

СПОСОБЫ ПРИМЕНЕНИЯ КОНЬЮГАТА АНТИТЕЛО К В7-Н3 – ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО ОТДЕЛЬНО ИЛИ В КОМБИНАЦИИ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании заявки на патент США № 63/023,495 (поданной 12 мая 2020 г.; находится на стадии рассмотрения) и заявки на патент США № 63/180,795 (поданной 28 апреля 2021 г.; находится на стадии рассмотрения), каждая из которых полностью включена в настоящую заявку посредством ссылки для всех целей.

ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Настоящая заявка содержит перечень последовательностей согласно разделу 37 Свода федеральных правил США, п. 1.821 и далее, который был подан в электронном виде в формате ASCII и настоящим полностью включен в настоящую заявку посредством ссылки для всех целей. Копия перечня последовательностей в формате ASCII, созданная 5 мая 2021 г., названа MAC-0112-PC_SL.txt и имеет размер 49512 байт.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0003] Настоящее изобретение частично относится к схемам (режимам) дозирования для введения гуманизованного антитела к В7-Н3, конъюгированного с дуокармициновым фрагментом («В7-Н3-ADC»), для лечения рака, в частности, рака, связанного с экспрессией В7-Н3. Настоящее изобретение частично относится к применению такого В7-Н3-ADC, необязательно в комбинации со связывающей PD-1 молекулой, для лечения рака. Настоящее изобретение частично относится к применению такого В7-Н3-ADC и антитела к PD-1 или биспецифичной молекулы, способной связываться с PD-1 и LAG-3 («биспецифичная к PD-1 X LAG-3 молекула»). Настоящее изобретение частично относится к применению таких молекул и применению фармацевтических композиций и фармацевтических наборов, которые содержат такие молекулы и которые способствуют применению таких схем дозирования для лечения рака.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

I. Суперсемейство В7 и В7-Н3

[0004] В7-Н3 является членом суперсемейства В7-CD28 и экспрессируется на антиген-презентирующих клетках. Уникальность В7-Н3 заключается в том, что основная его форма в организме человека содержит два внеклеточных тандемных домена IgV-IgC (то есть IgV-IgC-IgV-IgC) (Collins, M. *et al.* (2005) “*The B7 Family Of Immune-Regulatory Ligands*,” *Genome Biol.* 6:223.1-223.7). Хотя изначально считалось, что он содержит только 2 домена Ig (IgV-IgC, см., например, последовательность NCBI NP_079516), был идентифицирован вариант с четырьмя внеклеточными доменами иммуноглобулина («4Ig-B7-Н3»), и было обнаружено, что он является наиболее распространенной формой этого белка у человека (Sharpe, A.H. *et al.* (2002) “*The B7-CD28 Superfamily*,” *Nature Rev. Immunol.* 2:116-126; см. также, например, последовательность NCBI NP_001019907). Экспрессия мРНК В7-Н3 была обнаружена в клетках сердца, почек, яичек, легких, печени, поджелудочной железы, предстательной железы, толстой кишки и остеобластах (Collins, M. *et al.* (2005) “*The B7 Family Of Immune-Regulatory Ligands*,” *Genome Biol.* 6:223.1-223.7). На уровне белка В7-Н3 обнаруживается в печени, легких, мочевом пузыре, яичках, предстательной железе, молочной железе, плаценте и лимфоидных органах человека (Hofmeyer, K. *et al.* (2008) “*The Contrasting Role Of B7-H3*,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 105(30):10277-10278).

[0005] Хотя В7-Н3 не экспрессируется на покоящихся В-клетках или Т-клетках, моноцитах или дендритных клетках, он индуцируется под действием IFN- γ на дендритных клетках и под действием GM-CSF на моноцитах (Sharpe, A.H. *et al.* (2002) “*The B7-CD28 Superfamily*,” *Nature Rev. Immunol.* 2:116-126). Механизм действия В7-Н3 является сложным, и сообщается, что указанный белок опосредует как костимуляцию, так и коингибирование Т-клеток (Hofmeyer, K. *et al.* (2008) “*The Contrasting Role Of B7-H3*,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 105(30):10277-10278; Martin-Orozco, N. *et al.* (2007) “*Inhibitory Costimulation And Anti-Tumor Immunity*,” *Semin. Cancer Biol.* 17(4):288-298. В7-Н3 связывается с неустановленным рецептором (рецепторами), что опосредует коингибирование Т-клеток. Кроме того, за счет взаимодействия с неустановленным рецептором (рецепторами) В7-Н3 является

ингибитором NK-клеток и остеобластных клеток (Hofmeyer, K. *et al.* (2008) “*The Contrasting Role Of B7-H3*,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 105(30):10277-10278).

II. Опухоли, экспрессирующие B7-H3

[0006] B7-H3 экспрессируется на различных раковых клетках (например, при нейробластоме, раке желудка, яичника, немелкоклеточном раке легкого и так далее, см., например, Modak, S., *et al.* (2001) “*Monoclonal antibody 8H9 targets a novel cell surface antigen expressed by a wide spectrum of human solid tumors*,” Cancer Res 61:4048-54), а также культивируемых раковых клетках, подобных стволовым клеткам. В нескольких независимых исследованиях было показано, что клетки злокачественных опухолей человека демонстрируют заметное увеличение экспрессии белка B7-H3, и что эта повышенная экспрессия связана с повышенной тяжестью заболевания (Tekle, C., *et al.* (2012) “*B7-H3 Contributes To The Metastatic Capacity Of Melanoma Cells By Modulation Of Known Metastasis-Associated Genes*,” Int. J. Cancer 130:2282-90; Wang, L., *et al.* (2013) “*B7-H3 Mediated Tumor Immunology: Friend Or Foe?*,” Int. J. Cancer 134(12):2764-2771), что позволяет предположить, что B7-H3 используется опухолями в механизме ускользания от распознавания иммунной системой (Hofmeyer, K. *et al.* (2008) “*The Contrasting Role Of B7-H3*,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 105(30):10277-10278).

[0007] Роль B7-H3 в ингибировании иммунной системы и повышенная экспрессия B7-H3 при опухолях человека позволяют предположить, что эта молекула может служить терапевтической мишенью для лечения рака. Было предложено применение антител к B7-H3 и других молекул, которые модулируют экспрессию B7-H3, для лечения опухолей и/или положительной модуляции иммунного ответа (см. Loo, D. *et al.* (2012) “*Development of an Fc-Enhanced Anti-B7-H3 Monoclonal Antibody with Potent Antitumor Activity*,” Clin Cancer Res; 18: 3834-3845; Ahmed, M. *et al.* (2015) “*Humanized Affinity-Matured Monoclonal Antibody 8H9 Has Potent Anti-Tumor Activity and Binds to FG Loop of B7-H3*,” J. Biol. Chem. 290: 30018-30029; Nagase-Zembutsu, A. *et al.* (2016) “*Development of DS-5573a: A novel afucosylated monoclonal antibody directed at B7-H3 with potent antitumor activity*,” Cancer Sci. 2016, doi: 10.1111/cas.12915;; см. также патенты США № 7,279,567, 7,527,969, 7,718,774, 8,779,098, 8,802,091, патентные публикации США № 2002/0168762; 2008/0081346, 2008/0116219, 2013/0078234, 2015/0274838, публикации согласно PCT № WO

2009/073533; WO 2008/066691; WO 2006/016276; WO 2008/116219; WO 2001/094413, WO 2002/32375, WO 2004/093894, WO 2006/016276, WO 2008/116219 и WO 2011/109400.

III. Клеточно-опосредованные иммунные ответы

[0008] Иммунный ответ жестко контролируется костимулирующими и коингибирующими лигандами и рецепторами, часто называемыми «иммунными контрольными точками» (Chen *et al.*, (2013) “*Molecular Mechanisms of T Cell Co-Stimulation And Co-Inhibition,*” Nature Rev. Immunol. 13:227-242; Pardoll, D.M., (2012) “*The Blockade Of Immune Checkpoints In Cancer Immunotherapy,*” Nat. Rev. Cancer 12(4):252-264). Такие молекулы обеспечивают сбалансированную разветвленную систему положительных и отрицательных сигналов, которые регулируют иммунные ответы для обеспечения защиты от инфекции и рака. Некоторые раковые клетки способны ускользать от иммунной системы, вызывая состояние истощения Т-клеток, при котором Т-клетки подвергаются воздействию непрекращающихся антигенных и/или воспалительных сигналов (Wherry E.J. (2010) “*T Cell Exhaustion,*” Nat. Immunol. 12(6):492-499). Две молекулы иммунных контрольных точек вовлечены в истощение Т-клеток, белок запрограммированной гибели 1 («PD-1») и ген активации лимфоцитов 3 («LAG-3») (Wherry, J.E. (2015) “*Molecular And Cellular Insights Into T Cell Exhaustion,*” Nat. Rev. Immunol. 15(8):486-499).

[0009] Белок запрограммированной гибели 1 («PD-1», также известный как «CD279») представляет собой мембранный белок типа I с молекулярной массой приблизительно 31 кДа, принадлежащий к расширенному семейству регуляторов Т-клеток CD28/CTLA-4, который в широком смысле осуществляет отрицательную регуляцию иммунного ответа (Ishida, Y. *et al.* (1992) “*Induced Expression Of PD-1, A Novel Member Of The Immunoglobulin Gene Superfamily, Upon Programmed Cell Death,*” EMBO J. 11:3887-3895. PD-1 опосредует ингибирование иммунной системы путем связывания с лигандами указанного трансмембранного белка: лигандом белка запрограммированной гибели 1 («PD-L1», также известным как «B7-H1») и лигандом белка запрограммированной гибели 2 («PD-L2», также известным как «B7-DC») (Flies, D.B. *et al.* (2007) “*The New B7s: Playing a Pivotal Role in Tumor Immunity,*” J. Immunother. 30(3):251-260).

[0010] Роль взаимодействий лиганда PD-1 в ингибировании активации и пролиферации Т-клеток предполагает, что эти биомолекулы могут служить терапевтическими мишенями для лечения воспаления и рака. Предложено применение антител к PD-1 для лечения опухолей и положительной модуляции адаптивного иммунного ответа, а также описаны антитела, способные специфично связываться с PD-1 (см., например, Patnaik A. *et al.* (2015) “Phase I Study of Pembrolizumab (MK-3475; Anti-PD-1 Monoclonal Antibody) in Patients with Advanced Solid Tumors,” *Clin Cancer Res*; 21(19):4286-4293, патенты США № 7,488,802; 7,521,051; 7,595,048; 8,008,449; 8,354,509; 8,735,553; 8,779,105; 8,900,587; 9,084,776; 9,815,897 и 10,577,422; а также патентные публикации согласно: PCT № WO 2014/194302; и WO 2015/035606; WO 2004/056875; WO 2006/121168; WO 2008/156712; WO 2012/135408; WO 2012/145493; WO 2013/014668; WO 2014/179664; WO 2014/194302; WO 2015/112800 и WO2019/246110).

[0011] Ген активации лимфоцитов 3 («LAG-3», также известный как «CD223») представляет собой рецепторный белок клеточной поверхности, который экспрессируется активированными CD4⁺ и CD8⁺ Т-клетками и NK-клетками, а также конститутивно экспрессируется плазматоидными дендритными клетками; LAG-3 не экспрессируется В-клетками, моноцитами или какими-либо другими исследованными типами клеток (Workman, C.J. *et al.* (2009) “LAG-3 Regulates Plasmacytoid Dendritic Cell Homeostasis,” *J. Immunol.* 182(4):1885-1891).

[0012] Исследования показали, что LAG-3 играет важную роль в отрицательном регулировании пролиферации, функции и гомеостаза Т-клеток, а также в истощении Т-клеток (см., например, Workman, C.J. (2005) “*Negative Regulation Of T-Cell Homeostasis By Lymphocyte Activation Gene-3 (CD223)*,” *J. Immunol.* 174:688-695), и было сделано предположение, что ингибирование функции LAG-3 посредством блокирования антителами может обращать опосредованное LAG-3 ингибирование иммунной системы и частично восстанавливать эффекторную функцию (Grosso, J.F. *et al.* (2009) “*Functionally Distinct LAG-3 and PD-1 Subsets on Activated and Chronically Stimulated CD8 T-Cells*,” *J. Immunol.* 182(11):6659-6669;). Были описаны антитела, способные специфично связываться с LAG-3 (см., например, публикации согласно: PCT № WO 2014/140180, WO 2015/138920, WO 2015/116539, WO 2016/028672, WO 2016/126858, WO 2016/200782 и WO 2017/015560).

[0013] Биспецифичные молекулы, связывающиеся как с PD-1, так и с LAG-3 («биспецифичные к PD-1 X LAG-3 молекулы»), обеспечивают значительную гибкость в проектировании и конструировании для различных применений, обеспечивая повышенную avidность к мультимерным антигенам, перекрестное связывание различных антигенов и направленное нацеливание на конкретные типы клеток на основании присутствия обоих антигенов-мишеней. Биспецифичные к PD-1 X LAG-3 молекулы для применения для лечения рака описаны в публикациях согласно РСТ № WO 2015/200119, WO 2017/025498, WO 2018/083087, WO 2018/185043, WO 2018/134279 и WO 2018/217940. В частности, биспецифичные к PD-1 X LAG-3 диатела, имеющие новые связывающие PD-1 и LAG-3 домены и типичную активность, описаны в источнике WO 2017/019846.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0014] В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к схемам дозирования для введения В7-Н3-ADC для лечения рака, в частности, рака, связанного с экспрессией В7-Н3. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к применению такого В7-Н3-ADC, необязательно в комбинации со связывающей PD-1 молекулой, для лечения рака. Некоторые В7-Н3-ADC и их применение для лечения рака описаны, например, в публикации согласно РСТ № WO 2017/180813. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к применению такого В7-Н3-ADC и антитела к PD-1 или биспецифичной к PD-1 X LAG-3 связывающей молекулы. Схемы дозирования для введения В7-Н3-ADC для лечения рака или В7-Н3-ADC в комбинации со связывающей PD-1 молекулой для лечения рака могут включать введение с равными интервалами между введениями или с неравными интервалами между введениями. В схемах дозирования, в которых В7-Н3-ADC вводят в комбинации со связывающей PD-1 молекулой, их введение может быть одновременным или последовательным в любом порядке. В некоторых аспектах настоящее изобретение относится к применению таких молекул и применению фармацевтических композиций и фармацевтических наборов, которые содержат такие молекулы и которые способствуют применению таких схем дозирования для лечения рака.

[0015] Более конкретно, в настоящем изобретении предложен способ лечения рака, включающий введение В7-Н3-ADC нуждающемуся в этом субъекту, где

указанный способ включает введение субъекту В7-Н3-ADC в дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз приблизительно каждые 3 недели.

[0016] В настоящем изобретении дополнительно предложен способ лечения рака, включающий введение В7-Н3-ADC нуждающемуся в этом субъекту, где указанный способ включает введение субъекту В7-Н3-ADC в дозе, составляющей от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз приблизительно каждые 3 недели.

[0017] В настоящем изобретении дополнительно предложен способ лечения рака, включающий введение В7-Н3-ADC нуждающемуся в этом субъекту, где указанный способ включает введение субъекту В7-Н3-ADC в дозе, составляющей от 3 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, один раз приблизительно каждые 3 недели.

[0018] В настоящем изобретении дополнительно предложен способ лечения рака, включающий введение В7-Н3-ADC нуждающемуся в этом субъекту, где указанный способ включает введение субъекту В7-Н3-ADC в дозе, составляющей от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз приблизительно каждые 3 недели.

[0019] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа (а именно, «вариант реализации такого способа» означает вариант реализации применимого способа, описанного в настоящей заявке), включающий введение В7-Н3-ADC нуждающемуся в этом субъекту, где указанный способ включает введение субъекту В7-Н3-ADC в дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг один раз приблизительно каждые 4 недели.

[0020] В настоящем изобретении дополнительно предложен способ лечения рака, включающий введение В7-Н3-ADC нуждающемуся в этом субъекту, где указанный способ включает введение субъекту В7-Н3-ADC в дозе, составляющей от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз приблизительно каждые 4 недели.

[0021] В настоящем изобретении дополнительно предложен способ лечения рака, включающий введение В7-Н3-ADC нуждающемуся в этом субъекту, где указанный способ включает введение субъекту В7-Н3-ADC в дозе, составляющей от 3 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, один раз приблизительно каждые 4 недели.

[0022] В настоящем изобретении дополнительно предложен способ лечения рака, включающий введение В7-Н3-ADC нуждающемуся в этом субъекту, где указанный способ включает введение субъекту В7-Н3-ADC в дозе, составляющей от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз приблизительно каждые 4 недели.

[0023] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, включающий введение В7-Н3-ADC нуждающемуся в этом субъекту, где указанный способ включает введение субъекту В7-Н3-ADC в дозе, составляющей приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,25 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 2,75 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 3,25 мг/кг, приблизительно 3,5 мг/кг, приблизительно 3,75 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 4,25 мг/кг, приблизительно 4,5 мг/кг, приблизительно 4,75 мг/кг или приблизительно 5 мг/кг.

[0024] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту:

- (А) В7-Н3-ADC и
- (В) связывающей PD-1 молекулы,

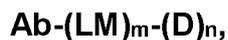
где указанный способ включает введение субъекту В7-Н3-ADC в дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели.

[0025] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту:

- (А) В7-Н3-ADC и
- (В) связывающей PD-1 молекулы,

где указанный способ включает введение субъекту B7-H3-ADC в дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 4 недели.

[0026] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где B7-H3-ADC представлен формулой:



где:

- Ab** представляет собой гуманизированное антитело к B7-H3 или его связывающий B7-H3 фрагмент, который связывается с B7-H3 и содержит:
- (i) последовательность CDRL1 RASESIYSYLA (SEQ ID NO: 39), последовательность CDRL2 NTKTLPE (SEQ ID NO: 40) и последовательность CDRL3 QHHYGTTPPWT (SEQ ID NO: 41) в переменном домене легкой цепи (VL), и
 - (ii) последовательность CDRH1 SYGMS (SEQ ID NO: 42), последовательность CDRH2 TINSGGSNNTYY PDSLKG (SEQ ID NO: 43) и последовательность CDRH3 HDGGAMDY (SEQ ID NO: 44) в переменном домене тяжелой цепи (VH);
- D** представляет собой цитотоксический дуокармициновый фрагмент;
- LM** содержит по меньшей мере одну связь или линкерную молекулу, которая ковалентно связывает Ab и D;
- m** представляет собой целое число от 0 до n и обозначает количество связей или линкерных молекул в B7-H3-ADC, m не равно 0 за исключением случаев, когда **LM** представляет собой связь;
- и
- n** представляет собой целое число от 1 до 10 и обозначает количество цитотоксических дуокармициновых фрагментов, ковалентно связанных с B7-H3-ADC.

[0027] В настоящем изобретении дополнительно предложены такие **B7-H3-ADC**, где линкерная молекула отсутствует, и **LM** представляет собой по меньшей мере одну связь (то есть $m \geq 1$), а также **B7-H3-ADC**, которые имеют более чем одну

линкерную молекулу **LM** (то есть **m** представляет собой целое число от 2 до **n**), каждая из указанных линкерных молекул **LM** ковалентно связывает цитотоксический фрагмент лекарственного средства дуокармицинового ряда **D** с **Ab** таких **B7-H3-ADC**. В настоящем изобретении дополнительно предложены такие **B7-H3-ADC**, **Ab** которых ковалентно связаны с более чем одной линкерной молекулой **LM**, при этом все такие линкерные молекулы являются идентичными. Все цитотоксические фрагменты лекарственного средства дуокармицинового ряда **D**, которые ковалентно связаны с **Ab** таких **B7-H3-ADC**, могут быть идентичными, или они могут включать 2, 3, 4 или более неидентичных цитотоксических фрагментов лекарственного средства дуокармицинового ряда **D**. В настоящем изобретении дополнительно предложены такие **B7-H3-ADC**, **Ab** которых ковалентно связаны с более чем одной линкерной молекулой **LM**, при этом все такие линкерные молекулы не являются идентичными. Все цитотоксические фрагменты лекарственного средства дуокармицинового ряда **D**, которые ковалентно связаны с **Ab** таких **B7-H3-ADC**, могут быть идентичными, или они могут включать 2, 3, 4 или более неидентичных цитотоксических фрагментов лекарственного средства дуокармицинового ряда **D**.

[0028] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где **B7-H3-ADC** содержит:

(I) гуманизированный домен VL, содержащий аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:17**, и

(II) гуманизированный домен VH, содержащий аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:18**.

[0029] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где **Ab** представляет собой антитело.

[0030] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где **Ab** дополнительно содержит Fc-домен IgG1 человека.

[0031] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где **B7-H3-ADC** содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:19**, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:20**.

[0032] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где по меньшей мере один из **LM** представляет собой линкерную молекулу, и, в частности, при этом линкерная молекула **LM** представляет собой пептидный линкер и/или расщепляемый линкер.

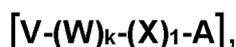
[0033] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где пептидный линкер представляет собой валин-цитруллиновый дипептидный линкер.

[0034] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где линкерная молекула **LM** дополнительно содержит самоудаляющийся спейсер между расщепляемым линкером и **D**.

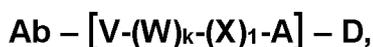
[0035] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где самоудаляющийся спейсер содержит *пара*-аминобензилоксикарбонильный фрагмент.

[0036] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где **LM** дополнительно содержит малеимидный линкерный фрагмент между расщепляемым линкером и **Ab**.

[0037] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где **LM** представлен формулой:



вследствие чего B7-H3-ADC представлен формулой:



где:

V представляет собой расщепляемый линкер,

(W)_k-(X)₁-A представляет собой удлиненную самоудаляющуюся спейсерную систему, которая самоудаляется посредством 1,(4+2n)-элиминирования, каждый из **W** и **X** представляет собой спейсер, удаляющийся путем реакции 1,(4+2n)-электронного каскада, и эти спейсеры являются одинаковыми или различными,

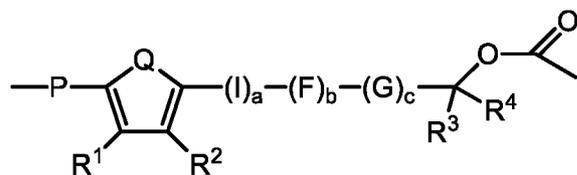
A представляет собой либо спейсерную группу формулы $(Y)_m$, где **Y** представляет собой спейсер, удаляющийся путем реакции 1,(4+2n)-электронного каскада, либо группу формулы **U**, представляющую собой спейсер, удаляющийся путем реакции циклизации-элиминирования, **k**, **l** и **m** независимо представляют собой целое число от 0 (включительно) до 5 (включительно), **n** представляет собой целое число от 0 (включительно) до 10 (включительно), при условии, что:

когда **A** представляет собой $(Y)_m$: $k+l+m \geq 1$, и

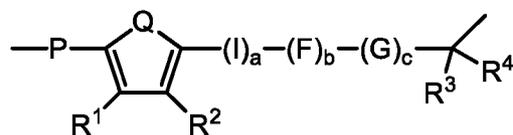
если $k+l+m=1$, то $n>1$;

когда **A** представляет собой **U**: $k+l \geq 1$.

W, **X** и **Y** независимо выбраны из соединений, имеющих формулу:



или формулу:

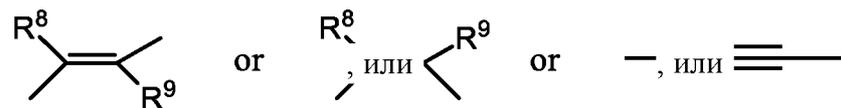


где: **Q** представляет собой $-R^5C=CR^6-$, **S**, **O**, NR^5 , $-R^5C=N-$ или $N=CR^5-$

P представляет собой NR^7 , **O** или **S**

a, **b** и **c** независимо представляют собой целое число от 0 (включительно) до 5 (включительно);

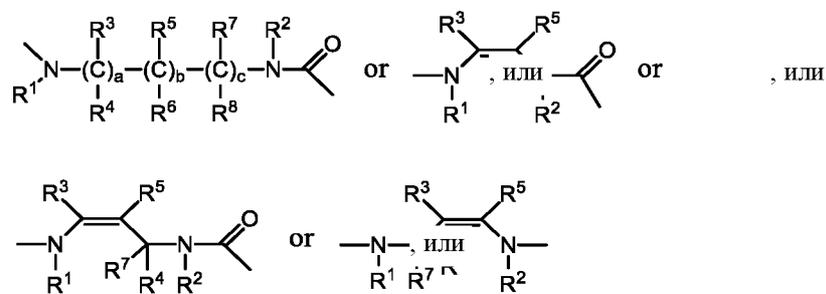
I, **F** и **G** независимо выбраны из соединений, имеющих формулу:



где R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 и R^9 независимо представляют собой **H**, **C**₁₋₆ алкил, **C**₃₋₂₀ гетероциклил, **C**₅₋₂₀ арил, **C**₁₋₆ алкокси, гидроксид (**OH**), амино (**NH**₂), монозамещенный амино (**NR_xH**), дизамещенный амино (**NR_x¹R_x²**),

нитро (NO₂), галоген, CF₃, CN, CONH₂, SO₂Me, CONHMe, циклический C₁₋₅ алкиламино, имидазолил, C₁₋₆ алкилпиперазинил, морфолино, тиол (SH), простой тиоэфир (SR_x), тетразол, карбокси (COOH), карбоксилат (COOR_x), сульфокси (S(=O)₂OH), сульфонат (S(=O)₂OR_x), сульфонил (S(=O)₂R_x), сульфокси (S(=O)OH), сульфинат (S(=O)OR_x), сульфинил (S(=O)R_x), фосфонокси (OP(=O)(OH)₂) и фосфат (OP(=O)(OR_x)₂), при этом R_x, R_x¹ и R_x² независимо выбраны из C₁₋₆ алкильной группы, C₃₋₂₀ гетероциклической группы или C₅₋₂₀ арильной группы, при этом два или более из заместителей R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸ или R⁹ необязательно соединены друг с другом с образованием одной или более алифатических или ароматических циклических структур;

U выбран из соединений, имеющих формулу:



где:

a, b и c независимо выбраны таким образом, чтобы представлять собой целое число 0 или 1; при условии, что a + b + c = 2 или 3;

R¹ и/или R² независимо представляют собой H, C₁₋₆ алкил, при этом указанный алкил необязательно замещен одной или более из следующих групп: гидроксигруппы (OH), простой эфир (OR_x), амино (NH₂), монозамещенный амино (NR_xH), дизамещенный амино (NR_x¹R_x²), нитро (NO₂), галоген, CF₃, CN, CONH₂, SO₂Me, CONHMe, циклический C₁₋₅ алкиламино, имидазолил, C₁₋₆ алкилпиперазинил, морфолино, тиол (SH), простой тиоэфир (SR_x), тетразол, карбокси (COOH), карбоксилат (COOR_x), сульфокси (S(=O)₂OH), сульфонат (S(=O)₂OR_x), сульфонил (S(=O)₂R_x), сульфокси (S(=O)OH), сульфинат (S(=O)OR_x), сульфинил (S(=O)R_x), фосфонокси (OP(=O)(OH)₂) и фосфат (OP(=O)(OR_x)₂), при этом R_x, R_x¹ и R_x² выбраны из C₁₋₆ алкильной группы, C₃₋₂₀ гетероциклической группы или C₅₋₂₀ арильной группы; и

R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 и R^8 независимо представляют собой H, C_{1-6} алкил, C_{3-20} гетероциклический, C_{5-20} арил, C_{1-6} алкокси, гидроксильный (OH), амино (NH_2), монозамещенный амино (NR_xH), дизамещенный амино ($NR_x^1R_x^2$), нитро (NO_2), галоген, CF_3 , CN, $CONH_2$, SO_2Me , $CONHMe$, циклический C_{1-5} алкиламино, имидазолил, C_{1-6} алкилпиперазинил, морфолино, тиол (SH), простой тиоэфир (SR_x), тетразол, карбоксильный (COOH), карбоксилат ($COOR_x$), сульфоксильный ($S(=O)_2OH$), сульфонат ($S(=O)_2OR_x$), сульфонил ($S(=O)_2R_x$), сульфоксильный ($S(=O)OH$), сульфинат ($S(=O)OR_x$), сульфинил ($S(=O)R_x$), фосфонильный ($OP(=O)(OH)_2$) и фосфат ($OP(=O)(OR_x)_2$), при этом R_x , R_x^1 и R_x^2 выбраны из C_{1-6} алкильной группы, C_{3-20} гетероциклической группы или C_{5-20} арильной группы, и два или более из заместителей R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 или R^8 необязательно соединены друг с другом с образованием одной или более алифатических или ароматических циклических структур.

[0038] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где линкерная молекула **LM** содержит:

- (1) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
- (2) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
- (3) *n*-аминоциннамоксикарбонил;
- (4) *n*-аминоциннамоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
- (5) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминоциннамоксикарбонил;
- (6) *n*-аминоциннамоксикарбонил-*n*-аминоциннамоксикарбонил;
- (7) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил;
- (8) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминоциннамоксикарбонил;
- (9) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
- (10) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил;
- (11) *n*-аминобензилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
- (12) *n*-аминоциннамоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;

- (13) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
- (14) *n*-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
- (15) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)-карбонил;
- (16) *n*-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
- (17) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензил;
- (18) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензил;
- (19) *n*-аминоциннамил;
- (20) *n*-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминобензил;
- (21) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминоциннамил;
- (22) *n*-амино-циннамилоксикарбонил-*n*-аминоциннамил;
- (23) *n*-аминофенилпентадиенил;
- (24) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминоциннамил;
- (25) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминобензил; или
- (26) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминофенилпентадиенил.

[0039] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где линкерная молекула **LM** конъюгирована с боковой цепью аминокислоты полипептидной цепи **Ab** и связывает **Ab** с молекулой цитотоксического дуокармицинового фрагмента **D**.

[0040] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где цитотоксический дуокармициновый фрагмент **D** содержит цитотоксин дуокармицинового ряда, выбранный из группы, состоящей из дуокармицина А, дуокармицина В1, дуокармицина В2, дуокармицина С1,

дуокармицина С2, дуокармицина D, дуокармицина SA, CC-1065, адозелезина, бизелезина, карзелезина (U-80244) и спиро-дуокармицина (DUBA)).

[0041] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где цитотоксический дуокармициновый фрагмент **D** содержит *секо*-дуокармицин.

[0042] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где линкерная молекула **LM** ковалентно связана с **Ab** посредством восстановленных межцепочечных дисульфидов.

[0043] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 2 мг/кг.

[0044] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 2,25 мг/кг.

[0045] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 2,5 мг/кг.

[0046] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 2,75 мг/кг.

[0047] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3 мг/кг.

[0048] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,25 мг/кг.

[0049] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,5 мг/кг.

[0050] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,75 мг/кг.

[0051] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг.

[0052] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,25 мг/кг.

[0053] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,5 мг/кг.

[0054] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,75 мг/кг.

[0055] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 5 мг/кг.

[0056] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят путем внутривенной (в/в) инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 60 минут.

[0057] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в комбинации с терапевтически эффективной дозой связывающей PD-1 молекулы.

[0058] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где связывающая PD-1 молекула выбрана из группы, состоящей из антитела, одноцепочечного антитела, Fab-фрагмента, F(ab')₂-фрагмента, Fab'-фрагмента, F_{sc}-фрагмента, F_v-фрагмента, scFv, sc(Fv)₂ и диатела.

[0059] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где связывающая PD-1 молекула выбрана из группы, состоящей из mAb-A к hPD-1, пембролизумаба, ниволумаба и PD-1 X LAG-3 BD.

[0060] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где связывающая PD-1 молекула представляет собой mAb-A к hPD-1 или PD-1 x LAG-3 BD.

[0061] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где связывающая PD-1 молекула содержит переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий определяющий комплементарность участок (CDR)₁ VH, CDR₂ VH и CDR₃ VH, где

CDR₁ VH содержит аминокислотную последовательность SYWMN (**SEQ ID NO:23**);

CDR₂ VH содержит аминокислотную последовательность VIHPSDSETWLDQKFKD (**SEQ ID NO:24**);

CDR₃ VH содержит аминокислотную последовательность EHYGTSPFAY (**SEQ ID NO:25**);

при этом антитело содержит переменный домен легкой цепи (VL), содержащий CDR₁ VL, CDR₂ VL и CDR₃ VL, где:

CDR₁ VL содержит аминокислотную последовательность RASESVDNYGMSFMNW (**SEQ ID NO:26**);

CDR₂ VL содержит аминокислотную последовательность AASNQGS (**SEQ ID NO:27**); и

CDR₃ VL содержит аминокислотную последовательность QQSKEVPYT (**SEQ ID NO:28**).

[0062] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где домен VH связывающей PD-1 молекулы содержит аминокислотную последовательность, представленную **SEQ ID NO:32**, и указанный домен VL содержит аминокислотную последовательность, представленную **SEQ ID NO:31**.

[0063] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где связывающая PD-1 молекула представляет собой mAb-A к hPD-1.

[0064] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где указанный способ включает введение mAb-A к hPD-1 один раз приблизительно каждые 3 недели в фиксированной дозе, выбранной из группы, состоящей из приблизительно 375 мг, приблизительно 500 мг и приблизительно 750 мг.

[0065] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где указанный способ включает введение mAb-A к hPD-1 один раз приблизительно каждые 4 недели в фиксированной дозе, выбранной из группы, состоящей из приблизительно 375 мг, приблизительно 500 мг и приблизительно 750 мг.

[0066] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где mAb-A к hPD-1 вводят один раз приблизительно каждые 3 недели в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг.

[0067] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где mAb-A к hPD-1 вводят один раз приблизительно каждые 3 недели в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг.

[0068] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.

[0069] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,25 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.

[0070] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,5 мг/кг, а mAb А к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.

[0071] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,75 мг/кг, а mAb А к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.

[0072] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.

[0073] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,25 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.

[0074] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,5 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.

[0075] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,75 мг/кг, а mAb А к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.

[0076] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 5 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.

[0077] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.

[0078] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,25 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.

[0079] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,5 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.

[0080] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,75 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.

[0081] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.

[0082] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,25 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.

[0083] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,5 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.

[0084] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,75 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.

[0085] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 5 мг/кг, а mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.

[0086] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где mAb-A к hPD-1 вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 60 минут.

[0087] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где антитело, которое связывается с PD-1 человека, представляет собой пембролизумаб.

[0088] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где пембролизумаб вводят один раз приблизительно каждые 3 недели в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг.

[0089] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где пембролизумаб вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 30 минут.

[0090] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где связывающая PD-1 молекула представляет собой ниволумаб.

[0091] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где ниволумаб вводят один раз приблизительно каждые 2 недели в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 240 мг.

[0092] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где ниволумаб вводят один раз приблизительно каждые 4 недели в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 480 мг.

[0093] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где ниволумаб вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 30 минут.

[0094] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где связывающая PD-1 молекула представляет собой PD-1 X LAG-3 BD.

[0095] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где PD-1 X LAG-3 BD содержит две полипептидных цепи, которые содержат аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:37**, и две полипептидных цепи, которые содержат аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:38**.

[0096] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где PD-1 X LAG-3 BD вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 300 мг, один раз каждые 2 недели.

[0097] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где PD-1 X LAG-3 BD вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 300 мг, один раз каждые 3 недели.

[0098] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где PD-1 X LAG-3 BD вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 600 мг, один раз каждые 2 недели.

[0099] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где PD-1 X LAG-3 BD вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 600 мг, один раз каждые 3 недели.

[00100] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где PD-1 X LAG-3 BD вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего 30-240 минут.

[00101] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где PD-1 X LAG-3 BD вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 30-90 минут.

[00102] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где B7-H3-ADC и mAb-A к hPD-1 вводят субъекту последовательно в отдельных фармацевтических композициях.

[00103] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где фармацевтическую композицию, содержащую mAb-A к hPD-1, вводят до введения фармацевтической композиции, содержащей B7-H3-ADC.

[00104] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где B7-H3-ADC и пембролизумаб вводят субъекту последовательно в отдельных фармацевтических композициях.

[00105] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где B7-H3-ADC и ниволумаб вводят субъекту последовательно в отдельных фармацевтических композициях.

[00106] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где B7-H3-ADC и PD-1 X LAG-3 BD вводят субъекту последовательно в отдельных фармацевтических композициях.

[00107] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где B7-H3-ADC обеспечен в фармацевтическом наборе, который содержит:

- (A) фармацевтическую композицию, содержащую от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл B7-H3-ADC; и
- (B) инструкцию по применению,

при этом в инструкции по применению указано, что фармацевтическую композицию, содержащую B7-H3-ADC, следует вводить необязательно в комбинации с фармацевтической композицией, содержащей связывающую PD-1 молекулу.

В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где связывающая PD-1 молекула представляет собой mAb-A к hPD-1, пембролизумаб, ниволумаб или PD-1 X LAG-3 BD.

[00108] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где B7-H3-ADC обеспечен в фармацевтическом наборе, при этом B7-H3-ADC содержит:

(I) гуманизированный домен VL, содержащий аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:17**, и

(II) гуманизированный домен VH, содержащий аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:18**.

[00109] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где в инструкции по применению такого фармацевтического набора указано, что B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,25 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 2,75 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 3,25 мг/кг, приблизительно 3,5 мг/кг, приблизительно 3,75 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 4,25 мг/кг, приблизительно 4,5 мг/кг, приблизительно 4,75 мг/кг или приблизительно 5 мг/кг.

[00110] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где в инструкции по применению такого фармацевтического набора указано, что mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг или приблизительно 500 мг, один раз каждые 3 недели.

[00111] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где в инструкции по применению такого

фармацевтического набора указано, что пембролизумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг, один раз каждые 3 недели.

[00112] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где в инструкции по применению такого фармацевтического набора указано, что PD-1 X LAG-3 BD вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 300 мг или приблизительно 600 мг, один раз каждые 2 недели или один раз каждые 3 недели.

[00113] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где в инструкции по применению такого фармацевтического набора указано, что B7-H3-ADC и mAb-A к hPD-1 вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 60 минут.

[00114] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где в инструкции по применению такого фармацевтического набора указано, что B7-H3-ADC вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 60 минут, а PD-1 X LAG-3 BD вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 30-90 минут.

[00115] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где в инструкции по применению такого фармацевтического набора указано, что B7-H3-ADC вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 60 минут, а PD-1 X LAG-3 BD вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 30-240 минут.

[00116] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где B7-H3-ADC следует вводить в комбинации со связывающей PD-1 молекулой для лечения рака, при котором экспрессируется B7-H3.

[00117] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где рак выбран из группы, состоящей из: рака надпочечников, СПИД-ассоциированного рака, альвеолярной саркомы мягких

тканей, астроцитарной опухоли, рака анального канала (например, плоскоклеточной карциномы анального канала (SCAC)), рака мочевого пузыря, рака кости, рака головного и спинного мозга, метастатической опухоли головного мозга, В-клеточного рака, рака молочной железы (например, HER2+ рака молочной железы или трижды негативного рака молочной железы (TNBC)), опухолей каротидного гломуса, рака шейки матки, хондросаркомы, хордомы, хромофобной почечно-клеточной карциномы, светлоклеточной карциномы, рака толстой кишки, колоректального рака, доброкачественной фиброзной гистиоцитомы кожи, десмопластической мелкокруглоклеточной опухоли, эпендимомы, опухоли Юинга, внескелетной миксоидной хондросаркомы, несовершенного костного фиброгенеза, фиброзной дисплазии кости, рака желчного пузыря или желчного протока, рака желудка, гестационной трофобластической болезни, эмбрионально-клеточной опухоли, рака головы и шеи, глиобластомы, гематологического злокачественного новообразования, гепатоцеллюлярной карциномы, опухоли из островковых клеток, саркомы Капоши, рака почки, лейкоза (например, острого миелоидного лейкоза), липосаркомы/злокачественной липоматозной опухоли, рака печени, лимфомы, рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC)), медуллобластомы, меланомы, менингиомы, мезотелиомы, фарингеального рака, множественной эндокринной неоплазии, множественной миеломы, миелодиспластического синдрома, нейробластомы, нейроэндокринных опухолей, рака яичников, рака поджелудочной железы, папиллярной карциномы щитовидной железы, опухоли парашитовидной железы, рака у детей, опухоли оболочек периферических нервов, феохромоцитомы, опухоли гипофиза, рака предстательной железы (например, метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы (mCRPC)), меланомы заднего отдела сосудистой оболочки глаза, метастатического рака почки, рабдоидная опухоль, рабдомиосаркомы, саркомы, рака кожи, мелкокруглоклеточной опухоли с окрашиванием в синий цвет у детей (например, нейробластомы или рабдомиосаркомы), саркомы мягких тканей, плоскоклеточного рака (например, плоскоклеточного рака головы и шеи (SCCHN), рака желудка, синовиальной саркомы, рака яичка, карциномы вилочковой железы, тимомы, рака щитовидной железы (например, метастатического рака щитовидной железы) и рака матки.

[00118] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где рак представляет собой рак предстательной железы, рак анального канала, плоскоклеточный рак, рак молочной железы, меланому или рак легкого.

[00119] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где рак представляет собой mCRPC, SCAC, SCCHN, TNBC, увеальную меланому или NSCLC.

[00120] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, дополнительно включающий введение терапевтически или профилактически эффективного количества одного или более дополнительных терапевтических агентов или химиотерапевтических агентов.

[00121] В настоящем изобретении дополнительно предложен вариант реализации такого способа, где химиотерапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент на основе платины.

[00122] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где химиотерапевтический агент представляет собой таксан.

[00123] В настоящем изобретении также предложен вариант реализации такого способа, где нуждающийся субъект представляет собой человека.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[00124] На **Фигуре 1** представлено схематическое изображение типичных ковалентно связанных четырехвалентных диател, таких как PD-1 X LAG-3 BD, содержащих четыре эпитоп-связывающих сайта, состоящих из двух пар полипептидных цепей (то есть в совокупности из четырех полипептидных цепей). Один полипептид из каждой пары содержит способствующий гетеродимеризации домен, который представляет собой E-спираль, а другой полипептид из каждой пары содержит способствующий гетеродимеризации домен, который представляет собой K-спираль. Как показано, в линкере и/или в способствующем гетеродимеризации домене может содержаться остаток цистеина. Один полипептид из каждой пары содержит линкер, содержащий цистеин (указанный линкер может включать всю шарнирную область или ее часть), и домен CH2 и/или CH3, в результате чего

объединенные цепи образуют полную Fc-область или ее часть. Домены VL и VH, распознающие один и тот же эпитоп, показаны с использованием одного и того же затенения или штриховки. Домены VL и VH распознают различные эпитопы, и полученная молекула содержит четыре эпитоп-связывающих сайта и является биспецифичной и двухвалентной в отношении каждого связываемого эпитопа.

[00125] На **Фигуре 2** показаны результаты исследования способности B7-H3-ADC согласно настоящему изобретению в комбинации с антителом к PD-1 (RMP1-14) опосредовать цитотоксичность *in vivo* в отношении подкожно имплантированных клеток MC38/hB7-H3 (опухолевые клетки колоректального рака мыши, характеризующиеся сверхэкспрессией B7-H3 человека) в сингенной модели у мышей C57BL/6. B7-H3-ADC вводили в день 15. Антитело к PD-1 вводили в дни 15, 18, 21, 23, 25, 28, 30, 32, 35 и 37. Носитель вводили в день 15. Представлены кривые роста опухолей для мышей, которым внутривентриально вводили 5 мг/кг или 10 мг/кг B7-H3-ADC отдельно, 20 мг/кг антитела к PD-1 отдельно, комбинацию 5 мг/кг B7-H3-ADC + 20 мг/кг антитела к PD-1, комбинацию 10 мг/кг B7-H3-ADC + 20 мг/кг антитела к PD-1, или носитель отдельно.

[00126] На **Фигуре 3** показаны результаты исследования способности B7-H3-ADC согласно настоящему изобретению в комбинации с антителом к PD-1 (RMP1-14) опосредовать цитотоксичность *in vivo* в отношении подкожно имплантированных клеток CT26/hB7-H3 (опухолевые клетки колоректального рака мыши, характеризующиеся сверхэкспрессией B7-H3 человека) в сингенной модели у мышей BALB/c. B7-H3-ADC вводили в день 13. Антитело к PD-1 вводили в дни 13, 16, 19, 22, 26, 29, 33 и 36. Носитель вводили в день 13. Представлены кривые роста опухолей для мышей, которым внутривентриально вводили 10 мг/кг B7-H3-ADC отдельно, 20 мг/кг антитела к PD-1 отдельно, комбинацию 10 мг/кг B7-H3-ADC + 20 мг/кг антитела к PD-1 или носитель отдельно.

[00127] На **Фигуре 4** представлена каскадная диаграмма процента изменения целевых поражений (представленного в виде % изменения относительно исходного уровня) среди подлежащих оценке ответа пациентов в когорте повышения дозы и при расширении когорты в зависимости от типа опухоли и дозы. Пациенты получали 0,5 мг/кг, 1 мг/кг, 2 мг/кг, 3 мг/кг или 4 мг/кг B7-H3-ADC при повышении дозы в когорте или 3,0 мг/кг B7-H3-ADC при расширении когорты. Пунктирные линии указывают

на изменение относительно исходного уровня, составляющее 20% или -30%.
Сокращения: CRC - колоректальная карцинома; NSCLC - немелкоклеточный рак легкого; SCLC - мелкоклеточный рак легкого; mCRPC - метастатический кастрационно-резистентный рак предстательной железы.

[00128] На **Фигурах 5А и 5В** представлены изображения целевого поражения легкого у одного пациента с немелкоклеточным раком легкого (NSCLC) на исходном уровне (**Фигура 5А**) и на 6 неделе после 2 введений один раз в 3 недели 2 мг/кг В7-Н3-ADC (**Фигура 5В**). Поражение отмечено на каждом изображении белой стрелкой.

[00129] На **Фигуре 6** представлена каскадная диаграмма процента изменения уровня простатического специфического антигена (PSA; представленного в виде % изменения относительно исходного уровня) среди подлежащих оценке ответа пациентов с mCRPC в когорте повышения дозы и при расширении когорты в зависимости от типа опухоли и дозы. Пациенты получали 2,0 мг/кг, 3,0 мг/кг или 4,0 мг/кг В7-Н3-ADC при повышении дозы в когорте или 3,0 мг/кг В7-Н3-ADC при расширении когорты. Пунктирные линии указывают на изменение относительно исходного уровня, составляющее 25% или -50%.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[00130] Настоящее изобретение относится к схемам дозирования для введения В7-Н3-ADC для лечения рака, в частности, рака, связанного с экспрессией В7-Н3. Некоторые В7-Н3-ADC и их применение для лечения рака описаны, например, в публикации согласно РСТ № WO 2017/180813, явным образом включенной в настоящую заявку посредством ссылки. Настоящее изобретение, в частности, относится к применению такого В7-Н3-ADC, необязательно в комбинации со связывающей PD-1 молекулой, для лечения рака. Настоящее изобретение, в частности, относится к применению В7-Н3-ADC и антитела к PD-1 или биспецифичной к PD-1 X LAG-3 молекулы. Схемы дозирования для введения В7-Н3-ADC для лечения рака или В7-Н3-ADC в комбинации со связывающей PD-1 молекулой для лечения рака могут включать введение с равными интервалами между введениями или с неравными интервалами между введениями. В схемах дозирования, в которых В7-Н3-ADC вводят в комбинации со связывающей PD-1 молекулой, их введение может быть одновременным или последовательным в любом порядке. Настоящее изобретение относится к применению таких молекул и применению

фармацевтических композиций и фармацевтических наборов, которые содержат такие молекулы и которые способствуют применению таких схем дозирования для лечения рака.

I. Антитела и их связывающие домены

[00131] Антитела согласно настоящему изобретению представляют собой молекулы иммуноглобулинов, способные специфично связываться с мишенью, такой как углевод, полинуклеотид, липид, полипептид и так далее, посредством по меньшей мере одного сайта распознавания антигена, расположенного в вариабельном домене молекулы иммуноглобулина. Таким образом, B7-H3-ADC согласно настоящему изобретению содержит антитело, которое связывается с B7-H3. В настоящей заявке термины «антитело» и «антитела» относятся к моноклональным антителам, полиспецифичным антителам, антителам человека, гуманизированным антителам, синтетическим антителам, химерным антителам, поликлональным антителам, камелизированным (camelized) антителам, одноцепочечным Fvs (scFv), одноцепочечным антителам, Fab-фрагментам, F(ab')-фрагментам, стабилизированным дисульфидной связью биспецифичным Fvs (sdFv), внутриклеточным антителам (intrabodies) и эпитоп-связывающим фрагментам любого из указанных выше. В частности, термин «антитело» включает молекулы иммуноглобулинов и иммунологически активные фрагменты молекул иммуноглобулинов, то есть молекулы, которые содержат эпитоп-связывающий сайт. Молекулы иммуноглобулинов могут принадлежать к любому типу (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), классу (например, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ и IgA₂) или подклассу. Антитела способны «иммуноспецифично связываться» с полипептидом, или белком, или небелковой молекулой (или связываться с такой молекулой «иммуноспецифичным образом») вследствие присутствия в такой молекуле определенного домена, или фрагмента, или конформации («эпитопа»). Содержащая эпитоп молекула может обладать иммуногенными свойствами, благодаря которым она вызывает ответ, заключающийся в выработке антител у животного; такие молекулы называют «антигенами».

[00132] В настоящей заявке говорится, что антитело, диатело или другая эпитоп-связывающая молекула «иммуноспецифично» связывает область другой молекулы (то есть эпитоп), если она взаимодействует или образует комплекс с указанным

эпитопом более часто, более быстро, на более продолжительное время и/или с большей аффинностью, чем с альтернативными эпитопами. Например, антителом, которое иммуноспецифично связывается с вирусным эпитопом, является антитело, которое связывает этот вирусный эпитоп с большей аффинностью, авидностью, более легко и/или на более продолжительное время, чем при его иммуноспецифичном связывании с другими вирусными эпитопами или невирусными эпитопами. Из этого определения также понятно, что, например, антитело (или фрагмент, или эпитоп), которое иммуноспецифично связывается с первой мишенью, может специфично или преимущественно связываться или не связываться со второй мишенью. В связи с этим «иммуноспецифичное связывание» не обязательно предполагает единственно возможное связывание (несмотря на то, что может включать его). Обычно, но не обязательно, указание на связывание означает «иммуноспецифичное» связывание. Говорят, что две молекулы способны связываться друг с другом с «физиологической специфичностью», если такое связывание характеризуется специфичностью, с которой рецепторы связываются с соответствующими лигандами.

[00133] Термин «моноклональное антитело» относится к гомогенной популяции антител, где моноклональное антитело состоит из аминокислот (встречающихся в природе или не встречающихся в природе), вовлеченных в избирательное связывание антигена. Моноклональные антитела высокоспецифичны, они нацелены на единственный эпитоп (или антигенную детерминанту). Термин «моноклональное антитело» охватывает не только интактные моноклональные антитела и полноразмерные моноклональные антитела, но и их фрагменты (такие как Fab, Fab', F(ab')₂, Fv и так далее), одноцепочечные связывающие молекулы (scFv), их мутанты, белки слияния, содержащие часть антитела, гуманизированные моноклональные антитела, химерные моноклональные антитела и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая содержит сайт распознавания антигена, обладающий требуемой специфичностью и способностью связываться с антигеном. Не предполагается, что он имеет ограничения, связанные с источником антитела или способом его получения (например, посредством гибридомной технологии, отбора с использованием фагового дисплея, экспрессии рекомбинантных генов, с использованием трансгенных животных и так далее). Термин включает полноразмерные иммуноглобулины, а также фрагменты и так далее, описанные выше в рамках определения «антитело». Способы получения моноклональных антител

известны в данной области техники. Одним из способов, которые могут быть применены, является способ, описанный в источнике Kohler, G. *et al.* (1975) “*Continuous Cultures Of Fused Cells Secreting Antibody Of Predefined Specificity,*” Nature 256:495-497, или его модификация. Как правило, моноклональные антитела получают в организме мышей, крыс или кроликов. Антитела получают путем иммунизации животного иммуногенным количеством клеток, клеточных экстрактов или препаратов белков, которые содержат желаемый эпитоп. Иммуноген может представлять собой, но не ограничивается перечисленным, первичные клетки, культивируемые клеточные линии, раковые клетки, белки, пептиды, нуклеиновые кислоты или ткань. В качестве альтернативы, существующие моноклональные антитела и любые другие эквивалентные антитела, которые являются иммуноспецифичными в отношении желаемого патогенного эпитопа, могут быть секвенированы и получены с помощью рекомбинантных методик любыми способами, известными в данной области техники. В одном из вариантов реализации такое антитело секвенируют, и затем полученную полинуклеотидную последовательность клонируют в вектор для экспрессии или получения больших количеств. Последовательность, кодирующая целевое антитело, может быть сохранена в векторе в клетке-хозяине, и затем может быть проведено наращивание массы клеток-хозяев и их замораживание для последующего применения. Полинуклеотидная последовательность таких антител может быть применена для генетических манипуляций с целью получения моноспецифичных или полиспецифичных (например, биспецифичных, триспецифичных и тетраспецифичных) молекул согласно настоящему изобретению, а также оптимизированного по аффинности химерного антитела, гуманизированного антитела и/или канинизированного (caninized) антитела для улучшения аффинности или других характеристик антитела. Основной принцип гуманизации антитела предполагает сохранение основной последовательности антиген-связывающей части антитела с заменой остальной части антитела, отличной от антитела человека, последовательностями антитела человека.

[00134] Природные антитела (такие как антитела IgG) состоят из двух «легких цепей», объединенных в комплекс с двумя «тяжелыми цепями». Каждая легкая цепь содержит переменный домен («VL») и константный домен («CL»). Каждая тяжелая цепь содержит переменный домен («VH»), три константных домена («CH1», «CH2»

и «СНЗ») и «шарнирную» область («Н»), расположенную между доменами СН1 и СН2. Основная структурная единица встречающихся в природе иммуноглобулинов (например, IgG), таким образом, представляет собой тетрамер, содержащий две легкие цепи и две тяжелые цепи, который обычно экспрессируется в виде гликопротеина с молекулярной массой приблизительно 150000 Да. Аминоконцевая («N-концевая») часть каждой цепи включает переменный домен, содержащий приблизительно от 100 до 110 или более аминокислот, в первую очередь ответственный за распознавание антигена. Карбоксиконцевая («С-концевая») часть каждой цепи определяет константную область, при этом легкие цепи имеют один константный домен, а тяжелые цепи обычно имеют три константных домена и шарнирный домен. Таким образом, структура легких цепей молекулы IgG представляет собой N-VL-CL-с, и структура тяжелых цепей IgG представляет собой N-VH-CH1-H-CH2-CH3-с (где n и с означают, соответственно, N-конец и С-конец полипептида).

А. Характеристики переменных доменов антител

[00135] Переменные домены молекулы IgG состоят из определяющих комплементарность участков («CDR»), которые содержат остатки, контактирующие с эпитопом, а также не относящихся к CDR сегментов, называемых каркасными сегментами («FR»), которые в целом поддерживают структуру и определяют ориентацию петель CDR, что обеспечивает возможность такого контактирования (хотя некоторые каркасные остатки также могут контактировать с антигеном). Таким образом, домены VL и VH имеют структуру n-FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4-с. Аминокислотные последовательности CDR определяют, будет ли антитело способно связываться с конкретным эпитопом. В результате взаимодействия легкой цепи антитела с тяжелой цепью антитела и, в частности, взаимодействия их доменов VL и VH, образуется эпитоп-связывающий сайт указанного антитела.

[00136] Аминокислоты переменных доменов зрелых тяжелой и легкой цепей иммуноглобулинов обозначаются положением аминокислоты в цепи. Кабатом (SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, NH1, MD (1991)) описаны многочисленные аминокислотные последовательности для антител, идентифицирована консенсусная аминокислотная последовательность для каждой подгруппы и присвоен номер остатка каждой аминокислоте, и участки CDR

и FR идентифицированы в соответствии с системой нумерации Кабата (следует понимать, что CDR_{H1} в соответствии с системой нумерации Чотиа (Chothia, C. & Lesk, A. M. ((1987) “*Canonical structures for the hypervariable regions of immunoglobulins*,” J. Mol. Biol. 196:901-917) начинается на пять остатков раньше). Схема нумерации Кабата может быть применена к антителам, не включенным в составленный им перечень, путем выравнивания последовательности рассматриваемого антитела с одной из консенсусных последовательностей, пронумерованных по системе Кабата, по консервативным аминокислотам. Этот метод присвоения номеров остатков стал стандартом в данной области техники и позволяет легко идентифицировать аминокислоты в эквивалентных положениях в различных антителах, включая химерные или гуманизированные варианты. Например, аминокислота в положении 50 легкой цепи антитела человека занимает эквивалентное положение по отношению к аминокислоте в положении 50 легкой цепи антитела мыши. Таким образом, положения в пределах доменов VL и VH, в которых начинаются и заканчиваются их CDR, хорошо определены и могут быть установлены путем оценки последовательностей доменов VL и VH (см., например, Martin, C.R. (2010) “Protein Sequence and Structure Analysis of Antibody Variable Domains,” In: ANTIBODY ENGINEERING VOL. 2 (Kontermann, R. and Dübel, S. (eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Chapter 3 (pages 33-51)).

[00137] Полипептиды, которые представляют собой первый, второй и третий CDR легкой цепи антитела (или могут осуществлять их функции), в настоящей заявке соответственно обозначены как: домен CDR_{L1}, домен CDR_{L2} и домен CDR_{L3}. Схожим образом, полипептиды, которые представляют собой первый, второй и третий CDR тяжелой цепи антитела (или могут осуществлять их функции), в настоящей заявке соответственно обозначены как: домен CDR_{H1}, домен CDR_{H2} и домен CDR_{H3}. Таким образом, термины домен CDR_{L1}, домен CDR_{L2}, домен CDR_{L3}, домен CDR_{H1}, домен CDR_{H2} и домен CDR_{H3} относятся к полипептидам, которые, будучи включенными в белок, обуславливают способность этого белка связываться с конкретным эпитопом независимо от того, является ли такой белок антителом, имеющим легкую и тяжелую цепи, или представляет собой диатело, или одноцепочечную связывающую молекулу (например, scFv, BiTe и так далее), или представляет собой другой тип белка. Соответственно, в настоящей заявке термин «эпитоп-связывающий фрагмент» означает фрагмент молекулы, способный

иммуноспецифично связываться с эпитопом. Эпитоп-связывающий фрагмент может содержать любые 1, 2, 3, 4 или 5 доменов CDR антитела, или может содержать все 6 доменов CDR антитела и, несмотря на способность к иммуноспецифичному связыванию такого эпитопа, может проявлять иммуноспецифичность, аффинность или избирательность по отношению к такому эпитопу, отличные от таковых у данного антитела. Однако предпочтительно, чтобы эпитоп-связывающий фрагмент содержал все 6 доменов CDR такого антитела. Эпитоп-связывающий фрагмент антитела может представлять собой одну полипептидную цепь (например, scFv) или может содержать две или более полипептидных цепей, каждая из которых имеет аминный конец и карбоксильный конец (например, диатело, Fab-фрагмент, Fab₂-фрагмент и так далее). Если специально не указано иное, порядок доменов молекул белков, описанных в настоящей заявке, соответствует направлению «от N-концевого к С-концевому».

[00138] Настоящее изобретение, в частности, охватывает одноцепочечные фрагменты вариабельного домена («scFv»), содержащие домен VL и/или домен VH гуманизированного антитела к В7-Н3 согласно настоящему изобретению. Одноцепочечные фрагменты вариабельного домена содержат домены VL и VH, которые соединены друг с другом с помощью короткого «линкерного» пептида. Такие линкеры могут быть модифицированы для обеспечения дополнительных функций, таких как возможность присоединения лекарственного средства или возможность присоединения к твердой подложке. Одноцепочечные варианты могут быть получены либо рекомбинантным, либо синтетическим путем. Для получения scFv синтетическим путем может быть применен автоматический синтезатор. Для получения scFv рекомбинантным путем подходящая плаزمид, содержащая полинуклеотид, который кодирует указанный scFv, может быть введена в подходящую клетку-хозяина – либо эукариотическую, такую как клетки дрожжей, растений, насекомых или млекопитающих, либо прокариотическую, такую как *E. coli*. Полинуклеотиды, кодирующие целевой scFv, могут быть получены с помощью стандартных процедур, таких как лигирование полинуклеотидов. Полученный в результате scFv может быть выделен с применением стандартных методик очистки белка, известных в данной области техники.

[00139] Настоящее изобретение, в частности, охватывает связывающие молекулы (включая антитела и диатела), которые содержат домен VL и/или домен VH гуманизованного антитела. Термин «гуманизованное» антитело относится к химерной молекуле, обычно полученной с помощью рекомбинантных методик, имеющей эпитоп-связывающий сайт иммуноглобулина, полученного от видов, не являющихся человеком, и остальную структуру иммуноглобулина - от молекулы, полученной на основе структуры и/или последовательности иммуноглобулина человека. Полинуклеотидная последовательность переменных доменов таких антител может быть применена для генетических манипуляций с целью получения таких производных и для улучшения аффинности или других характеристик таких антител. Известно, что переменные домены как тяжелой, так и легкой цепей содержат три определяющих комплементарность участка (CDR), которые изменяются при ответе на соответствующие антигены и определяют способность к связыванию, окруженные четырьмя каркасными участками (FR), которые относительно консервативны у данного вида и предположительно обеспечивают поддержание структуры CDR. Когда антитела, не являющиеся человеческими, получают для конкретного антигена, переменные домены могут быть «реконструированы» или «гуманизированы». Основным принципом гуманизации антитела предполагает сохранение основной последовательности эпитоп-связывающей части антитела с заменой остальной части антитела, отличной от антитела человека, последовательностями антитела человека. Существует четыре основных стадии гуманизации моноклонального антитела. К ним относятся: (1) определение нуклеотидной и ожидаемой аминокислотной последовательности переменных доменов легкой и тяжелой цепи исходного антитела; (2) конструирование гуманизованного антитела или канинизированного антитела, то есть принятие решения, какую каркасную область антитела следует использовать в процессе гуманизации или канинизации; (3) конкретные подходы/методики гуманизации или канинизации и (4) трансфекция и экспрессия гуманизованного антитела. См., например, патенты США № 4,816,567; 5,807,715; 5,866,692 и 6,331,415.

[00140] Был описан ряд молекул гуманизованных антител, содержащих эпитоп-связывающий сайт, полученный из иммуноглобулина, не являющегося иммуноглобулином человека, включая химерные антитела, имеющие переменный домен антитела грызунов или модифицированный переменный домен антитела

грызунов и связанные с ними определяющие комплементарность участки (CDR), гибридные с константными доменами антитела человека (см., например, Lobuglio *et al.* (1989) “*Mouse/Human Chimeric Monoclonal Antibody In Man: Kinetics And Immune Response*,” Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.) 86:4220-4224 (1989)). В других источниках описаны CDR антитела грызунов, привитые на стабилизирующий каркасный участок (FR) антитела человека, с последующей гибридизацией с подходящим константным доменом антитела человека (см., например, Riechmann, L. *et al.* (1988) “*Reshaping Human Antibodies for Therapy*,” Nature 332:323-327; and Jones *et al.* (1986) “*Replacing The Complementarity-Determining Regions In A Human Antibody With Those From A Mouse*,” Nature 321:522-525). В другом источнике описаны CDR антитела грызунов, стабилизированные рекомбинантно венерованными каркасными областями антитела грызунов. См., например, публикацию заявки на европейский патент № 5,195,96. Эти «гуманизированные» молекулы выполнены с возможностью минимизации нежелательного иммунного ответа на молекулы антител грызунов к антителам человека, который ограничивает продолжительность и эффективность терапевтического применения этих фрагментов у реципиентов-людей. Другие способы гуманизации антител, которые также могут быть применены, раскрыты в источнике Daugherty *et al.* (1991) “*Polymerase Chain Reaction Facilitates The Cloning, CDR-Grafting, And Rapid Expression Of A Murine Monoclonal Antibody Directed Against The CD18 Component Of Leukocyte Integrins*,” Nucl. Acids Res. 19:2471-2476 и в патентах США № 6,180,377; 6,054,297; 5,997,867 и 5,866,692. В некоторых вариантах реализации гуманизированные антитела сохраняют все последовательности CDR (например, гуманизированное антитело мыши, которое содержит все шесть CDR антитела мыши). В других вариантах реализации гуманизированные антитела имеют один или более CDR (один, два, три, четыре, пять и/или шесть), которые отличаются по последовательности от исходного антитела.

В. Характеристики константных доменов антител

1. Константные домены легкой цепи

[00141] Как указано выше, каждая легкая цепь антитела содержит переменный домен («VL») и константный домен («CL»).

[00142] Термин «иллюстративный» в настоящей заявке означает «неограничивающий пример (примеры)». Иллюстративным доменом CL является

домен CL каппа IgG человека. Аминокислотная последовательность иллюстративного домена CL каппа человека (**SEQ ID NO:1**):

```
RTVAAPSVFI FPPSDEQLKS GTASVVCLLN NFYPREAKVQ WKVDNALQSG  
NSQESVTEQD SKDSTYSLSS TLTLKADYE KHKVYACEVT HQGLSSPVTK  
SFNRGEC
```

[00143] В качестве альтернативы, иллюстративным доменом CL является домен CL лямбда IgG человека. Аминокислотная последовательность иллюстративного домена CL лямбда человека (**SEQ ID NO:2**):

```
QPKAAPSVTL FPPSSEELQA NKATLVCLIS DFYPGAVTVA WKADSSPVKA  
GVETTPSKQS NNKYAASSYL SLTPEQWKSH RSYSCQVTHE GSTVEKTVAP  
TECS
```

2. Константные домены тяжелой цепи

[00144] Как указано выше, тяжелые цепи антитела могут содержать константные домены CH1, шарнирный домен, CH2 и CH3. Домены CH1 двух тяжелых цепей антитела образуют комплекс с константной областью легкой цепи CL антитела и присоединяются к доменам CH2 тяжелых цепей через промежуточный шарнирный домен.

[00145] Иллюстративным доменом CH1 является домен CH1 IgG1 человека. Аминокислотная последовательность иллюстративного домена CH1 IgG1 человека (**SEQ ID NO:3**):

```
ASTKGPSVFP LAPSSKSTSG GTAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV  
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTQT YICNVNHKPS NTKVDKRV
```

[00146] Иллюстративным доменом CH1 является домен CH1 IgG4 человека. Аминокислотная последовательность иллюстративного домена CH1 IgG4 человека (**SEQ ID NO:4**):

```
ASTKGPSVFP LAPCSRSTSE STAALGCLVK DYFPEPVTVS WNSGALTSGV  
HTFPAVLQSS GLYSLSSVVT VPSSSLGTKT YTCNVDHKPS NTKVDKRV
```

[00147] Иллюстративным шарнирным доменом является шарнирный домен IgG1 человека. Аминокислотная последовательность иллюстративного шарнирного домена IgG1 человека (**SEQ ID NO:5**): EPKSCDKTHTCPPCP

[00148] Другим иллюстративным шарнирным доменом является шарнирный домен IgG4 человека. Аминокислотная последовательность иллюстративного

шарнирного домена IgG4 человека (SEQ ID NO:6): ESKYGPPCPSCP. Шарнирный домен IgG4 может содержать стабилизирующую мутацию, такую как замена S228P. Аминокислотная последовательность иллюстративного S228P-стабилизированного шарнирного домена IgG4 человека (SEQ ID NO:9): ESKYGPPCPPCP.

[00149] Домены CH2 и CH3 двух тяжелых цепей антитела IgG взаимодействуют с образованием «Fc-домена», являющегося доменом, который распознается клеточными Fc-рецепторами, включая Fc-гамма рецепторы (FcγR), но не ограничиваясь ими. В настоящей заявке термин «Fc-домен» используют для определения C-концевой области тяжелой цепи IgG. Говорят, что Fc-домен относится к определенному изотипу, классу или подклассу IgG, если его аминокислотная последовательность наиболее гомологична этому изотипу по сравнению с другими изотипами IgG. Было показано, что помимо известного применения антител в диагностике, они пригодны для применения в качестве терапевтических агентов.

[00150] Аминокислотная последовательность домена CH2-CH3 иллюстративного IgG1 человека (SEQ ID NO:8):

231	240	250	260	270	280
APELLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD					
	290	300	310	320	330
GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA					
	340	350	360	370	380
PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE					
	390	400	410	420	430
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVME					
	440	447			
ALHNHYTQKS LSLSPG <u>X</u>					

в соответствии с нумерацией согласно индексу EU по системе Кабата, где X представляет собой лизин (K) или отсутствует.

[00151] Аминокислотная последовательность домена CH2-CH3 иллюстративного IgG4 человека (SEQ ID NO:9):

231	240	250	260	270	280
APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD					
	290	300	310	320	330

GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS
340 350 360 370 380
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
390 400 410 420 430
WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE
440 447
ALHNHYTQKS LSLSLGX

в соответствии с нумерацией согласно индексу EU по системе Кабата, где X представляет собой лизин (K) или отсутствует.

[00152] Во всем объеме настоящей заявки нумерация остатков в константной области тяжелой цепи IgG соответствует нумерации согласно индексу EU, описанной в источнике Kabat *et al.*, SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5th Ed. Public Health Service, NH1, MD (1991), явным образом включенном в настоящую заявку посредством ссылки. Термин «индекс EU по системе Кабата» относится к нумерации константных доменов антитела EU IgG1 человека.

[00153] В ряде различных положений внутри константных областей антитела (например, Fc-положениях, включая, но не ограничиваясь перечисленными, положения 270, 272, 312, 315, 356 и 358 в соответствии с нумерацией согласно индексу EU по системе Кабата) наблюдались полиморфизмы, и, следовательно, могут существовать небольшие различия между представленной последовательностью и последовательностями, известными из уровня техники. Полиморфные формы иммуноглобулинов человека хорошо охарактеризованы. В настоящее время известно 18 Gm-аллотипов: G1m (1, 2, 3, 17) или G1m (a, x, f, z), G2m (23) или G2m (n), G3m (5, 6, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 21, 24, 26, 27, 28) или G3m (b1, c3, b3, b0, b3, b4, s, t, g1, c5, u, v, g5) (Lefranc, et al., "The Human IgG Subclasses: Molecular Analysis Of Structure, Function And Regulation." Pergamon, Oxford, pp. 43-78 (1990); Lefranc, G. et al., 1979, Hum. Genet.: 50, 199-211). Следует, в частности, учитывать, что антитела согласно настоящему изобретению могут включать любой аллотип, изоаллотип или гаплотип любого гена иммуноглобулина и не ограничиваются аллотипом, изоаллотипом или гаплотипом последовательностей, представленных в настоящей заявке. Помимо этого, в некоторых системах экспрессии C-концевой аминокислотный остаток (выделенный жирным шрифтом выше) домена CH3 может быть удален посттрансляционно. Соответственно, C-концевой остаток домена CH3 является

необязательным аминокислотным остатком. В частности, настоящее изобретение охватывает В7-Н3-ADC, не содержащий С-концевого остатка домена СН3. Настоящее изобретение также, в частности, охватывает такие конструкции, содержащие С-концевой остаток лизина в домене СН3.

[00154] Настоящее изобретение, в частности, охватывает В7-Н3-ADC, содержащие переменные домены антитела к В7-Н3 (то есть домены VL и/или VH), которые иммуноспецифично связываются с эпитопом полипептида В7-Н3 человека. Такие В7-Н3-ADC способны иммуноспецифично связываться с В7-Н3 человека. В настоящей заявке такие нацеленные на В7-Н3 переменные домены называются «анти-В7-Н3-VL» и «анти-В7-Н3-VH», соответственно.

II. Антитело mAb-A к В7-Н3

[00155] Иллюстративное антитело к В7-Н3, обозначенное «mAb-A», выделяли из клеток гибридомы, которые были получены путем иммунизации клетками, экспрессирующими В7-Н3 человека, полипептидом В7-Н3 или его пептидным эпитопом. Антитело mAb-A было гуманизировано.

[00156] Было обнаружено, что антитело mAb-A перекрестно реагирует с В7-Н3 яванского макака. Аминокислотные последовательности доменов VL и VH mAb-A представлены ниже. Предпочтительный В7-Н3-ADC согласно настоящему изобретению содержит все 3 из CDR_H домена VH, все 3 из CDR_L домена VL и необязательно полные домены VH и VL гуманизованного моноклонального антитела mAb-A («hmAb-A»).

A. Антитело мыши mAb-A к В7-Н3

[00157] Аминокислотная последовательность домена VL антитела мыши mAb-A к В7-Н3 (**SEQ ID NO:15**) представлена ниже (остатки CDR_L обозначены подчеркиванием):

DIQMTQSPAS LSVSVGETVT ITCCRASESIYSYLAWYQQKQ GKSPQLLVYN
TKTLPEGVPS RFSGSGSGTQ FSLKINSLQP EDFGRYYCQHNYGTPPWTFG
GGTNLEIK

[00158] Аминокислотная последовательность домена VH mAb-A к В7-Н3 (**SEQ ID NO:16**) представлена ниже (остатки CDR_H обозначены подчеркиванием).

EVQQVESGGD LVKPGGSLKL SCAASGFTFS SYGMSWVRQT PDKRLEWVAT
INSGGSNTYYPDSLKGRFTI SRDNAKNTLY LQMRSLKSED TAMYYCARHD
GGAMDYWGQG TSVTVSS

В. Гуманизированное антитело hmAb-A к B7-H3

[00159] Вариабельные домены антитела mAb-A к B7-H3 были гуманизированы с получением гуманизированного mAb-A («hmAb-A»). В некоторых случаях были получены альтернативные гуманизированные вариабельные домены с целью оптимизации связывающей активности и/или удаления антигенных эпитопов и/или удаления потенциально лабильных аминокислотных остатков.

[00160] Аминокислотная последовательность домена VL hmAb-A (SEQ ID NO:17) представлена ниже (остатки CDR_L обозначены подчеркиванием):

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASESIYSYLAWYQQKP GKAPKLLVYN
TKTLPEGVPS RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQHNYGTPPWTFG
QGTRLEIK

[00161] Аминокислотная последовательность легкой цепи hmAb-A, содержащей домен VL hmAb-A и домен CL каппа (SEQ ID NO: 19), представлена ниже:

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASESIY SYLAWYQQKP GKAPKLLVYN
TKTLPEGVPS RFSGSGSGTD FTLTISLQP EDFATYYCQH HYGTPPWTFG
QGTRLEIKRT VAAPSVFIFP PSDEQLKSGT ASVVCLLNNF YPREAKVQWK
VDNALQSGNS QESVTEQDSK DSTYSLSTL TLSKADYEKH KVYACEVTHQ
GLSSPVTKSF NRGEC

[00162] В SEQ ID NO:19 аминокислотные остатки 1-108 соответствуют домену VL hmAb-A (SEQ ID NO:17), и аминокислотные остатки 109-215 соответствуют константной области легкой цепи каппа (SEQ ID NO:1).

[00163] Аминокислотная последовательность домена VH hmAb-A (SEQ ID NO:18) представлена ниже (остатки CDR_H обозначены подчеркиванием).

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT
INSGGSNTYYPDSLKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARHD
GGAMDYWGQG TTVTSS

[00164] Аминокислотная последовательность тяжелой цепи, содержащей домен VH hmAb-A и домены CH1-H-CH2-CH3 IgG1 (SEQ ID NO:20), представлена ниже:

EVQLVESGGG LVKPGGSLRL SCAASGFTFS SYGMSWVRQA PGKGLEWVAT
INSGGSNTYY PDSLKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARHD
GGAMDYWGQG TTVTSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF

PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC
NVNHKPSNTK VDKRVEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV FLFPPKPKDT
LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSREEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS
DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPGK

[00165] В SEQ ID NO:20 аминокислоты 1-117 соответствуют домену VH hmAb-A (SEQ ID NO:18), аминокислотные остатки 118-215 соответствуют домену CH1 IgG1 (SEQ ID NO:3), аминокислотные остатки 216–230 соответствуют шарнирному домену IgG1 (SEQ ID NO:5), и аминокислотные остатки 231–447 соответствуют домену CH2-CH3 IgG1 (SEQ ID NO:8). N-связанный сайт гликозилирования присутствует в положении 296 по Кабату (показано подчеркиванием).

III. Модификация Fc-домена

[00166] Fc-домен содержащих Fc-домен молекул (например, антител и диател) согласно настоящему изобретению может представлять собой либо полный Fc-домен (например, полный Fc-домен IgG), либо только фрагмент Fc-домена. Необязательно Fc-домен содержащих Fc-домен молекул согласно настоящему изобретению не содержит C-концевого аминокислотного остатка лизина.

[00167] При традиционном осуществлении иммунной функции взаимодействие комплексов антитело-антиген с клетками иммунной системы приводит к целому ряду ответов, начиная от эффекторных функций, таких как антителозависимая цитотоксичность, дегрануляция тучных клеток и фагоцитоз, до иммуномодулирующих сигналов, таких как сигналы, регулирующие пролиферацию лимфоцитов и секрецию антител. Все эти взаимодействия инициирует связывание Fc-домена антител или иммунных комплексов со специализированными рецепторами клеточной поверхности (в единственном числе называемыми «Fc-гамма-рецептор», «FcγR», а в совокупности - «FcγR»), обнаруженными на поверхностях нескольких типов клеток иммунной системы (например, В-лимфоцитов, фолликулярных дендритных клеток, клеток-естественных киллеров, макрофагов, нейтрофилов, эозинофилов, базофилов и тучных клеток). Разнообразие клеточных ответов, вызываемых антителами и иммунными комплексами, является результатом структурной гетерогенности трех Fc рецепторов: FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) и FcγRIII (CD16). FcγRI (CD64), FcγRIIA (CD32A) и FcγRIII (CD16) являются

активирующими (то есть стимулирующими иммунную систему) рецепторами; FcγRIIB (CD32B) является ингибирующим (то есть подавляющим иммунную систему) рецептором. Помимо этого, взаимодействие с неонатальным Fc-рецептором (FcRn) опосредует рециркуляцию молекулы IgG из эндосомы на поверхность клетки и высвобождение в кровь. Аминокислотные последовательности иллюстративных IgG1 (SEQ ID NO:8) и IgG4 (SEQ ID NO:9) дикого типа представлены выше.

[00168] Модификация Fc-домена может приводить к измененному фенотипу, например, измененному времени полужизни в сыворотке, измененной стабильности, измененной восприимчивости к клеточным ферментам или измененной эффекторной функции. Соответственно, в некоторых вариантах реализации Fc-домен содержащих Fc-домен молекул согласно настоящему изобретению может представлять собой сконструированный вариантный Fc-домен. Несмотря на то, что Fc-домен содержащих Fc-домен молекул согласно настоящему изобретению может обладать способностью связываться с одним или более Fc-рецепторами (например, FcγR), в частности такой вариантный Fc-домен будет иметь измененные характеристики связывания с FcγRIA (CD64), FcγRIIA (CD32A), FcγRIIB (CD32B), FcγRIIA (CD16a) или FcγRIIB (CD16b) (относительно связывания, демонстрируемого Fc-доменом дикого типа), например, будет проявлять усиленное связывание с активирующим рецептором и/или будет характеризоваться существенно сниженной способностью связываться с ингибирующим рецептором (рецепторами) или отсутствием таковой. Таким образом, Fc-домен содержащих Fc-домен молекул согласно настоящему изобретению может содержать полностью или частично домен CH2 и/или полностью или частично домен CH3 полного Fc-домена, или может содержать последовательность вариантного CH2 и/или вариантного CH3 (которая может содержать, например, одну или более вставок и/или одну или более делеций относительно доменов CH2 или CH3 полного Fc-домена). Такие Fc-домены могут содержать части полипептида, отличные от Fc, или могут содержать части неприродных полных Fc-доменов, или могут включать не встречающиеся в природе ориентации доменов CH2 и/или CH3 (такие как, например, два домена CH2 или два домена CH3, или, в направлении от N-конца к C-концу, домен CH3, связанный с доменом CH2, и так далее).

[00169] В некоторых вариантах реализации Fc-домены связывающих молекул согласно настоящему изобретению проявляют сниженное связывание (или по существу его отсутствие) с FcγRIA (CD64), FcγRIIA (CD32A), FcγRIIB (CD32B), FcγRIIA (CD16a) или FcγRIIB (CD16b) (относительно связывания, проявляемого Fc-доменом IgG1 дикого типа (**SEQ ID NO:8**)). В некоторых вариантах реализации связывающие молекулы согласно настоящему изобретению содержат Fc-домен IgG, который проявляет сниженную эффекторную функцию АЗКЦ. В таких вариантах реализации домены CH2-CH3 связывающих молекул содержат любые 1, 2, 3 или 4 из замен: L234A, L235A, D265A, N297Q и N297G. В другом варианте реализации домены CH2-CH3 содержат замену N297Q, замену N297G, замены L234A и L235A или замену D265A, поскольку эти мутации устраняют связывание с FcR. В качестве альтернативы используют домен CH2-CH3 встречающегося в природе Fc-домена, который по своей природе проявляет сниженное связывание (или по существу его отсутствие) с FcγRIIA (CD16a) и/или сниженную эффекторную функцию (относительно связывания и эффекторной функции, проявляемых Fc-доменом IgG1 дикого типа (**SEQ ID NO:8**)). В конкретном варианте реализации связывающие молекулы согласно настоящему изобретению содержат Fc-домен IgG4 (**SEQ ID:NO:9**). В случае использования Fc-домена IgG4 настоящее изобретение также охватывает введение стабилизирующей мутации, такой как замена S228P в шарнирном домене, описанная в настоящей заявке (см., например, **SEQ ID NO:7**).

[00170] Время полужизни в сыворотке белков, содержащих Fc-домены, может быть увеличено за счет увеличения аффинности связывания Fc-домена с FcRn. Термин «время полужизни» в настоящей заявке означает фармакокинетическое свойство молекулы, которое является мерой среднего времени жизни молекул после их введения. Время полужизни может быть выражено как время, необходимое для удаления пятидесяти процентов (50%) известного количества молекулы из организма субъекта (например, пациента-человека или другого млекопитающего) или его определенного отдела, например, определяемое в сыворотке, то есть время полужизни в кровотоке или в других тканях. В целом, увеличение времени полужизни приводит к увеличению среднего времени удержания (СВУ) в кровотоке для введенной молекулы. Модификации, способные увеличивать время полужизни содержащей Fc-домен молекулы, известны в данной области техники и включают, например, M252Y, S254T, T256E и их комбинации. Например, см. модификации,

описанные в патентах США № 6,277,375, 7,083,784; 7,217,797 и 8,088,376; публикациях заявок на патент США № 2002/0147311; 2007/0148164 и 2011/0081347.

[00171] В одном из вариантов реализации связывающая молекула PD-1 X LAG-3 согласно настоящему изобретению содержит вариантную Fc-область, где такая вариантная Fc-область содержит замену на тирозин в положении 252, замену на треонин в положении 254 и замену на глутамат в положении 256 (252Y, 254T и 256E), при этом такая нумерация соответствует нумерации согласно индексу EU по системе Кабата. В конкретном варианте реализации связывающая молекула PD-1 X LAG-3 согласно настоящему изобретению содержит вариантную Fc-область IgG4, где такая вариантная Fc-область IgG4 содержит замену на тирозин в положении 252, замену на треонин в положении 254 и замену на глутамат в положении 256 (252Y, 254T и 256E), при этом такая нумерация соответствует нумерации согласно индексу EU по системе Кабата

[00172] Иллюстративная вариантная последовательность IgG4 для доменов CH2 и CH3, содержащая замены M252Y/S254T/T256E, представляет собой (**SEQ ID NO:14**):

APEFLGGPSV FLFPPKPKDT LYITREPEVT CVVVDVSQED PEVQFNWYVD
GVEVHNAKTK PREEQFNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS
SIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE
WESNGQPENN YKTTTPVLD S DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVMHE
ALHNHYTQKS LSLSLGX

где X представляет собой лизин (K) или отсутствует.

IV. B7-H3-ADC

[00173] Настоящее изобретение относится к описанному выше антителу hmAb-A к B7-H3, конъюгированному с цитотоксическим лекарственным средством, B7-H3-ADC. Такой B7-H3-ADC усиливает цитотоксичность нацеленной на B7-H3 терапии, в частности, для лечения рака. Как указано выше, B7-H3-ADC согласно настоящему изобретению представлен формулой:



где:

Ab представляет собой антитело, связывающееся с B7-H3, которое содержит гуманизированный переменный домен тяжелой цепи (VH)

- и гуманизированный переменный домен легкой цепи (VL), или представляет собой его связывающий B7-H3 фрагмент, и;
- D** представляет собой цитотоксический дуокармициновый фрагмент;
- LM** представляет собой связь или линкерную молекулу, которая ковалентно связывает **Ab** и **D**;
- m** представляет собой целое число от 0 до n и обозначает количество связей или линкерных молекул в B7-H3-ADC, m не равно 0 за исключением случаев, когда **LM** представляет собой связь;
- и
- n** представляет собой целое число от 1 до 10 и обозначает количество цитотоксических дуокармициновых фрагментов, ковалентно связанных с B7-H3-ADC.

[00174] В некоторых вариантах реализации B7-H3-ADC согласно настоящему изобретению содержит встречающийся в природе Fc-домен изотипа IgG1. Такой Fc-домен не содержит C-концевого остатка лизина в домене CH3. В конкретных вариантах реализации B7-H3-ADC будет связываться с опухолевой клеткой, экспрессирующей B7-H3, а затем будет интернализироваться такой клеткой путем рецепторно-опосредованного эндоцитоза. После попадания внутрь лизосомы B7-H3-ADC предпочтительно подвергается деградации, обеспечивая тем самым высвобождение цитотоксического дуокармицинового фрагмента внутри клетки, что приводит к гибели клетки. Следует понимать, что механизм действия гибели клеток может быть различным в зависимости от класса применяемого цитотоксического лекарственного средства (например, нарушение цитокинеза ингибиторами полимеризации тубулина, такими как майганзины и ауристатины, повреждение ДНК взаимодействующими с ДНК агентами, такими как калихеамицины и дуокармицины) и так далее. Соседние раковые клетки также могут быть уничтожены, когда свободное лекарственное средство высвобождается в среду опухоли погибающей клеткой, в процессе, известном как эффект «свидетеля» (Panowski, S. *et al.* (2014) "Site-Specific Antibody Drug Conjugates For Cancer Therapy," *mAbs* 6(1):34-45; Kovtun, Y.V. *et al.* (2006) "Antibody-Drug Conjugates Designed To Eradicate Tumors With Homogeneous And Heterogeneous Expression Of The Target Antigen," *Cancer Res.* 66:3214-3221).

А. Иллюстративные линкерные молекулы согласно настоящему изобретению

[00175] В настоящем изобретении, в частности, рассматриваются такие В7-Н3-ADC, в которых **LM** представляет собой линкерную молекулу и отсутствует (то есть $m = 0$), а также В7-Н3-ADC, которые имеют более чем одну линкерную молекулу **LM** (то есть m представляет собой целое число от 2 до n , где n представляет собой целое число от 2 до 10), каждая из указанных линкерных молекул **LM** ковалентно связывает цитотоксический дуокармициновый фрагмент **D** с **Ab** таких В7-Н3-ADC.

[00176] В настоящем изобретении дополнительно предложены В7-Н3-ADC, **Ab** которых ковалентно связаны с более чем одной линкерной молекулой **LM**, при этом все такие линкерные молекулы являются идентичными. Все цитотоксические дуокармициновые фрагменты **D**, которые ковалентно связаны с **Ab** таких В7-Н3-ADC, могут быть идентичными, или они могут включать 2, 3, 4 или более независимо различных цитотоксических дуокармициновых фрагментов **D**.

[00177] В настоящем изобретении дополнительно предложены такие В7-Н3-ADC, **Ab** которых ковалентно связаны с более чем одной линкерной молекулой **LM**, при этом все такие линкерные молекулы не являются идентичными и могут независимо различаться. Все цитотоксические дуокармициновые фрагменты **D**, которые ковалентно связаны с **Ab** таких В7-Н3-ADC, могут быть идентичными, или они могут включать 2, 3, 4 или более независимо различных цитотоксических дуокармициновых фрагментов **D**.

[00178] Иллюстративные гуманизированные домены VH и VL антител, которые связываются с В7-Н3 человека, и иллюстративные константные домены антител человека, которые могут быть включены в В7-Н3-ADC, представлены выше. Как указано выше, В7-Н3-ADC дополнительно содержит по меньшей мере один цитотоксический дуокармициновый фрагмент, который ковалентно связан с атомом боковой цепи аминокислотного остатка такого домена VH или домена VL и/или константного домена, либо непосредственно, либо через линкерную молекулу, включенную между атомом боковой цепи и дуокармициновым фрагментом. Линкерная молекула может представлять собой непептидную молекулу, или молекулу, которая содержит непептидную часть и пептидную часть, или она может представлять собой молекулу, которая состоит исключительно из остатков

аминокислот. Аминокислотные остатки любых таких линкерных молекул могут включать встречающиеся в природе или не встречающиеся в природе аминокислотные остатки, включая D-варианты встречающихся в природе аминокислотных остатков, *l*-ацетилфенилаланин, селеноцистеин и так далее. Необязательно или дополнительно, конкретные остатки, имеющие желаемую боковую цепь (например, боковую цепь $-\text{CH}_2\text{-SH}$, боковую цепь $\text{CH}_2\text{-OH}$, боковую цепь $-\text{CH}(\text{CH}_2)\text{-SH}$, боковую цепь $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-S-CH}_3$; боковую цепь $-\text{CH}_2\text{-C(O)-NH}_2$, боковую цепь $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(O)-NH}_2$, боковую цепь $-\text{CH}_2\text{-C(O)OH-}$, боковую цепь $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-C(O)OH-}$, боковую цепь $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH}_2$, боковую цепь $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-C(NH}_2)_2$, имидазольную боковую цепь, бензильную боковую цепь, фенольную боковую цепь, индольную боковую цепь и так далее) могут быть встроены в В7-НЗ-ADC.

[00179] Линкерная молекула **LM** может быть нерасщепляемой в физиологических условиях, например, состоящей из гидролитически стабильного фрагмента, например, простого тиоэфирного линкера или пространственно затрудненного дисульфидного линкера. Гидролитически стабильные линкеры по существу стабильны в воде и не взаимодействуют с водой при применяемых значениях pH, в том числе, но не ограничиваясь этим, в физиологических условиях в течение длительного периода времени. Напротив, гидролитически нестабильные или разрушаемые линкеры подвергаются разрушению в воде или в водных растворах, включая, например, кровь.

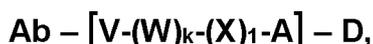
[00180] В качестве альтернативы, линкерная молекула **LM** может быть расщепляемой или может содержать расщепляемую часть. Примеры такой расщепляемой части включают кислото-неустойчивый линкер (например, линкер на основе 4-(4'-ацетилфеонкси)бутановой кислоты, который образует гидразиновую связь), расщепляемый дисульфидный линкер (который расщепляется в восстанавливающей внутриклеточной среде) и расщепляемый протеазами линкер. Кислото-неустойчивые линкеры выполнены с возможностью оставаться стабильными при значениях pH, имеющихся в крови, но становятся нестабильными и разрушаются, когда попадают в среду с низким pH в лизосомах. Расщепляемый протеазами линкеры также выполнены с возможностью оставаться стабильными в крови/плазме, но быстро высвобождают свободное лекарственное средство внутри

лизосом в раковых клетках после расщепления лизосомальными ферментами (Panowski, S. *et al.* (2014) “*Site-Specific Antibody Drug Conjugates For Cancer Therapy*,” *mAbs* 6(1):34-45). В качестве альтернативы, линкерная молекула может представлять собой расщепляемый ферментом субстрат или содержать расщепляемый ферментом субстрат, такой как расщепляемый пептид (например, расщепляемый дипептид, как то линкер на основе валин-цитруллинового дипептида и *para*-аминобензилового спирта (сАС10-мс-vc-РАВА), который избирательно расщепляется лизосомальными ферментами). Подходящие расщепляемые линкеры известны в данной области техники, см., например, de Groot, Franciscus M.H., *et al.* (2002) “*Design, Synthesis, and Biological Evaluation of a Dual Tumor-Specific Motive Containing Integrin-Targeted Plasmin-Cleavable Doxorubicin Prodrug*,” *Molecular Cancer Therapeutics*, 1: 901-911; Dubowchik *et al.*, (2002) “*Doxorubicin Immunoconjugates Containing Bivalent, Lysosomally-Cleavable Dipeptide Linkages*.” *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 12:1529-1532; патенты США № 5,547,667; 6,214,345; 7,585,491; 7,754,681; 8,080,250; 8,461,117 и WO 02/083180.

[00181] Могут быть применены неустойчивые к действию ферментов или разрушаемые ферментами линкеры. Такие линкеры разрушаются под действием одного или более ферментов. Только в качестве примера, ПЭГ и родственные полимеры могут содержать разрушаемую линкерную молекулу (линкерные молекулы) в основной цепи полимера или в линкерной группе между основной цепью полимера и одной или более концевыми функциональными группами полимерной молекулы. Такие разрушаемые линкерные молекулы включают, но не ограничиваются ими, сложноэфирные связи, образованные в результате реакции ПЭГ-карбоновых кислот или активированных ПЭГ-карбоновых кислот со спиртовыми группами биологически активного агента, причем такие сложноэфирные группы, как правило, гидролизуются в физиологических условиях с высвобождением биологически активного агента. Другие гидролитически разрушаемые линкерные молекулы включают, но не ограничиваются ими, карбонатные связи; иминные связи, возникающие в результате реакции амина и альдегида; фосфатные сложноэфирные связи, образованные при взаимодействии спирта с фосфатной группой; гидразоновые связи, которые являются продуктом реакции гидразида и альдегида; ацетальные связи, которые являются продуктом реакции альдегида и спирта; ортоэфирные связи, которые являются продуктом реакции формиата и спирта; пептидные связи,

образованные аминокруппой, в том числе, но не ограничиваясь этим, на конце полимера, такого как ПЭГ, и карбоксильной группой пептида; и олигонуклеотидные связи, образованные фосфорамидитной группой, в том числе, но не ограничиваясь этим, на конце полимера, и 5' -гидроксильной группой олигонуклеотида.

[00182] В одном из вариантов реализации линкерная молекула согласно настоящему изобретению может представлять собой или может содержать расщепляемую линкерную молекулу, **V-(W)_k-(X)₁-A**, раскрытую в публикации согласно РСТ WO 02/083180, вследствие чего В7-Н3-ADC имеет формулу:



где:

V представляет собой необязательный расщепляемый фрагмент,

(W)_k-(X)₁-A представляет собой удлиненную самоудаляющуюся спейсерную систему, которая самоудаляется посредством 1,(4+2n)-элиминирования, каждый из **W** и **X** представляет собой спейсер, удаляющийся путем реакции 1,(4+2n)-электронного каскада, и эти спейсеры являются одинаковыми или различными,

A представляет собой либо спейсерную группу формулы **(Y)_m**, где **Y** представляет собой спейсер, удаляющийся путем реакции 1,(4+2n)-электронного каскада, либо группу формулы **U**, представляющую собой спейсер, удаляющийся путем реакции циклизации-элиминирования, **k**, **l** и **m** независимо представляют собой целое число от 0 (включительно) до 5 (включительно),

n представляет собой целое число от 0 (включительно) до 10 (включительно),

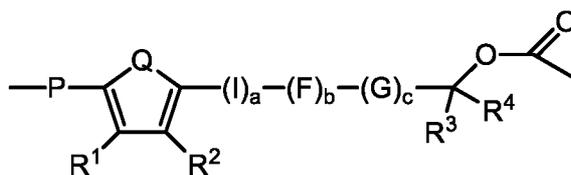
при условии, что:

когда **A** представляет собой **(Y)_m**: $k+l+m \geq 1$, и

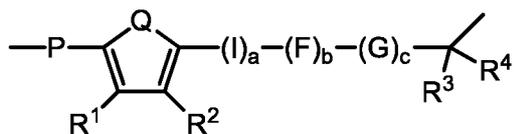
если $k+l+m=1$, то $n > 1$;

когда **A** представляет собой **U**: $k+l \geq 1$.

W, **X** и **Y** независимо выбраны из соединений, имеющих формулу:



или формулу:

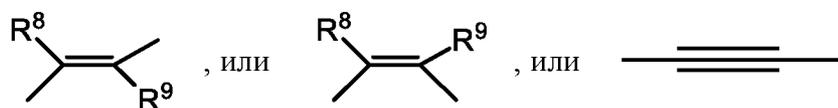


где: Q представляет собой $-R^5C=CR^6-$, S, O, NR^5 , $-R^5C=N-$ или $N=CR^5-$

P представляет собой NR^7 , O или S

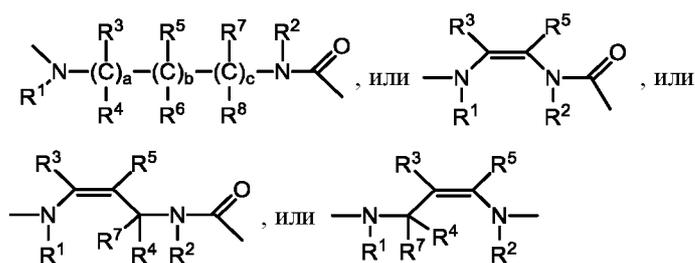
a, b и c независимо представляют собой целое число от 0 (включительно) до 5 (включительно);

I, F и G независимо выбраны из соединений, имеющих формулу:



где R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 и R^9 независимо представляют собой H, C_{1-6} алкил, C_{3-20} гетероциклил, C_{5-20} арил, C_{1-6} алкокси, гидроксигруппа (OH), амино (NH_2), монозамещенный амино (NR_xH), дизамещенный амино ($NR_x^1R_x^2$), нитро (NO_2), галоген, CF_3 , CN, $CONH_2$, SO_2Me , $CONHMe$, циклический C_{1-5} алкиламино, имидазолил, C_{1-6} алкилпиперазинил, морфолино, тиол (SH), простой тиоэфир (SR_x), тетразол, карбокси ($COOH$), карбоксилат ($COOR_x$), сульфокси ($S(=O)_2OH$), сульфонат ($S(=O)_2OR_x$), сульфонил ($S(=O)_2R_x$), сульфокси ($S(=O)OH$), сульфид ($S(=O)OR_x$), сульфидил ($S(=O)R_x$), фосфонокси ($OP(=O)(OH)_2$) и фосфат ($OP(=O)(OR_x)_2$), при этом R_x , R_x^1 и R_x^2 независимо выбраны из C_{1-6} алкильной группы, C_{3-20} гетероциклильной группы или C_{5-20} арильной группы, при этом два или более из заместителей R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 или R^9 необязательно соединены друг с другом с образованием одной или более алифатических или ароматических циклических структур;

U выбран из соединений, имеющих формулу:



где:

a, b и c независимо выбраны таким образом, чтобы представлять собой целое число 0 или 1; при условии, что $a + b + c = 2$ или 3;

R^1 и/или R^2 независимо представляют собой H, C₁₋₆ алкил, при этом указанный алкил необязательно замещен одной или более из следующих групп: гидроксид (OH), простой эфир (OR_x), амино (NH₂), монозамещенный амино (NR_xH), дизамещенный амино (NR_x¹R_x²), нитро (NO₂), галоген, CF₃, CN, CONH₂, SO₂Me, CONHMe, циклический C₁₋₅ алкиламино, имидазолил, C₁₋₆ алкилпиперазинил, морфолино, тиол (SH), простой тиоэфир (SR_x), тетразол, карбокси (COOH), карбоксилат (COOR_x), сульфокси (S(=O)₂OH), сульфонат (S(=O)₂OR_x), сульфонил (S(=O)₂R_x), сульфидокси (S(=O)OH), сульфидинат (S(=O)OR_x), сульфидинил (S(=O)R_x), фосфоноксид (OP(=O)(OH)₂) и фосфат (OP(=O)(OR_x)₂), при этом R_x, R_x¹ и R_x² выбраны из C₁₋₆ алкильной группы, C₃₋₂₀ гетероциклической группы или C₅₋₂₀ арильной группы; и

R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 и R^8 независимо представляют собой H, C₁₋₆ алкил, C₃₋₂₀ гетероциклический, C₅₋₂₀ арил, C₁₋₆ алкокси, гидроксид (OH), амино (NH₂), монозамещенный амино (NR_xH), дизамещенный амино (NR_x¹R_x²), нитро (NO₂), галоген, CF₃, CN, CONH₂, SO₂Me, CONHMe, циклический C₁₋₅ алкиламино, имидазолил, C₁₋₆ алкилпиперазинил, морфолино, тиол (SH), простой тиоэфир (SR_x), тетразол, карбокси (COOH), карбоксилат (COOR_x), сульфокси (S(=O)₂OH), сульфонат (S(=O)₂OR_x), сульфонил (S(=O)₂R_x), сульфидокси (S(=O)OH), сульфидинат (S(=O)OR_x), сульфидинил (S(=O)R_x), фосфоноксид (OP(=O)(OH)₂) и фосфат (OP(=O)(OR_x)₂), при этом R_x, R_x¹ и R_x² выбраны из C₁₋₆ алкильной группы, C₃₋₂₀

гетероциклической группы или C₅₋₂₀ арильной группы, и два или более из заместителей R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ или R⁸ необязательно соединены друг с другом с образованием одной или более алифатических или ароматических циклических структур.

[00183] Иллюстративные молекулы включают:

n-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
n-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
n-аминоциннамилоксикарбонил;
n-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
n-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил;
n-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил;
n-аминофенилпентадиенилоксикарбонил;
n-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил;
n-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
n-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил;
n-аминобензилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
n-аминоциннамилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
n-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
n-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
n-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)-карбонил;
n-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
n-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензил;
n-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензил;
n-аминоциннамил;
n-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминобензил;
n-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминоциннамил;
n-амино-циннамилоксикарбонил-*n*-аминоциннамил;

n-аминофенилпентадиенил;

n-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-амиоциннамил;

n-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминобензил

и

n-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминофенилпентадиенил.

[00184] В некоторых вариантах реализации В7-Н3-ADC содержит два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять цитотоксических дуокармициновых фрагментов, которые могут быть одинаковыми, или могут независимо быть одинаковыми или отличаться от другого цитотоксического дуокармицинового фрагмента указанного В7-Н3-ADC. В одном из вариантов реализации каждый такой цитотоксический дуокармициновый фрагмент конъюгирован с **Ab** В7-Н3-ADC с помощью отдельной линкерной молекулы. В качестве альтернативы, более чем один цитотоксический дуокармициновый фрагмент может быть присоединен к **Ab** В7-Н3-ADC с помощью одной и той же линкерной молекулы.

[00185] Цитотоксические дуокармициновые фрагменты могут быть конъюгированы с **Ab** В7-Н3-ADC с помощью средств, известных в данной области техники (см., например, Yao, H. *et al.* (2016) “*Methods to Design and Synthesize Antibody-Drug Conjugates (ADC)*,” Intl. J. Molec. Sci. 17(194):1-16); Behrens, C. R. *et al.* (2014) “*Methods For Site-Specific Drug Conjugation To Antibodies*,” mAbs 6(1):46-53; Bouchard, H. *et al.* (2014) “*Antibody-Drug Conjugates – A New Wave Of Cancer Drugs*,” Bioorganic & Medicinal Chem. Lett 24:5357-5363). Тиольная группа цистеина, боковая аминогруппа лизина, глутамина или аргинина или карбоксильная группа глутамата или аспартата могут быть использованы для конъюгирования линкерной молекулы-цитотоксического дуокармицинового фрагмента (**LM-D**) с **Ab** В7-Н3-ADC. Нативные антитела содержат множество сайтов конъюгации лизина и, таким образом, способны связывать несколько конъюгированных молекул на антитело. Действительно, с помощью пептидного картирования было определено, что конъюгирование происходит как в тяжелой, так и в легкой цепи с участием приблизительно 20 различных остатков лизина (40 остатков лизина на mAb). Таким образом, может быть получено более одного миллиона различных видов ADC. Конъюгирование по остаткам цистеина происходит после восстановления от одной до четырех

межцепочечных дисульфидных связей, и, таким образом, конъюгирование в нативных доменах VL и VH ограничивается восемью доступными сульфгидрильными группами. Однако при необходимости в антитело могут быть включены дополнительные реакционноспособные остатки (например, лизин, цистеин, селеноцистеин и так далее) (например, в пределах домена VL и/или домена VH и/или константного домена). Например, один или более нативных аминокислотных остатков могут быть заменены на остаток цистеина. Неприродная аминокислота (например, *n*-ацетилфенилаланин) может быть генетически включена в антитело с использованием пары супрессорной тРНК амбер-стоп-кодона/aaRS. (См., например, Behrens CR, and Liu B. (2014) “*Methods For Site-Specific Drug Conjugation To Antibodies*,” *mAbs* 6(1):46-53. doi:10.4161/mabs.26632; Panowski, S., *et al.* (2014) “*Site-Specific Antibody Drug Conjugates For Cancer Therapy*,” *mAbs*, 6(1), 34–45, doi:10.4161/mabs.27022; и WO 2008/070593). В качестве альтернативы или дополнительно, для конъюгирования линкерной молекулы-цитотоксического дуокармицинового фрагмента (**LM-D**) с **Ab** B7-H3-ADC могут быть применены ферменты (например, гликотрансфераза). Платформа гликотрансферазы присоединяет к сайту гликозилирования антитела (например, положение N297 Fc-домена антитела IgG человека) сахарный фрагмент, который затем может служить линкерной молекулой согласно настоящему изобретению и конъюгировать цитотоксический дуокармициновый фрагмент (**D**) с **Ab** B7-H3-ADC. В качестве альтернативы, для катализа образования ковалентной связи между свободной аминогруппой и боковой цепью глутамина может быть применена трансглутаминаза.

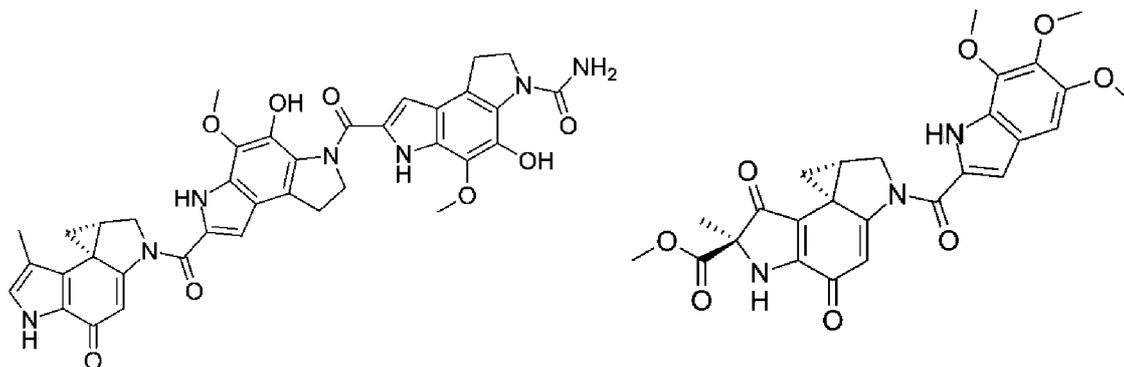
[00186] Примером трансглутаминазы является коммерчески доступная трансглутаминаза *Streptovorticillium mobaraense* (mTG) (Pasternack, R. *et al.* (1998) “*Bacterial Pro-Transglutaminase From Streptovorticillium mobaraense – Purification, Characterisation And Sequence Of The Zymogen*,” *Eur. J. Biochem.* 257(3):570-576; Yokoyama, K. *et al.* (2004) “*Properties And Applications Of Microbial Transglutaminase*,” *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 64:447-454). Этот фермент не распознает никаких природных остатков глутамина в Fc-доме гликозилированных антител, но распознает тетрапептид LLQL (**SEQ ID NO:21**) (Jeger, S. *et al.* (2010) “*Site-Specific And Stoichiometric Modification Of Antibodies By Bacterial Transglutaminase*,” *Angew Chem. Int. Ed. Engl.* 49:9995-9997), который может быть встроен в домен VL, и/или домен VH, и/или константный домен. Эти аспекты рассмотрены в источнике Panowski, S. *et*

al. (2014) “*Site-Specific Antibody Drug Conjugates For Cancer Therapy*,” *mAbs* 6(1):34-45.

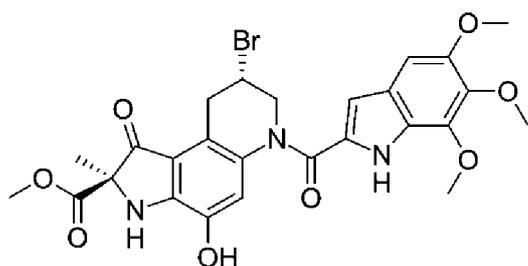
В. Иллюстративные дуокармициновые фрагменты согласно настоящему изобретению

[00187] Дуокармицины являются членами группы родственных веществ природного происхождения, которые были впервые выделены из бактерий рода *Streptomyces* и являются мощными противоопухолевыми антибиотиками (см. Dokter, W. *et al.* (2014) “*Preclinical Profile of the HER2-Targeting ADC SYD983/SYD985: Introduction of a New Duocarmycin-Based Linker-Drug Platform*,” *Mol. Cancer Ther.* 13(11):2618-2629; Boger, D.L. *et al.* (1991). “*Duocarmycins - A New Class Of Sequence Selective DNA Minor Groove Alkylating Agents*,” *Chemtracts: Organic Chemistry* 4 (5): 329-349 (1991); Tercel *et al.* (2013) “*The Cytotoxicity Of Duocarmycin Analogues Is Mediated Through Alkylation Of DNA, Not Aldehyde Dehydrogenase 1: A Comment*,” *Chem. Int. Ed. Engl.* 52(21):5442-5446; Boger, D.L. *et al.* (1995) “*CC-1065 And The Duocarmycins: Unraveling The Keys To A New Class Of Naturally Derived DNA Alkylating Agents*,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 92(9):3642-3649; Cacciari, B. *et al.* (2000) “*CC-1065 And The Duocarmycins: Recent Developments*,” *Expert Opinion on Therapeutic Patents* 10(12):1853-1871).

[00188] Природные дуокармицины включают дуокармицин А, дуокармицин В1, дуокармицин В2, дуокармицин С1, дуокармицин С2, дуокармицин D, дуокармицин SA и CC-1065 (публикация согласно РСТ № WO 2010/062171; Martin, D.G. *et al.* (1980) “*Structure Of CC-1065 (NSC 298223), A New Antitumor Antibiotic*,” *J. Antibiotics* 33:902-903; Boger, D.L. *et al.* (1995) “*CC-1065 And The Duocarmycins: Unraveling The Keys To A New Class Of Naturally Derived DNA Alkylating Agents*,” *Proc. Natl. Acad. Sci. (U.S.A.)* 92:3642-3649).

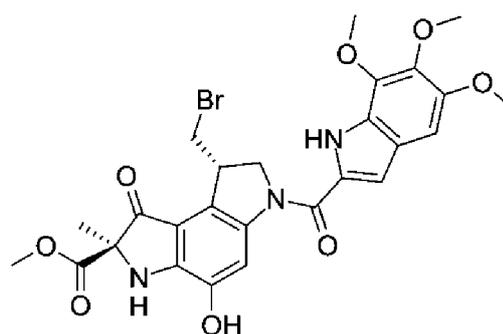


СС-1065

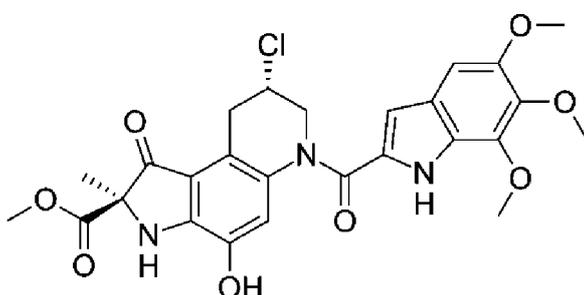


Дуокармицин В1

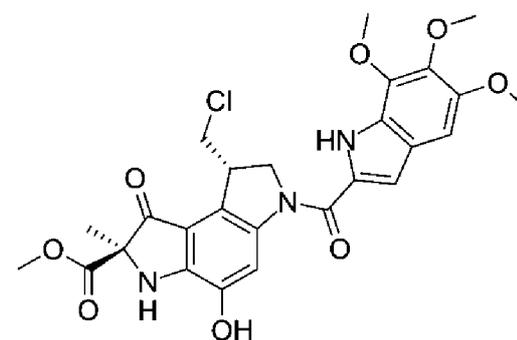
Дуокармицин А



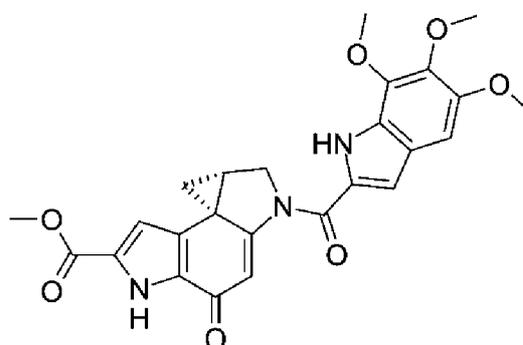
Дуокармицин В2



Дуокармицин С1

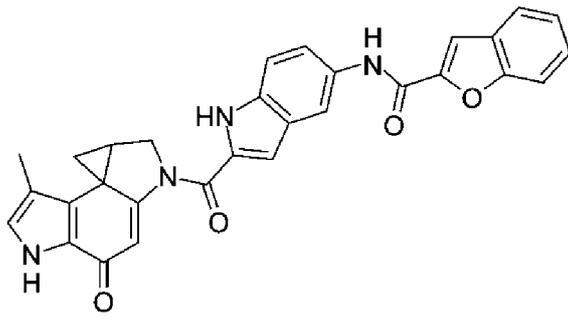


Дуокармицин С2

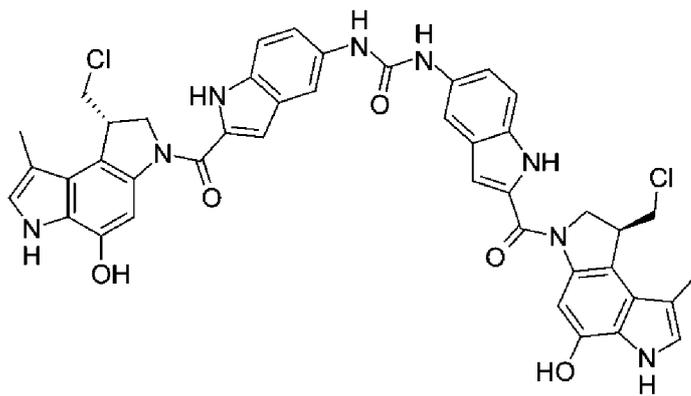


Дуокармицин SA

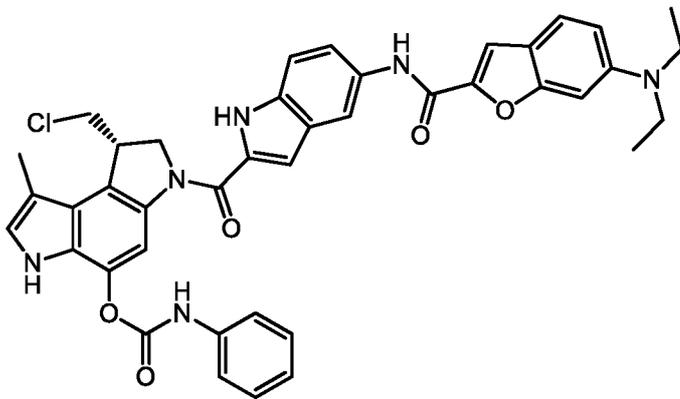
[00189] Подходящие синтетические аналоги дуокармицина включают адозелезин, бизелезин, карзелезин (U-80244) и спиро-дуокармицин (DUBA) (Dokter, W. *et al.* (2014) “Preclinical Profile of the HER2-Targeting ADC SYD983/SYD985: Introduction of a New Duocarmycin-Based Linker-Drug Platform,” *Mol. Cancer Ther.* 13(11):2618-2629; Elgersma, R.C. *et al.* (2014) “Design, Synthesis, and Evaluation of Linker-Duocarmycin Payloads: Toward Selection of HER2-Targeting Antibody–Drug Conjugate SYD985,” *Mol. Pharmaceut.* 12:1813-1835):



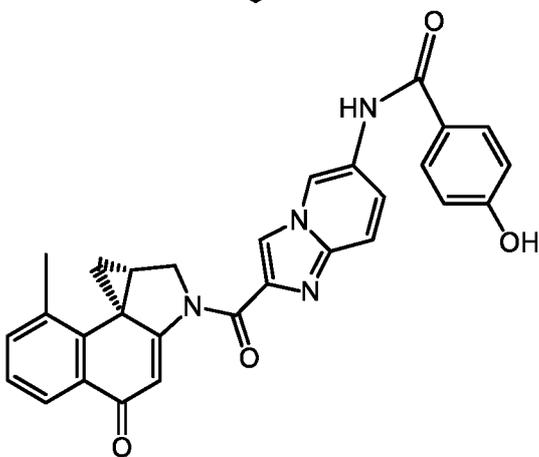
Адозелезин



Бизелезин

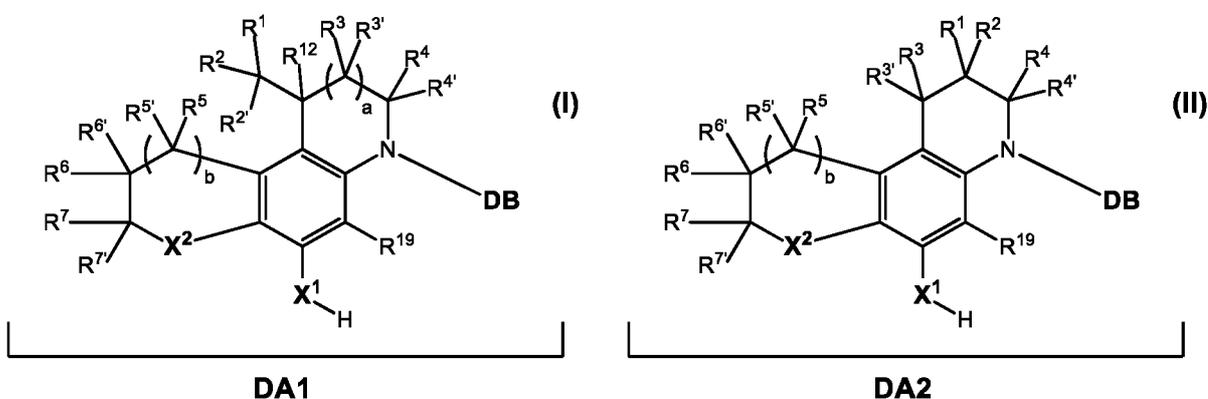


Карзелезин

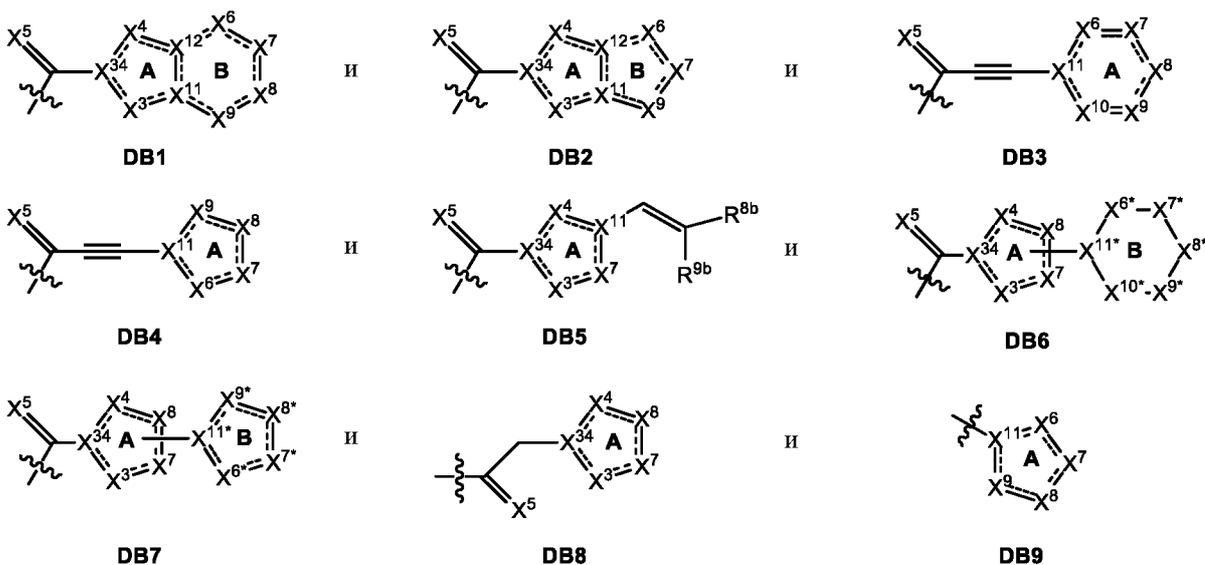


DUBA (спиро-дуокармицин)

[00190] Дополнительные синтетические аналоги дуокармицина включают аналоги, описанные в публикации согласно РСТ № WO 2010/062171, и, в частности, такие аналоги, которые имеют формулу:



или их фармацевтически приемлемую соль, гидрат или сольват, где **DB** представляет собой ДНК-связывающий фрагмент и выбран из группы, состоящей из:



где:

R представляет собой уходящую группу;

R², R^{2'}, R³, R^{3'}, R⁴, R^{4'}, R¹² и R¹⁹ независимо выбраны из H, OH, SH, NH₂, N₃, NO₂, NO, CF₃, CN, C(O)NH₂, C(O)H, C(O)OH, галогена, Ra, SR^a, S(O)R^a, S(O)2R^a, S(O)OR^a, S(O)₂OR^a, OS(O)R^a, OS(O)₂R^a, OS(O)OR^a, OS(O)₂OR^a, OR^a, NHR^a, N(R^a)R^b, +N(R^a)(R^b)R^c, P(O)(OR^a)(OR^b), OP(O)(OR^a)(OR^b), SiR^aR^bR^c, C(O)R^a, C(O)OR^a, C(O)N(R^a)R^b, OC(O)R^a, OC(O)OR^a, OC(O)N(R^a)R^b, N(R^a)C(O)R^b, N(R^a)C(O)OR^b и N(R^a)C(O)N(R^b)R^c, где R^a, R^b и R^c независимо выбраны из H и необязательно замещены C₁₋₃ алкилом или C₁₋₃ гетероалкилом, или R³ + R^{3'} и/или R⁴ + R^{4'} независимо

выбраны из =O, =S, =NOR¹⁸, =C(R¹⁸)R^{18'}, и =NR¹⁸, при этом R¹⁸ и R^{18'} независимо выбраны из H и необязательно замещены C₁₋₃ алкилом, при этом два или более из R², R^{2'}, R³, R^{3'}, R⁴, R^{4'} и R¹² необязательно соединены одной или более связями с получением одного или более необязательно замещенных карбоциклов и/или гетероциклов;

X² выбран из O, C(R¹⁴)(R^{14'}) и NR^{14'}, где R¹⁴ и R^{14'} имеют то же значение, которое определено для R⁷, и выбраны независимо, или R^{14'} и R^{7'} отсутствуют, что приводит к двойной связи между атомами, обозначенными как несущие R^{7'} и R^{14'};

R⁵, R^{5'}, R⁶, R^{6'}, R⁷ и R^{7'} независимо выбраны из H, OH, SH, NH₂, N₃, NO₂, NO, CF₃, CN, C(O)NH₂, C(O)H, C(O)OH, галогена, R^e, SR^e, S(O)R^e, S(O)₂R^e, S(O)OR^e, S(O)₂OR^e, OS(O)R^e, OS(O)₂R^e, OS(O)OR^e, OS(O)₂OR^e, OR^e, NHR^e, N(R^e)R^f, ⁺N(R^e)(R^f)R^g, P(O)(OR^e)(OR^f), OP(O)(OR^e)(OR^f), SiR^eR^fR^g, C(O)R^e, C(O)OR^e, C(O)N(R^e)R^f, OC(O)R^e, OC(O)OR^e, OC(O)N(R^e)R^f, N(R^e)C(O)R^f, N(R^e)C(O)OR^f, N(R^e)C(O)N(R^f)R^g и водорастворимой группы,

где:

R^e, R^f и R^g независимо выбраны из H и необязательно замещены (CH₂CH₂O)_{ee}CH₂CH₂X¹³R^{e1}, C₁₋₁₅ алкилом, C₁₋₁₅ гетероалкилом, C₃₋₁₅ циклоалкилом, C₁₋₁₅ гетероциклоалкилом, C₅₋₁₅ арилом или C₁₋₁₅ гетероарилом, при этом ee выбран из чисел от 1 до 1000, X¹³ выбран из O, S и NR^{f1}, и R^{f1} и R^{e1} независимо выбраны из H и C₁₋₃ алкила, при этом один или более необязательных заместителей в R^e, R^f и/или R^g необязательно представляют собой водорастворимую группу, при этом два или более из R^e, R^f и R^g необязательно соединены одной или более связями с получением одного или более необязательно замещенных карбоциклов и/или гетероциклов,

или R⁵ + R^{5'} и/или R⁶ + R^{6'} и/или R⁷ + R^{7'} независимо выбраны из =O, =S, =NOR^{e3}, =C(R^{e3})R^{e4} и =NR^{e3}, при этом R^{e3} и R^{e4} независимо выбраны из H и необязательно замещены C₁₋₃ алкилом, или R^{5'} + R^{6'} и/или R^{6'} + R^{7'} и/или R^{7'} + R^{14'} отсутствуют, что приводит к двойной связи между атомами, обозначенными как несущие R^{5'} + R^{6'} и/или R^{6'} + R^{7'} и/или R^{7'} + R^{14'}, соответственно, два или более из R⁵, R^{5'}, R⁶, R^{6'}, R⁷, R^{7'}, R¹⁴ и R^{14'} необязательно соединены одной или более связями с получением одного или более необязательно замещенных карбоциклов и/или гетероциклов;

X¹ выбран из O, S и NR, где R выбран из H и необязательно замещен C₁₋₈ алкилом или C₁₋₈ гетероалкилом и не связан с каким-либо другим заместителем;

X³ выбран из O, S, C(R¹⁵)R^{15'}, -C(R¹⁵)(R^{15'})-C(R^{15''})(R^{15'''})-, -N(R¹⁵)-N(R^{15'})-, -C(R¹⁵)(R^{15'})-N(R^{15''})-, -N(R^{15''})-C(R¹⁵)(R^{15'})-, -C(R¹⁵)(R^{15'})-O-, -O-C(R¹⁵)(R^{15'})-,

-C(R¹⁵)(R^{15'})-S-, -S-C(R¹⁵)(R^{15'})-, -C(R¹⁵)=C(R^{15'})-, =C(R¹⁵)-C(R^{15'})=, -N= C(R^{15'})-, =N-C(R^{15'})=, -C(R¹⁵)=N-, =C(R¹⁵)-N=, -N=N-, =N-N=, CR¹⁵, N, NR¹⁵, или в **DB1** и **DB2-X3**- представляет собой -X^{3a} и X^{3b}-, где X^{3a} соединен с X³⁴, между X³⁴ и X⁴ присутствует двойная связь, и X^{3b} соединен с X¹¹, при этом X^{3a} независимо выбран из H и необязательно замещен (CH₂CH₂O)_{ec}CH₂CH₂X¹³R^{e1}, C₁₋₈ алкилом или C₁₋₈ гетероалкилом и не связан с каким-либо другим заместителем;

X⁴ выбран из O, S, C(R¹⁶)R^{16'}, NR¹⁶, N и CR¹⁶;

X⁵ выбран из O, S, C(R¹⁷)R^{17'}, NOR¹⁷ и NR¹⁷, где R¹⁷ и R^{17'} независимо выбраны из H и необязательно замещены C₁₋₈ алкилом или C₁₋₈ гетероалкилом и не связаны с каким-либо другим заместителем;

X⁶ выбран из CR¹¹, CR¹¹(R^{11'}), N, NR¹¹, O и S;

X⁷ выбран из CR⁸, CR⁸(R^{8'}), N, NR⁸, O и S;

X⁸ выбран из CR⁹, CR⁹(R^{9'}), N, NR⁹, O и S;

X⁹ выбран из CR¹⁰, CR¹⁰(R^{10'}), N, NR¹⁰, O и S;

X¹⁰ выбран из CR²⁰, CR²⁰(R^{20'}), N, NR²⁰, O и S;

X¹¹ выбран из C, CR²¹ и N, или X¹¹-X^{3b} выбран из CR²¹, CR²¹(R^{21'}), N, NR²¹, O и S;

X¹² выбран из C, CR²² и N;

X^{6*}, X^{7*}, X^{8*}, X^{9*}, X^{10*} и X^{11*} имеют такое же значение, которое определено для X⁶, X⁷, X⁸, X⁹, X¹⁰ и X¹¹, соответственно, и выбраны независимо;

X³⁴ выбран из C, CR²³ и N;

атом кольца **BX^{11*}** в **DB6** и **DB7** соединен с атомом кольца **A** таким образом, что кольцо **A** и кольцо **B** в **DB6** и **DB7** непосредственно соединены одинарной связью;

пунктирная двойная связь означает, что указанная связь может представлять собой одинарную связь или некумулированную, необязательно делокализованную, двойную связь;

R⁸, R^{8'}, R⁹, R^{9'}, R¹⁰, R^{10'}, R¹¹, R^{11'}, R¹⁵, R^{15'}, R^{15''}, R^{15'''}, R¹⁶, R^{16'}, R²⁰, R^{20'}, R²¹, R^{21'}, R²² и R²³, каждый независимо, выбраны из H, OH, SH, NH₂, N₃, NO₂, NO, CF₃, CN, C(O)NH₂, C(O)H, C(O)OH, галогена, R^h, SR^h, S(O)R^h, S(O)₂R^h, S(O)OR^h, S(O)₂OR^h, OS(O)R^h, OS(O)₂R^h, OS(O)OR^h, OS(O)₂OR^h, OR^h, NHR^h, N(R^h)Rⁱ, ⁺N(R^h)(Rⁱ)R^j, P(O)(OR^h)(ORⁱ), OP(O)(OR^h)(ORⁱ), SiR^hRⁱR^j, C(O)R^h, C(O)OR^h, C(O)N(R^h)Rⁱ, OC(O)R^h, OC(O)OR^h, OC(O)N(R^h)Rⁱ, N(R^h)C(O)Rⁱ, N(R^h)C(O)ORⁱ, N(R^h)C(O)N(Rⁱ)R^j и водорастворимой группы, где

R^h, Rⁱ и R^j независимо выбраны из H и необязательно замещены (CH₂CH₂O)_{ec}CH₂CH₂X¹³R^{e1}, C₁₋₁₅ алкилом, C₁₋₁₅ гетероалкилом, C₃₋₁₅

циклоалкилом, C₁₋₁₅ гетероциклоалкилом, C₅₋₁₅ арилом или C₁₋₁₅ гетероарилом, при этом один или более необязательных заместителей в R^h, Rⁱ и/или R^j необязательно представляют собой водорастворимую группу, при этом два или более из R^h, Rⁱ и R^j необязательно соединены одной или более связями с получением одного или более необязательно замещенных карбоциклов и/или гетероциклов,

или R⁸ + R^{8'} и/или R⁹ + R^{9'} и/или R¹⁰ + R^{10'} и/или R¹¹ + R^{11'} и/или R¹⁵ + R^{15'} и/или R^{15''} + R^{15'''} и/или R¹⁶ + R^{16'} и/или R²⁰ + R^{20'} и/или R²¹ + R^{21'} независимо выбраны из =O, =S, =NOR^{hl}, =C(R^{hl})R^{h2} и =NR^{hl}, при этом R^{hl} и R^{h2} независимо выбраны из H и необязательно замещены C₁₋₃ алкилом, два или более из R⁸, R^{8'}, R⁹, R^{9'}, R¹⁰, R^{10'}, R¹¹, R^{11'}, R¹⁵, R^{15'}, R^{15''}, R^{15'''}, R¹⁶, R²⁰, R^{20'}, R²¹, R^{21'}, R²² и R²³ необязательно соединены одной или более связями с получением одного или более необязательно замещенных карбоциклов и/или гетероциклов;

R^{8b} и R^{9b} выбраны независимо и имеют такое же значение, как R⁸, за исключением того, что они не могут быть соединены с каким-либо другим заместителем;

один из R⁴ и R^{4'} и один из R¹⁶ и R^{16'} могут быть необязательно соединены одной или более связями с получением одного или более необязательно замещенных карбоциклов и/или гетероциклов;

один из R⁴ и R^{4'} и один из R¹⁶ и R^{16'} могут быть необязательно соединены

один из R², R^{2'}, R³ и R^{3'} и один из R⁵ и R^{5'} могут быть необязательно соединены одной или более связями с получением одного или более необязательно замещенных карбоциклов и/или гетероциклов;

a и b независимо выбраны из 0 и 1;

фрагмент **DB** не содержит фрагмента **DA1**, **DA2**, **DA1'** или **DA2'**;

кольцо **B** в **DB1** представляет собой гетероцикл;

если X³ в **DB1** представляет собой -X^{3a} и X^{3b}- и кольцо **B** является ароматическим, то два вицинальных заместителя в указанном кольце **B** объединены с получением необязательно замещенного карбоцикла или гетероцикла, конденсированного с указанным кольцом **B**;

если X³ в **DB2** представляет собой -X^{3a} и X^{3b}- и кольцо **B** является ароматическим, то два вицинальных заместителя в указанном кольце **B** соединены с получением необязательно замещенного гетероцикла, конденсированного с указанным кольцом **B**, необязательно замещенного неароматического карбоцикла, конденсированного с указанным кольцом **B**, или замещенного ароматического карбоцикла,

конденсированного с указанным кольцом **B**, к которому присоединен по меньшей мере один заместитель, содержащий гидроксигруппу, первичную аминогруппу или вторичную аминогруппу, при этом первичный или вторичный амин не является атомом кольца в ароматической кольцевой системе и не является частью амида; если кольцо **A** в **DB2** представляет собой 6-членное ароматическое кольцо, то заместители в кольце **B** не соединены с получением кольца, конденсированного с кольцом **B**;

два вицинальных заместителя в кольце **A** в **DB8** объединены с получением необязательно замещенного карбоцикла или гетероцикла, конденсированного с указанным кольцом **A** с получением бициклического фрагмента, с которым не конденсированы дополнительные кольца; и кольцо **A** в **DB9** совместно с любыми кольцами, конденсированными с указанным кольцом **A**, содержит по меньшей мере два гетероатома кольца.

[00191] Описанные выше линкерные молекулы могут быть конъюгированы с тиольной группой цистеина с использованием реакций тиолов с малеимидами, как показано выше. В некоторых вариантах реализации цитотоксический дуокармициновый фрагмент представляет собой пролекарство. Например, пролекарство *vc-секо-DUBA* может быть конъюгировано с самоудаляющимся фрагментом, связанным с малеимидным линкерным фрагментом посредством расщепляемого пептидного фрагмента:

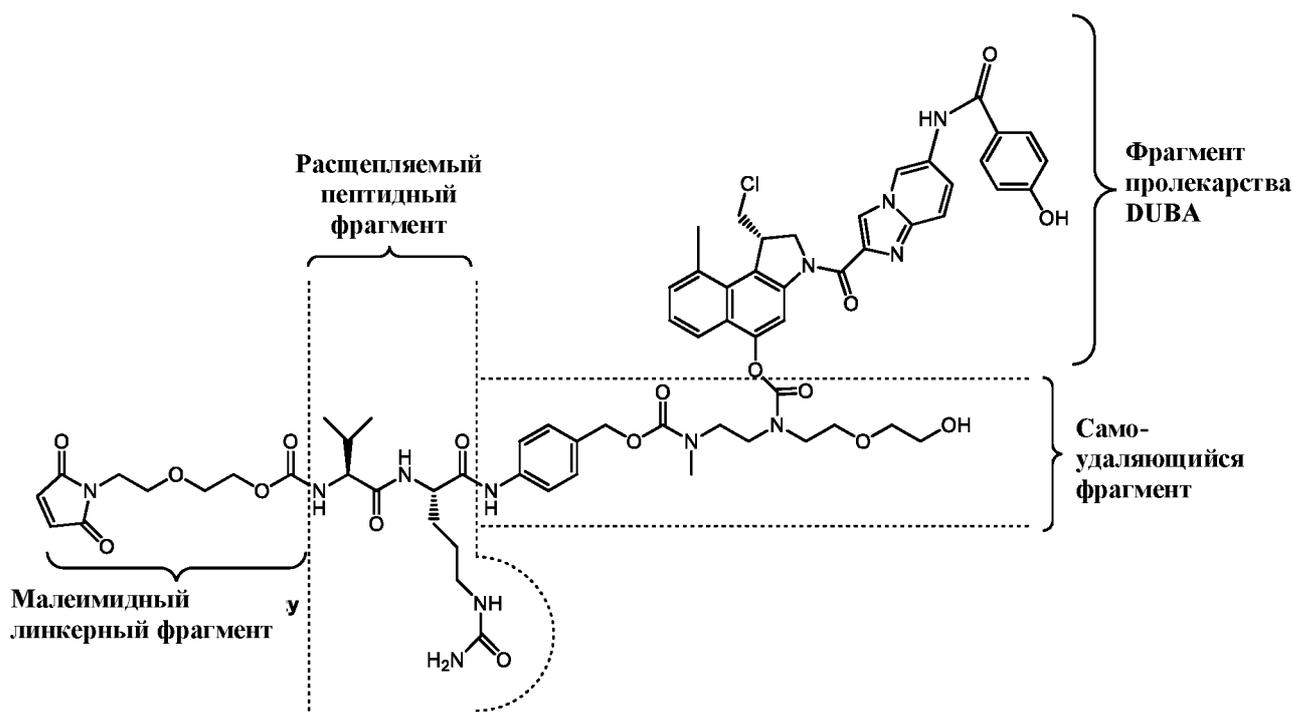


Схема 1

[00192] Малеимидный линкерный фрагмент молекулы может быть конъюгирован с тиольной группой остатка цистеина домена VL и/или домена VH и/или константного домена части **Ab** B7-H3-ADC. Последующее протеолитическое расщепление расщепляемого пептидного фрагмента сопровождается спонтанным удалением самоудаляющегося фрагмента, что приводит к высвобождению *секо*-DUBA, который подвергается спонтанной перегруппировке с образованием активного лекарственного средства, DUBA:

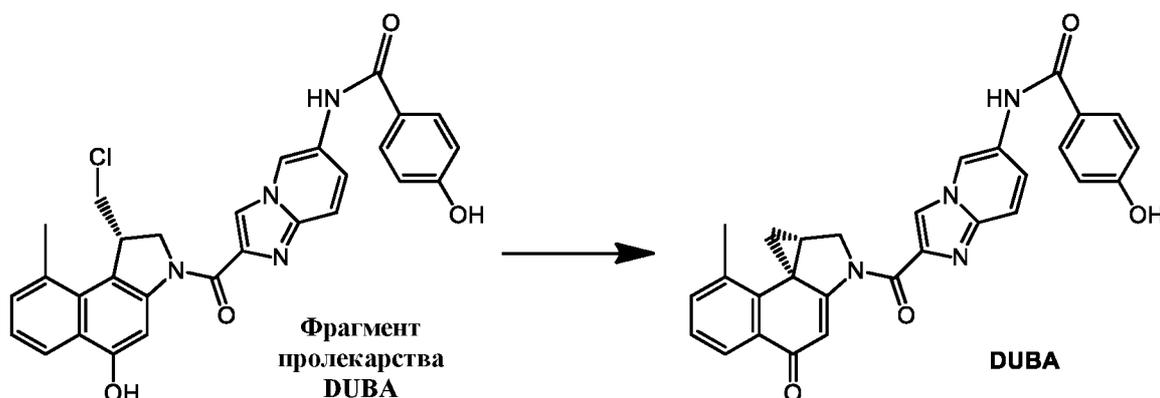


Схема 2

(см. Dokter, W. *et al.* (2014) “Preclinical Profile of the HER2-Targeting ADC SYD983/SYD985: Introduction of a New Duocarmycin-Based Linker-Drug Platform,” *Mol. Cancer Ther.* 13(11):2618-2629).

[00193] В иллюстративном способе получения конъюгатов B7-H3-фрагмент лекарственного средства дуокармицинового ряда применяют способ, описанный в источнике Elgersma, R.C. *et al.* (2014) “Design, Synthesis, and Evaluation of Linker-Duocarmycin Payloads: Toward Selection of HER2-Targeting Antibody-Drug Conjugate SYD985,” *Mol. Pharmaceut.* 12:1813-1835 или способ, описанный в источнике WO 2011/133039. Таким образом, тиолсодержащую группу цепи VL или VH антитела к B7-H3 или фрагмента антитела конъюгируют с *секо*-DUBA или другим пролекарством через малеимидный линкерный фрагмент-расщепляемый пептидный фрагмент-самоудаляющийся фрагмент (схема 3А):

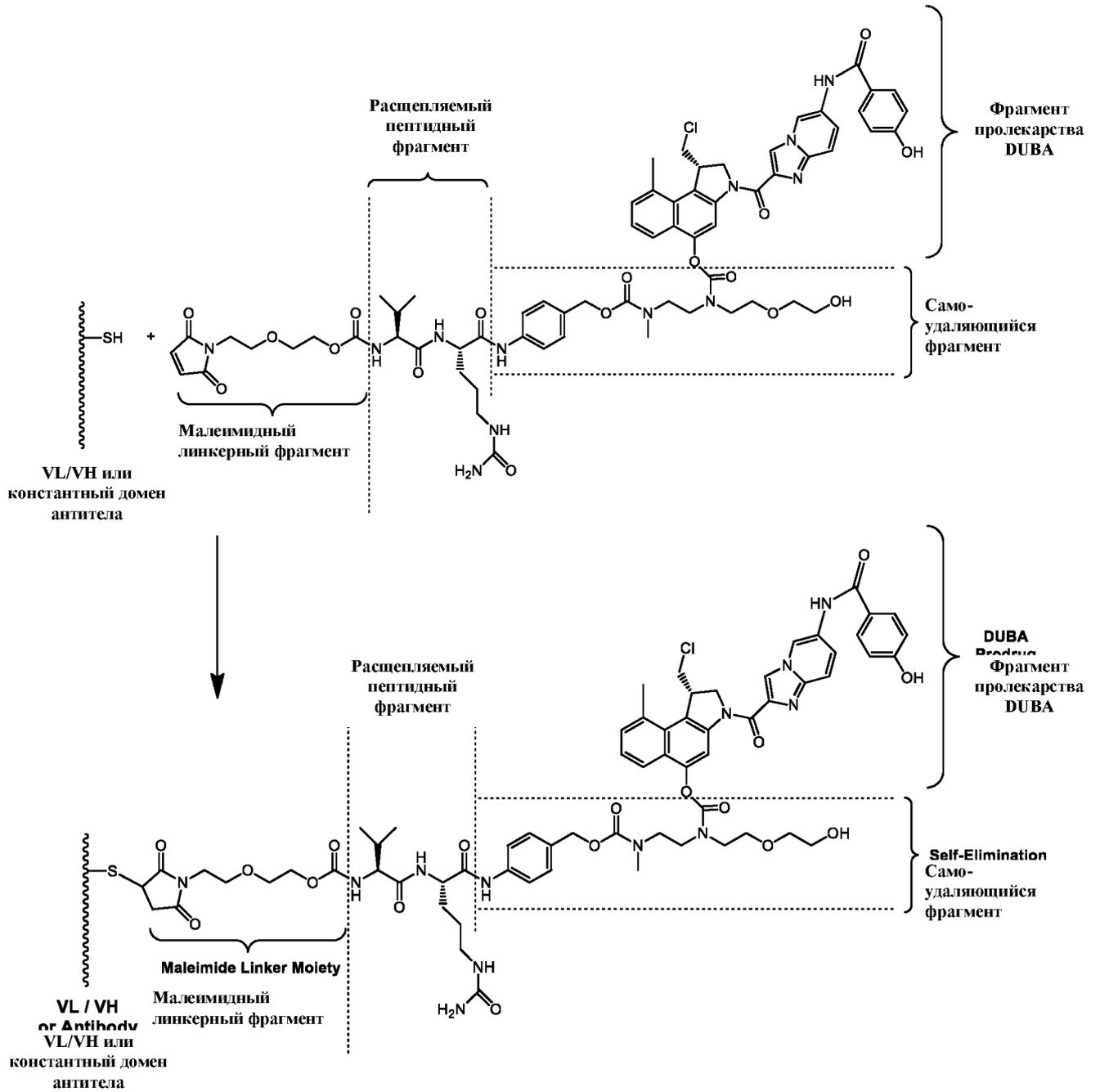
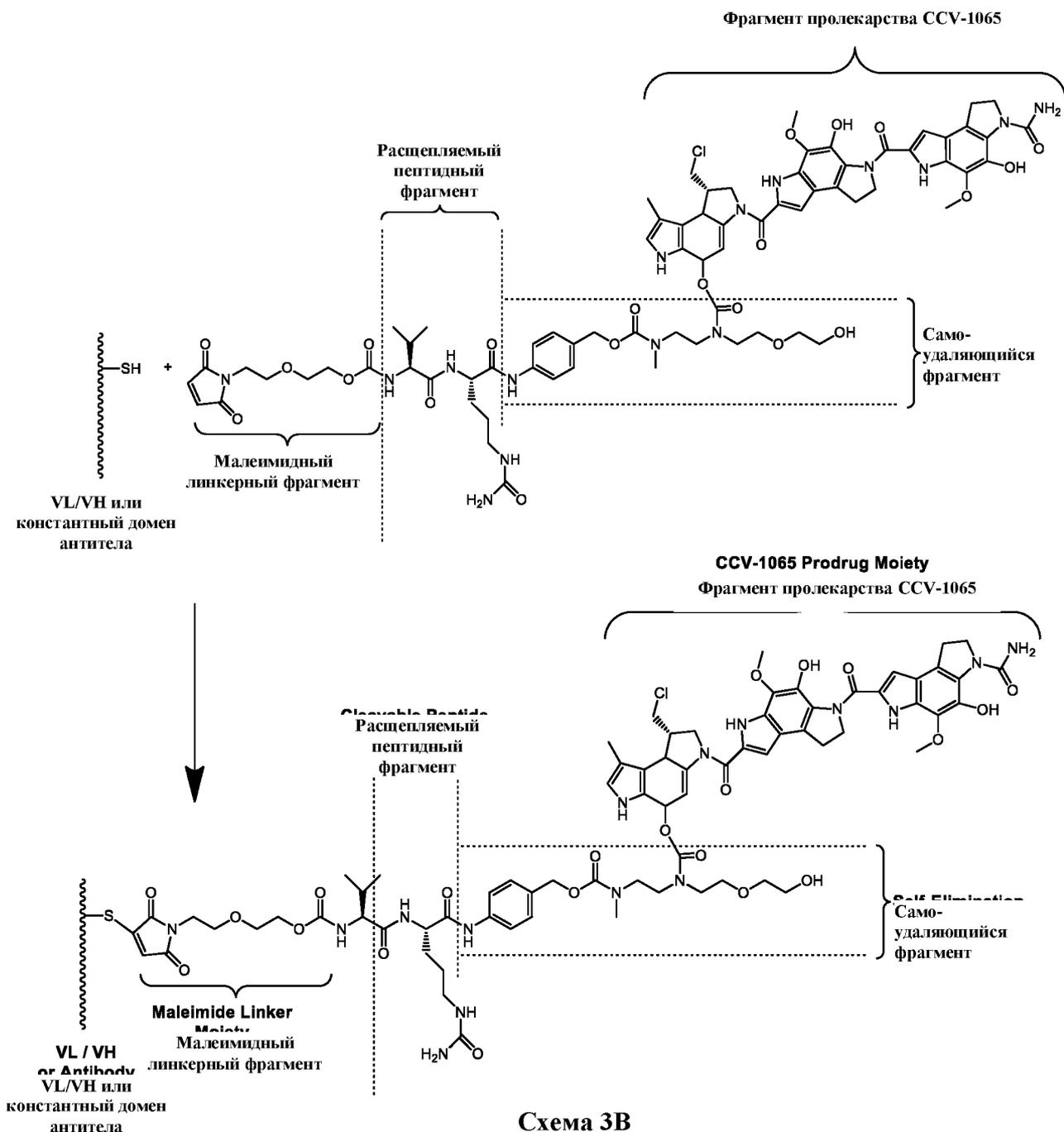


Схема 3А

[00194] Несмотря на то, что настоящее изобретение проиллюстрировано в отношении пролекарства DUBA, в качестве альтернативы могут быть применены другие пролекарства, например, CC-1065, как показано на **схеме 3В**:



[00195] Считается, что после расщепления расщепляемого пептидного фрагмента и удаления самоудаляющегося фрагмента фрагмент пролекарства подвергается спироциклизации Уинштейна (Winstein) с получением активного

лекарственного средства (например, DUBA из *секо*-DUBA, как показано на **схеме 3C**).

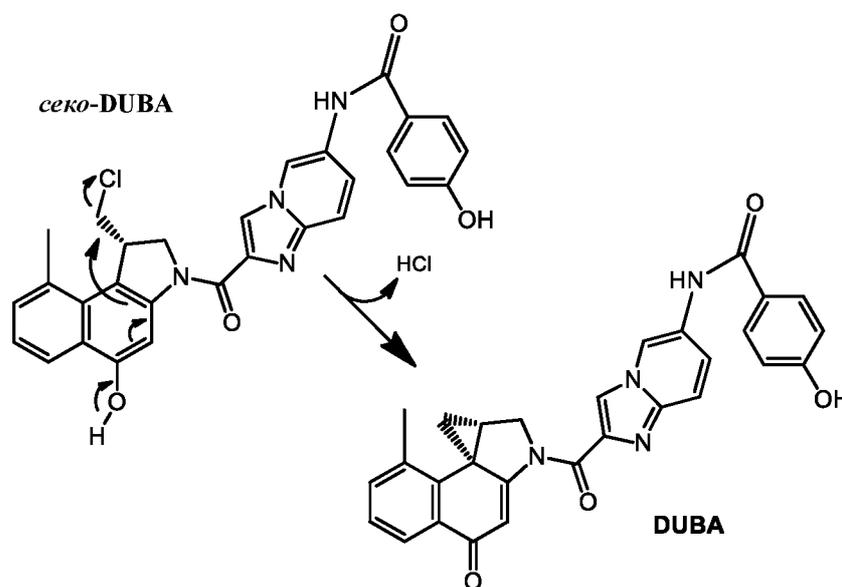


Схема 3C

[00196] *секо*-DUBA получают из соответствующих ДНК-алкилирующих и ДНК-связывающих фрагментов (например, каркаса 1,2,9,9а-тетрагидроциклопропа[с]бензо[е]индол-4-она, как описано в источнике Elgersma, R.C. *et al.* (2014) “*Design, Synthesis, and Evaluation of Linker-Duocarmycin Payloads: Toward Selection of HER2-Targeting Antibody–Drug Conjugate SYD985*,” Mol. Pharmaceut. 12:1813-1835 (см. Boger, D.L. *et al.* (1989) “*Total Synthesis and Evaluation of (±)-N-(tert-Butoxycarbonyl)-CBI, (±)-CBI-CDPI1, and (±)-CBI-CDPI2: CC-1065 Functional Agents Incorporating the Equivalent 1,2,9,9а-Tetrahydrocycloproпа[1,2-с]бенз[1,2-е]индол-4-он (CBI) Left-Hand Subunit*,” J. Am. Chem. Soc. 111:6461-6463; Boger, D.L. *et al.* (1992) “*DNA Alkylation Properties of Enhanced Functional Analogs of CC-1065 Incorporating the 1,2,9,9а-Tetrahydrocycloпропа[1,2-с]бенз[1,2-е]индол-4-он (CBI) Alkylation Subunit*,” J. Am. Chem. Soc. 114:5487-5496).

[00197] На иллюстрирующей настоящее изобретение **схеме 3D** представлен синтез ДНК-алкилирующего фрагмента для DUBA. Так, *о*-толуиловый альдегид (**1**) и диметилсукцинат (**2**) приводят во взаимодействие с получением смеси кислот (3а/3b) по механизму конденсации Штоббе. Замыкание кольца в полученной смеси кислот может быть осуществлено с применением трифторуксусного ангидрида с получением спирта (**4**), который затем защищают с помощью бензилхлорида с получением

бензилового простого эфира (5). Последующий гидролиз группы метилового сложного эфира приводит к получению карбоновой кислоты (6), после чего осуществляют перегруппировку Курциуса в смеси толуола и *трет*-бутилового спирта с получением карбамата (7). Бромирование N-бромсукцинимидом приводит к получению бромида (8). Бромид (8) алкилируют (S)-глицидилнозилатом в присутствии *трет*-бутоксидка калия с получением эпоксида (9). Реакция с *n*-бутиллитием приводит к получению смеси целевого соединения (10) и дебромированного перегруппированного производного (11). Выходы целевого соединения (10) выше, когда в качестве растворителя применяют тетрагидрофуран и поддерживают температуру реакции в диапазоне от -25 до -20 °С. В этих условиях целевое соединение (10) и дебромированное перегруппированное производное (11) могут быть получены в отношении приблизительно 1:1. Обработка *n*-толуолсульфоновой кислотой приводит к превращению дебромированного перегруппированного производного (11) в (7), тем самым способствуя извлечению целевого соединения (10). Мезилирование гидроксильной группы в (10) с последующим замещением хлоридом с применением хлорида лития приводит к получению ключевого промежуточного соединения (12).

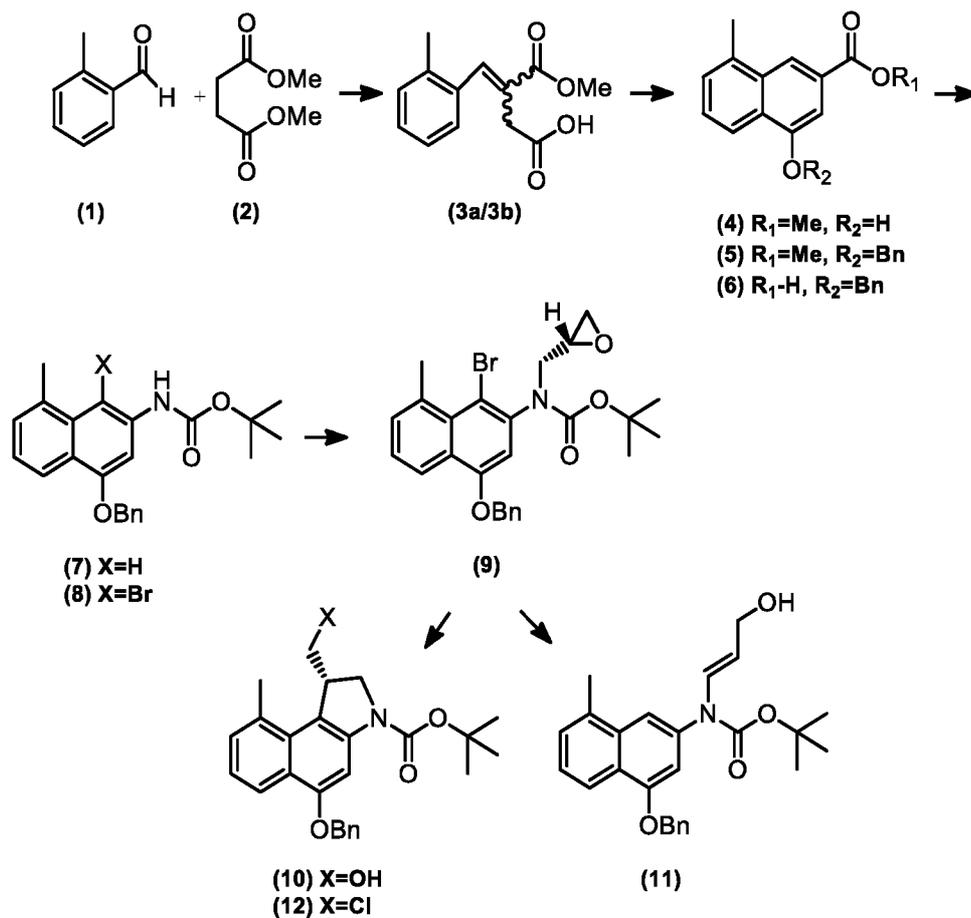


Схема 3D

[00198] На иллюстрирующей настоящее изобретение схеме 3E представлен синтез ДНК-связывающего фрагмента для DUBA. Так, создают условия для протекания реакции циклизации Чичибабина между этилбромпируватом (13) и 5-нитропиридин-2-амином (14) с получением тем самым нитросоединения (15). Восстановление нитрогруппы цинком в кислой среде приводит к получению амина (16). Сочетание с метоксиметил (МOM)-защищенной 4-гидроксибензойной кислотой (17), полученной из метил-4-гидроксибензоата путем взаимодействия с хлорметилметилловым простым эфиром с последующим гидролизом сложного эфира (см. WO 2004/080979), приводит к получению этилового сложного эфира (18), который может быть гидролизован гидроксидом натрия в водном 1,4-диоксане с получением кислоты (19).

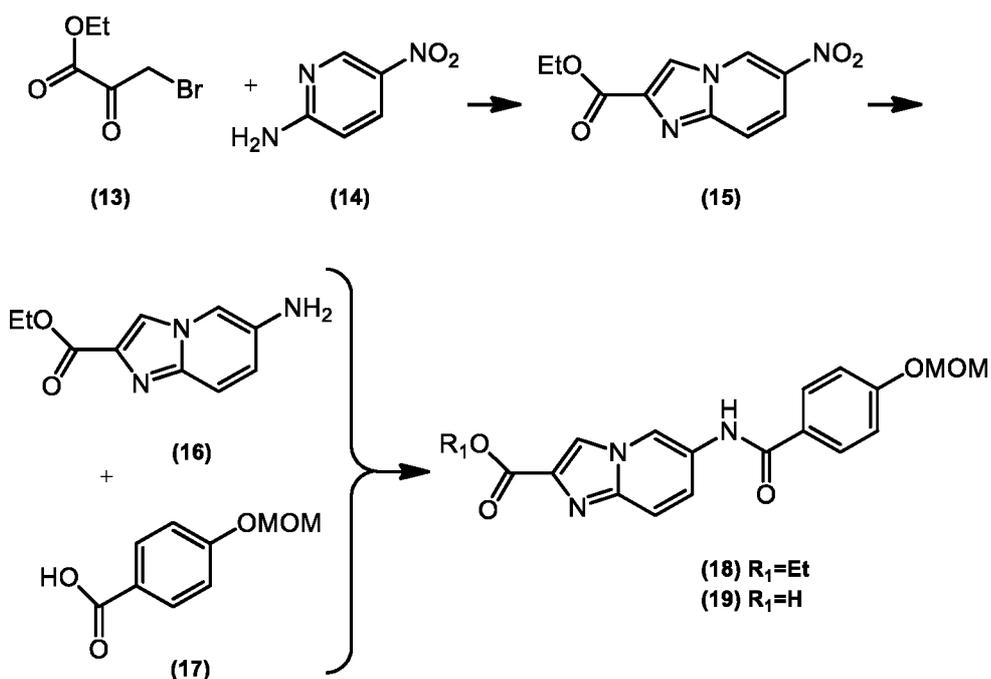


Схема 3Е

[00199] Затем осуществляют синтез *секо*-DUBA из ДНК-алкилирующего звена **(12)** и ДНК-связывающего фрагмента **(19)**. *трет*-Бутоксикарбонильную защитную группу (Boc) удаляют из **(12)** в кислых условиях с получением амина **(20)**. Опосредованное EDC сочетание амина **(20)** и соединения **(19)** приводит к получению защищенного соединения **(21)**, с которого затем полностью снимают защиту в две последовательные стадии (реакция с Pd/C, NH₄HCO₂, MeOH/THF, 3 часа, 90%, с получением **(22)**), а затем реакция с HCl, 1,4-диоксан/вода, 1 ч, 95% с получением *секо*-DUBA **(23)** в виде его соли с HCl (**схема 3F**).

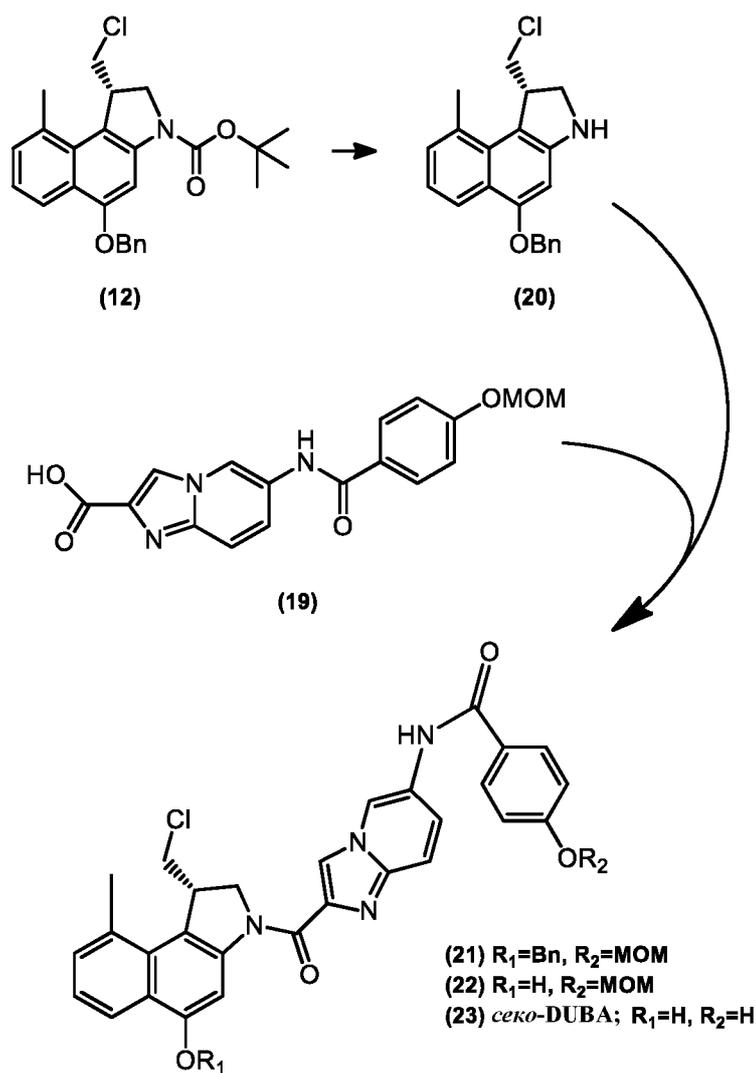


Схема 3F

[00200] Пролекарства других лекарственных средств, например, СС-1065, могут быть синтезированы, как описано, например, в источнике WO 2010/062171.

[00201] Фрагмент пролекарства может быть соединен с другими фрагментами ADC согласно схеме 3G. Структурный блок малеимидного линкера синтезировали, начиная с реакции конденсации между (24) и 2-(2-аминоэтокси)этанолом (25) с получением спирта (26), который затем превращали в реакционноспособный карбонат (27) посредством взаимодействия с 4-нитрофенилхлорформиатом. Сочетание (27) с Н-валин-цитруллин-РАВА (28), полученным согласно источнику Dubowchik, G.M. *et al.* (2002) “*Cathepsin B-Labile Dipeptide Linkers For Lysosomal Release Of Doxorubicin From Internalizing Immunoconjugates: Model Studies Of Enzymatic Drug Release And Antigen-Specific In Vitro Anticancer Activity,*” Bioconjugate

Chem. 13:855-869), приводит к получению линкера (29), который обрабатывали бис(4-нитрофенил)-карбонатом с получением активированного линкера (30).

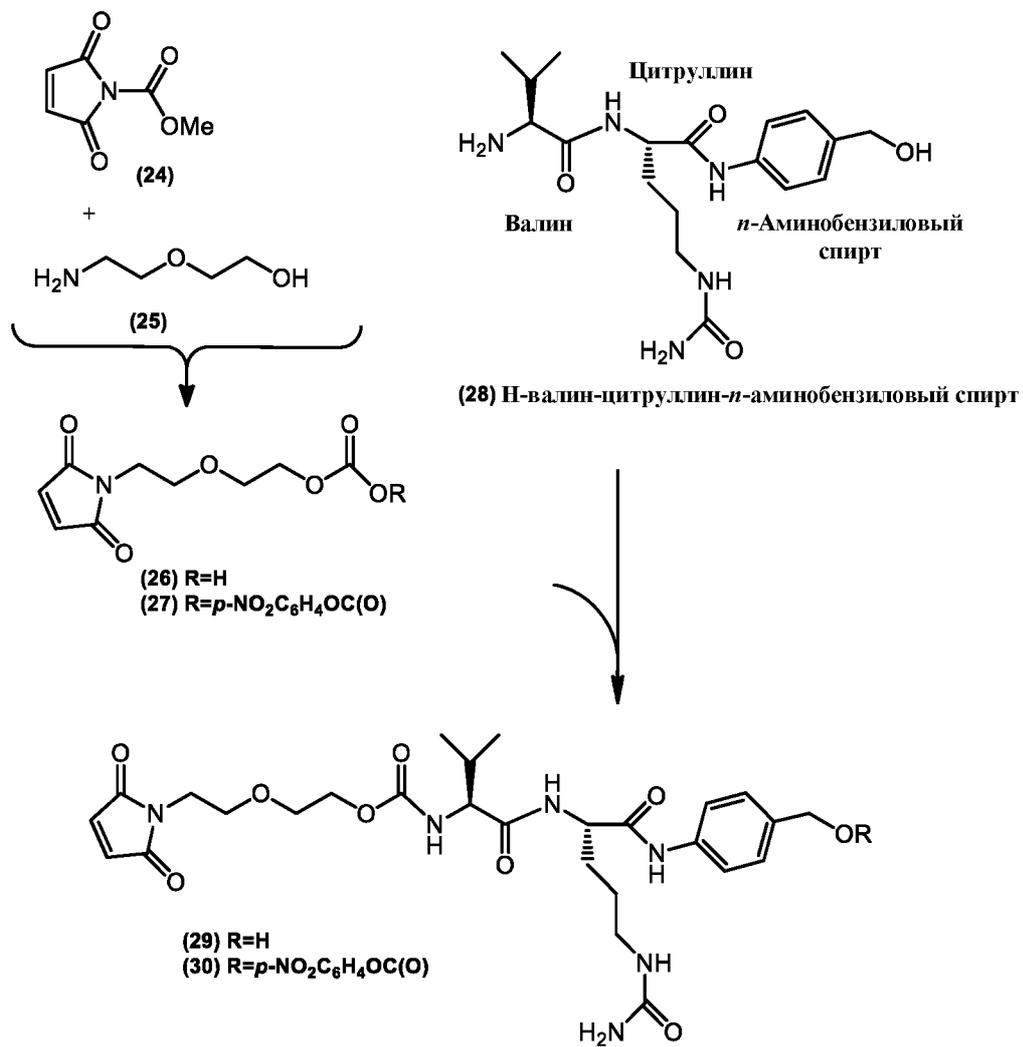


Схема 3G

Как показано на **схеме 3Н**, *секо*-DUBA-MOM (**22**) подвергают модификации для конъюгирования в две стадии. Последовательная обработка (**22**) 4-нитрофенилхлорформиаатом и *трет*-бутилметил(2-(метиламино)этил)карбаматом (**31**) приводит к получению соединения (**32**). Удаление защитных групп Boc и MOM в (**32**) с помощью трифторуксусной кислоты (TFA) приводило к получению (**33**) в виде его соли с TFA.

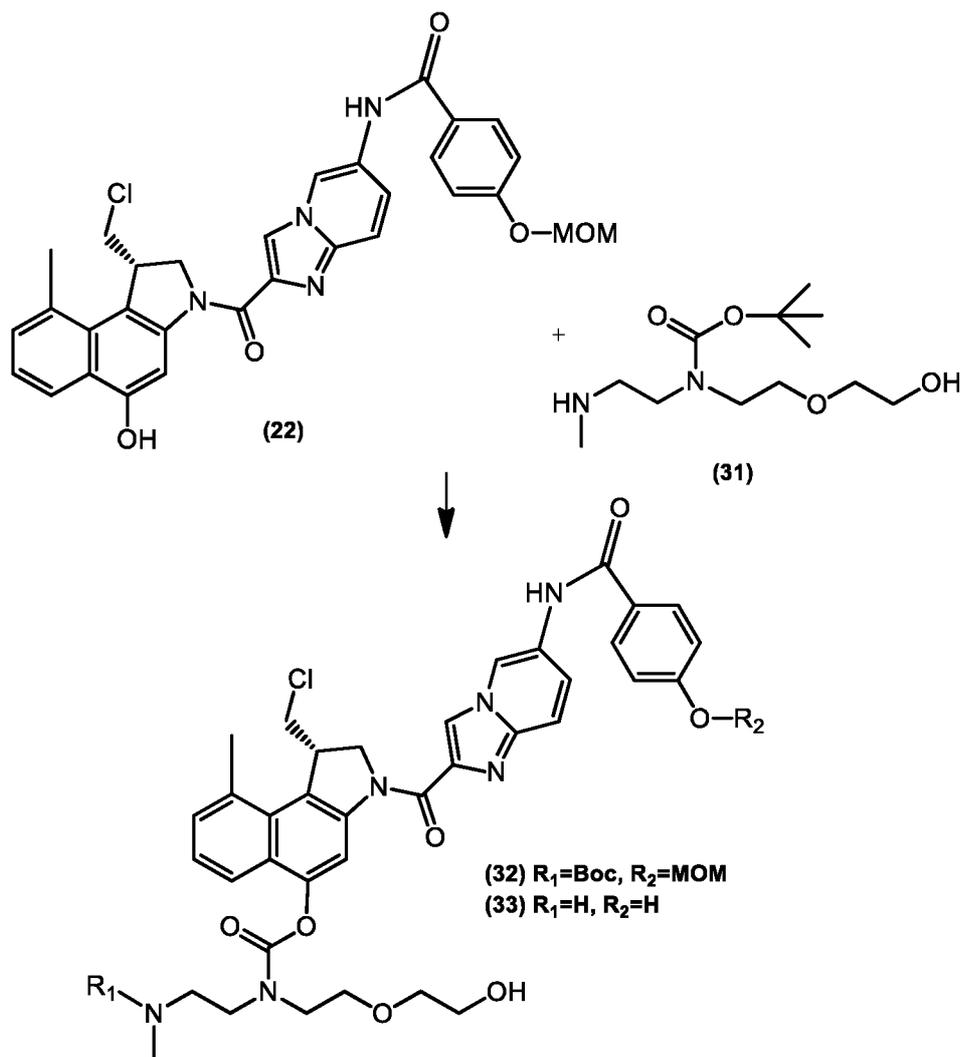


Схема 3Н

[00202] ADC синтезировали посредством взаимодействия активированного линкера (30) с конструкцией спейсер циклизации-дуокармицин (33) в слабощелочной среде. В этих условиях подавлялось самоудаление спейсера циклизации и образование вследствие этого 3а (схема 3I).

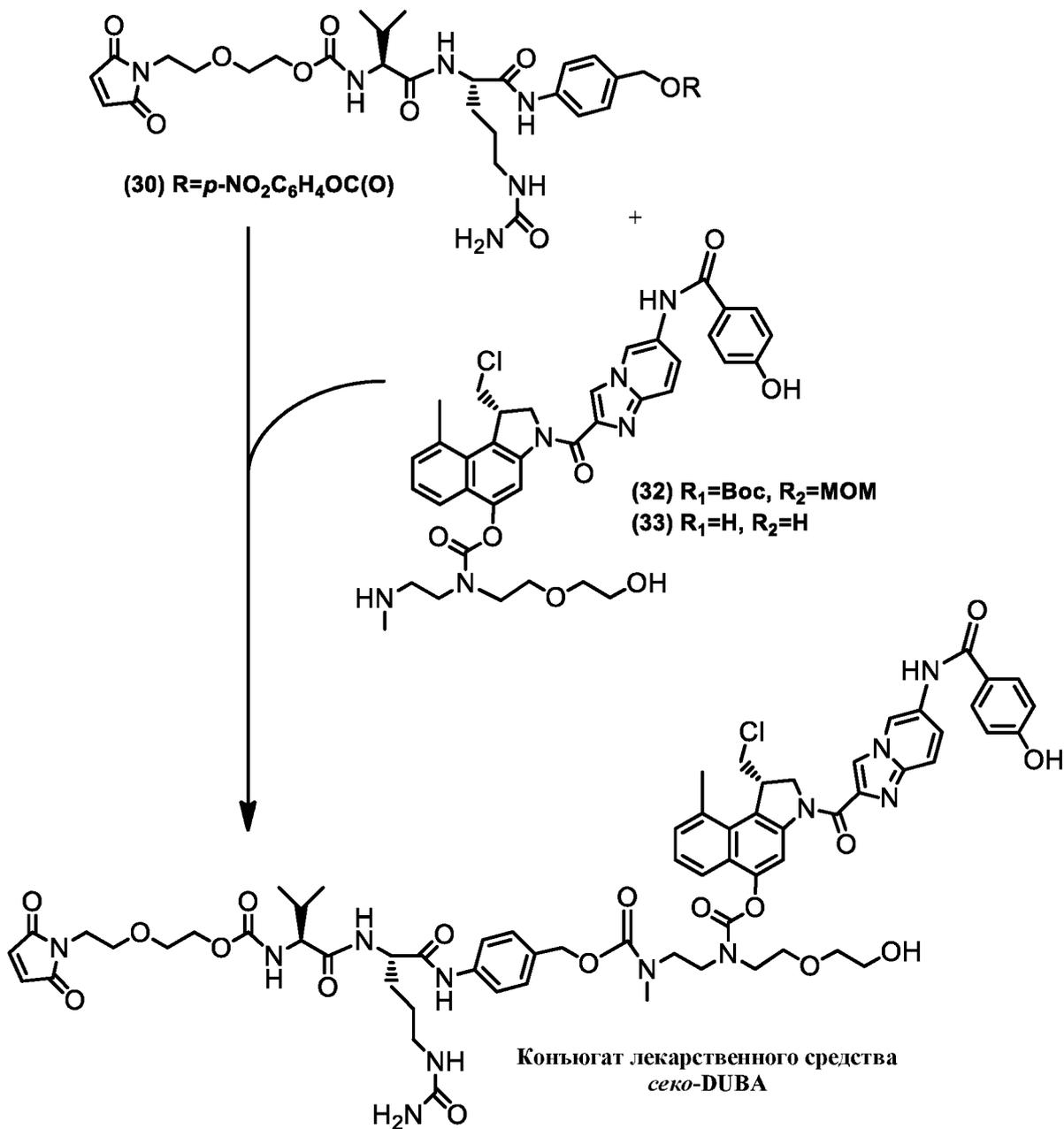


Схема 3I

[00203] В указанном процессе образуется в среднем две свободные тиольные группы на mAb, что приводит к статистическому распределению B7-H3-ADC со средним отношением лекарственного средства к антителу (DAR), составляющим

приблизительно два, и низким количествам высокомолекулярных продуктов и остаточного неконъюгированного дуокармицинового фрагмента.

[00204] При необходимости порядок стадий синтеза может быть изменен. В частности, предполагается, что применяемый способ будет представлять собой способ, представленный на **схемах 3А-3І**, приведенных выше.

V. Иллюстративные связывающие PD-1 молекулы

[00205] Связывающие PD-1 молекулы согласно настоящему изобретению включают биспецифичные молекулы (например, биспецифичные антитела, биспецифичные диатела и так далее), химерные или гуманизированные антитела, а также такие связывающие молекулы, имеющие вариантыные Fc-области. Такие связывающие PD-1 молекулы способны связываться с непрерывной или прерывистой (например, конформационной) частью (эпитопом) PD-1 (CD279) человека. Связывающие PD-1 молекулы согласно настоящему изобретению предпочтительно также будут демонстрировать способность связываться с молекулами PD-1 одного или более видов, не являющихся человеком, в частности, видов приматов (и, в частности, таких видов приматов, как яванский макак). Типичный полипептид PD-1 человека, включающий сигнальную последовательность из 20 аминокислотных остатков и зрелый белок из 268 аминокислотных остатков, представлен последовательностью NCBI NP_005009.2 (**SEQ ID NO:22**).

[00206] Известны антитела, специфичные к PD-1 (см., например, патенты США № 7,488,802; 7,521,051; 7,595,048; 8,008,449; 8,354,509; 8,735,553; 8,779,105; 8,900,587; 9,084,776; 10,577,422; публикации патентов согласно PCT WO 2004/056875; WO 2006/121168; WO 2008/156712; WO 2012/135408; WO 2012/145493; WO 2013/014668; WO 2014/179664; WO 2014/194302; WO 2015/112800 и WO2019/246110). Дополнительные желаемые антитела могут быть получены путем выделения гибридом, секретирующих антитела, продукция которых индуцирована с применением PD-1 или его пептидного фрагмента. Подходящие антитела включают ниволумаб ((регистрационный номер CAS:946414-94-4, также известный как 5C4, BMS-936558, ONO-4538, MDX1106 и реализуемый под названием Опдиво (OPDIVO®) компанией Bristol-Myers Squibb); (аминокислотная последовательность ниволумаба представлена в WHO Drug Information, 2013, Recommended INN: List 69, 27(1):68-69)) и пембролизумаб ((ранее известного как ламбролизумаб),

регистрационный номер CAS:1374853-91-4, также известный как МК-3475, SCH-900475 и реализуемый под названием Китруда (KEYTRUDA®) компанией Merck); (аминокислотная последовательность пембролизумаба представлена в WHO Drug Information, 2014, Recommended INN: List 75, 28(3):407)). Аминокислотные последовательности доменов VH и VL этих антител представлены ниже.

[00207] Связывающие PD-1 молекулы согласно настоящему изобретению могут содержать константную область тяжелой цепи IgG4 или вариантную константную область тяжелой цепи IgG1, содержащую одну или более замен, которые снижают эффекторную функцию АЗКЦ (например, содержащую любые 1, 2, 3 или 4 из замен: L234A, L235A, D265A, N297Q и N297G, описанных выше), вместо константной области тяжелой цепи IgG1 дикого типа. Такие вариантные константные области тяжелой цепи пригодны для снижения или устранения способности Fc-домена антитела связываться с клеточным рецептором FcγRIIIA (CD16a). Таким образом, применение константной области тяжелой цепи IgG4 или такой вариантной константной области тяжелой цепи IgG1 снижает или устраняет эффекторную функцию антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности (АЗКЦ), которая сопровождает применение антител, имеющих Fc-домен IgG1 дикого типа. Аминокислотная последовательность домена CH2-CH3 иллюстративного IgG4 человека представлена выше (**SEQ ID NO:9**):

[00208] В случае, когда связывающие PD-1 молекулы согласно настоящему изобретению содержат константную область тяжелой цепи IgG4, предпочтительно также использовать CH1-домен IgG4 (**SEQ ID NO:6**) и шарнирный домен IgG4, в частности, модифицированный шарнирный домен IgG4, который содержит замену S228P по системе Кабата (ESKYGPPCPPPCP (**SEQ ID NO:7**), поскольку эта модификация стабилизирует шарнирный домен IgG4.

A. Ниволумаб

[00209] Аминокислотная последовательность домена VH ниволумаба имеет аминокислотную последовательность (**SEQ ID NO:36**) (остатки CDR_H обозначены подчеркиванием):

QVQLVESGGG VVQPGRSLRL DCKASGITFS NSGMHWVRQA
PGKGLEWVAVIWYDGSKRYYADSVKGRFTI SRDNSKNTLF LQMNSLRAED
TAVYYCATNDDYWGQGLT VSS

[00210] Аминокислотная последовательность домена VL ниволумаба имеет аминокислотную последовательность (SEQ ID NO:35) (остатки CDR_L обозначены подчеркиванием):

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASQSVSSYLAWYQQKP
GQAPRLLIYDASNRATGIPA RFSGSGSGTD FTLTISSELP
EDFAVYYCQSSNWPRTFGQ GTKVEIK

В. Пембролизумаб

[00211] Аминокислотная последовательность домена VH пембролизумаба имеет аминокислотную последовательность (SEQ ID NO:34) (остатки CDR_H обозначены подчеркиванием):

QVQLVQSGVE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYMYWVRQA
PGQGLEWMMGGINPSNGGTNFNEKFKNRVTL TDSSTTTAY MELKSLQFDD
TAVYYCARRDYRFDMGFDYW QGTTVTVSS

[00212] Аминокислотная последовательность домена VL пембролизумаба имеет аминокислотную последовательность (SEQ ID NO:33) (остатки CDR_L обозначены подчеркиванием):

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASKGVSTSGYSYLHWY QQKPGQAPRL
LIYLASYLES GVPARFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY
YCQHSRDLPLTFGGGTKVEIK

С. mAb-A к hPD-1

[00213] В некоторых вариантах реализации связывающая PD-1 молекула содержит домены VL и VL mAb-A к hPD-1. Аминокислотная последовательность mAb-A к hPD-1 представлена ниже, а также раскрыта в патенте США № 10,577,422 и в публикациях согласно PCT WO 2017/062619, WO 2017/019846 и WO2019/246110. mAb-A к hPD-1 также известно как ретифанлимаб, MGA012 и INCMGA-00012 (регистрационный номер CAS: 2079108-44-2, совместно разработан Incyte и MacroGenics, Inc.). Аминокислотная последовательность mAb-A к hPD-1 показана ниже и представлена в WHO Drug Information 2019, Recommended INN: List 82, 33(1):611-612.

[00214] Аминокислотная последовательность домена VH mAb-A к hPD-1 (SEQ ID NO:32) представлена ниже (остатки CDR_H обозначены подчеркиванием):

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSFT SYWMNWVRQA
PGQGLEWIGVIHPSDSETWLDQKFKDRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED
TAVYYCAREEHYGTSPFAYWG QGTLVTVSS

[00215] Аминокислотная последовательность тяжелой цепи гуманизованного антитела mAb-A к hPD-1, содержащая домен VL mAb-A к hPD-1 и домены CH1-стабилизированный H-CH2-CH3 IgG4 (**SEQ ID NO:30**), представлена ниже:

QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYSFT SYWMNWVRQA PGQGLEWIGV
IHPSDSETWL DQKFKDRVTI TVDKSTSTAY MELSSLRSED TAVYYCAREH
YGTSPFAYWG QGTLVTVSSA STKGPSVFPL APCSRSTSES TAALGCLVKD
YFPEPVTVSW NSGALTSGVH TFPAVLQSSG LYSLSVVTV PSSSLGTKTY
TCNVDHKPSN TKVDKRVESK YGPPCPPCPA PEFLGGPSVF LFPPKPKDTL
MISRTPEVTC VVDVDSQEDP EVQFNWYVDG VEVHNAKTKP REEQFNSTYR
VVSVLTVLHQ DWLNGKEYKC KVS NKGLPSS IEKTISKAKG QPREPQVYTL
PPSQEEMTKN QVSLTCLVKG FYPSDIAVEW ESNGQPENNY KTTTPVLDSD
GSFFLYSRLT VDKSRWQEGN VFSCSVMHEA LHNHYTQKSL SLSLG

[00216] В **SEQ ID NO:30** аминокислотные остатки 1-119 соответствуют домену VH mAb-A к hPD-1 (**SEQ ID NO:32**), аминокислотные остатки 120-217 соответствуют домену CH1 IgG4 (**SEQ ID NO:4**), аминокислотные остатки 218-229 соответствуют стабилизированному шарнирному домену IgG4, содержащему замену S228P по системе Кабата (подчеркнута) (**SEQ ID NO:7**), и аминокислотные остатки 230-445 соответствуют домену CH2-CH3 IgG4 (**SEQ ID NO:9**), не содержащему C-концевого остатка лизина. N-концевой глутамин тяжелой цепи может быть подвергнут циклизации с получением пироглутаминовой кислоты. N-связанный сайт гликозилирования присутствует в положении 296 по системе Кабата (дважды подчеркнут).

[00217] Аминокислотная последовательность домена VL mAb-A к hPD-1 (**SEQ ID NO:31**) представлена ниже (остатки CDR_H обозначены подчеркиванием):

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVDNYGMSFMNWF QQKPGQPPKL
LIHAAASNQGS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY
FCQQSKEVPYTFGGGKVEI K

[00218] Аминокислотная последовательность легкой цепи гуманизованного антитела mAb-A к hPD-1, содержащая домен VL mAb-A к hPD-1 и домен CL каппа (**SEQ ID NO:29**), представлена ниже:

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASESVD NYGMSFMNWF QQKPGQPPKL
LIHAASNQGS GVPSRFSGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY
TFGGGKVEI KRTVAAPSVF IFPPSDEQLK SGTASVVCLL NNFYPREAKV
QWKVDNALQS GNSQESVTEQ DSKDSTYSLT STLTLKADY EKHKVIACEV
THQGLSSPVT KSFNRGEC

[00219] В SEQ ID NO:29 аминокислотные остатки 1-111 соответствуют домену VL mAb-A к hPD-1 (SEQ ID NO:31), и аминокислотные остатки 112-218 соответствуют константной области легкой цепи каппа (SEQ ID NO:1).

D. Биспецифичная к PD-1 X LAG-3 молекула

[00220] В некоторых вариантах реализации связывающая PD-1 молекула представляет собой биспецифичную молекулу, которая связывается с PD-1 и LAG-3. Биспецифичные к PD-1 X LAG-3 молекулы для применения для лечения рака и/или заболевания, связанного с патогеном, описаны в публикациях согласно РСТ № WO 2015/200119, WO 2017/025498, WO 2018/083087, WO 2018/185043, WO 2018/134279 и WO 2018/217940. В конкретных вариантах реализации биспецифичная молекула представляет собой биспецифичное к PD-1 X LAG-3 диатело. Биспецифичные к PD-1 X LAG-3 диатела, имеющие новые связывающие PD-1 и LAG-3 домены и типичную активность, описаны в источнике WO 2017/019846. В конкретном варианте реализации диатело представляет собой «PD-1 X LAG-3 BD». PD-1 X LAG-3 BD представляет собой четырехцепочечное содержащее Fc-область диатело, которое содержит два сайта связывания, специфичных в отношении PD-1, два сайта связывания, специфичных в отношении LAG-3, Fc-область и цистеинсодержащие способствующие гетеродимизации домены, представляющие собой E/K-спирали. Общая структура PD-1 X LAG-3 BD представлена на **Фигуре 1**. PD-1 X LAG-3 BD содержит домены VL и VH гуманизованного антитела, которое связывается с PD-1, а также домены VL и VH гуманизованного антитела, которое связывается с LAG-3. Таким образом, PD-1 X LAG-3 BD способен специфично связываться с эпитопом PD-1 и эпитопом LAG-3.

[00221] PD-1 X LAG-3 BD содержит четыре полипептидные цепи. Первая и третья полипептидные цепи PD-1 X LAG-3 BD содержат, в направлении от N-конца к C-концу: N-конец, домен VL моноклонального антитела, способного связываться с LAG-3 (SEQ ID NO:45; выделен полужирным шрифтом и подчеркиванием в SEQ ID NO:37 ниже); промежуточный линкерный пептид (линкер 1: GGGSGGGG (SEQ ID NO:10)); домен VH моноклонального антитела, способного связываться с PD-1 (SEQ ID NO:32; выделен полужирным шрифтом и двойным подчеркиванием в SEQ ID NO:37 ниже); цистеинсодержащий промежуточный линкерный пептид (линкер 2: GGCGGG (SEQ ID NO:11)); цистеинсодержащий способствующий

гетеродимеризации домен (E-спираль) (EVAACEK-EVAALEK-EVAALEK-EVAALEK (SEQ ID NO:12)); промежуточный линкерный пептид (линкер 3), содержащий стабилизированную шарнирную область IgG4 (SEQ ID NO:7); вариантный домен CH3-CH2 IgG4, содержащий замены M252Y/S254T/T256E и не содержащий C-концевого остатка (SEQ ID NO:14); и C-конец.

[00222] Аминокислотная последовательность первой и третьей полипептидных цепей PD-1 X LAG-3 BD представляет собой (SEQ ID NO:37):

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQDVS SVVAWYQQKP GKAPKLLIYS
ASYRYTGVPS RFGSGSGTD FTLTISSLOP EDFATYYCQQ HYSTPWTFGG
GTKLEIKGGG SGGGGQVQLV QSGAEVKKPG ASVKVCKAS GYSFTSYWMN
WVROAPGQGL EWIGVIHPSD SETWLDQKFK DRVTITVDKS TSTAYMELSS
LRSEDTAVYY CAREHYGTSP FAYWGOGLV TVSSGGCGGG EVAACEKEVA
ALEKEVAALE KEVAALEKES KYGPPCPPCP APEFLGGPSV FLFPPKPKDT
LYITREPEVT CVVDVDSQED PEVQFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQFNSTY
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKGLPS SIEKTISKAK GQPREPQVYT
LPPSQEEMTK NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS
DGSFFLYSRL TVDKSRWQEG NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSLG

[00223] Вторая и четвертая полипептидные цепи PD-1 X LAG-3 BD содержат, в направлении от N-конца к C-концу: N-конец, домен VL моноклонального антитела, способного связываться с PD-1 (SEQ ID NO:31; выделен полужирным шрифтом и подчеркиванием в SEQ ID NO:38 ниже); промежуточный линкерный пептид (линкер 1: GGGSGGGG (SEQ ID NO:10)); домен VH моноклонального антитела, способного связываться с LAG-3 (SEQ ID NO:46; выделен полужирным шрифтом и двойным подчеркиванием в SEQ ID NO:38 ниже); цистеинсодержащий промежуточный линкерный пептид (линкер 2: GGCGGG (SEQ ID NO:11)); цистеинсодержащий способствующий гетеродимеризации домен (K-спираль) (KVAACEK-KVAALKE-KVAALKE-KVAALKE (SEQ ID NO:13); и C-конец.

[00224] Аминокислотная последовательность второй и четвертой полипептидных цепей PD-1 X LAG-3 BD представляет собой (SEQ ID NO:38):

EIVLTQSPAT LSLSPGERAT LSCRASEVD NYGMSFMNWF QOKPGQPPKL
LIHAASNQGS GVPSRFGSG SGTDFTLTIS SLEPEDFAVY FCQQSKEVPY
TFGGGTKVEI KGGGSGGGGQ VOLVQSGAEV KKPASVKVS CKASGYTFTD
YNMDWVROAP GQGLEWMGDI NPDNGVTIYN QKFEGRVTMT TDTSTSTAYM
ELRSLRSDDT AVYYCAREAD YFYFDYWGQG TLLTVSSGGC GGGKVAACEK
KVAALKEKVA ALKEKVAALK E

VI. Способы получения

[00225] Связывающие молекулы согласно настоящему изобретению (например, B7-H3-ADC, mAb А к hPD-1 и PD-1 X LAG-3 BD) могут быть получены с помощью методик рекомбинантных ДНК и экспрессированы с применением любого способа, известного в данной области техники для получения рекомбинантных белков. Например, нуклеиновые кислоты, кодирующие полипептидные цепи таких связывающих молекул, могут быть сконструированы, введены в экспрессионный вектор и экспрессированы в подходящих клетках-хозяевах. Связывающие молекулы могут быть получены с помощью методик рекомбинантных ДНК в бактериальных клетках (например, клетках *E. coli*) или эукариотических клетках (например, клетках CHO, 293E, COS, NS0). Кроме того, связывающие молекулы могут экспрессироваться в дрожжевой клетке, такой как *Pichia* или *Saccharomyces*.

[00226] Для получения связывающих молекул (например, B7-H3-ADC, mAb А к hPD-1 и PD-1 X LAG-3 BD) один или более полинуклеотидов, кодирующих молекулу, могут быть сконструированы, введены в вектор экспрессии и затем экспрессированы в подходящих клетках-хозяевах. Для получения рекомбинантного вектора экспрессии, трансфекции клеток-хозяев, отбора трансформантов, культивирования клеток-хозяев и выделения молекул применяют стандартные методики молекулярной биологии (см., например, методики, описанные в источниках Green, M.R. *et al.*, (2012), MOLECULAR CLONING, A LABORATORY MANUAL, 4th Ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY and Ausubel *et al.* eds., 1998, CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, NY). Вектор (векторы) экспрессии должен иметь свойства, позволяющие реплицировать вектор в клетке-хозяине. Вектор также должен иметь промоторные и сигнальные последовательности, необходимые для экспрессии в клетках-хозяевах. Такие последовательности хорошо известны в данной области техники. В дополнение к последовательности (последовательностям) нуклеиновой кислоты, кодирующей такие связывающие молекулы, рекомбинантные векторы экспрессии могут содержать дополнительные последовательности, такие как последовательности, которые регулируют репликацию вектора в клетках-хозяевах (например, точки начала репликации), и селективируемые маркерные гены. Другой способ, который может быть применен, представляет собой экспрессию последовательности гена в растениях (например, табаке) или у трансгенного животного. Описаны подходящие способы, пригодные для рекомбинантной

экспрессии таких связывающих молекул в растениях или молоке (см., например, Peeters *et al.* (2001) “*Production Of Antibodies And Antibody Fragments In Plants,*” Vaccine 19:2756; патент США № 5,849,992; и Pollock *et al.* (1999) “*Transgenic Milk As A Method For The Production Of Recombinant Antibodies,*” J. Immunol Methods 231:147-157).

[00227] После рекомбинантной экспрессии связывающей молекулы она может быть очищена из внутренней или внешней среды (например, из культуральной среды) клетки-хозяина с помощью любого способа, известного в данной области техники для очистки полипептидов или полипротеинов. Способы выделения и очистки, обычно применяемые для очистки антител (например, схемы очистки антител, основанные на избирательности в отношении антигена), могут быть применены для выделения и очистки таких молекул и не ограничиваются каким-либо конкретным способом. Например, способы с применением, например, колоночной хроматографии, фильтрации, ультрафильтрации, высаливания, осаждения растворителем, экстракции растворителем, отгонки, иммунопреципитации, электрофореза в полиакриламидном геле в присутствии SDS, изоэлектрического фокусирования, диализа и рекристаллизации. Хроматография включает, например, ионообменную хроматографию, аффинную хроматографию, в частности, основанную на аффинности к конкретному антигену (необязательно после выделения на белке А, если PD-1 X LAG-3 BD содержит Fc-область), колоночную хроматографию с распределением размерам, гидрофобную хроматографию, гель-фильтрацию, обращено-фазовую хроматографию и адсорбционную хроматографию (Marshak *et al.* (1996) STRATEGIES FOR PROTEIN PURIFICATION AND CHARACTERIZATION: A Laboratory Course Manual. (Eds.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY).

VII. Фармацевтические композиции

[00228] В7-Н3-ADC и связывающие PD-1 молекулы согласно настоящему изобретению (например, mAb-A к hPD-1 и/или PD-1 X LAG-3 BD) могут быть приготовлены в виде композиций. Композиции согласно настоящему изобретению включают нерасфасованные лекарственные композиции, пригодные для получения фармацевтических композиций (например, неочищенные или нестерильные композиции), и фармацевтические композиции (то есть композиции, которые подходят для введения субъекту или пациенту), которые могут быть применены для

приготовления единичных лекарственных форм. Такие композиции содержат профилактически или терапевтически эффективное количество В7-Н3-ADC согласно настоящему изобретению, одну или более связывающих PD-1 молекул или их комбинацию, а также один или более фармацевтически приемлемых носителей, и могут необязательно дополнительно содержать один или более дополнительных терапевтических агентов. Фармацевтические композиции могут быть представлены, например, в виде водного раствора, или сухого лиофилизированного порошка, или безводного концентрата, специально выполненного с возможностью разведения в таком фармацевтически приемлемом носителе или разведенного в таком носителе.

[00229] В настоящей заявке термин «фармацевтически приемлемый носитель» означает разбавитель, растворитель, дисперсионную среду, антибактериальные и противогрибковые агенты, вспомогательное вещество или носитель, одобренные регулирующим федеральным или региональным органом власти, или приведенные в Фармакопее США или иной общепризнанной фармакопее как подходящие для введения животным, и, более конкретно, людям. Такие фармацевтические носители могут представлять собой стерильные жидкости, такие как вода и масла, в том числе полученные из нефти масла, масла животного, растительного или синтетического происхождения. Солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина также могут быть применены в качестве жидких носителей, в частности, для инъекционных растворов. Композиция, если это желательно, может также содержать незначительные количества смачивающих или эмульгирующих агентов или буферных агентов для поддержания pH. Эти композиции могут иметь форму растворов, суспензий, эмульсии, таблеток, пилюль, капсул, порошков, составов с замедленным высвобождением и тому подобного.

[00230] Как правило, ингредиенты композиций поставляются либо отдельно, либо в виде смеси в дозированной форме, например, в виде сухого лиофилизированного порошка или безводного концентрата, либо в виде водного раствора в герметично закрытой емкости, такой как флакон, ампула или саше, с указанием количества активного агента. В случае, если композиция предназначена для введения путем инфузии, она может быть отпущена совместно с инфузионным флаконом, содержащим стерильную воду или физиологический раствор фармацевтической степени чистоты. В случае, если композицию вводят путем

инъекции, в комплект поставки может входить ампула со стерильной водой для инъекций, физиологическим раствором или другим разбавителем, чтобы компоненты могли быть смешаны перед введением.

VIII. Фармацевтические наборы

[00231] В настоящем изобретении также предложена фармацевтическая упаковка или набор, содержащие одну или более емкостей, содержащих фармацевтическую композицию или фармацевтические композиции и инструкцию по применению (например, уведомление, листок-вкладыш в упаковку, инструкцию и так далее). Дополнительно в фармацевтический набор также могут быть включены один или более других профилактических или терапевтических агентов, пригодных для лечения заболевания. Емкости таких фармацевтических наборов могут, например, включать один или более герметично закупоренных флаконов, ампул, саше и так далее, с указанием количества содержащегося в них активного агента. В случае, если композиция предназначена для введения путем инфузии, емкость может представлять собой инфузионный флакон, пакет и так далее, содержащий стерильный раствор фармацевтической степени чистоты (например, воду, солевой раствор, буфер и так далее). В случае, если композиции предназначены для введения путем инъекции, фармацевтический набор может содержать ампулу со стерильной водой, солевым раствором или другим разбавителем для инъекций, чтобы облегчить смешивание компонентов фармацевтического набора для введения субъекту (например, пациенту-человеку или другому млекопитающему). В некоторых вариантах реализации фармацевтическая упаковка или набор содержит фармацевтическую композицию B7-H3-ADC и инструкцию по применению. В других вариантах реализации фармацевтическая упаковка или набор содержит фармацевтическую композицию B7-H3-ADC и композицию связывающей PD-1 молекулы, а также инструкцию по применению.

[00232] В одном из вариантов реализации B7-H3-ADC и/или связывающая PD-1 молекула (например, mAb-A к hPD-1 и/или PD-1 X LAG-3 BD) в таком наборе поставляются в виде сухого стерильного лиофилизированного порошка или безводного концентрата в герметично закрытой емкости и может быть разведен, например, в воде, физиологическом растворе или другом разбавителе до подходящей концентрации для введения субъекту. В другом варианте реализации B7-H3-ADC

и/или связывающая PD-1 молекула (например, mAb-A к hPD-1 и/или PD-1 X LAG-3 BD) в таком наборе поставляется в виде водного раствора в герметично закрытой емкости и может быть разбавлен, например, водой, физиологическим раствором или другим разбавителем до подходящей концентрации для введения субъекту. Набор может дополнительно содержать один или более других профилактических и/или терапевтических агентов, пригодных для лечения рака, в одной или более емкостях, и/или набор может дополнительно содержать одно или более цитотоксических антител, которые связывают один или более раковых антигенов, связанных с раком. В некоторых вариантах реализации указанный другой профилактический или терапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент. В других вариантах реализации указанный профилактический или терапевтический агент представляет собой биологический или гормональный терапевтический агент.

[00233] Инструкция по применению, входящая в состав указанных фармацевтических наборов, может, например, иметь содержание и формат, предписанные государственным органом, регулирующим производство, применение или продажу лекарственных средств или биологических продуктов, и может означать одобрение таким органом производства, продажи или применения фармацевтической композиции для введения человеку и/или для лечения человека. Инструкция по применению может, например, содержать информацию, относящуюся к содержащейся дозе фармацевтической композиции, способам ее введения и так далее. Такие инструкции могут дополнительно содержать информацию, относящуюся к дозе и введению одной или более фармацевтических композиций, которые не включены в набор.

[00234] Так, например, в инструкции по применению, входящей в состав фармацевтических наборов, может быть указано, что предложенные фармацевтические композиции следует вводить в комбинации с дополнительным агентом, который может быть обеспечен в том же фармацевтическом наборе или в отдельном фармацевтическом наборе. В такой инструкции по применению может быть указано, что предложенная фармацевтическая композиция B7-H3-ADC содержит дозу, составляющую от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 2 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 3 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 2,25 мг/кг, от приблизительно 2,25 мг/кг до приблизительно

2,5 мг/кг, от приблизительно 2,5 мг/кг до приблизительно 2,75 мг/кг, от приблизительно 2,75 мг/кг до приблизительно 3 мг/кг, от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 3,25 мг/кг, от приблизительно 3,25 мг/кг до приблизительно 3,5 мг/кг, от приблизительно 3,5 мг/кг до приблизительно 3,75 мг/кг, от приблизительно 3,75 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 4,25 мг/кг, от приблизительно 4,25 мг/кг до приблизительно 4,5 мг/кг, от приблизительно 4,5 мг/кг до приблизительно 4,75 мг/кг, или приблизительно 5 мг/кг, или должна быть разведена для обеспечения введения такой дозы. В такой инструкции по применению может быть указано, что предложенная фармацевтическая композиция В7-Н3-ADC содержит дозу, составляющую приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,25 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 2,75 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 3,25 мг/кг, приблизительно 3,5 мг/кг, приблизительно 3,75 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 4,25 мг/кг, приблизительно 4,5 мг/кг, приблизительно 4,75 мг/кг или приблизительно 5 мг/кг, или должна быть разведена для обеспечения введения такой дозы. В такой инструкции по применению может быть указано, что предложенную фармацевтическую композицию В7-Н3-ADC следует вводить один раз приблизительно каждые 2 недели, один раз приблизительно каждые 3 недели, приблизительно один раз каждые 4 недели или более или менее часто. В такой инструкции по применению может быть указано, что также вводят фармацевтическую композицию связывающей PD-1 молекулы. В такой инструкции по применению может быть указано, что фармацевтическая композиция связывающей PD-1 молекулы содержит фиксированную дозу, составляющую от приблизительно 120 мг до приблизительно 800 мг, или должна быть разведена для обеспечения введения такой дозы. В такой инструкции по применению может быть указано, что фармацевтическая композиция связывающей PD-1 молекулы содержит фиксированную дозу, составляющую приблизительно 120 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 240 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 375 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 480 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 600 мг или приблизительно 800 мг, или должна быть разведена для обеспечения введения такой дозы. В такой инструкции по применению может быть указано, что фармацевтическая композиция связывающей PD-1 молекулы содержит

дозу, составляющую от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг или от приблизительно 5 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, или должна быть разведена для обеспечения введения такой дозы. В такой инструкции по применению может быть указано, что фармацевтическая композиция связывающей PD-1 молекулы содержит дозу, составляющую приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 6 мг/кг, приблизительно 7 мг/кг, приблизительно 8 мг/кг, приблизительно 9 мг/кг или приблизительно 10 мг/кг, или должна быть разведена для обеспечения введения такой дозы. В такой инструкции по применению может быть указано, что предложенная фармацевтическая композиция содержит дозу для однократного введения или более одной дозы (например, 2 дозы, 4 дозы, 6 доз, 12 доз, 24 дозы и так далее), или что она должна быть разведена таким образом, чтобы содержать такую дозу. В такой инструкции по применению может быть указано, что фармацевтическую композицию связывающей PD-1 молекулы следует вводить один раз приблизительно каждые 2 недели, один раз приблизительно каждые 3 недели, приблизительно один раз каждые 4 недели или более или менее часто. Инструкция по применению, входящая в состав фармацевтических наборов, может объединять любой набор таких сведений (например, в ней может быть указано, что предложенная фармацевтическая композиция, содержащая B7-H3-ADC, содержит дозу, составляющую приблизительно 3 мг/мл, или должна быть разведена для обеспечения содержания такой дозы, и что такую дозу следует вводить приблизительно один раз каждые 3 недели; в ней может быть указано, что предложенная фармацевтическая композиция содержит дозу, составляющую приблизительно 3,5 мг/кг, или должна быть разведена для обеспечения содержания такой дозы, и что такую дозу следует вводить приблизительно один раз каждые 3 недели; и так далее, и/или в ней может быть указано, что фармацевтическая композиция, содержащая mAb-A к hPD-1, содержит фиксированную дозу, составляющую приблизительно 375 мг, или должна быть разведена для обеспечения содержания такой дозы, и что такую дозу следует вводить один раз приблизительно каждые 3 недели; и так далее), и/или в ней может быть указано, что фармацевтическая композиция, содержащая BD PD-1 X LAG-3, содержит фиксированную дозу, составляющую приблизительно 300 мг или приблизительно 600 мг, или должна быть разведена для обеспечения содержания такой дозы, и что такую дозу следует вводить один раз приблизительно каждые 2

недели или один раз приблизительно каждые 3 недели, и так далее). Такая инструкция по применению может содержать указания относительно способа введения входящей в состав набора фармацевтической композиции, например, что ее следует вводить путем внутривенной (в/в) инфузии. Инструкция по применению, входящая в состав фармацевтических наборов, может содержать указания относительно продолжительности или временных интервалов такого введения, например, что входящая в состав наборов фармацевтическая композиция представляет собой композицию, которую следует вводить путем внутривенной (в/в) инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 60 минут, приблизительно 30-240 минут, периода, составляющего приблизительно 30-90 минут, и так далее.

[00235] Инструкция по применению, входящая в состав фармацевтических наборов, может содержать указания относительно подходящего или желаемого применения входящей в состав набора фармацевтической композиции, например, указания о том, что такую фармацевтическую композицию следует вводить для лечения рака, при котором экспрессируется V7-Н3. Такой рак может представлять собой рак надпочечников, СПИД-ассоциированный рак, альвеолярную саркому мягких тканей, астроцитарную опухоль, рак анального канала (например, SCAC), рак мочевого пузыря, рак кости, рак головного и спинного мозга, метастатическую опухоль головного мозга, В-клеточный рак, рак молочной железы (например, HER2+ рак молочной железы или TNBC), опухоли каротидного гломуса, рак шейки матки, хондросаркому, хордому, хромофобную почечно-клеточную карциному, светлоклеточную карциному, рак толстой кишки, колоректальный рак, доброкачественную фиброзную гистиоцитому кожи, десмопластическую мелкокруглоклеточную опухоль, эпендимому, опухоль Юинга, внескелетную миксоидную хондросаркому, несовершенный костный фиброгенез, фиброзную дисплазию кости, рак желчного пузыря или желчного протока, рак желудка, гестационную трофобластическую болезнь, эмбрионально-клеточную опухоль, рак головы и шеи, глиобластому, гематологическое злокачественное новообразование, гепатоцеллюлярную карциному, опухоль из островковых клеток, саркому Капоши, рак почки, лейкоз (например, острый миелоидный лейкоз), липосаркому/злокачественную липоматозную опухоль, рак печени, лимфому, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)), медуллобластому, меланому, менингиому, мезотелиому, фарингеальный рак, множественную

эндокринную неоплазию, множественную миелому, миелодиспластический синдром, нейробластому, нейроэндокринные опухоли, рак яичников, рак поджелудочной железы, папиллярную карциному щитовидной железы, опухоль паращитовидной железы, рак у детей, опухоль оболочек периферических нервов, феохромоцитому, опухоль гипофиза, рак предстательной железы (например, mCRPC), меланому заднего отдела сосудистой оболочки глаза, метастатический рак почки, рабдоидную опухоль, рабдомиосаркому, саркому, рак кожи, мелкокруглоклеточную опухоль с окрашиванием в синий цвет у детей (включая нейробластому и рабдомиосаркому), саркому мягких тканей, плоскоклеточный рак (например, SCCHN), рак желудка, синовиальную саркому, рак яичка, карциному вилочковой железы, тимому, рак щитовидной железы (например, метастатический рак щитовидной железы) и рак матки.

IX. Применение В7-Н3-ADC согласно настоящему изобретению

[00236] В7-Н3-ADC согласно настоящему изобретению может быть применен необязательно в комбинации со связывающей PD-1 молекулой согласно настоящему изобретению для лечения или предотвращения различных расстройств, включая рак, в частности, рак, при котором экспрессируется В7-Н3. Соответственно, в настоящем изобретении предложены способы лечения рака, включающие введение нуждающемуся в этом субъекту В7-Н3-ADC согласно настоящему изобретению необязательно в комбинации со связывающей PD-1 молекулой согласно настоящему изобретению. В настоящей заявке термин «субъект» относится к человеку (то есть пациенту-человеку) или другому млекопитающему. В настоящей заявке предложены иллюстративные схемы дозирования для введения такой терапии нуждающемуся в этом субъекту.

[00237] Раковые заболевания, которые могут подлежать лечению с применением либо В7-Н3-ADC отдельно, либо комбинации В7-Н3-ADC и связывающей PD-1 молекулы согласно настоящему изобретению, включают: рак надпочечников, СПИД-ассоциированный рак, альвеолярную саркому мягких тканей, астроцитарную опухоль, рак анального канала (например, SCAC), рак мочевого пузыря, рак кости, рак головного и спинного мозга, метастатическую опухоль головного мозга, В-клеточный рак, рак молочной железы (например, HER2+ рак молочной железы или TNBC), опухоли каротидного гломуса, рак шейки матки, хондросаркому, хордому,

хромофобную почечно-клеточную карциному, светлоклеточную карциному, рак толстой кишки, колоректальный рак, доброкачественную фиброзную гистиоцитому кожи, десмопластическую мелкокруглоклеточную опухоль, эпендимому, опухоль Юинга, внескелетную миксоидную хондросаркому, несовершенный костный фиброгенез, фиброзную дисплазию кости, рак желчного пузыря или желчного протока, рак желудка, гестационную трофобластическую болезнь, эмбрионально-клеточную опухоль, рак головы и шеи, глиобластома, гематологическое злокачественное новообразование, гепатоцеллюлярную карциному, опухоль из островковых клеток, саркому Капоши, рак почки, лейкоз (например, острый миелоидный лейкоз), липосаркому/злокачественную липоматозную опухоль, рак печени, лимфому, рак легкого (например, немелкоклеточный рак легкого (NSCLC)), медуллобластома, меланому, менингиому, мезотелиому, фарингеальный рак, множественную эндокринную неоплазию, множественную миелому, миелодиспластический синдром, нейробластома, нейроэндокринные опухоли, рак яичников, рак поджелудочной железы, папиллярную карциному щитовидной железы, опухоль паращитовидной железы, рак у детей, опухоль оболочек периферических нервов, феохромоцитому, опухоль гипофиза, рак предстательной железы (например, mCRPC), меланому заднего отдела сосудистой оболочки глаза, метастатический рак почки, рабдоидную опухоль, рабдомиосаркому, саркому, рак кожи, мелкокруглоклеточную опухоль с окрашиванием в синий цвет у детей (включая нейробластома и рабдомиосаркому), саркому мягких тканей, плоскоклеточный рак (например, SCCHN), рак желудка, синовиальную саркому, рак яичка, карциному вилочковой железы, тимому, рак щитовидной железы (например, метастатический рак щитовидной железы) и рак матки.

[00238] В частности, B7-H3-ADC согласно настоящему изобретению можно применять, необязательно в комбинации со связывающими PD-1 молекулами согласно настоящему изобретению, для лечения: рака предстательной железы (включая mCRPC), рака анального канала (включая SCAC), рака молочной железы (включая HER2+ рак молочной железы и/или TNBC), рака головы и шеи (включая SCCHN) и рака легкого (включая NSCLC).

[00239] В некоторых вариантах реализации B7-H3-ADC согласно настоящему изобретению вводят необязательно в комбинации со связывающей PD-1 молекулой

согласно настоящему изобретению в качестве терапии первой линии для лечения рака. В других вариантах реализации В7-Н3-ADC согласно настоящему изобретению вводят необязательно в комбинации со связывающей PD-1 молекулой согласно настоящему изобретению после одной или более предшествующих линий терапии. В других вариантах реализации В7-Н3-ADC согласно настоящему изобретению может быть применен необязательно в комбинации с связывающей PD-1 молекулой согласно настоящему изобретению в качестве адьювантной терапии во время или после хирургического удаления опухоли с целью задержки, подавления или предотвращения развития метастазов. В7-Н3-ADC согласно настоящему изобретению также может быть применен необязательно в комбинации со связывающей PD-1 молекулой согласно настоящему изобретению до хирургического вмешательства (например, в качестве неадьювантной терапии) с целью уменьшения размера опухоли и, таким образом, обеспечения или упрощения такого хирургического вмешательства, сохранения ткани во время такого хирургического вмешательства и /или уменьшения любого возникающего в результате физического дефекта.

[00240] В частности, настоящее изобретение охватывает введение В7-Н3-ADC, необязательно в комбинации со связывающей PD-1 молекулой, в дополнительной комбинации с одним или более другими методами терапии, известными специалистам в данной области техники, для лечения или предотвращения рака, включая, но не ограничиваясь ими, современные стандартные и экспериментальные варианты химиотерапии, гормональной терапии, биологической терапии, иммунотерапии, лучевой терапии или хирургии. В некоторых вариантах реализации В7-Н3-ADC, необязательно в комбинации с связывающей PD-1 молекулой, может быть применен в дополнительной комбинации с терапевтически или профилактически эффективным количеством одного или более терапевтических агентов или химиотерапевтических агентов, известных специалистам в данной области техники, для лечения и/или предотвращения рака, в частности, рака, характеризующегося экспрессией В7-Н3. Терапевтические агенты и химиотерапевтические агенты, обычно применяемые для лечения раковых заболеваний, характеризующихся экспрессией В7-Н3, включают, но не ограничиваются ими, химиотерапевтические агенты на основе платины (в частности, карбоплатин, оксалиплатин и карбоплатин), таксаны (в частности, доцетаксел и

паклитаксел), гормональные терапевтические агенты (в частности, абиратерон и энзалутамид), антрациклины (в частности, даунорубицин, доксорубицин и эпирубицин), капецитабин, циклофосфамид, лейковорин, метотрексат, радий 223, сипулейцел-Т и 5-фторурацил (5-FU).

[00241] В настоящей заявке термин «комбинация» относится к применению более чем одного терапевтического агента. Использование термина «комбинация» не ограничивает порядок, в котором терапевтические агенты вводят субъекту (например, пациенту-человеку или другому млекопитающему), имеющему расстройство, и не означает, что агенты вводят точно в одно и то же время. Термин «комбинация» означает, что В7-Н3-ADC, связывающую PD-1 молекулу согласно настоящему изобретению и любой другой агент вводят пациенту-человеку или другому млекопитающему в такой последовательности и с таким временным промежутком, что комбинация В7-Н3-ADC, связывающей PD-1 молекулы и другого агента обеспечивает большее благоприятное действие, чем если бы их вводили иным образом. Например, каждый терапевтический агент (например, агент для химиотерапии, лучевой терапии, гормональной терапии или биологической терапии) можно вводить одновременно или последовательно в любом порядке в разные моменты времени; однако, если их не вводят одновременно, их следует вводить достаточно быстро один за другим, чтобы обеспечить желаемый терапевтический или профилактический эффект. Каждый терапевтический агент может быть введен отдельно, в любой подходящей форме и любым подходящим путем, например, один пероральным путем и один парентерально и так далее. В настоящей заявке предложены иллюстративные схемы дозирования для введения В7-Н3-ADC в комбинации со связывающей PD-1 молекулой нуждающемуся в этом субъекту.

Х. Способы введения и доза

[00242] Молекула согласно настоящему изобретению (например, В7-Н3-ADC и/или связывающая PD-1 молекула) может быть введена субъекту, например, нуждающемуся в этом субъекту, например, пациенту-человеку, различными способами. Для многих вариантов применения путь введения представляет собой один из следующих путей: внутривенную инъекцию или инфузию (в/в), подкожную инъекцию (п/к), внутривентральную (в/б) или внутримышечную инъекцию. Также возможно применение внутрисуставной доставки. Также возможно применение

других путей парентерального введения. Примеры таких путей включают: внутриаартериальный, интратекальный, интракапсулярный, интраорбитальный, внутрисердечный, внутрикожный, транстрахеальный, субкутикулярный, внутрисуставной, субкапсулярный, субарахноидальный, интраспинальный пути, а также эпидуральную и интрастернальную инъекцию.

[00243] Указанные молекулы (например, B7-H3-ADC и/или связывающую PD-1 молекулу) могут быть введены в виде фиксированной дозы (например, 375 мг) или в виде определенной на основании массы тела дозы (например, 3,5 мг/кг). Доза также может быть выбрана с целью уменьшения или предотвращения выработки антител против вводимых молекул. Схемы дозирования корректируют для обеспечения желаемого ответа, например, терапевтического ответа или сочетанного терапевтического эффекта. Как правило, дозы B7-H3-ADC и связывающей PD-1 молекулы (и, необязательно, дополнительного агента) могут быть применены для обеспечения субъекта агентом в биодоступных количествах. В настоящей заявке термин «доза» относится к определенному количеству лекарственного средства, принимаемому одновременно. Термин «дозировка» относится к введению определенного количества, числа и частоты доз в течение определенного периода времени; таким образом, термин «дозировка» включает хронологические признаки, такие как продолжительность и периодичность.

[00244] Термин «фиксированная доза» в настоящей заявке относится к дозе, которая не зависит от массы тела пациента, и включает физически дискретные единицы молекулы (например, B7-H3-ADC или связывающей PD-1 молекулы), которые являются подходящими в качестве дозы для однократного применения для субъектов, подлежащих лечению; при этом каждая единица содержит предварительно определенное количество B7-H3-ADC и/или связывающей PD-1 молекулы (рассчитанное для получения желаемого терапевтического эффекта) в сочетании с фармацевтическим носителем и, необязательно, в сочетании с дополнительным агентом. Могут быть введены одна или несколько фиксированных доз. Термин «определенная на основании массы тела доза» в настоящей заявке относится к дискретному количеству молекулы, которое следует вводить на единицу массы тела пациента, например, миллиграммам лекарственного средства на килограмм массы тела субъекта (мг/кг массы тела, в настоящей заявке сокращенно

обозначается «мг/кг»). Рассчитанную дозу вводят исходя из массы тела субъекта на исходном уровне. Как правило, значительное ($\geq 10\%$) изменение массы тела относительно исходного уровня или установленного плато массы тела обычно приводит к перерасчету дозы. Могут быть введены одна или несколько доз. Композиции, содержащие В7-Н3-ADC и/или связывающую PD-1 молекулу, могут быть введены нуждающемуся в этом субъекту, путем инфузии.

[00245] В некоторых вариантах реализации В7-Н3-ADC вводят нуждающемуся в этом субъекту в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 2 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 3 мг/кг, от приблизительно 2 мг/кг до приблизительно 2,25 мг/кг, от приблизительно 2,25 мг/кг до приблизительно 2,5 мг/кг, от приблизительно 2,5 мг/кг до приблизительно 2,75 мг/кг, от приблизительно 2,75 мг/кг до приблизительно 3 мг/кг, от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 3,25 мг/кг, от приблизительно 3,25 мг/кг до приблизительно 3,5 мг/кг, от приблизительно 3,5 мг/кг до приблизительно 3,75 мг/кг, от приблизительно 3,75 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 4,25 мг/кг, от приблизительно 4,25 мг/кг до приблизительно 4,5 мг/кг, от приблизительно 4,5 мг/кг до приблизительно 4,75 мг/кг, или приблизительно 5 мг/кг. В конкретных вариантах реализации В7-Н3-ADC вводят нуждающемуся в этом субъекту в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,25 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 2,75 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 3,25 мг/кг, приблизительно 3,5 мг/кг, приблизительно 3,75 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 4,25 мг/кг, приблизительно 4,5 мг/кг, приблизительно 4,75 мг/кг или приблизительно 5 мг/кг. В некоторых вариантах реализации В7-Н3-ADC следует вводить один раз приблизительно каждые 2 недели, один раз приблизительно каждые 3 недели, приблизительно один раз каждые 4 недели или более или менее часто.

[00246] В некоторых вариантах реализации связывающая PD-1 молекула представляет собой mAb-A к hPD-1, и ее вводят нуждающемуся в этом субъекту в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 200 мг до приблизительно

800 мг. В конкретных вариантах реализации mAb-A к hPD-1 вводят нуждающемуся в этом субъекту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг, приблизительно 200 мг, приблизительно 275 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 350 мг, приблизительно 375 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 450 мг, приблизительно 475 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 550 мг, приблизительно 575 мг, приблизительно 600 мг, приблизительно 650 мг, приблизительно 675 мг, приблизительно 700 мг, приблизительно 750 мг, приблизительно 775 мг или приблизительно 800 мг. В конкретных вариантах реализации mAb-A к hPD-1 вводят нуждающемуся в этом субъекту в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг. В конкретных вариантах реализации mAb-A к hPD-1 вводят нуждающемуся в этом субъекту в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг, приблизительно 6 мг/кг, приблизительно 7 мг/кг, приблизительно 8 мг/кг, приблизительно 9 мг/кг или приблизительно 10 мг/кг. В некоторых вариантах реализации mAb-A к hPD-1 следует вводить один раз приблизительно каждые 2 недели, один раз приблизительно каждые 3 недели, приблизительно один раз каждые 4 недели или более или менее часто.

[00247] В некоторых вариантах реализации связывающая PD-1 молекула представляет собой пембролизумаб, и ее вводят нуждающемуся в этом субъекту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг. В некоторых вариантах реализации ниволумаб вводят нуждающемуся в этом субъекту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 240 мг или приблизительно 480 мг. В некоторых вариантах реализации ниволумаб вводят нуждающемуся в этом субъекту в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3 мг/кг. В некоторых вариантах реализации пембролизумаб или ниволумаб следует вводить один раз приблизительно каждые 2 недели, один раз приблизительно каждые 3 недели, приблизительно один раз каждые 4 недели или более или менее часто.

[00248] В конкретных вариантах реализации связывающая PD-1 молекула представляет собой PD-1 X LAG-3 BD, и ее вводят нуждающемуся в этом субъекту в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 120 мг до приблизительно

800 мг. В некоторых вариантах реализации PD-1 X LAG-3 BD вводят нуждающемуся в этом субъекту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 120 мг, приблизительно 300 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 600 мг или приблизительно 800 мг. В некоторых вариантах реализации PD-1 X LAG-3 BD вводят нуждающемуся в этом субъекту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 300 мг. В другом конкретном варианте реализации PD-1 X LAG-3 BD вводят нуждающемуся в этом субъекту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 600 мг. В другом конкретном варианте реализации PD-1 X LAG-3 BD вводят нуждающемуся в этом субъекту в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 800 мг. В некоторых вариантах реализации PD-1 X LAG-3 BD следует вводить один раз приблизительно каждые 2 недели, один раз приблизительно каждые 3 недели, приблизительно один раз каждые 4 недели или более или менее часто.

[00249] В отношении фиксированных доз или фиксированных дозировок, термин «приблизительно» предназначен для обозначения диапазона, который составляет $\pm 10\%$ от указанной дозы, таким образом, например, доза, составляющая приблизительно 600 мг, будет составлять от 540 мг до 660 мг. В отношении определенных на основании массы тела доз термин «приблизительно» предназначен для обозначения диапазона, который составляет $\pm 10\%$ от указанной дозы, таким образом, например, доза, составляющая приблизительно 10 мг/кг, составляет от 0,9 мг/кг до 10,1 мг/кг.

[00250] Термины «интервал дозирования» и «интервалы дозирования» в настоящей заявке относятся к временным интервалам между введениями доз, которые могут быть равными или неравными. Дозировка молекулы (например, доза B7-H3-ADC и/или доза связывающей PD-1 молекулы) может быть введена с периодическими интервалами дозирования в течение в течение периода времени, достаточного для охвата по меньшей мере 2 доз, по меньшей мере 4 доз, по меньшей мере 6 доз, по меньшей мере 12 доз или по меньшей мере 24 доз (курса лечения). Например, дозировка может быть введена, например, один или два раза в день, или приблизительно от одного до четырех раз в неделю, или, в частности, один раз каждую неделю («Q1W»), один раз каждые две недели («Q2W»), один раз каждые три недели («Q3W»), один раз каждые четыре недели («Q4W») и так далее. Такое

периодическое введение может продолжаться в течение периода времени, например, составляющего от приблизительно 1 до 52 недель или более 52 недель. Такой курс лечения может быть разделен на этапы, каждый из которых в настоящей заявке называется «циклом», продолжительностью, например, от 2 до 8 недель, от приблизительно 3 до 7 недель, в частности, приблизительно 4 недели, или приблизительно 6 недель, или приблизительно 8 недель, в течение которого вводят заданное количество доз. Доза и/или частота введения могут быть одинаковыми или различными в течение каждого цикла. Факторы, которые могут влиять на дозировку и сроки, необходимые для эффективного лечения субъекта, включают, например, тяжесть заболевания или расстройства, состав, путь доставки, предшествующее лечение, общее состояние здоровья и/или возраст субъекта, а также наличие других заболеваний у субъекта. Кроме того, лечение субъекта терапевтически эффективным количеством соединения может включать однократное введение или может включать курс лечения.

[00251] «Схема дозирования» представляет собой введение дозировки, при котором пациенту вводят предварительно определенную дозу (или набор таких предварительно определенных доз) с предварительно определенной частотой (или серией таких частот) с предварительно определенной периодичностью (периодичностями). Иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC согласно настоящему изобретению в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 1 мг/кг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы

тела дозе, составляющей от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 1 мг/кг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 2 мг/кг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3 мг/кг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3,25 мг/кг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3,5 мг/кг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3,75 мг/кг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4,25 мг/кг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4,5 мг/кг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4,75 мг/кг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 4 недели.

[00253] Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC согласно настоящему изобретению в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и связывающей PD-1 молекулы согласно настоящему изобретению в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 120 мг до приблизительно

1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4,75 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, каждые 3 недели.

[00256] Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 375 мг до приблизительно 500 мг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 375 мг до приблизительно 500 мг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 375 мг до приблизительно 500 мг, один раз каждые 4 недели.

[00257] Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-

на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4,25 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение B7-H3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4,5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение B7-H3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4,75 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение B7-H3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, каждые 4 недели.

[00259] Другая иллюстративная схема дозирования включает введение B7-H3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 4 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 375 мг до приблизительно 500 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение B7-H3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 4 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 375 мг до приблизительно 500 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение B7-H3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, один раз каждые 4 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 375 мг до приблизительно 500 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение B7-H3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 4 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей от приблизительно 375 мг до приблизительно 500 мг, один раз каждые 3 недели.

составляющей приблизительно 500 мг, каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3,75 мг/кг, один раз каждые 4 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг, один раз каждые 4 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4,25 мг/кг, один раз каждые 4 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4,5 мг/кг, один раз каждые 4 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4,75 мг/кг, один раз каждые 4 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 4 недели, и mAb-A к hPD-1 в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг, каждые 3 недели.

[00262] Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC согласно настоящему изобретению в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 согласно настоящему изобретению в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, вводимой один раз каждые 2 недели, один раз каждые 3 недели или один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в определенной на основании массы тела

каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 10 мг/кг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в дозе, составляющей приблизительно 10 мг/кг, один раз каждые 4 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и mAb-A к hPD-1 в дозе, составляющей приблизительно 10 мг/кг, один раз каждые 4 недели.

[00265] Иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC согласно настоящему изобретению в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и пембролизумаба в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и пембролизумаба в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и пембролизумаба в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и пембролизумаба в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 2 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и пембролизумаба в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг, один

дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3,25 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и PD-1 X LAG-3 BD в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 600 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3,5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и PD-1 X LAG-3 BD в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 600 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3,75 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и PD-1 X LAG-3 BD в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 600 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и PD-1 X LAG-3 BD в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 600 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4,25 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и PD-1 X LAG-3 BD в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 600 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4,5 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и PD-1 X LAG-3 BD в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 600 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4,75 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и PD-1 X LAG-3 BD в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 600 мг, один раз каждые 3 недели. Другая иллюстративная схема дозирования включает введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3,25 мг/кг, один раз каждые 3 недели, и PD-1 X LAG-3 BD в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 600 мг, один раз каждые 3 недели.

[00275] В частности, предполагается, что в указанных выше вариантах реализации введение осуществляют с заданной частотой или периодичностью или в течение 1-3 дней до или после такого запланированного дня введения дозы, таким

образом, что введение осуществляют в течение 1-3 дней до, 1-3 дней после или в запланированный день введения дозы, например, один раз каждые 3 недели (± 3 дня). В частности, предполагается, что в указанных выше вариантах реализации В7-Н3-ADC и связывающую PD-1 молекулу вводят путем в/в инфузии в течение 24-часового периода. В некоторых вариантах реализации В7-Н3-ADC и связывающую PD-1 молекулу вводят путем в/в инфузии согласно любой из представленных выше схем дозирования в течение периода (то есть курса лечения), составляющего по меньшей мере 1 месяц или более, по меньшей мере 3 месяца или более, или по меньшей мере 6 месяцев или более, или по меньшей мере 12 месяцев или более. В частности, предполагается продолжительность лечения, составляющая по меньшей мере 6 месяцев или более, или по меньшей мере 12 месяцев или более, или продолжительность лечения до тех пор, пока не будет наблюдаться ремиссия заболевания или не поддающаяся коррекции токсичность. В некоторых вариантах реализации лечение продолжается в течение некоторого времени после ремиссии заболевания.

[00276] В некоторых вариантах реализации В7-Н3-ADC и связывающую PD-1 молекулу вводят путем в/в инфузии. Таким образом, молекулы разбавляют (отдельно или совместно) в пакете для инфузий, содержащем подходящий разбавитель, например, 0,9% хлорид натрия. Поскольку могут возникнуть инфузионные или аллергические реакции, рекомендуется проводить премедикацию для предотвращения таких инфузионных реакций и соблюдать меры предосторожности в отношении анафилаксии, наблюдаемой во время введения антител. В некоторых вариантах реализации в/в инфузия должна быть проведена субъекту в течение периода, составляющего от приблизительно 30 минут до приблизительно 24 часов. В некоторых вариантах реализации в/в инфузию проводят в течение периода, составляющего приблизительно 30-240 минут, приблизительно 30-180 минут, приблизительно 30-120 минут или приблизительно 30-90 минут, или в течение периода, составляющего приблизительно 60-90 минут, или в течение периода, составляющего приблизительно 60-75 минут, или в течение меньшего периода, если субъект не демонстрирует признаков или симптомов нежелательной инфузионной реакции. В одном из вариантов реализации В7-Н3-ADC вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 60 минут. В другом варианте реализации mAb-A к hPD-1 вводят путем в/в инфузии в течение периода,

составляющего приблизительно 60 минут. В другом варианте реализации пембролизумаб вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 30 минут. В другом варианте реализации ниволумаб вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 30 минут. В другом варианте реализации PD-1 X LAG-3 BD вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 30-240 минут или приблизительно 30-90 минут.

[00277] Хотя, как было рассмотрено выше, для доставки нуждающимся в этом субъектам-реципиентам В7-Н3-ADC отдельно или комбинации В7-Н3-ADC и связывающей PD-1 молекулы согласно настоящему изобретению могут быть применены различные способы дозирования и введения, ниже отдельно предложены некоторые комбинации, способы дозирования и введения для применения для такого лечения.

[00278] Соответственно, некоторые схемы дозирования включают введение В7-Н3-ADC в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, необязательно в комбинации со связывающей PD-1 молекулой либо в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 300-700 мг, либо в определенной на основании массы тела дозе, составляющей от приблизительно 1 мг/кг до приблизительно 10 мг/кг, при этом такие молекулы вводят один раз каждые 3 недели (\pm 3 дня). В некоторых вариантах реализации В7-Н3-ADC вводят в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,25 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 2,75 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 3,25 мг/кг, приблизительно 3,5 мг/кг, приблизительно 3,75 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 4,25 мг/кг, приблизительно 4,5 мг/кг, приблизительно 4,75 мг/кг или приблизительно 5 мг/кг, а связывающую PD-1 молекулу вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 300 мг, приблизительно 375 мг, приблизительно 400 мг, приблизительно 500 мг, приблизительно 600 мг или приблизительно 700 мг, или в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 5 мг/кг или приблизительно 10 мг/кг.

(А) В некоторых вариантах реализации В7-Н3-ADC вводят в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3 мг/кг. В таких

вариантах реализации, если связывающая PD-1 молекула, подлежащая введению, представляет собой mAb-A к hPD-1, такое mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг или приблизительно 500 мг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой пембролизумаб, указанный пембролизумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой ниволумаб, указанный ниволумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей 240 мг или 480 мг, или в определенной на основании массы тела дозе, составляющей 3 мг/кг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой PD-1 X LAG-3 BD, указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят в дозе, составляющей 300 мг или приблизительно 600 мг.

- (B) В некоторых вариантах реализации B7-H3-ADC вводят в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3,25 мг/кг. В таких вариантах реализации, если связывающая PD-1 молекула, подлежащая введению, представляет собой mAb-A к hPD-1, такое mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг или приблизительно 500 мг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой пембролизумаб, указанный пембролизумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой ниволумаб, указанный ниволумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей 240 мг или 480 мг, или в определенной на основании массы тела дозе, составляющей 3 мг/кг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой PD-1 X LAG-3 BD, указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят в дозе, составляющей 300 мг или приблизительно 600 мг.
- (C) В некоторых вариантах реализации B7-H3-ADC вводят в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3,5 мг/кг. В таких вариантах реализации, если связывающая PD-1 молекула, подлежащая введению, представляет собой mAb-A к hPD-1, такое mAb-A к hPD-1 вводят в

фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг или приблизительно 500 мг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой пембролизумаб, указанный пембролизумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой ниволумаб, указанный ниволумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей 240 мг или 480 мг, или в определенной на основании массы тела дозе, составляющей 3 мг/кг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой PD-1 X LAG-3 BD, указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят в дозе, составляющей 300 мг или приблизительно 600 мг.

(D) В некоторых вариантах реализации B7-H3-ADC вводят в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 3,75 мг/кг. В таких вариантах реализации, если связывающая PD-1 молекула, подлежащая введению, представляет собой mAb-A к hPD-1, такое mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг или приблизительно 500 мг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой пембролизумаб, указанный пембролизумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой ниволумаб, указанный ниволумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей 240 мг или 480 мг, или в определенной на основании массы тела дозе, составляющей 3 мг/кг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой PD-1 X LAG-3 BD, указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят в дозе, составляющей 300 мг или приблизительно 600 мг.

(E) В некоторых вариантах реализации B7-H3-ADC вводят в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг. В таких вариантах реализации, если связывающая PD-1 молекула, подлежащая введению, представляет собой mAb-A к hPD-1, такое mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг или приблизительно 500 мг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах

реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой пембролизумаб, указанный пембролизумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой ниволумаб, указанный ниволумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей 240 мг или 480 мг, или в определенной на основании массы тела дозе, составляющей 3 мг/кг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой PD-1 X LAG-3 BD, указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят в дозе, составляющей 300 мг или приблизительно 600 мг.

- (F) В некоторых вариантах реализации B7-H3-ADC вводят в определенной на основании массы тела дозе, составляющей приблизительно 5 мг/кг. В таких вариантах реализации, если связывающая PD-1 молекула, подлежащая введению, представляет собой mAb-A к hPD-1, такое mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг или приблизительно 500 мг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой пембролизумаб, указанный пембролизумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой ниволумаб, указанный ниволумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей 240 мг или 480 мг, или в определенной на основании массы тела дозе, составляющей 3 мг/кг. В качестве альтернативы, если в таких вариантах реализации вводимая связывающая PD-1 молекула представляет собой PD-1 X LAG-3 BD, указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят в дозе, составляющей 300 мг или приблизительно 600 мг.

В любом из указанных выше вариантов реализации B7-H3-ADC и связывающую PD-1 молекулу вводят путем в/в инфузии одновременно, последовательно, поочередно или в разное время в течение 24-часового периода. В любом из указанных выше вариантов реализации связывающая PD-1 молекула представляет собой mAb-A к hPD-1 или PD-1 X LAG-3 BD.

XI. Варианты реализации настоящего изобретения

[00279] Настоящее изобретение, в частности, относится к следующим неограничивающим вариантам реализации (E1-E119):

- E1. Способ лечения рака, включающий введение В7-Н3-ADC нуждающемуся в этом субъекту, где указанный способ включает введение указанного В7-Н3-ADC указанному субъекту в дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз приблизительно каждые 3 недели.
- E2. Способ согласно E1, где указанный способ включает введение указанного В7-Н3-ADC указанному субъекту в дозе, составляющей от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз приблизительно каждые 3 недели.
- E3. Способ согласно любому из E1-E2, где указанный способ включает введение указанного В7-Н3-ADC указанному субъекту в дозе, составляющей от 3 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, один раз приблизительно каждые 3 недели.
- E4. Способ согласно любому из E1-E2, где указанный способ включает введение указанного В7-Н3-ADC указанному субъекту в дозе, составляющей от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз приблизительно каждые 3 недели.
- E5. Способ лечения рака, включающий введение В7-Н3-ADC нуждающемуся в этом субъекту, где указанный способ включает введение указанного В7-Н3-ADC указанному субъекту в дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз приблизительно каждые 4 недели.
- E6. Способ согласно E5, где указанный способ включает введение указанного В7-Н3-ADC указанному субъекту в дозе, составляющей от приблизительно 3 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз приблизительно каждые 4 недели.

- E7. Способ согласно любому из E5-E6, где указанный способ включает введение указанного В7-Н3-ADC указанному субъекту в дозе, составляющей от 3 мг/кг до приблизительно 4 мг/кг, один раз приблизительно каждые 4 недели.
- E8. Способ согласно любому из E5-E6, где указанный способ включает введение указанного В7-Н3-ADC указанному субъекту в дозе, составляющей от приблизительно 4 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз приблизительно каждые 4 недели.
- E9. Способ согласно любому из E1-E8, где указанный способ включает введение указанного В7-Н3-ADC указанному субъекту в дозе, составляющей приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,25 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 2,75 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 3,25 мг/кг, приблизительно 3,5 мг/кг, приблизительно 3,75 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 4,25 мг/кг, приблизительно 4,5 мг/кг, приблизительно 4,75 мг/кг или приблизительно 5 мг/кг.
- E10. Способ лечения рака, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту:
(A) В7-Н3-ADC и
(B) связывающей PD-1 молекулы,
где указанный способ включает введение субъекту указанного В7-Н3-ADC в дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 3 недели.
- E11. Способ лечения рака, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту:
(A) В7-Н3-ADC и
(B) связывающей PD-1 молекулы,
где указанный способ включает введение субъекту указанного В7-Н3-ADC в дозе, составляющей от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг, один раз каждые 4 недели.

E12. Способ согласно любому из E1-E11, где указанный B7-H3-ADC представлен формулой:



где:

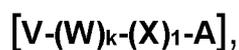
- Ab** представляет собой гуманизированное антитело к B7-H3 или его связывающий B7-H3 фрагмент, который связывается с B7-H3 и содержит:
- (i) последовательность CDRL1 RASESIYSYLA (**SEQ ID NO: 39**), последовательность CDRL2 NTKTLPE (**SEQ ID NO: 40**) и последовательность CDRL3 QNHYGTPPWWT (**SEQ ID NO: 41**) в переменном домене легкой цепи (VL), и
 - (ii) последовательность CDRH1 SYGMS (**SEQ ID NO: 42**), последовательность CDRH2 TINSGGSNNTYY PDSLKG (**SEQ ID NO: 43**) и последовательность CDRH3 HDGGAMDY (**SEQ ID NO: 44**) в переменном домене тяжелой цепи (VH);
- LM** содержит по меньшей мере одну связь или линкерную молекулу, которая ковалентно связывает Ab и D;
- m** представляет собой целое число от 0 до n и обозначает количество связей или линкерных молекул в указанном B7-H3-ADC, m не равно 0 за исключением случаев, когда **LM** представляет собой связь;
- и
- n** представляет собой целое число от 1 до 10 и обозначает количество цитотоксических дуокармициновых фрагментов, ковалентно связанных с указанным B7-H3-ADC.

E13. Способ согласно любому из E1-E12, где указанный B7-H3-ADC содержит:

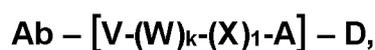
- (I) гуманизированный домен VL, содержащий аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:17**, и
- (II) гуманизированный домен VH, содержащий аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:18**.

E14. Способ согласно E12 или E13, где **Ab** представляет собой антитело.

- E15. Способ согласно любому из E12-E14, где **Ab** дополнительно содержит Fc-домен IgG1 человека.
- E15.1. Способ согласно любому из E12-E15, где **Ab** содержит легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:19**, и тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:20**.
- E16. Способ согласно любому из E12-E15.1, где по меньшей мере один из **LM** представляет собой линкерную молекулу, и, в частности, при этом линкерная молекула **LM** представляет собой пептидный линкер и/или расщепляемый линкер.
- E17. Способ согласно E16, где пептидный линкер представляет собой валин-цитруллиновый дипептидный линкер.
- E18. Способ согласно любому из E12-E17, где линкерная молекула **LM** дополнительно содержит самоудаляющийся спейсер между расщепляемым линкером и **D**.
- E19. Способ согласно любому из E12-E17, где самоудаляющийся спейсер содержит пара-аминобензилоксикарбонильный фрагмент.
- E20. Способ согласно любому из E12-E19, где **LM** дополнительно содержит малеимидный линкерный фрагмент между расщепляемым линкером и **Ab**.
- E21. Способ согласно любому из E12-E20, где **LM** представлен формулой:



вследствие чего B7-H3-ADC представлен формулой:



где:

V представляет собой расщепляемый линкер,

(W)_k-(X)₁-A представляет собой удлиненную самоудаляющуюся спейсерную систему, которая самоудаляется посредством 1,(4+2n)-элиминирования, каждый из **W** и **X** представляет собой спейсер, удаляющийся путем реакции 1,(4+2n)-электронного каскада, и эти спейсеры являются одинаковыми или различными, **A** представляет собой либо спейсерную группу формулы **(Y)_m**, где **Y** представляет собой спейсер, удаляющийся путем реакции 1,(4+2n)-электронного каскада, либо группу формулы **U**, представляющую собой спейсер, удаляющийся путем реакции циклизации-элиминирования, **k**, **1** и **m** независимо представляют собой целое число от 0 (включительно) до 5 (включительно), **n** представляет собой целое число от 0 (включительно) до 10 (включительно),

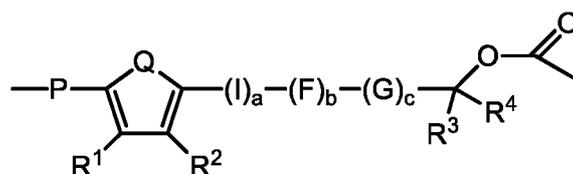
при условии, что:

когда **A** представляет собой **(Y)_m**: $k+1+m \geq 1$, и

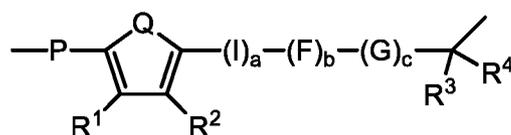
если $k+1+m=1$, то $n>1$;

когда **A** представляет собой **U**: $k+1 \geq 1$.

W, **X** и **Y** независимо выбраны из соединений, имеющих формулу:



или формулу:

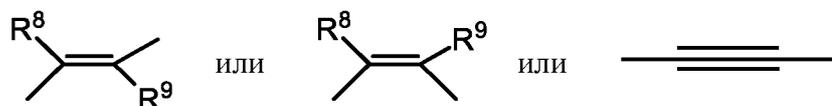


где: **Q** представляет собой $-R^5C=CR^6-$, **S**, **O**, NR^5 , $-R^5C=N-$ или $-N=CR^5-$

P представляет собой NR^7 , **O** или **S**

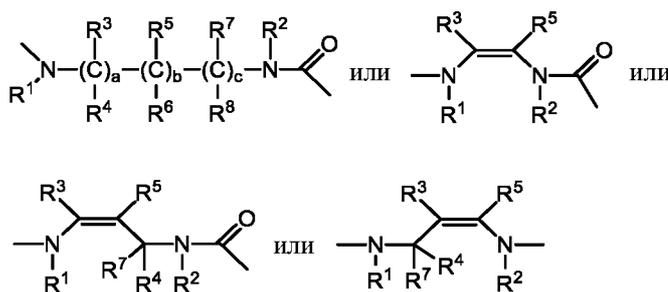
a, b и c независимо представляют собой целое число от 0 (включительно) до 5 (включительно);

I, F и G независимо выбраны из соединений, имеющих формулу:



где $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8$ и R^9 независимо представляют собой H, C_{1-6} алкил, C_{3-20} гетероциклил, C_{5-20} арил, C_{1-6} алкокси, гидроксид (OH), амино (NH_2), монозамещенный амино (NR_xH), дизамещенный амино ($NR_x^1R_x^2$), нитро (NO_2), галоген, CF_3 , CN, $CONH_2$, SO_2Me , $CONHMe$, циклический C_{1-5} алкиламино, имидазол, C_{1-6} алкилпиперазинил, морфолино, тиол (SH), простой тиоэфир (SR_x), тетразол, карбокси ($COOH$), карбоксилат ($COOR_x$), сульфокси ($S(=O)_2OH$), сульфонат ($S(=O)_2OR_x$), сульфонил ($S(=O)_2R_x$), сульфокси ($S(=O)OH$), сульфид ($S(=O)OR_x$), сульфидил ($S(=O)R_x$), фосфонокси ($OP(=O)(OH)_2$) и фосфат ($OP(=O)(OR_x)_2$), при этом R_x, R_x^1 и R_x^2 независимо выбраны из C_{1-6} алкильной группы, C_{3-20} гетероциклильной группы или C_{5-20} арильной группы, при этом два или более из заместителей $R^1, R^2, R^3, R^4, R^5, R^6, R^7, R^8$ или R^9 необязательно соединены друг с другом с образованием одной или более алифатических или ароматических циклических структур;

U выбран из соединений, имеющих формулу:



где:

a, b и c независимо выбраны таким образом, чтобы представлять собой целое число 0 или 1; при условии, что $a + b + c = 2$ или 3;

R^1 и/или R^2 независимо представляют собой H, C_{1-6} алкил, при этом указанный алкил необязательно замещен одной или более из

следующих групп: гидроксид (OH), простой эфир (OR_x), амино (NH₂), монозамещенный амино (NR_xH), дизамещенный амино (NR_x¹R_x²), нитро (NO₂), галоген, CF₃, CN, CONH₂, SO₂Me, CONHMe, циклический C₁₋₅ алкиламино, имидазолил, C₁₋₆ алкилпиперазинил, морфолино, тиол (SH), простой тиоэфир (SR_x), тетразол, карбокси (COOH), карбоксилат (COOR_x), сульфокси (S(=O)₂OH), сульфонат (S(=O)₂OR_x), сульфонил (S(=O)₂R_x), сульфидокси (S(=O)OH), сульфидинат (S(=O)OR_x), сульфидинил (S(=O)R_x), фосфонокси (OP(=O)(OH)₂) и фосфат (OP(=O)(OR_x)₂), при этом R_x, R_x¹ и R_x² выбраны из C₁₋₆ алкильной группы, C₃₋₂₀ гетероциклической группы или C₅₋₂₀ арильной группы, и R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ и R⁸ независимо представляют собой H, C₁₋₆ алкил, C₃₋₂₀ гетероциклический, C₅₋₂₀ арил, C₁₋₆ алкокси, гидроксид (OH), амино (NH₂), монозамещенный амино (NR_xH), дизамещенный амино (NR_x¹R_x²), нитро (NO₂), галоген, CF₃, CN, CONH₂, SO₂Me, CONHMe, циклический C₁₋₅ алкиламино, имидазолил, C₁₋₆ алкилпиперазинил, морфолино, тиол (SH), простой тиоэфир (SR_x), тетразол, карбокси (COOH), карбоксилат (COOR_x), сульфокси (S(=O)₂OH), сульфонат (S(=O)₂OR_x), сульфонил (S(=O)₂R_x), сульфидокси (S(=O)OH), сульфидинат (S(=O)OR_x), сульфидинил (S(=O)R_x), фосфонокси (OP(=O)(OH)₂) и фосфат (OP(=O)(OR_x)₂), при этом R_x, R_x¹ и R_x² выбраны из C₁₋₆ алкильной группы, C₃₋₂₀ гетероциклической группы или C₅₋₂₀ арильной группы, и два или более из заместителей R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ или R⁸ необязательно соединены друг с другом с образованием одной или более алифатических или ароматических циклических структур.

E22. Способ согласно любому из E12-E21, где линкерная молекула **LM** содержит:

- (1) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
- (2) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
- (3) *n*-аминоциннамоксикарбонил;
- (4) *n*-аминоциннамоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
- (5) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминоциннамоксикарбонил;

- (6) *n*-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил;
- (7) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил;
- (8) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил;
- (9) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
- (10) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил;
- (11) *n*-аминобензилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
- (12) *n*-аминоциннамилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
- (13) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
- (14) *n*-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
- (15) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)-карбонил;
- (16) *n*-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
- (17) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензил;
- (18) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензил;
- (19) *n*-аминоциннамил;
- (20) *n*-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминобензил;
- (21) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминоциннамил;
- (22) *n*-амино-циннамилоксикарбонил-*n*-аминоциннамил;
- (23) *n*-аминофенилпентадиенил;
- (24) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминоциннамил;
- (25) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминобензил
или
- (26) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминофенилпентадиенил.

- E23. Способ согласно любому из E12-E22, где линкерная молекула **LM** конъюгирована с боковой цепью аминокислоты полипептидной цепи **Ab** и связывает **Ab** с молекулой цитотоксического дуокармицинового фрагмента **D**, и, в частности, цитотоксическим дуокармициновым фрагментом **D**.
- E24. Способ согласно любому из E12-E23, где цитотоксический дуокармициновый фрагмент **D** содержит цитотоксин дуокармицинового ряда, выбранный из группы, состоящей из дуокармицина А, дуокармицина В1, дуокармицина В2, дуокармицина С1, дуокармицина С2, дуокармицина D, дуокармицина SA, СС-1065, адозелезина, бизелезина, карзелезина (U-80244) и спиро-дуокармицина (DUBA)).
- E25. Способ согласно любому из E12-E24, где указанный цитотоксический дуокармициновый фрагмент **D** содержит *секо*-дуокармицин.
- E26. Способ согласно любому из E12-E25, где линкерная молекула **LM** ковалентно связана с **Ab** посредством восстановленных межцепочечных дисульфидов.
- E27. Способ согласно любому из E1, E5 или E9-E26, где указанный В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 2 мг/кг.
- E28. Способ согласно любому из E1, E5 или E9-E26, где указанный В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 2,25 мг/кг.
- E29. Способ согласно любому из E1, E5 или E9-E26, где указанный В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 2,5 мг/кг.
- E30. Способ согласно любому из E1, E5 или E9-E26, где указанный В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 2,75 мг/кг.
- E31. Способ согласно любому из E1-E3, E5-E7 или E9-E26, где указанный В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3 мг/кг.
- E32. Способ согласно любому из E1-E3, E5-E7 или E9-E26, где указанный В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,25 мг/кг.

- E33. Способ согласно любому из E1-E3, E5-E7 или E9-E26, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,5 мг/кг.
- E34. Способ согласно любому из E1-E3, E5-E7 или E9-E26, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,75 мг/кг.
- E35. Способ согласно любому из E1-E26, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг.
- E36. Способ согласно любому из E1-E26, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,25 мг/кг.
- E37. Способ согласно любому из E1-E26, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,5 мг/кг.
- E38. Способ согласно любому из E1-E26, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,75 мг/кг.
- E39. Способ согласно любому из E1, E2, E4-E6 или E8-E26, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 5 мг/кг.
- E40. Способ согласно любому из E1-E39, где указанный B7-H3-ADC вводят путем внутривенной (в/в) инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 60 минут.
- E41. Способ согласно любому из E1-E39, где указанный B7-H3-ADC вводят в комбинации с терапевтически эффективной дозой связывающей PD-1 молекулы.
- E42. Способ согласно любому из E10, E11 или E41, где указанная связывающая PD-1 молекула выбрана из группы, состоящей из антитела, одноцепочечного антитела, Fab-фрагмента, F(ab')₂-фрагмента, Fab'-фрагмента, F_{sc}-фрагмента, F_v-фрагмента, scF_v, sc(F_v)₂ и диатела.
- E43. Способ согласно любому из E10, E11, E41 или E42, где указанная связывающая PD-1 молекула выбрана из группы, состоящей из mAb-A к hPD-1, пембролизумаба, ниволумаба и PD-1 X LAG-3 BD.

- E44. Способ согласно любому из E10, E11 или E41-E43, где указанная связывающая PD-1 молекула представляет собой mAb-A к hPD-1 или PD-1 x LAG-3 BD.
- E45. Способ согласно любому из E10, E11 или E41-E44, где указанная связывающая PD-1 молекула содержит вариабельный домен тяжелой цепи (VH), содержащий определяющий комплементарность участок (CDR)1 VH, CDR2 VH и CDR3 VH, при этом
- CDR1 VH содержит аминокислотную последовательность SYWMN (SEQ ID NO:23);
- CDR2 VH содержит аминокислотную последовательность VIHPDSETWLDQKFKD (SEQ ID NO:24);
- CDR3 VH содержит аминокислотную последовательность EHYGTSPFAY (SEQ ID NO:25);
- при этом антитело содержит вариабельный домен легкой цепи (VL), содержащий CDR1 VL, CDR2 VL и CDR3 VL, где:
- CDR1 VL содержит аминокислотную последовательность RASESVDNYGMSFMNW (SEQ ID NO:26);
- CDR2 VL содержит аминокислотную последовательность AASNQGS (SEQ ID NO:27); и
- CDR3 VL содержит аминокислотную последовательность QQSKEVPYT (SEQ ID NO:28).
- E46. Способ согласно E45, где домен VH указанной связывающей PD-1 молекулы содержит аминокислотную последовательность, представленную SEQ ID NO:32, и указанный домен VL содержит аминокислотную последовательность, представленную SEQ ID NO:31.
- E47. Способ согласно любому из E10, E11 или E41-E46, где указанная связывающая PD-1 молекула представляет собой mAb-A к hPD-1.

- E48. Способ согласно любому из E10, E11 или E41-E47, где указанный способ включает введение mAb-A к hPD-1 один раз приблизительно каждые 3 недели в фиксированной дозе, выбранной из группы, состоящей из приблизительно 375 мг, приблизительно 500 мг и приблизительно 750 мг.
- E49. Способ согласно любому из E10, E11 или E41-E47, где указанный способ включает введение mAb-A к hPD-1 один раз приблизительно каждые 4 недели в фиксированной дозе, выбранной из группы, состоящей из приблизительно 375 мг, приблизительно 500 мг и приблизительно 750 мг.
- E50. Способ согласно любому из E10, E11 или E41-E47, где указанное mAb-A к hPD-1 вводят один раз приблизительно каждые 3 недели в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг.
- E51. Способ согласно любому из E10, E11 или E41-E47, где указанное mAb-A к hPD-1 вводят один раз приблизительно каждые 3 недели в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 500 мг.
- E52. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, E48 или E50, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3 мг/кг, и указанное mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.
- E53. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, E48 или E50, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,25 мг/кг, и указанное mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.
- E54. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, E48 или E50, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,5 мг/кг, и указанное mAb A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.
- E55. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, E48 или E50, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно

3,75 мг/кг, и указанное mAb А к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.

- E56. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, E48 или E50, где указанный В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг, и указанное mAb-А к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.
- E57. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, E48 или E50, где указанный В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,25 мг/кг, и указанное mAb-А к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.
- E58. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, E48 или E50, где указанный В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,5 мг/кг, и указанное mAb-А к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.
- E59. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, E48 или E50, где указанный В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,75 мг/кг, и указанное mAb А к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.
- E60. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, E48 или E50, где указанный В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 5 мг/кг, и указанное mAb-А к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 3 недели.
- E61. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, или E49, где указанный В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3 мг/кг, и указанное mAb-А к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.
- E62. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, или E49, где указанный В7-Н3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,25 мг/кг, и

указанное mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.

- E63. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, или E49, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,5 мг/кг, и указанное mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.
- E64. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, или E49, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,75 мг/кг, и указанное mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.
- E65. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, или E49, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг, и указанное mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.
- E66. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, или E49, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,25 мг/кг, и указанное mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.
- E67. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, или E49, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,5 мг/кг, и указанное mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.
- E68. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, или E49, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4,75 мг/кг, и указанное mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.
- E69. Способ согласно любому из E10, E11, E41, E47, или E49, где указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 5 мг/кг, и

указанное mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг, один раз каждые 4 недели.

- E70. Способ согласно любому из E10, E11, E41-E69, где указанное mAb-A к hPD-1 вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 60 минут.
- E71. Способ согласно любому из E10, E11 или E41-E43, где указанное антитело, которое связывается с PD-1 человека, представляет собой пембролизумаб.
- E72. Способ согласно любому из E41-E43 или E71, где указанный пембролизумаб вводят один раз приблизительно каждые 3 недели в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг.
- E73. Способ согласно любому из E41-E43, E71 или E72, где указанный пембролизумаб вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 30 минут.
- E74. Способ согласно любому из E10, E11 или E41-E43, где указанная связывающая PD-1 молекула представляет собой ниволумаб.
- E75. Способ согласно любому из E41-E43 или E74, где указанный ниволумаб вводят один раз приблизительно каждые 2 недели в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 240 мг.
- E76. Способ согласно любому из E41-E43 или E74, где указанный ниволумаб вводят один раз приблизительно каждые 4 недели в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 480 мг.
- E77. Способ согласно любому из E41-E43 или E74-E76, где указанный ниволумаб вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 30 минут.
- E78. Способ согласно любому из E10, E11, E41-E44, где указанная связывающая PD-1 молекула представляет собой PD-1 X LAG-3 BD.

- E78.1. Способ согласно любому из E10, E11, E41-E44, где указанная связывающая PD-1 молекула представляет собой PD-1 X LAG-3 BD, содержащий домен VH, представленный **SEQ ID NO:32**, домен VL, представленный **SEQ ID NO:31**, домен VH, представленный **SEQ ID NO:46**, и домен VL, представленный **SEQ ID NO:45**.
- E79. Способ согласно любому из E43, E44, E78 или E78.1, где указанный PD-1 X LAG-3 BD содержит две полипептидных цепи, которые содержат аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:37**, и две полипептидных цепи, которые содержат аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:38**.
- E80. Способ согласно любому из E43, E44, E78 или E79, где указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 300 мг, один раз каждые 2 недели.
- E81. Способ согласно любому из E43, E44, E78 или E79, где указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 300 мг, один раз каждые 3 недели.
- E82. Способ согласно любому из E43, E44, E78 или E79, где указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 600 мг, один раз каждые 2 недели.
- E83. Способ согласно любому из E43, E44, E78 или E79, где указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 600 мг, один раз каждые 3 недели.
- E84. Способ согласно любому из E43, E44 или E78-E83, где указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего 30-240 минут.
- E85. Способ согласно любому из E43, E44 или E78-E83, где указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 30-90 минут.

- E86. Способ согласно любому из E43-E70, где указанный B7-H3-ADC и указанное mAb-A к hPD-1 вводят субъекту последовательно в отдельных фармацевтических композициях.
- E87. Способ согласно любому из E43-E71, где указанную фармацевтическую композицию, содержащую указанное mAb-A к hPD-1, вводят до введения фармацевтической композиции, содержащей указанный B7-H3-ADC.
- E88. Способ согласно любому из E71-E73, где указанный B7-H3-ADC и указанный пембролизумаб вводят субъекту последовательно в отдельных фармацевтических композициях.
- E89. Способ согласно любому из E74-E77, где указанный B7-H3-ADC и указанный ниволумаб вводят субъекту последовательно в отдельных фармацевтических композициях.
- E90. Способ согласно любому из E78-E85, где указанный B7-H3-ADC и указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят субъекту последовательно в отдельных фармацевтических композициях.
- E91. Способ согласно любому из E1-E90, где указанный B7-H3-ADC обеспечен в фармацевтическом наборе, который содержит:
- (A) фармацевтическую композицию, содержащую от приблизительно 0,5 мг/мл до приблизительно 5 мг/мл указанного B7-H3-ADC; и
- (B) инструкцию по применению,
- при этом в инструкции по применению указано, что фармацевтическую композицию, содержащую указанный B7-H3-ADC, следует вводить необязательно в комбинации с фармацевтической композицией, содержащей связывающую PD-1 молекулу.
- E92. Способ согласно E91, где указанная связывающая PD-1 молекула представляет собой mAb-A к hPD-1, пембролизумаб, ниволумаб или PD-1 X LAG-3 BD.

- E93. Способ согласно любому из E91 или E92, где в указанном фармацевтическом наборе указанный B7-H3-ADC содержит:
(I) гуманизированный домен VL, содержащий аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:17**, и
(II) гуманизированный домен VH, содержащий аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:18**.
- E94. Способ согласно любому из E91-E93, где в указанной инструкции по применению указанного фармацевтического набора указано, что указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 0,5 мг/кг, приблизительно 1 мг/кг, приблизительно 1,5 мг/кг, приблизительно 2 мг/кг, приблизительно 2,25 мг/кг, приблизительно 2,5 мг/кг, приблизительно 2,75 мг/кг, приблизительно 3 мг/кг, приблизительно 3,25 мг/кг, приблизительно 3,5 мг/кг, приблизительно 3,75 мг/кг, приблизительно 4 мг/кг, приблизительно 4,25 мг/кг, приблизительно 4,5 мг/кг, приблизительно 4,75 мг/кг или приблизительно 5 мг/кг.
- E95. Способ согласно любому из E91-E94, где в указанной инструкции по применению указанного фармацевтического набора указано, что указанное mAb-A к hPD-1 вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 375 мг или приблизительно 500 мг, один раз каждые 3 недели.
- E96. Способ согласно любому из E91-E94, где в указанной инструкции по применению указанного фармацевтического набора указано, что указанный пембролизумаб вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 200 мг, один раз каждые 3 недели.
- E97. Способ согласно любому из E91-E94, где в указанной инструкции по применению указанного фармацевтического набора указано, что указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят в фиксированной дозе, составляющей приблизительно 300 мг или приблизительно 600 мг, один раз каждые 2 недели или один раз каждые 3 недели.

- E98. Способ согласно любому из E91-E95, где в указанной инструкции по применению указанного фармацевтического набора указано, что указанный B7-H3-ADC и указанное mAb-A к hPD-1 вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 60 минут.
- E99. Способ согласно любому из E91-E94 или E97, где в указанной инструкции по применению указанного фармацевтического набора указано, что указанный B7-H3-ADC вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 60 минут, а указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 30-90 минут.
- E100. Способ согласно любому из E91-E94 или E97, где в указанной инструкции по применению указанного фармацевтического набора указано, что указанный B7-H3-ADC вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 60 минут, а указанный PD-1 X LAG-3 BD вводят путем в/в инфузии в течение периода, составляющего приблизительно 30-240 минут.
- E101. Способ согласно любому из E1-E100, где указанный B7-H3-ADC следует вводить необязательно в комбинации с указанной связывающей PD-1 молекулой для лечения рака, при котором экспрессируется B7-H3.
- E102. Способ согласно любому из E1-E101, где указанный рак выбран из группы, состоящей из: рака надпочечников, СПИД-ассоциированного рака, альвеолярной саркомы мягких тканей, астроцитарной опухоли, рака анального канала (например, плоскоклеточной карциномы анального канала (SCAC)), рака мочевого пузыря, рака кости, рака головного и спинного мозга, метастатической опухоли головного мозга, В-клеточного рака, рака молочной железы (например, HER2+ рака молочной железы или трижды негативного рака молочной железы (TNBC)), опухолей каротидного гломуса, рака шейки матки, хондросаркомы, хордомы, хромофобной почечно-клеточной карциномы, светлоклеточной карциномы, рака толстой кишки, колоректального рака, доброкачественной фиброзной гистиоцитомы кожи, десмопластической

мелкокруглоклеточной опухоли, эпендимомы, опухоли Юинга, внескелетной миксоидной хондросаркомы, несовершенного костного фиброгенеза, фиброзной дисплазии кости, рака желчного пузыря или желчного протока, рака желудка, гестационной трофобластической болезни, эмбрионально-клеточной опухоли, рака головы и шеи, глиобластомы, гематологического злокачественного новообразования, гепатоцеллюлярной карциномы, опухоли из островковых клеток, саркомы Капоши, рака почки, лейкоза (например, острого миелоидного лейкоза), липосаркомы/злокачественной липоматозной опухоли, рака печени, лимфомы, рака легкого (например, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC)), медуллобластомы, меланомы, менингиомы, мезотелиомы, фарингеального рака, множественной эндокринной неоплазии, множественной миеломы, миелодиспластического синдрома, нейробластомы, нейроэндокринных опухолей, рака яичников, рака поджелудочной железы, папиллярной карциномы щитовидной железы, опухоли парашитовидной железы, рака у детей, опухоли оболочек периферических нервов, феохромоцитомы, опухоли гипофиза, рака предстательной железы (например, метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы (mCRPC)), меланомы заднего отдела сосудистой оболочки глаза, метастатического рака почки, рабдоидная опухоль, рабдомиосаркомы, саркомы, рака кожи, мелкокруглоклеточной опухоли с окрашиванием в синий цвет у детей (например, нейробластомы или рабдомиосаркомы), саркомы мягких тканей, плоскоклеточного рака (например, плоскоклеточного рака головы и шеи (SCCHN), рака желудка, синовиальной саркомы, рака яичка, карциномы вилочковой железы, тимомы, рака щитовидной железы (например, метастатического рака щитовидной железы) и рака матки.

E103. Способ согласно E102, где указанный рак представляет собой рак предстательной железы, рак анального канала, плоскоклеточный рак, рак молочной железы, меланому или рак легкого.

- E104. Способ согласно любому из E102 или E103, где указанный рак представляет собой рак предстательной железы.
- E105. Способ согласно любому из E102-E104, где указанный рак предстательной железы представляет собой mCRPC.
- E106. Способ согласно любому из E102 или E103, где указанный рак представляет собой рак анального канала.
- E107. Способ согласно E102 или E106, где указанный рак анального канала представляет собой SCAC.
- E108. Способ согласно любому из E102 или E103, где указанный рак представляет собой плоскоклеточный рак.
- E109. Способ согласно любому из E102, E103 или E108, где указанный плоскоклеточный рак представляет собой SCCHN.
- E110. Способ согласно любому из E102 или E103, где указанный рак представляет собой рак молочной железы.
- E111. Способ согласно любому из E102, E103 или E110, где указанный рак молочной железы представляет собой TNBC.
- E112. Способ согласно любому из E102 или E103, где указанный рак представляет собой меланому.
- E113. Способ согласно любому из E102, E103 или E112, где указанная меланома представляет собой увеальную меланому.
- E114. Способ согласно любому из E102 или E103, где указанный рак представляет собой рак легкого.
- E115. Способ согласно любому из E102, E103 или E114, где указанный рак легкого представляет собой NSCLC.

- E116. Способ согласно любому из E1-E115, дополнительно включающий введение терапевтически или профилактически эффективного количества одного или более дополнительных терапевтических агентов или химиотерапевтических агентов.
- E117. Способ согласно E116, где указанный химиотерапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент на основе платины.
- E118. Способ согласно E116, где указанный химиотерапевтический агент представляет собой таксан.
- E119. Способ согласно любому из E1-E119, где указанный нуждающийся субъект представляет собой человека.

ПРИМЕРЫ

[00280] После приведения общего описания настоящего изобретения для более легкого его понимания будут представлены следующие примеры. Следующие примеры иллюстрируют различные способы применения композиций в способах диагностики или лечения согласно настоящему изобретению. Указанные примеры приведены в качестве иллюстрации и никоим образом не ограничивают объем настоящего изобретения.

Пример 1

B7-H3-ADC в комбинации со связывающей PD-1 молекулой проявляет выраженную противоопухолевую активность *in vivo* у мышей C57BL/6

[00281] Чтобы дополнительно продемонстрировать противоопухолевую активность B7-H3-ADC согласно настоящему изобретению в комбинации со связывающей PD-1 молекулой, B7-H3-ADC, необязательно в комбинации с антителом к PD-1 (RMP1-14; BioXCell, Lebanon, NH, USA), оценивали в отношении токсичности *in vivo* в сингенной модели у мышей C57BL/6 с применением линии клеток колоректальной опухоли мыши MC38, трансфицированной B7-H3 человека («MC38/hB7-H3»). Кратко, $\sim 5 \times 10^5$ опухолевых клеток (суспендированных в среде и MATRIGEL[®] в отношении 1:1) подкожно имплантировали в бок мышам C57BL/6

(Charles River Laboratories). Когда опухоли достигли объема приблизительно 40-200 мм³ в день 15, мышей случайным образом распределяли по группам и внутрибрюшинно вводили В7-Н3-ADC, антитело к PD-1 или контрольный носитель. В этих исследованиях одну дозу В7-Н3-ADC (5 мг/кг или 10 мг/кг) или контрольного носителя вводили в день 15. Антитело к PD-1 вводили в дозе 20 мг/кг в дни 15, 18, 21, 23, 25, 28, 30, 32, 35 и 37. Размер опухолей определяли два раза в неделю путем ортогональных измерений с помощью электронных штангенциркулей, при этом объемы опухоли рассчитывали следующим образом: (длина x ширина x высота)/2. Определяли объем опухоли (относительно контроля) («Т/С»). Обнаруженное уменьшение объема опухоли у получавших лечение животных до ≤ 5 мм³ в течение периода исследования расценивали как полный ответ («CR»), и частичный ответ («PR») был определен как уменьшение опухоли на 50% или более со дня введения дозы в любой момент во время исследования. Противоопухолевую активность оценивали в соответствии со стандартами Национального института рака (NCI); Т/С $\leq 42\%$ указывает на минимальный уровень противоопухолевой активности, тогда как значение Т/С $> 42\%$ указывает на отсутствие активности. Т/С $< 10\%$ указывает на высокую активность.

Активность *in vivo* в отношении опухолевых клеток МС38/нВ7-Н3

[00282] Результаты этого исследования в отношении подкожно имплантированных опухолевых клеток колоректального рака МС38/нВ7-Н3 представлены в **Таблице 1** и на **Фигуре 2**.

Таблица 1					
Лечение (Начальная доза на 15 день)	Доза (мг/кг)	% Т/С в день 29	PR	CR	Противоопухолевая активность
В7-Н3-ADC	5	5	1/6	0/6	Высокая активность
В7-Н3-ADC	10	4	4/6	2/6	Высокая активность
Антитело к PD-1	20	22	0/6	0/6	Активен
В7-Н3-ADC + Антитело к PD-1	5 20	6	4/6	3/6	Высокая активность
В7-Н3-ADC + Антитело к PD-1	10 20	3	6/6	5/6	Высокая активность

[00283] Результаты этого исследования демонстрируют, что В7-Н3-ADC проявлял дозозависимую противоопухолевую активность *in vivo* в отношении В7-Н3-положительных опухолей в модели ксенотрансплантата колоректального рака у

мышей. Полные ответы наблюдали у 0/6 животных, получавших 5 мг/кг B7-H3-ADC, тогда как полные ответы наблюдали у 2/6 животных, получавших 10 мг/кг B7-H3-ADC. Комбинация B7-H3-ADC с антителом к PD-1 усиливала противоопухолевую активность B7-H3-ADC. Полные ответы наблюдали у 3/6 животных, получавших 5 мг/кг B7-H3-ADC + 20 мг/кг антитела к PD-1, и у 5/6 животных, получавших 10 мг/кг B7-H3-ADC + 20 мг/кг антитела к PD-1.

Пример 2

B7-H3-ADC в комбинации со связывающей PD-1 молекулой проявляет выраженную противоопухолевую активность *in vivo* у мышей BALB/c

[00284] Чтобы дополнительно продемонстрировать противоопухолевую активность B7-H3-ADC согласно настоящему изобретению в комбинации со связывающей PD-1 молекулой, B7-H3-ADC, необязательно в комбинации с антителом к PD-1 (RMP1-14; BioXCell, Lebanon, NH, USA), оценивали в отношении токсичности *in vivo* в сингенной модели у мышей BALB/c применением линии клеток колоректальной опухоли мыши CT26, трансфицированной B7-H3 человека («CT26/hB7-H3»). Кратко, $\sim 5 \times 10^5$ опухолевых клеток (суспендированных в среде и MATRIGEL[®] в отношении 1:1) подкожно имплантировали в бок мышам BALB/c (Charles River Laboratories). Когда опухоли достигли объема приблизительно 40-100 мм³ в день 13, мышей случайным образом распределяли по группам и внутрибрюшинно вводили B7-H3-ADC, антитело к PD-1 или контрольный носитель. В этих исследованиях одну дозу B7-H3-ADC (10 мг/кг) или контрольного носителя вводили в день 13. Антитело к PD-1 вводили в дозе 20 мг/кг в дни 13, 16, 19, 22, 26, 29, 33 и 36. Размер опухолей определяли два раза в неделю путем ортогональных измерений с помощью электронных штангенциркулей, при этом объемы опухоли рассчитывали следующим образом: (длина x ширина x высота)/2. Определяли объем опухоли (относительно контроля) («Т/С»). Обнаруженное уменьшение объема опухоли у получавших лечение животных до ≤ 5 мм³ в течение периода исследования расценивали как полный ответ («CR»), и частичный ответ («PR») был определен как уменьшение опухоли на 50% или более со дня введения дозы в любой момент во время исследования. Противоопухолевую активность оценивали в соответствии со стандартами Национального института рака (NCI); Т/С $\leq 42\%$ указывает на минимальный уровень противоопухолевой активности, тогда как значение Т/С $> 42\%$ указывает на отсутствие активности. Т/С $< 10\%$ указывает на высокую активность.

Активность *in vivo* в отношении опухолевых клеток CT26/hB7-H3

[00285] Результаты этого исследования в отношении подкожно имплантированных опухолевых клеток колоректального рака CT26/hB7-H3 представлены в Таблице 2 и на Фигуре 3.

Таблица 2					
Лечение (Начальная доза на 13 день)	Доза (мг/кг)	% Т/С в день 36	PR	CR	Противоопухолевая активность
B7-H3-ADC	10	40	4/7	2/7	Активен
B7-H3-ADC + Антитело к PD-1	10 20	1	7/7	7/7	Высокая активность
Антитело к PD-1	20	61	1/7	1/7	Неактивен

[00286] Результаты этого исследования демонстрируют, что B7-H3-ADC проявлял противоопухолевую активность *in vivo* в отношении B7-H3-положительных опухолей во второй модели ксенотрансплантата колоректального рака у мышей. Полные ответы наблюдали у 2/7 животных, получавших 10 мг/кг B7-H3-ADC. Комбинация B7-H3-ADC с антителом к PD-1 усиливала противоопухолевую активность B7-H3-ADC. Полные ответы наблюдались у 7/7 животных, получавших 10 мг/кг B7-H3-ADC + 20 мг/кг антитела к PD-1.

Пример 3 Исследование дозы фазы I

[00287] Для определения переносимости B7-H3-ADC пациентами будет проведено клиническое исследование фазы I. Исследование включает фазу с повышением дозы и фазу с расширением когорты. Исследование одобрено экспертными советами медицинских учреждений в каждом месте проведения клинических исследований, и все пациенты подписывают письменное информированное согласие.

[00288] В случае исходной когорты повышения дозы и при расширении когорты установленной дозы B7-H3-ADC будет вводиться один раз в три недели (Q3W). Для целей исследования применяют цикл продолжительностью шесть (6) недель (42 дня \pm 3 дня), в котором B7-H3-ADC вводят один раз в 3 недели, начиная с дня 1 и дня 22 каждого 42-дневного цикла. Пациенты могут получать несколько 6-недельных циклов лечения с введением один раз в 3 недели в зависимости от переносимости и

ответа на исследуемое лечение, в общей сложности до 18 42-дневных циклов (то есть приблизительно до 2 лет).

[00289] В дополнительных когортах повышения дозы и при расширении когорты установленной дозы как В7-Н3-ADC, так и антитело к PD-1, mAb-A к hPD-1, вводят один раз в три недели (Q3W). Для целей исследования применяют циклы продолжительностью три (3) недели (каждый из которых составляет 21 день), в которых В7-Н3-ADC вводят в день 1 и в день 22 первого цикла, а также в день 1 и в день 22 каждого последующего цикла, и mAb-A к hPD-1 вводят в день 22 первого цикла, а также в день 1 и в день 22 каждого последующего цикла. Пациенты могут получать несколько 3-недельных циклов лечения с введением один раз в 3 недели в зависимости от переносимости и ответа на исследуемое лечение, в общей сложности до 18 42-дневных циклов (то есть приблизительно до 2 лет).

[00290] В этих исследованиях дозы В7-Н3-ADC разводят в стерильном 0,9% изотоническом растворе, после чего вводят в течение 60 минут путем внутривенной (в/в) инфузии с использованием коммерчески доступного шприцевого или инфузионного насоса. Для введения с помощью шприцевого насоса В7-Н3-ADC разводят до диапазона концентраций от 0,1 мг/мл до 6,0 мг/мл. Для введения с помощью инфузионного насоса В7-Н3-ADC разводят до диапазона концентраций от 0,5 мг/мл до 2,9 мг/мл.

[00291] В этих исследованиях дозы mAb-A к hPD-1 разводят до диапазона концентраций от 0,3 мг/мл до 12,0 мг/мл в стерильном 0,9% изотоническом растворе, после чего вводят в течение 60 минут путем внутривенной (в/в) инфузии с использованием коммерчески доступного шприцевого или инфузионного насоса.

[00292] Как для фазы повышения дозы, так и для фазы расширения когорты установленной дозы оценки опухоли будут проводиться в день 42 (\pm 3 дня) каждого цикла в течение первых 4 циклов, и впоследствии через один цикл. Противоопухолевую активность оценивали с использованием: обычных критериев оценки ответа при солидных опухолях (RECIST), версия 1.1 (Eisenhauer, E.A., *et al.* (2009) “*New Response Evaluation Criteria In Solid Tumors: Revised RECIST Guideline (Version 1.1)*” Eur. J. Cancer. 45(2):228-247); критериев оценки иммуноопосредованного ответа солидных опухолей (irRECIST) (Wolchok, J.D., *et al.*,

(2009) “Guidelines For The Evaluation Of Immune Therapy Activity In Solid Tumors: Immune-Related Response Criteria. Clin. Cancer Res, 15:7412-7420) или пересмотренных критериев Международной рабочей группы (то есть Lugano Classification; Cheson, B.D., et al., (2014) "Recommendations For Initial Evaluation, Staging, And Response Assessment Of Hodgkin And Non-Hodgkin Lymphoma: The Lugano Classification.” J. Clin. Oncol, 32:3059-3068) для оценки ответа в соответствующих случаях.

[00293] В фазе повышения дозы последовательно возрастающие дозы от 0,3 мг/кг до 5 мг/кг вводят один раз в 3 недели в соответствии со стандартной схемой 3+3+3: оценивают последовательные когорты от 3 до 9 пациентов в каждой (**Таблица 3**). При различных величинах дозы пациентов, которые, согласно оценке, не подлежат оценке для целей повышения дозы, заменяют. Для получения дополнительных клинических данных в исследование с несколькими рассматриваемыми величинами доз включают дополнительных пациентов. В фазу с повышением дозы будут включены пациенты с неоперабельными, рецидивирующими или рефрактерными, местнораспространенными или метастатическими солидными опухолями с любыми гистологическими характеристиками.

ТАБЛИЦА 3– Когорты повышения дозы В7-Н3-ADC	
Когорта	Доза В7-Н3-ADC (Q3W)
Когорта -1	0,3 мг/кг
Когорта 1	0,5 мг/кг
Когорта 2	1 мг/кг
Когорта 3	2 мг/кг
Когорта 4	3 мг/кг
Когорта 5	4 мг/кг
Когорта 6	5 мг/кг

[00294] Основываясь на совокупности клинических данных, полученных в фазе повышения дозы при монотерапии (В7-Н3-ADC отдельно), включая, но не ограничиваясь ими, наблюдаемую клиническую активность, занятость периферических рецепторов и фармакокинетику (РК), в качестве схемы дозирования, подлежащей оценке в фазе расширения когорты при монотерапии, а также в исследовании увеличения дозы комбинации В7-Н3-ADC и mAb-A к hPD-1, будет выбрана максимальная переносимая доза (MTD), вводимая один раз в 3 недели.

[00295] В фазе повышения дозы исследований комбинации В7-Н3-ADC и mAb-A к hPD-1 фиксированную дозу mAb-A к hPD-1, составляющую 375 мг, будут вводить один раз в 3 недели в соответствии со стандартной схемой 3+3+3: последовательные когорты от 3 до 9 пациентов, получающих дозы В7-Н3-ADC, указанные в **Таблице 4**. При различных величинах дозы пациентов, которые, согласно оценке, не подлежат оценке для целей повышения дозы, заменяют. Для получения дополнительных клинических данных в исследование с несколькими рассматриваемыми величинами доз будут включены дополнительные пациенты. В фазу с повышением дозы будут включены пациенты с неоперабельными, рецидивирующими или рефрактерными, местнораспространенными или метастатическими солидными опухолями с любыми гистологическими характеристиками. В зависимости от характера и продолжительности любой наблюдаемой токсичности, доза В7-Н3-ADC может быть снижена до MTD -3, и доза mAb-A к hPD-1 может быть снижена до фиксированной дозы 250 мг, или дозы обоих лекарственных средств могут быть скорректированы до других величин на уровне дозы в когорте 1 или ниже, если это будет сочтено исследователями целесообразным.

ТАБЛИЦА 4– Когорты повышения дозы В7-Н3-ADC и mAb-A к hPD-1		
Когорта	В7-Н3-ADC (Q3W)	mAb-A к hPD-1 (Q3W)
Когорта -1	MTD-3 (TBD)	250 мг (TBD)
Когорта 1	MTD -2	375 мг
Когорта 2	MTD -1	375 мг
Когорта 3	MTD	375 мг

[00296] В фазе расширения когорты пациенты с рецидивирующими/рефрактерными, неоперабельными местнораспространенными или метастатическими SCCHN, mCRPC, TNBC и увеальной меланомой будут получать только В7-Н3-ADC в количестве MTD. Схожим образом, когорты пациентов с неоперабельным, местнораспространенным или метастатическим SCCHN или mCRPC, на основании исследований с повышением дозы комбинации, будут получать лечение с применением В7-Н3-ADC в комбинации с mAb-A к hPD-1 в дозе MTD, определенной на основании данных о безопасности, РК и противоопухолевой активности, полученных в фазе исследования с повышением дозы. Краткое описание первичных результатов

Связанные с лечением нежелательные явления

[00297] Представлены результаты после лечения 23 пациентов с повышением дозы, вводимой один раз в 3 недели. Как показано в **Таблице 6**, связанные с лечением нежелательные явления (TRAE) возникли у 22/23 (91,7%) пациентов, наиболее часто наблюдались нейтропения (n=6), лимфопения (n=3), синдром ладонно-подошвенной эритродизестезии (n=5) и макулопапулезная сыпь (n=3). Частота TRAE ≥ 3 степени составила 58,3%. Три связанных с лечением серьезных нежелательных явления возникли у 3 пациентов: 1) пневмонит у пациента с сопутствующей бактериальной пневмонией; 2) неинфекционный гастроэнтерит и 3) застойный дерматит у пациента с хронической венозной недостаточностью. Сообщалось об одном случае дозолимитирующей токсичности («DLT») нейтропении 4 степени, которая разрешилась до исходного уровня. Фебрильная нейтропения не наблюдалась.

Таблица 6: Краткое описание нежелательных явлений					
	Когорта N (% от N)				
	Доза B7-H3-ADC				
	0,5 мг/кг (N=3)	1 мг/кг (N=6)	2 мг/кг (N=7)	3 мг/кг (N=7)	Все (N=23*)
Пациенты, сообщающие по крайней мере об одном случае:					
Нежелательное явление	3 (100)	6 (100)	7 (100)	7 (100)	23 (100)
Нежелательное явление, связанное с лечением ¹	3 (100)	4 (66,7)	7 (100)	7 (100)	22 (91,7)
Нежелательное явление ≥ 3 степени ²	3 (100)	4 (66,7)	7 (100)	4 (57,1)	18 (75,0)
Связанное с лечением нежелательное явление ≥ 3 степени ²	2 (66,7)	2 (33,3)	7 (100)	3 (42,9)	14 (58,3)
Серьезное нежелательное явление	1 (33,3)	1 (16,7)	3 (42,9)	0	5 (20,8)
Явление, приведшее к прекращению участия в исследовании	1 (33,3)	1 (16,7)	3 (42,9)	0	5 (20,8)
Явление, приведшее к отмене B7-H3-ADC	1 (33,3)	1 (16,7)	3 (42,9)	1 (14,3)	6 (25,0)
Явление, приведшее к снижению дозы B7-H3-ADC	0	0	1 (14,3)	2 (28,6)	3 (12,5)
Явление, приведшее к прерыванию введения B7-H3-ADC	1 (33,3)	0	2 (28,6)	5 (71,4)	8 (33,3)
Нежелательное явление с летальным исходом (пневмонит)	1 (33,3)	0	0	0	1 (4,2)
Нежелательное явление, представляющее особый интерес (AESI)- инфузионная реакция ³	1 (33,3)	3 (50,0)	5 (71,4)	6 (85,7)	15 (62,5)
¹ Включает явления со степенью достоверности причинно-следственной связи «Возможная», «Вероятная» или «Определенная». ² На основании критериев СТСАЕ версии 4.0.3.					

[00298] На основании результатов фазы повышения дозы в качестве дозы для лечения для расширенных когорт была выбрана доза 3 мг/кг.

[00299] Семьдесят два пациента получали 3 мг/кг В7-Н3-ADC (включая когорту повышения дозы и расширение когорты установленной дозы). TRAE \geq 3 степени наблюдались у 45,8% пациентов и включали нейтропению (16,7%), лимфопению (6,9%), анемию (4,2%) и синдром ладонно-подошвенной эритродизестезии (4,2%).

Уменьшение целевого поражения

[00300] На **Фигуре 4** представлена каскадная диаграмма, демонстрирующая процент уменьшения целевых поражений среди 26 подлежащих оценке ответа пациентов при повышении дозы и при расширении когорты, получающих монотерапию В7-Н3-ADC в дозе 0,5 мг/кг, 1 мг/кг, 2 мг/кг, 3 мг/кг или 4 мг/кг один раз в 3 недели. Пациенты проходили обследование каждые 6 недель после лечения при повышении дозы и каждые 9 недель после лечения при расширении когорты. Показаны данные от пациентов, которые получили по меньшей мере одну дозу В7-Н3-ADC и имели по меньшей мере одну оценку опухоли после оценки на исходном уровне. Пациенты в когортах с повышением дозы включали пациентов с немелкоклеточным раком легкого (NSCLC), увеальной меланомой, меланомой, раком предстательной железы, метастатическим кастрационно-резистентным раком предстательной железы (mCRPC), мелкоклеточным раком легкого (SCLC), колоректальной карциномой (CRC), раком яичников, почечно-клеточным раком (RCC), раком поджелудочной железы, саркомой и раком пищевода. Один пациент с метастатическим кастрационно-резистентным раком предстательной железы (mCRPC) получил 5 доз В7-Н3-ADC; первые 4 дозы составляли 2 мг/кг, а пятая доза составляла 1 мг/кг. У этого пациента с mCRPC наблюдали уменьшение целевых поражений приблизительно на 30% по сравнению с исходным уровнем. Один пациент с NSCLC получил 6 доз по 2 мг/кг В7-Н3-ADC и продемонстрировал уменьшение целевых поражений на 24% по сравнению с исходным уровнем. На **Фигуре 5** показаны изображения, полученные с помощью компьютерной томографии (КТ) легких этого пациента, после 2 доз по 2 мг/кг В7-Н3-ADC, вводимых один раз в 3 недели. Как было отмечено врачом-исследователем, поражение легкого (отмеченное

стрелкой) в передне-заднем срезе свидетельствовало об уменьшении приблизительно на 24%. На **Фигуре 4** также показан процент уменьшения целевых поражений среди 7 подлежащих оценке пациентов при расширении когорты, получавших 3 мг/кг В7-Н3-ADC. Два пациента имели NSCLC, и 4 пациента имели mCRPC. Пациенты получали по меньшей мере одну дозу В7-Н3-ADC и имели по меньшей мере одну оценку опухоли после оценки на исходном уровне. Это исследование продолжается, и продолжается сбор данных.

Оценка простатического специфического антигена (PSA)

[00301] Девять пациентов с mCRPC получали 1 мг/кг, 2 мг/кг, 3 мг/кг или 4 мг/кг В7-Н3-ADC один раз в 3 недели при повышении дозы. Образцы крови для определения уровня PSA получали от пациентов на исходном уровне и на 6, 12 и 19 неделях. Уровни PSA измеряли в клинических центрах с помощью рутинного тестирования. У пяти пациентов (71%) наблюдали значительное снижение уровня PSA относительно исходного уровня, находящееся в диапазоне от 50% до 95%, включая одного пациента со значительной регрессией заболевания костей. Обобщенная информация о пациентах с mCRPC, клинических ответах и результатах определения PSA представлена в **Таблице 7**.

Пациент	Тип (типы) поражения (поражений)	Линия терапии	Доза В7-Н3-ADC Q3W	Кол-во доз	Кол-во циклов	Исходный уровень PSA (нг/мл)	Уровень PSA (нг/мл) (неделя определения)	% снижения PSA относительно исходного уровня	Лучший ответ
1	LN, AA, поражения костей	6	2 мг/кг	3	4	114	46 (16)	60%	SD (~ 29%)
			1 мг/кг	1					
2	Заболевание только костей	5	3 мг/кг	2	2	60	0,5 (24)	98%	SD
			2 мг/кг	1					
			1 мг/кг	2					
3	Заболевание только костей	5	3 мг/кг	4	1	142	67 (12)	53%	SD
4	Заболевание только костей	3	3 мг/кг	4	1	17	4,5 (12)	74%	SD
5	Заболевание только костей	6	3 мг/кг	2	1	111	25 (6)	78%	SD

[00302] Девять пациентов с mCRPC получали лечение 2 мг/кг, 3,0 мг/кг или 4 мг/кг B7-H3-ADC один раз в 3 недели при повышении дозы, и 16 пациентов с mCRPC получали лечение 3,0 мг/кг B7-H3-ADC один раз в 3 недели при расширении когорты. У одиннадцати пациентов (46%) наблюдали снижение уровня PSA $\geq 50\%$ от исходного уровня, при диапазоне от 50% до 95%, как показано на **Фигуре 6**. Это исследование продолжается, и продолжается сбор данных.

[00303] Эти данные показывают, что B7-H3-ADC согласно настоящему изобретению продемонстрировал приемлемый профиль безопасности и демонстрирует обнадеживающие свидетельства противоопухолевой активности при нескольких типах опухолей. Эти данные также указывают на существенное снижение уровней PSA у пациентов с mCRPC, получавших B7-H3-ADC, что делает mCRPC подходящим онкологическим показанием для дальнейшего анализа в фазе исследования с расширением когорты.

Иммуногистохимический (ИНС) анализ экспрессии В7-Н3

[00304] Экспрессию В7-Н3 анализировали в биоптатах предстательной железы и других солидных опухолей у пациентов с помощью иммуногистохимии (ИНС). От восемнадцати пациентов были получены образцы тканей, которые были пригодны для оценки экспрессии В7-Н3. В качестве специализированного анализа использовали В7-Н3 (SP206) ИНС assay от Ventana Medical Systems, Inc. ("Ventana"; Tuscon, AZ). Экспрессия В7-Н3 в клеточной мембране клеток внутри опухоли и в сосудистой сети выражена в виде показателя Н-score с интенсивностью 0-3+. Рассчитывали процент клеток для каждого уровня интенсивности окрашивания и затем определяли показатель Н-score по следующей формуле:

$$\text{H Score} = [1 \times (\% \text{ клеток } 1+) + 2 \times (\% \text{ клеток } 2+) + 3 \times (\% \text{ клеток } 3+)]$$

Диапазон показателей Н-score для экспрессии В7-Н3 в опухолях составлял 82-279 при медианном значении 200. Диапазон экспрессии В7-Н3 в сосудистой сети составлял от нуля до 2+, и медианное значение составляло 2+.

[00305] Все публикации и патенты, упомянутые в настоящей заявке, включены в настоящую заявку посредством ссылки в той же степени, как если бы было конкретно и отдельно указано, что каждая отдельная публикация или патентная заявка полностью включена посредством ссылки. Хотя настоящее изобретение описано применительно к его частным вариантам реализации, следует понимать, что оно допускает дополнительные модификации, и подразумевается, что данная заявка охватывает любые изменения, применения или адаптации настоящего изобретения, соответствующие, в целом, принципам настоящего изобретения и включающие такие отступления от настоящей заявки, как отступления, относящиеся к общеизвестной или общепринятой практике в области техники, к которой принадлежит настоящее изобретение, и которые могут быть применены к существенным признакам, изложенным выше в настоящей заявке.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака, включающий введение конъюгата антитела к В7-Н3 с лекарственным средством (В7-Н3-ADC) нуждающемуся в этом субъекту, причем указанный способ включает введение субъекту указанного В7-Н3-ADC в дозе от приблизительно 0,5 мг/кг до приблизительно 5 мг/кг один раз каждые 3 недели.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что указанный В7-Н3-ADC представлен формулой:



где:

Ab представляет собой гуманизированное антитело к В7-Н3 или его связывающий В7-Н3 фрагмент, которые связываются с В7-Н3 и содержат:

(i) последовательность CDRL1 RASESIYSYLA (SEQ ID NO: 39),

последовательность CDRL2 NTKTLPE (SEQ ID NO: 40) и

последовательность CDRL3 QHNYGTPPWT (SEQ ID NO: 41) в вариабельном домене легкой цепи (VL), и

(ii) последовательность CDRH1 SYGMS (SEQ ID NO: 42),

последовательность CDRH2 TINSGGSNYY PDSLKG (SEQ ID NO: 43) и

последовательность CDRH3 HDGGAMDY (SEQ ID NO: 44) в вариабельном домене тяжелой цепи (VH);

D представляет собой цитотоксический дуокармициновый фрагмент;

LM содержит по меньшей мере одну связь или линкерную молекулу, которая ковалентно связывает Ab и D;

m представляет собой целое число от 0 до n и обозначает количество связей или линкерных молекул в указанном В7-Н3-ADC, m не равно 0 за исключением случаев, когда LM представляет собой связь;

и

n представляет собой целое число от 1 до 10 и обозначает количество цитотоксических дуокармициновых фрагментов, ковалентно связанных с указанной молекулой В7-Н3-ADC.

3. Способ по п. 2, отличающийся тем, что указанное Ab содержит:

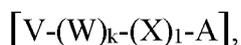
- (i) гуманизированный переменный домен легкой цепи (VL), содержащий аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:17**; и
 - (ii) гуманизированный переменный домен тяжелой цепи (VH), содержащий аминокислотную последовательность **SEQ ID NO:18**.
4. Способ по любому из п. 2 или п. 3, отличающийся тем, что указанное Ab дополнительно содержит Fc-домен IgG человека.
5. Способ по п. 4, отличающийся тем, что указанный IgG человека представляет собой IgG1, IgG2, IgG3 или IgG4 человека.
6. Способ по любому из п. 4 или п. 5, отличающийся тем, что указанный Fc-домен представляет собой вариантный Fc-домен, который содержит:
- (a) одну или более модификаций аминокислот, которые снижают аффинность указанного вариантного Fc-домена в отношении FcγR, и/или
 - (b) одну или более модификаций аминокислот, которые увеличивают время полужизни указанного вариантного Fc-домена в сыворотке крови.
7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что указанные модификации, которые снижают аффинность указанного вариантного Fc-домена в отношении FcγR, включают замену L234A; L235A; или L234A и L235A, где указанная нумерация соответствует нумерации согласно индексу EU по системе Кабата.
8. Способ по любому из п. 5 или п. 6, отличающийся тем, что указанные модификации, которые увеличивают время полужизни указанного вариантного Fc-домена в сыворотке крови, включают замену M252Y; M252Y и S254T; M252Y и T256E; M252Y, S254T и T256E; или K288D и N435K, где указанная нумерация соответствует нумерации согласно индексу EU по системе Кабата.
9. Способ по любому из пп. 2-8, отличающийся тем, что по меньшей мере один из указанных LM представляет собой линкерную молекулу.
10. Способ по любому из пп. 2-9, отличающийся тем, что указанная линкерная молекула LM представляет собой пептидный линкер.
11. Способ по п. 10, отличающийся тем, что указанный пептидный линкер представляет собой валин-цитруллиновый дипептидный линкер.

12. Способ по любому из пп. 2-11, отличающийся тем, что указанная линкерная молекула LM дополнительно содержит самоудаляющийся спейсер между расщепляемым линкером и D.

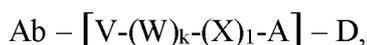
13. Способ по п. 12, отличающийся тем, что указанный самоудаляющийся спейсер содержит пара-аминобензилоксикарбонильный фрагмент.

14. Способ по любому из пп. 2-13, отличающийся тем, что указанная линкерная молекула дополнительно содержит малеимидный линкерный фрагмент между расщепляемым линкером и Ab.

15. Способ по любому из пп. 1-14, отличающийся тем, что LM представлен формулой:



вследствие чего указанный B7-H3-ADC представлен формулой:



где:

V представляет собой расщепляемый линкер,

$(W)_k-(X)_1-A$ представляет собой удлиненную самоудаляющуюся спейсерную систему, которая самоудаляется посредством $1,(4+2n)$ -элиминирования, каждый из W и X представляет собой спейсер, удаляющийся путем реакции $1,(4+2n)$ -электронного каскада, и эти спейсеры являются одинаковыми или различными,

A представляет собой либо спейсерную группу формулы $(Y)_m$, где Y представляет собой спейсер, удаляющийся путем реакции $1,(4+2n)$ -электронного каскада, либо группу формулы U, представляющую собой спейсер, удаляющийся путем реакции циклизации-элиминирования,

k, l и m независимо представляют собой целое число от 0 (включительно) до 5 (включительно),

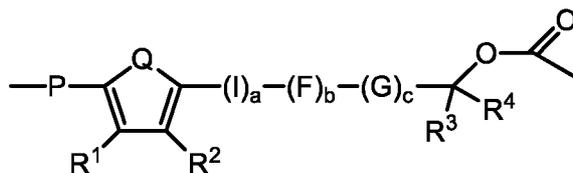
n представляет собой целое число от 0 (включительно) до 10 (включительно), при условии, что:

когда A представляет собой $(Y)_m$: $k+l+m \geq 1$, и

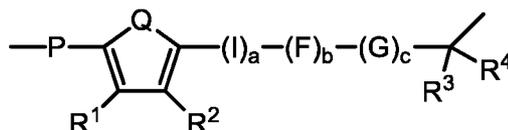
если $k+l+m=1$, то $n>1$;

когда A представляет собой U: $k+l \geq 1$.

W, X и Y независимо выбраны из соединений, имеющих формулу:



или формулу:

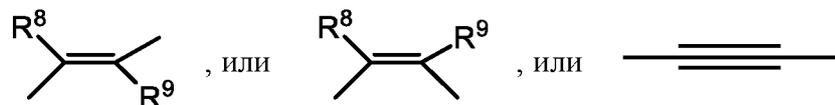


где: Q представляет собой $-R^5C=CR^6-$, S, O, NR^5 , $-R^5C=N-$ или $-N=CR^5-$

P представляет собой NR^7 , O или S

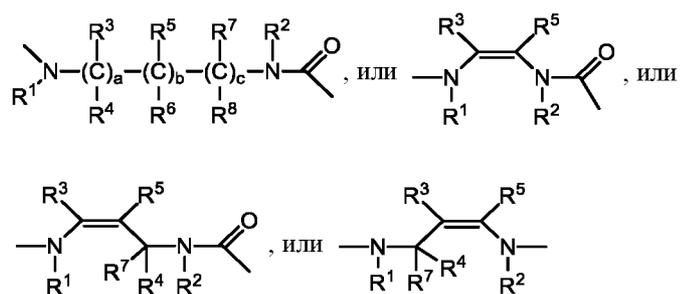
a, b и c независимо представляют собой целое число от 0 (включительно) до 5 (включительно);

I, F и G независимо выбраны из соединений, имеющих формулу:



где R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 и R^9 независимо представляют собой H, C_{1-6} алкил, C_{3-20} гетероциклил, C_{5-20} арил, C_{1-6} алкокси, гидроксид (OH), амино (NH_2), монозамещенный амино (NR_xH), дизамещенный амино ($NR_x^1R_x^2$), нитро (NO_2), галоген, CF_3 , CN, $CONH_2$, SO_2Me , $CONHMe$, циклический C_{1-5} алкиламино, имидазолил, C_{1-6} алкилпиперазинил, морфолино, тиол (SH), простой тиоэфир (SR_x), тетразол, карбокси (COOH), карбоксилат ($COOR_x$), сульфокси ($S(=O)_2OH$), сульфонат ($S(=O)_2OR_x$), сульфонил ($S(=O)_2R_x$), сульфокси ($S(=O)OH$), сульфидат ($S(=O)OR_x$), сульфидил ($S(=O)R_x$), фосфонокси ($OP(=O)(OH)_2$) и фосфат ($OP(=O)(OR_x)_2$), при этом R_x , R_x^1 и R_x^2 независимо выбраны из C_{1-6} алкильной группы, C_{3-20} гетероциклильной группы или C_{5-20} арильной группы, при этом два или более из заместителей R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 , R^8 или R^9 необязательно соединены друг с другом с образованием одной или более алифатических или ароматических циклических структур;

U выбран из соединений, имеющих формулу:



где:

a, b и c независимо выбраны таким образом, чтобы представлять собой целое число 0 или 1;

при условии, что $a + b + c = 2$ или 3 ;

R^1 и/или R^2 независимо представляют собой H, C1-6 алкил, при этом указанный алкил необязательно замещен одной или более из следующих групп: гидроксид (OH), простой эфир (OR_x), амино (NH_2), монозамещенный амино (NR_xH), дизамещенный амино ($NR_x^1R_x^2$), нитро (NO_2), галоген, CF_3 , CN, $CONH_2$, SO_2Me , $CONHMe$, циклический C₁₋₅ алкиламино, имидазолил, C₁₋₆ алкилпиперазинил, морфолино, тиол (SH), простой тиоэфир (SR_x), тетразол, карбокси ($COOH$), карбоксилат ($COOR_x$), сульфокси ($S(=O)_2OH$), сульфонат ($S(=O)_2OR_x$), сульфонил ($S(=O)_2R_x$), сульфид ($S(=O)OH$), сульфидат ($S(=O)OR_x$), сульфидил ($S(=O)R_x$), фосфоноксид ($OP(=O)(OH)_2$) и фосфат ($OP(=O)(OR_x)_2$), при этом R_x , R_x^1 и R_x^2 выбраны из C₁₋₆ алкильной группы, C₃₋₂₀ гетероциклической группы или C₅₋₂₀ арильной группы; и R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 и R^8 независимо представляют собой H, C₁₋₆ алкил, C₃₋₂₀ гетероциклический, C₅₋₂₀ арил, C₁₋₆ алкокси, гидроксид (OH), амино (NH_2), монозамещенный амино (NR_xH), дизамещенный амино ($NR_x^1R_x^2$), нитро (NO_2), галоген, CF_3 , CN, $CONH_2$, SO_2Me , $CONHMe$, циклический C₁₋₅ алкиламино, имидазолил, C₁₋₆ алкилпиперазинил, морфолино, тиол (SH), простой тиоэфир (SR_x), тетразол, карбокси ($COOH$), карбоксилат ($COOR_x$), сульфокси ($S(=O)_2OH$), сульфонат ($S(=O)_2OR_x$), сульфонил ($S(=O)_2R_x$), сульфид ($S(=O)OH$), сульфидат ($S(=O)OR_x$), сульфидил ($S(=O)R_x$), фосфоноксид ($OP(=O)(OH)_2$) и фосфат ($OP(=O)(OR_x)_2$), при этом R_x , R_x^1 и R_x^2 выбраны из C₁₋₆ алкильной группы, C₃₋₂₀ гетероциклической группы или C₅₋₂₀ арильной группы, и два или более из заместителей R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7

или R⁸ необязательно соединены друг с другом с образованием одной или более алифатических или ароматических циклических структур.

16. Способ по п. 15, где указанная линкерная молекула LM содержит:
- (1) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
 - (2) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
 - (3) *n*-аминоциннамилоксикарбонил;
 - (4) *n*-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
 - (5) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил;
 - (6) *n*-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил;
 - (7) *n*-аминофенилпентаденилоксикарбонил;
 - (8) *n*-аминофенилпентаденилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил;
 - (9) *n*-аминофенилпентаденилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил;
 - (10) *n*-аминофенилпентаденилоксикарбонил-*n*-аминофенилпентаденилоксикарбонил;
 - (11) *n*-аминобензилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
 - (12) *n*-аминоциннамилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
 - (13) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
 - (14) *n*-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
 - (15) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)-карбонил;
 - (16) *n*-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминоциннамилоксикарбонил(метиламино)этил(метиламино)карбонил;
 - (17) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензил;
 - (18) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминобензил;
 - (19) *n*-аминоциннамил;
 - (20) *n*-аминоциннамилоксикарбонил-*n*-аминобензил;
 - (21) *n*-аминобензилоксикарбонил-*n*-аминоциннамил;
 - (22) *n*-амино-циннамилоксикарбонил-*n*-аминоциннамил;
 - (23) *n*-аминофенилпентаденил;
 - (24) *n*-аминофенилпентаденилоксикарбонил-*n*-аминоциннамил;

- (25) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминобензил; или
(26) *n*-аминофенилпентадиенилоксикарбонил-*n*-аминофенилпентадиенил.

17. Способ по любому из пп. 2-16, отличающийся тем, что указанная линкерная молекула LM конъюгирована с боковой цепью аминокислоты полипептидной цепи Ab и связывает Ab с молекулой цитотоксического дуокармицинового фрагмента D.

18. Способ по любому из пп. 2-17, отличающийся тем, что указанный цитотоксический дуокармициновый фрагмент D содержит цитотоксин дуокармицинового ряда, выбранный из группы, состоящей из: дуокармицина A, дуокармицина B1, дуокармицина B2, дуокармицина C1, дуокармицина C2, дуокармицина D, дуокармицина SA, CC-1065, адозелезина, бизелезина, карзелезина (U-80244), *секо*-дуокармицина и спиро-дуокармицина (DUBA).

19. Способ по п. 18, отличающийся тем, что указанный цитотоксический дуокармициновый фрагмент D содержит *секо*-дуокармицин.

20. Способ по любому из пп. 2-19, отличающийся тем, что указанная линкерная молекула LM ковалентно связана с Ab посредством восстановленных межцепочечных дисульфидов.

21. Способ по любому из пп. 1-20, отличающийся тем, что указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3 мг/кг.

22. Способ по любому из пп. 1-20, отличающийся тем, что указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 3,5 мг/кг.

23. Способ по любому из пп. 1-20, отличающийся тем, что указанный B7-H3-ADC вводят в дозе, составляющей приблизительно 4 мг/кг.

24. Способ по любому из пп. 1-23, отличающийся тем, что указанный B7-H3-ADC вводят путем внутривенной (в/в) инфузии.

25. Способ по п. 24, отличающийся тем, что указанную в/в инфузию осуществляют в течение периода, составляющего приблизительно 60 минут.

26. Способ по любому из пп. 1-25, отличающийся тем, что указанный В7-Н3-ADC вводят в комбинации с терапевтически эффективной дозой связывающей PD-1 молекулы.

27. Способ по любому из пп. 1-26, где указанный рак выбран из группы, состоящей из: рака надпочечника, СПИД-ассоциированного рака, альвеолярной саркомы мягких тканей, астроцитарной опухоли, рака анального канала, плоскоклеточной карциномы анального канала (SCAC), рака мочевого пузыря, рака кости, рака головного и спинного мозга, метастатической опухоли головного мозга, В-клеточного рака, рака молочной железы, HER2+ рака молочной железы, трижды негативного рака молочной железы (TNBC), опухолей каротидного гломуса, рака шейки матки, хондросаркомы, хордомы, хромофобной почечно-клеточной карциномы, светлоклеточной карциномы, рака толстой кишки, колоректального рака, доброкачественной фиброзной гистиоцитомы кожи, десмопластической мелкокруглоклеточной опухоли, эпендимомы, опухоли Юинга, внескелетной миксоидной хондросаркомы, несовершенного костного фиброгенеза, фиброзной дисплазии кости, рака желчного пузыря или желчного протока, рака желудка, гестационной трофобластической болезни, эмбрионально-клеточной опухоли, рака головы и шеи, глиобластомы, гематологического злокачественного новообразования, гепатоцеллюлярной карциномы, опухоли из островковых клеток, саркомы Капоши, рака почки, лейкоза, острого миелоидного лейкоза, липосаркомы/злокачественной липоматозной опухоли, рака печени, лимфомы, рака легкого, немелкоклеточного рака легкого (NSCLC), медуллобластомы, меланомы, менингиомы, мезотелиомы, фарингеального рака, множественной эндокринной неоплазии, множественной миеломы, миелодиспластического синдрома, нейробластомы, нейроэндокринных опухолей, рака яичника, рака поджелудочной железы, папиллярной карциномы щитовидной железы, опухоли парашитовидной железы, рака у детей, опухоли оболочек периферических нервов, феохромоцитомы, опухоли гипофиза, рака предстательной железы, метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы (mCRPC), меланомы заднего отдела сосудистой оболочки глаза, метастатического рака почки, рабдоидной опухоли, рабдомиосаркомы, саркомы, рака кожи, мелкокруглоклеточной опухоли с окрашиванием в синий цвет у детей, нейробластомы, саркомы мягких тканей, плоскоклеточного рака, плоскоклеточного рака головы и шеи (SCCHN), рака желудка, синовиальной

саркомы, рака яичка, карциномы вилочковой железы, тимомы, рака щитовидной железы, метастатического рака щитовидной железы и рака матки.

28. Способ по п. 27, где указанный рак выбран из группы, состоящей из: рака надпочечника, рака анального канала, SCAC, рака мочевого пузыря, рака молочной железы, колоректального рака, рака желудка, глиобластомы, рака почки, рака легкого, NSCLC, острого лимфоцитарного лейкоза, острого миелоидного лейкоза, хронического лимфоцитарного лейкоза, хронического миелоидного лейкоза, волосатоклеточного лейкоза, лимфомы Беркитта, диффузной крупноклеточной В-клеточной лимфомы, фолликулярной лимфомы, лимфомы из клеток мантийной зоны, лимфомы из клеток маргинальной зоны, мезотелиомы, фарингеального рака, неходжкинской лимфомы, лимфомы из малых лимфоцитов, множественной миеломы, меланомы, рака яичника, рака поджелудочной железы, меланомы заднего отдела сосудистой оболочки глаза, рака предстательной железы, mCRPC, рака кожи, почечно-клеточной карциномы, мелкокруглоклеточных опухолей с окрашиванием в синий цвет у детей, нейробластомы, рабдомиосаркомы, плоскоклеточного рака, SCCHN, рака яичка, рака щитовидной железы, метастатического рака щитовидной железы и рака матки.

29. Способ по любому из п. 27 или п. 28, где указанный рак представляет собой рак предстательной железы.

30. Способ по любому из пп. 27-29, где указанный рак предстательной железы представляет собой mCRPC.

31. Способ по любому из п. 27 или п. 28, где указанный рак представляет собой рак анального канала.

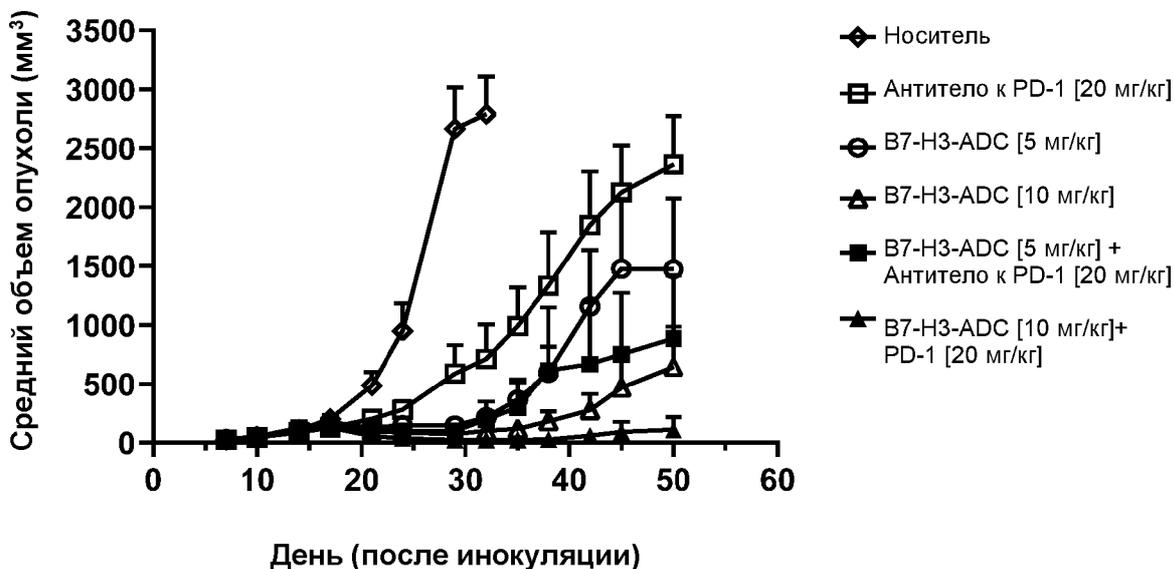
32. Способ по любому из п. 27, п. 28 или п. 31, где указанный рак анального канала представляет собой SCAC.

33. Способ по любому из п. 28 или п. 28, где указанный рак представляет собой плоскоклеточный рак.

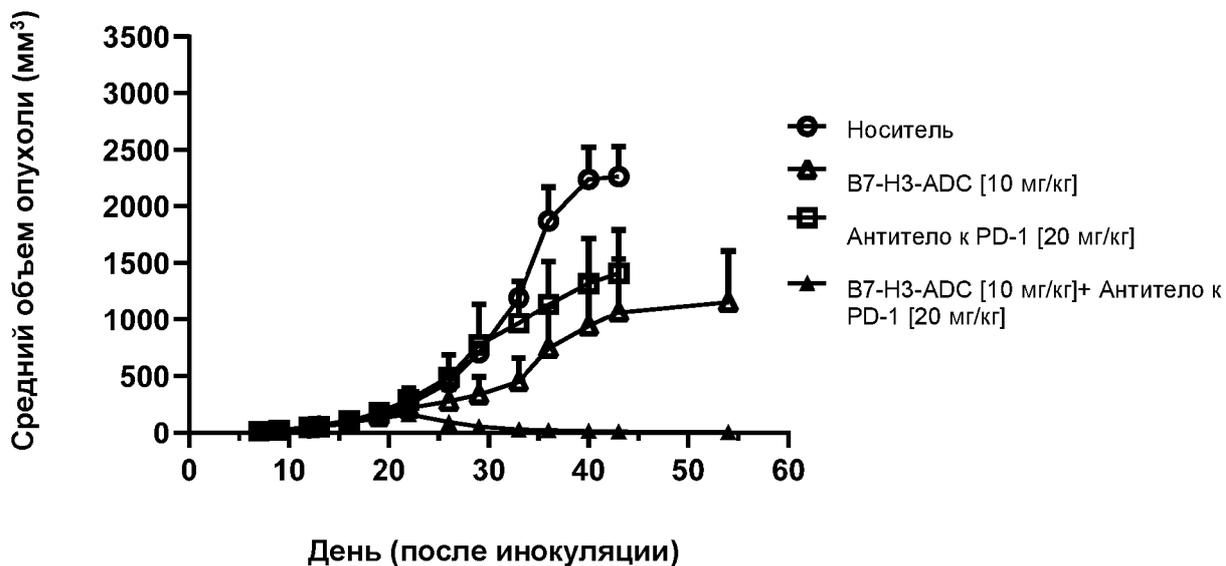
34. Способ по любому из п. 27, п. 28 или п. 33, где указанный плоскоклеточный рак представляет собой SCCHN.

35. Способ по любому из п. 27 или п. 28, где указанный рак представляет собой рак молочной железы.
36. Способ по любому из п. 27, п. 28 или п. 35, где указанный рак молочной железы представляет собой TNBC.
37. Способ по любому из п. 27 или п. 28, где указанный рак представляет собой меланому.
38. Способ по любому из п. 27, п. 28 или п. 37, где указанная меланома представляет собой увеальную меланому.
39. Способ по любому из п. 27 или п. 28, где указанный рак представляет собой рак легкого.
40. Способ по любому из п. 27, п. 28 или п. 39, где указанный рак легкого представляет собой NSCLC.
41. Способ по любому из пп. 1-40, дополнительно включающий введение терапевтически или профилактически эффективного количества одного или более дополнительных терапевтических агентов или химиотерапевтических агентов.
42. Способ по п. 41, где указанный химиотерапевтический агент представляет собой химиотерапевтический агент на основе платины.
43. Способ по п. 41, где указанный химиотерапевтический агент представляет собой таксан.
44. Способ по любому из пп. 1-43, где указанный нуждающийся субъект представляет собой человека.

2/5



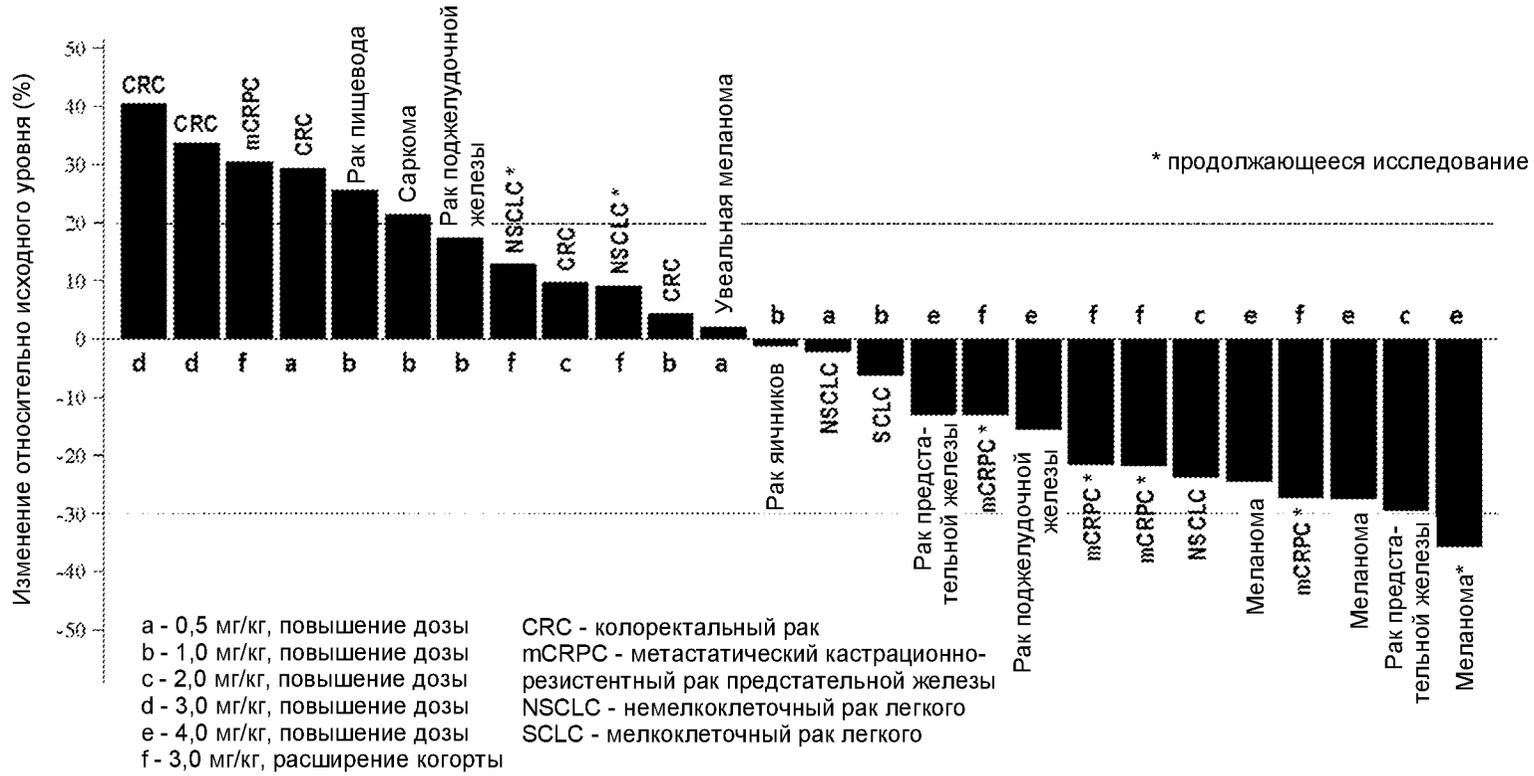
Фигура 2



Фигура 3

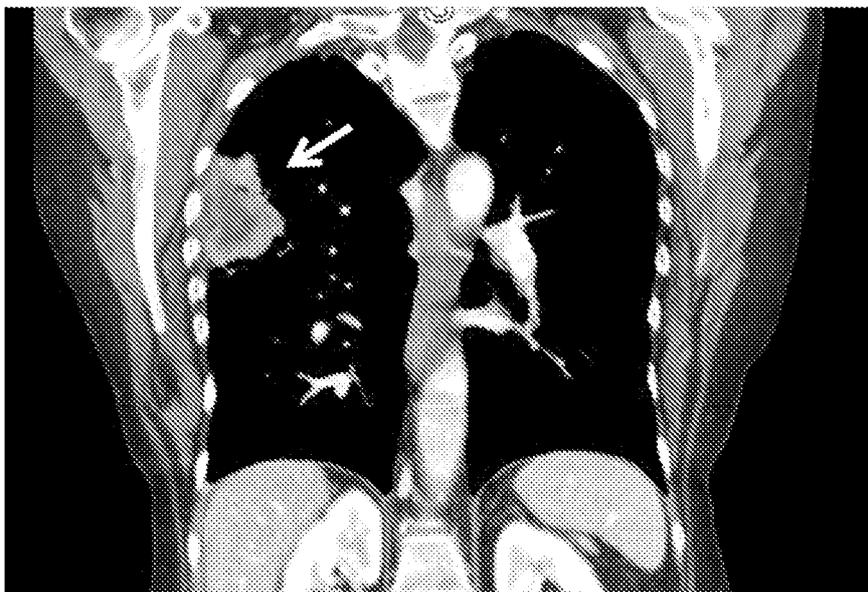
Фигура 4

Лучшее процентное изменение целевых поражений вследствие лечения и тип опухоли
Подлежащая оценке популяция[^]



[^] Пациенты, которые получили по меньшей мере одну дозу и имели по меньшей мере одну оценку опухоли после оценки исходного уровня

4/5



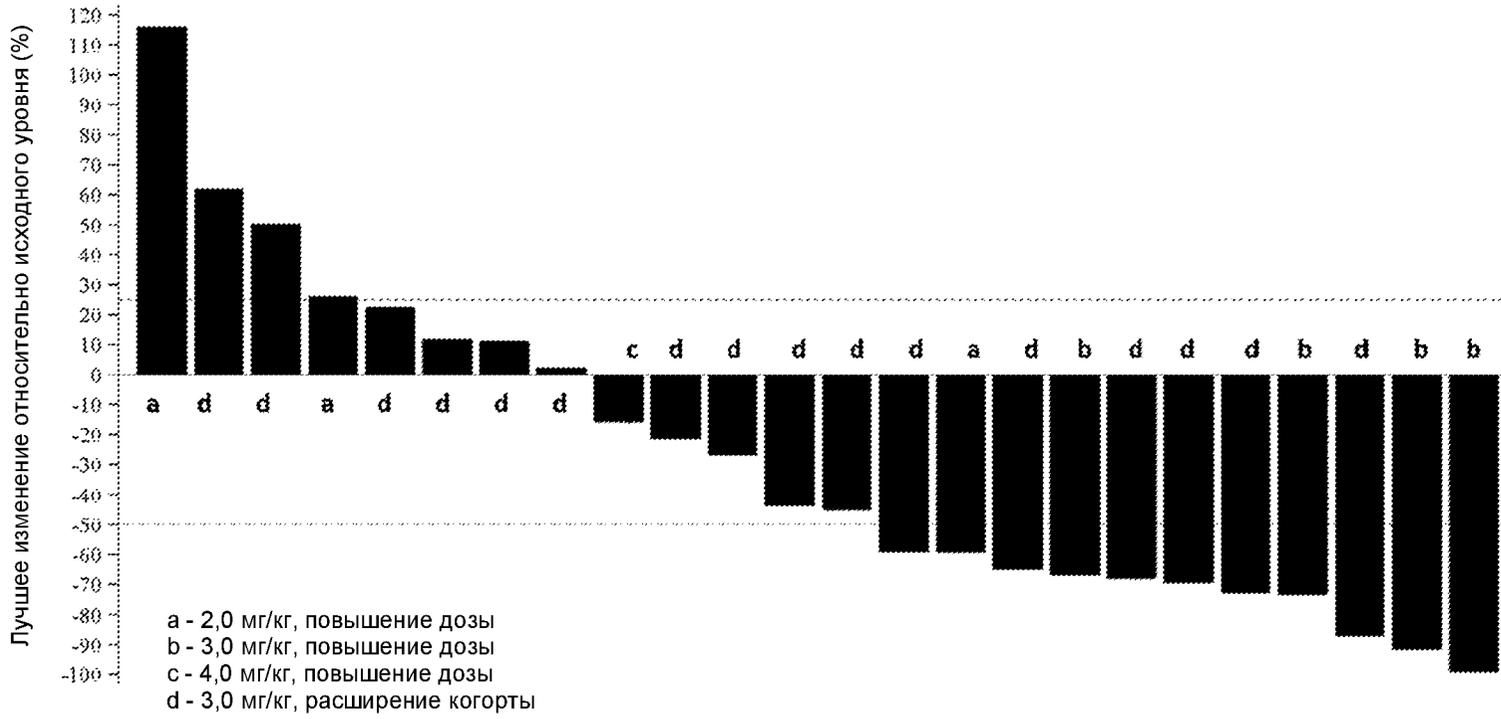
Фигура 5А



Фигура 5В

Фигура 6

Лучшее процентное изменение PSA вследствие лечения - подлежащая оценке PSA популяция[^]



[^] Пациенты, которые имели по меньшей мере одну оценку PSA после оценки исходного уровня и имели исходный уровень PSA ≥ 2 нг/мл