела с одним из множества небелковых полимеров, например, полиэтиленгликолем (ПЭГ), полипропиленгликолем или полиоксипропиленами, как описано, например, в патентах США 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192 или 4,179,337.

[00261] В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают тяжелую цепь, обладающую больше чем 70% гомологией или идентичностью с тяжелой цепью, представленной в SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления антитело или

антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают тяжелую цепь, обладающую больше чем 75% гомологией или идентичностью с тяжелой цепью, представленной в SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают тяжелую цепь, обладающую больше чем 80% гомологией или идентичностью с тяжелой цепью, представленной в SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают тяжелую цепь, обладающую больше чем 85% гомологией или идентичностью с тяжелой цепью, представленной в SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают тяжелую цепь, обладающую больше чем 90% гомологией или идентичностью с тяжелой цепью, представленной в SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают тяжелую цепь, обладающую больше чем 95% гомологией или идентичностью с тяжелой цепью, представленной в SEQ ID NO:7.

[00262] В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают легкую цепь, обладающую больше чем 70% гомологией или идентичностью с легкой цепью, представленной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают легкую цепь, обладающую больше чем 75% гомологией или идентичностью с легкой цепью, представленной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают легкую цепь, обладающую больше чем 80% гомологией или идентичностью с легкой цепью, представленной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают легкую цепь, обладающую больше чем 85% гомологией или идентичностью с легкой цепью, представленной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают легкую цепь, обладающую больше чем 90% гомологией или идентичностью с легкой цепью, представленной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают легкую цепь, обладающую больше чем 95% гомологией или идентичностью с легкой цепью, представленной в SEQ ID NO:8.

[00263] В некоторых вариантах осуществления антитело против 191P4D12, представленное в настоящем документе, включает CDR-области тяжелой и легкой цепей антитела, обозначенного Ha22-2(2,4)6.1, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа PTA-11267, или CDR-области тяжелой и легкой цепи, включающие аминокислотные последовательности, которые гомологичны аминокислотным последовательностям CDR-областей тяжелой и

легкой цепи Ha22-2(2,4)6.1, где антитела сохраняют требуемые функциональные свойства антитела против 191P4D12, обозначенного Ha22-2(2,4)6.1, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа РТА-11267.

[00264] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают гуманизированную переменную область тяжелой цепи и гуманизированную переменную область легкой цепи, где:

(а) переменная область тяжелой цепи включает CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в антителе, продуцируемом гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа РТА-11267;

(b) переменная область легкой цепи включает CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в антителе, продуцируемом гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа РТА-11267.

[00265] В некоторых вариантах осуществления антитело против 191P4D12, представленное в настоящем документе, включает переменные области тяжелой и легкой цепей антитела, обозначенного Ha22-2(2,4)6.1, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа РТА-11267 (см. Фигуру 3), или переменные области тяжелой и легкой цепей, включающие аминокислотные последовательности, которые гомологичны аминокислотным последовательностям переменных областей тяжелой и легкой цепей Ha22-2(2,4)6.1, и где антитела сохраняют требуемые функциональные свойства антитела против 191P4D12, предложенного в настоящем документе. В качестве константной области антитела согласно изобретению может быть выбрана константная область любого субкласса. В одном варианте осуществления в качестве константной области тяжелой цепи может использоваться константная область IgG1 человека, а в качестве константной области легкой цепи - константная область каппа Ig человека.

[00266] В некоторых вариантах осуществления антитело против 191P4D12, представленное в настоящем документе, включает тяжелую и легкую цепи антитела, обозначенного Ha22-2(2,4)6.1, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа РТА-11267 (см. Фигуру 3), или тяжелую и легкую цепи, включающие аминокислотные последовательности, которые гомологичны аминокислотным последовательностям тяжелой и легкой цепей Ha22-2(2,4)6.1, где антитела сохраняют требуемые функциональные свойства антитела против 191P4D12, представленного в настоящем документе.

[00267] В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в настоящем документе, включают

вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где:

(а) вариабельная область тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% гомологична или идентична аминокислотной последовательности вариабельной области тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267; и

(b) вариабельная область легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% гомологична или идентична аминокислотной последовательности вариабельной области легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267.

[00268] В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% гомологична или идентична аминокислотной последовательности вариабельной области тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267. В других вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% гомологична или идентична аминокислотной последовательности вариабельной области тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267. В других вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% гомологична или идентична аминокислотной последовательности вариабельной области тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267. В других вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи может быть на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% гомологична или идентична аминокислотной последовательности вариабельной области тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267.

[00269] В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% гомологична или идентична аминокислотной последовательности вариабельной области легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267. В других вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% гомологична или идентична аминокислотной последовательности вариабельной области легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекцией типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267.

культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267. В других вариантах осуществления переменная область легкой цепи включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% гомологична или идентична аминокислотной последовательности переменной области легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267. В других вариантах осуществления переменная область легкой цепи может быть на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% гомологична или идентична аминокислотной последовательности переменной области легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267.

[00270] В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в настоящем документе, включает тяжелую цепь и легкую цепь, где:

(а) тяжелая цепь включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% гомологична или идентична аминокислотной последовательности тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267; и

(b) легкая цепь включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 80% гомологична или идентична аминокислотной последовательности легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267.

[00271] В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% гомологична или идентична аминокислотной последовательности тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267. В других вариантах осуществления тяжелая цепь включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% гомологична или идентична аминокислотной последовательности тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267. В других вариантах осуществления тяжелая цепь включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% гомологична или идентична аминокислотной последовательности тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267. В других вариантах осуществления тяжелая цепь может быть на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% гомологична или идентична аминокислотной последовательности тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267.

[00272] В некоторых вариантах осуществления легкая цепь включает

аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85% гомологична или идентична аминокислотной последовательности легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267. В других вариантах осуществления легкая цепь включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% гомологична или идентична аминокислотной последовательности легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267. В других вариантах осуществления легкая цепь включает аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95% гомологична или идентична аминокислотной последовательности легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267. В других вариантах осуществления легкая цепь может быть на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% гомологична или идентична аминокислотной последовательности легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа РТА-11267.

[00273] Рекомбинантные антитела, представленные в настоящем документе, включают антитела, в которых были сделаны модификации каркасных остатков в VH и/или VL (например, для улучшения свойств антитела). Обычно такие модификации каркасных остатков делают для снижения иммуногенности антитела. Например, один из подходов заключается в "обратной мутации" одного или больше каркасных остатков в соответствующей гаметной последовательности. Более конкретно, антитело, которое было подвергнуто соматической мутации, может содержать каркасные остатки, которые отличаются от гаметной последовательности, из которой получено антитело. Такие остатки могут быть идентифицированы путем сравнения каркасных последовательностей антитела с гаметными последовательностями, из которых получено антитело. Чтобы вернуть последовательности каркасной области в их гаметную конфигурацию, соматические мутации могут быть подвергнуты "обратной мутации" с возвратом к гаметной последовательности, например, с помощью сайт-направленного мутагенеза или ПЦР-опосредованного мутагенеза (например, "обратной мутации" с заменой лейцина на метионин). Такие антитела с "обратной мутацией" также должны быть охвачены изобретением.

[00274] Другой тип модификации каркасных остатков включает мутацию одного или нескольких остатков в каркасной области или даже в одной или больше CDR-областях для удаления Т-клеточных эпитопов, чтобы таким путем снизить потенциальную иммуногенность антитела. Данный подход также называется "деиммунизацией" и более подробно описан в патентной публикации США 2003/0153043 (Carr et al.).

[00275] В дополнение или в качестве альтернативы модификациям, сделанным в каркасных или CDR-областях, антитела согласно изобретению могут быть сконструированы таким образом, чтобы они включали модификации в Fc-области, как

правило, для изменения одного или больше функциональных свойств антитела, таких как полупериод существования в сыворотке, связывание комплемента, связывание Fc-рецептора и/или антигензависимая клеточная цитотоксичность. Кроме того, антитело против 191P4D12, предложенное в настоящем документе, может быть химически модифицировано (например, одна или больше химических групп могут быть присоединены к антителу) или модифицировано с изменением его гликозилирования, опять же для изменения одного или больше функциональных свойств антитела. Каждый из этих вариантов осуществления более подробно описан ниже.

[00276] В одном варианте осуществления шарнирная область CH1 модифицирована таким образом, что количество цистеиновых остатков в шарнирной области изменено, например, увеличено или уменьшено. Данный подход дополнительно описан в патенте США 5,677,425 (Bodmer et al.). Количество остатков цистеина в шарнирной области CH1 изменяют, например, для облегчения сборки легкой и тяжелой цепей или для увеличения или уменьшения стабильности антитела против 191P4D12.

[00277] В другом варианте осуществления Fc шарнирную область антитела подвергают мутации с целью уменьшения биологического полупериода существования антитела против 191P4D12. Более конкретно, одну или более аминокислотных мутаций вводят в граничную область домена CH2-CH3 Fc-шарнирного фрагмента, в результате чего антитело имеет нарушенное связывание со стафилококковым белком А (SpA) по сравнению со связыванием SpA нативного Fc-шарнирного домена. Этот подход более подробно описан в патенте США 6,165,745 (Ward et al.).

[00278] В другом варианте осуществления антитело против 191P4D12 модифицировано для увеличения его биологического полупериода существования. Возможны разные подходы. Например, можно вводить мутации, как описано в патенте США 6,277,375 (Ward). В альтернативе для увеличения биологического полупериода существования антитело может быть изменено в CH1 или CL области, в результате чего оно содержит эпитоп связывания рецептора реутилизации, взятый из двух петель CH2 домена Fc-области IgG, как описано в патентах США 5,869,046 и 6,121,022 (Presta et al.).

[00279] В других вариантах осуществления Fc-область изменяют путем замены по меньшей мере одного аминокислотного остатка другим аминокислотным остатком для изменения эффекторной функции(й) антитела. Например, одна или более аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков, могут быть заменены другим аминокислотным остатком, в результате чего антитело имеет измененную аффинность к эффекторному лиганду, но сохраняет антигенсвязывающую способность исходного антитела. Эффекторный лиганд, к которому изменена аффинность, может быть, например, Fc-рецептором или C1-компонентом комплемента. Данный подход более подробно описан в патентах 5,624,821 и 5,648,260 (Winter et al.).

[00280] Реактивность антител против 191P4D12 в отношении родственного 191P4D12 белка можно определить с помощью ряда хорошо известных методов, включая Вестерн-блоттинг, иммунопреципитацию, ИФА и FACS-анализы с использованием, при

необходимости, родственных 191P4D12 белков, 191P4D12-экспрессирующих клеток или их экстрактов. Антитело к 191P4D12 или его фрагмент можно пометить детектируемым маркером или конъюгировать со второй молекулой. Подходящие детектируемые маркеры включают, без ограничения перечисленным, радиоизотоп, флуоресцентное соединение, биолюминесцентное соединение, хемилюминесцентное соединение, металлохелатор или фермент. Кроме того, биспецифичные антитела, специфичные к двум или больше эпитопам 191P4D12, получают с применением способов, общеизвестных в данной области. Гомодимерные антитела также могут быть получены методами перекрестного связывания, известными в данной области (например, Wolff et al., *Cancer Res.* 53: 2560-2565).

[00281] В еще одном конкретном варианте осуществления антитело против 191P4D12, предложенное в настоящем документе, является антителом, содержащим тяжелую и легкую цепи антитела, обозначенного Ha22-2(2,4)6.1. Тяжелая цепь Ha22-2(2,4)6.1 состоит из аминокислотной последовательности, идущей от 20-го остатка E до 466-го остатка K в SEQ ID NO:7, а легкая цепь Ha22-2(2,4)6.1 состоит из аминокислотной последовательности, идущей от 23-го остатка D до 236-го остатка C последовательности SEQ ID NO:8.

[00282] Гибридома, продуцирующая антитело, обозначенное Ha22-2(2,4)6.1, была направлена (через службу Federal Express) в Американскую коллекцию типовых культур (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, 18 августа 2010 года, с присвоением номер доступа PTA-11267.

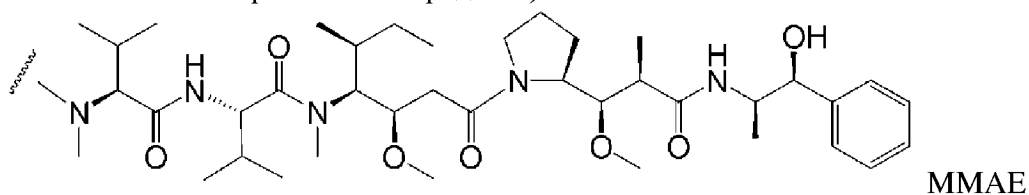
5.3.2 Цитотоксические средства (единицы лекарственного средства)

[00283] В некоторых вариантах осуществления ADC включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированные с доластатинами или пептидными аналогами и производными доластатина, ауристатинами (патенты США 5,635,483; 5,780,588). Было показано, что доластатины и ауристатины нарушают динамику микротрубочек, гидролиз ГТФ, ядерное и клеточное деление (Woyke et al. (2001) *Antimicrob. Agents and Chemother.* 45(12):3580-3584) и обладают противоопухолевой (US 5,663,149) и противогрибковой активностью (Pettit et al. (1998) *Antimicrob. Agents Chemother.* 42:2961-2965). Единица лекарственного средства на основе доластатина или ауристатина может быть присоединена к антителу через N (амино) конец или C (карбоксильный) конец пептидной единицы лекарственного средства (WO 02/088172).

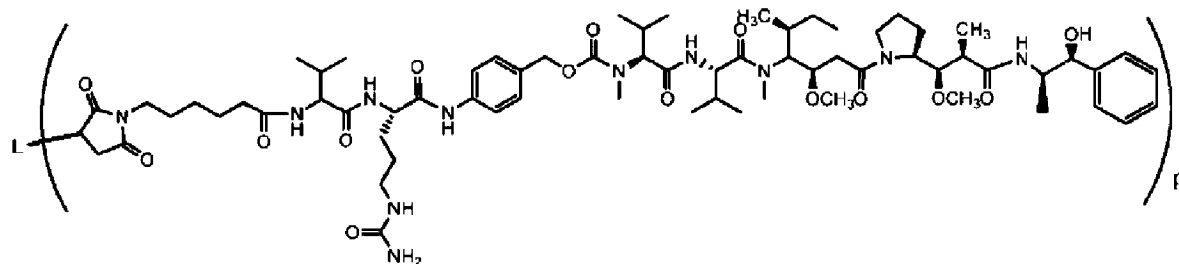
[00284] Иллюстративные варианты ауристатина включают соединенные через N-конец монометилауристатиновые единицы лекарственного средства DE и DF, раскрытые в публикации Senter et al., *Proceedings of the American Association for Cancer Research*, Volume 45, Abstract Number 623, представленной 28 марта 2004 года и описанные в патентной публикации США 2005/0238649, описание которой включено посредством отсылки во всей полноте.

[00285] В некоторых вариантах осуществления ауристатин представляет собой MMAE (где волнистая линия обозначает ковалентное присоединение к линкеру в

конъюгате антитела-лекарственного средства).



[00286] В некоторых вариантах осуществления иллюстративный вариант осуществления, включающий MMAE и линкерный компонент (описанный далее в настоящем документе), имеет следующую структуру (где L представляет собой антитело, и p изменяется в пределах от 1 до 12):



[00287] Как правило, единицы лекарственного средства на пептидной основе могут быть получены при образовании пептидной связи между двумя или больше аминокислотами и/или пептидными фрагментами. Такие пептидные связи могут быть получены, например, согласно методу жидкофазного синтеза (см. E. Schröder and K. Lübke, "The Peptides", volume 1, pp 76-136, 1965, Academic Press), который известен в области химии пептидов. Единицы лекарственного средства на основе ауристатина/доластатина могут быть получены согласно способам, описанным в US 5635483; US 5780588; Pettit et al (1989) J. Am. Chem. Soc. 111:5463-5465; Pettit et al (1998) Anti-Cancer Drug Design 13:243-277; Pettit, G.R., et al. Synthesis, 1996, 719-725; Pettit et al (1996) J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 5:859-863; и Doronina (2003) Nat Biotechnol 21(7):778-784.

5.3.3 Линкеры

[00288] Как правило, конъюгаты антитела-лекарственного средства включают линкерную единицу между единицей лекарственного средства (например, MMAE) и единицей антитела (например, антителом против 191P4D12 или его антигенсвязывающим фрагментом). В некоторых вариантах осуществления линкер расщепляется во внутриклеточных условиях, при этом расщепление линкера высвобождает единицу лекарственного средства от антитела во внутриклеточной среде. В других вариантах осуществления линкерная единица является нерасщепляемой, при этом лекарственное средство высвобождается, например, при деградации антитела.

[00289] В некоторых вариантах осуществления линкер расщепляется под действием расщепляющего агента, присутствующего во внутриклеточной среде (например, в лизосоме или эндосоме, или в кавеоле). Линкер может быть, например, пептидным линкером, который расщепляется внутриклеточным ферментом

пептидазой или протеазой, в том числе, без ограничения, лизосомальной или эндосомальной протеазой. В некоторых вариантах осуществления пептидильный линкер имеет длину по меньшей мере две аминокислоты или по меньшей мере три аминокислоты. Расщепляющие агенты могут включать катепсины В и D и плазмин, которые, как известно, гидролизуют дипептидные производные лекарственных средств, что приводит к высвобождению активного лекарственного соединения внутри клеток-мишеней (см., например, Dubowchik and Walker, 1999, *Pharm. Therapeutics* 83:67-123). Наиболее типичными являются пептидильные линкеры, которые расщепляются ферментами, которые присутствуют в 191P4D12-экспрессирующих клетках. Например, может использоваться пептидильный линкер, расщепляемый тиол-зависимой протеазой катепсином В, который на высоком уровне экспрессируется в раковой ткани (например, линкер Phe-Leu или Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO:15)). Другие примеры таких линкеров описаны, например, в патенте США 6,214,345, который полностью и во всех отношениях включен в настоящее описание посредством отсылки. В конкретном варианте осуществления пептидильный линкер, расщепляемый внутриклеточной протеазой, представляет собой линкер Val-Cit или линкер Phe-Lys (см., например, патент США 6,214,345, в котором описан синтез доксорубина с Val-Cit линкером). Одним из преимуществ использования внутриклеточного протеолитического высвобождения терапевтического средства является то, что такое средство обычно аттенуировано в конъюгированной форме, при этом стабильность конъюгатов в сыворотке обычно высокая.

[00290] В других вариантах осуществления расщепляемый линкер является рН-чувствительным, т.е. чувствителен к гидролизу при некоторых значениях рН. Как правило, рН-чувствительный линкер гидролизует в кислотных условиях. Например, может использоваться кислотолабильный линкер, гидролизующийся в лизосоме (например, гидразин, семикарбазон, тиосемикарбазон, амид цис-аконитовой кислоты, ортоэфир, ацеталь, кеталь и т.п.) (см., например, патенты США 5,122,368; 5,824,805; 5,622,929; Dubowchik and Walker, 1999, *Pharm. Therapeutics* 83:67-123; Neville et al., 1989, *Biol. Chem.* 264:14653-14661). Такие линкеры относительно стабильны при нейтральных условиях рН, таких как в крови, но нестабильны при рН ниже 5,5 или 5,0, приблизительно значениях рН в лизосоме. В некоторых вариантах осуществления гидролизующий линкер является тиоэфирным линкером (таким как, например, тиоэфир, присоединенный к терапевтическому средству через ацилгидразоновую связь (см., например, патент США 5,622,929).

[00291] В других вариантах осуществления линкер расщепляется в восстанавливающих условиях (например, дисульфидный линкер). Множество дисульфидных линкеров известно в уровне техники, включая, например, линкеры, которые могут быть получены с использованием SATA (N-сукцинимидил-S-ацетилтиоацетата), SPDP (N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)-пропионата), SPDB (N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)бутирата) и SMPT (N-сукцинимидил-оксикарбонил-

альфа-метил-альфа-(2-пиридил-дитио)толуола), SPDB и SMPT (см., например, Thorpe et al., 1987, *Cancer Res.* 47:5924-5931; Wawrzynczak et al., в *Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimagery and Therapy of Cancer* (C. W. Vogel ed., Oxford U. Press, 1987). См. также патент США 4,880,935.)

[00292] В других определенных вариантах осуществления линкер является малонатным линкером (Johnson et al., 1995, *Anticancer Res.* 15:1387-93), малеимидобензоильным линкером (Lau et al., 1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10):1299-1304) или 3'-N-амидным аналогом (Lau et al., 1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10):1305-12).

[00293] В других вариантах осуществления линкерная единица является нерасщепляемой, при этом лекарственное средство высвобождается при деградации антитела (см. патентную публикацию США 2005/0238649, включенную в настоящий документ посредством отсылки во всей полноте и во всех отношениях).

[00294] Как правило, линкер по существу не чувствителен к внеклеточной среде. При использовании в настоящем документе "по существу не чувствителен к внеклеточной среде" в отношении линкера означает, что не больше чем приблизительно 20%, как правило, не больше чем приблизительно 15%, более типично не больше чем приблизительно 10% и еще более типично не больше чем приблизительно 5%, не больше чем приблизительно 3% или не больше чем приблизительно 1% линкеров в образце конъюгата антитела-лекарственного средства расщепляются, когда конъюгат антитела-лекарственного средства присутствует во внеклеточной среде (например, в плазме). Является ли линкер по существу не чувствительным к внеклеточной среде, можно определить, например, путем инкубирования конъюгата антитела-лекарственного средства в течение заданного периода времени (например, 2, 4, 8, 16 или 24 часа) с плазмой, а затем определения количества свободного лекарственного средства, присутствующего в плазме.

[00295] В других не взаимоисключающих вариантах осуществления линкер вызывает клеточную интернализацию. В некоторых вариантах осуществления линкер вызывает клеточную интернализацию, когда он конъюгирован с терапевтическим средством (т.е. в среде фрагмента линкера-терапевтического средства соединения конъюгата антитела-лекарственного средства, как описано в настоящем документе). В других вариантах осуществления линкер вызывает клеточную интернализацию, когда он конъюгирован с соединением ауристатином и с антителом против 191P4D12 или его антигенсвязывающим фрагментом.

[00296] Множество иллюстративных линкеров, которые могут использоваться с настоящими композициями и способами, описаны в WO 2004-010957, публикации США 2006/0074008, публикации США 20050238649 и публикации США 2006/0024317 (которые включены посредством отсылок в настоящий документ во всей полноте и во всех отношениях).

[00297] "Линкерная единица" (LU) представляет собой бифункциональное соединение, которое может использоваться для соединения единицы лекарственного

средства и единицы антитела с образованием конъюгата антитела-лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления линкерная единица имеет формулу:



где: -A- представляет собой удлиняющую единицу,

a равно 0 или 1,

каждый -W- независимо представляет собой аминокислотную единицу,

w является целым числом в пределах от 0 до 12,

-Y- представляет собой саморасщепляющуюся спейсерную единицу, и

y равно 0, 1 или 2.

[00298] В некоторых вариантах осуществления a равно 0 или 1, w равно 0 или 1, и y равно 0, 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления a равно 0 или 1, w равно 0 или 1, и y равно 0 или 1. В некоторых вариантах осуществления, когда w равно 1-12, y равно 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления w равно 2-12, а y равно 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления a равно 1, а w и y равны 0.

5.3.3.1 Удлиняющая единица

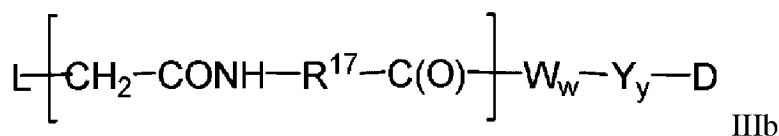
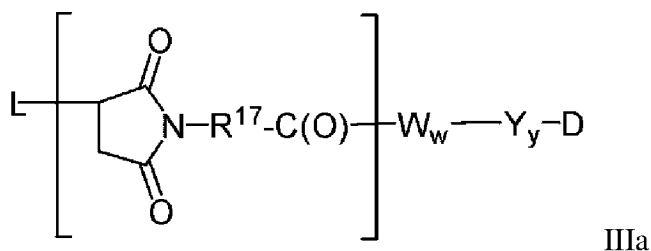
[00299] Удлиняющая единица (A), в случае присутствия, способна соединять единицу антитела с аминокислотной единицей (-W-), если таковая присутствует, со спейсерной единицей (-Y-), если таковая присутствует, или с единицей лекарственного средства (-D). Полезные функциональные группы, которые могут присутствовать на антителе против 191P4D12 или его антигенсвязывающем фрагменте (например, Ha22-2(2,4)6.1), естественно или в результате химической манипуляции, включают, без ограничения, сульфгидрильную, амина, гидроксильную, аномерную гидроксильную группу углевода и карбоксил. Подходящими функциональными группами являются сульфгидрильные и аминогруппы. В одном примере сульфгидрильные группы могут быть образованы в результате восстановления внутримолекулярных дисульфидных связей антитела против 191P4D12 или его антигенсвязывающего фрагмента. В другом варианте осуществления сульфгидрильные группы могут быть образованы в реакции амина группы остатка лизина в антителе против 191P4D12 или его антигенсвязывающем фрагменте с 2-иминотиолоном (реагентом Траута) или другими реагентами, образующими сульфгидрил. В некоторых вариантах осуществления антитело против 191P4D12 или его антигенсвязывающий фрагмент представляют собой рекомбинантное антитело и сконструированы так, что они несут один или больше лизинов. В некоторых других вариантах осуществления рекомбинантное антитело против 191P4D12 сконструировано так, что оно несет дополнительные сульфгидрильные группы, например, дополнительные цистеины.

[00300] В одном варианте осуществления удлиняющая единица образует связь с атомом серы единицы антитела. Атом серы может происходить из сульфгидрильной группы антитела. Репрезентативные удлиняющие единицы данного варианта осуществления показаны в квадратных скобках Формул IIIa и IIIb ниже, где L-, -W-, -Y-, -D, w и y имеют определенное выше значение, и R¹⁷ выбран из -C₁-C₁₀ алкилена-, -C₁-C₁₀

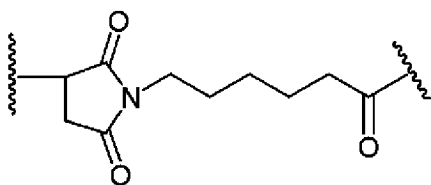
алкенилена-, $-C_1-C_{10}$ алкинилена-, карбоцикло-, $-O-(C_1-C_8 \text{ алкилена})-$, $O-(C_1-C_8 \text{ алкенилена})-$, $-O-(C_1-C_8 \text{ алкинилена})-$, -арилена-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилена-, $-C_2-C_{10}$ алкенилен-арилена-, $-C_2-C_{10}$ алкинилен-арилена-, -арилен- C_1-C_{10} алкилена-, -арилен- C_2-C_{10} алкенилена-, -арилен- C_2-C_{10} алкинилена-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-(карбоцикло)-, $-C_2-C_{10}$ алкенилен-(карбоцикло)-, $-C_2-C_{10}$ алкинилен-(карбоцикло)-, -(карбоцикло)- C_1-C_{10} алкилена-, -(карбоцикло)- C_2-C_{10} алкенилена-, -(карбоцикло)- C_2-C_{10} алкинилена, -гетероцикло-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-(гетероцикло)-, $-C_2-C_{10}$ алкенилен-(гетероцикло)-, $-C_2-C_{10}$ алкинилен-(гетероцикло)-, -(гетероцикло)- C_1-C_{10} алкилена-, -(гетероцикло)- C_2-C_{10} алкенилена-, -(гетероцикло)- C_1-C_{10} алкинилена-, $-(CH_2CH_2O)_r-$ или $-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$, и r является целым числом в пределах от 1-10, где указанные алкильный, алкенильный, алкинильный, алкиленовый, алкениленовый, алкиниленовый, арильный, карбоциклический, карбоцикло, гетероцикло и ариленовый радикалы, отдельно или в качестве части другой группы, необязательно замещены. В некоторых вариантах осуществления указанные алкильный, алкенильный, алкинильный, алкиленовый, алкениленовый, алкиниленовый, арильный, карбоциклический, карбоцикло, гетероцикло и ариленовый радикалы, отдельно или в качестве части другой группы, не замещены.

[00301] В некоторых вариантах осуществления R^{17} выбран из $-C_1-C_{10}$ алкилена-, карбоцикло-, $-O-(C_1-C_8 \text{ алкилена})-$, -арилена-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-арилена-, -арилен- C_1-C_{10} алкилена-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-(карбоцикло)-, -(карбоцикло)- C_1-C_{10} алкилена-, $-C_3-C_8$ гетероцикло-, $-C_1-C_{10}$ алкилен-(гетероцикло)-, -(гетероцикло)- C_1-C_{10} алкилена-, $-(CH_2CH_2O)_r-$ и $-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$; и r является целым числом в пределах от 1-10, где указанные алкиленовые группы незамещены, а остальные группы необязательно замещены.

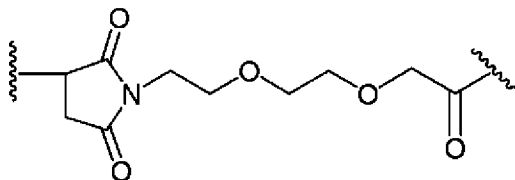
[00302] Следует понимать, что во всех иллюстративных вариантах осуществления, даже если прямо не указано, 1-20 единиц лекарственного средства могут быть соединены с единицей антитела ($p=1-20$).



[00303] Иллюстративной удлиняющей единицей является единица Формулы IIIa, где R^{17} представляет собой $-(CH_2)_5-$:

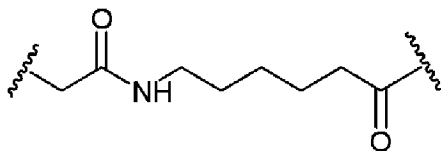


[00304] Другой иллюстративной удлиняющей единицей является единица Формулы IIIa где, R^{17} представляет собой $-(CH_2CH_2O)_r-CH_2-$; и r равно 2:

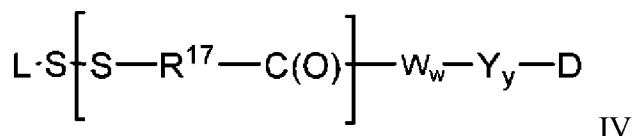


[00305] Иллюстративной удлиняющей единицей является единица Формулы IIIa, где R^{17} представляет собой арилен- или арилен- C_1-C_{10} алкилен-. В некоторых вариантах осуществления арильная группа является незамещенной фенильной группой.

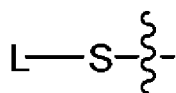
[00306] Еще одной иллюстративной удлиняющей единицей является единица Формулы IIIb, в которой R^{17} представляет собой $-(CH_2)_5-$:



[00307] В некоторых вариантах осуществления удлиняющая единица соединена с единицей антитела через дисульфидную связь между атомом серы единицы антитела и атомом серы удлиняющей единицы. Репрезентативная удлиняющая единица этого варианта осуществления показана в квадратных скобках в Формуле IV, где R^{17} , L-, -W-, -Y-, -D, w и y имеют определенное выше значение.



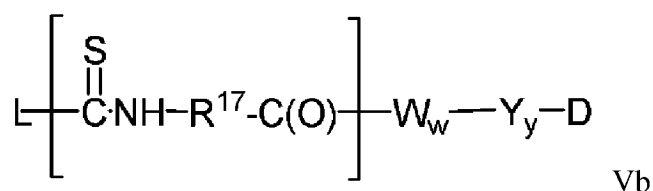
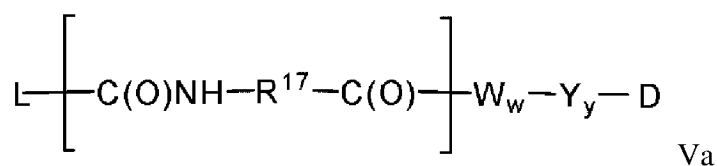
[00308] Нужно отметить, что по всему тексту настоящей заявки группа S в формуле ниже относится к атому серы единицы антитела, если из контекста не следует иное.



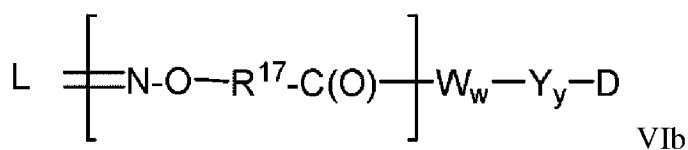
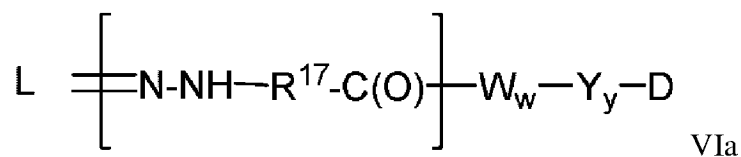
[00309] В некоторых структурных описаниях связанных через серу ADC в настоящем описании, антитело обозначено как "L". Оно также может быть обозначено как "Ab-S". Включение "S" просто указывает на присутствие связи с серой и не означает, что конкретный атом серы несет несколько фрагментов линкера-лекарственного средства. Левые скобки структур с использованием описания "Ab-S" также могут быть помещены слева от атома серы, между Ab и S, что будет эквивалентным описанием ADC согласно

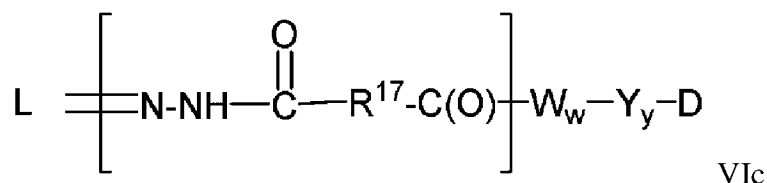
изобретению, описанного в настоящем документе.

[00310] В других вариантах осуществления удлинитель содержит реакционноспособный сайт, который может образовывать связь с первичной или вторичной аминогруппой единицы антитела. Примеры таких реакционноспособных сайтов включают, без ограничения перечисленными, активированные сложные эфиры, такие как сукцинимидные сложные эфиры, 4-нитрофениловые сложные эфиры, пентафторфениловые сложные эфиры, тетрафторфениловые сложные эфиры, ангидриды, хлорангидриды, сульфонилхлориды, изоцианаты и изотиоцианаты. Репрезентативные удлиняющие единицы этого варианта осуществления показаны в квадратных скобках Формул Va и Vb, где $-R^{17}$ -, L-, -W-, -Y-, -D, w и y имеют определенное выше значение;



[00311] В некоторых вариантах осуществления удлинитель содержит реакционноспособный сайт, который может реагировать с (-CHO) группой модифицированного углевода, которая может присутствовать на единице антитела. Например, углевод может быть мягко окислен с использованием такого реагента, как периодат натрия, и полученная (-CHO) единица окисленного углевода может быть подвергнута сочетанию с удлинителем, который содержит такую функциональную группу, как гидразид, оксим, первичный или вторичный амин, гидразин, тиосемикарбазон, гидразинкарбоксилат и арилгидразид, такие как описанные в публикации Kaneko et al., 1991, Bioconjugate Chem. 2:133-41. Репрезентативные удлиняющие единицы этого варианта осуществления показаны в квадратных скобках в Формулах VIa, VIb и VIc, где $-R^{17}$ -, L-, -W-, -Y-, -D, w и y имеют определенное выше значение.

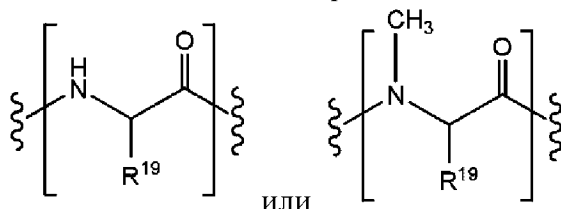




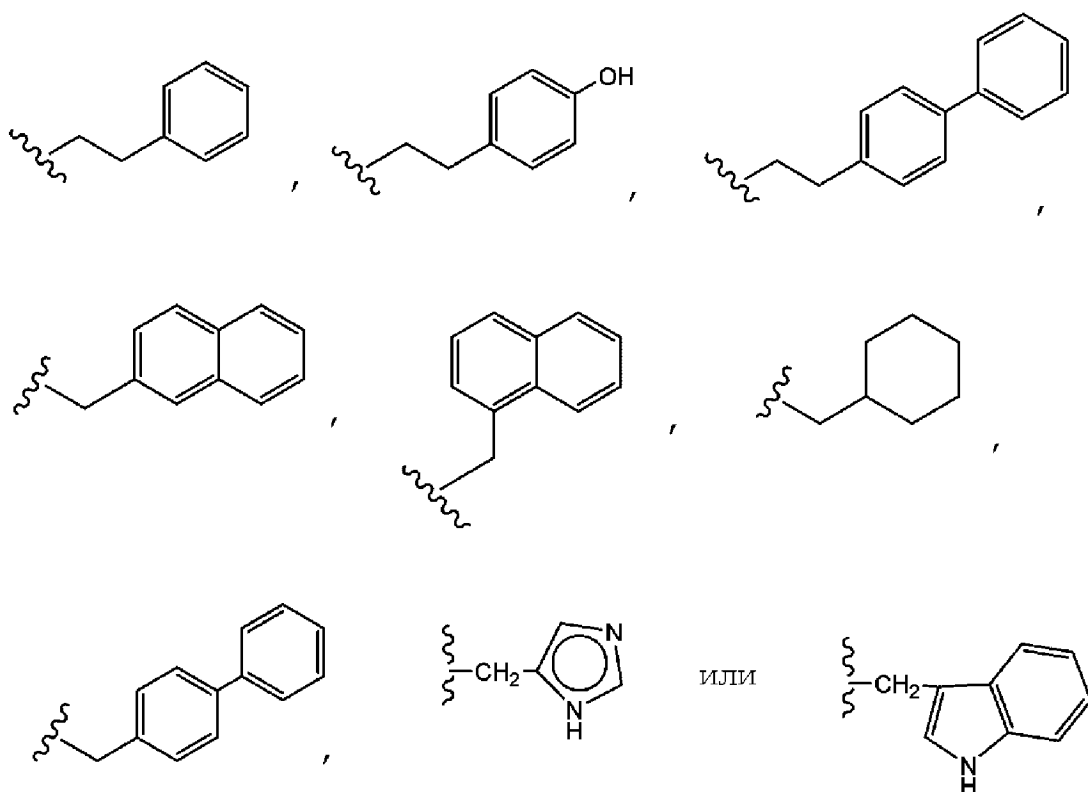
5.3.3.2 Аминокислотная единица

[00312] Аминокислотная единица (-W-), в случае присутствия, соединяет удлиняющую единицу со спейсерной единицей, если спейсерная единица присутствует, связывает удлиняющую единицу с единицей лекарственного средства, если спейсерная единица отсутствует, и связывает единицу антитела с единицей лекарственного средства, если удлиняющая единица и спейсерная единица отсутствуют.

[00313] W_w- может быть, например, монопептидной, дипептидной, трипептидной, тетрапептидной, пентапептидной, гексапептидной, гептапептидной, октапептидной, нонапептидной, декапептидной, недекапептидной или додекапептидной единицей. Каждая единица -W- независимо имеет формулу, показанную ниже в квадратных скобках, и w является целым числом в пределах от 0 до 12:

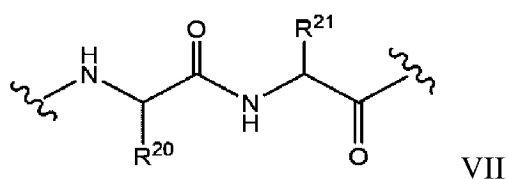


где R¹⁹ представляет собой водород, метил, изопропил, изобутил, втор-бутил, бензил, п-гидроксibenзил, -CH₂OH, -CH(OH)CH₃, -CH₂CH₂SCH₃, -CH₂CONH₂, -CH₂COOH, -CH₂CH₂CONH₂, -CH₂CH₂COOH, -(CH₂)₃NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₃NH₂, -(CH₂)₃NHCOCH₃, -(CH₂)₃NHCHO, -(CH₂)₄NHC(=NH)NH₂, -(CH₂)₄NH₂, -(CH₂)₄NHCOCH₃, -(CH₂)₄NHCHO, -(CH₂)₃NHCONH₂, -(CH₂)₄NHCONH₂, -CH₂CH₂CH(OH)CH₂NH₂, 2-пиридилметил-, 3-пиридилметил-, 4-пиридилметил-, фенил, циклогексил,

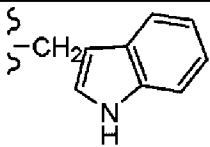


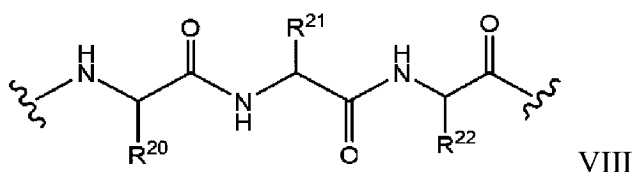
[00314] В некоторых вариантах осуществления аминокислотная единица может подвергаться ферментативному расщеплению одним или более ферментами, включая раковую или опухолеассоциированную протеазу, с высвобождением единицы лекарственного средства (-D), которая в одном варианте осуществления присоединяет протон *in vivo* после высвобождения с получением лекарственного средства (D).

[00315] В некоторых вариантах осуществления аминокислотная единица включает природные аминокислоты. В других вариантах осуществления аминокислотная единица включает неприродные аминокислоты. Иллюстративные единицы Ww представлены Формулами VII-IX ниже:



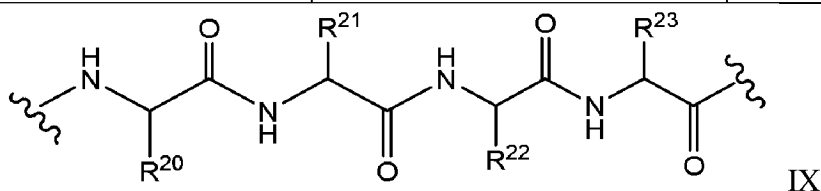
где R^{20} и R^{21} являются следующими:

R ²⁰	R ²¹
Бензил	(CH ₂) ₄ NH ₂ ;
Метил	(CH ₂) ₄ NH ₂ ;
Изопропил	(CH ₂) ₄ NH ₂ ;
Изопропил	(CH ₂) ₃ NHCONH ₂ ;
Бензил	(CH ₂) ₃ NHCONH ₂ ;
Изобутил	(CH ₂) ₃ NHCONH ₂ ;
втор-бутил	(CH ₂) ₃ NHCONH ₂ ;
	(CH ₂) ₃ NHCONH ₂ ;
Бензил	метил;
Бензил	(CH ₂) ₃ NHC(=NH)NH ₂ ;



где R²⁰, R²¹ и R²² являются следующими:

R ²⁰	R ²¹	R ²²
Бензил	бензил	(CH ₂) ₄ NH ₂ ;
Изопропил	бензил	(CH ₂) ₄ NH ₂ ; и
Н	бензил	(CH ₂) ₄ NH ₂ ;



где R²⁰, R²¹, R²² и R²³ следующие:

R ²⁰	R ²¹	R ²²	R ²³
Н	бензил	изобутил	Н; и
Метил	изобутил	метил	изобутил

[00316] Иллюстративные аминокислотные единицы включают, без ограничения, единицы Формулы VII выше, где: R²⁰ представляет собой бензил, и R²¹ представляет собой -(CH₂)₄NH₂; R²⁰ представляет собой изопропил, и R²¹ представляет собой -(CH₂)₄NH₂; или R²⁰ представляет собой изопропил, а R²¹ представляет собой -(CH₂)₃NHCONH₂.

[00317] Другая иллюстративная аминокислотная единица является единицей Формулы VIII, где R²⁰ представляет собой бензил, R²¹ представляет собой бензил, и R²² представляет собой -(CH₂)₄NH₂.

[00318] Полезные единицы $-W_w-$ могут быть разработаны и оптимизированы по селективности при ферментативном расщеплении конкретным ферментом, например, опухолеассоциированной протеазой. В одном варианте осуществления единица $-W_w-$ является такой единицей, расщепление которой катализирует протеаза катепсин В, С и D или плазмин.

[00319] В одном варианте осуществления $-W_w-$ представляет собой дипептид, трипептид, тетрапептид или пентапептид. Если R^{19} , R^{20} , R^{21} , R^{22} или R^{23} не являются водородом, то атом углерода, к которому присоединены R^{19} , R^{20} , R^{21} , R^{22} или R^{23} , является хиральным.

[00320] Каждый атом углерода, к которому присоединены R^{19} , R^{20} , R^{21} , R^{22} или R^{23} , независимо находится в (S) или (R) конфигурации.

[00321] В одном определенном варианте осуществления аминокислотная единица представляет собой валин-цитруллин (vc или Val-Cit). В другом определенном варианте осуществления аминокислотная единица представляет собой фенилаланин-лизин (т.е. fk). В еще одном определенном варианте осуществления аминокислотная единица представляет собой N-метилвалин-цитруллин. В еще одном определенном варианте осуществления аминокислотная единица представляет собой 5-аминовалериановую кислоту, гомофенилаланин-лизин, тетраизохинолинкарбоксилат-лизин, циклогексилаланин-лизин, изонипекотиновую кислоту-лизин, бета-аланин-лизин, глицин-серин-валин-глутамин и изонипекотиновую кислоту.

5.3.3.3 Спейсерная единица

[00322] Спейсерная единица $(-Y-)$, в случае присутствия, соединяет аминокислотную единицу с единицей лекарственного средства, когда аминокислотная единица присутствует. В альтернативе спейсерная единица соединяет удлиняющую единицу с единицей лекарственного средства, когда аминокислотная единица отсутствует. Спейсерная единица также соединяет единицу лекарственного средства с единицей антитела, когда отсутствуют и аминокислотная единица, и удлиняющая единица.

[00323] Существуют спейсерные единицы двух основных типов: несаморасщепляющиеся или саморасщепляющиеся. Несаморасщепляющийся спейсерная единица является спейсерной единицей, где часть или вся спейсерная единица остаются связанными с единицей лекарственного средства после отщепления, в особенности ферментативного, аминокислотной единицы от конъюгата антитела-лекарственного средства. Примеры несаморасщепляющейся спейсерной единицы включают, без ограничения, (глицин-глициновую) спейсерную единицу и глициновую спейсерную единицу (которые показаны на Схеме 1) (ниже). Когда конъюгат, содержащий глицин-глициновую спейсерную единицу или глициновую спейсерную единицу, подвергается ферментативному расщеплению посредством фермента (например, протеазы, ассоциированной с опухолевой клеткой, протеазы, ассоциированной с раковой клеткой, или лимфоцит-ассоциированной протеазы), единица глицин-глицин-лекарственного средства или единица глицин-лекарственного средства отщепляется от $L-Aa-W_w-$. В

одном варианте осуществления в клетке-мишени протекает независимая реакция гидролиза, приводящая к расщеплению связи единицы глицин-лекарственного средства и высвобождению лекарственного соединения.

Схема 1



[00324] В некоторых вариантах осуществления несаморасщепляющейся спейсерной единицей (-Y-) является -Gly-. В некоторых вариантах осуществления несаморасщепляющейся спейсерной единицей (-Y-) является -Gly-Gly-.

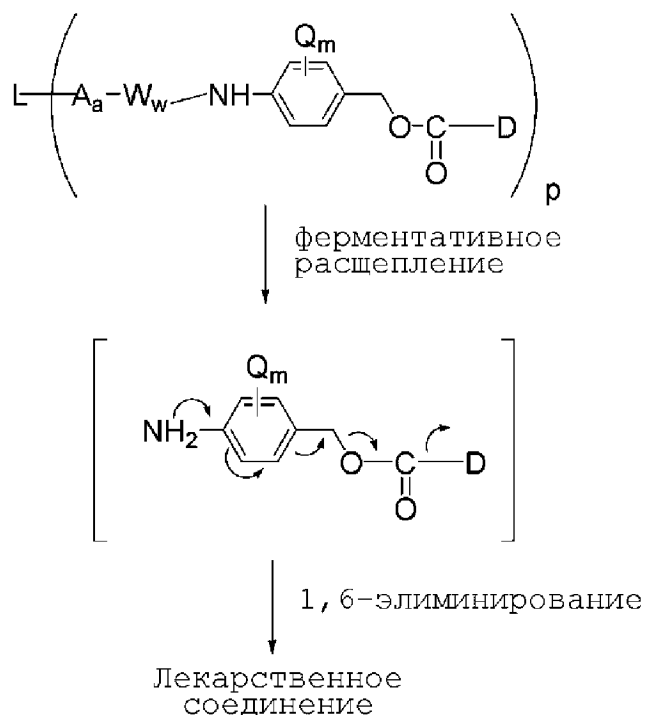
[00325] В одном варианте осуществления спейсерная единица отсутствует (-Y_y-, где y=0).

[00326] В альтернативе конъюгат антитела-лекарственного средства, содержащий саморасщепляющуюся спейсерную единицу, может высвобождать -D. При использовании в настоящем документе термин "саморасщепляющийся спейсер" относится к бифункциональному химическому фрагменту, который способен ковалентно соединять два отдельных химических фрагмента в стабильную молекулу, состоящую из трех частей. Он будет спонтанно отделяться от второго химического фрагмента при расщеплении его связи с первым фрагментом.

[00327] В некоторых вариантах осуществления -Y_y- представляет собой единицу п-аминобензилового спирта (РАВ) (см. Схемы 2 и 3), у которого фениленовая группа заменена Q_m, где Q представляет собой -C₁-C₈ алкил, -C₁-C₈ алкенил, -C₁-C₈ алкинил, -O-(C₁-C₈ алкил), -O-(C₁-C₈ алкенил), -O-(C₁-C₈ алкинил), -галоген, -нитро или -циано; и m является целым числом в пределах от 0-4. Алкильные, алкенильные и алкинильные группы, отдельно или в качестве части другой группы, необязательно могут быть замещены.

[00328] В некоторых вариантах осуществления -Y- представляет собой группу РАВ, которая связана с -W_w- через атом азота аминогруппы в группе РАВ и соединена непосредственно с -D через карбонатную, карбаматную или простую эфирную группу. Без ограничения какой-либо конкретной теорией или механизмом, на Схеме 2 показан возможный механизм высвобождения Лекарственного средства из группы РАВ, которая присоединена непосредственно к -D через карбаматную или карбонатную группу, как описано в Toki et al., 2002, J. Org. Chem. 67:1866-1872.

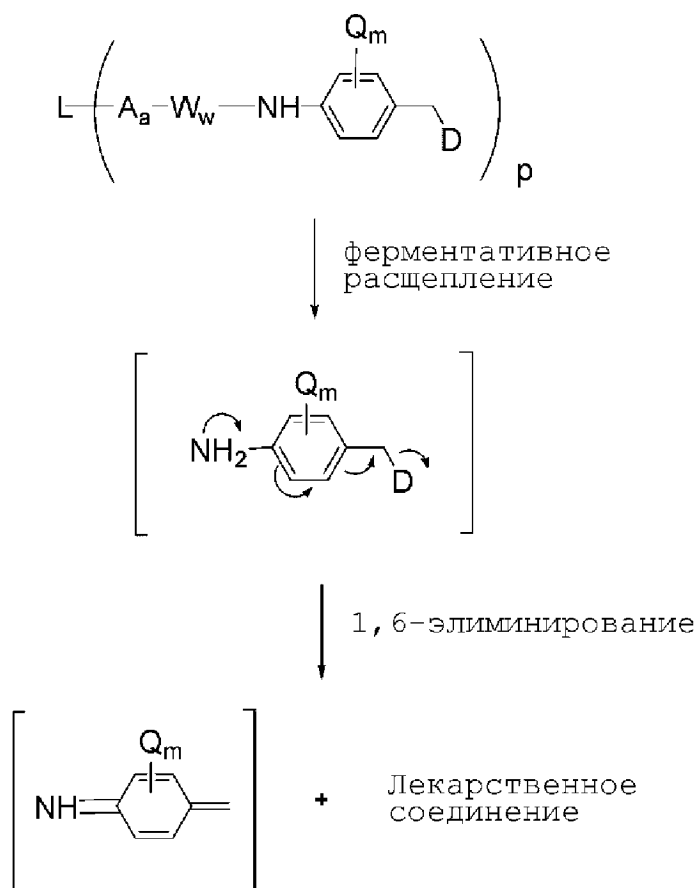
Схема 2



[00329] На Схеме 2, Q представляет собой $-C_1-C_8$ алкил, $-C_1-C_8$ алкенил, $-C_1-C_8$ алкинил, $-O-(C_1-C_8$ алкил), $-O-(C_1-C_8$ алкенил), $-O-(C_1-C_8$ алкинил), -галоген, -нитро или -циано; m является целым числом в пределах от 0-4; и p составляет в пределах 1 до приблизительно 20. Алкильную, алкенильную и алкинильную группами, отдельно или в качестве части другой группы, можно необязательно заменить.

[00330] Без ограничения какой-либо конкретной теорией или механизмом, на Схеме 3 показан возможный механизм высвобождения лекарственного средства из группы PAB, присоединенной непосредственно к $-D$ через простую эфирную или аминосвязь, где D включает группу кислорода или азота, которая является частью единицы лекарственного средства.

Схема 3



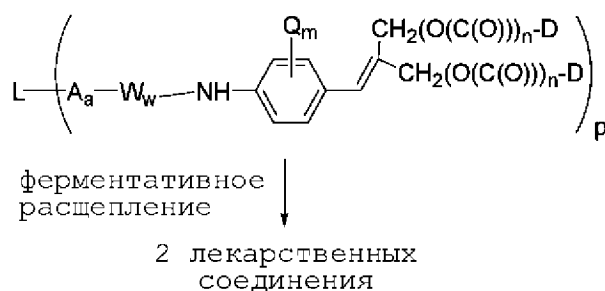
[00331] На Схеме 3, Q представляет собой -C₁-C₈ алкил, -C₁-C₈ алкенил, -C₁-C₈ алкинил, -O-(C₁-C₈ алкил), -O-(C₁-C₈ алкенил), -O-(C₁-C₈ алкинил), -галоген, -нитро или -циано; m является целым числом в пределах от 0-4; и p изменяется в пределах 1 до приблизительно 20. Алкильная, алкенильная и алкинильная группы, отдельно или в качестве части другой группы, могут быть необязательно замещены.

[00332] Другие примеры саморасщепляющихся спейсеров включают, без ограничения, ароматические соединения, которые по электронным свойствам аналогичны группе PAB, такие как производные 2-аминоимидазол-5-метанола (Hay et al., 1999, Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237) и орто или пара-аминобензилацетали. Могут применяться спейсеры, которые подвергаются циклизации при гидролизе амидной связи, такие как замещенные и незамещенные амиды 4-аминомасляной кислоты (Rodrigues et al., 1995, Chemistry Biology 2:223), соответствующим образом замещенные бицикло[2.2.1] и бицикло[2.2.2] кольцевые системы (Storm et al., 1972, J. Amer. Chem. Soc. 94:5815), и амиды 2-аминофенилпропионовой кислоты (Amsberry et al., 1990, J. Org. Chem. 55:5867). Элиминирование аминсодержащих лекарственных средств, которые замещены по α-положению глицина (Kingsbury et al., 1984, J. Med. Chem. 27:1447), также является примерами саморасщепляющихся спейсеров.

[00333] В одном варианте осуществления спейсерная единица является единицей разветвленного бис(гидроксиметил)-стирола (BHMS), как показано на Схеме 4, которая может использоваться для включения и высвобождения множества лекарственных

средств.

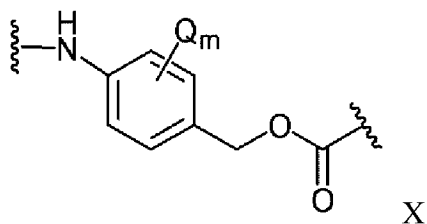
Схема 4



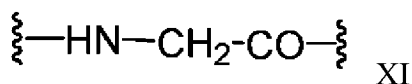
[00334] На Схеме 4, Q представляет собой -C₁-C₈ алкил, -C₁-C₈ алкенил, -C₁-C₈ алкинил, -O-(C₁-C₈ алкил), -O-(C₁-C₈ алкенил), -O-(C₁-C₈ алкинил), -галоген, -нитро или -циано; m является целым числом в пределах от 0-4; n 0 или 1; и p изменяется в пределах от 1 до приблизительно 20. Алкильная, алкенильная и алкинильная группы, отдельно или в качестве части другой группы, могут быть необязательно замещены.

[00335] В некоторых вариантах осуществления единицы -D являются одинаковыми. В еще одном варианте осуществления фрагменты -D являются разными.

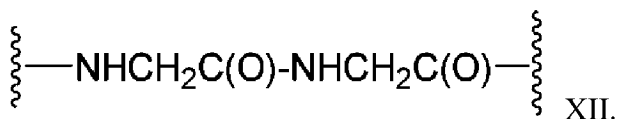
[00336] В одном аспекте спейсерные единицы (-Y_y-) представлены Формулами X-XII:



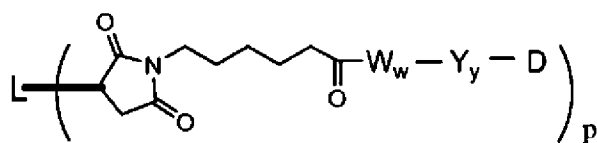
где Q представляет собой -C₁-C₈ алкил, -C₁-C₈ алкенил, -C₁-C₈ алкинил, -O-(C₁-C₈ алкил), -O-(C₁-C₈ алкенил), -O-(C₁-C₈ алкинил), -галоген, -нитро или -циано; и m является целым числом в пределах от 0-4. Алкильная, алкенильная и алкинильная группы, отдельно или в качестве части другой группы, необязательно могут быть замещены.



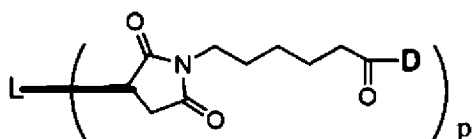
и



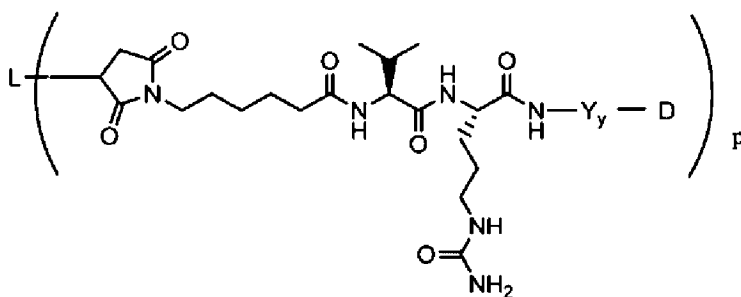
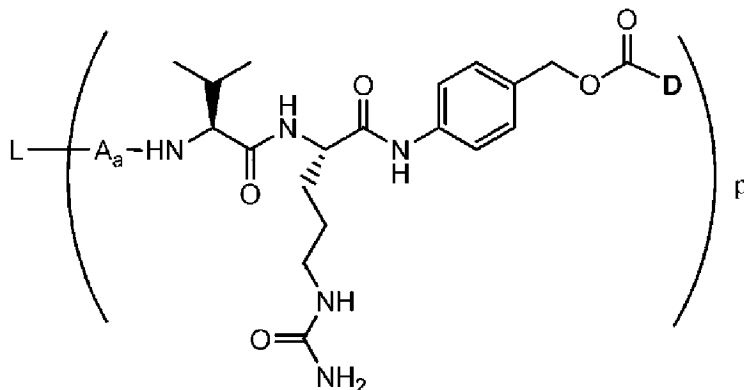
[00337] Варианты осуществления Формулы I и II, включающие соединения конъюгата антитела-лекарственного средства, могут включать:



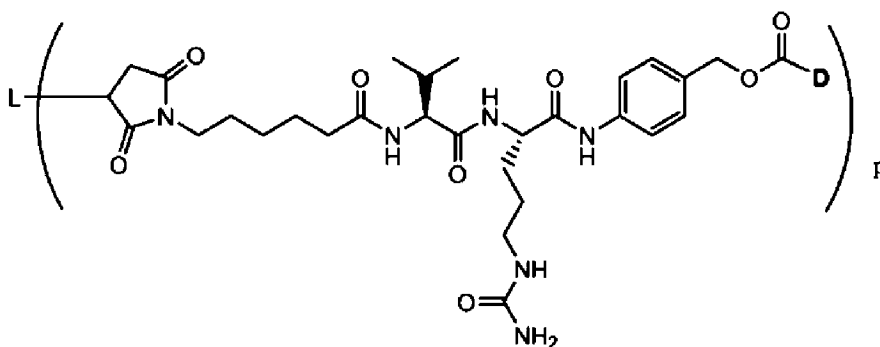
где каждое w и y является 0, 1 или 2, и,



где каждое w и y является 0,



и



5.3.3.4 Нагрузка лекарственного средства

[00338] Нагрузка лекарственного средства представлена p и является средним количеством единиц лекарственного средства на антитело в молекуле. Нагрузка лекарственного средства может варьировать от 1 до 20 единиц лекарственного средства (D) на антитело. ADC, предложенные в настоящем документе, включают коллекции антител или антигенсвязывающих фрагментов, конъюгированных с разным числом единиц лекарственного средства, например, от 1 до 20. Среднее количество единиц лекарственного средства на антитело в препаратах ADC после реакций конъюгирования может быть определено с помощью стандартных способов, таких как масс-спектропия и ИФА. Количественное распределение ADC в единицах p также может быть определено. В некоторых случаях разделение, очистка и анализ гомогенного ADC, где p является

[illegible]

настоящем документе, изменяется в пределах от 3 до 12. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственного средства для ADC, предложенного в настоящем документе, изменяется в пределах от 3 до 10. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственного средства для ADC, предложенного в настоящем документе, изменяется в пределах от 3 до 9. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственного средства для ADC, предложенного в настоящем документе, изменяется в пределах от 3 до 8. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственного средства для ADC, предложенного в настоящем документе, изменяется в пределах от 3 до 7. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственного средства для ADC, предложенного в настоящем документе, изменяется в пределах от 3 до 6. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственного средства для ADC, предложенного в настоящем документе, изменяется в пределах от 3 до 5. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственного средства для ADC, предложенного в настоящем документе, изменяется в пределах от 3 до 4.

[00340] В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственного средства для ADC, предложенного в настоящем документе, изменяется в пределах от 1 до приблизительно 8; от приблизительно 2 до приблизительно 6; от приблизительно 3 до приблизительно 5; от приблизительно 3 до приблизительно 4; от приблизительно 3,1 до приблизительно 3,9; от приблизительно 3,2 до приблизительно 3,8; от приблизительно 3,2 до приблизительно 3,7; от приблизительно 3,2 до приблизительно 3,6; от приблизительно 3,3 до приблизительно 3,8; или от приблизительно 3,3 до приблизительно 3,7.

[00341] В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственного средства для ADC, предложенного в настоящем документе, составляет приблизительно 1, приблизительно 2, приблизительно 3, приблизительно 4, приблизительно 5, приблизительно 6, приблизительно 7, приблизительно 8, приблизительно 9, приблизительно 10, приблизительно 11, приблизительно 12 или больше. В некоторых вариантах осуществления обеспечила в настоящем документе нагрузка лекарственного средства для ADC, предложенного в настоящем документе, составляет приблизительно 3,1, приблизительно 3,2, приблизительно 3,3, приблизительно 3,4, приблизительно 3,5, приблизительно 3,6, приблизительно 3,7, приблизительно 3,8 или приблизительно 3,9.

[00342] В некоторых вариантах осуществления во время реакции конъюгирования с антителом конъюгируется количество единиц лекарственного средства, которое меньше теоретического максимума. Антитело может содержать, например, остатки лизина, которые не реагируют с промежуточным соединением лекарственного средства-линкера или линкерным реагентом. Как правило, антитела не содержат много свободных и реакционноспособных тиоловых групп цистеина, которые могут быть связаны с единицей лекарственного средства; фактически большинство тиоловых остатков цистеина в антителах существуют в виде дисульфидных мостиков. В некоторых вариантах осуществления антитело может быть восстановлено восстановителем, таким как дитиотреитол (DTT) или трикарбонилэтилфосфин (TCEP), в условиях частичного или

полного восстановления с образованием реакционноспособных тиоловых групп цистеина. В некоторых вариантах осуществления антитело подвергают денатурации для определения реакционноспособных нуклеофильных групп, таких как лизин или цистеин. В некоторых вариантах осуществления линкерная единица или единица лекарственного средства конъюгированы через остаток лизина на единице антитела. В некоторых вариантах осуществления линкерная единица или единица лекарственного средства конъюгированы через остаток цистеина на единице антитела.

[00343] В некоторых вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в тяжелой цепи антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в легкой цепи антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в шарнирной области антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в Fc-области антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В других вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в константной области (например, CH1, CH2, или CH3 тяжелой цепи или CH1 легкой цепи) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В других вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в каркасных областях VH антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В других вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в каркасных областях VL антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

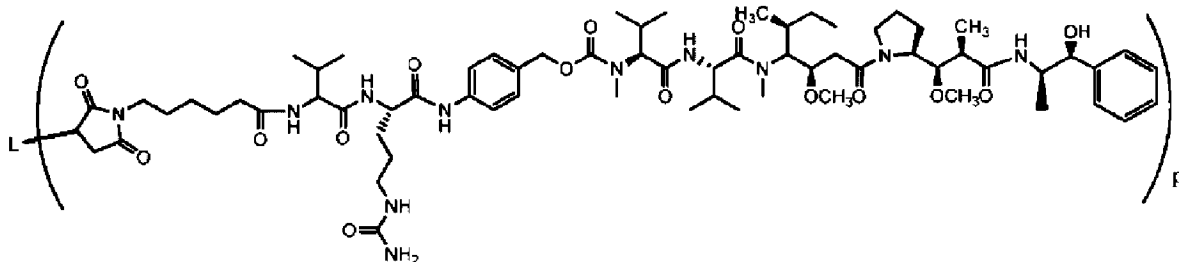
[00344] Нагрузку (соотношение лекарственного средства/антитела) ADC можно контролировать разными способами, например, путем: (i) ограничения молярного избытка промежуточного соединения линкера-лекарственного средства или линкерного реагента относительно антитела, (ii) ограничения времени реакции конъюгирования или температуры, (iii) частичных или ограничивающих восстановительных условий для модификации тиоловых групп цистеина, (iv) конструирования аминокислотной последовательности антитела с помощью рекомбинантных технологий таким образом, чтобы было изменено количество и положение остатков цистеина для контроля числа и/или положений присоединения линкера-лекарственного средства (таких как тιοMab или тιοFab, подготовленные, как описано в настоящем документе и в заявке WO2006/034488 (включенной в настоящий документ посредством отсылки во всей своей полноте)).

[00345] Следует понимать, что при взаимодействии больше чем одной нуклеофильной группы с промежуточным соединением лекарственного средства-линкера или линкерным реагентом, с последующим взаимодействием с реагентом единицы

лекарственного средства, полученный продукт представляет собой смесь соединений ADC с распределением одной или больше единиц лекарственного средства, присоединенных к единице антитела. Среднее количество лекарственных средств на одно антитело можно вычислить из смеси с помощью двойного анализа ИФА с антителами, которые специфичны к антителу и специфичны к лекарственному средству. Отдельные молекулы ADC можно идентифицировать в смеси с помощью масс-спектропии и разделять с помощью ВЭЖХ, например, хроматографии гидрофобных взаимодействий (см., например, Hamblett, K.J., et al. "Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate", Abstract No. 624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004; Alley, S.C., et al. "Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates", Abstract No. 627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004). В некоторых вариантах гомогенный ADC с одним значением нагрузки может быть выделен из конъюгационной смеси с помощью электрофореза или хроматографии.

[00346] Способы получения, скрининга и анализа конъюгатов антитела-лекарственного средства известны специалистам в данной области, например, как описано в патенте США 8,637,642, который полностью включен в настоящий документ посредством отсылки.

[00347] В некоторых вариантах осуществления изобретения конъюгатом антитела-лекарственного средства для способов, представленных в настоящем документе, является AGS-22M6E, который получен согласно способам, описанным в патенте США 8,637,642, и имеет следующую формулу:



где L представляет собой Ha22-2(2,4)6.1, и p равно от 1 до 20.

[00348] В некоторых вариантах осуществления p изменяется в пределах 1-20, 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3 или 1-2. В некоторых вариантах осуществления p изменяется в пределах 2 до 10, 2-9, 2-8, 2-7, 2-6, 2-5, 2-4 или 2-3. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 1. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 2. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 3. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 4. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 5. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 6. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 7. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 8. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 9. В других вариантах осуществления p равно приблизительно 10. В

некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 3,1. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 3,2. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 3,3. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 3,4. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 3,5. В других вариантах осуществления r равно приблизительно 3,6. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 3,7. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 3,8. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 3,9. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 4,0. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 4,1. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 4,2. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 4,3. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 4,4. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 4,5. В других вариантах осуществления r равно приблизительно 4,6. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 4,7. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 4,8. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 4,9. В некоторых вариантах осуществления r равно приблизительно 5,0.

[00349] В некоторых вариантах осуществления ADC, используемый в способах, представленных в настоящем документе, представляет собой энфортумаб ведотин. Энфортумаб ведотин представляет собой ADC, состоящий из полностью человеческого иммуноглобулин G1 каппа (IgG1 κ) антитела, конъюгированного с разрушающим микротрубочки средством (MMAE) через расщепляемый протеазой линкер (Challita-Eid PM et al., Cancer Res. 2016; 76(10):3003-13). Энфортумаб ведотин проявляет противоопухолевую активность путем связывания с белком 191P4D12 на поверхности клеток, приводя к интернализации комплекса ADC-191P4D12, который затем перемещается в лизосомальный компартмент, где MMAE высвобождается в результате протеолитического расщепления линкера. Внутриклеточное высвобождение MMAE впоследствии нарушает полимеризацию тубулина, приводя к остановке фазы G2/M клеточного цикла и апоптотической гибели клеток (Francisco JA et al, Blood. 2003 Aug 15; 102(4):1458-65).

[00350] Как описано выше и в патенте США 8,637,642, AGS-22M6E представляет собой ADC, полученный из линии мышинных гибридных клеток. Энфортумаб ведотин является эквивалентом ADC AGS-22M6E, полученным из линии клеток яичников китайского хомячка (CHO), и представляет собой иллюстративный продукт, используемый для лечения человека. Энфортумаб ведотин имеет ту же последовательность аминокислот, линкер и цитотоксическое средство, как и AGS-22M6E. Сопоставимость энфортумаба ведотина и AGS-22M6E была подтверждена посредством обширных аналитических и биологических исследований, таких как анализы аффинности связывания с 191P4D12, цитотоксичности *in vitro* и противоопухолевой активности *in vivo*.

5.4 Фармацевтические композиции

[00351] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, ADC, применяемый в способах, предоставлен в "фармацевтических композициях". Такие фармацевтические композиции включают предложенный в настоящем документе конъюгат антитела-лекарственного средства и один или больше фармацевтически приемлемых или физиологически приемлемых вспомогательных веществ. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства представлен в комбинации с одним или больше дополнительными средствами или отдельно от них. Также предложена композиция, включающая одно или больше таких дополнительных средств и одно или больше фармацевтически приемлемых или физиологически приемлемых вспомогательных веществ. В конкретных вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства и дополнительное средство(а) присутствуют в терапевтически приемлемом количестве. Фармацевтические композиции могут применяться в соответствии со способами и применениями, предусмотренными в настоящем документе. Таким образом, например, фармацевтические композиции могут вводить субъекту *ex vivo* или *in vivo* для практической реализации способов лечения и применений, предусмотренных в настоящем документе. Предложенные в настоящем документе фармацевтические композиции могут иметь такой состав, чтобы они были совместимыми с предполагаемым способом или путем введения; иллюстративные пути введения представлены в настоящем документе.

[00352] В некоторых вариантах осуществления предложены фармацевтические композиции конъюгатов антитела-лекарственного средства, которые модулируют рак или опухоль.

[00353] В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в настоящем документе, фармацевтические композиции, включающие ADC, могут дополнительно включать другие терапевтически активные средства или соединения, раскрытые в настоящем документе или известные специалистам в данной области, которые могут применяться для лечения или предупреждения различных заболеваний и нарушений, таких как представленные в настоящем документе (например, рака). Как указано выше, дополнительные терапевтически активные средства или соединения могут присутствовать в отдельной фармацевтической композиции(ях).

[00354] Фармацевтические композиции обычно включают терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного из конъюгатов антитела-лекарственного средства, предложенных в настоящем документе, и одно или больше фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно включает одно или больше дополнительных средств, описанных в настоящем документе.

[00355] В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция включает конъюгат антитела-лекарственного средства, предложенный в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает терапевтически эффективное количество конъюгата антитела-лекарственного средства

[illegible]

лекарственного средства в концентрации приблизительно 10,5 мг/мл.

[00358] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем документе, включает L-гистидин, TWEEN-20 и по меньшей мере одно из трегалозы дигидрата или сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем документе, дополнительно включает соляную кислоту (HCl) или янтарную кислоту.

[illegible]

концентрация L-гистидина, применяемого в фармацевтических композициях, предложенных в настоящем документе, составляет приблизительно 25 мМ.

[00360] В некоторых вариантах осуществления концентрация TWEEN-20, применяемая в фармацевтических композициях, предложенных в настоящем документе, находится в пределах от 0,001 до 0,1% (об/об). В другом варианте осуществления концентрация TWEEN-20 находится в пределах от 0,0025 до 0,075% (об/об). В одном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 находится в пределах от 0,005 до 0,05% (об/об). В другом варианте осуществления концентрация TWEEN-20 находится в пределах от 0,0075 до 0,025% (об/об). В другом варианте осуществления концентрация TWEEN-20 находится в пределах от 0,0075 до 0,05% (об/об). В другом варианте осуществления концентрация TWEEN-20 находится в пределах от 0,01 до 0,03% (об/об). В одном конкретном варианте концентрация TWEEN-20 составляет приблизительно 0,01% (об/об). В одном конкретном варианте концентрация TWEEN-20 составляет приблизительно 0,015% (об/об). В одном конкретном варианте концентрация TWEEN-20 составляет приблизительно 0,016% (об/об). В одном конкретном варианте концентрация TWEEN-20 составляет приблизительно 0,017% (об/об). В одном конкретном варианте концентрация TWEEN-20 составляет приблизительно 0,018% (об/об). В одном конкретном варианте концентрация TWEEN-20 составляет приблизительно 0,019% (об/об). В одном конкретном варианте концентрация TWEEN-20 составляет приблизительно 0,02% (об/об). В одном конкретном варианте концентрация TWEEN-20 составляет приблизительно 0,021% (об/об). В одном конкретном варианте концентрация TWEEN-20 составляет приблизительно 0,022% (об/об). В одном конкретном варианте концентрация TWEEN-20 составляет приблизительно 0,023% (об/об). В одном конкретном варианте концентрация TWEEN-20 составляет приблизительно 0,024% (об/об). В одном конкретном варианте концентрация TWEEN-20 составляет приблизительно 0,025% (об/об).

[00361] В одном варианте осуществления концентрация трегалозы дигидрата, полезного в фармацевтических композициях, обеспечила в настоящем документе находится в пределах от 1% до 20% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация трегалозы дигидрата находится в пределах от 2% до 15% (в/об). В одном варианте осуществления концентрация трегалозы дигидрата находится в пределах от 3% до 10% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация трегалозы дигидрата находится в пределах от 4% до 9% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация трегалозы дигидрата находится в пределах от 4% до 8% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация трегалозы дигидрата находится в пределах от 4% до 7% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация трегалозы дигидрата находится в пределах от 4% до 6% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация трегалозы дигидрата находится в пределах от 4,5% до 6% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация трегалозы дигидрата составляет приблизительно 4,6% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация трегалозы дигидрата составляет приблизительно 4,7% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация трегалозы дигидрата

[illegible]

[00362] В некоторых вариантах осуществления молярная концентрация трегалозы дигидрата составляет от 50 до 300 мМ. В других вариантах осуществления молярная концентрация трегалозы дигидрата составляет от 75 до 250 мМ. В некоторых вариантах осуществления молярная концентрация трегалозы дигидрата составляет от 100 до 200 мМ. В других вариантах осуществления молярная концентрация трегалозы дигидрата составляет от 130 до 150 мМ. В некоторых вариантах осуществления молярная концентрация трегалозы дигидрата составляет от 135 до 150 мМ. В некоторых вариантах осуществления молярная концентрация трегалозы дигидрата составляет приблизительно 135 мМ. В некоторых вариантах осуществления молярная концентрация трегалозы дигидрата составляет приблизительно 136 мМ. В некоторых вариантах осуществления молярная концентрация трегалозы дигидрата составляет приблизительно 137 мМ. В некоторых вариантах осуществления молярная концентрация трегалозы дигидрата составляет приблизительно 138 мМ. В некоторых вариантах осуществления молярная концентрация трегалозы дигидрата составляет приблизительно 139 мМ. В некоторых вариантах осуществления молярная концентрация трегалозы дигидрата составляет приблизительно 140 мМ. В некоторых вариантах осуществления молярная концентрация трегалозы дигидрата составляет приблизительно 141 мМ. В некоторых вариантах

5,6% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация сахарозы составляет приблизительно 5,7% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация сахарозы составляет приблизительно 5,8% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация сахарозы составляет приблизительно 5,9% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация сахарозы составляет приблизительно 6,0% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация сахарозы составляет приблизительно 6,1% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация сахарозы составляет приблизительно 6,2% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация сахарозы составляет приблизительно 6,3% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация сахарозы составляет приблизительно 6,4% (в/об). В другом варианте осуществления концентрация сахарозы составляет приблизительно 6,5% (в/об).

[illegible]

приблизительно 5,9 при комнатной температуре. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН приблизительно 6,0 при комнатной температуре. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН приблизительно 6,1 при комнатной температуре. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН приблизительно 6,2 при комнатной температуре. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН приблизительно 6,3 при комнатной температуре.

[00371] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН в диапазоне 5,5-6,5 при температуре от 15°C до 27°C. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН в диапазоне 5,7-6,3 при температуре от 15°C до 27°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН приблизительно 5,7 при температуре от 15°C до 27°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН приблизительно 5,8 при температуре от 15°C до 27°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН приблизительно 5,9 при температуре от 15°C до 27°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН приблизительно 6,0 при температуре от 15°C до 27°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН приблизительно 6,1 при температуре от 15°C до 27°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН приблизительно 6,2 при температуре от 15°C до 27°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН приблизительно 6,3 при температуре от 15°C до 27°C.

[00372] В некоторых определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем документе, включает приблизительно 20 мМ L-гистидина, приблизительно 0,02% (в/об) TWEEN-20 и по меньшей мере одно из приблизительно 5,5% (в/об) трегалозы дигидрата или приблизительно 5% (в/об) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем документе, дополнительно включает HCl или янтарную кислоту. В некоторых

вариантах осуществления pH составляет приблизительно 6,0 при комнатной температуре. В некоторых вариантах осуществления pH составляет приблизительно 6,0 при 25°C.

[00373] В некоторых определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем документе, включает приблизительно 20 mM L-гистидина, приблизительно 0,02% (в/об) TWEEN-20, приблизительно 5,5% (в/об) трегалозы дигидрата и HCl. В некоторых вариантах осуществления pH составляет приблизительно 6,0 при комнатной температуре. В некоторых вариантах осуществления pH составляет приблизительно 6,0 при 25°C.

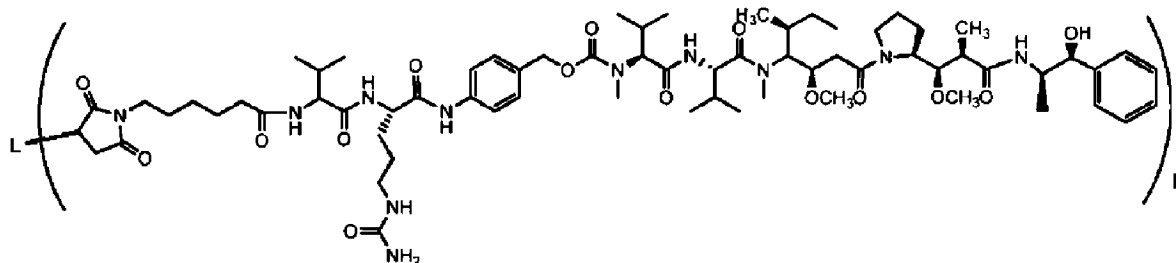
[00374] В некоторых определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем документе, включает приблизительно 20 mM L-гистидина, приблизительно 0,02% (в/об) TWEEN-20, приблизительно 5% (в/об) сахарозы и HCl. В некоторых вариантах осуществления pH составляет приблизительно 6,0 при комнатной температуре. В некоторых вариантах осуществления pH составляет приблизительно 6,0 при 25°C.

[00375] В других определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем документе, включает приблизительно 20 mM L-гистидина, приблизительно 0,02% (в/об) TWEEN-20, приблизительно 5,5% (в/об) трегалозы дигидрата и янтарную кислоту. В некоторых вариантах осуществления pH составляет приблизительно 6,0 при комнатной температуре. В некоторых вариантах осуществления pH составляет приблизительно 6,0 при 25°C.

[00376] В некоторых определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем документе, включает приблизительно 20 mM L-гистидина, приблизительно 0,02% (в/об) TWEEN-20, приблизительно 5% (в/об) сахарозы и янтарную кислоту. В некоторых вариантах осуществления pH составляет приблизительно 6,0 при комнатной температуре. В некоторых вариантах осуществления pH составляет приблизительно 6,0 при 25°C.

[00377] В определенном варианте осуществления предложенная в настоящем документе включает:

(a) конъюгат антитела-лекарственного средства, включающий следующую структуру:



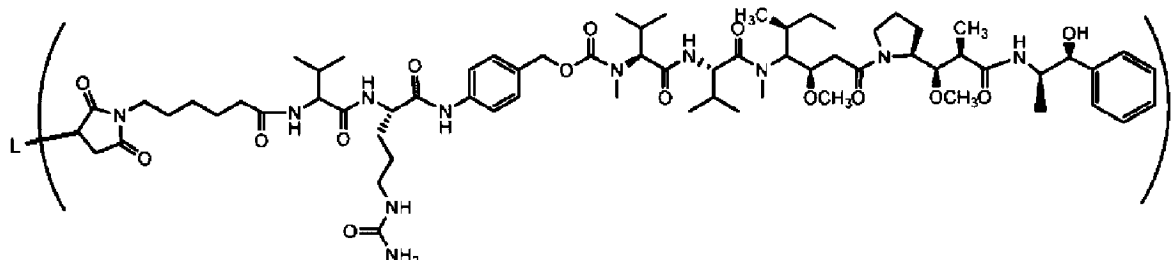
где L- представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и p равно от 1 до 10; и

(b) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, включающее приблизительно 20 mM L-гистидина, приблизительно 0,02% (в/об) TWEEN-20,

приблизительно 5,5% (в/об) трегалозы дигидрата и HCl, где конъюгат антитела-лекарственного средства присутствует в концентрации приблизительно 10 мг/мл, и где pH составляет приблизительно 6,0 при 25°C.

[00378] В другом определенном варианте осуществления фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем документе, включает:

(a) конъюгат антитела-лекарственного средства, включающий следующую структуру:



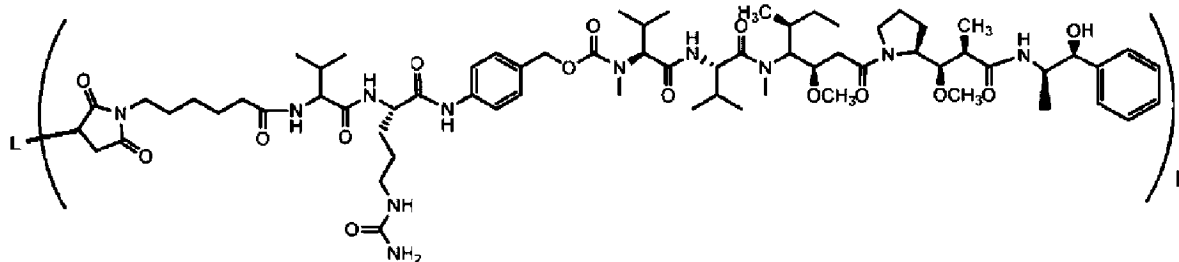
где L- представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и p равно от 1 до 10; и

(b) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, включающее приблизительно 20 mM L-гистидина, приблизительно 0,02% (в/об) TWEEN-20, приблизительно 5,5% (в/об) трегалозы дигидрата и янтарную кислоту,

где конъюгат антитела-лекарственного средства присутствует в концентрации приблизительно 10 мг/мл, и где pH составляет приблизительно 6,0 при 25°C.

[00379] В еще одном определенном варианте осуществления фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем документе, включает:

(a) конъюгат антитела-лекарственного средства, включающий следующую структуру:



где L- представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и p равно от 1 до 10; и

(b) фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, включающее приблизительно 20 mM L-гистидина, приблизительно 0,02% (в/об) TWEEN-20, приблизительно 5,0% (в/об) сахарозы и HCl,

где конъюгат антитела-лекарственного средства присутствует в концентрации приблизительно 10 мг/мл, и где pH составляет приблизительно 6,0 при 25°C.

[00380] Хотя представлены определенные числа (и соответствующие числовые диапазоны), следует понимать, что в некоторых вариантах осуществления тоже предусмотрены числовые значения в пределах, например, 2%, 5%, 10%, 15% или 20% от

указанных числовых значений (или числовых диапазонов). Другие иллюстративные фармацевтические композиции представлены ниже в Экспериментальном разделе.

[00381] Основной растворитель в несущей среде может быть водным или неводным по своей природе. Кроме того, несущая среда может содержать другие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества для модификации или поддержания pH, осмолярности, вязкости, стерильности или стабильности фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемая несущая среда представляет собой водный буфер. В других вариантах осуществления несущая среда включает, например, хлорид натрия и/или цитрат натрия.

[00382] Фармацевтические композиции, представленные в настоящем документе, могут содержать другие фармацевтически приемлемые вспомогательные вещества для модификации или поддержания скорости высвобождения конъюгата антитела-лекарственного средства и/или дополнительное средство, как описано в настоящем документе. Такие вспомогательные вещества включают вещества, известные специалистам в области изготовления составов с замедленным высвобождением. Для получения дополнительной информации, относящейся к фармацевтически и физиологически приемлемым вспомогательным веществам, см., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. (1990, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18042), страницы 1435-1712, The Merck Index, 12th Ed. (1996, Merck Publishing Group, Whitehouse, NJ); и Pharmaceutical Principles of Solid Dosage Forms (1993, Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, Pa.). Дополнительные фармацевтические композиции, подходящие для введения, известны в данной области и могут применяться в способах и композициях, представленных в настоящем документе.

[00383] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, представленная в настоящем документе, находится в жидкой форме. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция, представленная в настоящем документе, является лиофилизированной.

[00384] Фармацевтическая композиция может иметь такой состав, чтобы она была совместимой с ее предполагаемым путем введения. Таким образом, фармацевтические композиции включают вспомогательные вещества, подходящие для введения путями, включающими парентеральный (например, подкожный (п/к), внутривенный, внутримышечный или внутрибрюшинный), внутрикожный, пероральный (например, внутрь), ингаляционный, внутриполостной, внутричерепной и чрескожный (наружный). Другие иллюстративные способы введения представлены в настоящем документе.

[00385] Фармацевтические композиции могут иметь форму стерильной водной или масляной суспензии для инъекций. Такая суспензия может быть изготовлена с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих веществ и суспендирующих веществ, раскрытых в настоящем документе или известных специалистам в данной области. Стерильный препарат для инъекций также может быть стерильным раствором или суспензией для инъекций в нетоксичном, подходящем для

парентерального введения разбавителе или растворителе, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. Подходящие разбавители, растворители и дисперсионные среды, которые могут использоваться, включают воду, раствор Рингера, изотонический раствор хлорида натрия, кремофор ELTM (BASF, Parsipanny, NJ) или фосфатно-солевой буфер (PBS), этанол, многоатомный спирт (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль), а также их подходящие смеси. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды обычно используют стерильные нелетучие масла. Для этой цели может использоваться любое нелетучее масло без вкуса и запаха, в том числе синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, жирные кислоты, такие как олеиновая кислота, находят применение при изготовлении препаратов для инъекций. Пролонгированное всасывание некоторых препаратов для инъекций может быть достигнуто путем включения вещества, которое задерживает всасывание (например, моностеарата алюминия или желатина).

[00386] В одном варианте осуществления фармацевтические композиции, представленные в настоящем документе, могут вводить парентерально путем инъекции, инфузии или имплантации, для местного или системного введения. Парентеральное введение при использовании в настоящем документе, включает внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное, интратекальное, интравентрикулярное, внутриуретральное, интрастернальное, внутричерепное, внутримышечное, интрасиновиальное и подкожное введение.

[00387] В одном варианте осуществления фармацевтические композиции, представленные в настоящем документе, могут быть изготовлены в виде любых лекарственных форм, подходящих для парентерального введения, в том числе растворов, суспензий, эмульсий, мицелл, липосом, микросфер, наносистем и твердых форм, подходящих для приготовления растворов или суспензий в жидкости перед инъекцией. Такие лекарственные формы могут быть изготовлены в соответствии со стандартными способами, известными специалистам в области фармацевтики (см., например, Remington, The Science and Practice of Pharmacy, выше).

[00388] В одном варианте осуществления фармацевтические композиции, предназначенные для парентерального введения, могут включать один или больше фармацевтически приемлемых вспомогательных веществ, включающих, без ограничения перечисленными, водные растворители, смешиваемые с водой растворители, неводные растворители, антимикробные средства или консерванты против роста микроорганизмов, стабилизаторы, вещества, повышающие растворимость, изотонические вещества, буферные вещества, антиоксиданты, местные анестетики, суспендирующие и диспергирующие вещества, смачивающие или эмульгирующие вещества, комплексообразователи, связывающие или хелатообразующие вещества, криопротекторы, лиопротекторы, загустители, регуляторы pH и инертные газы.

[00389] В одном варианте осуществления подходящие водные растворители включают, без ограничения перечисленным, воду, раствор хлорида натрия,

физиологический раствор или фосфатно-солевой буферный раствор (PBS), раствор хлорида натрия для инъекций, раствор Рингера для инъекций, изотонический раствор декстрозы для инъекций, стерильную воду для инъекций, раствор декстрозы и лактированный раствор Рингера для инъекций. Неводные растворители включают, без ограничения перечисленным, нелетучие масла растительного происхождения, касторовое масло, кукурузное масло, хлопковое масло, оливковое масло, арахисовое масло, масло перечной мяты, сафлоровое масло, кунжутное масло, соевое масло, гидрогенизированные растительные масла, гидрогенизированное соевое масло и среднецепочечные триглицериды кокосового масла и пальмового масла. Смешиваемые с водой носители включают, без ограничения перечисленными, этанол, 1,3-бутандиол, жидкий полиэтиленгликоль (например, полиэтиленгликоль 300 и полиэтиленгликоль 400), пропиленгликоль, глицерин, N-метил-2-пирролидон, N, N-диметилацетамид и диметилсульфоксид.

[00390] В одном варианте осуществления подходящие антимикробные средства или консерванты включают, без ограничения перечисленными, фенолы, крезолы, соединения ртути, бензиловый спирт, хлорбутанол, метил- и пропил-п-гидроксibenзоаты, тимеросал, хлорид бензалкония (например, хлорид бензетония), метил- и пропилпарабены, и сорбиновую кислоту. Подходящие изотонические вещества включают, без ограничения перечисленными, хлорид натрия, глицерин и декстрозу. Подходящие буферные вещества включают, без ограничения перечисленными, фосфат и цитрат. Подходящими антиоксидантами являются антиоксиданты, описанные в настоящем документе, включающие бисульфит и метабисульфит натрия. Подходящие местные анестетики включают, без ограничения, прокаина гидрохлорид. Подходящими суспендирующими и диспергирующими веществами являются вещества, описанные в настоящем документе, включающие карбоксиметилцеллюлозу натрия, гидроксипропилметилцеллюлозу и поливинилпирролидон. Подходящие эмульгаторы включают вещества, описанные в настоящем документе, в том числе полиоксиэтилен сорбитан монолаурат, полиоксиэтилен сорбитан моноолеат 80 и триэтаноламина олеат. Подходящие комплексообразующие или хелатообразующие вещества включают, без ограничения, ЭДТА. Подходящие регуляторы pH включают, без ограничения перечисленными, гидроксид натрия, соляную кислоту, лимонную кислоту и молочную кислоту. Подходящие комплексообразователи включают, без ограничения перечисленным, циклодекстрины, в том числе α -циклодекстрин, β -циклодекстрин, гидроксипропил- β -циклодекстрин, сульфобутилэфир- β -циклодекстрин и сульфобутилэфир-7- β -циклодекстрин (CAPTISOL[®], CyDex, Lenexa, KS).

[00391] В одном варианте осуществления фармацевтические композиции, предложенные в настоящем документе, могут быть изготовлены для однократного или многократного введения доз. Однодозовые составы упакованы в ампуле, флаконе или шприце. Многодозовые составы для парентерального введения могут содержать противомикробное средство в бактериостатической или фунгистатической концентрации.

Все составы для парентерального введения должны быть стерильными, как известно и практикуется в данной области.

[00392] В одном варианте осуществления фармацевтические композиции предоставлены в виде готовых к применению стерильных растворов. В другом варианте осуществления фармацевтические композиции предоставлены в виде стерильных сухих растворимых продуктов, в том числе лиофилизированных порошков и таблеток для подкожных инъекций, которые нужно восстанавливать растворителем перед применением. В еще одном варианте осуществления фармацевтические композиции предоставлены в виде готовых к применению стерильных суспензий. В еще одном варианте осуществления фармацевтические композиции предоставлены в виде стерильных сухих нерастворимых продуктов, которые нужно восстанавливать растворителем перед применением. В еще одном варианте осуществления фармацевтические композиции предоставлены в виде готовых к применению стерильных эмульсий.

[00393] В одном варианте осуществления фармацевтические композиции, предложенные в настоящем документе, могут быть приготовлены в виде лекарственных форм с немедленным или модифицированным высвобождением, включая формы с задержанным, замедленным, импульсным, контролируемым, направленным и программируемым высвобождением.

[00394] Диспергируемые порошки и гранулы, подходящие для приготовления водной суспензии путем добавления воды, содержат активный ингредиент в смеси с диспергирующим или смачивающим веществом, суспендирующим веществом и одним или более консервантами. Примеры подходящих диспергирующих или смачивающих веществ и суспендирующих веществ приведены в настоящем документе.

[00395] Фармацевтические композиции также могут включать вспомогательные вещества для предохранения композиции от быстрой деградации или выведения из организма, такие как состав с контролируемым высвобождением, включая имплантаты, липосомы, гидрогели, пролекарства и микроинкапсулированные системы доставки. Например, может использоваться материал, обеспечивающий временную задержку, такой как глицерилмоностеарат или глицерилстеарат, отдельно или в комбинации с воском. Пролонгированное всасывание фармацевтических композиций для инъекций может быть достигнуто путем включения вещества, которое задерживает всасывание, например, моностеарата алюминия или желатина. Предотвратить воздействие микроорганизмов можно с помощью различных антибактериальных и противогрибковых средств, например, парабенов, хлорбутанола, фенола, аскорбиновой кислоты, тимеросала и т.п.

[00396] Фармацевтическую композицию, предложенную в настоящем документе, можно хранить при температуре -80°C , 4°C , 25°C или 37°C .

[00397] Лиофилизированная композиция может быть изготовлена путем лиофильной сушки жидкой фармацевтической композиции, представленной в настоящем документе. В конкретном варианте осуществления фармацевтическая композиция,

предложенная в настоящем документе, является лиофилизированной фармацевтической композицией. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические составы представляют собой лиофилизированные порошки, которые могут быть восстановлены для введения в виде растворов, эмульсий и других смесей. Они также могут быть восстановлены и изготовлены в виде твердых веществ или гелей.

[00398] В некоторых вариантах осуществления изготовление лиофилизированного состава, представленного в настоящем документе, включает дозирование изготовленного нефасованного раствора для лиофилизации, асептическую фильтрацию, наполнение флаконов, замораживание флаконов в камере лиофильной сушки с последующей лиофилизацией, укупоркой пробками и колпачками.

[00399] При изготовлении лиофилизированного состава может использоваться лиофилизатор. Например, может использоваться опытная установка VirTis Genesis Model EL. Установка включает в себя камеру с тремя рабочими полками (общая полезная площадь полок около 0,4 квадратных метра), внешний испаритель и систему с механическим вакуумным насосом. Каскадное механическое охлаждение позволяет охлаждать полки до -70°C или ниже, а внешний испаритель - до -90°C или ниже. Температура полок и давление в камере регулируется автоматически до $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ и ± 2 микрона рт.ст. (миллиторр) соответственно. Установка была оборудована емкостным манометром-вакуумметром, вакуумметром Пирани, датчиком давления (для измерения от 0 до 1 атмосферы) и датчиком относительной влажности.

[00400] Лيوфилизированный порошок может быть изготовлен путем растворения конъюгата антитела-лекарственного средства, предложенного в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемого производного в подходящем растворителе. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированный порошок является стерильным. Последующая стерилизующая фильтрация раствора с последующей лиофилизацией в стандартных условиях, известных специалистам в данной области, дает требуемый состав. В одном варианте осуществления полученный раствор распределяют по флаконам для лиофилизации. Каждый флакон содержит одну или более доз конъюгата антитела-лекарственного средства. Лيوфилизированный порошок может храниться в соответствующих условиях, например, при температуре приблизительно от 4°C до комнатной температуры.

[00401] Восстановление этого лиофилизированного порошка водой для инъекций дает состав для применения путем парентерального введения. Для восстановления лиофилизированный порошок добавляют к стерильной воде или другому подходящему вспомогательному веществу. Такое количество может быть определено эмпирически и скорректировано в соответствии с конкретными потребностями.

[00402] Иллюстративная процедура восстановления представлена следующим образом: (1) шприц объемом 5 мл или 3 мл снабжают иглой калибра 18G или 20G и наполняют шприц водой категории Вода для инъекций (WFI); (2) соответствующее количество воды для инъекций набирают, используя шкалу шприца, убедившись, что в

шприце отсутствуют пузырьки воздуха; (3) иглу вводят через резиновую пробку; (4) все содержимое шприца вводят в контейнер по стенке флакона, шприц извлекают и снимают иглу, после чего помещают в контейнер для острых предметов; (4) флакон длительно взбалтывают, чтобы тщательно растворить все содержимое флакона до полного восстановления (например, примерно 20-40 секунд) и при этом свести к минимуму чрезмерное перемешивание раствора белка, которое может привести к образованию пены.

5.5 Способы применения фармацевтических композиций в комбинированной терапии

[00403] Способ ингибирования роста опухолевых клеток с применением фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, в комбинации с химиотерапией и/или радиацией включает введение настоящей фармацевтической композиции до, во время или после начала химиотерапии или лучевой терапии, а также любую комбинацию этого (т.е. до и во время, до и после, во время и после или до, во время и после начала химиотерапии и/или лучевой терапии). В зависимости от протокола лечения и конкретных потребностей пациента способ проводят таким образом, чтобы обеспечить наиболее эффективное лечение и, в конечном итоге, продлить жизнь пациента.

[00404] Введение химиотерапевтических средств можно выполнять разными способами, в том числе системно, парентеральным и энтеральным путями. В одном варианте осуществления химиотерапевтическое средство вводят отдельно. Конкретные примеры химиотерапевтических средств или химиотерапии включают цисплатин, дакарбазин (DTIC), дактиномицин, мехлорэтамин (азотистый иприт), стрептозоцин, циклофосфамид, кармустин (BCNU), ломустин (CCNU), доксорубицин (адриамицин), даунорубицин, прокарбазин, митомицин, цитарабин, этопозид, метотрексат, 5-фторурацил, винбластин, винкристин, блеомицин, паклитаксел (таксол), доцетаксел (такотер), алдеслейкин, аспарагиназу, бусульфан, карбоплатин, кладрибин, дакарбазин, флоксуридин, флударабин, гидроксимочевину, ифосфамид, интерферон альфа, лейпролид, мегестрол, мелфалан, меркаптопурин, пликамицин, митотан, пэгаспаргазу, пентостатин, пипоброман, пликамицин, стрептозоцин, тамоксифен, тенипозид, тестолактон, тиогуанин, тиотепу, урамустин, винорелбин, гемцитабин, хлорамбуцил, таксол и их комбинации.

[00405] Источник излучения, используемый в комбинации с фармацевтической композицией, предложенной в настоящем документе, может быть либо внешним, либо внутренним по отношению к пациенту, проходящему лечение. Когда источник находится вне пациента, такая терапия известна как дистанционная лучевая терапия (ДЛТ). Когда источник излучения находится внутри у пациента, такое лечение называется брахитерапией (БТ).

[00406] Описанные выше терапевтические схемы могут дополнительно комбинировать с дополнительными средствами и/или схемами для лечения рака, например, дополнительной химиотерапией, противораковыми вакцинами, ингибиторами сигнальной трансдукции, средствами, полезными для лечения аномального роста клеток или рака, антителами (например, антителами против CTLA-4, как описано в

WO/2005/092380 (Pfizer)) или другими лигандами, которые ингибируют рост опухоли при связывании с IGF-1R, и цитокинами.

[00407] Когда млекопитающего подвергают дополнительной химиотерапии, могут использоваться химиотерапевтические средства, описанные выше. Кроме того, можно использовать ингибиторы факторов роста, модификаторы биологического ответа, антигормональную терапию, селективные модуляторы эстрогеновых рецепторов (SERM), ингибиторы ангиогенеза и антиандрогены. Например, антигормоны, например, антиэстрогены, такие как Нолвадекс (тамоксифен), или антиандрогены, такие как Касодекс (4'-циано-3-(4-фторфенилсульфонил)-2-гидрокси-2-метил-3'-(трифторметил)пропионирид).

[00408] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическое средство, предложенное в настоящем документе, применяется в комбинации со вторым терапевтическим средством, например, для лечения рака.

[00409] В некоторых вариантах осуществления второе терапевтическое средство является ингибитором иммунной контрольной точки. При использовании в настоящем документе термин "ингибитор иммунной контрольной точки" или "ингибитор контрольной точки" относится к молекулам, которые полностью или частично снижают, ингибируют, нарушают или модулируют один или более белков контрольных точек. Без ограничения какой-либо конкретной теорией, белки контрольных точек регулируют активацию или функцию Т-клеток. Известны многочисленные белки контрольных точек, такие как CTLA-4 и его лиганды CD80 и CD86; и PD-1 со своими лигандами PD-L1 и PD-L2 (Pardoll, Nature Reviews Cancer, 2012, 12, 252-264). Эти белки, по-видимому, отвечают за костимулирующие или ингибирующие взаимодействия Т-клеточных ответов. Белки иммунных контрольных точек, по-видимому, регулируют и поддерживают аутоотолерантность, а также длительность и амплитуду физиологических иммунных ответов. Ингибиторы иммунных контрольных точек включают антитела или получены из антител.

[00410] В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является ингибитор CTLA-4. В одном варианте осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой антитело против CTLA-4. Примеры антител против CTLA-4 включают, без ограничения, антитела, описанные в патентах США: 5,811,097; 5,811,097; 5,855,887; 6,051,227; 6,207,157; 6,682,736; 6,984,720 и 7,605,238, которые полностью включены в настоящий документ. В одном варианте осуществления антителом против CTLA-4 является тремелидумаб (также известный как тицилидумаб или CP-675,206). В другом варианте осуществления антителом против CTLA-4 является ипилидумаб (также известный как MDX-010 или MDX-101). Ипилидумаб представляет собой полностью человеческое моноклональное IgG антитело, которое связывается с CTLA-4. Ипилидумаб выпускается под торговой маркой ЕрвойTM.

[00411] В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является ингибитор PD-1/PD-L1. Примеры ингибиторов PD-1/PD-L1 включают, без

ограничения, такие, которые описаны в патентах США 7,488,802; 7,943,743; 8,008,449; 8,168,757; 8,217,149 и публикациях патентных заявок PCT WO2003042402, WO2008156712, WO2010089411, WO2010036959, WO2011066342, WO2011159877, WO2011082400 и WO2011161699, которые полностью включены в настоящий документ.

[00412] В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является ингибитор PD-1. В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой антитело против PD-1. В одном варианте осуществления антителом против PD-1 является BGB-A317, ниволумаб (также известный как ONO-4538, BMS-936558 или MDX1106) или пембролизумаб (также известный как MK-3475, SCH 900475 или ламбролизумаб). В одном варианте осуществления антителом к PD-1 является ниволумаб. Ниволумаб представляет собой моноклональное человеческое IgG4 антитело против PD-1 и выпускается под торговой маркой ОпдивоTM. В другом варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное IgG4 антитело и выпускается под торговой маркой КитрудаTM. В еще одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой CT-011, гуманизированное антитело. CT-011, вводимый отдельно, не показал ответа при лечении острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) при рецидиве. В еще одном варианте осуществления антителом против PD-1 является AMP-224, гибридный белок. В другом варианте осуществления антителом к PD-1 является BGB-A317. BGB-A317 представляет собой моноклональное антитело, в которое специфически введена способность связывать Fc-гамма рецептор I и которое обладает уникальной сигнатурой связывания с PD-1 с высокой аффинностью и превосходной специфичностью к мишени.

[00413] В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является ингибитор PD-L1. В одном варианте осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой антитело против PD-L1. В одном варианте осуществления антителом против PD-L1 является MEDI4736 (дурвалумаб). В другом варианте осуществления антителом против PD-L1 является BMS-936559 (также известное как MDX-1105-01). В еще одном варианте осуществления ингибитором PD-L1 является атезолизумаб (также известный как MPDL3280A и Тецентрик[®]).

[00414] В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является ингибитор PD-L2. В одном варианте осуществления ингибитор PD-L2 представляет собой антитело против PD-L2. В одном варианте осуществления антителом против PD-L2 является rHlgM12B7A.

[00415] В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является ингибитор гена активации лимфоцитов 3 (LAG-3). В одном варианте осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой IMP321, растворимый Ig-слитый белок (Brignone et al., J. Immunol., 2007, 179, 4202-4211). В другом варианте осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой BMS-986016.

[00416] В одном варианте осуществления ингибиторы контрольных точек представляют собой ингибитор B7. В одном варианте осуществления ингибитор B7

представляет собой ингибитор B7-H3 или ингибитор B7-H4. В одном варианте осуществления ингибитор B7-H3 представляет собой MGA271, антитело против B7-H3 (Loo et al., Clin. Cancer Res., 2012, 3834).

[00417] В одном варианте осуществления ингибиторы контрольной точки представляют собой ингибитор TIM3 (Т-клеточный иммуноглобулиновый домен и муциновый домен 3) (Fourcade et al., J. Exp. Med., 2010, 207, 2175-86; Sakuishi et al., J. Exp. Med., 2010, 207, 2187-94).

[00418] В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является агонист OX40 (CD134). В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является антитело против OX40. В одном варианте осуществления антитело против OX40 представляет собой антитело против OX-40. В другом варианте осуществления антитело против OX40 представляет собой MEDI6469.

[00419] В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является агонист GITR. В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является антитело против GITR. В одном варианте осуществления антитело против GITR представляет собой TRX518.

[00420] В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является агонист CD137. В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является антитело против CD137. В одном варианте осуществления антитело против CD137 представляет собой урелумаб. В другом варианте осуществления антитело против CD137 представляет собой PF-05082566.

[00421] В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является агонист CD40. В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является антитело против CD40. В одном варианте осуществления антитело против CD40 представляет собой CF-870893.

[00422] В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является рекомбинантный интерлейкин-15 человека (rhIL-15).

[00423] В одном варианте осуществления ингибитором контрольной точки является ингибитор IDO. В одном варианте осуществления ингибитором IDO является INCB024360. В другом варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой индоксимод.

[00424] В некоторых вариантах осуществления комбинированная терапия, предложенная в настоящем документе, включает два или больше ингибиторов контрольных точек, описанных в настоящем документе (включая ингибиторы контрольных точек одного и того же или другого класса). Кроме того, комбинированные терапии, описанные в настоящем документе, могут применяться в комбинации с одним или больше вторыми активными средствами, описанными в настоящем документе, в подходящих случаях для лечения заболеваний, описанных в настоящем документе и известных специалистам в данной области.

[00425] В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки

вводят до введения настоящей фармацевтической композиции. В других вариантах осуществления ингибитор контрольной точки вводят одновременно (например, в тот же период введения) с фармацевтической композицией, предложенной в настоящем документе. В других вариантах осуществления ингибитор контрольной точки вводят после введения фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе.

[00426] В некоторых вариантах осуществления количество ингибитора контрольной точки можно определить стандартными клиническими методами.

[00427] Дозу ингибитора контрольной точки, которая приводит к сывороточному титру от приблизительно 0,1 мкг/мл до приблизительно 450 мкг/мл и, в некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере 0,1 мкг/мл, по меньшей мере 0,2 мкг/мл, по меньшей мере 0,4 мкг/мл, по меньшей мере 0,5 мкг/мл, по меньшей мере 0,6 мкг/мл, по меньшей мере 0,8 мкг/мл, по меньшей мере 1 мкг/мл, по меньшей мере 1,5 мкг/мл, такие как по меньшей мере 2 мкг/мл, по меньшей мере 5 мкг/мл, по меньшей мере 10 мкг/мл, по меньшей мере 15 мкг/мл, по меньшей мере 20 мкг/мл, по меньшей мере 25 мкг/мл, по меньшей мере 30 мкг/мл, по меньшей мере 35 мкг/мл, по меньшей мере 40 мкг/мл, по меньшей мере 50 мкг/мл, по меньшей мере 75 мкг/мл, по меньшей мере 100 мкг/мл, по меньшей мере 125 мкг/мл, по меньшей мере 150 мкг/мл, по меньшей мере 200 мкг/мл, по меньшей мере 250 мкг/мл, по меньшей мере 300 мкг/мл, по меньшей мере 350 мкг/мл, по меньшей мере 400 мкг/мл или по меньшей мере 450 мкг/мл, могут вводить человеку для предупреждения и/или лечения рака. Нужно понимать, что точная доза ингибитора контрольной точки, которая будет использоваться, также будет зависеть от пути введения и тяжести рака у субъекта, и должна определяться в соответствии с решением практикующего медработника и обстоятельств каждого пациента.

[00428] В некоторых вариантах осуществления доза ингибитора контрольной точки (например, ингибитора PD-1 или ингибитора PD-L1), вводимая пациенту, составляет, как правило, от 0,1 мг/кг до 100 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 75 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от 1 мг/кг до 20 мг/кг массы тела субъекта, например, от 1 мг/кг до 5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 1 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 1,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 2 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 2,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 3 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 3,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 4 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая

пациенту, составляет приблизительно 4,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 5,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 6 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 6,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 7 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 7,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 8 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 8,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 9,0 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 10,0 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 15,0 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 20,0 мг/кг массы тела субъекта.

[00429] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем документе, поставляется в виде сухого стерильного лиофилизированного порошка или безводного концентрата в герметичном контейнере и может быть восстановлена, например, водой или солевым раствором, до подходящей концентрации для введения субъекту. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства поставляется в виде сухого стерильного лиофилизированного порошка в герметичном контейнере в единичной дозировке по меньшей мере 0,1 мг, по меньшей мере 0,5 мг, по меньшей мере 1 мг, по меньшей мере 2 мг или по меньшей мере 3 мг, таких как по меньшей мере 5 мг, по меньшей мере 10 мг, по меньшей мере 15 мг, по меньшей мере 25 мг, по меньшей мере 30 мг, по меньшей мере 35 мг, по меньшей мере 45 мг, по меньшей мере 50 мг, по меньшей мере 60 мг, по меньшей мере 75 мг, по меньшей мере 80 мг, по меньшей мере 85 мг, по меньшей мере 90 мг, по меньшей мере 95 мг или по меньшей мере 100 мг. Лيوфилизированный конъюгат антитела-лекарственного средства может храниться при температуре 2-8°C в своем исходном контейнере, причем конъюгат антитела-лекарственного средства можно вводить примеено в течение 12 часов, например, в течение 6 часов, в течение 5 часов, в течение 3 часов или в течение 1 часа, после восстановления. В альтернативном варианте осуществления фармацевтическая композиция, предложенная в настоящем документе, включающая конъюгат антитела-лекарственного средства, поставляется в жидкой форме в герметичном контейнере, на котором указано количество и концентрация конъюгата антитела-лекарственного средства. В некоторых вариантах осуществления жидкая форма конъюгата антитела-лекарственного средства поставляется в герметичном контейнере в

концентрации по меньшей мере 0,1 мг/мл, по меньшей мере 0,5 мг/мл или по меньшей мере 1 мг/мл, и, такие как по меньшей мере 5 мг/мл, по меньшей мере 10 мг/мл, по меньшей мере 15 мг/мл, по меньшей мере 25 мг/мл, по меньшей мере 30 мг/мл, по меньшей мере 40 мг/мл, по меньшей мере 50 мг/мл, по меньшей мере 60 мг/мл, по меньшей мере 70 мг/мл, по меньшей мере 80 мг/мл, по меньшей мере 90 мг/мл или по меньшей мере 100 мг/мл.

5.6 Доза ADC в настоящих способах

[00430] В некоторых вариантах осуществления количество профилактического или терапевтического средства (например, конъюгата антитела-лекарственного средства, предложенного в настоящем документе), или фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, которое будет эффективным для предупреждения и/или лечения рака, может быть определена с помощью стандартных клинических методик.

[00431] Таким образом, дозу конъюгата антитела-лекарственного средства в фармацевтической композиции, приводящую к сывороточному титру от приблизительно 0,1 мкг/мл до приблизительно 450 мкг/мл и, в некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере 0,1 мкг/мл, по меньшей мере 0,2 мкг/мл, по меньшей мере 0,4 мкг/мл, по меньшей мере 0,5 мкг/мл, по меньшей мере 0,6 мкг/мл, по меньшей мере 0,8 мкг/мл, по меньшей мере 1 мкг/мл, по меньшей мере 1,5 мкг/мл, такие как по меньшей мере 2 мкг/мл, по меньшей мере 5 мкг/мл, по меньшей мере 10 мкг/мл, по меньшей мере 15 мкг/мл, по меньшей мере 20 мкг/мл, по меньшей мере 25 мкг/мл, по меньшей мере 30 мкг/мл, по меньшей мере 35 мкг/мл, по меньшей мере 40 мкг/мл, по меньшей мере 50 мкг/мл, по меньшей мере 75 мкг/мл, по меньшей мере 100 мкг/мл, по меньшей мере 125 мкг/мл, по меньшей мере 150 мкг/мл, по меньшей мере 200 мкг/мл, по меньшей мере 250 мкг/мл, по меньшей мере 300 мкг/мл, по меньшей мере 350 мкг/мл, по меньшей мере 400 мкг/мл или по меньшей мере 450 мкг/мл, могут вводить человеку для предупреждения и/или лечения рака. Нужно понимать, что точная доза, которая будет использоваться в составе, также будет зависеть от пути введения и тяжести рака у субъекта, и должна быть определена в соответствии с решением практикующего медработника и обстоятельств каждого пациента.

[00432] Эффективные дозы можно экстраполировать на основе кривых доза-эффект, полученных в исследовательских системах *in vitro* или с использованием моделей на животных.

[00433] Для фармацевтической композиции, включающей конъюгат антитела-лекарственного средства, предложенный в настоящем документе, доза конъюгата антитела-лекарственного средства, вводимая пациенту, составляет, как правило, от 0,1 мг/кг до 100 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 75 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от 1 мг/кг до 20 мг/кг массы тела субъекта, например, от 1 мг/кг до 5 мг/кг

массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 0,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 0,75 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 1 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 1,25 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 1,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 2 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 2,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 3 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 3,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 4 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 4,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 5,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 6 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 6,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 7 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 7,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 8 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет приблизительно 8,5 мг/кг массы тела субъекта.

[00434] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства, включенный в состав фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, вводят в расчете на фактическую массу тела пациента в исходном состоянии, при этом дозы не будут изменяться, если вес пациента не изменится на $\geq 10\%$ от исходного значения в предыдущем курсе, или не будет удовлетворен критерий изменения дозы. В некоторых вариантах осуществления будет использоваться фактический вес за исключением пациентов весом больше 100 кг, при этом в таких случаях дозу будут вычислять на основе веса 100 кг. В некоторых вариантах осуществления максимальные дозы составляют 100 мг для пациентов, получающих дозы на уровне 1,00 мг/кг, и 125 мг для пациентов, получающих дозы на уровне 1,25 мг/кг.

[00435] В одном варианте осуществления приблизительно 100 мг/кг или меньше, приблизительно 75 мг/кг или меньше, приблизительно 50 мг/кг или меньше,

приблизительно 25 мг/кг или меньше, приблизительно 10 мг/кг или меньше, приблизительно 5 мг/кг или меньше, приблизительно 1,5 мг/кг или меньше, приблизительно 1,25 мг/кг или меньше, приблизительно 1 мг/кг или меньше, приблизительно 0,75 мг/кг или меньше, приблизительно 0,5 мг/кг или меньше или приблизительно 0,1 мг/кг или меньше конъюгата антитела-лекарственного средства, в составе настоящей фармацевтической композиции, вводят 5 раз, 4 раза, 3 раза, 2 раза или 1 раз для лечения рака. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию, включающую конъюгат антитела-лекарственного средства, предложенный в настоящем документе, вводят приблизительно 1-12 раз, где дозы могут вводить по мере необходимости, например, раз в неделю, раз в две недели, раз в месяц, раз в два месяца, раз в три месяца и т.д., как определено врачом. В некоторых вариантах осуществления более низкую дозу (например, 0,1-15 мг/кг) могут вводить чаще (например, 3-6 раз). В других вариантах осуществления более высокую дозу (например, 25-100 мг/кг) могут вводить реже (например, 1-3 раза).

[00436] В некоторых вариантах осуществления однократную дозу конъюгата антитела-лекарственного средства, включенного в состав фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, вводят пациенту для предупреждения и/или лечения рака 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или 26 раз в течение каждого двухнедельного курса (например, приблизительно 14 дней) в течение некоторого периода времени (например, года), где доза выбрана из группы, состоящей из приблизительно 0,1 мг/кг, приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 0,75 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,25 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 25 мг/кг, приблизительно 30 мг/кг, приблизительно 35 мг/кг, приблизительно 40 мг/кг, приблизительно 45 мг/кг, приблизительно 50 мг/кг, приблизительно 55 мг/кг, приблизительно 60 мг/кг, приблизительно 65 мг/кг, приблизительно 70 мг/кг, приблизительно 75 мг/кг, приблизительно 80 мг/кг, приблизительно 85 мг/кг, приблизительно 90 мг/кг, приблизительно 95 мг/кг, приблизительно 100 мг/кг или их комбинации (т.е. каждая доза, ежемесячная доза, может быть или может не быть идентичной).

[00437] В некоторых вариантах осуществления однократную дозу конъюгата антитела-лекарственного средства, включенного в состав фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, вводят пациенту для предупреждения и/или лечения рака 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или 26 раз в течение каждого трехнедельного курса (например, приблизительно 21 дня) в течение некоторого периода времени (например, года), где доза выбрана из группы, состоящей из приблизительно 0,1 мг/кг, приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 0,75 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,25 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг,

приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 25 мг/кг, приблизительно 30 мг/кг, приблизительно 35 мг/кг, приблизительно 40 мг/кг, приблизительно 45 мг/кг, приблизительно 50 мг/кг, приблизительно 55 мг/кг, приблизительно 60 мг/кг, приблизительно 65 мг/кг, приблизительно 70 мг/кг, приблизительно 75 мг/кг, приблизительно 80 мг/кг, приблизительно 85 мг/кг, приблизительно 90 мг/кг, приблизительно 95 мг/кг, приблизительно 100 мг/кг или их комбинации (т.е. каждая доза, ежемесячная доза, может быть или может не быть идентичной).

[00438] В некоторых вариантах осуществления однократную дозу конъюгата антитела-лекарственного средства, включенного в состав фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, вводят пациенту для предупреждения и/или лечения рака 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или 26 раз в течение каждого четырехнедельного курса (например, приблизительно 28 дней) в течение некоторого периода времени (например, года), где доза выбрана из группы, состоящей приблизительно из 0,1 мг/кг, приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 0,75 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,25 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 25 мг/кг, приблизительно 30 мг/кг, приблизительно 35 мг/кг, приблизительно 40 мг/кг, приблизительно 45 мг/кг, приблизительно 50 мг/кг, приблизительно 55 мг/кг, приблизительно 60 мг/кг, приблизительно 65 мг/кг, приблизительно 70 мг/кг, приблизительно 75 мг/кг, приблизительно 80 мг/кг, приблизительно 85 мг/кг, приблизительно 90 мг/кг, приблизительно 95 мг/кг, приблизительно 100 мг/кг или их комбинации (т.е. каждая доза, ежемесячная доза, может быть или может не быть идентичной).

[00439] В другом варианте осуществления однократную дозу конъюгата антитела-лекарственного средства, включенного в состав фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, вводят пациенту для предупреждения и/или лечения рака 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 раз в течение приблизительно месячных (например, приблизительно 30-дневных) интервалов в течение некоторого периода времени (например, года), где доза выбрана из группы, состоящей приблизительно из 0,1 мг/кг, приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 0,75 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,25 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 25 мг/кг, приблизительно 30 мг/кг, приблизительно 35 мг/кг, приблизительно 40 мг/кг, приблизительно 45 мг/кг,

приблизительно 50 мг/кг, приблизительно 55 мг/кг, приблизительно 60 мг/кг, приблизительно 65 мг/кг, приблизительно 70 мг/кг, приблизительно 75 мг/кг, приблизительно 80 мг/кг, приблизительно 85 мг/кг, приблизительно 90 мг/кг, приблизительно 95 мг/кг, приблизительно 100 мг/кг или их комбинации (т.е. каждая доза, ежемесячная доза, может быть или может не быть идентичной).

[00440] В другом варианте осуществления однократную дозу конъюгата антитела-лекарственного средства, включенного в состав фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, вводят пациенту для предупреждения и/или лечения рака 1, 2, 3, 4, 5 или 6 раз в течение приблизительно двухмесячных (например, приблизительно 60-дневных) интервалов в течение некоторого периода времени (например, года), где доза выбрана из группы, состоящей из приблизительно 0,1 мг/кг, приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 0,75 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,25 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 25 мг/кг, приблизительно 30 мг/кг, приблизительно 35 мг/кг, приблизительно 40 мг/кг, приблизительно 45 мг/кг, приблизительно 50 мг/кг, приблизительно 55 мг/кг, приблизительно 60 мг/кг, приблизительно 65 мг/кг, приблизительно 70 мг/кг, приблизительно 75 мг/кг, приблизительно 80 мг/кг, приблизительно 85 мг/кг, приблизительно 90 мг/кг, приблизительно 95 мг/кг, приблизительно 100 мг/кг или их комбинации (т.е. каждая доза, ежемесячная доза, может быть или может не быть идентичной).

[00441] В еще одном варианте осуществления однократную дозу конъюгата антитела-лекарственного средства, включенного в состав фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, вводят пациенту для предупреждения и/или лечения рака 1, 2, 3 или 4 раза в течение приблизительно трехмесячных (например, приблизительно 120-дневных) интервалов в течение некоторого периода времени (например, года), где доза выбрана из группы, состоящей из приблизительно 0,1 мг/кг, приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 0,75 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,25 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 10 мг/кг, приблизительно 15 мг/кг, приблизительно 20 мг/кг, приблизительно 25 мг/кг, приблизительно 30 мг/кг, приблизительно 35 мг/кг, приблизительно 40 мг/кг, приблизительно 45 мг/кг, приблизительно 50 мг/кг, приблизительно 55 мг/кг, приблизительно 60 мг/кг, приблизительно 65 мг/кг, приблизительно 70 мг/кг, приблизительно 75 мг/кг, приблизительно 80 мг/кг, приблизительно 85 мг/кг, приблизительно 90 мг/кг, приблизительно 95 мг/кг, приблизительно 100 мг/кг или их комбинации (т.е. каждая доза, ежемесячная доза, может быть или может не быть идентичной).

[00442] В некоторых вариантах осуществления путь введения дозы конъюгата

антитела-лекарственного средства, включенного в состав фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, пациенту является интраназальным, внутримышечным, внутривенным или их комбинацией, однако также допускаются другие пути, описанные в настоящем документе. Каждую дозу могут вводить идентичным путем введения или разными путями введения. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства, включенный в фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, могут вводить множеством путей введения одновременно или после введения других доз одного или больше дополнительных терапевтических средств.

[00443] В некоторых более конкретных вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства, включенный в состав фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, вводят в дозе приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 0,75 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,25 мг/кг или приблизительно 1,5 мг/кг массы тела субъекта путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии.

[00444] В некоторых более конкретных вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства, включенный в состав фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, вводят в дозе приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 0,75 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,25 мг/кг или приблизительно 1,5 мг/кг массы тела субъекта путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии приблизительно в течение 30 минут, два раза в течение каждого трехнедельного курса. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства, включенный в состав фармацевтической композиции, вводят путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии приблизительно в течение 30 минут в Дни 1 и 8 каждого трехнедельного курса. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение ингибитора иммунной контрольной точки путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии один или более раз в течение каждого трехнедельного курса. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение ингибитора иммунной контрольной точки путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии в День 1 каждого трехнедельного курса. В некоторых вариантах осуществления ингибитором иммунной контрольной точки является пембролизумаб, и где пембролизумаб вводят в количестве приблизительно 200 мг в течение приблизительно 30 минут. В других вариантах осуществления ингибитором иммунной контрольной точки является атезолизумаб, и где атезолизумаб вводят в количестве приблизительно 1200 мг в течение приблизительно 60 минут или 30 минут. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства вводят пациентам с уротелиальным раком, которые продемонстрировали прогрессирование или рецидив заболевания во время или после лечения ингибитором иммунной контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства вводят пациентам с метастатическим уротелиальным раком, которые продемонстрировали прогрессирование

или рецидив заболевания во время или после лечения ингибитором иммунной контрольной точки.

[00445] В других более определенных вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства, включенный в состав фармацевтической композиции, предложенной в настоящем документе, вводят в дозе приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 0,75 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,25 мг/кг или приблизительно 1,5 мг/кг массы тела субъекта путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии в течение приблизительно 30 минут, три раза в течение каждого четырехнедельного курса. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства, включенный в состав фармацевтической композиции, вводят в Дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного (четырёхнедельного) курса. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства, включенный в состав фармацевтической композиции, вводят путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии в течение приблизительно 30 минут в Дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного (четырёхнедельного) курса. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение ингибитора иммунной контрольной точки путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии один или более раз в течение каждого четырехнедельного курса. В некоторых вариантах осуществления ингибитором иммунной контрольной точки является пембролизумаб. В других вариантах осуществления ингибитором иммунной контрольной точки является атезолизумаб. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства вводят пациентам с уротелиальным раком, которые продемонстрировали прогрессирование или рецидив заболевания во время или после лечения ингибитором иммунной контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитела-лекарственного средства вводят пациентам с метастатическим уротелиальным раком, которые продемонстрировали прогрессирование или рецидив заболевания во время или после лечения ингибитором иммунной контрольной точки.

[00446] Изобретение в общем виде раскрыто в настоящем документе с использованием утверждений для описания многочисленных вариантов осуществления. Изобретение также прямо включает варианты осуществления, в которых полностью или частично исключен конкретный объект, такой как вещества или материалы, этапы и условия способа, протоколы, процедуры, тесты или анализ. Таким образом, даже несмотря на то, что изобретение, как правило, не представлено в настоящем документе в выражении того, что оно не включает, аспекты, которые прямо не включены в изобретение, тем не менее, раскрыты в настоящем документе.

[00447] В настоящем документе описаны конкретные варианты осуществления настоящего изобретения, включая наилучший способ осуществления изобретения, известный авторам изобретения. При прочтении приведенного выше описания, изменения раскрытых вариантов осуществления могут стать очевидными для специалистов, работающих в данной области, при этом ожидается, что такие специалисты сумеют

применить такие изменения в случае необходимости. Таким образом, предполагается, что изобретение может быть осуществлено иначе, нежели конкретно описано в настоящем документе, и что изобретение включает все модификации и эквиваленты объектов, перечисленных в прилагаемой формуле изобретения, в соответствии с условиями, установленными применимым законодательством. Более того, любое сочетание вышеописанных элементов во всех возможных вариациях охвачено изобретением, если иное не указано в настоящем документе или прямо не противоречит контексту.

[00448] Все публикации, патентные заявки, регистрационные номера и другие ссылки, цитируемые в настоящем описании, включены в настоящий документ посредством отсылки во всей своей полноте, как если бы было указано, что каждая отдельная публикация или патентная заявка прямо и отдельно включены посредством отсылки. Публикации, обсуждаемые в настоящем документе, представлены исключительно для их раскрытия до даты подачи настоящей заявки. Ничто в данном документе не следует рассматривать в качестве допущения того, что настоящее изобретение не имеет права предшествовать такой публикации в силу приоритета предшествующего изобретения. Кроме того, указанные даты публикации могут отличаться от фактических дат публикации, что может потребовать независимого подтверждения.

[00449] Было описано несколько вариантов осуществления изобретения. Тем не менее, следует понимать, что различные модификации могут быть сделаны без отступления от сущности и объема изобретения. Таким образом, описания в Экспериментальной части предназначены для иллюстрации, но не для ограничения объема изобретения, описанного в формуле изобретения.

6. Примеры

[00450] Следующее представляет собой описание различных способов и материалов, использованных в исследованиях, и представлено для того, чтобы предоставить средним специалистам в данной области полное раскрытие и описание того, как осуществлять и применять настоящее изобретение, и не предназначено для ограничения объема того, что авторы изобретения считают своим изобретением, а также это не предназначено для представления того, что эксперименты, описанные ниже, были проведены и являются всеми экспериментами, которые могут быть проведены. Следует понимать, что иллюстративные описания, представленные в настоящем времени, не были обязательно выполнены, а скорее описания могут быть выполнены для получения данных и т.п., связанных с принципами настоящего изобретения. Были предприняты усилия для обеспечения точности используемых числовых значений (например, количеств, температуры и т.д.), однако следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения.

6.1 Пример 1 - На22-2(2,4)6.1vcMMAE ингибирует рост опухолей *in vivo*

[00451] Значительная экспрессия 191P4D12 на поверхности клеток опухолевых тканей, в сочетании с его ограниченной экспрессией в нормальных тканях, делает

191P4D12 хорошей мишенью для терапии антителами и, таким же образом, терапии посредством ADC. Таким образом, оценивали терапевтическую эффективность Ha22-2(2,4)6.1vcMMAE в ксенотрансплантатных моделях рака мочевого пузыря, легкого, молочной железы и поджелудочной железы человека на мышах.

[00452] Эффективность конъюгата антитела-лекарственного средства в отношении роста опухоли и формировании метастазов изучали в ксенотрансплантатных моделях рака на мышах (например, подкожных и ортотопических).

[00453] Подкожные (п/к) опухоли получали путем инъекции 5×10^4 - 10^6 раковых клеток, смешанных в разведении 1:1 с Матригелем (Collaborative Research), в правый бок самцам мышей SCID. Для проверки эффективности ADC в отношении образования опухоли, инъекции ADC начинали в тот же день, что и инъекции опухолевых клеток. В качестве контроля мышам вводили либо очищенный человеческий IgG, либо PBS; или очищенное mAb, которое распознает нерелевантный антиген, не экспрессируемый в клетках человека. В предварительных исследованиях различия между контрольным IgG или PBS в отношении роста опухоли не были обнаружены. Размеры опухоли определяли при измерении штангенциркулем и вычисляли объем опухоли как $\text{ширина}^2 \times \text{длина} / 2$, где ширина представляет собой наименьший размер, а длина представляет собой наибольший размер. Мышей с подкожными опухолями диаметром больше 1,5 см умерщвляли.

[00454] Преимуществом ксенотрансплантатных моделей рака является возможность изучения неоваскуляризации и ангиогенеза. Рост опухоли частично зависит от развития новых кровеносных сосудов. Несмотря на то, что капиллярная система и развивающаяся кровеносная сеть происходят от хозяина, инициация и архитектура новой сосудистой сети регулируются ксенотрансплантатной опухолью (Davidoff et al., Clin Cancer Res. (2001) 7:2870; Solesvik et al., Eur J Cancer Clin Oncol. (1984) 20:1295). Влияние антитела и малой молекулы на неоваскуляризацию исследуют в соответствии с процедурами, известными в данной области, такими как анализ ИГХ опухолевых тканей и их микроокружения.

[00455] Ha22-2(2,4)6.1ADC ингибирует образование ксенотрансплантатов рака легкого и молочной железы. Эти результаты указывают на применимость Ha22-2(2,4)6.1ADC при лечении локализованных и метастатических (включая злокачественные или метастатические злокачественные) стадий рака, включая, например, рак легкого и рак молочной железы.

191P4D12 ADC конъюгаты:

[00456] Моноклональные антитела против 191P4D12 и их конъюгирование с MMAE описаны выше. Ha22-2(2,4)6.1vcMMAE исследовали с помощью FACS и других методов, которые, как известно в данной области, определяют их способность связывать 191P4D12.

Клеточные линии и ксенотрансплантаты:

[00457] Клетки BT-483 и HPAC поддерживали в DMEM с добавкой L-глутамина и 10% FBS, как известно из уровня техники. Ксенотрансплантаты AG-L4 поддерживали

путем серийного размножения у мышей SCID.

Эффективность Ha22-2(2,4)6.1-vcMMAE при подкожном приживленном ксенотрансплантате рака легкого человека AG-L4 у мышей SCID

[00458] В другом эксперименте полученный от пациента ксенотрансплантат рака легкого AG-L4 поддерживали путем серийных пассажей у мышей SCID. Опухоли собирали в стерильных условиях и измельчали на фрагменты размером 1 мм³. Шесть (6) фрагментов имплантировали в бок отдельных мышей SCID. Опухоли оставляли расти без обработки, пока они не достигали приблизительного объема 200 мм³. Ha22-2(2,4)6.1vcMMAE и контрольный ADC вводили в дозе 10 мг/кг раз в семь (7) дней, в виде двух доз путем внутривенной болюсной инъекции. Количество введенного ADC было основано на индивидуальной массе тела каждого животного, полученной непосредственно перед введением дозы. Рост опухоли контролировали при измерении штангенциркулем каждые 3-4 дня. Объем опухоли вычисляли как $\text{Ширина}^2 \times \text{Длина} / 2$, где ширина представляет собой наименьший размер, а длина - наибольший размер.

[00459] Результаты показывают, что лечение Ha22-2(2,4)6.1-vcMMAE обеспечивало значимое ингибирование роста ксенотрансплантатов рака легкого AG-L4, имплантированных подкожно голым мышам, по сравнению с контрольным ADC (ФИГ. 2). Кроме того, в этом исследовании были использованы другие моноклональные антитела 191P4D12. Результаты не показаны.

Эффективность Ha22-2(2,4)6.1-vcMMAE при подкожном приживленном ксенотрансплантате BT-483 рака молочной железы человека у мышей SCID

[00460] В этом эксперименте человеческие клетки рака молочной железы BT-483 использовали для создания стока ксенотрансплантатов, которые поддерживали посредством серийных пассажей у мышей SCID. Стоковые опухоли собирали в стерильных условиях и измельчали на фрагменты размером 1 мм³. Шесть (6) фрагментов имплантировали в бок отдельных мышей SCID. Опухоли оставляли расти без обработки, пока они не достигали приблизительного объема 100 мм³. Ha22-2(2,4)6.1vcMMAE и контрольный ADC вводили в дозе 5 мг/кг раз в четыре (4) дня, в общей сложности четыре (4) дозы, путем внутривенной болюсной инфузии. Количество введенного ADC было основано на индивидуальной массе тела каждого животного, полученной непосредственно перед введением дозы. Рост опухоли контролировали при измерении штангенциркулем каждые 3-4 дня. Объем опухоли вычисляли как $\text{Ширина}^2 \times \text{Длина} / 2$, где ширина представляет собой наименьший размер, а длина - наибольший размер.

[00461] Результаты показывают, что лечение с Ha22-2(2,4)6.1-vcMMAE обеспечивало значимое ингибирование роста ксенотрансплантатов опухоли молочной железы BT-483, имплантированных подкожно мышам SCID по сравнению с контрольным ADC (ФИГ. 3). Кроме того, в данном исследовании использовали другие мАт к 191P4D12. Результаты не показаны.

Выводы

[00462] Подводя итог, следует отметить, что на ФИГ. 2 и 3 показано, что 191P4D12

ADC, названный Ha22-2(2,4)6.1vcMMAE, вызывал значимое ингибирование роста опухолевых клеток, экспрессирующих 191P4D12, по сравнению с контрольными ADC. Таким образом, Ha22-2(2,4)6.1vcMMAE может применяться в терапевтических целях для лечения и подавления роста различных злокачественных опухолей, включающих, например, рак молочной железы и рак легкого.

6.2 Пример 2 - Обнаружение белка 191P4D12 в образцах онкобольного с помощью ИГХ

[00463] Экспрессию белка 191P4D12 исследовали с помощью иммуногистохимии в образцах опухолей пациентов с раком: (i) молочной железы, (ii) легкого, (iii) пищевода и (iv) головы и шеи. Вкратце, фиксированные формалином ткани, залитые парафином, нарезали на срезы толщиной четыре (4) микрона и помещали на предметные стекла. Срезы депарафинизировали, регидратировали и обрабатывали раствором с ЭДТА для выделения антигена (Biogenex, San Ramon, CA) в системе EZ-Retriever microwave (Biogenex, San Ramon, CA) в течение 30 минут при 95°C. Затем срезы обрабатывали 3% раствором перекиси водорода для инактивации активности эндогенной пероксидазы. Protein block без сыворотки (Dako, Carpinteria, CA) использовали для ингибирования неспецифического связывания перед инкубированием с моноклональным мышинным антителом против 191P4D12 или изотипическим контролем. Затем срезы обрабатывали системой Super SensitiveTM Polymer-horseradish peroxidase (HRP) Detection System, которая состоит из инкубирования в реагенте Super EnhancerTM с последующим инкубированием с полимер-HRP конъюгатом вторичного антитела (BioGenex, San Ramon, CA). Затем срезы обрабатывали с использованием набора DAB (BioGenex, San Ramon, CA). Ядра окрашивали гематоксилином и исследовали с помощью светопольной микроскопии. Специфическое окрашивание детектировали в образцах пациентов с использованием иммунореактивного антитела к 191P4D12, на что указывало коричневое окрашивание (см. ФИГ. 4А, 4С, 4Е и 4G). В отличие от этого контрольное антитело не окрашивало образцы пациентов (см. ФИГ. 4В, 4D, 4F и 4H).

[00464] Результаты показывают экспрессию 191P4D12 в опухолевых клетках пациентов с раком мочевого пузыря, молочной железы, поджелудочной железы, легкого, яичника, пищевода и головы и шеи. Эти результаты показывают, что 191P4D12 экспрессируется в раковых опухолях человека, и что антитела, направленные на этот антиген, а также конъюгат антитела-лекарственного средства, обозначенный Ha22-2(2,4)6.1vcMMAE, можно применять в диагностических и терапевтических целях (ФИГ. 4А-Н).

6.3 Пример 3 - Иллюстративные формы рака, которые можно лечить с применением настоящих способов

[00465] Для выбора некоторых иллюстративных форм рака, которые можно лечить способами, предложенными в настоящем документе, распространенность экспрессии нектин-4 определяли на уровне РНК и белка в образцах рака. Вкратце, распространенность экспрессии нектин-4 на уровне РНК сначала определяли при

использовании данных по образцам пациентов из базы данных The Cancer Genome Atlas (TCGA). Два отдельных метода ИГХ также использовали для определения экспрессии белка нектин-4 в образцах тканей онкобольных. Как показано в Таблице 6, распространенность экспрессии РНК нектин-4 аналогична распространенности экспрессии нектин-4 на уровне белка. Различные опухоли, идентифицированные как преимущественно экспрессирующие как РНК нектин-4, так и белок нектин-4, оценивали по их чувствительности к ММАЕ или, если данные по ММАЕ были недоступны, к алкалоиду барвинка, который проявляет цитотоксическое действие по тому же механизму, что и ММАЕ, блокируя полимеризацию микротрубочек.

Таблица 6. Распространенность экспрессии нектин-4 по РНК аналогична распространенности нектин-4 в ИГХ при разных типах опухолей

	ИГХ Метод 1	TCGA РНК	ИГХ Метод 2
Молочная железа	78% (512/654)	93% (1036/1114)	90% (199/220)
НМРЛ-плоскоклеточная	62% (145/235)	90% (451/501)	
НМРЛ-аденокарцинома	64% (136/212)	88% (466/530)	
Головы и шеи - плоскоклеточная	59% (79/135)	96% (501/522)	77% (98/128)
Желудка (ГЭП)		26% (108/416)	66% (94/143)

[00466] Эти результаты в Таблице 6 демонстрируют, что плоскоклеточный НМРЛ, рак желудка (ГЭП), ПМКГШ, НМРЛ-аденокарцинома, плоскоклеточный рак головы и шеи и рак молочной железы (включая ГР+/HER2-рак молочной железы и ТНРМЖ) преимущественно экспрессировали нектин-4 на уровне РНК и белка. Эти злокачественные опухоли также были чувствительны к цитотоксическому действию ММАЕ и/или алкалоида барвинка, которые проявляют цитотоксическое действие посредством механизма блокирования полимеризации микротрубочек. Поэтому плоскоклеточный НМРЛ, рак желудка (ГЭП), ПМКГШ, НМРЛ-аденокарцинома, плоскоклеточный рак головы и шеи и рак молочной железы (включая ГР+/HER2-рак молочной железы и ТНРМЖ), можно лечить способами, предложенными в настоящем документе и испытанными в клинических исследованиях, описанных в Примере ниже.

6.4 Пример 4 - Открытое многоцентровое, многокогортное исследование фазы 2 для оценки ADC против 191P4D12 у субъектов с ранее подвергавшимися лечению местнораспространенными или метастатическими злокачественными солидными опухолями

6.4.1. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

6.4.1.1. КРАТКИЙ ОБЗОР

Название соединения: ADC против 191P4D12 (Ha22-2(2,4)6.1vcMMAE; ASG-22CE; Энфортумаб ведотин)	фаза разработки: фаза 2
Название исследования: Открытое, многоцентровое, многокогортное исследование фазы 2 для оценки энфортумаба ведотина у субъектов с ранее подвергавшимися лечению местнораспространенными или метастатическими злокачественными солидными опухолями	
Цель (и) и конечный результат (ы) исследования:	
Цель (и)	Конечный результат (ы)
Первичная	
● Определить противоопухолевую активность энфортумаба ведотина, измеряемую по подтвержденному проценту субъектов с объективным ответом (ORR)	● Подтвержденный ORR (полный ответ [CR] + частичный ответ [PR]) по Критериям оценки ответа солидных опухолей (RECIST) версии 1.1, как определено при независимой централизованной оценке экспертом без доступа к коду исследования (BICR)
Вторичные	
● Оценить продолжительность ответа (DOR) энфортумаба ведотина ● Оценить процент контроля заболевания (DCR) энфортумаба ведотина ● Оценить выживаемость без прогрессирования на энфортумабе ведотине (PFS) ● Оценить общую выживаемость (OS) ● Оценить безопасность и переносимость энфортумаба ведотина	● Подтвержденный ORR согласно RECIST версии 1.1 по оценке исследователем ● DOR согласно RECIST версии 1.1 при оценке BICR ● DCR согласно RECIST версии 1.1 при оценке исследователем ● DCR (CR + PR + стабильное заболевание [SD]) согласно RECIST версии 1.1 при оценке BICR ● DCR согласно RECIST версии 1.1 при оценке исследователем ● PFS при оценке BICR ● PFS при оценке исследователем ● OS ● Переменные факторы безопасности ● Нежелательные явления (AE) ● Лабораторные исследования ● Измерения основных физиологических показателей ● Электрокардиограмма в 12

	отведениях • Показатель общего состояния по шкале Восточной объединенной онкологической группы (ECOG)
Дополнительные	
• Оценить потенциальные геномные и/или другие биомаркеры, которые могут коррелировать со способом лечения, включая экспрессию 191P4D12 • Оценить фармакокинетику энфортамаба ведотина и монометилауристатина Е (ММАЕ) • Оценить иммуногенность энфортамаба ведотина • Оценить эффект лечения энфортамабом ведотином на качество жизни (QOL)	• Геномные и/или другие биомаркеры, которые могут коррелировать со способом лечения, включая экспрессию 191P4D12 • Выбранные фармакокинетические параметры (т.е. C_{max} [концентрация в конце инфузии] и $C_{ост}$ [концентрация перед введением следующей дозы]) энфортамаба ведотина и ММАЕ • Уровень антитерапевтических антител (ATA) к энфортамабу ведотину • Результат лечения по оценке пациента (PRO) по 5 параметрам шкалы EuroQOL (EQ-5D-5L) и оценка боли
Запланированное общее количество исследовательских центров и регионы:	
Приблизительно 50 исследовательских центров в Северной Америке и Японии	
Исследуемая выборка:	
Субъекты с ранее подвергавшимися лечению местнораспространенными или метастатическими злокачественными солидными опухолями, включающими:	
• Гормон-рецептор-положительный/ рецептор эпидермального фактора роста человека 2-отрицательный (ГР+/HER2-) рак молочной железы • Трижды негативный рак молочной железы (ТНРМЖ) • Плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (ПНМРЛ) • Неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) • Рак головы и шеи • Рак желудка или пищевода	
Количество субъектов, подлежащих регистрации/рандомизации:	
Приблизительно 240 субъектов со злокачественными солидными опухолями в 6 когортах; приблизительно 40 субъектов в каждом когорте	
Обзор схемы исследования:	
Это - открытое многоцентровое, многокогортное исследование фазы 2, разработанное, для оценки противоопухолевой активности и безопасности энфортамаба ведотина в качестве монотерапии у взрослых субъектов с местнораспространенными или метастатическими злокачественными солидными опухолями. Приблизительно 40 субъектов было зарегистрировано в каждый из следующих 6 когорт.	
Когорта 1: ГР+/HER2- рак молочной железы; или	
Когорта 2: ТНРМЖ; или	
Когорта 3: ПНМРЛ; или	
Когорта 4: НМРЛ; или	
Когорта 5: Рак головы и шеи; или	
Когорта 6: Рак желудка или пищевода	
Запланирован 1 промежуточный анализ для оценки противоопухолевой активности в каждой когорте. Промежуточный анализ проводили для данной когорты после того, как 20 субъектов прошли лечение и могли быть оценены на ответ опухоли. Байесовскую оптимальную схему фазы 2 (BOR2) (Zhou et al, 2017) использовали для направления правила промежуточного решения. Для каждой когорты, на основе 2-этапной схемы BOR2, когда количество субъектов с подтвержденным ответом (CR и PR) было меньше заранее определенного минимального количества респондеров на этапе 1, регистрация в когорте может быть остановлена; в противном случае регистрацию участников продолжают до тех пор, пока не будет достигнута запланированная величина когорты.	
В каждой когорте субъекты получали энфортамаб ведотин в дозе 1,25 мг/кг в виде внутривенной (в/в) инфузии в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного курса.	
Данное исследование состоит из 3 периодов: скрининг/исходный уровень, лечение и последующее наблюдение.	
Период скрининга/оценка исходных показателей проводили за 28 дней до первой дозы исследуемого препарата. В период лечения, начиная с курса 1, субъекты получали энфортамаб ведотин в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного курса, пока не был достигнут один из критериев остановки лечения. Оценку заболевания проводили при скрининге/оценке исходных показателей и повторяли каждые 8 недель (56 дней $\pm$ 7 дней) с момента введения первой дозы исследуемого препарата на протяжении всего исследования, пока у субъекта не будет рентгенологически подтверждено прогрессирование заболевания, пока субъект не начнет новую следующую противоопухолевую терапию, не наступит смерть, не будет отозвано согласие, пока не будет потерян контакт с субъектом для последующего наблюдения, или исследование будет закрыто, в зависимости от того, что произойдет раньше.	

Субъекты, прервавшие исследуемое лечение по причинам, отличным от рентгенологически подтвержденного прогрессирования заболевания согласно RECIST версии 1.1, переходят в период наблюдения после лечения и продолжают получать снимки каждые 8 недель (56 дней ± 7 дней), пока у субъекта не будет рентгенологически подтвержденного прогрессирования заболевания, пока субъект не начнет новую противоопухолевую терапию, не наступит смерть, не будет отозвано согласие, пока не будет потерян контакт с субъектом для последующего наблюдения, или исследование будет закрыто, в зависимости от того, что произойдет раньше.

После 1 года лечения в исследовании частоту оценки заболевания снижают до одного обследования в 12 недель (84 дня ± 7 дней).

После рентгенологически подтвержденного прогрессирования заболевания или начала последующей противоопухолевой терапии, в зависимости от того, что наступит раньше, с субъектами связываются каждые 12 недель в течение длительного периода наблюдения для определения статуса выживаемости до наступления смерти, отзыва согласия, потери контакта для последующего наблюдения или закрытия исследования, в зависимости от того, что произойдет раньше.

Подтвержденный ORR является главным конечным показателем. Подтвержденный ORR определяется как процент субъектов, у которых объективный ответ был подтвержденным CR или PR согласно RECIST версии 1.1. Ответ (CR или PR) должен быть подтвержден при повторном визуализационном сканировании через 4 недели (28 дней ± 7 -дневное окно) после первого ответа.

Пробы крови для определения фармакокинетики и антитерапевтических антител (АТА) забирают в точках времени, указанных в протоколе. Утвержденные анализы используются для измерения концентраций энфортумаба ведотина и ММАЕ в сыворотке или плазме, а также для оценки АТА. Образцы для биомаркеров собирают в точки времени, указанные в протоколе. Анализ проб на биомаркеры не используют для отбора субъектов.

Ниже приведены критерии прекращения лечения в исследовании для отдельных субъектов:

- У субъекта развивается зарегистрированное рентгенологическое прогрессирование заболевания
- Субъект начинает новую противоопухолевую терапию
- У субъекта развиваются неприемлемые токсические явления
- Наступление беременности у участницы исследования
- Исследователь решает, что в интересах субъекта следует прекратить участие в исследовании
- Субъект просит остановить лечение
- Субъект не соблюдает протокол согласно оценкам исследователя или медицинского монитора

Все субъекты, прекратившие лечение в исследовании, остаются в исследовании и должны продолжить наблюдение согласно определяемому протоколом процедурам последующего наблюдения. Субъектов могут исключить из исследования по любой из следующих причин:

- Потеря контакта для последующего наблюдения
- Смерть
- Отзыв согласия субъектом

Периодически Независимый комитет по мониторингу данных (IDMC) анализирует данные по безопасности исследования. IDMC может рекомендовать, следует ли прекратить исследование, изменить его или продолжить без изменений, основываясь на текущих обзорах данных по безопасности исследования.

Критерии включения/исключения:

Критерии включения:

Субъект подходит для участия в исследовании, если применимо все из следующего:

Для всех субъектов в когортах 1-6:

1. Экспертный совет организации (IRB)/Независимый Комитет по Этике (IEC) одобрил письменное информированное согласие и заявление о конфиденциальности согласно национальным нормам (например, разрешение в соответствии с Законом о передаче данных и учете в системе медицинского страхования для исследовательских центров в США) должно быть получено от субъекта перед проведением любых процедур, связанных с исследованием (включая отмену запрещенных лекарственных препаратов, в применимых случаях).
2. Субъект считается взрослым согласно местным нормам на момент подписания формы информированного согласия (ICF).
3. Субъект имеет поддающееся измерению заболевание согласно RECIST версии 1.1.
4. Субъект имеет доступную архивную опухолевую ткань из первичной опухоли или метастатического очага, источник и доступность которой были подтверждены до начала исследуемого лечения. Если архивная опухолевая ткань отсутствует, субъекту будет сделана биопсия для получения опухолевой ткани перед началом лечения в исследовании. Если субъект не может пройти биопсию по соображениям безопасности, включение в исследование необходимо обсудить с медицинским монитором.
5. Субъект имеет показатель общего состояния по ECOG 0 или 1.
6. Субъект имеет следующие исходные лабораторные показатели:
 - абсолютное количество нейтрофилов (ANC) $\geq 1,0 \times 10^9/\text{л}$

- количество тромбоцитов $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$
 - гемоглобин $\geq 9 \text{ г/дл}$
 - общий билирубин сыворотки $\leq 1,5 \times$ верхней границы нормы (ВГН) или $\leq 3 \times \text{ВГН}$ для субъектов с врожденной гипербилирубинемией
 - клиренс креатинина (CrCl) $\geq 30 \text{ мл/мин}$, при оценке согласно установленным стандартам или при измерении путем сбора мочи за 24 часа (скорость клубочковой фильтрации [СКФ] также можно использовать вместо CrCl).
 - аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ) $\leq 3 \times \text{ВГН}$
7. Участница исследования не беременна, и применимо по меньшей мере 1 из следующих условий:
- а. Не является женщиной, способной к деторождению (WOCBP)
 - б. WOCBP, которая соглашается соблюдать противозачаточное руководство со времени информированного согласия в течение по меньшей мере 6 месяцев после получения последней дозы при лечении в исследовании
8. Участница исследования должна согласиться не начинать грудное вскармливание на момент скрининга и в течение периода исследования, а также в течение 6 месяцев после получения последней дозы при лечении в исследовании.
9. Участница исследования не должна быть донором яйцеклеток на момент получения первой дозы исследуемого препарата и в течение всего периода исследования, а также в течение 6 месяцев после приема последней дозы при лечении в исследовании.
10. Участник исследования с женщиной-партнером (партнерами) с потенциалом деторождения (включая кормящего партнера) должен согласиться использовать контрацепцию в течение всего периода лечения и в течение 6 месяцев после получения последней дозы при лечении в исследовании.
11. Участник исследования не должен быть донором спермы во время периода лечения и в течение 6 месяцев после получения последней дозы при лечении в исследовании.
12. Участник исследования с беременным партнером (партнерами) должен согласиться соблюдать воздержание или использовать презерватив на время беременности в течение периода исследования и в течение 6 месяцев после получения последней дозы при лечении в исследовании.
13. Субъект соглашается не участвовать в другом интервенционном исследовании во время лечения в данном исследовании.
- Специфические критерии включения по заболеванию:**
- Когорта 1: PR+/HER2- рак молочной железы**
14. Субъект имеет гистологически или цитологически подтвержденный рак молочной железы PR+/HER2-; определенный как эстроген-рецептор (ЭР) положительный и/или прогестерон-рецептор (ПР) положительный, и HER2-отрицательный согласно рекомендациям Американского общества клинической онкологии/Коллегии американских патологов (ASCO/CAP) на основе последней исследованной ткани.
15. Субъект имеет местнораспространенное или метастатическое заболевание.
16. Субъект должен был получить ≥ 1 линии эндокринной терапии и ингибитор циклинзависимой киназы (CDK) 4/6 при лечении метастатического или местнораспространенного заболевания.
17. Субъект должен был пройти предыдущее лечение таксаном или антрациклином в любой схеме лечения. Субъект с опасной гаметной мутацией в гене предрасположенности к раку молочной железы (BRCA) 1 или 2 должен был пройти лечение ингибитором поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP).
- Когорта 2: Трижды негативный рак молочной железы**
18. Субъект имеет гистологически или цитологически подтвержденный ТНРМЖ; определенный по явной гистологии ТНРМЖ (ЭР-отрицательный/ПР-отрицательный/HER2-отрицательный) согласно рекомендациям ASCO/CAP на основе последней исследованной ткани.
19. Субъект имеет местнораспространенное или метастатическое заболевание.
20. Субъект должен был пройти ≥ 2 линии системной терапии, включая таксан в любой схеме лечения. Субъект с опасной гаметной мутацией в BRCA1 или 2, должен был пройти лечение ингибитором PARP.
- Когорта 3: Плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого**
21. Субъект имеет гистологически или цитологически подтвержденный плоскоклеточный НМРЛ.
22. Субъект имеет местнораспространенное или метастатическое заболевание.
23. Субъект должен был перенести прогрессирование или рецидив после терапии препаратом платины; терапия препаратом платины, применяемая в качестве вспомогательного лечения, рассматривается в качестве схемы, если рецидив возник в течение 12 месяцев после завершения.
24. Субъект должен был пройти предыдущую терапию антителом против белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-1) или против лиганда белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-L1), если субъект соответствует критериям для участия на основе экспрессии PD-1 или PD-L1 в опухоли субъекта и местных рекомендаций по лечению.
- Когорта 4: Неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого**
25. Субъект имеет гистологически или цитологически подтвержденный неплоскоклеточный НМРЛ (с рецептором эпидермального фактора роста [EGFR] дикого типа и киназой анапластической лимфомы [ALK] дикого типа согласно местным лабораторным стандартам).

26. Субъект имеет местнораспространенное или метастатическое заболевание.
 27. Субъект должен был испытать прогрессирование или рецидив после терапии препаратом платины при лечении метастатического или местнораспространенного заболевания; терапия препаратом платины, применяемая в качестве вспомогательного лечения, рассматривается в качестве схемы, если рецидив возник в течение 12 месяцев после завершения.
 28. Субъект должен был получать антитела к PD-1 или к PD-L1, если субъект соответствует критериям для участия на основе экспрессии PD-1 или PD-L1 в опухоли субъекта и местных рекомендаций по лечению.

Когорта 5: Рак головы и шеи

29. Субъект имеет гистологически или цитологически подтвержденный рак головы и шеи.
 30. Субъект имеет местнораспространенное или метастатическое заболевание.
 31. Субъект должен был испытать прогрессирование или рецидив после применения схемы, включающей препарат платины, при лечении метастатического или местнораспространенного заболевания. Схемы с препаратом платины, применяемые как часть мультимодальной терапии в схеме лечения, не считаются предыдущей схемой, если субъект не испытал рецидив или прогрессирование в течение 6 месяцев после завершения.
 32. Субъект должен был получить антитело к PD-1 или к PD-L1, если субъект соответствовал критериям для участия на основе экспрессии PD-1 или PD-L1 в опухоли субъекта и местных рекомендаций по лечению.

Когорта 6: Рак желудка или пищевода

33. Субъект имеет гистологически или цитологически подтвержденный рак желудка или пищевода.
 34. Субъект имеет местнораспространенное или метастатическое заболевание.
 35. Субъект должен был испытать прогрессирование или рецидив после схем химиотерапии, включавших фторпиримидин и препарат платины для лечения метастатического заболевания или распространенного заболевания. Неoadъювантные или адъювантные схемы не считаются предыдущей схемой, если субъект не испытал рецидив или прогрессирование в течение 6 месяцев после завершения. Субъект с HER2-положительным раком должен был получить HER2-направленную терапию.

Критерии исключения:

Субъект исключают из участия, если применимо любое из следующего:

Для всех субъектов в когортах 1-6:

1. Субъект получил ≥ 3 линий предыдущих схем с химиотерапией для лечения метастатического заболевания (без ограничения количества схем без химиотерапии).
2. Субъект имеет уже существовавшую ранее сенсорную или моторную нейропатию ≥ 2 степени.
3. Субъект имеет активные метастазы в центральной нервной системе (ЦНС). Субъекты с подвергавшимися лечению метастазами в центральной нервной системе допускаются к участию в исследовании, если соблюдается все следующее:
 - Метастазы в центральной нервной системе были клинически стабильными в течение ≥ 6 недель до скрининга
 - При необходимости лечения метастазов центральной нервной системы стероидами субъект находится на стабильной дозе ≤ 20 мг/день преднизона или эквивалента в течение ≥ 2 недель
 - Исходные визуализационные снимки не содержат подтверждений новых или увеличившихся метастазов в головном мозге
 - Субъект не имеет лептоменингеальное заболевание
4. У субъекта сохраняются клинически значимые токсические явления (2 степени или выше за исключением алопеции), связанные с предыдущим лечением (включая системную терапию, лучевую терапию или хирургию).
5. Субъект, имеющий связанный с иммунотерапией гипотиреоз ≤ 2 степени или пангипопитуитаризм, может быть зарегистрирован в исследовании в случае успешной поддержки/контроля на стабильной дозе гормонозаместительной терапии (если указано). Субъекты с текущим связанным с иммунотерапией гипотиреозом ≥ 3 степени или пангипопитуитаризм исключаются. Субъекты с текущим связанным с иммунотерапией колитом, увеитом, миокардитом или пневмонитом, или субъектами с другими связанными с иммунотерапией АЕ, требующими более высоких доз стероидов (>20 мг/день преднизона или эквивалента), исключаются.
6. Субъект имеет в анамнезе неконтролируемый сахарный диабет в течение 3 месяцев после получения первой дозы лечения в исследовании. Неконтролируемый диабет определяется как уровень гемоглобина A1c (HbA1c) $\geq 8\%$ или HbA1c от 7 до $<8\%$ с сопутствующими симптомами диабета (полиурией или полидипсией), которые не объясняются иной причиной.
7. Субъект проходил предыдущее лечение энфортумабом ведотином или другими конъюгатами антитела-лекарственного средства (ADC) на основе монометилауристатина E (MMAE).
8. У субъекта было диагностировано второе злокачественное новообразование в течение 3 лет до получения первой дозы лекарственного препарата в исследовании или любой симптом остаточного заболевания после ранее диагностированного злокачественного новообразования. Субъекты с немеланомным раком кожи, локализованным раком предстательной железы, получавшие лечение с целью излечения, без подтверждения

прогрессирования, с низким риском или очень низким риском (в соответствии со стандартными рекомендациями) локализованного рака предстательной железы под активным наблюдением/выжидательным наблюдением без намерения лечения, или карциномой *in situ* любого типа (если выполнили полную резекцию), допускаются к участию.

9. Субъект в настоящее время проходит системное противомикробное лечение вирусной, бактериальной или грибковой инфекции на момент получения первой дозы лечения в исследовании. Обычная противомикробная профилактика допускается.

10. Субъект знает об активном гепатите В (например, с реакцией на поверхностный антиген гепатита В [HBsAg]) или активном гепатите С (например, обнаружена РНК вируса гепатита С [HCV] [качественный тест]).

11. Субъект знает об инфекции вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) (ВИЧ 1 или 2).

12. Субъект имеет подтвержденный случай церебрального сосудистого события (инсульта или транзиторной ишемической атаки), нестабильной стенокардии, инфаркта миокарда или кардиальных симптомов (включая хроническую сердечную недостаточность), соответствующих Классу III-IV по классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов, в течение 6 месяцев до получения первой дозы исследуемого лекарственного препарата.

13. Субъект имеет обширное оперативное вмешательство в течение 4 недель до получения первой дозы исследуемого лекарственного препарата.

14. Субъект проходил лечение лучевой терапией, химиотерапией, биопрепаратами, исследуемыми препаратами и/или противоопухолевое лечение иммунотерапией, которое не было завершено за 2 недели до получения первой дозы исследуемого лекарственного препарата.

15. Субъект знал об аллергии на энфортумаб ведотин или любое вспомогательное вещество, содержащееся в составе лекарственного препарата энфортумаба ведотина (включая гистидин, трегалозы дигидрат и полисорбат 20), или субъект знал об аллергии на биопрепараты, полученные в культуре клеток яичников китайского хомячка.

16. Субъект знал об активном кератите или язвах роговицы. Субъект с поверхностным точечным кератитом допускается к участию в исследовании, если нарушение поддается адекватному лечению по мнению исследователя.

17. Субъект имеет любое состояние, которое по мнению исследователя делает субъекта неподходящим для участия в исследовании.

Терапевтическое средство (а):

Название:

Энфортумаб ведотин

Доза, способ введения и модификация дозы:

Энфортумаб ведотин в дозе 1,25 мг/кг вводят путем внутривенной инфузии в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного курса. Энфортумаб ведотин вводят в расчете на фактическую массу тела субъекта, за исключением субъектов с массой тела больше 100 кг; в таких случаях дозу рассчитывают исходя из максимального веса 100 кг. Энфортумаб ведотин вводят внутривенно в течение приблизительно 30 минут.

Допускается снижение дозы до 1, 0,75 или 0,5 мг/кг в зависимости от типа и тяжести токсических реакций. Субъектам, которым требуется снижение дозы, можно повторно увеличить дозу на 1 уровень (т.е. субъектам, получающим сниженную до 0,75 мг/кг дозу, можно повторно повысить дозу только до 1 мг/кг) при условии, что токсическое действие не требует отмены исследуемого препарата, и вернулось к исходному уровню, или ≤1 степени. Если токсические явления повторяются, повторное повышение дозы не допускается. Субъектам с АЕ роговицы ≥2 степени не разрешается повторное повышение дозы. Рекомендации по изменению дозы при токсических явлениях, связанных с энфортумабом ведотином, представлены в таблицах ниже.

Перерывы введения доз в связи с другим токсическим действием, связанным с энфортумабом ведотином, допускаются по усмотрению исследователя. Перерывы введения доз могут длиться до 8 недель (2 курса). Прерывание введения доз у субъектов с клинической эффективностью лечения может быть продлено на срок больше 8 недель, если токсические явления у субъекта не потребуют постоянной отмены лечения. При перерывах в приеме график оценки ответа не корректируют.

1. Рекомендуемые изменения дозы в случае связанного с энфортумабом ведотином токсического действия со стороны крови*

Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4
Продолжение приема такой же дозы.	Продолжите приема такой же дозы. В случае тромбоцитопении 2 степени, приостановка ведения дозы, пока токсичность не вернется к ≤1 степени или к исходному уровню, затем возобновление	Приостановка ведения дозы, пока токсичность не вернется к ≤1 степени или к исходному уровню, затем возобновление лечения на том же уровне дозы или рассмотрение возможности снижения дозы на 1 уровень дозы. Переливание или факторы роста могут использоваться по	Приостановка ведения дозы, пока токсичность не вернется к ≤1 степени или к исходному уровню, затем снижение дозы на 1 уровень дозы и продолжение лечения или прекращение по усмотрению исследователя. Переливание или факторы роста могут использоваться по показаниям в соответствии с

	лечения на том же уровне дозы.	показаниям в соответствии с установленными рекомендациями.	установленными рекомендациями. В случае анемии настоятельно рекомендуется прекратить лечение.
*Токсическое действие со стороны крови относится к анемии, тромбоцитопении, нейтропении и фебрильн нейтропении.			
2. Рекомендуются изменения дозы в случае энфортамаб ведотин связанная негематологическая токсичность			
Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4
Продолжение приема такой же дозы. Если выявлены глазные симптомы и/или изменения зрения, субъект должен пройти офтальмологическое обследование.*	Продолжение приема такой же дозы, кроме случая нейтропатии 2 степени или АЕ со стороны роговицы. В случае нейтропатии 2 степени или АЕ со стороны роговицы, приостановка ведения дозы, пока токсичность не вернется к ≤ 1 степени или исходному уровню, и затем возобновление лечения на том же уровне дозы. В случае второго возникновения нейтропатии 2 степени или АЕ со стороны роговицы, ведение дозы приостанавливают, пока токсичность не вернется к ≤ 1 степени, а затем дозу снижают на 1 уровень дозы и продолжают лечение. Если выявлены глазные симптомы и/или изменения зрения, субъект должен пройти офтальмологическое обследование.*	Приостановка ведения дозы, пока токсичность не вернется к ≤ 1 степени или исходному уровню, затем возобновление лечения на том же уровне дозы или рассмотрение возможности снижения дозы на 1 уровень дозы.** В случае нейтропатии 3 степени или АЕ со стороны роговицы, прекратите лечение. В случае гипергликемии/повышенного уровня глюкозы в крови 3 степени приостановка лечения. Возобновление лечения после улучшения гипергликемии/повышенного уровня глюкозы в крови до ≤ 2 степени и клинически и метаболически стабильного состояния субъекта. Если выявлены глазные симптомы и/или изменения зрения, субъект должен пройти офтальмологическое обследование.*	В случае АЕ 4 степени прекращение лечения.** Рвота и/или диарея 4 степени, которые улучшаются до степени ≤ 2 в течение 72 часов при поддерживающей терапии, не требуют прекращения лечения.
АЕ: нежелательные явления			
* Офтальмологическое обследование должен выполнять офтальмолог. В странах, где проводить обследование и прописывать лекарства могут оптометристы, такое обследование может выполнять оптометрист.			
** Электролитный дисбаланс/лабораторные нарушения 3/4 степени, которые не связаны с клиническими последствиями и/или устраняются с применением добавок/соответствующего контроля в течение 72 часов после их появления, не требуют отмены (например, гиперурикемия 4 степени). Сыпь 3 степени, не ограничивающая повседневную деятельность по самообслуживанию или связанная с инфекцией, требующей системных антибиотиков, не требует приостановки лечения, при условии, что симптомы не являются тяжелыми и поддаются купированию с применением поддерживающей терапии.			
Сопутствующее лечение (лекарственная и нелекарственная терапия), ограничения или требования:			
Если исследователь решает, что любое из следующих лекарственных средств необходимо для обеспечения соответствующей медицинской поддержки субъекта, субъект должен прекратить дальнейшее лечение в исследовании:			
- Другие исследуемые препараты - Химиотерапия или другие лекарственные препараты, предназначенные для			

противоопухолевой активности. Это не относится к субъектам, получающим эндокринную терапию, или к субъектам, получающим средства, предназначенные для лечения метастазов в кости (например, бисфосфонаты или ингибиторы лиганда рецептора-активатора ядерного фактора каппа-В [RANK]).

- Лучевая терапия, за исключением одобренного паллиативного облучения нецелевых очагов. Примечание: лучевая терапия симптоматического солитарного очага или в кости может рассматриваться в исключительных ситуациях для каждого конкретного случая. Облученный очаг должно быть нецелевым очагом в соответствии с RECIST версии 1.1, при этом субъект должен иметь явное измеримое заболевание за пределами облучаемого поля. Энфортумаб ведотин нельзя назначать одновременно с лучевой терапией.

- Субъекты, получающие сильные ингибиторы цитохрома P450 (CYP) 3A4 параллельно с энфортумабом ведотином, должны находиться под тщательным наблюдением на предмет нежелательных реакций.

Продолжительность лечения:

Субъектам позволяют получать энфортумаб ведотин, пока не будут удовлетворены критерии прекращения лечения.

Эффективность:

Подтвержденные ORR (CR+PR) и DCR (CR+PR+SD) рассчитывают в соответствии с RECIST версии 1.1 и на основе метода Клоппера-Пирсона строят соответствующие 95% доверительные интервалы для каждого типа опухоли. Другие конечные показатели эффективности, включая DOR, PFS и OS, суммировали с использованием метода Каплана-Мейера. Анализ эффективности включает всех субъектов, получавших лечение, и с подпадающими на оценку данными ответа опухоли при анализе на дату окончания сбора данных.

Биомаркеры:

Описательная статистика предоставлена для параметров биомаркеров в применимых случаях. Может быть выполнен анализ взаимосвязи между измерениями биомаркеров и фармакокинетикой, эффективностью, профилем безопасности у субъектов.

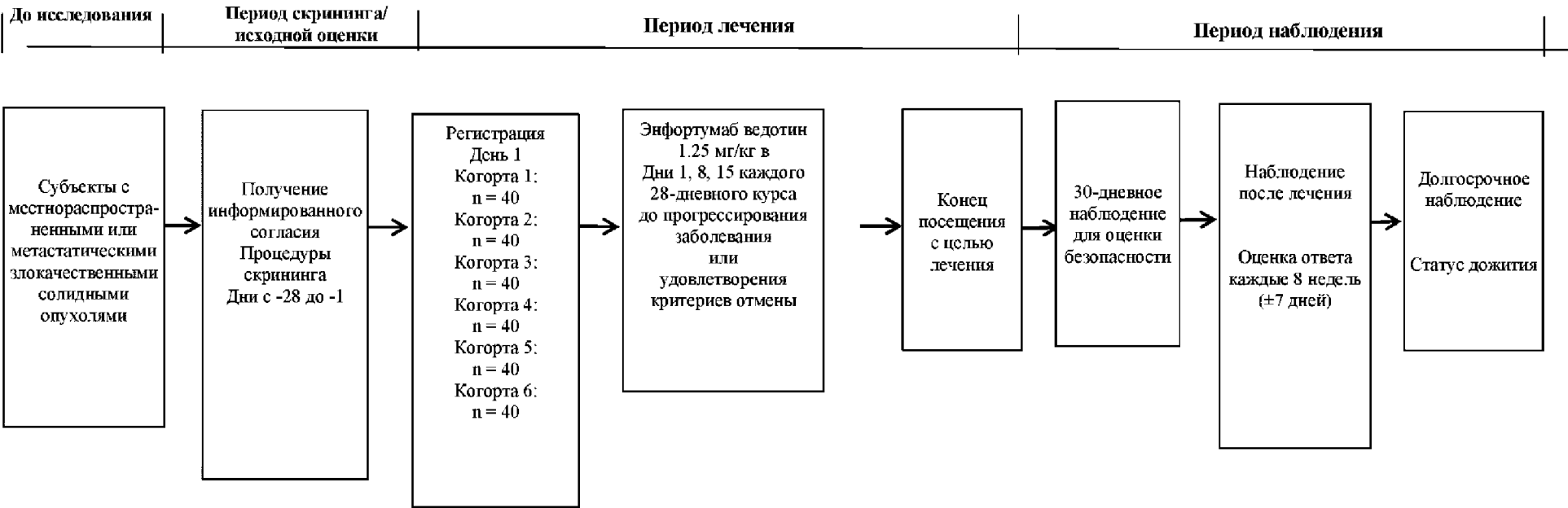
Промежуточные анализы:

Для каждой когорты проводят один запланированный промежуточный анализ для оценки подтвержденного ORR после проведения лучения 20 субъектов и получения подпадающих на оценку данных по ответам опухолей. Двухэтапную схему BOR2 используют для направления правила промежуточного решения. Когорта переходит к этапу 2, когда наблюдается минимальное количество респондеров (см. таблицу ниже) после этапа 1; в противном случае когорта может быть закрыта для дальнейшей регистрации участников. Окончательное решение о прекращении регистрации в когортах принимают на основании общей оценки противоопухолевой активности и данных по безопасности, включая данные по экспрессии 191P4D12 у субъектов.

3. Правила решения на основе процента объективных ответов

Когорта	Тип рака	Количество подлежащих оценке субъектов, запланированных в промежуточном анализе	Минимальное число респондеров для продолжения участия во 2-ой стадии
Когорта 1	ГР+/HER2- рак молочной железы	20	4
Когорта 2	Трижды негативный рак молочной железы	20	3
Когорта 3	Плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого	20	2
Когорта 4	Неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого	20	3
Когорта 5	Рак головы и шеи	20	2
Когорта 6	Рак желудка или пищевода	20	2

Схема исследования



Оценку заболевания проводят при скрининге/оценке исходного состояния и повторяют каждые 8 недель (56 дней ±7 дней) с момента получения первой дозы исследуемого препарата на протяжении всего исследования, пока у субъекта не будет рентгенологически подтверждено прогрессирование заболевания, субъект не начнет новую следующую противоопухолевую терапию, не наступит смерть, субъект не отзовет согласие, не будет потерян контакт с субъектом для последующего наблюдения или исследование не будет закрыто, в зависимости от того, что наступит раньше. Подтверждающее сканирование требуется через 4 недели (28 дней + 7-дневное окно) после первого ответа. После 1 года лечения в исследовании частоту оценок ответа снижают до одной оценки в 12 недель (84 дня ±7 дней).

6.4.2. ОБ ИССЛЕДОВАНИИ

6.4.2.1. ЭНФОРТУМАБ ВЕДОТИН И ЕГО ЭФФЕКТИВНОСТЬ В ДОКЛИНИЧЕСКИХ И КЛИНИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

6.4.2.1.1. ЭНФОРТУМАБ ВЕДОТИН

[00467] Энфортумаб ведотин представляет собой ADC, состоящий из полностью человеческого иммуноглобулин G1 каппа (IgG1κ) антитела, конъюгированного с разрушающим микротрубочки средством (ММАЕ) через расщепляемый протеазой линкер (Challita-Eid PM et al., Cancer Res. 2016; 76(10):3003-13). Энфортумаб ведотин проявляет противоопухолевую активность путем связывания с белком 191P4D12 на поверхности клеток, приводя к интернализации комплекса ADC-191P4D12, который затем перемещается в лизосомальный компартемент, где ММАЕ высвобождается в результате протеолитического расщепления линкера. Внутриклеточное высвобождение ММАЕ впоследствии нарушает полимеризацию тубулина, приводя к остановке фазы G2/M клеточного цикла и апоптотической гибели клеток (Francisco JA et al, Blood. 2003 Aug 15; 102(4):1458-65).

6.4.2.1.2. ДОКЛИНИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

[00468] Фармакология

[00469] AGS-22M6E представляет собой ADC, полученный из линии мышинных гибридных клеток, который использовали в фармакологических и токсикологических исследованиях, а также в завершенном исследовании фазы I. Энфортумаб ведотин, полученный из линии клеток яичников китайского хомячка (CHO) ADC AGS-22M6E, представляет собой готовый продукт, используемый для клинических исследований. Энфортумаб ведотин имеет ту же последовательность аминокислот, линкер и цитотоксическое средство, что и AGS-22M6E. Сопоставимость энфортумаба ведотина и AGS-22M6E была подтверждена посредством обширных аналитических и биологических исследований, таких как анализы аффинности связывания с 191P4D12, цитотоксичности *in vitro* и противоопухолевой активности *in vivo*.

[00470] В фармакологических исследованиях *in vitro* AGS-22M6E ингибировал выживание клеток в рекомбинантной клеточной линии, экспрессирующей человеческий 191P4D12, а также в линии клеток рака молочной железы T47D, эндогенно экспрессирующей человеческий 191P4D12, тогда как AGS-22M6 (неконъюгированное антитело) не влиял на рост клеток в каких-либо экспрессирующих 191P4D12 клеточных линиях.

[00471] Противоопухолевую активность AGS-22M6E оценивали на панели моделей ксенотрансплантатов опухолей, представляющих различные формы рака, в которых была продемонстрирована экспрессия 191P4D12. AGS-22M6E вызывал значимое дозозависимое ингибирование роста опухоли в ксенотрансплантате рака мочевого пузыря, полученного у пациента. В ксенотрансплантате ГР+ линии клеток рака молочной железы человека по 5 мг/кг каждые 4 дня в течение 4 доз. AGS-22M6E также значимо ингибировал рост опухоли в ксенотрансплантатах клеточной линии аденокарциномы легкого человека и

аденокарциномы легкого, полученной у пациента. Энфортумаб ведотин и AGS-22M6E продемонстрировали сопоставимую фармакологическую противоопухолевую активность в ксенотрансплантатной модели клеток ТНPMЖ, полученной от пациента. В этом исследовании процент регрессии опухоли относительно исходного размера опухоли составил 68% и 70% для энфортумаба ведотина и AGS-22M6E в дозе 2 мг/кг на день 21 соответственно.

[00472] Токсикология

[00473] Профиль безопасности и фармакокинетика AGS 22M6E и энфортумаба ведотина были сопоставимы у яванских макаков.

[00474] Поражения кожи были отмечены в токсикологических исследованиях, соответствующих стандарту надлежащей лабораторной практики, на крысах (≥ 5 мг/кг; 1-кратная системная экспозиция у человека) и на обезьянах (≥ 1 мг/кг; 0,7-кратная системная экспозиция у человека). Изменения кожи были полностью обратимыми на конец 6-недельного периода восстановления.

[00475] Гипергликемия, зарегистрированная в клинических исследованиях, отсутствовала в токсикологических исследованиях, как на крысах, так и на обезьянах, при этом не было обнаружено патогистологических изменений в поджелудочной железе каждого вида.

[00476] AGS-22M6E показал умеренную иммуногенность у самцов и самок крыс, а также у яванских макаков. AGS-22M6E и энфортумаб ведотин показали сравнимую иммуногенность у яванских макаков.

[00477] Исследования генотоксичности показали, что MMAE не обладает заметным генотоксическим потенциалом в тесте на обратную мутацию в бактериях (тест Эймса) или в анализе на мутацию L5178Y ТК+/- мышинной лимфомы. MMAE приводил к хромосомным абберациям в микроядерном тесте у крыс, что согласуется с фармакологическим действием средств, разрушающих микротрубочки.

[00478] MMAE не имеет поглощения в диапазоне от 290 нм до 700 нм, при этом поглощение валин-цитруллинового линкера-MMAE (vc-MMAE) не соответствует критериям тестирования фототоксичности, как определено в руководстве ICH S10. Таким образом, энфортумаб ведотин не считается достаточно фотореактивным, чтобы вызывать прямое фототоксическое действие.

[00479] Тестикулярная токсичность наблюдалась только у крыс. Результаты включали дегенерацию семенных канальцев и гипоспермию в эпидидимисе ($\geq 2,0$ мг/кг; приблизительно 1-кратное превышение системной экспозиции для человека в клинически рекомендованных дозах). Эти изменения частично устранялись к концу 24-недельного периода восстановления. Тестикулярная токсичность не наблюдалась у неполовозрелых самцов обезьян, которым вводили энфортумаб ведотин в дозах до 6 мг/кг (6-кратная системная экспозиция для человека в клинически рекомендуемой дозе).

6.4.2.1.3. КЛИНИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ

[00480] Энфортумаб ведотин в настоящее время проходит испытания в нескольких

исследованиях, включая исследования фазы 1, 2 и 3, как в качестве монотерапии, так и в комбинации с несколькими противоопухолевыми средствами. Большая часть данных по безопасности и эффективности, приведенных ниже, получена из данных по монотерапии и ограничена исследованиями фазы 1 и 2.

[00481] EV-101 представляет собой исследование фазы 1 с введением повышаемых доз/расширением когорты установленной дозы, в которое были включены пациенты с 191P4D12-экспрессирующими солидными опухолями (например, метастатическим уротелиальным раком [УР]), у которых наблюдалось прогрессирование после ≥ 1 предыдущей схемы химиотерапии, включая когорту пациентов с метастатическим УР, которые ранее получали терапию антителами к PD-(L)1.

[00482] Поскольку в исследование EV-101 были включены пациенты с 191P4D12-экспрессирующими солидными опухолями, данные по экспрессии 191P4D12 были получены для пациентов с несколькими разными формами рака, имеющими отношение к данному исследованию. Утвержденный тест ИГХ 191P4D12 (Quest Diagnostics) использовали для присвоения 191P4D12 Н-балла в диапазоне от 0 до 300. Девяносто восемь процентов пациентов с НМРЛ (включая плоскоклеточную и неплоскоклеточную формы) экспрессировали 191P4D12 (n=50) со средним значением Н-балла 260. Все 3 пациента с раком молочной железы, прошедшие предварительный скрининг в EV-101, экспрессировали 191P4D12 с Н-баллами 140, 230 и 290. Два пациента с раком желудка и 1 пациент с карциномой носоглотки экспрессировали 191P4D12 с Н-баллами 140, 230 и 290 соответственно. Чтобы дополнить данные по экспрессии 191P4D12, полученные в EV-101, проводили тест ИГХ 191P4D12 на тканевых микрочипах (ТМА) различных форм рака. 191P4D12 экспрессировался в большинстве исследованных тканей: рака молочной железы (включая трижды негативный и ГР+/HER2; 91%, n=220), желудка (66%, n=143), головы и шеи (77%, n=128) и пищевода (88%, n=96).

6.4.2.2. ОБОСНОВАНИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

[00483] В настоящее время химиотерапия является стандартом лечения, который дает относительно низкую частоту ответа, короткую продолжительность ответа и значительное токсическое действие. Отсутствие утвержденных терапий для пациентов с местнораспространенным или метастатическим раком и ограниченная активность, наблюдаемая при химиотерапии второй линии, в достаточной мере демонстрируют, что у этой группы пациентов имеются значительные неудовлетворенные медицинские потребности.

[00484] Фаза 1 исследования с повышением вводимых доз и расширением когорт (EV-101) монотерапии энфортумабом ведотином у пациентов с метастатическим уротелиальным раком и другими злокачественными солидными опухолями продемонстрировало обнадеживающую противоопухолевую активность у пациентов с метастатическим уротелиальным раком. В этом исследовании уменьшение опухоли наблюдали у пациентов с метастатическим уротелиальным раком. Энфортумаб ведотин обеспечивал стойкие ответы и значимые результаты выживаемости у пациентов после

терапии антителами против PD-(L)-1 в популяции с высокой неудовлетворенной медицинской потребностью. Подтвержденный ORR составил 45% по результатам централизованной оценки у пациентов, получавших энфортумаб ведотин в дозе 1,25 мг/кг. Медиана общей выживаемости (OS) 12,3 месяца обнадеживает, учитывая, что ретроспективная медианная OS составляет $\leq 10,3$ месяца (Bellmunt J et al, N Eng J Med. 2017; 376(11):1015-1026).

[00485] В опорном исследовании фазы 2 (EV-201) пациенты должны были пройти предыдущее лечение химиотерапией с препаратом платины, или ранее не получать препараты платины и не соответствовать критериям для лечения цисплатином. Результаты этого исследования показали, что энфортумаб ведотин был первым новым терапевтическим средством, продемонстрировавшим существенную клиническую активность у пациентов с прогрессированием заболевания после химиотерапии препаратом платины и ингибитором PD-1/L1. Подтвержденный ORR составил 44% у пациентов, получавших энфортумаб ведотин в дозе 1,25 мг/кг. Медианная OS составила 11,7 мес, а медианная длительность ответа - 7,6 мес. Эти результаты в значительной степени согласуются с исследованием фазы 1 EV-101 в той же группе пациентов.

[00486] Все опухоли, отобранные для настоящего исследования (рак молочной железы, легкого, головы и шеи, желудка и пищевода), являются репрезентативными для опухолей с умеренной или высокой экспрессией 191P4D12, и для которых необходимо улучшить результаты при лечении метастатических (в том числе злокачественных или метастатических злокачественных) и рефрактерных форм. Кроме того, подтверждающая доклиническая чувствительность к энфортумабу ведотину, наряду с клиническими данными и подтверждениями, основанными на опубликованных литературных сведениях, подтверждают актуальность текущего исследования.

6.4.2.3. ОЦЕНКА СООТНОШЕНИЯ РИСКА И ПОЛЬЗЫ

[00487] Субъекты с местнораспространенным или метастатическим раком, выбранные для этого исследования, имеют рак, который рецидивировал или прогрессировал после проведения терапии стандарта лечения, и имеют ограниченный выбор вариантов лечения. Клинические данные, имеющиеся на сегодняшний день, подтверждают благоприятное соотношение пользы и риска для энфортумаба ведотина у пациентов с уротелиальным раком. Кроме того, доклинические данные и клинические данные подтверждают эффективность применения энфортумаба ведотина при некоторых 191P4D12-экспрессирующих опухолях кроме уротелиального рака.

[00488] Несмотря на недавние успехи в лечении, приблизительно 80% пациентов не отвечают на применение ингибиторов PD-1/L1, которые являются стандартом лечения после неэффективного применения платиносодержащей терапии в качестве начального лечения метастатического (включая злокачественное или злокачественное метастатическое) заболевания (Alhalabi O et al Oncology (Williston Park). 2019;33(1):11-8; Kim & Seo Investig Clin Urol. 2018;59(5):285-296; National Comprehensive Cancer Network, 2017 (Non-small cell lung cancer, NCCN clinical practice guidelines in oncology (NCCN

guidelines), http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/nscl.pdf; National Comprehensive Cancer Network (Bladder Cancer (Version 3, 2019) http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/bladder.pdf). Этим пациентам доступен небольшой выбор вариантов лечения, и срочно требуются новые терапии.

6.4.3. ЦЕЛЬ(И) И КОНЕЧНЫЙ РЕЗУЛЬТАТ(Ы) ИССЛЕДОВАНИЯ

Первичные, вторичные и дополнительные цели и конечные результаты данного исследования перечислены в Таблице 7

Таблица 7 Цель(и) и конечный результат(ы) исследования

Цель(и)	Конечный результат(ы)
Первичные	
● Определить противоопухолевую активность энфортумаба ведотина, измеряемую по подтвержденному ORR	● Подтвержденный ORR (полный ответ [CR] + PR) согласно Критериям оценки ответа солидных опухолей (RECIST) версии 1.1, как определено при экспертной оценке в независимой лаборатории (BICR)
Вторичные	
● Оценить продолжительность ответа (DOR) энфортумаба ведотина ● Оценить процент контроля заболевания (DCR) энфортумаба ведотина ● Оценить выживаемость без прогрессирования на энфортумабе ведотине (PFS) ● Оценить OS ● Оценить безопасность и переносимость энфортумаба ведотина	● Подтвержденный ORR согласно RECIST версии 1.1 по оценке исследователем ● DOR согласно RECIST версии 1.1 при оценке BICR ● DOR согласно RECIST версии 1.1 при оценке исследователем ● DCR (CR+PR+стабильное заболевание [SD]) согласно RECIST версии 1.1 при оценке BICR ● DCR согласно RECIST версии 1.1 при оценке исследователем ● PFS при оценке BICR ● PFS при оценке исследователем ● OS ● Переменные факторы безопасности ● Нежелательные явления (AE) ● Лабораторные исследования ● Измерения основных физиологических показателей ● Электрокардиограмма в 12 отведениях ● Показатель общего состояния по шкале Восточной объединенной онкологической группы (ECOG)
Дополнительные	

● Оценить потенциальные геномные и/или другие биомаркеры, которые могут коррелировать со способом лечения, включая экспрессию 191P4D12 ● Оценить фармакокинетику энфортумаба ведотина и ММАЕ ● Оценить иммуногенность энфортумаба ведотина ● Оценить эффект лечения энфортумабом ведотином на качество жизни (QOL)	● Геномные и/или другие биомаркеры, которые могут коррелировать со способом лечения, включая экспрессию 191P4D12 ● Выбранные фармакокинетические параметры (т.е. C_{max} [концентрация в конце инфузии] и $C_{ост}$ [концентрация перед введением следующей дозы]) энфортумаба ведотина и ММАЕ ● Уровень антитерапевтических антител (АТА) к энфортумабу ведотину ● PRO по 5 параметрам шкалы EuroQOL (EQ-5D-5L) и оценка боли
---	---

6.4.4. ЛЕЧЕНИЕ И ДОЗА

6.4.4.1. ЛЕЧЕНИЕ

[00489] Это - открытое, многоцентровое, многокогортное исследование фазы 2, разработанное для оценки противоопухолевой активности и безопасности энфортумаба ведотина в качестве монотерапии у взрослых субъектов с местнораспространенными или метастатическими злокачественными солидными опухолями. Приблизительно 40 субъектов было зарегистрировано в каждой из следующих 6 когорт.

[00490] Когорта 1: ГР+/HER2- рак молочной железы; или

[00491] Когорта 2: ТНРМЖ; или

[00492] Когорта 3: пНМРЛ; или

[00493] Когорта 4: НМРЛ; или

[00494] Когорта 5: Рак головы и шеи; или

[00495] Когорта 6: Рак желудка или пищевода

[00496] Запланирован 1 промежуточный анализ для оценки противоопухолевой активности в каждой когорте. Промежуточный анализ проводили для данной когорты после того, как 20 субъектов прошли лечение и могли быть оценены на ответ опухоли. Байесовскую оптимальную схему фазы 2 (BOR2) (Zhou et al, 2017) использовали для направления правила промежуточного решения. Для каждой когорты, на основе 2-этапной схемы BOR2, когда количество субъектов с подтвержденным ответом (CR и PR) было меньше заранее определенного минимального количества респондеров на этапе 1, регистрация в когорте может быть остановлена; в противном случае регистрацию участников продолжают до тех пор, пока не будет достигнута запланированная величина когорты.

[00497] Данное исследование состоит из 3 периодов: скрининг/оценка исходного состояния, лечение и последующее наблюдение.

[00498] Период скрининга/оценки исходных показателей проводили за 28 дней до первой дозы исследуемого препарата. В период лечения, начиная с курса 1, субъекты получали энфортумаб ведотин в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного курса, пока не был достигнут один из критериев остановки лечения. Оценку заболевания проводили при скрининге/оценке исходных показателей и повторяли каждые 8 недель (56 дней $\pm$ 7 дней) с

момента введения первой дозы исследуемого препарата на протяжении всего исследования, пока у субъекта не было рентгенологически подтверждено прогрессирование заболевания, пока субъект не начнет новую следующую противоопухолевую терапию, не наступит смерть, не будет отозвано согласие, пока не будет потерян контакт с субъектом для последующего наблюдения, или исследование будет закрыто, в зависимости от того, что произойдет раньше.

[00499] Посещение в конце лечения (ЕОТ) проводят в течение 7 дней после получения последней дозы энфортумаба ведотина или решения о прекращении лечения, или до начала другой противоопухолевой терапии, в зависимости от того, что произойдет раньше. После этого следует 30-дневное наблюдение для оценки безопасности, которое должно быть завершено через 30 дней (+7-дневное окно) с момента получения последней дозы энфортумаба ведотина или принятия решения о прекращении лечения, при котором достаточно телефонного контакта с субъектом, если не требуется повторить какое-либо обследование, чтобы подтвердить разрешение АЕ, связанных с лекарственным препаратом.

[00500] Субъекты, прервавшие исследуемое лечение по причинам, отличным от рентгенологически подтвержденного прогрессирования заболевания согласно RECIST версии 1.1, переходят в период наблюдения после лечения и продолжают получать визуализирующие снимки каждые 8 недель (56 дней $\pm$ 7 дней), пока у субъекта не будет рентгенологически подтвержденного прогрессирования заболевания, пока субъект не начнет новую противоопухолевую терапию, не наступит смерть, не будет отозвано согласие, пока не будет потерян контакт с субъектом для последующего наблюдения, или исследование будет закрыто, в зависимости от того, что произойдет раньше.

[00501] После 1 года на лечения в исследовании частоту оценки заболевания снижают до одного обследования в 12 недель (84 дня $\pm$ 7 дней).

[00502] После рентгенологически подтвержденного прогрессирования заболевания или начала последующей противоопухолевой терапии, в зависимости от того, что наступит раньше, с субъектами связываются каждые 12 недель в течение длительного периода наблюдения для определения статуса выживаемости до наступления смерти, отзыва согласия, потери контакта для последующего наблюдения или закрытия исследования, в зависимости от того, что произойдет раньше.

[00503] Подтвержденный ORR является главным конечным показателем. Подтвержденный ORR определяется как процент субъектов, у которых объективный ответ был подтвержденным CR или PR согласно RECIST версии 1.1. Ответ (CR или PR) должен быть подтвержден при повторном визуализационном сканировании через 4 недели (28 дней +7-дневное окно) после первого ответа.

[00504] Пробы крови для определения фармакокинетики и АТА забирают в точках времени, указанных в протоколе. Утвержденные анализы используются для измерения концентраций энфортумаба ведотина и ММАЕ в сыворотке или плазме, а также для оценки АТА. Образцы для анализа на биомаркеры собирают в точки времени, указанные в

протоколе.

6.4.4.2. ДОЗА

[00505] В каждой когорте субъекты получают энфортумаб ведотин в дозе 1,25 мг/кг путем внутривенной (IV) инфузии в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного курса.

6.4.5. ВЫБОРКА ПАЦИЕНТОВ

[00506] Выборка пациентов состоит из субъектов с ранее подвергавшимися лечению местнораспространенными или метастатическими злокачественными солидными опухолями, включающими:

[00507] ГР+/HER2- рак молочной железы; или

[00508] ТНРМЖ; или

[00509] пНМРЛ; или

[00510] НМРЛ; или

[00511] Рак головы и шеи; или

[00512] Рак желудка или пищевода

[00513] Все скрининговые оценки должны быть завершены и проверены исследователем для подтверждения, что потенциальный субъект соответствует всем критериям включения. Проспективное одобрение отклонений от протокола по критериям включения (также известные как отступления от протокола или исключения из протокола) не предоставляется.

6.4.5.1. КРИТЕРИИ ВКЛЮЧЕНИЯ

[00514] Субъект имеет право на участие в исследовании, если применимо все следующее:

[00515] Для всех субъектов в когортах 1-6:

[00516] Экспертный совет организации (IRB)/Независимый Комитет по Этике (IEC) одобрил письменное информированное согласие и заявление о конфиденциальности согласно национальным нормам (например, разрешение в соответствии с Законом о передаче данных и учете в системе медицинского страхования для исследовательских центров в США) должно быть получено от субъекта перед проведением любых процедур, связанных с исследованием (включая отмену запрещенных лекарственных препаратов, в применимых случаях).

[00517] Субъект считается взрослым согласно местным нормам на момент подписания формы информированного согласия (ICF).

[00518] Субъект имеет поддающееся измерению заболевание согласно RECIST версии 1.1.

[00519] Субъект имеет доступную архивную опухолевую ткань из первичной опухоли или метастатического очага, источник и доступность которой были подтверждены до начала исследуемого лечения. Если архивная опухолевая ткань отсутствует, субъекту будет сделана биопсия для получения опухолевой ткани перед началом лечения в исследовании. Если субъект не может пройти биопсию по соображениям безопасности, включение в исследование необходимо обсудить с

медицинским монитором.

[00520] Субъект имеет показатель общего состояния по ECOG 0 или 1.

[00521] Субъект имеет следующие исходные лабораторные показатели:

[00522] абсолютное количество нейтрофилов (ANC) $\geq 1,0 \times 10^9/\text{л}$

[00523] количество тромбоцитов $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$

[00524] гемоглобин ≥ 9 г/дл

[00525] общий билирубин сыворотки $\leq 1,5 \times$ верхней границы нормы (ВГН) или $\leq 3 \times$ ВГН для субъектов с врожденной гипербилирубинемией

[00526] клиренс креатинина (CrCl) ≥ 30 мл/мин, при оценке согласно установленным стандартам или при измерении путем сбора мочи за 24 часа (скорость клубочковой фильтрации [СКФ] также можно использовать вместо CrCl).

[00527] аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ) $\leq 3 \times$ ВГН

[00528] Участница исследования не беременна, и применимо по меньшей мере 1 из следующих условий:

[00529] Не является женщиной, способной к деторождению (WOCBP).

[00530] WOCBP, которая соглашается соблюдать противозачаточное руководство со времени информированного согласия в течение по меньшей мере 6 месяцев после получения последней дозы при лечении в исследовании.

[00531] Участница исследования должна согласиться приостановить грудное вскармливание, начиная с момента скрининга и в течение периода исследования, а также в течение 6 месяцев после получения последней дозы при лечении в исследовании.

[00532] Участница эксперимента не должна быть донором яйцеклеток на момент получения первой дозы исследуемого препарата и в течение всего периода исследования, а также в течение 6 месяцев после приема последней дозы при лечении в исследовании.

[00533] Участник исследования с женщиной-партнером (партнерами) с потенциалом деторождения (включая кормящего партнера) должен согласиться использовать контрацепцию в течение всего периода лечения и в течение 6 месяцев после получения последней дозы при лечении в исследовании.

[00534] Участник исследования не должен быть донором спермы во время периода лечения и в течение 6 месяцев после получения последней дозы при лечении в исследовании.

[00535] Участник исследования с беременным партнером (партнерами) должен согласиться соблюдать воздержание или использовать презерватив на время беременности в течение периода исследования и в течение 6 месяцев после получения последней дозы при лечении в исследовании.

[00536] Субъект соглашается не участвовать в другом интервенционном исследовании во время лечения в данном исследовании.

[00537] *Специфические критерии включения по заболеванию:*

[00538] Когорта 1: ГР+/HER2- рак молочной железы

[00539] Субъект имеет гистологически или цитологически подтвержденный рак молочной железы ГР+/HER2-; определенный как эстроген-рецептор (ЭР) положительный и/или прогестерон-рецептор (ПР) положительный, и HER2-отрицательный согласно рекомендациям Американского общества клинической онкологии/Коллегии американских патологов (ASCO/CAP) на основе последней исследованной ткани.

[00540] Субъект имеет местнораспространенное или метастатическое заболевание.

[00541] Субъект должен был получить ≥ 1 линии эндокринной терапии и ингибитор циклинзависимой киназы (CDK) 4/6 при лечении метастатического или местнораспространенного заболевания.

[00542] Субъект должен был пройти предыдущее лечение таксаном или антрациклином в любой схеме лечения. Субъект с опасной гаметной мутацией в гене предрасположенности к раку молочной железы (BRCA) 1 или 2 должен был пройти лечение ингибитором поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP).

[00543] Когорта 2: трижды негативный рак молочной железы

[00544] Субъект имеет гистологически или цитологически подтвержденный ТНPMЖ; определенный по явной гистологии ТНPMЖ (ЭР-отрицательный/ПР-отрицательный /HER2-отрицательный) согласно рекомендациям ASCO/CAP на основе последней исследованной ткани.

[00545] Субъект имеет местнораспространенное или метастатическое заболевание.

[00546] Субъект должно был пройти ≥ 2 линий системной терапии, включая таксан в любой схеме лечения. Субъект с опасной гаметной мутацией в BRCA1 или 2, должен был пройти лечение ингибитором PARP.

[00547] Когорта 3: плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого

[00548] Субъект имеет гистологически или цитологически подтвержденный плоскоклеточный НМРЛ.

[00549] Субъект имеет местнораспространенное или метастатическое заболевание.

[00550] Субъект должен был перенести прогрессирование или рецидив после терапии препаратом платины; терапия препаратом платины, применяемая в качестве вспомогательного лечения, рассматривается в качестве схемы, если рецидив возник в течение 12 месяцев после завершения.

[00551] Субъект должен был пройти предыдущую терапию атителом против белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-1) или против лиганда белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-L1), если субъект соответствует критериям для участия на основе экспрессии PD-1 или PD-L1 в опухоли субъекта и местных рекомендаций по лечению.

[00552] Когорта 4: неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого

[00553] Субъект имеет гистологически или цитологически подтвержденный неплоскоклеточный НМРЛ (с рецептором эпидермального фактора роста [EGFR] дикого типа и киназой анапластической лимфомы [ALK] дикого типа согласно местным лабораторным стандартам).

[00554] Субъект имеет местнораспространенное или метастатическое заболевание.

[00555] Субъект должен был испытать прогрессирование или рецидив после терапии препаратом платины при лечении метастатического или местнораспространенного заболевания; терапия препаратом платины, применяемая в качестве вспомогательного лечения, рассматривается в качестве схемы, если рецидив возник в течение 12 месяцев после завершения.

[00556] Субъект должен был получать антитела к PD-1 или к PD-L1, если субъект соответствует критериям для участия на основе экспрессии PD-1 или PD-L1 в опухоли субъекта и местных рекомендаций по лечению.

[00557] Когорта 5: рак головы и шеи

[00558] Субъект имеет гистологически или цитологически подтвержденный рак головы и шеи.

[00559] Субъект имеет местнораспространенное или метастатическое заболевание.

[00560] Субъект должен был испытать прогрессирование или рецидив после применения схемы, включающей препарат платины, при лечении метастатического или местнораспространенного заболевания. Схемы с препаратом платины, применяемые как часть мультимодальной терапии в схеме лечения, не считаются предыдущей схемой, если субъект не испытал рецидив или прогрессирование в течение 6 месяцев после завершения.

[00561] Субъект должен был получить антитело к PD-1 или к PD-L1, если субъект соответствовал критериям для участия на основе экспрессии PD-1 или PD-L1 в опухоли субъекта и местных рекомендаций по лечению.

[00562] Когорта 6: рак желудка или пищевода

[00563] Субъект имеет гистологически или цитологически подтвержденный рак желудка или пищевода.

[00564] Субъект имеет местнораспространенное или метастатическое заболевание.

[00565] Субъект должен был испытать прогрессирование или рецидив после схем химиотерапии, включавших фторпиримидин и препарат платины для лечения метастатического заболевания или распространенного заболевания. Неоадьювантные или адьювантные схемы не считаются предыдущей схемой, если субъект не испытал рецидив или прогрессирование в течение 6 месяцев после завершения. Субъект с HER2-положительным раком должен был получить HER2-направленную терапию.

6.4.5.2. КРИТЕРИИ ИСКЛЮЧЕНИЯ

[00566] Субъекта исключают из участия, если применимо любое из следующего:

[00567] Для всех субъектов в когортах 1-6:

[00568] Субъект получил ≥ 3 линий предыдущих схем с химиотерапией для лечения метастатического заболевания (без ограничения количества схем, не включающих химиотерапию).

[00569] Субъект имеет уже существовавшую ранее сенсорную или моторную нейропатию ≥ 2 степени.

[00570] Субъект имеет активные метастазы в центральной нервной системе (ЦНС). Субъекты с подвергавшимися лечению метастазами в центральной нервной системе

допускаются к участию в исследовании, если соблюдается все следующее:

[00571] Метастазы центральной нервной системы были клинически стабильными в течение ≥ 6 недель до скрининга

[00572] При необходимости лечения метастазов центральной нервной системы стероидами субъект находится на стабильной дозе ≤ 20 мг/день преднизона или эквивалента в течение ≥ 2 недель

[00573] Исходные визуализационные снимки не содержат подтверждений новых или увеличившихся метастазов в головном мозге

[00574] Субъект не имеет лептоменингеальное заболевание

[00575] У субъекта сохраняются клинически значимые токсические явления (2 степени или выше за исключением алопеции), связанные с предыдущим лечением (включая системную терапию, лучевую терапию или хирургию).

[00576] Субъект, имеющий связанный с иммунотерапией гипотиреоз ≤ 2 степени или пангипопитуитаризм, может быть зарегистрирован в исследовании в случае успешной поддержки/контроля на стабильной дозе гормонозаместительной терапии (если указано). Субъекты с текущим связанным с иммунотерапией гипотиреозом ≥ 3 степени или пангипопитуитаризм исключаются. Субъекты с текущим связанным с иммунотерапией колитом, увеитом, миокардитом или пневмонитом, или субъектами с другими связанными с иммунотерапией АЕ, требующими более высоких доз стероидов (>20 мг/день преднизона или эквивалента), исключаются.

[00577] Субъект имеет в анамнезе неконтролируемый сахарный диабет в течение 3 месяцев после получения первой дозы лечения в исследовании. Неконтролируемый диабет определяется как уровень гемоглобина A1c (HbA1c) $\geq 8\%$ или HbA1c от 7 до $<8\%$ с сопутствующими симптомами диабета (полиурией или полидипсией), которые не объясняются иной причиной.

[00578] Субъект проходил предыдущее лечение энфортумабом ведотином или другими конъюгатами антитела-лекарственного средства (ADC) на основе монометилауристатина Е (MMAE).

[00579] У субъекта было диагностировано второе злокачественное новообразование в течение 3 лет до получения первой дозы лекарственного препарата в исследовании или любой симптом остаточного заболевания после ранее диагностированного злокачественного новообразования. Субъекты с немеланомным раком кожи, локализованным раком предстательной железы, получавшие лечение с целью излечения, без подтверждения прогрессирования, с низким риском или очень низким риском (в соответствии со стандартными рекомендациями) локализованного рака предстательной железы под активным наблюдением/выжидательным наблюдением без намерения лечения, или карциномой *in situ* любого типа (если выполнили полную резекцию), допускаются к участию.

[00580] Субъект в настоящее время проходит системное противомикробное лечение вирусной, бактериальной или грибковой инфекции на момент получения первой

дозы лечения в исследовании. Обычная противомикробная профилактика допускается.

[00581] Субъект знает об активном гепатите В (например, с реакцией на поверхностный антиген гепатита В [HBsAg]) или активном гепатите С (например, обнаружена РНК вируса гепатита С [HCV] [качественный тест]).

[00582] Субъект знает об инфекции вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) (ВИЧ 1 или 2).

[00583] Субъект имеет подтвержденный случай церебрального сосудистого события (инсульта или транзиторной ишемической атаки), нестабильной стенокардии, инфаркта миокарда или кардиальных симптомов (включая хроническую сердечную недостаточность), соответствующих Классу III-IV по классификации Нью-Йоркской ассоциации кардиологов, в течение 6 месяцев до получения первой дозы исследуемого лекарственного препарата.

[00584] Субъект имеет обширное оперативное вмешательство в течение 4 недель до получения первой дозы исследуемого лекарственного препарата.

[00585] Субъект проходил лечение лучевой терапией, химиотерапией, биопрепаратами, исследуемыми препаратами и/или противоопухолевое лечение иммунотерапией, которое не было завершено за 2 недели до получения первой дозы исследуемого лекарственного препарата.

[00586] Субъект знал об аллергии на энфортумаб ведотин или любое вспомогательное вещество, содержащееся в составе лекарственного препарата энфортумаба ведотина (включая гистидин, трегалозы дигидрат и полисорбат 20), или субъект знал об аллергии на биофармацевтические препараты, полученные в клетках СНО.

[00587] Субъект знал об активном кератите или язвах роговицы. Субъект с поверхностным точечным кератитом допускается к участию в исследовании, если нарушение поддается адекватному лечению по мнению исследователя.

[00588] Субъект имеет любое состояние, которое по мнению исследователя делает субъекта неподходящим для участия в исследовании.

6.4.6. ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО

6.4.6.1. ВВОДИМОЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО

[00589] Терапевтическое средство, энфортумаб ведотин (ASG-22CE), является стерильным, не содержащим консервантов, белым или почти белым лиофилизированным порошком, который требуется восстанавливать для внутривенного введения. Терапевтическое средство поставляется в стеклянных флаконах для однократного применения, в каждом флаконе содержится 20 мг или 30 мг энфортумаба ведотина. Терапевтическое средство хранят при температуре от 2°C до 8°C.

6.4.6.1.1. ДОЗЫ И ВВЕДЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО СРЕДСТВА

[00590] Энфортумаб ведотин в дозе 1,25 мг/кг вводят путем внутривенной инфузии в течение 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного курса. В отсутствие связанных с инфузией реакций (IRR) вычисляется скорость введения лекарственного средства для всех

субъектов, чтобы получить приблизительно 30-минутный период инфузии. Энфортумаб ведотин не следует вводить путем внутривенного струйного или болюсного введения. Энфортумаб ведотин не следует смешивать с другими лекарственными препаратами. Между введением доз энфортумаба ведотина должно пройти по меньшей мере 7 дней.

[00591] Вес субъекта необходимо измерять во всех соответствующих моментах обследования, как описано в Графике обследований. Дозу в расчете на вес вычисляют при использовании фактической массы тела субъекта. Исключение для введения дозы в расчете на вес делают для субъектов с массой тела больше 100 кг; для этих лиц дозы рассчитывают на 100 кг. Максимальная доза, разрешенная в данном исследовании, составляет 125 мг.

[00592] Субъектов наблюдают во время введения энфортумаба ведотина и в течение по меньшей мере 60 минут после инфузии в течение первых 3 курсов. Все поддерживающие меры, соответствующие оптимальному обслуживанию субъектов, проводят на протяжении всего исследования в соответствии со стандартами медицинских учреждений.

[00593] Место инъекции тщательно наблюдают на предмет покраснения, отека, боли и инфекции во время и в любой момент после введения. Субъектам рекомендуется немедленно сообщать о покраснении или дискомфорте во время введения или после инфузии.

6.4.6.2. РАНДОМИЗАЦИЯ И МАСКИРОВАНИЕ ДАННЫХ

[00594] Это - открытое исследование. Регистрацию субъектов и выдачу энфортумаба ведотина осуществляют с помощью системы на основе интерактивной технологии ответа (IRT). Перед началом исследуемого лечения персонал исследовательского центра получает номер субъекта и назначение лекарственных препаратов из системы IRT. Конкретные процедуры IRT известны специалистам в данной области.

6.4.6.3. ИЗМЕНЕНИЕ ДОЗЫ

[00595] Допускается снижение дозы до 1, 0,75 или 0,5 мг/кг в зависимости от типа и тяжести токсических реакций. Субъектам, которым требуется снижение дозы, можно повторно увеличить дозу на 1 уровень (т.е. субъектам, получающим сниженную до 0,75 мг/кг дозу, можно повторно повысить дозу только до 1 мг/кг) при условии, что токсическое действие не требует отмены исследуемого препарата, и вернулось к исходному уровню, или ≤ 1 степени. Если токсические явления повторяются, повторное повышение дозы не допускается. Субъектам с АЕ роговицы ≥ 2 степени не разрешается повторное повышение дозы. Рекомендации по изменению дозы при токсических явлениях, связанных с энфортумабом ведотином, представлены в Таблице 8 и Таблице 9.

[00596] Перерывы между введениями доз в связи с другим токсическим действием, связанным с энфортумабом ведотином, допускаются по усмотрению исследователя. Перерывы между введениями доз могут длиться до 8 недель (2 курса). Прерывание введения доз у субъектов с клинической эффективностью лечения может быть продлено

на срок больше 8 недель, если токсические явления у субъекта не потребуют постоянной отмены лечения. При перерывах между введениями доз график оценки ответа не корректируют.

Таблица 8 Рекомендуемые изменения дозы в случае связанного с энфортумабом ведотинном токсического действия со стороны крови*

Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4
Продолжение приема такой же дозы.	Продолжите приема такой же дозы. В случае тромбоцитопении 2 степени, приостановка ведения дозы, пока токсичность не вернется к ≤ 1 степени или к исходному уровню, затем возобновление лечения на том же уровне дозы.	Приостановка ведения дозы, пока токсичность не вернется к ≤ 1 степени или к исходному уровню, затем возобновление лечения на том же уровне дозы или рассмотрение возможности снижения дозы на 1 уровень дозы. Переливание или факторы роста могут использоваться по показаниям в соответствии с установленными рекомендациями.	Приостановка ведения дозы, пока токсичность не вернется к ≤ 1 степени или к исходному уровню, затем снижение дозы на 1 уровень дозы и продолжение лечения или прекращение по усмотрению исследователя. Переливание или факторы роста могут использоваться по показаниям в соответствии с установленными рекомендациями. В случае анемии настоятельно рекомендуется прекратить лечение.
*Токсическое действие со стороны крови относится к анемии, тромбоцитопении, нейтропении и фебрильн нейтропении.			

Таблица 9 Рекомендуемые изменения дозы в случае связанного с энфортумабом ведотинном негематологического токсического действия

Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4
Продолжение приема такой же дозы. Если выявлены глазные симптомы и/или изменения зрения, субъект должен пройти офтальмологическое обследование.*	Продолжение приема такой же дозы, кроме случая нейропатии 2 степени или АЕ со стороны роговицы. В случае нейропатии 2 степени или АЕ со стороны роговицы, приостановка ведения дозы, пока токсичность не вернется к ≤ 1 степени или исходному уровню, и затем возобновление лечения на том же уровне дозы. В случае второго возникновения нейропатии 2 степени или АЕ со стороны роговицы, ведение дозы	Приостановка ведения дозы, пока токсичность не вернется к ≤ 1 степени или исходному уровню, затем возобновление лечения на том же уровне дозы или рассмотрение возможности снижения дозы на 1 уровень дозы.** В случае нейропатии 3 степени или АЕ со стороны роговицы, прекратите лечение. В случае гипергликемии/повышенного уровня	В случае АЕ 4 степени прекращение лечения.** Рвота и/или диарея 4 степени, которые улучшаются до степени ≤ 2 в течение 72 часов при поддерживающей терапии, не требуют прекращения лечения.

	приостанавливают, пока токсичность не вернется к ≤ 1 степени, а затем дозу снижают на 1 уровень дозы и продолжают лечение. Если выявлены глазные симптомы и/или изменения зрения, субъект должен пройти офтальмологическое обследование.*	глюкозы в крови 3 степени приостановка лечения. Возобновление лечения после улучшения гипергликемии/повышенного уровня глюкозы в крови до ≤ 2 степени и клинически и метаболически стабильного состояния субъекта. Если выявлены глазные симптомы и/или изменения зрения, субъект должен пройти офтальмологическое обследование.*	
АЕ: нежелательные явления * Офтальмологическое обследование должен выполнять офтальмолог. В странах, где проводить обследование и прописывать лекарства могут оптометристы, такое обследование может выполнять оптометрист. ** Электролитный дисбаланс/лабораторные нарушения 3/4 степени, которые не связаны с клиническими последствиями и/или устраняются с применением добавок/соответствующего контроля в течение 72 часов после их появления, не требуют отмены (например, гиперурикемия 4 степени). Сыпь 3 степени, не ограничивающая повседневную деятельность по самообслуживанию или связанная с инфекцией, требующей системных антибиотиков, не требует приостановки лечения, при условии, что симптомы не являются тяжелыми и поддаются купированию с применением поддерживающей терапии.			

6.4.7. ПРОЦЕДУРЫ И ОЦЕНКИ В ИССЛЕДОВАНИИ

6.4.7.1. ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ

[00597] Ответ заболевания и прогрессирование оценивают с использованием RECIST версии 1.1 (см. 6.4.8.3, RECIST версии 1.1). Рентгенографические оценки выполняют согласно Графику обследования. Подтвержденный ORR, DOR, DCR, PFS и OS оценивают согласно Графику обследования.

6.4.7.1.1. ВИЗУАЛИЗАЦИЯ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЗАБОЛЕВАНИЯ (КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ/МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ/ ПОЗИТРОНО-ЭМИССИОННАЯ ТОМОГРАФИЯ-КОМПЬЮТЕРНАЯ ТОМОГРАФИЯ)

[00598] Визуализацию/оценку заболевания проводят при скрининге/оценке исходного состояния и каждые 8 недель (56 дней ± 7 дней) с момента получения первой дозы исследуемого препарата на протяжении всего исследования, пока у субъекта не будет рентгенологически подтверждено прогрессирование заболевания, субъект не начнет новую следующую противоопухолевую терапию, не наступит смерть, не отзовет согласие, не будет потерян контакт с субъектом для последующего наблюдения, или исследование

не будет закрыто, в зависимости от того, что наступит раньше. Исходная визуализация, выполненная до получения информированного согласия, может использоваться в качестве стандарта медицинского обслуживания, если она была выполнена в течение 28 дней до получения первой дозы лечения в исследовании.

[00599] Если исследователь оценивает ответ заболевания как CR или PR, требуется подтверждающее визуализирующее сканирование через 4 недели (28 дней $\pm$ 7 дней) после первого ответа. После 1 года лечения в исследовании частоту оценки ответа заболевания снижают до одного обследования в 12 недель (84 дня $\pm$ 7 дней).

[00600] Ответ и прогрессирование заболевания оценивают посредством BICR. Решения по лечению принимают на основе оценки в медицинском центре результатов сканирования при использовании RECIST версии 1.1.

[00601] Субъекты, которые прекращают лечение в исследовании по причинам, отличным от рентгенологически подтвержденного прогрессирования заболевания согласно RECIST версии 1.1, продолжают получать визуализирующие снимки каждые 8 недель (56 дней $\pm$ 7 дней), пока у субъекта не будет рентгенологически подтверждено прогрессирование заболевания, пока субъект не начнет новую противоопухолевую терапию, не наступит смерть, не отзовет согласие, не будет потерян контакт с субъектом для последующего наблюдения, или исследование не будет закрыто, в зависимости от того, что наступит раньше. Визуализация опухоли также может быть выполнена при подозрении на прогрессирование заболевания.

[00602] Сканирование головного мозга и визуализацию костной ткани проводят в соответствии с Графиком обследований и повторяют в моменты оценки ответа, если метастазы были выявлены при скрининге/оценки исходного состояния, или если метастазы известны или подозреваются, или в соответствии с клиническими показаниями на протяжении всего исследования.

[00603] КТ-сканирование с контрастированием (грудной клетки, брюшной полости и головного мозга) является предпочтительным методом оценки опухоли. Магнитно-резонансная томография допускается, если это входит в местную стандартную практику, или КТ противопоказана субъекту (например, у субъекта аллергия на контрастные вещества). Все остальные одобренные для RECIST методы сканирования, такие как рентгеновское исследование, являются необязательными. Дополнительные инструкции по оценке изображений можно найти в руководстве по процедурам исследования.

[00604] Оценка включает измерение опухолей для анализа целевых очагов, нецелевых очагов и любых новых очагов. Оценку ответа характеризуют для оценки в данный момент времени. В конце исследования для каждого субъекта определяют наилучший общий ответ на схему лечения в исследовании. Для обеспечения возможности сравнения скрининг и последующую оценку ответа проводят с использованием идентичных методик. Одно и то же лицо проводит оценку снимков любого 1 субъекта на протяжении всего исследования, если это возможно. Рекомендуется использовать повторную визуализацию у субъектов с известными метастазами в головном мозге, чтобы

следить за очагами на протяжении всего исследования.

[00605] Участок прогрессирования заболевания, включая целевые, нецелевые и/или новые очаги, документируют в eCRF. Дополнительная визуализация может быть выполнена в любое время для подтверждения подозрения на прогрессирование заболевания.

[00606] Анализ данного исследования проводят на основе результатов как независимых, так и местных (выполненных исследователем) рентгенографических оценок. Копии всех снимков собирают на протяжении всего исследования и анализируют в соответствии со стандартом, известным среднему специалисту в данной области.

6.4.7.1.2. ОЦЕНКА ЦЕЛЕВЫХ ОЧАГОВ

[00607] **Полный ответ (CR)**

[00608] CR определяется как исчезновение всех целевых и нецелевых очагов. Любые патологические лимфатические узлы (целевые или нецелевые) должны демонстрировать уменьшение по короткой оси до <10 мм от исходного измерения.

[00609] **Частичный ответ (PR)**

[00610] PR определяют как по меньшей мере 30% уменьшение суммы диаметров (наибольшего для неузловых очагов; короткой оси для узловых очагов) целевых очагов, принимая во внимание сумму исходных диаметров.

[00611] **Стабильное заболевание (SD)**

[00612] SD определяется как недостаточное снижение, чтобы ответ можно было расценивать как PR, но и недостаточное увеличение, чтобы его можно было расценивать как прогрессирующее заболевание, принимая в качестве референсных значений наименьшую сумму диаметров во время приема исследуемого препарата.

[00613] **Прогрессирующее заболевание (PD)**

[00614] PD определяется как по меньшей мере 20% увеличение суммы диаметров (наибольшего для неузловых очагов; короткой оси для узловых очагов) целевых очагов, принимая в качестве референсных значений наименьшую сумму в исследовании (включая исходную сумму, если это наименьший показатель в исследовании). Помимо относительного увеличения на 20%, сумма также должна демонстрировать абсолютное увеличение не меньше чем на 5 мм. Появление 1 или больше новых очагов также считается прогрессированием.

[00615] **Оценка нецелевых очагов**

[00616] Для достижения однозначного прогрессирования на основании нецелевых очагов, должен присутствовать общий уровень существенного ухудшения нецелевого заболевания, при котором даже в присутствии SD или PR целевых очагов общая опухолевая нагрузка увеличилась в достаточной степени, чтобы пришлось прекратить терапию. Умеренное увеличение размера 1 или больше нецелевых очагов обычно недостаточно для однозначного прогрессирования.

[00617] **Неполный ответ/непрогрессирующее заболевание**

[00618] Не CR/не PD нецелевых очагов определяется как сохранение 1 или больше

нецелевых очагов.

[00619] Прогрессирующее заболевание

[00620] PD нецелевых очагов определяется как однозначное прогрессирование существующих нецелевых очагов или появление 1 или больше новых очагов.

6.4.7.1.3. ОЦЕНКА ОТВЕТА ПО ТОЧКАМ ВРЕМЕНИ

[00621] Статус ответа в каждой контрольной точке времени определяют у субъектов с поддающимся измерению заболеванием в исходном состоянии.

6.4.7.1.4. СТАТУС ДОЖИТИЯ

[00622] После рентгенологически подтвержденного прогрессирования заболевания или начала следующей противоопухолевой терапии с субъектами связываются каждые 12 недель в течение долгосрочного периода последующего наблюдения для сбора информации о статусе дожития до наступления смерти, отзыве согласия, потери контакта для последующего наблюдения или закрытии исследования, в зависимости от того, что наступит раньше.

6.4.7.2. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ОЦЕНКИ

6.4.7.2.1. БИОМАРКЕР(Ы)

[00623] Образцы, собранные в ходе исследования, например, в каждой точке времени в исследовании, как описано в настоящем документе, могут быть проанализированы на предмет других биомаркеров, включая ДНК, РНК и белок, для изучения возможной взаимосвязи с механизмами резистентности или чувствительности к исследуемому лечению, динамических изменений, связанных с исследуемым лечением (с точки зрения дозы, безопасности, переносимости и эффективности и т.д.), а также разработки методов или валидации диагностических тестов, связанных с энфортумабом ведотином.

[00624] Образец крови для анализа биомаркеров

[00625] Образцы крови для анализа биомаркеров собирают у всех субъектов в контрольные точки времени, указанные в Графике сбора образцов, для выделения плазмы, сыворотки и мононуклеарных клеток периферической крови (МКПК). Партии образцов плазмы можно использовать для анализа свободно циркулирующей ДНК (сцДНК) методом секвенирования нового поколения (NGS). Подмножество образцов сыворотки можно использовать для характеристики уровней растворимого 191P4D12. Образцы плазмы, сыворотки и МКПК могут быть подвергнуты анализу цитокинов или иммунофенотипическому анализу для выявления маркеров иммунной функции и субпопуляций иммунных клеток. Образцы крови можно использовать для дополнительных анализов, как описано здесь и известно специалистам в данной области.

[00626] Образцы опухолевой ткани для анализа биомаркеров

[00627] Собирают образец опухолевой ткани до лечения (из первичного или метастатического очага) в форме фиксированного формалином, залитого парафином блока опухолевой ткани или неокрашенных заряженных предметных стекол, как указано в Графике оценок. Допускается использование как архивной, так и взятой до лечения,

свежей опухолевой ткани. Если архивный образец опухолевой ткани недоступен, субъекту может быть сделана биопсия для получения опухолевой ткани перед лечением в исследовании. Если собирают свежие неокрашенные срезы на заряженных предметных стеклах, то для запланированных исследований на биомаркеры требуется минимум 10 и до 20 предметных стекол от каждого субъекта.

[00628] Если биопсию проводят в качестве стандартной медицинской практики во время лечения в исследовании или в течение периода последующего наблюдения, то образцы опухолевой ткани субъекта собирают и оценивают, как описано в настоящем документе.

[00629] Образцы опухолевой ткани можно исследовать на предмет экспрессии 191P4D12 и PD-L1, маркеров, связанных с подтипом заболевания, и маркеров, связанных с иммунным микроокружением опухоли. Образец опухолевой ткани может использоваться для дополнительных анализов, как описано в настоящем документе и известно средним специалистам в данной области.

6.4.7.2.2. ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ЖИЗНИ И РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ, СООБЩАЕМЫХ ПАЦИЕНТОМ

[00630] Оценка боли

[00631] Субъект оценивает свою боль по шкале от 0 до 10, которая лучше всего описывает наиболее тяжелую боль за последние 24 часа, как указано в Графике оценок. См. 6.4.8.6 Оценка боли.

[00632] Европейский опросник оценки качества жизни (Euro Quality of Life) в 5 категориях

[00633] В день 1 каждого курса и в конце лечения субъект заполняет анкеты EQ-5D-5L. EQ-5D-5L - это стандартизированный инструмент, разработанный группой EuroQOL для применения в качестве общего показателя состояния здоровья на основе предпочтений. Он применим к широкому спектру заболеваний и методов лечения, и обеспечивает простой описательный профиль и единый индексный показатель для оценки состояния здоровья. EQ-5D-5L представляет собой самостоятельную оценку пациентом своей деятельности и самочувствия по 5 пунктам, которая оценивает 5 аспектов состояния здоровья, включающих двигательную активность, самообслуживание, повседневную деятельность, боль/дискомфорт и тревогу/депрессию. Каждая категория включает 5 уровней (проблемы отсутствуют, незначительные проблемы, умеренные проблемы, серьезные проблемы, критические проблемы). Уникальное состояние здоровья по EQ-5D-5L определяется путем комбинирования 1 уровня по каждой из 5 категорий. В этом опроснике также фиксируется самостоятельная оценка состояния здоровья респондента по вертикальной градуированной (от 0 до 100) визуально-аналоговой шкале. Ответы по 5 пунктам также преобразуются во взвешенный индекс состояния здоровья (показатель полезности для здоровья), основанный на значениях, полученных из выборок общей совокупности населения (Herdman, M et al., Qual Life Res 2011;20(10):1727-36). См. 6.4.8.5 EQ-5D-5L.

6.4.8. РЕЗУЛЬТАТ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТА И ЕГО АНАЛИЗ

6.4.8.1. АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ

[00634] Анализ эффективности проводят по FAS, RES и RES-BICR. Анализы, связанные с опухолью, обобщают по RECIST версии 1.1. Конечные показатели эффективности, связанные с оценкой опухоли, анализируют одновременно по BICR и по оценке исследователя.

6.4.8.1.1. АНАЛИЗ ПЕРВИЧНОГО КОНЕЧНОГО ПОКАЗАТЕЛЯ

[00635] Первичный анализ

[00636] Первичным конечным показателем эффективности является подтвержденный ORR по BICR. Подтвержденный ORR определяется как процент субъектов, у которых BOR представляет собой подтвержденный CR или PR по RECIST версии 1.1. Подтвержденный ORR вычисляют для каждой когорты и строят соответствующий 95% доверительный интервал по методу Клоппера-Пирсона. Первичным набором для анализа подтвержденного ORR по BICR является RES-BICR. Также может быть выполнен дополнительный анализ на FAS и RES.

6.4.8.1.2. АНАЛИЗ ВТОРИЧНЫХ КОНЕЧНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ

[00637] **Длительность ответа (DOR)**

[00638] DOR определяется как время от даты первого задокументированного ответа (CR или PR, который впоследствии подтверждают) до даты первого задокументированного PD согласно RECIST версии 1.1 или наступления смерти по любой причине, в зависимости от того, что наступит раньше. DOR рассчитывают только для субъектов, достигающих подтвержденного CR или PR. DOR анализируют с использованием методики Каплана-Мейера и строят графики Каплана-Мейера. Рассчитывают медиану DOR и ее двусторонний 95% ДИ.

[00639] **Процент контроля заболевания (DCR)**

[00640] DCR определяется как процент субъектов, у которых BOR является подтвержденным CR, PR или SD. Рассчитывают DCR для каждой когорты и строят ее 95% доверительный интервал по методу Клоппера-Пирсона.

[00641] **Выживаемость без прогрессирования (PFS)**

[00642] PFS определяется как время от начала лечения в исследовании до первой регистрации PD согласно RECIST версии 1.1 или наступления смерти по любой причине, в зависимости от того, что наступит раньше. PFS анализируют с использованием методики Каплана-Мейера, и получают графики Каплана-Мейера. Рассчитывают медианную PFS и ее двусторонний 95% ДИ.

[00643] **Общая выживаемость (OS)**

[00644] OS определяется как время от начала лечения в исследовании до даты смерти по любой причине. OS анализируют с использованием методики Каплана-Мейера, и получают графики Каплана-Мейера. Рассчитывают медианную OS и ее двусторонний 95% ДИ.

6.4.8.1.3. АНАЛИЗ ДРУГИХ КОНЕЧНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ

[00645] Наилучший общий ответ

[00646] BOR определяют на основе всех доступных данных по ответам опухоли в контрольные точки времени у субъекта. Ответы, зарегистрированные после новой противоопухолевой терапии или прогрессирующего заболевания (PD), исключают из расчета BOR. Таблица частоты BOR представлена для каждой когорты и в целом.

[00647] BOR получают в соответствии со следующими критериями согласно RECIST версии 1.1:

[00648] Если субъект имеет по меньшей мере 2 CR, и при этом первая и последняя даты CR разделены интервалом больше 28 дней, то BOR определяют как подтвержденный CR.

[00649] Если субъект имеет PR и еще один CR/PR с интервалом больше 28 дней, то BOR для этого субъекта считается подтвержденным PR.

[00650] Для субъектов, которые не имеют подтвержденного CR или PR, если субъект имеет по меньшей мере 1 отчет по оценке опухоли с CR/PR/SD, который сделан по меньшей мере через 49 дней после даты получения первой дозы, то тогда BOR определяют как SD.

[00651] Для субъектов, у которых нет подтвержденного CR, подтвержденного PR или SD, определенных, как указано выше, но которые имеют при последней оценке опухоли PD, то их BOR является PD.

[00652] В ином случае BOR определяют как "Не подлежит оценке" (NE) или "Нет данных" (ND) у субъектов без каких-либо данных по оценке опухоли после оценки исходного состояния.

[00653] Сумма диаметров (SOD)

[00654] По RECIST версии 1.1, опухолевую массу измеряют по сумме диаметров (SOD) всех целевых очагов при каждой оценке опухоли. Максимальное процентное уменьшение SOD относительно исходного состояния рассчитывают для каждого субъекта и представляют графически в виде каскадного графика.

[00655] Время до ответа (TTR)

[00656] Время до ответа (TTR) рассчитывают как время от получения первой дозы исследуемого препарата до первой регистрации объективного ответа (CR или PR, который впоследствии подтверждают). TTR рассчитывают только для субъектов, достигших подтвержденного CR или PR. TTR суммируют с использованием описательной статистики.

6.4.8.2. ДРУГИЕ АНАЛИЗЫ

6.4.8.2.1. АНАЛИЗ НА БИОМАРКЕР(Ы)

[00657] Связь между потенциальными геномными и/или другими биомаркерами (включая экспрессию 191P4D12) и клиническими результатами (эффективностью, безопасностью или фармакодинамикой) можно исследовать у субъектов, которые имеют необходимые измерения исходных показателей и показателей в исследовании с получением интерпретируемых результатов для конкретных интересующих параметров.

Биомаркеры можно обобщать графически или описательно, поскольку они относятся к клиническим показателям, в зависимости от обстоятельств. Сводные статистические данные можно обобщить в виде таблицы. Могут быть проведены дополнительные апостериорные анализы, такие как альтернативные подходы к моделированию. Все анализы, описанные в данном разделе, основываются на доступности данных.

6.4.8.2.2. АНАЛИЗ КАЧЕСТВА ЖИЗНИ И ПАРАМЕТРОВ РЕЗУЛЬТАТОВ ЛЕЧЕНИЯ ПО ОЦЕНКЕ ПАЦИЕНТОМ

[00658] Выполняют описательные анализы QOL и PRO. Процент заполнения каждого опросника суммируют.

6.4.8.3. RECIST ВЕРСИИ 1.1

Таблица 1 - Ответ по точкам времени: пациенты с целевым (+/- нецелевым) заболеванием.

Целевые очаги	Нецелевые очаги	Новые очаги	Полный ответ
CR	CR	Нет	CR
CR	Не CR/не PD	Нет	PR
CR	Не оценивали	Нет	PR
PR	Не PD или оценивали не все	Нет	PR
SD	Не PD или оценивали не все	Нет	SD
Оценивали не все	Не PD	Нет	NE
PD	Любые	Да или нет	PD
Любые	PD	Да или нет	PD
Любые	Любые	Да	PD

CR=полный ответ, PR=частичный ответ, SD=стабильное заболевание, PD=прогрессирующее заболевание и NE=не поддающийся оценке.

Таблица 2 - Ответ по точкам времени: только пациенты с нецелевым заболеванием.

Нецелевые очаги	Новые очаги	Полный ответ
CR	Нет	CR
Не CR/не PD	Нет	Не CR/не PD ^a
Оценивали не все	Нет	NE
Однозначный PD	Да или нет	PD
Любые	Да	PD

CR=полный ответ, PD=прогрессирующее заболевание и NE=не поддающийся оценке.

^a Статус 'не CR/не PD' предпочтителен по сравнению со 'стабильным заболеванием' в случае нецелевого заболевания, так как SD все чаще используется в качестве конечного результата при оценке эффективности в некоторых исследованиях, поэтому присваивать эту категорию, когда не удается измерить никакие очаги, не рекомендуется.

Таблица 3 - Наилучший общий ответ, когда требуется подтверждение CR и PR.

Общий ответ Первая точка времени	Общий ответ Следующая точка времени	Наилучший общий ответ
CR	CR	LK
CR	PR	SD, PD или PR ^a
CR	SD	SD, при условии, что удовлетворены минимальные критерии длительности SD, в ином случае - PD
CR	PD	SD, при условии, что удовлетворены минимальные критерии длительности SD, в ином случае - PD
CR	NE	SD, при условии, что удовлетворены минимальные критерии длительности SD, в ином случае - NE
PR	CR	PR
PR	PR	PR
PR	SD	SD
PR	PD	SD, при условии, что удовлетворены минимальные критерии длительности SD, в ином случае - PD
PR	NE	SD, при условии, что удовлетворены минимальные критерии длительности SD, в ином случае - NE
NE	NE	NE

CR=полный ответ, PR=частичный ответ, SD=стабильное заболевание, PD=прогрессирующее заболевание и NE=не поддается оценке.

^a Если CR действительно удовлетворен в первой точке времени, то любое заболевание, отмеченное в следующей точке времени, даже заболевание, соответствующее критериям PR относительно исходного состояния, имеет статус PD в этой точке (поскольку заболевание, должно вновь проявиться после CR). Наилучший ответ будет зависеть от того, была ли удовлетворена минимальная длительность для SD. Впрочем, иногда 'CR' может быть установлен, если последующие сканы указывают, что небольшие очаги все еще могут присутствовать, и на самом деле пациент имеет PR, а не CR, в первой точке времени. При таких обстоятельствах исходный CR нужно изменить на PR, и наилучшим ответом будет PR.

Воспроизведено из: Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, et al. New response evaluation criteria in solid tumors: revised RECIST guideline (version 1.1). Eur J Cancer. 2009; 45:228 47.

6.4.8.4. ПОКАЗАТЕЛЬ ОБЩЕГО СОСТОЯНИЯ ПО ШКАЛЕ ВОСТОЧНОЙ ОБЪЕДИНЕННОЙ ОНКОЛОГИЧЕСКОЙ ГРУППЫ (ECOG)

ОЦЕНКА	ПОКАЗАТЕЛЬ ОБЩЕГО СОСТОЯНИЯ ECOG
0	Полностью активен, способен без ограничения заниматься любой деятельностью, как до заболевания
1	Ограничен в выполнении тяжелой работы, но может передвигаться и выполнять легкую или сидячую работу, например, легкую домашнюю или офисную работу
2	Может передвигаться и способен к полному самообслуживанию, но не способен заниматься трудовой деятельностью; встает и больше 50% времени

	бодрствования проводит в вертикальном положении.
3	Способен только к ограниченному самообслуживанию; лежа или сидя проводит больше 50% времени бодрствования
4	Полная инвалидность; неспособность к минимальному самообслуживанию; полностью прикован к постели или креслу
5	Смерть

ECOG: Восточная Объединенная Онкологическая Группа

Воспроизведено из: Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. Am J Clin Oncol. 1982; 5:649-55.

6.4.8.5. EQ-5D-5L

Под каждым заголовком, пожалуйста, отметьте галочкой ОДИН квадрат, лучше всего описывающий Ваше здоровье СЕГОДНЯ

ПОДВИЖНОСТЬ

- Я не испытываю трудностей при ходьбе ☐
- Я испытываю небольшие трудности при ходьбе ☐
- Я испытываю умеренные трудности при ходьбе ☐
- Я испытываю серьезные трудности при ходьбе ☐
- Я не могу ходить ☐

САМООБСЛУЖИВАНИЕ

- Мне не сложно мыться или одеваться ☐
- Мне немного сложно мыться или одеваться ☐
- Мне умеренно сложно мыться или одеваться ☐
- Мне тяжело мыться или одеваться ☐
- Я не способен сам мыться или одеваться ☐

ПОВСЕДНЕВНАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ

(например, работа, учеба, домашние дела, семейный досуг или отдых)

- Я не испытываю трудностей в своей повседневной деятельности ☐
- Я испытываю небольшие трудности в своей повседневной деятельности ☐
- Я испытываю умеренные трудности в своей повседневной деятельности ☐
- Я испытываю серьезные трудности в своей повседневной деятельности ☐
- Я не могу заниматься своей повседневной деятельностью ☐

БОЛЬ/ДИСКОМФОРТ

- Я не испытываю боли или дискомфорта ☐
- Я испытываю небольшую боль или дискомфорт ☐
- Я испытываю умеренную боль или дискомфорт ☐
- Я испытываю сильную боль или дискомфорт ☐
- Я испытываю крайне сильную боль или дискомфорт ☐

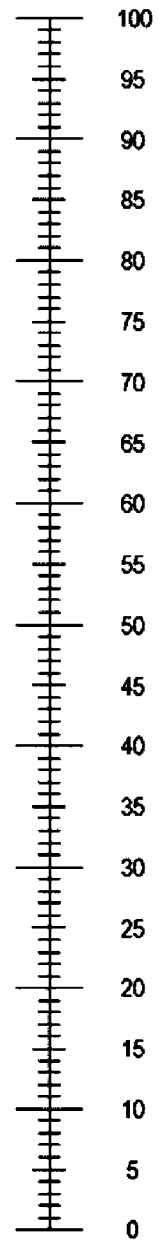
ТРЕВОГА/ДЕПРЕССИЯ

- Я не испытываю тревоги или депрессии ☐
- Я испытываю небольшую тревогу или депрессию ☐
- Я испытываю умеренную тревогу или депрессию ☐
- Я испытываю сильную тревогу или депрессию ☐
- Я испытываю крайне сильную тревогу или депрессию ☐

- Мы хотели бы узнать, как Вы оцениваете состояние своего здоровья СЕГОДНЯ.
- Перед Вами шкала от 0 до 100.
- 100 означает наилучшее состояние здоровья, которое вы можете представить.
0 – наихудшее состояние здоровья, которое вы можете представить.
- Поставьте крестик "X" на шкале, чтобы обозначить место, которое соответствует состоянию Вашего здоровья СЕГОДНЯ.
- Теперь впишите число, отмеченное Вами на шкале, в приведенный ниже квадрат.

СОСТОЯНИЕ ВАШЕГО
ЗДОРОВЬЯ СЕГОДНЯ =

Наилучшее
состояние здоровья,
которое Вы можете себе
представить



Наихудшее
состояние здоровья,
которое Вы можете себе
представить

6.4.8.6. ОЦЕНКА БОЛИ

Номер исследования _____	Номер субъекта _____
Опросник оценки боли	

Пожалуйста, оцените свою боль, обведя число, которое лучше всего описывает вашу самую сильную боль за последние 24 часа.

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Нет боли										Боль настолько сильная, насколько Вы можете себе представить

6.4.8.7. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И ИХ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ С УЧАСТИЕМ ЧЕЛОВЕКА

Список сокращений

Сокращения	Описание сокращений
ADC	конъюгат антитела-лекарственного средства
АЕ	нежелательное явление
ALK	киназа анапластической лимфомы
ЩФ	щелочная фосфатаза
АЛТ	аланинаминотрансфераза
АСТ	аспартатаминотрансфераза
АТ	аминотрансфераза
АТА	антитерапевтические антитела
BICR	независимая централизованная оценка без доступа к коду
BOP2	Байесовская оптимальная схема фазы 2
BOR	наилучший общий ответ
СНО	Яичник китайского хомячка
ЦНС	центральная нервная система
CR	полный ответ
CRF	индивидуальная регистрационная карта
СТ	компьютерная томография
DCR	темп борьбы с болезнями
DOR	продолжительность ответа
ECD	внеклеточный домен
ЭКГ	электрокардиограмма
ECOG	Восточная объединенная онкологическая группа
EGFR	рецептор эпидермального фактора роста
EOT	конец лечения
EQ-5D-5L	шкала EuroQOL по 5 категориям
ЭР	эстрогеновый рецептор
FAS	полная выборка для анализа
FDA	Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США
СКФ	скорость клубочковой фильтрации
ЖК	желудочно-кишечный
ХГЧ	хорионический гонадотропин человека
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека

ВПЧ	вирус папилломы человека
ICF	форма информированного согласия
IDMC	Независимый комитет по мониторингу данных
IEC	Независимый комитет по этике
IRB	Экспертный совет учреждения
IRT	Интерактивная технология ответа
MMAE	мометилауристатин Е
NGS	секвенирование следующего поколения
НМРЛ	немелкоклеточный рак легкого
ORR	процент субъектов с объективным ответом
OS	общая выживаемость
PARP	поли(АДФ-рибоза)полимераза
МКПК	моноклеарные клетки периферической крови
PD	прогрессирующее заболевание
PFS	выживаемость без прогрессирования
ФК	фармакокинетика
PR	частичный ответ
PRO	результат лечения по оценке пациента
QOL	качество жизни
RECIST	Критерии оценки ответа при солидных опухолях
RES	выборка для оценки ответа
SD	стабильное заболевание
SOD	сумма диаметров
TEAE	нежелательное явление, возникшее после начала лечения
TNBC	трижды негативный рак молочной железы
TTR	время до ответа
УР	уротелиальный рак
ВГН	верхняя граница нормы
WOCBP	женщины с детородным потенциалом

6.4.8.8. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕРМИНОВ, ИСПОЛЗУЕМЫХ В КЛИНИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ

Термины	Определение терминов
Исходное состояние	Оценки субъектов при регистрации в исследовании, проводимые до того как они пройдут какое-либо лечение.
Конечный показатель	Переменная, которая относится к оценкам эффективности или безопасности исследования. Примечание: Не все конечные показатели являются, собственно, оценками, так как некоторые конечные показатели могут относиться к совокупностям пациентов или появляться в результате анализа результатов. Таким образом, конечные показатели могут быть фактами, касающимися оценок (например, продлением выживаемости).
Включать в исследование	Регистрировать или вводить субъекта в исследование после скрининг.
Вмешательство	Лекарственное средство, устройство, терапия или процесс, исследуемые в исследовании, которые, как предполагают, будут влиять на интересующие результаты в исследовании (например, связанные с состоянием здоровья показатели QOL, эффективность, безопасность и фармакоэкономические показатели).
Скрининг	Процесс активной оценки потенциальных участников на предмет

Термины	Определение терминов
	включения в исследование.
Отсев по результатам скрининга	Потенциальный участник, который подписал форму ICF, но не соответствовал 1 или более критериям, требуемым для участия в исследовании, и не был зарегистрирован в исследовании.
Период скрининга	Период времени до начала периода исследования, обычно с момента подписания субъектом формы согласия непосредственно до того, как субъект получает тестируемый препарат или препарат сравнения (иногда без рандомизации). Период исследования - период времени, в течение которого наблюдают основные целевые показатели протокола, и когда субъект получает тестируемый препарат или препарат сравнения (иногда без рандомизации), и который продолжается до последней оценки после завершения введения тестируемого препарата или препарата сравнения.
Период исследования	Период времени от даты начала работы первого исследовательского центра до даты работы последнего исследовательского центра, завершающего исследование.

7. СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

Настоящее описание подано вместе с копией Списка последовательностей в машиночитаемой форме (CRF). CRF под названием 14369-248-228_SEQ_LISTING.txt, созданный 30 июля 2020 года, имеет размер 39675 байт и полностью включен в настоящий документ посредством отсылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства,

где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина E (MMAE), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и

где субъект имеет гормон-рецептор-положительный и рецептор эпидермального фактора роста 2 человека-отрицательный (ГР+/HER2-) рак молочной железы.

2. Способ по п.1, где ГР+/HER2- рак молочной железы является эстроген-рецептор (ЭР) положительным и/или прогестерон-рецептор (ПР) положительным и HER2-отрицательным.

3. Способ по п.1 или п.2, где субъект имеет местнораспространенный или метастатический рак.

4. Способ по любому из пп.1-3, где субъект ранее получил по меньшей мере одну линию эндокринной терапии и ингибитор циклинзависимой киназы (CDK) 4/6 при лечении метастатического или местнораспространенного рака.

5. Способ по любому из пп.1-4, где субъект ранее прошел лечение таксаном или антрациклином.

6. Способ по любому из пп.1-5, где субъект имеет опасную гаметную мутацию в гене предрасположенности к раку молочной железы (BRCA) 1 или BRCA2, и где субъект ранее прошел лечение ингибитором поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP).

7. Способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства,

где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина E (MMAE), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и

где субъект имеет ЭР-отрицательный, ПР-отрицательный и HER2-отрицательный (ЭР-/ПР-/HER2-) рак молочной железы (трижды негативный рак молочной железы -

ТНPMЖ).

8. Способ по п.7, где субъект имеет местнораспространенный или метастатический рак.

9. Способ по п.7 или п.8, где субъект ранее получил по меньшей мере две линии системных терапий.

10. Способ по п.9, где субъект ранее прошел лечение таксаном.

11. Способ по любому из пп.7-10, где субъект имеет опасную гаметную мутацию в гене предрасположенности к раку молочной железы (BRCA) 1 или BRCA2, и где субъект ранее прошел лечение ингибитором поли(АДФ-рибоза)-полимеразы (PARP).

12. Способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства,

где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина E (MMAE), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и

где субъект имеет плоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого (HMPЛ).

13. Способ по п.12, где субъект имеет местнораспространенный или метастатический рак.

14. Способ по п.12 или п.13, где субъект испытал прогрессирование или рецидив после терапии препаратом платины.

15. Способ по п.14, где субъект испытал прогрессирование или рецидив в течение 12 месяцев после терапии препаратом платины.

16. Способ по любому из пп.12-15, где субъект ранее получил терапию с применением ингибитора белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-1) или ингибитора лиганда белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-L1), где, необязательно, ингибитором PD-1 является ниволумаб, и где, необязательно, ингибитор PD-L1 выбран из группы, состоящей из атезолизумаба, авелумаба и дурвалумаба.

17. Способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства,

где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина E (MMAE), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи,

представленные в SEQ ID NO:22, и вариабельную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей вариабельной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и

где субъект имеет неплоскоклеточный НМРЛ.

18. Способ по п.17, где субъект имеет рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) дикого типа и киназу анапластической лимфомы (ALK) дикого типа.

19. Способ по п.17 или п.18, где субъект имеет местнораспространенный или метастатический рак.

20. Способ по любому из пп.17-19, где субъект испытал прогрессирование или рецидив после терапии препаратом платины.

21. Способ по п.20, где субъект испытал прогрессирование или рецидив в течение 12 месяцев после терапии препаратом платины.

22. Способ по любому из пп.17-21, где субъект ранее получил терапию с применением ингибитора белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-1) или ингибитора лиганда белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-L1), где, необязательно, ингибитором PD-1 является ниволумаб, и где, необязательно, ингибитор PD-L1 выбран из группы, состоящей из атезолизумаба, авелумаба и дурвалумаба.

23. Способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства,

где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина E (MMAE), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает вариабельную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей вариабельной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и вариабельную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей вариабельной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и

где субъект имеет местнораспространенный или метастатический рак головы и шеи.

24. Способ по п.23, где субъект испытал прогрессирование или рецидив после терапии препаратом платины.

25. Способ по п.24, где субъект испытал прогрессирование или рецидив в течение 6 месяцев после терапии препаратом платины.

26. Способ по любому из пп.23-25, где субъект ранее получил терапию с применением ингибитора белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-1) или ингибитора лиганда белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-L1), где, необязательно, ингибитором PD-1 является ниволумаб, и где, необязательно, ингибитор PD-L1 выбран из группы, состоящей из атезолизумаба, авелумаба и дурвалумаба.

27. Способ предупреждения или лечения рака у субъекта, включающий введение

субъекту эффективного количества конъюгата антитела-лекарственного средства,

где конъюгат антитела-лекарственного средства включает антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с 191P4D12, конъюгированные с одной или более единицами монометилауристатина E (MMAE), где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую определяющие комплементарность области (CDR-области), включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области тяжелой цепи, представленные в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую CDR-области, включающие аминокислотные последовательности CDR-областей переменной области легкой цепи, представленные в SEQ ID NO:23; и

где субъект имеет рак желудка или пищевода.

28. Способ по п.27, где субъект имеет местнораспространенный или метастатический рак.

29. Способ по п.27 или п.28, где субъект испытал прогрессирование или рецидив после терапии препаратом платины и/или химиотерапии, которая включала фторпиримидин.

30. Способ по п.29, где субъект испытал прогрессирование или рецидив в течение 6 месяцев после терапии препаратом платины или химиотерапии, которая включала фторпиримидин.

31. Способ по любому из пп.27-30, где рак желудка или пищевода является HER2-положительным раком, и где субъект ранее получил HER2-направленную терапию.

32. Способ по любому из пп.1-31, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает CDR H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9, CDR H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10, CDR H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:11; CDR L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:12, CDR L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, и CDR L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14, или

где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включают CDR H1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR H2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, CDR H3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18 SEQ; CDR L1, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, CDR L2, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20, и CDR L3, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21.

33. Способ по любому из пп.1-31, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент включает переменную область тяжелой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, включающую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:23.

34. Способ по любому из пп.1-31, где антитело включает тяжелую цепь,

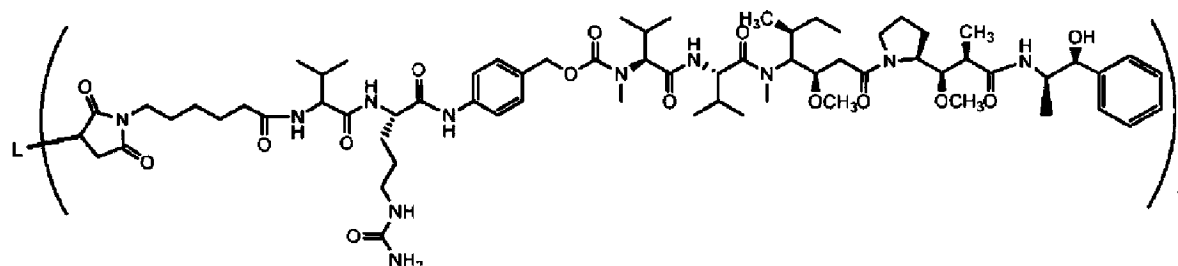
включающую аминокислотную последовательность, идущую от 20-й аминокислоты (глутаминовой кислоты) до 466-й аминокислоты (лизина) SEQ ID NO:7, и легкую цепь, включающую аминокислотную последовательность, идущую от 23-й аминокислоты (аспарагиновой кислоты) до 236-й аминокислоты (цистеина) SEQ ID NO:8.

35. Способ по любому из пп.1-34, где антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, F(ab')₂, Fv или scFv-фрагмент.

36. Способ по любому из пп.1-35, где антитело является полностью человеческим антителом.

37. Способ по любому из пп.1-36, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент получают рекомбинантно.

38. Способ по любому из пп.1-37, где конъюгат антитела-лекарственного средства имеет следующую структуру:



где L- представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и p равно от 1 до 10.

39. Способ по п.38, где p равно от 2 до 8.

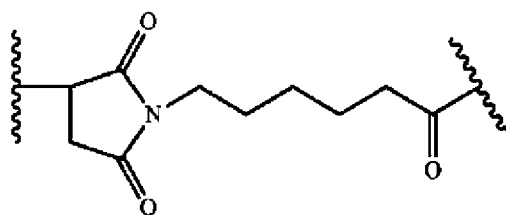
40. Способ по п.38, где p равно от 3 до 5.

41. Способ по любому из пп.1-40, где антитело или антигенсвязывающий фрагмент соединены с каждой единицей монометилауристатина E (MMAE) через линкер.

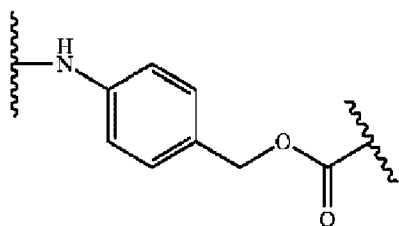
42. Способ по п.41, где линкер является ферментно расщепляемым линкером, и где линкер образует связь с атомом серы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

43. Способ по п.41, где линкер имеет формулу: -A_a-W_w-Y_y-; где -A- представляет собой удлиняющую единицу, a равно 0 или 1; -W- является аминокислотной единицей, w является целым числом в пределах от 0 до 12; и -Y- является спейсерной единицей, y равно 0, 1, или 2.

44. Способ по п.43, где удлиняющая единица имеет структуру Формулы (1) ниже; аминокислотной единицей является валин-цитруллин; и спейсерная единица представляет собой группу PAB, включающую структуру Формулы (2) ниже:



Формула (1)



Формула (2).

45. Способ по п.43, где удлиняющая единица образует связь с атомом серы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента; и где спейсерная единица соединена с ММАЕ через карбаматную группу.

46. Способ по любому из пп.1-37, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает от 1 до 10 единиц ММАЕ на антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

47. Способ по любому из пп.1-37, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает от 2 до 8 единиц ММАЕ на антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

48. Способ по любому из пп.1-37, где конъюгат антитела-лекарственного средства включает от 3 до 5 единиц ММАЕ на антитело или его антигенсвязывающий фрагмент.

49. Способ по любому из пп.1-48, где конъюгат антитела-лекарственного средства вводят в дозе 1-10 мг/кг массы тела субъекта, 1-5 мг/кг массы тела субъекта, 1-2,5 мг/кг массы тела субъекта или 1-1,25 мг/кг массы тела субъекта.

50. Способ по п.49, где конъюгат антитела-лекарственного средства вводят в дозе приблизительно 1 мг/кг массы тела субъекта.

51. Способ по п.49, где конъюгат антитела-лекарственного средства вводят в дозе приблизительно 1,25 мг/кг массы тела субъекта.

52. Способ по любому из пп.1-51, где конъюгат антитела-лекарственного средства вводят путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии.

53. Способ по любому из пп.1-51, где конъюгат антитела-лекарственного средства вводят путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии приблизительно в течение 30 минут, два раза в течение каждого трехнедельного курса.

54. Способ по любому из пп.1-51, где конъюгат антитела-лекарственного средства вводят путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии приблизительно в течение 30 минут в Дни 1 и 8 каждого трехнедельного курса.

55. Способ по любому из пп.1-51, где конъюгат антитела-лекарственного средства вводят путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии приблизительно в течение 30 минут, три раза в течение каждого четырехнедельного курса.

56. Способ по любому из пп.1-51, где конъюгат антитела-лекарственного средства, включенный в состав фармацевтической композиции, вводят путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии приблизительно в течение 30 минут, в Дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного курса.

По доверенности

ФИГ. 1А

Последовательность кДНК (SEQ ID NO:1) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO:2) 191P4D12. Стартовый метионин подчеркнут. Открытая рамка считывания идет от нуклеиновой кислоты 264-1796, включая стоп-кодон

```
1  ggccgtcgttgttggccacagcgtgggaagcagctctgggggagctcggagctcccgatc
61  acggcttcttgggggtagctacggctgggtgtgtagaacggggccggggctggggctggg
121  tcccctagtggagaccaagtgcgagaggcaagaactctgcagcttctgccttctgggt
181  cagttccttattcaagtctgcagccggctcccagggagatctcggtggaacttcagaaac
1      M P L S L G A E M W G P E
241  gctgggcagctctgcctttcaaccATGCCCCCTGTCCCTGGGAGCCGAGATGTGGGGGCCTG
14   A W L L L L L L L A S F T G R C P A G E
301  AGGCCTGGCTGCTGCTGCTGCTACTGCTGGCATCATTTACAGGCCGGTGCCCCGCGGGTG
34   L E T S D V V T V V L G Q D A K L P C F
361  AGCTGGAGACCTCAGACGTGGTAAGTGTGGTGCTGGGCCAGGACGAAAAGTGCCTGCT
54   Y R G D S G E Q V G Q V A W A R V D A G
421  TCTACCGAGGGGACTCCGGCGAGCAAGTGGGGCAAGTGGCATGGGCTCGGGTGGACGCGG
74   E G A Q E L A L L H S K Y G L H V S P A
481  GCGAAGGCGCCAGGAAGTAGCGCTACTGCACTCCAAATACGGGGCTTCATGTGAGCCCGG
94   Y E G R V E Q P P P P R N P L D G S V L
541  CTTACGAGGGCCGCGTGGAGCAGCCGCCGCCCCACGCAACCCCTGGACGGCTCAGTGC
114  L R N A V Q A D E G E Y E C R V S T F P
601  TCCTGCGCAACGCAGTGCAGGCGGATGAGGGCGAGTACGAGTGCCGGGTGAGCACCTTCC
134  A G S F Q A R L R L R V L V P P L P S L
661  CCGCCGGCAGCTTCCAGGCGCGGCTGCGGCTCCGAGTGCTGGTGCCTCCCCTGCCCTCAC
154  N P G P A L E E G Q G L T L A A S C T A
721  TGAATCCTGGTCCAGCACTAGAAGAGGGCCAGGGCCTGACCCTGGCAGCCTCCTGCACAG
174  E G S P A P S V T W D T E V K G T T S S
781  CTGAGGGCAGCCCAGCCCCAGCGTGACCTGGGACACGGAGGTCAAAGGCACAACGTCCA
194  R S F K H S R S A A V T S E F H L V P S
841  GCCGTTTCCTTCAAGCACTCCCGCTCTGCTGCCGTCACCTCAGAGTTCCAATTGGTGCCTA
214  R S M N G Q P L T C V V S H P G L L Q D
901  GCCGCAGCATGAATGGGCAGCCACTGACTTGTGTGGTGTCCCATCCTGGCCTGCTCCAGG
234  Q R I T H I L H V S F L A E A S V R G L
961  ACCAAAGGATCACCCACATCCTCCACGTGTCTTCCTTGCTGAGGCCTCTGTGAGGGGCC
254  E D Q N L W H I G R E G A M L K C L S E
1021 TTGAAGACCAAAATCTGTGGCACATTGGCAGAGAAGGAGCTATGCTCAAGTGCCTGAGTG
274  G Q P P P S Y N W T R L D G P L P S G V
1081 AAGGGCAGCCCCCTCCCTCATACAACTGGACACGGCTGGATGGGCCTCTGCCAGTGGGG
294  R V D G D T L G F P P L T T E H S G I Y
1141 TACGAGTGGATGGGGACACTTTGGGCTTTCCCCCACTGACCACTGAGCACAGCGGCATCT
314  V C H V S N E F S S R D S Q V T V D V L
1201 ACGTCTGCCATGTCTAGCAATGAGTTCTCCTCAAGGGATTCTCAGGTCACTGTGGATGTT
      D P Q E D S G K Q V D L V S A S V V V V
```

1261 TTGACCCCCAGGAAGACTCTTGGGAAGCAGGTGGACCTAGTGTCAGCCCTCGGTGGTGGTGG
354 G V I A A L L F C L L V V V V V L M S R
1321 TGGGTGTGATCGCCGCACTCTTGTTCGCCTTCTGGTGGTGGTGGTGGTGCATGTCCC
374 Y H R R K A Q Q M T Q K Y E E E L T L T
1381 GATAACCATCGGCGCAAGGCCAGCAGATGACCCAGAAATATGAGGAGGAGCTGACCCTGA
394 R E N S I R R L H S H H T D P R S Q P E
1441 CCAGGGAGAACTCCATCCGGAGGCTGCATTCCCATCACACGGACCCCAGGAGCCAGCCGG
414 E S V G L R A E G H P D S L K D N S S C
1501 AGGAGAGTGTAGGGCTGAGAGCCGAGGGCCACCCTGATAGTCTCAAGGACAACAGTAGCT
434 S V M S E E P E G R S Y S T L T T V R E
1561 GCTCTGTGATGAGTGAAGAGCCCCGAGGGCCGAGTTACTCCACGCTGACCACGGTGAGGG
454 I E T Q T E L L S P G S G R A E E E E D
1621 AGATAGAAAACACAGACTGAACTGCTGTCTCCAGGCTCTGGGCGGGCCGAGGAGGAGGAAG
474 Q D E G I K Q A M N H F V Q E N G T L R
1681 ATCAGGATGAAGGCATCAAACAGGCCATGAACCATTTTGTTCAGGAGAATGGGACCCTAC
494 A K P T G N G I Y I N G R G H L V *
1741 GGGCCAAGCCCACGGGCAATGGCCTCTACATCAATGGGCGGGGACACCTGGTCTGAccca
1801 ggccctgcctccccttccccctagggcctggttcctttctgttgacatgggagatttttagctcatc
1861 ttggggcgctcctttaaacacccccattttcttgcggaagtgtccccatcccactgactg
1921 cttgacctttacctccaacccttctgttcacgtgggagggtccaccaattgagtctctcc
1981 caccatgcatgcaggtcactgtgtgtgtgatgtgtgcctgtgtgagtgttgactgactg
2041 tgttgtgtgtggaggggtgactgtccgtggaggggtgactgtgtccgtggtgtgtattatg
2101 ctgtcatatcacagagtcaagtgaactgtggtgtatgtgccacgggatttgagtggttgcgt
2161 gggcaacactgtcaggggtttggcggtgtgtgtcatgtggctgtgtgtgacctctgcctgaa
2221 aaagcaggtatTTTTctcagaccccagagcagtattaatgatgcagaggttgaggagaga
2281 ggtgggagactgtggctcagacccaggtgtgcgggcatagctggagctggaatctgcctcc
2341 ggtgtgagggaaacctgtctcctaccacttcggagccatgggggcaagtgtgaagcagcca
2401 gtccctgggtcagccagaggcttgaaactgttacagaagccctctgccctctggtggcctc
2461 tgggcctgctgcatgtacatatTTTTctgtaaataacatgcgccgggagcttcttgccagg
2521 aatactgtccgaatcactTTTTaatTTTTttctTTTTTTTTcttgccctttccattagt
2581 tgtattTTTTtatTTatTTTTatTTTTatTTTTTTTTtagagatggagtctcactatgttgc
2641 tcaggctggccttgaaactcctgggctcaagcaatcctcctgcctcagcctccctagttagc
2701 tgggactTTtaagtgtacaccaactgtgcctgctTTgaatcctTTaogaagagaaaaaaaaa
2761 attaaagaaaagcctTTtagatttatccaatgtttactactgggattgcttaaagtgaggcc
2821 cctccaacaccaggggggttaatcctgtgatttgtgaaaggggctaactccaaggcatctt
2881 catgcaggcagcccttgggagggcacctgagagctggtagagtctgaaattagggatgt
2941 gagcctcgtgggttactgagtaaggtaaaattgcatccaccattgTTTgtgataccttagg
3001 gaattgcttgacctggtgacaagggctcctgttcaatagtgggtgttgaggagagagaga
3061 gcagtgattatagaccgagagagtaggagttgaggtgaggtgaaggaggtgctgggggtg
3121 agaatgtgcctttccccctgggttttggatcataattcaaggtcttctggatgttcc
3181 tetgggttggggtgaggttcaatgaggtttatTTTTtagctggccaccagatacactc
3241 agccagaatacctagatttagtacccaaactcttcttagctogaaatctgctggatttct
3301 ggccctaagggagaggctcccatccttctgttccccagccagcctaggacttcgaatgtgga
'cctgaagatctaagatcctaacatgtacattttatgtaaataatgtgcataatttgtaacat
3421 aaaatgatattctgttttttaataaacagacaaaaacttgaaaa

ФИГ. 1В

3/8

Последовательность кДНК (SEQ ID NO:3) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO:4) тяжелой цепи Ha22-2(2,4)6.1. Лидерная последовательность подчеркнута двойной линией, варибельная область тяжелой цепи подчеркнута одинарной линией, и константная область IgG1 человека подчеркнута пунктирной линией

```

1      M E L G L C W V F L V A I L E
GGTGATCAGCACTGAACACAGAGGACTCACCATGGAGTTGGGGCTGTGCTGGGTTTTCCTTGTGCTATTTAG
· G V Q C E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S
76    AGGTGTTCCAGTGTGAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTACAGCCTGGGGGTCCCTGAGACTCTC
· C A A S G F T F S S Y N M N W V R Q A P G K G L E
151   CTGTGCAGCCTCTGGATTACCTTCAGTAGCTATAACATGAAGTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGCTGGA
· W V S Y I S S S S S T I Y Y A D S V K G R F T I S
226   GTGGGTTTCATACATTAGTAGTAGTAGTACCATACTACGCAGACTCTGTGAAGGGCCGATTACCATCTC
· R D N A K N S L Q M N S L R D E D T A V Y Y C
301   CAGAGACAATGCCAAGAACTCACTGTCTCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGACGAGGACACGGCTGTGTATTACTG
· A R A Y Y Y G M D V W G Q G T T V T V S S A S T K
376   TGCGAGAGCATACTACTACGGTATGGACGTCTGGGGCCAAAGGGACACGGTCAACGCTCTCCTCAGCCTCCACCAA
· G P S V F P L A P S S Y N M N W V R Q A P G K G L E
451   GGGGCCATCGGTCTTCCCTTGGCACCCCTCTCCAAGAGCACCTCTGGGGGACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGT
· K D Y F P E P V T V S W N S G A L T S G V H T F P
526   CAAGGACTACTTCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGTGGAAGTCAAGGCGCCCTGACAGCGCGTGCACACCTTCCC
· A V L Q S L Y S L S V V T V P S S S L T Q
601   GGCTGTCTTACAGTCTCTCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGGGCACCCA
· T Y I C N V N H K P S N T R V D R R V E F K S C D
676   GACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAGAGTTGAGCCCCAAATCTTGTGA
· K T H T C P P C P A P E L L G G P S V F L F P P K
751   CAAACTCACACATGCCACCGTGGCCAGCACCTGAAGTCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAA
· P K D T L M I S R T P E V T C V V V D V S H E D P
826   ACCCAAAGCACCCCTCATGATCTCCCGGACCCCTGAGGTCAATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAAGACCC
· E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y
901   TGAGGTCAAGTTCAACTGCTACGTGGACGGCTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTA
· N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C
976   CAACAGCACGTACCGTGTGGTCAAGCTCTCAACCTCTGCACCAAGGACTGGTGAATGGCAAGGAGTACAAGT
· K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P
1051  CAAGGTCTCCAAACAAAGCCCTCCCGAGCCCTTCGAGAAACCATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCGAGAACCC
· Q V Y T L P P S R E E M T K N Q V S L T C L V K G
1126  ACAGCTCTACACCCCTGCCCTTCCCGGAGGAGATGACCAAGAACCAAGTCAAGCTGACCTGCCCTGCTCAAGG
· F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T P P
1201  CTTCTATCCCGAGACATCCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGAGCCGGAGAACAACTACAAGACACGCTCC
· V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N
1276  CGTGTGCACTCCGACGGCTCTCTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAA
· V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S P G
1351  CGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGG
· K *
1426  TAAATGA

```

ФИГ. 1С

Последовательность кДНК (SEQ ID NO:5) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO:6) легкой цепи Ha22-2(2,4)6.1. Лидерная последовательность подчеркнута двойной линией, варибельная область легкой цепи подчеркнута одинарной линией, и константная область каппа человека подчеркнута пунктирной линией

```

1      M D M R V P A Q L L G L L L L W F
AGTCAGACCCAGTCAAGACACAGCATGGACATGAGGGTCCCCGCTCAGCTCCTGGGGCTCCTGCTGCTCTGGTTC
P G S R C D I Q M T Q S P S S V S A S V G D R V T
76    CCAGGTTCAGATGCGACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTTGGAGACAGAGTCACC
· I T C R A S Q G I S G W L A W Y Q Q K P G K A P K
151   ATCACTTGTCCGGCGAGTCAGGGTATTAGCGGCTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAACAGGGAAAGCCCTAAG
· F L I Y A A S T L Q S G V P S R F S G S G T D
226   TTCTGTATCTATGCTGCATCCACTTTGCAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTCAAGCGGAGTGGATCTGGGACAGAT
· F T L T I S S L Q P E D F A T Y Y C Q Q A N S F P
301   TTCACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATGTCAACAGGCTAACAGTTTCCCT
· P T F G G G K V E I K R T V A A P S V F I F P P
376   CCCCTTTTCGGCGGAGGGACCAAGGTGGAGATCAAACGAAGTGTGGCTGCACCATCTGTCTTCATCTTCCCGCCA
· S D E Q L K S G T A S V V C L L N N F Y P R E A K
451   TCTGATGAGCAGTTGAAATCTGGAAGTGCCTCTGTGTGTGCTGCTGAATAACTTCTATCCAGAGAGGCCAAA
· V Q W K V D N A L Q S G N S Q E S V T E Q D S K D
526   GTACAGTGGAAGTGGATAACGCCCTCCAATCGGTAACTCCAGGAGAGTGTACAGAGCAGGACGCAAGGAC
· S T Y S L S S T L T L S K A D Y E K H K V Y A C E
601   ACCACTTACAGCCTCAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAGCAGACTACGAGAAACACAAAGTCTACGCCTGCGGAA
· H Q G L S S P V T K S F N R G E C *
-----CCATCAGGGCCTGAGCTCGCCCGTCACAAAGAGCTTCAACAGGGGAGAGTGTAG

```

ФИГ. 1D

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO:7) тяжелой цепи Ha22-2(2,4)6.1. Лидерная последовательность подчеркнута двойной линией, вариабельная область тяжелой цепи подчеркнута одинарной линией (SEQ ID NO:22, которая является последовательностью, идущей от 20-й до 136-й аминокислоты SEQ ID NO:7), и константная область IgG1 человека подчеркнута пунктирной линией.

```

1  MELGLCWVFLVAILEGVOCEVOLVESGGGLVOPGGSLRLSCAASGFTFSS
51 YNMNVWRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLSL
101 QMNSLRDEDTAVYYCARAYYYGMDVWGQGTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
151 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
201 LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPA
251 PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
301 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
351 IEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
401 ESNGQOPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQOGNVFSCSVMHEA
451 LHNHYTQKSLSLSPGK

```

ФИГ. 1E

Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO:8) легкой цепи Ha22-2(2,4)6.1. Лидерная последовательность подчеркнута двойной линией, вариабельная область легкой цепи подчеркнута одинарной линией (SEQ ID NO:23, которая является последовательностью, идущей от 23-й до 130-й аминокислоты SEQ ID NO:8), и константная область каппа человека подчеркнута пунктирной линией.

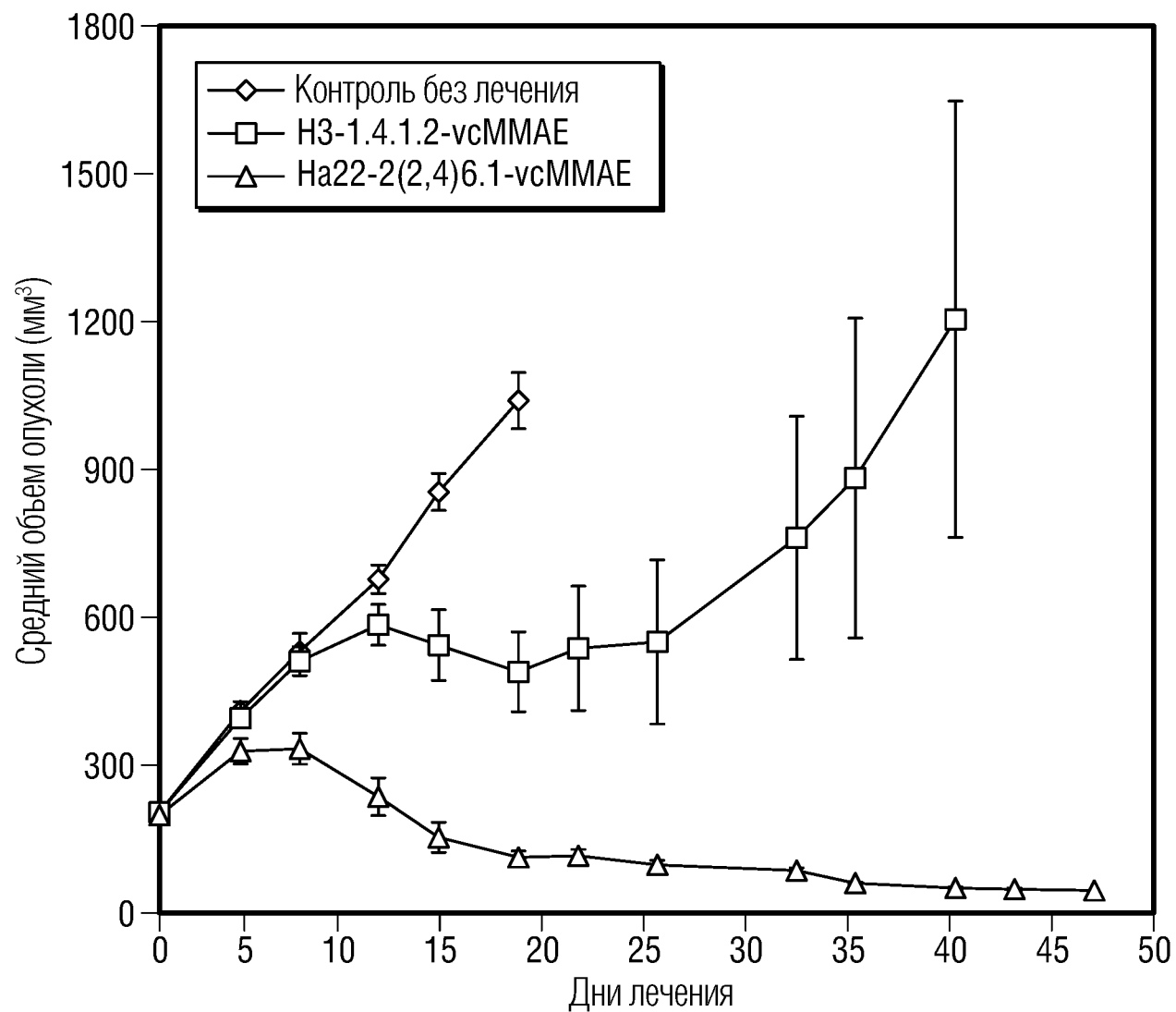
```

1  MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQG
51 ISGWLAWYQQKPGKAPKFLIYAASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISL
101 QPEDFATYYCQQANSFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
151 TASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSST
201 LTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

```

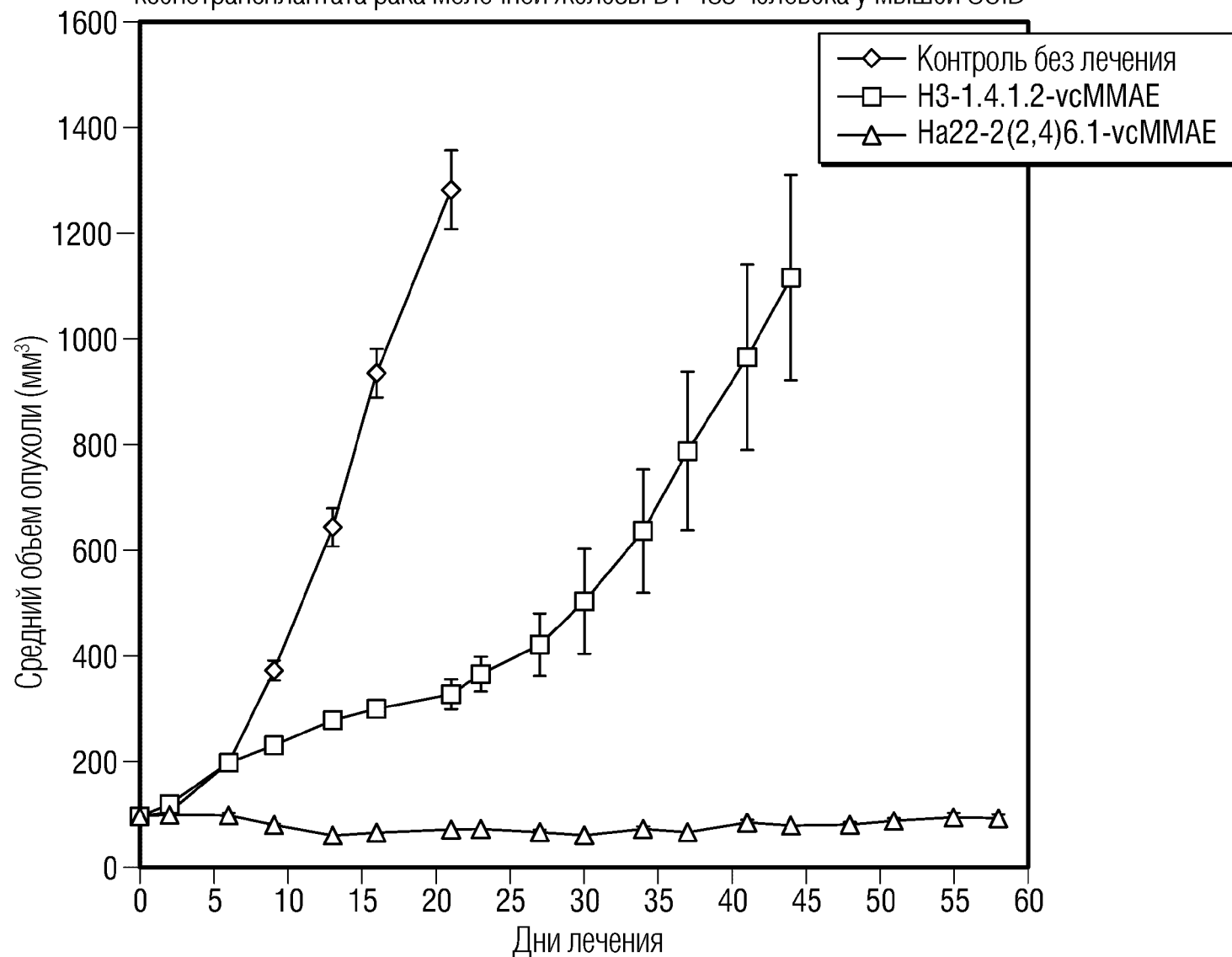
ФИГ. 2

Эффективность Ha22-2(2,4)6.1-vcMMAE при подкожном приживлении
ксенотрансплантата рака легкого AG-L4 человека у мышей SCID

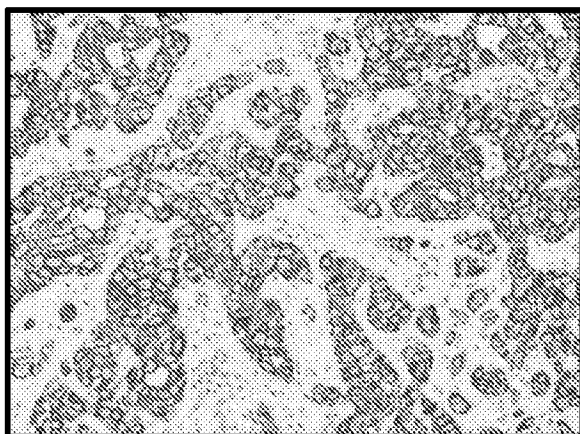


ФИГ. 3

Эффективность Ha22-2(2,4)6.1-vcMMAE при подкожном приживлении ксенотрансплантата рака молочной железы BT-483 человека у мышей SCID

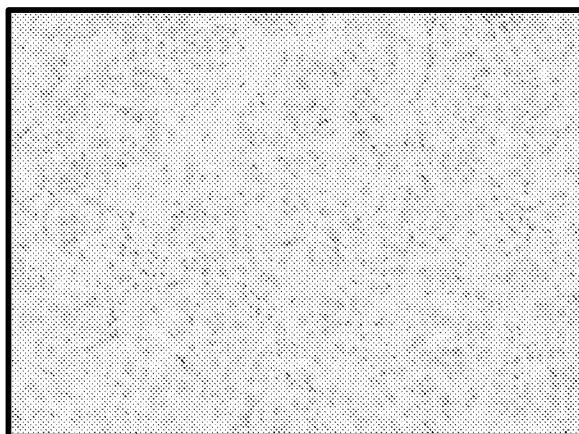


Образец рака молочной железы



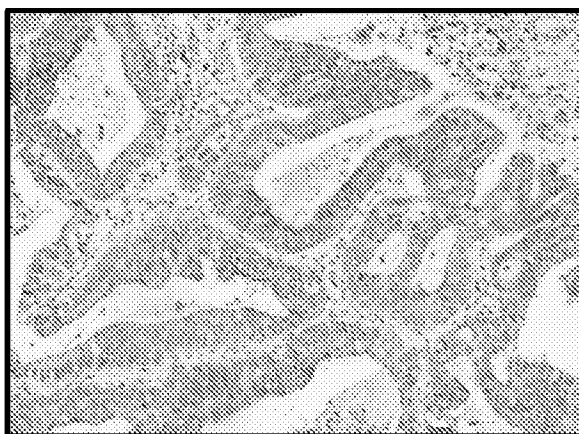
ФИГ. 4А

Образец рака молочной железы



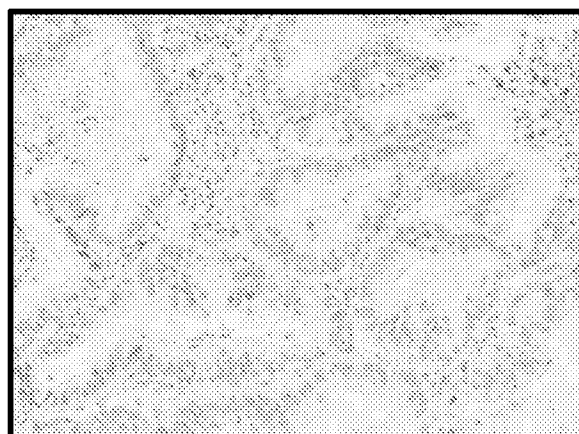
ФИГ. 4В

Образец рака легкого



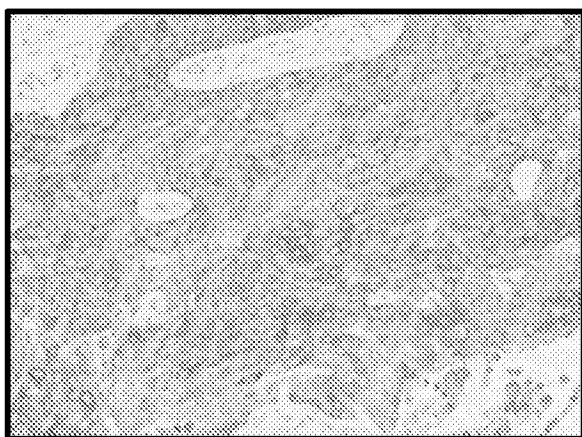
ФИГ. 4С

Образец рака легкого



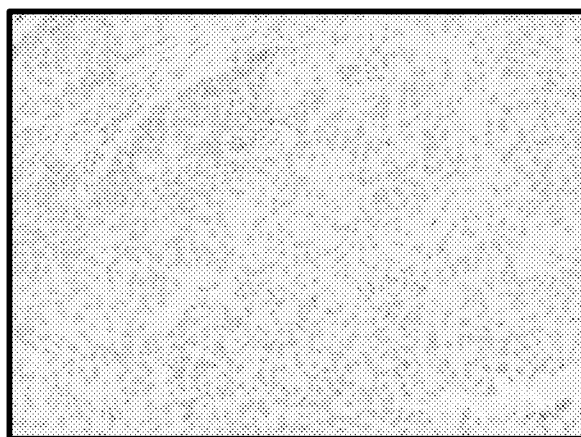
ФИГ. 4D

Образцы рака пищевода



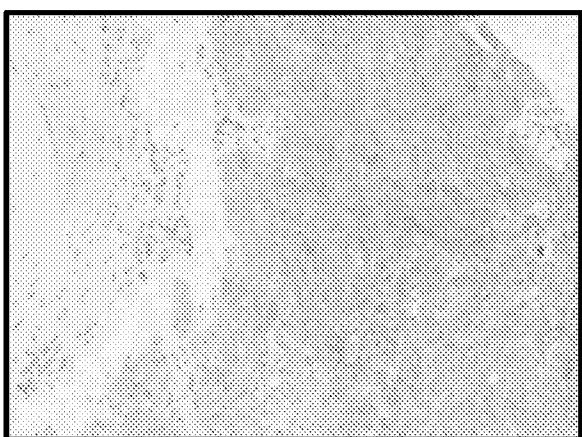
ФИГ. 4Е

Образцы рака пищевода



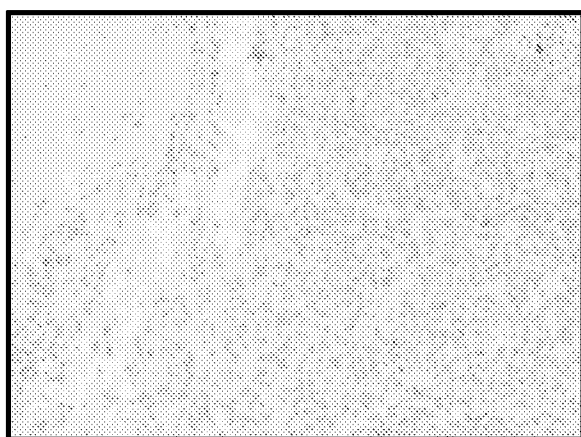
ФИГ. 4F

Образцы рака головы и шеи



ФИГ. 4G

Образцы рака головы и шеи



ФИГ. 4H