(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202392609 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.11.16

(22) Дата подачи заявки
2022.03.17

(51) Int. Cl. ***A61K 47/68*** (2017.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) СЕЛЕКТИВНОЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ИНТЕРНАЛИЗОВАННЫХ КОНЪЮГАТОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

(31) **63/162,653; 63/162,660; 63/162,773; 63/162,776; 63/162,781; 63/162,786; 63/163,012; 63/163,017; 63/221,295**
(32) **2021.03.18; 2021.03.18; 2021.03.18; 2021.03.18; 2021.03.18; 2021.03.18; 2021.03.18; 2021.03.18; 2021.07.13**
(33) **US**
(86) **PCT/US2022/071210**
(87) **WO 2022/198231 2022.09.22**

(71) Заявитель:
СИДЖЕН ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Биндман Ной, Окили Николь, Сентер Питер, Авастхи Дивья, Транг Вивиан, Лиски Райан, Джеффри Скотт, Юсефи Рузбех, Горслайн Брэдли (US)

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

(57) Изобретение относится к конъюгатам биологически активных соединений, при этом такой конъюгат состоит из последовательности аминокислот, содержащей трипептид, который придает селективность в отношении расщепления гомогенатом опухолевой ткани для высвобождения свободного лекарственного препарата и/или улучшает биораспределение в опухолевую ткань по сравнению с гомогенатом нормальной ткани от того же вида, при этом нормальная ткань является местом возникновения нежелательного явления, связанного с введением нуждающемуся в этом субъекту-человеку терапевтически эффективного количества конъюгата сравнения, аминокислотная последовательность которого представляет собой дипептид, который, как известно, поддается селективному расщеплению катепсином B.

202392609 A1

202392609 A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-579180EA/032

СЕЛЕКТИВНОЕ ВЫСВОБОЖДЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ИНТЕРНАЛИЗОВАННЫХ КОНЪЮГАТОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[1] Данная заявка заявляет преимущество по предварительной заявке США 63/163,017, поданной 18 марта 2021 г., предварительной заявке США 63/163012, поданной 18 марта 2021 г., предварительной заявке США 63/162653, поданной 18 марта 2021 г., предварительной заявке США 63/162660, поданной 18 марта 2021 г., предварительной заявке США 63/162773, поданной 18 марта 2021 г., предварительной заявке США 63/162776, поданной 18 марта 2021 г., предварительной заявке США 63/162781, поданной 18 марта 2021 г., предварительной заявке США 63/162786, поданной 18 марта 2021 г., и предварительной заявке США 63/221295, поданной 13 июля 2021 г., которые все в полном объеме и во всех целях включены в данный документ посредством ссылки.

ПОДАЧА ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ВИДЕ ТЕКСТОВОГО ФАЙЛА ASCII

[2] Содержание следующего поданного текстового файла ASCII в полном объеме включено в данный документ посредством ссылки: машиночитаемая форма (CRF) перечня последовательностей (название файла: 761682005940SEQLIST.TXT, дата записи: 16 марта 2022 г., размер: 464 КБ).

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[3] Данное изобретение относится к соединениям на основе конъюгата лиганд-лекарственный препарат (LDC) и их композициям, включая конъюгаты антитело - лекарственный препарат (ADC), которые обладают улучшенной селективностью в отношении целевых клеток по сравнению с нецелевыми клетками. Данное изобретение также относится к лекарственным препаратам и лекарственным препаратам в сочетании с линкерами, которые применимы как часть соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат. Данное изобретение также относится к новым конъюгатам антитела к GPNMB, антитела к CD228, антитела к αvβ6, антитела к CD30, антитела к LIV1 и антитела к CD19 с лекарственным препаратом и способам применения таких конъюгатов антитела к GPNMB, антитела к CD228, антитела к αvβ6, антитела к CD30, антитела к LIV1 и антитела к CD19 с лекарственным препаратом для лечения рака.

[4] Традиционные конъюгаты лиганд-лекарственный препарат демонстрируют биологическую активность в отношении целевых клеток, которые имеют целевой фрагмент, распознаваемый лигандным звеном конъюгата, посредством связывания с целевым фрагментом, а затем попадания в клетку посредством интернализации связанного конъюгата. Селективность в отношении целевых клеток по сравнению с нецелевыми клетками обеспечивают преимущественно с помощью традиционного конъюгата лиганд-лекарственный препарат, поскольку целевой фрагмент в большем

количестве присутствует на целевых клетках по сравнению с нецелевыми нормальными клетками, которые являются клетками, не предназначенными для воздействия на них конъюгата. Когда подразумевается, что на кондициональное высвобождение конъюгированного соединения, которое является цитотоксическим в свободной форме, влияет внутриклеточная протеаза, за интернализацией связанного конъюгата следует ферментативный процессинг пептидного линкерного звена конъюгата.

[5] Уменьшение преждевременного высвобождения цитотоксического соединения, которое в ином случае приведет к нежелательным побочным эффектам, из традиционных дипептидных конъюгатов лиганд-лекарственный препарат обеспечивают за счет оптимизации селективности в отношении конкретной лизосомальной протеазы, которая считается повышенной в раковых клетках. Поскольку протеаза, отвечающая за внутриклеточный процессинг традиционных конъюгатов лиганд-лекарственный препарат, является общей для всех клеток, селективность в отношении целевых клеток обусловлена главным образом большей представленностью целевого фрагмента на клетках, на которые направлено действие конъюгата, независимо от разных уровней внутриклеточной активности процессирующей протеазы в целевых раковых клетках и нецелевых нормальных клетках. Однако этот подход не учитывает возможную разницу в воздействии высвобождаемого цитотоксического соединения между раковой и нормальной тканью, что в данном случае используется в конъюгатах лиганд-лекарственный препарат по настоящему изобретению.

[6] Таким образом, дипептидные последовательности традиционных конъюгатов лиганд-лекарственный препарат, которые были сконструированы для селективного воздействия на них внутриклеточной протеазы, уровень которой повышен в раковых клетках опухолевой ткани, могут подвергаться воздействию протеаз, присутствующих исключительно в нормальной ткани. Такое воздействие может возникать в микроокружении нормальной ткани или в клетках нормальной ткани после иммунологически специфического или неспецифического поглощения этими клетками, что приводит в целевой или нецелевой токсичности, соответственно. Эта токсичность является более острой требующей разрешения проблемой для целевой доставки соединений с высокой цитотоксичностью. Поэтому считается, что конъюгат лиганд-лекарственный препарат с усовершенствованной пептидной последовательностью, который обеспечивает меньшее воздействие на нормальную ткань по сравнению с традиционными дипептидными конъюгатами лиганд-лекарственный препарат и, следовательно, снижает воздействие цитотоксического соединения, высвобождаемого из них, сохраняя при этом эффективность, обеспечиваемую этими традиционными конъюгатами, улучшит переносимость терапии.

[7] Дополнительно считается, что конъюгат лиганд-лекарственный препарат, имеющий усовершенствованную пептидную последовательность, который больше подвержен протеолизу опухолевой тканью, чем протеолизу нормальной тканью, по сравнению с протеолизом традиционного дипептидного конъюгата лиганд-лекарственный

препарат этими тканями, также снизит воздействие высвобождаемого цитотоксического соединения, что будет способствовать улучшению переносимости терапии. Определение этих протеолитических различий с использованием тканевых гомогенатов должно выявить различия, обусловленные микроокружением этих тканей и/или следующие за клеточной интернализацией.

[8] Чтобы обеспечить решение этой проблемы в данной области техники, в данном документе описаны конъюгаты лиганд-лекарственный препарат, имеющие пептидные линкерные звенья, чьи последовательности приводят к более селективному воздействию на целевые клетки опухолевой ткани цитотоксического соединения, высвобождаемого из конъюгата, по сравнению с воздействие на клетки нормальной ткани свободного цитотоксина, вследствие чего улучшается переносимость конъюгата с сохранением при этом эффективности традиционных дипептидных конъюгатов при лечении рака у субъекта-млекопитающего. Эта разница в воздействии может быть результатом большей селективности в отношении протеолиза конъюгатов лиганд-лекарственный препарат, имеющих придающие селективность пептидные последовательности, в опухолевой ткани относительно протеолиза в нормальной ткани по сравнению с протеолизом традиционного дипептидного конъюгата. Поскольку изменение пептидной последовательности также может влиять на физиохимические свойства конъюгированного соединения, может наблюдаться большее воздействие вследствие улучшенного биораспределения в опухолевой ткани, но не в нормальной ткани, и/или лучшее распределение после попадания в эти ткани, что преимущественно удерживает конъюгированное соединение в опухолевой ткани и/или преимущественно элиминирует конъюгированное соединение из нормальной ткани. Эти эффекты биораспределения могут даже стать доминантными факторами в сравнении с преимущественным протеолизом, который может быть трудно наблюдать in vivo.

[9] Таким образом, конъюгированные соединения, имеющие пептидные последовательности, обеспечивающие повышенное воздействие высвобождаемого свободного цитотоксического соединения на опухолевую ткань по сравнению с нормальной тканью, должны демонстрировать уменьшенную нежелательную токсичность вследствие того, что пептидные последовательности в целом менее подвержены протеолизу в нормальной ткани или ее клетках по сравнению с опухолевыми, и/или вследствие улучшенных фармакокинетических свойств конъюгированных соединений, содержащих эти пептидные последовательности, которые селективны в отношении опухолевой ткани относительно нормальной ткани.

[10] Следовательно, конъюгаты лиганд-лекарственный препарат по настоящему изобретению имеют два уровня селективности в отношении целевых клеток в сравнении с нецелевыми нормальными клетками: (1) селективное проникновение в целевые клетки и (2) сниженное воздействие конъюгированного соединения на нормальную ткань по сравнению с опухолевой тканью. В связи с этим вторым уровнем селективности ожидается снижение токсичности в нормальной ткани с обеспечением меньшего

количества нежелательных явлений, связанных с традиционной целевой терапией.

[11] GPNMB, который также известен как гликопротеин B неметастатической меланомы, представляет собой трансмембранный белок, встречающийся на клеточной поверхности некоторых опухолевых клеток. Уровни GPNMB повышены при многих видах рака, включая меланому, опухоли мягких тканей, гепатоцеллюлярную карциному, рак молочной железы, рак желудка, немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), рак головы и шеи, рак яичника и поджелудочной железы.

[12] CD228, который также известен как меланотрансферрин, MELTF, p97 и MF12, представляет собой связанный с гликозилфосфатидилинозитолом белок и впервые был идентифицирован как 97 кДа маркер клеточной поверхности для клеток злокачественной меланомы. CD228 сверхэкспрессируется в большинстве клинических изолятов меланомы и также встречается при многих карциномах человека. Было показано, что CD228 экспрессируется при различных раках.

[13] αvβ6, который также известен как альфа-v бета-6, представляет собой рецептор клеточной адгезии, который связывает белки внеклеточного матрикса, такие как фибронектин. αvβ6 состоит из альфа-v субъединицы и бета-6 субъединицы, при этом его уровни повышены при многих видах рака, включая немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ). НМРЛ является наиболее распространенным типом рака легкого. За последний год рак легкого был диагностирован у более чем 200000 людей и является основной причиной летальных исходов при раке.

[14] CD30 представляет собой мембранный гликопротеин и является членом суперсемейства рецепторов TNF, уровни которого повышены при различных раках, аутоиммунных и других инфекционных заболеваниях. CD30 является подтвержденным маркером злокачественных клеток при болезни Ходжкина и анапластической крупноклеточной лимфоме, подгруппе неходжкинских лимфом.

[15] LIV1 является членом подсемейства LZT (переносчиков цинка LIV-1-ZIP) белков-переносчиков цинка. Taylor et al., Biochim. Biophys. Acta 1611:16-30 (2003). Компьютерный анализ белка LIV1 позволил выявить потенциальный мотив металлопротеазы, вписывающийся в консенсусную последовательность мотива каталитического цинк-связывающего сайта цинковой металлопротеазы. мРНК LIV1 экспрессируется главным образом в тканях молочной железы, предстательной железы, гипофиза и головного мозга. Наличие белка LIV1 также было связано с некоторыми раковыми состояниями, например, раком молочной железы и раком предстательной железы. Выявление LIV1 связано с эстроген-рецептор-положительным раком молочной железы, McClelland et al., Br. J. Cancer 77:1653-1656 (1998) и метастатическим распространением этих видов рака в регионарные лимфатические узлы. Manninget al., Eur. J. Cancer 30A:675-678 (1994).

[16] CD19 представляет собой пан-B-клеточный мембранный гликопротеин, который экспрессируется от ранних стадий развития пре-B-клеток до конечной дифференцировки, регулируя развитие и функцию B-лимфоцитов. Экспрессия CD19 была

выявлена при большинстве раков лимфоидного происхождения, подавляющем большинстве случаев неходжкинской лимфомы (НХЛ) и лейкозов, включая хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ) и макроглобулинемию Вальденстрема (МВ).

[17] Существует потребность в усовершенствованном лечении каждого из вышеуказанных заболеваний.

[18] Все ссылки, цитируемые в данном документе, включая патентные заявки, патентные публикации и научную литературу, в полном объеме включены в данный документ посредством ссылки, как если бы каждая отдельная ссылка была специально и отдельно указана как включенная посредством ссылки.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[19] В одном принципиальном варианте осуществления изобретения предложена композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, представленного формулой 1:

$L\text{-}[LU\text{-}D']_p$ (**1**)

или его соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где

L представляет собой лигандное звено;

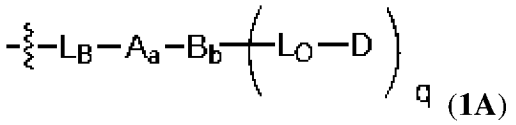
LU представляет собой линкерное звено; и

D' представляет число от 1 до количества лекарственных звеньев (D) в каждом фрагменте лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D'; и

нижний индекс p является числом от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равен около 4 или около 8,

при этом лигандное звено получено из антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела, которые способны к селективному связыванию с антигеном опухолевой ткани для последующего высвобождения лекарственного звена в виде свободного цитотоксического соединения,

при этом фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D' в каждом из соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции имеет структуру по формуле **1A**:



(**1A**)

или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли,

где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к L;

D представляет собой лекарственный фрагмент цитотоксического соединения;

L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающий лиганд;

A представляет собой первое необязательное звено растяжения;

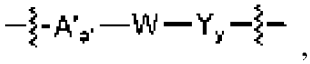
нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательное звено разветвления;

нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B,

соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, при этом вторичный линкер имеет формулу:



,

где волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену, а волнистая линия, смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остатку фрагмента лекарственный препарат-линкер;

A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, которое в отсутствие B становится подзвеном A,

нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено представляет собой непрерывную последовательность из до 12 (например, 3-12 или 3-10) аминокислот, причем последовательность состоит из придающего селективность трипептида, который обеспечивает повышенную селективность воздействия на опухолевую ткань по сравнению с нормальной тканью свободного цитотоксического агента, высвобождаемого из соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции, по сравнению с цитотоксическим агентом, высвобождаемым из соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат сравнительной композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которой пептидная последовательность пептидного расщепляемого звена представляет собой дипептид -валин-цитруллин- или -валин-аланин-;

при этом опухолевые и нормальные ткани получены от вида грызунов, а композиция формулы 1 обеспечивает указанную повышенную селективность воздействия, демонстрируемую:

сохранением эффективности в модели с ксенотрансплантатом опухоли сравнительной композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат при введении в таком же эффективном количестве и согласно такой же схеме введения, которые ранее были определены для сравнительной композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат, и

снижением плазменной концентрации свободного цитотоксического соединения, высвобождаемого из соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции, и/или сохранением нормальных клеток в ткани при введении в таком же самом эффективном количестве и согласно такой же схеме введения, что и в модели с ксенотрансплантатом опухоли, не несущему опухоль грызуну по сравнению с эквивалентным (например, таким же) введением сравнительной композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которой лигандные звенья обеих композиций конъюгатов заменены несвязывающим антителом,

при этом цитотоксичность в отношении клеток в ткани человека того же типа, что

и нормальные клетки в ткани не несущего опухоль грызуна, по меньшей мере частично является причиной нежелательного явления у субъекта-человека, которому вводят терапевтически эффективное количество сравнительной композиции конъюгата;

Y представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено; и

нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно;

нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4 или от 1 до 3,

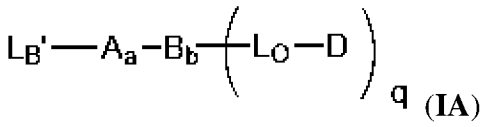
при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q равен 2, 3 или 4, когда нижний индекс b равен 1; и

при этом соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции имеют структуру по формуле **1**, в которой нижний индекс p заменен нижним индексом p', где нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равен 4 или 8.

[20] В родственном принципиальном варианте осуществления предложено соединение лекарственный препарат-линкер по формуле **I**:

LU'-(D') (**I**)

[21] или его соли, в частности его фармацевтически приемлемой соли, где LU' способен образовывать ковалентную связь между L и LU формулы **1**, и поэтому его иногда называют предшественником линкерного звена; и D' представляет от 1 до 4 лекарственных звеньев, при этом соединение лекарственный препарат-линкер дополнительно определяется структурой формулы **IA**:



(**IA**)

[22] где L_B' способен преобразовываться в L_B формулы **1A**, тем самым образуя ковалентную связь с L формулы **1**, и поэтому его иногда называют фрагментом-предшественником, ковалентно связывающим лиганд, а остальные вариабельные группы формулы **IA** соответствуют определению для формулы **1A**.

[23] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложена композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, представленного формулой **1**:

L-[LU-D']$_p$ (**1**)

или его фармацевтически приемлемой соли, где

L представляет собой лигандное звено;

LU представляет собой линкерное звено;

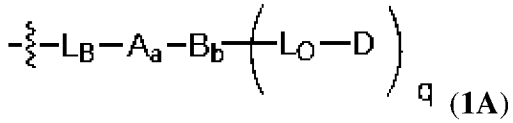
D' представляет от 1 до 4 лекарственных звеньев (D) в каждом фрагменте лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D'; и

нижний индекс p является числом от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равен около 4 или около 8,

при этом лигандное звено получено из антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела, которые способны к селективному связыванию с антигеном

опухолевой ткани для последующего высвобождения лекарственного(-ых) звена(звеньев) в виде свободного лекарственного препарата,

при этом фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D' в каждом из соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции имеет структуру по формуле **1A**:



(1A)

или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли,

где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к L;

D представляет собой лекарственное звено;

L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающий лиганд;

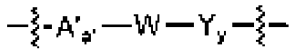
A представляет собой первое необязательное звено растяжения;

нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательное звено разветвления;

нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, при этом вторичный линкер имеет формулу:



,

где волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену, а волнистая линия, смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остатку фрагмента лекарственный препарат-линкер;

A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, которое в отсутствие B становится подзвеном A,

нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено содержит трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной или представляет собой серин;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина или представляет собой глицин или серин, или пролин; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина или представляет собой пролин,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или

P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-;

Y представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено;

нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

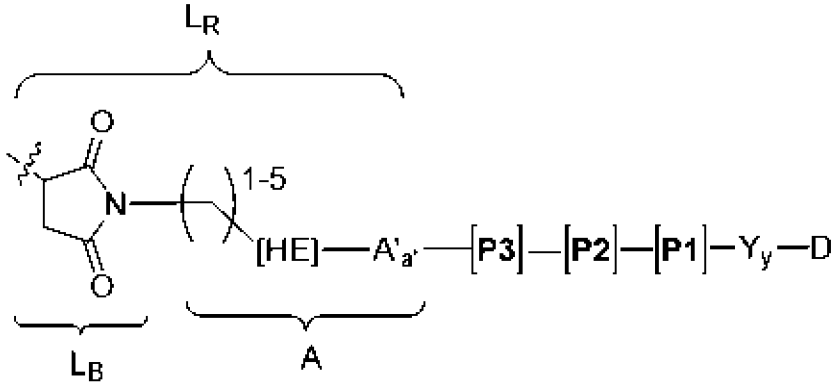
нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q равен 2, 3 или 4, когда нижний индекс b равен 1; и

при этом соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции имеют структуру по формуле **1**, в которой нижний индекс p заменен нижним индексом p', где нижний индекс p' независимо представляет собой целое число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равен 4 или 8.

[24] В некоторых вариантах осуществления первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной; вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; а третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина.

[25] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложена композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат формулы **1**, причем соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер по формуле 1H:



(формула 1H)

или его фармацевтически приемлемых солей, которая необязательно имеет незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и при этом

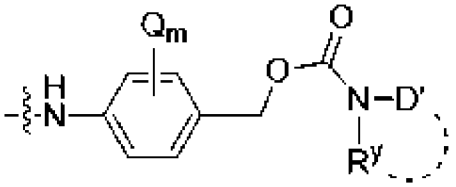
HE представляет собой усиливающее гидролиз звено;

A' представляет собой, при наличии, подзвено указанного первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A'; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы лигандного звена.

[26] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложена композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, где HE представляет собой -(C=O).

[27] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложена композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, где $-Y_y-D$ имеет структуру:



где $-N(R^y)D'$ представляет собой D, где D' представляет собой остаток D;

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1;

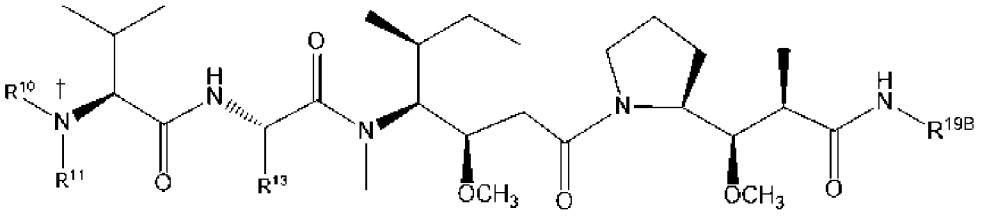
пунктирная линия указывает на необязательную циклизацию R^y с D';

R^y представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен при циклизации с D';

каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из -C_1-C_8 алкила, -O-(C_1-C_8 алкила), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m равен 0, 1 или 2.

[28] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложена композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, где D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, причем цитотоксический лекарственный препарат представляет собой содержащее вторичный амин соединение ауристатина, где атом азота вторичного амина является местом ковалентного присоединения к фрагменту лекарственный препарат-линкер, и при этом содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_{F/E-3}}$:



$\mathbf{D_{F/E-3}}$

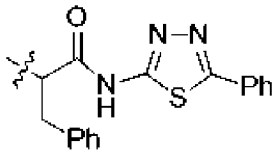
где символ кинжала указывает место ковалентного присоединения атома азота, который обеспечивает карбаматную функциональную группу;

один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

R^{13} представляет собой изопропил или $-CH_2-CH(CH_3)_2$; и

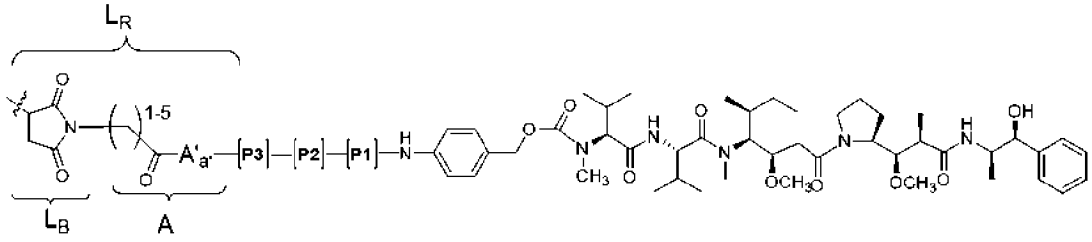
R^{19B} представляет собой $-CH(CH_3)-CH(OH)-Ph$, $-CH(CO_2H)-CH(OH)-CH_3$, $-CH(CO_2H)-CH_2Ph$, $-CH(CH_2Ph)$-2-тиазолил, $-CH(CH_2Ph)$-2-пиридил, $-CH(CH_2$-p-Cl-Ph), -

$CH(CO_2Me)$-CH_2Ph, -$CH(CO_2Me)$-$CH_2CH_2SCH_3$, -$CH(CH_2CH_2SCH_3)$C(=O)NH-хинол-3-ил, -$CH(CH_2Ph)$C(=O)NH-p-Cl-Ph, или

R^{19B} имеет структуру  , где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к оставшейся части соединения ауристатина.

[29] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложена композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, где содержащее вторичный амин соединение ауристатина представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

[30] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложена композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, где нижний индекс q равен 1, а соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер по формуле 1H-MMAE:



(формула 1H-MMAE)

или его фармацевтически приемлемой соли, которая необязательно имеет незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и при этом:

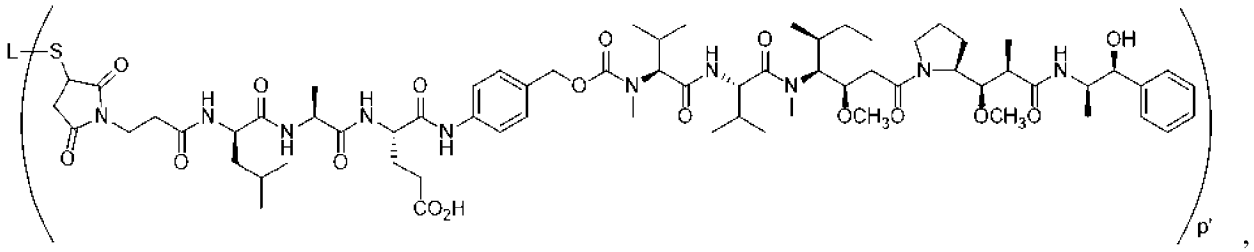
нижний индекс a’ равен 0, а A’ отсутствует; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы лигандного звена.

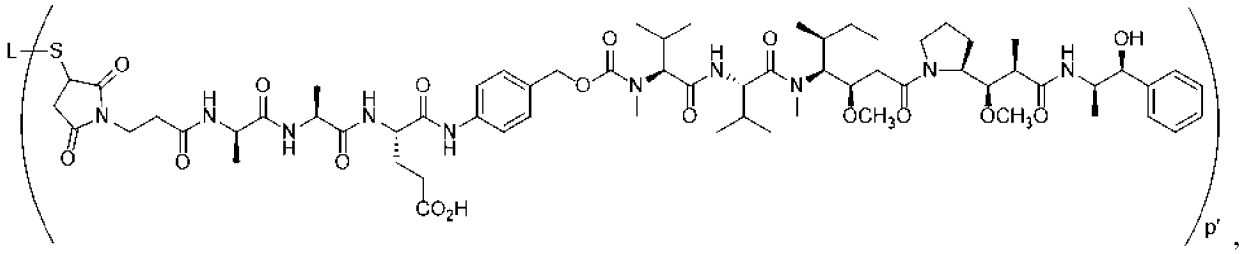
[31] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложена композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, где пептидное расщепляемое звено представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом: аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации; одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; а другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala. В некоторых

вариантах осуществления одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а аминокислота P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu- или -Ala-Asp-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp.

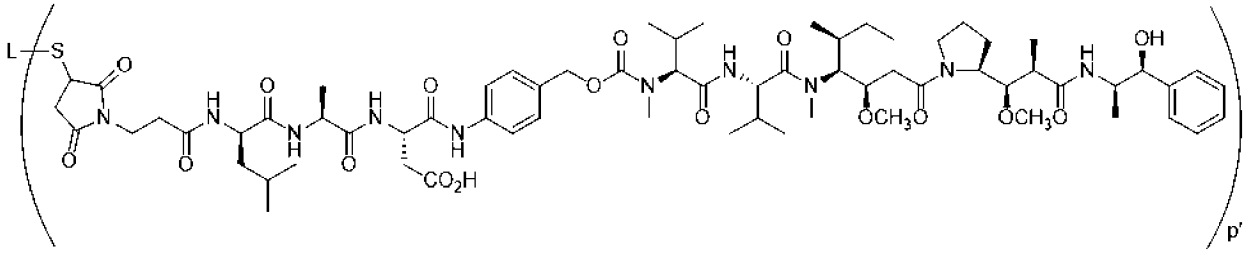
[32] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложена композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, где соединение имеет структуру:



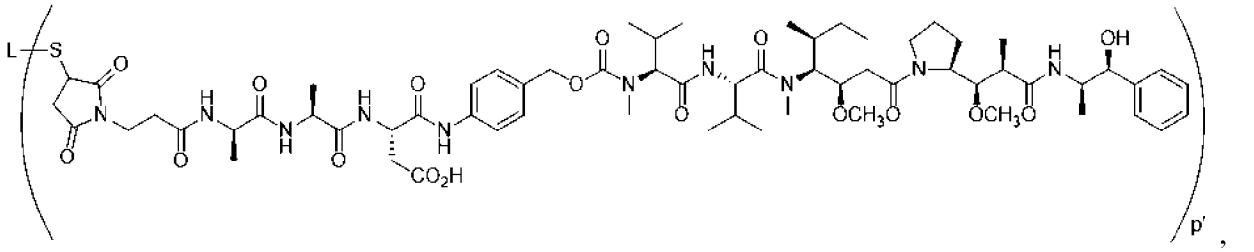
,



,



или



,

или его фармацевтически приемлемую соль,

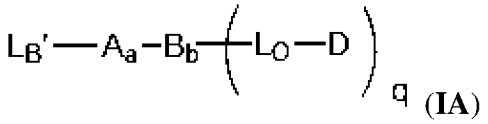
где L представляет собой лигандное звено, а нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 24.

[33] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложена композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, где L представляет собой лигандное звено интактного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент способны селективно связываться с антигеном раковой клетки. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело представляет собой химерное, гуманизированное или человеческое антитело, при этом антитело способно селективно связываться с антигеном раковой клетки или же антитело представляет собой несвязывающее контрольное антитело, определяющее, таким образом, композицию несвязывающего контрольного конъюгата.

[34] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложена композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, где нижний индекс p находится в диапазоне от около 2 до около 12, или от около 2 до около 10, или от около 2 до около 8, в частности, нижний индекс p равен около 2, около 4 или около 8.

[35] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложены фармацевтически приемлемые составы, причем состав содержит эффективное количество композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат или эквивалентное количество несвязывающего контрольного конъюгата, описанных в данном документе, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой жидкий носитель, который обеспечивает жидкий состав, причем жидкий состав пригоден для лиофилизации или введения нуждающемуся в этом субъекту. В некоторых вариантах осуществления состав представляет собой твердое вещество после лиофилизации или жидкий состав, описанные в данном документе, при этом по меньшей мере один эксципиент твердого состава представляет собой лиопротектор.

[36] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено соединение лекарственный препарат-линкер по формуле **IA:**



(IA)

или его соль, где

D представляет собой лекарственное звено;

L_B' представляет собой фрагмент-предшественник, ковалентно связывающий лиганд;

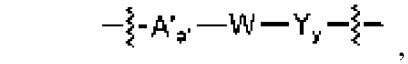
A представляет собой первое необязательное звено растяжения;

нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательное звено разветвления;

нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, при этом вторичный линкер имеет формулу:



,

где волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену, а волнистая линия, смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остатку соединения лекарственный препарат-линкер;

A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, которое в отсутствие B становится подзвеном A;

нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено содержит трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной или представляет собой серин;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина или представляет собой глицин или серин, или пролин; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина или представляет собой пролин,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-;

Y представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено;

нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

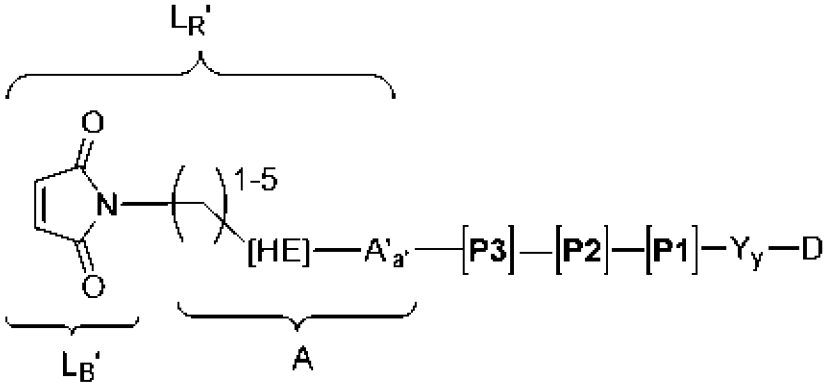
нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q равен 2, 3 или 4, когда нижний индекс b равен 1.

[37] В некоторых вариантах осуществления первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной; вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; а третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина.

[38] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено

соединение лекарственный препарат-линкер по формуле **IA,** где соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру по формуле IH:



(формула IH)

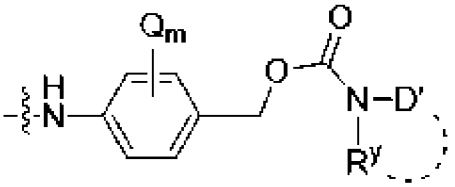
или его соль, где:

HE представляет собой усиливающее гидролиз звено; и

A' представляет собой, при наличии, подзвено указанного первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A'.

[39] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложено соединение лекарственный препарат-линкер, где HE представляет собой -(C=O).

[40] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложено соединение лекарственный препарат-линкер, где $-Y_y-D$ имеет структуру:



где $-N(R^y)D'$ представляет собой D, где D' представляет собой остаток D;

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1;

пунктирная линия указывает на необязательную циклизацию R^y с D';

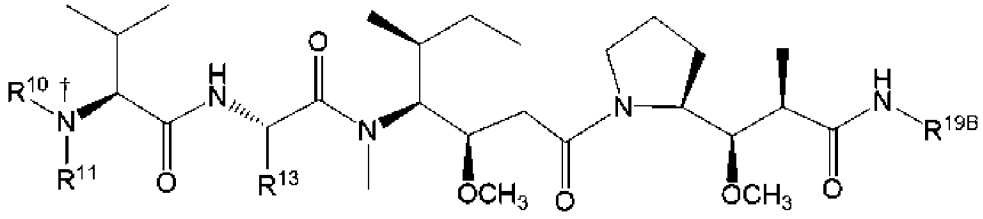
R^y представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен при циклизации с D';

каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из -C_1-C_8 алкила, -O-(C_1-C_8 алкила), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m равен 0, 1 или 2.

[41] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложено соединение лекарственный препарат-линкер, где D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, причем цитотоксический лекарственный препарат представляет собой содержащее вторичный амин соединение ауристатина, где атом азота вторичного амина является местом ковалентного присоединения к фрагменту лекарственный

препарат-линкер, и при этом содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_{F/E-3}}$:



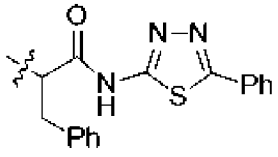
$\mathbf{D_{F/E-3}}$

где символ кинжала указывает место ковалентного присоединения атома азота, который обеспечивает карбаматную функциональную группу;

один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

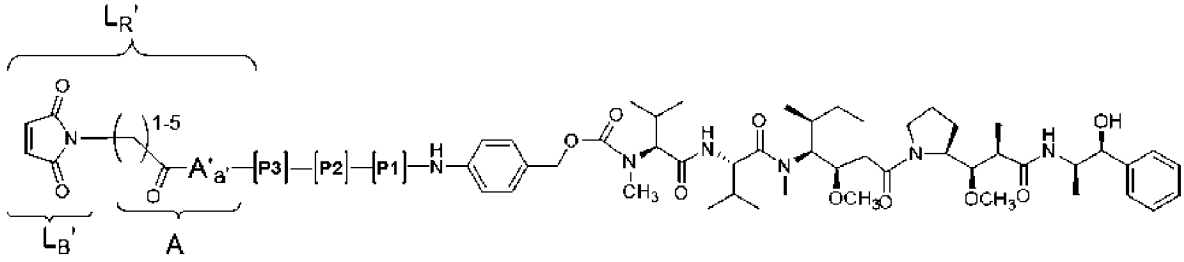
R^{13} представляет собой изопропил или $-CH_2-CH(CH_3)_2$; и

R^{19B} представляет собой $-CH(CH_3)-CH(OH)-Ph$, $-CH(CO_2H)-CH(OH)-CH_3$, $-CH(CO_2H)-CH_2Ph$, $-CH(CH_2Ph)$-2-тиазолил, $-CH(CH_2Ph)$-2-пиридил, $-CH(CH_2$-p-Cl-Ph), $-CH(CO_2Me)-CH_2Ph$, $-CH(CO_2Me)-CH_2CH_2SCH_3$, $-CH(CH_2CH_2SCH_3)C(=O)$NH-хинол-3-ил, $-CH(CH_2Ph)C(=O)$NH-p-Cl-Ph, или

R^{19B} имеет структуру  , где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к оставшейся части соединения ауристатина.

[42] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложено соединение лекарственный препарат-линкер, где содержащее вторичный амин соединение ауристатина представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

[43] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложено соединение лекарственный препарат-линкер, где соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру по формуле IH-MMAE:



(формула IH-MMAE)

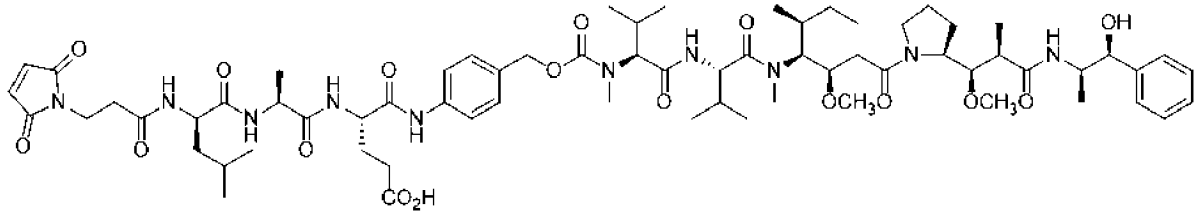
или его соль, где

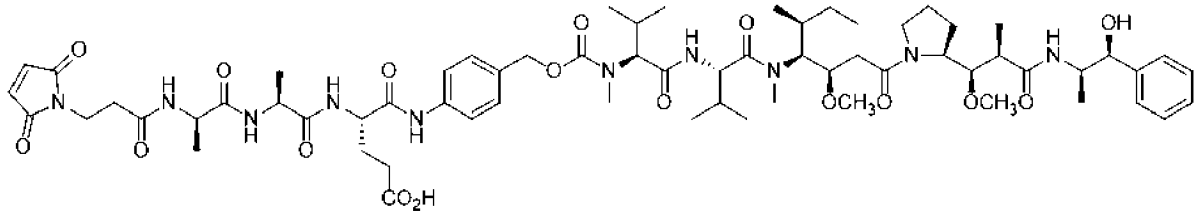
нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует.

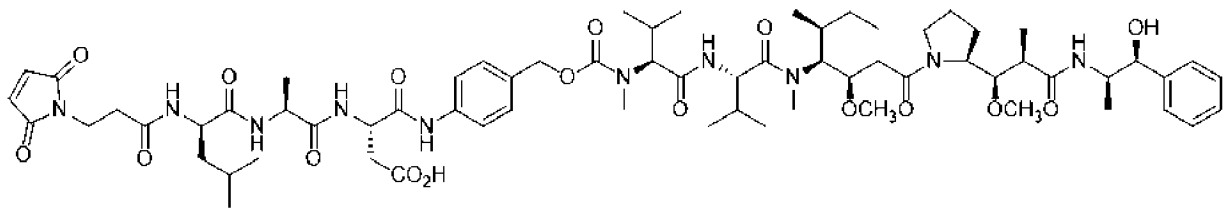
[44] В некоторых вариантах осуществления, которые можно комбинировать с любыми из предыдущих вариантов осуществления, в данном документе предложено

соединение лекарственный препарат-линкер, где пептидное расщепляемое звено представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом: аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации; одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; а другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala. В некоторых вариантах осуществления одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а аминокислота P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu- или -Ala-Asp-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp.

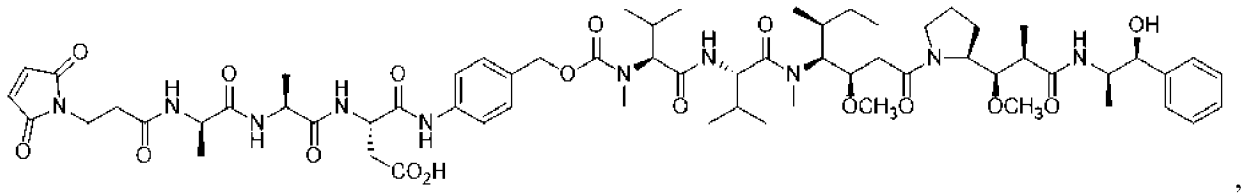
[45] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено соединение лекарственный препарат-линкер, где соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:


,


,



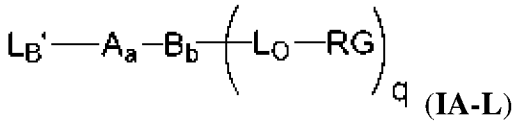
или



,

или его соль.

[46] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено соединение линкера формулы **IA-L**:



(IA-L)

или его соль, где

RG представляет собой реакционную группу;

L_B' представляет собой фрагмент-предшественник, ковалентно связывающий лиганд;

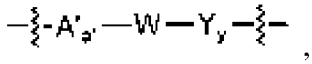
A представляет собой первое необязательное звено растяжения;

нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательное звено разветвления;

нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, при этом вторичный линкер имеет формулу:



,

где волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену, а волнистая линия, смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остатку соединения лекарственный препарат-линкер;

A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, которое в отсутствие B становится подзвеном A;

нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено содержит трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной или представляет собой серин;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина или представляет собой глицин или серин, или пролин; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина или

представляет собой пролин,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-;

Y представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено;

нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

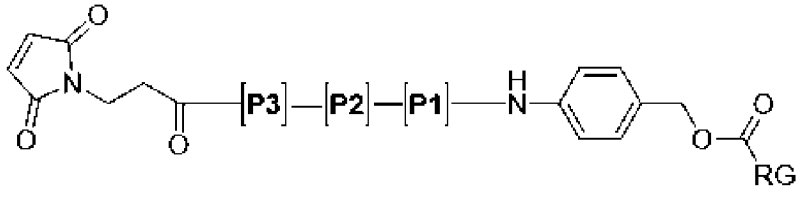
нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q равен 2, 3 или 4, когда нижний индекс b равен 1.

[47] В некоторых вариантах осуществления первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной; вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; а третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина.

[48] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено соединение линкера, где пептидное расщепляемое звено представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом: аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации; одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; а другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной.

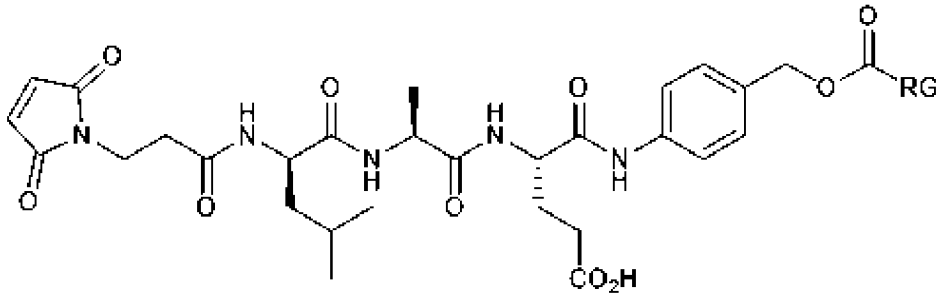
[49] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено соединение линкера, где соединение линкера имеет структуру по формуле **IA-L-3**:

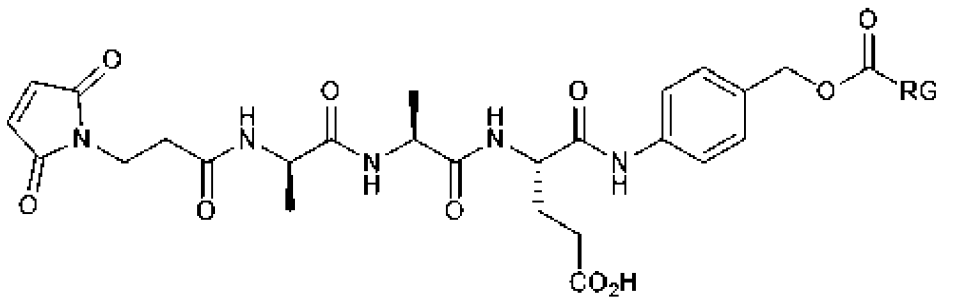


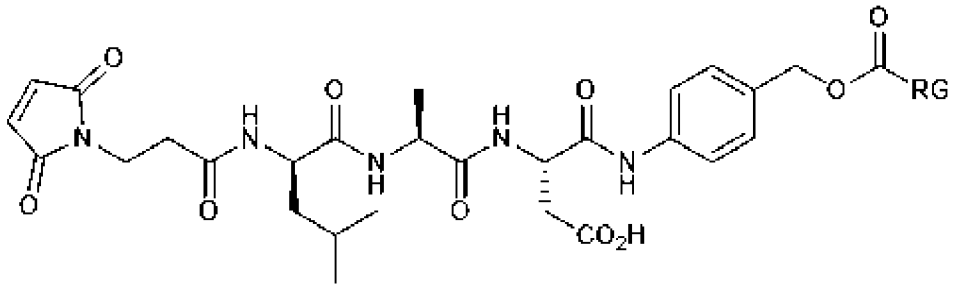
(**IA-L-3**),

или его соль.

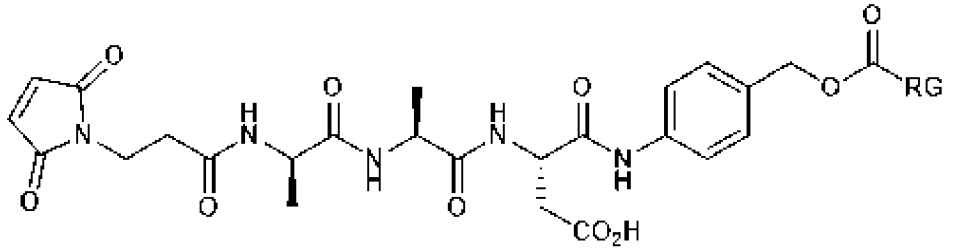
[50] В некоторых вариантах осуществления в данном документе предложено соединение линкера, где соединение линкера имеет структуру:







или

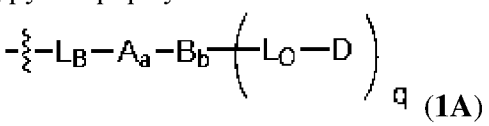


или его соль.

[51] В другом аспекте в данном документе предложена композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, представленного формулой **1**:

L-[LU-D']$_p$ (**1**)

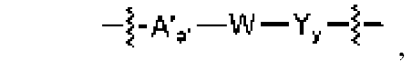
или его фармацевтически приемлемой соли, где L представляет собой лигандное звено; LU представляет собой линкерное звено; D' представляет от 1 до 4 лекарственных звеньев (D) в каждом фрагменте лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D'; а нижний индекс p является числом от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равен около 4 или около 8, при этом лигандное звено получено из антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела, причем антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела способны к селективному связыванию с антигеном опухолевой ткани для последующего высвобождения лекарственного(-ых) звена(звеньев) в виде свободного лекарственного препарата, причем фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D' в каждом из соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции имеет структуру по формуле **1A**:



(**1A**)

или ее соли, при этом волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к L; D представляет собой лекарственное звено; L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающий лиганд; A представляет собой первое необязательное звено

растяжения; нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно; B представляет собой необязательное звено разветвления; нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно; L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, при этом вторичный линкер имеет формулу:

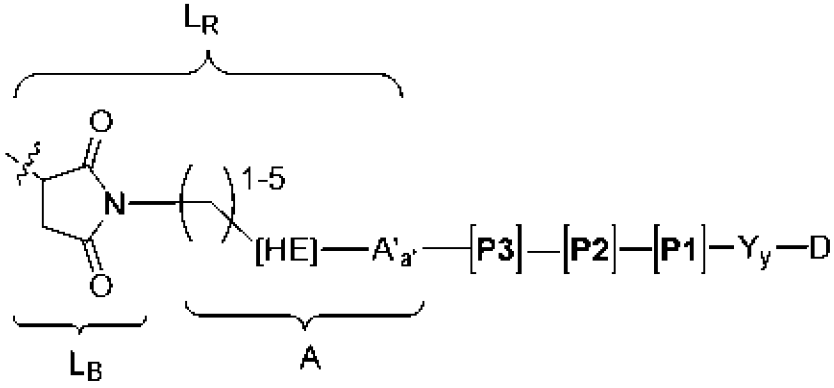


,

где волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену, а волнистая линия, смежная с A' указывает место ковалентного присоединения L_O к остатку фрагмента лекарственный препарат-линкер; A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, которое при наличии и в отсутствие B становится подзвеном A, нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно, W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено содержит трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом: первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной или представляет собой серин; вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина или представляет собой глицин или серин, или пролин; и третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина или представляет собой пролин, при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3, при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-; каждый Y при наличии представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено; нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и нижний индекс q представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3 или от 1 до 4, и при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q равен 2, 3 или 4, когда нижний индекс b равен 1; и при этом соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеют структуру по формуле **1**, в которой нижний индекс p заменен нижним индексом p', где нижний индекс p' независимо представляет собой целое число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равен 4 или 8. В некоторых вариантах осуществления первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной; вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; а третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено содержит трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где одна из аминокислот является отрицательно заряженной, другая из аминокислот имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина, а оставшаяся

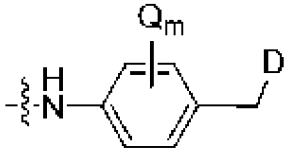
аминокислота имеет гидрофобность ниже чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления воздействие протеазы на пептидное расщепляемое звено может приводить к высвобождению D в виде свободного лекарственного препарата. В некоторых вариантах осуществления соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат находятся в форме соли.

[52] В некоторых вариантах осуществления соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер по формуле 1H:

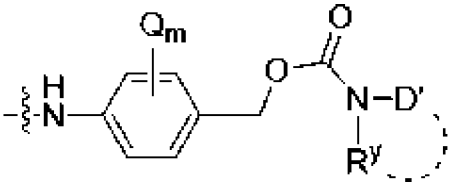


(формула 1H)

или ее фармацевтически приемлемых солей, и необязательно имеют незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и при этом HE представляет собой усиливающее гидролиз звено; A' представляет собой, при наличии, подзвено указанного первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно; а волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы лигандного звена. В некоторых вариантах осуществления HE представляет собой -C(=O). В некоторых вариантах осуществления $-Y_y-D$ имеет структуру:



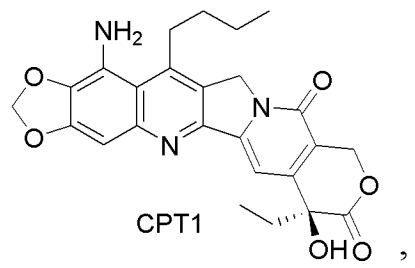
где каждый Q при наличии независимо выбран из группы, состоящей из $-C_1-C_8$ алкила, -O-(C_1-C_8 алкила), галогена, нитро и циано; и нижний индекс m равен 0, 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления $-Y_y-D$ имеет структуру:



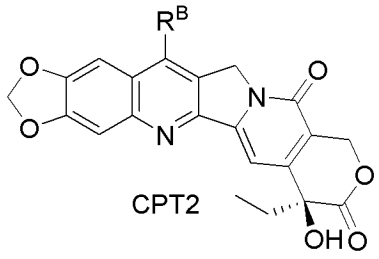
где $-N(R^y)D'$ представляет собой D, где D' представляет собой остаток D; волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1; пунктирная линия

указывает на необязательную циклизацию R^y с D'; R^y представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен при циклизации с D'; каждый Q при наличии независимо выбран из группы, состоящей из -C_1-C_8 алкила, -O-(C_1-C_8 алкила), галогена, нитро и циано; и нижний индекс m равен 0, 1 или 2.

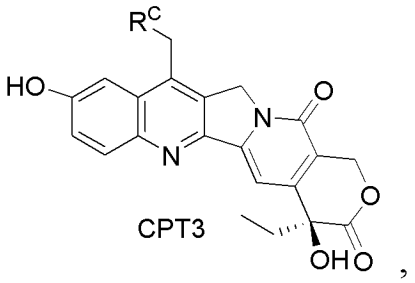
[53] В некоторых вариантах осуществления D включает структуру агента, разрушающего тубулин, фрагмента, связывающего малую бороздку ДНК, агента, повреждающего ДНК, или ингибитора репликации ДНК. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру тубулизина. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру камптотецина. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру ауристатина. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру антрациклина. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру камптотецина, выбранную из группы, состоящей из:



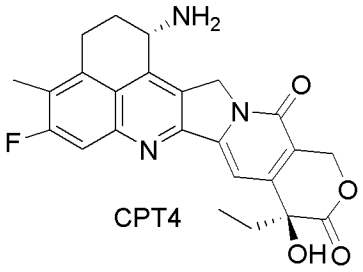
CPT1 ,



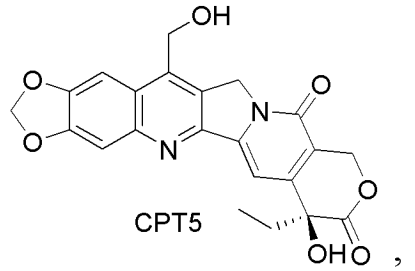
CPT2 ,



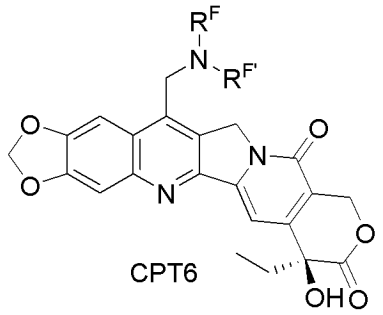
CPT3 ,



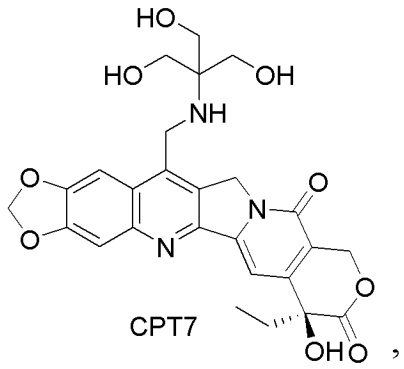
CPT4 ,



CPT5 ,



CPT6 , и

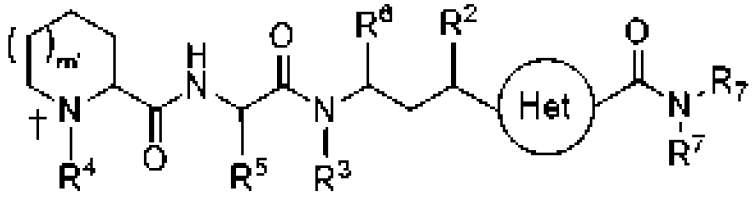


CPT7 ,

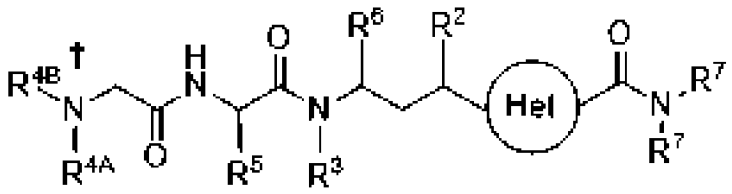
где R^B выбран из группы, состоящей из H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 галогеналкила, C_3-C_8 циклоалкила, (C_3-C_8 циклоалкил)-C_1-C_4 алкила, фенила и фенил-C_1-C_4 алкила; R^C выбран из группы, состоящей из C_1-C_6 алкила и C_3-C_6 циклоалкила; и каждый R^F и $R^{F'}$ независимо выбран из группы, состоящей из -H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, (C_1-C_4 алкиламино)-C_1-C_8 алкила-, N, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N, N-ди(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)-C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_8 алкил-C(O)-, C_1-C_8 гидроксиалкил-C(O)-, C_1-C_8

аминоалкил-C(O)-, C_3-C_{10} циклоалкила, (C_3-C_{10} циклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, (C_3-C_{10} гетероциклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, фенила, фенил-C_1-C_4 алкила-, дифенил-C_1-C_4 алкила-, гетероарила и гетероарил-C_1-C_4 алкила-, или R^F и $R^{F'}$ вместе с атомом азота, к которому присоединен каждый из них, образуют 5-, 6- или 7-членное кольцо, имеющее от 0 до 3 заместителей, выбранных из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4 алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NH-C_1-C_4 алкила, -N(C_1-C_4 алкила)$_2$; и где циклоалкильная, гетероциклоалкильная, фенильная и гетероарильная части R^B, R^C, R^F и $R^{F'}$ замещены от 0 до 3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4 алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NHC_1-C_4 алкила и -N(C_1-C_4 алкила)$_2$.

[54] В некоторых вариантах осуществления D имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из:

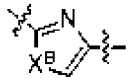


D_G и

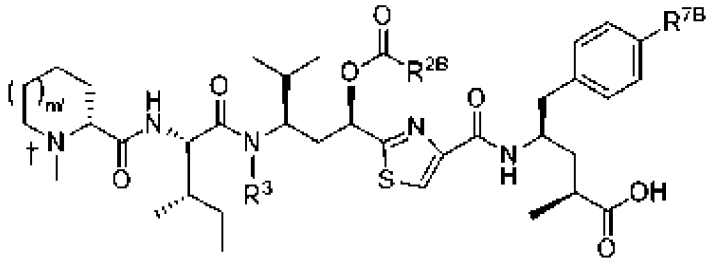


D_H

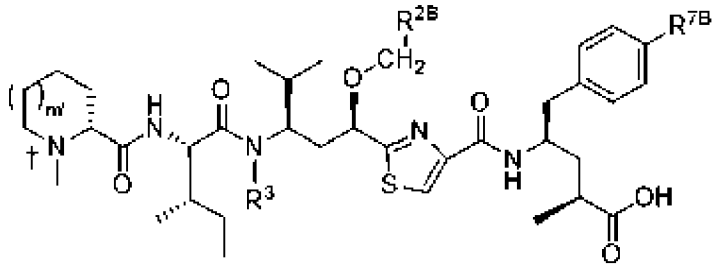
где символ кинжала представляет точку присоединения D к вторичному линкеру фрагмента лекарственный препарат-линкер, а символ круга представляет 5-членный или 6-членный азотный гетероарилен, где указанные необходимые заместители этого гетероарилена находятся в 1,3- или *мета*-взаимосвязи друг с другом с необязательным замещением в оставшихся позициях; R^2 представляет собой X^A-R^{2A}, где X^A представляет собой -O-, -S-, -N(R^{2B})-, -CH_2-, -(C=O)N(R^{2B})- или -O(C=O)N(R^{2B})-, где R^{2B} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, R^{2A} представляет собой водород, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил или -C(=O)R^C, где R^C представляет собой водород, необязательно замещенный алкил или необязательно замещенный арил, или R^2 представляет собой O-связанный заместитель; R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил; R^4, R^{4A}, R^{4B}, R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный алкил, независимо выбранный, один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, а другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил или необязательно замещенный гетероарилалкил, а нижний индекс m' равен 0 или 1. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой метил или R^{4A} и R^{4B} представляют собой метил. В некоторых вариантах

осуществления 5-членный гетероарилен представлен структурой  , где X^B представляет собой O, S или N-$R^{B,}$ где R^B представляет собой водород или низший алкил. В некоторых вариантах осуществления 5-членный гетероарилен представляет собой двухвалентный фрагмент тиазола. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс m' равен 1.

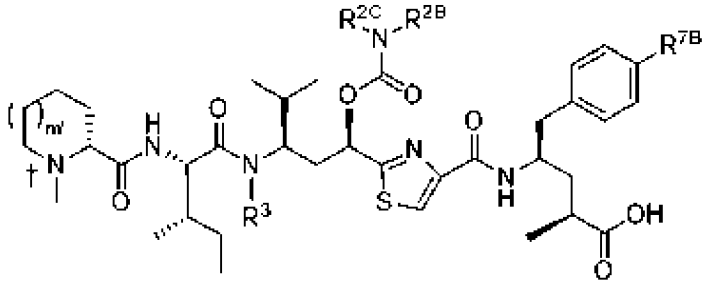
[55] В некоторых вариантах осуществления D имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из:



D_{G-3},

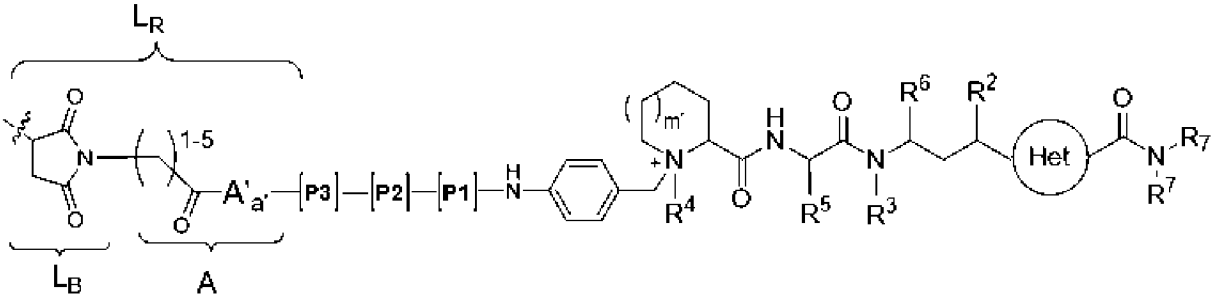


D_{G-4} и

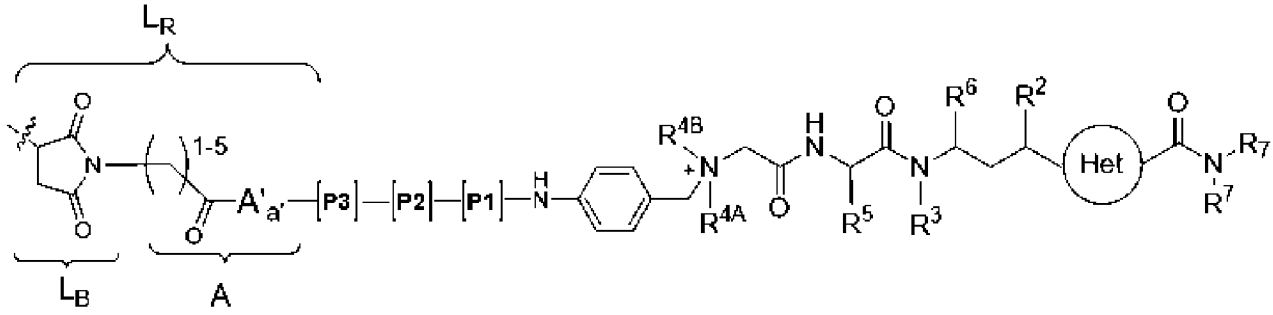


D_{G-5},

где R^{7B} представляет собой водород или -OH, R^3 представляет собой низший алкил, а R^{2B} и R^{2C} независимо представляют собой водород или низший алкил. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс q равен 1, а соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер:

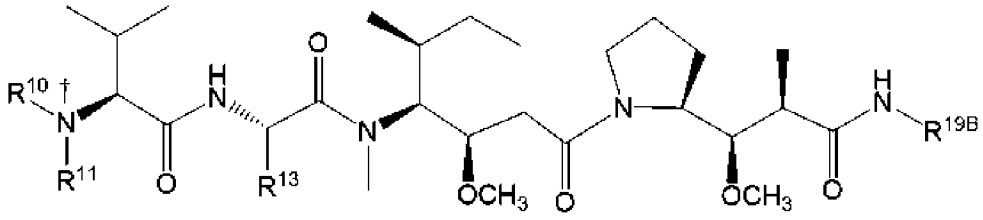


или их фармацевтически приемлемую соль, и необязательно имеют незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и при этом: нижний индекс a' равен 0 и A' отсутствует; а волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы лигандного звена. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс q равен 1, а соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер:



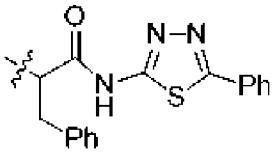
или их фармацевтически приемлемую соль, и необязательно имеют незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и при этом: нижний индекс a' равен 0 и A' отсутствует; а волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы лигандного звена.

[56] В некоторых вариантах осуществления D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, причем цитотоксический лекарственный препарат представляет собой содержащее вторичный амин соединение ауристатина, где атом азота вторичного амина является местом ковалентного присоединения к фрагменту лекарственный препарат-линкер, и при этом содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_{F/E-3}}$:



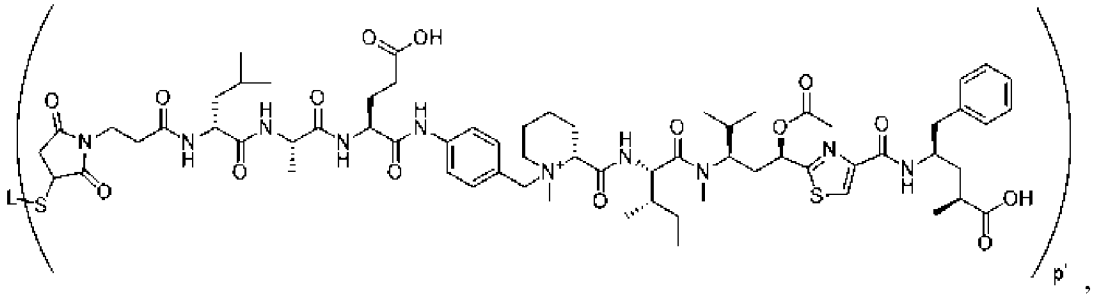
$\mathbf{D_{F/E-3}}$

где символ кинжала указывает место ковалентного присоединения атома азота, который обеспечивает карбаматную функциональную группу; один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил; R^{13} представляет собой изопропил или $-CH_2-CH(CH_3)_2$; и R^{19B} представляет собой $-CH(CH_3)-CH(OH)-Ph$, $-CH(CO_2H)-CH(OH)-CH_3$, $-CH(CO_2H)-CH_2Ph$, $-CH(CH_2Ph)$-2-тиазолил, $-CH(CH_2Ph)$-2-пиридил, $-CH(CH_2$-p-Cl-Ph), $-CH(CO_2Me)-CH_2Ph$, $-CH(CO_2Me)-CH_2CH_2SCH_3$, -

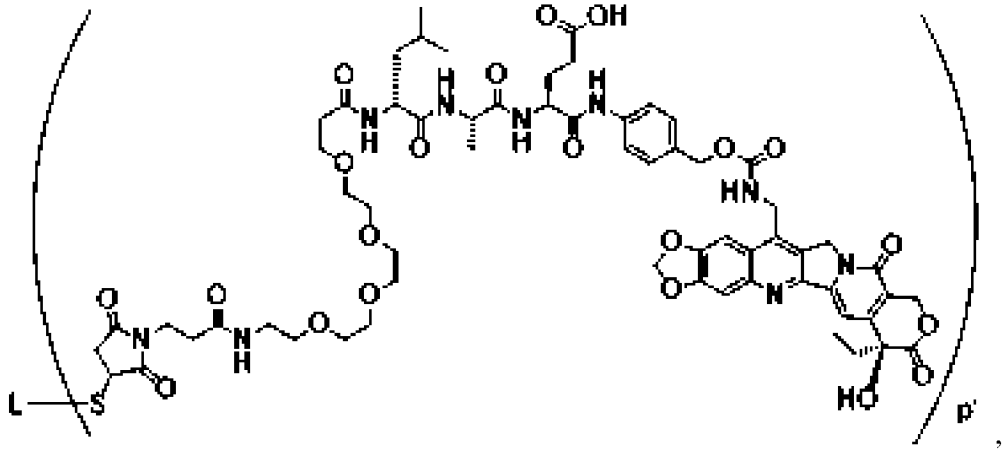
$CH(CH_2CH_2SCH_3)C(=O)NH$-хинол-3-ил, $-CH(CH_2Ph)C(=O)NH$-p-Cl-Ph, или R^{19B} имеет структуру  , где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к оставшейся части соединения ауристатина. В некоторых вариантах осуществления содержащее вторичный амин соединение ауристатина представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

[57] В некоторых вариантах осуществления пептидное расщепляемое звено представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом: аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации; одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; а другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala. В некоторых вариантах осуществления одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а аминокислота P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu- или -Ala-Asp-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp.

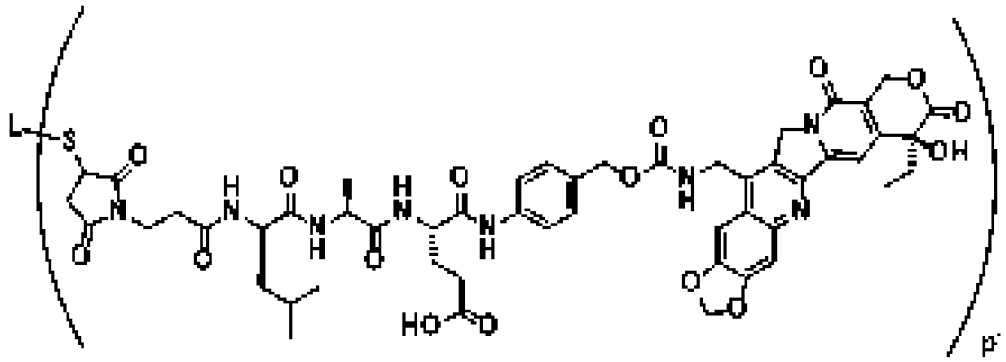
[58] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат, имеющие структуру:



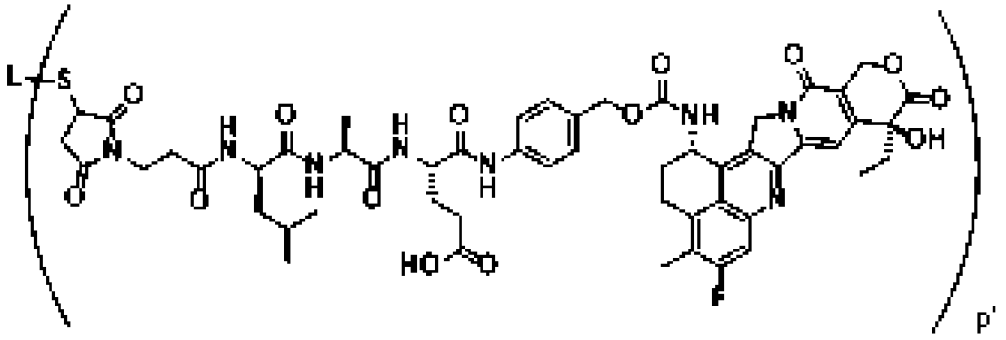
,



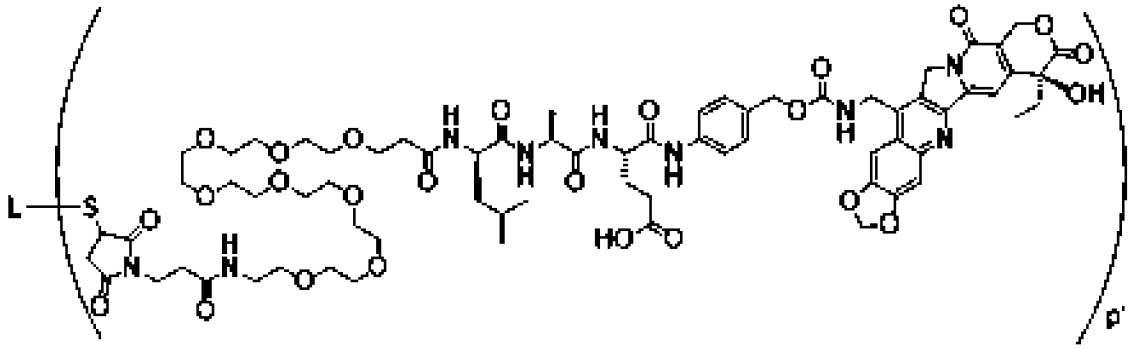
,



,



, или



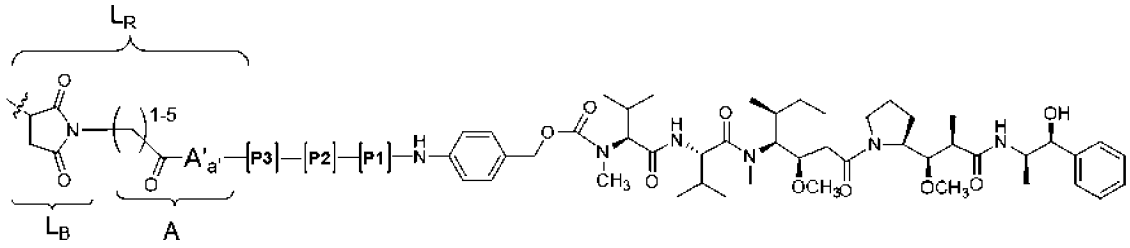
,

или их фармацевтически приемлемой соли, где L представляет собой лигандное звено, а нижний индекс p’ представляет собой целое число от 1 до 12. В некоторых вариантах осуществления L представляет собой лигандное звено интактного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело представляет собой интактное химерное, гуманизированное или человеческое антитело. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент

способны селективно связываться с антигеном раковой клетки. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент способны селективно связываться с антигеном иммунной клетки. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать CD30. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент содержат CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6, соответственно. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело представляет собой cAC10. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать LIV1. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент содержат CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 518, 519, 520, 521, 522 и 523, соответственно. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 524, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 525. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело представляет собой ладиратузумаб. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать TROP2. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело представляет собой сацитузумаб или датопотамаб. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать ALPP. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать IL1RAP. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент содержат CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 96, 97, 98, 99, 100 и 101, соответственно. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело представляет собой ниданилимаб. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать ASCT2. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент содержат CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 794, 795, 796, 797, 798 и 799, соответственно. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 801, и вариабельную область легкой цепи, содержащую

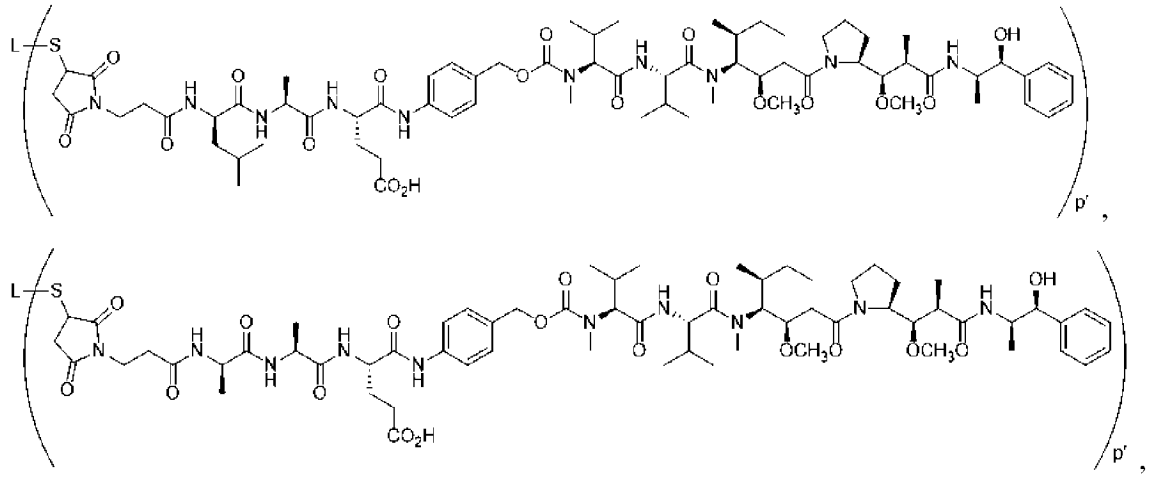
аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 802. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 790, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 791. В некоторых вариантах осуществления интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 792, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 793.

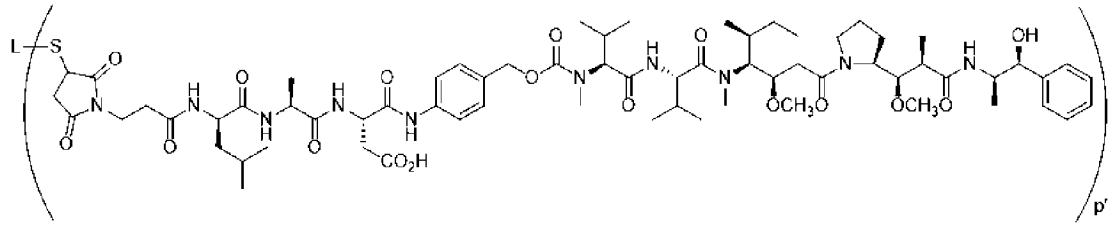
[59] В некоторых вариантах осуществления нижний индекс q равен 1, а соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер по формуле 1H-MMAE:

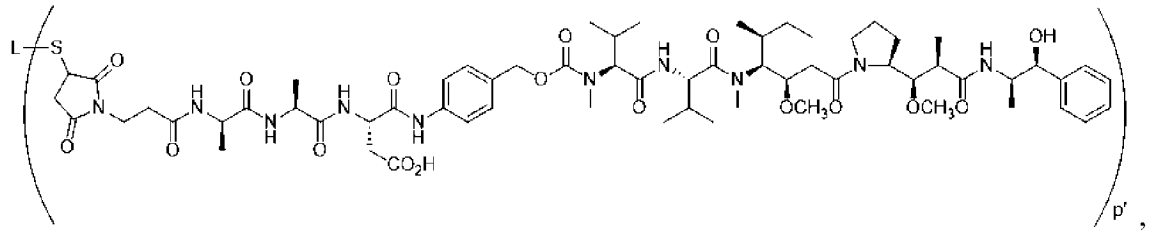


(формула 1H-MMAE)

или их фармацевтически приемлемую соль, и необязательно имеют незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и при этом: нижний индекс a' равен 0 и A' отсутствует; а волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы лигандного звена. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат, имеющие структуру




, или


,

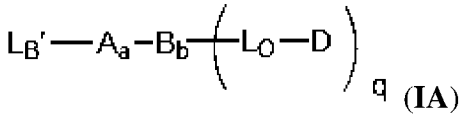
или их фармацевтически приемлемой соли, где L представляет собой лигандное звено, а нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12.

[60] В некоторых вариантах осуществления p находится в диапазоне от около 2 до около 12, или от около 2 до около 10, или от около 2 до около 8, или нижний индекс p равен около 2, около 4 или около 8.

[61] В другом аспекте в данном документе предложен фармацевтически приемлемый состав, причем состав содержит эффективное количество композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат, описанной в данном документе, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент. В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой жидкий носитель, который обеспечивает жидкий состав, причем жидкий состав пригоден для лиофилизации или введения нуждающемуся в этом субъекту. В некоторых вариантах осуществления состав представляет собой лиофилизированное твердое вещество или жидкий состав, при этом по меньшей мере один эксципиент твердого состава представляет собой лиопротектор.

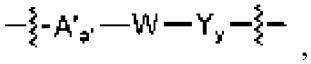
[62] В другом аспекте в данном документе предложен способ лечения рака, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат, описанной в данном документе, или фармацевтически приемлемого состава любой композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат, описанной в данном документе.

[63] В другом аспекте в данном документе предложено соединение лекарственный препарат-линкер по формуле **IA:**


(IA)

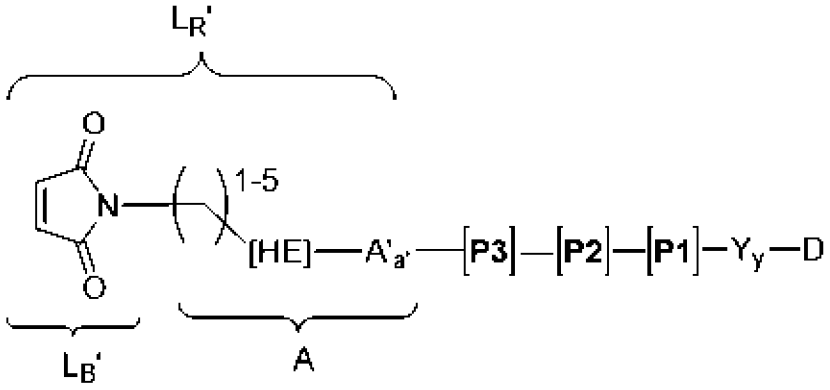
или его соль, где D представляет собой лекарственное звено; L_B' представляет собой фрагмент-предшественник, ковалентно связывающий лиганд; A представляет собой первое необязательное звено растяжения; нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно; B представляет собой необязательное звено разветвления; нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или

присутствие B, соответственно; L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, при этом вторичный линкер имеет формулу:



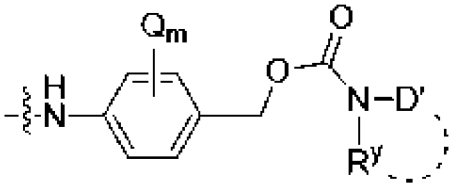
где волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену, а волнистая линия, смежная с A' указывает место ковалентного присоединения L_O к остатку соединения лекарственный препарат-линкер; A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, которое при наличии и в отсутствие B становится подзвеном A; нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно, W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено содержит трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом: первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной или представляет собой серин; вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина или представляет собой глицин или серин, или пролин; и третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина или представляет собой пролин, при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3, при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-; каждый Y при наличии представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено; нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и нижний индекс q представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 3, при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q равен 2 или 3, когда нижний индекс b равен 1. В некоторых вариантах осуществления первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной; вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; а третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления соединение лекарственный препарат-линкер находится в форме соли.

[64] В некоторых вариантах осуществления соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру по формуле IH:



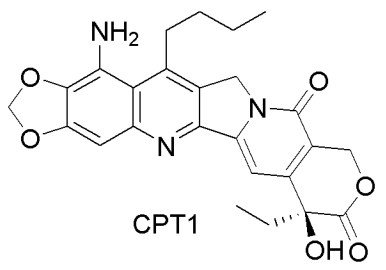
(формула IH)

или ее соли, где: HE представляет собой усиливающее гидролиз звено; и A' представляет собой, при наличии, подзвено указанного первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно. В некоторых вариантах осуществления HE представляет собой -C(=O). В некоторых вариантах осуществления $-Y_y-D$ имеет структуру:

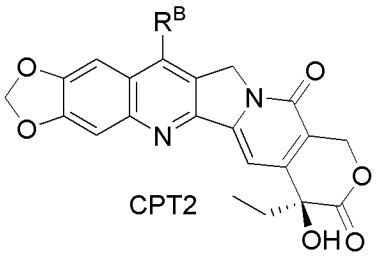


где $-N(R^y)D'$ представляет собой D, где D' представляет собой остаток D; волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1; пунктирная линия указывает на необязательную циклизацию R^y с D'; R^y представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен при циклизации с D'; каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из -C_1-C_8 алкила, -O-(C_1-C_8 алкила), галогена, нитро и циано; и нижний индекс m равен 0, 1 или 2.

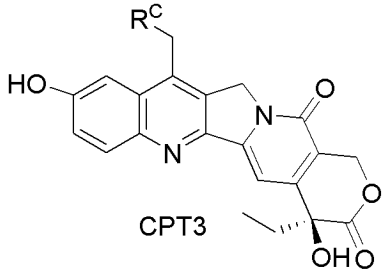
[65] В некоторых вариантах осуществления D включает структуру агента, разрушающего тубулин, фрагмента, связывающего малую бороздку ДНК, агента, повреждающего ДНК, или ингибитора репликации ДНК. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру тубулизина. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру камптотецина. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру ауристатина. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру антрациклина. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру камптотецина, имеющего структуру, выбранную из группы, состоящей из



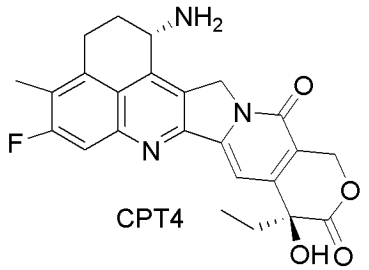
CPT1 ,



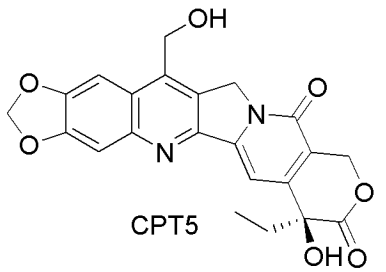
CPT2 ,



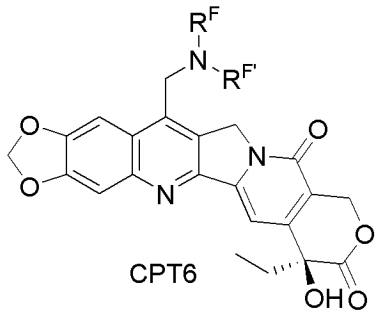
CPT3 ,



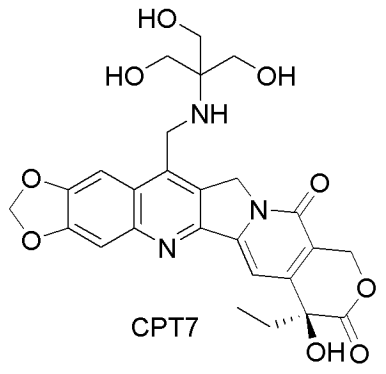
CPT4 ,



CPT5 ,



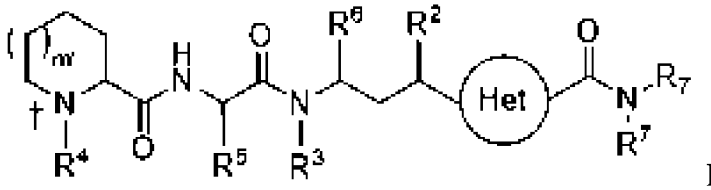
CPT6 , и



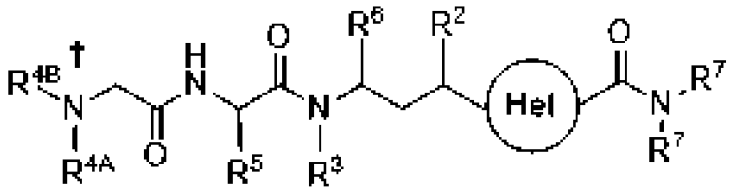
CPT7 ,

где R^B выбран из группы, состоящей из H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 галогеналкила, C_3-C_8 циклоалкила, (C_3-C_8 циклоалкил)-C_1-C_4 алкила, фенила и фенил-C_1-C_4 алкила; R^C выбран из группы, состоящей из C_1-C_6 алкила и C_3-C_6 циклоалкила; и каждый R^F и $R^{F'}$ независимо выбран из группы, состоящей из -H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, (C_1-C_4 алкиламино)-C_1-C_8 алкила-, N, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N, N-ди(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)-C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_8 алкил-C(O)-, C_1-C_8 гидроксиалкил-C(O)-, C_1-C_8

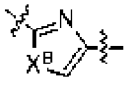
аминоалкил-C(O)-, C_3-C_{10} циклоалкила, (C_3-C_{10} циклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, (C_3-C_{10} гетероциклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, фенила, фенил-C_1-C_4 алкила-, дифенил-C_1-C_4 алкила-, гетероарила и гетероарил-C_1-C_4 алкила-, или R^F и $R^{F'}$ вместе с атомом азота, к которому присоединен каждый из них, образуют 5-, 6- или 7-членное кольцо, имеющее от 0 до 3 заместителей, выбранных из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4 алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NH-C_1-C_4 алкила, -N(C_1-C_4 алкила)$_2$; и где циклоалкильная, гетероциклоалкильная, фенильная и гетероарильная части R^B, R^C, R^F и $R^{F'}$ замещены от 0 до 3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4 алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NHC_1-C_4 алкила и -N(C_1-C_4 алкила)$_2$. В некоторых вариантах осуществления D имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из



D_G и



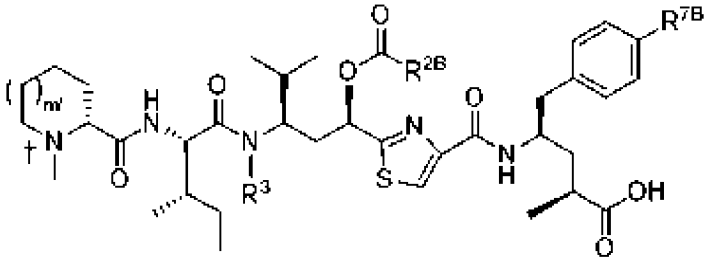
D_H

где символ кинжала представляет точку присоединения D к остатку соединения лекарственный препарат-линкер, а символ круга представляет 5-членный или 6-членный азотный гетероарилен, где указанные необходимые заместители этого гетероарилена находятся в 1,3- или *мета*-взаимосвязи друг с другом с необязательным замещением в оставшихся позициях; R^2 представляет собой X^A-R^{2A}, где X^A представляет собой -O-, -S-, -N(R^{2B})-, -CH_2-, -(C=O)N(R^{2B})- или -O(C=O)N(R^{2B})-, где R^{2B} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, R^{2A} представляет собой водород, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил или -C(=O)R^C, где R^C представляет собой водород, необязательно замещенный алкил или необязательно замещенный арил, или R^2 представляет собой O-связанный заместитель; R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил; R^4, R^{4A}, R^{4B}, R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный алкил, независимо выбранный, один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, а другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил или необязательно замещенный гетероарилалкил, а нижний индекс m' равен 0 или 1. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой метил или R^{4A} и R^{4B} представляют собой метил. В некоторых вариантах осуществления 5-членный гетероарилен представлен структурой 

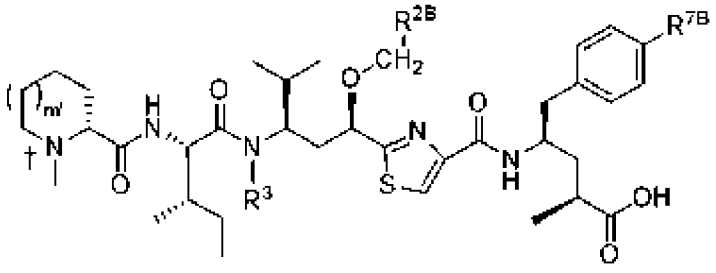
, где X^B представляет собой O, S или N-$R^{B,}$ где R^B представляет собой водород или низший алкил. В некоторых вариантах

осуществления 5-членный гетероарилен представляет собой двухвалентный фрагмент тиазола. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс m’ равен 1.

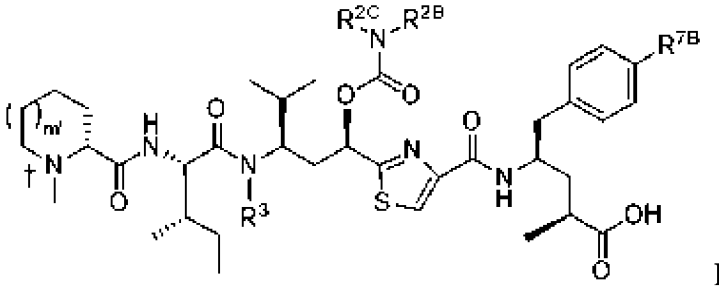
[66] В некоторых вариантах осуществления D имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из:



D_{G-3},

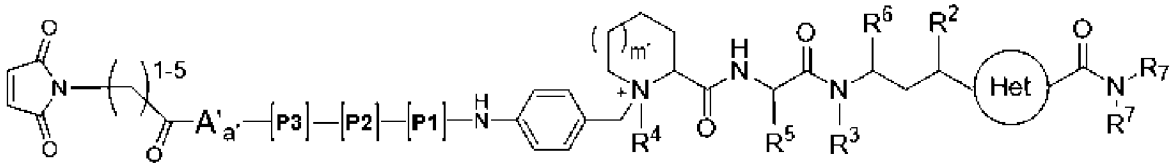


D_{G-4} и

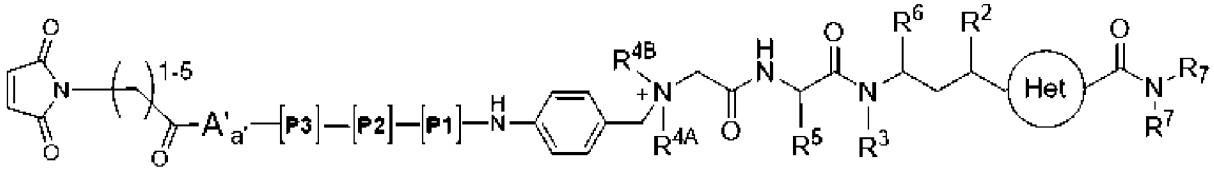


D_{G-5},

где R^{7B} представляет собой водород или -OH, R^3 представляет собой низший алкил, а R^{2B} и R^{2C} независимо представляют собой водород или низший алкил. В некоторых вариантах осуществления соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



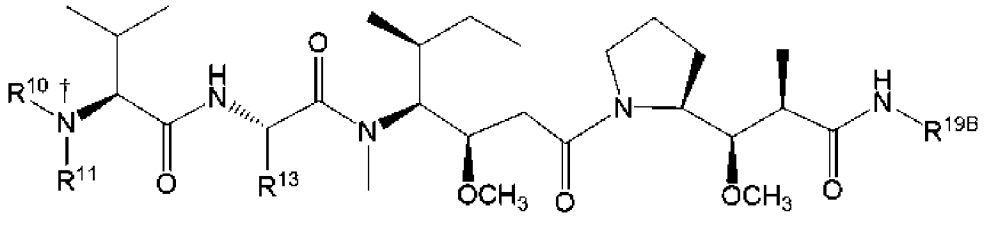
или ее соли, где нижний индекс a’ равен 0, а A’ отсутствует. В некоторых вариантах осуществления соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



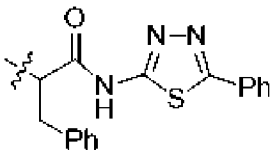
или ее соли, где нижний индекс a’ равен 0, а A’ отсутствует.

[67] В некоторых вариантах осуществления D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, причем цитотоксический лекарственный препарат представляет

собой содержащее вторичный амин соединение ауристатина, где атом азота вторичного амина является местом ковалентного присоединения к фрагменту лекарственный препарат-линкер, и при этом содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_{F/E-3}}$:

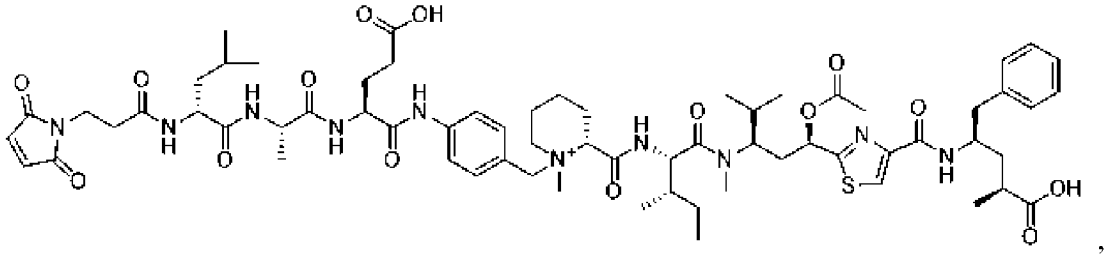


$\mathbf{D_{F/E-3}}$

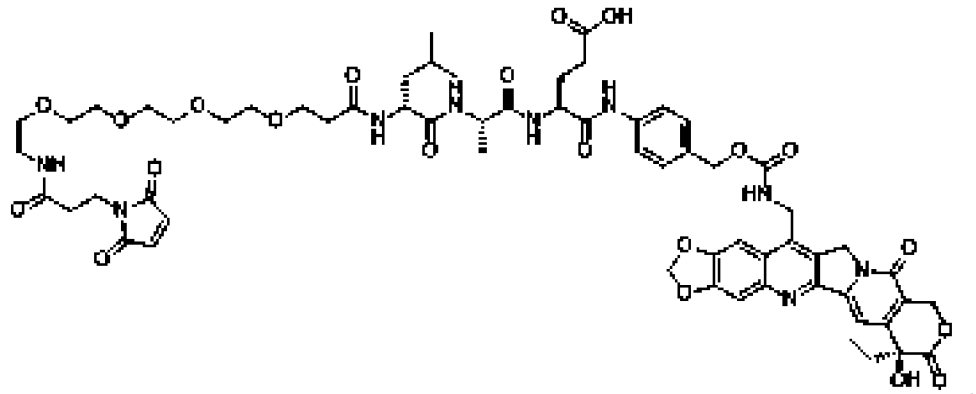
где символ кинжала указывает место ковалентного присоединения атома азота, который обеспечивает карбаматную функциональную группу; один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил; R^{13} представляет собой изопропил или $-CH_2-CH(CH_3)_2$; и R^{19B} представляет собой $-CH(CH_3)-CH(OH)-Ph$, $-CH(CO_2H)-CH(OH)-CH_3$, $-CH(CO_2H)-CH_2Ph$, $-CH(CH_2Ph)$-2-тиазолил, $-CH(CH_2Ph)$-2-пиридил, $-CH(CH_2$-p-Cl-Ph), $-CH(CO_2Me)-CH_2Ph$, $-CH(CO_2Me)-CH_2CH_2SCH_3$, $-CH(CH_2CH_2SCH_3)C(=O)NH$-хинол-3-ил, $-CH(CH_2Ph)C(=O)NH$-p-Cl-Ph, или R^{19B} имеет структуру  , где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к оставшейся части соединения ауристатина. В некоторых вариантах осуществления содержащее вторичный амин соединение ауристатина представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

[68] В некоторых вариантах осуществления пептидное расщепляемое звено представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом: аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации; одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; а другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala. В некоторых вариантах осуществления одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а аминокислота P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu- или -Ala-Asp-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 представляет собой D-

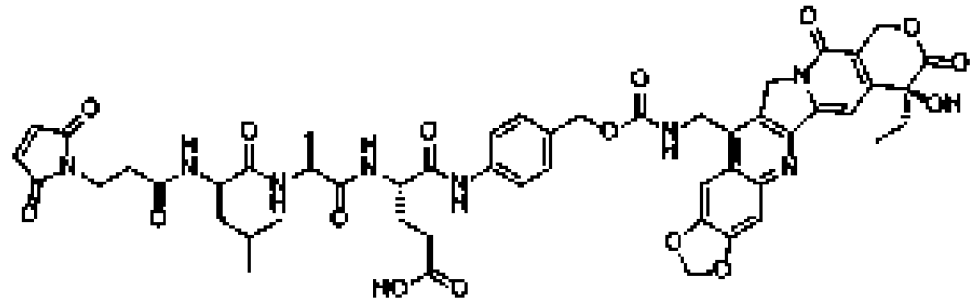
Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp. В некоторых вариантах осуществления соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



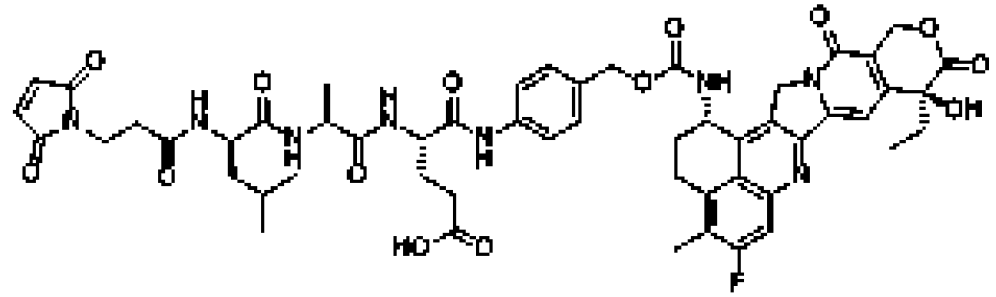
,



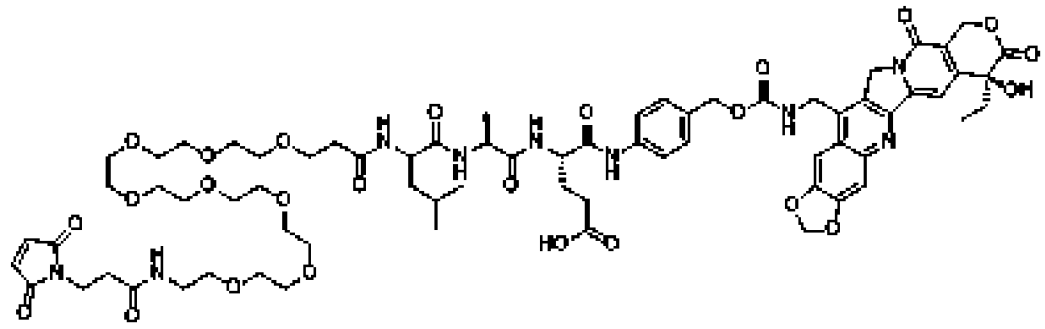
,



,



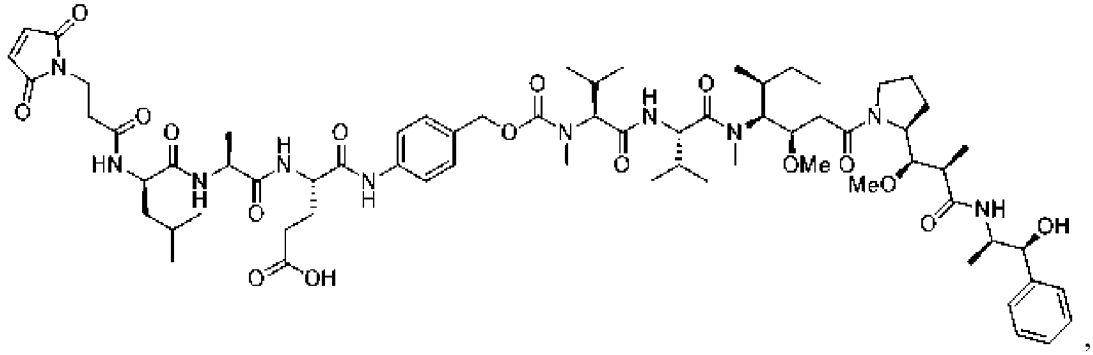
, или



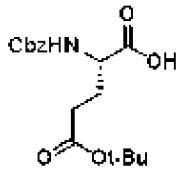
,

или его соль.

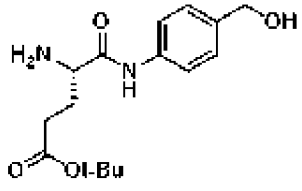
[69] В другом аспекте в данном документе предложен способ получения соединения, имеющего структуру



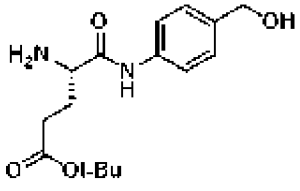
,



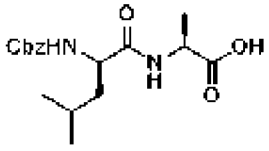
или его соли, включающий a) проведение реакции или его соли с 4-аминобензиловым спиртом с последующим восстановлением с образованием



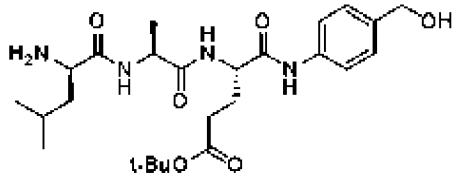
или его соли; b) проведение реакции



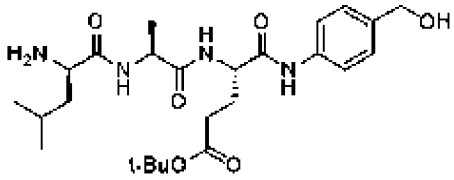
или его соли с



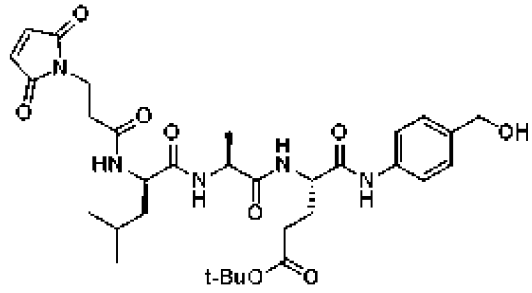
или его солью с последующим восстановлением с образованием



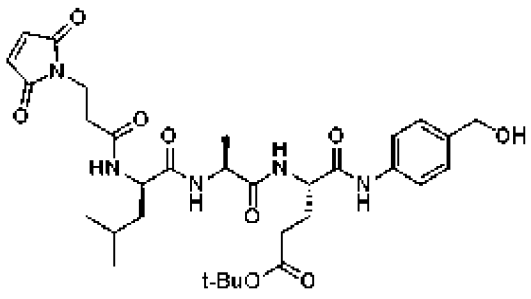
или его соли; c) проведение реакции



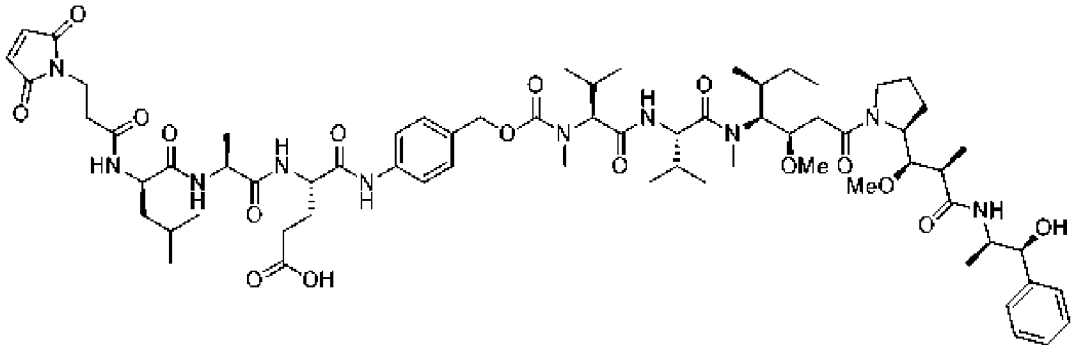
или его соли с 3-малеимидопропионовой кислотой с образованием



или его соли; и d) преобразование



или его соли в соединение



или его соль.

[70] В другом аспекте в данном документе предложены антигенсвязывающие белки (ABP), включая их антигенсвязывающие фрагменты (например, антитела и их антигенсвязывающие фрагменты), которые связывают GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19. Антигенсвязывающие белки и фрагменты содержат антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19, включая человеческий GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 (например, SEQ ID NO: 931) или CD19. В некоторых вариантах осуществления конъюгаты анти-GPNMB, анти-CD228, анти-αvβ6, анти-CD30, анти-LIV1 или анти-CD19 антитело - лекарственный препарат (ADC) содержат анти-GPNMB, анти-CD228, анти-αvβ6, анти-CD30, анти-LIV1 или анти-CD19 ABP, описанный выше, конъюгированный с соединением лекарственный препарат-линкер dLAE-MMAE (иногда называемым в данном документе mp-dLAE-PABC-MMAE или mp-dLAE-MMAE). В некоторых вариантах осуществления эти анти-GPNMB ADC можно использовать для лечения GPNMB-экспрессирующих видов рака, таких как меланома, рак легкого, молочной железы, головы и шеи, яичника, саркома, мезотелиома и рак шейки матки. В некоторых вариантах осуществления эти анти-CD228 ADC можно использовать для лечения CD228-экспрессирующих видов рака, таких как меланома, рак поджелудочной железы, мезотелиома, колоректальный рак, рак легкого, рак щитовидной железы, рак молочной железы, холангиокарцинома, рак пищевода и рак головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления эти анти-αvβ6 ADC можно использовать для лечения αvβ6-экспрессирующих видов рака, таких как немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), рак головы и шеи, рак пищевода, рак молочной железы, рак яичника, рак мочевого пузыря, рак кожи (РК), рак яичника, рак шейки матки, рак желудка и рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления эти анти-CD30 ADC можно использовать для лечения CD30-экспрессирующих заболеваний, таких как рак, аутоиммунные заболевания

и другие инфекционные заболевания. В дополнительных вариантах осуществления эти анти-CD30 ADC можно использовать для лечения солидных и жидких опухолей и аутоиммунных заболеваний, таких как ВИЧ и СПИД. В некоторых вариантах осуществления эти анти-LIV1 ADC можно использовать для лечения LIV1-экспрессирующих видов рака, таких как рак молочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, рак эндометрия, рак шейки матки, печени, желудка, почки и плоскоклеточные карциномы (например, мочевого пузыря, головы и шеи, пищевода и легкого, например, немелкоклеточный рак легкого); рак кожи, такой как меланома; мелкоклеточная карцинома легкого или карциноидная опухоль легкого, или неплоскоклеточный немелкоклеточный рак легкого. Раки молочной железы включают, например, HER2-положительные раки молочной железы, включая раки молочной железы с низким уровнем экспрессии HER, гормон-чувствительные раки молочной железы, такие как эстроген-рецептор-положительные раки молочной железы, и трижды негативные раки молочной железы. Другие виды рака, которые можно лечить mp-dLAE-PABC-MMAE LIV1-ADC, включают аденокарциному желудка и гастроэзофагеального перехода, кастрационно-резистентный рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления эти анти-CD19 ADC можно использовать для лечения CD19-экспрессирующих видов рака, таких как хронический лейкоз, лимфома, множественная миелома, острый лимфобластный лейкоз B-типа, хронический миелоцитарный лейкоз, неходжкинская лимфома и ходжкинская лимфома, B-клеточная лимфома или диффузная крупноклеточная B-клеточная лимфома.

[71] Эти и другие варианты осуществления изобретения более подробно описаны в следующем «Подробном описании изобретения» и «Формуле изобретения».

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[72] Фиг. 1A, 1B, 1C и 1D. Объем опухолей в зависимости от количества дней после имплантации ксенотрансплантатной модели при лечении рядом 4-нагруженных ADC, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве пептидного расщепляемого звена, где фрагменты лекарственный препарат-линкер представлены формулой mp-P_3-P_2-P_1-PABC-MMAE, в минимальных лечебных дозах по сравнению с минимальной лечебной дозой 4-нагруженного ADC, нацеленного на такой же антиген раковой клетки и имеющего фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные формулой mc-val-cit-PABC-MMAE. Соединения на Фиг. 1A исследовали при 4 мг/кг. Соединения на Фиг. 1B и Фиг. 1D исследовали при 3 мг/кг. Соединения на Фиг. 1C исследовали при 6 мг/кг.

[73] Фиг. 2A-2C. Число нейтрофилов через 4 дня введения 10 мг/кг (Фиг. 2A и 2B) или через 8 и 22 дня введения наибольшей дозы (Фиг. 2C) ряда 4-нагруженных несвязывающих контрольных конъюгатов, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве пептидного расщепляемого звена, где фрагменты лекарственный препарат-линкер представлены формулой mp-P_3-P_2-P_1-PABC-MMAE, по сравнению с 4-нагруженными несвязывающими конъюгатами, имеющими фрагменты

лекарственный препарат-линкер, представленные формулой mc-val-cit-PABC-MMAE или mp-val-cit-PABC-MMAE.

[74] Фиг. 3A-3C. Число ретикулоцитов в крысиной плазме через 4 дня введения 10 мг/кг (Фиг. 3A и 3B) или через 8 и 22 дня введения наибольшей дозы (Фиг. 3C) не несущим опухоли животным ряда 4-нагруженных несвязывающих конъюгатов, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве пептидного расщепляемого звена, где фрагменты лекарственный препарат-линкер представлены формулой mp-P_3-P_2-P_1-PABC-MMAE, по сравнению с 4-нагруженными несвязывающими конъюгатами, имеющими фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные формулой mc-val-cit-PABC-MMAE или mp-val-cit-PABC-MMAE.

[75] Фиг. 4. Гистопатология костного мозга крысы после введения не несущим опухоли животным в день 4 носителя или 10 мг/кг 4-нагруженных несвязывающих конъюгатов, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве пептидного расщепляемого звена, где фрагменты лекарственный препарат-линкер представлены формулой mp-P_3-P_2-P_1-PABC-MMAE, по сравнению с 4-нагруженным несвязывающим конъюгатом, имеющим фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные формулой mc-val-cit-PABC-MMAE.

[76] Фиг. 5A и 5B. Свободный MMAE в крысиной плазме в различные моменту времени после введения не несущим опухоли животным носителя и 10 мг/кг 4-нагруженных несвязывающих конъюгатов, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве пептидного расщепляемого звена, где фрагменты лекарственный препарат-линкер представлены формулой mp-P_3-P_2-P_1-PABC-MMAE, по сравнению с 4-нагруженным несвязывающим конъюгатом, имеющим фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные формулой mc-val-cit-PABC-MMAE.

[77] Фиг. 6A-6D. Процент лекарственного препарата, отщепленного от тяжелой цепи 4-нагруженных ненацеленных конъюгатов, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве пептидного расщепляемого звена, где фрагменты лекарственный препарат-линкер представлены формулой mp-P_3-P_2-P_1-PABC-MMAE, по сравнению с 4-нагруженным ненацеленным конъюгатом, имеющим фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные формулой mp-val-cit-PABC-MMAE, in vitro эластазой нейтрофилов (Фиг. 6A) или катепсином B (Фиг. 6B и 6C) или в ксенотрансплантате рака поджелудочной железы (Фиг. 6D).

[78] Фиг. 7A, 7B, 8 и 9. Агрегация 4-нагруженных ненацеленных конъюгатов, имеющих различные трипептидные последовательности в качестве пептидного расщепляемого звена, где фрагменты лекарственный препарат-линкер представлены формулой mp-P_3-P_2-P_1-PABC-MMAE после 96 ч инкубации в плазме крысы (Фиг. 7A и 7B), плазме яванского макака (Фиг. 8) или плазме человека (Фиг. 9).

[79] Фиг. 10. Агрегация ненацеленных MMAF ADC в плазме крысы в различные моменты времени.

[80] Фиг. 11. Корреляция истощения ретикулоцитов ненацеленными ADC у крыс и

агрегации ADC в плазме крысы после 96 ч инкубации.

[81] Фиг. 12. Корреляция истощения ретикулоцитов ненацеленными ADC у крыс и агрегации ADC в плазме яванского макака после 96 ч инкубации.

[82] Фиг. 13. Корреляция истощения ретикулоцитов ненацеленными ADC у крыс и агрегации ADC в плазме человека после 96 ч инкубации.

[83] Фиг. 14. Концентрация антитела во внеклеточном компартменте костного мозга крыс, которым вводили ненацеленные ADC.

[84] Фиг. 15. Количество свободного MMAE костном мозге крыс, которым вводили ненацеленные ADC.

[85] Фиг. 16. Истощение ретикулоцитов в дни 5 и 8 после дозы ненацеленных трипептидных ADC после введения крысам при 20 мг/кг.

[86] Фиг. 17. Истощение нейтрофилов в дни 5 и 8 после дозы ненацеленных трипептидных ADC после введения крысам при 20 мг/кг.

[87] Фиг. 18. Гистология костной ткани в дни 5 и 8 после дозы ненацеленных трипептидных ADC после введения крысам при 20 мг/кг.

[88] Фиг. 19. Корреляция между cLogP линкеров и агрегацией соответствующего h00-конъюгата в плазме крыс после 96 ч инкубации (выраженной как % BM=% высокомолекулярных фракций).

[89] Фиг. 20. Корреляция между истощением ретикулоцитов, вызванным ненацеленными ADC у крыс, и агрегацией ADC в плазме крысы после 96 ч инкубации (выраженной как % BM=% высокомолекулярных фракций).

[90] Фиг. 21. Корреляция между истощением ретикулоцитов, вызванным ненацеленными ADC у крыс, и агрегацией ADC в плазме человека после 96 ч инкубации (выраженной как % BM=% высокомолекулярных фракций).

[91] Фиг. 22. Корреляция между истощением ретикулоцитов, вызванным ненацеленными ADC у крыс, и агрегацией ADC в плазме яванского макака после 96 ч инкубации (выраженной как % BM=% высокомолекулярных фракций).

[92] Фиг. 23. Результаты плазменной агрегации в динамике по времени для выбранных соединений ADC.

[93] Фиг. 24A и 24B. Размер опухолей у мышей с лимфомой Ходжкина (L428) после обработки выбранными соединениями конъюгата антитело - лекарственный препарат.

[94] Фиг. 25A, 25B и 25C. Размер опухолей у мышей с DELBVR (ALCL) после обработки выбранными соединениями конъюгата антитело - лекарственный препарат.

[95] Фиг. 26. Выживаемость мышей с Karpas/KarpasBVR после обработки выбранными соединениями конъюгата антитело - лекарственный препарат.

[96] Фиг. 27A и 27B. Размер опухолей у мышей с Caki-1 (почечно-клеточная карцинома) после обработки выбранными соединениями конъюгата антитело - лекарственный препарат.

[97] Фиг. 28. Объем опухолей в зависимости от количества дней после

имплантации ксенотрансплантатной модели при лечении рядом 4-нагруженных ADC, имеющих трипептидную последовательность D-Leu-Ala-Glu в качестве пептидного расщепляемого звена, где фрагмент лекарственный препарат-линкер представлен формулой mp-D-Leu-Ala-Glu-TubM, по сравнению с cAC10.

[98] На Фиг. 29 показан объем опухолей WM266-4, ксенотрансплантатной модели, полученной из клеток меланомы, в динамике по времени у мышей, которых не обрабатывали и обрабатывали 3 мг/кг IgG-mc-vc-PABC-MMAE (4), 3 мг/кг hCR011-mc-vc-PABC-MMAE (4), 3 мг/кг IgG-mp-dLAE-PABC-MMAE (4) и 3 мг/кг hCR011-mp-dLAE-PABC-MMAE (4).

[99] На Фиг. 30 показан объем опухолей A2058, ксенотрансплантатной модели, полученной из клеток меланомы, в динамике по времени у мышей, которых не обрабатывали и обрабатывали 3 мг/кг hL49-mc-vc-PABC-MMAE (4), 1 мг/кг hL49-mc-vc-PABC-MMAE (4), 3 мг/кг hL49-mc-vc-PABC-MMAE (4) и 1 мг/кг hL49-mp-dLAE-PABC-MMAE (4).

[100] На Фиг. 31 показаны результаты ксенотрансплантатного исследования линии клеток Detroit562 на бестимусных мышах. Доза и схема указаны на фигуре.

[101] На Фиг. 32 показаны результаты ксенотрансплантатного исследования линии клеток BxPC3 на бестимусных мышах. Доза и схема указаны на фигуре.

[102] На Фиг. 33 показаны результаты ксенотрансплантатного исследования линии клеток HPAFII на бестимусных мышах. Доза и схема указаны на фигуре.

[103] На Фиг. 34A и 34B показаны in vivo результаты ксенотрансплантатных экспериментов на мышах с использованием модельной линии клеток рака молочной железы MCF7nci. Антитело hLIV22 конъюгировали с mc-vc-MMAE или mp-dLAE-MMAE и оценивали.

[104] На Фиг. 35A и 35B показаны in vivo результаты ксенотрансплантатных экспериментов на мышах с использованием модельной линии клеток рака предстательной железы PC3dsmz. Антитело hLIV22 конъюгировали с mc-vc-MMAE или mp-dLAE-MMAE и оценивали.

[105] На Фиг. 36A и 36B показаны in vivo результаты ксенотрансплантатных экспериментов на мышах с использованием модельной линии клеток рака шейки матки HeLa-J. Антитело hLIV22 конъюгировали с mc-vc-MMAE или mp-dLAE-MMAE и оценивали.

[106] На Фиг. 37 показано снижение выработки нейтрофилов и ретикулоцитов после введения ADC. Антитело hLIV22 конъюгировали с mc-vc-MMAE или mp-dLAE-MMAE и оценивали.

[107] На Фиг. 38 показаны результаты ксенотрансплантатного исследования линии клеток Raji на мышах SCID (CB17SC sp/sp).

[108] На Фиг. 39A-39F показаны in vitro результаты по активности для cAC10-1006 и cAC10-7092 по сравнению с конъюгатами, содержащими ненацеленное антитело (h00) и свободный MMAE в линиях клеток L540cy (39A), Karpas 299 (39B), DEL (39C), KMH2

(39D), L428 (39E) и DELBVR8F9 (39F).

[109] На Фиг. 40 показана in vitro цитотоксичность химерного анти-CD30 антитела cAC10, конъюгированного с vcMMAE (cAC10-1006) или dLAE-MMAE (cAC10-7092) на миелоидных клетках-предшественниках костного мозга человека по сравнению с конъюгатами, содержащими ненацеленное антитело (h00).

[110] На Фиг. 41A и 41B показано высвобождение ATP (41A) и высвобождение HMGB1 (41B), измеренное в клетках MIA-PaCa2, которые в течение 24 ч обрабатывали Receptor1-1006, Receptor1-7092 или ненацеленным антителом, конъюгированным с 1006.

[111] На Фиг. 42A-D показаны результаты ксенотрансплантатных исследований линий клеток L540cy и L428 на мышах SCID (CB17SC sp/sp) (L540cy (42A и 42B)) и мышах NSG (NOD scid гамма) (L428 (42C) и KMH2 (42D)).

[112] На Фиг. 43 показаны результаты ксенотрансплантатных исследований линий клеток Karpas:Karpas BVR на мышах SCID (CB17SC sp/sp).

[113] На Фиг. 44A и 44B, соответственно, показаны культуры нейритов, которые обрабатывали ненацеленным антителом, конъюгированным с vcMMAE (h00-1006) и конъюгированным с dLAE-MMAE (h00-7092). На Фиг. 44C и 44D, соответственно, показано сравнение данных для ненацеленного антитела, конъюгированного с vcMMAE (h00-1006) и конъюгированного с dLAE-MMAE (h00-7092) с и без добавления 50% сыворотки.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Общая информация

[114] Настоящее изобретение частично основано на неожиданном открытии, что активность протеаз в опухолевой ткани существенно отличается от таковой в нецелевой нормальной ткани, что обеспечивает дополнительную селективность в отношении раковых клеток, на которые нацелен конъюгат лиганд-лекарственный препарат, имеющий активируемую протеазами пептидную последовательность для кондиционального высвобождения своего конъюгированного цитотоксического соединения. Это отличие используется расщепляемыми протеазами пептидными последовательностями, описанными в данном документе, когда эти последовательности включены в пептидное расщепляемое линкерное звено соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат. Считается, что последовательности, обладающие этим свойством, в некоторых случаях обеспечивают соединения конъюгата, чьи биораспределение и/или чувствительность к протеолизу с высвобождением свободного цитотоксического соединения более характерны для опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью.

[115] Заголовки разделов, используемые в данном документе, предназначены исключительно для организационных целей, и их не следует воспринимать как ограничивающие описанный предмет изобретения.

[116] Методики и процедуры, описанные или упоминаемые в данном документе, в общем случае являются понятными и общеприменимыми специалистами в данной области техники с использованием традиционной методологии, такой как, например,

широко используемые методологии, описанные в Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 4th edition (2012) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor N.Y.; Current Protocols In Molecular Biology (F. M. Ausubel, et al. eds., (2003)); the series METHODS IN ENZYMOLOGY (Academic Press, Inc.); PCR 2: A Practical Approach (M. J. MacPherson, B. D. Hames and G. R. Taylor eds. (1995)); Greenfield, ed. (2013) Antibodies, A Laboratory Manual, 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R. I. Freshney), ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis et al., eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan et al., eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997); Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: A Practical Approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal Antibodies: A Practical Approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using Antibodies: A Laboratory Manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995); Cancer: Principles and Practice of Oncology (V. T. DeVita et al., eds., J.B. Lippincott Company, 1993); и их обновленных версиях. Каждая из вышеприведенных ссылок в этом параграфе в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки.

1. Определения

[117] Если не указано иное, все используемые в данном документе технические и научные термины имеют общепринятые значения, понятные специалисту в области техники, к которой относится данное изобретение. Например, в Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 5th ed., 2013, Academic Press; and the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, 2nd ed., 2006, Oxford University Press, для специалистов в данной области техники приведено общее пояснение многих терминов, используемых в данном изобретении.

[118] Если иное не требуется согласно контексту или явно не указано, термины в единственном числе включают множественное число, а термины во множественном числе включают единственное число.

[119] Понятно, что аспекты и варианты осуществления изобретении, описанные в данном документе, включают «содержащий», «состоящий» и/или «состоящий преимущественно из» аспектов и вариантов осуществления.

[120] В контексте данного документа термин «и/или» следует рассматривать как конкретное описание каждого из двух указанных признаков или компонентов вместе с

другим или без него. Таким образом, термин «и/или» в контексте такого выражения, как «А и/или В», подразумевает включение выражений «А и В», «А или В»; «А» (отдельно) и «В» (отдельно). Аналогично, термин «и/или» в контексте такого выражения, как «А, В и/или С», подразумевает охват каждого 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).

[121] Если иное не указано или не следует из контекста, используемые в данном документе термины имеют значения, определенные ниже. Если не указано или не подразумевается иное, например, за счет включения взаимно исключающих элементов или вариантов, в этих определениях и в тексте описания термины в единственном числе означают один или более, а термин «или» означает «и/или», если это допускает контекст. Таким образом, согласно представлению в описании и в прилагаемой формуле изобретения, формы единственного числа включают отсылку на множественное число, если из контекста явным образом не следует иное. В разных местах настоящего изобретения, например, в любом из описанных вариантом осуществления или в формуле изобретения, упоминаются соединения, композиции или способы, которые «содержат/включают» один или более указанных компонентов, элементов или этапов. Варианты осуществления изобретения также явным образом включают те соединения, композиции или способы, которые представляют собой, или которые состоят из, или которые состоят преимущественно из этих указанных компонентов, элементов или этапов. Термин «состоящий из» взаимозаменяемо используется с термином «содержащий», при этом они являются эквивалентными терминами. Например, описанные композиции, устройства, изделия или способы, которые «содержат» компонент или этап, не являются ограничивающими и включают эти композиции или способы плюс дополнительный(е) компонент(ы) или этап(ы). При этом эти термины не включают не перечисленные элементы, которые бы нарушили функциональность описанных композиций, устройств, изделий или способов в отношении их предполагаемой цели. Аналогично, описанные композиции, устройства, изделия или способы, которые «состоят из» компонента или этапа, являются ограничивающими и не включают композиции или способы, имеющие значительные количества дополнительного(ых) компонента(ов) или дополнительного(ых) этапа(ов). Кроме того, термин «состоящий преимущественно из» допускает включение не перечисленных элементов, которые не оказывают существенного влияния функциональность описанных композиций, устройств, изделий или способов в отношении их предполагаемой цели, как дополнительно определено в данном документе. Заголовки разделов, используемые в данном документе, предназначены исключительно для организационных целей, и их не следует воспринимать как ограничивающие описанный предмет изобретения. Если не указано иное, применяют традиционные методы масс-спектроскопии, ЯМР, ВЭЖХ, белковой химии, биохимии, технологий рекомбинантных ДНК и фармакологии.

[122] Термин «около» относится к значению или составу, которые находятся в пределах допустимого диапазона погрешности для конкретного значения или состава,

определяемого специалистом в данной области техники, что будет частично зависеть от того, как значение или состав измеряют или определяют, т. е. ограничений системы измерения. Как понятно специалисту в данной области техники, употребление термина «около» в отношении значения или параметра в данном документе включает (и описывает) варианты осуществления, которые направлены на эти значение или параметр как таковые. Например, описание, относящееся к «около X», включает описание «X». В контексте данного документа термин «около», если иное не указано или не подразумевается контекстом, используемый в связи с числовым значением или диапазоном значений для описания конкретного свойства соединения или композиции указывает, что значение или диапазон значений могут отклоняться в степени, считающейся разумной специалистом в данной области техники, и при этом все еще описывают конкретное свойство. Разумные отклонения включают те, которые находятся в пределах точности или допустимой погрешности инструмента(ов), используемого(ых) при измерении, определяющем или устанавливающем конкретное свойство. В частности, термин «около», используемый в этом контексте указывает на то, что числовое значение или диапазон значений могут варьироваться на 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,9%, 0,8%, 0,7%, 0,6%, 0,5%, 0,4%, 0,3%, 0,2%, 0,1% или 0,01% от указанного значения или диапазона значений, как правило на 10% - 0,5%, чаще на 5% - 1%, и при этом все еще описывают конкретное свойство.

[123] В отношении нижнего индекса p, который обозначает среднее число фрагментов лекарственный препарат-линкер в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат, дополнительно определенной ниже, термин «около» отражает приемлемую в данной области техники неточность для определения этого значения из распределения соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат в этой композиции, определяемого стандартными методами эксклюзионной, ГВ-хроматографии или ВЭЖХ-МС.

[124] В контексте данного документа, если иное не указано или не подразумевается контекстом, термины «преимущественно сохраняется», «преимущественно сохраняемый» и им подобные относятся к свойству, характеристике, функции или активности соединения или композиции или их фрагмента, которые не меняются на выявляемом уровне или находятся в пределах экспериментальной погрешности определения таких же активности, характеристики или свойства соединения или композиции или их фрагмента схожей структуры.

[125] В контексте данного документа, если иное не указано или не подразумевается контекстом, термины «по существу сохраняется», «по существу сохраняемый» и им подобные относятся к изменяемым значению, или физическому свойству, или характеристике соединения или композиции или их фрагмента, которые могут быть статистически отличными от определения такого же физического свойства других соединения или композиции или их фрагмента схожей структуры, но при этом такая разница не распространяется на статистически значимую разницу в биологической

активности или фармакологическом свойстве в подходящей биологической тест-системе для оценки этих активности или свойства (т. е. биологическая активность или свойство сохраняются или преимущественно сохраняются). Таким образом, выражение «по существу сохраняется» употребляется в связи с эффектом, который физическое свойство или характеристика соединения или композиции оказывает на физико-химические свойство или биологическую активность, которая явным образом ассоциируется с этими физическим свойством или характеристикой.

[126] В контексте данного документа, если иное не указано или не подразумевается контекстом, термины «незначительно», «незначительный» представляют количество примеси ниже уровня количественного определения анализа ВЭЖХ. В зависимости от контекста эти термины могут, в альтернативном варианте, означать отсутствие наблюдаемой статистической разницы между измеряемыми значениями или результатами или нахождение в пределах экспериментальной погрешности инструмента, используемого для получения этих значений. Незначительные разницы в значениях параметра, определяемого экспериментально, не подразумевают, что примесь характеризуемая этим параметром, присутствует в незначительном количестве.

[127] В контексте данного документа, если иное не указано или не подразумевается контекстом, термины «главным образом содержащий», «главным образом имеющий» и им подобные относятся к основному компоненту смеси. Когда смесь состоит из двух компонентов, основной компонент составляет более 50% по массе смеси. В случае смеси из трех или более компонентов основным компонентом является присутствующий в наибольшем количестве в смеси и могущий составлять большую часть массы смеси или нет.

[128] В контексте данного документа, если иное не указано или не подразумевается контекстом, термин «электроноакцепторная группа» относится к функциональной группе или электроотрицательному атому, которые оттягивают на себя электронную плотность от атома, с которым они связаны, индуктивно и/или резонансно, в зависимости от того, что является преобладающим (т. е. функциональная группа или атом могут быть электронодонорными за счет резонанса, но в целом могут быть электроноакцепторными индуктивно), и стремятся стабилизировать анионы или богатые электронами фрагменты. Электроноакцепторный эффект, как правило, переносится индуктивно, хотя и в более слабой форме, на другие атомы, присоединенные к связанному атому, который стал электронодефицитным за счет электроноакцепторной группы (ЭАГ), снижая, таким образом, электронную плотность более удаленного реактивного центра.

[129] Электроноакцепторная группа (ЭАГ), как правило, выбрана из группы, состоящей из -C(=O)R', -CN, $-NO_2$, $-CX_3$, -X, -C(=O)OR', $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)N(R')R^{op}$, $-C(=O)R'$, -C(=O)X, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2OR'$, $-SO_3H_2$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R^{op}$, $-PO_3H_2$, $-P(=O)(OR')(OR^{op})_2$, -NO, $-NH_2$, $-N(R')(R^{op})$, $-N(R^{op})_3^+$ и их солей, где X представляет собой -F, -Br, -Cl или -I, R^{op} в каждом случае независимо выбран из группы, описанной ранее для необязательных заместителей, и R' представляет собой -H или R^{op}, где R^{op} соответствует

определению выше. В некоторых аспектах каждый R^{op} независимо представляет собой C_1-C_{12} алкил, C_1-C_8 алкил, C_1-C_6 алкил или C_1-C_4 алкил или независимо выбран из группы, состоящей из C_1-C_6 алкила и необязательно замещенного фенила, а R' представляет собой водород. ЭАГ также может представлять собой арил (например, фенил) или гетероарил, в зависимости от его замещения, и некоторые электронодефицитные гетероарильные группы (например, пиридил). Таким образом, в некоторых аспектах «электроноакцепторная группа» дополнительно включает электронодефицитные C_5-C_{24} гетероарилы и C_6-C_{24} арилы, которые замещены электроноакцепторными заместителями. Чаще электроноакцепторная группа независимо выбрана из группы, состоящей из -C(=O)R', -CN, -NO_2, -CX_3 и -X, где X представляет собой галоген, как правило, группы, состоящей из -F и -Cl, а R' представляет собой H, C_1-C_6 алкил или C_1-C_4 алкил. В зависимости от заместителей необязательно замещенный алкильный фрагмент также может быть электроноакцепторной группой и, следовательно, в таких случаях эти аспекты будут охвачены термином электроноакцепторная группа.

[130] В контексте данного документа, если иное не указано или не подразумевается контекстом, термин «электронодонорная группа» относится к функциональной группе или электроположительному атому, которые повышают электронную плотность от атома, с которым они связаны, индуктивно и/или резонансно, в зависимости от того, что является преобладающим (т. е. функциональная группа или атом могут быть электроноакцепторными индуктивно, но в целом могут быть электронодонорными за счет резонанса), и стремятся стабилизировать катионы или бедные электронами системы. Электронодонорный эффект, как правило, переносится за счет резонанса на другие атомы, присоединенные к связанному атому, который стал электронобогатым за счет электронодонорной группы (ЭДГ), повышая, таким образом, электронную плотность более удаленного реактивного центра. Как правило, электронодонорная группа выбрана из группы, состоящей из -OH, -OR', -NH_2, -NHR' и $N(R')_2$, где каждый R' независимо выбран из C_1-C_{12} алкила, как правило, C_1-C_6 алкила. В зависимости от заместителей C_6-C_{24} арил, C_5-C_{24} гетероарил или ненасыщенный C_1-C_{12} алкильный фрагмент также могут быть электронодонорной группой и, в некоторых аспектах, такие фрагменты охвачены термином электронодонорная группа.

[131] В контексте данного документа, если иное не указано или не подразумевается контекстом, термин «соединение» относится к и включает само химическое соединение, названное или представленное структурой, и его солевую(ые)форму(ы), вне зависимости от того, указано это явно или нет, если из контекста явно не следует, что такие солевые формы исключены. Соли соединений включают цвиттерионные солевые формы и кислотно-аддитивные и основно-аддитивные солевые формы, имеющие органические противоионы или неорганические противоионы, и солевые формы, содержащие два или более противоионов, которые могут быть одинаковыми или разными. В некоторых аспектах солевая форма представляет собой фармацевтически приемлемую солевую форму соединения. Термин «соединение» дополнительно включает сольватные формы

соединения, в которых растворитель нековалентно связан с соединением или обратимо ковалентно связан с соединением, как когда карбонильная группа соединения является гидратированной с образованием гем-диола. Сольватные формы включают формы самого соединения и его солевую(ые) форму(ы) и включают гемисольваты, моносольваты, дисольваты, включая гидраты; а когда соединение связано с двумя или более молекулами растворителя, две или более молекул растворителя могут быть одинаковыми или разными. В некоторых случаях соединение по изобретению включает четкую отсылку на одну или более вышеуказанных форм, например, солей или сольватов, которая не подразумевает какой-либо твердофазной формы состояния соединения; при этом эта отсылка служит исключительно для подчеркивания, и ее не следует воспринимать как исключение любых других форм, определенных выше. Кроме того, в отсутствие четкой отсылки на солевую и/или сольватную форму соединения или композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат, это не следует воспринимать как исключение солевой(ых) и/или сольватной(ых) формы (форм) соединения или конъюгата, если из контекста не следует, что такие солевые и/или сольватные формы исключены.

[132] В контексте данного документа, если иное не указано или не подразумевается контекстом, термин «оптический изомер» относится к родственному соединению по сравнению с указанным соединением, которые оба имеют одинаковые атомные связи, но отличаются структурно одним или более хиральными центрами в противоположность стереохимической конфигурации.

[133] В контексте данного документа, если иное не указано или не подразумевается контекстом, термин «фрагмент» означает конкретные сегмент, фрагмент или функциональную группу молекулы или соединения. Химические фрагменты иногда указаны как химические группы, которые включены в молекулу, соединение или химическую формулу или присоединены к ним (т. е. заместитель или вариабельная группа).

[134] Если иное не указано или не подразумевается контекстом, в случае любых замещающих группы или фрагмента, описанных в данном документе заданным диапазоном атомов углерода, указанный диапазон означает, что описано индивидуальное число атомов углерода. Таким образом, упоминание, например, «необязательно замещенного C_1-C_4 алкила» или «необязательно замещенного C_2-C_6 алкенила» означает, что присутствует алкильный фрагмент с 1, 2, 3 или 4 атомами углерода, необязательно замещенный, как определено в данном документе, или присутствует алкенильный фрагмент с 2, 3, 4, 5 или 6 атомами углерода, необязательно замещенный, как определено в данном документе, соответственно. Подразумевается, что все такие числовые обозначения явно предназначены для описания всех из индивидуальных групп атомов углерода; и, таким образом, «необязательно замещенный C_1-C_4 алкил» включает метил, этил, 3-углеродные алкилы и 4-углеродные алкилы, включая все их позиционные изомеры, замещенные или незамещенные. Таким образом, если алкильный фрагмент замещен, числовые обозначения относятся к незамещенному основному фрагменту и не

подразумевают включения атомов углерода, прямо не присоединенных к основному фрагменту, которые могут присутствовать в заместителях этого основного фрагмента. В случае сложных эфиров, карбонатов, карбаматов и мочевин, определенных в данном документе, которые идентифицированы заданным диапазоном атомов углерода, обозначенный диапазон включает карбонильный атом соответствующей функциональной группы. Таким образом, C_1 сложный эфир относится к сложному формиатному эфиру, а C_2 сложный эфир относится к сложному ацетатному эфиру.

[135] Органические заместители, фрагменты и группы, описанные в данном документе, и любые другие фрагменты, описанные в данном документе, обычно исключают нестабильные фрагменты за исключением случаев, когда такие нестабильные фрагменты являются временными молекулами, которые можно использовать для получения соединения с достаточной химической стабильностью для одного или более применений, описанных в данном документе. Заместители, фрагменты или группы в силу приведенных в данном документе определений, которые приводят к получению имеющих пятивалентный углерод, явным образом исключены.

[136] В контексте данного документа термин «алкил» сам по себе или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к метилу или набору непрерывных атомов углерода, один из которых является одновалентным, при этом один или более атомов углерода являются насыщенными (т. е. состоят из одного или более sp^3 атомов углерода) и ковалентно связанными вместе в нормальном, вторичном, третичном или циклическом упорядочении, т. е. в линейном, разветвленном, циклическом упорядочении или некоторой их комбинации. Когда непрерывные насыщенные атомы углерода находятся в циклическом упорядочении, такие алкильные фрагменты, в некоторых аспектах, относятся к карбоциклам, дополнительно определенным в данном документе.

[137] При упоминании алкильных фрагмента или группы как алкильного заместителя, такой алкильный заместитель структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которым он связан, представляет собой метил или цепь из непрерывных атомов углерода, ковалентно присоединенные к структуре или фрагменту, посредством sp^3 атому углерода алкильного заместителя. Следовательно, в контексте данного документа алкильный заместитель содержит по меньшей мере один насыщенный фрагмент и также может быть замещен циклоалкильными, ароматическими или гетероароматическими фрагментами или группами, или алкенильным или алкенильным фрагментом с получением ненасыщенного алкила. Таким образом, необязательно замещенный алкильный заместитель может дополнительно содержать одну, две, три или более независимо выбранных двойных связей и/или тройных связей или может быть замещен алкенильным или алкинильным фрагментами или некоторой их комбинацией, определяя ненасыщенный алкильный заместитель, или может быть замещен другими фрагментами, которые включают подходящие необязательные заместители, описанные в данном документе. Число атомов углерода в насыщенном алкиле может варьироваться и,

как правило, составляет 1-50, 1-30 или 1-20, и чаще составляет 1-8 или 1-6, а в ненасыщенных алкильных фрагменте или группе, как правило, варьируется в пределах 3-50, 3-30 или 3-20, и чаще варьируется в пределах 3-8.

[0137] Насыщенный алкильный фрагмент содержит насыщенные ациклические атомы углерода (т. е. ациклические sp^3 атомы углерода) и не содержит sp^2 или sp атомы углерода, но может быть замещен необязательным заместителем, описанным в данном документе, при условии, что такое замещение не осуществлено через sp^3, sp^2 или sp атом углерода необязательного заместителя, поскольку это может влиять на идентичность основного алкильного фрагмента, замещенного таким образом, по числу атомов углерода, за исключением случаев, когда необязательный заместитель представляет собой основное звено, определенное в данном документе. Если иное не указано или не подразумевается контекстом, термин «алкил» указывает на насыщенный, нециклический углеводный радикал, при этом углеводный радикал имеет указанное число ковалентно связанных насыщенных атомов углерода, и такие термины, как «C_1-C_6 алкил» или «C1-C6 алкил» означают алкильные фрагмент или группу, содержащие 1 насыщенный атом углерода (т. е. метил) или 2, 3, 4, 5 или 6 непрерывных нециклических насыщенных атомов углерода, а «C_1-C_8 алкил» относится к алкильным фрагментам или группе, имеющим 1 насыщенный атом углерода или 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 непрерывных насыщенных нециклических атомов углерода. Как правило, насыщенный алкил представляет собой C_1-C_6 или C_1-C_4 алкильный фрагмент, не содержащий sp^2 или sp атомы углерода в непрерывной углеродной цепи, при этом последний иногда называют низшим алкилом, и в некоторых аспектах относится к насыщенному C_1-C_8 алкильному фрагменту, имеющему от 1 до 8 непрерывных ациклических sp^3 атомов углерода, не содержащему sp^2 или sp атомы углерода в непрерывной углеродной цепи, при этом число атомов углерода не указано. В других аспектах, когда диапазон непрерывных атомов углерода определяет термин «алкил», но без указания насыщенности или ненасыщенности, этот термин включает насыщенный алкил с указанным диапазоном или ненасыщенный алкил, в котором нижний предел диапазона увеличен на два атома углерода. Например, термин «C_1-C_8 алкил» в отношении, без ограничения, насыщенного алкила включает насыщенный C_1-C_8 алкил и C_3-C_8 ненасыщенный алкил.

[0138] Когда указаны насыщенные алкильный заместитель, фрагмент или группа, молекулы включают полученные вследствие удаления атома водорода из исходного алкана (т. е. алкильный фрагмент является одновалентным) и могут включать метил, этил, 1-пропил (*н*-пропил), 2-пропил (*изо*-пропил, $-CH(CH_3)_2$), 1-бутил (*н*-бутил), 2-метил-1-пропил (*изо*-бутил, $-CH_2CH(CH_3)_2$), 2-бутил (*втор*-бутил, $-CH(CH_3)CH_2CH_3$), 2-метил-2-пропил (*трет*-бутил, $-C(CH_3)_3$), амил, изоамил, *втор*-амил и другие линейные и разветвленные алкильные фрагменты.

[0139] В контексте данного документа термин «алкилен» сам по себе или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к насыщенному, разветвленному или линейному углеводному дирадикалу, замещенному

или незамещенному, в котором один или более атомов углерода являются насыщенными (т. е. состоят из одного или более sp^3 атомов углерода), из указанного числа атомов углерода в диапазоне от 1 до 50 или от 1 до 30, как правило, от 1 до 20 или от 1 до 12 атомов углерода, чаще от 1 до 8, от 1 до 6 или от 1 до 4 атомов углерода, и имеющему два радикальных центра (т. е. двухвалентному), полученных вследствие удаления двух атомов водорода с одного и того же или двух разных насыщенных (т. е. sp^3) атомов углерода исходного алкана. Алкиленовый фрагмент в некоторых аспектах представляет собой алкильный радикал, описанный в данном документе, в котором атом водорода был удален из другого из насыщенных атомов углерода или из радикального атома углерода алкильного радикала с образованием дирадикала. В других аспектах алкиленовый фрагмент представляет собой или дополнительно включен в двухвалентный фрагмент, полученный вследствие удаления атома водорода с насыщенного атома углерода исходного алкильного фрагмента, и проиллюстрирован, без ограничения, (-CH_2-), 1,2-этиленом (-CH_2CH_2-), 1,3-пропиленом (-$CH_2CH_2CH_2$-), 1,4-бутиленом (-$CH_2CH_2CH_2CH_2$-) и подобными дирадикалами. Как правило, алкилен представляет собой разветвленный или линейный углевод, содержащий только sp^3 атомы углерода (т. е. полностью насыщенный вне зависимости от радикальных атомов углерода) и, в некоторых аспектах, является незамещенным. В других аспектах алкилен содержит внутренний сайт ненасыщенности в форме одной или более функциональных групп с двойными и/или тройными связями, как правило 1 или 2 такие функциональные группы, чаще 1, так что концевые атомы углерода ненасыщенного алкиленового фрагмента представляют собой одновалентные sp^3 атомы углерода. В других аспектах алкилен замещен 1-4, как правило, 1-3 или 1 или 2 заместителями, определенными в данном документе для необязательных заместителей, в насыщенном(ых) атоме(ах) углерода насыщенного алкиленового фрагмента или насыщенном(ых) и/или ненасыщенном(ых) атоме(ах) углерода ненасыщенного алкиленового фрагмента, за исключением алкила, арилалкила, алкенила, алкинила и любого другого фрагмента, когда получаемый в результате алкилен будет отличаться по числу непрерывных неароматических атомов углерода от незамещенного алкилена, за исключением случаев, когда необязательный заместитель представляет собой основное звено, определенное в данном документе.

[0140] В контексте данного документа термин «карбоциклил» сам по себе или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к радикалу моноциклической, бициклической или трициклической кольцевой системы, где каждый из атомов, образующих кольцевую систему (т. е. скелетных атомов), представляет собой атом углерода, и где один или более из этих атомов углерода в каждом кольце циклической кольцевой системы являются насыщенными (т. е. состоят из одного или более sp^3 атомов углерода). Таким образом, карбоциклил представляет собой циклическое упорядочение насыщенных атомов углерода, но также может содержать ненасыщенные атомы углерода и, следовательно, его карбоциклическое кольцо может быть насыщенным или частично ненасыщенным или может быть конденсированным с

ароматическим фрагментом, причем точки конденсации с циклоалкильным и ароматическим кольцами находятся на смежных атомах углерода карбоциклического фрагмента и смежных ароматических атомах углерода ароматического фрагмента.

[0141] Если не указано иное, карбоциклил может быть замещен (т. е. необязательно замещен) фрагментами, описанными для алкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила, алкиларила и т. п., или может быть замещен другим циклоалкильным фрагментом. Циклоалкильные фрагменты, группы или заместители включают циклопропил, циклопентил, циклогексил, адамантил или другие циклические фрагменты, которые имеют только атомы углерода в циклических кольцевых системах.

[0142] Если карбоциклил используется как группа Маркуша (т. е. заместитель), карбоциклил присоединен к формуле Маркуша или другому органическому фрагменту с которым он связан посредством атома углерода, который включен в карбоциклическую кольцевую систему карбоциклильного фрагмента, при условии, что атом углерода не является ароматическим атомом углерода. Когда ненасыщенный атом углерода алкенового фрагмента, содержащего карбоциклильный заместитель, присоединен к формуле Маркуша, с которой он связан, этот карбоциклил иногда называют циклоалкенильным заместителем. Число атомов углерода в карбоциклильном заместителе определяется общим числом скелетных атомов его карбоциклической кольцевой системы. Это число может варьироваться и, как правило, находится в диапазоне от 3 до 50, 1-30 или 1-20, и чаще 3-8 или 3-6, если не указано иное, например, C_3-C_8 карбоциклил означает карбоциклильные заместитель, фрагмент или группу, содержащие 3, 4, 5, 6, 7 или 8 карбоциклических атомов углерода, а C_3-C_6 карбоциклил означает карбоциклильные заместитель, фрагмент или группу, содержащие 3, 4, 5 или 6 карбоциклических атомов углерода. Карбоциклил может быть получен путем удаления одного атома водорода с кольцевого атома исходного циклоалкана или циклоалкена. Типовые C_3-C_8 карбоциклилы включают, но не ограничиваются этим, циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклопентадиенил, циклогексил, циклогексенил, 1,3-циклогексадиенил, 1,4-циклогексадиенил, циклогептил, 1,3-циклогептадиенил, 1,3,5-циклогептатриенил, циклооктил и циклооктадиенил.

[0143] Следовательно, карбоциклильные заместители, фрагменты или группы, как правило, имеют 3, 4, 5, 6, 7, 8 атомов углерода в карбоциклической кольцевой системе и могут содержать *экзо* или *эндо*-циклические двойные связи или *эндо*-циклические тройные связи, или их комбинацию, где *эндо*-циклические двойные или тройные связи или их комбинация не образуют циклическую конъюгированную систему из 4n+2 электронов. Бициклическая кольцевая система может иметь два общих атома углерода, а трициклическая кольцевая система может иметь в целом 3 или 4 общих атома углерода. В некоторых аспектах карбоциклил представляет собой C_3-C_8 или C_3-C_6 карбоциклил, который может быть замещен (т. е. необязательно замещен) одним или более, 1-4, как правило, 1-3 или 1 или 2 фрагментами, описанными в данном документе для алкила, алкенила, алкинила, арила, арилалкила и алкиларила, и т. п., и/или другими фрагментами,

включая заместители, определенные в данном документе для необязательных заместителей, и в некоторых аспектах является незамещенным. В других аспектах циклоалкильный фрагмент, группа или заместитель представляют собой C_3-C_6 циклоалкил, выбранный из группы, состоящей из циклопропила, циклопентила и циклогексила, или представляют собой C_3-C_8 циклоалкил, который включает эту группу и дополнительно включает другие циклические фрагменты, которые имеют не более 8 атомов углерода в циклических кольцевых системах. Когда число атомов углерода не указано, карбоциклильные фрагмент, группа или заместитель имеют от 3 до 8 атомов углерода в своей карбоциклической кольцевой системе.

[0144] В контексте данного документа термин «карбоцикло» сам по себе или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к необязательно замещенному карбоциклилу по определению выше, в котором был удален другой атом водорода его циклоалкильной кольцевой системы (т. е. являющемуся двухвалентным), и представляет собой C_3-C_{50} или C_3-C_{30} карбоцикло, как правило, C_3-C_{20} или C_3-C_{12} карбоцикло, чаще C_3-C_8 или C_3-C_6 карбоцикло, и в некоторых аспектах представляет собой незамещенный или необязательно замещенный C_3, C_5 или C_6 карбоцикло. Когда число атомов углерода не указано, карбоцикло-фрагмент, группа или заместитель имеют от 3 до 8 атомов углерода в своей карбоциклической кольцевой системе.

[0145] В некоторых аспектах этот другой атом водорода удален с одновалентного атома углерода циклоалкила с получением двухвалентного атома углерода, который в некоторых случаях представляет собой спироатом углерода, который прерывает алкильный фрагмент этим карбоциклическим атомом углерода. В таких случаях спироатом углерода относится к числу атомов углерода прерванного алкильного фрагмента и карбоцикло-кольцевой системы, при этом карбоцикло указан как включенный в алкильный фрагмент. В этих аспектах карбоцикло-фрагмент, группа или заместитель представляют собой C_3-C_6 карбоцикло в форме спирокольцевой системы и выбраны из группы, состоящей из циклопроп-1,1-диила, циклобутил-1,1-диила, циклопент-1,1-диила и циклогекс-1,1-диила, или представляют собой C_3-C_8 карбоцикло, который включает эту группу и дополнительно включен в другие циклические фрагменты, которые имеют не более 8 атомов углерода в циклических кольцевых системах. Карбоцикло может быть насыщенным или ненасыщенным карбоцикло и/или может быть незамещенным или замещенным тем же способом, что описан для карбоциклильного фрагмента. В случае ненасыщенности один или оба одновалентных атома углерода карбоцикло-фрагмента могут представлять собой sp^2 атомы углерода из одной или разных функциональных групп с двойной связью или оба одновалентных атома углерода могут быть смежными или не смежными sp^3 атомами углерода.

[0146] В контексте данного документа термин «алкенил» сам по себе или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к органическим фрагменту, заместителю или группе, которые содержат одну или более

функциональных групп с двойной связью (например, фрагмент -CH=CH-) или 1, 2, 3, 4, 5 или 6 или более, как правило, 1, 2 или 3 такие функциональные группы, чаще одну такую функциональную группу, и в некоторых аспектах могут быть замещенными (т. е. необязательно замещенными) арильным фрагментом или группой, такой как фенил, или могут содержать неароматические связанные нормальные, вторичные, третичные или циклические атомы углерода, т. е. линейные, разветвленные, циклические и любые их комбинации, как часть основного фрагмента, если алкенильные заместитель, фрагмент или группа не представляют собой винильный фрагмент (например, фрагмент $-CH=CH_2$). Алкенильные фрагмент, группа или заместитель, имеющие несколько двойных связей, могут иметь двойные связи, упорядоченные непрерывно (т. е. 1,3-бутандиениловый фрагмент) или прерывисто с одним или более промежуточными насыщенными атомами углерода, или их комбинацию, при условии, что циклическое непрерывное упорядочение двойных связей не образует циклическую конъюгированную систему 4n+2 электронов (т. е. не ароматическую).

[0147] Алкенильные фрагмент, группа или заместитель содержат по меньшей мере один sp^2 атом углерода, причем этот атом углерода является двухвалентным и связан двойной связью с другим органическим фрагментом или структурой Маркуша, с которой он связан, или содержат по меньшей мере два sp^2 атома углерода в конъюгации друг с другом, причем один из sp^2 атомов углерода является одновалентным и связан одинарной связью с другим органическим фрагментом или структурой Маркуша, с которой он связан. Как правило, когда алкенил используется как группа Маркуша (т. е. представляет собой заместитель), алкенил связан одинарной связью с формулой Маркуша или с другим органическим фрагментом, с которым он связан посредством sp^2 атома углерода алкеновой функциональной группы алкенильного фрагмента. В некоторых аспектах, когда алкенильный фрагмент указан, молекулы включают соответствующие любым из необязательно замещенных алкильных или карбоциклильных групп, фрагментов или заместителей, описанных в данном документе, которые имеют одну или более *эндо* двойных связей, в которых sp^2 атом углерода является одновалентным, и при этом одновалентные фрагменты получены вследствие удаления атома водорода с sp^2 атома углерода исходного алкенового соединения. Такие одновалентные фрагменты иллюстрируют, без ограничения, винил ($-CH=CH_2$), аллил, 1-метилвинил, бутенил, изобутенил, 3-метил-2-бутенил, 1-пентенил, циклопентенил, 1-метилциклопентенил, 1-гексенил, 3-гексенил и циклогексенил. В некоторых аспектах термин алкенил включает эти и/или другие линейные, циклические и разветвленные цельноуглеродные фрагменты, содержащие по меньшей мере одну функциональную группу с двойной связью, в которой один из sp^2 атомов углерода является одновалентным.

[0148] Число атомов углерода в алкенильном фрагменте определяется числом sp^2 атомов углерода алкеновой функциональной группы, которое определяет его как алкенильный заместитель, и общим числом непрерывных неароматических атомов углерода, присоединенных к каждому из этих sp^2 атомов углерода, не включая какие-либо

атомы углерода другого фрагмента или структуры Маркуша, для которых алкенильный фрагмент является вариабельной группой, и атомы углерода из любого необязательного заместителя алкенильного фрагмента. Это число находится в диапазоне от 1 до 50 или от 1 до 30, как правило, от 1 до 20 или от 1 до 12, чаще от 1 до 8, от 1 до 6 или от 1 до 4 атомов углерода, когда функциональная группа с двойной связью связана двойной связью со структурой Маркуша (например, $=CH_2$), или в диапазоне от 2 до 50, как правило от 2 до 30, от 2 до 20 или от 2 до 12, чаще от 2 до 8, от 2 до 6 или от 2 до 4 атомов углерода, когда функциональная группа с двойной связью связана одинарной связью со структурой Маркуша (например, $-CH=CH_2$). Например, C_2-C_8 алкенил или C2-C8 алкенил означает алкенильный фрагмент, содержащий 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода, из которых по меньшей мере два представляют собой sp^2 атомы углерода в конъюгации друг с другом, при этом один из этих атомов углерода является одновалентным, а C_2-C_6 алкенил или C2-C6 алкенил означает алкенильный фрагмент, содержащий 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода, из которых по меньшей мере два представляют собой sp^2 атомы углерода в конъюгации друг с другом, при этом один из этих атомов углерода является одновалентным. В некоторых аспектах алкенильные заместитель или группа представляют собой C_2-C_6 или C_2-C_4 алкенильный заместитель, имеющий только два sp^2 атома углерода в конъюгации друг с другом, при этом один из этих атомов углерода является одновалентным, а в других аспектах этот алкенильный фрагмент является незамещенным или замещенным 1-4 или более, как правило, 1-3, чаще 1 или 2 независимо выбранными фрагментами, описанными в данном документе, включая заместители, определенные в данном документе для необязательных заместителей, исключая алкил, арилалкил, гетероарилалкил, алкенил, алкинил и любой другой фрагмент, когда замещенный алкенил отличался бы по числу непрерывных не ароматических атомов углерода от незамещенного алкенила, при этом замещения, при наличии, могут находиться в любом из непрерывных sp^2 атомов углерода и sp^3 атомов углерода алкенильного фрагмента. Как правило, алкенильный заместитель представляет собой C_2-C_6 или C_2-C_4 алкенильный фрагмент, имеющий только два sp^2 атома углерода в конъюгации друг с другом. Когда число атомов углерода не указано, алкенильный фрагмент имеет от 2 до 8 атомов углерода.

[0149] В контексте данного документа термин «алкенилен» сам по себе или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к органическим фрагменту, заместителю или группе, которые содержат один или более фрагментов с двойной связью, как описано выше для алкенила, из указанного числа атомов углерода, и имеют два радикальных центра, полученных вследствие удаления двух атомов водорода с одного или разных sp^2 атомов углерода алкеновой функциональной группы или удаления двух атомов водорода с двух отдельных алкеновых функциональных групп в исходном алкене. В некоторых аспектах алкениленовый фрагмент является фрагментом алкенилового радикала, описанного в данном документе, в котором атом водорода был удален с одного или разных sp^2 атомов углерода функциональной группы с двойной связью алкенилового радикала или с sp^2 атома

углерода другого фрагмента с двойной связью с получение дирадикала. Как правило, алкениленовые фрагменты включают дирадикалы, имеющие структуру -C=C- или -C=C-X^1-C=C-, где X^1 отсутствует или представляет собой необязательно замещенный насыщенный алкилен по определению в данном документе, который, как правило, представляет собой C_1-C_6 алкилен, который чаще является незамещенным. Число атомов углерода в алкениленовом фрагменте определяется числом sp^2 атомов углерода его алкеновой функциональной группы, которое определяет его как алкениленовый фрагмент, и общим числом непрерывных неароматических атомов углерода, присоединенных к каждому из его sp^2 атомов углерода, не включая какие-либо атомы углерода другого фрагмента или структуры Маркуша, в которых алкенильный фрагмент присутствует как вариабельная группа. Это число, если не указано иное, находится в диапазоне от 2 до 50 или от 2 до 30, как правило, от 2 до 20 или от 2 до 12, чаще от 2 до 8, от 2 до 6 или от 2 до 4 атомов углерода. Например, C_2-C_8 алкенилен или C2-C8 алкенилен означает алкениленовый фрагмент, содержащий 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода, из которых по меньшей мере два представляют собой sp^2 атомы углерода, из которых один является двухвалентным или же оба являются одновалентными, которые находятся в конъюгации друг с другом, а C_2-C_6 алкенилен или C2-C6 алкенилен означает алкениленовый фрагмент, содержащий 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода, из которых по меньшей мере два представляют собой sp^2 атомы углерода, из которых по меньшей мере два представляют собой sp^2 атомы углерода, из которых один является двухвалентным или же оба являются одновалентными, которые находятся в конъюгации друг с другом. В некоторых аспектах алкениленовый фрагмент представляет собой C_2-C_6 или C_2-C_4 алкенилен, имеющий два sp^2 атома углерода в конъюгации друг с другом, из которых оба sp^2 атома углерода являются одновалентными, и в некоторых аспектах является незамещенным. Когда число атомов углерода не указано, алкениленовый фрагмент имеет от 2 до 8 атомов углерода и является незамещенным или замещенным тем же образом, что описан для алкенильного фрагмента.

[0150] В контексте данного документа термин «алкинил» сам по себе или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к органическим фрагменту, заместителю или группе, которые содержат одну или более функциональных групп с тройной связью (например, фрагмент -C≡C-) или 1, 2, 3, 4, 5 или 6 или более, как правило, 1, 2 или 3 такие функциональные группы, чаще одну такую функциональную группу, и в некоторых аспектах могут быть замещенными (т. е. необязательно замещенными) арильным фрагментом, таким как фенил, или алкенильным фрагментом, или связанными нормальными, вторичными, третичными или циклическими атомами углерода, т. е. линейными, разветвленными, циклическими и любыми их комбинациями, если алкинильные заместитель, фрагмент или группа не представляют собой -C≡CH). Алкинильные фрагмент, группа или заместитель, имеющие несколько тройных связей, могут иметь тройные связи, упорядоченные непрерывно или прерывисто с одним или более промежуточными насыщенными или ненасыщенными атомами

углерода, или их комбинацию, при условии, что циклическое непрерывное упорядочение тройных связей не образует циклическую конъюгированную систему 4n+2 электронов (т. е. не ароматическую).

[0151] Алкинильные фрагмент, группа или заместитель содержат по меньшей мере два sp атома углерода, причем атомы углерода конъюгированы друг с другом, и при этом один из sp атомов углерода связан одинарной связью с другим органическим соединением или структурой Маркуша, с которой он связан. Когда алкинил используется как группа Маркуша (т. е. представляет собой заместитель), алкинил связан одинарной связью с формулой Маркуша или с другим органическим фрагментом, с которым он связан посредством связанного тройной связью атома углерода (т. е. sp атома углерода) концевой алкиновой функциональной группы. В некоторых аспектах, когда алкинильные фрагмент, группа или заместитель указаны, молекулы включают любые необязательно замещенные алкильные или карбоциклильные группы, фрагменты или заместители, описанные в данном документе, которые имеют одну или более *эндо* тройных связей, и при этом одновалентные фрагменты получены вследствие удаления атома водорода с sp атома углерода исходного алкинового соединения. Такие одновалентные фрагменты иллюстрируют, без ограничения, -C≡CH, -C≡C-CH_3 и -C≡C-Ph.

[0152] Число атомов углерода в алкинильном заместителе определяется числом sp атомов углерода его алкеновой функциональной группы, которое определяет его как алкинильный заместитель, и общим числом непрерывных неароматических атомов углерода, присоединенных к каждому из этих sp атомов углерода, не включая какие-либо атомы углерода другого фрагмента или структуры Маркуша, для которых алкенильный фрагмент является вариабельной группой. Это число может варьироваться в диапазоне от 2 до 50, как правило, от 2 до 30, от 2 до 20 или от 2 до 12, чаще от 2 до 8, от 2 до 6 или от 2 до 4 атомов углерода, когда функциональная группа с тройной связью связана одинарной связью со структурой Маркуша (например, -CH≡CH). Например, C_2-C_8 алкинил или C2-C8 алкинил означает алкинильный фрагмент, содержащий 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 атомов углерода, из которых по меньшей мере два представляют собой sp атомы углерода в конъюгации друг с другом, при этом один из этих атомов углерода является одновалентным, а C_2-C_6 алкинил или C2-C6 алкинил означает алкинильный фрагмент, содержащий 2, 3, 4, 5 или 6 атомов углерода, из которых по меньшей мере два представляют собой sp атомы углерода в конъюгации друг с другом, при этом один из этих атомов углерода является одновалентным. В некоторых аспектах алкинильные заместитель или группа представляют собой C_2-C_6 или C_2-C_4 алкинильный фрагмент, имеющий два sp атома углерода в конъюгации друг с другом, при этом один из этих атомов углерода является одновалентным, а в других аспектах алкинильный фрагмент является незамещенным. Когда число атомов углерода не указано, алкинильные фрагмент, группа или заместитель имеют от 2 до 8 атомов углерода. Алкинильный фрагмент может быть замещенным или незамещенным тем же образом, что описан для алкенильного фрагмента, за исключением того, что замещение в одновалентном sp атоме углерода не

разрешено.

[0153] В контексте данного документа термин «арил» сам по себе или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к органическим фрагменту, заместителю или группе, имеющим ароматическую или конденсированную ароматическую кольцевую систему с отсутствием кольцевых гетероатомов, содержащую или состоящую из от 1, 2, 3 или 4 до 6 ароматических колец, каждое из которых независимо необязательно замещено, как правило состоящую из 1-3 ароматических колец, чаще 1 или 2 ароматических колец, каждое из которых независимо необязательно замещено, при этом кольца состоят только из атомов углерода, которые участвуют в циклически конъюгированной системе 4n+2 электронов (правило Хюккеля), как правило, 6, 10 или 14 электронов, некоторые из которых могут дополнительно участвовать в экзоциклической конъюгации с гетероатомом (кросс-конъюгированным, например, хинон). Арильные заместители, фрагменты или группы, как правило, образованы шестью, восемью, десятью или более непрерывными ароматическими атомами углерода, вплоть до 24, включая C_6-C_{24} арил, и в некоторых аспектах представляют собой C_6-C_{20} или C_6-C_{12} арил. Арильные заместители, фрагменты или группы необязательно замещены и, в некоторых аспектах, незамещены или замещены 1, 2, 3 или более, как правило, 1 или 2 независимо выбранными заместителями, определенными в данном документе для алкила, алкенила, алкинила или другого фрагмента, описанного в данном документе, включая другой арил или гетероарил с образованием биарила, и другие необязательные заместители, определенные в данном документе. В других аспектах арилы представляют собой C_6-C_{10} арилы, такие как фенил, нафталенил и фенантрил. Поскольку ароматичность в нейтральном арильном фрагменте требует четного числа электронов, понятно, что заданный диапазон для этого фрагмента не будет включать молекулы с нечетным числом ароматических атомов углерода. Когда арил используется как группа Маркуша (т. е. заместитель), арил присоединен к формуле Маркуша или другому органическому фрагменту, с которым он связан посредством ароматического атома углерода арильной группы.

[0154] В контексте данного документа термин «гетероциклил» сам по себе или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к карбоциклилу, в котором один или более, но не все скелетные атомы углерода с присоединенными к ним атомами водорода в карбоциклической кольцевой системе замещены независимо выбранными гетероатомами или фрагментами гетероатомов, необязательно замещенными, если это разрешено, включая, без ограничения, N/NH, O, S, Se, B, Si и P, при этом два или более гетероатомов или фрагментов гетероатомов, как правило 2, могут быть смежными друг с другом или разделенными одним или более атомами углерода в рамках той же кольцевой системы, как правило, 1-3 атомами углерода. Эти гетероатомы или фрагменты гетероатомов, как правило, представляют собой N/NH, O и S. Гетероциклил, как правило, содержит одновалентный скелетный атом углерода или одновалентный гетероатом или фрагмент гетероатома и имеет в целом от одного до

десяти гетероатомов и/или фрагментов гетероатомов, как правило, в целом от 1 до 5 или чаще от 1 до 3 или от 1 до 2, при условии, что не все из скелетных атомов в любом из гетероциклических колец в гетероциклиле представляются собой гетероатомы и/или фрагменты гетероатомов (т. е. по меньшей мере один атом углерода в каждом кольце не замещен, при этом по меньшей мере один замещен в одном из колец), при этом каждый гетероатом или фрагмент гетероатома в кольце(ах) необязательно замещенный, где это разрешено, независимо выбран из группы, состоящей из N/NH, O и S, при условии, что ни одно из колец не содержит два смежных атома O или S. Типовыми гетероциклилами являются гетероарилы, которые вместе называют гетероциклами, и которые приведены в Paquette, Leo A.; «Principles of Modern Heterocyclic Chemistry» (W. A. Benjamin, New York, 1968), в частности в главах 1, 3, 4, 6, 7 и 9; «The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A series of Monographs» (John Wiley & Sons, New York, от 1950 до настоящего времени), в частности в томах 13, 14, 16, 19 и 28; и в J. Am. Chem. Soc. 1960, 82:5545-5473, в частности 5566-5573).

[0155] Когда гетероциклил используется как группа Маркуша (т. е. заместитель), насыщенное или частично ненасыщенное гетероциклическое кольцо гетероциклила присоединено к структуре Маркуша или другому фрагменту, с которым оно связано посредством атома углерода или гетероатома этого гетероциклического кольца, при этом такое присоединение не приводит к нестабильному или неразрешенному формальному состоянию окисления этого атома углерода или гетероатома. В этом контексте гетероциклил представляет собой одновалентный фрагмент, в котором гетероциклическое кольцо гетероциклильной кольцевой системы, определяющее его как гетероциклил, является неароматическим, но может быть конденсировано с карбоциклическим, арильным или гетероарильным кольцом и включает фенил (т. е. бензо)-связанные гетероциклические фрагменты.

[0156] Гетероциклил представляет собой C_3-C_{50} или C_3-C_{30} карбоциклил, как правило, C_3-C_{20} или C_3-C_{12} карбоциклил, чаще C_3-C_8 или C_3-C_6 карбоциклил, где 1, 2 или 3 или более, но не все атомы углерода его циклоалкильной кольцевой системы замещены, наряду с присоединенными к ним атомами водорода, как правило, 1, 2, 3 или 4 или более, чаще 1 или 2, гетероатомом или фрагментом гетероатома, независимо выбранным из группы, состоящей из N/NH, O и S, необязательно замещенным, где это разрешено, и, таким образом, представляет собой C_3-C_{50} или C_3-C_{30} гетероциклил, как правило, C_3-C_{20} или C_3-C_{12} гетероциклил, чаще C_3-C_6 или C_5-C_6 гетероциклил, в котором нижний индекс указывает общее число скелетных атомов (включая атомы углерода и гетероатомы) гетероциклической кольцевой системы гетероциклила. В некоторых аспектах гетероциклил содержит от 0 до 2 N, от 0 до 2 O или от 0 до 1 S скелетных гетероатомов, необязательно замещенных, или их некоторую комбинацию, при условии, что по меньшей мере один из указанных гетероатомов присутствует в гетероциклической кольцевой системе гетероциклила. Гетероциклил может быть насыщенным или частично ненасыщенным и/или незамещенным или замещенным в скелетном атоме углерода оксо-

фрагментом (=O), как в пирролидин-2-оне, и/или в скелетном гетероатоме одним или двумя оксо-фрагментами так, чтобы содержать окисленный гетероатом, как проиллюстрировано, но без ограничения этим, -N(=O), -S(=O)- или -$S(=O)_2$-. Полностью насыщенный или частично ненасыщенный гетероциклил может быть замещен или дополнительно замещен алкилом, (гетеро)арилом, (гетеро)арилалкилом, алкенилом, алкинилом или другим фрагментом, описанным в данном документе, включая необязательные заместители, определенные в данном документе, или комбинацию 2, 3 или более, как правило, 1 или 2 таких заместителей. В определенных аспектах гетероциклил выбран из группы, состоящей из пирролидинила, пиперидинила, морфолинила и пиперазинила.

[0157] В контексте данного документа термин «гетероцикло» сам по себе или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к гетероциклильным фрагменту, группе или заместителю по определению выше, в которых удален атом водорода из одновалентного атома углерода, атом водорода из другого скелетного атома (атома углерода или азота, если последний присутствует) или электрон из скелетного атома азота, если это разрешено, или электрон из кольцевого атома азота, который не является одновалентным, удален и замещен связью (т. е. является двухвалентным). В некоторых аспектах замещенный второй атом водорода относится к одновалентному атому углерода исходного гетероциклила с образованием, таким образом, спироатома углерода, который в некоторых случаях может прерывать алкильный фрагмент этим карбоциклическим атомом углерода. В таких случаях спироатом углерода относится к числу атомов углерода прерванного алкильного фрагмента, при этом гетероцикло указан как включенный в алкильный фрагмент.

[0158] В контексте данного документа термин «арил» сам по себе или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к арильным фрагменту, группе или заместителю по определению в данном документе, в которых один или более, но не все ароматические атомы углерода ароматической кольцевой системы арила замещены гетероатомом. Гетероарил, как правило, содержит в целом от одного до четырех скелетных гетероатомов в кольце(ах) гетероарильной кольцевой системы, при условии, что не все из скелетных атомов любой кольцевой системы в гетероариле являются гетероатомами, которые необязательно замещены, если это разрешено, и имеют от 0 до 3 N, от 1 до 3 N или от 0 до 3 N скелетных гетероатомов, как правило, от 0 до 1 O и/или от 0 до 1 S скелетных гетероатомов, при условии, что присутствует по меньшей мере один скелетный гетероатом. Гетероарил может быть моноциклическим, бициклическим или полициклическим. Полициклический гетероарил, как правило, представляет собой C_5-C_{50} или C_5-C_{30} гетероарил, чаще C_5-C_{20} или C_5-C_{12} гетероарил, бициклический гетероарил, как правило, представляет собой C_5-C_{10} гетероарил и моноциклический гетероарил, как правило, представляет собой C_5-C_6 гетероарил, где нижний индекс указывает общее число скелетных атомов (включая атомы углерода и гетероатомы) ароматической кольцевой системы гетероарила. В некоторых

аспектах гетероарил представляет собой бициклический арильный фрагмент, где 1, 2, 3, 4 или более, как правило, 1, 2 или 3, атомов углерода ароматического(их) кольцы(ец) и присоединенных к ним атомов водорода исходного бициклического арильного фрагмента замещены независимо выбранным гетероатомом или фрагментом гетероатома, или представляет собой моноциклический арильный фрагмент, где 1, 2, 3 или более, как правило, 1 или 2, атомов углерода ароматического(их) кольца(ец) и присоединенных к ним атомов водорода исходного моноциклического арильного фрагмента замещены независимо выбранным гетероатомом или фрагментом гетероатома, при этом гетероатом или фрагмент гетероатома необязательно замещен, если это разрешено, включая N/NH, O и S, при условии, что не все из скелетных атомов любой ароматической кольцевой системы в исходном арильном фрагменте замещены гетероатомами и, чаще, замещены кислородом (-O-), серой (-S-), азотом (=N-) или -NR-, так что гетероатом азота необязательно замещен, где R представляет собой -H, азот-защитную группу или необязательно замещенный C_1-C_{20} алкил, или представляет собой необязательно замещенный C_6-C_{24} арил или C_5-C_{24} гетероарил с образованием гетеробиарила. В других аспектах 1, 2 или 3, атомов углерода ароматического(их) кольца(ец) и присоединенных к ним атомов водорода исходного арильного фрагмента замещены азотом, замещенным другим органическим фрагментом образом, который сохраняет циклическую конъюгированную систему. В других аспектах ароматический углеродный радикал исходного арильного фрагмента замещен ароматическим азотным радикалом. В любых из этих аспектов гетероатом азота, серы или кислорода участвует в конъюгированной системе посредством пи-связывания со смежным атомом в кольцевой системе или посредством неподеленной пары электронов на гетероатоме. В других аспектах гетероарил имеет структуру гетероциклила по определению в данном документе, в которой кольцевая система была ароматизована.

[0159] Как правило, гетероарил является моноциклическим, что, в некоторых аспектах, включает 5-членную или 6-членную гетероароматическую кольцевую систему. 5-членный гетероарил представляет собой C_5-гетероарил, содержащий от 1 до 4 ароматических атомов углерода и необходимое количество ароматических гетероатомов в гетероароматической кольцевой системе. 6-членный гетероарил представляет собой C_6 гетероарил, содержащий от 1 до 5 ароматических атомов углерода и необходимое количество ароматических гетероатомов в гетероароматической кольцевой системе. Гетероарилы, которые являются 5-членными, имеют четыре, три, два или один ароматический гетероатом, а гетероарилы, которые являются 6-членными, включают гетероарилы, имеющие пять, четыре, три, два или один ароматический гетероатом.

[0160] C_5-гетероарилы, также называемые 5-членными гетероарилами, представляют собой одновалентные фрагменты, полученные вследствие удаления атома водорода со скелетного ароматического атома углерода или электрона со скелетного ароматического гетероатома, если это разрешено, из исходного ароматического гетероциклического соединения, которое в некоторых аспектах выбрано из группы,

состоящей из пиррола, фурана, тиофена, оксазола, изоксазола, тиазола, изотиазола, имидазола, пиразола, триазола и тетразола. В других аспектах исходный гетероцикл выбран из группы, состоящей из тиазола, имидазола, оксазола и триазола, и, как правило, представляет собой тиазол или оксазол, чаще тиазол.

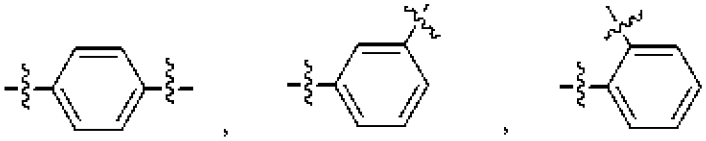
[0161] C_6-гетероарилы, которые являются 6-членными, представляют собой одновалентные фрагменты, полученные вследствие удаления атома водорода с ароматического атома углерода или электрона с ароматического гетероатома, если это разрешено, из исходного ароматического гетероциклического соединения, которое в определенных аспектах выбрано из группы, состоящей из пиридина, пиридазина, пиримидина и триазина. Гетероарил может быть замещен или дополнительно замещен алкилом, (гетеро)арилалкилом, алкенилом или алкинилом, или арилом или другим гетероарилом с образованием биарила, или другими фрагментами, описанными в данном документе, включая необязательные заместители, определенные в данном документе, или комбинацию 2, 3 или более, как правило, 1 или 2 таких заместителей.

[0162] В контексте данного документа термин «арилалкил» или «гетероарилалкил», сам по себе или как часть другого термина, относится к арильному или гетероарильному фрагменту, связанному с алкильным фрагментом, т. е. (арил)-алкилу-, где алкил и алкильные группы соответствуют описанию выше. Как правило, арилалкил представляет собой фрагмент, группу или заместитель (C_6-C_{24} арил)-C_1-C_{12} алкил-, а гетероарилалкил представляет собой фрагмент, группу или заместитель (C_5-C_{24} гетероарил)-C_1-C_{12} алкил-. Когда (гетеро)арилалкил используется как группа Маркуша (т. е. заместитель), алкильный фрагмент (гетеро)арилалкила присоединен к формуле Маркуша, с которой он связан, посредством sp^3 атома углерода своего алкильного фрагмента. В некоторых аспектах арилалкил представляет собой (C_6-C_{24} арил)-C_1-C_{12} алкил- или (C_6-C_{20} арил)-C_1-C_{20} алкил-, как правило, (C_6-C_{12} арил)-C_1-C_{12} алкил- или (C_6-C_{10} арил)-C_1-C_{12} алкил-, чаще (C_6-C_{10} арил)-C_1-C_6 алкил-, которые иллюстрирует, без ограничения, C_6H_5-CH_2-, C_6H_5-$CH(CH_3)CH_2$- и C_6H_5-CH_2-$CH(CH_2CH_2CH_3)$-. (Гетеро)арилалкил может быть незамещенным или замещенным тем же образом, что описан для (гетеро)арильных и/или алкильных фрагментов.

[0163] В контексте данного документа термин «арилен» или «гетероарилен» сам по себе или как часть другого термина, если иное не указано или не подразумевается контекстом, представляет собой ароматический или гетероароматический дирадикальный фрагмент, который образует две ковалентные связи (т. е. является двухвалентным) в другом органическом фрагменте, для которого связи имеют орто-, мета- или пара-конфигурацию. Арилен и некоторые гетероарилены включают двухвалентные молекулы, полученные вследствие удаления атома водорода из исходных арильных или гетероарильных фрагмента, группы или заместителя по определению в данном документе. Другие гетероарилены представляют собой двухвалентные молекулы, в которых атомы водорода были удалены с двух разных ароматических атомов углерода исходного ароматического гетероцикла с образованием дирадикальной молекулы, или получены

вследствие удаления атома водорода с ароматического атома углерода или гетероатома и другого атома водорода или электрона с другого ароматического гетероатома исходного ароматического гетероцикла с образованием дирадикальной молекулы, в которой один ароматический атом углерода и один ароматической гетероатом является одновалентным или каждый из двух разных ароматических гетероатомов является одновалентным. Гетероарилен дополнительно включает те, в которых гетероатом(ы) и/или фрагмент(ы) гетероатома(ов) замещают один или более, но не все ароматические атомы углерода исходного арилена.

[0164] Неограничивающие типовые арилены, которые необязательно замещены в оставшихся позициях, представляют собой фенил-1,2-ен, фенил-1,3-ен и фенил-1,4-ен, как показано в следующих структурах:



[0165] В контексте данного документа термин «гетероалкил» сам по себе или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к необязательно замещенному линейному или разветвленному углеводу, полностью насыщенному или содержащему от 1 до 3 степеней ненасыщенности и имеющему от 1 до 12 атомов углерода и от 1 до 6 гетероатомов, как правило, от 1 до 5 гетероатомов, чаще один или два гетероатома или фрагмента гетероатомов, выбранных из группы, состоящей из O, N/NH, Si и S, необязательно замещенных, где это разрешено, и включает каждый атом азота и серы, независимо необязательно окисленный до N-оксида, сульфоксида или сульфона, или где один или более атомов азота необязательно замещены или кватернизированы. Гетероатом(ы) или фрагмент(ы) гетероатомов O, N/NH, S и/или Si могут быть размещены в любой внутренней позиции гетероалкильной группы или в концевой позиции необязательно замещенной алкильной группы гетероалкила. В некоторых аспектах гетероалкил является полностью насыщенным или содержит 1 степень ненасыщенности и содержит от 1 до 6 атомов углерода и от 1 до 2 гетероатомов, а в других аспектах гетероалкил является незамещенным. Неограничивающие примеры представляют собой $-CH_2-CH_2-O-CH_3$, $-CH_2-CH_2-NH-CH_3$, $-CH_2-CH_2-N(CH_3)-CH_3$, $-CH_2-S-CH_2-CH_3$, $-CH_2-CH_2-S(O)-CH_3$, $-NH-CH_2-CH_2-NH-C(O)-CH_2-CH_3$, $-CH_2-CH_2-S(O)_2-CH_3$, $-CH=CH-O-CH_3$, $-Si(CH_3)_3$, $-CH_2-CH=N-O-CH_3$ и $-CH=CH-N(CH_3)-CH_3$. До двух гетероатомов могут быть последовательными, как проиллюстрировано $-CH_2-NH-OCH_3$ и $-CH_2-O-Si(CH_3)_3$.

[0166] Гетероалкил, как правило, обозначают по числу его последовательных гетероатомов и неароматических атомов углерода, которые включают последовательные атомы углерода, присоединенные к гетероатомам, если не указано иное (например, как описано для аминоалкила) или иное не следует из контекста. Таким образом, $-CH_2-CH_2-O-CH_3$ и $-CH_2-CH_2-S(O)-CH_3$ оба представляют собой C_4-гетероалкилы, а $-CH_2-CH=N-O-CH_3$ и $-CH=CH-N(CH_3)_2$ оба представляют собой C_5 гетероалкилы. Гетероалкил может быть

замещенным или незамещенным (т. е. необязательно замещенным) в своем гетероатоме или компоненте гетероатома любым из фрагментов, описанных в данном документе, включая необязательный заместитель по определению в данном документе, и/или в своем алкильном компоненте 1-4 или более, как правило, 1-3 или 1 или 2 независимо выбранными фрагментами, описанными в данном документе, включая необязательный(е) заместитель(и) по определению в данном документе, исключая алкил, (гетеро)арилалкил, алкенил, алкинил, другой гетероалкил или любой другой фрагмент, когда замещенный алкенил будет отличаться по числу последовательных неароматических атомов углерода от незамещенного аминоалкила.

[0167] В контексте данного документа термин «гидроксиалкил» сам по себе или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к алкильным фрагменту, группе или заместителю, имеющим гидроксильный радикал на месте одного или более атомов водорода. В некоторых аспектах один или два атома водорода замещены гидроксильным заместителем в гидроксиалкильной группе. Гидроксиалкил, как правило, обозначают по числу последовательных атомов углерода его алкильного или алкиленового фрагмента. Таким образом, C_1 гидроксиалкил иллюстрирует, без ограничения $-CH_2OH$, а C_2 гидроксиалкил иллюстрирует, без ограничения $-CH_2CH_2OH$ или $-CH_2(OH)CH_3$.

[0168] Аминоалкил по определению в данном документе представляет собой типовой гетероалкил, в котором концевой атом углерода алкильного фрагмента, отличный от его одновалентного атома углерода, замещен аминогруппой. В случае, когда он указан как заместитель структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которым он связан, одновалентный атом углерода алкильного фрагмента присоединен к другому органическому фрагменту, с которым он должен быть связан, который, как правило, представляет собой другой атом углерода, чем присоединенный к аминогруппе. Аминоалкил отличается от других гетероалкилов указанием в нумерации только числа последовательных атомов углерода его алкиленового фрагмента.

[0169] В контексте данного документа термин «гетероалкилен» сам по себе или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается контекстом, означает двухвалентную группу, полученную из гетероалкила (как обсуждается выше) вследствие удаления атома водорода или электрона гетероатома из исходного гетероалкила с получением двухвалентного фрагмента, иллюстрируемого, без ограничения, $-CH_2-CH_2-S-CH_2-CH_2-$ и $-CH_2-S-CH_2-CH_2-NH-CH_2-$. В случае гетероалкилена его гетероатомы могут быть внутренними или могут занимать любой или оба конца его необязательно замещенной алкиленовой цепи так, что один или оба этих гетероатома являются одновалентными. Когда гетероалкилен является компонентом линкерного звена, разрешены обе ориентации этого компонента в линкерном звене, если иное не указано или не подразумевается контекстом. Гетероалкилен, как правило, обозначают по числу его последовательных гетероатомов и неароматических атомов углерода, которые включают последовательные атомы углерода, присоединенные к гетероатомам, если не указано иное

или иное не следует из контекста. Алкилендиамин представляет собой гетероалкилен, в котором два одновалентных атома углерода алкилена замещены аминогруппами так, что каждый из их атомов азота является одновалентным, и отличается от других гетероалкиленов указанием в нумерации только числа последовательных атомов углерода его алкиленового фрагмента.

[0170] В контексте данного документа термин «аминоалкил» сам по себе или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к фрагменту, группе или заместителю, имеющим основной атом азота, связанный с одним концом радикала алкиленового фрагмента по определению выше, с получением первичного амина, в котором основной атом азота дополнительно не замещен, или с получением вторичного или третичного амина, в котором основной амин дополнительно замещен одним или двумя независимо выбранными необязательно замещенными C_1-C_{12} алкильными фрагментами, соответственно, как описано выше. В некоторых аспектах необязательно замещенный алкил представляет собой C_1-C_8 алкил или C_1-C_6 алкил, а в других аспектах этот алкил является незамещенным. В других аспектах основной атом азота вместе с его заместителями определяет необязательно замещенный C_3-C_8 гетероциклил, содержащий основной атом азота как скелетный атом, как правило, в форме азот-содержащего C_3-C_6 или C_5-C_6 гетероциклила, необязательно замещенного. Когда аминоалкил используется как вариабельная группа для структуры Маркуша, алкиленовый фрагмент аминоалкила присоединен к формуле Маркуша, с которой он связан, посредством sp^3 атома углерода этого фрагмента, который, в некоторых аспектах, является другим концом радикала вышеупомянутого алкилена. Аминоалкил, как правило, обозначают по числу последовательных атомов углерода его алкиленового фрагмента. Таким образом, C_1 аминоалкил иллюстрирует, без ограничения, $-CH_2NH_2$, $-CH_2NHCH_3$ и $-CH_2N(CH_3)_2$, а C_2 аминоалкил иллюстрирует, без ограничения, $-CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2NHCH_3$ и $-CH_2CH_2N(CH_3)_2$.

[0171] В контексте данного документа, если иное не указано или не подразумевается контекстом, «необязательно замещенный алкил», «необязательно замещенный алкенил», «необязательно замещенный алкинил», «необязательно замещенный арилалкил», «необязательно замещенный гетероцикл», «необязательно замещенный арил», «необязательно замещенный гетероарил», «необязательно замещенный гетероарилалкил» и подобные термины относятся к алкилу, алкенилу, алкинилу, арилалкилу, гетероциклу, арилу, гетероарилу, гетероарилалкилу или другим заместителю, фрагменту или группе по определению или описанию в данном документе, где атом(ы) водорода этих заместителя, фрагмента или группы был(и) необязательно замещен(ы) другим(и) фрагментом(ами) или группой(ами) или где ациклическая углеродная цепь, которая содержит один из этих заместителей, фрагментов или групп, прерывается замещением атома(ов) углерода этой цепи другим(и) фрагментом(ами) или группой(ами). В некоторых аспектах алкеновая функциональная группа замещает два последовательных sp^3 атома углерода алкильного заместителя, при условии, что

углеродный радикал алкильного фрагмента не замещен, при этом необязательно замещенный алкил становится ненасыщенным алкильным заместителем.

[0172] Необязательные заместители, замещающие атом(ы) водорода в любых из вышеуказанных заместителей, фрагментов или групп, независимо выбраны из группы, состоящей из C_6-C_{24} арила, C_5-C_{24} гетероарила, гидроксила, C_1-C_{20} алкокси, C_6-C_{24} арилокси, циано, галогена, нитро, C_1-C_{20} фторалкокси и амино, что включает $-NH_2$ и моно-, ди- и тризамещенные аминогруппы, и их защищенных производных, или выбраны из группы, состоящей из -X, -OR', -SR', $-NH_2$, $-N(R')(R^{op})$, $-N(R^{op})_3$, $=NR'$, $-CX_3$, -CN, $-NO_2$, $-NR'C(=O)H$, $-NR'C(=O)R^{op}$, $-NR'C(=O)R^{op}$, $-C(=O)R'$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)N(R')R^{op}$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R^{op}$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R^{op}$, , $-S(=O)_2OR'$, $-S(=O)R^{op}$, $-OP(=O)(OR')(OR^{op})$, $-OP(OH)_3$, $-P(=O)(OR')(OR^{op})$, $-PO_3H_2$, $-C(=O)R'$, $-C(=S)R^{op}$, $-CO_2R'$, $-C(=S)OR^{op}$, $-C(=O)SR'$, $-C(=S)SR'$, $-C(=S)NH_2$, $-C(=S)N(R')(R^{op})_2$, $-C(=NR')NH_2$, $-C(=NR')N(R')R^{op}$ и их солей, где каждый X независимо выбран из группы, состоящей из галогенов: -F, -Cl, -Br и -I; и где каждый R^{op} независимо выбран из группы, состоящей из C_1-C_{20} алкила, C_2-C_{20} алкенила, C_2-C_{20} алкинила, C_6-C_{24} арила, C_3-C_{24} гетероциклила, C_5-C_{24} гетероарила, защитной группы и пролекарственного фрагмента, или два R^{op} вместе с гетероатомом, к которому они присоединены, определяют C_3-C_{24} гетероциклил; а R' представляет собой водород или R^{op}, где R^{op} выбран из группы, состоящей из C_1-C_{20} алкила, C_6-C_{24} арила, C_3-C_{24} гетероциклила, C_5-C_{24} гетероарила и защитной группы.

[0173] Как правило, необязательные заместители, которые присутствуют, выбраны из группы, состоящей из -X, -OH, $-OR^{op}$, -SH, $-SR^{op}$, $-NH_2$, $-NH(R^{op})$, $-NR'(R^{op})_2$, $-N(R^{op})_3$, =NH, $=NR^{op}$, $-CX_3$, -CN, $-NO_2$, $-NR'C(=O)H$, $NR'C(=O)R^{op}$, $-CO_2H$, -C(=O)H, $-C(=O)R^{op}$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)NR'R^{op}$, $-S(=O)_2R^{op}$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')R^{op}$, $-S(=O)_2NH_2$, $-S(=O)_2N(R')(R^{op})$, $-S(=O)_2OR'$, $-S(=O)R^{op}$, $-C(=S)R^{op}$, $-C(=S)NH_2$, $-C(=S)N(R')R^{op}$, $-C(=NR')N(R^{op})_2$ и их солей, где каждый X независимо выбран из группы, состоящей из -F и -Cl, где R^{op}, как правило, выбран из группы, состоящей из C_1-C_6 алкила, C_6-C_{10} арила, C_3-C_{10} гетероциклила, C_5-C_{10} гетероарила и защитной группы; а R' независимо выбран из группы, как правило, состоящей из водорода, C_1-C_6 алкила, C_6-C_{10} арила, C_3-C_{10} гетероциклила, C_5-C_{10} гетероарила и защитной группы, независимо выбранной из R^{op}.

[0174] Чаще необязательные заместители, которые присутствуют, выбраны из группы, состоящей из -X, $-R^{op}$, -OH, $-OR^{op}$, $-NH_2$, $-NH(R^{op})$, $-N(R^{op})_2$, $-N(R^{op})_3$, $-CX_3$, $-NO_2$, $-NHC(=O)H$, $-NHC(=O)R^{op}$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)NHR^{op}$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-CO_2H$, $-CO_2R^{op}$, -C(=O)H, $-C(=O)R^{op}$, $-C(=O)NH_2$, $-C(=O)NH(R^{op})$, $-C(=O)N(R^{op})_2$, $-C(=NR')NH_2$, $-C(=NR')NH(R^{op})$, $-C(=NR')N(R^{op})_2$, защитной группы и их солей, где каждый X представляет собой -F, где R^{op} независимо выбран из группы, состоящей из C_1-C_6 алкила, C_6-C_{10} арила, C_5-C_{10} гетероарила и защитной группы; а R' выбран из группы, состоящей из водорода, C_1-C_6 алкила и защитной группы, независимо выбранной из R^{op}.

[0175] В некоторых аспектах необязательный заместитель, который присутствует, выбран из группы, состоящей из $-NH_2$, $-NH(R^{op})$, $-N(R^{op})_2$, $-N(R^{op})_3$, $-C(=NR')NH_2$, $-C(=NR')NH(R^{op})$ и $-C(=NR')N(R^{op})_2$, где R' и R^{op} соответствуют определению для любых из

групп R’ или R^{op} выше. В некоторых из этих аспектов заместители R’ и/или R^{op} вместе с атомом азота, к которому они присоединены, обеспечивают основную функциональную группу основного звена (ОЗ), как когда R^{op} независимо выбран из группы, состоящей из водорода и C_1-C_6 алкила. Алкиленовые, карбоциклильные, карбоцикло-, арильные, ариленовые, гетероалкильные, гетероалкиленовые, гетероциклильные, гетероцикло-, гетероарильные и гетероариленовые группы, описанные выше, аналогично являются замещенными или незамещенными, за исключениями, при наличии, описанными в определении этих фрагментов.

[0176] Другие необязательные заместители замещают атом углерода в ациклической углеродной цепи алкильных или алкиленовых фрагмента, группы или заместителя с обеспечением C_3-C_{12} гетероалкила или C_3-C_{12} гетероалкилена и в этих целях, как правило, выбраны из группы, состоящей из -O-, -C(=O)-, -C(=O)O-, -S-, -S(=O)-, -$S(=O)_2$-, -NH-, -NHC(=O)-, -C(=O)NH-, $S(=O)_2NH$-, -$NHS(=O)_2$-, -OC(=O)NH- и -NHC(=O)O, необязательно замещенных, где -NH- представляет собой необязательно замещенный фрагмент гетероатома за счет замещения атома водорода независимо выбранным заместителем из группы, описанной выше для необязательного заместителя -NH-.

[0177] В контексте данного документа термин «необязательно замещенный гетероатом» сам по себе или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к гетероатому или фрагменту гетероатома в функциональной группе или другом органическом фрагменте, в котором гетероатом дополнительно не замещен или замещен любым из вышеупомянутых фрагментов, имеющих одновалентный атом углерода, включая, но не ограничиваясь этим, алкил, циклоалкил, алкенил, арил, гетероциклил, гетероарил, гетероалкил и (гетеро)арилалкил-, или окислен вследствие замещения одним или двумя заместителями =O. В некоторых аспектах «необязательно замещенный гетероатом» относится к ароматическому или неароматическому фрагменту -NH-, который является замещенным или в котором атом водорода замещен любым из вышеупомянутых заместителей. В других аспектах «необязательно замещенный гетероатом» относится к ароматическому скелетному атому азота гетероарила, в котором электрон этого гетероатома замещен любым из вышеупомянутых заместителей. Чтобы охватить оба этих аспекта, гетероатом азота иногда называют необязательно замещенным N/NH.

[0178] Следовательно, в некоторых аспектах необязательный заместитель атома азота, который присутствует, выбран из группы, состоящей из C_1-C_{20} алкила, C_2-C_{20} алкенила, C_2-C_{20} алкинила, C_6-C_{24} арила, C_5-C_{24} гетероарила, (C_6-C_{24} арил)-C_1-C_{20} алкила- и (C_5-C_{24} гетероарил)-C_1-C_{20} алкила-, необязательно замещенного, согласно определению этих терминов в данном документе. В других аспектах необязательные заместители атома азота, которые присутствуют, независимо выбраны из группы, состоящей из C_1-C_{12} алкила, C_2-C_{12} алкенила, C_2-C_{12} алкинила, C_6-C_{24} арила, C_5-C_{24} гетероарила, (C_6-C_{24} арил)-C_1-C_{12} алкила- и (C_5-C_{24} гетероарил)-C_1-C_{12} алкила-, необязательно замещенного, из

группы, состоящей из C_1-C_8 алкила, C_2-C_8 алкенила, C_2-C_8 алкинила, C_6-C_{10} арила, C_5-C_{10} гетероарила, (C_6-C_{10} арил)-C_1-C_8 алкила- и (C_5-C_{10} гетероарил)-C_1-C_8 алкила, или из группы, состоящей из C_1-C_6 алкила, C_2-C_6 алкенила, C_2-C_6 алкинила, C_6-C_{10} арила, C_5-C_{10} гетероарила, (C_6-C_{10} арил)-C_1-C_6 алкила- и (C_5-C_{10} гетероарил)-C_1-C_6 алкила-.

[0179] Когда необязательно замещенный атом азота является точкой ковалентного присоединения пептидного расщепляемого звена к PAB или фрагменту PAB-типа самоуничтожающегося спейсерного звена, иногда обозначаемого J, необязательный заместитель этого атома азота, при наличии, ограничен таким, который имеет присоединенный к нему одновалентный sp^3 атом углерода, который не оказывает негативного влияния на электронодонорную способность атома азота по сравнению с незамещенным атомом азота, поскольку его электронодонорная способность восстанавливается при расщеплении расщепляемого звена так, чтобы сделать возможным самоуничтожение для высвобождения лекарственного звена в виде свободного лекарственного препарата.

[0180] В контексте данного документа термин «O-связанный фрагмент» сам по себе или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к фрагменту, группе или заместителю, которые присоединены к структуре Маркуша или другому органическому фрагменту, с которым они связаны, напрямую посредством атома кислорода O-связанного фрагмента. Одновалентный O-связанный фрагмент присоединен посредством одновалентного атома кислорода и, как правило, представляет собой -OH, -OC(=O)R^b (ацилокси), где R^b представляет собой -H, необязательно замещенный насыщенный C_1-C_{20} алкил, необязательно замещенный ненасыщенный C_1-C_{20} алкил, необязательно замещенный C_3-C_{20} циклоалкил, при этом циклоалкильный фрагмент является насыщенным или частично ненасыщенным, необязательно замещенный C_3-C_{20} алкенил, необязательно замещенный C_2-C_{20} алкинил, необязательно замещенный C_6-C_{24} арил, необязательно замещенный C_5-C_{24} гетероарил или необязательно замещенный C_3-C_{24} гетероциклил, или R^b представляет собой необязательно замещенный C_1-C_{12} алкил, необязательно замещенный C_3-C_{12} циклоалкил, необязательно замещенный C_3-C_{12} алкенил или необязательно замещенный C_2-C_{12} алкинил, и при этом одновалентный O-связанный фрагмент дополнительно включает эфирные группы, которые представляют собой фрагменты C_1-C_{12} алкилокси (т. е. C_1-C_{12} алифатический эфир), необязательно замещенные, при этом алкильный фрагмент является насыщенным или ненасыщенным.

[0181] В других аспектах одновалентный O-связанный фрагмент представляет собой одновалентный фрагмент, выбранный из группы, состоящей из необязательно замещенного фенокси, необязательно замещенного C_1-C_8 алкилокси (т. е. C_1-C_8 алифатического эфира) и -OC(=O)R^b, где R^b представляет собой необязательно замещенный C_1-C_8 алкил, который, как правило, является насыщенным, или представляет собой C_3-C_8 алкил, необязательно замещенный.

[0182] В других аспектах O-связанный фрагмент представляет собой

одновалентный фрагмент, выбранный из группы, состоящей из -OH и насыщенного C_1-C_6 алкильного эфира, ненасыщенного C_3-C_6 алкильного эфира, необязательно замещенного, и -OC(=O)R^b, где R^b, как правило, представляет собой C_1-C_6 насыщенный алкил, C_3-C_6 ненасыщенный алкил, C_3-C_6 циклоалкил, C_2-C_6 алкенил или фенил, необязательно замещенный, или выбран из группы, исключающей -OH и/или фенил, или R^b представляет собой одновалентный фрагмент, выбранный из группы, состоящей из C_1-C_6 насыщенного алкила, C_3-C_6 ненасыщенного алкила и C_2-C_6 алкенила, необязательно замещенного, или одновалентный O-связанный фрагмент представляет собой незамещенный O-связанный заместитель, выбранный из группы, состоящей из насыщенного C_1-C_6 алкильного эфира, ненасыщенного C_3-C_6 алкильного эфира и -OC(=O)R^b, где R^b представляет собой незамещенный насыщенный C_1-C_6 алкил или незамещенный ненасыщенный C_3-C_6 алкил.

[0183] Другие примеры O-связанных заместителей приведены в определениях карбамата, эфира и карбоната в данном документе, в которых одновалентный атом кислорода карбаматной, эфирной или карбонатной функциональной группы связан со структурой Маркуша или другим органическим фрагментом, с которым он связан.

[0184] В других аспектах O-связанный с углеродом фрагмент является двухвалентным и включает =O и -X-$(CH_2)_n$-Y-, где X и Y независимо представляют собой S и O, а нижний индекс n равен 2 или 3, с образованием спирокольцевой системы с атомом углерода, к которому присоединены оба X и Y.

[0185] В контексте данного документа термин «галоген» сам по себе или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к фтору, хлору, брому или йоду и, как правило, представляет собой -F или -Cl.

[0186] В контексте данного документа термин «защитная группа» сам по себе или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к фрагменту, который предотвращает или существенно снижает способность атома или функциональной группы, с которой он связан, принимать участие в нежелательных реакциях. Типичные защитные группы приведены в Greene (1999), «Protective groups in organic synthesis, 3rd ed.», Wiley Interscience. Защитные группы для гетероатомов, таких как кислород, сера и азот, иногда используют, чтобы минимизировать нежелательные реакции с электрофильными соединениями. В ином случае защитную группу используют, чтобы снизить или устранить нуклеофильность и/или основность незащищенного гетероатома. Неограничивающие примеры защищенного кислорода проиллюстрированы -OR^{PR}, где R^{PR} представляет собой защитную группу для гидроксила, причем гидроксил, как правило, защищен как сложный эфир (например, ацетат, пропионат или бензоат). Другие защитные группы для гидроксила позволяют избежать его влияния на с нуклеофильность металлорганических реагентов или других реагентов с высокой основностью, для чего гидроксил, как правило, защищен как эфир, включая, без ограничения, алкильные или гетероциклильные эфиры, (например, метильные или тетрагидропиранильные эфиры), алкоксиметильные эфиры (например, метоксиметильные

или этоксиметильные эфиры), необязательно замещенные арильные эфиры и силильные эфиры (например, триметилсилил (TMS), триэтилсилил (TES), трет-бутилдифенилсилил (TBDPS), трет-бутилдиметилсилил (TBS/TBDMS), триизопропилсилил (TIPS) и [2-(триметилсилил)этокси]-метилсилил (SEM)). Азотные защитные группы включают группы для первичных или вторичных аминов как в $-NHR^{PR}$ или $-N(R^{PR})_2$, где по меньшей мере один R^{PR} представляет собой защитную группу атома азота или оба R^{PR} вместе определяют защитную группу атома азота.

[0187] Защитная группа подходит для защиты, когда она способна предотвращать или по существу не допускать нежелательные побочные реакции и/или преждевременную потерю защитной группы в реакционных условиях, требуемых для осуществления необходимых химических преобразований в некотором месте в молекуле, и во время очистки новообразованной молекулы при необходимости, и может быть удалена в условиях, которые не оказывают негативного влияния на структуру или стереохимическую целостность этой новообразованной молекулы. В некоторых аспектах подходящими защитными группами являются описанные выше для защиты функциональных групп. В других аспектах подходящая защитная группа представляет собой защитную группу, используемую в реакциях пептидного сочетания. Например, подходящая защитная группа для основного атома азота ациклического или циклического основного звена представляет собой кислотолабильную карбаматную защитную группу, такую как трет-бутилоксикарбонил (BOC).

[0188] В контексте данного документа термин «сложный эфир» сам по себе или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к заместителю, фрагменту или группе, имеющим структуру -C(=O)-O-, определяющую сложноэфирную функциональную группу, в которой карбонильный атом углерода этой структуры напрямую не связан с другим гетероатомом, но напрямую связан с атомом водорода или другим атомом углерода органического фрагмента, с которым он связан, и при этом одновалентный атом кислорода присоединен к тому же органическому фрагменту в другом атоме углерода с образованием лактона, или к структуре Маркуша, или к некоторому другому органическому фрагменту. Как правило, сложные эфиры, помимо сложноэфирной функциональной группы, содержат или состоят из органического фрагмента, содержащего от 1 до 50 атомов углерода, как правило, от 1 до 20 атомов углерода или чаще от 1 до 8, от 1 до 6 или от 1 до 4 атомов углерода, и от 0 до 10 независимо выбранных гетероатомов (например, O, S, N, P, Si, но обычно O, S и N), как правило, от 0 до 2 гетероатомов, при этом органический фрагмент связан со структурой -C(=O)-O- (т. е. посредством сложноэфирной функциональной группы) так, чтобы обеспечить структуру, имеющую формулу органический фрагмент-C(=O)-O- или -C(=O)-O-органический фрагмент.

[0189] Когда сложный эфир представляет собой заместитель или вариабельную группу структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которыми он связан, этот заместитель связан со структурой или органическим фрагментом посредством

одновалентного атома кислорода сложноэфирной функциональной группы так, чтобы это был одновалентный O-связанный заместитель, которые иногда называют ацилокси. В таких случаях органический фрагмент, присоединенный к карбонильному атому углерода сложноэфирной функциональной группы, как правило, представляет собой C_1-C_{20} алкил, C_2-C_{20} алкенил, C_2-C_{20} алкинил, C_6-C_{24} арил, C_5-C_{24} гетероарил, C_3-C_{24} гетероциклил или представляет собой замещенное производное любого из них, например, имеющее 1, 2, 3 или 4 заместителя, как правило, представляет собой C_1-C_{12} алкил, C_2-C_{12} алкенил, C_2-C_{12} алкинил, C_6-C_{10} арил, C_5-C_{10} гетероарил, C_3-C_{10} гетероциклил или замещенное производное любого из них, например, имеющее 1, 2 или 3 заместителя, или представляет собой C_1-C_8 алкил, C_2-C_8 алкенил, C_2-C_8 алкинил или фенил или замещенное производное любого из них, например, имеющее 1 или 2 заместителя, при этом каждый независимо выбранный заместитель соответствует определению в данном документе для необязательных алкильных заместителей или представляет собой незамещенный C_1-C_6 алкил или незамещенный C_2-C_6 алкенил.

[0190] Типовыми сложными эфирами, как пример, но не ограничение, являются ацетатные, пропионатные, изопропионатные, изобутиратные, бутиратные, валератные, изовалератные, капроатные, изокапроатные, гексаноатные, гептаноатные, октаноатные, фенилацетатные сложные эфиры и бензоатные сложные эфиры, или имеющие структуру -$OC(=O)R^b$, где R^b соответствует определению для ацилокси O-связанных заместителей и, как правило, выбран из группы, состоящей из метила, этила, пропила, изопропила, 2-метилпроп-1-ила, 2,2-диметилпроп-1-ила, проп-2-ен-1-ила и винила.

[0191] В контексте данного документа термин «эфир» сам по себе или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к органическим фрагменту, группе или заместителю, которые содержат 1, 2, 3, 4 или более фрагментов -O- (т. е. окси), которые не связаны с карбонильным(и) фрагментом(ами), как правило 1 или 2, при этом два фрагмента -O- не являются непосредственно смежными (т. е. напрямую соединенными) друг с другом. Как правило, эфир содержит формулу -O-органический фрагмент, где органический фрагмент соответствует описанию для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, или описанию в данном документе для необязательно замещенной алкильной группы. Когда эфир указан как заместитель или вариабельная группа структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которыми он связан, атом кислорода эфирной функциональной группы присоединен к формуле Маркуша, с которой он связан, и иногда обозначен как «алкокси»-группа, которая является типовым O-связанным заместителем. В некоторых аспектах эфирный O-связанный заместитель представляет собой C_1-C_{20} алкокси или C_1-C_{12} алкокси, необязательно замещенный 1, 2, 3 или 4 заместителями, как правило 1, 2 или 3, в других аспектах представляет собой C_1-C_8 алкокси или C_1-C_6 алкокси, необязательно замещенный 1 или 2 заместителями, где каждый независимо выбранный заместитель соответствует определению в данном документе для необязательных алкильных заместителей, а в других аспектах эфирный O-

связанный заместитель представляет собой незамещенный насыщенный или ненасыщенный C_1-C_4 алкокси, такой как, как пример, но не ограничение, метокси, этокси, пропокси, изопропокси, бутокси и аллилокси (т. е. $-OCH_2CH=CH_2$).

[0192] В контексте данного документа термин «амид» сам по себе или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к фрагменту, имеющему необязательно замещенную функциональную группу, имеющую структуру $R-C(=O)N(R^c)-$ или $-C(=O)N(R^c)_2$, к карбонильному атому углерода которой напрямую не присоединен ни один другой гетероатом, и при этом каждый R^c независимо представляет собой водород, защитную группу или независимо выбранный органический фрагмент, а R представляет собой водород или органический фрагмент, причем органический фрагмент, независимо выбранный из R^c, соответствует описанию в данном документе для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, или описанию в данном документе для необязательно замещенной алкильной группы. Когда амид указан как заместитель или вариабельная группа структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которыми он связан, амидный атом азота или карбонильный атом углерода амидной функциональной группы связан с этой структурой или другим органическим фрагментом. Амиды, как правило, получают путем конденсации галоидангидрида, такого как хлорангидрид, с молекулой, содержащей первичный или вторичный амин. В альтернативном варианте используют реакции сочетания амидов, хорошо известные в области пептидного синтеза, которые в некоторых аспектах осуществляют через активированный сложный эфир содержащей карбоновую кислоту молекулы. Примеры получения амидных связей с помощью методов пептидного сочетания приведены в Benoiton (2006) «Chemistry of peptide synthesis», CRC Press; Bodansky (1988) «Peptide synthesis: A practical textbook» Springer-Verlag; Frinkin, M. et al. «Peptide Synthesis» Ann. Rev. Biochem. (1974) 43: 419-443. Реагенты, используемые при получении активированных карбоновых кислот, приведены в Han, et al. «Recent development of peptide coupling agents in organic synthesis» Tet. (2004) 60: 2447-2476.

[0193] Таким образом, в некоторых аспектах амиды получают посредством проведения реакции карбоновой кислоты с амином в присутствии агента для сочетания. В контексте данного документа «в присутствии агента для сочетания» включает приведение карбоновой кислоты в контакт с агентом для сочетания, превращая, таким образом, кислоту в ее активированное производное, такое как активированный сложный эфир или смешанный ангидрид, с или без выделения полученного активированного производного кислоты, с последующим или одновременным приведением в контакт полученного активированного производного с амином. В некоторых случаях активированное производное получают in situ. В других случаях активированное производное можно выделять для удаления любых нежелательных примесей.

[0194] В контексте данного документа термин «карбонат» сам по себе или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается

контекстом, означает заместитель, фрагмент или группу, которые содержат функциональную группу, имеющую структуру -O-C(=O)-O-, которая определяет карбонатную функциональную группу. Как правило, в контексте данного документа карбонатные группы состоят из органического фрагмента, связанного со структурой -O-C(=O)-O-, причем органический фрагмент соответствует описанию в данном документе для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, например, органический фрагмент-O-C(=O)-O-. Когда карбонат указан как заместитель или вариабельная группа структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которыми он связан, один из одновалентных атомов кислорода карбонатной функциональной группы присоединен к этой структуре или органическому фрагменту, а другой связан с атомом углерода другого органического фрагмента, описанного ранее для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, или соответствует описанию в данном документе для необязательно замещенной алкильной группы. В таких случаях карбонат является типовым O-связанным заместителем.

[0195] В контексте данного документа термин «карбамат» сам по себе или в комбинации с другим термином, если иное не указано или не подразумевается контекстом, означает заместитель, фрагмент или группу, которые содержат необязательно замещенную карбаматную функциональную группу, имеющую структуру, представленную -O-C(=O)N(R^c)-, или -O-C(=O)N(R^c)$_2$, или -O-C(=O)NH(необязательно замещенный алкил)-, или -O-C(=O)N(необязательно замещенный алкил)$_2$, в которой независимо выбранные необязательно замещенные алкилы являются типовыми заместителями карбаматной функциональной группы, и, как правило, представляют собой C_1-C_{12} алкил или C_1-C_8 алкил, необязательно замещенный, чаще C_1-C_6 алкил или C_1-C4 алкил, необязательно замещенный, где каждый R^c является независимо выбранным, при этом независимо выбранный R^c представляет собой водород, защитную группу или органический фрагмент, причем органический фрагмент соответствует описанию в данном документе для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, или соответствует описанию в данном документе для необязательно замещенной алкильной группы. Как правило, карбаматные группы дополнительно состоят из органического фрагмента, независимо выбранного из R^c, причем органический фрагмент соответствует описанию в данном документе для органического фрагмента, связанного со сложноэфирной функциональной группой, связанного посредством структуры -O-C(=O)-N(R^c)-, при этом полученная структура имеет формулу органический фрагмент-O-C(=O)-N(R^c)- или -O-C(=O)-N(R^c)-органический фрагмент. Когда карбамат указан как заместитель или вариабельная группа структуры Маркуша или другого органического фрагмента, с которыми он связан, одновалентный атом кислорода (O-связанный) или азота (N-связанный) карбаматной функциональной группы присоединен к формуле Маркуша, с которой он связан. Связь карбаматного заместителя либо указана явно (N- или O-связанный), либо подразумевается контекстом, в котором упоминается заместитель. O-связанные карбаматы, описанные в данном

документе, представляют собой типовые одновалентные O-связанные заместители.

[0196] В контексте данного документа термин «конъюгат лиганд-лекарственный препарат», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к конструкции, состоящей из лигандного звена (L), включающего или соответствующего по структуре нацеливающему агенту, и лекарственного звена (D), включающего или соответствующего по структуре свободному лекарственному препарату, при этом L и D связаны друг с другом посредством линкерного звена (LU), при этом конъюгат лиганд-лекарственный препарат способен селективно связываться с целевым фрагментом целевой клетки. Термин «конъюгат лиганд-лекарственный препарат» (LDC) в одном аспекте относится к множеству (т. е. композиции) отдельных соединений конъюгата, имеющих одинаковое или в некоторой степени разное число лекарственных звеньев ауристатина, конъюгированных с каждым лигандным звеном и/или участком на лигандном звене, к которому конъюгированы лекарственные звенья. В некоторых аспектах этот термин относится к набору (т. е. совокупности или множеству) соединений конъюгата, имеющих по существу одинаковое лигандное звено и одинаковые лекарственное звено и линкерное звено, которые в некоторых аспектах имеют разные нагрузку и/или распределение фрагментов лекарственный препарат ауристатин - линкер, присоединенных к каждому остатку антитела (как, например, когда число лекарственных звеньев любых двух соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат во множестве таких соединений является одинаковым, но расположение их сайтов присоединения к лигандному звену является разным). В этих случаях конъюгат лиганд-лекарственный препарат описывается средней лекарственной нагрузкой соединений конъюгата.

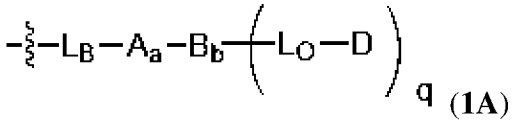
[0197] Среднее число лекарственных единиц на лигандное звено в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат представляет собой среднее число для совокупности соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, иногда обозначаемое нижним индексом p, что в некоторых аспектах отображает распределение этих соединений, отличающихся преимущественно числом конъюгированных с лигандным звеном лекарственных звеньев и/или их расположением на лигандном звене, к которому они конъюгированы.

[0198] Соединение конъюгата лиганд-лекарственный препарат само по себе или в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат по настоящему изобретению, как правило, представлено структурой формулы **1**:

$$L\text{-}[LU\text{-}(D')]_{p'} \quad (\mathbf{1})$$

или ее соли, которая в некоторых аспектах представляет собой фармацевтически приемлемую соль, где L представляет собой лигандное звено; LU представляет собой линкерное звено; нижний индекс p’ представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 24; и D’ представляет от 1 до 4 лекарственных звеньев. В некоторых аспектах лигандное звено включает или соответствует по структуре антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, определяя, таким образом, лигандное звено на основе антитела. В этих аспектах лигандное звено на основе антитела способно селективно связываться с

антигеном целевой клетки с последующим высвобождением свободного лекарственного препарата, при этом целевой антиген в одном аспекте представляет собой антиген раковой клетки, селективно распознаваемый лигандным звеном на основе антитела, и подлежит интернализации указанной раковой клеткой вместе со связанным соединением ADC после указанного связывания с инициацией внутриклеточного высвобождения свободного лекарственного препарата после указанной интернализации. В любом из этих аспектов каждый фрагмент лекарственный препарат-линкер в соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеет структуру по формуле **1A**:



(1A)

или ее соли, которая в некоторых аспектах представляет собой фармацевтически приемлемую соль, где D в каждом фрагменте лекарственный препарат-линкер представляет собой лекарственное звено; волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к L; L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающий линкер; A представляет собой первое необязательное звено растяжения; нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно; B представляет собой необязательное звено разветвления; нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно; L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент; D представляет собой лекарственное звено, при этом лекарственное звено соответствует по структуре свободному лекарственному препарату; и нижний индекс q представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 4,

при этом композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, состоящая из распределения или набора соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, представлена структурой формулы **1**, в которой нижний индекс p' заменен нижним индексом p, причем нижний индекс p является числом в диапазоне от около 2 до около 24.

[0199] В контексте данного документа термин «лигандное звено», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к нацеливающему фрагменту композиции или соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат, который способен селективно связываться со своим когнатным целевым фрагментом и включает или соответствует структуре нацеливающего агента. Лигандное звено (L) включает, без ограничения, звенья из рецепторных лигандов, антител к антигенам клеточной поверхности и субстратов переносчиков. В некоторых аспектах рецептор, антиген или переносчик, подлежащий связыванию соединением конъюгата композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат присутствует в большем количестве на аномальных клетках в противоположность нормальным клеткам так, чтобы обеспечивать необходимое улучшение переносимости или снижать потенциальную возможность появления одного или более нежелательных явлений, которые связаны с введением лекарственного препарата в неконъюгированной форме. В других аспектах рецептор, антиген или переносчик, подлежащий связыванию лигандным звеном соединения конъюгата лиганд-

лекарственный препарат присутствует в большем количестве на нормальных клетках вблизи аномальных клеток в противоположность нормальным клеткам, которые находятся на удалении от местонахождения аномальных клеток, так, чтобы оказывать селективное воздействие лекарственного препарата на расположенные вблизи аномальные клетки. Различные аспекты лигандных звеньев, включая лигандные звенья на основе антител, дополнительно описаны вариантами осуществления изобретения.

[0200] В контексте данного документа термин «нацеливающий агент», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к агенту, способному к селективному связыванию с целевым фрагментом, и который преимущественно сохраняет эту способность, когда он включен в конъюгат лиганд-лекарственный препарат как лигандное звено. Следовательно, лигандное звено конъюгата лиганд-лекарственный препарат соответствует по структуре нацеливающему агенту так, что лигандное звено является нацеливающим фрагментом конъюгата. В некоторых аспектах нацеливающий агент представляет собой антитело или его фрагмент, которые селективно связываются с доступным антигеном, характерным для аномальной клетки или присутствующим в большем числе копий по сравнению с нормальными клетками, или доступным антигеном, который является характерным для окружения, в котором находятся эти клетки, в степени, которая обеспечивает улучшенную переносимость по сравнению с введением свободного лекарственного препарата. В других аспектах нацеливающий агент представляет собой рецепторный лиганд, который селективно связывается с доступным рецептором, характерным для аномальных клеток или находящимся в большем количестве на них, или с доступным рецептором на номинально нормальных клетках, которые являются характерными для окружения аномальных клеток. Как правило, нацеливающий агент представляет собой антитело по определению в данном документе, которое селективно связывается с целевым фрагментом аномальной клетки млекопитающего, чаще целевым фрагментом аномальной клетки человека.

[0201] «Целевой фрагмент» по определению в данном документе представляет собой фрагмент, подлежащий селективному распознаванию нацеливающим агентом конъюгата лиганд-лекарственный препарат, который представляет собой лигандное звено, которое включает или соответствует по структуре нацеливающему агенту. В некоторых аспектах целевой фрагмент присутствует на, в или вблизи аномальных клеток и, как правило, присутствует в большем количестве или числе копий на этих клетках по сравнению с нормальными клетками или с окружением нормальных клеток, удаленных от местоположения аномальных клеток, так, чтобы обеспечивать улучшенную переносимость по сравнению с введением свободного лекарственного препарата или снизить потенциальную возможность одного или более нежелательных явлений вследствие этого введения. В некоторых аспектах целевой фрагмент представляет собой антиген, доступный для селективного связывания антителом, которое представляет собой типовой нацеливающий агент, который был включен в структуру или соответствует по структуре лигандному звену на основе антитела композиции или соединения конъюгата

антитело - лекарственный препарат. В других аспектах целевой фрагмент является фрагментом лиганда для внутриклеточного доступного рецептора клеточной мембраны, который в некоторых случаях интернализуется после связывания когнатного нацеливающего фрагмента лигандным звеном соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат, причем лигандное звено включает или соответствует по структуре рецепторному лиганду, а в других аспектах рецептор способен к пассивному переносу или облегчает перенос соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат после его связывания с рецептором клеточной поверхности. В некоторых аспектах целевой фрагмент присутствует на аномальных клетках млекопитающих или на клетках млекопитающих, характерных для окружения таких аномальных клеток. В некоторых из этих аспектов целевой фрагмент представляет собой антиген аномальной клетки млекопитающего, чаще целевой фрагмент представляет собой антиген аномальной клетки человека.

[0202] В контексте данного документа термин «целевые клетки», если иное не указано или не подразумевается контекстом, представляют собой клетки, для взаимодействия с которыми сконструирован конъюгат лиганд-лекарственный препарат с целью ингибирования пролиферации или другой нежелательной активности аномальных клеток. В некоторых аспектах целевые клетки представляют собой гиперпролиферирующие клетки или гиперактивированные иммунные клетки, которые являются типовыми аномальными клетками. Как правило, эти аномальные клетки представляют собой клетки млекопитающих и чаще - клетки человека. В других аспектах целевые клетки находятся вблизи аномальных клеток так, что действие конъюгата лиганд-лекарственный препарат на близлежащие клетки обладает предусмотренным эффектом на аномальные клетки. Например, близлежащие клетки могут представлять собой эпителиальные клетки, которые характерны для аномальной сосудистой системы опухоли. Нацеливание на эти сосудистые клетки соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат будет иметь цитотоксический или цитостатический эффект на эти клетки, что, как считается, приводит к ингибированию доставки питательных веществ в близлежащие аномальные клетки опухоли. Такое ингибирование имеет косвенный цитотоксический или цитостатический эффект на аномальные клетки и также может иметь прямой цитотоксический или цитостатический эффект на близлежащие аномальные клетки за счет высвобождения лекарственной нагрузки вблизи этих клеток.

[0203] «Конъюгат антитело - лекарственный препарат» или просто «ADC» относится к антителу, конъюгированному с цитотоксическим агентом или цитостатическим агентом. Конъюгат антитело - лекарственный препарат, как правило, связывается с целевым антигеном (например, GPNMB, CD228, $\alpha v\beta 6$, CD30, LIV1 или CD19) на клеточной поверхности с последующей интернализацией конъюгата антитело - лекарственный препарат в клетку, где происходит высвобождение лекарственного препарата. В контексте данного документа термин «конъюгат антитело - лекарственный препарат», если иное не указано или не подразумевается контекстом, представляет собой

подгруппу конъюгатов лиганд-лекарственный препарат формулы **1** и, соответственно, относится к конструкции, состоящей из лигандного звена на основе антитела (L), включающего или соответствующего по структуре антителу или его антигенсвязывающему фрагменту, и лекарственного звена (D), включающего или соответствующего по структуре биологически активному соединению, часто называемому свободным лекарственным препаратом, при этом L и D связаны друг с другом посредством линкерного звена (LU), при этом конъюгат антитело - лекарственный препарат способен селективно связываться с целевым фрагментом целевой клетки, который в некоторых аспектах представляет собой антиген аномальной клетки, такой как раковая клетка, посредством своего нацеливающего лигандного звена на основе антитела.

[0204] Термин конъюгат антитело - лекарственный препарат (ADC) в одном аспекте относится к множеству (т. е. композиции) отдельных соединений конъюгата, имеющих одинаковое или в некоторой степени разное число лекарственных звеньев, конъюгированных с каждым лигандным звеном и/или участком на лигандном звене на основе антитела, к которому конъюгированы лекарственные звенья. В некоторых аспектах этот термин относится к набору (т. е. совокупности или множеству) соединений конъюгата, имеющих одинаковые фрагменты лекарственный препарат-линкер и лигандные звенья на основе антитела, что делает возможным появление мутационных аминокислотных вариаций и различных профилей гликозилирования, как описано в данном документе, во время получения антител из клеточной культуры, которые в некоторых аспектах имеют разные нагрузку и/или распределение фрагментов лекарственный препарат-линкер, присоединенных к каждому остатку антитела (как, например, когда число лекарственных звеньев любых двух соединений конъюгата антитело - лекарственный препарат во множестве таких соединений является одинаковым, но расположение сайтов присоединения фрагментов лекарственный препарат-линкер к нацеливающему лигандному звену на основе антитела является разным). В этих случаях конъюгат антитело - лекарственный препарат описывается средней лекарственной нагрузкой соединений конъюгата.

[0205] Среднее число лекарственных звеньев на лигандное звено на основе антитела или его антигенсвязывающего фрагмента в композиции конъюгата антитело - лекарственный препарат, имеющего интактные фрагменты лекарственный препарат-линкер, в которых линкерные звенья являются неразветвленными, представляет собой среднее число для совокупности соединений конъюгата антитело - лекарственный препарат и в некоторых аспектах отображает распределение этих соединений, отличающихся главным образом по числу конъюгированных к лигандному звену на основе антитела лекарственных звеньев и/или их местоположению. Когда линкерные звенья являются разветвленными, среднее число отображает распределение фрагментов лекарственный препарат-линкер для совокупности соединений конъюгата антитело - лекарственный препарат. В любом контексте p является числом в диапазоне от около 2 до около 24 или от около 2 до около 20 и, как правило, составляет около 2, около 4, около 10

или около 8. В других контекстах p представляет число лекарственных звеньев, которые ковалентно связаны с одним лигандным звеном на основе антитела конъюгата антитело - лекарственный препарат в совокупности соединений конъюгата антитело - лекарственный препарат, в которой соединения этой совокупности в некоторых аспектах отличаются преимущественно числом и/или местоположением лекарственных звеньев или фрагментов лекарственный препарат-линкер. В этом контексте p обозначен как p' и представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 24 или от 1 до 20, как правило, от 1 до 12 или от 1 до 10 и чаще от 1 до 8. В других аспектах по существу все из доступных реактивных функциональных групп нацеливающего агента на основе антитела образуют ковалентные связи с фрагментами лекарственный препарат-линкер с обеспечением лигандного звена на основе антитела, присоединенного к максимальному числу фрагментов лекарственный препарат-линкер так, что значение p композиции конъюгата антитело - лекарственный препарат является таким же или практически таким же, что и каждое из значений p' для каждого из соединений конъюгата антитело - лекарственный препарат композиции, при этом присутствуют только незначительные количества соединений конъюгата антитело - лекарственный препарат с более низкими значениями p', если вообще присутствуют, что выявляют, используя соответствующий хроматографический метод, такой как электрофорез, ХГВ, обращенно-фазовая ВЭЖХ или эксклюзионная хроматография.

[0206] Среднее число лекарственных звеньев или фрагментов лекарственный препарат-линкер на лигандное звено на основе антитела в препарате после реакции конъюгации в некоторых аспектах определяют традиционными хроматографическими способами, описанными выше, в сочетании с масс-спектроскопическим выявлением. В других аспектах определяют количественное распределение соединений конъюгата в терминах значений p'. В этих случаях разделение, очистку и определение характеристик гомогенных соединений конъюгата антитело - лекарственный препарат, в которых p' представляет собой определенное значение для композиции конъюгата антитело - лекарственный препарат с нагрузкой другим лекарственным звеном или фрагментом лекарственный препарат-линкер, получают способами, такими как вышеупомянутый хроматографический метод.

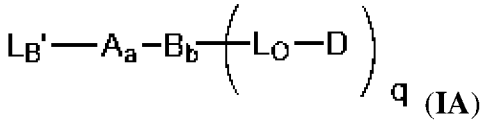
[0207] В контексте данного документа термин «соединение лекарственный препарат-линкер», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к соединению, имеющему лекарственное звено, ковалентно присоединенное к предшественнику линкерного звена (LU'), где LU' состоит из L_B', иногда называемого фрагментом-предшественником, ковалентно связывающим лиганд (L_B'), поскольку это фрагмент содержит реактивную или активируемую функциональную группу, при этом эта реактивная или активируемая функциональная группа после активации способна вступать в реакцию с нацеливающим агентом с образованием ковалентной связи между фрагментом, ковалентно связывающим лиганд (L_B), и лигандным звеном, обеспечивая, таким образом, фрагмент лекарственный препарат-линкер **1A** для соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат формулы **1**, в частности ковалентной связи с лигандным

звеном на основе антитела, которое включает или соответствует по структуре антителу,

Соединение лекарственный препарат-линкер по настоящему изобретению, как правило, имеет общую формулу **I**:

LU'-(D') (**I**)

или ее соли, которая в некоторых аспектах представляет собой фармацевтически приемлемую соль, где LU' является предшественником LU; а D' представляет от 1 до 4 лекарственных звеньев, при этом соединение лекарственный препарат-линкер дополнительно определяется структурой формулы **IA**:



(**IA**)

где L_B' состоит из реактивной или активируемой функциональной группы, а остальные вариабельные группы соответствуют определению для формулы **1A**.

[0208] «Цитотоксический агент» относится к агенту, который оказывает цитотоксический эффект на клетку. В контексте данного документа термин «цитотоксический агент», если иное не указано или не подразумевается контекстом, представляет собой соединение, способное индуцировать гибель клетки или ингибировать пролиферацию или продолжительность выживания клеток, которые, как правило, являются аномальными клетками млекопитающих, in vitro или in vivo. Цитостатические агенты, которые оказывают терапевтический эффект преимущественно путем ингибирования пролиферации аномальных клеток, а не прямого уничтожения клеток, включены в определение цитотоксического агента. В некоторых аспектах цитотоксический агент представляет собой свободный лекарственный препарат, получаемый в результате высвобождения лекарственного звена из конъюгата антитело - лекарственный препарат.

[0209] «Цитотоксический эффект» относится к истощению, элиминации и/или уничтожению целевой клетки.

[0210] «Цитостатический эффект» относится к ингибированию пролиферации клеток.

[0211] «Цитостатический агент» относится к агенту, который оказывает цитостатический эффект на клетку, тем самым ингибируя рост и/или размножение конкретной подгруппы клеток. Цитостатические агенты можно конъюгировать с антителом или вводить в комбинации с антителом.

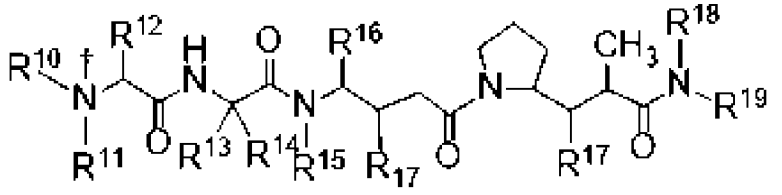
[0212] В контексте данного документа выражение «лекарственное звено», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к остатку лекарственного препарата, ковалентно присоединенному к линкерному звену (LU) во фрагменте лекарственный препарат-линкер конъюгата лиганд-лекарственный препарат (LDC) или ковалентно присоединенному к предшественнику линкерного звена (LU') соединения лекарственный препарат-линкер, и высвобождаемому из фрагмента лекарственный препарат-линкер или соединения лекарственный препарат-линкер в виде свободного

лекарственного препарата. Свободный лекарственный препарат может быть напрямую включен в лекарственное звено или же компонент свободного лекарственного препарата может быть ковалентно присоединен к LU или LU' или их промежуточному соединению с последующим преобразованием в полную структуру лекарственного звена. В контексте данного документа термин «лекарственный препарат», один или в сочетании с другим термином (таким как «лекарственное звено»), не подразумевает того, что это соединение одобрено, может быть одобрено или будет одобрено правительственным органом для медицинского или ветеринарного лечения.

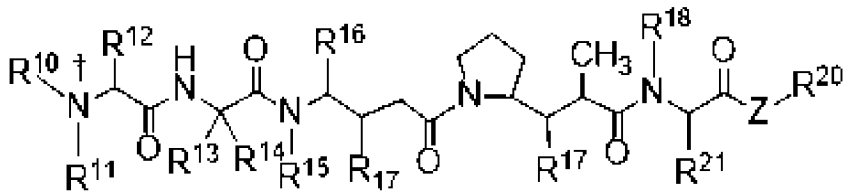
[0213] В некоторых аспектах свободный лекарственный препарат, включенный в лекарственное звено, представляет собой цитотоксическое соединение, как правило, имеющее вторичный алифатический амин в качестве плеча конъюгации, и включает соединения ауристатина по определению в данном документе.

[0214] В контексте данного документа «лекарственный препарат ауристатина», «соединение ауристатина» и подобные термины, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относятся к пептидному разрушающему тубулин агенту, обладающему цитотоксической, цитостатической или противовоспалительной активностью, который состоит из остатков долапролина и долаизолейцина или родственных им аминокислотных остатков.

[0215] Некоторые типовые ауристатины имеют структуру D_E или D_F:



D_E



D_F

где Z представляет собой -O-, -S- или -N(R^{19})- и где R^{10}-R^{21} соответствуют определению в вариантах осуществления для лекарственных звеньев на основе ауристатина, а указанный атом азота (†) относится к вторичному амину (например, один из R^{10}, R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой -CH_3). В этих аспектах ауристатин включен в лекарственное звено посредством карбаматной функциональной группы, содержащей этот атом азота. Эта карбаматная функциональная группа представляет собой типовое второе спейсерное звено (Y'), способное к самоуничтожению, которое в свою очередь присоединено к PAB или спейсерному звену PAB-типа (Y) так, что нижний индекс y в любом из фрагментов лекарственный препарат-линкер, описанных в данном документе, равен 2.

[0216] Другие типовые ауристатины включают, но не ограничиваются этим AE, AFP, AEB, AEVB, MMAF и MMAE, а также те, которые дополнительно описаны в

вариантах осуществления изобретения. Синтез и структура ауристатинов описаны в публикациях патентных заявок США №№ 2003-0083263, 2005-0238649 2005-0009751, 2009-0111756 и 2011-0020343; международной патентной публикации № WO 04/010957, международной патентной публикации № WO 02/088172 и патентах №№ 7659241 и 8343928. Описанные там структуры и способы синтеза в явном виде включены в данный документ посредством ссылки.

[0217] В контексте данного документа выражение «его соль», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к солевой форме соединения (например, лекарственного препарата, соединения лекарственный препарат-линкер или соединения LDC). Солевая форма соединения представляет собой одну или более внутренних солевых форм и/или подразумевает включение другой молекулы, такой как ацетатный ион, сукцинатный ион или другой противоион. Противоион в солевой форме соединения, как правило, является органическим или неорганическим фрагментом, который стабилизирует заряд исходного соединения. Солевая форма соединения имеет один или более одного заряженного атома в структуре. В случаях, когда частью солевой формы является множество заряженных атомов, присутствует множество противоионов и/или множество заряженных противоионов. Следовательно, солевая форма соединения, как правило, имеет один или более заряженных атомов, соответствующих атомам несолевой формы соединения, и один или более противоионов. В некоторых аспектах несолевая форма соединения содержит по меньшей мере одну аминогруппу или другой основной фрагмент и, соответственно, в присутствии кислоты получают кислотно-аддитивную соль с основным фрагментом. В других аспектах несолевая форма соединения содержит по меньшей мере одну группу карбоновой кислоты или другой кислотный фрагмент и, соответственно, в присутствии основания получают карбоксилат или другой анионный фрагмент.

[0218] Типовые противоанионы и противокатионы в солевых формах соединения включают, но не ограничиваются этим, такие соли, как сульфат, трифторацетат, цитрат, ацетат, оксалат, хлорид, бромид, йодид, нитрат, бисульфат, фосфат, кислый фосфат, изоникотинат, лактат, салицилат, кислый цитрат, тартрат, олеат, таннат, пантотенат, битартрат, аскорбат, сукцинат, малеат, гентизинат, фумарат, глюконат, глюкуронат, сахарат, формиат, бензоат, глутамат, метансульфонат, этансульфонат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат и памоат (т. е. 1,1'-метилен-бис-(2-гидрокси-3-нафтоат)).

[0219] Выбор солевой формы соединения зависит от свойств, которые должен проявлять лекарственный продукт, включая адекватную растворимость в воде при разных значениях pH, в зависимости от предполагаемого(ых) пути(ей) введения, кристалличности с характеристиками текучести и низкой гигроскопичностью (т. е. поглощения воды в зависимости от относительной влажности), подходящими для обработки и необходимого срока годности по определению химической и твердофазной стабильности в ускоренных условиях (т. е. для определения распада или твердофазных изменений при хранении при 40 °C и относительной влажности 75%).

[0220] «Фармацевтически приемлемая соль» представляет собой солевую форму соединения, которая подходит для введения субъекту, как описано в данном документе, и в некоторых аспектах включает противокатионы или противоанионы, описанные в P. H. Stahl and C. G. Wermuth, editors, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, Weinheim/Zürich:Wiley-VCH/VHCA, 2002.

[0221] В контексте данного документа термин «антитело» используется в самом широком смысле, если иное не указано или не подразумевается контекстом, и, в частности, включает интактные моноклональные антитела, поликлональные антитела, моноспецифические антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела) и фрагменты антител, которые проявляют необходимую биологическую активность, что требует от фрагмента антитела наличия необходимого числа сайтов для присоединения к необходимому числу фрагментов лекарственный препарат-линкер и способности к специфическому и селективному связыванию с целевым антигеном раковой клетки. Нативная форма антитела представляет собой тетрамер и, как правило, состоит из двух идентичных пар цепей иммуноглобулина, причем каждая пара имеет одну легкую цепь и одну тяжелую цепь. В каждой паре вариабельные области легкой и тяжелой цепи (VL и VH) вместе отвечают главным образом за связывание с антигеном. Вариабельные домены легкой цепи и тяжелой цепи состоят из каркасной области, прерываемой тремя гипервариабельными областями, также называемыми «определяющими комплементарность областями» или «CDR». В некоторых аспектах константные области распознают по взаимодействию с иммунной системой (смотрите, например, Janeway et al., 2001, Immunol. Biology, 5th Ed., Garland Publishing, New York) за счет осуществления эффекторной функции. Антитело включает любой изотип (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA) или его подкласс (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2). Антитело получают от любого подходящего вида. В некоторых аспектах антитело имеет человеческое или мышиное происхождение. Такие антитела включают человеческие, гуманизированные или химерные антитела.

[0222] Термин «антитело» также явным образом охватывает, например, моноклональные антитела (включая полноразмерные или интактные моноклональные антитела), антитела с полиэпитопной или моноэпитопной специфичностью, поликлональные или одновалентные антитела, многовалентные антитела, мультиспецифические антитела (например, биспецифические антитела при условии, что они проявляют необходимую биологическую активность), одноцепочечные антитела и фрагменты вышеуказанных антител, как описано ниже. Антитело может быть человеческим, гуманизированным, химерным и/или иметь созревшую аффинность, а также антителом от других видов, например, мышиным и кроличьим, и т. д. Таким образом, термин «антитело» включает полипептидный продукт B-клеток в рамках иммуноглобулинового класса полипептидов, который способен связываться с конкретным молекулярным антигеном и состоит из двух идентичных пар полипептидных цепей, где каждая пара содержит одну тяжелую цепь (около 50-70 кДа) и одну легкую цепь (около 25

кДа), каждая амино-концевая часть каждой цепи содержит вариабельную область от около 100 до около 130 или более аминокислот, а каждая карбокси-концевая часть содержит константную область. Смотрите, например, Antibody Engineering (Borrebaeck ed., 2d ed. 1995); и Kuby, Immunology (3d ed. 1997). Термин «антитело» также включают, но не ограничиваются этим, синтетические антитела, рекомбинантно полученные антитела, верблюдизированные антитела, интратела, анти-идиотипические (анти-Id) антитела и функциональные фрагменты (например, антигенсвязывающие фрагменты) любых из вышеперечисленных антител, что относится к части полипептида тяжелой и/или легкой цепи антитела, которая сохраняет некоторую часть или всю активность связывания антитела, из которого был получен фрагмент. Неограничивающие примеры функциональных фрагментов (например, антигенсвязывающих фрагментов) включают одноцепочечные Fv (scFv) (например, включая моноспецифические, биспецифические и т. д.), фрагменты Fab, фрагменты F(ab'), фрагменты $F(ab)_2$, фрагменты $F(ab')_2$, дисульфид-связанные Fv (dsFv), фрагменты Fd, фрагменты Fv, диатело, триатела, тетратела и минитела. В частности, предложенные в данном документе антитела включают молекулы иммуноглобулина и иммунологически активные части молекул иммуноглобулина, например, антигенсвязывающие домены или молекулы, которые содержат антигенсвязывающий сайт, который связывается с антигеном (например, одну или более CDR антитела). Такие фрагменты антител можно найти, например, в Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual (1989); Mol. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference (Myers ed., 1995); Huston et al., 1993, Cell Biophysics 22:189-224; Plückthun and Skerra, 1989, Meth. Enzymol. 178:497-515; и Day, Advanced Immunochemistry (2d ed. 1990).

[0223] В некоторых аспектах антитело находится в восстановленной форме, в которой антитело подверглось восстановлению его шарнирных дисульфидных связей. Затем антитело включают в конъюгат антитело - лекарственный препарат в качестве лигандного звена на основе антитела посредством реакции одного или более тиолов цистеина, полученных при восстановлении подходящим электрофилом соединения лекарственный препарат-линкер, что приводит к ковалентному связыванию фрагмента лекарственный препарат-линкер с лигандным звеном на основе антитела или промежуточным линкером, который дополнительно обрабатывают до его конечной формы фрагмента лекарственный препарат-линкер.

[0224] В контексте данного документа термин «моноклональное антитело» относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т. е. отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных естественных мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах, и/или разницы в профилях гликозилирования. Моноклональные антитела являются высокоспецифичными, при этом они направлены против одного антигенного сайта. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые могут включать разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное

антитело направлено против одной детерминанты на антигене. Определение «моноклональное» указывает на характер антитела, как полученного из по существу гомогенной популяции антител, и не должно восприниматься как подразумевающее получение антитела каким-либо конкретным способом.

[0225] В контексте данного документа термины «селективное связывание» и «селективно связывает», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относятся к антителу, его фрагменту или лигандному звену на основе антитела конъюгата антитело - лекарственный препарат, способному связываться иммунологически селективным и специфическим образом со своим когнатным антигеном раковой клетки, но не с множеством других антигенов. Как правило, антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связываются со своим целевым антигеном раковой клетки с аффинностью по меньшей мере 1×10^{-7} М, и предпочтительно от около 1×10^{-8} М до $1 x10^{-9}$ М, 1×10^{-10} М или 1×10^{-11} М, и связываются с этим предопределенным антигеном с аффинностью, которая по меньшей мере в два раза превышает аффинность связывания с неспецифическим антигеном (например, БСА, казеином), отличным от близкородственного антигена, причем указанные аффинности по существу сохраняются, когда антитело или его антигенсвязывающий фрагмент соответствуют или включены в конъюгат антитело - лекарственный препарат в качестве лигандного звена на основе антитела. В контексте данного документа термин «антиген», если иное не указано или не подразумевается контекстом, представляет собой фрагмент, который может быть специфически связан неконъюгированным антителом или его антигенсвязывающим фрагментом или соединением конъюгата антитело - лекарственный препарат, которое состоит из лигандного звена на основе антитела, которое включает или соответствует структуре неконъюгированного антитела. В некоторых аспектах антиген представляет собой внеклеточно доступный белок клеточной поверхности, гликопротеин или углевод, предпочтительно представленный на аномальных клетках по сравнению с нормальными клетками, удаленными от местоположения аномальных клеток, в частности белок или гликопротеин. В этих аспектах антиген клеточной поверхности может быть интернализован после селективного связывания соединением конъюгата или композицией конъюгата антитело - лекарственный препарат. После интернализации внутриклеточный процессинг линкерного звена соединения конъюгата антитело - лекарственный препарат композиции приводит к высвобождению лекарственного звена в виде свободного лекарственного препарата. Антигены, ассоциируемые с гиперпролиферирующими клетками, которые являются доступными на клеточной поверхности для соединения конъюгата антитело - лекарственный препарат, включают, как пример, но не ограничение, раковый антиген, описанный в данном документе.

[0226] Как правило, антиген ассоциирован с раком. В некоторых из этих аспектов антиген преимущественно представлен раковыми клетками в сравнении с нормальными клетками, которые не локализованы вместе с аномальными клетками, в частности, раковые клетки, представляющие антиген, являются раковыми клетками

млекопитающего. В других аспектах антиген раковой клетки представляет собой внеклеточно доступный антиген, представленный преимущественно на близлежащих нормальных клетках, которые характерны для окружения раковых клеток, по сравнению с нормальными клетками, удаленными от местоположения раковых клеток. Например, близлежащие клетки могут представлять собой эпителиальные клетки, которые характерны для аномальной сосудистой системы опухоли. Нацеливание на эти сосудистые клетки конъюгата антитело - лекарственный препарат будет иметь цитотоксический или цитостатический эффект на эти клетки, что, как считается, приводит к ингибированию доставки питательных веществ в близлежащие раковые клетки опухоли. Такое ингибирование будет иметь косвенный цитотоксический или цитостатический эффект на раковые клетки и также может иметь прямой цитотоксический или цитостатический эффект на близлежащие раковые клетки после высвобождения лекарственного звена в виде свободного лекарственного препарата после иммунологического селективного связывания соединением конъюгата антитело - лекарственный препарат (ADC). В любом из этих аспектов антиген клеточной поверхности может быть интернализован с обеспечением доставки свободного лекарственного препарата после его высвобождения из конъюгата в целевую клетку.

[0227] Предпочтительными интернализуемыми антигенами являются те, которые экспрессируются на поверхности раковых клеток с числом копий 10000 на клетку или более, 20000 на клетку или более или 40000 на клетку или более. Антигены, ассоциированные с раковыми клетками, которые являются доступными на клеточной поверхности для ADC и интернализуемыми, представляют собой антигены, экспрессируемые на клетках лимфомы Ходжкина, в частности клетках Рид - Штернберга, например клетках Karpas 299, и определенных раковых клетках лимфом с низкой степенью дифференцировки, иногда называемых Ki-1 лимфомами. Другие антигены включают раковые клетки почечно-клеточной аденокарциномы, например клетки 789-O, раковые клетки B-клеточных лимфом или лейкозов, включая неходжкинскую лимфому, хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) и острый лимфолитический лейкоз (ОЛЛ), например клетки CHO, раковые клетки острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), например HL-60, и определенные рецепторы переносчиков, которые повсеместно экспрессируются на этих и других раковых клетках.

[0228] В контексте данного документа термин «линкерное звено», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к органическому фрагменту в конъюгате лиганд-лекарственный препарат, являющемуся промежуточным и ковалентно присоединенным в лекарственному звену и лигандному звену (L) согласно определению этих терминов в данном документе, или представляет собой органический фрагмент в соединении лекарственный препарат-линкер, который ковалентно присоединен к лекарственному звену и имеет реактивную функциональную группу или фрагмент для взаимодействия с нацеливающим агентом для образования ковалентной связи между L, что включает или соответствует по структуре нацеливающему агенту, и линкерному звену

(LU). Поскольку линкерное звено в соединении лекарственный препарат-линкер способно образовывать такую связь, оно считается предшественником линкерного звена в конъюгате лиганд-лекарственный препарат и иногда обозначено как LU'. Линкерное звено состоит из первичного линкера (L_R) и вторичного линкера (L_O) между L_R и D во фрагменте лекарственный препарат-линкер соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат или между L_R и D соединения лекарственный препарат-линкер, которое в последнем случае может быть представлено как L_R', чтобы точно указать, что оно является предшественником L_R в конъюгате лиганд-лекарственный препарат.

[0229] В контексте данного документа термин «первичный линкер», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к необходимому компоненту линкерного звена (LU) конъюгата лиганд-лекарственный препарат, который ковалентно присоединен к лигандному звену и остатку LU. Один компонент первичного линкера (L_R) представляет собой фрагмент, ковалентно связывающий лиганд (L_B), который в некоторых аспектах конъюгатов лиганд-лекарственный препарат (LDC) и соединений лекарственный препарат-линкер, описанных в данном документе, обеспечивает самостабилизирующийся (L_{SS}) линкер, определяя тем самым первичный линкер L_{SS}, а в других аспектах LDC обеспечивает самостабилизирующийся (L_S) линкер, получаемый из L_{SS}, определяя тем самым первичный линкер L_S, согласно дополнительному описанию этих терминов в данном документе. Первичный линкер необязательно содержит звено разветвления (B) и первое необязательное звено растяжения (A) в зависимости от значений нижних индексов a и b в формуле 1A, при условии, что A присутствует, когда L_R представляет собой первичный линкер L_{SS} или L_S.

[0230] Первичный линкер L_{SS} в LDC или соединении лекарственный препарат-линкер характеризуется наличием сукцинимидного (M^2) или малеимидного (M^1) фрагмента, соответственно, вблизи основного звена, тогда как первичный линкер L_S в композиции или соединении LDC характеризуется наличием фрагмента амида янтарной кислоты (M^3) вблизи основного звена. Первичный линкер L_{SS} или L_S по настоящему изобретению также характеризуется наличием первого необязательного звена растяжения (A), которое состоит из необязательно замещенного C_1-C_{12} алкиленового фрагмента, связанного с имидным атомом азота малеимидной или сукцинимидной кольцевой системы M^1 или M^2 или амидным атомом азота M^3, при этом алкиленовый фрагмент в некоторых аспектах замещен ациклическим основным звеном и может быть дополнительно замещен необязательными заместителями или, в других аспектах, необязательно замещен и включает циклическое основное звено, которое является необязательно замещенным.

[0231] Малеимидный (M^1) фрагмент ковалентно связывающего лиганд предшественника первичного линкера L_{SS} в соединении лекарственный препарат-линкер, иногда обозначаемый как L_{SS}', чтобы явно указать, что он является предшественником L_{SS} в конъюгате лиганд-лекарственный препарат, способен вступать в реакцию с атомом серы реактивной тиольной функциональной группы нацеливающего агента с получением тио-

замещенного сукцинимидного фрагмента (M^2) в ковалентно связывающем лиганд фрагменте первичного линкера L_{SS} конъюгата лиганд-лекарственный препарат, причем тио-заместитель представляет собой лигандное звено, включающее или соответствующее по структуре нацеливающему агенту. В аспектах, в которых нацеливающий агент представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, антитело становится связанным с M^2 посредством атома серы остатка цистеина, полученного при восстановлении дисульфидной связи или внесенного с помощью генной инженерии. В результате антитело или его антигенсвязывающий фрагмент ковалентно связаны с первичным линкером L_{SS} как лигандное звено на основе антитела. Последующий гидролиз M^2 в первичном линкере L_{SS} приводит к получению первичного линкера L_S, в котором M^2 превращен во фрагмент амида янтарной кислоты (M^3). Этот линкерный фрагмент может существовать в виде смеси двух региоизомеров (M^{3A} и M^{3B}) в зависимости от относительной реактивности двух карбонильных групп сукцинимидной кольцевой системы в отношении гидролиза.

[0232] В контексте данного документа термин «ковалентно связывающий лиганд фрагмент», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к фрагменту линкерного звена (LU) конъюгата лиганд-лекарственный препарат, который связывает между собой лигандное звено (L) и остаток линкерного звена и получен посредством реакции между соответствующим предшественником ковалентно связывающего лиганд фрагмента (L_B') предшественника линкерного звена (LU') в соединении лекарственный препарат-линкер и нацеливающим агентом, таким как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент. Например, когда L_B' состоит из малеимидного фрагмента (M^1), реакция этого фрагмента с реактивной тиольной функциональной группой нацеливающего агента преобразует L_B' в ковалентно связывающий лиганд фрагмент (L_B) с получением тио-замещенного сукцинимидного фрагмента. Когда нацеливающий агент представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, тио-заместитель состоит из атома серы лигандного звена на основе антитела, который в некоторых случаях обеспечен остатком цистеина, полученным при восстановлении внутрицепочечной дисульфидной связи или с помощью генной инженерии.

[0233] В другом примере, когда L_B' состоит из активированной функциональной группы карбоновой кислоты, реакция этой функциональной группы с реактивной аминогруппой нацеливающего агента, такой как эпсилон аминогруппа остатка лизина в антителе или его антигенсвязывающем фрагменте, преобразует функциональную группу в амид, причем эта амидная функциональная группа, полученная в результате этой реакции, является общей для L_B и присоединенного лигандного звена, которое в случае антитела или его антигенсвязывающего фрагмента представляет собой лигандное звено на основе антитела. Другие фрагменты L_B и их преобразование из L_B'-содержащих фрагментов описаны в вариантах осуществления изобретения. В другом примере нацеливающий агент, имеющий реактивную аминогруппу, дериватизируют бифункциональной

молекулой с получением промежуточного соединения, что в некоторых случаях приводит к получению реактивной тиольной функциональной группы, которую конденсируют с фрагментом L_B'. В результате этой конденсации образованный таким образом фрагмент L_B имеет атомы, относящиеся к бифункциональной молекуле и L_B'.

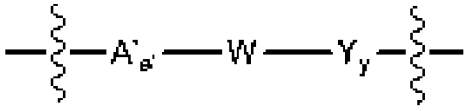
[0234] «Ковалентно связывающий лиганд фрагмент-предшественник» представляет собой фрагмент линкерного звена соединения лекарственный препарат-линкер или его промежуточного соединения, который состоит из реактивной или активируемой функциональной группы, причем реактивная функциональная группа или активируемая функциональная группа после активации способна к ковалентному связыванию с нацеливающим агентом, таким как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, во время получения конъюгата лиганд-лекарственный препарат (LDC), включая конъюгат антитело - лекарственный препарат (ADC), после чего связывающий лиганд фрагмент-предшественник (L_B') преобразуется в ковалентно связывающий лиганд фрагмент (L_B). В некоторых аспектах фрагмент L_B' имеет функциональную группу, способную вступать в реакцию с нуклеофилом или электрофилом, нативным для антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, или же его вносят в антитело или антигенсвязывающий фрагмент посредством химического преобразования или генетической инженерии (смотрите выше) для его превращения в лигандное звено на основе антитела. В некоторых из этих аспектов нуклеофил представляет собой N-концевую аминогруппу легкой или тяжелой цепи антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или эпсилон аминогруппу остатка лизина этой легкой или тяжелой цепи.

[0235] В других аспектах нуклеофил представляет собой сульфгидрильную группу остатка цистеина, внесенного с помощью генетической инженерии в легкую или тяжелую цепь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента или с помощью химического восстановления межцепочечного дисульфида антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых аспектах электрофил представляет собой альдегид, внесенный с помощью селективного окисления углеводного фрагмента в гликановом компоненте антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, или представляет собой кетон из не встречающейся в природе аминокислоты, внесенной в легкую или тяжелую цепь антитела или его антигенсвязывающего фрагмента с помощью генетически сконструированной пары тРНК/тРНК-синтетаза. Обзор этих и других способов внесения реактивной функциональной группы для обеспечения сайта конъюгации в антителе приведен в Behrens and Liu «Methods for site-specific drug conjugation to antibodies» mAB (2014) 6(1): 46-53.

[0236] В контексте данного документа «вторичный линкер», «вторичный линкерный фрагмент» и подобные термины, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относятся к органическому фрагменту в линкерном звене (LU), где вторичный линкер (L_O) является компонентом LU, который соединяет между собой лекарственное звено и первичный линкер (L_R) и содержит ковалентно связывающий лиганд фрагмент (L_B), первое необязательное звено растяжения и/или необязательное

звено разветвления (B), и в некоторых аспектах обеспечивает самостабилизирующийся первичный линкер (L_{SS}) конъюгата лиганд-лекарственный препарат (LDC), такого как конъюгат антитело - лекарственный препарат (ADC), или соединения лекарственный препарат-линкер, применимого для получения конъюгата, или обеспечивает самостабилизирующийся первичный линкер (L_S) соединения LDC/ADC после гидролиза L_{SS}. В случаях, когда L_R представляет собой L_{SS} или L_S, присутствует первое необязательное звено растяжения. В этих аспектах L_R присоединен к L_O посредством гетероатома или функциональной группы из присутствующего первого необязательного звена растяжения (A).

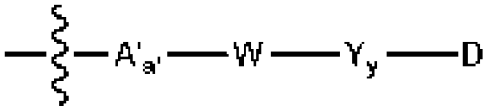
[0237] Вторичный линкер соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат или соединения лекарственный препарат-линкер, как правило, имеет структуру:



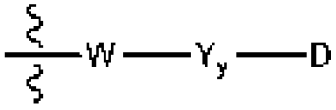
где нижний индекс b равен 0, причем волнистая линия, смежная с A', указывает место ковалентного присоединения L_O к первичному линкеру; волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену; A' представляет собой второе необязательное спейсерное звено или, в некоторых аспектах, представляет собой подзвено присутствующего первого необязательного звена растяжения, нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно; Y представляет собой спейсерное звено, а нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие одного или двух спейсерных звеньев, соответственно; и W представляет собой пептидное расщепляемое звено, причем пептидное расщепляемое звено обеспечивает сайт распознавания, который в целом имеет большую селективность в отношении протеаз гомогената опухолевой ткани по сравнению с протеазами в гомогенате нормальной ткани, при этом опухолевая ткань состоит из целевых раковых клеток, а нормальная ткань состоит из нецелевых нормальных клеток, для которых нецелевая цитотоксичность конъюгата лиганд-лекарственный препарат является причиной, по меньшей мере частично, нежелательного явления, часто связанного с введением терапевтически эффективного количества нуждающемуся в этом субъекту-млекопитающему. Когда нижний индекс b равен 0, A', при наличии, становится подзвеном A, в случае чего вторичный линкер имеет структуру -W-Y_y-. В любом из этих аспектов W, Y и D упорядочены в линейной конфигурации по отношению к остатку LU/LU', как представлено -W-Y_y-D, где W представляет собой пептидное расщепляемое звено и нижний индекс y равен 0, 1 или 2. Когда нижний индекс y равен 1 или 2, за расщеплением протеазами следует самоуничтожение самоуничтожающегося спейсерного звена, присоединенного к W, с высвобождением D или Y'-D, если присутствует второе спейсерное звено (Y'), которое разлагается до полного высвобождения D в виде свободного лекарственного препарата.

[0238] Вторичный линкер (L_O), связанный с D в линкерном звене, например, когда

только одно лекарственное звено присоединено к LU, где W представляет собой пептидное расщепляемое звено, как правило, представлен структурой



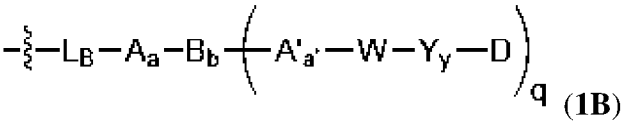
когда нижний индекс b равен 1, или



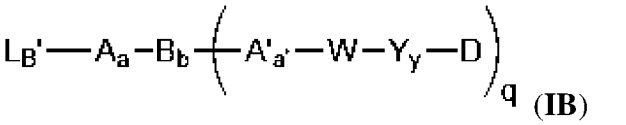
вследствие того, что $A'_{a'}$ считается подзвеном первого необязательного звена растяжения, когда нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a' равен 1;

где D представляет собой лекарственное звено, а остальные вариабельные группы соответствуют определению в данном документе для L_O;

и фрагмент лекарственный препарат-линкер или соединение лекарственный препарат-линкер, состоящее из этого вторичного линкера, как правило, имеет структуру по формуле **1B** и формулы **IB**, соответственно:



(1B)



(IB)

где L_B представляет собой ковалентно связывающий лиганд фрагмент по определению в данном документе, который является компонентом первичного линкера (L_R) линкерного звена (LU) фрагмента лекарственный препарат-линкер соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат; и L_B' представляет собой ковалентно связывающий лиганд фрагмент по определению в данном документе, который является компонентом первичного линкера (L_R') линкерного звена (LU') в соединении лекарственный препарат-линкер, которые иногда называют ковалентно связывающим лиганд фрагментом-предшественником, предшественником первичного линкера и предшественником линкерного звена для L_R, L_B и LU, соответственно, конъюгата лиганд-лекарственный препарат, когда соединение лекарственный препарат-линкер используют при получении конъюгата лиганд-лекарственный препарат; A представляет собой первое необязательное звено растяжения; нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно; B представляет собой необязательное звено разветвления, нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно, где A' представляет собой подзвено A, когда нижний индекс b равен 0, нижний индекс a равен 1 и нижний индекс a' равен 1; нижний индекс q находится в диапазоне от 1 до 4, где L_B/L_B' и A и B, при наличии, являются компонентами L_R/L_R' и при условии, что нижний индекс q находится в диапазоне от 2 до 4, когда нижний индекс b равен 1, и нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0; а остальные

вариабельные группы соответствуют определению в данном документе для L_O.

[0239] В контексте данного документа «малеимидный фрагмент», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к компоненту первичного линкера соединения лекарственный препарат-линкер, который в некоторых аспектах является компонентом самостабилизирующегося линкера, причем этот первичный линкер иногда представлен как L_R' или L_{SS}', чтобы явно указать, что он является предшественником L_R/L_{SS} в конъюгате лиганд-лекарственный препарат. Малеимидный фрагмент (M^1) способен принимать участие в реакции Михаэля (т. е. добавлении 1,4-конъюгата) за счет атома серы реактивной тиольной функциональной группы нацеливающего агента, такого как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, с обеспечением тио-замещенного сукцинимидного фрагмента (M^2), при этом тио-заместитель представляет собой лигандное звено, которое включает или соответствует по структуре нацеливающему агенту, как проиллюстрировано в данном документе для лигандного звена на основе антитела композиции или соединения конъюгата антитело - лекарственный препарат. Этот фрагмент M^1 соединения лекарственный препарат-линкер присоединен к остатку первичного линкера, как правило к присутствующему первому необязательному звену растяжения (A), поскольку фрагмент M^1 является компонентом L_{SS}', или к вторичному линкеру (L_O), если отсутствуют оба A и B, посредством своего имидного атома азота.

[0240] За исключением имидного атома азота фрагмент M^1 обычно не замещен, но может быть ассиметрично замещен в циклической двойной связи малеимидной кольцевой системы. Такое замещение может приводить к региохимически предпочтительному конъюгатному добавлению атома серы реактивной тиольной функциональной группы нацеливающего агента к менее затрудненному или более электронодефицитному связанному двойной связью атому углерода (в зависимости от более доминантного вклада) малеимидной кольцевой системы. Это конъюгатное добавление приводит к получению сукцинимидного фрагмента (M^2), который является тио-замещенным лигандным звеном посредством атома серы из тиольной функциональной группы, обеспечиваемой нацеливающим агентом.

[0241] В контексте данного документа «сукцинимидный фрагмент», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к одному типу ковалентно связывающего лиганд фрагмента (L_B) первичного линкера, который в свою очередь является компонентом линкерного звена конъюгата лиганд - лекарственный препарат, такого как конъюгат антитело - лекарственный препарат, и является результатом добавления Михаэля атома серы реактивной тиольной функциональной группы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента к малеимидной кольцевой системе малеимидного фрагмента (M^1), который представляет собой один тип ковалентно связывающего лиганд фрагмента-предшественника (L_B') в соединении лекарственный препарат-линкер или M^1-содержащем промежуточном соединении. Следовательно, сукцинимидный фрагмент (M^2) состоит из тио-замещенной сукцинимидной кольцевой системы, в которой имидный атом азота замещен остатком первичного линкера, который,

как правило, является первым необязательным звеном растяжения (A), которое присутствует. В некоторых аспектах атом азота присоединен к присутствующему первому необязательному звену растяжения (A) посредством необязательно замещенного C_1-C_{12} алкиленового фрагмента, содержащего это звено. Когда первичный линкер представляет собой самостабилизирующийся линкер, этот алкиленовый фрагмент включает циклическое основное звено в первом необязательном звене растяжения, которое присутствует, или замещен ациклическим основным звеном, как описано в другом месте, и в ином случае необязательно замещен, при этом его фрагмент M^2 необязательно замещен заместителями в сукцинимидной кольцевой системе, которые могли присутствовать в предшественнике M^1.

[0242] Таким образом, необязательно замещенный C_1-C_{12} алкиленовый фрагмент A в необязательной комбинации с [HE], который представляет собой необязательное усиливающее гидролиз звено, либо прямо ковалентно присоединен к присутствующему необязательному вторичному линкеру (L_O), когда нижний индекс b равен 0, либо непрямо к L_O посредством -[HE]-B- когда нижний индекс b равен 1 в фрагменте лекарственный препарат-линкер по формуле **1B** или соединении лекарственный препарат-линкер по формуле **IB**. В тех случаях, когда нижний индекс b равен 0, нижний индекс a равен 1 и нижний индекс a' равен 1, A представлен формулой -A_1[HE]-A_2-, где A_1 представляет собой первое подзвено A и состоит из необязательно замещенного C_1-C_{12} алкиленового фрагмента в необязательной комбинации с HE, и A', ранее указанный как компонент L_O, становится A_2, который теперь представляет собой второе подзвено A. В тех случаях, когда нижний индекс b равен 1, нижний индекс a равен 1 и нижний индекс a' равен 1, A' является компонентом вторичного линкера, а A является единым звеном в необязательной комбинации с [HE] или необязательно состоит из двух подзвеньев, которые представлены -A[HE]-A_O-, где A_O представляет собой необязательное подзвено A. Когда присутствует A_O, A также представлен формулой -A_1[HE]-A_2-.

[0243] Когда он присутствует в самостабилизирующемся линкере (L_{SS}) в соединении конъюгата лиганд - лекарственный препарат, гидролиз сукцинимидной кольцевой системы тио-замещенного сукцинимидного фрагмента (M^2), который является pH-контролируемым благодаря близкому присутствию основной функциональной группы ациклического или циклического основного звена, обеспечивает в некоторых случаях региохимические изомеры фрагментов амида янтарной кислоты (M^3) в самостабилизирующемся линкере (L_S) вследствие его асимметричного замещения тио-заместителем. Относительное количество этих изомеров будет обусловлено, по меньшей мере частично, разницей в реактивности двух карбонильных атомов углерода M^2, что может быть связано, по меньшей мере частично, с любыми заместителями, присутствующими в предшественнике M^1. Также ожидается, что гидролиз будет происходить в некоторой степени, когда L_R, имеющий фрагмент M^2, не содержит основное звено, но является высоковариабельным по сравнению с контролируемым гидролизом, обусловленным основным звеном.

[0244] В некоторых аспектах необязательные заместители сукцинимидной кольцевой системы M^2 отсутствуют, а первое необязательное звено растяжения присутствует и состоит из необязательно замещенного C_1-C_{12} алкиленого фрагмента, необязательно присоединенного к [HE], который представляет собой необязательное усиливающее гидролиз звено, в позиции, удаленной от его места присоединения к имидному атому азота. В этом аспекте A представляет собой единое звено или дополнительно состоит из A', который представляет собой необязательное подзвено A, которое присутствует, когда нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a' равен 1, и присоединено к [HE], который также присутствует, так что A имеет формулу -A[HE]-A'-, или когда нижний индекс b равен 1 и нижний индекс a' равен 1, A' является присутствующим компонентом вторичного линкера так, что A представлен формулой -A[HE]-A_O-.

[0245] В контексте данного документа «фрагмент амида янтарной кислоты», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к компоненту самостабилизирующегося линкера (L_S) линкерного звена в конъюгате лиганд - лекарственный препарат, таком как конъюгат антитело - лекарственный препарат, и имеет структуру остатка амида гемиянтарной кислоты с замещением амидного атома азота другом компонентом L_S, причем этот компонент, как правило, представляет собой присутствующее первое необязательное звено растяжения (A) или его подзвено и состоит из C_1-C_{12} алкиленового фрагмента, необязательно присоединенного к [HE]. Возможные структуры для A, когда нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a равен 0 или 1, представлены формулой -A[HE]-$A'_{a'}$-, в которой A', ранее связанный с вторичным линкером, либо отсутствует, так что нижний индекс a' равен 0, либо, когда нижний индекс a' равен 1, A' присутствует как подзвено A. Когда присутствует это подзвено, A представлен формулой A_1[HE]-A_2-, где A_1 представляет собой первое подзвено A, которое состоит из необязательно замещенного C_1-C_{12} алкиленового фрагмента, необязательно присоединенного к [HE], и A_2 представляет собой второе подзвено A, ранее обозначаемое как A'. Возможные структуры для A, когда нижний индекс b равен 1 и нижний индекс a равен 1, представлены формулой -A[HE]-A_O-, в которой A_O, при наличии, представляет собой необязательное подзвено A. Когда это подзвено отсутствует, A представляет собой единое дискретное звено, и когда присутствует A_O, A представлен формулой A_1[HE]-A_2-, где A_1 представляет собой первое подзвено A, которое состоит из необязательно замещенного C_1-C_{12} алкиленового фрагмента, необязательно присоединенного к [HE], и A_2, ранее обозначаемый как A_O,представляет собой второе подзвено A.

[0246] В некоторых аспектах алкиленовый фрагмент включает циклическое основное звено, а в других аспектах он замещен ациклическим основным звеном, и в любом аспекте он в ином случае является необязательно замещенным, при этом фрагмент амида янтарной кислоты (M^3) имеет дополнительное замещение L-S-, где L представляет собой лигандное звено, такое как лигандное звено на основе антитела, включающее или соответствующее по структуре нацеливающему агенту, такому как антитело или его

антигенсвязывающий фрагмент, а S представляет собой атом серы из этого нацеливающего агента, антитела или антигенсвязывающего фрагмента. Фрагмент M^3 происходит из тио-замещенной сукцинимидной кольцевой системы сукцинимидного фрагмента (M^2) в самостабилизирующемся первичном линкере, в котором за счет гидролиза, которому способствует основное звено, была разрушена одна из его карбонил-азотных связей.

[0247] Таким образом, фрагмент M^3 имеет функциональную группу свободной карбоновой кислоты и амидную функциональную группу, чей гетероатом азота присоединен к остатку первичного линкера и замещен L-S- в атоме углерода, который является альфа-атомом относительно функциональной группы карбоновой кислоты или амида, в зависимости от сайта гидролиза его предшественника M^2. Не ограничиваясь теорией, считается, что вышеуказанный гидролиз, который приводит к образованию фрагмента M^3, обеспечивает линкерное звено (LU) в конъюгате лиганд - лекарственный препарат, которое с меньшей вероятностью будет подвержено преждевременному удалению из конъюгата его нацеливающего лигандного звена (L) посредством элиминации тио-заместителя.

[0248] В контексте данного документа «самостабилизирующийся линкер», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к первичному линкеру линкерного звена (LU) в конъюгате лиганд - лекарственный препарат, таком как конъюгат антитело - лекарственный препарат, имеющему M^2-содержащий компонент или первичный линкер предшественника линкерного звена (LU') в соединении лекарственный препарат-линкер, имеющий M^1-содержащий компонент, причем этот компонент может быть обозначен как L_{SS}', чтобы показать, что он является предшественником M^2-содержащего компонента L_{SS} в LDC. После этого самостабилизирующийся линкер подвергается превращению в условиях контролируемого гидролиза в соответствующий самостабилизированный линкер (L_S). Этому гидролизу способствует компонент основного звена L_{SS}, так что LDC/ADC, состоящий из L_{SS}, становится более устойчивым в отношении преждевременного удаления его лигандного звена за счет его линкерного звена (LU), состоящего теперь из L_S. Первичный линкер L_{SS}, помимо фрагмента M^1 или M^2, состоит из первого необязательного звена растяжения (A), которое должно присутствовать, при этом A состоит из C_1-C_{12} алкиленового фрагмента, необязательно в комбинации с [HE], причем эта комбинация иногда обозначается A_1, когда A дополнительно состоит из необязательного подзвена (A_O), которое присутствует, когда нижний индекс b равен 1, или A дополнительно состоит из A', когда нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a' равен 1, причем при любом значении нижнего индекса b это дополнительно присутствующее подзвено обозначается A_2. Когда A может существовать в виде единого дискретного звена или в форме из двух дискретных звеньев, обе возможности представлены формулой -A[HE]-A_O-, когда нижний индекс b равен 1, или A[HE]-$A'_{a'}$, когда нижний индекс b равен 0, которая для любого значения нижнего индекса b становится -A[HE]- или -A_1[HE]-A_2-, в зависимости от отсутствия или

присутствия, соответственно, второго подзвена. В любой вариации A в L_{SS} его алкиленовый фрагмент включает циклическое основное звено или замещен ациклическим основным звеном, и в ином случае является необязательно замещенным.

[0249] Таким образом, когда первичный линкер соединения лекарственный препарат-линкер представляет собой L_{SS}, иногда иллюстрируемый как L_{SS}', чтобы показать, что он является предшественником L_{SS} в конъюгате лиганд - лекарственный препарат, этот первичный линкер содержит первое необязательное звено растяжения (A), которое должно присутствовать, и малеимидный фрагмент (M^1), посредством которого должен быть присоединен нацеливающий фрагмент, который в случае антитела или его антигенсвязывающего фрагмента обеспечивает лигандное звено на основе антитела. В этих аспектах C_1-C_{12} алкиленовый фрагмент A из L_{SS} присоединен к имидному атому азота малеимидной кольцевой системы M^1 и к остатку линкерного звена, причем последнее необязательно происходит посредством [HE]-A_O-B-, когда нижний индекс b равен 1, или [HE]-A'$_{a'}$-, когда нижний индекс b равен 0, в зависимости от отсутствия или присутствия A_O/A' и [HE]. В некоторых из этих аспектов [HE], который представляет собой усиливающий гидролиз фрагмент, состоит из необязательно замещенных электроноакцепторных гетероатома или функциональной группы, что в некоторых аспектах в дополнение к BU может повышать уровень гидролиза фрагмента M^2 в соответствующем фрагменте L_{SS} соединения LDC/ADC. После включения соединения лекарственный препарат-линкер в соединение LDC/ADC, L_{SS} содержит сукцинимидный фрагмент (M^2), который является тио-замещенным лигандным звеном (т. е. присоединение лигандного звена к фрагменту лекарственный препарат-линкер происходит посредством добавления Михаэля атома серы реактивной тиольной функциональной группы нацеливающего агента к малеимидной кольцевой системе M^1).

[0250] В некоторых аспектах циклизованное основное звено (cBU) соответствует по структуре ациклическому основному звену за счет формальной циклизации с основным атомом азота этого звена так, что структура циклического основного звена включена в первое необязательное звено растяжения, которое присутствует в виде необязательно замещенного спиро C_4-C_{12} гетероцикло. В таких конструкциях спироатом углерода присоединен к малеимидному амидному атому азота M^1 и, следовательно, к этому атому азота в M^2, и дополнительно присоединен к остатку первичного линкера L_{SS}, который состоит из вышеописанного первого необязательного звена растяжения (A), которое необязательно присутствует в виде -[HE]-A_O- или [HE]-$A_{a'}$- в фрагменте лекарственный препарат-линкер по формуле **1B** или соединении лекарственный препарат-линкер по формуле **IB**. В этих аспектах циклическое BU способствует гидролизу сукцинимидного фрагмента M^2 до его соответствующей формы с разомкнутым кольцом, представленной M^3 качественно аналогично с ациклическим основным звеном, которое также может быть усилено [HE].

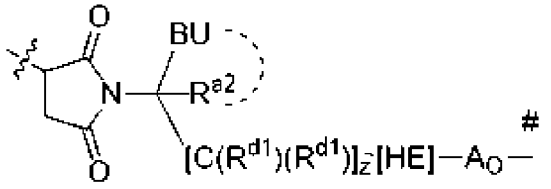
[0251] В некоторых аспектах L_B'-A-B_b- первичного линкера L_{SS} , который иногда проиллюстрирован как L_{SS}', чтобы явно показать, что он является предшественником

самостабилизирующегося первичного линкера (L_{SS}) в соединении лекарственный препарат-линкер по формуле **IB**, представлен общей формулой M^1-A(BU)-[HE]-A_O-B-, когда нижний индекс b равен 1, или M^1-A(BU)-[HE]-A'$_{a'}$-, когда нижний индекс b равен 0, где M^1 представляет собой малеимидный фрагмент и A представляет собой C_1-C_{12} алкилен, который включает или замещен BU и в ином случае является необязательно замещенным и находится в необязательной комбинации с [HE], который представляет собой необязательный усиливающий гидролиз фрагмент, причем эта формула становится M^1-A(BU)-[HE]-B- или M^1-A(BU)[HE]-, когда A представляет собой единое дискретное звено, или M^1-A_1(BU)-[HE]-A_2-B- или M^1-A_1(BU)-[HE]-A_2-, когда A состоит из двух подзвеньев, причем A_1 и A_2 являются подзвеньями A.

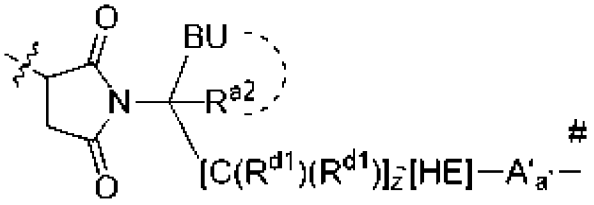
[0252] В других аспектах первичный линкер L_{SS} в соединении лекарственный препарат-линкер по формуле **1B** ADC формулы **1A** представлен общей формулой -M^2-A(BU)-[HE]-A_O-B-, когда нижний индекс b равен 1, или -M^2-A(BU)-[HE]-$A_{a'}$-, когда нижний индекс b равен 0, причем M^2 представляет собой сукцинимидный фрагмент, A представляет собой первое необязательное звено растяжения, которое присутствует и состоит из C_1-C_{12} алкилена, который включает или замещен BU и в ином случае является необязательно замещенным и находится в необязательной комбинации с [HE], который представляет собой необязательный усиливающий гидролиз фрагмент, и A_O/A' представляет собой необязательное подзвено A. Когда A представляет собой единое дискретное звено, L_{SS} представлен формулой -M^2-A(BU)-[HE]-B- или -M^2-A(BU)-[HE]-, и, когда A состоит из двух подзвеньев, L_{SS} представлен формулой -M^2-A_1(BU)-[HE]-A_2- или -M^2-A_1(BU)-[HE]-A_2-B-, когда нижний индекс b равен 0 или 1, соответственно.

[0253] В других аспектах первичный линкер L_S в соединении лекарственный препарат-линкер по формуле **1B** LDC/ADC формулы **1A** представлен общей формулой -M^3-A(BU)-[HE]-A_O-B-, когда нижний индекс b равен 1, или -M^3-A(BU)-[HE]-$A_{a'}$-, когда нижний индекс b равен 0, при этом M^3 представляет собой фрагмент амида янтарной кислоты и A представляет собой C_1-C_{12} алкилен, который включает или замещен BU и в ином случае является необязательно замещенным и находится в необязательной комбинации с [HE], который представляет собой необязательный усиливающий гидролиз фрагмент, и A_O/A' представляет собой необязательное подзвено A, при этом -A(BU)-[HE]-A_O- или -A(BU)-[HE]-$A_{a'}$- становится -A(BU)-[HE]-, когда A представляет собой единое дискретное звено, или -A_1(BU)-[HE]-A_2-, когда A представляет собой или состоит из двух подзвеньев.

[0254] Типовые, но неограничивающие структуры -L_B-A-, содержащие первичный линкер L_{SS}, в соединении лекарственный препарат-линкер по формуле **1B** для некоторых конъюгатов лиганд - лекарственный препарат формулы **1** представлены:

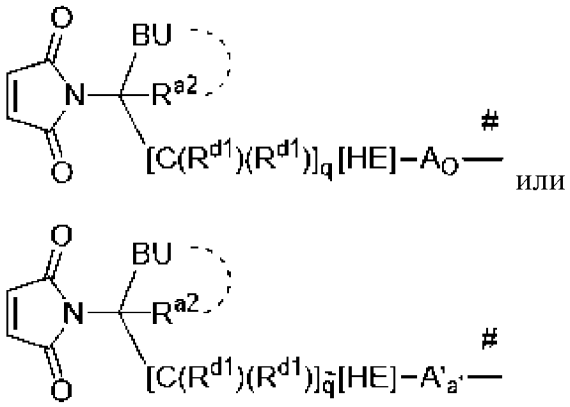


или



где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к лигандному звену, знак решетки (#) в верхней структуре, для которой нижний индекс b равен 1, указывает место ковалентного присоединения в формуле **1B** к звену разветвления (B), или в нижней структуре, в которой нижний индекс b равен 0, к W присутствующего необязательного вторичного линкера (L_O), и при этом пунктирная кривая указывает на необязательную циклизацию, которая присутствует, когда BU представляет собой циклическое основное звено, или отсутствует, когда BU представляет собой ациклическое основное звено, при этом [HE] представляет собой необязательный усиливающий гидролиз фрагмент, A_O/A' представляет собой необязательное подзвено A, нижний индекс z равен 0 или целому числу в диапазоне от 1 до 6; каждый R^{d1} независимо выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C_1-C_6 алкила, или два R^{d1}, атом(ы) углерода, к которому(ым) они присоединены, и любые промежуточные атомы углерода определяют необязательно замещенный C_3-C_8 карбоцикло, а остальные R^{d1}, при наличии, независимо представляют собой водород или необязательно замещенный C_1-C_6; и R^{a2} представляет собой -H или необязательно замещенный C_1-C_8 алкил, когда BU представляет собой ациклическое основное звено, и, когда BU представляет собой циклическое основное звено, R^{a2} должен отличаться от -H и вместе с атомом углерода, к которому присоединены BU и R^{a2}, определяет необязательно замещенный спиро C_4-C_{12} гетероцикло, имеющий скелетный вторичный или третичный основной атом азота, так что ациклический или циклический BU способен повышать скорость гидролиза показанного сукцинимидного фрагмента (M^2) с обеспечением фрагмента амида янтарной кислоты (M^3) при подходящем pH по сравнению с соответствующим конъюгатом, в котором R^{a2} представляет собой водород и BU замещен водородом, и в случае циклического основного звена по существу сохраняет повышение скорости гидролиза фрагмента лекарственный препарат-линкер, соответствующего таковому в LDC/ADC, в котором R^{a2} представляет собой водород и BU представляет собой ациклический BU, по сравнению с вышеуказанным конъюгатом, в котором R^{a2} представляет собой водород и BU замещен водородом.

[0255] Типовые, но неограничивающие структуры L_B'-A-, содержащие L_{SS}', которые иногда присутствуют в соединениях лекарственный препарат-линкер по формуле **I**, используемых как промежуточные соединения при получении композиций конъюгата лиганд - лекарственный препарат, представлены



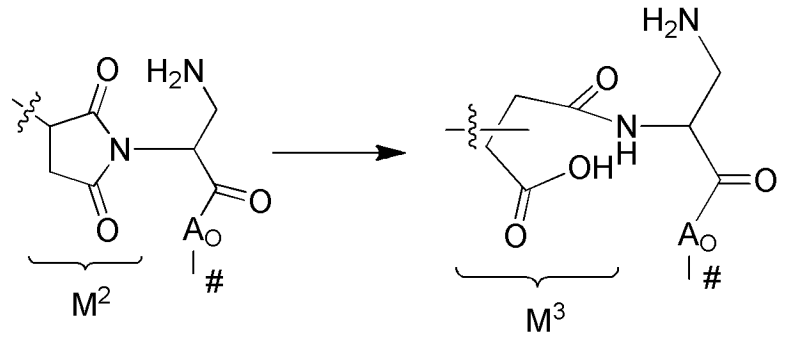
где BU и другие вариабельные группы соответствуют определению выше для структур L_B-A- LDC/ADC, имеющих первичные линкеры L_{SS}. Когда соединение лекарственный препарат-линкер, содержащий предшественник самостабилизирующегося линкера (L_{SS}'), который состоит из малеимидного фрагмента, используют при получении LDC/ADC, этот фрагмент L_{SS}' превращается в первичный линкер L_{SS}, состоящий из сукцинимидного фрагмента. Перед конденсацией с реактивной тиольной функциональной группой из нацеливающего агента, такого как антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, основной атом азота BU, как правило, протонируют или защищают кислото-лабильной защитной группой.

[0256] «Самостабилизирующийся линкер» представляет собой органический фрагмент, полученный из M^2-содержащего фрагмента самостабилизирующегося линкера (L_{SS}) в конъюгате лиганд - лекарственный препарат, таком как конъюгат антитело - лекарственный препарат, который подвергся гидролизу в контролируемых условиях, чтобы обеспечить соответствующий M^3-фрагмент самостабилизирующегося линкера (L_S), где этот компонент LU будет с меньшей вероятностью препятствовать реакции конденсации нацеливающего фрагмента с M^1-содержащим фрагментом, который обеспечил исходный M^2-содержащий L_{SS} фрагмент. Помимо фрагмента M^3 самостабилизирующийся линкер (L_S) состоит из первого необязательного звена растяжения (A), которое присутствует и включает циклическое основное звено или замещено ациклическим основным звеном, где A ковалентно присоединен к M^3 и остатку первичного линкера L_S (т. е. B) или к вторичному линкеру (L_O), если B отсутствует. Фрагмент M^3 получают при превращении сукцинимидного фрагмента (M^2) L_{SS} в конъюгате лиганд - лекарственный препарат, где фрагмент M^2 имеет тио-замещенную сукцинимидную кольцевую систему, полученную в результате добавления Михаэля атома серы реактивной тиольной функциональной группы нацеливающего фрагмента к малеимидной кольцевой системе M^1 фрагмента L_{SS}' в соединении лекарственный препарат-линкер, причем этот полученный из M^2 фрагмент обладает сниженной реактивностью в отношении элиминации своего тио-заместителя по сравнению с соответствующим заместителем в M^2. В этих аспектах полученный из M^2 фрагмент имеет структуру фрагмента амида янтарной кислоты (M^3), соответствующего M^2, где M^2 подвергся гидролизу одной из его карбонильно-азотных связей сукцинимидной кольцевой

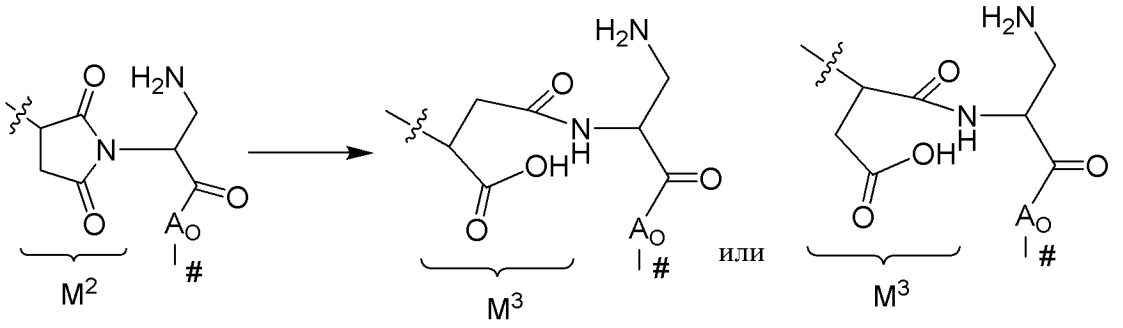
системы, чему способствует основная функциональная группа BU благодаря своей соответствующей близости в результате этого присоединения. Следовательно, продукт этого гидролиза имеет функциональную группу карбоновой кислоты и амидную функциональную группу, замещенную в амидном атоме азота, который соответствует имидному атому азота в M^2-содержащем L_{SS}-предшественнике L_S, при этом остаток первичного линкера включает по меньшей мере необязательное присутствующее звено растяжения. В некоторых аспектах основная функциональная группа представляет собой первичный, вторичный или третичный амин ациклического основного звена или вторичный или третичный амин циклического основного звена. В других аспектах основной атом азота BU представляет собой гетероатом необязательно замещенной основной функциональной группы, как в гуанидино-фрагменте. В любом аспекте реактивность основной функциональной группы BU в отношении катализируемого основанием гидролиза контролируется pH посредством снижения состояния протонирования основного атома азота.

[0257] Таким образом, самостабилизирующийся линкер (L_S), как правило, имеет структуру фрагмента M^3, ковалентно связанного с первым необязательным звеном растяжения, которое присутствует и включает циклическое основное звено или замещено ациклическим основным звеном. В некоторых аспектах A представляет собой дискретное единое звено, а в других аспектах состоит из двух или более подзвеньев, как правило, представленных A_1-A_2, если два подзвена присутствуют в A/A_1, необязательно в комбинации с [HE]. Звено растяжения A в свою очередь ковалентно связано с B первичного линкера L_S или с W L_O, при этом его компоненты M^3, A, $A'_{a'}$/B и BU упорядочены способом, представленным общей формулой -M^3-A(BU)-[HE]-$A'_{a'}$- или M^3-A(BU)-[HE]-A_O-B-, в которой нижний индекс b равен 0 или 1, соответственно. Когда A представляет собой единое дискретное звено, L_S представлен -M^3-A(BU)-[HE]-B-, где нижний индекс b равен 1 и -M^3-A(BU)-[HE]-, а когда A состоит из двух подзвеньев, L_S представлен -M^3-A_1(BU)-A_2- или -M^3-A_1(BU)-A_2-B-, где нижний индекс b равен 0 или 1, соответственно, при этом BU представляет любой тип основного звена (циклическое или ациклическое).

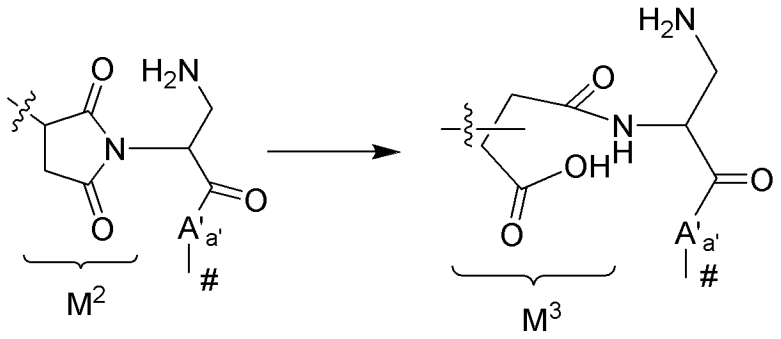
[0258] Типовые неограничивающие структуры -L_B-A- в первичных линкерах L_{SS} и L_S для LDC/ADC, в которых L_B представляет собой M^2 или M^3; и A(BU)/A_1(BU) и [HE] в этих структурах упорядочены способом, указанным выше, в котором BU представляет собой ациклическое основное звено, проиллюстрированы в качестве примера, но не ограничения, структурами:



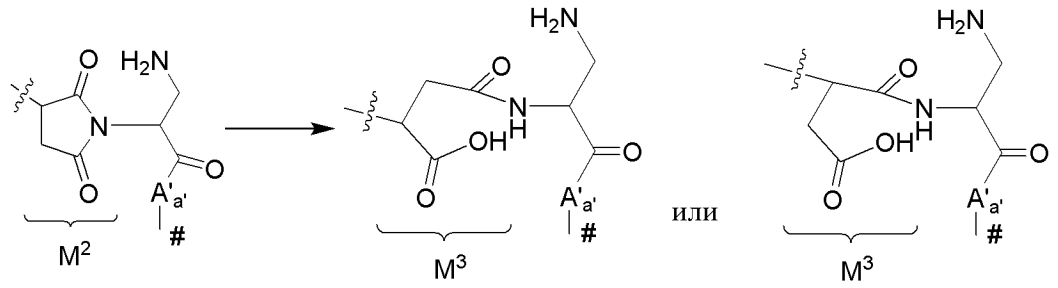
,



,



, или

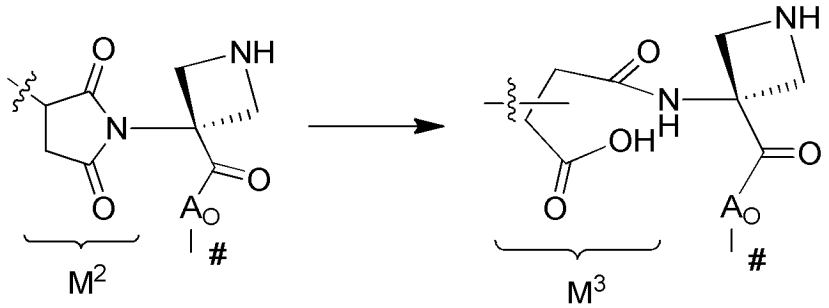


,

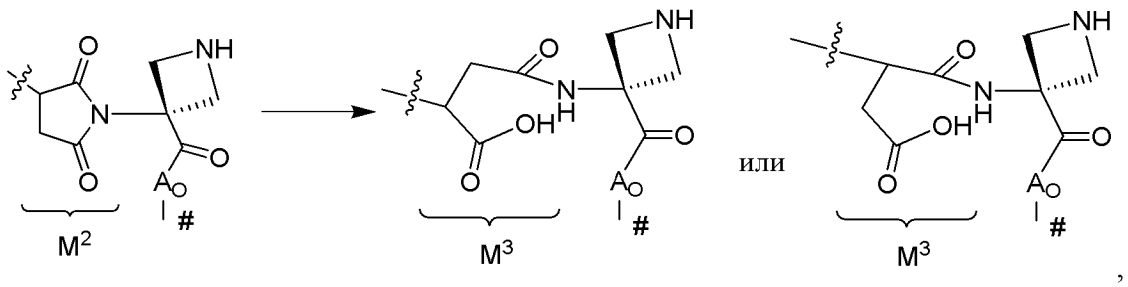
Где фрагмент -CH(CH_2NH_2)C(=O)- представляет собой A, когда A представляет собой единое дискретное звено так, что A_O или A' отсутствует, или A представляет собой A_1-A_2-, когда A_O/A' присутствует как A_2, и при этом A/A_1 замещен BU, где BU представляет собой ациклическое основное звено, которое представляет собой -CH_2NH_2, имеющее необязательно протонированный основной атом азота, а -C(=O)- в этом фрагменте представляет собой необязательный усиливающий гидролиз фрагмент [HE], который присутствует, когда символ решетки в верхней структуре указывает на ковалентное присоединение к B, а символ решетки в нижней структуре указывает на ковалентное присоединение к W L_O. Эти типовые структуры содержат сукцинимидный фрагмент (M^2) или фрагмент амида янтарной кислоты (M^3), соответственно, при этом

последний является результатом гидролиза сукцинимидного кольца M^2, которому способствует $-CH_2NH_2$, при превращении L_{SS} в L_S.

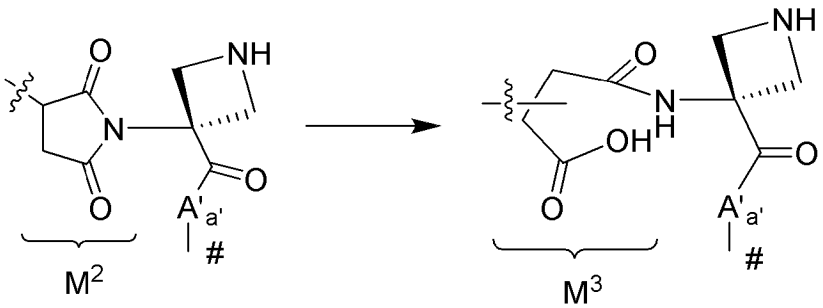
[0259] Типовые неограничивающие структуры $-L_B-A-$ в первичных линкерах L_{SS} и L_S для LDC/ADC, в которых L_B представляет собой M^2 или M^3; и $A(BU)/A_1(BU)$, A_O/A' и [HE] в этих структурах упорядочены способом, указанным выше, в котором BU представляет собой циклическое основное звено, проиллюстрированы в качестве примера, но не ограничения, структурами:



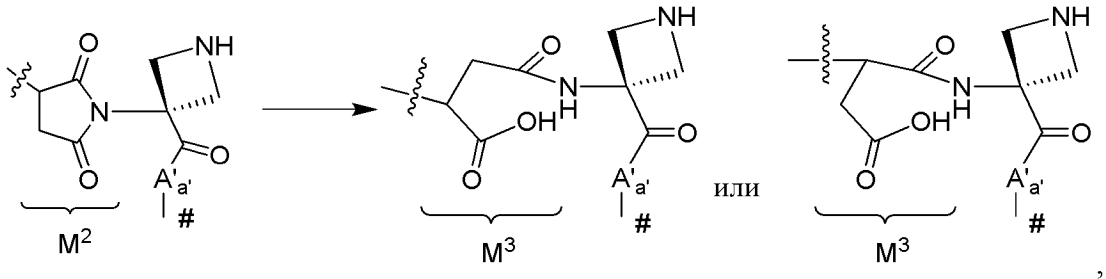
,



,



, или



,

причем эти структуры $-M^2-A(BU)-[HE]-A_O/A'_{a'}-$ и $-M^3-A(BU)-[HE]-A_O/A'_{a'}-$ становятся $-M^2-A(BU)-[HE]-$ и $-M^3-A(BU)-[HE]-$, когда A_O отсутствует или нижний индекс a' равен 0 так, что A присутствует как единое дискретное звено, или становятся $-M^2-A_1(BU)-[HE]-A_2-$ и $-M^3-A^1(BU)-[HE]-A_2-$, когда A_O/A' присутствует как подзвено A, указанное как A_2, и при этом в любой структуре BU представляет собой циклическое основное звено в форме необязательно протонированного азетидин-3,3-диила, структура

которого представляет собой типовое основное звено на основе гетероцикло, включенное в A/A_1. Этот гетероцикло соответствует аминоалкилу ациклического основного звена в фрагменте $-A_1(BU)-$ или $-A(BU)-$, в котором основной атом азота ациклического основного звена был формально обратно циклизован, по меньшей мере частично, посредством R^{a2} с атомом углерода, который является альфа относительно сукцинимидного атома азота M^2, к которому присоединено ациклическое основное звено.

[0260] Волнистая линия в каждой из вышеприведенных структур $-L_B-A-$ указывает место ковалентного присоединения атома серы лигандного звена, полученного из реактивной тиольной функциональной группы нацеливающего агента после добавления Михаэля этого атома серы в малеимидную кольцевую систему фрагмента M^1 в структурно соответствующем соединении лекарственный препарат-линкер или его M^1-содержащем промежуточном соединении. Знак решетки (#) в верхней структуре указывает место ковалентного присоединения к B, который представляет собой остаток первичного линкера L_{SS} или L_S, а в нижней структуре указывает место ковалентного присоединения к W L_O. Поскольку сукцинимидная кольцевая система M^2 является асимметрически замещенной благодаря своему тио-заместителю, региохимические изомеры фрагментов амида янтарной кислоты (M^3) по определению в данном документе, различающиеся по позиции относительно свободной группы карбоновой кислоты, могут приводить к гидролизу M^2. В вышеприведенных структурах карбонильная функциональная группа, показанная смежной с A_O , является примером усилителя гидролиза [HE] по определению в данном документе.

[0261] Вышеприведенные фрагменты $-M^3-A(BU)-[HE]-A_O/A'_{a'}-$, $-M^3-A(BU)-$ и $-M^3-A_1(BU)-[HE]-A_2-$, где BU представляет собой ациклическое или циклическое основное звено, представляют типовые структуры $-L_B-A-$, которые содержат самостабилизирующиеся первичные линкеры (L_S), называемые так, поскольку эти структуры с меньшей вероятностью элиминируют тио-заместитель лигандного звена и, следовательно, приводят к потере нацеливающего фрагмента по сравнению с соответствующими фрагментами L_{SS}, состоящими из формулы $-M^2-A(BU)-[HE]-A_O/A'_{a'}-$, $-M^2-A(BU)-$ или $-M^2-A_1(BU)-[HE]-A_2-$, из которых они получены. Не ограничиваясь теорией, считается, что повышенная стабильность является результатом большей конформационной гибкости M^3 по сравнению с M^2, который больше не ограничивает тио-заместитель конформацией, способствующей элиминации E2.

[0262] В контексте данного документа «основное звено», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к органическому фрагменту в самостабилизирующемся первичном линкере (L_{SS}), описанном в данном документе, которое переносится далее в соответствующий фрагмент L_S за счет участия BU в катализируемом основанием гидролизе сукцинимидной кольцевой системы в фрагменте M^2, содержащем L_{SS} (т. е. катализирует добавление молекулы воды к одной из связей сукцинимидный карбонил - азот). В некоторых аспектах катализируемый основанием гидролиз инициируют в контролируемых условиях, переносимых нацеливающим

лигандным звеном, присоединенным к L_{SS}. В других аспектах катализируемый основанием гидролиз инициируют после контакта соединения лекарственный препарат-линкер, состоящего из L_{SS}', с нацеливающим агентом, в котором добавление Михаэля атома серы реактивной тиольной функциональной группы нацеливающего агента конкурирует с гидролизом фрагмента M^1 L_{SS}' соединения лекарственный препарат-линкер. Не ограничиваясь теорией, следующие аспекты описывают различные соображения относительно дизайна подходящего основного звена. В одном таком аспекта основная функциональная группа ациклического основного звена и ее относительная позиция в L_{SS} по отношению к компоненту M^2 выбраны с учетом способности BU образовывать водородные связи с карбонильной группой M^2, что эффективно повышает его электрофильность и, следовательно, его восприимчивость к воздействию воды. В другом таком аспекте этот выбор осуществляют так, чтобы молекула воды, чья нуклеофильность повышена за счет водородных связей с основной функциональной группой BU, была направлена к карбонильной группе M^2. В третьем таком аспекте этот выбор осуществляют так, чтобы основной атом азота при протонировании не повышал электрофильность сукцинимидных карбонилов за счет индуктивного удаления электрона в степени, которая способствовала бы преждевременному гидролизу, требующему компенсации из-за нежелательного избытка соединения лекарственный препарат-линкер. В дополнительном таком аспекте некоторые комбинации этих механистических эффектов способствуют катализу для контролируемого гидролиза L_{SS} до L_S.

[0263] Как правило, ациклическое основное звено, которое может действовать согласно любому из вышеприведенных механистических аспектов, состоит из 1 атома углерода или от 2 до 6 смежных атомов углерода, чаще из 1 атома углерода или 2 или 3 смежных атомов углерода, при этом атом(ы) углерода соединяют основную функциональную аминогруппу ациклического основного звена с остатком первичного линкера L_{SS}, к которому оно присоединено. Чтобы этот основной аминный атом азота находился в необходимой близости, чтобы способствовать гидролизу сукцинимидного фрагмента (M^2) до его соответствующего фрагмента амида янтарной кислоты (M^3) с разомкнутым кольцом, несущую амин углеродную цепь ациклического основного звена, как правило, присоединяют к A фрагмента -L_B-A- L_{SS} в альфа атоме углерода C_1-C_{12} алкилена этого фрагмента относительно места присоединения A к сукцинимидному атому азота M^2 (и, следовательно, к малеимидному атому азота его соответствующей структуры M^1-A-). Как правило, альфа атом углерода в ациклическом основном звене имеет (S) стереохимическую конфигурацию или конфигурацию, соответствующую альфа атому углерода **L**-аминокислот.

[0264] Как было описано ранее, BU в ациклической форме или BU в циклизованной форме, как правило, соединен с M^1 или M^2 L_{SS} или M^3 L_S посредством в ином случае необязательно замещенного C_1-C_{12} алкиленового фрагмента, причем этот фрагмент включает циклизованное основное звено или замещен ациклическим основным звеном и связан с малеимидным или сукцинимидным атомом азота M^1 или M^2,

соответственно, или амидным атомом азота M^3. В некоторых аспектах в ином случае необязательно замещенный C_1-C_{12} алкиленовый фрагмент, включающий циклическое основное звено, ковалентно связан с [HE] и, как правило, обусловлен за счет промежуточного участия эфирной, сложноэфирной, карбонатной, мочевинной, дисульфидной, амидной, карбаматной или другой функциональной группы, чаще посредством амидной или карбаматной функциональной группы. Аналогично, BU в ациклической форме, как правило, соединен с M^1 или M^2 L_{SS} или M^3 L_S посредством в ином случае необязательно замещенного C_1-C_{12} алкиленового фрагмента A в L_B'-A-, в котором L_B' представляет собой M^1, или -L_B-A-, в котором L_B представляет собой M^2 или M^3, который замещен ациклическим основным звеном в том же атоме углерода C_1-C_{12} алкиленового фрагмента, который присоединен к имино-атому азота малеимидной или сукцинимидной кольцевой системы M^1 или M^2, или амидному атому азота M^3, который является результатом гидролиза сукцинимидной кольцевой системы M^2.

[0265] В некоторых аспектах циклическое основное звено включает структуру ациклического BU за счет формальной циклизации ациклического основного звена с в ином случае необязательно замещенным C_1-C_{12} алкилом (R^{a2}), независимо выбранным из A/A_1, который связан с тем же альфа атомом углерода, что и ациклическое основное звено, образуя тем самым спироциклическую кольцевую систему так, что циклическое основное звено включено в структуру A/A_1, а не является заместителем A/A_1, как когда BU является ациклическим. В этих аспектах формальная циклизация происходит за счет основного аминного атома азота ациклического основного звена, обеспечивая, таким образом, циклическое основное звено в виде необязательно замещенного симметричного или асимметричного спиро C_4-C_{12} гетероцикло в зависимости от относительной длины углеродных цепей в двух заместителях альфа атома углерода, в которых основной атом азота теперь является основным скелетным гетероатомом. Чтобы при этой циклизации по существу сохранялись основные свойства ациклического основного звена в циклическом основном звене, основной атом азота ациклического основного звена должен относиться к первичному или вторичному амину, но не третичному амину, поскольку это бы привело к кватернизированному скелетному атому азота в гетероцикло циклического основного звена. В этом аспекте формальной циклизации ациклического основного звена до циклического основного звена с целью сохранения по существу способности основного атома азота способствовать гидролизу M^2 до M^3 при превращении L_{SS} в L_S, в получаемой в результате структуре циклического основного звена в этих первичных линкерах, как правило, основной атом азота будет расположен так, чтобы присутствовало не более трех и, как правило, одного или двух промежуточных атомов углерода между основным атомом азота и спиро атомом углерода спиро C_4-C_{12} гетероцикло-компонента. Циклические основные звенья, включенные в A/A_1 и первичные линкеры L_{SS} и L_S, содержащие их как компоненты, дополнительно описаны вариантами осуществления изобретения.

[0266] В контексте данного документа «усиливающий гидролиз фрагмент», если

иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к электроноакцепторным группе или фрагменту, которые необязательно присутствуют в первом необязательном звене растяжения (A) в L_B'-A- или -L_B-A- первичного линкера L_{SS} и продукта его гидролиза L_S. Усиливающий гидролиз фрагмент [HE], если он присутствует как компонент A/A_1 L_{SS} во фрагменте лекарственный препарат-линкер LDC/ADC, где A/A_1 связан с имидным атомом азота фрагмента M^2, в некоторых аспектах повышает или оказывает минимальное влияние на электрофильность сукцинимидных карбонильных групп в этом фрагменте в зависимости от его близости к этому фрагменту M^2 за счет электроноакцепторного эффекта [HE], облегчая его превращение в фрагмент M^3 первичного линкера L_S. При наличии A/A_1, включающего циклическое основное звено или замещенного ациклическим основным звеном, потенциальный эффект [HE] на карбонильные группы M^2 для повышения скорости гидролиза до M^3 за счет индукции и вышеупомянутых эффектов любого типа BU скорректирован так, чтобы преждевременный гидролиз M^1 не происходил в какой-либо значимой степени во время получения конъюгата лиганд-лекарственный препарат из соединения лекарственный препарат-линкер, состоящего из структуры L_B'-A- формулы M^1-A(BU)-[HE]-$A_O/A'_{a'}$-, с двумя вариациями, представленными формулами M^1-A(BU)- и M^1-A_1(BU)-[HE]-A_2-, где A/A_1 находится в комбинации с [HE]. Вместо этого комбинированные эффекты BU и [HE] для стимуляции гидролиза, который преобразует структуру -L_B-A- общей формулы -M^2-A(BU)-[HE]-$A_O/A'_{a'}$- или, конкретнее, формулы -M^2-A(BU)- или -M^2-A_1(BU)-A_2- соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в ее соответствующую формулу -M^3-A(BU)-[HE]-$A_O/A'_{a'}$-, -M^3-A(BU)- или M^3-A_1(BU)-[HE]-A_2- в контролируемых условиях (когда pH специально повышают так, чтобы снизить протонирование основного звена), являются такими, что молярный избыток соединения лекарственный препарат-линкер для компенсации гидролиза его фрагмента M^1 не нужен. Следовательно, добавление Михаэля атома серы реактивной тиольной функциональной группы нацеливающего агента в малеимидную кольцевую систему M^1, которое обеспечивает нацеливающее лигандное звено, присоединенное к сукцинимидной кольцевой системе M^2, как правило, происходит при скорости, которая эффективно конкурирует с гидролизом M^1. Не ограничиваясь теорией, считается, что при низком pH, например, когда основной амин BU находится в форме соли ТФУ, преждевременный гидролиз M^1 в продукте лекарственный препарат-линкер происходит намного медленнее, чем когда pH повышают до уровня, подходящего для основного катализа, используя соответствующий буферный агент, и приемлемый молярный избыток соединения лекарственный препарат-линкер может адекватным образом компенсировать любые потери вследствие преждевременного гидролиза M^1, который происходит в течение времени, необходимого для завершения или практического завершения добавления Михаэля атома серы реактивной тиольной функциональной группы нацеливающего агента в фрагмент M^1 соединения лекарственный препарат-линкер.

[0267] Как обсуждалось ранее, усиление карбонильного гидролиза любым типом

основного звена зависит от основности его функциональной группы и расстояния от этой функциональной группы до карбонильных групп M^1/M^2. Как правило, [HE] представляет собой карбонильный фрагмент или другую карбонил-содержащую функциональную группу, расположенные дистально относительно конца C_1-C_{12} алкилена A/A_1, который связан с M^2 или полученным из него M^3 и также обеспечивает ковалентное присоединение к A_2 или к необязательному вторичному линкеру, который присутствует, когда B отсутствует, а A представляет собой единое дискретное звено. Карбонил-содержащие функциональные группы отличные от кетонов, включают сложные эфиры, карбаматы, карбонаты и мочевины. Когда [HE] представляет собой карбонил-содержащую функциональную группу, отличную от кетона, в фрагменте лекарственный препарат-линкер ADC, имеющего первичный линкер L_{SS}, карбонильный фрагмент этой функциональной группы, которая является общей с A/A_1, как правило, связан с в ином случае необязательно замещенным C_1-C_{12} алкиленом A/A_1, дистальным по отношению к месту его присоединения к имидному атому азота M^2, как когда [HE] представляет собой -C(=O)-X-, где X представляет собой -O- или необязательно замещенный -NH-. В некоторых аспектах фрагмент [HE] может быть достаточно удален от имидного атома азота, с которым ковалентно связан A/A_1, так что не наблюдается значительного эффекта или наблюдается незначительный эффект на гидролитическую чувствительность связей сукцинимидный карбонил - азот M^2-содержащего фрагмента, которая обусловлена главным образом BU.

[0268] В контексте данного документа «звено растяжения», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к необязательному органическому фрагменту в первичном или вторичном линкере конъюгата лиганд-лекарственный препарат, таком как конъюгат антитело - лекарственный препарат, который физически отделяет нацеливающее лигандное звено (L) от необязательного вторичного линкера, когда этот линкер присутствует. Когда линкерное звено состоит из первичного линкера L_{SS} или L_S, первое необязательное звено растяжения присутствует, поскольку оно обеспечивает основное звено для этих типов первичных линкеров. Наличие первого необязательного звена растяжений (A) в L_R также может быть необходимым в любом типе первичного линкера, при недостаточном уменьшении стерического эффекта вследствие отсутствия лигандного звена, а необязательное звено растяжения обеспечивает эффективную обработку вторичного линкера для высвобождения лекарственного звена в виде свободного лекарственного препарата. В альтернативном варианте или дополнительно к уменьшению стерического эффекта, эти необязательные компоненты могут быть включены для облегчения синтеза при получении соединения лекарственный препарат-линкер. В некоторых аспектах, когда нижний индекс b равен 1, первое или второй звено растяжения (A или A', соответственно) представляет собой единое звено или может содержать несколько подзвеньев (как, например, когда A имеет два подзвена, представленных $-A_1$-[HE]-A_2-). В других аспектах, когда нижний индекс b равен 0, как правило, A представляет собой одно единое звено или имеет два разных подзвена, когда

нижний индекс b равен 0, а нижний индекс a' равен 1. В других аспектах B/A' имеет от 2 до 4 независимо выбранных разных подзвеньев.

[0269] В некоторых аспектах, когда L_R представляет собой L_{SS}/L_S, помимо ковалентного присоединения к M^1 соединения лекарственный препарат-линкер или M^2/M^3 фрагмента лекарственный препарат-линкер в соединении LDC/ADC, A связан со звеном разветвления (B), или W необязательного вторичного линкера (L_O), который присутствует необязательно посредством $A_O/A'_{a'}$, как в A[HE] (A_O/A' отсутствует) или A_1-[HE]-A_2 (A_O/A' присутствует), представляемый в общем случае как A-[HE]-$A_O/A_{a'}$-, где A/A_1 и $A_O/A_{a'}$, когда они присутствуют как A_2, также являются компонентом L_{SS}/L_S.

[0270] В некоторых аспектах A или A' или подзвено любого из этих звеньев растяжения имеют формулу -L^P(PEG)-, где L^P представляет собой параллельное соединительное звено, а PEG представляет собой PEG-звено по определению в другом месте. Таким образом, в некоторых из этих аспектов линкерное звено во фрагменте лекарственный препарат-линкер конъюгата лиганд-лекарственный препарат или соединения лекарственный препарат-линкер, где нижний индекс b равен 0, а нижний индекс a' равен 1, содержит формулу -A_1-[HE]-L^P(PEG)-, где A' представляет собой -L^P(PEG)- и присутствует как A_2. В других из этих аспектов, где нижний индекс b равен 1 и A_O присутствует как A_2, линкерное звено во фрагменте лекарственный препарат-линкер конъюгата лиганд-лекарственный препарат или соединения лекарственный препарат-линкер содержит формулу -A_1-[HE]-L^P(PEG)-B-. В других аспектах, где нижний индекс b равен 1 и нижний индекс a' равен 1, конъюгат лиганд-лекарственный препарат или соединение лекарственный препарат-линкер содержит формулу -A-[HE]-A_O-B-L^P(PEG), где A' представляет собой L^P(PEG)

[0271] В некоторых аспектах, где нижний индекс a равен 1, так что присутствует первое необязательное звено растяжения (A), это звено, как правило, имеет по меньшей мере один атом углерода, причем этот атом соединяет L_B/L_B' с [HE]. В некоторых из этих аспектов, в которых L_B' относится к первичному линкеру L_{SS}' соединения лекарственный препарат-линкер, это звено растяжения состоит из C_1-C_{12} алкиленового фрагмента, замещенного или включающего основное звено, и является в ином случае необязательно замещенным, при этом один из его радикальных атомов углерода присоединен к малеимидному атому азота, а другой к [HE], где [HE] представляет собой присутствующий необязательный усиливающий гидролиз фрагмент. В других аспектах, когда L_R' отличается от L_{SS}', но все равно состоит из малеимидного фрагмента или некоторого другого фрагмента L_B', L_B' присоединен к необязательному первому звену растяжения (A), которое в некоторых аспектах представляет собой необязательно замещенный C_1-C_{12} алкилен, который необязательно находится в комбинации с [HE]. Таким образом, в некоторых аспектах, в которых L_R' представляет собой L_{SS}', первое необязательное звено растяжения присутствует и состоит из C_1-C_{12} алкиленового фрагмента, [HE] и необязательного подзвена (A_O, когда нижний индекс b равен 1, или $A'_{a'}$, когда нижний индекс b равен 0), которые все являются компонентами L_R', когда L_R'

представляет собой L_{SS}, при этом A присоединен к B, который является компонентом L_R', или W, который является компонентом L_O, удаленным от места присоединения C_1-C_{12} алкиленового фрагмента к имидному атому азота. В других аспектах, когда нижний индекс a равен 1 и A присутствует как единое дискретное звено или два подзвена, A имеет общую формулу -A-[HE]-$A_O/A_{a'}$-, где $A_O/A'_{a'}$ представляет собой необязательное подзвено A или, конкретнее, имеет формулу -A_1-[HE]-A_2-, где A_O присутствует как второе подзвено A, и нижний индекс b равен 1, или когда нижний индекс a' равен 1 и нижний индекс b равен 0, так что A' присутствует как второе подзвено A. В таких аспектах A_O/A_2 или A'/A_2 представляет собой α-аминокислоту, β-аминокислоту или другой амино-содержащий кислотный остаток.

[0272] В контексте данного документа «звено разветвления», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к трифункциональному или многофункциональному органическому фрагменту, который является необязательным компонентом линкерного звена (LU). Звено разветвления (B) присутствует в первичном линкере фрагмента лекарственный препарат-линкер по формуле **1A** LDC/ADC формулы **1A**, когда в одном фрагмента лекарственный препарат-линкер присутствует несколько фрагментов -L_O-D. В LDC/ADC, имеющем вышеописанную общую формулу, на отсутствие или присутствие звена разветвления указывает нижний индекс b B_b, где нижний индекс b равен 0 или 1, соответственно. Звено разветвления является по меньшей мере трифункциональным, чтобы быть включенным в первичный линкер. Соединения лекарственный препарат-линкер по формуле или LDC/ADC, имеющие звено разветвления вследствие наличия нескольких фрагментов -L_O-D на фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D, как правило, имеют вторичный линкер (L_O), содержащий формулу -$A'_{a'}$-W-Y_y-, где A' представляет собой второе необязательное звено растяжения; нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно; W представляет собой пептидное расщепляемое звено; Y представляет собой спейсерное звено; а нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие одного или двух спейсерных звеньев, соответственно.

[0273] В некоторых аспектах остаток встречающейся или не встречающейся в природе аминокислоты или остаток другого амино-содержащего кислого соединения, имеющего функционализированную боковую цепь, служит трифункциональным звеном разветвления для присоединения двух фрагментов -L_O-D. В некоторых из этих аспектов B представляет собой остаток лизина, глутаминовой кислоты или аспарагиновой кислоты в **L**- или **D**-конфигурации, в которой функциональная группа эпсилон-амино, гамма-карбоновой кислоты или бета-карбоновой кислоты, соответственно, наряду с другими амино- и карбоксильными концами, соединяет между собой B в остатке LU. Звено разветвления с большей функциональностью для присоединения 3 или 4 фрагментов -L_O-D, как правило, состоит из необходимого числа трифункциональных подзвеньев.

[0274] В контексте данного документа «природная аминокислота», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к встречающейся в природе

аминокислоте, а именно аргинину, глутамину, фенилаланину, тирозину, триптофану, лизину, глицину, аланину, гистидину, серину, пролину, глутаминовой кислоте, аспарагиновой кислоте, треонину, цистеину, метионину, лейцину, аспарагину, изолейцину и валину, или их остатку, в **L** или **D**-конфигурации.

[0275] В контексте данного документа «неприродная аминокислота», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к альфа-амино-содержащей кислоте или ее остатку, которая имеет структуру природной аминокислоты, но имеет группу боковой цепи, присоединенную к альфа атому углерода, который отсутствует в природных аминокислотах.

[0276] В контексте данного документа «неклассическая аминокислота», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к амино-содержащему кислотному компоненту, в котором амино-заместитель, связанный атомом углерода, не является альфа по отношению к карбоновой кислоте, и следовательно, он не является альфа-аминокислотой. Неклассические аминокислоты включают β-аминокислоты, в которых между функциональными группами карбоновой кислоты и амино в природной аминокислоте или неприродной аминокислоте вставлен метилен.

[0277] В контексте данного документа «пептид», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к полимеру из двух или более аминокислот, при этом группа карбоновой кислоты одной аминокислоты образует амидную связь с альфа-аминогруппой следующей аминокислоты в пептидной последовательности. Способы получения амидных связей в полипептидах дополнительно приведены в определении амида. Пептиды могут состоять из встречающихся в природе аминокислот в **L**- или **D**-конфигурации и/или неприродных и/или неклассических аминокислот.

[0278] В контексте данного документа «протеаза» относится к белку, способному к ферментативному расщеплению карбонил-азотной связи, такой как амидная связь, обычно встречающаяся в пептидах. Протеазы классифицируют на шесть основных классов: сериновые протеазы, треониновые протеазы, цистеиновые протеазы, протеазы глутаминовой кислоты, протеазы аспарагиновой кислоты и металлопротеазы, названные так благодаря каталитическому остатку в активном сайте, который главным образом отвечает за расщепление карбонил-азотной связи субстрата. Протеазы характеризуются разной специфичностью, которая зависит от природы остатков в N-концевой и/или C-концевой части карбонил-азотной связи и их различного распределения (внутриклеточного и внеклеточного).

[0279] Регуляторные протеазы, как правило, представляют собой внутриклеточные протеазы, которые необходимы для регуляции клеточной активности, которая иногда становится аберрантной или нерегулируемой в аномальных или других нежелательных клетках. В некоторых случаях, когда пептидное расщепляемое звено направлено на протеазу, имеющую предпочтительное внутриклеточное распределение, эта протеаза представляет собой регуляторную протеазу, которая участвует в поддержании или пролиферации клеток. Эти протеазы включают катепсины. Катепсины включают

сериновые протеазы, катепсин A, катепсин G, протеазы аспарагиновой кислоты катепсин D, катепсин E и цистеиновые протеазы катепсин B, катепсин C, катепсин F, катепсин H, катепсин K, катепсин L1, катепсин L2, катепсин O, катепсин S, катепсин W и катепсин Z.

[0280] В контексте данного документа «пептидное расщепляемое звено», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к органическому фрагменту во вторичном линкере фрагмента лекарственный препарат-линкер соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат или соединения лекарственный препарат-линкер, который обеспечивает сайт распознавания и способен к ферментативному высвобождению конъюгированного с ним лекарственного звена (D) в виде свободного лекарственного препарата после ферментативного действия этой протеазы.

[0281] Сайт распознавания для расщепления протеазой иногда ограничен сайтами, распознаваемыми протеазами, встречающимися в аномальных клетках, таких как раковые клетки, или в номинально нормальных клетках, на которые нацелен конъюгат лиганд-лекарственный препарат, которые характерны для окружения близлежащих аномальных клеток, но которые также могут встречаться в нормальных клетках. С этой целью пептид, как правило, является устойчивым к циркулирующим протеазам для минимизации преждевременного высвобождения свободного лекарственного препарата или его предшественника, что в ином случае может приводить к нецелевым нежелательным явлениям вследствие системного воздействия этого лекарственного препарата. В некоторых аспектах пептид имеет одну или более **D**-аминокислот или неприродные или неклассические аминокислоты с целью придания этой устойчивости. В некоторых из этих аспектов последовательность содержит дипептид или трипептид, в котором сайт P2' содержит **D**-аминокислоту, а сайт P1' содержит одну из 20 встречающихся в природе **L**-аминокислот, отличных от **L**-пролина.

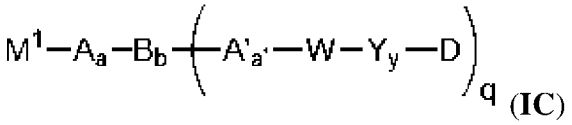
[0282] В этих аспектах реактивный сайт будет с большей вероятностью функционировать после ферментативного воздействия после иммунологически селективного связывания с целевым антигеном. В некоторых из этих аспектов целевой антиген находится на аномальных клетках, поэтому сайт распознавания будет с большей вероятностью функционировать после ферментативного воздействия после клеточной интернализации соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в целевые аномальные клетки. Следовательно, эти аномальные клетки должны представлять целевой антиген при большем числе копий по сравнению с нормальными клетками с уменьшением количества целевых нежелательных явлений. В других из этих аспектов целевой антиген находится на нормальных клетках, которые находятся в окружении аномальных клеток и являются характерными для него, поэтому сайт распознавания будет с большей вероятностью функционировать после ферментативного воздействия после клеточной интернализации соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в эти целевые нормальные клетки. Следовательно, эти нормальные клетки должны представлять целевой антиген при большем числе копий по сравнению с нормальными клетками, удаленными от местоположения раковых клеток, с уменьшением количества целевых

нежелательных явлений.

[0283] В любом из вышеприведенных аспектов реактивность протеаз в отношении сайта распознавания является большей в гомогенате опухолевой ткани по сравнению с гомогенатом нормальной ткани. Эта большая реактивность в некоторых аспектах связана с большей активностью внутриклеточных протеаз в целевых клетках опухолевой ткани по сравнению с активностью внутриклеточных протеаз в нормальных клетках нормальной ткани и/или сниженной активностью протеаз в интерстициальном пространстве нормальной ткани по сравнению с активностью пептидных расщепляемых звеньев традиционных конъюгатов лиганд-лекарственный препарат. В этих аспектах внутриклеточная протеаза представляет собой регуляторную протеазу, а пептидная связь пептидного расщепляемого звена может селективно расщепляться внутриклеточной регуляторной протеазой по сравнению с сывороточными протеазами помимо селективного расщепления протеазами гомогената опухолевой ткани по сравнению с протеазами в гомогенате нормальной ткани.

[0284] Вторичный линкер, содержащий пептидное расщепляемое звено, как правило, имеет формулу $-A'_{a'}-W-Y_y-$, где A' представляет собой второе необязательное спейсерное звено, когда нижний индекс b равен 1; нижний индекс a' равен 0 или 1, W представляет собой пептидное расщепляемое звено; Y представляет собой необязательное спейсерное звено; а нижний индекс y равен 0, 1 или 2. Когда нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a' равен 1, A' становится подзвеном A, так что вторичный линкер имеет формулу $-W-Y_y-$. Для любой формулы вторичного линкера, чье протеазное воздействие на пептидную последовательность, содержащую пептидное расщепляемое звено, приводит к прямому высвобождению D, когда нижний индекс y равен 0, или, когда нижний индекс y равен 1, приводит к получению фрагмента лекарственный препарат-линкер по формуле Y-D как предшественника свободного лекарственного препарата, в котором Y, как правило, подвергается самоуничтожению с обеспечением свободного лекарственного препарата, или, когда нижний индекс y равен 2, приводит к получению первого фрагмента лекарственный препарат-линкер по формуле Y-Y'-D, в котором Y представляет собой первое спейсерное звено, которое подвергается самоуничтожению с обеспечением второго фрагмента лекарственный препарат-линкер по формуле Y'-D, в котором Y' представляет собой второе спейсерное звено, которое распадается до полного высвобождения D в виде свободного лекарственного препарата.

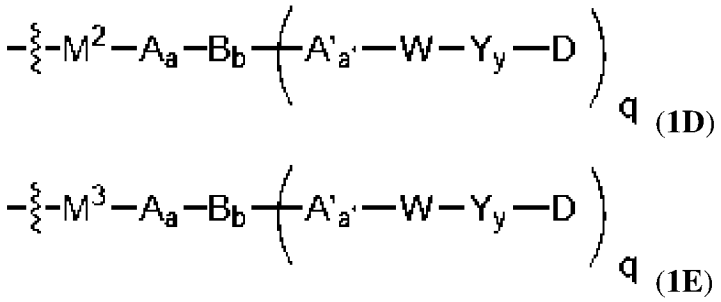
[0285] В некоторых аспектах соединения лекарственный препарат-линкер, в которых вторичный линкер содержит пептидное расщепляемое звено, представлены структурами формулы **IC**:



(**IC**)

а соответствующие фрагменты лекарственный препарат-линкер конъюгатов лиганд-лекарственный препарат представлены структурами формулы **1D** или формулы

1E:



где W представляет собой пептидное расщепляемое звено и M^1-A_a-B_b- формулы **IC**, -M^2-A_a-B_b- формулы **1D** и -M^3-A_a-B_b- формулы **1E** представляют собой первичные линкеры, при этом M^1 представляет собой малеимидный фрагмент; M^2 представляет собой сукцинимидный фрагмент; M^3 представляет собой фрагмент амида янтарной кислоты; Y представляет собой необязательное спейсерное звено так, что нижний индекс y равен 0 или 1, или Y_y представляет собой -Y-Y' так, что нижний индекс y равен 2, а Y и Y' представляют собой первое и второе спейсерное звено, соответственно, а остальные вариабельные группы соответствуют определению соединений лекарственный препарат-линкер по формуле **IA** и фрагментов лекарственный препарат-линкер по формуле **1A**. Первичные линкеры L_{SS}' соединений лекарственный препарат-линкер, которые содержат фрагмент M^1, и первичные линкеры L_{SS} фрагментов лекарственный препарат-линкер в некоторых LDC/ADC, которые содержат фрагменты M^2, по настоящему изобретению представляют те формулы, в которых A или его подзвено замещены основным звеном или включают его. Другие первичные линкеры представляют собой первичные линкеры L_S, которые получены из вышеуказанного M^2-содержащего первичного линкера L_{SS} формулы **1C** за счет гидролиза сукцинимидных фрагментов с обеспечением M^3-содержащих фрагментов формулы **1D**.

[0286] В любом из вышеуказанных аспектов амидная связь, которая специфически расщепляется протеазой, вырабатываемой целевыми клетками или внутри них, направлена на аминогруппу спейсерного звена (Y) или лекарственного звена, если Y отсутствует. Таким образом, действие протеаз на пептидную последовательность в W приводит к высвобождению D в виде свободного лекарственного препарата или его предшественника Y_y-D, который спонтанно распадается в обеспечением свободного лекарственного препарата.

[0287] В контексте данного документа «спейсерное звено», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к фрагменту во вторичном линкере (L_O) формулы -$A'_{a'}$-W-Y_y-, в котором нижний индекс y равен 1 или 2, что указывает на присутствие 1 или 2 спейсерных звеньев, в соединении лекарственный препарат-линкер или линкерном звене фрагмента лекарственный препарат-линкер конъюгата лиганд-лекарственный препарат, где A' представляет собой второе необязательное спейсерное звено, которое в некоторых аспектах, описанных в данном документе, становится частью первичного линкера, к которому ковалентно присоединен вторичный линкер, как

подзвено присутствующего первого необязательного спейсерного звена, нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A'; Y представляет собой спейсерное звено и W представляет собой пептидное расщепляемое звено формулы -P_n...[P3]-[P2]-[P1]- или -P_n...[P3]-[P2]-[P1]-[P-1]-, где нижний индекс n находится в диапазоне от 0 до 12 (например, 0-10, 3-12 или 3-10), а P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, которые придают селективность в отношении протеазного расщепления гомогенатом опухолевой ткани в сравнении с гомогенатом нормальной ткани, как описано в данном документе. Когда нижний индекс y равен 1, спейсерное звено ковалентно связано с W и с лекарственным звеном (D), или когда нижний индекс y равен 2, с другим таким фрагментом (Y'), ковалентно связанным с D. Действие протеаз на W инициирует высвобождение D в виде свободного лекарственного препарата, как дополнительно описано вариантами осуществления изобретения.

[0288] В контексте данного документа «самоуничтожающийся фрагмент» относится к бифункциональному фрагменту в самоуничтожающемся спейсерном звене (Y), при этом самоуничтожающийся фрагмент ковалентно присоединен к гетероатому D или к общей функциональной группе Y и D, необязательно замещенным, если это разрешено, и также ковалентно присоединен к пептидному расщепляемому звену посредством другого необязательно замещенного гетероатома (J), где J представляет собой -NH- или должным образом замещенный атом азота в амидной функциональной группе, так что самоуничтожающийся фрагмент включает эти компоненты лекарственный препарат-линкер в обычно стабильную трехсоставную молекулу, если она не активирована.

[0289] После расщепления пептидной связи между P1/P-1 и Y, D или первый фрагмент лекарственный препарат-линкер, который представляет собой Y'-D, спонтанно отделяется от трехсоставной молекулы за счет саморазрушения самоуничтожающегося фрагмента его самоуничтожающегося спейсерного звена. В некоторых аспектах компонент самоуничтожающегося фрагмента спейсерного звена в промежутке между Y'-D или D и необязательно замещенным гетероатомом J из Y, связанного с W, имеет формулу -C_6-C_{24} арилен-$C(R^8)(R^9)$-, -C_5-C_{24} гетероарилен- $C(R^8)(R^9)$-, -C_6-C_{24} арилен-$C(R^8)=C(R^9)$- или -C_5-C_{24} гетероарилен- $C(R^8)=C(R^9)$-, необязательно замещенный, где R^8 и R^9 соответствуют описанию в вариантах осуществления изобретения, и, как правило, представляет собой C_6-C_{10} арилен-CH_2- или C_5-C_{10} гетероарилен-CH_2-, в котором (гетеро)арилен необязательно замещен, при этом компонент самоуничтожающегося фрагмента спейсерного звена способен подвергаться распаду с образованием имино-хинон метида или схожей структуры за счет 1,4 или 1,6-элиминации с одновременным высвобождением D или Y'-D после расщепления расщепляемой протеазами связи между J и W. В некоторых аспектах самоуничтожающееся спейсерное звено, имеющее вышеупомянутый компонент, связанный с J, проиллюстрировано необязательно замещенным фрагментом п-аминобензилового спирта (PAB), орто- или пара-аминобензилацеталями или другими ароматическими соединениями, которые электронно

подобны группе PAB (т. е. PAB-типа), такими как производные 2-аминоимидазол-5-метанола (смотрите, например, Hay et al., 1999, Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237), или в которых фенильная группа фрагмента п-аминобензилового спирта (PAB) замещена гетероариленом.

[0290] Не ограничиваясь теорией, ароматический атом углерода ариленовой или гетероариленовой группы фрагмента PAB или PAB-типа самоуничтожающегося фрагмента спейсерного звена, которое включено в линкерное звено, замещен J, при этом электронодонорный гетероатом J присоединен к сайту расщепления W так, что электронодонорная способность этого гетероатома ослабевает (т. е. ЭДС маскируется включением самоуничтожающегося фрагмента самоуничтожающегося спейсерного звена в линкерное звено). Другим заместителем (гетеро)арилена является бензиловый атом углерода, который присоединен к необязательно замещенному гетероатому D необязательно замещенной функциональной группы, общей для Y и D, или второму спейсерному звену (Y'), связанному с лекарственным звеном (D), при этом бензиловый атом углерода присоединен к другому ароматическому атому углерода центрального арилена или гетероарилена, причем ароматический атом углерода, несущий ослабленный электронодонорный гетероатом, является смежным с (т. е. 1,2-взаимосвязь) этим бензиловым атомом углерода или удален от него на две дополнительные позиции (т. е. 1,4-взаимосвязь). Функционализированный ЭДС гетероатом выбирают так, чтобы после обработки сайта расщепления W электронодонорная способность замаскированного гетероатома восстанавливалась, инициируя, таким образом, 1,4- или 1,6-элиминацию с высвобождением -D в виде свободного лекарственного препарата из бензилового заместителя или, когда Y'-D высвобождается после самоуничтожения Y' с обеспечением свободного лекарственного препарата, для оказания терапевтического эффекта. Типовые самоуничтожающиеся фрагменты и самоуничтожающееся спейсерное звено, содержащее эти самоуничтожающиеся фрагменты, проиллюстрированы вариантами осуществления изобретения.

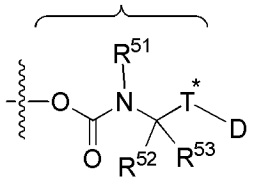
[0291] Другие примеры самоуничтожающихся групп включают, но не ограничиваются этим, ароматические соединения, которые являются электронно подобными группе PAB, такие как производные 2-аминоимидазол-5-метанола (смотрите, например, Hay et al., 1999, Bioorg. Med. Chem. Lett. 9:2237) и орто- или пара-аминобензилацетали.Можно использовать спейсеры, которые подвергаются циклизации при гидролизе амидной связи, такие как замещенные и незамещенные амиды 4-аминомасляной кислоты (смотрите, например, Rodrigues et al., 1995, Chemistry Biology 2:223), соответствующим образом замещенные бицикло[2.2.1] и бицикло[2.2.2] кольцевые системы (смотрите, например, Storm et al., 1972, J. Amer. Chem. Soc. 94:5815) и амиды 2-аминофенилпропионовой кислоты (смотрите, например, Amsberry et al., 1990, J. Org. Chem. 55:5867).Элиминация аминосодержащих лекарственных перапартов, замещенных в а-позиции глицина (смотрите, например, Kingsbury et al., 1984, J. Med. Chem. 27:1447) также является примером самоуничтожающихся групп. В одном варианте осуществления

спейсерное звено представляет собой разветвленное звено бис(гидроксиметил)стирола (BHMS), описанное в WO 2007/011968, которое можно использовать для включения и высвобождения нескольких лекарственных препаратов. Дополнительные самоуничтожающиеся спейсеры описаны в WO 2005/082023.

[0292] В контексте данного документа «метилен-карбаматное звено», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к органическому фрагменту, способному к самоуничтожению и являющемуся промежуточным между первым самоуничтожающимся спейсерным звеном и лекарственным звеном в линкерном звене конъюгата лиганд-лекарственный препарат или соединения лекарственный препарат-линкер и, следовательно, является типовым вторым спейсерным звеном.

[0293] Метилен-карбаматное звено (MAC), связанное с лекарственным звеном, представлено формулой III:

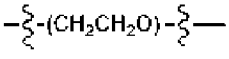
Группа
метилен
карбамата



(III)

или ее фармацевтически приемлемой солью, где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение метилен-карбаматного звена к первому самоуничтожающемуся спейсерному звену (Y); D представляет собой лекарственное звено, имеющее функциональную группу (например, гидроксильную, тиольную или аминную функциональную группу), которая включена в метилен-карбаматное звено; T* представляет собой гетероатом из указанной функциональной группы, который включает кислород, серу или азот в качестве необязательно замещенного -NH-. После расщепления линкерного звена, состоящего из звена MAC, первого самоуничтожающегося спейсерного звена (Y), связанного с этим звеном MAC, когда второе самоуничтожающееся спейсерное звено (Y') подвергается фрагментации с высвобождением -Y'-D формулы III. Затем звено MAC спонтанно распадается с полным высвобождением D в виде свободного лекарственного препарата, предполагаемый механизм чего описан вариантами осуществления изобретения.

[0294] В контексте данного документа звено «PEG» относится к группе, содержащей фрагмент полиэтиленгликоля (PEG), имеющий повтор этилен-окси подзвеньев (PEG или подзвенья PEG), также называемых подзвеньями этиленгликоля, имеющей формулу



[0295] PEG включают полидисперсные PEG, монодисперсные PEG и дискретные PEG. Полидисперсные PEG представляют собой гетерогенную смесь размеров и молекулярных масс, тогда как монодисперсные PEG, как правило, очищены из гетерогенных смесей и, следовательно, обеспечивают одинаковую длину цепи и молекулярную массу. Предпочтительные звенья PEG включают дискретные PEG, соединения, которые синтезированы поэтапным образом, а не посредством процесса полимеризации. Дискретные PEG представляют собой соединения, которые синтезированы поэтапным образом, а не посредством процесса полимеризации. Дискретные PEG обеспечивают наличие единообразных молекул с определенной и конкретной длиной цепи.

[0296] Звено PEG содержит по меньшей мере 2 подзвеньев, по меньшей мере 3 подзвеньев, по меньшей мере 4 подзвеньев, по меньшей мере 5 подзвеньев, по меньшей мере 6 подзвеньев, по меньшей мере 7 подзвеньев, по меньшей мере 8 подзвеньев, по меньшей мере 9 подзвеньев, по меньшей мере 10 подзвеньев, по меньшей мере 11 подзвеньев, по меньшей мере 12 подзвеньев, по меньшей мере 13 подзвеньев, по меньшей мере 14 подзвеньев, по меньшей мере 15 подзвеньев, по меньшей мере 16 подзвеньев, по меньшей мере 17 подзвеньев, по меньшей мере 18 подзвеньев, по меньшей мере 19 подзвеньев, по меньшей мере 20 подзвеньев, по меньшей мере 21 подзвеньев, по меньшей мере 22 подзвеньев, по меньшей мере 23 подзвеньев или по меньшей мере 24 подзвеньев. Некоторые звенья PEG содержат до 72 подзвеньев.

[0297] Звено PEG, предложенное в данном документе, содержит одну или несколько цепей полиэтиленгликоля, каждая из которых состоит из одного или более этиленокси-подзвеньев, ковалентно присоединенных друг к другу. Цепи полиэтиленгликоля могут быть связаны вместе, например, в линейной, разветвленной или звездчатой конфигурации. Как правило, по меньшей мере одну из цепей полиэтиленгликоля перед включением в конъюгат камптотецина дериватизируют в одном конце алкильным фрагментом, замещенным электронофильной группой, для ковалентного присоединения к карбаматному атому азота метилен-карбаматного звена (т. е. представляет случай R). Как правило, концевое этиленокси-подзвено в каждой цепи полиэтиленгликоля, не участвующей в ковалентном присоединении к остатку линкерного звена, модифицируют кэппирующим звеном PEG, как правило, необязательно замещенным алкилом, таким как $-CH_3$, CH_2CH_3 или $CH_2CH_2CO_2H$. Предпочтительное звено PEG имеет одну цепь полиэтиленгликоля с 2-24 подзвеньями $-CH_2CH_2O-$, ковалентно присоединенными группами и оканчивающимися в одном конце кэппирующим звеном PEG.

[0298] В контексте данного документа «кэппирующее звено PEG» представляет собой номинально нереактивные органический фрагмент или фунциональную группу, которые оканчивают свободный и неограниченный конец звена PEG и, в некоторых аспектах, отличаются от водорода. В этих аспектах кэппирующее звено PEG представляет собой метокси, этокси или другой C_1-C_6 эфир, или представляет собой $-CH_2-CO_2H$ или

другой подходящий фрагмент. Эфир, $-CH_2-CO_2H$, $-CH_2CH_2CO_2H$ или другой подходящий органический фрагмент действует как «кэп» для концевого подзвена PEG звена PEG.

[0299] В контексте данного документа «параллельное соединительное звено», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к органическому фрагменту соединения лекарственный препарат-линкер или фрагмента лекарственный препарат-линкер конъюгата лиганд-лекарственный препарат, который, как правило, присутствует в линкерном звене как подзвено первого или второго звена растяжения, при этом параллельное соединительное звено (L^P) способно ориентировать присоединенное к нему звено PEG в параллельной ориентации к лекарственному звену, являющемуся гидрофобным, называемом в данном документе гидрофобным лекарственным звеном, так чтобы снизить, по меньшей мере частично, гидрофобность этого лекарственного звена. Структуры L^P и связанных звеньев PEG и кэппирующих звеньев PEG описаны в WO 2015/5057699, которая явным образом включена в данный документ посредством ссылки, и в некоторых аспектах L^P представляет собой трифункциональную α-аминокислоту, β-аминокислоту или другой трифункциональный амино-содержащий кислотный остаток.

[0300] В контексте данного документа «внутриклеточно расщепляемый», «внутриклеточное расщепление» и подобные термины относятся к метаболическим процессу или реакции в целевой клетке, происходящим после поглощения конъюгата лиганд-лекарственный препарат и т. п., причем ковалентное присоединение посредством линкерного звена между лекарственным звеном и лигандным звено конъюгата разрушается, что приводит к высвобождению D в виде свободного лекарственного препарата в целевой клетке. Как описано в данном документе, в некоторых вариантах осуществления D сначала высвобождается как аддукт лекарственного звена с одним или более самоуничтожающимися спейсерами, при этом самоуничтожающиеся спейсеры впоследствии спонтанно отделяются от лекарственного звена с высвобождением D в виде свободного лекарственного препарата.

[0301] В контексте данного документа «гемобластоз», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к опухоли из клеток крови, которая происходит из клеток лимфоидного или миелоидного происхождения, и является синонимом с термином «жидкая опухоль». Гемобластозы можно разделить на категории вялотекущих, умеренно агрессивных или очень агрессивных.

[0302] В контексте данного документа «лимфома», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к гемобластозу, который обычно развивается из гиперпролиферирующих клеток лимфоидного происхождения. Лимфомы иногда классифицируют на два основных типа: лимфома Ходжкина (ЛХ) и неходжкинская лимфома (НХЛ). Лимфомы также можно классифицировать в соответствии с нормальным типом клеток, которые наиболее напоминают раковые клетки в соответствии с фенотипическими, молекулярными или цитогенными маркерами. Подтипы лимфом согласно этой классификации включают, без ограничения, новообразования из зрелых В-клеток, новообразования из зрелых Т-клеток и естественных клеток-киллеров (NK),

лимфому Ходжкина и обусловленные иммунодефицитом лимфопролиферативные расстройства. Подтипы лимфом включают лимфобластную лимфому из предшественников Т-клеток (иногда называемую лимфобластным лейкозом, поскольку лимфобласты Т-клеток вырабатываются в костном мозге), фолликулярную лимфому, диффузную В-крупноклеточную лимфому, мантийноклеточную лимфому, В-клеточную хроническую лимфоцитаную лимфому (иногда называемую лейкозом, поскольку она затрагивает периферическую кровь), MALT-лимфому, лимфому Беркитта, фунгоидный микоз и его более агрессивный вариант - болезнь Сезари, неклассифицированные периферические Т-клеточные лимфомы, нодулярный склероз лимфомы Ходжкина и лимфомы Ходжкина смешанного целлюлярного подтипа.

[0303] В контексте данного документа «лейкоз», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к гемобластозу, который обычно развивается из гиперпролиферирующих клеток миелоидного происхождения и включает, без ограничения, острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), хронический миелогенный лейкоз (ХМЛ) и острый моноцитарный лейкоз (ОМоЛ). Другие лейкозы включат волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), Т-клеточный лимфолейкоз (Т-КЛЛ), лейкоз из больших зернистых лимфоцитов и Т-клеточный лейкоз взрослых.

[0304] В контексте данного документа «гиперпролиферирующие клетки», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относятся к аномальным клеткам, которые характеризуются нежелательной клеточной пролиферацией или аномально высокой скоростью или постоянным состоянием деления клеток или другой клеточной активностью, которая не соотносится или не соответствует активности окружающих нормальных тканей. В некоторых аспектах гиперпролиферирующие клетки представляют собой гиперпролиферирующие клетки млекопитающих. В других аспектах гиперпролиферирующие клетки представляют собой гиперстимулированные иммунные клетки по определению в данном документе, чьи постоянное состояние клеточного деления или активация происходят после окончания действия стимула, который мог изначально вызвать изменение в делении клеток. В других аспектах гиперпролиферирующие клетки представляют собой трансформированные нормальные клетки или раковые клетки, а их неконтролируемое и прогрессирующее состояние клеточной пролиферации может приводить к опухоли, которая является доброкачественной, потенциально злокачественной (пред злокачественной) или явно злокачественной. Состояния гиперпролиферации, происходящие из трансформированных нормальных клеток или раковых клеток, включают, но не ограничиваются этим, характеризующиеся как предраковое состояние, гиперплазия, дисплазия, аденома, саркома, бластома, карцинома, лимфома, лейкоз или папиллома. Предраковые состояния обычно определяются как поражения, демонстрирующие гистологические изменения, и связаны с повышенным риском развития рака и иногда имеют некоторые, но не все, молекулярные и фенотипические свойства, которые характеризуют рак. Гормональные

или гормон-чувствительные предраковые состояния включают, без ограничения, внутриэпителиальную неоплазию предстательной железы (ВНПЖ), исключительно низкодифференцированную ВНПЖ (НДВНПЖ), атипическую мелкоацинарную пролиферацию (АМАП), дисплазию шейки матки и протоковую карциному in situ. Гиперплазии в общем случае относятся к пролиферации клеток в органе или ткани свыше обычно наблюдаемой, что может привести к увеличению размера органа или к образованию или росту доброкачественной опухоли. Гиперплазии включают, но не ограничиваются этим, гиперплазию эндометрия (эндометриоз), доброкачественную гиперплазию предстательной железы и протоковую гиперплазию.

[0305] В контексте данного документа «нормальные клетки», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относятся к клеткам, проходящим скоординированное клеточное деление, связанное с поддержанием клеточной целостности нормальной ткани или восполнением циркулирующих лимфатических или кровяных клеток, которое необходимо в рамках регулируемого клеточного обновления, или восстановлением ткани, обусловленным повреждением, или с регулируемым иммунным или воспалительным ответом в результате воздействия патогена или другого клеточного стресса, при этом инициированные клеточное деление или иммунный ответ заканчиваются после завершения необходимого поддержания, восполнения или выведения патогена. Нормальные клетки включают нормально пролиферирующие клетки, нормальные покоящиеся клетки и нормально активированные иммунные клетки. Нормальные клетки включают нормальные покоящиеся клетки, которые представляют собой нераковые клетки в состоянии покоя G_o и не были стимулированы стрессом или митогеном, или представляют собой иммунные клетки, которые обычно являются неактивными или не были активированы воздействием провоспалительных цитокинов.

[0306] В контексте данного документа «аномальные клетки», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относятся к нормальным клеткам, которые стали дисфункциональными в смысле непропорционального ответа на внешние стимулы или невозможности должным образом регулировать их спонтанную внутриклеточную активность, что в некоторых случаях обусловлено мутациями. Аномальные клетки включают гиперпролиферирующие клетки и гиперстимулированные иммунные клетки согласно определению этих терминов в другом месте. Когда они присутствуют в организме, эти клетки, как правило, препятствуют функции других нормальных клеток, причиняя вред организму, при этом с течением времени их деструктивная способность возрастает. Аномальные клетки включают раковые клетки, гиперактивированные иммунные клетки и другие нежелательные клетки организма. Аномальные клетки также могут относиться к номинально нормальным клеткам, которые находятся в окружении аномальных клеток, но которые при этом поддерживают пролиферацию и/или выживаемость этих других аномальных клеток, таких как опухолевые клетки, поэтому нацеливание на номинально нормальные клетки косвенно ингибирует пролиферацию и/или выживаемость опухолевых клеток.

[0307] В контексте данного документа «гиперстимулированные иммунные клетки», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относятся к клеткам, относящимся к врожденному или адаптивному иммунитету, характеризующимся аномально стойкой пролиферацией или несоответствующим состоянием стимуляции, которое возникает после прекращения действия стимула, который мог изначально вызвать изменение пролиферации или стимуляции, или которое возникает в отсутствие какого-либо внешнего воздействия. Часто стойкая пролиферация или несоответствующее состояние стимуляции приводят к хроническому состоянию воспаления, характерному для заболевания или патологического состояния. В некоторых случаях стимул, который мог изначально вызвать изменение пролиферации или стимуляции, не связан с внешним воздействием, но является внутренним, как при аутоиммунном заболевании. В некоторых аспектах гиперстимулированная иммунная клетка представляет собой провоспалительную иммунную клетку, которая была гиперактивирована за счет хронического воздействия провоспалительных цитокинов.

[0308] В некоторых аспектах соединение конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат связывается с антигеном, преимущественно представляемым провоспалительными иммунными клетками, которые характеризуются аномальной пролиферацией или несоответствующей или стойкой активацией. Эти иммунные клетки включают классически активированные макрофаги или Т-хепперные клетки типа 1 (Th1), которые вырабатывают интерферон-гамма (INF-γ), интерлейкин-2 (IL-2), интерлейкин-10 (IL-10) и фактор некроза опухолей бета (TNF-β), которые являются цитокинами, участвующими в активации макрофагов и $CD8^+$ Т-клеток.

[0309] Если иное не указано или не подразумевается контекстом, «биодоступность» относится к системной доступности (т. е. уровням в крови/плазме) заданного количества лекарственного препарата, вводимого пациенту. Биодоступность является абсолютным термином, который описывает измерение как времени (скорости), таки и общего количества (степени) лекарственного препарата, который достигает общего кровообращения после введения лекарственной формы.

[0310] Термины «индивид», «субъект» или «пациент» взаимозаменяемо используются в данном документе для обозначения животного, например, млекопитающего. В некоторых вариантах осуществления предложены способы лечения млекопитающих, включая, но не ограничиваясь этим, людей, грызунов, обезьян, кошачьих, собачьих, лошадиных, крупный рогатый скот, свиней, овец, коз, лабораторных млекопитающих животных, сельскохозяйственных млекопитающих животных, спортивных млекопитающих животных и домашних млекопитающих животных. В некоторых случаях «индивид» или «субъект» представляет собой человека. В некоторых примерах «индивид» или «субъект» относится к индивиду или субъекту (например, человеку), нуждающемуся в лечении заболевания или расстройства. В некоторых вариантах осуществления «субъект», если иное не указано или не подразумевается

контекстом, относится к человеку, отличному от человека примату или млекопитающему, имеющему гиперпролиферативное, воспалительное или иммунное расстройство или другое расстройство, обусловленное аномальными клетками, или предрасположен к такому расстройству, для которого было бы полезно введение эффективного количества конъюгата лиганд-лекарственный препарат. Неограничивающие примеры субъекта включают человека, крысу, мышь, морскую свинку, обезьяну, свинью, козу, корову, лошадь, собаку, кошку, птицу и курицу. Как правило, субъект представляет собой человека, отличного от человека примата, крысу, мышь или собаку.

[0311] «Носитель», если иное не указано или не подразумевается контекстом, относится к разбавителю, адъюванту или эксципиенту, с которым вводят соединение. Такие фармацевтические носители могут представлять собой жидкости, такие как вода и масла, включая масла нефтяного, животного, растительного или синтетического происхождения, такие как арахисовое масло, соевое масло, минеральное масло, кунжутное масло. Носители могут представлять собой солевой раствор, аравийскую камедь, желатин, крахмальную пасту, тальк, кератин, коллоидный диоксид кремния, мочевину. Кроме того, можно использовать вспомогательные, стабилизирующие, загущающие, смазывающие агенты и красители. В одном варианте осуществления при введении субъекту соединения или композиции и фармацевтически приемлемые носители являются стерильными. Вода является типовым носителем, когда соединения вводят внутривенно. В качестве жидких носителей, в частности, для инъекционных растворов также можно использовать солевые растворы и водные растворы декстрозы и глицерина. Подходящие фармацевтические носители также включают эксципиенты, такие как крахмал, глюкоза, лактоза, сахароза, желатин, солод, рис, мука, мел, силикагель, стеарат натрия, моностеарат глицерина, тальк, хлорид натрия, сухое обезжиренное молоко, глицерин, пропилен, гликоль, вода и этанол. Представленные композиции, при необходимости, могут также содержать незначительные количества смачивающих или эмульгирующих агентов или pH-буферных агентов.

[0312] В контексте данного документа, если иное не указано или не подразумевается контекстом, «солевая форма» относится к заряженному соединению в ионной ассоциации с противокатионами и/или противоанионами с образованием в целом нейтральной молекулы. В некоторых аспектах солевая форма соединения возникает в результате взаимодействия основной или кислотной функциональной группы исходного соединения с внешними кислотой или основанием, соответственно. В других аспектах заряженный атом соединения, который связан с противоанионом, является перманентным в смысле, что спонтанная диссоциация до нейтральной молекулы не может возникать без изменения структурной целостности исходного соединения, как когда атом азота является кватернизированным. Соответственно, солевая форма соединения может включать кватернизированный атом азота в этом соединении, и/или протонированную форму основной функциональной группы, и/или ионизированную карбоновую кислоту этого соединения, которые все находятся в ионной ассоциации с противоанионом.

[0313] В некоторых аспектах солевая форма может возникать в результате взаимодействия основной функциональной группы и ионизированной кислотной функциональной группы в рамках одного соединения или подразумевать включение отрицательно заряженной молекулы, такой как ацетат-ион, сукцинат-ион или другой противоанион. Таким образом, соединение в солевой форме может иметь более одного заряженного атома в своей структуре. В случаях, когда несколько заряженных атомов исходного соединения являются частью солевой формы, эта солевая форма может иметь несколько противоионов так, что солевая форма соединения может иметь один или более заряженных атомов и/или один или более противоионов. Противоион может быть любым заряженным органическим или неорганическим фрагментом, который стабилизирует противоположный заряд исходного соединения.

[0314] Протонированную солевую форму соединения, как правило, получают, когда основная функциональная группа соединения, такая как первичный, вторичный или третичный амин или другая основная аминная функциональная группа, взаимодействует с органической или неорганической кислотой с подходящей pKa для протонирования основной функциональной группы, или когда кислотная функциональная группа соединения с подходящей pK_a, такая как карбоновая кислота, взаимодействует с гидроксидной солью, такой как NaOH или KOH, или органическим основанием подходящей силы, таким как триэтиламин, для депротонирования кислотной функциональной группы. В некоторых аспектах соединение в солевой форме содержит по меньшей мере одну аминную функциональную группу и, соответственно, кислотно-аддитивные соли могут быть образованы с этой аминной группой, которая включает основную аминную функциональную группу циклического или ациклического основного звена. Подходящая солевая форма в контексте соединения лекарственный препарат-линкер является той, которая не препятствует реакции конденсации между нацеливающим агентом и соединением лекарственный препарат-линкер, которая обеспечивает конъюгат лиганд-лекарственный препарат.

[0315] В контексте данного документа, если иное не указано или не подразумевается контекстом, «фармацевтически приемлемая соль» относится к солевой форме соединения, в которой противоион является приемлемым для введения солевой формы предполагаемому субъекту и включает неорганические и органические противокатионы и противоанионы. Типовые фармацевтически приемлемые противоионы для основных аминных функциональных групп, таких как в циклических или ациклических основных звеньях, включают, но не ограничиваются этим, такие соли, как сульфат, цитрат, ацетат, оксалат, хлорид, бромид, йодид, нитрат, бисульфат, фосфат, кислый фосфат, изоникотинат, лактат, салицилат, кислый цитрат, тартрат, олеат, таннат, пантотенат, битартрат, аскорбат, сукцинат, малеат, мезилат, безилат, гентизинат, фумарат, глюконат, глюкуронат, сахарат, формиат, бензоат, глутамат, метансульфонат, этансульфонат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат и памоат (т. е. 1,1'-метилен-бис-(2-гидрокси-3-нафтоат)).

[0316] Как правило, фармацевтически приемлемая соль выбрана из описанных в P. H. Stahl and C. G. Wermuth, editors, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, Weinheim/Zürich:Wiley-VCH/VHCA, 2002. Выбор соли зависит от свойств, которые должен проявлять лекарственный продукт, включая адекватную растворимость в воде при разных значениях pH, в зависимости от предполагаемого(ых) пути(ей) введения, кристалличности с характеристиками текучести и низкой гигроскопичностью (т. е. поглощения воды в зависимости от относительной влажности), подходящими для обработки и необходимого срока годности по определению химической и твердофазной стабильности, например в лиофилизированном составе в ускоренных условиях (т. е. для определения распада или твердофазных изменений при хранении при 40 °C и относительной влажности 75%).

[0317] В некоторых вариантах осуществления в контексте данного документа выражение «фармацевтически приемлемая соль» относится к фармацевтически приемлемым органическим или неорганическим солям соединения по изобретению. Типовые соли включают, но не ограничиваются этим, такие соли, как сульфат, цитрат, ацетат, оксалат, хлорид, бромид, йодид, нитрат, бисульфат, фосфат, кислый фосфат, изоникотинат, лактат, салицилат, кислый цитрат, тартрат, олеат, таннат, пантотенат, битартрат, аскорбат, сукцинат, малеат, гентизинат, фумарат, глюконат, глюкуронат, сахарат, формиат, бензоат, глутамат, метансульфонат «мезилат», этансульфонат, бензолсульфонат, п-толуолсульфонат, памоат (т. е. 4,4'-метилен-бис-(2-гидрокси-3-нафтаноат)), соли щелочных металлов (например, натрия и калия), соли щелочноземельных металлов (например, магния) и соли аммония. Фармацевтически приемлемая соль может подразумевать включение другой молекулы, такой как ацетатный ион, сукцинатный ион или другой противоион. Противоион может быть любым органическим или неорганическим фрагментом, который стабилизирует заряд исходного соединения. Кроме того, фармацевтически приемлемая соль может иметь более одного заряженного атома в своей структуре. В случаях, когда несколько заряженных атомов являются частью фармацевтически приемлемой соли, может присутствовать несколько противоионов. Следовательно, фармацевтически приемлемая соль может иметь один или более заряженных атомов и/или один или более противоионов.

[0318] «Ингибировать», «ингибирование» и подобные термины, если иное не указано или не подразумевается контекстом, означают уменьшение на измеримое количество или полное предотвращение нежелательных активности или результата. В некоторых аспектах нежелательные результат или активность связаны с аномальными клетками и включают гиперпролиферацию или гиперстимуляцию или другую нерегулируемую клеточную активность, лежащую в основе болезненного состояния. Ингибирование такой нерегулируемой клеточной активности конъюгатом лиганд-лекарственный препарат, как правило, определяют относительно необработанных клеток (ложно-обработанных носителем) в подходящей тест-системе, например в клеточной культуре (in vitro) или в ксенотрансплантатной модели (in vivo). Как правило, конъюгат

лиганд-лекарственный препарат, нацеленный на антиген, который отсутствует или характеризуется низким числом копий на представляющих интерес аномальных клетках, или является генетически сконструированным так, чтобы не распознавать любой известный антиген, используют в качестве отрицательного контроля.

[0319] «Лечить», «лечение» и подобные термины, если иное не указано или не подразумевается контекстом, относятся к терапевтическому лечению, включая профилактические меры для предотвращения рецидива, при этом целью является ингибирование или замедление (уменьшение) нежелательного физиологического изменения или расстройства, такого как развитие или распространение рака или тканевого повреждения вследствие хронического воспаления. Как правило, благоприятные или необходимые клинические эффекты такого терапевтического лечения включают, но не ограничиваются этим, облегчение симптомов, уменьшение степени заболевания, стабилизацию (т. е. отсутствие ухудшения) состояния заболевания, задержку или замедление прогрессирования заболевания, облегчение или смягчение состояния заболевания и ремиссию (частичную или полную), обнаруживаемую или необнаруживаемую. «Лечение» также может означать продление выживаемости или улучшение качества жизни по сравнению с ожидаемыми выживаемостью или качеством жизни в отсутствие лечения. Нуждающиеся в лечении включают тех, кто уже имеет состояние или расстройство, а также тех, кто склонен к развитию состоянию или расстройства.

[0320] В контексте данного документа в некоторых вариантах осуществления «лечение» представляет собой подход для обеспечения благоприятных или необходимых клинических результатов. В контексте данного документа «лечение» включает любое введение или применение терапевтического средства против заболевания у млекопитающего, включая человека. Благоприятные или необходимые клинические результаты включают, но не ограничиваются этим, одно или более из: облегчения одного или более симптомов, уменьшения степени заболевания, предотвращения или замедления распространения (например, метастазирования, например метастазирования в легкие или лимфатические узлы) заболевания, предотвращения или замедления повторного появления заболевания, задержки или замедления прогрессирования заболевания, облегчения состояния заболевания, ингибирования заболевания или прогрессирования заболевания, ингибирования или замедления заболевания или его прогрессирования, прекращения развития и ремиссии (частичной или полной). Термин «лечение» также включает уменьшение патологических последствий пролиферативного заболевания.

[0321] В контексте рака термин «лечение» включает любое или все из: ингибирования роста раковых клеток, ингибирования репликации раковых клеток, уменьшения числа раковых клеток, уменьшения скорости инфильтрации раковых клеток в периферические органы, уменьшения скорости или степени метастазирования опухоли, уменьшения общей опухолевой нагрузки и облегчения одного или более симптомов, связанных с раком.

[0322] В контексте рака термин «лечение» включает любое или все из ингибирования роста опухолевых клеток, раковых клеток или опухоли; ингибирования репликации опухолевых клеток или раковых клеток, ингибирования распространения опухолевых клеток или раковых клеток, уменьшения общей опухолевой нагрузки или уменьшения числа злокачественных клеток или облегчения одного или более симптомов, связанных с раком. В контексте данного документа, если иное не указано или не подразумевается контекстом, термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству свободного лекарственного препарата или конъюгата лиганд-лекарственный препарат, имеющего лекарственное звено, которое высвобождается в виде свободного лекарственного препарата, эффективному для лечения заболевания или расстройства у млекопитающего. В случае рака терапевтически эффективное количество свободного лекарственного препарата или конъюгата лиганд-лекарственный препарат может уменьшать число раковых клеток; уменьшать размер опухоли, ингибировать (т. е. в некоторой степени замедлять и предпочтительно останавливать) инфильтрацию раковых клеток в периферические органы, ингибировать (т. е. в некоторой степени замедлять и предпочтительно останавливать) метастазирование опухоли, в некоторой степени ингибировать рост опухоли и/или в некоторой степени облегчать один или более симптомов, связанных с раком. В зависимости от степени, в которой свободный лекарственный препарат или конъюгат лиганд-лекарственный препарат может ингибировать рост и/или уничтожать существующие раковые клетки, он может быть цитостатическим или цитотоксическим. В случае терапии рака эффективность можно, например, измерять путем оценки времени до прогрессирования заболевания (ВДП), определения частоты ответа (ЧО) и/или общей выживаемости (ОВ).

[0323] В случае иммунных расстройств в результате гиперстимуляции иммунных клеток терапевтически эффективное количество лекарственного препарата может уменьшать число гиперстимулированных иммунных клеток, степень их стимуляции и/или инфильтрации в нормальную ткань, и/или в некоторой степени облегчать один или более симптомов, связанных с нарушение регуляции иммунной системы в связи с гиперстимулированными иммунными клетками. В случае иммунных расстройств, связанных с гиперстимулированными иммунными клетками, эффективность можно, например, измерять путем оценки одного или более воспалительных суррогатов, включая уровни одного или более цитокинов, таких как IL-1β, TNFα, INFγ и MCP-1, или число классически активированных макрофагов.

[0324] В некоторых аспектах изобретения соединение конъюгата лиганд-лекарственный препарат связывается с антигеном на поверхности целевой клетки (т. е. аномальной клетки, такой как гиперпролиферирующая клетка или гиперстимулированная иммунная клетка), после чего соединение конъюгата поглощается целевой клеткой посредством рецептор-опосредованного эндоцитоза. После попадания в клетку одно или более звеньев расщепления в линкерном звене конъюгата расщепляются, что приводит к высвобождению лекарственного звена (D) в виде свободного лекарственного препарата.

Затем высвобожденный таким образом лекарственный препарат способен перемещаться в цитозоле и индуцировать цитотоксическую или цитостатическую активность или, в случае гиперстимулированных иммунных клеток, может в альтернативном варианте ингибировать передачу провоспалительного сигнала. В другом аспекте изобретения лекарственное звено (D) высвобождается из соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат за пределами целевой клетки, но вблизи целевой клетки, так что свободный лекарственный препарат в результате этого высвобождения локализован в необходимом участке действия и способен впоследствии проникать в клетку, а не преждевременно высвобождаться в удаленных участках.

[0325] Как описано в данном документе, любой диапазон концентраций, процентный диапазон, диапазон соотношений или целочисленный диапазон следует понимать как включающий значение любого целого числа в указанном диапазоне и, при необходимости, его дробных частей (например, одной десятой и одной сотой части целого числа), если не указано иное.

[0326] Когда в данном документе используется торговое наименование, ссылка на торговое наименование также относится к составу продукта, воспроизведенному лекарственному препарату и активным фармацевтическим ингредиентам продукта под торговым наименованием, если в контексте не указано иное.

[0327] Термины GPNMB, гликопротеиновый протеин B неметастатической меланомы, гликопротеин NMB и PLCA3 взаимозаменяемо используются в данном документе и, если не указано иное, включают любые встречающиеся в природе варианты (например, сплайс-варианты, аллельные варианты), изоформы и гомологи GPNMB человека от других видов позвоночных. Этот термин охватывает «полноразмерный» непроцессированный GPNMB, а также любую форму GPNMB, которая является результатом процессинга а клетке. Аминокислотная последовательность типового GPNMB человека приведена в Uniprot № Q14956.

[0328] Термины CD228, меланотрансферрин, MELTF, p97 и MF12 взаимозаменяемо используются в данном документе и, если не указано иное, включают любые встречающиеся в природе варианты (например, сплайс-варианты, аллельные варианты), изоформы и гомологи CD228 человека от других видов позвоночных. Этот термин охватывает «полноразмерный» непроцессированный CD228, а также любую форму CD228, которая является результатом процессинга а клетке. Аминокислотная последовательность типового CD228 человека приведена в Uniprot № P08582.

[0329] Термины «αvβ6», «avb6», «альфа-v бета-6» или «β6» взаимозаменяемо используются в данном документе и, если не указано иное, включают любые встречающиеся в природе варианты (например, сплайс-варианты, аллельные варианты), изоформы и гомологи αvβ6 человека от других видов позвоночных. Этот термин охватывает «полноразмерный» непроцессированный αvβ6, а также любую форму αvβ6, которая является результатом процессинга а клетке. Типовая последовательность β6 человека приведена под номером доступа GenBank AAA36122**.** Типовая

последовательность αv человека приведена в NCBI NP_002201.1.

[0330] Термины CD30, член 8 суперсемейства рецепторов TNF, TNFRSF8 и D1S166E взаимозаменяемо используются в данном документе и, если не указано иное, включают любые встречающиеся в природе варианты (например, сплайс-варианты, аллельные варианты), изоформы и гомологи CD30 человека от других видов позвоночных. Этот термин охватывает «полноразмерный» непроцессированный CD30, а также любую форму CD30, которая является результатом процессинга а клетке. Аминокислотная последовательность типового CD30 человека приведена в Uniprot № P28908 (TNR8_HUMAN). Аминокислотная последовательность одного конкретного примера зрелого белка CD30 человека приведена в NP_001234.3.

[0331] Термины LIV1, LIV-1, LIV 1, BCR4, BCR 4, BCR-4, ZIP6, ZIP-6, ZIP 6 или SLC39A6 взаимозаменяемо используются в данном документе и, если не указано иное, включают любые встречающиеся в природе варианты (например, сплайс-варианты, аллельные варианты), изоформы и гомологи LIV1 человека от других видов позвоночных. Этот термин охватывает «полноразмерный» непроцессированный LIV1, а также любую форму LIV1, которая является результатом процессинга а клетке. Аминокислотная последовательность типового LIV1 человека приведена в Uniprot № Q13433. Аминокислотная последовательность одного конкретного примера зрелого белка LIV1 человека приведена в SEQ ID NO: 931. Термины CD19, поверхностный антиген B4 B-лимфоцитов и CVID3 взаимозаменяемо используются в данном документе и, если не указано иное, включают любые встречающиеся в природе варианты (например, сплайс-варианты, аллельные варианты), изоформы и гомологи CD19 человека от других видов позвоночных. Этот термин охватывает «полноразмерный» непроцессированный CD19, а также любую форму CD19, которая является результатом процессинга а клетке. Аминокислотная последовательность типового CD19 человека приведена в Uniprot № Q71UW0.

[0332] В контексте данного документа «антигенсвязывающий белок» («ABP») означает любой белок, который связывает конкретный целевой антиген, отличный от встречающихся в природе когнатных лигандов или фрагментов таких лигандов, которые связывают конкретный антиген. В некоторых вариантах осуществления настоящей заявки конкретный целевой антиген представляет собой GPNMB или фрагмент GPNMB. В некоторых вариантах осуществления настоящей заявки конкретный целевой антиген представляет собой CD228 или фрагмент CD228. В некоторых вариантах осуществления настоящей заявки конкретный целевой антиген представляет собой αvβ6 или фрагмент αvβ6. В некоторых вариантах осуществления настоящей заявки конкретный целевой антиген представляет собой CD30 или фрагмент CD30. В некоторых вариантах осуществления настоящей заявки конкретный целевой антиген представляет собой LIV1 или фрагмент LIV1. В некоторых вариантах осуществления настоящей заявки конкретный целевой антиген представляет собой CD19 или фрагмент CD19. αvβ6αvβ6An-«антигенсвязывающий белок» включает белки, которые содержат по меньшей мере одну

антигенсвязывающую область или домен (например, по меньшей мере одну гипервариабельную область (HVR) или определяющую комплементарность область (CDR) по определению в данном документе). В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит остов, такой как полипептид или полипептиды, в который внедрены и/или к которому присоединены одна или более (например, 1, 2, 3, 4, 5 или 6) HVR или CDR, как описано в данном документе. В некоторых антигенсвязывающих белках HVR или CDR внедрены в «каркасную» область, которая ориентирует HVR или CDR так, чтобы обеспечить надлежащие антигенсвязывающие свойства CDR. В случае некоторых антигенсвязывающих белков остовом являются тяжелая и/или легкая цепь(и) иммуноглобулина из антитела или его фрагмента. дополнительные примеры остовов включают, но не ограничиваются этим, фибронектин человека (например, 10-ый внеклеточный домен фибронектина человека III), неокарциностатин CBM4-2, антикалины, полученные из липокалинов, сконструированные домены анкириновых повторов (DARPin), домен протеина-A (протеин Z), домены Кунитца, Im9, белки TPR, цинк-пальцевые домены, pVIII, GC4, трансферрин, B-домен SPA, Sac7d, A-домен, домен SH3 Fyn-киназы и лектин-подобные домены C-типа (смотрите, например., Gebauer and Skerra (2009) Curr. Opin. Chem. Biol., 13:245-255; Binz et al. (2005) Nat. Biotech. 23:1257-1268; и Yu et al. (2017) Annu Rev Anal Chem 10:293-320, которые все в полном объеме включены в данный документ посредством ссылки). Соответственно, антигенсвязывающие белки включают, но не ограничиваются этим, моноклональные антитела, биспецифические антитела, минитела, доменные антитела, такие как нанотела®, синтетические антитела (иногда называемые в данном документе «миметиками антител»), химерные антитела, гуманизированные антитела, человеческие антитела, слияния антител и их части и фрагменты, соответственно. В некоторых случаях антигенсвязывающий белок представляет собой функциональный фрагмент полного антитела (например, Fab, Fab', $F(ab')_2$, scFv, доменное антитело или минитело). Пептитела представляют собой другой пример антигенсвязывающих белков. В некоторых вариантах осуществления термин «антигенсвязывающий белок» включает производные, например, антигенсвязывающий белок, который был химически модифицирован, например, антигенсвязывающий белок, который связан с другим агентом, таким как метка или цитотоксический или цитостатический агент (например, конъюгат антигенсвязывающего белка, такой как конъюгат антитело - лекарственный препарат).

[0333] «Антигенсвязывающий фрагмент» (или просто «фрагмент») или «антигенсвязывающий домен» антигенсвязывающего белка (например антитела) в контексте данного документа относится к одному или более фрагментам антигенсвязывающего белка (например, антитела) вне зависимости от того, как они получены или синтезированы, которые сохраняют способность специфически связываться с антигеном, связываемым целым антигенсвязывающим белком. Примеры фрагментов антител включают Fv; Fab; Fab'; Fab'-SH; $F(ab')_2$; диатела; линейные антитела; молекулы одноцепочечных антител (например, scFv); и мультиспецифические антитела,

образованные из фрагментов антител. Фрагмент «Fv» включает нековалентно связанный димер одного вариабельного домена тяжелой цепи и одного вариабельного домена легкой цепи. Фрагмент «Fab» включает константный домен легкой цепи и первый константный домен (C_{H1}) тяжелой цепи, помимо вариабельных доменов тяжелой и легкой цепи фрагмента Fv. Фрагмент «$F(ab')_2$» включает два фрагмента Fab соединенных вблизи шарнирной области дисульфидными связями.

[0334] Термины «полипептид» и «белок» используются взаимозаменяемо для обозначения полимера из аминокислотных остатков и не ограничены минимальной длиной. Такие полимеры из аминокислотных остатков могут содержать не встречающиеся в природе аминокислотные остатки и включают, но не ограничиваются этим, димеры, тримеры, пептиды, олигопептиды и мультимеры аминокислотных остатков. В это определение включены как полноразмерные белки, так и их фрагменты. Эти термины также включают пост-экспрессионные модификации полипептида, например, гликозилирование, сиалилирование, ацетилирование, фосфорилирование и т. п. Термин «полипептид» также относится к белку, который содержит модификации, такие как делеции, добавления и замены (в общем случае консервативные по природе) в нативной последовательности при условии, что белок сохраняет необходимую активность. Термины «полипептид» и «белок» охватывают антигенсвязывающие белки GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 и CD19, включая антитела, фрагменты антител или последовательности, имеющие делеции, добавления и/или замены одной или более аминокислот антигенсвязывающего белка.

[0335] Полипептид с «нативной последовательностью» или «встречающийся в природе» полипептид включает полипептид, имеющий такую же аминокислотную последовательность, что и полипептид, встречающийся в природе. Таким образом, полипептид с нативной последовательностью может иметь аминокислотную последовательность встречающегося в природе полипептида от любого млекопитающего. Такой полипептид с нативной последовательностью можно выделять из природного источника или получать рекомбинантным или синтетическим путем. Термин полипептид с «нативной последовательностью» явным образом включает встречающиеся в природе усеченные или секретируемые формы (например, последовательность внеклеточного домена), встречающиеся в природе вариантные формы (например, формы с альтернативным сплайсингом) и встречающиеся в природе аллельные варианты полипептида.

[0336] «Вариант» полипептида означает биологически активный полипептид (например, антигенсвязывающий белок или антитело), имеющий по меньшей мере около 70%, 80% или 90% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом с нативной или эталонной последовательностью после выравнивания последовательностей и внесения, при необходимости, гэпов для достижения максимального процента идентичности последовательностей и без учета любых консервативных замен как части идентичности последовательности. Такие варианты включают, например, полипептиды, в

которых один или более аминокислотных остатков добавлены или удалены на N- или C-конце полипептида. В некоторых вариантах осуществления вариант имеет по меньшей мере около 80% идентичности аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления вариант имеет по меньшей мере около 90% идентичности аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления вариант имеет по меньшей мере около 95% идентичности аминокислотной последовательности с полипептидом с нативной последовательностью.

[0337] В контексте данного документа термин «процент (%) идентичности и гомологии аминокислотной последовательности» в отношении последовательности пептида, полипептида или антигенсвязывающего белка (например, антитела) определяется как процент аминокислотных остатков в последовательности-кандидате, которые идентичны аминокислотным остаткам в конкретной пептидной или полипептидной последовательности после выравнивания последовательностей и внесения, при необходимости, гэпов для достижения максимального процента идентичности последовательностей и без учета каких-либо консервативных замен как части идентичности последовательностей. Выравнивание в целях определения процента идентичности аминокислотных последовательностей можно осуществлять различными способами, известными специалисту в данной области техники, например, с помощью общедоступного программного обеспечения, такого как BLAST, BLAST-2, ALIGN или MEGALIGN™ (DNASTAR). Специалисты в данной области техники могут определить соответствующие параметры для измерения выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для обеспечения максимального выравнивания по всей длине сравниваемых последовательностей. Например, % идентичности последовательности заданной аминокислотной последовательности A относительно, с или по сравнению с заданной аминокислотной последовательностью B (что в альтернативном варианте можно сформулировать как заданная аминокислотная последовательность A, которая имеет или содержит определенный % идентичности последовательности относительно, с или по сравнению с заданной аминокислотной последовательности B) рассчитывают следующим образом:

100 умножить на отношение X/Y,

где X представляет число аминокислотных остатков, засчитанных как идентичные совпадения по последовательности в программном выравнивании A и B, и где Y представляет общее число аминокислотных остатков в B. Если не указано иное, все значения % идентичности аминокислотных последовательностей, используемые в данном документе, рассчитаны в соответствии с этой формулой с использованием компьютерной программы ALIGN-2. следует понимать, что если длина аминокислотной последовательности A не равна длине аминокислотной последовательности B, % идентичности последовательности A к B не будет равен % идентичности последовательности B к A.

[0338] Термин «лидерная последовательность» относится к последовательности

аминокислотных остатков, расположенных на N-конце полипептида, которая облегчает секрецию полипептида из клетки млекопитающего. Лидерная последовательность может отщепляться при экспорте полипептида из клетки млекопитающего с образованием зрелого белка. Лидерные последовательности могут быть природными или синтетическими, и могут быть гетерологичными или гомологичными белку, к которому они присоединены.

[0339] Термин «иммуноглобулин» относится к классу структурно родственных гликопротеинов, состоящих из двух пар полипептидных цепей, одной пары легких (L) низкомолекулярных цепей и одной пары тяжелых (H) цепей, причем все четыре цепи связаны между собой дисульфидными связями. Структура иммуноглобулинов хорошо изучена. Смотрите, например, Fundamental Immunology (Paul, W., ed., 7th ed. Raven Press, N.Y. (2013)). Вкратце, каждая тяжелая цепь, как правило, состоит из вариабельной области тяжелой цепи (сокращенно обозначаемой в данном документе как V_H или VH) и константной области тяжелой цепи (C_H или CH). Константная область тяжелой цепи, как правило, состоит из трех доменов, C_H1, C_H2 и C_H3. Тяжелые цепи в общем случае связаны между собой дисульфидными связями в так называемой «шарнирной области». Каждая легкая цепь, как правило, состоит из вариабельной области легкой цепи (сокращенно обозначаемой в данном документе как V_L или VL) и константной области легкой цепи (C_L или CL). Константная область легкой цепи, как правило, состоит из одного домена C_L. CL может относиться к изотипу κ (каппа) или λ (лямбда). Термины «константный домен» и «константная область» взаимозаменяемо используются в данном документе. Иммуноглобулин может относиться к любому из общеизвестных изотипов, включая, но не ограничиваясь этим, IgA, секреторный IgA, IgG и IgM. Подклассы IgG также хорошо известны специалистам в данной области и включают, но не ограничиваются этим, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4 человека. «Изотип» относится к классу или подклассу антител (например, IgM или IgG1), который кодируется генами константной области тяжелой цепи.

[0340] В контексте данного документа термин «гипервариабельная область» или «HVR» относится к каждой из областей вариабельного домена антитела, которые являются гипервариабельными по последовательности. HVR могут образовывать структурно определенные петли («гипервариабельные петли»). В общем случае нативные четырехцепочечные антитела содержат шесть HVR; три в VH (H1, H2, H3) и три в VL (L1, L2, L3). В нативных антителах H3 и L3 демонстрируют наибольшее разнообразие из шести HVR, и в частности, считается, что H3 играет уникальную роль в придании высокой специфичности антителам. Смотрите, например, Xu et al., Immunity 13:37-45 (2000); Johnson and Wu, в Methods in Molecular Biology 248:1 -25 (Lo, ed., Human Press, Totowa, NJ, 2003). Действительно, встречающиеся в природе антитела верблюдовых, состоящие только из тяжелой цепи, являются функциональными и стабильными в отсутствие легкой цепи. Смотрите, например, Hamers-Casterman et al., Nature 363:446-448 (1993); Sheriff et al., Nature Struct. Biol. 3:733-736 (1996).

[0341] HVR в общем случае содержат аминокислотные остатки из гипервариабельных петель и/или из «определяющих комплементарность областей» (CDR), причем CDR характеризуются наибольшей вариабельностью последовательности и/или участвуют в распознавании антигенов. В данной области техники известен ряд схем для определения границ заданной CDR. Например, определяющие комплементарность области (CDR) по Kabat основаны на вариабельности последовательности и используются наиболее часто (Kabat et at., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, MD. (1991)). В отличие от этого, нумерация по Chothia основана на расположении структурных петель (Chothia and Lesk, J. Mol. Biol. 196:901-917 (1987)). CDR по AbM представляют собой компромиссный вариант между CDR по Kabat и структурными петлями по Chothia, и используются в программном обеспечении для моделирования антител AbM от Oxford Molecular. CDR по «Contact» основаны на анализе доступных кристаллических структур комплексов. Дополнительные подробности в отношении вышеуказанных схем, а также другие системы нумерации приведены в следующих ссылках: Al-Lazikani et al., (1997) J. Mol. Biol. 273: 927-948 (схема нумерации «Chothia»); MacCallum et al., (1996) J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996), (схема нумерации «Contact»); Lefranc M-P., et al., (2003) Dev. Comp. Immunol. 27:55-77 (схема нумерации «IMGT»); и Honegger A. & Pluckthun A. (2001) J. Mol/ Biol. 309:657-70, (схема нумерации AHo).

[0342] В некоторых вариантах осуществления области HVR и связанные с ними последовательности являются такими же, как и области CDR и связанные с ними последовательности, на основании одной из вышеуказанных схем нумерации. Поэтому остатки для типовых HVR и/или CDR приведены в таблице A ниже.

Таблица A: Общая информация по разным схемам нумерации CDR

Петля	IMGT	Kabat	AbM	Chothia	Contact
CDR-H1	27-38	31-35	26-35	26-32	30-35
CDR-H2	56-65	50-65	50-58	52-56	47-58
CDR-H3	105-117	95-102	95-102	95-102	93-101
CDR-L1	27-38	24-34	24-34	24-34	30-36
CDR-L2	56-65	50-56	50-56	50-56	46-55
CDR-L3	105-117	89-97	89-97	89-97	89-96

[0343] В некоторых вариантах осуществления HVR могут включать расширенные HVR следующим образом: 24-36 или 24-34 (L1), 46-56 или 50-56 (L2) и 89-97 или 89-96 (L3) в VL, и 26-35 (H1), 50-65 или 49-65 (H2) и 93-102, 94-102 или 95-102 (H3) в VH. Остатки вариабельного домена пронумерованы согласно Kabat et al., выше, для каждого из этих определений.

[0344] Если не указано иное, термины «CDR» и «определяющая комплементарность область» заданного антитела или его области, такой как вариабельная область, а также отдельные CDR (например, CDR-H1, CDR-H2) антитела или его области

следует понимать как включающие определяющую комплементарность область по определению по любой из известных схем, описанных выше в данном документе. В некоторых случаях указана схема идентификации конкретной CDR или конкретных CDR, например CDR по определению IMGT, Kabat, AbM, Chothia или Contact. В других случаях приведена конкретная аминокислотная последовательность CDR.

[0345] Таким образом, в некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит CDR и/или HVR по определению по системе IMGT. В других вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит CDR или HVR по определению по системе Kabat. В других вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит CDR или HVR по определению по системе AbM. В дополнительных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит CDR или HVR по определению по системе Chothia. В других вариантах осуществления антигенсвязывающий белок содержит CDR или HVR по определению по системе IMGT.

[0346] Термин «вариабельная область» или «вариабельный домен» относится к домену тяжелой или легкой цепи антигенсвязывающего белка (например, антитела), который участвует в связывании антигенсвязывающего белка (например, антитела) с антигеном. Вариабельные области или домены тяжелой и легкой цепи (VH и VL, соответственно) антигенсвязывающего белка, такого как антитело, можно дополнительно разделить на области гипервариабельности (или гипервариабельные области, которые могут быть гипервариабельными по последовательности и/или образованными из структурно определенных петель), такие как гипервариабельные области (HVR) или определяющие комплементарность области (CDR), перемежающиеся областями, являющимися более консервативными, называемыми каркасными областями (FR). В общем случае существует по три HVR (HVR-H1, HVR-H2, HVR-H3) или CDR (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3) в каждой вариабельной области тяжелой цепи и по три HVR (HVR-L1, HVR-L2, HVR-L3) или CDR (CDR-L1, CDR-L2, CDR-L3) в каждой вариабельной области легкой цепи. «Каркасные области» или «FR» известны в данной области техники и относятся к отличным от HVR или CDR частям вариабельных областей тяжелой и легкой цепей. В общем случае существует четыре FR в каждой полноразмерной вариабельной области тяжелой цепи (FR-H1, FR-H2, FR-H3 и FR-H4) и четыре FR в каждой полноразмерной вариабельной области легкой цепи (FR-L1, FR-L2, FR-L3 и FR-L4). В каждой VH и VL три HVR или CDR и четыре FR, как правило, упорядочены от амино-конца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, HVR1, FR2, HVR2, FR3, HVR3, FR4 в случае HVR или FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4 в случае CDR (также смотрите Chothia and Lesk J. Mot. Biol., 195, 901-917 (1987)). Одного домена VH или VL может быть достаточно для придания антигенсвязывающей специфичности. Кроме того, антитела, которые связывают конкретный антиген, можно выделять, используя домен VH или VL из антитела, которое связывает антиген, для скрининга библиотеки комплементарных доменов VL или VH, соответственно. Смотрите, например, Portolano et al. J. Immunol. 150:880-887 (1993); Clarkson et al., Nature 352:624-628 (1991).

[0347] В контексте данного документа термин «вариабельная область тяжелой цепи» (VH) относится к области, содержащей HVR-H1, FR-H2, HVR-H2, FR-H3 и HVR-H3 тяжелой цепи. Например, вариабельная область тяжелой цепи может содержать CDR-H1, FR-H2, CDR-H2, FR-H3 и CDR-H3 тяжелой цепи. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область тяжелой цепи также содержит по меньшей мере часть FR-H1 и/или по меньшей мере часть FR-H4.

[0348] В контексте данного документа термин «константная область тяжелой цепи» относится к области, содержащей по меньшей мере три константных домена тяжелой цепи C_H1, C_H2 и C_H3. Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи включают γ, δ и α. Неограничивающие примеры константных областей тяжелой цепи также включают ε и μ. Каждая константная область тяжелой цепи соответствует изотипу антитела. Например, антитело, содержащее константную область γ, представляет собой антитело IgG, антитело, содержащее константную область δ, представляет собой антитело IgD, а антитело, содержащее константную область α, представляет собой антитело IgA. Кроме того, антитело, содержащее константную область μ, представляет собой антитело IgM, и антитело, содержащее константную область ε, представляет собой антитело IgE. Некоторые изотипы можно дополнительно подразделить на подклассы. Например, антитела IgG включают, но не ограничиваются этим, антитела IgG1 (содержащие константную область γ_1), IgG2 (содержащие константную область γ_2), IgG3 (содержащие константную область γ_3) и IgG4 (содержащие константную область γ_4); антитела IgA включают, но не ограничиваются этим, антитела IgA1 (содержащие константную область α_1) и антитела IgA2 (содержащие константную область α_2); и антитела IgM включают, но не ограничиваются этим, IgM1 и IgM2.

[0349] В контексте данного документа термин «тяжелая цепь» (HC) относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере вариабельную область тяжелой цепи, с лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит по меньшей мере часть константной области тяжелой цепи. В контексте данного документа термин «полноразмерная тяжелая цепь» относится к полипептиду, содержащему вариабельную область тяжелой цепи и константную область тяжелой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

[0350] В контексте данного документа термин «вариабельная область легкой цепи» (VL) относится к области, содержащей HVR-L1, FR-L2, HVR-L2, FR-L3 и HVR-L3 легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи содержит CDR-L1, FR-L2, CDR-L2, FR-L3 и CDR-L3 легкой цепи. В некоторых вариантах осуществления вариабельная область легкой цепи также содержит FR-L1 и/или FR-L4.

[0351] В контексте данного документа термин «константная область легкой цепи» относится к области, содержащей константный домен легкой цепи C_L. Неограничивающие примеры константных областей легкой цепи также включают λ и κ.

[0352] В контексте данного документа термин «легкая цепь» (LC) относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере вариабельную область легкой цепи, с

лидерной последовательностью или без нее. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь содержит по меньшей мере часть константной области легкой цепи. В контексте данного документа термин «полноразмерная легкая цепь» относится к полипептиду, содержащему вариабельную область легкой цепи и константную область легкой цепи, с лидерной последовательностью или без нее.

[0353] «Систему нумерации EU» или «индекс EU» в общем случае используют для обозначения остатка в константной области тяжелой цепи иммуноглобулина (например, индекс EU описан в Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991). «Индекс EU в соответствии с Kabat» относится к нумерации EU остатков человеческого антитела IgG1. Если не указано иное, ссылки на номера остатков в константном домене антител означают нумерацию остатков по системе нумерации EU.

[0354] В контексте данного документа «биспецифическое» антитело относится к антителу, имеющему специфичность связывания в отношении по меньшей мере двух разных антигенных эпитопов. В одном варианте осуществления эпитопы относятся к одному антигену. В другом варианте осуществления эпитопы относятся к разным антигенам. Способы получения биспецифических антител известны в данной области техники. Например, биспецифические антитела можно получать рекомбинантно, используя коэкспрессию двух пар тяжелая цепь/легкая цепь иммуноглобулина. Смотрите, например, Milstein et al., Nature 305:537-39 (1983). В альтернативном варианте биспецифические антитела можно получать, используя химическое связывание. Смотрите, например, Brennan, et al., Science 229:81 (1985). Биспецифические антитела включают фрагменты биспецифических антител. Смотрите, например, Hollinger, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90:6444-48 (1993), Gruber, et al., J. Immunol. 152:5368 (1994).

[0355] «Иммуноглобулин с двойным вариабельным доменом» или «DVD-Ig» относится к многовалентным и мультиспецифическим связывающим белкам, описанным, например, в DiGiammarino et al., Methods Mol. Biol. 899:145-156, 2012; Jakob et al., MABs 5:358-363, 2013; и патентах США №№ 7612181; 8258268; 8586714; 8716450; 8722855; 8735546; и 8822645, которые все в полном объеме включены посредством ссылки.

[0356] «Перенацеливающий белок с двойной аффинностью» или «DART» представляет собой форму биспецифического антитела, в котором вариабельный домен тяжелой цепи из одного антитела связан с вариабельным доменом легкой цепи другого с ассоциацией двух цепей, как описано, например, в Garber, Nature Reviews Drug Discovery 13:799-801, 2014.

[0357] «Привлекающий Т-клетки биспецифический активатор» или «BiTE®» представляет собой генетическое слияние двух фрагментов scFv, которое приводит к получению тандемных молекул scFv, как описано, например, в Baeuerle et al., Cancer Res. 69: 4941-4944, 2009.

[0358] В контексте данного документа термин «химерное антитело» относится к антителу, в котором фрагмент тяжелой и/или легкой цепи получен из конкретного

источника или вида, в то время как часть тяжелой и/или легкой цепи получены из другого источника или вида. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело относится к антителу, содержащему по меньшей мере одну вариабельную область от первого вида (такого как мышь, крыса, яванский макак и т. д.) и по меньшей мере одну константную область от второго вида (такого как человек, яванский макак и т. д.). В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну вариабельную область мыши и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых вариантах осуществления химерное антитело содержит по меньшей мере одну вариабельную область яванского макака и по меньшей мере одну константную область человека. В некоторых вариантах осуществления все вариабельные области химерного антитела относятся к первому виду, а все константные области химерного антитела относятся ко второму виду.

[0359] В контексте данного документа термин «гуманизированное антитело» относится к генетически сконструированному нечеловеческому антителу, которое содержит константные домены человеческого антитела и нечеловеческие вариабельные домены, модифицированные так, чтобы иметь высокий уровень гомологии последовательности с человеческими вариабельными доменами. Это можно обеспечить путем прививания шести определяющих комплементарность областей (CDR) нечеловеческого антитела в гомологичную человеческую акцепторную каркасную область (FR) (смотрите WO92/22653 и EP0629240). Чтобы полностью восстановить аффинность связывания и специфичность родительского антитела, может быть необходима замена остатков каркасной области из родительского антитела (т. е. нечеловеческого антитела) на человеческие каркасные области (обратные мутации). Моделирование структурной гомологии может помочь идентифицировать аминокислотные остатки в каркасных областях, которые важны для связывающих свойств антитела. Таким образом, гуманизированное антитело может содержать нечеловеческие последовательности CDR, преимущественно человеческие каркасные области, необязательно содержащие одну или более аминокислотных обратных мутаций на нечеловеческую аминокислотную последовательность, и полностью человеческие константные области. Необязательно, можно использовать дополнительные аминокислотные модификации, которые не обязательно являются обратными мутациями, чтобы получить гуманизированное антитело с предпочтительными характеристиками, такими как аффинность и биохимические свойства.

[0360] В контексте данного документа термин «человеческое антитело» относится к антителам, вырабатываемым у людей, антителам, вырабатываемым у отличных от человека животных, которые содержат гены иммуноглобулина человека, таких как XenoMouse®, и антителам, отобранным in vitro методами, такими как фаговый дисплей, при этом репертуар антител основан на человеческой последовательности иммуноглобулина. «Человеческое антитело» представляет собой антитело, имеющее вариабельные области, в которых как FR, так и CDR получены из последовательностей

иммуноглобулина человеческой зародышевой линии. Кроме того, если антитело содержит константную область, константная область также получена из последовательностей иммуноглобулина человеческой зародышевой линии. Человеческие антитела по изобретению могут содержать аминокислотные остатки, не кодируемые последовательностями иммуноглобулина человеческой зародышевой линии (например, мутации, внесенные за счет случайного или сайт-специфического мутагенеза in vitro или соматической мутации in vivo). При этом в контексте данного документа подразумевается, что термин «человеческое антитело» не включает антитела, в которых последовательности CDR получены из зародышевой линии других видов млекопитающих, таких как мышь, и привитые в человеческие каркасные последовательности. Термины «человеческие антитела» и «полностью человеческие антитела» используются как синонимы.

[0361] «Акцепторная человеческая каркасная область» в целях данного документа представляет собой каркасную область, содержащую аминокислотную последовательность каркасной области вариабельного домена легкой цепи (VL) или каркасной области вариабельного домена тяжелой цепи (VH), полученную из каркасной области человеческого иммуноглобулина или человеческой консенсусной каркасной области по определению ниже. Акцепторная человеческая каркасная область, полученная из каркасной области человеческого иммуноглобулина или человеческой консенсусной каркасной области, может содержать такую же аминокислотную последовательность, или она может содержать изменения в аминокислотной последовательности. В некоторых вариантах осуществления, число аминокислотных изменений составляет 10 или менее, 9 или менее, 8 или менее, 7 или менее, 6 или менее, 5 или менее, 4 или менее, 3 или менее или 2 или менее. В некоторых вариантах осуществления акцепторная человеческая каркасная область VL идентична по последовательности каркасной области VL человеческого иммуноглобулина человека или последовательности человеческой консенсусной каркасной области.

[0362] Антитело с «созревшей аффинностью» относится к антителу с одним или более изменениями в одной или более гипервариабельных областях (HVR) по сравнению с родительским антителом, которое не имеет таких изменений, при этом такие изменения приводят к повышению аффинности антитела в отношении антигена. В некоторых примерах антитело с «созревшей аффинностью» относится к антителу с одним или более изменениями в одной или более определяющих комплементарность областях (CDR) по сравнению с родительским антителом, которое не имеет таких изменений, при этом такие изменения приводят к повышению аффинности антитела в отношении антигена.

[0363] Термин «производное» относится к молекуле (например, антигенсвязывающему белку, такому как антитело или его фрагмент), которая содержит химическую модификацию, отличную от вставки, делеции или замены аминокислот (или нуклеиновых кислот). В некоторых вариантах осуществления производные содержат ковалентные модификации, включая, но не ограничиваясь этим, химическое связывание с

полимерами, липидами или другими органическими или неорганическими фрагментами. В определенных вариантах осуществления производное конкретного антигенсвязывающего белка может иметь больший период полужизни в циркуляции, чем антигенсвязывающий белок, который не был химически модифицирован. В некоторых вариантах осуществления производное может обладать улучшенной нацеливающей способностью в отношении необходимых клеток, тканей и/или органов. В некоторых вариантах осуществления производное антигенсвязывающего белка ковалентно модифицировано для включения одного или более полимеров, включая, но не ограничиваясь этим, монометокси-полиэтиленгликоль, декстран, целлюлозу или другие углеводные полимеры, поли-(N-винилпирролидон)-полиэтиленгликоль, гомополимеры пропиленгликоля, сополимер полипропиленоксид/этиленоксид, полиоксиэтилированные полиолы (например, глицерин) и поливиниловый спирт, а также смеси таких полимеров. Смотрите, например, патенты США №№ 4640835, 4496689, 4301144, 4670417, 4791192 и 4179337.

[0364] В контексте данного документа термин «эпитоп» относится к сайту на антигене (например, GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19), с которым связывается антигенсвязывающий белок (например, антитело или его фрагменты), который нацелен на антиген. Эпитопы часто состоят из а химически активных поверхностных групп молекул, таких как аминокислоты, боковые цепи сахаров, фосфорильные или сульфонильные группы, и имеют специфические трехмерные структурные характеристики, а также специфические зарядовые характеристики. Эпитопы могут быть образованы из смежных или несмежных аминокислот антигена, которые располагаются рядом за счет третичного сворачивания. Эпитопы, образованные из смежных остатков, как правило, сохраняются при воздействии денатурирующих растворителей, тогда как эпитопы, образованные за счет третичного сворачивания, обычно устраняются обработкой денатурирующими растворителями. В определенных вариантах осуществления эпитоп может включать, но не ограничивается этим, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7 аминокислот в уникальном пространственном упорядочении. В некоторых вариантах осуществления эпитоп относится к 3-5, 4-6 или 8-10 аминокислотам в уникальном пространственном упорядочении. В дополнительных вариантах осуществления длина эпитопа составляет менее чем 20 аминокислот, менее чем 15 аминокислот, менее чем 12 аминокислот, менее чем 10 аминокислот или менее чем 8 аминокислот. Эпитоп может содержать аминокислотные остатки, непосредственно участвующие в связывании (также называемые иммунодоминантным компонентом эпитопа), и другие аминокислотные остатки, которые непосредственно не участвуют в связывании, включая аминокислотные остатки, которые эффективно блокируются или охватываются антигенсвязывающей молекулой (т. е. аминокислоты находятся в пределах области узнавания антитела антигенсвязывающей молекулы). Способы определения пространственной конформации эпитопов включают, например, рентгеновскую

кристаллографию, двухмерный ядерный магнитный резонанс и HDX-MS (смотрите, например, Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66, G.E. Morris, Ed. (1996)). После определения необходимого эпитопа антигена можно создавать антигенсвязывающие белки (например, антитела или их фрагменты) к этому эпитопу, используя общепринятые технологии. Затем можно проводить скрининг полученных антигенсвязывающих белков в конкурентных анализах, чтобы идентифицировать антигенсвязывающие белки, которые связывают одинаковые или перекрывающиеся эпитопы. Способы сортировки антител на основе исследования перекрестной конкуренции описаны в WO 03/48731. Эпитопом для антитела hLIV22 является KGAHRPEH (SEQ ID NO: 942).

[0365] «Нелинейный эпитоп» или «конформационный эпитоп» содержит несмежные полипептиды, аминокислоты и/или сахара в пределах антигенного белка, с которым связывается антитело, специфическое к эпитопу.

[0366] «Линейный эпитоп» содержит смежные полипептиды, аминокислоты и/или сахара в пределах антигенного белка, с которым связывается антигенсвязывающий белок (например, антитело, или его фрагмент), специфический к эпитопу.

[0367] «Паратоп» или «антигенсвязывающий сайт» представляет собой сайт на антигенсвязывающем белке (например, антителе или его фрагменте), который связывает эпитоп и, как правило, содержит аминокислоты, которые оказываются в непосредственной близости к эпитопу после связывания антитела (смотрите, например, Sela-Culang et al., 2013, Front Immunol. 4:302).

[0368] Термин «конкурировать», при использовании в контексте антигенсвязывающих белков (например, антител или их фрагментов), которые конкурируют за один и тот же эпитоп, означает конкуренцию между антигенсвязывающими белками, определяемую в анализе, в котором исследуемый антигенсвязывающий белок (например, антитело или его фрагмент) (например, исследуемое антитело) предотвращает или ингибирует (частично или полностью) специфическое связывание эталонного антигенсвязывающего белка (например, эталонного антитела) с общим антигеном (например, GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19, или его фрагментом). Для определения, конкурирует ли один антигенсвязывающий белок с другим, можно использовать многочисленные типы анализов конкурентного связывания, включая различные биосенсорные подходы без использования меток, такие как анализ методом поверхностного плазмонного резонанса (ППР) (смотрите, например, Abdiche, et al., 2009, Anal. Biochem. 386:172-180; Abdiche, et al., 2012, J. Immunol Methods 382:101-116; и Abdiche, et al., 2014 PLoS One 9:e92451. Другие анализа, которые можно использовать, включают: твердофазный прямой или непрямой радиоиммуноанализ (РИА), твердофазный прямой или непрямой иммуноферментный анализ (ИФА), конкурентный сандвич-анализ (смотрите, например, Stahli et al., 1983, Methods in Enzymology 9:242-253); твердофазный прямой ИФА с биотином-авидином (смотрите, например, Kirkland et al., 1986, J. Immunol. 137:3614-3619),

твердофазный анализ с прямым мечением, твердофазный сандвич-анализ с прямым мечением (смотрите, например, Harlow and Lane, 1988, Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press); твердофазный прямой РИА с мечением меткой I-125 (смотрите, например, Morel et al., 1988, Mol. Immunol. 25:7-15); твердофазный прямой ИФА с биотином-авидином (смотрите, например, Cheung, et al., 1990, Virology 176:546-552); прямой РИА с мечением (Moldenhauer et al., 1990, Scand. J. Immunol. 32:77-82). Как правило, исследуемый антигенсвязывающий белок присутствует в избытке (например, по меньшей мере 2x, 5x, 10x, 20x или 100x). Обычно, когда конкурирующий антигенсвязывающий белок присутствует в избытке, он будет ингибировать специфическое связывание эталонного антигенсвязывающего белка с общим антигеном по меньшей мере на 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% или 100%. В случаях, когда каждый антигенсвязывающий белок (например, антитело или его фрагмент) выявляемо ингибирует связывание другого антигенсвязывающего белка с его когнатным эпитопом, в той же, большей или меньшей степени, говорят, что антигенсвязывающие белки «перекрестно конкурируют» друг с другом за связывание со своими соответствующими эпитопами или «перекрестно блокируют» друг друга. Как правило, такие исследования перекрестной конкуренции проводят, используя условия и способы, описанные выше для конкурентных исследований, при этом степень блокирования составляет по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40% или по меньшей мере 50% в каждую сторону.

[0369] «Аффинность» относится к силе суммарных нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (например, антитела) и ее партнером по связыванию (например, антигеном). Аффинность молекулы X к ее партнеру Y обычно можно представить константой диссоциации (K_d). Аффинность можно измерять обычными способами, известными в данной области техники, включая описанные в данном документе.

[0370] Антитело с «созревшей аффинностью» относится к антителу с одним или более изменениями в одной или более гипервариабельных областях (HVR) по сравнению с родительским антителом, которое не имеет таких изменений, при этом такие изменения приводят к повышению аффинности антитела в отношении антигена. В некоторых примерах антитело с «созревшей аффинностью» относится к антителу с одним или более изменениями в одной или более определяющих комплементарность областях (CDR) по сравнению с родительским антителом, которое не имеет таких изменений, при этом такие изменения приводят к повышению аффинности антитела в отношении антигена.

[0371] В контексте данного документа термин «специфически связывает», «связывающийся» или просто «связывает» или другие схожие термины в контексте связывания антигенсвязывающего белка с его целевым антигеном означают, что антигенсвязывающий белок демонстрирует по существу фоновое связывание с нецелевыми молекулами. Антигенсвязывающий белок, который специфически связывает целевой антиген (например, GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19), может при этом перекрестно реагировать с белками GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19 от

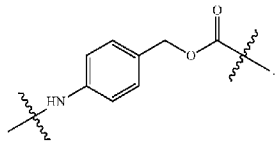
других видов.

[0372] В контексте данного документа термин «K_D» (M) относится к равновесной константе диссоциации конкретного взаимодействия антигенсвязывающий белок - антиген (например, взаимодействия антитело - антиген). В контексте данного документа аффинность и K_D обратно пропорциональны, так что большая аффинность означает меньшую K_D, а меньшая аффинность означает большую K_D.

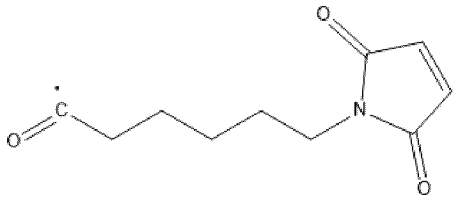
[0373] Сокращение LAE относится к трипептидному линкеру лейцин-аланин-глутаминовая кислота. Сокращение dLAE относится к трипептидному линкеру D-лейцин-аланин-глутаминовая кислота, при этом лейцин в трипептидном линкере находится в D-конфигурации.

[0374] Сокращение VKG относится к трипептидному линкеру валин-лизин-глицин.

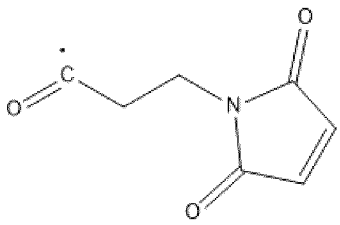
[0375] Сокращение «PABC» относится к самоуничтожающемуся спейсеру:



[0376] Сокращение «mc» относится к малеимидокапроилу звена растяжения:



[0377] Сокращение «mp» относится к малеимидопропионилу звена растяжения:



[0378] Термин «Fc-область» в данном документе используется для определения C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, которая содержит по меньшей мере часть константной области. Этот термин включает Fc-области с нативной последовательностью и вариантные Fc-области. В одном варианте осуществления Fc-область тяжелой цепи человеческого IgG простирается от Cys226 или от Pro230 до карбоксильного конца тяжелой цепи. При этом C-концевой лизин (Lys447) Fc-области может присутствовать или нет. Если не указано иное, нумерация аминокислотных остатков Fc-области или константной области соответствует системе нумерации EU, также называемой индексом EU, описанной в Kabat et al., Sequences of Proteins of

Immunological Interest, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991.

[0379] «Функциональная Fc-область» обладает «эффекторной функцией» Fc-области с нативной последовательностью. Типовые «эффекторные функции» включают связывание Fc-рецептора; связывание C1q; комплементзависимую цитотоксичность (КЗЦ); антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (АЗКЦ); антителозависимый клеточный фагоцитоз (АЗКФ); понижающую регуляцию рецепторов клеточной поверхности (например, B-клеточного рецептора; BCR) и т. д. Для таких эффекторных функций обычно необходимо, чтобы Fc-область была объединена со связывающим доменом (например, вариабельным доменом антитела), и их можно оценить, используя различные анализы.

[0380] «Fc-область с нативной последовательностью» содержит аминокислотную последовательность, идентичную аминокислотной последовательности Fc-области, встречающейся в природе. Нативная последовательность Fc-областей человека включает нативную последовательность Fc-области IgG1 человека (аллотипы не A и A); нативную последовательность Fc-области IgG2 человека; нативную последовательность Fc-области IgG3 человека; и нативную последовательность Fc-области IgG4 человека, а также встречающиеся в природе варианты указанных последовательностей.

[0381] «Вариантная Fc-область» содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от нативной последовательности Fc-области за счет по меньшей мере одной аминокислотной модификации.

[0382] Термины «Fc-рецептор» или «FcR» описывают рецептор, который связывается с Fc-областью антитела. В некоторых вариантах осуществления FcγR представляет собой нативный человеческий FcR. В некоторых вариантах осуществления FcR представляет собой рецептор, который связывает антитело IgG (гамма-рецептор) и включает рецепторы подклассов FcγRI, FcγRII и FcγRIII, включая аллельные варианты и формы этих рецепторов с альтернативным сплайсингом. FcγRII-рецепторы включают FcγRIIA («активирующий рецептор») и FcγRIIB («ингибирующий рецептор»), которые содержат аналогичные аминокислотные последовательности, отличающиеся преимущественно цитоплазматическими доменами. Активирующий FcγRIIA-рецептор содержит иммунорецепторный тирозиновый активирующий мотив (ITAM) в своем цитоплазматическом домене. Ингибирующий FcγRIIB-рецептор содержит иммунорецепторный тирозиновый ингибирующий мотив (ITIM) в своем цитоплазматическом домене (смотрите, например, Daeron, Annu. Rev. Immunol. 15:203-234 (1997)). Обзор FcR приведен, например, в Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991); Capel et al., Immunomethods 4:25-34 (1994); и de Haas et al., J. Lab. Clin. Med. 126:330-41 (1995). Другие FcR, включая те, которые будут идентифицированы в будущем, включены в термин «FcR» в данном документе. Термин «Fc-рецептор» или «FcR» также включает неонатальный рецептор, FcRn, отвечающий за перенос материнских IgG в плод (Guyer et al., J. Immunol. 117:587 (1976) и Kim et al., J. Immunol. 24:249 (1994)) и

регуляцию гомеостаза иммуноглобулинов. Способы измерения связывания с FcRn являются известными (смотрите, например, Ghetie and Ward., Immunol. Today 18(12):592-598 (1997); Ghetie et al., Nature Biotechnology, 15(7):637-640 (1997); Hinton et al., J. Biol. Chem. 279(8):6213-6216 (2004); WO 2004/92219 (Hinton et al.).

[0383] «Эффекторные функции» относятся к биологической активности, связанной с Fc-областью антитела, и варьируются в зависимости от изотипа антитела. Примеры эффекторных функций антитела включают: связывание C1q и комплементзависимую цитотоксичность (КЗЦ); связывание Fc-рецептора; антителозависимую клеточноопосредованную цитотоксичность (АЗКЦ); антителозависимый клеточный фагоцитоз (АЗКФ); понижающую регуляцию рецепторов клеточной поверхности (например, B-клеточного рецептора); и активацию B-клеток. На такие функции может влиять, например, связывание Fc-эффекторных доменов с Fc-рецептором на иммунной клетке с фагоцитарной или литической активностью или связывание Fc-эффекторных доменов с компонентами системы комплемента. Как правило, эффекты, опосредованные Fc-связывающими клетками или компонентами комплемента приводят к ингибированию и/или истощению целевых клеток CD33. Fc-области антител могут рекрутировать экспрессирующие Fc-рецептор (FcR) клетки и пространственно совмещать их с покрытыми антителами целевыми клетками. Клетки, экспрессирующие поверхностный FcR для IgG, включая FcγRIII (CD16), FcγRII (CD32) и FcγRIII (CD64), могут действовать как эффекторные клетки для разрушения покрытых IgG клеток. Такие эффекторные клетки включают моноциты, макрофаги, естественные клетки-киллеры (NK), нейтрофилы и эозинофилы. Привлечение FcγR со стороны IgG активирует антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ) или антителозависимый клеточный фагоцитоз (АЗКФ). АЗКЦ опосредуется $CD16^+$ эффекторными клетками за счет секреции мембранных порообразующих белков и протеаз, тогда как фагоцитоз опосредуется $CD32^+$ и $CD64^+$ эффекторными клетками (смотрите, например, Fundamental Immunology, 4th ed., Paul ed., Lippincott-Raven, N.Y., 1997, главы 3, 17 и 30; Uchida et al., 2004, J. Exp. Med. 199:1659-69; Akewanlop et al., 2001, Cancer Res. 61:4061-65; Watanabe et al., 1999, Breast Cancer Res. Treat. 53:199-207.

[0384] «Человеческие эффекторные клетки» представляют собой лейкоциты, которые экспрессируют один или более FcR и осуществляют эффекторные функции. В определенных вариантах осуществления, такие клетки экспрессируют по меньшей мере FcγRIII и осуществляют эффекторную функцию АЗКЦ. Примеры человеческих лейкоцитов, которые опосредуют АЗКЦ, включают мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), естественные клетки-киллеры (NK), моноциты, цитотоксические Т-клетки и нейтрофилы. Эффекторные клетки можно выделять из нативного источника, например, из крови.

[0385] «Антителозависимая клеточноопосредованная цитотоксичность» или «АЗКЦ» относится к механизму цитотоксичности, в котором Fc-область антител, связанных с антигеном на поверхности целевых клеток, взаимодействует с Fc-

рецепторами (FcR), присутствующими на определенных цитотоксических эффекторных клетках (например, NK-клетках, нейтрофилах и макрофагах). Это взаимодействие обеспечивает возможность последующего уничтожения этими цитотоксическими эффекторными клетками целевых клеток цитотоксинами. Первичные клетки для опосредования АЗКЦ, NK-клетки, экспрессируют только FcγRIII, тогда как моноциты экспрессируют FcγRI, FcγRII и FcγRIII. Экспрессия FcR на гемопоэтических клетках приведена в таблице 3 на странице 464 в Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol 9:457-92 (1991). Для оценки АЗКЦ-активности представляющей интерес молекулы можно проводить in vitro анализ АЗКЦ, например, описанный в патентах США №№ 5500362, или 5821337, или патенте США № 6737056 (Presta). Применимые эффекторные клетки для таких анализов включают мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) и NK-клетки. АЗКЦ-активность представляющей интерес молекулы можно также оценивать in vivo, например, в животной модели, например, как описано в Clynes et al. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 95:652-656 (1998). Дополнительные варианты полипептидов с измененными аминокислотными последовательностями Fc-области (полипептидов с вариантной Fc-областью) и повышенной или сниженной АЗКЦ-активностью описаны, например, в патенте США № 7923538 и патенте США № 7994290.

[0386] «Комплементзависимая цитотоксичность» или «КЗЦ» относится к лизису целевой клетки в присутствии комплемента. Активация классического пути комплемента инициируется связыванием первого компонента системы комплемента (C1q) с Fc-областью антител (соответствующего подкласса), которые связаны со своим когнатным антигеном на целевой клетке. Это связывание активирует ряд ферментативных реакций, приводящих к образованию отверстий в мембране целевой клетки и последующей гибели клетки. Активация комплемента также может приводить к размещению компонентов комплемента на поверхности целевой клетки, что облегчает АЗКЦ за счет связывания рецепторов комплемента (например, CR3) на лейкоцитах. Для оценки активации комплемента можно проводить анализ КЗЦ, например, как описано в Gazzano-Santoro et al., J. Immunol. Methods 202:163 (1996). Варианты полипептидов с измененными аминокислотными последовательностями Fc-области (полипептидов, таких как антитело с вариантной Fc-областью) и повышенной или сниженной способностью связывать C1q описаны, например, в патенте США № 6194551 B1, патенте США № 7923538, патенте США № 7994290 и WO 1999/51642. Также смотрите, например, Idusogie et al., J. Immunol. 164: 4178-4184 (2000).

[0387] Термин «антителозависимый клеточный фагоцитоз» или просто «АЗКФ» относится к процессу, посредством которого покрытые антителами клетки интернализуются, полностью или частично, фагоцитарными иммунными клетками (например, макрофагами, нейтрофилами и дендритными клетками), которые связываются с Fc-областью Ig.

[0388] Вариант полипептида с «измененной» аффинностью связывания FcR или АЗКЦ-активностью (например, антитела) представляет собой такой, в котором увеличена

или уменьшена активность связывания FcR и/или АЗКЦ-активность по сравнению с родительским полипептидом или с полипептидом, содержащим Fc-область с нативной последовательностью. Вариант полипептида, который «демонстрирует повышенное связывание» с FcR, связывает по меньшей мере один FcR с большей аффинностью, чем родительский полипептид. Вариант полипептида, который «демонстрирует сниженное связывание» с FcR, связывает по меньшей мере один FcR с меньшей аффинностью, чем родительский полипептид. В некоторых вариантах осуществления такие варианты, которые демонстрируют сниженное связывание с FcR, могут характеризоваться незначительным или отсутствующим значительным связыванием с FcR, например 0-20% связыванием с FcR, по сравнению с IgG с нативной последовательностью Fc-области.

[0389] Термины «молекула нуклеиновой кислоты», «нуклеиновая кислота» и «полинуклеотид» взаимозаменяемо используются в данном документе и относятся к полимеру из нуклеотидов любой длины. Такие полимеры из нуклеотидов могут содержать природные и/или неприродные нуклеотиды и включают, но не ограничиваются этим, ДНК, РНК и ПНК. «Нуклеотидная последовательность» относится к линейной последовательности нуклеотидов, которые составляют молекулу нуклеиновой кислоты или полинуклеотид.

[0390] Термин «вектор» означает любую молекулу или частицу (например, нуклеиновую кислоту, плазмиду, бактериофаг или вирус), применяемую для переноса молекулы нуклеиновой кислоты в клетку-хозяина. Как правило, вектор содержит молекулу нуклеиновой кислоты, сконструированную так, чтобы содержать клонированные полинуклеотид или полинуклеотиды, кодирующие представляющие интерес полипептид или полипептиды, которые могут размножаться в клетке-хозяине. Примеры векторов включают, но не ограничиваются этим, плазмиды, вирусные векторы и экспрессионные векторы, например, рекомбинантные экспрессионные векторы. Вектор может содержать один или более следующих элементов: точку начала репликации, одну или более регуляторных последовательностей (таких как, например, промоторы и/или энхансеры), которые регулируют экспрессию представляющего интерес полипептида, и/или один или более генов селективных маркеров. Этот термин включает векторы, которые представляют собой самореплицирующиеся молекулы нуклеиновой кислоты, а также векторы, встроенные в геном клетки-хозяина, в которую они были внесены.

[0391] Термин «экспрессионный вектор» относится к вектору, который подходит для трансформации клетки-хозяина и который можно использовать для экспрессии представляющего интерес полипептида в клетке-хозяине.

[0392] Термины «клетка-хозяин» или «линия клеток-хозяев» взаимозаменяемо используются в данном документе и относятся к клетке или популяции клеток, которые могут быть или были реципиентами вектора или выделенного полинуклеотида. Клетки-хозяева могут быть прокариотическими клетками или эукариотическими клетками. Типовые эукариотические клетки включают клетки млекопитающих, такие как клетки приматов или отличных от приматов животных; клетки грибов, таких как дрожжи; клетки

растений и клетки насекомых. Неограничивающие типовые клетки млекопитающих включают, но не ограничиваются этим, клетки NSO, клетки PER.C6® (Crucell) и клетки 293 и CHO, а также их производные, например, клетки 293-6E и DG44, соответственно. Такие термины относятся не только к оригинальной клетке, но также к потомству такой клетки. В последующих поколениях могут возникать определенные модификации вследствие, например, мутаций или влияния окружающей среды. Такое потомство также охвачено указанными терминами при условии, что клетки имеют такие же функцию или биологическую активность, что и оригинальные клетки.

[0393] Термин «регуляторная последовательность» относится к полинуклеотидной последовательности, которая влияет на экспрессию и процессинг кодирующей последовательности, к которой она лигирована. Природа таких регуляторных последовательностей может зависеть от организма-хозяина. В конкретных вариантах осуществления регуляторные последовательности для прокариот могут включать промотор, сайт связывания рибосомы и последовательность терминации транскрипции. Регуляторные последовательности для эукариот могут включать, например, промоторы, содержащие один или множество сайтов распознавания для факторов транскрипции, последовательности энхансеров транскрипции и последовательности терминации транскрипции. «Регуляторные последовательности» могут включать лидерные последовательности и/или последовательности партнеров по слиянию.

[0394] В контексте данного документа термин «функционально связанный» означает, что компоненты, к которым относится данный термин, находятся в взаимосвязи, которая позволяет им осуществлять присущие им функции в подходящих условиях. Например, регуляторная последовательность в векторе, которая «функционально связана» с кодирующей белок последовательностью, лигирована так, что экспрессия кодирующей белок последовательности обеспечивается в условиях, совместимых с транскрипционной активностью регуляторных последовательностей. В случае, когда две кодирующие последовательности функционально связаны, данное выражение означает, что два фрагмента ДНК или две кодирующие последовательности соединены так, что аминокислотные последовательности, кодируемые двумя фрагментами, остаются в рамке считывания.

[0395] Термин «трансфекция» означает поглощение чужеродной или экзогенной ДНК клеткой, при этом клетка была «трансфицирована», когда экзогенная ДНК была внесена внутрь клеточной мембраны. Ряд методик трансфекции хорошо известен в данной области и описан в данном документе. Смотрите, например, Graham et al., 1973, Virology 52:456; Sambrook et al., 2001, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, supra; Davis et al., 1986, Basic Methods in Molecular Biology, Elsevier; Chu et al., 1981, Gene 13:197. Такие методики можно использовать для внесения одного или более фрагментов экзогенной ДНК в подходящие клетки-хозяев.

[0396] Термин «трансформация» относится к изменению генетических характеристик клетки, при этом клетка была трансформирована, если она была

модифицирована для содержания новых ДНК или РНК. Например, клетка трансформирована, если она генетически модифицирована относительно своего нативного состояния путем внесения нового генетического материала посредством трансфекции, трансдукции или других методик. После трансфекции или трансдукции трансформирующая ДНК может рекомбинировать с ДНК клетки путем физической интеграции в хромосому клетки, или может поддерживаться временно в виде эписомального элемента без репликации, или может независимо реплицироваться как плазмида. Клетка считается «стабильно трансформированной», если трансформирующая ДНК реплицируется с последующим делением клетки.

[0397] В контексте данного документа термин «выделенный» относится к молекуле, которая была отделена по меньшей мере от некоторых компонентов, с которыми она обычно встречается в природе или вырабатывается. Например, полипептид называется «выделенным», когда он отделен по меньшей мере от некоторых компонентов клетки, в которой он был выработан. В случае, когда полипептид секретируется клеткой после экспрессии, физическое отделение супернатанта, содержащего полипептид, от клетки, которая его вырабатывает, считается «выделением» полипептида. Аналогично, полинуклеотид называется «выделенным», если он не является частью большего полинуклеотида (такого как, например, геномная ДНК или митохондриальная ДНК, в случае полинуклеотида ДНК), в котором он обычно встречается в природе, или если он отделен от по меньшей мере некоторых из компонентов клетки, в которой он был выработан, например, в случае полинуклеотида РНК. Таким образом, полинуклеотид ДНК, который содержится в векторе внутри клетки-хозяина, может называться «выделенным».

[0398] В контексте данного документа «заболевание» или «расстройство» относится к состоянию, при котором необходимо лечение.

[0399] В контексте данного документа «рак» и «опухоль» являются взаимозаменяемыми терминами, которые относятся к любому аномальному росту или пролиферации клеток или тканей у животного. В контексте данного документа термины «рак» и «опухоль» охватывают солидный и гематологический/лимфатический рак, а также охватывают злокачественный, предзлокачественный и доброкачественный рост, такой как дисплазия. Солидная опухоль представляет собой аномальные рост или массу ткани, которая обычно не содержит кист или жидких участков. Примеры рака включают, но не ограничиваются этим, карциному, лимфому, бластому, саркому и лейкоз. Более конкретные неограничивающие примеры таких видов рака включают плоскоклеточный рак, мелкоклеточный рак легкого, рак гипофиза, рак пищевода, астроцитому, саркому мягких тканей, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого, плоскоклеточный рак легкого, рак брюшной полости, гепатоцеллюлярный рак, рак желудочно-кишечного тракта, рак поджелудочной железы, рак шейки матки, рак яичника, рак печени, рак мочевого пузыря, гепатому, рак молочной железы, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак эндометрия или матки, рак слюнной железы, рак почки, рак

печени, рак предстательной железы, рак вульвы, рак щитовидной железы, карциному печени, рак головного мозга, рак эндометрия, рак яичка, холангиокарциному, рак желчного пузыря, рак желудка, меланому и различные типы рака головы и шеи.

[0400] Термины «метастатический рак» и «метастатическое заболевание» означают раковые заболевания, которые распространились от места происхождения в другой участок организма, например, в регионарные лимфатические узлы или в отдаленные участки.

[0401] Термины «распространенный рак», «локально распространенный рак», «распространенное заболевание» и «локально распространенное заболевание» означают раковые заболевания, которые расширились за релевантную тканевую капсулу. Как правило, для пациентов с локально распространенным заболеванием рекомендуется хирургическое вмешательство, и эти пациенты имеют значительно менее благоприятные результаты по сравнению с пациентами, имеющими клинически локализованный (ограниченный органом) рак.

[0402] Термины «ингибирование» или «ингибировать» относятся к уменьшению или устранению любой фенотипической характеристики или к снижению или устранению частоты, степени или вероятности этой характеристики. «Снижать» или «ингибировать» означает уменьшать, снижать или прекращать активность, функцию и/или количество по сравнению с эталоном. В определенных вариантах осуществления под «снижением» или «ингибированием» подразумевается способность вызывать общее снижение на 20% или более. В другом варианте осуществления под «снижением» или «ингибированием» подразумевается способность вызывать общее снижение на 50% или более. В другом варианте осуществления под «снижением» или «ингибированием» подразумевается способность вызывать общее снижение на 75%, 85%, 90%, 95% или более.

[0403] В контексте данного документа «эталон» относится к любому образцу, стандарту или уровню, который используют в сравнительных целях. Эталон может быть получен из здорового и/или не пораженного заболеванием образца. В некоторых примерах эталон может быть получен из необработанного образца. В некоторых примерах эталон получен из не пораженного заболеванием или необработанного образца субъекта. В некоторых примерах эталон получен от одного или более здоровых индивидов, которые не являются субъектом или пациентом.

[0404] В контексте данного документа «замедление развития заболевания» означает отсрочку, задержку, замедление, стабилизацию, подавление и/или отложение развития заболевания (такого как рак). Это замедление может иметь различную продолжительность в зависимости от истории болезни и/или индивида, подлежащего лечению. Как очевидно специалисту в данной области техники, достаточное или значительное замедление может по существу охватывать предотвращение, так что у индивида не будет развиваться заболевание. Например, можно отсрочить рак поздней стадии, такой как развитие метастазов.

[0405] В контексте данного документа «предотвращение» включает обеспечение

профилактики в отношении появления или повторного появления заболевания у субъекта, который может быть предрасположен к заболеванию, но у которого еще не было диагностировано это заболевание.

[0406] В контексте данного документа «подавлять» функцию или активность означает снижать функцию или активность по сравнению с в ином одинаковыми состояниями, за исключением представляющего интерес состояния или параметра, или, в альтернативном варианте, по сравнению с другим состоянием. Например, антитело, которое подавляет рост опухоли, снижает скорость роста опухоли по сравнению со скоростью роста опухоли в отсутствие антитела.

[0407] «Эффективное количество», «терапевтически эффективное количество» или «терапевтически эффективная дозировка» лекарственного препарата или терапевтического агента представляет собой любое количество лекарственного препарата или агента, которое при применении отдельно или в комбинации с другим терапевтическим агентом обеспечивает эффект лечения, такой как защита субъекта от возникновения заболевания, или способствует регрессии заболевания, о чем свидетельствует уменьшение тяжести симптомов заболевания, увеличение частоты и продолжительности периодов без симптомов заболевания, или предотвращению нарушений или недееспособности вследствие заболевания. Способность терапевтического агента способствовать регрессии заболевания можно оценивать, используя ряд способов, известных квалифицированному практикующему врачу, например, у субъектов-людей во время клинических исследований, в животных модельных системах, прогнозирующих эффективность у людей, или путем анализа активности агента в in vitro анализах.

[0408] Терапевтически эффективное количество лекарственного препарата включает «профилактически эффективное количество», которое представляет собой любое количество лекарственного препарата, которое при введении отдельно или в комбинации с противораковым агентом субъекту с риском развития рака (например, субъекту, имеющему предзлокачественное состояние) или с рецидивом рака ингибирует развитие или рецидив рака. В некоторых вариантах осуществления профилактически эффективное количество полностью предотвращает развитие или рецидив рака. «Ингибирование» развития или рецидива рака означает уменьшение вероятности развития или рецидива рака или полное предотвращение развития или рецидива рака.

[0409] Термин «введение» относится к физическому внесению терапевтического агента субъекту с использованием любых из различных способов и систем доставки, известных специалистам в данной области техники. Типовые пути введения включают внутривенный, внутримышечный, подкожный, внутрибрюшинный, спинальный или другие парентеральные пути введения, например путем инъекции или инфузии (например, внутривенной инфузии). Введение также можно проводить, например, один раз, много раз и/или в течение одного или более продленных периодов.

[0410] В контексте данного документа термин «монотерапия» означает, что антитело к GPNMB или ADC, антитело к CD228 или ADC, антитело к αvβ6 или ADC,

антитело к CD30 или ADC, антитело к LIV1 или ADC или антитело к CD19 или ADC по изобретению является единственным противораковым агентом, вводимым субъекту во время курса лечения. При этом субъекту можно вводить другие терапевтические агенты. Например, противовоспалительные агенты или другие агенты, вводимые субъекту с раком для лечения симптомов, связанных с раком, но не самого рака, включая, например, воспаление, боль, потерю массы и общее недомогание, можно вводить во время периода монотерапии.

[0411] Введение «в комбинации с» одним или более дополнительными терапевтическими средствами включает одновременное (параллельное) и последовательное введение в любом порядке.

[0412] Термин «одновременно» используется в данном документе для обозначения введения двух или более терапевтических агентов, когда по меньшей мере часть введения перекрывается во времени или когда введение одного терапевтического агента происходит в течение короткого периода времени относительно введения другого терапевтического агента. Например, два или более терапевтических агентов вводят одновременно или с разделением во времени, составляющим не более чем около 60 минут, например, не более чем около 30, 15, 10, 5 или 1 минута.

[0413] Термин «последовательно» используется в данном документе для обозначения введения двух или более терапевтических агентов, когда введение одного или более агента(ов) продолжается после прекращения введения одного или более других агентов. Например, два или более терапевтических агентов вводят с разделением во времени, составляющим не более чем около 15 минут, например около 20, 30, 40, 50 или 60 минут, 1 день, 2 дня, 3 дня, 1 неделю, 2 недели, 1 месяц или более.

[0414] Термин «химиотерапевтический агент» относится ко всем химическим соединениям, которые эффективно ингибируют рост опухоли.Неограничивающие примеры химиотерапевтических агентов включают алкилирующие агенты (например, азотистые иприты, соединения этиленимина и алкилсульфонаты); антиметаболиты (например, антагонисты фолиевой кислоты, пурина или пиримидина); митотические ингибиторы (например антитубулиновые агенты, такие как алкалоиды барвинка, ауристатины и производные подофиллотоксина); цитотоксические антибиотики; соединения, которые повреждают или препятствуют экспрессии или репликации ДНК (например, агенты, связывающие малую бороздку ДНК); и антагонисты рецепторов фактора роста, а также цитотоксические или цитостатические агенты.

[0415] Выражение «фармацевтически приемлемый» указывает на то, что вещество или композиция являются химически и/или токсикологически совместимыми с другими ингредиентами, составляющими состав, и/или субъектом, которого ими лечат.

[0416] Термины «фармацевтический состав» и «фармацевтическая композиция» относятся к препарату, который находится в такой форме, чтобы обеспечить эффективную биологическую активность активного ингредиента, и который не содержит каких-либо дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для субъекта,

которому будут вводить состав. Такие составы могут быть стерильными.

[0417] «Фармацевтически приемлемый носитель» относится к нетоксичному твердому, полутвердому или жидкому наполнителю, разбавителю, инкапсулирующему материалу, вспомогательному составу или носителю, традиционному в данной области техники для применения с терапевтическим агентом, что вместе составляет «фармацевтическую композицию» для введения субъекту. Фармацевтически приемлемый носитель нетоксичен для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и совместим с другими ингредиентами состава. Фармацевтически приемлемый носитель подходит для применяемого состава.

[0418] Различные аспекты настоящего изобретения более подробно описаны в следующих разделах.

2.Варианты осуществления

[0419] Ниже описаны различные варианты осуществления изобретения с последующим более подробным обсуждением компонентов, например, групп, реагентов и этапов, используемых в процессах по настоящему изобретению. Любой из выбранных вариантов осуществления для компонентов процессов можно применять к любому и каждому аспекту изобретения, описанного в данном документе, или же они могут относиться к одному аспекту. У некоторых аспектах выбранные варианты осуществления можно комбинировать в любой комбинации, подходящей для описания конъюгата лиганд-лекарственный препарат ауристатина, соединения лекарственный препарат-линкер или их промежуточных соединений, имеющих лекарственное звено на основе гидрофобного ауристатина F.

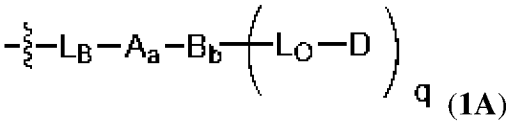
2.1 Конъюгаты лиганд-лекарственный препарат

[0420] Соединение конъюгата лиганд-лекарственный препарат (LDC) по настоящему изобретению представляет собой соединение, имеющее лекарственное звено, соединенное с лигандным звеном посредством промежуточного линкерного звена (LU), причем LU состоит из пептидного расщепляемого звена, которое более подвержено протеолитическому расщеплению гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с гомогенатом нормальной ткани для обеспечения высвобождения D в виде свободного лекарственного препарата, и, как правило, имеет структуру по формуле **1**:

$L\text{-}[LU\text{-}(D')]_{p'}$ (**1**)

или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где L представляет собой лигандное звено; LU представляет собой линкерное звено; D' представляет от 1 до 4 лекарственных звеньев, включая или соответствуя по структуре одному и тому же свободному лекарственному препарату для каждого фрагмента лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-(D)'; и нижний индекс p' представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 24, при этом лигандное звено способно селективно связывать антиген целевых аномальных клеток, при этом целевой антиген способен к интернализации вместе со связанным соединением конъюгата с последующим внутриклеточным высвобождением свободного лекарственного препарата, причем каждый фрагмент лекарственный препарат-

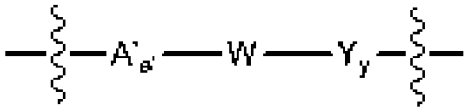
линкер в соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеет структуру по формуле **1A**:



(1A)

или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где фрагмент $-L_B-A_a-B_b-$ фрагмента лекарственный препарат-линкер по формуле **1A** в общем случае представляет первичный линкер (L_R) линкерного звена (LU) формулы **1**

при этом волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к L; L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающий лиганд; A представляет собой первое необязательное звено растяжения; нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно; B представляет собой необязательное звено разветвления; нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно; D представляет собой лекарственное звено; и нижний индекс q представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 4; и L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, имеющий структуру:



где волнистая линия, смежная с A', указывает место ковалентного присоединения L_O к первичному линкеру; волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену; A' представляет собой второе необязательное спейсерное звено, нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно, W представляет собой пептидное расщепляемое звено, Y представляет собой спейсерное звено и y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 спейсерных звеньев, соответственно.

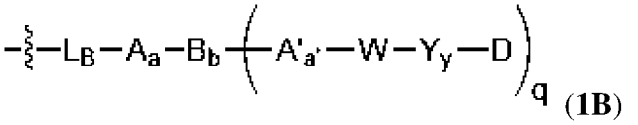
[0421] Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат состоит из распределения или набора соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат и представлена структурой формулы **1**, в которой нижний индекс p' заменен нижним индексом p, причем нижний индекс p является числом в диапазоне от около 2 до около 24.

[0422] Традиционный конъюгат лиганд-лекарственный препарат также представлен формулой **1**, но имеет пептидное расщепляемое звено (W), состоящее из дипептида, ковалентно присоединенного либо непосредственно к D, либо косвенно через Y, при этом дипептид сконструирован так, чтобы быть селективным в отношении конкретной внутриклеточной протеазы, чья активность повышена в аномальных клетках по сравнению с нормальными клетками. В отличие от этого, конъюгаты по настоящему изобретению, основана не неожиданном открытии, что общую протеазную активность в ткани, состоящей из аномальных клеток, можно дифференцировать от активности в нормальной ткани, состоящей из нормальных клеток, за счет соответствующим образом сконструированного расщепляемого звена с сохранением устойчивости к расщеплению

свободно циркулирующими протеазами. В случае конъюгатов по настоящему изобретению это дифференцирование обеспечивают за счет пептидного расщепляемого звена, включающего определенные трипептиды, причем эти пептиды были идентифицированы с помощью метода скрининга, описанного в данном документе, в котором протеазную активность из тканевого гомогената, состоящего из аномальных клеток, сравнивают с таковой гомогената нормальной ткани, при этом известно, что нормальная ткань является источником целевых и/или нецелевых нежелательных явлений, испытываемых субъектом-млекопитающим при введении терапевтически эффективного количества традиционного конъюгата лиганд-лекарственный препарат.

[0423] Таким образом, в принципиальном варианте осуществления изобретения W представляет собой пептидное расщепляемое звено, состоящее из трипептида, который обеспечивает сайт распознавания, на который селективно действуют одна или более внутриклеточных протеаз целевых аномальных клеток по сравнению со свободно циркулирующими протеазами и также селективно действуют протеазы в гомогенате опухолевой ткани по сравнению с протеазами в гомогенате нормальной ткани. Для лечения рака трипептидную последовательность для пептидного расщепляемого звена выбирают так, чтобы протеазы в нормальной ткани, которая, как известно, является источником целевых и/или нецелевых нежелательных явлений при введении терапевтически эффективного количества традиционного конъюгата лиганд-лекарственный препарат, с меньшей вероятностью действовали на конъюгат, имеющий это трипептидное расщепляемое звено, чем протеазы опухолевой ткани, так чтобы обеспечить большую селективность в отношении нацеливания на раковые клетки. Этот выбор основан на меньшей общей протеазной активности гомогената нормальной ткани по сравнению с гомогенатом опухолевой ткани рака. В отличие от улучшенных конъюгатов по настоящему изобретению традиционный конъюгат лиганд-лекарственный препарат, содержащий дипептидное расщепляемое звено, был сконструирован так, чтобы на него селективно действовал катепсин B, который представляет собой внутриклеточную протеазу, чья активность повышена в раковых клетках, и основан преимущественно на иммунологической специфичности в отношении селективного нацеливания на раковые клетки по сравнению с нормальными клетками. Улучшенные конъюгаты по настоящему изобретению имеют дополнительный уровень селективности, являясь менее подверженными воздействию протеаз в нормальной ткани по сравнению с опухолевой тканью, в которой находятся целевые раковые клетки.

[0424] В некоторых вариантах осуществления фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле **1A** имеет структуру, представленную формулой **1B**:



(**1B**)

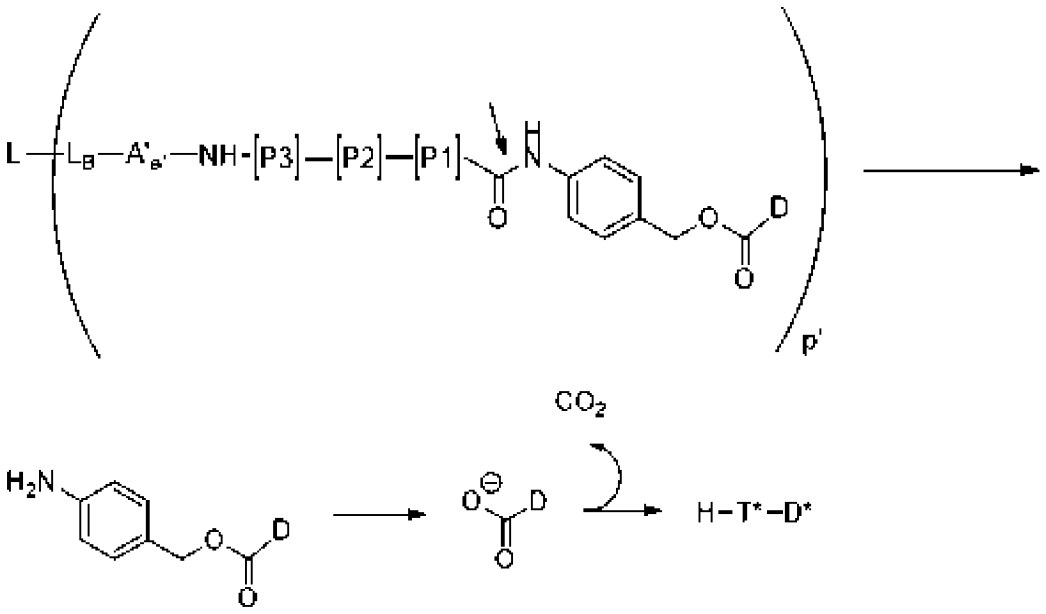
где L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающий линкер, по определению в данном документе для первичного линкера (L_R) в линкерном звене (LU)

фрагмента лекарственный препарат-линкер или соединения лекарственный препарат-линкер; A и B представляют собой первое необязательное звено растяжения и звено разветвления, соответственно, L_R; нижний индекс q находится в диапазоне от 1 до 4; а остальные вариабельные группы соответствуют определению в данном документе для L_O.

[0425] В некоторых из этих вариантов осуществления W содержит трипептид, который напрямую присоединен к лекарственному звену, так что нижний индекс y равен 0. Когда нижний индекс y равен 1, трипептид присоединен к самоуничтожающемуся спейсерному звену так, что расщепление протеазой обеспечивает фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле Y-D, в котором Y подвергается самоуничтожению с полным высвобождением свободного лекарственного препарата. Когда нижний индекс y равен 2, трипептид присоединен к первому самоуничтожающемуся спейсерному звену (Y) так, что расщепление протеазой обеспечивает первый фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле Y-Y'-D, в котором Y' представляет собой второе спейсерное звено, за чем следует самоуничтожение первого спейсерного звена с обеспечением второго фрагмента лекарственный препарат-линкер по формуле Y'-D, который распадается до полного высвобождения свободного лекарственного препарата.

[0426] Типовые соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат, имеющие фрагменты лекарственный препарат-линкер по формуле **1B**, где трипептид пептидного расщепляемого звена (W) напрямую присоединен к лекарственному звену или к промежуточному спейсерному звену, имеющему структуру согласно схеме 1a, где P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки трипептидной последовательности, а D присоединен к остатку п-аминобензилового спирта посредством карбаматной или карбонатной функциональной группы, которые вместе представляют Y_y, где нижний индекс y равен 2 . В этих типовых соединениях конъюгата лиганд-лекарственный препарат карбонильная функциональная группа амидной связи, смежной с P1, относится к C-концу трипептидной последовательности, где эта амидная связь представляет сайт расщепления протеазой (указанный стрелкой), а аминогруппа амидной связи, смежной с P3, относится к N-концу трипептидной последовательности. Расщепление амидной функциональной группы до P1 приводит к получению первого фрагмента лекарственный препарат-линкер, имеющего структуру, показанную на схеме 1a, который подвергается самоуничтожению с обеспечением второго фрагмента лекарственный препарат-линкер, который спонтанно распадается с высвобождением CO_2 до полного высвобождения D в виде свободного лекарственного препарата формулы H-T*-D*, имеющего гидрокси- или аминогруппу, атом кислорода или азотный фрагмент -NH- которой представлен T*, где D* представляет остаток свободного лекарственного препарата.

Схема 1a.

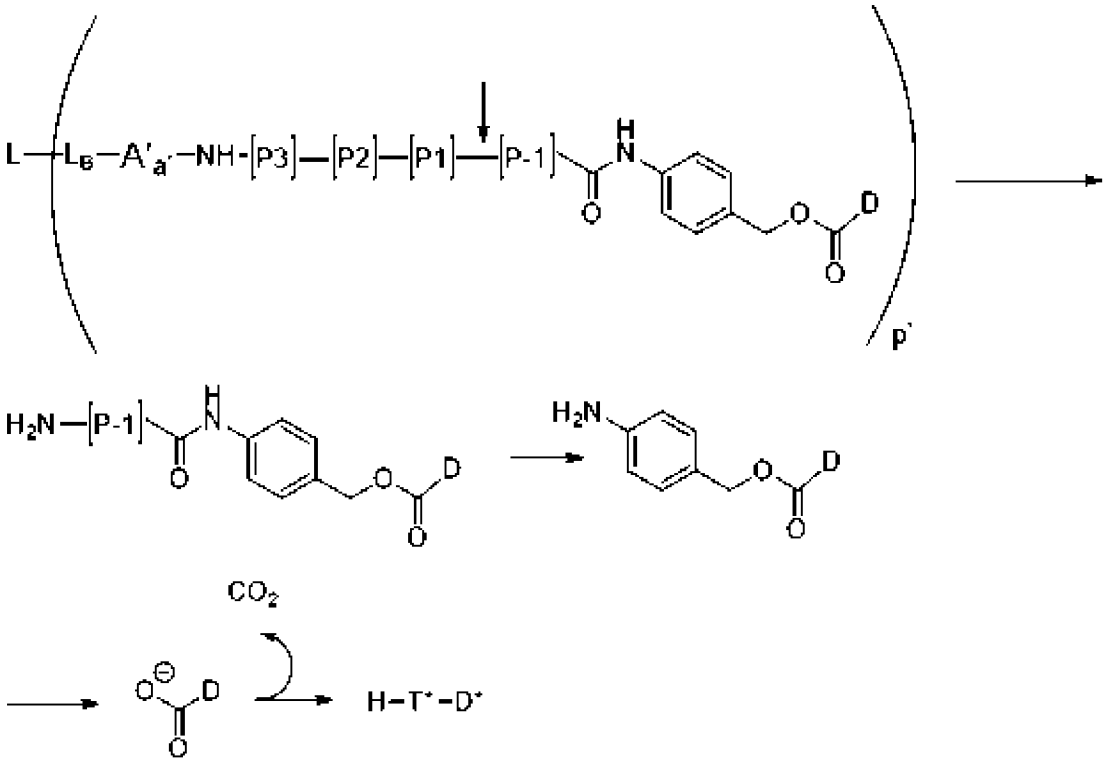


[0427] В этих вариантах осуществления могут присутствовать одна или более аминокислот, обозначаемых P4, P5 и т. д., между первичным линкером формулы -L_B-A'$_{a'}$- и P3 в качестве части пептидной последовательности, содержащей трипептид, который придает селективность в отношении внутриклеточного протеолиза относительно протеолиза свободно циркулирующими протеазами и протеолиза гомогенатом опухолевой ткани относительно протеолиза гомогенатом нормальной ткани. Механизм высвобождения свободного лекарственного препарата из конъюгатов лиганд-лекарственный препарат, имеющих такие расширенные пептидные последовательности, аналогичен приведенному на схеме 1a.

[0428] В других вариантах осуществления аминокислотный остаток, обозначенный P-1, находится в промежутке между придающим специфичность трипептидом W и D или -Y_y-D, так что D фрагмент лекарственный препарат-линкер, изначально высвобождаемый при действии протеаз на придающий специфичность трипептид, содержит эту аминокислоту и, следовательно, требует дополнительной обработки внутриклеточной эндопептидазой, чтобы могло произойти самоуничтожением спейсерного(ых) звена(ьев). В случае этих вариантов осуществления типовые соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат, имеющие фрагменты лекарственный препарат-линкер по формуле **1B**, в которых придающий специфичность трипептид пептидного расщепляемого звена не присоединен напрямую к лекарственному звену или к промежуточному спейсерному звену и имеет структуру, показанную на схеме 1b. Протеазное расщепление подверженной воздействию амидной связи P1 и P-1 (указанной стрелкой) обеспечивает фрагмент лекарственный препарат-линкер, в котором первое самоуничтожающееся спейсерное звено (Y) присутствует в виде аимнокислотного остатка, который обеспечивает субстрат для эндопептидазы с присоединением к самоуничтожающемуся фрагменту Y, который представляет собой остаток пара-аминобензилового спирта с присоединением к D карбаматной или карбонатной функциональной группы. Вместе остаток пара-аминобензилового спирта и карбаматная или карбонатная функциональная

группа представляют Y_y, где нижний индекс у равен 2. После удаления эндопептидазой P-1 происходит самоуничтожение, как на схеме 1a с высвобождением D в виде свободного лекарственного препарата формулы H-T*-D*.

Схема 1b



[0429] Как и ранее, могут присутствовать одна или более аминокислот, обозначаемых P4, P5 и т. д., между первичным линкером формулы $-L_B-A'_{a'}-$ и P3 в качестве части пептидной последовательности, содержащей трипептид, который придает селективность в отношении внутриклеточного протеолиза относительно протеолиза свободно циркулирующими протеазами и протеолиза гомогенатом опухолевой ткани относительно протеолиза гомогенатом нормальной ткани. Хотя P-1 на схеме 1b формально является частью самоуничтожающегося спейсерного звена (Y), для удобства он будет связан с трипептидной последовательностью так, что W представляет собой тетрапептид в SEQ ID, описывающих такие пептидные расщепляемые звенья. Эти звенья и другие компоненты конъюгатов лиганд-лекарственный препарат по настоящему изобретению дополнительно обсуждаются ниже.

2.2.1 Лигандное звено

[0430] Лигандное звено (L) конъюгата лиганд-лекарственный препарат представляет собой нацеливающий фрагмент конъюгата, который селективно связывается с целевым фрагментом. В некоторых вариантах осуществления лигандное звено селективно связывается с клеточным компонентом (связывающий клетки агент), который служит целевым фрагментом, или с другими представляющими интерес целевыми молекулами. Действие лигандного звена состоит в нацеливании и представлении лекарственного звена конъюгата лиганд-лекарственный препарат на конкретную популяцию целевых клеток, с которыми взаимодействует лигандное звено с целью

селективного высвобождения D в виде свободного лекарственного препарата. Нацеливающие агенты, которые обеспечивают лигандные звенья, включают, но не ограничиваются этим, белки, полипептиды и пептиды. Типовые лигандные звенья, включают, но не ограничиваются этим, обеспечиваемые белками, полипептидами и пептидами, такими как антитела, например, полноразмерные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты, интерфероны, лимфокины, гормоны, факторы роста и колониестимулирующие факторы. Другие подходящие лигандные звенья представляют полученные из витаминов, молекул-переносчиков питательных веществ или любых других связывающих молекул или веществ. В некоторых вариантах осуществления лигандное звено получено из отличного от антитела белкового нацеливающего агента. В других вариантах осуществления лигандное звено получено из белкового нацеливающего агента, такого как антитело. Предпочтительными нацеливающими агентами являются высокомолекулярные белки, например, связывающие клетки агенты, имеющие молекулярную массу по меньшей мере около 80 кДа.

[0431] Нацеливающий агент вступает в реакцию с ковалентно связывающим лиганд фрагментом-предшественником (L_B') предшественника первичного линкера (L_R') соединения лекарственный препарат-линкер с образованием лигандного звена, ковалентно присоединенного к ковалентно связывающему лиганд фрагменту (L_B) первичного линкера (L_R) фрагмента лекарственный препарат-линкер по формуле **1A**. Нацеливающий агент имеет или модифицирован так, чтобы иметь соответствующее число сайтом присоединения для размещения необходимого числа фрагментов лекарственный препарат-линкер, определяемого нижним индексом p, вне зависимости от того, встречаются они в природе или нет (например, сконструированы). Например, чтобы значение нижнего индекса p было от 6 до 14, нацеливающий агент должен быть способен образовывать связь с 6-14 фрагментами лекарственный препарат-линкер. Сайты присоединения могут быть природными или сконструированными в нацеливающем агенте. Нацеливающий агент может образовывать связь с фрагментом L_{SS} линкерного звена соединения лекарственный препарат-линкер посредством реактивного или активируемого гетероатома или содержащей гетероатом функциональной группы нацеливающего агента. Реактивные или активируемые гетероатомы или содержащие гетероатомы функциональные группы, которые могут присутствовать в нацеливающем агенте, включают серу (в одном варианте осуществления - из тиольной функциональной группы нацеливающего агента), C=O (в одном варианте осуществления - из карбонильной, карбоксильной или гидроксильной группы нацеливающего агента) и азот (в одном варианте осуществления - из первичной или вторичной аминогруппы нацеливающего агента). Эти гетероатомы могут присутствовать в нацеливающем агенте в природном состоянии нацеливающего агента, например, встречающемся в природе антителе, или могут быть внесены в нацеливающий агент посредством химической модификации или генетической инженерии.

[0432] В одном варианте осуществления нацеливающий агент имеет тиольную

функциональную группу (например, остатка цистеина), а его лигандное звено присоединено к фрагменту лекарственный препарат-линкер соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат посредством атома серы тиольной функциональной группы.

[0433] В другом варианте осуществления нацеливающий агент имеет остатки лизина, которые могут вступать в реакцию с активированным сложным эфиром, включая, но не ограничиваясь этим, N-гидроксисукцинимидный, пентафторфениловый и п-нитрофениловый сложные эфиры, L_R линкерного звена соединения лекарственный препарат-линкер и, таким образом, обеспечивать амидную связь между атомом азота из лигандного звена и функциональной группой C=O из линкерного звена соединения лекарственный препарат-линкер.

[0434] В другом варианте осуществления нацеливающий агент имеет один или более остатков лизина, которые можно химически модифицировать для внесения одной или более тиольных функциональных групп. Лигандное звено из этого нацеливающего агента присоединено к линкерному звену посредством внесенного атома серы тиольной функциональной группы. Реагенты, которые можно использовать, чтобы модифицировать лизин, включают, но не ограничиваются этим, N-сукцинимидил S-ацетилтиоацетат (SATA) и 2-иминотиолана гидрохлорид (реагент Трота).

[0435] В другом варианте осуществления нацеливающий агент может иметь одну или более углеводных групп, которые можно химически модифицировать для содержания одной или более тиольных функциональных групп. Лигандное звено из этого нацеливающего агента присоединено к линкерному звену посредством внесенного атома серы тиольной функциональной группы, или же нацеливающий агент может иметь одну или более углеводных групп, которые можно окислять с получением альдегидной (-CHO) группы (смотрите, например, Laguzza, et al., 1989, J. Med. Chem. 32(3):548-55). Затем можно проводить реакцию соответствующего альдегида с фрагментом L_{SS} соединения лекарственный препарат-линкер, имеющим нуклеофильный атом азота. Другие реактивные сайты на L_R, которые могут вступать в реакцию с карбонильной группой на нацеливающем агенте, включают, но не ограничиваются этим, гидразин и гидроксиламин. Другие протоколы для модификации белков для присоединения фрагментов лекарственный препарат-линкер описаны в Coligan et al., Current Protocols in Protein Science, vol. 2, John Wiley & Sons (2002) (включенной в данный документ посредством ссылки).

[0436] В предпочтительных вариантах осуществления реактивная группа L_R соединения лекарственный препарат-линкер представляет собой малеимидный фрагмент (M^1), а ковалентное присоединение L к L_R осуществлено посредством тиольной функциональной группы нацеливающего агента так, что образуется тио-замещенный сукцинимидный фрагмент (M^2) посредством добавления Михаэля. Тиольная функциональная группа может присутствовать в нацеливающем агенте в природном состоянии нацеливающего агента, например, встречающемся в природе остатке, или

может быть внесена в нацеливающий агент посредством химической модификации и/или генетической инженерии.

[0437] В биоконъюгатах наблюдали, что на сайт конъюгации лекарственного препарата могут влиять многочисленные параметры, включая простоту конъюгации, стабильность соединения лекарственный препарат-линкер, эффекты на биофизические свойства получаемых биоконъюгатов и in-vitro цитотоксичность. В отношении стабильности соединения лекарственный препарат-линкер на сайт конъюгации соединения лекарственный препарат-линкер с лигандом может влиять способность конъюгированного фрагмента лекарственный препарат-линкер подвергаться элиминации и возможность переноса фрагмента лекарственный препарат-линкер с лигандного звена биоконъюгата на альтернативный реактивный тиол, присутствующий в окружении биоконъюгата, такой как, например, реактивный тиол альбумина, свободного цистеина или глутатиона в плазме. Такие сайты включают, например, межцепочечные дисульфиды, а также выбранные сконструированные сайты с цистеином. Описанные в данном документе конъюгаты лиганд-лекарственный препарат можно конъюгировать к остаткам тиола в сайтах, которые менее подвержены элиминации (например, позиции 239 в соответствии с индексом EU по Kabat) в дополнение к другим сайтам.

[0438] В предпочтительных вариантах осуществления лигандное звено (L) получено из антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, определяя тем самым лигандное звено на основе антитела конъюгата антитело - лекарственный препарат (ADC), при этом лигандное звено на основе антитела способно селективно связываться с целевым антигеном раковой клетки с последующим высвобождением D в виде свободного лекарственного препарата, причем целевой антиген может подвергаться интернализации в указанную раковую клетку после указанного связывания с целью инициации внутриклеточного высвобождения свободного лекарственного препарата.

[0439] Применимые антитела включают поликлональные антитела, которые представляют собой гетерогенные популяции молекул антител, полученные из сыворотки иммунизированных животных. Другие применимые антитела представляют собой моноклональные антитела, которые представляют собой гомогенные популяции антител к конкретной антигенной детерминанте (например, антигену раковой клетки, вирусному антигену, микробному антигену, белку, пептиду, углеводу, химическому веществу, нуклеиновой кислоте или их фрагментам). Моноклональное антитело (mAb) к представляющему интерес антигену можно получать, используя любой способ, известный в данной области техники, который обеспечивает выработку молекул антител непрерывными линиями клеток в культуре.

[0440] Применимые моноклональные антитела включают, но не ограничиваются этим, человеческие моноклональные антитела, гуманизированные моноклональные антитела или химерные человеческо-мышиные (или других видов) моноклональные антитела. Антитела включают полноразмерные антитела и их антигенсвязывающие фрагменты. Человеческие моноклональные антитела можно получать любым из

многочисленных способов, известных в данной области техники (например, Teng et al., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 80:7308-7312; Kozbor et al., 1983, Immunology Today 4:72-79; and Olsson et al., 1982, Meth. Enzymol. 92:3-16).

[0441] Антитело может быть функционально активным фрагментом, производным или аналогом антитела, которое иммуноспецифически связывается с целевыми клетками (например, антигенами раковых клеток, вирусными антигенами или микробными антигенами) или другими антителами, связанными с опухолевыми клетками или матриксом. В этом отношении «функционально активный» означает, что фрагмент, производное или аналог способны иммуноспецифически связываться с целевыми клетками. Чтобы определить, какие последовательности CDR связывают антиген, можно использовать синтетические пептиды, содержащие последовательности CDR, в анализе связывания с антигеном любым методом анализа связывания, известным в данной области техники (например, анализ BIA) (смотрите, например, Kabat et al., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, National Institute of Health, Bethesda, Md; Kabat E et al., 1980, J. Immunology 125(3):961-969).

[0442] Другие применимые антитела включают фрагменты антител, такие как, но не ограничиваясь этим, фрагменты $F(ab')_2$, фрагменты Fab, Fv, одноцепочечные антитела, диатела, триатела, тетратела, scFv, scFv-FV или любую другую молекулу с такой же специфичностью, как и антитело.

[0443] Кроме того, применимыми антителами являются рекомбинантные антитела, такие как химерные и гуманизированные моноклональные антитела, содержащие как человеческие, так и нечеловеческие части, которые можно получать, используя стандартные технологии рекомбинантных ДНК. Химерное антитело представляет собой молекулу, в которой разные части получены от разных видов животных, такие как, например те, в которых вариабельная область получена из мышиного моноклонального антитела, а константные области получены из человеческого иммуноглобулина. (*смотрите, например*, патент США № 4816567; и патент США № 4816397, которые в полном объеме включены в данный документ посредством ссылки). Гуманизированные антитела представляют собой молекулы антител от видов, отличных от человека, имеющие одну или более определяющих комплементарность областей (CDR) от видов, отличных от человека, и каркасную область из молекулы иммуноглобулина человека. (*смотрите*, *например*, патент США № 5585089, который в полном объеме включен в данный документ посредством ссылки). Такие химерные и гуманизированные моноклональные антитела можно получать с помощью рекомбинантных технологий ДНК, известных в данной области техники, например, используя способы, каждый из которых в явном виде включен в данный документ посредством ссылки, описанные в Международной публикации № WO 87/02671; Европейской патентной публикации № 0184187; Европейской патентной публикации № 0171496; Европейской патентной публикации № 0173494; Международной публикации № WO 86/01533; патенте США № 4816567; Европейской патентной публикации № 012023; Berter et al., Science (1988)

240:1041-1043; Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) (1987) 84: 3439-3443; Liu et al., J. Immunol. (1987) 139: 3521-3526; Sun et al. Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) (1987) 84: 214-218; Nishimura et al. Cancer. Res. (1987) 47: 999-1005; Wood et al., Nature (1985) 314:446-449; Shaw et al., J. Natl. Cancer Inst. (1988) 80: 1553-1559; Morrison, Science (1985) 229:1202-1207; Oi et al. BioTechniques (1986) 4: 214; U.S. Patent No. 5,225,539; Jones et al., Nature (1986) 321: 552-525; Verhoeyan et al., Science (1988) 239: 1534; и Beidler et al., J. Immunol. (1988) 141: 4053-4060.

[0444] Полностью человеческие антитела являются исключительно предпочтительными и могут быть получены с использованием трансгенных мышей, которые неспособны экспрессировать гены тяжелой и легкой цепей эндогенного иммуноглобулина, но могут экспрессировать гены тяжелой и легкой цепи человека.

[0445] Антитела включают аналоги и производные, которые либо модифицированы, т. е. путем ковалентного присоединения любого типа молекулы, если такое ковалентное присоединение позволяет антителу сохранять свою антигенсвязывающую иммуноспецифичность. Например, но не в качестве ограничения, производные и аналоги антител включают те, которые были дополнительно модифицированы, например, путем гликозилирования, ацетилирования, ПЭГилирования, фосфорилирования, амидирования, дериватизации известными защитными/блокирующими группами, протеолитического расщепления, связывания со звеном клеточного антитела или другим белком и т. д. Любые из многочисленных химических модификаций можно осуществлять известными способами, включая, но не ограничиваясь этим, специфическое химическое расщепление, ацетилирование, формилирование, метаболический синтез в присутствии туникамицина и т. д. Кроме того, аналог или производное может содержать одну или более неприродных аминокислот.

[0446] Антитела могут иметь модификации (например, замены, делеции или добавления) в аминокислотных остатках, которые взаимодействуют с Fc-рецепторами. В частности, антитела могут иметь модификации в аминокислотных остатках, идентифицированных как участвующие во взаимодействии между анти-Fc доменом и FcRn-рецептором (смотрите, например, Международную публикацию № WO 97/34631, которая в полном объеме включена в данный документ посредством ссылки).

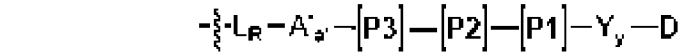
[0447] В конкретных вариантах осуществления используют известные антитела для лечения рака. В некоторых вариантах осуществления антитело селективно связывается с раковым антигеном гемобластоза.

[0448] ADC можно конъюгировать к конвертирующему пролекарство ферменту. Конвертирующий пролекарство фермент можно рекомбинантно сливать с антителом или конъюгировать к нему химически, используя известные способы. Типовыми конвертирующими пролекарство ферментами являются карбоксипептидаза G2, бета-глюкуронидаза, пенициллин-V-амидаза, пенициллин-G-амидаза, β-лактамаза, β-глюкозидаза, нитроредуктаза и карбоксипептидаза A.

2.2.2 Первичные линкеры

[0449] В одной группе вариантов осуществления конъюгат лиганд-лекарственный препарат состоит из одного или более фрагментов лекарственный препарат-линкер по формуле -L_R-L_O-D, где L_O представляет собой -A'$_{a'}$-W-Y_y-, описанный в данном документе, где L_R представляет собой первичный линкер, A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно, Y представляет собой спейсерное звено, нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 спейсерных звеньев, соответственно, D представляет собой лекарственное звено, а W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено представляет собой последовательность из до 12 (например, 3-12 или 3-10) смежных аминокислот, при этом последовательность содержит трипептид, который более подвержен протеолитическому расщеплению гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с гомогенатом нормальной ткани для инициации высвобождения D в виде свободного лекарственного препарата, причем цитотоксичность в отношении клеток нормальной ткани вследствие непреднамеренного высвобождения свободного лекарственного препарата в этих клетках и/или вблизи них связана с нежелательным явлением, обусловленным введением нуждающемуся в этом субъекту эффективного количества сравнительного конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в котором последовательность аминокислот его пептидного расщепляемого звена представляет собой дипептид -валин-цитруллин-, и/или трипептид повышает биодоступность конъюгата лиганд-лекарственный препарат с уменьшением биодоступности в нормальной ткани по сравнению со сравнительным конъюгатом. В некоторых из этих вариантов осуществления -L_R- представляет собой -L_B-A_a-B_b-, где L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающий лиганд, A представляет собой первое необязательное звено растяжения, нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно, B представляет собой необязательное звено разветвления и нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно.

[0450] В некоторых вариантах осуществления фрагмент лекарственный препарат-линкер имеет структуру

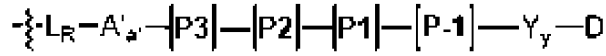


или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где L_R, A', a', Y, y и D сохраняют свои вышеуказанные значения, а P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, которые вместе обеспечивают селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани и/или обеспечивают повышенную биодоступность в опухолевой ткани относительно нормальной ткани по сравнению со сравнительным конъюгатом лиганд-лекарственный препарат, в котором аминокислотная последовательность пептидного расщепляемого звена представляет собой дипептид -валин-цитруллин-, при этом протеолитическое расщепление происходит в месте ковалентной связи между P1 и Y, если

нижний индекс y равен 1 или 2, или в месте ковалентной связи между P1 и D, если нижний индекс y равен 0, и при этом опухолевая и нормальная ткань принадлежат одному виду.

[0451] Как описано в другом месте, другие варианты осуществления включают дополнительный аминокислотный остаток между P1 и Y или D в зависимости от значения нижнего индекса y, который обозначают P-1, так, чтобы селективное эндопептидазное действие протеолитического(их) фермента(ов) гомогената опухолевой ткани происходило в месте амидной связи между P1 и P-1 с высвобождением фрагмента лекарственный препарат-линкер по формуле -[P-1]-Y_y-D. Высвобождение свободного лекарственного препарата из этого фрагмента происходит вследствие эндопептидазного действия протеолитического фермента с удалением аминокислотного остатка P-1 для непосредственного обеспечения свободного лекарственного препарата, если нижний индекс y равен 0 (т. е. Y отсутствует).

[0452] В некоторых вариантах осуществления, в которых присутствует дополнительный аминокислотный остаток между P1 и Y или D, фрагмент лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



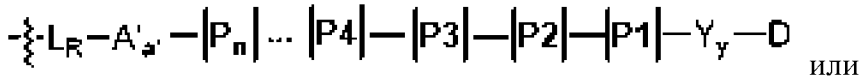
или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где L_R, A', a', Y, y и D сохраняют свои вышеуказанные значения, а P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, необязательно с P-1, которые вместе обеспечивают селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, при этом протеолитическое расщепление происходит в месте ковалентной связи между P1 и P-1 с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру [P-1]-Y_y-D.

[0453] В некоторых из этих вариантов осуществления, когда нижний индекс y равен 0, остаток [P-1]-D, образованный в результате эндопептидазного расщепления амидной связи между аминокислотами P1 и P-1, также проявляет цитотоксическую активность. В других вариантах осуществления нижний индекс y равен 1 или 2 так, что эндопептидазное действие с удалением аминокислотного остатка P-1 обеспечивает другой фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле -Y_y-D, который подвергается спонтанной фрагментации с обеспечением свободного лекарственного препарата.

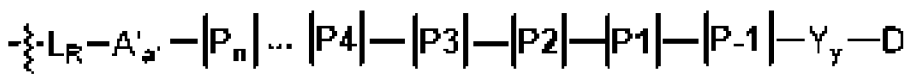
[0454] В других вариантах осуществления один или более аминокислотных остатков, обозначаемых P4, P5…Pn, где нижний индекс n составляет до 12 (например, 3-12 или 3-10), находятся между P3 и L_R или A' в зависимости от значения нижнего индекса a', которые в некоторых вариантах осуществления дополняют пептидное расщепляемое звено, содержащее аминокислотный остаток P-1. В любом случае дополнительные аминокислотные остатки P4, P5…P_n выбирают так, чтобы не изменять сайт расщепления, который обеспечивает фрагмент -Y_y-D или -[P-1]-Y_y-D, но, напротив, выбирают так, чтобы придать необходимые физиохимические и/или фармакокинетические свойства

конъюгату лиганд-лекарственный препарат, такие как улучшенная растворимость для уменьшения агрегации.

[0455] В некоторых вариантах осуществления, в которых присутствуют дополнительные аминокислотные остатки N-терминально к P3 или дополнительно присутствует P-1 между P1 и Y или D, фрагмент лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



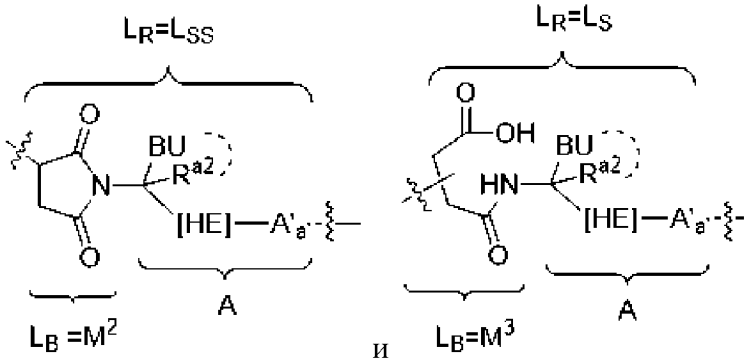
или



или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где L_R, A', a', Y, y и D сохраняют свои вышеуказанные значения, а P-1 и P1, P2, P3…P_n представляют собой аминокислотные остатки, причем нижний индекс n составляет до 12 (например, 3-12 или 3-10) и P1, P2 и P3, необязательно с P-1, вместе обеспечивают селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, при этом протеолитическое расщепление происходит в месте ковалентной связи между P1 и Y_y-D или между P1 и P-1 с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру Y_y-D или [P-1]-Y_y-D, соответственно, при этом последний впоследствии подвергается расщеплению экзопептидазой с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру Y_y-D. В обоих случаях линкерный фрагмент Y_y-D подвергается спонтанному распаду до полного высвобождения D в виде свободного лекарственного препарата.

[0456] В любом из этих вариантов осуществления, когда нижний индекс b равен 0, L_R фрагмента лекарственный препарат-линкер имеет формулу -L_B-A_a-, где L_B представляет собой ковалентно связывающий лиганд фрагмент и A представляет собой первое необязательное звено растяжения. В таких вариантах осуществления, если a равен 1 и нижний индекс a' равен 1, то A' присутствует как подзвено A и, следовательно, считается компонентом первичного линкера.

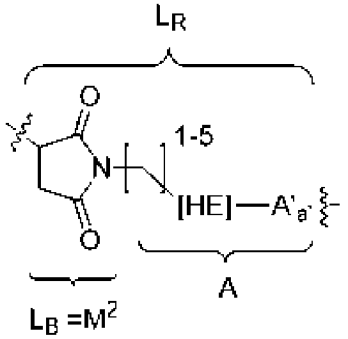
[0457] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, в которых нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a равен 1, L_R формулы -L_B-A- представляет собой самостабилизирующийся линкерный фрагмент (L_{SS}) или самостабилизированный линкерный фрагмент (L_S), полученный посредством контролируемого гидролиза сукцинимидного фрагмента (M^2) L_{SS}. Типовые первичные линкеры L_{SS} и L_S фрагмента лекарственный препарат-линкер композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат или соединения конъюгата, имеющих любой тип первичного линкера, представлены структурами:



соответственно, или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к A' или W в зависимости от значения нижнего индекса a'; A' представляет собой необязательное подзвено A; [HE] представляет собой необязательное усиливающее гидролиз звено, которое является компонентом, обеспечиваемым A; BU представляет собой основное звено; R^{a2} представляет собой необязательно замещенную C_1-C_{12} алкильную группу; а пунктирная кривая линия указывает на необязательную циклизацию так, что в отсутствие указанной циклизации BU представляет собой ациклическое основное звено, имеющее функциональную группу первичного, вторичного или третичного амина в качестве основной функциональной группы ациклического основного звена, или в присутствии указанной циклизации BU представляет собой циклизованное основное звено, в котором R^{a2} и BU вместе с атомом углерода, к которому они оба присоединены, определяют необязательно замещенный спиро C_3-C_{20} гетероцикло, содержащий скелетный основной атом азота функциональной группы вторичного или третичного амина в качестве основной функциональной группы циклического основного звена,

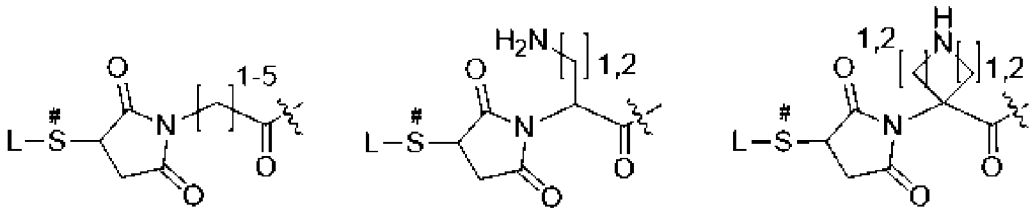
при этом основной атом азота ациклического основного звена или циклического основного звена необязательно предпочтительно защищен азот-защитной группой в зависимости от степени замещения основного атома азота или необязательно протонирован.

[0458] В других предпочтительных вариантах осуществления, в которых нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a равен 1, первичный линкер по формуле -L_B-A- не содержит основное звено, что проиллюстрировано структурой:



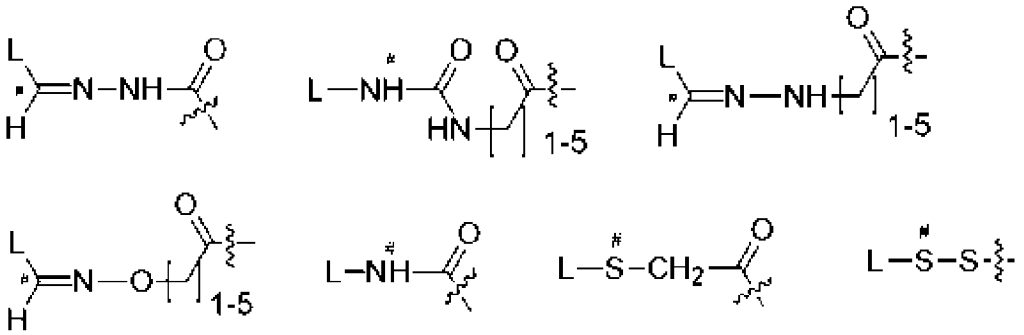
или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где вариабельные группы соответствуют описанным выше для первичных линкеров L_{SS} или L_S.

[0459] Репрезентативные структуры L-L_R-, в которых L_R ковалентно присоединен к лигандному звену (L) LDC, являются следующими:



и их солями, в частности фармацевтически приемлемыми солями, и структурами, в которых сукцинимидная кольцевая система гидролизована до формы с разомкнутым кольцом, где указанный (#) атом серы относится к лигандному звену; и при этом волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остатку структуры конъюгата.

[0460] Другие репрезентативные структуры L-L_R- являются следующими:

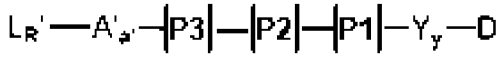


где указанный (#) атом азота, углерода или серы относится к лигандному звену; и при этом волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остатку структуры конъюгата.

[0461] В другой группе вариантов осуществления соединение лекарственный препарат-линкер, применимое при получении конъюгата лиганд-лекарственный препарат, описанного в предыдущей группе вариантов осуществления, имеет формулу L_R'-A'$_{a'}$-W-Y_y-D, описанную в данном документе, где L_R' представляет собой первичный линкер конъюгата лиганд-лекарственный препарат, который преобразуется в первичный линкер L_R фрагмента лекарственный препарат-линкер конъюгата лиганд-лекарственный препарат, когда соединение лекарственный препарат-линкер используют при получении этого конъюгата, A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно, при этом, когда L_R' не содержит звено разветвления и нижний индекс a' равен 1, A' считается частью L_R' как подзвено A, которое присутствует как компонент L_R', Y представляет собой спейсерное звено, нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 спейсерных звеньев, соответственно, D представляет собой лекарственное звено и W представляет собой пептидное расщепляемое звено, содержащее трипептид, который более подвержен к протеолитическому расщеплению гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, при этом цитотоксичность в отношении клеток нормальной ткани вследствие непреднамеренного

высвобождения D в виде свободного лекарственного препарата в этих клетках и/или вблизи них связана с нежелательным явлением, обусловленным введением конъюгата лиганд-лекарственный препарат, предназначенного для нацеливания на раковые клетки опухолевой ткани. В некоторых из этих вариантов осуществления L_R'- представляет собой L_B'-A_a-B_b-, где L_B' представляет собой ковалентно связывающий лиганд фрагмент первичного линкера соединения лекарственный препарат-линкер, иногда называемый ковалентно связывающим лиганд фрагментом-предшественником, поскольку он является предшественником ковалентно связывающего лиганд фрагмента (L_B) первичного линкера (L_R) фрагмента лекарственный препарат-линкер конъюгата лиганд-лекарственный препарат, когда соединение лекарственный препарат-линкер используют при получении этого конъюгата, A представляет собой первое необязательное звено растяжения, нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно, B представляет собой необязательное звено разветвления и нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно.

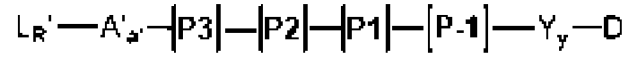
[0462] В некоторых вариантах осуществления соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру



или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где L_R', A', a', Y, y и D сохраняют свои вышеуказанные значения, а P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, которые вместе обеспечивают селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, при этом протеолитическое расщепление происходит в месте ковалентной связи между P1 и Y, если нижний индекс y равен 1 или 2, или в месте ковалентной связи между P1 и D, если нижний индекс y равен 0.

[0463] Как описано в другом месте, другие варианты осуществления включают дополнительный аминокислотный остаток между P1 и Y или D в зависимости от значения нижнего индекса y, который обозначают P-1, так, чтобы селективное эндопептидазное действие протеолитического(их) фермента(ов) гомогената опухолевой ткани происходило в месте амидной связи между P1 и P-1 с высвобождением фрагмента лекарственный препарат-линкер по формуле -[P-1]-Y_y-D. Высвобождение свободного лекарственного препарата из этого фрагмента происходит вследствие эндопептидазного действия протеолитического фермента с удалением аминокислотного остатка P-1 для непосредственного обеспечения свободного лекарственного препарата, если нижний индекс y равен 0 (т. е. Y отсутствует).

[0464] В некоторых вариантах осуществления, в которых присутствует дополнительный аминокислотный остаток между P1 и Y или D, соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



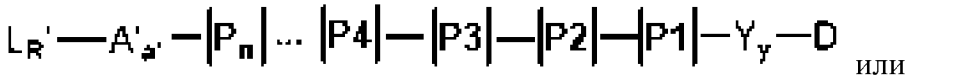
или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где L_R', A', a', Y, y и

D сохраняют свои вышеуказанные значения, а P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, необязательно с P-1, которые вместе обеспечивают селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, при этом протеолитическое расщепление происходит в месте ковалентной связи между P1 и P-1 с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру [P-1]-Y_y-D.

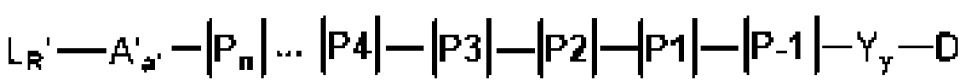
[0465] В некоторых из этих вариантов осуществления, когда нижний индекс y равен 0, остаток [P-1]-D, образованный в результате эндопептидазного расщепления амидной связи между аминокислотами P1 и P-1, также проявляет цитотоксическую активность. В других вариантах осуществления нижний индекс y равен 1 или 2 так, что эндопептидазное действие с удалением аминокислотного остатка P-1 обеспечивает другой фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле -Y_y-D, который подвергается спонтанной фрагментации с обеспечением свободного лекарственного препарата.

[0466] В других вариантах осуществления один или более аминокислотных остатков, обозначаемых P4, P5…Pn, где нижний индекс n составляет до 12 (например, 3-12 или 3-10), находятся между P3 и L_R или A' в зависимости от значения нижнего индекса a', которые в некоторых вариантах осуществления дополняют пептидное расщепляемое звено, содержащее аминокислотный остаток P-1. В любом случае дополнительные аминокислотные остатки P4, P5…P_n выбирают так, чтобы не изменять сайт расщепления, который обеспечивает фрагмент -Y_y-D или -[P-1]-Y_y-D, но, напротив, выбирают так, чтобы придать необходимые физиохимические и/или фармакокинетические свойства конъюгату лиганд-лекарственный препарат, такие как улучшенная растворимость для уменьшения агрегации.

[0467] В некоторых вариантах осуществления, в которых присутствуют дополнительные аминокислотные остатки N-терминально к P3 или дополнительно присутствует P-1 между P1 и Y или D, соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



или

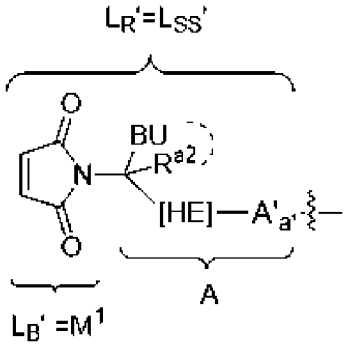


или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где L_R', A', a', Y, y и D сохраняют свои вышеуказанные значения, а P-1 и P1, P2, P3…P_n представляют собой аминокислотные остатки, причем нижний индекс n составляет до 12 (например, 3-12 или 3-10) и P1, P2 и P3, необязательно с P-1, вместе обеспечивают селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани, при этом протеолитическое расщепление происходит в месте ковалентной связи между P1 и Y_y-D или между P1 и P-1 с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру Y_y-D или [P-1]-Y_y-D, соответственно, при этом последний впоследствии подвергается расщеплению экзопептидазой с высвобождением

линкерного фрагмента, имеющего структуру Y_y-D. В обоих случаях линкерный фрагмент Y_y-D подвергается спонтанному распаду (также называемому самоуничтожением) до полного высвобождения D в виде свободного лекарственного препарата.

[0468] В любом из этих вариантов осуществления, когда нижний индекс b равен 0, L_R' соединения лекарственный препарат-линкер имеет формулу L_B'-A_a-, где L_B' представляет собой ковалентно связывающий лиганд фрагмент-предшественник и A представляет собой первое необязательное звено растяжения. В таких вариантах осуществления, если нижний индекс a равен 1 и нижний индекс a' равен 1, то A' присутствует как подзвено A и, следовательно, считается компонентом первичного линкера.

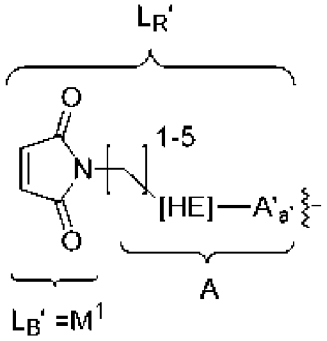
[0469] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, в которых нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a равен 1, L_R' формулы L_B'-A- соединения лекарственный препарат-линкер является фрагментом-предшественником самостабилизирующегося линкера (L_{SS}'), называемым так, потому что он превращается в фрагмент самостабилизирующегося линкера (L_{SS}) конъюгата лиганд-лекарственный препарат, соединение лекарственный препарат-линкер используют при получении конъюгата. Типовые первичные линкеры L_{SS}' соединения лекарственный препарат-линкер представлены структурами:



или ее солями, в частности фармацевтически приемлемыми солями, где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к A' или W в зависимости от значения нижнего индекса a'; A' представляет собой необязательное подзвено A; [HE] представляет собой необязательное усиливающее гидролиз звено, которое является компонентом, обеспечиваемым A; BU представляет собой основное звено; R^{a2} представляет собой необязательно замещенную C_1-C_{12} алкильную группу; а пунктирная кривая линия указывает на необязательную циклизацию так, что в отсутствие указанной циклизации BU представляет собой ациклическое основное звено, имеющее функциональную группу первичного, вторичного или третичного амина в качестве основной функциональной группы ациклического основного звена, или в присутствии указанной циклизации BU представляет собой циклизованное основное звено, в котором R^{a2} и BU вместе с атомом углерода, к которому они оба присоединены, определяют необязательно замещенный спиро C_3-C_{20} гетероцикло, содержащий скелетный основной атом азота функциональной группы вторичного или третичного амина в качестве

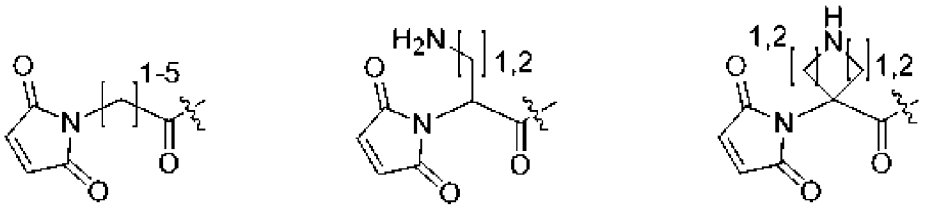
основной функциональной группы циклического основного звена, при этом основной атом азота ациклического основного звена или циклического основного звена необязательно предпочтительно защищен азот-защитной группой в зависимости от степени замещения основного атома азота или необязательно протонирован.

[0470] В других предпочтительных вариантах осуществления, в которых нижний индекс b равен 0 и нижний индекс a равен 1, первичный линкер по формуле L_B-A- не содержит основное звено, что проиллюстрировано структурой:



или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где вариабельные группы соответствуют описанным выше для первичных линкеров L_{SS} или L_S.

[0471] Репрезентативные структуры L_R'- соединения лекарственный препарат-линкер являются следующими:



и их солями, в частности фармацевтически приемлемыми солями, где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остатку LU' структуры соединения лекарственный препарат-линкер и где основной атом азота во второй или третьей структуре необязательно протонирован в виде кислотно-аддитивной соли или необязательно защищен. В случае защиты защитная группа предпочтительно представляет собой кислото-лабильную защитную группу, такую как BOC.

2.2.3 Пептидные расщепляемые звенья

[0472] В некоторых вариантах осуществления пептидное расщепляемое звено (W) конъюгата лиганд-лекарственный препарат представляет собой пептидную последовательность, содержащую трипептид, прямо соединенный с D или непрямо посредством одного или двух самоуничтожающихся спейсерных звеньев, при этом трипептид распознается по меньшей мере одной внутриклеточной протеазой, предпочтительно более чем одной, при этом уровень по меньшей мере одной протеазы повышен в опухолевых клетках по сравнению с нормальными клетками, и является более подверженным протеолизу гомогенатом опухолевой ткани, состоящей из опухолевых клеток, на которые нацелен конъюгат лиганд-лекарственный препарат, по сравнению с гомогенатом нормальной ткани, при этом цитотоксичность в отношении нормальной

ткани связана с нежелательным явлением, обусловленным введением сравнительного конъюгата лиганд-лекарственный препарат. В других вариантах осуществления трипептид улучшает биораспределение конъюгата в опухолевой ткани с уменьшением биораспределения в нормальной ткани, что в некоторых из этих вариантов осуществления дополняет селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани. В любом из этих вариантов осуществления нормальная ткань иногда представляет собой костный мозг, а нежелательным явлением, которое необходимо уменьшить, является нейтропения. В другом варианте осуществления нормальная ткань представляет собой ткань костного мозга, печени, почки, пищевода, молочной железы или роговицы, а нежелательным явлением, которое необходимо уменьшить, является нейтропения. В некоторых вариантах осуществления трипептид прямо соединен с D или непрямо соединен с D посредством одного или двух самоуничтожающихся спейсерных звеньев. В других вариантах осуществления пептидное расщепляемое звено (W), содержащее трипептид, как описано в данном документе, прямо соединено с D или непрямо соединено с D посредством одного или двух самоуничтожающихся спейсерных звеньев с помощью аминокислоты, которая не является частью трипептида.

[0473] Пептидное расщепляемое звено (W) сравнительного конъюгата, как правило, представляет собой дипептид, который придает селективность в отношении конкретной внутриклеточной протеазы, которая повышена в раковых клетках по сравнению со свободно циркулирующими протеазами, при этом конкретная протеаза способна расщеплять амидную связь между С-концевой аминокислотой дипептида и аминогруппой самоуничтожающегося спейсерного звена (Y) с инициацией высвобождения лекарственного звена в виде свободного лекарственного препарата.

[0474] В некоторых вариантах осуществления конъюгат лиганд-лекарственный препарат, содержащий трипептид, описанный в данном документе, демонстрирует улучшенную переносимость по сравнению со сравнительным конъюгатом лиганд-лекарственный препарат, в котором пептидное расщепляемое звено представляет собой дипептид, который придает селективность в отношении конкретной внутриклеточной протеазы, которая повышена в раковых клетках по сравнению со свободно циркулирующими протеазами, при этом конкретная протеаза способна расщеплять амидную связь между С-концевой аминокислотой дипептида и аминогруппой самоуничтожающегося спейсерного звена (Y) с инициацией высвобождения лекарственного звена в виде свободного лекарственного препарата. В некоторых вариантах осуществления известно, что дипептид селективно расщепляется катепсином В. В некоторых вариантах осуществления дипептид в сравнительном конъюгате лиганд-лекарственный препарат представляет собой -валин-цитруллин- или -валин-аланин-. В некоторых вариантах осуществления дипептид в сравнительном конъюгате лиганд-лекарственный препарат представляет собой -валин-цитруллин-. В некоторых вариантах осуществления дипептид в сравнительном конъюгате лиганд-лекарственный препарат

представляет собой -валин-аланин-. В некоторых вариантах осуществления переносимость относится к степени, в которой нежелательные явления, связанные с введением конъюгата лиганд-лекарственный препарат, влияют на возможность или желание пациента придерживаться дозы или интенсивности терапии. Следовательно, улучшенную переносимость можно обеспечить путем снижения появления или тяжести нежелательных явлений.

[0475] Не ограничиваясь теорией, агрегированные соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат с большей вероятностью подлежат распределению в нормальной ткани (например, костном мозге), при этом нормальная ткань, как известно, является источником целевых и/или нецелевых нежелательных явлений, испытываемых субъектом-млекопитающим при введении терапевтически эффективного количества конъюгата лиганд-лекарственный препарат. В некоторых вариантах осуществления улучшенная переносимость демонстрируется снижением уровня агрегации конъюгата лиганд-лекарственный препарат, содержащего трипептид, по сравнению со сравнительным конъюгатом лиганд-лекарственный препарат. В некоторых вариантах осуществления уровни агрегации конъюгата лиганд-лекарственный препарат, содержащего трипептид, и сравнительного конъюгата лиганд-лекарственный препарат определяют путем измерения концентрации высокомолекулярных агрегатов после инкубации конъюгатов в плазме крысы, плазме яванского макака или плазме человека при одинаковой концентрации в течение 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 или 96 часов.

[0476] В некоторых вариантах осуществления улучшенная переносимость конъюгата лиганд-лекарственный препарат, содержащего трипептид, демонстрируется улучшенной селективностью в отношении воздействия на опухолевую ткань в сравнении с нормальной тканью свободного цитотоксического соединения, высвобождаемого из конъюгата лиганд-лекарственный препарат, содержащего трипептид, по сравнению с цитотоксическим соединением, высвобождаемым из сравнительного конъюгата лиганд-лекарственный препарат. В некоторых вариантах осуществления опухолевая ткань и нормальная ткань получены от вида грызунов (например, крысы или мыши) или вида приматов (например, яванского макака или человека). В некоторых вариантах осуществления, когда опухолевая ткань и нормальная ткань получены от вида, отличного от человека, нормальная ткань относится к такому же типу ткани у человека, а цитотоксичность в отношении клеток этой ткани по меньшей мере частично является причиной нежелательного явления у субъекта-человека, которому вводят терапевтически эффективное количество сравнительной композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат. В некоторых вариантах осуществления нормальная ткань представляет собой ткань костного мозга, печени, почки, пищевода, молочной железы или роговицы. В некоторых вариантах осуществления нормальная ткань представляет собой костный мозг.

[0477] В некоторых вариантах осуществления улучшенная селективность воздействия демонстрируется снижением плазменной концентрации свободного цитотоксического соединения, высвобождаемого из конъюгата лиганд-лекарственный

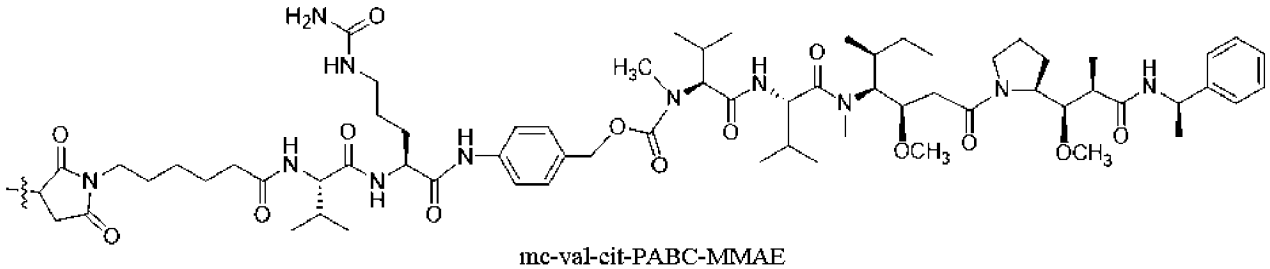
препарат, содержащего трипептид, по сравнению со сравнительным конъюгатом лиганд-лекарственный препарат, когда конъюгаты вводят в одинаковой дозе. В некоторых вариантах осуществления конъюгат лиганд-лекарственный препарат, содержащий трипептид, сохраняет эффективность (например, обеспечивает по существу такое же снижение объема опухоли по сравнению со сравнительным конъюгатом лиганд-лекарственный препарат) в опухолевой ксенотрансплантатной модели при введении в таком же эффективном количестве и по такой же схеме введения, которые были ранее определены для сравнительного конъюгата лиганд-лекарственный препарат.

[0478] В некоторых вариантах осуществления улучшенная селективность воздействия демонстрируется снижением нецелевой опосредованной цитотоксичности или сохранением нормальных клеток в нормальной ткани по сравнению со сравнительным конъюгатом лиганд-лекарственный препарат, когда конъюгаты вводят в одинаковой дозе. В некоторых вариантах осуществления нормальная ткань представляет собой ткань костного мозга, печени, почки, пищевода, молочной железы или роговицы. В некоторых вариантах осуществления нормальная ткань представляет собой костный мозг. В некоторых вариантах осуществления снижение нецелевой опосредованной цитотоксичности или сохранение нормальных клеток в нормальной ткани демонстрирует гистология костного мозга (например, сниженная потеря по ядерному окрашиванию мононуклеарных клеток). В некоторых вариантах осуществления снижение нецелевой опосредованной цитотоксичности или сохранение нормальных клеток в нормальной ткани демонстрирует снижение потери нейтрофилов и/или ретикулоцитов и/или более быстрое восстановление после этой потери. В некоторых вариантах осуществления снижение нецелевой опосредованной цитотоксичности или сохранение нормальных клеток в нормальной ткани демонстрирует снижение потери нейтрофилов. В некоторых вариантах осуществления снижение нецелевой опосредованной цитотоксичности или сохранение нормальных клеток в нормальной ткани демонстрирует снижение потери ретикулоцитов. В некоторых вариантах осуществления конъюгат лиганд-лекарственный препарат, содержащий трипептид, сохраняет эффективность в опухолевой ксенотрансплантатной модели при введении в таком же эффективном количестве и по такой же схеме введения, которые были ранее определены для сравнительного конъюгата лиганд-лекарственный препарат. В некоторых вариантах осуществления при сравнении селективности воздействия между конъюгатом лиганд-лекарственный препарат, содержащим трипептид, и сравнительным конъюгатом лиганд-лекарственный препарат лигандные звенья обоих конъюгатов замещены несвязывающим антителом.

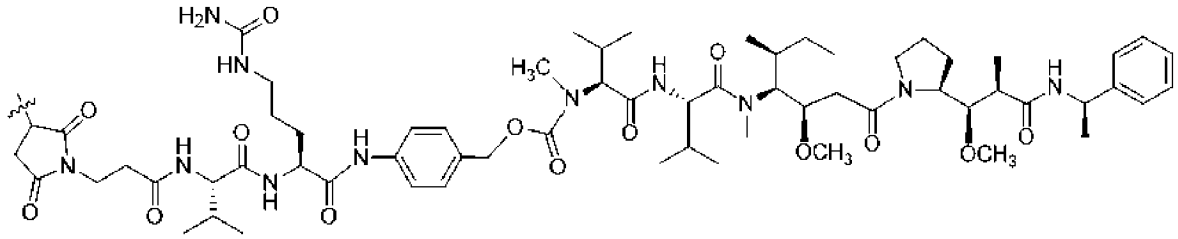
[0479] В некоторых вариантах осуществления предложены конъюгаты лиганд-лекарственный препарат (например, ADC), которые менее активны, чем сравнительный конъюгат лиганд-лекарственный препарат (например, дипептидный ADC, содержащий -val-cit-), in vivo или in vitro, но также существенно менее токсичны. Не ограничиваясь теорией, нет необходимости в том, чтобы конъюгат лиганд-лекарственный препарат был настолько же активным, поскольку терапевтическое окно будет больше, если он менее

активен и менее токсичен.

[0480] В предпочтительных вариантах осуществления амидная связь между карбоновой кислотой С-концевой аминокислоты трипептида и аминогруппой самоуничтожающегося спейсерного звена (Y) расщепляется по меньшей мере одной, предпочтительно более чем одной, внутриклеточной протеазой с инициацией высвобождения лекарственного звена в виде свободного лекарственного препарата. Когда лекарственное звено получено из MMAE, фрагменты лекарственный препарат-линкер сравнительного конъюгата имеют формулу mc-val-cit-PABC-MMAE или mp-val-cit-PABC-MMAE, которые имеют структуры:



mc-val-cit-PABC-MMAE



mp-val-cit-PABC-MMAE

[0481] В других вариантах осуществления пептидное расщепляемое звено (W) конъюгата лиганд-лекарственный препарат представляет собой пептидную последовательность, состоящую из остатка тетрапептида, прямо соединенного с D или непрямо посредством по меньшей мере одного самоуничтожающегося спейсерного звена, при этом последовательность тетрапептида -P3-P2-P1-[P-1]- распознается по меньшей мере одной внутриклеточной протеазой, предпочтительно более чем одной, при этом уровень по меньшей мере одной внутриклеточной протеазы повышен в опухолевых клетках по сравнению с нормальными клетками, и является более селективной в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани, состоящей из опухолевых клеток, на которые нацелен конъюгат лиганд-лекарственный препарат, по сравнению с гомогенатом нормальной ткани, при этом цитотоксичность в отношении нормальной ткани связана с нежелательным явлением, обусловленным введением сравнительного конъюгата лиганд-лекарственный препарат. Пептидное расщепляемое звено сравнительного конъюгата представляет собой дипептид, который придает селективность в отношении конкретной внутриклеточной протеазы по сравнению со свободно циркулирующими протеазами. В этих тетрапептидных вариантах осуществления указанная селективность обусловлена главным образом N-концевой трипептидной последовательностью тетрапептида.

[0482] В предпочтительных вариантах осуществления, в которых пептидная

последовательность состоит из остатка тетрапептида, амидная связь между карбоновой кислотой С-концевой аминокислоты трипептида и оставшимся аминокислотным остатком этой тетрапептидной последовательности расщепляется по меньшей мере одной внутриклеточной протеазой с инициацией высвобождения свободного лекарственного препарата посредством высвобождения сначала содержащего аминокислоту линкерного фрагмента, который после этого подвергается удалению экзопептидазой своего аминокислотного компонента с обеспечением второго линкерного фрагмента. Таким образом, связь P1-[P-1] в тетрапептиде -P3-P2-P1-[P-1]- расщепляется с высвобождением фрагмента лекарственный препарат-линкер -[P-1]-Y_y-D. Затем во втором линкерном фрагменте происходит самоуничтожение его спейсерного(ых) звена(ьев), которое(ые) находилось(ись) в промежутке между D и тетрапептидом W, для полного высвобождения D в виде свободного лекарственного препарата.

[0483] В любом из вышеприведенных вариантов осуществления по меньшей мере одна протеаза, которая предпочтительно повышена в целевых раковых клетках, включает определенные катепсины, такие как катепсин B. В других вариантах осуществления связь P1-D, P1-Y- или P1-[P-1] расщепляется несекретируемой внутриклеточной протеазой или группой таких внутриклеточных протеаз целевых раковых клеток и одной или более внеклеточными протеазами, которые ассоциированы с тканевым микроокружением опухолевых клеток или повышены в нем и которые отсутствуют или присутствуют на пониженных уровнях в тканевом микроокружении нормальных клеток, при этом цитотоксичность в отношении этих нормальных клеток, как правило, связана с нежелательным явлением при введении эффективного количества сравнительного конъюгата, в котором пептидное расщепляемое звено представляет собой дипептид, который придает селективность в отношении конкретной внутриклеточной протеазы по сравнению со свободно циркулирующими протеазами. В других вариантах осуществления связь P1-D, P1-Y- или P1-[P-1] расщепляется несекретируемой внутриклеточной протеазой или группой таких внутриклеточных протеаз целевых раковых клеток и менее подвержена протеолизу внеклеточными протеазами, которые ассоциированы с нормальной тканью, по сравнению со сравнительным конъюгатом, в котором пептидное расщепляемое звено представляет собой вышеупомянутый дипептид. В некоторых из этих вариантов осуществления секретируемая протеаза в нормальной ткани представляет собой протеазу нейтрофилов, например выбранную из группы, состоящей из эластазы Neu, катепсина G и протеиназы 3.

[0484] В других предпочтительных вариантах осуществления конъюгат лиганд-лекарственный препарат по настоящему изобретению придает общую селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани, которая состоит из опухолевых клеток, на которые нацелен конъюгат лиганд-лекарственный препарат, по сравнению с гомогенатом нормальной ткани, при этом цитотоксичность для нормальной ткани связана с нежелательным явлением при введении сравнительного конъюгата лиганд-лекарственный препарат. Пептидное расщепляемое звено (W) в фрагментах

лекарственный препарат-линкер сравнительного конъюгата, представляет собой вышеупомянутый дипептид, который придает селективность в отношении конкретной внутриклеточной протеазы, повышенной в раковых клетках опухолевой ткани, по сравнению со свободно циркулирующими протеазами. Другие предпочтительные трипептиды повышают биораспределение конъюгата в опухолевой ткани с уменьшением биораспределения в нормальной ткани, при этом цитотоксичность для нормальной ткани связана с нежелательным явлением при введении сравнительного конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в котором W представляет собой дипептид, который придает селективность в отношении конкретной внутриклеточной протеазы по сравнению со свободно циркулирующими протеазами. Когда лекарственное звено получено из MMAE, фрагменты лекарственный препарат-линкер сравнительного конъюгата имеют формулу mc-val-cit-PABC-MMAE или mp-val-cit-PABC-MMAE.

[0485] Было определено, что конъюгаты лиганд-лекарственный препарат, имеющие линкеры, содержащие определенные аминокислотные последовательности из 3 остатков, имеют преимущественные свойства, такие как сниженная токсичность в одной или более нормальных тканях (что может быть обусловлено дифференциальным протеолизом) и улучшенные биофизические свойства (например, сниженная агрегация, большее время удержания до выведения). Эти преимущественные свойства можно обеспечивать в конъюгатах лиганд-лекарственный препарат, имеющих линкеры, содержащие 3-аминокислотную последовательность, в которой N-концевая аминокислота последовательности из 3 остатков представляет собой D-аминокислоту, а центральный и C-концевой остатки последовательности из 3 остатков представляют собой, в любом порядке, аминокислоту, которая является отрицательно заряженной (например, при плазменном pH), и аминокислоту, которая является полярной или которая имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту в D-аминокислотной конфигурации. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит D-Leu или D-Ala. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит D-Leu. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит D-Ala. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аланин. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит полярную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит серин. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, которая является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной

конфигурации. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 представляет собой D-Leu. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 представляет собой D-Ala. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 трипептида имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 представляет собой аланин. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 трипептида представляет собой полярную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 представляет собой серин. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 трипептида является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 трипептида имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 представляет собой аланин. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 трипептида представляет собой полярную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 представляет собой серин. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 трипептида является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления одна из аминокислот P2 или P1 трипептида имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина (например, не более чем у валина), а другая из аминокислот P2 или P1 представляет собой полярную аминокислоту или является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина (например, не более чем у валина), а аминокислота P1 представляет собой полярную аминокислоту или является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина (например, не более чем у валина), а аминокислота P2 представляет собой полярную аминокислоту или является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu-. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Asp-. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации, одна из аминокислот P2 или P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина

(например, не более чем у валина), а другая из аминокислот P2 или P1 является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 находится в D-аминокислотной конфигурации, аминокислота P2 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина (например, не более чем у валина), а аминокислота P1 является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 находится в D-аминокислотной конфигурации, аминокислота P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина (например, не более чем у валина), а аминокислота P2 является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- выбран из группы, состоящей из -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- и -D-Ala-Ala-Glu-.

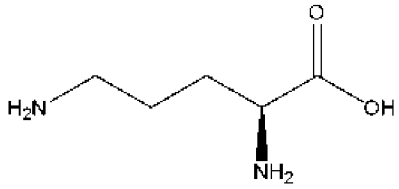
[0486] В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из аланина, цитруллина, пролина, изолейцина, лейцина и валина. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту в D-аминокислотной конфигурации. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит D-Leu. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит D-Ala. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту в D-аминокислотной конфигурации. В другом варианте осуществления трипептид содержит аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из D-лейцина и D-аланина. В другом варианте осуществления трипептид содержит D-лейцин. В другом варианте осуществления трипептид содержит D-аланин. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую боковую цепь с по меньшей мере одним заряженным (например, отрицательно заряженным при плазменном физиологическом pH) заместителем или по меньшей мере одним незаряженным заместителем с постоянным электрическим дипольным моментом, и одну или две дополнительные аминокислоты, имеющие гидрофобность не более чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую боковую цепь с по меньшей мере одним заряженным (например, отрицательно заряженным при плазменном физиологическом pH) заместителем или по меньшей мере одним незаряженным заместителем с постоянным электрическим дипольным моментом, и одну или две дополнительные аминокислоты, имеющие алифатические боковые цепи с гидрофобностью не более чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую боковую цепь с по меньшей мере одним незаряженным заместителем с постоянным электрическим дипольным моментом, и одну или две дополнительные аминокислоты, имеющие гидрофобность не более чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую боковую цепь с по меньшей мере одним незаряженным заместителем с постоянным электрическим дипольным моментом, и одну или две дополнительные аминокислоты, имеющие алифатические боковые цепи с гидрофобностью не более чем у лейцина. В некоторых вариантах осуществления все

боковые цепи трипептида имеют нейтральный заряд (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления трипептид не содержит какие-либо ионизируемые боковые цепи. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина, такую как аланин или валин. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, такую как аланин. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит полярную аминокислоту, такую как аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цитруллин, метионинсульфоксид или γ-карбокси-глутаминовая кислота. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, которая является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH), такую как глутаминовая кислота, аспарагиновая кислота или γ-карбокси-глутаминовая кислота. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую боковую цепь с по меньшей мере одним заряженным заместителем или по меньшей мере одним незаряженным заместителем с постоянным электрическим дипольным моментом, предпочтительно большим чем у $-C(O)NH_2$. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, имеющую боковую цепь с по меньшей мере одним заряженным заместителем или по меньшей мере одним незаряженным заместителем с постоянным электрическим дипольным моментом, предпочтительно большим чем у $-NH-C(O)NH_2$. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из аланина, α-аминомасляной кислоты, α-аминоизомасляной кислоты, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ-карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, глицина, лейцина, норвалина, пролина, изолейцина, лейцина, лизина, метионинсульфоксида, нафтилаланина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пропаргилглицина, 2-аминобут-3-иновой кислоты, пролина, селенометионина, серина, треонина и валина. В некоторых вариантах осуществления трипептид содержит аминокислоту, выбранную из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ-карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, глицина, лейцина, пролина, изолейцина, лейцина, лизина, метионинсульфоксида, нафтилаланина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пролина, селенометионина, серина, треонина и валина. Понятно, что аминокислота в любом из вариантов осуществления в данном документе может представлять собой природную или неприродную аминокислоту. Например, аланин может представлять собой D-аланин или L-аланин, а лейцин может представлять собой D-лейцин или L-лейцин.

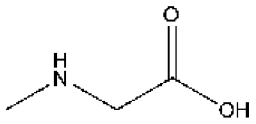
[0487] В некоторых вариантах осуществления P3 выбран из группы, состоящей из аланина, аргинина, аспарагина, аспарагиновой кислоты, цистеина, гамма-карбоксиглутамата, глутамина, глицина, гистидина, гомосерина, гидроксилизина, гидроксипролина, изолейцина, лейцина, лизина, метионина, орнитина, фенилаланина, пролина, саркозина, серина, треонина, триптофана, тирозина, валина, п-

фторфенилаланина, п-фторфенилаланина и о-фторфенилаланина; P2 выбран из группы, состоящей из аминомасляной кислоты (Abu), 2-аминоизомасляной кислоты (Aib), норвалина (Nva), аминогиппуровой кислоты (Pra), аланина, аргинина, аспарагина, аспарагиновой кислоты, цистеина, глутамина, глутаминовой кислоты, глицина, гистидина, гомосерина, гидроксилизина, гидроксипролина, изолейцина, лейцина, метионина, орнитина, фенилаланина, пролина, саркозина, серина, треонина, триптофана, тирозина и валина; и P1 выбран из группы, состоящей из глутаминовой кислоты, метионинсульфоксида, аспарагиновой кислоты, пролина, глицина, серина, валина, тирозина, фенилаланина, триптофана, гистидина, глутамина, изолейцина, метионина и гамма-карбоксиглутамата. В некоторых вариантах осуществления P3 выбран из группы, состоящей из аланина, аргинина, аспарагина, аспарагиновой кислоты, цистеина, гамма-карбоксиглутамата, глутамина, глутаминовой кислоты, глицина, гистидина, гомосерина, гидроксилизина, гидроксипролина, изолейцина, лейцина, лизина, метионина, орнитина, фенилаланина, пролина, саркозина, серина, треонина, триптофана, тирозина, валина, п-фторфенилаланина, п-фторфенилаланина и о-фторфенилаланина; P2 выбран из группы, состоящей из аминомасляной кислоты (Abu), 2-аминоизомасляной кислоты (Aib), норвалина (Nva), аминогиппуровой кислоты (Pra), аланина, аргинина, аспарагина, аспарагиновой кислоты, цистеина, глутамина, глутаминовой кислоты, глицина, гистидина, гомосерина, гидроксилизина, гидроксипролина, изолейцина, лейцина, метионина, орнитина, фенилаланина, пролина, саркозина, серина, треонина, триптофана, тирозина и валина; и P1 выбран из группы, состоящей из аланина, аспарагина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, метионинсульфоксида, аспарагиновой кислоты, пролина, глицина, серина, валина, тирозина, фенилаланина, триптофана, гистидина, глутамина, изолейцина, метионина и гамма-карбоксиглутамата. В некоторых вариантах осуществления P3 представляет собой D-аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления P3 выбран из группы, состоящей из D-аланина, D-аргинина, D-аспарагина, D-аспарагиновой кислоты, D-цистеина, D-гамма-карбоксиглутамата, D-глутамина, D-глицина, D-гистидина, D-гомосерина, D-гидроксилизина, D-гидроксипролина, D-изолейцина, D-лейцина, D-лизина, D-метионина, D-орнитина, D-фенилаланина, D-пролина, D-саркозина, D-серина, D-треонина, D-триптофана, D-тирозина, D-валина, D-п-фторфенилаланина, D-п-фторфенилаланина и D-о-фторфенилаланина. В некоторых вариантах осуществления P3 выбран из группы, состоящей из L-аланина, L-аргинина, L-аспарагина, L-аспарагиновой кислоты, L-цистеина, L-гамма-карбоксиглутамата, L-глутамина, L-глицина, L-гистидина, L-гомосерина, L-гидроксилизина, L-гидроксипролина, L-изолейцина, L-лейцина, L-лизина, L-метионина, L-орнитина, L-фенилаланина, L-пролина, L-саркозина, L-серина, L-треонина, L-триптофана, L-тирозина, L-валина, L-п-фторфенилаланина, L-п-фторфенилаланина и L-о-фторфенилаланина. В некоторых вариантах осуществления P3 представляет собой L-фенилаланин или D-фенилаланин.

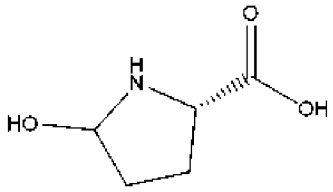
[0488] Структуры выбранных аминокислот можно найти ниже:



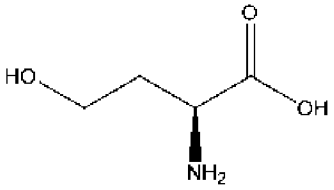
L-орнитин



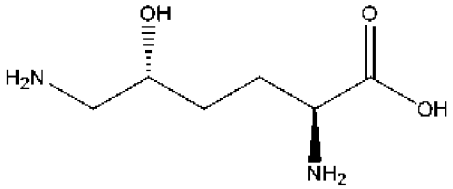
саркозин



L-гидроксипролин



L-гомосерин

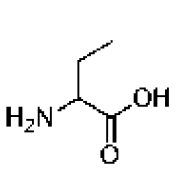


L-гидроксилизин

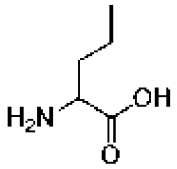
[0489] В более предпочтительных трипептидах аминокислота P3 выбрана из группы, состоящей из аланина, цитруллина, пролина, изолейцина, лейцина и валина, предпочтительно в D-аминокислотной конфигурации, при этом наиболее предпочтительным является D-Leu. В другом варианте осуществления аминокислота P3 находится в D-аминокислотной конфигурации. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, лейцина, глутаминовой кислоты, лизина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пролина и треонина. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из D-аланина, D-лейцина, глутаминовой кислоты, лизина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пролина и треонина. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде представляет собой D-лейцин. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде представляет собой D-аланин.

[0490] В других более предпочтительных трипептидах аминокислота P2 представляет собой природную или неприродную аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина, при этом более низкая гидрофобность является более предпочтительной с большей гидрофобностью боковой цепи P3. В другом варианте осуществления аминокислота P2 представляет собой природную или неприродную аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина, лейцина и метионина. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина и метионина. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 в трипептиде представляет собой аланин. В некоторых

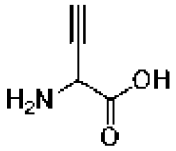
вариантах осуществления P2 выбран из группы, состоящей из Asn, Asp, Gln, Glu, Gly и Ser. В некоторых из этих предпочтительных трипептидов P2 выбран из группы, состоящей из Abu, Aib, Ala, Gly, Leu, Nva, Pra, Egl и Val, где неприродные аминокислоты имеют структуры:



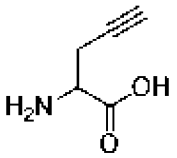
Abu



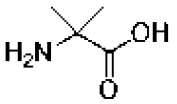
Nva



Egl



Pra



Aib

В случае Abu, Ala, Leu, Nva и Pra в качестве аминокислотного остатка P2 боковая цепь предпочтительно находится в L-конфигурации. В другом варианте осуществления аминокислота P2 в трипептиде представляет собой полярную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аспарагина, глутамина, серина, треонина, тирозина, цитруллина, метионинсульфоксида и γ-карбокси-глутаминовой кислоты. В другом варианте осуществления аминокислота P2 в трипептиде является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты и γ-карбокси-глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 в трипептиде представляет собой аланин. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 в трипептиде представляет собой серин. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина, лейцина, метионина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аспарагина, глутамина, серина, треонина, тирозина, цитруллина, метионинсульфоксида и γ-карбокси-глутаминовой кислоты.

[0491] В более предпочтительных трипептидах аминокислота P1 представляет собой природную или неприродную аминокислоту, имеющую боковую цепь с по меньшей мере одним заряженным заместителем или по меньшей мере одним незаряженным заместителем с постоянным электрическим дипольным моментом, предпочтительно большим чем у $-C(O)NH_2$. В другом варианте осуществления аминокислота P1 представляет собой природную или неприродную аминокислоту, имеющую боковую цепь с по меньшей мере одним заряженным заместителем или по меньшей мере одним незаряженным заместителем с постоянным электрическим дипольным моментом,

предпочтительно большим чем у -NH-C(O)NH_2. В некоторых из этих предпочтительных трипептидов P1 выбран из группы, состоящей из Glu, Asp, γ-карбокси-глутаминовой кислоты, лизина, метионинсульфоксида, иногда обозначаемого как Met(O), и фосфотреонина, в котором боковая цепь предпочтительно находится в L-стереохимической конфигурации, при этом Glu, Asp, γ-карбокси-глутаминовая кислота и Met(O) являются более предпочтительными, а Glu - в особенности предпочтительным. В некоторых из этих предпочтительных трипептидов P1 выбран из группы, состоящей из Glu, Asp, γ-карбокси-глутаминовой кислоты, лизина, пролина, метионинсульфоксида, иногда обозначаемого как Met(O), и фосфотреонина, в котором боковая цепь предпочтительно находится в L- стереохимической конфигурации, при этои Glu, Asp, γ-карбокси-глутаминовая кислота и Met(O) являются более предпочтительными, а Glu - в особенности предпочтительным. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ-карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, лейцина, лизина, метионинсульфоксида и селенометионина. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 в трипептиде представляет собой глутаминовую кислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 представляет собой природную или неприродную аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина, при этом более низкая гидрофобность является более предпочтительной с большей гидрофобностью боковой цепи P3. В другом варианте осуществления аминокислота P1 представляет собой природную или неприродную аминокислоту, имеющую алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина, лейцина и метионина. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина и метионина. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 в трипептиде представляет собой аланин. В другом варианте осуществления аминокислота P1 в трипептиде представляет собой полярную аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аспарагина, глутамина, серина, треонина, тирозина, цитруллина, метионинсульфоксида и γ-карбокси-глутаминовой кислоты. В другом варианте осуществления аминокислота P1 в трипептиде является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты и γ-карбокси-глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 в трипептиде представляет собой аланин. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 в трипептиде представляет собой серин.

[0492] В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде выбрана

из группы, состоящей из аланина, лейцина, глутаминовой кислоты, лизина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пролина и треонина, аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина, лейцина, метионина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аспарагина, глутамина, серина, треонина, тирозина, цитруллина, метионинсульфоксида и γ-карбокси-глутаминовой кислоты, а аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ-карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, лейцина, лизина, метионинсульфоксида и селенометионина. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, лейцина, глутаминовой кислоты, лизина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пролина и треонина, аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина, лейцина, метионина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аспарагина, глутамина, серина, треонина, тирозина, цитруллина, метионинсульфоксида и γ-карбокси-глутаминовой кислоты, а аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, лейцина, глутаминовой кислоты, лизина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пролина и треонина, аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина, лейцина, метионина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аспарагина, глутамина, серина, треонина, тирозина, цитруллина, метионинсульфоксида и γ-карбокси-глутаминовой кислоты, а аминокислота P1 в трипептиде представляет собой аланин.

[0493] В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, лейцина, глутаминовой кислоты, лизина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пролина и треонина, аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты, а аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ-карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, лейцина, лизина, метионинсульфоксида и селенометионина. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, лейцина, глутаминовой кислоты, лизина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пролина и треонина, аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты, а аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, лейцина, глутаминовой кислоты, лизина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пролина и треонина, аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты, а аминокислота P1 в трипептиде представляет собой аланин.

[0494] В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, лейцина, глутаминовой кислоты, лизина, O-

аллилтирозина, фенилаланина, пролина и треонина, аминокислота P2 в трипептиде представляет собой аланин, а аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ-карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, лейцина, лизина, метионинсульфоксида и селенометионина. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, лейцина, глутаминовой кислоты, лизина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пролина и треонина, аминокислота P2 в трипептиде представляет собой аланин, а аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, лейцина, глутаминовой кислоты, лизина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пролина и треонина, аминокислота P2 в трипептиде представляет собой аланин, а аминокислота P1 в трипептиде представляет собой аланин.

[0495] В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин, аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина, лейцина, метионина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аспарагина, глутамина, серина, треонина, тирозина, цитруллина, метионинсульфоксида и γ-карбокси-глутаминовой кислоты, а аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ-карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, лейцина, лизина, метионинсульфоксида и селенометионина. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин, аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина, лейцина, метионина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аспарагина, глутамина, серина, треонина, тирозина, цитруллина, метионинсульфоксида и γ-карбокси-глутаминовой кислоты, а аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин, аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, валина, лейцина, метионина, аспарагиновой кислоты, глутаминовой кислоты, аспарагина, глутамина, серина, треонина, тирозина, цитруллина, метионинсульфоксида и γ-карбокси-глутаминовой кислоты, а аминокислота P1 в трипептиде представляет собой аланин.

[0496] В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин, аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты, а аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ-карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, лейцина, лизина, метионинсульфоксида и селенометионина. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин, аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой

кислоты и глутаминовой кислоты, а аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин, аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты, а аминокислота P1 в трипептиде представляет собой аланин.

[0497] В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин, аминокислота P2 в трипептиде представляет собой аланин, а аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, γ-карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, лейцина, лизина, метионинсульфоксида и селенометионина. В другом варианте осуществления аминокислота P3 в трипептиде представляет собой D-лейцин или D-аланин, аминокислота P2 в трипептиде представляет собой аланин, а аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты.

[0498] В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, D-аланина, D-лейцина, глутаминовой кислоты, L-лейцина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пролина, треонина и валина.

[0499] В некоторых вариантах осуществления аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из α-аминомасляной кислоты, аланина, D-лейцина, глутаминовой кислоты, глутамина, глицина, лейцина, пролина, серина и валина.

[0500] В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, гамма-карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, лейцина и лизина.

[0501] В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, D-аланина, D-лейцина, глутаминовой кислоты, L-лейцина, O-аллилтирозина, фенилаланина, пролина, треонина и валина, аминокислота P2 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из α-аминомасляной кислоты, аланина, D-лейцина, глутаминовой кислоты, глутамина, глицина, лейцина, пролина, серина и валина, а аминокислота P1 в трипептиде выбрана из группы, состоящей из аланина, аспарагиновой кислоты, цитруллина, гамма-карбокси-глутаминовой кислоты, глутаминовой кислоты, глутамина, лейцина и лизина, при этом -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-. В некоторых вариантах осуществления любых из приведенных в данном документе вариаций -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

[0502] В некоторых вариантах осуществления трипептидов аминокислота P3 находится в D-аминокислотной конфигурации, одна из аминокислот P2 или P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина (например, не более чем у валина), а другая из аминокислот P2 или P1 представляет собой полярную аминокислоту или является отрицательно заряженной (например, при плазменном

физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 находится в D-аминокислотной конфигурации, аминокислота P2 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина (например, не более чем у валина), а аминокислота P1 представляет собой полярную аминокислоту или является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления аминокислота P3 находится в D-аминокислотной конфигурации, аминокислота P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина (например, не более чем у валина), а аминокислота P2 представляет собой полярную аминокислоту или является отрицательно заряженной (например, при плазменном физиологическом pH). В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- выбран из группы, состоящей из -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- и -D-Ala-Ala-Glu-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- выбран из группы, состоящей из -D-Leu-Asp-Ala-, -D-Leu-Glu-Ala-, -D-Ala-Asp-Ala- и -D-Ala-Glu-Ala-.

[0503] В других особенно предпочтительных вариантах осуществления -P2-P1- выбран из группы, состоящей из -Ala-Glu-, -Leu-Glu-, -Ala-Met(O)- и -Leu-Met(O)-, при этом боковые цепи обеих аминокислот находятся в L-стереохимической конфигурации. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- выбран из группы, состоящей из -Ala-Ala-, -Ala-Asp-, -Ala-Cit-, -Ala-(γ-карбокси-глутаминовая кислота)-, -Ala-Glu-, -Ala-Gln-, -Ala-Leu-, -Ala-Lys-, -Ala-Met(O)-, -Ala-селенометионин-, -D-Leu-Glu-, -Leu-Glu-, -Glu-Ala-, -Glu-Cit-, -Glu-Leu-, -Gly-Glu-, -Leu-Cit-, -Leu-Glu-, -Leu-Lys-, -Leu-Met(O)-, -(нафтилаланин)-Lys-, -Pro-Cit-, -Ser-Asp-, -Ser-Glu-, -Val-Cit- и -Val-Gln-. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu-. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- представляет собой -Ala-Asp-. В некоторых вариантах осуществления -P2-P1- выбран из группы, состоящей из -Asn-Asn-, -Asn-Glu-, -Asp-Pro-, -Asp-Ser-, -Gln-Asp-, -Gln-Glu-, -Glu-Pro-, -Gly-Asp-, -Gly-Pro-, -Nal-Lys-, -Ser-Ala-, -Ser-Pro- и -Ser-Ser-.

[0504] В некоторых вариантах осуществления -P3-P2- выбран из группы, состоящей из -Ala-Ser-, -Ala-Ala-, -Leu-Ala-, -Leu-Glu-, -Leu-Gly-, -Leu-Leu-, Leu-Ser-, -Leu-Val-, -Glu-Ala-, -Glu-Leu-, -Glu-Pro-, -Glu-Val-, -Lys-Leu-, -(O-аллилтирозин)-Leu-, -(O-аллилтирозин)-Pro-, -Phe-Ser-, -Pro-Leu-, -Pro-(нафтилаланин)- и -Thr-Glu-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2- выбран из группы, состоящей из -Ala-Ser-, -D-Ala-Ala-, -D-Leu-Ala-, -D-Leu-Glu-, -D-Leu-Gly-, -D-Leu-Leu-, D-Leu-Ser-, -D-Leu-Val-, -Glu-Ala-, -Glu-Leu-, -Glu-Pro-, -Glu-Val-, L-Leu-Ala-, -Lys-Leu-, -(O-аллилтирозин)-D-Leu-, -(O-аллилтирозин)-Pro-, -Phe-Ser-, -Pro-Leu-, -Pro-(нафтилаланин)- и -Thr-Glu-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2- представляет собой -D-Leu-Ala- или -L-Leu-Ala-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2- представляет собой -D-Leu-Ala-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2- представляет собой -D-Ala-Ala-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2- выбран из группы, состоящей из -Ala-Asp-, -Ala-Gln-, -D-Ala-Gln-, -Ala-Glu-, -D-Ala-Ser-, -Asp-Gly-, -Gln-Ser-, -Glu-Ser-, -D-Glu-Ser-, -Phe-Gln-, -Pro-Asp-, -Pro-Gln-, -Pro-Gly-, -Pro-Ser-, -Ser-Asn-, -Ser-Ser-, -D-Ser-Ser- и -Val-

Asn-.

[0505] В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- выбран из группы, состоящей из -Ala-Ser-Asp-, -Ala-Ser-Glu-, -Ala-Ala-Cit-, -Ala-Ala-Glu-, -Leu-Ala-Ala-, -Leu-Ala-Asp-, -Leu-Ala-Cit-, -Leu-Ala-(γ-карбокси-глутаминовая кислота)-, -Leu-Ala-Glu-, -Leu-Ala-Gln-, -Leu-Ala-Leu-, -Leu-Ala-Lys-, -Leu-Ala-Met(O)-, -Leu-Ala-(селенометионин)-, -Leu-Glu-Ala-, -Leu-Glu-Cit-, -Leu-Gly-Glu-, -Leu-Leu-Cit-, -Leu-Leu-Glu-, -Leu-Leu-Lys-, -Leu-Leu-Met(O)-, Leu-Ser-Glu-, -Leu-Val-Gln-, -Glu-Ala-Leu-, -Glu-Leu-Cit-, -Glu-Pro-Cit-, -Lys-Leu-Cit-, -(O-аллилтирозин)-Leu-Glu-, -(O-аллилтирозин)-Pro-Cit-, -Phe-Ser-Glu-, -Pro-Leu-Glu-, -Pro-(нафтилаланин)-Lys- и -Thr-Glu-Leu-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- выбран из группы, состоящей из -Ala-Ser-Asp-, -Ala-Ser-Glu-, -D-Ala-Ala-Cit-, -D-Ala-Ala-Glu-, -D-Leu-Ala-Ala-, -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Cit-, -D-Leu-Ala-(γ-карбокси-глутаминовая кислота)-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Leu-Ala-Gln-, -D-Leu-Ala-Leu-, -D-Leu-Ala-Lys-, -D-Leu-Ala-Met(O)-, -D-Leu-Ala-(селенометионин)-, -D-Leu-Glu-Ala-, -D-Leu-Glu-Cit-, -D-Leu-Gly-Glu-, -D-Leu-Leu-Cit-, -D-Leu-Leu-Glu-, -D-Leu-Leu-Lys-, -D-Leu-Leu-Met(O)-, -D-Leu-Ser-Glu-, -D-Leu-Val-Gln-, -Glu-Ala-Leu-, -Glu-Leu-Cit-, -Glu-Pro-Cit-, -L-Leu-Ala-Glu-, -Lys-Leu-Cit-, -(O-аллилтирозин)-D-Leu-Glu-, -(O-аллилтирозин)-Pro-Cit-, -Phe-Ser-Glu-, -Pro-Leu-Glu-, -Pro-(нафтилаланин)-Lys- и -Thr-Glu-Leu-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- выбран из группы, состоящей из Ala-Cit-Cit-, -Cit-Cit-Cit-, -Cit-Glu-Cit-, -Cit-Glu-Glu-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Leu-Ala-Lys-, -D-Leu-Cit-Glu-, -D-Leu-Glu-Lys-, -D-Leu-Leu-Cit-, -D-Leu-Leu-Glu-, -D-Leu-Leu-Lys-, -D-Leu-Leu-Met(O)-, -D-Leu-Phe-Glu-, -Glu-Ala-Glu-, -Glu-Ala-Met(O)-, -Glu-Glu-Cit-, -Leu-(нафтилаланин)-Lys-, -Lys-Glu-Met(O)-, -Pro-Ala-Cit-, -Pro-Ala-Glu-, -Pro-Cit-Cit-, -Pro-Cit-Glu-, -Pro-Glu-Ala-, -Pro-Glu-Cit-, -Pro-Glu-Glu-, -Pro-Glu-Lys-, -Pro-Lys-Glu-, -Pro-(нафтилаланин)-Lys-, -Thr-Cit-Cit-, -Pro-Ser-Asp-, -Phe-Ser-Asp-, -Ala-Asp-Pro-, -Ala-Ser-Pro-, -D-Ala-Ser-Asp-, -Pro-Gly-Glu-, -Pro-Asp-Ser-, -D-Ala-Asp-Ser- и -D-Ser-Ser-Asp-. В некоторых вариантах осуществления -P3-P2-P1- выбран из группы, состоящей из -Ala-Glu-Pro-, D-Ala-Ser-Glu-, -Asp-Gly-Pro-, -Phe-Gln-Glu-, -Val-Asn-Glu-, -D-Ala-Gln-Glu-, D-Glu-Ser-Glu-, -Ser-Ser-Pro-, -Pro-Ser-Ser-, -Ser-Ser-Glu-, -Pro-Gly-Asp-, -Pro-Gln-Asp-, -Pro-Gln-Glu-, -D-Ser-Ser-Glu-, -Gln-Ser-Ala-, -Glu-Ser-Ala- и -Ser-Asn-Asn-.

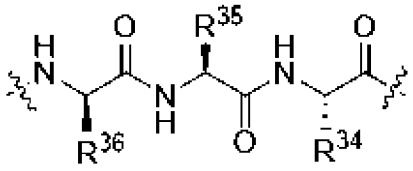
[0506] Понятно, что пептидное расщепляемое звено (W) конъюгата лиганд-лекарственный препарат представляет собой пептидную последовательность, которая может содержать более трех аминокислот. В пептидных последовательностях, содержащих четыре или более аминокислот, описанный в данном документе трипептид представляет собой любые три смежные аминокислоты в последовательности (т. е. трипептид может занимать любые три смежные позиции последовательности). Следовательно, варианты осуществления, описанные в данном документе для P1, P2 и P3, можно применять в отношении аминокислот любых позиций, соответствующих трем смежным аминокислотам пептидного расщепляемого звена (W). Например, если трипептид, который распознается внутриклеточной протеазой, расположен в позициях -P6-P5-P4-, варианты осуществления для P3, описанные в данном документе, применимы к

P6, варианты осуществления для P2, описанные в данном документе, применимы к P5, и варианты осуществления для P1, описанные в данном документе, применимы к P4. В другом примере, если трипептид, который распознается внутриклеточной протеазой, расположен в позициях -P4-P3-P2-, варианты осуществления для P3, описанные в данном документе, применимы к P4, варианты осуществления для P2, описанные в данном документе, применимы к P3, и варианты осуществления для P1, описанные в данном документе, применимы к P2. Дополнительно понятно, что в случае пептидного расщепляемого звена (W), в котором трипептид расположен в позициях, отличных от -P3-P2-P1-, аминокислота P1 пептидного расщепляемого звена (W) представляет собой аминокислоту, подлежащую расщеплению, например за счет действия эндопептидазы. В некоторых вариантах осуществления аминокислота P1 не находится в **D**-конфигурации. В некоторых вариантах осуществления C-концевая аминокислота представляет собой γ-карбокси-глутаминовую кислоту. В некоторых вариантах осуществления, в которых пептидное расщепляемое звено содержит четыре или более аминокислот, аминокислоты, внешние по отношению к трипептиду, не повышают общую гидрофобность пептидной последовательности. В некоторых вариантах осуществления, когда пептидное расщепляемое звено содержит аминокислоты в дополнение к трипептиду, дополнительные аминокислоты не содержат гидрофобных остатков (например, остатков, более гидрофобных, чем лейцин, или остатков, более гидрофобных, чем валин).

[0507] Гидрофобность заданного соединения, включая относительную гидрофобность разных соединений, можно оценивать экспериментальными или компьютерными методами, известными в данной области техники. Гидрофобность можно оценивать, например, путем определения коэффициента распределения P, который может быть определен экспериментально и выражен как logP, или который может быть определен компьютерным методом и выражен как clogP. Значения clogP можно вычислять, используя различные типы коммерчески доступного программного обеспечения, такие как ChemDraw или DataWarrior. Такие методы можно использовать для оценки гидрофобности аминокислоты или для оценки относительной гидрофобности разных аминокислот. Такие методы также можно использовать для оценки гидрофобности соединения лекарственный препарат-линкер, описанного в данном документе, или для оценки относительной гидрофобности разных соединений лекарственный препарат-линкер.

[0508] В некоторых вариантах осуществления предложены конъюгаты лиганд-лекарственный препарат (например, ADC), которые менее активны, чем сравнительный конъюгат лиганд-лекарственный препарат (например, дипептидный ADC, содержащий -val-cit-), in vivo или in vitro, но также существенно менее токсичны. Не ограничиваясь теорией, нет необходимости в том, чтобы конъюгат лиганд-лекарственный препарат был настолько же активным, поскольку терапевтическое окно будет больше, если он менее активен и менее токсичен. Типовое соединение, демонстрирующее этот эффект, может включать соединения 38 и 39 данного документа с AIB в позиции P2.

[0509] В других особенно предпочтительных вариантах осуществления трипептид имеет структуру:



или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где волнистая линия возле атома азота N-концевой аминокислоты трипептида, которая указана как P3 в вышеописанных соединениях лекарственный препарат-линкер и фрагментах лекарственный препарат-линкер конъюгатов лиганд-лекарственный препарат, полученных их них, указывает место ковалентного присоединения в виде амидной связи с аминокислотным остатком P4, когда W состоит из тетрапептида, в котором придающий селективность трипептид является C-концевым компонентом тетрапептида, или с A' или L_R/L_R', когда W состоит из трипептида и нижний индекс a' равен 1 или 0, соответственно, а волнистая линия возле C-концевого аминокислотного остатка трипептида, которая указана как P1 в вышеописанных соединениях лекарственный препарат-линкер и фрагментах лекарственный препарат-линкер конъюгатов лиганд-лекарственный препарат, полученных их них, является местом ковалентного присоединения к остатку P-1, когда W состоит из тетрапептида, в котором придающий селективность трипептид является N-концевым компонентом тетрапептида, или с $-Y_y$-D, когда W состоит из трипептида; и где R^{36}, в R стереохимической конфигурации, представляет собой $-CH(CH_3)_2$, R^{35} представляет собой $-CH(CH_3)_2$ или $-CH_3$ и R^{34} представляет собой $-CH_2SH$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$, $-CH(OH)CH_3$ или $-CH_2CH_2CO_2H$.

[0510] В более предпочтительных фрагментах лекарственный препарат-линкер и соединениях лекарственный препарат-линкер R^{36} представляет собой $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH(CH_3)_2$ или $-CH_2CH_2CH_3$ в R стереохимической конфигурации и R^{34} представляет собой $-CH_2CH_2CO_2H$. В особенно предпочтительных вариантах осуществления R^{36} представляет собой $-CH(CH_3)_2$ в R стереохимической конфигурации; и R^{35} представляет собой $-CH_3$ и R^{34} представляет собой $-CH_2CH_2CO_2H$, которые оба находятся в S стереохимической конфигурации, как показано.

[0511] В некоторых вариантах осуществления гомогенат нормальной ткани получен из костного мозга, а гомогенат опухолевой ткани получен из опухоли ксенотрансплантатной модели того же вида, при этом большая селективность в отношении протеализа гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с гомогенатом нормальной ткани демонстрируется в сравнении со сравнительным конъюгатом, имеющие дипептидное расщепляемое звено val-cit. В некоторых вариантах осуществления большая селективность в отношении опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью со стороны конъюгата антитело - лекарственный препарат демонстрируется в ксенотрансплантатной модели путем существенного замедления профиля роста опухоли, полученного при введении конъюгата антитело - лекарственный препарат, в котором

пептидное расщепляемое звено представляет собой val-cit, и при введении соответствующего несвязывающего контрольного конъюгата на основе трипептида, демонстрирующего сниженную нецелевую опосредованную цитотоксичность в отношении нормального костного мозга по сравнению с соответствующим несвязывающим контролем на основе дипептида, при этом цитотоксичность в отношении нормальных клеток является причиной нежелательного явления, связанного с введением ADC на основе дипептида в максимально переносимой дозе. В некоторых вариантах осуществления нормальная ткань представляет собой костный мозг, печень, почку, пищевод, молочную железу или роговицу.

[0512] В некоторых из этих вариантов осуществления сниженную нецелевую опосредованную цитотоксичность наблюдают по гистологии нормальной ткани (например, ткани костного мозга, печени, почки, пищевода, молочной железы или роговицы) от того же или другого вида грызунов, который использовали в ксенотрансплантатной модели, после введения несвязывающего контрольного конъюгата, соответствующего нацеливающему конъюгату антитело - лекарственный препарат на основе трипептида, путем демонстрации снижения потери по ядерному окрашиванию мононуклеарных клеток по сравнению с потерей при введении несвязывающего контроля на основе дипептида, чтобы обеспечить улучшенное терапевтическое окно для ADC на основе трипептида. В некоторых вариантах осуществления нормальная ткань представляет собой костный мозг. В предпочтительном варианте осуществления в ксенотрансплантатном исследовании используют мышь, а костный мозг получен от крысы, поскольку крыса более чувствительна к токсичности MMAE, чем мышь. В других вариантах осуществления улучшение переносимости демонстрируется по снижению потери нейтрофилов и/или ретикулоцитов и/или по более быстрому восстановлению этой потери.

2.2.4 Звенья растяжения

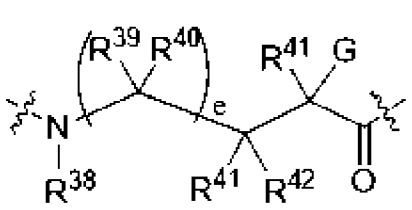
[0513] В вышеприведенных и нижеприведенных вариантах осуществления первичный линкер в фрагменте лекарственный препарат-линкер конъюгата лиганд-лекарственный препарат может иллюстрировать общую формулу -M^2-A(BU)-[HE]-A_O-B-, -M^2-A(BU)-[HE]-A'$_{a'}$-, -M^2-A-[HE]-A_O-B-, -M^2-A-[HE]-A'$_{a'}$, -M^3-A(BU)-[HE]-A_O-B- или -M^3-A(BU)-[HE]-A'$_{a'}$-, а первичный линкер соединения лекарственный препарат-линкер, который можно использовать для получения конъюгата лиганд-лекарственный препарат, может иллюстрировать общую формулу M^1-A(BU)-[HE]-A_O-B-, M^1-A(BU)-[HE]-A'$_{a'}$-, M^1-A-[HE]-A_O-B- или M^1-A-[HE]-A'$_{a'}$-, где BU представляет собой ациклическое или циклическое основное звено; [HE], при наличии, представляет собой -, предпочтительно -C(=O)-, обеспеченный присутствующим первым необязательным звеном растяжения (A); M^2 представляет собой сукцинимидный фрагмент; M^3 представляет собой фрагмент амида янтарной кислоты и M^1 представляет собой малеимидный фрагмент, где A представляет единое дискретное звено или первое подзвено A, которое иногда указано как A_1, когда A_O присутствует как второе подзвено A, которое иногда указано как A_2, при этом A/A_2

ковалентно присоединен к A’ в первичных линкерах, не содержащих звено разветвления (B) и в которых нижний индекс a’ равен 1 так, что A’ становится подзвеном A, или ковалентно присоединен к W, когда нижний индекс a’ равен 0, или ковалентно присоединен к B в первичных линкерах, содержащих звено разветвления.

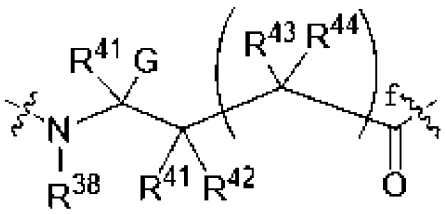
[0514] Когда в любом из этих вариантов осуществления присутствует любой из A_O или A’, где подзвено первого звена растяжения (A) указано как A_2 чтобы обозначить его как подзвено A, при этом предпочтительно A_O/A’ независимо соответствует по структуре необязательно замещенному остатку амино-содержащей кислоты (например, аминокислоты), причем остаток конца карбоновой кислоты амино-содержащей кислоты ковалентно присоединен к B в первичных линкерах, в которых этот компонент присутствует, или к A’, если он присутствует как A_2, или к W в первичных линкерах, в которых B и A’ отсутствуют, при этом указанное ковалентное присоединение осуществлено посредством амидной функциональной группы, а остаток амино-конца ковалентно присоединен к остатку A. Если B присутствует, а A_O отсутствует, A представляет собой единое дискретное звено, которое связано с B, и если B отсутствует и A представляет собой единое дискретное звено, A связан с W посредством [HE], который обеспечен A, где [HE] представляет собой -C(=O)-.

[0515] В некоторых из этих вариантов осуществления A_O/A’ имеет или состоит из формулы -L^P(PEG)-, где L^P представляет собой параллельное соединительное звено, а PEG представляет собой звено PEG. В этих вариантах осуществления звено PEG содержит в целом от 2 до 36 мономерных звеньев этиленокси, а L^P представляет собой остаток амино-содержащей кислоты, предпочтительно аминокислотный остаток, ковалентно присоединенный в LU фрагмента лекарственный препарат-линкер соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат или LU’ соединения лекарственный препарат-линкер посредством амидных функциональных групп. В предпочтительных вариантах осуществления звено PEG содержит в целом от 4 до 24 смежных мономерных звеньев этиленокси

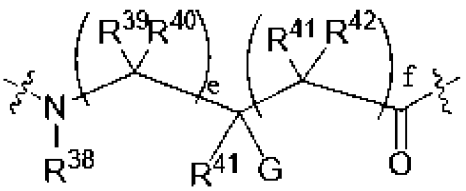
[0516] В других из этих вариантов осуществления A_O/A’ представляет собой остаток амино-содержащей кислоты, имеющий структуру по формуле **3a**, формулы **4a** или формулы **5a**:



(**3a**),



(**4a**)



(**5a**)

где волнистая линия, смежная с атомом азота, указывает место ковалентного присоединения к остатку A, а волнистая линия, смежная с карбонильным атомом углерода, указывает место ковалентного присоединения к B, если B присутствует, или к A'/W, когда B отсутствует; нижние индексы e и f независимо равны 0 или 1; и

G представляет собой водород, -OH, $-OR^{PR}$, $-CO_2H$, $-CO_2R^{PR}$ или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, при этом необязательный заместитель, при наличии, выбран из -OH, $-OR^{PR}$, $-CO_2H$ и $-CO_2R^{PR}$; и где R^{PR} представляет собой подходящую защитную группу, или

G представляет собой $N(R^{PR})(R^{PR})$ или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, при этом необязательный заместитель, при наличии, представляет собой $N(R^{PR})(R^{PR})$, где R^{PR} независимо представляют собой защитную группу или R^{PR} вместе образуют подходящую защитную группу, или

G представляет собой $-N(R^{45})(R^{46})$ или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, при этом необязательный заместитель, при наличии, представляет собой $-N(R^{45})(R^{46})$, где один из R^{45} и R^{46} представляет собой водород или R^{PR}, где R^{PR} представляет собой подходящую защитную группу, а другой представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил;

R^{38} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил; и

R^{39}-R^{44} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C_1-C_6 алкила и необязательно замещенного C_6-C_{20} арила и необязательно замещенного C_5-C_{20} гетероарила, или

R^{39}, R^{40} вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, определяют C_3-C_6 карбоцикло, а R^{41}-R^{44} соответствуют определению в данном документе,

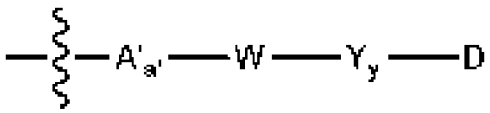
или R^{43}, R^{44} вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, определяют C_3-C_6 карбоцикло, а R^{39}-R^{42} соответствуют определению в данном документе,

или R^{40} и R^{41}, или R^{40} и R^{43}, или R^{41} и R^{43} вместе с атомом углерода или гетероатомом, к которому они оба присоединены, и атомами, находящимися в промежутке между этими атомами углерода и/или гетероатомами, определяют C_5-C_6 карбоцикл или C_5-C_6 гетероцикл, а R^{39}, R^{44} и остальные R^{40}-R^{43} соответствуют определению в данном документе,

или A_O/A' представляет собой α-амино- или β-аминокислотный остаток, при этом атом азота α-аминокислотного остатка ковалентно присоединен к остатку A, а карбонильный атом углерода остатка карбоновой кислоты ковалентно присоединен к B, если B присутствует, или к W, когда B отсутствует, при этом оба присоединения предпочтительно осуществлены посредством амидных функциональных групп.

2.2.5 Спейсерные звенья

[0517] Спейсерное звено является компонентом вторичного линкера (L_O) соединения лекарственный препарат-линкер или линкерного звена в фрагменте лекарственный препарат-линкер соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат, представленного структурой:



в которой нижний индекс y равен 1 или 2, что указывает на наличие одного или двух спейсерных звеньев, так что Y_y представляет собой Y или -Y-Y'-, при этом нижний индекс a равен 0 или 1, A' представляет собой необязательное первое звено растяжения, которое становится компонентом первичного линкера (L_R/L_R') как подзвено первого необязательного звена растяжения (A), которое присутствует, когда нижний индекс a' равен 1, отсутствует звено разветвления (B) в L_R/L_R'; W представляет собой пептидное расщепляемое звено формулы -[P_n]...[P3]-[P2]-[P1]- или [P_n]...[P3]-[P2]-[P1]-[P-1]-, где нижний индекс n находится в диапазоне от 0 до 12 (например, 0-10, 3-12 или 3-10), и P_n...P3, P2, P1, P-1 представляют собой аминокислотные остатки, причем P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки трипептида, придающего селективность в отношении протеазного расщепления гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с гомогенатом нормальной ткани, как описано в данном документе, и/или который изменяет биораспределение конъюгата лиганд-лекарственный препарат так, что конъюгат, пептидное расщепляемое звено которого состоит из трипептида P3-P2-P1, действует преимущественно на опухолевую ткань по сравнению с нормальной тканью в сравнении с биораспределением сравнительного пептида, пептидное расщепляемое звено которого представляет собой дипептид val-cit.

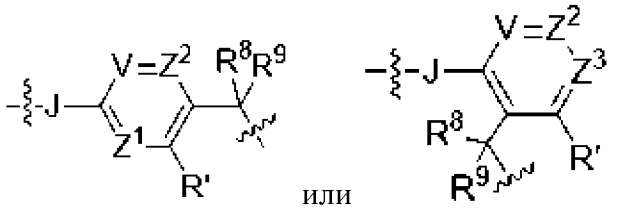
[0518] Когда W не содержит остаток P-1, протеолитическое действие на L_O высвобождает фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле -Y-D, когда нижний индекс y равен 1, или -Y-Y'-D, когда нижний индекс y равен 2, где Y представляет собой первое спейсерное звено, а Y' представляет собой второе спейсерное звено, после чего спейсерные звенья в этих фрагментах подвергаются самоуничтожению с полным высвобождением D в виде свободного лекарственного препарата. Когда W не содержит остаток P-1, протеолитическое действие на L_O высвобождает первый фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле [P-1]-Y-D или [P-1]-Y-Y'-D. При этом для удобства остаток P-1 будет связан с последовательностью в SEQ ID, описывающих такие пептидные расщепляемые звенья. Для завершения высвобождения свободного лекарственного препарата необходимо действие экзопептидазы для удаления аминокислотного остатка [P-1] с обеспечением Y-D или -Y-Y'-D в качестве второго фрагмента лекарственный препарат-линкер аналогично случаю, когда W не содержит остаток P-1. Затем линкерный фрагмент -Y-Y'-D преобразуется в третий фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле Y'-D. В любом варианте Y-D или Y'-D спонтанно распадается с полным высвобождением D в виде свободного лекарственного препарата.

[0519] Самоуничтожающееся спейсерное звено (Y), ковалентно связанное с P1 или P-1 пептидного расщепляемого звена (W), состоит из самоуничтожающегося фрагмента по определению в данном документе так, что ферментативный процессинг W активирует

самоуничтожающийся фрагмент Y для его саморазрушения, инициируя, таким образом, высвобождение лекарственного звена в виде свободного лекарственного препарата. В тех аспектах, в которых нижний индекс у равен 1, самоуничтожающийся фрагмент Y напрямую присоединен к необязательно замещенному гетероатому лекарственного звена. Как обсуждалось ранее, когда нижний индекс у равен 2, то Y_y представляет собой -Y-Y'-, где Y представляет собой первый самоуничтожающийся спейсер, ковалентно присоединенный к пептидному расщепляемому звену (W), а Y' представляет собой второй самоуничтожающийся спейсер, который в некоторых аспектах представляет собой карбаматную функциональную группу, общую для Y и D. В других аспектах Y' представляет собой метилен-карбаматное звено. В любом аспекте Y_y связан с лекарственным звеном (D) так, что спонтанное саморазрушение первого самоуничтожающегося спейсерного звена Y инициируется действием эндопептидазы на амидную связь, ковалентно соединяющую W с Y, или действие экзопептидазы на амидную связь [P-1]-D высвобождает Y'-D, который затем спонтанно распадается с полным высвобождением D в виде свободного лекарственного препарата.

[0520] В некоторых вариантах осуществления Y содержит самоуничтожающийся фрагмент PAB или PAB-типа, связанный с -D или -Y'-D, в котором нижний индекс у равен 1 или 2, соответственно, в котором центральный арилен или гетероарилен замещен замаскированной электронодонорной группой (EDG) и бензильным атомом углерода, связанным с D посредством общих гетероатома или функциональной группы, или связанным с D непрямо посредством промежуточного второго спейсерного звена (Y'), причем заместители замаскированная EDG и бензильный атом углерода расположены в орто- или пара-положении относительно друг друга (т. е. 1,2 или 1,4 профиль замещения). В этих вариантах осуществления второе спейсерное звено (Y') способно к самоуничтожению или спонтанному распаду или отсутствует.

[0521] Типовые структуры самоуничтожающихся спейсерных звеньев, имеющих самоуничтожающийся фрагмент PAB или PAB-типа, в котором центральный (гетеро)арилен имеет необходимый 1,2 или 1,4 профиль замещения, который обеспечивает возможность 1,4- или 1,6-фрагментацию с высвобождением D или [P-1]-D, когда нижний индекс у равен 1, или -Y'-D, или -[P-1]-Y'-D, в которых нижний индекс у равен 2, при этом Y' способен к самоуничтожению или спонтанному распаду, представлены:



,

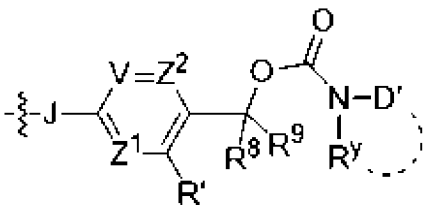
при этом волнистая линия, смежная с J указывает место ковалентного присоединения к P1, если придающий селективность трипептид напрямую присоединен к -Y'-D, или к P-1, если придающий селективность трипептид ненапрямую -Y'-D посредством этого аминокислотного остатка, а другая волнистая линия указывает место

ковалентного присоединения к -Y'-D, где J представляет собой гетероатом, необязательно замещенный, где это разрешено (т. е. необязательно замещенный -NH-), Y' представляет собой необязательное второе спейсерное звено, D представляет собой лекарственное звено, при этом, когда Y' отсутствует, Y' замещен гетероатомом из D так, что D становится D', который представляет собой остаток лекарственного звена; и

где V, Z^1, Z^2, Z^3 независимо представляют собой =N или =C(R^{24})-, где каждый R^{24} независимо выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C_1-C_{12} алкила, необязательно замещенного C_2-C_{12} алкенила, необязательно замещенного C_2-C_{12} алкинила, необязательно замещенного C_6-C_{20} арила, необязательно замещенного (C_6-C_{20} арил)-C_1-C_6 алкила-, необязательно замещенного C_5-C_{20} гетероарила и необязательно замещенного (C_5-C_{20} гетероарил)-C_1-C_6 алкила-, и галогена и электроноакцепторной группы; R' представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_{12} алкил, необязательно замещенный C_2-C_{12} алкенил, необязательно замещенный C_2-C_{12} алкинил, необязательно замещенный C_6-C_{20} арил, необязательно замещенный (C_6-C_{20} арил)-C_1-C_6 алкил-, необязательно замещенный C_5-C_{20} гетероарил или необязательно замещенный C_5-C_{20} гетероарил)-C_1-C_6 алкил-, или электронодонорную группу; и R^8 и R^9 независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C_1-C_{12} алкила, необязательно замещенного C_2-C_{12} алкенила, необязательно замещенного C_2-C_{12} алкинила, необязательно замещенного C_6-C_{20} арила и необязательно замещенного C_5-C_{20} гетероарила, или оба R^8 и R^9 вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, определяют C_3-C_8 карбоцикло. В предпочтительных вариантах осуществления один или более из V, Z^1, Z^2 или один или более из V, Z^2, Z^3 представляет собой =CH-. В других предпочтительных вариантах осуществления R' представляет собой водород или электронодонорную группу, включая C_1-C_6 эфиры, такие как -OCH_3 и -OCH_2CH_3, или один из R^8, R^9 представляет собой водород, а другой представляет собой водород или C_1-C_4 алкил. В более предпочтительных вариантах осуществления два или более из V, Z^1 и Z^2 представляют собой =CH- или два или более из V, Z^2 и Z^3 представляют собой =CH-. В других более предпочтительных вариантах осуществления каждый из R^8, R^9 и R' представляет собой водород.

[0522] Внутриклеточное расщепление связи с J или амидной связи между P1 и P-1 приводит к высвобождению Y'-D или -[P-1]-Y'-D, соответственно, где -[P-1]-Y'-D может превращаться в -Y'-D за счет экзопептидазной активности внутриклеточной протеазы целевой клетки.

[0523] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления -Y_y-D, в котором нижний индекс y равен 2, имеет следующую структуру -Y-Y'-D:

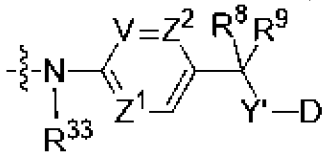


,

где -N(R^y)D' представляет D, где D' представляет собой остаток D и где пунктирная линия указывает на необязательную циклизацию R^y с D, где R^y представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен при циклизации с D'; -J- представляет собой необязательно замещенный гетероатом, где это разрешено, включая O, S и необязательно замещенный -NH-, где J, функциональная группа, состоящая из J, или P-1 связаны с P1, на что указывает смежная волнистая линия, трипептида, который придает селективность в отношении внутриклеточного протеолиза относительно протеолиза свободно циркулирующими протеазами и селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани относительно протеолиза гомогенатом нормальной ткани, и/или селективное биораспределение в опухолевой ткани относительно биораспределения в нормальной ткани, при этом расщепление этой связи инициирует высвобождение D в виде вторичного амин-содержащего биологически активного соединения из соединения композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат, и при этом остальные вариабельные группы соответствуют определению выше. Эти вариабельные группы выбирают так, чтобы реактивность J при высвобождении после процессинга пептидного расщепляемого звена W в целевых клетках была сбалансирована с pKa Y'-D или D, элиминируемого из самоуничтожающегося фрагмента PAB или PAB-типа, и стабильностью промежуточного соединения хинон-метидного типа, являющегося результатом этой элиминации.

[0524] В этих вариантах осуществления промежуточный фрагмент между D и бензильным атомом углерода самоуничтожающегося фрагмента PAB или PAB-типа спейсерного звена Y представляет Y' в -C(R^8)(R^9)-Y'-D так, что карбаматная функциональная группа является общей для Y и D. В таких вариантах осуществления за фрагментацией спейсерного звена Y с вытеснением Y'-D следует потеря CO_2 с высвобождением D в виде биологически активного соединения, имеющего первичный или вторичный амин, чей атом азота был связан с вторичным линкером, состоящим из самоуничтожающегося фрагмента PAB или PAB-типа.

[0525] В других предпочтительных вариантах осуществления -Y_y-D, имеющий фрагмент PAB или PAB-типа, связанный с -Y'-D или -D, имеет структуру:

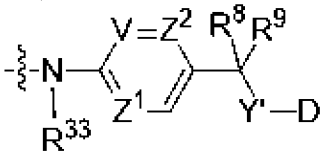


,

где волнистая линия, смежная с атомом азота, указывает точку ковалентного присоединения к P-1 или трипептиду W, который придает селективность в отношении внутриклеточного протеолиза относительно протеолиза свободно циркулирующими протеазами и протеолиза гомогенатом опухолевой ткани относительно протеолиза гомогенатом нормальной ткани, причем эта связь подвержена внутриклеточному протеолизу, Y' представляет собой необязательное спейсерное звено, которое в случае

отсутствия замещено фенольным атомом кислорода или атомом серы из D, а в случае присутствия представляет собой карбаматную функциональную группу, атом азота которой относится к D; R^{33} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, в частности водород или C_1-C_4 алкил, предпочтительно водород, $-CH_3$ или $-CH_2CH_3$, более предпочтительно водород. В более предпочтительных вариантах осуществления V, каждый из Z^1 и Z^2 представляет собой =CH-, а R^{33} представляет собой водород.

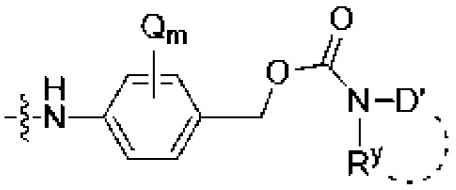
[0526] В некоторых вариантах осуществления $-Y_y$-D, имеющий фрагмент PAB или PAB-типа, связанный с -Y'-D или -D, имеет структуру:



,

где волнистая линия, смежная с атомом азота, указывает точку ковалентного присоединения к P-1 или трипептиду W, который придает селективность в отношении внутриклеточного протеолиза относительно протеолиза свободно циркулирующими протеазами и протеолиза гомогенатом опухолевой ткани относительно протеолиза гомогенатом нормальной ткани, причем эта связь подвержена внутриклеточному протеолизу, Y' представляет собой необязательное спейсерное звено, которое в случае отсутствия замещено фенольным атомом кислорода, кватернизированным третичным амином или атомом серы из D. Y' в случае присутствия представляет собой карбаматную функциональную группу, атом азота которой относится к D, метилен-алкокси-карбаматную функциональную группу, где атом кислорода алкокси-фрагмента является общим с D, или карбонатную функциональную группу, где один атом кислорода является общим с D; R^{33} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, в частности водород или C_1-C_4 алкил, предпочтительно водород, $-CH_3$ или $-CH_2CH_3$, более предпочтительно водород. В более предпочтительных вариантах осуществления V, каждый из Z^1 и Z^2 представляет собой =CH-, а R^{33} представляет собой водород.

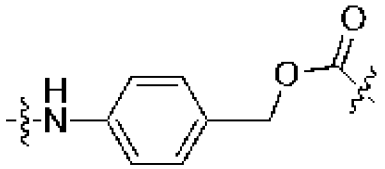
[0527] В особенно предпочтительных вариантах осуществления $-Y_y$-D имеет структуру:



где $-N(R^y)D'$ имеет свое вышеуказанное значение, а волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к P1; Q представляет собой $-C_1$-C_8 алкил, -O-(C_1-C_8 алкил) или другую электронодонорную группу, -галоген, -нитро или -циано или другую электроноакцепторную группу (предпочтительно Q представляет собой $-C_1$-C_8 алкил, -O-(C_1-C_8 алкил), галоген, нитро или циано); и нижний индекс m представляет собой целое число в диапазоне 0-4 (т. е. центральный арилен не имеет других заместителей или имеет

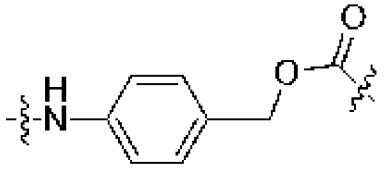
1-4 других заместителей). В предпочтительных вариантах осуществления нижний индекс m равен 0, 1 или 2, а каждый Q представляет собой независимо выбранную электронодонорную группу.

[0528] В особенно предпочтительных вариантах осуществления $-Y_y-$ имеет структуру:



соответственно, где волнистая линия, смежная с карбонильным атомом углерода, указывает место ковалентного присоединения к атому кислорода или серы D с образованием карбонатной или тиокарбаматной функциональной группы, общей для D и Y, при этом эта общая функциональная группа представляет собой Y', или к вторичному атому азота с образованием карбамата, который является общим для D и Y, при этом эта общая функциональная группа представляет собой Y', а волнистая линия, смежная с атомом азота, указывает место ковалентного присоединения как амидную связь с остатком карбоновой кислоты P1.

[0529] В некоторых вариантах осуществления $-Y_y-$ имеет структуру:



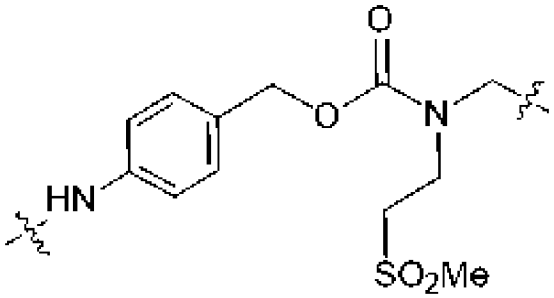
соответственно, где волнистая линия, смежная с карбонильным атомом углерода, указывает место ковалентного присоединения к атому кислорода, азота или серы D с образованием карбонатной, карбаматной или тиокарбаматной функциональной группы, общей для D и Y, при этом эта общая функциональная группа представляет собой Y', или к вторичному атому азота с образованием карбамата, который является общим для D и Y, при этом эта общая функциональная группа представляет собой Y', а волнистая линия, смежная с атомом азота, указывает место ковалентного присоединения как амидную связь с остатком карбоновой кислоты P1.

[0530] В некоторых вариантах осуществления $-Y_y-$ имеет структуру:



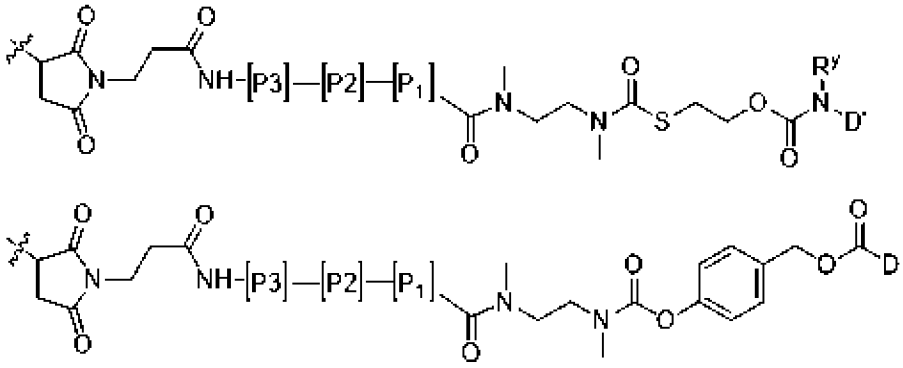
где волнистая линия, смежная с атомом углерода метилена, указывает место ковалентного присоединения к кватернизированному третичному амину, содержащему лекарственное звено, так что $-Y_y-$ присоединен к лекарственному звену посредством кватернизированного атома азота, который является частью лекарственного звена, а волнистая линия, смежная с атомом азота, указывает место ковалентного присоединения как амидную связь с остатком карбоновой кислоты P1.

[0531] В некоторых вариантах осуществления -Y_y- имеет структуру:

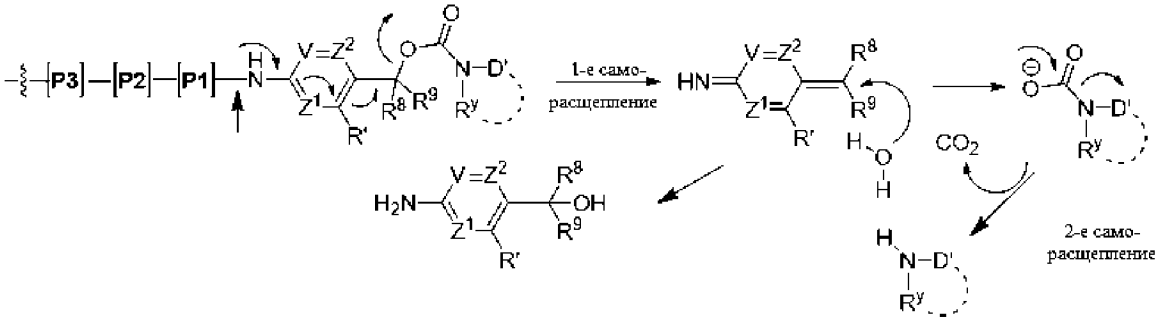


где волнистая линия, смежная с атомом углерода метилен-карбаматного фрагмента, указывает место ковалентного присоединения к атому кислорода на D с образованием метилен-алкокси-карбаматного фрагмента, который является общим для D и Y, при этом эта общая функциональная группа представляет собой Y', а волнистая линия, смежная с атомом азота, указывает место ковалентного присоединения как амидную связь с остатком карбоновой кислоты P1.

[0532] Другие структуры общей формулы -Y-Y'-, в которой Y представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено, отличное от самоуничтожающегося спейсерного звена PAB или PAB-типа, проиллюстрированы в нижеприведенных фрагментах лекарственный препарат-линкер.

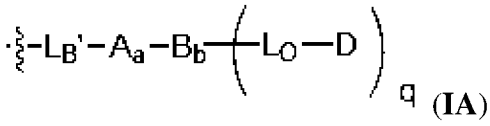


[0533] Не ограничиваясь теорией, последовательное самоуничтожение Y, где Y представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено PAB, а Y' представляет собой карбаматную функциональную группу, проиллюстрировано для вторичного линкера конъюгатов лиганд-лекарственный препарат и соединений лекарственный препарат-линкер, имеющих трипептидное пептидное расщепляемое звено, следующим образом:



2.2.6 Соединения лекарственный препарат-линкер

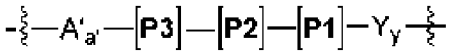
[0534] В общем случае фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле 1A имеет структуру:



(IA)

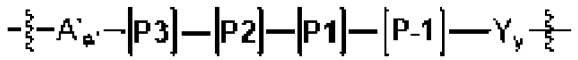
где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение L_B к лигандному звену; A представляет собой первое необязательное звено растяжения; нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, B представляет собой необязательное звено разветвления; нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно, при условии, что нижний индекс b равен 1, когда нижний индекс q находится в диапазоне от 2 до 4, и

L_O представляет собой вторичный линкер, имеющий формулу:



или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно, Y представляет собой необязательное спейсерное звено, нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 спейсерных звеньев, соответственно, и P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, которые вместе обеспечивают селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани и/или вместе обеспечивают предпочтительное биораспределение конъюгата формулы **1** в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью, при этом цитотоксичность свободного лекарственного препарата, высвобождаемого из конъюгата в нормальную ткань, по меньшей мере частично является причиной нежелательного явления, обычно связанного с введением терапевтически эффективного количества сравнительного конъюгата на основе дипептида, при этом протеолитическое расщепление происходит в месте ковалентной связи между P1 и Y, если нижний индекс y равен 1 или 2, или в месте ковалентной связи между P1 и D, если нижний индекс y равен 0, или

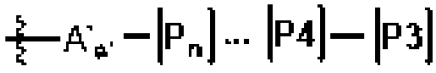
L_O представляет собой вторичный линкер, имеющий формулу:

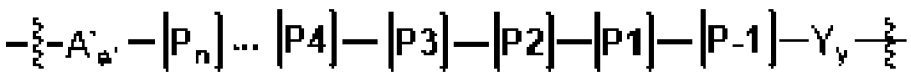


или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где A', a', Y и y сохраняют свои вышеуказанные значения, а P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, необязательно с аминокислотой P-1, которые вместе обеспечивают селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани и/или вместе обеспечивают предпочтительное биораспределение конъюгата формулы **1** в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью, при этом цитотоксичность свободного лекарственного препарата, высвобождаемого из конъюгата в нормальную ткань, по меньшей мере

частично является причиной нежелательного явления, обычно связанного с введением терапевтически эффективного количества сравнительного конъюгата на основе дипептида, при этом протеолитическое расщепление происходит в месте ковалентной связи между P1 и P-1 с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру [P-1]-Y_y-D, или

L_O представляет собой вторичный линкер, имеющий формулу:

 или



или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где A', a', Y и y сохраняют свои вышеуказанные значения, а P-1 и P1, P2, P3…P_n представляют собой аминокислотные остатки, при этом нижний индекс n находится в диапазоне от 0 до 12 (например, 0-10, 3-12 или 3-10), и при этом P1, P2 и P3, необязательно с P-1, вместе обеспечивают селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани и/или вместе обеспечивают предпочтительное биораспределение конъюгата формулы **1**, полученного из соединения лекарственный препарат-линкер, в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью, при этом цитотоксичность свободного лекарственного препарата, высвобождаемого из конъюгата в нормальную ткань, по меньшей мере частично является причиной нежелательного явления, обычно связанного с введением терапевтически эффективного количества сравнительного конъюгата на основе дипептида, при этом протеолитическое расщепление происходит в месте ковалентной связи между P1 и Y_y-D или между P1 и P-1 с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру Y_y-D или [P-1]-Y_y-D, соответственно, причем последний впоследствии подвергается расщеплению экзопептидазой с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру Y_y-D. В обоих случаях линкерный фрагмент Y_y-D подвергается спонтанному распаду до полного высвобождения D в виде свободного лекарственного препарата.

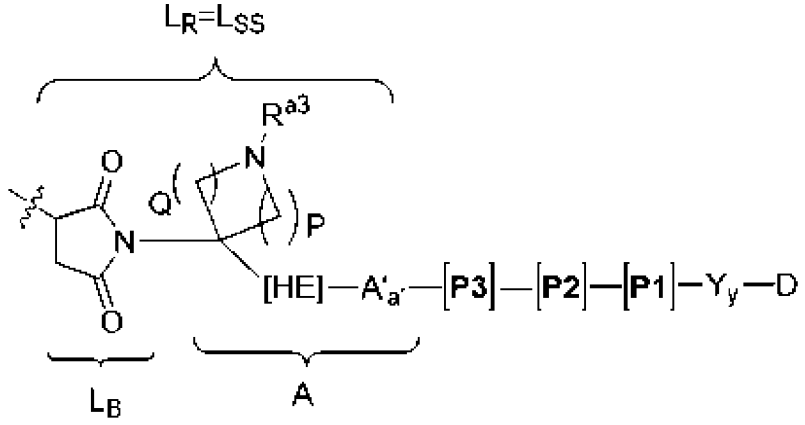
[0535] Дополнительные аминокислотные остатки P4, P5…P_n выбирают так, чтобы не изменять сайт расщепления, который обеспечивает фрагмент -Y_y-D или -[P-1]-Y_y-D, но, напротив, выбирают так, чтобы сохранить необходимые физиохимические и/или фармакокинетические свойства конъюгата лиганд-лекарственный препарат, обеспечиваемые преимущественно аминокислотными остатками P1, P2 и P3, такие как повышенное биораспеределение конъюгата в опухолевой ткани относительно распределения в нормальной ткани, или чтобы усилить эти физиохимические и/или фармакокинетические свойства по сравнению со сравнительным конъюгатом на основе дипептида.

[0536] В любом из этих вариантов осуществления L_O, если нижний индекс q равен 1, то нижний индекс b равен 0 так, что B отсутствует, а A' становится необязательным подзвеном A, и если нижний индекс q равен 2, 3 или 4, то нижний индекс b равен 1 так,

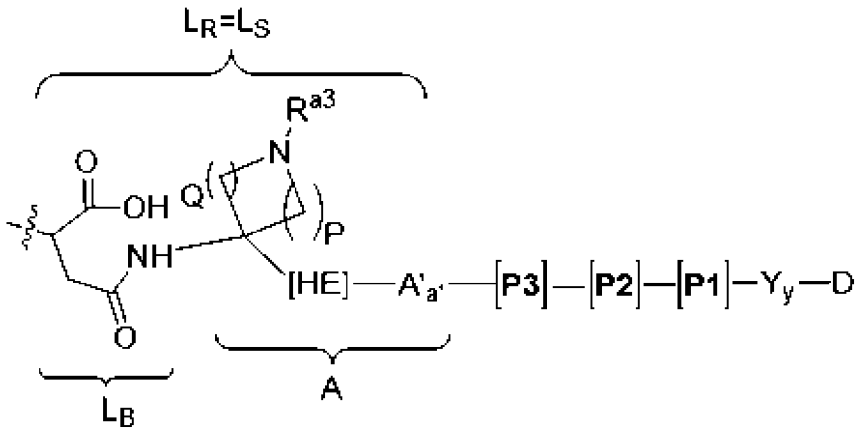
что B присутствует, A' остается компонентом L_O, как показано, и необязательное подзвено A указано как A_O.

[0537] В некоторых вариантах осуществления, помимо улучшения общей селективности и/или улучшения биораспределения в пользу опухолеассоциированных протеаз по сравнению с нормальной тканью, аминокислотные остатки P1, P2 и P3 также снижают агрегацию конъюгата, который включает аминокислотную последовательность, состоящую из этих трех аминокислот, по сравнению с дипептидным сравнительным конъюгатом. В некоторых из этих вариантов осуществления, в которых лекарственное звено получено из MMAE фрагменты лекарственный препарат-линкер сравнительного конъюгата имеют формулу mc-vc-PABC-MMAE.

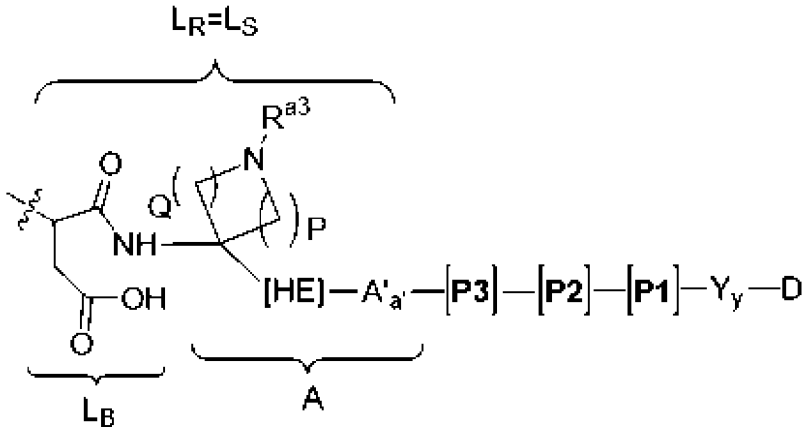
[0538] В предпочтительных вариантах осуществления $-L_{SS}$ и $-L_S$-содержащих фрагментов лекарственный препарат-линкер по формуле **1A** соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат фрагменты L_{SS} и L_S содержат циклическое основное звено в виде гетероцикло. Типовые фрагменты лекарственный препарат-линкер, в которых нижний индекс q равен 1 и которые имеют первичные линкеры, в которых пептидное расщепляемое звено представляет собой трипептид, представлены структурами формулы 1B, формулы 1C и формулы 1D:



(формула 1B)



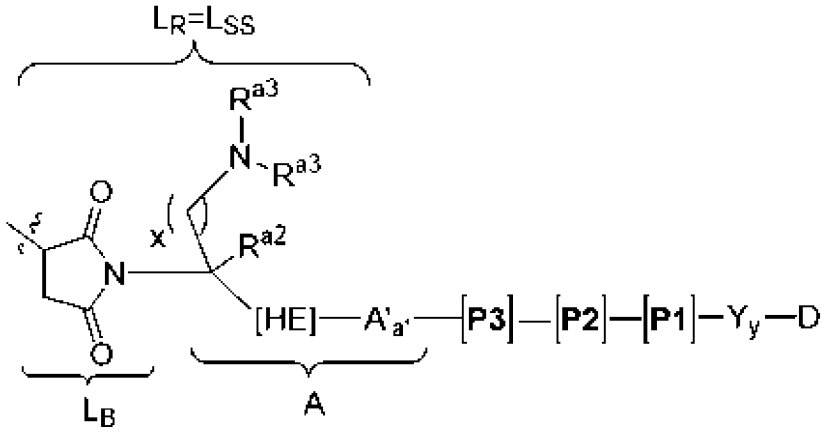
(формула 1C)



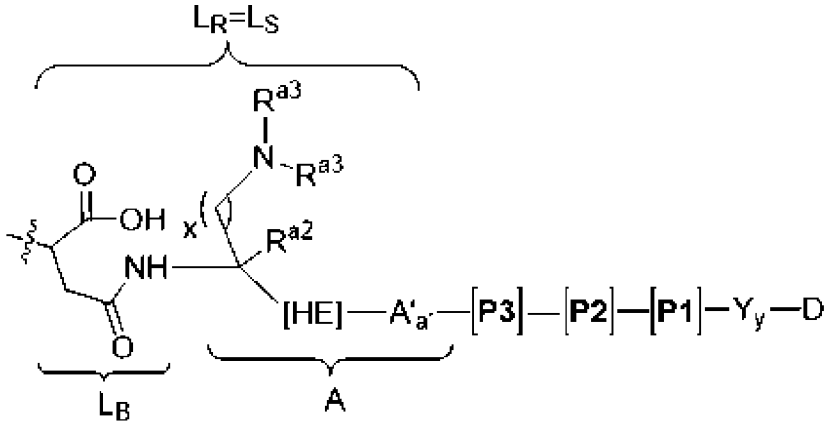
(формула 1D)

или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где HE представляет собой необязательное усиливающее гидролиз звено; A' при наличии представляет собой подзвено первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно; нижний индекс P равен 1 или 2; нижний индекс Q находится в диапазоне от 1 до 6, предпочтительно нижний индекс Q равен 1 или 2, более предпочтительно нижний индекс Q имеет то же значение, что и нижний индекс P; и где R^{a3} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный -C_1-C_4 алкилен-(C_6-C_{10} арил) или -R^{PEG1}-O-$(CH_2CH_2O)_{1-36}$-R^{PEG2}, где R^{PEG1} представляет собой C_1-C_4 алкилен, R^{PEG2} представляет собой -H или C_1-C_4 алкилен, где основной атом азота, связанный с R^{a3}, является необязательно протонированным в солевой форме, предпочтительно фармацевтически приемлемой солевой форме, или R^{a3} представляет собой азот-защитную группу, такую как подходящая кислото-лабильная защитная группа; волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к атому серы лигандного звена; P1, P2 и P3 соответствуют вышеприведенному определению для любого из вариантов осуществления пептидных расщепляемых звеньев; а остальные вариабельные группы соответствуют описанию для любого из вариантов осуществления фрагмента лекарственный препарат-линкер по формуле **1A**.

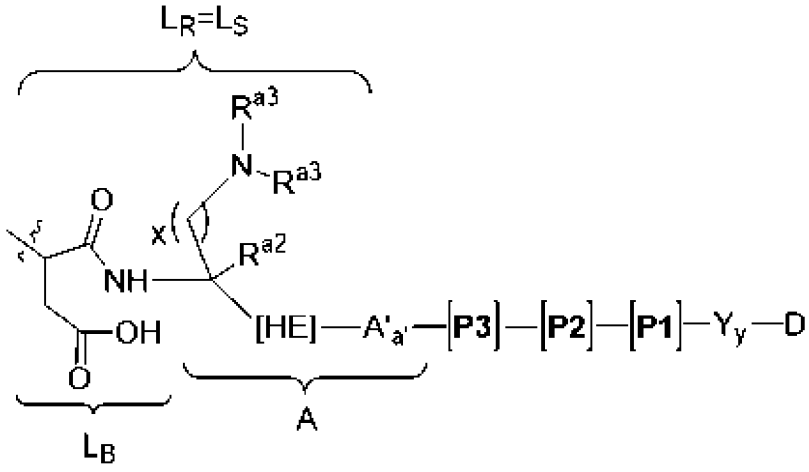
[0539] В других предпочтительных вариантах осуществления -L_{SS} и -L_S-содержащих фрагментов лекарственный препарат-линкер по формуле **1A** соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат фрагменты L_{SS} и L_S содержат ациклическое основное звено. Типовые фрагменты лекарственный препарат-линкер, которые имеют первичные линкеры, в которых пептидное расщепляемое звено представляет собой дипептид, представлены структурами формулы 1E, формулы 1F и формулы 1G:



(формула 1E)



(формула 1F)

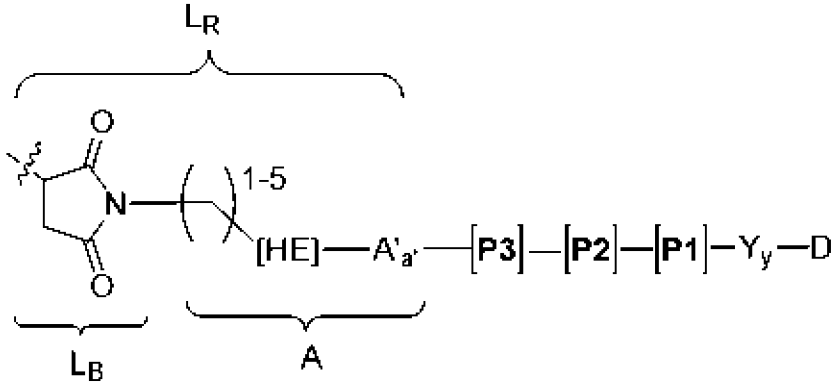


(формула 1G)

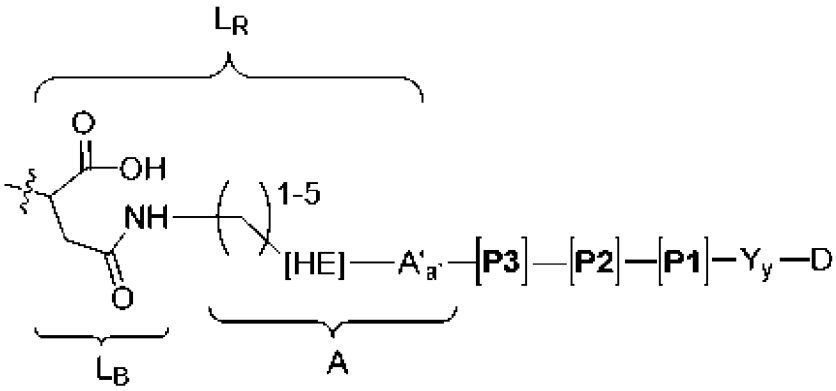
или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где HE представляет собой необязательное усиливающее гидролиз звено; A' при наличии представляет собой подзвено первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно; нижний индекс x равен 1 или 2; R^{a2} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, $-CH_3$ или $-CH_2CH_3$; R^{a3}, в каждом случае независимо представляет собой азот-защитную группу, -H или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, предпочтительно -H, кислото-лабильную защитную группу, $-CH_3$ или $-CH_2CH_3$, или оба R^{a3} вместе с атомом азота, к которому они присоединены, определяют азот-защитную группу или азетидинильный, пирролидинильный или пиперидинильный гетероциклил, в котором определенный таким

образом первичный, вторичный или третичный амин необязательно протонирован в солевой форме, предпочтительно фармацевтически приемлемой солевой форме; волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к атому серы лигандного звена; P1, P2 и P3 соответствуют вышеприведенному определению для любого из вариантов осуществления пептидных расщепляемых звеньев, а остальные вариабельные группы соответствуют описанию для любого из вариантов осуществления фрагмента лекарственный препарат-линкер по формуле **1A**.

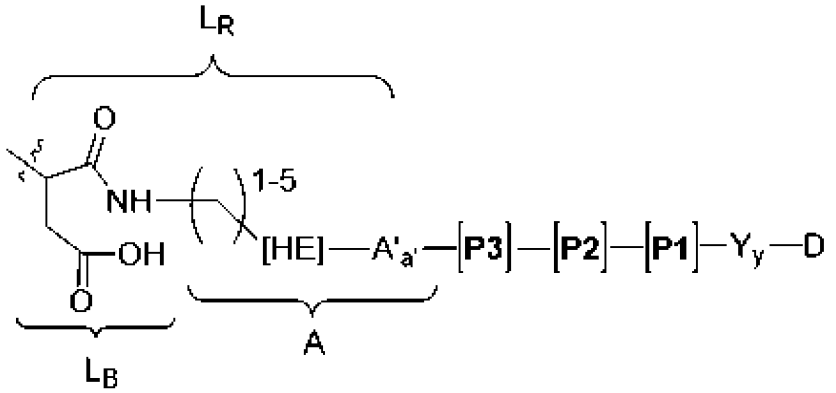
[0540] В других предпочтительных вариантах осуществления первичный линкер не содержит основное звено. Типовые фрагменты лекарственный препарат-линкер, которые имеют первичный линкер, в котором пептидное расщепляемое звено представляет собой трипептид, представлены структурами формулы 1H, формулы 1J и формулы 1K:



(формула 1H)



(формула 1J)

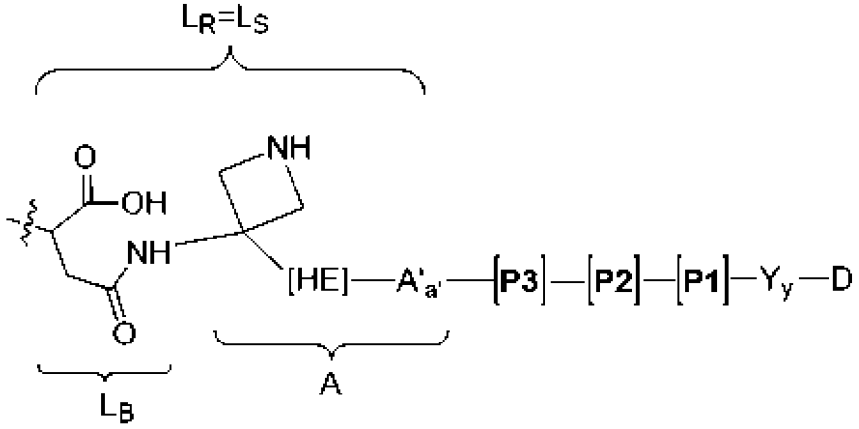


(формула 1K)

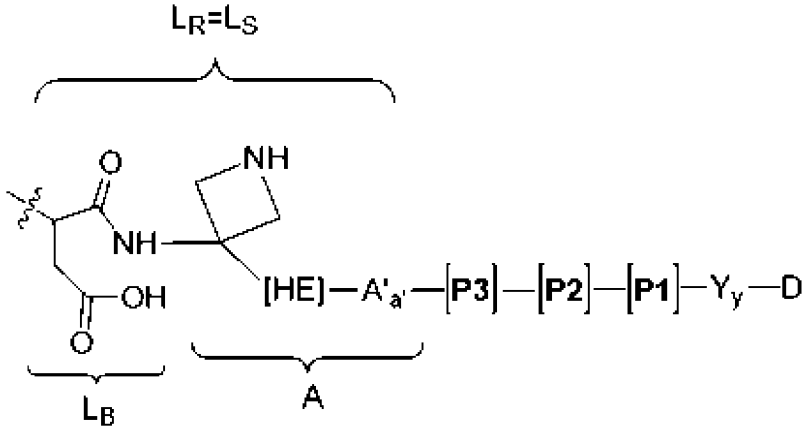
или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где HE представляет собой необязательное усиливающее гидролиз звено; A' при наличии представляет собой

подзвено (A_2) первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A'; волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к атому серы лигандного звена; P1, P2 и P3 соответствуют вышеприведенному определению для любого из вариантов осуществления пептидных расщепляемых звеньев, а остальные вариабельные группы соответствуют описанию для любого из вариантов осуществления фрагмента лекарственный препарат-линкер по формуле **1A**.

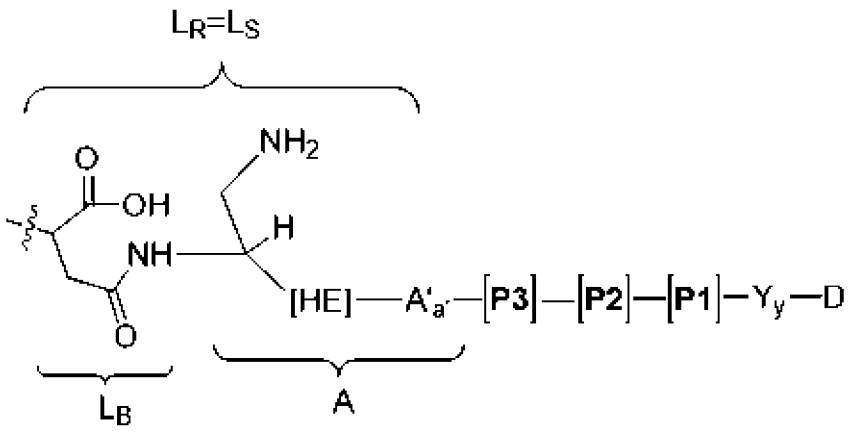
[0541] В более предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует циклическое основное звено в виде гетероцикло в линкерном звене, большинство соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные структурами:



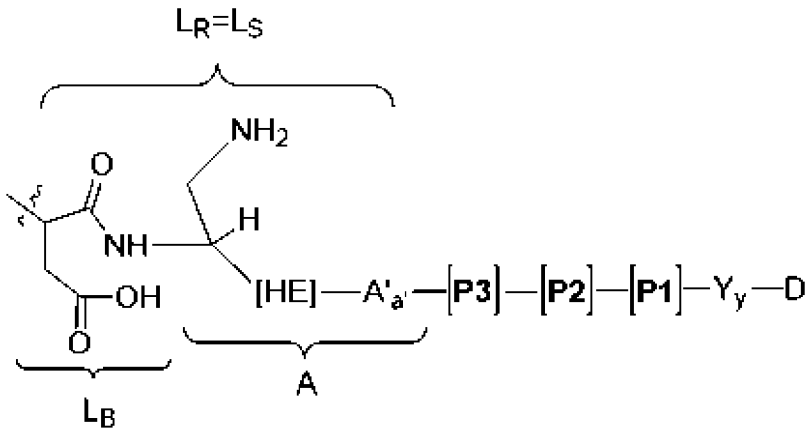
и



необязательно в солевой форме, в частности фармацевтически приемлемой солевой форме, а в более предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует ациклическое основное звено в линкерном звене, большинство соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные структурами:



и



необязательно в солевой форме, в частности фармацевтически приемлемой солевой форме, при этом вариабельные группы L_{SS} и L_S-содержащих фрагментов лекарственный препарат-линкер соответствуют вышеприведенному описанию для фрагментов лекарственный препарат-линкер, имеющих ациклическое основное звено или циклическое основное звено в виде гетероцикло,

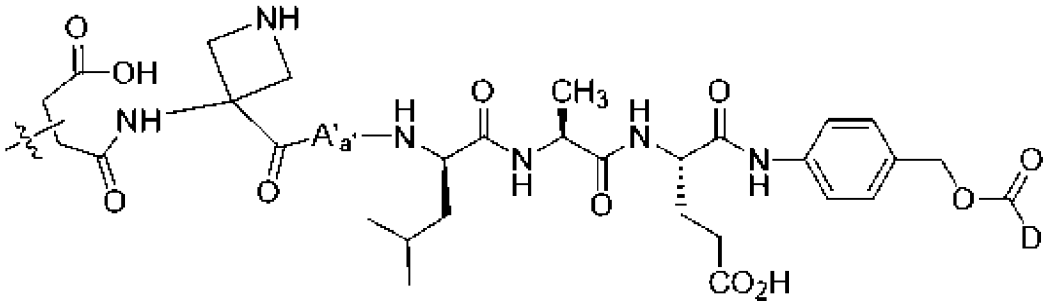
а в более предпочтительных вариантах осуществления, в которых основное звено в линкерном звене отсутствует, преобладающее соединение конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеет фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные структурой формулы **1H**, при этом вариабельные группы соответствуют вышеприведенному описанию для фрагментов лекарственный препарат-линкер этой формулы.

[0542] В любом из вышеприведенных фрагментов лекарственный препарат-линкер HE предпочтительно присутствует как -C(=O) и/или нижний индекс y равен 1 или 2, что указывает на присутствие одного или двух самоуничтожающихся спейсерных звеньев, соответственно.

[0543] В особенно предпочтительных вариантах осуществления трипептид -[P3]-[P2]-[P1] в любом из вышеприведенных фрагментов лекарственный препарат-линкер представляет собой D-Leu-Leu-Met(O) или D-Leu-Ala-Glu, где Met(O) представляет собой метионин, в котором атом серы окислен до сульфоксида.

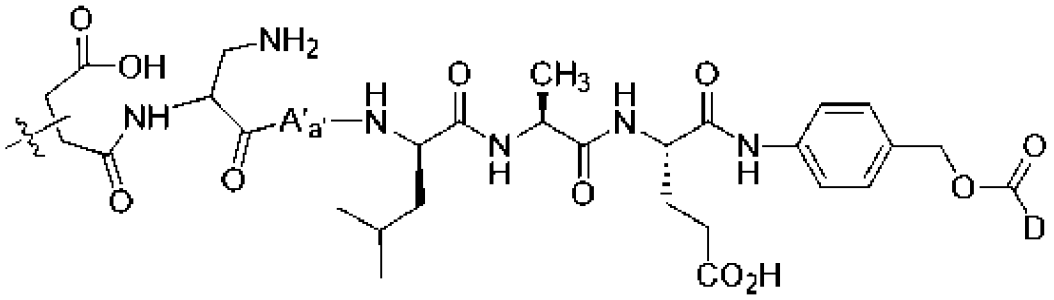
[0544] В особенно предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует циклическое основное звено в виде гетероцикло в линкерном звене,

большинство соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные структурой:



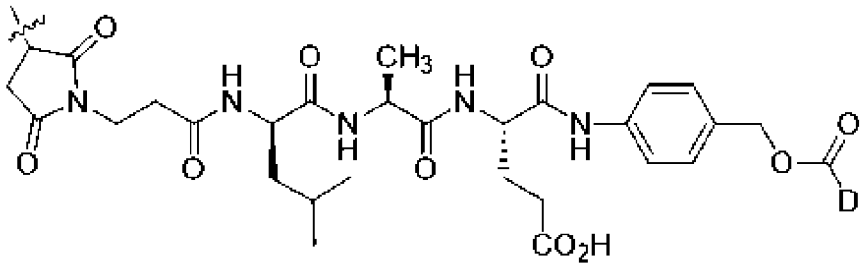
и ее солями, в частности фармацевтически приемлемыми солями, где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к атому серы лигандного звена; нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно, где A' представляет собой остаток амино-содержащей кислоты формулы **3a**, **4a** или **5a**, описанный в данном документе для второго необязательного звена растяжения или подзвена первого необязательного звена растяжения, или A' представляет собой α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток; и D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, имеющий вторичную аминогруппу в качестве места присоединения к линкерному звену фрагмента лекарственный препарат-линкер.

[0545] В других особенно предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует ациклическое основное звено в линкерном звене, большинство соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные структурой:

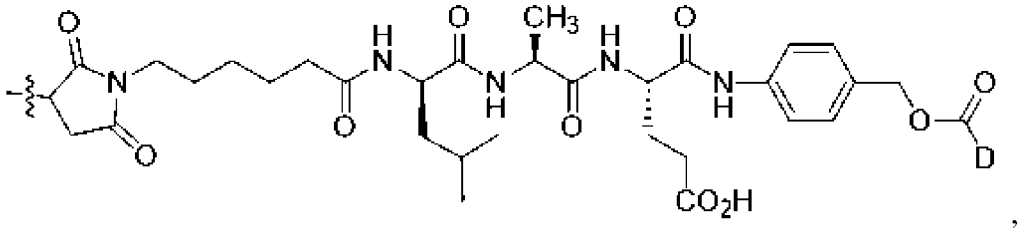


и ее солями, в частности фармацевтически приемлемыми солями, где вариабельные группы соответствуют вышеприведенному описанию для фрагментов лекарственный препарат-линкер, имеющих циклическое основное звено.

[0546] В других особенно предпочтительных вариантах осуществления, в которых основное звено в линкерном звене отсутствует, преобладающее соединение конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеет фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные структурой:



или



,

или ее солью, в частности фармацевтически приемлемой солью, где вариабельные группы соответствуют вышеприведенному описанию для фрагментов лекарственный препарат-линкер, имеющих циклическое основное звено. В тех вариантах осуществления, в которых отсутствует BU, композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, состоящая ил любого преобладающего соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат, необязательно дополнительно состоит из соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых сукцинимидное кольцо находится в гидролизованной форме.

2.2.7 Лекарственные препараты и лекарственные звенья

[0547] В некоторых вариантах осуществления D представляет собой свободный лекарственный препарат или его фармацевтически приемлемую соль и может быть применим для фармацевтического лечения гиперпролиферативных заболеваний и расстройств. В некоторых вариантах осуществления D представляет собой лекарственное звено, которое конъюгировано с соединением лекарственный препарат-линкер или с соединением конъюгата лиганд-лекарственный препарат. В некоторых вариантах осуществления D представляет собой цитотоксический, цитостатический, иммуносупрессивный, иммуностимулирующий или иммуномодулирующий лекарственный препарат. В некоторых вариантах осуществления D представляет собой агент, разрушающий тубулин, фрагмент, связывающий малую бороздку ДНК, агент, повреждающий ДНК, или ингибитор репликации ДНК.

[0548] Применимые классы цитотоксических, цитостатических, иммуносупрессивных, иммуностимулирующих или иммуномодулирующих агентов включают, например, антитубулиновые агенты (которые также могут называться разрушающими тубулин агентами), агенты, связывающие малую бороздку ДНК, ингибиторы репликации ДНК, агенты, повреждающие ДНК, алкилирующие агенты, антибиотики, антифолаты, антиметаболиты, сенсибилизаторы химиотерапии, агонистов толл-подобных рецепторов (TLR), агонистов стимулятора генов интерферона (STING), агонистов гена I, индуцируемого ретиноевой кислотой (RIG-I), ингибиторы топоизомеразы (включая ингибиторы топоизомеразы I и II), алкалоиды барвинка,

ауристатины, камптотецины, ендиины, лекситропсины, антрациклины, таксаны и т. п. Конкретные примеры применимых классов цитотоксических агентов включают, например, агенты, связывающие малую бороздку ДНК (ендиины и лекситропсины), ДНК-алкилирующие агенты и ингибиторы тубулина. Типовые агенты включают, например, антрациклины, ауристатины (например, ауристатин Т, ауристатин Е, AFP, монометилауристатин F (MMAF), липофильный монометилауристатин F, монометилауристатин Е (MMAE)), камптотецины, аналоги CC-1065, калихеамицин, аналоги доластатина 10, дуокармицины, этопозиды, майтанзины и майтанзиноиды, мелфалан, метотрексат, митомицин С, таксаны (например, паклитаксел и децетаксел), ингибитор никотинамидфосфорибозилтрансферазы (NAMPTi), тубулизин М, бензодиазепины и содержащие бензодиазепины лекарственные препараты (например, пирроло[1,4]-бензодиазепины (PBD), индолинобензодиазепины, ризоксин, палитоксин и оксазолидинобензодиазепины) и алкалоиды барвинка. Выбранные содержащие бензодиазепины лекарственные препараты описаны в WO 2010/091150, WO 2012/112708, WO 2007/085930 и WO 2011/023883.

[0549] Конкретные применимые классы цитотоксических агентов включают, например, агенты, связывающие малую бороздку ДНК, ДНК-алкилирующие агенты, агенты, разрушающие тубулин, антрациклины и ингибиторы топоизомеразы II. Другие конкретные применимые цитотоксические агенты включают, например, ауристатины (например, ауристатин Т, ауристатин Е, AFP, монометилауристатин F (MMAF), липофильные аналоги монометилауристатина F, монометилауристатин Е (MMAE)) и камптотецины (например, камптотецин, иринотекан и топотекан).

[0550] Цитотоксический агент может представлять собой химиотерапевтический агент, такой как, например, доксорубицин, паклитаксел, мелфалан, алкалоиды барвинка, метотрексат, митомицин С или этопозид. Агент также может представлять собой аналог CC-1065, калихеамицин, майтанзин, аналог доластатина 10, ризоксин или палитоксин.

[0551] Цитотоксический агент также может представлять собой ауристатин. Ауристатин может представлять собой производное ауристатина Е, например, сложный эфир, образуемый между ауристатином Е и кето-кислотой. Например, ауристатин Е можно приводить в реакцию с параацетилбензойной кислотой или бензоилвалерьяновой кислотой с получением AEB и AEVB, соответственно. Другие типичные ауристатины включают ауристатин Т, AFP, MMAF и MMAE. Синтез и структура различных ауристатинов описаны, например, в US 2005-0238649 и US2006-0074008.

[0552] Цитотоксический агент может представлять собой агент, связывающий малую бороздку ДНК (смотрите, например, патент США № 6130237). Например, агент, связывающий малую бороздку, может представлять собой соединение CBI или ендиин (например, калихеамицин).

[0553] Цитотоксический или цитостатический агент может представлять собой антитубулиновый агент. Примеры антитубулиновых агентов включают таксаны (например, Таксол® (паклитаксел), Таксотер® (доцетаксел)), Т67 (Туларик), алкалоиды

барвинка (например, винкристин, винбалстин, виндезин и винорелбин) и ауристатины (например, ауристатин E, AFP, MMAF, MMAE, AEB, AEVB). Другие подходящие антитубулиновые агенты включают, например, производные баккатина, аналоги таксанов (например, эпотилон A и B), нокодазол, колхицин и колцимид, эстрамустин, криптофицины, цемадотин, майтанзиноиды, комбретастатины, дискодермолид и элеутеробин.

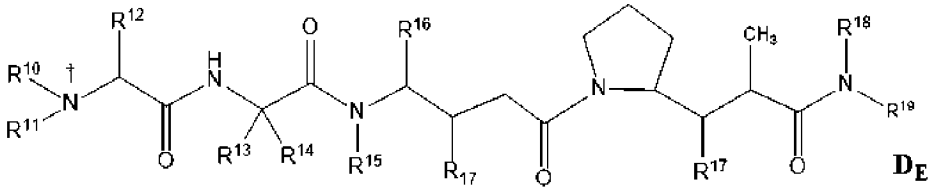
[0554] Цитотоксический агент может представлять собой майтанзин или майтанзиноид, другую группу антитубулиновых агентов (например, DM1, DM2, DM3, DM4). Например, майтанзиноид может представлять собой майтанзин или майтанзин-содержащее соединение лекарственный препарат-линкер, такое как DM-1 или DM-4 (ImmunoGen, Inc.; также смотрите Chari et al., 1992, Cancer Res.).

[0555] В некоторых вариантах осуществления D представляет собой агент, разрушающий тубулин. В некоторых вариантах осуществления D представляет собой ауристатин или тубулизин. В некоторых вариантах осуществления D представляет собой ауристатин. В некоторых вариантах осуществления D представляет собой тубулизин.

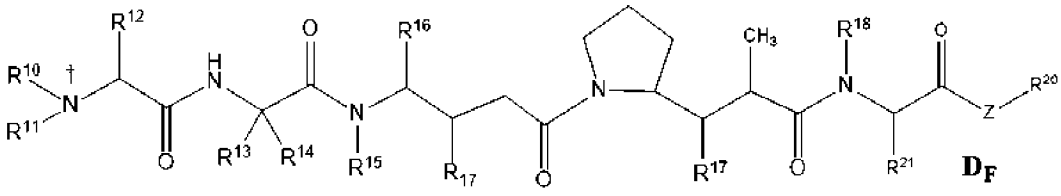
[0556] В некоторых вариантах осуществления D представляет собой агонист TLR. Типовые агонисты TLR включают, но не ограничиваются этим, агонист TLR1, агонист TLR2, агонист TLR3, агонист TLR4, агонист TLR5, агонист TLR6, агонист TLR7, агонист TLR8, агонист TLR7/8, агонист TLR9 или агонист TLR10.

[0557] В некоторых вариантах осуществления D представляет собой агонист STING. Типовые агонисты STING включают, но не ограничиваются этим, циклические динуклеотидные (CDN) и ненуклеотидные агонисты STING.

[0558] Ауристатиновое лекарственное звено соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат или соединения лекарственный препарат-линкер включает лекарственный препарат ауристатин посредством ковалентного присоединения линкерного звена конъюгата или соединения лекарственный препарат-линкер ко вторичному амину свободного лекарственного препарата ауристатина, имеющего структуру D_E или D_F, следующим образом:



D_E



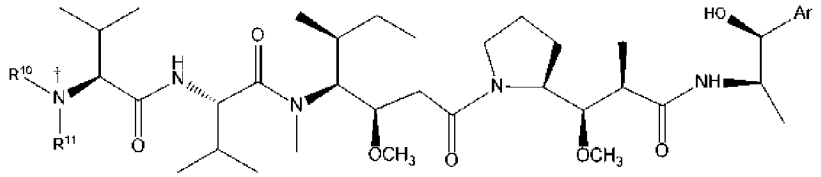
D_F

где символ кинжала указывает место ковалентного присоединения атома азота, который обеспечивает карбаматную функциональную группу, где -OC(=O)- этой функциональной группы представляет собой Y’ при включении соединения

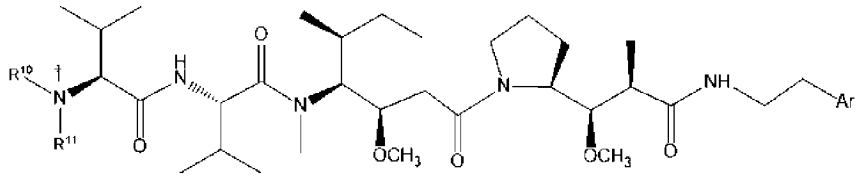
лекарственного препарата ауристатина как -D в любой из фрагментов лекарственный препарат-линкер соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат или в любое из соединений лекарственный препарат-линкер, описанных в данном документе, так что для любого типа соединения нижний индекс y равен 2; и

один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой C_1-C_8 алкил; R^{12} представляет собой водород, C_1-C_8 алкил, C_3-C_8 карбоциклил, C_6-C_{24} арил, -X^1-C_6-C_{24} арил, -X^1-(C_3-C_8 карбоциклил), C_3-C_8 гетероциклил или -X^1-(C_3-C_8 гетероциклил); R^{13} представляет собой водород, C_1-C_8 алкил, C_3-C_8 карбоциклил, C_6-C_{24} арил, -X^1- C_6-C_{24} арил, -X^1-(C_3-C_8 карбоциклил), C_3-C_8 гетероциклил и -X^1-(C_3-C_8 гетероциклил); R^{14} представляет собой водород или метил, или R^{13} и R^{14} вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, составляют спиро C_3-C_8 карбоцикло; R^{15} представляет собой водород или C_1-C_8 алкил; R^{16} представляет собой водород, C_1-C_8 алкил, C_3-C_8 карбоциклил, C_6-C_{24} арил, -C_6-C_{24}-X^1-арил, -X^1-(C_3-C_8 карбоциклил), C_3-C_8 гетероциклил и -X^1-(C_3-C_8 гетероциклил); R^{17} независимо представляют собой водород, -OH, C_1-C_8 алкил, C_3-C_8 карбоциклил и O-(C_1-C_8 алкил); R^{18} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_8 алкил; R^{19} представляет собой —$C(R^{19A})_2$—$C(R^{19A})_2$— C_6-C_{24} арил, —$C(R^{19A})_2$—$C(R^{19A})_2$—(C_3-C_8 гетероциклил) или —$C(R^{19A})_2$—$C(R^{19A})_2$—(C_3-C_8 карбоциклил), где C_6-C_{24} арил и C_3-C_8 гетероциклил необязательно замещены; R^{19A} независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_8 алкил, -OH или необязательно замещенный -O-C_1-C_8 алкил; R^{20} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_{20} алкил, необязательно замещенный C_6-C_{24} арил или необязательно замещенный C_3-C_8 гетероциклил, -$(R^{47}O)_m$-R^{48} или-$(R^{47}O)_m$-$CH(R^{49})_2$; R^{21} представляет собой необязательно замещенный -C_1-C_8 алкилен-(C_6-C_{24} арил) или необязательно замещенный -C_1-C_8 алкилен-(C_5-C_{24} гетероарил), C_1-C_8 гидроксилалкил или необязательно замещенный C_3-C_8 гетероциклил; Z представляет собой O, S, NH или NR^{46}; R^{46} представляет собой необязательно замещенный C_1-C_8 алкил; нижний индекс m представляет собой целое число в диапазоне 1-1000; R^{47} представляет собой C_2-C_8 алкил; R^{48} представляет собой водород или C_1-C_8 алкил; R^{49} независимо представляет собой -COOH, —$(CH_2)_n$-$N(R^{50})_2$, —$(CH_2)_n$-SO_3H, или —$(CH_2)_n$-SO_3-C_1-C_8 алкил; R^{50} независимо представляет собой C_1-C_8 алкил или —$(CH_2)_n$-COOH; нижний индекс n представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 6; и X^1 представляет собой C_1-C_{10} алкилен.

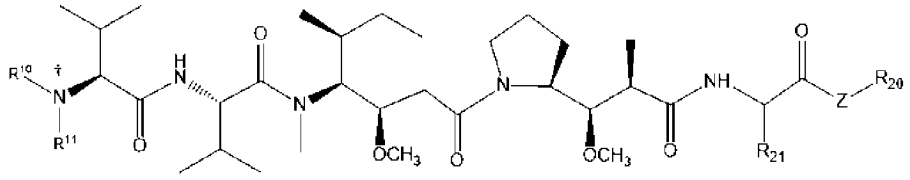
[0559] В некоторых вариантах осуществления соединение лекарственного препарата ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_{E-1}}$, формулы $\mathbf{D_{E-2}}$ или формулы $\mathbf{D_{F-1}}$:



$\mathbf{D_{E-1}}$



$\mathbf{D_{E-2}}$,



$\mathbf{D_{F-1}}$

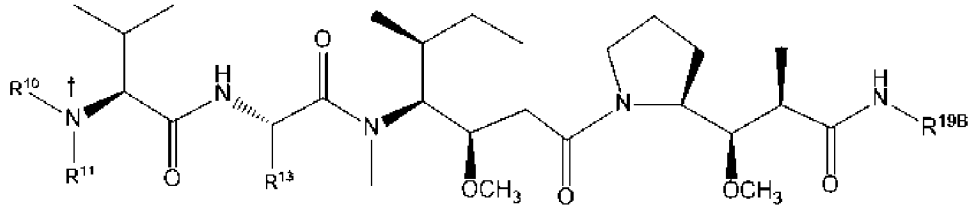
где Ar в формуле $\mathbf{D_{E-1}}$ или формуле $\mathbf{D_{E-2}}$ представляет собой C_6-C_{10} арил или C_5-C_{10} гетероарил, и в формуле $\mathbf{D_{F-1}}$, Z представляет собой -O- или -NH-; R^{20} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный C_6-C_{10} арил или необязательно замещенный C_5-C_{10} гетероарил; и R^{21} представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный -C_1-C_6 алкилен-(C_6-C_{10} арил) или необязательно замещенный -C_1-C_6 алкилен-(C_5-C_{10} гетероарил).

[0560] В некоторых вариантах осуществления формулы $\mathbf{D_E}$, $\mathbf{D_F}$, $\mathbf{D_{E-1}}$, $\mathbf{D_{E-2}}$ или $\mathbf{D_{F-1}}$ один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил.

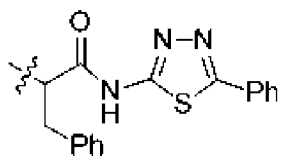
[0561] В некоторых вариантах осуществления формулы $\mathbf{D_{E-1}}$ или $\mathbf{D_{E-2}}$ Ar представляет собой фенил или 2-пиридил.

[0562] В некоторых вариантах осуществления формулы $\mathbf{D_{F-1}}$ R^{21} представляет собой X^1-S-R^{21a} или X^1-Ar, где X^1 представляет собой C_1-C_6 алкилен, R^{21a} представляет собой C_1-C_4 алкил и Ar представляет собой фенил или C_5-C_6 гетероарил, и/или -Z- представляет собой -O- и R^{20} представляет собой C_1-C_4 алкил или Z представляет собой -NH- и R^{20} представляет собой фенил или C_5-C_6 гетероарил.

[0563] В некоторых вариантах осуществления соединение лекарственного препарата ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_{F/E-3}}$:

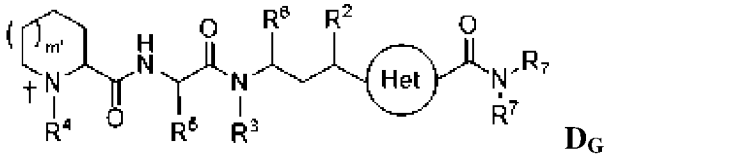


$\mathbf{D_{F/E-3}}$

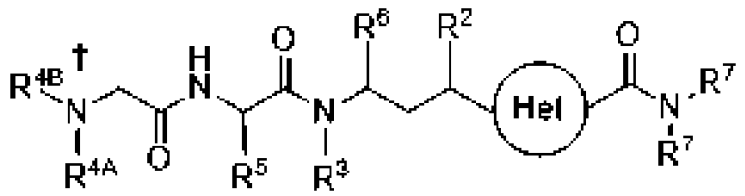
где один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил; R^{13} представляет собой изопропил или -CH_2-$CH(CH_3)_2$; и R^{19B} представляет собой -$CH(CH_3)$-CH(OH)-Ph, -$CH(CO_2H)$-CH(OH)-CH_3, -$CH(CO_2H)$-CH_2Ph, -$CH(CH_2Ph)$-2-тиазолил, -$CH(CH_2Ph)$-2-пиридил, -$CH(CH_2$-p-Cl-Ph), -$CH(CO_2Me)$-CH_2Ph, -$CH(CO_2Me)$-$CH_2CH_2SCH_3$, -$CH(CH_2CH_2SCH_3)$C(=O)NH-хинол-3-ил, -$CH(CH_2Ph)$C(=O)NH-p-Cl-Ph, или R^{19B} имеет структуру  , где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к оставшейся части соединения ауристатина.

[0564] В некоторых вариантах осуществления соединение лекарственного препарата ауристатина, включенное в -D, представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

[0565] В некоторых вариантах осуществления D представляет собой содержащее третичный амин соединение тубулизина, при этом атом азота третичного амина находится в месте ковалентного присоединения к фрагменту лекарственный препарат-линкер. Присоединение D к фрагменту лекарственный препарат-линкер может приводить к получению четвертичного амина. В некоторых вариантах осуществления D^+ можно использовать для обозначения такого содержащего четвертичный амин лекарственного препарата в фрагменте лекарственный препарат-линкер или соединении лекарственный препарат-линкер. В некоторых вариантах осуществления свободный лекарственный препарат, который конъюгирован в конъюгате лиганд-лекарственный препарат или соединении лекарственный препарат-линкер, представляет собой амино-содержащее соединение тубулизина, при этом атом азота амина находится в месте ковалентного присоединения к линкерному звену конъюгата лиганд-лекарственный препарат или соединения лекарственный препарат-линкер и при этом амино-содержащее соединение тубулизина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_G}$ или $\mathbf{D_H}$:



$\mathbf{D_G}$



$\mathbf{D_H}$

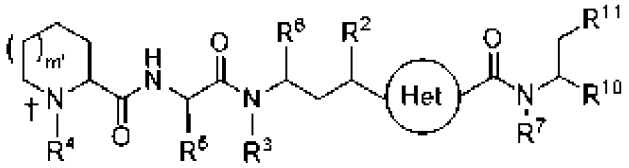
где символ кинжала представляет точку ковалентного присоединения лекарственного звена к линкерному звену, в котором указанный таким образом атом азота становится кватернизированным, в соединении лекарственный препарат-линкер или соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат, а символ круга представляет 5-членный или 6-членный азотный гетероарил, где указанные необходимые заместители этого гетероарила находятся в 1,3- или *мета*-взаимосвязи друг с другом с необязательным замещением в оставшихся позициях; R^2 представляет собой X^A-R^{2A}, где X^A представляет собой -O-, -S-, -N(R^{2B})-, -CH_2-, -(C=O)N(R^{2B})- или -O(C=O)N(R^{2B})-, где R^{2B} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, R^{2A} представляет собой водород, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил или -C(=O)R^C, где R^C представляет собой водород, необязательно замещенный алкил или необязательно замещенный арил, или R^2 представляет собой O-связанный заместитель; R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил; R^4, R^{4A}, R^{4B}, R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный алкил, независимо выбранный, один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, а другой R^7 представляет собой

необязательно замещенный арилалкил или необязательно замещенный гетероарилалкил, и m равен 0 или 1. В других вариантах осуществления кватернизированный лекарственный препарат представляет собой тубулизин, представленный структурой D_G, где один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, другой R^7 представляет собой независимо выбранный необязательно замещенный алкил и нижний индекс m' равен 0 или 1, при этом другие вариабельные группы соответствуют вышеприведенным определениям. В некоторых вариантах осуществления один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный низший алкил, другой R^7 представляет собой независимо выбранный необязательно замещенный C_1-C_6 алкил и нижний индекс m' равен 1, при этом другие вариабельные группы соответствуют вышеприведенным определениям.

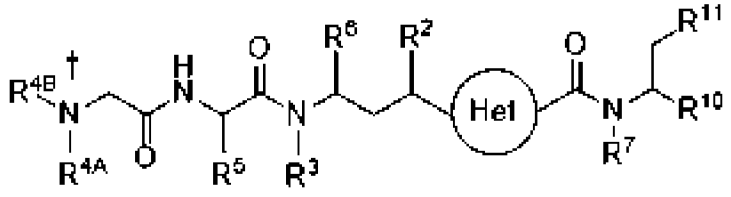
[0566] В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой X^A-R^{2A}, где X^A представляет собой -O-, -S-, -N(R^{2B})-. -CH_2- или -O(C=O)N(R^{2B})-, где R^{2B} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, R^{2A} представляет собой водород, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил или -C(=O)R^C, где R^C представляет собой водород, необязательно замещенный алкил или необязательно замещенный арил, или R^2 представляет собой водород O-связанный заместитель.

[0567] В некоторых вариантах осуществления R^2 представляет собой X^A-R^{2A}, где X^A представляет собой -O-, -S-, -N(R^{2B})- или -(C=O)N(R^{2B})-, где R^{2A} и R^{2B} независимо представляют собой водород или необязательно замещенный алкил или R^2 представляет собой O-связанный заместитель.

[0568] В некоторых вариантах осуществления -N(R^7)(R^7) в $\mathbf{D_G}$ или $\mathbf{D_H}$ замещен -N(R^7)-CH(R^{10})(CH_2R^{11}), определяя соединения тубулизина формулы $\mathbf{D_H}$' и $\mathbf{D_G}$':



$\mathbf{D_G}$'



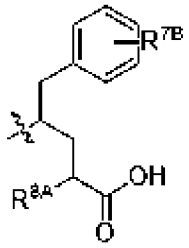
$\mathbf{D_H}$'

где символ кинжала представляет точку ковалентного присоединения к линкерному звену, в котором указанный таким образом атом азота становится кватернизированным, в соединении лекарственный препарат-линкер или соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат; R^{10} представляет собой C_1-C_6 алкил, замещенный -CO_2H, или его сложный эфир, а R^7 представляет собой водород или C_1-C_6 алкил, независимо выбранный из R^{10}, или R^7 и R^{10} вместе с атомами, к которым они присоединены, определяют 5- или 6-членный гетероцикл; и R^{11} представляет собой арил или 5- или 6-членный гетероарил, необязательно замещенный одним или более

заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, низшего алкила, -OH и -O-C_1-C_6 алкила; а остальные вариабельные группы соответствуют определению для $\mathbf{D_G}$ и $\mathbf{D_H}$. В некоторых вариантах осуществления R^{11} замещен одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, низшего алкила, -OH и -O-C_1-C_6 алкила. В некоторых вариантах осуществления R^{11} замещен одним заместителем, выбранным из группы, состоящей из галогена, низшего алкила, -OH и -O-C_1-C_6 алкила. В некоторых вариантах осуществления галоген представляет собой F. В некоторых вариантах осуществления -O-C_1-C_6 алкил представляет собой $-OCH_3$. В некоторых вариантах осуществления низший алкил представляет собой $-CH_3$.

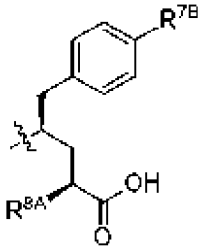
[0569] В других вариантах осуществления один R^7 в $-N(R^7)(R^7)$ в $\mathbf{D_G}$ или $\mathbf{D_H}$ представляет собой водород или C_1-C_6 алкил, а другой R^7 представляет собой независимо выбранный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный $-CO_2H$ или его сложным эфиром или необязательно замещенным фенилом.

[0570] В некоторых вариантах осуществления структуры $\mathbf{D_G}$ и $\mathbf{D_H}$ один R^7 представляет собой водород, а другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил, имеющий структуру:



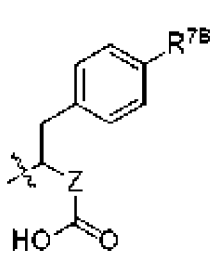
, где R^{7B} представляет собой водород или O-связанный заместитель, а R^{8A} представляет собой водород или низший алкил; и при этом волнистая линия указывает точку присоединения к остатку $\mathbf{D_G}$ или $\mathbf{D_H}$. В некоторых вариантах осуществления R^{7B} представляет собой водород или -OH в *пара*-положении. В некоторых вариантах осуществления R^{8A} представляет собой метил.

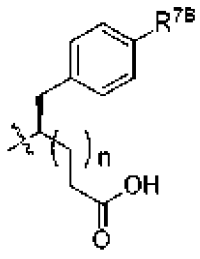
[0571] В некоторых вариантах осуществления структуры $\mathbf{D_G}$ или $\mathbf{D_H}$ один R^7 представляет собой водород, а другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил, имеющий структуру

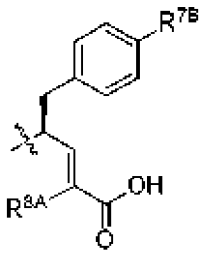


, где R^{7B} представляет собой -H или -OH; и при этом волнистая линия указывает точку присоединения к остатку $\mathbf{D_G}$ или $\mathbf{D_H}$.

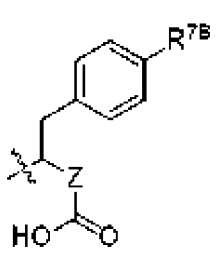
[0572] В некоторых вариантах осуществления структуры $\mathbf{D_G}$ и $\mathbf{D_H}$ один R^7 представляет собой водород или низший алкил, а другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил, имеющий структуру одного из:

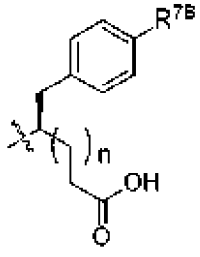


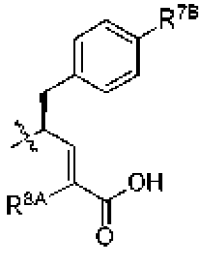
,


и


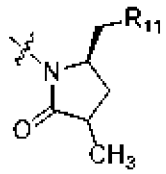
, где Z представляет собой необязательно замещенный алкилен или необязательно замещенный алкенилен, R^{7B} представляет собой водород или O-связанный заместитель, R^{8A} представляет собой водород или низший алкил, а нижний индекс n равен 0, 1 или 2; и при этом волнистая линия указывает точку присоединения к остатку $\mathbf{D_G}$ или $\mathbf{D_H}$. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс n равен 0 или 1. В других вариантах осуществления структуры $\mathbf{D_G}$ и $\mathbf{D_H}$ $-N(R^7)(R^7)$ представляет собой $-NH(C_1\text{-}C_6$ алкил), где $C_1\text{-}C_6$ алкил является необязательно замещенным $-CO_2H$ или его сложным эфиром или необязательно замещенным фенилом. В некоторых вариантах осуществления $-N(R^7)(R^7)$ выбран из группы, состоящей из $-NH(CH_3)$, $-CH_2CH_2Ph$, $-CH_2\text{-}CO_2H$, $-CH_2CH_2CO_2H$ и $-CH_2CH_2CH_2CO_2H$. В некоторых вариантах осуществления один R^7 представляет собой водород или метил, а другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил, имеющий структуру:



,


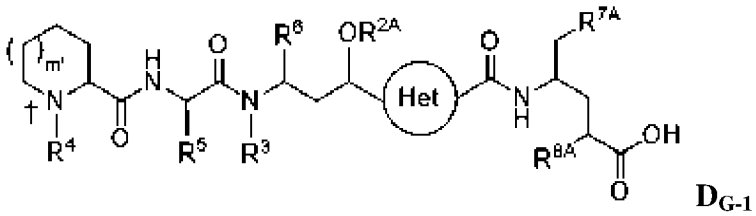
и


, где Z представляет собой необязательно замещенный алкилен или необязательно замещенный алкенилен, R^{7B} представляет собой водород или -OH в *пара*-положении, R^{8A} представляет собой водород или метил, нижний индекс n равен 0, 1 или 2.

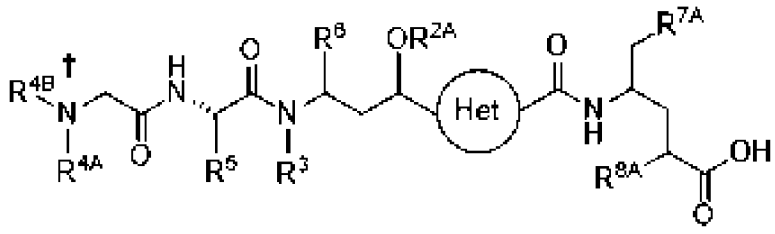
[0573] В некоторых вариантах осуществления структуры $\mathbf{D_G}$**'** и $\mathbf{D_H}$**'** R^7 и R^{10} вместе с атомами, к которым они присоединены, определяют необязательно замещенный 5- или 6-членный гетероцикл, где $-N(R^7)\text{-}CH(R^{10})(CH_2R^{11})$ имеет структуру: 

при этом волнистая линия указывает точку присоединения к остатку $\mathbf{D_G}$**'** или $\mathbf{D_H}$**'**.

[0574] В некоторых вариантах осуществления соединение тубулизина представлено следующей формулой, где указанный азот (†) является сайтом кватернизации, когда такие соединения включены в LDC в качестве кватернизированного лекарственного звена (D^+):



$\mathbf{D_{G-1}}$

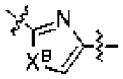


$\mathbf{D_{H-1}}$

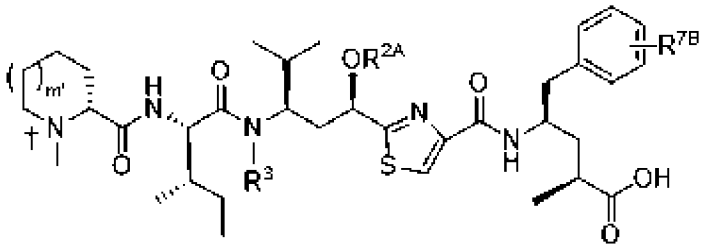
где символ кинжала представляет точку ковалентного присоединения лекарственного звена к линкерному звену в соединении лекарственный препарат-линкер или соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в котором указанный таким образом атом азота становится кватернизированным, а символ круга представляет 5-членный или 6-членный азотный гетероарил, где указанные необходимые заместители этого гетероарила находятся в 1,3- или *мета*-взаимосвязи друг с другом с необязательным замещением в оставшихся позициях; R^{2A} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил или R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, определяет O-связанный заместитель; R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил; R^4, R^{4A}, R^{4B}, R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный алкил, независимо выбранный; R^{7A} представляет собой необязательно замещенный арил или необязательно замещенный гетероарил, R^{8A} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, а нижний индекс m' равен 0 или 1.

[0575] В некоторых вариантах осуществления структуры $\mathbf{D_G}$, $\mathbf{D_{G-1}}$, $\mathbf{D_H}$ или $\mathbf{D_{H-1}}$, R^4 представляет собой метил или R^{4A} и R^{4B} представляют собой метил. В других вариантах осуществления структуры $\mathbf{D_G'}$ или $\mathbf{D_H'}$ R^4 представляет собой метил или R^{4A} и R^{4B} представляют собой метил. В других вариантах осуществления R^{7A} представляет собой необязательно замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R^{8A} представляет собой метил в (S)-конфигурации. В других вариантах осуществления R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, определяет O-связанный заместитель, отличный от -OH. В некоторых вариантах осуществления R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, определяет сложный эфир, простой эфир или O-связанный карбамат. В некоторых вариантах осуществления символ круга представляет 5-членный азотный гетероарилен. В некоторых вариантах осуществления символ круга представляет двухвалентный фрагмент оксазола или тиазола. В некоторых вариантах осуществления R^4 представляет собой метил или R^{4A} и R^{4B} представляют собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил, где арил представляет собой фенил и R^{7A} представляет собой необязательно замещенный фенил.

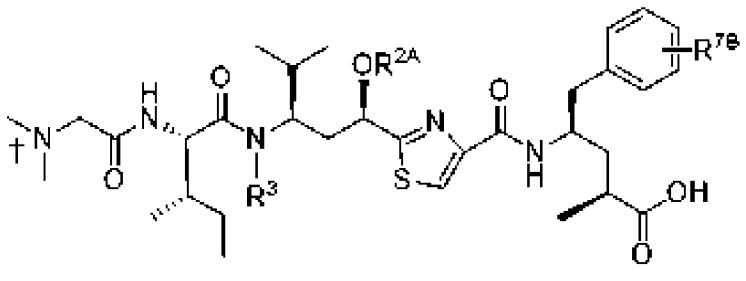
[0576] В других вариантах осуществления $\mathbf{D_G}$, $\mathbf{D_G'}$, $\mathbf{D_{G-1}}$, $\mathbf{D_H}$, $\mathbf{D_H'}$ или $\mathbf{D_{H-1}}$ символ

круга представляет 5-членный азотный гетероарилен. В некоторых вариантах осуществления 5-членный гетероарилен представлен структурой  , где X^B представляет собой O, S или N-R^B, где R^B представляет собой водород или низший алкил. В некоторых вариантах осуществления кватернизированный лекарственный препарат представляет собой тубулизин, представленный структурой $\mathbf{D_G}$, $\mathbf{D_G}$' или $\mathbf{D_{G-1}}$, где m равен 1. В некоторых вариантах осуществления тубулизины представлены структурой $\mathbf{D_G}$, где m равен 1, а символ круга представляет необязательно замещенный двухвалентный фрагмент тиазола.

[0577] В некоторых вариантах осуществления соединение тубулизина представлено следующей формулой, где указанный атом азота (†) является сайтом кватернизации, когда такие соединения включены в LDC в качестве кватернизированного лекарственного звена (D^+):



$\mathbf{D_{G-2}}$

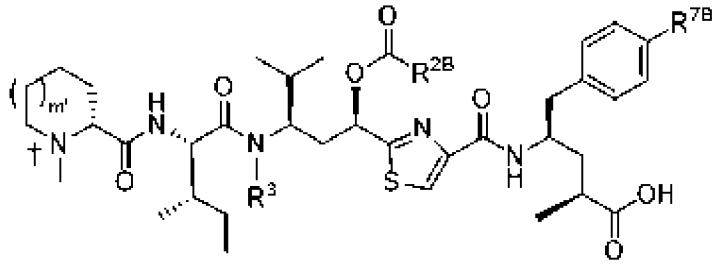


$\mathbf{D_{H-2}}$

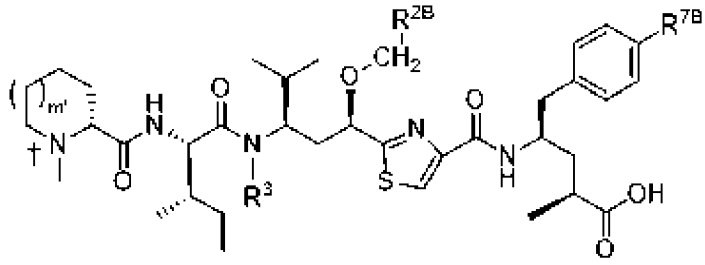
где R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, определяет O-связанный заместитель, R^3 представляет собой низший алкил или -$CH_2OC(=O)R^{3A}$, где R^{3A} представляет собой необязательно замещенный низший алкил и R^{7B} представляет собой водород или O-связанный заместитель. В некоторых вариантах осуществления R^{2A} вместе с атомом кислорода, к которому он присоединен, определяет сложный эфир, простой эфир или O-связанный карбамат. В некоторых вариантах осуществления R^{7B} представляет собой O-связанный заместитель в *пара*-положении. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой метил или R^{3A} представляет собой метил, этил, пропил, изопропил, изобутил или -$CH_2C=(CH_3)_2$. В некоторых вариантах осуществления R^{2A} представляет собой метил, этил, пропил (т. е. -OR^{2A} представляет собой простой эфир) или представляет собой -$C(=O)R^{2B}$ (т. е. -OR^{2A} представляет собой сложный эфир), где R^{2B} представляет собой низший алкил. В некоторых вариантах осуществления R^{2B} представляет собой метил (т. е. -OR^{2A} представляет собой ацетат).

[0578] В некоторых вариантах осуществления соединение тубулизина, включенное

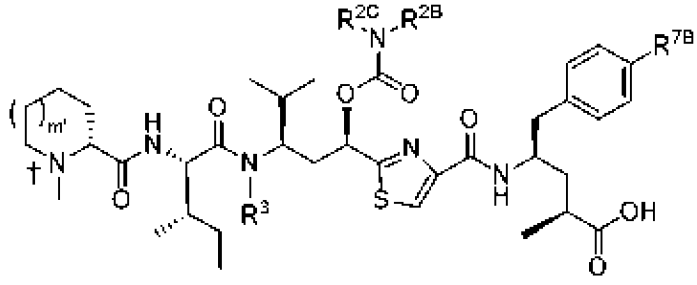
в конъюгат лиганд-лекарственный препарат или соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру одной из следующих формул:



D_{G-3},



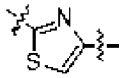
D_{G-4}

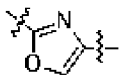
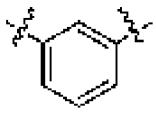


D_{G-5},

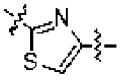
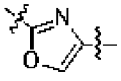
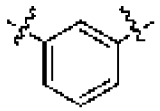
где R^{7B} представляет собой водород или -OH, R^3 представляет собой низший алкил, а R^{2B} и R^{2C} независимо представляют собой водород или низший алкил. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой метил или этил. В некоторых вариантах осуществления любой из структур **D_G**, **D_{G-1}**, **D_{G-2}**, **D_{G-3}**, **D_{G-4}**, **D_{G-5}**, **D_H**, **D_{H-1}** и **D_{H-2}** R^3 представляет собой метил или представляет собой $-CH_2OC(=O)R^{3A}$, где R^{3A} представляет собой необязательно замещенный алкил. В некоторых вариантах осуществления любой из структур **D_G'** и **D_H'** R^3 представляет собой метил или представляет собой $-CH_2OC(=O)R^{3A}$, где R^{3A} представляет собой необязательно замещенный алкил. В некоторых вариантах осуществления любой из этих структур R^3 представляет собой $-C(R^{3A})(R^{3A})C(=O)-X^C$, где X^C представляет собой $-OR^{3B}$ или $-N(R^{3C})(R^{3C})$, где каждый R^{3A}, R^{3B} и R^{3C} независимо представляет собой водород, необязательно замещенный алкил или необязательно замещенный циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-C(R^{3A})(R^{3A})C(=O)-N(R^{3C})(R^{3C})$, где каждый R^{3A} представляет собой водород, один R^{3C} представляет собой водород, а другой R^{3C} представляет собой н-бутил или изопропил.

[0579] В некоторых вариантах осуществления любой из структур **D_G**, **D_G'**, **D_{G-1}**, **D_{G-2}**, **D_{G-3}**, **D_{G-4}**, **D_{G-5}**, **D_H**, **D_H'**, **D_{H-1}** и **D_{H-2}** R^3 представляет собой этил или пропил.

[0580] В некоторых вариантах осуществления любой из структур **D_{G-1}**, **D_{G-2}**, **D_{G-3}**, **D_{G-4}**, **D_{G-5}**, **D_{G-6}**, **D_{H-1}** и **D_{H-2}** тиазоловый центральный гетероцикл  замещен

 или  .

[0581] В некоторых вариантах осуществления любой из структур **D**$_{G}$, **D**$_{G-1}$, **D**$_{G-2}$, **D**$_{G-3}$, **D**$_{G-4}$, **D**$_{G-5}$, **D**$_{H}$, **D**$_{H-1}$, **D**$_{H-2}$, **D**$_{H-3}$ и **D**$_{H-4}$ R^3 представляет собой метил или представляет собой $-CH_2OC(=O)R^{3A}$, где R^{3A} представляет собой необязательно замещенный алкил. В некоторых вариантах осуществления любой из этих структур R^3 представляет собой $-C(R^{3A})(R^{3A})C(=O)-X^C$, где X^C представляет собой $-OR^{3B}$ или $-N(R^{3C})(R^{3C})$, где каждый R^{3A}, R^{3B} и R^{3C} независимо представляет собой водород, необязательно замещенный алкил или необязательно замещенный циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-C(R^{3A})(R^{3A})C(=O)-N(R^{3C})(R^{3C})$, где каждый R^{3A} представляет собой водород, один R^{3C} представляет собой водород, а другой R^{3C} представляет собой необязательно замещенный алкил или необязательно замещенный циклоалкил. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой $-C(R^{3A})(R^{3A})C(=O)-N(R^{3C})(R^{3C})$, где каждый R^{3A} представляет собой водород, один R^{3C} представляет собой водород, а другой R^{3C} представляет собой н-бутил или изопропил.

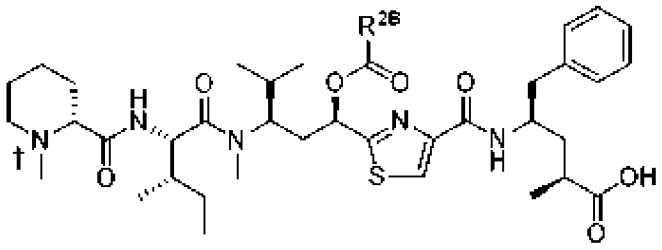
[0582] В некоторых вариантах осуществления любой из структур **D**$_{G-3}$, **D**$_{G-4}$, **D**$_{G-5}$, **D**$_{H-3}$ и **D**$_{H-4}$ тиазоловый центральный гетероцикл  замещен  или  .

[0583] В некоторых вариантах осуществления тубулизин имеет структуру **D**$_{G-3}$ или **D**$_{G-4}$, где m равен 1, R^3 представляет собой необязательно замещенный метил, этил или пропил. В некоторых вариантах осуществления R^3 представляет собой незамещенный метил, этил или пропил.

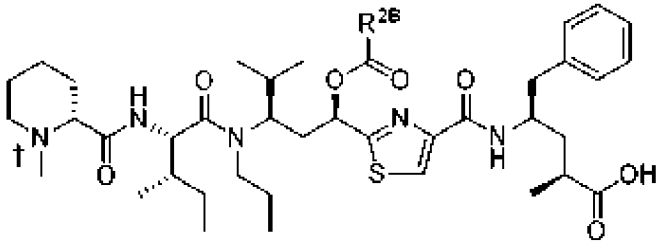
[0584] В некоторых вариантах осуществления соединение тубулизина имеет структуру **D**$_{G-3}$, где нижний индекс m' равен 1, R^3 представляет собой метил, этил или пропил, $-OC(O)R^{2B}$ представляет собой -O-C(O)H, O-C(O)-C_1-C_6 алкил или -OC_2-C_6 алкенил, необязательно замещенный. В некоторых вариантах осуществления $-OC(O)R^{2B}$ представляет собой $-OC(O)CH_3$, $-OC(O)CH_2CH_3$, $-OC(O)CH(CH_3)_2$, $-OC(O)C(CH_3)_3$ или $-OC(O)CH=CH_2$.

[0585] В некоторых вариантах осуществления соединение тубулизина имеет структуру **D**$_{G-4}$, где нижний индекс m' равен 1, R^3 представляет собой метил, этил или пропил и $-OCH_2R^{2B}$ представляет собой $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-OCH_2CH_2CH_3$ или $-OCH_2OCH_3$.

[0586] В некоторых вариантах осуществления тубулизин имеет структуру:



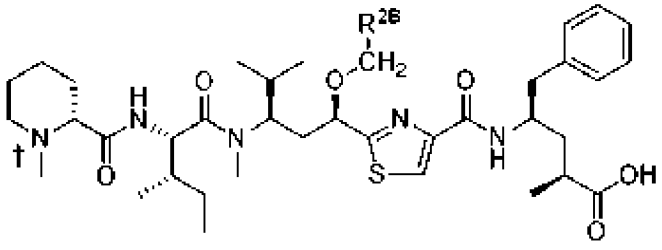
или



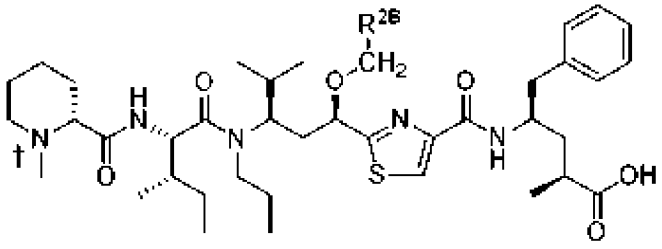
,

где R^{2B} представляет собой $-CH_3$, $-CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2CH_3$, $-CH(CH_3)_2$, $-CH_2CH(CH_3)_2$, $-CH_2C(CH_3)_3$, а указанный атом азота (†) является сайтом кватернизации, когда такие соединения включены в LDC или соединение лекарственный препарат-линкер в качестве кватернизированного лекарственного звена (D^+).

[0587] В некоторых вариантах осуществления тубулизин имеет структуру:



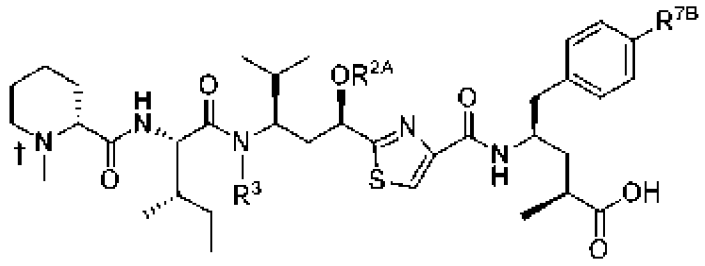
или



,

где R^{2B} представляет собой водород, метил или $-OCH_3$ (т. е. $-OCH_2R^{2B}$ представляет собой метильный, этильный, метоксиметильный эфирный заместитель).

[0588] В некоторых вариантах осуществления тубулизин, включенный как D^+ в LDC представляет собой встречающийся в природе тубулизин, включая тубулизин A, тубулизин B, тубулизин C, тубулизин D, тубулизин E, тубулизин F, тубулизин G, тубулизин H, тубулизин I, тубулизин U, тубулизин V, тубулизин W, тубулизин X или тубулизин Z, чьи структуры проиллюстрированы следующей структурой и определениями вариабельных групп, при этом указанный атом азота (†) является сайтом кватернизации, когда такие соединения включены в LDC или соединение лекарственный препарат-линкер в качестве кватернизированного лекарственного звена (D^+):



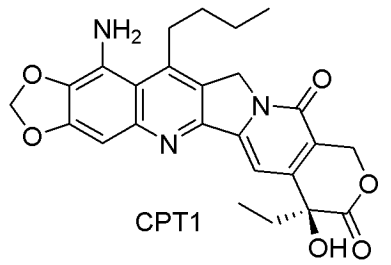
D_{G-6}

ТАБЛИЦА 1. Некоторые встречающиеся в природе тубулизины

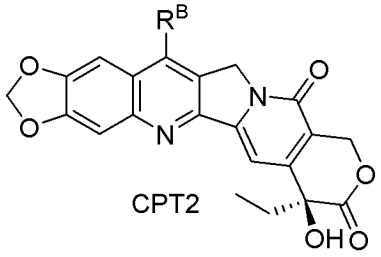
Тубулизин	R^{7B}	R^{2A}	R^3
A	OH	$C(=O)CH_3$	$CH_2OC=O)i\text{-}Bu$
B	OH	$C(=O)CH_3$	$CH_2OC=O)n\text{-}Pr$
C	OH	$C(=O)CH_3$	$CH_2OC=O)Et$
D	H	$C(=O)CH_3$	$CH_2OC=O)i\text{-}Bu$
E	H	$C(=O)CH_3$	$CH_2OC=O)n\text{-}Pr$
F	H	$C(=O)CH_3$	$CH_2OC=O)Et$
G	OH	$C(=O)CH_3$	$CH_2OC=O)CH=CH_2$
H	H	$C(=O)CH_3$	$CH_2OC=O)Me$
I	OH	$C(=O)CH_3$	$CH_2OC=O)Me$
U	H	$C(=O)CH_3$	H
V	H	OH	H
Z	OH	OH	H

[0589] В некоторых вариантах осуществления структуры D_{G-6} соединение тубулизина, включенное в LDC или соединение лекарственный препарат-линкер в качестве кватернизированного лекарственного звена, представляет собой тубулизин M, где R^3 представляет собой $-CH_3$, R^2 представляет собой $C(=O)CH_3$ и R^{7B} представляет собой водород.

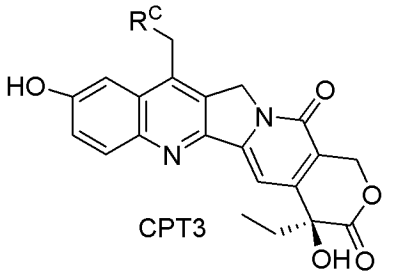
[0590] В некоторых вариантах осуществления D включает структуру агента, повреждающего ДНК. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру ингибитора репликации ДНК. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру камптотецина. В некоторых вариантах осуществления это соединение камптотецина имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из



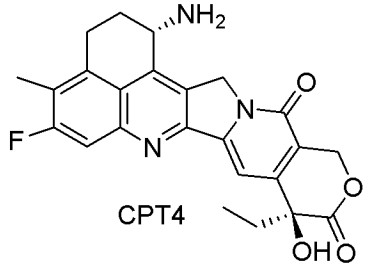
CPT1 ,



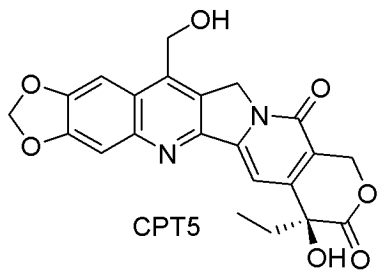
CPT2 ,



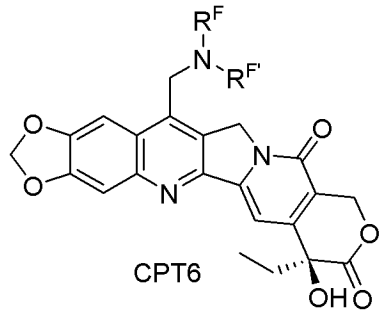
CPT3 ,



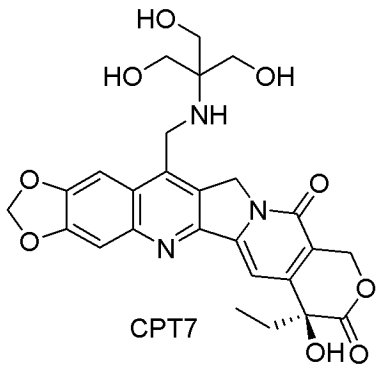
CPT4 ,



CPT5 ,



CPT6 , и



CPT7 ,

где R^B выбран из группы, состоящей из H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 галогеналкила, C_3-C_8 циклоалкила, (C_3-C_8 циклоалкил)-C_1-C_4 алкила, фенила и фенил-C_1-C_4 алкила;

R^C выбран из группы, состоящей из C_1-C_6 алкила и C_3-C_6 циклоалкила; и

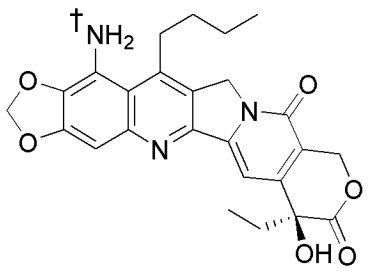
каждый R^F и $R^{F'}$ независимо выбран из группы, состоящей из -H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, (C_1-C_4 алкиламино)-C_1-C_8 алкила-, N, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N, N-ди(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)-C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_8 алкил-C(O)-, C_1-C_8 гидроксиалкил-C(O)-, C_1-C_8 аминоалкил-C(O)-, C_3-C_{10} циклоалкила, (C_3-C_{10} циклоалкил)-

C_1-C_4 алкила-, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, (C_3-C_{10} гетероциклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, фенила, фенил-C_1-C_4 алкила-, дифенил-C_1-C_4 алкила-, гетероарила и гетероарил-C_1-C_4 алкила-, или

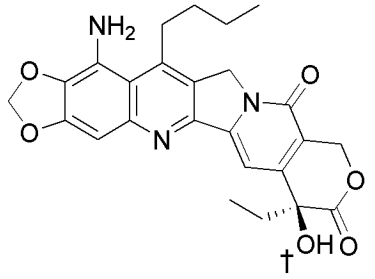
R^F и $R^{F'}$ вместе с атомом азота, к которому присоединен каждый из них, образуют 5-, 6- или 7-членное кольцо, имеющее от 0 до 3 заместителей, выбранных из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4 алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NH-C_1-C_4 алкила, -N(C_1-C_4 алкил)$_2$; и

при этом циклоалкильная, гетероциклоалкильная, фенильная и гетероарильная части R^B, R^C, R^F и $R^{F'}$ замещены 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4 алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NHC_1-C_4 алкила и -N(C_1-C_4 алкил)$_2$.

[0591] В некоторых вариантах осуществления соединение камптотецина, чья структура включена в качестве лекарственного звена в LDC или соединение лекарственный препарат-линкер, имеет формулу CPT1, структура которой представляет собой:



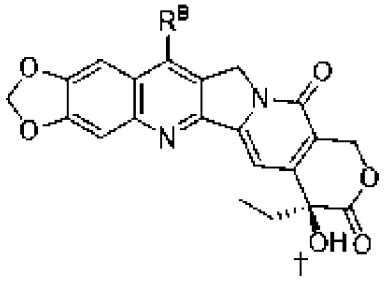
или



,

где символ кинжала представляет точку присоединения лекарственного звена к линкерному звену в соединении лекарственный препарат-линкер или соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат.

[0592] В некоторых вариантах осуществления соединение камптотецина, чья структура включена в качестве лекарственного звена в LDC или соединение лекарственный препарат-линкер, имеет формулу CPT2, структура которой представляет собой:

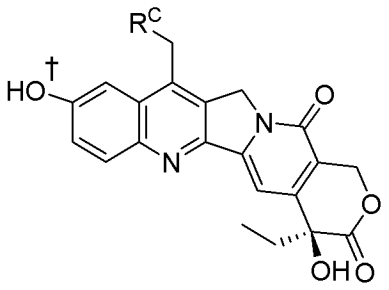


,

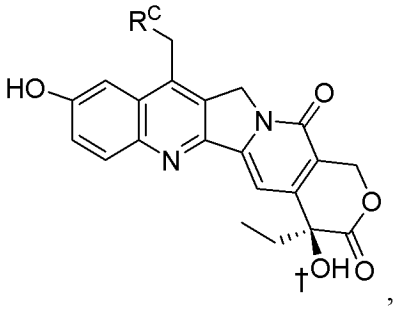
где символ кинжала представляет точку присоединения лекарственного звена к линкерному звену в соединении лекарственный препарат-линкер или соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат.

[0593] В некоторых вариантах осуществления соединение камптотецина, чья структура включена в качестве лекарственного звена в LDC или соединение

лекарственный препарат-линкер, имеет формулу CPT3, структура которой представляет собой:



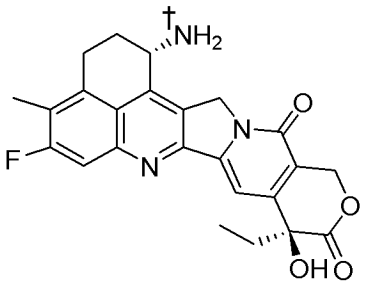
или



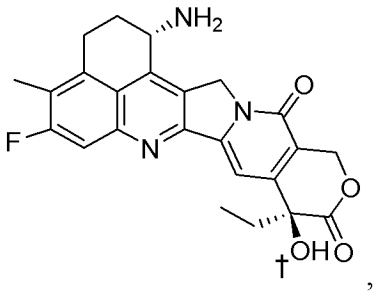
,

где символ кинжала представляет точку присоединения лекарственного звена к линкерному звену в соединении лекарственный препарат-линкер или соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат.

[0594] В некоторых вариантах осуществления соединение камптотецина, чья структура включена в качестве лекарственного звена в LDC или соединение лекарственный препарат-линкер, имеет формулу CPT4, структура которой представляет собой:



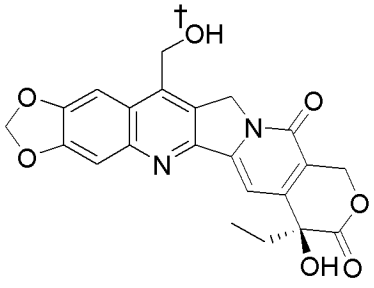
или



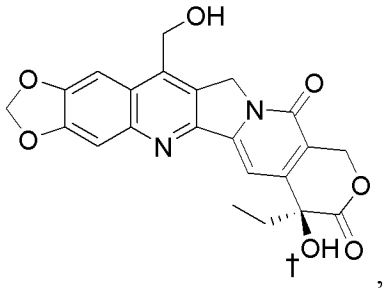
,

где символ кинжала представляет точку ковалентного присоединения лекарственного звена к линкерному звену, когда соединение формулы CPT4 имеет форму лекарственного звена в соединении лекарственный препарат-линкер или соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру экзатекана.

[0595] В некоторых вариантах осуществления соединение камптотецина, чья структура включена в качестве лекарственного звена в LDC или соединение лекарственный препарат-линкер, имеет формулу CPT5, структура которой представляет собой:



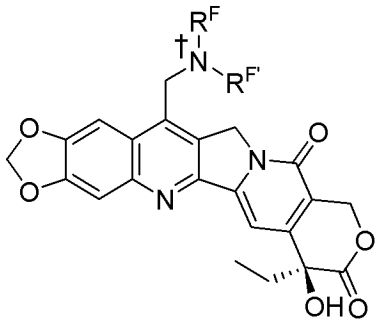
или



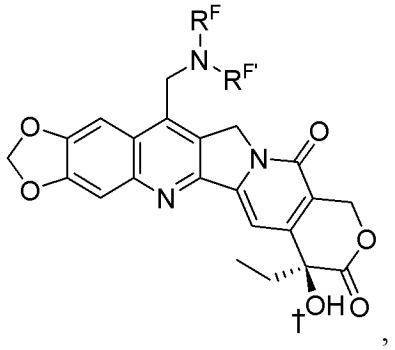
,

где символ кинжала представляет точку присоединения к линкерному звену, когда соединение формулы CPT5 имеет форму лекарственного звена в соединении лекарственный препарат-линкер или соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат.

[0596] В некоторых вариантах осуществления соединение камптотецина, чья структура включена в качестве лекарственного звена в LDC или соединение лекарственный препарат-линкер, имеет формулу CPT6, структура которой представляет собой:

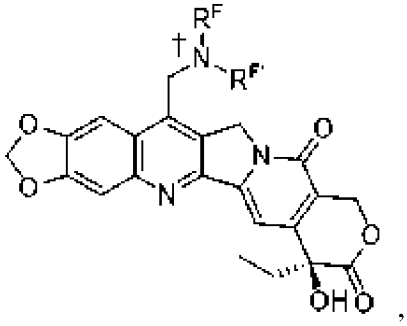


или



,

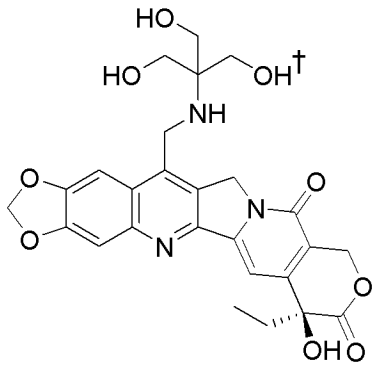
где символ кинжала представляет точку присоединения к линкерному звену, когда соединение формулы CPT6 имеет форму лекарственного звена в соединении лекарственный препарат-линкер или соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат. В некоторых вариантах осуществления CPT6 имеет структуру:



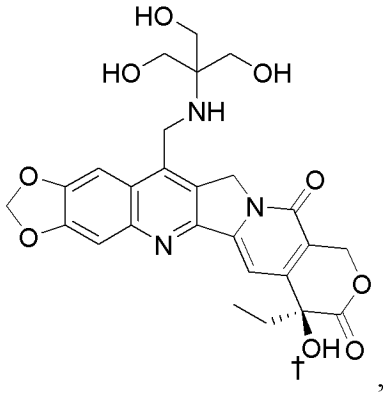
,

где символ кинжала представляет точку присоединения к линкерному звену, когда соединение формулы CPT6 имеет форму лекарственного звена в соединении лекарственный препарат-линкер или соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат. В некоторых вариантах осуществления соединение камптотецина, чья структура включена в качестве лекарственного звена в LDC или соединение лекарственный препарат-линкер, выбрано из таблицы X.

[0597] В некоторых вариантах осуществления соединение камптотецина, чья структура включена в качестве лекарственного звена в LDC или соединение лекарственный препарат-линкер, имеет формулу CPT7, структура которой представляет собой:



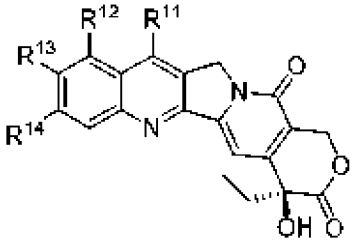
или



,

где символ кинжала представляет точку присоединения к линкерному звену в соединении лекарственный препарат-линкер или соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат, когда соединение формулы CPT7 имеет форму лекарственного звена.

[0598] В некоторых вариантах осуществления соединение камптотецина, чья структура включена в качестве лекарственного звена в LDC или соединение лекарственный препарат-линкер, имеет формулу



где один из R^{11} представляет собой н-бутил и один из R^{12}-R^{14} представляет собой -NH_2, а другие представляют собой водород, или R^{12} представляет собой -NH_2 и R^{13} и R^{14} вместе представляют собой -OCHO-.

[0599] В некоторых вариантах осуществления R^B выбран из группы, состоящей из C_3-C_8 циклоалкила, (C_3-C_8 циклоалкил)-C_1-C_4 алкила, фенила и фенил-C_1-C_4 алкила, и при этом циклоалкильная и фенильная части R^B замещены 0-3 заместителями, выбранными из галогена, C_1-C_4 алкила, OH, -O-C_1-C_4 алкила, NH_2, -NH-C_1-C_4 алкила и -N(C_1-C_4 алкил)$_2$. В некоторых вариантах осуществления R^B выбран из группы, состоящей из H, C_1-C_8 алкила и C_1-C_8 галогеналкила. В некоторых вариантах осуществления R^B представляет собой H, метил, этил, пропил, изопропил, бутил, изобутил, втор-бутил, трет-бутил, пентил, изопентил, 1-этилпропил или гексил. В некоторых вариантах осуществления R^B представляет собой хлорметил или бромметил. В некоторых вариантах осуществления R^B представляет собой фенил или галоген-замещенный фенил. В некоторых вариантах осуществления R^B представляет собой фенил или фторфенил.

[0600] В некоторых вариантах осуществления R^C представляет собой C_1-C_6 алкил. В некоторых вариантах осуществления R^C представляет собой метил. В некоторых вариантах осуществления R^C представляет собой C_3-C_6 циклоалкил.

[0601] В некоторых вариантах осуществления оба R^F и $R^{F'}$ представляют собой H.

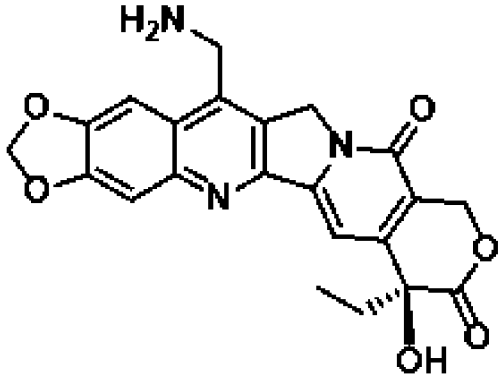
В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере один из R^F и $R^{F'}$ выбран из группы, состоящей из C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, (C_1-C_4 алкиламино)-C_1-C_8 алкила-, N, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N, N-ди(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)-C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_8 алкил-C(O)-, C_1-C_8 гидроксиалкил-C(O)-, C_1-C_8 аминоалкил-C(O)-, C_3-C_{10} циклоалкила, (C_3-C_{10} циклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, (C_3-C_{10} гетероциклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, фенила, фенил-C_1-C_4 алкила-, дифенил-C_1-C_4 алкила-, гетероарила и гетероарил-C_1-C_4 алкила-. В некоторых вариантах осуществления один из R^F и $R^{F'}$ представляет собой H, а другой выбран из группы, состоящей из C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, (C_1-C_4 алкиламино)-C_1-C_8 алкила-, N, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N, N-ди(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)-C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_8 алкил-C(O)-, C_1-C_8 гидроксиалкил-C(O)-, C_1-C_8 аминоалкил-C(O)-, C_3-C_{10} циклоалкила, (C_3-C_{10} циклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, (C_3-C_{10} гетероциклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, фенила, фенил-C_1-C_4 алкила-, дифенил-C_1-C_4 алкила-, гетероарила и гетероарил-C_1-C_4 алкила-. В некоторых вариантах осуществления один из R^F и $R^{F'}$ выбран из группы, состоящей из C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, (C_1-C_4 алкиламино)-C_1-C_8 алкила-, N, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N, N-ди(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)-C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_8 алкил-C(O)-, C_1-C_8 гидроксиалкил-C(O)-, C_1-C_8 аминоалкил-C(O)-, C_3-C_{10} циклоалкила, (C_3-C_{10} циклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, (C_3-C_{10} гетероциклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, фенила, фенил-C_1-C_4 алкила-, дифенил-C_1-C_4 алкила-, гетероарила и гетероарил-C_1-C_4 алкила-, а другой выбран из группы, состоящей из H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, (C_1-C_4 алкиламино)-C_1-C_8 алкила-, N, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N, N-ди(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)-C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_8 алкил-C(O)-, C_1-C_8 гидроксиалкил-C(O)-, C_1-C_8 аминоалкил-C(O)-, C_3-C_{10} циклоалкила, (C_3-C_{10} циклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, (C_3-C_{10} гетероциклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, фенила, фенил-C_1-C_4 алкила-, дифенил-C_1-C_4 алкила-, гетероарила и гетероарил-C_1-C_4 алкила-. В некоторых вариантах осуществления оба R^F и $R^{F'}$ независимо выбраны из группы, состоящей из C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, (C_1-C_4 алкиламино)-C_1-C_8 алкила-, N, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N, N-ди(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)-C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_8 алкил-C(O)-, C_1-C_8 гидроксиалкил-C(O)-, C_1-C_8 аминоалкил-C(O)-, C_3-C_{10} циклоалкила, (C_3-C_{10} циклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, (C_3-C_{10} гетероциклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, фенила, фенил-C_1-C_4 алкила-, дифенил-C_1-C_4 алкила-, гетероарила и гетероарил-C_1-C_4 алкила-.

[0602] В некоторых вариантах осуществления циклоалкильный, гетероциклоалкильный, фенильный и гетероарильный фрагменты R^F или $R^{F'}$ замещены 0-3 заместителями, независимо выбранными из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4

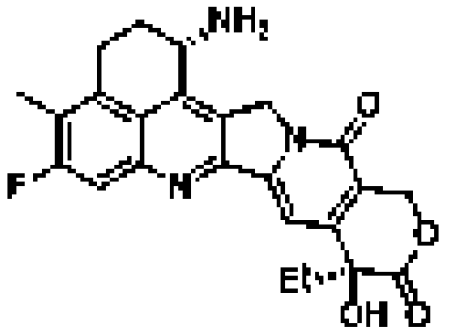
алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NHC_1-C_4 алкила и -$N(C_1$-C_4 алкил$)_2$.

[0603] В некоторых вариантах осуществления R^F и $R^{F'}$ вместе с атомом азота, к которому присоединен каждый из них, образуют 5-, 6- или 7-членное кольцо, имеющее от 0 до 3 заместителей, выбранных из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4 алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NHC_1-C_4 алкила и -$N(C_1$-C_4 алкил$)_2$.

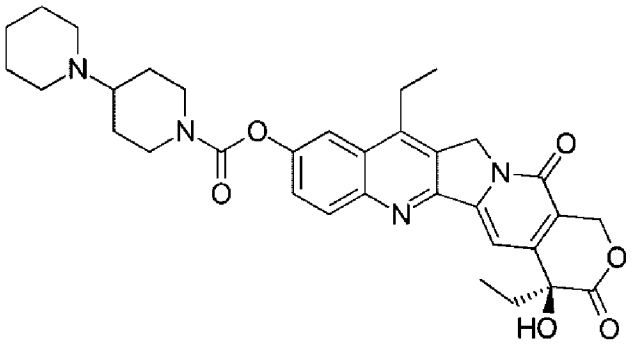
[0604] В некоторых вариантах осуществления D включает структуру AMDCPT:



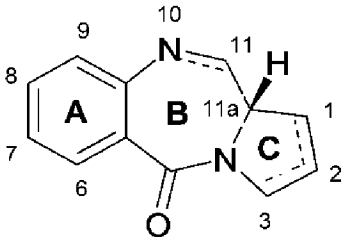
[0605] В некоторых вариантах осуществления D включает структуру экзатекана:



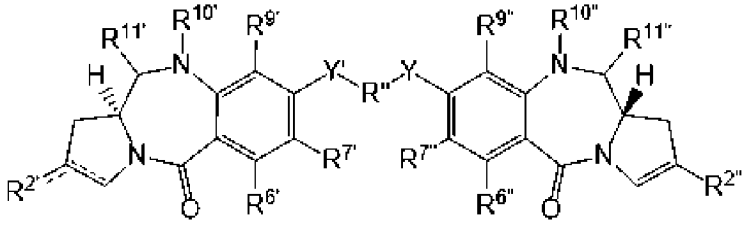
[0606] В некоторых вариантах осуществления D включает структуру иринотекана:



[0607] В некоторых вариантах осуществления D включает структуру агента, связывающего малую бороздку ДНК. В некоторых вариантах осуществления D включает структуру соединения пирролобензодиазепина (PBD) со следующей структурой:

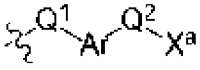


[0608] В некоторых вариантах осуществления D представляет собой лекарственное звено PBD, которое содержит лекарственный димер PBD, который представляет собой агент, связывающий малую бороздку ДНК, и имеет общую структуру по формуле **X**:



(**X**)

или ее соли, где пунктирная линия представляет таутомерную двойную связь; $R^{2"}$ имеет формулу **XI**:



(**XI**)

где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остатку структуры формулы **X**; Ar представляет собой необязательно замещенный C_{5-7} арилен; X^a получен из реактивной или активируемой группы для конъюгации с линкерным звеном, где X^a выбран из группы, содержащей: -O-, -S-, -C(O)O-, -C(O)-, -NHC(O)- и -N(R^N)-, где R^N представляет собой H или C_1-C_4 алкил и $(C_2H_4O)_mCH_3$, где нижний индекс m равен 1, 2 или 3; и либо:

(i) Q^1 представляет собой одинарную связь; и Q^2 представляет собой одинарную связь или -Z-$(CH_2)_n$-, где Z выбран из группы, состоящей из одинарной связи, O, S и NH; и нижний индекс n равен 1, 2 или 3, либо (ii) Q^1 представляет собой -CH=CH- и Q^2 представляет собой одинарную связь; и

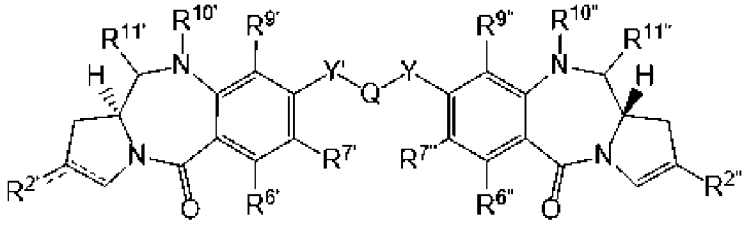
$R^{2'}$ представляет собой необязательно замещенный C_1-C_4 алкил или C_{5-10} арильную группу, необязательно замещенные одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, нитро, циано, C_1-C_6 эфира, C_1-C_7 алкила, C_3-C_7 гетероциклила и бис-окси-C_1-C_3 алкилена, в частности одним таким заместителем, где пунктирная линия указывает на одинарную связь с $R^{2'}$, или $R^{2'}$ представляет собой необязательно замещенный C_1-C_4 алкенилен, где пунктирная линия указывает на двойную связь с $R^{2'}$; $R^{6"}$ и $R^{9"}$ независимо выбраны из группы, состоящей из H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2, NHR, NRR', нитро, Me_3Sn и галогена; $R^{7"}$ выбран из группы, состоящей из H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2, NHR, NRR', нитро, Me_3Sn и галогена; и R и R' независимо выбраны из группы, состоящей из необязательно замещенного C_1-C_{12} алкила, необязательно замещенного C_3-C_{20} гетероциклила и необязательно замещенного C_5-C_{20} арила; и любое из:

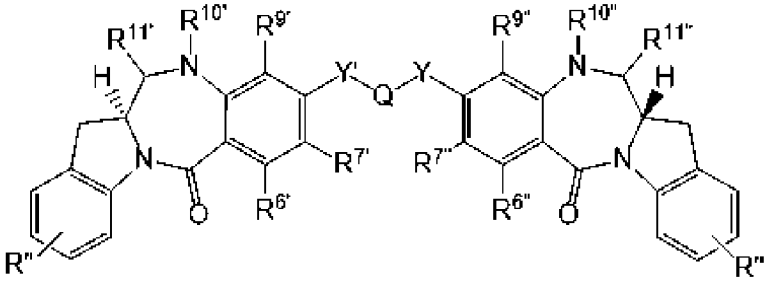
(a) $R^{10"}$ представляет собой H и $R^{11"}$ представляет собой OH или OR^A, где R^A представляет собой C_1-C_4 алкил, (b) $R^{10"}$ и $R^{11"}$ образуют азот-углеродную двойную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны, или (c) $R^{10"}$ представляет собой H и $R^{11"}$ представляет собой SO_zM, где нижний индекс z равен 2 или 3 и M представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион, или (d) каждый из $R^{10'}$, $R^{11'}$ и $R^{10"}$ представляет собой H и $R^{11"}$ представляет собой SO_zM, или каждый из $R^{10'}$ и $R^{11'}$ представляет собой H и $R^{10"}$ и $R^{11"}$ образуют азот-углеродную двойную связь между

атомами азота и углерода, с которыми они связаны, или каждый из $R^{10"}$, $R^{11"}$ и $R^{10'}$ представляет собой H и $R^{11'}$ представляет собой SO_zM, или каждый из $R^{10"}$ и $R^{11"}$ представляет собой H и $R^{10'}$ и $R^{11'}$ образуют азот-углеродную двойную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны; где нижний индекс z равен 2 или 3 и M представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион; и

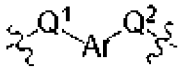
R″ представляет собой C_{3-12} алкиленовую группу, углеродная цепь которой необязательно прерывается одним или более гетероатомами, в частности одним из O, S или NR^{N2} (где R^{N2} представляет собой H или C_1-C_4 алкил), и/или ароматическими кольцами, в частности одним из бензола или пиридина; Y и Y' выбраны из группы, состоящей из O, S и NH; $R^{6'}$, $R^{7'}$, $R^{9'}$ выбраны из той же группы, что и $R^{6"}$, $R^{7"}$ и $R^{9"}$, соответственно, а $R^{10'}$ и $R^{11'}$ являются такими же, как и $R^{10"}$ и $R^{11"}$, соответственно, при этом, если $R^{11"}$ и $R^{11'}$ представляют собой SO_zM, каждый M либо представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион, либо вместе они представляют двухвалентный фармацевтически приемлемый катион.

[0609] В некоторых вариантах осуществления лекарственное звено PBD, которое содержит димер PBD, который представляет собой агент, связывающий малую бороздку ДНК, имеет общую структуру по формуле **XI** или **XII**:


(**XII**),


(**XIII**)

или ее соли, где пунктирная линия указывает на таутомерную двойную связь; Q имеет формулу **XIV**:


(**XIV**),

где волнистые линии указывают места ковалентного присоединения к Y' и Y в любой ориентации; Ar представляет собой C_{5-7} ариленовую группу, замещенную X^a и является в ином случае необязательно замещенной, где X^a получен из активируемой группы для конъюгации с линкерным звеном, где X^a выбран из группы, содержащей: -O-, -S-, -C(O)O-, -C(O)-, -NHC(O)- и -N(R^N)-, где R^N представляет собой H или C_1-C_4 алкил и $(C_2H_4O)_mCH_3$, где нижний индекс m равен 1, 2 или 3; и либо:

(i) Q^1 представляет собой одинарную связь; и Q^2 представляет собой одинарную

связь или -$(CH_2)_n$-, где нижний индекс n равен 1, 2 или 3, либо (ii) Q^1 представляет собой -CH=CH- и Q^2 представляет собой одинарную связь или -CH=CH-; и

$R^{2'}$ представляет собой необязательно замещенный C_1-C_4 алкил или C_{5-10} арильную группу, необязательно замещенную одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, нитро, циано, C_1-C_6 эфира, C_1-C_7 алкила, C_3-C_7 гетероциклила и бис-окси-C_1-C_3 алкилена, в частности одним таким заместителем, где пунктирная линия указывает на одинарную связь с $R^{2'}$, или $R^{2'}$ представляет собой необязательно замещенный C_1-C_4 алкенилен, где пунктирная линия указывает на двойную связь с $R^{2'}$; и

$R^{2''}$ представляет собой необязательно замещенный C_1-C_4 алкил или C_{5-10} арильную группу, необязательно замещенные одним или более заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, нитро, циано, C_1-C_6 эфира, C_1-C_7 алкила, C_3-C_7 гетероциклила и бис-окси-C_1-C_3 алкилена, в частности одним таким заместителем; $R^{6''}$ и $R^{9''}$ независимо выбраны из группы, состоящей из H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2, NHR, NRR', нитро, Me_3Sn и галогена; $R^{7''}$ выбран из группы, состоящей из H, R, OH, OR, SH, SR, NH_2, NHR, NRR', нитро, Me_3Sn и галогена; и R и R' независимо выбраны из группы, состоящей из необязательно замещенного C_1-C_{12} алкила, необязательно замещенного C_3-C_{20} гетероциклила и необязательно замещенного C_5-C_{20} арила; и любое из:

(a) $R^{10''}$ представляет собой H и $R^{11''}$ представляет собой OH или OR^A, где R^A представляет собой C_1-C_4 алкил, или (b) $R^{10''}$ и $R^{11''}$ образуют азот-углеродную двойную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны, или (c) $R^{10''}$ представляет собой H и $R^{11''}$ представляет собой SO_zM, где нижний индекс z равен 2 или 3 и M представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион, или (d) каждый из $R^{10'}$, $R^{11'}$ и $R^{10''}$ представляет собой H и $R^{11''}$ представляет собой SO_zM, или каждый из $R^{10'}$ и $R^{11'}$ представляет собой H и $R^{10''}$ и $R^{11''}$ образуют азот-углеродную двойную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны, или каждый из $R^{10''}$, $R^{11''}$ и $R^{10'}$ представляет собой H и $R^{11'}$ представляет собой SO_zM, или каждый из $R^{10''}$ и $R^{11''}$ представляет собой H и $R^{10'}$ и $R^{11'}$ образуют азот-углеродную двойную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны; где нижний индекс z равен 2 или 3 и M представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион; и

Y и Y' выбраны из группы, состоящей из O, S и NH; R'' представляет один или более необязательных заместителей; и $R^{6'}$, $R^{7'}$, $R^{9'}$ выбраны из той же группы, что и $R^{6''}$, $R^{7''}$ и $R^{9''}$, соответственно, и $R^{10'}$ и $R^{11'}$ являются такими же, как и $R^{10''}$ и $R^{11''}$, соответственно, при этом, если $R^{11''}$ и $R^{11'}$ представляют собой SO_zM, каждый M либо представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион, либо вместе они представляют двухвалентный фармацевтически приемлемый катион.

[0610] В некоторых вариантах осуществления димер PBD имеет общую структуру по формуле **X**, формулы **XII** или формулы **XIII**, в которой один $R^{7''}$ выбран из группы, состоящей из H, OH и OR, где R соответствует вышеприведенному определению для каждой из формул или представляет собой C_{1-4} алкилокси-группу, в частности $R^{7''}$

представляет собой $-OCH_3$. В некоторых вариантах осуществления Y и Y' представляют собой O, $R^{9"}$ представляет собой H или $R^{6"}$ выбран из группы, состоящей из H и галогена.

[0611] В некоторых вариантах осуществления димер PBD имеет общую структуру по формуле **X**, в которой Ar представляет собой фенилен; X^a выбран из группы, состоящей из -O-, -S- и -NH-; и Q^1 представляет собой одинарную связь, и, в некоторых вариантах осуществления формулы **XII** Ar представляет собой фенилен, X выбран из группы, состоящей из -O-, -S- и -NH-, Q^1 $-CH_2-$ и Q_2 представляет собой $-CH_2-$.

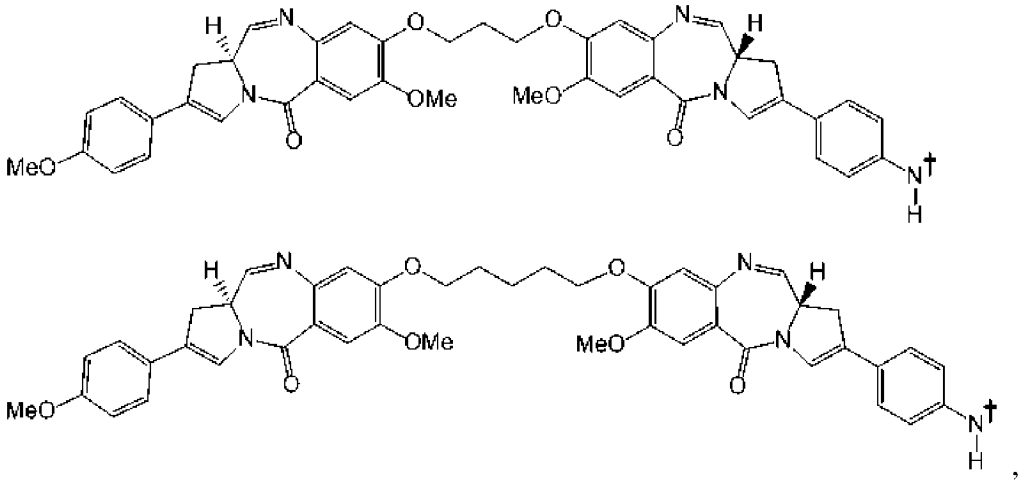
[0612] В некоторых вариантах осуществления димер PBD имеет общую структуру по формуле **X**, в которой X^a представляет собой NH. В некоторых вариантах осуществления лекарственные звенья PBD имеют формулу **X**, в которой Q^1 представляет собой одинарную связь и Q^2 представляет собой одинарную связь.

[0613] В некоторых вариантах осуществления димер PBD имеет общую структуру по формуле **X**, формулы **XII** или формулы **XIII**, в которой $R^{2'}$ представляет собой необязательно замещенную C_{5-7} арильную группу так, что пунктирные линии указывают на одинарную связь с $R^{2'}$, а заместители, при наличии, независимо выбраны из группы, состоящей из галогена, нитро, циано, C_{1-7} алкокси, C_{5-20} арилокси, C_{3-20} гетероциклилокси, C_{1-7} алкила, C_{3-7} гетероциклила и бис-окси-C_{1-3} алкилена, где C_{1-7} алкокси-группа необязательно замещена аминогруппой, и если C_{3-7} гетероциклильная группа представляет собой C_6 азот-содержащую гетероциклильную группу, она необязательно замещена C_{1-4} алкильной группой.

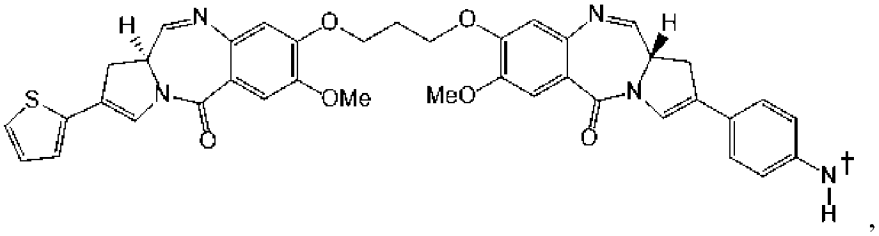
[0614] В некоторых вариантах осуществления димер PBD имеет общую структуру по формуле **X**, формулы **XI** или формулы **XII**, в которой Ar представляет собой необязательно замещенный фенил, который имеет от одного до трех таких заместителей в случае замещения.

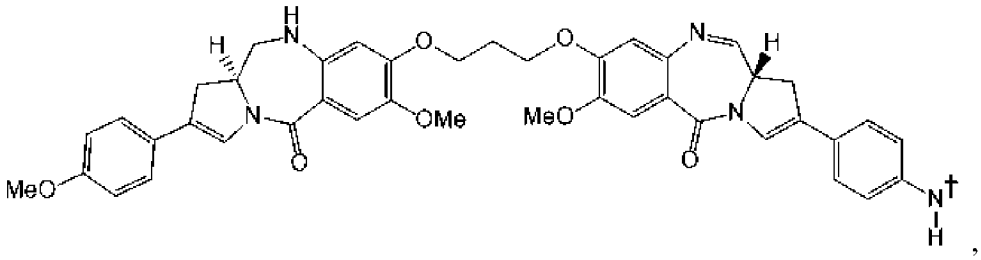
[0615] В некоторых вариантах осуществления димер PBD имеет общую структуру по формуле **X**, формулы **XI** или формулы **XII,** в которой $R^{10"}$ и $R^{11"}$ образуют азот-углеродную двойную связь и/или $R^{6'}$, $R^{7'}$, $R^{9'}$ и Y' являются такими же, как и $R^{6"}$, $R^{7"}$, $R^{9"}$ и Y, соответственно.

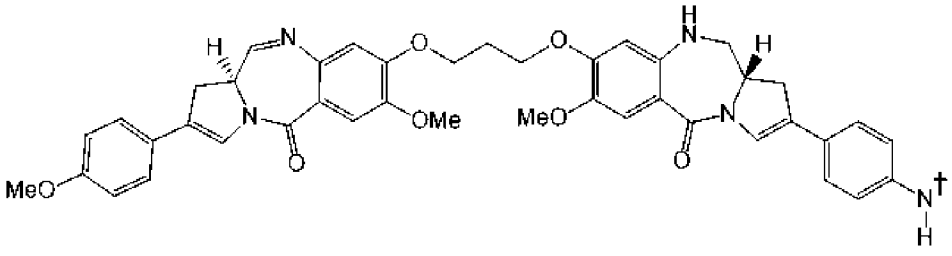
[0616] В некоторых вариантах осуществления лекарственное звено PBD имеет структуру:



,

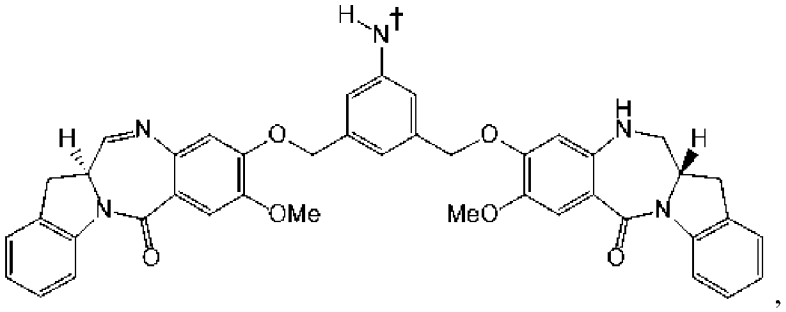






или их соли, где символ кинжала представляет точку присоединения лекарственного звена к линкерному звену в соединении лекарственный препарат-линкер или соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат.

[0617] В некоторых вариантах осуществления лекарственное звено PBD имеет структуру:



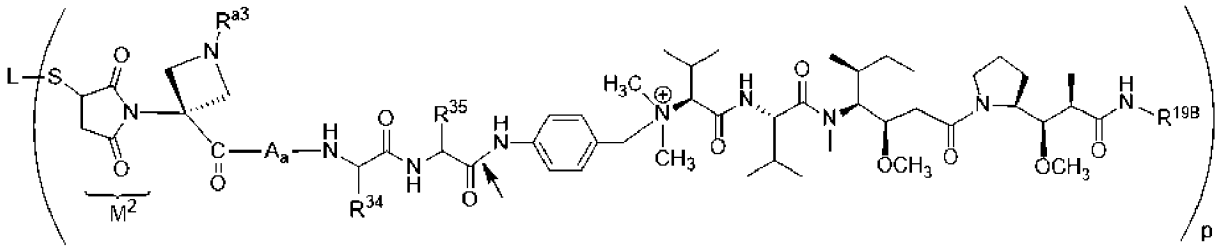
или ее соли, где символ кинжала представляет точку присоединения лекарственного звена к линкерному звену в соединении лекарственный препарат-линкер или соединении конъюгата лиганд-лекарственный препарат.

[0618] В некоторых вариантах осуществления лекарственное звено включает структуру антрациклинового соединения. Не ограничиваясь теорией, цитотоксичность этих соединений в некоторой степени может быть обусловлена ингибированием топоизомеразы. В некоторых из этих вариантов осуществления антрациклиновое соединение имеет структуру, описанную в Minotti, G., et al., «Anthracyclins: molecular advances and pharmacologic developments in antitumor activity and cardiotoxicity» Pharmacol Rev. (2004) 56(2): 185-229. В некоторых вариантах осуществления антрациклиновое соединение представляет собой доксорубицин, идарубицин, даунорубицин, доксорубицин

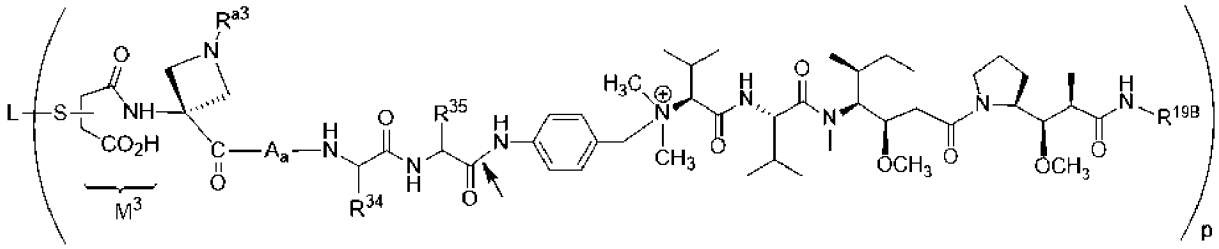
пропилоксазолин (DPO), морфолинодоксорубицин или цианоморфолинодоксорубицин.

[0619] В более предпочтительных вариантах осуществления соединение лекарственного препарата ауристатина, включенное в -D, представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

[0620] В некоторых вариантах осуществления композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат представлена структурой:

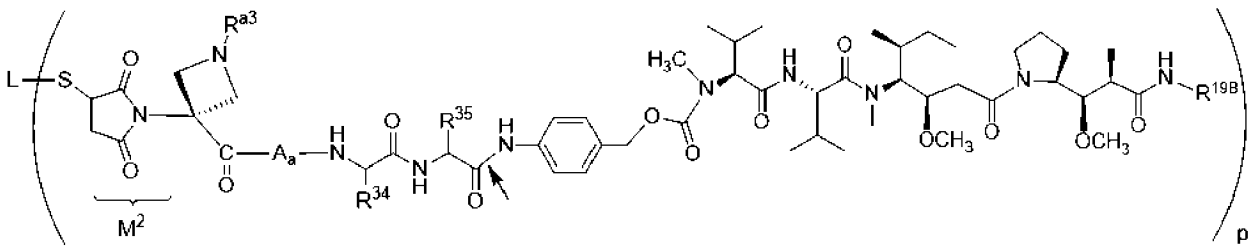


и/или

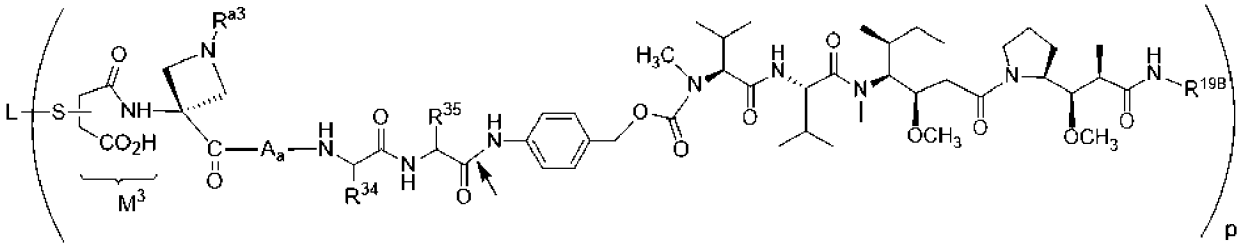


когда нижний индекс a равен 1, так что A присутствует, где A представляет собой α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток; R^{a3} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный -C_1-C_4 алкилен-(C_6-C_{10} арил), -R^{PEG1}-O-$(CH_2CH_2O)_{n'}$-R^{PEG2}, где R^{PEG1} представляет собой C_1-C_4 алкилен, R^{PEG2} представляет собой -H или C_1-C_4 алкил, а нижний индекс n' находится в диапазоне от 1 до 36, при этом основной атом азота, связанный с R^{a3} необязательно протонирован; R^{19B} представляет собой -$CH(CH_3)$-CH(OH)-Ph, -$CH(CO_2H)$-CH(OH)-CH_3 или -$CH(CO_2H)$-CH_2Ph; R^{34} представляет собой изопропил и R^{35} представляет собой метил или -$(CH_2)_3NH(C=O)NH_2$.

[0621] В некоторых вариантах осуществления композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат представлена структурой:

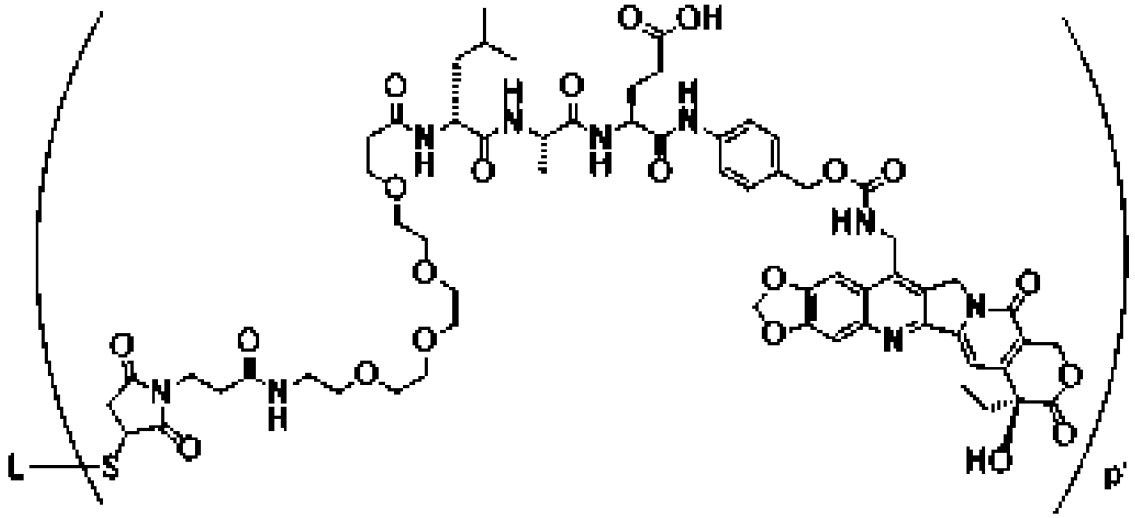


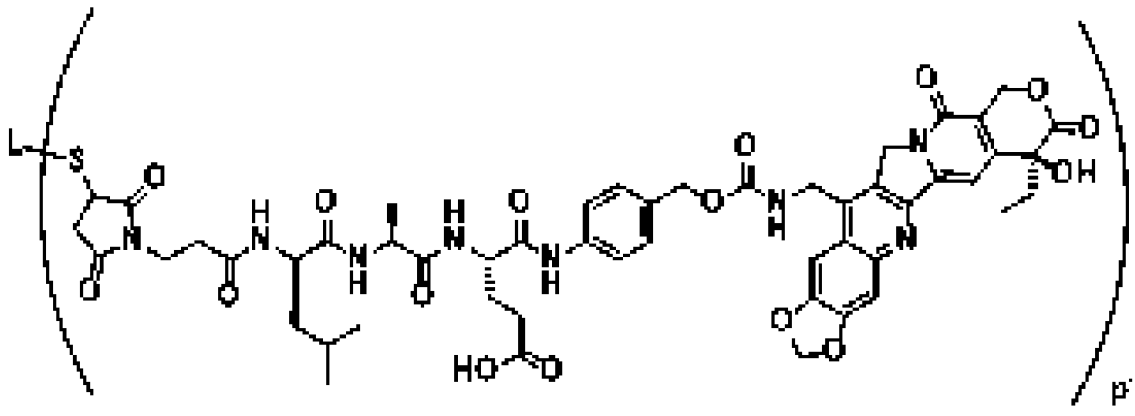
и/или

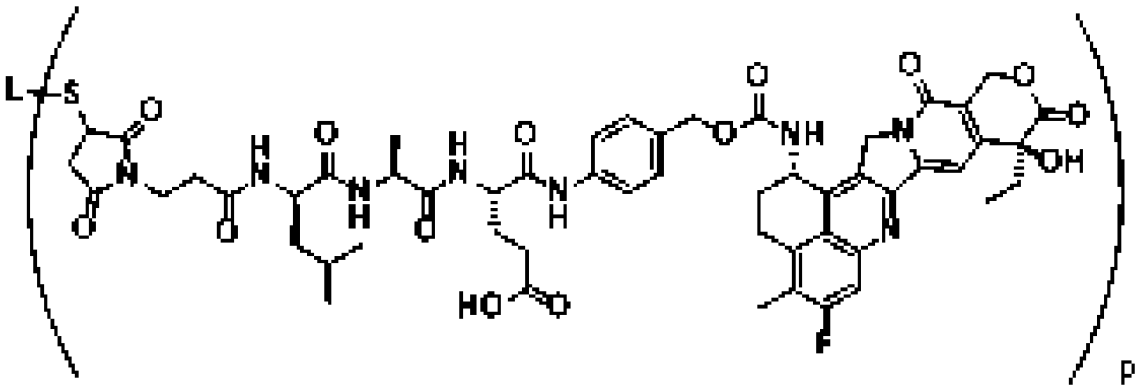


когда нижний индекс a равен 1, так что A присутствует, где A представляет собой α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток; R^{a3} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный -C_1-C_4 алкилен-(C_6-C_{10} арил), -R^{PEG1}-O-$(CH_2CH_2O)_{n'}$-R^{PEG2}; R^{PEG1} представляет собой C_1-C_4 алкилен, R^{PEG2} представляет собой -H или C_1-C_4 алкил; нижний индекс n' находится в диапазоне от 1 до 36; и при этом основной атом азота, связанный с R^{a3} необязательно протонирован; R^{19B} представляет собой -$CH(CH_3)$-CH(OH)-Ph, -$CH(CO_2H)$-CH(OH)-CH_3 или -$CH(CO_2H)$-CH_2Ph; R^{34} представляет собой изопропил и R^{35} представляет собой метил или -$(CH_2)_3NH(C=O)NH_2$.

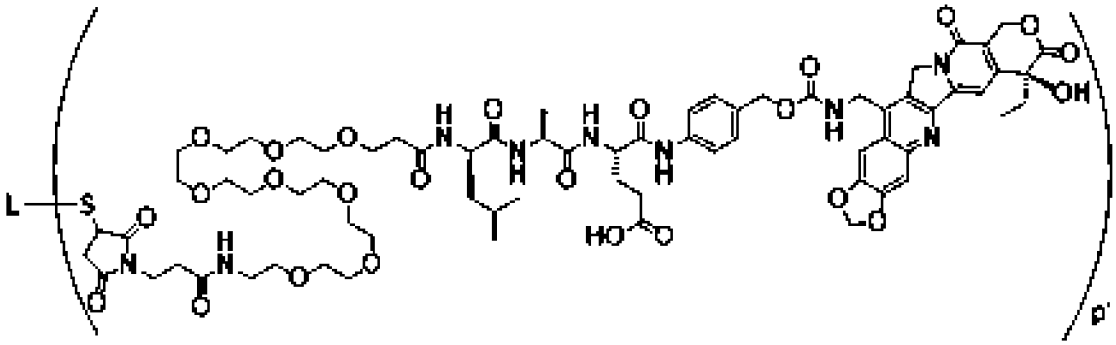
[0622] В некоторых вариантах осуществления соединение конъюгата лиганд-лекарственный препарат представлено:



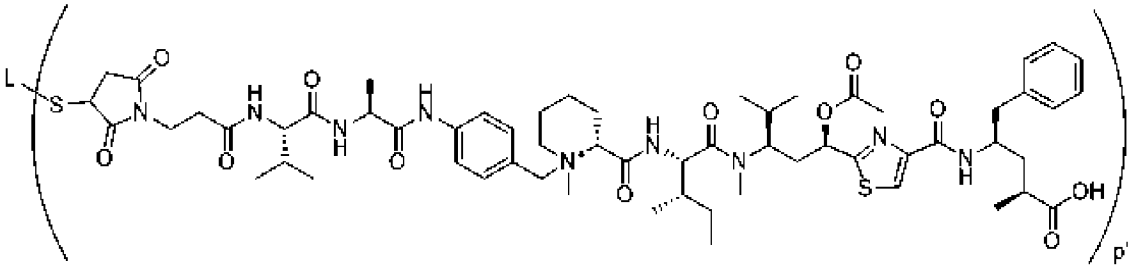




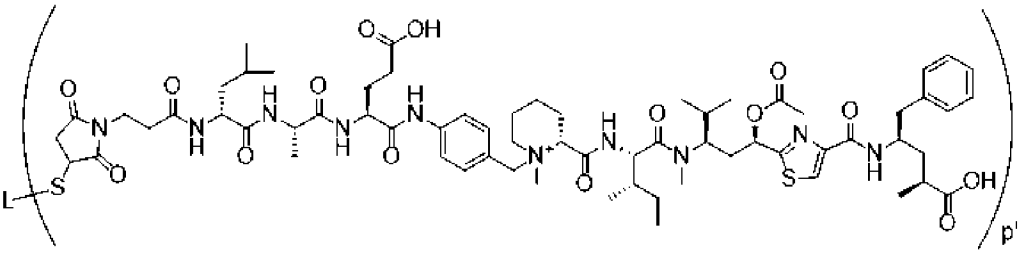
,



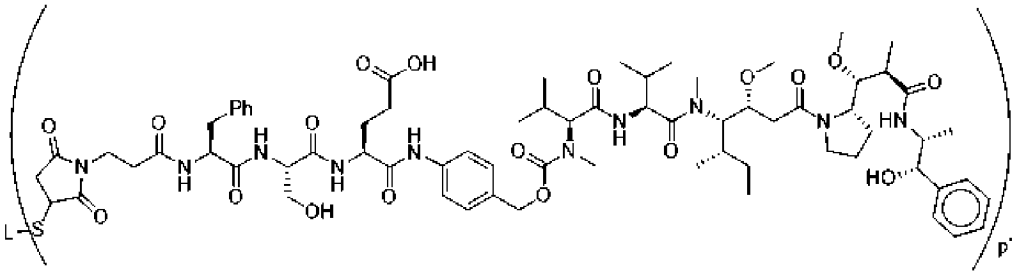
,



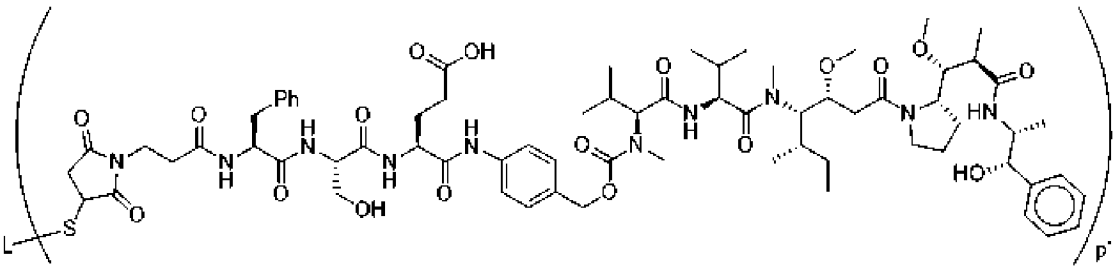
,



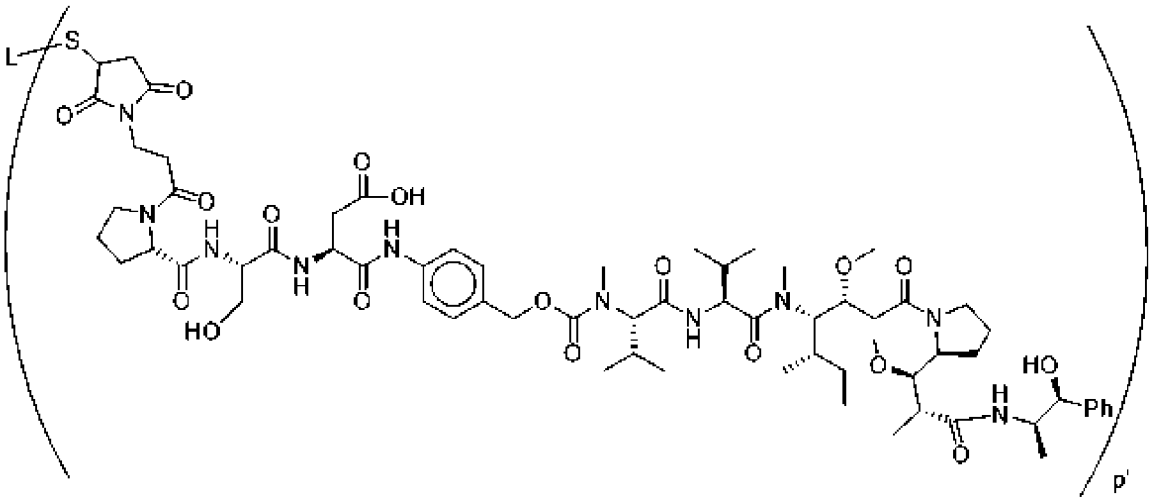
,



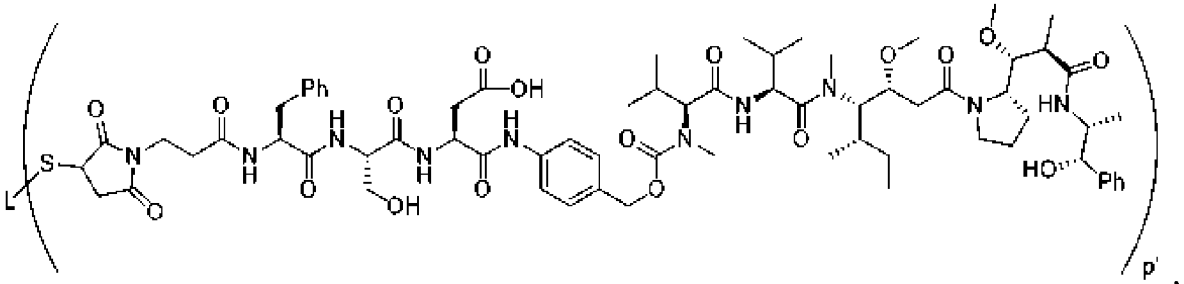
,



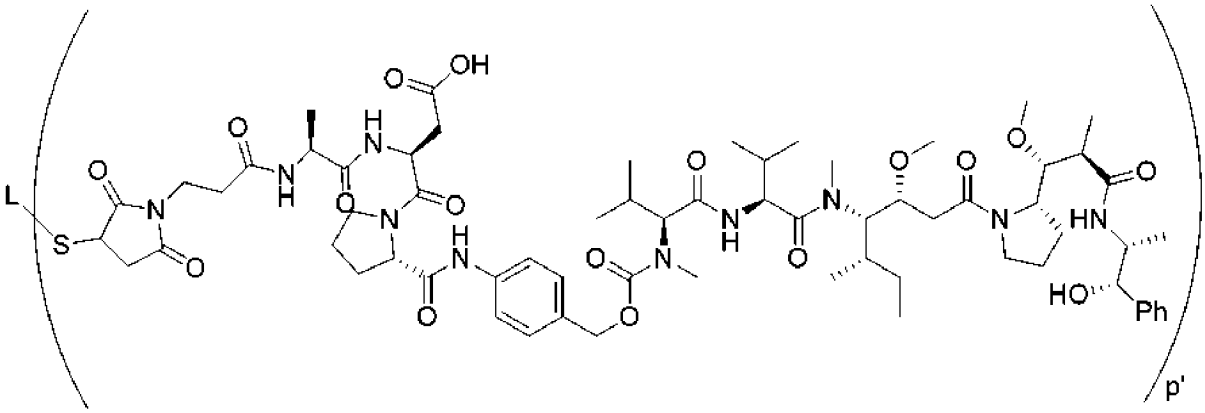
,



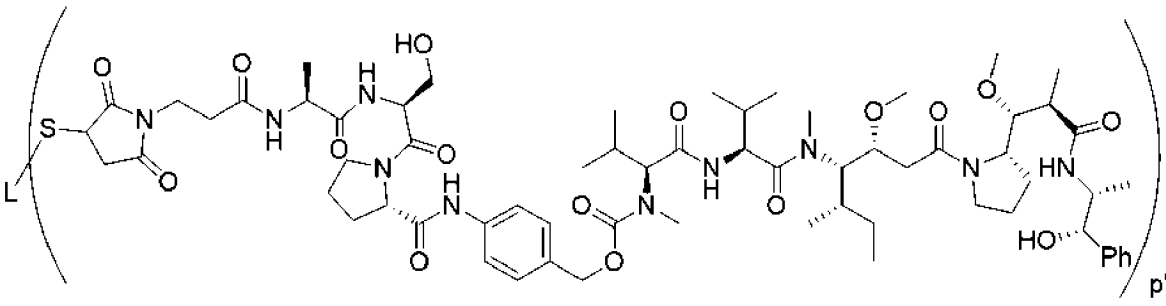
,



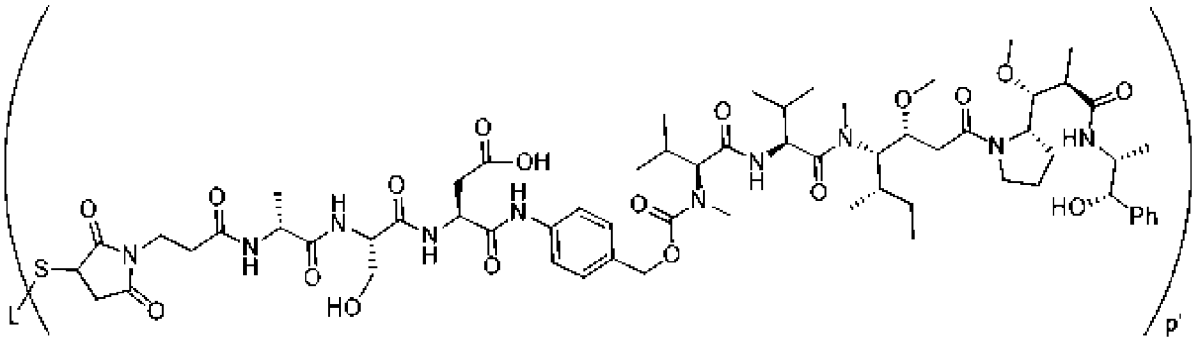
,



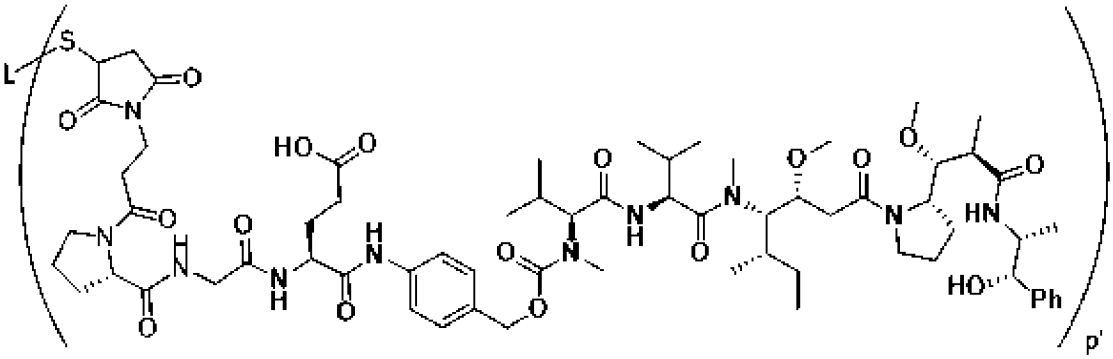
,



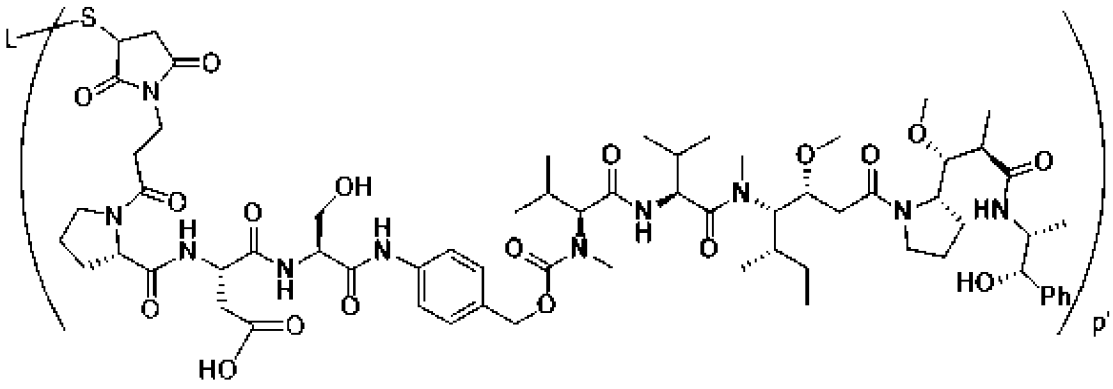
,


L
S
HO
OH
HN
HO
Ph
p'

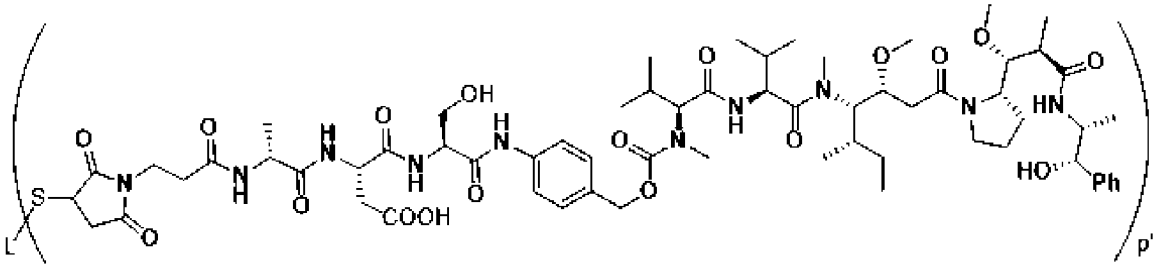
,


L
S
HO
HO
HN
HO
Ph
p'

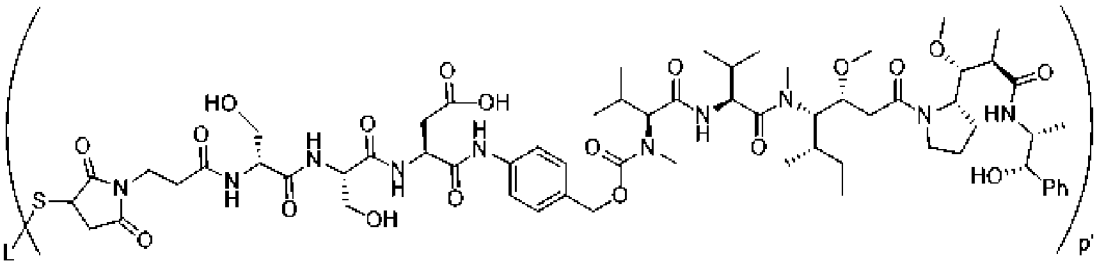
,


L
S
OH
HO
HN
HO
Ph
p'

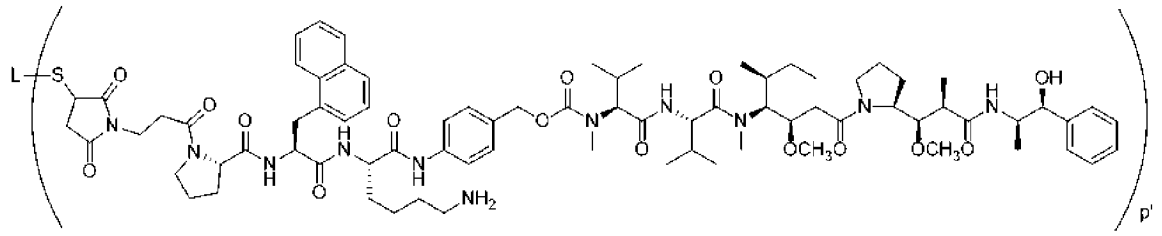
,


L
S
OH
COOH
HN
HO
Ph
p'

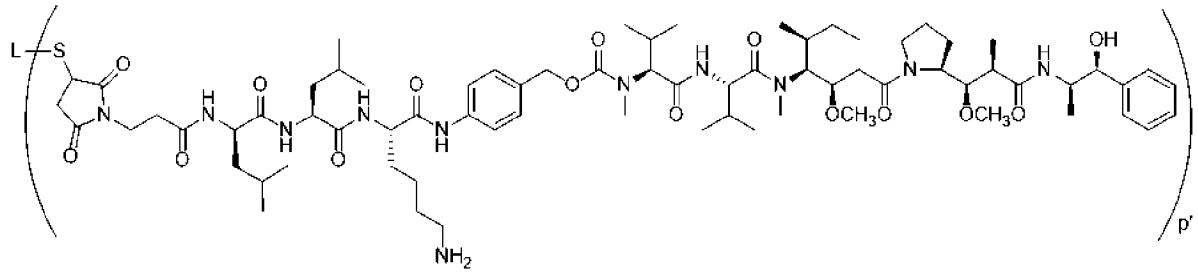
,


L
S
HO
OH
OH
HN
HO
Ph
p'

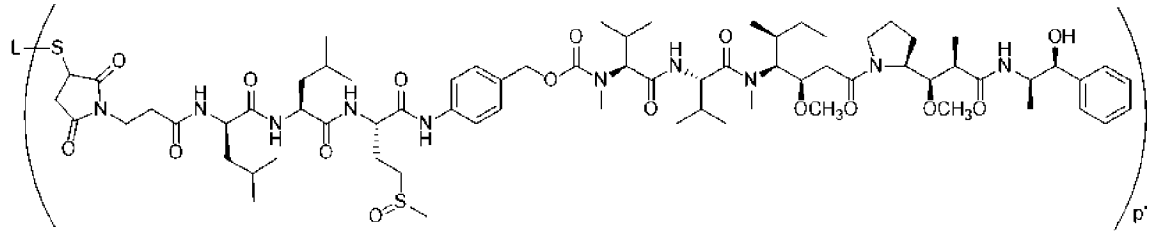
,



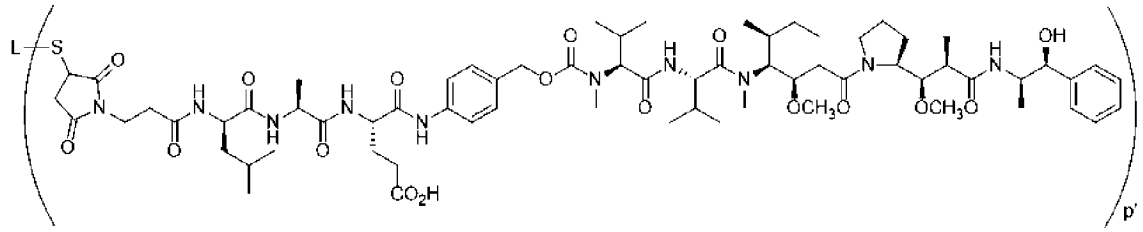
,



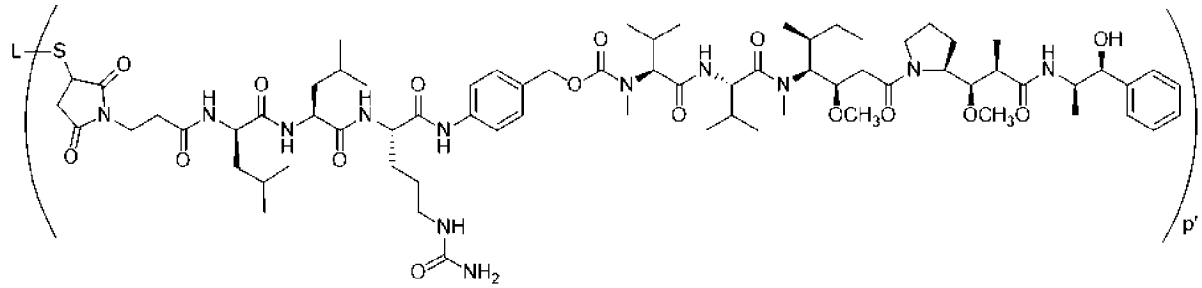
,



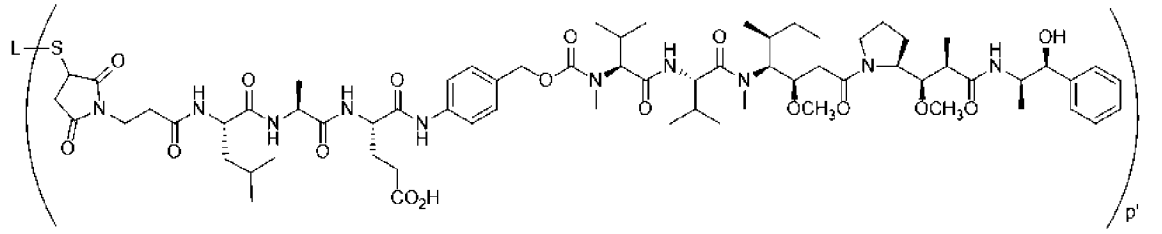
,



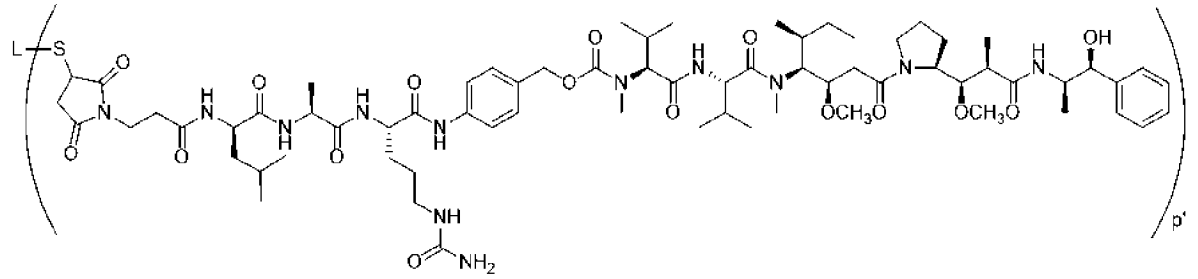
,



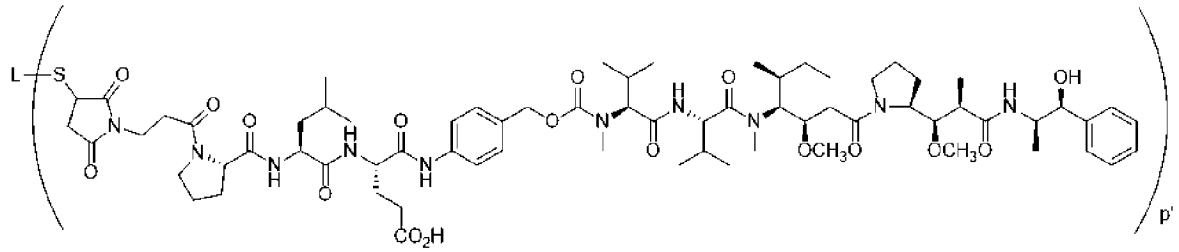
,



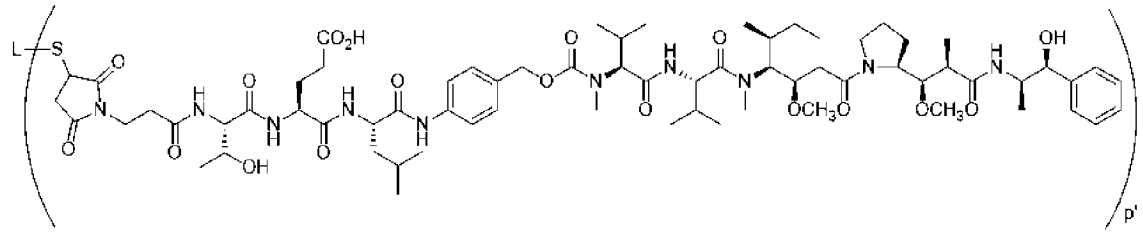
,



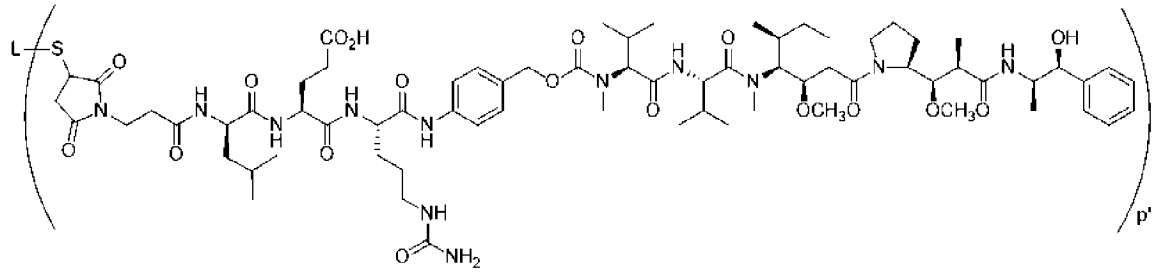
,



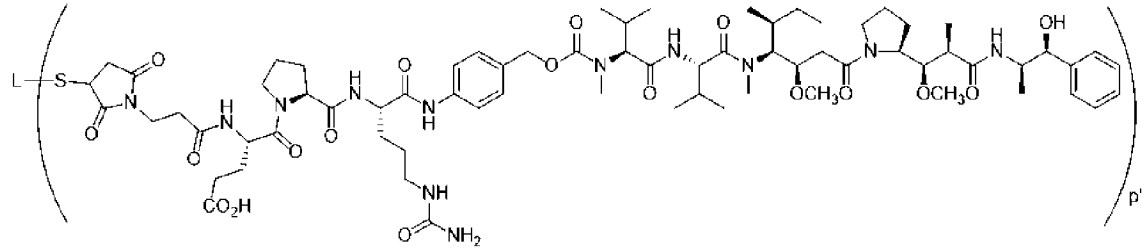
,



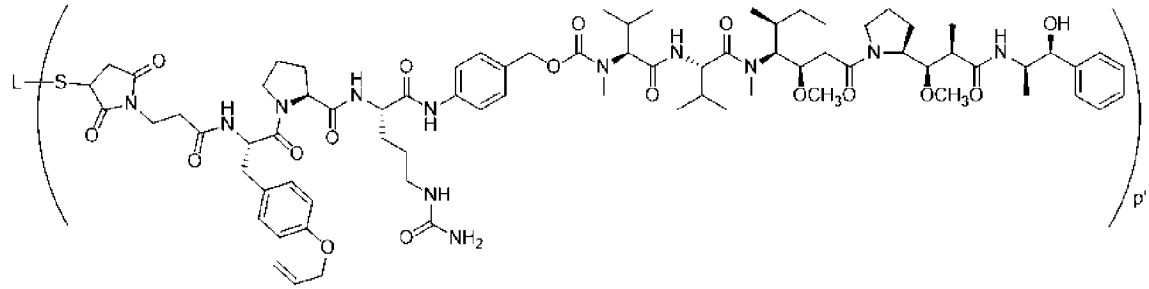
,



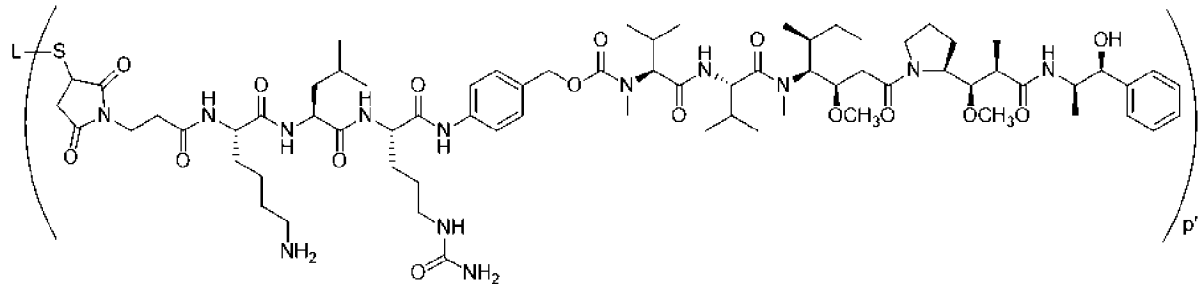
,



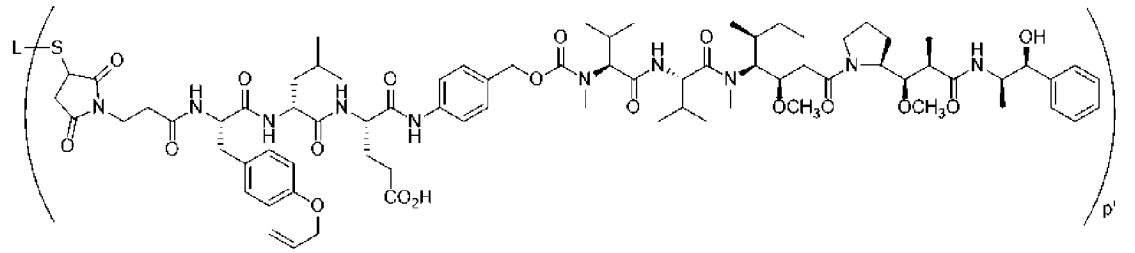
,



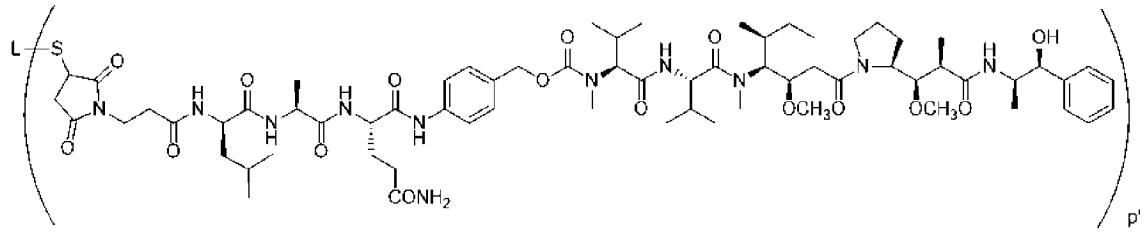
,



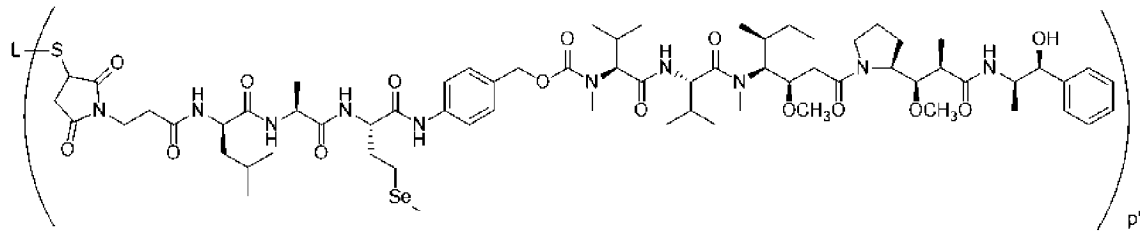
,



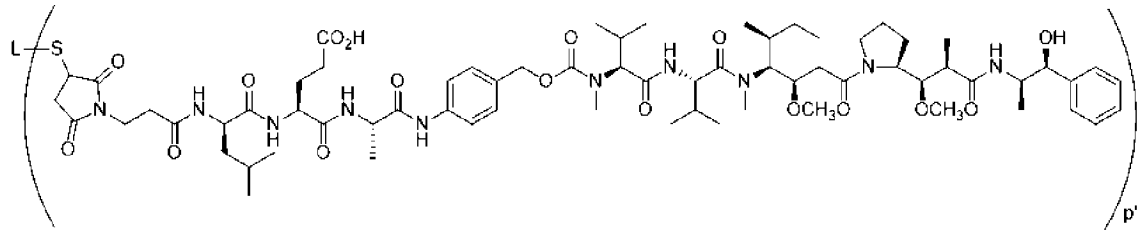
,



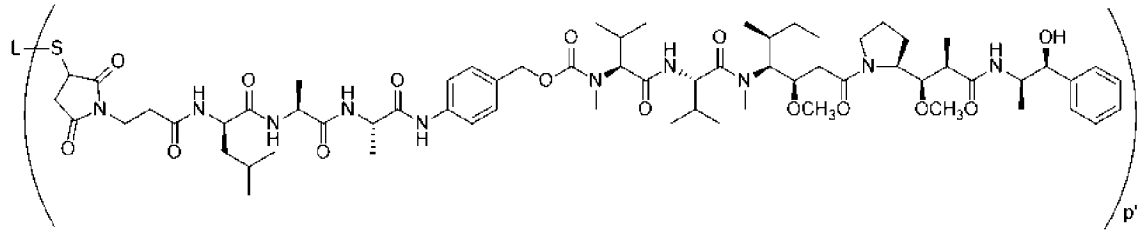
,



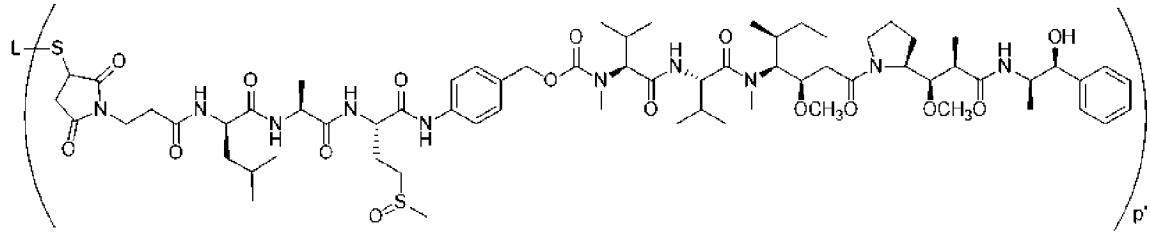
,



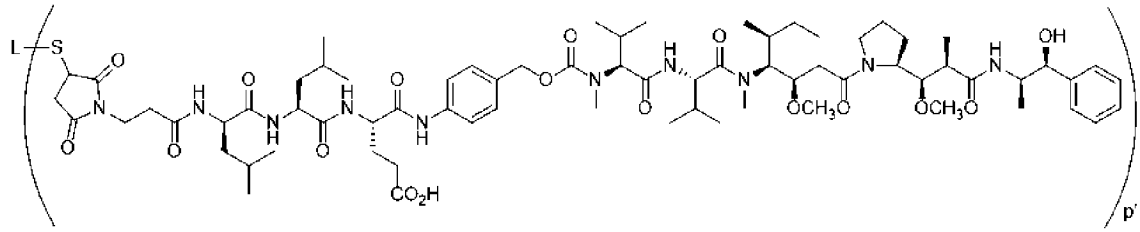
,



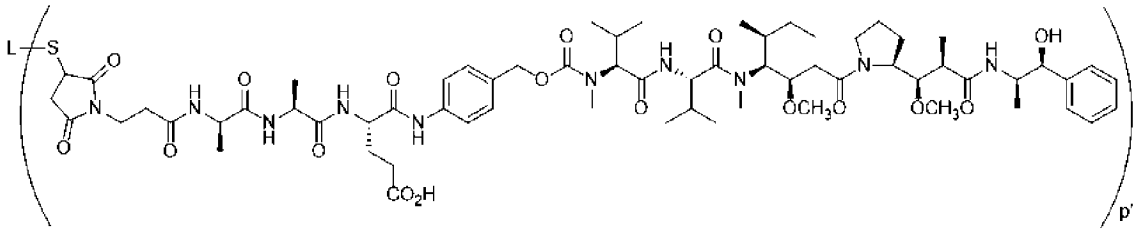
,



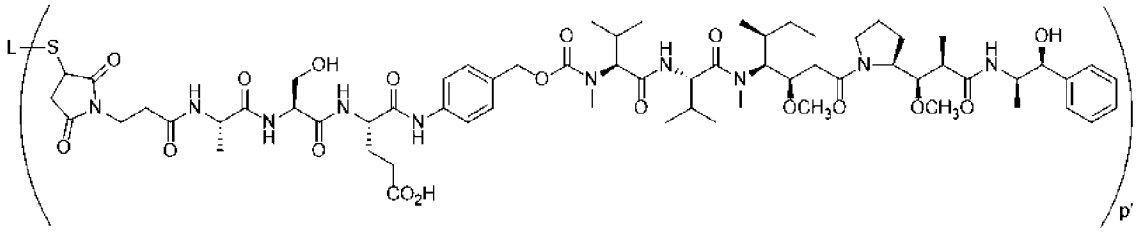
,



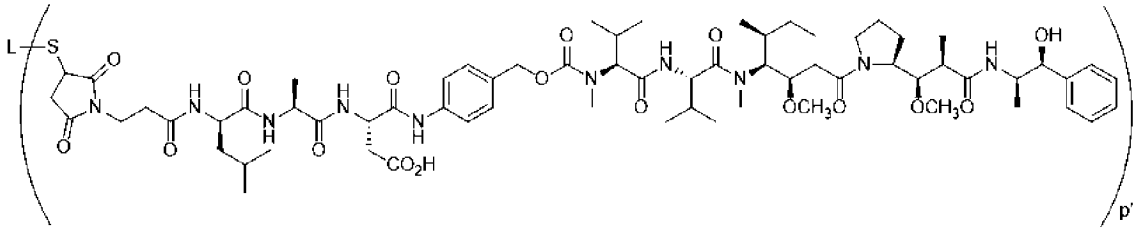
,



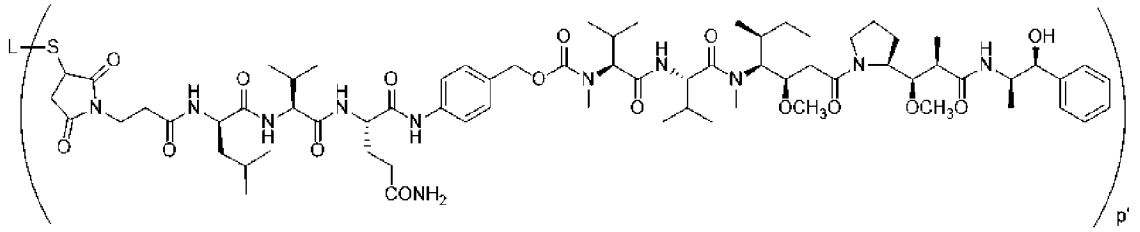
,



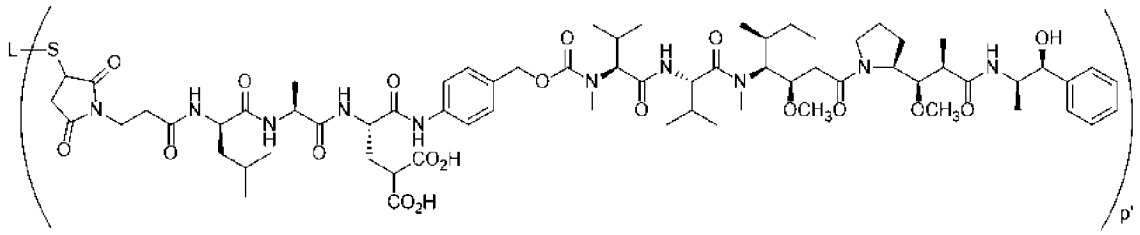
,



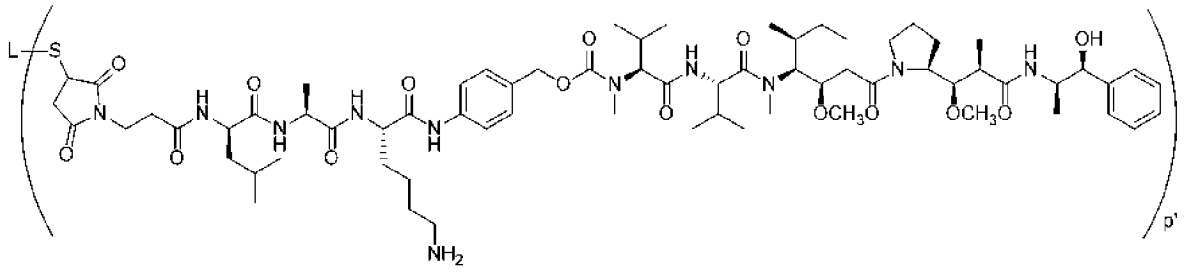
,



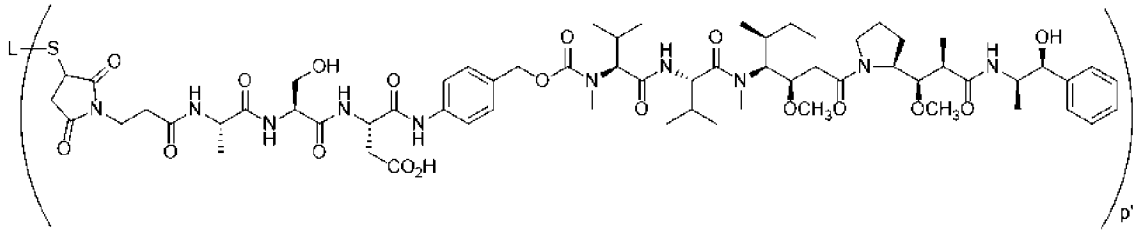
,



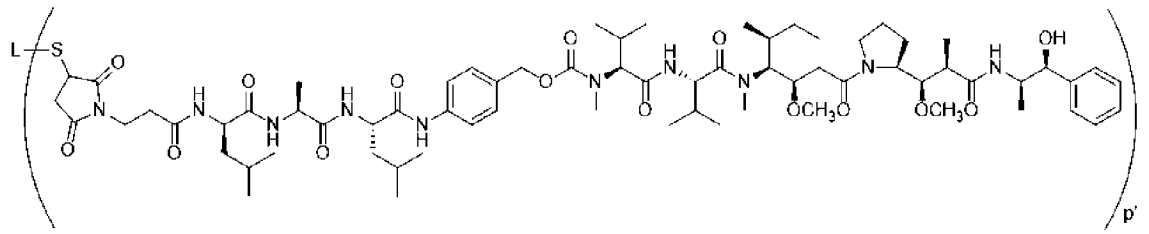
,



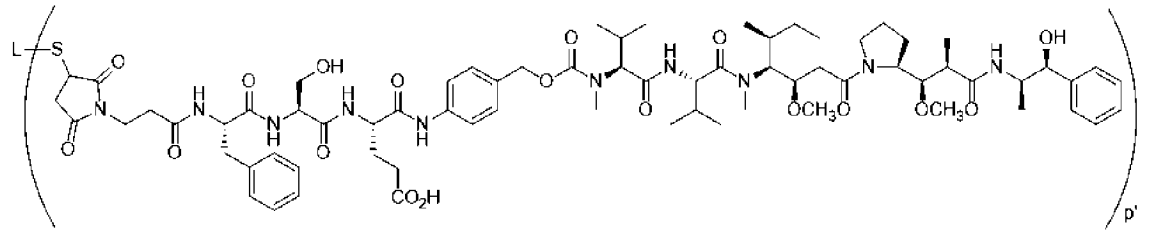
,



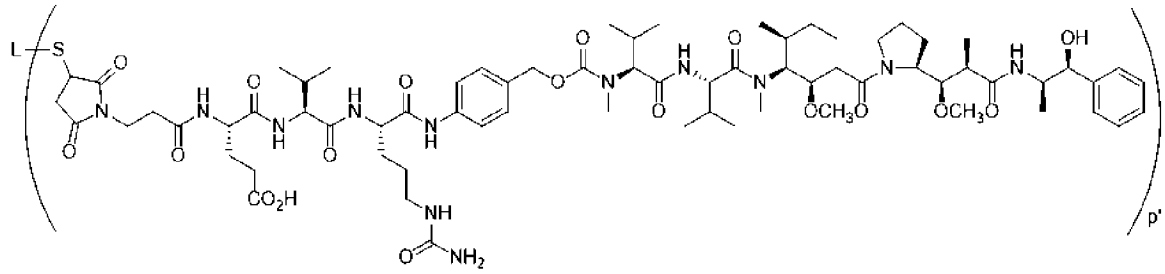
,



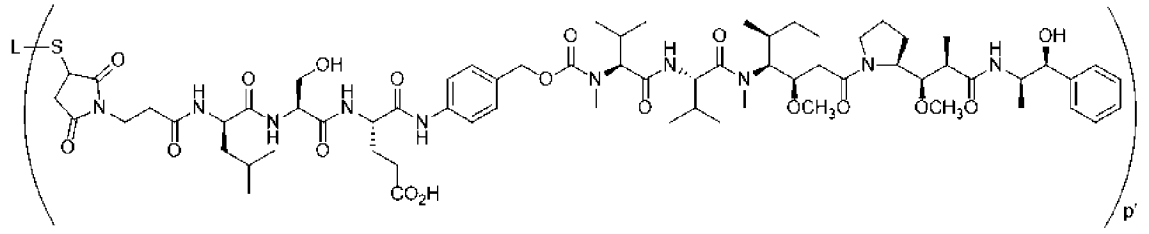
,



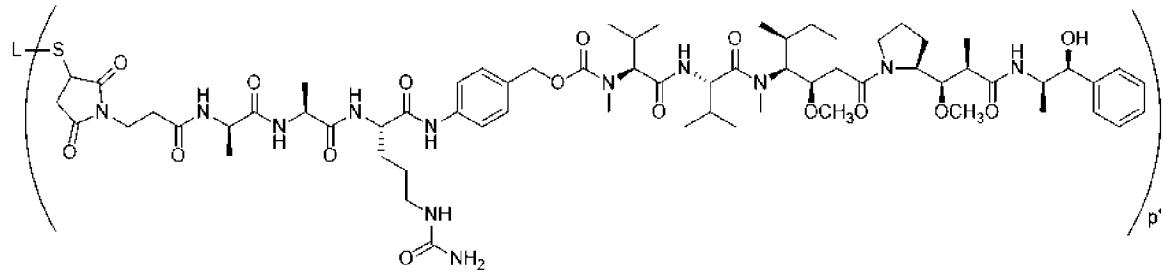
,



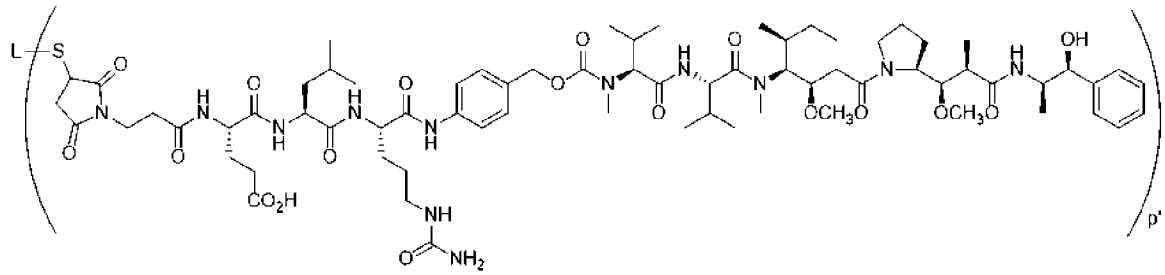
,



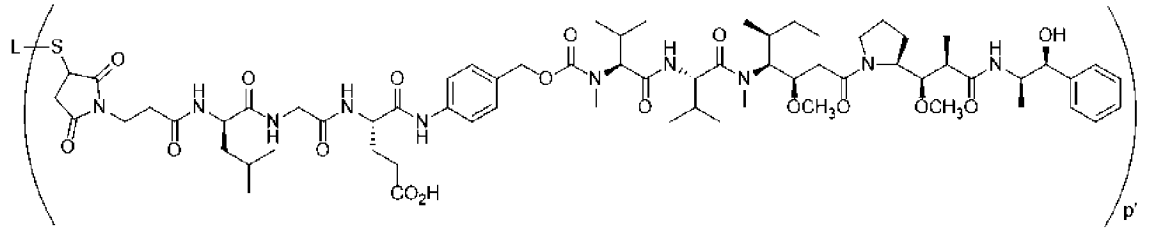
,



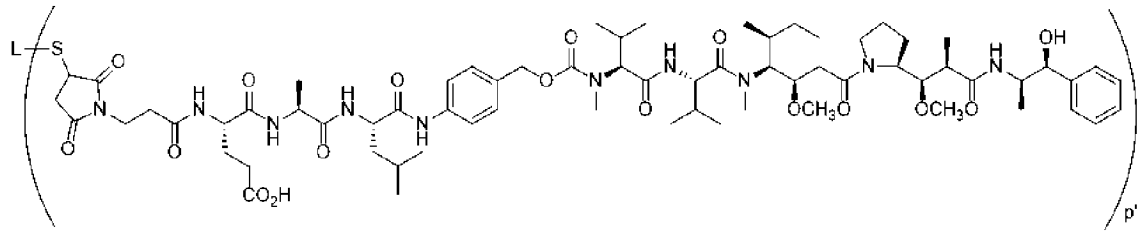
,



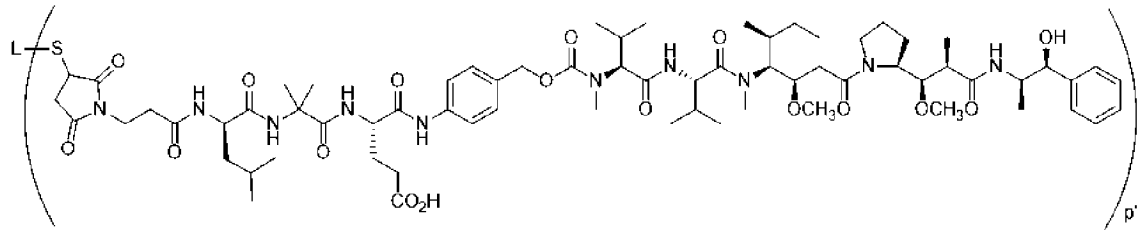
,



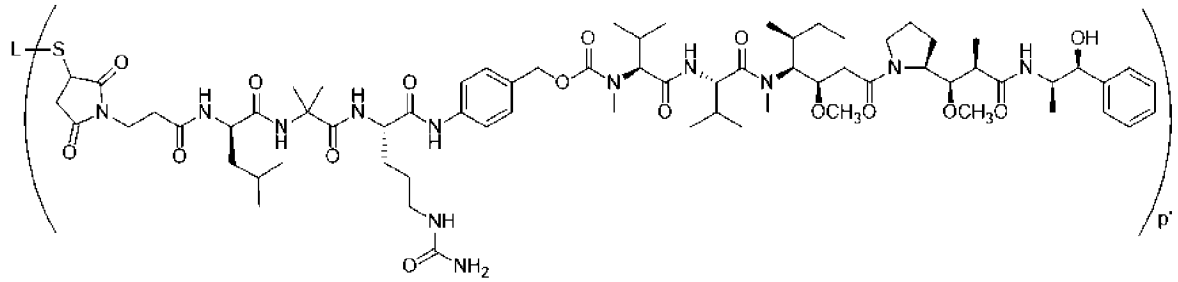
,



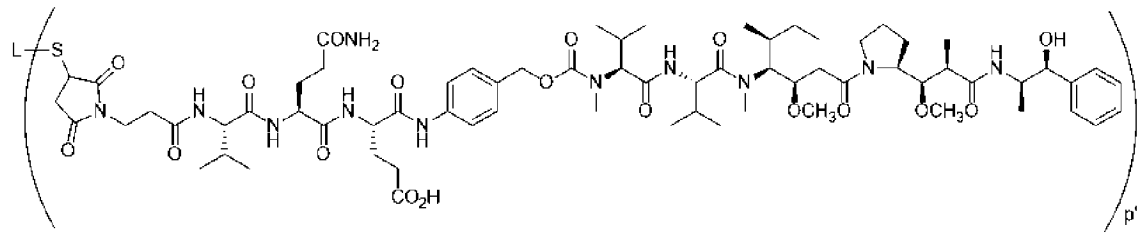
,



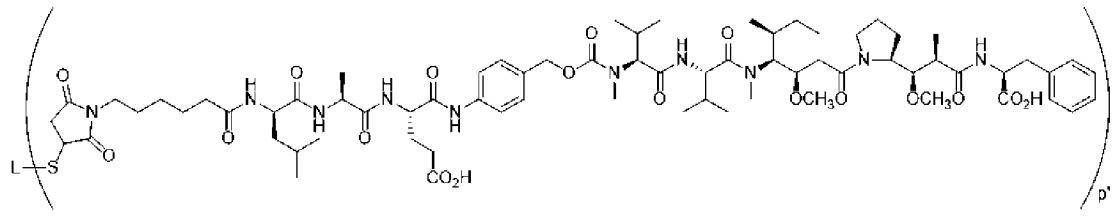
,



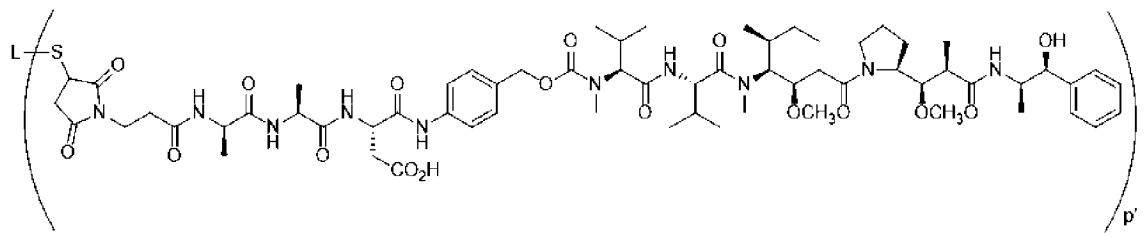
,



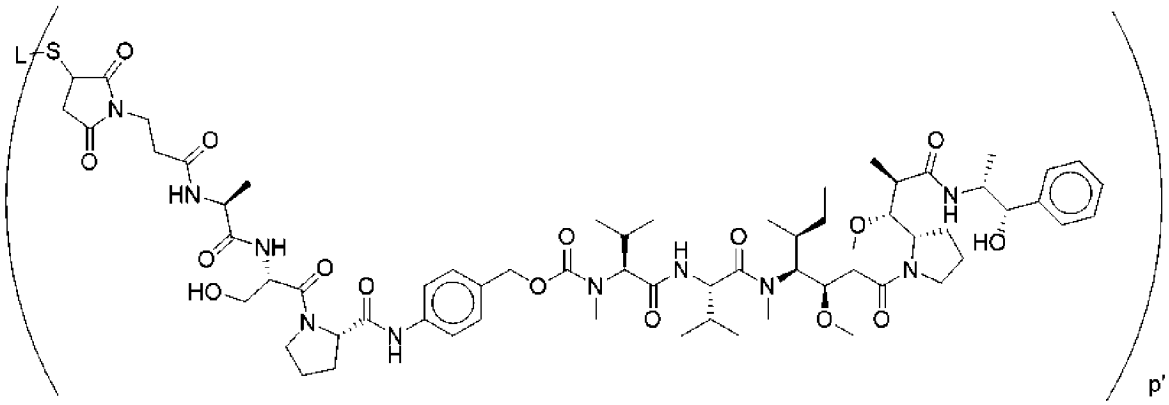
,



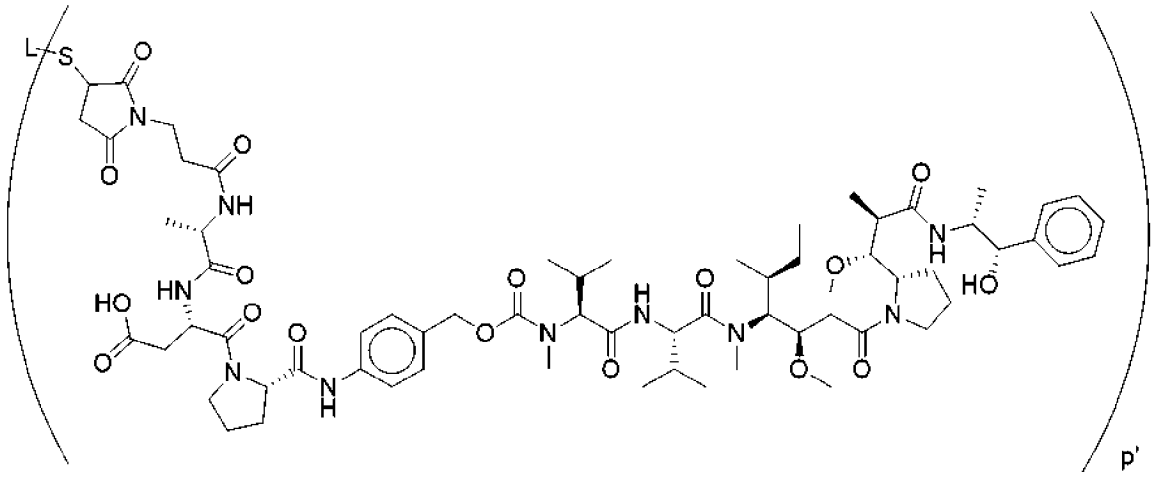
,



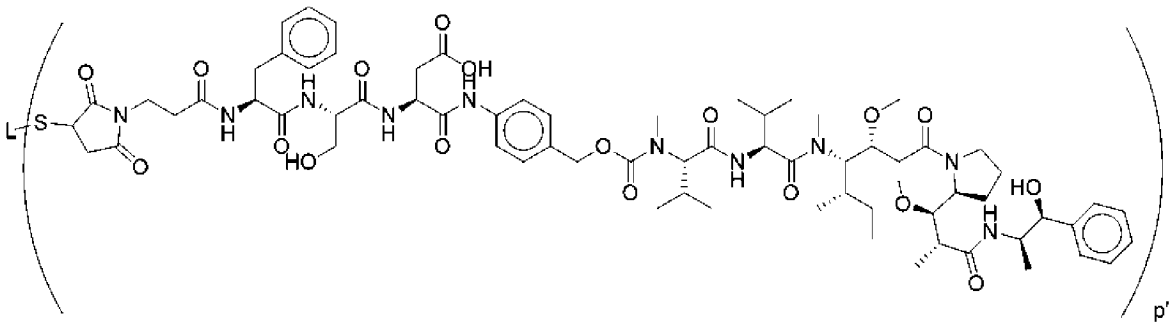
,



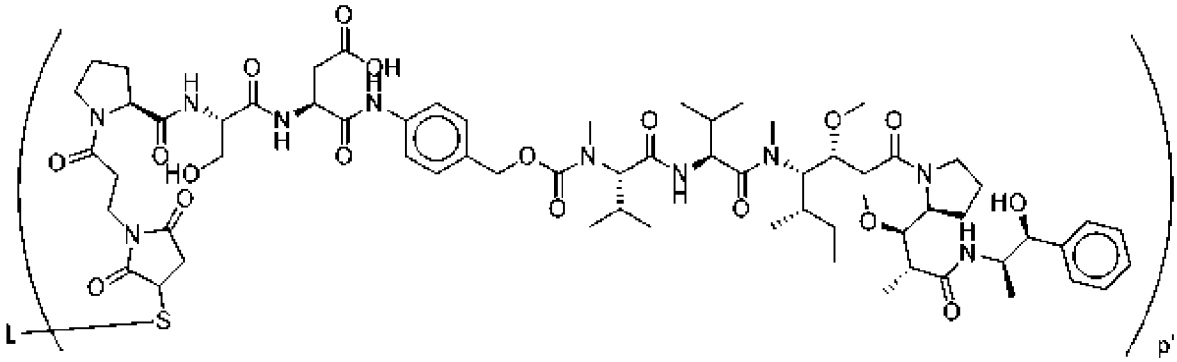
p' ,



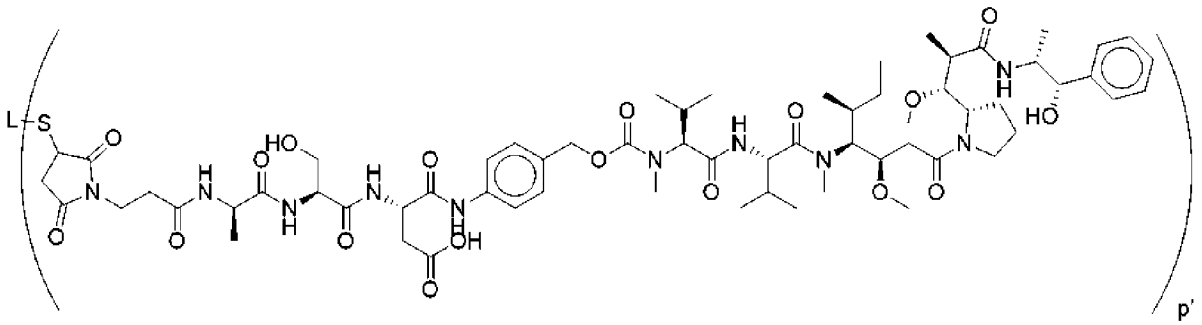
p' ,



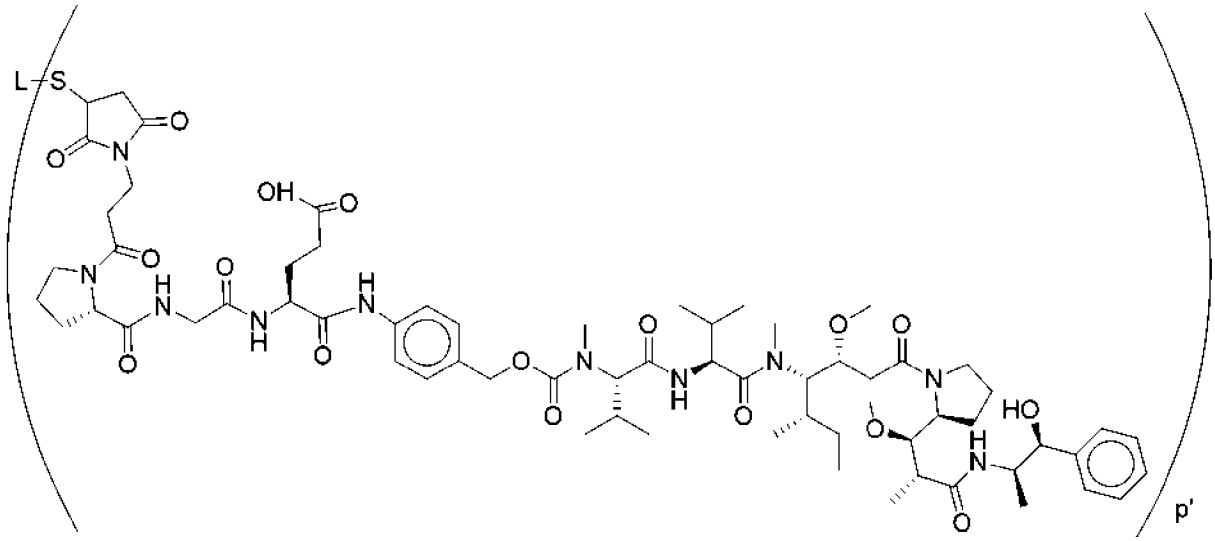
p' ,



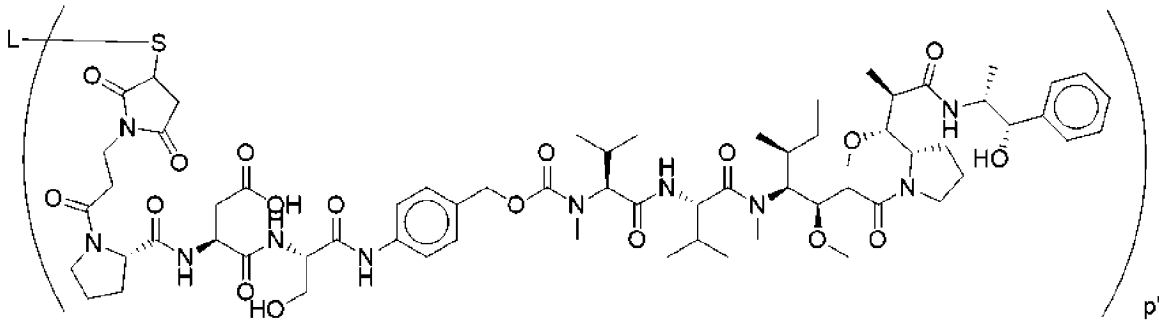
p' ,


L
S
p'

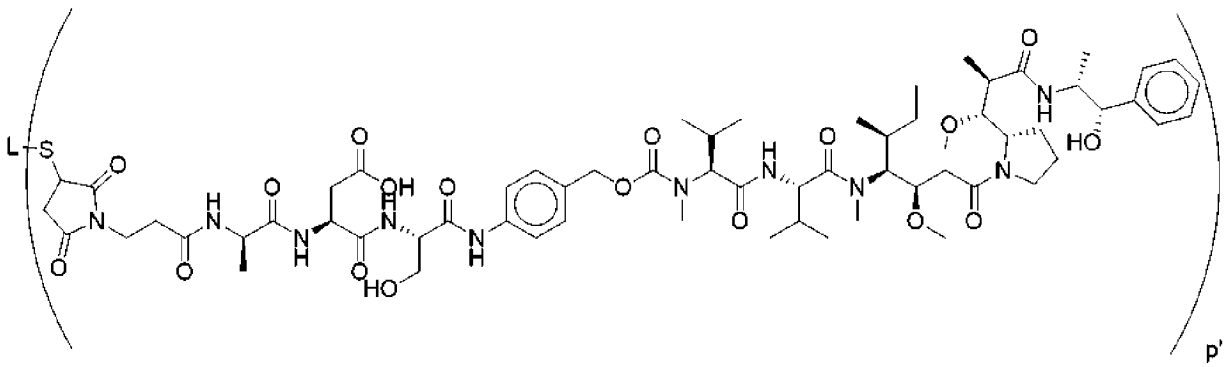
,


L
S
p'

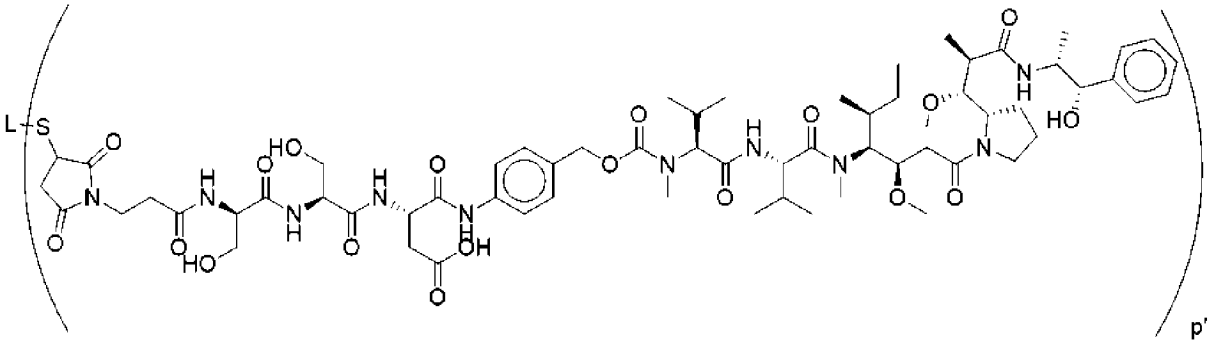
,


L
S
p'

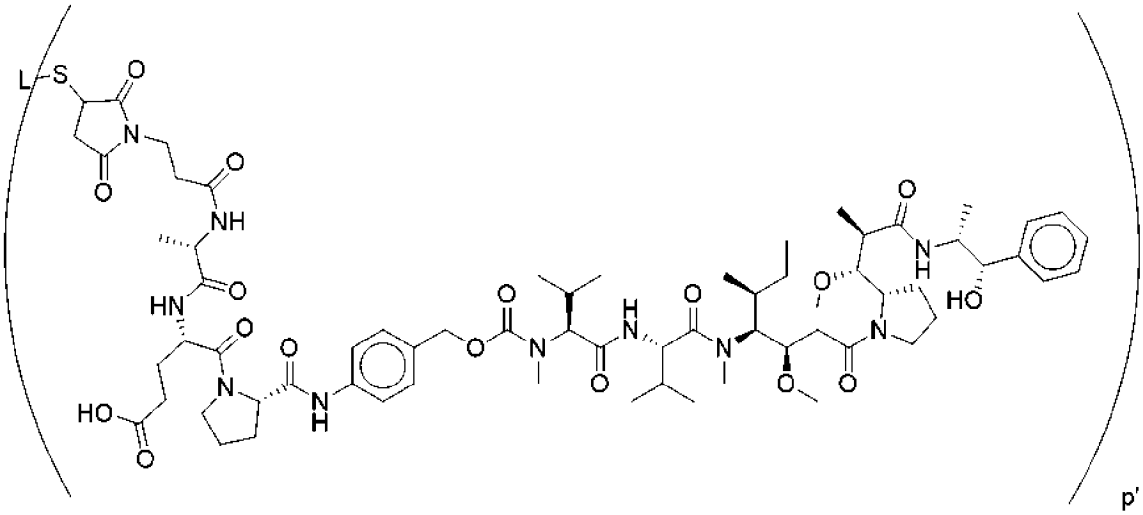
,


L
S
p'

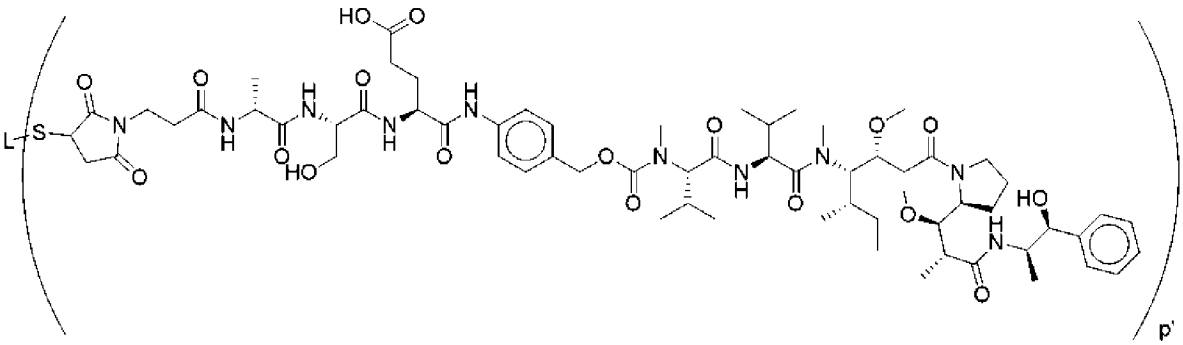
,



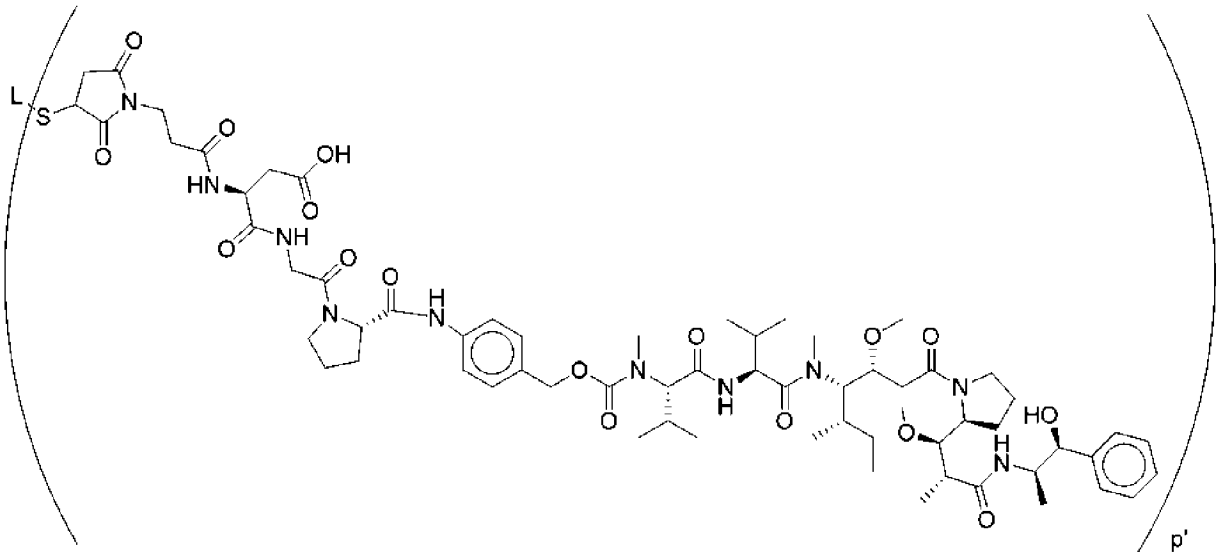
p' ,



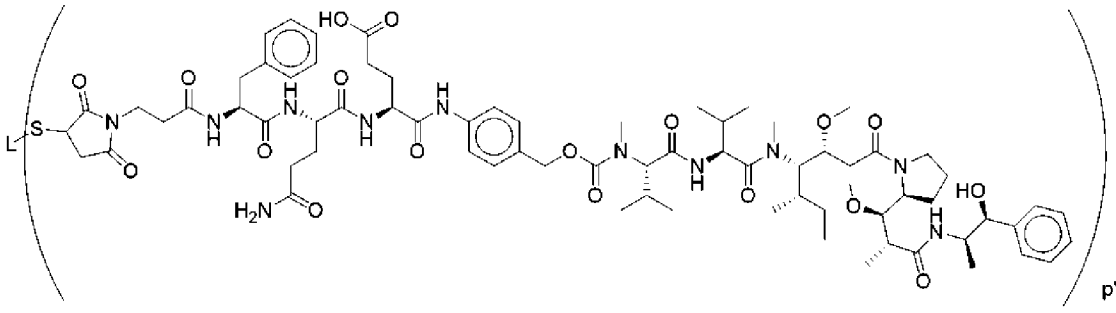
p' ,



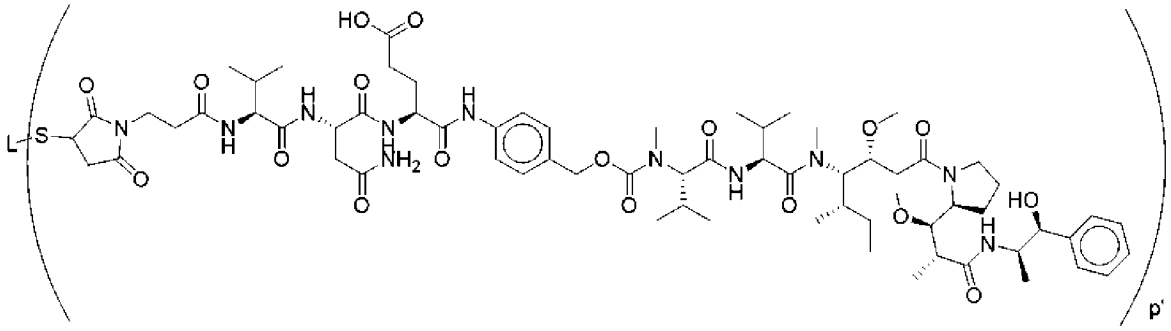
p' ,



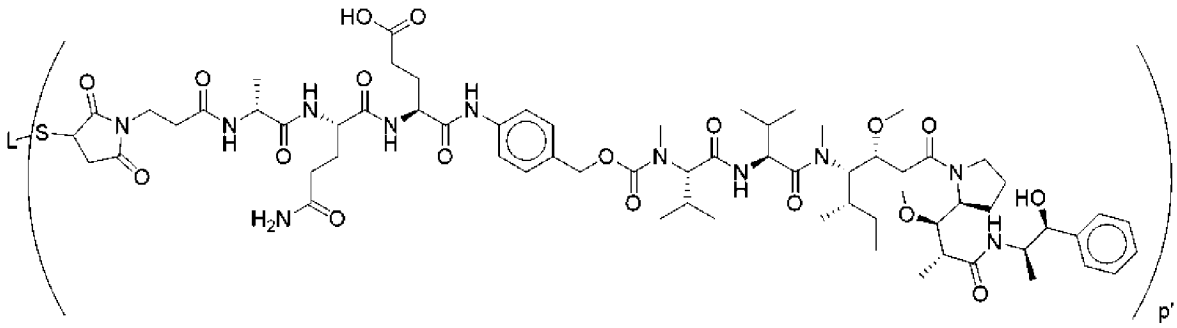
p' ,



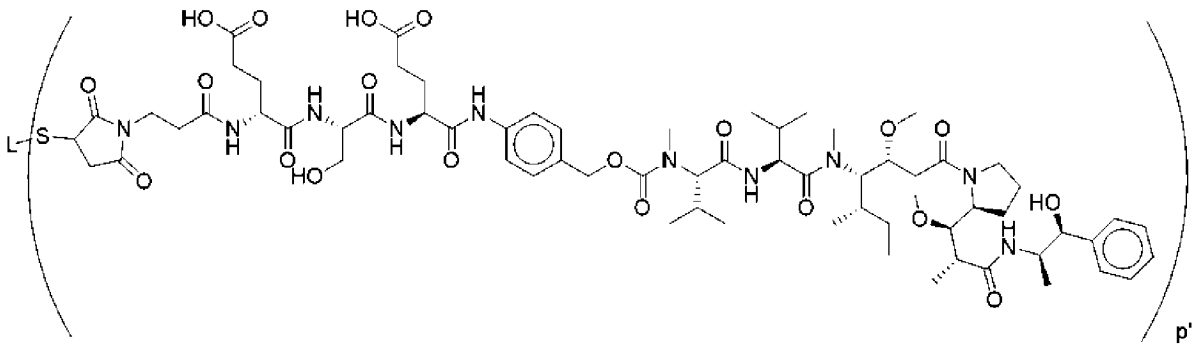
p' ,



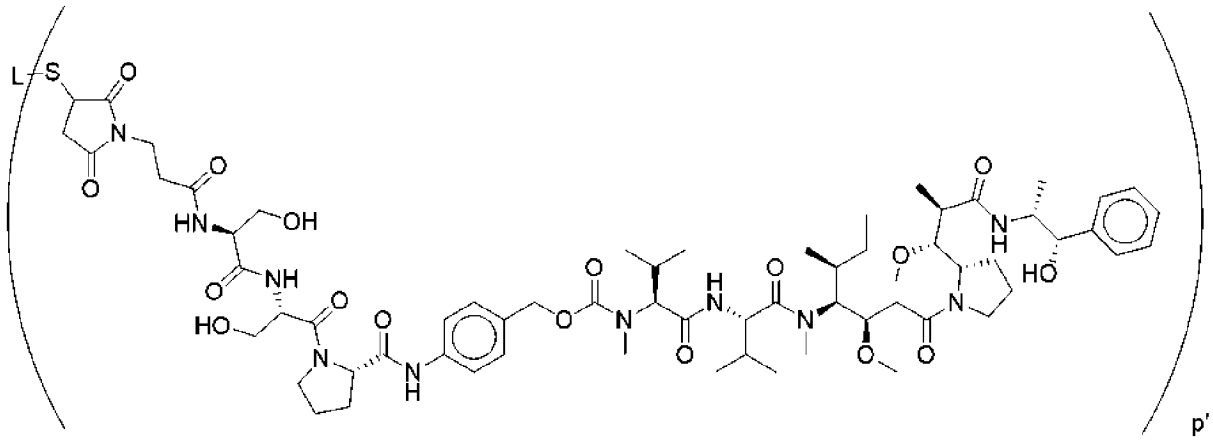
p' ,



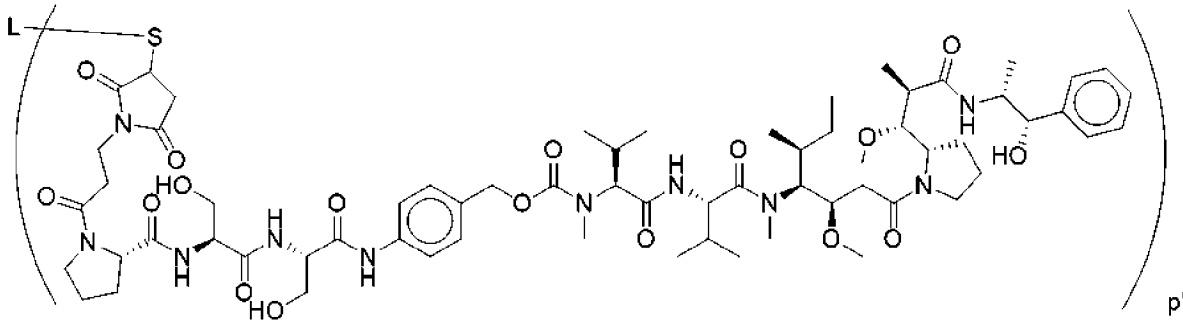
p' ,



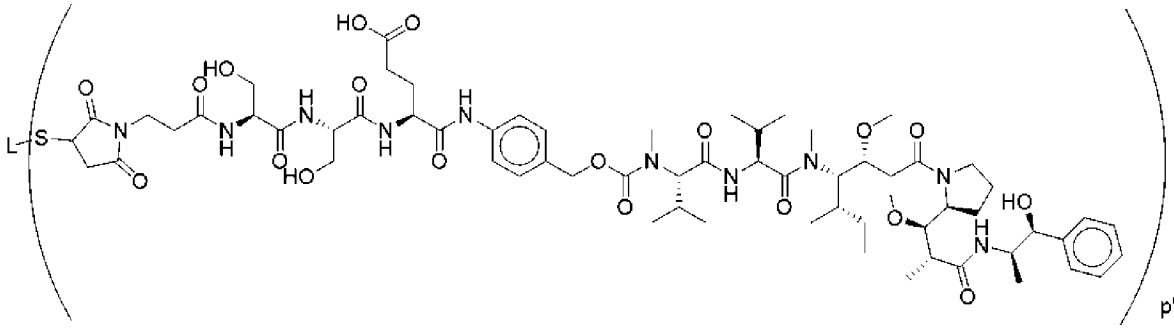
p' ,



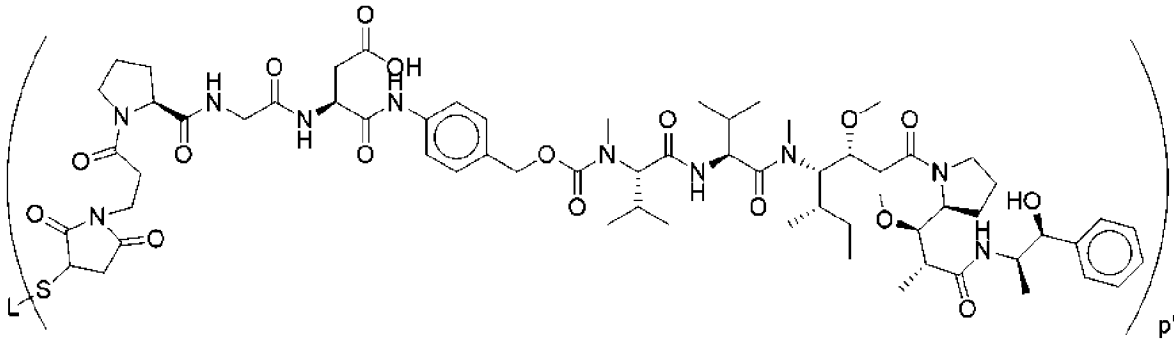
p' ,



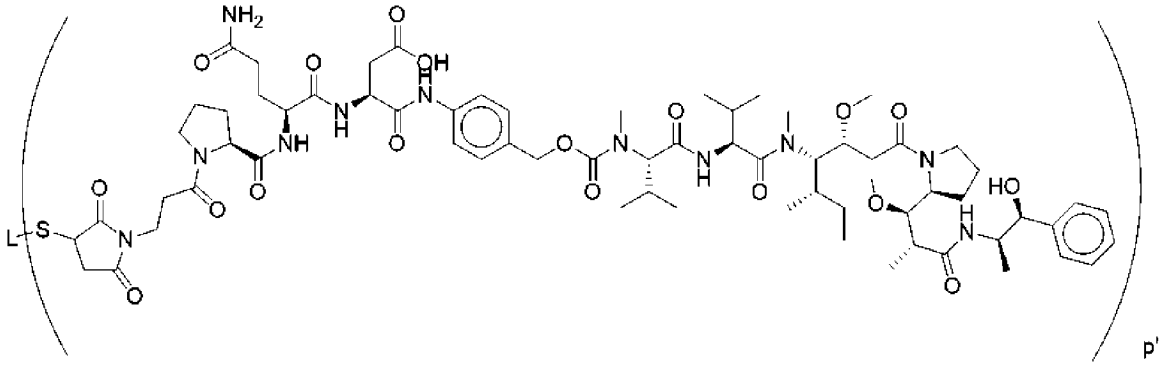
p' ,



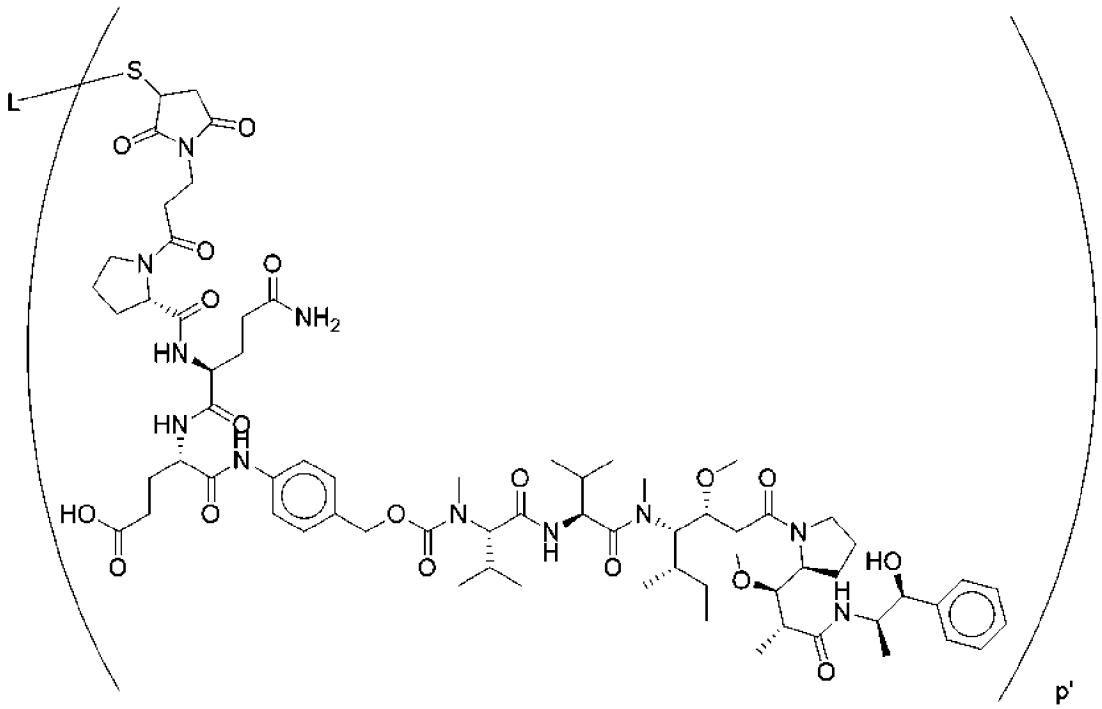
p' ,



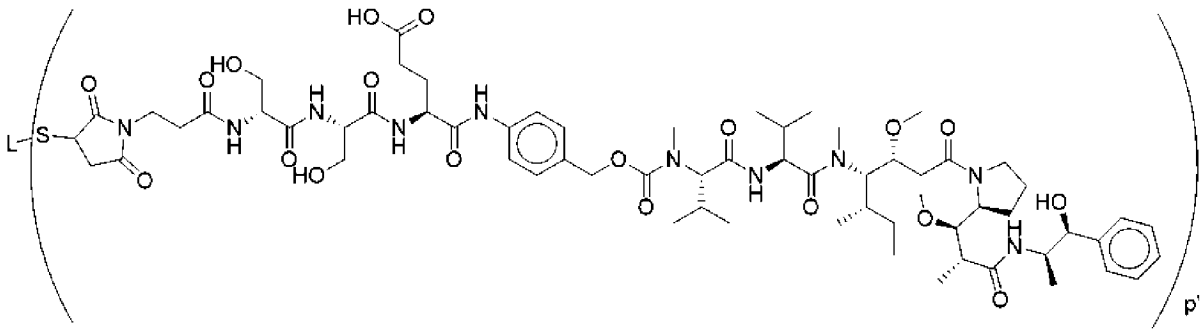
p' ,



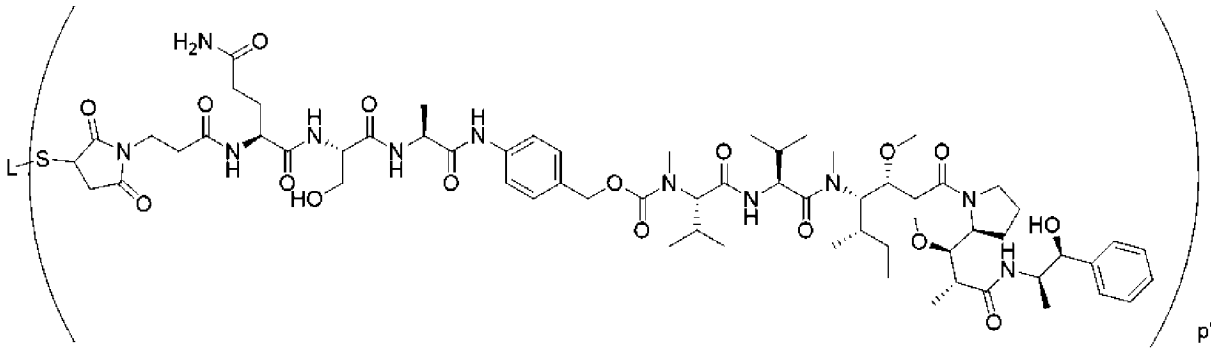
p' ,



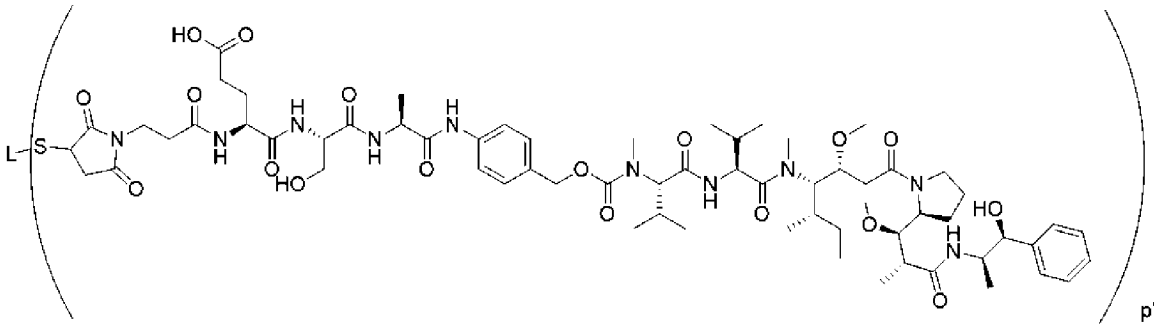
p' ,



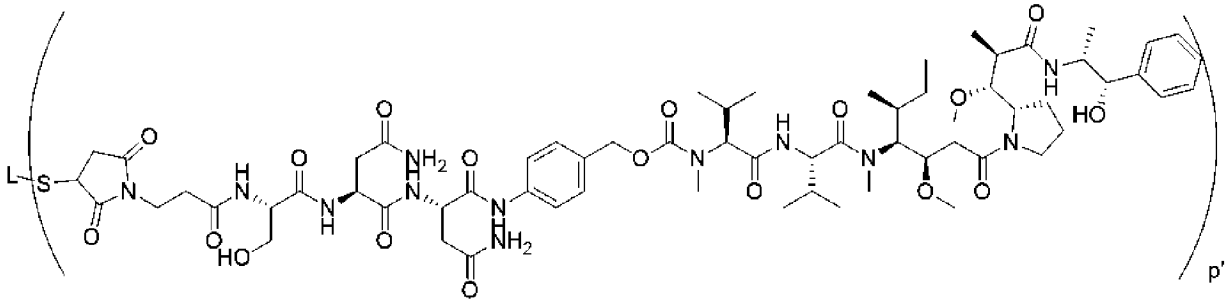
p' ,



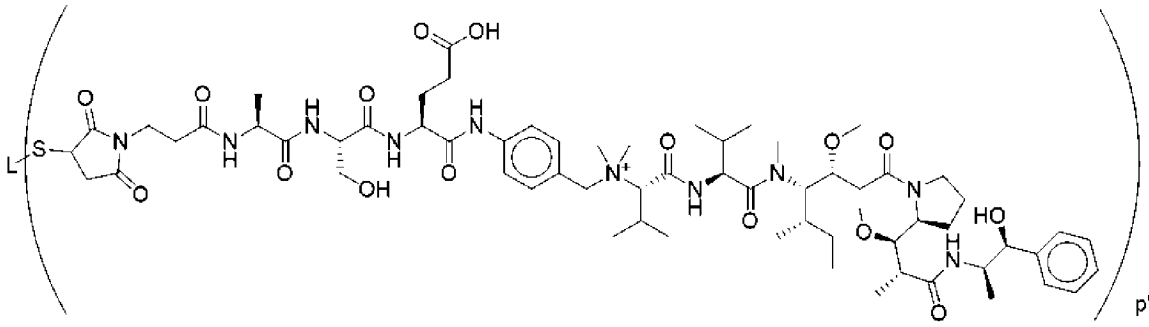
p' ,



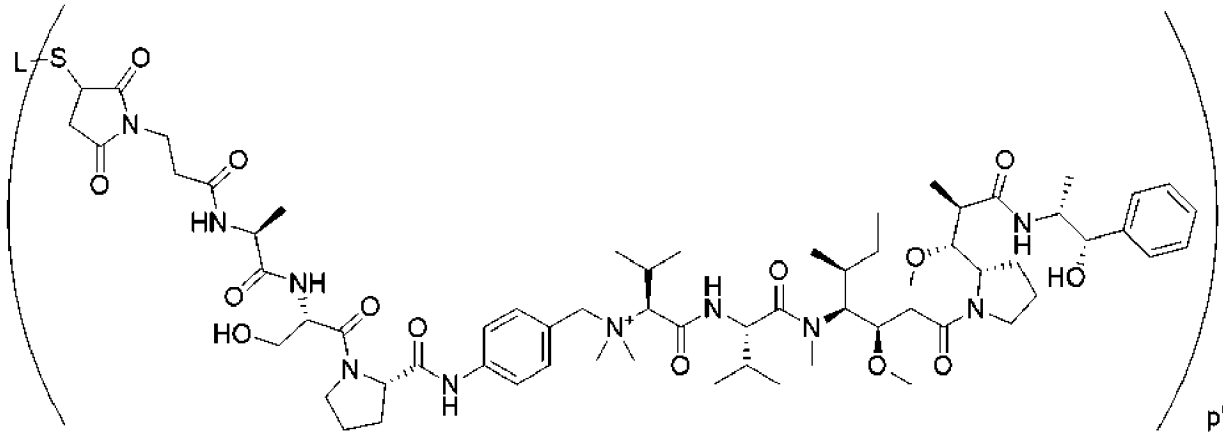
p' ,


L
S
p'

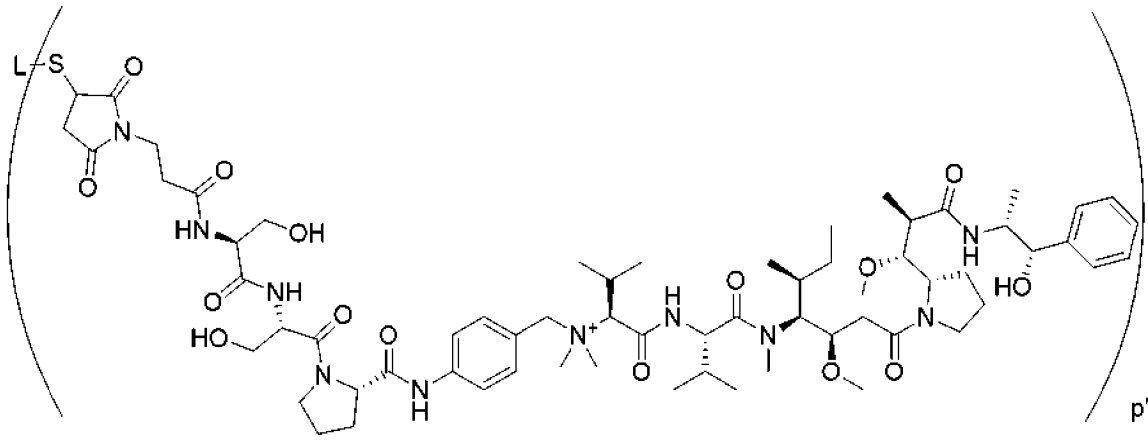
,


L
S
p'

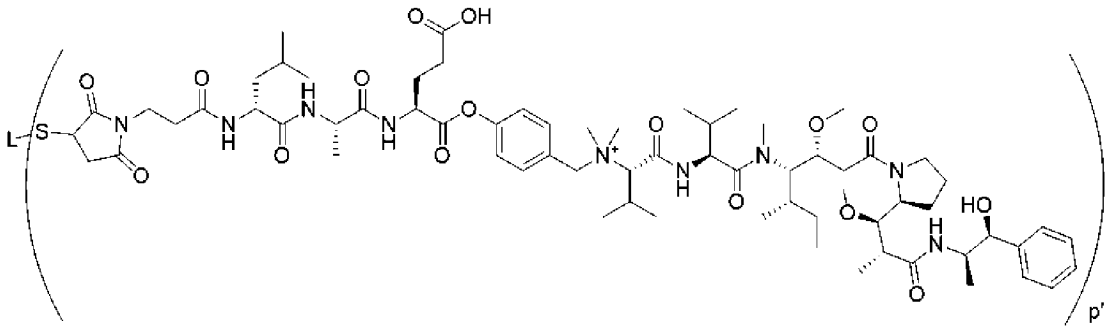
,


L
S
p'

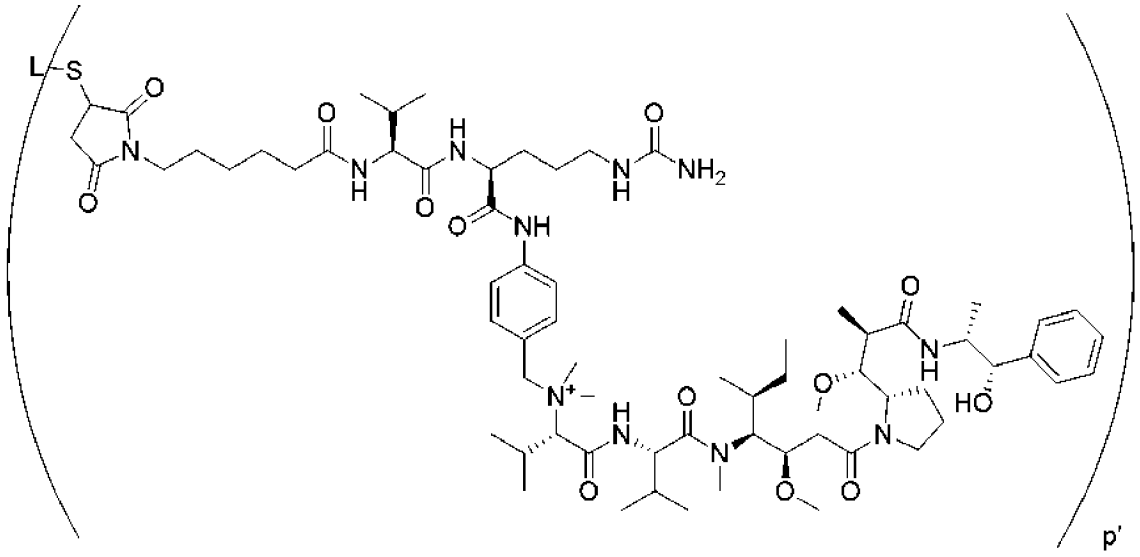
,


L
S
p'

,



, или



,

или их солью (например, фармацевтически приемлемой солью), где L представляет собой лигандное звено, а нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 24. Понятно, что если L представляет собой антитело, атом серы S, связанный с L, в вышеупомянутых химических структурах представляет атом серы боковой цепи остатка цистеина антитела. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8 или равен 4 или 8. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' равен 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' равен 2, 4, 6 или 8. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' равен 2. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' равен 4. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' равен 6. В некоторых вариантах осуществления нижний индекс p' равен 8. Также включены композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат, содержащие любое из соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, перечисленных выше, где p' замещен p, как описано в данном документе.

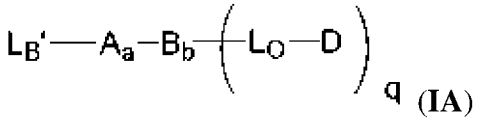
2.3 Соединения лекарственный препарат-линкер

[0623] Соединение лекарственный препарат-линкер представлено структурой формулы **I**:

LU'-(D') (**I**)

или ее соли, где LU' является предшественником LU; и D' представляет от 1 до 4 лекарственных звеньев, которые предпочтительно идентичны друг другу, при этом

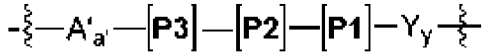
соединение лекарственный препарат-линкер дополнительно определяется структурой формулы **IA**:



(IA)

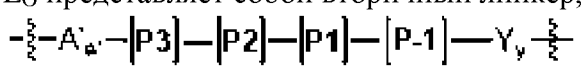
где L_B' представляет собой ковалентно связывающий лиганд фрагмент-предшественник; A представляет собой первое необязательное звено растяжения; нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно, B представляет собой необязательное звено разветвления; нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно, при условии, что нижний индекс b равен 1, когда нижний индекс q выбран из значений от 2 до 4, и

L_O представляет собой вторичный линкер, имеющий формулу:



или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно, Y представляет собой необязательное спейсерное звено, нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 спейсерных звеньев, соответственно, и P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, которые вместе обеспечивают селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани и/или вместе обеспечивают предпочтительное биораспределение конъюгата, полученного из соединения лекарственный препарат-линкер по формуле **IA**, в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью, при этом цитотоксичность свободного лекарственного препарата, высвобождаемого из конъюгата в нормальную ткань, по меньшей мере частично является причиной нежелательного явления, обычно связанного с введением терапевтически эффективного количества сравнительного конъюгата на основе дипептида, при этом протеолитическое расщепление происходит в месте ковалентной связи между P1 и Y, если нижний индекс y равен 1 или 2, или в месте ковалентной связи между P1 и D, если нижний индекс y равен 0, или

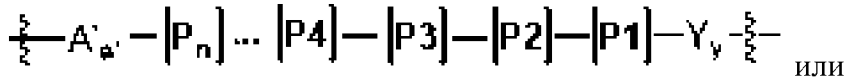
L_O представляет собой вторичный линкер, имеющий формулу:

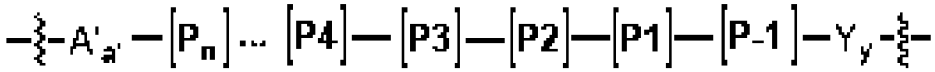


или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где A', a', Y и y сохраняют свои вышеуказанные значения, а P1, P2 и P3 представляют собой аминокислотные остатки, необязательно с аминокислотой P-1, которые вместе обеспечивают селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани и/или вместе обеспечивают предпочтительное биораспределение конъюгата, полученного из соединения лекарственный препарат-линкер по формуле **IA**, в опухолевой ткани по сравнению с

нормальной тканью, при этом цитотоксичность свободного лекарственного препарата, высвобождаемого из конъюгата в нормальную ткань, по меньшей мере частично является причиной нежелательного явления, обычно связанного с введением терапевтически эффективного количества сравнительного конъюгата на основе дипептида, при этом протеолитическое расщепление происходит в месте ковалентной связи между P1 и P-1 с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру [P-1]-Y_y-D, или

L_O представляет собой вторичный линкер, имеющий формулу:


или



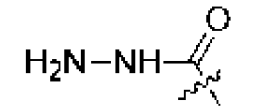
или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где A', a', Y и y сохраняют свои вышеуказанные значения, а P-1 и P1, P2, P3…P_n представляют собой смежные аминокислотные остатки, при этом нижний индекс n представляет собой целое число, обеспечивающее до 12 (например, 3-12 или 3-10) этих аминокислот, и при этом P1, P2 и P3, необязательно с P-1, вместе обеспечивают селективность в отношении протеолиза гомогенатом опухолевой ткани по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани и/или вместе обеспечивают предпочтительное биораспределение конъюгата, полученного из соединения лекарственный препарат-линкер, в опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью, при этом цитотоксичность свободного лекарственного препарата, высвобождаемого из конъюгата в нормальную ткань, по меньшей мере частично является причиной нежелательного явления, обычно связанного с введением терапевтически эффективного количества сравнительного конъюгата на основе дипептида, при этом протеолитическое расщепление происходит в месте ковалентной связи между P1 и Y_y-D или между P1 и P-1 с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру Y_y-D или [P-1]-Y_y-D, соответственно, причем последний впоследствии подвергается расщеплению экзопептидазой с высвобождением линкерного фрагмента, имеющего структуру Y_y-D. В обоих случаях линкерный фрагмент Y_y-D подвергается спонтанному распаду до полного высвобождения D в виде свободного лекарственного препарата.

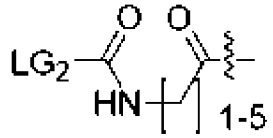
[0624] Дополнительные аминокислотные остатки P4, P5…P_n выбирают так, чтобы не изменять сайт расщепления, который обеспечивает фрагмент -Y_y-D или -[P-1]-Y_y-D, но, напротив, выбирают так, чтобы сохранить необходимые физиохимические и/или фармакокинетические свойства для конъюгата лиганд-лекарственный препарат, который получен из соединения лекарственный препарат-линкер по формуле **IA**, при этом необходимые физиохимические и/или фармакокинетические свойства обеспечены преимущественно аминокислотными остатками P1, P2 и P3, такие как повышенное биорасперделние конъюгата в опухолевой ткани относительно распределения в нормальной ткани, или чтобы усилить эти физиохимические и/или фармакокинетические свойства по сравнению со сравнительным конъюгатом на основе дипептида.

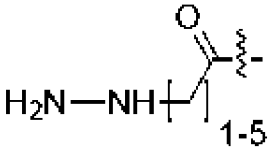
[0625] В любом из этих вариантов осуществления L_O, если нижний индекс q равен 1, то нижний индекс b равен 0 так, что B отсутствует, а A' становится необязательным подзвеном A, и если нижний индекс q равен 2, 3 или 4, то нижний индекс b равен 1 так, что B присутствует, A' остается компонентом L_O, как показано, и необязательное подзвено A указано как A_O.

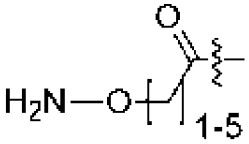
[0626] Соединение лекарственный препарат-линкер является особенно применимым при получении конъюгата лиганд-лекарственный препарат формулы **1**, так что LU' является предшественником LU для фрагмента лекарственный препарат-линкер соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат.

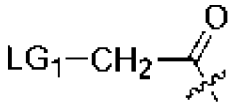
[0627] В некоторых вариантах осуществления L_B'-A- соединение лекарственный препарат-линкер имеет или состоит из одной из структур:



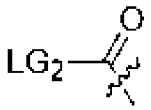








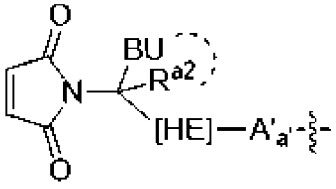




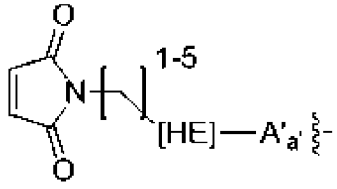
или

или их соли, где LG_1 представляет собой уходящую группу, подходящую для нуклеофильного вытеснения нуклеофилом нацеливающего агента; LG_2 представляет собой уходящую группу, подходящую для образования амидной связи с нацеливающим агентом, или -OH для обеспечения активируемой карбоновой кислоты, подходящей для образования амидной связи с нацеливающим агентом; волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остатку структуры соединения лекарственный препарат-линкер.

[0628] В других вариантах осуществления формулы **IA** соединение лекарственный препарат-линкер, в котором нижний индекс q равен 1, L_B'-A-, имеет или состоит из одной из структур:



или

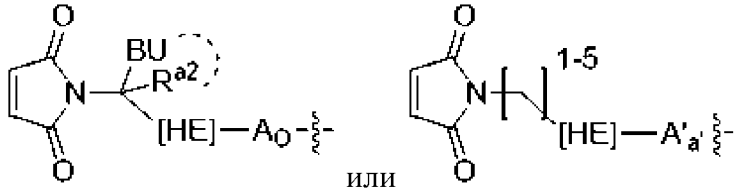


или их соли, где A' представляет собой необязательное второе подзвено A, иногда указываемое как A_2, если это подзвено присутствует; нижний индекс a' равен 0 или 1, что

указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно; волнистая линия, смежная с A', указывает место ковалентного присоединения к другому подзвену A или к пептидному расщепляемому звену; [HE] представляет собой необязательное усиливающее гидролиз звено, которое является компонентом, обеспечиваемым A или его первым подзвеном; BU представляет собой основное звено; R^{a2} представляет собой необязательно замещенную C_1-C_{12} алкильную группу; а пунктирная кривая линия указывает на необязательную циклизацию так, что в отсутствие указанной циклизации BU представляет собой ациклическое основное звено, имеющее функциональную группу первичного, вторичного или третичного амина в качестве основной функциональной группы ациклического основного звена, или в присутствии указанной циклизации BU представляет собой циклизованное основное звено, в котором R^{a2} и BU вместе с атомом углерода, к которому они оба присоединены, определяют необязательно замещенный спиро C_3-C_{20} гетероцикло, содержащий скелетный основной атом азота функциональной группы вторичного или третичного амина в качестве основной функциональной группы циклического основного звена,

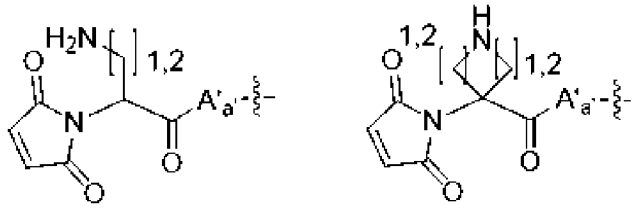
при этом основной атом азота ациклического основного звена или циклического основного звена необязательно предпочтительно защищен азот-защитной группой в зависимости от степени замещения основного атома азота или необязательно протонирован.

[0629] В других вариантах осуществления, в которых нижний индекс q равен 2, 3 или 4, L_B'-A- состоит из одной из структур:



или их соли, где волнистая линия, смежная с A_O, указывает место ковалентного присоединения к B, A_O представляет собой необязательное подзвено A, иногда указываемое как A_2, если это подзвено присутствует, а остальные вариабельные группы соответствуют определению для соединений лекарственный препарат-линкер по формуле **IA**, в которых нижний индекс q равен 1.

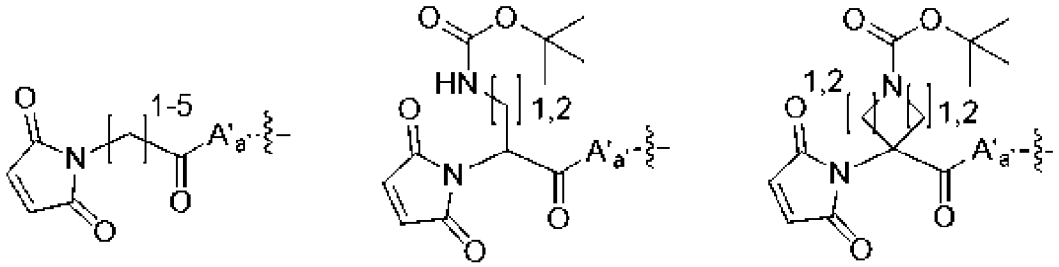
[0630] В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, в которых нижний индекс q равен 1, L_B'-A- соединение лекарственный препарат-линкер имеет или состоит из одной из структур:



или их соли, в частности в виде кислотно-аддитивной соли, где A' и нижний индекс a' соответствуют описанию выше. Эти L_B'-A- структуры являются типовыми

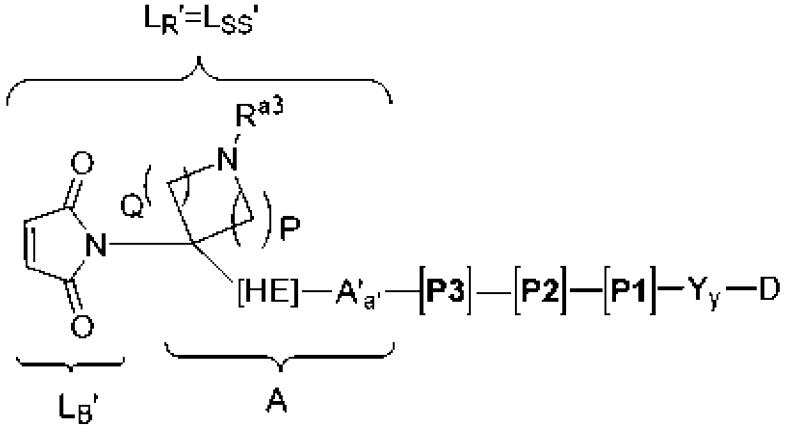
самостабилизирующимися фрагментами-предшественниками, иногда указываемыми как L_{SS}', поскольку каждый из них способен превращаться в фрагмент L_{SS} соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат.

[0631] В других предпочтительных вариантах осуществления L_B'-A- соединение лекарственный препарат-линкер имеет или состоит из одной из структур:



где A' и нижний индекс a' соответствуют описанию выше для соединений лекарственный препарат-линкер по формуле **IA**, в которых нижний индекс q равен 1.

[0632] В предпочтительных вариантах осуществления L_{SS}'-содержащих соединений лекарственный препарат-линкер фрагмент L_{SS}' содержит циклическое основное звено в виде гетероцикло. Типовые соединения лекарственный препарат-линкер, имеющие первичные линкеры, в которых пептидное расщепляемое звено представляет собой трипептид, представлены структурой формулы **IB**:

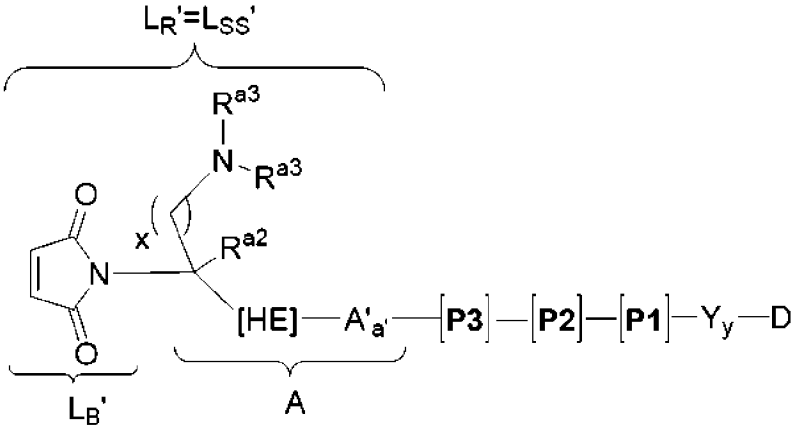


(IB)

или ее соли, где HE представляет собой необязательное усиливающее гидролиз звено; A' при наличии представляет собой подзвено первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно; нижний индекс P равен 1 или 2; нижний индекс Q находится в диапазоне от 1 до 6, предпочтительно нижний индекс Q равен 1 или 2, более предпочтительно нижний индекс Q имеет то же значение, что и нижний индекс P; и где R^{a3} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный -C_1-C_4 алкилен-(C_6-C_{10} арил) или -R^{PEG1}-O-$(CH_2CH_2O)_{1-36}$-R^{PEG2}, где R^{PEG1} представляет собой C_1-C_4 алкилен, R^{PEG2} представляет собой -H или C_1-C_4 алкилен, где основной атом азота, связанный с R^{a3}, является необязательно протонированным в солевой форме, предпочтительно фармацевтически приемлемой солевой форме, или R^{a3} представляет собой азот-защитную группу, такую как подходящая кислото-лабильная защитная группа;

P1, P2 и P3 соответствуют вышеприведенному определению для любого из вариантов осуществления пептидных расщепляемых звеньев для фрагмента лекарственный препарат-линкер соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат; а остальные вариабельные группы соответствуют описанию для соединения лекарственный препарат-линкер по формуле **IA**.

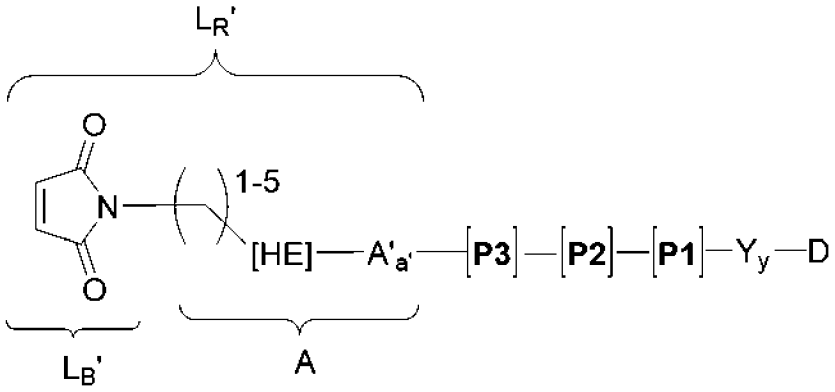
[0633] В других предпочтительных вариантах осуществления L_{SS}'-содержащих соединений лекарственный препарат-линкер по формуле **IA** фрагмент L_{SS}' содержит ациклическое основное звено. Типовые соединения лекарственный препарат-линкер, имеющие первичный линкер, в котором пептидное расщепляемое звено представляет собой дипептид, представлены структурами формулы **IE**:



(формула IE)

или ее соли, где HE представляет собой необязательное усиливающее гидролиз звено; A' при наличии представляет собой подзвено первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно; нижний индекс x равен 1 или 2; R^{a2} представляет собой водород или $-CH_3$ или $-CH_2CH_3$; R^{a3} в каждом случае независимо представляет собой водород, $-CH_3$ или $-CH_2CH_3$, или оба R^{a3} вместе с атомом азота, к которому они присоединены, определяют азетидинильный, пирролидинильный или пиперидинильный гетероциклил, в котором определенный таким образом первичный, вторичный или третичный амин необязательно протонирован в солевой форме, предпочтительно фармацевтически приемлемой солевой форме; P1, P2 и P3 соответствуют вышеприведенному определению для любого из вариантов осуществления пептидных расщепляемых звеньев, а остальные вариабельные группы соответствуют описанию для соединения лекарственный препарат-линкер по формуле **IA**.

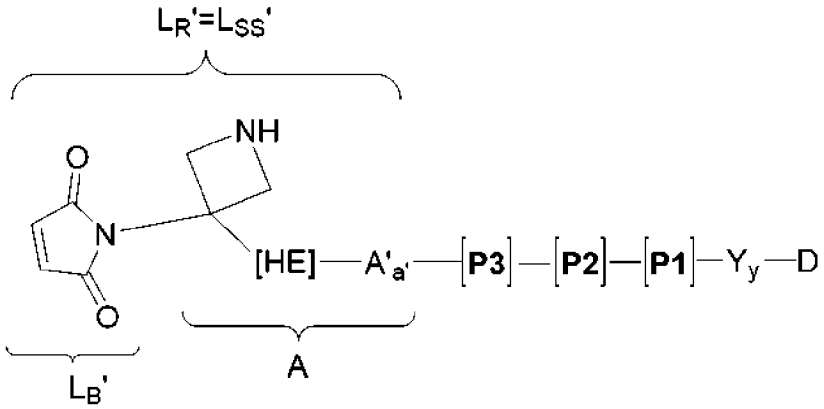
[0634] В других предпочтительных вариантах осуществления первичный линкер не содержит основное звено. Типовые соединения лекарственный препарат-линкер, имеющие первичный линкер, в котором пептидное расщепляемое звено представляет собой трипептид, представлены структурой формулы **IH**:



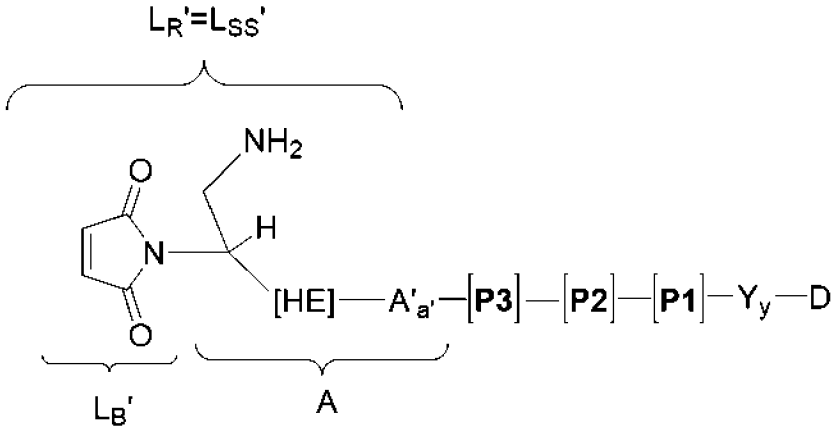
(формула IH)

или ее соли, где HE представляет собой необязательное усиливающее гидролиз звено; A' при наличии представляет собой подзвено первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A';P1, P2 и P3 соответствуют вышеприведенному определению для любого из вариантов осуществления пептидных расщепляемых звеньев фрагмента лекарственный препарат-линкер соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат, а остальные вариабельные группы соответствуют описанию для любого из вариантов осуществления соединения лекарственный препарат-линкер по формуле **IA**.

[0635] В более предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует циклическое основное звено в виде гетероцикло в линкерном звене, соединение лекарственный препарат-линкер представлено структурой:



необязательно в солевой форме, в частности фармацевтически приемлемой солевой форме, а в более предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует ациклическое основное звено в линкерном звене, соединение лекарственный препарат-линкер представлено структурой:

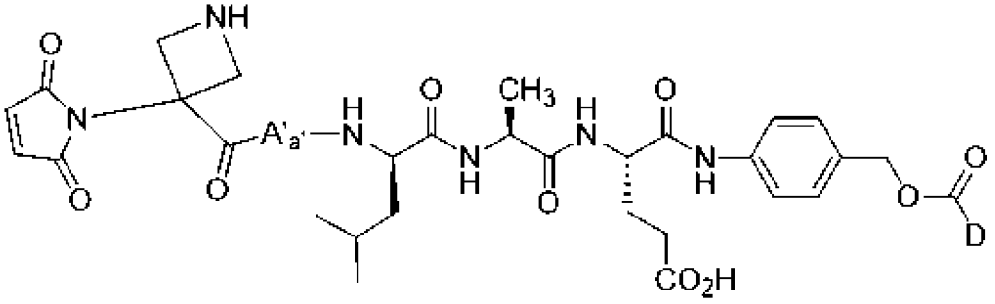


необязательно в солевой форме, при этом вариабельные группы L_{SS}'-содержащего соединения лекарственный препарат-линкер соответствуют вышеприведенному описанию для соединения лекарственный препарат-линкер, имеющего ациклическое основное звено или циклическое основное звено в виде гетероцикло.

[0636] В любом из вышеприведенных фрагментов лекарственный препарат-линкер HE предпочтительно присутствует как -C(=O) и/или нижний индекс y равен 1 или 2, что указывает на присутствие одного или двух самоуничтожающихся спейсерных звеньев, соответственно.

[0637] В особенно предпочтительных вариантах осуществления трипептид -[P3]-[P2]-[P1]- в любом из вышеприведенных соединений лекарственный препарат-линкер представляет собой D-Leu-Leu-Cit, D-Leu-Leu-Lys, D-Leu-Leu-Met(O), D-Leu-Ala-Glu или Pro-Ala(Nap)-Lys, где Met(O) представляет собой метионин, в котором атом серы окислен до сульфоксида, Cit представляет собой цитруллин, а Ala(Nap) представляет собой аланин, в котором его метильная боковая цепь замещена нафт-1-илом.

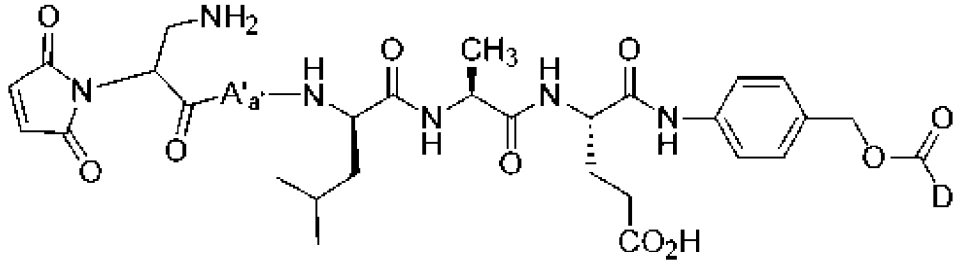
[0638] В особенно предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует циклическое основное звено в виде гетероцикло в линкерном звене, соединение лекарственный препарат-линкер представлено структурой:



и ее солью, где нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно, где A' представляет собой остаток амино-содержащей кислоты формулы **3a**, **4a** или **5a**, описанный в данном документе для второго необязательного звена растяжения или подзвена первого необязательного звена растяжения, или A' представляет собой α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток; и D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, имеющий вторичную аминогруппу в качестве места присоединения к линкерному звену фрагмента

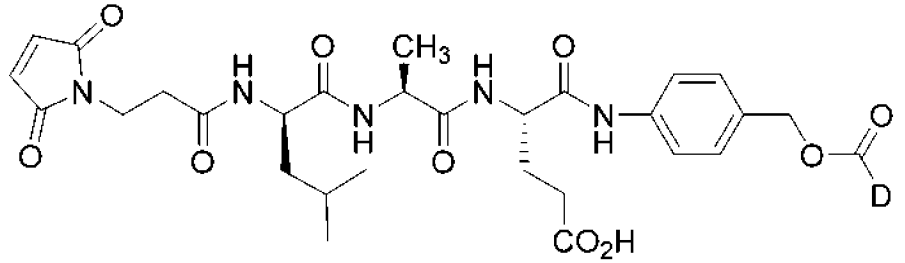
лекарственный препарат-линкер.

[0639] В других особенно предпочтительных вариантах осуществления, в которых присутствует ациклическое основное звено в линкерном звене, соединение лекарственный препарат-линкер представлено структурой:

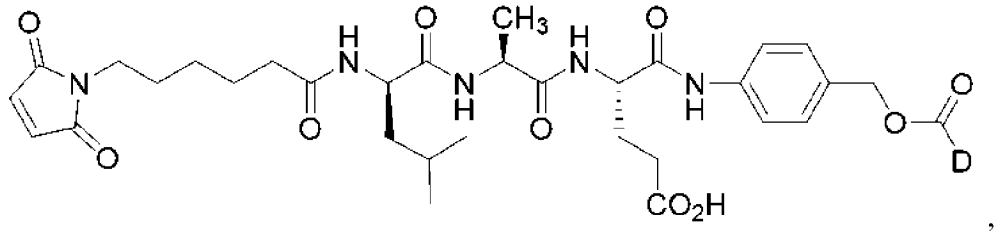


или ее солью, где вариабельные группы соответствуют вышеприведенному описанию для соединений лекарственный препарат-линкер, имеющих циклическое основное звено.

[0640] В других особенно предпочтительных вариантах осуществления, в которых основное звено отсутствует, соединение лекарственный препарат-линкер представлено структурой:



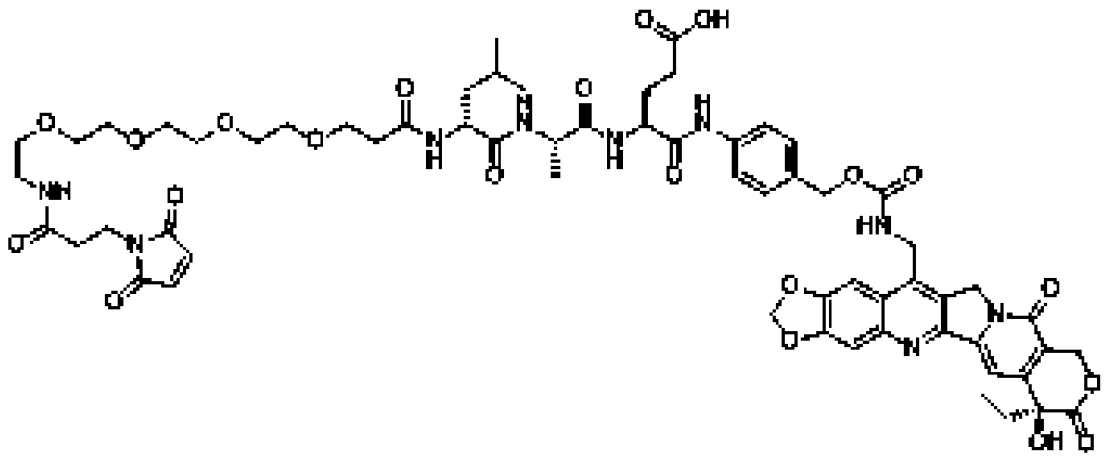
или



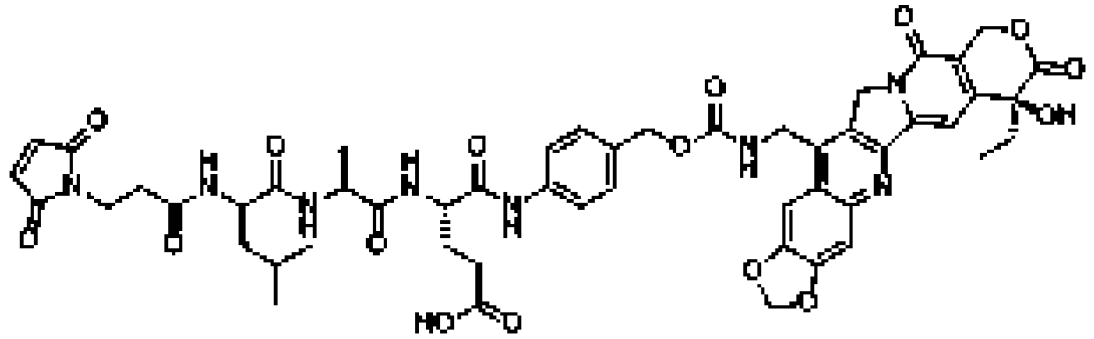
,

или ее солью, где вариабельные группы соответствуют вышеприведенному описанию для соединений лекарственный препарат-линкер, имеющих циклическое основное звено.

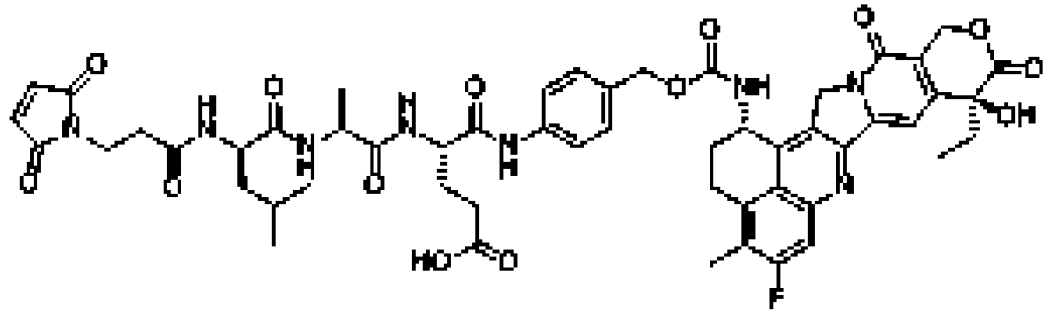
[0641] В некоторых вариантах осуществления соединение лекарственный препарат-линкер представлено:



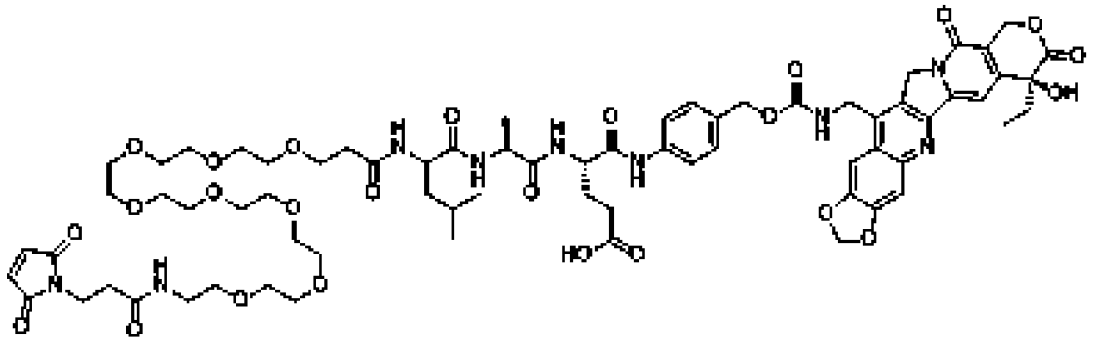
,



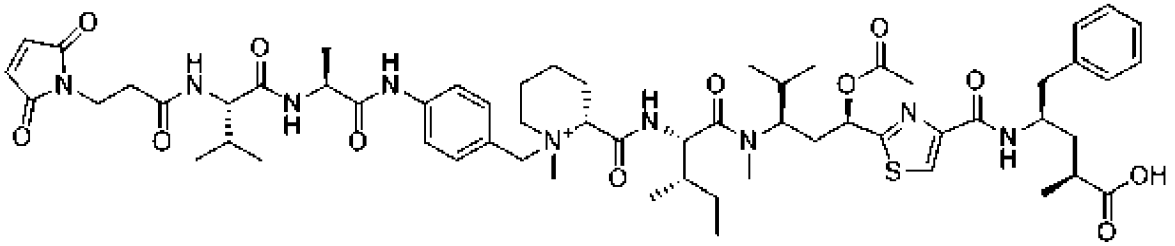
,



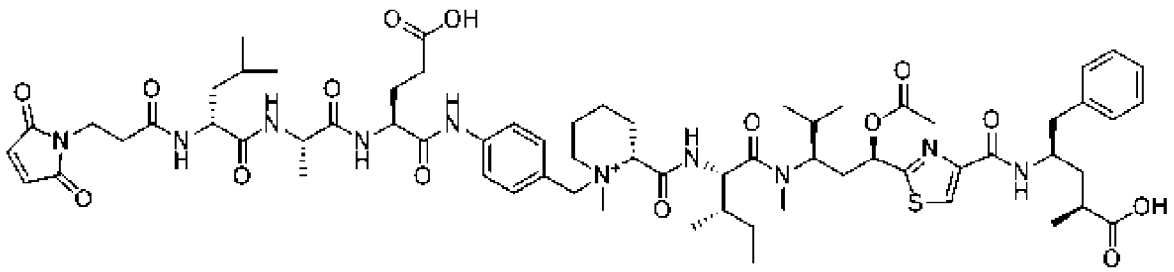
,

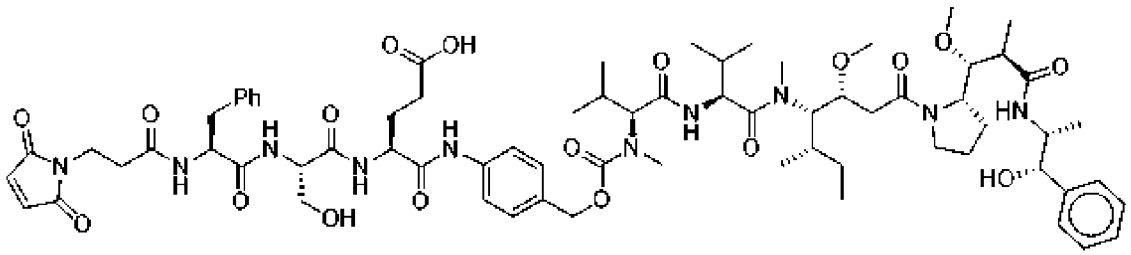


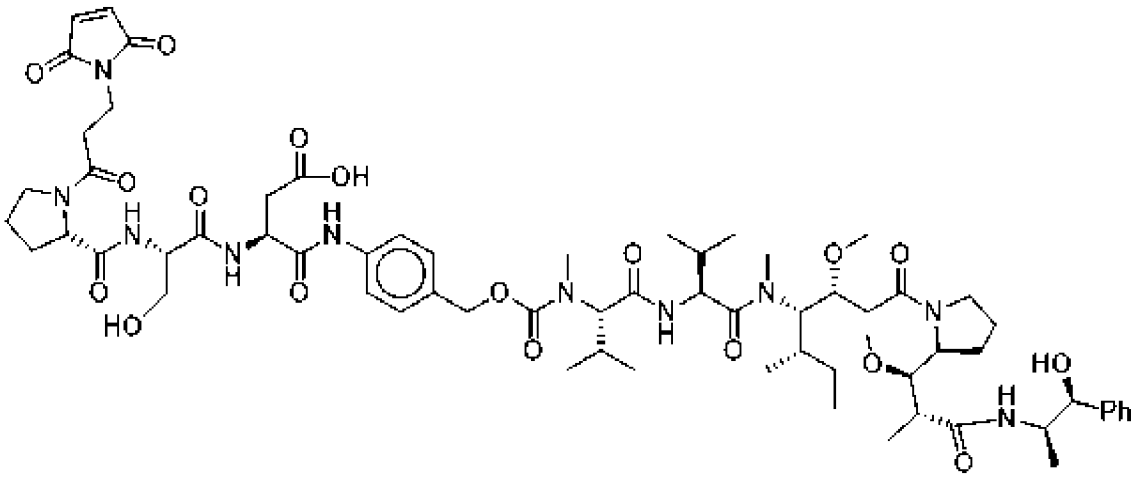
,

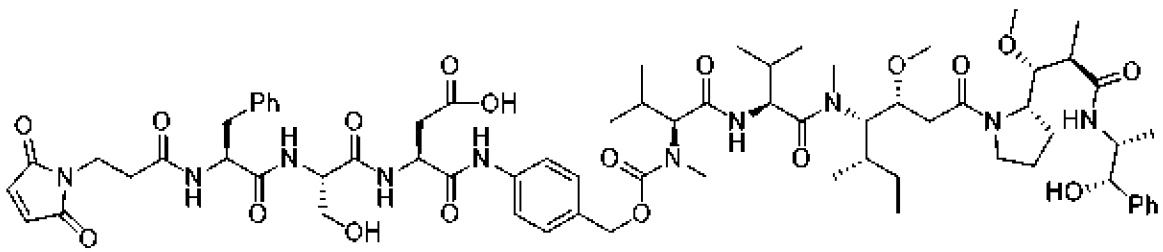


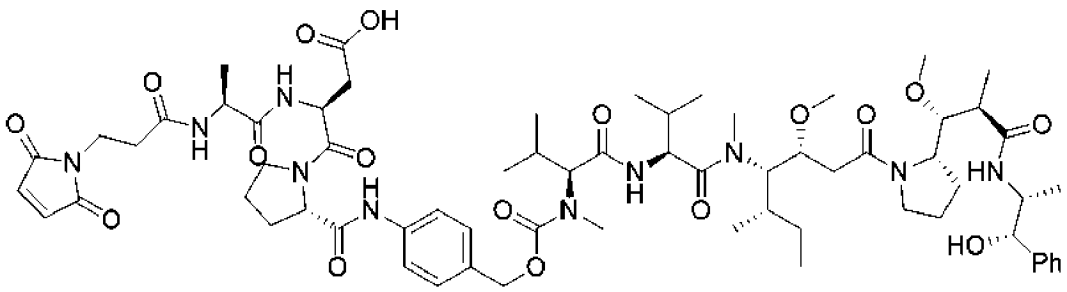
,

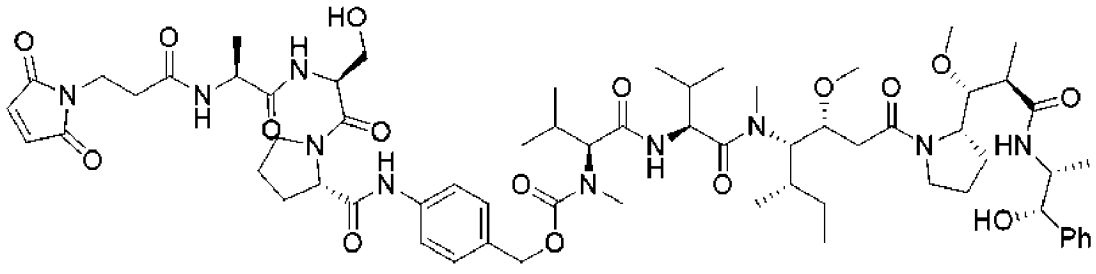


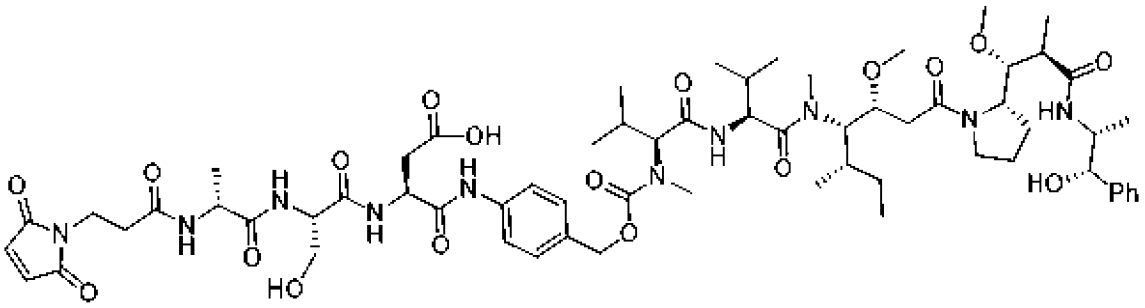




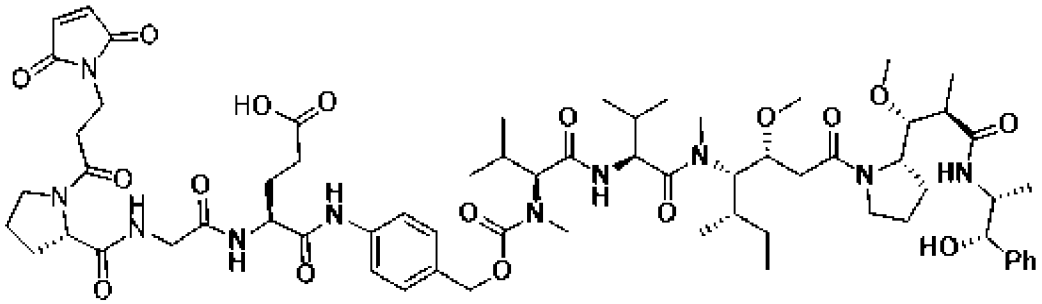




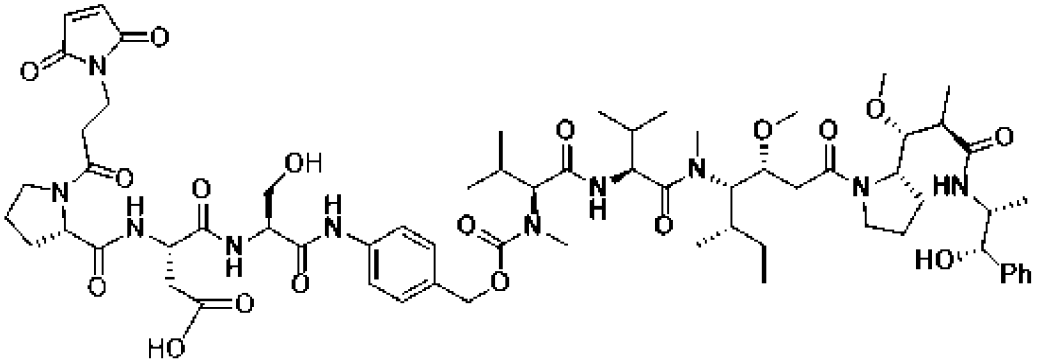




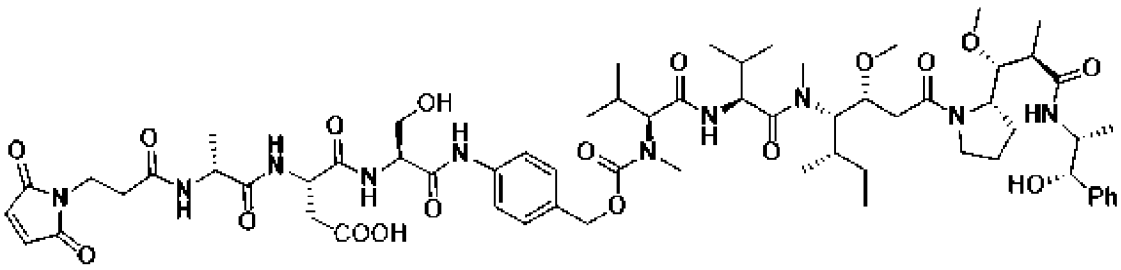
,



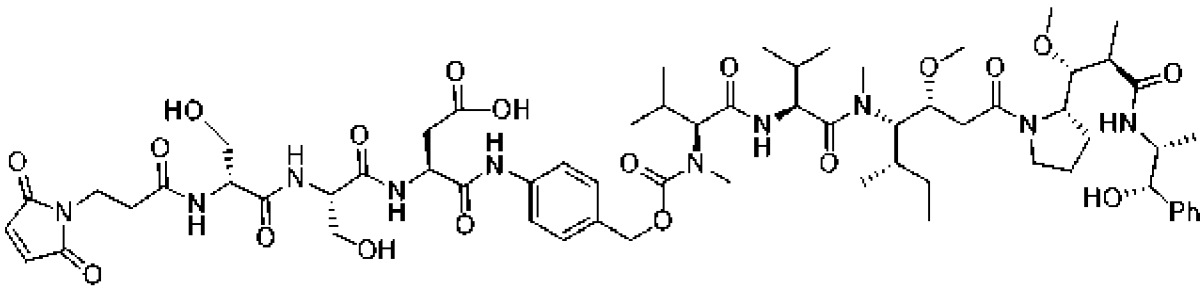
,



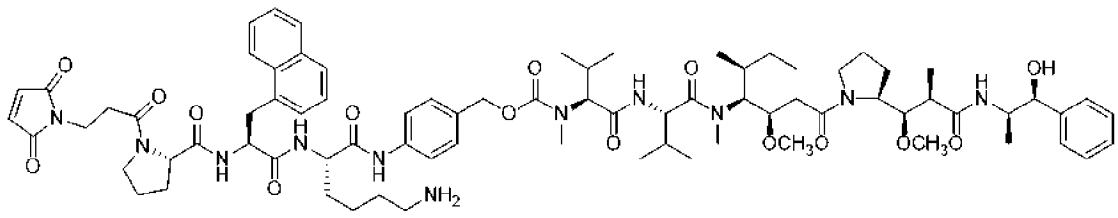
,



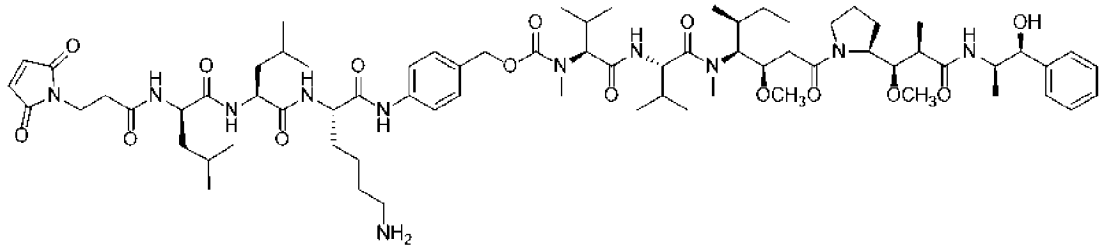
,

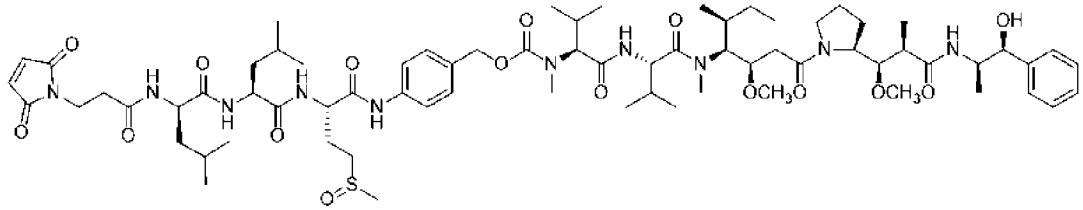


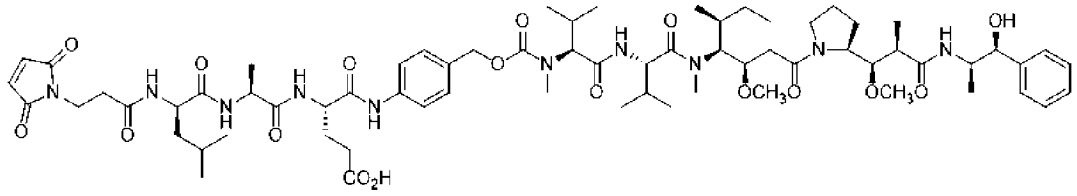
,

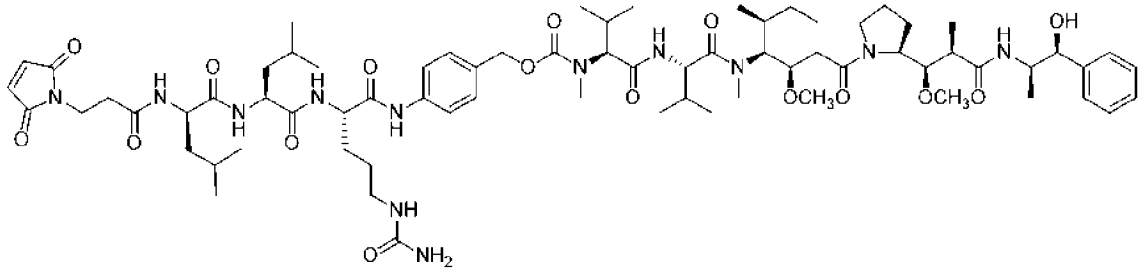


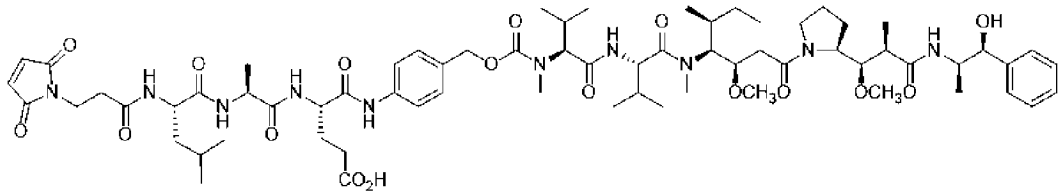
,

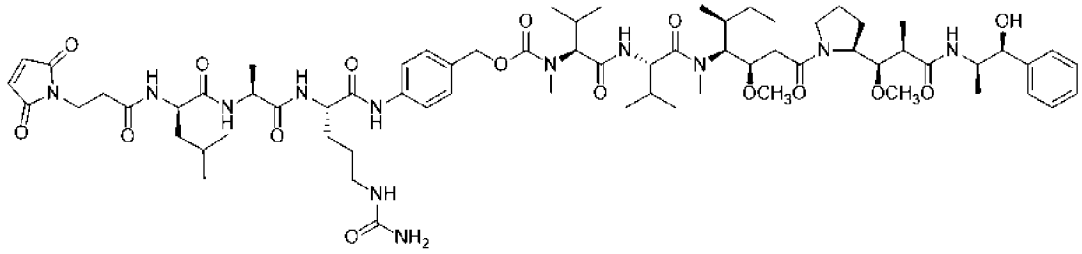

,

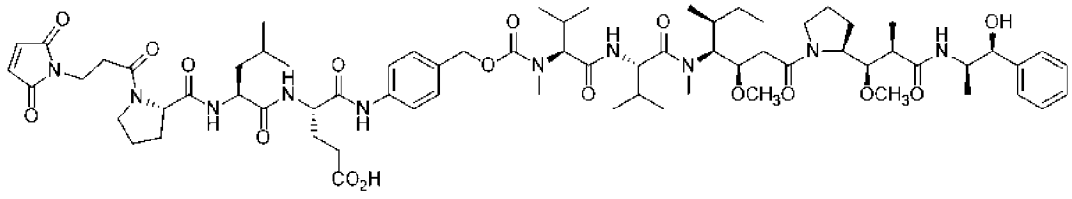

,

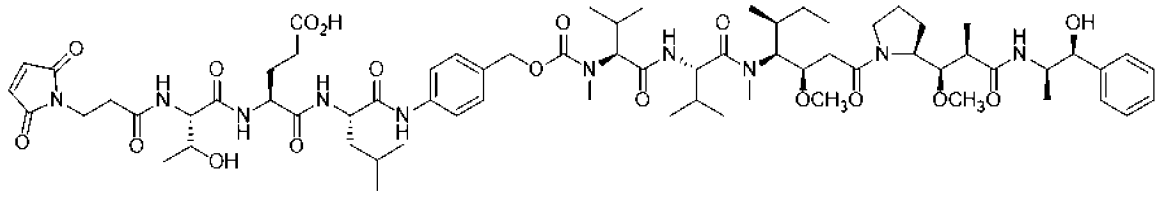

,

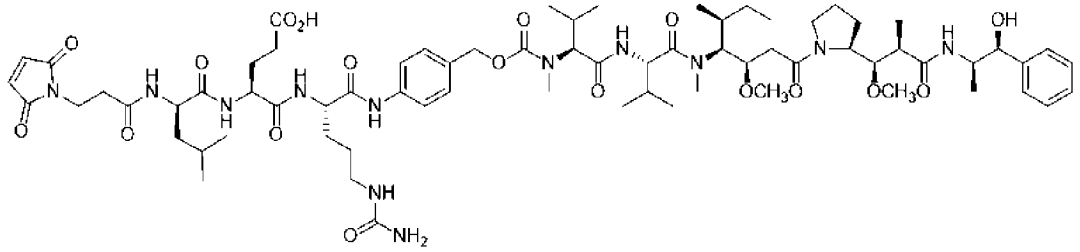

,


,

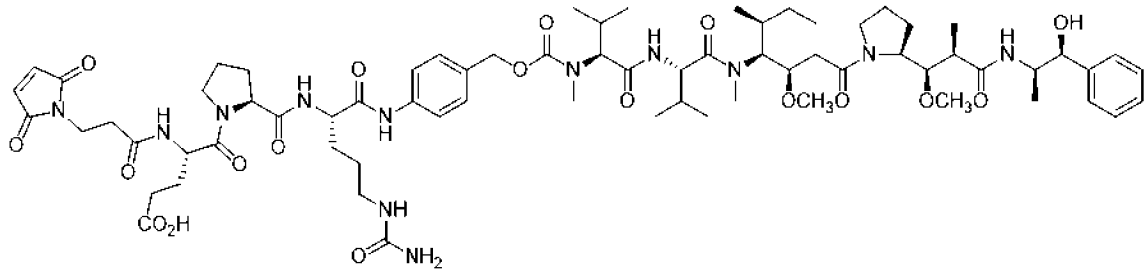

,


,

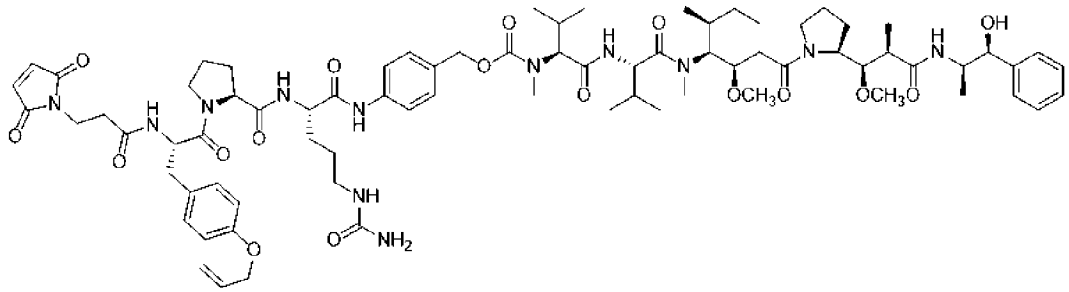

,



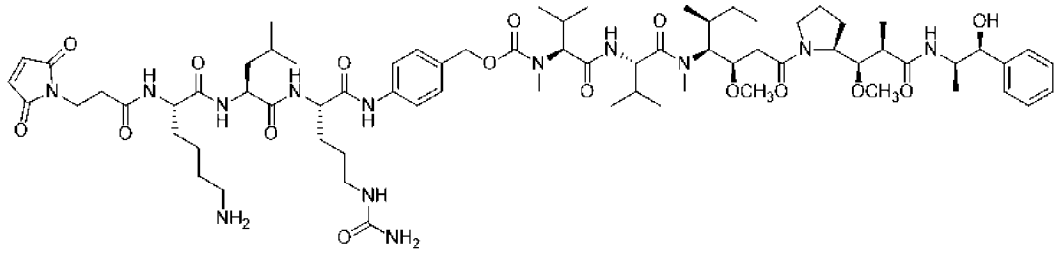
,



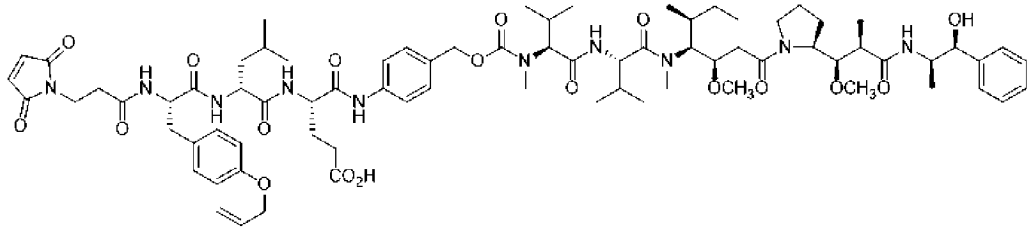
,



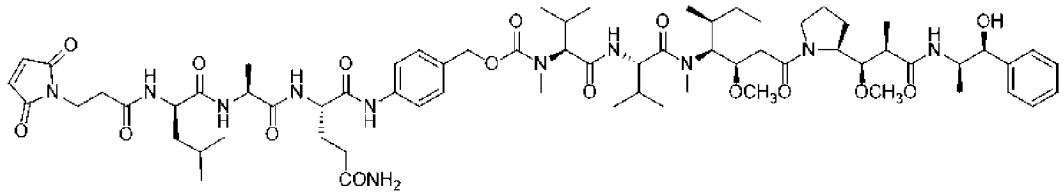
,



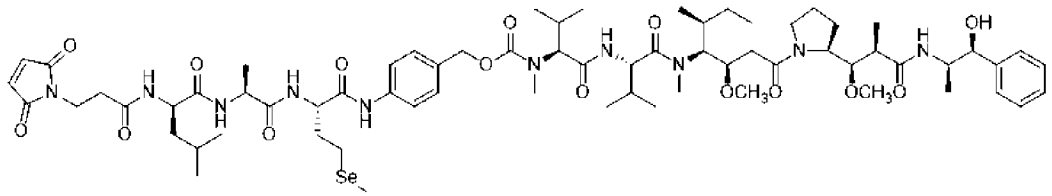
,



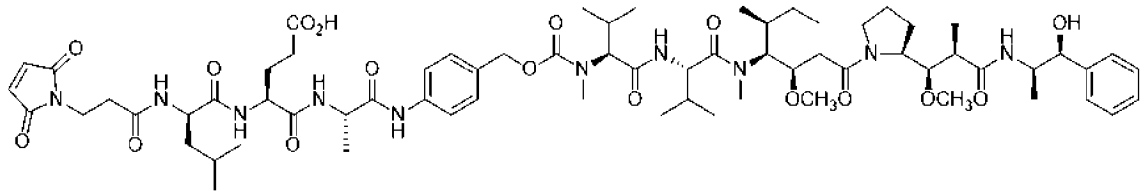
,

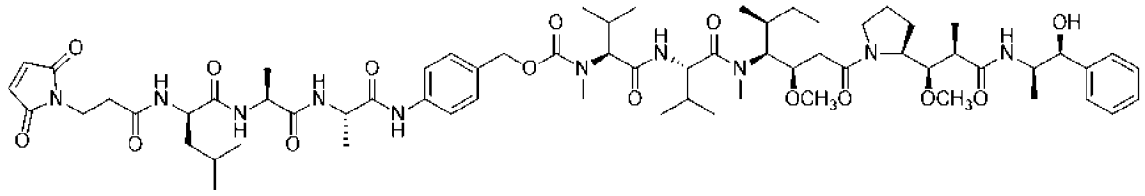


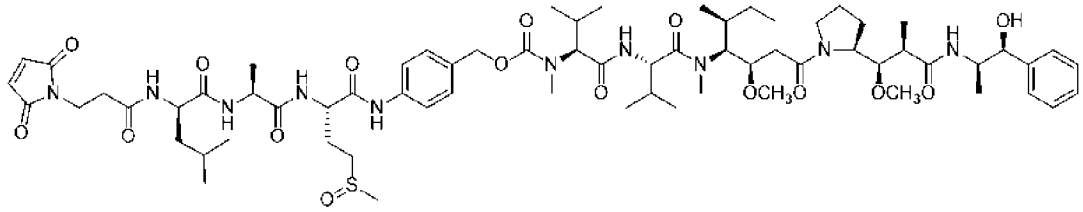
,

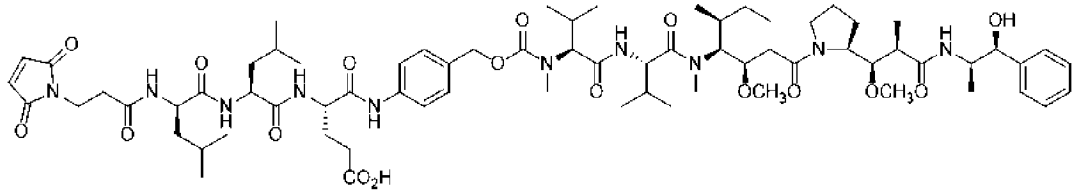


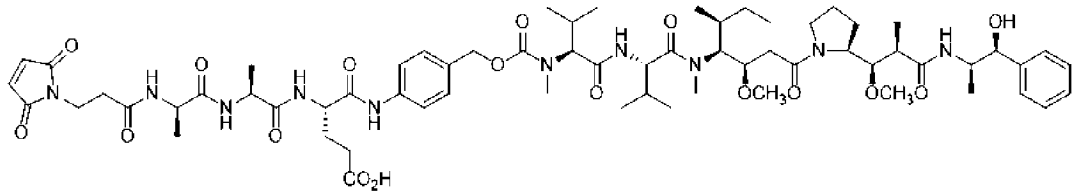
,

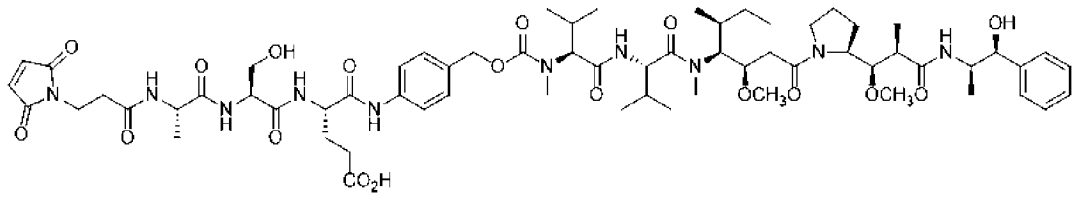

,

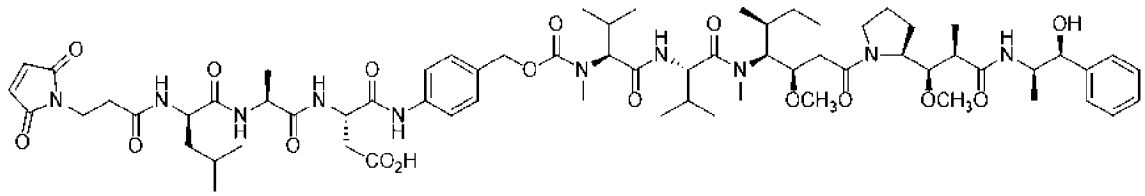

,

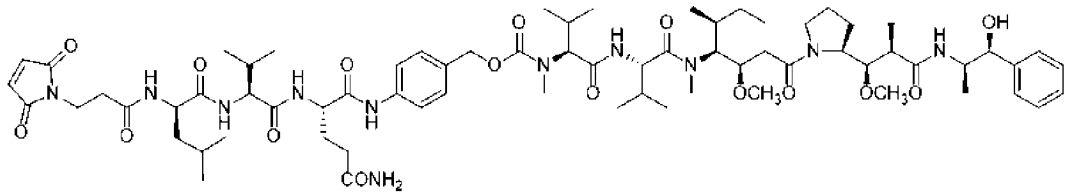

,

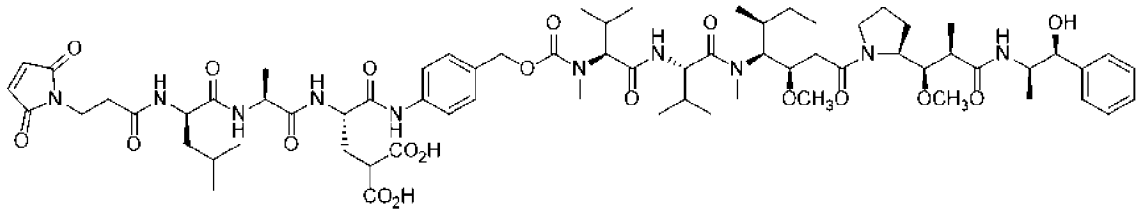

,

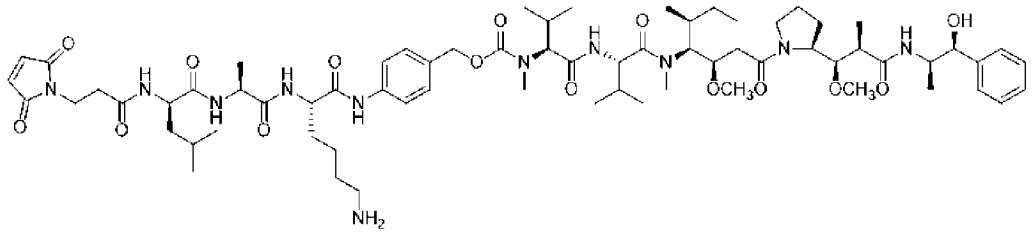

,

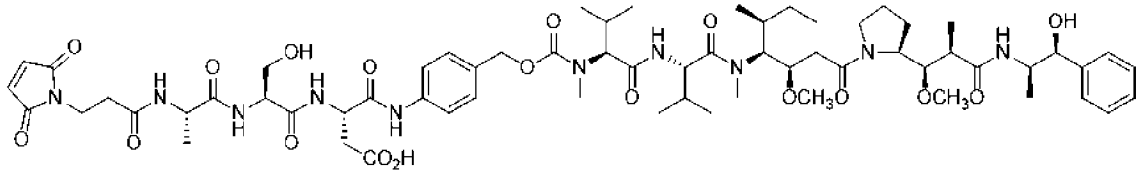

,

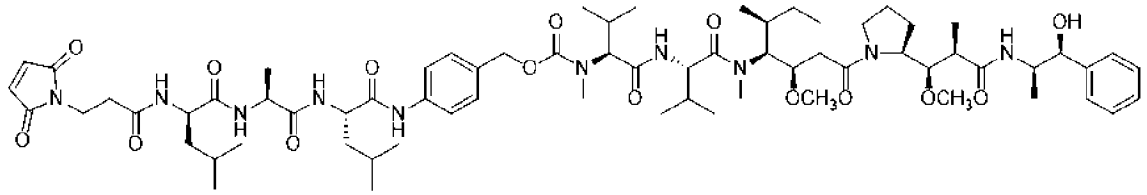

,

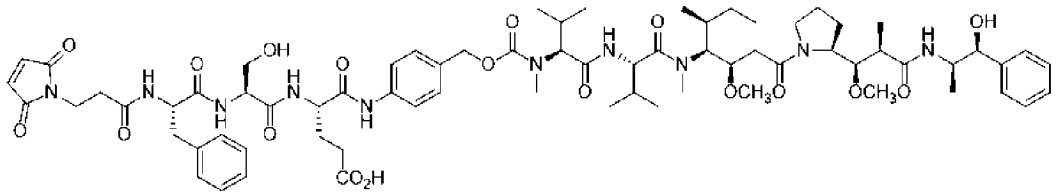

,

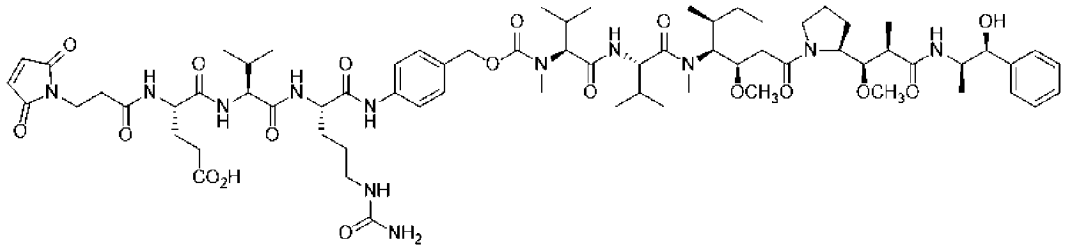

,

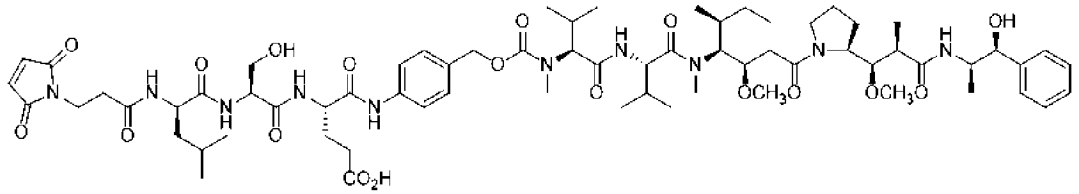

,

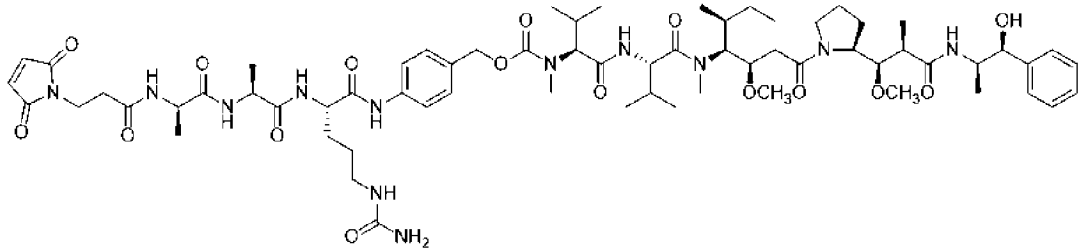

,

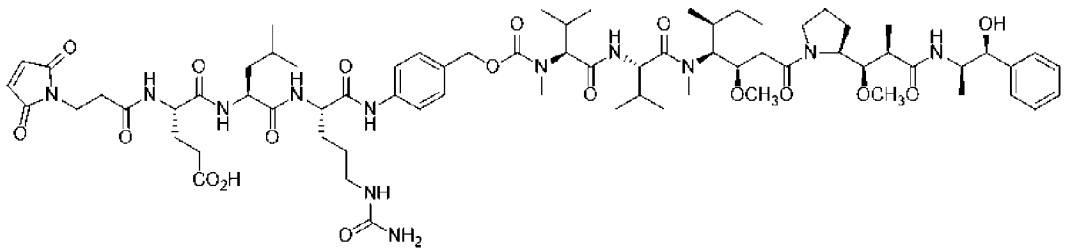

,

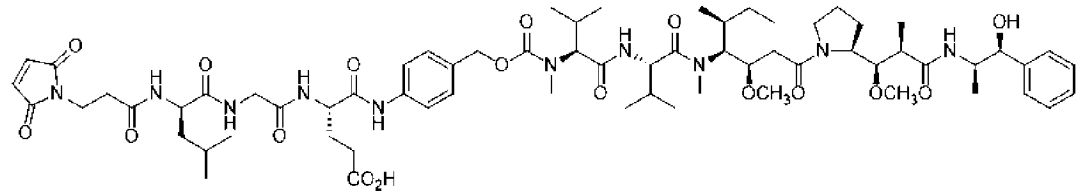

,


,

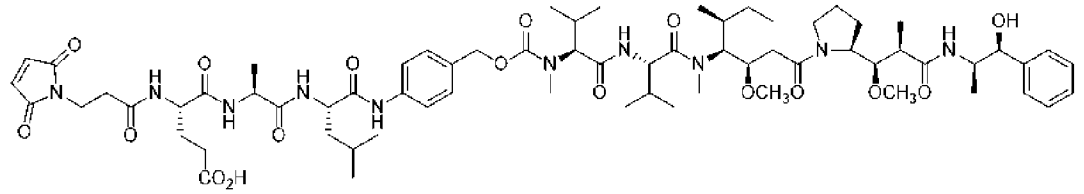

,


,

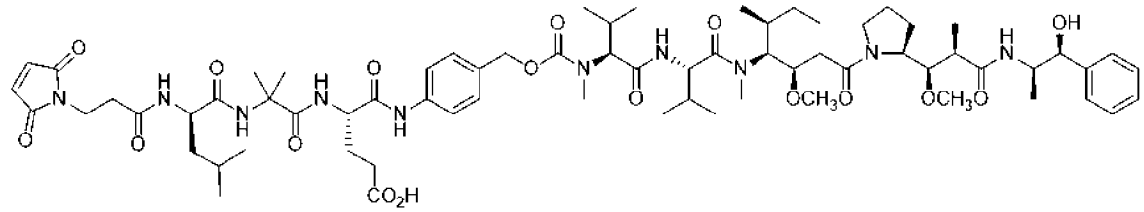

,



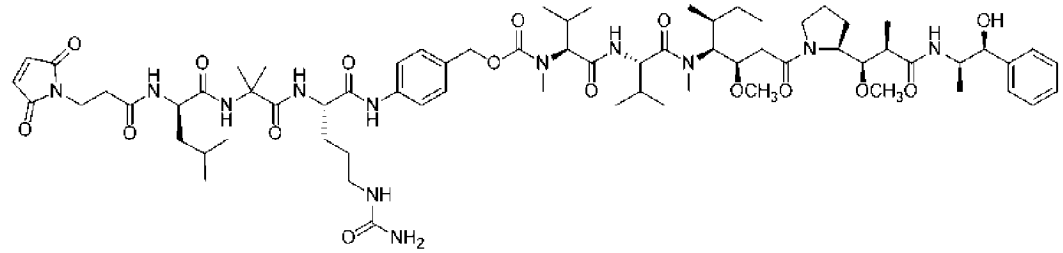
,



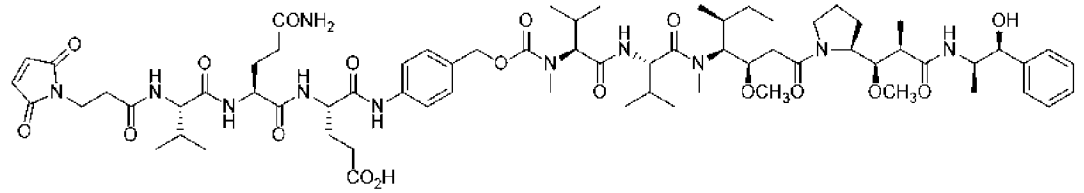
,



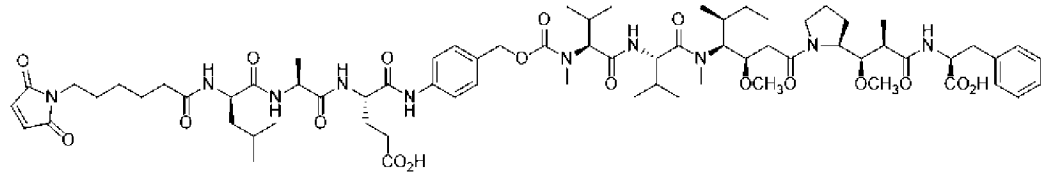
,



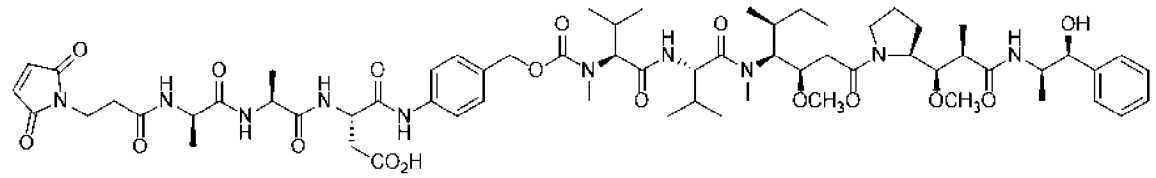
,



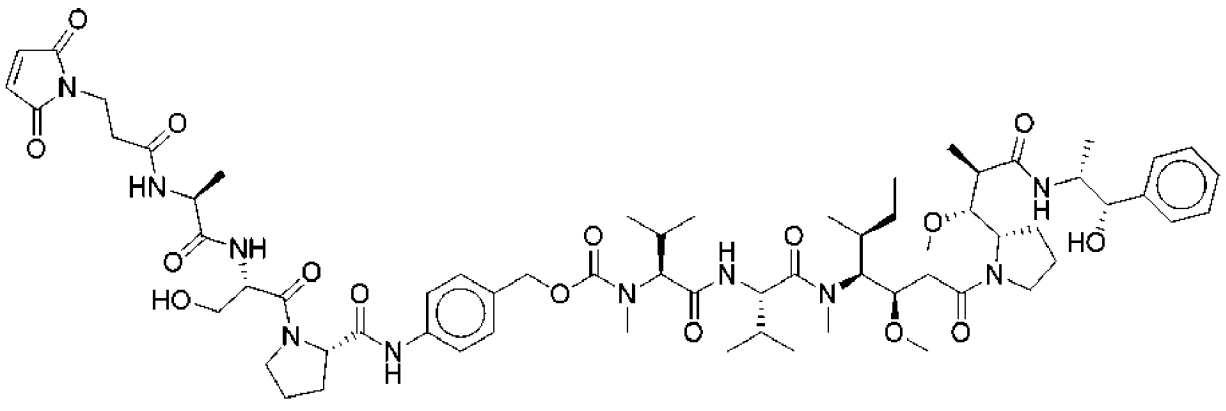
,



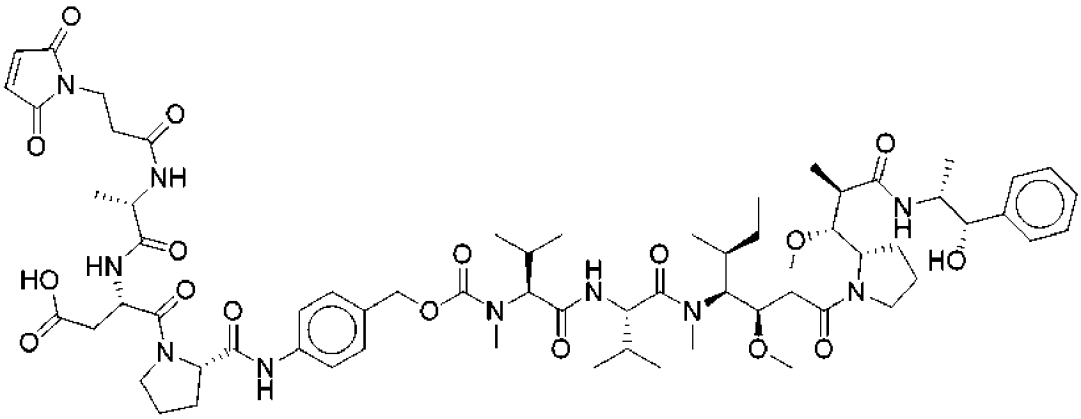
,



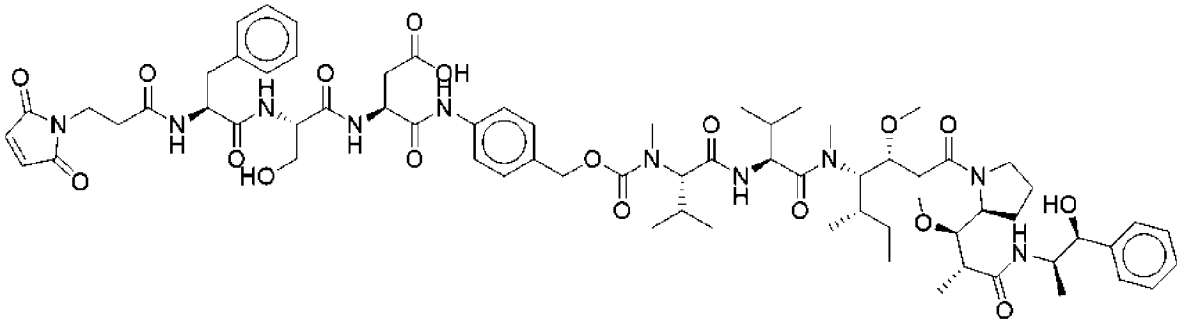
,



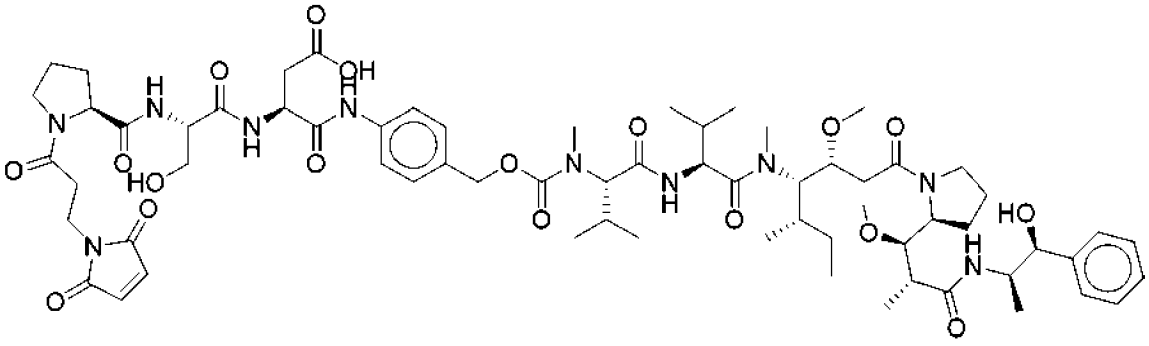
,



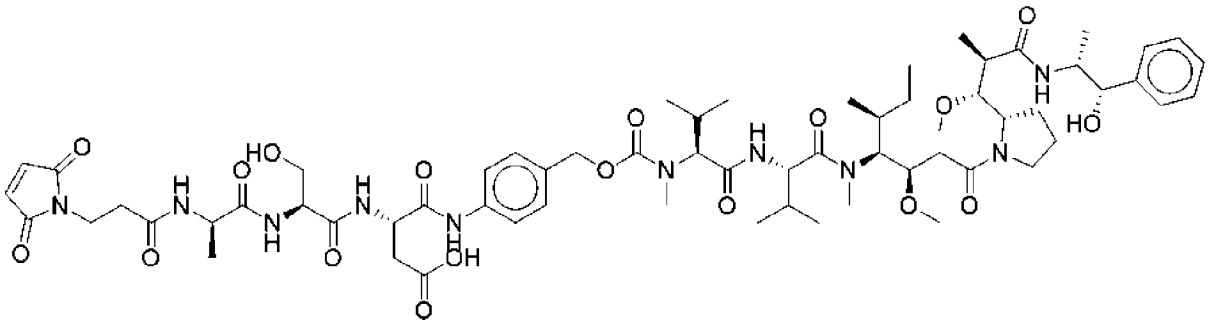
,



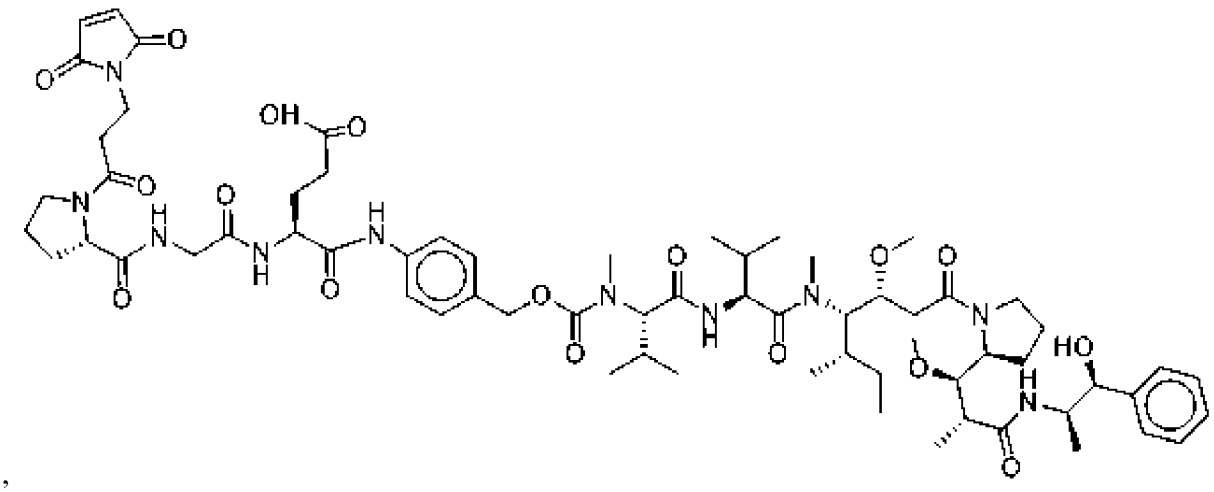
,



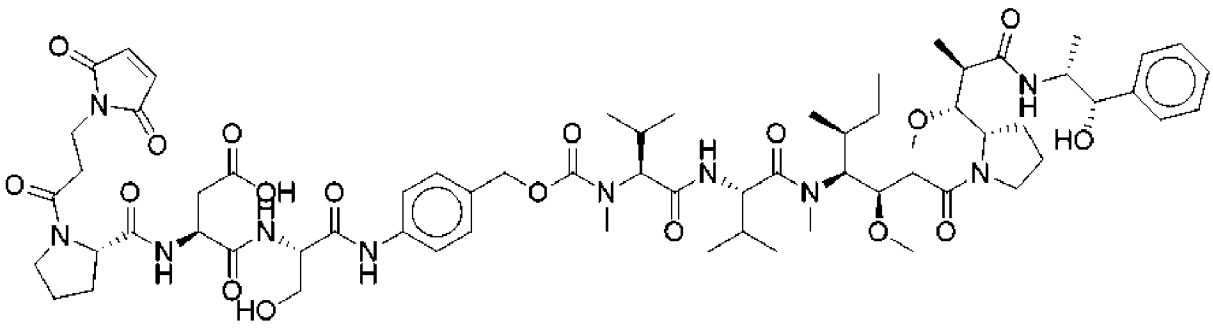
,



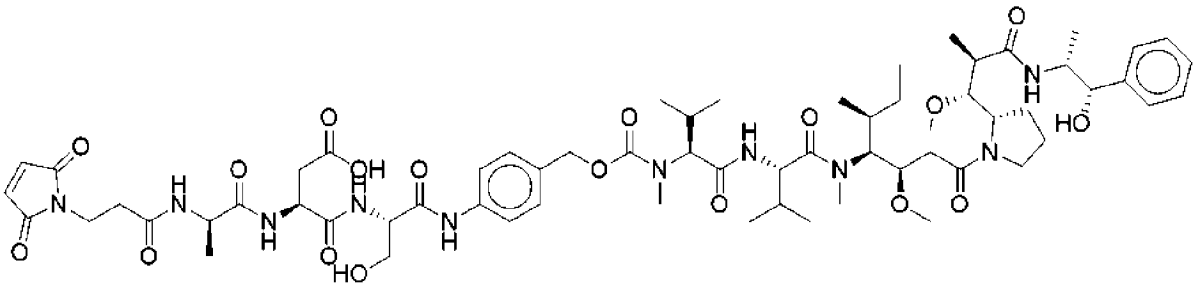
,



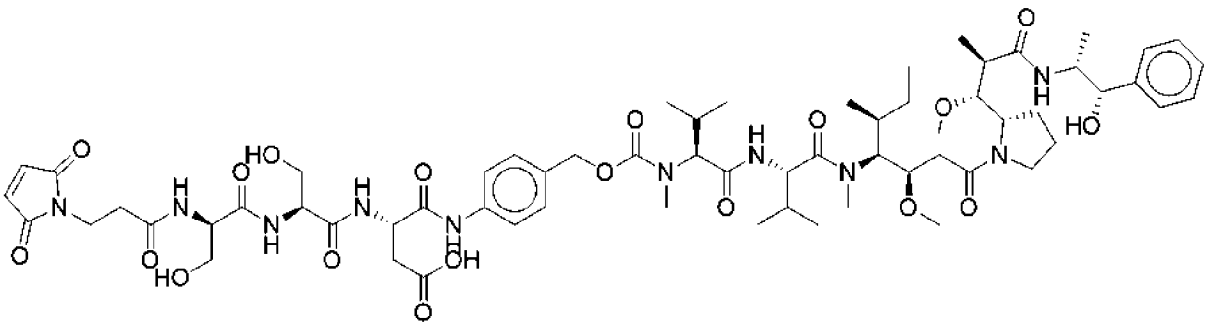
,



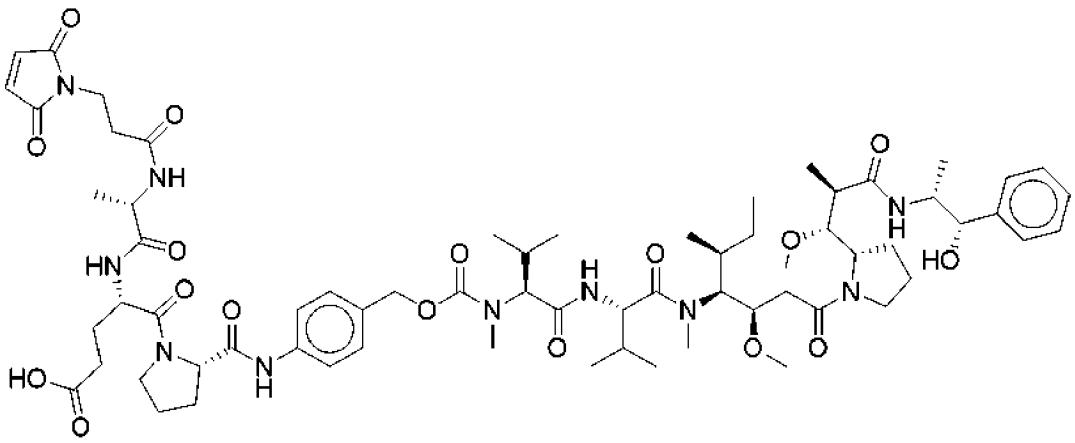
,



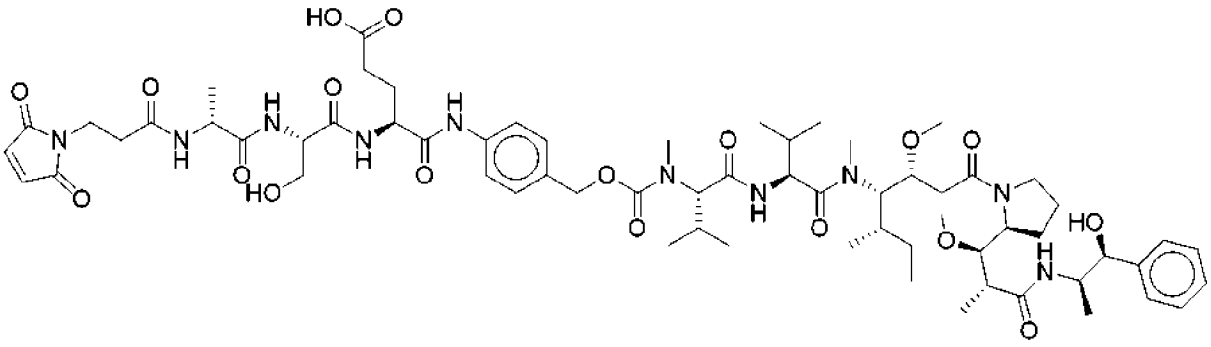
,



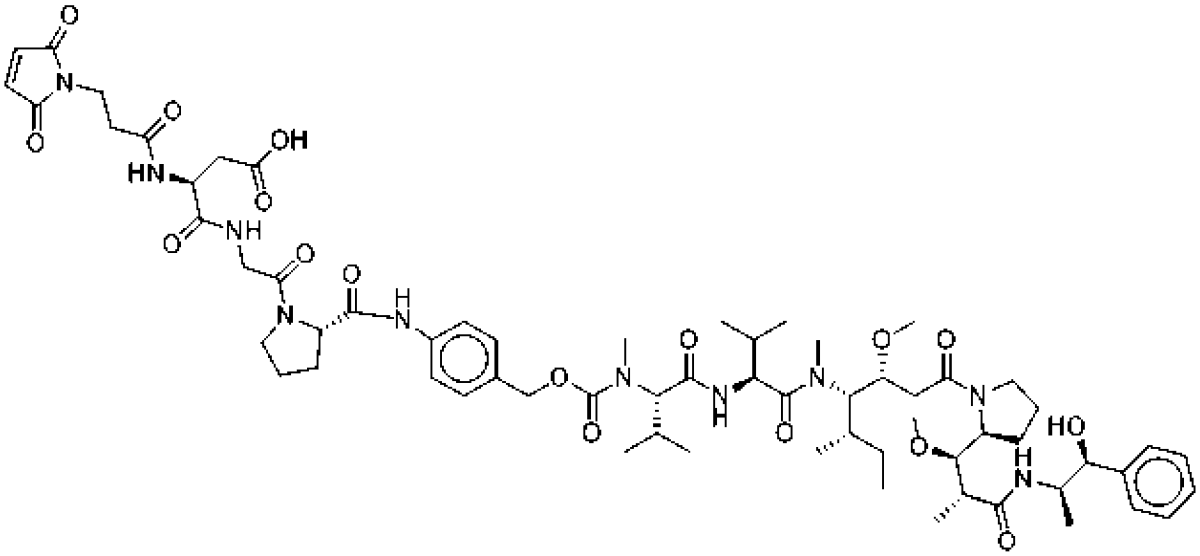
,



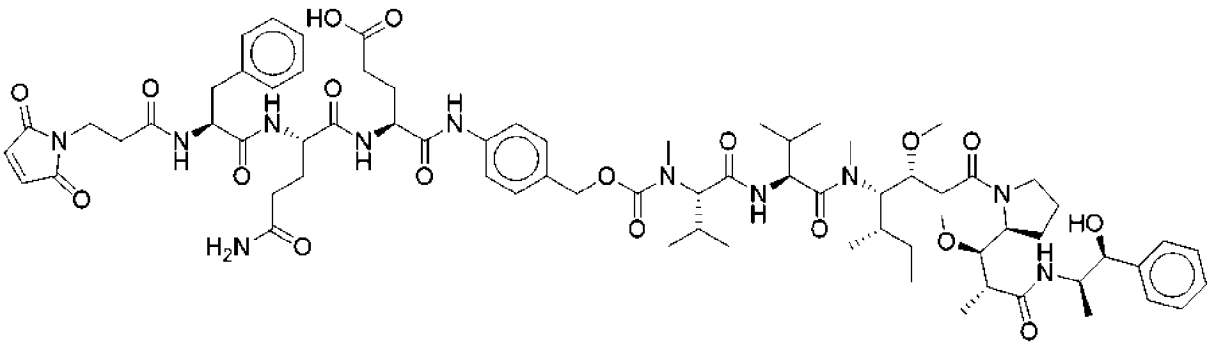
,



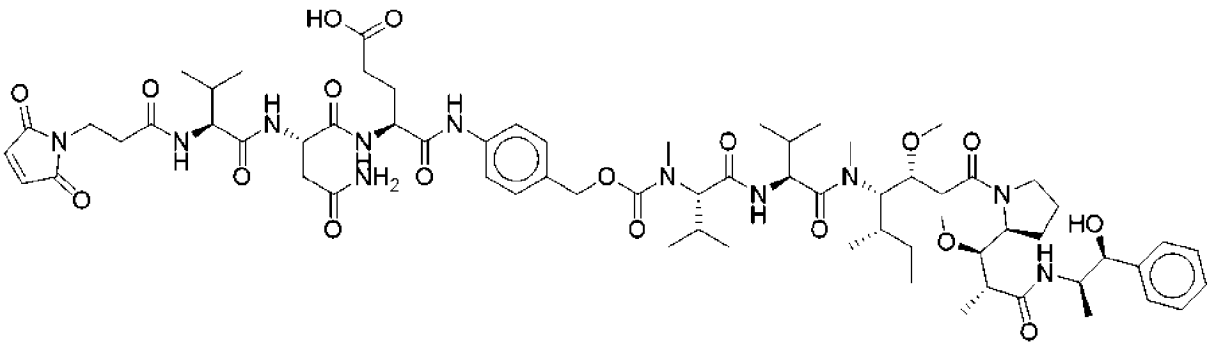
,



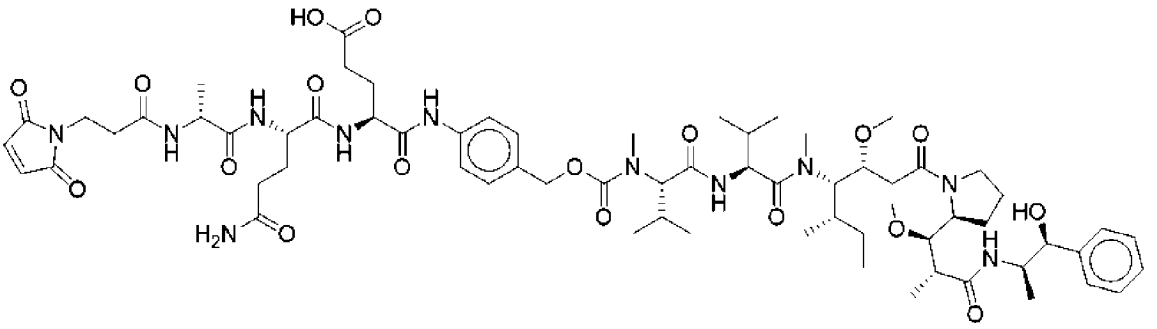
,



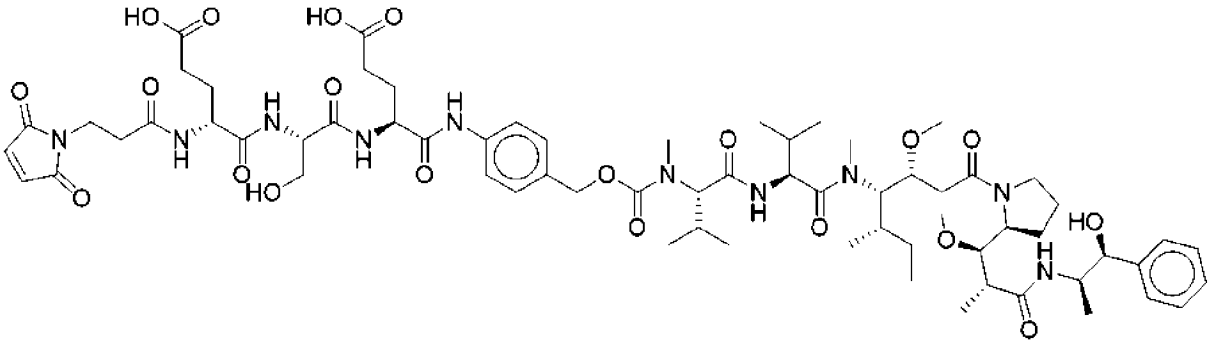
,



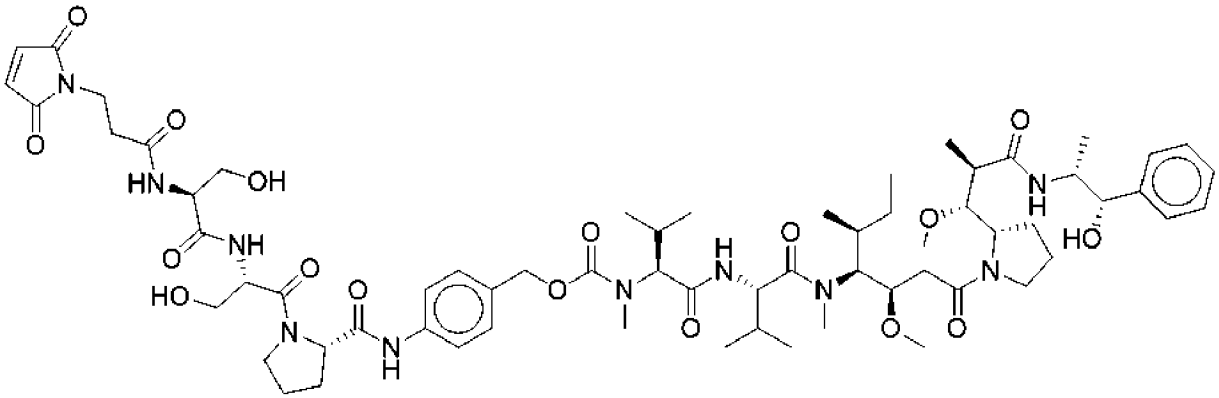
,



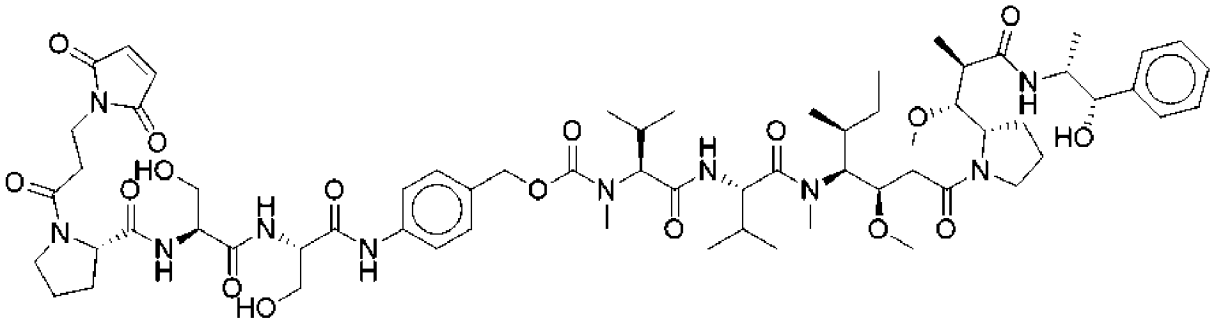
,



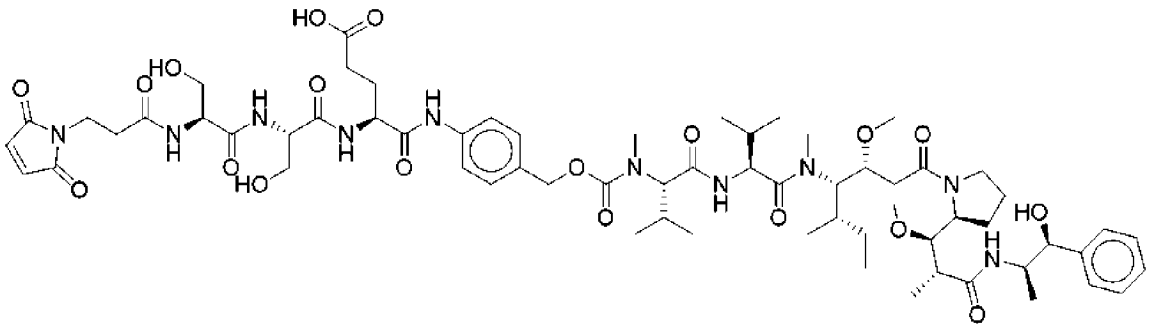
,



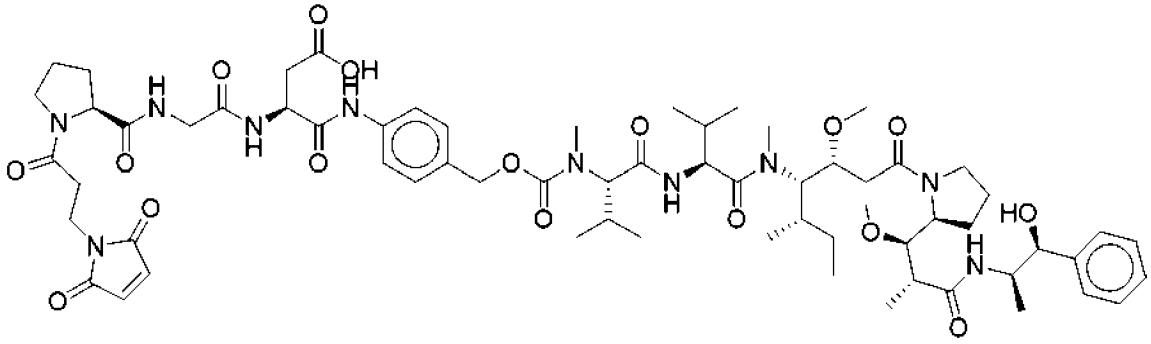
,



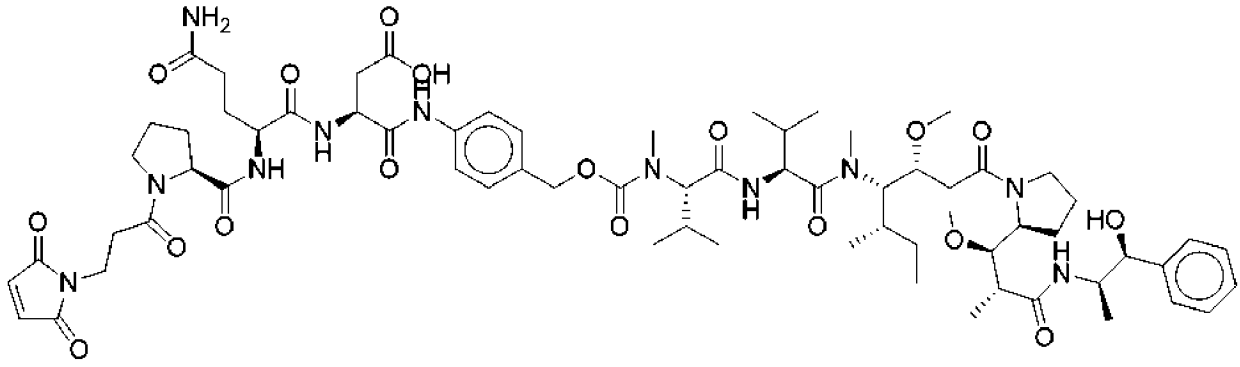
,



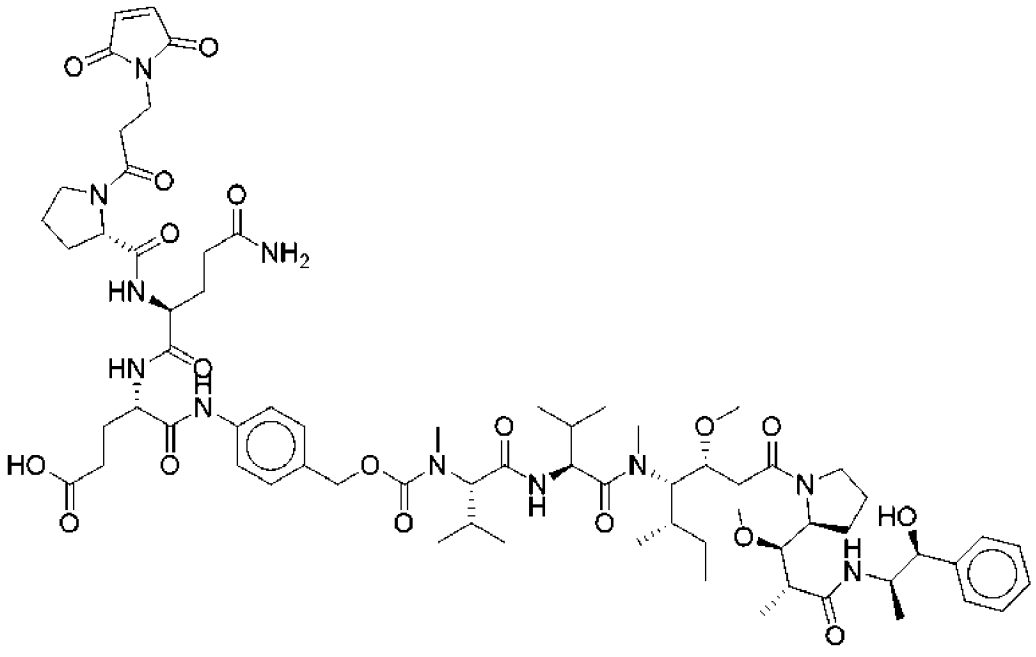
,



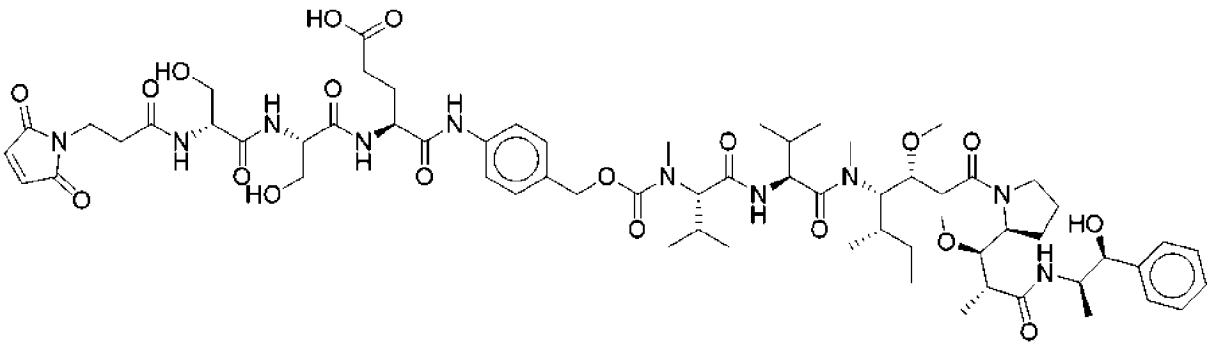
,



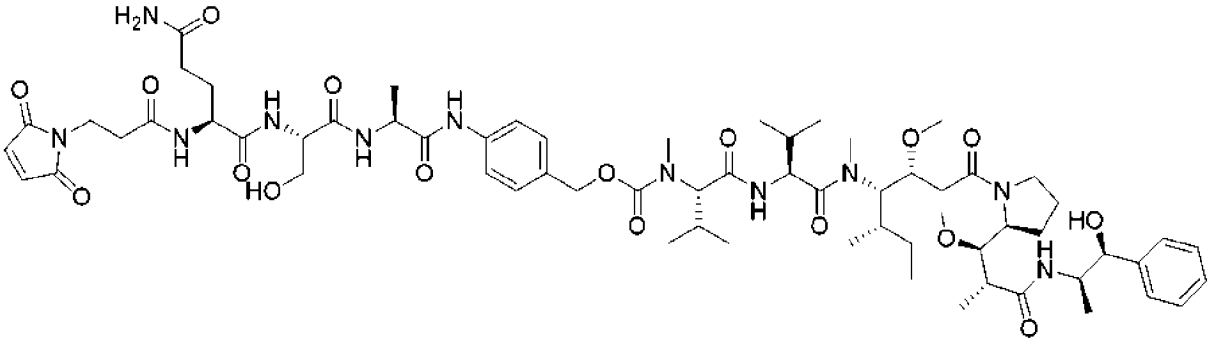
,



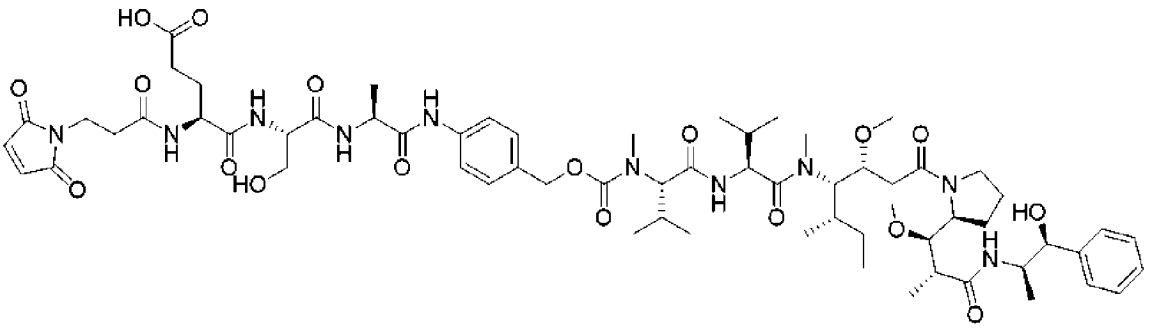
,



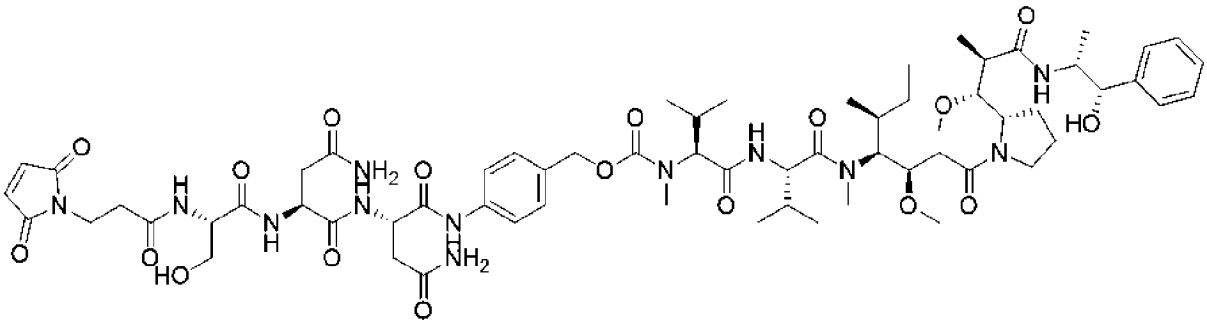
,



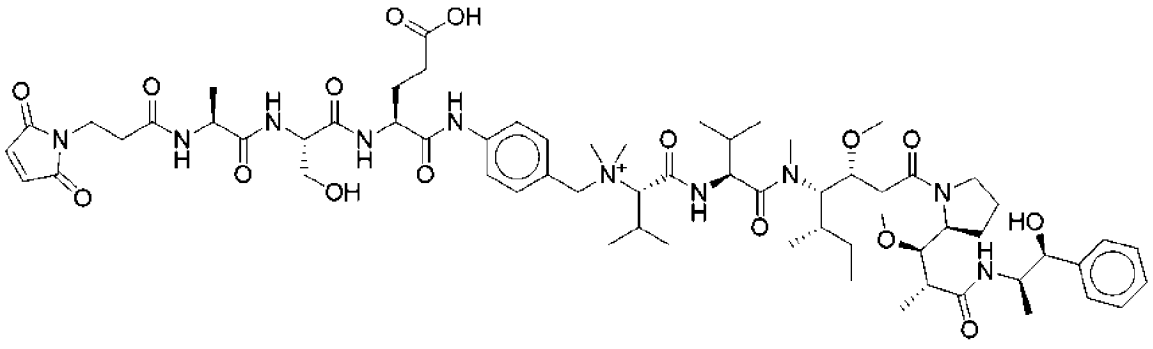
,



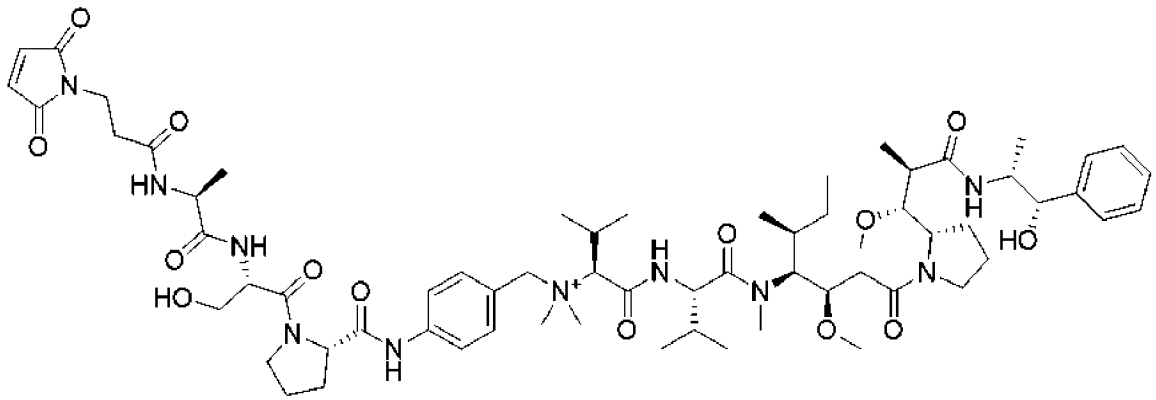
,



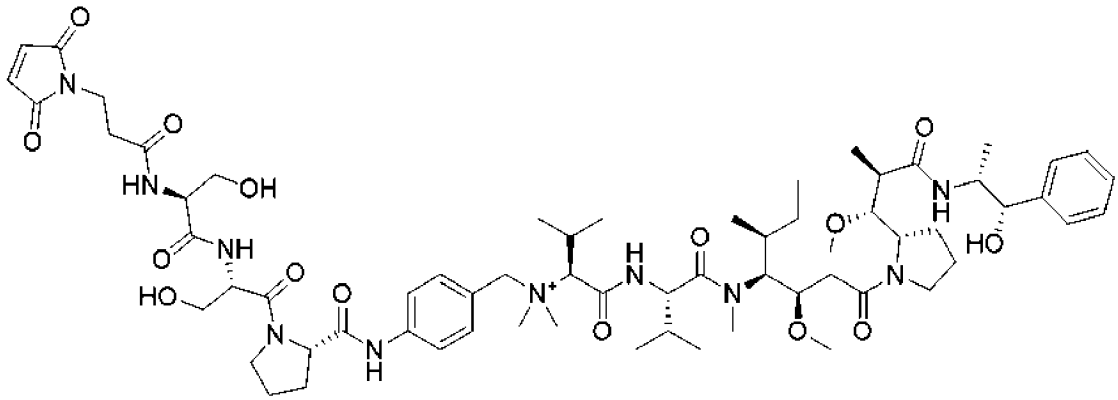
,



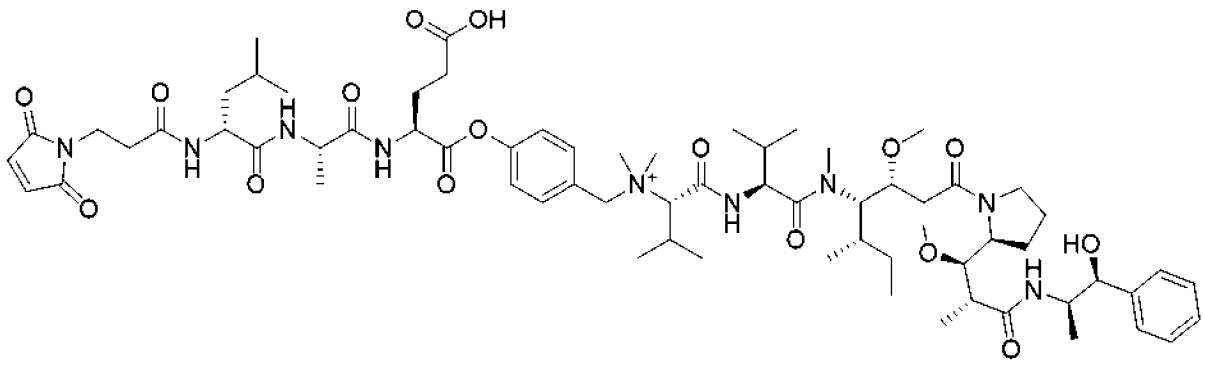
,



,

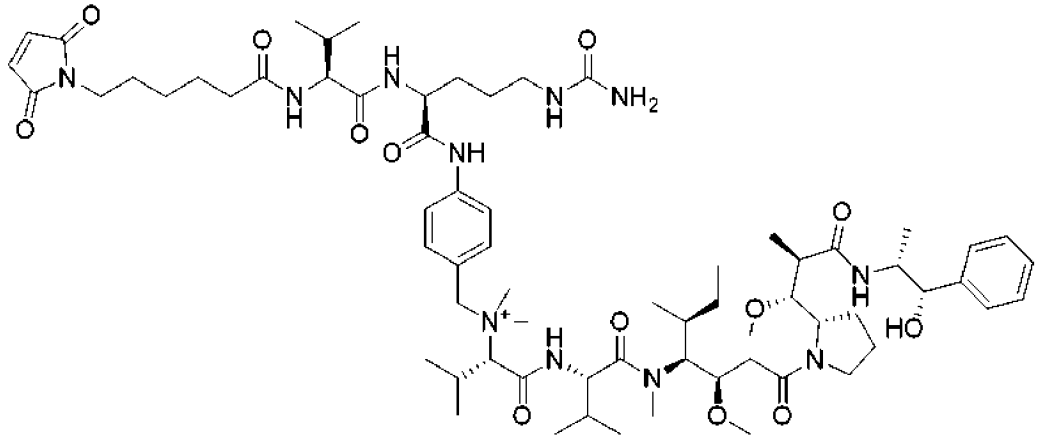


,



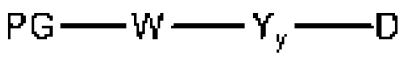
,

или



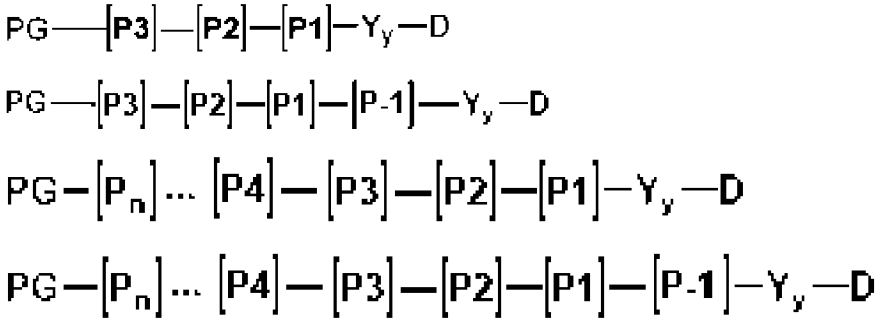
или его соль.

[0642] В некоторых вариантах осуществления предложен предшественник соединения лекарственный препарат-линкер, представленный структурой:



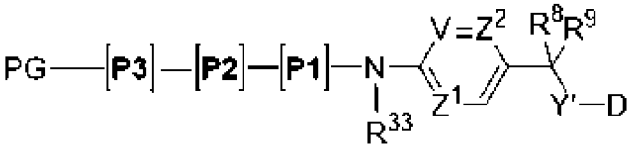
или ее солью, где W, Y, нижний индекс y и D сохраняют свои вышеприведенные значения и PG представляет собой амино-защитную группу или водород. В некоторых вариантах осуществления амино-защитная группа представляет собой Fmoc.

[0643] В некоторых вариантах осуществления предшественник соединения лекарственный препарат-линкер представлен структурой:



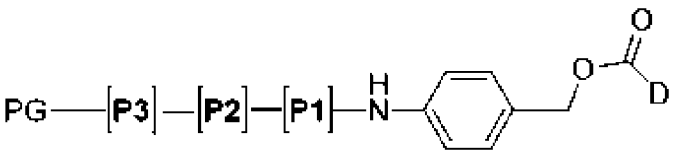
или ее солью, где P-1, P1, P2, P3…P_n, Y, нижний индекс y и D сохраняют свои вышеприведенные значения и PG представляет собой амино-защитную группу или водород.

[0644] В некоторых вариантах осуществления предшественник соединения лекарственный препарат-линкер представлен структурой:



или ее солью, где P1, P2, P3, R^8, R^9, R^{33}, V, Y', Z^1, Z^2 и D сохраняют свои вышеприведенные значения и PG представляет собой амино-защитную группу или водород.

[0645] В любом из соединений лекарственный препарат-линкер, описанных в данном документе, часть L_B'-A_a-B_b-$A'_{a'}$- может быть замещена PG с образованием предшественника соединения лекарственный препарат-линкер, представленного структурой:



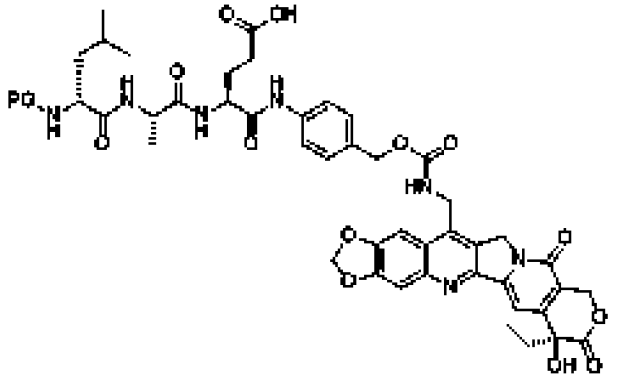
или ее солью, где P1, P2, P3 и D сохраняют свои вышеприведенные значения и PG представляет собой амино-защитную группу или водород.

[0646] Понятно, что этот предшественник соединения лекарственный препарат-линкер можно дополнительно модифицировать с помощью звена растяжения для присоединения лиганда, такого как антитело. В некоторых вариантах осуществления предшественник соединения лекарственный препарат-линкер можно дополнительно приводить в реакцию со звеном растяжения, подходящим для присоединения к остатку

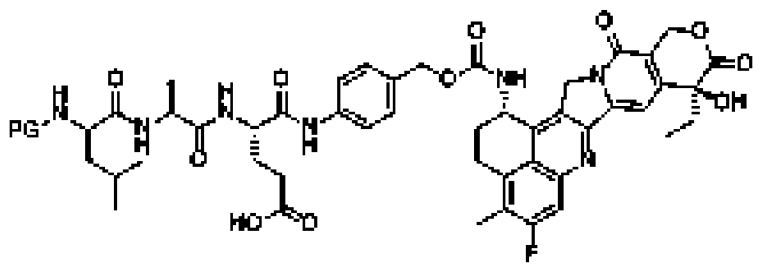
цистеина антитела. Подходящие звенья растяжения для присоединения к остатку цистеина антитела описаны в данном документе, включая звенья растяжения, содержащие малеимидный фрагмент. В некоторых вариантах осуществления предшественник соединения лекарственный препарат-линкер можно дополнительно приводить в реакцию со звеном растяжения, подходящим для присоединения к остатку лизина антитела. Подходящие звенья растяжения для присоединения к остатку лизина антитела описаны в данном документе, включая звенья растяжения, содержащие сложноэфирный NHS-фрагмент. В некоторых вариантах осуществления предшественник соединения лекарственный препарат-линкер представляет собой промежуточное соединение в синтезе соединений лекарственный препарат-линкер.

[0647] В любом из вариантов осуществления, описанных в данном документе для W, P-1, P1, P2, P3…P_n, Y, нижний индекс y, R^8, R^9, R^{33}, V, Y', Z^1, Z^2 и D в отношении, например, соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат (LDC), соединений лекарственный препарат-линкер, фрагментов лекарственный препарат-линкер, пептидных расщепляемых звеньев, спейсерных звеньев и лекарственных звеньев, эти варианты осуществления также применимы к предшественникам соединений лекарственный препарат-линкер, описанным в данном документе.

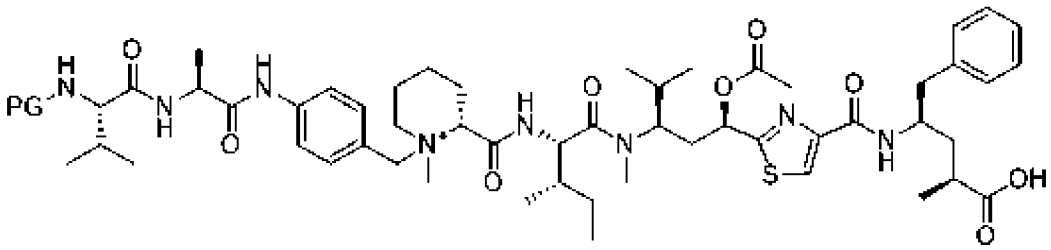
[0648] В некоторых вариантах осуществления предшественник соединения лекарственный препарат-линкер представлен:



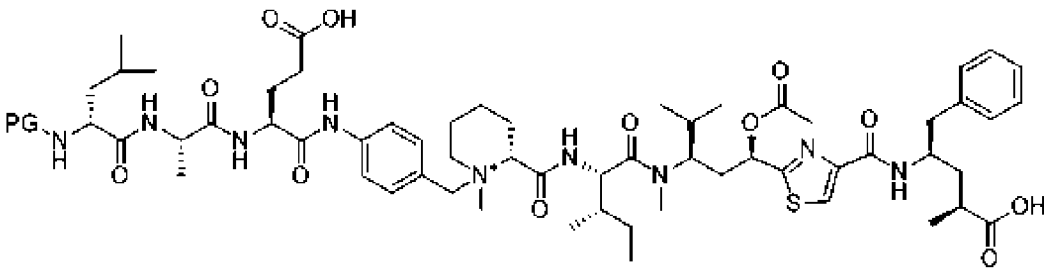
,

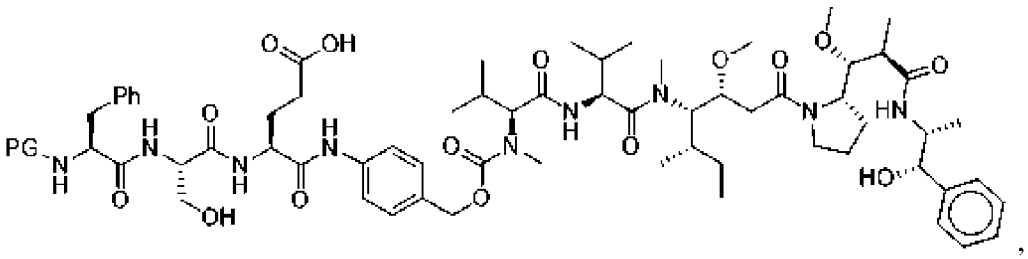


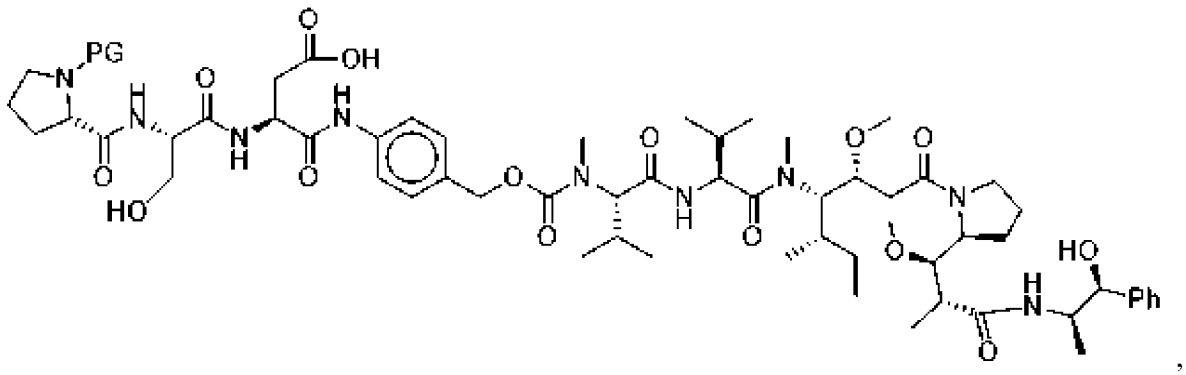
,

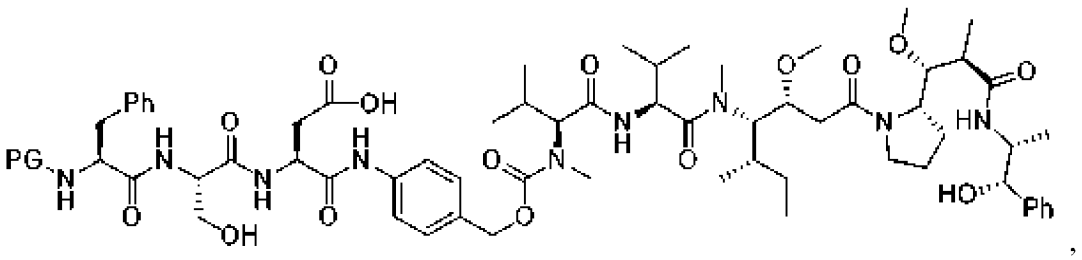


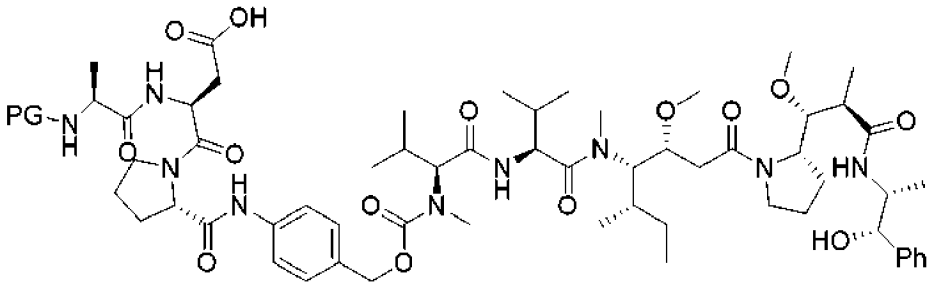
,

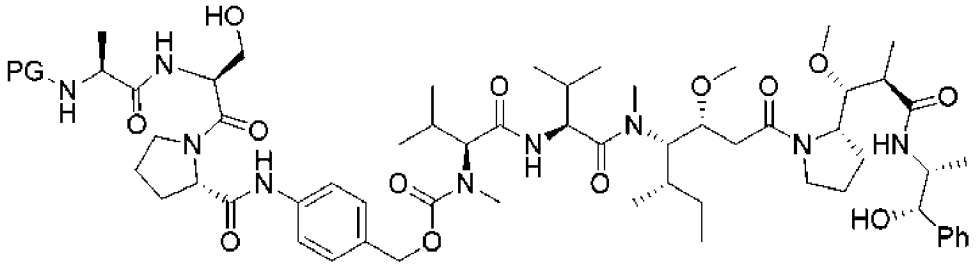


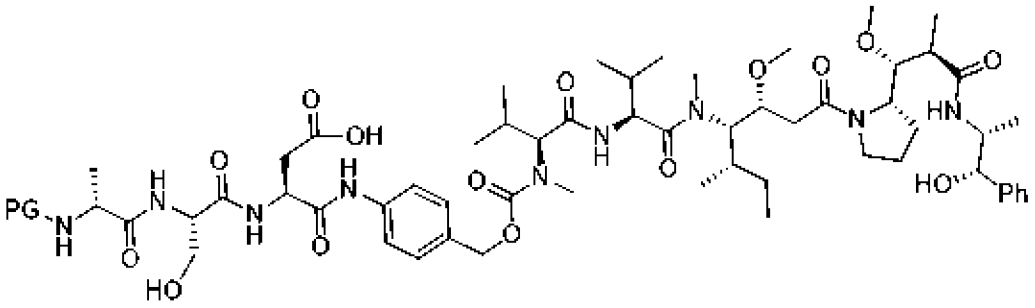




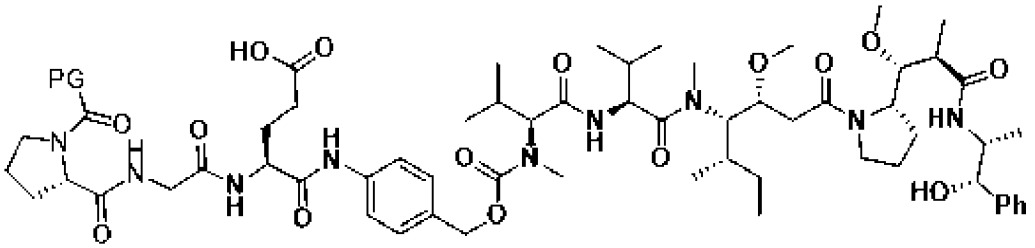




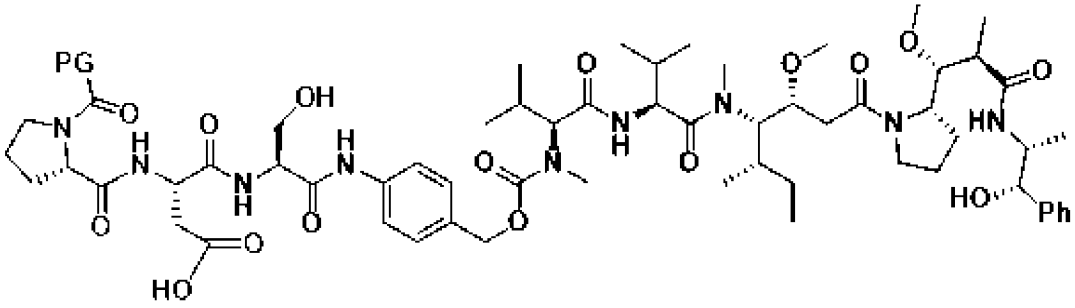




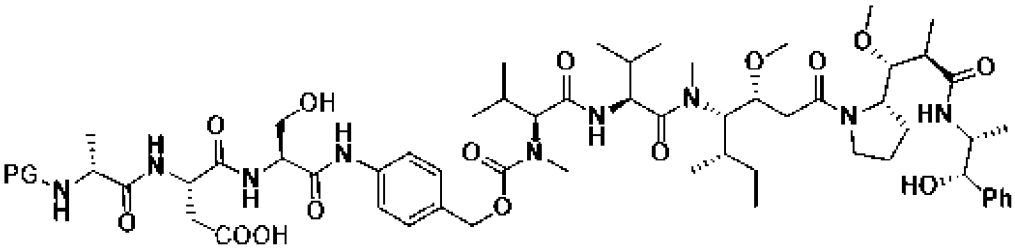
,



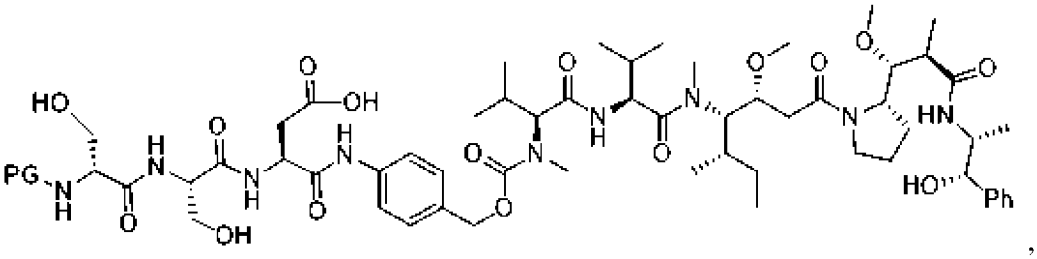
,



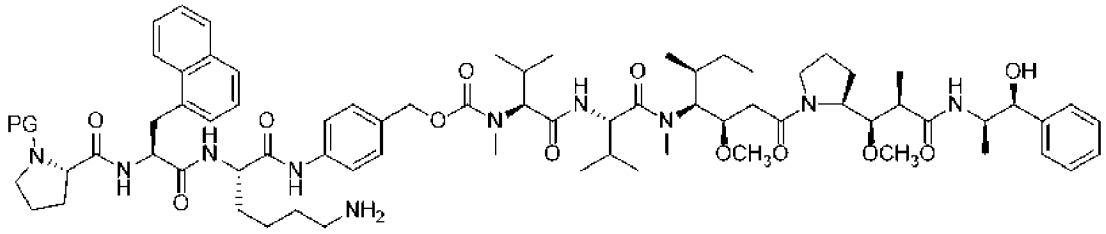
,



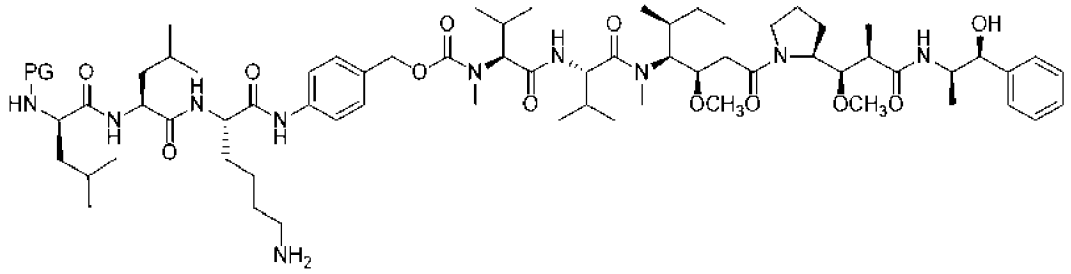
,

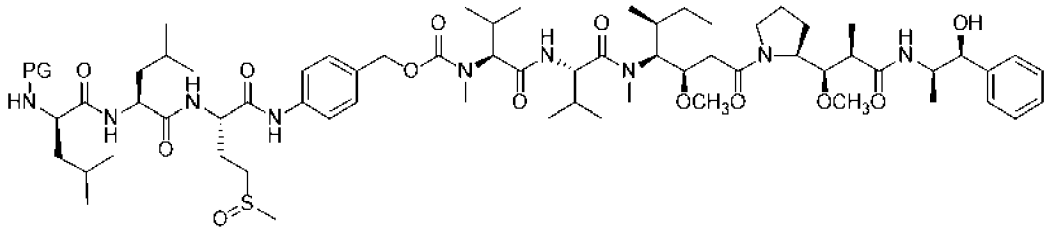


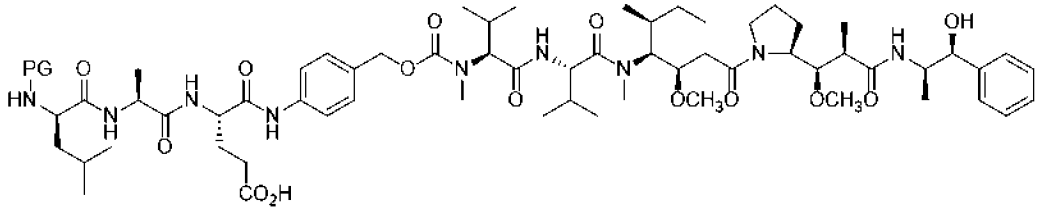
,

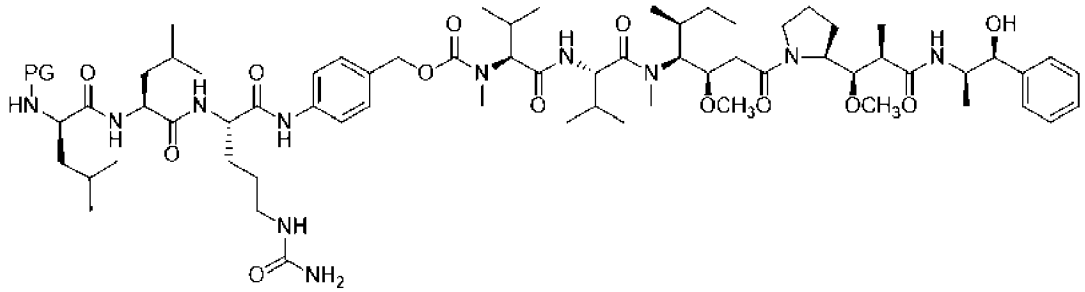


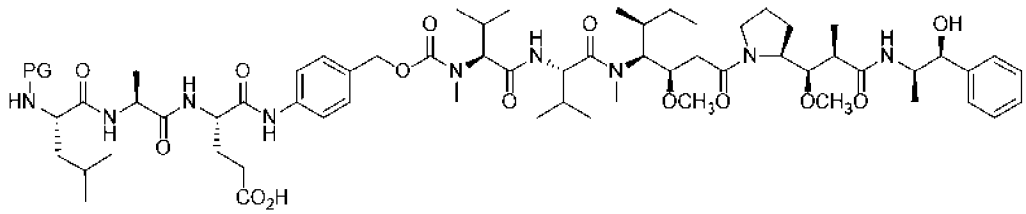
,

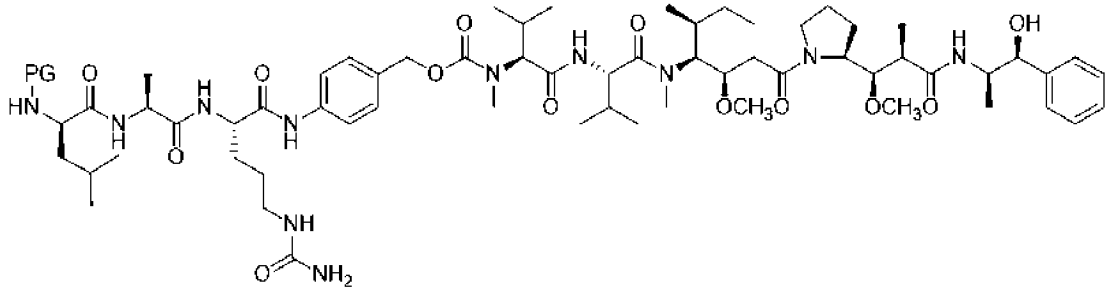

,

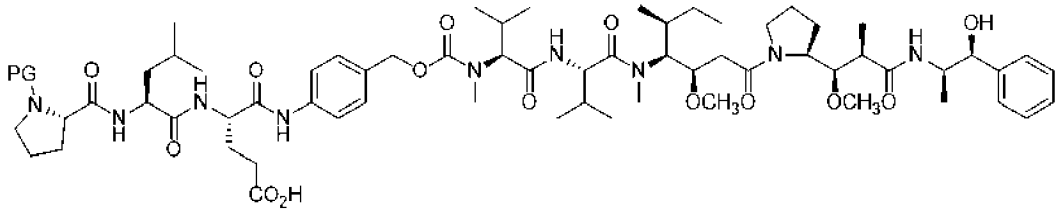

,

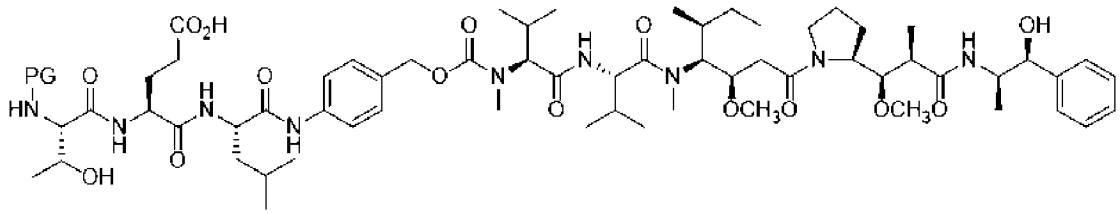

,


,

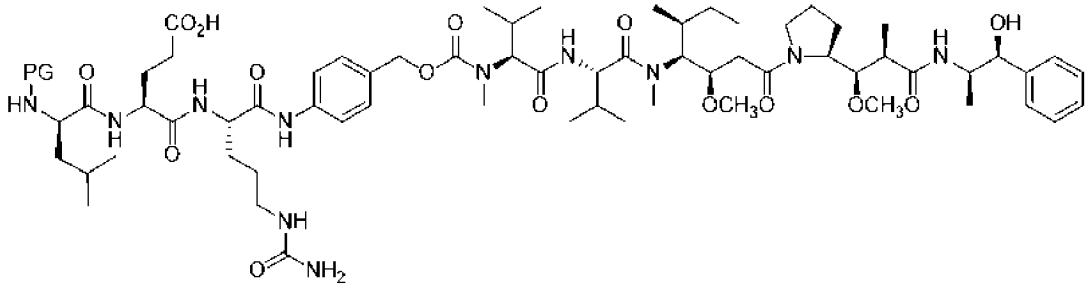

,


,

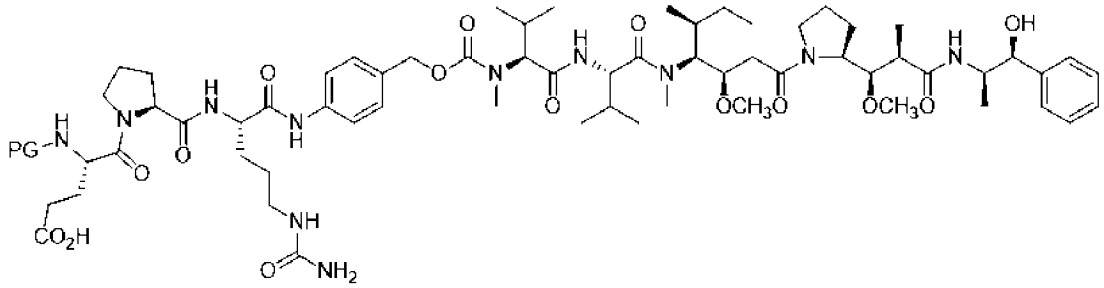

,



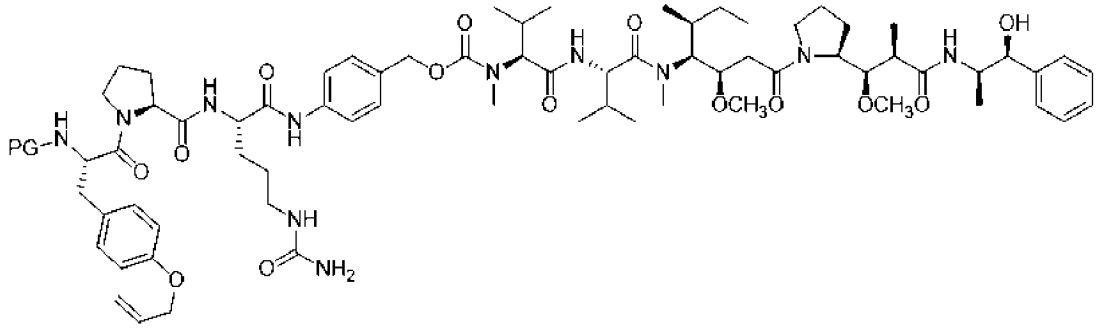
,



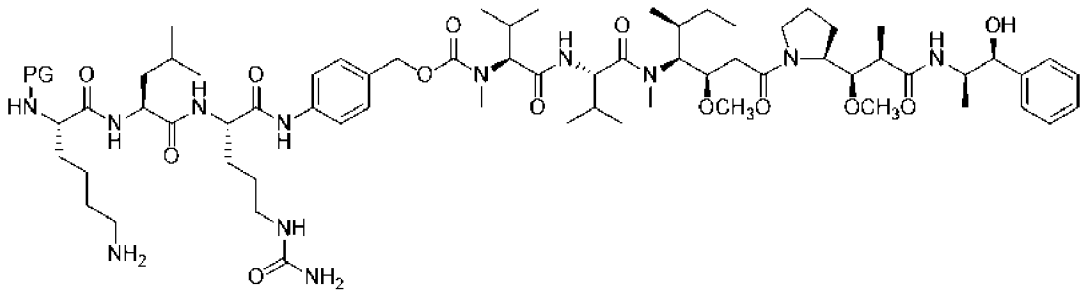
,



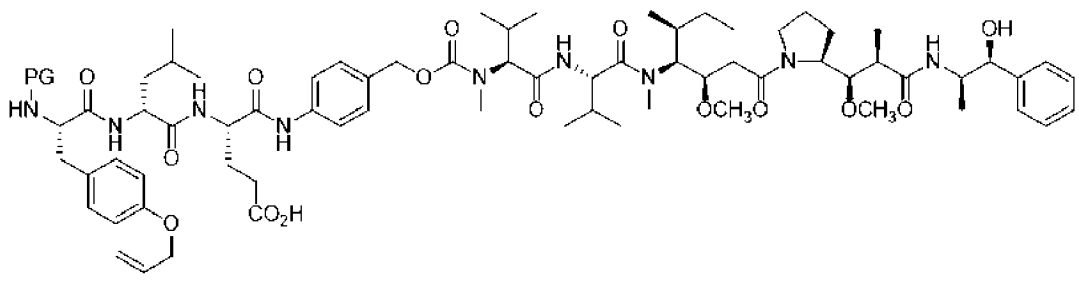
,



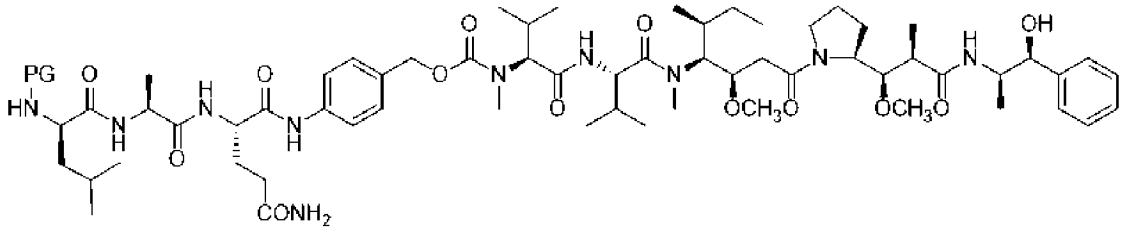
,

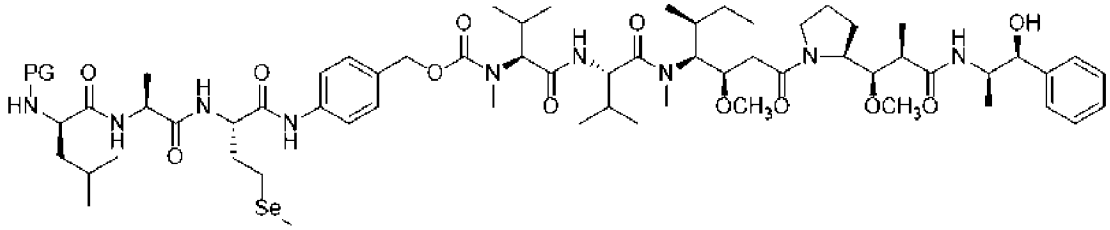


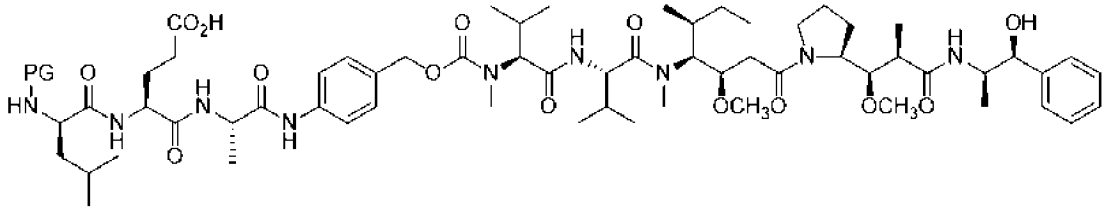
,

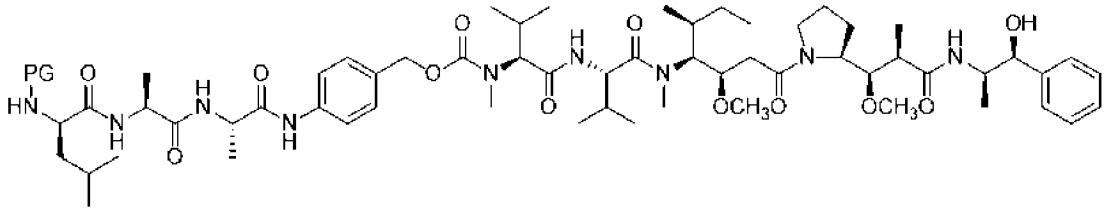


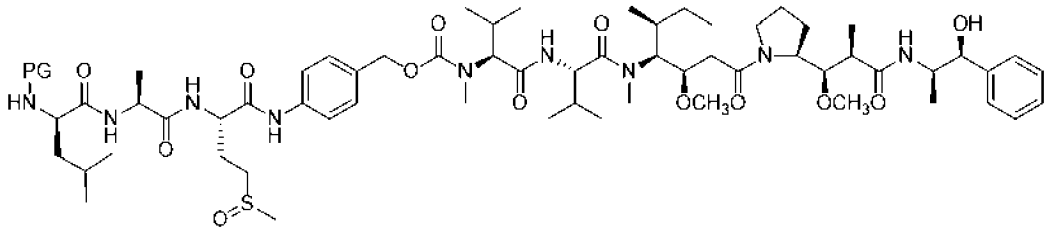
,

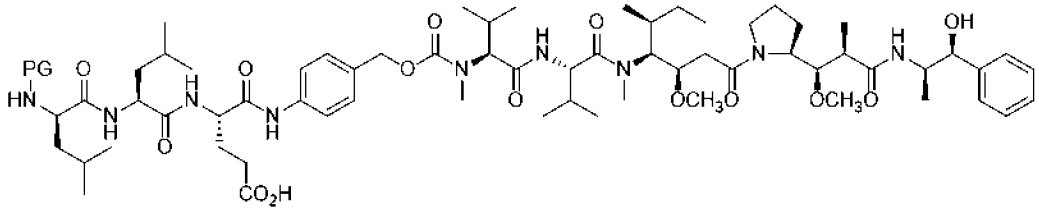

,

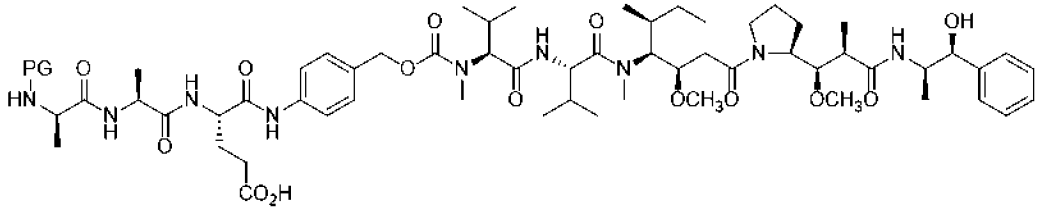

,

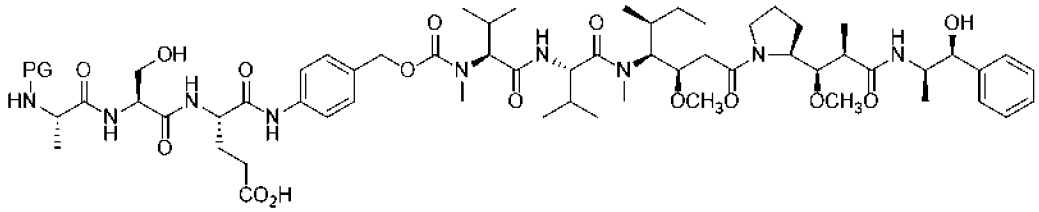

,

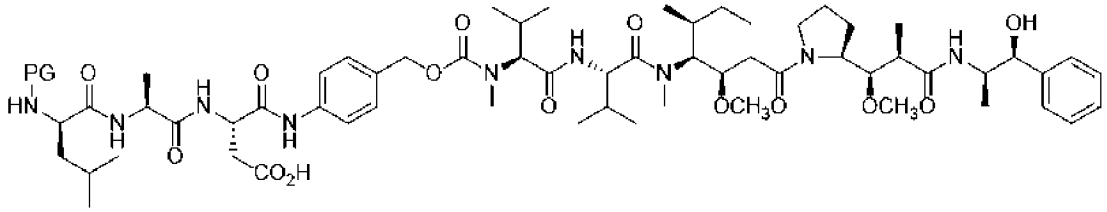

,

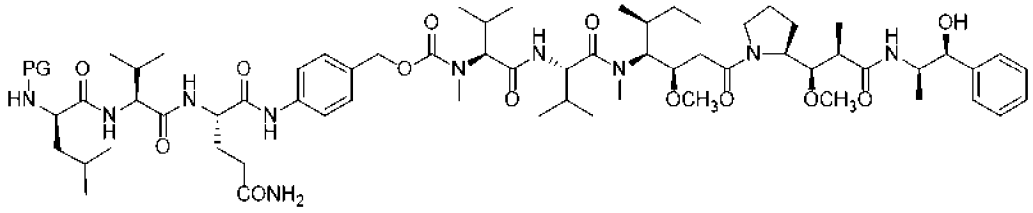

,

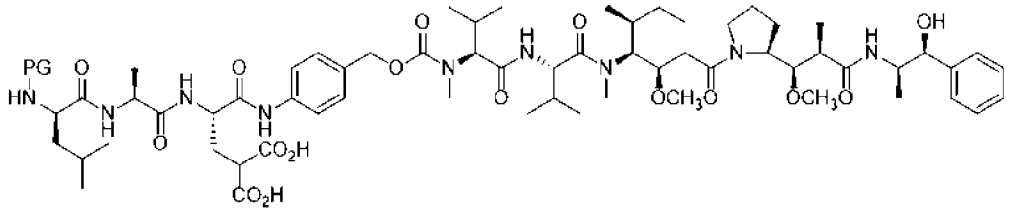

,

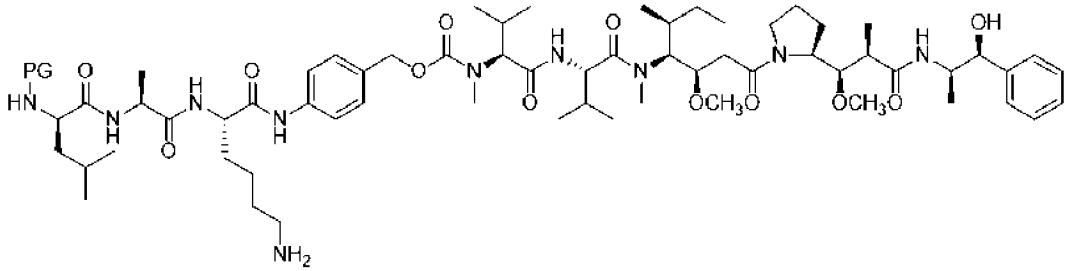

,

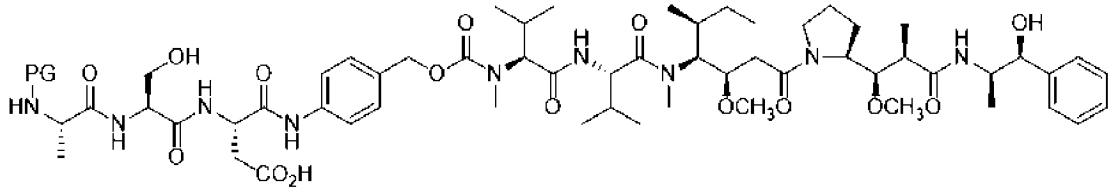

,

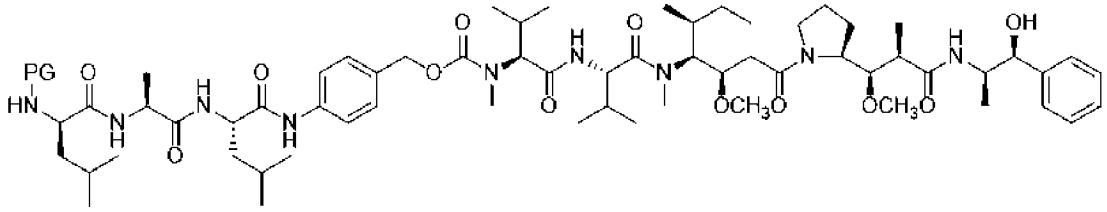

,

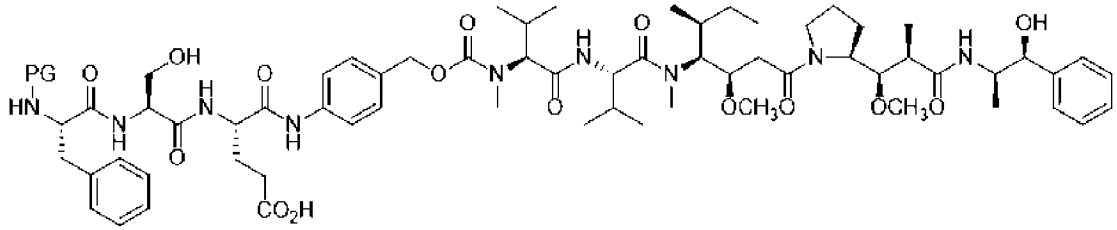

,

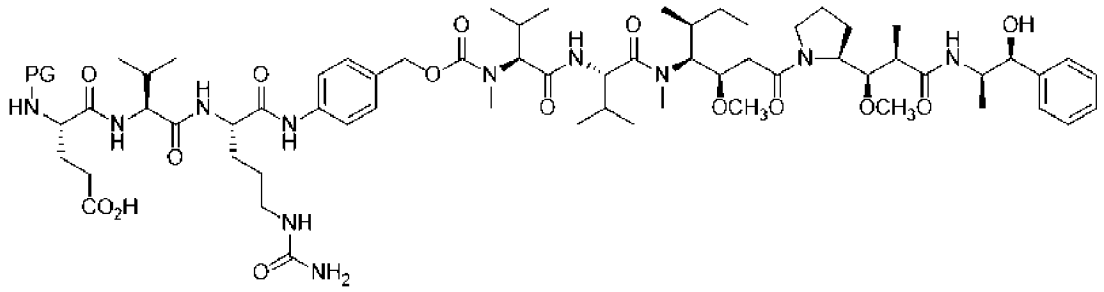

,

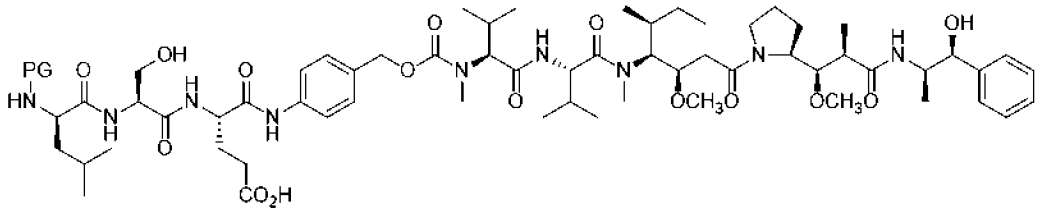

,

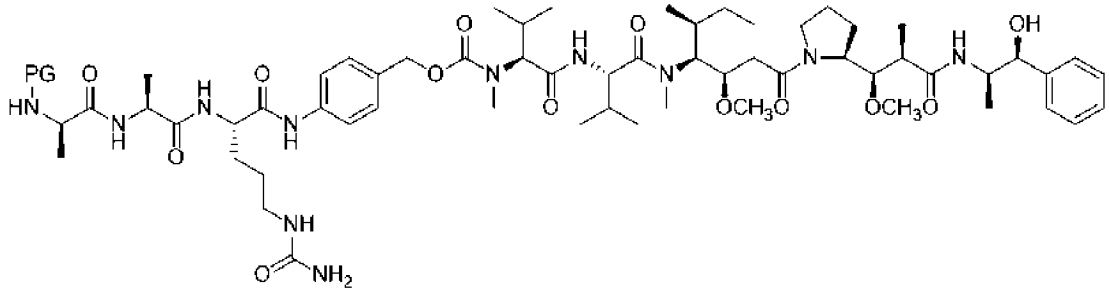

,

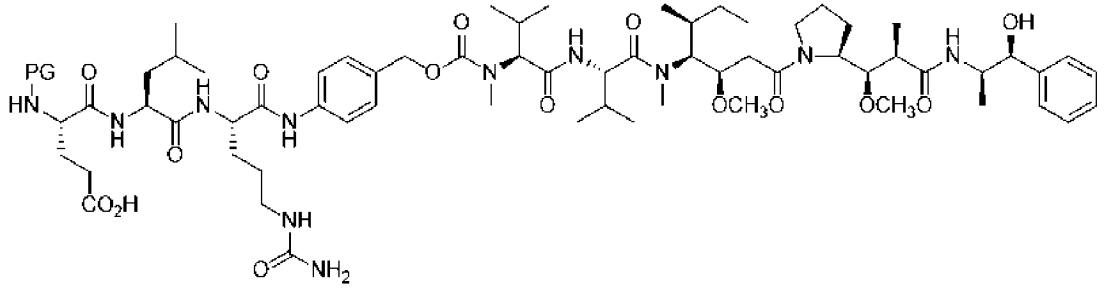

,

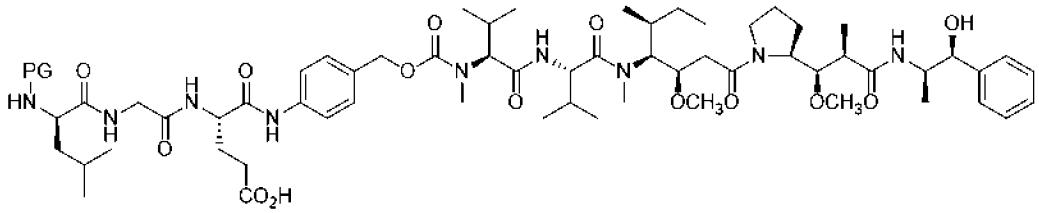

,

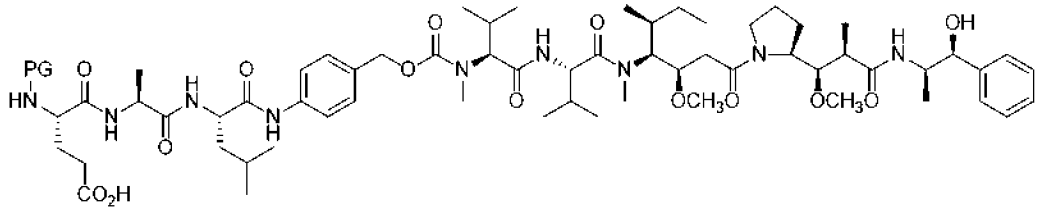

,

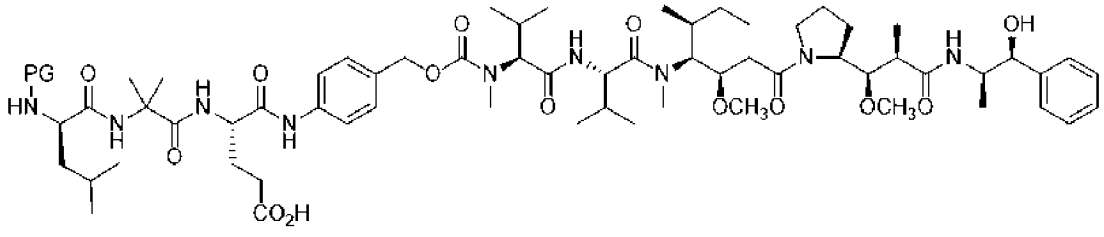

,

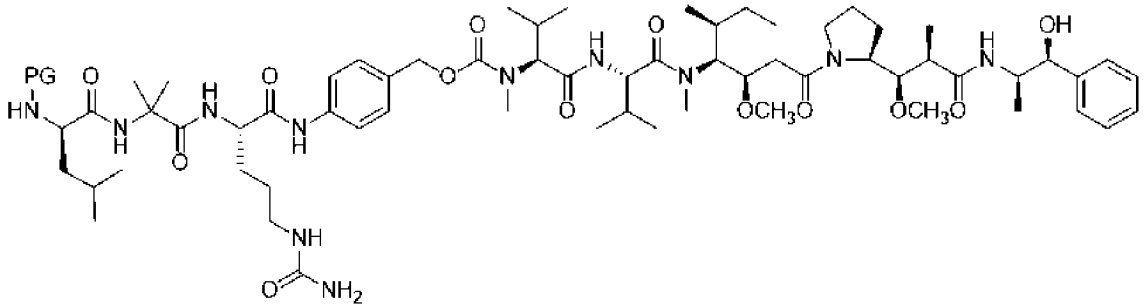

,


,

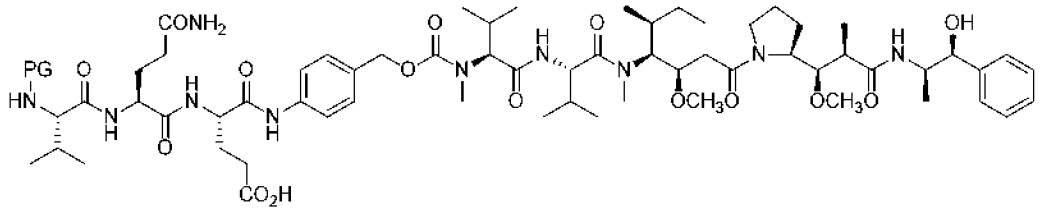

,


,

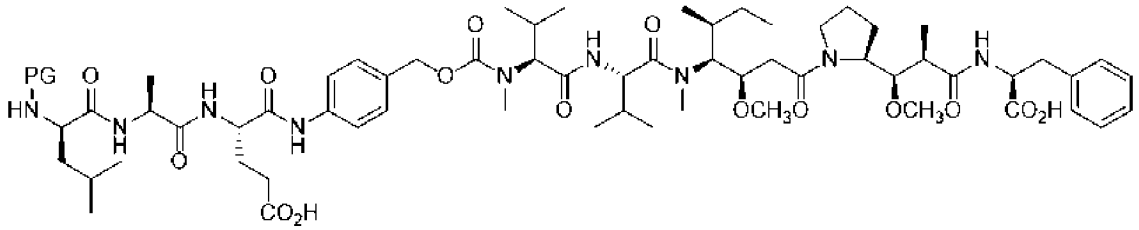

,



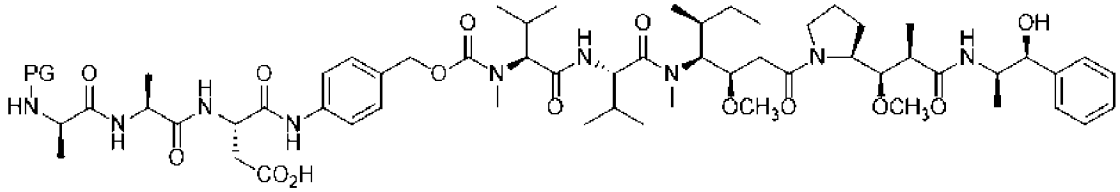
,



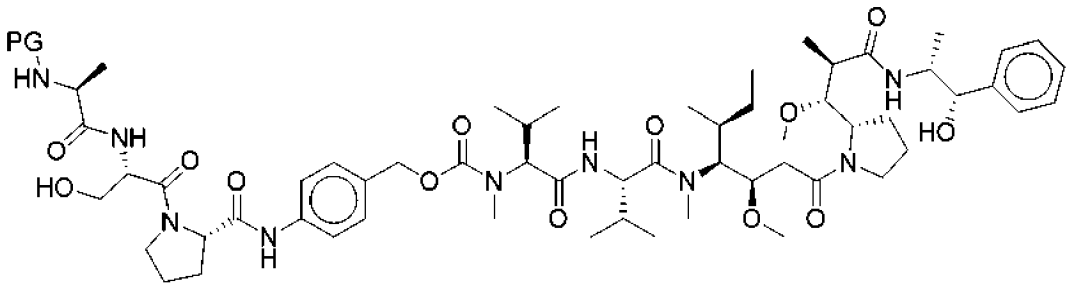
,



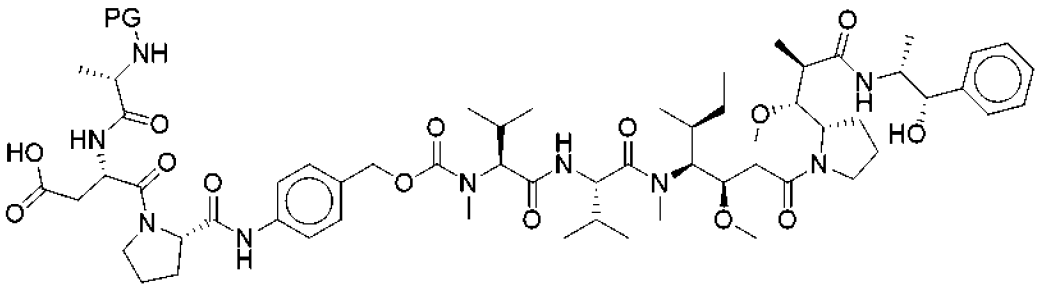
,



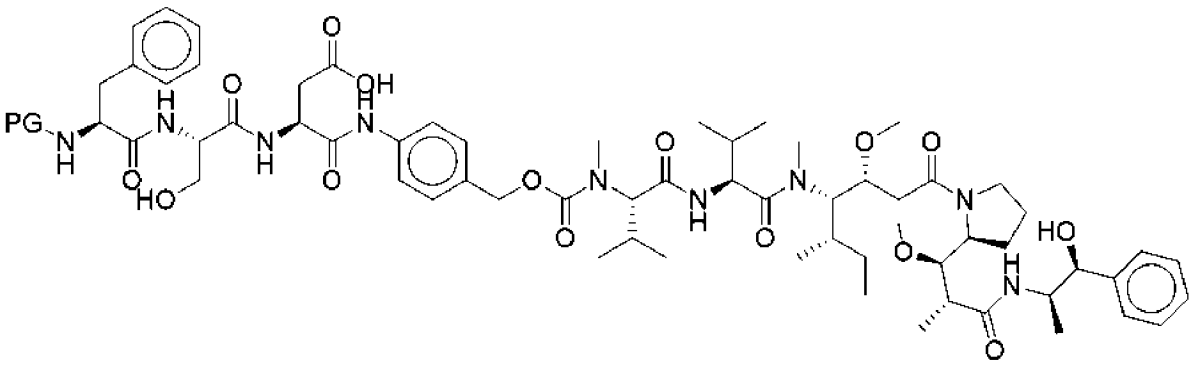
,



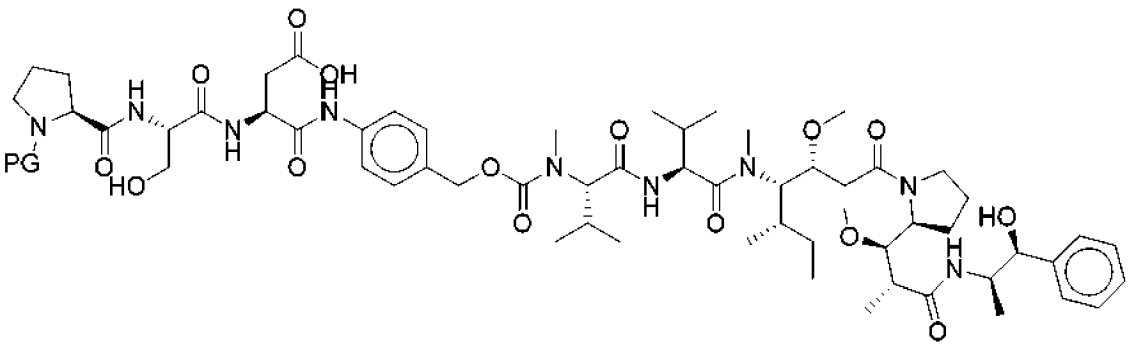
,



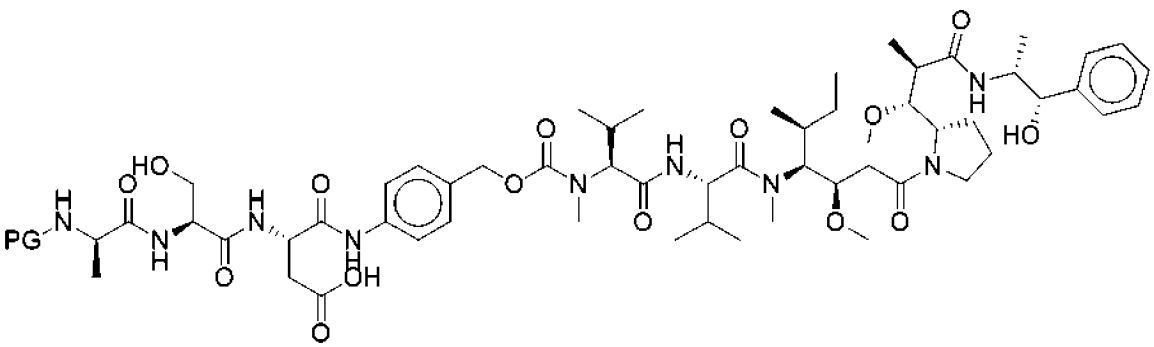
,



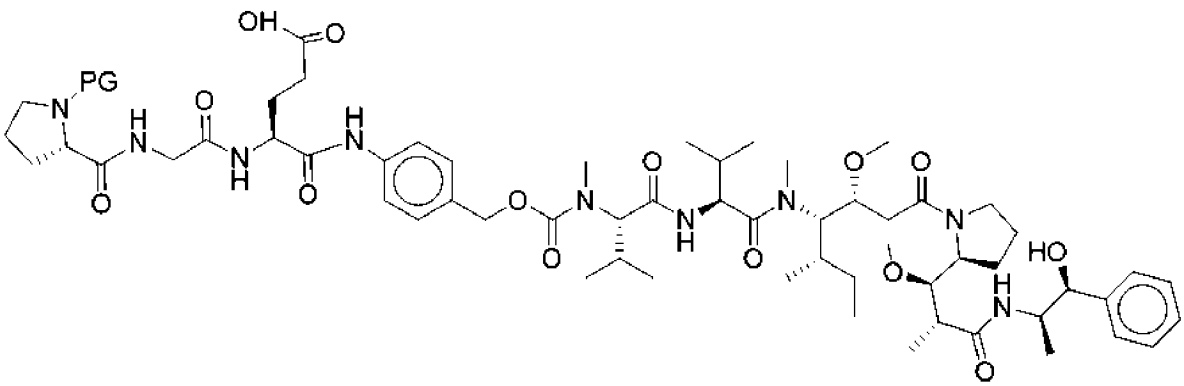
,



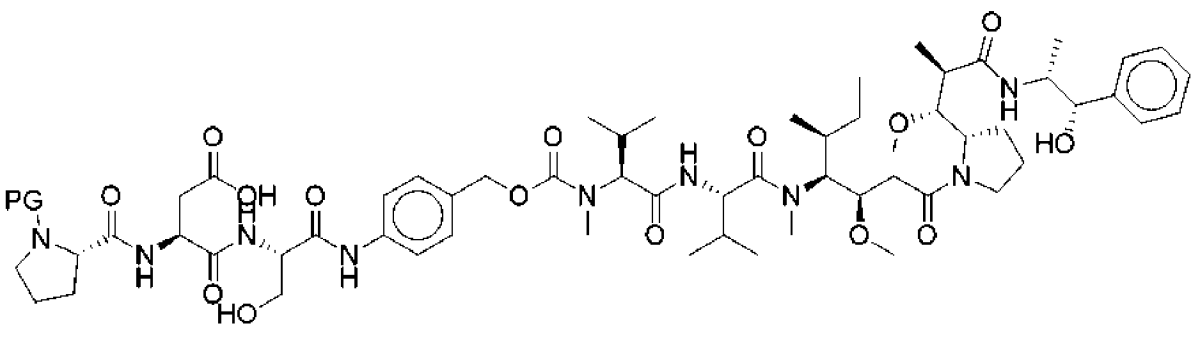
,



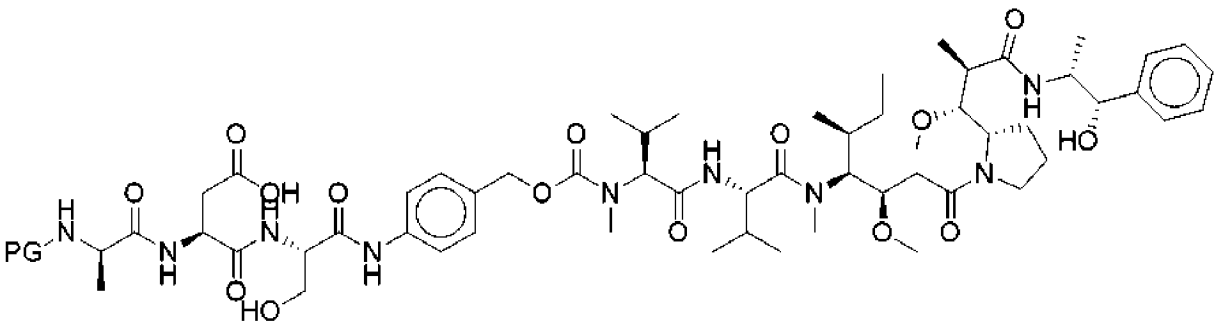
,



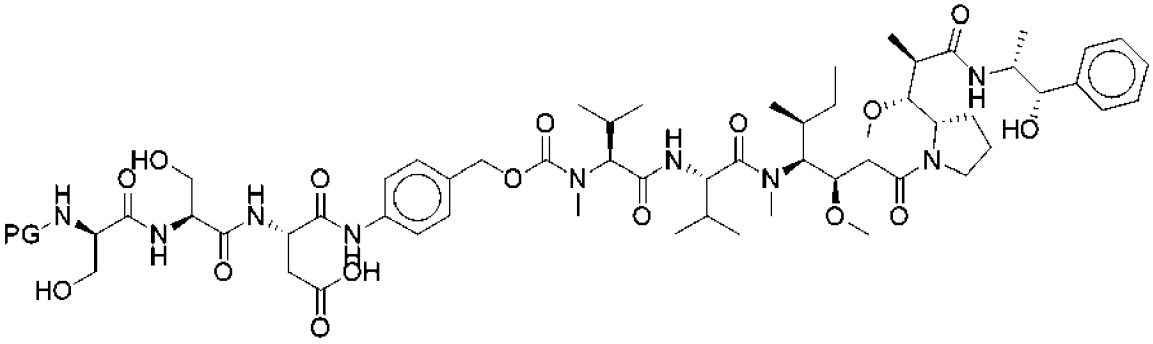
,



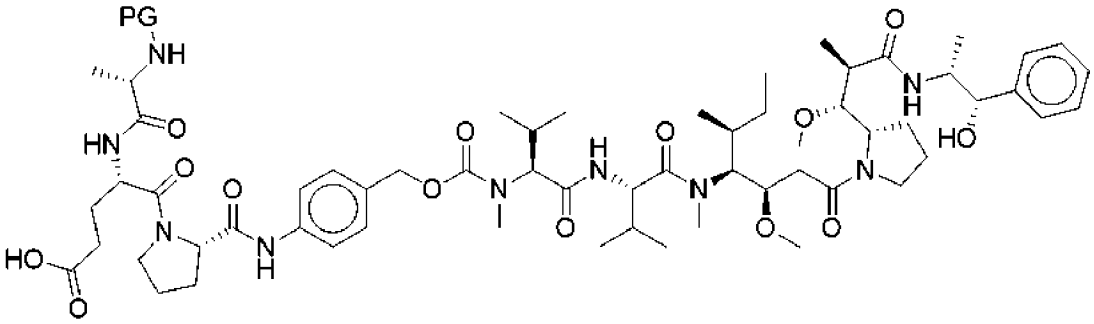
,



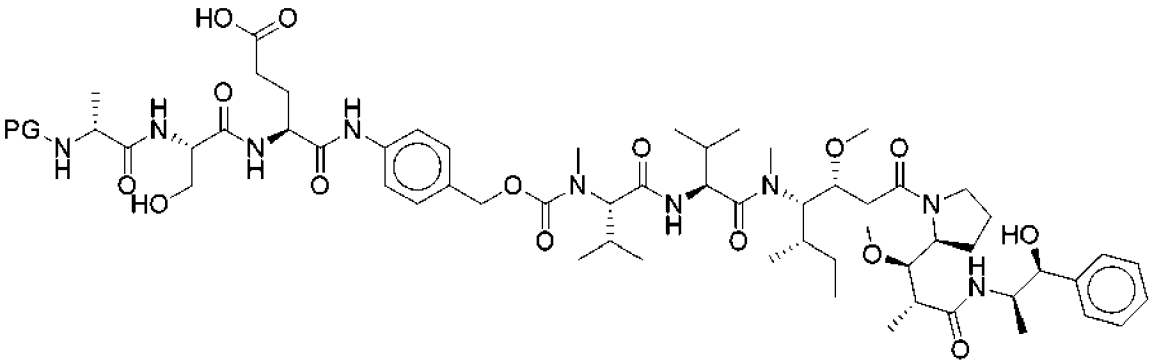
,



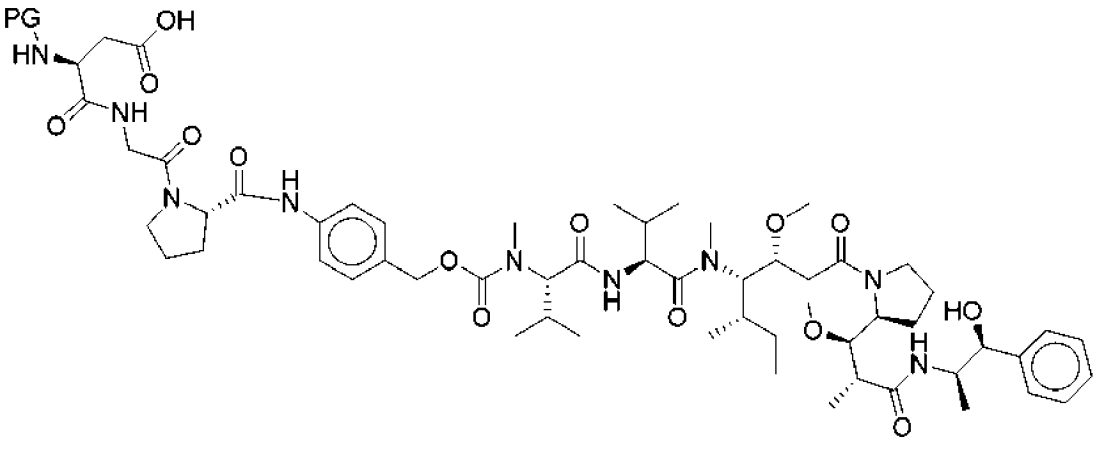
,



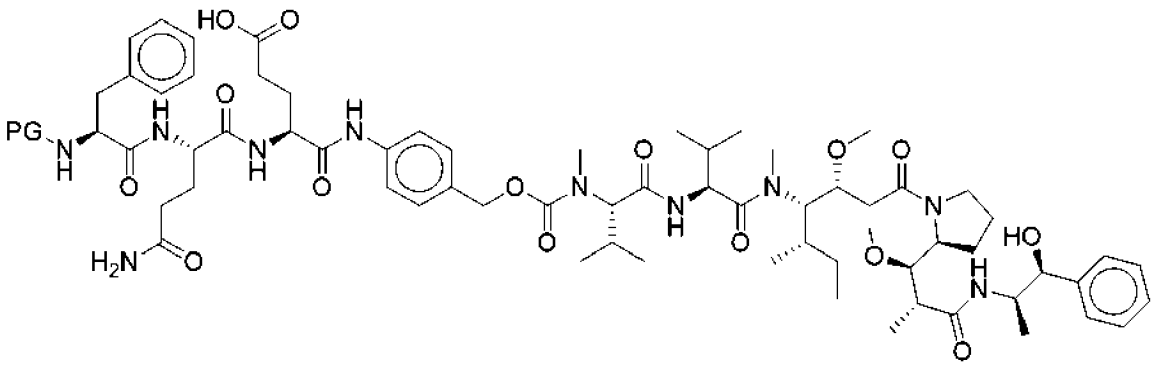
,



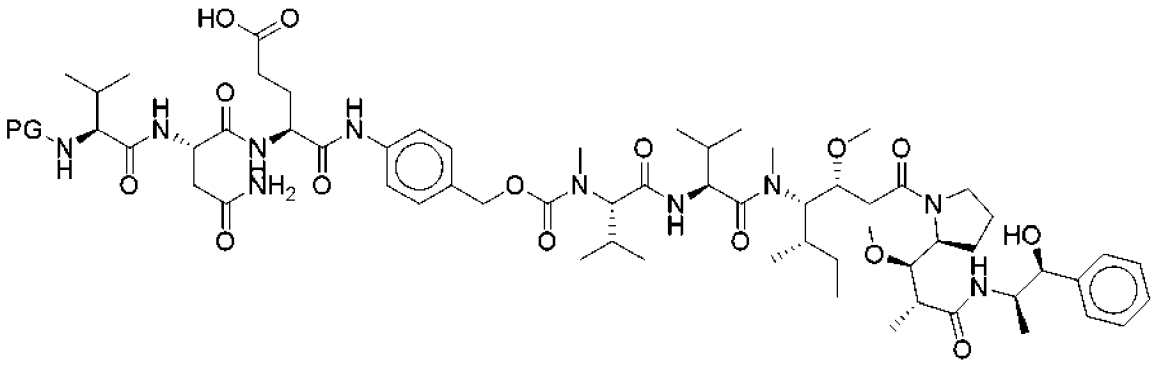
,



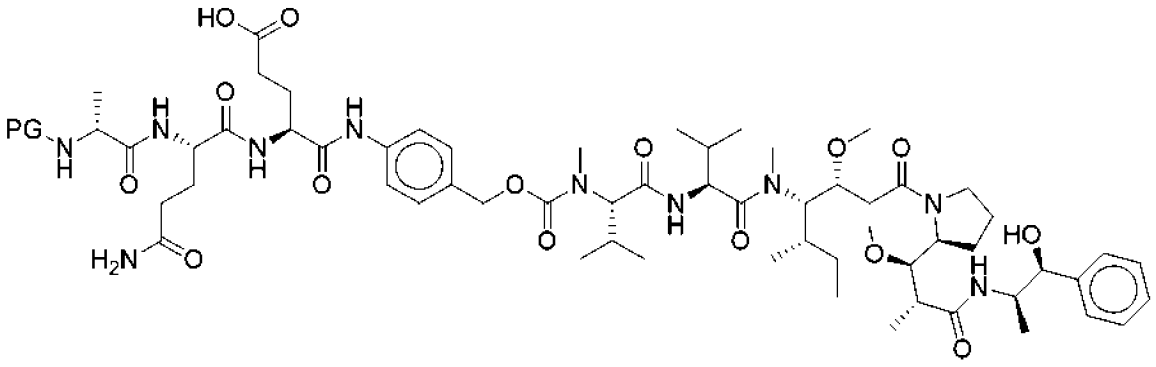
,



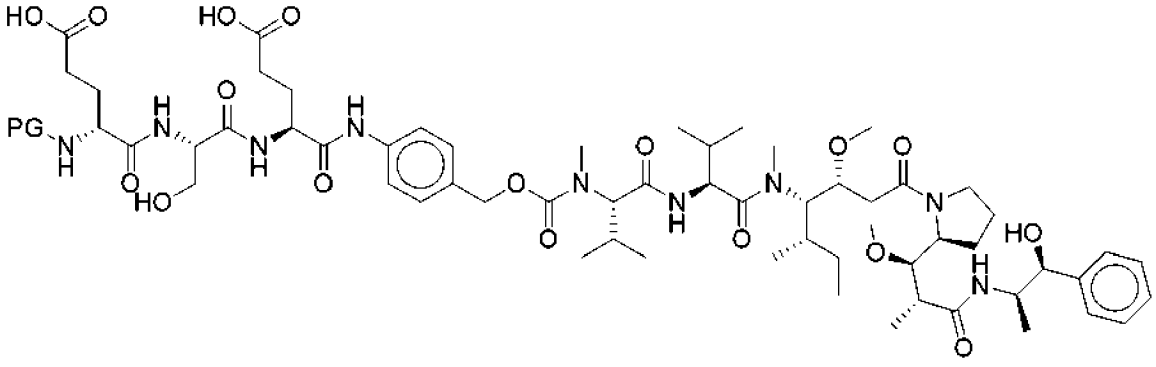
,



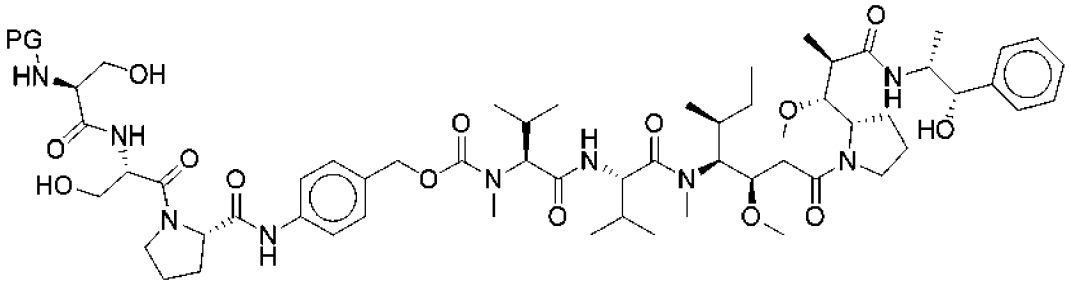
,



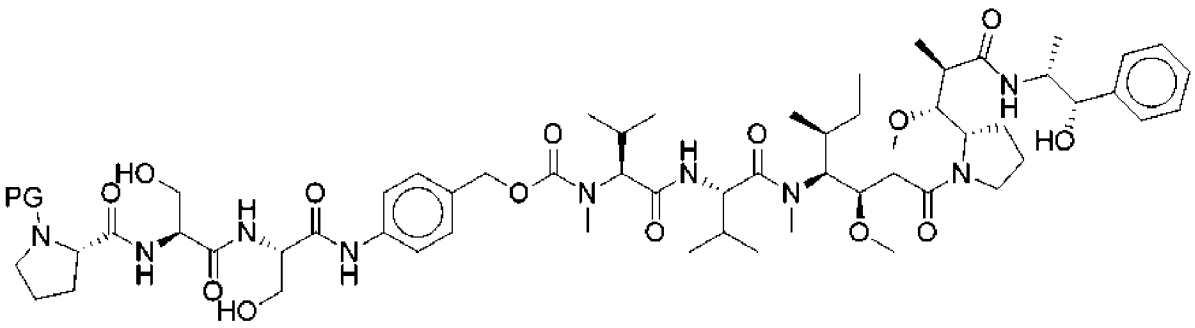
,



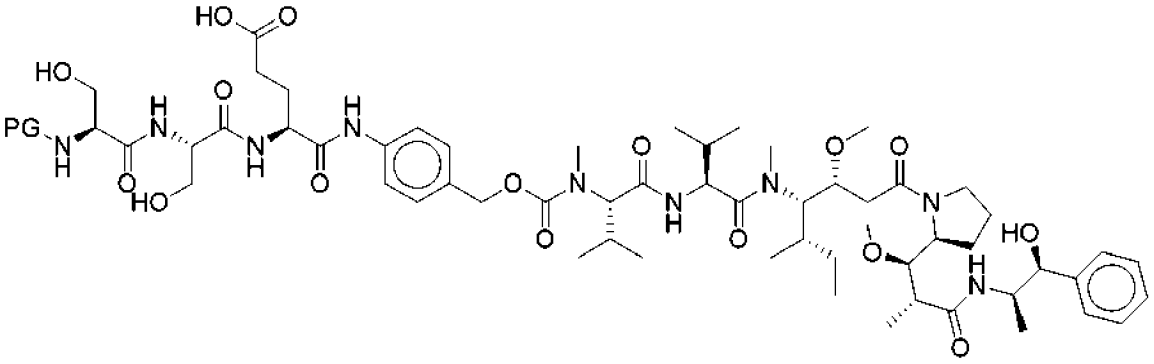
,



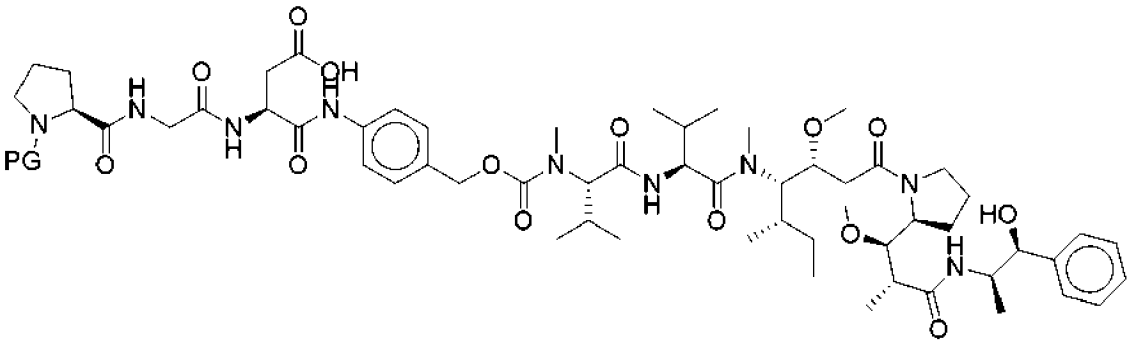
,



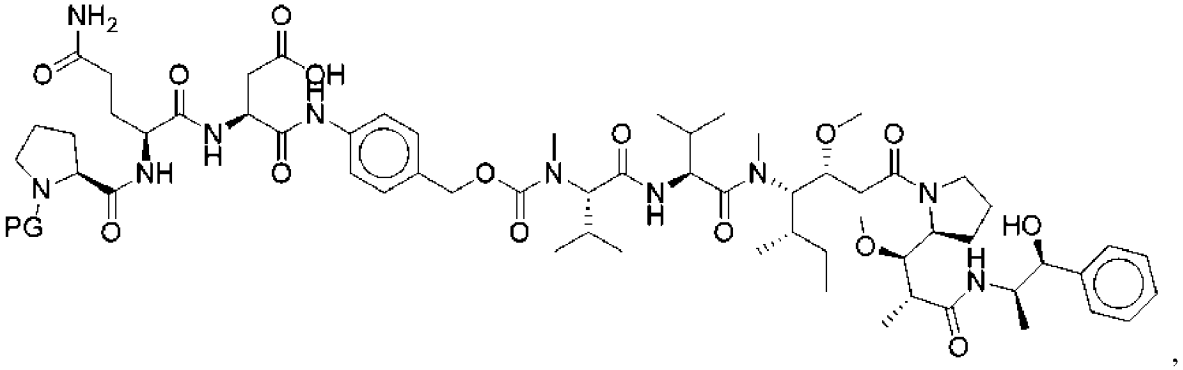
,



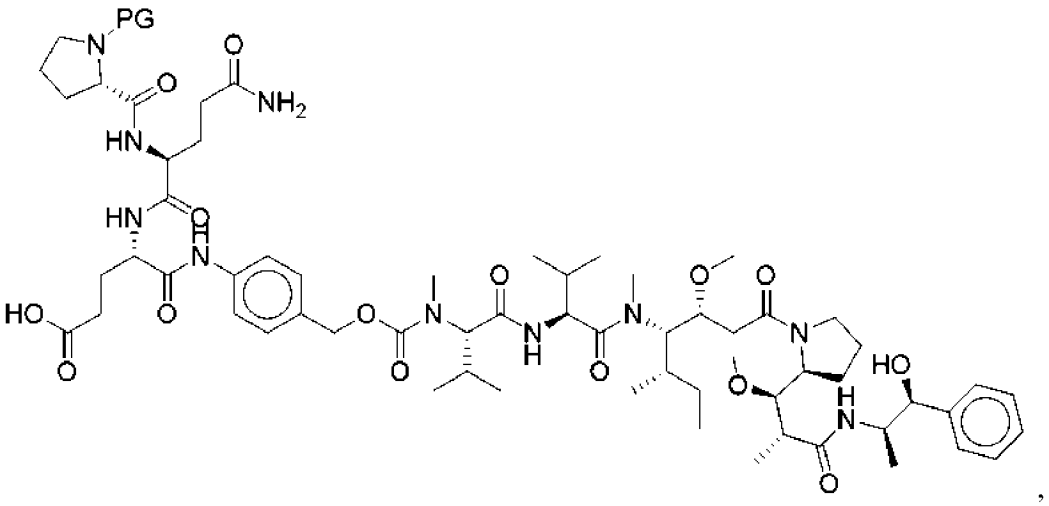
,



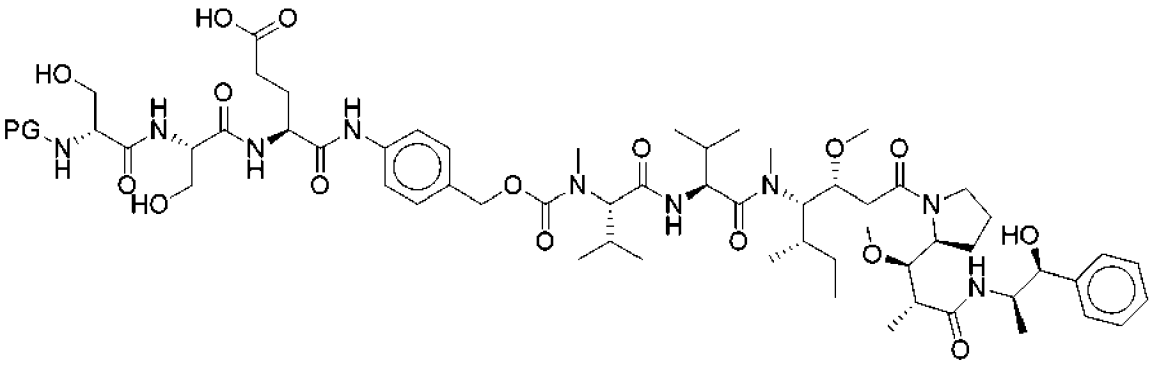
,



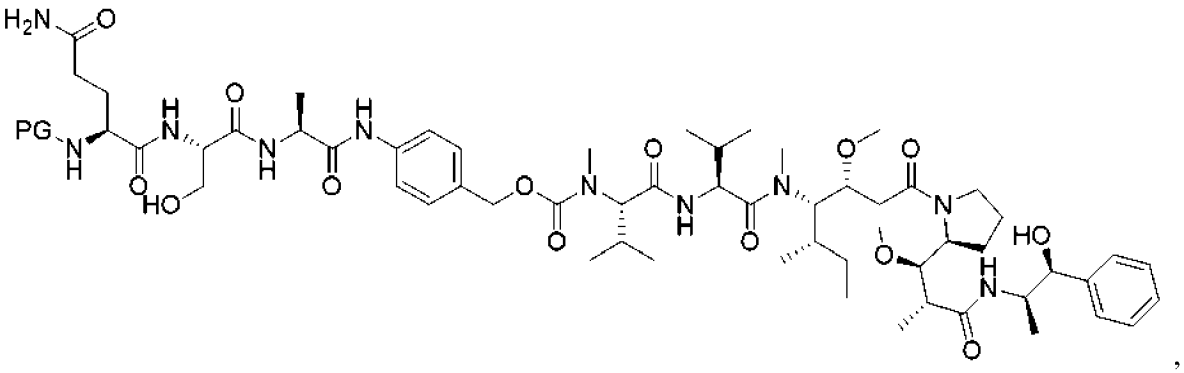
,



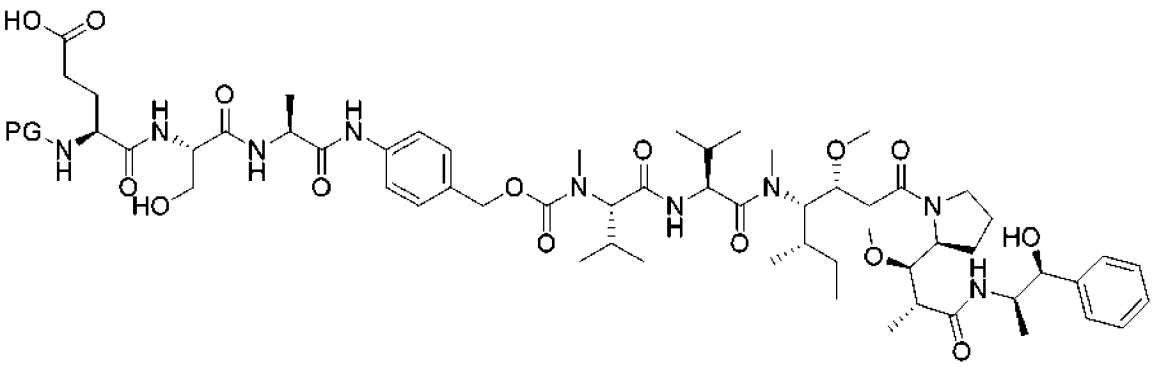
,



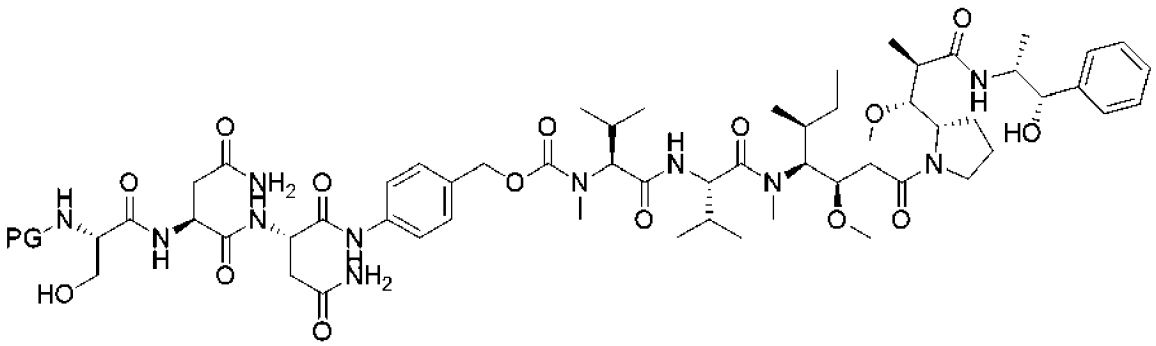
,



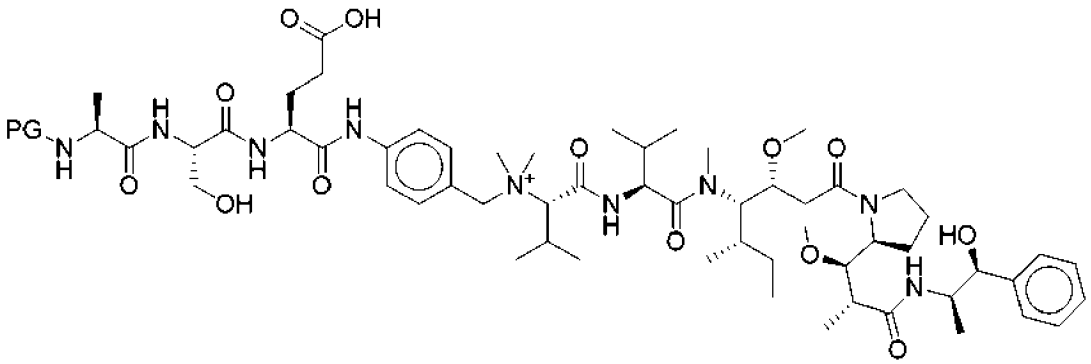
,



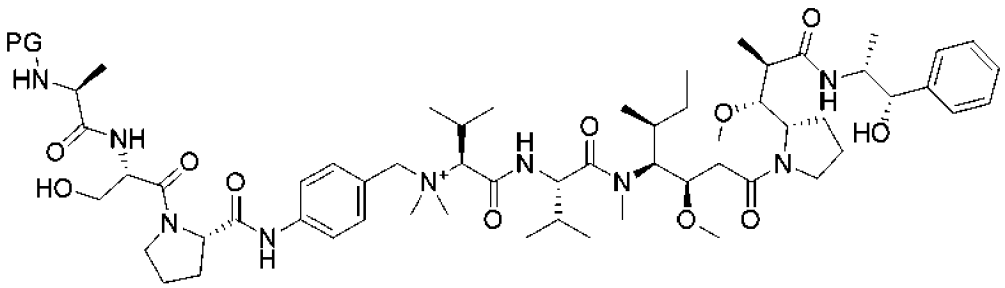
,



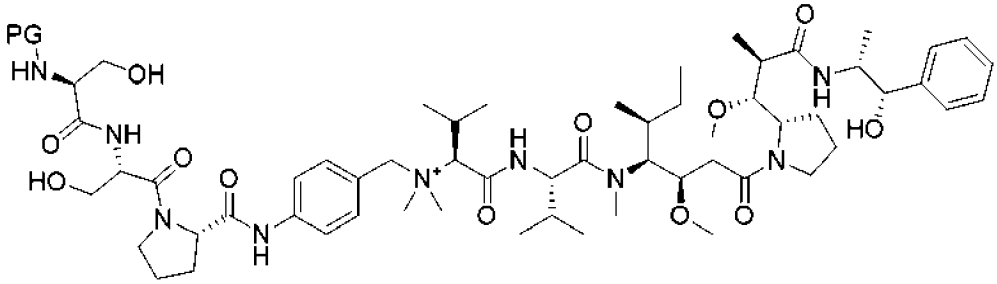
,



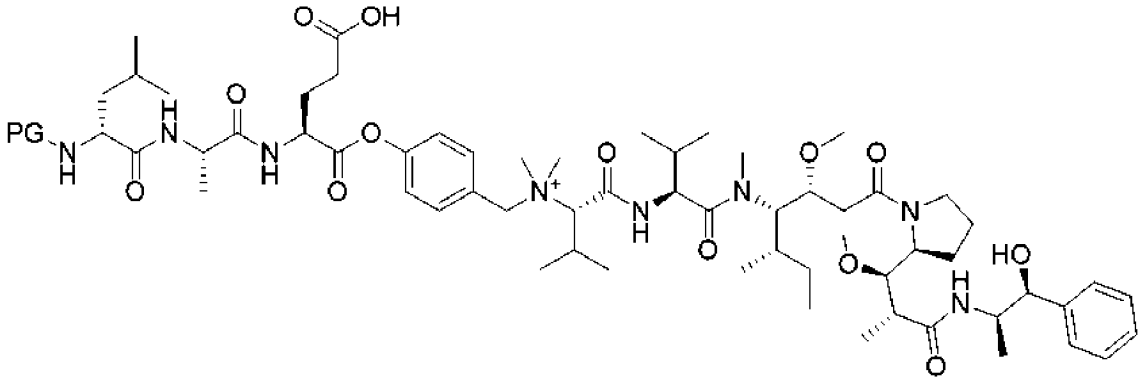
,



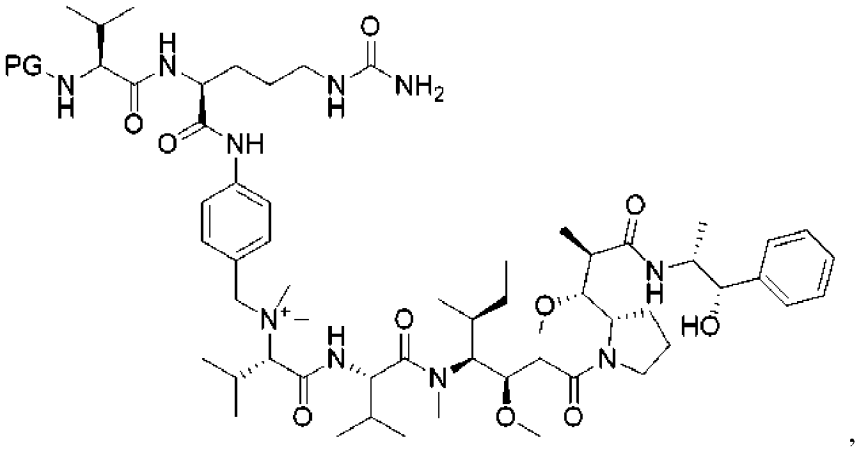
,



,



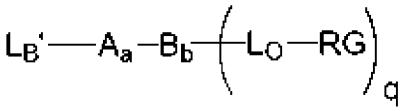
, или



или их солью, где PG представляет собой амино-защитную группу (например, Fmoc) или водород.

2.4 Линкерные соединения

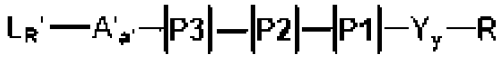
[0649] Линкерное соединение представлено структурой формулы **IA-L**:



(IA-L)

или ее соли, где L_B', A, нижний индекс a, B, нижний индекс b, L_O и нижний индекс q сохраняют свои вышеприведенные значения, а RG представляет собой реактивную группу. В некоторых вариантах осуществления реактивная группа представляет собой 4-нитрофенокси или перфторфенокси. В некоторых вариантах осуществления реактивная группа представляет собой 4-нитрофенокси.

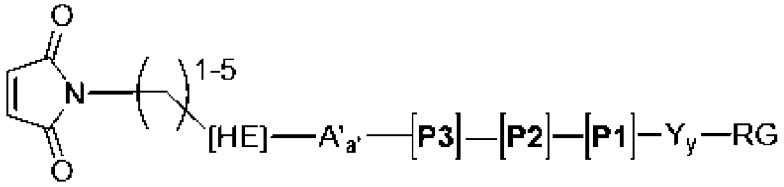
[0650] В некоторых вариантах осуществления линкерное соединение представлено структурой формулы **IA-L-1**:



(IA-L-1)

или ее соли, где L_R', A', нижний индекс a', P1, P2, P3, Y и нижний индекс y сохраняют свои вышеприведенные значения, а RG представляет собой реактивную группу.

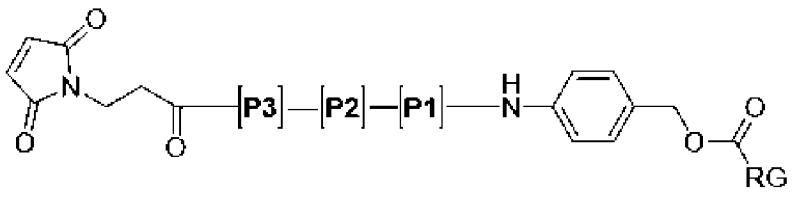
[0651] В некоторых вариантах осуществления линкерное соединение представлено структурой формулы **IA-L-2**:



(IA-L-2)

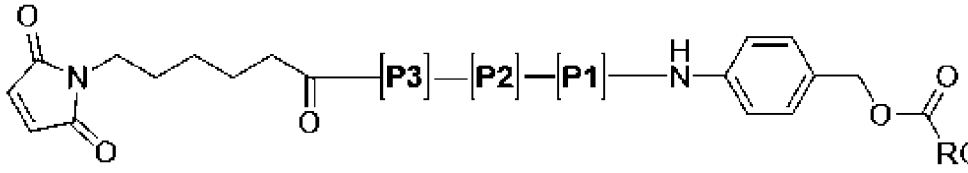
или ее соли, где HE, A', нижний индекс a', P1, P2, P3, Y и нижний индекс y сохраняют свои вышеприведенные значения, а RG представляет собой реактивную группу.

[0652] В некоторых вариантах осуществления линкерное соединение представлено структурами формулы **IA-L-3** или формулы **IA-L-4**:



(IA-L-3)

или



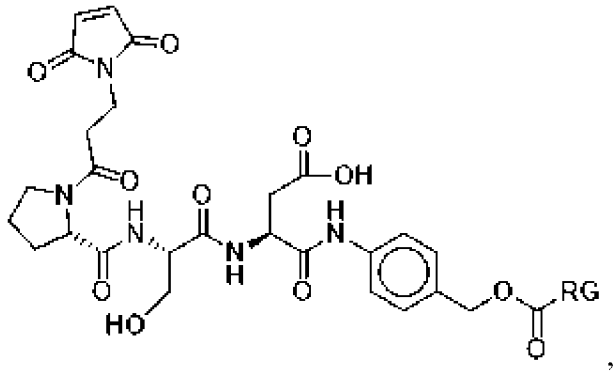
(IA-L-4)

или их соли, где P1, P2 и P3 сохраняют свои вышеприведенные значения, а RG представляет собой реактивную группу. В некоторых вариантах осуществления RG представляет собой перфторфенокси. В некоторых вариантах осуществления RG представляет собой 4-нитрофенокси.

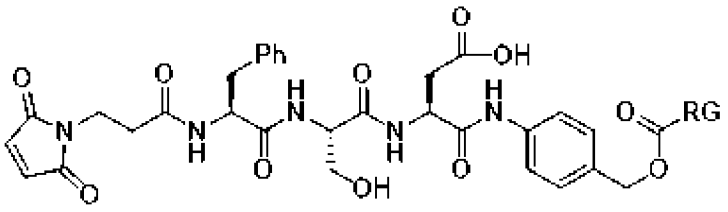
[0653] В любом из вариантов осуществления, описанных в данном документе для L_B', A, нижний индекс a, B, нижний индекс b, L_O, нижний индекс q, L_R', A', нижний индекс a', P1, P2, P3, Y, нижний индекс y и HE в отношении соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат (LDC), первичных линкеров, вторичных линкеров, соединений лекарственный препарат-линкер, фрагментов лекарственный препарат-линкер, пептидных расщепляемых звеньев, звеньев растяжения и спейсерных звеньев, эти варианты осуществления также применимы к линкерным соединениям, описанным в данном документе, таким как соединения формулы **IA-L**, формулы **IA-L-1**, формулы **IA-L-2**, формулы **IA-L-3** или формулы **IA-L-4**.

[0654] В любом из соединений лекарственный препарат-линкер, описанных в данном документе, лекарственное звено (D) может быть замещено подходящей реактивной группой (т. е. группой, подходящей для присоединения к лекарственному звену (D)) для образования линкерного соединения, например, структуры, представленной формулой **IA-L**, формулой **IA-L-1**, формулой **IA-L-2**, формулой **IA-L-3** или формулой **IA-L-4**. Реактивная группа представляет собой группу, подходящую для проведения реакции линкерного соединения с лекарственным соединением ауристатина, описанным в данном документе (таким как MMAE или MMAF), с образованием соединения лекарственный препарат-линкер.

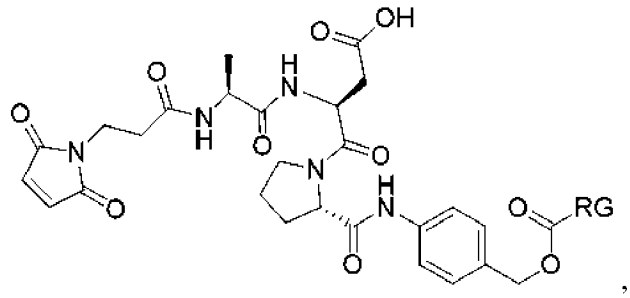
[0655] В некоторых вариантах осуществления линкерное соединение представлено:



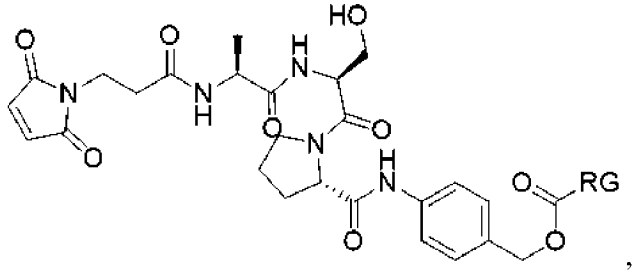
,



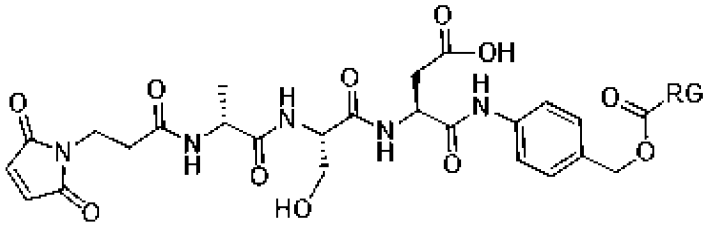
,



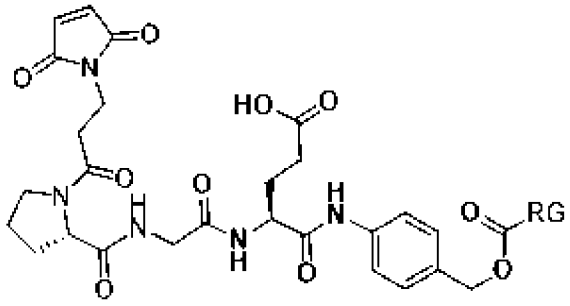
,



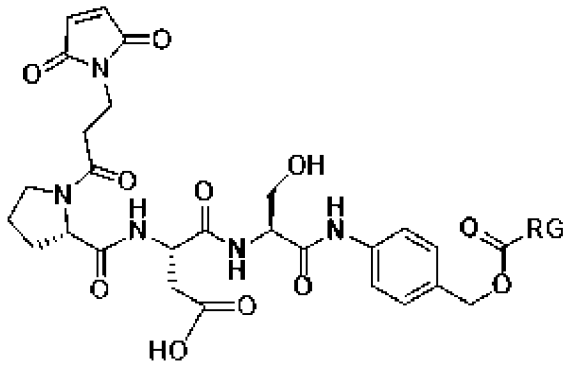
,



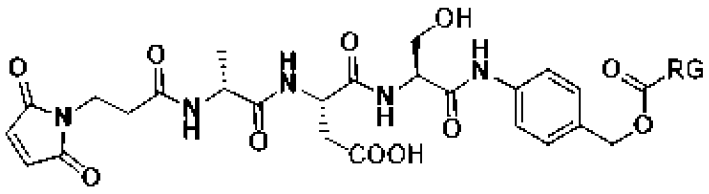
,



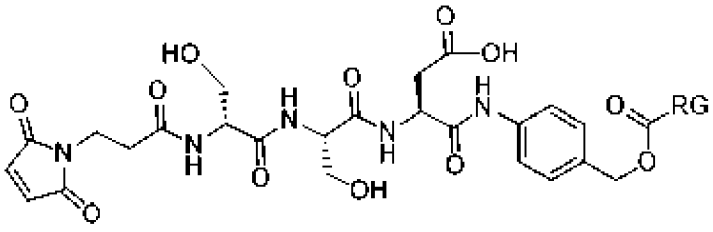
,



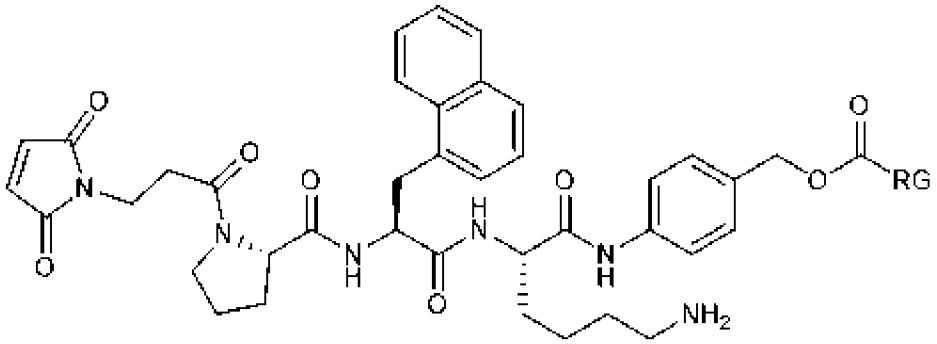
,

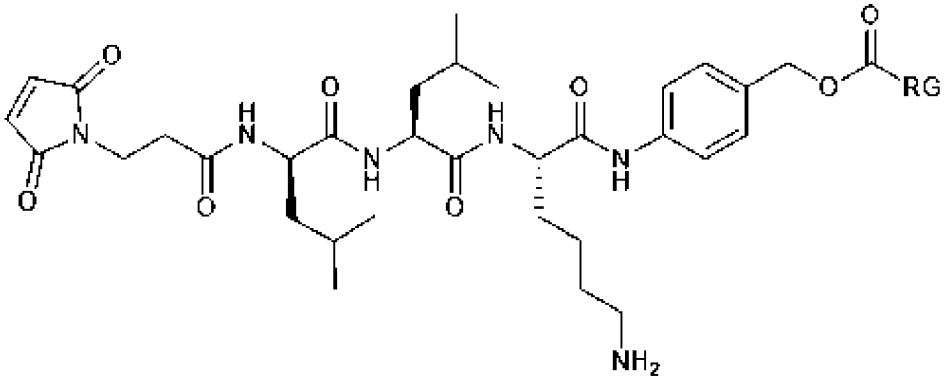


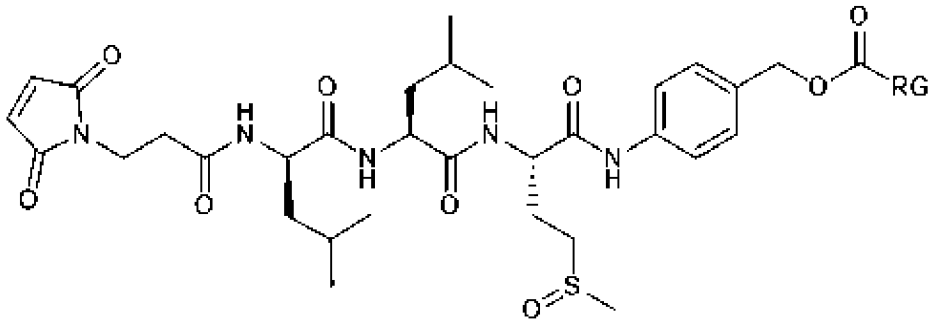
,

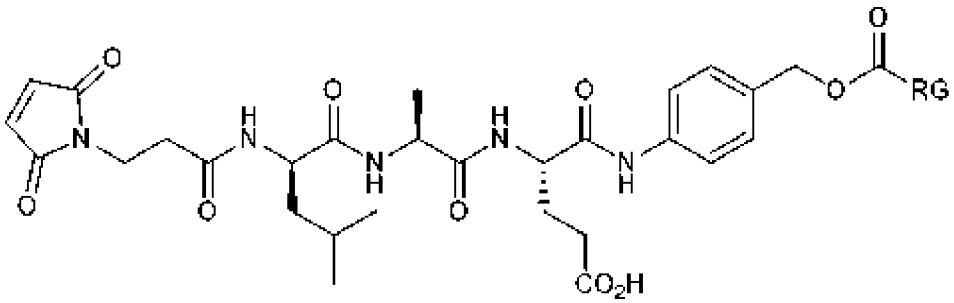


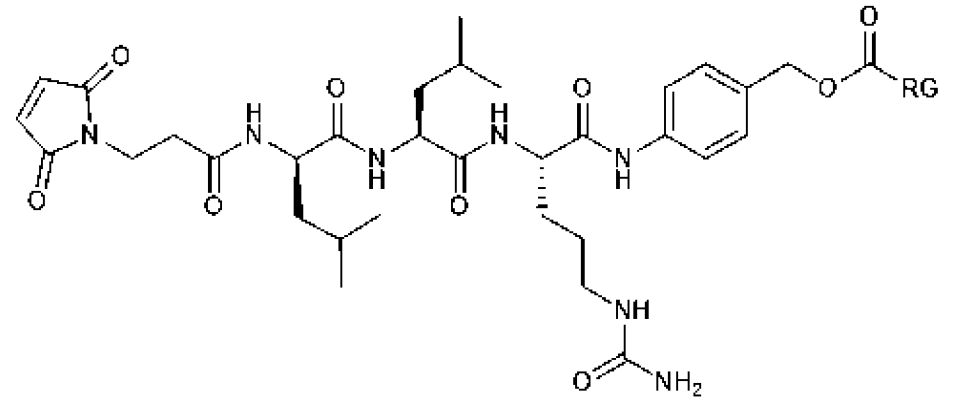
,

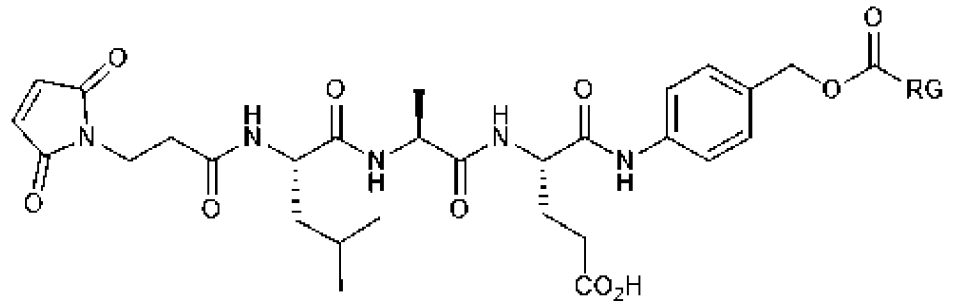


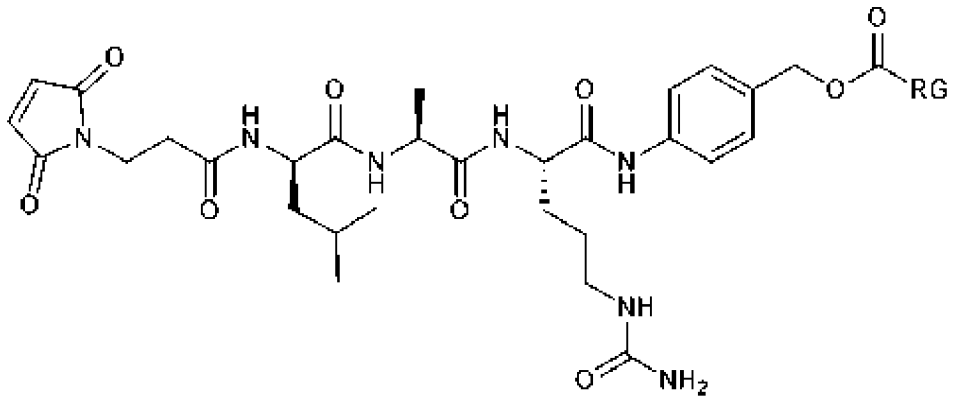


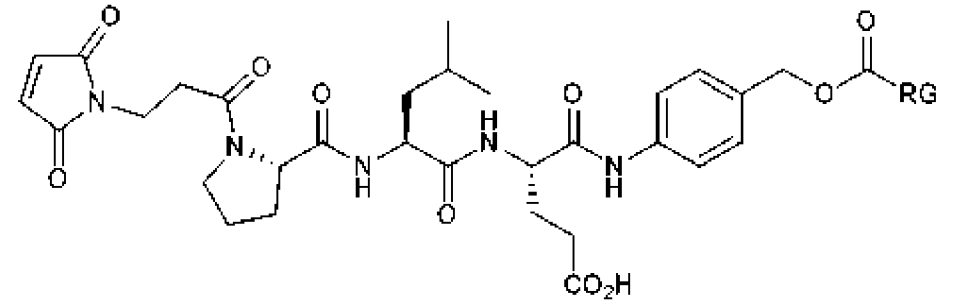


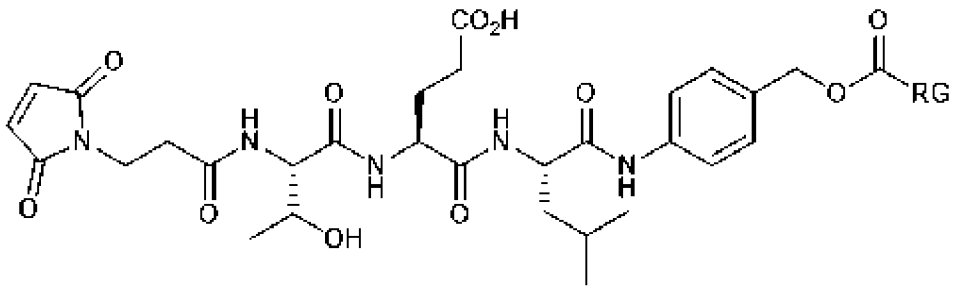


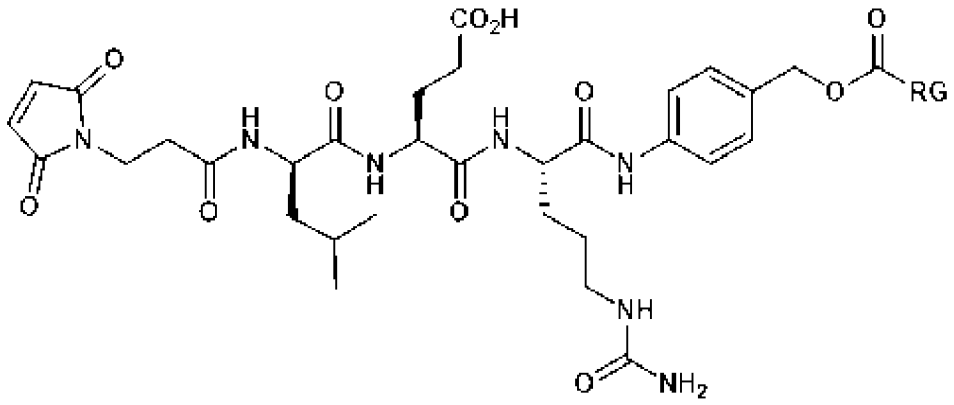


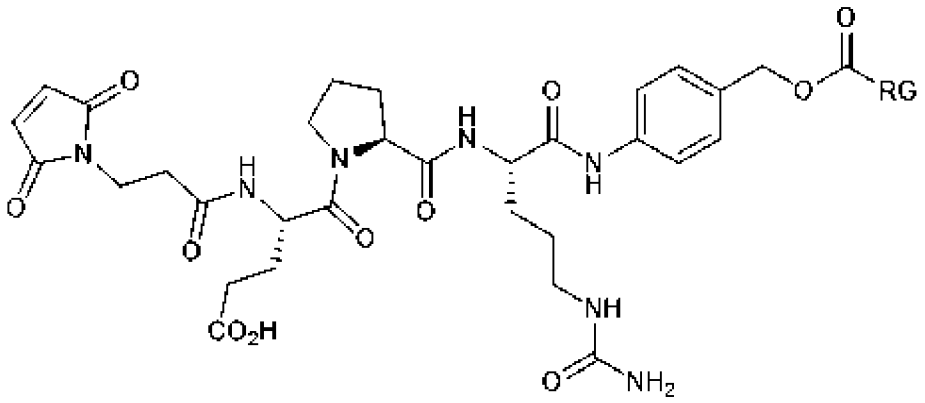


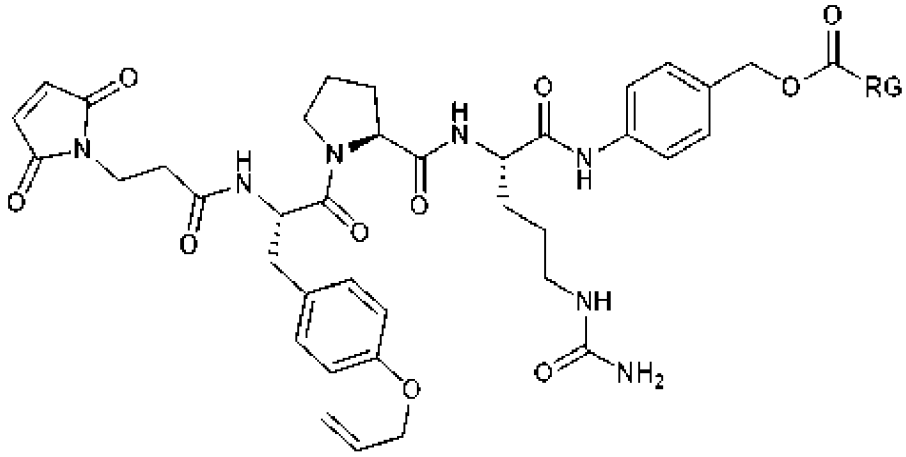


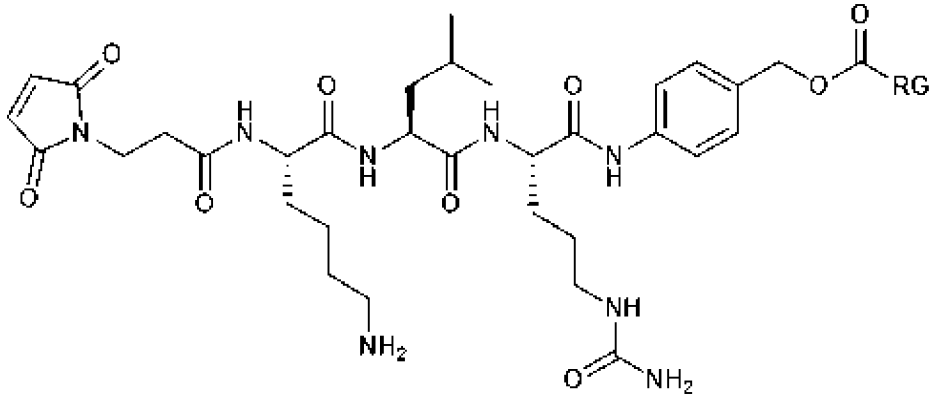


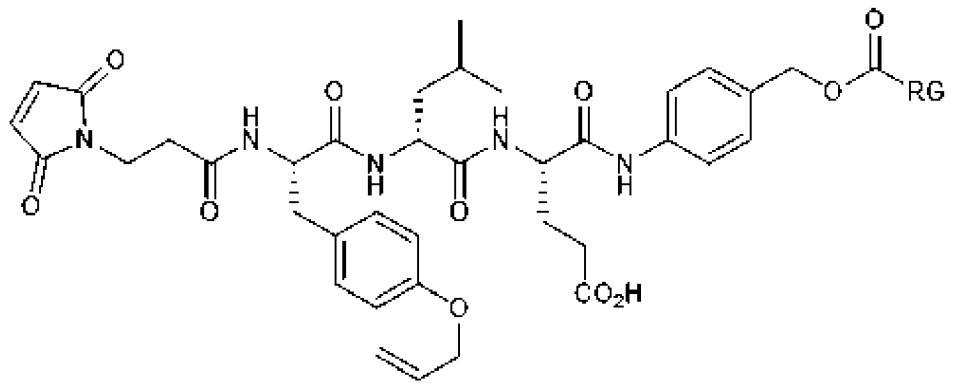


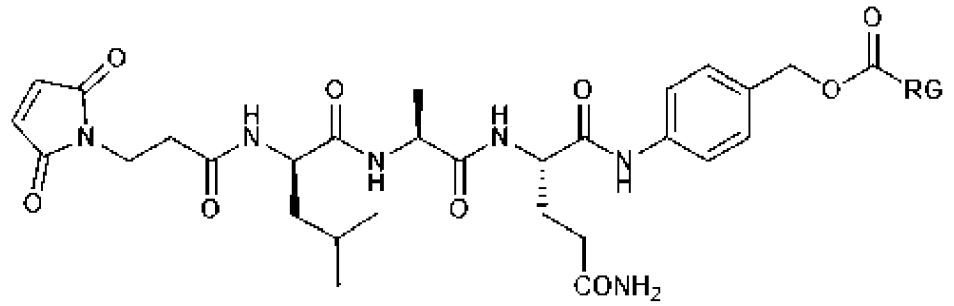


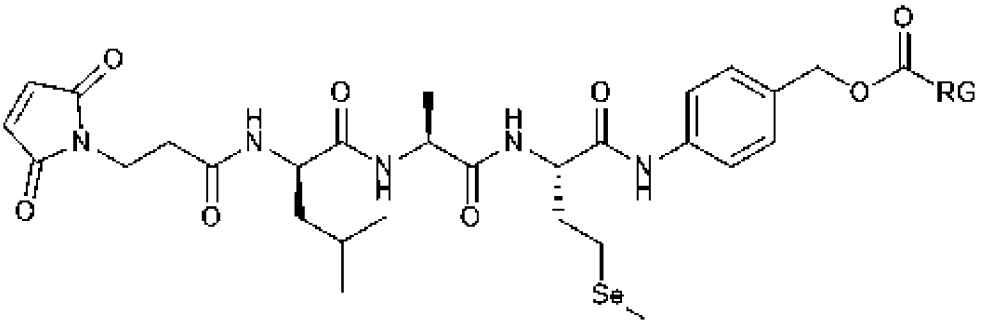


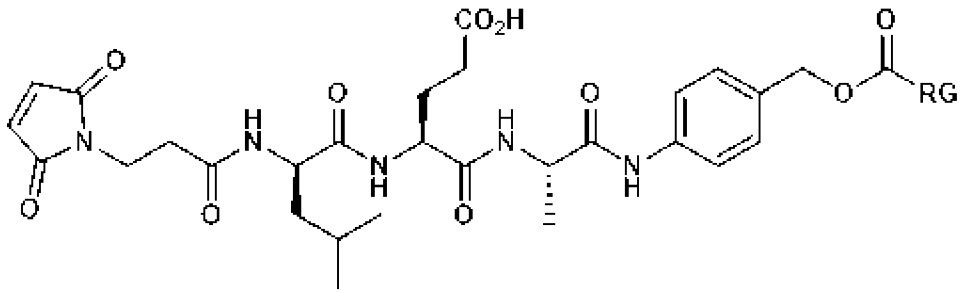


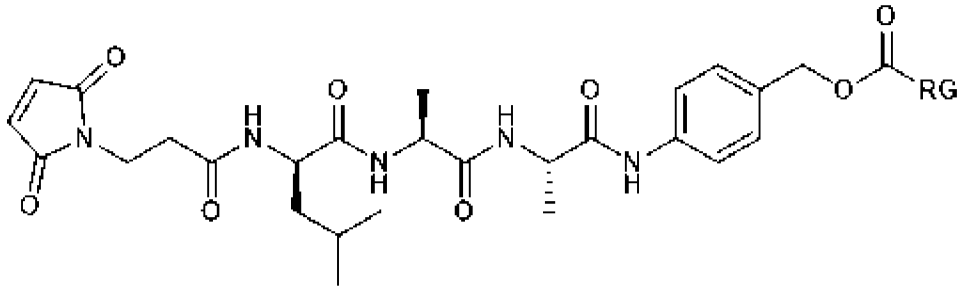


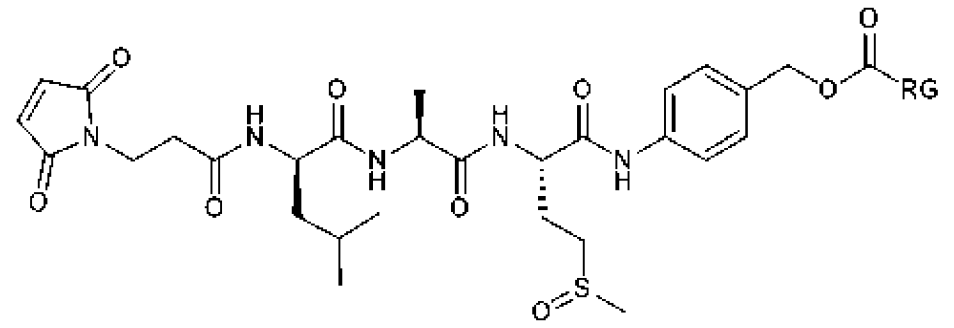


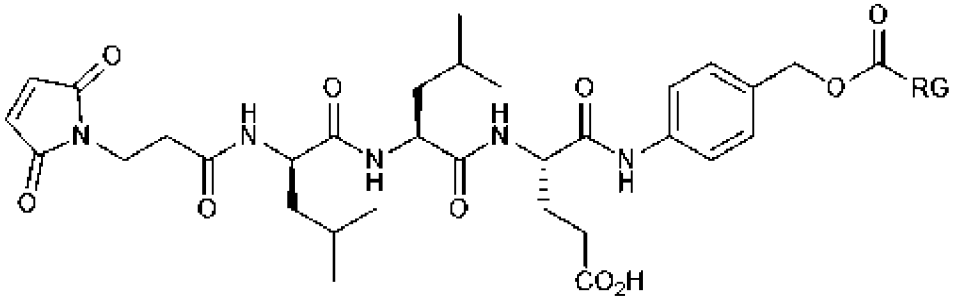


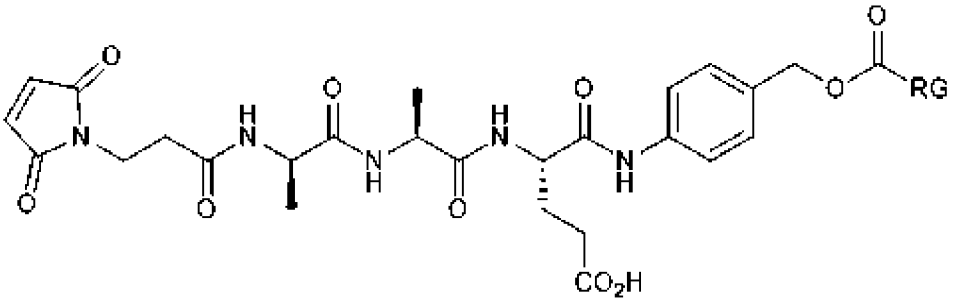


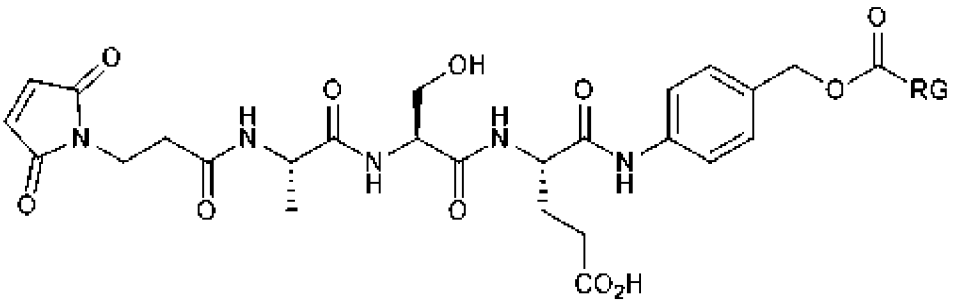


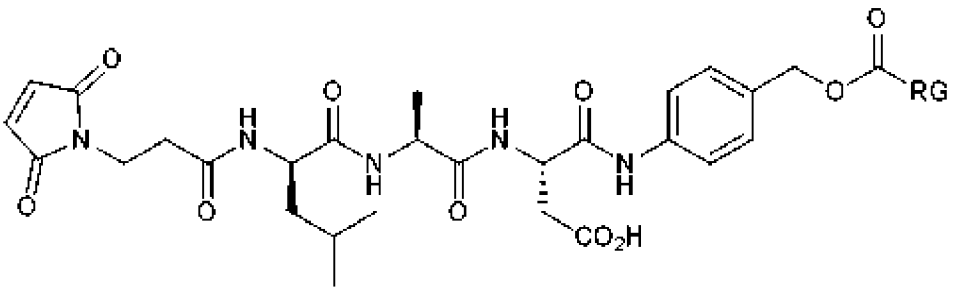


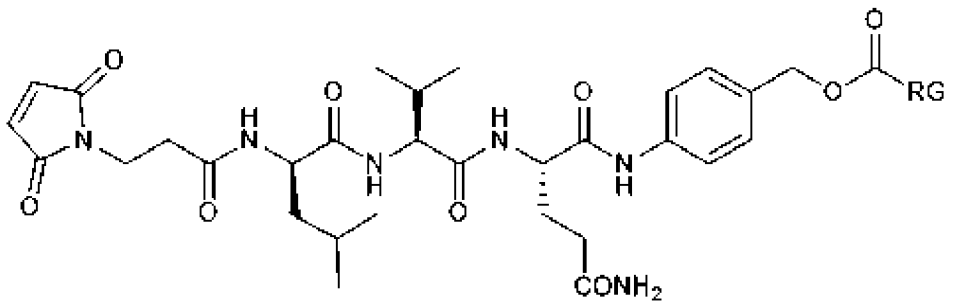


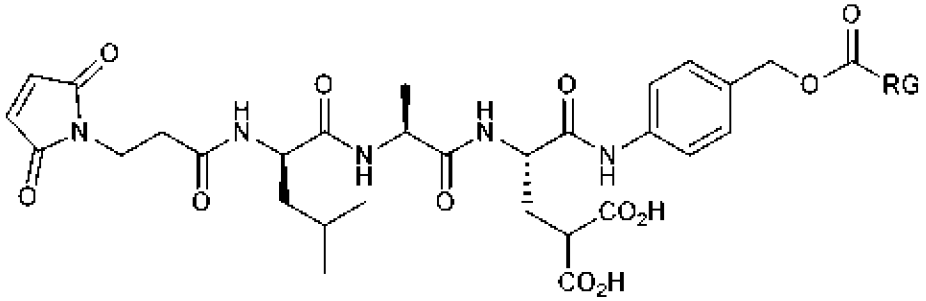


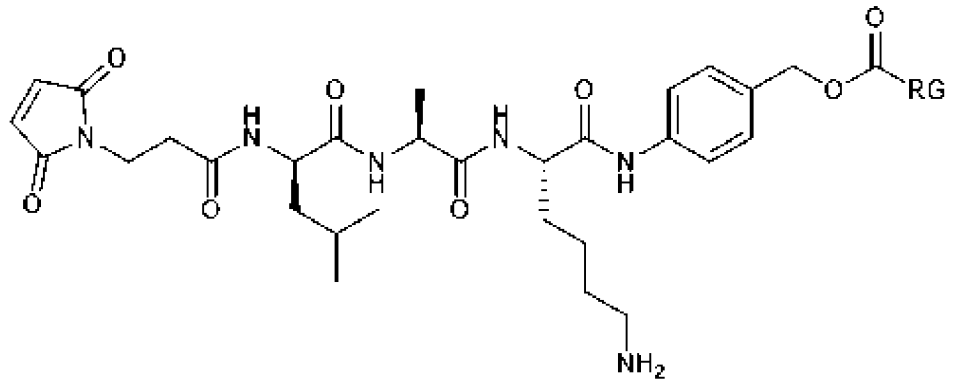


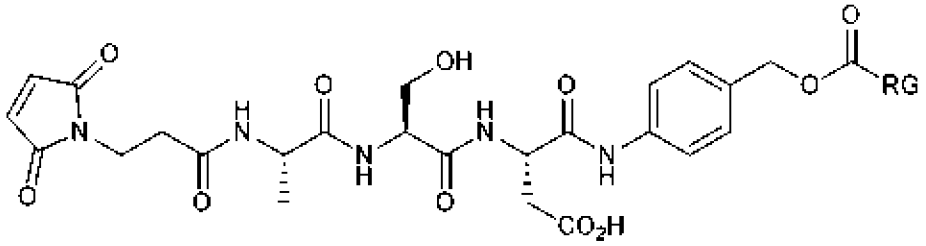


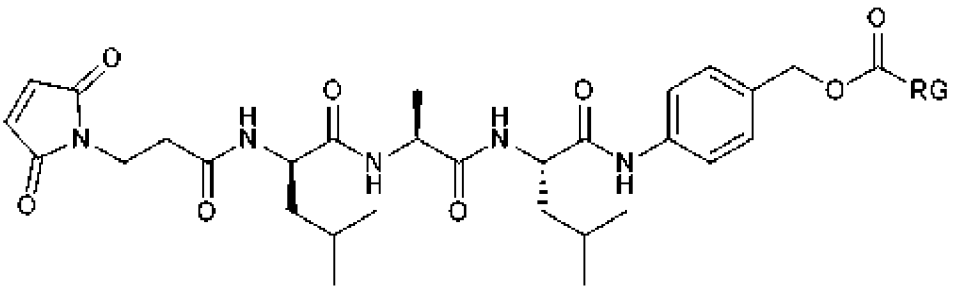


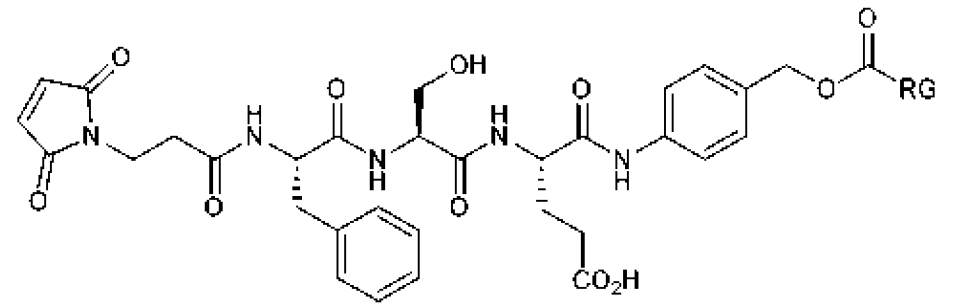


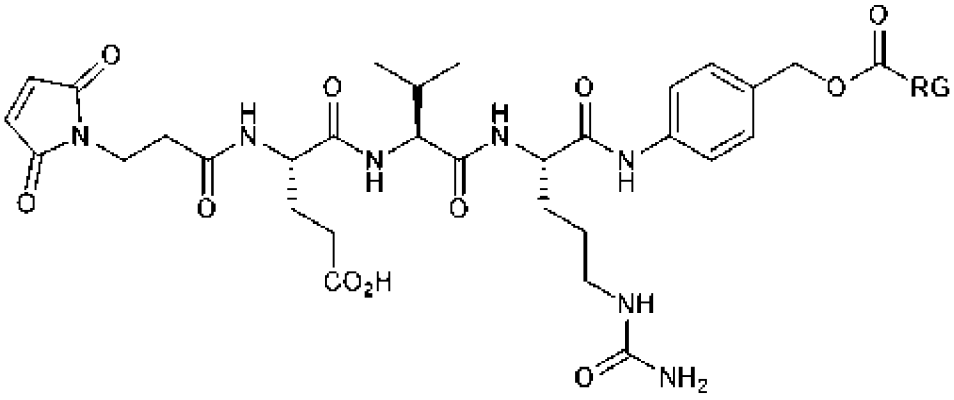


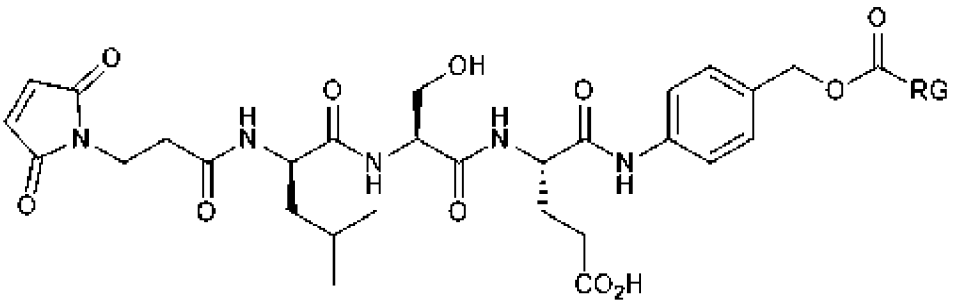


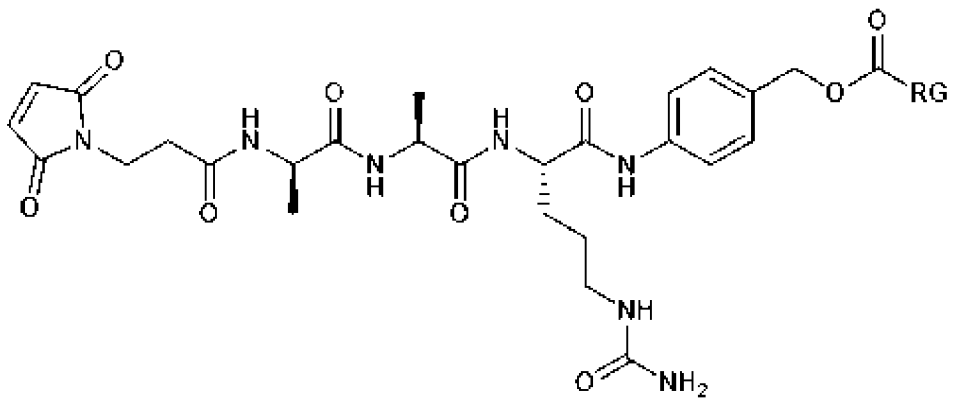


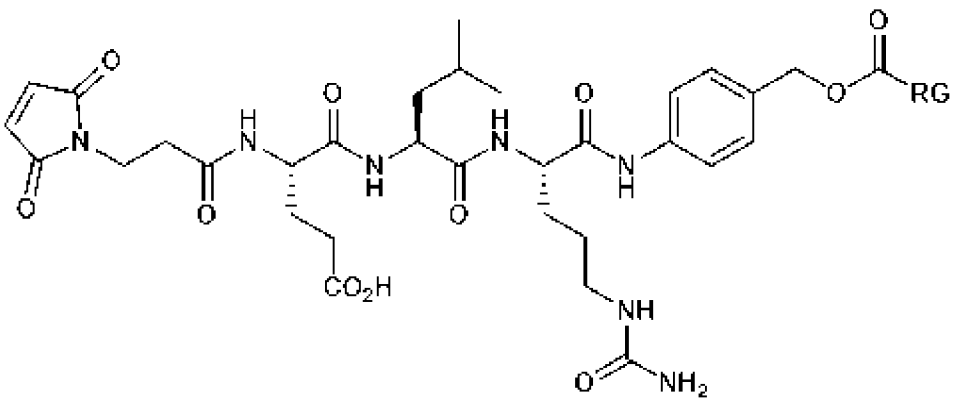


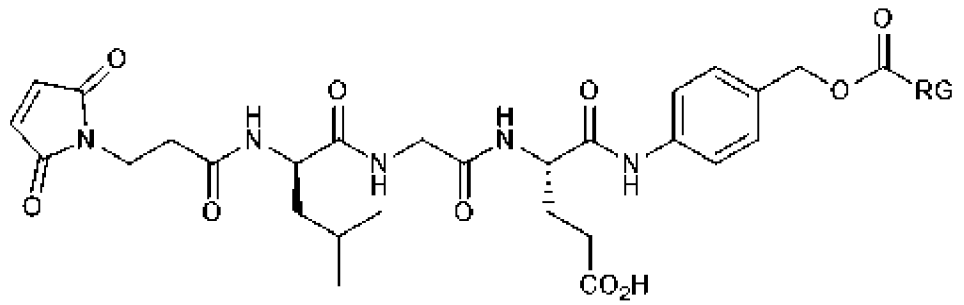


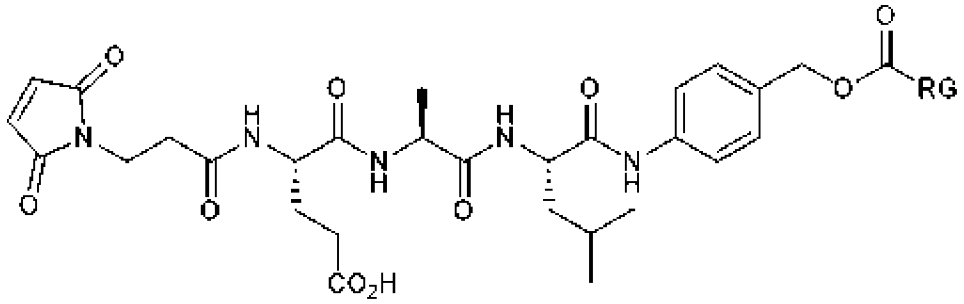


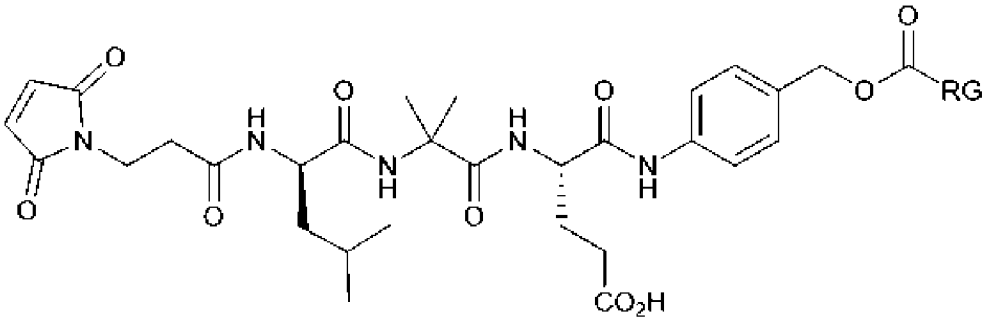


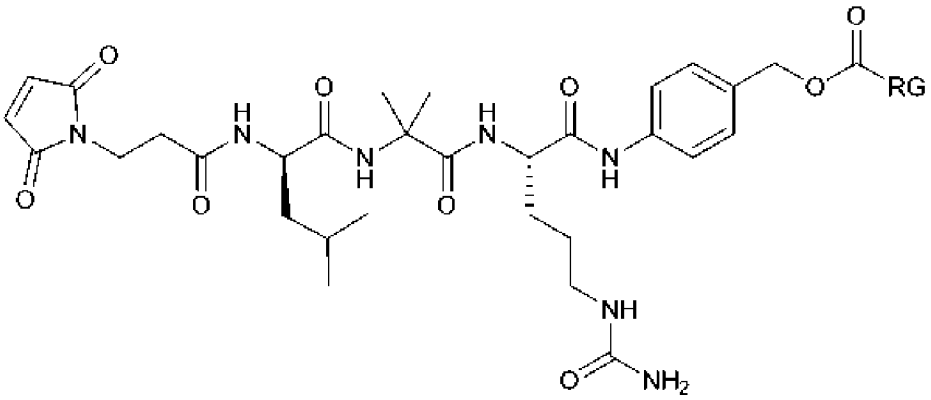


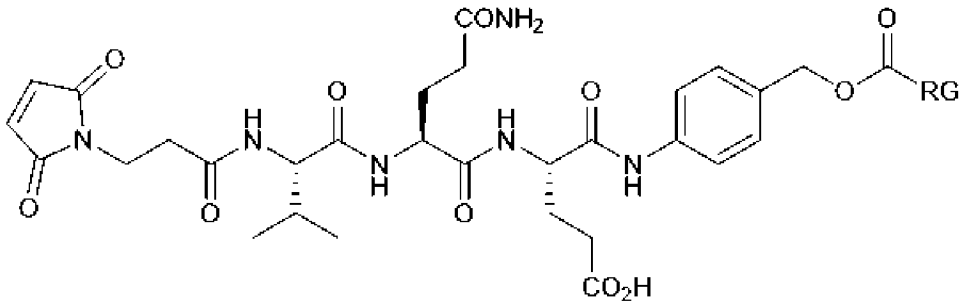


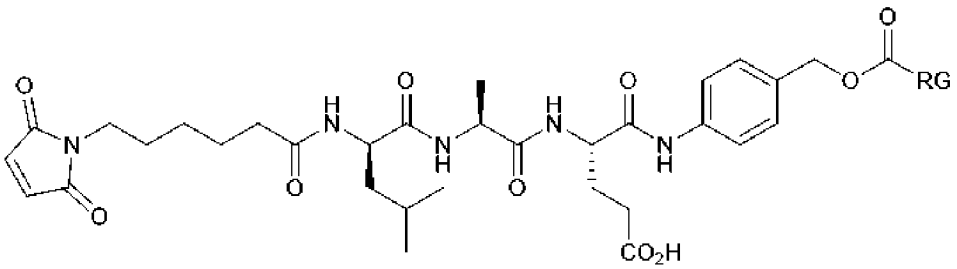


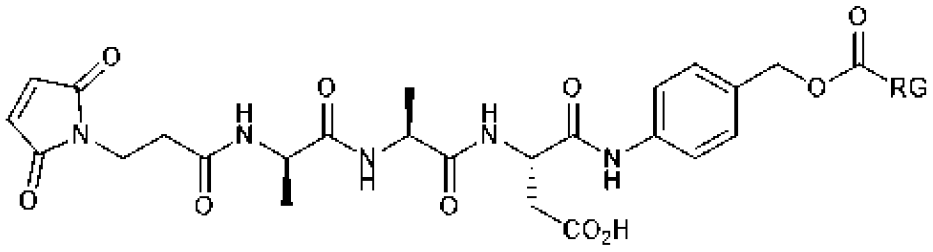


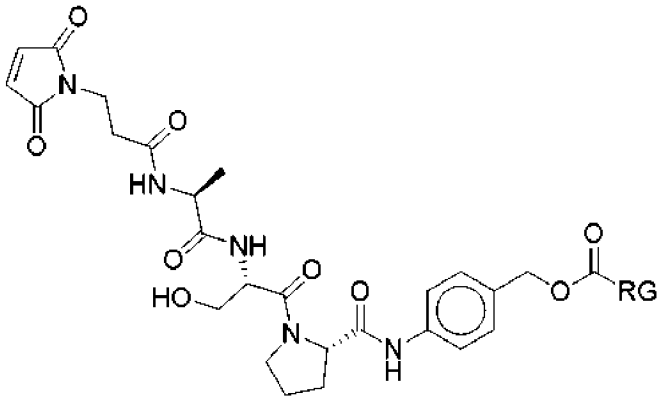




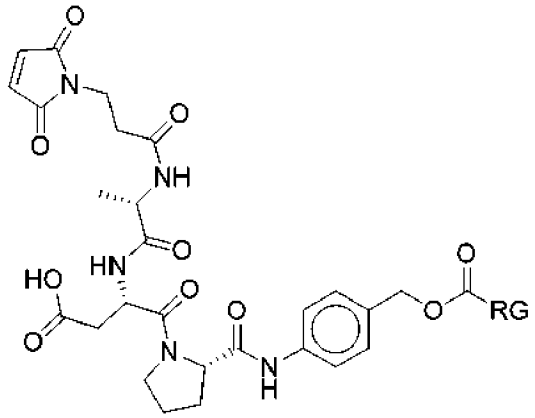




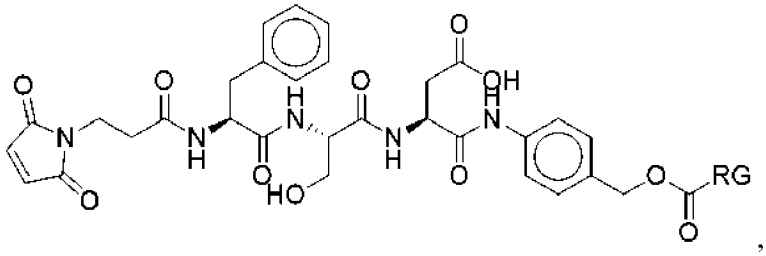




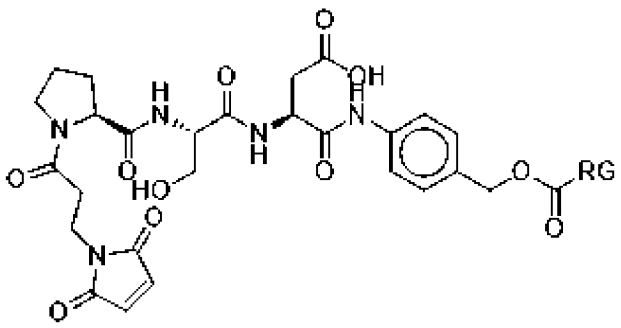
,



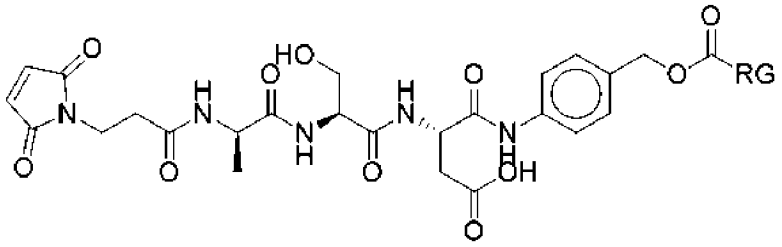
,



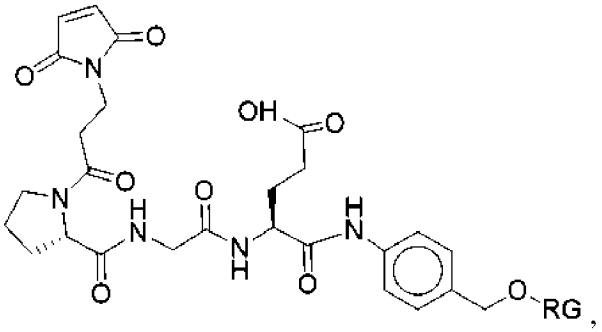
,



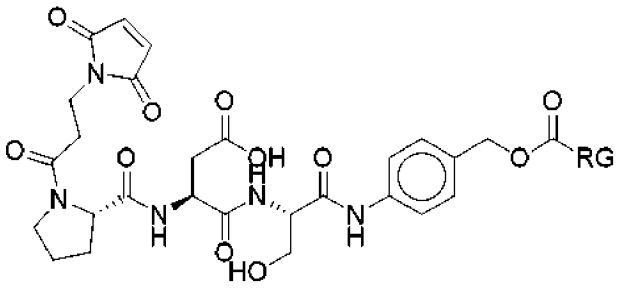
,



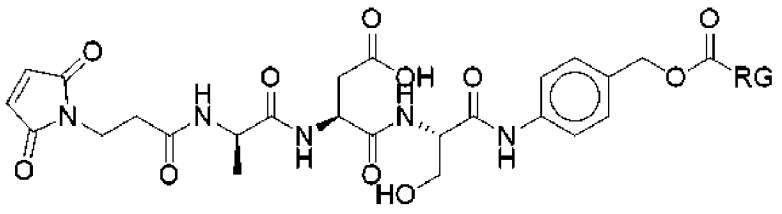
,



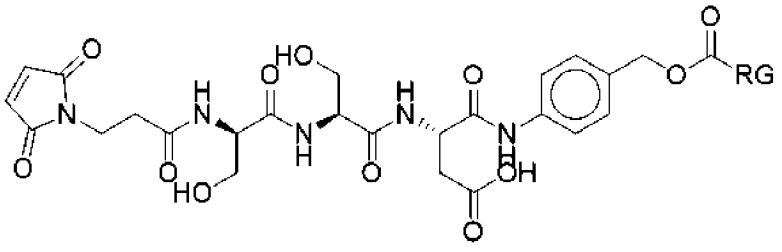
,



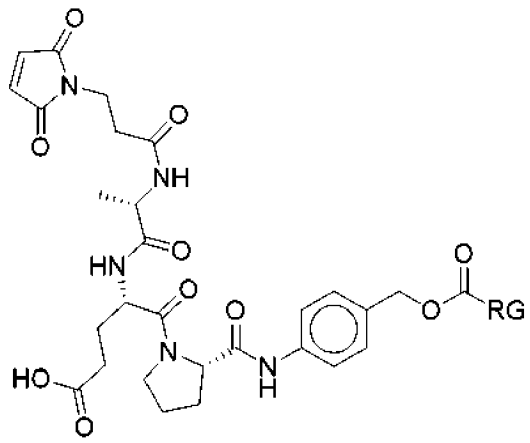
,



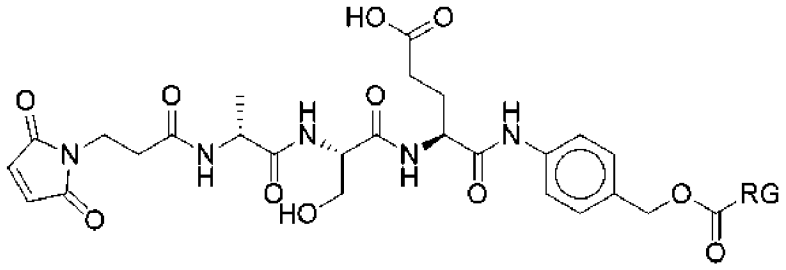
,



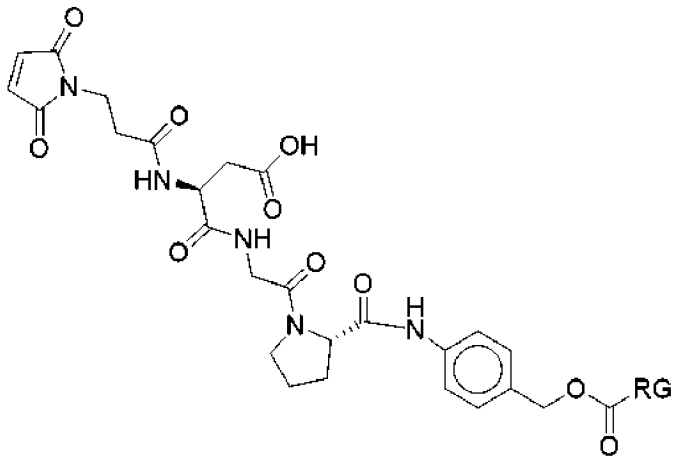
,



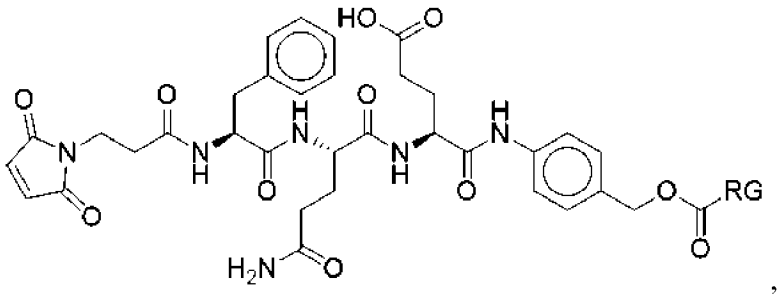
,



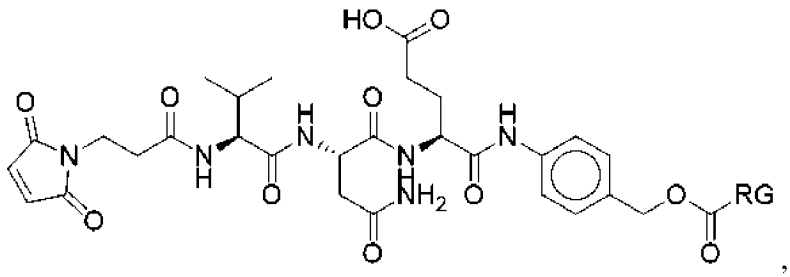
,



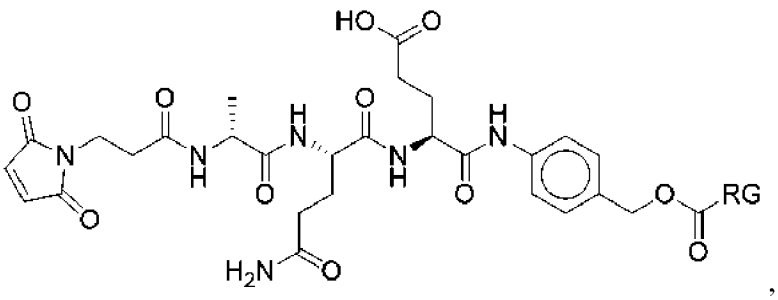
,



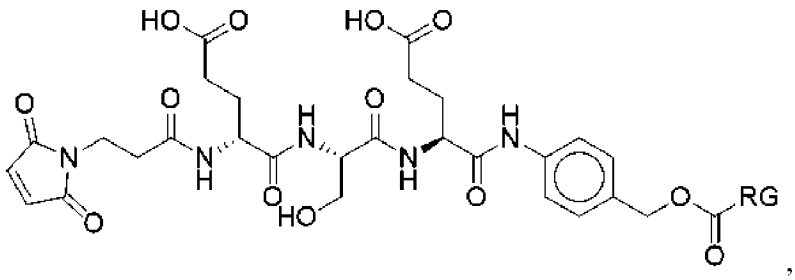
,



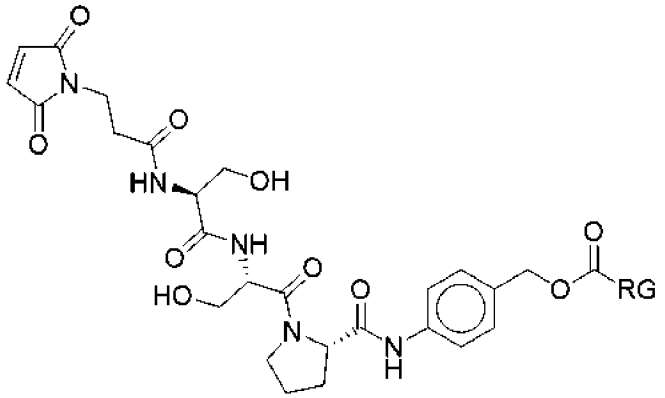
,



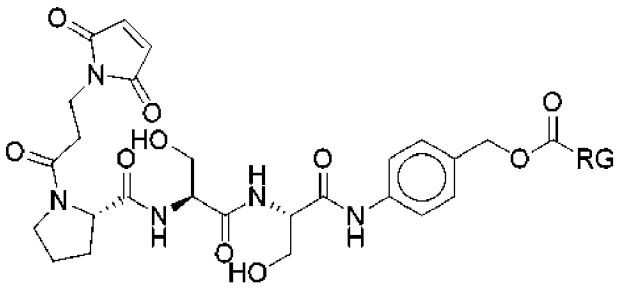
,



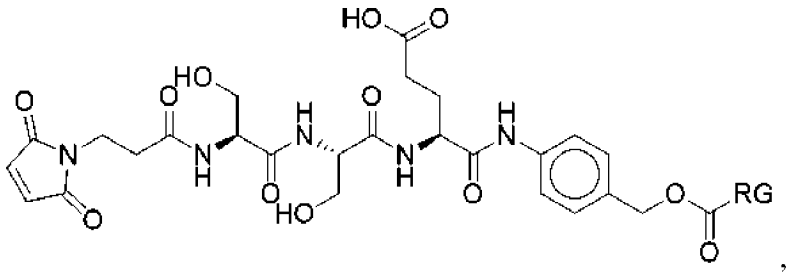
,



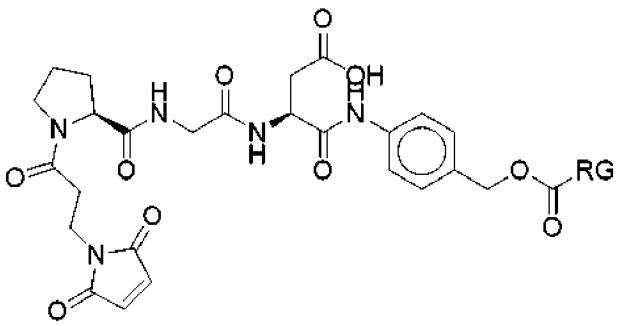
,



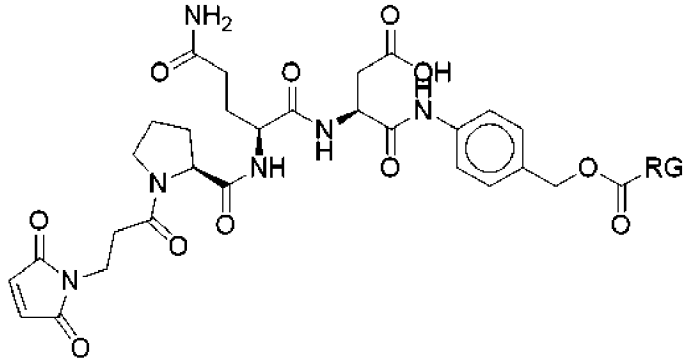
,



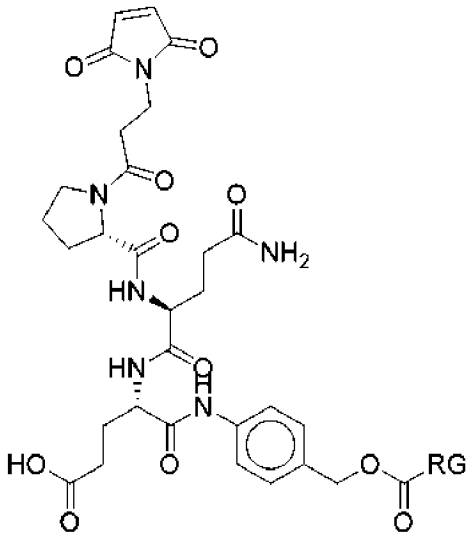
,



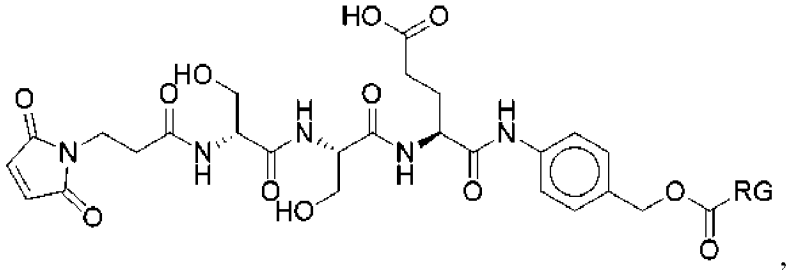
,



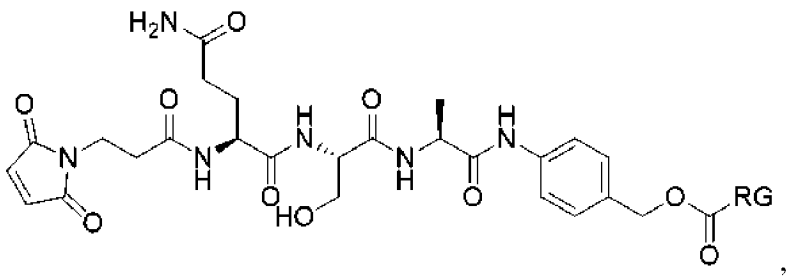
,



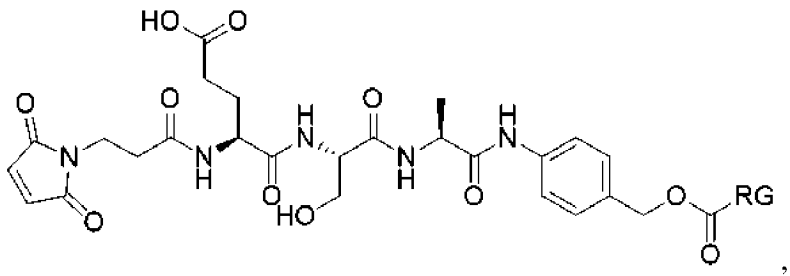
,



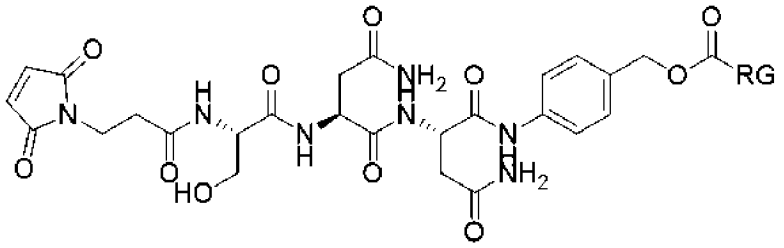
,



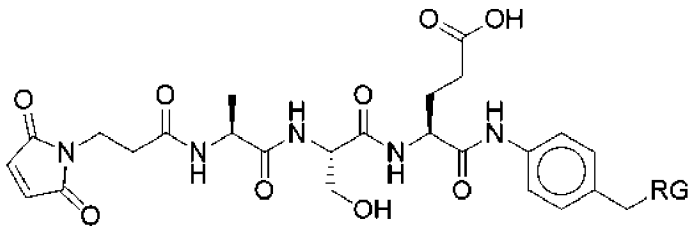
,



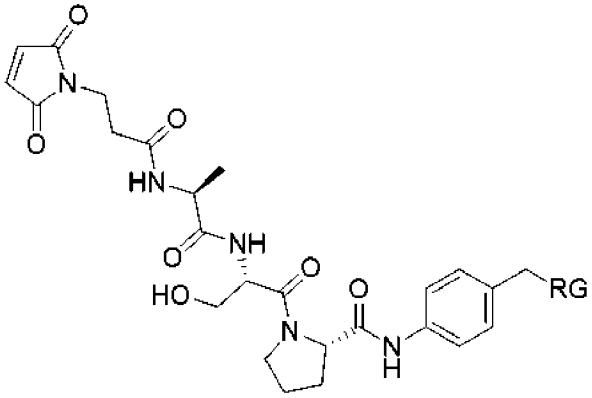
,



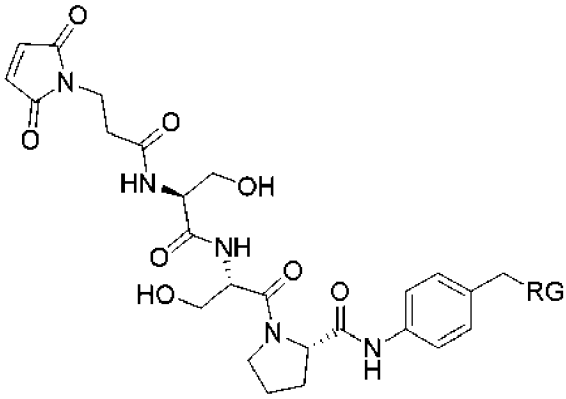
,



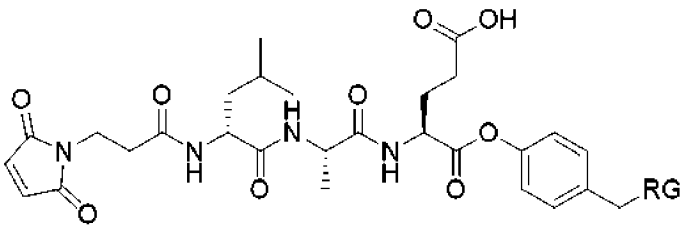
,



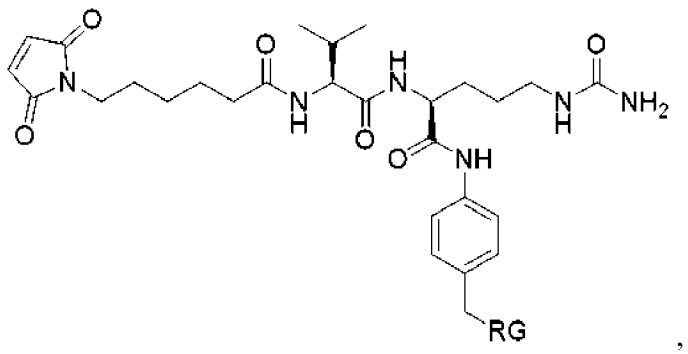
,



,



, или



или их солью, где RG представляет собой реактивную группу.

3. Лиганды

[0656] Типовые антигены приведены ниже. Типовые антитела, которые связывают указанный антиген, приведены в скобках.

[0657] В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой опухолеассоциированный антиген. В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой трансмембранный белок. Например, следующие антигены являются трансмембранными белками: ANTXR1, BAFF-R, CA9 (типовые антитела включают гирентуксимаб), CD147 (типовые антитела включают гавилимомаб и метузумаб), CD19, CD20 (типовые антитела включают дивозилимаб и ибритутомаб тиуксетан), CD274, также известный как PD-L1 (типовые антитела включают адебрелимаб, атезолизумаб, гаривулимаб, дурвалумаб и авелумаб), CD30 (типовые антитела включают иратумумаб и брентуксимаб), CD33 (типовые антитела включают линтузумаб), CD352, CD45 (типовые антитела включают апамистамаб), CD47 (типовые антитела включают летаплимаб и магролимаб), CLPTM1L, DPP4, EGFR, ERVMER34-1, FASL, FSHR, FZD5, FZD8, GUCY2C (типовые антитела включают индусатумаб), IFNAR1 (типовые антитела включают фаралимомаб), IFNAR2, LMP2, MLANA, SIT1, TLR2/4/1 (типовые антитела включают томаралимаб), TM4SF5, TMEM132A, TMEM40, UPK1B, VEGF и VEFGR2 (типовые антитела включают гентуксимаб).

[0658] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой трансмембранный транспортный белок. Например, следующие антигены являются трансмембранными транспортными белками: ASCT2 (типовые антитела включают идактамаб), MFSD13A, Mincle, NOX1, SLC10A2, SLC12A2, SLC17A2, SLC38A1, SLC39A5, SLC39A6, также известный как LIV1 (типовые антитела включают ладиратузумаб), SLC44A4, SLC6A15, SLC6A6, SLC7A11 и SLC7A5.

[0659] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой трансмембранный или мембраноассоциированный гликопротеин. Например, следующие антигены являются трансмембранными или мембраноассоциированными гликопротеинами: CA-125, CA19-9, CAMPATH-1 (типовые антитела включают алемтузумаб), карциноэмбриональный антиген (типовые антитела включают арцитумомаб, цергутузумаб, амуналейкин и лабетузумаб), CD112, CD155,

CD24, CD247, CD37 (типовые антитела включают лилотомаб), CD38 (типовые антитела включают фелзартамаб), CD3D, CD3E (типовые антитела включают форалумаб и теплизумаб), CD3G, CD96, CDCP1, CDH17, CDH3, CDH6, CEACAM1, CEACAM6, CLDN1, CLDN16, CLDN18.1 (типовые антитела включают золбетуксимаб), CLDN18.2 (типовые антитела включают золбетуксимаб), CLDN19, CLDN2, CLEC12A (типовые антитела включают теподитамаб), DPEP1, DPEP3, DSG2, эндосиалин (типовые антитела включают онтуксизумаб), ENPP1, EPCAM (типовые антитела включают адекатумумаб), FN, FN1, Gp100, GPA33, gpNMB (типовые антитела включают глембатумумаб), ICAM1, L1CAM, LAMP1, MELTF, также известный как CD228, NCAM1, нектин-4 (типовые антитела включают энфортумаб), PDPN, PMSA, PROM1, PSCA, PSMA, Siglecs 1-16, SIRPa, SIRPg, TACSTD2, TAG-72, тенасцин, тканевый фактор, также известный как TF (типовые антитела включают тизотумаб) и ULBP1/2/3/4/5/6.

[0660] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой трансмембранную или мембраноассоциированную рецепторную киназу. Например, следующие антигены являются трансмембранными или мембраноассоциированными рецепторными киназами: ALK, Axl (типовые антитела включают тилвестамаб), BMPR2, DCLK1, DDR1, рецепторы EPHA, EPHA2, ERBB2, также известный как HER2 (типовые антитела включают трастузумаб, бевацизумаб, пертузумаб и маргетуксимаб), ERBB3, FLT3, PDGFR-B (типовые антитела включают ринукумаб), PTK7 (типовые антитела включают кофетузумаб), RET, ROR1 (типовые антитела включают цирмтузумаб), ROR2, ROS1 и Tie3.

[0661] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой мембраноассоциированный или мембранолокализованный белок. Например, следующие антигены являются мембраноассоциированными или мембранолокализованными белками: ALPP, ALPPL2, ANXA1, FOLR1 (типовые антитела включают фарлетузумаб), IL13Ra2, IL1RAP (типовые антитела включают ниданилимаб), NT5E, OX40, мутант Ras, RGS5, RhoC, SLAMF7 (типовые антитела включают элотузумаб) и VSIR.

[0662] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой трансмембранный сопряженный с G-белком рецептор (GPCR). Например, следующие антигены являются GPCR: CALCR, CD97, GPR87 и KISS1R.

[0663] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой ассоциированный с клеточной поверхностью рецептор или клеточный поверхностный рецептор. Например, следующие антигены являются ассоциированными с клеточной поверхностью рецептор и/или клеточными поверхностными рецепторами: B7-DC, BCMA, CD137, CD 244, CD3 (типовые антитела включают отеликсизумаб и визилизумаб), CD48, CD5 (типовые антитела включают золимомаб аритокс), CD70 (типовые антитела включают кузатузумаб и ворсетузумаб), CD74 (типовые антитела включают милатузумаб), CD79A, CD-262 (типовые антитела включают тигатузумаб), DR4 (типовые антитела включают мапатумумаб), FAS, FGFR1, FGFR2 (типовые антитела

включают апрутумаб), FGFR3 (типовые антитела включают вофатамаб), FGFR4, GITR (типовые антитела включают рагифилимаб), Gpc3 (типовые антитела включают рагифилимаб), HAVCR2, HLA-E, HLA-F, HLA-G, LAG-3 (типовые антитела включают энцелимаб), LY6G6D, LY9, MICA, MICB, MSLN, MUC1, MUC5AC, NY-ESO-1, OY-TES1, PVRIG, антиген Sialyl-Thomsen-Nouveau, белок сперматозоидов 17, TNFRSF12 и uPAR.

[0664] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой хемокиновый рецептор или цитокиновый рецептор. Например, следующие антигены являются хемокиновыми рецепторами или цитокиновыми рецепторами: CD115 (типовые антитела включают аксатилимаб, кабирализумаб и эмактузумаб), CD123, CXCR 4 (типовые антитела включают улокуплумаб), IL-21R и IL-5R (типовые антитела включают бенрализумаб).

[0665] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой костимулирующий экспрессируемый на поверхности белок. Например, следующие антигены являются костимулирующими экспрессируемыми на поверхности белками: B7-H3 (типовые антитела включают эноблитузумаб и омбуртамаб), B7-H4, B7-H6 и B7-H7.

[0666] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой транскрипционный фактор или ДНК-связывающий белок. Например, следующие антигены являются транскрипционными факторами: ETV6-AML, MYCN, PAX3, PAX5 и WT1. Следующий белок представляет собой ДНК-связывающий белок: BORIS.

[0667] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой интегральный мембранный белок. Например, следующие антигены являются интегральными мембранными белками: SLITRK6 (типовые антитела включают сиртратумаб), UPK2 и UPK3B.

[0668] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой интегрин. Например, следующие антигены являются интегриновыми антигенами: альфа v бета 6, ITGAV (типовые антитела включают абитузумаб), ITGB6 и ITGB8.

[0669] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой гликолипид. Например, следующие антигены являются гликолипидными антигенами: FucGM1, GD2 (типовые антитела включают динутуксимаб), GD3 (типовые антитела включают митумомаб), GloboH, GM2 и GM3 (типовые антитела включают ракотумомаб).

[0670] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой клеточно-поверхностный рецептор гормона. Например, следующие антигены являются клеточно-поверхностными рецепторами гормонов: AMHR2 и рецептор андрогена.

[0671] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген представляет собой трансмембранную или мембраноассоциированную протеазу.

Например, следующие антигены являются трансмембранными или мембраноассоциированными протеазами: ADAM12, ADAM9, TMPRSS11D и металлопротеиназа.

[0672] В некоторых вариантах осуществления опухолеассоциированный антиген аберрантно экспрессируется у индивидов, имеющих рак. Например, следующие антигены могут аберрантно экспрессироваться у индивидов, имеющих рак: AFP, AGR2, AKAP-4, ARTN, BCR-ABL, компонент комплемента C5, CCNB1, CSPG4, CYP1B1, De2-7 EGFR, EGF, Fas-связанный антиген 1, FBP, G250, GAGE, HAS3, HPV E6 E7, hTERT, IDO1, LCK, легумаин, LYPD1, MAD-CT-1, MAD-CT-2, MAGEA3, MAGEA4, MAGEC2, MerTk, ML-IAP, NA17, NY-BR-1, p53, мутант p53, PAP, PLAVI, полисиаловая кислота, PR1, PSA, контрольные точки транслокации саркомы, SART3, sLe, SSX2, сурвивин, Tn, TRAIL, TRAIL1, TRP-2 и XAGE1.

[0673] В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой ассоциированный с иммунными клетками антиген. В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с иммунными клетками антиген представляет собой трансмембранный белок. Например, следующие антигены являются трансмембранными белками: BAFF-R, CD163, CD19, CD20 (типовые антитела включают гавилимомаб и метузумаб), CD25 (типовые антитела включают дивозилимаб и ибритутомаб тиуксетан), CD274, также извесный как PD-L1 (типовые антитела включают адебрелимаб, атезолизумаб, гаривулимаб, дурвалумаб и авелумаб), CD30 (типовые антитела включают иратумумаб и брентуксимаб), CD33 (типовые антитела включают линтузумаб), CD352, CD45 (типовые антитела включают апамистамаб), CD47 (типовые антитела включают летаплимаб и магролимаб), CTLA4 (типовые антитела включают ипилимумаб), FASL, IFNAR1 (типовые антитела включают фаралимомаб), IFNAR2, LAYN, LILRB2, LILRB4, PD-1 (типовые антитела включают ипилимумаб, ниволумаб, пембролизумаб, балстилимаб, будигалимаб, гептанолимаб, торипалимаб и пидилизумаб), SIT1 и TLR2/4/1 (типовые антитела включают томаралимаб).

[0674] В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с иммунными клетками антиген представляет собой трансмембранный транспортный белок. Например, Mincle представляет собой трансмембранный транспортный белок.

[0675] В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с иммунными клетками антиген представляет собой трансмембранный или мембраноассоциированный гликопротеин. Например, следующие антигены являются трансмембранными или мембраноассоциированными гликопротеинами: CD112, CD155, CD24, CD247, CD28, CD30L, CD37 (типовые антитела включают лилотомаб), CD38 (типовые антитела включают фелзартамаб), CD3D, CD3E (типовые антитела включают форалумаб и теплизумаб), CD3G, CD44, CLEC12A (типовые антитела включают теподитамаб), DCIR, DCSIGN, дектин 1, дектин 2, ICAM1, LAMP1, Siglecs 1-16, SIRPa, SIRPg и ULBP1/2/3/4/5/6.

[0676] В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с иммунными

клетками антиген представляет собой трансмембранную или мембраноассоциированную рецепторную киназу. Например, следующие антигены являются трансмембранными или мембраноассоциированными рецепторными киназами: Axl (типовые антитела включают тилвестамаб) и FLT3.

[0677] В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с иммунными клетками антиген представляет собой мембраноассоциированный или мембранолокализованный белок. Например, следующие антигены являются мембраноассоциированными или мембранолокализованными белками: CD83, IL1RAP (типовые антитела включают ниданилимаб), OX40, SLAMF7 (типовые антитела включают элотузумаб) и VSIR.

[0678] В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с иммунными клетками антиген представляет собой трансмембранный сопряженный с G-белком рецептор (GPCR). Например, следующие антигены являются GPCR: CCR4 (типовые антитела включают могамулизумаб-kpkc), CCR8 и CD97.

[0679] В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с иммунными клетками антиген представляет собой ассоциированный с клеточной поверхностью рецептор или клеточный поверхностный рецептор. Например, следующие антигены являются ассоциированными с клеточной поверхностью рецептор и/или клеточными поверхностными рецепторами: B7-DC, BCMA, CD137, CD2 (типовые антитела включают сиплизумаб), CD 244, CD27 (типовые антитела включают варлилумаб), CD278 (типовые антитела включают феладилимаб и вопрателимаб), CD3 (типовые антитела включают отеликсизумаб и визилизумаб), CD40 (типовые антитела включают дацетузумаб и лукатумумаб), CD48, CD5 (типовые антитела включают золимомаб аритокс), CD70 (типовые антитела включают кусатузумаб и ворсетузумаб), CD74 (типовые антитела включают милатузумаб), CD79A, CD-262 (типовые антитела включают тигатузумаб), DR4 (типовые антитела включают мапатумумаб), GITR (типовые антитела включают рагифилимаб), HAVCR2, HLA-DR, HLA-E, HLA-F, HLA-G, LAG-3 (типовые антитела включают энцелимаб), MICA, MICB, MRC1, PVRIG, антиген Sialyl-Thomsen-Nouveau, TIGIT (типовые антитела включают этигилимаб), Trem2 и uPAR.

[0680] В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с иммунными клетками антиген представляет собой хемокиновый рецептор или цитокиновый рецептор. Например, следующие антигены являются хемокиновыми рецепторами или цитокиновыми рецепторами: CD115 (типовые антитела включают аксатилимаб, кабирализумаб и эмактузумаб), CD123, CXCR4 (типовые антитела включают улокуплумаб), IL-21R и IL-5R (типовые антитела включают бенрализумаб).

[0681] В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с иммунными клетками антиген представляет собой костимулирующий экспрессируемый на поверхности белок. Например, следующие антигены являются костимулирующими экспрессируемыми на поверхности белками: B7-H3 (типовые антитела включают эноблитузумаб и омбуртамаб), B7-H4, B7-H6 и B7-H7.

[0682] В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с иммунными клетками антиген представляет собой периферический мембранный белок. Например, следующие антигены являются периферическими мембранными белками: B7-1 (типовые антитела включают галиксимаб) и B7-2.

[0683] В некоторых вариантах осуществления ассоциированный с иммунными клетками антиген аберрантно экспрессируется у индивидов, имеющих рак. Например, следующие антигены могут аберрантно экспрессироваться у индивидов, имеющих рак: компонент комплемента C5, IDO1, LCK, MerTk и Tyrol.

[0684] В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой ассоциированный со стромальными клетками антиген. В некоторых вариантах осуществления ассоциированный со стромальными клетками антиген представляет собой трансмембранный или мембраноассоциированный белок. Например, следующие антигены являются трансмембранными или мембраноассоциированными белками: FAP (типовые антитела включают сибротузумаб), IFNAR1 (типовые антитела включают фаралимомаб) и IFNAR2.

[0685] В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой CD30. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CD30, например, как описано в Международной патентной публикации № WO 02/43661. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD30 представляет собой cAC10, которое описано в Международной патентной публикации № WO 02/43661. cAC10 также известно как брентуксимаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD30 содержит CDR cAC10. В некоторых вариантах осуществления CDR определены по схеме нумерации Kabat. В некоторых вариантах осуществления CDR определены по схеме нумерации Chothia. В некоторых вариантах осуществления CDR определены по схеме нумерации IMGT. В некоторых вариантах осуществления CDR определены по схеме нумерации AbM. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD30 содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD30 содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 7, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 95% по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD30 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 10, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11.

[0686] В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой CD70. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которые связываются с CD70, например, как описано в Международной патентной публикации № WO 2006/113909. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой антитело к CD70 h1F6, которое описано в Международной патентной публикации № WO 2006/113909. h1F6 также известно как ворсетузумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD70 содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую три CDR из SEQ ID NO: 12, и вариабельную область легкой цепи, содержащую три CDR из SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления CDR определены по схеме нумерации Kabat. В некоторых вариантах осуществления CDR определены по схеме нумерации Chothia. В некоторых вариантах осуществления CDR определены по схеме нумерации IMGT. В некоторых вариантах осуществления CDR определены по схеме нумерации AbM. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD70 содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 12, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность, которая является по меньшей мере на 95% по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичной аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления антитело к CD30 содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15.

[0687] В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой вспомогательный белок рецептора интерлейкина-1 (IL1RAP). IL1RAP представляет собой корецептор рецептора IL1 (IL1R1) и необходим для сигнализации интерлейкина-1 (IL1). IL1 был связан с резистентностью к определенных схемам химиотерапии. IL1RAP сверхэкспрессируется в различных солидных опухолях, как на раковых клетках, так и в опухолевом микроокружении, но характеризуется низкой экспрессией на нормальных клетках. IL1RAP также сверхэкспрессируется в гемопоэтических стволовых клетках и их предшественниках, что делает его кандидатом для нацеливания при хроническом миелоидном лейкозе (ХМЛ). Также было показано, что IL1RAP сверхэкспрессируется при остром миелоидном лейкозе (ОМЛ). Связывание антитела с IL1RAP может блокировать передачу сигнала от IL-1 и IL-33 в клетки и позволять NK-клеткам распознавать опухолевые клетки и впоследствии уничтожать их за счет антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ).

[0688] В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой ASCT2. ASCT2 также известен как SLC1A5. ASCT2 представляет собой повсеместно экспрессируемый, обладающий широкой специфичностью, натрий-зависимый обменник

нейтральных аминокислот. ASCT2 участвует в транспорте глутамина. ASCT2 сверхэкспрессируется при разных раках и связан с плохим прогнозом. Было показано, что понижающая регуляция ASCT2 подавляет внутриклеточные уровни глутамина и последующий метаболизм глутамина, включая выработку глутатиона. Вследствие его высокой экспрессии при многих видах рака ASCT2 является потенциальной терапевтической мишенью. Эти эффекты замедляли рост и пролиферацию, повышали апоптоз и аутофагию, а также повышали окислительный стресс и подавление пути mTORC1 при плоскоклеточной карциноме головы и шеи (ПККГШ). Кроме того, сайленсинг ASCT2 улучшал ответ на цетуксимаб при ПККГШ.

[0689] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с TROP2. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 16, 17, 18, 19, 20 и 21, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой сацитузумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 24, 25, 26, 27, 28 и 29, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 30, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой датопотамаб.

[0690] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с MICA. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 32, 33, 34, 35, 36 и 37, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 38, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 39. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой h1D5v11 hIgG1K. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-

L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 40, 41, 42, 43, 44 и 45, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 46, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 47. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой MICA.36 hIgG1K G236A. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 48, 49, 50, 51, 52 и 53, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 54, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 55. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой h3F9 H1L3 hIgG1K. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 56, 57, 58, 59, 60 и 61, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 62, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 63. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой CM33322 Ab28 hIgG1K.

[0691] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD24. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 64, 65, 66, 67, 68 и 69, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 70, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 71. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой SWA11.

[0692] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с ITGav. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 72, 73, 74, 75, 76 и 77, соответственно.

В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 78, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 79. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой интетумумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 80, 81, 82, 83, 84 и 85, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 86, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 87. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой абитузумаб.

[0693] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с gpA33. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 88, 89, 90, 91, 92 и 93, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 94, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 95.

[0694] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с IL1Rap. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 96, 97, 98, 99, 100 и 101, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой ниданилимаб.

[0695] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с EpCAM. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 104, 105, 106, 017, 108 и 109, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело -

лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 110, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 111. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой адекатумумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 112, 113, 114, 115, 116 и 117, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 118, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 119. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой Ep157305. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 120, 121, 122, 123, 124 и 125, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 126, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 127. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой Ep3-171. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 128, 129, 130, 131, 132 и 133, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 134, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 135. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой Ep3622w94. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 136, 137, 138, 139, 140 и 141, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 142, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 143. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой EpING1. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные

последовательности SEQ ID NO: 144, 145, 146, 147, 148 и 149, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 150, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 151. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой EpAb2-6.

[0696] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD352. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 152, 153, 154, 155, 156 и 157, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 158, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 159. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой h20F3.

[0697] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CS1. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 160, 161, 162, 163, 164 и 165, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 166, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 167. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой элотузумаб.

[0698] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD38. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 168, 169, 170, 171, 172 и 173, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 174, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 175. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой даратумумаб.

[0699] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD25. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 176, 177, 178, 179, 180 и 181, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 182, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 183. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой даклизумаб.

[0700] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с ADAM9. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 184, 185, 186, 187, 188 и 189, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 190, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 191. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой chMAbA9-A. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 192, 193, 194, 195, 196 и 197, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 198, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 199. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой hMAbA9-A.

[0701] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD59. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 200, 201, 202, 203, 204 и 205, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 206, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 207.

[0702] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный

препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD25. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой Clone123.

[0703] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD229. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой h8A10.

[0704] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD19. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 208, 209, 210, 211, 212 и 213, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 214, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 215. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой денинтузумаб, который также известен как hBU12. Смотрите WO2009052431.

[0705] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD70. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 216, 217, 218, 219, 220 и 221, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 222, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 223. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой ворсетузумаб.

[0706] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с B7H4. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 224, 225, 226, 227, 228 и 229, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 230, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 231. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат

представляет собой мирзотамаб.

[0707] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD138. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 232, 233, 234, 235, 236 и 237, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 238, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 239. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой индатуксумаб.

[0708] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD166. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 240, 241, 242, 243, 244 и 245, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 246, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 247. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой пралузатамаб.

[0709] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD51. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 248, 249, 250, 251, 252 и 253, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 254, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 255. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой интетумумаб.

[0710] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD56. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 256, 257, 258, 259, 260 и 261, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело -

лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 262, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 263. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой лорвотузумаб.

[0711] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD74. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 264, 265, 266, 267, 268 и 269, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 270, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 271. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой милатузумаб.

[0712] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CEACAM5. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 272, 273 274, 275, 276 и 277, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 278, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 279. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой лабетузумаб.

[0713] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CanAg. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 280, 281, 282, 283, 284 и 285, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 286, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 287. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой кантузумаб.

[0714] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с DLL-3. В некоторых

вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 288, 289, 290, 291, 292 и 293, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 294, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 295. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой ровалпитузумаб.

[0715] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с DPEP-3. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 296, 297, 298, 299, 300 и 301, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 302, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 303. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой тамринтамаб.

[0716] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с EGFR. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 304, 305, 306, 307, 308 и 309, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 310, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 311. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой лапритуксимаб. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 312, 313, 314, 315, 316 и 317, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 318, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 319. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой лосатуксизумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-

H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 320, 321, 322, 323, 324 и 325, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 326, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 327. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой серклутамаб. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 328, 329, 330, 331, 332 и 333, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 334, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 335. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой цетуксимаб.

[0717] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с FRa. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 336, 337, 338, 339, 340 и 341, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 342, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 343. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой мирветуксимаб. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 344, 345, 346, 347, 348 и 349, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 350, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 351. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой фарлетузумаб.

[0718] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с MUC-1. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 352, 353, 354, 355, 356 и 357,

соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 358, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 359. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой гатипотузумаб.

[0719] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с мезотелином. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 360, 361, 362, 363, 364 и 365, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 366, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 367. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой анетумаб.

[0720] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с ROR-1. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 368, 369, 370, 371, 372 и 373, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 374, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 375. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой зиловертамаб.

[0721] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с ASCT2. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с B7H4. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 376, 377, 378, 379, 380 и 381, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 382, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 383. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой 20502. Смотрите WO2019040780.

[0722] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с B7-H3. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 384, 385, 386, 387, 388 и 389, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 390, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 391. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой chAb-A (BRCA84D). В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 392, 393, 394, 395, 396 и 397, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 398, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 399. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой hAb-B. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 400, 401, 402, 403, 404 и 405, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 406, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 407. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой hAb-C. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 408, 409, 410, 411, 412 и 413, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 414, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 415. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой hAb-D. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 416, 417, 418, 419, 420 и 421, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область

тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 422, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 423. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой chM30. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 424, 425, 426, 427, 428 и 429, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 430, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 431. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой hM30-H1-L4. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 432, 433, 434, 435, 436 и 437, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 438, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 439. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой AbV_huAb18-v4. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 440, 441, 442, 443, 444 и 445, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 446, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 447. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой AbV_huAb3-v6. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 448, 449, 450, 451, 452 и 453, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 454, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 455. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой AbV_huAb3-v2.6. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID

NO: 456, 457, 458, 459, 460 и 461, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 462, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 463. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой AbV_huAb13-v1-CR. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 464, 465, 466, 467, 468 и 469, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 470, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 471. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой 8H9-6m. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 472, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 473. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой m8517. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 474, 475, 476, 477, 478 и 479, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 480, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 481. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой TPP-5706. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 482, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 483. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой TPP-6642. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 484, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 485. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой TPP-6850.

[0723] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный

препарат, предложенный в данном документе, связывается с CDCP1. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой 10D7.

[0724] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с HER3. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 486, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 487. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой питритумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 488, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 489. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой серибантумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 490, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 491. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой элгемтумаб. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит тяжелую цепь, аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 492, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 493. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой лумретузумаб.

[0725] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с RON. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой Zt/g4.

[0726] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с клаудином-2.

[0727] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с HLA-G.

[0728] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с PTK7. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 494, 495, 496, 497, 498 и 499, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 500, и вариабельную область легкой

цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 501. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой PTK7 mab 1. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 502, 503, 504, 505, 506 и 507, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 508, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 509. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой PTK7 mab 2. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 510, 511, 512, 513, 514 и 515, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 516, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 517. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой PTK7 mab 3.

[0729] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с LIV1. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 518, 519, 520, 521, 522 и 523, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 524, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 525. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой ладиратузумаб, который также известен как hLIV22 и hglg. Смотрите WO2012078668.

[0730] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с avb6. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 526, 527, 528, 529, 530 и 531, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 532, и вариабельную область легкой цепи, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 533. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой h2A2. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 534, 535, 536, 537, 538 и 539, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 540, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 541. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой h15H3.

[0731] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD48. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 542, 543, 544, 545, 546 и 547, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 548, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 549. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой hMEM102. Смотрите WO2016149535.

[0732] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 550, 551, 552, 553, 554 и 555, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 556, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 557. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой SG-559-01 LALA mAb.

[0733] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с IGF-1R. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 558, 559, 560, 561, 562 и 563, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 564, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 565. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой циксутумумаб.

[0734] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с клаудином-18.2. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 566, 567, 568, 569, 570 и 571, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 572, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 573. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой золбетуксимаб (175D10). В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 574, 575, 576, 577, 578 и 579, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 580, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 581. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой 163E12.

[0735] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с нектином-4. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 582, 583, 584, 585, 586 и 587, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 588, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 589. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой энфортумаб. Смотрите WO 2012047724.

[0736] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с SLTRK6. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 590, 591, 592, 593, 594 и 595, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело -

лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 596, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 597. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой сиртратумаб.

[0737] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD228. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 598, 599, 600, 601, 602 и 603, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 604, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 605. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой hL49. Смотрите WO 2020/163225.

[0738] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD142 (тканевым фактором; TF). В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 606, 607, 608, 609, 610 и 611, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 612, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 613. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой тизотумаб. Смотрите WO 2010/066803.

[0739] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с STn. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 614, 615, 616, 617, 618 и 619, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 620, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 621. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой h2G12.

[0740] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD20. В некоторых

вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 622, 623, 624, 625, 626 и 627, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 628, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 629. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой ритуксимаб.

[0741] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с HER2. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 630, 631, 632, 633, 634 и 635, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 636, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 637. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой трастузумаб.

[0742] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с FLT3.

[0743] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с CD46.

[0744] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с GloboH.

[0745] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с AG7.

[0746] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с мезотелином.

[0747] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с FCRH5.

[0748] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с ETBR.

[0749] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с Tim-1.

[0750] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с SLC44A4.

[0751] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с ENPP3.

[0752] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с CD37.

[0753] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с CA9.

[0754] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с Notch3.

[0755] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с EphA2.

[0756] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с TRFC.

[0757] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с PSMA.

[0758] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с LRRC15.

[0759] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с 5T4.

[0760] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с CD79b. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 638, 639, 640, 641, 642 и 643, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 644, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 645. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой полатузумаб.

[0761] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с NaPi2B. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 646, 647, 648, 649, 650 и 651, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 652, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 653. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой лифастузумаб.

[0762] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с Muc16. В некоторых

вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 654, 655, 656, 657, 658 и 659, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 660, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 661. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой софитузумаб.

[0763] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с STEAP1. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 662, 663, 664, 665, 666 и 667, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 668, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 669. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой вандортузумаб.

[0764] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с BCMA. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 670, 671, 672, 673, 674 и 675, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 676, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 677. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой белантамаб.

[0765] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с c-Met. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 678, 679, 680, 681, 682 и 683, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 684, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 685. В некоторых вариантах

осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой телисотузумаб.

[0766] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с EGFR. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 686, 687, 688, 689, 690 и 691, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 692, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 693. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой депатуксизумаб.

[0767] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с SLAMF7. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 694, 695, 696, 697, 698 и 699, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 700, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 701. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой азинтуксизумаб.

[0768] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с SLITRK6. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 702, 703, 704, 705, 706 и 707, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 708, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 709. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой сиртратумаб.

[0769] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с C4.4a. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 710, 711, 712, 713, 714 и 715, соответственно. В

некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 716, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 717. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой лупартумаб.

[0770] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с GCC. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 718, 719, 720, 721, 722 и 723, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 724, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 725. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой индусатумаб.

[0771] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с Axl. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 726, 727, 728, 729, 730 и 731, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 732, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 733. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой энапотамаб.

[0772] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с gpNMB. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 734, 735, 736, 737, 738 и 739, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 740, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 741. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой глембатумумаб.

[0773] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе

конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с рецептором пролактина. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 742, 743, 744, 745, 746 и 747, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 748, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 749. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой ролинсатамаб.

[0774] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с FGFR2. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 750, 751, 752, 753, 754 и 755, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 756, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 757. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой апрутумаб.

[0775] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CDCP1. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 758, 759, 760, 761, 762 и 763, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 764, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 765. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой гуманизированное CUB4 № 135 HC4-H. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 766, 767, 768, 769, 770 и 771, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 772, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 773. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет

собой CUB4. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 774, 775, 776, 777, 778, 779, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 780, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 781. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой CP13E10-WT. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 782, 783, 784, 785, 786 и 787, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 788, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 789. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой CP13E10-54HCv13-89LCv1.

[0776] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с ASCT2. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 790, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 791. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой KM8094a. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 792, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 793. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой KM8094b. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 794, 795, 796, 797, 798 и 799, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 800, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 801. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой KM4018.

[0777] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD123. В некоторых

вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 802, 803, 804, 805, 806 и 807, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 808, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 809. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой h7G3. Смотрите WO 2016201065.

[0778] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с GPC3. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 810, 811, 812, 813, 814 и 815, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 816, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 817. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой hGPC3-1. Смотрите WO 2019161174.

[0779] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с B6A. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 818, 819, 820, 821, 822 и 823, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 824, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 825. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой h2A2. Смотрите PCT/US20/63390. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 826, 827, 828, 829, 830 и 831, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 832, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 833. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой h15H3. Смотрите WO 2013/123152.

[0780] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный

препарат, предложенный в данном документе, связывается с PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 834, 835, 836, 837, 838 и 839, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 840, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 841. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой SG-559-01. Смотрите PCT/US2020/054037.

[0781] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с TIGIT. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 842, 843, 844, 845, 846 и 847, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 848, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 849. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой клон 13 (также известный как ADI-23674 или mAb13). Смотрите WO 2020041541.

[0782] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с STN. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 850, 851, 852, 853, 854 и 855, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 856, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 857. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой 2G12-2B2. Смотрите WO 2017083582.

[0783] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с CD33. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 858, 859, 860, 861, 862 и 863, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 864, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 865. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой h2H12. Смотрите WO2013173496.

[0784] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с NTBA (также известным как CD352). В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 866, 867, 868, 869, 870 и 871, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 872, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 873. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой h20F3 HDLD. Смотрите WO 2017004330.

[0785] В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело - лекарственный препарат, предложенный в данном документе, связывается с BCMA. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 874, 875, 876, 877, 878 и 879, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 880, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 881. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой SEA-BCMA (также известный как hSG16.17). Смотрите WO 2017/143069.

[0786] В некоторых вариантах осуществления предложенный в данном документе конъюгат антитело - лекарственный препарат связывается с тканевым фактором (также известным как TF). В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 882, 883, 884, 885, 886 и 887, соответственно. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 888, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 889. В некоторых вариантах осуществления антитело конъюгата антитело - лекарственный препарат представляет собой тизотумаб. Смотрите WO 2010/066803 и US 9150658.

4. Фармацевтическая композиция

[0787] В настоящем изобретении предложены фармацевтические композиции,

содержащие композицию LDC, которая представляет собой группу соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, описанных в данном документе, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент, такой как фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтические композиции имеют любую форму и обеспечивают возможность введения композиции LDC пациенту для лечения расстройства, связанного с экспрессией целевого фрагмента, с которым связывается лигандное звено LDC. Например, фармацевтические композиции могут иметь форму жидкости или лиофилизированного твердого вещества. Предпочтительным путем введения является парентеральный. Парентеральное введение включает подкожные инъекции, внутривенные, внутримышечные и внутригрудинные инъекционные или инфузионные методики. В предпочтительных вариантах осуществления фармацевтическую композицию, содержащую композицию LDC, вводят внутривенно в форме жидкого раствора.

[0788] Фармацевтические композиции составляют так, чтобы сделать соединение конъюгата лиганд-лекарственный препарат биодоступным после введения композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат нуждающемуся в этом пациенту. Такие фармацевтические композиции могут представлять собой одну или более лекарственных форм, когда, например, лиофилизированное твердое вещество может обеспечивать одну лекарственную форму при восстановлении в виде раствора или суспензии при добавлении подходящего жидкого носителя.

[0789] Материалы, используемые при получении фармацевтических композиций предпочтительно являются нетоксичными в применяемых количествах. Для специалиста в данной области техники будет очевидно, что оптимальная дозировка активного(ых) ингредиента(ов) в фармацевтической композиции будет зависеть от ряда факторов. Релевантные факторы включают, без ограничения, тип животного (например, человек), конкретную форму фармацевтической композиции, способ введения и применяемую композицию LDC.

[0790] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция имеет форму жидкости. Жидкость применяют для доставки посредством инъекции. В фармацевтическая композицию для введения путем инъекции включены одни или более из поверхностно-активных веществ, консервантов, смачивающих агентов, диспергирующих агентов, суспендирующих агентов, буферов, стабилизаторов и изотонических агентов.

[0791] Жидкие композиции, если они представляют собой растворы, суспензии или подобную форму, содержат один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов, выбранных из группы, состоящей из следующего: стерильные разбавители, такие как вода для инъекций, солевой раствор, предпочтительно физиологический раствор, раствор Рингера, изотонический раствор хлорида натрия, нелетучие масла, такие как синтетические моно- или диглицериды, которые в некоторых вариантах осуществления могут служить растворителем или суспендирующей средой, полиэтиленгликоли, глицерин, циклодекстрин, пропиленгликоль или другие растворители; антибактериальные

агенты, такие как бензиловый спирт или метилпарабен; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатирующие агенты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота; буферы, такие как аминокилоты, ацетаты, цитраты или фосфаты; детергенты, такие как неионные поверхностно-активные вещества, полиолы; и агенты для регуляции тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза. В предпочтительных вариантах осуществления парентеральная композиция находится в ампуле, одноразовом шприце или многодозовом флаконе, выполненном из стекла, пластика или другого материала. Физиологический солевой раствор является типовым адъювантом. Инъекционная фармацевтическая композиция предпочтительно является стерильной.

[0792] Количество конъюгата, эффективное при лечении конкретного расстройства или состояния, будет зависеть от природы расстройства или состояния, при этом его можно определить стандартными клиническими методами. Кроме того, необязательно можно применять in vitro или in vivo анализы, чтобы определить оптимальные диапазоны дозировок. Точная применяемая доза в композициях также будет зависеть от пути введения, тяжести заболевания или расстройства, а решение относительно нее следует принимать в соответствии с мнением практикующего врача и ситуацией каждого пациента.

[0793] Фармацевтическая композиция содержит эффективное количество композиции LDC так, чтобы получить подходящую дозировку для введения нуждающемуся в этом субъекту. Как правило, это количество составляет по меньшей мере около 0,01% по массе фармацевтической композиции.

[0794] В случае внутривенного введения фармацевтическая композиция содержит от около 0,01 до около 100 мг композиции LDC на кг массы тела животного. В предпочтительно варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит от около 1 до около 100 мг композиции LDC на кг массы тела животного. В более предпочтительных вариантах осуществления вводимое количество находится в диапазоне от около 0,1 до около 25 мг/кг массы тела композиции LDC.

[0795] В общем случае дозировка композиции LDC, вводимая пациенту, как правило, составляет от около 0,01 мг/кг до около 100 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления дозировка, вводимая пациенту, составляет от около 0,01 мг/кг до около 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления дозировка, вводимая пациенту, составляет от около 0,1 мг/кг до около 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления дозировка, вводимая пациенту, составляет от около 0,1 мг/кг до около 20 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления дозировка, вводимая пациенту, составляет от около 0,1 мг/кг до около 5 мг/кг или от около 0,1 мг/кг до около 10 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая дозировка составляет от около 1 мг/кг до около 15 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления вводимая дозировка составляет от около 1 мг/кг до около 10 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах

осуществления вводимая дозировка составляет от около 0,1 до 4 мг/кг, предпочтительно от 0,1 до 3,2 мг/кг или более предпочтительно от 0,1 до 2,7 мг/кг массы тела субъекта за курс лечения.

[0796] LDC вводят любым удобным путем, например, посредством инфузии или болюсной инъекции, посредством всасывания через эпителиальную выстилку или слизистую оболочку (например, слизистую оболочку ротовой полости, ректальную и кишечную слизистую оболочку). Введение является системным или локальным. Известны различные системы доставки, например инкапсуляция в липосомах, микрочастицах, микрокапсулах, капсулах, которые можно использовать для введения соединения. В определенных вариантах осуществления пациенту вводят более одной фармацевтической композиции.

[0797] В одном варианте осуществления композицию конъюгата лиганд-лекарственный препарат составляют в соответствии с рутинными процедурами в виде фармацевтической композиции, адаптированной для внутривенного введения животным, в частности людям. Как правило, носители или наполнители для внутривенного введения представляют собой стерильные изотонические водные буферные растворы. При необходимости композиции также содержат солюбилизирующий агент. Фармацевтические композиции для внутривенного введения необязательно содержат местный анестетик, такой как лигнокаин, для облегчения боли в месте инъекции. В общем случае ингредиенты предоставлены либо отдельно, либо смешанными вместе в единичной лекарственной форме, например, в виде сухого порошка или безводного концентрата в герметично закрытом контейнере, таком как ампула или саше, с указанием количества активного агента. Если фармацевтическая композиция композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат предназначена для введения посредством инфузии, она предпочтительно налита в инфузионный флакон, содержащий стерильные воду или солевой раствор фармацевтической степени очистки. Если фармацевтическая композиция композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат предназначена для введения посредством инъекции, к ней может прилагаться ампула стерильной воды для инъекции или солевого раствора, чтобы ингредиенты можно было смешать перед введением.

[0798] Фармацевтические композиции в общем случае составляют в виде стерильных, по существу изотонических композиций и в полном соответствии с нормативами надлежащей производственной практики (НПП) Управления США по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов.

[0799] Фармацевтические композиции по настоящему изобретению содержат композиции LDC по настоящему изобретению и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент, такой как фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления все, или практически все, или более 50% соединений LDC композиции LDC в фармацевтической композиции содержат гидролизованный тио-замещенный сукцинимид. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления более чем 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%,

93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% конъюгатов лиганд-лекарственный препарат, присутствующих в фармацевтической композиции, содержат гидролизованный тио-замещенный сукцинимид.

5. Лечение гиперпролиферативных состояний

[0800] Конъюгаты лиганд-лекарственный препарат применимы для ингибирования мультипликации опухолевых клеток или раковых клеток или обеспечения апоптоза в опухолевой или раковой клетке. Конъюгаты лиганд-лекарственный препарат также применимы в ряде вариантов для лечения рака. Соответственно, конъюгаты лиганд-лекарственный препарат используют для доставки лекарственного препарата в опухолевую клетку или раковую клетку. Не ограничиваясь теорией, в одном варианте осуществления лигандное звено конъюгата лиганд-лекарственный препарат связывается или ассоциирует с антигеном или рецептором поверхности раковой клетки или опухолевой клетки, а после связывания соединение конъюгата лиганд-лекарственный препарат поглощается (интернализуется) внутрь опухолевой клетки или раковой клетки посредством антиген- или рецептор-опосредованного эндоцитоза или другого механизма интернализации. В другом варианте осуществления антиген представляет собой белок внеклеточного матрикса, ассоциированный с опухолевой клеткой или раковой клеткой. После попадания в клетке посредством механизма ферментативного протеолиза происходит высвобождение свободного лекарственного препарата в клетке. В альтернативном варианте осуществления лекарственное звено отщепляется от соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат вблизи опухолевой клетки или раковой клетки, а высвобожденный в результате свободный лекарственный после этого проникает в клетку.

[0801] Соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат обеспечивают улучшенное конъюгационно-специфическое нацеливание лекарственного препарата на опухоль или рак, снижая, таким образом, общую токсичность лекарственного препарата. Это улучшение связано с большей селективностью в отношении расщепления трипептидным линкерным звеном соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в опухоли для обеспечения внутриклеточной или внеклеточной доставки свободного лекарственного препарата в раковые клетки опухоли по сравнению с расщеплением в нормальной ткани, как правило, связанным с нежелательным явлением при введении сравнительного конъюгата, имеющего дипептидные линкерные звенья, и/или повышением биодоступности соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат для опухолевой ткани, что снижает биодоступность для нормальной ткани.

[0802] В некоторых вариантах осуществления пептидные линкерные звенья также стабилизируют соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в отношении ферментативного воздействия внеклеточных протеаз в крови, чтобы они могли высвобождать лекарственный препарат после попадания в клетку.

[0803] В одном варианте осуществления лигандное звено связывается с опухолевой клеткой или раковой клеткой.

[0804] В другом варианте осуществления лигандное звено связывается с антигеном опухолевой клетки или раковой клетки, который находится на поверхности опухолевой клетки или раковой клетки.

[0805] В другом варианте осуществления лигандное звено связывается с антигеном опухолевой клетки или раковой клетки, который представляет собой белок внеклеточного матрикса, связанный с опухолевой клеткой или раковой клеткой.

[0806] Специфичность лигандного звена в отношении конкретной опухолевой клетки или раковой клетки является важным фактором для определения тех опухолей и видов рака, которые можно наиболее эффективно лечить. Например, конъюгат лиганд-лекарственный препарат, имеющий лигандное звено BR96, может быть применим для лечения антиген-положительных карцином, включая карциному легкого, молочной железы, толстой кишки, яичника и поджелудочной железы. Конъюгаты лиганд-лекарственный препарат, имеющие анти-CD30 или анти-CD70 связывающее лигандное звено, могут быть применимы для лечения гемобластозов.

[0807] Другие конкретные типы рака, которые можно лечить конъюгатом лиганд-лекарственный препарат, включают, но не ограничиваются этим, следующие солидные опухоли, раки гемопоэтического происхождения, острые и хронические лейкозы и лимфомы.

[0808] Солидные опухоли включают, но не ограничиваются этим, фибросаркому, миксосаркому, липосаркому, хондросаркому, остеогенную саркому, хордому, ангиосаркому, эндотелиосаркому, лимфангиосаркому, лимфангиоэндотелиосаркому, синовиому, мезотелиому, саркому Юинга, лейомиосаркому, рабдомиосаркому, рак толстой кишки, колоректальный рак, рак почки, рак поджелудочной железы, рак костей, рак молочной железы, рак яичника, рак предстательной железы, рак пищевода, рак желудка, рак ротовой полости, рак носовой полости, рак горла, плоскоклеточную карциному, базальноклеточную карциному, аденокарциному, карциному потовых желез, карциному сальных желез, папиллярную карциному, папиллярную аденокарциному, цистаденокарциному, медуллярную карциному, бронхогенную карциному, почечно-клеточную карциному, гепатому, карциному желчного протока, хориоидкарциному, семиному, эмбриональную карциному, опухоль Вильмса, рак шейки матки, рак матки, рак яичка, мелкоклеточную карциному легкого, карциному мочевого пузыря, рак легкого, эпителиальную карциному, глиому, мультиформную глиобластому, астроцитому, медуллобластому, краниофарингиому, эпендимому, пинеалому, гемангиобластому, акустическую невриному, олигодендроглиому, менингиому, рак кожи, меланому, нейробластому и ретинобластому.

[0809] Раки гемопоэтического происхождения включают, но не ограничиваются этим, острый лимфобластный лейкоз «ОЛЛ», острый лимфобластный В-клеточный лейкоз, острый лимфобластный Т-клеточный лейкоз, острый миелобластный лейкоз «ОМЛ», острый промиелоцитарный лейкоз «ОПЛ», острый монобластный лейкоз, острый эритролейкемический лейкоз, острый мегакариобластный лейкоз, острый

миеломоноцитарный лейкоз, острый нелимфоцитарный лейкоз, острый недифференцированный лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз «ХМЛ», хронический лимфоцитарный лейкоз «ХЛЛ», волосатоклеточный лейкоз и множественную миелому.

[0810] Острые и хронические лейкозы включают, но не ограничиваются этим, лимфобластные, миелогенные, лимфоцитарные и миелоцитарные лейкозы.

[0811] Лимфомы включают, но не ограничиваются этим, болезнь Ходжкина, неходжкинскую лимфому, множественную миелому, макроглобулинемию Вальденстрема, болезнь тяжелых цепей и истинную полицитемию.

[0812] Раки, включая, но не ограничиваясь этим, опухоль, метастазы или другие заболевания или расстройства, характеризуемые гиперпролиферирующими клетками, поддаются лечению или ингибированию их прогрессирования в некоторых вариантах осуществления путем введения композиции LDC.

[0813] В других вариантах осуществления предложены способы лечения рака, включающие введение нуждающемуся в этом пациенту эффективного количества композиции LDC и химиотерапевтического агента. В одном варианте осуществления не было обнаружено, что рак, подлежащий лечению химиотерапевтическим агентом в комбинации с LDC, является рефрактерным по отношению к химиотерапевтическому агенту. В другом варианте осуществления рак, подлежащий лечению химиотерапевтическим агентом в комбинации с ADC, является рефрактерным по отношению к химиотерапевтическому агенту. Композиции LDC можно вводить пациенту, который также подвергся хирургическому вмешательству в качестве лечения рака.

[0814] В некоторых вариантах осуществления пациент также получает дополнительное лечение, такое как лучевая терапия. В конкретном варианте осуществления конъюгат лиганд-лекарственный препарат вводят одновременно с химиотерапевтическим агентом или лучевой терапией. В другом конкретном варианте осуществления химиотерапевтический агент или лучевую терапию применяют до или после введения конъюгата лиганд-лекарственный препарат.

[0815] Химиотерапевтический агент часто вводят в течение курса сеансов. Любой из или комбинацию химиотерапевтических агентов, таких как стандартные химиотерапевтические агенты, можно вводить вместе с конъюгатом лиганд-лекарственный препарат, но предпочтительно, чтобы химиотерапевтические агенты осуществляли уничтожение клеток посредством механизма, отличного от свободного лекарственного препарата, высвобождаемого из соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат.

[0816] Кроме того, предложены способы лечения рака конъюгатом лиганд-лекарственный препарат в качестве альтернативы химиотерапии или лучевой терапии, когда было доказано, что химиотерапия или лучевая терапия является слишком токсичной, например, приводит к неприемлемым или невыносимым побочным эффектам для проходящего лечение субъекта. Пациента, проходящего лечение, можно

необязательно, лечить другим видом противораковой терапии, таким как хирургическое вмешательство, лучевая терапия или химиотерапия, в зависимости от того, какое лечение является приемлемым или переносимым.

[0817] Также предложено применение соединения или композиции, подробно описанных в данном документе, для производства лекарственного средства для лечения любого заболевания или состояния, описанного в данном документе, такого как рак.

[0818] Также предложены соединение или композиция, подробно описанные в данном документе, для применения в медицинской терапии. Дополнительно предложены соединение или композиция, подробно описанные в данном документе, для применения в лечении любого заболевания или состояния, описанного в данном документе, такого как рак.

[0819] Также предложено применение соединения или композиции, подробно описанных в данном документе, для медицинской терапии. Дополнительно предложено применение соединения или композиции, подробно описанных в данном документе, для лечения любого заболевания или состояния, описанного в данном документе, такого как рак.

[0820] Дополнительно предложен набор, содержащий соединение или композицию, подробно описанные в данном документе. В некоторых вариантах осуществления набор содержит инструкции по применению в соответствии с любым из способов, предложенных в данном документе.

[0821] В другом аспекте предложен способ получения соединения или композиции, подробно описанных в данном документе.

6. ЭКСПРЕССИЯ И ВЫРАБОТКА АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩЕГО БЕЛКА

А. МОЛЕКУЛЫ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ, КОДИРУЮЩИЕ АНТИГЕНСВЯЗЫВАЮЩИЕ БЕЛКИ

[0822] Также предложены молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют предложенные в данном документе антигенсвязывающие белки или их части. Такие нуклеиновые кислоты включают, например: 1) те, которые кодируют антигенсвязывающий белок (например, антитело или его фрагмент) или его производное или вариант; 2) полинуклеотиды, кодирующие тяжелую и/или легкую цепь, домены VH и/или VL или 1 или более HVR или CDR, расположенных в вариабельном домене (например, 1, 2 или все 3 из HVR или CDR VH или 1, 2 или все 3 из HVR или CDR VL); 3) полинуклеотиды, достаточные для применения в качестве гибридизационных зондов, ПЦР-праймеров или праймеров секвенирования, для идентификации, анализа, мутации или амплификации таких кодирующих полинуклеотидов; 4) антисмысловые нуклеиновые кислоты для ингибирования экспрессии таких кодирующих полинуклеотидов и 5) комплементарные последовательности вышеуказанного. Нуклеиновые кислоты могут иметь любую длину. Их длина может составлять, например, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 75, 100, 125, 150, 175, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 750 или 1000 или более нуклеотидов, и/или они могут составлять одну или более дополнительных

последовательностей, например регуляторных последовательностей, и/или быть частью более крупной нуклеиновой кислоты, например, вектора. Нуклеиновые кислоты могут быть одноцепочечными или двухцепочечными.

[0823] Молекулы нуклеиновых кислот могут присутствовать в целых клетках, в клеточном лизате или находиться в частично очищенной или по существу очищенной форме. Нуклеиновая кислота является «выделенной» или «по существу очищенной», когда она очищена от клеточных компонентов или других примесей, например других клеточных нуклеиновых кислот (например, другой хромосомной ДНК, например, хромосомной ДНК, которая связана с выделенной ДНК в природе) или белков, стандартными методами, включая обработку щелочью/ДСН, расслоение с CsCl, колоночную хроматографию, рестрикционные ферменты, электрофорез в агарозном геле и другие методы, хорошо известные в данной области техники. Смотрите F. Ausubel, et al., ed. (1987) Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing and Wiley Interscience, New York. Описанная в данном документе нуклеиновая кислота может представлять собой, например, ДНК или РНК и может содержать интронные последовательности или нет. В определенных вариантах осуществления нуклеиновая кислота представляет собой молекулу кДНК.

[0824] Таким образом, предложены молекулы нуклеиновых кислот, содержащие полинуклеотиды, которые кодируют одну или более цепей АВР, такого как антитело к GPNMB, антитело к CD228, антитело к αvβ6, антитело к CD30, LIV1 или антитело к CD19. В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, который кодирует тяжелую цепь или легкую цепь АВР (например, антитела к GPNMB, антитела к CD228, антитела к αvβ6, антитела к CD30, антитела к LIV1 или антитела к CD19). В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит как полинуклеотидную последовательность, которая кодирует тяжелую цепь, так и полинуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь АВР (например, антитела к GPNMB, антитела к CD228, антитела к αvβ6, антитела к CD30, антитела к LIV1 или антитела к CD19). В некоторых вариантах осуществления первая молекула нуклеиновой кислоты содержит первую полинуклеотидную последовательность, которая кодирует тяжелую цепь, а вторая молекула нуклеиновой кислоты содержит вторую полинуклеотидную последовательность, которая кодирует легкую цепь.

[0825] В одном варианте осуществления молекула нуклеиновой кислоты содержит полинуклеотид, кодирующий VH одного из антител, предложенных в данном документе. В другом варианте осуществления нуклеиновая кислота содержит полинуклеотид, кодирующий VL одного из антител, предложенных в данном документе. В другом варианте осуществления нуклеиновая кислота кодирует как VH, так и VL одного из антител, предложенных в данном документе.

[0826] В конкретном варианте осуществления нуклеиновая кислота кодирует вариант одной или более из вышеприведенных аминокислотных последовательностей (например, аминокислотные последовательности тяжелой цепи и/или легкой цепи, или

аминокислотные последовательности VH и/или VL, описанные в данном документе), при этом вариант имеет не более 25 аминокислотных модификаций, например не более 20, например не более 15, 14, 13, 12 или 11 аминокислотных модификаций, например 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2 или 1 аминокислотную модификацию, такую как делеции или вставки, предпочтительно замены, такие как консервативные замены.

[0827] После получения нуклеиновой кислоты, кодирующей сегменты VH и VL, эти нуклеиновые кислоты можно дополнительно обрабатывать стандартными методами рекомбинантных ДНК, например, для преобразования генов вариабельных областей в гены полноразмерных цепей антитела, в гены Fab-фрагмента или в ген scFv. При такой обработке кодирующую VL или VH нуклеиновую кислоту функционально связывают с другой нуклеиновой кислотой, кодирующей другой полипептид, такой как константная область антитела или гибкий линкер.

[0828] Выделенную нуклеиновую кислоту, кодирующую область VH, можно преобразовать в ген полноразмерной тяжелой цепи путем функционального связывания кодирующей VH нуклеиновой кислоты с другой молекулой нуклеиновой кислоты, кодирующей константные области тяжелой цепи (шарнирную область, CH1, CH2 и/или CH3). Последовательности генов константной области тяжелой цепи человека известны в данной области техники (смотрите, например, Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242), а фрагменты нуклеиновых кислот, охватывающие эти области, можно получать посредством стандартной ПЦР-амплификации. Константная область тяжелой цепи может быть константной областью IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA, IgE, IgM или IgD, например, областью IgG1. В случае гена тяжелой цепи Fab-фрагмента нуклеиновая кислота, кодирующая VH, может быть функционально связана с другой молекулой нуклеиновой кислоты, кодирующей только константную область CH1 тяжелой цепи.

[0829] Выделенную молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующая область VL, можно преобразовать в ген полноразмерной легкой цепи (а также ген Fab легкой цепи) путем оперативного связывания молекулы нуклеиновой кислоты, кодирующей VL, с другой молекулой нуклеиновой кислоты, кодирующей константную область CL легкой цепи. Последовательности генов константной области легкой цепи человека известны в данной области техники (смотрите, например, Kabat, E. A., et al. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242), а фрагменты нуклеиновых кислот, охватывающие эти области, можно получать посредством стандартной ПЦР-амплификации. Константная область легкой цепи может представлять собой константную область каппа или лямбда.

[0830] Для создания гена scFv фрагменты нуклеиновой кислоты, кодирующие VH и VL, функционально связывают с другим фрагментом, кодирующим гибкий линкер, например, кодирующим аминокислотную последовательность $(Gly_4\text{-}Ser)_3$, чтобы последовательности VH и VL можно было экспрессировать в виде непрерывного

одноцепочечного белка с областями VL и VH, соединенными гибким линкером (смотрите, например, Bird et al. (1988) Science 242:423-426; Huston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883; McCafferty et al., (1990) Nature 348:552-554).

[0831] В другом аспекте также предложены молекулы нуклеиновых кислот, которые пригодны для использования как праймеров или гибридизационных зондов для выявления последовательностей нуклеиновых кислот. Молекула нуклеиновой кислоты может содержать только часть последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей полноразмерный полипептид, например, такой фрагмент можно использовать как зонд или праймер или фрагмент, кодирующий активную часть (например, GPNMB-связывающую часть, CD228-связывающую часть, αvβ6-связывающую часть, CD30-связывающую часть, LIV1-связывающую часть или CD19-связывающую часть) полипептида.

[0832] Зонды на основе последовательности нуклеиновой кислоты можно использовать для выявления нуклеиновой кислоты или сходных нуклеиновых кислот, например, транскриптов, кодирующих полипептид. Зонд может содержать метящую группу, например, радиоактивный изотоп, флуоресцентное соединение, фермент или кофактор фермента. Такие зонды можно использовать для определения клетки, которая экспрессирует полипептид.

[0833] Также предложены векторы, включая экспрессионные векторы, содержащие одну или более нуклеиновых кислот, кодирующих один или более компонентов ABP (например, VH и/или VL; и легкие цепи и/или тяжелые цепи). Экспрессионный вектор может включать, но не ограничивается этим, последовательности, которые влияют на транскрипцию, трансляцию или регулируют их, и, если присутствуют интроны, влияют на сплайсинг РНК связанной с ними кодирующей области. Последовательности нуклеиновых кислот, необходимые для экспрессии в прокариотах, включают промотор, необязательно, последовательности оператора, сайт связывания рибосомы и, возможно, другие последовательности. Эукариотические клетки, как известно, используют промоторы, энхансеры и сигналы терминации и полиаденилирования.

[0834] В определенных вариантах осуществления нуклеиновые кислоты, кодирующие разные компоненты ABP, можно вставлять в один экспрессионный вектор. Например, нуклеиновую кислоту, кодирующая легкую цепь или вариабельную область антитела к GPNMB, можно клонировать в тот же вектор, что и нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь или вариабельную область антитела к GPNMB. Нуклеиновую кислоту, кодирующая легкую цепь или вариабельную область антитела к CD228, можно клонировать в тот же вектор, что и нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь или вариабельную область антитела к CD228. Нуклеиновую кислоту, кодирующая легкую цепь или вариабельную область антитела к αvβ6, можно клонировать в тот же вектор, что и нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь или вариабельную область антитела к αvβ6. Нуклеиновую кислоту, кодирующая легкую цепь или вариабельную область антитела к CD30, можно клонировать в тот же вектор, что и нуклеиновую кислоту,

кодирующую тяжелую цепь или вариабельную область антитела к CD30. Нуклеиновую кислоту, кодирующая легкую цепь или вариабельную область антитела к LIV1, можно клонировать в тот же вектор, что и нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь или вариабельную область антитела к LIV1. Нуклеиновую кислоту, кодирующая легкую цепь или вариабельную область связывающего антитела к CD19, можно клонировать в тот же вектор, что и нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь или вариабельную область антитела к CD19. В таких вариантах осуществления две нуклеиновые кислоты могут быть разделены сайтом внутренней посадки рибосомы (IRES) и находиться под управлением одного промотора так, чтобы легкая цепь и тяжелая цепь экспрессировались из одного мРНК-транскрипта. В альтернативном варианте две нуклеиновые кислоты могут находиться под управлением двух отдельных промоторов так, чтобы легкая цепь и тяжелая цепь экспрессировались из двух отдельных мРНК-транскриптов. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновую кислоту, кодирующая легкую цепь или вариабельную область антитела к GPNMB, клонируют в один экспрессионный вектор, а нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь или вариабельную область антитела к GPNMB, клонируют во второй экспрессионный вектор. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновую кислоту, кодирующая легкую цепь или вариабельную область антитела к CD228, клонируют в один экспрессионный вектор, а нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь или вариабельную область антитела к CD228, клонируют во второй экспрессионный вектор. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновую кислоту, кодирующая легкую цепь или вариабельную область антитела к αvβ6, клонируют в один экспрессионный вектор, а нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь или вариабельную область антитела к αvβ6, клонируют во второй экспрессионный вектор. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновую кислоту, кодирующая легкую цепь или вариабельную область антитела к CD30, клонируют в один экспрессионный вектор, а нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь или вариабельную область антитела к CD30, клонируют во второй экспрессионный вектор. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновую кислоту, кодирующая легкую цепь или вариабельную область антитела к LIV1, клонируют в один экспрессионный вектор, а нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь или вариабельную область антитела к LIV1, клонируют во второй экспрессионный вектор. В некоторых вариантах осуществления нуклеиновую кислоту, кодирующая легкую цепь или вариабельную область антитела к CD19, клонируют в один экспрессионный вектор, а нуклеиновую кислоту, кодирующую тяжелую цепь или вариабельную область антитела к CD19, клонируют во второй экспрессионный вектор. В таких вариантах осуществления клетку-хозяина можно котрансфицировать обоими экспрессионными векторами для выработки полных антител или антигенсвязывающих фрагментов по изобретению.

B. Клетки-хозяева

[0835] После того как вектор был сконструирован, а одна или более молекул нуклеиновых кислот, кодирующих компоненты ABP, описанного в данном документе,

были вставлены в надлежащий(е) сайт(ы) вектора или векторов, готовый(е) вектор(ы) можно вносить в подходящую клетку-хозяина для амплификации и/или экспрессии полипептида.

[0836] Таким образом, в другом аспекте предложены клетки-хозяева, содержащие молекулы нуклеиновых кислот или векторы, такие как описаны в данном документе. В различных вариантах осуществления тяжелые цепи и/или легкие цепи ABP можно экспрессировать в прокариотических клетках, таких как бактериальные клетки, или в эукариотических клетках, таких как клетки грибов (таких как дрожжи), клетки растений, клетки насекомых и клетки млекопитающих. Выбор подходящей клетки-хозяина зависит от различных факторов, таких как необходимые уровни экспрессии, модификации полипептидов, которые являются желательными или необходимыми для активности (такой как гликозилирование или фосфорилирование) и простоты сворачивания в биологически активную молекулу.

[0837] Внесение одной или более нуклеиновых кислот в необходимую клетку-хозяина можно осуществлять любым способом, включая, но не ограничиваясь этим, трансфекцию с фосфатом кальция, опосредованную ДЭАЭ-декстраном трансфекцию, опосредованную катионными липидами трансфекцию, электропорацию, трансдукцию, инфекцию и т. Д. Неограничивающие типовые способы описаны, например, в Sambrook et al., Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001). Нуклеиновые кислоты можно временно или стабильно трансфицировать в необходимые клетки-хозяев в соответствии с любым подходящим способом.

[0838] В качестве хозяев можно использовать ряд линий клеток млекопитающих, которые включают, но не ограничиваются этим, иммортализованные линии клеток, доступные от Американской коллекции типовых культур (ATCC), включая, но не ограничиваясь этим, клетки яичника китайского хомяка (CHO), включая клетки CHOK1 (ATCC CCL61), DXB-11, DG-44 и клетки яичника китайского хомяка/-DHFR (CHO, Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216, 1980); линию клеток почки обезьяны CV1, трансформированную SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); линию клеток почки эмбриона человека (293 или клетки 293, субклонированные для роста в суспензионной культуре (Graham et al., J. Gen Virol. 36: 59, 1977); клетки почки новорожденного хомяка (BHK, ATCC CCL 10); клетки Сертоли мышей (TM4, Mather, Biol. Reprod. 23: 243-251, 1980); клетки почки обезьяны (CV1 ATCC CCL 70); клетки почки африканской зеленой мартышки (VERO-76, ATCC CRL-1587); клетки карциномы шейки матки человека (HELA, ATCC CCL 2); клетки почки собаки (MDCK, ATCC CCL 34); клетки печени серой крысы (BRL 3A, ATCC CRL 1442); клетки легкого человека (W138, ATCC CCL 75); клетки гепатомы человека (Hep G2, HB 8065); клетки опухоли молочной железы мыши (MMT 060562, ATCC CCL51); клетки TM (Mather et al., Annals N.Y Acad. Sci. 383: 44-68, 1982); клетки MRC 5 или клетки FS4; клетки миеломы млекопитающих и ряд других линий клеток.

[0839] После подготовки подходящей клетки-хозяина ее можно использовать для

экспрессии необходимого АВР. Таким образом, в дополнительном аспекте также предложены способы получения описанного в данном документе АВР. В общем случае такие способы включают культивирование клетки-хозяина, содержащей один или более экспрессионных векторов, описанных в данном документе, в культуральной среде в условиях, допускающих экспрессию АВР, кодируемого одним или более экспрессионными векторами; и выделение АВР из культуральной среды.

[0840] В некоторых вариантах осуществления АВР получают в бесклеточной системе. Неограничивающие примеры бесклеточных систем описаны, например, в Sitaraman et al., Methods Mol. Biol. 498: 229-44 (2009); Spirin, Trends Biotechnol. 22: 538-45 (2004); Endo et al., Biotechnol. Adv. 21: 695-713 (2003).

7. Конъюгаты антигенсвязывающего белка

[0841] АВР, которые предложены в данном документе, можно конъюгировать с цитотоксическими или цитостатическими фрагментами (включая их фармацевтически совместимые соли) для образования конъюгата, такого как конъюгат антитело - лекарственный препарат (ADC). В особенности подходящими фрагментами для конъюгации с АВР (например, антителами) являются цитотоксические агенты (например, химиотерапевтические агенты), конвертирующие пролекарства ферменты, радиоактивные изотопы или соединения или токсины (эти фрагменты вместе называются терапевтическим агентом). Например, АВР (например, антитело к GPNMB, антитело к CD228, антитело к αvβ6, антитело к CD30, антитело к LIV1 или антитело к CD19) можно конъюгировать с цитотоксическим агентом, таким как химиотерапевтический агент, или токсином (например, цитостатическим или цитоцидальным агентом, таким как, например, абрин, рицин А, токсин синегнойной палочки или дифтерийный токсин). Примеры применимых классов цитотоксических агентов включают, например, агенты, связывающие малую бороздку ДНК, ДНК-алкилирующие агенты и ингибиторы тубулина. Типовые цитостатические агенты включают, например, ауристатины, камптотецины, калихеамицины, дуокармицины, этопозиды, майтанзиноиды (например, DM1, DM2, DM3, DM4), таксаны, бензодиазепины (например, пирроло[1,4]бензодиазепины, индолинобензодиазепины и оксазолидинобензодиазепины) и алкалоиды барвинка.

[0842] В одном варианте осуществления АВР (например, антитело к GPNMB, антитело к CD228, антитело к αvβ6, антитело к CD30, антитело к LIV1 или антитело к CD19) конъюгировано к конвертирующему пролекарство ферменту. Конвертирующий пролекарство фермент можно рекомбинантно сливать с антителом или конъюгировать к нему химически, используя известные способы. Типовыми конвертирующими пролекарство ферментами являются карбоксипептидаза G2, бета-глюкуронидаза, пенициллин-V-амидаза, пенициллин-G-амидаза, β-лактамаза, β-глюкозидаза, нитроредуктаза и карбоксипептидаза А.

[0843] Методики конъюгации терапевтических агентов с белками и, в частности, с антителами, хорошо известны. (Смотрите, например, Alley et al., Current Opinion in Chemical Biology 2010 14:1-9; Senter, Cancer J., 2008, 14(3):154-169). Терапевтический

агент можно конъюгировать способом, который снижает его активность до тех пор, пока он не будет отщеплен от антитела (например, посредством гидролиза, протеолитического расщепления или с помощью расщепляющего агента). В некоторых аспектах терапевтический агент присоединен к антителу с помощью расщепляемого линкера, который чувствителен к расщеплению во внутриклеточном окружении GPNMB-экспрессирующего, CD228-экспрессирующего, αvβ6-экспрессирующего, CD30-экспрессирующего, LIV1-экспрессирующего или CD19-экспрессирующего рака, но практически не чувствителен к внеклеточному окружению, так что конъюгат отщепляется от антитела, когда он интернализуется GPNMB-экспрессирующей, CD228-экспрессирующей, αvβ6-экспрессирующей, CD30-экспрессирующей, LIV1-экспрессирующей или CD19-экспрессирующей раковой клеткой (например, в эндосомальном окружении или, например, за счет чувствительности к pH или чувствительности к протеазам, в лизосомальном окружении, или в кавеолярном окружении). В некоторых аспектах терапевтический агент также может быть присоединен к антителу с помощью нерасщепляемого линкера.

[0844] Как правило, ADC содержит линкерную область между терапевтическим агентом и анти-АВР (например, антителом к GPNMB, антителом к CD228, антителом к αvβ6, антителом к CD30, антителом к LIV1 или антителом к CD19). Линкер в общем случае является расщепляемым во внутриклеточных условиях так, что расщепление линкера приводит к высвобождению терапевтического агента во внутриклеточное окружение (например, в лизосоме, эндосоме или кавеоле). Линкер может представлять собой, например, пептидильный линкер, который расщепляется внутриклеточной пептидазой или протеазой, включая лизосомальную или эндосомальную протеазу. Расщепляющие агенты могут включать катепсины B и D и плазмин (смотрите, например, Dubowchik and Walker, Pharm. Therapeutics 83:67-123, 1999). Наиболее типичными являются пептидильные линкеры, которые расщепляются ферментами, присутствующими в GPNMB-экспрессирующих, CD228-экспрессирующих, αvβ6-экспрессирующих, CD30-экспрессирующих, LIV1-экспрессирующих или CD19-экспрессирующих клетках. Например, можно использовать пептидильный линкер, который расщепляется тиол-зависимой протеазой катепсином B, которая на высоком уровне экспрессируется в раковой ткани (например, линкер, содержащий пептид Phe-Leu или Val-Cit).

[0845] Расщепляемый линкер может быть pH-чувствительным, т. е. чувствительным к гидролизу при определенных значениях pH. Как правило, pH-чувствительный линкер подвержен гидролизу в кислотных условиях. Например, можно использовать кислото-лабильный линкер, гидролизуемый в лизосоме *(например,* гидразон, семикарбазон, тиосемикарбазон, цис-аконитовый амид, ортоэфир, ацеталь, кеталь и т. п). (смотрите, например, патенты США №№ 5122368; 5824805; 5622929; Dubowchik and Walker, Pharm. Therapeutics 83:67-123, 1999; Neville et al., Biol. Chem. 264:14653-14661, 1989). Такие линкеры относительно стабильны в нейтральных условиях pH, таких как в крови, но нестабильны при pH ниже 5,5 или 5,0, приблизительном pH лизосомы.

[0846] Другие линкеры расщепляются в восстановительных условиях (например, дисульфидный линкер). Дисульфидные линкеры включают те, которые могут быть образованы с SATA (N-сукцинимидил-S-ацетилтиоацетат), SPDP (N-сукцинимидил-3-(2-пиридилтио)пропионат), SPDB (N-сукцинимидил-3-(2-пиридилтио)бутират) и SMPT (N-сукцинимидил-оксикарбонил-альфа-метил-альфа-(2-пиридилдитио)толуол), SPDB и SMPT. (Смотрите, например, Thorpe et al., Cancer Res. 47:5924-5931, 1987; Wawrzynczak et al., In Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimagery and Therapy of Cancer (C. W. Vogel ed., Oxford U. Press, 1987. Также смотрите патент США № 4880935.)

[0847] Линкер также может представлять собой малонатный линкер (Johnson et al., Anticancer Res. 15:1387-93, 1995), малеимидобензоильный линкер (Lau et al., Bioorg-Med-Chem. 3:1299-1304, 1995) или 3'-N-амидный аналог (Lau et al., Bioorg-Med-Chem. 3:1305-12, 1995).

[0848] В других вариантах осуществления линкер представляет собой нерасщепляемый линкер, такой как малеимидо-алкилен- или малеимид-арильный линкер, который напрямую присоединен к терапевтическому агенту и высвобождается за счет протеолитического разрушения антитела.

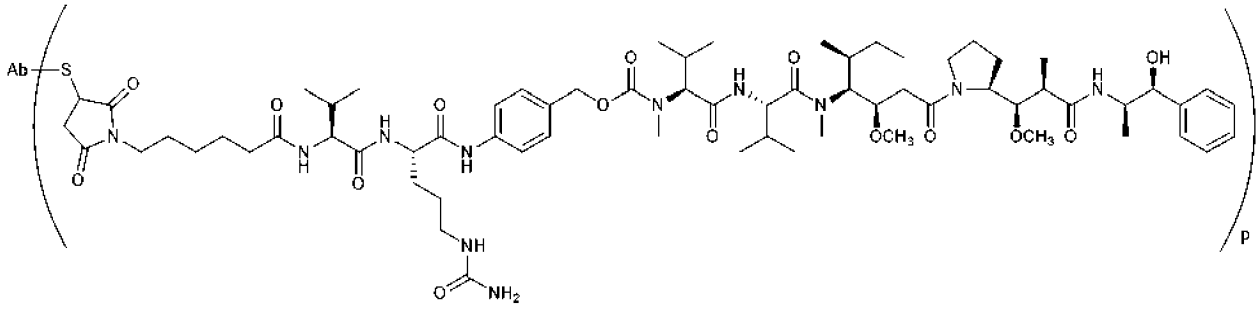
[0849] Как правило, линкер практически не чувствителен к внеклеточному окружению, что означает, что не более чем около 20%, как правило, не более чем около 15%, чаще не более чем около 10% и даже чаще не более чем около 5%, не более чем около 3% или не более чем около 1% линкеров в образце ADC расщепляется, когда ADC находится во внеклеточном окружении (например, в плазме). то, является ли линкер практически не чувствительным к внеклеточному окружению, можно определить, например, путем независимой инкубации с плазмой (a) ADC («образца ADC») и (b) эквивалентного молярного количества неконъюгированного антитела или терапевтического агента («контрольный образец») в течение предопределенного периода времени (например, 2, 4, 8, 16 или 24 часов), а затем сравнения количества неконъюгированного антитела или терапевтического агента, присутствующего в образце ADC, с количеством, присутствующим в контрольном образце, по данным измерения, например, высокоэффективной жидкостной хроматографии.

[0850] Линкер также может способствовать клеточной интернализации. Линкер может способствовать клеточной интернализации при конъюгации с терапевтическим агентом (т. е. в окружении фрагмента линкер - терапевтический агент ADC или производного ADC, как описано в данном документе). В альтернативном варианте линкер может способствовать клеточной интернализации при конъюгации как с терапевтическим агентом, так и с антигенсвязывающим белком (например, антителом к GPNMB, антителом к CD228, антителом к αvβ6, антителом к CD30, антителом к LIV1 или антителом к CD19) (т. е. в окружении ADC, как описано в данном документе).

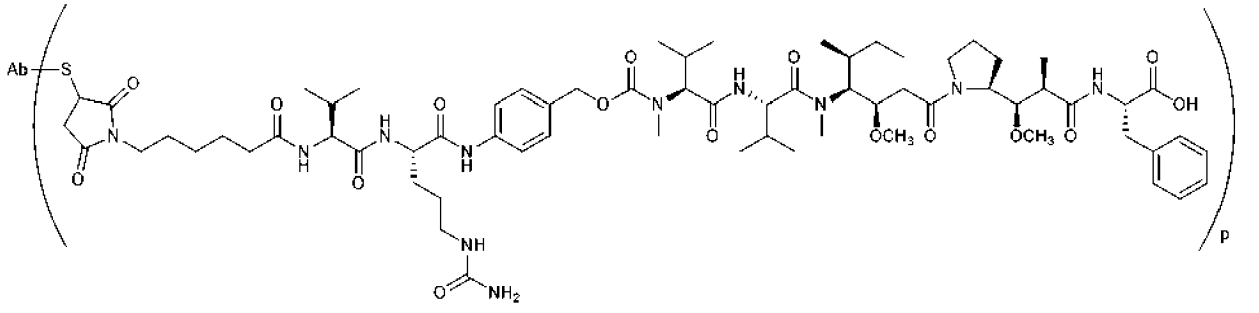
[0851] Типовые конъюгаты антитело - лекарственный препарат включают конъюгаты антитело - лекарственный препарат на основе ауристатина, что означает, что лекарственным компонентом является препарат ауристатин. Ауристатины связывают

тубулин, и было показано, что они препятствуют динамике микротрубочек и ядерному и клеточному делению и обладают противораковой активностью. Как правило, конъюгат антитело - лекарственный препарат на основе ауристатина содержит линкер между препаратом ауристатином и АВР (например, антителом к GPNMB, антителом к CD228, антителом к αvβ6, антителом к CD30, антителом к LIV1 или антителом к CD19). Линкер может представлять собой, например, расщепляемый линкер (например, пептидильный линкер) или нерасщепляемый линкер (например, линкер, высвобождаемый за счет разрушения антитела). Ауристатин может представлять собой ауристатин Е или его производное. Ауристатин может представлять собой, например, сложный эфир, образуемый между ауристатином Е и кето-кислотой. Например, ауристатин Е можно приводить в реакцию с параацетилбензойной кислотой или бензоилвалерьяновой кислотой с получением AEB и AEVB, соответственно. Другие типичные ауристатины включают MMAF и MMAE. Синтез и структура типовых ауристатинов описаны в публикациях США №№ 7659241, 7498298, 2009-0111756, 2009-0018086 и 7968687, каждая из которых в полном объеме и во всех целях включена в данный документ посредством ссылки.

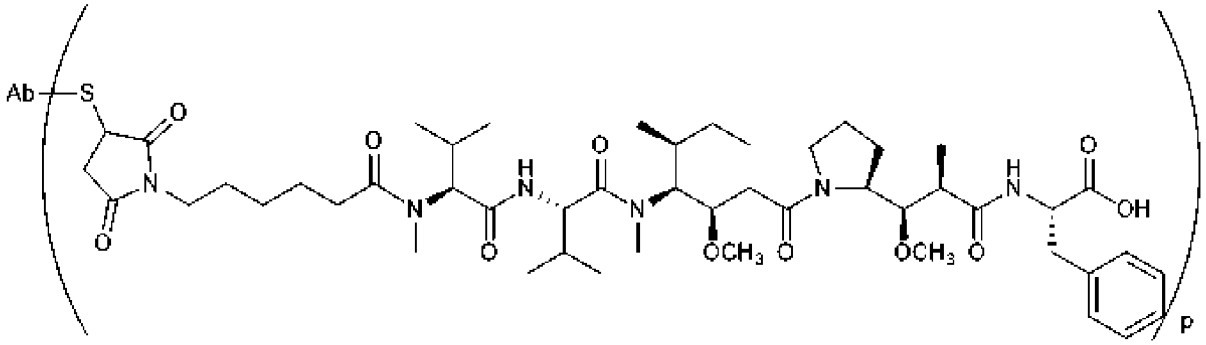
[0852] Типовые конъюгаты антитело - лекарственный препарат на основе ауристатина включают mc-vc-PABC-MMAE (также называемый в данном документе vcMMAE, или 1006, или соединением 1), mc-vc-PABC-MMAF, mc-MMAF и mp-dLAE-PABC-MMAE (также называемый в данном документе dLAE-MMAE, или mp-dLAE-MMAE, или 7092, или соединением 5), конъюгаты антитело - лекарственный препарат, приведенные ниже, где Ab представляет собой АВР (например, антитело к GPNMB, антитело к CD228, антитело к αvβ6, антитело к CD30, антитело к LIV1 или антитело к CD19, описанные в данном документе) и val-cit (vc) представляет дипептид валин-цитруллин, а dLAE представляет трипептид D-лейцин-аланин-глутаминовая кислота:



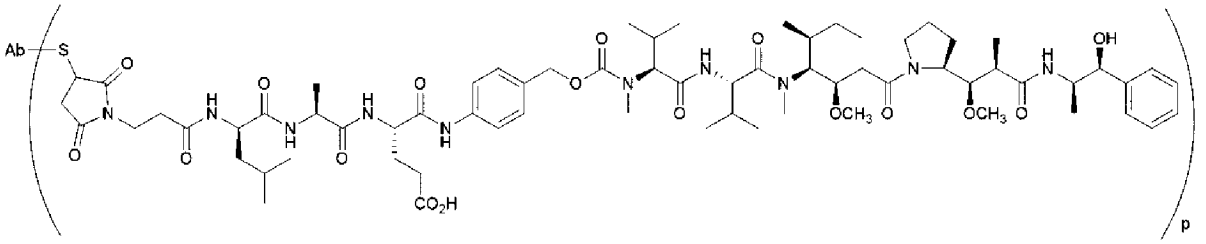
mc-vc-PABC-MMAE



mc-vc-PABC-MMAF



mc-MMAF



mp-dLAE-PABC-MMAE

или их фармацевтически приемлемую соль. Лекарственная нагрузка представлена p, числом молекул лекарственный препарат-линкер на антитело. В зависимости от контекста p может представлять среднее число молекул лекарственный препарат-линкер на антитело в композиции антител, что также называется средней лекарственной нагрузкой. P находится в диапазоне от 1 до 20 и предпочтительно составляет от 1 до 8. В некоторых предпочтительных вариантах осуществления, когда p представляет среднюю лекарственную нагрузку, p находится в диапазоне от около 2 до около 5. В некоторых вариантах осуществления p составляет около 2, около 3, около 4 или около 5. Среднее число лекарственных фрагментов на антитело можно определить традиционными способами, такими как масс-спектроскопия, ХГВ, анализ ELISA и ВЭЖХ. В некоторых аспектах АВР (например, антитело к GPNMB, антитело к CD228, антитело к αvβ6, антитело к CD30, антитело к LIV1 или антитело к CD19) присоединен к фрагменту лекарственный препарат-линкер посредством остатка цистеина антитела. В некоторых вариантах осуществления остаток цистеина является сконструированным в антителе. В других аспектах остаток цистеина представляет собой остаток цистеина межцепочечного дисульфида.

8. Терапевтические применения

A. Способы лечения заболеваний

[0853] В другом аспекте предложены способы лечения расстройств, связанных с клетками, которые экспрессируют GPNMBc, например, раков. Клетки могут экспрессировать или нет повышенные уровни GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19 по сравнению с клетками, которые не связаны с представляющим интерес расстройством. Таким образом, определенные варианты осуществления включают применение описанных в данном документе АВР (например, антител к GPNMB, антител к

CD228, антител к αvβ6, антител к CD30, антител к LIV1 или антител к CD19), как в виде оголенного антитела, так и конъюгата (например, конъюгата антитело - лекарственный препарат), для лечения субъекта, например, субъекта, имеющего рак. В некоторых из этих вариантов осуществления способ включает введение эффективного количества ABP (например, антитела к GPNMB, антитела к CD228, антитела к αvβ6, антитела к CD30, антитела к LIV1 или антитела к CD19) или ADC (например, анти-GPNMB, анти-CD228, анти-αvβ6, анти-CD30, анти-LIV1 или анти-CD19 ADC), или композиции, содержащей такой ABP или конъюгат, нуждающемуся в этом субъекту. В определенных типовых вариантах осуществления способ включает лечение рака в клетке, ткани, органе, у животного или пациента. Чаще способ лечения включает лечение рака у человека. В некоторых вариантах осуществления лечение включает монотерапию. В других способах антигенсвязывающий белок вводят как часть комбинированной терапии с одним или более другими терапевтическими агентами, хирургическим вмешательством и/или лучевой терапией.

[0854] Положительные терапевтические эффекты при раке можно определять рядом способов (смотрите, например, W. A. Weber, J. Null. Med. 50:1S-10S (2009); и Eisenhauer et al., Eur. J Cancer 45:228-247 (2009)). В некоторых вариантах осуществления ответ на лечение ABP или конъюгатом оценивают, используя критерии RECIST 1.1. В некоторых вариантах осуществления лечение, обеспечиваемое терапевтически эффективным количеством, представляет собой любое из ингибирования дальнейшего роста опухоли, индукции регрессии опухоли, частичного ответа (ЧО), полного ответа (ПО), выживаемости без прогрессирования (ВБП), выживаемости без заболевания (ВБЗ), объективного ответа (ОО) или общей выживаемости (ОВ). В некоторых вариантах осуществления лечение замедляет или предотвращает начало метастазирования. Прогресс лечения можно отслеживать, используя различные способы. Например, ингибирование может приводить к уменьшению размера опухоли и/или снижению метаболической активности в опухоли. Оба этих параметра можно измерять, например, с помощью МРТ или ПЭТ сканирования. Ингибирование также можно отслеживать по биопсии, чтобы определить уровень некроза, гибели опухолевых клеток и уровень васкуляризации в опухоли. Схема применения терапии, описанной в данном документе, которая является эффективной для лечения ракового пациента, может варьироваться в соответствии с такими факторами, как состояние заболевания, возраст и масса пациента, а также способность терапии вызывать противораковый ответ у субъекта. Хотя вариант осуществления способа лечения, лекарственных средств и применений по настоящему изобретению может не быть эффективными для обеспечения положительного терапевтического эффекта у каждого субъекта, он будет таким в случае статистически значимого количества субъектов согласно определению с помощью любого известного в данной области техники статистического критерия, такого как t-критерий Стьюдента, хи-2-критерий, U-критерий в соответствии с Манном и Уитни, критерий Краскела - Уоллиса (H-критерий), критерий Джонкхиера - Терпстра и критерий Уилкоксона.

[0855] В контексте данного документа «Критерии ответа RECIST 1.1» означают определения, приведенные в Eisenhauer et al., Eur. J Cancer 45:228-247 (2009) для целевых поражений или нецелевых поражений, в зависимости от ситуации, на основании контекста, в котором проводят определение ответа.

[0856] Эффективное количество ABP (например, антитела к GPNMB, антитела к CD228, антитела к αvβ6, антитела к CD30, антитела к LIV1 или антитела к CD19) или ADC (например, анти-GPNMB, анти-CD228, анти-αvβ6, анти-CD30, анти-LIV1 или анти-CD19 ADC) можно вводить за одно или более введений, применений или в одной или более дозировках, что не подразумевает ограничения конкретным составом или путем введения. В общем случае терапевтически эффективное количество активного компонента находится в диапазоне от 0,1 мг/кг до 100 мг/кг, например, от 1 мг/кг до 100 мг/кг, от 1 мг/кг до 10 мг/кг.

[0857] Типовые дозировки для ABP (например, антитела к GPNMB, антитела к CD228, антитела к αvβ6, антитела к CD30, антитела к LIV1 или антитела к CD19) составляют, например, от 0,1 мг/кг до 50 мг/кг массы тела пациента, чаще от 1 мг/кг до 30 мг/кг, от 1 мг/кг до 20 мг/кг, от 1 мг/кг до 15 мг/кг, от 1 мг/кг до 12 мг/кг, от 1 мг/кг до 10 мг/кг1, от 2 мг/кг до 30 мг/кг, от 2 мг/кг до 20 мг/кг, от 2 мг/кг до 15 мг/кг, от 2 мг/кг до 12 мг/кг, от 2 мг/кг до 10 мг/кг, от 3 мг/кг до 30 мг/кг, от 3 мг/кг до 20 мг/кг, от 3 мг/кг до 15 мг/кг, от 3 мг/кг до 12 мг/кг или от 3 мг/кг до 10 мг/кг.

[0858] Типовые дозировки для ADC (например, анти-GPNMB, анти-CD228, анти-αvβ6, анти-CD30, анти-LIV1 или анти-CD19 ADC) составляют, например, от 0,01 мг/кг до 10 мг/кг, от 0,1 мг/кг до 10 мг/кг, от 0,3 мг/кг до 3 мг/кг, от 0,5 мг/кг до 3 мг/кг, от 1 мг/кг до 7,5 мг/кг, от 2 мг/кг до 7,5 мг/кг или от 3 мг/кг до 7,5 мг/кг массы тела субъекта, или 0,1-20 или 0,5-5 мг/кг массы тела (например, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мг/кг), или 10-1500 или 200-1500 мг в качестве фиксированной дозировки. В некоторых способах пациенту вводят дозу, составляющую по меньшей мере 1,5 мг/кг, по меньшей мере 2 мг/кг или по меньшей мере 3 мг/кг, один раз в три недели или чаще.

[0859] Вводимая дозировка может варьироваться в зависимости от известных факторов, таких как фармакодинамические характеристики конкретного агента, а также режим и путь его введения; возраст, состояние здоровья и масса реципиента; тип и степень заболевания или показания, подлежащего лечению, природа и степень симптомов, тип одновременного лечения, частота лечения и необходимый эффект. Начальную дозировку можно повышать выше верхнего уровня с целью быстрого достижения необходимого уровня в крови или уровня в ткани. В альтернативном варианте, начальная дозировка может быть меньше оптимальной, а суточную дозировку можно постепенно повышать во время курса лечения.

[0860] Частота введения зависит от времени полужизни ABP или ADC в циркуляции, состояния пациента и пути введения, помимо прочих факторов. Частота может составлять, например, раз в день, раз в неделю, раз в месяц, раз в квартал или с нерегулярными интервалами в ответ на изменения состояния пациента или

прогрессирование рака, подлежащего лечению. Типовая частота для внутривенного введения составляет от двух раз в неделю до одного раза в квартал в течение непрерывного курса лечения, хотя также возможно более или менее частое введение. Другие типовые частоты для внутривенного введения составляют раз в неделю, через неделю, три раза в четыре недели или каждые три недели в течение непрерывного курса лечения, хотя также возможно более или менее частое введение. В случае подкожного введения типовая частота введения составляет от раза в день до раза в месяц, хотя также возможно более или менее частое введение.

[0861] число вводимых доз зависит от природы рака (например, как характеризующегося острыми или хроническими симптомами) и ответа расстройства на лечение. В некоторых аспектах для острых расстройств или острого ухудшения хронических расстройств часто достаточно от 1 до 10 доз. Иногда одной болюсной дозы, необязательно в разделенной форме, достаточно для острого расстройства или острого ухудшения хронического расстройства. Лечение можно повторять в случае рецидива острого расстройства или острого ухудшения. В случае хронических расстройств антитело можно вводить с регулярными интервалами, например, раз в неделю, раз в две недели, раз в месяц, раз в квартал, раз в шесть месяцев в течение по меньшей мере 1, 5 или 10 лет жизни пациента.

[0862] Типовые виды рака, подходящие для лечения антигенсвязывающими белками и ADC, предложенными в данном документе, включают те, которые характеризуются экспрессией GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19 в раковой клетке или ткани (т. е. «GPNMB-экспрессирующие, CD228-экспрессирующие, αvβ6-экспрессирующие, CD30-экспрессирующие, LIV1-экспрессирующие или CD19-экспрессирующие виды рака»). Примеры видов рака, которые можно лечить ABP или его конъюгатом, включают, но не ограничиваются этим, гемобластозы, опухоли гемопоэтического происхождения, которые дают начало солидным опухолям, солидные опухоли, опухоли мягких тканей и метастатические поражения. Типовой рак для лечения конъюгатом LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) включает рак молочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, рак эндометрия, рак шейки матки, печени, желудка и плоскоклеточные карциномы (например, мочевого пузыря, головы, шеи и легкого), раки кожи, например меланому, мелкоклеточную карциному легкого или карциноидную опухоль легкого. Раки молочной железы включают, например, HER2-положительные раки молочной железы, гормон-чувствительные раки молочной железы, такие как эстроген-рецептор-положительные раки молочной железы, и трижды негативные раки молочной железы.

[0863] В некоторых из вариантов осуществления в данном документе конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) используют для лечения солидной опухоли, которая экспрессирует LIV1. Эта солидная опухоль выбрана, например, из рака легкого, рака головы и шеи, рака пищевода, рака желудка и рака пищеводно-желудочного перехода.

[0864] В некоторых из вариантов осуществления в данном документе конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) используют для лечения рака легкого. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе рак легкого представляет собой мелкоклеточный рак легкого. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе рак легкого представляет собой немелкоклеточный рак легкого. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе немелкоклеточный рак легкого представляет собой неплоскоклеточную карциному. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе немелкоклеточный рак легкого представляет собой плоскоклеточную карциному.

[0865] В некоторых из вариантов осуществления в данном документе конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) используют для лечения рака головы и шеи. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе рак головы и шеи представляет собой плоскоклеточную карциному. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе солидная опухоль представляет собой карциному пищевода. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе карцинома пищевода представляет собой плоскоклеточную карциному.

[0866] В некоторых из вариантов осуществления в данном документе конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) используют для лечения рака желудка. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе рак желудка представляет собой аденокарциному желудка. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе солидная опухоль представляет собой рак пищеводно-желудочного перехода. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе рак пищеводно-желудочного перехода представляет собой аденокарциному пищеводно-желудочного перехода.

[0867] В некоторых из вариантов осуществления в данном документе конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) используют для лечения распространенного рака. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе распространенный рак представляет собой рак стадии 3 или рак стадии 4. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе распространенный рак представляет собой метастатический рак. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе рак представляет собой рецидивирующий рак. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе рак является неоперабельным. В некоторых из вариантов осуществления в данном документе субъект проходил предшествующее лечение стандартной противораковой терапией, которое было неудачным.»

[0868] В некоторых вариантах осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) используют для лечения рака предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак предстательной железы представляет собой кастрационно-резистентный рак предстательной железы.

[0869] В некоторых вариантах осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) используют для лечения меланомы. В некоторых вариантах осуществления меланома представляет собой злокачественную меланому кожи.

[0870] Примеры гемобластозов, которые потенциально могут дать начало солидным опухолям, включают, но не ограничиваются этим, диффузные В-крупноклеточные лимфомы (ДВКЛ), фолликулярную лимфому, миелодиспластический синдром (МДС), лимфому, болезнь Ходжкина, злокачественную лимфому, неходжкинскую лимфому, лимфому Беркитта, множественную миелому, синдром Рихтера (трансформацию Рихтера) и т. п.

[0871] В определенных вариантах осуществления рак выбран из, но не ограничивается этим, лейкоза, такого как острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ), хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ), острый миелогенный лейкоз (ОМЛ), хронический миелогенный лейкоз (ХМЛ), волосатоклеточный лейкоз (ВКЛ), Т-клеточный пролимфоцитарный лейкоз (Т-ПЛЛ), лейкоз из больших зернистых лимфоцитов, Т-клеточный лейкоз взрослых и острый моноцитарный лейкоз (ОМоЛ).

[0872] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой другой гемобластоз, включая, но не ограничиваясь этим, неходжкинскую лимфому (например, диффузную В-крупноклеточную лимфому, мантийноклеточную лимфому, В-лимфобластную лимфому, периферическую Т-клеточную лимфому и лимфому Беркитта), В-лимфобластную лимфому; В-клеточный хронический лимфоцитарный лейкоз/мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому; лимфоплазмоцитарную лимфому; В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны селезенки (± ворсинчатые лейкоциты); плазмаклеточную миелому/плазмацитому; экстранодальную В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны MALT-типа; нодальную В-клеточную лимфому из клеток маргинальной зоны (± моноцитоидные В-клетки); фолликулярную лимфому; диффузные В-крупноклеточные лимфомы; лимфому Беркитта; лимфобластную лимфому из предшественников Т-клеток; Т-клеточную лимфому взрослых (HTLV 1-позитивную); экстранодальную NK/Т-клеточную лимфому назального типа; Т-клеточную лимфому энтеропатического типа; гепатоспленическую γ-δ Т-клеточную лимфому; Т-клеточную лимфому типа подкожного панникулита; фунгоидный микоз/синдром Сезари; анапластическую крупноклеточную лимфому, Т/нуль-клеточную, первичного кожного типа; анапластическую крупноклеточную лимфому, Т-/нуль-клеточную, первичного системного типа; периферическую Т-клеточную лимфому, не определенную иным образом; ангиоиммунобластную Т-клеточную лимфому, множественную миелому, истинную полицитемию или миелофиброз, кожную Т-клеточную лимфому, мелкоклеточную лимфоцитарную лимфому (SLL), лимфому маргинальной зоны, лимфому ЦНС, иммунобластную крупноклеточную лимфому, В-лимфобластную лимфому из клеток-предшественников и т. п.

[0873] Типовые солидные опухоли, которые можно лечить, включают, но не ограничиваются этим, злокачественные образования, например, саркомы (включая саркому мягких тканей и остеосаркому), аденокарциномы и карциномы различных систем органов, такие, как поражающие голову и шею (включая глотку), щитовидную железу, легкие (мелкоклеточная карцинома легкого (МККЛ) или немелкоклеточная карцинома

легкого (НММКЛ)), молочную железу, лимфоидную ткань, желудочно-кишечный тракт (например, ротовую полость, пищевод, желудок, печень, поджелудочную железу, тонкий кишечник, ободочную и прямую кишку, анальный канал), гениталии и мочеполовой тракт (например, почки, уротелий, мочевой пузырь, яичники, матку, шейку матки, эндометрий, предстательную железу, яички), центральную нервную систему (например, нейральные или глиальные клетки, например, нейробластома или глиома), кожу (например, меланома) и т. п. В определенных вариантах осуществления солидная опухоль представляет собой положительную в отношении рецептора NMDA тератому. В других вариантах осуществления рак выбран из рака молочной железы, рака толстой кишки, рака поджелудочной железы (например, нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы (НЭОПЖ) или протоковой аденокарциномы поджелудочной железы (ПАКПЖ)), рака желудка, рака матки и рака яичника.

[0874] В определенных вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль, которая связана с асцитами. Асциты являются симптомом многих типов рака и также могут быть обусловлены рядом состояний, таких как распространенное заболевание печени. Типы рака, которые с определенной вероятностью приведут к асцитам, включают, но не ограничиваются этим, рак молочной железы, легкого, толстого кишечника (толстой кишки), желудка, поджелудочной железы, яичника, матки (эндометрия), брюшины и т. п. В некоторых вариантах осуществления солидная опухоль, связанная с асцитами, выбрана из рака молочной железы, рака толстой кишки, рака поджелудочной железы, желудка, рака матки и рака яичника. В некоторых вариантах осуществления рак связан с плевральным выпотом, например, рак легкого.

[0875] В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой меланому, рак легкого, рак молочной железы, рак головы и шеи, рак яичника, саркому, мезотелиому или рак шейки матки.

[0876] В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы, мезотелиому, колоректальный рак, рак легкого, рак щитовидной железы, рак молочной железы, холангиокарциному, рак пищевода и рак головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой меланому. В некоторых вариантах осуществления меланома представляет собой меланому кожи. В некоторых вариантах осуществления меланома кожи выбрана из группы, состоящей из поверхностной распространяющейся меланомы, нодулярной меланомы, акральной лентигинозной меланомы, меланомы типа злокачественного лентиго и десмопластической меланомы. В некоторых вариантах осуществления меланома кожи представляет собой поверхностную распространяющуюся меланому. В некоторых вариантах осуществления меланома кожи представляет собой нодулярную меланому. В некоторых вариантах осуществления меланома кожи представляет собой акральную лентигинозную меланому. В некоторых вариантах осуществления акральная лентигинозная меланома представляет собой подногтевую меланому. В некоторых вариантах осуществления меланома кожи представляет собой меланому типа злокачественного лентиго. В некоторых вариантах

осуществления меланома кожи представляет собой десмопластическую меланому. В некоторых вариантах осуществления субъект получал предшествующую терапию ингибитором PD-1 или PD-L1 против меланомы кожи.

[0877] В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), рак головы и шеи, рак пищевода, рак молочной железы, рак яичника, рак мочевого пузыря, рак кожи (РК), рак яичника, рак шейки матки, рак желудка и рак поджелудочной железы. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, рак эндометрия, рак шейки матки, печени, желудка и плоскоклеточные карциномы (например, мочевого пузыря, головы, шеи и легкого), раки кожи, например меланому, мелкоклеточную карциному легкого или карциноидную опухоль легкого. В конкретных вариантах осуществления рак представляет собой хронический лейкоз, лимфому, множественную миелому, острый лимфобластный лейкоз В-типа, хронический миелоцитарный лейкоз, неходжкинскую лимфому и ходжкинскую лимфому, В-клеточную лимфому или диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому.

B. КОМБИНИРОВАННАЯ ТЕРАПИЯ

[0878] Способы, антигенсвязывающие белки и ADC, описанные в данном документе, можно использовать в комбинации с другими терапевтическими агентами и/или схемами. В таких комбинированных терапевтических способах два (или более) лекарственных средства доставляют субъекту в течение времени, когда субъект имеет расстройство, так что эффекты от лекарственных средства на пациента перекрываются по времени. В определенных вариантах осуществления доставка одного лечебного средства все еще происходит, когда начинается доставка второго лечебного средства, так что существует перекрытие в терминах введения. Это иногда называют в данном документе «одновременной» или «параллельной доставкой». В других вариантах осуществления доставка одного лечебного средства заканчивается до начала доставки другого лечебного средства. В некоторых вариантах осуществления в любом случае лечение является более эффективным благодаря комбинированному введению. Например, второе лечебное средство является более эффективным, например, эквивалентный эффект наблюдается при меньшей дозе второго лечебного средства, или же второе лечебное средство уменьшает симптомы в большей степени, чем это было бы, если бы второе лечебное средство вводили в отсутствие первого лечебного средства, или же аналогичная ситуация наблюдается в случае первого лечебного средства. В некоторых вариантах осуществления доставку осуществляют так, чтобы уменьшение симптома или другого параметра, связанного с расстройством, было большим, чем наблюдалось бы в случае, если бы одно лечебное средство доставляли в отсутствие другого. Эффект двух лечебных средств может быть частично аддитивным, полностью аддитивным или более чем аддитивным (т. е. синергетический ответ). Доставку можно осуществлять так, чтобы эффект первого доставляемого лечебного средства был все еще выявляем во время доставки второго.

[0879] В определенных вариантах осуществления предложенные в данном

документе способы включают введение субъекту ABP (например, антитела к GPNMB, антитела к CD228, антитела к αvβ6, антитела к CD30, антитела к LIV1 или антитела к CD19) или ADC (например, анти-GPNMB, анти-CD228, анти-αvβ6, анти-CD30, анти-LIV1 или анти-CD19 ADC), описанных в данном документе, например композиции или препарата, в комбинации с одним или более дополнительными видами терапии, например хирургическим вмешательством, лучевой терапией или введением другого терапевтического препарата. Например, в некоторых вариантах осуществления ABP комбинируют с химиотерапией (например, цитотоксическим агентом), направленной терапией (например, антителом против ракового антигена), ингибитором ангиогенеза и/или иммуномодулирующим агентом, таким как ингибитор молекул иммунных контрольных точек. В других вариантах осуществления дополнительная терапия представляет собой противовоспалительный (например, метотрексат) или противофиброзный агент. ABP (например, антитело к GPNMB, антитело к CD228, антитело к αvβ6, антитело к CD30, антитело к LIV1 или антитело к CD19) или ADC (например, анти-GPNMB, анти-CD228, анти-αvβ6, анти-CD30, анти-LIV1 или анти-CD19 ADC) и дополнительную терапию можно применять одновременно или последовательно.

[0880] Типовые цитотоксические агенты, которые можно использовать в комбинации с конъюгатом LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4), в некоторых вариантах осуществления капецитабин, атезолизумаб, ипатасертиб, бевацизумаб (гемцитабин+карбоплатин или эрибулин), селикрелумаб, тоцилизумаб, наб-паклитаксел и сацитузумаб говитекан.

[0881] Другие агенты, которые можно использовать в комбинации с конъюгатом LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4), включают ингибиторы контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой антитело к PD-1, антитело к PD-L1, антитело к CTLA4, B7-DC-Fc, LAG3 или TIM3. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольных точек выбран из группы, состоящей из MEDI0680, AMP-224, ниволумаба, пембролизумаба, пидилизумаба, MEDI4736, MPDL3280A, ипилимумаба и тремелимумаба. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольных точек представляет собой пембролизумаб и используется в комбинации с конъюгатом LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) для лечения LIV1-экспрессирующего рака.

[0882] Конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) можно комбинировать с другими агентами для лечения HER2-положительного рака, например, HER2-положительного рака молочной железы, HER2-положительного рака мочевого пузыря, HER2-положительного рака шейки матки, HER2-положительных холангиокарцином, HER2-положительного колоректального рака, HER2-положительного рака пищевода и пищеводно-желудочного перехода, HER2-положительного рака желчного пузыря или HER2-положительных аденокарцином желудка. Другие агенты для комбинации с конъюгатом LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) могут включать антитела или ADC, нацеленные на HER2, например трастузумаб или трастузумаб дерукстекан; или

ингибиторы киназ, например лапатиниб, нератиниб или тукатиниб. Тукатиниб описан в WO2007/059257.

[0883] В некоторых вариантах осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) комбинируют с тукатинибом для лечения HER2-положительного рака. В дополнительном варианте осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) комбинируют с тукатинибом для лечения HER2-положительного рака, например HER2-положительного рака молочной железы. В дополнительном варианте осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) комбинируют с тукатинибом для лечения HER2-положительного рака, например, HER2-положительного рака мочевого пузыря. В дополнительном варианте осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) комбинируют с тукатинибом для лечения HER2-положительного рака, например HER2-положительного рака шейки матки. В дополнительном варианте осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) комбинируют с тукатинибом для лечения HER2-положительного рака, например HER2-положительных холангиокарцином. В дополнительном варианте осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) комбинируют с тукатинибом для лечения HER2-положительного рака, например, HER2-положительного колоректального рака. В дополнительном варианте осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) комбинируют с тукатинибом для лечения HER2-положительного рака, например HER2-положительного рака пищевода и пищеводно-желудочного перехода. В дополнительном варианте осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) комбинируют с тукатинибом для лечения HER2-положительного рака, например HER2-положительного рака желчного пузыря. В дополнительном варианте осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) комбинируют с тукатинибом для лечения HER2-положительного рака, например HER2-положительных аденокарцином желудка. В дополнительном варианте осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) комбинируют с тукатинибом для лечения HER2-положительного рака, например HER2-положительного рака яичника.

[0884] В другом варианте осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) комбинируют с тукатинибом для лечения HER2-положительного рака молочной железы. В дополнительном варианте осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) комбинируют с тукатинибом и капецитабином для лечения HER2-положительного рака молочной железы. В дополнительном варианте осуществления конъюгат LIV1- MC-dLeu-Ala-Glu-PAB-MMAE(4) комбинируют с тукатинибом, трастузумабом и капецитабином для лечения HER2-положительного рака молочной железы.

[0885] Типовые цитотоксические агенты, которые можно использовать в комбинации с ABP, в некоторых вариантах осуществления включают агенты, оказывающие воздействие на микротрубочки, ингибиторы топоизомеразы,

антиметаболиты, ингибиторы синтеза и деградации белка, митотические ингибиторы, алкилирующие агенты, агенты на основе платины, ингибиторы синтеза нуклеиновых кислот, ингибиторы гистондеацетилазы (ингибиторы HDAC, например, вориностат (SAHA, MK0683), энтиностат (MS-275), панобиностат (LBH589), трихостатин A (TSA), моцетиностат (MGCD0103), белиностат (PXD101), ромидепсин (FK228, депсипептид)), ингибиторы ДНК-метилтрансферазы, азотные иприты, нитрозомочевины, этиленимины, алкилсульфонаты, триазены, фолатные аналоги, нуклеозидные аналоги, ингибиторы рибонуклеотидредуктазы, алкалоиды барвинка, таксаны, эпотилоны, интеркалирующие агенты, агенты, способные препятствовать путям передачи сигнала, агенты, которые стимулируют апоптоз, и облучение или конъюгаты с молекулами антител, которые связывают поверхностные белки для доставки токсичного агента. В одном варианте осуществления цитотоксический агент, который можно вводить с ABP, описанным в данном документе, представляет собой агент на основе платины (такой как цисплатин), циклофосфамид, дакарбазин, метотрексат, фторурацил, гемцитабин, капецитабин, гидроксимочевину, топотекан, иринотекан, азацитидин, вориностат, иксабепилон, бортезомиб, таксаны (например, паклитаксел или доцетаксел), цитохалазин B, грамицидин D, этидия бромид, эметин, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, винорелбин, колхицин, антрациклины (например, доксорубицин или эпирубицин), даунорубицин, дигидроксиантрациндион, митоксантрон, митрамицин, актиномицин D, адриамицин, 1-дигидротестостерон, глюкокортикоиды, прокаин, тетракаин, лидокаин, пропранолол, пуромицин, рицин или майтанзиноиды.

[0886] В некоторых вариантах осуществления антигенсвязывающий белок вводят как часть химиотерапевтической схемы, такой как CHOP (циклофосфамид, доксорубицин, винкристин и преднизон); CVP (циклофосфамид, винкристин и преднизон); RCVP (ритуксимаб+CVP); RCHOP (ритуксимаб+CHOP); RCHP (ритуксимаб, циклофосфамид, доксорубицин и преднизон); RICE (ритуксимаб+ифосфамид, карбоплатин, этопозид); RDHAP, (ритуксимаб+дексаметазон, цитарабин, цисплатин); RESHAP (ритуксимаб+этопозид, метилпреднизолон, цитарабин, цисплатин); R-BENDA (ритуксимаб и бендамустин), RGDP (ритуксимаб, гемцитабин, дексаметазон, цисплатин). В одном варианте осуществления одну из схем CHOP, CVP, RCVP, RCHOP, RCHP, RICE, RDHAP, RESHAP, R-BENDA и RGDP применяют в комбинированной терапии с антигенсвязывающим белком или конъюгатом, описанными в данном документе.

[0887] Примеры вариантов направленной терапии, которые можно комбинировать с ABP, в определенных вариантах осуществления включают, но не ограничиваются этим, применение терапевтических антител. Типовые антитела включают, но не ограничиваются этим, те, которые связываются с клеточными поверхностными белками, такими как Her2, CDC20, CDC33, муцин-подобный гликопротеин и рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), присутствующими на опухолевых клетках, и необязательно индуцируют цитостатический и/или цитотоксический эффект на опухолевые клетки, представляющие эти белки. Типовые антитела также включают

ГЕРЦЕПТИН® (трастузумаб), который можно использовать для лечения рака молочной железы и других форм рака, и РИТУКСАН® (ритуксимаб), ЗЕВАЛИН® (ибритутомаб тиуксетан), ГЛИВЕК® и ЛИМФОЦИД® (эпратузумаб), которые можно использовать для лечения неходжкинской лимофмы и других форм рака. Другие типовые антитела включают панитумумаб (ВЕКТИБИКС®), ЭРБИТУКС® (IMC-C225); эрлотиниб (ИРЕССА); БЕКСАР® (тозитумомаб с йодом 131); ингибиторы KDR (рецептора киназного домена); и антитела и антагонисты к VEGF (например, авастин®, мотесаниб VEGAF-TRAP); антитела к рецептору VEGF и их антигенсвязывающие области; антитела к Ang-1 и Ang-2 и их антигенсвязывающие области; антитела к Tie-2 и другим рецепторам Ang-1 и Ang-2; лиганды Tie-2; антитела к ингибиторам киназ Tie-2; ингибиторы Hif-1a и КАМПАТ® (алемтузумаб). В определенных вариантах осуществления агенты для противораковой терапии представляют собой полипептиды, которые селективно индуцируют апоптоз в опухолевых клетках, включая, но не ограничиваясь этим, TNF-родственный полипептид TRAIL.

[0888] В определенных вариантах осуществления предложенный в данном документе антигенсвязывающий белок используют в комбинации с одним или более антиангиогенными агентами, которые снижают ангиогенез. Такие агенты включают, но не ограничиваются этим, антагонисты IL-8; Кампат®, B-FGF; антагонисты FGF; антагонисты Tek (Cerretti et al., публикация США № 2003/0162712; Cerretti et al., патент США № 6413932 и Cerretti et al., патент США № 6,521,424); анти-TWEAK агенты (которые включают, но не ограничиваются этим, антитела и антигенсвязывающие фрагменты); антагонисты растворимого рецептора TWEAK (Wiley, патент США № 6727225); домен дизинтегрина ADAM для антагонизации связывания интегрина с его лигандами (Fanslow et al., публикация США №. 2002/0042368); антитела, антигенсвязывающие области или антагонисты к рецептору eph и к эфрину (патенты США №№ 5981245; 5728813; 5969110; 6596852; 6232447; 6057124); анти-VEGF агенты (например, антитела или антигенсвязывающие области, которые специфически связывают VEGF, или растворимые рецепторы VEGF, или их лиганд-связывающие области), такие как Авастин® или VEGF-TRAP™, и агенты против рецепторов VEGF (например, антитела или антигенсвязывающие области, которые специфически связывают их), агенты, ингибирующие EGFR (например, антитела или антигенсвязывающие области, которые специфически связывают их), такие как панитумумаб, ИРЕССА® (гефитиниб), ТАРЦЕВА® (эрлотиниб), анти-Ang-1 и анти-Ang-2 агенты (например, антитела или антигенсвязывающие области, которые специфически связывают их или их рецепторы, например, Tie-2/TEK) и агенты, ингибирующие Tie-2 киназу (например, антитела или антигенсвязывающие области, которые специфически связывают и ингибируют активность факторов роста, такие как антагонисты фактора роста гепатоцитов (HGF, также известный как рассеивающий фактор), антитела или антигенсвязывающие области, которые специфически связывают их рецептор «c-met»; анти-PDGF-BB антагонисты; антитела и антигенсвязывающие области к лигандам PDGF-BB; и ингибиторы киназ

PDGFR.

[0889] Другие антиангиогенные агенты, которые можно использовать в комбинации с антигенсвязывающим белком, включают агенты, такие как ингибиторы MMP-2 (матриксной металлопротеиназы 2), ингибиторы MMP-9 (матриксной металлопротеиназы 9) и ингибиторы COX-II (циклооксигеназы II). Примеры применимых ингибиторов COX-II включают ЦЕЛЕБРЕКС® (целекоксиб), валдекоксиб и рофекоксиб.

[0890] В контексте данного документа «молекула ингибитора контрольной точки» относится к молекуле в иммунной системе, которая повышает сигнал (стимулирующая молекула) и/или понижает сигнал (ингибирующая молекула). Многие виды рака уклоняются от иммунной системы путем ингибирования Т-клеточной сигнализации. Типовые молекулы иммунных контрольных точек, которые можно использовать с АВР, в определенных вариантах осуществления включают, но не ограничиваются этим, белок запрограммированной клеточной гибели 1 (PD-1), лиганд белка запрограммированной клеточной гибели 1 (PD-L1), PD-L2, ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA-4), белок, содержащий Т-клеточный иммуноглобулин и домен муцина 3 (TIM-3), ген активации лимфоцитов 3 (LAG-3), молекулу клеточной адгезии, связанную с карциноэмбриональным антигеном 1 (CEACAM-1), CEACAM-5, V-доменный Ig-супрессор активации Т-клето (VISTA), B- и Т-лимфоцитарный аттенюатор (BTLA), Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT), ассоциированный с лейкоцитами иммуноглобулиноподобный рецептор 1 (LAIR1), CD160, TGFR, рецептор аденозина 2A (A2AR), B7-H3 (также известный как CD276), B7-H4 (также называемый VTCN1), индоламин-2,3-диоксигеназа (IDO), 2B4, иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров (KIR), OX40, 4-1BB, 4-1BBL, B7-H3, индуцибельный Т-клеточный костимулятор (ICOS/ICOS-L), CD27/CD70, глюкокортикоид-индуцированный рецептор TNF (GITR), CD47/сигнальный регуляторный белок альфа (SIRPα) и индоламин-2,3-диоксигеназа (IDO).

[0891] Конкретные примеры ингибиторов иммунных контрольных точек, которые можно использовать в комбинации с АВР, в определенных вариантах осуществления включают, но не ограничиваются этим, следующие моноклональные антитела: ингибиторы PD-1, такие как пембролизумаб (Кейтруда®, Merck) и ниволумаб (Опдиво®, Bristol-Myers Squibb); ингибиторы PD-L1, такие как атезолизумаб (Тецентрик®, Genentech), авелумаб (Бавенсио®, Pfizer), дурвалумаб (Имфинзи®, AstraZeneca); и ингибиторы CTLA-1, такие как ипилимумаб (Ервой®, Bristol-Myers Squibb) и тремелимумаб (AstraZeneca).

9. Диагностические применения

[0892] В другом аспекте АВР (например, антитело к GPNMB, антитело к CD228, антитело к αvβ6, антитело к CD30, антитело к LIV1 или антитело к CD19 или их фрагмент), полипептиды и нуклеиновые кислоты, предложенные в данном документе, можно применять в способах выявления, диагностики и мониторинга заболевания, расстройства или состояния, связанного с GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19.

[0893] В некоторых вариантах осуществления способ включает выявление экспрессии GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19 в образце, полученном от субъекта, у которого подозревается расстройство, связанное с GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19. В некоторых вариантах осуществления способ выявления включает приведение образца в контакт с антителом, полипептидом или полинуклеотидом, описанным в данном документе, и определение, отличается ли уровень связывания от эталонного или сравнительного образца. В некоторых вариантах осуществления такие способы применимы для определения того, являются ли описанные в данном документе антитела или полипептиды соответствующим вариантом лечения для субъекта.

[0894] Например, в некоторых вариантах осуществления клетки или клеточный/тканевый лизат приводят в контакт с антителом к GPNMB, антителом к CD228, антителом к αvβ6, антителом к CD30, антителом к LIV1 или антителом к CD19 и определяют связывание между антителом и клеткой или антигеном. Когда исследуемые клетки демонстрируют активность связывания по сравнению с эталонной клеткой из того же типа ткани, это может указывать на наличие заболевания или состояния, связанного с GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19. В некоторых вариантах осуществления исследуемые клетки получены из тканей человека.

[0895] Для выявления специфического связывания антитело - антиген можно использовать различные способы, известные в данной области техники. Типовые иммуноанализы, которые можно проводить в соответствии с изобретением, включают флуоресцентный поляризационный иммуноанализ (ФПИА), флуоресцентный иммуноанализ (ФИА), ферментный иммуноанализ (ФИА), нефелометрический иммуноанализ ингибирования (НИА), ферментный иммуносорбентный анализ (ELISA) и радиоиммуноанализ (РИА).

[0896] Предложенные в данном документе диагностические применения включают использование АВР (например, anti GPNMB, антитела к CD228, антитела к αvβ6, антитела к CD30, антитела к LIV1 или антитела к CD19 или его фрагмента) для выявления экспрессии GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19 и связывания лигандов с GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19. Для диагностических применений АВР, как правило, метят выявляемой метящей группой. Подходящие метящие группы включают, но не ограничиваются этим, следующие: радиоизотопы или радионуклиды (например, ^{3}H, ^{14}C, ^{15}N, ^{35}S, ^{90}Y, ^{99}Tc, ^{111}In, ^{125}I, ^{131}I), флуоресцентные группы (например, ФИТЦ, родамин, лантаноидные люминофоры), ферментативные группы (например, пероксидазу хрена, β-галактозидазу, люциферазу, щелочную фосфатазу), хемилюминесцентные группы, биотинильные группы или предопределенные полипептидные эпитопы, распознаваемые вторичным репортером (например, парные последовательности лейциновых молний, сайты связывания для вторичных антител, металлсвязывающие домены, эпитопные теги). В некоторых вариантах осуществления метящая группа связана с АВР с помощью спейсерных групп различной длины для уменьшения потенциальных стерических

затруднений. В данной области техники известны различные способы мечения белков, которые можно использовать. Примеры способов, применимых для выявления наличия GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19, включают иммуноанализы, такие как описаны выше.

[0897] В другом аспекте ABP можно использовать, чтобы идентифицировать клетку или клетки, которые экспрессируют GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19. В конкретных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок метят метящей группой и выявляют связывание меченного антигенсвязывающего белка с GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19. В дополнительных конкретных вариантах осуществления связывание антигенсвязывающего белка с GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19 выявляют in vivo.

[0898] Антигенсвязывающий белок (например, антитело к GPNMB, антитело к CD228, антитело к αvβ6, антитело к CD30, антитело к LIV1 или антитело к CD19 или его фрагмент) также можно использовать как окрашивающий реагент в патологии, используя методики, хорошо известные в данной области техники.

10. Фармацевтические композиции и составы

[0899] Также предложены фармацевтические композиции, которые содержат ABP (например, антитело к GPNMB, антитело к CD228, антитело к αvβ6, антитело к CD30, антитело к LIV1 или антитело к CD19 или его фрагмент) и которые можно использовать в любом из терапевтических применений, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит терапевтически эффективное количество одного или множества антигенсвязывающих белков вместе с фармацевтически приемлемым разбавителем или носителем. В других вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит терапевтически эффективное количество одного или множества антигенсвязывающих белков, фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель, солюбилизатор, эмульгатор, консервант и/или адъювант. Приемлемые материалы состава являются нетоксичными для реципиентов в применяемых дозировках и концентрациях. Фармацевтические композиции можно составлять в виде жидких, замороженных или лиофилизированных композиций.

[0900] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция может содержать составляющие материалы для модификации, поддержания или сохранения, например pH, осмолярности, вязкости, прозрачности, цвета, изотоничности, запаха, стерильности, стабильности, скорости растворения или высвобождения, всасывания или проникновения композиции. Подходящие для составления материалы включают, но не ограничиваются этим, аминокислоты; противомикробные средства; антиоксиданты; буферы; объемообразующие агенты; хелатирующие агенты; комплексообразующие агенты; наполнители; углеводы, такие как моносахариды или дисахариды; белки; красящие, ароматизирующие и разбавляющие агенты; эмульгирующие агенты; гидрофильные полимеры; низкомолекулярные полипептиды; солеобразующие противоионы (такие как натрий); консерванты; растворители (такие как

глицерин, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль); сахарные спирты; суспендирующие агенты; поверхностно-активные вещества или смачивающие агенты; агенты, повышающие стабильность; агенты, повышающие тоничность; средства доставки и/или фармацевтические адъюванты. Дополнительные подробности и варианты в отношении подходящих агентов, которые могут быть включены в фармацевтические композиции, приведены, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, 22nd Edition, (Loyd V. Allen, ed.) Pharmaceutical Press (2013); Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th ed., Lippencott Williams and Wilkins (2004); и Kibbe et al., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3rd ed., Pharmaceutical Press (2000).

[0901] Компоненты фармацевтической композиции выбирают в зависимости от, например, предполагаемого пути введения, формата доставки и необходимой дозировки. Смотрите, например, Remington's Pharmaceutical Sciences, 22nd Edition, (Loyd V. Allen, ed.) Pharmaceutical Press (2013). Композиции подбирают так, чтобы повлиять на физическое состояние, стабильность, скорость высвобождения in vivo и скорость клиренса in vivo описанных антигенсвязывающих белков. Первичный наполнитель или носитель в фармацевтической композиции может быть водным или неводным по своей природе. Например, подходящий наполнитель или носитель может представлять собой воду для инъекций или физиологический солевой раствор. В определенных вариантах осуществления композиции антигенсвязывающего белка можно готовить для хранения путем смешивания выбранной композиции, имеющей необходимую степень чистоты, с необязательными агентами для составления в форме лиофилизированной таблетки или водного раствора. Дополнительно, в определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий белок можно составлять в виде лиофилизата, используя соответствующие эксципиенты.

[0902] В определенных составах концентрация антигенсвязывающего белка составляет по меньшей мере 2 мг/мл, 5 мг/мл, 10 мг/мл, 20 мг/мл, 30 мг/мл, 40 мг/мл, 50 мг/мл, 60 мг/мл, 70 мг/мл, 80 мг/мл, 90 мг/мл, 100 мг/мл, 110 мг/мл, 120 мг/мл, 130 мг/мл, 140 мг/мл или 150 мг/мл. В других вариантах осуществления антигенсвязывающий белок имеет концентрацию 10-20 мг/мл, 20-40 мг/мл, 40-60 мг/мл, 60-80 мг/мл или 80-100 мг/мл.

[0903] Некоторые композиции содержат буфер или агент, регулирующий pH. Репрезентативные буферы включают, но не ограничиваются этим, соли органических кислот (такие как соли лимонной кислоты, уксусной кислоты, аскорбиновой кислоты, глюконовой кислоты, карбоновой кислоты, винной кислоты, янтарной кислоты или фталевой кислоты); Трис; фосфатные буферы; и, в некоторых случаях, аминокислоты, как описано ниже. В определенных вариантах осуществления для поддержания физиологического pH или немного меньшего pH композиции применяют буферы, как правило, в диапазоне pH от около 5 до около 8. Некоторые композиции имеют pH около 5-6, 6-7 или 7-8. В других вариантах осуществления pH составляет 5,5-6,5, 6,5-7,5 или 7,5-8,5.

[0904] Свободные аминокислоты используют в некоторых композициях как

объемообразующие агенты, стабилизаторы и/или антиоксиданты. В качестве примера, для стабилизации белков в составе можно использовать лизин, пролин, серин и аланин. Глицин применим при лиофилизации, чтобы гарантировать правильные структуру и свойства таблетки. Аргинин можно применять для ингибирования агрегации белка как в жидких, так и в лиофилизированных составах. Метионин применяют как антиоксидант. В некоторых вариантах осуществления включены глутамин и аспарагин. В некоторые составы включены аминокислоты из-за их буферной способности. Такие аминокислоты включают, например, аланин, глицин, аргинин, бетаин, гистидин, глутаминовую кислоту, аспарагиновую кислоту, цистеин, лизин, лейцин, изолейцин, валин, метионин, фенилаланин, аспартам и т. п. Определенные составы также содержат белковый эксципиент, такой как сывороточный альбумин (например, человеческий сывороточный альбумин (ЧСА) и рекомбинантный человеческий альбумин (рЧА)), желатин, казеин и т. п.

[0905] Некоторые композиции содержат полиол. Полиолы включают сахара (например, маннит, сахарозу, трегалозу и сорбит) и многоатомные спирты, такие как, например, глицерин и пропиленгликоль, а также полиэтиленгликоль (ПЭГ) и схожие вещества. Полиолы являются космотропными. Они являются полезными стабилизирующими агентами как в жидких, так и в лиофилизированных составах, защищая белки от процессов физического и химического распада. Полиолы также применимы для регуляции тоничности составов.

[0906] Определенные композиции содержат маннит в качестве стабилизатора. Его в общем случае используют с лиопротектором, например, сахарозой. Сорбит и сахарозу применяют для регуляции тоничности и в качестве стабилизаторов для защиты от стресса вследствие замораживания-размораживания во время транспортировки или изготовления нерасфасованного продукта в процессе производства. ПЭГ применим для стабилизации белков и в качестве криопротектора и может быть в связи с этим использован в изобретении.

[0907] В некоторые составы могут быть включены сахара, включая моносахариды, ди-, три-, тетра- и олигосахариды; дериватизированные сахара, такие как альдитолы, альдоновые кислоты, эстерифицированные сахара и т. п.; а также полисахариды или сахарные полимеры. Например, подходящие углеводные эксципиенты включают моносахариды, такие как фруктоза, мальтоза, галактоза, глюкоза, D-манноза, сорбоза и т. п.; дисахариды, такие как лактоза, сахароза, трегалоза, целлобиоза и т. п.; полисахариды, такие как раффиноза, мелецитоза, декстраны, крахмалы и т. п.; и альдитолы, такие как маннит, ксилит, мальтит, лактит, ксилит-сорбит (глюцит), миоинозит и т. п.

[0908] В определенные составы могут быть включены поверхностно-активные вещества. Поверхностно-активные вещества, как правило, используют для предотвращения, минимизации или снижения адсорбции белка на поверхности и последующей агрегации на поверхностях раздела воздух-жидкость, твердое тело-жидкость и жидкость-жидкость, и для регуляции конформационной стабильности белков.

Подходящие поверхностно-активные вещества включают, например, полисорбат 20, полисорбат 80, другие сложные эфиры жирных кислот или сложные эфира сорбитана, поверхностно-активные вещества Тритон, лехитин, тилоксапал и полоксамер 188.

[0909] В некоторых вариантах осуществления в фармацевтическую композицию включены один или более антиоксидантов. Эксципиенты-антиоксиданты можно использовать для предотвращения окислительного распада белков. Восстановительные агенты, поглотители кислорода/свободных радикалов и хелатирующие агенты являются применимыми антиоксидантами в этом смысле. Антиоксиданты, как правило, являются водорастворимыми и сохраняют свою активность в течение срока годности продукта. ЭДТА представляет другой применимый антиоксидант.

[0910] Определенные составы содержат ионы металлов, которые являются кофакторами белков и необходимы для образования координационных комплексов белков. Ионы металлов также могут ингибировать некоторые процессы, которые разрушают белки. Например, можно использовать ионы магния (10-120 мМ), чтобы ингибировать изомеризацию аспарагиновой кислоты до изоаспарагиновой кислоты.

[0911] Также в определенные составы может быть включен агент, повышающий тоничность. Примеры таких агентов включают галогениды щелочных металлов, предпочтительно хлорид натрия или калия, маннит и сорбит.

[0912] В определенные составы могут быть включены один или более консервантов. Консерванты необходимы при разработке многодозовых парентеральных составов, которые предполагают более одного набора из одного и того же контейнера. Их основной функцией является ингибирование роста микроорганизмов и гарантия стерильности продукта на протяжении срока годности или срока применения лекарственного продукта. Подходящие консерванты включают фенол, м-крезол, п-крезол, о-крезол, хлоркрезол, бензиловый спирт, нитрит фенилртути, феноксиэтанол, фениловый спирт, формальдегид, хлорбутанол, хлорид магния (например, гексагидрат), алкилпарабен (метил-, этил-, пропил-, бутил- и т. п.), хлорид бензалкония, хлорид бензетония, дегидроацетат натрия, тимеросал, бензойную кислоту, салициловую кислоту, хлоргексидин или их смеси в водном разбавителе.

[0913] Фармацевтическую композицию составляют так, чтобы она была совместима с предполагаемым путем введения. Примеры путей введения включают внутривенное (в/в), интрадермальное, ингаляционное, трансдермальное, местное, трансмукозальное и ректальное введение. Предпочтительным путем введения для антигенсвязывающего белка (например, антитела) является в/в инфузия. В другом предпочтительном варианте осуществления препарат вводят путем внутримышечной или подкожной инъекции.

[0914] Компоненты состава, подходящего для парентерального введения (например, внутривенного, подкожного, внутриглазного, внутрибрюшинного, внутримышечного), включают стерильный разбавитель, такой как вода для инъекций, физиологический солевой раствор, жирные масла, полиэтиленгликоли, глицерин,

пропиленгликоль или другие синтетические растворители; антибактериальные агенты, такие как бензиловый спирт или метилпарабены; антиоксиданты, такие как аскорбиновая кислота или бисульфит натрия; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; буферы, такие как ацетаты, цитраты или фосфаты; и агенты для регуляции тоничности, такие как хлорид натрия или декстроза.

[0915] Для внутривенного введения подходящие носители включают физиологический солевой раствор, бактериостатическую воду, кремофор EL™ (BASF, Parsippany, N.J.) или фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ). Носитель должен быть стабильным в условиях производства и должен быть защищен от микроорганизмов. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащие, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль), и их подходящие смеси.

[0916] Дополнительное руководство по подходящим составам в зависимости от формы доставки приведено, например, в Remington's Pharmaceutical Sciences, 22nd Edition, (Loyd V. Allen, ed.) Pharmaceutical Press (2013).

[0917] Фармацевтические составы предпочтительно являются стерильными. Стерилизацию можно осуществлять любым подходящим способом, например, фильтрацией через стерильные фильтровальные мембраны. Если композиция лиофилизирована, стерилизацию через фильтр можно проводить до или после лиофилизации и восстановления.

11. Наборы/готовые изделия

[0918] Также предложены наборы, содержащие описанный в данном документе ABP. В одном варианте осуществления такие наборы содержат один или более контейнеров, содержащих антигенсвязывающий белок (например, антитело к GPNMB, антитело к CD228, антитело к αvβ6, антитело к CD30, антитело к LIV1 или антитело к CD19) или единичные лекарственные формы и/или готовые изделия. В некоторых вариантах осуществления предложена единичная дозировка, при этом единичная дозировка содержит предопределенное количество композиции, содержащей антигенсвязывающий белок, с одним или более дополнительными агентами или без них. В некоторых вариантах осуществления такая единичная дозировка предоставлены в одноразовом предварительно заполненном шприце для инъекций. В различных вариантах осуществления композиция, содержащаяся в единичной дозировке, может содержать: солевой раствор; буфер, другие компоненты состава, и/или быть составлена в стабильном и эффективном диапазоне pH, как описано в данном документе. В некоторых альтернативных вариантах осуществления композиция предоставлена в виде лиофилизированного порошка, который можно восстанавливать при добавлении соответствующей жидкости, например стерильной воды.

[0919] Некоторые предложенные в данном документе наборы дополнительно содержат инструкции по применению при лечении заболевания, связанного с GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19, в соответствии с любым из способов, описанных в

данном документе. Набор может дополнительно содержать описание того, как выбрать или определить индивида, подходящего для лечения. Инструкции, предоставляемые в наборах по изобретению, как правило, представляют собой написанные инструкции на этикетке или вкладыше в упаковку (например, листе бумаги, включенном в упаковку), но также приемлемы машиночитаемые инструкции (например, хранящиеся на магнитном или оптическом диске). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит другой терапевтический агент, такой как описанные выше как подходящие для применения в комбинации с антигенсвязывающим белком.

[0920] В дополнительном аспекте предложены наборы для выявления наличия GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19 или клетки, экспрессирующей GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19, в образце. Такие наборы, как правило, содержат антигенсвязывающий белок, описанный в данном документе, и инструкции по применению набора.

[0921] Определенные наборы, например, предназначены для диагностики рака и содержат контейнер, содержащий антигенсвязывающий белок (например, антитело к GPNMB, антитело к CD228, антитело к αvβ6, антитело к CD30, антитело к LIV1 или антитело к CD19) и один или более реагентов для выявления связывания антигенсвязывающего белка с GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19. Такие реагенты могут включать, например, флуоресцентные теги, ферментативные теги или другие выявляемые теги. Реагенты также могут включать вторичные или третичные антитела или реагенты, например, для применения в ферментативных реакциях, которые дают продукт, который можно визуализировать. В одном варианте осуществления диагностический набор содержит один или более антигенсвязывающих белков в меченной или немеченной форме в подходящем(их) контейнере(ах), реагенты для инкубации для непрямого анализа и субстраты или дериватизирующие агенты для выявления в таком анализе, в зависимости от природы метки.

[0922] Предложенные в данном документе наборы можно использовать для in situ выявления. Некоторые способы, в которых используют такие наборы, включают получение гистологического образца от пациента и последующее объединение меченного антигенсвязывающего белка (например, антитела к GPNMB, антитела к CD228, антитела к αvβ6, антитела к CD30, антитела к LIV1 или антитела к CD19) с биологическим образцом. С помощью таких способов можно определить не только наличие GPNMB, CD228, αvβ6, CD30, LIV1 или CD19, или GPNMB-фрагментов, CD228-фрагментов, αvβ6-фрагментов , CD30-фрагментов, LIV1-фрагментов или CD19-фрагментов, но также распределение таких пептидов в исследуемой ткани (например, в контексте оценки распространения раковых клеток).

[0923] В другом аспекте предложено анти-идиотипическое антитело (Id), которое связывается с антигенсвязывающим белком (например, антителом к GPNMB, антителом к CD228, антителом к αvβ6, антителом к CD30, антителом к LIV1 или антителом к CD19). Антитело Id можно получать путем иммунизации животного того же вида и генетического

типа как источника анти-GPNMB, анти-CD228, анти-αvβ6, анти-CD30, анти-LIV1 или анти-CD19 mAb с получением mAb, на которое направлено анти-Id. Иммунизированное животное, как правило, может распознавать и отвечать на идиотипические детерминанты иммунизирующего антитела путем выработки антитела к этим идиотипическим детерминантам (анти-Id антитела).

ПРОНУМЕРОВАННЫЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

Вариант осуществления 1. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, представленного формулой **1**:

$L\text{-}[LU\text{-}D']_p$ (**1**)

или его соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где

L представляет собой лигандное звено;

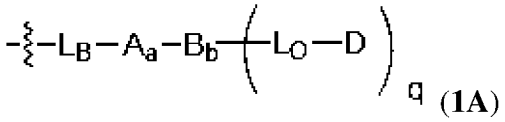
LU представляет собой линкерное звено;

D' представляет от 1 до 4 лекарственных звеньев (D) в каждом фрагменте лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D'; и

нижний индекс p является числом от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равен около 4 или около 8,

при этом лигандное звено получено из антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела, которые способны к селективному связыванию с антигеном опухолевой ткани для последующего высвобождения лекарственного(-ых) звена(звеньев) в виде свободного лекарственного препарата,

при этом фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D' в каждом из соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции имеет структуру по формуле **1A**:



(**1A**)

или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли,

где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к L;

D представляет собой лекарственное звено;

L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающий лиганд;

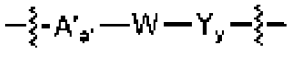
A представляет собой первое необязательное звено растяжения;

нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательное звено разветвления;

нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, при этом вторичный линкер имеет формулу:



,

где волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену, а волнистая линия, смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остатку фрагмента лекарственный препарат-линкер;

A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, которое в отсутствие B становится подзвеном A,

нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено представляет собой непрерывную последовательность из до 12 аминокислот, причем последовательность состоит из придающего селективность трипептида, который обеспечивает повышенную селективность воздействия на опухолевую ткань по сравнению с нормальной тканью свободного цитотоксического агента, высвобождаемого из соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции, по сравнению с соединениями конъюгата лиганд-лекарственный препарат сравнительной композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которой пептидная последовательность пептидного расщепляемого звена представляет собой дипептид -валин-цитруллин- или -валин-аланин-;

при этом опухолевые и нормальные ткани получены от вида грызунов, а композиция формулы I обеспечивает указанную повышенную селективность воздействия, демонстрируемую:

сохранением эффективности в модели с ксенотрансплантатом опухоли сравнительной композиции конъюгата при введении в таком же эффективном количестве и согласно такой же схеме введения, которые ранее были определены для сравнительной композиции конъюгата, и

снижением плазменной концентрации свободного лекарственного препарата и/или сохранением нормальных клеток в ткани при введении в таком же самом эффективном количестве и согласно такой же схеме введения, что и в модели с ксенотрансплантатом опухоли, не несущему опухоль грызуну по сравнению с таким же введением сравнительного конъюгата, в котором лигандные звенья обеих композиций конъюгатов заменены несвязывающим антителом,

при этом нормальная ткань относится к такому же типу ткани у человека, а цитотоксичность в отношении клеток этой ткани по меньшей мере частично является причиной нежелательного явления у субъекта-человека, которому вводят терапевтически эффективное количество сравнительной композиции конъюгата;

Y представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено;

нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q равен 2, 3 или 4, когда нижний индекс b равен 1; и

при этом соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции имеют структуру по формуле **1**, в которой нижний индекс p заменен нижним индексом p', где нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равен 4 или 8.

Вариант осуществления 2. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 1, отличающаяся тем, что ксенотрансплантатная модель представляет собой мышей SCID или бестимусных мышей, которым имплантировали раковые клетки HPAF-II, Ramos SK-MEL-5 или SU-DHL-4, в частности бестимусных мышей, которым имплантировали раковые клетки HPAF-II.

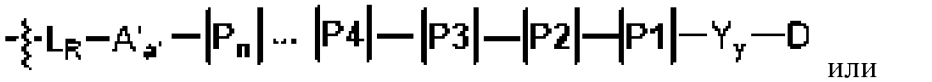
Вариант осуществления 3. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 1 или 2, отличающаяся тем, что нормальная ткань представляет собой костный мозг крысы.

Вариант осуществления 4. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 1 или 2, отличающаяся тем, что композиция формулы I обеспечивает указанную улучшенную селективность воздействия, что дополнительно демонстрируется повышенным соотношением протеолиза композиции формулы 1 гомогенизированной опухолевой ксенотрансплантатной тканью и протеолиза сравнительного конъюгата гомогенизированной нормальной тканью при инкубации в одинаковых условиях по сравнению с соотношением для сравнительного конъюгата.

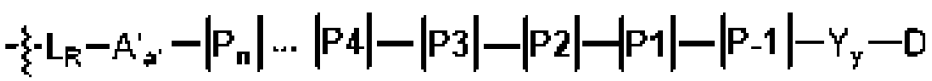
Вариант осуществления 5. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 4, отличающаяся тем, что нормальная ткань получена из костного мозга крысы или человека.

Вариант осуществления 6. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-5, отличающаяся тем, что опухолевая ксенотрансплантатная ткань получена от бестимусных мышей, которым имплантировали раковые клетки HPAF-II.

Вариант осуществления 7. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-6, отличающаяся тем, что каждый фрагмент лекарственный препарат-линкер имеет формулу:



или

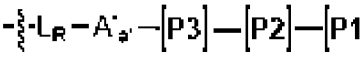


или его соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где

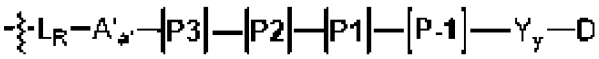
L_R представляет собой первичный линкер по формуле $-L_B-A_a-B_b-$ при условии, что A' представляет собой подзвено A так, что A' является компонентом L_R, когда каждый из нижних индексов a и a' равен 1, а нижний индекс b равен 0; и

каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности пептидного расщепляемого звена, и при этом нижний индекс n имеет целочисленное значение, обеспечивая до 12 этих остатков.

Вариант осуществления 8. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-6, отличающаяся тем, что каждый фрагмент лекарственный препарат-линкер имеет формулу:



или

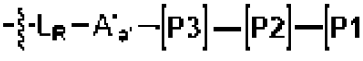


или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли,

при этом L_R представляет собой первичный линкер по формуле $-L_B-A_a-B_b-$ при условии, что A' представляет собой подзвено A так, что A' является компонентом L_R, когда каждый из нижних индексов a и a' равен 1, а нижний индекс b равен 0; и

при этом каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности пептидного расщепляемого звена.

Вариант осуществления 9. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-6, отличающаяся тем, что каждый фрагмент лекарственный препарат-линкер имеет формулу:



или его соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где

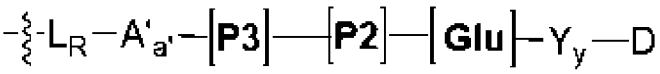
L_R представляет собой первичный линкер по формуле $-L_B-A_a-B_b-$ при условии, что A' представляет собой подзвено A так, что A' является компонентом L_R, когда каждый из нижних индексов a и a' равен 1, а нижний индекс b равен 0;

каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности пептидного расщепляемого звена, и при этом нижний индекс n имеет целочисленное значение, обеспечивая до 12 этих остатков; и

P1 представляет собой L-аминокислотный остаток, имеющий при физиологическом pH отрицательно заряженную боковую цепь или не положительно заряженную полярную боковую цепь.

Вариант осуществления 10. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-9, отличающаяся тем, что P1 представляет собой L-аминокислотный остаток, выбранный из группы, состоящей из глутаминовой кислоты, метионинсульфоксида, аспарагиновой кислоты, (S)-3-аминопропан-1,1,3-трикарбоновой кислоты и фосфотреонина.

Вариант осуществления 11. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-6, отличающаяся тем, что каждый фрагмент лекарственный препарат-линкер имеет формулу:



или его соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где

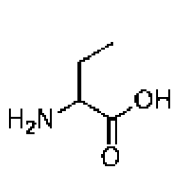
при этом L_R представляет собой первичный линкер по формуле $-L_B-A_a-B_b-$ при условии, что A' представляет собой подзвено A так, что A' является компонентом L_R,

когда каждый из нижних индексов a и a' равен 1, а нижний индекс b равен 0; и

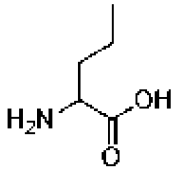
каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности пептидного расщепляемого звена.

Вариант осуществления 12. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-11, отличающаяся тем, что P2 представляет собой остаток глицина или L-аминокислоту, боковая цепь которой имеет не более трех смежных атомов углерода.

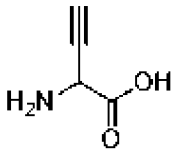
Вариант осуществления 13. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-11, отличающаяся тем, что аминокислота P2 представляет собой L-аланин, L-валин или глицин или не встречающуюся в природе аминокислоту, причем не встречающаяся в природе аминокислота представляет собой Abu, Aib, Ala, Gly, Leu, Nva или Pra, где Abu, Aib, Nva и Pra имеют структуры:



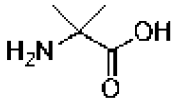
Abu



Nva



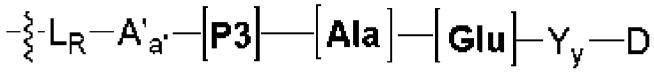
Pra



Aib

и при этом боковые цепи Abu, Nva и Pra имеют одинаковую стереохимическую конфигурацию L-аминокислоты.

Вариант осуществления 14. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-6, отличающаяся тем, что каждый фрагмент лекарственный препарат-линкер имеет формулу:



или его соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где

L_R представляет собой первичный линкер по формуле $-L_B-A_a-B_b-$ при условии, что A' представляет собой подзвено A так, что A' является компонентом L_R, когда каждый из нижних индексов a и a' равен 1, а нижний индекс b равен 0; и

P3 представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности пептидного расщепляемого звена.

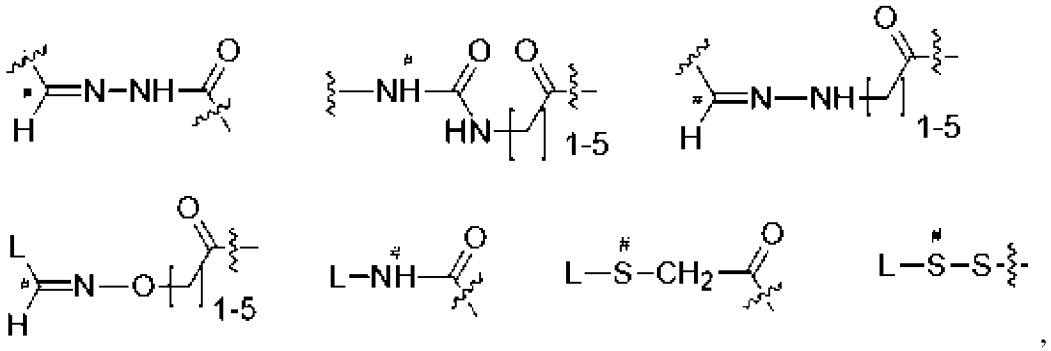
Вариант осуществления 15. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-14, отличающаяся тем, что P3 представляет собой D-аминокислоту, боковая цепь которой является незаряженной при физиологическом pH.

Вариант осуществления 16. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-14, отличающаяся тем, что P3

представляет собой D-Leu, L-Leu, L-Cit или L-Pro, предпочтительно D-Leu.

Вариант осуществления 17. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по вариантам осуществления 1-9, отличающаяся тем, что придающий селективность трипептид, -[P3]-[P2]-[P1]-, представляет собой -D-Leu-Ala-Glu- или его соль, в частности фармацевтически приемлемую соль.

Вариант осуществления 18. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-17, отличающаяся тем, что -L_R- во фрагментах лекарственный препарат-линкер каждого соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеет или состоит из одной из структур:

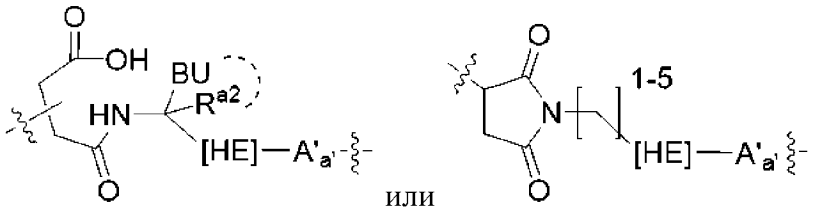


,

где указанный (#) атом азота, углерода или серы относится к лигандному звену; и при этом смежная с ним волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остатку лигандного звена, а другая волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остатку одного из фрагментов лекарственный препарат-линкер.

Вариант осуществления 19. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-17, отличающаяся тем, что нижний индекс q равен 1, а L_R представляет собой -L_B-A-,

где -L_B-A- во фрагментах лекарственный препарат-линкер каждого соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеет структуру:



или их соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где

волнистая линия, смежная с $A'_{a'}$, указывает место ковалентного присоединения к пептидному расщепляемому звену одного из фрагментов лекарственный препарат-линкер; а другая волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы лигандного звена;

[HE] представляет собой усиливающее гидролиз звено;

BU представляет собой основное звено;

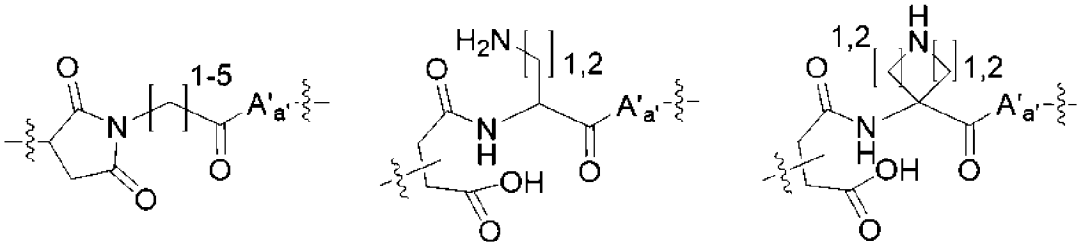
R^{a2} представляет собой необязательно замещенную C_1-C_{12} алкильную группу; и

пунктирная кривая линия указывает на необязательную циклизацию так, что в

отсутствие указанной циклизации BU представляет собой ациклическое основное звено, имеющее функциональную группу первичного, вторичного или третичного амина в качестве основной функциональной группы ациклического основного звена, или в присутствии указанной циклизации BU представляет собой циклизированное основное звено, в котором R^{a2} и BU вместе с атомом углерода, к которому они оба присоединены, определяют необязательно замещенный спиро C_3-C_{20} гетероцикл, содержащий скелетный основной атом азота функциональной группы вторичного или третичного амина в качестве основной функциональной группы циклического основного звена,

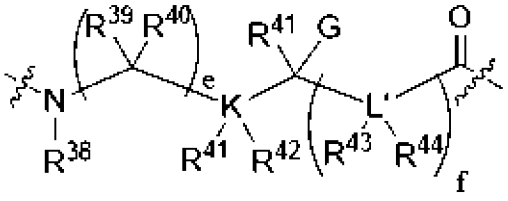
при этом основной атом азота ациклического основного звена или циклического основного звена необязательно предпочтительно защищен азот-защитной группой в зависимости от степени замещения основного атома азота или необязательно протонирован.

Вариант осуществления 20. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 19, отличающаяся тем, что -L_B-A- во фрагментах лекарственный препарат-линкер каждого соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеет структуру:

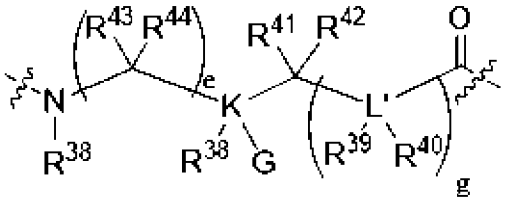


или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли.

Вариант осуществления 21. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-20, отличающаяся тем, что нижний индекс q равен 1, а A’ присутствует как подзвено A, при этом A’ состоит из амин-содержащего кислотного остатка, имеющего структуру по формуле (3) или формулы (4):



(3) ,



(4)

или их соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где

волнистая линия, смежная с атомом азота, указывает место ковалентного присоединения к [HE], где [HE] представляет собой -C(=O)-, а волнистая линия, смежная с карбонильным атомом углерода, указывает место ковалентного присоединения к остатку

A' или к N-концевому аминокислотному остатку пептидного расщепляемого звена, причем оба присоединения обеспечены амидными функциональными группами;

K и L' независимо представляют собой C, N, O или S при условии, что когда K или L' представляет собой O или S, R^{41} и R^{42} к K, R^{38} и G к K, R^{43} и R^{44} к L' и R^{39} и R^{40} к L' отсутствуют, и когда K или L' представляют собой N, один из R^{41} или R^{42} к K и один из R^{38} или G к K, один из R^{43} или R^{44} к L' для каждого звена -L'(R^{43})(R^{44}), и один из R^{39} или R^{40} к L' для каждого звена -L'(R^{39})(R^{40}) отсутствуют, и при условии, что два смежных L' не выбраны независимо из N, O или S;

где нижние индексы e и f представляют собой независимо выбранные целые числа в диапазоне от 0 до 12, а нижний индекс g представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 12:

G представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, -OH или -CO_2H;

R^{38} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил;

R^{39}-R^{44} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, необязательно замещенного C_1-C_6 алкила и необязательно замещенного C_5-C_{10} (гетеро)арила,

или R^{39} и R^{40} вместе с атомом углерода, к которому они оба присоединены, или R^{41} и R^{42} вместе с K, к которому они оба присоединены, когда K представляет собой атом углерода, определяют C_3-C_6 карбоцикл, а остальные R^{39}-R^{44} соответствуют определению в данном документе,

или R^{43} и R^{44} вместе с L', к которому они оба присоединены, когда L' представляет собой атом углерода, определяют C_3-C_6 карбоцикл, а R^{39}-R^{42} соответствуют определению в данном документе,

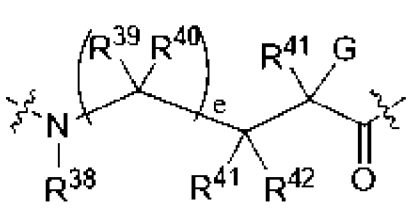
или R^{40} и R^{41}, или R^{40} и R^{43}, или R^{41} и R^{43} вместе с атомом углерода или гетероатомом, к которому они оба присоединены, и необязательными атомами, находящимися в промежутке между этими атомами углерода и/или гетероатомами, определяют C_5-C_6 карбоцикл или C_5-C_6 гетероцикл, а R^{39}, R^{44} и остальные R^{40}-R^{43} соответствуют определению в данном документе,

при условии, что когда K представляет собой O или S, R^{41} и R^{42} отсутствуют, и когда K представляет собой N, один из R^{41}, R^{42} отсутствует, и когда L' представляет собой O или S, R^{43} и R^{44} отсутствуют, и когда L' представляет собой N, один из R^{43}, R^{44} отсутствует, или

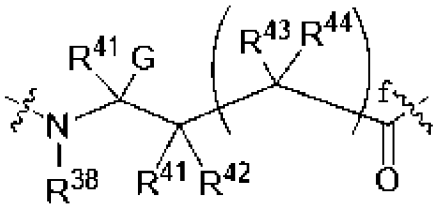
A' состоит из альфа-амино, бета-амино или другого аминосодержащего кислотного остатка, причем его аминоатом азота ковалентно присоединен к карбонильному атому углерода HE, а его карбонильный атом углерода карбоновой кислоты ковалентно присоединен к остатку A' или к N-концевой аминокислоте пептидного расщепляемого звена, при этом оба ковалентных присоединения обеспечены амидными функциональными группами.

Вариант осуществления 22. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат варианту осуществления 21, где A' представляет собой остаток амино-

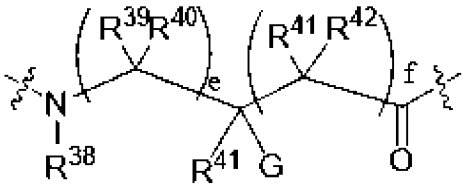
содержащей кислоты, имеющий структуру по формуле **3a**, формулы **4a** или формулы **5a**:



(**3a**),



(**4a**)



(**5a**)

или их соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где

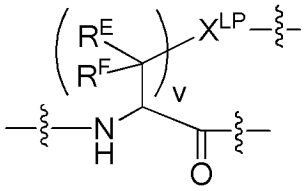
нижние индексы e и f независимо равны 0 или 1; и

каждый R^{38}-R^{44} представляет собой водород;

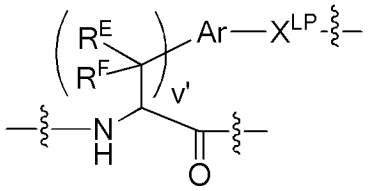
или A' представляет собой α-амино- или β-аминокислотный остаток.

Вариант осуществления 23. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-20, отличающаяся тем, что нижний индекс q равен 1, а A' состоит из β-аминокислотного остатка или -L^P(PEG)-,

где PEG представляет собой PEG-звено, а L^P представляет собой параллельное соединительное звено, имеющее структуру по формуле L^P-1 или L^P-2:



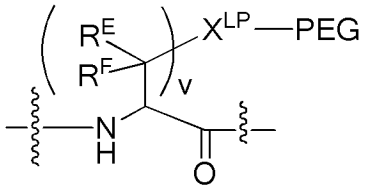
(формула L^P-1)



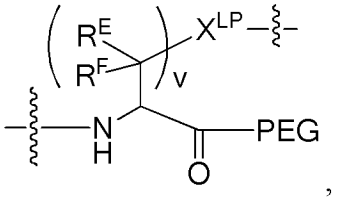
(формула L^P-2)

или

где -L^P(PEG)- или его PEG-содержащее подзвено имеет структуру по формуле L^P-3 или формулы L^P-4:



(формула L^P-3)



(формула L^P-4),

где нижний индекс v представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 4;

нижний индекс v' представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 4;

X^{LP} обеспечен боковой цепью встречающейся или не встречающейся в природе

аминокислоты или выбран из группы, состоящей из -O-, -NR^{LP}-, -S-, -S(=O)-, -$S(=O)_2$-, -C(=O)-, -C(=O)$N(R^{LP})$-, -$N(R^{LP})C(=O)N(R^{LP})$- и -$N(R^{LP})C(=NR^{LP})N(R^{LP})$- или C_3-C_8 гетероцикла;

где каждый R^{LP} независимо выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C_1-C_6 алкила, или два R^{LP} вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, а также промежуточными атомами, определяют C_5-C_6 гетероцикл, а любые оставшиеся R^{LP} соответствуют определению выше;

Ar представляет собой C_6-C_{10} арилен или C_5-C_{10} гетероарилен, каждый из которых необязательно замещен;

каждый R^E и R^F независимо выбран из группы, состоящей из -H, необязательно замещенного C_1-C_6 алкила, необязательно замещенного C_2-C_6 алкилена, необязательно замещенного C_6-C_{10} арилена или необязательно замещенного C_5-C_{10} гетероарилена,

или R^E и R^F вместе с атомом углерода, к которому они оба присоединены, определяют необязательно замещенный спиро C_3-C_6 карбоцикл, или R^E и R^F смежных атомов углерода вместе с этими атомами и любыми промежуточными атомами углерода определяют необязательно замещенный C_5-C_6 карбоцикл, при этом остальные R^E и R^F соответствуют определению выше;

где одна из волнистых линий указывает точку ковалентного присоединения PEG-звена, а две другие волнистые линии указывают на ковалентное присоединение формулы L^P-1 или формулы L^P-2 в структуре, представляющей композицию конъюгата лиганд-лекарственный препарат, или

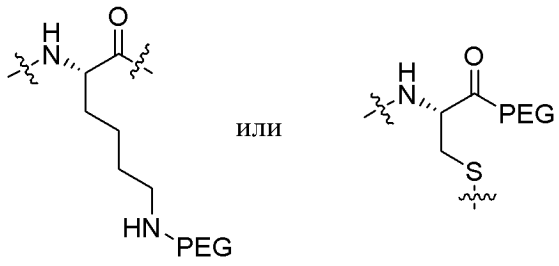
L^P представляет собой параллельное соединительное звено, имеющее структуру трифункционального аминосодержащего кислотного остатка; и

PEG представляет собой PEG-звено.

Вариант осуществления 24. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-20, отличающаяся тем, что A' состоит из β-аминокислотного остатка или -L^P(PEG)-, где PEG представляет собой PEG-звено и L^P представляет собой параллельное соединительное звено,

где β-аминокислотный остаток имеет структуру -$NHCH_2CH_2C(=O)$-; и

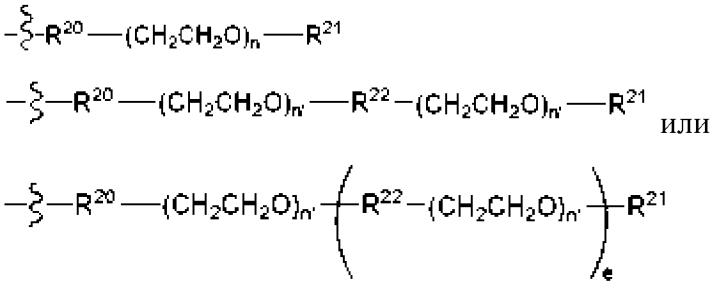
где -L^P(PEG)- имеет структуру:



где волнистые линии указывают места ковалентного присоединения во фрагменте лекарственный препарат-линкер.

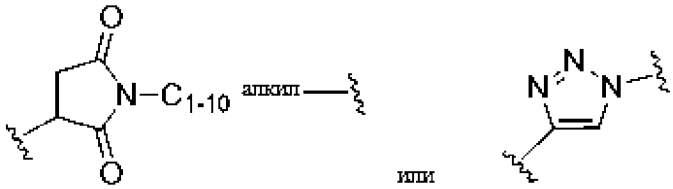
Вариант осуществления 25. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный

препарат по варианту осуществления 23 или 24, где PEG-звено имеет структуру:



где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к L^P;

R^{20} представляет собой звено присоединения PEG, причем звено присоединения PEG представляет собой -C(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, -NH-, -C(O)O-, -C(O)C_1-C_{10} алкил, -C(O)C_1-C_{10} алкил-O-, -C(O)C_1-C_{10} алкил-CO_2-, -C(O)C_1-C_{10}алкил-NH-, -C(O)C_1-C_{10} алкил-S-, -C(O)C_1-$C_{1\,0}$алкил-C(O)-NH-, -C(O)C_1-C_{10}алкил-NH-C(O)-, -C_1-C_{10} алкил, -C_1-C_{10}алкил-O-, -C_1-C_{10}алкил-CO_2-, -C_1-C_{10}алкил-NH-, -C_1-C_{10} алкил-S-, -C_1-C_{10} алкил-C(O)-NH-, -C_1-C_{10} алкил-NH-C(O)-, -$CH_2CH_2SO_2$-C_1-C_{10} алкил-, -CH_2C(O)-$C_{1\text{-}10}$ алкил-, =N-(O или N)-C_1-C_{10} алкил-O-, =N-(O или N)-C_1-C_{10} алкил-NH-, =N-(O или N)-C_1-C_{10} алкил-CO_2-, =N-(O или N)-C_1-C_{10} алкил-S-,



R^{21} представляет собой звено кэппирования PEG, причем звено кэппирования PEG представляет собой -C_1-C_{10} алкил, -C_2-C_{10} алкил-CO_2H, -C_2-C_{10} алкил-OH, -C_2-C_{10} алкил-NH_2, C_2-C_{10} алкил-NH(C_1-C_3 алкил) или C_2-C_{10} алкил-N(C_1-C_3 алкил)$_2$;

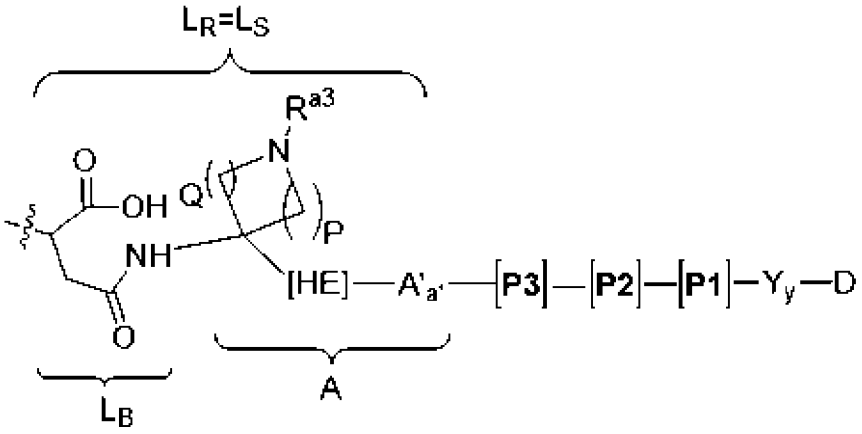
R^{22} представляет собой звено сопряжения PEG для сопряжения нескольких цепей подзвеньев PEG вместе, причем звено сопряжения PEG представляет собой -$C_{1\text{-}10}$ алкил-C(O)-NH-, -$C_{1\text{-}10}$ алкил-NH-C(O)-, -$C_{2\text{-}10}$ алкил-NH-, -C_2-C_{10} алкил-O- , -C_1-C_{10} алкил-S- или -C_2-C_{10} алкил-NH-;

нижний индекс n независимо выбран из чисел от 8 до 72, от 10 до 72 или от 12 до 72;

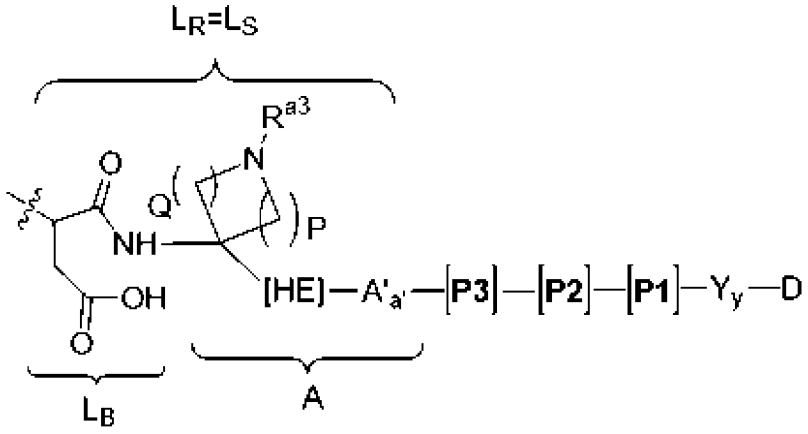
нижний индекс e выбран из чисел от 2 до 5; и

каждый n' независимо выбран из по меньшей мере 6 до не более чем 72, предпочтительно из по меньшей мере 8 или по меньшей мере 10 до не более чем 36.

Вариант осуществления 26. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-6, отличающаяся тем, что большинство соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные структурами формулы 1C и формулы 1D:



(формула 1C)



(формула 1D)

или их соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где

HE представляет собой усиливающее гидролиз звено;

A’ при наличии представляет собой подзвено указанного первого звена растяжения (A);

нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A’, соответственно;

нижний индекс P равен 1 или 2; а нижний индекс Q находится в диапазоне от 1 до 6, предпочтительно нижний индекс Q равен 1 или 2, более предпочтительно нижний индекс Q имеет то же значение, что и нижний индекс P;

R^{a3} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный -C_1-C_4 алкилен-(C_6-C_{10} арил) или -R^{PEG1}-O-$(CH_2CH_2O)_{1-36}$-R^{PEG2}, где R^{PEG1} представляет собой C_1-C_4 алкилен и R^{PEG2} представляет собой -H или C_1-C_4 алкилен, где основной атом азота, связанный с R^{a3}, необязательно протонирован в солевой форме, предпочтительно фармацевтически приемлемой солевой форме, или

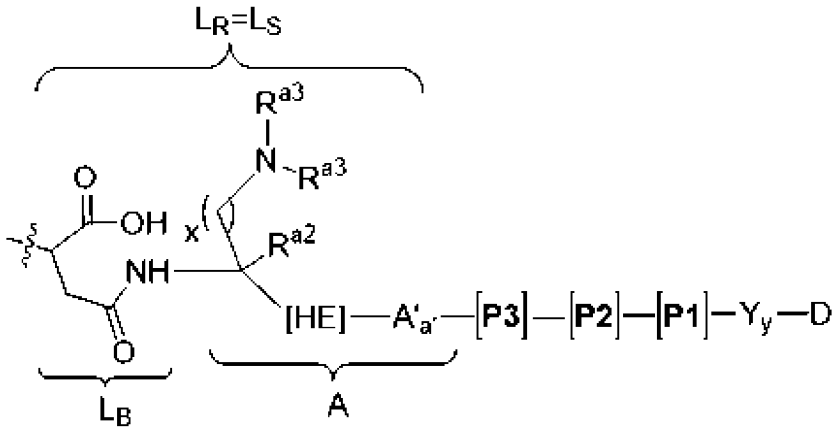
R^{a3} представляет собой азот-защитную группу, такую как подходящая кислото-лабильная защитная группа;

каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности пептидного расщепляемого звена; и

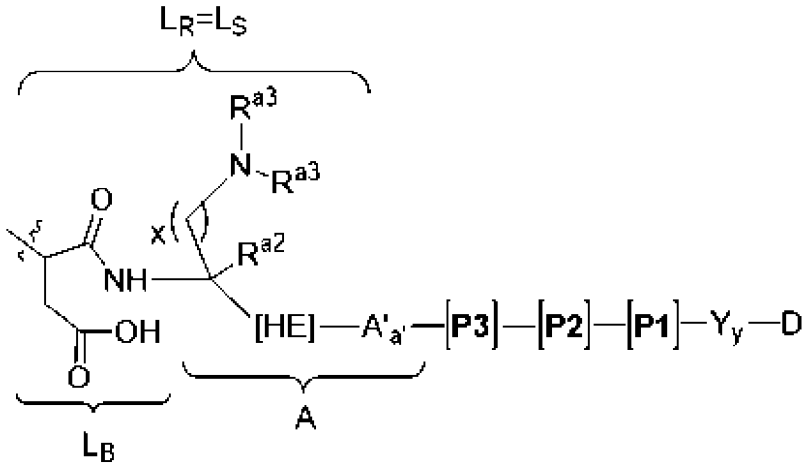
волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы лигандного звена.

Вариант осуществления 27. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный

препарат по варианту осуществления 1, отличающаяся тем, что большинство соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные структурами формулы 1F и формулы 1G:



(формула 1F)



(формула 1G)

или их соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, где

HE представляет собой усиливающее гидролиз звено;

A’ при наличии представляет собой подзвено указанного первого звена растяжения (A);

нижний индекс a’ равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A’, соответственно;

нижний индекс x равен 1 или 2;

R^{a2} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, $-CH_3$ или $-CH_2CH_3$;

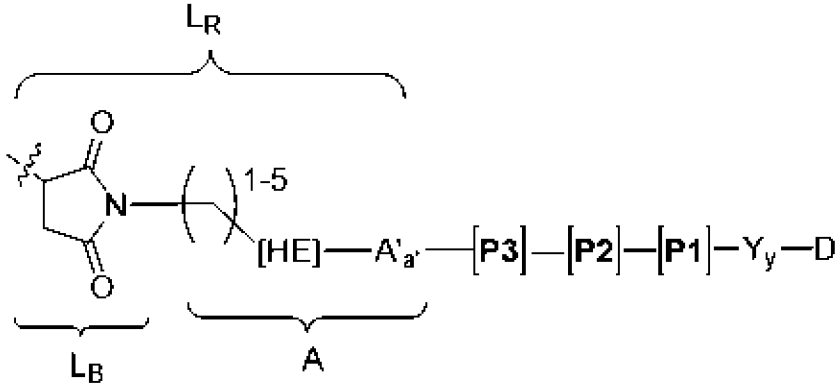
R^{a3} в каждом случае независимо представляет собой азот-защитную группу, -H или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, предпочтительно -H, кислото-лабильную защитную группу, $-CH_3$ или $-CH_2CH_3$,

или оба R^{a3} вместе с атомом азота, к которому они присоединены, определяют азот-защитную группу или азетидинил, пирролидинил или пиперидинил гетероциклил, где определенный таким образом основной первичный, вторичный или третичный амин необязательно протонирован в солевой форме, предпочтительно фармацевтически

приемлемой солевой форме; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы лигандного звена.

Вариант осуществления 28. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 1, отличающаяся тем, что соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер по формуле 1H:



(формула 1H)

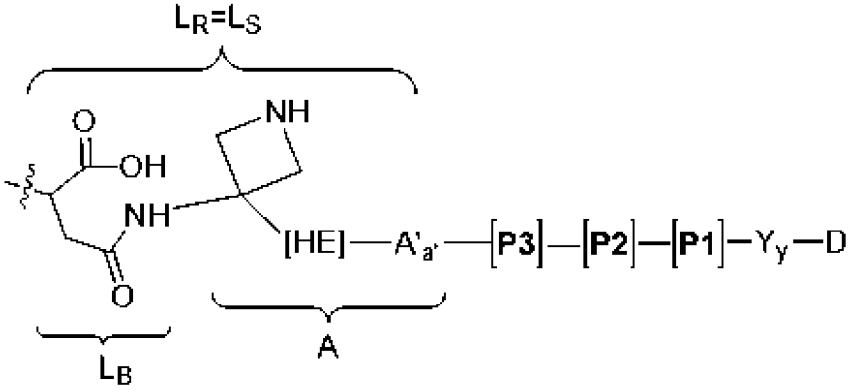
или ее солей, в частности фармацевтически приемлемых солей, и которая необязательно имеет незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и при этом:

HE представляет собой усиливающее гидролиз звено;

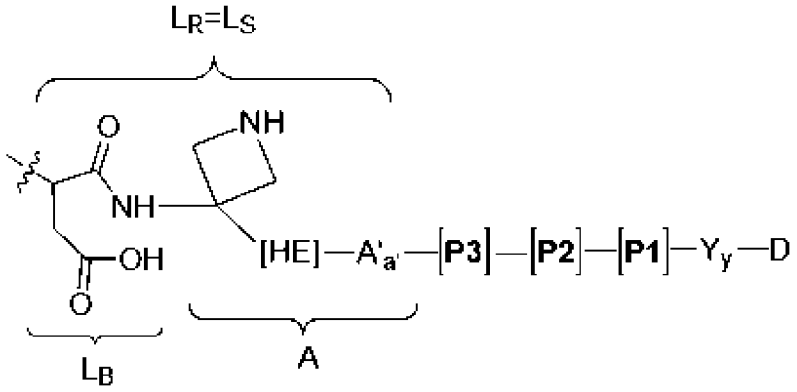
A’ представляет собой, при наличии, подзвено указанного первого звена растяжения (A); нижний индекс a’ равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A’; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы лигандного звена.

Вариант осуществления 29. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 26, отличающаяся тем, что большинство соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные структурами:

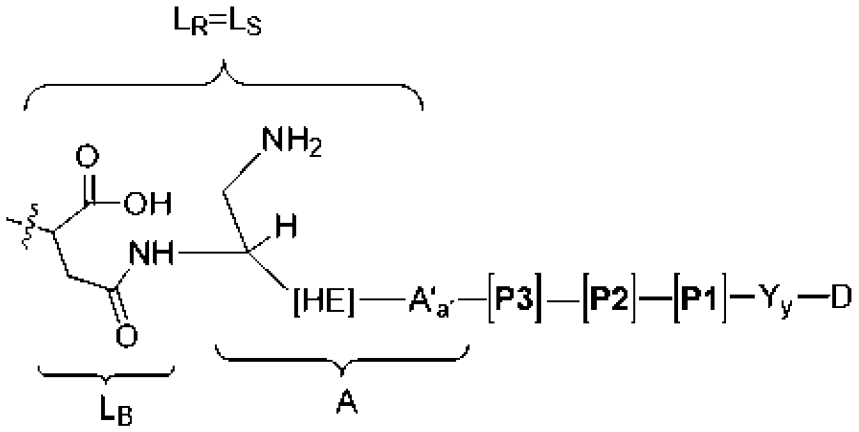


и

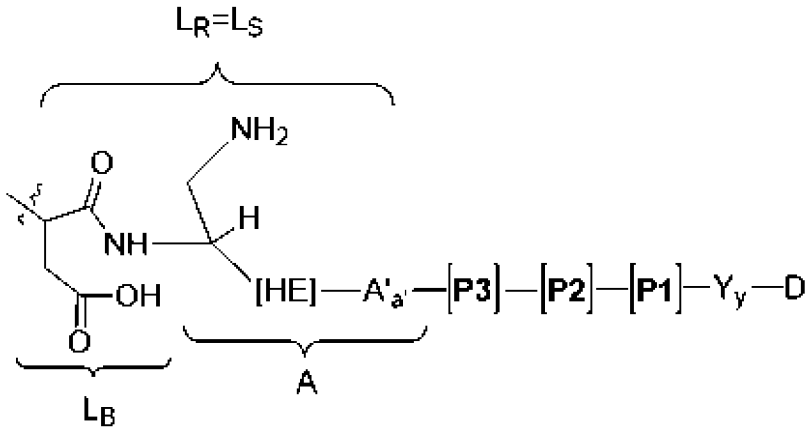


или их солей, в частности фармацевтически приемлемых солей.

Вариант осуществления 30. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 28, отличающаяся тем, что большинство соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные структурами:



и



или их солей, в частности фармацевтически приемлемых солей.

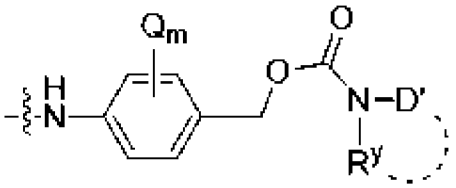
Вариант осуществления 31. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 26-30, где HE представляет собой -C(=O).

Вариант осуществления 32. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 26-30, где HE представляет собой -

C(=O), нижний индекс a' равен 1, а A' имеет структуру по формуле **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** по варианту осуществления 17, или A' представляет собой α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток.

Вариант осуществления 33. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 26-32, где -[P3]-[P2]-[P1]- представляет собой D-Leu-Leu-Met(O), D-Leu-Ala-Glu, L-Leu-Ala-Glu или D-Leu-Ala-Cit, причем Met(O) представляет собой метионин, в котором атом серы окислен до сульфоксида, а Cit представляет собой цитруллин.

Вариант осуществления 34. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-33, где -Y_y-D имеет структуру:



где -N(R^y)D' представляет собой D, где D' представляет собой остаток D;

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1 или P-1;

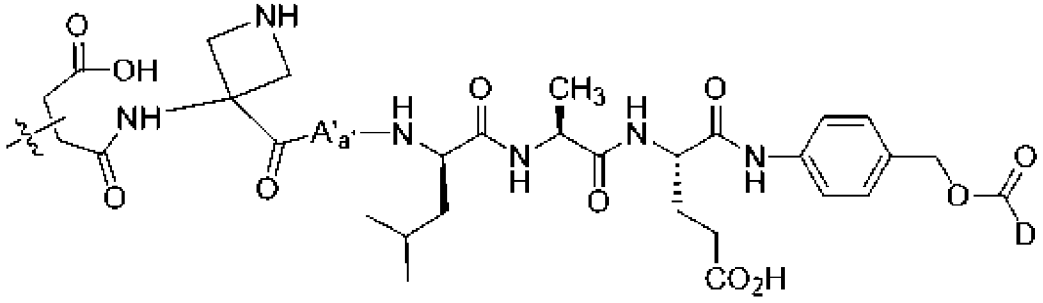
пунктирная линия указывает на необязательную циклизацию R^y с D;

R^y представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен при циклизации с D';

каждый Q независимо представляет собой -C_1-C_8 алкил, -O-(C_1-C_8 алкил) или другую электронодонорную группу, -галоген, -нитро или -циано или другую электроноакцепторную группу, в частности каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из -C_1-C_8 алкила, -O-(C_1-C_8 алкил), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m равен 0, 1 или 2, в частности нижний индекс m равен 0 или 1, а Q при наличии представляет собой электронодонорную группу, предпочтительно нижний индекс m равен 0.

Вариант осуществления 35. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 1, отличающаяся тем, что преобладающий фрагмент лекарственный препарат-линкер в большинстве соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции представлен структурой:



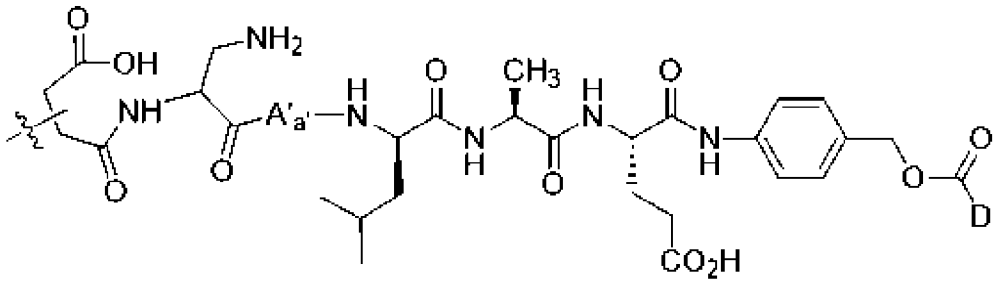
или ее солей, в частности фармацевтически приемлемых солей, где

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы из лигандного звена;

нижний индекс a' равен 1, что указывает на наличие A', где A' представляет собой остаток амино-содержащей кислоты формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** по варианту осуществления 22, или α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток, в частности -NH-CH_2CH_2-C(=O)-; и

D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, имеющий вторичную аминогруппу в качестве места присоединения к фрагменту лекарственный препарат-линкер.

Вариант осуществления 36. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 1, отличающаяся тем, что преобладающий фрагмент лекарственный препарат-линкер в большинстве соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции представлен структурой:



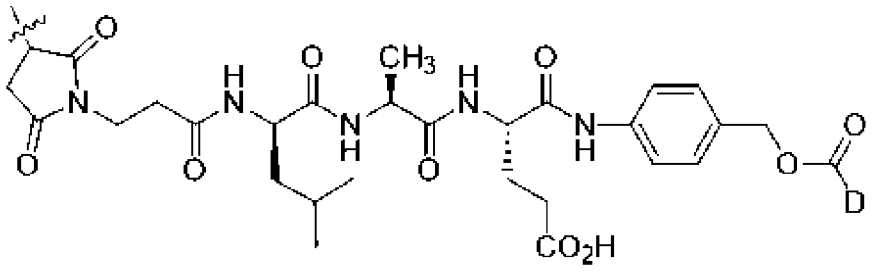
или ее солей, в частности фармацевтически приемлемых солей, где

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы из лигандного звена;

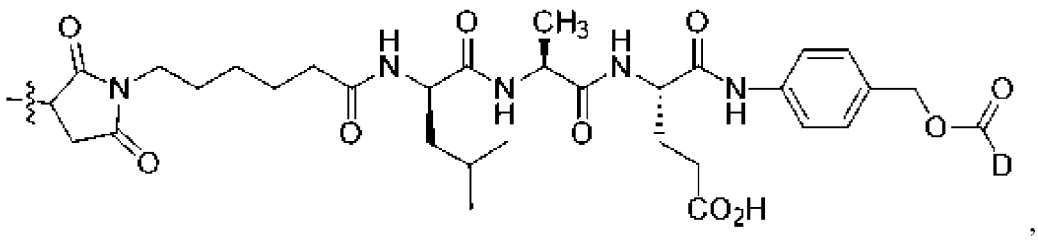
нижний индекс a' равен 1, что указывает на наличие A, соответственно, где A' представляет собой остаток амино-содержащей кислоты формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** по варианту осуществления 22, или α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток, в частности -NH-CH_2CH_2-C(=O)-; и

D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, имеющий вторичную аминогруппу в качестве места присоединения к фрагменту лекарственный препарат-линкер.

Вариант осуществления 37. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 1, отличающаяся тем, что преобладающий фрагмент лекарственный препарат-линкер в большинстве соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции представлен структурой:



или



,

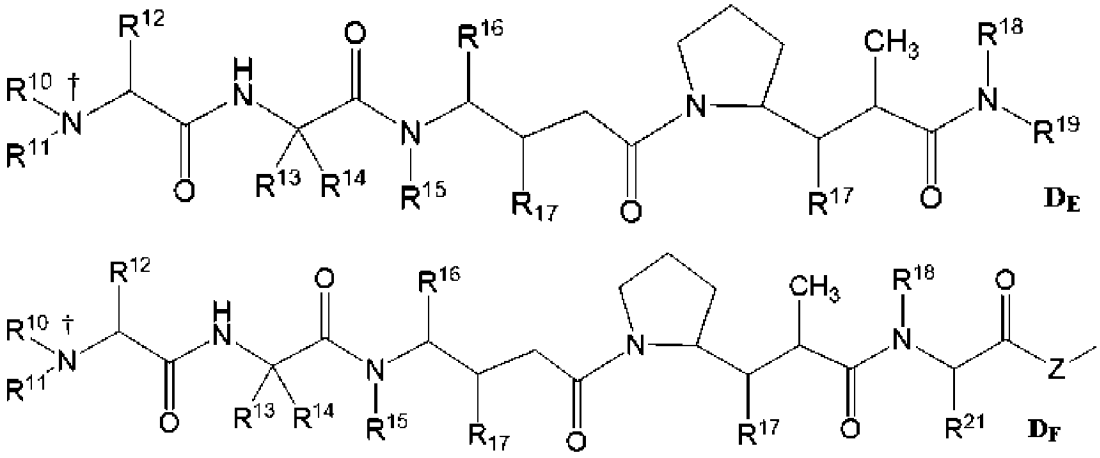
или ее солей, в частности фармацевтически приемлемых солей, где

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы из лигандного звена; и

D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, имеющий вторичную аминогруппу в качестве места присоединения к фрагменту лекарственный препарат-линкер.

Вариант осуществления 38. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-37, где нижний индекс y' равен 2, а Y_y представляет собой -Y-Y'-, где Y представляет собой первое самоуничтожающееся спейсерное звено, а Y' представляет собой второе самоуничтожающееся спейсерное звено, имеющее структуру -OC(=O)-, и цитотоксический лекарственный препарат представляет собой содержащее вторичный амин соединение ауристатина, где атом азота вторичного амина является местом ковалентного присоединения к карбонильному атому углерода Y' посредством карбаматной функциональной группы, общей для D и Y'.

Вариант осуществления 39. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 38, отличающаяся тем, что содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_E}$ или $\mathbf{D_F}$:



где символ кинжала указывает место ковалентного присоединения атома азота, который обеспечивает карбаматную функциональную группу,

один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой C_1-C_8 алкил, предпочтительно один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

R^{12} представляет собой водород, C_1-C_8 алкил, C_3-C_8 карбоциклил, C_6-C_{24} арил, -X^1-C_6-C_{24} арил, -X^1-(C_3-C_8 карбоциклил), C_3-C_8 гетероциклил или -X^1-(C_3-C_8 гетероциклил);

R^{13} представляет собой водород, C_1-C_8 алкил, C_3-C_8 карбоциклил, C_6-C_{24} арил, -X^1-

C_6-C_{24} арил, -X^1-(C_3-C_8 карбоциклил), C_3-C_8 гетероциклил или -X^1-(C_3-C_8 гетероциклил);

R^{14} представляет собой водород или метил, или

R^{13} и R^{14} вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют спиро C_3-C_8 карбоцикл;

R^{15} представляет собой водород или C_1-C_8 алкил;

R^{16} представляет собой водород, C_1-C_8 алкил, C_3-C_8 карбоциклил, C_6-C_{24} арил, -C_6-C_{24}-X^1-арил, -X^1-(C_3-C_8 карбоциклил), C_3-C_8 гетероциклил или -X^1-(C_3-C_8 гетероциклил);

каждый R^{17} независимо представляет собой водород, -OH, C_1-C_8 алкил, C_3-C_8 карбоциклил или O-(C_1-C_8 алкил);

R^{18} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_8 алкил;

R^{19} представляет собой —$C(R^{19A})_2$—$C(R^{19A})_2$— C_6-C_{24} арил, —$C(R^{19A})_2$—$C(R^{19A})_2$—(C_3-C_8 гетероциклил) или —$C(R^{19A})_2$—$C(R^{19A})_2$—(C_3-C_8 карбоциклил), где C_6-C_{24} арил и C_3-C_8 гетероциклил необязательно замещены;

R^{19A} независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_8 алкил, -OH или необязательно замещенный -O-C_1-C_8 алкил;

R^{20} представляет собой водород или C_1-C_{20} алкил, C_6-C_{24} арил или C_3-C_8 гетероциклил, необязательно замещенный, или -$(R^{47}O)_m$-R^{48} или -$(R^{47}O)_m$-$CH(R^{49})_2$;

R^{21} представляет собой -C_1-C_8 алкилен-(C_6-C_{24} арил) или -C_1-C_8 алкилен-(C_5-C_{24} гетероарил), необязательно замещенный, или C_1-C_8 гидроксилалкил, или необязательно замещенный C_3-C_8 гетероциклил;

Z представляет собой O, S, NH или NR^{46};

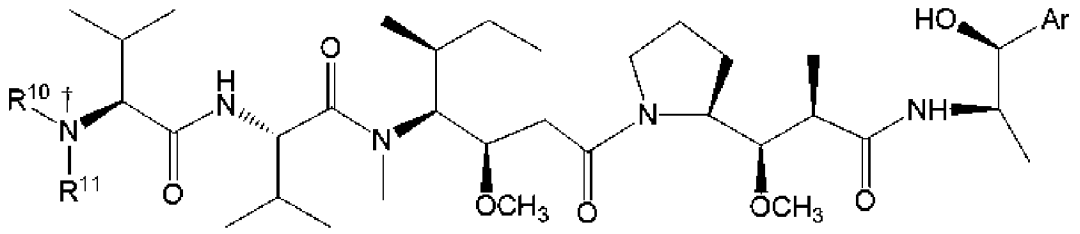
R^{46} представляет собой необязательно замещенный C_1-C_8 алкил; нижний индекс m представляет собой целое число в диапазоне 1-1000;

R^{47} представляет собой C_2-C_8 алкилен; R^{48} представляет собой водород или C_1-C_8 алкил;

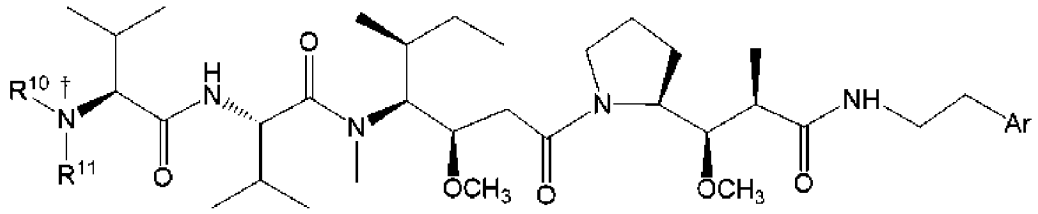
R^{49} независимо представляет собой -COOH, —$(CH_2)_n$-$N(R^{50})_2$, —$(CH_2)_n$-SO_3H или —$(CH_2)_n$-SO_3-C_1-C_8 алкил; и

каждый R^{50} независимо представляет собой C_1-C_8 алкил или —$(CH_2)_n$-COOH; нижний индекс n представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 6; и X^1 представляет собой C_1-C_{10} алкилен.

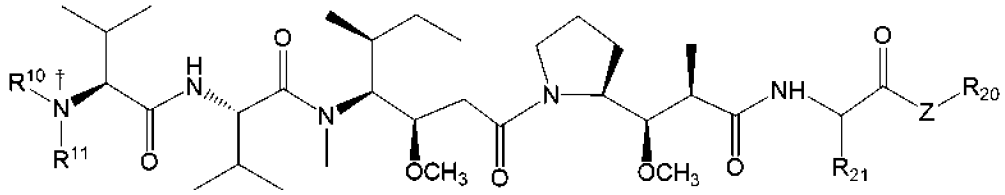
Вариант осуществления 40. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 39, отличающаяся тем, что содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_{E-1}}$, формулы $\mathbf{D_{E-2}}$ или формулы $\mathbf{D_{F-1}}$:



$\mathbf{D_{E-1}}$



D_{E-2},



D_{F-1}

где Ar представляет собой C_6-C_{10} арил или C_5-C_{10} гетероарил, предпочтительно Ar представляет собой фенил или 2-пиридил;

Z представляет собой -O- или -NH-; R^{20} представляет собой водород, C_1-C_6 алкил, C_6-C_{10} арил или C_5-C_{10} гетероарил, где C_1-C_6 алкил, C_6-C_{10} арил и C_5-C_{10} гетероарил необязательно замещены; и R^{21} представляет собой C_1-C_6 алкил, -C_1-C_6 алкилен-(C_6-C_{10} арил) или -C_1-C_6 алкилен-(C_5-C_{10} гетероарил), каждый из которых необязательно замещен.

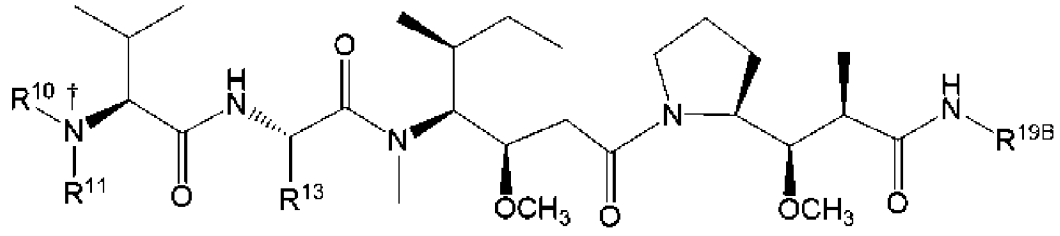
Вариант осуществления 41. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 40, отличающаяся тем, что содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле D_{F-1}

где R^{21} представляет собой X^1-S-R^{21a} или X^1-Ar, где X^1 представляет собой C_1-C_6 алкилен, R^{21a} представляет собой C_1-C_4 алкил и Ar представляет собой фенил или C_5-C_6 гетероарил; и

-Z- представляет собой -O- и R^{20} представляет собой C_1-C_4 алкил, или

-Z- представляет собой -NH- и R^{20} представляет собой фенил или C_5-C_6 гетероарил.

Вариант осуществления 42. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 40, отличающаяся тем, что содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле $D_{F/E-3}$:

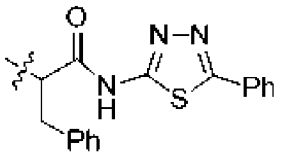


$D_{F/E-3}$

где один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

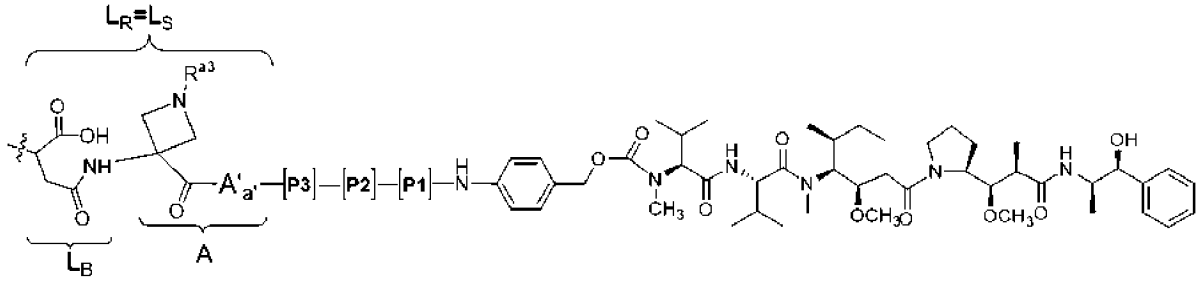
R^{13} представляет собой изопропил или -CH_2-$CH(CH_3)_2$; и

R^{19B} представляет собой -$CH(CH_3)$-CH(OH)-Ph, -$CH(CO_2H)$-CH(OH)-CH_3, -$CH(CO_2H)$-CH_2Ph, -$CH(CH_2Ph)$-2-тиазолил, -$CH(CH_2Ph)$-2-пиридил, -$CH(CH_2$-p-Cl-Ph), -$CH(CO_2Me)$-CH_2Ph, -$CH(CO_2Me)$-$CH_2CH_2SCH_3$, -$CH(CH_2CH_2SCH_3)$C(=O)NH-хинол-3-ил, -$CH(CH_2Ph)$C(=O)NH-p-Cl-Ph, или

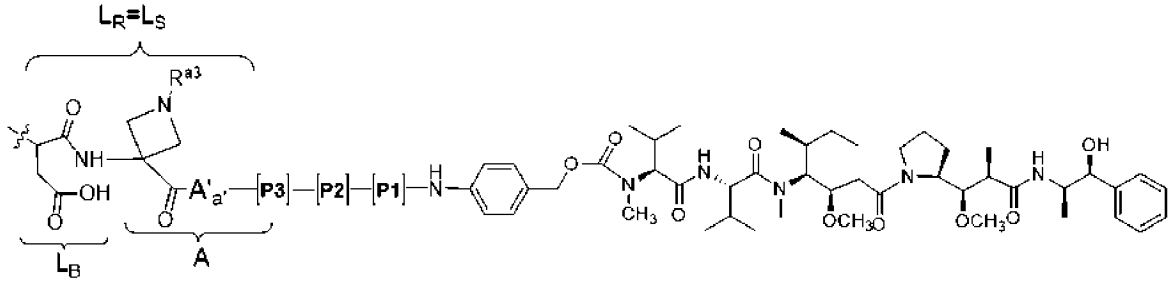
R^{19B} имеет структуру  , где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к оставшейся части соединения ауристатина.

Вариант осуществления 43. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 40, отличающаяся тем, что содержащее вторичный амин соединение ауристатина представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

Вариант осуществления 44. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 1, отличающаяся тем, что нижний индекс q равен 1, а большинство соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные структурами формулы 1C-MMAE и формулы 1D-MMAE:



(формула 1C-MMAE)



(формула 1D-MMAE)

или ее солей, в частности фармацевтически приемлемых солей, где

A’ при наличии представляет собой подзвено указанного первого звена растяжения (A), имеющего структуру по формуле **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** по варианту осуществления 22, или α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток, в частности -NH-CH_2CH_2-C(=O)-; и

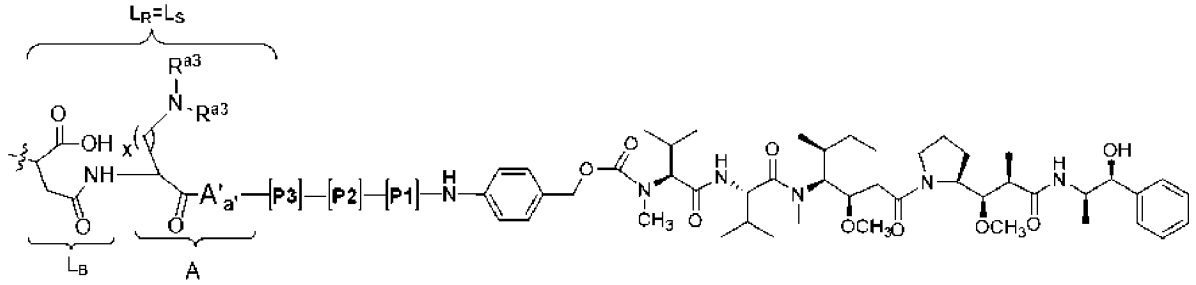
R^{a3} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный -C_1-C_4 алкилен-(C_6-C_{10} арил) или -R^{PEG1}-O-$(CH_2CH_2O)_{1-36}$-R^{PEG2}, где R^{PEG1} представляет собой C_1-C_4 алкилен, R^{PEG2} представляет собой -H или C_1-C_4 алкилен, и где основной атом азота, связанный с R^{a3}, необязательно протонирован в солевой форме, предпочтительно фармацевтически приемлемой солевой форме, или

R^{a3} представляет собой азот-защитную группу, такую как подходящая кислото-

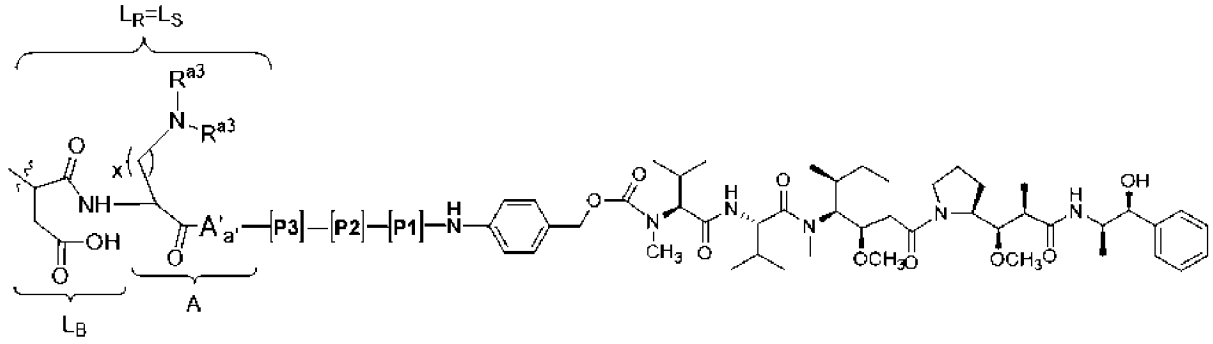
лабильная защитная группа; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы лигандного звена.

Вариант осуществления 45. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 1, отличающаяся тем, что нижний индекс q равен 1, а большинство соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер, представленные структурами формулы 1F-MMAE и формулы 1G-MMAE:



(формула 1F-MMAE)



(формула 1G-MMAE)

или ее соли, в частности фармацевтически приемлемых солей, где

A’ при наличии представляет собой подзвено указанного первого звена растяжения (A), имеющего структуру по формуле **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** по варианту осуществления 22, или α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток, в частности -NH-CH_2CH_2-C(=O)-; и

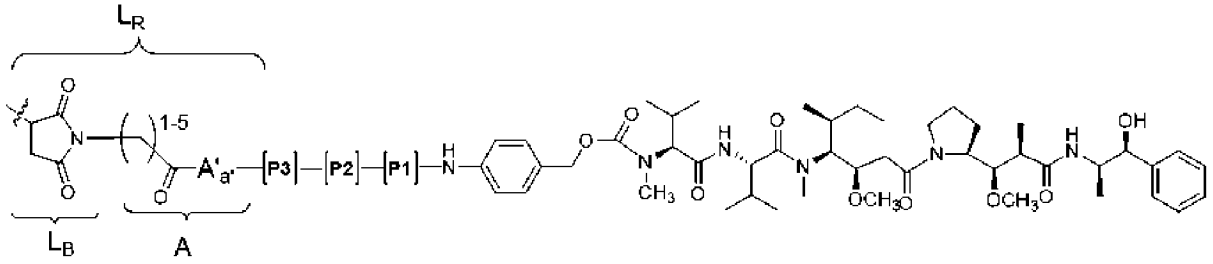
нижний индекс x равен 1 или 2;

R^{a3} в каждом случае независимо представляет собой азот-защитную группу, -H или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, предпочтительно -H, кислото-лабильную защитную группу, -CH_3 или -CH_2CH_3,

или оба R^{a3} вместе с атомом азота, к которому они присоединены, определяют азот-защитную группу или азетидинил, пирролидинил или пиперидинил гетероциклил, где определенный таким образом основной первичный, вторичный или третичный амин необязательно протонирован в солевой форме, предпочтительно фармацевтически приемлемой солевой форме; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы лигандного звена.

Вариант осуществления 46. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 1, отличающаяся тем, что нижний индекс q равен 1, а соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер по формуле 1H-MMAE:



(формула 1H-MMAE)

или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, и которая необязательно имеет незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и при этом:

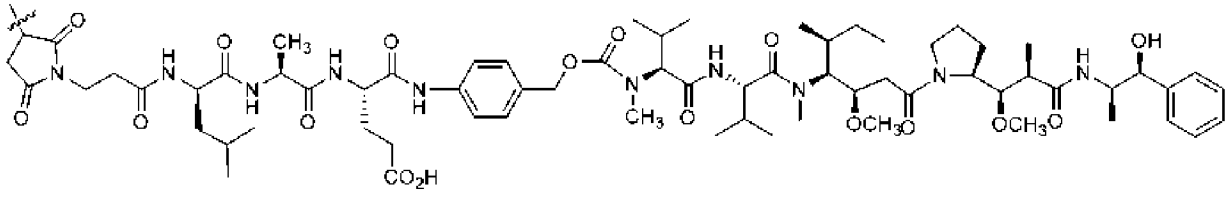
A’ при наличии представляет собой подзвено указанного первого звена растяжения (A), имеющего структуру по формуле **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** по варианту осуществления 22, или α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток, в частности -NH-CH_2CH_2-C(=O)-; и

нижний индекс a’ равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A’; и

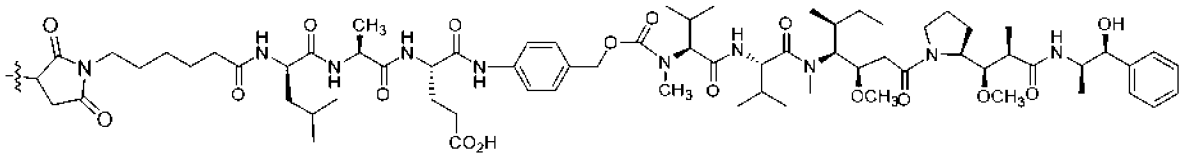
волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы лигандного звена.

Вариант осуществления 47. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 44, 45 или 46, где P1 представляет собой L-Glu или L-Asp, P2 представляет собой L-Val или L-Ala и P3 представляет собой L-Leu или D-Leu.

Вариант осуществления 48. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 1, отличающаяся тем, что нижний индекс q равен 1 и при этом преобладающий фрагмент лекарственный препарат-линкер в большинстве соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции представлен структурой:



или



или ее соли, в частности фармацевтически приемлемой соли, и которая необязательно имеет незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме.

Вариант осуществления 49. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-48, где L представляет собой лигандное звено антитела интактного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

Вариант осуществления 50. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 49, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент способны селективно связываться с антигеном раковой клетки.

Вариант осуществления 51. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления 49, отличающаяся тем, что интактное антитело представляет собой химерное, гуманизированное или человеческое антитело, при этом антитело способно селективно связываться с антигеном раковой клетки или же антитело представляет собой несвязывающее контрольное антитело, определяющее, таким образом, композицию несвязывающего контрольного конъюгата.

Вариант осуществления 52. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления 1-51, где нижний индекс p находится в диапазоне от около 2 до около 12, или от около 2 до около 10, или от около 2 до около 8, в частности нижний индекс p равен около 2, около 4 или около 8.

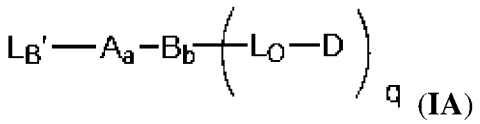
Вариант осуществления 53. Фармацевтически приемлемый состав, причем состав содержит эффективное количество композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат или эквивалентное количество несвязывающего контрольного конъюгата по любому из вариантов осуществления 1-36 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

Вариант осуществления 54. Фармацевтически приемлемый состав по варианту осуществления 53, отличающийся тем, что по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой жидкий носитель, который обеспечивает жидкий состав, причем жидкий состав пригоден для лиофилизации или введения нуждающемуся в этом субъекту.

Вариант осуществления 55. Фармацевтически приемлемый состав по варианту осуществления 53, отличающийся тем, что состав представляет собой твердое вещество после лиофилизации или жидкий состав по варианту осуществления 54, при этом по меньшей мере один эксципиент твердого состава представляет собой лиопротектор.

Вариант осуществления 56. Соединение лекарственный препарат-линкер по

формуле **IA**:



(IA)

или его соль, где

D представляет собой лекарственное звено;

L_B' представляет собой фрагмент-предшественник, ковалентно связывающий лиганд;

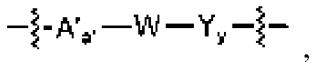
A представляет собой первое необязательное звено растяжения;

нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательное звено разветвления;

нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, при этом вторичный линкер имеет формулу:



где волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену, а волнистая линия, смежная с A' указывает место ковалентного присоединения к остатку соединения лекарственный препарат-линкер;

A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, которое в отсутствие B становится подзвеном A;

нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено содержит непрерывную последовательность из до 12 аминокислот, причем последовательность состоит из придающего селективность трипептида, чей N-конец обеспечивает амидную связь, которая является селективно расщепляемой гомогенатом опухолевой ткани с высвобождением свободного лекарственного препарата по сравнению с гомогенатом нормальной ткани, и/или обеспечивает улучшенную биодоступность для опухолевой ткани соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат формулы 1 по варианту осуществления 1, в котором соединение лекарственный препарат-линкер становится фрагментом лекарственный препарат-линкер соединения конъюгата для снижения биодоступности для нормальной ткани по сравнению со сравнительным конъюгатом лиганд-лекарственный препарат, в котором пептидная последовательность его пептидного расщепляемого звена представляет собой дипептид -валин-цитруллин-;

при этом опухолевая и нормальная ткани принадлежат одному виду и при этом нежелательное явление, связанное с высвобождением свободного лекарственного

препарата из сравнительного конъюгата лиганд-лекарственный препарат при введении в эффективном количестве нуждающемуся в этом субъекту, обусловлено его токсичностью для клеток нормальной ткани.

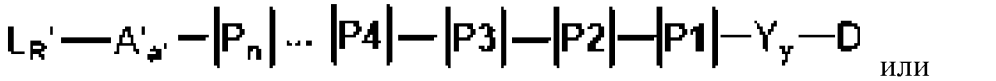
Y представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено;

нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

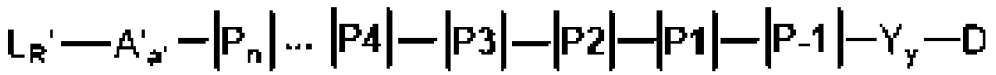
нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q равен 2, 3 или 4, когда нижний индекс b равен 1.

Вариант осуществления 57. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 56, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет формулу:



или



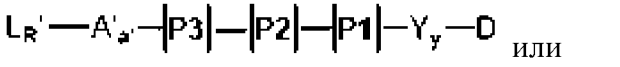
или его соль, где

L_R' представляет собой первичный линкер по формуле L_B'-A_a-B_b- при условии, что A' представляет собой подзвено A так, что A' является компонентом L_R', когда каждый из нижних индексов a и a' равен 1, а нижний индекс b равен 0; и

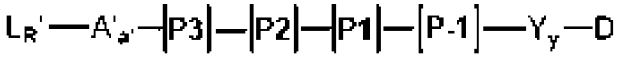
каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности пептидного расщепляемого звена, и при этом нижний индекс n имеет целочисленное значение, обеспечивая до 12 этих остатков,

при этом -[P3]-[P2]-[P1]- последовательности представляет собой придающий селективность трипептид.

Вариант осуществления 58. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 57, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет формулу:



или



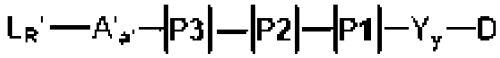
или его соль,

где L_R' представляет собой первичный линкер по формуле L_B'-A_a-B_b- при условии, что A' представляет собой подзвено A так, что A' является компонентом L_R', когда каждый из нижних индексов a и a' равен 1, а нижний индекс b равен 0; и

при этом каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности пептидного расщепляемого звена, при этом -[P3]-[P2]-[P1]- последовательности представляет собой придающий селективность трипептид.

Вариант осуществления 59. Соединение лекарственный препарат-линкер по

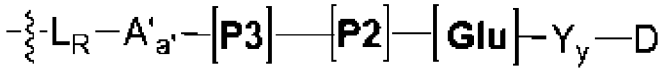
варианту осуществления 58, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет формулу:



или его соль, где P1 представляет собой L-аминокислотный остаток, имеющий при физиологическом pH отрицательно заряженную боковую цепь или не положительно заряженную полярную боковую цепь.

Вариант осуществления 60. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления 56-59, отличающееся тем, что P1 представляет собой L-аминокислотный остаток, выбранный из группы, состоящей из глутаминовой кислоты, метионинсульфоксида, аспарагиновой кислоты, (S)-3-аминопропан-1,1,3-трикарбоновой кислоты и фосфотреонина.

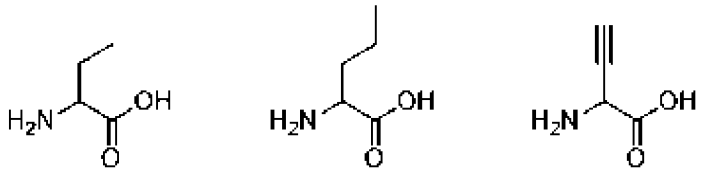
Вариант осуществления 61. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 56, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет формулу:



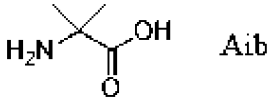
или его соль, в частности фармацевтически приемлемая соль, при этом каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности пептидного расщепляемого звена.

Вариант осуществления 62. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления 56-61, отличающееся тем, что P2 представляет собой остаток глицина или L-аминокислоту, боковая цепь которой имеет не более трех смежных атомов углерода.

Вариант осуществления 63. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 62, отличающееся тем, что аминокислота P2 представляет собой L-аланин, L-валин или глицин или не встречающуюся в природе аминокислоту, причем не встречающаяся в природе аминокислота представляет собой Abu, Aib, Ala, Gly, Leu, Nva или Pra, которые имеют структуры:



Abu Nva Pra

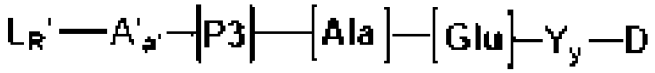


Aib

при этом боковые цепи Abu, Nva и Pra имеют одинаковую стереохимическую конфигурацию L-аминокислоты.

Вариант осуществления 64. Соединение лекарственный препарат-линкер по

варианту осуществления 63, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет формулу:



или его соль, при этом P3 представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности пептидного расщепляемого звена.

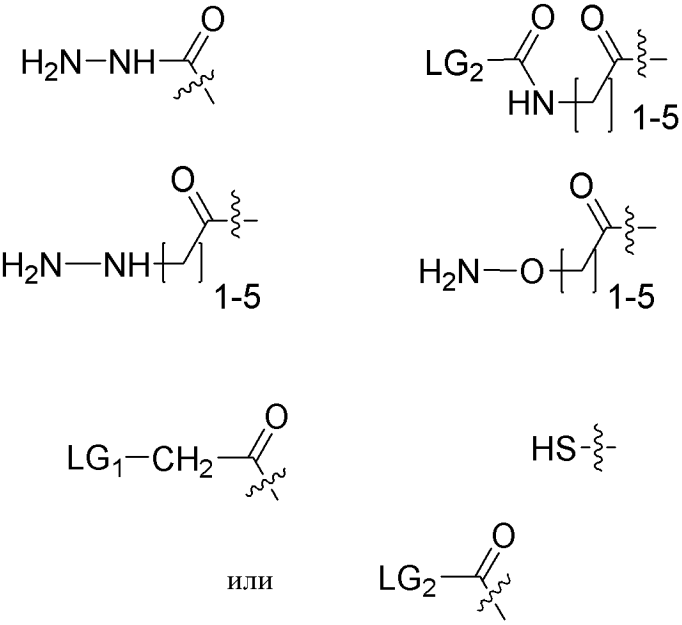
Вариант осуществления 65. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления 56-64, отличающееся тем, что P3 представляет собой D-аминокислоту, боковая цепь которой является незаряженной при физиологическом pH.

Вариант осуществления 66. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления 56-64, отличающееся тем, что P3 представляет собой D-Leu, L-Leu, L-Cit или L-Pro, предпочтительно D-Leu.

Вариант осуществления 67. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 66, отличающееся тем, что -[P3]-[P2]-[P1]- представляет собой -D-Leu-Ala-Glu- или его соль, в частности фармацевтически приемлемую соль.

Вариант осуществления 68. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления 56-67, где L_B' представляет собой малеимидный фрагмент, способный вступать в реакцию с тиольной функциональной группой нацеливающего фрагмента с образованием тио-замещенного сукцинимидного фрагмента.

Вариант осуществления 69. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления 56-67, где L_B'-A- имеет или состоит из одной из структур:



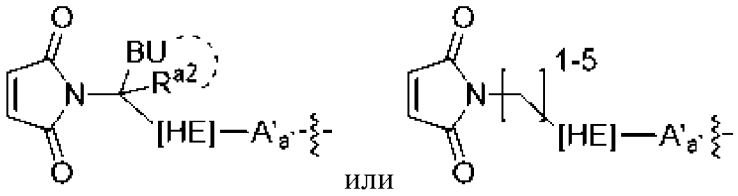
или его соль, где

LG_1 представляет собой уходящую группу, подходящую для нуклеофильного вытеснения нуклеофилом нацеливающего агента;

LG_2 представляет собой уходящую группу, подходящую для образования амидной связи с нацеливающим агентом, или -OH для обеспечения активируемой карбоновой кислоты, подходящей для образования амидной связи с нацеливающим агентом; и

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к остатку структуры соединения лекарственный препарат-линкер.

Вариант осуществления 70. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 69, где нижний индекс q равен 1, а L_B'-A- имеет структуру:



или его соль, где

волнистая линия, смежная с $A'_{a'}$, указывает место ковалентного присоединения к пептидному расщепляемому звену;

[HE] представляет собой необязательное звено усиления гидролиза, которое является компонентом, обеспечиваемым A или его первым подзвеном;

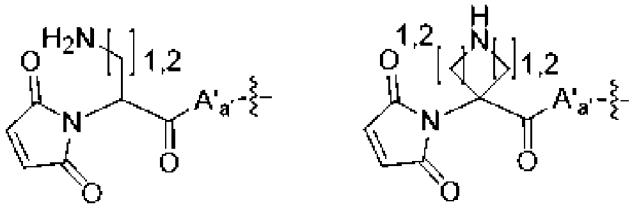
BU представляет собой основное звено;

R^{a2} представляет собой необязательно замещенную C_1-C_{12} алкильную группу; и

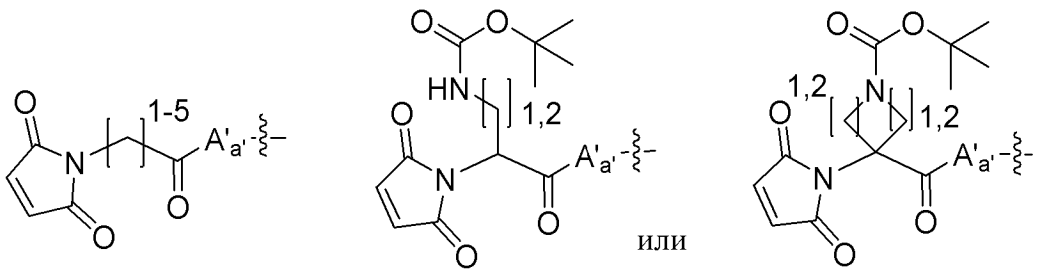
пунктирная кривая линия указывает на необязательную циклизацию так, что в отсутствие указанной циклизации BU представляет собой ациклическое основное звено, имеющее функциональную группу первичного, вторичного или третичного амина в качестве основной функциональной группы ациклического основного звена, или в присутствии указанной циклизации BU представляет собой циклизированное основное звено, в котором R^{a2} и BU вместе с атомом углерода, к которому они оба присоединены, определяют необязательно замещенный спиро C_3-C_{20} гетероцикл, содержащий скелетный основной атом азота функциональной группы вторичного или третичного амина в качестве основной функциональной группы циклического основного звена,

при этом основной атом азота ациклического основного звена или циклического основного звена необязательно предпочтительно защищен азот-защитной группой в зависимости от степени замещения основного атома азота или необязательно протонирован как кислотно-аддитивная соль.

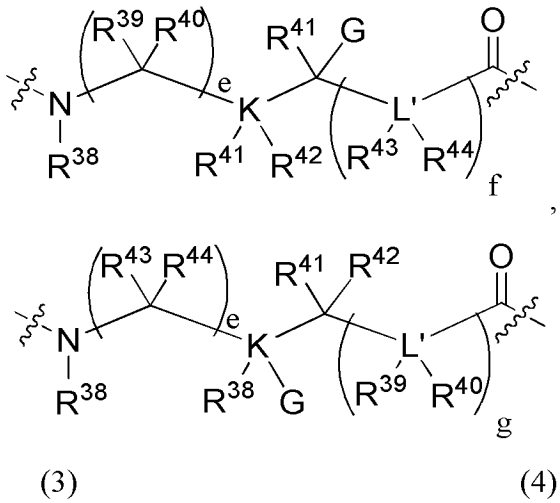
Вариант осуществления 71. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 70, где L_B'-A- имеет структуру:



или его соль, в частности кислотно-аддитивная соль, или где L_B'-A- имеет структуру:



Вариант осуществления 72. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления 56-71, отличающееся тем, что нижний индекс q равен 1, а A’ присутствует как подзвено A, при этом A’ состоит из амин-содержащего кислотного остатка, имеющего структуру по формуле (3) или формулы (4):



(3) (4)

или его соль, где

волнистая линия, смежная с атомом азота, указывает место ковалентного присоединения к [HE], где [HE] представляет собой -C(=O)-, а волнистая линия, смежная с карбонильным атомом углерода, указывает место ковалентного присоединения к остатку A’ или к N-концевому аминокислотному остатку пептидного расщепляемого звена, причем оба присоединения обеспечены амидными функциональными группами;

K и L’ независимо представляют собой C, N, O или S, при условии, что когда K или L’ представляет собой O или S, R^{41} и R^{42} к K или R^{43} и R^{44} к L’ отсутствуют, и когда K или L’ представляют собой N, один из R^{41}, R^{42} к K или один из R^{42}, R^{43} у L’ отсутствуют, и при условии, что два смежных L’ не выбраны независимо как N, O или S;

где нижние индексы e и f представляют собой независимо выбранные целые числа в диапазоне от 0 до 12, а нижний индекс g представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 12:

G представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, -OH или -CO_2H;

R^{38} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил;

R^{39}-R^{44} независимо выбраны из группы, состоящей из водорода, необязательно

замещенного C_1-C_6 алкила и необязательно замещенного C_5-C_{10} (гетеро)арила, или

R^{39}, R^{40} вместе с атомом углерода, к которому они оба присоединены, или R^{41}, R^{42} вместе с K, к которому они оба присоединены, когда K представляет собой атом углерода, определяют C_3-C_6 карбоцикл, а R^{41}-R^{44} соответствуют определению в данном документе,

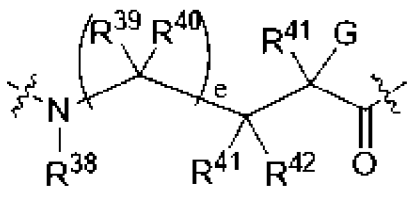
или R^{43}, R^{44} вместе с L', к которому они оба присоединены, когда L' представляет собой атом углерода, определяют C_3-C_6 карбоцикл, а R^{39}-R^{42} соответствуют определению в данном документе,

или R^{40} и R^{41}, или R^{40} и R^{43}, или R^{41} и R^{43} вместе с атомом углерода или гетероатомом, к которому они оба присоединены, и атомами, находящимися в промежутке между этими атомами углерода и/или гетероатомами, определяют C_5-C_6 карбоцикл или C_5-C_6 гетероцикл, а R^{39}, R^{44} и остальные R^{40}-R^{43} соответствуют определению в данном документе,

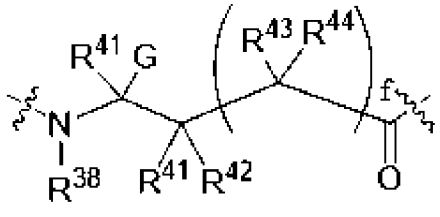
при условии, что когда K представляет собой O или S, R^{41} и R^{42} отсутствуют, и когда K представляет собой N, один из R^{41}, R^{42} отсутствует, и когда L' представляет собой O или S, R^{43} и R^{44} отсутствуют, и когда L' представляет собой N, один из R^{43}, R^{44} отсутствует, или

A' состоит из альфа-амино, бета-амино или другого аминосодержащего кислотного остатка, причем его аминоатом азота ковалентно присоединен к карбонильному атому углерода HE, а его карбонильный атом углерода карбоновой кислоты ковалентно присоединен к остатку A' или к N-концевой аминокислоте пептидного расщепляемого звена, при этом оба ковалентных присоединения обеспечены амидными функциональными группами.

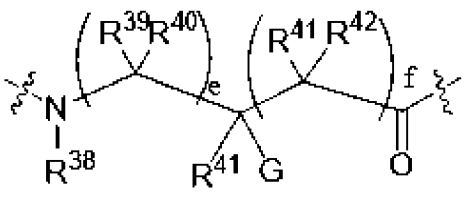
Вариант осуществления 73. Соединение лекарственный препарат-линкер варианту осуществления 72, где A' представляет собой остаток амино-содержащей кислоты, имеющий структуру по формуле **3a**, формулы **4a** или формулы **5a**:



(**3a**),



(**4a**)



(**5a**)

или его соль, где

нижние индексы e и f независимо равны 0 или 1; и

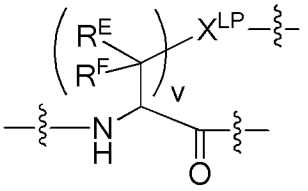
каждый R^{38}-R^{44} представляет собой водород;

или A' представляет собой α-амино- или β-аминокислотный остаток.

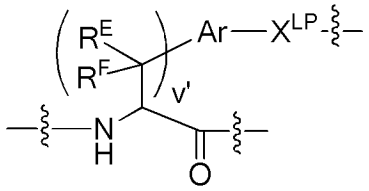
Вариант осуществления 74. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления 56-71, где нижний индекс q равен 1, а A' состоит из

β-аминокислотного остатка или -L^P(PEG)-,

где L^P представляет собой параллельное соединительное звено, имеющее структуру по формуле L^P-1 или L^P-2:



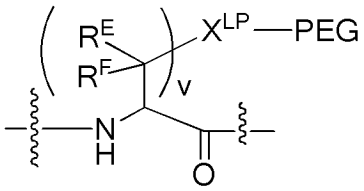
(формула L^P-1)



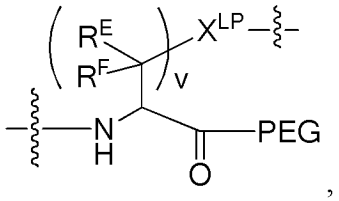
(формула L^P-2)

или

где -L^P(PEG)- или его PEG-содержащее подзвено имеет структуру по формуле L^P-3 или формулы L^P-4:



(формула L^P-3)



(формула L^P-4)

где нижний индекс v представляет собой целое число в диапазоне от 1 до 4;

нижний индекс v' представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 4;

X^{LP} обеспечен боковой цепью встречающейся или не встречающейся в природе аминокислоты или выбран из группы, состоящей из -O-, -NR^{LP}-, -S-, -S(=O)-, -$S(=O)_2$-, -C(=O)-, -C(=O)N(R^{LP})-, -N(R^{LP})C(=O)N(R^{LP})- и -N(R^{LP})C(=NR^{LP})N(R^{LP})- или C_3-C_8 гетероцикла;

где каждый R^{LP} независимо выбран из группы, состоящей из водорода и необязательно замещенного C_1-C_6 алкила, или два R^{LP} вместе с атомами углерода, к которым они присоединены, а также промежуточными атомами, определяют C_5-C_6 гетероцикл, а любые оставшиеся R^{LP} соответствуют определению выше;

Ar представляет собой C_6-C_{10} арилен или C_5-C_{10} гетероарилен, необязательно замещенный;

каждый R^E и R^F независимо выбран из группы, состоящей из -H, необязательно замещенного C_1-C_6 алкила, необязательно замещенного C_2-C_6 алкилена, необязательно замещенного C_6-C_{10} арилена или необязательно замещенного C_5-C_{10} гетероарилена,

или R^E и R^F вместе с атомом углерода, к которому они оба присоединены, определяют необязательно замещенный спиро C_3-C_6 карбоцикл, или R^E и R^F смежных атомов углерода вместе с этими атомами и любыми промежуточными атомами углерода определяют необязательно замещенный C_5-C_6 карбоцикл, при этом остальные R^E и R^F

соответствуют определению выше;

где одна из волнистых линий указывает точку ковалентного присоединения PEG-звена, а две другие волнистые линии указывают на ковалентное присоединение формулы L^P-1 или формулы L^P-2 в структуре, представляющей соединение лекарственный препарат-линкер, или

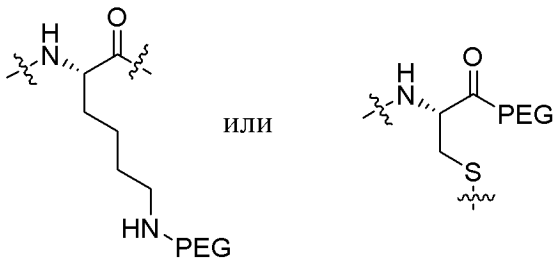
L^P представляет собой параллельное соединительное звено, имеющее структуру трифункционального аминосодержащего кислотного остатка; и

PEG представляет собой PEG-звено.

Вариант осуществления 75. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 74, где A' состоит из β-аминокислотного остатка или -L^P(PEG)-,

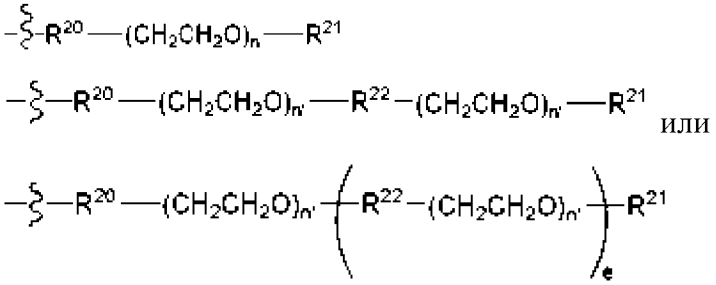
где β-аминокислотный остаток имеет структуру -$NHCH_2CH_2C(=O)$-; и

где -L^P(PEG)- имеет структуру:



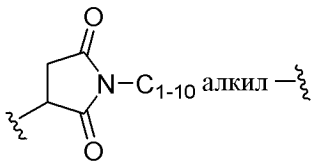
где волнистые линии указывают места ковалентного присоединения во фрагменте лекарственный препарат-линкер.

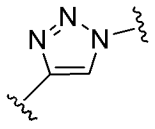
Вариант осуществления 76. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 74 или 75, где PEG-звено имеет структуру:



где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к L^P;

R^{20} представляет собой звено присоединения PEG, причем звено присоединения PEG представляет собой -C(O)-, -O-, -S-, -S(O)-, -NH-, -C(O)O-, -C(O)C_1-C_{10} алкил, -C(O)C_1-C_{10} алкил-O-, -C(O)C_1-C_{10} алкил-CO_2-, -C(O)C_1-C_{10}алкил-NH-, -C(O)C_1-C_{10} алкил-S-, -C(O)C_1-$C_{1\,0}$алкил-C(O)-NH-, -C(O)C_1-C_{10}алкил-NH-C(O)-, -C_1-C_{10} алкил, -C_1-C_{10}алкил-O-, -C_1-C_{10}алкил-CO_2-, -C_1-C_{10}алкил-NH-, -C_1-C_{10} алкил-S-, -C_1-C_{10} алкил-C(O)-NH-, -C_1-C_{10} алкил-NH-C(O)-, -$CH_2CH_2SO_2$-C_1-C_{10} алкил-, -CH_2C(O)-$C_{1\text{-}10}$ алкил-, =N-(O или N)-C_1-C_{10} алкил-O-, =N-(O или N)-C_1-C_{10} алкил-NH-, =N-(O или N)-C_1-C_{10} алкил-CO_2-, =N-(O или N)-C_1-C_{10} алкил-S-,



или 

;

R^{21} представляет собой звено кэппирования PEG, причем звено кэппирования PEG представляет собой -C_1-C_{10} алкил, -C_2-C_{10} алкил-CO_2H, -C_2-C_{10} алкил-OH, -C_2-C_{10} алкил-NH_2, C_2-C_{10} алкил-NH(C_1-C_3 алкил) или C_2-C_{10} алкил-N(C_1-C_3 алкил)$_2$;

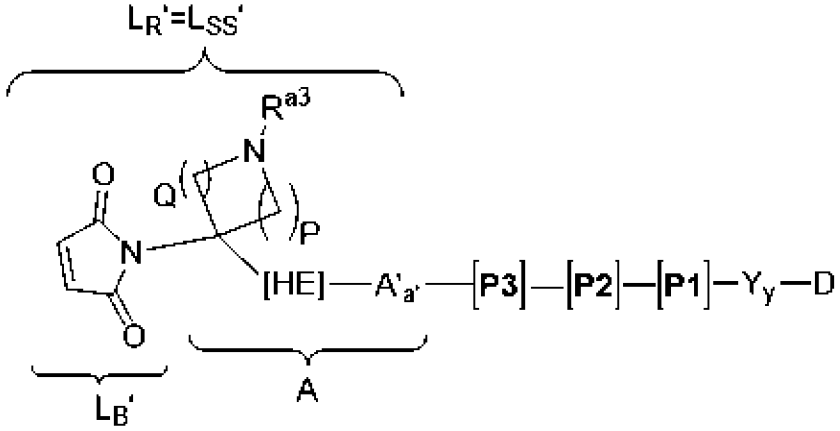
R^{22} представляет собой звено сопряжения PEG для сопряжения нескольких цепей подзвеньев PEG вместе, причем звено сопряжения PEG представляет собой -C_{1-10} алкил-C(O)-NH-, -C_{1-10} алкил-NH-C(O)-, -C_{2-10} алкил-NH-, -C_2-C_{10} алкил-O- , -C_1-C_{10} алкил-S- или -C_2-C_{10} алкил-NH-;

нижний индекс n независимо выбран из чисел от 8 до 72, от 10 до 72 или от 12 до 72;

нижний индекс e выбран из чисел от 2 до 5; и

каждый n' независимо выбран из по меньшей мере 6 до не более чем 72, предпочтительно из по меньшей мере 8 или по меньшей мере 10 до не более чем 36.

Вариант осуществления 77. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 56, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру по формуле IC:



(формула IC)

или его соль, где

HE представляет собой усиливающее гидролиз звено;

A' при наличии представляет собой подзвено указанного первого звена растяжения (A);

нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно;

нижний индекс P равен 1 или 2; а нижний индекс Q находится в диапазоне от 1 до 6, предпочтительно нижний индекс Q равен 1 или 2, более предпочтительно нижний индекс Q имеет то же значение, что и нижний индекс P;

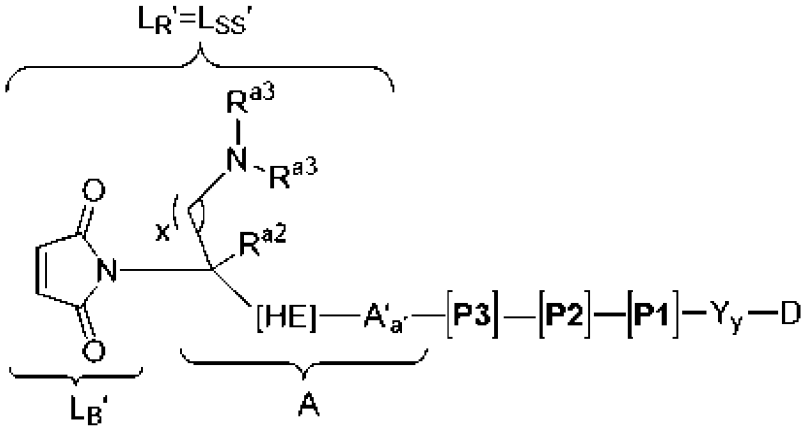
R^{a3} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный -C_1-C_4 алкилен-(C_6-C_{10} арил) или -R^{PEG1}-O-$(CH_2CH_2O)_{1-36}$-R^{PEG2}, где R^{PEG1}

представляет собой C_1-C_4 алкилен и R^{PEG2} представляет собой -H или C_1-C_4 алкилен, где основной атом азота, связанный с R^{a3}, протонирован в солевой форме, или

R^{a3} представляет собой подходящую азот-защитную группу, предпочтительно подходящую кислото-лабильную защитную группу; и

каждый P представляет собой аминокислотный остаток непрерывной аминокислотной последовательности пептидного расщепляемого звена.

Вариант осуществления 78. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 56, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру по формуле IF:



(формула IF)

или его соль, где

HE представляет собой усиливающее гидролиз звено;

A’ при наличии представляет собой подзвено указанного первого звена растяжения (A);

нижний индекс a’ равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A’, соответственно;

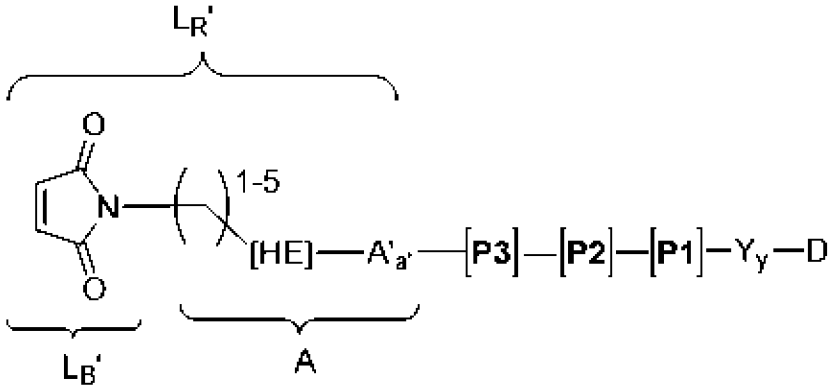
нижний индекс x равен 1 или 2;

R^{a2} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, $-CH_3$ или $-CH_2CH_3$;

R^{a3} в каждом случае независимо представляет собой подходящую азот-защитную группу, -H или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, предпочтительно -H, подходящую кислото-лабильную защитную группу, $-CH_3$ или $-CH_2CH_3$, при условии, что атом азота, с которым связаны оба R^{a3}, протонирован в солевой форме, при этом ни один из R^{a3} не представляет собой азот-защитную группу,

или оба R^{a3} вместе с атомом азота, к которому они присоединены, определяют азот-защитную группу или азетидинил, пирролидинил или пиперидинил гетероциклил, где определенный таким образом основной первичный, вторичный или третичный амин протонирован в солевой форме.

Вариант осуществления 79. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 78, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру по формуле IH:



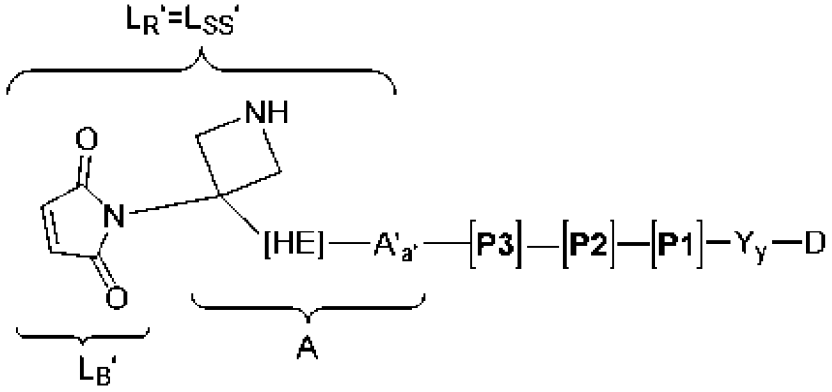
(формула IH)

или его соль,

HE представляет собой усиливающее гидролиз звено; и

A' представляет собой, при наличии, подзвено указанного первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A'.

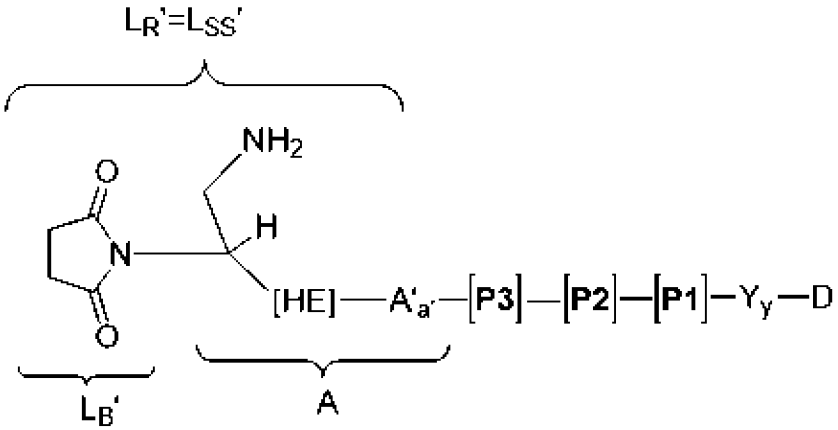
Вариант осуществления 80. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 77, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



и

или его соль, при этом атом азота 4-членного гетероцикло L_{SS}' протонирован в солевой форме.

Вариант осуществления 81. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 56, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



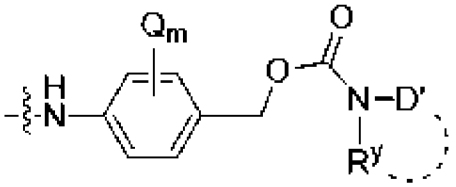
или его соль, при этом первичный амин L_{SS}' протонирован в солевой форме.

Вариант осуществления 82. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления 77-81, где HE представляет собой -C(=O).

Вариант осуществления 83. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления 77-81, где HE представляет собой -C(=O), нижний индекс a' равен 1, а A' имеет структуру по формуле **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** по варианту осуществления 73, или A' представляет собой α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток.

Вариант осуществления 84. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления 77-83, где -[P3]-[P2]-[P1]- представляет собой D-Leu-Leu-Cit, D-Leu-Leu-Lys, D-Leu-Leu-Met(O), Cit-Ala(Nap)-Thr, D-Leu-Ala-Glu или Pro-Ala(Nap)-Lys, где Met(O) представляет собой метионин, в котором атом серы окислен до сульфоксида, а Ala(Nap) представляет собой аланин, в котором его метильная боковая цепь замещена нафт-1-илом.

Вариант осуществления 85. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления 56-84, где -Y_y-D имеет структуру:



где -N(R^y)D' представляет собой D, где D' представляет собой остаток D;

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1 или P-1;

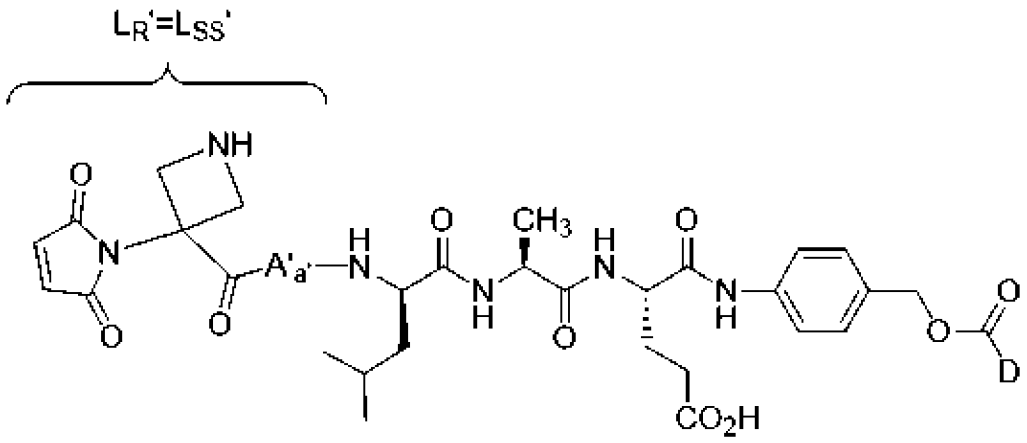
пунктирная линия указывает на необязательную циклизацию R^y с D';

R^y представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен при циклизации с D';

каждый Q независимо представляет собой -C_1-C_8 алкил, -O-(C_1-C_8 алкил) или другую электронодонорную группу, -галоген, -нитро или -циано или другую электроноакцепторную группу, в частности каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из -C_1-C_8 алкила, -O-(C_1-C_8 алкил), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m равен 0, 1 или 2, в частности нижний индекс m равен 0 или 1, а Q при наличии представляет собой электронодонорную группу, предпочтительно нижний индекс m равен 0.

Вариант осуществления 86. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 56, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



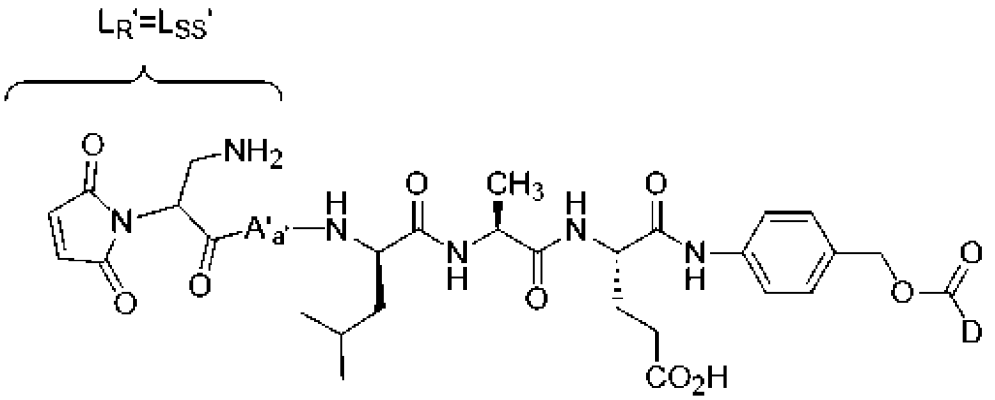
или его соль, где

нижний индекс a' равен 1, что указывает на наличие A', где A' представляет собой остаток амино-содержащей кислоты формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** по варианту осуществления 73, или α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток, в частности -NH-CH_2CH_2-C(=O)-; и

D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, имеющий вторичную аминогруппу в качестве места присоединения к линкерному звену соединения лекарственный препарат-линкер,

где атом азота гетероцикло L_{SS}' протонирован в солевой форме.

Вариант осуществления 87. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 56, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



или его соль, где

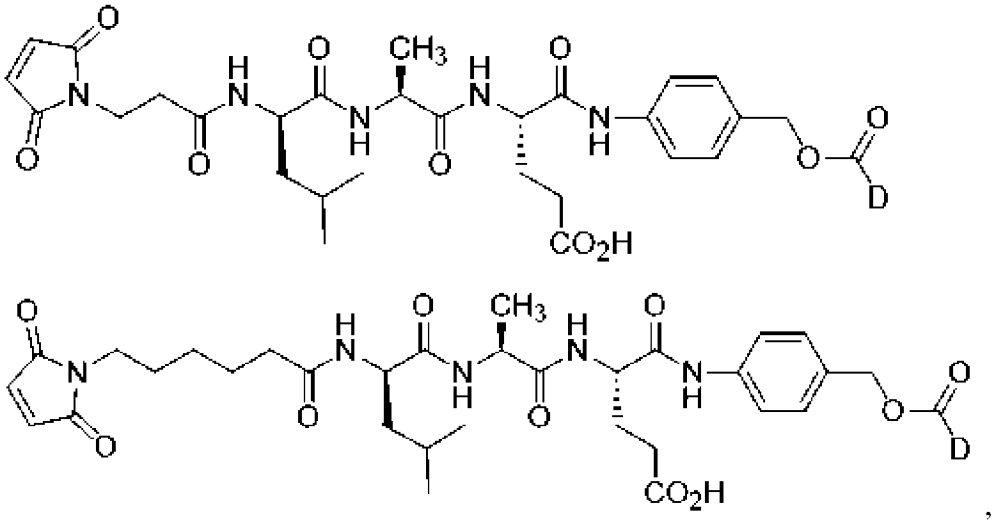
нижний индекс a' равен 1, что указывает на наличие A', где A' представляет собой остаток амино-содержащей кислоты формулы **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** по варианту осуществления 73, или α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток, в частности -NH-CH_2CH_2-C(=O)-; и

D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, имеющий вторичную аминогруппу в качестве места присоединения к линкерному звену соединения лекарственный препарат-линкер,

где первичный амин L_{SS}' протонирован в солевой форме.

Вариант осуществления 88. Соединение лекарственный препарат-линкер по

варианту осуществления 56, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



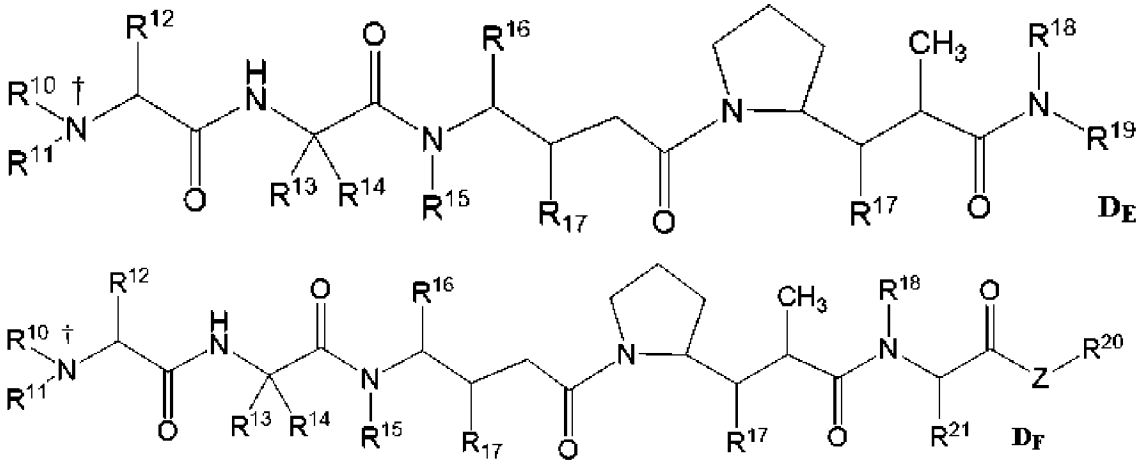
,

или его соль, где

D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, имеющий вторичную аминогруппу в качестве места присоединения к линкерному звену соединения лекарственный препарат-линкер.

Вариант осуществления 89. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления 56-88, нижний индекс y' равен 2, где Y из -Y-Y'- представляет собой первое самоуничтожающееся спейсерное звено, а Y' представляет собой второе самоуничтожающееся спейсерное звено, имеющее структуру -OC(=O)-, и цитотоксический лекарственный препарат представляет собой содержащее вторичный амин соединение ауристатина, где атом азота вторичного амина является местом ковалентного присоединения к карбонильному атому углерода Y' посредством карбаматной функциональной группы, общей для D и Y'.

Вариант осуществления 90. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 89, отличающееся тем, что содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_E}$ или $\mathbf{D_F}$:



где символ кинжала указывает место ковалентного присоединения атома азота, который обеспечивает карбаматную функциональную группу,

один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой C_1-C_8 алкил, предпочтительно один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

R^{12} представляет собой водород, C_1-C_8 алкил, C_3-C_8 карбоциклил, C_6-C_{24} арил, -X^1-C_6-C_{24} арил, -X^1-(C_3-C_8 карбоциклил), C_3-C_8 гетероциклил или -X^1-(C_3-C_8 гетероциклил);

R^{13} представляет собой водород, C_1-C_8 алкил, C_3-C_8 карбоциклил, C_6-C_{24} арил, -X^1-C_6-C_{24} арил, -X^1-(C_3-C_8 карбоциклил), C_3-C_8 гетероциклил и -X^1-(C_3-C_8 гетероциклил);

R^{14} представляет собой водород или метил, или

R^{13} и R^{14} вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют спиро C_3-C_8 карбоцикл;

R^{15} представляет собой водород или C_1-C_8 алкил;

R^{16} представляет собой водород, C_1-C_8 алкил, C_3-C_8 карбоциклил, C_6-C_{24} арил, -C_6-C_{24}-X^1-арил, -X^1-(C_3-C_8 карбоциклил), C_3-C_8 гетероциклил и -X^1-(C_3-C_8 гетероциклил);

R^{17} независимо представляет собой водород, -OH, C_1-C_8 алкил, C_3-C_8 карбоциклил и O-(C_1-C_8 алкил);

R^{18} представляет собой водород или необязательно замещенный C_1-C_8 алкил;

R^{19} представляет собой —$C(R^{19A})_2$—$C(R^{19A})_2$— C_6-C_{24} арил, —$C(R^{19A})_2$—$C(R^{19A})_2$—(C_3-C_8 гетероциклил) или —$C(R^{19A})_2$—$C(R^{19A})_2$—(C_3-C_8 карбоциклил), где C_6-C_{24} арил и C_3-C_8 гетероциклил необязательно замещены;

R^{19A} независимо представляет собой водород, необязательно замещенный C_1-C_8 алкил, -OH или необязательно замещенный -O-C_1-C_8 алкил;

R^{20} представляет собой водород или C_1-C_{20} алкил, C_6-C_{24} арил или C_3-C_8 гетероциклил, необязательно замещенный, или -$(R^{47}O)_m$-R^{48} или -$(R^{47}O)_m$-$CH(R^{49})_2$;

R^{21} представляет собой -C_1-C_8 алкилен-(C_6-C_{24} арил) или -C_1-C_8 алкилен-(C_5-C_{24} гетероарил), необязательно замещенный, или C_1-C_8 гидроксилалкил, или необязательно замещенный C_3-C_8 гетероциклил;

Z представляет собой O, S, NH или NR^{46};

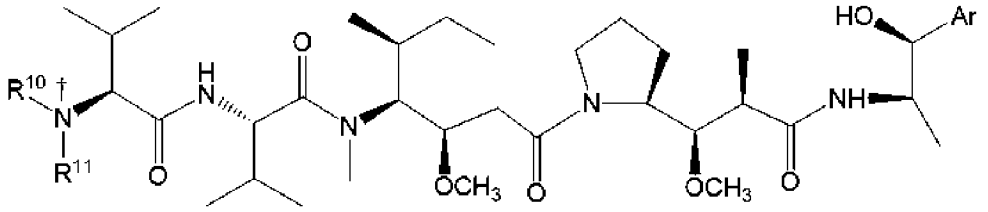
R^{46} представляет собой необязательно замещенный C_1-C_8 алкил; нижний индекс m представляет собой целое число в диапазоне 1-1000;

R^{47} представляет собой C_2-C_8 алкил; R^{48} представляет собой водород или C_1-C_8 алкил;

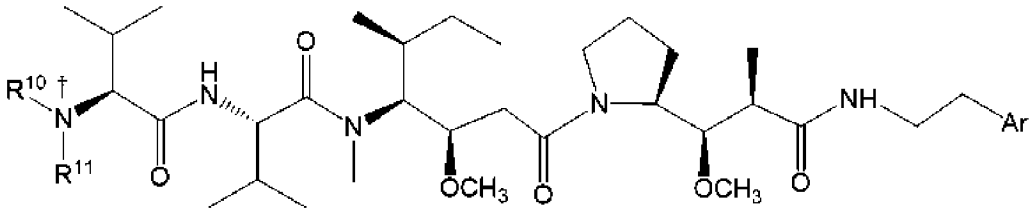
R^{49} независимо представляет собой -COOH, —$(CH_2)_n$-$N(R^{50})_2$, —$(CH_2)_n$-SO_3H или —$(CH_2)_n$-SO_3-C_1-C_8 алкил; и

R^{50} независимо представляет собой C_1-C_8 алкил или —$(CH_2)_n$-COOH; нижний индекс n представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 6; и X^1 представляет собой C_1-C_{10} алкилен.

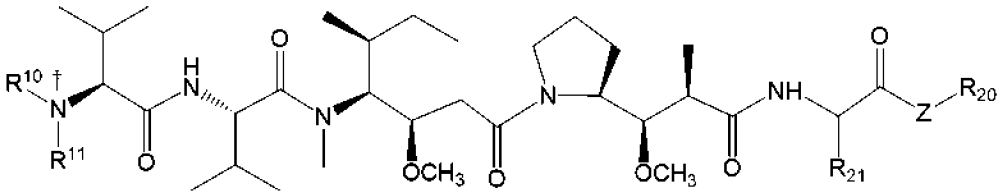
Вариант осуществления 91. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 90, отличающееся тем, что содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_{E-1}}$, формулы $\mathbf{D_{E-2}}$ или формулы $\mathbf{D_{F-1}}$:



D_{E-1}



D_{E-2},



D_{F-1}

где Ar представляет собой C_6-C_{10} арил или C_5-C_{10} гетероарил, предпочтительно Ar представляет собой фенил или 2-пиридил;

Z представляет собой -O- или -NH-; R^{20} представляет собой водород C_1-C_6 алкил, C_6-C_{10} арил или C_5-C_{10} гетероарил, необязательно замещенный; и R^{21} представляет C_1-C_6 алкил, -C_1-C_6 алкилен-(C_6-C_{10} арил) или -C_1-C_6 алкилен-(C_5-C_{10} гетероарил), необязательно замещенный.

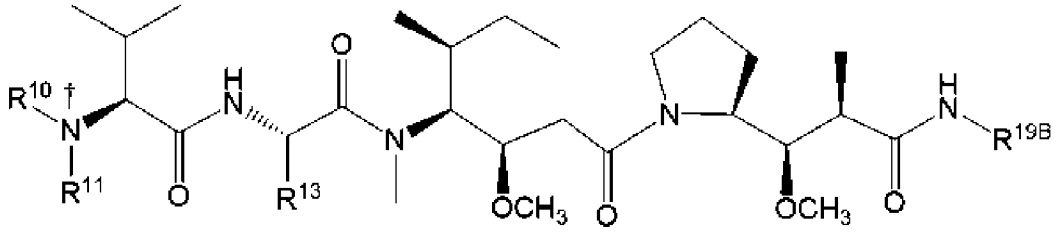
Вариант осуществления 92. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 91, отличающееся тем, что содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_{F-1}}$

где R^{21} представляет собой X^1-S-R^{21a} или X^1-Ar, где X^1 представляет собой C_1-C_6 алкилен, R^{21a} представляет собой C_1-C_4 алкил и Ar представляет собой фенил или C_5-C_6 гетероарил; и

-Z- представляет собой -O- и R^{20} представляет собой C_1-C_4 алкил, или

-Z- представляет собой -NH- и R^{20} представляет собой фенил или C_5-C_6 гетероарил.

Вариант осуществления 93. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 91, отличающееся тем, что содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_{F/E-3}}$:

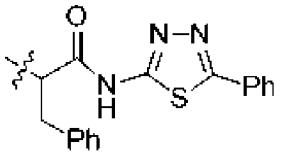


$D_{F/E-3}$

где один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

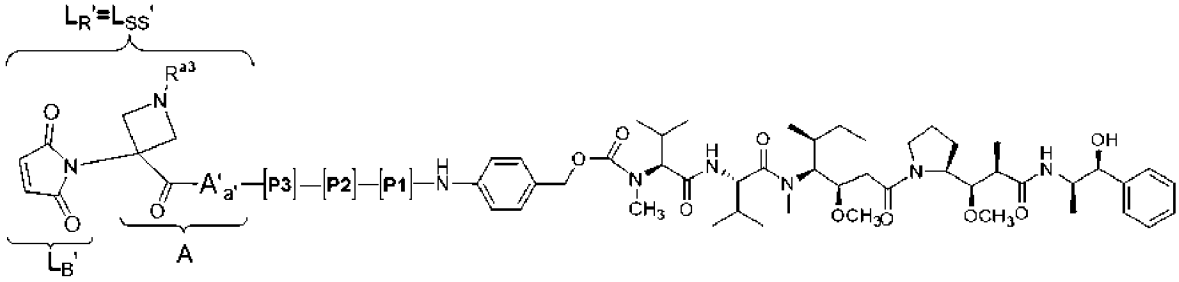
R^{13} представляет собой изопропил или -CH_2-$CH(CH_3)_2$; и

R^{19B} представляет собой -CH(CH_3)-CH(OH)-Ph, -CH(CO_2H)-CH(OH)-CH_3, -CH(CO_2H)-CH_2Ph, -CH(CH_2Ph)-2-тиазолил, -CH(CH_2Ph)-2-пиридил, -CH(CH_2-p-Cl-Ph), -CH(CO_2Me)-CH_2Ph, -CH(CO_2Me)-$CH_2CH_2SCH_3$, -CH($CH_2CH_2SCH_3$)C(=O)NH-хинол-3-ил, -CH(CH_2Ph)C(=O)NH-p-Cl-Ph, или

R^{19B} имеет структуру  , где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к оставшейся части соединения ауристатина.

Вариант осуществления 94. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 91, отличающееся тем, что содержащее вторичный амин соединение ауристатина представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

Вариант осуществления 95. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 56, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру по формуле IC-MMAE:



(формула IC-MMAE)

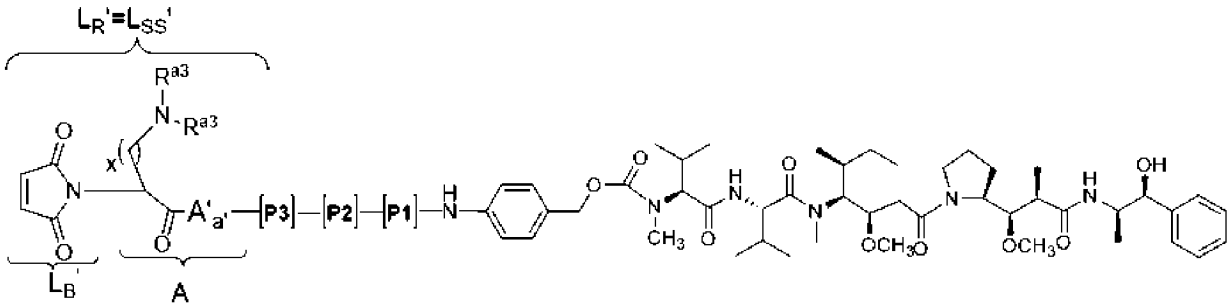
или ее солей, в частности фармацевтически приемлемых солей, где

A’ при наличии представляет собой подзвено указанного первого звена растяжения (A), имеющего структуру по формуле **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** по варианту осуществления 73, или α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток, в частности -NH-CH_2CH_2-C(=O)-; и

R^{a3} представляет собой -H, необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, необязательно замещенный -C_1-C_4 алкилен-(C_6-C_{10} арил) или -R^{PEG1}-O-$(CH_2CH_2O)_{1-36}$-R^{PEG2}, где R^{PEG1} представляет собой C_1-C_4 алкилен, R^{PEG2} представляет собой -H или C_1-C_4 алкилен, и где основной атом азота, связанный с R^{a3}, протонирован в солевой форме, или

R^{a3} представляет собой подходящую азот-защитную группу, предпочтительно подходящую кислото-лабильную защитную группу.

Вариант осуществления 96. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 56, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру по формуле IF-MMAE:



(формула IF-MMAE)

или его соль, где

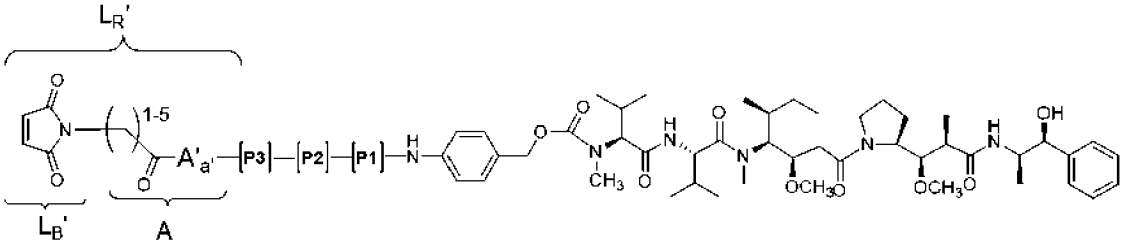
A’ при наличии представляет собой подзвено указанного первого звена растяжения (A), имеющего структуру по формуле **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** по варианту осуществления 73, или α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток, в частности -NH-CH_2CH_2-C(=O)-; и

нижний индекс x равен 1 или 2;

R^{a3} в каждом случае независимо представляет собой подходящую азот-защитную группу, -H или необязательно замещенный C_1-C_6 алкил, предпочтительно -H, подходящую кислото-лабильную защитную группу, -CH_3 или -CH_2CH_3, при условии, что атом азота, с которым связаны оба R^{a3}, протонирован в солевой форме, при этом ни один из R^{a3} не представляет собой азот-защитную группу,

или оба R^{a3} вместе с атомом азота, к которому они присоединены, определяют азот-защитную группу или азетидинил, пирролидинил или пиперидинил гетероциклил, где определенный таким образом основной первичный, вторичный или третичный амин протонирован в солевой форме.

Вариант осуществления 97. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 56, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру по формуле IH-MMAE:



(формула IH-MMAE)

или его соль, где

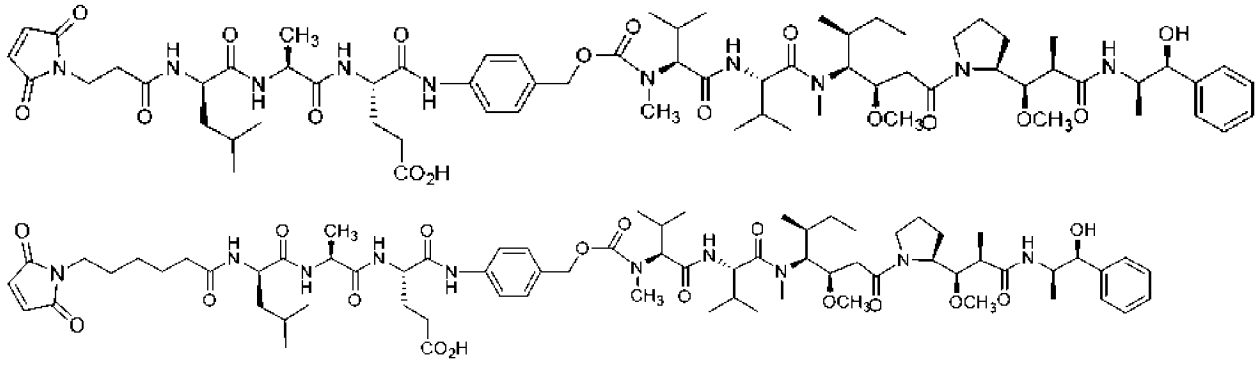
A’ при наличии представляет собой подзвено указанного первого звена растяжения (A), имеющего структуру по формуле **3a**, формулы **4a** или формулы **5a** по варианту осуществления 73, или α-аминокислотный или β-аминокислотный остаток, в частности -NH-CH_2CH_2-C(=O)-; и

нижний индекс a’ равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A’.

Вариант осуществления 98. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 95, 96 или 97, где P1 представляет собой L-Glu или L-Asp, P2

представляет собой L-Val или L-Ala и P3 представляет собой L-Leu или D-Leu.

Вариант осуществления 99. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления 56, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



или его соль.

A1. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, представленного формулой A**1**:

$L\text{-}[LU\text{-}D']_p$ (A**1**)

или его фармацевтически приемлемой соли, где

L представляет собой лигандное звено;

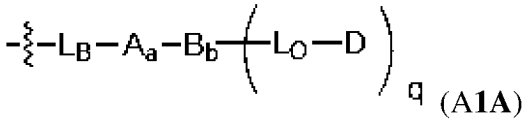
LU представляет собой линкерное звено;

D' представляет от 1 до 4 лекарственных звеньев (D) в каждом фрагменте лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D'; и

нижний индекс p является числом от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равен около 4 или около 8,

при этом лигандное звено получено из антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела, причем антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела способны к селективному связыванию с антигеном опухолевой ткани для последующего высвобождения лекарственного(-ых) звена(звеньев) в виде свободного лекарственного препарата,

при этом фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D' в каждом из соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции имеет структуру по формуле A**1A**:



(A**1A**)

или ее соли,

где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к L;

D представляет собой лекарственное звено;

L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающий лиганд;

A представляет собой первое необязательное звено растяжения;

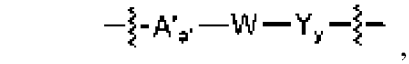
нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A,

соответственно;

B представляет собой необязательное звено разветвления;

нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, при этом вторичный линкер имеет формулу:



где волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену, а волнистая линия, смежная с A' указывает место ковалентного присоединения L_O к остатку фрагмента лекарственный препарат-линкер;

A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, которое при наличии в отсутствие B становится подзвеном A,

нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено содержит трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-;

каждый Y при наличии представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено;

нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

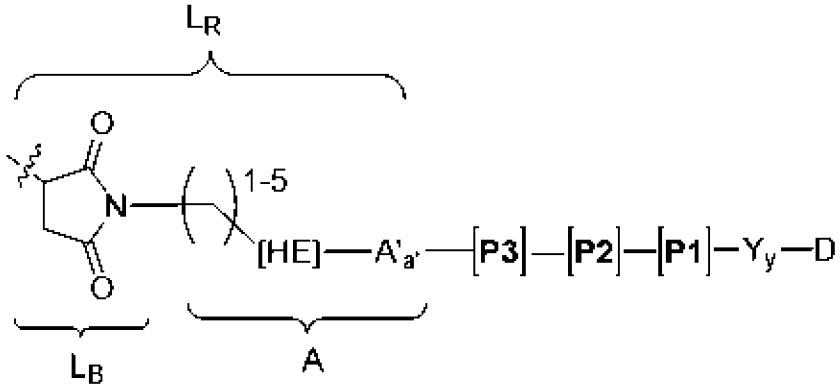
нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 3, и

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q равен 2 или 3, когда нижний индекс b равен 1; и

при этом соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции имеют структуру по формуле A**1**, в которой нижний индекс p заменен нижним индексом p', где нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равен 4 или 8.

A2. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A1, отличающаяся тем, что соединения конъюгата лиганд-лекарственный

препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер по формуле A1H:



(формула A1H)

или его фармацевтически приемлемых солей, которая необязательно имеет незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и при этом

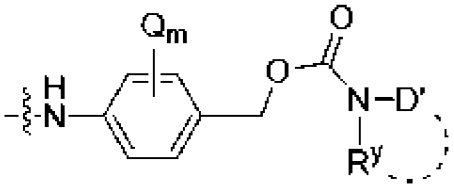
HE представляет собой усиливающее гидролиз звено;

A' представляет собой, при наличии, подзвено указанного первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно; и

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы лигандного звена.

A3. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A2, где HE представляет собой -C(=O).

A4. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A3, где $-Y_y-D$ имеет структуру:



где $-N(R^y)D'$ представляет собой D, где D' представляет собой остаток D;

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1;

пунктирная линия указывает на необязательную циклизацию R^y с D';

R^y представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен при циклизации с D';

каждый Q при наличии независимо выбран из группы, состоящей из -C_1-C_8 алкила, -O-(C_1-C_8 алкила), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m равен 0, 1 или 2.

A5. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A4, где D включает структуру агента, разрушающего тубулин, фрагмента, связывающего малую бороздку ДНК, агента, повреждающего ДНК,

или ингибитора репликации ДНК.

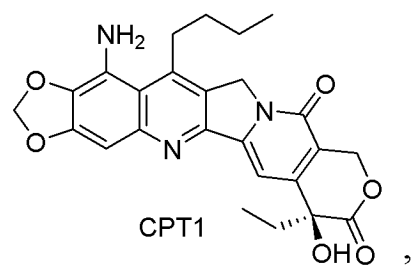
A6. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A4, где D включает структуру тубулизина.

A7. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A4, где D включает структуру камптотецина.

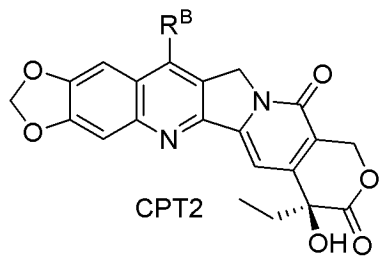
A8. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A4, где D включает структуру ауристатина.

A9. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A4, где D включает структуру антрациклина.

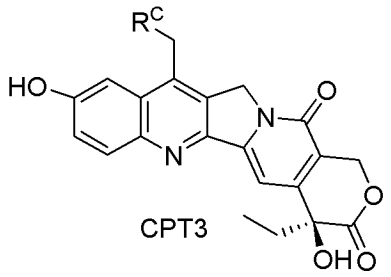
A10. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A4, где D включает структуру камптотецина, выбранную из группы, состоящей из



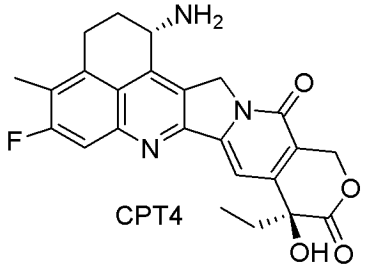
CPT1 ,



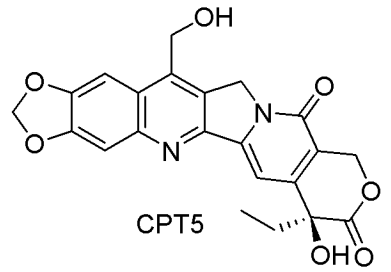
CPT2 ,



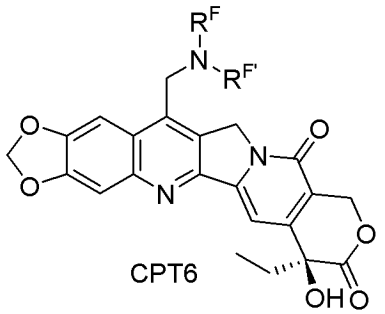
CPT3 ,



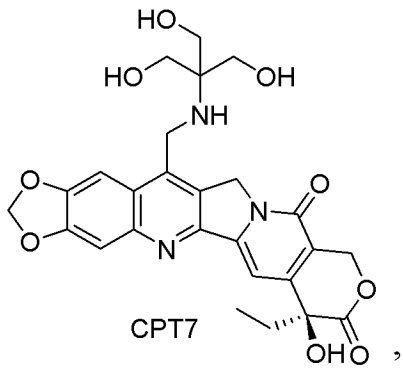
CPT4 ,



CPT5 ,



CPT6 , и



CPT7 ,

где

R^B выбран из группы, состоящей из H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 галогеналкила, C_3-C_8 циклоалкила, (C_3-C_8 циклоалкил)-C_1-C_4 алкила, фенила и фенил-C_1-C_4 алкила;

R^C выбран из группы, состоящей из C_1-C_6 алкила и C_3-C_6 циклоалкила; и

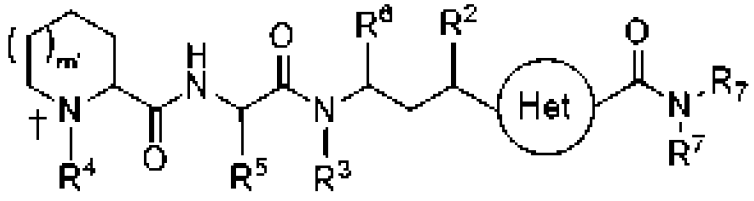
каждый R^F и $R^{F'}$ независимо выбран из группы, состоящей из -H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, (C_1-C_4 алкиламино)-C_1-C_8 алкила-, N, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N, N-ди(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8

алкила-, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)-C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_8 алкил-C(O)-, C_1-C_8 гидроксиалкил-C(O)-, C_1-C_8 аминоалкил-C(O)-, C_3-C_{10} циклоалкила, (C_3-C_{10} циклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, (C_3-C_{10} гетероциклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, фенила, фенил-C_1-C_4 алкила-, дифенил-C_1-C_4 алкила-, гетероарила и гетероарил-C_1-C_4 алкила-, или

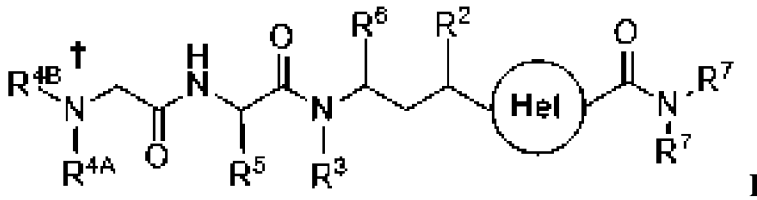
R^F и $R^{F'}$ вместе с атомом азота, к которому присоединен каждый из них, образуют 5-, 6- или 7-членное кольцо, имеющее от 0 до 3 заместителей, выбранных из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4 алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NH-C_1-C_4 алкила, -N(C_1-C_4 алкил)$_2$; и

при этом циклоалкильная, гетероциклоалкильная, фенильная и гетероарильная части R^B, R^C, R^F и $R^{F'}$ замещены 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4 алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NHC_1-C_4 алкила и -N(C_1-C_4 алкил)$_2$.

A11. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A4, где D имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из



D_G и



D_H

где символ кинжала представляет точку присоединения D ко вторичному линкеру фрагмента лекарственный препарат-линкер, а символ круга представляет 5-членный или 6-членный азотный гетероарилен, где указанные необходимые заместители этого гетероарилена находятся в 1,3- или *мета*-взаимосвязи друг с другом с необязательным замещением в оставшихся позициях;

R^2 представляет собой X^A-R^{2A}, где X^A представляет собой -O-, -S-, -N(R^{2B})-, -CH_2-, -(C=O)N(R^{2B})- или -O(C=O)N(R^{2B})- где R^{2B} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, R^{2A} представляет собой водород, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил или -C(=O)R^C, где R^C представляет собой водород, необязательно замещенный алкил или необязательно замещенный арил, или R^2 представляет собой водород O-связанный заместитель;

R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил;

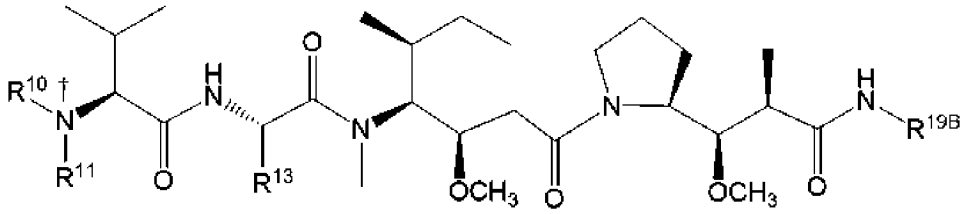
R^4, R^{4A}, R^{4B}, R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный алкил, независимо выбранный,

один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, а другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил или необязательно

замещенный гетероарилалкил, и

нижний индекс m' равен 0 или 1.

A12. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A4, где D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, причем цитотоксический лекарственный препарат представляет собой содержащее вторичный амин соединение ауристатина, где атом азота вторичного амина является местом ковалентного присоединения к фрагменту лекарственный препарат-линкер, и при этом содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_{F/E-3}}$:



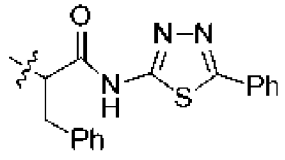
$\mathbf{D_{F/E-3}}$

где символ кинжала указывает место ковалентного присоединения атома азота, который обеспечивает карбаматную функциональную группу;

один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

R^{13} представляет собой изопропил или $-CH_2-CH(CH_3)_2$; и

R^{19B} представляет собой $-CH(CH_3)-CH(OH)-Ph$, $-CH(CO_2H)-CH(OH)-CH_3$, $-CH(CO_2H)-CH_2Ph$, -CH(CH_2Ph)-2-тиазолил, -CH(CH_2Ph)-2-пиридил, -CH(CH_2-p-Cl-Ph), $-CH(CO_2Me)-CH_2Ph$, $-CH(CO_2Me)-CH_2CH_2SCH_3$, $-CH(CH_2CH_2SCH_3)C(=O)NH$-хинол-3-ил, $-CH(CH_2Ph)C(=O)NH$-p-Cl-Ph, или

R^{19B} имеет структуру  , где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к оставшейся части соединения ауристатина.

A13. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A12, отличающаяся тем, что содержащее вторичный амин соединение ауристатина представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

A14. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A13 или ее фармацевтически приемлемая соль, где пептидное расщепляемое звено представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; и

другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной.

A15. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A14 или ее фармацевтически приемлемая соль, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala.

A16. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A15 или ее фармацевтически приемлемая соль, где одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH.

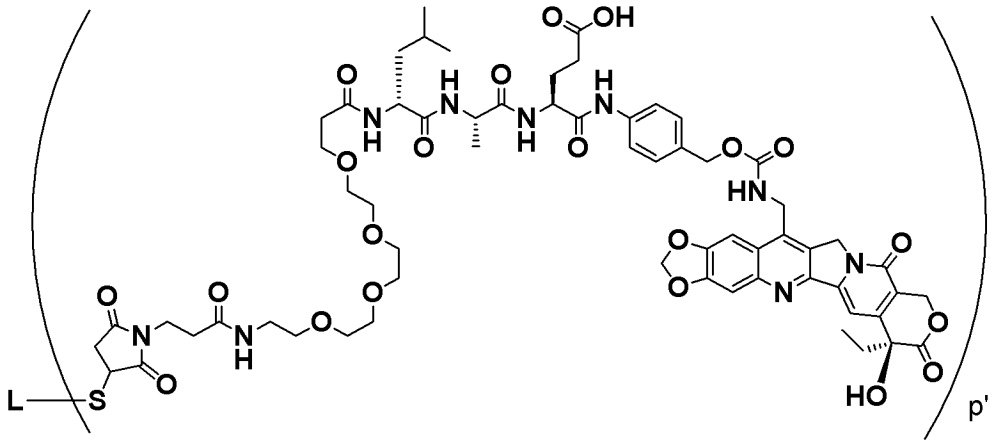
A17. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A16 или ее фармацевтически приемлемая соль, где аминокислота P2 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а аминокислота P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH.

A18. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A17 или ее фармацевтически приемлемая соль, где -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu- или -Ala-Asp-.

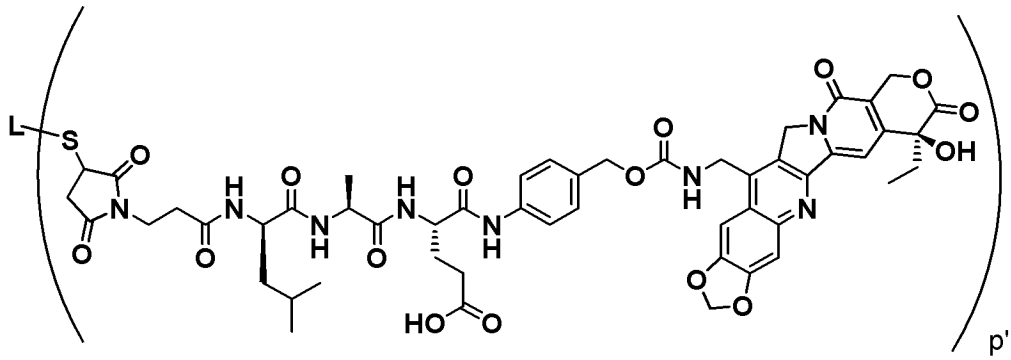
A19. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A18 или ее фармацевтически приемлемая соль, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-.

A20. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A16 или ее фармацевтически приемлемая соль, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp.

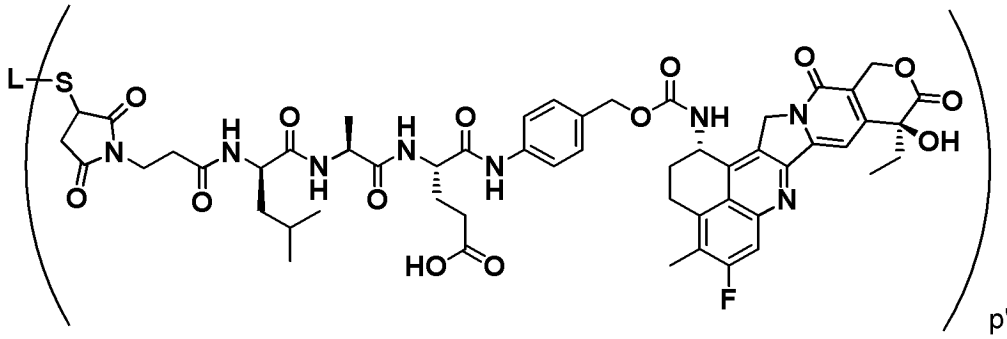
A21. Композиция соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A1, отличающаяся тем, что композиция содержит соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат, имеющие структуру



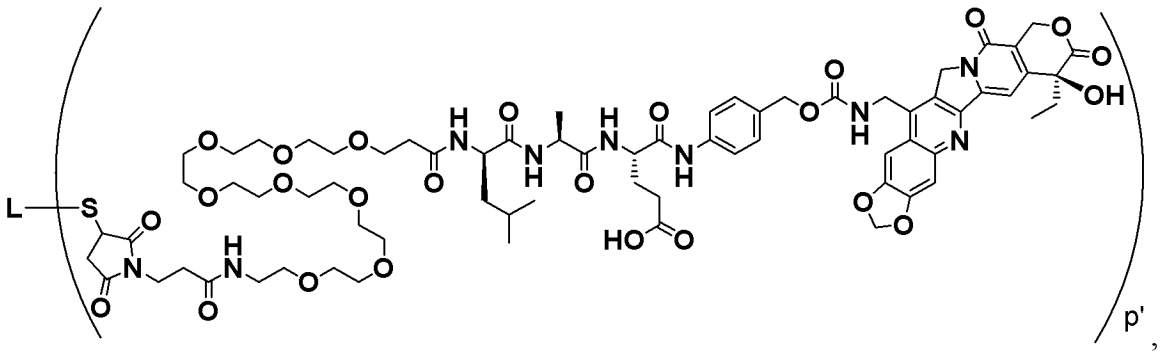
p',



p',



p', или



p',

или его фармацевтически приемлемую соль,

где L представляет собой лигандное звено, а нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12.

A22. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1--A21, где L представляет собой лигандное звено антитела

интактного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

A23. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A22, отличающаяся тем, что интактное антитело представляет собой интактное химерное, гуманизированное или человеческое антитело.

A24. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A22, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент способны селективно связываться с антигеном раковой клетки.

A25. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A22, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент способны селективно связываться с антигеном иммунной клетки.

A26. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A22 или варианту осуществления A23, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать CD30.

A27. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A26, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6, соответственно.

A28. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A26 или варианту осуществления A27, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

A29. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A26-A28, отличающаяся тем, что интактное антитело представляет собой cAC10.

A30. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A22 или варианту осуществления A23, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать LIV1.

A31. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A30, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 518, 519, 520, 521, 522 и 523, соответственно.

A32. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A30 или варианту осуществления A31, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 524, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 525.

A33. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A30-A32, отличающаяся тем, что интактное антитело

представляет собой ладиратузумаб.

A34. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A22 или варианту осуществления A23, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать TROP2.

A35. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A34, отличающаяся тем, что интактное антитело представляет собой сацитузумаб или датопотамаб.

A36. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A22 или варианту осуществления A23, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать ALPP.

A37. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A22 или варианту осуществления A23, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать IL1RAP.

A38. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A37, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 96, 97, 98, 99, 100 и 101, соответственно.

A39. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A37 или варианту осуществления A38, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103.

A40. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A37-A39, отличающаяся тем, что интактное антитело представляет собой ниданилимаб.

A41. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A22 или варианту осуществления A23, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать ASCT2.

A42. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A41, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 794, 795, 796, 797, 798 и 799, соответственно.

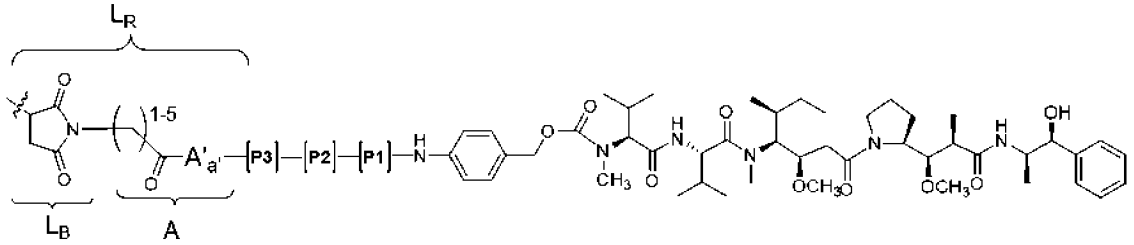
A43. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A41 или варианту осуществления A42, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 801, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 802.

A44. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту

осуществления A41, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 790, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 791.

A45. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления A41, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 792, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 793.

A46. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A26-A45, отличающаяся тем, что нижний индекс q равен 1, а соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер по формуле 1H-MMAE:



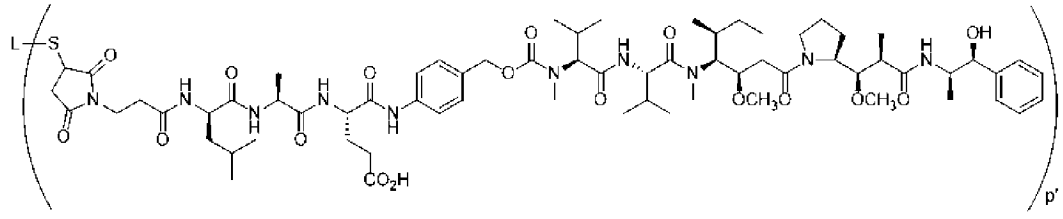
(формула 1H-MMAE)

или его фармацевтически приемлемой соли, которая необязательно имеет незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и при этом:

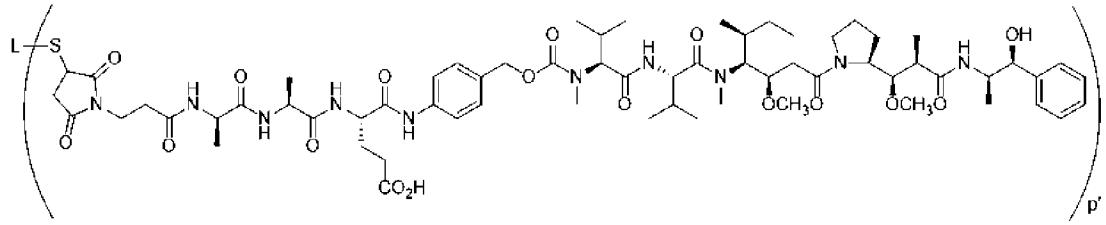
нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует; и

волнистая линия указывает место ковалентного связывания с атомом серы лигандного звена.

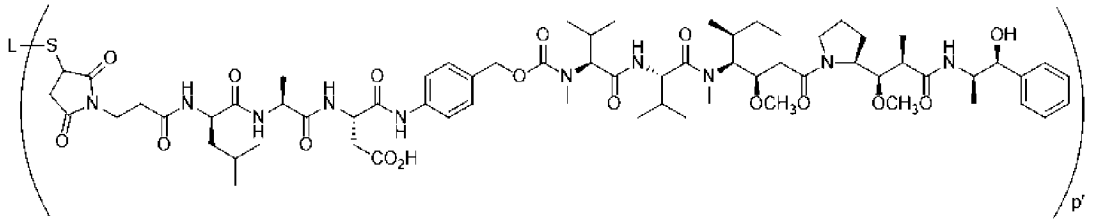
A47. Композиция соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A26-A45, отличающаяся тем, что композиция содержит соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат, имеющие структуру



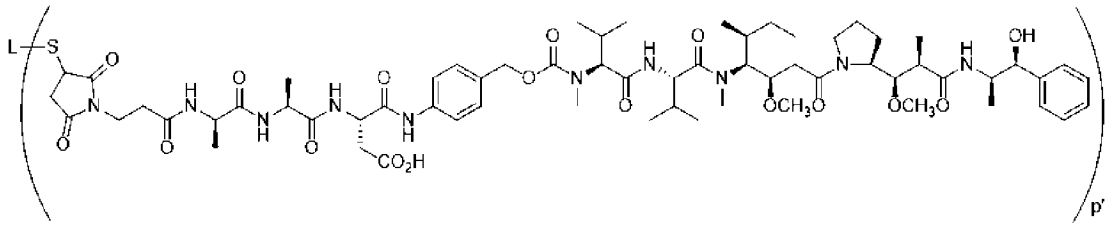
,



,


,

или


,

или его фармацевтически приемлемую соль,

где L представляет собой лигандное звено, а нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12.

A48. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A48, где нижний индекс p находится в диапазоне от около 2 до около 12, или от около 2 до около 10, или от около 2 до около 8, или нижний индекс p равен около 2, около 4 или около 8.

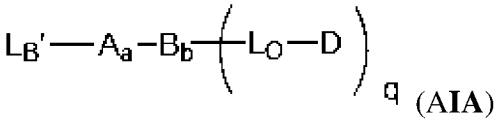
A49. Фармацевтически приемлемый состав, причем состав содержит эффективное количество композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A48 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

A50. Фармацевтически приемлемый состав по варианту осуществления A49, отличающийся тем, что по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой жидкий носитель, который обеспечивает жидкий состав, причем жидкий состав пригоден для лиофилизации или введения нуждающемуся в этом субъекту.

A51. Фармацевтически приемлемый состав по варианту осуществления A49, отличающийся тем, что состав представляет собой лиофилизированное твердое вещество или жидкий состав по варианту осуществления A26, при этом по меньшей мере один эксципиент твердого состава представляет собой лиопротектор.

A52. Способ лечения рака, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления A1-A48 или фармацевтически приемлемого состава по любому из вариантов осуществления A49-A51.

A53. Соединение лекарственный препарат-линкер по формуле A**IA**:

 (A**IA**)

или его соль, где

D представляет собой лекарственное звено;

L_B' представляет собой фрагмент-предшественник, ковалентно связывающий

лиганд;

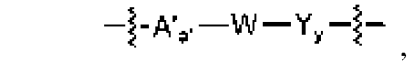
A представляет собой первое необязательное звено растяжения;

нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательное звено разветвления;

нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, при этом вторичный линкер имеет формулу:



где волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену, а волнистая линия, смежная с A' указывает место ковалентного присоединения L_O к остатку соединения лекарственный препарат-линкер;

A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, которое при наличии в отсутствие B становится подзвеном A;

нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено содержит трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-;

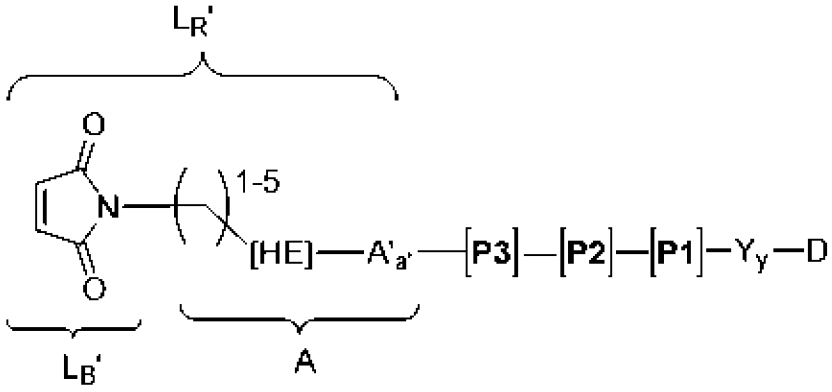
каждый Y при наличии представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено;

нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 3, и

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q равен 2 или 3, когда нижний индекс b равен 1.

A54. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления A53, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру по формуле AIH:



(формула AIH)

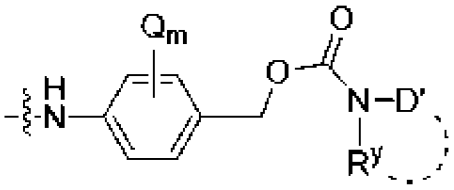
или его соль, где:

HE представляет собой усиливающее гидролиз звено; и

A' представляет собой, при наличии, подзвено указанного первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно.

A55. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления A54, где HE представляет собой -C(=O).

A56. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A55, где $-Y_y-D$ имеет структуру:



где $-N(R^y)D'$ представляет собой D, где D' представляет собой остаток D;

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к P1;

пунктирная линия указывает на необязательную циклизацию R^y с D';

R^y представляет собой необязательно замещенный C_1-C_6 алкил в отсутствие циклизации с D' или необязательно замещенный C_1-C_6 алкилен при циклизации с D';

каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из -C_1-C_8 алкила, -O-(C_1-C_8 алкила), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m равен 0, 1 или 2.

A57. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A56, где D включает структуру агента, разрушающего тубулин, фрагмента, связывающего малую бороздку ДНК, агента, повреждающего ДНК, или ингибитора репликации ДНК.

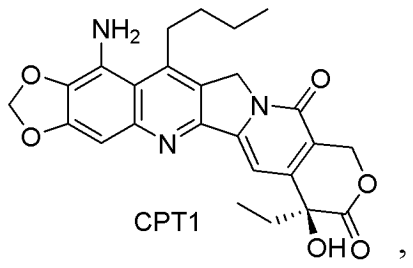
A58. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A56, где D включает структуру тубулизина.

A59. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A56, где D включает структуру камптотецина.

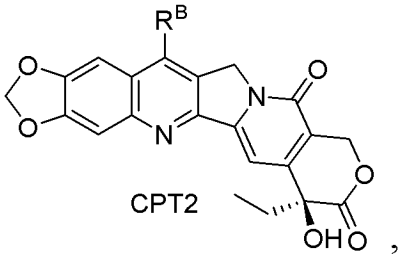
A60. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A56, где D включает структуру ауристатина.

A61. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A56, где D включает структуру антрациклина.

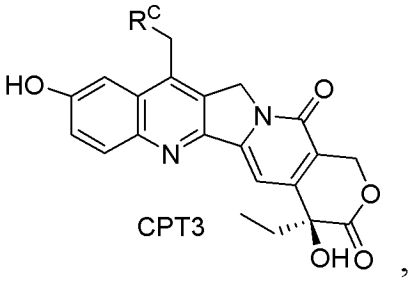
A62. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A56, где D включает структуру камптотецина, имеющего структуру, выбранную из группы, состоящей из



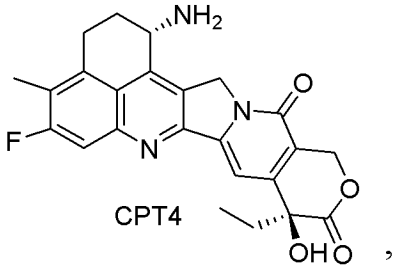
CPT1 ,



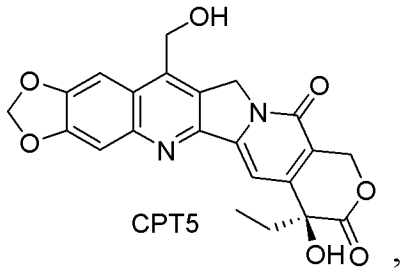
CPT2 ,



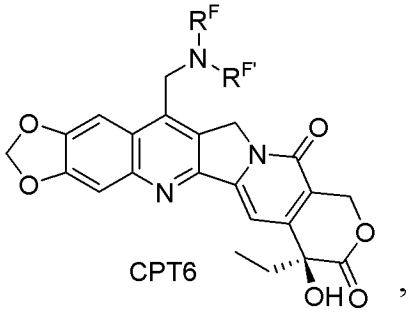
CPT3 ,



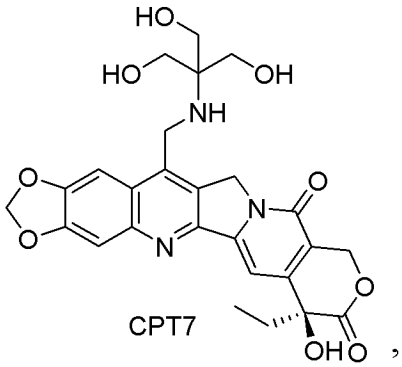
CPT4 ,



CPT5 ,



CPT6 , и



CPT7 ,

где

R^B выбран из группы, состоящей из H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 галогеналкила, C_3-C_8

циклоалкила, (C_3-C_8 циклоалкил)-C_1-C_4 алкила, фенила и фенил-C_1-C_4 алкила;

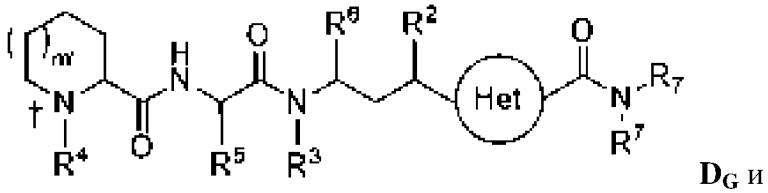
R^C выбран из группы, состоящей из C_1-C_6 алкила и C_3-C_6 циклоалкила; и

каждый R^F и $R^{F'}$ независимо выбран из группы, состоящей из -H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, (C_1-C_4 алкиламино)-C_1-C_8 алкила-, N, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N, N-ди(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)-C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_8 алкил-C(O)-, C_1-C_8 гидроксиалкил-C(O)-, C_1-C_8 аминоалкил-C(O)-, C_3-C_{10} циклоалкила, (C_3-C_{10} циклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, (C_3-C_{10} гетероциклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, фенила, фенил-C_1-C_4 алкила-, дифенил-C_1-C_4 алкила-, гетероарила и гетероарил-C_1-C_4 алкила-, или

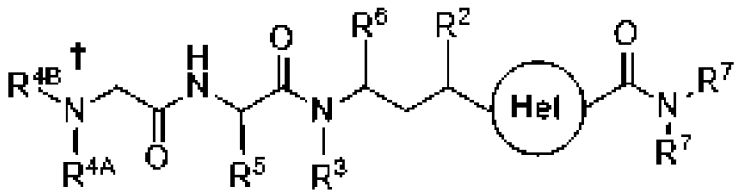
R^F и $R^{F'}$ вместе с атомом азота, к которому присоединен каждый из них, образуют 5-, 6- или 7-членное кольцо, имеющее от 0 до 3 заместителей, выбранных из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4 алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NH-C_1-C_4 алкила, -N(C_1-C_4 алкил)$_2$; и

при этом циклоалкильная, гетероциклоалкильная, фенильная и гетероарильная части R^B, R^C, R^F и $R^{F'}$ замещены 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4 алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NHC_1-C_4 алкила и -N(C_1-C_4 алкил)$_2$.

A63. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A56, где D имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из



D_G и



D_H

где символ кинжала представляет точку присоединения D к остатку соединения лекарственный препарат-линкер, а символ круга представляет 5-членный или 6-членный азотный гетероарилен, где указанные необходимые заместители этого гетероарилена находятся в 1,3- или *мета*-взаимосвязи друг с другом с необязательным замещением в оставшихся позициях;

R^2 представляет собой X^A-R^{2A}, где X^A представляет собой -O-, -S-, -N(R^{2B})-, -CH_2-, -(C=O)N(R^{2B})- или -O(C=O)N(R^{2B})- где R^{2B} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, R^{2A} представляет собой водород, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил или -C(=O)R^C, где R^C представляет собой водород, необязательно замещенный алкил или необязательно замещенный арил, или R^2 представляет собой водород O-связанный заместитель;

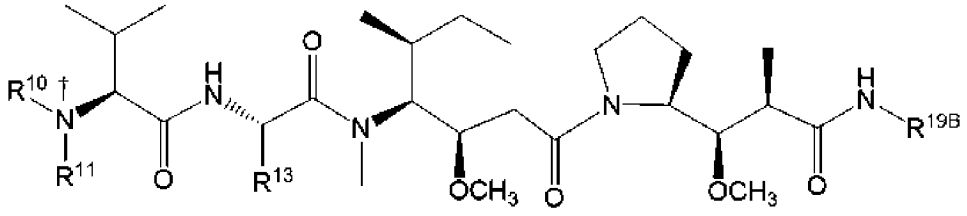
R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил;

R^4, R^{4A}, R^{4B}, R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный алкил, независимо выбранный,

один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, а другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил или необязательно замещенный гетероарилалкил, и

нижний индекс m' равен 0 или 1.

A64. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A56, где D представляет собой цитотоксический лекарственный препарат, причем цитотоксический лекарственный препарат представляет собой содержащее вторичный амин соединение ауристатина, где атом азота вторичного амина является местом ковалентного присоединения к фрагменту лекарственный препарат-линкер, и при этом содержащее вторичный амин соединение ауристатина имеет структуру по формуле $\mathbf{D_{F/E-3}}$:



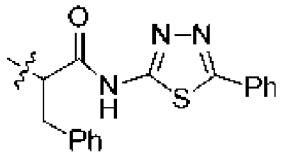
$\mathbf{D_{F/E-3}}$

где символ кинжала указывает место ковалентного присоединения атома азота, который обеспечивает карбаматную функциональную группу;

один из R^{10} и R^{11} представляет собой водород, а другой представляет собой метил;

R^{13} представляет собой изопропил или $-CH_2-CH(CH_3)_2$; и

R^{19B} представляет собой $-CH(CH_3)-CH(OH)-Ph$, $-CH(CO_2H)-CH(OH)-CH_3$, $-CH(CO_2H)-CH_2Ph$, $-CH(CH_2Ph)$-2-тиазолил, $-CH(CH_2Ph)$-2-пиридил, $-CH(CH_2$-p-Cl-Ph), $-CH(CO_2Me)-CH_2Ph$, $-CH(CO_2Me)-CH_2CH_2SCH_3$, $-CH(CH_2CH_2SCH_3)C(=O)$NH-хинол-3-ил, $-CH(CH_2Ph)C(=O)$NH-p-Cl-Ph, или

R^{19B} имеет структуру  , где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к оставшейся части соединения ауристатина.

A65. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления A64, отличающееся тем, что содержащее вторичный амин соединение ауристатина представляет собой монометилауристатин E (MMAE) или монометилауристатин F (MMAF).

A66. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A65 или его соль, где пептидное расщепляемое звено представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; и

другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной.

A67. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A66, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala.

A68. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A67, где одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH.

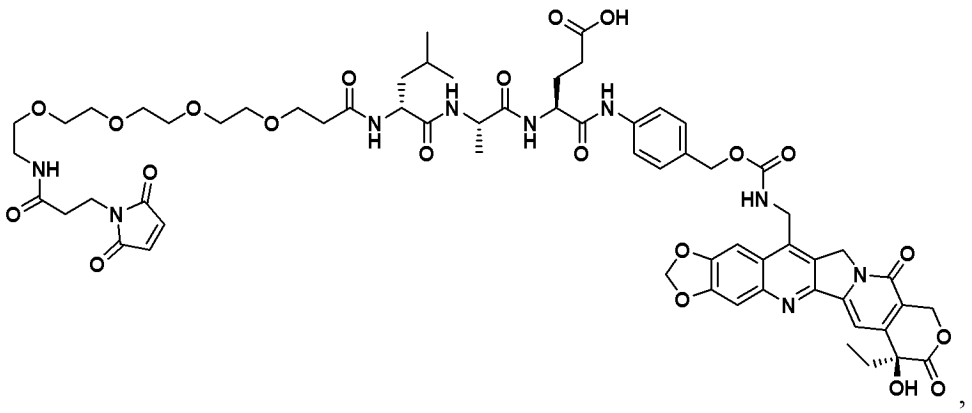
A69. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A68, где аминокислота P2 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а аминокислота P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH.

A70. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A69, где -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu- или -Ala-Asp-.

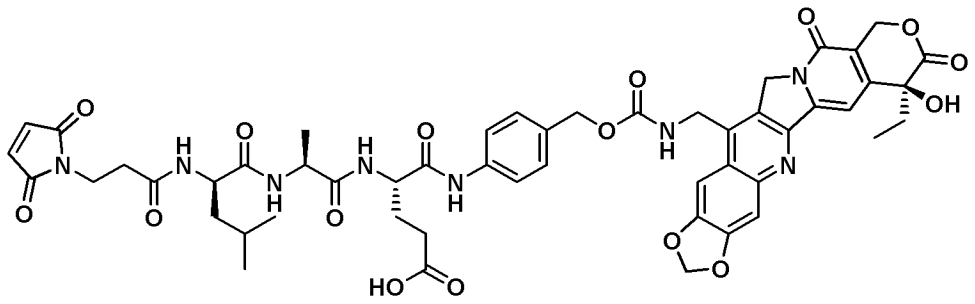
A71. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A70, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-.

A72. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления A53-A68, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp.

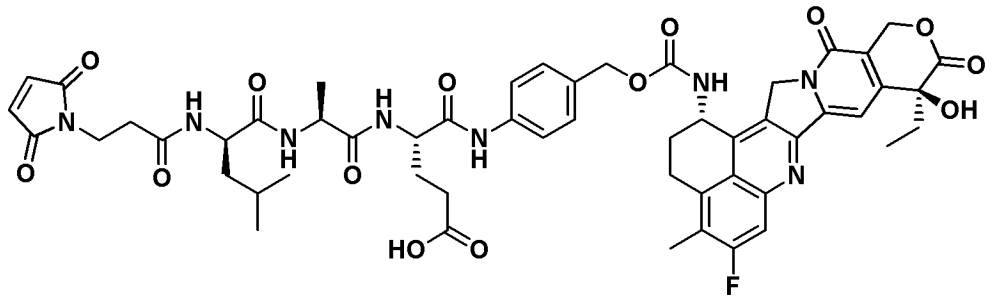
A73. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления A53, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



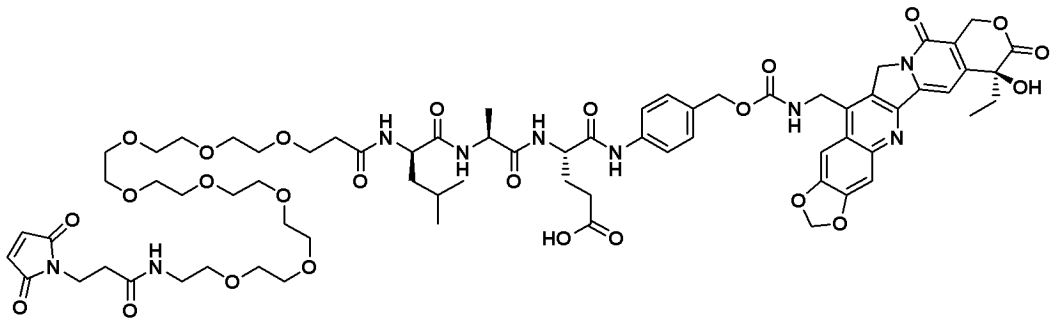
,



,



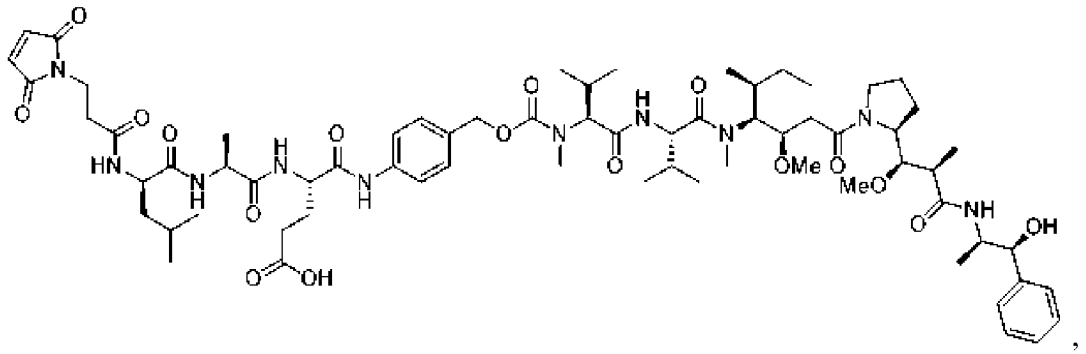
, или



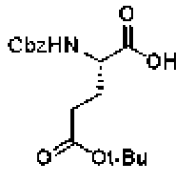
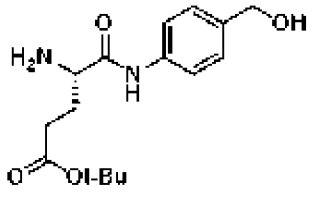
,

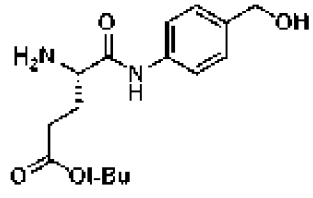
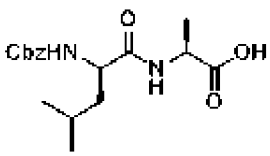
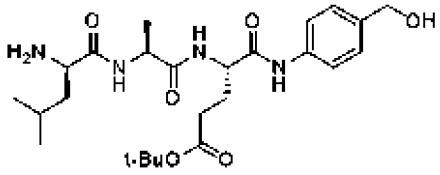
или его соль.

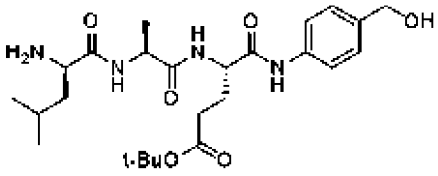
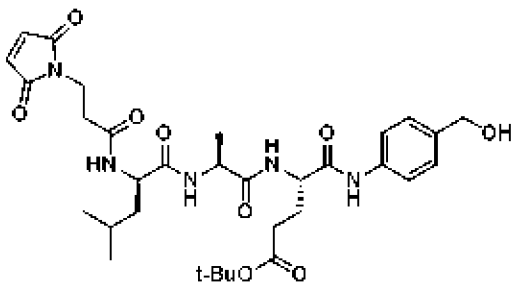
A74. Способ получения соединения, имеющего структуру

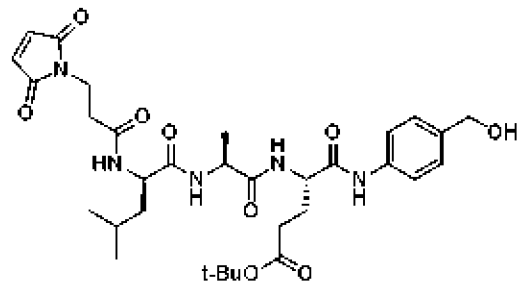
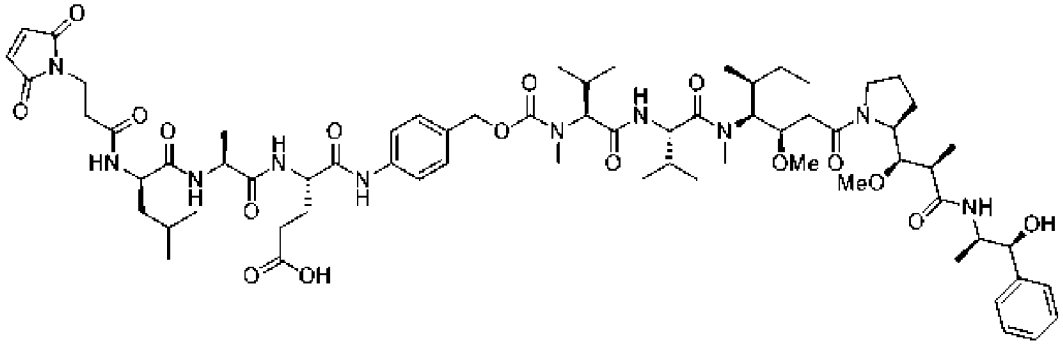


или его соли, включающий

a) введение  или его соли в реакцию с 4-аминобензиловым спиртом с последующим восстановлением с образованием  или его соли;

b) введение  или его соли в реакцию с  или его солью с последующим восстановлением с образованием  или его соли;

c) введение  или его соли в реакцию с 3-малеимидопропионовой кислотой с образованием  или его соли; и

d) превращение  или его соли в соединение  или его соль.

B1. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, представленного формулой **B1**:

$L-[LU-D']_p$ (**B1**)

или его фармацевтически приемлемой соли, где

L представляет собой лигандное звено;

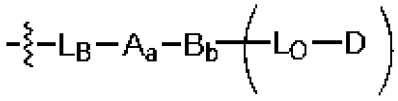
LU представляет собой линкерное звено;

D' представляет от 1 до 4 лекарственных звеньев (D) в каждом фрагменте лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D'; и

нижний индекс p является числом от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равен около 4 или около 8,

при этом лигандное звено получено из антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела, причем антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела способны к селективному связыванию с антигеном опухолевой ткани для последующего высвобождения лекарственного(-ых) звена(звеньев) в виде свободного лекарственного препарата,

при этом фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D' в каждом из соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции имеет структуру по формуле **B1A**:

 (**B1A**)

или ее соли,

где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к L;

D представляет собой лекарственное звено, при этом лекарственное звено представляет собой тубулизин;

L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающий лиганд;

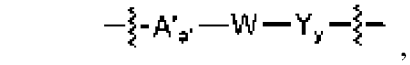
A представляет собой первое необязательное звено растяжения;

нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательное звено разветвления;

нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, при этом вторичный линкер имеет формулу:



где волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену, а волнистая линия, смежная с A' указывает место ковалентного присоединения L_O к остатку фрагмента лекарственный препарат-линкер;

A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, которое при наличии в отсутствие B становится подзвеном A,

нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено содержит трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-;

каждый Y при наличии представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено;

нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

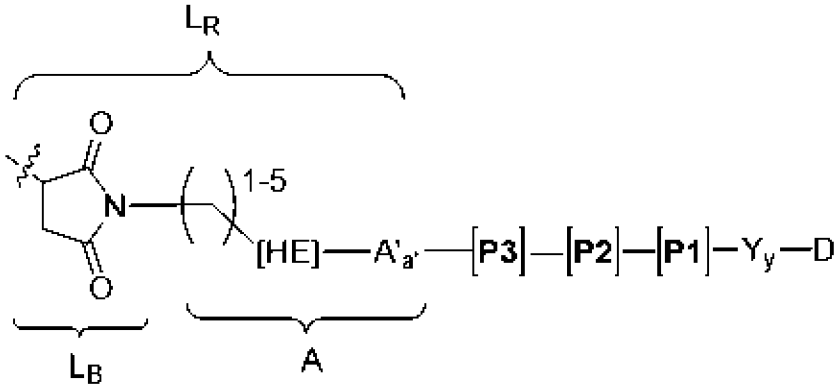
нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4,

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q равен 2, 3 или 4, когда нижний индекс b равен 1; и

при этом соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции имеют структуру по формуле **B1**, в которой нижний индекс p заменен нижним индексом p', где нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до

8, или равен 4 или 8.

B2. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B1, отличающаяся тем, что соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер по формуле 1H:



(формула B1H)

или его фармацевтически приемлемых солей, которая необязательно имеет незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и при этом

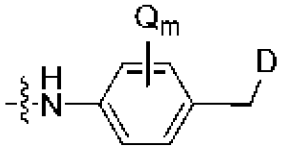
HE представляет собой усиливающее гидролиз звено;

A' представляет собой, при наличии, подзвено указанного первого звена растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно; и

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы лигандного звена.

B3. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B2, где HE представляет собой -C(=O).

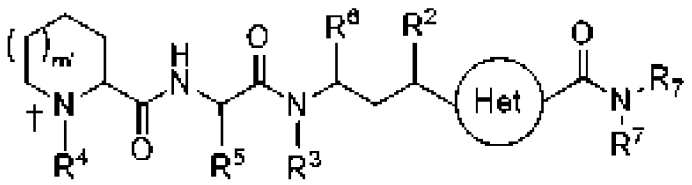
B4. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B1-B3, где $-Y_y-D$ имеет структуру:



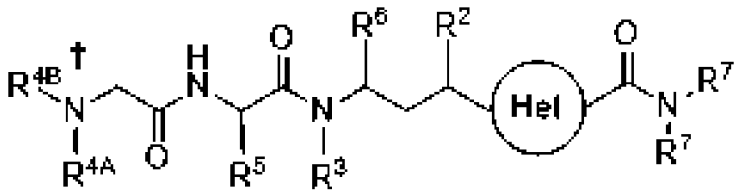
где каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из $-C_1-C_8$ алкила, $-O-(C_1-C_8$ алкила), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m равен 0, 1 или 2.

B5. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B1-B4, где D имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из



D_G и



D_H

где символ кинжала представляет точку присоединения D к фрагменту лекарственный препарат-линкер, а символ круга представляет 5-членный или 6-членный азотный гетероарилен, где указанные необходимые заместители этого гетероарилена находятся в 1,3- или *мета*-взаимосвязи друг с другом с необязательным замещением в оставшихся позициях;

R^2 представляет собой X^A-R^{2A}, где X^A представляет собой -O-, -S-, -N(R^{2B})-, -CH_2-, -(C=O)N(R^{2B})- или -O(C=O)N(R^{2B})- где R^{2B} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, R^{2A} представляет собой водород, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил или -C(=O)R^C, где R^C представляет собой водород, необязательно замещенный алкил или необязательно замещенный арил, или R^2 представляет собой водород O-связанный заместитель;

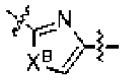
R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил;

R^4, R^{4A}, R^{4B}, R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный алкил, независимо выбранный,

один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, а другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил или необязательно замещенный гетероарилалкил, и

нижний индекс m’ равен 0 или 1.

B6. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B5, где R^4 представляет собой метил или R^{4A} и R^{4B} представляют собой метил.

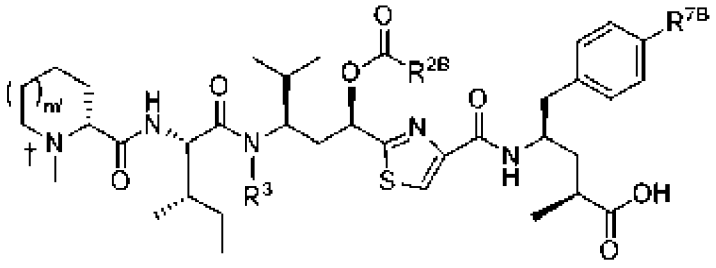
B7. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B5 или варианту осуществления B6, где 5-членный гетероарилен представлен структурой  , где X^B представляет собой O, S или N-$R^{B,}$ где R^B представляет собой водород или низший алкил.

B8. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B5-B-7, где 5-членный гетероарилен представляет собой двухвалентный фрагмент тиазола.

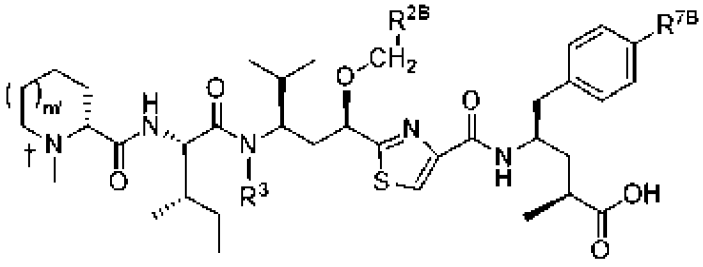
B9. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из

вариантов осуществления B5-B-8, где нижний индекс m' равен 1.

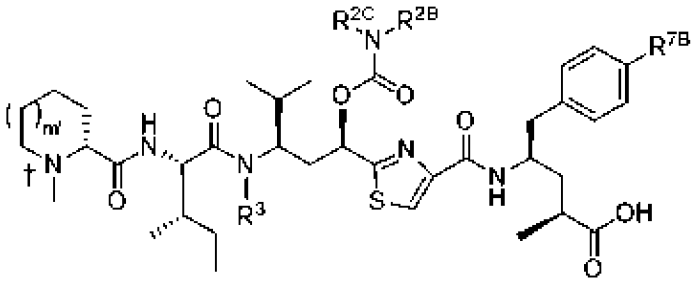
B10. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B5-B-9, где D имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из



D_{G-3},



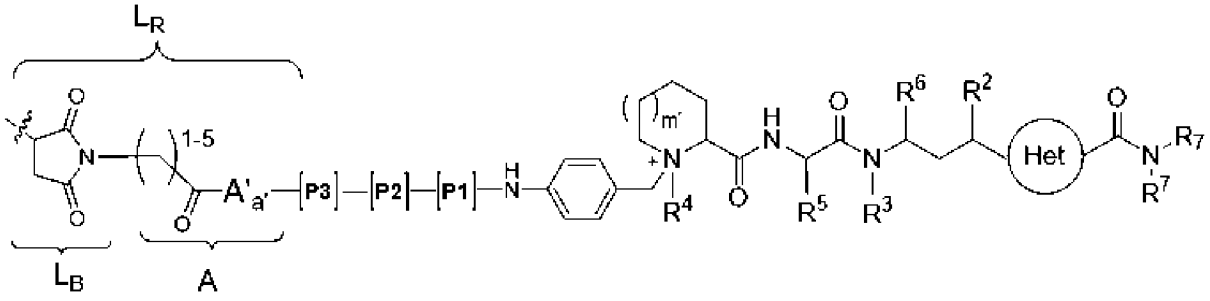
D_{G-4} и



D_{G-5},

где R^{7B} представляет собой водород или -OH, R^3 представляет собой низший алкил, а R^{2B} и R^{2C} независимо представляют собой водород или низший алкил.

B11. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B1, отличающаяся тем, что нижний индекс q равен 1, а соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер:



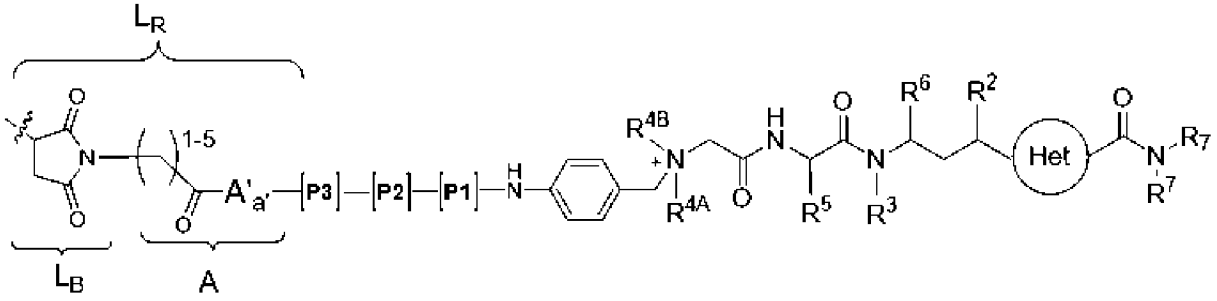
или его фармацевтически приемлемой соли, которая необязательно имеет незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких

соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и при этом:

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует; и

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы лигандного звена.

B12. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B1, отличающаяся тем, что нижний индекс q равен 1, а соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат в композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат преимущественно имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер:



или его фармацевтически приемлемой соли, которая необязательно имеет незначительное количество соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат, в которых один или более фрагментов лекарственный препарат-линкер в каждом из таких соединений имеют сукцинимидное кольцо в гидролизованной форме, и при этом:

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует; и

волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы лигандного звена.

B13. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B1-B12 или ее фармацевтически приемлемая соль, где пептидное расщепляемое звено представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; и

другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной.

B14. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B1-B13 или ее фармацевтически приемлемая соль, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala.

B15. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B1-B14 или ее фармацевтически приемлемая соль, где одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH.

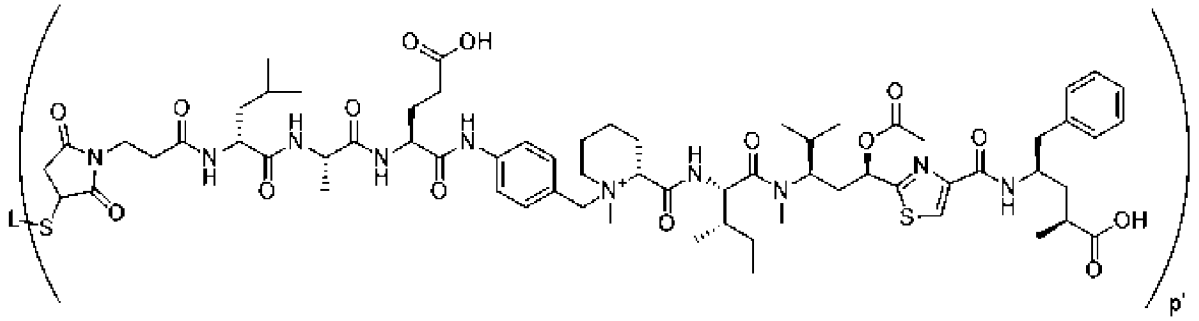
B16. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B1-B15 или ее фармацевтически приемлемая соль, где аминокислота P2 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а аминокислота P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH.

B17. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B1-B16 или ее фармацевтически приемлемая соль, где -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu- или -Ala-Asp-.

B18. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B1-B17 или ее фармацевтически приемлемая соль, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-.

B19. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B1-B15 или ее фармацевтически приемлемая соль, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp.

B20. Композиция соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B1, отличающаяся тем, что композиция содержит соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат, имеющие структуру



или его фармацевтически приемлемую соль,

где L представляет собой лигандное звено, а нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12.

B21. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B1-B20, где L представляет собой лигандное звено антитела интактного антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

B22. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B21, отличающаяся тем, что интактное антитело представляет собой интактное химерное, гуманизированное или человеческое антитело.

B23. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B21, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент способны селективно связываться с антигеном раковой клетки.

B24. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B21, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент

способны селективно связываться с антигеном иммунной клетки.

B25. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B21 или варианту осуществления B22, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать CD30.

B26. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B25, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6, соответственно.

B27. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B25 или варианту осуществления B26, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8.

B28. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B25-B27, отличающаяся тем, что интактное антитело представляет собой cAC10.

B29. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B21 или варианту осуществления B22, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать LIV1.

B30. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B29, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 518, 519, 520, 521, 522 и 523, соответственно.

B31. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B29 или варианту осуществления B30, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 524, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 525.

B32. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B29-B31, отличающаяся тем, что интактное антитело представляет собой ладиратузумаб.

B33. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B21 или варианту осуществления B22, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент способны селективно связывать TROP2.

B34. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B33, отличающаяся тем, что интактное антитело представляет собой сацитузумаб или датопотамаб.

B35. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B21 или варианту осуществления B22, отличающаяся тем, что интактное

антитело или его фрагмент способны селективно связывать ALPP.

B36. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B21 или варианту осуществления B22, отличающаяся тем, что интактное антитело способно селективно связывать IL1RAP.

B37. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B36, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 96, 97, 98, 99, 100 и 101, соответственно.

B38. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B36 или варианту осуществления B37, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 102, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 103.

B39. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B36-B38, отличающаяся тем, что интактное антитело представляет собой ниданилимаб.

B40. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B21 или варианту осуществления B22, отличающаяся тем, что интактное антитело способно селективно связывать ASCT2.

B41. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B40, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 794, 795, 796, 797, 798 и 799, соответственно.

B42. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B40 или варианту осуществления B41, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 801, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 802.

B43. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B40, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 790, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 791.

B44. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по варианту осуществления B40, отличающаяся тем, что интактное антитело или его фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 792, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 793.

B45. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B1-B44, где нижний индекс p находится в диапазоне от около 2 до около 12, или от около 2 до около 10, или от около 2 до около 8, или нижний индекс p равен около 2, около 4 или около 8.

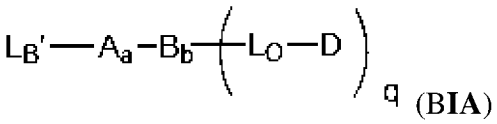
B46. Фармацевтически приемлемый состав, причем состав содержит эффективное количество композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B1-B45 и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

B47. Фармацевтически приемлемый состав по варианту осуществления B46, отличающийся тем, что по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой жидкий носитель, который обеспечивает жидкий состав, причем жидкий состав пригоден для лиофилизации или введения нуждающемуся в этом субъекту.

B48. Фармацевтически приемлемый состав по варианту осуществления B46, отличающийся тем, что состав представляет собой лиофилизированное твердое вещество или жидкий состав по варианту осуществления B47, при этом по меньшей мере один эксципиент твердого состава представляет собой лиопротектор.

B49. Способ лечения рака, включающий введение нуждающемуся в этом субъекту терапевтически эффективного количества композиции конъюгата лиганд-лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления B1-B45 или фармацевтически приемлемого состава по любому из вариантов осуществления B46-B48.

B50. Соединение лекарственный препарат-линкер по формуле **BIA**:



(**BIA**)

или его соль, где

D представляет собой лекарственное звено, при этом лекарственное звено представляет собой тубулизин;

L_B' представляет собой фрагмент-предшественник, ковалентно связывающий лиганд;

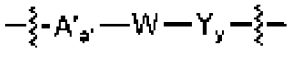
A представляет собой первое необязательное звено растяжения;

нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A, соответственно;

B представляет собой необязательное звено разветвления;

нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, при этом вторичный линкер имеет формулу:



,

где волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения

L_O к лекарственному звену, а волнистая линия, смежная с A’ указывает место ковалентного присоединения L_O к остатку соединения лекарственный препарат-линкер;

A’ представляет собой второе необязательное звено растяжения, которое при наличии в отсутствие B становится подзвеном A;

нижний индекс a’ равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A’, соответственно,

W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено содержит трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-;

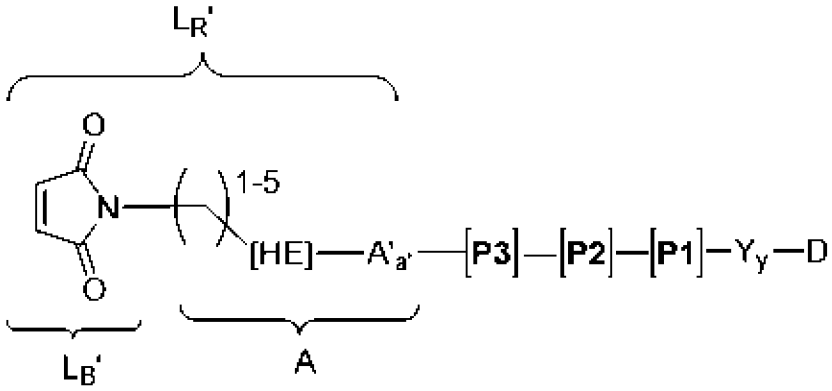
каждый Y при наличии представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено;

нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 4, и

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q равен 2, 3 или 4, когда нижний индекс b равен 1.

B51. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления B50, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру по формуле BIH:



(формула BIH)

или его соль, где:

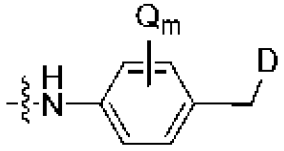
HE представляет собой усиливающее гидролиз звено; и

A’ представляет собой, при наличии, подзвено указанного первого звена

растяжения (A); нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно.

B52. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления B51, где HE представляет собой -C(=O).

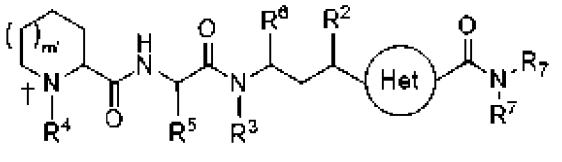
B53. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления B50-B52, где $-Y_y-D$ имеет структуру:



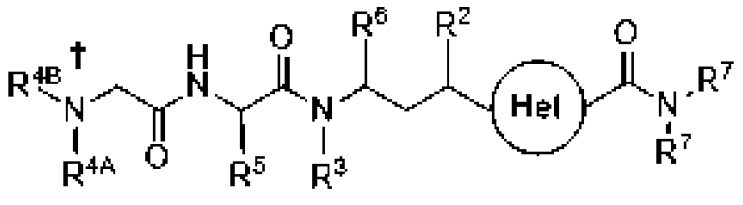
где каждый Q независимо выбран из группы, состоящей из $-C_1-C_8$ алкила, $-O-(C_1-C_8$ алкила), галогена, нитро и циано; и

нижний индекс m равен 0, 1 или 2.

B54. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления B50-B53, где D имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из



D_G и



D_H

где символ кинжала представляет точку присоединения D к фрагменту лекарственный препарат-линкер, а символ круга представляет 5-членный или 6-членный азотный гетероарилен, где указанные необходимые заместители этого гетероарилена находятся в 1,3- или *мета*-взаимосвязи друг с другом с необязательным замещением в оставшихся позициях;

R^2 представляет собой X^A-R^{2A}, где X^A представляет собой -O-, -S-, $-N(R^{2B})-$, $-CH_2-$, $-(C=O)N(R^{2B})-$ или $-O(C=O)N(R^{2B})-$ где R^{2B} представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, R^{2A} представляет собой водород, необязательно замещенный алкил, необязательно замещенный арил или $-C(=O)R^C$, где R^C представляет собой водород, необязательно замещенный алкил или необязательно замещенный арил, или R^2 представляет собой водород O-связанный заместитель;

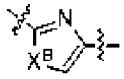
R^3 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил;

R^4, R^{4A}, R^{4B}, R^5 и R^6 представляют собой необязательно замещенный алкил, независимо выбранный,

один R^7 представляет собой водород или необязательно замещенный алкил, а другой R^7 представляет собой необязательно замещенный арилалкил или необязательно замещенный гетероарилалкил, и

нижний индекс m’ равен 0 или 1.

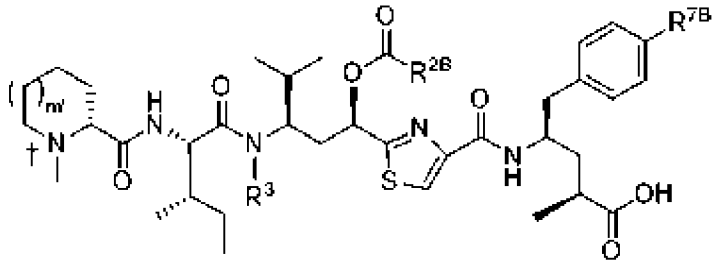
B55. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления B54, где R^4 представляет собой метил или R^{4A} и R^{4B} представляют собой метил.

B56. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления B54 или варианту осуществления B55, где 5-членный гетероарилен представлен структурой  , где X^B представляет собой O, S или N-$R^{B,}$ где R^B представляет собой водород или низший алкил.

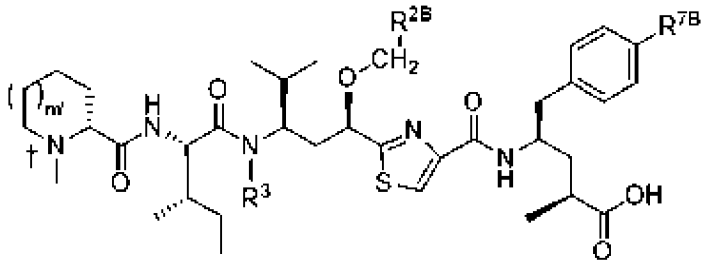
B57. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления B54-B56, где 5-членный гетероарилен представляет собой двухвалентный фрагмент тиазола.

B58. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления B54-B57, где нижний индекс m’ равен 1.

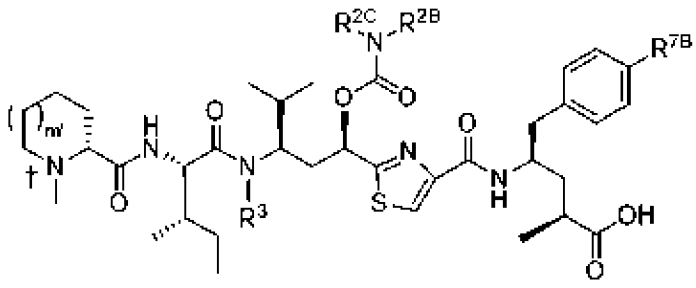
B59. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления B54-B58, где D имеет формулу, выбранную из группы, состоящей из



D_{G-3},



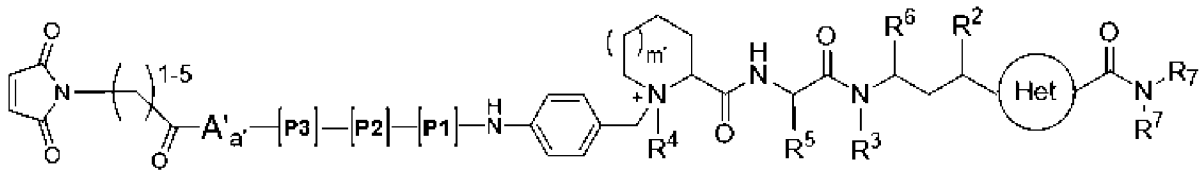
D_{G-4} и



D_{G-5},

где R^{7B} представляет собой водород или -OH, R^3 представляет собой низший алкил, а R^{2B} и R^{2C} независимо представляют собой водород или низший алкил.

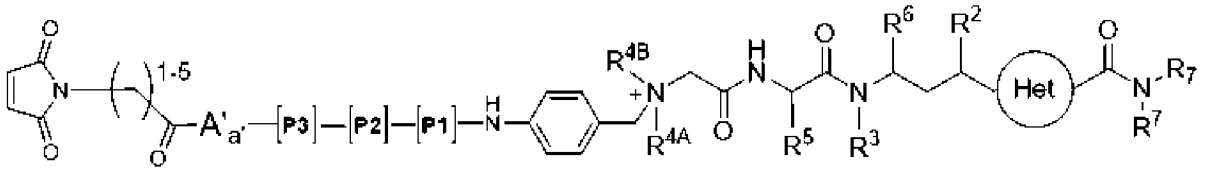
B60. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления B50, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



или его соль, где

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует.

B61. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления B50, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



или его соль, где

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует.

B62. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления B50-B61 или ее фармацевтически приемлемая соль, где пептидное расщепляемое звено представляет собой трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; и

другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной.

B63. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления B50-B62, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala.

B64. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления B50-B63, где одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH.

B65. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления B50-B64, где аминокислота P2 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у валина, а аминокислота P1 является отрицательно заряженной при плазменном физиологическом pH.

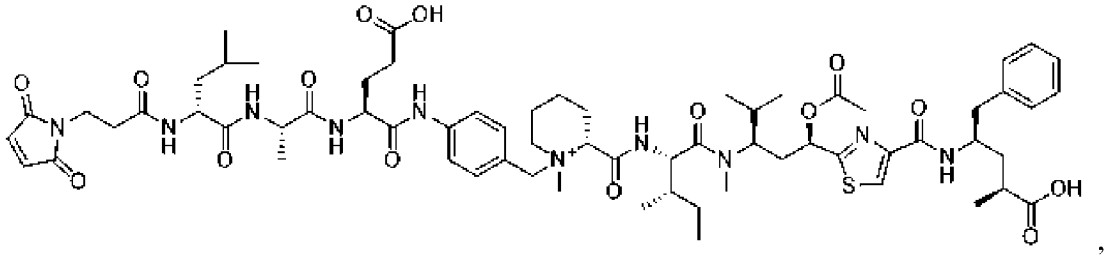
B66. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления B50-B65, где -P2-P1- представляет собой -Ala-Glu- или -Ala-Asp-.

B67. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления B50-B66, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-.

B68. Соединение лекарственный препарат-линкер по любому из вариантов осуществления B50-B64, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет

собой Ala, Glu или Asp.

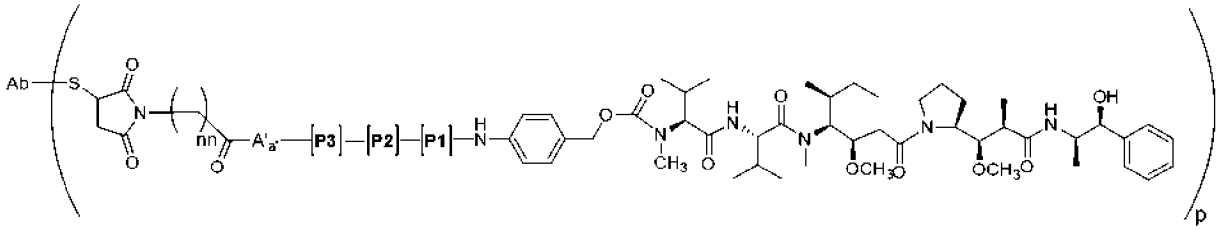
B69. Соединение лекарственный препарат-линкер по варианту осуществления B50, отличающееся тем, что соединение лекарственный препарат-линкер имеет структуру:



,

или его соль.

C1. Конъюгат антитело-лекарственный препарат, содержащий антигенсвязывающий белок или его фрагмент, который связывает GPNMB, при этом конъюгат антитело-лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12;

нижний индекс nn является числом от 1 до 5;

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует;

каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

C2. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления C1, где нижний индекс nn равен 2.

C3. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления C1 или C2, где:

аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; и

другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной.

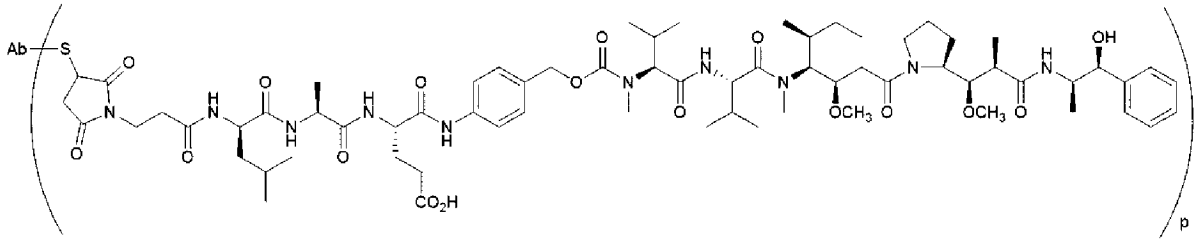
C4. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C3, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala.

C5. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C4, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp.

C6. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C5, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-.

C7. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C6, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Glu-.

C8. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C7, отличающийся тем, что конъюгат антитело - лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль,

где Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12.

C9. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C8, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит следующие 6 HVR:

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 894;

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 895;

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 896;

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 897;

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 898; и

HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 899.

C10. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C9, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 892 и VL имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 893.

C11. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов

осуществления C1-C10, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 892 и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 893.

C12. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C11, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 890, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 891.

C13. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C12, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой моноклональное антитело или его фрагмент.

C14. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C13, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой химерное антитело или его фрагмент.

C15. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C14, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой гуманизированное антитело или его фрагмент.

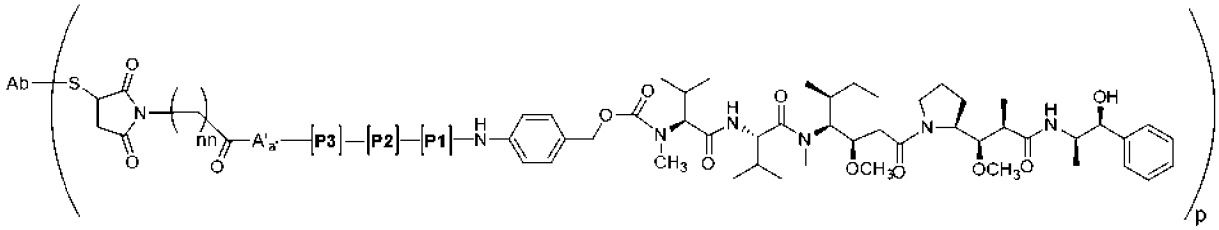
C16. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C15, отличающийся тем, что фрагмент выбран из фрагмента Fab, Fab', Fv, scFv или $(Fab')_2$.

C17. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C16 и фармацевтически приемлемый носитель.

C18. Способ лечения GPNMB-экспрессирующего рака у индивида, включающий введение нуждающемуся в этом индивиду эффективного количества конъюгата антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления C1-C16 или фармацевтической композиции по варианту осуществления C17.

C19. Способ по варианту осуществления C18, отличающийся тем, что GPNMB-экспрессирующий рак представляет собой меланому, рак легкого, рак молочной железы, рак головы и шеи, рак яичника, саркому, мезотелиому или рак шейки матки.

D1. Конъюгат антитело-лекарственный препарат, содержащий антигенсвязывающий белок или его фрагмент, который связывает CD228, при этом конъюгат антитело-лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12;

нижний индекс nn является числом от 1 до 5;

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует;

каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

D2. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления D1, где нижний индекс nn равен 2.

D3. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления D1 или D2, где:

аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; и

другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной.

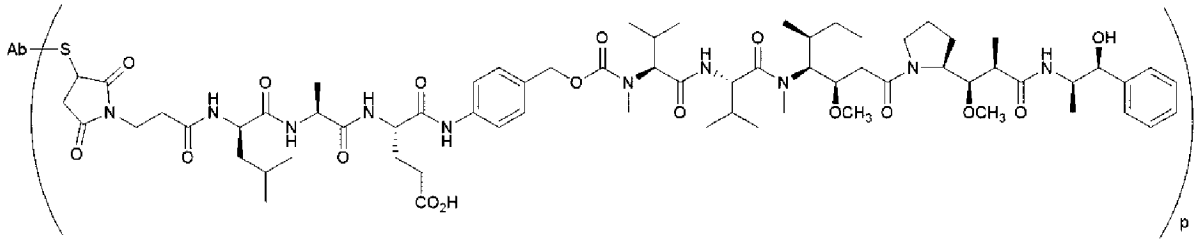
D4. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D3, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala.

D5. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D4, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp.

D6. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D5, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-.

D7. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D6, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Glu-.

D8. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D7, отличающийся тем, что конъюгат антитело - лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль,

где Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12.

D9. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D8, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит следующие 6 HVR:

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 900;

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 901;

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 902;

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 903;

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 904; и

HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 905.

D10. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D9, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 906 и VL имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 907.

D11. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D10, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 906 и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 907.

D12. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D11, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 908, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 909.

D13. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D12, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой моноклональное антитело или его фрагмент.

D14. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D13, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой химерное антитело или его фрагмент.

D15. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D14, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой гуманизированное антитело или его фрагмент.

D16. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D15, отличающийся тем, что фрагмент выбран из фрагмента Fab, Fab', Fv, scFv или $(Fab')_2$.

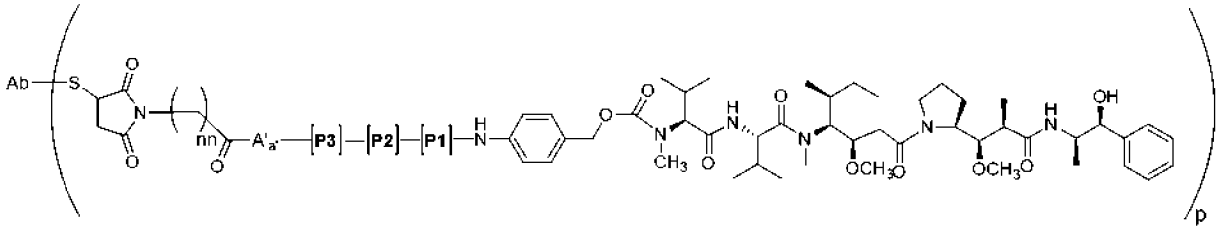
D17. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D16 и

фармацевтически приемлемый носитель.

D18. Способ лечения CD228-экспрессирующего рака у индивида, включающий введение нуждающемуся в этом индивиду эффективного количества конъюгата антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления D1-D16 или фармацевтической композиции по варианту осуществления D17.

D19. Способ по варианту осуществления D18, отличающийся тем, что CD228-экспрессирующий рак представляет собой хронический лейкоз, лимфому, множественную миелому, острый лимфобластный лейкоз B-типа, хронический миелоцитарный лейкоз, неходжкинскую лимфому и ходжкинскую лимфому, B-клеточную лимфому или диффузную крупноклеточную B-клеточную лимфому.

E1. Конъюгат антитело - лекарственный препарат, содержащий антигенсвязывающий белок или его фрагмент, который связывает $\alpha v\beta 6$, при этом конъюгат антитело - лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12;

нижний индекс nn является числом от 1 до 5;

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует;

каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

E2. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления E1, где нижний индекс nn равен 2.

E3. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления E1 или E2, где:

аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; и

другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной.

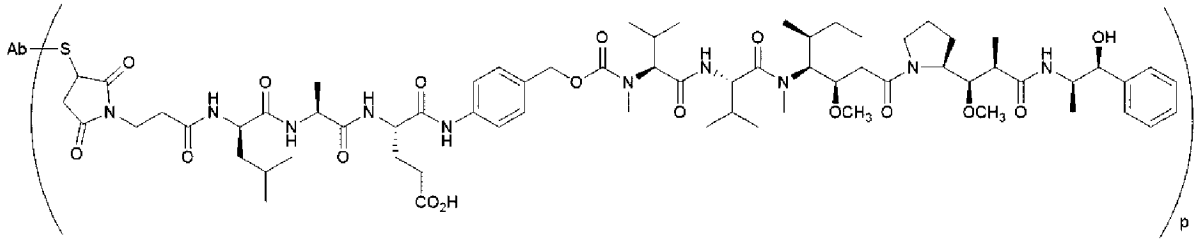
E4. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E3, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala.

E5. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E4, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp.

E6. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E5, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-.

E7. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E6, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Glu-.

E8. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E7, отличающийся тем, что конъюгат антитело - лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль,

где Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12.

E9. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E8, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит следующие 6 HVR:

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 914;

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 915;

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 916;

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 917;

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 918; и

HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 919.

E10. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E9, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 912 и VL имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 913.

E11. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов

осуществления E1-E10, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 912 и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 913.

E12. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E11, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 910, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 911.

E13**.** Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E12, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой моноклональное антитело или его фрагмент.

E14. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E13, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой химерное антитело или его фрагмент.

E15. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E14, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой гуманизированное антитело или его фрагмент.

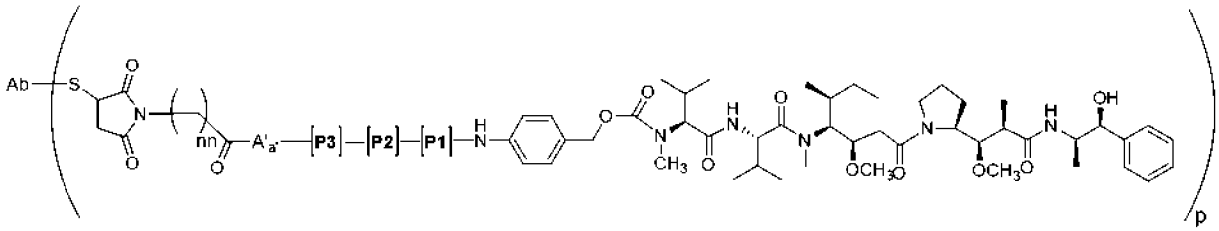
E16. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E15, отличающийся тем, что фрагмент выбран из фрагмента Fab, Fab', Fv, scFv или $(Fab')_2$.

E17. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E16 и фармацевтически приемлемый носитель.

E18. Способ лечения αvβ**6**-экспрессирующего рака у индивида, включающий введение нуждающемуся в этом индивиду эффективного количества конъюгата антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления E1-E16 или фармацевтической композиции по варианту осуществления E17.

E19. Способ по варианту осуществления E18, отличающийся тем, что αvβ**6**-экспрессирующий рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ), рак головы и шеи, рак пищевода, рак молочной железы, рак яичника, рак мочевого пузыря, рак кожи (РК), рак яичника, рак шейки матки, рак желудка или рак поджелудочной железы.

F1. Конъюгат антитело-лекарственный препарат, содержащий антигенсвязывающий белок или его фрагмент, который связывает CD30, при этом конъюгат антитело-лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12;

нижний индекс nn является числом от 1 до 5;

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует;

каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

F2. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления F1, где нижний индекс nn равен 2.

F3. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления F1 или F2, где:

аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; и

другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной.

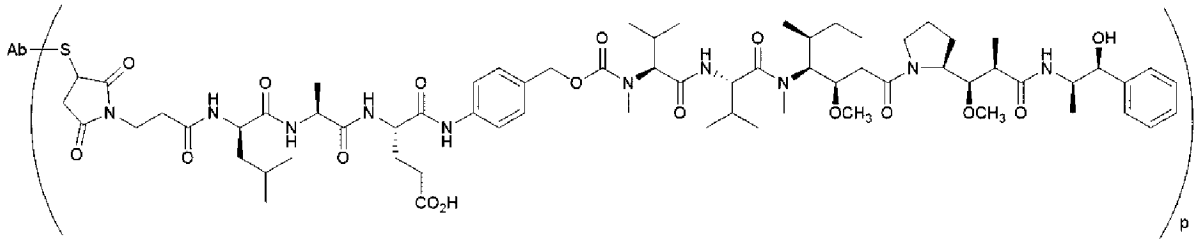
F4. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F3, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala.

F5. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F4, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp.

F6. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F5, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-.

F7. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F6, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Glu-.

F8. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F7, отличающийся тем, что конъюгат антитело - лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль,

где Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12.

F9. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F8, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит следующие 6 HVR:

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 920;

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 921;

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 922;

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 923;

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 924; и

HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 925.

F10. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F9, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 926 и VL имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 927.

F11. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F10, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 926 и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 927.

F12. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F11, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 928 или SEQ ID NO: 929, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 930.

F13. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F12, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой моноклональное антитело или его фрагмент.

F14. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F13, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой химерное антитело или его фрагмент.

F15. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов

осуществления F1-F14, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой гуманизированное антитело или его фрагмент.

F16. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F15, отличающийся тем, что фрагмент выбран из фрагмента Fab, Fab', Fv, scFv или $(Fab')_2$.

F17. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F16 и фармацевтически приемлемый носитель.

F18. Способ лечения CD30-экспрессирующего заболевания или состояния у индивида, включающий введение нуждающемуся в этом индивиду эффективного количества конъюгата антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления F1-F16 или фармацевтической композиции по варианту осуществления F17.

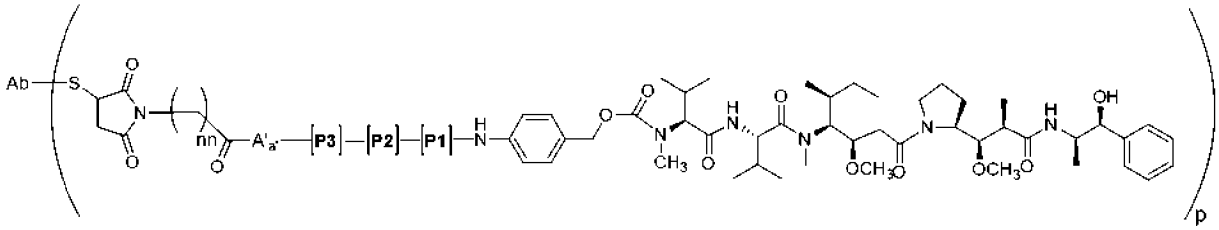
F19. Способ по варианту осуществления F18, отличающийся тем, что CD30-экспрессирующее заболевание или состояние представляет собой рак.

F20. Способ по варианту осуществления F19, отличающийся тем, что рак представляет собой болезнь Ходжкина или неходжкинскую лимфому.

F21. Способ по варианту осуществления F18, отличающийся тем, что CD30-экспрессирующее заболевание или состояние представляет собой аутоиммунное заболевание.

F22. Способ по варианту осуществления F18, отличающийся тем, что CD30-экспрессирующее заболевание или состояние представляет собой инфекционное заболевание.

G1. Конъюгат антитело-лекарственный препарат, содержащий антигенсвязывающий белок или его фрагмент, который связывает LIV1, при этом конъюгат антитело-лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12;

нижний индекс nn является числом от 1 до 5;

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует;

каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

G2. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления G1, где нижний индекс nn равен 2.

G3. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления G1 или G2, где:

аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; и

другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной.

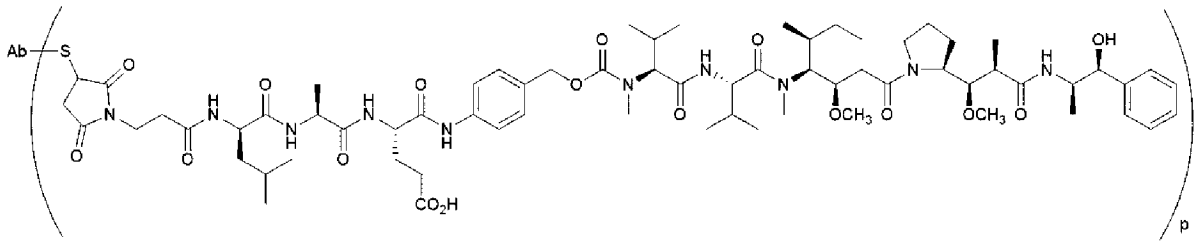
G4. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G3, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala.

G5. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G4, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp.

G6. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G5, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-.

G7. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G6, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Glu-.

G8. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G7, отличающийся тем, что конъюгат антитело - лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль,

где Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12.

G9. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G8, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит следующие 6 HVR:

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 936;

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 937;

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 938;

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 939;

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 940; и

HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 941.

G10. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G9, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 934 и VL имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 935.

G11. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G10, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 934 и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 935.

G12. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G11, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 932, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 933.

G13. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G12, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой моноклональное антитело или его фрагмент.

G14. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G13, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой химерное антитело или его фрагмент.

G15. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G14, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой гуманизированное антитело или его фрагмент.

G16. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G15, отличающийся тем, что фрагмент выбран из фрагмента Fab, Fab', Fv, scFv или $(Fab')_2$.

G17. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G16 и фармацевтически приемлемый носитель.

G18. Способ лечения LIV1-экспрессирующего рака у индивида, включающий введение нуждающемуся в этом индивиду эффективного количества конъюгата антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления G1-G16 или фармацевтической композиции по варианту осуществления G17.

G19. Способ по варианту осуществления G18, отличающийся тем, что LIV1-

экспрессирующий рак представляет собой рак молочной железы, рак предстательной железы, рак яичника, рак эндометрия, рак шейки матки, печени, желудка, почки и плоскоклеточные карциному, рак кожи, мелкоклеточную карциному легкого или карциноидную опухоль легкого.

G20. Способ по варианту осуществления G19, отличающийся тем, что рак молочной железы представляет собой HER2-позитивный рак молочной железы, гормон-чувствительный рак молочной железы или трижды негативный рак молочной железы.

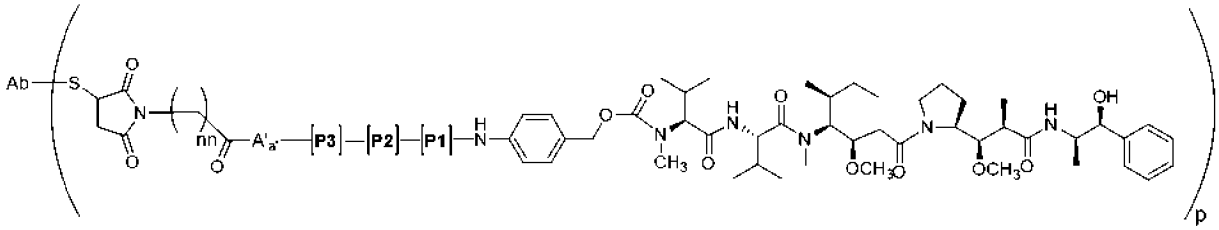
G21. Способ по варианту осуществления G19, отличающийся тем, что плоскоклеточная карцинома представляет собой рак мочевого пузыря, легкого или головы и шеи.

G22. Способ по варианту осуществления G19, отличающийся тем, что рак кожи представляет собой меланому.

G23. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления G1, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент специфически связывается с SEQ ID NO: 942.

G24. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления G1, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент специфически конкурирует за связывание со вторым антителом, которое содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 934 и VL, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 935, и связывается с SEQ ID NO: 942.

H1. Конъюгат антитело-лекарственный препарат, содержащий антигенсвязывающий белок или его фрагмент, который связывает CD19, при этом конъюгат антитело-лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12;

нижний индекс nn является числом от 1 до 5;

нижний индекс a’ равен 0, а A’ отсутствует;

каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся

аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

H2. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления H1, где нижний индекс nn равен 2.

H3. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по варианту осуществления H1 или H2, где:

аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; и

другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной.

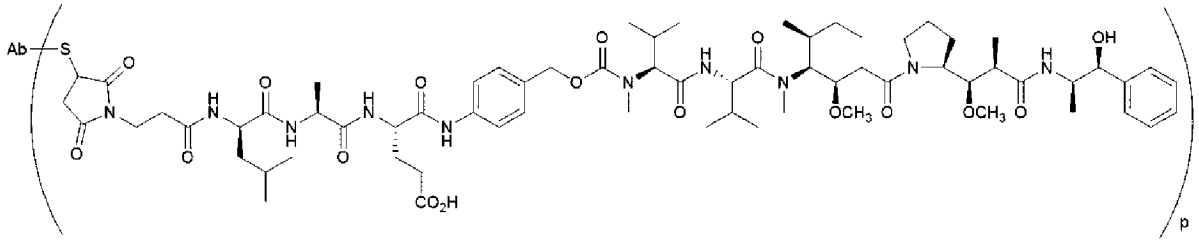
H4. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H3, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala.

H5. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H4, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp.

H6. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H5, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-.

H7. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H6, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Glu-.

H8. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H7, отличающийся тем, что конъюгат антитело - лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль,

где Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12.

H9. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H8, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит следующие 6 HVR:

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 944;

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 945;

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 946;

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 948;

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 949; и

HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 950.

H10. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H9, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 943 и VL имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 947.

H11. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H10, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 943 и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 947.

H12. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H11, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 951, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 952.

H13. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H12, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой моноклональное антитело или его фрагмент.

H14. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H13, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой химерное антитело или его фрагмент.

H15. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H14, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой гуманизированное антитело или его фрагмент.

H16. Конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H15, отличающийся тем, что фрагмент выбран из фрагмента Fab, Fab', Fv, scFv или $(Fab')_2$.

H17. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H16 и фармацевтически приемлемый носитель.

H18. Способ лечения CD19-экспрессирующего рака у индивида, включающий введение нуждающемуся в этом индивиду эффективного количества конъюгата антитело - лекарственный препарат по любому из вариантов осуществления H1-H16 или фармацевтической композиции по варианту осуществления H17.

H19. Способ по варианту осуществления H18, отличающийся тем, что CD19-экспрессирующий рак представляет собой хронический лейкоз, лимфому, множественную миелому, острый лимфобластный лейкоз B-типа, хронический миелоцитарный лейкоз, неходжкинскую лимфому и ходжкинскую лимфому, B-клеточную лимфому или

диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому.

ПРИМЕРЫ

***Примеры 1*-19**

[0924] **Общая информация.** Следующая информация относится к процедурам синтеза и экспериментам, описанным в примерах 1-19, если не указано иное. Все коммерчески доступные безводные растворители использовали без дополнительной очистки. Систему УВЭЖХ-МС, которую использовали для получения характеристик трипептидных соединений лекарственный препарат-линкер, состояла из масс-детектора Waters SQ, соединенного с Acquity Ultra Performance LC, оснащенной Acquity UPLC BEH C18, 130 Å, 1,7 мкм, 2,1×50 мм, обращенно-фазовой колонкой, или Waters Cortecs UPLC C18, 90 Å, 1,6 мкм, 2,1×50 мм . Кислая подвижная фаза (0,1% муравьиная кислота) состояла из градиента от 3% ацетонитрила/97% воды до 100% ацетонитрила (скорость потока=0,5 мкл/мин). Система УВЭЖХ-МС 2 состояла из масс-спектрометра Waters Xevo G2 ToF, соединенного с Waters Acquity H-Class Ultra Performance LC, оснащенной обращенно-фазовой колонкой Acquity UPLC BEH C18 2,1×50 мм, 1,7 мкм. Препаративную ВЭЖХ проводили на бинарном градиентном модуле Waters 2545 с фотодиодным матричным детектором Waters 2998 или Teledyne ISCO ACCQPrep HP150. Трипептидные соединения лекарственный препарат-линкер очищали на 250 мм ЖХ колонке C12 Phenomenex Synergi™ 4 мкм Max-RP 80 Å, соответствующего диаметра, элюируя 0,1% трифторуксусной кислотой в воде (растворитель A) и 0,1% трифторуксусной кислотой в ацетонитриле (растворитель B). Способы очистки в общем случае состояли из линейных градиентов от растворителя A до растворителя B, с изменением от 90% водного растворителя A до 10% растворителя A. The скорость потока устанавливали в соответствии с возможностями колонки с мониторингом на 220 нм. ЯМР-спектральные данные получали на 400 МГц спектрометре Varian Mercury. Химические сдвиги (δ) приведены в м. д. относительно TMS. Постоянные спин-спинового взаимодействия (J) приведены в герцах.

[0925] **In vitro цитотоксичность.** Цитотоксичность трипептидного конъюгата антитело - лекарственный препарат измеряли с помощью анализа клеточной пролиферации, используя протокол, описанный в Promega Corp. Technical Bulletin TB288; and Mendoza et al., 2002, Cancer Res. 62:5485-5488), способы которого в явном виде включены в данный документ посредством ссылки. Вкратце, 40 мкл аликвоту клеточной культуры, содержащую около 400 клеток в среде, вносили в каждую лунку 384-луночного планшета с непрозначными стенками. 10 мкл аликвоту свободного препарата конъюгата лиганд-лекарственный препарат добавляли в экспериментальные лунки и инкубировали в течение 96 ч, а затем уравновешивали при комнатной температуре в течение приблизительно 30 минут, после чего в каждую лунку добавляли объем реагента CellTiter-Glo™, эквивалентный по объему присутствующей клеточной культуральной среде. Содержимое смешивали в течение 2 минут на орбитальном шейкере для индукции лизиса клеток и инкубировали планшет при комнатной температуре в течение 10 минут, чтобы

стабилизировать сигнал люминесценции для записи.

[0926] **Анализ флуоресценции.** В 384-луночный планшет добавляли смесь гомогената опухолевой или нормальной ткани и цитратного буфера (100 мМ, pH 4,5; 9 мкл), а потом - флуоресцентно меченное библиотечное соединение (1 мкл; растворенное в 50% MeCN). Реакционную смесь инкубировали при 37°C и несколько раз считывали флуоресценция (возбуждение на 330 нм, испускание на 450 нм) в течение 6-часового периода. Кратность изменения флуоресценции определяли путем деления значения флуоресценции в каждый момент времени на фоновую флуоресценцию без добавления гомогената.

[0927] **Конъюгация.** Антитело частично восстанавливали, используя соответствующие эквиваленты TCEP, в соответствии с процедурой из US 2005/0238649, которая в явном виде включена в данный документ посредством ссылки. Вкратце, антитело в фосфатно-солевом буфере с 2 мМ ЭДТА, pH 7,4, обрабатывали 2,1 экв. TCEP и затем инкубировали при 37 °C в течение 45 минут. Значение тиол/Ab проверяли с помощью реакции восстановленного антитела с соединением 1 и используя хроматографию с гидрофобным взаимодействием для определения нагрузки.

[0928] Трипептидные соединения лекарственный препарат-линкер на основе ауристатина конъюгировали с частично восстановленным антителом, используя способ из US 2005/0238649, которая в явном виде включена в данный документ посредством ссылки. Вкратце, соединение лекарственный препарат-линкер (50% избыток) в ДМСО добавляли к восстановленному антителу в ФСБ с ЭДТА вместе с дополнительным количеством ДМСО до общего содержания реакционного растворителя 10-20%. Через 30 минут при температуре окружающей среды добавляли избыток QuadraSil MP™, чтобы погасить все непрореагировавшие малеимидные группы. Затем полученный конъюгат антитело - лекарственный препарат очищали и проводили замену буфера путем обессоливания, используя смолу Sephadex G25 в буфере ФСБ, и хранили при -80°C до дальнейшего использования. Концентрацию белка полученной композиции ADC определяли на 280 нм. Соотношение лекарственный препарат-линкер (DAR) конъюгата определяли с помощью хроматографии с гидрофобным взаимодействием (ХГВ).

[0929] **In vivo цитотоксичность.** Раковые клетки имплантировали мышам. После того, как объем опухолей достигал 100 мм^3, из восстановленного антитела готовили ADC и вводили трипептидное соединение лекарственный препарат-линкер посредством внутрибрюшинной инъекции. Затем размер опухолей измеряли дважды в неделю до конца исследования.

[0930] **Гомогенизация ткани**. Нормальную ткань или опухолевую ткань из мышиных ксенотрансплантатов суспендировали в буфере (50 мМ Трис, 150 мМ KCl, pH 7,0) и добавляли в пробирку, содержащую гранулы для лизиса Matrix D (mpbio). Ткань гомогенизировали с помощью гомогенизатора Precellys™ 24. Гомогенизированный образец центрифугировали при 1000 xg в течение 10 мин, а полученный супернатант собирали и замораживали при -80°C до дальнейшего использования.

[0931] **Определение токсичности.** Каждое трипептидное соединение лекарственный препарат-линкер приводили в реакцию с восстановленным не связывающим антителом для получения не связывающего контрольного ADC, и вводили в/в самкам крыс линии Спрег Доули при различных концентрациях. Животных умерщвляли в день 4 или 28 после введения.

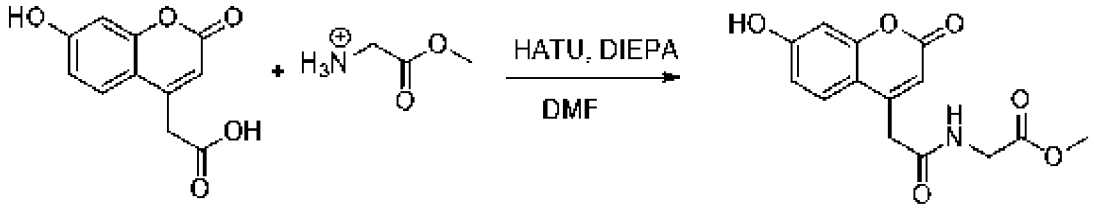
Пример 1: Получение п-азидобензилового спирта (Az-PABA)

[0932] В круглодонную колбу добавляли п-аминобензиловый спирт (100 моль %), суспендированный в 5 М HCl (5 мл на г PABA). Колбу охлаждали до 4°C с последующим покапельным добавлением водного $NaNO_2$ (150 моль %; 20 мл на грамм PABA). Затем добавляли NaN_3, а реакцию нагревали до комнатной температуры и инкубировали в течение 16 ч. Реакционную смесь разводили в насыщенном растворе $NaHCO_3$ и экстрагировали EtOAc. Экстракт сушили $MgSO_4$ и концентрировали. Продукт очищали, используя градиент EtOAc/гексаны (6%-42% EtOAc) с колонкой SNAP-KP-Sil Biotage с получением указанного в заголовке соединения в виде оранжевого материала (90% выход). ^{1}H-ЯМР (d_6-ДМСО) δ 7,38-7,35 (C=CH, д, 2H), 7,11-7,07 (C=CH, д, 2H), 5,25-5,22 (OH, м, 1H), 4,50-4,46 (CH2, д, 2H)

Пример 2: Получение п-азидобензилбромида.

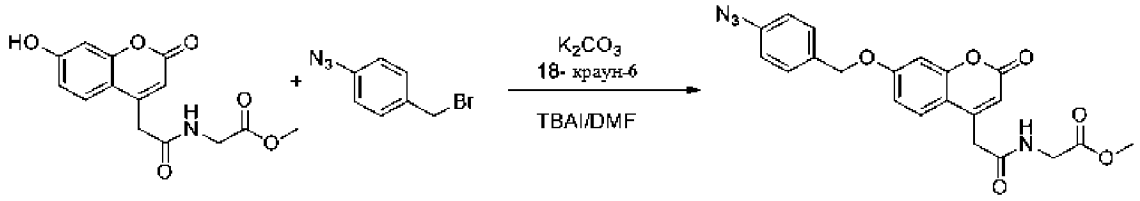
[0933] В круглодонную колбу добавляли Az-PABA (100 моль %), растворенный в хлороформе, в атмосфере азота. В раствор каплями добавляли PBr_3 (120 моль %). Реакционную смесь инкубировали в течение 2 ч, после чего ее разводили $CHCl_3$ и промывали 1 М HCl, а потом солевым раствором. Экстракт сушили $MgSO_4$ и концентрировали. Продукт очищали, используя градиент EtOAc/гексаны (6%-42% EtOAc) с колонкой SNAP-KP-Sil Biotage с получением указанного в заголовке соединения с выходом 75%.

Пример 3: Получение метил (2-(7-гидрокси-2-оксо-2H-хромен-4-ил)ацетил)глицината (HO-Coum-Gly-OMe).



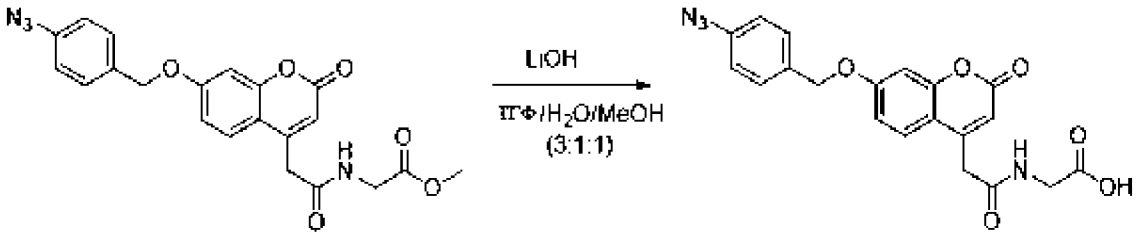
[0934] В сцинтилляционный флакон добавляли H-Gly-OMe (300 моль %), растворенный в ДМФ и ДИПЭА (350 моль %). В этот флакон добавляли 2-(6-гидрокси-2-оксо-2H-хромен-4-ил)уксусную кислоту (100 моль %). Затем добавляли ДМФ, пока оба реагента полностью не растворялись. Затем добавляли HATU (110 моль %), а потом ДИПЭА (110 моль %) и перемешивали реакционную смесь в течение 45 мин. После этого реакционную смесь разводили в EtOAc и промывали 200 мМ HCl. Водный слой обратно экстрагировали 3x EtOAc. Объединенные органические вещества промывали солевым раствором, сушили $MgSO_4$ и концентрировали с получением указанного в заголовке соединения, которое очищали с выходом 80% из кипящего изопропилового спирта.

Пример 4: Получение метил (2-(7-((4-азидобензил)окси)-2-оксо-2H-хромен-4-ил)ацетил)глицината (Az-PABE-Coum-Gly-OMe)



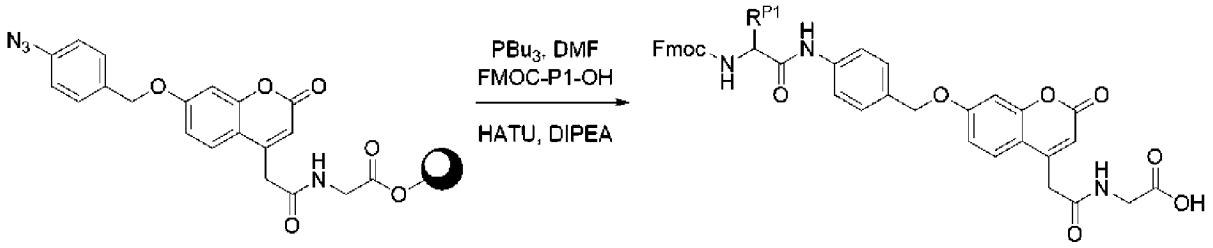
[0935] В круглодонную колбу добавляли HO-Coum-Gly-OMe (300 моль %), K_2CO_3 (150 моль %) и 18-краун-6 эфир (200 моль %), суспендированный в ДМФ. Через 15 мин интенсивного перемешивания медленно добавляли Az-PAB-Br (100 моль %), полученный в соответствии с примером 2, в 4 отдельных аликвотах. В полученный раствор добавляли тетрабутиламмония йодид (15 моль %), который затем перемешивали в течение 16 ч. После этого реакционную смесь разводили в EtOAc и промывали 200 мМ HCl и солевым раствором. Отделенный органический слой сушили $MgSO_4$ и концентрировали с получением указанного в заголовке соединения в виде неочищенного материала, который использовали без дополнительной очистки.

Пример 5: Получение (2-(7-((4-азидобензил)окси)-2-оксо-2H-хромен-4-ил)ацетил)глицина (Az-PABE-Coum-Gly-OH)



[0936] В круглодонную колбу добавляли неочищенный Az-PABE-Coum-Gly-OMe (100 моль %) в ТГФ (20 мл на 500 мг). В флакон добавляли MeOH (6 мл на 500 мг) и H_2O (6 мл на 500 мг). После этого добавляли LiOH (200 моль %) и перемешивали реакционную смесь в течение 1 ч, после чего реакционную смесь разводили EtOAc и дважды промывали 200 мМ HCl. Отделенный органический слой сушили $MgSO_4$ и концентрировали с получением указанного в заголовке соединения с выходом 88%. ^{1}H-ЯМР (d_7-ДМФ) δ 8,80 (NH, т, 1H), 8,03-8,01 (C=CH, д, 1H), 7,80-7,77 (C=CH, д, 2H), 7,38-7,36 (C=CH, д, 2H), 7,25 (C=CH, с, 1H), 7,24-7,20 (C=CH, д, 1H), 6,58 (C=CH, с, 1H), 5,47 (CH2, с, 2H), 4,14 (CH2, д, 2H), 4,08 (CH2, с, 2H).

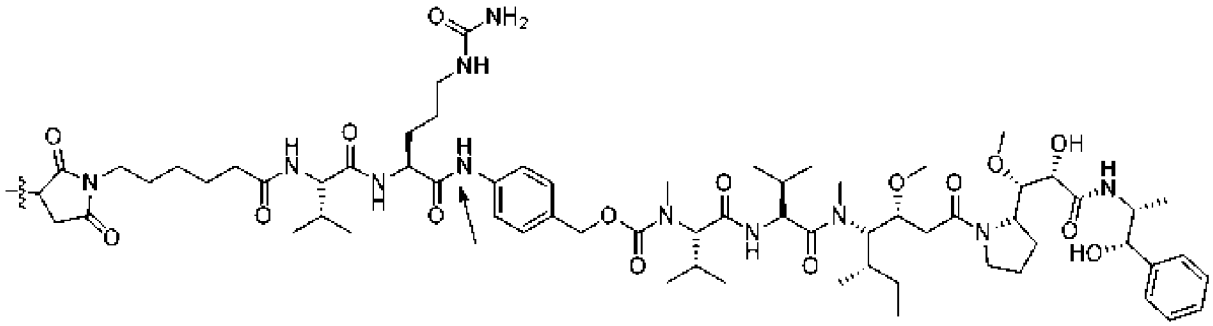
Пример 6: Получение P1-PABE-Coum-Gly-OH, где P1=Fmoc-Leu-OH, Fmoc-D-Leu-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Cit-OH, Fmoc-Nal-OH, Fmoc-Tyr(All)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Lys(Mtt)-OH, Fmoc-Thr(Trt)-OH, Fmoc-Glu(O-2-PhiPr)-OH, где Cit представляет собой цитруллин, а Nal представляет собой аланин, в котором его метильная боковая цепь замещена нафт-1-илом.



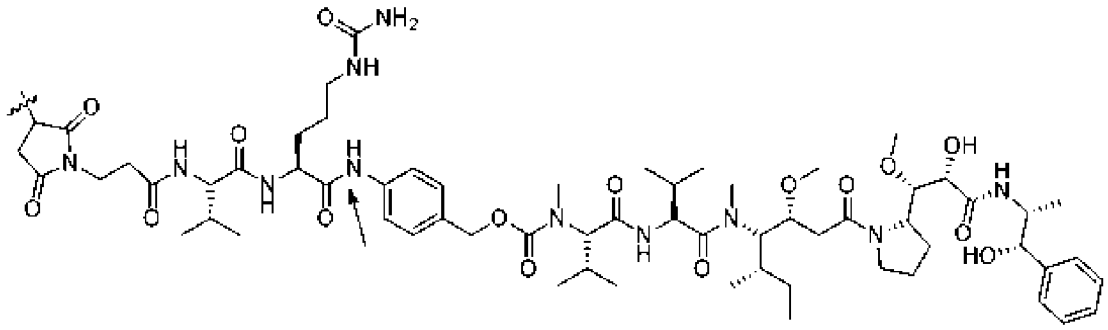
[0937] В смолу (2-хлор-тритил хлорид или кислоту Ринка; 100 моль %), набухшую в сухом ДХМ, добавляли Az-PABE-Coum-Gly-OH (300 моль %) и ДИПЭА (310 моль %), растворенные в сухом ДХМ. После перемешивания в течение 2 ч раствор вытесняли, а смолу промывали ДХМ. В открытую круглодонную колбу добавляли Az-PABE-Coum-Gly-O-связанную смолу, набухшую в ДМФ, с последующим добавлением PBu_3 (250 моль %) и ДИПЭА (250 моль %). После перемешивания в течение 2 ч раствор вытесняли, а смолу промывали ДМФ, ДХМ и Et_2O и сушили в течение ночи в вакууме. В флакон добавляли Fmoc-P1-OH (600 моль %) и HATU (600 моль %), растворенные в ДМФ, а потом ДИПЭА (800 моль %). Смесь перемешивали на вортексе в течение 1 мин, а затем добавляли в предварительно синтезированную активированную PBu_3 Az-PABE-Coum-Gly-O-связанную смолу (смола на основе кислоты Ринка Fmoc-Lys(Trt)-OH, Fmoc-Thr(Trt)-OH и Fmoc-Glu(O-2-PhiPr), смола на основе 2-хлор-тритила для всех остальных аминокислот), набухшую в ДМФ. После перемешивания в течение 2 ч раствор вытесняли, а смолу промывали ДМФ и ДХМ. Fmoc-P1-PABE-Coum-Gly-OH отщепляли от смолы, используя 0,2% ТФУ в ДХМ (для смолы на основе кислоты Ринка) или 5% ТФУ в ДХМ (для смолы на основе 2-хлор-тритила) и очищали посредством ОФ-ВЭЖХ.

Пример 7: Получение и скрининг библиотеки трипептидов.

[0938] Дипептидные конъюгаты, которые были разработаны ранее, были сконструированы так, чтобы их расщеплял катепсин B, который является лизосомальной протеазой, которая повышена в раковых клетках по сравнению с нормальными клетками того же типа. Типовые сравнительные дипептидные конъюгаты имеют фрагменты лекарственный препарат-линкер, в которых лекарственное звено представляет собой остаток MMAE с одной из следующих структур.

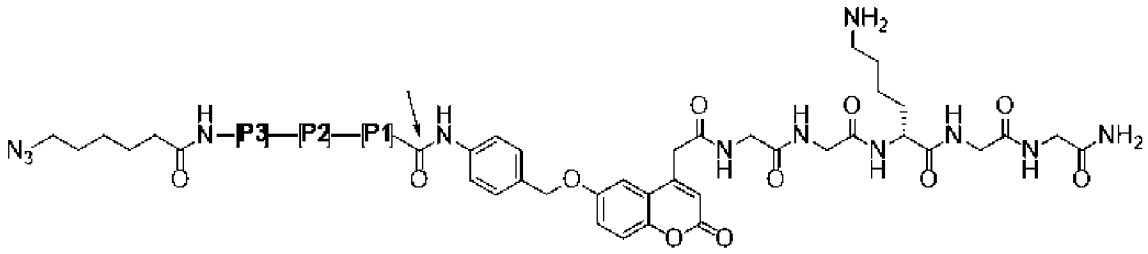


mc-val-cit-PABC-MMAE



mp-val-cit-PABC-MMAE

где волнистая линия указывает место ковалентного присоединения к атому серы из лигандного звена, а стрелка указывает предположительное место протеолитического расщепления. Хотя она является более специфической в отношении катепсина B, другие лизосомальные протеазы остаются способными расщеплять эту связь. Чтобы найти пептидные последовательности, более специфические в отношении протеаз с повышенными уровнями в раковой ткани по сравнению с протеазами нормальной ткани, в которой нежелательная цитотоксичность в отношении нормальных клеток в этой ткани связана с нежелательным явлением, когда вводят эффективное количество сравнительного конъюгата, имеющего дипептидные фрагменты лекарственный препарат-линкер, синтезировали содержащие трипептиды соединения с тушением флуоресценции. Члены этой библиотеки являются моделями для фрагментов лекарственный препарат-линкер, в которых флуоресцентный тег замещает лекарственное звено, и вместе представлены следующей формулой:



[0939] В вышеприведенной структуре конъюгированный фрагмент кумарина является нефлуоресцентным. После протеолитического расщепления указанной амидной связи происходит высвобождение свободного кумарин-содержащего соединения, которое теперь является флуоресцентным. Фрагмент Gly-Gly-D-Lys-Gly свободного кумарин-содержащего соединения является артефактом способа, которым конструировали библиотеку и который описан ниже в данном документе. Азид обеспечивает «ручку» для присоединения к лигандному звену за счет диполярного циклодобавления азида с подходящим алкиленовым фрагментом, внесенным в лигандное звено.

[0940] Библиотеку конструировали, используя неароматические гидрофобные аминокислоты Ala, Leu, Pro и D-Leu, заряженные аминокислоты Glu и Lys, незаряженные гидрофильные аминокислоты Thr, Met и цитруллин и гидрофобные ароматические аминокислоты Phe, Tyr (изначально в виде alloc-защищенной аминокислоты) и Nal (нафтил-1-ил аланин). Таким образом, библиотека содержит 1728 разных членов. Когда

Met находится в позиции P1, метилсульфидная группа его боковой цепи подвергается спонтанному окислению до сульфоксида так, что позицию P1 занимает Met(O). Когда Met находится в позиции P2 или P3, получали смесь трипептидов, содержащую Met и Met(O).

[0941] Членов библиотеки синтезировали на целлюлозной подложке в соответствии со способом по Hilpert, K. et al. in «Peptide arrays on cellulose support: SPOT synthesis, a time and cost efficient method for synthesis of large numbers of peptides in a parallel and addressable fashion», Nature Protocols (2007) 2(6): 1333-1349, который в явном виде включен в данный документ посредством ссылки с одной важной модификацией. В этой модификации используют крупно-перфорированную целлюлозную бумагу так, что синтез каждого члена библиотеки происходит на четко определенном круглом диске. После синтеза SPOT каждый круглый участок, который отдельно содержит дискретного члена библиотеки, выдавливают с помощью многоканальной пипетки в отдельные лунки микротитровального планшета. Затем микротитровальный планшет помещают в камеру с аммиаком для расщепления содержащих трипептид модельных соединений с целлюлозных дисков. Затем расщепленные соединения переносили в свежий микротитровальный планшет после солюбилизации каждого в 50% водном ацетонитриле. Затем содержимое лунок оценивали в отношении восприимчивости к протеолизу гомогенатом опухолевой ткани по сравнению со сравнительным пептидным соединением лекарственный препарат-линкер, имеющим дипептид val-cit, который замещали трипептидами -[P1]-[P2]-[P3]- из библиотеки соединений лекарственный препарат-линкер, путем измерения флуоресценции в каждой из лунок библиотеки после приведения в контакт с гомогенатом опухолевой или нормальной ткани и деления ее на флуоресценцию, полученную для расщепления гомогенатом опухолевой или нормальной ткани сравнительного содержащего дипептид соединения лекарственный препарат-линкер.

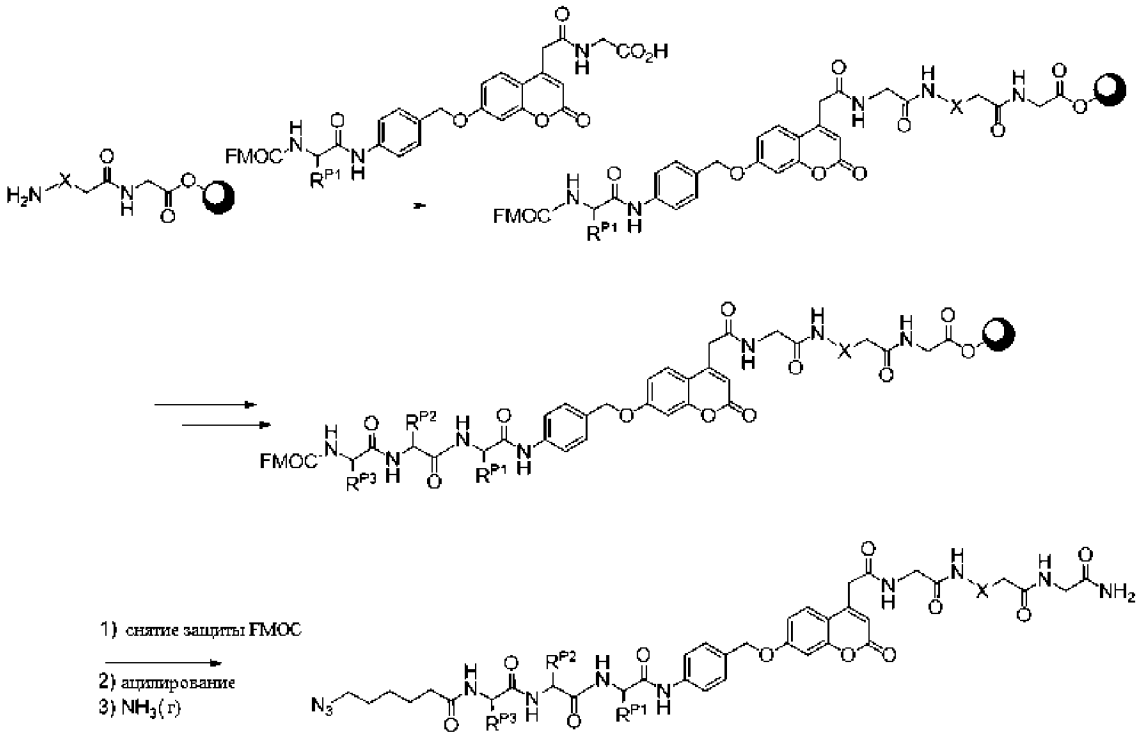
[0942] Рабочее предположение состоит в том, что большее соотношение протеолиза в опухолевой ткани и нормальной ткани чем полученное для сравнительного соединения лекарственный препарат-линкер, которое указывает на более быстрое расщепление в опухолевой ткани или более медленное расщепление в нормальной ткани библиотечного соединения лекарственный препарат-линкер по сравнению с содержащим дипептид соединением лекарственный препарат-линкер, будет транслироваться в большую селективность в отношении протеолиза опухолевой тканью по сравнению с протеолизом гомогенатом нормальной ткани того же вида, при этом цитотоксичность в отношении нормальных клеток ткани сравнительного конъюгата, содержащего это соединение в виде дипептидного фрагмента лекарственный препарат-линкер, является причиной нежелательного явления, связанного с введением эффективного количества сравнительного конъюгата нуждающемуся в этом субъекту. Для специалиста в данной области техники будет понятно, что такая корреляция может не сохраняться для каждого члена библиотеки и что повышение протеолиза, наблюдаемое для содержащего трипептид соединения лекарственный препарат-линкер, связано не только с тем, что трипептид

является лучшим сайтом распознавания для катепсина B, но по меньшей мере частично связано с улучшенной реактивностью в отношении других протеаз, уровни которых также повышены в опухолевой ткани.

[0943] Химическую группу FMOC использовали для получения фрагмента Gly-D-Lys-Gly-Gly, ковалентно присоединенного к твердой целлюлозной подложке, где гидроксильные группы целлюлозы перфорированной лазером целлюлозной бумаги сначала модифицировали сложными глициновыми эфирами. Затем группу FMOC удаляли для получения свободного амина, который подтверждали с помощью pH-чувствительного индикатора. Далее добавляли аминокислоты и повторяли процесс. Для совместимости с 96-луночным микротитровальным планшетом перфорированные лазером диски имели диаметр 6 мм, куда добавляли 1 мкл аликвоты растворов FMOC-защищенных аминокислот.

[0944] FMOC-P1-PABE-Coum-Gly-OH, полученный в соответствии с примером 6, затем присоединяли к свободной аминогруппе остатка NH_2- Gly-Lys-Gly-Gly- (SEQ ID NO: 953). Ключевым этапом в последовательности реакций в примере 6 является восстановление связанного со смолой азидного промежуточного соединения, которое обеспечивает промежуточное соединение иминофосфоронана, которое является достаточно стабильным в отношении самоуничтожения, чтобы могла произойти реакция сочетания с первой поступающей FMOC-аминокислотой. Затем добавляли аминокислоты P2 и P3 с помощью стандартной химии FMOC с последующим ацилированием свободной аминогруппы остатка P3 со снятой защитой с получением связанного со смолой библиотечного соединения, которое отщепляли от смолы, используя камеру с газообразным аммиаком. На схеме 1 R^{P1}, R^{P2} и R^{P3} представляют собой аминокислотные боковые цепи аминокислотных остатков P1, P2 и P3, соответственно, а X представляет другие аминокислоты в пентапептиде NH_2-Gly-Gly-D-Lys-Gly-Gly-, который связывает флуоресцентно меченный трипептид с твердой целлюлозной подложкой.

Схема 1. Получение флуоресцентно меченных библиотечных соединений



[0945] Результаты в таблице 1A приведены для первых 20 трипептидных последовательностей, в которых нормализованное соотношение флуоресценции вследствие протеолиза гомогенатом опухолевой и нормальной ткани составляет более 2,5.

[0946] Нормализованное значение флуоресценции для протеолиза опухолевым гомогенатом представляет собой среднее значение для гомогенатов опухолевой ткани, полученных из четырех мышиных ксенотрансплантатных моделей. Расчет этих нормализованных значений описан ниже в таблице 1A.

[0947] Нормализованные значения флуоресценции для нормальной ткани получены для протеолиза нормальным костным мозгом человека. Костный мозг человека был выбран в качестве нормальной ткани, поскольку он является местом нежелательного явления (нейтропении), которое было связано с введением нуждающемуся в этом субъекту-человеку эффективного количества конъюгата антитело - лекарственный препарат, имеющему фрагменты лекарственный препарат-линкер, полученные из соединения лекарственный препарат-линкер mc-val-cit-PABC-MMAE.

Таблица 1A. Упорядочение членов библиотеки трипептидов по соотношению флуоресценции

Трипептид*	Нормализованная нормальная ткань	Нормализованная опухолевая ткань	Опухоль/нормальная ткань
Pro-Ala-Glu	0,78	2,48	3,16
DLeu-Leu-Glu	1,12	3,45	3,09
Pro-Ala-Cit	1,07	3,03	2,84
Pro-Glu-Cit	0,85	2,35	2,77

DLeu-Leu-Cit	1,37	3,70	2,70
Pro-Cit-Glu	0,85	2,27	2,68
Pro-Cit-Cit	0,95	2,54	2,67
Cit-Glu-Cit	1,21	3,16	2,61
Pro-Lys-Glu	0,72	1,88	2,59
DLeu-Leu-Met(O)	0,66	1,70	2,58
Pro-Glu-Glu	0,73	1,87	2,58
Pro-Glu-Lys	0,72	1,85	2,57
Glu-Glu-Cit	1,22	3,14	2,57
DLeu-Phe-Glu	0,89	2,27	2,55
DLeu-Leu-Lys	0,87	2,20	2,54
Glu-Ala-Glu	1,05	2,66	2,53
Ala-Cit-Cit	1,02	2,58	2,53
Thr-Cit-Cit	0,89	2,26	2,53
Cit-Glu-Glu	0,97	2,44	2,53
Cit-Cit-Cit	1,12	2,82	2,52

*Сокращения: Cit=цитруллин, Met(O)=метионинсульфоксид

[0948] Нормализованное значение флуоресценции рассчитывают путем деления значения флуоресценции в конечный момент времени (275-315 мин) при добавлении тканевого гомогената на значение флуоресценции без добавления тканевого гомогената. Затем это значение нормализовали для каждого пептида в каждом гомогенате путем деления его на среднее значение для этого гомогената. Например, если один трипептид имеет 2-кратное повышение по сравнению с этим пептидом без гомогената и средняя кратность повышения с этим гомогенатом также была 2-кратной, то нормализованное значение для этого трипептида в этом гомогенате составляло 1. Затем определяли нормализованные значения для опухолевой ткани из таблицы 1 путем усреднения нормализованного значения флуоресценции для каждого пептида среди всех 4 раковых гомогенатов, которые исследовали. Эти опухолевые гомогенаты были получены из ксенотрансплантатных моделей для HPAF-II (голые мыши), Ramos (мыши SCID), SK-Mel-5 (голые мыши) и SU-DHL-4 (мыши SCID). Нормализованные значения для нормальной ткани из таблицы 1 рассчитывали аналогично, используя гомогенизированный костный мозг. Соотношения опухоль/нормальная ткань в таблице 1A определяли путем деления нормализованных значений для опухолевой ткани на нормализованные значения для нормальной ткани.

[0949] С учетом того, что большинство трипептидов из таблицы 1A имели неприродную аминокислоту или пролин в позиции P3, и что позиция P2 была более

вариабельной, были выбраны три трипептидные последовательности, которые отличались только по позиции P1, чтобы определить, как позиция, наиболее близкая к самоуничтожающемуся спейсерному звену PABC, будет менять in vivo селективность в отношении конъюгатов лиганд-лекарственный препарат, полученных из соединений лекарственный препарат-линкер, содержащих эти трипептидные последовательности. Эти трипептиды представляют собой D-Leu-Leu-Cit, D-Leu-Leu-Met(O) и D-Leu-Leu-Lys.

[0950] Проводили новую сортировку на основании трипептидов из таблицы 1A, которые демонстрировали нормализованную флуоресценцию для гомогената нормальной ткани, меньшую или равную 0,7, имея при этом соотношение флуоресценции по меньшей мере 1,5. Десять первых трипептидов из этой сортировки приведены в таблице 1B. Три первых трипептидных последовательности из таблицы 1B, которые представляют собой D-Leu-Leu-Met(O), Pro-Nal-Lys и D-Leu-Ala-Glu, затем были выбраны для определения in vivo селективности в отношении конъюгатов лиганд-лекарственный препарат, полученных из соединений лекарственный препарат-линкер, содержащих эти трипептидные последовательности.

Таблица 1B. Упорядочение членов библиотеки трипептидов по подверженности протеолизу нормальной тканью

Трипептид*	Нормализованная нормальная	Нормализованная опухолевая	Опухоль/нормальная ткань
D-Leu-Leu-Met(O)	**0,66**	**1,70**	**2,58**
Pro-Nal-Lys	**0,65**	**1,33**	**2,05**
D-Leu-Ala-Glu	**0,69**	**1,30**	**1,87**
Pro-Glu-Ala	0,70	1,28	1,84
Lys-Glu-Met(O)	0,70	1,16	1,66
DLeu-Ala-Lys	0,68	1,16	1,70
Leu-Nal-Lys	0,62	1,13	1,84
DLeu-Cit-Glu	0,64	1,07	1,67
DLeu-Glu-Lys	0,62	1,06	1,71
Glu-Ala-Met(O)	0,65	1,06	1,63

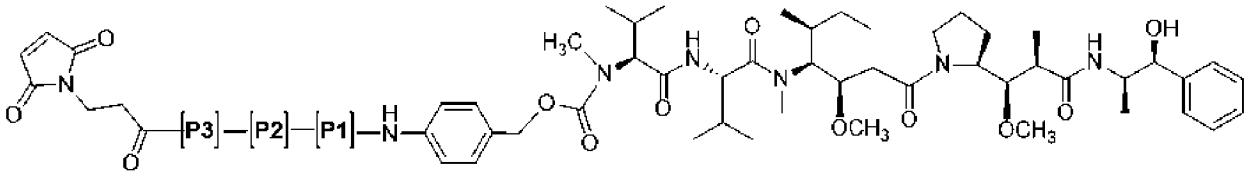
*Сокращения: Cit=цитруллин, Met(O)=метионинсульфоксид, Nal=нафта-1-ил аланин.

[0951] 5 разных трипептидных последовательностей, выбранных из таблиц 1A и 1B, включали в конъюгаты лиганд-лекарственный препарат, в которых лигандное звено получено из антитела, которое селективно связывается с интернализуемым антигеном, преимущественно представляемым клетками линии аденокарциномы поджелудочной железы человека, которые соответствуют по структуре сравнительному конъюгату,

содержащему несвязывающее контрольное антитело в качестве «лигандного звена» и дипептидное расщепляемое звено, в котором фрагменты лекарственный препарат-линкер представляют собой mc-val-cit-PABC-MMAE. Эти конъюгаты лиганд-лекарственный препарат имеют среднюю лекарственную нагрузку 4.

Часть B. Получение соединений лекарственный препарат-линкер.

[0952] Соединения лекарственный препарат-линкер, в которых MMAE представляет собой лекарственное звено и которые использовали для получения выбранной подгруппы конъюгатов лиганд-лекарственный препарат, обсуждаемых в части A, представлены следующей структурой.

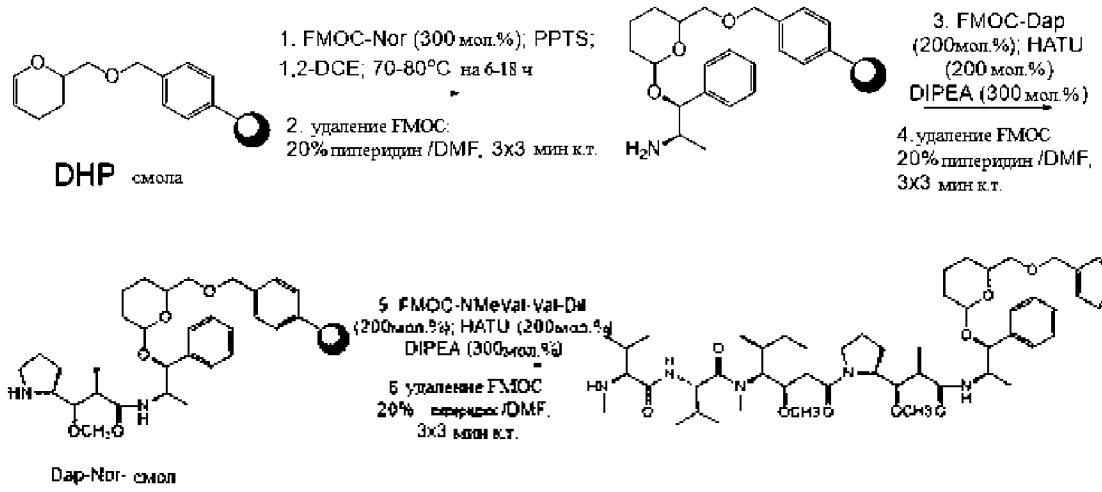


mp-[P3]-[P2]-[P1]-PABC-MMAE

Пример 8: Получение связанного со смолой MMAE:

[0953] Связанный со смолой MMAE получали, используя функционализированную DHP HM смолу, в соответствии с процедурой со схемы 2A.

Схема 2A. Получение связанного со смолой MMAE

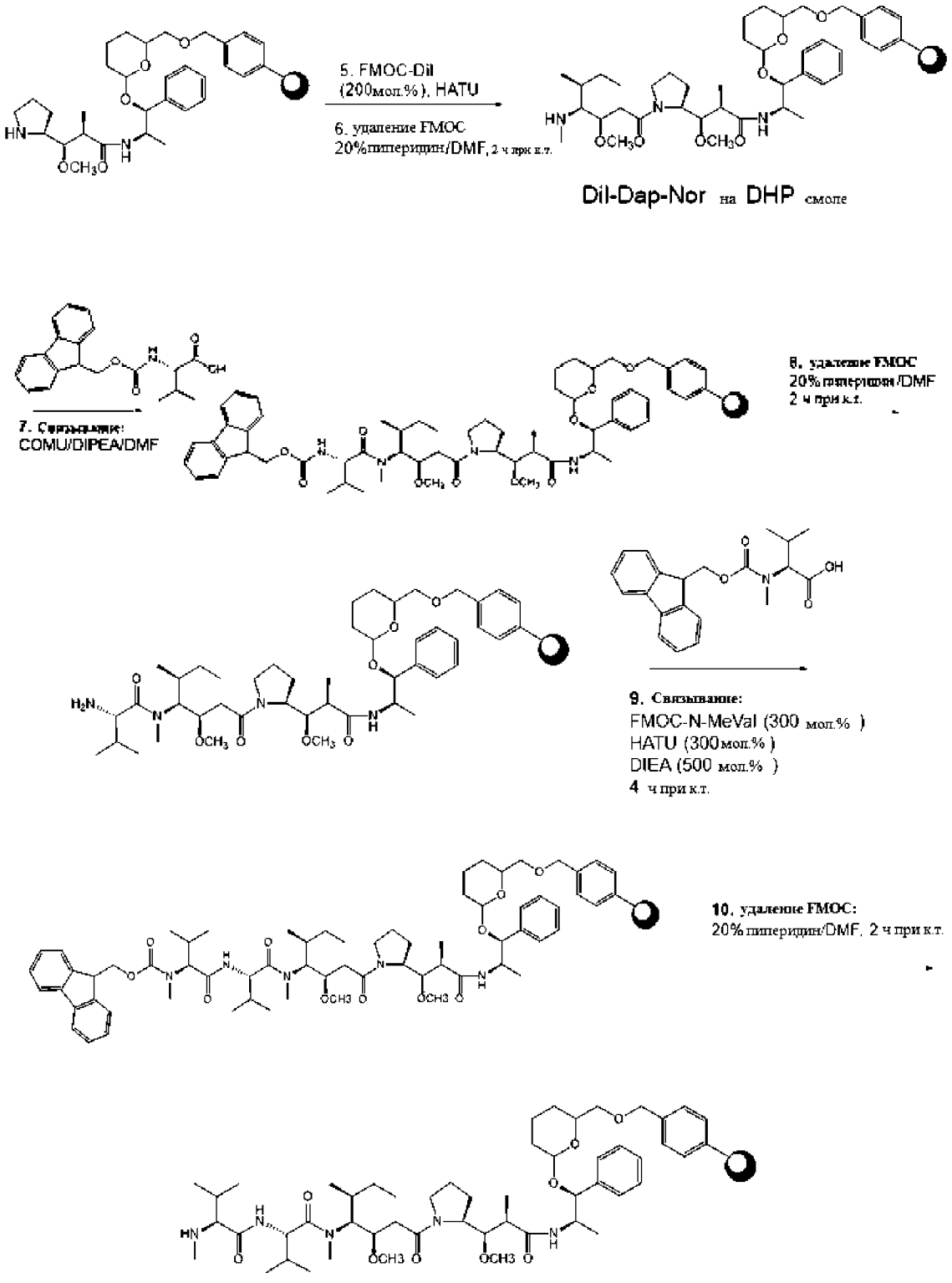


[0954] Вкратце, чтобы синтезировать MMAE на смоле, FMOC-норэфедрин и пиридиний п-толуолсульфонат (PPTS) растворяли в дихлорэтане, добавляли к функционализированной DHP HM смоле и инкубировали при 70°C в течение 8 ч. После снятия защиты FMOC-Dap последовательно активировали HATU и ДИПЭА, а затем добавляли к материалу норэфедрин-смола. Последовательность реакций повторяли с FMOC-N-MeVal-Val-Dil, что после снятия защиты давало связанный со смолой MMAE.

Пример 9: Альтернативный вариант получения связанного со смолой MMAE

[0955] Альтернативный вариант получения связанного со смолой MMAE показан на схеме 2B, начиная со связанного со смолой Dap-Nor со схемы 2A.

Схема 2B. Поэтапная обработка связанного со смолой Dap-Nor до MMAE

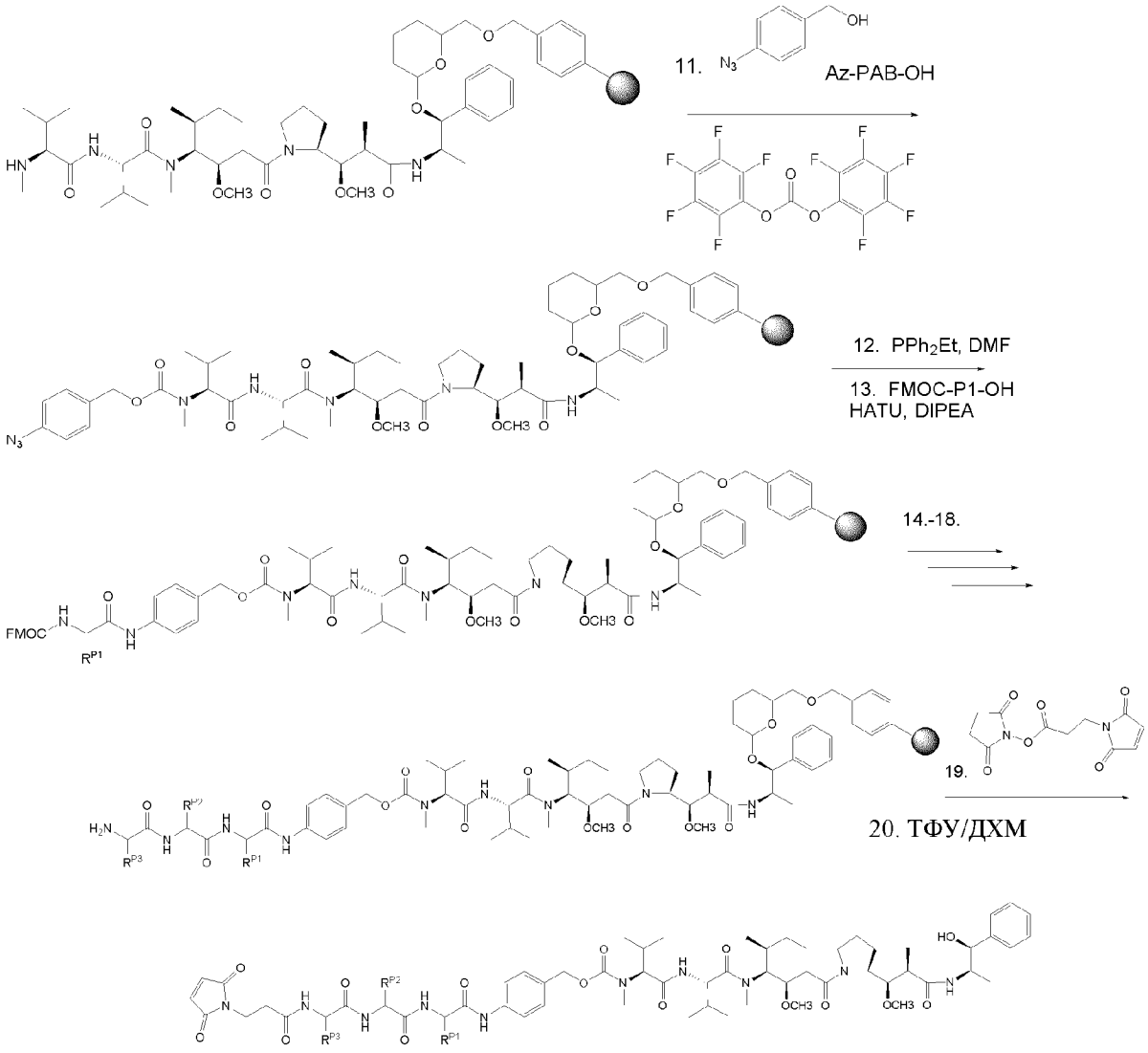


[0956] Последовательность реакций со схемы 2B также применима для получения радиоактивно меченного MMAE с использованием FMOC-защищенного [^{14}C]-валина на этапе 7. Завершение получения соединения лекарственный препарат-линкер из связанного со смолой MMAE показано на схеме 3.

Пример 10: Получение трипептидных MMAE-соединений лекарственный препарат-линкер.

[0957] Трипептидные соединения лекарственный препарат-линкер, в которых лекарственное звено получено из ММАЕ и которые имеют трипептидные последовательности, выбранные из таблиц 1А и 1В, получали из связанного со смолой ММАЕ в соответствии с процедурами со схемы 3 или из ММАЕ в водной фазе в соответствии с процедурами со схемы 3А.

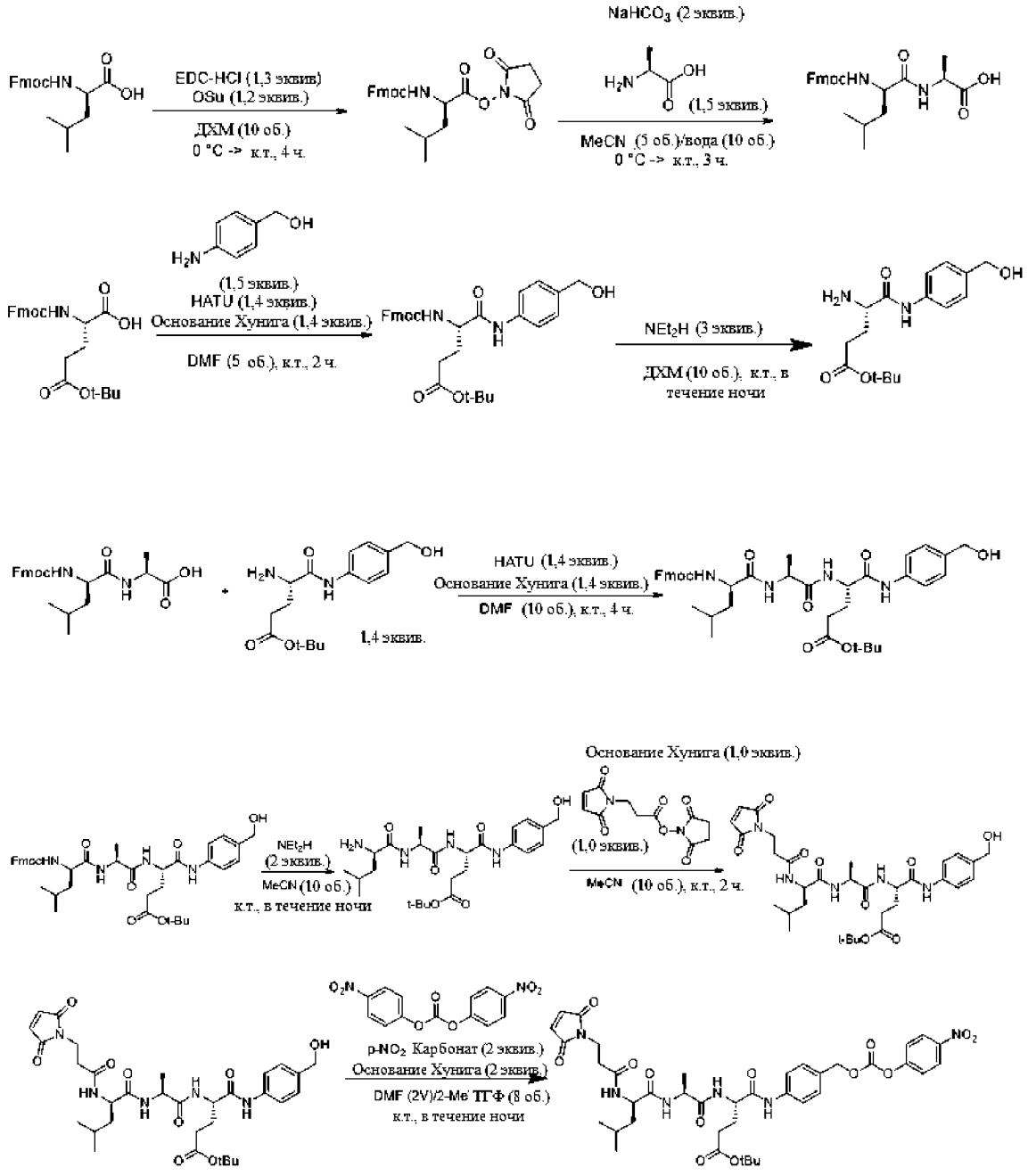
Схема 3. Получение трипептидных соединений лекарственный препарат-линкер из связанного со смолой ММАЕ

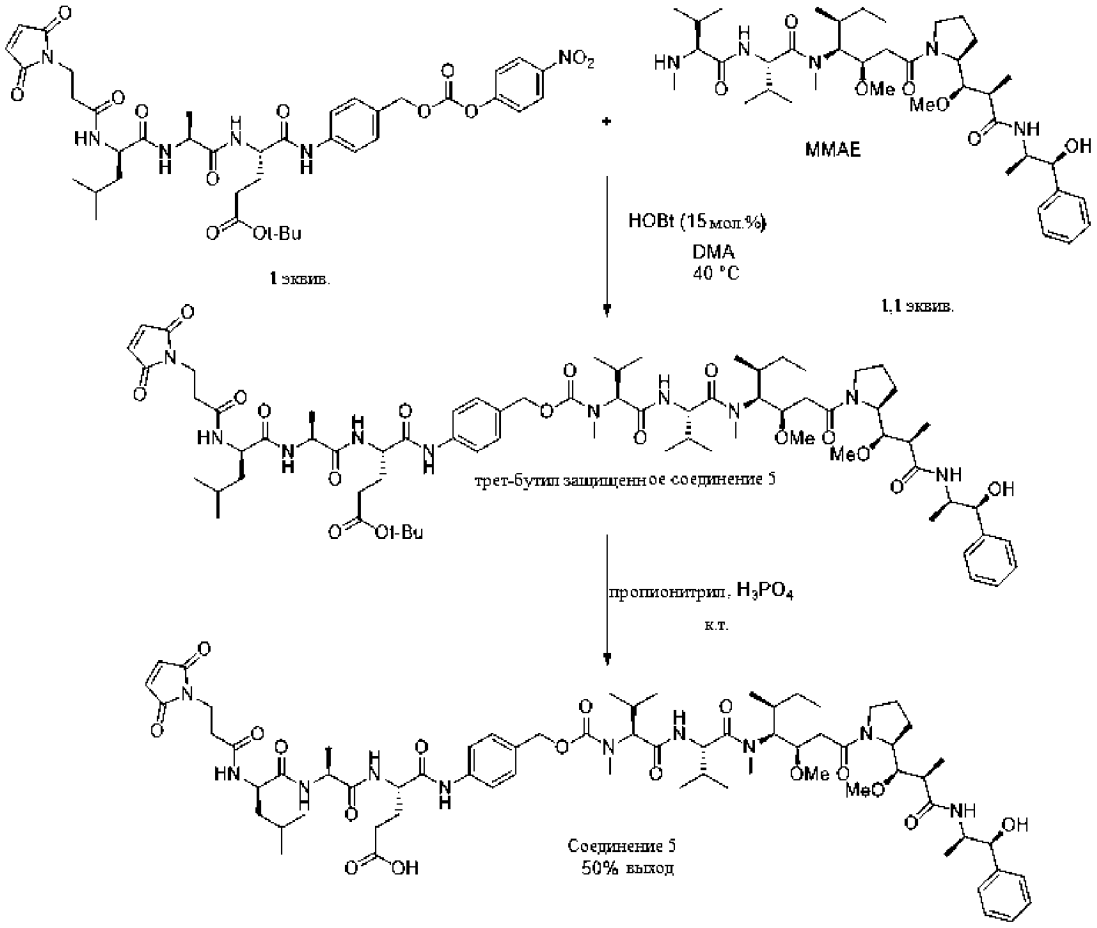


[0958] Вкратце, Az-PAB-OH, полученный путем реакции NaN_3 с солью диазония из п-аминобензилового спирта и $NaNO_2$ в 5 М HCl, приводили в реакцию с бис(пентафторфенил)карбонатом и добавляли к ММАЕ на смоле. Затем азидо-группу Az-PABC-ММАЕ восстанавливали до иминофосфорана с помощью PPh_2Et с последующим добавлением FMOC-P1. После снятия защиты добавляли аминокислоты P2 и P3 посредством традиционной пептидной химии FMOC с последующей реакцией активированного сложного эфира 3-(малеимидо)пропионовой кислоты и N-гидроксисукцинимидного сложного эфира с лишенным защиты амином концевой аминокислоты P3. После отщепления от смолы с использованием ТФУ в ДХМ полученное

таким образом соединение лекарственный препарат-линкер очищали посредством обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Схема 3А. Получение трипептидных соединений лекарственный препарат-линкер в растворенной фазе





[0959] Вкратце, (((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-D-лейцин (1,00 экв., 50,00 г, 141 ммоль) добавляли в 2 л круглодонную колбу (RBF), оснащенную магнитной мешалкой. В сосуд добавляли дихлорметан (ДХМ) (500 мл) и охлаждали до 0 °C с перемешиванием с последующим добавлением этилкарбодиимидгидрохлорида (EDC-HCl) (1,30 экв., 35,26 г, 184 ммоль) и добавляли в реакционную смесь N-гидроксисукцинимида (1,20 экв., 19,54 г, 170 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 30 минут, затем давали нагреться до кт (комнатной температуры) и перемешивали 4 ч. После завершения реакции в реакционную смесь добавляли воду (500 мл), органический слой отделяли, промывали солевым раствором (500 мл) и отделяли. Раствор ДХМ выпаривали при пониженном давлении с получением 2,5-диоксопирролидин-1-ил (((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-D-лейцината в виде белой пены (65,00 г, 144 ммоль, 102% выход). Этот материал использовали без дополнительной очистки.

[0960] на следующем этапе 2,5-диоксопирролидин-1-ил (((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-D-лейцинат (1,00 экв., 30,0 г, 66,6 ммоль) и аланин (1,5 экв., 8,90 г, 99,9 ммоль) добавляли в 1000 мл RBF с магнитной мешалкой. В сосуд добавляли ацетонитрил (150 мл) и воду (300 мл) и охлаждали до 0 °C. В реакционную смесь одной частью добавляли основание Хунига (2,0 экв., 17,2 г, 133,2 мл). Реакционную смесь перемешивали при 0 °C в течение 1 ч, затем давали нагреться до кт и перемешивали в течение ночи. После завершения растворитель обменивали путем роторного выпаривания

на этилацетат (EtOAc). pH доводили до pH=2 добавлением 1 M HCl. Органический слой отделяли и промывали солевым раствором. Реакционную смесь концентрировали путем роторного выпаривания с получением белого твердого вещества (31,29 г). Твердое вещество растворяли в EtOAc (120 мл) в 1000 мл RBF, оснащенной магнитной мешалкой. Твердое вещество осаждали путем покапельного добавления гептана (600 мл) в течение 1 часа. Суспензию перемешивали в течение ночи. Твердое вещество фильтровали и промывали гептаном (300 мл) с получением мелкодисперсного белого твердого вещества. Твердое вещество сушили в вакуумной печи в течение ночи при 45 °C с получением (((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)-D-лейцил-L-аланина в виде белого твердого вещества (24,01 г, 85% выход)

[0961] (S)-2-((((9H-флуорен-9-ил)метокси)карбонил)амино)-5-(трет-бутокси)-5-оксапентановую кислоту (50,0 г, 1,00 экв., 117,5 ммоль), (4-аминофенил)метанол (21,7 г, 1,5 экв., 176,3 ммоль) и HATU (62,9 г, 1,4 экв., 164,5 ммоль) добавляли в 2000 мл RBF, оснащенную магнитной мешалкой. В сосуд добавляли диметилформамид (ДМФ) (250 мл) и перемешивали до растворения твердых веществ. В реакционную смесь одной частью добавляли основание Хунига (21,26 г, 1,4 экв., 164,5 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при кт в течение двух часов. После завершения каплями добавляли воду (750 мл) в течение 30 минут. Суспензию перемешивали еще в течение 1 ч при кт. Суспензию фильтровали и промывали водой (500 мл) с получением оранжевого твердого вещества. Твердое вещество перерастворяли в ДХМ (500 мл) и промывали водой (500 мл). В этот раствор в 2000 мл RBF добавляли магнитную мешалку. В реакционную смесь добавляли диэтиламин (25,64 г, 3,0 экв., 350,54 ммоль) и перемешивали при кт в течение ночи (осаждение реакции в течение ночи). После завершения в реакционную смесь добавляли гептан (620 мл) в течение 1 ч. Суспензию перемешивали в течение 1 ч. Суспензию фильтровали и промывали гептаном (620 мл) с получением розового твердого вещества. Твердое вещество сушили в вакуумной печи при 45 °C в течение ночи с получением трет-бутил (S)-4-амино-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноата в виде коричневого твердого вещества (35,2 г, 98% выход).

[0962] (((9H-фтор-9-ил)метокси)карбонил)-D-лейцил-L-аланин (8,1 г, 1,00 экв., 19,08 ммоль), трет-бутил (S)-4-амино-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноат (8,82 г, 1,5 экв., 28,62 ммоль) и HATU (10,21 г, 1,4 экв., 26,71 ммоль) добавляли в 500 мл RBF. В сосуд добавляли ДМФ (80 мл) и основание Хунига и перемешивали при кт в течение 2 часов. После завершения реакцию осаждали покапельным добавлением воды (160 мл) в течение 1 часа с получением твердого вещества, которое прилипало к мешалке. Жидкость сливали, а твердое вещество промывали водой (80 мл). Твердое вещество ресуспендировали с ДХМ (80 мл) с циклами нагрева с получением красного раствора. Раствор осаждали покапельным добавлением гептана (80 мл) в течение 30 минут. Твердое вещество фильтровали с получением желтого твердого вещества, которое промывали гептаном (80 мл). Твердое вещество сушили в вакуумной печи при 45 °C в течение ночи с получением Fmoc-защищенного трипептида

D-Leu-Ala-Glu, связанного с 4-аминобензиловым спиртом, в виде желтого твердого вещества (12 г, 88% выход).

[0963] Для снятия защиты Fmoc этот трипептид (1,00 экв., 26,8 г, 37,49 ммоль) помещали в 400 мл реактор EasyMax. В сосуд добавляли MeCN (10 об., 270 мл) и перемешивали при 25 °C при 200 об/мин (красный раствор). В реакционную смесь одной частью добавляли диэтиламин (2,0 экв., 5,48 г, 74,98 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при кт в течение ночи и после завершения растворитель обменивали на 10 об. EtOAc путем роторного выпаривания. Суспензию нагревали до рефлюкса с получением красного раствора. Суспензию охлаждали до 15 °C и перемешивали в течение ночи. Суспензию фильтровали и промывали МТБЭ (3×10 об., 3×270 мл) с получением светло-коричневого твердого вещества. Твердое вещество сушили в вакуумной печи при 40 °C с получением трет-бутил (S)-4-((S)-2-((R)-2-амино-4-метилпентанамидо)пропанамидо)-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноата в виде розового твердого вещества (14,47 г, 78% выход).

[0964] Трет-бутил (S)-4-((S)-2-((R)-2-амино-4-метилпентанамидо)пропанамидо)-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноат (1,00 экв., 9,51 г, 19,31 ммоль) и 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноат (1,0 экв., 5,14 г, 19,31 ммоль) добавляли в 200 мл реактор EasyMax. MeCN (10 об., 100 мл) добавляли в реактор и перемешивали при 25 °C при 200 об/мин. В реакционную смесь одной частью добавляли основание Хунига (1,0 экв., 2,50 г, 19,31 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 25 °C при 200 об/мин в течение одного часа (красный раствор). После завершения растворитель обменивали на 10 об. EtOAc путем роторного выпаривания. Продукт осаждали добавлением гептана (10 об., 100 мл) в течение 30 минут. Суспензию фильтровали и промывали МТБЭ (2×10 об., 2×100 мл). Твердое вещество сушили в вакуумной печи в течение ночи при 40 °C с получением трет-бутил (S)-4-((S)-2-((R)-2-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-4-метилпентанамидо)пропанамидо)-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноата в виде светло-коричневого твердого вещества (12,38 г, 99% выход)

[0965] Трет-бутил (S)-4-((S)-2-((R)-2-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-4-метилпентанамидо)пропанамидо)-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноат (2,7 г, 1,00 экв., 4,19 ммоль) и 4-нитрофенилкарбонат (2,55 г, 2,0 экв., 8,39 ммоль) помещали в 100 мл RBF, оснащенную магнитной мешалкой. В реакционную смесь добавляли ДМФ (2 об., 5 мл) и 2-MeTHF (8 об., 20 мл) с перемешиванием при кт. В сосуд добавляли основание Хунига и перемешивали при кт в течение ночи. После завершения реакционную смесь разводили 10 об. 2-MeTHF. Органический слой последовательно промывали 20 об. 5% LiCl, 20 об. воды и затем 10% NaCl. Органический раствор каплями добавляли в 10 об. МТБЭ/10 об. гептана в течение 15 минут. Суспензию выдерживали в течение 1 часа с перемешиванием при кт. Суспензию фильтровали и три раза промывали 5 об. МТБЭ/5 об. гептана. Твердое вещество сушили в вакуумной печи при 35 °C в течение ночи с получением бледно-

желтого твердого вещества (2,06 г, 61% выход).

[0966] Активированный п-нитрокарбонатом трипептид (1 экв., 10 мг, 0,01 ммоль), ММАЕ (1,1 экв., 9,7 мг, 0,01 ммоль) и HOBt (0,15 экв., 29 мкл 10 мг/мл раствора в ДМА) помещали в 1 dr флакон, оснащенный магнитной мешалкой. Добавляли ДМА (10 об., 200 мкл) и перемешивали реакционную смесь при 40 °С. После завершения реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры. Каплями добавляли воду до образования аморфного твердого вещества. Растворитель сливали, а твердое вещество перерастворяли в 10 об. ДХМ. Органический раствор дважды промывали 20 об. HCl (0,5 М) и концентрировали в вакууме с получением трет-бутил-защищенного соединения 5.

[0967] Трет-бутил-защищенное соединение 5 (1,0 г, 1,00 экв., 0,72 ммоль) растворяли в 10 мл пропионитрила. 10 мл H_3PO_4 медленно добавляли в реакционную смесь при кт. Реакционную смесь перемешивали в течение 2 ч. После завершения добавляли 15 мл воды и 10 мл пропионитрила. Органический слой отделяли, а водный слой экстрагировали 10 мл пропионитрила. Объединенный органический слой еще раз промывали 30 мл воды. Реакционную смесь концентрировали и очищали посредством препаративной ВЭЖХ с получением соединения **5**.

[0968] УВЭЖХ-МС данные для соединений лекарственный препарат-линкер на основе ММАЕ и ММАF, полученных в соответствии с последовательностями реакций со схемы 2А, схемы 3 и схемы 3А, при этом несколько соединений имеют трипептидные последовательности, выбранные из таблиц 1А и 1В, приведены в таблицах 2 и 2А.

[0969] УВЭЖХ-МС проводили на квадрупольном масс-спектрометре с одним детектором Waters, соединенном с УВЭЖХ-системой Waters Acquity™, используя метод УВЭЖХ (методы A-D), показанный ниже, где растворитель А представляет собой 0,1% водный раствор муравьиной кислоты, а растворитель В - ацетонитрил с 0,1% муравьиной кислотой.

[0970] Метод А: Колонка - Waters Acquity UPLC BEH C18, 130 Å, 1,7 мкм, 2,1×50 мм, обращенно-фазовая колонка

Время (мин)	Поток (мкл/мин)	% А	% В
Исходное значение	0,5	97	3
1,0	0,5	40	60
1,5	0,5	5	95

[0971] Метод В: Колонка - Waters CORTECS UPLC C18, 90 Å, 1,6 мкм, 2,1×50 мм, обращенно-фазовая колонка

Время (мин)	Поток (мкл/мин)	% А	% В
Исходное значение	0,5	97	3
1,7	0,5	40	60
2,0	0,5	5	95
3,5	0,5	5	95

3,8	0,5	97	3
4,0	0,5	97	3

[0972] Метод C: Колонка - Waters CORTECS UPLC C18, 90 Å, 1,6 мкм, 2,1×50 мм, обращенно-фазовая колонка

Время (мин)	Поток (мкл/мин)	% A	% B
Исходное значение	0,5	97	3
1,5	0,5	5	95

[0973] Метод D: Колонка - Waters Acquity UPLC BEH C18, 130 Å,1,7 мкм, 2,1×50 мм, обращенно-фазовая колонка

Время (мин)	Поток (мкл/мин)	% A	% B
Исходное значение	0,5	97	3
1,7	0,5	40	60
2,0	0,5	5	95
3,5	0,5	5	95
3,8	0,5	97	3
4,0	0,5	97	3

[0974] Метод E: Колонка - Waters CORTECS UPLC C8, 90 Å, 1,6 мкм, 2,1×50 мм, обращенно-фазовая колонка

Время (мин)	Поток (мкл/мин)	% A	% B
Исходное значение	0,5	97	3
1,7	0,5	40	60
2,0	0,5	5	95
3,5	0,5	5	95
3,8	0,5	97	3
4,0	0,5	97	3

Таблица 2. УВЭЖХ-МС данные для выбранных соединений лекарственный препарат-линкер на основе MMAE

Соединение №	Трипептид* Последовательность	Молекулярная формула	МС рассч. $(M+H)^+$	МС найденная	Время удержания (мин)	Метод
2	Pro-Nal-Lys	$C_{78}H_{109}N_{11}O_{15}$	1440,8	1441	1,31	A
3	D-Leu-Leu-Lys	$C_{72}H_{113}N_{11}O_{15}$	1372,8	1373	1,22	A
4	D-Leu-Leu-Met(O)	$C_{71}H_{110}N_{10}O_{16}S$	1391,8	1392	1,5	A

5	D-Leu-Ala-Glu	$C_{68}H_{102}N_{10}O_{17}$	1331,7	1332	1,43	A
6	D-Leu-Leu-Cit	$C_{72}H_{112}N_{12}O_{16}$	1401,8	1402	1,48	A
7	Leu-Ala-Glu	$C_{68}H_{102}N_{10}O_{17}$	1330,7	1332,2	1,92	B
8	D-Leu-Ala-Cit	$C_{69}H_{106}N_{12}O_{16}$	1358,8	1359,3	1,39	A
9	Pro-Leu-Glu	$C_{70}H_{104}N_{10}O_{17}$	1356,8	1357,4	1,49	A
10	Thr-Glu-Leu	$C_{69}H_{104}N_{10}O_{18}$	1360,8	1361,4	1,44	A
11	D-Leu-Glu-Cit	$C_{71}H_{108}N_{12}O_{18}$	1416,8	1417,4	1,35	A
12	Glu-Pro-Cit	$C_{70}H_{104}N_{12}O_{18}$	1400,8	1402,2	1,29	A
13	Tyr(All)-Pro-Cit	$C_{77}H_{110}N_{12}O_{17}$	1474,8	1475,9	1,46	A
14	Lys-Leu-Cit	$C_{72}H_{113}N_{13}O_{16}$	1415,8	1417,6	1,21	A
15	Tyr(All)-dLeu-Glu	$C_{77}H_{110}N_{10}O_{18}$	1462,8	1463,8	1,41	C
16	D-Leu-Ala-Gln	$C_{68}H_{103}N_{11}O_{16}$	1331,6	1331,4	2,01	D
17	D-Leu-Ala-(Se-Met)	$C_{68}H_{104}N_{10}O_{15}Se$	1381,6	1381,4	2,22	D
18	D-Leu-Glu-Ala	$C_{68}H_{102}N_{10}O_{17}$	1332,6	1332,2	2,08	D
19	D-Leu-Ala-Ala	$C_{66}H_{100}N_{10}O_{15}$	1274,6	1275	2,13	B
20	D-Leu-Ala-Met(O)	$C_{68}H_{104}N_{10}O_{16}S$	1350,7	1350,1	2,07	B
21	D-Leu-Leu-Glu	$C_{71}H_{108}N_{10}O_{17}$	1374,7	1373,9	2,26	B
22	D-Ala-Ala-Glu	$C_{65}H_{96}N_{10}O_{17}$	1290,5	1290,3	1,89	D
23	Ala-Ser-Glu	$C_{65}H_{96}N_{10}O_{18}$	1306,5	1306,4	1,88	B
24	D-Leu-Ala-Asp	$C_{67}H_{100}N_{10}O_{17}$	1318,6	1318,5	2,09	B
25	D-Leu-Val-Gln	$C_{70}H_{107}N_{11}O_{16}$	1359,7	1359,9	2,1	D
26	D-Leu-Ala-Gla	$C_{69}H_{102}N_{10}O_{19}$	1376,6	1376,5	2,02	B
27	D-Leu-Ala-Lys	$C_{69}H_{107}N_{11}O_{15}$	1332,7	1331,5	1,74	B
28	Ala-Ser-Asp	$C_{64}H_{94}N_{10}O_{18}$	1292,5	1292,3	1,83	B
29	D-Leu-Ala-Leu	$C_{69}H_{106}N_{10}O_{15}$	1316,7	1316,5	2,28	B
30	Phe-Ser-Glu	$C_{71}H_{100}N_{10}O_{18}$	1382,6	1382,2	2,02	D
31	Glu-Val-Cit	$C_{70}H_{106}N_{12}O_{18}$	1404,7	1418,5	1,96	B
32	D-Leu-Ser-Glu	$C_{68}H_{102}N_{10}O_{18}$	1348,6	1349,2	2,07	B
33	D-Ala-Ala-Cit	$C_{66}H_{100}N_{12}O_{16}$	1318,6	1318,5	1,86	B
34	Glu-Leu-Cit	$C_{71}H_{108}N_{12}O_{18}$	1418,7	1418,5	1,96	B
35	D-Leu-Gly-Glu	$C_{67}H_{100}N_{10}O_{17}$	1318,6	1318,5	2,02	B
36	Glu-Ala-Leu	$C_{68}H_{102}N_{10}O_{17}$	1332,6	1332,5	2,03	B
38	D-Leu-Aib-Glu	$C_{69}H_{104}N_{10}O_{17}$	1346,7	1346,4	2,13	D

39	D-Leu-Aib-Cit	$C_{70}H_{108}N_{12}O_{16}$	1374,7	1375,1	2,11	B
40	Val-Gln-Glu	$C_{69}H_{103}N_{11}O_{18}$	1375,6	1375,5	1,84	B
45	Ala-Ser-Pro	$C_{65}H_{96}N_{10}O_{16}$	1274,5	1274,6	1,88	B
46	Ala-Asp-Pro	$C_{66}H_{96}N_{10}O_{17}$	1302,5	1302,6	1,87	B
47	Phe-Ser-Asp	$C_{70}H_{98}N_{10}O_{18}$	1368,6	1368,4	1,98	E
48	Pro-Ser-Asp	$C_{66}H_{96}N_{10}O_{18}$	1318,5	1318,3	1,84	E
49	D-Ala-Ser-Asp	$C_{64}H_{94}N_{10}O_{18}$	1292,5	1292,3	1,81	E
50	Pro-Gly-Glu	$C_{66}H_{96}N_{10}O_{17}$	1302,5	1302,1	1,9	E
51	Pro-Asp-Ser	$C_{66}H_{96}N_{10}O_{18}$	1318,5	1318,2	1,88	E
52	D-Ala-Asp-Ser	$C_{64}H_{94}N_{10}O_{18}$	1292,5	1292,2	1,83	E
53	D-Ser-Ser-Asp	$C_{64}H_{94}N_{10}O_{19}$	1308,5	1308,9	1,82	E
54	Ala-Glu-Pro	$C_{67}H_{98}N_{10}O_{17}$	1316,5	1316,4	1,98	E
55	D-Ala-Ser-Glu	$C_{65}H_{96}N_{10}O_{18}$	1306,5	1306,6	1,94	E
56	Asp-Gly-Pro	$C_{65}H_{94}N_{10}O_{17}$	1288,5	1289,1	2,01	E
57	Phe-Gln-Glu	$C_{73}H_{103}N_{11}O_{18}$	1423,7	1423,6	2,07	E
58	Val-Asn-Glu	$C_{68}H_{101}N_{11}O_{18}$	1361,6	1361,4	2,05	E
59	D-Ala-Gln-Glu	$C_{67}H_{99}N_{11}O_{18}$	1347,6	1347,6	1,99	E
60	D-Glu-Ser-Glu	$C_{67}H_{98}N_{10}O_{20}$	1364,5	1364,5	1,74	B
61	Ser-Ser-Pro	$C_{65}H_{96}N_{10}O_{17}$	1290,5	1289,6	1,88	E
62	Pro-Ser-Ser	$C_{65}H_{96}N_{10}O_{17}$	1290,5	1289,7	1,9	E
63	Ser-Ser-Glu	$C_{65}H_{96}N_{10}O_{19}$	1322,5	1322,4	1,85	E
64	Pro-Gly-Asp	$C_{65}H_{94}N_{10}O_{17}$	1288,51	1288,1	1,95	E
65	Pro-Gln-Asp	$C_{68}H_{99}N_{11}O_{18}$	1359,61	1359,4	1,93	E
66	Pro-Gln-Glu	$C_{69}H_{101}N_{11}O_{18}$	1373,61	1373,3	1,91	E
67	D-Ser-Ser-Glu	$C_{65}H_{96}N_{10}O_{19}$	1322,51	1322,4	1,95	E
68	Gln-Ser-Ala	$C_{65}H_{97}N_{11}O_{17}$	1305,51	1305,3	1,75	E
69	Glu-Ser-Ala	$C_{65}H_{96}N_{10}O_{18}$	1306,51	1306,2	1,76	E
70	Ser-Asn-Asn	$C_{65}H_{96}N_{12}O_{18}$	1334,51	1334,6	1,69	E

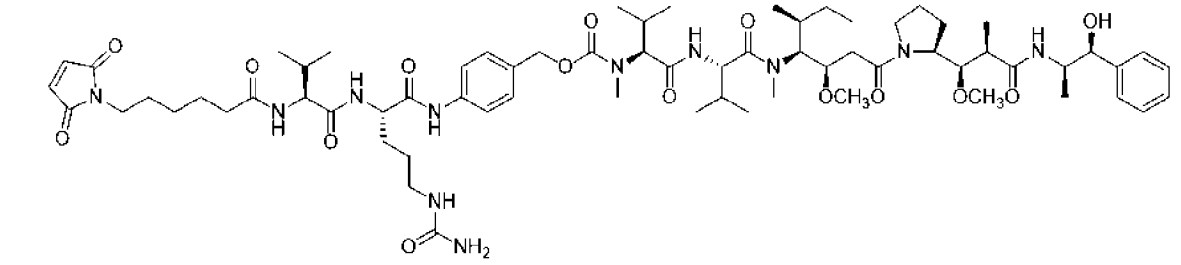
*Сокращения: Aib=α-аминоизоянтарная кислота, Cit=цитруллин, Met(O)=метионинсульфоксид, Nal=нафтал-1-ил аланин, (Se-Met)=селенометионин, Gla=гамма-карбоксиглутамат, Tyr(All)=O-аллилтирозин

Таблица 2А. УВЭЖХ-МС данные для выбранного соединения лекарственный препарат-линкер на основе MMAF

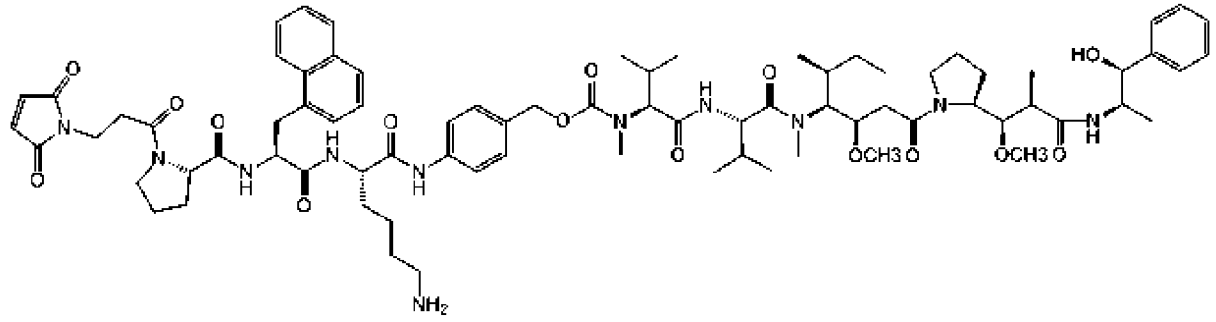
Соединение	Трипептид Последовательность	Молекулярная формула	МС рассч.	МС найден	Время удержа	Метод

№			$(M+H)^+$	ная	ния (мин)	
42	D-Leu-Ala-Glu	$C_{71}H_{106}N_{10}O_{18}$	1389,7	1388,6	2,16	B

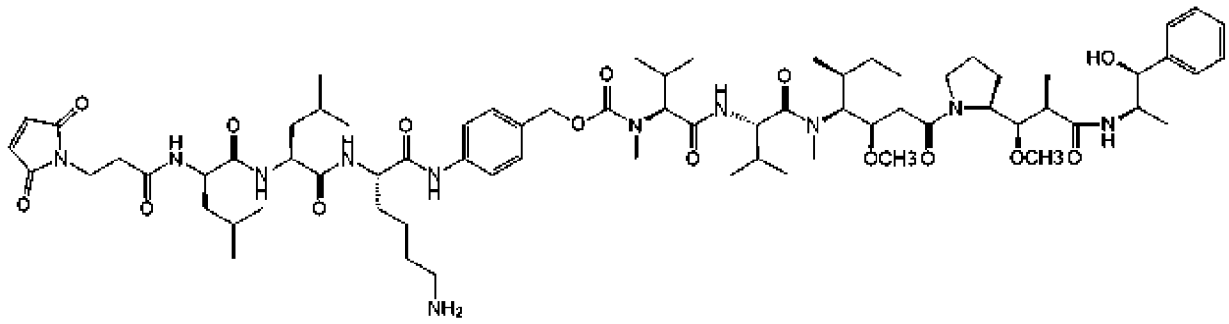
[0975] Структуры трипептидных соединений лекарственный препарат-линкер **2-36, 38-40 и 45-70** из таблицы 2 и соединения **42** из таблицы 2A, а также сравнительного дипептидного соединения лекарственный препарат-линкер **1,** соединения **7** и соединения **41** являются следующими:



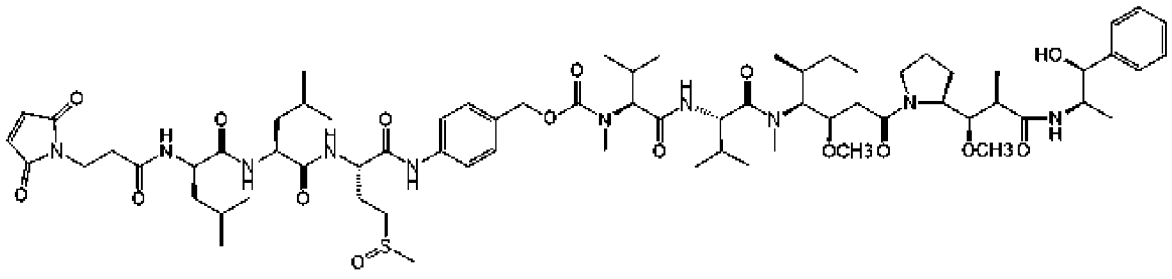
(**1**)



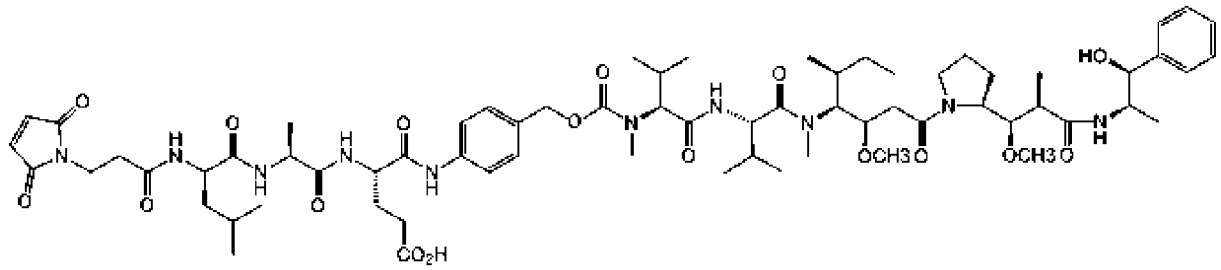
(**2**)



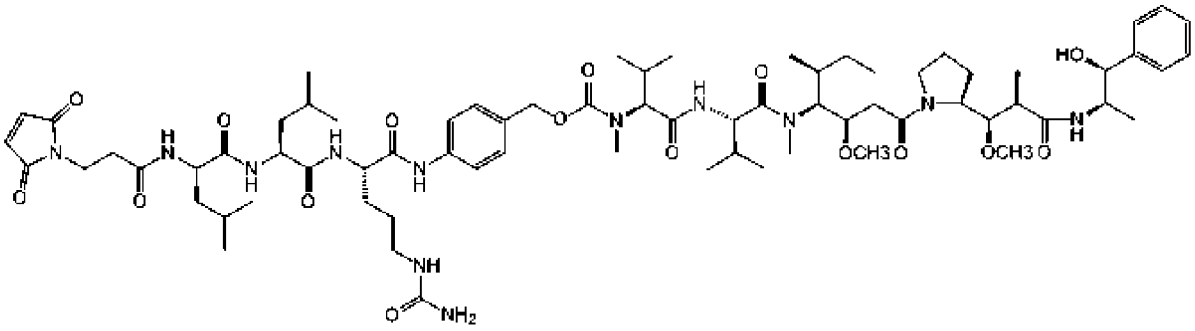
(**3**)



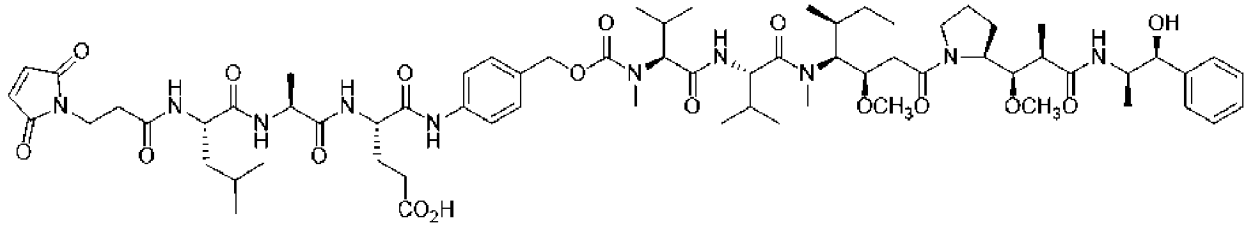
(**4**)



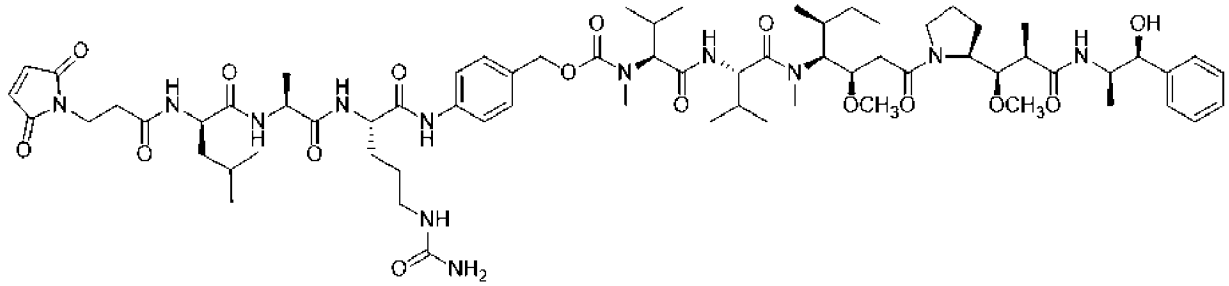
(**5**)



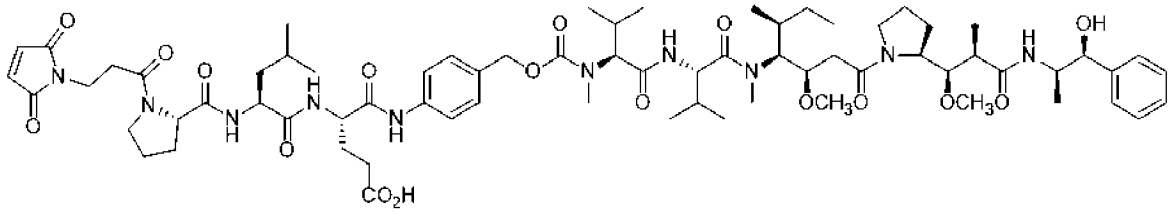
(**6**)



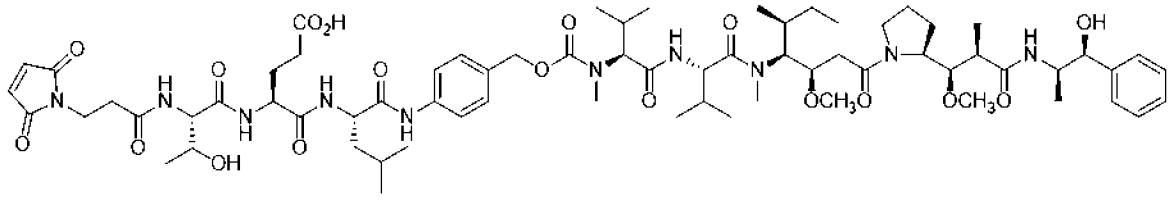
(**7**)



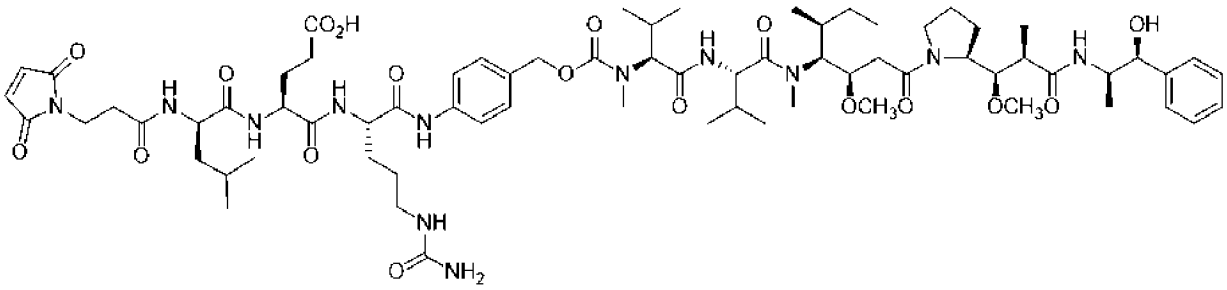
(**8**)



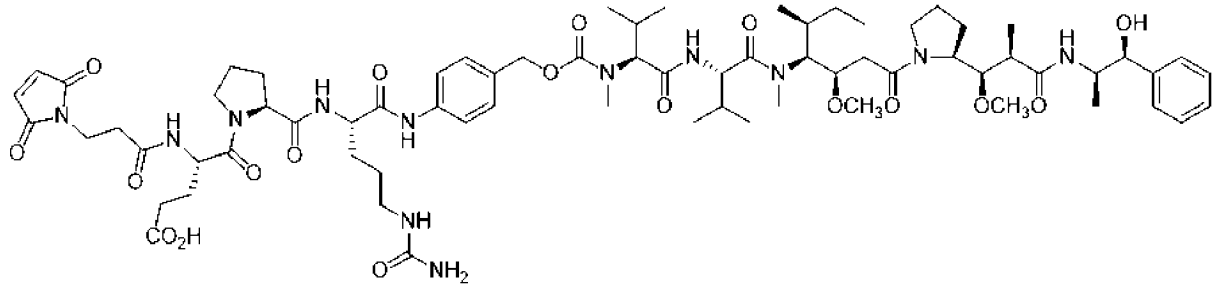
(**9**)



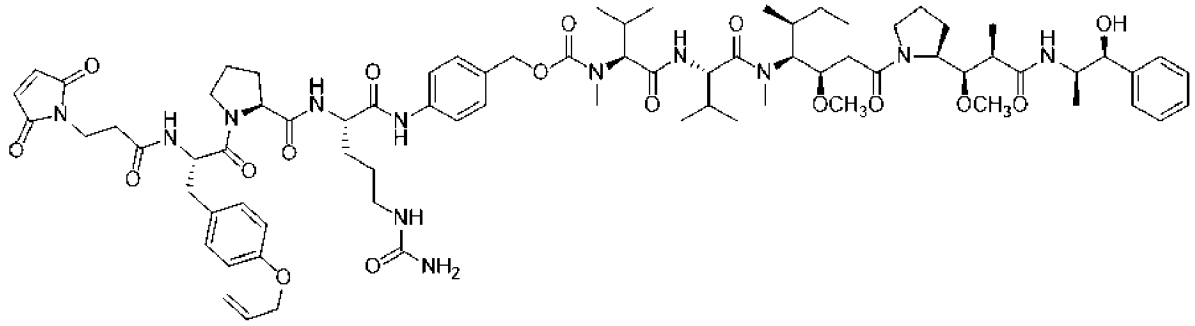
(**10**)



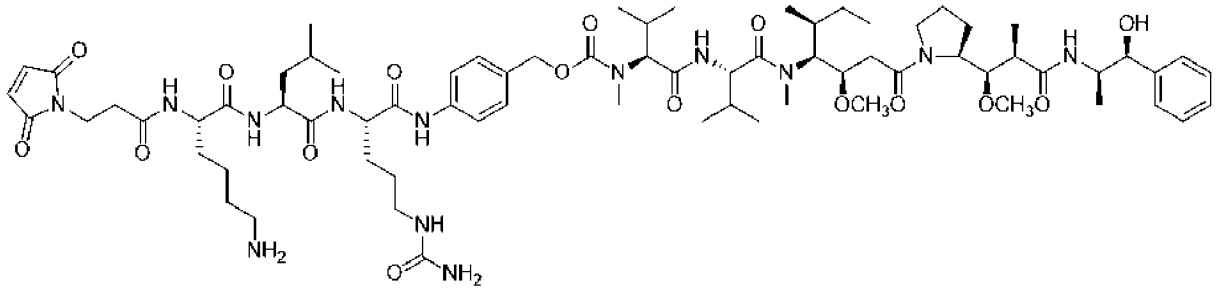
(11)



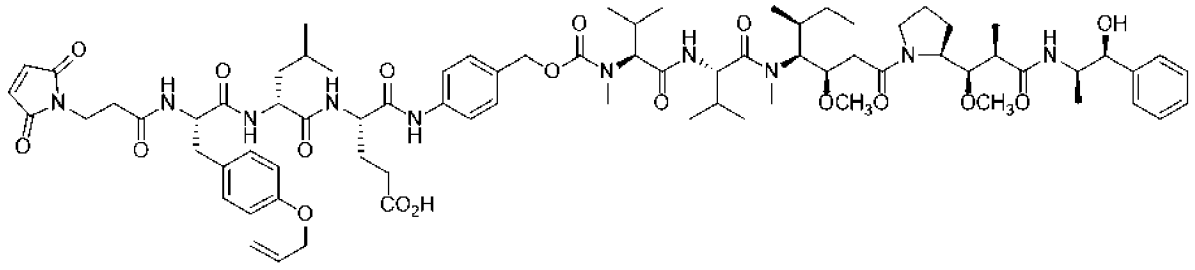
(12)



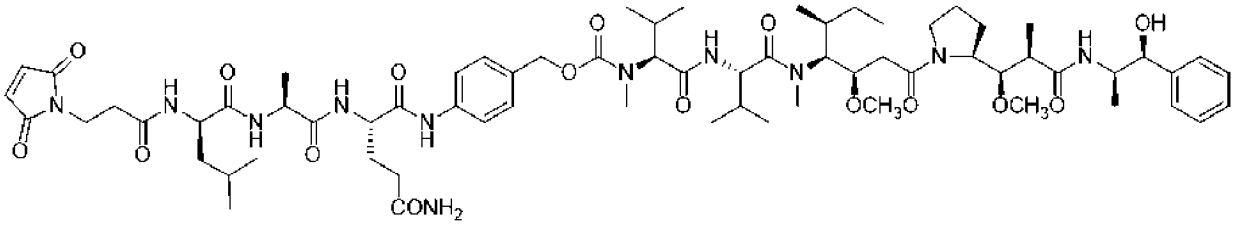
(13)



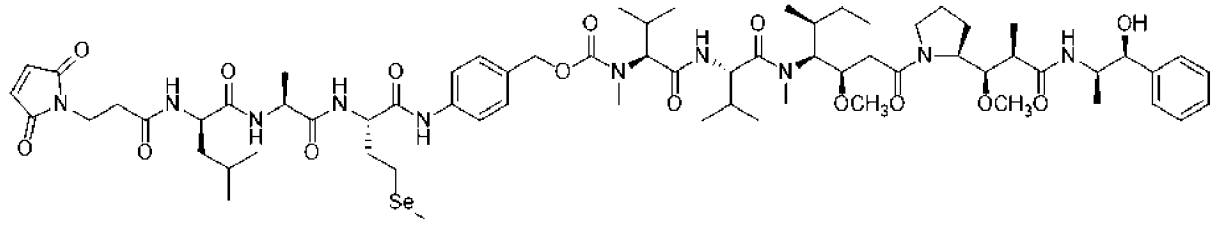
(14)



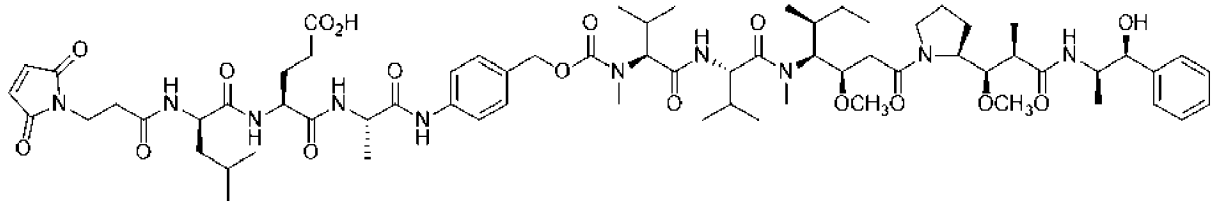
(15)



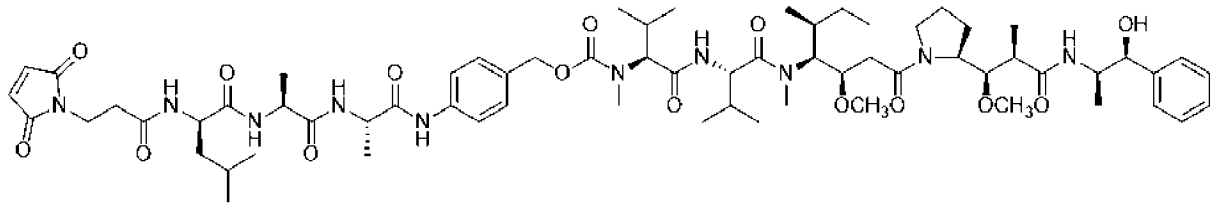
(16)



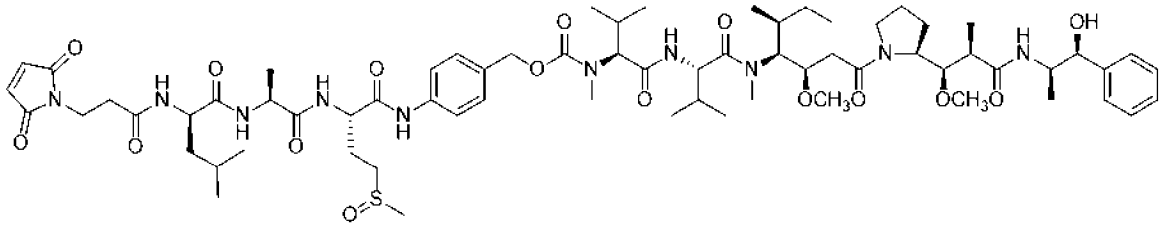
(17)



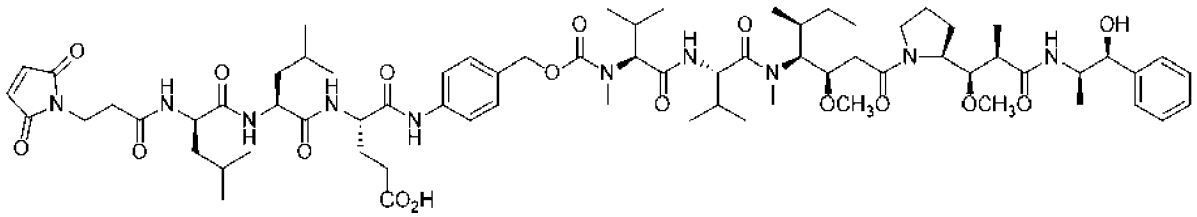
(18)



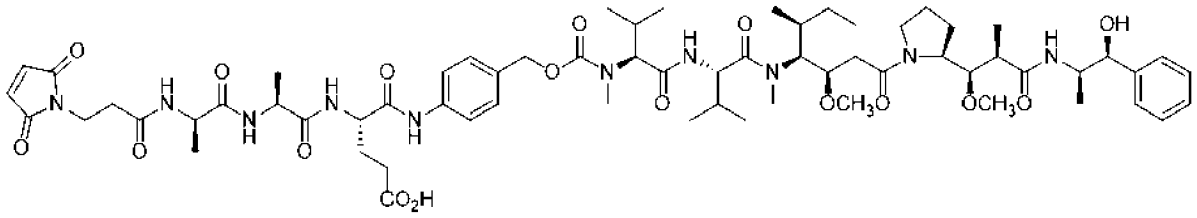
(19)



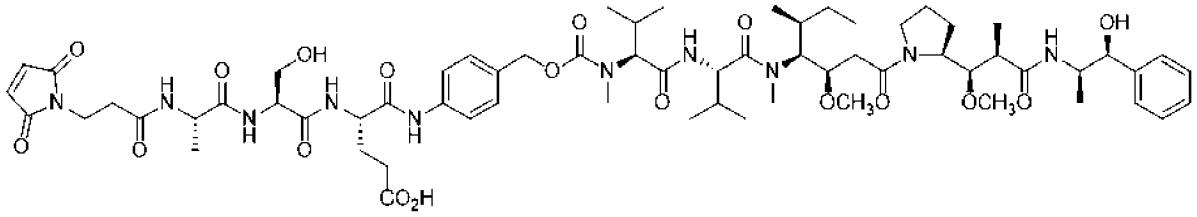
(20)



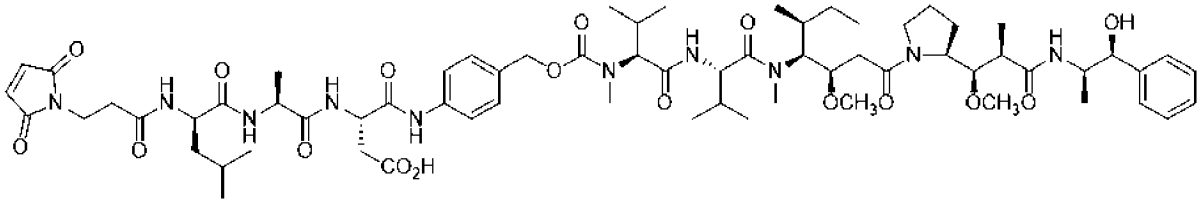
(21)



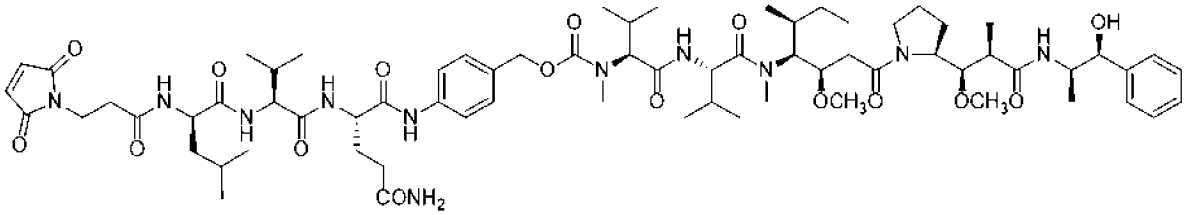
(22)



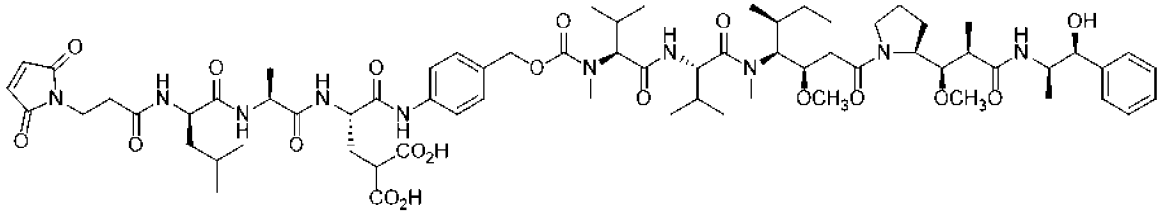
(23)



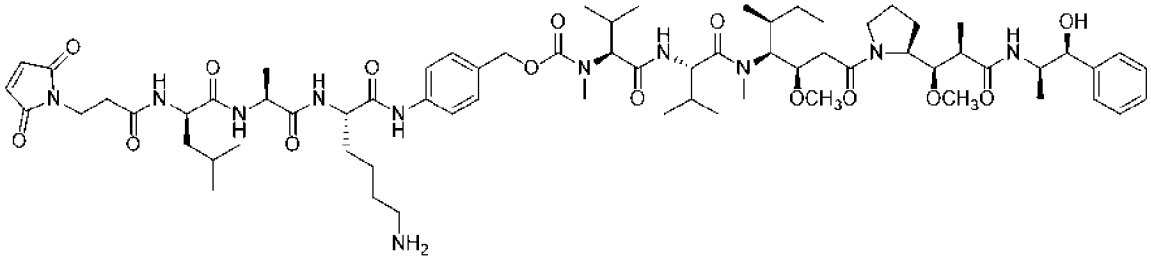
(24)



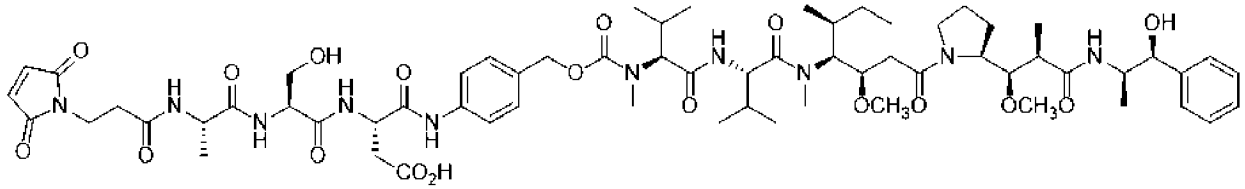
(25)



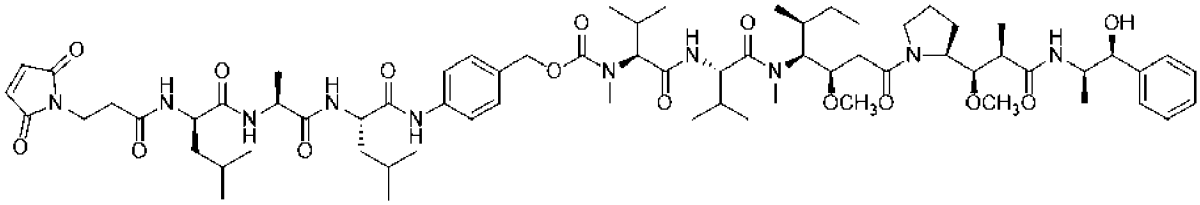
(26)



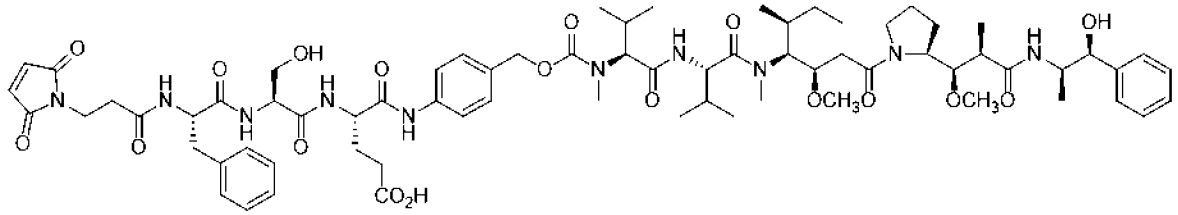
(27)



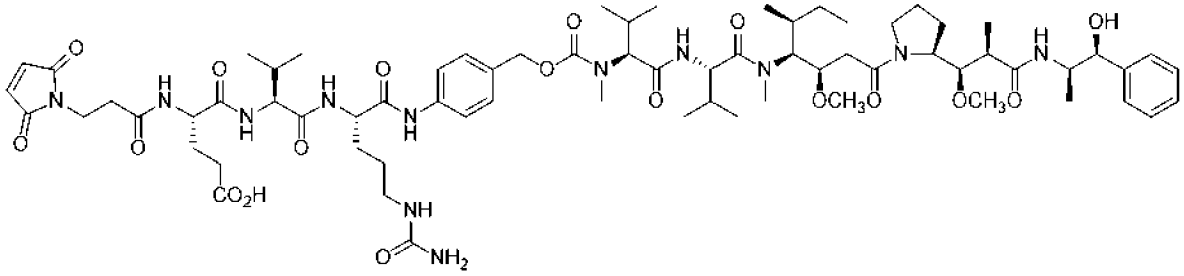
(28)



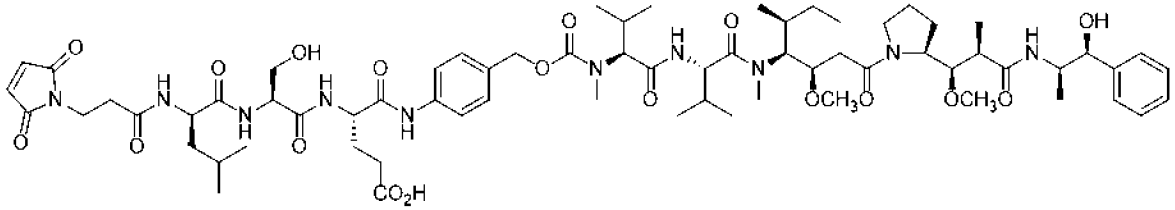
(29)



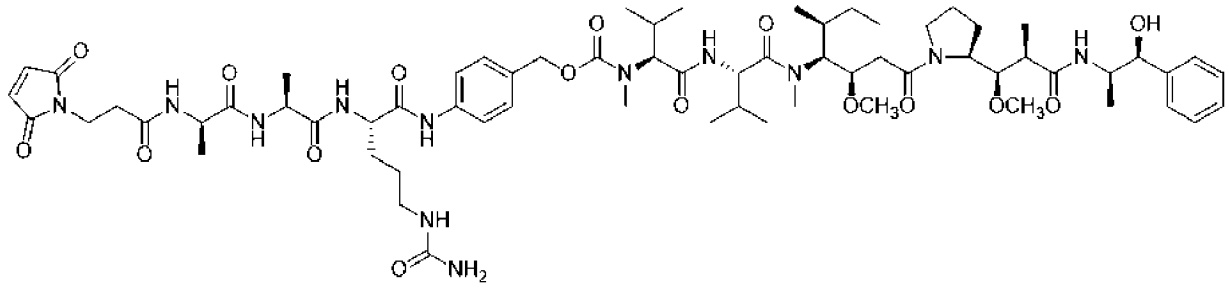
(30)



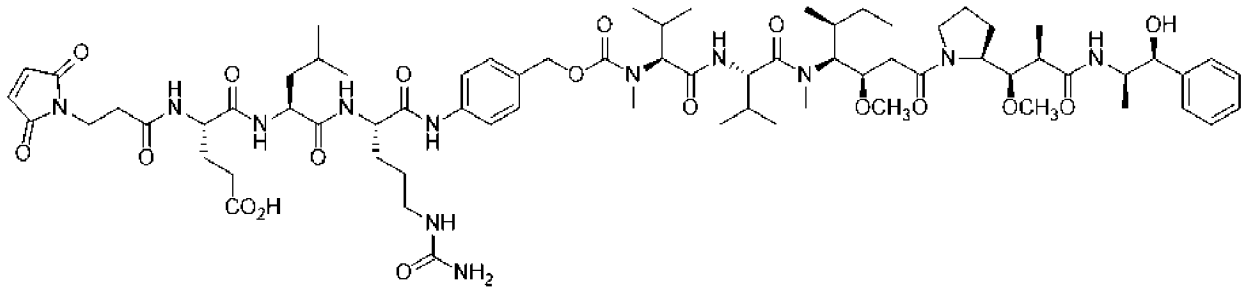
(31)



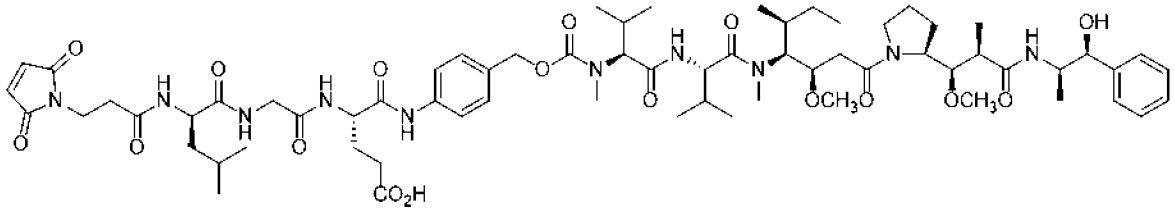
(32)



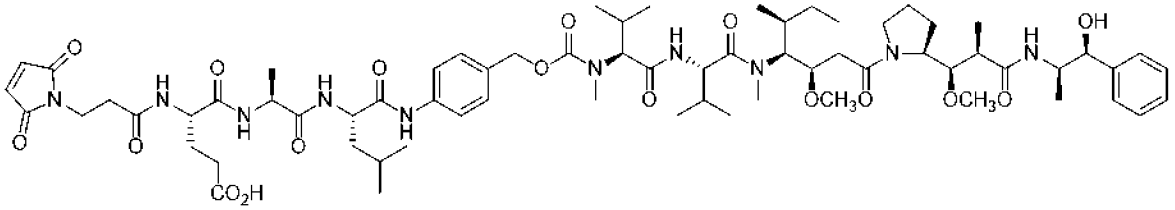
(33)



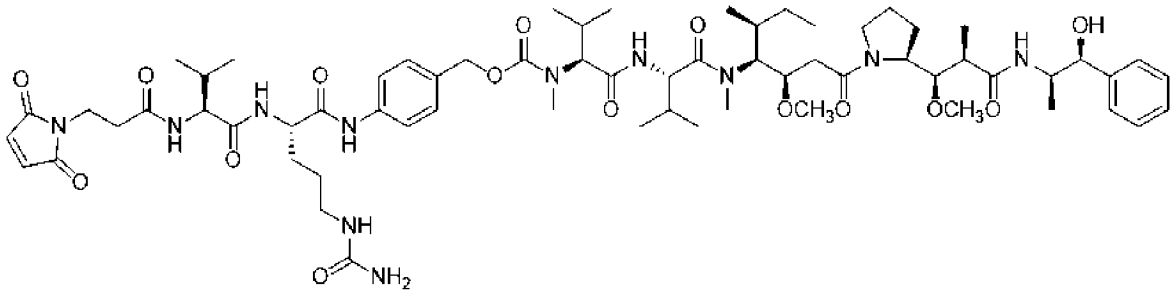
(34)



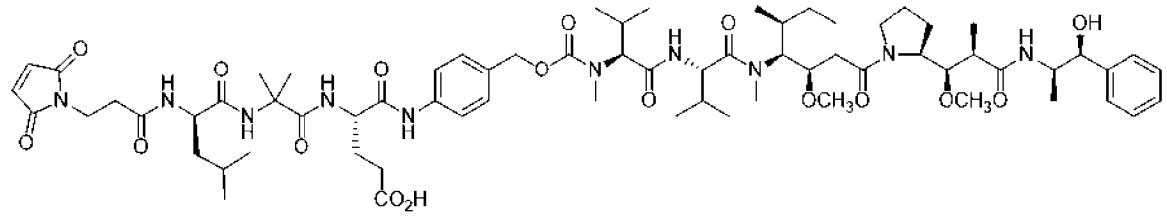
(35)



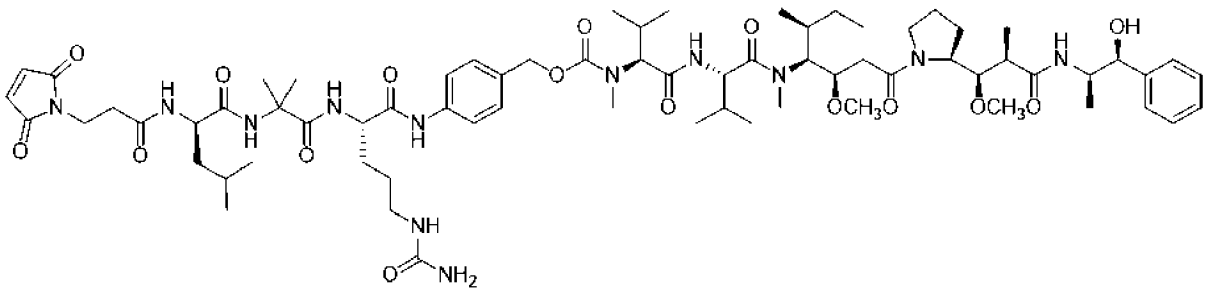
(36)



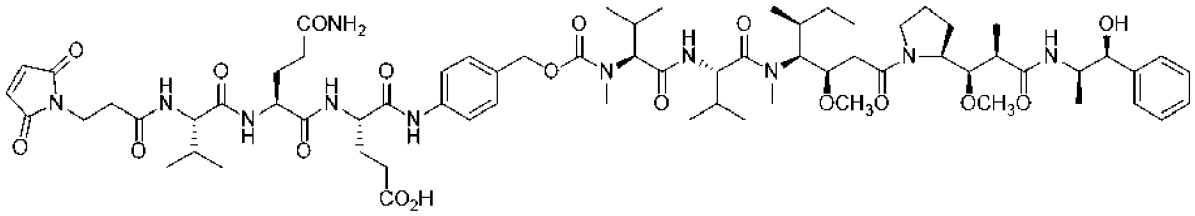
(37)



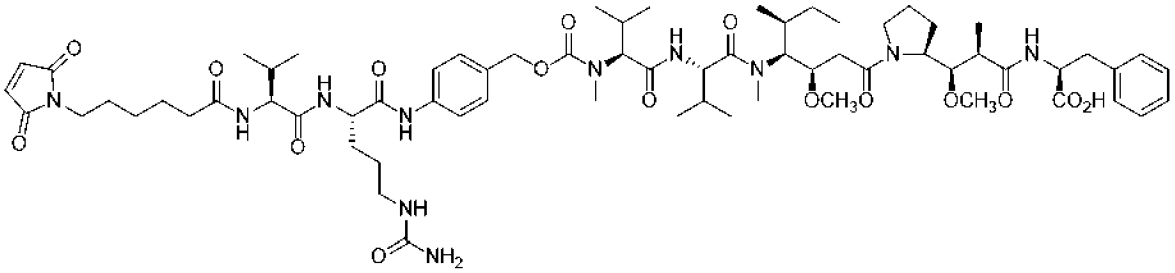
(38)



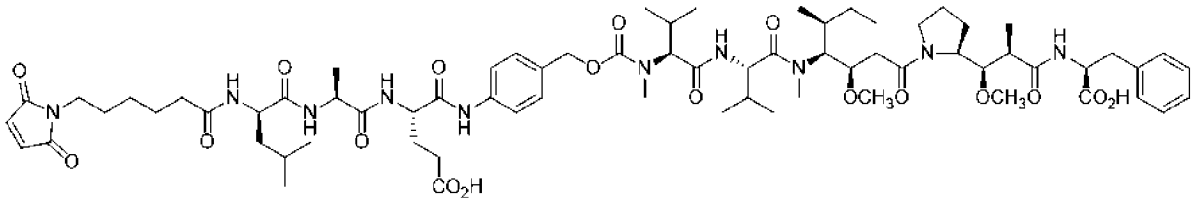
(39)



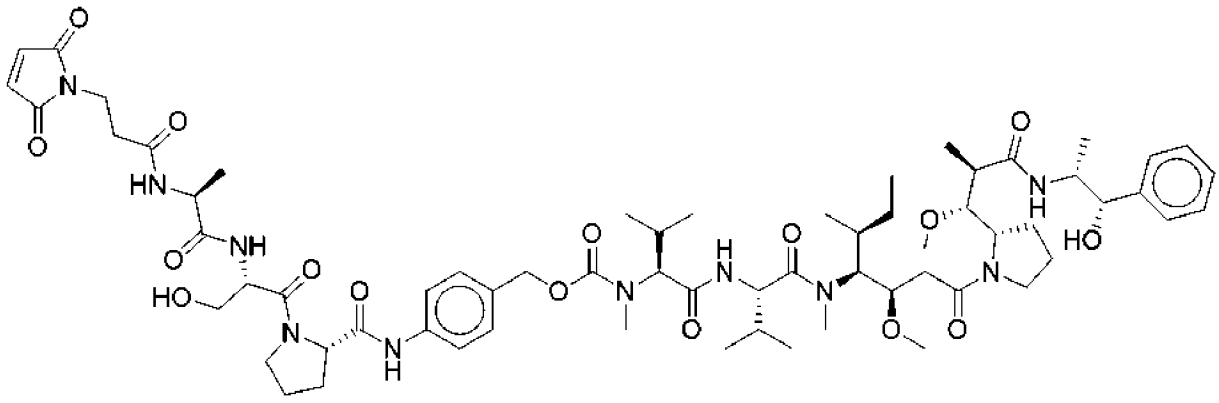
(40)



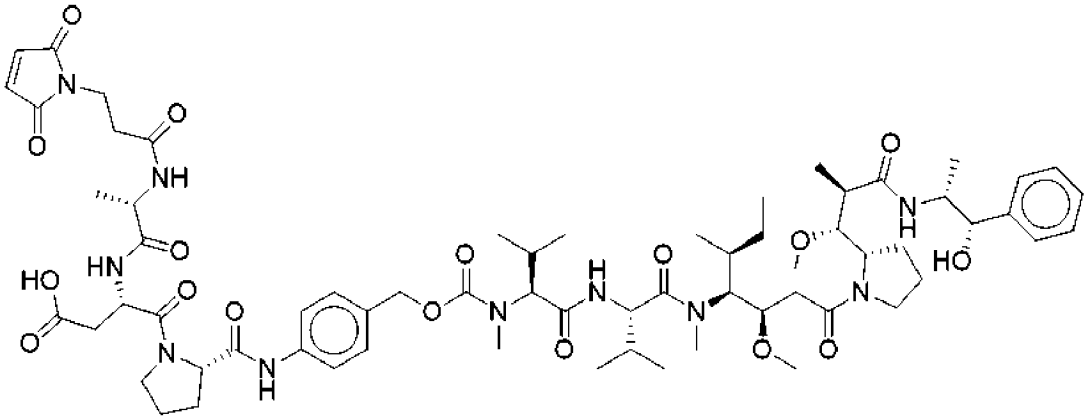
(41)



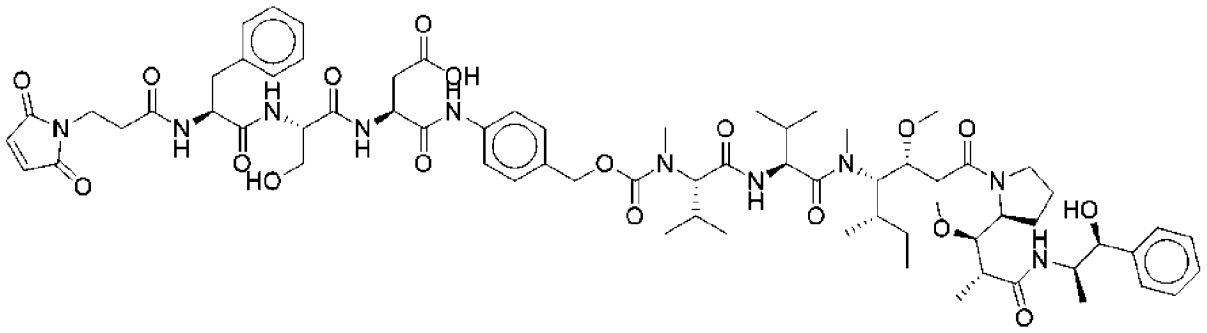
(42)



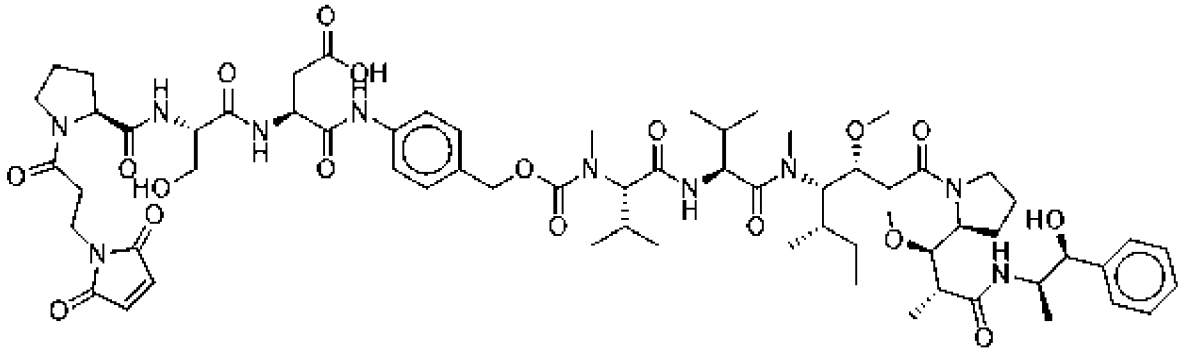
(45)



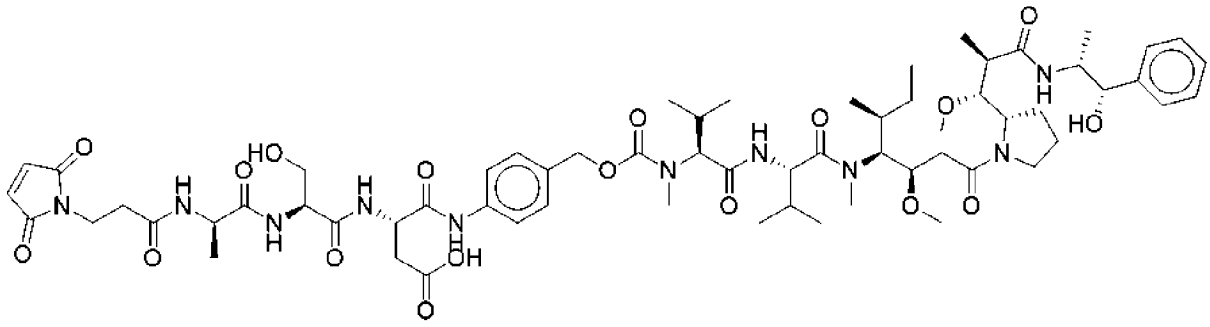
(46)



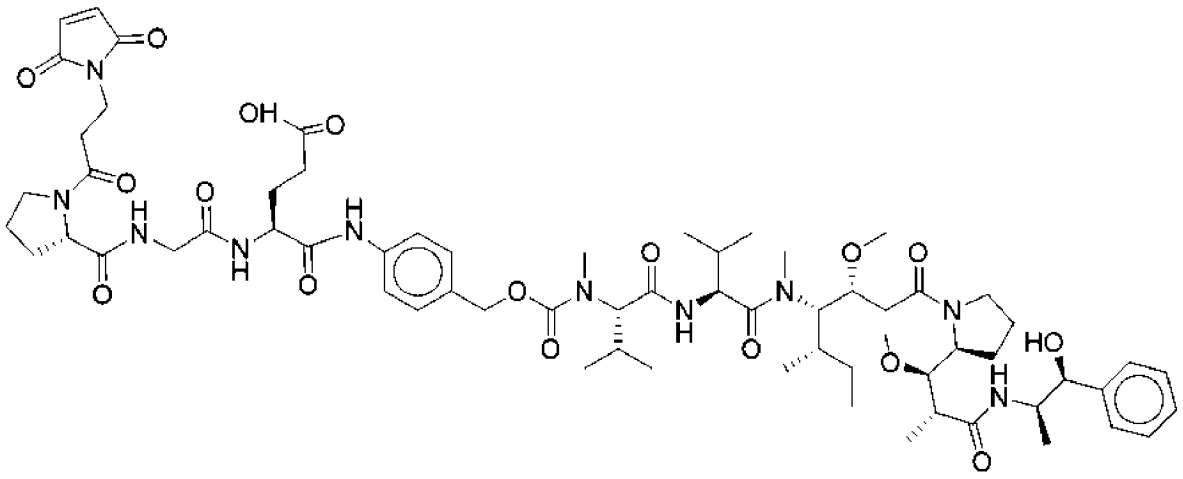
(47)



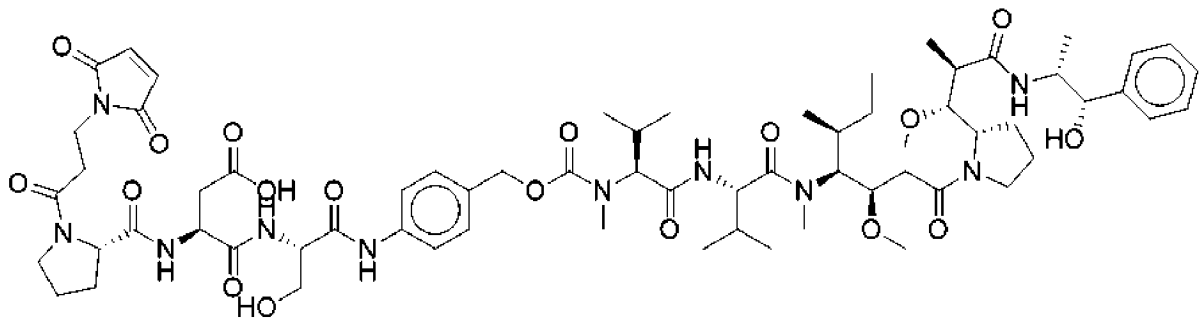
(48)



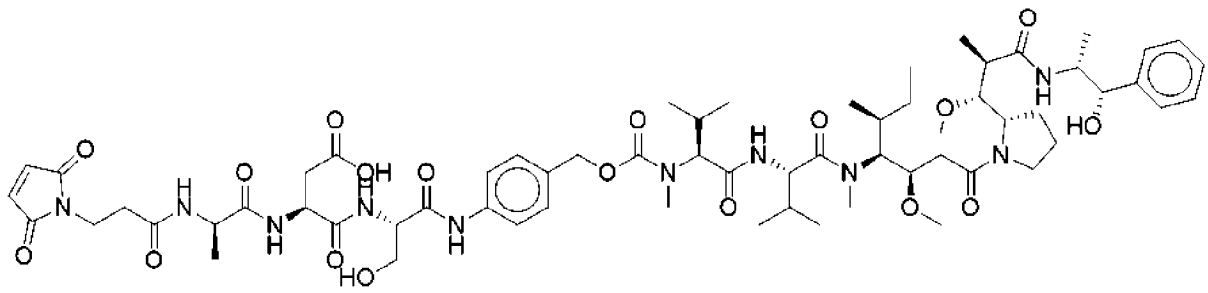
(49)



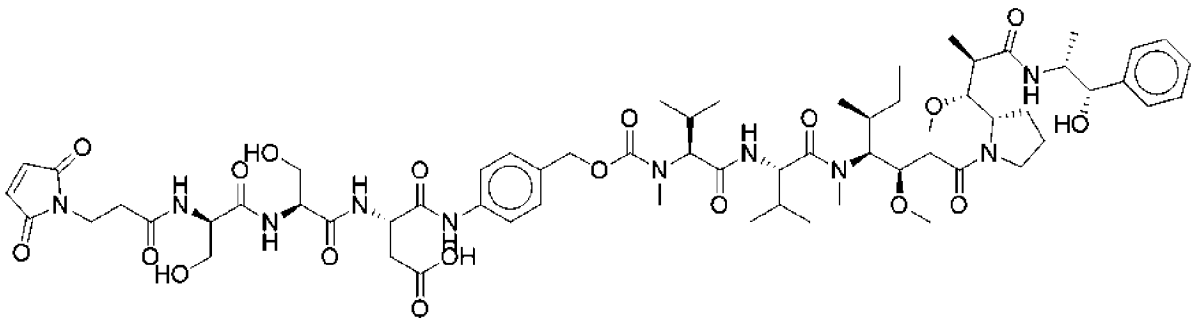
(50)



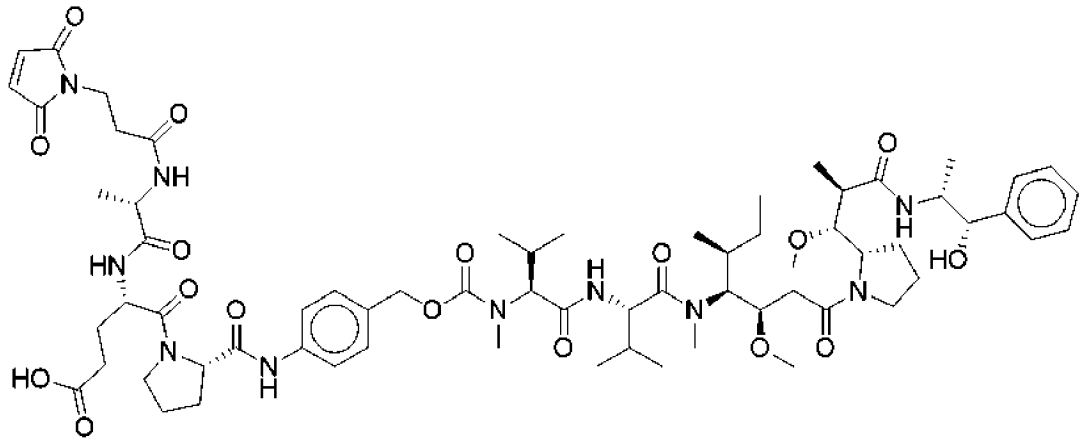
(51)



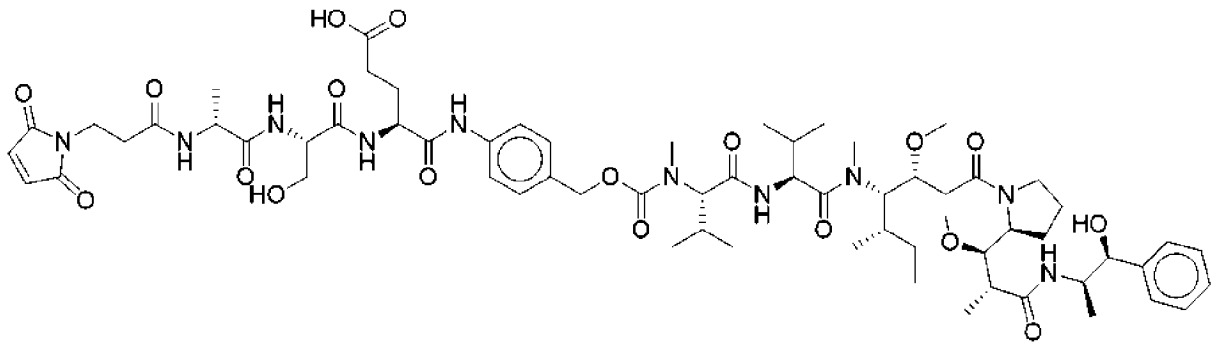
(52)



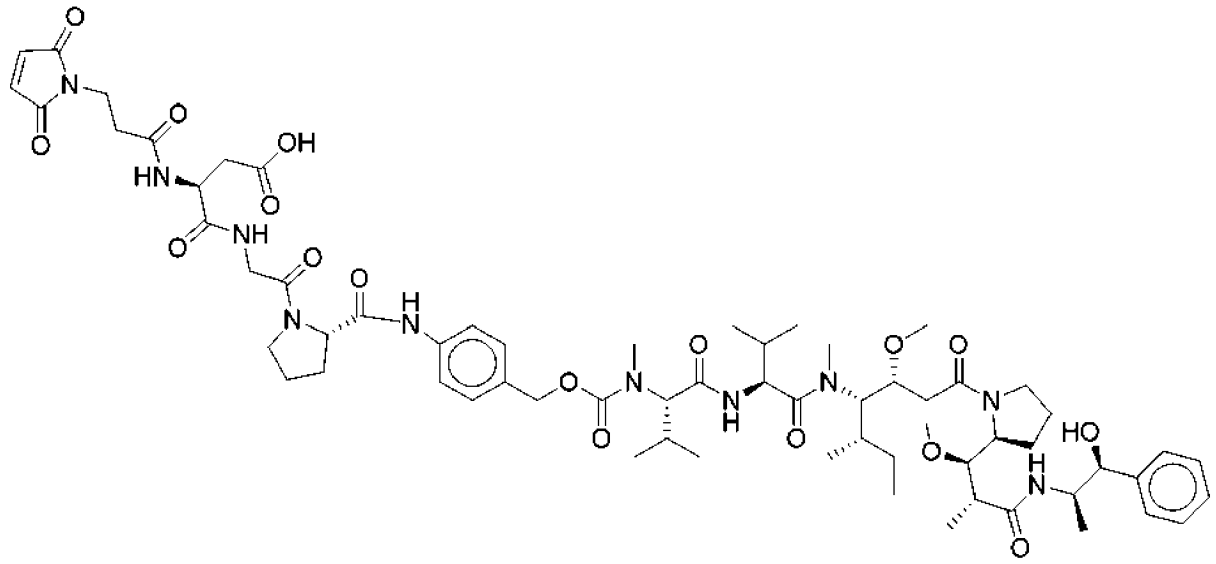
(53)



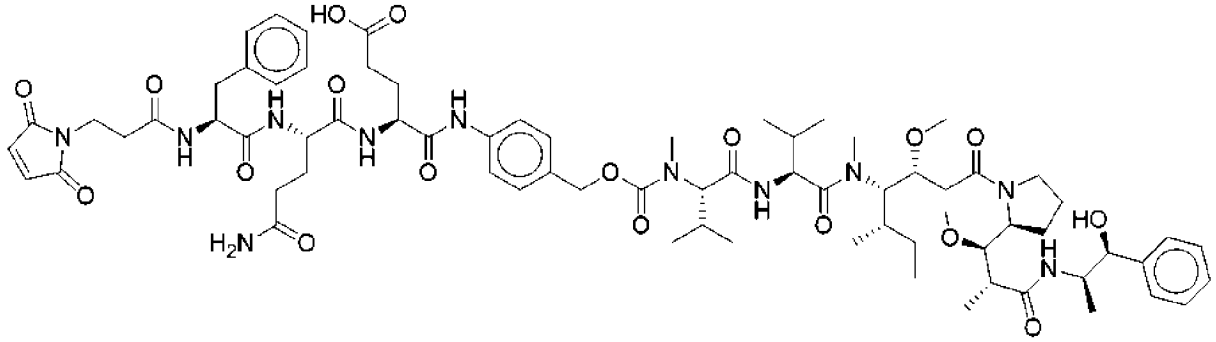
(54)



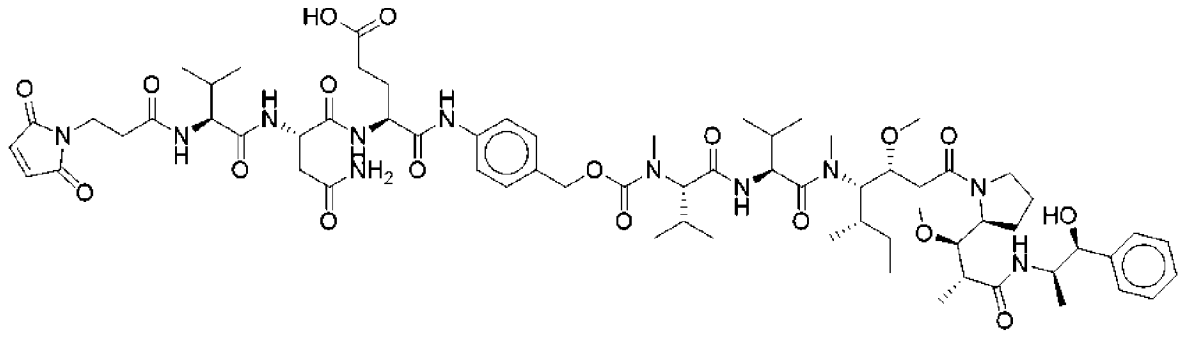
(55)



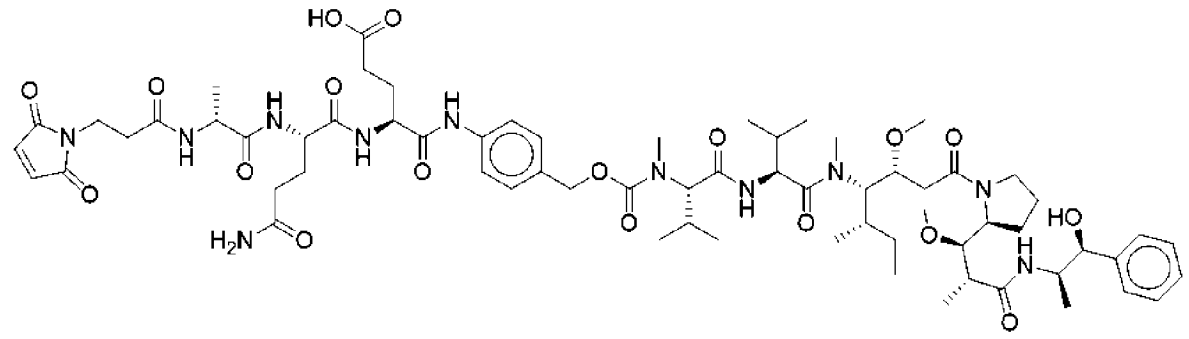
(56)



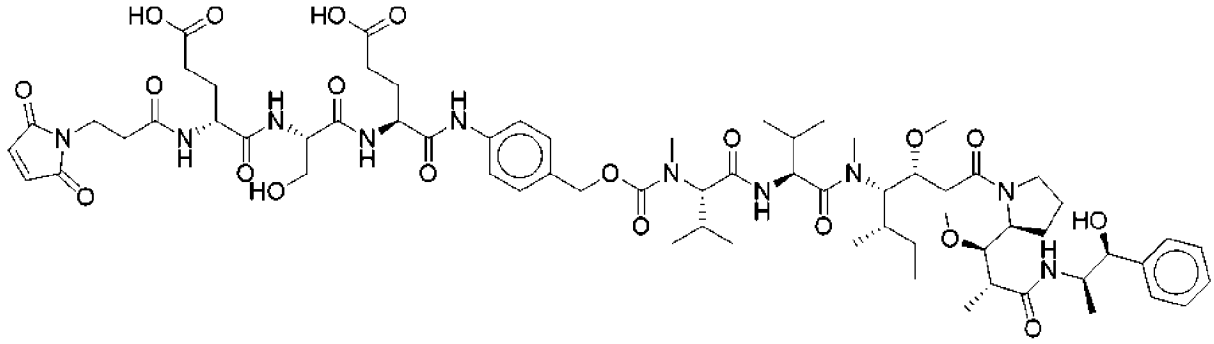
(57)



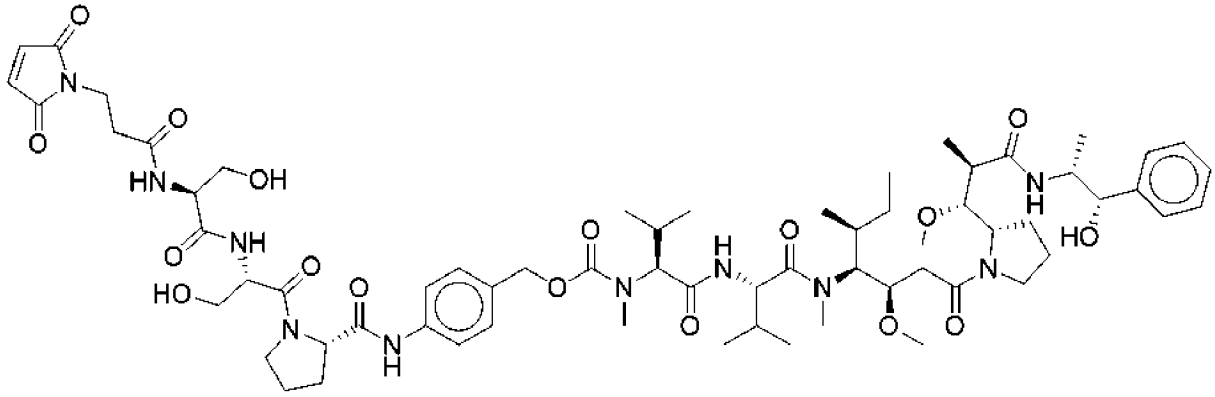
(58)



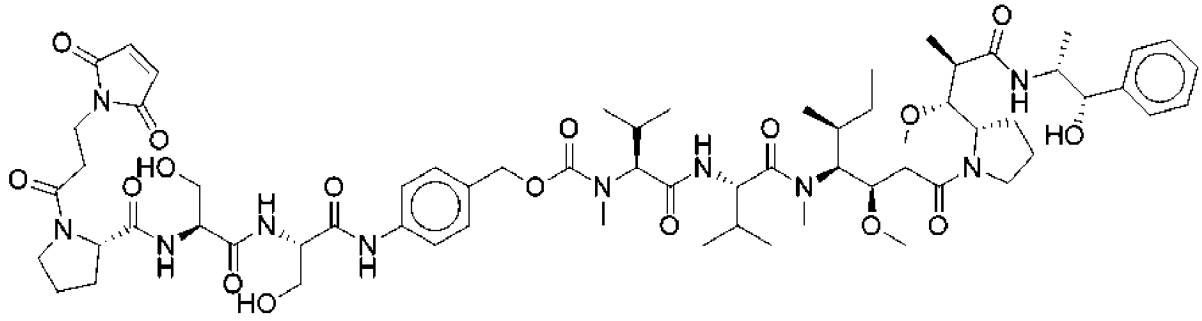
(59)



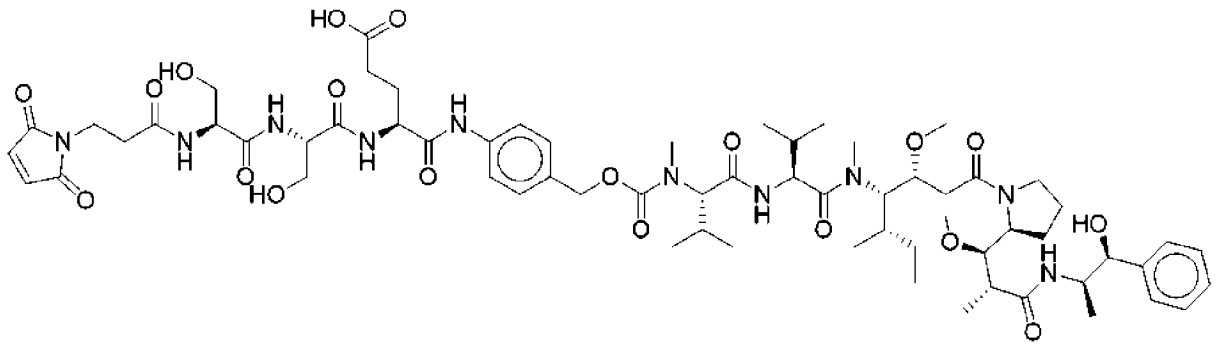
(60)



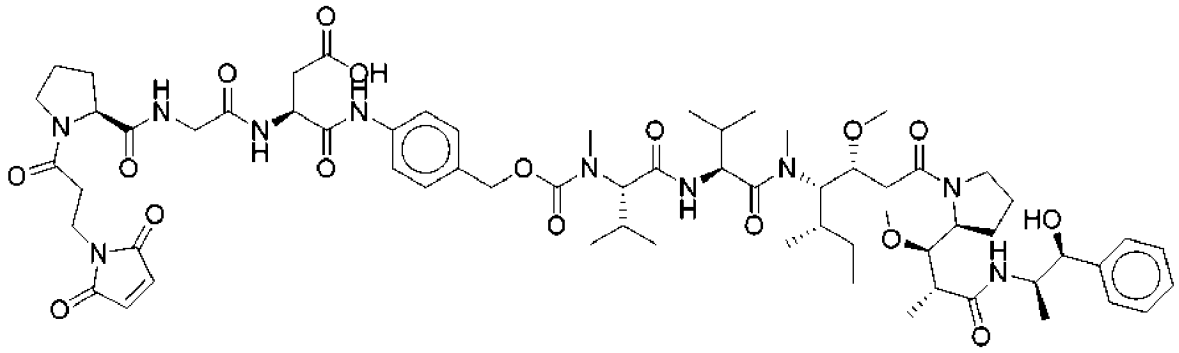
(61)



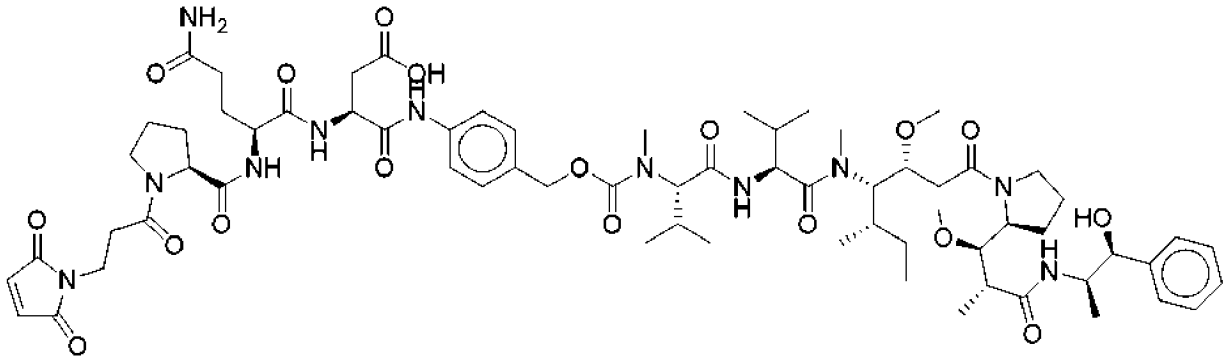
(62)



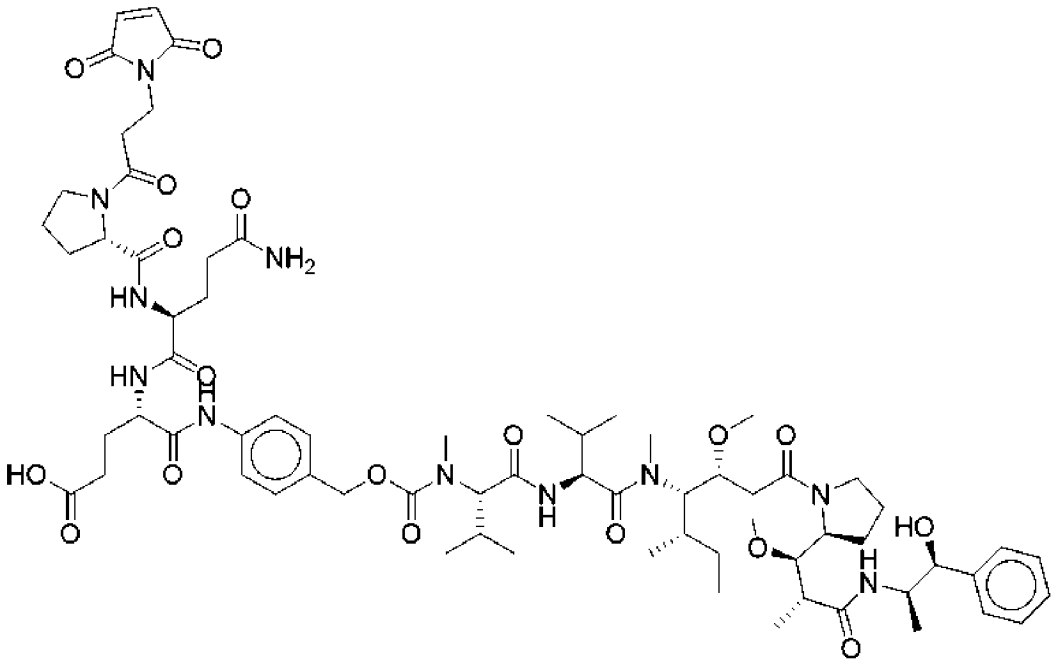
(63)



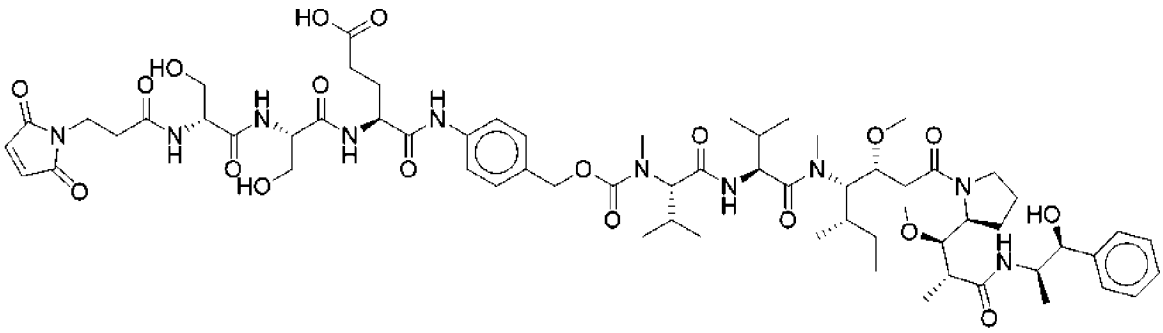
(64)



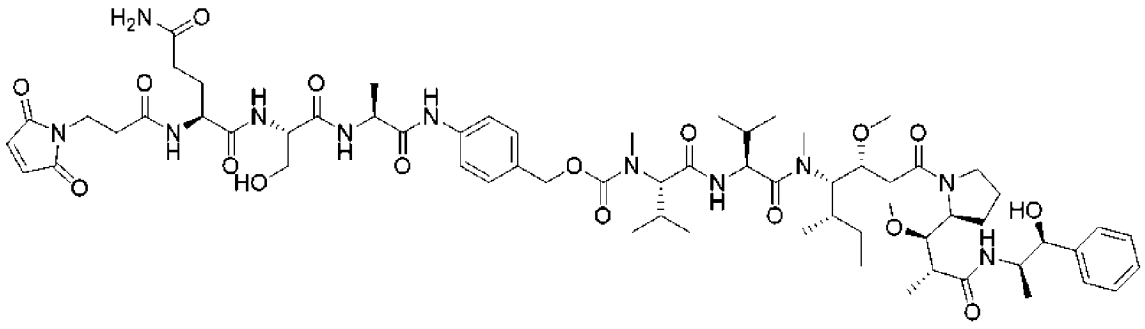
(65)



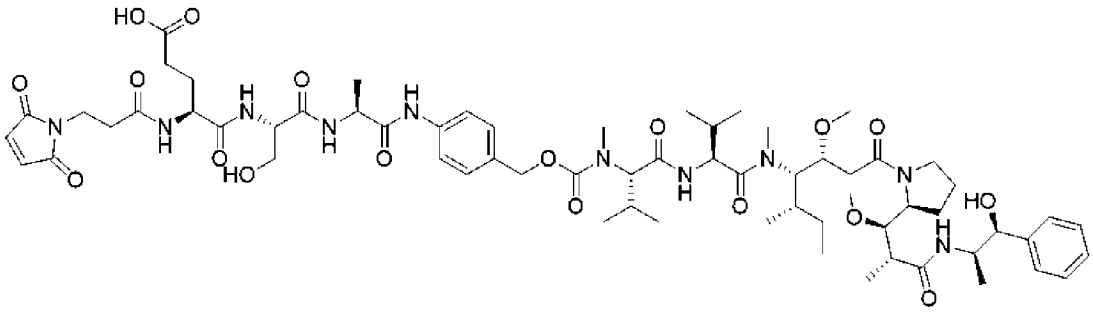
(66)



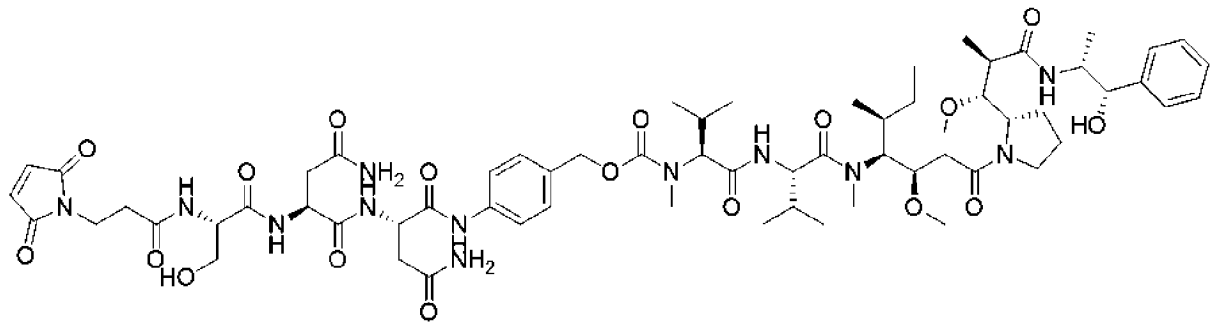
(67)



(68)



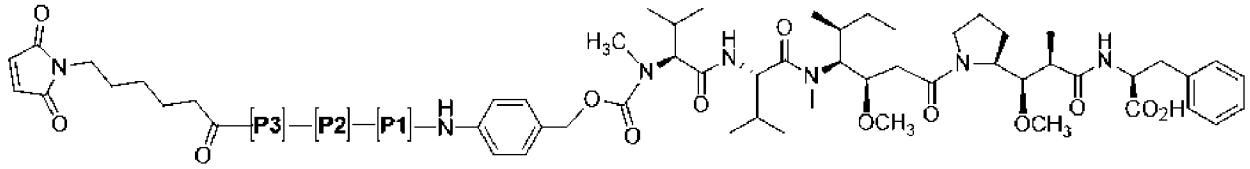
(69)



(70)

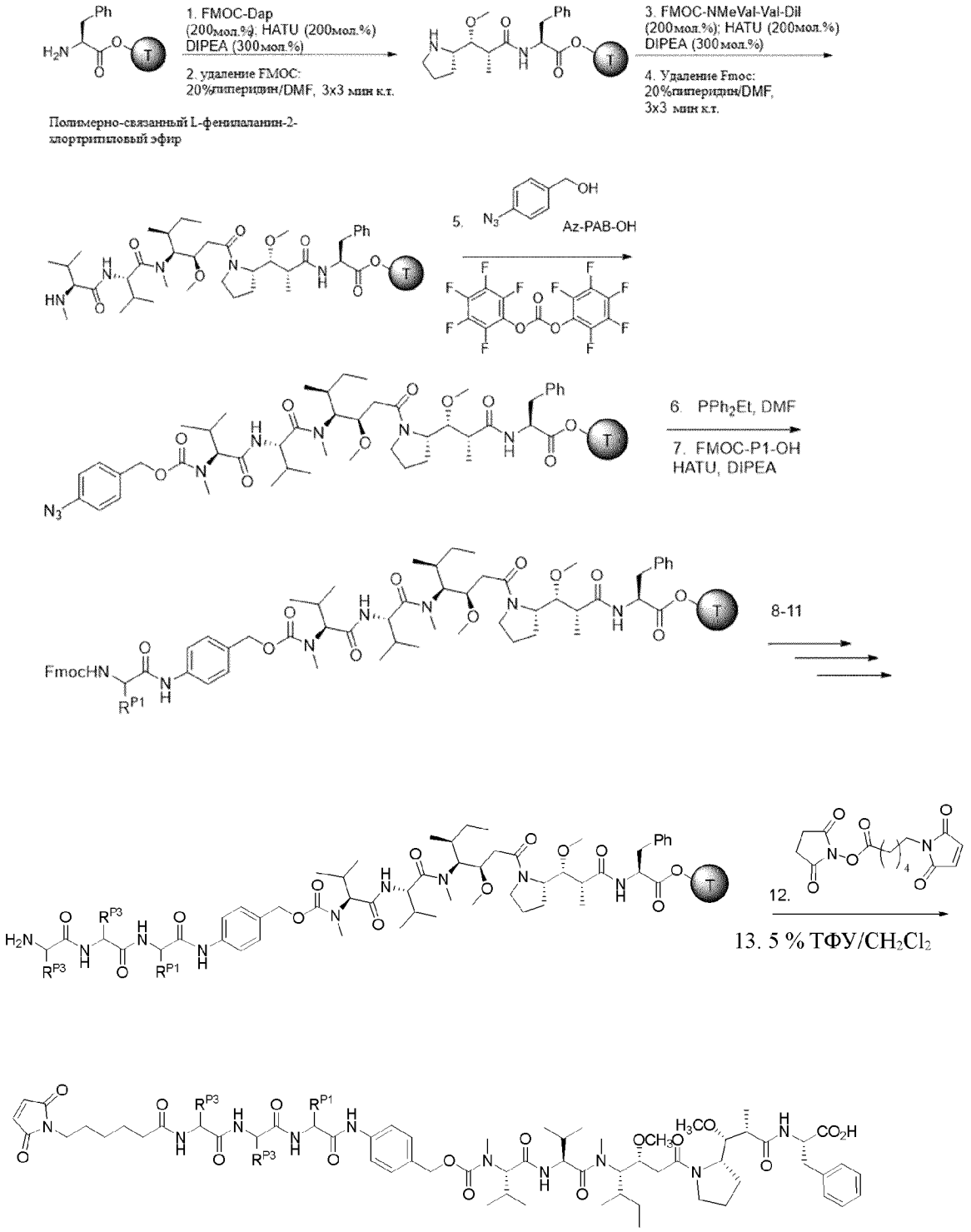
Пример 11: Получение трипептидных MMAF-соединений лекарственный препарат-линкер.

[0976] Соединения лекарственный препарат-линкер, в которых MMAF является лекарственным звеном и которые можно использовать для получения аналогичной подгруппы конъюгатов лиганд-лекарственный препарат, обсуждаемой в части A, представлены следующей структурой и были получены в соответствии с последовательностью реакций со схемы 4, начиная с коммерчески доступного связанного полимера L-фенилаланин-2-хлортритилового сложного эфира.



mc-[P3]-[P2]-[P1]-PABC-MMAF

Схема 4. Получение связанного со смолой MMAF и трипептидных соединений лекарственный препарат-линкер, получаемых из него



[0977] На схемах 3 и 4 R^{P1}, R^{P2} и R^{P3} представляют собой боковые цепи аминокислотных остатков P1, P2 и P3, соответственно.

Пример 12: In vitro цитотоксичность трипептидных конъюгатов антитело - лекарственный препарат.

[0978] Конъюгаты антитело - лекарственный препарат, имеющие соотношение лекарственного препарата к антителу (DAR) около 4, получали в соответствии с общими

процедурами из выбранных трипептидных соединений лекарственный препарат-линкер на основе MMAE из примера 10 и гуманизированного антитела, которое селективно связывается с эпителиальным антигеном (Ag1), уровень которого обычно повышен в различных солидных опухолях, включая опухоли поджелудочной железы, головы и шеи, легкого и пищевода. В таблице 3 приведены значения IC_{50} в отношении клеток линии аденокарциномы поджелудочной железы, в которых повышен уровень антигена Ag1, для трипептидных ADC (**2-6**) и для дипептидного сравнительного конъюгата (**1**), в котором -val-cit- замещает трипептидное расщепляемое звено. В таблице 3a приведены значения IC_{50} в отношении клеток линии HPAFII, в которых повышен уровень антигена Ag1, для трипептидных ADC (**8-10, 13, 16-21, 30, 31 и 38**) и для дипептидного сравнительного конъюгата (**1**), в котором -val-cit- замещает трипептидное расщепляемое звено. В таблице 3b приведены значения IC_{50} в отношении клеток линии HPAFII, в которых повышен уровень антигена Ag1, для трипептидных ADC (**7, 15, 22-29, 32-36, 39 и 42**) и для дипептидных сравнительных конъюгатов (**1** и **41**), в которых -val-cit- замещает трипептидное расщепляемое звено. Выделенные курсивом значения в таблицах 3, 3a и 3b указывают процент клеток, оставшихся после 96 ч инкубации при максимальной концентрации добавляемого лекарственного препарата. Для удобства нумерация для членов библиотеки из таблиц 2 и 2A сохранена для соответствующих соединений лекарственный препарат-линкер, которые включены в ADC из таблиц 3, 3a и 3b.

Таблица 3. Цитотоксичность ADC против клеток аденокарциномы поджелудочной железы

ADC	Цитотоксичность	
	IC_{50}	%
Ag1-**1**	54	21
Ag1-**2**	36	21
Ag1-**3**	22	22
Ag1-**4**	35	21
Ag1-**5**	62	23
Ag1-**6**	30	20

[0979] Результаты из таблицы 3 показывают, что трипептидные ADC (**2-6**) одинаково активны со сравнительным дипептидным ADC (**1**), переносимость которого подлежит повышению посредством замещения его дипептидного расщепляемого звена каждой из выбранных трипептидных последовательностей.

Таблица 3a. Цитотоксичность ADC против клеток HPAFII

ADC	Цитотоксичность	
	IC_{50}	%
Ag1-1	39	32
Ag1-8	279	39

Ag1-9	85	34
Ag1-10	37	32
Ag1-13	69	21
Ag1-16	83	29
Ag1-17	57	24
Ag1-18	81	27
Ag1-19	29	24
Ag1-20	70	31
Ag1-21	75	25
Ag1-30	144	31
Ag1-31	47	21
Ag1-38	484	54

[0980] Результаты из таблицы 3a показывают, что несколько трипептидных ADC (например, **8** и **30**) менее токсичны, чем сравнительный дипептидный ADC (**1**), но одинаково эффективны. Результаты из таблицы 3a также показывают, что некоторые трипептидные ADC (например, **38**) менее токсичны и эффективны, чем сравнительный дипептидный ADC (**1**), но менее токсичны для костного мозга крыс, что все еще может обеспечить более широкое терапевтическое окно по сравнению со сравнительным дипептидным ADC (**1**).

Таблица 3b. Цитотоксичность ADC против клеток HPAFII

ADC	Цитотоксичность	
	IC_{50}	%
Ag1-1	413	12
Ag1-7	226	29
Ag1-15	802	33
Ag1-22	2210	*Н/Д*
Ag1-23	581	31
Ag1-24	1239	32
Ag1-25	499	26
Ag1-26	1725	37
Ag1-27	99	11
Ag1-28	768	22
Ag1-29	261	20
Ag1-32	318	32
Ag1-33	279	11

Ag1-34	158	21
Ag1-35	859	27
Ag1-36	160	15
Ag1-39	2352	40
Ag1-41	16	23
Ag1-42	56	30

[0981] Результаты из таблицы 3b показывают, что некоторые трипептидные ADC (например, **22, 24 и 26**) могут быть менее токсичными, чем сравнительный ADC (1), но одинаково эффективными.

Пример 13: In vivo цитотоксичность трипептидных конъюгатов антитело - лекарственный препарат для раковых клеток.

[0982] ADC из таблицы 3 исследовали в ксенотрансплантатной модели, в которой клетки линии аденокарциномы поджелудочной железы из примера 12 имплантировали бестимусным мышам. Каждый трипептидный ADC вводили в одной и той же минимальной лечебной дозе (4 мг/кг), определенной для дипептидного сравнительного конъюгата, чтобы провести четкие различия между эффективностью. Как видно на Фиг. 1A, большинство трипептидных ADC являются по меньшей мере такими же эффективными, как и дипептидный сравнительный ADC.

[0983] ADC из таблицы 3a исследовали в ксенотрансплантатной модели, в которой клетки линии HPAFII из примера 12 имплантируют бестимусным мышам. Каждый трипептидный ADC вводят в одной и той же минимальной лечебной дозе (3 мг/кг), определенной для дипептидного сравнительного конъюгата, чтобы провести четкие различия между эффективностью. Как видно на Фиг. 1B и 1D, большинство трипептидных ADC являются в общем случае по меньшей мере такими же эффективными, как и дипептидный сравнительный ADC.

[0984] ADC из таблицы 3b исследовали в ксенотрансплантатной модели, в которой клетки линии HPAFII из примера 12 имплантируют бестимусным мышам. Каждый трипептидный ADC вводили в одной и той же минимальной лечебной дозе (3 мг/кг), за исключением трипептидного ADC Ag1-**15** и сравнительного дипептидного ADC, которые оба исследовали при 6 мг/кг (Фиг. 1C), определенной для дипептидного сравнительного конъюгата, чтобы провести четкие различия между эффективностью. Как видно на Фиг. 1C и 1D, определенные трипептидные ADC являются по меньшей мере такими же эффективными, как и дипептидный сравнительный ADC.

Пример 14: In vivo токсичность трипептидных конъюгатов антитело - лекарственный препарат для костного мозга.

[0985] Показав, что эффективность ADC по меньшей мере сохраняется при замещении дипептида большинством из выбранных трипептидных последовательностей, исследовали разницу в in vivo цитотоксичности в отношении нормальной ткани костного мозга путем замены антитела, нацеленного на антиген Ag1, несвязывающим контрольным

(h00) антителом. Затем каждый из полученных несвязывающих конъюгатов вводили крысам при 10 мг/кг и анализировали их кровь в день 5 после введения в отношении числа нейтрофилов и ретикулоцитов как показателя токсичности для костного мозга по сравнению с ложно-обработанными животными. Как видно с 2A, некоторые из трипептидных h00-конъюгатов из таблиц 3, 3a и 3b демонстрировали лучшее число нейтрофилов по сравнению с дипептидным сравнительным конъюгатом (h00-**1**). В отношении числа нейтрофилов трипептидные несвязывающие конъюгаты h00-**4** и h00-**5** демонстрировали аналогичное сохранение этого типа клеток костного мозга по сравнению с h00-**1**. Однако, из несвязывающих конъюгатов, аналогичных нацеленным ADC из таблицы 3, только D-Leu-Ala-Glu несвязывающий контрольный конъюгат (h00-**5**), соответствующий трипептидному нацеленному ADC из таблицы 3 (Ag1-**5**) демонстрировал лучшее число ретикулоцитов по сравнению со сравнительным конъюгатом при исследуемой дозе. Многие другие несвязывающие конъюгаты, аналогичные нацеленным ADC из таблиц 3a и 3b, демонстрировали лучшее сохранение числа нейтрофилов по сравнению с h00-**1**. Сравнение между Фиг. 2A и 3A показывает, что ретикулоциты более чувствительны к несвязывающим конъюгатам на основе MMAE чем нейтрофилы, что считается причиной того, что разницу между другими трипептидными несвязывающими h00-конъюгатами, аналогичными нацеленным ADC из таблицы 3, невозможно определить в сравнении друг с другом или с h00-**1** при исследуемой дозе. Многие другие несвязывающие конъюгаты, аналогичные нацеленным ADC из таблиц 3a и 3b, демонстрировали лучшее сохранение числа ретикулоцитов по сравнению с h00-**1**.

[0986] Гистопатология костного мозга с ИГХ в отношении мононуклеарных клеток, которая показана на Фиг. 4, подтверждает сохранение мононуклеарных клеток костного мозга при введении трипептидных конъюгатов h00-**4** и h00-**5** по сравнению с введением дипептидного сравнительного h00-**1**, при этом результат от введения конъюгата h00-**5** практически неотличим от ложной обработки.

[0987] В Фиг. 2A и 3A включены данные для h00-**7**, в котором трипептидная последовательность представляет собой Leu-Ala-Glu. Этот трипептид идентичен трипептиду из h00-**5** за исключением того, что стереохимическая конфигурация аминокислоты P3 была обратной. Как h00-**5**, так и h00-**7** являются менее токсичными для костного мозга, чем другие несвязывающие контрольные ADC, при этом h00-**5** имеет преимущество в отношении сохранения более чувствительных ретикулоцитов.

[0988] Подгруппу ненацеленных конъюгатов вводили крысам в более высоких дозах, чтобы определить влияние на истощение костного мозга. Кровь от этих крыс анализировали в день 8 и день 22 после введения в отношении числа нейтрофилов (Фиг. 2C) и ретикулоцитов (Фиг. 3C) как показателя токсичности для костного мозга по сравнению с ложно-обработанными животными. В случае h00-23, h00-68 и h00-69 животные переносили ADC при одной дозе в 40 мг/кг (n=1). В случае h00-45 и h00-62 животные переносили наибольшую исследуемую дозу в 50 мг/кг (n=1).

[0989] На Фиг. 14 показана концентрация антитела во внеклеточном компартменте

костного мозга крыс, которым вводили ненацеленные ADC (h00-**37** и h00-**5**).

[0990] На Фиг. 16 показано истощение ретикулоцитов в дни 5 и 8 после введения h00-**5** и h00-**7** крысам при 20 мг/кг. На Фиг. 17 показано истощение нейтрофилов в дни 5 и 8 после введения h00-**5** и h00-**7** крысам при 20 мг/кг.

[0991] На Фиг. 18 показана гистология костной ткани в дни 5 и 8 после введения h00-**5** и h00-**7** крысам при 20 мг/кг.

Пример 15: In vivo метаболизм трипептидных ADC

[0992] Неспецифическое высвобождение свободного лекарственного препарата из ADC является одним из механизмов, который вносит свой вклад в нецелевую токсичность для нормальных клеток. Чтобы определить, связано ли сохранение костного мозга, наблюдаемое для h00-**4** и h00-**5** ADC по сравнению с h00-**1** ADC со снижением высвобождения свободного MMAE из трипептидных ADC, плазму из исследований токсичности из примера 14 анализировали в отношении этого метаболита посредством ВЭЖХ-МС.

[0993] Как показано на Фиг. 5A, концентрация свободного MMAE после введения h00-4 или h00-5 оставалась ниже определенной после введения h00-**1** в течение исследования токсичности, при этом конъюгат h00-**5** имел преимущество в этом отношении. Кроме того, на Фиг. 5B показано, что конъюгаты h00-**5**, в которых аминокислота P3 имеет D-стереохимическую конфигурацию, высвобождают неспецифическим образом меньше MMAE, чем h00-**7**, который является идентичным h00-**5** за исключением того, что аминокислота P3 находится в противоположной стереохимической конфигурации. Таким образом, получается, что наличие аминокислоты с неприродной конфигурацией в P3 придает улучшенную стабильность трипептидному ADC.

[0994] На Фиг. 15 показано количество свободного MMAE в клетках костного мозга крыс, которым вводили ненацеленные ADC (h00-**37** и h00-**5**).

Пример 16: Анализ с эластазой нейтрофилов трипептидных конъюгатов антитело - лекарственный препарат

[0995] В смесь 8-нагруженных ADC (5 мкг), буфера (100 мМ трис, 75 мМ NaCl, pH 7,5; конечная концентрация) и эластазы нейтрофилов (100 нг) добавляли воду до 20 мкл. Реакционную смесь инкубировали при 37 C в течение 3 ч, а затем немедленно анализировали на масс-спектрометре QToF.

[0996] Как показано на Фиг. 6A, процент лекарственного препарата, отщепленного от тяжелой цепи ненацеленного ADC 5 in vitro эластазой нейтрофилов, ниже чем для обнаруженного для ненацеленного ADC 37. Кроме того, на Фиг. 6A показано, что в конъюгате h00-**5**, в котором аминокислота P3 имеет D-стереохимическую конфигурацию, его тяжелая цепь расщеплялась эластазой нейтрофилов в значительно меньшей степени, чем в h00-**7**, который является идентичным h00-**5** за исключением того, что аминокислота P3 находится в противоположной стереохимической конфигурации. Действительно, протеолиз h00-5 эластазой нейтрофилов не наблюдали. Таким образом, получается, что

наличие аминокислоты с неприродной конфигурацией в P3 придает улучшенную стабильность трипептидному ADC.

Пример 17: Анализ с катепсином B трипептидных конъюгатов антитело - лекарственный препарат

[0997] В смесь 8-нагруженных ADC (5 мкг), буфера (50 мМ цитрат, 75 мМ NaCL, pH 4,5; конечная концентрация), катепсина B (100 нг) и активирующего буфера (2 мМ ДТТ/1,33 мМ ЭДТА, конечная концентрация) добавляли воду до 20 мкл. Реакционную смесь инкубировали при 37 C в течение 3 ч, а затем немедленно анализировали на масс-спектрометре QToF.

[0998] Как показано на Фиг. 6B (партия 1) и Фиг. 6C (партия 2), процент лекарственного препарата, отщепленного от тяжелой цепи ненацеленных ADC 5 и 7 in vitro катепсином B аналогичен обнаруженному для ненацеленного ADC 37, что позволяет предположить, что несвязывающий контрольный конъюгат с D-Leu-Ala-Glu (h00-**5**) расщепляется аналогично с несвязывающим контрольным конъюгатом с Val-Cit (h00-**37**) лизосомальной протеазой.

[0999] Было продемонстрировано количество неконъюгированного MMAE в опухолях HPAFII из исследований противоопухолевой активности гуманизированного антитела к avβ6 2A2, конъюгированного с mc-vc-MMAE (в среднем 4 лекарственных препарата на антитело) (h2A2-1006) или mp-dLAE-MMAE (в среднем 4 лекарственных препарата на антитело) (h2A2-7092) (Фиг. 6D). Опухоли вырезали у мышей в день 3 после введения, суспендировали в 60%/40% MeCN/MeOH и гомогенизировали с помощью гомогенизатора PrecellysTM 24. Образцы центрифугировали при 16,1 тыс. xg в течение 15 минут, а полученный супернатант сушили N2, восстанавливали в буфере для восстановления и анализировали на квадрупольном масс-спектрометре с тройным детектором Waters.

Пример 18: In vitro анализ плазменной агрегации трипептидных конъюгатов антитело - лекарственный препарат

[01000] ADC метили Alexa Fluor 488 TFP ester (Molecular Probes), обессоливали, проводили замену буфера на ФСБ, pH 7,4 (Gibco), и стерильную фильтрацию. Концентрацию и степень мечения полученного конъюгата ADC-AF488 определяли по УФ-поглощению перед замораживанием при -80 °C. В день эксперимента AF488-ADC разводили в плазме и инкубировали при 37 °C. В указанные моменты времени анализировали аликвоты посредством ЭХ-УВЭЖХ с выявлением флуоресценции. Полученные хроматограммы анализировали, чтобы определить % высокомолекулярных фракций.

[01001] Агрегация оказалась ниже для трипептида MMAF, чем для Val-Cit-MMAF. На основании корреляции, наблюдаемой с MMAE, трипептид MMAF будет менее токсичным.

[01002] На Фиг. 7A и Фиг. 7B показана агрегация ненацеленных ADC после инкубации в плазме крыс в течение 96 ч.

[01003] На Фиг. 8 показана агрегация ненацеленных ADC после инкубации в плазме яванских макаков в течение 96 ч.

[01004] На Фиг. 9 показана агрегация ненацеленных ADC после инкубации в плазме человека в течение 96 ч.

[01005] На Фиг. 10 показана агрегация ненацеленных MMAF ADC (h00-**41** и h00-**42**) после инкубации в плазме крыс.

[01006] На Фиг. 11 показана корреляция истощения ретикулоцитов ненацеленными ADC у крыс и агрегации ADC в плазме крыс после 96 ч инкубации.

[01007] На Фиг. 12 показана корреляция истощения ретикулоцитов ненацеленными ADC у крыс и агрегации ADC в плазме яванских макаков после 96 ч инкубации.

[01008] На Фиг. 13 показана корреляция истощения ретикулоцитов ненацеленными ADC у крыс и агрегации ADC в плазме человека после 96 ч инкубации.

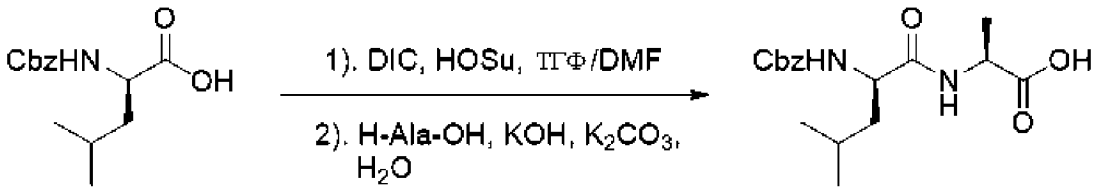
[01009] На Фиг. 19, где показана корреляция между cLogP линкеров и агрегацией соответствующего конъюгата h00 в плазме крыс, корреляция с r=0,715 указывает на то, что наличие BM положительно коррелирует с clogP (т. е. линкеры с меньшими значениями cLogP демонстрируют меньшую агрегацию, чем с большими clogP). Линкеры с низкими значениями cLogP имеют низкую гидрофобность, включая линкеры с полярными аминокислотами.

[01010] На Фиг. 20, где показана корреляция между истощением ретикулоцитов, вызванным ненацеленными ADC у крыс, и агрегацией ADC в плазме крыс, корреляция с r=-0,748 указывает на то, что наличие BM отрицательно коррелирует с числом ретикулоцитов (т. е. чем больше % BM, тем больше истощение ретикулоцитов).

[01011] На Фиг. 21, где показана корреляция между истощением ретикулоцитов, вызванным ненацеленными ADC у крыс, и агрегацией ADC в плазме человека, корреляция с r=-0,800 указывает на то, что наличие BM отрицательно коррелирует с числом ретикулоцитов (т. е. чем больше % BM, тем больше истощение ретикулоцитов).

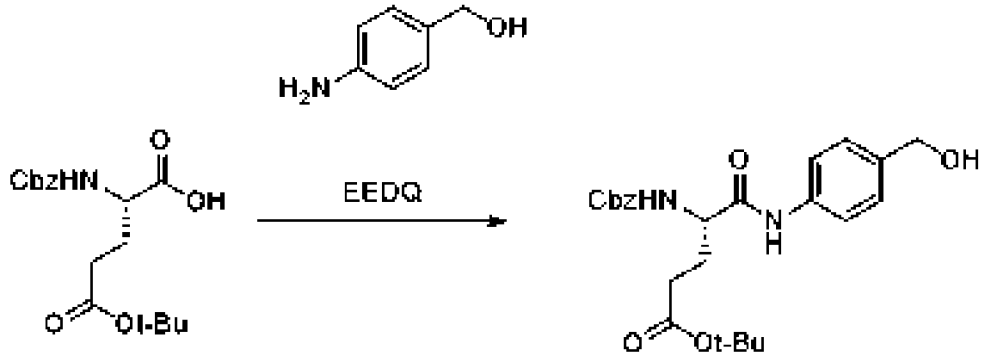
[01012] На Фиг. 22, где показана корреляция между истощением ретикулоцитов, вызванным ненацеленными ADC у крыс, и агрегацией ADC в плазме яванских макаков, корреляция с r=-0,755 указывает на то, что наличие BM отрицательно коррелирует с числом ретикулоцитов (т. е. чем больше % BM, тем больше истощение ретикулоцитов).

Пример 19: Альтернативный вариант получения MMAE-соединения лекарственный препарат-линкер



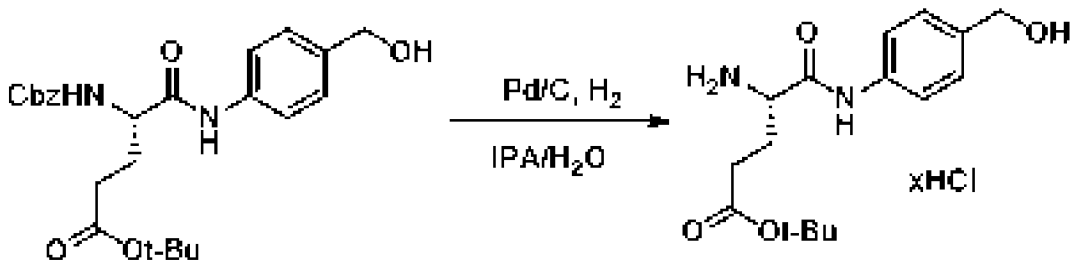
[01013] 546 г (2,85 моль, 1,1 экв.) EDC x HCl суспендировали в 1,7 л ТГФ и 0,8 л

ДМФ и добавляли раствор 688 г (2,59 моль, 1,0 экв.) Z-D-Leu-OH и 328 г (2,85 моль, 1,1 экв.) NHS в 1,7 л ТГФ и 0,8 л ДМФ при комнатной температуре. Немного экзотермическую реакцию (ВТ сначала повышалась до 30 °C) перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Через 23 ч, когда было выявлено 1,30% все еще непрореагировавших Z-D-LeuOH в реакционной смеси, добавляли еще 25 г (0,13 моль, 0,05 экв.) EDC x HCl и продолжали перемешивание в течение 30 мин, оставляя в смеси 0,45% Z-D-Leu-OH. Полученную легкую суспензию охлаждали до ВТ=4°C и добавляли в охлажденный раствор (ВТ=4 °C) из 692 г (7,77 моль, 3,0 экв.) H-Ala-OH, 291 г (5,18 моль, 2,0 экв.) гидроксида калия и 283 г (2,05 моль, 0,79 экв.) карбоната калия в 2,8 л деионизированной воды. Через 5 мин температуре реакционной смеси повышали до 19 °C. По данным ВЭЖХ в реакционной смеси было выявлено 0,04% Z-D-Leu-OSu, 91,7% Z-D-Leu-AlaOH и 1,1% Z-D-Leu-OH. В реакционную смесь добавляли 6 л EtOAc и подкисляли до pH 1, используя 2,5 л 18% HCl. водную фазу сливали, а органическую фазу дважды промывали 1,2 л 1 н. HCl, один раз 1,2 л деионизированной воды и три раза 0,6 л деионизированной воды. 60 мл и 30 мл солевого раствора добавляли на двух последних этапах экстракции деионизированной водой для улучшения разделения фаз. Органическую фазу концентрировали при внешней температуре 40°C при пониженном давлении (прибл. 160 мбар) до около 1,5 л. Затем добавляли 6,0 л EtOAc и полученный раствор снова концентрировали до около 1,5 л. Снова добавляли 6,0 л EtOAc и концентрировали с получением 1975 г прозрачного раствора. После этого добавляли 4,0 л циклогексана, а полученный раствор засевали 8 г затравочных кристаллов. После перемешивания в течение 2 ч получали густую суспензию, которую разводили 2×2,3 л циклогексана (второе добавление еще через 2 ч). Через 23 ч кристаллизации при комнатной температуре собирали осадок посредством фильтрации и потом промывали 5,0 л смеси EtOAc/циклогексан 1:9 и 2×4,0 л циклогексана. После сушки при 35 °C (внешняя температура) при пониженном давлении (< 5 мбар) в течение 24 ч получали 780 г (2,32 моль) Z-D-Leu-Ala-OH в виде грязно-белого твердого вещества с выходом 92% и с 99,3% чистоты по ВЭЖХ. Объемный выход: 4,2%.



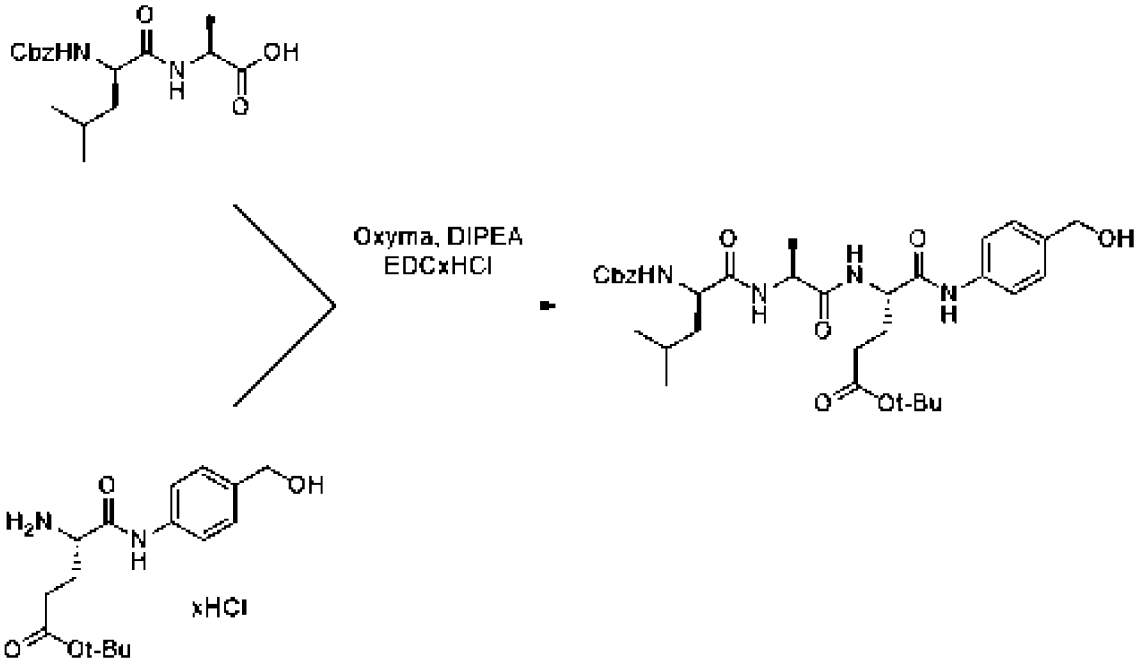
[01014] В реактор помещали 1012 г (3,00 моль, 1,0 экв.) Z-Glu(OtBu)-OH, 443 г (3,60 моль, 1,2 экв.) 4-аминобензилового спирта и 890 г (3,60 моль, 1,2 экв.) EEDQ и добавляли 5,0 л EtOAc. После растворения температуру реакционной смеси снижали от 23°C до 11 °C. Через 2 ч реакции в реакционной смели было обнаружено 85,7% Z-

Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида и 1,16% Z-Glu(OtBu)-OH по данным ВЭЖХ, а через 2,5 ч реакции добавляли 2,1 л деионизированной воды. pH доводили до 1 добавлением 700 мл 18% HCl и разделяли слои. Органическую фазу промывали 3×1,0 л 1 н. HCl, 3×2,0 л смесью 5% Na2CO3/солевой раствор 9:1 и 3×2,0 л смесью деионизированная вода/солевой раствор 9:1 (pH последней водной фазы: 6-7). Полученный органический слой выпаривали при внешней температуре 40°C и пониженном давлении (155 мбар). После удаления прибл. 3 л дистиллята добавляли 5 л толуола и продолжали выпаривание с быстрым образованием густой суспензии. Дополнительно добавляли 4,0 л толуола и продолжали выпаривание до получения 5,8 кг густой суспензии. Ей давали кристаллизоваться в течение ночи при комнатной температуре, а остаток собирали путем фильтрации (содержание воды перед фильтрацией: 0,03%). Фильтрация была медленной (прибл. 2 ч для начальной фильтрации), а остаток промывали 2×4,0 л и 1×5,0 л толуола и 1×5,0 л ИПЭ/ИПС. Необходимый продукт получали после сушки при 35°C при пониженном давлении (< 20 мбар) с выходом 44% (587 г) и с 95,7% чистоты по ВЭЖХ (3,27% 4-аминобензилэтилкарбонат 4 как основная примесь). Фильтрат от промывки ИПЭ/ИПС концентрировали при внешней температуре 40°C и пониженном давлении до коричневого масла и повторно выпаривали с 2×2,0 л EtOAC с образованием густой суспензии, которую разводили 400 мл EtOAc с получением 1,5 кг суспензии. Затем добавляли 2,5 л ИПЭ и проводили кристаллизацию в течение ночи при комнатной температуре. Осадок затем собирали путем фильтрации и промывали 1×1,2 л EtOAc/ИПЭ 1:3 и 2×1,2 л ИПЭ. Фильтрация этой кристаллизации из EtOAc/ИПЭ 1:3 оказалась значительно быстрее и обеспечила необходимый продукт с 98,1% чистоты по ВЭЖХ и с выходом 36%. Общий объем выхода для обеих фракций составил 10,5%. Обе фракции объединяли и подвергали снятию защиты Cbz.



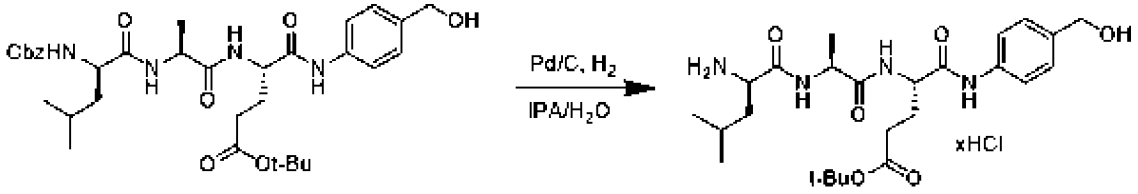
[01015] Z-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилид (1057 г, 2,39 моль) растворяли в 8,55 л ИПС и 0,35 л деионизированной воды при комнатной температуре. Через смесь барботировали азот для удаления кислорода перед добавлением суспензии 42 г катализатора (10% Pd на угле, 50% вода; 2,1 г Pd всего) в 100 мл деионизированной воды. Реакционную смесь снова продували азотом, а затем через реакционную смесь барботировали водород, используя пипетку с фильтром из пористого стекла. Реакционную смесь мониторили посредством ВЭЖХ, и через 80 мин в реакционной смеси было выявлено 94,4% продукта и < 0,1% оставшегося исходного материала. Реакционную смесь снова продували азотом, а катализатор отфильтровывали, используя фильтровальную воронку из пористого стекла (размер пор прибл. 5-15 мкм). Фильтрат подкисляли,

используя 480 мл 18% HCl, до pH ~ 3 и концентрировали при пониженном давлении при внешней температуре 35 C до 2,95 кг, 5,0 л ИПС, добавляли затравочные кристаллы и продолжали выпаривание до получения 3,9 кг густой суспензии. Эту суспензию разводили 1,0 л ИПС при комнатной температуре. Через 30 мин добавляли 7,0 л ИПЭ, а смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Осадок собирали путем фильтрации и промывали 4,0 л ИПС/ИПЭ 1:2, потом 2×4,0 л ИПЭ, затем сушили в вакууме с получением необходимого продукта в виде HCl-соли с выходом 96% (7,5% объемный выход) и с 98,7% чистоты по ВЭЖХ.



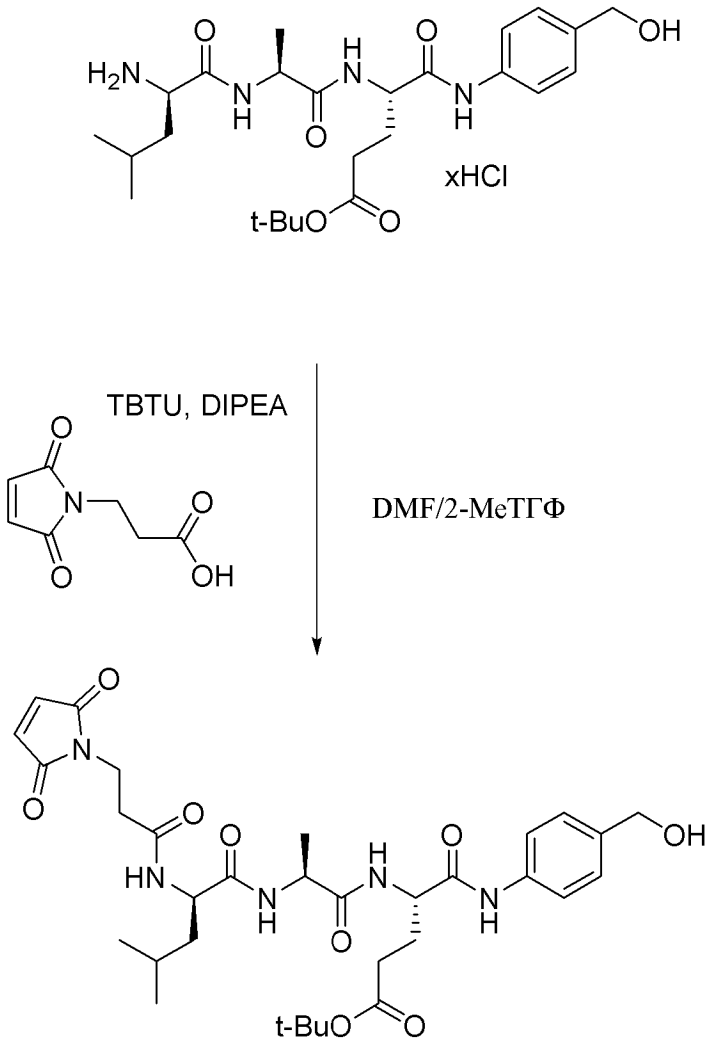
[01016] В стеклянном реакторе с двойной оболочкой 539 г (1,59 моль, 1,00 экв.) Z-D-Leu-Ala-OH, 588 г (1,59 моль, 1,00 экв., скорректировано для анализа [93%]) H-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилид x HCl и 226 г (1,59 моль, 1,00 экв.) оксима суспендировали в 2,7 л АЦН. Полученную густую суспензию охлаждали до ВТ=0°C и добавляли 545 мл (3,18 моль, 2,00 экв.) ДИПЭА, после чего осадок медленно растворялся (оставалось несколько нерастворенных частиц). Поскольку pH реакционной смеси составляла только 6-7, проводили доведение до pH=8, используя дополнительные 29 мл (0,17 моль, 0,10 экв.) ДИПЭА. Затем добавляли 396 г (2,07 моль, 1,30 экв.) EDC x HCl, а реакционную смесь перемешивали при ВТ=0°C и мониторили посредством ВЭЖХ. Через 4,5 ч в реакционной смеси было выявлено 2,58% оставшегося Z-D-LEU-ALA-OH, после чего добавляли 2,7 л EtOAc и 2,7 л 1:1 смеси деионизированной воды и солевого раствора. После разделения фаз водную фазу сливали, а органическую фазу три раза экстрагировали 1,3 л 1 н. HCl каждый раз, разводили 2,7 л EtOAc и дополнительно три раза экстрагировали 1,3 л каждый раз смесью 5% Na_2CO_3 и солевого раствора (9:1). Затем органический слой три раза промывали по 1,3 л каждый раз смесью деионизированной воды и солевого раствора (9:1) и хранили в течение ночи при комнатной температуре. Часть (441 г) полученного раствора использовали для дополнительных экспериментов по кристаллизации, а оставшиеся 5337 г концентрировали при 40 °C (внешняя температура) и

160 мбар до массы 2843 г. В полученный раствор добавляли 0,7 г затравочных кристаллов и 5,0 л EtOAc и концентрировали при 40 °C (внешняя температура) и 150 мбар до массы 3640 г. Полученную густую суспензию разводили 3,2 л ИПЭ и перемешивали в течение 3,5 ч при комнатной температуре. Затем осадок отфильтровывали (фильтр с размером пор 11 мкм, время фильтрации: < 20 мин) и промывали 2x 3,4 л EtOAc/ИПЭ 1:1 и 1x 3,4 л ИПЭ. После сушки при 35°C при пониженном давлении (< 20 мбар) в течение 16 ч получали 778 г Z-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида (84% выход, 8,1% объемный выход) в виде немного грязно-белых кристаллов. Чистота по ВЭЖХ: 98,7%



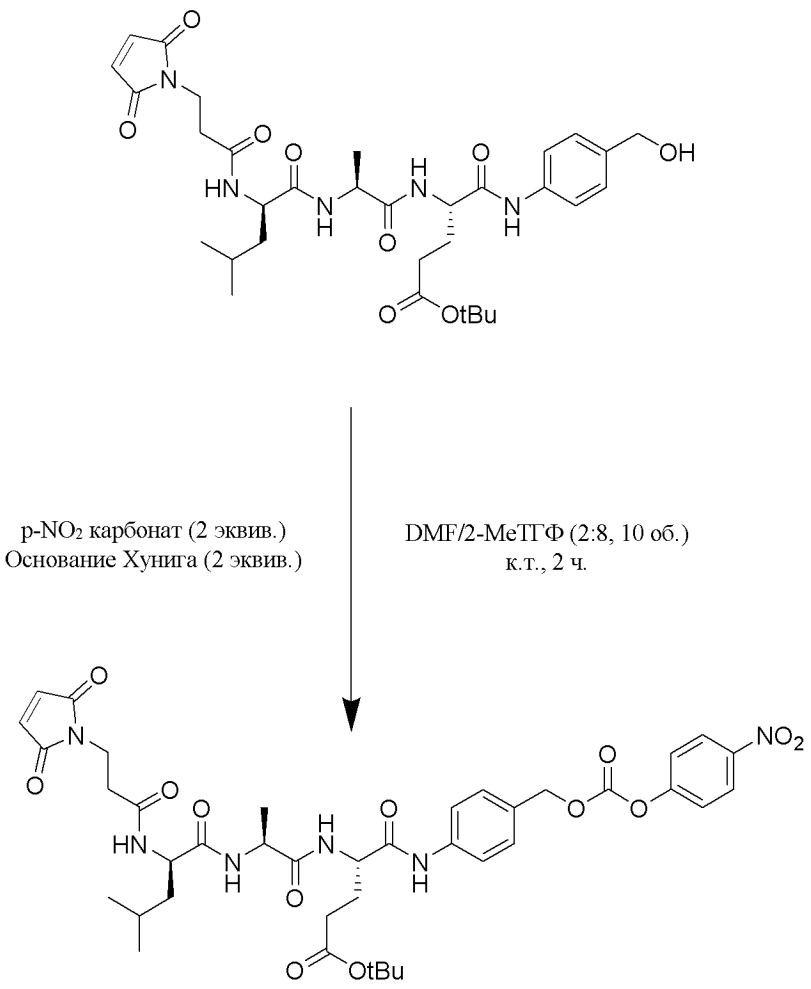
[01017] В 10 л 4-горлой колбе 755 г (1,20 моль) Z-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида суспендировали при комнатной температуре в 6,04 л ИПС и 400 мл деионизированной воды и перемешивали в течение 1 ч с получением прозрачного раствора. Во время этого растворения через смесь пропускали поток азота для удаления кислорода. Полученный прозрачный раствор охлаждали до 4°C перед добавлением 75,5 г палладия на угле (10% Pd на угле, 50% вода, 3,78 г Pd всего), суспендированного в 355 мл деионизированной воды. Реакционную смесь снова продували азотом в течение 10 мин, а затем начинали гидрогенизацию путем барботирования водорода через реакционную смесь, используя стеклянные фритты. Реакционную смесь мониторили посредством ВЭЖХ. Через 60 мин было выявлено 0,85% оставшегося Z-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида (97,3% H-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида x HCl). Через 84 мин гидрогенизацию прекращали, а реакционную смесь продували азотом для удаления оставшегося водорода. Катализатор отфильтровывали, используя фильтровальную воронку из пористого стекла (размер пор прибл. 5-15 мкм) и промывали 2×400 мл ИПС. В объединенные фильтраты 218 мл (1,20 ммоль, 1,00 экв.) добавляли 18% хлористоводородную кислоту (pH раствора=2-3) и концентрировали полученный раствор при 40 °C (внешняя температура) и 80 мбар до около 4 л. Затем добавляли 3,0 л ИПС и снова концентрировали раствор до около 4 л. Эту процедуру повторяли дважды. После третьего добавления ИПС полученный раствор засевали 25 мг H-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида x HCl и хранили смесь в течение ночи при 4°C с получением суспензии. на следующее утро ее концентрировали при 40 °C (внешняя температура) и 80 мбар до 3,21 кг. В полученную суспензию добавляли 3,4 л ИПЭ в течение 20 мин и перемешивали суспензию в течение 21 ч при комнатной температуре. Затем осадок отфильтровывали (фильтр с размером пор 11 мкм, время фильтрации: 10 мин) и один раз промывали 3,4 л ИПС/ИПЭ 1:1 и два раза 3,4 л ИПЭ. Фильтрационный осадок сушили при пониженном давлении (< 20 мбар) при 35°C в течение 20 ч с получением 623 г H-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида x HCl (84% выход, 6,4% объемный выход, оба скорректированы для анализа H-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида x HCl в

виде белых кристаллов. Чистота по ВЭЖХ: 99,0% анализ: 86,6% (титрация с AgNO3) 85,6% (содержание азота, элементный анализ) содержание палладия : 9,1 м. д.

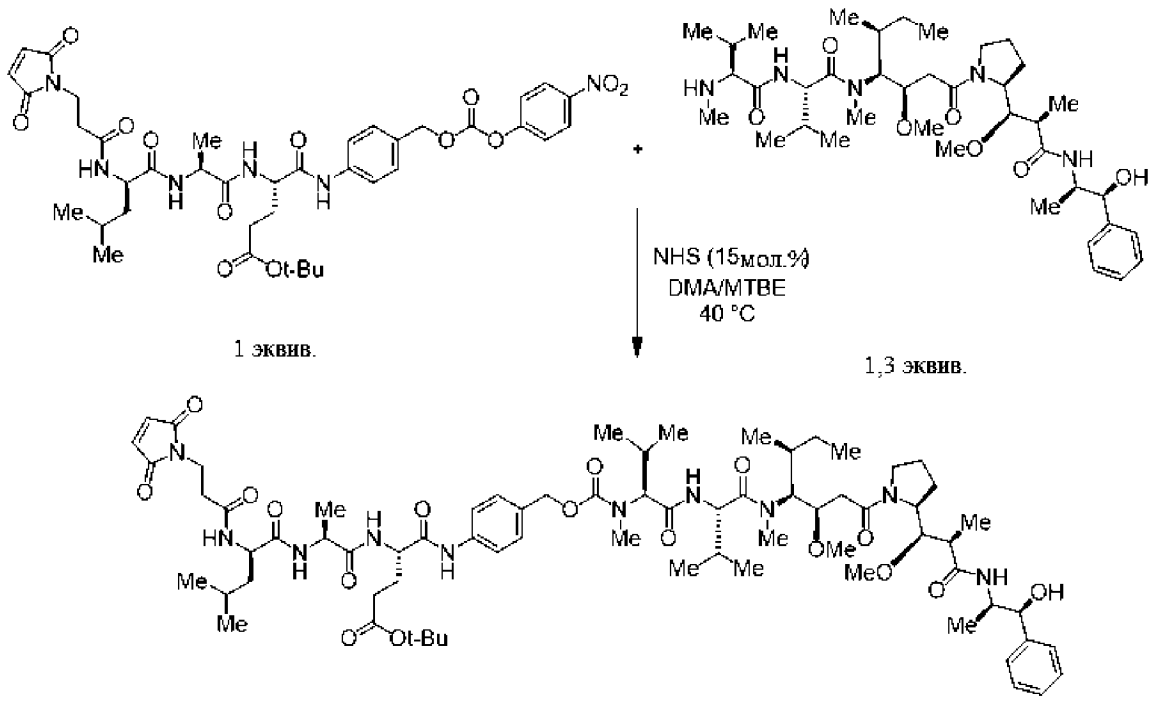


[01018] В 10 л реакторе с двойной оболочкой 597 г (982 ммоль, 1,00 экв.) H-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида x HCl (87% анализ) и 166 г (982 ммоль, 1,00 экв.) 3-малеимидопропионовой кислоты растворяли в 4,78 л MeTHF и 1,20 л ДМФ при 20 °C (температура оболочки). После охлаждения до 10 °C (внутренняя температура) добавляли 347 г (1080 ммоль, 1,10 экв.) TBTU и 266 г (2062 ммоль, 2,10 экв.) ДИПЭА (внутренняя температура возрастала до 13 °C). Реакционную смесь перемешивали при 20 °C (температура оболочки) в течение 3 ч, когда ВЭЖХ-анализ показал 94,3% 3-малеимидопропионил-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида, 2,25% H-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида x HCl. Реакционную смесь охлаждали до 5°C и проводили водную экстракцию при внутренней температуре 3-6 °C (солевой раствор, деионизированная вода, 1 н. HCl, 5% NaHCO3 и MeTHF охлаждали до 5°C перед экстракцией). Сначала реакционную смесь экстрагировали раствором 1,8 л солевого раствора и 1,8 л деионизированной воды (полное фазовое разделение занимало 7 мин) с последующей экстракцией 6×1,8 л 1 н. HCl (полное фазовое разделение через 2-3 мин). 0,8

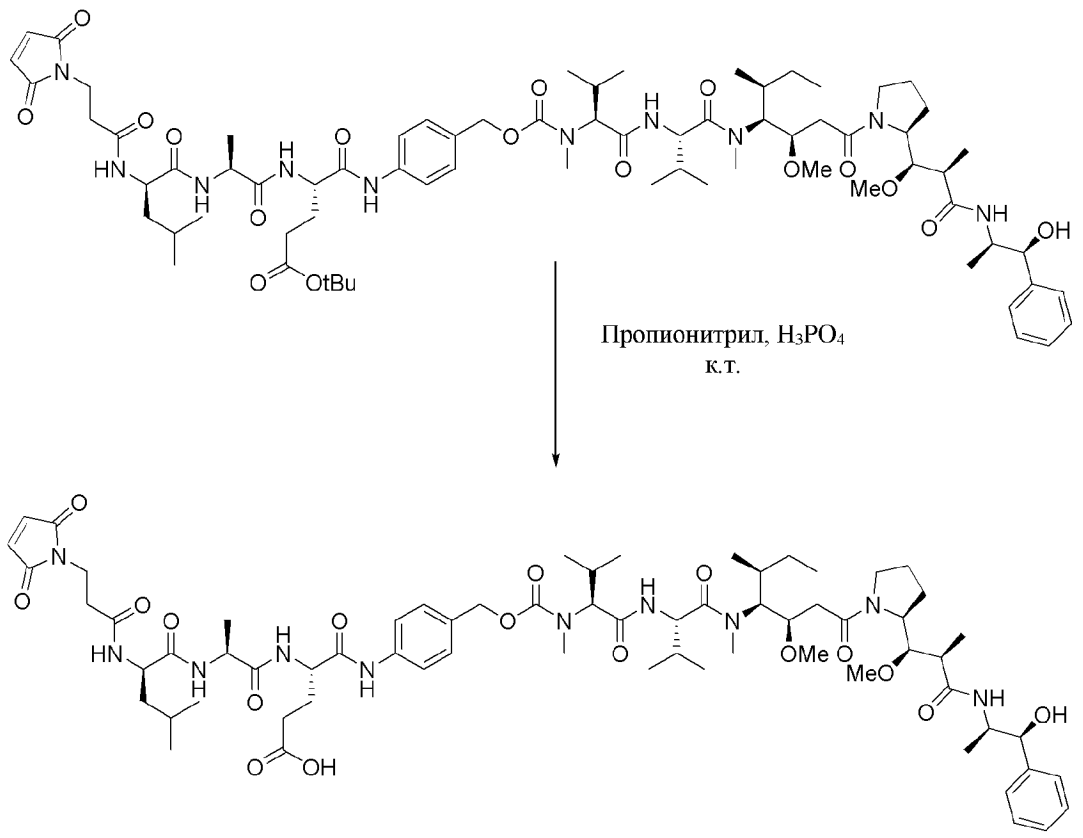
л MeTHF добавляли на первом этапе и по 0,5 л MeTHF на каждом из следующих этапов экстракции с 1 н. HCl для поддержания объема органического слоя постоянным (ВЭЖХ: 0,65% H-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида x HCl и 95,1% 3-3-малеимидопропионил-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида выявлено в органической фазе после шестого этапа экстракции HCl). Затем органическую фазу экстрагировали 3×1,8 л 5% $NaHCO_3$. Для поддержания объема органического слоя постоянным добавляли 1,0 л MeTHF на первом и по 0,5 л MeTHF на втором и третьем этапах экстракции с 5% $NaHCO_3$. Поскольку фазовое разделение после второго этапа экстракции с 5% $NaHCO_3$ было очень медленным, добавляли по 540 мл солевого раствора на втором и третьем этапах экстракции с 5% $NaHCO_3$ (время до полного разделения слоев: 10 мин, 12 мин и 11 мин). Органическую фазу экстрагировали 1×1,8 л 1 н. HCl и 3×1,8 л деионизированной воды (0,5 л MeTHF добавляли на каждом этапе экстракции, 4-5 мин для полного разделения фаз). Полученный органический слой фильтровали для удаления твердых веществ (размер пор прибл. 5-15 мкм) и концентрировали при 40 °C (внешняя температура) и 120 мбар. В полученный раствор (1,7 кг) добавляли 5,75 л MeTHF и продолжали концентрирование с получением 2,504 кг желто-коричневого раствора. Этот раствор медленно добавляли при комнатной температуре в 4,3 л гептана в течение 23 мин с образованием грязно-белой суспензии. Колбу раствора после концентрирования промывали 200 мл MeTHF и промывочный раствор медленно добавляли в суспензию. Суспензию перемешивали еще в течение 4 мин. Затем осадок отфильтровывали (фильтр с размером пор 11 мкм, время фильтрации: 4 мин) и промывали 2x 2,1 л MeTHF/гептан 1:2. Фильтрационный осадок сушили в течение 87 ч на роторном испарителе при 35°C при пониженном давлении (< 20 мбар) с получением 563 г немного грязно-белого твердого вещества (чистота по ВЭЖХ: 95,6%). 70 г полученного продукта использовали для эксперимента по перекристаллизации, а остаток (492 г) дополнительно сушили в течение 19 ч при 40°C и < 2 мбар (483 г продукта) и в течение 16 ч при 50°C и < 2 мбар с получением 480 г 3-малеимидопропионил-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида в виде грязно-белого твердого вещества (85% выход, 4,9% объемный выход, оба скорректированы для анализа 3-малеимидопропионил-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида). Чистота по ВЭЖХ: 95,7%



[01019] В 1 л реакторе в раствор 3-малеимидопропионил-D-Leu-Ala-Glu(OtBu)-(4-гидроксиметил)-анилида добавляли 13,84 г (21,50 ммоль, 1,0 экв.) в 10 об. MeTHF/ДМФ 8:2 бис(4-нитрофенил)карбонат 13,08 г (43,0 ммоль, 2,0 экв.). Смесь перемешивали в течение 5,0 мин, а затем добавляли ДИПЭА 7,5 мл (43,0 ммоль, 2,0 экв.). Полученную смесь перемешивали в течение 2 ч при 25 °C. Реакционную смесь охлаждали до 20 °C, а затем разводили MeTHF (10 об.) и промывали 1×140 мл 10% водн. NaCl и 2×140 мл H2O. Растворитель обрабатывали 3 x MeTHF (3x 10 об.) до 10 об. (40 °C - 200 мбар). Полученный раствор затем добавляли в 40 об. МТБЭ/гептан 1:1 в течение 45 мин. Суспензию выдерживали в течение 80 минут при кт, затем фильтровали и промывали 3x (10 об. МТБЭ/гептан 1:1). Полученное твердое вещество сушили в вакуумной печи в течение 18 ч при 30°C с получением трет-бутил (S)-4-((S)-2-((R)-2-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-4-метилпентанамидо)пропанамидо)-5-((4-((((4-нитрофенокси)карбонил)окси)метил)фенил)амино)-5-оксопентаноата в виде белого твердого вещества с выходом 87% и 94,9% чистоты.



[01020] В 2 л реакторе 15,40 г (17,70 ммоль, 1,00 экв.) трет-бутил (S)-4-((S)-2-((R)-2-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-4-метилпентанамидо)-пропанамидо)-5-((4-((((4-нитрофенокси)карбонил)окси)метил)фенил)амино)-5-оксопентаноата (93%, анализ), 15,40 г (23,0 ммоль, 1,3 экв.) (S)-N-((3R,4S,5S)-1-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил)амино)-1-метокси-2-метил-3-оксопропил)пирролидин-1-ил)-3-метокси-5-метил-1-оксогептан-4-ил)-N,3-диметил-2-((S)-3-метил-2-(метиламино)бутанамидо)бутанамида и 0,306 г (2,66 ммоль, 0,15 экв.) NHS растворяли в 2 об. ДМА. В эту смесь добавляли 20 об. ДМА/МТБЭ 7:1. Полученную смесь перемешивали при 40°C в течение 30 ч до завершения. Затем реакционную смесь охлаждали до кт и разводили 10 об. MeTHF и 20 об. H_2O и хорошо смешивали. Два слоя разделяли. Водный слой снова экстрагировали MeTHF (1×20 об.). Органические слои объединяли и промывали (1×20 об. 0,5 М HCl, 2×20 об. $NaHCO_3$, 2×20 об. H_2O). Затем органический слой обрабатывали MeTHF (3×10 об.), а затем концентрировали досуха. Затем остаток растворяли в АЦН/ДХМ 1:1 (6 об.). Полученный раствор переносили на следующий этап.



[01021] В 2 л реакторе трет-бутил (S)-5-((4-((5S,8S,11S,12R)-11-((S)-втор-бутил)-12-(2-((S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-гидрокси-1-фенилпропан-2-ил)амино)-1-метокси-2-метил-3-оксопропил)пирролидин-1-ил)-2-оксоэтил)-5,8-диизопропил-4,10-диметил-3,6,9-триоксо-2,13-диокса-4,7,10-триазатетрадецил)фенил)амино)-4-((S)-2-((R)-2-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)-4-метилпентанамидо)пропанамидо)-5-оксопентаноат в ДХМ/АЦН 1:1 (6 об.) разводили АЦН (4 об.) и охлаждали до 5 °С. 5 об. АЦН добавляли в H_3PO_4 (8 об.), смесь хорошо смешивали и охлаждали до 5 °С. Раствор H_3PO_4 медленно добавляли в реакционную смесь, поддерживая температуру ниже 10 °С. Полученную смесь перемешивали при 20°С в течение 4 ч до завершения.

[01022] Затем реакционную смесь охлаждали до 10°С и разводили ДХМ (10 об.) и водой (15 об.). Реакционную смесь хорошо смешивали и разделяли два слоя. Водный слой снова экстрагировали 10 об. ДХМ. Органические слои объединяли и промывали H_2O до pH 5 (4×20 об.). Полученный органический слой обрабатывали ДХМ (3х 10 об.) до 10 об., а затем разводили 10 об. ДХМ с получением раствора при 50 мг/мл необходимого продукта с выходом 72% (за два этапа) и 78,0% чистоты.

[01023] Полученный раствор продукта в ДХМ затем очищали посредством нормально-фазовой колоночной хроматографии с получением 14,4 г необходимого продукта в виде белого твердого вещества с выходом 71% (за два этапа+очистка) и 98,6% чистоты.

***Примеры 20*-26**

[01024] **Материалы и методы.** Следующие материалы и методы применимы к

процедурам синтеза и экспериментам, описанным в примерах 20-26, если не указано иное. Все коммерчески доступные безводные растворители использовали без дополнительной очистки. Исходные материалы, реагенты и растворители были приобретены у коммерческих поставщиков (SigmaAldrich и Fischer). Продукты очищали посредством колоночной флэш-хроматографии, используя систему флэш-очистки Biotage Isolera One (Charlotte, NC). УВЭЖХ-МС проводили на квадрупольном масс-спектрометре с одним детектором Waters, соединенным с УВЭЖХ-системой Waters Acquity. Методы УВЭЖХ описаны ниже. Препаративную ВЭЖХ проводили на системе доставки растворителя с бинарным градиентным модулем Waters 2454, оснащенной детектором Wasters 2998 PDA. Продукты очищали, используя обращенно-фазовую колонку соответствующего диаметра Phenomenex Max-RP 4 мкм Synergi 80 Å 250 мм с элюированием 0,05% трифторуксусной кислотой в воде и 0,05% трифторуксусной кислотой в ацетонитриле, если не указано иное.

Общий метод. Колонка - CORTECS C18 1,6 мкм, 2,1×50 мм, обращенно-фазовая колонка

Растворитель A - 0,1% водная муравьиная кислота

Растворитель B - ацетонитрил с 0,1% муравьиной кислотой

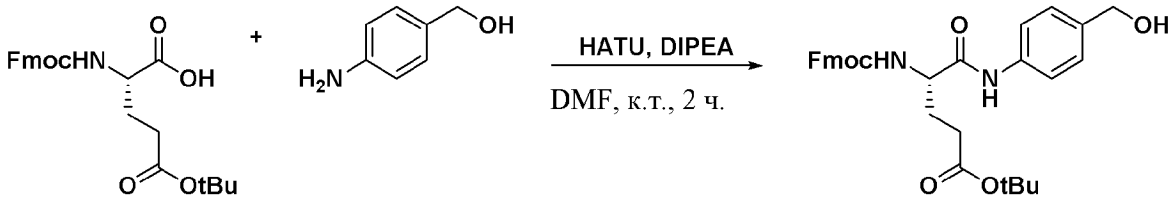
Время (мин)	Поток (мкл/мин)	% A	% B	Градиент
Исходное значение	0,6	97	3	
1,70	0,6	40	60	Линейный
2,00	0,6	5	95	Линейный
2,50	0,6	5	95	Линейный
2,80	0,6	97	3	Линейный
3,00	0,6	97	3	Линейный
2,80	0,6	97	3	Линейный

Перечень сокращений

AcOH	уксусная кислота
Boc	трет-бутилоксикарбонильная защитная группа
DAR	Соотношение лекарственный препарат - антитело (p)
ДХМ	дихлорметан
ДИПЭА	N,N-диизопропилэтиламин
ДМА	N,N-диметилацетамид
ДМФ	N,N-диметилформамид
EtOAc	этилацетат
EtOH	этанол
Fmoc	9-флуоренилметилкарбамат
HATU	1-[бис(диметиламино)метилен]-1H-1,2,3-триазоло[4,5-b]пиридиний 3-

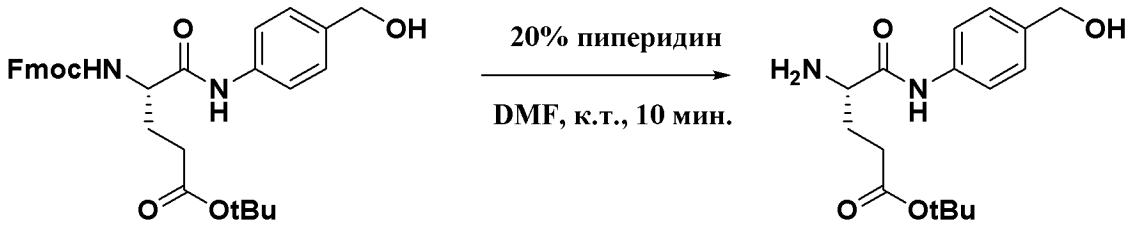
	оксид гексафторфосфат
Hex	гексаны
ВЭЖХ	высокоэффективная жидкостная хроматография
Mal	малеимидный фрагмент
MeCN	ацетонитрил
MeOH	метанол
MP	3-малеимидопропил
MC	Масс-спектрометрия
OSu	N-гидроксисукцинимид
PABC	пара-аминобензилкарбамоил
PEG	полиэтиленгликоль
PPTS	пиридиний пара-толуолсульфоновая кислота
pTSA	пара-толуолсульфоновая кислота
Преп.	препаративный
кт	комнатная температура
КТ	время удержания
ТФУ	трифторуксусная кислота
TSTU	N,N,N′,N′-тетраметил-O-(N-сукцинимидил)уроний тетрафторборат
УВЭЖХ	ультравысокоэффективная жидкостная хроматография

Пример 20: Получение соединений лекарственный препарат-линкер на основе камптотецина

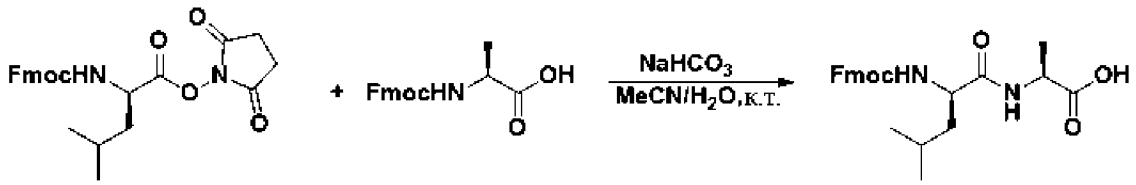


[01025] Fmoc-глутамат 5-трет-бутиловый эфир (1,00 экв., 2,00 г, 4,701 ммоль), пара-аминобензиловый спирт (1,50 экв., 868 мг, 7,051 ммоль), HATU (1,40 экв., 2,516 г, 6,581 ммоль) и магнитную мешалку добавляли в 200 мл RBF. В колбу добавляли ДМФ (10 мл), а потом N, N-диизопропилэтиламин (1,40 экв., 1,1 мл, 6,58 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 2 часов при комнатной температуре. Реакционную смесь медленно осаждали 15 об. воды и перемешивали в течение 1 часа. Суспензию фильтровали и промывали водой с получением оранжевого твердого вещества. Твердое вещество сушили в вакуумной печи в течение ночи при 45°C с получением трет-бутил (4S)-4-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)-5-[4-(гидроксиметил)анилино]-5-оксо-

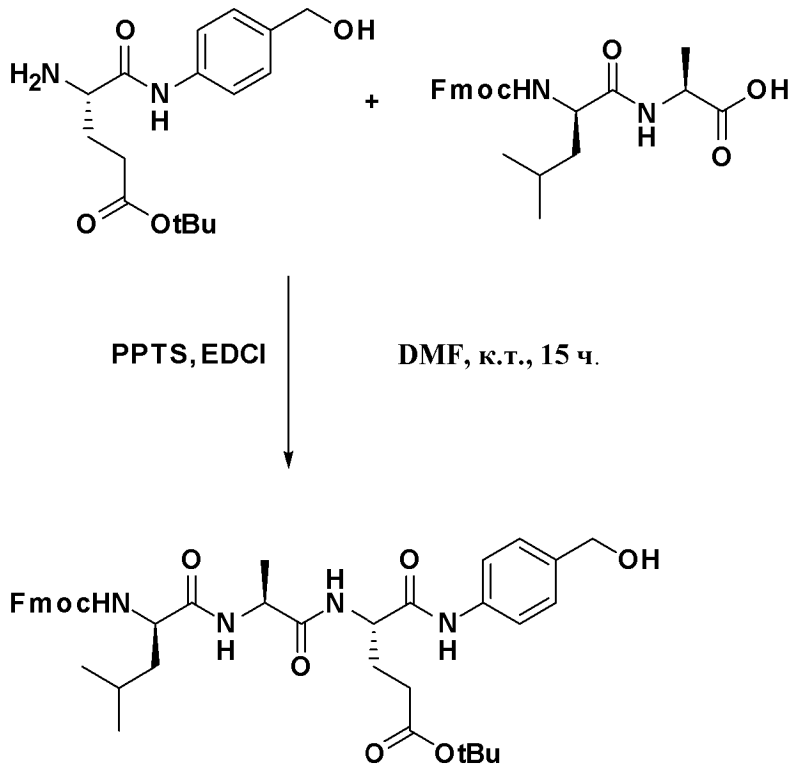
пентаноата (2,50 г,4,70 ммоль, 100,03% выход). RT=2,12 мин, общий метод УВЭЖХ. МС (m/z) [M+H]+ рассч. для C31H35N2O6 531,25, найденная 531,38.



[01026] трет-бутил (4S)-4-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)-5-[4-(гидроксиметил)анилино]-5-оксо-пентаноат (1,00 экв., 0,60 г, 1,13 ммоль) растворяли в 20% пиперидине в ДМФ (3,7692 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 10 минут. Полное превращение наблюдали посредством УВЭЖХ-МС. Реакционную смесь концентрировали в вакууме и очищали посредством препаративной ВЭЖХ, 30×250 мм Synergi Max-RP 5-30-95% MeCN в H2O 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие необходимый продукт, концентрировали в вакууме с получением бесцветного твердого вещества трет-бутил (4S)-4-амино-5-[4-(гидроксиметил)анилино]-5-оксо-пентаноата (0,32 г,1,03 ммоль, 90,77% выход). RT=0,79 мин, общий метод УВЭЖХ. МС (m/z) [M+H]+ рассч. для C16H24N2O4 309,18, найденная 309,43.

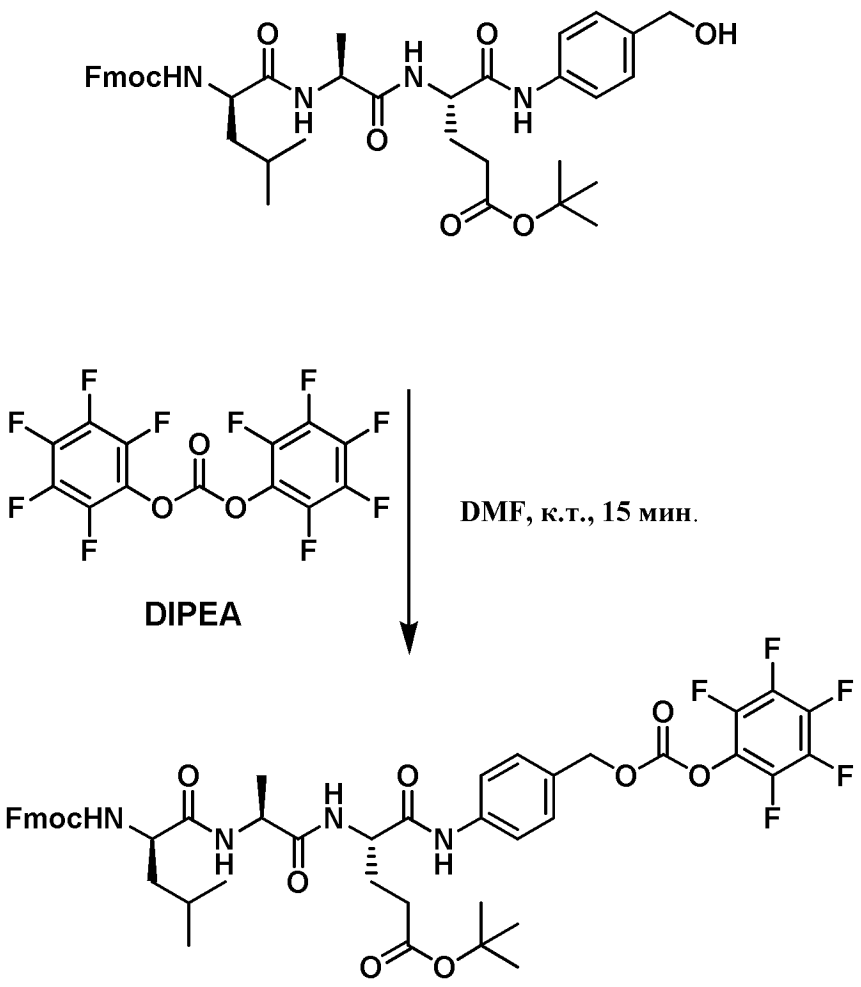


[01027] (2,5-диоксопирролидин-1-ил) (2R)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)-4-метил-пентаноат (1,00 экв., 12,67 г, 28,1 ммоль) и (2S)-2-аминопропановую кислоту (1,70 экв., 4260 мг, 47,8 ммоль) растворяли в MeCN (126,7 мл). В реакционную смесь добавляли бикарбонат натрия (2,50 экв., 5907 мг, 70,3 ммоль) в воде (63,4 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 18 часов. Реакционную смесь подкисляли с помощью 2 М HCl и концентрировали в вакууме для удаления MeCN. Водную фазу экстрагировали EtOAc, а объединенную органическую фазу сушили MgSO4, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением необходимого продукта в виде бесцветного твердого вещества (2S)-2-[[(2R)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]пропановой кислоты (7430 мг,17,5 ммоль, 62,23% выход). RT=1,89 мин, общий метод УВЭЖХ. МС (m/z) [M+H]+ рассч. для C24H29N2O5 425,21, найденная 425,45.



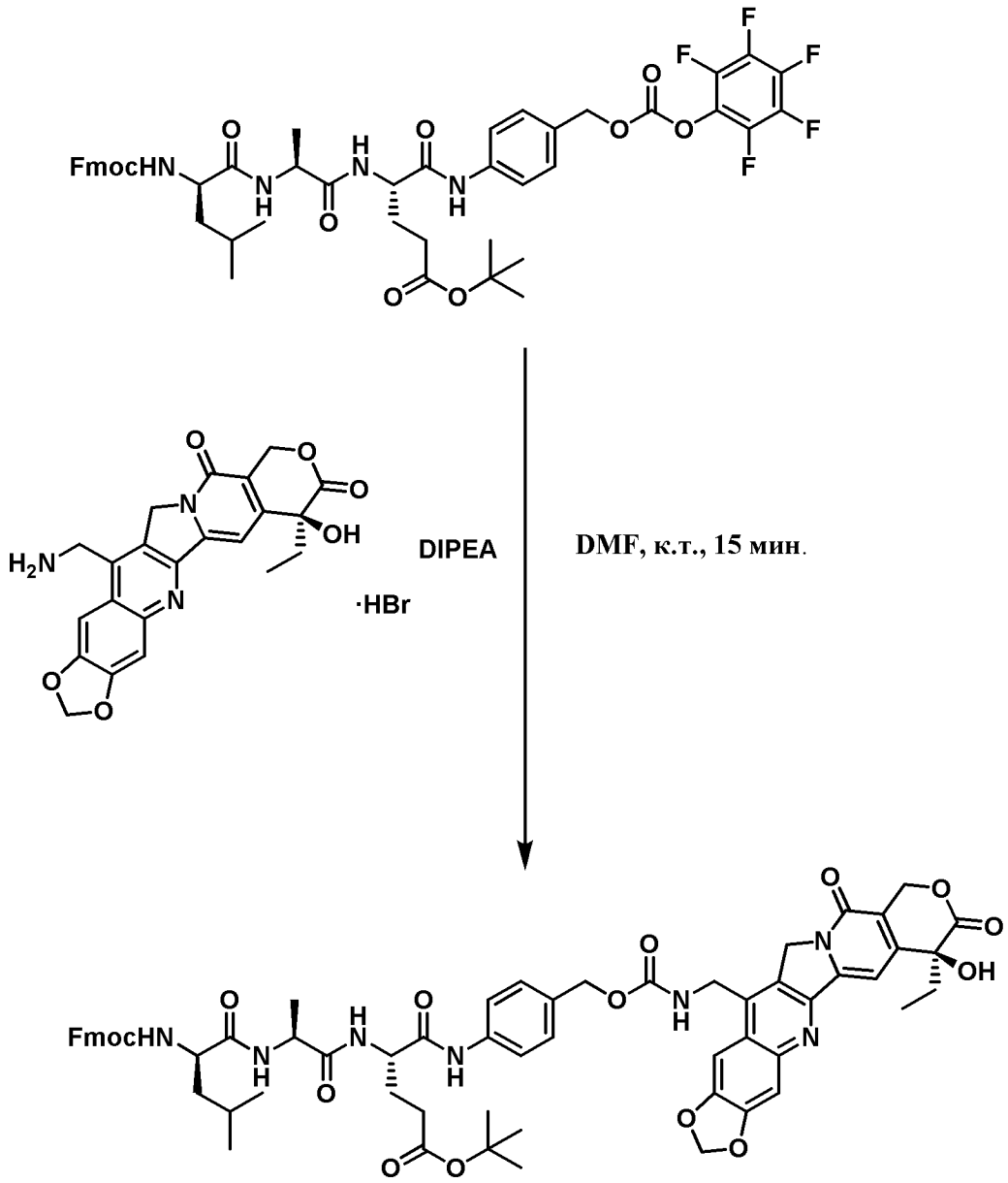
[01028] трет-бутил (4S)-4-амино-5-[4-(гидроксиметил)анилино]-5-оксо-пентаноат (1,10 экв., 4994 мг, 16,2 ммоль) растворяли в ДМФ (50 мл). Добавляли PPTS (1,10 экв., 4070 мг, 16,2 ммоль), а потом (2S)-2-[[(2R)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]пропановую кислоту (1,00 экв., 6250 мг, 14,7 ммоль). Реакционную смесь охлаждали до 0°C с помощью ледяной/водной бани. Добавляли 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида гидрохлорид (1,20 экв., 3387 мг, 17,7 ммоль) и перемешивали реакционную смесь в течение ночи. Полное превращение наблюдали через 15 часов. Реакционную смесь разводили 1:1:1 EtOAC:ТГФ:2MeTHF (300 мл), промывали 11% K2CO3 (300 мл), промывали 19% лимонной кислотой (300 мл), промывали 22% K2CO3 (300 мл), промывали 18% NaCl (300 мл). Органический слой сушили MgSO4, фильтровали и концентрировали в вакууме с получением желтого смолообразного твердого вещества. Очищали посредством колоночной хроматографии, 20-80% EtOAc в Hex. Фракции, содержащие необходимый продукт, концентрировали в вакууме с получением бесцветного твердого вещества трет-бутил (4S)-4-[[(2S)-2-[[(2R)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]пропаноил]амино]-5-[4-(гидроксиметил)анилино]-5-оксо-пентаноата (7416 мг,10,4 ммоль, 70,46% выход). RT=2,13 мин, общий метод УВЭЖХ. МС (m/z) [M+H]+ рассч. для C40H51N4O8 715,37, найденная 715,50.

Активация PFP карбоната



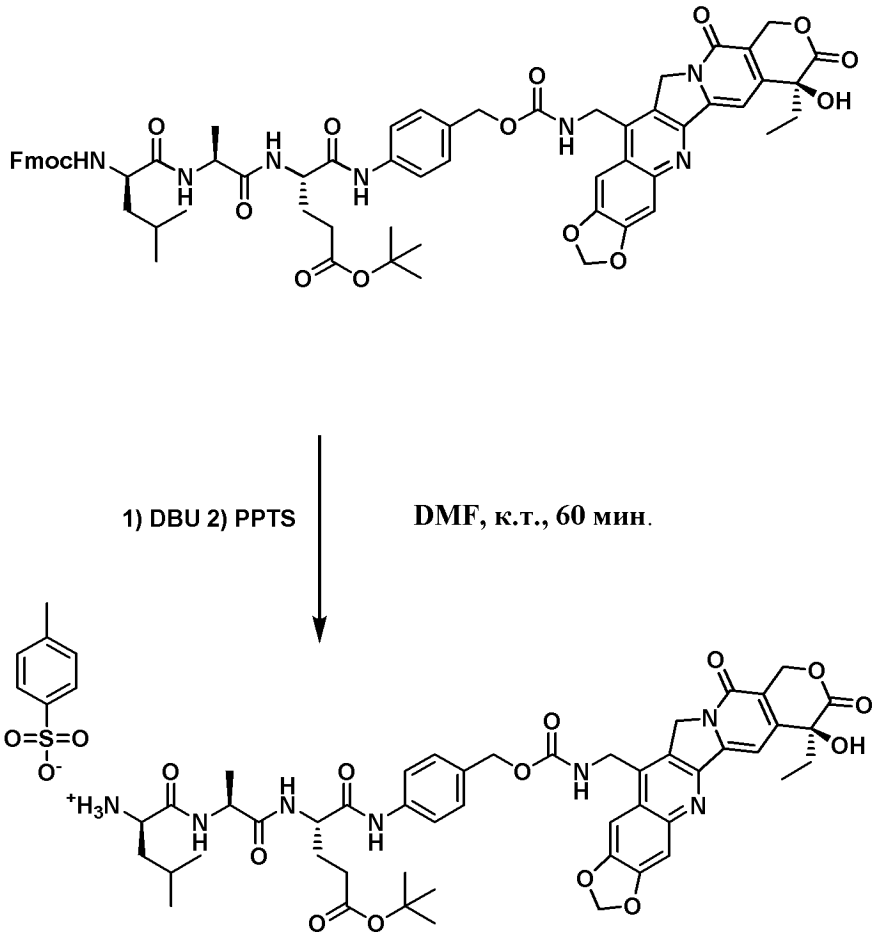
[01029] трет-бутил (4S)-4-[[(2S)-2-[[(2R)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]пропаноил]амино]-5-[4-(гидроксиметил)анилино]-5-оксо-пентаноат (1,00 экв., 1719 мг, 2,40 ммоль) растворяли в ДМФ (8,0157 мл). Медленно добавляли бис(пентафторфенил) карбонат (2,00 экв., 1895 мг, 4,81 ммоль), а потом N, N-диизопропилэтиламин (3,00 экв., 1,3 мл, 7,21 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 15 минут, после чего наблюдали полное превращение посредством УВЭЖХ-МС. Реакционную смесь разводили в EtOAc (150 мл), а органические вещества промывали 2×150 мл 18% K2CO3, затем 1×150 мл насыщенного солевого раствора. Затем органические вещества разделяли и сушили (MgSO4) перед концентрированием досуха. Затем неочищенное вещество очищали посредством колоночной флэш-хроматографии с элюированием 10-80% EtOAc в гексанах. Необходимые фракции концентрировали в вакууме досуха с получением бесцветного твердого вещества трет-бутил (4S)-4-[[(2S)-2-[[(2R)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]пропаноил]амино]-5-оксо-5-[4-[(2,3,4,5,6-пентафторфенокси)карбонилоксиметил]анилино]пентаноата (1815 мг,1,96 ммоль, 81,61% выход). RT=2,38 мин, общий метод УВЭЖХ. МС (m/z) [M+H]+ рассч. для C47 H50F5N4O10 925,34, найденная 925,41.

Образование соединения лекарственный препарат-линкер


FmocHN
F
F
F
F
F
O
O
O

твердого трет-бутил (4S)-5-[4-[[(5S)-5-этил-5-гидрокси-6,10-диоксо-7,18,20-триокса-11,24-диазагексацикло[11.11.0.02,11.04,9.015,23.017,21]тетракоза-1(13),2,4(9),14,16,21,23-гептаен-14-ил]метилкарбамоилоксиметил]анилино]-4-[[(2S)-2-[[(2R)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]пропаноил]амино]-5-оксо-пентаноата (1815 мг,1,56 ммоль, 89,33% выход). RT=2,16 мин, общий метод УВЭЖХ. МС (m/z) [M+H]+ рассч. для C63H68N7O15 1162,48, найденная 1162,69.

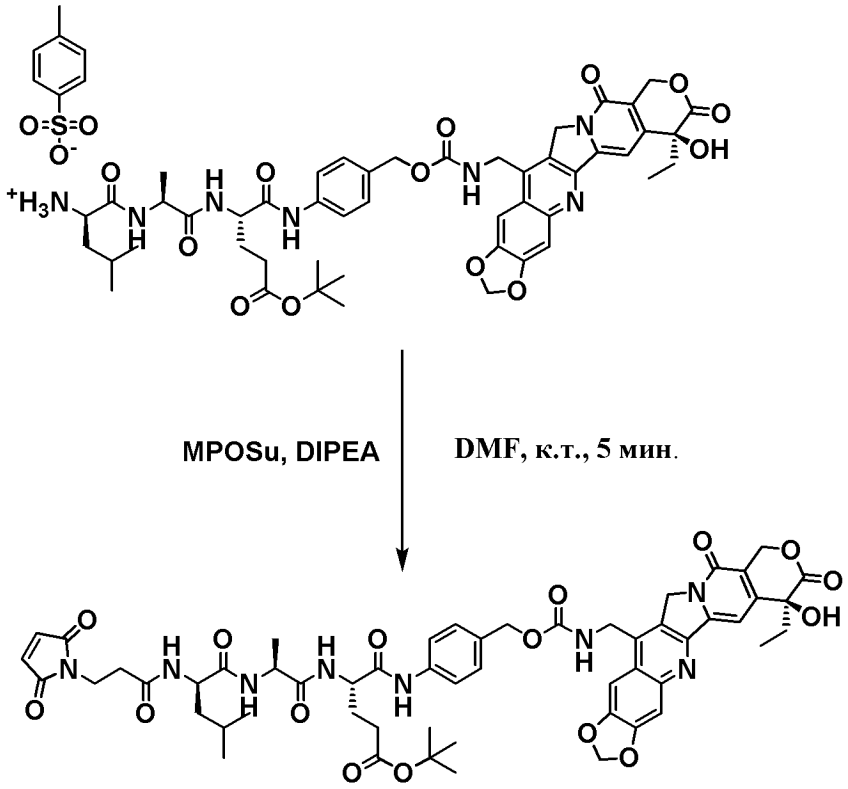
Снятие защиты Fmoc



[01031] трет-бутил (4S)-5-[4-[[(5S)-5-этил-5-гидрокси-6,10-диоксо-7,18,20-триокса-11,24-диазагексацикло[11.11.0.02,11.04,9.015,23.017,21]тетракоза-1(13),2,4(9),14,16,21,23-гептаен-14-ил]метилкарбамоилоксиметил]анилино]-4-[[(2S)-2-[[(2R)-2-(9H-флуорен-9-илметоксикарбониламино)-4-метил-пентаноил]амино]пропаноил]амино]-5-оксо-пентаноат (1,00 экв., 727 мг, 0,625 ммоль) растворяли в ДМФ (2,0848 мл). Добавляли 1,8-диазабицикло[5.4.0]ундек-7-ен (1,00 экв., 0,094 мл, 0,625 ммоль) и перемешивали реакционную смесь в течение 60 минут, после чего наблюдали полное превращение. Реакционную смесь каплями добавляли в 75 мл перемешиваемого толуола. Коричневый осадок собирали путем фильтрации и сушили в вакууме с получением необходимого продукта трет-бутил (4S)-4-[[(2S)-2-[[(2R)-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]пропаноил]амино]-5-[4-[[(5S)-5-этил-5-гидрокси-6,10-диоксо-7,18,20-триокса-11,24-диазагексацикло[11.11.0.02,11.04,9.015,23.017,21]тетракоза-

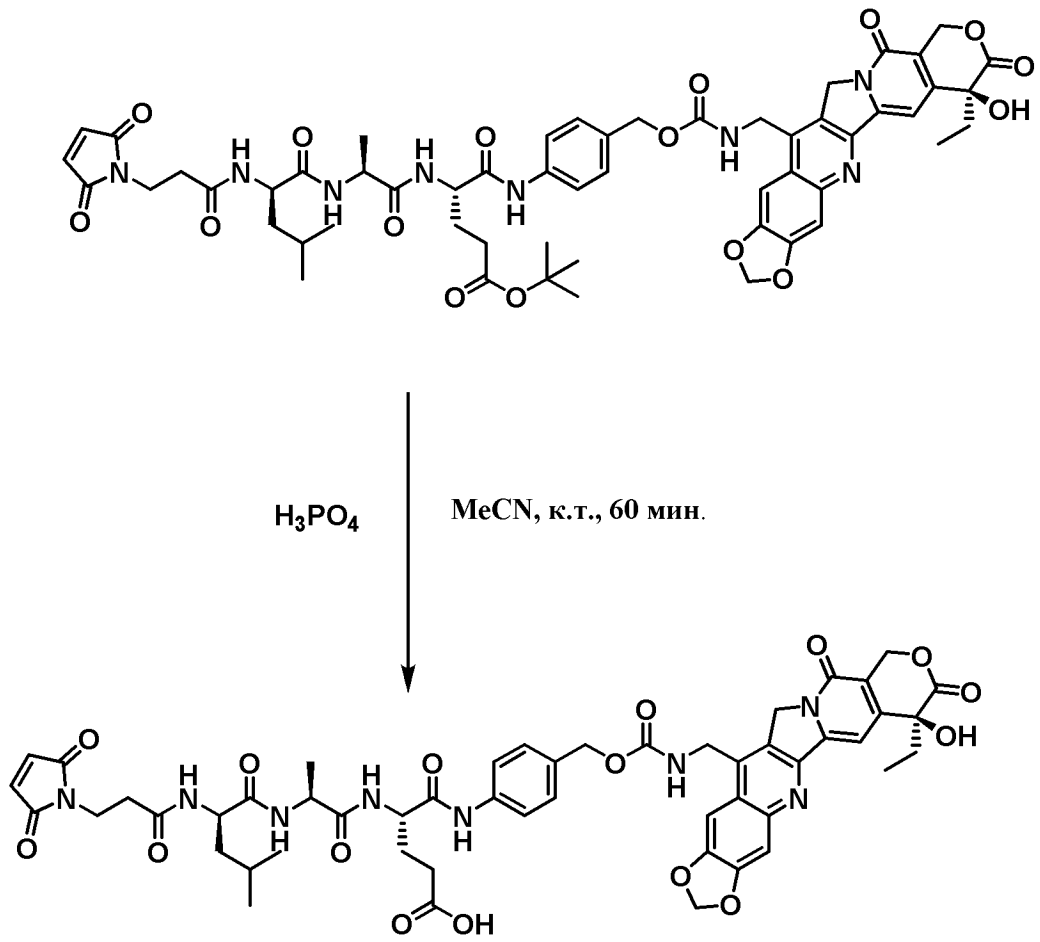
1(13),2,4(9),14,16,21,23-гептаен-14-ил]метилкарбамоилоксиметил]анилино]-5-оксо-пентаноат;4-метилбензолсульфоновой кислоты (664 мг,0,597 ммоль, 95,43% выход). RT=0,85 мин, общий метод УВЭЖХ. МС (m/z) [M+H]+ рассч. для C48H58N7O13 940,41, найденная 940,84.

Сочетание MPOSu



[01032] трет-бутил (4S)-4-[[(2S)-2-[[(2R)-2-амино-4-метил-пентаноил]амино]пропаноил]амино]-5-[4-[[(5S)-5-этил-5-гидрокси-6,10-диоксо-7,18,20-триокса-11,24-диазагексацикло[11.11.0.02,11.04,9.015,23.017,21]тетракоза-1(13),2,4(9),14,16,21,23-гептаен-14-ил]метилкарбамоилоксиметил]анилино]-5-оксо-пентаноат;4-метилбензолсульфоновую кислоту (1,00 экв., 664 мг, 0,597 ммоль) растворяли в ДМФ (3,9789 мл). В реакционную смесь добавляли 2,5-диоксопирролидин-1-ил 3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропаноат (1,10 экв., 175 мг, 0,657 ммоль), а потом N, N-диизопропилэтиламин (1,20 экв., 0,12 мл, 0,716 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 5 минут, после чего наблюдали полное превращение. Реакционную смесь подкисляли AcOH (0,2 мл) и каплями добавляли в 75 мл перемешиваемой воды. Коричневый осадок собирали путем фильтрации и сушили в вакууме с получением необходимого продукта трет-бутил (4S)-4-[[(2S)-2-[[(2R)-2-[3-(2,5-диоксопиррол-1-ил)пропаноиламино]-4-метил-пентаноил]амино]пропаноил]амино]-5-[4-[[(5S)-5-этил-5-гидрокси-6,10-диоксо-7,18,20-триокса-11,24-диазагексацикло[11.11.0.02,11.04,9.015,23.017,21]тетракоза-1(13),2,4(9),14,16,21,23-гептаен-14-ил]метилкарбамоилоксиметил]анилино]-5-оксо-пентаноата (519 мг,0,476 ммоль, 79,76% выход). RT=1,78 мин, общий метод УВЭЖХ. МС (m/z) [M+H]+ рассч. для C55H62N8O16 1091,44, найденная 1091,58.

Снятие защиты трет-бутилового сложного эфира



[01033] трет-бутил (4S)-4-[[(2S)-2-[[(2R)-2-[3-(2,5-диоксопиррол-1-ил)пропаноиламино]-4-метил-пентаноил]амино]пропаноил]амино]-5-[4-[[(5S)-5-этил-5-гидрокси-6,10-диоксо-7,18,20-триокса-11,24-диазагексацикло[11.11.0.02,11.04,9.015,23.017,21]тетракоза-1(13),2,4(9),14,16,21,23-гептаен-14-ил]метилкарбамоилоксиметил]анилино]-5-оксо-пентаноат (1,00 экв., 519 мг, 0,476 ммоль) растворяли в MeCN (2 мл) и фосфорной кислоте (40,0 экв., 1,2 мл, 19,0 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в течение 60 минут, после чего наблюдали полное снятие защиты. Реакционную смесь каплями добавляли в 75 мл перемешиваемой воды и перемешивали рыжую суспензию в течение 10 минут. Осадок собирали путем фильтрации, элюировали в отдельный флакон с 1:1 MeOH:ДХМ и концентрировали в вакууме. Перерастворяли в ДМСО и очищали посредством препаративной ВЭЖХ, 30×250 мм MaxRP с элюированием 20-45-95% сфокусированным градиентом MeCN в H2O 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие необходимый продукт, концентрировали в вакууме с получением желтого твердого вещества (4S)-4-[[(2S)-2-[[(2R)-2-[3-(2,5-диоксопиррол-1-ил)пропаноиламино]-4-метил-пентаноил]амино]пропаноил]амино]-5-[4-[[(5S)-5-этил-5-гидрокси-6,10-диоксо-7,18,20-триокса-11,24-диазагексацикло[11.11.0.02,11.04,9.015,23.017,21]тетракоза-1(13),2,4(9),14,16,21,23-гептаен-14-ил]метилкарбамоилоксиметил]анилино]-5-оксо-пентановой кислоты

(Соединение 43, 276 мг,0,267 ммоль, 56,05% выход). RT=1,43 мин, общий метод УВЭЖХ. МС (m/z) [M+H]+ рассч. для C51H54N8O16 1035,37, найденная 1035,42.

[01034] Соединения 43a, 43b и 43c получали, используя аналогичные методы. Результаты и характеристики приведены в таблицах 4a и 4b. Экзатекан был приобретен у Advanced ChemBlock (каталог №: 10484).

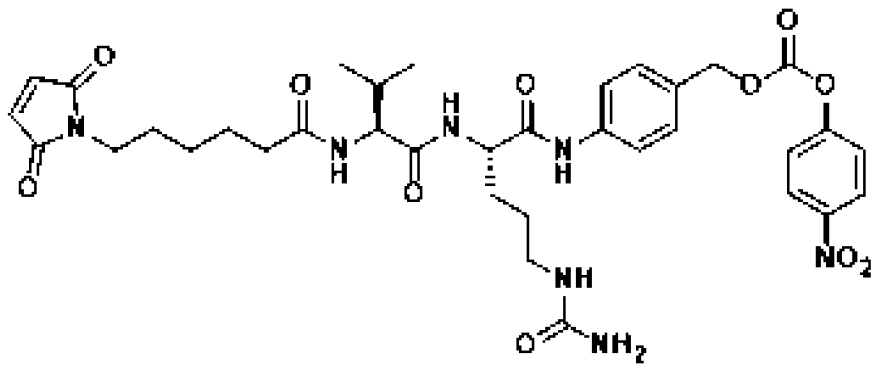
Таблица 4a. Соединения лекарственный препарат-линкер, синтезированные в соответствии со способом примера 2.2.

№ соед.	**L_B**	**A**	**W**	**Y**	**Камптотецин (N-связ.)**
43	Mal-$CH_2CH_2C(O)$-	-	D-Leu-Ala-Glu-	PABC	AMDCPT
43a	Mal-$CH_2CH_2C(O)$-	-$NH(CH_2CH_2O)_4$-$CH_2CH_2C(O)$-	D-Leu-Ala-Glu-	PABC	AMDCPT
43b	Mal-$CH_2CH_2C(O)$-	-$NH(CH_2CH_2O)_8$-$CH_2CH_2C(O)$-	D-Leu-Ala-Glu-	PABC	AMDCPT
43c	Mal-$CH_2CH_2C(O)$-	-	D-Leu-Ala-Glu-	PABC	Экзатекан

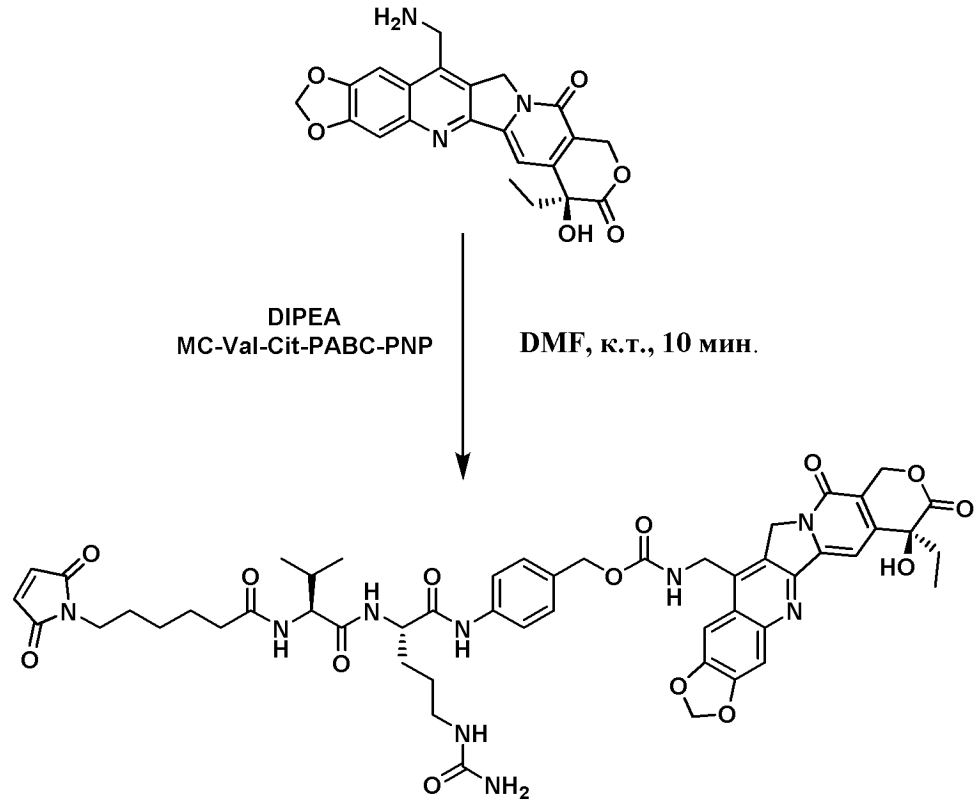
Таблица 4b. Характеристики соединений лекарственный препарат-линкер.

№ соединения	**Рассч. МС (m/z) $[M+H]^+$**	**Наблюдаемая МС (m/z)**	**КТ**
43	1281,52	1282,97	1,42
43a	1035,38	1035,51	1,43
43b	1049,41	1049,58	1,64
43c	1458,62	1458,94	1,43

Пример 21: Соединение лекарственный препарат-линкер AMDCPT с линкером Val-Cit



[01035] Получение малеимидокапроил-L-валин-L-цитруллин-п-аминобензилового спирта п-нитрофенилкарбоната (MC-Val-Cit-PABC-PNP) было описано в патенте WO 2019108797.



[01036] AMDCPT и MC-Val-Cit-PABA-PNP растворяли в ДМФ (0,5 мл). Добавляли ДИПЭА (4,00 экв., 0,026 мл, 0,149 ммоль) и перемешивали реакционную смесь в течение 10 минут. Реакционную смесь подкисляли AcOH и очищали посредством препаративной ВЭЖХ, 21×250 мм Synergi Max-RP 10-95% MeCN в H_2O 0,05% ТФУ. Фракции, содержащие необходимый продукт, лиофилизировали с получением необходимого продукта в виде желтого твердого вещества 4-((S)-2-((S)-2-(6-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)гексанамидо)-3-метилбутанамидо)-5-уреидопентанамидо)бензил (((S)-7-этил-7-гидрокси-8,11-диоксо-7,8,11,13-тетрагидро-10H-[1,3]диоксоло[4,5-g]пирано[3',4':6,7]индолизино[1,2-b]хинолин-14-ил)метил)карбамата (Соединение 44, 2,40 мг, 2,35 мкмоль, 6,30% выход). RT=1,59 мин, общий метод УВЭЖХ. MS (m/z) $[M+H]^+$ рассч. для $C_{51}H_{58}N_9O_{14}$ 1020,41, найденная 1020,09.

Пример 22: Получение конъюгатов лиганд-лекарственный препарат

[01037] Полностью или частично восстановленные ADC получали в 50% смеси полиэтиленгликоля (PG) IX и ФСБ. Половину части PG добавляли к восстановленному mAb, а половину PG добавляли в 1 мМ маточный раствор лекарственный препарат камптотецин - линкер в ДМСО. Смесь PG/лекарственный препарат-линкер добавляли к восстановленному mAb 25% частями. После завершения добавления соединения лекарственный препарат-линкер излишек соединения лекарственный препарат-линкер удаляли путем обработки активированным углем (от 1 мг угля до 1 мг mAb). Потом уголь удаляли путем фильтрации, а в полученному ADC проводили замену буфера, используя колонку NAP5 или PD10, на 1X ФСБ pH 7,4.

Пример 23: In vitro оценка ADC.

[01038] In vitro активность оценивали на нескольких линиях раковых клеток. Все линии клеток были подтверждали профилированием STR на IDEXX Bioresearch и культивировали в течение не более чем 2 месяцев после восстановления. Клетки, культивируемые в логарифмической фазе, высевали в течение 24 часов в 96-луночные планшеты, содержащие 150 pi RPMI 1640, дополненной 20% ФБС. Серийные разведения конъюгатов антитело - лекарственный препарат в клеточной культуральной среде готовили в 4x рабочих концентрациях и добавляли по 50 мкл каждого разведения в 96-луночные планшеты. После добавления готовых реагентов клетки инкубировали с готовыми реагентами в течение 4 дней при 37 0 °C. Через 96 часов оценивали ингибирование роста с помощью CellTiterGlo® (Promega, Madison, WI) и измеряли люминесценцию на планшет-ридере. Значение IC_{50}, определенное в трех повторах, в данном документе означает концентрацию, которая приводит к 50% снижению клеточного роста по сравнению с необработанным контролем.

[01039] В таблице 5 значения IC_{50} для ADCs приведены в нг/мл. Жизнеспособность клеток определяли по окрашиванию CellTiter-Glo после 96 ч воздействия ADC. НД=не определено. Соединения лекарственный препарат-линкер конъюгировали с антителом cAC10 или Ag2, как указано в таблице. Ag2 представляет собой антитело, нацеленное на повсеместно распространенный и легко интернализуемый антиген. Исследуемые линии раковых клеток представляют собой: клетки почечной карциномы (786-0), клетки меланомы (A2058), клетки рака поджелудочной железы (BxPC3), (Calu1), (DEL), (DELBVR), (Karpas299), клетки лимфомы Ходжкина (L540cy), (Ls174T), клетки рака молочной железы (MDA-MB-231), клетки острого миелоидного лейкоза (MOLM-13) и клетки В-лимфоцитарного рака (SU-DHL4).

Таблица 5. In vitro активность (значения IC_{50}) ADC на основе камптотецина (DAR=8 для всех ADC).

ADC/лекарственный препарат	**Описание**	**IC_{50} 786-O**	**IC_{50} A2058**	**IC_{50} BxPC3**	**IC_{50} Calu1**	**IC_{50} DEL**	**IC_{50} DELBVR**
cAC10-соединение 43b	MP-PEG8-D-Leu-Ala-Glu-AMDCPT	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	2	3,9
cAC10-соединение 43	MP-D-Leu-Ala-Glu-PABC-AMDCPT	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	2	4
Ag2-соединение 43	MP-D-Leu-Ala-Glu-PABC-	> 1000	261	132	> 1000	7	5

	AMDCPT						
Ag2-соединение 43a	MP-PEG4-D-Leu-Ala-Glu-PABC-AMDCPT	> 1 K	69	65	> 1 K	4	5
Ag2-соединение 43b	mp-PEG8-D-Leu-Ala-Glu-AMDCPT	> 1000	98	> 1000	> 1000	5	4

Таблица 5 (прод.) In vitro активность (значения IC_{50}) ADC на основе камптотецина (DAR=8 для всех ADC).

ADC/лекарственный препарат	**Описание**	**IC_{50} Karpas299**	**IC_{50} L540cy**	**IC_{50} Ls174T**	**IC_{50} MDAMB231**	**IC_{50} MOLM-13**	**IC_{50} SU-DHL-4**
cAC10-соединение 43b	MP-PEG8-D-Leu-Ala-Glu-AMDCPT	455	15	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000
cAC10-соединение 43	MP-D-Leu-Ala-Glu-PABC-AMDCPT	49	11	-	> 1000	> 1000	> 1000
Ag2-соединение 43	MP-D-Leu-Ala-Glu-PABC-AMDCPT	29	20		> 1000	136	32
Ag2-соединение 43a	MP-PEG4-D-Leu-Ala-Glu-PABC-AMDCPT	9	10	41	> 1 K	41	14
Ag2-соединение 43b	MP-PEG8-D-Leu-Ala-Glu-AMDCPT	41	24	16,9	116	90	28

Пример 24: Исследование агрегации

[01040] Уровни агрегации ADC определяли для соединений лекарственный

препарат-линкер на основе камптотецина (DAR=8). Агрегацию ADC определяли посредством эксклюзионной хроматографии (ЭХ). Результаты приведены в таблице 6.

Таблица 6. Результаты исследования агрегации.

ADC	Описание	DAR	Конц. (мг/мл)	% ВМ
Ag2- соединение 43	MP-D-Leu-Ala-Glu-PABC-AMDCPT	8	1,07	5,66
cAC10-соединение 43	MP-D-Leu-Ala-Glu-PABC-AMDCPT	8	1,01	3,96
Ag2- соединение 43a	MP-PEG4-D-Leu-Ala-Glu-PABC-AMDCPT	8	1,00	14,1
Ag2- соединение 43b	MP-PEG8-D-Leu-Ala-Glu-PABC-AMDCPT	8	0,98	4,7
cAC10-соединение 43b	MP-PEG8-D-Leu-Ala-Glu-PABC-AMDCPT	8	0,96	3,32
Ag2- соединение 44	MC-Val-Cit-PABC-AMDCPT	8	1,00	50,1

Пример 25: Исследование плазменной агрегации

[01041] Несвязывающее h00 mAb метили Alex Flour 488 (AF488) до соотношения ~2-3 AF88/mAB. Соединения лекарственный препарат-линкер на основе камптотецина конъюгировали с полностью восстановленными дисульфидами AF88-h00 в 50% смеси пропиленгликоль (PG) 1X ФСБ. Проводили замену буфера до 20 мМ Glu, pH 4,5, и разводили до 2 мг/мл. Исследуемые препараты разводили до 50 мкг/мл в забуференной плазме крыс (100 мМ KPhos), pH 7,2) и инкубировали при 37 °C. В определенные моменты времени из исследуемых препаратов отбирали аликвоты, охлаждали до 2-8 °C и немедленно анализировали посредством эксклюзионной хроматографии (ЭХ) с выявлением флуоресценции с элюированием буфером с нейтральным pH, физиологической ионной силой в отсутствие органических растворителей. Анализировали процент высокомолекулярных фракций (% ВМ), представляющих агрегированный ADC. Агрегация оказалась ниже для полученных с трипептидом D-Leu-Ala-Glu камптотециновых ADC (Пр. 2.2) по сравнению с полученными с Val-Cit камптотециновыми ADC (Пр. 2.3). Результаты приведены в таблице 7.

Таблица 7. Результаты исследования плазменной агрегации.

ADC	Описание	DAR	Нагрузка AF488	Конц. (мг/мл)	% ВМ
h00-AF488-соединение	MP-D-Leu-Ala-Glu-PABC-AMDCPT	8	1,7	2,2	2,64

43					
h00-AF488-соединение 43a	MP-PEG4-D-Leu-Ala-Glu-PABC-AMDCPT	8	1,8	2,12	3,12
h00-AF488-соединение 43b	MP-PEG8-D-Leu-Ala-Glu-PABC-AMCPT	8	1,8	2,28	4,58
h00-AF488-соединение 43c	MP-D-Leu-Ala-Glu-PABC-Exatecan	8	1,7	2,44	3,41
h00-AF488-соединение 44	MC-Val-Cit-PABC-AMDCPT	8	1,7	2,27	32,01

[01042] Плазменную агрегацию для соединений также отслеживали в динамике по времени (Фиг. 23).

Пример 26: In vivo модели

[01043] Все эксперименты проводили в соответствии с Комитетом по использованию и уходу за животными в помещении, полностью аккредитованном Ассоциацией по оценке и аккредитации условий содержания лабораторных животных. Эксперименты по эффективности проводили в ксенотрансплантатных моделях L428, KMH2, Karpas/Karpas-BVR, DelBVR и Caki-1. Опухолевые клетки в виде клеточной суспензии подкожно имплантировали мышам с ослабленным иммунитетом SCID или бестимусным мышам. После прививания опухолей мышей рандомизировали в группы исследования (5 мышей на группу), когда средний объем опухолей достигал около 100 мм3. ADC или контроли вводили один раз путем внутрибрюшинной инъекции. Среднее число соединений лекарственный препарат-линкер, присоединенных к антителу, указано в скобках рядом с ADC (также называемое в данном документе соотношением лекарственный препарат - антитело (DAR), например, DAR4, DAR8, и т. д.). Объем опухолей как функцию времени определяли, используя формулу (L x W2)/2. Животных умерщвляли, когда опухоли достигали 750 мм3. Мышей, демонстрировавших стойкую регрессию, умерщвляли через 10-12 недель после имплантации.

[01044] Животным имплантировали клетки L428. Через 10 дней животных рассортировывали по группам со средним объемом опухолей 100 мм3, а затем обрабатывали одной дозой камптотецинового ADC cAC10-соединение 43(8), cAC10-соединение 43a(8) или cAC10-соединение 43b(8), при 2 или 6 мг/кг. В течение курса исследования животных оценивали в отношении размера опухолей и жизненных признаков. Результаты приведены на Фиг. 24A и 24B.

[01045] Животным имплантировали резистентные к Del-брентуксимаб ведотину

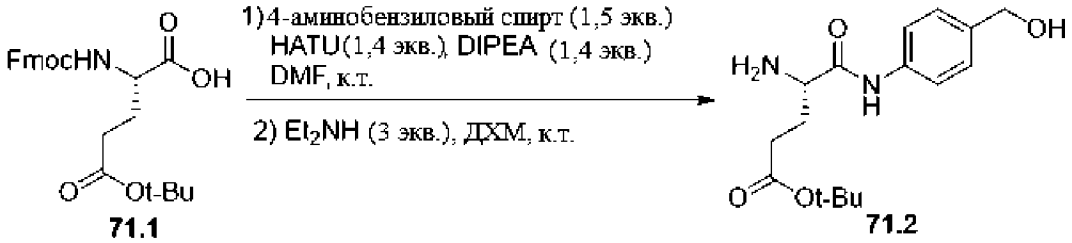
клетки (DELBVR). В день 9 животных рассортировывали по группам со средним объемом опухолей 100 мм3, а затем обрабатывали одной дозой капмтотецинового соединения 43(8), cAC10-соединения 43a(8) или cAC10-соединения 43b(8), при 0,3-0,9 мг/кг или брентуксимаб ведотином при 3 мг/кг. В течение курса исследования животных оценивали в отношении размера опухолей и жизненных признаков. Результаты приведены на Фиг. 25A-C.

[01046] Животным имплантировали 1:1 смесь CD30+ Karpas299 и CD30- Karpas299 резистентных к брентуксимаб ведотину клеток (Karpas299-BVR). Через 5 дней животных рассортировывали по группам со средним объемом опухолей 100 мм3, а затем обрабатывали одной дозой капмтотецинового cAC10-соединения 43(8) при 0,5 и 1,5 мг/кг или cAC10-соединения 43(4), при 1 и 3 мг/кг. В течение курса исследования животных оценивали в отношении размера опухолей и жизненных признаков. Результаты приведены на Фиг. 26.

[01047] Животным имплантировали клетки Caki-1. В день 10 животных рассортировывали по группам со средним объемом опухолей 100 мм3, а затем обрабатывали одной дозой капмтотецинового ADC h1F6-соединение 43(8), h1F6-соединение 43a(8) или h1F6-соединение 43b(8), при 3 или 10 мг/кг. В течение курса исследования животных оценивали в отношении размера опухолей и жизненных признаков. Результаты приведены на Фиг. 27A и 27B.

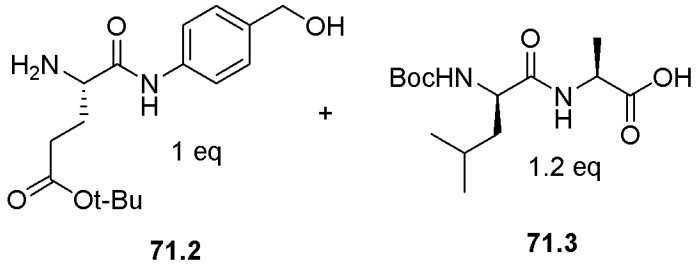
[01048] Данные на Фиг. 24-27 показывают, что cAC10-соединение 43(8), cAC10-соединение 43a(8), cAC10-соединение 43b(8), h1F6-соединение 43(8), h1F6-соединение 43a(8) или h1F6-соединение 43b(8) ADC все демонстрировали in vivo противоопухолевую активность в исследованных моделях.

Пример 27: Синтез тубулизиновых соединений лекарственный препарат-линкер (соединение 71)



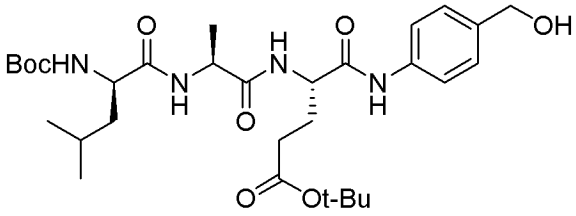
[01049] Соединение **71.1** (1 ммоль), (4-аминофенил)метанол (1,5 ммоль) и HATU (1,4 ммоль) добавляли в 50 мл RBF, оснащенную магнитной мешалкой. В сосуд добавляли диметилформамид (ДМФ) (2 мл) и перемешивали до растворения твердых веществ. В реакционную смесь одной частью добавляли ДИПЭА (245 мкл,1,4 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при кт в течение двух часов. После завершения каплями добавляли воду (6 мл) в течение 30 минут. Суспензию перемешивали еще в течение 1 ч при кт. Суспензию фильтровали и промывали водой с получением оранжевого твердого вещества. Твердое вещество перерастворяли в ДХМ (5 мл) и добавляли в раствор диэтиламин (309

мкл, 3,0 ммоль) и перемешивали при кт в течение ночи (реакция осаждалась в течение ночи). После завершения в реакционную смесь добавляли гексаны и перемешивали в течение 1 ч. После фильтрации твердое вещество сушили в вакууме в течение ночи до соединения **71.2** в виде коричневого твердого вещества (количественный выход).



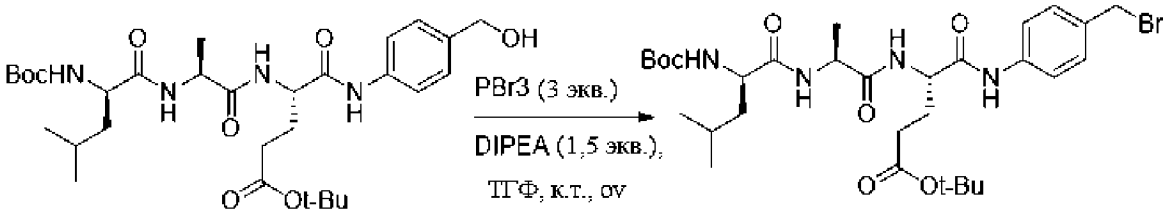
71.2 **71.3**

HATU (1,5 экв.), DIPEA (1,5 экв.) DMF, к.т., 4 ч.



71.4

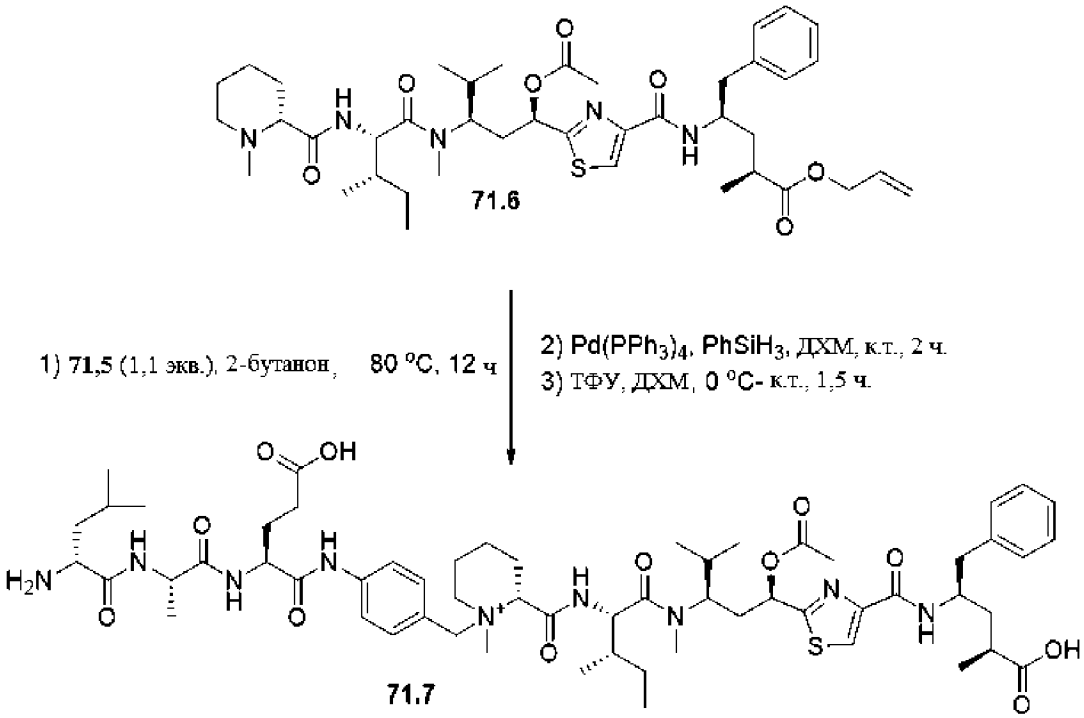
[01050] Соединение **71.2** (87 мг, 0,28 ммоль), соединение **71.3** (102 мг, 0,34 ммоль) и HATU (162 мг, 0,42 ммоль) добавляли в RBF. В сосуд добавляли ДМФ (1 мл) and ДИПЭА (75 мкл, 0,42 ммоль) и перемешивали при кт. После завершения реакции в колбу добавляли воду и переносили в разделительную воронку. Водный слой экстрагировали дихлорметаном, сушили над сульфатом натрия и концентрировали на роторном испарителе. Неочищенную смесь очищали посредством обращенно-фазовой колоночной хроматографии с получением соединения **71.4** в виде белого твердого вещества (63% выход).



71.4 **71.5**

[01051] В ледяной раствор соединения **71.4** (0,18 ммоль) в ТГФ (9 мл) добавляли

ДИПЭА (47 мкл) с последующим покапельным добавлением трибромида фосфора (18,5 мкл) в течение 30 минут. Реакционную смесь перемешивали при 0 °С. После завершения реакционную смесь гасили водным раствором бикарбоната натрия и переносили в разделительную воронку. Водный слой экстрагировали дихлорметаном, сушили над сульфатом натрия и концентрировали на роторном испарителе. Неочищенную смесь очищали посредством нормально-фазовой колоночной хроматографии, используя этилацетат и гексаны, с получением **71.5** в виде белого твердого вещества (71% выход). Аналитическая УВЭЖХ-МС, m/z (ЭР+) рассчитанная 656,6 $[M+H]^+$; найденная 656.

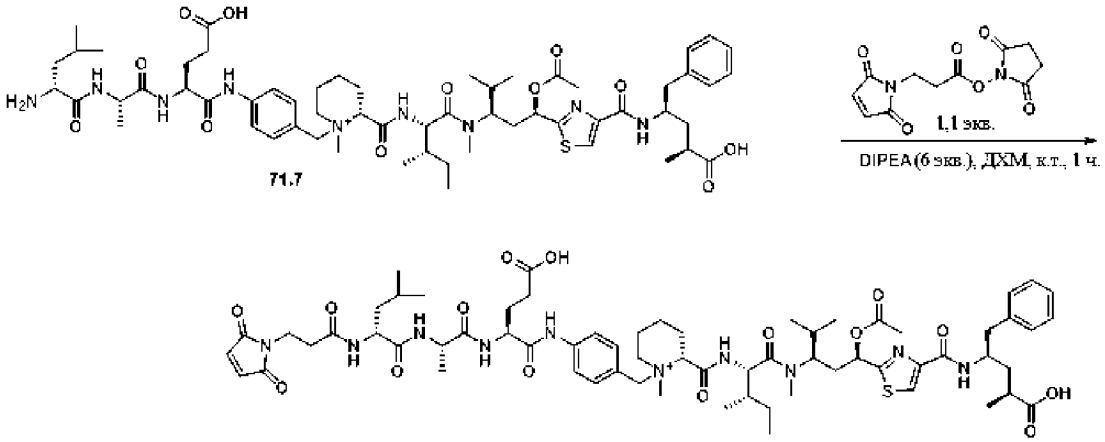


[01052] Сосуд для работы под давлением наполняли соединением **71.5** (11,3 мг, 17,2 мкмоль) и соединением **71.6** (12 мг, 15,6 мкмоль) в безводном 2-бутаноне (150 мкл). Реакционную смесь продували N2, герметично закрывали и оставляли перемешиваться при 80°С в течение 12 часов. Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры, а затем концентрировали. Неочищенный материал переносили далее без дополнительной очистки. Аналитическая УВЭЖХ-МС: m/z (ЭР+) рассчитанная 1342,7 [M]+; найденная 1343.

[01053] Неочищенное твердое вещество повторно солюбилизировали в безводном ДХМ (100 мкл) с последующим добавлением фенилсилана (19,3 мкл, 156 мкмоль) и Pd(PPh3)4 (5,4 мг, 4,6 мкмоль). ЖХМС показала полное удаление аллилэфира через 1 час. Реакционную смесь фильтровали для удаления катализатора, а неочищенное вещество переносили дальше. Аналитическая УВЭЖХ-МС: m/z (ЭР+) рассчитанная 1302,7 [M]+; найденная 1303.

[01054] Неочищенное твердое вещество (44 мг) растворяли в безводном ДХМ (380 мкл) и охлаждали до 0°С с перемешиванием. Каплями добавляли ТФУ (125 мкл) и

оставляли реакционную смесь нагреваться до комнатной температуры. ЖХМС показала удаление группы Boc через 1,5 часа, после чего реакционную смесь концентрировали при пониженном давлении, очищали посредством обращенно-фазовой колоночной хроматографии с получением соединения **71.7** (12,9 мг, 72% выход за 3 этапа), аналитическая УВЭЖХ-МС: m/z (ЭР+) рассчитанная 1046,63 [M]+; найденная 1047,3.



Соединение 71

[01055] N-сукцинимидил 3-малеимидопропионат (3,3 мг, 12,3 мкмоль) разводили в ДМФ (0,3 мл) и добавляли в колбу, содержащую соединение **71.7** (12,9 мг,11,2 мкмоль). Добавляли N, N-диизопропилэтиамин (12 мкл, 67 мкмоль) и перемешивали реакционную смесь в атмосфере N2 в течение 1 часа. Реакционную смесь разводили в ДМСО и очищали посредством препаративной ЖХ с получением соединения **71** (11 мг, 75%). Аналитическая УВЭЖХ-МС: m/z (ЭР+) рассчитанная 1298,6 [M]+; найденная 1298,3, RT=1,73 мин.

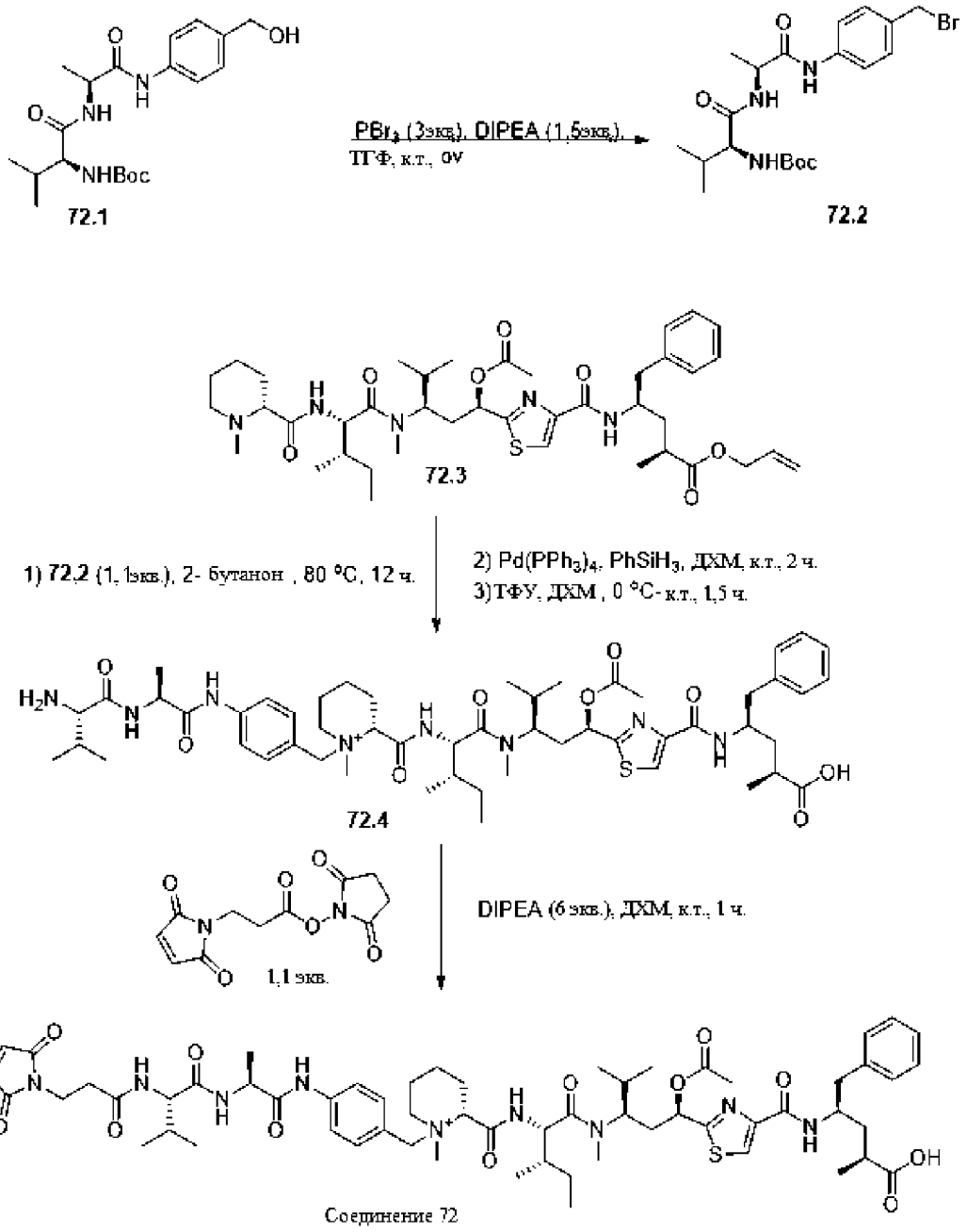
[01056] Соединение **71.6** синтезировали, используя методы, ранее описанные в Hamilton J.Z., et al. **Improving Antibody-Tubulysin Conjugates through Linker Chemistry and Site-Specific Conjugation**. ChemMedChem 2020.

Пример 28: In vivo цитотоксичность трипептидных конъюгатов антитело - лекарственный препарат для раковых клеток лимфомы Ходжкина.

Конъюгаты антитело - лекарственный препарат, имеющие соотношение лекарственный препарат - антитело (DAR) около 4, получали в соответствии с общими процедурами из соединения **71** примера 27 и антитела cAC10. ADC исследовали в ксенотрансплантатной модели, в которой клетки линии лимфомы Ходжкина L540cy имплантируют мышам SCID. ADC вводят в соответствии с процедурой из примера 13 в дозе 0,4 мг/кг. Как видно на Фиг. 28, смешанный 4-нагруженный конъюгат антитело - лекарственный препарат соединения 71 с антителом cAC10 является по меньшей мере таким же эффективным, как cAC10. **Пример 29: Синтез тубулизиновых соединений лекарственный препарат-линкер (соединение 72)**

[01057] **Соединение 72** синтезировали, начиная с трет-бутил ((S)-1-(((S)-1-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамата и придерживаясь той же общей процедуры, которая описана выше и на

схеме ниже:



[01058] **Соединение 72.2:** аналитическая УВЭЖХ-МС: m/z (ЭР+) рассчитанная 456,15 (M+H)+, найденная 456,10; **Соединение 72.4**: аналитическая УВЭЖХ-МС: m/z (ЭР+) рассчитанная 1004,32 (M)+, найденная 1004,83; **Соединение 72**: аналитическая УВЭЖХ-МС: m/z (ЭР+) рассчитанная 1155,4 (M)+, найденная 1155,2, RT=1,73 мин.

Пример 30: Анти-GPNMB in vivo исследования

Материалы

[01059] Линию клеток WM266-4, описанную в следующих примерах, поддерживали в культуре в соответствии с условиями, определенными Американской коллекцией типовых культур (ATCC), откуда были получены клетки.

In Vivo исследование активности

[01060] Для терапевтических экспериментов на полученных из клеточной линии

ксенотрансплантатах $2,5\times10^6$ клеток WM266-4 (ATCC) в 25% матригеле HC подкожно вводили 5-8 самкам бестимусных (nu/nu) мышей (Envigo). Мышей случайным образом делили на группы исследования и вводили исследуемый препарат путем внутрибрюшинной инъекции после того, как опухоли достигали приблизительно 100 $мм^3$. Животных умерщвляли, когда объем опухолей достигал 500-1000 $мм^3$. Объем опухолей рассчитывали по формуле (объем=½ x длина x ширина x ширина). Во всех ксенотрансплантатных исследованиях у мышей, обработанных любым из исследуемых препаратов, не наблюдали потери массы или связанной с лечением токсичности. Все процедуры с животными проводили согласно протоколу, одобренному Институциональным комитетом по использованию и уходу за животными, в помещении, аккредитованном Ассоциацией по оценке и аккредитации условий содержания лабораторных животных.

In vivo противораковая активность hCR011 ADC

[01061] Была продемонстрирована противораковая активность гуманизированного антитела к GPNMB hCR011, конъюгированного с vcMMAE (в среднем 4 лекарственных препарата на антитело) (hCR011-1006) или dLAE-MMAE (hCR011-7092) in vivo (Фиг. 29). Наблюдали значительное замедление роста опухолей или регрессию опухолей для hCR011-7092 и hCR011-1006 по сравнению с необработанными мышами. Это контрастирует с отсутствием in vivo противораковой активности, наблюдаемым, когда неспецифическое антитело IgG1 конъюгируют с vcMMAE (в среднем 4 лекарственных препарата на антитело) (hIgG1-1006) или dLAE-MMAE (hIgG1-7092) (Фиг. 29).

Пример 31: Анти-CD228 in vivo исследования

Материалы

[01062] Линию клеток A2058, описанную в следующем примере, получили от Американской коллекции типовых культур (ATCC) и поддерживали в культуре в соответствии с условиями, определенными ATCC.

In Vivo исследование активности

[01063] Для терапевтических экспериментов на полученных из клеточной линии ксенотрансплантатах $2,5\times10^5$ клеток (ATCC) в 25% матригеле HC подкожно вводили 5-8 самкам бестимусных (nu/nu) мышей (Envigo). Мышей случайным образом делили на группы исследования и вводили исследуемый препарат путем внутрибрюшинной инъекции после того, как опухоли достигали приблизительно 100 $мм^3$. Животных умерщвляли, когда объем опухолей достигал 500-1000 $мм^3$. Объем опухолей рассчитывали по формуле (объем=½ x длина x ширина x ширина). Во всех ксенотрансплантатных исследованиях у мышей, обработанных любым из исследуемых препаратов, не наблюдали потери массы или связанной с лечением токсичности. Все процедуры с животными проводили согласно протоколу, одобренному Институциональным комитетом по использованию и уходу за животными, в помещении, аккредитованном Ассоциацией по оценке и аккредитации условий содержания лабораторных животных.

In vivo противораковая активность hL49 ADC

[01064] Была продемонстрирована противораковая активность гуманизированного антитела к CD228 hL49, конъюгированного с vcMMAE (в среднем 4 лекарственных препарата на антитело) (hL49-1006) или dLAE-MMAE (hL49-7092) in vivo (Фиг. 30). Наблюдали значительное замедление роста опухолей или регрессию опухолей для hL49-7092 и hL49-1006 по сравнению с необработанными мышами.

Пример 32: Анти-αvβ6 in vivo исследования

Материалы

[01065] Линии клеток, описанные в следующих примерах, поддерживали в культуре в соответствии с условиями, определенными Американской коллекцией типовых культур (ATCC). Линии клеток Detroit 562, линии клеток HPAFII и линии клеток BxPC3 получали от ATCC.

In Vivo исследование активности

[01066] Для терапевтических экспериментов на полученных из клеточной линии ксенотрансплантатах 5×10^6 клеток (ATCC) подкожно вводили в правый бок самок бестимусных (nu/nu) мышей (Envigo) в случае исследований BxPC3, Detroit 562 и HPAF-II. Мышей случайным образом делили на группы исследования (N=от 5 до 8) и вводили исследуемый препарат путем внутрибрюшинной инъекции после того, как опухоли достигали приблизительно 100 мм^3. В случае исследований BxPC3 и Detroit 562 животным вводили две дополнительные дозы с разницей в одну неделю. Животных умерщвляли, когда объем опухолей достигал 750-1000 мм^3. Объем опухолей рассчитывали по формуле (объем=½ x длина x ширина x ширина). Мышей, демонстрировавших стойкую регрессию, умерщвляли приблизительно в день 40-65 после имплантации. Во всех ксенотрансплантатных исследованиях у мышей, обработанных любым из исследуемых препаратов, не наблюдали потери массы или связанной с лечением токсичности. Все процедуры с животными проводили согласно протоколу, одобренному Институциональным комитетом по использованию и уходу за животными, в помещении, аккредитованном Ассоциацией по оценке и аккредитации условий содержания лабораторных животных.

In vivo противораковая активность h2A2 ADC

[01067] Была продемонстрирована противораковая активность гуманизированного антитела к αvβ6 2A2, конъюгированного с mc-vc-MMAE (в среднем 4 лекарственных препарата на антитело) (h2A2-1006) или mp-dLAE-MMAE (h2A2-7092) in vivo (Фиг. 31-33). Наблюдали значительное замедление роста опухолей или регрессию опухолей для h2A2-mp-dLAE-MMAE и h2A2-mc-vc-MMAE по сравнению с необработанными мышами.

Пример 33: Анти-LIV1 in vivo исследования

Материалы

[01068] Линии клеток, описанные в следующих примерах, поддерживали в культуре в соответствии с условиями, определенными Американской коллекцией типовых культур (ATCC), Национальным институтом рака (NCI) или Немецкой коллекцией

микроорганизмов и клеточных культур GmbH, Брауншвайг, Германия (DMSZ).

In Vivo исследование активности

[01069] Для терапевтических экспериментов на полученных из клеточной линии ксенотрансплантатах 5×10^6 клеток (ATCC) подкожно вводили 5-8 самкам бестимусных (nu/nu) мышей (Envigo) в случае исследований MCF7, PC3 и Hela-J. Мышей случайным образом делили на группы исследования и вводили исследуемый препарат путем внутрибрюшинной инъекции после того, как опухоли достигали приблизительно 100 $мм^3$. Животных умерщвляли, когда объем опухолей достигал 500-1000 $мм^3$. Объем опухолей рассчитывали по формуле (объем=½ x длина x ширина x ширина). Мышей, демонстрировавших стойкую регрессию, умерщвляли приблизительно в день 40-65 после имплантации. Во всех ксенотрансплантатных исследованиях у мышей, обработанных любым из исследуемых препаратов, не наблюдали потери массы или связанной с лечением токсичности. Все процедуры с животными проводили согласно протоколу, одобренному Институциональным комитетом по использованию и уходу за животными, в помещении, аккредитованном Ассоциацией по оценке и аккредитации условий содержания лабораторных животных.

In vivo противораковая активность hLIV22 ADC

[01070] Была продемонстрирована противораковая активность гуманизированного антитела к LIV1 hLIV22, конъюгированного с vcMMAE (в среднем 4 лекарственных препарата на антитело) (hLIV22-1006) или dLAE-MMAE (hLIV22-7092) in vivo (Фиг. 34-36). Наблюдали значительное замедление роста опухолей или регрессию опухолей для hLIV22-7092 и hLIV22-1006 по сравнению с необработанными мышами.

hLIV22 ADC и токсичность для костного мозга

[01071] hLIV22-1006 или hLIV22-7092(4) вводили наивным яванским макакам китайского происхождения (n=5 самцов/5 самок или n=самки, соответственно) в виде одной дозы в 6 или 10 мг/кг, соответственно. В течение курса исследования получали серийные образцы крови для стандартной гематологической оценки (от момента времени до введения дозы до 4 недель после введения дозы).

[01072] На Фиг. 37 показано снижение выработки нейтрофилов и ретикулоцитов при введении hLIV22-7092 (или LIV1-трипептид или hLIV22-dLAE-MMAE) в одной дозе 10 мг/кг и при введении hLIV22-1006 (или LV, или hLIV22-vcMMAE) при 6 мг/кг. Снижение выработки нейтрофилов и ретикулоцитов аналогично для hLIV22-7092 и hLIV22-1006 при этих соответствующих дозах.

Пример 34: Анти-CD19 in vivo исследования

Материалы

[01073] Линии клеток, описанные в следующих примерах, поддерживали в культуре в соответствии с условиями, определенными Американской коллекцией типовых культур (ATCC), Национальным институтом рака (NCI) или Немецкой коллекцией микроорганизмов и клеточных культур GmbH, Брауншвайг, Германия (DMSZ). Линии клеток Raji получали от ATCC.

In Vivo исследование активности

[01074] Для терапевтических экспериментов на полученных из клеточной линии ксенотрансплантатах 5×10^6 клеток (ATCC) подкожно вводили в правый бок самок мышей SCID (CB17SC sp/sp) (Taconic) в случае исследований Raji. Мышей случайным образом делили на группы исследования (N=от 5 до 8) и вводили исследуемый препарат путем внутрибрюшинной инъекции после того, как опухоли достигали приблизительно 100 $мм^3$. Животных умерщвляли, когда объем опухолей достигал 750-1000 $мм^3$. Объем опухолей рассчитывали по формуле (объем=½ x длина x ширина x ширина). Мышей, демонстрировавших стойкую регрессию, умерщвляли приблизительно в день 40-65 после имплантации. Во всех ксенотрансплантатных исследованиях у мышей, обработанных любым из исследуемых препаратов, не наблюдали потери массы или связанной с лечением токсичности. Все процедуры с животными проводили согласно протоколу, одобренному Институциональным комитетом по использованию и уходу за животными, в помещении, аккредитованном Ассоциацией по оценке и аккредитации условий содержания лабораторных животных.

In vivo противораковая активность hBU12 ADC

[01075] Была продемонстрирована противораковая активность гуманизированного антитела к CD19 hBU12, конъюгированного с vcMMAE (в среднем 4 лекарственных препарата на антитело) (hBU12-1006(4)) или dLAE-MMAE (hBU12-7092(4)) in vivo (Фиг. 38). Наблюдали значительное замедление роста опухолей или регрессию опухолей для hBU12-7092(4) и hBU12-1006(4) по сравнению с необработанными мышами.

ПРИМЕР 35: АНТИ-CD30 ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы

[01076] Линии клеток, описанные в следующих примерах, поддерживали в культуре в соответствии с условиями, определенными Американской коллекцией типовых культур (ATCC), Национальным институтом рака (NCI) или Немецкой коллекцией микроорганизмов и клеточных культур GmbH, Брауншвайг, Германия (DMSZ). Линию клеток L540cy получили от Университета Техаса. Линии клеток L428, DEL и KMH2 были получены от DSMZ, а линия клеток Karpas была получена от Sigma Aldrich посредством Европейской коллекции аутентифицированных клеточных культур. Линии клеток Karpas BVR и DEL BVR получали in vitro путем воздействия брентуксимаб ведотина (https://cancerres.aacrjournals.org/content/74/19_Supplement/688).

Пример 35A.

In Vitro исследование цитотоксичности

[01077] Линии клеток ALCL и HL (DEL, DELBVR8F9, Karpas, KMH2, L428 И L540cy) высевали в 150 мкл полной среды для роста в 96-луночные планшеты для тканевого культивирования в прозрачным дном и черными стенками (Corning). Планшеты с клетками помещали в условия 37 °C и 5% CO_2 на ночь для уравновешивания клеток. ADC размораживали и готовили 4x 8-точечные серийные разведения в RPMI-1640 +10% фетальной бычьей сыворотки (ФБС). Затем в каждую лунку планшета добавляли по

пятьдесят мкл каждого разведения в трех повторах. Обработанные клетки инкубировали при 37 °C и 5% CO_2 в течение 96 часов. Жизнеспособность клеток анализировали, используя реагент CellTiter-Glo® (PROMEGA). Исходные данные анализировали в Graphpad Prism (San Diego, CA), используя модель с аппроксимацией нелинейной 4-параметрической кривой [Y=Bottom + (Top-Bottom)/(1+10^((LogEC50-X)*HillSlope))].

In Vitro цитотоксический потенциал cAC10 vcMMAE и dLAE ADCs является сходным.

[01078] Было продемонстрировано, что цитотоксическая активность химерного антитела к CD30 cAC10 (также называемого в данном документе брентуксимабом), конъюгированного с vcMMAE (в среднем 4 лекарственных препарата на антитело) (cAC10-1006) или dLAE-MMAE (cAC10-7092), зависит от экспрессии CD30 in vitro. Значительную гибель клеток наблюдали в CD30-экспрессирующих линиях клеток, обработанных cAC10-1006 и cAC10-7092 (Фиг. 39A-E). Кроме того, ненацеленное антитело (h00), конъюгированное с vcMMAE или dLAE-MMAE, оказывало минимальный эффект на жизнеспособность этих клеток (Фиг. 39A-E). И наконец, жизнеспособность линии клеток без экспрессии CD30, DELBVR, обработанных vAC10-1006 или cAC10-7092, была сравнимой с клетками, обработанными ненацеленными ADC (Фиг. 39F). в качестве положительного контроля клетки обрабатывали свободным MMAE (SGN-1010), демонстрируя, что все линии клеток чувствительны к высвобождаемому лекарственному препарату. Вместе, как показано на Фиг. 39, эти данные свидетельствуют о том, что cAC10-dLAE имеет сходное CD30-специфическое действие на линии раковых клеток с брентуксимаб ведотином (cAC10-1006), что позволяет предположить, что они могут иметь сходную эффективность у пациентов.

Пример 35B.

In vitro анализ CFU-GM костного мозга человека

[01079] Образец мононуклеарных клеток костного мозга человека получили от ReachBio LLC и поддерживали в метилцеллюлозной среде, содержащей rhIL-3 (10 нг/мл), rhSCF (50 нг/мл) и rhGM-CSF (10 нг/мл). Мононуклеарные клетки костного мозга человека смешивали с ADC и непосредственно добавляли в метилцеллюлозную среду, содержащую rhIL-3, rhSCF и rhGM-CSF. ADC исследовали в трех повторах при 100, 30, 10, 3, 1, 0,1, 0,01 и 0,001 мкг/мл. После инкубации при 37 °C, 5% CO2 в течение 14-16 дней определяли число колоний на каждом планшете и использовали для определения значений IC_{50}.

Действие cAC10 ADC на CFU-GM костного мозга человека

[01080] На Фиг. 40 показана in vitro цитотоксичность химерного анти-CD30 антитела cAC10, конъюгированного с vcMMAE (cAC10-1006) или dLAE-MMAE (cAC10-7092) на миелоидных клетках-предшественниках костного мозга человека. Снижение цитотоксичности и 7,5-кратное повышение значения IC_{50} наблюдали для cAC10-7092 по сравнению с cAC10-1006 (таблица 8-1). Ненацеленное антитело, конъюгированное с dLAE-MMAE (h00-7092), также демонстрировало сниженную цитотоксичность а

миелоидных клетках-предшественниках по сравнению с ненацеленным vcMMAE ADC (h00-1006), как показано на Фиг. 40. Это позволяет предположить, что нагрузка dLAE-MMAE может приводить к снижению токсичности для костного мозга по сравнению с брентуксимаб ведотином (cAC10-1006).

Таблица 8-1: Действие cAC10-ADC на мононуклеарные клетки костного мозга человека

ИССЛЕДУЕМЫЙ ПРЕПАРАТ	IC_{50} (МКГ/МЛ)
H00-7092(4)	**11,5**
CAC10-7092(4)	**9,17**
H00-1006(4)	**2,18**
CAC10-1006(4)	**1,21**

Пример 35C.

Отличительные признаки в анализе иммуногенной гибели клеток

[01081] Для экспериментов с исследованием иммуногенной гибели клеток высвобождение HMGB1 и ATP из клеток MIA-PaCa2, обработанных исследуемыми препаратами, измеряли через 24 часа воздействия ADC. В этом анализе клетки MIA-PaCa2 выращивали приблизительно до 50% конфлюэнтности в 12-луночных планшетах для тканевого культивирования, а затем обрабатывали 1 мкг/мл исследуемого препарата. Через 24 часа собирали супернатант и разделяли для анализа ATP и HMGB1. Высвобождение ATP измеряли в полученном супернатанте, используя реагент CellTiter-Glo от Promega. Высвобождение HMGB1 измеряли в полученном супернатанте, используя экспресс-ELISA HMGB1 от TECAN в соответствии с инструкциями производителя.

Индукция иммуногенной гибели клеток (ИГК) cAC10-7092

[01082] Поскольку клетки MIA-PaCa2 не экспрессируют CD30, мы использовали антитело, нацеленное на экспрессируемый поверхностный рецептор (Receptor-1 Ab), конъюгированное с vcMMAE (Receptor1-1006) или dLAE-MMAE (Receptor1-7092), с в среднем 4 лекарственными препаратами на Ab для каждого конъюгата. Высвобождение ATP и HMGB1, 2 DAMP, связанных с иммуногенной гибелью клеток, измеряли в клетках MIA-PaCa2, которые в течение 24 ч обрабатывали Receptor1-1006, Receptor1-7092 или ненацеленным антителом, конъюгированным с 1006. Receptor1-7092 повышал высвобождение ATP приблизительно в 4 раза относительно фона (Фиг. 41A) и высвобождение HMGB1 приблизительно в 2 раза относительно фона (Фиг. 41B). Вместе эти данные показывают, что обе нагрузки, vcMMAE и dLAE-MMAE, индуцируют иммуногенную гибель клеток и могут приводить к повышению противоопухолевых иммунных ответов у пациентов.

Пример 35D.

In Vivo исследование противоопухолевой активности

[01083] Противоопухолевую активность оценивали в полученных из клеточных линий ксенотрансплантатов, при этом 5×10^6 клеток подкожно вводили в правый бок самок

мышей SCID (CB17SC sp/sp) (Taconic) в случае исследований L540cy и Karpas:Karpas BVR и самок мышей NSG (NOD scid gamma) (JAX) в случае исследований L428 и KMH2. Мышей случайным образом делили на группы исследования (N=от 5 до 8) и вводили исследуемый препарат путем внутрибрюшинной инъекции после того, как опухоли достигали приблизительно 100 мм^3. Животных умерщвляли, когда объем опухолей достигал 750-1000 мм^3. Объем опухолей рассчитывали по формуле (объем=½ x длина x ширина x ширина). Мышей, демонстрировавших стойкую регрессию, умерщвляли приблизительно в день 40-65 после имплантации. Во всех ксенотрансплантатных исследованиях у мышей, обработанных любым из исследуемых препаратов, не наблюдали потери массы или связанной с лечением токсичности. Все процедуры с животными проводили согласно протоколу, одобренному Институциональным комитетом по использованию и уходу за животными, в помещении, аккредитованном Ассоциацией по оценке и аккредитации условий содержания лабораторных животных.

In vivo противораковая активность cAC10 ADC

[01084] Была продемонстрирована противоопухолевая активность химерного антитела к CD30 cAC10 (также называемого в данном документе брентуксимабом), конъюгированного с vcMMAE (в среднем 4 лекарственных препарата на антитело) (cAC10-1006) или dLAE-MMAE (cAC10-7092) in vivo (Фиг. 42 и 43). Как показано на Фиг. 42, наблюдали значительное замедление роста опухолей или регрессию опухолей для cAC10-7092 и cAC10-1006 по сравнению с необработанными мышами. Эти данные показывают, что cAC10-7092 является эффективным в животных моделях лимфомы с эффективностью, аналогичной брентуксимаб ведотину (cAC10-1006)

Пример 35E.

In vivo исследование органной токсичности у крыс

[01085] В исследовании с совпадающей дозой крысам линии Спрег - Доули проводили одну внутривенную инъекцию контрольного носителя (солевой раствор) или 10 мг/кг исследуемого ADC. Через четыре дня после введения было проведено полное вскрытие и основные органы были зафиксированы в формалине, залиты в парафине, нарезаны на стеклянные слайды, окрашены и исследованы микроскопически профессионально сертифицированным ветеринарным патологом. Тяжесть микроскопических результатов оценивали, используя следующую шкалу: (0)=отсутствие эффекта, (1)=минимальный, (2)=слабый, (3)=умеренный, (4)=сильный. Чтобы оценить каждый ADC при МПД крысам линии Спрег - Доули проводили одну внутривенную инъекцию контрольного носителя (солевой раствор), 15 мг/кг h00-1006 или 30 мг/кг h00-7092. Через четыре дня после введения было проведено полное вскрытие, а получение образцов органов и их исследование проводили, как описано выше.

Сравнительная оценка органной токсичности трипептидных ADC in vivo у крыс.

[01086] Поскольку нацеленное на CD30 антитело cAC10 перекрестно не реагирует с CD30 крыс, использовали несвязывающее контрольное (h00) антитело в качестве

разумного суррогата для оценки нецелевой токсичности у крыс. Исследования проводили для сравнения токсичности ненацеленных ADC, конъюгированных с vcMMAE (h00-1006) или dLAE-MMAE (h00-7092), при совпадающей дозе 10 мг/кг или при максимально переносимой дозе каждого 15 мг/кг или 30 мг/кг, соответственно. Органы с индуцированными исследуемыми препаратами изменениями (т. е. отличиями от контрольного носителя) показаны в таблице 8-2 (токсичность у крыс при совпадающей дозе). Тяжесть и частота индуцированных исследуемыми препаратами изменений были существенно снижены после введения 10 мг/кг h00-7092 по сравнению с 10 мг/кг h00-1006. Кроме того, сравнивали дозолимитирующую токсичность h00-1006 и h00-7092 путем введения каждого ADC в его максимально переносимой дозе (МПД, определяемая как наибольшая доза, которую можно вводить, не приводя к гибели). Органы с индуцированными исследуемыми препаратами изменениями (т. е. отличиями от контрольного носителя) показаны в таблице 8-3 (токсичность у крыс при МПД). Целевые органы, тяжесть и частота индуцированных исследуемыми препаратами изменений были аналогичными после введения 30 мг/кг h00-7092 по сравнению с 15 мг/кг h00-1006, демонстрируя, что одна доза h00-7092 переносилась как две дозы h00-1006.

Таблица 8-2: **Гистопатология ненацеленных ADC после введения при 10 мг/кг**

Лечение:	h00-1006(4)			h00-7092(4)		
Доза:	10 мг/кг			10 мг/кг		
День исследования	5			5		
ID крысы:	A	B	C	D	E	F
КОСТНЫЙ МОЗГ	4	3	4	0	0	0
ГЛАЗ, РОГОВИЦА	1	1	1	1	0	0
ПЕЧЕНЬ	2	2	1	0	0	0
ТОНКАЯ КИШКА	1	1	1	0	0	1
ТИМУС	0	1	0	0	0	0

Таблица 8-3: Гистопатология ненацеленных ADC после введения при максимально переносимой дозе

Лечение:	h00-1006(4)			h00-7092(4)		
Доза:	15 мг/кг			30 мг/кг		
День исследования:	5			5		
ID крысы:	G	H	I	J	K	L
КОСТНЫЙ МОЗГ	4	4	4	4	4	4
ГЛАЗ, РОГОВИЦА	1	1	1	2	1	2
ПЕЧЕНЬ	2	2	1	2	2	2
ТОНКАЯ КИШКА	1	1	1	1	1	1
ТИМУС	3	2	3	1	3	3

Пример 35F.

In vitro анализ ретракции нейритов

[01087] Для in vitro анализа ретракции нейритов 20000-25000 первичных нейронов человека (ScienCell Research, № 1520) высевали в лунки 96-луночного планшета в среду для нейронов человека (ScienCell Research, № 1521) и оставляли для роста на 4 дня. После того, как культура нейритов установилась, добавляли исследуемые препараты в чистой среде или 100% сыворотке (ATB biologics S11550H). Затем нейрональные культуры визуализировали в течение 72 часов и измеряли ретракцию как уменьшение длины нейрита по сравнению с необработанными контролями. Клетки фиксировали в 1% параформальдегиде, промывали в ФСБ с 0,025% Тритон-X, затем окрашивали в отношении β—тубулина.

Ретракция нейритов была снижена для dLAE-MMAE по сравнению с vcMMAE

[01088] Культуры нейритов, обработанные ненацеленным антителом, конъюгированным с dLAE-MMAE (h00-7092), характеризовались сниженной ретракцией по сравнению с тем же антителом, конъюгированным с vcMMAE (h00-1006) (Фиг. 44A-C). Добавление 50% сыворотки, что, как считается, повышает поглощение ADC, приводило к повышению ретракции для h00-1006 (Фиг. 44D). В отличие от этого, активность h00-7092 остается неизменной при включении сыворотки в аналитическую среду (Фиг. 44D). Эти данные показывают, что cAC10-7092 имеет сниженную токсичность в отношении первичных нейритов, и позволяют предположить, что cAC10-7092 может с меньшей вероятностью индуцировать периферическую нейропатию у пациентов по сравнению с брентуксимаб ведотином (cAC10-1006).

In vivo исследования переносимости и органной токсичности у отличных от человека приматов

[01089] Проводили исследование, чтобы оценить токсичность cAC10-7092(4) при повторных дозах в 10 мг/кг каждые 3 недели для 2 доз у яванских макаков. Животным

вводили дозы в дни исследования 1 и 22. Обезьянам вводили контрольный носитель (20 мМ глутаминовой кислоты, pH 4,5) или ADC и умерщвляли через 1 неделю после второй дозы. Было проведено полное вскрытие и основные органы были зафиксированы в формалине, залиты в парафине, нарезаны на стеклянные слайды, окрашены и исследованы микроскопически профессионально сертифицированным ветеринарным патологом. Тяжесть микроскопических результатов оценивали, используя следующую шкалу: (-)=отсутствие эффекта, (1)=минимальный, (2)=слабый, (3)=умеренный, (4)=сильный. Проводили второе исследование, чтобы оценить влияние на нейтрофилы у животных, получающих одну дозу исследуемого препарата.

Пример 35G.

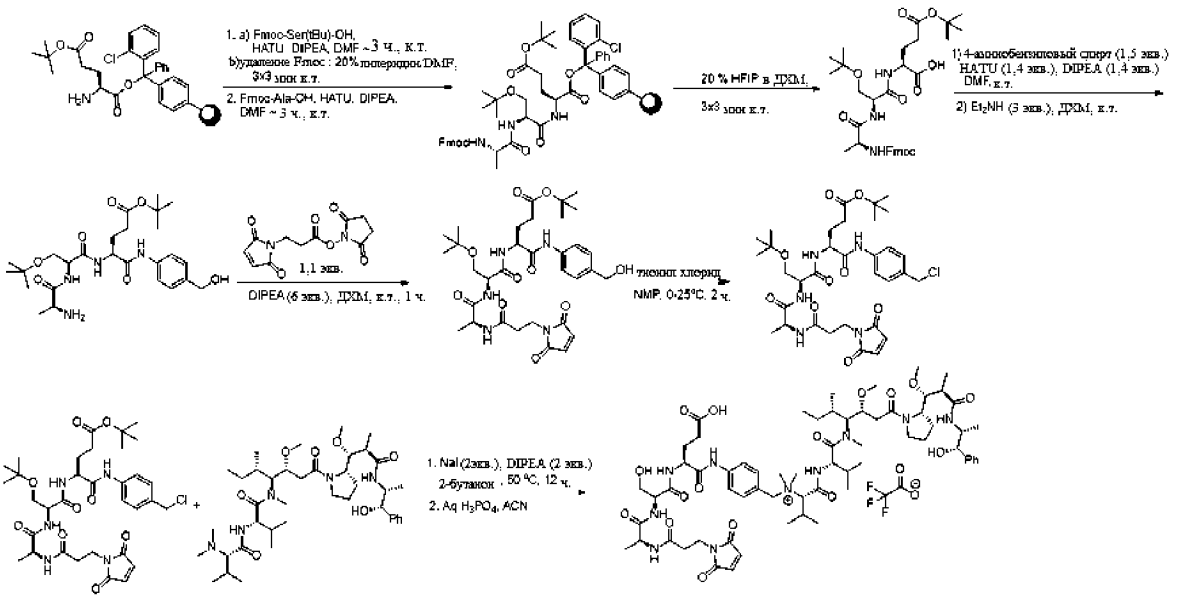
Оценка cAC10-7092 ADC in vivo переносимости и органной токсичности у отличных от человека приматов

[01090] Проводили исследование, чтобы оценить токсичность cAC10-7092 при нагрузке в среднем 4 лекарственных препарата на антитело.Яванским макакам вводили 2 дозы по 10 мг/кг каждые 3 недели в дни 1 и 22 и умерщвляли в день 29, связанными с исследуемым препаратом анатомические патологические результаты имели умеренно сниженное количество зрелых миелоидных клеток в костном мозге, минимально или умеренно сниженное количество лимфоцитов в лимфоидных органах (лимфатических узлах, селезенке и вилочковой железе) и минимально или умеренно сниженное количество фолликулов в яичниках или их отсутствие. Таким образом, 2 дозы в 10 мг/кг cAC10-7092(4), вводимые каждые три недели (q3wx2), хорошо переносились со слабыми или умеренными гематологическими результатами.

[01091] В предыдущих исследованиях наибольшая неопасная токсическая доза (HNSTD) cAC10-1006 для яванских макаков составляла 3 мг/кг при введении каждые 3 недели, при этом наибольшие дозы (6 мг/кг) приводили к непереносимой нейтропении.В отличие от этого, наибольшая исследованная доза в 10 мг/кг q3wx2 для cAC10-7092 переносилась хорошо со слабой или умеренной нейтропенией. Это позволяет предположить, что лечение cAC10-7092 может приводить к меньшей нейтропении по сравнению с брентуксимаб ведотином (cAC10-1006) и, следовательно, лучше переноситься.

Пример 36: Четвертичные соли: mp-трипептид-AE и mc-VC-AE

[01092] Общая процедура синтеза линкеров на основе четвертичных солей аммония соединений 73-77 соответствует схеме ниже:



[01093] Для синтеза использовали коммерчески приобретенную смолу H-Glu(OtBu)-2-ClTrt с нагрузкой 0,76 ммоль/г. Смолу (1068 мг, 0,81 ммоль) набирали в фриттованный шприц и наполняли сухим ДМФ. В флакон добавляли HATU (3 экв.), Fmoc-Ser(tBu)-OH (3 экв.) и ДМФ, а потом ДИПЭА (6 экв.). Раствор перемешивали на вортексе в течение 1 мин и добавляли к смоле в шприце. Шприц встряхивали на вортексе. Реакцию мониторили путем отбора аликвоты смолы и расщепления 5% ТФУ в ДХМ. Образец анализировали посредством ЖХ-МС. После завершения смолу промывали ДМФ и удаляли Fmoc (3×3 мин) с помощью 20% пиперидина в ДМФ, а затем промывали 6 Х ДМФ. На этом этапе половину смолы (0,4 ммоль) переносили далее. Для добавления следующей аминокислоты в флакон добавляли HATU (3 экв.), Fmoc-Ala-OH (3 экв.) и ДМФ, а потом ДИПЭА (6 экв.). Раствор перемешивали на вортексе в течение 1 мин и добавляли к смоле в шприце. Шприц встряхивали на вортексе. Реакцию мониторили путем отбора аликвоты смолы и расщепления 5% ТФУ в ДХМ. Образец анализировали посредством ЖХ-МС. После завершения смолу промывали ДМФ и ДХМ. Продукт расщепляли, используя 20% HFIP в ДХМ, три раза в течение 30 мин. После каждого 30-минутного цикла расщепленный материал добавляли в холодный эфир. Этот материал переносили далее без дополнительной очистки.

[01094] (5S,8S,11S)-11-(3-(трет-бутокси)-3-оксопропил)-8-(трет-бутоксиметил)-1-(9H-флуорен-9-ил)-5-метил-3,6,9-триоксо-2-окса-4,7,10-триазадодекан-12-евую кислоту (0,4 ммоль, неочищенная), (4-аминофенил)метанол (1,5 экв.) и HATU (1,4 экв.) добавляли в 20 мл флакон, оснащенный магнитной мешалкой. В сосуд добавляли диметилформамид (ДМФ) (1,3 мл) и перемешивали до растворения твердых веществ. В реакционную смесь одной частью добавляли ДИПЭА (3 экв.). Реакционную смесь перемешивали при кт в течение двух часов. После завершения каплями добавляли воду (6 мл) в течение 30 минут. Суспензию перемешивали еще в течение 1 ч при кт. Суспензию фильтровали и промывали водой с получением твердого вещества. Твердое вещество перерастворяли в ДХМ (5 мл) и

добавляли в раствор диэтиламин (124 мкл, 3 экв.) и перемешивали при кт. После завершения реакции по данным ЖХ-МС реакционную смесь концентрировали на испарителе. Неочищенный материал растворяли в минимальном количестве ДМСО, а затем очищали посредством обращенно-фазовой препаративной ЖХ на Teledyne ISCO ACCQPrep HP150, оснащенной C12 Phenomenex SynergiTM 4 мкм Max-RP 80 Å, ЖХ-колонкой 21 мм x250 мм, с элюированием 0,1% трифторуксусной кислотой в воде (растворитель A) и 0,1% трифторуксусной кислотой в ацетонитриле (растворитель B). трет-бутил (S)-4-((S)-2-((S)-2-аминопропанамидо)-3-(трет-бутокси)пропанамидо)-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноат выделяли в виде твердого вещества (51,6 мг), аналитическая УВЭЖХ-МС: m/z (ЭР+) рассчитанная 523,31 [M+1]+; найденная=523,6, 467,5 (группа -tBu), 411,4 (группы -2tBu).

[01095] N-сукцинимидил 3-малеимидопропионат (26,4 мг, 0,1 ммоль) разводили в ДМФ (0,3 мл) и добавляли в флакон, содержащий трет-бутил (S)-4-((S)-2-((S)-2-аминопропанамидо)-3-(трет-бутокси)пропанамидо)-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноат (52 мг, 0,1 ммоль). Добавляли N, N-диизопропилэтиамин (173,3 мкл, 0,99 ммоль) и перемешивали реакционную смесь в атмосфере аргона в течение 1 часа. Реакционную смесь разводили в ДМСО и очищали посредством препаративной ЖХ с получением трет-бутил (S)-4-((S)-3-(трет-бутокси)-2-((S)-2-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)пропанамидо)-5-((4-(гидроксиметил)фенил)амино)-5-оксопентаноата/mp-Ala-Ser(tBu)-Glu(OtBu)-PAB-OH (31,6 мг, 47%). Аналитическая УВЭЖХ-МС: m/z (ЭР+) рассчитанная 674,34 [M+1]+; найденная 674,6.

[01096] Раствор mp-Ala-Ser(tBu)-Glu(OtBu)-PAB-OH (31 мг, 0,046 ммоль) в N-метил-2-пирролидоне (NMP, 0,33 мл) охлаждали до 0 °C. Каплями добавляли раствор $SOCl_2$ (6,9 мкл, 0,09 ммоль) в NMP (10 мл). Смесь перемешивали при 20 °C в течение 2 ч. Смесь вливали в ледяную воду и экстрагировали ДХМ. Объединенный слой ДХМ сушили над сульфатом натрия, фильтровали и концентрировали. трет-бутил (S)-4-((S)-3-(трет-бутокси)-2-((S)-2-(3-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)пропанамидо)пропанамидо)пропанамидо)-5-((4-(хлорметил)фенил)амино)-5-оксопентаноат/mp-Ala-Ser(tBu)-Glu(OtBu)-paba-Cl получали в виде твердого вещества (19,8 мг, выход 62%). Аналитическая УВЭЖХ-МС: m/z (ЭР+) рассчитанная 692,31 [M+1]+; найденная 692,8.

[01097] Ауристатин E (12,4 мг, 0,017 ммоль) растворяли в 2-бутаноне (0,6 мл) и добавляли в флакон mp-Ala-Ser(tBu)-Glu(OtBu)-paba-Cl (17,5 мг, 0,025 ммоль), йодид натрия (5 мг, 0,034 ммоль) и ДИПЭА (6 мкл, 0,034 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при 50°C в течение ночи. После реакции в течение ночи реакционный флакон концентрировали на испарителе, а неочищенный материал переносили далее на следующий этап.

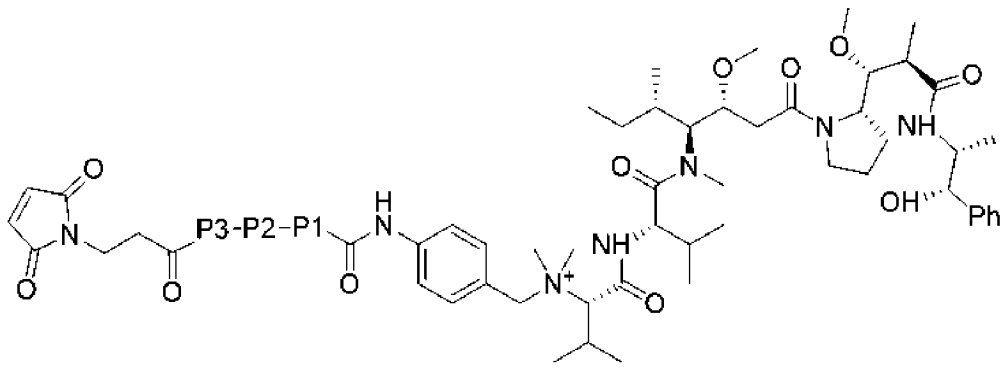
[01098] В неочищенный материал добавляли 1:1 смесь водной фосфорной кислоты и ацетонитрила. Снятие защиты трет-бутильной группы было очень медленным.

Реакционную смесь мониторили посредством ЖХ-МС. После завершения реакционную смесь разводили ацетонитрилом и очищали посредством обращенно-фазовой препаративной ЖХ на Teledyne ISCO ACCQPrep HP150, оснащенной C12 Phenomenex SynergiTM 4 мкм Max-RP 80 Å, ЖХ-колонкой 250 мм подходящего диаметра, с элюированием 0,1% трифторуксусной кислотой в воде (растворитель A) и 0,1% трифторуксусной кислотой в ацетонитриле (растворитель B). Продукт получали в виде белого твердого вещества (10 мг, 42,5% выход). Аналитическая УВЭЖХ-МС: m/z (ЭР+) рассчитанная 1276,5 [M]+; найденная 1276,54.

Таблица 9. УВЭЖХ-МС данные для выбранных соединений лекарственный препарат-линкер на основе MMAE с четвертичными солями

№ соединения	Трипептид* Последовательность	Молекулярная Формула	МС рассч. (M)+	МС найденная	Время удержания (мин)	Метод
73	Ser-Ser-Pro	$C_{65}H_{99}N_{10}O_{15}$	1260,5	1260,4	1,50	E
74	D-Leu-Ala-Glu	$C_{68}H_{104}N_9O_{16}$	1303,6	1303,5	1,70	E
75	Ala-Ser-Glu	$C_{65}H_{99}N_{10}O_{16}$	1276,5	1276,54	1,43	E
76	Ala-Ser-Pro	$C_{65}H_{99}N_{10}O_{14}$	1244,5	1244,38	1,53	E
77	Val-Cit	$C_{68}H_{108}N_{11}O_{13}$	1287,7	1287,3	1,71	E

Соединения 73-76:



Соединение 77:

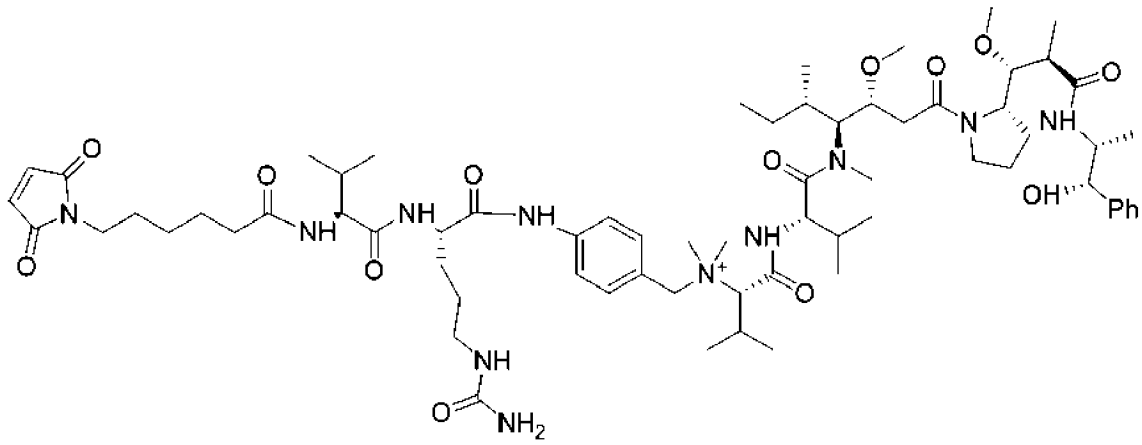


Таблица последовательностей

SEQ ID NO	Описание	Последовательность
1	cAC10 CDR-H1	DYYIT
2	cAC10 CDR-H2	WIYPGSGNTKYNEKFKG
3	cAC10 CDR-H3	YGNYWFAY
4	cAC10 CDR-L1	KASQSVDFDGDSYMN
5	cAC10 CDR-L2	AASNLES
6	cAC10 CDR-L3	QQSNEDPWT
7	cAC10 VH	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVK QKPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY NEKFKGKATLTVDTSSSTAFMQLSSLTSEDTAVYFCAN YGNYWFAYWGQGTQVTVSA
8	cAC10 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDFDGDSYMN WYQQKPGQPPKVLIYAASNLES GIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDP WTFGGGTKLEIK
9	cAC10 HC	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVK QKPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY NEKFKGKATLTVDTSSSTAFMQLSSLTSEDTAVYFCAN YGNYWFAYWGQGTQVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN

		WYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
10	cAC10 HC v2	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVK QKPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY NEKFKGKATLTVDTSSSTAFMQLSSLTSEDTAVYFCAN YGNYWFAYWGQGTQVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
11	cAC10 LC	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDFDGDSYMN WYQQKPGQPPKVLIYAASNLES GIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDP WTFGGGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
12	h1F6 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNW VRQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTY ADAFKGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RDYGDYGMDYWGQGTTVTVSS
13	h1F6 VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSVSTSGYSFMH WYQQKPGQPPKLLIYLASNLES

		GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSREV PWTFGQGTKVEIK
14	h1F6 HC	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNW VRQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTY ADAFKGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCA RDYGDYGMDYWGQGTTVTVSSAS TKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPS VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNST YRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIS KAKGQPREPQVYTLPPSRDELT KNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPV LDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQ GNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
15	h1F6 LC	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSVSTSGYSFMH WYQQKPGQPPKLLIYLASNLES GVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQHSREV PWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLS STLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
16	TROP2 CDR-H1	NYGMN
17	TROP2 CDR-H2	WINTYTGEPTYTDDFKG
18	TROP2 CDR-H3	GGFGSSYWYFDV
19	TROP2 CDR-L1	KASQDVSIAVA
20	TROP2 CDR-L2	SASYRYT
21	TROP2 CDR-L3	QQHYITPLT
22	TROP2 VH	QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNW VKQAPGQGLKWMGWINTYTGEPT YTDDFKGRFAFSLDTSVSTAYLQISSLKADDTAVYFCA RGGFGSSYWYFDVWGQGSLVTVSS

23	TROP2 VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVSITCKASQDVSIAVAWYQQ KPGKAPKLLIYSASYRYTGVP DRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQHYITPLTF GAGTKVEIK
24	TROP2 CDR-H1	TAGMQ
25	TROP2 CDR-H2	WINTHSGVPKYAEDFKG
26	TROP2 CDR-H3	SGFGSSYWYFDV
27	TROP2 CDR-L1	KASQDVSTAVA
28	TROP2 CDR-L2	SASYRYT
29	TROP2 CDR-L3	QQHYITPLT
30	TROP2 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTTAGMQW VRQAPGQGLEWMGWINTHSGVPKYAEDFKGRVTISAD TSTSTAYLQLSSLKSEDTAVYYCARSGFGSSYWYFDV WGQGTLVTVSS
31	TROP2 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVSTAVAWYQQ KPGKAPKLLIYSASYRYTGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFAVYYCQQHYITPLTFGQGTKLEIK
32	MICA CDR-H1	SQNIY
33	MICA CDR-H2	YIEPYNVVPMYNPKFKG
34	MICA CDR-H3	SGSSNFDY
35	MICA CDR-L1	SASSSISSHYLH
36	MICA CDR-L2	RTSNLAS
37	MICA CDR-L3	QQGSSLPLT
38	MICA VH	EIQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYAFTSQNIYWV RQAPGQGLEWIGYIEPYNVVPMYNPKFKGRATLTVDK STSTAYLELSSLRSEDTAVYYCARSGSSNFDYWGQGTL VTVSS
39	MICA VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSASSSISSHYLHWYQQ KPGKSPKLLIYRTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCQQGSSLPLTFGQGTKVEIK
40	MICA CDR-H1	NYAMH
41	MICA CDR-H2	LIWYDGSNKFYGDSVKG
42	MICA CDR-H3	EGSGHY
43	MICA CDR-L1	RASQGISSALA

44	MICA CDR-L2	DASSLES
45	MICA CDR-L3	QQFNSYPIT
46	MICA VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSNYAMHWV RQAPGEGLEWVALIWYDGSNKFYGDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLSAEDTAVYYCAREGSGHYWGQGTL VTVSS
47	MICA VL	AIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISSALAWYQQK PGKVPKSLIYDASSLESGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQFNSYPITFGQGTRLEIK
48	MICA CDR-H1	NYAMS
49	MICA CDR-H2	YISPGGDYIYYADSVKG
50	MICA CDR-H3	DRRHYGSYAMDY
51	MICA CDR-L1	RSSKSLLHSNLNTYLY
52	MICA CDR-L2	RMSNLAS
53	MICA CDR-L3	MQHLEYPFT
54	MICA VH	QVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWIR QAPGKGLEWVSYISPGGDYIYYADSVKGRFTISRDNAK NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCTTDRRHYGSYAMDYWG QGTLVTVSS
55	MICA VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNLNTYLY WFLQKPGQSPQILIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTAFTL KISRVEAEDVGVYYCMQHLEYPFTFGPGTKLEIK
56	MICA CDR-H1	TYAFH
57	MICA CDR-H2	GIVPIFGTLKYAQKFQD
58	MICA CDR-H3	AIQLEGRPFDH
59	MICA CDR-L1	RASQGITSYLA
60	MICA CDR-L2	AASALQS
61	MICA CDR-L3	QQVNRGAAIT
62	MICA VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSCRASGGSSTTYAFHWV RQAPGQGLEWMGGIVPIFGTLKYAQKFQDRVTLTADK STGTAYMELNSLRLDDTAVYYCARAIQLEGRPFDHWG QGTQVTVSA
63	MICA VL	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGITSYLAWYQQK PGKAPKLLIYAASALQSGVPSRFSGRGSGTEFTLTISSLQ

		PEDFATYYCQQVNRGAAITFGHGTRLDIK
64	CD24 CDR-H1	TYAFH
65	CD24 CDR-H2	GIVPIFGTLKYAQKFQD
66	CD24 CDR-H3	AIQLEGRPFDH
67	CD24 CDR-L1	RASQGITSYLA
68	CD24 CDR-L2	AASALQS
69	CD24 CDR-L3	QQVNRGAAIT
70	CD24 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVRVSCRASGGSSTTYAFHWV RQAPGQGLEWMGGIVPIFGTLKYAQKFQDRVTLTADK STGTAYMELNSLRLDDTAVYYCARAIQLEGRPFDHWG QGTQVTVSA
71	CD24 VL	DIQLTQSPSFLSASVGDRVTITCRASQGITSYLAWYQQK PGKAPKLLIYAASALQSGVPS RFSGRGSGTEFTLTISSLQPEDFATYYCQQVNRGAAITF GHGTRLDIK
72	ITGav CDR-H1	RYTMH
73	ITGav CDR-H2	VISFDGSNKYYVDSVKG
74	ITGav CDR-H3	EARGSYAFDI
75	ITGav CDR-L1	RASQSVSSYLA
76	ITGav CDR-L2	DASNRAT
77	ITGav CDR-L3	QQRSNWPPFT
78	ITGav VH	QVQLVESGGGVVQPGRSRRLSCAASGFTFSRYTMHWV RQAPGKGLEWVAVISFDGSNKYYVDSVKGRFTISRDNS ENTLYLQVNILRAEDTAVYYCAREARGSYAFDIWGQG TMVTVSS
79	ITGav VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLE PEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIK
80	ITGav CDR-H1	SFWMH
81	ITGav CDR-H2	YINPRSGYTEYNEIFRD
82	ITGav CDR-H3	FLGRGAMDY
83	ITGav CDR-L1	RASQDISNYLA
84	ITGav CDR-L2	YTSKIHS
85	ITGav CDR-L3	QQGNTFPYT

86	ITGav VH	QVQLQQSGGELAKPGASVKVSCKASGYTFSSFWMHW VRQAPGQGLEWIGYINPRSGYTEYNEIFRDKATMTTDT STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCASFLGRGAMDYWGQG TTVTVSS
87	ITGav VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDISNYLAWYQQ KPGKAPKLLIYYTSKIHSGVPSRFSGSGSGTDYTFTISSL QPEDIATYYCQQGNTFPYTFGQGTKVEIK
88	gpA33 CDR-H1	TSSYYWG
89	gpA33 CDR-H2	TIYYNGSTYYSPSLKS
90	gpA33 CDR-H3	QGYDIKINIDV
91	gpA33 CDR-L1	RASQSVSSYLA
92	gpA33 CDR-L2	VASNRAT
93	gpA33 CDR-L3	QQRSNWPLT
94	gpA33 VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSISTSSYYWGWI RQPPGKGLEWIGTIYYNGSTYYSPSLKSRVSISVDTSKN QFSLKLSSVTAADTSVYYCARQGYDIKINIDVWGQGTT VTVSS
95	gpA33 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYVASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLE PEDFAVYYCQQRSNWPLTFGGGTKVEIK
96	IL1Rap CDR-H1	SSWMN
97	IL1Rap CDR-H2	RIYPGDGNTHYAQKFQG
98	IL1Rap CDR-H3	GYLDPMDY
99	IL1Rap CDR-L1	QASQGINNYLN
100	IL1Rap CDR-L2	YTSGLHA
101	IL1Rap CDR-L3	QQYSILPWT
102	IL1Rap VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYAFTSSWMNW VRQAPGQGLEWMGRIYPGDGNTHYAQKFQGRVTLTA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCGEGYLDPMDYWG QGTLVTVSS
103	IL1Rap VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCQASQGINNYLNWYQQ KPGKAPKLLIHYTSGLHAGVPSRFSGSGSGTDYTLTISS LEPEDVATYYCQQYSILPWTFGGGTKVEIK
104	EpCAM CDR-H1	SYGMH

105	EpCAM CDR-H2	VISYDGSNKYYADSVKG
106	EpCAM CDR-H3	DMG
107	EpCAM CDR-L1	RTSQSISSYLN
108	EpCAM CDR-L2	WASTRES
109	EpCAM CDR-L3	QQSYDIPYT
110	EpCAM VH	EVQLLESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWV RQAPGKGLEWVAVISYDGSNKYYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKDMGWGSGWRPY YYYGMDVWGQGTTVTVSS
111	EpCAM VL	ELQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRTSQSISSYLNWYQQK PGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDSATYYCQQSYDIPYTFGQGTKLEIK
112	EpCAM CDR-H1	NYWMS
113	EpCAM CDR-H2	NIKQDGSEKFYADSVKG
114	EpCAM CDR-H3	VGPSWEQDY
115	EpCAM CDR-L1	TGSSSNIGSYYGVH
116	EpCAM CDR-L2	SDTNRPS
117	EpCAM CDR-L3	QSYDKGFGHRV
118	EpCAM VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYWMSWV RQAPGKGLEWVANIKQDGSEKFYADSVKGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVGPSWEQDYWGQ GTLVTVSA
119	EpCAM VL	QSVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGSYYGVHWY QQLPGTAPKLLIYSDTNRPSGVPDRFSGSKSGTSASLAIT GLQAEDEADYYCQSYD
120	EpCAM CDR-H1	SYAIS
121	EpCAM CDR-H2	GIIPIFGTANYAQKFQG
122	EpCAM CDR-H3	GLLWNY
123	EpCAM CDR-L1	RASQSVSSNLA
124	EpCAM CDR-L2	GASTTAS
125	EpCAM CDR-L3	QQYNNWPPAYT
126	EpCAM VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADES TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGLLWNYWGQGTLV

		TVSS
127	EpCAM VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQ KPGQAPRLIIYGASTTASGIPARFSASGSGTDFTLTISSLQ SEDFAVYYCQQYNNWPPAYTFGQGTKLEIK
128	EpCAM CDR-H1	NYGMN
129	EpCAM CDR-H2	WINTYTGEPTYGEDFKG
130	EpCAM CDR-H3	FGNYVDY
131	EpCAM CDR-L1	RSSKNLLHSNGITYLY
132	EpCAM CDR-L2	QMSNLAS
133	EpCAM CDR-L3	AQNLEIPRT
134	EpCAM VH	QVQLVQSGPEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNW VRQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTYGEDFKGRFAFSLD TSASTAYMELSSLRSEDTAVYFCARFGNYVDYWGQGS LVTVSS
135	EpCAM VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKNLLHSNGITYLY WYLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSSSGSGTDFT LKISRVEAEDVGVYYCAQNLEIPRTFGQGTKVEIK
136	EpCAM CDR-H1	KYGMN
137	EpCAM CDR-H2	WINTYTEEPTYGDDFKG
138	EpCAM CDR-H3	FGSAVDY
139	EpCAM CDR-L1	RSSKSLLHSNGITYLY
140	EpCAM CDR-L2	QMSNRAS
141	EpCAM CDR-L3	AQNLELPRT
142	EpCAM VH	QIQLVQSGPEVKKPGESVKISCKASGYTFTKYGMNWV KQAPGQGLKWMGWINTYTEEPTYGDDFKGRFTFTLDT STSTAYLEISSLRSEDTATYFCARFGSAVDYWGQGTLV TVSS
143	EpCAM VL	DIVMTQSALSNPVTLGESGSISCRSSKSLLHSNGITYLY WYLQKPGQSPQLLIYQMSNRASGVPDRFSSSGSGTDFT LKISRVEAEDVGVYYCAQNLELPRTFGQGTKLEMKR
144	EpCAM CDR-H1	DYSMH
145	EpCAM CDR-H2	WINTETGEPTYADDFKG
146	EpCAM CDR-H3	TAVY
147	EpCAM CDR-L1	RASQEISVSLS

148	EpCAM CDR-L2	ATSTLDS
149	EpCAM CDR-L3	LQYASYPWT
150	EpCAM VH	QVKLQESGPELKKPGETVKISCKASGYTFTDYSMHWV KQAPGKGLKWMGWINTETGEPTYADDFKGRFAFSLET SASTAYLQINNLKNEDTATYFCARTAVYWGQGTTVTV SS
151	EpCAM VL	DIQMTQSPSSLSASLGERVSLTCRASQEISVSLSWLQQE PDGTIKRLIYATSTLDSGVPKRFSGSRSGSDYSLTISSLES EDFVDYYCLQYASYPWTFGGGTKLEIKR
152	CD352 CDR-H1	NYGMN
153	CD352 CDR-H2	WINTYSGEPRYADDFKG
154	CD352 CDR-H3	DYGRWYFDV
155	CD352 CDR-L1	RASSSVSHMH
156	CD352 CDR-L2	ATSNLAS
157	CD352 CDR-L3	QQWSSTPRT
158	CD352 VH	QIQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWV RQAPGQDLKWMGWINTYSGEPRYADDFKGRFVFSLD KSVNTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYGRWYFDVWG QGTTVTVSS
159	CD352 VL	QIVLSQSPATLSLSPGERATMSCRASSSVSHMHWYQQK PGQAPRPWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTDYTLTISSL EPEDFAVYYCQQWSSTPRTFGGGTKVEIKR
160	CS1 CDR-H1	RYWMS
161	CS1 CDR-H2	EINPDSSTINYAPSLKD
162	CS1 CDR-H3	PDGNYWYFDV
163	CS1 CDR-L1	KASQDVGIAVA
164	CS1 CDR-L2	WASTRHT
165	CS1 CDR-L3	QQYSSYPYT
166	CS1 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSRYWMSWV RQAPGKGLEWIGEINPDSSTINYAPSLKDKFIISRDNAK NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARPDGNYWYFDVWGQ GTLVTVSS
167	CS1 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGIAVAWYQQ KPGKVPKLLIYWASTRHTGVPDRFSGSGSGTDFTLTISS

		LQPEDVATYYCQQYSSYPYTFGQGTKVEIKR
168	CD38 CDR-H1	SFAMS
169	CD38 CDR-H2	AISGSGGGTYYADSVKG
170	CD38 CDR-H3	DKILWFGEPVFDY
171	CD38 CDR-L1	RASQSVSSYLA
172	CD38 CDR-L2	DASNRAT
173	CD38 CDR-L3	QQRSNWPPT
174	CD38 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGFTFNSFAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGGGTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYFCAKDKILWFGEPVFDYWG QGTLVTVSS
175	CD38 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLE PEDFAVYYCQQRSNWPPTFGQGTKVEIKR
176	CD25 CDR-H1	SYRMH
177	CD25 CDR-H2	YINPSTGYTEYNQKFKD
178	CD25 CDR-H3	GGGVFDY
179	CD25 CDR-L1	SASSSISYMH
180	CD25 CDR-L2	TTSNLAS
181	CD25 CDR-L3	HQRSTYPLT
182	CD25 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTSYRMHW VRQAPGQGLEWIGYINPSTGYTEYNQKFKDKATITADE STNTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGGGVFDYWGQGTL VTVSS
183	CD25 VL	DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCSASSSISYMHWYQQKP GKAPKLLIYTTSNLASGVPARFSGSGSGTEFTLTISSLQP DDFATYYCHQRSTYPLTFGQGTKVEVK
184	ADAM9 CDR-H1	SYWM
185	ADAM9 CDR-H2	EIIPINGHTNYNEKFKS
186	ADAM9 CDR-H3	GGYYYYGSRDYFDY
187	ADAM9 CDR-L1	KASQSVDYDGDSYMN
188	ADAM9 CDR-L2	AASDLES
189	ADAM9 CDR-L3	QQSHEDPFT

190	ADAM9 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMHW VKQRPGQGLEWIGEIIPINGHTNYNEKFKSKATLTLDKS SSTAYMQLSSLASEDSAVYYCARGGYYYYGSRDYFDY WGQGTTLTVSS
191	ADAM9 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDYDGDSYMN WYQQIPGQPPKLLIYAASDLESGIPARFSGSGSGTDFTL NIHPVEEEDAATYYCQQSHEDPFTFGGGTKLEIK
192	ADAM9 CDR-H1	SYWM
193	ADAM9 CDR-H2	EIIPIFGHTNYNEKFKS
194	ADAM9 CDR-H3	GGYYYYPRQGFLDY
195	ADAM9 CDR-L1	KASQSVDYDSGDSYMN
196	ADAM9 CDR-L2	AASDLES
197	ADAM9 CDR-L3	QQSHEDPFT
198	ADAM9 VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYWMHWV RQAPGKGLEWVGEIIPIFGHTNYNEKFKSRFTISLDNSK NTLYLQMGSLRAEDTAVYYCARGGYYYYPRQGFLDY WGQGTTVTVSS
199	ADAM9 VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATISCKASQSVDYSGDSYMN WYQQKPGQPPKLLIYAASDLESGIPARFSGSGSGTDFTL TISSLEPEDFATYYCQQSHEDPFTFGQGTKLEIK
200	CD59 CDR-H1	YGMN
201	CD59 CDR-H2	YISSSSSTIYADSVKG
202	CD59 CDR-H3	GPGMDV
203	CD59 CDR-L1	KSSQSVLYSSNNKNYLA
204	CD59 CDR-L2	WASTRES
205	CD59 CDR-L3	QQYYSTPQLT
206	CD59 VH	QVQLQQSGGGVVQPGRSLGLSCAASFTFSSYGMNWVR QAPGKGLEWVSYISSSSSTIYADSVKGRFTISRDNSKNT LYLQMNSLRAEDTAVYYCARGPGMDVWGQGTTVTVS
207	CD59 VL	DIVLTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLYSSNNKNYL AWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TPAISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPQLTFGGGTKVDIK
208	CD19 CDR-H1	TSGMGVG
209	CD19 CDR-H2	HIWWDDDKRYNPALKS

210	CD19 CDR-H3	MELWSYYFDY
211	CD19 CDR-L1	SASSSVSYMH
212	CD19 CDR-L2	DTSKLAS
213	CD19 CDR-L3	FQGSVYPFT
214	CD19 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISTSGMGVGW IRQHPGKGLEWIGHIWWDDDKRYNPALKSRVTISVDTS KNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARMELWSYYFDYWGQ GTLVTVSS
215	CD19 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKP GQAPRLLIYDTSKLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DVAVYYCFQGSVYPFTFGQGTKLEIKR
216	CD70 CDR-H1	NYGMN
217	CD70 CDR-H2	WINTYTGEPTYADAFKG
218	CD70 CDR-H3	DYGDYGMDY
219	CD70 CDR-L1	RASKSVSTSGYSFMH
220	CD70 CDR-L2	LASNLES
221	CD70 CDR-L3	QHSREVPWT
222	CD70 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNW VRQAPGQGLKWMGWINTYTGEPTYADAFKGRVTMTR DTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYCARDYGDYGMDYW GQGTTVTVSS
223	CD70 VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCRASKSVSTSGYSFMH WYQQKPGQPPKLLIYLASNLESGVPDRFSGSGSGTDFT LTISSLQAEDVAVYYCQHSREVPWTFGQGTKVEIK
224	B7H4 CDR-H1	SGYSWH
225	B7H4 CDR-H2	YIHSSGSTNYNPSLKS
226	B7H4 CDR-H3	YDDYFEY
227	B7H4 CDR-L1	KASQNVGFNVA
228	B7H4 CDR-L2	SASYRYS
229	B7H4 CDR-L3	QQYNWYPFT
230	B7H4 VH	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWI RQFPGNGLEWMGYIHSSGSTNYNPSLKSRISISRDTSKN QFFLKLSSVTAADTAVYYCAGYDDYFEYWGQGTTVT VSS

231	B7H4 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGFNVAWYQ QKPGKSPKALIYSASYRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFAEYFCQQYNWYPFTFGQGTKLEIK
232	CD138 CDR-H1	NYWIE
233	CD138 CDR-H2	EILPGTGRTIYNEKFKG
234	CD138 CDR-H3	RDYYGNFYYAMDY
235	CD138 CDR-L1	SASQGINNYLN
236	CD138 CDR-L2	YTSTLQS
237	CD138 CDR-L3	QQYSKLPRT
238	CD138 VH	QVQLQQSGSELMMPGASVKISCKATGYTFSNYWIEWV KQRPGHGLEWIGEILPGTGRTIY NEKFKGKATFTADISSNTVQMQLSSLTSEDSAVYYCAR RDYYGNFYYAMDYWGQGTSVTVSS
239	CD138 VL	DIQMTQSTSSLSASLGDRVTISCSASQGINNYLNWYQQ KPDGTVELLIYYTSTLQSGVP SRFSGSGSGTDYSLTISNLEPEDIGTYYCQQYSKLPRTFG GGTKLEIK
240	CD166 CDR-H1	TYGMGVG
241	CD166 CDR-H2	NIWWSEDKHYSPSLKS
242	CD166 CDR-H3	IDYGNDYAFTY
243	CD166 CDR-L1	RSSKSLLHSNGITYLY
244	CD166 CDR-L2	QMSNLAS
245	CD166 CDR-L3	AQNLELPYT
246	CD166 VH	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTYGMGVGWI RQPPGKALEWLANIWWSEDKHYSPSLKSRLTITKDTSK NQVVLTITNVDPVDTATYYCVQIDYGNDYAFTYWGQG TLVTVSS
247	CD166 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYLYW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCAQNLELPYTFGQGTKLEIK
248	CD51 CDR-H1	RYTMH
249	CD51 CDR-H2	VISFDGSNKYYVDSVKG
250	CD51 CDR-H3	EARGSYAFDI
251	CD51 CDR-L1	RASQSVSSYLA

252	CD51 CDR-L2	DASNRAT
253	CD51 CDR-L3	QQRSNWPPFT
254	CD51 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSRRLSCAASGFTFSRYTMHWV RQAPGKGLEWVAVISFDGSNKYYVDSVKGRFTISRDNS ENTLYLQVNILRAEDTAVYYCAREARGSYAFDIWGQG TMVTVSS
255	CD51 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLE PEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIK
256	CD56 CDR-H1	SFGMH
257	CD56 CDR-H2	YISSGSFTIYYADSVKG
258	CD56 CDR-H3	MRKGYAMDY
259	CD56 CDR-L1	RSSQIIIHSDGNTYLE
260	CD56 CDR-L2	KVSNRFS
261	CD56 CDR-L3	FQGSHVPHT
262	CD56 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSFGMHWV RQAPGKGLEWVAYISSGSFTIYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARMRKGYAMDYWGQG TLVTVSS
263	CD56 VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQIIIHSDGNTYLEW FQQRPGQSPRRLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTLK ISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPHTFGQGTKVEIK
264	CD74 CDR-H1	NYGVN
265	CD74 CDR-H2	WINPNTGEPTFDDDFKG
266	CD74 CDR-H3	SRGKNEAWFAY
267	CD74 CDR-L1	RSSQSLVHRNGNTYLH
268	CD74 CDR-L2	TVSNRFS
269	CD74 CDR-L3	SQSSHVPPT
270	CD74 VH	QVQLQQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGVNWI KQAPGQGLQWMGWINPNTGEPTFDDDFKGRFAFSLDT SVSTAYLQISSLKADDTAVYFCSRSRGKNEAWFAYWG QGTLVTVSS
271	CD74 VL	DIQLTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLVHRNGNTYLH WFQQRPGQSPRLLIYTVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTL

		KISRVEAEDVGVYFCSQSSHVPPTFGAGTRLEIK
272	CEACAM5 CDR-H1	TYWMS
273	CEACAM5 CDR-H2	EIHPDSSTINYAPSLKD
274	CEACAM5 CDR-H3	LYFGFPWFAY
275	CEACAM5 CDR-L1	KASQDVGTSVA
276	CEACAM5 CDR-L2	WTSTRHT
277	CEACAM5 CDR-L3	QQYSLYRS
278	CEACAM5 VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFDFTTYWMSWV RQAPGKGLEWIGEIHPDSSTINYAPSLKDRFTISRDNAK NTLFLQMDSLRPEDTGVYFCASLYFGFPWFAYWGQGT PVTVSS
279	CEACAM5 VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDVGTSVAWYQQ KPGKAPKLLIYWTSTRHTGVPSRFSGSGSGTDFTFTISSL QPEDIATYYCQQYSLYRSFGQGTKVEIK
280	CanAg CDR-H1	YYGMN
281	CanAg CDR-H2	WIDTTTGEPTYAQKFQG
282	CanAg CDR-H3	RGPYNWYFDV
283	CanAg CDR-L1	RSSKSLLHSNGNTYLY
284	CanAg CDR-L2	RMSNLVS
285	CanAg CDR-L3	LQHLEYPFT
286	CanAg VH	QVQLVQSGAEVKKPGETVKISCKASDYTFTYYGMNW VKQAPGQGLKWMGWIDTTTGEPTYAQKFQGRIAFSLE TSASTAYLQIKSLKSEDTATYFCARRGPYNWYFDVWG QGTTVTVSS
287	CanAg VL	DIVMTQSPLSVPVTPGEPVSISCRSSKSLLHSNGNTYLY WFLQRPGQSPQLLIYRMSNLVSGVPDRFSGSGSGTAFT LRISRVEAEDVGVYYCLQHLEYPFTFGPGTKLELK
288	DLL-3 CDR-H1	NYGMN

289	DLL-3 CDR-H2	WINTYTGEPTYADDFKG
290	DLL-3 CDR-H3	IGDSSPSDY
291	DLL-3 CDR-L1	KASQSVSNDVV
292	DLL-3 CDR-L2	YASNRYT
293	DLL-3 CDR-L3	QQDYTSPWT
294	DLL-3 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNW VRQAPGQGLEWMGWINTYTGEPTY ADDFKGRVTMTTDTSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCA RIGDSSPSDYWGQGTLVTVSS
295	DLL-3 VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCKASQSVSNDVVWYQQ KPGQAPRLLIYYASNRYTGIPA RFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQDYTSPWTFG QGTKLEIK
296	DPEP-3 CDR-H1	SYWIE
297	DPEP-3 CDR-H2	EILPGSGNTYYNERFKD
298	DPEP-3 CDR-H3	RAAAYYSNPEWFAY
299	DPEP-3 CDR-L1	TASSSVNSFYLH
300	DPEP-3 CDR-L2	STSNLAS
301	DPEP-3 CDR-L3	HQYHRSPYT
302	DPEP-3 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYWIEWV RQAPGQGLEWMGEILPGSGNTYYNERFKDRVTITADES TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARRAAAYYSNPEWFAY WGQGTLVTVSS
303	DPEP-3 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCTASSSVNSFYLHWYQQ KPGLAPRLLIYSTSNLASGIPDRFSGSGSGTDFTLTISRLE PEDFAVYYCHQYHRSPYTFGQGTKLEIK
304	EGFR CDR-H1	SYWMQ
305	EGFR CDR-H2	TIYPGDGDTTYTQKFQG
306	EGFR CDR-H3	YDAPGYAMDY
307	EGFR CDR-L1	RASQDINNYLA
308	EGFR CDR-L2	YTSTLHP
309	EGFR CDR-L3	LQYDNLLYT
310	EGFR VH	QVQLVQSGAEVAKPGASVKLSCKASGYTFTSYWMQW VKQRPGQGLECIGTIYPGDGDTTYTQKFQGKATLTADK

		SSSTAYMQLSSLRSEDSAVYYCARYDAPGYAMDYWG QGTLVTVSS
311	EGFR VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDINNYLAWYQH KPGKGPKLLIHYTSTLHPGIPSRFSGSGSGRDYSFSISSLE PEDIATYYCLQYDNLLYTFGQGTKLEIK
312	EGFR CDR-H1	RDFAWN
313	EGFR CDR-H2	YISYNGNTRYQPSLKS
314	EGFR CDR-H3	ASRGFPY
315	EGFR CDR-L1	HSSQDINSNIG
316	EGFR CDR-L2	HGTNLDD
317	EGFR CDR-L3	VQYAQFPWT
318	EGFR VH	EVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSISRDFAWNWI RQPPGKGLEWMGYISYNGNTRYQPSLKSRITISRDTSK NQFFLKLNSVTAADTATYYCVTASRGFPYWGQGTLVT VSS
319	EGFR VL	DIQMTQSPSSMSVSVGDRVTITCHSSQDINSNIGWLQQK PGKSFKGLIYHGTNLDDGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCVQYAQFPWTFGGGTKLEIK
320	EGFR CDR-H1	RDFAWN
321	EGFR CDR-H2	YISYNGNTRYQPSLKS
322	EGFR CDR-H3	ASRGFPY
323	EGFR CDR-L1	HSSQDINSNIG
324	EGFR CDR-L2	HGTNLDD
325	EGFR CDR-L3	VQYAQFPWT
326	EGFR VH	EVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSISRDFAWNWI RQPPGKGLEWMGYISYNGNTRYQPSLKSRITISRDTSK NQFFLKLNSVTAADTATYYCVTASRGFPYWGQGTLVT VSS
327	EGFR VL	DIQMTQSPSSMSVSVGDRVTITCHSSQDINSNIGWLQQK PGKSFKGLIYHGTNLDDGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYYCVQYAQFPWTFGGGTKLEIK
328	EGFR CDR-H1	NYGVH
329	EGFR CDR-H2	VIWSGGNTDYNTPFTS
330	EGFR CDR-H3	ALTYYDYEFAY

331	EGFR CDR-L1	RASQSIGTNIH
332	EGFR CDR-L2	YASESIS
333	EGFR CDR-L3	QQNNNWPTT
334	EGFR VH	QVQLKQSGPGLVQPSQSLSITCTVSGFSLTNYGVHWVR QSPGKGLEWLGVIWSGGNTDYNTPFTSRLSINKDNSKS QVFFKMNSLQSNDTAIYYCARALTYYDYEFAYWGQGT LVTVSA
335	EGFR VL	DILLTQSPVILSVSPGERVSFSCRASQSIGTNIHWYQQRT NGSPRLLIKYASESISGIPSRFSGSGSGTDFTLSINSVESE DIADYYCQQNNNWPTTFGAGTKLELK
336	FRa CDR-H1	GYFMN
337	FRa CDR-H2	RIHPYDGDTFYNQKFQG
338	FRa CDR-H3	YDGSRAMDY
339	FRa CDR-L1	KASQSVSFAGTSLMH
340	FRa CDR-L2	RASNLEA
341	FRa CDR-L3	QQSREYPYT
342	FRa VH	QVQLVQSGAEVVKPGASVKISCKASGYTFTGYFMNWV KQSPGQSLEWIGRIHPYDGDTFY NQKFQGKATLTVDKSSNTAHMELLSLTSEDFAVYYCT RYDGSRAMDYWGQGTTVTVSS
343	FRa VL	DIVLTQSPLSLAVSLGQPAIISCKASQSVSFAGTSLMHW YHQKPGQQPRLLIYRASNLEAGVPDRFSGSGSKTDFTL TISPVEAEDAATYYCQQSREYPYTFGGGTKLEIK
344	FRa CDR-H1	GYGLS
345	FRa CDR-H2	MISSGGSYTYYADSVKG
346	FRa CDR-H3	HGDDPAWFAY
347	FRa CDR-L1	SVSSSISSNNLH
348	FRa CDR-L2	GTSNLAS
349	FRa CDR-L3	QQWSSYPYMYT
350	FRa VH	EVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCSASGFTFSGYGLSWVR QAPGKGLEWVAMISSGGSYTYY ADSVKGRFAISRDNAKNTLFLQMDSLRPEDTGVYFCAR HGDDPAWFAYWGQGTPVTVSS
351	FRa VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSISSNNLHWYQQ

		KPGKAPKPWIYGTSNLASGVPSRFSGSGSGTDYTFTISS LQPEDIATYYCQQWSSYPYMYTFGQGTKVEIK
352	MUC-1 CDR-H1	NYWMN
353	MUC-1 CDR-H2	EIRLKSNNYTTHYAESVKG
354	MUC-1 CDR-H3	HYYFDY
355	MUC-1 CDR-L1	RSSKSLLHSNGITYFF
356	MUC-1 CDR-L2	QMSNLAS
357	MUC-1 CDR-L3	AQNLELPPT
358	MUC-1 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSMRLSCVASGFPFSNYWMNW VRQAPGKGLEWVGEIRLKSNNYTTHYAESVKGRFTISR DDSKNSLYLQMNSLKTEDTAVYYCTRHYYFDYWGQG TLVTVSS
359	MUC-1 VL	DIVMTQSPLSNPVTPGEPASISCRSSKSLLHSNGITYFFW YLQKPGQSPQLLIYQMSNLASGVPDRFSGSGSGTDFTL RISRVEAEDVGVYYCAQNLELPPTFGQGTKVEIK
360	Mesothelin CDR-H1	SYWIG
361	Mesothelin CDR-H2	IIDPGDSRTRYSPSFQG
362	Mesothelin CDR-H3	GQLYGGTYMDG
363	Mesothelin CDR-L1	TGTSSDIGGYNSVS
364	Mesothelin CDR-L2	GVNNRPS
365	Mesothelin CDR-L3	SSYDIESATPV
366	Mesothelin VH	QVELVQSGAEVKKPGESLKISCKGSGYSFTSYWIGWVR QAPGKGLEWMGIIDPGDSRTRYSPSFQGQVTISADKSIS TAYLQWSSLKASDTAMYYCARGQLYGGTYMDGWGQ GTLVTVSS
367	Mesothelin VL	DIALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDIGGYNSVSWYQQ HPGKAPKLMIYGVNNRPSGV SNRFSGSKSGNTASLTISGLQAEDEADYYCSSYDIESAT

		PVFGGGTKLTVL
368	ROR-1 CDR-H1	AYNIH
369	ROR-1 CDR-H2	SFDPYDGGSSYNQKFKD
370	ROR-1 CDR-H3	GWYYFDY
371	ROR-1 CDR-L1	RASKSISKYLA
372	ROR-1 CDR-L2	SGSTLQS
373	ROR-1 CDR-L3	QQHDESPYT
374	ROR-1 VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYAFTAYNIHWVR QAPGQGLEWMGSFDPYDGGSSYNQKFKDRLTISKDTS KNQVVLTMTNMDPVDTATYYCARGWYYFDYWGHGT LVTVSS
375	ROR-1 VL	DIVMTQTPLSLPVTPGEPASISCRASKSISKYLAWYQQK PGQAPRLLIYSGSTLQSGIPPRFSGSGYGTDFTLTINNIES EDAAYYFCQQHDESPYTFGEGTKVEIK
376	B7H4 CDR-H1	GSIKSGSYYWG
377	B7H4 CDR-H2	NIYYSGSTYYNPSLRS
378	B7H4 CDR-H3	AREGSYPNQFDP
379	B7H4 CDR-L1	RASQSVSSNLA
380	B7H4 CDR-L2	GASTRAT
381	B7H4 CDR-L3	QQYHSFPFT
382	B7H4 VH	QLQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGGSIKSGSYYWGW IRQPPGKGLEWIGNIYYSGSTY YNPSLRSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCA REGSYPNQFDPWGQGTLVTVSS
383	B7H4 VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSSNLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASTRATGIPA RFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYHSFPFTFG GGTKVEIK
384	B7-H3 CDR-H1	SFGMH
385	B7-H3 CDR-H2	YISSDSSAIYY
386	B7-H3 CDR-H3	GRENIYYGSRLD
387	B7-H3 CDR-L1	KASQNVD
388	B7-H3 CDR-L2	SASYRYSGVPD
389	B7-H3 CDR-L3	QQYNNYPFTFGS

390	B7-H3 VH	DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSSFGMHWV RQAPEKGLEWVAYISSDSSAIYY ADTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCGR GRENIYYGSRLDYWGQGTTLTVSS
391	B7-H3 VL	DIAMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVDTNVAWY QQKPGQSPKALIYSASYRYSGVPD RFTGSGSGTDFTLTINNVQSEDLAEYFCQQYNNYPFTF GSGTKLEIK
392	B7-H3 CDR-H1	SYWMQWVRQA
393	B7-H3 CDR-H2	TIYPGDGDTRY
394	B7-H3 CDR-H3	RGIPRLWYFDVM
395	B7-H3 CDR-L1	ITCRASQDIS
396	B7-H3 CDR-L2	YTSRLHSGVPS
397	B7-H3 CDR-L3	QQGNTLPPFTGG
398	B7-H3 VH	DVQLVESGGGLVQPGGSRKLSCAASGFTFSSFGMHWV RQAPEKGLEWVAYISSDSSAIYY ADTVKGRFTISRDNPKNTLFLQMTSLRSEDTAMYYCGR GRENIYYGSRLDYWGQGTTLTVSS
399	B7-H3 VL	DIAMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCKASQNVDTNVAWY QQKPGQSPKALIYSASYRYSGVPD RFTGSGSGTDFTLTINNVQSEDLAEYFCQQYNNYPFTF GSGTKLEIK
400	B7-H3 CDR-H1	SYGMSWVRQA
401	B7-H3 CDR-H2	INSGGSNTYY
402	B7-H3 CDR-H3	HDGGAMDYW
403	B7-H3 CDR-L1	ITCRASESIYSYLA
404	B7-H3 CDR-L2	NTKTLPE
405	B7-H3 CDR-L3	HHYGTPPWTFG
406	B7-H3 VH	EVQLVESGGGLVKPGGSLRLSCAASGFTFSSYGMSWV RQAPGKGLEWVATINSGGSNTYY PDSLKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RHDGGAMDYWGQGTTVTVSS
407	B7-H3 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESIYSYLAWYQQK PGKAPKLLVYNTKTLPEGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL

		QPEDFATYYCQHHYGTPPWTFGQGTRLEIK
408	B7-H3 CDR-H1	SFGMHWVRQA
409	B7-H3 CDR-H2	ISSGSGTIYYADTVKGRFTI
410	B7-H3 CDR-H3	HGYRYEGFDYWG
411	B7-H3 CDR-L1	ITCKASQNVDTNVA
412	B7-H3 CDR-L2	SASYRYSGVPS
413	B7-H3 CDR-L3	QQYNNYPFTFGQ
414	B7-H3 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSFGMHWV RQAPGKGLEWVAYISSGSGTIY YADTVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARHGYRYEGFDYWGQGTTVTVSS
415	B7-H3 VL	DIQMTQSPSFLSASVGDRVTITCKASQNVDTNVAWYQ QKPGKAPKALIYSASYRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFAEYFCQQYNNYPFTFGQGTKLEIK
416	B7-H3 CDR-H1	NYVMH
417	B7-H3 CDR-H2	YINPYNDDVKYNEKFKG
418	B7-H3 CDR-H3	WGYYGSPLYYFDY
419	B7-H3 CDR-L1	RASSRLIYMH
420	B7-H3 CDR-L2	ATSNLAS
421	B7-H3 CDR-L3	QQWNSNPPT
422	B7-H3 VH	EVQLQQSGPELVKPGASVKMSCKASGYTFTNYVMHW VKQKPGQGLEWIGYINPYNDDVKYNEKFKGKATQTSD KSSSTAYMELSSLTSEDSAVYYCARWGYYGSPLYYFD YWGQGTTLTVSS
423	B7-H3 VL	QIVLSQSPTILSASPGEKVTMTCRASSRLIYMHWYQQKP GSSPKPWIYATSNLASGVPAR FSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWNSNPPTFG TGTKLELK
424	B7-H3 CDR-H1	NYVMH
425	B7-H3 CDR-H2	YINPYNDDVKYNEKFKG
426	B7-H3 CDR-H3	WGYYGSPLYYFDY
427	B7-H3 CDR-L1	RASSRLIYMH
428	B7-H3 CDR-L2	ATSNLAS
429	B7-H3 CDR-L3	QQWNSNPPT

430	B7-H3 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTNYVMHW VRQAPGQGLEWMGYINPYNDDVKYNE KFKGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARWG YYGSPLYYFDYWGQGTLVTVSS
431	B7-H3 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASSRLIYMHWYQQKP GQAPRPLIYATSNLASGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPE DFAVYYCQQWNSNPPTFGQGTKVEIK
432	B7-H3 CDR-H1	GYSFTSYTIH
433	B7-H3 CDR-H2	YINPNSRNTDYAQKFQG
434	B7-H3 CDR-H3	YSGSTPYWYFDV
435	B7-H3 CDR-L1	RASSSVSYMN
436	B7-H3 CDR-L2	ATSNLAS
437	B7-H3 CDR-L3	QQWSSNPLT
438	B7-H3 VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYSFTSYTIHWVR QAPGQGLEWMGYINPNSRNTDYAQKFQGRVTLTADKS TSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARYSGSTPYWYFDVWG QGTTVTVSS
439	B7-H3 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGFNVAWYQ QKPGKSPKALIYSASYRYSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISS LQPEDFAEYFCQQYNWYPFTFGQGTKLEIK
440	B7-H3 CDR-H1	GYTFSSYWMH
441	B7-H3 CDR-H2	LIHPDSGSTNYNEMFKN
442	B7-H3 CDR-H3	GGRLYFD
443	B7-H3 CDR-L1	RSSQSLVHSNGDTYLR
444	B7-H3 CDR-L2	KVSNRFS
445	B7-H3 CDR-L3	SQSTHVPYT
446	B7-H3 VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWMHW VRQAPGQGLEWIGLIHPDSGSTNYNEMFKNRATLTVD RSTSTAYVELSSLRSEDTAVYFCAGGGRLYFDYWGQG TTVTVSS
447	B7-H3 VL	DVVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNGDTYLR WYLQKPGQSPQLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPYTFGGGTKVEIK
448	B7-H3 CDR-H1	GYTFSSYWMH

449	B7-H3 CDR-H2	LIHPESGSTNYNEMFKN
450	B7-H3 CDR-H3	GGRLYFDY
451	B7-H3 CDR-L1	RSSQSLVHSNQDTYLR
452	B7-H3 CDR-L2	KVSNRFS
453	B7-H3 CDR-L3	SQSTHVPYT
454	B7-H3 VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFSSYWMHW VRQAPGQGLEWIGLIHPESGSTNY NEMFKNRATLTVDRSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA GGGRLYFDYWGQGTTVTVSS
455	B7-H3 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLVHSNQDTYLR WYLQKPGQSPQLLIYKVSNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKKISRVEAEDVGVYYCSQST HVPYTFGGGTKVEIK
456	B7-H3 CDR-H1	TGYSITSGYSWH
457	B7-H3 CDR-H2	YIHSSGSTNYNPSLKS
458	B7-H3 CDR-H3	YDDYFEY
459	B7-H3 CDR-L1	KASQNVGFNVAW
460	B7-H3 CDR-L2	SASYRYS
461	B7-H3 CDR-L3	QQYNWYPFT
462	B7-H3 VH	EVQLQESGPGLVKPSETLSLTCAVTGYSITSGYSWHWI RQFPGNGLEWMGYIHSSGSTNY NPSLKSRISISRDTSKNQFFLKLSSVTAADTAVYYCAGY DDYFEYWGQGTTVTVSS
463	B7-H3 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGGFNVAWY QQKPGKSPKALIYSASYRYSGV PSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAEYFCQQYNWYPFT FGQGTKLEIK
464	B7-H3 CDR-H1	NYDIN
465	B7-H3 CDR-H2	WIGWIFPGDDSTQYNEKFKG
466	B7-H3 CDR-H3	QTTGTWFAY
467	B7-H3 CDR-L1	RASQSISDYLY
468	B7-H3 CDR-L2	YASQSIS
469	B7-H3 CDR-L3	CQNGHSFPL
470	B7-H3 VH	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKTSGYTFTNYDINWV

		RQRPGQGLEWIGWIFPGDDSTQY NEKFKGKATLTTDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYFCAR QTTGTWFAYWGQGTLVTVSS
471	B7-H3 VL	EIVMTQSPATLSVSPGERVTLSCRASQSISDYLYWYQQ KSHESPRLLIKYASQSISGIPA RFSGSGSGSEFTLTINSVEPEDVGVYYCQNGHSFPLTFG QGTKLELK
472	B7-H3 VH	QVQLQQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGGIIPILGIAN YAQKFQGRVTITADESTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RGGSGSYHMDVWGKGTTVTVSS
473	B7-H3 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASNRATGIP ARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPRI TFGQGTRLEIK
474	B7-H3 CDR-H1	IYNVH
475	B7-H3 CDR-H2	TIFPGNGDTSYNQKFKD
476	B7-H3 CDR-H3	WDDGNVGFAH
477	B7-H3 CDR-L1	RASENINNYLT
478	B7-H3 CDR-L2	HAKTLAE
479	B7-H3 CDR-L3	QHHYGTPPT
480	B7-H3 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTIYNVHWI KQTPGQGLEWMGTIFPGNGDTSY NQKFKDKATLTTDKSSKTAYMQLNSLTSEDSAVYYCA RWDDGNVGFAHWGQGTLVTVSA
481	B7-H3 VL	DIQMTQSPASLSASVGETVTITCRASENINNYLTWFQQK QGKSPQLLVYHAKTLAEGVPS RFSGSGSGTQFSLKINSLQPEDFGSYYCQHHYGTPPTFG GGTKLEIK
482	B7-H3 VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTIYNVHWV RQAPGQGLEWMGTIFPGNGDTS YNQKFKDKVTMTTDTSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYC ARWDDGNVGFAHWGQGTLVTVSS
483	B7-H3 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENINNYLTWFQQK

		QGKSPQLLIYHAKTLAEGVP SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYGTPPTF GGGTKVEIK
484	B7-H3 VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTIYNVHWI RQAPGQGLEWMGTIFPGNGDTSY NQKFKDRATLTTDKSTKTAYMELRSLRSDDTAVYYCA RWDDGNVGFAHWGQGTLVTVSS
485	B7-H3 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASENINNYLTWFQQK PGKAPKLLVYHAKTLAEGVPS RFSGSGSGTQFTLTISSLQPEDFATYYCQHHYGTPPTFG QGTKLEIK
486	HER3 H	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWI RQPPGKGLEWIGEINHSGSTNYN PSLKSRVTISVETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARD KWTWYFDLWGRGTLVTVSSAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEP KSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALP APIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCL VKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFL YSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSL SPGK
487	HER3 L	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNYL AWYQQNPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTDF TLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
488	HER3 H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMAWV RQAPGKGLEWVSSISSSGGWTLY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCT RGLKMATIFDYWGQGTLVTVSSA

		STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVE RKCCVECPPCPAPPVAGPSVFL FPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRV VSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
489	HER3 L	QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGSYNVVSWYQ QHPGKAPKLIIYEVSQRPSGVSNRFSGSKSGNTASLTISG LQTEDEADYYCCSYAGSSIFVIFGGGTKVTVLGQPKAA PSVTLFPPSSEELQANKATLVCLVSDFYPGAVTVAWKA DGSPVKVGVETTKPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKS HRSYSCRVTHEGSTVEKTVAPAECS
490	HER3 H	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAINSQGKSTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARWGDEGFDIWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
491	HER3 L	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGISNWLAWYQQ KPGKAPKLLIYGASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQYSSFPTTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

492	HER3 H	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFRSSYISWV RQAPGQGLEWMGWIYAGTGSPSYNQKLQGRVTMTTD TSTSTAYMELRSLRSDDTAVYYCARHRDYYSNSLTYW GQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDK THTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNS TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTV DKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
493	HER3 L	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSVLNSGNQKNY LTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYCQSDYSYPYTFGQGTKLEIKRT VAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
494	PTK7 CDR-H1	TSNMGVG
495	PTK7 CDR-H2	HIWWDDDKYYSPSLKS
496	PTK7 CDR-H3	SNYGYAWFAY
497	PTK7 CDR-L1	KASQDIYPYLN
498	PTK7 CDR-L2	RTNRLLD
499	PTK7 CDR-L3	LQYDEFPLT
500	PTK7 VH	QITLKESGPTLVKPTQTLTLTCTFSGFSLSTSNMGVGWI RQPPGKALEWLAHIWWDDDKYYSPSLKSRLTITKDTS KNQVVLTMTNMDPVDTATYYCVRSNYGYAWFAYWG QGTLVTVSS
501	PTK7 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQDIYPYLNWFQQ KPGKAPKTLIYRTNRLLDGVPS RFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCLQYDEFPLTFGA GTKLEIK
502	PTK7 CDR-H1	DYAVH
503	PTK7 CDR-H2	VISTYNDYTYNNQDFKG

504	PTK7 CDR-H3	GNSYFYALDY
505	PTK7 CDR-L1	RASESVDSYGKSFMH
506	PTK7 CDR-L2	RASNLES
507	PTK7 CDR-L3	QQSNEDPWT
508	PTK7 VH	QVQLVQSGPEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDYAVHW VRQAPGKRLEWIGVISTYNDYTY NNQDFKGRVTMTRDTSASTAYMELSRLRSEDTAVYYC ARGNSYFYALDYWGQGTSVTVSS
509	PTK7 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASESVDSYGKSFMHW YQQKPGQAPRLLIYRASNLES GIPARFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQSNEDP WTFGGGTKLEIK
510	PTK7 CDR-H1	RYWMS
511	PTK7 CDR-H2	DLNPDSSAINYVDSVKG
512	PTK7 CDR-H3	ITTLVPYTMDF
513	PTK7 CDR-L1	ITNTDIDDDMN
514	PTK7 CDR-L2	EGNGLRP
515	PTK7 CDR-L3	LQSDNLPLT
516	PTK7 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFDFSRYWMSWV RQAPGKGLEWIGDLNPDSSAINY VDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCT LITTLVPYTMDFWGQGTSVTVSS
517	PTK7 VL	ETTLTQSPAFMSATPGDKVNISCITNTDIDDDMNWYQQ KPGEAAILLISEGNGLRPGIPPRFSGSGYGTDFTLTINNIE SEDAAYYFCLQSDNLPLTFGSGTKLEIK
518	LIV1 CDR-H1	DYYMH
519	LIV1 CDR-H2	WIDPENGDTEYGPKFQG
520	LIV1 CDR-H3	HNAHYGTWFAY
521	LIV1 CDR-L1	RSSQSLLHSSGNTYLE
522	LIV1 CDR-L2	KISTRFS
523	LIV1 CDR-L3	FQGSHVPYT
524	LIV1 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGLTIEDYYMHW VRQAPGQGLEWMGWIDPENGDTEY GPKFQGRVTMTRDTSINTAYMELSRLRSDDTAVYYCA

		VHNAHYGTWFAYWGQGTLVTVSS
525	LIV1 VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGNTYLE WYQQRPGQSPRPLIYKISTRFSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPYTFGGGTKVEIK
526	avb6 CDR-H1	DYNVN
527	avb6 CDR-H2	VINPKYGTTRYNQKFKG
528	avb6 CDR-H3	GLNAWDY
529	avb6 CDR-L1	GASENIYGALN
530	avb6 CDR-L2	GATNLED
531	avb6 CDR-L3	QNVLTTPYT
532	avb6 VH	QFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYNVNW VRQAPGQGLEWIGVINPKYGTTRY NQKFKGRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCT RGLNAWDYWGQGTLVTVSS
533	avb6 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWYQQ KPGKAPKLLIYGATNLEDGVPS RFSGSGSGRDYTFTISSLQPEDIATYYCQNVLTTPYTFG QGTKLEIK
534	avb6 CDR-H1	GYFMN
535	avb6 CDR-H2	LINPYNGDSFYNQKFKG
536	avb6 CDR-H3	GLRRDFDY
537	avb6 CDR-L1	KSSQSLLDSDGKTYLN
538	avb6 CDR-L2	LVSELDS
539	avb6 CDR-L3	WQGTHFPRT
540	avb6 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSGYFMNW VRQAPGQGLEWMGLINPYNGDSFY NQKFKGRVTMTRQTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCV RGLRRDFDYWGQGTLVTVSS
541	avb6 VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLN WLFQRPGQSPRRLIYLVSELD SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCWQGTH FPRTFGGGTKLEIK
542	CD48 CDR-H1	DFGMN
543	CD48 CDR-H2	WINTFTGEPSYGNVFKG

544	CD48 CDR-H3	RHGNGNVFDS
545	CD48 CDR-L1	RASQSIGSNIH
546	CD48 CDR-L2	YTSESIS
547	CD48 CDR-L3	QQSNSWPLT
548	CD48 VH	QVQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTDFGMNW VRQAPGQGLEWMGWINTFTGEPSYGNVFKGRFVFSLD TSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCARRHGNGNVFDSWG QGTLVTVSS
549	CD48 VL	EIVLTQSPDFQSVTPKEKVTITCRASQSIGSNIHWYQQK PDQSPKLLIKYTSESISGVPSRFSGSGSGTDFTLTINSLEA EDAATYYCQQSNSWPLTFGGGTKVEIKR
550	PD-L1 CDR-H1	TAAIS
551	PD-L1 CDR-H2	GIIPIFGKAHYAQKFQG
552	PD-L1 CDR-H3	KFHFVSGSPFGMDV
553	PD-L1 CDR-L1	RASQSVSSYLA
554	PD-L1 CDR-L2	DASNRAT
555	PD-L1 CDR-L3	QQRSNWPT
556	PD-L1 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKTSGDTFSTAAISWVR QAPGQGLEWMGGIIPIFGKAHYAQKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSEDTAVYFCARKFHFVSGSPFGMDVW GQGTTVTVSS
557	PD-L1 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASNRATGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPTFGQ GTKVEIK
558	IGF-1R CDR-H1	SYAIS
559	IGF-1R CDR-H2	GIIPIFGTANYAQKFQG
560	IGF-1R CDR-H3	APLRFLEWSTQDHYYYYYMDV
561	IGF-1R CDR-L1	QGDSLRSYYAT
562	IGF-1R CDR-L2	GENKRPS
563	IGF-1R CDR-L3	KSRDGSGQHLV
564	IGF-1R VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWVR QAPGQGLEWMGGIIPIFGTANY AQKFQGRVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAR

		APLRFLEWSTQDHYYYYYMDVWGKGTTVTVSS
565	IGF-1R VL	SSELTQDPAVSVALGQTVRITCQGDSLRSYYATWYQQ KPGQAPILVIYGENKRPSGIPDR FSGSSSGNTASLTITGAQAEDEADYYCKSRDGSGQHLV FGGGTKLTVL
566	CDR-H1 клаудина-18.2	SYWIN
567	CDR-H2 клаудина-18.2	NIYPSDSYTNYNQKFKD
568	CDR-H3 клаудина-18.2	SWRGNSFDY
569	CDR-L1 клаудина-18.2	KSSQSLLNSGNQKNYLT
570	CDR-L2 клаудина-18.2	WASTRES
571	CDR-L3 клаудина-18.2	QNDYSYPFT
572	VH клаудина-18.2	QVQLQQPGAELVRPGASVKLSCKASGYTFTSYWINWV KQRPGQGLEWIGNIYPSDSYTN YNQKFKDKATLTVDKSSSTAYMQLSSPTSEDSAVYYC TRSWRGNSFDYWGQGTTLTVSS
573	VL клаудина-18.2	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNY LTWYQQKPGQPPKLLIYWASTR ESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDY SYPFTFGSGTKLEIK
574	CDR-H1 клаудина-18.2	NYGMN
575	CDR-H2 клаудина-18.2	WINTNTGEPTYAEEFKG
576	CDR-H3 клаудина-18.2	LGFGNAMDY
577	CDR-L1 клаудина-18.2	KSSQSLLNSGNQKNYLT
578	CDR-L2	WASTRES

	клаудина-18.2	
579	CDR-L3 клаудина-18.2	QNDYSYPLT
580	VH клаудина-18.2	QIQLVQSGPELKKPGETVKISCKASGYTFTNYGMNWV KQAPGKGLKWMGWINTNTGEPTY AEEFKGRFAFSLETSASTAYLQINNLKNEDTATYFCARL GFGNAMDYWGQGTSVTVSS
581	VL клаудина-18.2	DIVMTQSPSSLTVTAGEKVTMSCKSSQSLLNSGNQKNY LTWYQQKPGQPPKLLIYWASTR ESGVPDRFTGSGSGTDFTLTISSVQAEDLAVYYCQNDY SYPLTFGAGTKLELK
582	CDR-H1 нектина-4	SYNMN
583	CDR-H2 нектина-4	YISSSSSTIYYADSVKG
584	CDR-H3 нектина-4	AYYYGMDV
585	CDR-L1 нектина-4	RASQGISGWLA
586	CDR-L2 нектина-4	AASTLQS
587	CDR-L3 нектина-4	QQANSFPPT
588	VH нектина-4	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYNMNWV RQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYY ADSVKGRFTISRDNAKNSLSLQMNSLRDEDTAVYYCA RAYYYGMDVWGQGTTVTVSS
589	VL нектина-4	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISGWLAWYQQ KPGKAPKFLIYAASTLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPPTFG GGTKVEIK
590	SLTRK6 CDR-H1	SYGMH
591	SLTRK6 CDR-H2	VIWYDGSNQYYADSVKG
592	SLTRK6 CDR-H3	GLTSGRYGMDV

593	SLTRK6 CDR-L1	RSSQSLLLSHGFNYLD
594	SLTRK6 CDR-L2	LGSSRAS
595	SLTRK6 CDR-L3	MQPLQIPWT
596	SLTRK6 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWV RQAPGKGLEWVAVIWYDGSNQYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMHSLRAEDTAVYYCA RGLTSGRYGMDVWGQGTTVTVSS
597	SLTRK6 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLLSHGFNYLD WYLQKPGQSPQLLIYLGSSRASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGLYYCMQPLQIPWTFGQGTKVEIK
598	CD228 CDR-H1	SGYWN
599	CD228 CDR-H2	YISDSGITYYNPSLKS
600	CD228 CDR-H3	RTLATYYAMDY
601	CD228 CDR-L1	RASQSLVHSDGNTYLH
602	CD228 CDR-L2	RVSNRFS
603	CD228 CDR-L3	SQSTHVPPT
604	CD228 VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIR QPPGKGLEYIGYISDSGITYYN PSLKSRVTISRDTSKNQYSLKLSSVTAADTAVYYCARR TLATYYAMDYWGQGTLVTVSS
605	CD228 VL	DFVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRASQSLVHSDGNTYLH WYQQRPGQSPRLLIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPPTFGQGTKLEIKR
606	CD142 (TF) CDR-H1	NYAMS
607	CD142 (TF) CDR-H2	SISGSGDYTYYTDSVKG
608	CD142 (TF) CDR-H3	SPWGYYLDS
609	CD142 (TF) CDR-L1	RASQGISSRLA
610	CD142 (TF) CDR-L2	AASSLQS
611	CD142 (TF) CDR-	QQYNSYPYT

	L3	
612	CD142 (TF) VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWV RQAPGKGLEWVSSISGSGDYTY YTDSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARSPWGYYLDSWGQGTLVTVSS
613	CD142 (TF) VL	DIQMTQSPPSLSASAGDRVTITCRASQGISSRLAWYQQK PEKAPKSLIYAASSLQSGVPS RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQYNSYPYTFG QGTKLEIK
614	STn CDR-H1	DHAIH
615	STn CDR-H2	YFSPGNDDIKYNEKFRG
616	STn CDR-H3	SLSTPY
617	STn CDR-L1	KSSQSLLNRGNHKNYLT
618	STn CDR-L2	WASTRES
619	STn CDR-L3	QNDYTYPYT
620	STn VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHAIHWV RQAPGQGLEWMGYFSPGNDDIKY NEKFRGRVTMTADKSSSTAYMELRSLRSDDTAVYFCK RSLSTPYWGQGTLVTVSS
621	STn VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNRGNHKNY LTWYQQKPGQPPKLLIYWAST RESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQND YTYPYTFGQGTKVEIK
622	CD20 CDR-H1	SYNMH
623	CD20 CDR-H2	AIYPGNGDTSYNQKFKG
624	CD20 CDR-H3	STYYGGDWYFNV
625	CD20 CDR-L1	RASSSVSYIH
626	CD20 CDR-L2	ATSNLAS
627	CD20 CDR-L3	QQWTSNPPT
628	CD20 VH	QVQLQQPGAELVKPGASVKMSCKASGYTFTSYNMHW VKQTPGRGLEWIGAIYPGNGDTSY NQKFKGKATLTADKSSSTAYMQLSSLTSEDSAVYYCA RSTYYGGDWYFNVWGAGTTVTVSA
629	CD20 VL	QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSSVSYIHWFQQKP

		GSSPKPWIYATSNLASGVPVR FSGSGSGTSYSLTISRVEAEDAATYYCQQWTSNPPTFG GGTKLEIK
630	HER2 CDR-H1	DTYIH
631	HER2 CDR-H2	RIYPTNGYTRYADSVKG
632	HER2 CDR-H3	WGGDGFYAMDY
633	HER2 CDR-L1	RASQDVNTAVA
634	HER2 CDR-L2	SASFLYS
635	HER2 CDR-L3	QQHYTTPPT
636	HER2 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVR QAPGKGLEWVARIYPTNGYTRY ADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCS RWGGDGFYAMDYWGQGTLVTVSS
637	HER2 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQ QKPGKAPKLLIYSASFLYSGVPS RFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFG QGTKVEIK
638	CD79b CDR-H1	SYWIE
639	CD79b CDR-H2	EILPGGGDTNYNEIFKG
640	CD79b CDR-H3	RVPIRLDY
641	CD79b CDR-L1	KASQSVDYEGDSFLN
642	CD79b CDR-L2	AASNLES
643	CD79b CDR-L3	QQSNEDPLT
644	CD79b VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFSSYWIEWVR QAPGKGLEWIGEILPGGGDTNYNEIFKGRATFSADTSK NTAYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRVPIRLDYWGQGTLV TVSS
645	CD79b VL	DIQLTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQSVDYEGDSFLNW YQQKPGKAPKLLIYAASNLES GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQSNEDP LTFGQGTKVEIK
646	NaPi2B CDR-H1	DFAMS
647	NaPi2B CDR-H2	TIGRVAFHTYYPDSMKG
648	NaPi2B CDR-H3	HRGFDVGHFDF

649	NaPi2B CDR-L1	RSSETLVHSSGNTYLE
650	NaPi2B CDR-L2	RVSNRFS
651	NaPi2B CDR-L3	FQGSFNPLT
652	NaPi2B VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFSFSDFAMSWV RQAPGKGLEWVATIGRVAFHTYY PDSMKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RHRGFDVGHFDFWGQGTLVTVSS
653	NaPi2B VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRSSETLVHSSGNTYLE WYQQKPGKAPKLLIYRVSNRF SGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCFQGSFNP LTFGQGTKVEIK
654	Muc16 CDR-H1	NDYAWN
655	Muc16 CDR-H2	YISYSGYTTYNPSLKS
656	Muc16 CDR-H3	WTSGLDY
657	Muc16 CDR-L1	KASDLIHNWLA
658	Muc16 CDR-L2	GATSLET
659	Muc16 CDR-L3	QQYWTTPFT
660	Muc16 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYSITNDYAWNW VRQAPGKGLEWVGYISYSGYTTY NPSLKSRFTISRDTSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR WTSGLDYWGQGTLVTVSS
661	Muc16 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASDLIHNWLAWYQQ KPGKAPKLLIYGATSLETGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQYWTTPFTFGQGTKVEIK
662	STEAP1 CDR-H1	SDYAWN
663	STEAP1 CDR-H2	YISNSGSTSYNPSLKS
664	STEAP1 CDR-H3	ERNYDYDDYYYAMDY
665	STEAP1 CDR-L1	KSSQSLLYRSNQKNYLA
666	STEAP1 CDR-L2	WASTRES
667	STEAP1 CDR-L3	QQYYNYPRT
668	STEAP1 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGYSITSDYAWNW VRQAPGKGLEWVGYISNSGSTSYNPSLKSRFTISRDTSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARERNYDYDDYYYAM DYWGQGTLVTVSS

669	STEAP1 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKSSQSLLYRSNQKNYL AWYQQKPGKAPKLLIYWASTRESGVPSRFSGSGSGTDF TLTISSLQPEDFATYYCQQYYNYPRTFGQGTKVEIK
670	BCMA CDR-H1	NYWMH
671	BCMA CDR-H2	ATYRGHSDTYYNQKFKG
672	BCMA CDR-H3	GAIYDGYDVLDN
673	BCMA CDR-L1	SASQDISNYLN
674	BCMA CDR-L2	YTSNLHS
675	BCMA CDR-L3	QQYRKLPWT
676	BCMA VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSNYWMHW VRQAPGQGLEWMGATYRGHSDTYYNQKFKGRVTITA DKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGAIYDGYDVLD NWGQGTLVTVSS
677	BCMA VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSNLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYYCQQYRKLPWTFGQGTKLEIK
678	c-Met CDR-H1	AYTMH
679	c-Met CDR-H2	WIKPNNGLANYAQKFQG
680	c-Met CDR-H3	SEITTEFDY
681	c-Met CDR-L1	KSSESVDSYANSFLH
682	c-Met CDR-L2	RASTRES
683	c-Met CDR-L3	QQSKEDPLT
684	c-Met VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYIFTAYTMHW VRQAPGQGLEWMGWIKPNNGLAN YAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELSRLRSDDTAVYYC ARSEITTEFDYWGQGTLVTVSS
685	c-Met VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSESVDSYANSFLH WYQQKPGQPPKLLIYRASTRE SGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQSKE DPLTFGGGTKVEIK
686	EGFR CDR-H1	SDFAWN
687	EGFR CDR-H2	YISYSGNTRYQPSLKS
688	EGFR CDR-H3	AGRGFPY
689	EGFR CDR-L1	HSSQDINSNIG

690	EGFR CDR-L2	HGTNLDD
691	EGFR CDR-L3	VQYAQFPWT
692	EGFR VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGYSISSDFAWNWI RQPPGKGLEWMGYISYSGNTRY QPSLKSRITISRDTSKNQFFLKLNSVTAADTATYYCVTA GRGFPYWGQGTLVTVSS
693	EGFR VL	DIQMTQSPSSMSVSVGDRVTITCHSSQDINSNIGWLQQK PGKSFKGLIYHGTNLDDGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYYCVQYAQFPWTF GGGTKLEIK
694	SLAMF7 CDR-H1	DYYMA
695	SLAMF7 CDR-H2	SINYDGSSTYYVDSVKG
696	SLAMF7 CDR-H3	DRGYYFDY
697	SLAMF7 CDR-L1	RSSQSLVHSNGNTYLH
698	SLAMF7 CDR-L2	KVSNRFS
699	SLAMF7 CDR-L3	SQSTHVPPFT
700	SLAMF7 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSDYYMAWV RQAPGKGLEWVASINYDGSSTY YVDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARDRGYYFDYWGQGTTVTVSS
701	SLAMF7 VL	DVVMTQTPLSLSVTPGQPASISCRSSQSLVHSNGNTYLH WYLQKPGQSPQLLIYKVSNRF SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYFCSQSTHV PPFTFGGGTKVEIK
702	SLITRK6 CDR-H1	SYGMH
703	SLITRK6 CDR-H2	VIWYDGSNQYYADSVKG
704	SLITRK6 CDR-H3	GLTSGRYGMDV
705	SLITRK6 CDR-L1	RSSQSLLLSHGFNYLD
706	SLITRK6 CDR-L2	LGSSRAS
707	SLITRK6 CDR-L3	MQPLQIPWT
708	SLITRK6 VH	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFTFSSYGMHWV RQAPGKGLEWVAVIWYDGSNQYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLFLQMHSLRAEDTAVYYCA RGLTSGRYGMDVWGQGTTVTVSS

709	SLITRK6 VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLLSHGFNYLD WYLQKPGQSPQLLIYLGSSRA SGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGLYYCMQPLQI PWTFGQGTKVEIK
710	C4.4a CDR-H1	NAWMS
711	C4.4a CDR-H2	YISSSGSTIYYADSVKG
712	C4.4a CDR-H3	EGLWAFDY
713	C4.4a CDR-L1	TGSSSNIGAGYVVH
714	C4.4a CDR-L2	DNNKRPS
715	C4.4a CDR-L3	AAWDDRLNGPV
716	C4.4a VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNAWMSWV RQAPGKGLEWVSYISSSGSTIYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA REGLWAFDYWGQGTLVTVSS
717	C4.4a VL	ESVLTQPPSVSGAPGQRVTISCTGSSSNIGAGYVVHWY QQLPGTAPKLLIYDNNKRPSGV PDRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCAAWDDRLN GPVFGGGTKLTVL
718	GCC CDR-H1	GYYWS
719	GCC CDR-H2	EINHRGNTNDNPSLKS
720	GCC CDR-H3	ERGYTYGNFDH
721	GCC CDR-L1	RASQSVSRNLA
722	GCC CDR-L2	GASTRAT
723	GCC CDR-L3	QQYKTWPRT
724	GCC VH	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVFGGSFSGYYWSWI RQPPGKGLEWIGEINHRGNTNDN PSLKSRVTISVDTSKNQFALKLSSVTAADTAVYYCARE RGYTYGNFDHWGQGTLVTVSS
725	GCC VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVSRNLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASTRATGIP ARFSGSGSGTEFTLTIGSLQSEDFAVYYCQQYKTWPRT FGQGTNVEIK
726	Axl CDR-H1	SYAMN
727	Axl CDR-H2	TTSGSGASTYYADSVKG

728	Axl CDR-H3	IWIAFDI
729	Axl CDR-L1	RASQSVSSSYLA
730	Axl CDR-L2	GASSRAT
731	Axl CDR-L3	QQYGSSPYT
732	Axl VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMNWV RQAPGKGLEWVSTTSGSGASTYY ADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCA KIWIAFDIWGQGTMVTVSS
733	Axl VL	EIVLTQSPGTLSLSPGERATLSCRASQSVSSSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYGASSRATGIP DRFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPYTF GQGTKLEIK
734	gpNMB CDR-H1	SFNYYWS
735	gpNMB CDR-H2	YIYYSGSTYSNPSLKS
736	gpNMB CDR-H3	GYNWNYFDY
737	gpNMB CDR-L1	RASQSVDNNLV
738	gpNMB CDR-L2	GASTRAT
739	gpNMB CDR-L3	QQYNNWPPWT
740	gpNMB VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSFNYYWSWI RHHPGKGLEWIGYIYYSGSTY SNPSLKSRVTISVDTSKNQFSLTLSSVTAADTAVYYCAR GYNWNYFDYWGQGTLVTVSS
741	gpNMB VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVDNNLVWYQQ KPGQAPRLLIYGASTRATGIPA RFSGSGSGTEFTLTISSLQSEDFAVYYCQQYNNWPPWT FGQGTKVEIK
742	Prolactin receptor CDR-H1	TYWMH
743	Prolactin receptor CDR-H2	EIDPSDSYSNYNQKFKD
744	Prolactin receptor CDR-H3	NGGLGPAWFSY
745	Prolactin receptor CDR-L1	KASQYVGTAVA

746	Prolactin receptor CDR-L2	SASNRYT
747	Prolactin receptor CDR-L3	QQYSSYPWT
748	Prolactin receptor VH	EVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGYTFTTYWMHW VRQAPGQGLEWIGEIDPSDSYSNY NQKFKDRATLTVDKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCA RNGGLGPAWFSYWGQGTLVTVSS
749	Prolactin receptor VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCKASQYVGTAVAWYQ QKPGKSPKLLIYSASNRYTGVPS RFSDSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYFCQQYSSYPWTFG GGTKVEIK
750	FGFR2 CDR-H1	SYAMS
751	FGFR2 CDR-H2	AISGSGTSTYYADSVKG
752	FGFR2 CDR-H3	VRYNWNHGDWFDP
753	FGFR2 CDR-L1	SGSSSNIGNNYVS
754	FGFR2 CDR-L2	ENYNRPA
755	FGFR2 CDR-L3	SSWDDSLNYWV
756	FGFR2 VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVR QAPGKGLEWVSAISGSGTSTYYADSVKGRFTISRDNSK NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARVRYNWNHGDWFDP WGQGTLVTVSS
757	FGFR2 VL	QSVLTQPPSASGTPGQRVTISCSGSSSNIGNNYVSWYQQ LPGTAPKLLIYENYNRPAGVP DRFSGSKSGTSASLAISGLRSEDEADYYCSSWDDSLNY WVFGGGTKLTVL
758	CDCP1 CDR-H1	SYGMS
759	CDCP1 CDR-H2	TISSGGSYKYYVDSVKG
760	CDCP1 CDR-H3	HPDYDGVWFAY
761	CDCP1 CDR-L1	SVSSSVFYVH
762	CDCP1 CDR-L2	DTSKLAS
763	CDCP1 CDR-L3	QQWNSNPPT
764	CDCP1 VH	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNSYGMSWV RQAPGKGLEWVATISSGGSYKYY

		VDSVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCA RHPDYDGVWFAYWGQGTLVTVSS
765	CDCP1 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSVSSSVFYVHWYQQK PGKAPKLLIYDTSKLASSGVPS RFSGSGSGTDFTFTISSLQPEDIATYYCQQWNSNPPTFG GGTKVEIK
766	CDCP1 CDR-H1	SYGMS
767	CDCP1 CDR-H2	TISSGGSYTYYPDSVKG
768	CDCP1 CDR-H3	HPDYDGVWFAY
769	CDCP1 CDR-L1	SVSSSVFYVH
770	CDCP1 CDR-L2	DTSKLAS
771	CDCP1 CDR-L3	QQWNSNPPT
772	CDCP1 VH	EVQLVESGGDLVKPGGSLKLSCAASGFTFNSYGMSWV RQTPDKRLEWVATISSGGSYTYY PDSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMSSLKSEDTAMYYCA RHPDYDGVWFAYWGQGTLVTVSA
773	CDCP1 VL	QIVLTQSPAIMASPGEKVTMTCSVSSSVFYVHWYQQKS GTSPKRWIYDTSKLASGVPARF SGSGSGTSYSLTISSMEAEDAATYYCQQWNSNPPTFGG GTKLEIK
774	CDCP1 CDR-H1	SYYMH
775	CDCP1 CDR-H2	IINPSGGSTSYAQKFQG
776	CDCP1 CDR-H3	DGVLRYFDWLLDYYYY
777	CDCP1 CDR-L1	RASQSVGSYLA
778	CDCP1 CDR-L2	DASNRAT
779	CDCP1 CDR-L3	QQRANVFT
780	CDCP1 VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHW VRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSY AQKFQGRVTMTRDTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCA RDGVLRYFDWLLDYYYYMDVWGKG TTVTVSS
781	CDCP1 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSYLAWYQQ RPGQAPRLLIYDASNRATGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRANVFTFGQ

		GTKVEIK
782	CDCP1 CDR-H1	SYYMH
783	CDCP1 CDR-H2	IINPSGGSTSYAQKFQG
784	CDCP1 CDR-H3	DAELRHFDHLLDYHYYMDV
785	CDCP1 CDR-L1	RASQSVGSYLA
786	CDCP1 CDR-L2	DASNRAT
787	CDCP1 CDR-L3	QQRAQEFT
788	CDCP1 VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTSYYMHW VRQAPGQGLEWMGIINPSGGSTSYAQKFQGRVTMTRD TSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCARDAELRHFDHLLDY HYYMDVWGQGTTVTVSS
789	CDCP1 VL	EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVGSYLAWYQQ KPGQAPRLLIYDASNRATGIPA RFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFAVYYCQQRAQEFTFGQ GTKVEIK
790	ASCT2 VH	QVQLVQSGSELKKPGAPVKVSCKASGYTFSTFGMSWV RQAPGQGLKWMGWIHTYAGVPIYGDDFKGRFVFSLDT SVSTAYLQISSLKAEDTAVYFCARRSDNYRYFFDYWG QGTTVTVSS
791	ASCT2 VL	DIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPSRFSGSGSGTDYTLTISSL QPEDFATYFCQQGHTLPPTFGQGTKLEIK
792	ASCT2 VH	QIQLVQSGPELKKPGAPVKISCKASGYTFTTFGMSWVK QAPGQGLKWMGWIHTYAGVPIYGDDFKGRFVFSLDTS VSTAYLQISSVKAEDTATYFCARRSDNYRYFFDYWGQ GTTLTVSS
793	ASCT2 VL	DIQMTQSPSSLSASLGDRVTITCRASQDIRNYLNWYQQ KPGKAPKLLIYYTSRLHSGVPS RFSGSGSGTDYTLTISSLQPEDFATYFCQQGHTLPPTFG QGTKLEIK
794	ASCT2 CDR-H1	NYYMA
795	ASCT2 CDR-H2	SITKGGGNTYYRDSVKG
796	ASCT2 CDR-H3	QVTIAAVSTSYFDS
797	ASCT2 CDR-L1	KTNQKVDYYGNSYVY

798	ASCT2 CDR-L2	LASNLAS
799	ASCT2 CDR-L3	QQSRNLPYT
800	ASCT2 VH	EVQLVESGGGLVQSGRSIRLSCAASGFSFSNYYMAWV RQAPSKGLEWVASITKGGGNTYYRDSVKGRFTFSRDN AKSTLYLQMDSLRSEDTATYYCARQVTIAAVSTSYFDS WGQGVMVTVSS
801	ASCT2 VL	DIVLTQSPALAVSLGQRATISCKTNQKVDYYGNSYVY WYQQKPGQQPKLLIYLASNLASGIPARFSGRGSGTDFT LTIDPVEADDTATYYCQQSRNLPYTFGAGTKLELK
802	CD123 CDR-H1	DYYMK
803	CD123 CDR-H2	DIIPSNGATFYNQKFKG
804	CD123 CDR-H3	SHLLRASWFAY
805	CD123 CDR-L1	KSSQSLLNSGNQKNYLT
806	CD123 CDR-L2	WASTRES
807	CD123 CDR-L3	QNDYSYPYT
808	CD123 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKMSCKASGYTFTDYYMKW VKQAPGQGLEWIGDIIPSNGATFYNQKFKGKATLTVDR SISTAYMHLNRLRSDDTAVYYCTRSHLLRASWFAYWG QGTLVTVSS
809	CD123 VL	DFVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNSGNQKNY LTWYLQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYCQNDYSYPYTFGQGTKLEIK
810	GPC3 CDR-H1	DYEMH
811	GPC3 CDR-H2	WIGGIDPETGGTAYNQKFKG
812	GPC3 CDR-H3	YYSFAY
813	GPC3 CDR-L1	RSSQSIVHSNGNTYLQ
814	GPC3 CDR-L2	KVSNRFS
815	GPC3 CDR-L3	FQVSHVPYT
816	GPC3 VH	EVQLVQSGAEVKKPGATVKISCKVSGYTFTDYEMHWV QQAPGKGLEWMGGIDPETGGTAYNQKFKGRVTLTAD KSTDTAYMELSSLRSEDTAVYYCGRYYSFAYWGQGTL VTVSS
817	GPC3 VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSIVHSNANTYLQ WFQQRPGQSPRLLIYKVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFTL

		KISRVEAEDVGVYYCFQVSHVPYTFGQGTKLEIK
818	B6A CDR-H1	DYNVN
819	B6A CDR-H2	VINPKYGTTRYNQKFKG
820	B6A CDR-H3	GLNAWDY
821	B6A CDR-L1	GASENIYGALN
822	B6A CDR-L2	GATNLED
823	B6A CDR-L3	QNVLTTPYT
824	B6A VH	QFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYNVNW VRQAPGQGLEWIGVINPKYGTTRYNQKFKGRATLTVD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRGLNAWDYWGQG TLVTVSS
825	B6A VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWYQQ KPGKAPKLLIYGATNLEDGVPSRFSGSGSGRDYTFTISS LQPEDIATYYCQNVLTTPYTFGQGTKLEIK
826	B6A CDR-H1	GYFMN
827	B6A CDR-H2	LINPYNGDSFYNQKFKG
828	B6A CDR-H3	GLRRDFDY
829	B6A CDR-L1	KSSQSLLDSDGKTYLN
830	B6A CDR-L2	LVSELDS
831	B6A CDR-L3	WQGTHFPRT
832	B6A VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFSGYFMNW VRQAPGQGLEWMGLINPYNGDSFYNQKFKGRVTMTR QTSTSTVYMELSSLRSEDTAVYYCVRGLRRDFDYWGQ GTLVTVSS
833	B6A VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCKSSQSLLDSDGKTYLN WLFQRPGQSPRRLIYLVSELDSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCWQGTHFPRTFGGGTKLEIK
834	PD-L1 CDR-H1	TAAIS
835	PD-L1 CDR-H2	GIIPIFGKAHYAQKFQG
836	PD-L1 CDR-H3	KFHFVSGSPFGMDV
837	PD-L1 CDR-L1	RASQSVSSYLA
838	PD-L1 CDR-L2	DASNRAT
839	PD-L1 CDR-L3	QQRSNWPT
840	PD-L1 VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKTSGDTFSTAAISWVR

		QAPGQGLEWMGGIIPIFGKAHYAQKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSEDTAVYFCARKFHFVSGSPFGMDVW GQGTTVTVSS
841	PD-L1 VL	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSSYLAWYQQK PGQAPRLLIYDASNRATGIPARFSGSGSGTDFTLTISSLE PEDFAVYYCQQRSNWPTFGQGTKVEIK
842	TIGIT CDR-H1	GTFSSYAIS
843	TIGIT CDR-H2	SIIPIFGTANYAQKFQG
844	TIGIT CDR-H3	ARGPSEVGAILGYVWFDP
845	TIGIT CDR-L1	RSSQSLLHSNGYNYLD
846	TIGIT CDR-L2	LGSNRAS
847	TIGIT CDR-L3	MQARRIPIT
848	TIGIT VH	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKASGGTFSSYAISWV RQAPGQGLEWMGSIIPIFGTANYAQKFQGRVTITADEST STAYMELSSLRSEDTAVYYCARGPSEVGAILGYVWFDP WGQGTLVTVSS
849	TIGIT VL	DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLD WYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDVGVYYCMQARRIPITFGGGTKVEIK
850	STN CDR-H1	GYTFTDHAIHWV
851	STN CDR-H2	FSPGNDDIKY
852	STN CDR-H3	KRSLSTPY
853	STN CDR-L1	QSLLNRGNHKNY
854	STN CDR-L2	WASTRES
855	STN CDR-L3	QNDYTYPYT
856	STN VH	EVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTDHAIHWV RQAPGQGLEWMGYFSPGNDDIKYNEKFRGRVTMTAD KSSSTAYMELRSLRSDDTAVYFCKRSLSTPYWGQGTLV TVSS
857	STN VL	DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSQSLLNRGNHKNY LTWYQQKPGQPPKLLIYWASTRESGVPDRFSGSGSGTD FTLTISSLQAEDVAVYYCQNDYTYPYTFGQGTKVEIK
858	CD33 CDR-H1	NYDIN
859	CD33 CDR-H2	WIYPGDGSTKYNEKFKA

860	CD33 CDR-H3	GYEDAMDY
861	CD33 CDR-L1	KASQDINSYLS
862	CD33 CDR-L2	RANRLVD
863	CD33 CDR-L3	LQYDEFPLT
864	CD33 VH	QVQLVQSGAE VKKPGASVKV SCKASGYTFT NYDINWVRQA PGQGLEWIGW IYPGDGSTKY NEKFKAKATL TADTSTSTAY MELRSLRSDD TAVYYCASGY EDAMDYWGQG TTVTVSS
865	CD33 VL	DIQMTQSPS SLSASVGDRVT INCKASQDINSYLSWFQQKPGKAPKTL IYRANRLVDGVPS RFSGSGSGQDYTLT ISSLQPEDFATYYCLQYDEFPLTFGGGTKVE
866	NTBA CDR-H1	NYGMN
867	NTBA CDR-H2	WINTYSGEPRYADDFKG
868	NTBA CDR-H3	DYGRWYFDV
869	NTBA CDR-L1	RASSSVSHMH
870	NTBA CDR-L2	ATSNLAS
871	NTBA CDR-L3	QQWSSTPRT
872	NTBA VH	QIQLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYTFTNYGMNWV RQAPGQDLKWMGWINTYSGEPRYADDFKGRFVFSLD KSVNTAYLQISSLKAEDTAVYYCARDYGRWYFDVWG QGTTVTVSS
873	NTBA VL	QIVLSQSPATLSLSPGERATMSCRASSSVSHMHWYQQK PGQAPRPWIYATSNLASGVPARFSGSGSGTDYTLTISSL EPEDFAVYYCQQWSSTPRTFGGGTKVEIK
874	BCMA CDR-H1	DYYIH
875	BCMA CDR-H2	YINPNSGYTNYAQKFQG
876	BCMA CDR-H3	YMWERVTGFFDF
877	BCMA CDR-L1	LASEDISDDLA
878	BCMA CDR-L2	TTSSLQS
879	BCMA CDR-L3	QQTYKFPPT
880	BCMA VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKLSCKASGYTFTDYYIHWV RQAPGQGLEWIGYINPNSGYTNYAQKFQGRATMTADK SINTAYVELSRLRSDDTAVYFCTRYMWERVTGFFDFW

		GQGTMVTVSS
881	BCMA VL	DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCLASEDISDDLAWYQQ KPGKAPKVLVYTTSSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSL QPEDFATYFCQQTYKFPPTFGGGTKVEIK
882	TF CDR-H1	GFTFSNYA
883	TF CDR-H2	ISGSGDYT
884	TF CDR-H3	ARSPWGYYLDS
885	TF CDR-L1	QGISSR
886	TF CDR-L2	AAS
887	TF CDR-L3	QQYNSYPYT
888	TF VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYAMSWV RQAPGKGLEWVSSISGSGDYTYYTDSVKGRFTISRDNS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARSPWGYYLDSWGQG TLVTVSS
889	TF VL	DIQMTQSPPSLSASAGDRVTITCRASQGISSRLAWYQQK PEKAPKSLIYAASSLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQ PEDFATYYCQQYNSYPYTFGQGTKLEIK
890	GPNMB HC	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSFNYYWSWI RHHPGKGLEWIGYIYYSGSTYSNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLTLSSVTAADTAVYYCARGYNWNYFDYWGQGTL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCP PCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAK GQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
891	GPNMB LC	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVDNNLVWYQQ KPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSL QSEDFAVYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIKRTVAAPS VFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDN ALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHK

		VYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
892	GPNMB VH	QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISSFNYYWSWI RHHPGKGLEWIGYIYYSGSTYSNPSLKSRVTISVDTSKN QFSLTLSSVTAADTAVYYCARGYNWNYFDYWGQGTL VTVSSA
893	GPNMB VL	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVDNNLVWYQQ KPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTISSL QSEDFAVYYCQQYNNWPPWTFGQGTKVEIKR
894	GPNMB HVR-H1	SFNYYWS
895	GPNMB HVR-H2	YIYYSGSTYSNPSLKS
896	GPNMB HVR-H3	GYNWNYFDY
897	GPNMB HVR-L1	RASQSVDNNLV
898	GPNMB HVR-L2	GASTRAT
899	GPNMB HVR-L3	QQYNNWPPWT
900	CD228 HVR-H1	SGYWN
901	CD228 HVR-H2	YISDSGITYYNPSLKS
902	CD228 HVR-H3	RTLATYYAMDY
903	CD228 HVR-L1	RASQSLVHSDGNTYLH
904	CD228 HVR-L2	RVSNRFS
905	CD228 HVR-L3	SQSTHVPPT
906	CD228 VH	QVQLQESGPGLVKPSETLSLTCTVSGDSITSGYWNWIR QPPGKGLEYIGYISDSGITYYNPSLKSRVTISRDTSKNQY SLKLSSVTAADTAVYYCARRTLATYYAMDYWGQGTL VTVSS
907	CD228 VL	DFVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRASQSLVHSDGNTYLH WYQQRPGQSPRLLIYRVSNRFSGVPDRFSGSGSGTDFT LKISRVEAEDVGVYYCSQSTHVPPTFGQGTKLEIK
908	CD228 HC	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPE LLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPE VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREP QVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN

		GQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
909	CD228 LC	TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKAD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
910	h2A2 HC	QFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYNVNW VRQAPGQGLEWIGVINPKYGTTRYNQKFKGRATLTVD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRGLNAWDYWGQG TLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVT VPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISK AKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
911	h2A2 LC	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWYQQ KPGKAPKLLIYGATNLEDGVPSRFSGSGSGRDYTFTISS LQPEDIATYYCQNVLTTPYTFGQGTKLEIKRTVAAPSVF IFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNAL QSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
912	h2A2 VH	QFQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYSFTDYNVNW VRQAPGQGLEWIGVINPKYGTTRYNQKFKGRATLTVD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCTRGLNAWDYWGQG TLVTVSS
913	h2A2 VL	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCGASENIYGALNWYQQ KPGKAPKLLIYGATNLEDGVPSRFSGSGSGRDYTFTISS LQPEDIATYYCQNVLTTPYTFGQGTKLEIK
914	h2A2 HVR-H1	DYNVN
915	h2A2 HVR-H2	VINPKYGTTRYNQKFKG
916	h2A2 HVR-H3	GLNAWDY
917	h2A2 HVR-L1	GASENIYGALN

918	h2A2 HVR-L2	GATNLED
919	h2A2 HVR-L3	QNVLTTPYT
920	cAC10 CDR-H1	DYYIT
921	cAC10 CDR-H2	WIYPGSGNTKYNEKFKG
922	cAC10 CDR-H3	YGNYWFAY
923	cAC10 CDR-L1	KASQSVDFDGDSYMN
924	cAC10 CDR-L2	AASNLES
925	cAC10 CDR-L3	QQSNEDPWT
926	cAC10 VH	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVK QKPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY NEKFKGKATLTVDTSSSTAFMQLSSLTSEDTAVYFCAN YGNYWFAYWGQGTQVTVSA
927	cAC10 VL	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDFDGDSYMN WYQQKPGQPPKVLIYAASNLES GIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDP WTFGGGTKLEIK
928	cAC10 HC	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVK QKPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY NEKFKGKATLTVDTSSSTAFMQLSSLTSEDTAVYFCAN YGNYWFAYWGQGTQVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
929	cAC10 HC v2	QIQLQQSGPEVVKPGASVKISCKASGYTFTDYYITWVK QKPGQGLEWIGWIYPGSGNTKY NEKFKGKATLTVDTSSSTAFMQLSSLTSEDTAVYFCAN

		YGNYWFAYWGQGTQVTVSAAST KGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSW NSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
930	cAC10 LC	DIVLTQSPASLAVSLGQRATISCKASQSVDFDGDSYMN WYQQKPGQPPKVLIYAASNLES GIPARFSGSGSGTDFTLNIHPVEEEDAATYYCQQSNEDP WTFGGGTKLEIKR TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDS KDSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVT KSFNRGEC
931	< Q13433; белок	MARKLSVILI LTFALSVTNP LHELKAAAFP QTTEKISPNW ESGINVDLAI STRQYHLQQL FYRYGENNSL SVEGFRKLLQ NIGIDKIKRI HIHHDHDHHS DHEHHSDHER HSDHEHHSEH EHHSDHDHHS HHNHAASGKN KRKALCPDHD SDSSGKDPRN SQGKGAHRPE HASGRRNVKD SVSASEVTST VYNTVSEGTH FLETIETPRP GKLFPKDVSS STPPSVTSKS RVSRLAGRKT NESVSEPRKG FMYSRNTNEN PQECFNASKL LTSHGMGIQV PLNATEFNYL CPAIINQIDA RSCLIHTSEK KAEIPPKTYS LQIAWVGGFI AISIISFLSL LGVILVPLMN RVFFKFLLSF LVALAVGTLS GDAFLHLLPH SHASHHHSHS HEEPAMEMKR GPLFSHLSSQ NIEESAYFDS TWKGLTALGG LYFMFLVEHV LTLIKQFKDK

		KKKNQKKPEN DDDVEIKKQL SKYESQLSTN EEKVDTDDRT EGYLRADSQE PSHFDSQQPA VLEEEEVMIA HAHPQEVYNE YVPRGCKNKC HSHFHDTLGQ SDDLIHHHHD YHHILHHHHH QNHHPHSHSQ RYSREELKDA GVATLAWMVI MGDGLHNFSD GLAIGAAFTE GLSSGLSTSV AVFCHELPHE LGDFAVLLKA GMTVKQAVLY NALSAMLAYL GMATGIFIGH YAENVSMWIF ALTAGLFMYV ALVDMVPEML HNDASDHGCS RWGYFFLQNA GMLLGFGIML LISIFEHKIV FRINF
932	hLIV22 HC+Constant	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGLTIEDYYMHW VRQAPGQGLEWMGWIDPENGDTEYGPKFQGRVTMTR DTSINTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVHNAHYGTWFAY WGQGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGC LVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSL SSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSC DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVT CVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKG FYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKL TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
933	hLIV22 LC+Constant	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGNTYLE WYQQRPGQSPRPLIYKISTRFSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPYTFGGGTKVEIKRTVA APSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKADYE KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
934	hLIV22 VH	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGLTIEDYYMHW VRQAPGQGLEWMGWIDPENGDTEYGPKFQGRVTMTR DTSINTAYMELSRLRSDDTAVYYCAVHNAHYGTWFAY WGQGTLVTVSS
935	hLIV22 VL	DVVMTQSPLSLPVTLGQPASISCRSSQSLLHSSGNTYLE WYQQRPGQSPRPLIYKISTRFSGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVGVYYCFQGSHVPYTFGGGTKVEIK

936	hLIV22 HVR-H1	DYYMH
937	hLIV22 HVR-H2	WIDPENGDTEYGPKFQG
938	hLIV22 HVR-H3	HNAHYGTWFAY
939	hLIV22 HVR-L1	RSSQSLLHSSGNTYLE
940	hLIV22 HVR-L2	KISTRFS
941	hLIV22 HVR-L3	FQGSHVPYT
942	Эпитоп hLIV22	KGAHRPEH
943	HBU12 VH	**QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISTSGMGV GWIRQHPGKGLEWIGHIWWDDDKR YNPALKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC ARMELWSYYFDYWGQGTLVTVSS**
944	hBU12 HVR-H1	**TSGMGVG**
945	hBU12 HVR-H2	**HIWWDDDKRYNPALKS**
946	hBU12 HVR-H3	**MELWSYYFDY**
947	hBU12 VL	**EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQ KPGQAPRLLIYDTSKLASGIPAR FSGSGSGTDFTLTISSLEPEDVAVYYCFQGSVYPFTF GQGTKLEIKR**
948	hBU12 HVR-L1	**SASSSVSYMH**
949	hBU12 HVR-L2	**DTSKLAS**
950	hBU12 HVR-L3	**FQGSVYPFT**
951	hBU12 HC	**QVQLQESGPGLVKPSQTLSLTCTVSGGSISTSGMGV GWIRQHPGKGLEWIGHIWWDDDKR YNPALKSRVTISVDTSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYC ARMELWSYYFDYWGQGTLVTVSS ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSS GLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKK VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVK FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDE LTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKT**

		TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
952	HBU12 LC	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCSASSSVSYMHWYQQKP GQAPRLLIYDTSKLASGIPAR FSGSGSGTDFTLTISSLEPEDVAVYYCFQGSVYPFTFGQ GTKLEIKRTVAAPSVFIFPPS DEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSG NSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Следующие последовательности соответствуют SED ID 943-952:

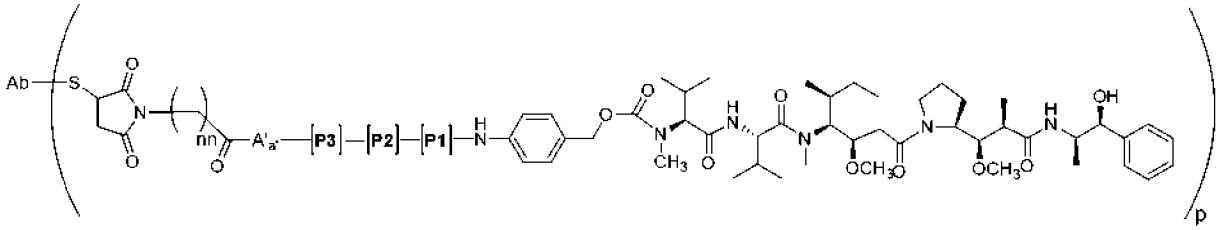
943A	Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Thr Val Ser Gly Gly Ser Ile Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln His Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Ile Gly His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser Arg Val Thr Ile Ser Val Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Lys Leu Ser Ser Val Thr Ala Ala Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Met Glu Leu Trp Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
944A	Thr Ser Gly Met Gly Val Gly
945A	His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Arg Tyr Asn Pro Ala Leu Lys Ser
946A	Met Glu Leu Trp Ser Tyr Tyr Phe Asp Tyr
947A	Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro Glu Asp Val Ala Val Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
948A	Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Tyr Met His
949A	Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser
950A	Phe Gln Gly Ser Val Tyr Pro Phe Thr
951A	GLN VAL GLN LEU GLN GLU SER GLY PRO GLY LEU

	VAL LYS PRO SER GLN THR LEU SER LEU THR CYS THR VAL SER GLY GLY SER ILE SER THR SER GLY MET GLY VAL GLY TRP ILE ARG GLN HIS PRO GLY LYS GLY LEU GLU TRP ILE GLY HIS ILE TRP TRP ASP ASP ASP LYS ARG TYR ASN PRO ALA LEU LYS SER ARG VAL THR ILE SER VAL ASP THR SER LYS ASN GLN PHE SER LEU LYS LEU SER SER VAL THR ALA ALA ASP THR ALA VAL TYR TYR CYS ALA ARG MET GLU LEU TRP SER TYR TYR PHE ASP TYR TRP GLY GLN GLY THR LEU VAL THR VAL SER SER ALA SER THR LYS GLY PRO SER VAL PHE PRO LEU ALA PRO SER SER LYS SER THR SER GLY GLY THR ALA ALA LEU GLY CYS LEU VAL LYS ASP TYR PHE PRO GLU PRO VAL THR VAL SER TRP ASN SER GLY ALA LEU THR SER GLY VAL HIS THR PHE PRO ALA VAL LEU GLN SER SER GLY LEU TYR SER LEU SER SER VAL VAL THR VAL PRO SER SER SER LEU GLY THR GLN THR TYR ILE CYS ASN VAL ASN HIS LYS PRO SER ASN THR LYS VAL ASP LYS LYS VAL GLU PRO LYS SER CYS ASP LYS THR HIS THR CYS PRO PRO CYS PRO ALA PRO GLU LEU LEU GLY GLY PRO SER VAL PHE LEU PHE PRO PRO LYS PRO LYS ASP THR LEU MET ILE SER ARG THR PRO GLU VAL THR CYS VAL VAL VAL ASP VAL SER HIS GLU ASP PRO GLU VAL LYS PHE ASN TRP TYR VAL ASP GLY VAL GLU VAL HIS ASN ALA LYS THR LYS PRO ARG GLU GLU GLN TYR ASN SER THR TYR ARG VAL VAL SER VAL LEU THR VAL LEU HIS GLN ASP TRP LEU ASN GLY LYS GLU TYR LYS CYS LYS VAL SER ASN LYS ALA LEU PRO ALA PRO ILE GLU LYS THR ILE SER LYS ALA LYS GLY GLN PRO ARG GLU PRO GLN VAL TYR THR LEU PRO PRO SER ARG ASP GLU LEU THR LYS ASN GLN VAL SER LEU THR CYS LEU VAL LYS GLY PHE TYR PRO SER ASP ILE ALA VAL GLU TRP GLU SER ASN GLY GLN PRO GLU ASN ASN TYR LYS THR THR PRO PRO VAL LEU ASP SER ASP GLY SER PHE PHE LEU TYR SER LYS LEU THR VAL ASP LYS SER ARG TRP GLN GLN GLY ASN VAL PHE SER CYS SER VAL MET HIS GLU ALA LEU HIS ASN HIS TYR THR GLN LYS SER LEU SER LEU SER PRO GLY LYS
952A	GLU ILE VAL LEU THR GLN SER PRO ALA THR LEU SER LEU SER PRO GLY GLU ARG ALA THR LEU SER CYS SER ALA SER SER SER VAL SER TYR MET HIS TRP TYR GLN GLN LYS PRO GLY GLN ALA PRO ARG LEU LEU ILE

	TYR ASP THR SER LYS LEU ALA SER GLY ILE PRO ALA ARG PHE SER GLY SER GLY SER GLY THR ASP PHE THR LEU THR ILE SER SER LEU GLU PRO GLU ASP VAL ALA VAL TYR TYR CYS PHE GLN GLY SER VAL TYR PRO PHE THR PHE GLY GLN GLY THR LYS LEU GLU ILE LYS ARG THR VAL ALA ALA PRO SER VAL PHE ILE PHE PRO PRO SER ASP GLU GLN LEU LYS SER GLY THR ALA SER VAL VAL CYS LEU LEU ASN ASN PHE TYR PRO ARG GLU ALA LYS VAL GLN TRP LYS VAL ASP ASN ALA LEU GLN SER GLY ASN SER GLN GLU SER VAL THR GLU GLN ASP SER LYS ASP SER THR TYR SER LEU SER SER THR LEU THR LEU SER LYS ALA ASP TYR GLU LYS HIS LYS VAL TYR ALA CYS GLU VAL THR HIS GLN GLY LEU SER SER PRO VAL THR LYS SER PHE ASN ARG GLY GLU CYS

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Конъюгат антитело-лекарственный препарат, содержащий антигенсвязывающий белок или его фрагмент, который связывает CD30, при этом конъюгат антитело-лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12;

нижний индекс nn является числом от 1 до 5;

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует;

каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

2. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по п. 1, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой cAC10.

3. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит следующие 6 HVR:

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 920;

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 921;

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 922;

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 923;

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 924; И

HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 925.

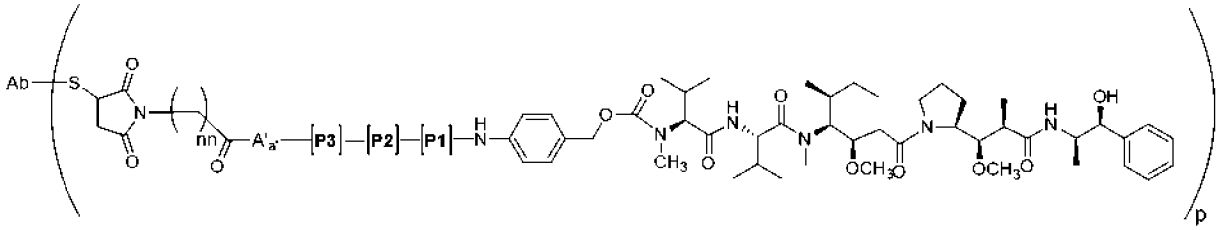
4. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом vh имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 926 и VL имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID

NO: 927.

5. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 926 и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 927.

6. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 928 или SEQ ID NO: 929, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 930.

7. Конъюгат антитело-лекарственный препарат, содержащий антигенсвязывающий белок или его фрагмент, который связывает GPNMB, при этом конъюгат антитело-лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12;

нижний индекс nn является числом от 1 до 5;

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует;

каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

8. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по п. 7, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит следующие 6 HVR:

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 894;

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 895;

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 896;

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 897;

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 898; и

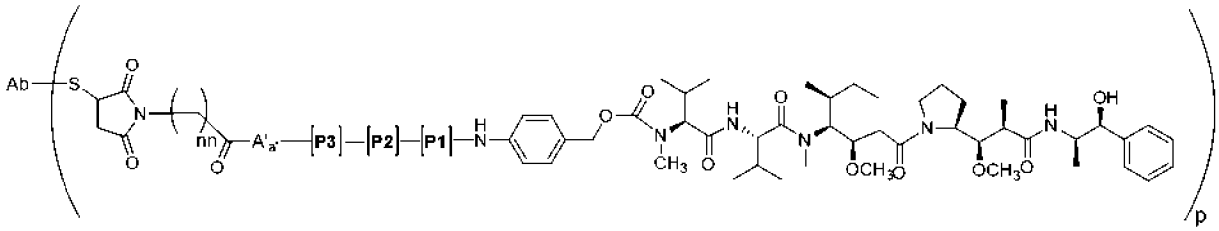
HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 899.

9. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по п. 7 или п. 8, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом vh имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 892 и VL имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 893.

10. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 7-9, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом vh содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 892 и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 893.

11. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 7-10, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 890, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 891.

12. Конъюгат антитело-лекарственный препарат, содержащий антигенсвязывающий белок или его фрагмент, который связывает CD228, при этом конъюгат антитело-лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12;

нижний индекс nn является числом от 1 до 5;

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует;

каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

13. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по п. 12, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит следующие 6 HVR:

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 900;

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 901;

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 902;

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 903;

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 904; И

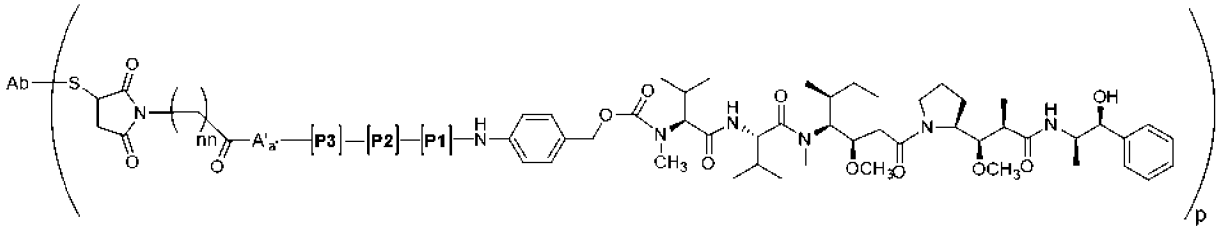
HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 905.

14. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по п. 12 или п. 13, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 906 и VL имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 907.

15. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 12-14, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 906 и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 907.

16. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 12-15, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 908, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 909.

17. Конъюгат антитело-лекарственный препарат, содержащий антигенсвязывающий белок или его фрагмент, который связывает αvβ6, при этом конъюгат антитело-лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12;

нижний индекс nn является числом от 1 до 5;

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует;

каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует

последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

18. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по п. 17, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит следующие 6 HVR:

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 914;

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 915;

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 916;

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 917;

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 918; И

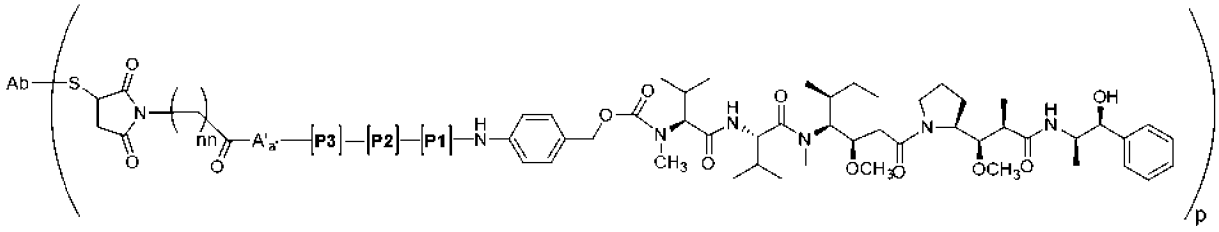
HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 919.

19. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по п. 17 или п. 18, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом vh имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 912 и VL имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 913.

20. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 17-19, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом vh содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 912 и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 913.

21. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 17-20, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 910, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 911.

22. Конъюгат антитело-лекарственный препарат, содержащий антигенсвязывающий белок или его фрагмент, который связывает LIV1, при этом конъюгат антитело-лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12;

нижний индекс nn является числом от 1 до 5;

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует;

каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с

гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

23. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по п. 22, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит следующие 6 HVR:

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 936;

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 937;

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 938;

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 939;

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 940; И

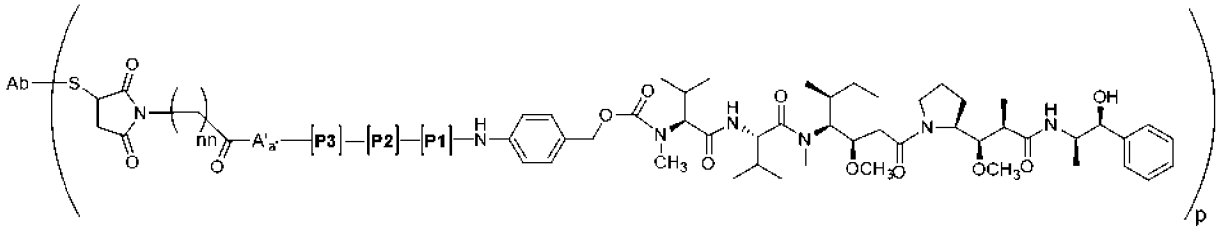
HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 941.

24. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по п. 22 или п. 23, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 934 и VL имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 935.

25. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 22-24, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 934 и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 935.

26. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 22-25, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 932, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 933.

27. Конъюгат антитело-лекарственный препарат, содержащий антигенсвязывающий белок или его фрагмент, который связывает CD19, при этом конъюгат антитело-лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль, где:

Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12;

нижний индекс nn является числом от 1 до 5;

нижний индекс a' равен 0, а A' отсутствует;

каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-.

28. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по п. 27, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит следующие 6 HVR:

HVR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 944;

HVR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 945;

HVR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 946;

HVR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 948;

HVR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 949; и

HVR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 950.

29. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по п. 27 или п. 28, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 943 и VL имеет по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 95% или 99% идентичности аминокислотной последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 947.

30. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 27-29, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит VH и VL, при этом VH содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 943 и VL содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 947.

31. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 27-30, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент содержит HC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 951, и LC, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 952.

32. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-31, где нижний индекс nn равен 2.

33. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-32, где:

аминокислота P3 трипептида находится в D-аминокислотной конфигурации;

одна из аминокислот P2 и P1 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью ниже чем у лейцина; и

другая из аминокислот P2 и P1 является отрицательно заряженной.

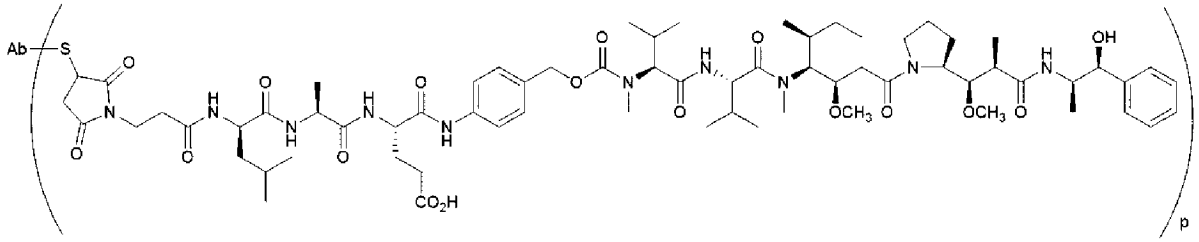
34. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-33, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala.

35. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-34, где аминокислота P3 представляет собой D-Leu или D-Ala, аминокислота P2 представляет собой Ala, Glu или Asp, а аминокислота P1 представляет собой Ala, Glu или Asp.

36. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-35, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Asp-, -D-Leu-Ala-Glu-, -D-Ala-Ala-Asp- или -D-Ala-Ala-Glu-.

37. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-36, где -P3-P2-P1- представляет собой -D-Leu-Ala-Glu-.

38. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-37, отличающийся тем, что конъюгат антитело-лекарственный препарат представлен структурой:



или его фармацевтически приемлемая соль,

где Ab представляет собой антигенсвязывающий белок или его фрагмент, а p обозначает число от 1 до 12.

39. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-38, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой моноклональное антитело или его фрагмент.

40. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-39, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой химерное антитело или его фрагмент.

41. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-40, отличающийся тем, что антигенсвязывающий белок или фрагмент представляет собой гуманизированное антитело или его фрагмент.

42. Конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-41, отличающийся тем, что фрагмент выбран из фрагмента Fab, Fab', Fv, scFv или $(Fab')_2$.

43. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-42 и фармацевтически приемлемый носитель.

44. Способ лечения CD30-экспрессирующего заболевания или состояния у индивида, включающий введение нуждающемуся в этом индивиду эффективного количества конъюгата антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 1-6.

45. Способ лечения GPNMB-экспрессирующего заболевания или состояния у индивида, включающий введение нуждающемуся в этом индивиду эффективного

количества конъюгата антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 7-11.

46. Способ лечения CD228-экспрессирующего рака у индивида, включающий введение нуждающемуся в этом индивиду эффективного количества конъюгата антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 12-16.

47. Способ лечения αvβ6-экспрессирующего рака у индивида, включающий введение нуждающемуся в этом индивиду эффективного количества конъюгата антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 17-21.

48. Способ лечения LIV1-экспрессирующего рака у индивида, включающий введение нуждающемуся в этом индивиду эффективного количества конъюгата антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 22-26.

49. Способ лечения CD19-экспрессирующего рака у индивида, включающий введение нуждающемуся в этом индивиду эффективного количества конъюгата антитело-лекарственный препарат по любому из пп. 27-31.

50. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат, представленного формулой **1**:

$L-[LU-D']_p$ (**1**)

или его фармацевтически приемлемой соли, где

L представляет собой лигандное звено;

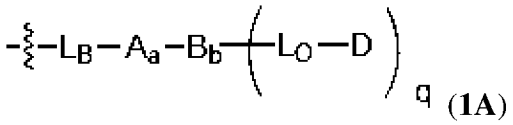
LU представляет собой линкерное звено;

D' представляет от 1 до 4 лекарственных звеньев (D) в каждом фрагменте лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D'; и

нижний индекс p является числом от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до 8, или равен около 4 или около 8,

при этом лигандное звено получено из антитела или антигенсвязывающего фрагмента антитела, причем антитело или антигенсвязывающий фрагмент антитела способны к селективному связыванию с антигеном опухолевой ткани для последующего высвобождения лекарственного(-ых) звена(звеньев) в виде свободного лекарственного препарата,

при этом фрагмент лекарственный препарат-линкер по формуле -LU-D' в каждом из соединений конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции имеет структуру по формуле **1A**:


(**1A**)

или ее соли,

где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к L;

D представляет собой лекарственное звено;

L_B представляет собой фрагмент, ковалентно связывающий лиганд;

A представляет собой первое необязательное звено растяжения;

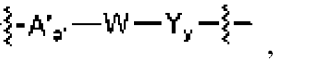
нижний индекс a равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A,

соответственно;

B представляет собой необязательное звено разветвления;

нижний индекс b равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие B, соответственно;

L_O представляет собой вторичный линкерный фрагмент, при этом вторичный линкер имеет формулу:



где волнистая линия, смежная с Y, указывает место ковалентного присоединения L_O к лекарственному звену, а волнистая линия, смежная с A' указывает место ковалентного присоединения L_O к остатку фрагмента лекарственный препарат-линкер;

A' представляет собой второе необязательное звено растяжения, которое при наличии в отсутствие B становится подзвеном A,

нижний индекс a' равен 0 или 1, что указывает на отсутствие или присутствие A', соответственно,

W представляет собой пептидное расщепляемое звено, при этом пептидное расщепляемое звено содержит трипептид, имеющий последовательность -P3-P2-P1-, где каждый из P1, P2 и P3 представляет собой аминокислоту, при этом:

первая из аминокислот P1, P2 или P3 является отрицательно заряженной или представляет собой серин;

вторая из аминокислот P1, P2 или P3 имеет алифатическую боковую цепь с гидрофобностью не более чем у лейцина или представляет собой глицин или серин, или пролин; и

третья из аминокислот P1, P2 или P3 имеет гидрофобность ниже чем у лейцина или представляет собой пролин,

при этом первая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует любой из P1, P2 или P3, вторая из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует одной из двух оставшихся аминокислот P1, P2 или P3, а третья из аминокислот P1, P2 или P3 соответствует последней оставшейся из аминокислот P1, P2 или P3,

при условии, что -P3-P2-P1- не представляет собой -Glu-Val-Cit- или -Asp-Val-Cit-;

каждый Y при наличии представляет собой самоуничтожающееся спейсерное звено;

нижний индекс y равен 0, 1 или 2, что указывает на отсутствие или присутствие 1 или 2 Y, соответственно; и

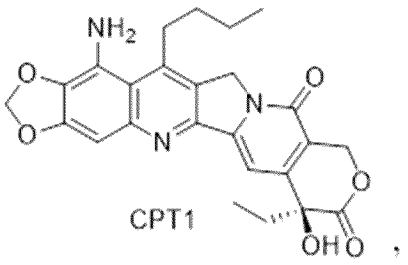
нижний индекс q представляет собой целое число от 1 до 3, и

при условии, что нижний индекс q равен 1, когда нижний индекс b равен 0, и нижний индекс q равен 2 или 3, когда нижний индекс b равен 1; и

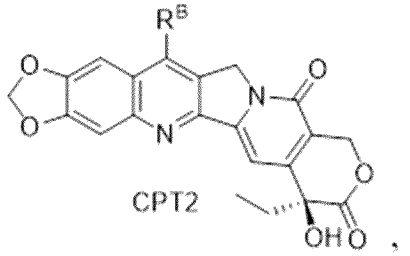
при этом соединения конъюгата лиганд-лекарственный препарат композиции имеют структуру по формуле A**1**, в которой нижний индекс p заменен нижним индексом p', где нижний индекс p' представляет собой целое число от 1 до 12, от 1 до 10 или от 1 до

8, или равен 4 или 8.

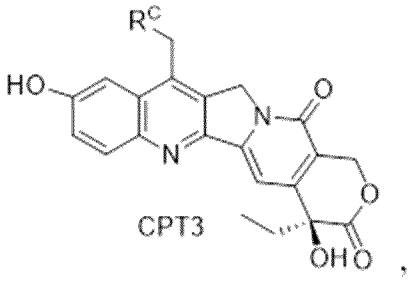
51. Композиция конъюгата лиганд-лекарственный препарат по п. 50, где D включает структуру камптотецина, выбранную из группы, состоящей из



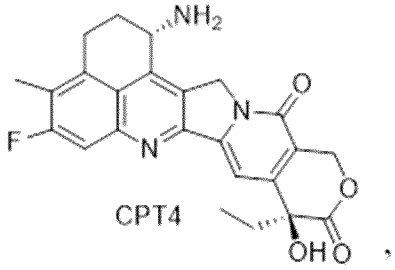
,



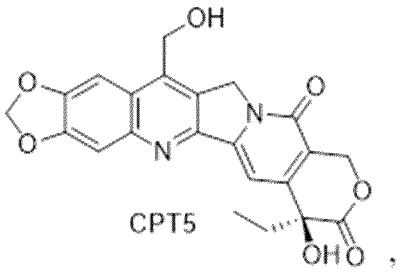
,



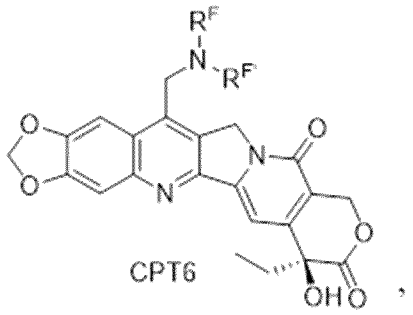
,



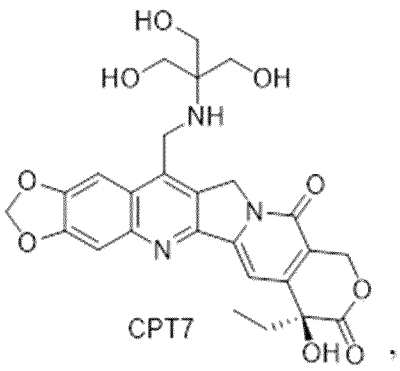
,



,



, и



,

где

R^B выбран из группы, состоящей из H, C_1-C_8 алкила, C_1-C_8 галогеналкила, C_3-C_8 циклоалкила, (C_3-C_8 циклоалкил)-C_1-C_4 алкила, фенила и фенил-C_1-C_4 алкила;

R^C выбран из группы, состоящей из C_1-C_6 алкила и C_3-C_6 циклоалкила; и

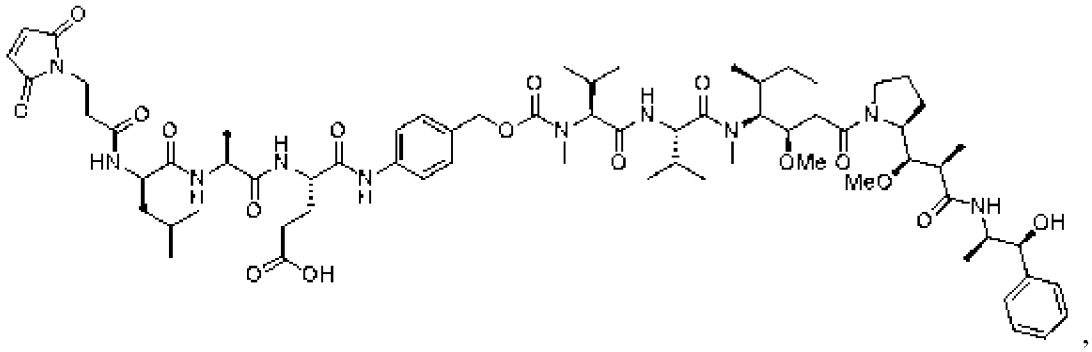
каждый R^F и $R^{F'}$ независимо выбран из группы, состоящей из -H, C_1-C_8 алкила, C_1-

C_8 гидроксиалкила, C_1-C_8 аминоалкила, (C_1-C_4 алкиламино)-C_1-C_8 алкила-, N, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N, N-ди(C_1-C_4 алкил)амино-C_1-C_8 алкила-, N-(C_1-C_4 гидроксиалкил)-C_1-C_8 аминоалкила, C_1-C_8 алкил-C(O)-, C_1-C_8 гидроксиалкил-C(O)-, C_1-C_8 аминоалкил-C(O)-, C_3-C_{10} циклоалкила, (C_3-C_{10} циклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, C_3-C_{10} гетероциклоалкила, (C_3-C_{10} гетероциклоалкил)-C_1-C_4 алкила-, фенила, фенил-C_1-C_4 алкила-, дифенил-C_1-C_4 алкила-, гетероарила и гетероарил-C_1-C_4 алкила-, или

R^F и $R^{F'}$ вместе с атомом азота, к которому присоединен каждый из них, образуют 5-, 6- или 7-членное кольцо, имеющее от 0 до 3 заместителей, выбранных из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4 алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NH-C_1-C_4 алкила, -N(C_1-C_4 алкил)$_2$; и

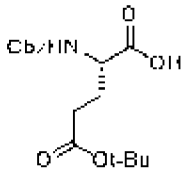
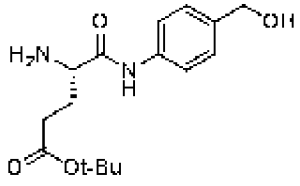
при этом циклоалкильная, гетероциклоалкильная, фенильная и гетероарильная части R^B, R^C, R^F и $R^{F'}$ замещены 0-3 заместителями, выбранными из группы, состоящей из галогена, C_1-C_4 алкила, -OH, -OC_1-C_4 алкила, -NH_2, -NHC_1-C_4 алкила и -N(C_1-C_4 алкил)$_2$.

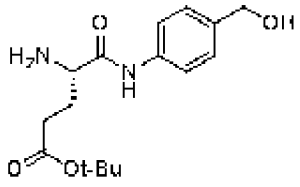
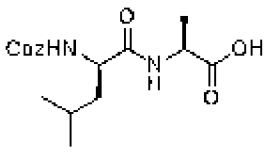
52. Способ получения соединения, имеющего структуру

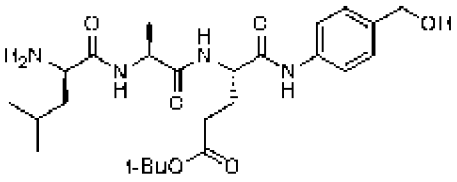


,

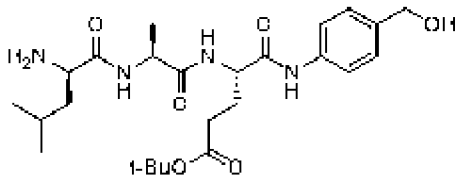
или его соли, включающий

а) введение  или его соли в реакцию с 4-аминобензиловым спиртом с последующим восстановлением с образованием  или его соли;

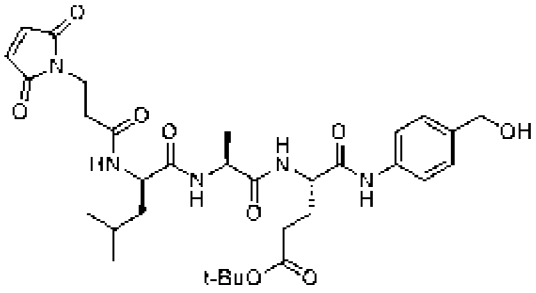
b) введение  или его соли в реакцию с  или его солью с последующим восстановлением с образованием



или его соли;

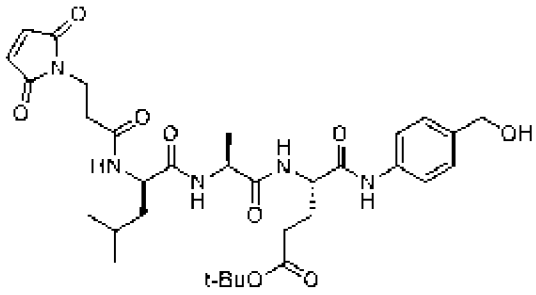


c) введение или его соли в реакцию с 3-

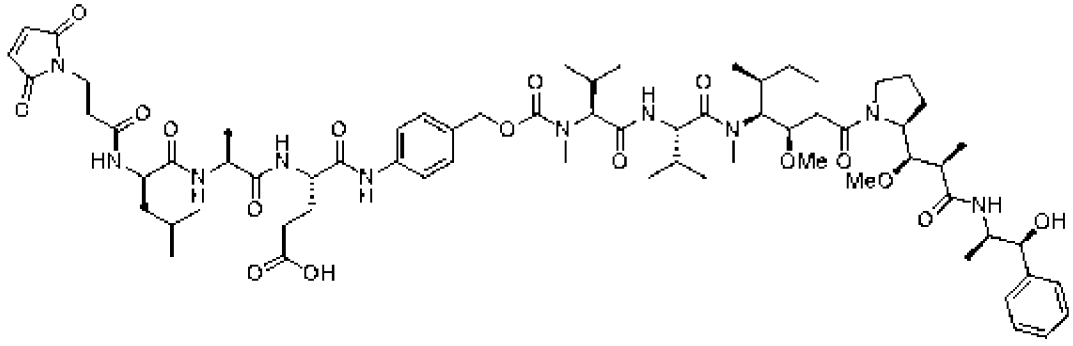


малеимидопропионовой кислотой с образованием

или его соли; и



d) превращение или его соли в соединение



или его соль.

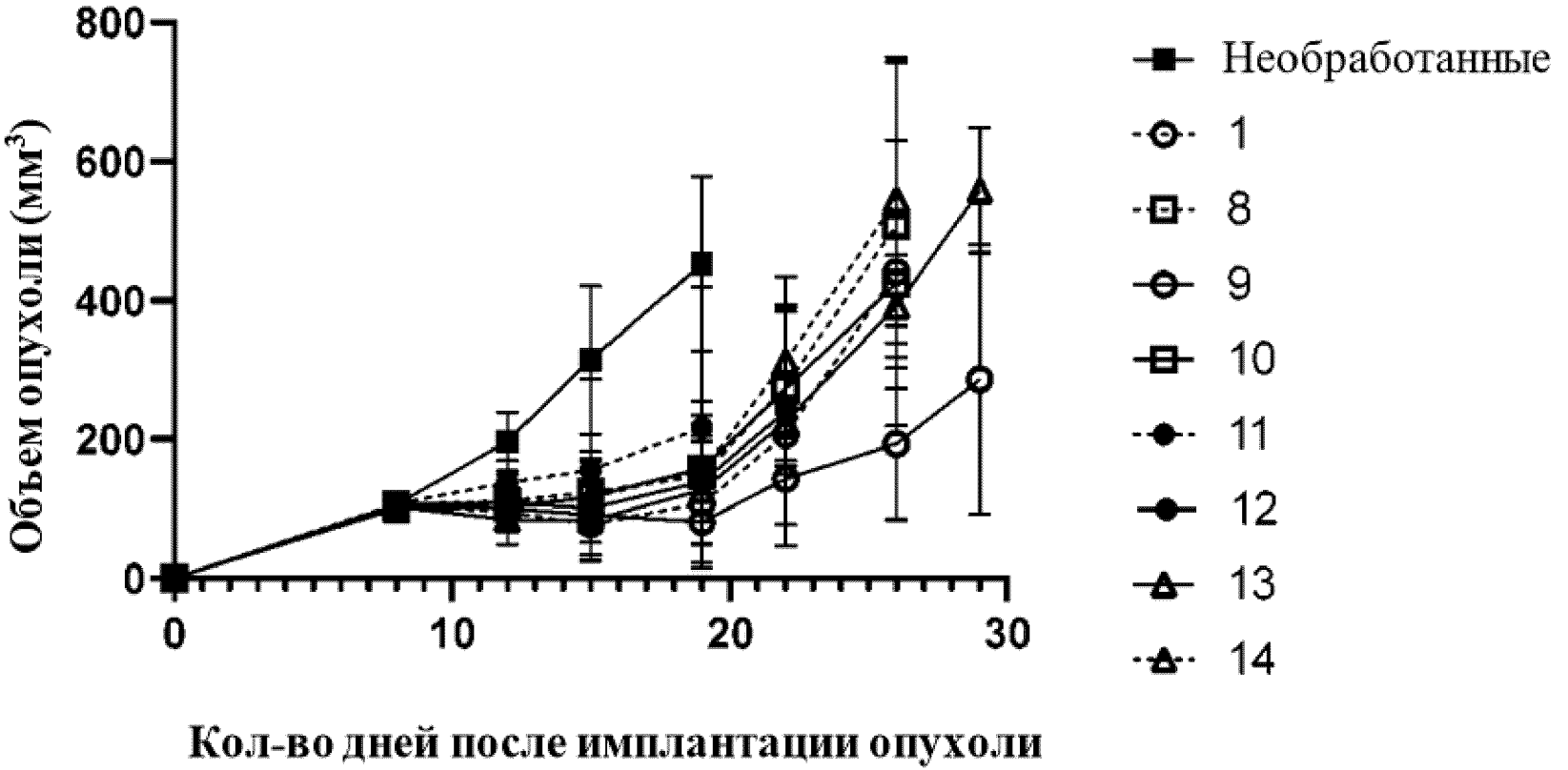
По доверенности

Эффективность ADC в ксенотрансплантате рака поджелудочной железы

Фиг. 1А

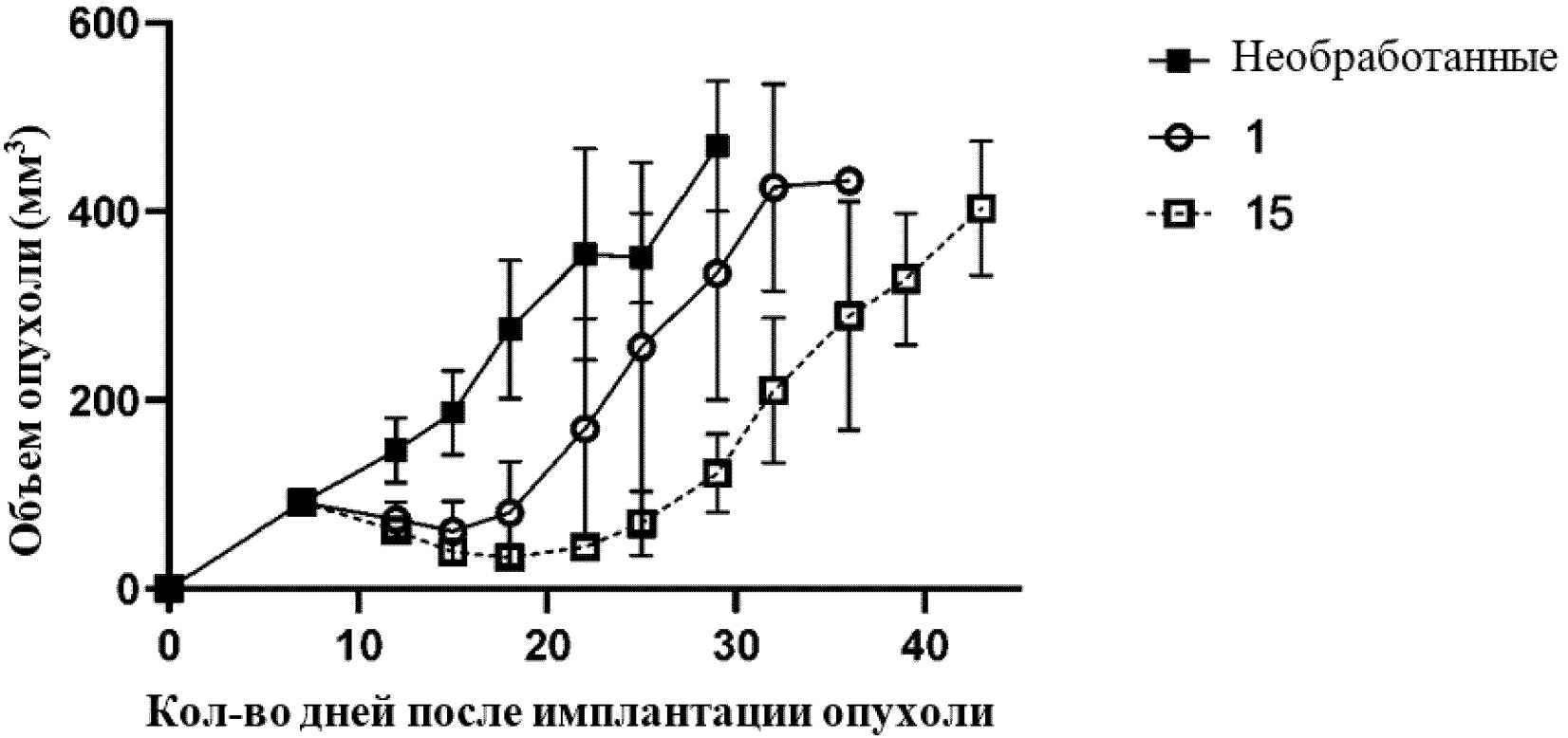
579180

Эффективность ADC в ксенотрансплантате рака поджелудочной железы



Фиг. 1B

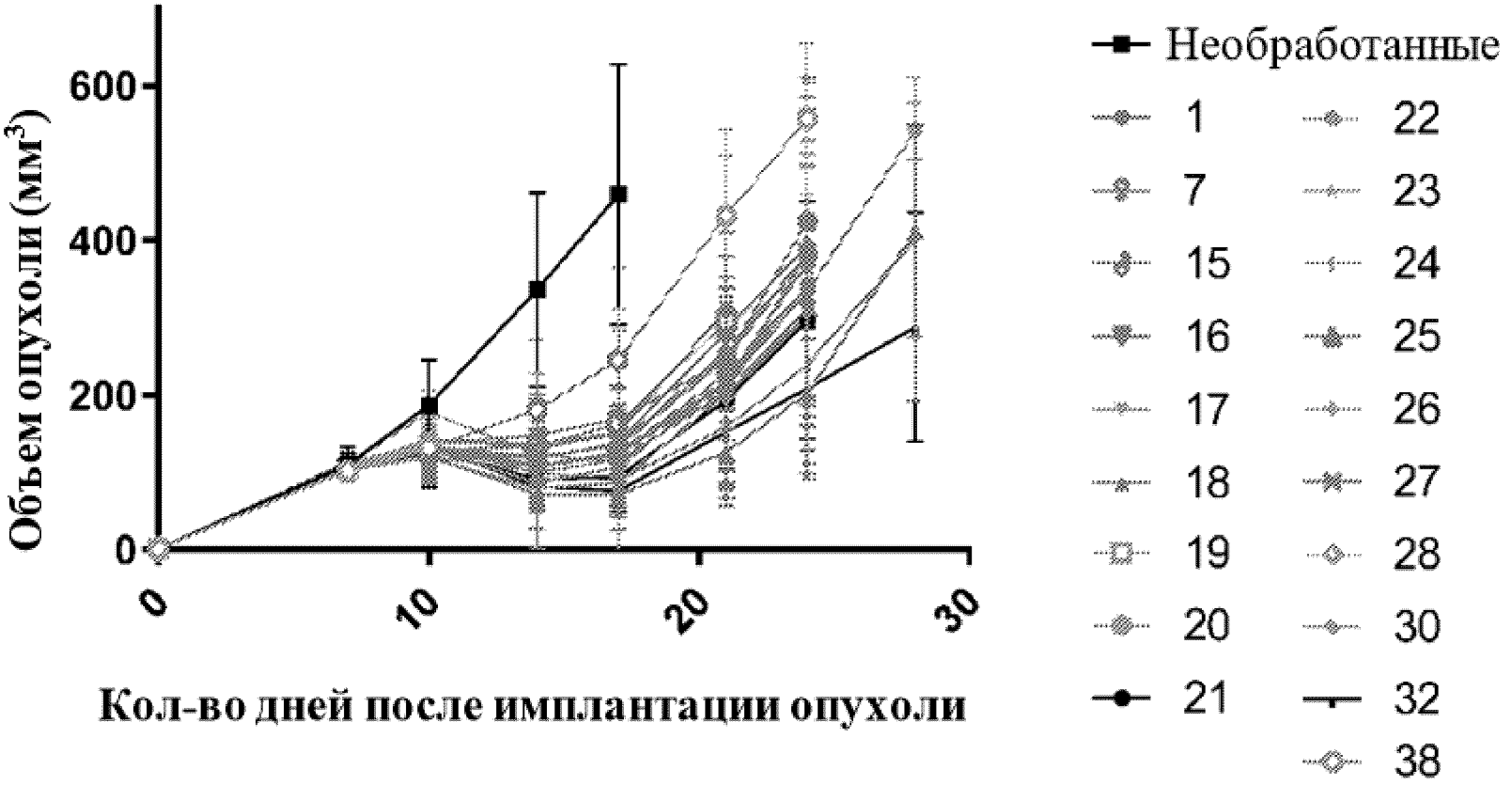
Эффективность ADC в ксенотрансплантате рака поджелудочной железы



Фиг. 1C

Фиг. 1D

Эффективность ADC в ксенотрансплантате рака поджелудочной железы



Истощение нейтрофилов несвязывающими ADC у крыс
Кол-во нейтрофилов на мкл (10^3)
1,5
1,0
0,5
0,0
Необработанные
h00-1
h00-2
h00-3
h00-4
h00-5
h00-6
h00-7
h00-8
h00-9
h00-10
h00-11
h00-12
h00-13
h00-14
h00-15
h00-16
h00-17
h00-18
h00-19
h00-20
h00-21
h00-22
h00-23
h00-24
h00-25
h00-26
h00-27
h00-28
h00-29
h00-37
h00-38

Фиг. 2A

Истощение нейтрофилов ненацеленными трипептидными ADC у крыс

Фиг. 2B

Фиг. 2С

Истощение нейтрофилов ненацеленными трипептидными ADC после введения крысам в наибольшей переносимой дозе

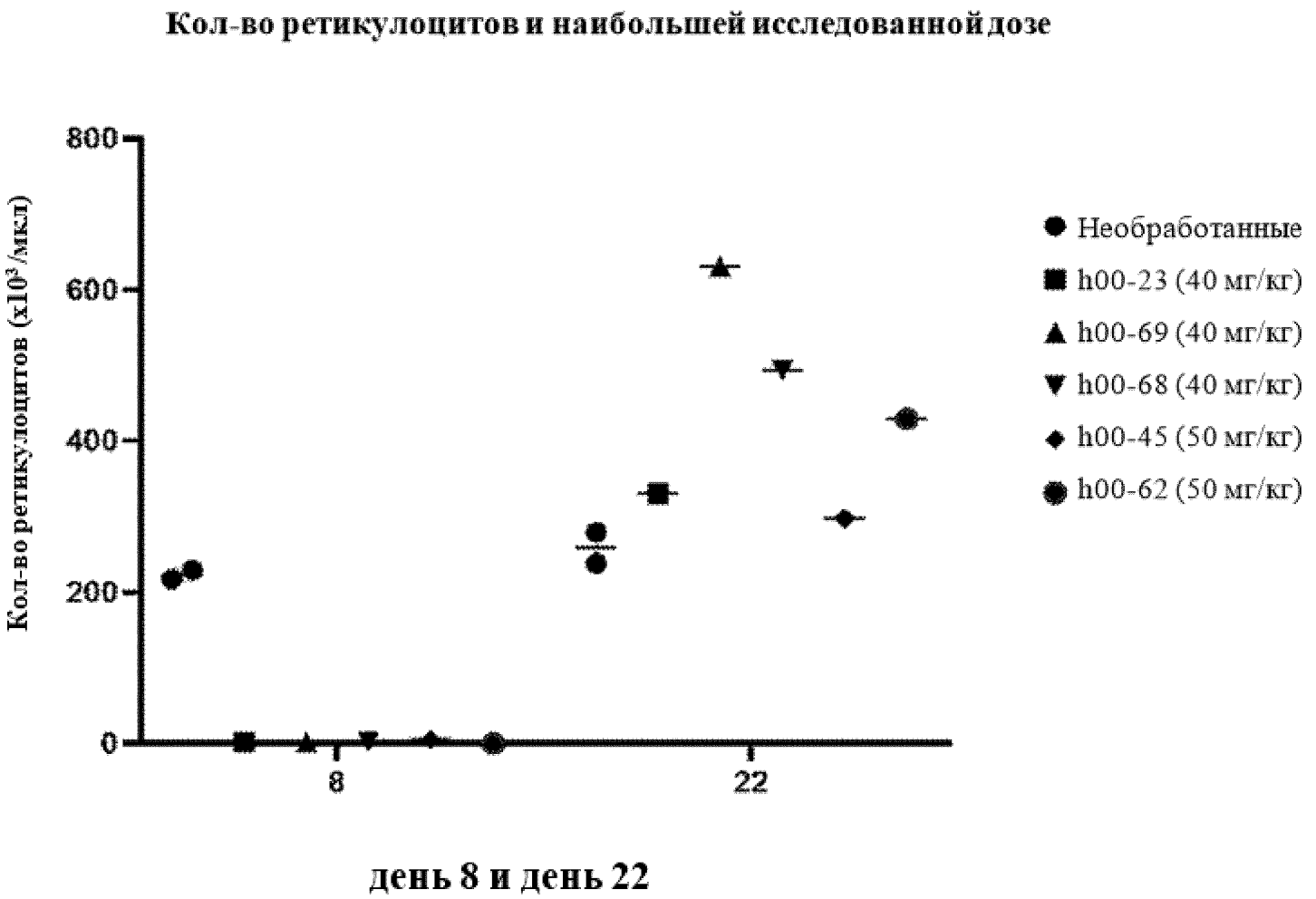
Истощение ретикулоцитов несвязывающими ADC у крыс
Кол-во ретикулоцитов на мкл (10^3)
300
200
100
0
Необработанные
h00-1
h00-2
h00-3
h00-4
h00-5
h00-6
h00-7
h00-8
h00-9
h00-10
h00-11
h00-12
h00-13
h00-14
h00-15
h00-16
h00-17
h00-18
h00-19
h00-20
h00-21
h00-22
h00-23
h00-24
h00-25
h00-26
h00-27
h00-28
h00-29
h00-37
h00-38

Фиг. 3A

Истощение ретикулоцитов несвязывающими ADC у крыс

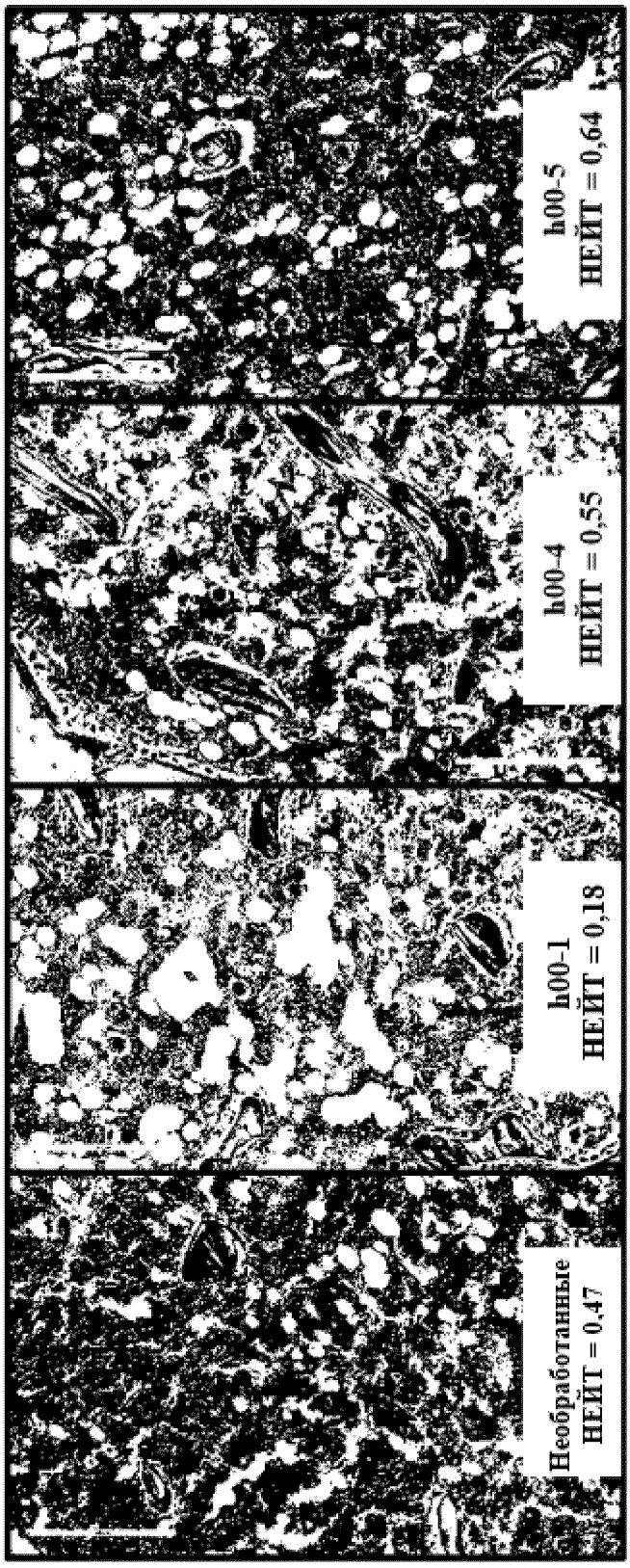
Фиг. 3B

Истощение ретикулоцитов ненацеленными трипептидными ADC после введения крысам в наибольшей переносимой дозе



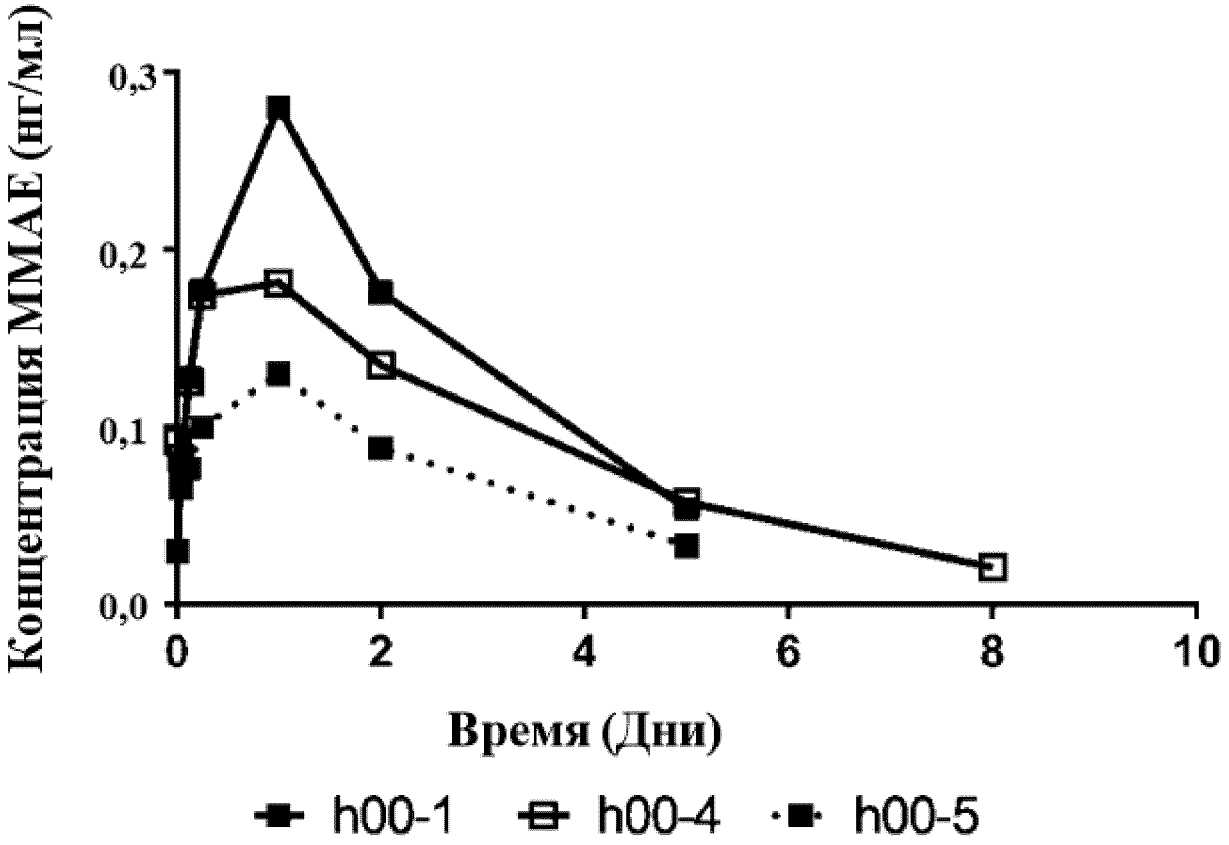
Фиг. 3C

Токсичность для костного мозга со стороны несвязывающих ADC у крыс

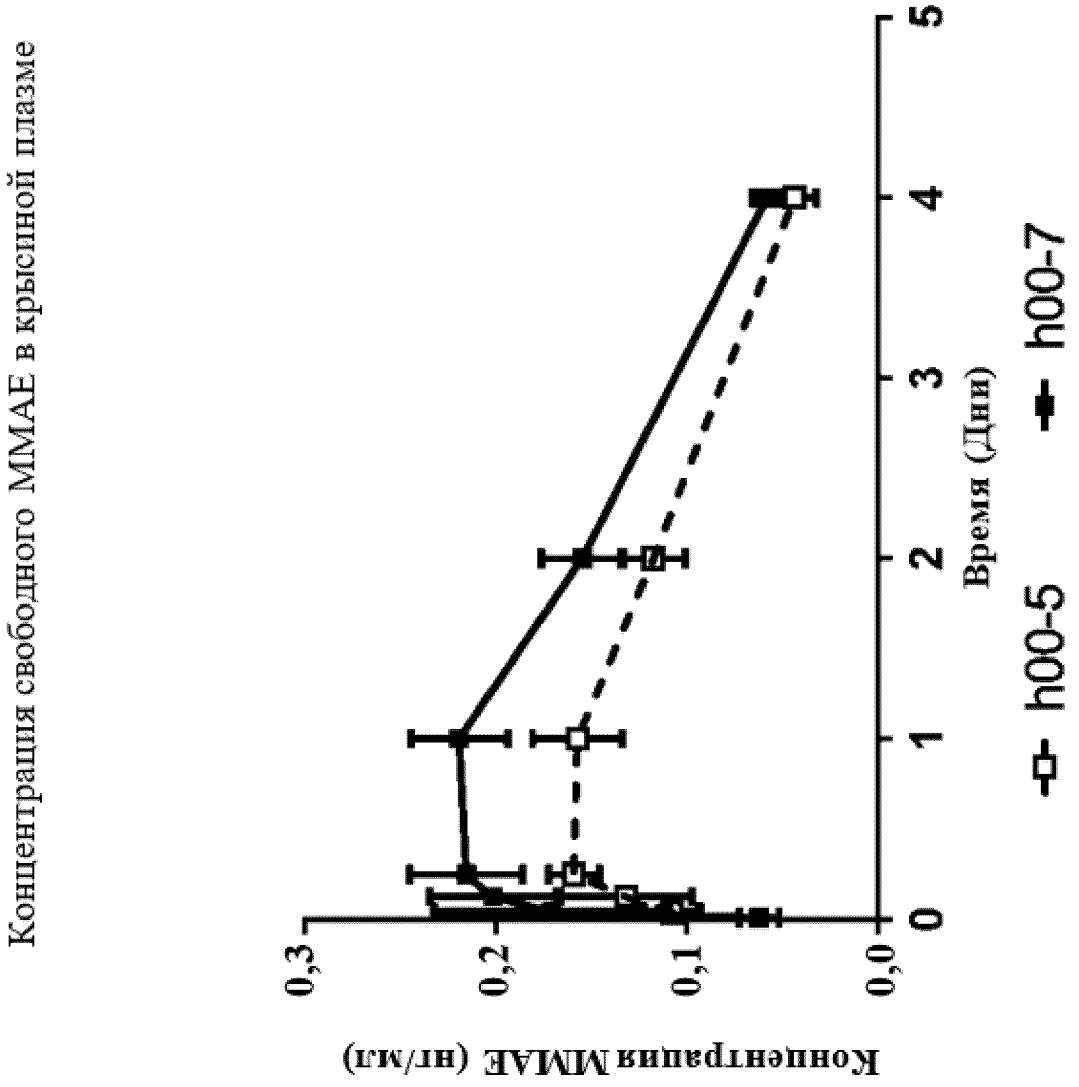


Фиг. 4

Концентрация свободного MMAE в крысиной плазме



Фиг. 5А


Концентрация свободного MMAE в крысиной плазме
Концентрация MMAE (нг/мл)
0,3
0,2
0,1
0,0
0
1
2
3
4
5
Время (Дни)
h00-5
h00-7

Фиг. 5B

Процент лекарственного препарата, отщепленного от тяжелой цепи ненацеленных ADC in vitro эластазой нейтрофилов

Фиг. 6А

Процент лекарственного препарата, отщепленного от тяжелой цепи ненацеленных ADC in vitro катепсином B

Фиг. 6B

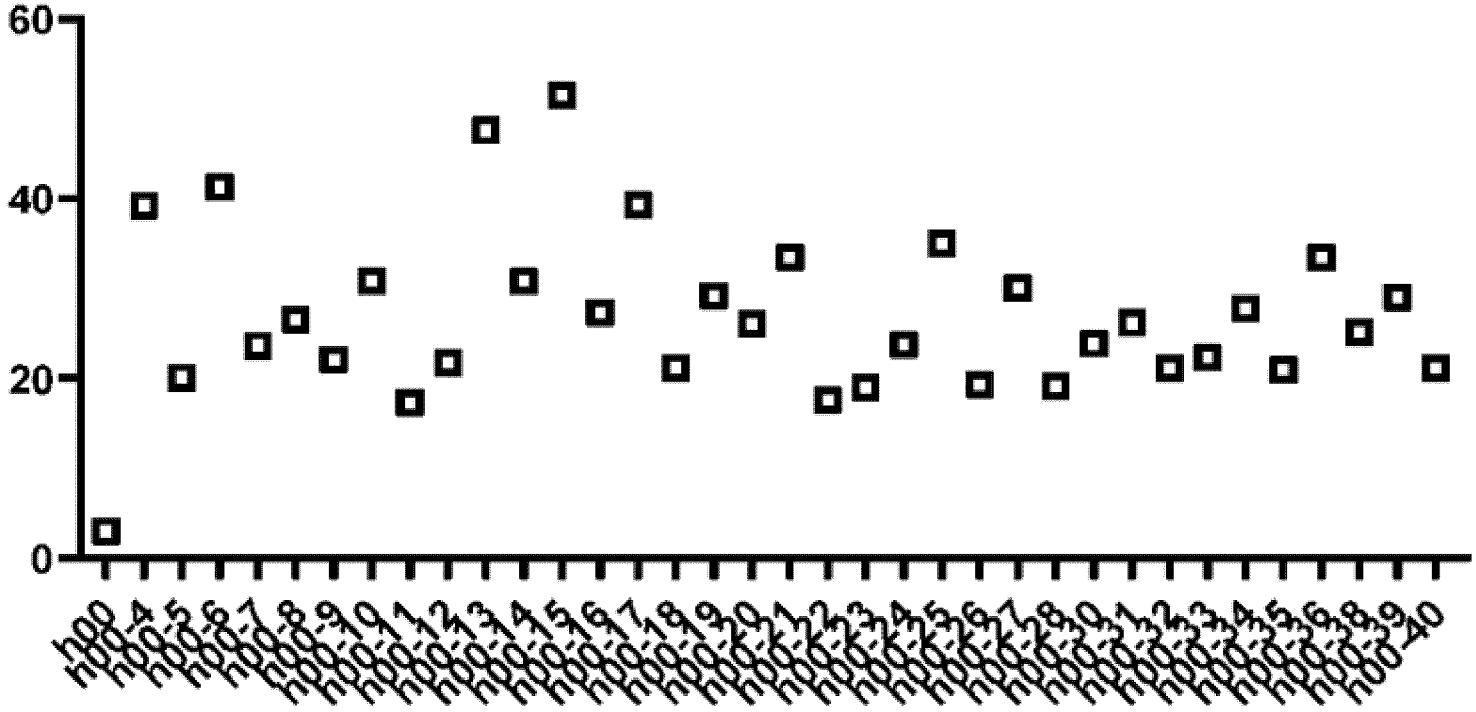
Процент лекарственного препарата, отщепленного от тяжелой цепи ненацеленных ADC in vitro катепсином B

Фиг. 6C

Свободный опухолевый MMAE по эффективности ADC в ксенотрансплантате рака поджелудочной железы

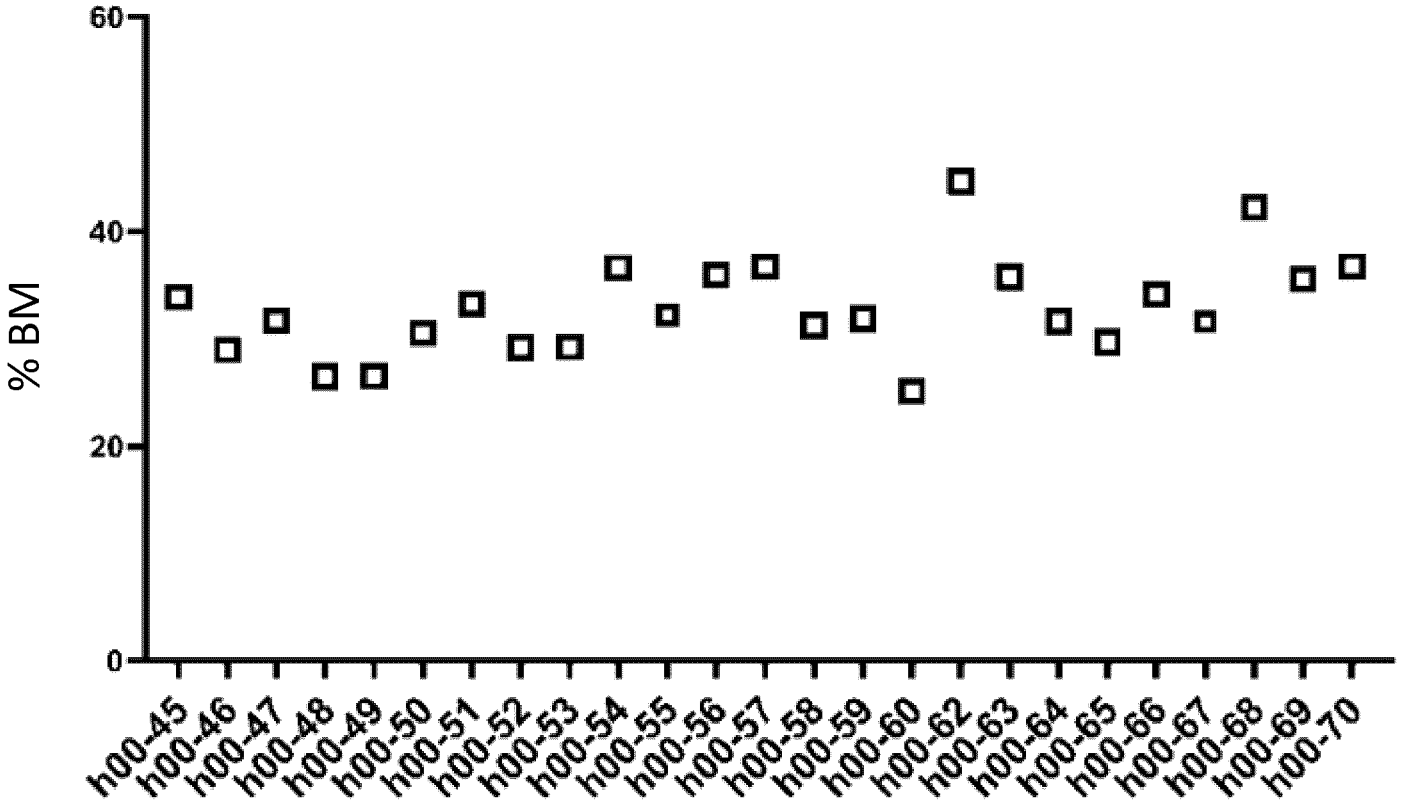
ФИГ. 6D

Агрегация ненацеленных ADC после инкубации в плазме крыс в течение 96 ч



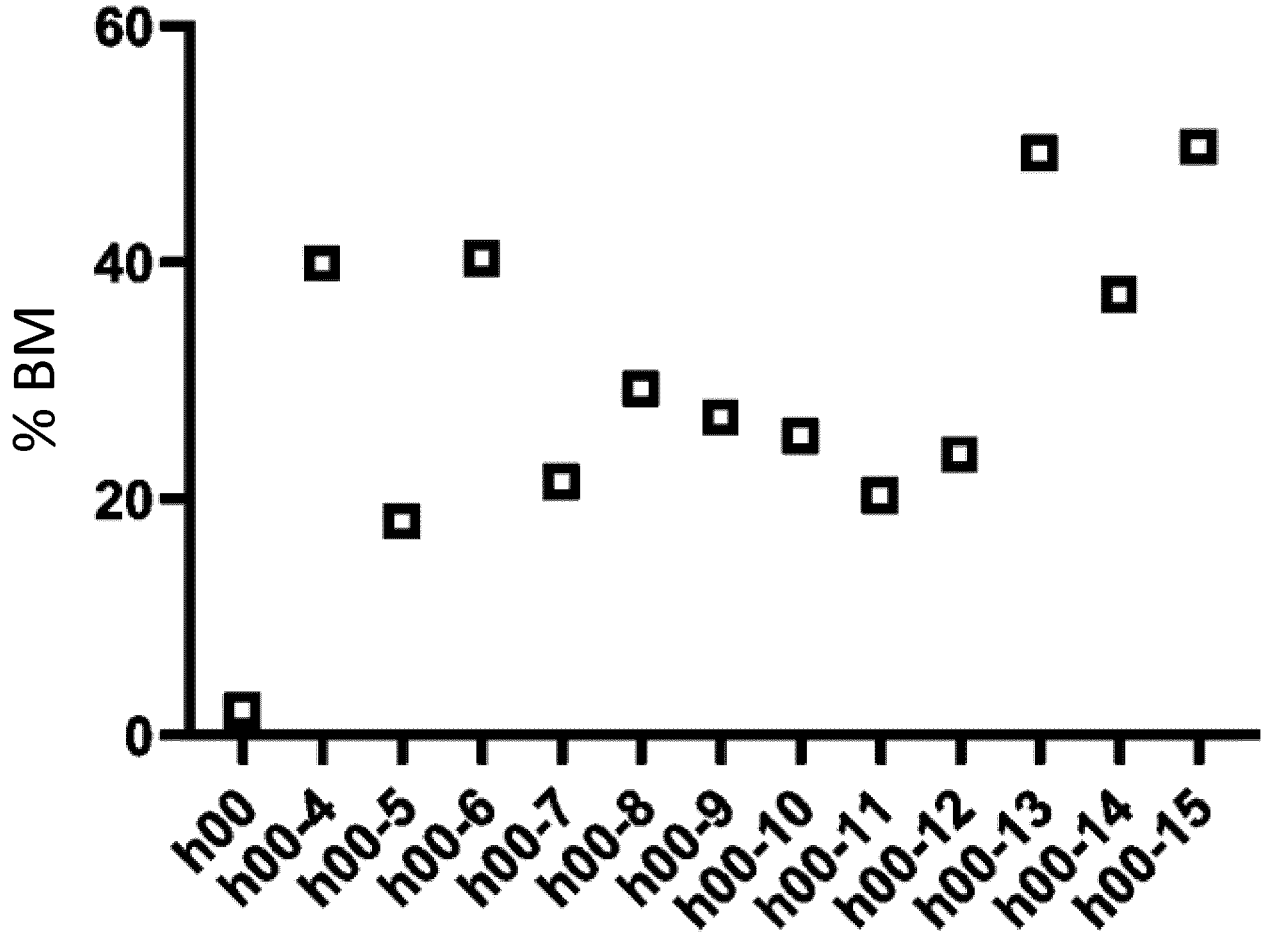
Фиг. 7A

Агрегация ненацеленных ADC после инкубации в плазме крыс в течение 96 ч



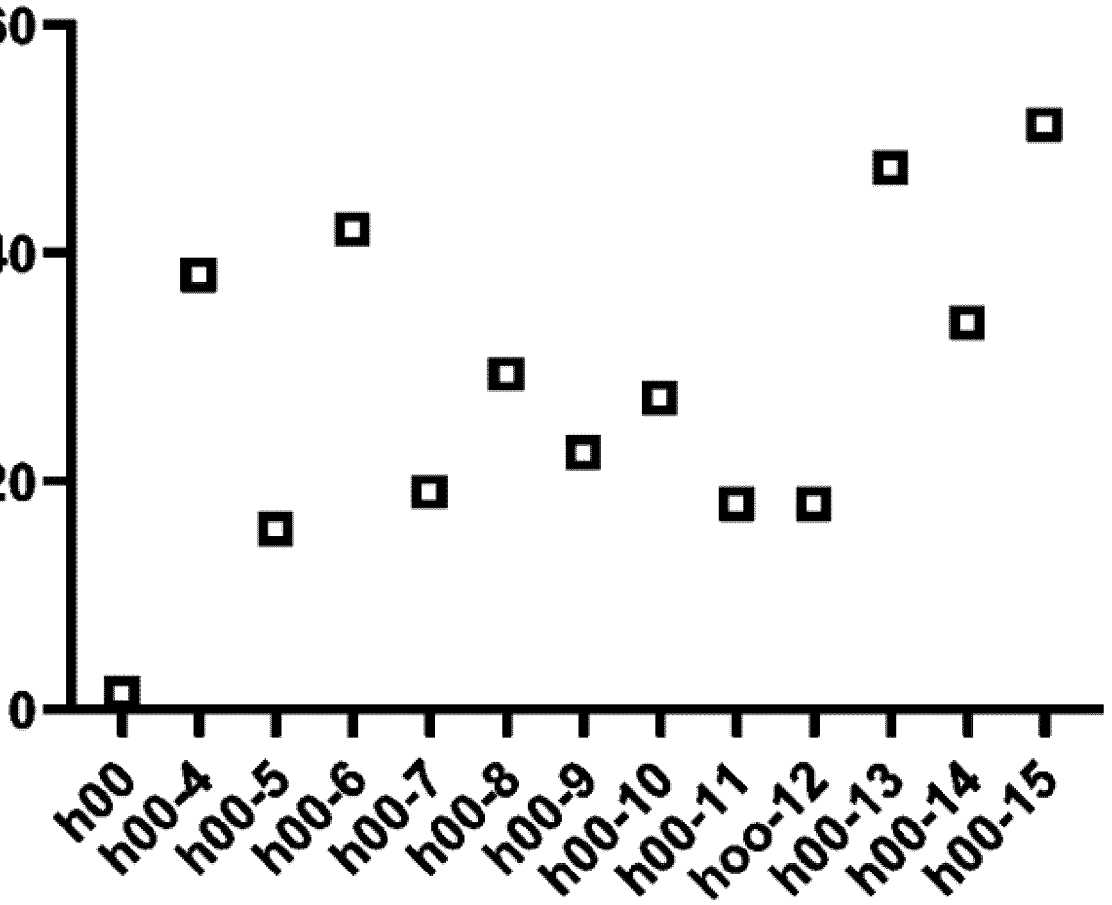
Фиг. 7В

Агрегация ненацеленных ADC после инкубации в плазме яванских макаков в течение 96 ч



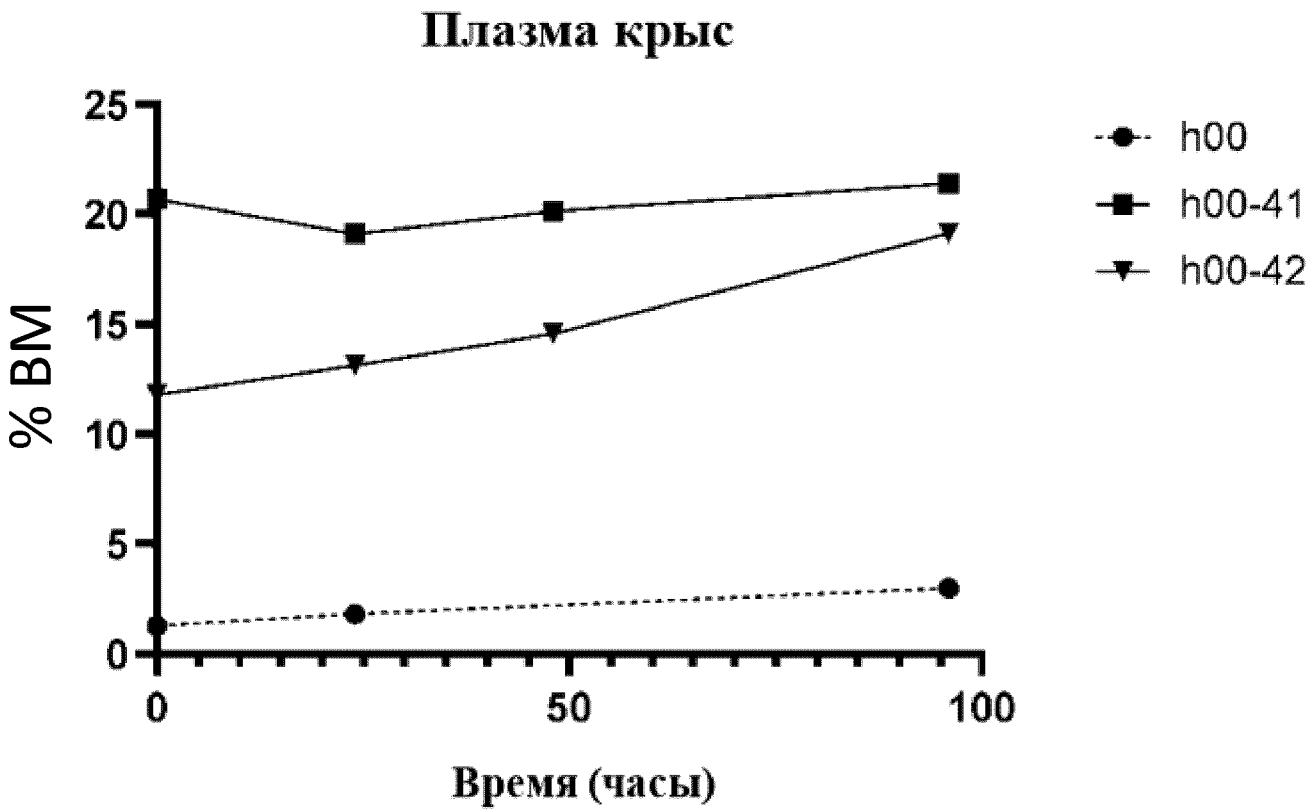
Фиг. 8

Агрегация ненацеленных ADC после инкубации в плазме человека в течение 96 ч



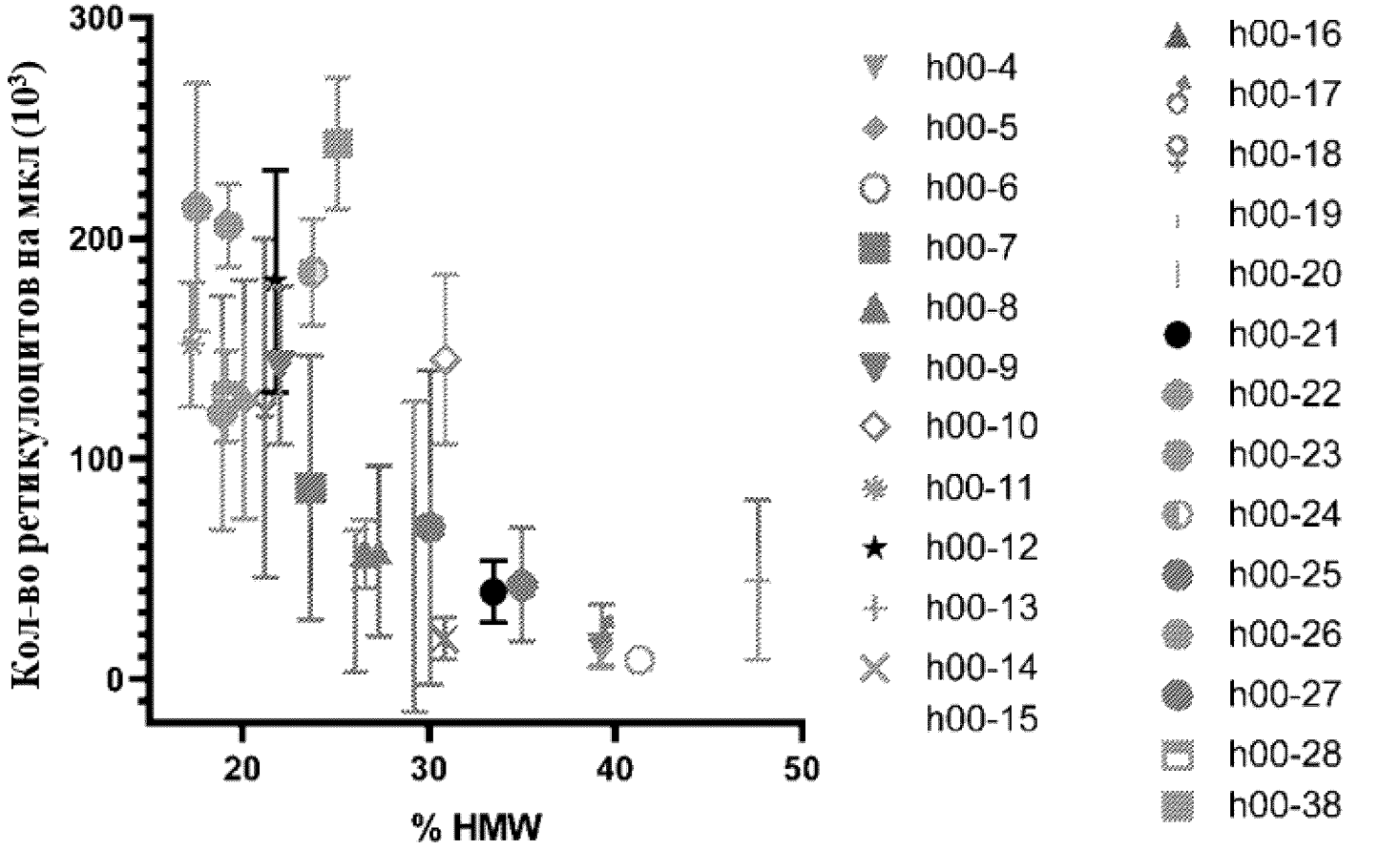
Фиг. 9

Агрегация ненацеленных ADC MMAF после инкубации в плазме крыс



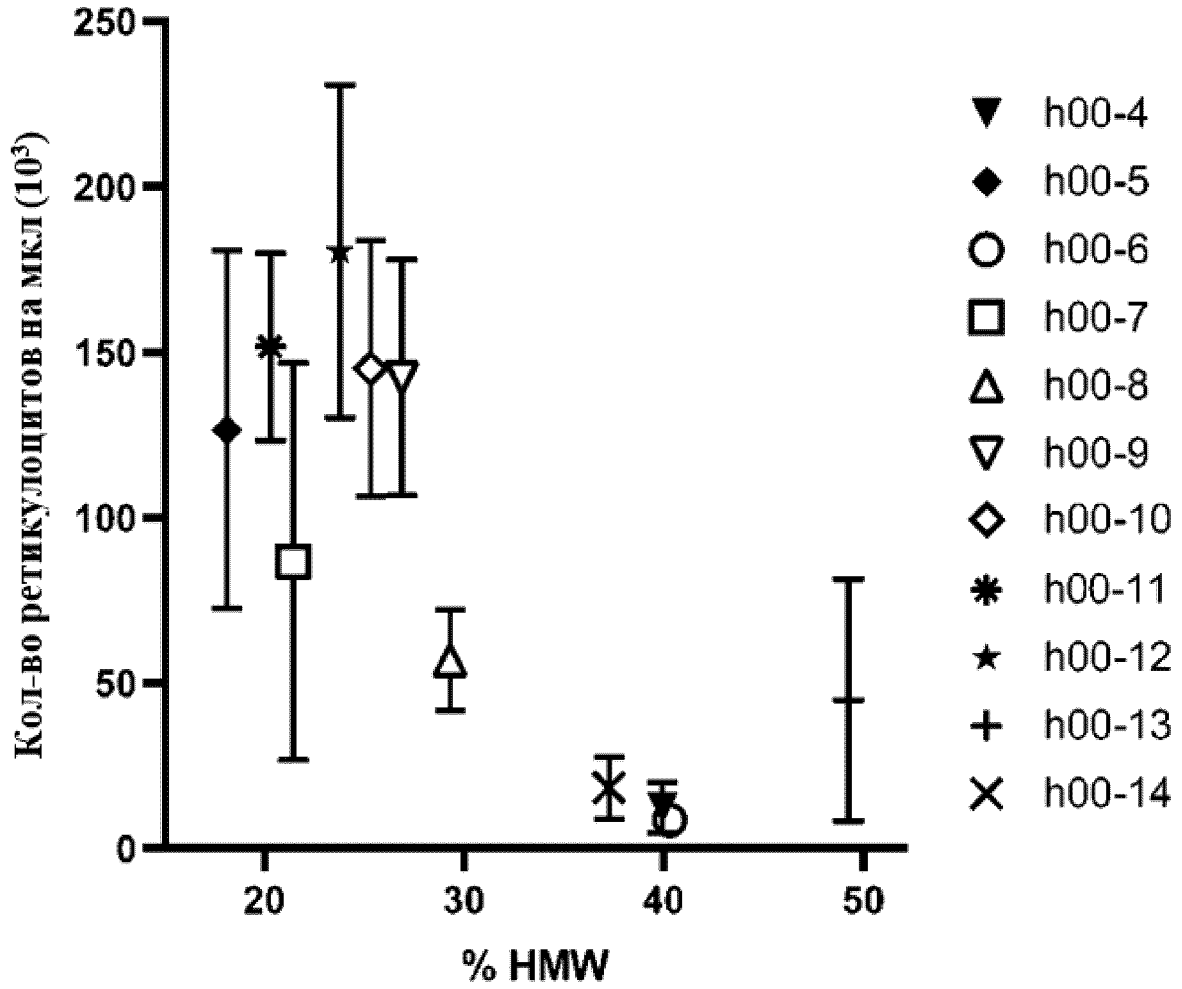
Фиг. 10

Отношение истощения ретикулоцитов ненацеленными ADC у крыс и агрегации ADC в плазме крыс после 96 ч инкубации



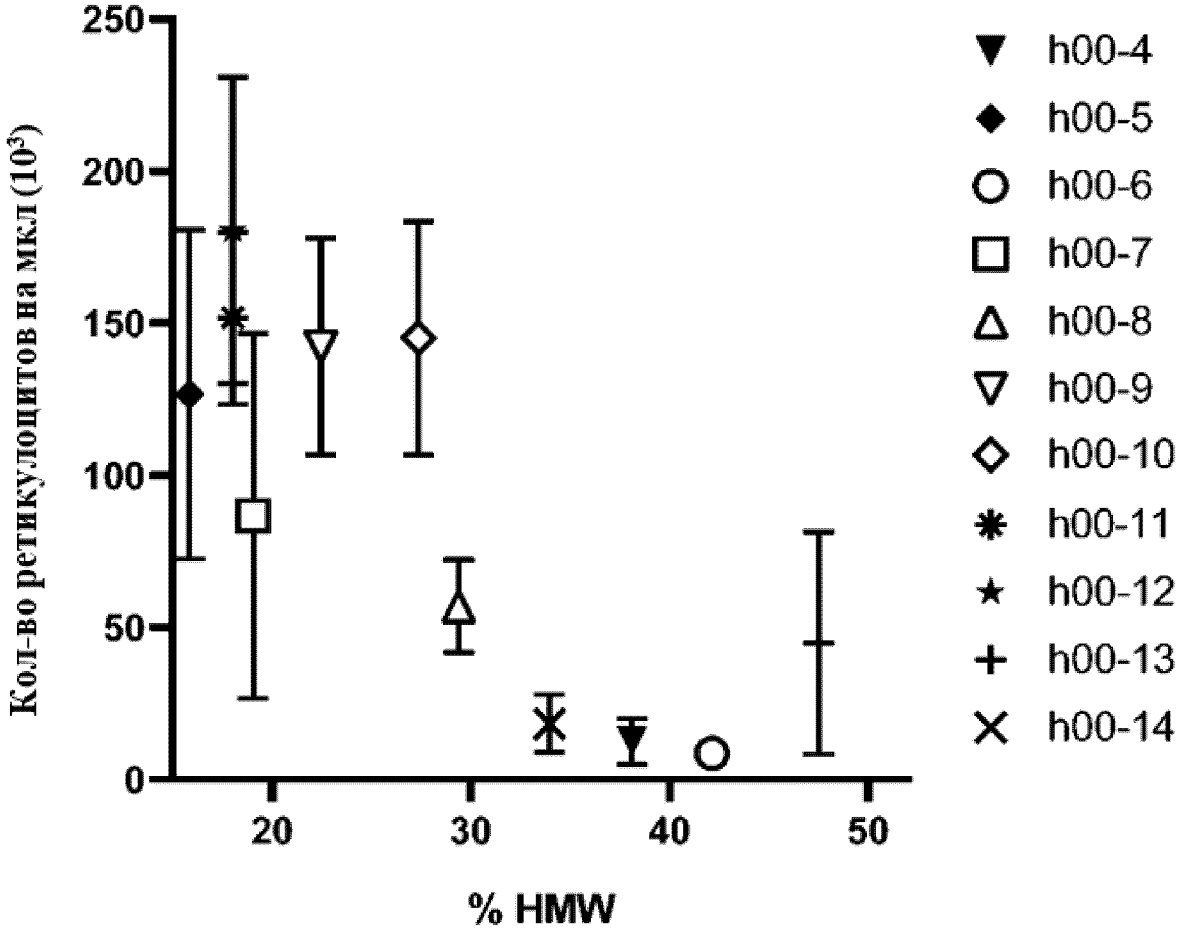
Фиг. 11

Отношение истощения ретикулоцитов ненацеленными ADC у крыс и агрегации ADC в плазме яванских макаков после 96 ч инкубации



Фиг. 12

Отношение истощения ретикулоцитов ненацеленными ADC у крыс и агрегации ADC в плазме человека после 96 ч инкубации



Фиг. 13

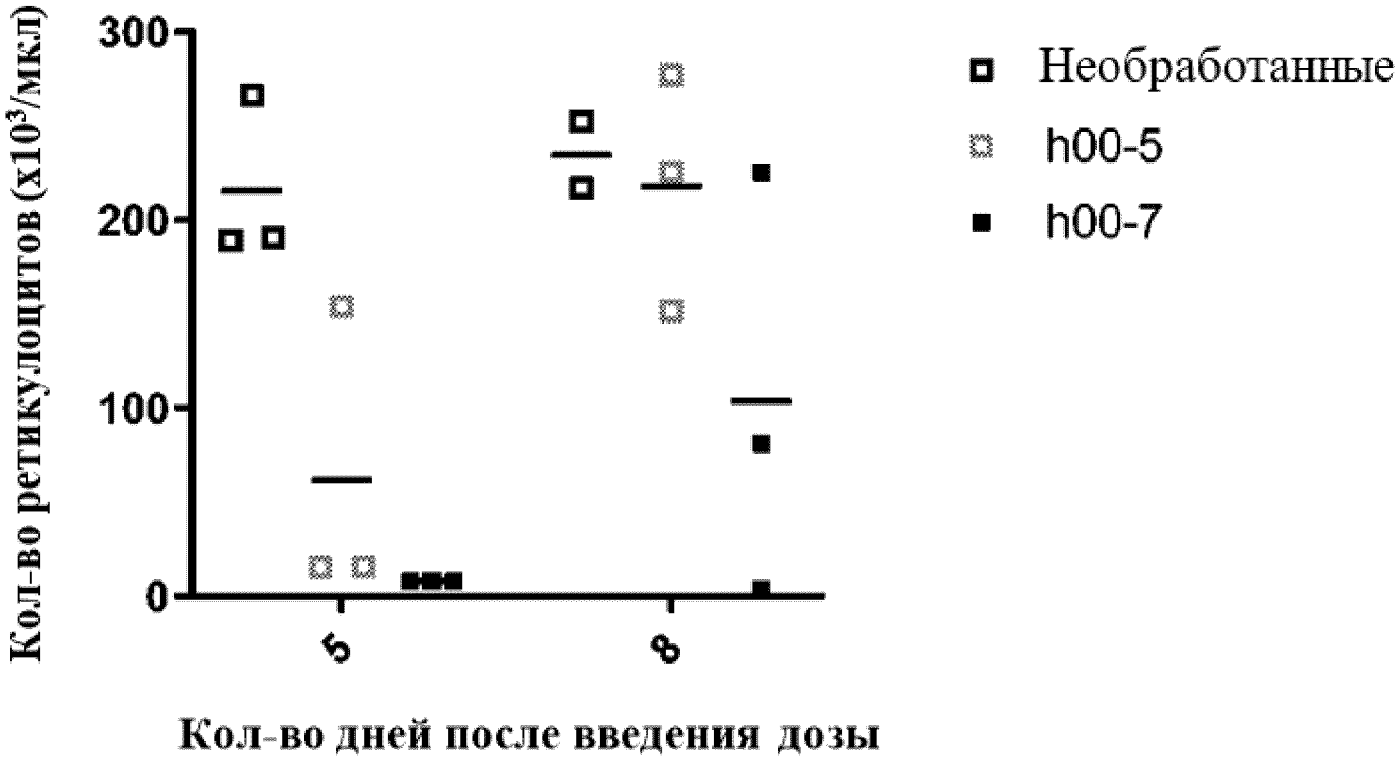
Концентрация антитела во внеклеточном компартменте костного мозга крыс, которым вводили ненацеленные ADC

Фиг. 14

Количество свободного MMAE костном мозге крыс, которым вводили ненацеленные ADC

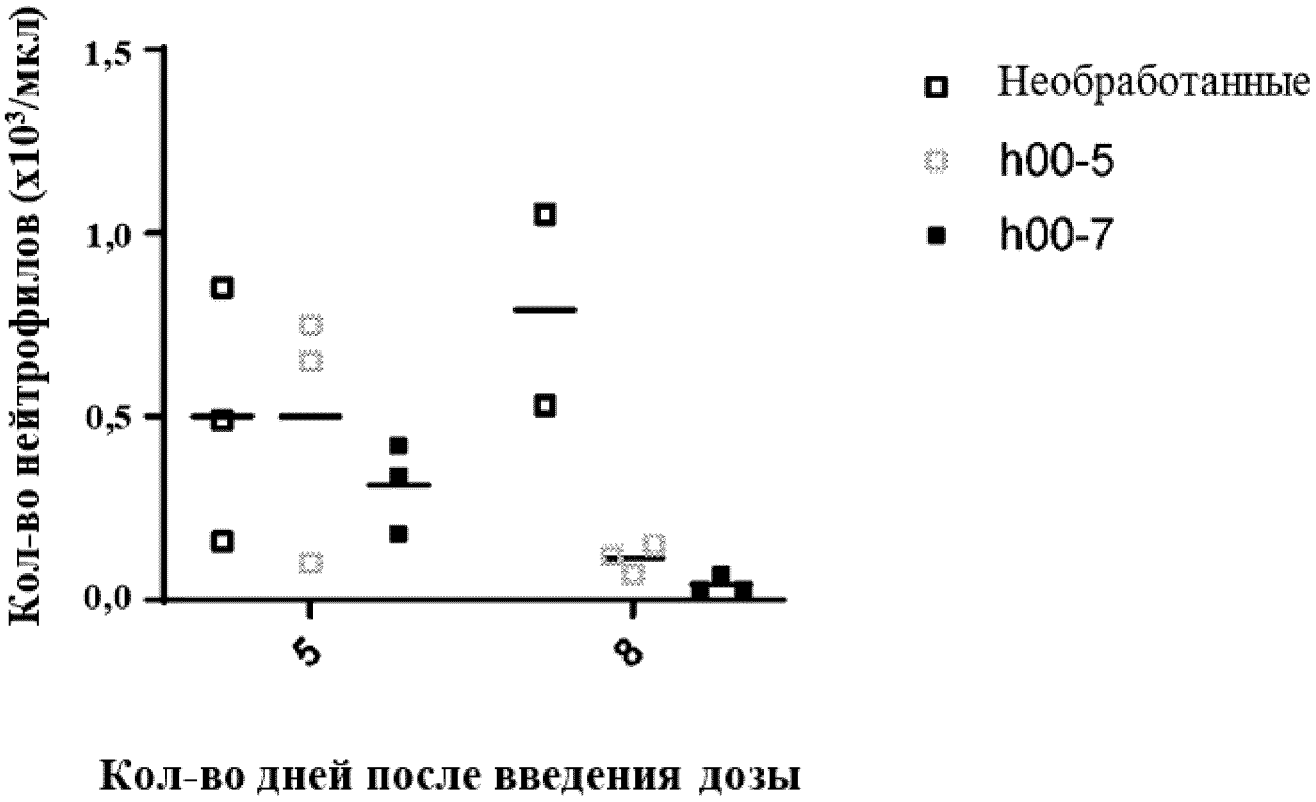
Фиг. 15

Истощение ретикулоцитов ненацеленными трипептидными ADC после введения крысам при 20 мг/кг



Фиг. 16

Истощение нейтрофилов ненацеленными трипептидными ADC после введения крысам при 20 мг/кг



Фиг. 17

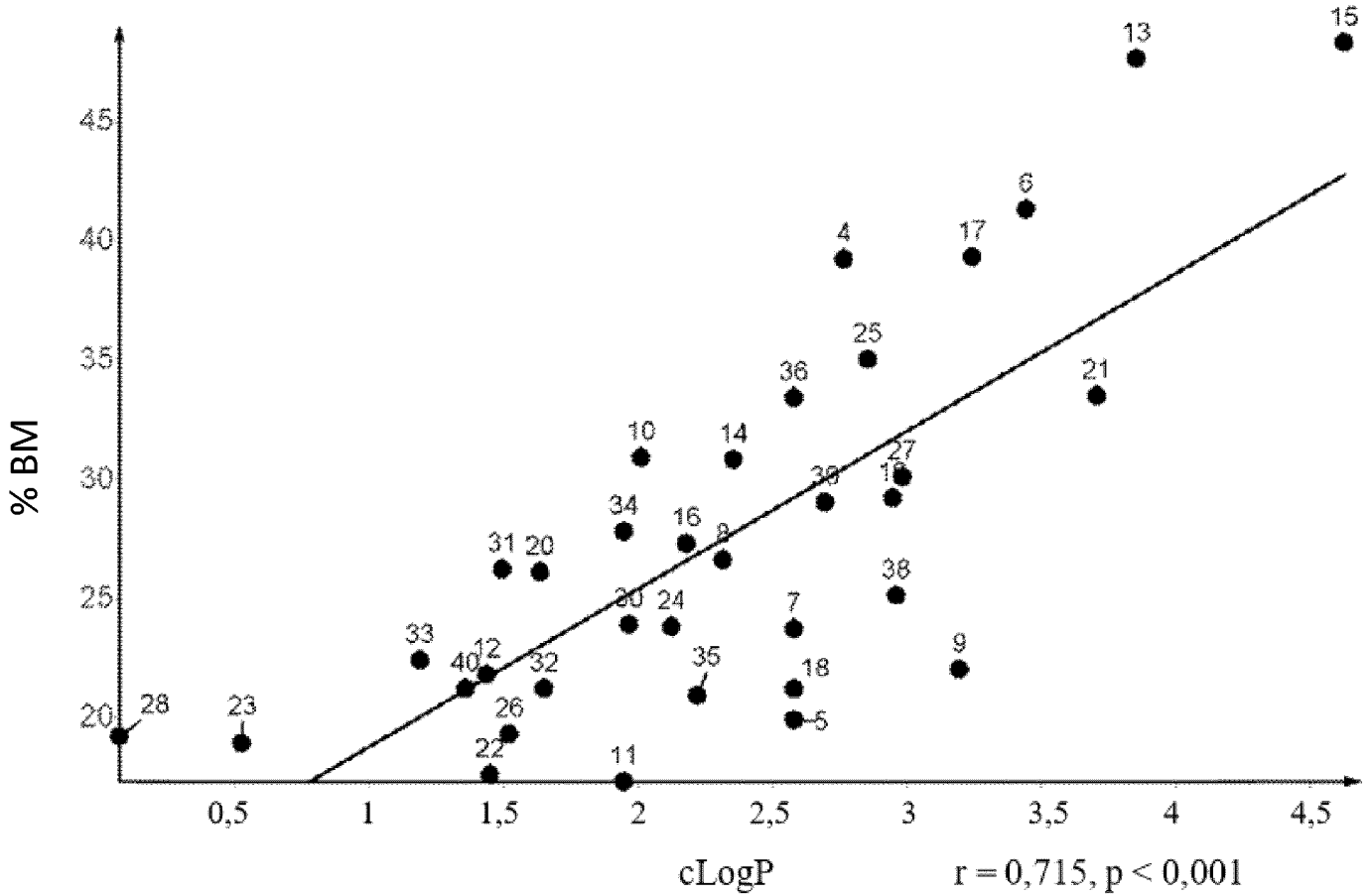
Гистология костной ткани после введения ненацеленных трипептидных ADC крысам при 20 мг/кг

		h00-5						h00-7					
ТКАНЬ	**День после введения дозы**	5	5	5	8	8	8	5	5	5	8	8	8
	№ животного	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
КОСТНЫЙ МОЗГ, БЕДРО, истощение		3	3	3	1	2	-	4	4	4	3	2	1
КОСТНЫЙ МОЗГ, ГРУДИНА, истощение		3	3	3	-	2	NE	4	4	4	3	2	-

Фиг. 18

Фиг. 19

Корреляция между cLogP линкеров и агрегацией соответствующего конъюгата h00 в плазме крыс после 96 ч инкубации (выраженная как % ВМ = % высокомолекулярных фракций)

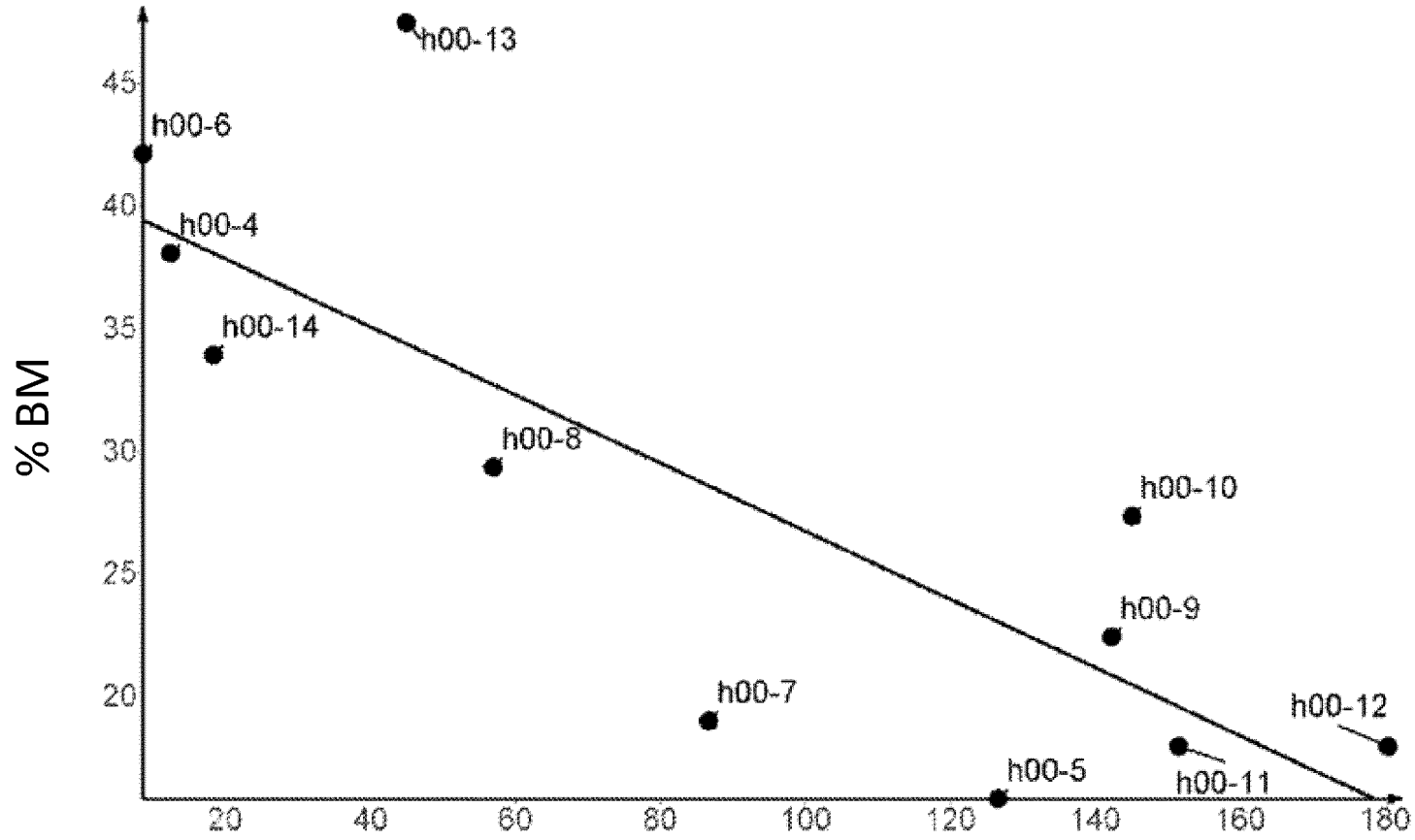


Фиг. 20

Корреляция между истощением ретикулоцитов, вызванным ненацеленными ADC у крыс, и агрегацией ADC в плазме крысы после 96 ч инкубации (выраженной как % BM = % высокомолекулярных фракций)

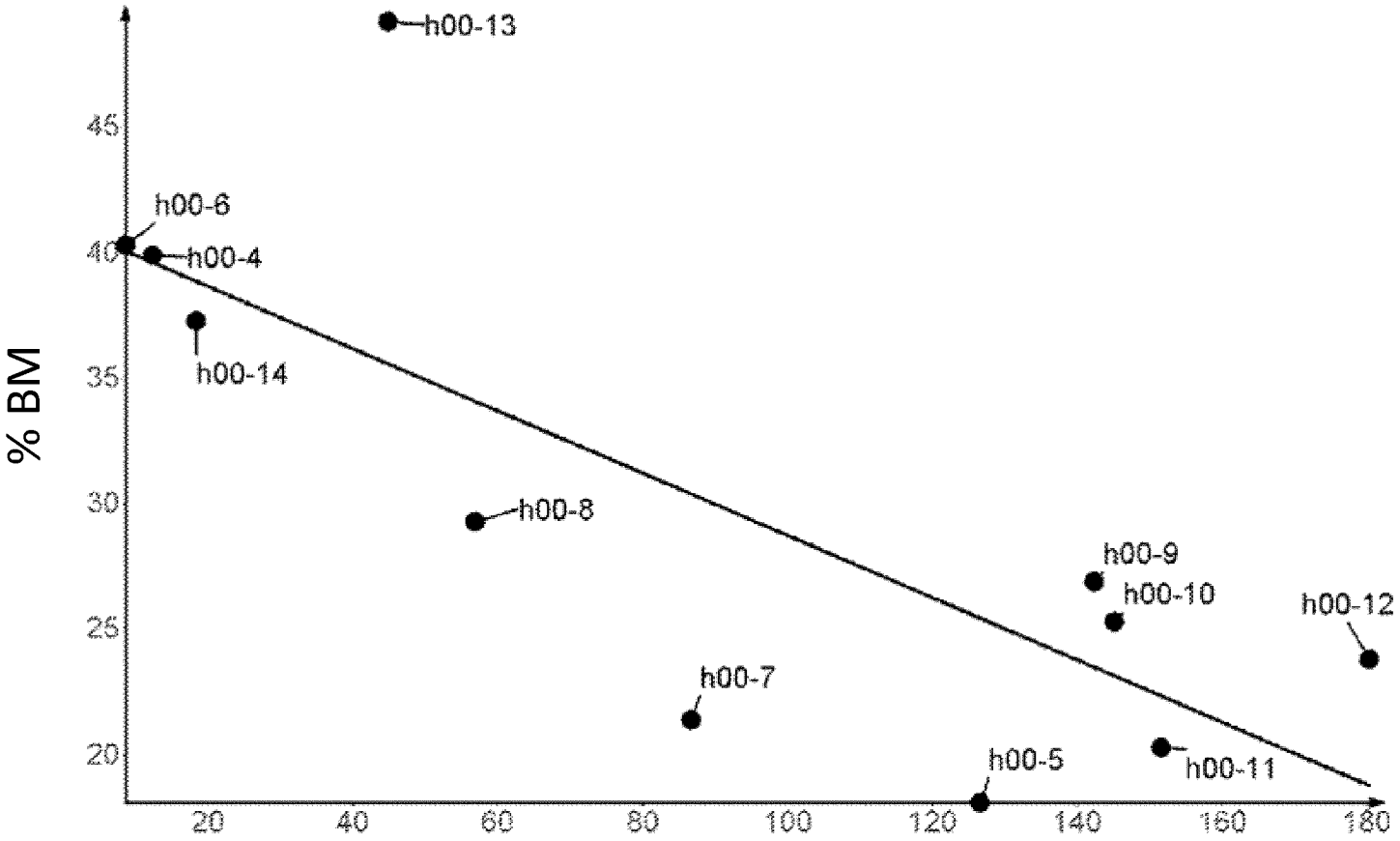
Кол-во ретикулоцитов на мкл (10^3) $r = -0,748$, $p < 0,001$

Корреляция между истощением ретикулоцитов, вызванным ненацеленными ADC у крыс, и агрегацией ADC в плазме человека после 96 ч инкубации (выраженной как % BM = % высокомолекулярных фракций)



Фиг. 21

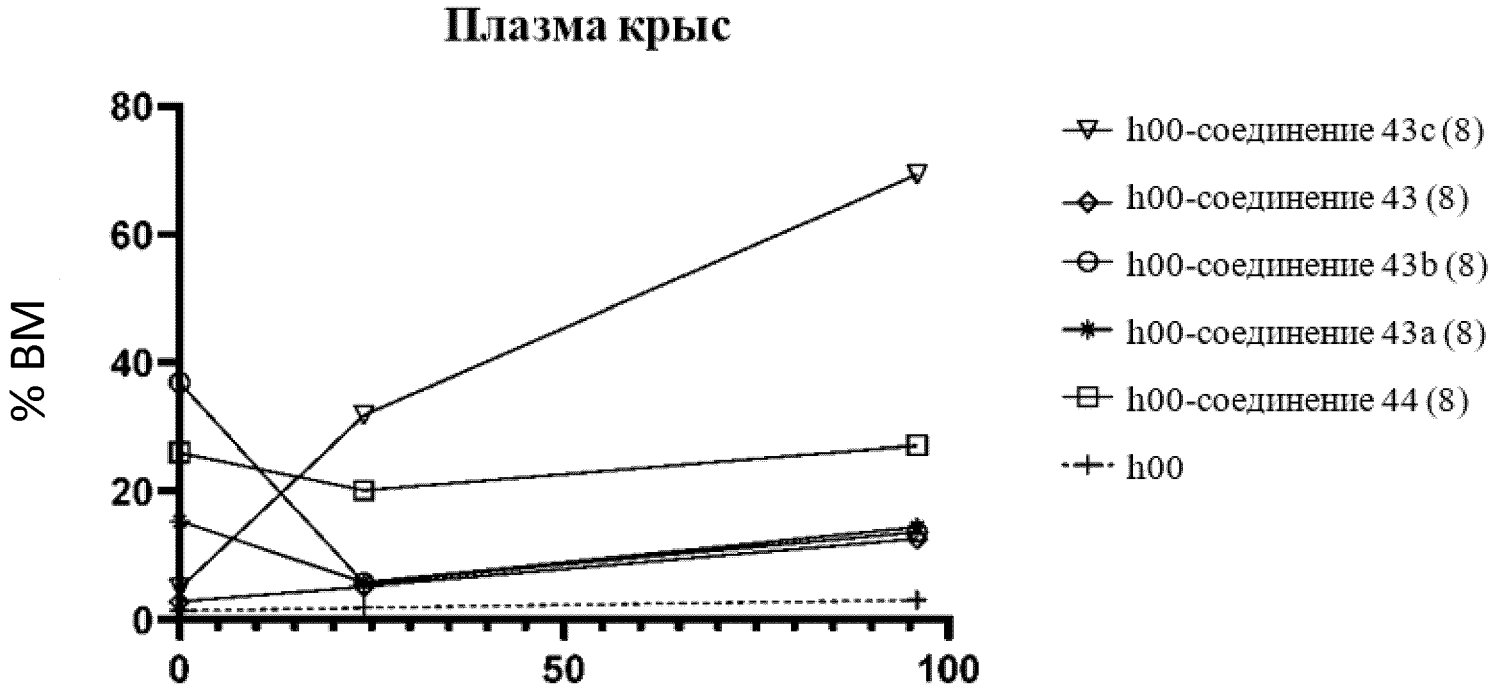
Корреляция между истощением ретикулоцитов, вызванным ненацеленными ADC у крыс, и агрегацией ADC в плазме яванского макака после 96 ч инкубации (выраженной как % BM = % высокомолекулярных фракций)



Кол-во ретикулоцитов на мкл (10^3) r = -0,755, p = 0,010

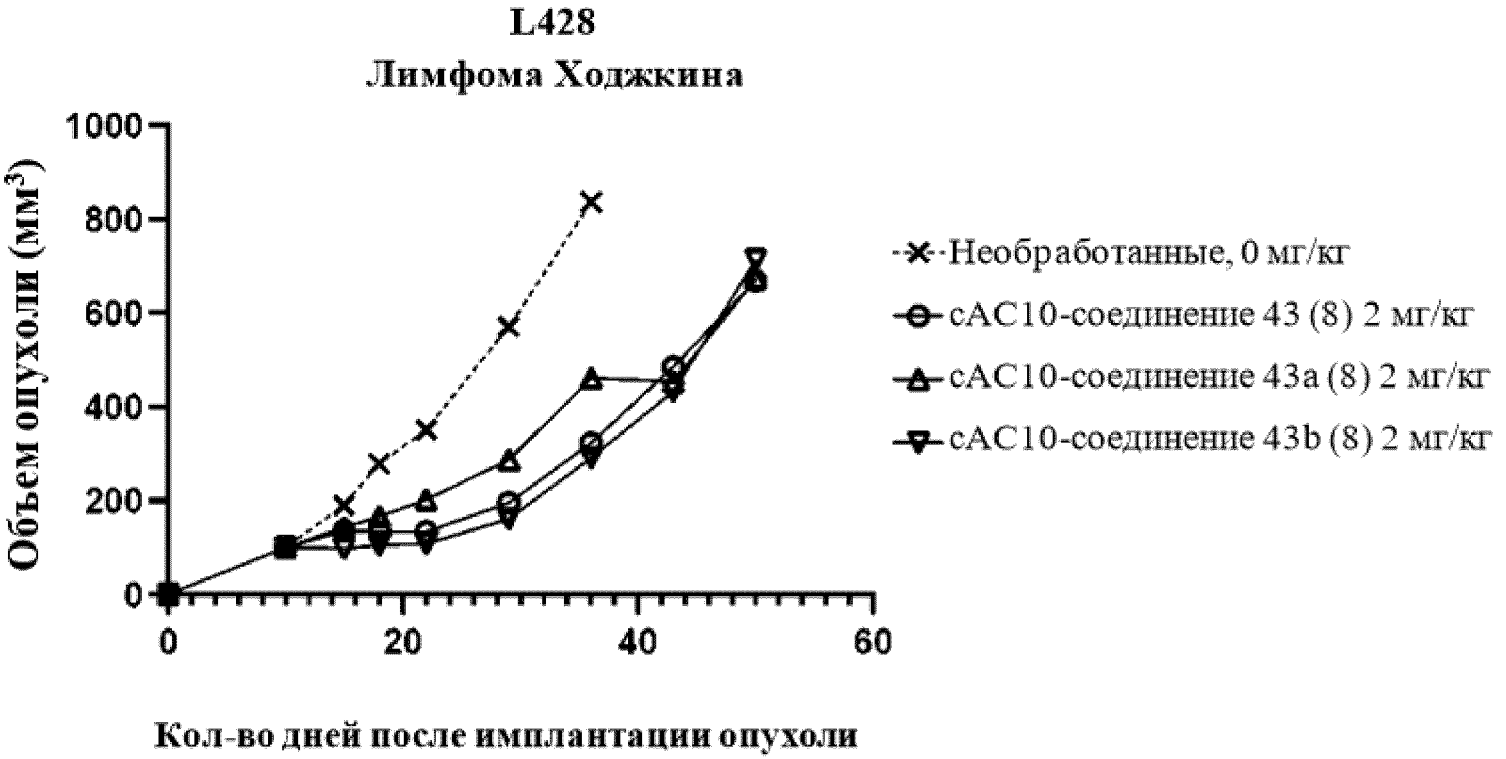
Фиг. 22

Агрегация в плазме выбранных ADC в течение времени - (% BM = % высокомолекулярных фракций)



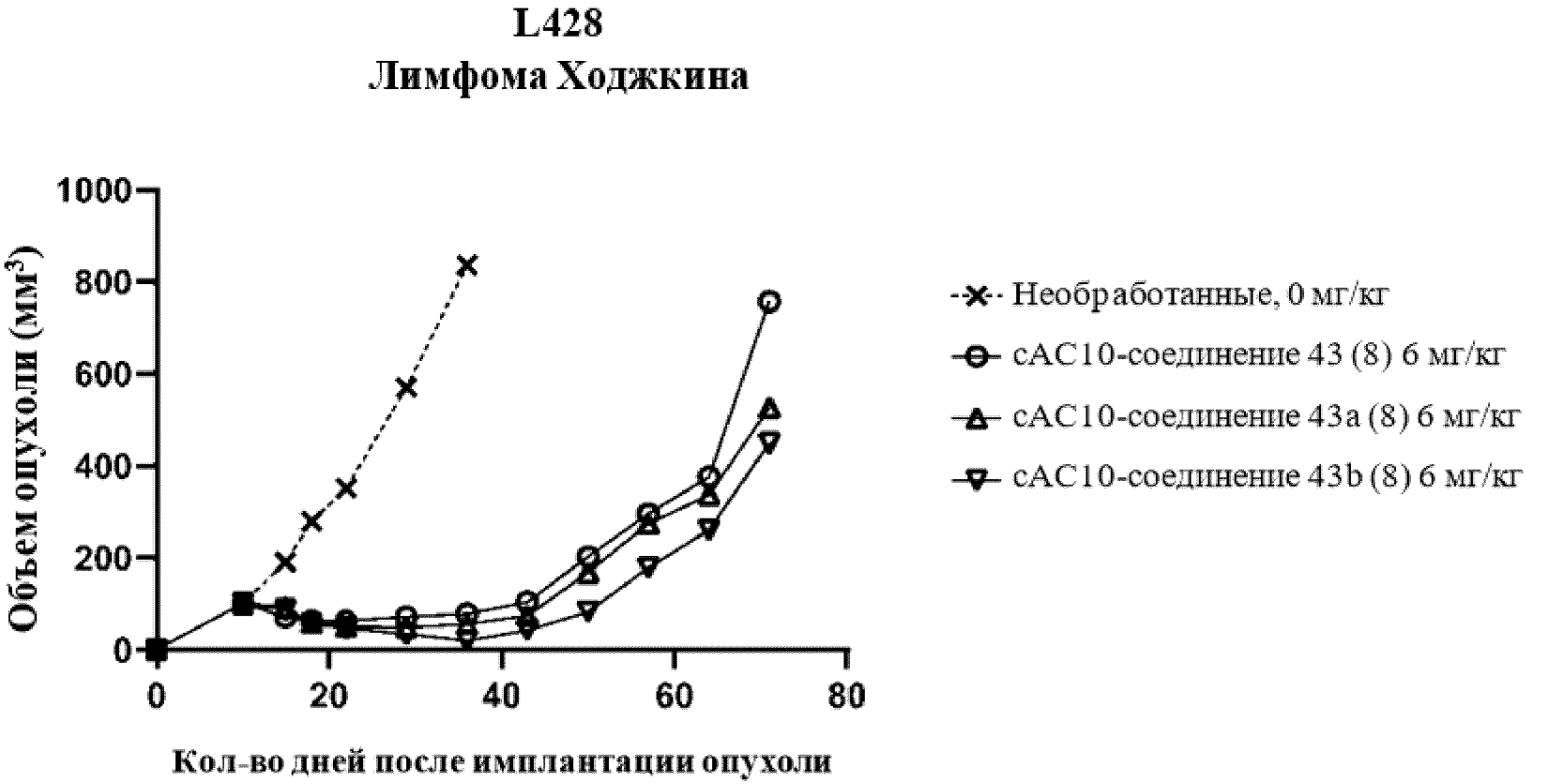
Фиг. 23

Размер опухоли после обработки ADC (одна доза в 10 дней, 2 мг/кг)



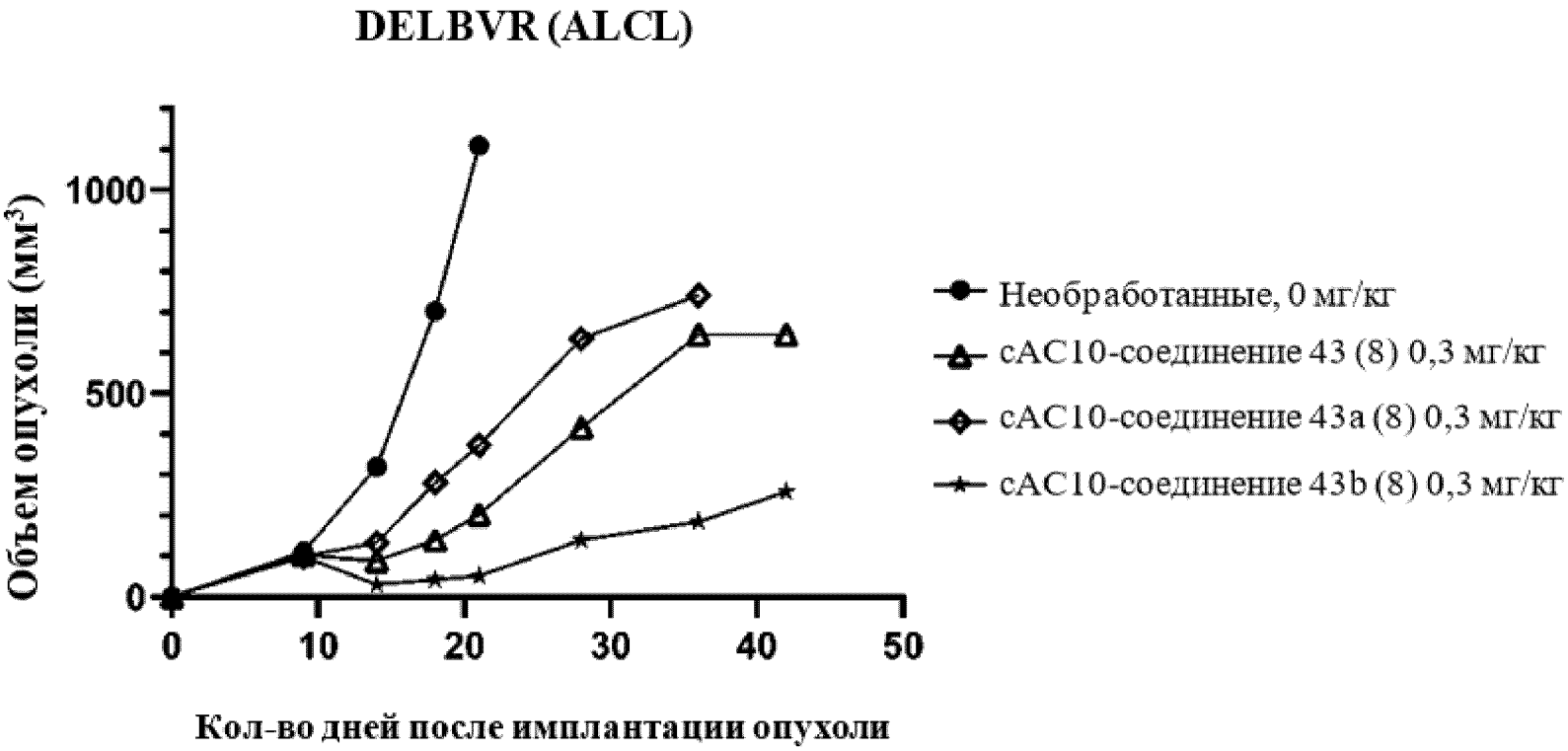
Фиг. 24A

Размер опухоли после обработки ADC (одна доза в 10 дней, 6 мг/кг)



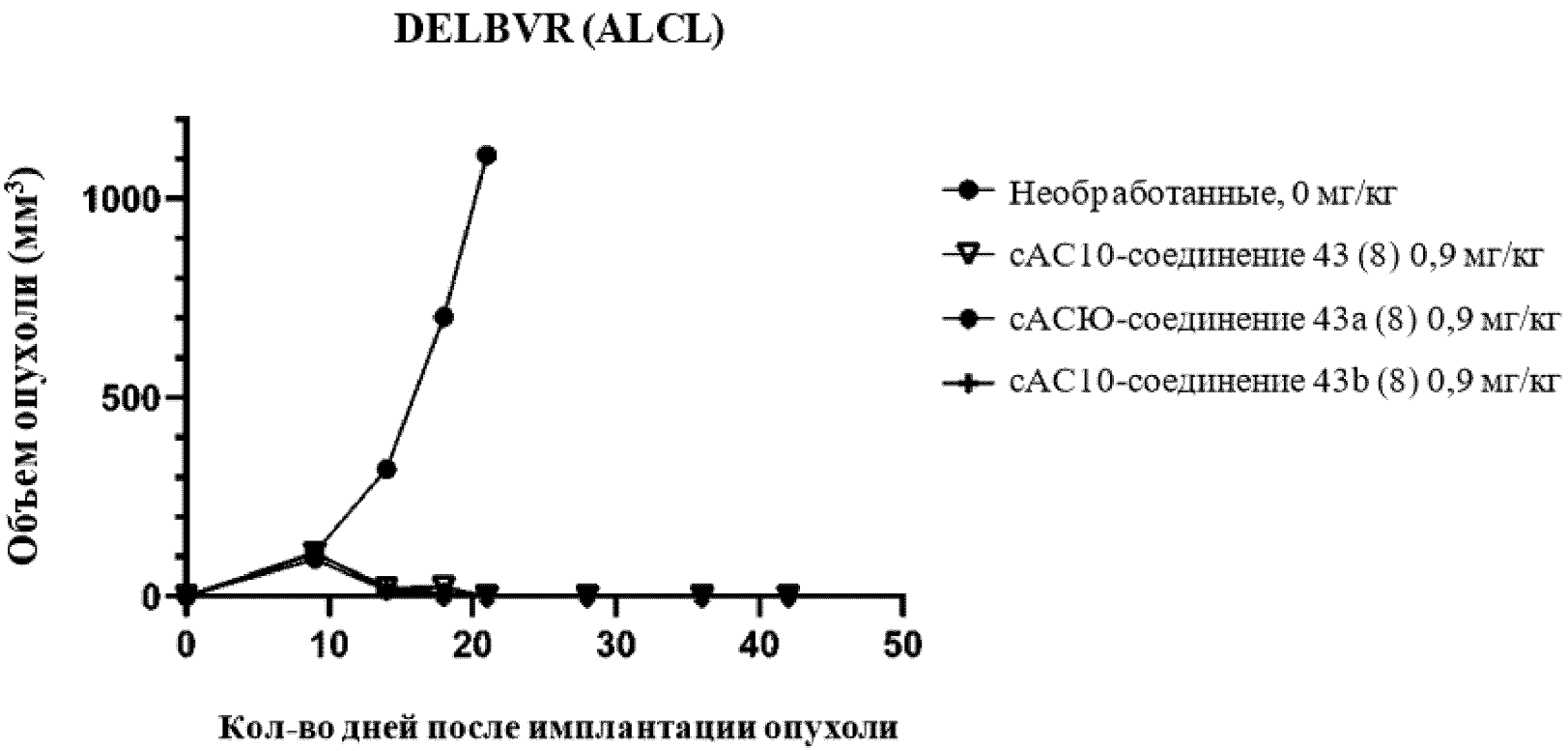
Фиг. 24B

Размер опухоли после обработки ADC (одна доза в 9 дней, 0,3 мг/кг)



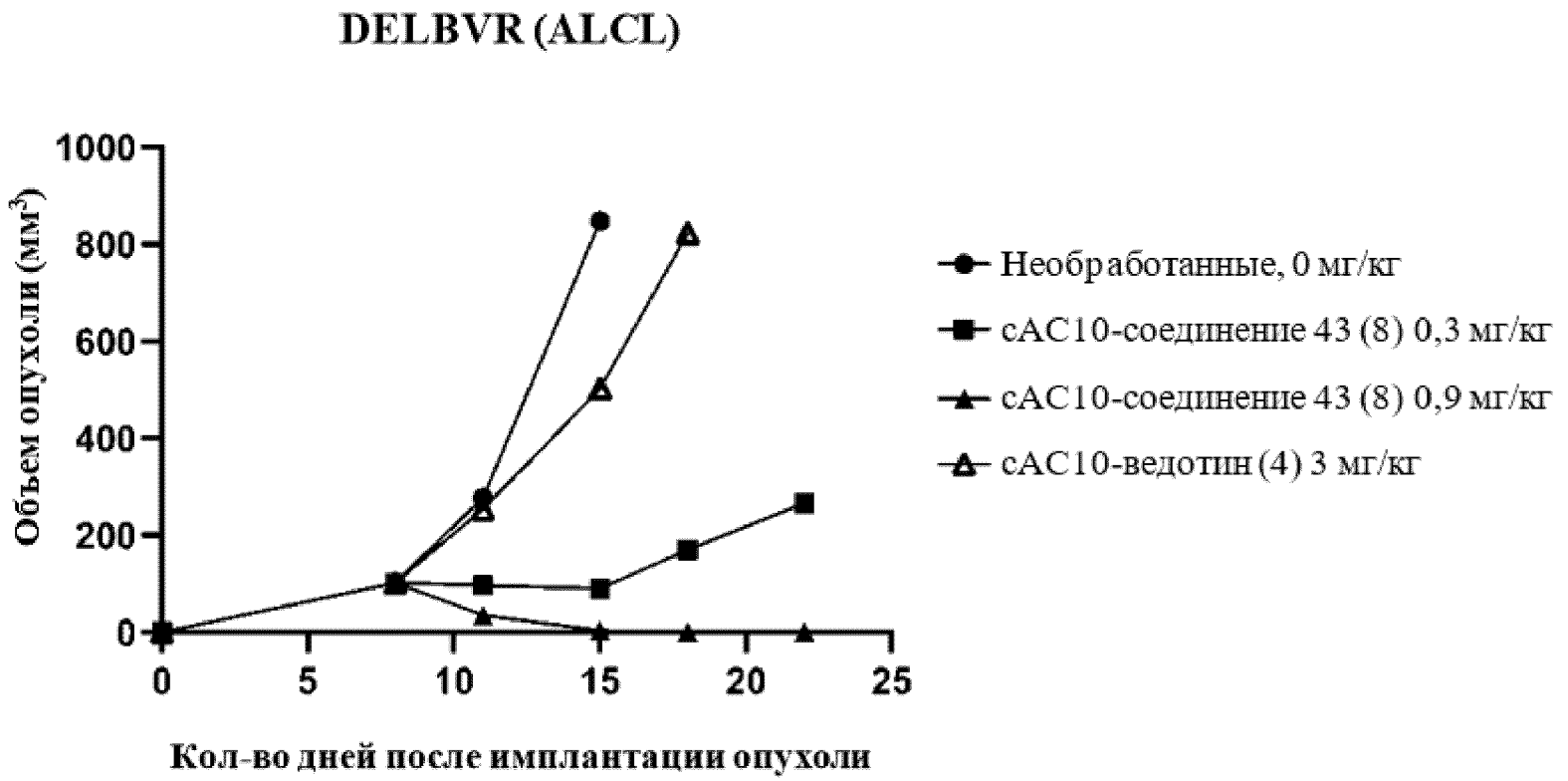
Фиг. 25A

Размер опухоли после обработки ADC (одна доза в 9 дней, 0,9 мг/кг)



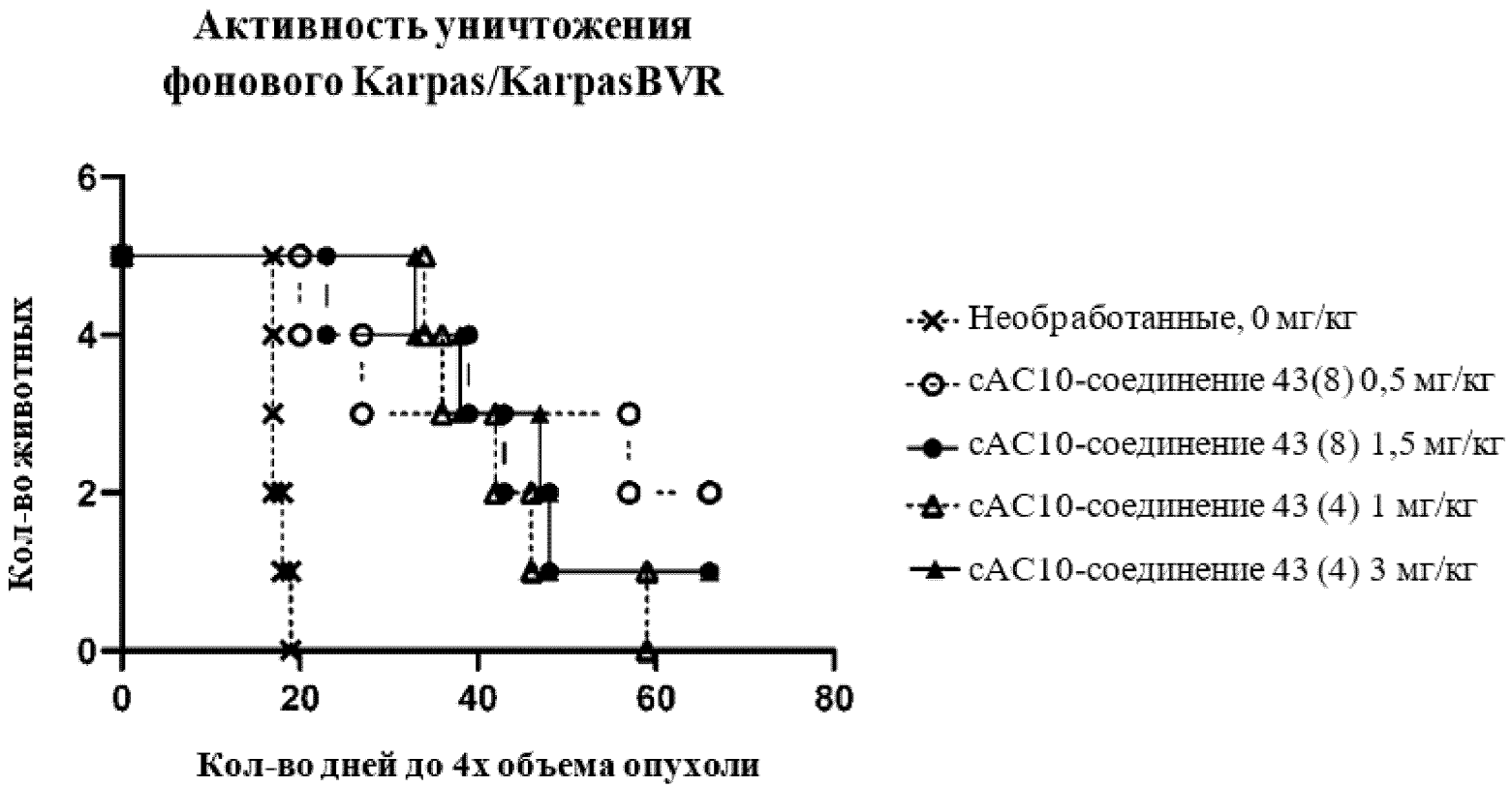
Фиг. 25B

Размер опухоли после обработки ADC (одна доза в 9 дней)



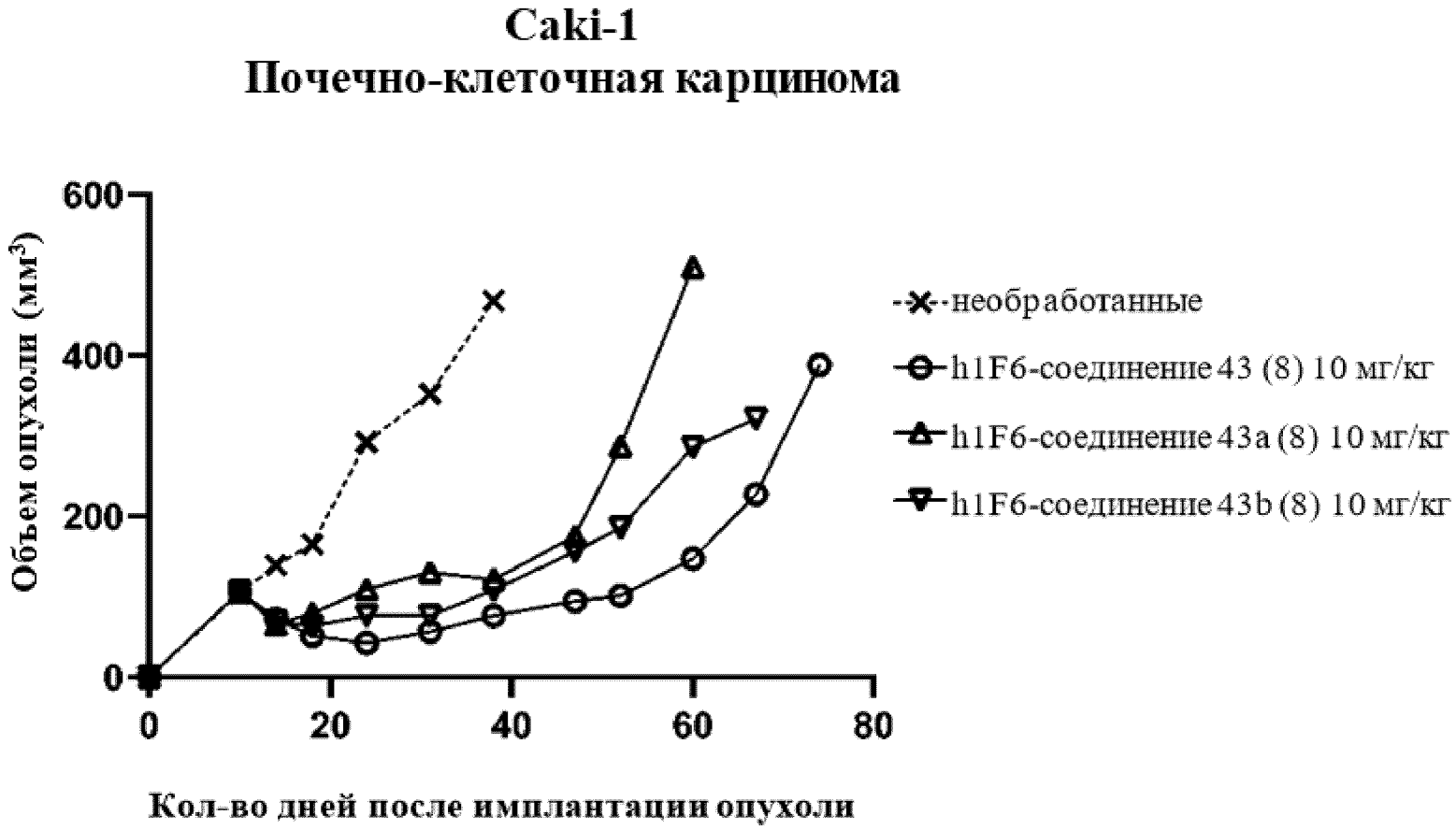
Фиг. 25C

Выживаемость после обработки ADC (одна доза в 5 дней)



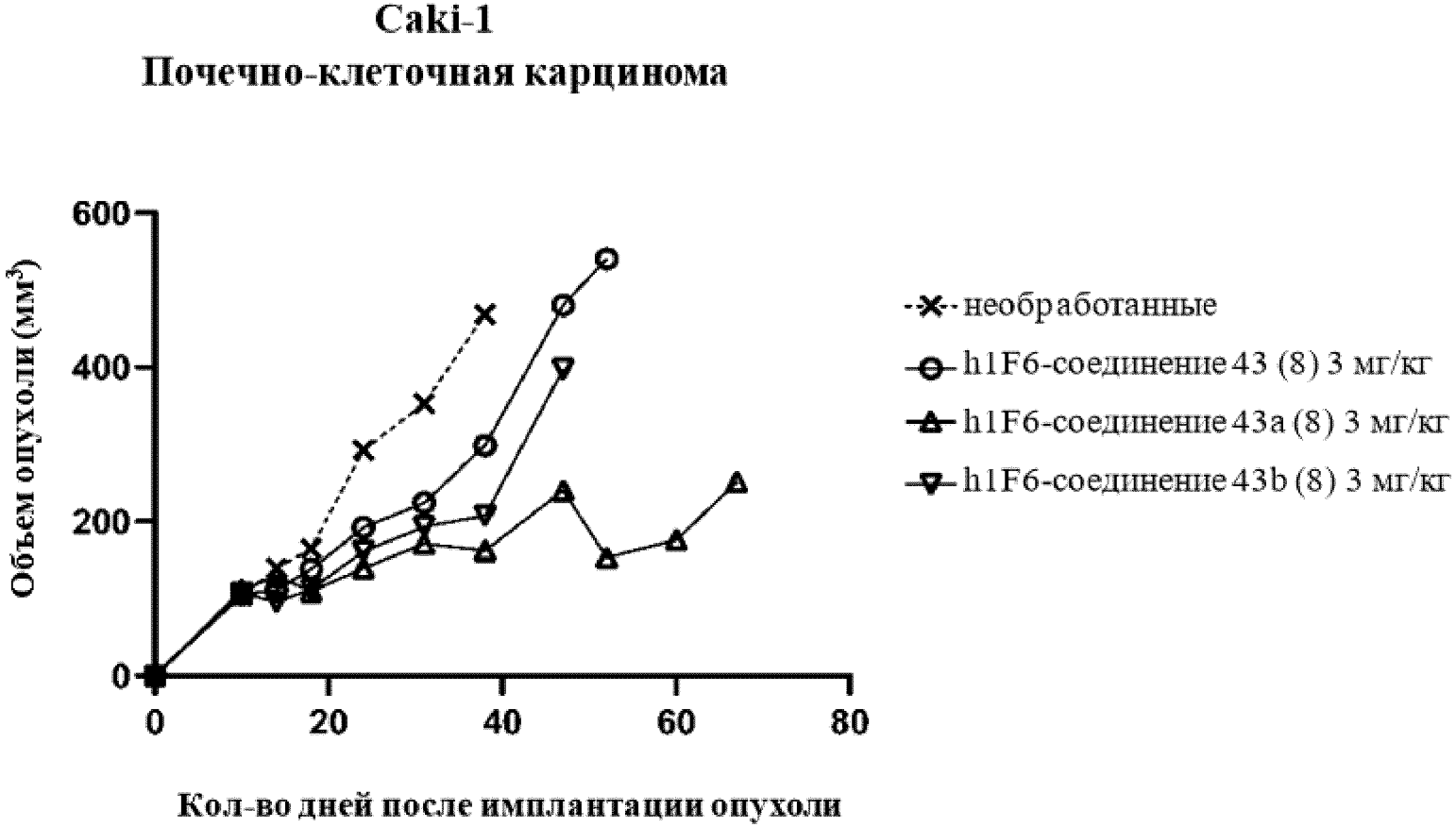
Фиг. 26

Размер опухоли после обработки ADC (одна доза в 10 дней, 10 мг/кг)



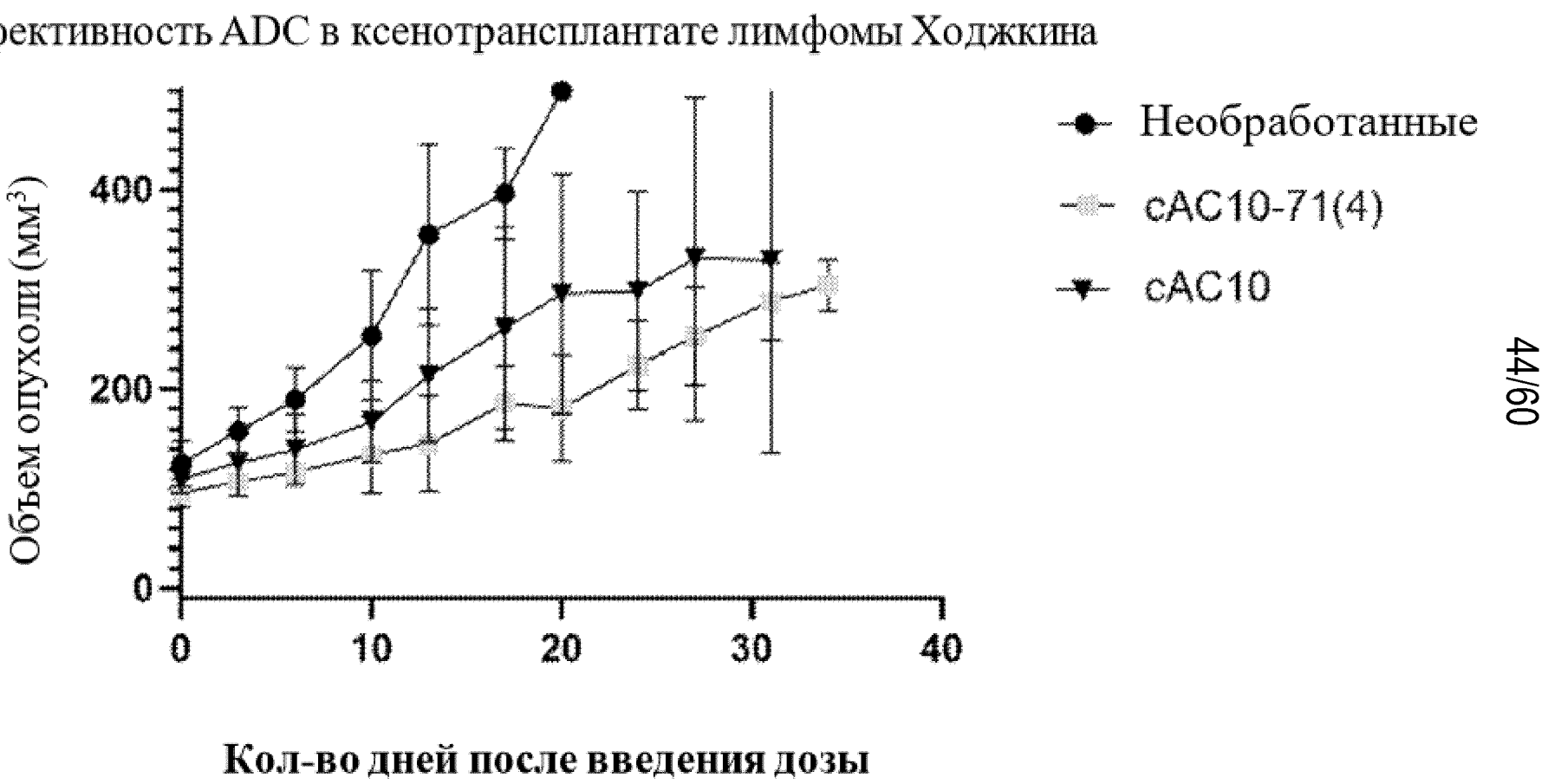
Фиг. 27A

Размер опухоли после обработки ADC (одна доза в 10 дней, 3 мг/кг)



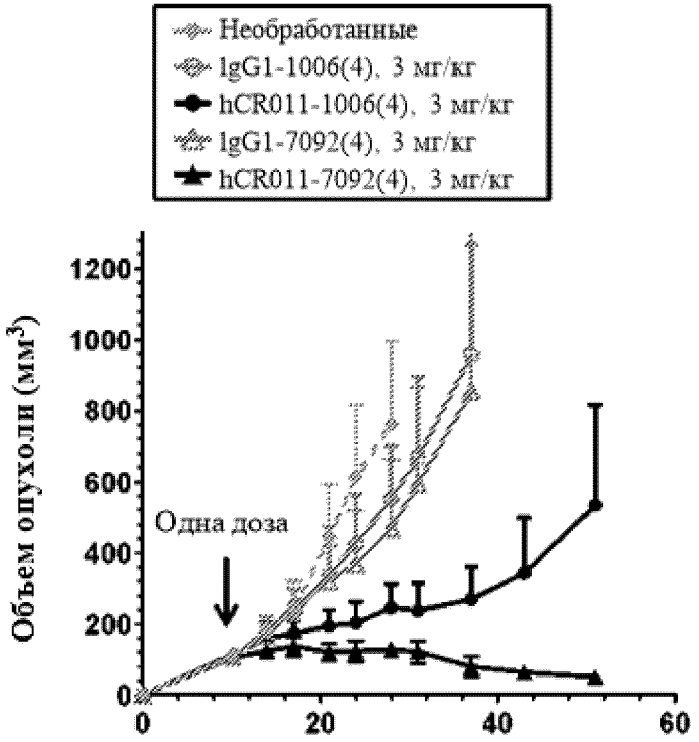
Фиг. 27B

Фиг. 28

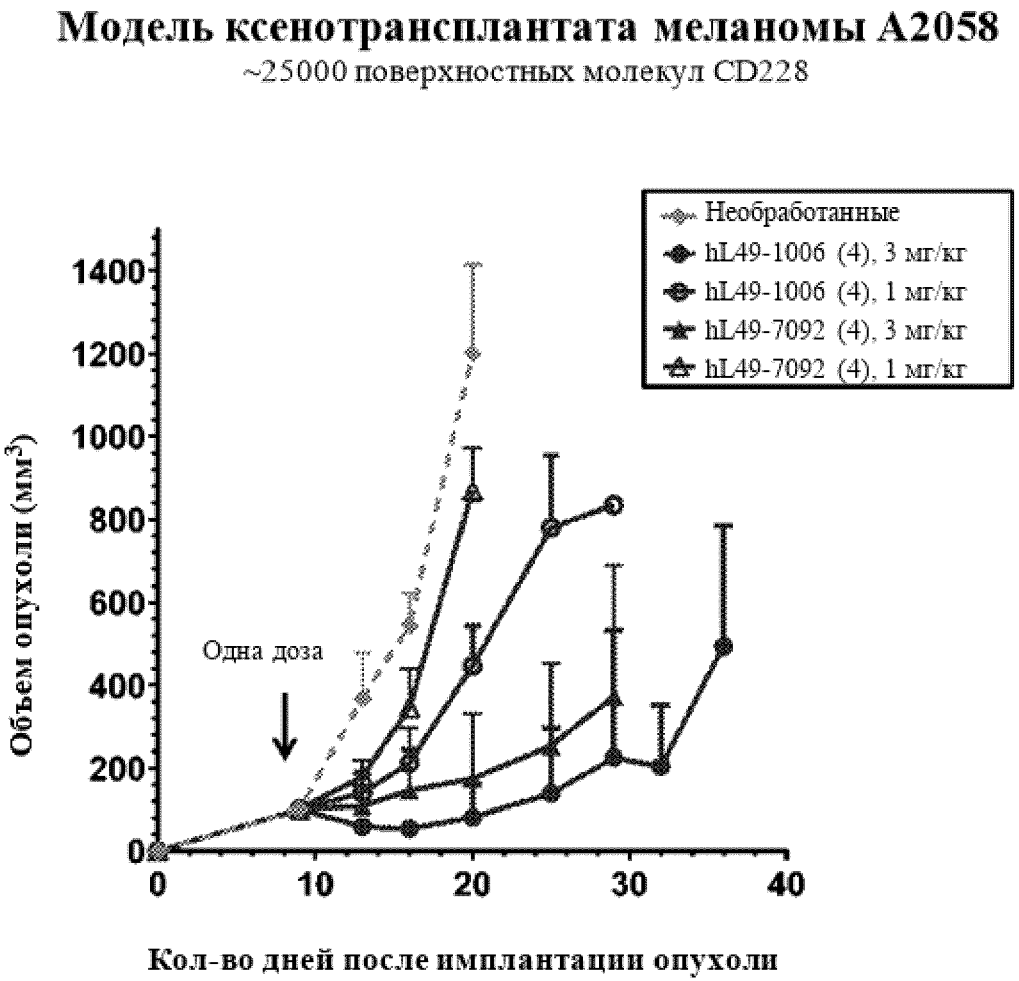

Эффективность ADC в ксенотрансплантате лимфомы Ходжкина
Объем опухоли (мм³)
400
200
0
0
10
20
30
40
Кол-во дней после введения дозы
Необработанные
cAC10-71(4)
cAC10

Модель ксенотрансплантата меланомы WM266-4

~11000 поверхностных молекул GPNMB

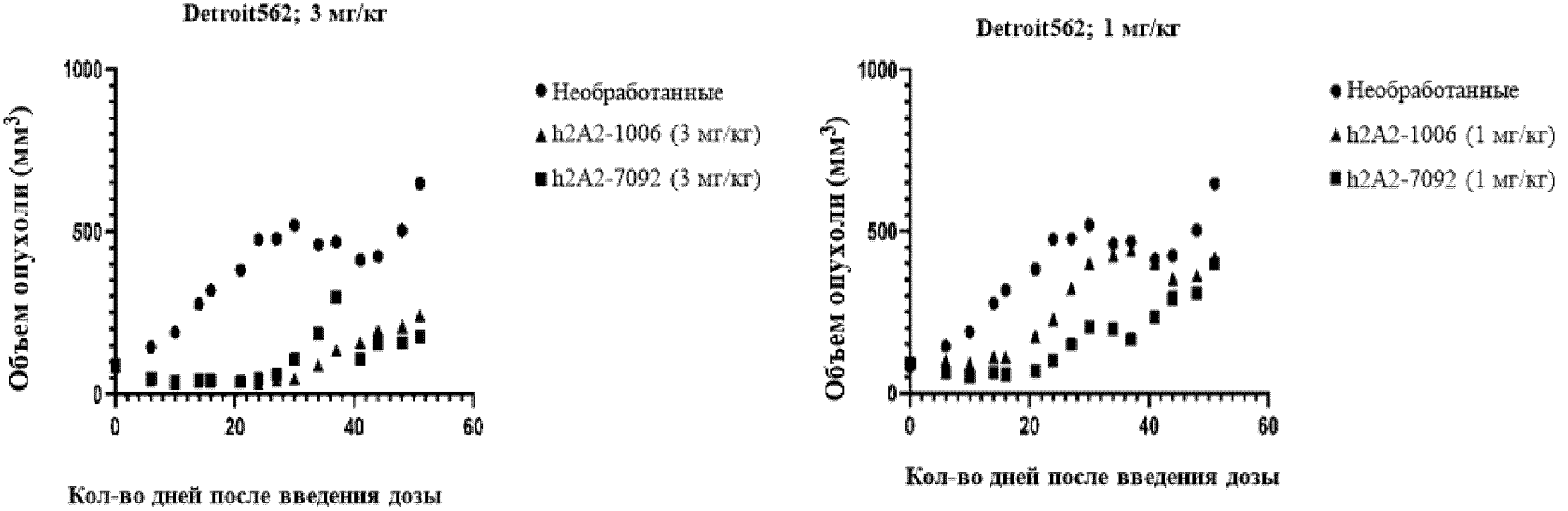


Фиг. 29


Модель ксенотрансплантата меланомы A2058
~25000 поверхностных молекул CD228
Необработанные
hL49-1006 (4), 3 мг/кг
hL49-1006 (4), 1 мг/кг
hL49-7092 (4), 3 мг/кг
hL49-7092 (4), 1 мг/кг
Объем опухоли (мм3)
1400
1200
1000
800
600
400
200
0
Одна доза
0
10
20
30
40
Кол-во дней после имплантации опухоли

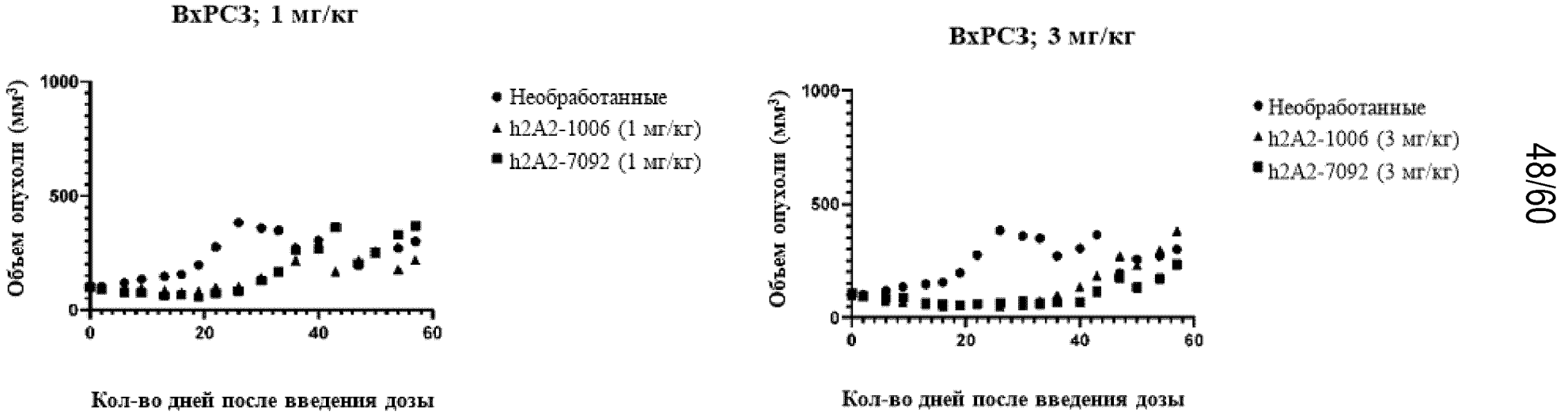
Фиг. 30

q7d3 введение



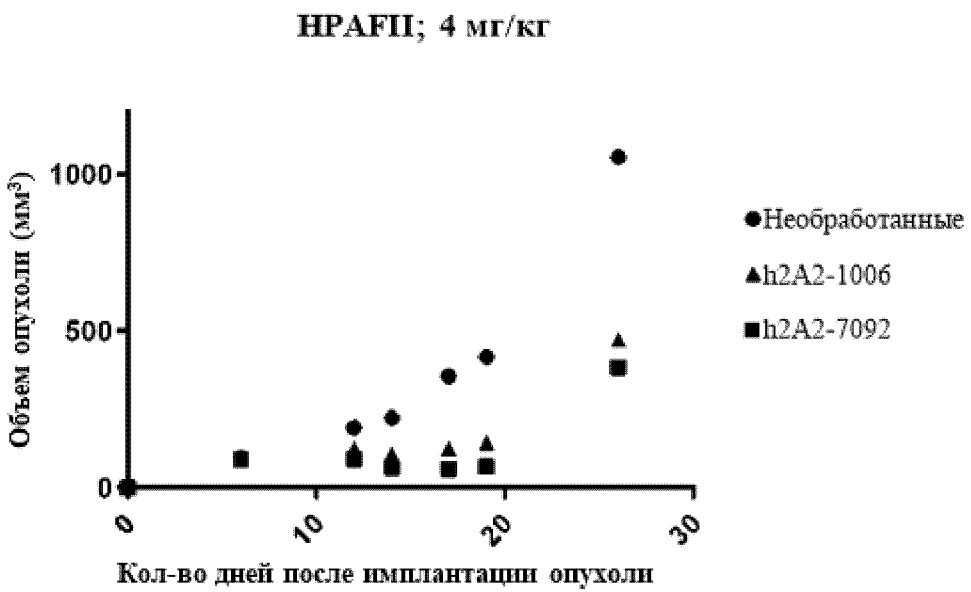
Фиг. 31

q7d3 введение

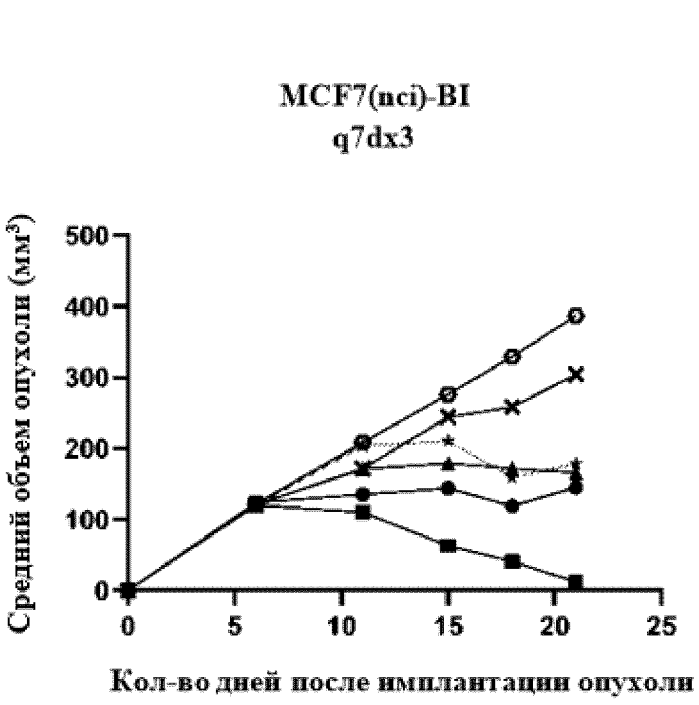


Фиг. 32

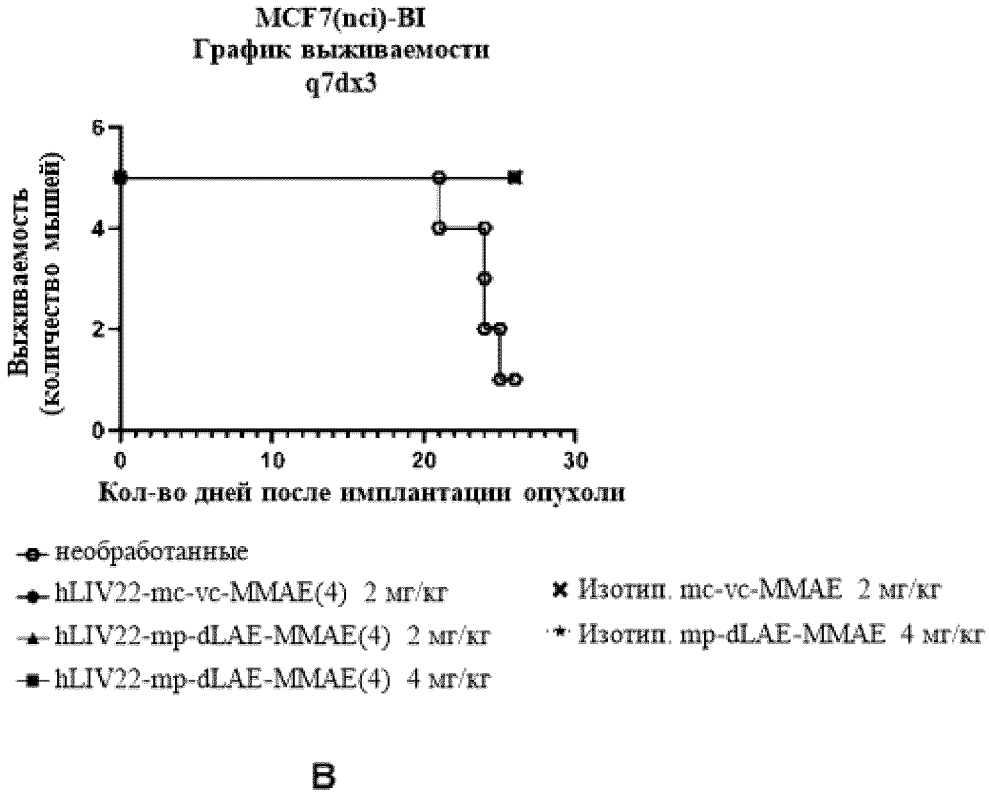
Одна доза



Фиг. 33

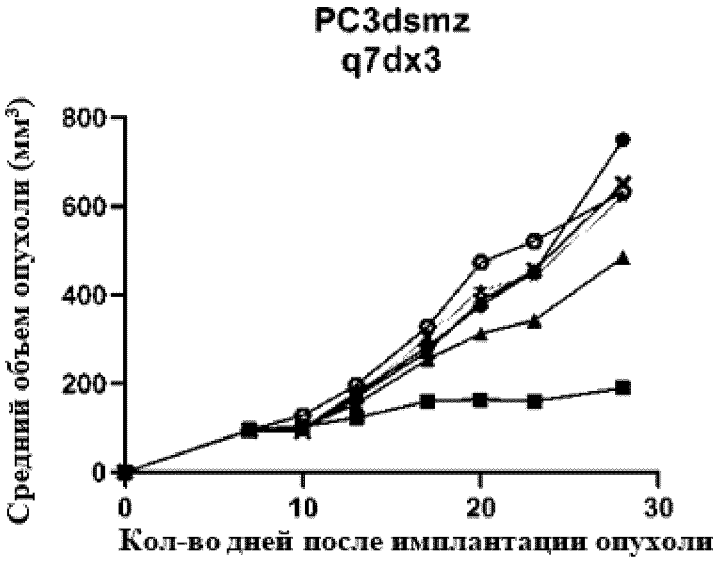

MCF7(nci)-BI
q7dx3
Средний объем опухоли (мм³)
500
400
300
200
100
0
0
5
10
15
20
25
Кол-во дней после имплантации опухоли

A

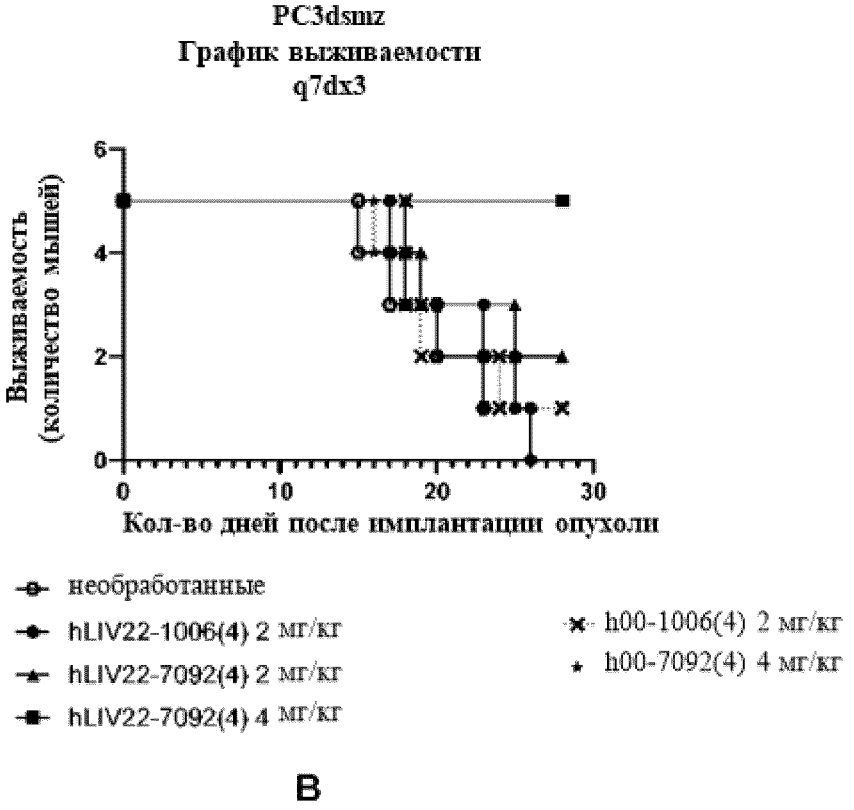

MCF7(nci)-BI
График выживаемости
q7dx3
Выживаемость
(количество мышей)
6
4
2
0
0
10
20
30
Кол-во дней после имплантации опухоли
необработанные
hLIV22-mc-vc-MMAE(4) 2 мг/кг
hLIV22-mp-dLAE-MMAE(4) 2 мг/кг
hLIV22-mp-dLAE-MMAE(4) 4 мг/кг
Изотип. mc-vc-MMAE 2 мг/кг
Изотип. mp-dLAE-MMAE 4 мг/кг

B

Фиг. 34

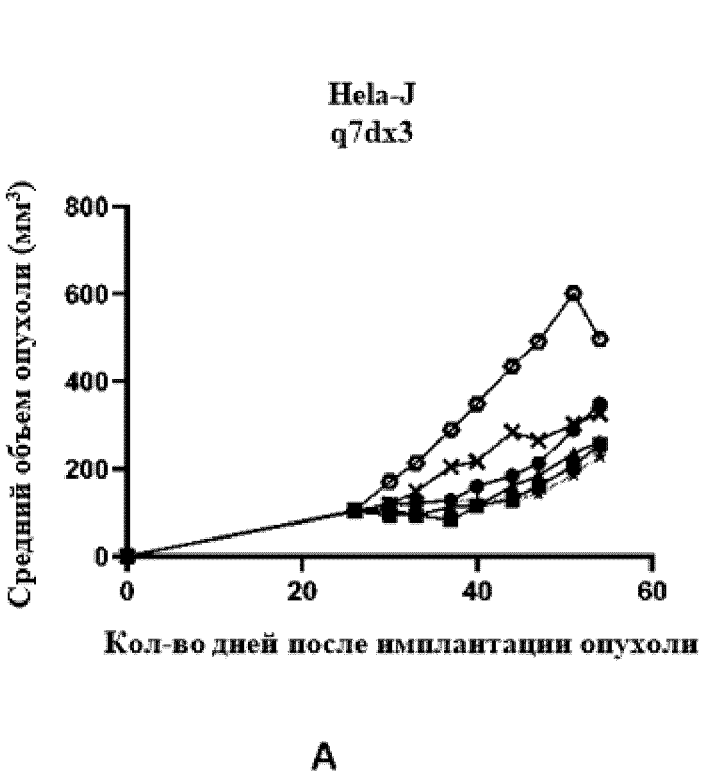

PC3dsmz
q7dx3
Средний объем опухоли (мм³)
800
600
400
200
0
0
10
20
30
Кол-во дней после имплантации опухоли

A

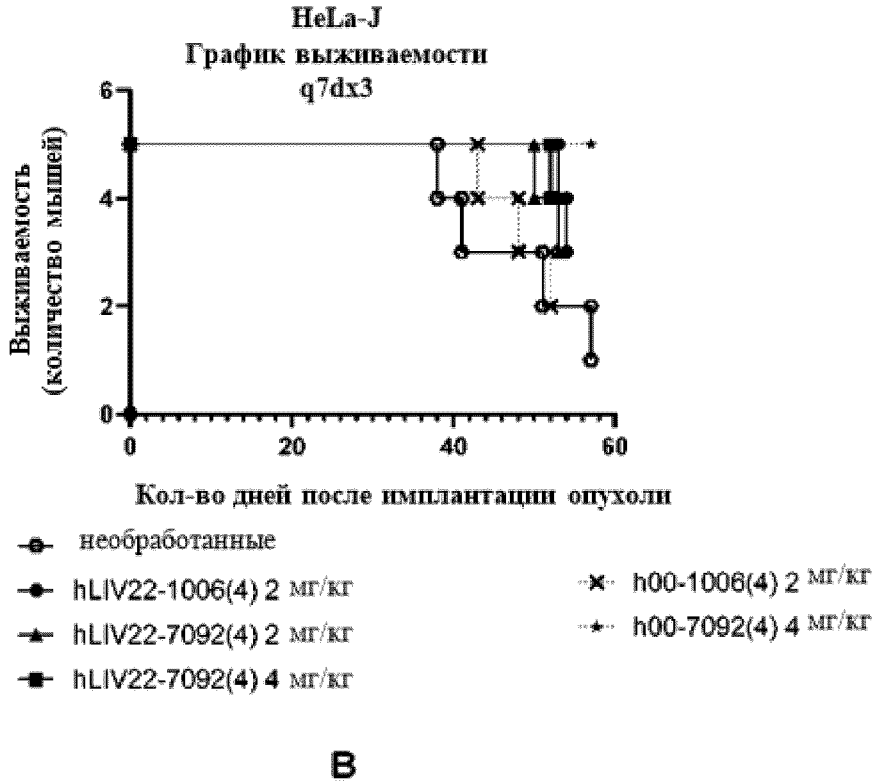

PC3dsmz
График выживаемости
q7dx3
Выживаемость
(количество мышей)
6
4
2
0
0
10
20
30
Кол-во дней после имплантации опухоли
необработанные
hLIV22-1006(4) 2 мг/кг
hLIV22-7092(4) 2 мг/кг
hLIV22-7092(4) 4 мг/кг
h00-1006(4) 2 мг/кг
h00-7092(4) 4 мг/кг

B

Фиг. 35

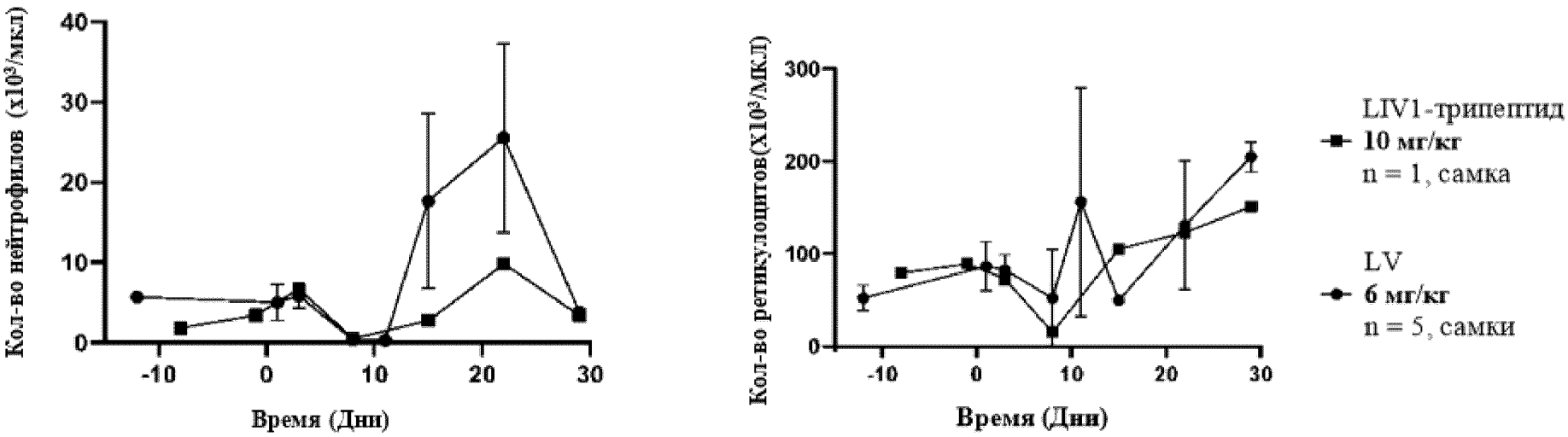

Hela-J
q7dx3
Средний объем опухоли (мм3)
800
600
400
200
0
0
20
40
60
Кол-во дней после имплантации опухоли

A

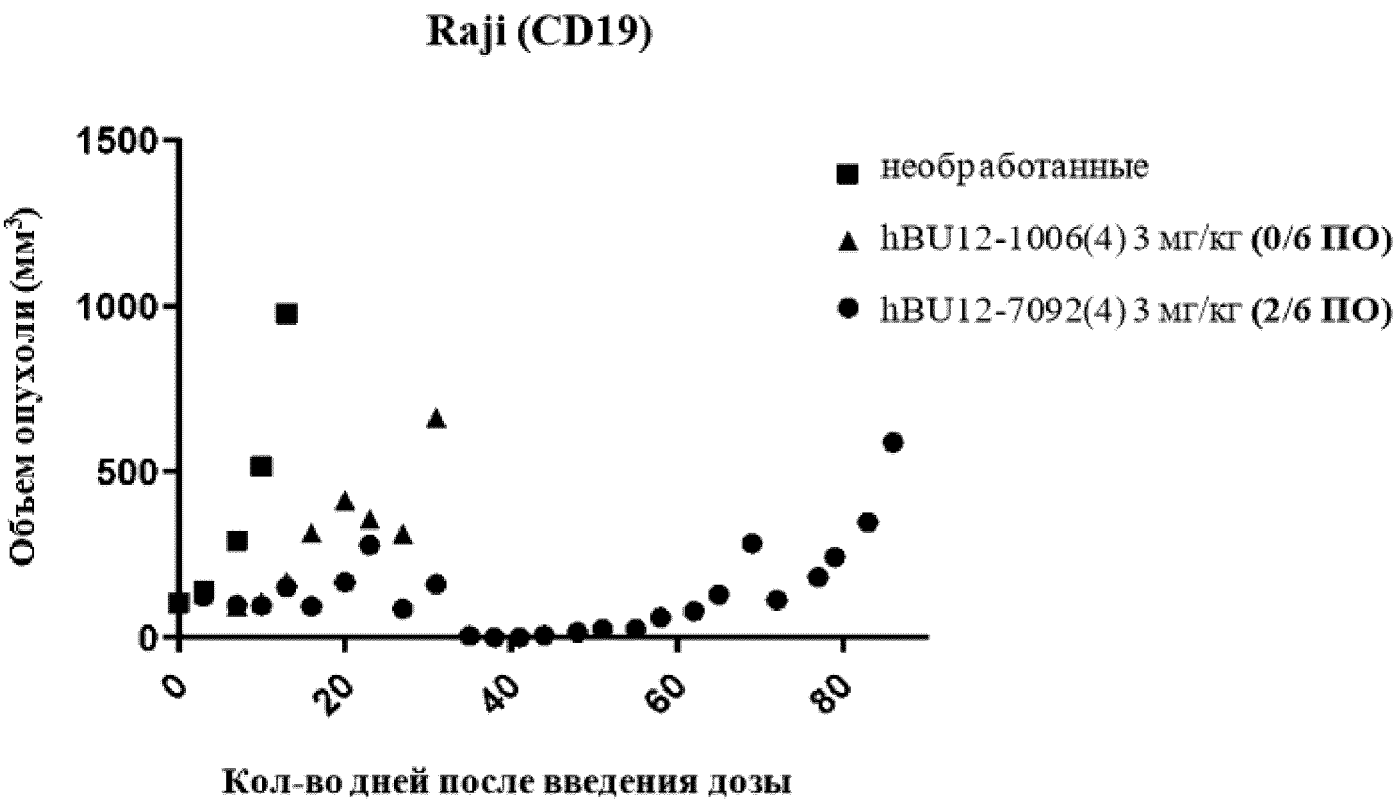

HeLa-J
График выживаемости
q7dx3
Выживаемость (количество мышей)
6
4
2
0
0
20
40
60
Кол-во дней после имплантации опухоли
необработанные
hLIV22-1006(4) 2 мг/кг
hLIV22-7092(4) 2 мг/кг
hLIV22-7092(4) 4 мг/кг
h00-1006(4) 2 мг/кг
h00-7092(4) 4 мг/кг

B

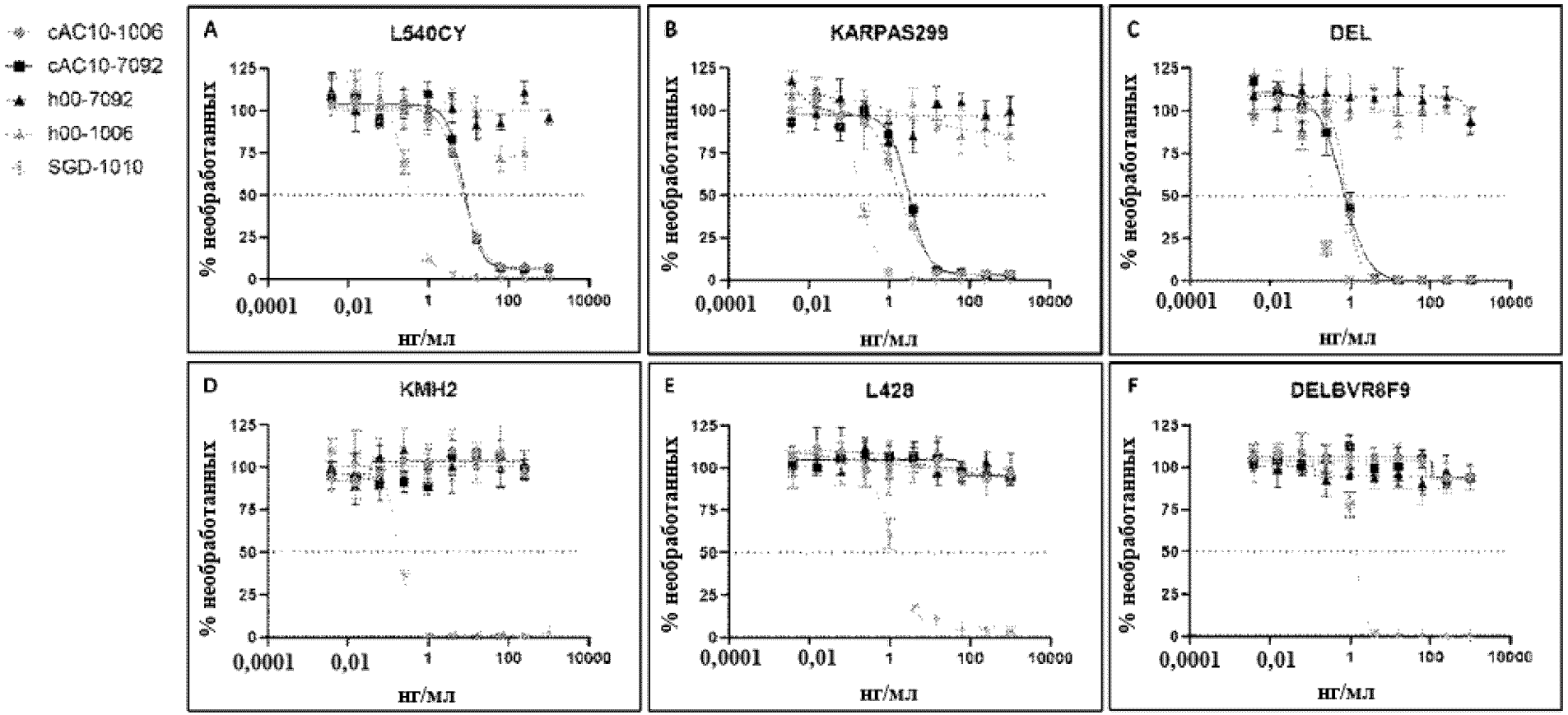
Фиг. 36


Кол-во нейтрофилов (x10³/мкл)
40
30
20
10
0
-10
0
10
20
30
Время (Дни)
Кол-во ретикулоцитов(X10³/МКЛ)
300
200
100
0
-10
0
10
20
30
Время (Дни)
LIV1-трипептид
10 мг/кг
n = 1, самка
LV
6 мг/кг
n = 5, самки

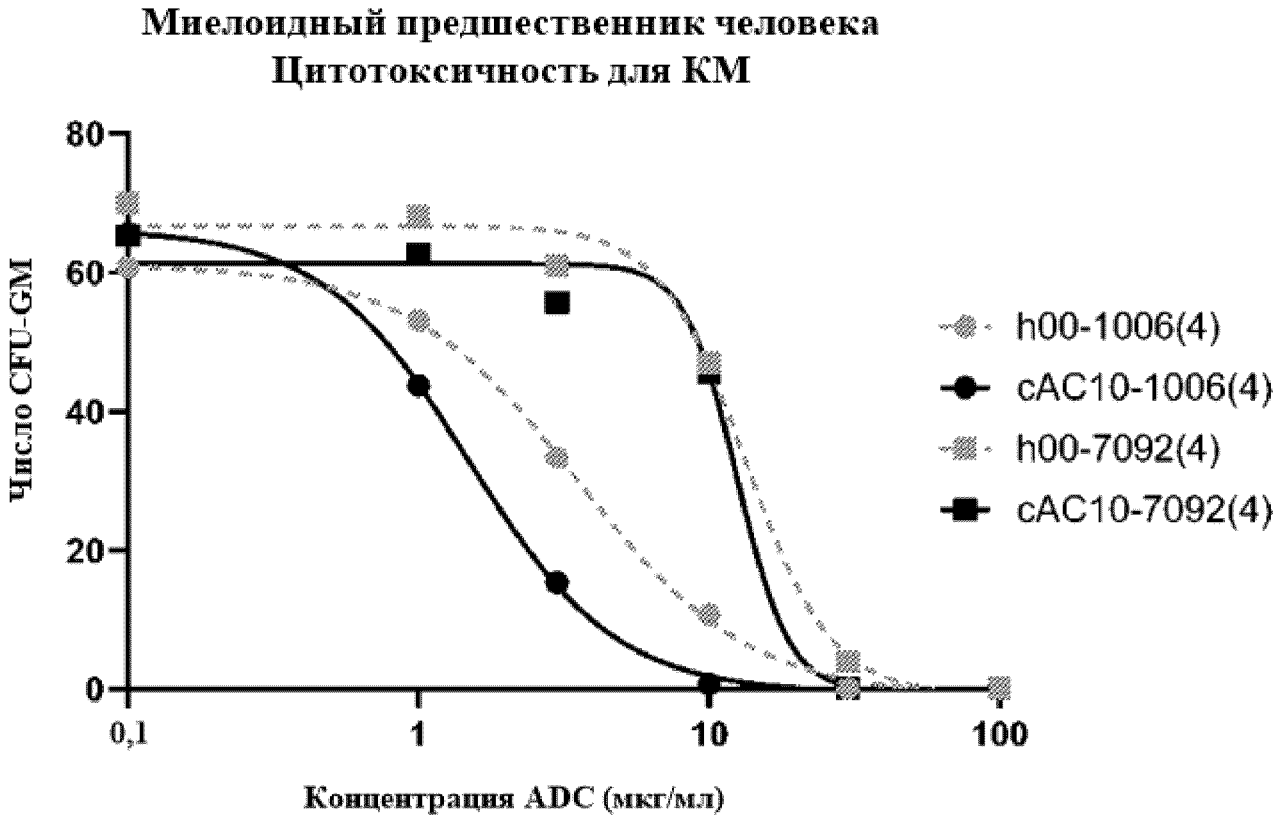
Фиг. 37


Raji (CD19)
Объем опухоли (мм3)
1500
1000
500
0
0
20
40
60
80
Кол-во дней после введения дозы
необработанные
hBU12-1006(4) 3 мг/кг (0/6 ПО)
hBU12-7092(4) 3 мг/кг (2/6 ПО)

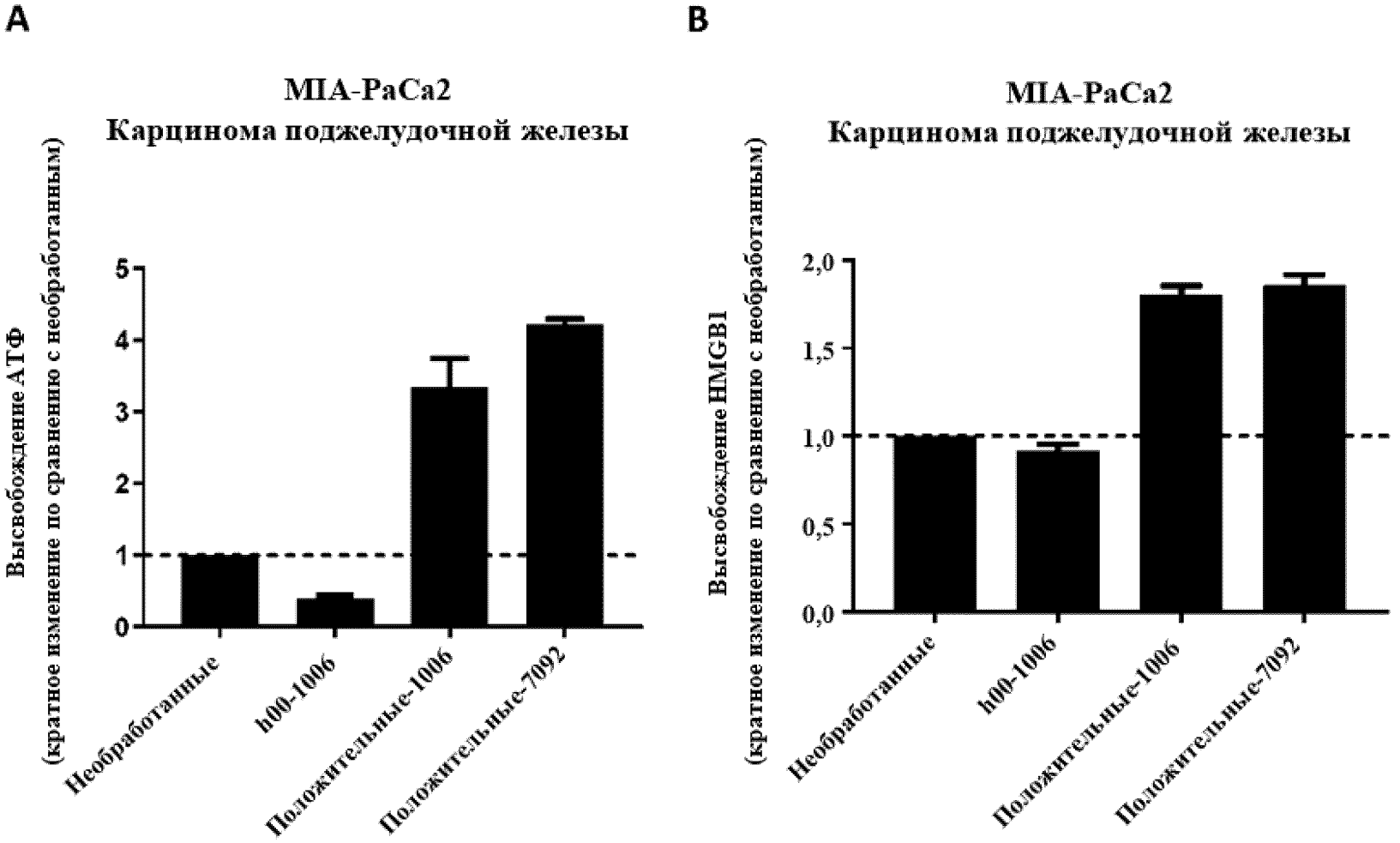
Фиг. 38


cAC10-1006
cAC10-7092
h00-7092
h00-1006
SGD-1010
A
L540CY
B
KARPAS299
C
DEL
D
KMH2
E
L428
F
DELBVR8F9
% необработанных
нг/мл
0,0001
0,01
1
100
10000
0
25
50
75
100
125

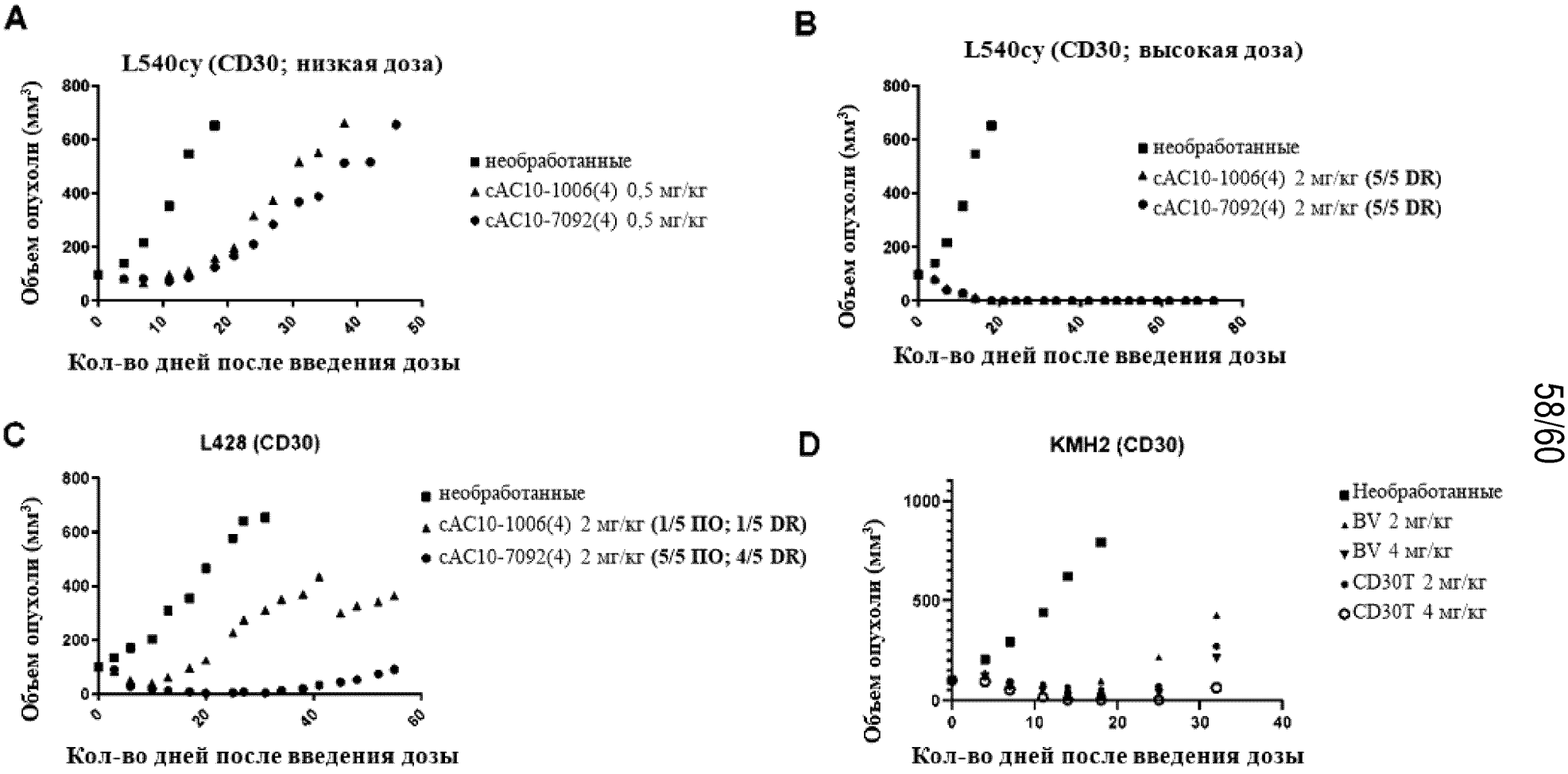
Фиг. 39


Миелоидный предшественник человека
Цитотоксичность для КМ
Число CFU-GM
80
60
40
20
0
0,1
1
10
100
Концентрация ADC (мкг/мл)
h00-1006(4)
cAC10-1006(4)
h00-7092(4)
cAC10-7092(4)

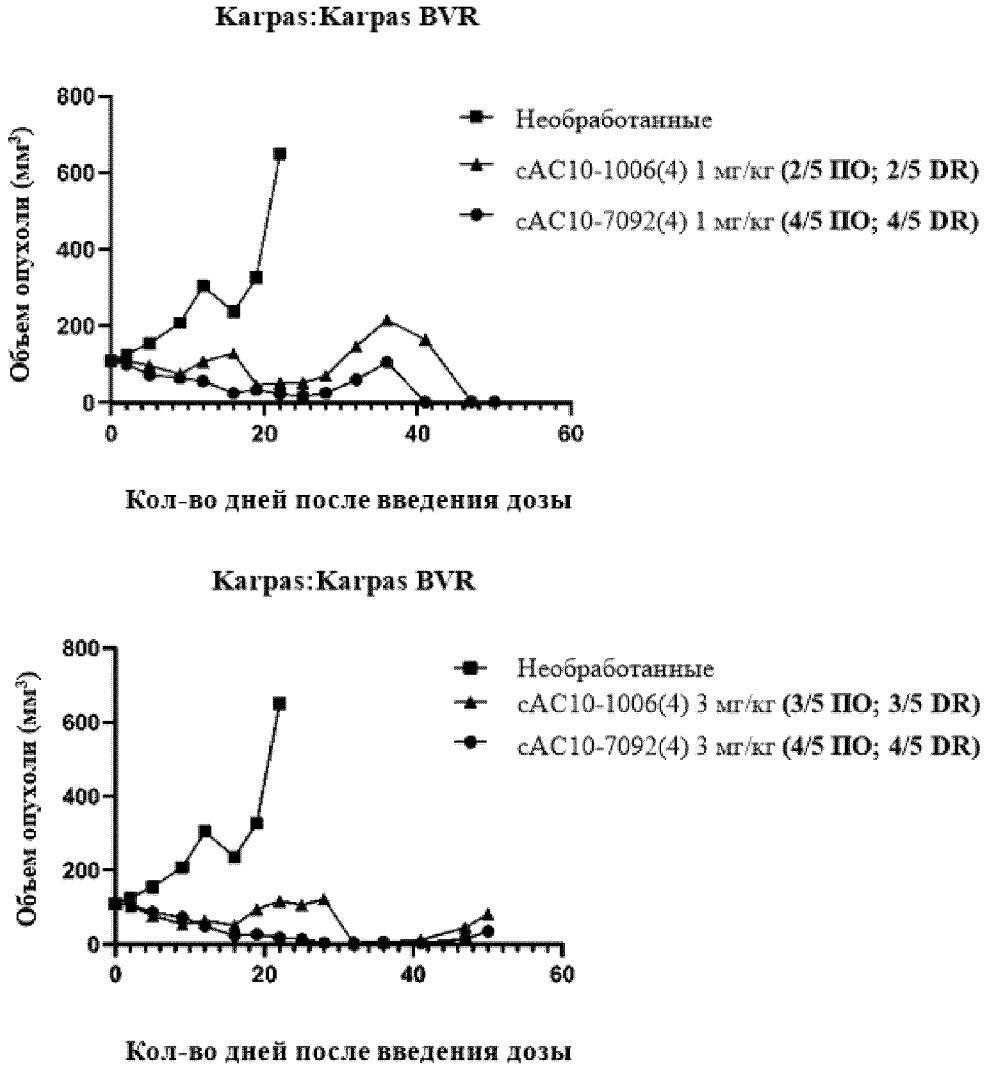
Фиг. 40


A
MIA-PaCa2
Карцинома поджелудочной железы
Высвобождение АТФ
(кратное изменение по сравнению с необработанным)
5
4
3
2
1
0
Необработанные
h00-1006
Положительные-1006
Положительные-7092
B
MIA-PaCa2
Карцинома поджелудочной железы
Высвобождение HMGB1
(кратное изменение по сравнению с необработанным)
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
Необработанные
h00-1006
Положительные-1006
Положительные-7092

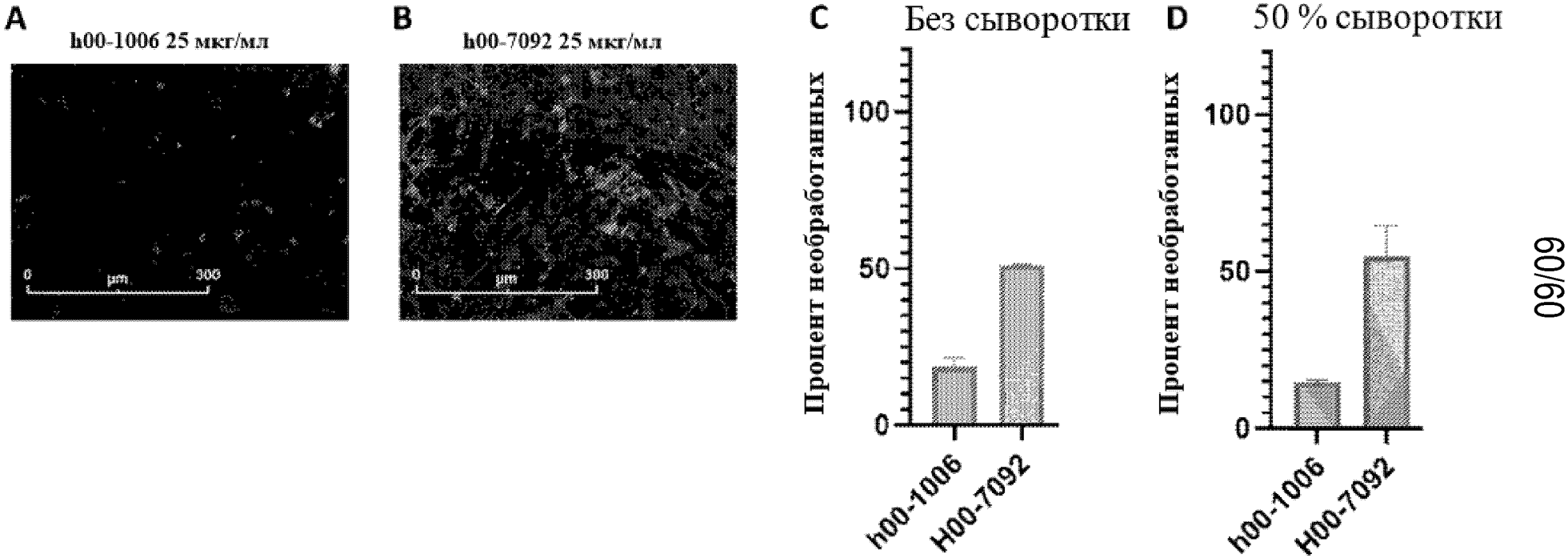
Фиг. 41


A
L540cy (CD30; низкая доза)
Объем опухоли (мм3)
Кол-во дней после введения дозы
необработанные
cAC10-1006(4) 0,5 мг/кг
cAC10-7092(4) 0,5 мг/кг
B
L540cy (CD30; высокая доза)
Объем опухоли (мм3)
Кол-во дней после введения дозы
необработанные
cAC10-1006(4) 2 мг/кг (5/5 DR)
cAC10-7092(4) 2 мг/кг (5/5 DR)
C
L428 (CD30)
Объем опухоли (мм3)
Кол-во дней после введения дозы
необработанные
cAC10-1006(4) 2 мг/кг (1/5 ПО; 1/5 DR)
cAC10-7092(4) 2 мг/кг (5/5 ПО; 4/5 DR)
D
KMH2 (CD30)
Объем опухоли (мм3)
Кол-во дней после введения дозы
Необработанные
BV 2 мг/кг
BV 4 мг/кг
CD30T 2 мг/кг
CD30T 4 мг/кг

Фиг. 42


Karpas:Karpas BVR
Объем опухоли (мм³)
800
600
400
200
0
0
20
40
60
Кол-во дней после введения дозы
Необработанные
cAC10-1006(4) 1 мг/кг (2/5 ПО; 2/5 DR)
cAC10-7092(4) 1 мг/кг (4/5 ПО; 4/5 DR)
Karpas:Karpas BVR
Объем опухоли (мм³)
800
600
400
200
0
0
20
40
60
Кол-во дней после введения дозы
Необработанные
cAC10-1006(4) 3 мг/кг (3/5 ПО; 3/5 DR)
cAC10-7092(4) 3 мг/кг (4/5 ПО; 4/5 DR)

Фиг. 43


A
h00-1006 25 мкг/мл
0
µm
300
B
h00-7092 25 мкг/мл
0
µm
300
C
Без сыворотки
Процент необработанных
100
50
0
h00-1006
H00-7092
D
50 % сыворотки
Процент необработанных
100
50
0
h00-1006
H00-7092

Фиг. 44