

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202390134 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.02.15(22) Дата подачи заявки
2021.06.23(51) Int. Cl. *A61K 47/68* (2017.01)
A61K 31/5377 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) КОМБИНАЦИЯ КОНЬЮГАТА АНТИТЕЛА И ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА И ИНГИБИТОРА ATR

(31) 63/043,498

(32) 2020.06.24

(33) US

(86) PCT/IB2021/055548

(87) WO 2021/260579 2021.12.30

(71) Заявитель:

АСТРАЗЕНЕКА ЮКЕЙ ЛИМИТЕД
(GB); ДАЙТИ САНКИО
КОМПАНИ, ЛИМИТЕД (JP)

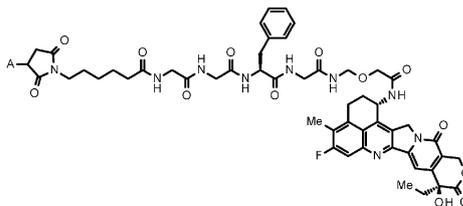
(72) Изобретатель:

Меттетел II Джером Томас (US),
Дюрант Стефен Томас, Астанех
Азадех Черагхчи Баши, Лау Ален Инь
Кай, Уоллес Янн (GB)

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) Представлен фармацевтический продукт для введения конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства в комбинации с ингибитором ATR. Конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства представляет собой конъюгат антитела и лекарственного средства, в котором фрагмент лекарственного средство-линкер, представленный следующей формулой (где A представляет собой положение присоединения к антителу), конъюгирован с антителом к HER2 посредством тиоэфирной связи. Также представлены терапевтическое применение и способ, где конъюгат антитела и лекарственного средства и ингибитор ATR вводят в комбинации субъекту.



A1

202390134

202390134

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-576929EA/042

КОМБИНАЦИЯ КОНЬЮГАТА АНТИТЕЛА И ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА И ИНГИБИТОРА ATR

[Область техники]

Настоящее изобретение относится к фармацевтическому продукту для введения конкретного конъюгата антитела и лекарственного средства, содержащего противоопухолевое лекарственное средство, конъюгированное с антителом к HER2 посредством линкерной структуры, в комбинации с ингибитором ATR, и к терапевтическому применению и способу, где конкретные конъюгат антитела и лекарственного средства и ингибитор ATR вводят в комбинации субъекту.

[Уровень техники]

ATR (атаксия-телеангиэктазия и Rad3-родственная киназа) представляет собой серин/треонинпротеинкиназу и является представителем семейства киназ, родственных фосфатидилинозитол-3-киназе (PI3K). В ходе нормальной репликации ДНК ATR рекрутируется к остановившимся репликативным вилкам, которые могут прогрессировать до двухнитевых разрывов, если их оставить без репарации. ATR рекрутируется к одонитевой ДНК, покрытой репликационным белком A (RPA), после повреждения одонитевой ДНК или резекции двухнитевых разрывов во время репликации ДНК. Рекрутинг и активация ATR приводят к блокировке клеточного цикла в S-фазе, пока происходит репарация ДНК и остановившаяся репликативная вилка возвращается в рабочее состояние, или к ядерной фрагментации и переходу к запрограммированной гибели клеток (апоптозу).

В результате ожидается, что ингибиторы ATR будут вызывать ингибирование роста опухолевых клеток, зависящих от ATR для репарации ДНК, например, в опухолях с дефицитом ATM. В дополнение к такой активности при использовании в качестве монотерапии предполагается, что ингибиторы ATR также потенцируют активность средств терапии, вызывающих повреждение ДНК (посредством ингибирования ATR-зависимых процессов репарации ДНК) при их применении в комбинации. Примеры ингибиторов ATR раскрыты, например, в WO2011/154737.

Также было показано, что инактивация Schlafen 11 (SLFN11) в раковых клетках приводит к устойчивости к противораковым средствам, которые вызывают повреждение ДНК и репликационный стресс. Таким образом, SLFN11 может служить определяющим фактором чувствительности к разным классам повреждающих ДНК средств, включая без ограничения ингибиторы топоизомеразы I. См. Zoppoli et al., PNAS 2012; 109: 15030-35; Murai et al., Oncotarget 2016; 7: 76534-50; Murai et al., Mol. Cell 2018; 69: 371-84.

Конъюгаты антитела и лекарственного средства (ADC), которые состоят из цитотоксического лекарственного средства, конъюгированного с антителом, могут обеспечивать доставку лекарственного средства селективно в раковые клетки, и, следовательно, ожидается, что это обуславливает накопление лекарственного средства

внутри раковых клеток и уничтожение раковых клеток (Ducry, L., et al., *Bioconjugate Chem.* (2010) 21, 5-13; Alley, S. C., et al., *Current Opinion in Chemical Biology* (2010) 14, 529-537; Damle N. K. *Expert Opin. Biol. Ther.* (2004) 4, 1445-1452; Senter P. D., et al., *Nature Biotechnology* (2012) 30, 631-637; Burris H.A., et al., *J. Clin. Oncol.* (2011) 29(4): 398-405).

Одним таким конъюгатом антитела и лекарственного средства является трастузумаб дерукстекал, который состоит из нацеливающегося на HER2 антитела и производного эксатекана (Ogitani Y. et al., *Clinical Cancer Research* (2016) 22(20), 5097-5108; Ogitani Y. et al., *Cancer Science* (2016) 107, 1039-1046).

Несмотря на терапевтический потенциал конъюгатов антитела и лекарственного средства и ингибиторов ATR, нет опубликованной литературы, в которой описан результат тестирования, демонстрирующий отличный эффект комбинированного применения конъюгата антитела и лекарственного средства и ингибитора ATR или любую научную основу, свидетельствующую о таком результате тестирования. Более того, в отсутствие результатов тестирования существует возможность, что комбинированное введение конъюгата антитела и лекарственного средства вместе с другим средством для лечения рака, таким как ингибитор ATR, может привести к отрицательным взаимодействиям и/или субдобавочным терапевтическим результатам, и, таким образом, не стоит ожидать отличного или превосходного эффекта, получаемого с помощью такого комбинированного лечения.

Соответственно, остается потребность в улучшенных терапевтических композициях и способах, которые могут усилить эффективность существующих средств для лечения рака, повысить долговременную устойчивость терапевтического ответа и/или снизить дозозависимую токсичность.

[Сущность изобретения]

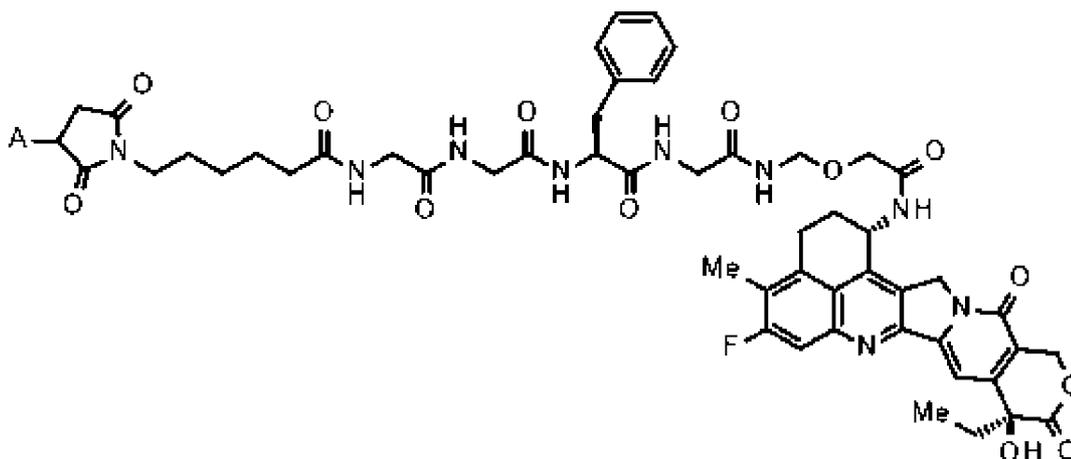
Было подтверждено, что конъюгат антитела и лекарственного средства, применяемый в настоящем изобретении (конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, который включает производное ингибитора топоизомеразы I, эксатекал) демонстрируем отличный противоопухолевый эффект в лечении некоторых видов рака, таких как рак молочной железы и рак желудка, при введении отдельно. Однако, желательно обеспечивать лекарственный препарат и лечение, с помощью которых можно получить превосходный противоопухолевый эффект в лечении видов рака, такой как усиленная эффективность, повышенная долговременная устойчивость терапевтического ответа и/или сниженная дозозависимая токсичность. Путем подавления ответа на повреждение ДНК, на репликационный стресс и двухнитевые разрывы, вносимые конъюгатом антитела и лекарственного средства по настоящему изобретению, ингибитор ATR может дополнительно усиливать противоопухолевую эффективность при введении в комбинации с конъюгатом антитела и лекарственного средства.

В настоящем изобретении представлен фармацевтический продукт, который может демонстрировать отличный противоопухолевый эффект в лечении видов рака посредством введения конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства в

комбинации с ингибитором ATR. В настоящем изобретении также представлены терапевтическое применение и способ, где конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR вводят в комбинации субъекту.

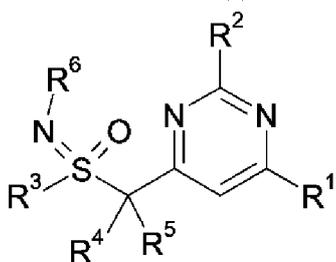
Конкретно, настоящее изобретение относится к следующим пунктам [1]-[54].

[1] Фармацевтический продукт, содержащий конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR для введения в комбинации, где конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства представляет собой конъюгат антитела и лекарственного средства, в котором фрагмент лекарственного средства-линкер, представленный следующей формулой:



где A представляет собой положение присоединения к антителу, конъюгирован с антителом к HER2 посредством тиоэфирной связи;

[2] фармацевтический продукт в соответствии с [1], где ингибитор ATR представляет собой соединение, представленное следующей формулой (I):

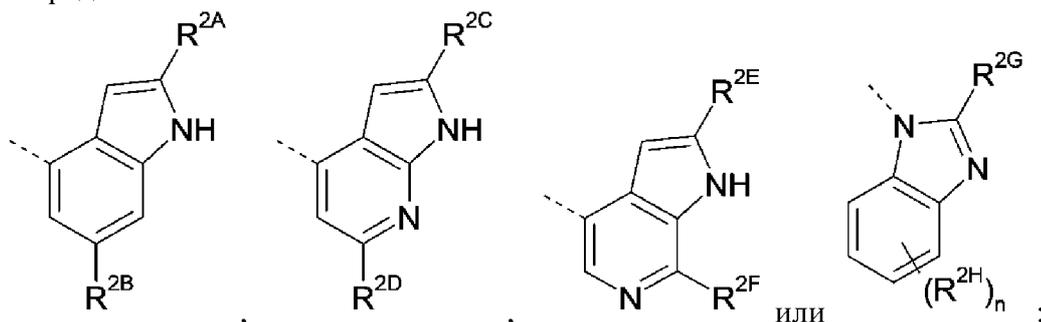


(I),

где

R^1 выбран из морфолин-4-ила и 3-метилморфолин-4-ила;

R^2 представляет собой



n равняется 0 или 1;

каждый из R^{2A} , R^{2C} , R^{2E} и R^{2F} независимо представляет собой водород или метил;

каждый из R^{2B} и R^{2D} независимо представляет собой водород или метил;

R^{2G} выбран из $-NHR^7$ и $-NHCOR^8$;

R^{2H} представляет собой фтор;

R^3 представляет собой метил;

каждый из R^4 и R^5 независимо представляет собой водород или метил, или R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А;

кольцо А представляет собой C_{3-6} циклоалкил или насыщенное 4-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее один гетероатом, выбранный из О и N;

R^6 представляет собой водород;

R^7 представляет собой водород или метил;

R^8 представляет собой метил,

или его фармацевтически приемлемую соль;

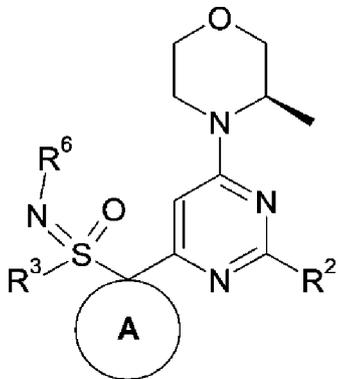
[3] фармацевтический продукт в соответствии с [2], где в формуле (I) R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А, и кольцо А представляет собой C_{3-6} циклоалкил или насыщенное 4-6-гетероциклическое кольцо, содержащее один гетероатом, выбранный из О и N;

[4] фармацевтический продукт в соответствии с [2] или [3], где в формуле (I) кольцо А представляет собой циклопропильное, тетрагидропиранильное или пиперидинильное кольцо;

[5] фармацевтический продукт в соответствии с любым из [2]-[4], где в формуле (I) R^{2A} представляет собой водород; R^{2B} представляет собой водород; R^{2C} представляет собой водород; R^{2D} представляет собой водород; R^{2E} представляет собой водород; и R^{2F} представляет собой водород;

[6] фармацевтический продукт в соответствии с любым из [2]-[5], где в формуле (I) R^1 представляет собой 3-метилморфолин-4-ил;

[7] фармацевтический продукт в соответствии с любым из [2]-[6], где соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (Ia),



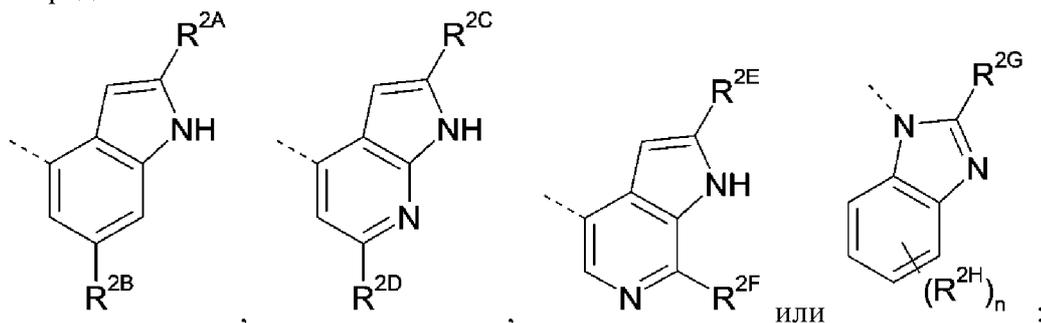
(Ia),

или его фармацевтически приемлемую соль;

[8] фармацевтический продукт в соответствии с [7], где в формуле (Ia)

кольцо А представляет собой циклопропильное кольцо;

R^2 представляет собой



n равняется 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород;

R^{2B} представляет собой водород;

R^{2C} представляет собой водород;

R^{2D} представляет собой водород;

R^{2E} представляет собой водород;

R^{2F} представляет собой водород;

R^{2G} представляет собой $-NHR^7$;

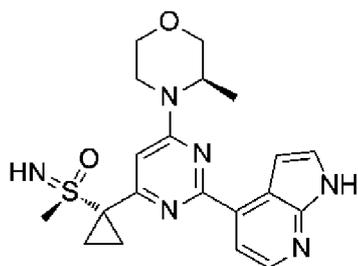
R^{2H} представляет собой фтор;

R^3 представляет собой метильную группу;

R^6 представляет собой водород; и

R^7 представляет собой водород или метил;

[9] фармацевтический продукт в соответствии с [2], где ингибитор ATR представляет собой AZD6738, также известный как кераласертиб или AZ13386215, представленный следующей формулой:



или его фармацевтически приемлемую соль;

[10] фармацевтический продукт в соответствии с любым из [1]-[9], где антитело к HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 3 [= аминокислотные остатки 26-33 в SEQ ID NO: 1], CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 4 [= аминокислотные остатки 51-58 в SEQ ID NO: 1], и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 5 [= аминокислотные остатки 97-109 в SEQ ID NO: 1], и

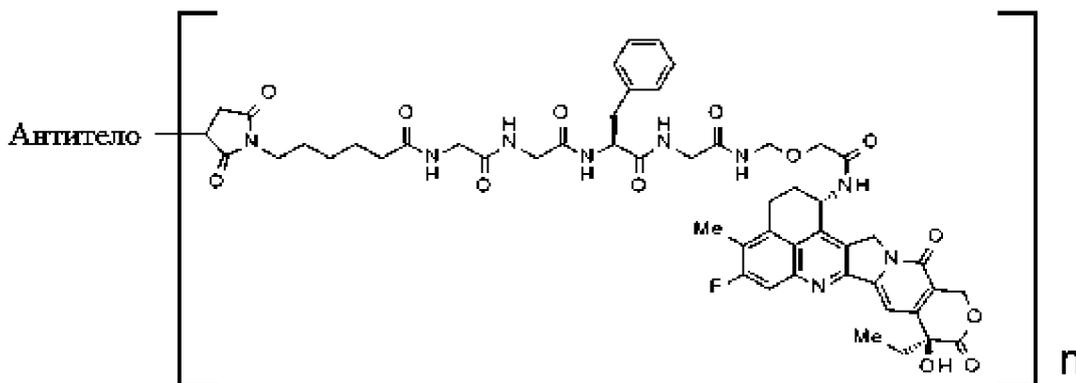
легкую цепь, содержащую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 6 [= аминокислотные остатки 27-32 в SEQ ID NO: 2], CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-3 в SEQ ID NO: 7 [= аминокислотные остатки 50-52 в SEQ ID NO: 2], и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 8 [=аминокислотные остатки 89-97 в SEQ ID NO: 2];

[11] фармацевтический продукт в соответствии с любым из [1]-[9], где антитело к HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 9 [= аминокислотные остатки 1-120 в SEQ ID NO: 1], и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 10 [= аминокислотные остатки 1-107 в SEQ ID NO: 2];

[12] фармацевтический продукт в соответствии с любым из [1]-[9], где антитело к HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 2;

[13] фармацевтический продукт в соответствии с любым из [1]-[9], где антитело к HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 11 [= аминокислотные остатки 1-449 в SEQ ID NO: 1], и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 2;

[14] фармацевтический продукт в соответствии с любым из [1]-[13], где конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства представлен следующей формулой:



где 'антитело' обозначает антитело к HER2, конъюгированное с фрагментом лекарственного средство-линкер посредством тиоэфирной связи, и n обозначает среднее количество звеньев фрагмента лекарственного средство-линкер, конъюгированных на молекулу антитела в конъюгате антитела и лекарственного средства, где n находится в диапазоне от 7 до 8;

[15] фармацевтический продукт в соответствии с любым из [1]-[14], где конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства представляет собой трастузумаб дерукстекан

(DS-8201);

[16] фармацевтический продукт в соответствии с любым из [1]-[15], где продукт представляет собой композицию, содержащую конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR, для одновременного введения;

[17] фармацевтический продукт в соответствии с любым из [1]-[15], где продукт представляет собой комбинированный препарат, содержащий конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR для последовательного или одновременного введения;

[18] фармацевтический продукт в соответствии с любым из [1]-[17], где продукт предназначен для лечения рака;

[19] фармацевтический продукт в соответствии с [18], где рак представляет собой по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчного протока, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, карциносаркомы матки, уротелиального рака, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, гастроинтестинальной стромальной опухоли, стромальной опухоли пищеварительного тракта, рака шейки матки, плоскоклеточной карциномы, рака брюшины, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, карциномы тела матки, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака полового члена, лейкоза, злокачественной лимфомы, плазмцитомы, миеломы, глиомы, мультиформной глиобластомы, остеосаркомы, саркомы и меланомы;

[20] фармацевтический продукт в соответствии с [19], где рак представляет собой рак молочной железы;

[21] фармацевтический продукт в соответствии с [20], где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 3+;

[22] фармацевтический продукт в соответствии с [20], где рак молочной железы представляет собой рак молочной железы с низкой экспрессией HER2;

[23] фармацевтический продукт в соответствии с [20], где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 2+;

[24] фармацевтический продукт в соответствии с [20], где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 1+;

[25] фармацевтический продукт в соответствии с [20], где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, который больше 0 и меньше 1+;

[26] фармацевтический продукт в соответствии с [20], где рак молочной железы представляет собой трижды негативный рак молочной железы;

[27] фармацевтический продукт в соответствии с [18], где рак представляет собой рак желудка;

[28] фармацевтический продукт в соответствии с [18], где рак представляет собой колоректальный рак;

[29] фармацевтический продукт в соответствии с [18], где рак представляет собой рак легкого;

[30] фармацевтический продукт в соответствии с [29], где рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого;

[31] фармацевтический продукт в соответствии с [18], где рак представляет собой рак поджелудочной железы;

[32] фармацевтический продукт в соответствии с [18], где рак представляет собой рак яичника;

[33] фармацевтический продукт в соответствии с [18], где рак представляет собой рак предстательной железы;

[34] фармацевтический продукт в соответствии с [18], где рак представляет собой рак почки;

[35] фармацевтический продукт в соответствии с [18], где раковые клетки рака являются SLFN11-дефицитными;

[36] фармацевтический продукт в соответствии с [18], где экспрессия SLFN11 является более низкой в раковых клетках пациента по сравнению с экспрессирующими SLFN11 клетками пациента, отличными от раковых;

[37] фармацевтический продукт, определенный в любом из [1]-[17], для применения в лечении рака;

[38] фармацевтический продукт для применения в соответствии с [37], где рак является таким, как определено в любом из [19]-[36];

[39] применение конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства или ингибитора ATR в изготовлении лекарственного препарата для введения конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитора ATR в комбинации, где конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR являются такими, как определено в любом из [1]-[15], для лечения рака;

[40] применение в соответствии с [39], где рак является таким, как определено в любом из [19]-[36];

[41] применение в соответствии с [39] или [40], где лекарственный препарат представляет собой композицию, содержащую конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR, для одновременного введения;

[42] применение в соответствии с [39] или [40], где лекарственный препарат представляет собой комбинированный препарат, содержащий конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR для последовательного или одновременного введения;

[43] конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства для применения в комбинации с ингибитором ATR в лечении рака, где конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR являются такими, как определено в любом из [1]-[15];

[44] конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства для применения в

соответствии с [43], где рак является таким, как определено в любом из [19]-[36];

[45] конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства для применения в соответствии с [43] или [44], где применение включает введение конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитора ATR последовательно;

[46] конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства для применения в соответствии с [43] или [44], где применение включает введение конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитора ATR одновременно;

[47] ингибитор ATR для применения в комбинации с конъюгатом антитела к HER2 и лекарственного средства в лечении рака, где конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR являются такими, как определено в любом из [1]-[15];

[48] ингибитор ATR для применения в соответствии с [47], где рак является таким, как определено в любом из [19]-[36];

[49] ингибитор ATR для применения в соответствии с [47] или [48], где применение включает введение конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитора ATR последовательно;

[50] ингибитор ATR для применения в соответствии с [47] или [48], где применение включает введение конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитора ATR одновременно;

[51] способ лечения рака, включающий введение конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитора ATR, определенных в любом из [1]-[15], в комбинации субъекту, нуждающемуся в этом;

[52] способ в соответствии с [51], где рак является таким, как определено в любом из [19]-[36];

[53] способ в соответствии с [51] или [52], где способ включает введение конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитора ATR последовательно; и

[54] способ в соответствии с [51] или [52], где способ включает введение конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитора ATR одновременно.

[Преимущественные эффекты данного изобретения]

В настоящем изобретении представлены фармацевтический продукт, где конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, содержащий противоопухолевое лекарственное средство, конъюгированное с антителом к HER2 посредством линкерной структуры, и ингибитор ATR вводят в комбинации, и терапевтическое применение и способ, где конкретный конъюгат антитела и лекарственного средства и ингибитор ATR вводят в комбинации субъекту. Таким образом, настоящее изобретение может обеспечивать лекарственный препарат и лечение, с помощью которых можно получить превосходный противоопухолевый эффект в лечении видов рака.

[Краткое описание графических материалов]

[Фигура 1] На фигуре 1 представлено графическое изображение, на котором

показана аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела к HER2 (SEQ ID NO: 1).

[Фигура 2] На фигуре 2 представлено графическое изображение, на котором показана аминокислотная последовательность легкой цепи антитела к HER2 (SEQ ID NO: 2).

[Фигура 3] На фигуре 3 представлено графическое изображение, на котором показана аминокислотная последовательность CDRH1 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 3 [= аминокислотные остатки 26-33 в SEQ ID NO: 1]).

[Фигура 4] На фигуре 4 представлено графическое изображение, на котором показана аминокислотная последовательность CDRH2 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 4 [= аминокислотные остатки 51-58 в SEQ ID NO: 1]).

[Фигура 5] На фигуре 5 представлено графическое изображение, на котором показана аминокислотная последовательность CDRH3 тяжелой цепи (SEQ ID NO: 5 [= аминокислотные остатки 97-109 в SEQ ID NO: 1]).

[Фигура 6] На фигуре 6 представлено графическое изображение, на котором показана аминокислотная последовательность CDRL1 легкой цепи (SEQ ID NO: 6 [= аминокислотные остатки 27-32 в SEQ ID NO: 2]).

[Фигура 7] На фигуре 7 представлено графическое изображение, на котором показана аминокислотная последовательность, содержащая аминокислотную последовательность CDRL2 легкой цепи (SAS) (SEQ ID NO: 7 [= аминокислотные остатки 50-56 в SEQ ID NO: 2]).

[Фигура 8] На фигуре 8 представлено графическое изображение, на котором показана аминокислотная последовательность CDRL3 легкой цепи (SEQ ID NO: 8 [= аминокислотные остатки 89-97 в SEQ ID NO: 2]).

[Фигура 9] На фигуре 9 представлено графическое изображение, на котором показана аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи (SEQ ID NO: 9 [= аминокислотные остатки 1-120 в SEQ ID NO: 1]).

[Фигура 10] На фигуре 10 представлено графическое изображение, на котором показана аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи (SEQ ID NO: 10 [= аминокислотные остатки 1-107 в SEQ ID NO: 2]).

[Фигура 11] На фигуре 11 представлено графическое изображение, на котором показана аминокислотная последовательность тяжелой цепи (SEQ ID NO: 11 [= аминокислотные остатки 1-449 в SEQ ID NO: 1]).

[Фигуры 12A - 12D] На фигурах 12A-D представлены графические изображения, на которых показаны комбинационные матрицы, полученные с помощью высокопродуктивных скринингов, в которых производится комбинирование DS-8201 с AZD6738 (AZ13386215; ингибитор ATR) в линиях клеток рака молочной железы с различной экспрессией HER2 и одной линии клеток желудка с высокой экспрессией HER2.

[Фигура 13] На фигуре 13 представлено графическое изображение, на котором

показаны матрицы синергии для комбинаций с DS-8201 и AZD6738 в клеточной линии KPL4 с высокой экспрессией HER2 с точки зрения (А) относительного общего числа клеток в виде процентной доли контроля и (В) баллов по Loewe, Bliss и HSA.

[Фигура 14] На фигуре 14 представлено графическое изображение, на котором показано изменение общего числа клеток, остающихся после обработки, по сравнению с точкой отсчета для комбинаций DS-8201 с AZD6738 в (А) клеточной линии KPL4 с высокой экспрессией HER2 и (В) HER2-негативной клеточной линии MDA-MB-468.

[Фигура 15] На фигуре 15 представлено графическое изображение, на котором показаны индукция АТМ-зависимой передачи сигнала KAP1 pSer824, биомаркеры повреждения, представляющего собой двухнитевой разрыв ДНК (γ H2AX), или процентная доля количества клеток с такими повреждениями (по сравнению с контролем с растворителем) для комбинаций DS-8201 с AZD6738 в (А) клеточной линии KPL4 с высокой экспрессией HER2 или (В) клеточной линии MDA-MB-468 с низкой экспрессией HER2.

[Фигура 16] На фигуре 16 представлено графическое изображение, на котором показано изменение объема опухоли с течением времени для групп обработки, представлявших собой самок "голых" мышей, содержащих имплантированные подкожно опухоли NCI-N87, обрабатываемых с помощью DS-8201 при 1 мг/кг или 3 мг/кг отдельно и в комбинации с AZD6738 при 25 мг/кг BID.

[Фигура 17] На фигуре 17 представлено графическое изображение, на котором показаны изображения результата блоттинга антител, в котором производится комбинирование DS-8201 или эксцатекана мезилата с AZD6738 в клеточных линиях (А) NCI-N87 (рак желудка) и (В) KPL4 (карцинома молочной железы).

[Фигуры 18А и 18В] На фигурах 18А и 18В представлены графические изображения, на которых показаны комбинационные матрицы, полученные с помощью скринингов, в которых производится комбинирование DS-8201 с AZD6738 (цераласертибом) в первичных стволовых гематопоетических клетках CD34⁺ костного мозга и клетках-предшественниках, стимулированных к дифференциации в эритроидные, миелоидные или мегакариоцитарные линии дифференцировки.

[Фигура 19] На фигуре 19 представлены графические изображения (А) и (В), на которых показаны комбинационные матрицы, полученные с помощью высокопродуктивных скринингов, в которых производится комбинирование DS-8201 с AZD6738 в клеточной линии NCI-H522 (рак легкого) с низкой экспрессией HER2.

Для более легкого понимания настоящего изобретения сначала определены определенные термины. В ходе подробного описания изложены дополнительные определения.

Перед подробным описанием настоящего изобретения следует понимать, что данное раскрытие не ограничено конкретными композициями или стадиями способа, поскольку они могут различаться. Используемые в настоящем описании и прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают определяемые объекты и во

множественном числе, если из контекста явно не следует иное. Термины "один или несколько" и "по меньшей мере один" можно использовать в данном документе взаимозаменяемо.

Кроме того, выражение "и/или", если оно используется в данном документе, следует рассматривать как конкретное раскрытие каждого из двух указанных признаков или компонентов с другим или без другого. Таким образом, выражение "и/или" при употреблении в настоящем документе в такой фразе, как "А и/или В", должно включать "А и В", "А или В", "А" (отдельно) и "В" (отдельно). Аналогично, подразумевается, что термин "и/или", используемый в такой фразе, как "А, В и/или С", охватывает каждый из следующих аспектов: А, В и С; А, В или С; А или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (отдельно); В (отдельно) и С (отдельно).

Если не определено иное, то все используемые в данном документе технические и научные термины имеют то же значение, которое обычно понимает специалист обычной квалификации в данной области техники, к которой относится данное раскрытие. Например, Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; и Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press, обеспечивают специалиста общим словарем многих терминов, используемых в настоящем раскрытии.

Единицы измерения, префиксы и символы обозначены в их форме, принятой согласно Международной системе единиц (SI). Числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон.

Следует понимать, что во всех случаях, если аспекты описываются в данном документе формулировкой "содержащий", также предусмотрены в иных отношениях аналогичные аспекты, описываемые терминами "состоящий из" и/или "состоящий по сути из".

Термины "ингибировать", "блокировать" и "подавлять" используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к любому статистически значимому уменьшению биологической активности, в том числе к полному блокированию активности. Например, выражение "ингибирование" может относиться к снижению биологической активности на приблизительно 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 100%.

Клеточную пролиферацию можно анализировать с помощью известных в данной области методик, которые позволяют измерять скорость деления клеток и/или фракцию клеток в популяции клеток, проходящих деление, и/или скорость утраты клеток из популяции клеток в связи с терминальной дифференцировкой или гибелью клеток (например, включение тимидина).

Выражение "субъект" относится к любому животному (например, млекопитающему), в том числе без ограничения к людям, отличным от человека приматам, грызунам и т. п., которое будет реципиентом конкретного лечения. Как

правило, термины "субъект" и "пациент" используются в данном документе взаимозаменяемо, когда ссылаются на субъекта-человека.

Термин "фармацевтический продукт" относится к препарату, который находится в такой форме, которая обеспечивает биологическую активность активных ингредиентов либо в виде композиции, содержащей все активные ингредиенты (для одновременного введения), либо в виде комбинации отдельных композиций (комбинированный препарат), каждая из которых содержит по меньшей мере один, но не все, из активных ингредиентов (для последовательного или одновременного введения), и которая не содержит дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для субъекта, которому будут вводить продукт. Такой продукт может быть стерильным. Под "одновременным введением" имеется в виду, что активные ингредиенты вводят в одно и то же время. Под "последовательным введением" имеется в виду, что активные ингредиенты вводят друг после друга в любом порядке с временным интервалом между отдельными введениями. Временной интервал может составлять, например, менее 24 часов, предпочтительно менее 6 часов, более предпочтительно менее 2 часов.

Такие термины как "осуществление лечения", или "лечение", или "лечить" или "облегчение", или "облегчать" относятся как к (1) терапевтическим мероприятиям, с помощью которых излечивают, замедляют, ослабляют симптомы диагностированного патологического состояния или нарушения и/или останавливают его прогрессирование, так и к (2) профилактическим или предупреждающим мероприятиям, с помощью которых предупреждают и/или замедляют развитие целевого патологического состояния или нарушения. Таким образом, к нуждающимся в лечении относят тех, у кого уже есть нарушение; тех, кто предрасположен к развитию нарушения, и тех, у кого нужно предупредить развитие нарушения. Согласно определенным аспектам субъекта успешно "лечат" от рака в соответствии со способами по настоящему раскрытию, если пациент характеризуется, например, полной, частичной или временной ремиссией определенного типа рака.

Выражения "рак", "опухоль", "раковый" и "злокачественный" относятся к физиологическому состоянию млекопитающих, которое, как правило, характеризуется неконтролируемым клеточным ростом, или описывают его. Примеры видов рака включают без ограничения рак молочной железы, рак желудка, колоректальный рак, рак легкого, рак пищевода, рак головы и шеи, аденокарциному пищеводно-желудочного перехода, рак желчного протока, болезнь Педжета, рак поджелудочной железы, рак яичника, карциносаркому матки, уротелиальный рак, рак предстательной железы, рак мочевого пузыря, гастроинтестинальную стромальную опухоль, стромальную опухоль пищеварительного тракта, рак шейки матки, плоскоклеточную карциному, рак брюшины, рак печени, гепатоцеллюлярный рак, карциному тела матки, рак почки, рак вульвы, рак щитовидной железы, рак полового члена, лейкоз, злокачественную лимфому, плазмоцитому, миелому, глиому, мультиформную глиобластому, остеосаркому, саркому и меланому. Виды рака включают гематологические злокачественные опухоли, такие как

острый миелоидный лейкоз, множественную миелому, хронический лимфоцитарный лейкоз, диффузную В-крупноклеточную лимфому, лимфому Беркитта, фолликулярную лимфому, и солидные опухоли, такие как рак молочной железы, рак легкого, нейробластома и рак толстой кишки.

Термин "цитотоксическое средство", используемый в данном документе, определяется в широком смысле и относится к веществу, которое ингибирует или препятствует выполнению функции клеток, и/или вызывает разрушение клеток (гибель клеток), и/или оказывает противоопухолевые/антипролиферативные эффекты. Например, цитотоксическое средство прямо или косвенно предотвращает развитие, созревание или распространение неопластических клеток опухоли. Термин включает также средства, вызывающие не только цитотоксический, но и цитостатический эффект. Выражение включает химиотерапевтические средства, как описано ниже, а также другие антагонисты HER2, антиангиогенные средства, ингибиторы тирозинкиназы, ингибиторы протеинкиназы А, представителей семейства цитокинов, радиоактивные изотопы и токсины, такие как ферментативно активные токсины бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения.

Термин "химиотерапевтическое средство" является подмножеством термина "цитотоксическое средство", включающим природные или синтетические химические соединения.

В соответствии со способами или вариантами применения по настоящему изобретению соединения по настоящему изобретению можно вводить пациенту для стимуляции положительного терапевтического ответа в отношении рака. Выражение "положительный терапевтический ответ" в отношении лечения рака относится к ослаблению симптомов, ассоциированных с заболеванием. Например, ослабление заболевания можно охарактеризовать как полный ответ. Термин "полный ответ" относится к отсутствию клинически выявляемого заболевания с нормализацией результатов любых проведенных ранее тестов. В качестве альтернативы, ослабление заболевания может быть классифицировано как частичный ответ. Выражение "положительный терапевтический ответ" охватывает уменьшение или ингибирование прогрессирования и/или длительности рака, уменьшение или облегчение тяжести рака и/или облегчение одного или нескольких его симптомов в результате введения соединений по настоящему раскрытию. В конкретных аспектах такие выражения относятся к одному, двум или трем или более результатам после введения соединений по настоящему раскрытию:

- (1) стабилизация, уменьшение или устранение популяции раковых клеток;
- (2) стабилизация или подавление роста раковой опухоли;
- (3) нарушение формирования раковой опухоли;
- (4) ликвидация, устранение или контроль первичного, местнораспространенного рака и/или метастатического рака;
- (5) снижение уровня смертности;

(6) увеличение выживаемости без признаков заболевания, без рецидива, без прогрессирования заболевания и/или общей выживаемости, продолжительности жизни или процента выживаемости;

(7) увеличение частоты ответа, длительности ответа или числа пациентов с ответом или на стадии ремиссии;

(8) снижение частоты госпитализаций,

(9) снижение продолжительности госпитализаций,

(10) размер раковой опухоли сохраняется и не увеличивается или увеличивается на менее чем 10%, предпочтительно на менее чем 5%, предпочтительно на менее чем 4%, предпочтительно на менее чем 2%, и

(11) увеличение числа пациентов с ремиссией;

(12) снижение числа вспомогательных видов терапии (например, химиотерапия или гормональная терапия), которые в противном случае требовались бы для лечения рака.

Клинический ответ можно оценивать с использованием скрининговых методов, таких как ПЕТ, сканирование с помощью магнитно-резонансной томографии (MRI), рентгенография, сканирование с помощью компьютерной томографии (СТ), анализ с применением проточной цитометрии или клеточного сортера с активацией флуоресценции (FACS), гистология, макропатология и биохимический анализ крови, включая без ограничения изменения, выявляемые с помощью ELISA, RIA, хроматографии и т. п. В дополнение к этим положительным терапевтическим ответам, субъект, подвергающийся терапии, может испытывать благотворный эффект в виде ослабления симптомов, ассоциированных с заболеванием.

Применяемый в данном документе термин "уровень экспрессии SLFN11 составляет" некоторую величину, например 0%, означает, что заявленное количество раковых клеток в раковой ткани пациента экспрессирует SLFN11. Точно так же, как используется в данном документе, термин "уровень экспрессии SLFN11 составляет меньше" некоторой величины, например 10%, означает, что меньше указанного количества раковых клеток в раковой ткани пациента экспрессируют SLFN11. Уровень экспрессии SLFN11 может составлять, например, меньше 25%, меньше 20%, меньше 15%, меньше 10%, меньше 9%, меньше 8%, меньше 7%, меньше 6%, меньше 5%, меньше 4%, меньше 3%, меньше 2%, меньше 1% или 0%.

Термин "SLFN11-дефицитный", применяемый в данном документе, относится к уровню экспрессии SLFN11 у соответствующего пациента, животного, ткани, клетки и т. д., который недостаточен для проявления нормального фенотипа, ассоциированного с геном, или для проявления белком его физиологической функции. В контексте доклинических моделей клетки или животные, у которых ген SLFN11 нокаутирован (KO), являются примерами "SLFN11-дефицитных".

В данном описании общий термин "C_{p-q}алкил" включает алкильные группы как с прямой цепью, так и с разветвленной цепью. Однако ссылки на отдельные алкильные

группы, такие как "пропил" конкретно предназначены только для версии с прямой цепью (т. е. *n*-пропила и изопропила), а ссылки на отдельные алкильные группы с разветвленной цепью, такие как "*трет*-бутил", конкретно предназначены только для версии с разветвленной цепью.

Префикс C_{p-q} в C_{p-q} алкиле и других терминах (где *p* и *q* представляют собой целые числа) указывают диапазон атомов углерода, которые присутствуют в группе, например, C_{1-4} алкил включает C_1 алкил (метил), C_2 алкил (этил), C_3 алкил (пропил в виде *n*-пропила и изопропила) и C_4 алкил (*n*-бутил, втор-бутил, изобутил и *трет*-бутил).

Термин C_{p-q} алкокси предусматривает $-O-C_{p-q}$ алкильные группы.

Термин C_{p-q} алканоил предусматривает $-C(O)C_{p-q}$ алкильные группы.

Термин галоген включает фтор, хлор, бром и йод.

"Карбоциклил" представляет собой насыщенную, ненасыщенную или частично насыщенную моноциклическую кольцевую систему, содержащую от 3 до 6 атомов в кольце, где группа CH_2 в кольце может быть заменена на группу $C=O$. "Карбоциклил" включает "арил", " C_{p-q} циклоалкил" и " C_{p-q} циклоалкенил".

"Арил" представляет собой ароматическую моноциклическую карбоциклильную кольцевую систему.

" C_{p-q} циклоалкенил" представляет собой ненасыщенную или частично насыщенную моноциклическую карбоциклильную кольцевую систему, содержащую по меньшей мере 1 связь $C=C$ и где группа CH_2 в кольце может быть заменена на группу $C=O$.

" C_{p-q} циклоалкил" представляет собой насыщенную моноциклическую карбоциклильную кольцевую систему, и при этом группа CH_2 в кольце может быть заменена на группу $C=O$.

"Гетероциклил" представляет собой насыщенную, ненасыщенную или частично насыщенную моноциклическую кольцевую систему, содержащую от 3 до 6 атомов в кольце, из них 1, 2 или 3 атома в кольце выбраны из азота, серы или кислорода, при этом кольцо может быть соединено с помощью углерода или азота, и где атом азота или серы в кольце может быть окислен, и где группа CH_2 в кольце может быть заменена на группу $C=O$. "Гетероциклил" включает "гетероарил", "циклогетероалкил" и "циклогетероалкенил".

"Гетероарил" представляет собой ароматический моноциклический гетероциклил, в частности содержащий 5 или 6 атомов в кольце, из них 1, 2 или 3 атома в кольце выбраны из азота, серы или кислорода, где атом азота или серы в кольце может быть окислен.

"Циклогетероалкенил" представляет собой ненасыщенную или частично насыщенную моноциклическую гетероциклильную кольцевую систему, в частности содержащую 5 или 6 атомов в кольце, из них 1, 2 или 3 атома в кольце выбраны из азота, серы или кислорода, при этом кольцо может быть соединено с помощью углерода или азота, и где атом азота или серы в кольце может быть окислен, и где группа CH_2 в кольце может быть заменена на группу $C=O$.

"Циклогетероалкил" представляет собой насыщенную моноциклическую гетероциклическую кольцевую систему, в частности содержащую 5 или 6 атомов в кольце, из них 1, 2 или 3 атома в кольце выбраны из азота, серы или кислорода, при этом кольцо может быть соединено с помощью углерода или азота, и где атом азота или серы в кольце может быть окислен, и где группа CH_2 в кольце может быть заменена на группу $\text{C}=\text{O}$.

В данном описании могут употребляться составные термины для описания групп, содержащих более одного функционального фрагмента. Если иное не описано в данном документе, такие термины следует толковать так, как они понимаются в данной области техники. Например, карбоциклил- $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкил содержит $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкил, замещенный карбоциклилом, гетероциклил- $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкил содержит $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкил, замещенный гетероциклилом, а бис($\text{C}_{\text{p-q}}$ алкил)амино содержит амино, замещенный 2 $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкильными группами, которые могут быть одинаковыми или разными.

Галоген- $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкил представляет собой $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкильную группу, которая замещена 1 или несколькими галогеновыми заместителями, и в частности 1, 2 или 3 галогеновыми заместителями. Подобным образом, другие общие термины, содержащие галоген, такие как галоген- $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкокси, могут содержать 1 или несколько галогеновых заместителей, и в частности 1, 2 или 3 галогеновых заместителя.

Гидрокси- $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкил представляет собой $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкильную группу, которая замещена 1 или несколькими гидроксильными заместителями, и в частности 1, 2 или 3 заместителями гидрокси. Подобным образом, другие общие термины, содержащие гидрокси, такие как гидрокси- $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкокси, могут содержать 1 или несколько и, в частности, 1, 2 или 3 заместителя гидрокси.

$\text{C}_{\text{p-q}}$ алкокси- $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкил представляет собой $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкильную группу, которая замещена 1 или несколькими заместителями $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкокси, и в частности 1, 2 или 3 заместителями $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкокси. Подобным образом, другие общие термины, содержащие $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкокси, такие как $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкокси- $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкокси, могут содержать 1 или несколько заместителей $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкокси, и в частности 1, 2 или 3 заместителя $\text{C}_{\text{p-q}}$ алкокси.

Если необязательные заместители выбраны из "1 или 2", из "1, 2 или 3" или из "1, 2, 3 или 4" групп или заместителей, следует понимать, что данное определение включает случаи, когда все заместители выбраны из одной из указанных групп, т. е. все заместители являются одинаковыми, или случаи, когда заместители выбраны из двух или более указанных групп, т. е. заместители не являются одинаковыми.

Соединения по настоящему изобретению называли с помощью компьютерного программного обеспечения (ACD/Name, версии 10.06).

Подходящие значения для любой группы R или любой части или заместителя в таких группах включают:

для C_{1-3} алкила: метил, этил, пропил и изопропил;

для C_{1-6} алкила: C_{1-3} алкил, бутил, 2-метилпропил, *трет*-бутил, пентил, 2,2-диметилпропил, 3-метилбутил и гексил;

- для C₃₋₆циклоалкила: циклопропил, циклобутил, циклопентил и циклогексил;
- для C₃₋₆циклоалкил-C₁₋₃алкила: циклопропилметил, циклопропилэтил, циклобутилметил, циклопентилметил и циклогексилметил;
- для арила: фенил;
- для арил-C₁₋₃алкила: бензил и фенэтил;
- для карбоциклила: арил, циклогексенил и C₃₋₆циклоалкил;
- для галогена: фтор, хлор, бром и йод;
- для C₁₋₃алкокси: метокси, этокси, пропокси и изопропокси;
- для C₁₋₆алкокси: C₁₋₃алкокси, бутокси, *трет*-бутокси, пентилокси, 1-этилпропокси и гексилокси;
- для C₁₋₃алканоила: ацетил и пропаноил;
- для C₁₋₆алканоила: ацетил, пропаноил и 2-метилпропаноил;
- для гетероарила: пиридинил, имидазолил, пиримидинил, тиенил, пирролил, пиразолил, тиазолил, триазолил, оксазолил, изоксазолил, фуранил, пиридазинил и пиразинил;
- для гетероарил-C₁₋₃алкила: пирролилметил, пирролилэтил, имидазолилметил, имидазолилэтил, пиразолилметил, пиразолилэтил, фуранилметил, фуранилэтил, тиенилметил, тиенилэтил, пиридинилметил, пиридинилэтил, пиразинилметил, пиразинилэтил, пиримидинилметил, пиримидинилэтил, пиримидинилпропил, пиримидинилбутил, имидазолилпропил, имидазолилбутил, 1,3,4-триазолилпропил и оксазолилметил;
- для гетероциклила: гетероарил, пирролидинил, пиперидинил, пиперазинил, азетидинил, морфолинил, дигидро-2H-пиранил, тетрагидропиридин и тетрагидрофуранил;
- для насыщенного гетероциклила: оксетанил, пирролидинил, пиперидинил, пиперазинил, азетидинил, морфолинил, тетрагидропиранил и тетрагидрофуранил.

Следует отметить, что примеры, приведенные для используемых в описании выражений не являются ограничивающими.

Используемое в данном документе выражение "эффективное количество" означает количество соединения или композиции, которое является достаточным для существенного и положительного изменения подлежащих лечению симптомов и/или состояний (например, обеспечивает положительный клинический ответ). Эффективное количество активного ингредиента для применения в фармацевтическом продукте будет варьироваться в зависимости от конкретного состояния, подлежащего лечению, тяжести состояния, продолжительности лечения, характера сопутствующей терапии, применяемого конкретного активного ингредиента(ингредиентов), применяемого конкретного фармацевтически приемлемого вспомогательного вещества(веществ)/носителя(носителей) и подобных факторов, находящихся в пределах знаний и опыта лечащего врача. В частности, эффективное количество соединения формулы (I) для применения в лечении рака в комбинации с конъюгатом антитела и лекарственного средства представляет собой количество, достаточное для ослабления с

помощью комбинации симптомов у теплокровного животного, такого как человек, симптомов рака, замедления прогрессирования рака или снижения у пациентов с симптомами рака риска усложнения заболевания.

Используемое в данном документе выражение "фармацевтически приемлемый" относится к таким соединениям, материалам, композициям и/или лекарственным формам, которые по результатам тщательной медицинской оценки являются подходящими для применения в контакте с тканями человеческого организма и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения в соответствии с разумным соотношением польза/риск.

Некоторые соединения формулы (I) способны существовать в стереоизомерных формах. Будет понятно, что настоящее изобретение охватывает все геометрические и оптические изомеры соединений формулы (I) и их смеси, включая рацематы. Таутомеры и их смеси также образуют аспект настоящего изобретения.

Сольваты и их смеси также образуют аспект настоящего изобретения. Например, подходящий сольват соединения формулы (I) представляет собой, например, гидрат, такой как полугидрат, моногидрат, дигидрат или тригидрат или его альтернативное количество.

Следует понимать, что поскольку некоторые из соединений формулы (I), определенные выше, могут существовать в оптически активной или рацемической формах благодаря присутствию одного или нескольких асимметричных атомов углерода или атомов серы, настоящее изобретение включает в своем определении любую такую оптически активную или рацемическую форму, которая обладает вышеуказанной активностью. Настоящее изобретение охватывает все такие стереоизомеры, обладающие активностью, определенной в данном документе. Кроме того, следует понимать, что в названиях хиральных соединений (R, S) обозначает любую скалемическую или рацемическую смесь, в то же время (R)- и (S)- обозначают энантиомеры. В отсутствие (R, S), (R) или (S) в названии следует понимать, что название относится к любой скалемической или рацемической смеси, где скалемическая смесь содержит R- и S-энантиомеры в любых относительных пропорциях, а рацемическая смесь содержит R- и S-энантиомеры в соотношении 50:50. Синтез оптически активных форм можно осуществлять с помощью стандартных методик органической химии, хорошо известных из уровня техники, например, с помощью синтеза из оптически активных исходных веществ или путем расщепления рацемической формы. Рацематы могут быть разделены на отдельные энантиомеры с помощью известных процедур (см., например, *Advanced Organic Chemistry*: 3-е издание: автор J March, p104-107). Подходящая процедура включает обеспечение образования диастереомерных производных путем осуществления реакции рацемического вещества с хиральным вспомогательным веществом с последующим разделением, например, с помощью хроматографии, диастереомеров, а затем отделения молекул вспомогательных веществ. Подобным образом, вышеуказанную активность можно оценивать с применением стандартных лабораторных методик.

Будет понятно, что соединения формулы (I) могут охватывать соединения с одним

или несколькими изотопными замещениями. Например, Н может находиться в любой изотопной форме, в том числе ^1H , ^2H (D) и ^3H (T); С может находиться в любой изотопной форме, в том числе ^{12}C , ^{13}C и ^{14}C ; О может находиться в любой изотопной форме, в том числе ^{16}O и ^{18}O , и т. п.

Раскрытие. В настоящем изобретении могут применяться соединения формулы (I), определенные в данном документе, а также их соли. Соли для применения в фармацевтических продуктах будут представлять собой фармацевтически приемлемые соли, но другие соли можно применять в получении соединений формулы (I) и их фармацевтически приемлемых солей.

Фармацевтически приемлемые соли по настоящему изобретению могут, например, включать соли присоединения кислоты соединений формулы (I), определенных в данном документе, которые являются достаточно основными для образования таких солей. Такие соли присоединения кислоты включают без ограничения фумаратные, метансульфонатные, гидрохлоридные, гидробромидные, цитратные и малеатные соли и соли, образованные фосфорной и серной кислотами. Кроме того, если соединения формулы (I) являются достаточно кислотными, соли представляют собой соли оснований, и примеры включают без ограничения соль щелочного металла, например натрия или калия, соль щелочноземельного металла, например кальция или магния, или соль органического амина, например триэтиламина, этаноламина, диэтиламина, триэтиламина, морфолина, N-метилпиперидина, N-этилпиперидина, дибензиламина или аминокислот, таких как лизин.

Соединения формулы (I) также могут предусматриваться в виде гидролизуемых *in vivo* сложных эфиров. Гидролизуемый *in vivo* сложный эфир соединения формулы (I), который содержит карбокси- или гидроксигруппу, представляет собой, например, фармацевтически приемлемый сложный эфир, который расщепляется в теле человека или животного с образованием исходной кислоты или спирта. Такие сложные эфиры можно выявить путем введения, например, внутривенно исследуемому животному исследуемого соединения и последующего изучения жидкости организма от исследуемого животного.

Подходящие фармацевтически приемлемые сложные эфиры для карбоксигруппы включают сложные C_{1-6} алкоксиметилловые эфиры, например метоксиметилловые, сложные C_{1-6} алканоилоксиметилловые эфиры, например пивалоилоксиметилловые, сложные фталидилловые эфиры, сложные C_{3-8} циклоалкилкарбонилокси- C_{1-6} алкиловые эфиры, например 1-циклогексилкарбонилоксиэтиловые, сложные (1,3-диоксолен-2-он)илметилловые эфиры, например (5-метил-1,3-диоксолен-2-он)илметилловые, и сложные C_{1-6} алкоксикарбонилоксиэтиловые эфиры, например 1-метоксикарбонилоксиэтиловые; и могут быть образованы при любой карбоксигруппе в соединениях по настоящему изобретению.

Подходящие фармацевтически приемлемые сложные эфиры для гидроксигруппы включают неорганические сложные эфиры, такие как сложные фосфатные эфиры (включая циклические сложные фосфорамидные эфиры) и α -ацилоксиалкиловые эфиры и

родственные соединения, которые в результате гидролиза сложного эфира *in vivo* распадаются с получением исходных гидроксигрупп. Примеры групп α -ацилоксиалкиловых эфиров включают ацетоксиметокси и 2,2-диметилпропионилоксиметокси. Выбор групп, образующих гидролизуемый *in vivo* сложный эфир, для гидрокси включает C_{1-10} алканоил, например ацетил, бензоил, фенилацетил, замещенный бензоил и фенилацетил; C_{1-10} алкоксикарбонил (с получением алкилкарбонатных сложных эфиров), например этоксикарбонил; ди- C_{1-4} алкилкарбамоил и N-(ди- C_{1-4} алкиламиноэтил)-N- C_{1-4} алкилкарбамоил (с образованием карбаматов); ди- C_{1-4} алкиламиноацетил и карбоксиацетил. В число примеров заместителей кольца при фенилацетиле и бензоиле входят аминометил, C_{1-4} алкиламинометил и ди-(C_{1-4} алкил)аминометил, а также морфолино или пиперазино со связью от атома азота кольца посредством метиленовой связывающей группы с 3-м или 4-м положением в бензоильном кольце. В число других представляющих интерес гидролизуемых *in vivo* сложных эфиров входят, например, $R^A C(O)OC_{1-6}$ алкил-CO-, где R^A представляет собой, например, бензилокси- C_{1-4} алкил или фенил. В число подходящих заместителей при фенильной группе в таких сложных эфирах входят, например, 4- C_{1-4} алкилпиперазино- C_{1-4} алкил, пиперазино- C_{1-4} алкил и морфолино- C_{1-4} алкил.

Соединения формулы (I) можно также вводить в форме пролекарства, которое распадается в организме человека или животного с образованием соединения формулы (I). Различные формы пролекарств известны из уровня техники. Для примеров таких пролекарств см.

a) Design of Prodrugs, edited by H. Bundgaard, (Elsevier, 1985) and Methods in Enzymology, Vol. 42, p. 309-396, edited by K. Widder, et al. (Academic Press, 1985);

b) A Textbook of Drug Design and Development, edited by Krogsgaard-Larsen and H. Bundgaard, Chapter 5 "Design and Application of Prodrugs", by H. Bundgaard p. 113-191 (1991);

c) H. Bundgaard, Advanced Drug Delivery Reviews, 8, 1-38 (1992);

d) H. Bundgaard, et al., Journal of Pharmaceutical Sciences, 77, 285 (1988) и

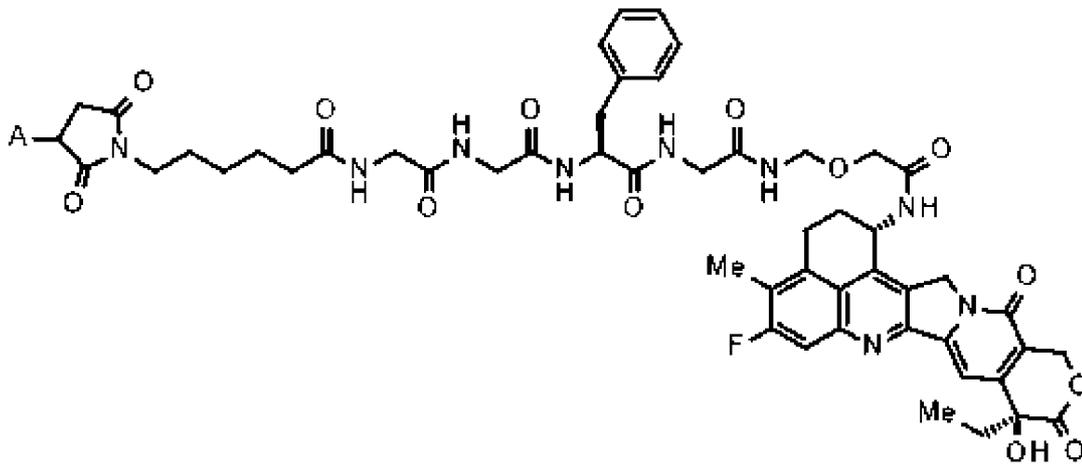
e) N. Kakeya, et al., Chem Pharm Bull, 32, 692 (1984).

[Описание вариантов осуществления]

Далее в данном документе описаны предпочтительные способы осуществления настоящего изобретения. Варианты осуществления, описанные ниже, приведены лишь для иллюстрации одного примера типичного варианта осуществления настоящего изобретения и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения.

1. Конъюгат антитела и лекарственного средства

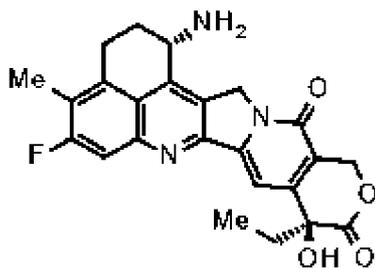
Конъюгат антитела и лекарственного средства, применяемый в настоящем изобретении, представляет собой конъюгат антитела и лекарственного средства, в котором фрагмент лекарственное средство-линкер, представленный следующей формулой:



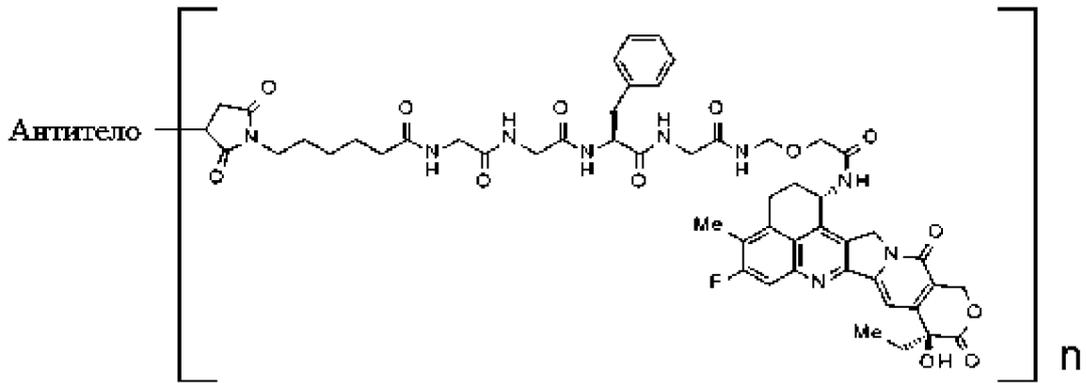
где А представляет собой положение присоединения к антителу, конъюгирован с антителом к HER2 посредством тиоэфирной связи.

В настоящем изобретении частичная структура, состоящая из линкера и лекарственного средства в конъюгате антитела и лекарственного средства, называется "фрагмент лекарственное средство-линкер". Фрагмент лекарственное средство-линкер присоединен к тиольной группе (другими словами атому серы цистеинового остатка), образованной в сайте межцепной дисульфидной связи в антителе (два сайта между тяжелыми цепями, и два сайта между тяжелой цепью и легкой цепью).

Фрагмент лекарственное средство-линкер по настоящему изобретению включает эксатекан (название по IUPAC: (1S,9S)-1-амино-9-этил-5-фтор-1,2,3,9,12,15-гексагидро-9-гидрокси-4-метил-10Н,13Н-бензо[de]пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-10,13-дион, (также представляется под химическим названием: (1S,9S)-1-амино-9-этил-5-фтор-2,3-дигидро-9-гидрокси-4-метил-1Н,12Н-бензо[de]пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-10,13(9Н,15Н)-дион)), который представляет собой ингибитор топоизомеразы I, в качестве компонента. Эксатекан представляет собой производное камптотецина, обладающее противоопухолевым эффектом, представленное следующей формулой:

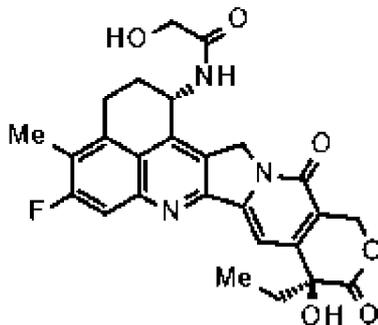


Конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, применяемый в настоящем изобретении, может быть также представлен следующей формулой:



В данном документе фрагмент лекарственное средство-линкер конъюгирован с антителом к HER2 ('антитело-') посредством тиоэфирной связи. Значение n такое же, как и то, что называется средним количеством конъюгированных молекул лекарственного средства (DAR; соотношение лекарственное средства и антитела), и указывает среднее количество звеньев фрагмента лекарственное средство-линкер, конъюгированных на молекулу антитела.

После миграции в раковые клетки, конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, применяемый в настоящем изобретении, расщепляется в линкерной части с высвобождением соединения, представленного следующей формулой:



Данное соединение предположительно является первоначальным источником противоопухолевой активности конъюгата антитела и лекарственного средства, применяемого в настоящем изобретении, и было подтверждено, что оно обладает эффектом, ингибирующим топоизомеразу I (Ogitani Y. et al., *Clinical Cancer Research*, 2016, Oct 15;22(20):5097-5108, Epub 2016 Mar 29).

Известно, что конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, применяемый в настоящем изобретении, обладает эффектом свидетеля (Ogitani Y. et al., *Cancer Science* (2016) 107, 1039-1046). Эффект свидетеля проявляется посредством процесса, с помощью которого конъюгат антитела и лекарственного средства, применяемый в настоящем изобретении, интернализируется в раковые клетки, экспрессирующие мишень, а затем высвобожденное соединение также оказывает противоопухолевый эффект на раковые клетки, которые присутствуют в ее окружении и не экспрессируют мишень. Данный эффект свидетеля проявляется в виде отличного противоопухолевого эффекта, даже если конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства применяют в комбинации с

ингибитором ATR в соответствии с настоящим изобретением.

2. Антитело в конъюгате антитела и лекарственного средства

Антитело к HER2 в конъюгате антитела и лекарственного средства, применяемом в настоящем изобретении, может быть получено из любого вида и предпочтительно представляет собой антитело к HER2, полученное из организма человека, крысы, мыши или кролика. В случаях, если антитело получено из организма видов, отличных от человеческого вида, оно предпочтительно подвергается химеризации или гуманизации с применением широко известной методики. Антитело к HER2 может представлять собой поликлональное антитело или моноклональное антитело и предпочтительно представляет собой моноклональное антитело.

Антитело в конъюгате антитела и лекарственного средства, применяемом в настоящем изобретении, представляет собой антитело к HER2, предпочтительно характеризующееся как способное нацеливаться на раковые клетки, и предпочтительно представляет собой антитело, обладающее, например, свойством распознавать раковую клетку, свойством связываться с раковой клеткой, свойством интернализироваться в раковую клетку и/или цитотоксической активностью в отношении раковых клеток.

Связывающая активность антитела к HER2 в отношении раковых клеток может быть подтверждена с применением проточной цитометрии. Интернализация антитела в раковые клетки может быть подтверждена с применением (1) анализа, представляющего собой визуализацию антитела, включенного в клетки, под флуоресцентным микроскопом с применением вторичного антитела (флуоресцентно меченого), связывающегося с терапевтическим антителом (*Cell Death and Differentiation* (2008) 15, 751-761), (2) анализа, представляющего собой измерение интенсивности флуоресценции, включенной в клетки, с применением вторичного антитела (флуоресцентно меченого), связывающегося с терапевтическим антителом (*Molecular Biology of the Cell*, Vol. 15, 5268-5282, December 2004), или (3) анализа Mab-ZAP с применением связывания иммунотоксина с терапевтическим антителом, где токсин высвобождается после внедрения в клетки с подавлением роста клеток (*Bio Techniques* 28: 162-165, January 2000). В качестве иммунотоксина можно применять рекомбинантный сложный белок из каталитического домена дифтерийного токсина и белка G.

Противоопухолевая активность антитела к HER2 может быть подтверждена *in vitro* путем определения подавляющей активности в отношении роста клеток. Например, культивируют линию клеток рака, сверхэкспрессирующую HER2 в качестве белка-мишени для антитела, и в культуральную систему добавляют антитело в различных концентрациях с определением подавляющей активности в отношении образования очага, образования колоний и сферического роста. Противоопухолевую активность можно подтверждать *in vivo*, например, путем введения антитела "голой" мыши с трансплантированной линией клеток рака с высокой экспрессией белка-мишени и определения изменения в раковой клетке.

Поскольку соединение, конъюгированное в конъюгате антитела к HER2 и

лекарственного средства, оказывает противоопухолевое действие, предпочтительно, но не обязательно, чтобы антитело к HER2 само по себе обладало противоопухолевым действием. Для специфического и селективного проявления цитотоксической активности противоопухолевого соединения в отношении раковых клеток, важно и также предпочтительно, чтобы антитело к HER2 обладало свойством интернализироваться для миграции в раковые клетки.

Антитело к HER2 в конъюгате антитела и лекарственного средства, применяемом в настоящем изобретении, может быть получено с помощью процедуры, известной из уровня техники. Например, антитело по настоящему изобретению может быть получено с применением способа, обычно проводимого в данной области техники, который включает иммунизацию животных с помощью антигенного полипептида и сбор и проведение очистки антител, полученных *in vivo*. Происхождение антигена не ограничено людьми, животных можно иммунизировать антигеном, полученным из организма отличного от человека животного, такого как мышь, крыса и т. п. В данном случае перекрестная реактивность антител, связывающихся с полученным гетерологичным антигеном, с антигенами человека может быть протестирована с проведением скрининга в отношении антитела, применимого к заболеванию человека.

В качестве альтернативы клетки, продуцирующие антитела, которые продуцируют антитела к антигену, сливают с клетками миеломы в соответствии со способом, известным из уровня техники (например, Kohler and Milstein, *Nature* (1975) 256, p. 495-497 и Kennet, R. ed., *Monoclonal Antibodies*, p. 365-367, Plenum Press, N.Y. (1980)) с созданием гибридом, из которых, в свою очередь, можно получить моноклональные антитела.

Антиген может быть получен путем генетического конструирования клеток-хозяев для получения гена, кодирующего антигенный белок. В частности, векторы, которые обеспечивают экспрессию гена антигена, получают и переносят в клетки-хозяева, так что происходит экспрессия гена. Антиген, экспрессированный таким образом, может быть очищен. Антитело также может быть получено с помощью способа иммунизации животных с помощью вышеописанных генетически сконструированных клеток, экспрессирующих антиген, или клеточной линии, экспрессирующей антиген.

Антитело к HER2 в конъюгате антитела и лекарственного средства, применяемом в настоящем изобретении, предпочтительно представляет собой рекомбинантное антитело, полученное посредством искусственной модификации с целью уменьшения гетерологичной иммуногенности у людей, такое как химерное антитело или гуманизированное антитело, или предпочтительно представляет собой антитело, содержащее только последовательность гена антитела, полученного из организма человека, то есть антитела человека. Такие антитела можно получать с применением известного способа.

В качестве примера химерного антитела можно привести антитело, в котором переменные и константные области антитела получены из организмов разных видов, например химерное антитело, в котором переменная область антитела, полученного из

организма мыши или крысы, присоединена к константной области антитела, полученного из организма человека (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 6851-6855, (1984)).

В качестве примера гуманизированного антитела можно привести антитело, полученное путем включения только участка, определяющего комплементарность (CDR), гетерологичного антитела в антитело, полученное из организма человека (Nature (1986) 321, pp. 522-525), и антитело, полученное путем прививания части аминокислотных остатков остова гетерологичного антитела, а также последовательности CDR гетерологичного антитела к антителу человека с помощью способа прививания CDR (WO 90/07861), и антитело, гуманизированное с применением стратегии мутагенеза с конверсией генов (патент США № 5821337).

В качестве примера антитела человека можно привести антитело, созданное с использованием продуцирующей антитела человека мыши, имеющей фрагмент хромосомы человека, включающий гены тяжелой цепи и легкой цепи антитела человека (см. Tomizuka, K. et al., Nature Genetics (1997) 16, p.133-143; Kuroiwa, Y. et al., Nucl. Acids Res. (1998) 26, p.3447-3448; Yoshida, H. et al., Animal Cell Technology: Basic and Applied Aspects vol.10, p.69-73 (Kitagawa, Y., Matsuda, T. and Iijima, S. eds.), Kluwer Academic Publishers, 1999; Tomizuka, K. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2000) 97, p.722-727 и т. д.). В качестве альтернативы в качестве примера антитела можно привести антитело, полученное с помощью фагового дисплея, выбранное из библиотеки антител человека (см. Wormstone, I. M. et al, Investigative Ophthalmology & Visual Science. (2002)43 (7), p.2301-2308; Carmen, S. et al., Briefings in Functional Genomics and Proteomics (2002), 1(2), p.189-203; Siriwardena, D. et al., Ophthalmology (2002) 109(3), p.427-431 и т. д.).

В настоящем изобретении также включены модифицированные варианты антитела к HER2 в конъюгате антитела и лекарственного средства, применяемом в настоящем изобретении. Модифицированный вариант относится к варианту, полученному путем подвергания антитела в соответствии с настоящим изобретением химической или биологической модификации. Примеры химически модифицированного варианта включают варианты, включающие связывание химического фрагмента с аминокислотным каркасом, варианты, включающие связывание химического фрагмента с N-связанной или O-связанной углеводной цепью, и т. д. Примеры биологически модифицированного варианта включают варианты, полученные с помощью посттрансляционной модификации (такой как N-связанное или O-связанное гликозилирование, N- или C-концевая обработка, дезамидирование, изомеризация аспарагиновой кислоты или окисление метионина), и варианты, в которых был добавлен метиониновый остаток к N-концу путем обеспечения экспрессии в прокариотической клетке-хозяине. Кроме того, антитело, меченое так, чтобы обеспечивать обнаружение или выделение антитела или антигена в соответствии с настоящим изобретением, например меченое ферментом антитело, флуоресцентно меченое антитело, и аффинно меченое антитело, также включены в определение модифицированного варианта. Такой модифицированный вариант антитела в соответствии с настоящим изобретением является применимым для улучшения

стабильности и удержания антитела в крови, снижения его иммуногенности, выявления или выделения антитела или антигена и так далее.

Кроме того, путем регулирования модификации гликана, который связан с антителом в соответствии с настоящим изобретением (гликозилирование, дефукозилирование и т. д.), можно усиливать антителозависимую цитотоксическую активность в отношении клеток. В качестве методики регулирования модификации гликана антител известны раскрытые в WO99/54342, WO00/61739, WO02/31140, WO2007/133855, WO2013/120066 и т. д. Однако, методика ими не ограничена. В антитело к HER2 в соответствии с настоящим изобретением также включены антитела, в которых регулируется модификация гликана.

Известно, что лизиновый остаток на карбоксильном конце тяжелой цепи антитела, полученного в культивированных клетках млекопитающих, удален (*Journal of Chromatography A*, 705: 129-134 (1995)), и также известно, что два аминокислотных остатка (глицин и лизин) на карбоксильном конце тяжелой цепи антитела, полученного в культивированных клетках млекопитающих, удалены, а пролиновый остаток, только размещенный на карбоксильном конце, амидирован (*Analytical Biochemistry*, 360: 75-83 (2007)). Однако, такая делеция и модификация последовательности тяжелой цепи не влияет на аффинность связывания антигена и эффекторную функцию (активацию комплемента, антителозависимую клеточную цитотоксичность и т. д.) антитела. Следовательно, в антитело к HER2 в соответствии с настоящим изобретением также включены антитела, подвергшиеся такой модификации, и функциональные фрагменты антител, и также включены варианты с делециями, в которых одна или две аминокислоты были удалены на карбоксильном конце тяжелой цепи, варианты, полученные путем амидирования вариантов с делециями (например, тяжелая цепь, в которой пролиновый остаток на карбоксильном конце был амидирован), и т. п. Тип варианта с делецией, содержащего делецию на карбоксильном конце тяжелой цепи антитела к HER2 в соответствии с настоящим изобретением, не ограничен описанными выше вариантами при условии сохранения аффинности связывания антигена и эффекторной функции. Две тяжелые цепи, составляющие антитело в соответствии с настоящим изобретением, могут быть одного типа, выбранного из группы, состоящей из полноразмерной тяжелой цепи и вышеописанного варианта с делецией, или могут быть двух типов в комбинации, выбранных из них. На соотношение количества каждого варианта с делецией может влиять тип культивированных клеток млекопитающих, которые продуцируют антитело к HER2 в соответствии с настоящим изобретением, и условия культивирования; однако, антитело, в котором один аминокислотный остаток на карбоксильном конце был удален в обеих из двух тяжелых цепей в антителе в соответствии с настоящим изобретением, может быть приведен в качестве предпочтительного примера.

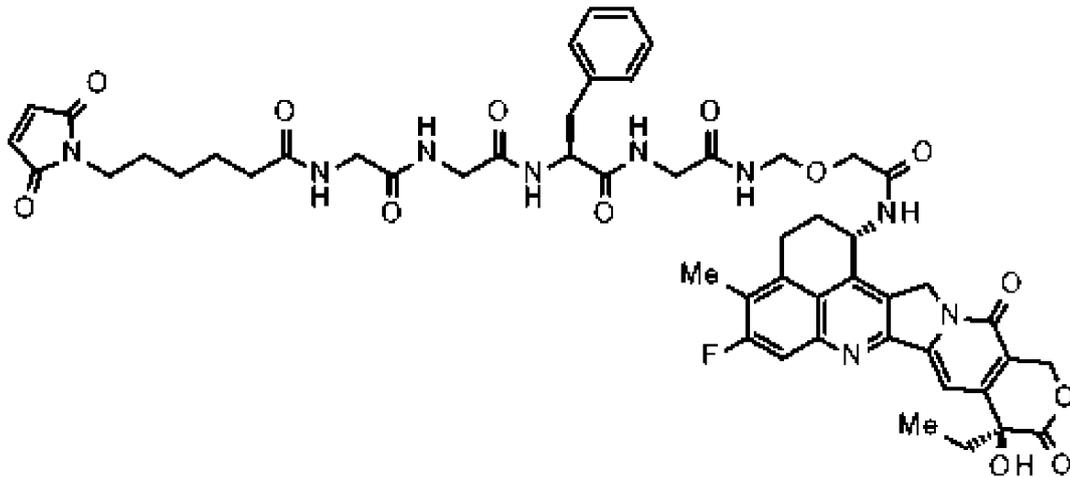
В качестве примера изоформ антитела к HER2 в соответствии с настоящим изобретением могут быть приведены, например, IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4), а IgG1 или IgG2 могут быть приведены в качестве предпочтительных примеров.

В настоящем изобретении термин "антитело к HER2" относится к антителу, которое специфически связывается с HER2 (рецептор эпидермального фактора роста человека 2 типа; ErbB-2), и предпочтительно обладает активностью интернализации в HER2-экспрессирующих клетках посредством связывания с HER2.

Примеры антитела к HER2 включают трастузумаб (патент США № 5821337) и пертузумаб (WO01/00245), и трастузумаб может быть приведен в качестве предпочтительного примера.

3. Получение конъюгата антитела и лекарственного средства

Промежуточное соединение лекарственное средство-линкер для применения в получении конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства в соответствии с настоящим изобретением представлено следующей формулой:



Промежуточное соединение лекарственное средство-линкер может быть представлено под химическим названием N-[6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексаноил]глицилглицил-L-фенилаланил-N-[(2-((1S,9S)-9-этил-5-фтор-9-гидрокси-4-метил-10,13-диоксо-2,3,9,10,13,15-гексагидро-1H,12H-бензо[de]пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-1-ил)амино)-2-оксоэтокси)метил]глицинамид и может быть получено, со ссылкой на описания в WO 2014/057687, WO 2015/098099, WO 2015/115091, WO 2015/155998, WO 2019/044947 и так далее.

Конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, применяемый в настоящем изобретении, может быть получен путем осуществления реакции вышеописанного промежуточного соединения лекарственное средство-линкер и антитела к HER2, содержащего тиольную группу (также называемую сульфгидрильной группой).

Антитело к HER2, содержащее сульфгидрильную группу, может быть получено с помощью способа, широко известного в уровне техники (Hermanson, G. T, Bioconjugate Techniques, pp. 56-136, pp. 456-493, Academic Press (1996)). Например, путем применения 0,3-3 молярных эквивалентов восстановителя, такого как гидрохлорид трис(2-карбоксиил)фосфина (ТСЕР), на межцепной дисульфид в антителе и осуществления реакции с антителом в буферном растворе, содержащем хелатообразующее средство,

такое как этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA), может быть получено антитело к HER2, содержащее сульфгидрильную группу с частично или полностью восстановленными межцепными дисульфидами в антителе.

Кроме того, путем применения 2-20 молярных эквивалентов промежуточного соединения лекарственное средство-линкер на антитело к HER2, содержащее сульфгидрильную группу, может быть получен конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, в котором конъюгированы 2-8 молекул лекарственного средства на молекулу антитела.

Среднее количество конъюгированных молекул лекарственного средства на молекулу антитела к HER2 в полученном конъюгате антитела и лекарственного средства может быть определено, например, с помощью способа расчета на основе измерения поглощения УФ для конъюгата антитела и лекарственного средства и предшественника этого конъюгата при двух длинах волны 280 нм и 370 нм (УФ-способ) или способа расчета на основе количественного определения посредством измерения с помощью HPLC фрагментов, полученных путем обработки конъюгата антитела и лекарственного средства восстановителем (способ HPLC).

Конъюгация между антителом к HER2 и промежуточным соединением лекарственное средство-линкер и расчет среднего количества конъюгированных молекул лекарственного средства на молекулу антитела в конъюгате антитела и лекарственного средства могут быть осуществлены со ссылкой на описания в WO 2014/057687, WO 2015/098099, WO 2015/115091, WO 2015/155998, WO 2017/002776, WO 2018/212136 и так далее.

В настоящем изобретении термин "конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства" относится к такому конъюгату антитела и лекарственного средства, где антитело в конъюгате антитела и лекарственного средства в соответствии с настоящим изобретением представляет собой антитело к HER2.

Антитело к HER2 предпочтительно представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 26-33 в SEQ ID NO: 1, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 51-58 в SEQ ID NO: 1, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 97-109 в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, содержащую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 27-32 в SEQ ID NO: 2, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 50-52 в SEQ ID NO: 2, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 89-97 в SEQ ID NO: 2, и более предпочтительно антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-120 в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, содержащую переменную область легкой цепи,

состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-107 в SEQ ID NO: 2, и еще более предпочтительно антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 2, или антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотных остатков 1-449 в SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из всех аминокислотных остатков 1-214 в SEQ ID NO: 2.

Среднее количество звеньев фрагмента лекарственное средство-линкер, конъюгированных на молекулу антитела в конъюгате антитела к HER2 и лекарственного средства, составляет предпочтительно 2-8, более предпочтительно 3-8, еще более предпочтительно 7-8, еще более предпочтительно 7,5-8 и еще более предпочтительно приблизительно 8.

Конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, применяемый в настоящем изобретении, может быть получен со ссылкой на описания в WO 2015/115091 и так далее.

В предпочтительных вариантах осуществления конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства представляет собой трастузумаб дерукстекал (DS-8201).

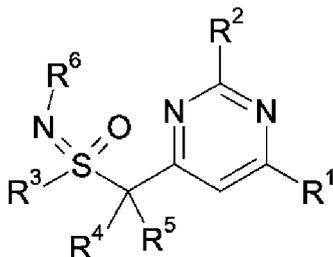
4. Ингибитор ATR

В настоящем изобретении термин "ингибитор ATR" относится к средству, которое ингибирует ATR (атаксию-телеангиэктазию и Rad3-родственную киназу). Ингибитор ATR в настоящем раскрытии может селективно ингибировать киназу ATR или может неселективно ингибировать ATR, а также ингибировать киназу(-ы), отличные от ATR. Ингибитор ATR в настоящем изобретении конкретно не ограничен, если он представляет собой средство, которое обладает описанными характеристиками, и его предпочтительные примеры могут включать те, что раскрыты в WO 2011/154737.

Другие примеры ингибиторов ATR, которые можно применять в соответствии с настоящим изобретением, представляют собой BAY-1895344, ETP-46464 и VE-821.

Предпочтительно ингибитор ATR в настоящем раскрытии ингибирует ATR селективно.

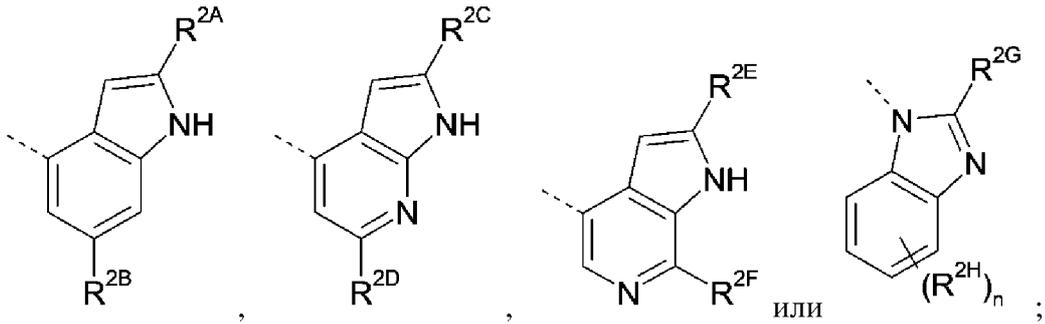
В соответствии с предпочтительными вариантами осуществления ингибитора ATR, применяемого в настоящем изобретении, ингибитор ATR представляет собой соединение, представленное следующей формулой (I):



(I),
где

R^1 выбран из морфолин-4-ила и 3-метилморфолин-4-ила;

R^2 представляет собой



n равняется 0 или 1;

каждый из R^{2A} , R^{2C} , R^{2E} и R^{2F} независимо представляет собой водород или метил;

каждый из R^{2B} и R^{2D} независимо представляет собой водород или метил;

R^{2G} выбран из $-NHR^7$ и $-NHCOR^8$;

R^{2H} представляет собой фтор;

R^3 представляет собой метил;

каждый из R^4 и R^5 независимо представляет собой водород или метил, или R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А;

кольцо А представляет собой C_{3-6} циклоалкил или насыщенное 4-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее один гетероатом, выбранный из О и N;

R^6 представляет собой водород;

R^7 представляет собой водород или метил; и

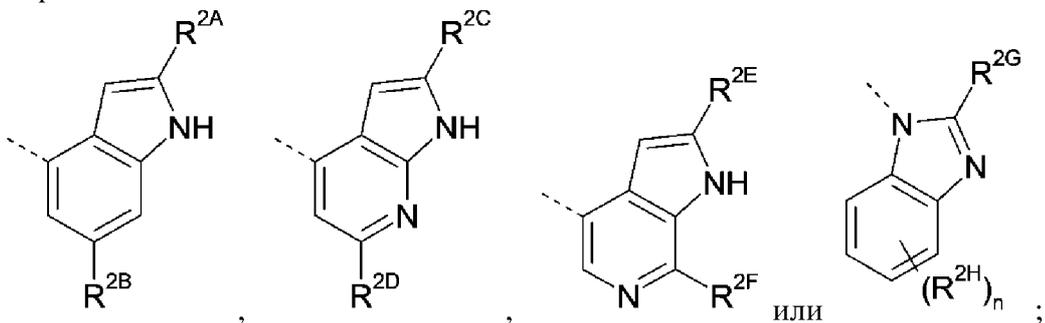
R^8 представляет собой метил,

или его фармацевтически приемлемую соль.

В предпочтительных вариантах осуществления ингибитор АТФ представляет собой соединение, представленное формулой (I), где

R^1 представляет собой 3-метилморфолин-4-ил;

R^2 представляет собой



n равняется 0 или 1;

каждый из R^{2A} , R^{2C} , R^{2E} и R^{2F} независимо представляет собой водород или метил;

каждый из R^{2B} и R^{2D} независимо представляет собой водород или метил;

R^{2G} выбран из $-NH_2$, $-NHMe$ и $-NHCOMe$;

R^{2H} представляет собой фтор;

R^3 представляет собой метил;

каждый из R^4 и R^5 независимо представляет собой водород или метил, или R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А;

кольцо А представляет собой C_{3-6} циклоалкил или насыщенное 4-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее один гетероатом, выбранный из О и N; и

R^6 представляет собой водород,

или его фармацевтически приемлемую соль.

Дополнительные варианты осуществления ингибитора АTR представляют собой соединения формулы (I), и их фармацевтически приемлемые соли, в которых кольцо А, n, R^1 , R^2 , R^4 , R^5 , R^6 , R^7 и R^8 определены следующим образом. Такие конкретные заместители можно применять, при необходимости, в отношении любого из определений, пунктов формулы изобретения или вариантов осуществления, определенных в данном документе.

n

В одном варианте осуществления n равняется 0.

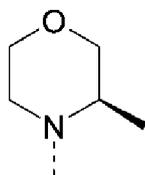
В другом варианте осуществления n равняется 1.

R¹

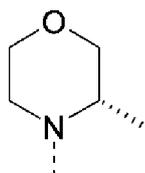
В одном варианте осуществления R^1 выбран из морфолин-4-ила и 3-метилморфолин-4-ила.

В дополнительном варианте осуществления R^1 представляет собой 3-метилморфолин-4-ил.

В дополнительном варианте осуществления R^1 представляет собой

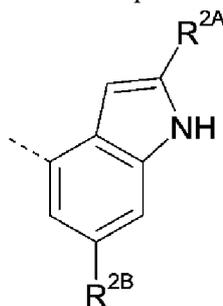


В дополнительном варианте осуществления R^1 представляет собой

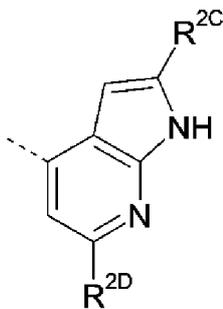


R²

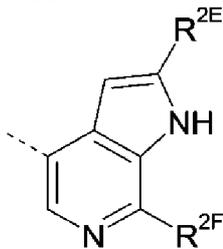
В одном варианте осуществления R^2 представляет собой



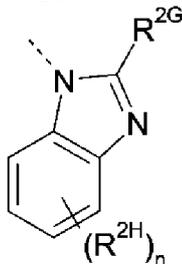
В другом варианте осуществления R^2 представляет собой



В другом варианте осуществления R^2 представляет собой



В другом варианте осуществления R^2 представляет собой



R^{2A}

В одном варианте осуществления R^{2A} представляет собой водород.

R^{2B}

В одном варианте осуществления R^{2B} представляет собой водород.

R^{2C}

В одном варианте осуществления R^{2C} представляет собой водород.

R^{2D}

В одном варианте осуществления R^{2D} представляет собой водород.

R^{2E}

В одном варианте осуществления R^{2E} представляет собой водород.

R^{2F}

В одном варианте осуществления R^{2F} представляет собой водород.

R^{2G}

В одном варианте осуществления R^{2G} выбран из $-NHR^7$ и $-NHCOR^8$.

В другом варианте осуществления R^{2G} представляет собой $-NHR^7$.

В другом варианте осуществления R^{2G} представляет собой $-NHCOR^8$.

В другом варианте осуществления R^{2G} выбран из $-NH_2$, $-NHMe$ и $-NHCOMe$.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения R^{2G} представляет собой

$-NH_2$.

В другом варианте осуществления R^{2G} представляет собой -NHMe.

В другом варианте осуществления R^{2G} представляет собой -NHCOMe.

R^4 и R^5

В одном варианте осуществления R^4 и R^5 представляют собой водород.

В другом варианте осуществления R^4 и R^5 представляют собой метил.

В другом варианте осуществления R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А.

Кольцо А

В одном варианте осуществления кольцо А представляет собой C_{3-6} циклоалкил или насыщенное 4-6-гетероциклическое кольцо, содержащее один гетероатом, выбранный из О и N.

В другом варианте осуществления кольцо А представляет собой циклопропильное, циклобутильное, циклопентильное, оксетанильное, тетрагидрофурильное, тетрагидропиранильное, азетидинильное, пирролидинильное или пиперидинильное кольцо.

В другом варианте осуществления кольцо А представляет собой циклопропильное, циклобутильное, циклопентильное, тетрагидропиранильное или пиперидинильное кольцо.

В другом варианте осуществления кольцо А представляет собой циклопропильное, циклопентильное, тетрагидропиранильное или пиперидинильное кольцо.

В другом варианте осуществления кольцо А представляет собой циклопропильное, тетрагидропиранильное или пиперидинильное кольцо.

В другом варианте осуществления кольцо А представляет собой циклопропильное или тетрагидропиранильное кольцо.

В другом варианте осуществления кольцо А представляет собой пиперидинильное кольцо.

В другом варианте осуществления кольцо А представляет собой тетрагидропиранильное кольцо.

В другом варианте осуществления кольцо А представляет собой циклопропильное кольцо.

R^6

В одном варианте осуществления R^6 представляет собой водород.

R^7

В одном варианте осуществления R^7 представляет собой водород или метил.

В другом варианте осуществления R^7 представляет собой метил.

В другом варианте осуществления R^7 представляет собой водород.

R^8

В одном варианте осуществления R^{12} представляет собой метил.

В одном варианте осуществления соединений формулы (I), или их фармацевтически приемлемой соли:

R^1 выбран из морфолин-4-ила и 3-метилморфолин-4-ила;

n равняется 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород;

R^{2B} представляет собой водород;

R^{2C} представляет собой водород;

R^{2D} представляет собой водород;

R^{2E} представляет собой водород;

R^{2F} представляет собой водород;

R^{2G} выбран из $-NHR^7$ и $-NHCOR^8$;

R^{2H} представляет собой фтор;

R^3 представляет собой метил;

R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А;

кольцо А представляет собой C_{3-6} циклоалкил или насыщенное 4-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее один гетероатом, выбранный из О и N;

R^6 представляет собой водород;

R^7 представляет собой водород или метил; и

R^8 представляет собой метил.

В другом варианте осуществления

R^1 выбран из морфолин-4-ила и 3-метилморфолин-4-ила;

n равняется 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород;

R^{2B} представляет собой водород;

R^{2C} представляет собой водород;

R^{2D} представляет собой водород;

R^{2E} представляет собой водород;

R^{2F} представляет собой водород;

R^{2G} выбран из $-NH_2$, $-NHMe$ и $-NHCOMe$;

R^{2H} представляет собой фтор;

R^3 представляет собой метил;

R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А;

кольцо А представляет собой C_{3-6} циклоалкил или насыщенное 4-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее один гетероатом, выбранный из О и N; и

R^6 представляет собой водород.

В другом варианте осуществления

R^1 выбран из морфолин-4-ила и 3-метилморфолин-4-ила;

n равняется 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород;

R^{2B} представляет собой водород;

R^{2C} представляет собой водород;

R^{2D} представляет собой водород;

R^{2E} представляет собой водород;

R^{2F} представляет собой водород;

R^{2G} выбран из $-NHR^7$ и $-NHCOR^8$;

R^{2H} представляет собой фтор;

R^3 представляет собой метил;

R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А;

кольцо А представляет собой циклопропильное, циклобутильное, цикlopентильное, оксетанильное, тетрагидрофурильное, тетрагидропиранильное, азетидинильное, пирролидинильное или пиперидинильное кольцо.

R^6 представляет собой водород;

R^7 представляет собой водород или метил; и

R^8 представляет собой метил.

В другом варианте осуществления

R^1 выбран из морфолин-4-ила и 3-метилморфолин-4-ила;

n равняется 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород;

R^{2B} представляет собой водород;

R^{2C} представляет собой водород;

R^{2D} представляет собой водород;

R^{2E} представляет собой водород;

R^{2F} представляет собой водород;

R^{2G} выбран из $-NH_2$, $-NHMe$ и $-NHCOMe$;

R^{2H} представляет собой фтор;

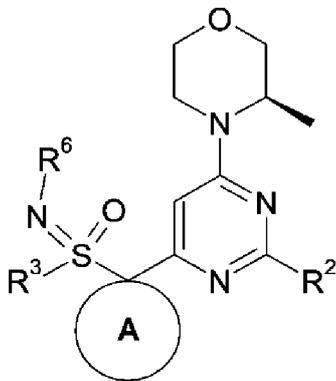
R^3 представляет собой метил;

R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А;

кольцо А представляет собой циклопропильное, циклобутильное, цикlopентильное, оксетанильное, тетрагидрофурильное, тетрагидропиранильное, азетидинильное, пирролидинильное или пиперидинильное кольцо; и

R^6 представляет собой водород.

В другом варианте осуществления соединения формулы (I) представляют собой соединения формулы (Ia),

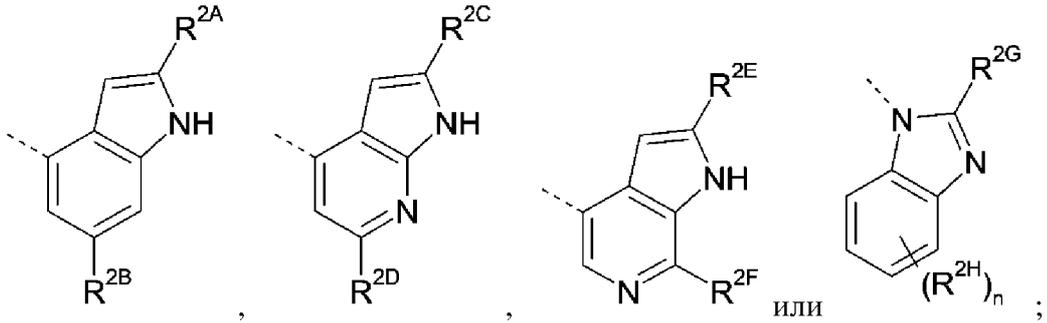


(Ia),

или их фармацевтически приемлемую соль, в которых:

кольцо А представляет собой циклопропильное, тетрагидропиранильное или пиперидинильное кольцо;

R^2 представляет собой



n равняется 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород;

R^{2B} представляет собой водород;

R^{2C} представляет собой водород;

R^{2D} представляет собой водород;

R^{2E} представляет собой водород;

R^{2F} представляет собой водород;

R^{2G} выбран из $-NHR^7$ и $-NHCOR^8$;

R^{2H} представляет собой фтор;

R^3 представляет собой метильную группу;

R^6 представляет собой водород;

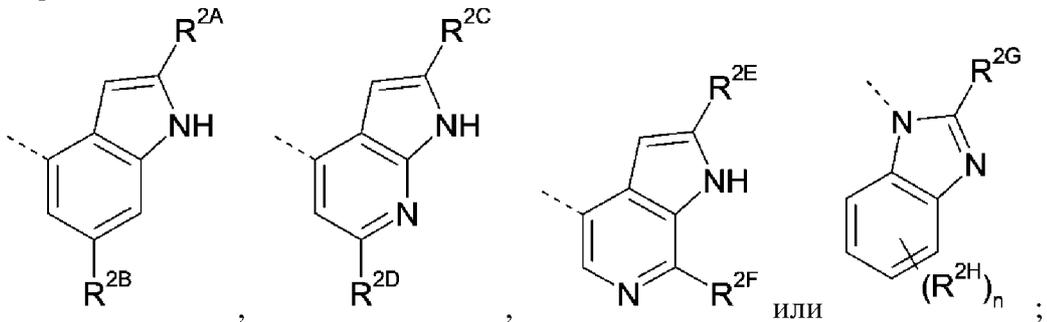
R^7 представляет собой водород или метил; и

R^8 представляет собой метил.

В другом варианте осуществления соединения формулы (I) представляют собой соединения формулы (Ia) или их фармацевтически приемлемую соль, в которых:

кольцо А представляет собой циклопропильное, тетрагидропиранильное или пиперидинильное кольцо;

R^2 представляет собой



n равняется 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород;

R^{2B} представляет собой водород;

R^{2C} представляет собой водород;

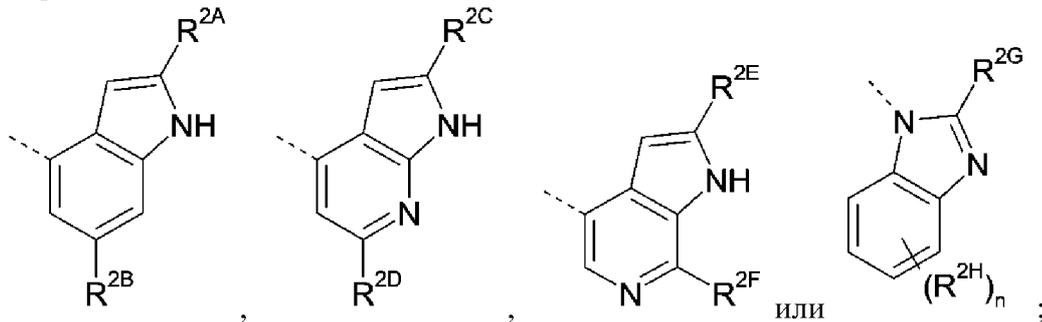
R^{2D} представляет собой водород;

- R^{2E} представляет собой водород;
 R^{2F} представляет собой водород;
 R^{2G} выбран из $-NH_2$, $-NHMe$ и $-NHCOMe$;
 R^{2H} представляет собой фтор;
 R^3 представляет собой метильную группу; и
 R^6 представляет собой водород.

В другом варианте осуществления соединения формулы (I) представляют собой соединения формулы (Ia) или их фармацевтически приемлемую соль, в которых:

кольцо А представляет собой циклопропильное, тетрагидропиранильное или пиперидинильное кольцо;

R^2 представляет собой



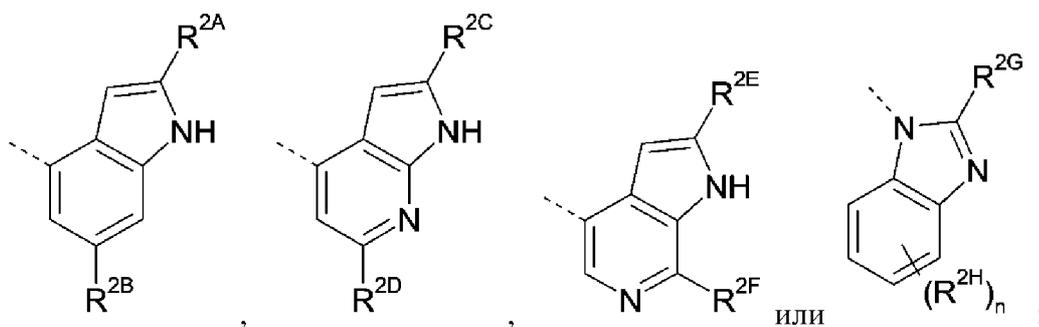
n равняется 0 или 1;

- R^{2A} представляет собой водород;
 R^{2B} представляет собой водород;
 R^{2C} представляет собой водород;
 R^{2D} представляет собой водород;
 R^{2E} представляет собой водород;
 R^{2F} представляет собой водород;
 R^{2G} представляет собой $-NHR^7$;
 R^{2H} представляет собой фтор;
 R^3 представляет собой метильную группу;
 R^6 представляет собой водород; и
 R^7 представляет собой водород.

В другом варианте осуществления соединения формулы (I) представляют собой соединения формулы (Ia) или их фармацевтически приемлемую соль, в которых:

кольцо А представляет собой циклопропильное кольцо;

R^2 представляет собой



n равняется 0;

R^{2A} представляет собой водород;

R^{2B} представляет собой водород;

R^{2C} представляет собой водород;

R^{2D} представляет собой водород;

R^{2E} представляет собой водород;

R^{2F} представляет собой водород;

R^{2G} представляет собой $-NHR^7$;

R^{2H} представляет собой фтор;

R^3 представляет собой метильную группу;

R^6 представляет собой водород; и

R^7 представляет собой метил.

В других вариантах осуществления ингибитор ATR, применяемый в настоящем изобретении, представляет собой соединение, выбранное из

4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[(R)-S-метилсульфонимидоил]метил}пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-b]пиридина;

4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((S)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-b]пиридина;

4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-b]пиридина;

N-метил-1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин;

N-метил-1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((S)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин;

4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-индола;

4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((S)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-индола;

1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин;

1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((S)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин;

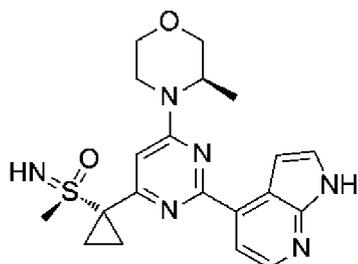
4-фтор-N-метил-1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-

метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; 4-фтор-N-метил-1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((S)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; 4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-(S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-с]пиридина; N-метил-1-{4-[1-метил-1-((S)-S-метилсульфонимидоил)этил]-6-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; N-метил-1-{4-[1-метил-1-((R)-S-метилсульфонимидоил)этил]-6-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; N-метил-1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[4-((S)-S-метилсульфонимидоил)тетрагидро-2H-пиран-4-ил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; N-метил-1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[4-((R)-S-метилсульфонимидоил)тетрагидро-2H-пиран-4-ил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; 4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[4-((S)-S-метилсульфонимидоил)тетрагидро-2H-пиран-4-ил]пиримидин-2-ил}-1H-индола; 4-фтор-N-метил-1-{4-[1-метил-1-((S)-S-метилсульфонимидоил)этил]-6-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; 4-фтор-N-метил-1-{4-[1-метил-1-((R)-S-метилсульфонимидоил)этил]-6-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; 6-фтор-N-метил-1-{4-[1-метил-1-((R)-S-метилсульфонимидоил)этил]-6-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; 5-фтор-N-метил-1-{4-[1-метил-1-((R)-S-метилсульфонимидоил)этил]-6-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; 5-фтор-N-метил-1-{4-[1-метил-1-((S)-S-метилсульфонимидоил)этил]-6-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; 6-фтор-N-метил-1-{4-[1-метил-1-((S)-S-метилсульфонимидоил)этил]-6-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; 6-фтор-N-метил-1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; 5-фтор-N-метил-1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; 5-фтор-N-метил-1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((S)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин; 6-фтор-N-метил-1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((S)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин и их фармацевтически приемлемых солей.

В других вариантах осуществления ингибитор АТР, применяемый в настоящем изобретении, представляет собой соединение, выбранное из

4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[(R)-(S-метилсульфонимидоил)метил]пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-b]пиридина;
 4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((S)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-b]пиридина;
 4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-b]пиридина;
 N-метил-1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-(R)-(S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин;
 N-метил-1-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-(S)-(S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-бензимидазол-2-амин
 и их фармацевтически приемлемых солей.

В предпочтительном варианте осуществления ингибитор ATR, применяемый в настоящем изобретении, представляет собой соединение AZD6738, 4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-b]пиридин, представленный следующей формулой:

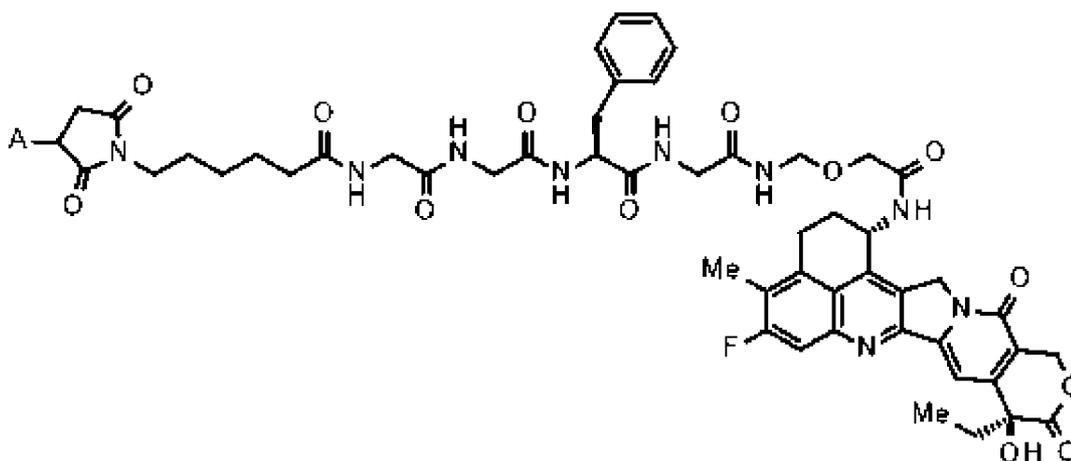


или его фармацевтически приемлемую соль.

Ингибиторы ATR, такие как соединения формулы (I), в том числе AZD6738, могут быть получены с помощью способов, известных в уровне техники, таких как раскрытые в WO 2011/154737.

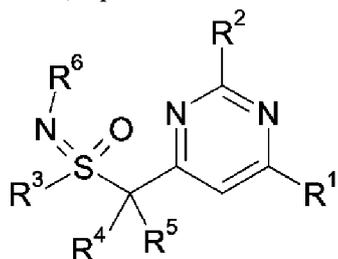
5. Комбинация конъюгата антитела и лекарственного средства и ингибитора ATR

В первом варианте осуществления комбинации настоящего изобретения конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, который комбинирован с ингибитором ATR, представляет собой конъюгат антитела и лекарственного средства, в котором фрагмент лекарственное средство-линкер представлен следующей формулой:



где А представляет собой положение присоединения к антителу, конъюгирован с антителом к HER2 посредством тиоэфирной связи.

В другом варианте осуществления комбинации конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, определенный выше для первого объединенного варианта осуществления, комбинирован с ингибитором ATR, который представляет собой соединение, представленное следующей формулой (I):

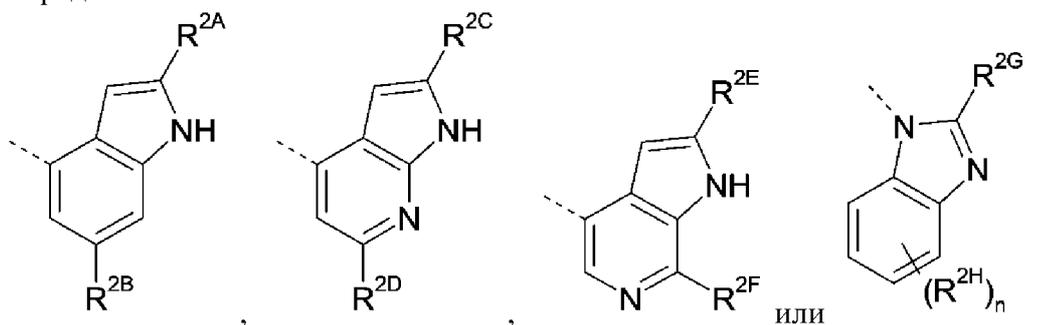


(I),

где

R^1 выбран из морфолин-4-ила и 3-метилморфолин-4-ила;

R^2 представляет собой



n равняется 0 или 1;

каждый из R^{2A} , R^{2C} , R^{2E} и R^{2F} независимо представляет собой водород или метил;

каждый из R^{2B} и R^{2D} независимо представляет собой водород или метил;

R^{2G} выбран из $-NHR^7$ и $-NHCOR^8$;

R^{2H} представляет собой фтор;

R^3 представляет собой метил;

каждый из R^4 и R^5 независимо представляет собой водород или метил, или R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А;

кольцо А представляет собой C_{3-6} циклоалкил или насыщенное 4-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее один гетероатом, выбранный из О и N;

R^6 представляет собой водород;

R^7 представляет собой водород или метил;

R^8 представляет собой метил,

или его фармацевтически приемлемую соль.

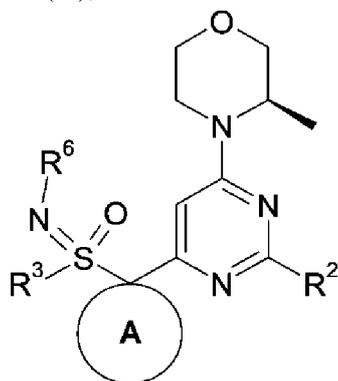
В другом варианте осуществления комбинации конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, определенный выше, комбинирован с ингибитором ATR, который представляет собой соединение, представленное формулой (I), определенное выше, где в формуле (I) R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А, и кольцо А представляет собой C_{3-6} циклоалкил или насыщенное 4-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее один гетероатом, выбранный из О и N.

В другом варианте осуществления комбинации конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, определенный выше, комбинирован с ингибитором ATR, определенным выше, где в формуле (I) R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А, и кольцо А представляет собой циклопропильное, тетрагидропиранильное или пиперидинильное кольцо.

В другом варианте осуществления комбинации конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, определенный выше, комбинирован с ингибитором ATR, определенным выше, где в формуле (I) R^{2A} представляет собой водород; R^{2B} представляет собой водород; R^{2C} представляет собой водород; R^{2D} представляет собой водород; R^{2E} представляет собой водород; и R^{2F} представляет собой водород.

В другом варианте осуществления комбинации конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, определенный выше, комбинирован с ингибитором ATR, определенным выше, где в формуле (I) R^1 представляет собой 3-метилморфолин-4-ил.

В другом варианте осуществления комбинации конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, определенный выше, комбинирован с ингибитором ATR, определенным выше, где соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (Ia),



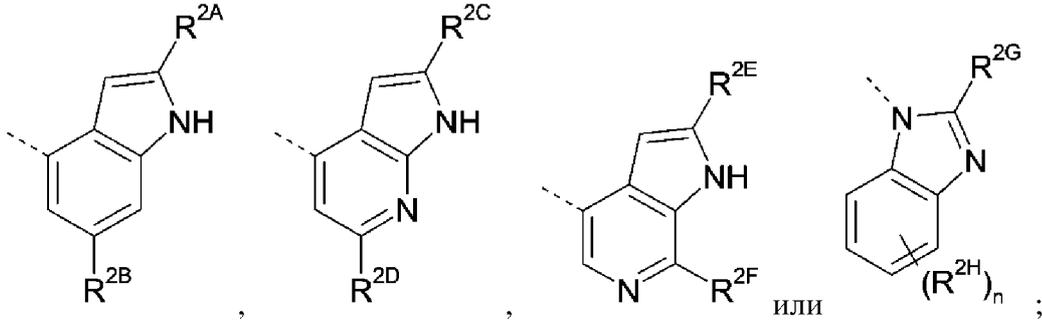
(Ia),

или его фармацевтически приемлемую соль.

В другом варианте осуществления комбинации конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, определенный выше, комбинирован с ингибитором ATR, определенным выше, где соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (Ia), где в формуле (Ia):

кольцо А представляет собой циклопропильное кольцо;

R² представляет собой



n равняется 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород;

R^{2B} представляет собой водород;

R^{2C} представляет собой водород;

R^{2D} представляет собой водород;

R^{2E} представляет собой водород;

R^{2F} представляет собой водород;

R^{2G} представляет собой -NHR⁷;

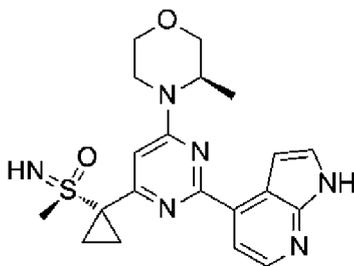
R^{2H} представляет собой фтор;

R³ представляет собой метильную группу;

R⁶ представляет собой водород; и

R⁷ представляет собой водород или метил.

В другом варианте осуществления комбинации конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, определенный выше, комбинирован с ингибитором ATR, определенным выше, где ингибитор ATR представляет собой AZD6738, представленный следующей формулой:

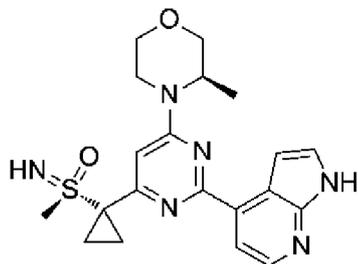


или его фармацевтически приемлемую соль.

В одном варианте осуществления каждого из объединенных вариантов

осуществления, описанных выше, антитело к HER2 содержит тяжелую цепь, содержащую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 3, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 4, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, содержащую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 6, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-3 в SEQ ID NO: 7, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 8. В другом варианте осуществления каждого из объединенных вариантов осуществления, описанных выше, антитело к HER2 содержит тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 10. В другом варианте осуществления каждого из объединенных вариантов осуществления, описанных выше, антитело к HER2 содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 2. В другом варианте осуществления каждого из объединенных вариантов осуществления, описанных выше, антитело к HER2 содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 2.

В конкретном предпочтительном варианте осуществления комбинации настоящего изобретения конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства представляет собой трастузумаб дерукстекал (DS-8201), а ингибитор ATR представляет собой соединение, представленное следующей формулой:



, также известное как AZD6738.

6. Терапевтическое комбинированное применение и способ

Далее описаны фармацевтический продукт, и терапевтическое применение, и способ, где конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства в соответствии с настоящим изобретением и ингибитор ATR вводят в комбинации.

Фармацевтический продукт, и терапевтическое применение, и способ по настоящему изобретению могут характеризоваться тем, что конъюгат антитела к HER2 и

лекарственного средства и ингибитор ATR по отдельности содержатся в качестве активных компонентов в разных составах и вводятся одновременно или в разные моменты времени, или могут характеризоваться тем, что конъюгат антитела и лекарственного средства и ингибитор ATR содержатся и вводятся в качестве активных компонентов в одном составе.

В фармацевтическом продукте и терапевтическом способе по настоящему изобретению отдельный ингибитор ATR, применяемый в настоящем изобретении, можно вводить в комбинации с конъюгатом антитела к HER2 и лекарственного средства, или два или более разных ингибиторов ATR можно вводить в комбинации с конъюгатом антитела и лекарственного средства.

Фармацевтический продукт и терапевтический способ по настоящему изобретению можно применять для лечения рака и предпочтительно можно применять для лечения по меньшей мере одного вида рака, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы (включая трижды негативный рак молочной железы и люминальный рак молочной железы), рака желудка (также называемого аденокарциномой желудка), колоректального рака (также называемого раком толстой и прямой кишки и включающего рак толстой кишки и рак прямой кишки), рака легкого (включая мелкоклеточный рак легкого и немелкоклеточный рак легкого), рака пищевода, рака головы и шеи (включая рак слюнной железы и рак глотки), аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчного протока (включая рак желчевыводящих путей), болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, карциносаркомы матки, уротелиального рака, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, гастроинтестинальной стромальной опухоли, рака шейки матки, плоскоклеточной карциномы, рака брюшины, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, карциномы тела матки, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака полового члена, лейкоза, злокачественной лимфомы, плазмцитомы, миеломы, глиомы, мультиформной глиобластомы, остеосаркомы, саркомы и меланомы, и более предпочтительно можно применять для лечения по меньшей мере одного вида рака, выбранного из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого (предпочтительно немелкоклеточного рака легкого), рака поджелудочной железы, рака яичника, рака предстательной железы и рака почки.

Присутствие или отсутствие опухолевых маркеров HER2 может быть определено, например, путем сбора опухолевой ткани у пациента с раком с подготовкой зафиксированных в формалине образцов, погруженных в парафин (FFPE), и подвергания образцов тестированию в отношении генных продуктов (белков), например, с помощью иммуногистохимического (ИHC) способа, проточной цитометрии или вестерн-блоттинга или тестированию в отношении транскрипции генов, например, с помощью способа гибридизации *in situ* (ISH), способа количественной ПЦР (q-PCR) или анализа на микрочипах или путем сбора бесклеточной циркулирующей опухолевой ДНК (ctDNA) у пациента с раком и подвергания ctDNA тестированию с помощью способа, такого как

секвенирование следующего поколения (NGS).

Фармацевтический продукт и терапевтический способ по настоящему изобретению можно применять для HER2-экспрессирующего рака, который может представлять собой HER2-сверхэкспрессирующий рак (сильно или умеренно) или может представлять собой рак с низкой экспрессией HER2.

В настоящем изобретении термин "HER2-сверхэкспрессирующий рак", в частности, не ограничен до тех пор, пока специалист в данной области считает его HER2-сверхэкспрессирующим раком. Предпочтительные примеры HER2-сверхэкспрессирующего рака могут включать рак, которому присвоен балл 3+ в отношении экспрессии HER2 в способе ИНС, и рак, которому присвоен балл 2+ в отношении экспрессии HER2 в способе ИНС и который определен как положительный в отношении экспрессии HER2 в способе гибридизации *in situ* (ISH). Способ гибридизации *in situ* по настоящему изобретению включает способ флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) и способ двухцветной флуоресцентной гибридизации *in situ* (DISH).

В настоящем изобретении термин "рак с низкой экспрессией HER2", в частности, не ограничен до тех пор, пока специалист в данной области считает его раком с низкой экспрессией HER2. Предпочтительные примеры рака с низкой экспрессией HER2 могут включать рак, которому присвоен балл 2+ в отношении экспрессии HER2 в способе ИНС и который определен как негативный в отношении экспрессии HER2 в способе гибридизации *in situ*, и рак, которому присвоен балл 1+ в отношении экспрессии HER2 в способе ИНС.

Способ выставления баллов экспрессии HER2 с помощью способа ИНС или способ определения позитивности или негативности экспрессии HER2 в способе гибридизации *in situ*, в частности, не ограничены до тех пор, пока они признаются специалистом в данной области. Примеры способа могут включать способ, описанный в 4-м издании руководства по тестированию HER2, для рака молочной железы (разработанный Японским сообществом по патологии для оптимального применения HER2 в отношении рака молочной железы).

Рак, в частности в отношении лечения рака молочной железы, может представлять собой HER2-сверхэкспрессирующий (сильно или умеренно) рак молочной железы, или рак молочной железы с низкой экспрессией HER2, или трижды негативный рак молочной железы, и/или может характеризоваться баллом статуса HER2, составляющим 3+ согласно ИНС, составляющим 2+ согласно ИНС, составляющим 1+ согласно ИНС, или составляющим больше 0 и меньше 1+ согласно ИНС.

Фармацевтический продукт и терапевтический способ по настоящему изобретению предпочтительно можно применять для млекопитающего, но более предпочтительно их применяют для человека.

Противоопухолевый эффект фармацевтического продукта и терапевтического способа по настоящему изобретению можно подтверждать путем трансплантации раковых клеток подопытному животному с получением модели и измерения снижения

объема опухоли или эффекта, представляющего собой продолжение срока жизни, в результате применения фармацевтического продукта и терапевтического способа по настоящему изобретению. А затем эффект комбинированного применения конъюгата антитела и лекарственного средства, применяемого в настоящем изобретении, и ингибитора ATR можно подтверждать путем сравнения противоопухолевого эффекта от отдельного введения конъюгата антитела и лекарственного средства, применяемого в настоящем изобретении, и такового от ингибитора ATR.

Противоопухолевый эффект фармацевтического продукта и терапевтического способа по настоящему изобретению может быть подтвержден в клиническом испытании с применением любого из способов оценки с использованием Критериев оценки ответа солидных опухолей на лечение (RECIST), способа оценки ВОЗ, способа оценки Макдональда, измерения веса тела и других подходов и может быть определен на основе показателей полного ответа (CR), частичного ответа (PR); прогрессирующего заболевания (PD), объективной степени ответа (ORR), продолжительности ответа (DoR), выживания без прогрессирования (PFS), общего выживания (OS) и так далее.

Путем применения указанных выше способов может быть подтверждено превосходство противоопухолевого эффекта у фармацевтического продукта и терапевтического способа по настоящему изобретению над существующими на сегодняшний день фармацевтическими продуктами и терапевтическими способами для лечения рака.

Фармацевтический продукт и терапевтический способ по настоящему изобретению может задерживать развитие раковых клеток, подавлять их рост и дополнительно уничтожать раковые клетки. Такие эффекты могут обеспечивать освобождение от симптомов, вызванных раком, у пациентов с раком или достижение улучшения качества жизни (QOL) у пациентов с раком и обеспечивать терапевтический эффект путем поддержания жизни пациентов с раком. Даже если фармацевтический продукт и терапевтический способ по настоящему изобретению не обеспечивают уничтожение раковых клеток, они могут обеспечивать достижение более высокого QOL у пациентов с раком с достижением более длительного выживания за счет подавления или контролирования роста раковых клеток.

Ожидается, что фармацевтический продукт по настоящему изобретению может оказывать терапевтический эффект путем применения в отношении пациентов в качестве системной терапии и, кроме того, путем местного применения в отношении раковых тканей.

Фармацевтический продукт по настоящему изобретению можно вводить, при этом он содержит по меньшей мере один фармацевтически подходящий ингредиент. Фармацевтически подходящим ингредиентом может быть соответствующим образом выбранное и примененное вещество из добавок для составления или т. п., которые в общем применяются в данной области техники, в соответствии с дозировкой, вводимой концентрацией или т. п. конъюгата антитела и лекарственного средства, применяемого в

настоящем изобретении, и ингибитора ATR. Конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, применяемый в настоящем изобретении, можно вводить, например, в виде фармацевтического продукта, содержащего буфер, такой как гистидиновый буфер, носитель, такой как сахароза и трегалоза, и поверхностно-активное вещество, такое как полисорбаты 80 и 20. Фармацевтический продукт, содержащий конъюгат антитела и лекарственного средства, применяемый в настоящем изобретении, предпочтительно можно применять в виде инъекции, более предпочтительно можно применять в виде водной инъекции или лиофилизированной инъекции и еще более предпочтительно можно применять в виде лиофилизированной инъекции.

В случае, где фармацевтический продукт, содержащий конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, применяемый в настоящем изобретении, представляет собой водную инъекцию, водную инъекцию предпочтительно можно разбавлять подходящим разбавителем, а затем предоставлять в виде внутривенной инфузии. Примеры разбавителя могут включать раствор декстрозы и физиологический солевой раствор, в качестве предпочтительного примера можно привести раствор декстрозы, и в качестве более предпочтительного примера можно привести 5% раствор декстрозы.

В случае, где фармацевтический продукт по настоящему изобретению представляет собой лиофилизированную инъекцию, необходимое количество лиофилизированной инъекции, заранее растворенной в воде для инъекций, предпочтительно можно разбавлять подходящим разбавителем, а затем предоставлять в виде внутривенной инфузии. Примеры разбавителя могут включать раствор декстрозы и физиологический солевой раствор, в качестве предпочтительного примера можно привести раствор декстрозы, и в качестве более предпочтительного примера можно привести 5% раствор декстрозы.

Примеры путей введения, применимых для введения фармацевтического продукта по настоящему изобретению, могут включать внутривенный, внутрикожный, подкожный, внутримышечный и внутрибрюшинный пути, и при этом внутривенные пути являются предпочтительными.

Конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, применяемый в настоящем изобретении, можно вводить человеку с интервалами от 1 до 180 дней, предпочтительно можно вводить с интервалами в неделю, две недели, три недели или четыре недели, и более предпочтительно можно вводить с интервалами в три недели. Конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, применяемый в настоящем изобретении, можно вводить в дозе, составляющей от приблизительно 0,001 до 100 мг/кг на введение, и предпочтительно можно вводить в дозе, составляющей от 0,8 до 12,4 мг/кг на введение. Например, конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства можно вводить один раз каждые три недели в дозе, составляющей 0,8 мг/кг, 1,6 мг/кг, 3,2 мг/кг, 5,4 мг/кг, 6,4 мг/кг, 7,4 мг/кг или 8 мг/кг, и предпочтительно можно вводить один раз каждые три недели в дозе, составляющей 5,4 мг/кг или 6,4 мг/кг.

Например, состав соединения-ингибитора ATR формулы (I), предназначенный для

перорального введения людям, в общем будет содержать, например, от 1 мг до 1000 мг активного ингредиента, смешанного с подходящим и целесообразным количеством вспомогательных веществ, которое может различаться от приблизительно 5 до приблизительно 98 процентов по весу от всей композиции. Для дополнительной информации о путях введения и схемах введения доз можно сослаться на главу 25.3 в томе 5 книги "Комплексная медицинская химия" (Corwin Hansch; Chairman of Editorial Board), Pergamon Press 1990.

Размер дозы, необходимый для терапевтического лечения конкретного болезненного состояния, неизбежно будет варьироваться в зависимости от субъекта, подвергаемого лечению, пути введения и тяжести заболевания, подвергаемого лечению. Может быть использована суточная доза ингибитора ATR, находящаяся в диапазоне 0,1-50 мг/кг. Например, в случае, где ингибитор ATR, применяемый в настоящем изобретении, представляет собой соединение AZD6738 или его фармацевтически приемлемую соль, ингибитор ATR предпочтительно можно вводить перорально дважды в день в дозе, составляющей 20 мг, 40 мг, 60 мг, 80 мг, 120 мг, 160 мг, 200 мг или 240 мг на введение.

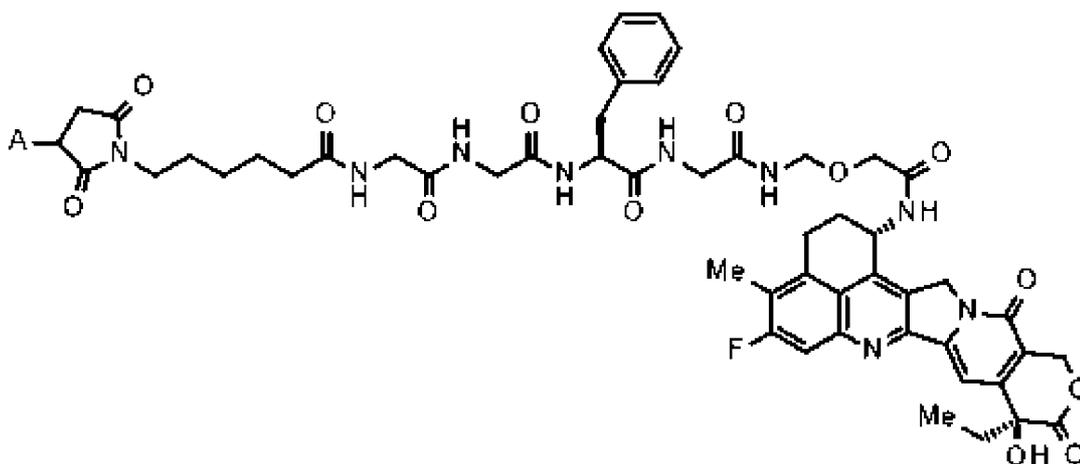
Фармацевтический продукт и терапевтический способ по настоящему изобретению можно применять в качестве адъювантной химиотерапии, комбинированной с хирургической операцией. Фармацевтический продукт по настоящему изобретению можно вводить с целью снижения размера опухоли перед хирургической операцией (что называется предоперационной адъювантной химиотерапией или неoadъювантной терапией) или можно вводить с целью предупреждения повторного возникновения опухоли после хирургической операции (что называется послеоперационной адъювантной химиотерапией или адъювантной терапией).

[Примеры]

Настоящее изобретение конкретно описано принимая во внимание примеры, показанные ниже. Однако, настоящее изобретение ими не ограничено. Кроме того, они ни в коем случае не должны толковаться ограничивающим образом.

Пример 1. Получение конъюгата антитела и лекарственного средства

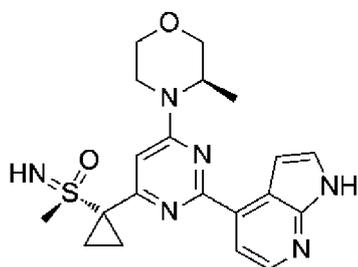
В соответствии со способом получения, описанным в WO 2015/115091, и с применением антитела к HER2 (антитела, содержащего тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 11 (аминокислотные остатки 1-449 в SEQ ID NO: 1), и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из всех аминокислотных остатков 1-214 в SEQ ID NO: 2) получали конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства, в котором фрагмент лекарственного средства-линкер, представленный следующей формулой:



где А представляет собой положение присоединения к антителу, конъюгирован с антителом к HER2 посредством тиоэфирной связи (DS-8201: трастузумаб дерукстекан). DAR конъюгата антитела и лекарственного средства составляет 7,7 или 7,8.

Пример 2. Получение ингибитора ATR

В соответствии со способом получения, описанным в WO 2011/154737) получали ингибитор ATR формулы (I). В частности, 4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-b]пиридин:



(AZD6738),

может быть получен в соответствии с примером 2.02 из WO 2011/154737.

Пример 3. Тестирование противоопухолевого эффекта (1)

Комбинация конъюгата антитела и лекарственного средства DS-8201 (трастузумаба дерукстекана) с ингибитором ATR AZD6738 (4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-b]пиридином)

Способ

Проводили высокопродуктивный скрининг комбинаций, в котором линии клеток рака молочной железы с разной экспрессией HER2 и одну линия клеток желудка с высокой экспрессией HER2 (таблица 1) обрабатывали комбинациями DS-8201 и AZD6738 (ингибитор ATR).

Таблица 1

Клеточная линия	Экспрессия HER2	Тип рака
KPL4	Высокая	Молочной железы (HER2)

		+))
NCI-N87	Высокая	Желудка
MDA-MB-468	Низкая	Молочной железы (TNB)
HCC1937	Низкая	Молочной железы (TNB)
HCC1954	Высокая	Молочной железы
HCC38	Амплификация/низкая	Молочной железы
T47D	Низкая	Молочной железы (ER+)

Показания скрининга представляли собой 7-дневный клеточный анализ жизнеспособности клеток Titer-Glo, проводимый в виде матрицы 6×6 доза-ответ для каждой комбинации (логарифмическое серийное разведение с 5 точками для DS-8201 и полулогарифмическое серийное разведение для соединений-партнеров).

Кроме того, также параллельно с AZD6738 подвергали скринингу трастузумаб и эксатекан (ДНК ингибитор топоизомеразы I).

Комбинированную активность оценивали на основе комбинации ΔE_{max} и баллов синергии согласно HSA.

Результаты

Результаты показаны на фигурах 12A - 12D и в таблице 2.

На фигурах 12A и 12B показаны матрицы измеренных сигналов жизнеспособности клеток. Ось X представляет собой лекарственное средство A (DS-8201), а ось Y представляет собой лекарственное средство B (AZD6738). Значения в рамке представляют собой соотношение клеток, обработанных лекарственными средствами A и B, по сравнению с контролем с DMSO в день 7. Все значения нормализованы относительно значений жизнеспособности клеток в день 0. Значения от 0 до 100 представляют собой подавление роста в %, а значения выше 100 представляют собой гибель клеток.

На фигурах 12C и 12D показаны матрицы избытка согласно HSA. Значения в рамке представляет собой значения избытка, рассчитанные с помощью модели HSA (наилучшее отдельное средство).

В таблице 2 ниже показаны баллы синергии согласно HSA и баллы аддитивности согласно Loewe.

Таблица 2

Клеточная линия	KPL4	NCI-N87	MDA-MB-468	HCC1937	HCC1954	HCC38	T47D
Балл синергии согласно HSA	42,0	45,1	7,2	6,5	30,4	9,3	2,7
Балл синергии	41,0	44,0	7,2	6,5	28,7	7,5	2,7

согласно Loewe							
-------------------	--	--	--	--	--	--	--

Аддитивность доз согласно Loewe предполагает ответ, если два соединения воздействуют на одну и ту же молекулярную мишень с помощью одного и того же механизма. С помощью нее рассчитывают аддитивность, предполагая нулевые взаимодействия между соединениями, и она является независимой от природы взаимосвязи доза-ответ.

HSA (наилучшее отдельное средство) [Berenbaum 1989] количественно рассчитывают согласно наилучшим из двух эффектов отдельных соединений при их соответствующих концентрациях. Комбинированный эффект сравнивают с эффектом каждого отдельного средства при концентрации, применяемой в комбинации. Избыточный эффект выше значения наилучшего отдельного средства указывает на кооперативность. HSA не требует влияния соединений на одну и ту же мишень.

Матрица избытка. Для каждой лунки в матрице концентраций измеренные или аппроксимированные значения сравнивают с прогнозируемыми значениями при отсутствии синергии для каждой пары концентраций. Прогнозируемые значения определяют с помощью выбранной модели. Отличия между прогнозируемыми и наблюдаемыми значениями могут указывать на синергию или антагонизм и показаны в матрице избытка. Значения в матрице избытка обобщенно представлены в виде комбинации баллов избыточного объема и балла синергии.

Как видно на фигурах 12A - 12D и в таблице 2, AZD6738 (AZ13386215) синергетически взаимодействовал с DS-8201, а также повышал гибель клеток в HER2+ клеточных линиях NCI-N87, KPL4 и HCC1954 при E_{max} (3 мкМ AZD6738 и 10 мкг/мл (0,064 мкМ) DS-8201). Комбинированная активность также наблюдалась при более низких концентрациях, где активность отдельных средств была низкой. Комбинация AZD6738 и DS-8201 также проявляла активность в клеточных линиях HCC1937, HCC38 и MDA-MB-468 с низкой экспрессией HER2. Полезный эффект комбинирования также наблюдался при E_{max} в ER+ клеточной линии T47D с низкой экспрессией HER2.

Результаты демонстрируют, что ингибирование ATR с применением AZD6738 усиливает противоопухолевую эффективность DS-8201 в клеточных линиях как с низкой, так и с высокой экспрессией HER2 *in vitro*. AZD6738 показал синергетическую комбинационную активность и повышенную гибель клеток в клеточных линиях с высокой экспрессией HER2. Полезная комбинационная активность также наблюдалась в линиях клеток рака с низкой экспрессией HER2.

Пример 4. Тестирование противоопухолевого эффекта (2)

Комбинация конъюгата антитела и лекарственного средства DS-8201 (трастузумаба дерукстекана) с ингибитором ATR AZD6738 (4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-b]пиридином)

DS-8201 или эксатекана мезилат тестировали отдельно и в комбинации с AZD6738 в линиях клеток рака с различными уровнями экспрессии HER2.

Способ

Клетки, выращенные в соответствующих для них условиях, высевали в 96-луночные планшеты при оптимальной плотности с обеспечением линейной пролиферации на протяжении всего анализа (4-8 дней; продолжительность обработки зависит от скорости роста каждой клеточной линии). Непосредственно после высевания в клетки вводили дозу указанных соединений в общем объеме 200 мкл/лунка и помещали в инкубатор. Комбинирование проводили в виде матрицы 6×8 концентрация-ответ для каждой комбинации. В конце исследования клетки фиксировали в 2% PFA в течение 20 минут при комнатной температуре. С целью получения количества клеток в начале обработки для каждого эксперимента применяли один дополнительный планшет и фиксировали после прикрепления клеток. Затем клетки пермеабелизировали в 0,5% Triton-X100 в PBS в течение 10 минут. После промывки с помощью PBS клетки блокировали в 5% FBS в PBS 1 ч при к. т. и инкубировали с первичными антителами в 5% FBS+0,05% Triton в течение ночи при 4°C. После 3 промывок в PBS клетки инкубировали со вторичными антителами в 5% FBS+0,05% Triton с Hoechst33258 в течение 1 ч при комнатной температуре. После 3 промывок в PBS клетки сканировали с помощью прибора Cellinsight с использованием объектива 10x и 9 полей/лунка. Изображения анализировали с применением Columbus для подсчета клеток на основе окрашивания ядра с помощью Hoechst и изучали интенсивность других биомаркеров в ядре. Общее количество клеток/лунка применяли для расчета относительного роста в каждой лунке по сравнению с контролем с растворителем. Для расчета баллов синергии анализировали данные о подавлении роста с применением программного обеспечения Combenefit (Di Veroli GY et al., *Bioinformatics* 2016, 32(18), 2866-8). Среднее значение суммарной интенсивности биомаркеров IF в ядре на лунку также выражали относительно контроля с растворителем.

Результаты

Результаты показаны на фигурах 13-15 и в таблицах 3 и 4.

В таблице 3 ниже показаны виды активности DS-8201, эксатекана и AZD6738 ATR в качестве монотерапии для клеточных линий, применяемых в исследованиях *in vitro*.

Таблица 3

Клеточная линия	Тип опухоли	Экспрессия HER2	GI ₅₀ DS-8201 (нг/мл)	GI ₅₀ эксатекана мезилата (нМ)	GI ₅₀ AZD6738 (нМ)
NCI-N87	Желудка	Высокая	19	0,503	436
KPL4	Молочной железы	Высокая	44	1,181	больше 3000
MDA-MB-468	Молочной железы	Низкая	3367	0,162	2066

SK-OV-3	Яичника	Умеренная	4674	0,914	1012
JMT-1	Молочной железы	Экспрессируется	22609	0,745	788
DU145	Предстательной железы	Низкая	18361	0,564	Н. о.
DU145-SLFN11 KO (нокаут гена SLFN11 с помощью CRISPR-Cas9)	Предстательной железы	Низкая	17080	0,450	Н. о.

*Н. о.: не определяли

На фигуре 13 показаны матрицы синергии для комбинаций с DS-8201 и AZD6738 (ингибитор ATR) в клеточной линии KPL4 с высокой экспрессией HER2.

На фигуре 13 (А) показаны относительные общие количества клеток (ядер) в виде процентной доли контроля со средой-носителем DMSO (контроль=100%, отсутствие оставшихся клеток=0%; темные участки представляют собой области с очень низким общим количеством клеток), а на (В) показаны матрицы синергии для баллов согласно Loewe, Bliss и HSA (более высокий=большая синергия; темные участки представляют собой области с высокой комбинационной синергией).

В таблице 4 ниже показана общая сумма баллов синергии (Loewe, Bliss и HSA) для DS-8201 в комбинации с AZD6738.

Таблица 4

Клеточная линия	DS-8201 +AZD6738	DS-8201 +AZD6738	DS-8201 +AZD6738
	Loewe	Bliss	HSA
KPL4	134,64	136,77	152,08
MDA-MB-468	3,17	20,81	33,94
SK-OV-3	25,95	28,15	46,21
JMT-1	23,33	26,03	32,23

На фигуре 14 показано кратное изменение общего количества клеток, остающихся после 4-8 дней обработки, по сравнению с точкой отсчета для комбинаций DS-8201 с AZD6738 в (А) клеточной линии KPL4 с высокой экспрессией HER2 и (В) HER2-негативной клеточной линии MDA-MB-468. Положительные значения указывают на рост (кратное повышение), нулевое значение указывает на цитостазис, а отрицательные значения представляют собой общую утрату клеток и идентификатор гибели клеток. Участки в рамках показывают области цитостазиса или утраты клеток для комбинации по сравнению со средствами монотерапии.

На фигуре 15 показаны индукция АТМ-зависимой передачи сигнала KAP1 pSer824, биомаркеры повреждения, представляющего собой двухнитевой разрыв ДНК (γ H2AX), или процентная доля количества клеток с такими повреждениями (по сравнению с контролем с растворителем) для комбинаций DS-8201 с AZD6738 в (А) клеточной линии KPL4 с высокой экспрессией HER2 или (В) клеточной линии MDA-MB-468 с низкой экспрессией HER2. Участки в рамках показывают области повышенной индукции ответа на повреждение ДНК, повреждения ДНК или утраты клеток для комбинации по сравнению со средствами монотерапии.

В соответствии с результатами выше в моделях на основе линии клеток рака молочной железы KPL4 с высокой экспрессией HER2 синергетическую активность и гибель клеток наблюдали при клинически значимых концентрациях DS-8201 (и эксатекана) в комбинации с ингибитором АТМ AZD6738. Кроме того, DS-8201 (и эксатекан) индуцировали зависимым от концентрации образом биомаркеры АТМ (KAP1 pSer824) активацию и разрывы двухнитевой ДНК (γ H2AX), которые дополнительно усиливались в комбинации с AZD6738. В HER2-отрицательной линии клеток рака молочной железы MDA-MB-468 слабую комбинационную активность и слабую активацию пути ответа на повреждение ДНК наблюдали в комбинации с DS-8201, в то же время эксатекан все еще проявлял комбинационную активность, что подтверждает зависимость у DS-8201 от нацеливания на HER2 и опухоль, но не в отсутствие эксатекана. Такие данные показывают сильную потенциацию активности с помощью DS-8201 в комбинации с ингибитором АТМ AZD6738, который зависим от экспрессии HER2 в опухоли и, следовательно, может обеспечивать повышенный терапевтический индекс по сравнению с отдельными ингибиторами топоизомеразы-I.

Пример 5. Тестирование противоопухолевого эффекта (3) - in vivo

Комбинация конъюгата антитела и лекарственного средства DS-8201 (трастузумаба дерукстекана) с ингибитором АТМ AZD6738 (4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-b]пиридином)

Способ

Использовали самок "голых" мышей (Charles River) возрастом 5-8 недель, через 7 дней привыкания перед вхождением в исследование. 1×10^7 опухолевых клеток NCI-N87 (1:1 в Matrigel) имплантировали подкожно в бок самок "голых" мышей. Когда размер опухолей достигал примерно 150 мм^3 , опухоли подобного размера произвольным образом распределяли на группы обработки, как показано в таблице 5.

Таблица 5

Обработка	Доза	Путь введения	Режим дозирования (28 дней)
Среда-носитель	----	IV+PO	Однократная доза+ BID
DS-8201	3 мг/кг	IV	Однократная доза

DS-8201	1 мг/кг	IV	Однократная доза
AZD6738	25 мг/кг	PO	VID (14 д. вводили/14 д. не вводили)
DS-8201+AZD6738	1 мг/кг или 3 мг/кг+25 мг/кг	IV+PO	Однократная доза + VID (14 д. вводили/14 д. не вводили)

Дозу соединения для каждого животного рассчитывали на основе веса тела индивидуума в день введения доз. Введение доз VID (дважды в день) проводили с интервалом в 8 часов. DS-8201 и AZD6738 вводили в тот же день, при этом DS-8201 вводили примерно через 1 час после дозы AZD6738 AM PO. Любых животных, получающих обработку с помощью AZD6738, содержали на влажной диете в течение 24 часов перед введением доз до завершения периода введения доз. Продолжительность введения доз составляла 28 дней (1 цикл), если не указано иное.

Составление DS-8201 при 3 мг/кг и 1 мг/кг

Растворы для введения DS-8201 получали в день введения доз путем разбавления исходного раствора DS-8201 (20,1 мг/мл) в 25 мМ гистидинового буфере, 9% сахарозе (pH 5,5) до 0,6 мг/мл и 0,2 мг/мл для 3 мг/кг и 1 мг/кг растворов для введения соответственно. Каждый раствор для введения хорошо смешивали с применением пипетки перед введением с помощью инъекции IV в объеме дозы 5 мл/кг.

Составление AZD6738 при 25 мг/кг

Для составления 25 мг/кг раствора для введения получали AZD6738 в концентрации 2,5 мг/мл, что обеспечивало объем дозы 10 мл/кг для введения доз PO. DMSO (10% от общего объема среды-носителя) добавляли к соединению и хорошо смешивали с помощью пестика для гранул. Требовалась обработка ультразвуком в течение примерно 5 минут для полного растворения соединения. После чего добавляли пропиленгликоль (40% от общего объема среды-носителя) и хорошо смешивали с применением магнитной мешалки. Добавляли стерильную воду в объеме 10 мл в стеклянный флакон Wheaton для вымывания любого оставшегося соединения из флакона, затем переносили в стеклянную бутылку. Оставшийся общий объем стерильной воды (50% от конечного объема среды-носителя) добавляли в стеклянную бутылку и хорошо смешивали с применением магнитной мешалки. Раствор для введения защищали от света и сохраняли при комнатной температуре в течение не более 7 дней при непрерывном перемешивании. Конечная форма для введения 25 мг/кг AZD6738 представляла собой прозрачный раствор со слабым желтым оттенком.

Измерения

Подавление роста опухоли (TGI) от начала исследования до дня измерения опухоли оценивали путем сравнения среднего геометрического значения изменения объема опухоли для контрольной и обработанной групп. Значения регресса опухоли рассчитывали в виде процентной доли снижения объема опухоли от исходного значения

(перед обработкой):

$$\% \text{ регресса} = (1 - \text{RTV}) * 100\%,$$

где RTV=среднее геометрическое значение относительного объема опухоли.

Статистическую значимость оценивали с применением одностороннего t-критерия ($\log(\text{относительный объем опухоли}) = \log(\text{конечный объем}/\text{начальный объем})$) в день конечного измерения, сравнивая с контролем со средой носителем.

Результаты

Значения объема опухоли для обработок с помощью DS-8201 и/или AZD6738 показаны на фигуре 16. Данные представляют собой изменение объема опухоли с течением времени для групп обработки. Пунктирная линия на фигуре 16 представляет собой момент завершения периодов введения доз. Полную информацию о дозах и режимах введения смотрите в таблице 5 выше. Показанные значения представляют собой среднее значение \pm SEM; изначально n=10 для мышей, обработанных средой-носителем, и n=8 для всех других групп обработки.

Наилучшие ответы с TGI (максимальное TGI/регресс) после обработки с помощью DS-8201 или AZD6738 отдельно или с помощью DS-8201 в комбинации с AZD6738 в ксенотрансплантате NCI-N87 показаны в таблице 6.

Таблица 6

Группа обработки	Наилучший ответ % TGI/регресса	Наилучший ответ, дни после обработки	р-значение по сравнению с носителем	Значимость
DS-8201 3 мг/кг	84	33	0,00071	***
DS-8201 1 мг/кг	22	37	0,025	*
AZD6738 25 мг/кг	62	40	меньше 0,0001	***
DS-8201 1 мг/кг+AZD6738 25 мг/кг	75	30	меньше 0,0001	***
DS-8201 3 мг/кг+AZD6738 25 мг/кг	120 (регресс)	33	меньше 0,0001	***

Монотерапия с помощью DS-8201 при 3 мг/кг показала максимальное подавление роста опухоли (TGI), составляющее 84%, в день 33 после обработки. DS-8201 при 1 мг/кг показал максимальное TGI, составляющее 22%, в день 37 после обработки. Монотерапия

AZD6738 обеспечивала достижение максимального TGI, составляющего 62%, в день 40 после обработки. Комбинированная обработка с помощью DS-8201 при 1 мг/кг приводила к значительному снижению NCI-N87-опухолевой нагрузки по сравнению с контрольными мышами, обработанными средой-носителем, при этом значительный эффект наблюдался при 1 мг/кг DS-8201+AZD6738 с максимальным TGI, составляющим 75%, через 30 дней после обработки.

Комбинированная терапия с применением более высокой дозы DS-8201, составляющей 3 мг/кг, с AZD6738 обеспечивала достижение регресса опухоли с максимальным TGI, составляющим 120%, в день 33 после обработки и показывала лучший ответ, чем любое из соответствующих средств монотерапии.

Все группы обработки характеризовались переносимостью, и не наблюдалось систематических отличий средних значений веса тела между группами с носителем, средством монотерапии или комбинацией.

Пример 6. Ингибирование передачи сигнала ATR

Комбинация DS-8201 с ингибитором ATR AZD6738

Способ

Линии клеток рака желудка NCI-N87 и карциномы молочной железы KPL4 культивировали в RPMI 1640, дополненном 10% FCS, в инкубаторе с высокой влажностью при 37°C с 5% CO₂. Клетки высевали в 6-луночные планшеты при оптимальной плотности с обеспечением линейной пролиферации на протяжении всего анализа. Через два дня после высевания в клетки вводили дозы указанных соединений (AZD6738 отдельно или в комбинации с DS-8201 или эксцелтаном мезилатом) и помещали обратно в инкубатор. Через 7 ч, 24 ч или 48 ч после введения доз получали экстракты из целых клеток путем лизирования в 50 мМ трис-HCl, pH 7,5, 2% SDS, содержащем ингибиторы протеазы и фосфатазы. Лизаты кипятили в течение 5 минут при 95°C. Концентрацию белка измеряли с применением Nanodrop при 240 нм и 50 мкг лизата загружали в гели с 4-12% бис-трис. Белки переносили с применением iBlot2. Первичные антитела (см. таблицу 7) инкубировали в течение ночи при 4°C в 3% молоке с 0,05% TBS-Tween, а HRP-конъюгированные вторичные антитела в течение 1 ч при комнатной температуре. Результаты блоттинга изображены с применением G-Box.

Таблица 7

Название мишени антитела	Вид хозяина	Номер по каталогу	Поставщик
ATR (P-Thr1989)	Кролик	GTX128145	GeneTex
CHK1 (P-Ser345) (клон 133D3)	Кролик	2348	Cell signalling (NEB)
KAP1 (P-Ser824)	Кролик	ab70369	Abcam
Rad50 (P-Ser635)	Кролик	14223	Cell signalling

			(NEB)
RPA 32 (P-Ser4/Ser8)	Кролик	A300-245A	Bethyl Laboratories
γ H2AX (P-Ser139) (клон JBW301)	Мышь	05-636	Merck Millipore
CHK2 (P-Thr68)	Кролик	2661	Cell signalling (NEB)
Моноклональные ATM phosphoSer 1981	Мышь	MAV3806	Millipore
p53 (P-Ser15) (клон 16G8)	Мышь	9286	Cell signalling (NEB)
CDC2 (P-Tyr15)	Кролик	4539	Cell signalling (NEB)

Результаты

Результаты показаны на фигуре 17, в виде изображений блоттинга антител, полученных с применением AZD6738 отдельно или в комбинации с DS-8201 (или эксцатеканом мезилатом) в клеточных линиях (А) NCI-N87 (рак желудка) и (В) KPL4 (карцинома молочной железы).

Как в NCI-N87 с высокой экспрессией Her2, так и в KPL4 влияние DS-8201 при 30 мкг/мл или поражающего элемента (эксцатекана мезилата) индуцировало активацию пути ATR, что показано путем повышения pATR-T1989 и pChk1-S345, и остановку клеточного цикла (pCdc2-Y15). Комбинация с AZD6738 при 1 мкМ ингибировала активацию pATR и pChk1 и остановку клеточного цикла, в то же время усиливая повреждение ДНК (pKap1, γ H2AX), что в конечном итоге приводило к повышенной гибели клеток (сCasp3).

Таким образом, показано, что AZD6738 ингибирует DS-8201-индуцированную передачу сигнала ATR.

Пример 7

Комбинированное введение конъюгата антитела и лекарственного средства DS-8201 (трастузумаба дерукстекана) с ингибитором ATR AZD6738 в гематопозитических стволовых клетках и клетках-предшественниках in vitro

Способ

Криоконсервированные клетки-предшественники CD34⁺ (Lonza) из костного мозга человека размораживали и оставляли для восстановления в течение ночи в поддерживающей среде (StemSpan SFEM II (Stem Cell Technologies), содержащей 25 нг/мл SCF, 50 нг/мл TPO и 50 нг/мл рекомбинантного белка Flt3-L человека (все от Peprotech)) в инкубаторе с повышенной влажностью при 37°C с 5% CO₂. В следующий день клетки ресуспендировали в присутствии лекарственного средства в средах, способных поддерживать дифференциацию эритроидных клеток (предпочтительно Cell Systems, ВТОР-BFU1-40Н), дифференциацию миелоидных клеток (предпочтительно Cell Systems,

ВТОР-GM1-40H) или дифференциацию мегакариоцитарных клеток (Stem Cell Technologies, 09707), при концентрации 5000 клеток/мл для эритроидных и миелоидных клеток или 15000 клеток/мл для мегакариоцитарных клеток. Клетки (100 мкл) высевали в трех повторностях в 96-луночные планшеты для культивирования тканей с белыми стенками и прозрачным дном (Corning) с добавлением DS-8201 (0,667, 0,222, 0,074, 0,025, 0,008 и 0 мкМ; что эквивалентно 100, 33,3, 11,1, 3,7, 1,23 и 0 мкг/мл соответственно) в комбинации с ингибитором ATR AZD6738/цераласертибом (1,11, 0,37, 0,123, 0,041, 0,014, 0 мкМ) в виде матрицы 6×6. Клетки культивировали в течение 5 дней в инкубаторе с повышенной влажностью при 37°C с 5% CO₂.

Жизнеспособность определяли с применением CellTiter-Glo 2.0 от Promega (с применением оптимизированного объема 10 мкл/луночка) с выявлением люминесценции с применением планшет-ридера Envision (Perkin Elmer). Относительный люминесцентный сигнал нормализовали в программном обеспечении Genedata Screener (Genedata) с получением процентной доли контрольных лунок (0 мкМ обоих соединений), при этом контрольное значение равнялось 0, а максимальное значение гибели клеток равнялось 100. Анализ синергии проводили с применением моделей Loewe, Bliss и наилучшего отдельного средства (HSA), при этом баллы синергии и матрицы избытка определяли путем сравнения отличия между наблюдаемой жизнеспособностью и таковой, прогнозируемой на основе несинергетического взаимодействия для каждой пары доз комбинации.

Результаты

На фигурах 18А и 18В показаны матрицы, полученные с помощью комбинированного введения DS-8201 с AZD6738 (цераласертиб) в первичных стволовых гематопозитических клетках CD34⁺ костного мозга и клетках-предшественниках, стимулированных к дифференциации в эритроидные, миелоидные или мегакариоцитарные линии дифференцировки. На фигуре 18А показаны измеренные сигналы жизнеспособности клеток, при этом ось X представляет собой концентрации лекарственного средства А (DS-8201), а ось Y представляет собой концентрации лекарственного средства В (AZD6738). Значения в рамках представляют собой % подавления роста в клетках, обработанных лекарственными средствами А и В, нормализованный относительно контрольных значений, которые равнялись 0, при этом значение максимальной гибели клеток равнялось 100. На фигуре 18В показаны матрицы избытка согласно HSA и Loewe, в которых значения в рамках представляют собой значения избытка, рассчитанные с помощью моделей аддитивности HSA и Loewe соответственно.

В таблице 8 показаны баллы аддитивности согласно HSA и баллы синергии согласно Loewe.

Таблица 8

Популяция клеток	Эритроидные клетки	Миелоидные клетки	Мегакариоцитарные клетки
------------------	--------------------	-------------------	--------------------------

Балл синергии согласно HSA	0,4	1,0	0,3
Балл синергии согласно Loewe	-0,3	0,2	-0,5

Синергетическая токсичность, наблюдаемая при совместной обработке с помощью DS-8201 и AZD6738 в первичных клетках CD34⁺ костного мозга, дифференцированных в любую линию дифференцировки, отсутствовала, при этом в случае комбинации гибель клеток возникала при активных дозах средств монотерапии и соответствовала прогнозируемому согласно Loewe синергетическому взаимодействию.

Таким образом, AZD6738 синергетическим образом не взаимодействует с DS-8201 в первичных стволовых гематопозитических клетках CD34⁺ костного мозга и клетках-предшественниках, стимулированных к дифференциации в эритроидные, миелоидные или мегакариоцитарные линии дифференцировки, что свидетельствует о том, что данная комбинация может быть ассоциирована с предпочтительным профилем безопасности.

Пример 8. Тестирование противоопухолевого эффекта (4)

Комбинация конъюгата антитела и лекарственного средства DS-8201 (трастузумаба дерукстекана) с ингибитором ATR AZD6738 (4-{4-[(3R)-3-метилморфолин-4-ил]-6-[1-((R)-S-метилсульфонимидоил)циклопропил]пиримидин-2-ил}-1H-пирроло[2,3-b]пиридином)

Способ

Проводили высокопродуктивный скрининг комбинаций, в котором NCI-H522, линию клеток рака легкого с низкой экспрессией HER2 (таблица 9) обрабатывали комбинациями DS-8201 и AZD6738.

Таблица 9

Клеточная линия	Экспрессия HER2	Тип рака
NCI-H522	Низкая	Аденокарцинома NSCLC

Показания скрининга представляли собой 7-дневный клеточный анализ жизнеспособности клеток Titer-Glo, проводимый в виде матрицы 6×6 доза-ответ для каждой комбинации (как DS-8201, так и AZD6738 применяли при полулогарифмических серийных разведениях).

Комбинированную активность оценивали на основе комбинации ΔE_{max} и баллов синергии согласно HSA.

Результаты

Результаты показаны на фигурах 19А и 19В и в таблице 10.

На фигуре 19А показана матрица измеренных сигналов жизнеспособности клеток. Ось X представляет собой лекарственное средство А (DS-8201), а ось Y представляет собой лекарственное средство В (AZD6738). Значения в рамке представляют собой соотношение клеток, обработанных лекарственными средствами А и В, по сравнению с контролем с DMSO в день 7. Все значения нормализованы относительно значений жизнеспособности клеток в день 0. Значения от 0 до 100 представляют собой подавление

роста в %, а значения выше 100 представляют собой гибель клеток.

На фигуре 19B показана матрица избытка согласно HSA. Значения в рамке представляет собой значения избытка, рассчитанные с помощью модели HSA (наилучшее отдельное средство).

В таблице 10 ниже показаны баллы аддитивности согласно HSA и баллы синергии согласно Loewe.

Таблица 10

Клеточная линия	NCI-H522
Балл синергии согласно HSA	13,78
Балл синергии согласно Loewe	12,87

Как видно на фигурах 19A и 19B и в таблице 10, AZD6738 синергетическим образом взаимодействовал с DS-8201 и также повышал гибель клеток в линии клеток легких с низкой экспрессией HER2.

Изложенное выше письменное описание считается достаточным, чтобы дать возможность специалисту в данной области реализовать на практике варианты осуществления. В изложенных выше описании и примерах подробно определены некоторые варианты осуществления и описан наилучший способ осуществления, предполагаемый авторами настоящего изобретения. Будет понятно, однако, что независимо от того, насколько подробно изложенное выше может быть представлено в тексте, варианты осуществления можно реализовать на практике множеством способов, а формула изобретения охватывает любые их эквиваленты.

Перечень последовательностей в развернутой форме

SEQ ID NO: 1 - аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела к HER2

SEQ ID NO: 2 - аминокислотная последовательность легкой цепи антитела к HER2

SEQ ID NO: 3 - аминокислотная последовательность CDRH1 тяжелой цепи [= аминокислотные остатки 26-33 в SEQ ID NO: 1]

SEQ ID NO: 4 - аминокислотная последовательность CDRH2 тяжелой цепи [= аминокислотные остатки 51-58 в SEQ ID NO: 1]

SEQ ID NO: 5 - аминокислотная последовательность CDRH3 тяжелой цепи [= аминокислотные остатки 97-109 в SEQ ID NO: 1]

SEQ ID NO: 6 - аминокислотная последовательность CDRL1 легкой цепи [= аминокислотные остатки 27-32 в SEQ ID NO: 2]

SEQ ID NO: 7 - аминокислотная последовательность, содержащая аминокислотную последовательность CDRL2 легкой цепи (SAS) [= аминокислотные остатки 50-56 в SEQ ID NO: 2]

SEQ ID NO: 8 - аминокислотная последовательность CDRL3 легкой цепи [= аминокислотные остатки 89-97 в SEQ ID NO: 2]

SEQ ID NO: 9 - аминокислотная последовательность вариабельной области

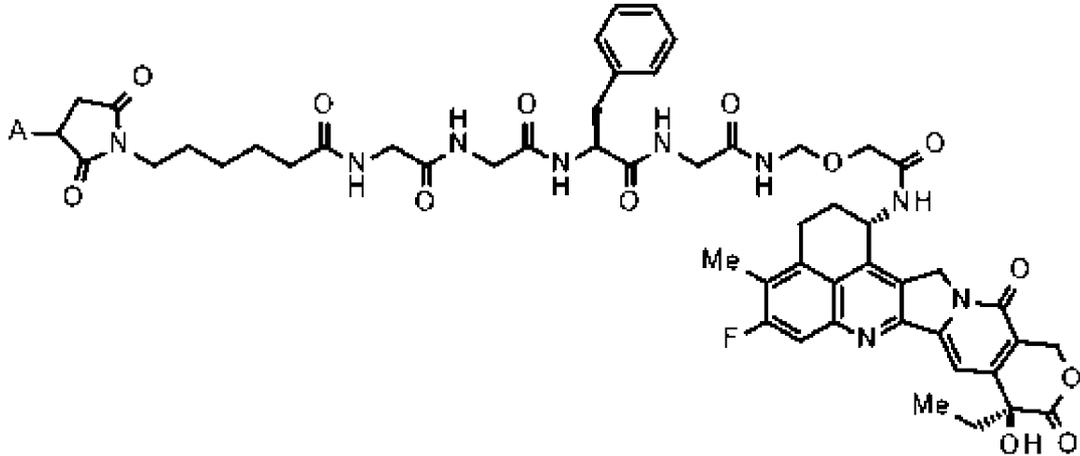
тяжелой цепи [= аминокислотные остатки 1-120 в SEQ ID NO: 1]

SEQ ID NO: 10 - аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи [= аминокислотные остатки 1-107 в SEQ ID NO: 2]

SEQ ID NO: 11 - аминокислотная последовательность тяжелой цепи [= аминокислотные остатки 1-449 в SEQ ID NO: 1]

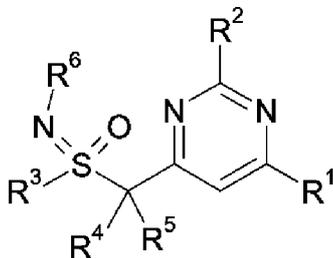
ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Фармацевтический продукт, содержащий конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR для введения в комбинации, где конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства представляет собой конъюгат антитела и лекарственного средства, в котором фрагмент лекарственное средство-линкер, представленный следующей формулой:



где А представляет собой положение присоединения к антителу, конъюгирован с антителом к HER2 посредством тиоэфирной связи.

2. Фармацевтический продукт по п. 1, где ингибитор ATR представляет собой соединение, представленное следующей формулой (I):

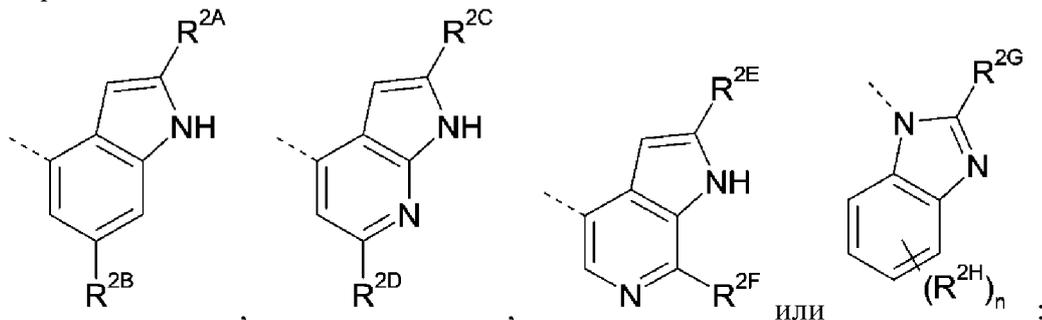


(I),

где

R^1 выбран из морфолин-4-ила и 3-метилморфолин-4-ила;

R^2 представляет собой



n равняется 0 или 1;

каждый из R^{2A} , R^{2C} , R^{2E} и R^{2F} независимо представляет собой водород или метил;

каждый из R^{2B} и R^{2D} независимо представляет собой водород или метил;

R^{2G} выбран из $-NHR^7$ и $-NHCOR^8$;

R^{2H} представляет собой фтор;

R^3 представляет собой метил;

каждый из R^4 и R^5 независимо представляет собой водород или метил, или R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А;

кольцо А представляет собой C_{3-6} циклоалкил или насыщенное 4-6-членное гетероциклическое кольцо, содержащее один гетероатом, выбранный из О и N;

R^6 представляет собой водород;

R^7 представляет собой водород или метил;

R^8 представляет собой метил,

или его фармацевтически приемлемую соль.

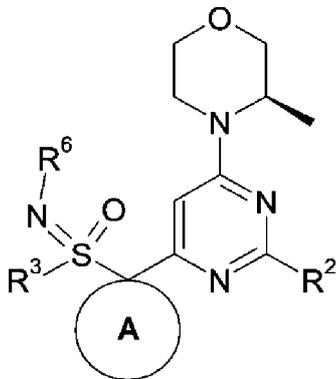
3. Фармацевтический продукт по п. 2, где в формуле (I) R^4 и R^5 вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют кольцо А, и кольцо А представляет собой C_{3-6} циклоалкил или насыщенное 4-6-гетероциклическое кольцо, содержащее один гетероатом, выбранный из О и N.

4. Фармацевтический продукт по п. 2 или п. 3, где в формуле (I) кольцо А представляет собой циклопропильное, тетрагидропиранильное или пиперидинильное кольцо.

5. Фармацевтический продукт по любому из пп. 2-4, где в формуле (I) R^{2A} представляет собой водород; R^{2B} представляет собой водород; R^{2C} представляет собой водород; R^{2D} представляет собой водород; R^{2E} представляет собой водород; и R^{2F} представляет собой водород.

6. Фармацевтический продукт по любому из пп. 2-5, где в формуле (I) R^1 представляет собой 3-метилморфолин-4-ил.

7. Фармацевтический продукт по любому из пп. 2-6, где соединение формулы (I) представляет собой соединение формулы (Ia):



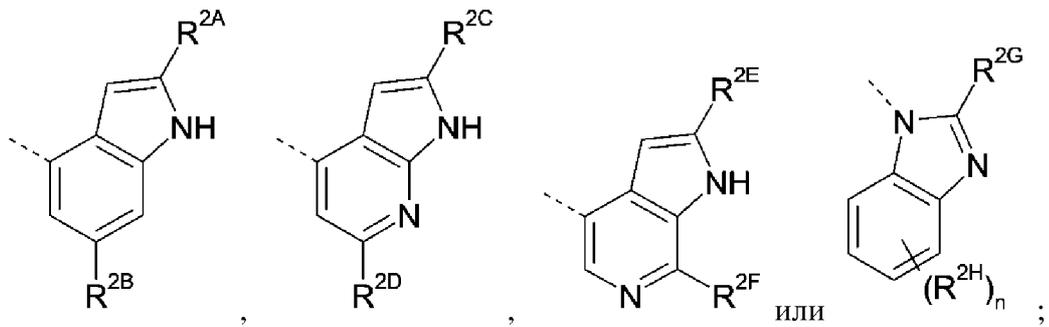
(Ia),

или его фармацевтически приемлемую соль.

8. Фармацевтический продукт по п. 7, где в формуле (Ia)

кольцо А представляет собой циклопропильное кольцо;

R^2 представляет собой



n равняется 0 или 1;

R^{2A} представляет собой водород;

R^{2B} представляет собой водород;

R^{2C} представляет собой водород;

R^{2D} представляет собой водород;

R^{2E} представляет собой водород;

R^{2F} представляет собой водород;

R^{2G} представляет собой $-NHR^7$;

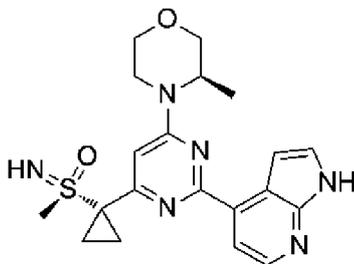
R^{2H} представляет собой фтор;

R^3 представляет собой метильную группу;

R^6 представляет собой водород; и

R^7 представляет собой водород или метил.

9. Фармацевтический продукт по п. 2, где ингибитор ATR представляет собой AZD6738, представленный следующей формулой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

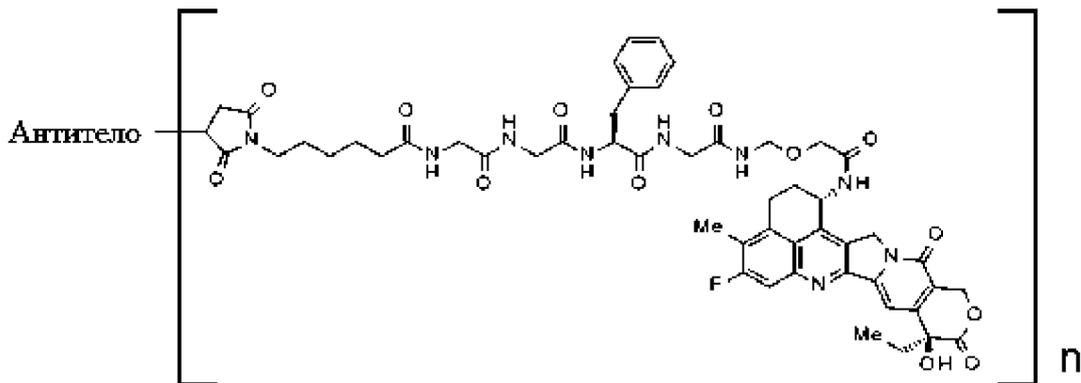
10. Фармацевтический продукт по любому из пп. 1-9, где антитело к HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую CDRH1, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 3, CDRH2, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 4, и CDRH3, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 5, и легкую цепь, содержащую CDRL1, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 6, CDRL2, состоящую из аминокислотной последовательности, состоящей из аминокислотных остатков 1-3 в SEQ ID NO: 7, и CDRL3, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 8.

11. Фармацевтический продукт по любому из пп. 1-9, где антитело к HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую вариабельную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 9, и легкую цепь, содержащую вариабельную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 10.

12. Фармацевтический продукт по любому из пп. 1-9, где антитело к HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 1, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 2.

13. Фармацевтический продукт по любому из пп. 1-9, где антитело к HER2 представляет собой антитело, содержащее тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 11, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности, представленной под SEQ ID NO: 2.

14. Фармацевтический продукт по любому из пп. 1-13, где конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства представлен следующей формулой:



где 'антитело' обозначает антитело к HER2, конъюгированное с фрагментом лекарственного средство-линкер посредством тиоэфирной связи, и n обозначает среднее количество звеньев фрагмента лекарственного средство-линкер, конъюгированных на молекулу антитела в конъюгате антитела и лекарственного средства, где n находится в диапазоне от 7 до 8.

15. Фармацевтический продукт по любому из пп. 1-14, где конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства представляет собой трастузумаб дерукстефан (DS-8201).

16. Фармацевтический продукт по любому из пп. 1-15, где продукт представляет собой композицию, содержащую конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR, для одновременного введения.

17. Фармацевтический продукт по любому из пп. 1-15, где продукт представляет собой комбинированный препарат, содержащий конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR для последовательного или одновременного введения.

18. Фармацевтический продукт по любому из пп. 1-17, где продукт предназначен

для лечения рака.

19. Фармацевтический продукт по п. 18, где рак представляет собой по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчного протока, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, карциносаркомы матки, уротелиального рака, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, гастроинтестинальной стромальной опухоли, стромальной опухоли пищеварительного тракта, рака шейки матки, плоскоклеточной карциномы, рака брюшины, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, карциномы тела матки, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака полового члена, лейкоза, злокачественной лимфомы, плазмоцитомы, миеломы, глиомы, мультиформной глиобластомы, остеосаркомы, саркомы и меланомы.

20. Фармацевтический продукт по п. 18, где рак представляет собой рак молочной железы.

21. Фармацевтический продукт по п. 20, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 3+.

22. Фармацевтический продукт по п. 20, где рак молочной железы представляет собой рак молочной железы с низкой экспрессией HER2.

23. Фармацевтический продукт по п. 20, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 2+.

24. Фармацевтический продукт по п. 20, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 1+.

25. Фармацевтический продукт по п. 20, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, который больше 0 и меньше 1+.

26. Фармацевтический продукт по п. 20, где рак молочной железы представляет собой трижды негативный рак молочной железы.

27. Фармацевтический продукт по п. 18, где рак представляет собой рак желудка.

28. Фармацевтический продукт по п. 18, где рак представляет собой колоректальный рак.

29. Фармацевтический продукт по п. 18, где рак представляет собой рак легкого.

30. Фармацевтический продукт по п. 29, где рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

31. Фармацевтический продукт по п. 18, где рак представляет собой рак поджелудочной железы.

32. Фармацевтический продукт по п. 18, где рак представляет собой рак яичника.

33. Фармацевтический продукт по п. 18, где рак представляет собой рак предстательной железы.

34. Фармацевтический продукт по п. 18, где рак представляет собой рак почки.

35. Фармацевтический продукт по п. 18, где раковые клетки рака являются SLFN11-дефицитными.

36. Фармацевтический продукт по п. 18, где экспрессия SLFN11 является более низкой в раковых клетках пациента по сравнению с экспрессирующими SLFN11 клетками пациента, отличными от раковых.

37. Фармацевтический продукт по любому из пп. 1-17 для применения в лечении рака.

38. Фармацевтический продукт для применения по п. 37, где рак представляет собой по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчного протока, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, карциносаркомы матки, уротелиального рака, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, гастроинтестинальной стромальной опухоли, стромальной опухоли пищеварительного тракта, рака шейки матки, плоскоклеточной карциномы, рака брюшины, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, карциномы тела матки, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака полового члена, лейкоза, злокачественной лимфомы, плазмцитомы, миеломы, глиомы, мультиформной глиобластомы, остеосаркомы, саркомы и меланомы.

39. Фармацевтический продукт для применения по п. 37, где рак представляет собой рак молочной железы.

40. Фармацевтический продукт для применения по п. 39, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 3+.

41. Фармацевтический продукт для применения по п. 39, где рак молочной железы представляет собой рак молочной железы с низкой экспрессией HER2.

42. Фармацевтический продукт для применения по п. 39, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 2+.

43. Фармацевтический продукт для применения по п. 39, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 1+.

44. Фармацевтический продукт для применения по п. 39, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, который больше 0 и меньше 1+.

45. Фармацевтический продукт для применения по п. 39, где рак молочной железы представляет собой трижды негативный рак молочной железы.

46. Фармацевтический продукт для применения по п. 37, где рак представляет собой рак желудка.

47. Фармацевтический продукт для применения по п. 37, где рак представляет собой колоректальный рак.

48. Фармацевтический продукт для применения по п. 37, где рак представляет собой рак легкого.

49. Фармацевтический продукт для применения по п. 48, где рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

50. Фармацевтический продукт для применения по п. 37, где рак представляет

собой рак поджелудочной железы.

51. Фармацевтический продукт для применения по п. 37, где рак представляет собой рак яичника.

52. Фармацевтический продукт для применения по п. 37, где рак представляет собой рак предстательной железы.

53. Фармацевтический продукт для применения по п. 37, где рак представляет собой рак почки.

54. Фармацевтический продукт для применения по п. 37, где раковые клетки рака являются SLFN11-дефицитными.

55. Фармацевтический продукт для применения по п. 37, где экспрессия SLFN11 является более низкой в раковых клетках пациента по сравнению с экспрессирующими SLFN11 клетками пациента, отличными от раковых.

56. Применение конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства или ингибитора ATR в изготовлении лекарственного препарата для введения конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитора ATR в комбинации, где конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR определены в любом из пп. 1-15, для лечения рака.

57. Применение по п. 56, где рак представляет собой по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчного протока, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, карциносаркомы матки, уротелиального рака, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, гастроинтестинальной стромальной опухоли, стромальной опухоли пищеварительного тракта, рака шейки матки, плоскоклеточной карциномы, рака брюшины, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, карциномы тела матки, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака полового члена, лейкоза, злокачественной лимфомы, плазмоцитомы, миеломы, глиомы, мультиформной глиобластомы, остеосаркомы, саркомы и меланомы.

58. Применение по п. 56, где рак представляет собой рак молочной железы.

59. Применение по п. 58, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 3+.

60. Применение по п. 58, где рак молочной железы представляет собой рак молочной железы с низкой экспрессией HER2.

61. Применение по п. 58, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 2+.

62. Применение по п. 58, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 1+.

63. Применение по п. 58, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, который больше 0 и меньше 1+.

64. Применение по п. 58, где рак молочной железы представляет собой трижды

негативный рак молочной железы.

65. Применение по п. 56, где рак представляет собой рак желудка.

66. Применение по п. 56, где рак представляет собой колоректальный рак.

67. Применение по п. 56, где рак представляет собой рак легкого.

68. Применение по п. 67, где рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

69. Применение по п. 56, где рак представляет собой рак поджелудочной железы.

70. Применение по п. 56, где рак представляет собой рак яичника.

71. Применение по п. 56, где рак представляет собой рак предстательной железы.

72. Применение по п. 56, где рак представляет собой рак почки.

73. Применение по п. 56, где раковые клетки рака являются SLFN11-дефицитными.

74. Применение по п. 56, где экспрессия SLFN11 является более низкой в раковых клетках пациента по сравнению с экспрессирующими SLFN11 клетками пациента, отличными от раковых.

75. Применение по любому из пп. 56-74, где лекарственный препарат представляет собой композицию, содержащую конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR, для одновременного введения.

76. Применение по любому из пп. 56-74, где лекарственный препарат представляет собой комбинированный препарат, содержащий конъюгат антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитор ATR для последовательного или одновременного введения.

77. Способ лечения рака, включающий введение конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитора ATR по любому из пп. 1-15 в комбинации субъекту, нуждающемуся в этом.

78. Способ по п. 77, где рак представляет собой по меньшей мере один, выбранный из группы, состоящей из рака молочной железы, рака желудка, колоректального рака, рака легкого, рака пищевода, рака головы и шеи, аденокарциномы пищеводно-желудочного перехода, рака желчного протока, болезни Педжета, рака поджелудочной железы, рака яичника, карциносаркомы матки, уротелиального рака, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, гастроинтестинальной стромальной опухоли, стромальной опухоли пищеварительного тракта, рака шейки матки, плоскоклеточной карциномы, рака брюшины, рака печени, гепатоцеллюлярного рака, карциномы тела матки, рака почки, рака вульвы, рака щитовидной железы, рака полового члена, лейкоза, злокачественной лимфомы, плазмоцитомы, миеломы, глиомы, мультиформной глиобластомы, остеосаркомы, саркомы и меланомы.

79. Способ по п. 77, где рак представляет собой рак молочной железы.

80. Способ по п. 79, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 3+.

81. Способ по п. 79, где рак молочной железы представляет собой рак молочной железы с низкой экспрессией HER2.

82. Способ по п. 79, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 2+.

83. Способ по п. 79, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, составляющим 1+.

84. Способ по п. 79, где рак молочной железы характеризуется баллом статуса HER2 согласно ИНС, который больше 0 и меньше 1+.

85. Способ по п. 79, где рак молочной железы представляет собой трижды негативный рак молочной железы.

86. Способ по п. 77, где рак представляет собой рак желудка.

87. Способ по п. 77, где рак представляет собой колоректальный рак.

88. Способ по п. 77, где рак представляет собой рак легкого.

89. Способ по п. 88, где рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

90. Способ по п. 77, где рак представляет собой рак поджелудочной железы.

91. Способ по п. 77, где рак представляет собой рак яичника.

92. Способ по п. 77, где рак представляет собой рак предстательной железы.

93. Способ по п. 77, где рак представляет собой рак почки.

94. Способ по п. 77, где раковые клетки рака являются SLFN11-дефицитными.

95. Способ по п. 77, где экспрессия SLFN11 является более низкой в раковых клетках пациента по сравнению с экспрессирующими SLFN11 клетками пациента, отличными от раковых.

96. Способ по любому из пп. 77-95, где способ включает введение конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитора ATR последовательно.

97. Способ по любому из пп. 77-95, где способ включает введение конъюгата антитела к HER2 и лекарственного средства и ингибитора ATR одновременно.

По доверенности

[Фигура 1]

SEQ ID NO: 1 – аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела к HER2

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVR
QAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSK
NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSLSPGK

[Фигура 2]

SEQ ID NO: 2 – аминокислотная последовательность легкой цепи антитела к HER2

DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRASQDVNTAVAWYQQ
KPGKAPKLLIYSASFLLYSGVPSRFSGSRSGTDFTLTIS
SLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQGTKVEIKRTVAAPS
VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN
ALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHK
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

[Фигура 3]

SEQ ID NO: 3 – аминокислотная последовательность CDRH1 тяжелой цепи

GFNIKDTY

[Фигура 4]

SEQ ID NO: 4 – аминокислотная последовательность CDRH2 тяжелой цепи

IYPTNGYT

[Фигура 5]

SEQ ID NO: 5 – аминокислотная последовательность CDRH3 тяжелой цепи

S R W G G D G F Y A M D Y

[Фигура 6]

SEQ ID NO: 6 – аминокислотная последовательность CDRL1 легкой цепи

Q D V N T A

[Фигура 7]

SEQ ID NO: 7 – аминокислотная последовательность, содержащая аминокислотную последовательность CDRL2 легкой цепи (SAS)

S A S F L Y S

[Фигура 8]

SEQ ID NO: 8 – аминокислотная последовательность CDRL3 легкой цепи

Q Q H Y T T P P T

[Фигура 9]

SEQ ID NO: 9 – аминокислотная последовательность варибельной области тяжелой цепи

E V Q L V E S G G G L V Q P G G S L R L S C A A S G F N I K D T Y I H W V R
Q A P G K G L E W V A R I Y P T N G Y T R Y A D S V K G R F T I S A D T S K
N T A Y L Q M N S L R A E D T A V Y Y C S R W G G D G F Y A M D Y W G Q G T
L V T V S S

[Фигура 10]

SEQ ID NO: 10 – аминокислотная последовательность варибельной области легкой цепи

D I Q M T Q S P S S L S A S V G D R V T I T C R A S Q D V N T A V A W Y Q Q
K P G K A P K L L I Y S A S F L Y S G V P S R F S G S R S G T D F T L T I S
S L Q P E D F A T Y Y C Q Q H Y T T P P T F G Q G T K V E I K

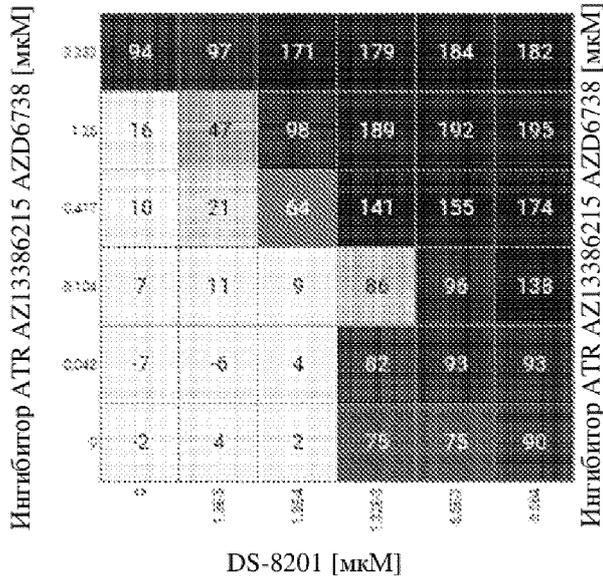
[Фигура 11]

SEQ ID NO: 11 – аминокислотная последовательность тяжелой цепи

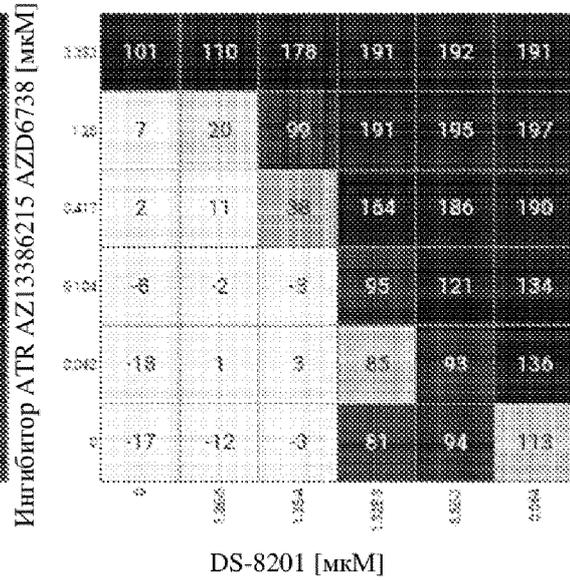
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVR
QAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADTSK
NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT
LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT
VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT
CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVV
VDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYR
VVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

[Фигура 12А]

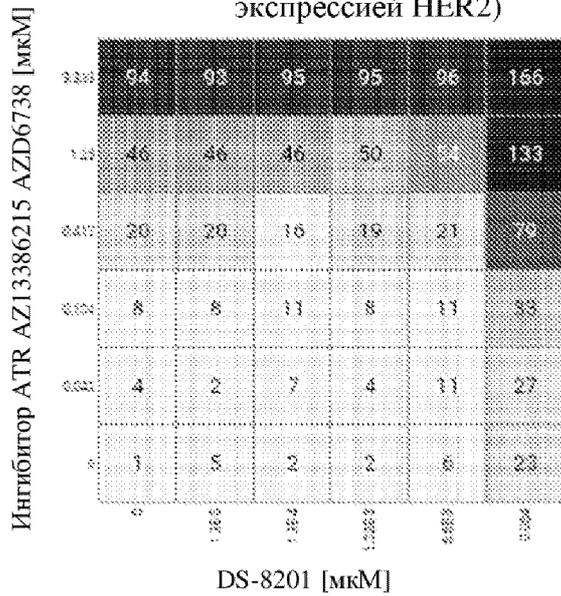
KPL4 (с высокой экспрессией HER2)



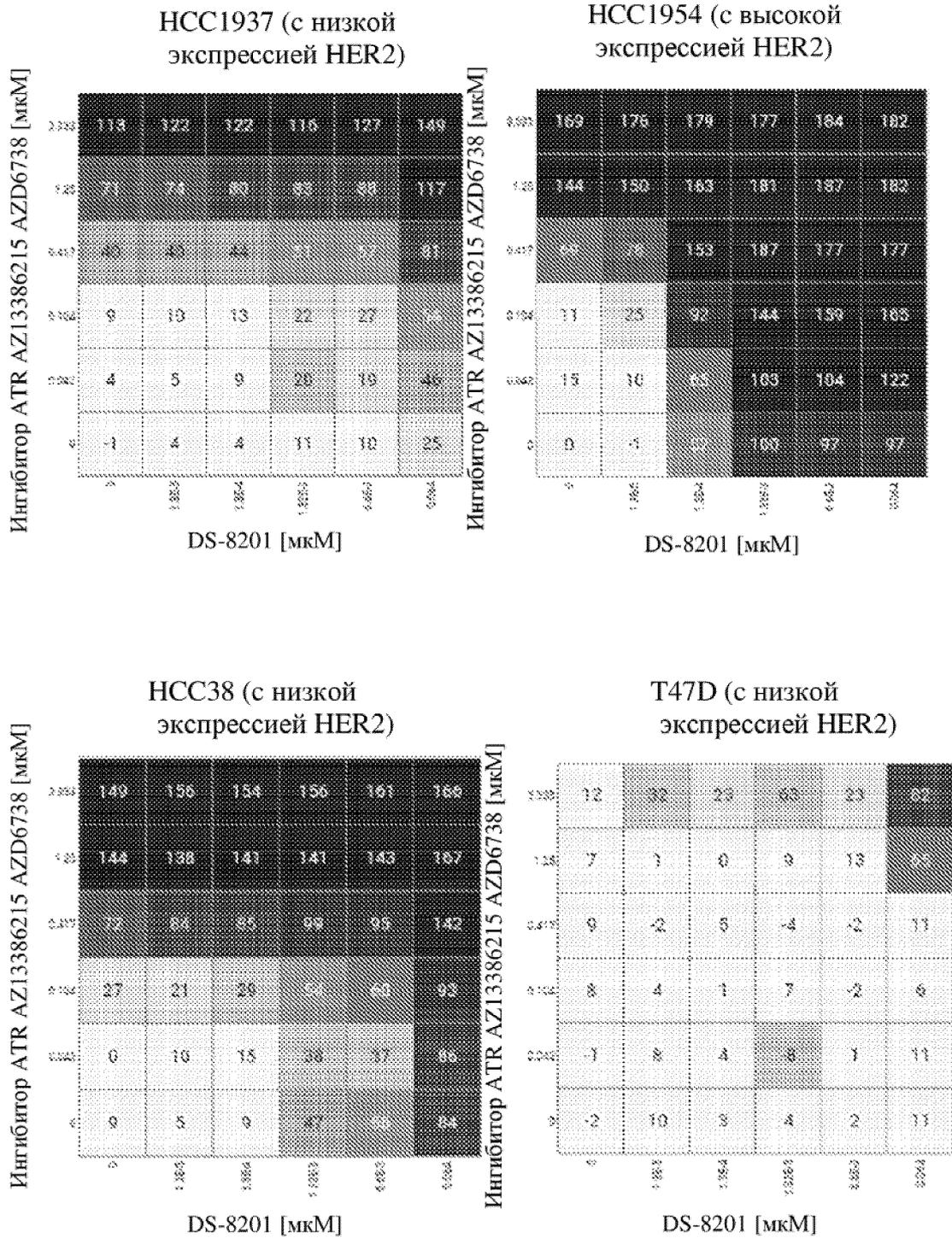
NCI-N87 (с высокой экспрессией HER2)



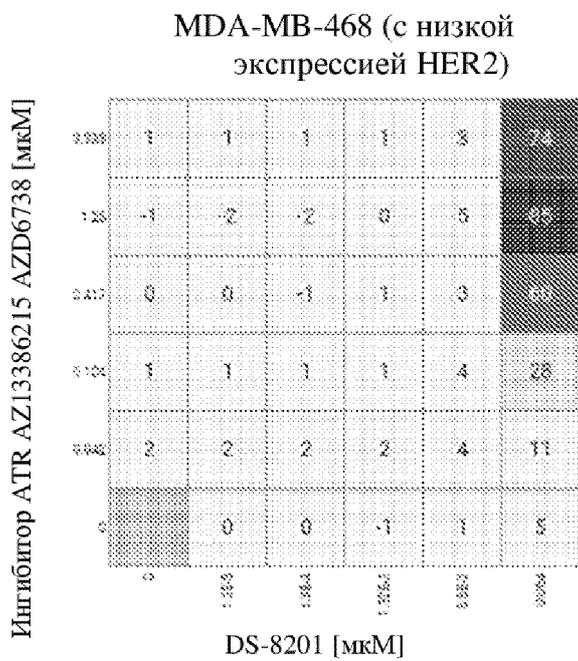
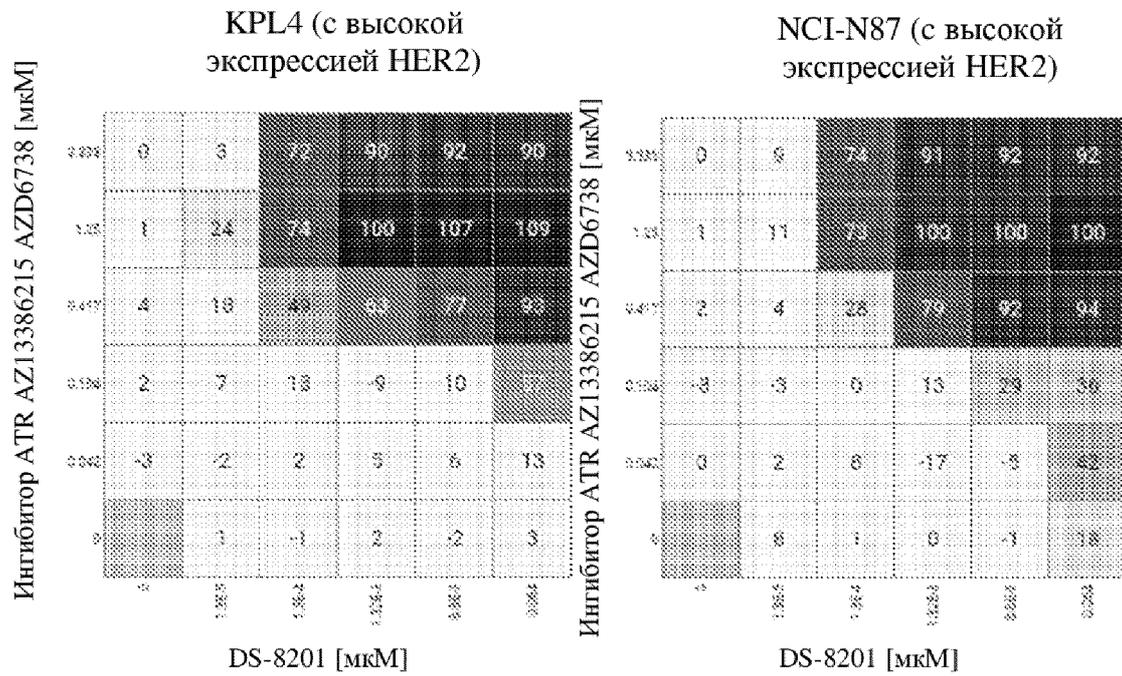
MDA-MB-468 (с низкой экспрессией HER2)



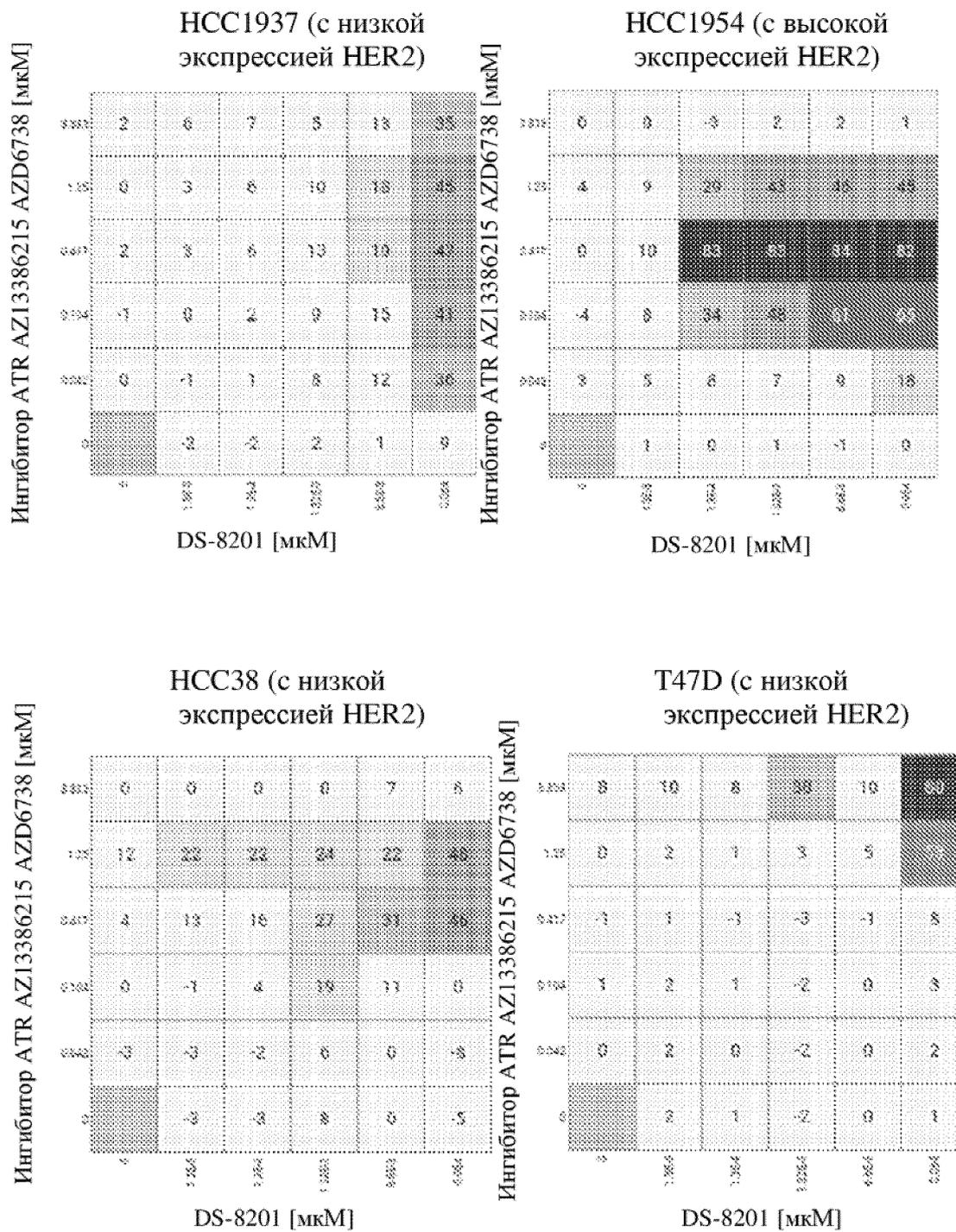
[Фигура 12В]



[Фигура 12С]

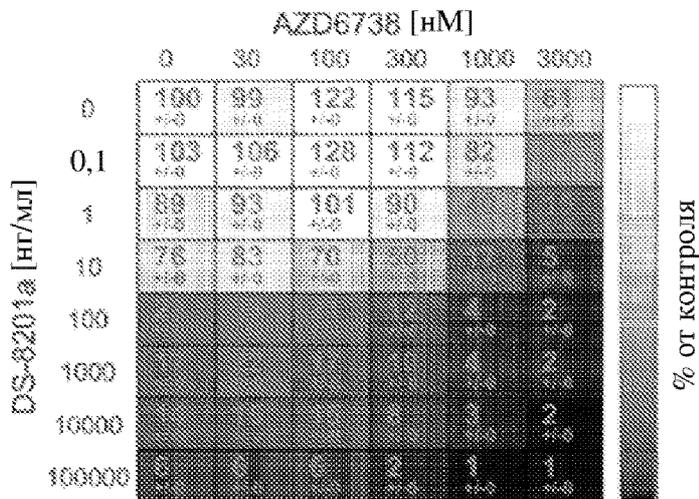


[Фигура 12D]



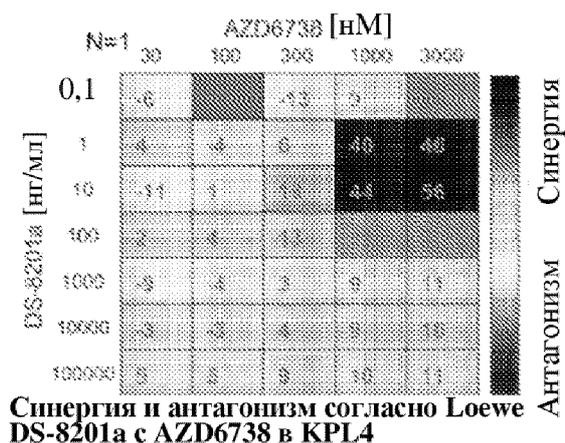
[Фигура 13]

(A)



DS-8201a с AZD6738 в KPL4

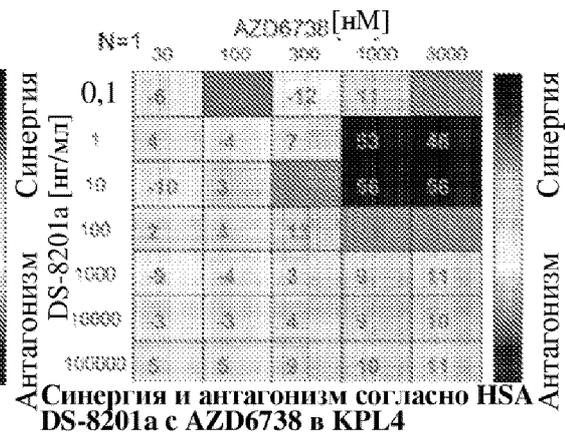
(B)



Синергия и антагонизм согласно Loewe DS-8201a с AZD6738 в KPL4



Синергия и антагонизм согласно Bliss DS-8201a с AZD6738 в KPL4



Синергия и антагонизм согласно HSA DS-8201a с AZD6738 в KPL4

[Фигура 14]

(A)

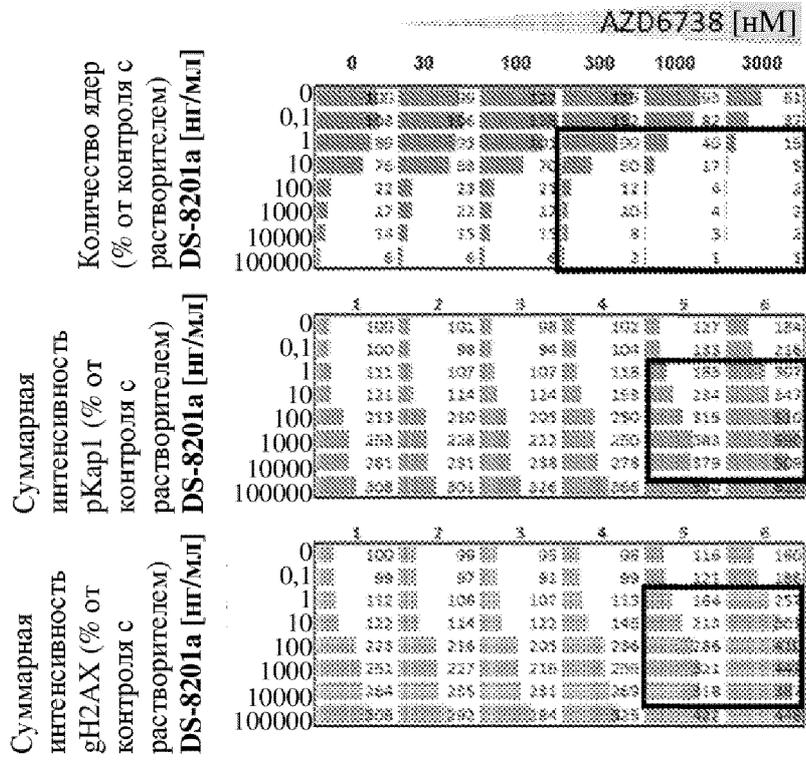


(B)

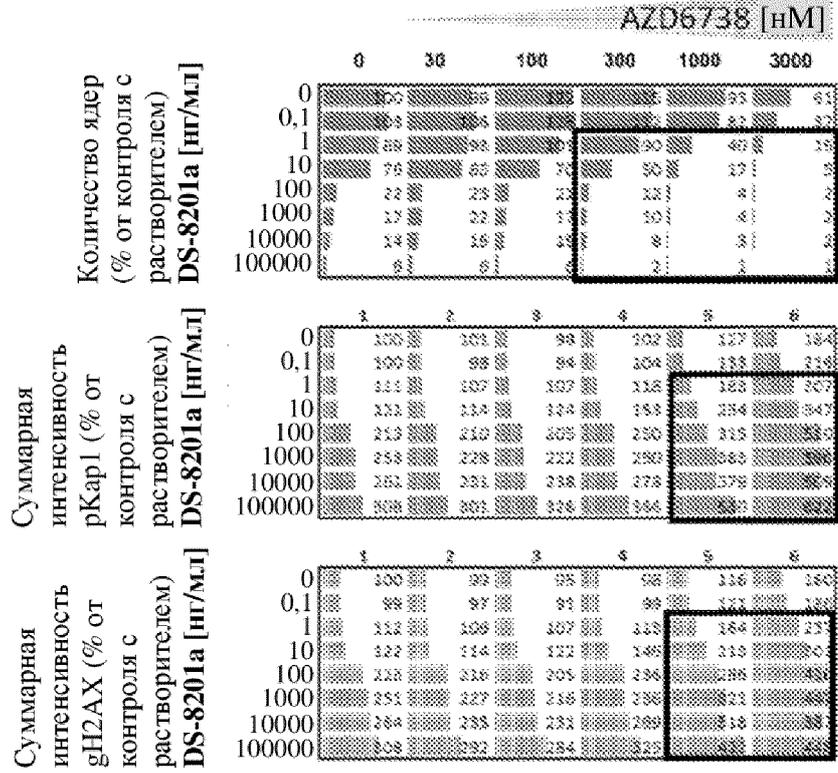


[Фигура 15]

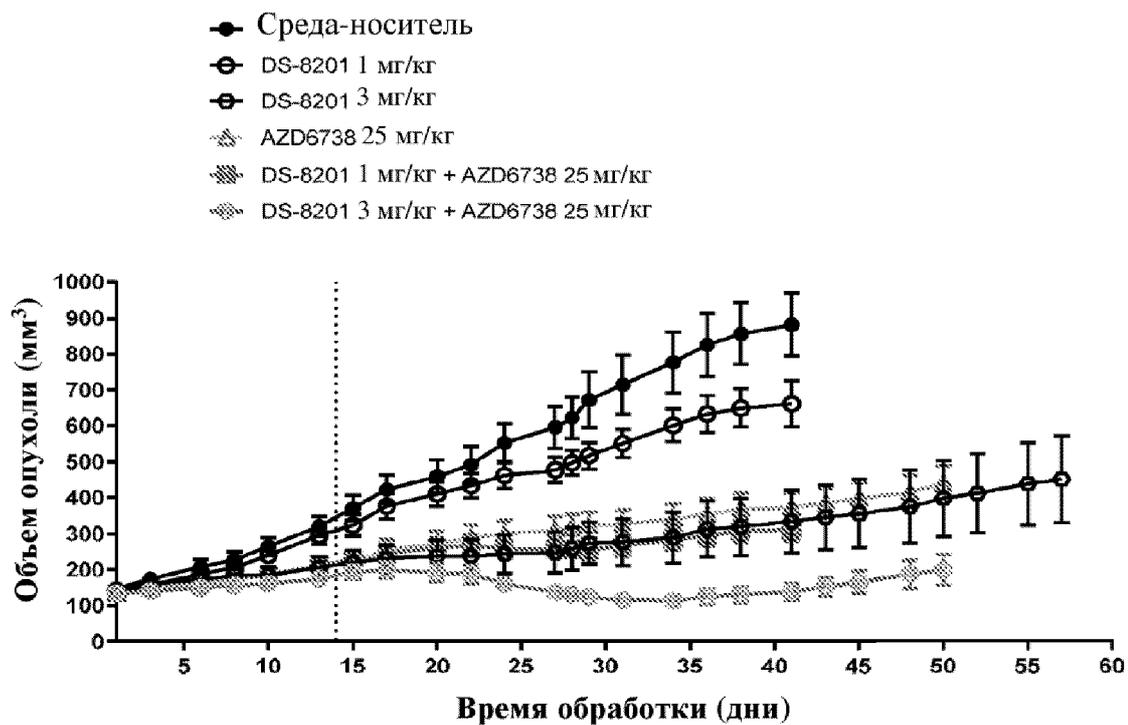
(A)



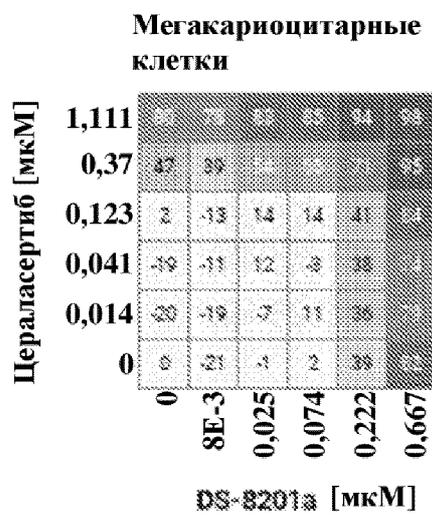
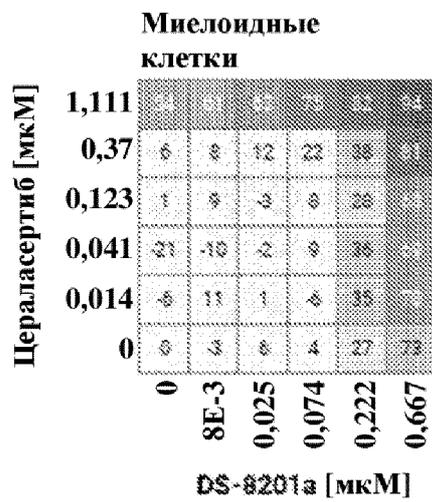
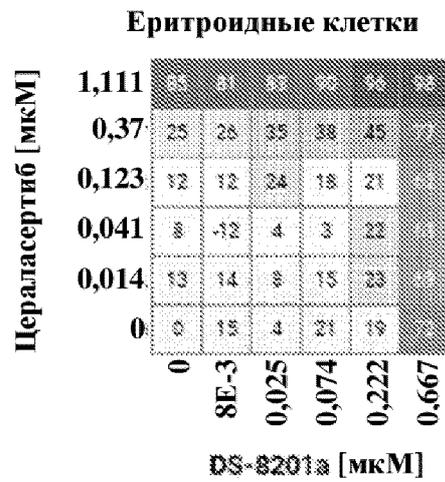
(B)



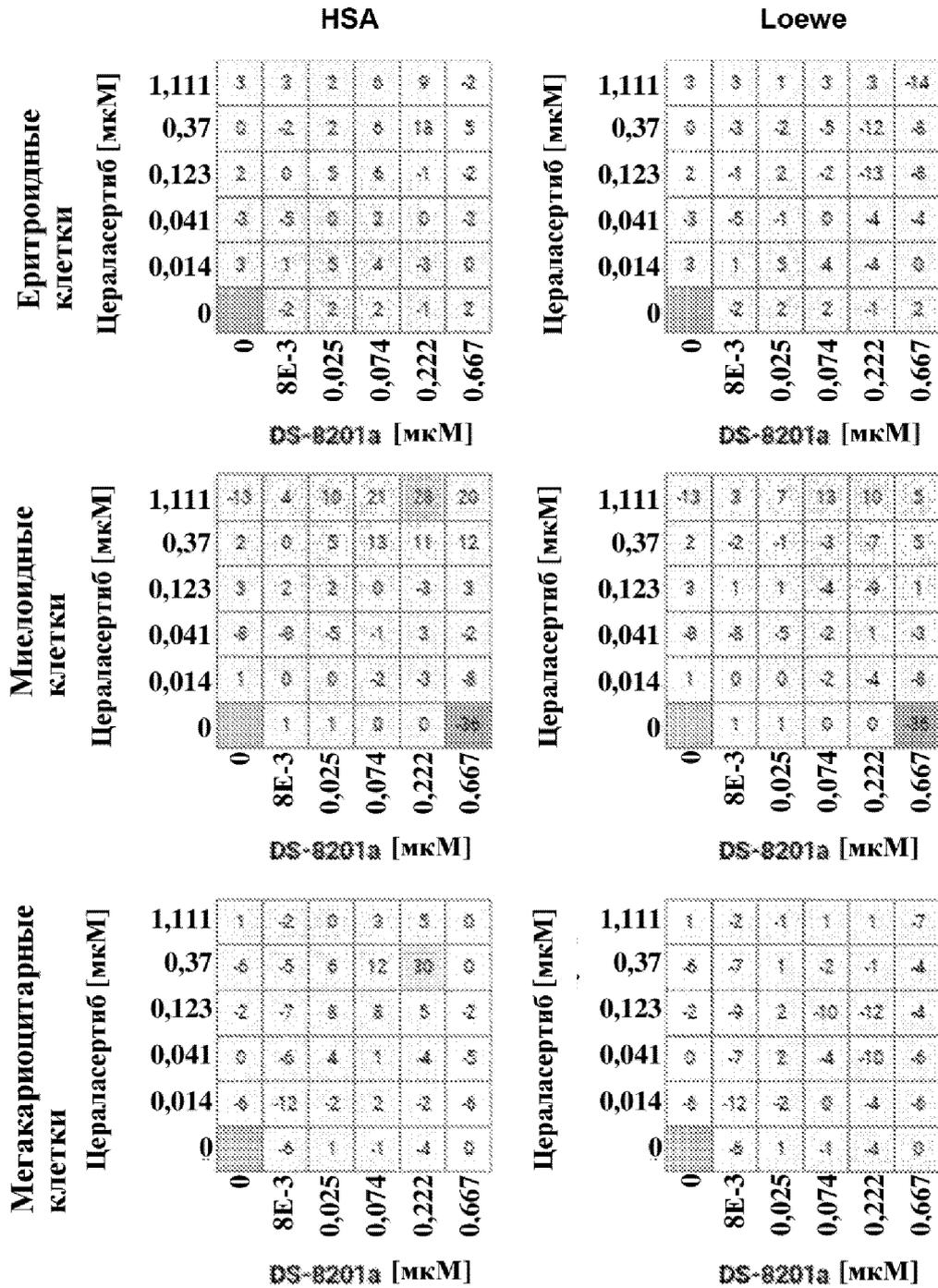
[Фигура 16]



[Фигура 18А]

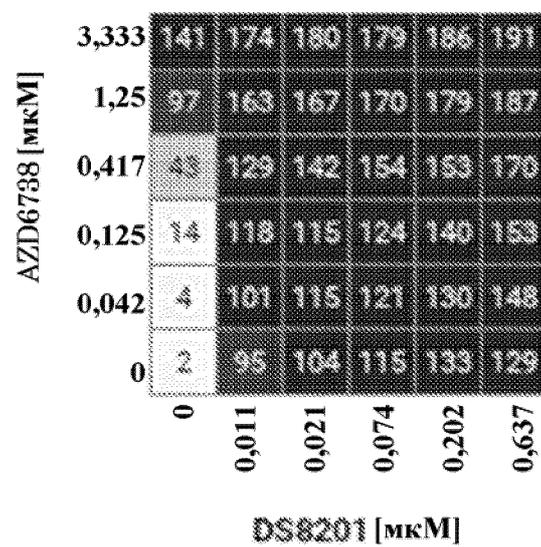


[Фигура 18B]



[Фигура 19]

(A)



(B)

