

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202392001 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.07.01

(22) Дата подачи заявки
2022.01.11

(51) Int. Cl. A61K 38/12 (2006.01)
A61K 47/64 (2017.01)
C07K 14/705 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

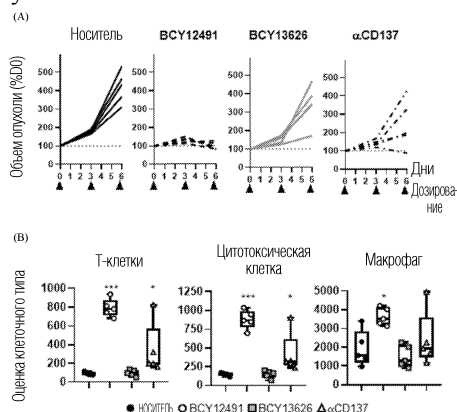
(54) СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

(31) 63/135,858; 63/135,865; 63/138,019
(32) 2021.01.11; 2021.01.11; 2021.01.15
(33) US
(86) PCT/GB2022/050055
(87) WO 2022/148979 2022.07.14
(71) Заявитель:
БАЙСИКЛТЭКС ЛИМИТЕД (GB)

(72) Изобретатель:
Кин Николас, Мадд Джемма
Элизабет, Лехденрента Джоанна,
Хуров Кристен, Баттула Саилая,
Брэндиш Филип И., Упадхияя Пунит,
Макдоннелл Кевин (GB)

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

(57) Изобретение относится к онкологии, в частности к комбинации для лечения рака у пациента, включающая гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемую соль и иммуноонкологическое средство, где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит (а) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с (b) одним или несколькими пептидными лигандами, связывающими CD137; где каждый из указанных пептидных лигандов содержит полипептид, содержащий по меньшей мере три реакционноспособные группы, разделенные по меньшей мере двумя петлевыми последовательностями, и молекулярный каркас, который образует ковалентные связи с реакционноспособными группами полипептида, так что на молекулярном каркасе образуется по меньшей мере две полипептидных петли. Настоящее изобретение обеспечивает, среди прочего, значительное клиническое преимущество в предотвращении рецидива опухоли.



A1

202392001

202392001

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-578669EA/061

СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[001] Настоящее изобретение относится к использованию гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемой соли, в комбинации с иммуноонкологическим агентом для лечения рака. Настоящее изобретение также предлагает фармацевтически приемлемые композиции, содержащие гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, включающий один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемую соль.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[002] Циклические пептиды способны с высокой аффинностью и специфичностью к мишени связываться с белками-мишенями и, следовательно, представляют собой привлекательный класс молекул для разработки терапевтических агентов. Фактически, несколько циклических пептидов уже успешно используются в клинике, например, антибактериальный пептид ванкомицин, иммунодепрессант циклоспорин или противораковое лекарственное средство октреотид (Driggers *et al.* (2008), Nat Rev Drug Discov 7 (7), 608-24). Хорошие свойства связывания обусловлены относительно большой поверхностью взаимодействия, образующейся между пептидом и мишенью, а также пониженной конформационной гибкостью циклических структур. Обычно макроциклы связываются с поверхностями площадью несколько сотен квадратных ангстрем, как, например, циклический пептидный CXCR4 антагонист CVX15 (400 Å²; Wu *et al.* (2007), Science 330, 1066-71), циклический пептид с мотивом Arg-Gly-Asp, связывающийся с интегрином αVβ3 (355 Å²) (Xiong *et al.* (2002), Science 296 (5565), 151-5), или ингибитор циклического пептида упаина-1, связывающегося с активатором плазминогена урокиназного типа (603 Å²; Zhao *et al.* (2007), J Struct Biol 160 (1), 1-10).

[003] Из-за своей циклической конфигурации, пептидные макроциклы менее гибки, чем линейные пептиды, что приводит к меньшей потере энтропии при связывании с мишенями и приводит к более высокой аффинности связывания. Сниженная гибкость также приводит к блокировке мишень-специфичных конформаций, увеличивая специфичность связывания по сравнению с линейными пептидами. Этот эффект был представлен мощным и селективным ингибитором матриксной металлопротеиназы 8 (ММР-8), который терял свою селективность по сравнению с другими ММР, когда его кольцо было раскрыто (Cherney *et al.* (1998), J Med Chem 41 (11), 1749-51). Благоприятные связывающие свойства, достигаемые за счет макроциклизации, еще более выражены у мультициклических пептидов, имеющих более одного пептидного кольца, как, например, у ванкомицина, низина и актиномицина.

[004] Различные исследовательские группы ранее связывали полипептиды с цистеиновыми остатками с синтетической молекулярной структурой (Kemp and McNamara

(1985), J. Org. Chem; Timmerman *et al.* (2005), ChemBioChem). Meloen и коллеги использовали трис(бромметил)бензол и родственные молекулы для быстрой и количественной циклизации множества пептидных петель на синтетических каркасах для структурной имитации поверхностей белков (Timmerman *et al.* (2005), ChemBioChem). Способы получения лекарственных соединений-кандидатов, в которых указанные соединения образуются путем связывания цистеинсодержащих полипептидов с молекулярным каркасом, таким как, например, трис(бромметил)бензол, описаны в WO 2004/077062 и WO 2006/078161.

[005] Комбинаторные подходы на основе фагового дисплея были разработаны для создания и скрининга больших библиотек бициклических пептидов к представляющим интерес мишеням (Heinis *et al.* (2009), Nat Chem Biol 5 (7), 502-7 и WO 2009/098450). Коротко, комбинаторные библиотеки линейных пептидов, содержащих три цистеиновых остатка и две области шести случайных аминокислот (Cys-(Xaa)₆-Cys-(Xaa)₆-Cys), были экспонированы на фаге и циклизированы путем ковалентного связывания боковых цепей цистеина с малой молекулой (трис-(бромметил)бензолом).

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[006] В настоящее время обнаружено, что гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, включающий один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемая соль, приводит к значительному увеличению инфильтрирующих опухоль иммунных клеток и иммунного ответа. См., например, транскрипционный анализ в Примере 1 показывает значительное увеличение количества иммунных клеток и мРНК для нескольких хемотаксических хемокинов/цитокинов Т-клеток при обработке каждым из BCY12491 и BT7480. Соответственно, в одном аспекте, настоящее изобретение предлагает способ усиления иммунного ответа у больного раком, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемой соли.

[007] Также было обнаружено, что комбинация гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемой соли и иммуноонкологического агента значительно улучшает противоопухолевую активность по сравнению с лечением каждым из отдельных агентов. См., например, комбинированная терапия BCY12491 и антагонистом PD-1 пембролизумабом в Примере 2, приводит к более значительной противоопухолевой активности по сравнению с лечением каждым отдельным агентом. Соответственно, в одном аспекте, настоящее изобретение предлагает способ лечения рака у пациента, включающий введение пациенту гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемой соли и иммуноонкологического агента.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[008] На **ФИГ. 1** показано, что BCY12491 модулирует иммунное микроокружение опухоли и управляет инфильтрацией Т-клеток. (А) Мышей с опухолью MC38 лечат носителем, 15 мг/кг гетеротандемного бициклического пептидного комплекса EphA2/CD137 (BCY12491), энантиомерного несвязывающего контрольного гетеротандемного бициклического пептидного комплекса (BCY13626) q3d в/в или 2 мг/кг α CD137 q3d в/б. Отдельные объемы опухолей (нормализованные к объему опухоли в день начала лечения) показаны сгруппированными по видам лечения. (В) Нанострунный анализ опухолей показывает действие BCY12491 и α CD137 на Т-клетку (набор зондов: Cd3d, Cd3e, Cd3g, Cd6, Sh2d1a и Trat1), цитотоксическую клетку (набор зондов: Ctsw, Gzma, Gzmb, Klrb1, Klrd1, Klrk1, Nkg7 и Prf1) и содержание макрофагов (набор зондов: Cd163, Cd68, Cd84 и Ms4a4a). (С) Нанострунный анализ опухолей показывает действие BCY12491 и α CD137 на транскрипцию ингибитора контрольных точек Pdcd1 (белок PD-1), Cd274 (белок PD-L1) и Ctla4 (белок CTLA-4). (D) Показаны типовые изображения срезов тканей опухолей, леченных носителем, 15 мг/кг BCY12491, BCY13626 или 2 мг/кг α CD137 Q3D и окрашенных на CD8 мыши. (В и С) $* < 0,05$, $***p < 0,001$, односторонний ANOVA с апостериорным критерием Даннетта.

[009] На **ФИГ. 2** изображено действие BT7480 на выбранные цитокины/хемокины. (А) Нормализованные линейные счетные данные показаны для 5 различных мРНК цитокинов/хемокинов в опухолевой ткани MC38#13 после лечения BT7480 на графике слева. (В) Наложение оценок цитотоксических клеток и нормализованных показателей РНК Ccl1, Ccl-17 и Ccl24 демонстрирует раннее увеличение количества этих транскриптов цитокинов/хемокинов с последующим увеличением оценки цитотоксических клеток.

[0010] На **ФИГ. 3** показано, что BT7480 модулирует иммунное микроокружение опухоли и стимулирует инфильтрацию CD8⁺ Т-клеток. Мышам с опухолью MC38#13 вводят носитель, 5 мг/кг (0 ч, 24 ч) BT7480 или контрольный несвязывающий гетеротандемный бициклический пептидный комплекс BCY12797 (NB-BCY) в/в, или 2 мг/кг α CD137 в/б. Нанострунный анализ опухолей показывает действие BT7480 и α CD137 на (А) макрофаги (набор зондов: Cd163, Cd68, Cd84 и Ms4a4a) и (В) цитотоксические клетки (набор зондов: Ctsw, Gzma, Gzmb, Klrb1, Klrd1, Klrk1), Nkg7 и Prf1) в опухолевой ткани с течением времени. (С) Наложение оценок цитотоксических клеток и оценок клеток макрофагов демонстрирует раннее увеличение оценки клеток макрофагов с последующим увеличением оценки цитотоксических клеток. (А и В) $* < 0,05$, $**p < 0,01$, однофакторный ANOVA с апостериорным критерием Даннетта.

[0011] На **ФИГ. 4** показано, что BT7480 приводит к увеличению количества мРНК нескольких иммунных контрольных точек. Мышам с опухолью MC38#13 вводят носитель, 5 мг/кг (0 ч, 24 ч) BT7480 или контрольный несвязывающий гетеротандемный бициклический пептидный комплекс BCY12797 (NB-BCY) в/в или 2 мг/кг α CD137 в/б. Нанострунный анализ опухолей показывает влияние BT7480 и α CD137 на уровни нескольких мРНК иммунных контрольных точек. $* < 0,05$, $**p < 0,01$, $***p < 0,001$

однофакторный ANOVA с апостериорным критерием Даннетта.

[0012] **На ФИГ. 5** показано, что комбинация BSY12491+Пембролизумаб с 0 дня (после начала лечения) приводит к 100% полному ответу к 22 дню. Мышей с опухолями MC38 лечат носителем, 5 мг/кг BSY12491 QW (0, 24 часа), 3 мг/кг Пембролизумаба QW или их комбинации. На верхнем графике показаны средние объемы опухоли от начала лечения до 28 дня. Как монотерапия, так и комбинированное лечение значительно влияют на рост опухоли ($***p < 0,0001$, анализ смешанных эффектов с апостериорным критерием Даннетта на D18 по сравнению с носителем). Более того, комбинированное лечение более эффективно, чем любая из монотерапий ($***p < 0,0001$, анализ смешанных эффектов с апостериорным критерием Даннетта на D20, сравнение комбинации с монотерапиями), что приводит к полному ответу у всех обработанных животных к 22 дню. На графиках справа показаны кривые роста отдельных опухолей из когорт лечения.

[0013] **На ФИГ. 6** показано, что комбинации BSY12491+Пембролизумаб приводят к значительной противоопухолевой активности при различной последовательности доз. Мышам с опухолью MC38 вводят носитель, 5 мг/кг BSY12491 QW (0, 24 часа), 3 мг/кг Пембролизумаба QW или их комбинацию с тремя различными схемами дозирования: лечение BSY12491 и Пембролизумабом начинают в 0 день, лечение BSY12491 начинают в 0 день, затем лечение Пембролизумабом начинают в 5 день, или лечение Пембролизумабом начинают в 0 день, затем лечение BSY12491 начинают в 5 день. На верхнем графике показаны средние объемы опухоли от начала лечения до 28 дня. Все комбинированные методы лечения демонстрируют значительную противоопухолевую активность, с 10/10 (BSY12491+Пембролизумаб с D0), 9/10 (BSY12491 с D0+Пембролизумаб с D5) и 8/10 (Пембролизумаб с D0 и BSY12491 с D5) полными ответами к 42 дню. $***p < 0,0001$, анализ смешанных эффектов с апостериорным критерием Даннетта на D18 по сравнению с носителем. На графиках справа показаны кривые роста отдельных опухолей из групп лечения.

[0014] **На ФИГ. 7** показано, что добавление BSY11864 к анти-PD-1 монотерапии значительно [$p = 0,004$, лог-ранговый (Мантел-Кокс) критерий, сравнивающий группы анти-PD-1 и комбинации анти-PD-1+BSY11864] увеличивает выживаемость (определенную при достижении гуманной конечной точки, объемы опухолей >2000 мм³) у мышей, несущих СТ26#7 (СТ26, сконструированную для сверхэкспрессии нектина-4).

[0015] **На ФИГ. 8** показано, что добавление BT7480 к монотерапии анти-PD-1 увеличивает частоту полных ответов (CR) у мышей, несущих MC38#13 (MC38, сконструированную для сверхэкспрессии нектина-4).

[0016] **На ФИГ. 9** показано, что добавление BT7480 к монотерапии анти-CTLA-4 значительно [$p = 0,0499$, лог-ранговый (Мантел-Кокс) критерий, сравнивающий группы анти-Ctla-4 и комбинации анти-Ctla-4+BT7480] увеличивает выживаемость (определенную при достижении гуманной конечной точки, объемы опухолей >2000 мм³) у мышей, несущих MC38#13 (MC38, сконструированная для сверхэкспрессии нектина-4), и увеличивают частоту полных ответов.

[0017] **На ФИГ. 10** показано, что BT7455 приводит к увеличению количества нескольких мРНК иммунных контрольных точек. Мышам с опухолью MC38 вводят внутривенно носитель, 8 мг/кг (0 ч, 24 ч) BT7455 или внутривенно 2 мг/кг анти-CD137 антитела или 10 мг/кг анти-PD-1 антитела. Нанострунный анализ опухолей показывает влияние лечения на уровни нескольких мРНК иммунных контрольных точек. Показаны нормализованные значения Log2 для мРНК в опухолевой ткани MC38 через 24, 48 и 144 часа. $*p<0,05$, $**p<0,01$, $***p<0,001$ однофакторный ANOVA с использованием апостериорного критерия Даннетта, сравнивающего лечение с носителем в один и тот же момент времени.

[0018] **На ФИГ. 11** показано действие лечения BT7455 (8 мг/кг), анти-PD-1 и анти-CD137 (аналогом урелумаба) на 5 выбранных цитокинов/хемокинов в течение 24 часов, 48 часов и 24 часов. Показаны нормализованные значения Log2 для мРНК в опухолевой ткани MC38 через 24, 48 и 144 часа. $*p<0,05$, $**p<0,01$, $****p<0,0001$, 0,01 Однофакторный ANOVA с апостериорным критерием Даннетта.

[0019] **На ФИГ. 12** показано действие лечения BT7455 (8 мг/кг), анти-PD-1 и анти-CD137 (аналогом урелумаба) на цитотоксические клетки. Действие лечения на цитотоксические клетки через 24 часа, 48 часов и 144 часа показано в виде оценки типа цитотоксических клеток в виде нормализованных оценок Log2 (среднее значение со стандартным отклонением) в опухолевой ткани MC38. ($*p<0,05$, однофакторный ANOVA с апостериорным критерием Даннетта, сравнение лечения с носителем).

[0020] **На ФИГ. 13** показано, что транскрипционный анализ выявил значительную модуляцию ($*p<0,05$, $**p<0,01$ однофакторный ANOVA с апостериорным критерием Даннетта) нескольких наборов генов посредством BT7455 в ранний момент времени (48 ч) после начала лечения, тогда как действие анти-PD-1 и аналога урелумаба (анти-CD137) не является значимым. Действие лечения на наборы генов показано в виде оценок сигнатуры (среднее значение со стандартным отклонением) в опухолевой ткани MC38.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ НЕКОТОРЫХ ВАРИАНТОВ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ

1. Описание некоторых вариантов осуществления изобретения:

[0021] Было обнаружено, что гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, включающий один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемая соль приводит к значительному увеличению инфильтрирующих опухоль иммунных клеток и иммунного ответа, и что комбинация гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, включающего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемой соли и иммуноонкологического агента значительно улучшает противоопухолевую активность по сравнению с лечением каждым отдельным агентом. См., например, данные лечения каждым из BSY12491 и BT7480 в Примере 1 и данные в Примере 2 лечения только BSY12491, только антагонистом PD-1 Пембролизумабом и комбинацией BSY12491 и пембролизумаба. Соответственно, в одном аспекте, в настоящем документе

предложен способ или применение гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемой соли для усиления иммунного ответа у больного раком. В другом аспекте, в настоящем документе предложен способ или применение комбинации гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемой соли и иммуноонкологического агента для лечения рака у пациента.

[0022] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает способ усиления иммунного ответа у больного раком, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает применение гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемой соли при производстве лекарственного средства для усиления иммунного ответа у больного раком.

[0023] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает способ лечения рака у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемой соли, и иммуноонкологического агента. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает применение гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемой соли при производстве лекарственного средства для лечения рака у пациента, где лекарственное средство используют в комбинации с иммуноонкологическим агентом.

[0024] В некоторых вариантах осуществления рак выбран из тех, которые описаны в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления рак связан с MT1-MMP. В некоторых вариантах осуществления рак связан с нектином-4. В некоторых вариантах осуществления рак связан с EphA2. В некоторых вариантах осуществления рак связан с PD-L1. В некоторых вариантах осуществления рак связан с PSMA.

[0025] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, содержащий один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, выбран из гетеротандемных бициклических пептидных комплексов, содержащих один пептидный лиганд, связывающий CD137, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, содержащий один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, выбран из гетеротандемных бициклических пептидных комплексов, содержащих два или более пептидных лигандов, связывающих CD137, как описано в настоящем документе.

[0026] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс представляет собой BCY11863 (также называемый BT7480) или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс представляет собой BCY13272 (также называемый BT7455) или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс представляет собой BCY12491 или его фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс представляет собой BCY11864 или его фармацевтически приемлемую соль.

[0027] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент выбран из агентов, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой ингибитор контрольной точки. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой антагонист PD-1. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой пембролизумаб. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой ниволумаб.

[0028] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает способ усиления иммунного ответа у больного раком, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества BT7480 или его фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает применение BT7480 или его фармацевтически приемлемой соли при производстве лекарственного средства для усиления иммунного ответа у больного раком. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает способ лечения рака у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества BT7480 или его фармацевтически приемлемой соли и иммуноонкологического агента. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает применение BT7480 или его фармацевтически приемлемой соли при производстве лекарственного средства для лечения рака у пациента, где лекарственное средство применяют в комбинации с иммуноонкологическим агентом.

[0029] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает способ усиления иммунного ответа у больного раком, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества BT7455 или его фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает применение BT7455 или его фармацевтически приемлемой соли при производстве лекарственного средства для усиления иммунного ответа у больного раком. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает способ лечения рака у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества BT7455 или его фармацевтически приемлемой соли и иммуноонкологического агента. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает применение BT7455 или его фармацевтически приемлемой соли при производстве лекарственного

средства для лечения рака у пациента, где лекарственное средство применяют в комбинации с иммуноонкологическим агентом.

[0030] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят в дозе примерно 0,001-100 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из описанных в настоящем документе, например, BT7480 или BT7455, или их фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят в дозе примерно 0,001-0,01 мг/кг, примерно 0,01-0,1 мг/кг, примерно 0,1-1 мг/кг, примерно 1-10 мг/кг, примерно 10-25 мг/кг, примерно 25-50 мг/кг или примерно 50-100 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят в дозе примерно 0,1-75 мг/кг, примерно 1-50 мг/кг, примерно 5-25 мг/кг или примерно 7,5-20 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят в дозе примерно 0,001 мг/кг, примерно 0,005 мг/кг, примерно 0,01 мг/кг, примерно 0,05 мг/кг, примерно 0,1 мг/кг, примерно 0,25 мг/кг, примерно 0,5 мг/кг, примерно 1 мг/кг, примерно 3 мг/кг, примерно 5 мг/кг, примерно 7,5 мг/кг, примерно 10 мг/кг, примерно 12,5 мг/кг, примерно 15 мг/кг, примерно 20 мг/кг, примерно 25 мг/кг, примерно 30 мг/кг, примерно 40 мг/кг или примерно 50 мг/кг.

[0031] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят с частотой 1, 2, 3 или 4 раза в неделю. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из описанных в настоящем документе, например, BT7480 или BT7455, или их фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят один раз в день. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят один раз каждые 2 дня. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят один раз каждые 3 дня. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят один раз каждые 4 дня. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят один раз каждые 5 дней. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят с частотой один раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят с частотой один раз в 1,5 недели. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят с частотой один раз в 2 недели. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят с частотой один раз в 2,5 недели. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят с частотой один раз в 3 недели. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят с частотой один раз в 4 недели. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят с

частотой один раз в месяц.

[0032] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят в течение периода лечения примерно 1-4 недели. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из описанных в настоящем документе, например, BT7480 или BT7455, или их фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят в течение периода лечения примерно 5-8 недель. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят в течение периода лечения примерно 9-12 недель. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят в течение периода лечения примерно 13-20 недель. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят в течение периода лечения примерно 21-28 недель. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят в течение периода лечения, составляющего примерно 4, 8, 12, 16, 20, 24 или 28 недель. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят в течение периода лечения примерно 30 недель или дольше.

[0033] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят пациенту посредством внутривенной болюсной инъекции. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из описанных в настоящем документе, например, BT7480 или BT7455, или их фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс вводят пациенту посредством внутривенной инфузии. В некоторых вариантах осуществления внутривенная инфузия гетеротандемного бициклического пептидного комплекса представляет собой инфузию продолжительностью примерно 5-10 минут. В некоторых вариантах осуществления внутривенная инфузия гетеротандемного бициклического пептидного комплекса представляет собой инфузию продолжительностью примерно 10-20 минут. В некоторых вариантах осуществления внутривенная инфузия гетеротандемного бициклического пептидного комплекса представляет собой инфузию продолжительностью примерно 20-40 минут. В некоторых вариантах осуществления внутривенная инфузия гетеротандемного бициклического пептидного комплекса представляет собой инфузию продолжительностью примерно 45, или 50, или 55 минут. В некоторых вариантах осуществления внутривенная инфузия гетеротандемного бициклического пептидного комплекса представляет собой инфузию продолжительностью примерно 1 час. В некоторых вариантах осуществления внутривенная инфузия гетеротандемного бициклического пептидного комплекса представляет собой инфузию продолжительностью примерно 1-1,5 часа. В некоторых вариантах осуществления внутривенная инфузия гетеротандемного бициклического пептидного комплекса представляет собой инфузию продолжительностью примерно 1,5-2 часа. В некоторых вариантах осуществления внутривенная инфузия гетеротандемного

бициклического пептидного комплекса представляет собой инфузию продолжительностью примерно 2-3 часа. В некоторых вариантах осуществления внутривенная инфузия гетеротандемного бициклического пептидного комплекса представляет собой инфузию продолжительностью более 3 часов.

[0034] Иммуноонкологический агент вводят по схеме дозирования в соответствии с рекомендацией или одобрением FDA. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят в дозе примерно 1-20 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят в дозе примерно 1-5 мг/кг, примерно 6-10 мг/кг, примерно 11-15 мг/кг или примерно 16-20 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят в дозе примерно 1-10 мг/кг, примерно 5-15 мг/кг или примерно 10-20 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят в дозе примерно 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят в дозе примерно 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 мг/кг. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят с частотой 1, 2, 3 или 4 раза в неделю. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят один раз в день. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят один раз каждые 2 дня. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят один раз каждые 3 дня. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят один раз каждые 4 дня. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят один раз каждые 5 дней. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят с частотой один раз в неделю. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят с частотой один раз в 1,5 недели. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят с частотой один раз в 2 недели. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят с частотой один раз в 2,5 недели. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят с частотой один раз в 3 недели. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят с частотой один раз в 4 недели. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят с частотой один раз в месяц. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят в течение периода лечения примерно 1-4 недели. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят в течение периода лечения примерно 9-12 недель, примерно 13-20 недель, примерно 21-28 недель или примерно 29-36 недель. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят в течение периода лечения примерно 36 недель или дольше. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят пациенту посредством внутривенной инъекции. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят пациенту посредством внутривенной инфузии. В некоторых вариантах осуществления внутривенная инфузия иммуноонкологического агента представляет собой инфузию продолжительностью примерно 5-10 минут. В

некоторых вариантах осуществления внутривенная инфузия иммуноонкологического агента представляет собой инфузию продолжительностью примерно 10-20 минут или примерно 20-40 минут. В некоторых вариантах осуществления внутривенная инфузия иммуноонкологического агента представляет собой инфузию продолжительностью примерно 30, 40, 45, 50, 55 или 60 минут. В некоторых вариантах осуществления внутривенная инфузия иммуноонкологического агента составляет представляет собой инфузию продолжительностью 1-1,5 часа, примерно 1,5-2 часа или примерно 2-3 часа.

[0035] В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство, содержащее гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемую соль, выбрано из составов гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, как показано в представленных примерах. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из описанных в настоящем документе, например, BT7480 или BT7455, или их фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство, содержащее гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемую соль, дополнительно содержит гистидин. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство, содержащее гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемую соль и гистидин, имеет рН примерно 7. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство, содержащее гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемую соль, дополнительно содержит сахарозу. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство, содержащее гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемую соль, дополнительно содержит примерно 10% масс./об. сахарозы. В некоторых вариантах осуществления лекарственное средство, содержащее гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемую соль, дополнительно содержит воду. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает лекарственное средство, содержащее гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемую соль, гистидин, сахарозу и воду, где рН лекарственного средства составляет примерно 7.

Типовые гетеротандемные бициклические пептидные комплексы

[0036] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемая соль содержит:

(а) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) одним или несколькими пептидными лигандами, связывающими CD137;

где каждый из указанных пептидных лигандов содержит полипептид, содержащий по меньшей мере три реакционноспособные группы, разделенные по меньшей мере двумя петлевыми последовательностями, и молекулярный каркас, который образует ковалентные связи с реакционноспособными группами полипептида, так что на молекулярном каркасе

образуется по меньшей мере две полипептидных петли.

[0037] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемая соль содержит:

(a) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) одним или несколькими пептидными лигандами, связывающимися CD137;

где каждый из указанных пептидных лигандов содержит полипептид, содержащий по меньшей мере три цистеиновых остатка, разделенных по меньшей мере двумя петлевыми последовательностями, и молекулярный каркас, который образует ковалентные связи с цистеиновыми остатками полипептида, так что на молекулярном каркасе образуется по меньшей мере две полипептидных петли.

[0038] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемая соль содержит:

(a) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) одним или несколькими пептидными лигандами, связывающимися CD137;

где каждый из указанных пептидных лигандов содержит полипептид, содержащий по меньшей мере три реакционноспособные группы, разделенные по меньшей мере двумя петлевыми последовательностями, и молекулярный каркас, который образует ковалентные связи с реакционноспособными группами полипептида, так что на молекулярном каркасе образуется по меньшей мере две полипептидных петли.

[0039] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемая соль содержит:

(a) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) одним или несколькими пептидными лигандами, связывающимися CD137;

где каждый из указанных пептидных лигандов содержит полипептид, содержащий по меньшей мере три цистеиновых остатка, разделенных по меньшей мере двумя петлевыми последовательностями, и молекулярный каркас, который образует ковалентные связи с цистеиновыми остатками полипептида, так что на молекулярном каркасе образуется по меньшей мере две полипептидных петли.

[0040] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемая соль содержит:

(a) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) двумя или несколькими пептидными лигандами, связывающимися CD137;

где каждый из указанных пептидных лигандов содержит полипептид, содержащий по меньшей мере три реакционноспособные группы, разделенные по меньшей мере двумя петлевыми последовательностями, и молекулярный каркас, который образует ковалентные связи с реакционноспособными группами полипептида, так что на молекулярном каркасе

образуется по меньшей мере две полипептидных петли.

[0041] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемая соль содержит:

(a) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) двумя или несколькими пептидными лигандами, связывающими CD137;

где каждый из указанных пептидных лигандов содержит полипептид, содержащий по меньшей мере три цистеиновых остатка, разделенных по меньшей мере двумя петлевыми последовательностями, и молекулярный каркас, который образует ковалентные связи с цистеиновыми остатками полипептида, так что на молекулярном каркасе образуется по меньшей мере две полипептидных петли.

[0042] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемая соль содержит:

(a) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) двумя пептидными лигандами, связывающими CD137;

где каждый из указанных пептидных лигандов содержит полипептид, содержащий по меньшей мере три реакционноспособные группы, разделенные по меньшей мере двумя петлевыми последовательностями, и молекулярный каркас, который образует ковалентные связи с реакционноспособными группами полипептида, так что на молекулярном каркасе образуется по меньшей мере две полипептидных петли.

[0043] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемая соль содержит:

(a) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) двумя пептидными лигандами, связывающими CD137;

где каждый из указанных пептидных лигандов содержит полипептид, содержащий по меньшей мере три цистеиновых остатка, разделенных по меньшей мере двумя петлевыми последовательностями, и молекулярный каркас, который образует ковалентные связи с цистеиновыми остатками полипептида, так что на молекулярном каркасе образуется по меньшей мере две полипептидных петли.

[0044] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемая соль содержит:

(a) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) тремя пептидными лигандами, связывающими CD137;

где каждый из указанных пептидных лигандов содержит полипептид, содержащий по меньшей мере три реакционноспособные группы, разделенные по меньшей мере двумя петлевыми последовательностями, и молекулярный каркас, который образует ковалентные связи с реакционноспособными группами полипептида, так что на молекулярном каркасе

образуется по меньшей мере две полипептидных петли.

[0045] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемая соль содержит:

(а) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) тремя пептидными лигандами, связывающими CD137;

где каждый из указанных пептидных лигандов содержит полипептид, содержащий по меньшей мере три цистеиновых остатка, разделенных по меньшей мере двумя петлевыми последовательностями, и молекулярный каркас, который образует ковалентные связи с цистеиновыми остатками полипептида, так что на молекулярном каркасе образуется по меньшей мере две полипептидных петли.

Первые пептидные лиганды

[0046] Ссылки на термин «раковая клетка» в настоящем документе включают любую клетку, о которой известно, что она вовлечена в рак. Раковые клетки возникают, когда повреждаются гены, ответственные за регуляцию клеточного деления. Канцерогенез вызывается мутацией и эпимутацией генетического материала нормальных клеток, что нарушает нормальный баланс между пролиферацией и гибелью клеток. Это приводит к неконтролируемому делению клеток и эволюции этих клеток путем естественного отбора в организме. Неконтролируемая и зачастую быстрая пролиферация клеток может привести к образованию доброкачественных или злокачественных опухолей (рака). Доброкачественные опухоли не распространяются в другие части тела и не проникают в другие ткани. Злокачественные опухоли могут проникать в другие органы, распространяться в отдаленные места (метастазировать) и становиться опасными для жизни.

[0047] В некоторых вариантах осуществления раковая клетка выбрана из опухолевых клеток HT1080, A549, SC-OV-3, PC3, HT1376, NCI-H292, LnCap, MC38, MC38 #13, 4T1-D02, H322, HT29, T47D и RKO.

[0048] В некоторых вариантах осуществления компонент, присутствующий в раковой клетке, представляет собой нектин-4.

[0049] Нектин-4 представляет собой поверхностную молекулу, принадлежащую к семейству белков нектина, состоящему из 4 членов. Нектины представляют собой молекулы клеточной адгезии, которые играют ключевую роль в различных биологических процессах, таких как полярность, пролиферация, дифференциация и миграция, для эпителиальных, эндотелиальных, иммунных клеток и нейронов во время развития и взрослой жизни. Они участвуют в ряде патологических процессов у человека. Они являются основными рецепторами полиовируса, вируса простого герпеса и вируса кори. Мутации в генах, кодирующих нектин-1 (PVRL1) или нектин-4 (PVRL4), вызывают синдромы эктодермальной дисплазии, связанные с другими аномалиями. Нектин-4 экспрессируется во время развития плода. Во взрослых тканях его экспрессия более ограничена, чем у других членов семейства. Нектин-4 является опухолеассоциированным антигеном в 50%,

49% и 86% случаев рака молочной железы, яичников и легких, соответственно, преимущественно в опухолях с плохим прогнозом. Его экспрессия не обнаруживается в соответствующих нормальных тканях. В опухолях молочной железы, нектин-4 экспрессируется преимущественно в трижды отрицательных и ERBB2+ карциномах. В сыворотке пациентов с этими видами рака, обнаружение растворимых форм нектин-4 связано с плохим прогнозом. Уровни нектин-4 в сыворотке увеличиваются во время метастатического прогрессирования и снижаются после лечения. Эти результаты позволяют предположить, что нектин-4 может быть надежной мишенью для лечения рака. Соответственно, в предшествующем уровне техники было описано несколько антител против нектин-4. В частности, Энфортумаб Ведотин (ASG-22ME) представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC), таргетирующий нектин-4, и в настоящее время клинически исследуется для лечения пациентов, страдающих солидными опухолями.

[0050] В некоторых вариантах осуществления первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4.

[0051] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, выбран из лигандов, описанных в WO 2019/243832, содержание которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

[0052] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из:

C_iP[1Nal][dD]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 1; далее названный BCY8116);

C_iP[1Nal][dD]C_{ii}M[HArg]D[dW]STP[HyP][dW]C_{iii} (SEQ ID NO: 2);

C_iP[1Nal][dK](Sar₁₀-(B-Ala))C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 3);

C_iPFGC_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 4; далее названный BCY11414);

C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 14);

[MerPro]_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 15; далее названный BCY12363);

C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]W[Cysam]_{iii} (SEQ ID NO: 16);

[MerPro]_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]W[Cysam]_{iii} (SEQ ID NO: 17; далее названный BCY12365);

C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]HWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 18);

C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HArg]EWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 19);

C_iP[1Nal][dE]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 20; далее названный BCY12368);

C_iP[1Nal][dA]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 21; далее названный BCY12369);

C_iP[1Nal][dE]C_{ii}L[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 22; далее названный BCY12370); and

C_iP[1Nal][dE]C_{ii}M[HArg]EWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 23; далее названный

BCY12384);

где [MerPro]_i, C_i, C_{ii}, C_{iii} и [Cysam]_{iii} представляют собой первую (i), вторую (ii) и третью (iii) реакционноспособные группы, которые выбраны из цистеина, MerPro и Cysam, 1Nal представляет собой 1-нафтилаланин, HArg представляет собой гомоаргинин, HyP представляет собой транс-4-гидрокси-L-пролин, Sar₁₀ представляет собой 10 единиц саркозина, B-Ala представляет собой бета-аланин, MerPro представляет собой 3-меркаптопропионовую кислоту и Cysam представляет собой цистеамин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0053] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из:

C_iP[1Nal][dD]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 1; далее названный BCY8116);

C_iP[1Nal][dK](Sar₁₀-(B-Ala))C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 3); и

C_iPFGC_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 4; далее названный BCY11414);

где C_i, C_{ii} и C_{iii} представляют собой первый, второй и третий цистеиновые остатки, соответственно, 1Nal представляет собой 1-нафтилаланин, HArg представляет собой гомоаргинин, HyP представляет собой транс-4-гидрокси-L-пролин, Sar₁₀ представляет собой 10 единиц саркозина, B-Ala представляет собой бета-аланин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0054] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, необязательно содержит N-концевые модификации и содержит:

SEQ ID NO: 1 (далее названный BCY8116);

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (SEQ ID NO: 1) (далее названный BCY8846);

[PYA]- (SEQ ID NO: 1) (далее названный BCY11015);

[PYA]-[B-Ala]- (SEQ ID NO: 1) (далее названный BCY11016);

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (SEQ ID NO: 2) (далее названный BCY11942);

Ac- (SEQ ID NO: 3) (далее названный BCY8831);

SEQ ID NO: 4 (далее названный BCY11414);

[PYA]-[B-Ala]- (SEQ ID NO: 14) (далее названный BCY11143);

Пальмитиновая-yGlu-yGlu- (SEQ ID NO: 14) (далее названный BCY12371);

Ac- (SEQ ID NO: 14) (далее названный BCY12024);

Ac- (SEQ ID NO: 16) (далее названный BCY12364);

Ac- (SEQ ID NO: 18) (далее названный BCY12366); и

Ac- (SEQ ID NO: 19) (далее названный BCY12367);

где PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, B-Ala представляет собой бета-аланин, Sar₁₀ представляет собой 10 единиц саркозина, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0055] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, необязательно содержит N-концевые модификации и содержит:

SEQ ID NO: 1 (далее названный BCY8116);

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (SEQ ID NO: 1) (далее названный BCY8846);
 [PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (SEQ ID NO: 2) (далее названный BCY11942);
 Ac-(SEQ ID NO: 3) (далее названный BCY8831); и
 SEQ ID NO: 4 (далее названный BCY11414);

где PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, B-Ala представляет собой бета-аланин, Sar₁₀ представляет собой 10 единиц саркозина, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0056] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, содержит SEQ ID NO: 1 (далее названный BCY8116).

[0057] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из:

C_iP[1Nal][dD]C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 1; далее названный BCY8116);

C_iP[1Nal][dD]C_{ii}M[HArg]D[dW]STP[HyP][dW]C_{iii} (SEQ ID NO: 2; далее названный BCY11415); и

C_iP[1Nal][dK](Sar₁₀-(B-Ala))C_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 3);

C_iPFGC_{ii}M[HArg]DWSTP[HyP]WC_{iii} (SEQ ID NO: 4; далее названный BCY11414);

где C_i, C_{ii} и C_{iii} представляют собой первый, второй и третий цистеиновые остатки, соответственно, 1Nal представляет собой 1-нафтилаланин, HArg представляет собой гомоаргинин, HyP представляет собой гидроксипролин, Sar₁₀ представляет собой 10 единиц саркозина, B-Ala представляет собой бета-аланин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0058] В дополнительном варианте осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, необязательно содержит N-концевые модификации и содержит:

SEQ ID NO: 1 (далее названный BCY8116);

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (SEQ ID NO: 1) (далее названный BCY8846);

SEQ ID NO: 2 (далее названный BCY11415);

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (SEQ ID NO: 2) (далее названный BCY11942);

Ac-(SEQ ID NO: 3) (далее названный BCY8831); и

SEQ ID NO: 4 (далее названный BCY11414);

где PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, B-Ala представляет собой бета-аланин, Sar₁₀ представляет собой 10 единиц саркозина, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0059] В некоторых вариантах осуществления компонент, присутствующий в раковой клетке, представляет собой EphA2.

[0060] Тирозинкиназы рецептора Eph (Ephs) принадлежат к большой группе рецепторных тирозинкиназ (RTK), киназ, которые фосфорилируют белки на тирозиновых остатках. Ephs и их мембраносвязанные эфринные лиганды (эфрины) контролируют положение клеток и организацию тканей (Poliakov *et al.* (2004) Dev Cell 7, 465-80).

Функциональные и биохимические реакции Eph возникают при более высоких состояниях олигомеризации лигандов (Stein *et al.* (1998) *Genes Dev* 12, 667-678).

[0061] Было показано, что среди других функций формирования паттерна, различные Ephs и эфрины играют роль в развитии сосудов. Нокаут EphB4 и эфрина-B2 приводит к отсутствию способности ремоделировать капиллярные русла в кровеносные сосуды (Poliakov *et al.*, *выше*) и эмбриональной летальности. Стойкая экспрессия некоторых рецепторов Eph и эфринов также наблюдалась во вновь сформированных взрослых микрососудах (Brantley-Sieders *et al.* (2004) *Curr Pharm Des* 10, 3431-42; Adams (2003) *J Anat* 202, 105-12).

[0062] Также наблюдалось, что дерегулированное повторное появление некоторых эфринов и их рецепторов у взрослых способствует инвазии опухоли, метастазированию и неоангиогенезу (Nakamoto *et al.* (2002) *Microsc Res Tech* 59, 58-67; Brantley-Sieders *et al.*, *выше*). Кроме того, было обнаружено, что некоторые члены семейства Eph сверхэкспрессируются на опухолевых клетках различных опухолей человека (Brantley-Sieders *et al.*, *выше*); Marme (2002) *Ann Hematol* 81 Suppl 2, S66; Booth *et al.* (2002) *Nat Med* 8, 1360-1).

[0063] Рецептор EPH A2 (рецептор 2 типа A эфрина) представляет собой белок, который у человека кодируется геном *EPHA2*.

[0064] Уровень EphA2 повышается при множественных видах рака у человека, что часто коррелирует с прогрессированием заболевания, метастазированием и плохим прогнозом, например: раке молочной железы (Zelinski *et al* (2001) *Cancer Res.* 61, 2301-2306; Zhuang *et al* (2010) *Cancer Res.* 70, 299-308; Brantley-Sieders *et al* (2011) *PLoS One* 6, e24426), легкого (Brannan *et al* (2009) *Cancer Prev Res (Phila)* 2, 1039-1049; Kinch *et al* (2003) *Clin Cancer Res.* 9, 613-618; Guo *et al* (2013) *J Thorac Oncol.* 8, 301-308), желудка (Nakamura *et al* (2005) *Cancer Sci.* 96, 42-47; Yuan *et al* (2009) *Dig Dis Sci* 54, 2410-2417), поджелудочной железы (Mudali *et al* (2006) *Clin Exp Metastasis* 23, 357-365), предстательной железы (Walker-Daniels *et al* (1999) *Prostate* 41, 275-280), печени (Yang *et al* (2009) *Hepatol Res.* 39, 1169-1177) и глиобластомы (Wykosky *et al* (2005) *Mol Cancer Res.* 3, 541-551; Li *et al* (2010) *Tumor Biol.* 31, 477-488).

[0065] Полная роль EphA2 в прогрессировании рака до сих пор не определена, хотя имеются доказательства взаимодействия на многочисленных стадиях прогрессирования рака, включая рост, выживаемость, инвазию и ангиогенез опухолевых клеток. Снижение экспрессии EphA2 подавляет размножение раковых клеток опухоли (Binda *et al* (2012) *Cancer Cell* 22, 765-780), в то время как блокада EphA2 ингибирует миграцию клеток, индуцированную VEGF (Hess *et al* (2001) *Cancer Res.* 61, 3250-3255), прорастание и ангиогенез (Cheng *et al* (2002) *Mol Cancer Res.* 1, 2-11; Lin *et al* (2007) *Cancer* 109, 332-40) и метастатическое прогрессирование (Brantley-Sieders *et al* (2005) *FASEB J.* 19, 1884-1886).

[0066] Было показано, что конъюгат антитело-лекарственное средство с EphA2 значительно уменьшает рост опухоли на моделях ксенотрансплантатов крыс и мышей (Jackson *et al* (2008) *Cancer Research* 68, 9367-9374), и аналогичный подход был опробован

на человеке, хотя лечение пришлось прекратить из-за неблагоприятных явлений, связанных с лечением (Annunziata *et al* (2013) Invest New Drugs 31, 77-84).

[0067] В некоторых вариантах осуществления первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2.

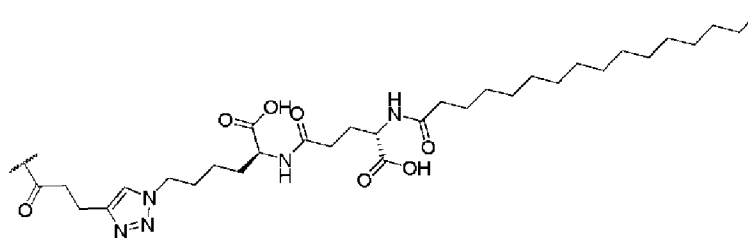
[0068] В некоторых вариантах осуществления бициклические пептидные лиганды, связывающие EphA2, выбраны из описанных в WO 2019/122860, WO 2019/122861 и WO 2019/122863, содержание каждого из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

[0069] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из:

- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 24);
- C_iLWDPTPC_{ii}ANLHL[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 25);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[K(PYA)]P[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 26);
- C_i[HyP][K(PYA)]VNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 27);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}[K(PYA)]HP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 28);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LKP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 29);
- C_i[HyP]KVNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 30);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}KHP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 31);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dE]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 32);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LEP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 33);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dD]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 34);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LEP[dD]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 35);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LEP[dA]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 36);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[3,3-DPA]P[dD]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 37; далее названный BCY12860);
- C_i[HyP][Cba]VNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 38);
- C_i[HyP][Cba]VNPLC_{ii}LEP[dD]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 39);
- C_i[HyP][Cba]VNPLC_{ii}L[3,3-DPA]P[dD]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 40);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[3,3-DPA]P[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 41);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[d1Nal]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 42);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[1Nal]P[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 43);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LEP[d1Nal]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 44);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[1Nal]P[dD]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 45; далее названный BCY13119);
- C_i[HyP][Cba]VNPLC_{ii}LEP[dA]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 46);
- C_i[HyP][hGlu]VNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 47);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}[hGlu]HP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 48);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[hGlu]P[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 49);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dNle]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 50);
- C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[Nle]P[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 51);
- [MerPro]_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[3,3-DPA]P[dD]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 154);

$C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dD]W[HAArg][Cysam]_{iii}$ (SEQ ID NO: 155);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[His3Me]P[dD]W[HAArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 156);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[His1Me]P[dD]W[HAArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 157);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[4ThiAz]P[dD]W[HAArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 158);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LFP[dD]W[HAArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 159);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[Thi]P[dD]W[HAArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 160);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[3Thi]P[dD]W[HAArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 161);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LNP[dD]W[HAArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 162);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LQP[dD]W[HAArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 163); and
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[K(PYA-(Пальмитоил-Glu-LysN_3))]P[dD]W[HAArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 164);

где $[MerPro]_i$, C_i , C_{ii} , C_{iii} и $[Cysam]_{iii}$ представляют собой первую (i), вторую (ii) и третью (iii) реакционноспособные группы, которые выбраны из цистеина, MerPro и Cysam, HyP представляет собой транс-4-гидрокси-L-пролин, HAArg представляет собой гомоаргинин, PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, 3,3-DPA представляет собой 3,3-дифенилаланин, Cba представляет собой β -циклобутилаланин, 1Nal представляет собой 1-нафтилаланин, hGlu представляет собой гомоглутаминовую кислоту, Thi представляет собой 2-тиенилаланин, 4ThiAz представляет собой бета-(4-тиазолил)-аланин, His1Me представляет собой N1-метил-L-гистидин, His3Me представляет собой N3-метил-L-гистидин, 3Thi представляет собой 3-тиенилаланин, Пальмитоил-Glu-LysN₃[PYA]



представляет собой:

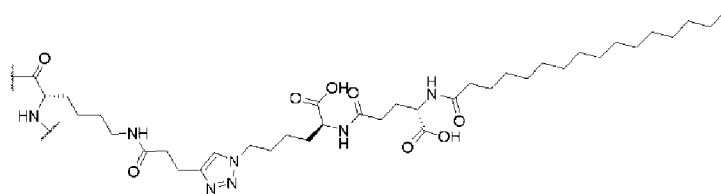
(Пальмитоил-Gly-LysN₃)[PYA]

(Пальмитоил-Glu-LysN₃)

представляет

, [K(PYA-

с собой



[K(PYA(Пальмитоил-Glu-LysN₃))]

, Nle представляет собой норлейцин,

MerPro представляет собой 3-меркаптопропионовую кислоту и Cysam представляет собой цистеамин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0070] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, содержит аминокислотную последовательность, которая представляет собой:

C_i [HyP]LVNPLC $_{ii}$ LHP[dD]W[HArg]C $_{iii}$ (SEQ ID NO: 24);

где C_i , C_{ii} , C_{iii} и представляют собой первую (i), вторую (ii) и третью (iii) группы цистеина, HyP представляет собой транс-4-гидрокси-L-пролин, HArg представляет собой гомоаргинин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0071] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, содержит аминокислотную последовательность, которая представляет собой:

C_i [HyP]LVNPLC $_{ii}$ LEP[d1Nal]WTC $_{iii}$ (SEQ ID NO: 44);

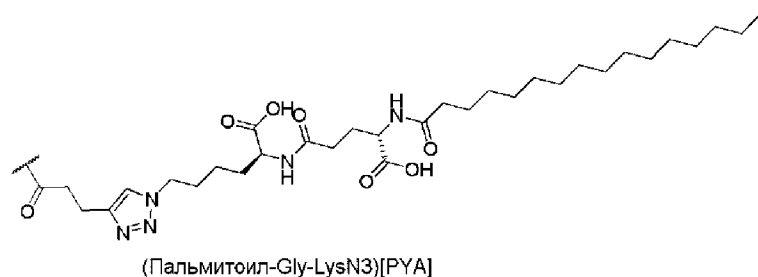
где C_i , C_{ii} , C_{iii} и представляют собой первую (i), вторую (ii) и третью (iii) группы цистеина, HyP представляет собой транс-4-гидрокси-L-пролин, 1Nal представляет собой 1-нафтилаланин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0072] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, необязательно содержит N-концевые и/или C-концевые модификации и содержит:

- A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 24) (далее названный BCY9594);
- [B-Ala]-[Sar₁₀]-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 24) (далее названный BCY6099);
- [PYA]-A-[HArg]-D-(SEQ NO: 24) (далее названный BCY11813);
- Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 24)-[K(PYA)] (далее названный BCY11814);
- Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 24)-K (далее названный BCY12734);
- [NMeAla]-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 24) (далее названный BCY13121);
- [Ac]-(SEQ ID NO: 24)-L[dH]G[dK] (далее названный BCY13125);
- [PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]-VGP-(SEQ ID NO: 25) (далее названный BCY8941);
- Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 26) (далее названный BCY11815);
- Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 27) (далее названный BCY11816);
- Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 28) (далее названный BCY11817);
- Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 29) (далее названный BCY12735);
- (Пальмитоил-Glu-LysN₃)[PYA]A[HArg]D-(SEQ ID NO: 29) (далее известный как BCY14327);
- Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 30) (далее названный BCY12736);
- Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 31) (далее названный BCY12737);
- A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 32) (далее названный BCY12738);
- A-[HArg]-E-(SEQ ID NO: 32) (далее названный BCY12739);
- A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 33) (далее названный BCY12854);
- A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 34) (далее названный BCY12855);
- A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 35) (далее названный BCY12856);
- A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 35)-[dA] (далее названный BCY12857);
- (SEQ ID NO: 35)-[dA] (далее названный BCY12861);
- [NMeAla]-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 35) (далее названный BCY13122);
- [dA]-ED-(SEQ ID NO: 35) (далее названный BCY13126);
- [dA]-[dA]-D-(SEQ ID NO: 35) (далее названный BCY13127);

AD-(SEQ ID NO: 35) (далее названный BCY13128);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 36) (далее названный BCY12858);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 37) (далее названный BCY12859);
 Ac-(SEQ ID NO: 37)-[dK] (далее названный BCY13120);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 38) (далее названный BCY12862);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 39) (далее названный BCY12863);
 [dA]-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 39)-[dA] (далее названный BCY12864);
 (SEQ ID NO: 40)-[dA] (далее названный BCY12865);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 41) (далее названный BCY12866);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 42) (далее названный BCY13116);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 43) (далее названный BCY13117);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 44) (далее названный BCY13118);
 [dA]-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 46)-[dA] (далее названный BCY13123);
 [d1Nal]-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 46)-[dA] (далее названный BCY13124);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 47) (далее названный BCY13130);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 48) (далее названный BCY13131);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 49) (далее названный BCY13132);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 50) (далее названный BCY13134);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 51) (далее названный BCY13135);
 (SEQ ID NO: 154)-[dK] (далее названный BCY13129);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 155) (далее названный BCY13133);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 156) (далее названный BCY13917);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 157) (далее названный BCY13918);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 158) (далее названный BCY13919);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 159) (далее названный BCY13920);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 160) (далее названный BCY13922);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 161) (далее названный BCY13923);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 162) (далее названный BCY14047);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 163) (далее названный BCY14048); и
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 164) (далее названный BCY14313);

где PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, B-Ala представляет собой бета-аланин, Sar₁₀ представляет собой 10 единиц саркозина, HArg представляет собой гомоаргинин, NMeAla представляет собой N-метилаланин, 1Nal представляет собой 1-нафтилаланин, Пальмитоил-Glu-LysN₃[PYA] представляет собой:



, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0073] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, необязательно содержит N-концевые и/или C-концевые модификации и содержит:

A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 24) (далее названный BCY9594);

где HArg представляет собой гомоаргинин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0074] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, необязательно содержит N-концевые и/или C-концевые модификации и содержит:

A-[HArg]-D- (SEQ ID NO: 44) (далее названный BCY13118);

где HArg представляет собой гомоаргинин или его фармацевтически приемлемую соль.

[0075] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, содержит аминокислотную последовательность:

C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 24); и

C_iLWDPTPC_{ii}ANLHL[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 25);

где C_i, C_{ii} и C_{iii} представляют собой первый, второй и третий цистеиновые остатки, соответственно, HyP представляет собой гидроксипролин, dD представляет собой аспарагиновую кислоту в D-конфигурации и HArg представляет собой гомоаргинин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0076] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, содержит аминокислотную последовательность:

C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 24);

где C_i, C_{ii} и C_{iii} представляют собой первый, второй и третий цистеиновые остатки, соответственно, HyP представляет собой гидроксипролин, dD представляет собой аспарагиновую кислоту в D-конфигурации и HArg представляет собой гомоаргинин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0077] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, содержит N-концевые модификации и содержит:

A-HArg-D-(SEQ ID NO: 24) (далее названный BCY9594);

[B-Ala]-[Sar₁₀]-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 24) (далее названный BCY6099);

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 24) (далее названный BCY6169); и

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]-VGP-(SEQ ID NO: 25) (далее названный BCY8941);

где HArg представляет собой гомоаргинин, PUA представляет собой 4-пентиновую кислоту, Sar₁₀ представляет собой 10 единиц саркозина, B-Ala представляет собой бета-аланин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0078] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, содержит N-концевые модификации и содержит:

A-HArg-D-(SEQ ID NO: 24) (далее названный BCY9594).

где HArg представляет собой гомоаргинин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0079] В некоторых вариантах осуществления компонент, присутствующий в раковой клетке, представляет собой PD-L1.

[0080] Лиганд 1 программируемой смерти клеток 1 (PD-L1) представляет собой трансмембранный белок I типа из 290 аминокислот, кодируемый геном CD274 на хромосоме 19 мыши и хромосоме 9 человека. Экспрессия PD-L1 участвует в ускользании от иммунных ответов, участвующих в хронической инфекции, например, хронической вирусной инфекции (включая, например, HIV, HBV, HCV и HTLV, среди прочих), хронической бактериальной инфекции (включая, например, *Helicobacter pylori*, среди прочих) и хронической паразитарной инфекции (включая, например, *Schistosoma mansoni*). Экспрессия PD-L1 была обнаружена в ряде тканей и типов клеток, включая Т-клетки, В-клетки, макрофаги, дендритные клетки и не гемопоэтические клетки, включая эндотелиальные клетки, гепатоциты, мышечные клетки и плаценту.

[0081] Экспрессия PD-L1 также участвует в подавлении противоопухолевой иммунной активности. Опухоли экспрессируют антигены, которые могут распознаваться Т-клетками хозяина, но иммунологическое излечение опухолей происходит редко. Частично эта неудача связана с подавлением иммунитета микроокружением опухоли. Экспрессия PD-L1 во многих опухолях является компонентом этой депрессивной среды и действует совместно с другими иммунодепрессивными сигналами. Экспрессия PD-L1 была показана *in situ* в самых разных солидных опухолях, включая рак молочной железы, легких, толстой кишки, яичников, меланому, рак мочевого пузыря, печени, слюнной железы, желудка, глиомы, рак щитовидной железы, эпителиальные опухоли тимуса, рак головы и шеи (Brown JA *et al.* 2003 Immunol. 170:1257-66; Dong H *et al.* 2002 Nat. Med. 8:793-800; Hatanishi J, *et al.* 2007 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104:3360-65; Strome SE *et al.* 2003 Cancer Res. 63:6501-5; Inman BA *et al.* 2007 Cancer 109:1499-505; Konishi J *et al.* 2004 Clin. Cancer Res. 10:5094-100; Nakanishi J *et al.* 2007 Cancer Immunol. Immunother. 56:1173-82; Nomi T *et al.* 2007 Clin. Cancer Res. 13:2151-57; Thompson RH *et al.* 2004 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:17174-79; Wu C *et al.* 2006 Acta Histochem. 108:19-24). Кроме того, экспрессия рецептора PD-L1, белка 1 запрограммированной гибели клеток (также известного как PD-1 и CD279), усиливается на инфильтрирующих опухоль лимфоцитах, и это также способствует иммунодепрессии опухоли (Blank C *et al.* 2003 Immunol. 171:4574-81). Самое главное, исследования, связывающие экспрессию PD-L1 в опухолях с исходом заболевания, показывают, что экспрессия PD-L1 сильно коррелирует с неблагоприятным прогнозом при

раке почек, яичников, мочевого пузыря, молочной железы, желудка и поджелудочной железы (Hamanishi J *et al.* 2007 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104:3360-65; Inman BA *et al.* 2007 Cancer 109:1499-505; Konishi J *et al.* 2004 Clin. Cancer Res. 10:5094-100; Nakanishi J *et al.* 2007 Cancer Immunol. Immunother. 56:1173-82; Nomi T *et al.* 2007 Clin. Cancer Res. 13:2151-57; Thompson RH *et al.* 2004 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 101:17174-79; Wu C *et al.* 2006 Acta Histochem. 108:19-24). Кроме того, эти исследования показывают, что более высокие уровни экспрессии PD-L1 в опухолях могут способствовать развитию стадии опухоли и инвазии в более глубокие тканевые структуры.

[0082] Путь PD-1 также может играть роль в гемобластозах. PD-L1 экспрессируется на клетках множественной миеломы, но не на нормальных плазматических клетках (Liu J *et al.* 2007 Blood 110:296-304). PD-L1 экспрессируется на некоторых первичных Т-клеточных лимфомах, особенно на анапластических Т-крупноклеточных лимфомах (Brown JA *et al.* 2003 Immunol. 170:1257-66). PD-1 высоко экспрессируется на Т-клетках ангиоиммунобластных лимфом, и PD-L1 экспрессируется на ассоциированной сети фолликулярных дендритных клеток (Dorfman DM *et al.*, 2006 Am. J. Surg. Pathol. 30:802-10). При узловой лимфоме Ходжкина с преобладанием лимфоцитов, Т-клетки, связанные с лимфоцитарными или гистиоцитарными (L&H) клетками, экспрессируют PD-1. Микроматричный анализ с использованием считывания генов, индуцированных лигированием PD-1, позволяет предположить, что опухолеассоциированные Т-клетки отвечают на сигналы PD-1 *in situ* при лимфоме Ходжкина (Chemnitz JM *et al.* 2007 Blood 110:3226-33). PD-1 и PD-L1 экспрессируются на CD4 Т-клетках при HTLV-1-опосредованном Т-клеточном лейкозе и лимфоме взрослых (Shimauchi T *et al.* 2007 Int. J. Cancer 121: 2585-90). Эти опухолевые клетки гипочувствительны к сигналам TCR.

[0083] Исследования на животных моделях демонстрируют, что PD-L1 в опухолях ингибирует активацию Т-клеток и лизис опухолевых клеток, и в некоторых случаях приводит к усилению гибели опухолеспецифических Т-клеток (Dong H *et al.* 2002 Nat. Med. 8:793-800; Hirano F *et al.* 2005 Cancer Res. 65:1089-96). Опухолеассоциированные APC также могут использовать путь PD-1:PD-L1 для контроля противоопухолевых ответов Т-клеток. Экспрессия PD-L1 в популяции опухолеассоциированных миелоидных DC активируется факторами окружающей среды опухоли (Curiel TJ *et al.* 2003 Nat. Med. 9:562-67). Плазмцитоидные дендритные клетки (DC) в дренирующих опухоль лимфатических узлах меланомы B16 экспрессируют IDO, который сильно активирует супрессивную активность регуляторных Т-клеток. Супрессивная активность обработанных IDO регуляторных Т-клеток требует контакта клеток с IDO-экспрессирующими DC (Sharma MD *et al.* 2007 Clin. Invest. 117:2570-82).

[0084] В некоторых вариантах осуществления первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий PD-L1.

[0085] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий PD-L1, выбран из лигандов, описанных в WO 2020/128526 и WO 2020/128527, содержание каждой из которых полностью включено в настоящий документ

посредством ссылки.

[0086] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий PD-L1, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из:

C_i SAGWLTMC_{ii}QKLHLC_{iii} (SEQ ID NO: 52);
 C_i SAGWLTMC_{ii}Q[K(PYA)]LHLC_{iii} (SEQ ID NO: 53);
 C_i SKGWLTMC_{ii}Q[K(Ac)]LHLC_{iii} (SEQ ID NO: 54);
 C_i SAGWLTMC_{ii}Q[K(Ac)]LHLC_{iii} (SEQ ID NO: 55);
 C_i SAGWLTMC_{ii}K[K(Ac)]LHLC_{iii} (SEQ ID NO: 56);
 C_i SAGWLTMC_{ii}Q[K(Ac)]LKLC_{iii} (SEQ ID NO: 57);
 C_i SAGWLTMC_{ii}Q[HArg]LHLC_{iii} (SEQ ID NO: 58); и
 C_i SAGWLTMC_{ii}[HArg]QLNLC_{iii} (SEQ ID NO: 59);

где C_i , C_{ii} и C_{iii} представляют собой первый, второй и третий цистеиновые остатки, соответственно, PYA представляет собой 4-пентиную кислоту, и HArg представляет собой гомоаргинин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0087] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий PD-L1, необязательно содержит N-концевые и/или C-концевые модификации и включает:

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]-SDK-(SEQ ID NO: 52) (далее названный BCY10043);
 Ac-D-[HArg]-(SEQ ID NO: 52)-PSH (далее названный BCY11865);
 Ac-SDK-(SEQ ID NO: 53) (далее названный BCY11013);
 Ac-SDK-(SEQ ID NO: 53)-PSH (далее названный BCY10861);
 Ac-D-[HArg]-(SEQ ID NO: 54)-PSH (далее названный BCY11866);
 Ac-D-[HArg]-(SEQ ID NO: 55)-PSH (далее названный BCY11867);
 Ac-D-[HArg]-(SEQ ID NO: 56)-PSH (далее названный BCY11868);
 Ac-D-[HArg]-(SEQ ID NO: 57)-PSH (далее названный BCY11869);
 Ac-SD-[HArg]-(SEQ ID NO: 58)-PSHK (далее названный BCY12479); и
 Ac-SD-[HArg]-(SEQ ID NO: 59)-PSHK (далее названный BCY12477);

где PYA представляет собой 4-пентиную кислоту, B-Ala представляет собой бета-аланин, Sar₁₀ представляет собой 10 единиц саркозина и HArg представляет собой гомоаргинин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0088] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий PD-L1, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из:

C_i [HArg]DWC_{ii}HWTFSHGHPC_{iii} (SEQ ID NO: 82);
 C_i SAGWLTMC_{ii}QKLHLC_{iii} (SEQ ID NO: 52); и
 C_i SAGWLTMC_{ii}Q[K(PYA)]LHLC_{iii} (SEQ ID NO: 53);

где C_i , C_{ii} и C_{iii} представляют собой первый, второй и третий цистеиновые остатки соответственно, HArg представляет собой гомоаргинин, и PYA представляет собой 4-пентиную кислоту, или его фармацевтически приемлемую соль.

[0089] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий PD-L1, содержит N-концевые и/или C-концевые модификации и включает:

[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (SEQ ID NO: 82) (далее названный BCY8938);
 [PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]-SDK- (SEQ ID NO: 52) (далее названный BCY10043);
 NH₂-SDK-(SEQ ID NO: 52)-[Sar₁₀]-[K(PYA)] (далее названный BCY10044);
 NH₂-SDK-(SEQ ID NO: 53) (далее названный BCY10045); и
 Ac-SDK-(SEQ ID NO: 53)-PSH (далее названный BCY10861);

где PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, B-Ala представляет собой бета-аланин, Sar₁₀ представляет собой 10 единиц саркозина или его фармацевтически приемлемую соль.

[0090] В некоторых вариантах осуществления компонент, присутствующий на раковой клетке, представляет собой простатспецифический мембранный антиген (PSMA).

[0091] Простатспецифический мембранный антиген (PSMA) (также известный как глутаматкарбоксипептидаза II (GCP II), N-ацетил-L-аспартил-L-глутаматпептидаза I (NAALADase I) и пептидаза NAAG) представляет собой фермент, который у человека кодируется геном *FOLH1* (фолатгидролазы 1). GCP II человека содержит 750 аминокислот и весит примерно 84 кДа.

[0092] PSMA человека экспрессируется в предстательной железе примерно в сто раз сильнее, чем в большинстве других тканей. При некоторых видах рака простаты, PSMA является вторым наиболее активным генным продуктом, уровень которого в 8-12 раз выше, чем в не раковых клетках предстательной железы. Из-за такой высокой экспрессии PSMA разрабатывается как потенциальный биомаркер для терапии и визуализации некоторых видов рака. При раке предстательной железы человека, опухоли с более высокой экспрессией связаны с более быстрым временем прогрессирования и большей долей пациентов, страдающих рецидивами.

[0093] В некоторых вариантах осуществления первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий PSMA.

[00216] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий PSMA, выбран из описанных в WO 2019/243455 и WO 2020/120980, содержание каждого из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00217] В некоторых вариантах осуществления компонент, присутствующий в раковой клетке, представляет собой мембранную металлопротеазу 1 типа (MT1-MMP).

[00218] В некоторых вариантах осуществления первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий MT1-MMP.

[00219] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий MT1-MMP, выбран из описанных в WO 2016/067035, WO 2017/191460 и WO 2018/115204, содержание каждого из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

Пептидный(ые) лиганд(ы), связывающий(ие) CD137

[00220] CD137 является членом семейства рецепторов фактора некроза опухоли (TNF). Его альтернативные названия включают член 9 надсемейства рецепторов фактора

некроза опухоли (TNFRSF9), 4-1BB и индуцируемый активацией лимфоцитов (ILA). CD137 может экспрессироваться активированными Т-клетками, но в большей степени на CD8+, чем на CD4+ Т-клетках. Кроме того, экспрессия CD137 обнаруживается на дендритных клетках, фолликулярных дендритных клетках, естественных киллерах, гранулоцитах и клетках стенок кровеносных сосудов в местах воспаления. Одной из охарактеризованных активностей CD137 является его костимулирующая активность в отношении активированных Т-клеток. Перекрестное сшивание CD137 усиливает пролиферацию Т-клеток, секрецию, выживаемость и цитолитическую активность IL-2. Кроме того, он может усиливать иммунную активность для устранения опухолей у мышей.

[00221] CD137 представляет собой костимулирующий рецептор Т-клеток, индуцируемый активацией TCR (Nam et al., Curr. Cancer Drug Targets, 5:357-363 (2005); Waits et al., Annu. Rev. Immunol., 23:23-68. (2005)). Помимо экспрессии на активированных CD4+ и CD8+ Т-клетках, CD137 также экспрессируется на CD4+CD25+ регуляторных Т-клетках, естественных киллерах (NK) и NK-Т-клетках, моноцитах, нейтрофилах и дендритных клетках. Его природный лиганд, CD137L, был описан на антигенпрезентирующих клетках, включая В-клетки, моноциты/макрофаги и дендритные клетки (Watts et al. Annu. Rev. Immunol, 23:23-68 (2005)). При взаимодействии со своим лигандом, CD137 приводит к усилению TCR-индуцированной пролиферации Т-клеток, продуцирования цитокинов, функционального созревания и продлению выживания CD8+ Т-клеток (Nam et al, Curr. Cancer Drug Targets, 5:357-363 (2005), Watts et al., Annu. Rev. Immunol, 23:23-68 (2005)).

[00222] Передача сигнала через CD137 с помощью CD137L или агонистических моноклональных антител (mAb) против CD137 приводит к усилению TCR-индуцированной пролиферации Т-клеток, продуцирования цитокинов и функционального созревания, и продлению выживания CD8+ Т-клеток. Эти эффекты являются результатом: (1) активации сигнальных путей NF-κB, c-Jun NH2-концевой киназы/стресс-активируемой протеинкиназы (JNK/SAPK) и митоген-активируемой протеинкиназы p38 (MAPK) и (2) контроля анти-апоптотической и связанной с клеточным циклом экспрессии генов.

[00223] Эксперименты, проведенные на мышах с дефицитом CD137 и CD137L, дополнительно продемонстрировали важность костимуляции CD137 в создании полностью компетентного Т-клеточного ответа.

[00224] Активированные IL-2 и IL-15 NK-клетки экспрессируют CD137, и лигирование CD137 агонистическими mAb стимулирует пролиферацию NK-клеток и секрецию IFN-γ, но не их цитолитическую активность.

[00225] Более того, стимулированные CD137 NK-клетки способствуют размножению активированных Т-клеток *in vitro*.

[00226] Было показано, что в соответствии с их костимулирующей функцией агонистические mAb против CD137 способствуют отторжению сердечных и кожных аллотрансплантатов, уничтожают уже сформировавшиеся опухоли, расширяют первичные противовирусные ответы CD8+ Т-клеток и повышают цитолитический потенциал Т-клеток.

Эти исследования подтверждают мнение о том, что передача сигналов CD137 способствует функции Т-клеток, что может повысить иммунитет против опухолей и инфекций.

[00227] В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит два или более пептидных лигандов, связывающих CD137, два или более из указанных пептидных лигандов, связывающих CD137, имеют одинаковую пептидную последовательность. В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит два или более пептидных лигандов, связывающих CD137, два или более из указанных пептидных лигандов, связывающих CD137, имеют разные пептидные последовательности. В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит два или более пептидных лигандов, связывающих CD137, два или более из указанных пептидных лигандов, связывающих CD137, являются идентичными. В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит два или более пептидных лигандов, связывающих CD137, два или более из указанных пептидных лигандов, связывающих CD137, являются разными.

[00228] В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит один пептидный лиганд, связывающий CD137, пептидный лиганд, связывающий CD137 представляет собой бициклический пептидный лиганд, связывающий CD137. В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит два или более пептидных лигандов, связывающих CD137, два или более из указанных пептидных лигандов, связывающих CD137, представляют собой бициклические пептидные лиганды, связывающие CD137.

[00229] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий CD137, выбран из описанных в WO 2019/025811. В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит один пептидный лиганд, связывающий CD137, пептидный лиганд, связывающий CD137, представляет собой бициклический пептидный лиганд, связывающий CD137, выбранный из описанных в WO 2019/025811. В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит два или более пептидных лигандов, связывающих CD137, два или более из указанных бициклических пептидных лигандов, связывающих CD137, независимо выбраны из описанных в WO 2019/025811. Содержание WO 2019/025811 включено в настоящий документ посредством ссылки полностью.

[00230] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий CD137, содержит аминокислотную последовательность:

C_iIEEGQYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (SEQ ID NO: 5);

C_i[tBuAla]PE[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (SEQ ID NO: 6);

C_iIEEGQYC_{ii}F[D-Ala]DPY[Nle]C_{iii} (SEQ ID NO: 7);

C_i[tBuAla]PK[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (SEQ ID NO: 8);

C_i[tBuAla]PE[D-Lys]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (SEQ ID NO: 9);

$C_i[tBuAla]P[K(PYA)][D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 10);
 $C_i[tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 11);
 $C_iIEE[D-Lys(PYA)]QYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 12);
 $C_i[tBuAla]PE[dK]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 60);
 $C_iIEE[dK(PYA)]QYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 61);
 $C_i[tBuAla]EE[dK]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 62);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 63);
 $C_i[tBuAla]EE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 64);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FANPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 65);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAEPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 66);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FA[Aad]PY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 67);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAQPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 68);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle][Cysam]_{iii}$ (SEQ ID NO: 69);
 $[MerPro]_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 70; далее названный BCY12353);
 $[MerPro]_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle][Cysam]_{iii}$ (SEQ ID NO: 71; далее названный BCY12354);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 72);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 73);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 74; далее названный BCY12372);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAD[NMeAla]Y[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 75);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAD[NMeDAla]Y[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 76);
 $C_i[tBuAla]P[K(PYA)][dA]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 77);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 78);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(Me, PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 79);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(Me, PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 80); and
 $[MerPro]_i[tBuAla]EE[dK]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 81; далее названный BCY13137);

где $[MerPro]_i$, C_i , C_{ii} , C_{iii} и $[Cysam]_{iii}$ представляют собой первую (i), вторую (ii) и третью (iii) реакционноспособные группы, которые выбраны из цистеина, MerPro и Cysam, Nle представляет собой норлейцин, tBuAla представляет собой трет-бутилаланин, PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, Aad представляет собой альфа-L-аминоадипиновую кислоту, MerPro представляет собой 3-меркаптопропионовую кислоту и Cysam представляет собой цистеамин, NMeAla представляет собой N-метилаланин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[00231] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий CD137 содержит аминокислотную последовательность:

$C_iIEEGQYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 5);
 $C_i[tBuAla]PE[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 6);

C_i IEEGQY C_{ii} F[D-Ala]DPY[Nle] C_{iii} (SEQ ID NO: 7);
 C_i [tBuAla]PK[D-Ala]PY C_{ii} FADPY[Nle] C_{iii} (SEQ ID NO: 8);
 C_i [tBuAla]PE[D-Lys]PY C_{ii} FADPY[Nle] C_{iii} (SEQ ID NO: 9);
 C_i [tBuAla]P[K(PYA)][D-Ala]PY C_{ii} FADPY[Nle] C_{iii} (SEQ ID NO: 10);
 C_i [tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PY C_{ii} FADPY[Nle] C_{iii} (SEQ ID NO: 11); и
 C_i IEE[D-Lys(PYA)]QY C_{ii} FADPY(Nle) C_{iii} (SEQ ID NO: 12);

где C_i , C_{ii} и C_{iii} представляют собой первый, второй и третий цистеиновые остатки, соответственно, Nle представляет собой норлейцин, tBuAla представляет собой т-бутилаланин, PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, или его фармацевтически приемлемую соль.

[00232] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий CD137 содержит аминокислотную последовательность:

C_i [tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PY C_{ii} FADPY[Nle] C_{iii} (SEQ ID NO: 11);

где C_i , C_{ii} и C_{iii} представляют собой первый, второй и третий цистеиновые остатки, соответственно, tBuAla представляет собой трет-бутилаланин, PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, Nle представляет собой норлейцин, или его фармацевтически приемлемую соль.

[00233] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий CD137, содержит N- и C-концевые модификации и содержит:

Ac-A-(SEQ ID NO: 5)-Dap (далее названный BCY7732);
 Ac-A-(SEQ ID NO: 5)-Dap(PYA) (далее названный BCY7741);
 Ac-(SEQ ID NO: 6)-Dap (далее названный BCY9172);
 Ac-(SEQ ID NO: 6)-Dap(PYA) (далее названный BCY11014);
 Ac-A-(SEQ ID NO: 7)-Dap (далее названный BCY8045);
 Ac-(SEQ ID NO: 8)-A (далее названный BCY8919);
 Ac-(SEQ ID NO: 9)-A (далее названный BCY8920);
 Ac-(SEQ ID NO: 10)-A (далее названный BCY8927);
 Ac-(SEQ ID NO: 11)-A (далее названный BCY8928);
 (SEQ ID NO: 11)-A (далее названный BCY14601);
 Ac-A-(SEQ ID NO: 12)-A (далее названный BCY7744);
 Ac-(SEQ ID NO: 60)-Dap(PYA) (далее названный BCY11144);
 Ac-A-(SEQ ID NO: 61)-K (далее названный BCY11613);
 Ac-(SEQ ID NO: 62)-Dap(PYA) (далее названный BCY12023);
 Ac-(SEQ ID NO: 63) (далее названный BCY12149);
 Ac-(SEQ ID NO: 64) (далее названный BCY12143);
 Ac-(SEQ ID NO: 65) (далее названный BCY12147);
 Ac-(SEQ ID NO: 66) (далее названный BCY12145);
 Ac-(SEQ ID NO: 67) (далее названный BCY12146);
 Ac-(SEQ ID NO: 68) (далее названный BCY12150);
 Ac-(SEQ ID NO: 69) (далее названный BCY12352);

Ac-(SEQ ID NO: 72)-[1,2-диаминоэтан] (далее названный BCY12358);
 [Пальмитиновая кислота]-[yGlu]-[yGlu]-(SEQ ID NO: 73) (далее названный BCY12360);

Ac-(SEQ ID NO: 75) (далее названный BCY12381);
 Ac-(SEQ ID NO: 76) (далее названный BCY12382);
 Ac-(SEQ ID NO: 77)-K (далее названный BCY12357);
 Ac-(SEQ ID NO: 78)-[dA] (далее названный BCY13095);
 [Ac]-(SEQ ID NO: 78)-K (далее названный BCY13389);
 Ac-(SEQ ID NO: 79)-[dA] (далее названный BCY13096); и
 Ac-(SEQ ID NO: 80) (далее названный BCY13097);

где Ac представляет собой ацетильную группу, Dar представляет собой диаминопропионовую кислоту и PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, или его фармацевтически приемлемую соль.

[00234] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий CD137, содержит N- и C-концевые модификации и содержит:

Ac-A-(SEQ ID NO: 5)-Dar (далее названный BCY7732);
 Ac-A-(SEQ ID NO: 5)-Dar(PYA) (далее названный BCY7741);
 Ac-(SEQ ID NO: 6)-Dar (далее названный BCY9172);
 Ac-(SEQ ID NO: 6)-Dar(PYA) (далее названный BCY11014);
 Ac-A-(SEQ ID NO: 7)-Dar (далее названный BCY8045);
 Ac-(SEQ ID NO: 8)-A (далее названный BCY8919);
 Ac-(SEQ ID NO: 9)-A (далее названный BCY8920);
 Ac-(SEQ ID NO: 10)-A (далее названный BCY8927);
 Ac-(SEQ ID NO: 11)-A (далее названный BCY8928); и
 Ac-A-(SEQ ID NO: 12)-A (далее названный BCY7744);

где Ac представляет собой ацетильную группу, Dar представляет собой диаминопропионовую кислоту и PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, или его фармацевтически приемлемую соль.

[00235] В некоторых вариантах осуществления бициклический пептидный лиганд, связывающий CD137, содержит N- и C-концевые модификации и содержит:

Ac-(SEQ ID NO: 11)-A (далее названный BCY8928);

где Ac представляет собой ацетильную группу, или его фармацевтически приемлемую соль.

[00236] В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит два или более пептидных лигандов, связывающих CD137, каждый из указанных двух или более пептидных лигандов, связывающих CD137, имеет одинаковую пептидную последовательность, и указанная пептидная последовательность содержит Ac-(SEQ ID NO: 11)-A (далее названный BCY8928), где Ac представляет собой ацетильную группу, или его фармацевтически приемлемую соль.

[00237] В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический

пептидный комплекс содержит два CD137-связывающих пептидных лиганда, оба из указанных двух пептидных лигандов, связывающих CD137, имеют одинаковую пептидную последовательность, которая содержит Ас-(SEQ ID NO: 11)-А (далее названный BCY8928), где Ас представляет собой ацетильную группу, или его фармацевтически приемлемую соль.

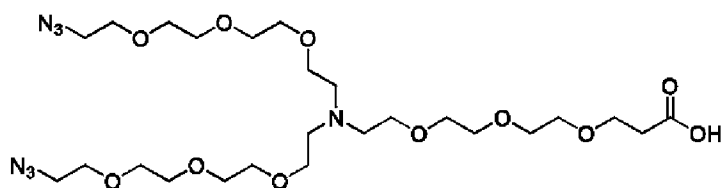
Линкеры

Гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, содержащий два или более пептидных лигандов, связывающих CD137

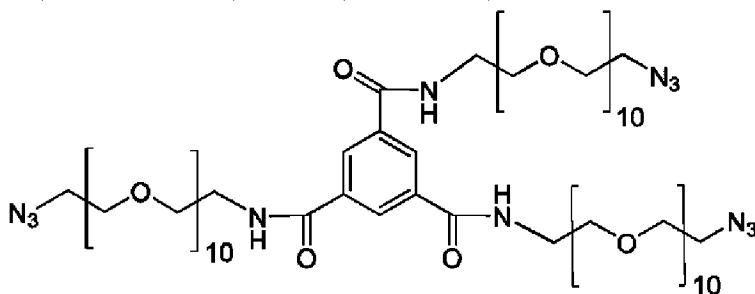
[00238] Следует понимать, что первый пептидный лиганд может быть конъюгирован с двумя или несколькими вторыми пептидными лигандами посредством любого подходящего линкера. Обычно конструкция указанного линкера будет такой, что три бициклических пептида представлены таким образом, что они могут беспрепятственно связываться со своими соответствующими мишенями, либо по отдельности, либо одновременно связываясь с обоими рецепторами-мишенями. Кроме того, линкер должен позволять связываться с обоими мишенями одновременно, сохраняя при этом соответствующее расстояние между клетками-мишенями, что приведет к желаемому функциональному исходу. Свойства линкера можно модулировать для увеличения длины, жесткости или растворимости для оптимизации желаемого функционального результата. Линкер также может быть сконструирован так, чтобы обеспечить возможность прикрепления более чем одного бицикла к одной и той же мишени. Увеличение валентности любого связывающего пептида может способствовать увеличению аффинности гетеротандема к клеткам-мишеням или может способствовать индукции олигомеризации одного или обоих рецепторов-мишеней.

[00239] В некоторых вариантах осуществления линкер представляет собой разветвленный линкер, позволяющий разместить один первый пептид на одном конце и два или несколько вторых пептидов на другом конце.

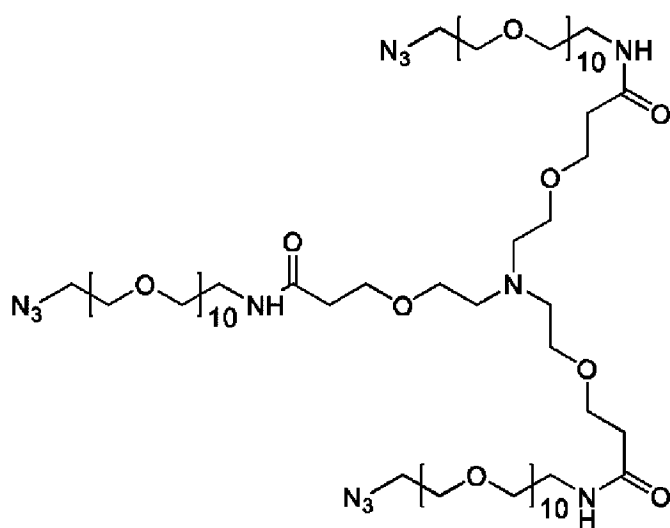
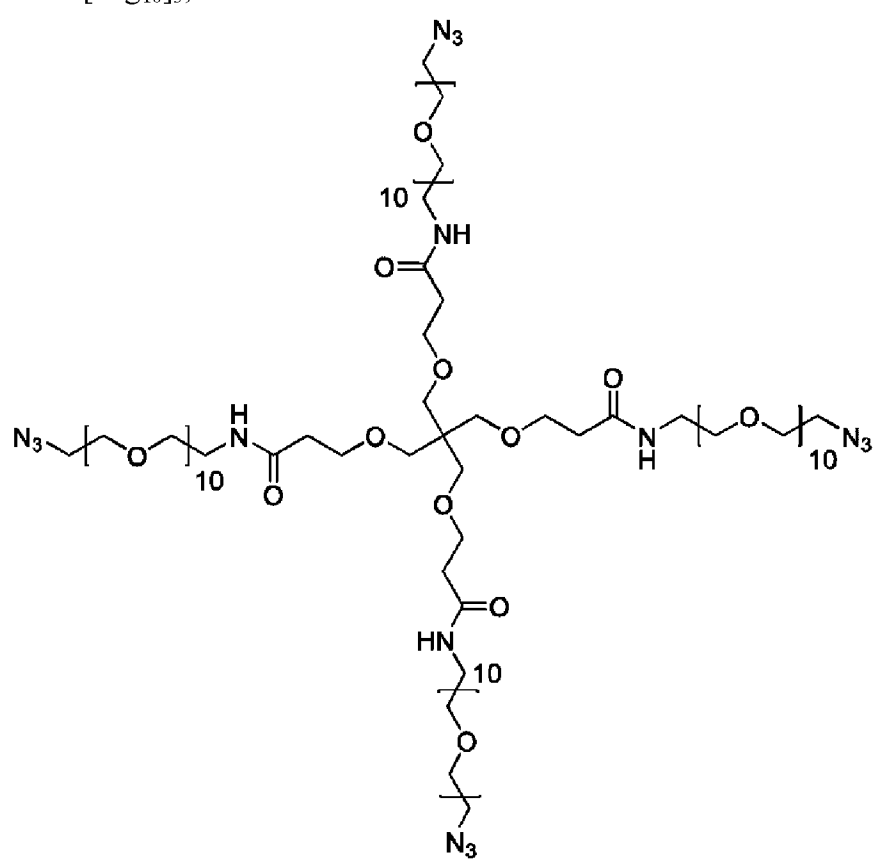
[00240] В некоторых вариантах осуществления разветвленный линкер выбран из:

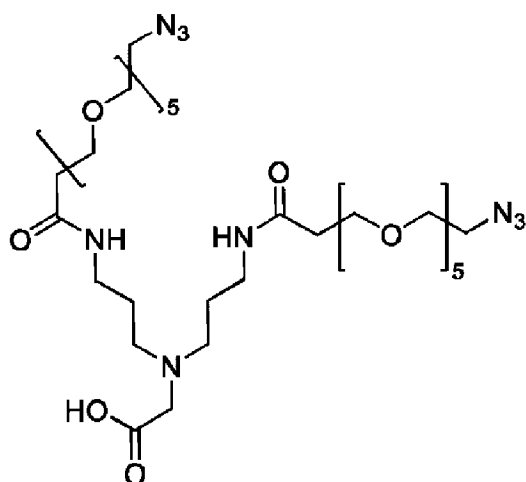


N-(кислота-PEG₃)-N-бис(PEG₃-азид);

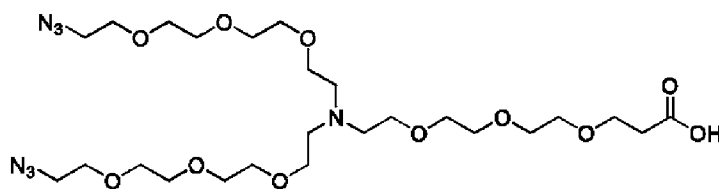


Тримезиновый-[Peg₁₀]₃;

TCA-[Peg₁₀]₃;Tet-[Peg₁₀]₄; и

BAPG-(Peg₅)₂.

[00241] В некоторых вариантах осуществления разветвленный линкер представляет собой:

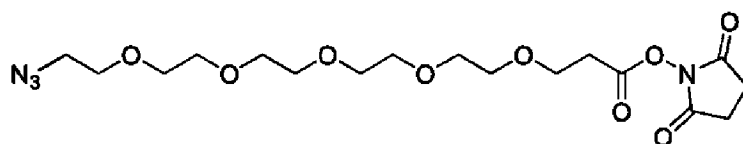
N-(кислота-PEG₃)-N-бис(PEG₃-азид).

Гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, содержащий один пептидный лиганд, связывающий CD137

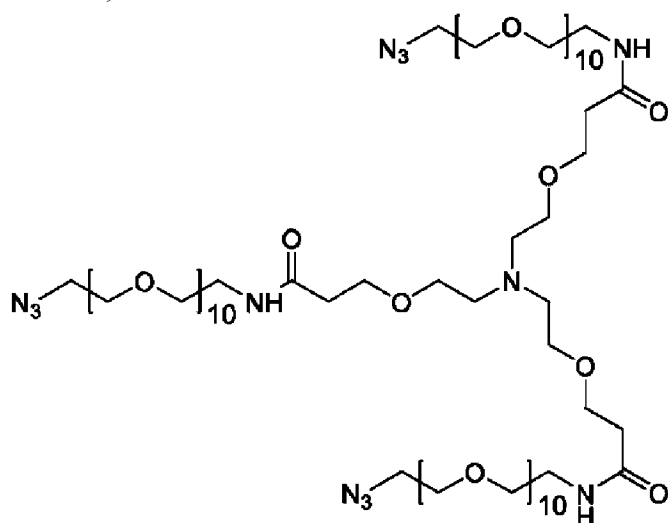
[00242] Следует понимать, что первый пептидный лиганд может быть конъюгирован со вторым пептидным лигандом через любой подходящий линкер. Обычно конструкция указанного линкера будет такой, что два бициклических пептида представлены таким образом, что они могут беспрепятственно связываться со своими соответствующими мишенями либо по отдельности, либо одновременно связываясь с обоими рецепторами-мишенями. Кроме того, линкер должен позволять связываться с обеими мишенями одновременно, сохраняя при этом соответствующее расстояние между клетками-мишенями, что приведет к желаемому функциональному результату. Свойства линкера можно модулировать для увеличения длины, жесткости или растворимости для оптимизации желаемого функционального результата. Линкер также может быть спроектирован так, чтобы обеспечить возможность прикрепления более чем одного бицикла к одной и той же мишени. Увеличение валентности любого связывающего пептида может способствовать увеличению аффинности гетеротандема к клеткам-мишеням или может способствовать индукции олигомеризации одного или обоих рецепторов-мишеней.

[00243] В одном варианте линкер выбран из следующих последовательностей: - PEG₅- и TCA-[PEG₁₀]₃.

[00244] Структурные представления этих линкеров подробно описаны ниже:



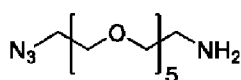
-PEG5-; и



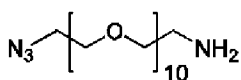
TCA-[PEG₁₀]₃.

[00245] В некоторых вариантах осуществления линкер выбран из следующих последовательностей: -CH₂-, -PEG₅-, -PEG₁₀-, -PEG₁₂-, -PEG₂₃-, -PEG₂₄-, -PEG₁₅-Sar₅-, -PEG₁₀-Sar₁₀-, -PEG₅-Sar₁₅-, -PEG₅-Sar₅-, -B-Ala-Sar₂₀-, -B-Ala-Sar₁₀-PEG₁₀-, -B-Ala-Sar₅-PEG₁₅- и -B-Ala-Sar₅-PEG₅-.

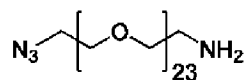
[00246] В некоторых вариантах осуществления линкер выбран из следующих:



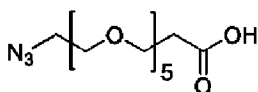
H2N-Peg5-N3
COM00000132



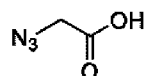
H2N-Peg10-N3
COM00000134



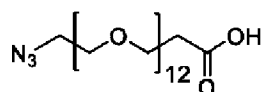
H2N-Peg23-N3
COM00000135



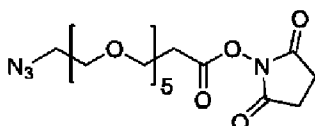
N3-PEG5-COOH
COM00000467



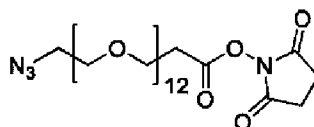
N3-CH₂-COOH
COM00000468



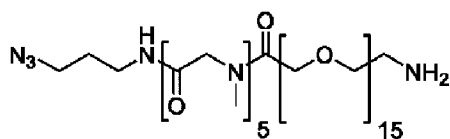
N3-PEG12-COOH
COM00000466



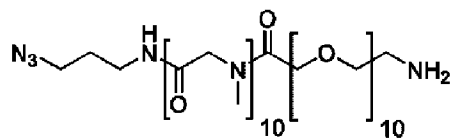
NHS-PEG5-N3



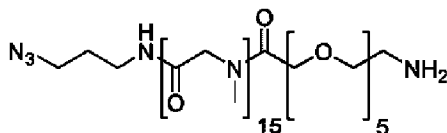
NHS-PEG12-N3



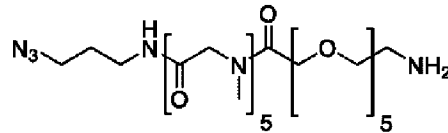
H2N-PEG15-SAR5-N3
COM00000128



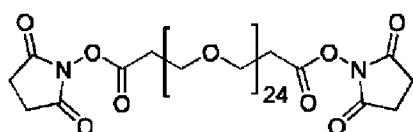
H2N-PEG10-SAR10-N3
COM00000129



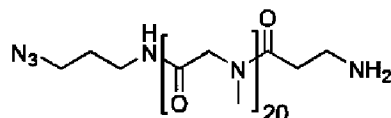
H2N-PEG5-SAR15-N3
COM00000130



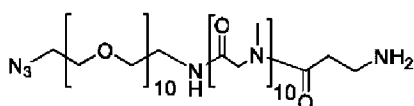
H2N-PEG5-SAR5-N3
COM00000131



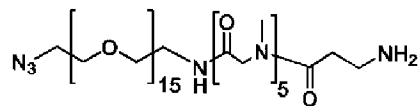
NHS-PEG24-NHS
COM00000469



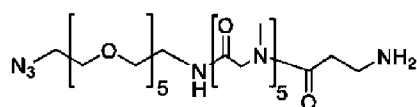
H2N-(B-Ala)-SAR20-N3
COM00000470



H2N-(B-Ala)-SAR10-PEG10-N3
COM00000471



H2N-(B-Ala)-SAR5-PEG15-N3
COM00000472



H2N-(B-Ala)-SAR5-PEG5-N3
COM00000473

Гетеротандемные бициклические пептидные комплексы

[00247] В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит два или более пептидных лигандов, связывающих CD137, первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, прикрепленный к каркасу ТАТА, каждый из двух или более бициклических пептидных лигандов, связывающих CD137, присоединен к каркасу ТАТА, и указанный гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из комплексов, перечисленных в Таблице А:

Таблица А (Нектин-4:CD137; 1:2)

№ комплекса	№ Нектин-4 BCY	Точка прикрепления	Линкер	№ CD137 BCY	Точка прикрепления
BCY11863	BCY8116	N-конец	N-(кислота-	BCY8928	dLys (PYA)4

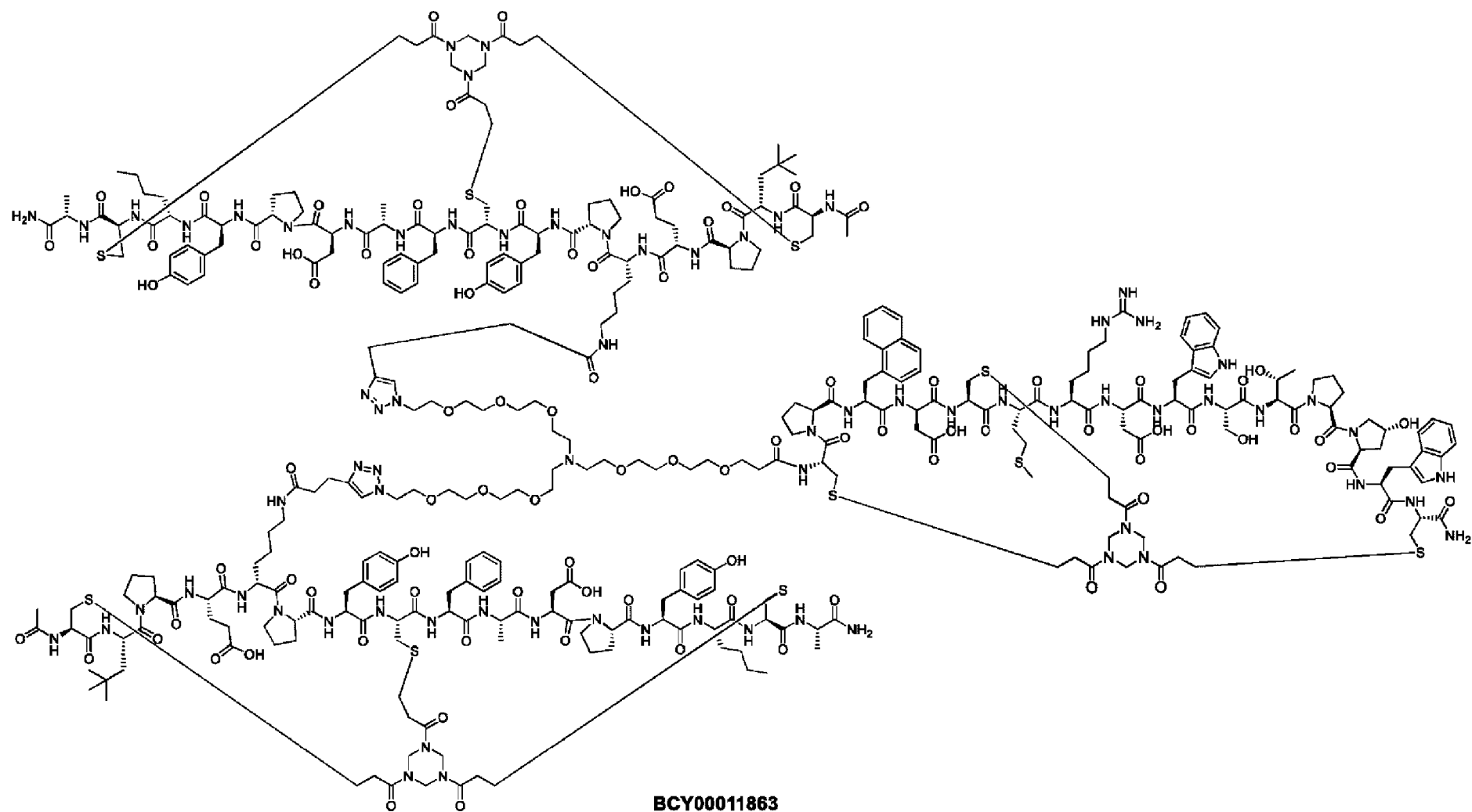
			PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)		
BCY12484	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12143	dLys(PYA)4
BCY10918	BCY11015	N-конец PYA	Тримезиновы й-[Peg ₁₀] ₃	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY10919	BCY11015	N-конец PYA	Тримезиновы й-[Peg ₁₀] ₃	BCY11014	C-конец Dar (PYA)
BCY11027	BCY11015	N-конец PYA	ТСА-[Peg ₁₀] ₃	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY11385	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY11014	C-конец Dar (PYA)
BCY11864	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY7744	dLys(PYA)4
BCY12485	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12149	dLys(PYA)4
BCY12486	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12147	dLys(PYA)4
BCY12586	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12352	dLys(PYA)4
BCY12487	BCY8116	N-конец	N-(кислота-	BCY12145	dLys(PYA)4

			PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)		
BCY12490	BCY12024	dLys3	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12587	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12353	dLys(PYA)4
BCY12588	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12354	dLys(PYA)4
BCY12589	BCY12371	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12590	BCY12384	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12760	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12381	dLys(PYA)4
BCY12761	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12382	dLys(PYA)4
BCY13390	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ -	BCY8928 BCY13389	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4

			азид)		
BCY14602	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY14601	dLys(PYA)4
BCY15155	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY14601 BCY8928	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4

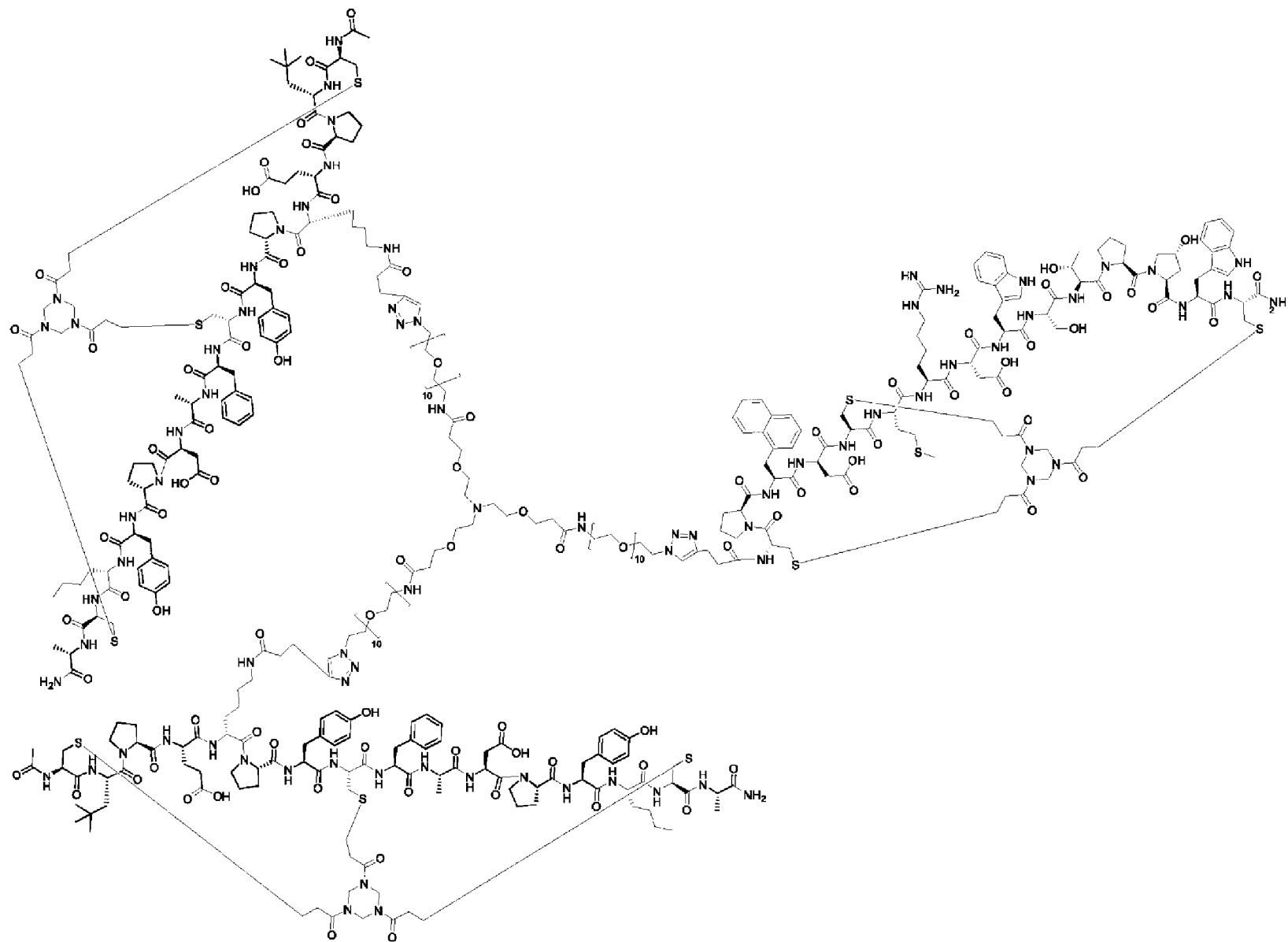
[00248] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из: BCY11027, BCY11863 и BCY11864. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из BCY11863 и BCY11864.

[00249] Гетеротандемный бициклический пептидный комплекс BCY11863 (также называемый BT7480) состоит из нектин-4-специфического пептида BCY8116, связанного с двумя CD137-специфическими пептидами (оба из которых представляют собой BCY8928) через линкер N-(кислота-PEG₃)-N-бис(PEG₃-азид), графически показанный как:



[00250] CD137 представляет собой гомотримерный белок, и природный лиганд CD137L существует в виде гомотримера, который либо экспрессируется на иммунных клетках, либо секретируется. Биология CD137 во многом зависит от мультимеризации, индуцирующей активность CD137 в иммунных клетках. Одним из способов создания мультимеризации CD137 является клеточное перекрестное сшивание специфического агониста CD137 посредством взаимодействия со специфическим рецептором, присутствующим на другой клетке. Преимущество гетеротандемных комплексов по настоящему изобретению состоит в том, что присутствие двух или более пептидных лигандов, специфичных для компонента иммунной клетки, такого как CD137, предлагает более эффективную кластеризацию CD137. Например, было обнаружено, что BCY11863 демонстрирует сильную активацию CD137 и индуцирует устойчивую секрецию цитокинов IL-2 и IFN- γ , и что BCY11863 продемонстрировал отличный фармакокинетический профиль с конечным периодом полужизни 4,1 часа у крыс SD и 5,3 часа у яванского макака.

[00251] Гетеротандемный бициклический пептидный комплекс BCY11027 состоит из нектин-4-специфического пептида BCY11015, связанного с двумя CD137-специфическими пептидами (оба являются BCY8928) через линкер TCA-[Peg₁₀]₃, показанный на рисунке как:



[00252] Было обнаружено, что гетеротандем нектин-4/CD137 BSY11027 индуцирует мишень-зависимое высвобождение цитокинов в культурах *ex vivo* первичных опухолей легких, полученных от пациента, и индуцирует нектин-4-зависимые изменения в нескольких иммунных маркерах (нормализованных по носителю) и в %CD8+ki67+ Т-клетках в образцах, полученных от пациентов, которые коррелируют с уровнем экспрессии нектина-4.

[00253] В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит два или более пептидных лигандов, связывающих CD137, первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, прикрепленный к каркасу ТАТА, каждый из двух или более бициклических пептидных лигандов, связывающих CD137, присоединен к каркасу ТАТА, и указанный гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из комплексов, перечисленных в Таблице В:

Таблица В (Нектин-4:CD137; 1:3)

<i>№ комплекса</i>	<i>№ Нектин-4 BSY</i>	<i>Точка прикрепления</i>	<i>Линкер</i>	<i>№ CD137 BSY</i>	<i>Точка прикрепления</i>
BSY11021	BSY11016	N-конец PYA	Tet-[Peg ₁₀] ₄	BSY7744	dLys(PYA)4
BSY11022	BSY11016	N-конец PYA	Tet-[Peg ₁₀] ₄	BSY8928	dLys(PYA)4

[00254] В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит два или более пептидных лигандов, связывающих CD137, первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, прикрепленный к каркасу ТАТА, каждый из двух или более бициклических пептидных лигандов, связывающих CD137, присоединен к каркасу ТАТА, и указанный гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из комплексов, перечисленных в Таблице С:

Таблица С (EphA2:CD137; 1:2)

<i>№ комплекса</i>	<i>№ EphA2 BSY</i>	<i>Точка прикрепления</i>	<i>Линкер</i>	<i>№ CD137 BSY</i>	<i>Точка прикрепления</i>
BSY12491	BSY9594	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BSY8928	dLys (PYA)4
BSY12723	BSY9594	N-конец	N-(кислота-	BSY12143	dLys (PYA)4

			PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)		
BCY12724	BCY9594	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12149	dLys (PYA)4
BCY12725	BCY9594	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12147	dLys (PYA)4
BCY12726	BCY9594	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12145	dLys (PYA)4
BCY12728	BCY9594	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12150	dLys (PYA)4
BCY12729	BCY9594	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12352	dLys (PYA)4
BCY12730	BCY9594	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY12731	BCY9594	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY12354	dLys (PYA)4
BCY12732	BCY9594	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ -	BCY12360	dLys (PYA)4

			азид)		
BCY12973	BCY12734	C-конец Lys	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12974	BCY12735	Lys8	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12975	BCY12736	Lys2	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12976	BCY12737	Lys7	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12977	BCY12738	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12978	BCY12739	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12979	BCY9594	N-конец	ВАРG-(Peg ₅) ₂	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13042	BCY12854	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13043	BCY12855	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4

BCY13044	BCY12856	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13045	BCY12857	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13046	BCY12858	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13047	BCY12859	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13048	BCY12860	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13049	BCY12861	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13050	BCY12862	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13051	BCY12863	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13052	BCY12864	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N-	BCY8928	dLys (PYA)4

			бис(PEG ₃ -азид)		
BCY13053	BCY12865	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13054	BCY12866	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13138	BCY12856	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13139	BCY9594	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY13137	dLys (PYA)4
BCY13140	BCY12856	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY13137	dLys (PYA)4
BCY13270	BCY13116	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13271	BCY13117	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13272	BCY13118	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY8928	dLys (PYA)4

BCY13273	BCY13119	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13274	BCY13120	C-конец dLys	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13275	BCY13121	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13276	BCY13122	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13277	BCY13123	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13278	BCY13124	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13280	BCY13126	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13281	BCY13127	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ - азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13282	BCY13128	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N-	BCY8928	dLys (PYA)4

			бис(PEG ₃ -азид)		
BCY13284	BCY13130	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13285	BCY13131	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13286	BCY13132	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13288	BCY13134	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13289	BCY13135	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13341	BCY12865	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13343	BCY12860	N-конец	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13279	BCY13125	C-конец dLys	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY8928	dLys (PYA)4

BCY13283	BCY13129	С-конец dLys	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13287	BCY13133	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14049	BCY13917	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14050	BCY13918	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14051	BCY13919	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14052	BCY13920	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14053	BCY13922	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14054	BCY13923	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14055	BCY14047	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-	BCY8928	dLys (PYA)4

			бис(PEG3-азид)		
BCY14056	BCY14048	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14334	BCY14313	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14335	BCY14327	Lys 8	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY14413	BCY9594	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928 BCY13389	dLys (PYA)4 dLys (PYA)4
BCY14414	BCY13118	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928 BCY13389	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4
BCY15217	BCY13118	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY14601 BCY14601	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4
BCY15218	BCY13118	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928 BCY14601	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4

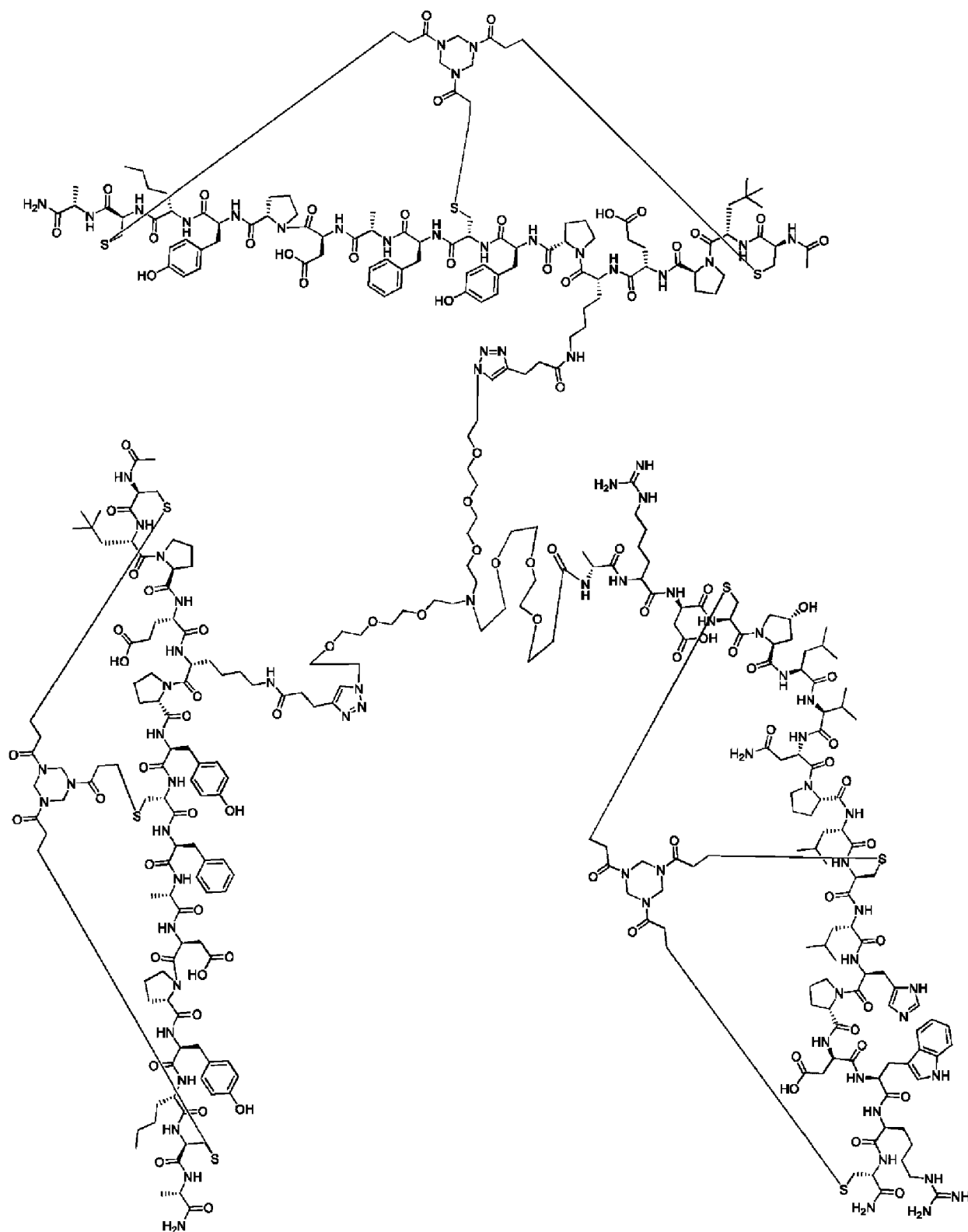
[00255] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из: BCY12491, BCY12730, BCY13048, BCY13050, BCY13053 и BCY13272.

[00256] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из: BCY12491, BCY12730, BCY13048, BCY13050 и

BCY13053.

[00257] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс представляет собой BCY12491.

[00258] Гетеротандемный бициклический пептидный комплекс BCY12491 состоит из EphA2-специфического пептида BCY9594, связанного с двумя CD137-специфическими пептидами (оба являются BCY8928) через линкер N-(кислота-PEG₃)-N-бис(PEG₃-азид), показанный на рисунке как:



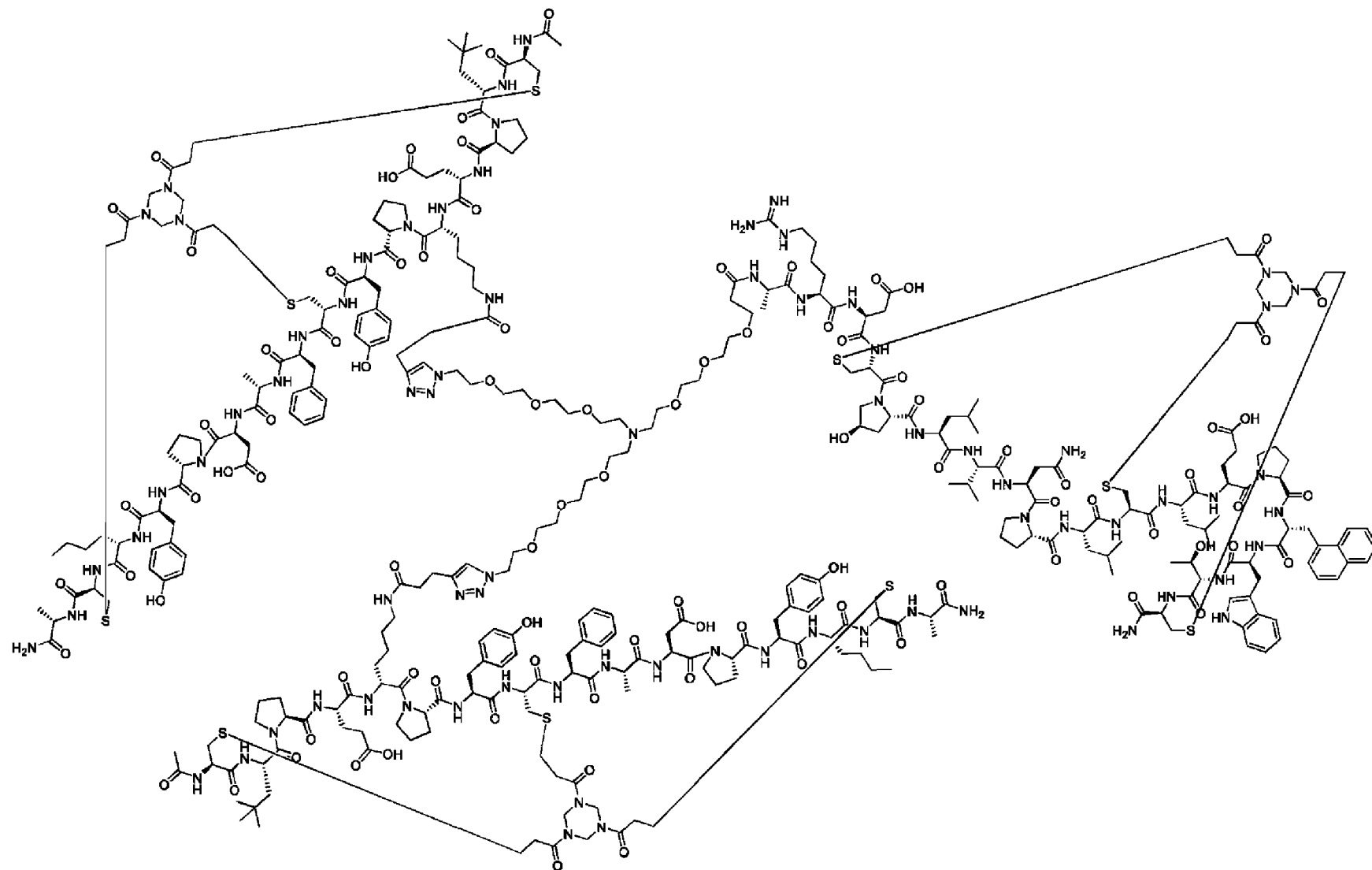
BCY12491

[00259] Было обнаружено, что BCY12491 приводит к значительному противоопухолевому ответу и модуляции (увеличению) инфильтрирующих опухоль иммунных клеток и иммунного ответа.

[00260] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс представляет собой BCY13272.

[00261] Гетеротандемный бициклический пептидный комплекс BCY13272 состоит

из EphA2-специфического пептида BCY13118, связанного с двумя CD137-специфическими пептидами (оба являются BCY8928) через линкер N-(кислота-PEG₃)-N-бис(PEG₃-азид), показанный на рисунке. как:



BCY13272

[00262] Было обнаружено, что BCY13272 приводит к значительному противоопухолевому действию на модели опухоли MC38 у мышей.

[00263] В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит два или более пептидных лигандов, связывающих CD137, первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий PD-L1, прикрепленный к каркасу ТАТА, каждый из двух или более бициклических пептидных лигандов, связывающих CD137, присоединен к каркасу ТАТА, и указанный гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из комплексов, перечисленных в Таблице D:

Таблица D (PD-L1:CD137; 1:2)

<i>№ комплекса</i>	<i>№ PD-L1 BCY</i>	<i>Точка прикрепления</i>	<i>Линкер</i>	<i>№ CD137 BCY</i>	<i>Точка прикрепления</i>
BCY11780	BCY10861	Lys(PYA)9	TCA-[Peg ₁₀] ₃	BCY8928	dLys4
BCY12662	BCY12479	С-конец Lys	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12722	BCY12477	С-конец Lys	N-(кислота-PEG ₃)-N-бис(PEG ₃ -азид)	BCY8928	dLys(PYA)4

[00264] В некоторых вариантах осуществления изобретения, где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит один пептидный лиганд, связывающий CD137, первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий PD-L1, прикрепленный к каркасу ТАТА, один пептидный лиганд, связывающий CD137 прикреплен к каркасу ТАТА, и указанный гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из комплексов, перечисленных в Таблице E:

Таблица E (PD-L1:CD137; 1:1)

<i>№ комплекса</i>	<i>№ PD-L1 BCY</i>	<i>Точка прикрепления</i>	<i>Линкер</i>	<i>№ CD137 BCY</i>	<i>Точка прикрепления</i>
BCY12229	BCY11865	Lys9	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12230	BCY11866	Lys2	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12231	BCY11867	Lys7	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12232	BCY11868	Lys8	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12242	BCY11869	Lys11	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12375	BCY10861	Lys(PYA)9	Peg5	BCY12023	dLys4
BCY12663	BCY12479	С-конец Lys	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12796	BCY12477	С-конец Lys	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4

BCY12021	BCY10861	Lys(PYA)9	Peg5	BCY11144	dLys4
----------	----------	-----------	------	----------	-------

[00265] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из BCY12375 и BCY12021.

[00266] В некоторых вариантах осуществления изобретения, где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит один пептидный лиганд, связывающий CD137, первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий PD-L1, прикрепленный к каркасу ТАТА, один пептидный лиганд, связывающий CD137, прикреплен к каркасу ТАТА, и указанный гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из комплексов, перечисленных в Таблице Е-2:

Таблица Е-2 (PD-L1:CD137; 1:1)

<i>№ комплекс а</i>	<i>№ PD-L1 BCY</i>	<i>Точка прикрепления</i>	<i>Линкер</i>	<i>№ CD137 BCY</i>	<i>Точка прикрепления</i>
BCY8939	BCY8938	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY7732	C-концевой Dap
BCY1058 0	BCY1004 3	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY9172	C-концевой Dap
BCY1058 1	BCY1004 4	C-концевой Lys (PYA)	-PEG ₁₂ -	BCY9172	C-концевой Dap
BCY1058 2	BCY1004 5	Lys(PYA)9	-PEG ₁₂ -	BCY9172	C-концевой Dap
BCY1101 7	BCY1086 1	Lys(PYA)9	-PEG ₁₂ -	BCY8919	Lys3
BCY1101 8	BCY1086 1	Lys(PYA)9	-PEG ₁₂ -	BCY8920	dLys4
BCY1101 9	BCY1086 1	Lys(PYA)9	-PEG ₁₂ -	BCY9172	C-концевой Dap
BCY1137 6	BCY1086 1	Lys(PYA)9	-CH ₂ -	BCY8919	Lys3
BCY1137 7	BCY1086 1	Lys(PYA)9	-CH ₂ -	BCY8920	dLys4
BCY1137 8	BCY1086 1	Lys(PYA)9	-CH ₂ -	BCY9172	C-концевой Dap
BCY1137 9	BCY1086 1	Lys(PYA)9	-PEG ₅ -	BCY8919	Lys3
BCY1138	BCY1086	Lys(PYA)9	-PEG ₅ -	BCY8920	dLys4

0	1				
BCY1138	BCY1086	Lys(PYA)9	-PEG ₅ -	BCY9172	С-концевой Dap
1	1				

[00267] В некоторых вариантах осуществления изобретения, где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит один пептидный лиганд, связывающий CD137, первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, прикрепленный к каркасу ТАТА, один пептидный лиганд, связывающий CD137, прикреплен к каркасу ТАТА, и указанный гетеротандемный комплекс выбран из комплексов, перечисленных в Таблице F:

Таблица F (EphA2:CD137; 1:1)

<i>№ комплекса</i>	<i>№ EphA2 BCY</i>	<i>Точка прикрепления</i>	<i>Линкер</i>	<i>№ CD137 BCY</i>	<i>Точка прикрепления</i>
BCY12233	BCY11813	N-конец PYA	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12234	BCY11814	С-конец Lys (PYA)	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12235	BCY11815	Lys(PYA) 8	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12236	BCY11816	Lys(PYA)2	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12237	BCY11817	Lys(PYA)7	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12711	BCY9594	N-конец	Peg5	BCY12143	dLys (PYA)4
BCY12712	BCY9594	N-конец	Peg5	BCY12149	dLys (PYA)4
BCY12713	BCY9594	N-конец	Peg5	BCY12147	dLys (PYA)4
BCY12714	BCY9594	N-конец	Peg5	BCY12145	dLys (PYA)4
BCY12715	BCY9594	N-конец	Peg5	BCY12146	dLys (PYA)4
BCY12717	BCY9594	N-конец	Peg5	BCY12352	dLys (PYA)4
BCY12718	BCY9594	N-конец	Peg5	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY12719	BCY9594	N-конец	Peg5	BCY12354	dLys (PYA)4
BCY12720	BCY9594	N-конец	Peg5	BCY12360	dLys (PYA)4
BCY12961	BCY12734	С-конец Lys	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12962	BCY12735	Lys8	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12963	BCY12736	Lys2	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12964	BCY12737	Lys7	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12965	BCY12738	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY12966	BCY12739	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13029	BCY12854	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13030	BCY12855	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4

BCY13031	BCY12856	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13032	BCY12857	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13033	BCY12858	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13034	BCY12859	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13035	BCY12860	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13036	BCY12861	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13037	BCY12862	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13038	BCY12863	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13039	BCY12864	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13040	BCY12865	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13041	BCY12866	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13141	BCY12856	N-конец	Peg5	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13142	BCY9594	N-конец	Peg5	BCY13137	dLys (PYA)4
BCY13143	BCY12856	N-конец	Peg5	BCY13137	dLys (PYA)4
BCY13250	BCY13116	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13251	BCY13117	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13252	BCY13118	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13253	BCY13119	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13254	BCY13120	C-конец dLys	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13255	BCY13121	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13256	BCY13122	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13257	BCY13123	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13258	BCY13124	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13260	BCY13126	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13261	BCY13127	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13262	BCY13128	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13264	BCY13130	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13265	BCY13131	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13266	BCY13132	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13268	BCY13134	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13269	BCY13135	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY13340	BCY12865	N-конец	Peg5	BCY12353	dLys (PYA)4
BCY13342	BCY12860	N-конец	Peg5	BCY12353	dLys (PYA)4

[00268] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический

пептидный комплекс выбран из: BCY13035, BCY13040, BCY13253, BCY13254, BCY13340 и BCY13342.

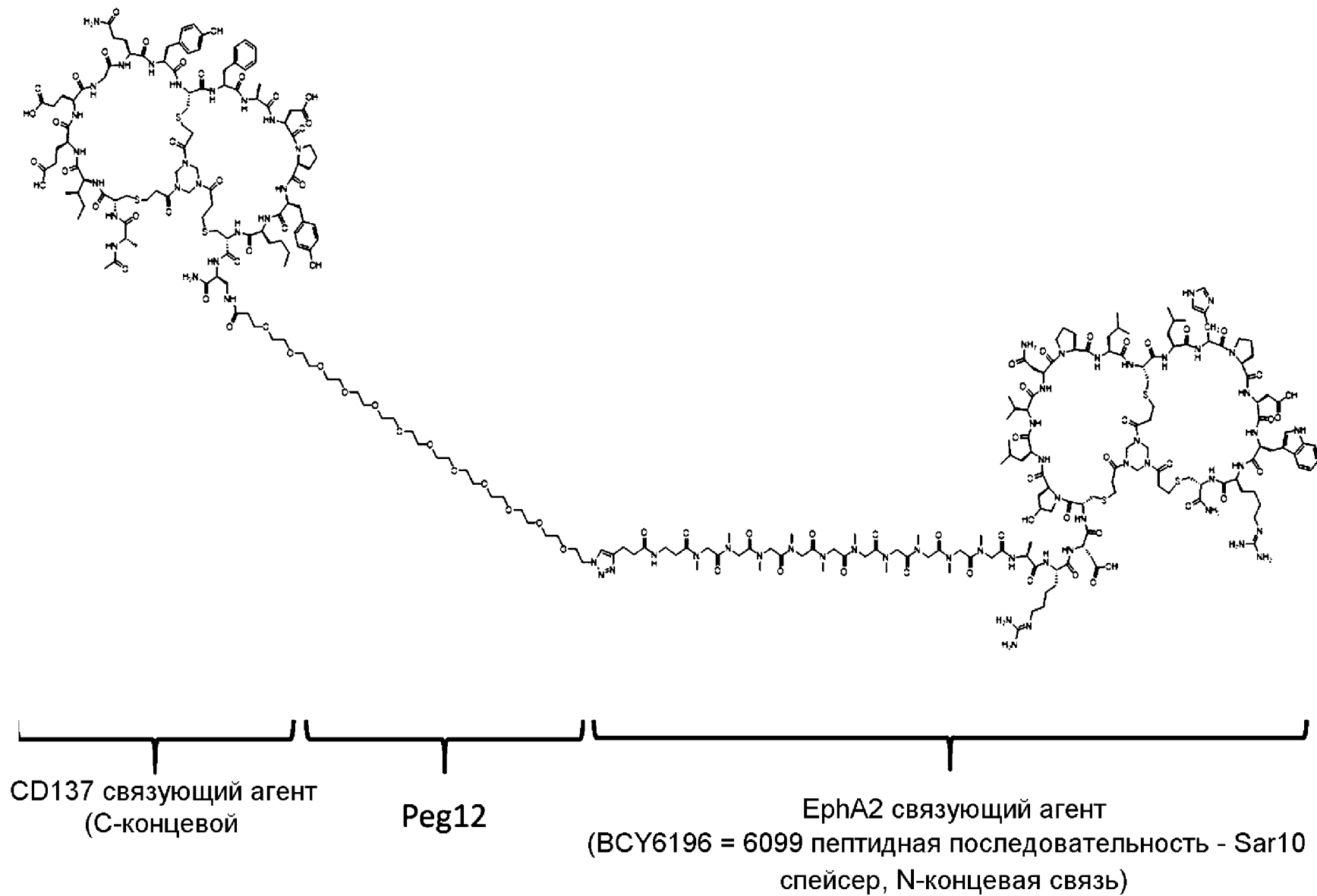
[00269] В некоторых вариантах осуществления изобретения, где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит один пептидный лиганд, связывающий CD137, первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, прикрепленный к каркасу ТАТА, один пептидный лиганд, связывающий CD137, прикреплен к каркасу ТАТА, и указанный гетеротандемный комплекс выбран из комплексов, перечисленных в Таблице F-2:

Таблица F-2 (EphA2:CD137; 1:1)

<i>№ комплекс а</i>	<i>№ EphA2 BCY</i>	<i>Точка прикрепления</i>	<i>Линкер</i>	<i>№ CD137 BCY</i>	<i>Точка прикрепления</i>
BCY9173	BCY616 9	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY9172	C-концевой Dap
BCY7985	BCY616 9	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY7732	C-концевой Dap
BCY8942	BCY616 9	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY8045	C-концевой Dap
BCY8943	BCY894 1	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY7732	C-концевой Dap
BCY9647	BCY609 9	N-конец	-PEG ₁₀ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9648	BCY609 9	N-конец	-PEG ₂₃ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9655	BCY609 9	N-конец	-PEG ₁₅ - Sar ₅ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9656	BCY609 9	N-конец	-PEG ₁₀ - Sar ₁₀ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9657	BCY609 9	N-конец	-PEG ₅ - Sar ₁₅ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9658	BCY609 9	N-конец	-PEG ₅ - Sar ₅ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9659	BCY609 9	N-конец	-PEG ₅ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9758	BCY609 9	N-конец	-PEG ₂₄ -	BCY7732	C-концевой Dap

BCY1056 8	BCY616 9	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY8919	Lys3
BCY1057 0	BCY616 9	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY8920	dLys4
BCY1057 4	BCY959 4	N-конец	-PEG ₅ -	BCY8927	Lys (PYA)3
BCY1057 5	BCY959 4	N-конец	-PEG ₅ -	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY1057 6	BCY959 4	N-конец	-PEG ₅ -	BCY11014	C-концевой Dap (PYA)
BCY1057 7	BCY616 9	N-конец	-CH ₂ -	BCY9172	C-концевой Dap

[00270] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс представляет собой BCY7985, где CD137-специфический пептид BCY7859 связан с N-концевой группой PYA EphA2-специфического пептида BCY6169 через PEG₁₂:



[00271] В некоторых вариантах осуществления где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит один пептидный лиганд, связывающий CD137, первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, прикрепленный к каркасу ТАТА, один пептидный лиганд, связывающий CD137, прикреплен к каркасу ТАТА, и указанный гетеротандемный комплекс выбран из комплексов, перечисленных в Таблице G:

Таблица G (Нектин-4:CD137; 1:1)

<i>№ комплекса</i>	<i>№ Нектин-4 BCY</i>	<i>Точка прикрепления</i>	<i>Линкер</i>	<i>№ CD137 BCY</i>	<i>Точка прикрепления</i>
BCY11616	BCY8116	N-конец	Peg5	BCY7744	dLys(PYA)4
BCY12238	BCY12024	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12377	BCY8116	N-конец	Peg5	BCY12143	dLys(PYA)4
BCY12379	BCY8116	N-конец	Peg5	BCY12149	dLys(PYA)4
BCY12572	BCY8116	N-конец	Peg5	BCY12352	dLys(PYA)4
BCY12573	BCY8116	N-конец	Peg5	BCY12353	dLys(PYA)4
BCY12574	BCY8116	N-конец	Peg5	BCY12354	dLys(PYA)4
BCY12575	BCY8116	N-конец	Peg5	BCY12360	dLys(PYA)4
BCY12576	BCY12363	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12577	BCY12364	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12578	BCY12365	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12579	BCY12366	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12580	BCY12367	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12581	BCY12368	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12582	BCY12369	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12583	BCY12370	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4

BCY12584	BCY1237 1	dLys3	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12585	BCY1238 4	N-конец	Peg5	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY12709	BCY8116	N-конец	Peg5	BCY12381	dLys(PYA)4
BCY12710	BCY8116	N-конец	Peg5	BCY12382	dLys(PYA)4
BCY11468	BCY1101 6	N-конец PYA	TCA-[Peg ₁₀] ₃	BCY8928	dLys(PYA)4
BCY11618	BCY1114 3	N-конец PYA	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY11776	BCY8116	N-конец	Peg5	BCY11144	C-конец Dap (PYA)
BCY11860	BCY1114 3	N-конец PYA	Peg5	BCY8920	dLys4
BCY12020	BCY1101 6	N-конец PYA	Peg5	BCY11144	C-конец Dap (PYA)
BCY12661	BCY1101 5	N-конец PYA	Peg5	BCY12023	dLys4
BCY12969	BCY8116	N-конец	Peg5	BCY12358	dLys(PYA)4

[00272] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из: BCY11468, BCY11618, BCY11776, BCY11860, BCY12020, BCY12661 и BCY12969.

[00273] В некоторых вариантах осуществления изобретения, где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит один пептидный лиганд, связывающий CD137, первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, прикрепленный к каркасу ТАТА, один пептидный лиганд, связывающий CD137, прикреплен к каркасу ТАТА, и указанный гетеротандемный комплекс выбран из комплексов, перечисленных в Таблице G-2:

Таблица G-2 (Нектин-4:CD137; 1:1)

№ комплекс а	№ Нектин-4 BCY	Точка прикрепления	Линкер	№ CD137 BCY	Точка прикрепления
BCY8854	BCY8846	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY7732	C-концевой Dap
BCY9350	BCY1194 2	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY7732	C-концевой Dap

BCY9351	BCY8846	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY8045	C-концевой Dap
BCY9399	BCY8116	N-конец	-PEG ₁₀ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
БКИ9400	BCY8116	N-конец	-PEG ₂₃ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9401	BCY8116	N-конец	-B-Ala-Sar ₂₀ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9403	BCY8116	N-конец	-B-Ala-Sar ₁₀ - PEG ₁₀ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9405	BCY8116	N-конец	-B-Ala-Sar ₅ - PEG ₁₅ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9406	BCY8116	N-конец	-B-Ala-Sar ₅ - PEG ₅ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9407	BCY8116	N-конец	-PEG ₁₅ -Sar ₅ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9408	BCY8116	N-конец	-PEG ₁₀ -Sar ₁₀ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9409	BCY8116	N-конец	-PEG ₅ -Sar ₁₅ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9410	BCY8116	N-конец	-PEG ₅ -Sar ₅ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9411	BCY8116	N-конец	-PEG ₅ -	BCY7741	C-концевой Dap (PYA)
BCY9759	BCY8116	N-конец	-PEG ₂₄ -	BCY7732	C-концевой Dap
10000 BCY	BCY8846	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY9172	C-концевой Dap
BCY1056 7	BCY8846	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY8919	Lys3
BCY1056 9	BCY8846	N-концевой PYA	-PEG ₁₂ -	BCY8920	dLys4
BCY1057 1	BCY8116	N-конец	-PEG ₅ -	BCY8927	Lys(PYA)3
BCY1057	BCY8116	N-конец	-PEG ₅ -	BCY8928	dLys (PYA)4

2					
BCY1057 3	BCY8116	N-конец	-PEG ₅ -	BCY1101 4	C-концевой Dap (PYA)
BCY1057 8	BCY8846	N-концевой PYA	-CH ₂ -	BCY9172	C-концевой Dap
BCY1091 7	BCY8831	dLys(Sar ₁₀)- (B-Ala))4	-PEG ₁₂ -	BCY1101 4	C-концевой Dap (PYA)
BCY1102 0	BCY8831	dLys(Sar ₁₀)- (B-Ala))4	-PEG ₅ -	BCY1101 4	C-концевой Dap (PYA)
BCY1137 3	BCY8116	N-конец	-CH ₂ -	BCY8927	Lys(PYA)3
BCY1137 4	BCY8116	N-конец	-CH ₂ -	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY1137 5	BCY8116	N-конец	-CH ₂ -	BCY1101 4	C-концевой Dap (PYA)
BCY1161 6	BCY8116	N-конец	-PEG ₅ -	BCY7744	dLys (PYA)4
BCY1161 7	BCY8116	N-конец	-PEG ₅ -	BCY1150 6	Lys(PYA)4
BCY1185 7	BCY1141 4	N-конец	-PEG ₅ -	BCY7744	dLys (PYA)4
BCY1185 8	BCY1141 4	N-конец	-PEG ₅ -	BCY8928	dLys (PYA)4
BCY1185 9	BCY1141 5	N-конец	-PEG ₅ -	BCY8928	dLys (PYA)4

[00274] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из комплексов, описанных в заявке на патент США 17/062,662, содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки полностью.

[00275] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из комплексов, описанных в патентной публикации США 20190307836, содержание которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

[00276] Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют то же значение, которое обычно понимают специалисты в данной области техники, например, в области химии пептидов, клеточной культуры и

фагового дисплея, химии нуклеиновых кислот и биохимии. Для молекулярной биологии, генетических и биохимических способов используются стандартные методы (см. Sambrook *et al.*, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed., 2001, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY; Ausubel *et al.*, Short Protocols in Molecular Biology (1999) 4th ed., John Wiley & Sons, Inc.), которые включены в настоящий документ посредством ссылки.

Номенклатура

Нумерация

[00277] При упоминании положений аминокислотных остатков в соединениях по изобретению, цистеиновые остатки (C_i, C_{ii} и C_{iii}) опускаются из нумерации, поскольку они инвариантны, поэтому нумерация аминокислотных остатков в SEQ ID NO: 1 такая, как указана ниже:

C_i-P₁-1Nal₂-dD₃-C_{ii}-M₄-HArg₅-D₆-W₇-S₈-T₉-P₁₀-HyP₁₁-W₁₂-C_{iii} (SEQ ID NO: 1).

[00278] Для целей настоящего описания предполагается, что все бициклические пептиды циклизованы TBMB (1,3,5-трис(бромметил)бензолом) или 1,1',1''-(1,3,5-триазиан-1,3,5-триил)трипроп-2-ен-1-оном (ТАТА) и дают тризамещенную структуру. Циклизация с TBMB и ТАТА происходит на C_i, C_{ii} и C_{iii}.

Молекулярный формат

[00279] N- или C-концевые расширения последовательности ядра бицикла добавлены к левой или правой стороне последовательности, разделены дефисом. Например, N-концевой хвост βAla-Sar10-Ala будет обозначаться как:

βAla-Sar10-A-(SEQ ID NO: X).

Инвертированные пептидные последовательности

[00280] В свете описания, опубликованного в Nair *et al* (2003) J Immunol 170(3), 1362-1373, предполагается, что описанные в настоящем документе пептидные последовательности также найдут применение в своей ретро-инверсной форме. Например, последовательность меняется на обратную (т.е. N-конец становится C-концом и *наоборот*), и ее стереохимия также меняется подобным образом (т.е. D-аминокислоты становятся L-аминокислотами и *наоборот*). Во избежание сомнений, ссылки на аминокислоты либо в виде их полного названия, либо в виде их одно- или трехбуквенных кодов аминокислот, предназначены для обозначения в настоящем документе как L-аминокислоты, если не указано иное. Если такая аминокислота должна быть представлена как D-аминокислота, то перед аминокислотой будет стоять строчная буква d в квадратных скобках, например [dA], [dD], [dE], [dK], [d1Nal], [dNle] и т. д.

Преимущества пептидных лигандов

[00281] Некоторые гетеротандемные бициклические пептидные комплексы по настоящему изобретению обладают рядом преимущественных свойств, которые позволяют рассматривать их как подходящие молекулы, подобные лекарственным средствам, для инъекции, ингаляции, назального, глазного, перорального или местного введения. К таким выгодным свойствам относятся:

- Видовая перекрестная специфичность. Это типовое требование для доклинической

фармакодинамики и фармакокинетической оценки;

- Стабильность протеазы. Гетеротандемные бициклические пептидные комплексы в идеале должны демонстрировать стабильность по отношению к протеазам плазмы, эпителиальным («закрепленным на мембране») протеазам, протеазам желудка и кишечника, протеазам поверхности легких, внутриклеточным протеазам и подобным. Стабильность протеазы должна поддерживаться между различными видами, чтобы гетеротандемный бициклический пептид-кандидат можно было разработать на животных моделях, а также с уверенностью вводить людям;

- Желаемый профиль растворимости. Это зависит от соотношения заряженных и гидрофильных и гидрофобных остатков и внутри/межмолекулярных Н-связей, что важно для целей составления и абсорбции;

- Селективность. Некоторые гетеротандемные бициклические пептидные комплексы по изобретению демонстрируют хорошую селективность по отношению к другим мишеням;

- Оптимальный период полужизни в плазме в кровотоке. В зависимости от клинических показаний и схемы лечения, может потребоваться разработка гетеротандемного бициклического пептидного комплекса для кратковременного воздействия в условиях управления острыми заболеваниями, или разработка гетеротандемного бициклического пептидного комплекса с повышенным удерживанием в кровотоке, который, следовательно, является оптимальным для управления более хроническими заболеваниями. Другими факторами, определяющими желаемый период полувыведения из плазмы, являются требования длительного воздействия для максимальной терапевтической эффективности по сравнению с сопутствующей токсикологией из-за длительного воздействия агента.

Важно отметить, что в настоящем документе представлены данные, согласно которым выбранные гетеротандемные бициклические пептидные комплексы демонстрируют противоопухолевую эффективность при дозировании с частотой, которая не поддерживает концентрации соединения в плазме выше EC_{50} *in vitro*. Это контрастирует с более крупными рекомбинантными биологическими подходами (т.е. на основе антител) к агонизму CD137 или биспецифическому агонизму CD137 (Segal *et al.*, Clin Cancer Res., 23(8):1929-1936 (2017), Claus *et al.*, Sci Trans Med., 11(496): eaav5989, 1-12 (2019), Hinner *et al.*, Clin Cancer Res., 25(19):5878-5889 (2019)). Не желая быть связанными теорией, полагают, что причина этого наблюдения связана с тем фактом, что гетеротандемные бициклические комплексы имеют относительно низкую молекулярную массу (обычно <15 кДа), они полностью синтетические и являются агонистами CD137, таргетирующими опухоли. По существу, они имеют относительно короткий период полувыведения из плазмы, но хорошую пенетрантность и удерживание в опухоли. Представленные в настоящем документе данные полностью подтверждают эти преимущества. Например, противоопухолевая эффективность на моделях сингенных грызунов на мышах с гуманизированным CD137 демонстрируется либо ежедневно, либо каждый 3 день. Кроме

того, данные фармакокинетики при внутрибрюшинном введении показывают, что период полужизни в плазме составляет <3 часов, что позволяет предположить, что концентрация комплекса в кровотоке будет постоянно падать ниже EC_{50} *in vitro* между дозами. Кроме того, фармакокинетические данные опухолей показывают, что уровни гетеротандемного бициклического комплекса в опухолевой ткани могут быть выше и более устойчивыми по сравнению с уровнями в плазме.

Следует понимать, что это наблюдение образует важный дополнительный аспект изобретения. Таким образом, согласно дополнительному аспекту изобретения, предложен способ лечения рака, который включает введение гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, как определено в настоящем документе, с частотой дозирования, которая не поддерживает концентрации указанного комплекса в плазме выше EC_{50} *in vitro* указанного комплекса.

- Иммунная память. Сочетание бициклического пептидного лиганда, связывающего раковые клетки, с бициклическим пептидным лигандом, связывающим иммунные клетки, предлагает синергетическое преимущество иммунной памяти. Здесь представлены данные, которые демонстрируют, что выбранные гетеротандемные бициклические пептидные комплексы по изобретению не только уничтожают опухоли, но и при повторном введении опухолевого агента ни у одной из привитых мышей с полным ответом не развились опухоли (см. Фигуру 5). Это указывает на то, что лечение выбранными гетеротандемными бициклическими пептидными комплексами по изобретению индуцирует иммуногенную память у мышей с полным ответом. Это имеет значительное клиническое преимущество в профилактике рецидива указанной опухоли после того, как она была первоначально взята под контроль и уничтожена.

Пептидные лиганды

[00282] Пептидный лиганд, как указано в настоящем документе, относится к пептиду, ковалентно связанному с молекулярным каркасом. Обычно такие пептиды содержат две или более реакционноспособные группы (т.е. цистеиновые остатки), которые способны образовывать ковалентные связи с каркасом, и последовательность, расположенную между указанными реакционноспособными группами, которая называется петлевой последовательностью, поскольку она образует петлю, когда пептид связывается с каркасом. В данном случае, пептиды содержат по меньшей мере три реакционноспособные группы, выбранные из цистеина, 3-меркаптопропионовой кислоты и/или цистеинамина, и образуют по меньшей мере две петли на каркасе.

Реакционноспособные группы

[00283] Молекулярный каркас по изобретению может быть связан с полипептидом через функциональные или реакционноспособные группы полипептида. Они обычно образуются из боковых цепей определенных аминокислот, найденных в полипептидном полимере. Такие реакционноспособные группы могут представлять собой боковую цепь цистеина, боковую цепь лизина или N-концевую аминокислотную группу или любую другую подходящую реакционноспособную группу, такую как пеницилламин. Подробности о

подходящих реакционноспособных группах можно найти в WO 2009/098450.

[00284] Примерами реакционноспособных групп природных аминокислот являются тиоловая группа цистеина, аминогруппа лизина, карбоксильная группа аспартата или глутамата, группа гуанидиния аргинина, фенольная группа тирозина или гидроксильная группа серина. Не существующие в природе аминокислоты могут содержать широкий спектр реакционноспособных групп, включая азидную, кетокарбонильную, алкиновую, винильную или арилгалогенидную группу. Амино- и карбоксильная группы на концах полипептида также могут служить в качестве реакционноспособных групп для образования ковалентных связей с молекулярным каркасом/молекулярным ядром.

[00285] Полипептиды по изобретению содержат по меньшей мере три реакционноспособные группы. Указанные полипептиды также могут содержать четыре или более реакционноспособных групп. Чем больше реакционноспособных групп используется, тем больше петель может образоваться в молекулярном каркасе.

[00286] В предпочтительном варианте осуществления создают полипептиды с тремя реакционноспособными группами. Реакция указанных полипептидов с молекулярным каркасом/молекулярным ядром, имеющим трехкратную вращательную симметрию, создает единственный изомер продукта. Создание одного изомера продукта выгодно по нескольким причинам. Нуклеиновые кислоты библиотек соединений кодируют только первичные последовательности полипептида, но не изомерное состояние молекул, образующихся при реакции полипептида с молекулярным ядром. Если может быть образован только один изомер продукта, то отнесение нуклеиновой кислоты к изомеру продукта четко определено. Если образуется несколько изомеров продукта, нуклеиновая кислота не может дать информацию о природе изомера продукта, который был выделен в процессе скрининга или селекции. Образование единственного изомера продукта также является выгодным, если синтезируется конкретный член библиотеки по изобретению. В этом случае химическая реакция полипептида с молекулярным каркасом приводит к образованию одного изомера продукта, а не смеси изомеров.

[00287] В другом варианте осуществления создают полипептиды с четырьмя реакционноспособными группами. Реакция указанных полипептидов с молекулярным каркасом/молекулярным ядром, имеющим тетраэдрическую симметрию, приводит к образованию двух изомеров продукта. Несмотря на то, что два разных изомера продукта кодируются одной и той же нуклеиновой кислотой, изомерную природу выделенного изомера можно определить путем химического синтеза обоих изомеров, разделения двух изомеров и тестирования обоих изомеров на связывание с лигандом-мишенью.

[00288] В одном варианте изобретения, по меньшей мере одна из реакционноспособных групп полипептидов ортогональна остальным реакционноспособным группам. Использование ортогональных реакционноспособных групп позволяет направлять указанные ортогональные реакционноспособные группы к определенным участкам молекулярного ядра. Стратегии связывания с использованием ортогональных реакционноспособных групп могут использоваться для ограничения

количества образующихся изомеров продукта. Другими словами, путем выбора отдельных или отличающихся реакционноспособных групп для одной или нескольких из по меньшей мере трех связей, по сравнению с группами, выбранными для остальных по меньшей мере трех связей, определенный порядок связывания или направления конкретных реакционноспособных групп полипептида к определенным положениям на молекулярном каркасе могут быть с пользой достигнуты.

[00289] В другом варианте осуществления реакционноспособные группы полипептида по изобретению вступают в реакцию с молекулярными линкерами, где указанные линкеры способны реагировать с молекулярным каркасом так, что линкер оказывается между молекулярным каркасом и полипептидом в конечном связанном состоянии.

[00290] В некоторых вариантах осуществления аминокислоты членов библиотек или наборов полипептидов могут быть заменены любой существующей или не существующей в природе аминокислотой. Из этих заменяемых аминокислот исключены те, которые содержат функциональные группы для перекрестного сшивания полипептидов с молекулярным ядром, так что только последовательности петель являются взаимозаменяемыми. Заменяемые полипептидные последовательности имеют либо случайные последовательности, либо постоянные последовательности, либо последовательности со случайными и постоянными аминокислотами. Аминокислоты с реакционноспособными группами расположены в определенных положениях внутри полипептида, поскольку положение этих аминокислот определяет размер петли.

[00291] В одном варианте осуществления полипептид с тремя реакционноспособными группами имеет последовательность $(X)_l Y(X)_m Y(X)_n Y(X)_o$, где Y представляет собой аминокислоту с реакционноспособной группой, X представляет собой случайную аминокислоту, m и n представляют собой числа от 3 до 6, определяющие длину промежуточных полипептидных сегментов, которые могут быть одинаковыми или разными, и l и o представляют собой числа от 0 до 20, определяющие длину фланкирующих полипептидных сегментов.

[00292] Альтернативы тиол-опосредованным конъюгациям можно использовать для прикрепления молекулярного каркаса к пептиду посредством ковалентных взаимодействий. Альтернативно, эти методы могут быть использованы для модификации или присоединения дополнительных групп (таких как представляющие интерес малые молекулы, которые отличаются от молекулярного каркаса) к полипептиду после того, как они были выбраны или выделены в соответствии с настоящим изобретением - в этом варианте осуществления тогда очевидно, что присоединение не обязательно должно быть ковалентным и может включать нековалентное присоединение. Эти способы можно использовать вместо (или в комбинации с ними) тиол-опосредованных способов путем получения фага, который экспонирует белки и пептиды, несущие не существующие в природе аминокислоты с необходимыми химически активными группами, в комбинации с малыми молекулами, которые несут комплементарную реакционноспособную группу, или

путем включения не существующих в природе аминокислот в химически или рекомбинантно синтезированный полипептид, когда молекула создается после фазы селекции/выделения. Дополнительную информацию можно найти в WO 2009/098450 или Heinis *et al.*, *Nat Chem Biol* **2009**, 5 (7), 502-7.

[00293] В некоторых вариантах осуществления реакционноспособные группы выбраны из остатков цистеина, 3-меркаптопропионовой кислоты и/или цистеинамина.

Фармацевтически приемлемые соли

[00294] Следует понимать, что солевые формы входят в объем данного изобретения, и ссылки на пептидные лиганды включают солевые формы указанных лигандов.

[00295] Соли по настоящему изобретению могут быть синтезированы из исходного соединения, которое содержит основную или кислотную группу, обычными химическими способами, такими как способы, описанные в *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, P. Heinrich Stahl (Editor), Camille G. Wermuth (Editor), ISBN: 3-90639-026-8, Hardcover, 388 pages, August 2002. Обычно такие соли можно получить путем реакции свободной кислоты или основных форм этих соединений с соответствующим основанием или кислотой в воде или в органическом растворителе или в их смеси.

[00296] Кислотно-аддитивные соли (моно- или дисоли) могут образовываться с самыми разными кислотами, как неорганическими, так и органическими. Примеры кислотно-аддитивных солей включают моно- или дисоли, образованные кислотой, выбранной из группы, состоящей из уксусной, 2,2-дихлоруксусной, адипиновой, альгиновой, аскорбиновой (например, L-аскорбиновой), L-аспарагиновой, бензолсульфоновой, бензойной, 4-ацетамидобензойной, бутановой, (+)камфорной, камфорсульфоновой, (+)-(1S)-камфор-10-сульфоновой, каприновой, капроновой, каприловой, коричной, лимонной, цикламовой, додецилсерной, этан-1,2-дисульфоновой, этансульфоновой, 2-гидроксиэтансульфоновой, муравьиной, фумаровой, галактаровой, гентизиновой, глюкогептоновой, D-глюконовой, глюкуроновой (например, D-глюкуроновой), глутаминовой (например, L-глутаминовой), α -оксоглутаровой, гликолевой, гиппуровой, галогенводородных кислот (например, бромистоводородной, хлористоводородной, йодистоводородной), изетионовой, молочной (например, (+)-L-молочной, ($\pm$)-DL-молочной), лактобионновой, малеиновой, яблочной, (-)-L-яблочной, малоновой, ($\pm$)-DL-миндальной, метансульфоновой, нафталин-2-сульфоновой, нафталин-1,5-дисульфоновой, 1-гидрокси-2-нафтойной, никотиновой, азотной, олеиновой, оротовой, щавелевой, пальмитиновой, памовой, фосфорной, пропионовой, пировиноградной, L-пироглутаминовой, салициловой, 4-аминосалициловой, себациновой, стеариновой, янтарной, серной, дубильной, (+)-L-винной, тиоциановой, *n*-толуолсульфоновой, ундециленовой и валериановой кислот, а также ацилированных аминокислот и катионообменных смол.

[00297] Одна конкретная группа солей состоит из солей, образованных из уксусной, хлористоводородной, йодистоводородной, фосфорной, азотной, серной, лимонной, молочной, янтарной, малеиновой, яблочной, изетионовой, фумаровой, бензолсульфоновой,

толуолсульфоновой, серной, метансульфоновой (мезилата), этансульфоновой, нафталинсульфоновой, валериановой, пропановой, бутановой, малоновой, глюконовой и лактобионовой кислот. Одной конкретной солью является гидрохлорид. Другой конкретной солью является ацетат.

[00298] Если соединение является анионным или имеет функциональную группу, которая может быть анионной (например, $-\text{COOH}$ может быть COO^-), то соль может быть образована с органическим или неорганическим основанием, образуя подходящий катион. Примеры подходящих неорганических катионов включают, но не ограничены ими, ионы щелочных металлов, такие как Li^+ , Na^+ и K^+ , катионы щелочноземельных металлов, такие как Ca^{2+} и Mg^{2+} , и другие катионы, такие как Al^{3+} или Zn^{2+} . Примеры подходящих органических катионов включают, но не ограничены ими, ион аммония (т.е. NH_4^+) и замещенные ионы аммония (например, NH_3R^+ , NH_2R_2^+ , NHR_3^+ , NR_4^+). Примерами некоторых подходящих замещенных ионов аммония являются ионы, полученные из: метиламина, этиламина, диэтиламина, пропиламина, дициклогексиламина, триэтиламина, бутиламина, этилендиамина, этаноламина, диэтанолламина, пиперазина, бензиламина, фенилбензиламина, холина, меглумина и трометамина, а также аминокислот, таких как лизин и аргинин. Примером обычного иона четвертичного аммония является $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$.

[00299] Если соединения по изобретению содержат аминогруппу, они могут образовывать четвертичные аммониевые соли, например, в результате реакции с алкилирующим агентом в соответствии со способами, хорошо известными специалисту в данной области техники. Такие четвертичные аммониевые соединения входят в объем изобретения.

Модифицированные производные

[00300] Следует понимать, что модифицированные производные пептидных лигандов, определенных в настоящем документе, входят в объем настоящего изобретения. Примеры таких подходящих модифицированных производных включают одну или несколько модификаций, выбранных из: N-концевых и/или C-концевых модификаций; замену одного или нескольких аминокислотных остатков на один или несколько не существующих в природе аминокислотных остатков (например, замену одного или нескольких полярных аминокислотных остатков на одну или несколько изостерных или изоэлектронных аминокислот; замену одного или нескольких неполярных аминокислотных остатков с другими неприродными изостерными или изоэлектронными аминокислотами); добавление спейсерной группы; замену одного или нескольких чувствительных к окислению аминокислотных остатков одним или несколькими устойчивыми к окислению аминокислотными остатками; замену одного или нескольких аминокислотных остатков на аланин, замену одного или нескольких L-аминокислотных остатков на один или несколько D-аминокислотных остатков; N-алкилирование одной или нескольких амидных связей внутри бициклического пептидного лиганда; замену одной или нескольких пептидных связей суррогатной связью; модификацию длины пептидного остова; замену водорода на альфа-углероде одного или нескольких аминокислотных остатков другой химической

группой, модификацию аминокислот, таких как цистеин, лизин, глутамат/аспарат и тирозин, подходящими аминами, тиолами, карбоновыми кислотами и фенол-реактивными реагентами, так, чтобы функционализировать указанные аминокислоты, и введение или замену аминокислот, которые вводят ортогональные реакционноспособные группы, которые подходят для функционализации, например аминокислот, несущих азидные или алкиновые группы, которые позволяют функционализировать алкин- или азидсодержащие группы, соответственно.

[00301] В некоторых вариантах осуществления модифицированное производное содержит N-концевую и/или C-концевую модификацию. В дополнительном варианте осуществления модифицированное производное содержит N-концевую модификацию с использованием подходящей химической реакции с аминогруппой и/или C-концевую модификацию с использованием подходящей химической реакции с карбокси. В дополнительном варианте осуществления указанная N-концевая или C-концевая модификация содержит добавление эффекторной группы, включая, но не ограничиваясь ими, цитотоксический агент, радиохелатор или хромофор.

[00302] В некоторых вариантах осуществления модифицированное производное содержит N-концевую модификацию. В другом варианте осуществления N-концевая модификация содержит N-концевую ацетильную группу. В этом варианте осуществления N-концевая цистеиновая группа (группа, обозначаемая в настоящем документе как C_i) кэпируется уксусным ангидридом или другими подходящими реагентами во время синтеза пептида, что приводит к образованию молекулы, которая ацетилирована на N-конце. Этот вариант осуществления предлагает преимущество удаления потенциальной точки распознавания аминопептидаз и позволяет избежать потенциальной деградации бициклического пептида.

[00303] В некоторых вариантах осуществления N-концевая модификация содержит добавление молекулярной спейсерной группы, которая облегчает конъюгацию эффекторных групп и сохранение активности бициклического пептида по отношению к его мишени.

[00304] В некоторых вариантах осуществления модифицированное производное содержит C-концевую модификацию. В другом варианте осуществления C-концевая модификация содержит амидную группу. В этом варианте осуществления C-концевая цистеиновая группа (группа, обозначенная в настоящем документе как C_{iii}) синтезируется в виде амида во время синтеза пептида, что приводит к образованию молекулы, амидированной на C-конце. Этот вариант осуществления предлагает преимущество удаления потенциальной точки распознавания карбоксипептидазы и снижает вероятность протеолитической деградации бициклического пептида.

[00305] В некоторых вариантах осуществления модифицированное производное содержит замену одного или нескольких аминокислотных остатков одним или несколькими аминокислотными остатками, не существующими в природе. В этом варианте осуществления могут быть выбраны не существующие в природе аминокислоты, имеющие

изостерные/изоэлектронные боковые цепи, которые не распознаются деградирующими протеазами и не оказывают какого-либо вредного воздействия на активность мишени.

[00306] Альтернативно, можно использовать не существующие в природе аминокислоты, имеющие ограниченные боковые цепи аминокислот, так что протеолитический гидролиз близлежащей пептидной связи конформационно и пространственно затруднен. В частности, это касается аналогов пролина, объемных боковых цепей, α -дизамещенных производных (например, аминокислоты, Aib) и циклоаминокислот, простым производным которых является аминоклопропилкарбоновая кислота.

[00307] В некоторых вариантах осуществления модифицированное производное содержит добавление спейсерной группы. В некоторых вариантах осуществления модифицированное производное содержит добавление спейсерной группы к N-концевому цистеину (C_i) и/или C-концевому цистеину (C_{iii}).

[00308] В некоторых вариантах осуществления модифицированное производное содержит замену одного или нескольких чувствительных к окислению аминокислотных остатков на один или несколько устойчивых к окислению аминокислотных остатков. В некоторых вариантах осуществления модифицированное производное содержит замену остатка триптофана остатком нафтилаланина или аланина. Этот вариант осуществления предлагает преимущество улучшения профиля фармацевтической стабильности полученного бициклического пептидного лиганда.

[00309] В некоторых вариантах осуществления модифицированное производное содержит замену одного или нескольких заряженных аминокислотных остатков одним или несколькими гидрофобными аминокислотными остатками. В альтернативном варианте осуществления модифицированное производное содержит замену одного или нескольких гидрофобных аминокислотных остатков одним или несколькими заряженными аминокислотными остатками. Правильный баланс заряженных и гидрофобных аминокислотных остатков является важной характеристикой бициклических пептидных лигандов. Например, гидрофобные аминокислотные остатки влияют на степень связывания с белками плазмы и, следовательно, на концентрацию свободной доступной фракции в плазме, тогда как заряженные аминокислотные остатки (в частности, аргинин) могут влиять на взаимодействие пептида с фосфолипидными мембранами на поверхности клеток. Сочетание этих двух факторов может влиять на период полужизни, объем распределения и экспонирование пептидного лекарственного средства, и их можно адаптировать в соответствии с клинической конечной точкой. Кроме того, правильное сочетание и количество заряженных, а не гидрофобных аминокислотных остатков может уменьшить раздражение в месте инъекции (если пептидное лекарственное средство вводят подкожно).

[00310] В некоторых вариантах осуществления модифицированное производное содержит замену одного или нескольких L-аминокислотных остатков на один или несколько D-аминокислотных остатков. Считается, что этот вариант осуществления увеличивает протеолитическую стабильность за счет пространственных затруднений и

склонности D-аминокислот стабилизировать конформации β -поворота (Tugyi *et al* (2005) PNAS, 102(2), 413-418).

[00311] В D-аминокислотах для стабилизации конформаций β -поворота, модифицированное производное содержит удаление любых аминокислотных остатков и замену на аланины. Этот вариант осуществления предлагает преимущество удаления потенциальных сайтов протеолитической атаки.

[00312] Следует отметить, что каждая из вышеупомянутых модификаций служит для целенаправленного улучшения эффективности или стабильности пептида. Дальнейшее улучшение эффективности на основе модификаций может быть достигнуто с помощью следующих механизмов:

- Включение гидрофобных групп, которые используют гидрофобный эффект и приводят к более низким показателям скорости диссоциации, так что достигается более высокая аффинность;

- Включение заряженных групп, использующих долгосрочные ионные взаимодействия, что приводит к более высокой скорости реакции и более высокой аффинности (см., например, Schreiber *et al*, *Rapid, electrostatically assisted association of proteins* (1996), Nature Struct. Biol. 3, 427-31); и

- Включение дополнительных ограничений в пептид, например, путем правильного ограничения боковых цепей аминокислот так, чтобы потеря энтропии была минимальной при связывании с мишенью, ограничений углов скручивания основной цепи таким образом, чтобы потеря энтропии была минимальной при связывании с мишенью, и включение дополнительных циклизаций в молекулу по тем же причинам. (обзоры см. Gentilucci *et al*, Curr. Pharmaceutical Design, (2010), 16, 3185-203, and Nestor *et al*, Curr. Medicinal Chem (2009), 16, 4399-418).

[00313] Примеры модифицированных гетеротандемных бициклических пептидных комплексов по настоящему изобретению включают комплексы, перечисленные в таблицах Н и I ниже:

Таблица Н: (EphA2:CD137; 1:2)

№ комплекса	№ EphA2 BCY	Точка прикрепления	Линкер	№ CD137 BCY	Точка прикрепления	Модификатор
BCY14415	BCY959 4	N-конец	N-(кислота-PEG3)-N-бис(PEG3-азид)	BCY8928 BCY13389	dLys (PYA)4 dLys (PYA)4	Peg12-биотин
BCY14416	BCY959 4	N-конец	N-(кислота-	BCY8928 BCY13389	dLys (PYA)4	Alexa Fluor® 488

			PEG3)-N- бис(PEG3 -азид)		dLys (PYA)4	
BCY14417	BCY131 18	N-конец	N- (кислота- PEG3)-N- бис(PEG3 -азид)	BCY8928 BCY13389	dLys(PYA) 4 dLys(PYA) 4	Peg12- биотин
BCY14418	BCY131 18	N-конец	N- (кислота- PEG3)-N- бис(PEG3 -азид)	BCY8928 BCY13389	dLys(PYA) 4 dLys(PYA) 4	Alexa Fluor® 488

Таблица I: (Нектин-4:CD137; 1:2)

<i>№ комплекса</i>	<i>№ Нектин- 4 BCY</i>	<i>Точка прикреплен ия</i>	<i>Линкер</i>	<i>№ CD137 BCY</i>	<i>Точка прикреплен ия</i>	<i>Модификатор</i>
BCY13582	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ -азид)	БКИ8928 , BCY133 8	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4	Биотин-Peg12
BCY13583	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ -азид)	БКИ8928 , BCY133 89	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4	Alexa Fluor 488
BCY13628	BCY8116	N-конец	N-(кислота- PEG ₃)-N- бис(PEG ₃ -азид)	БКИ8928 , BCY133 89	dLys(PYA)4 dLys(PYA)4	Цианин 5

Изотопные вариации

[00314] Настоящее изобретение включает все фармацевтически приемлемые меченные (радио)изотопом пептидные лиганды по изобретению, в которых один или несколько атомов заменены атомами, имеющими тот же атомный номер, но атомную массу или массовое число, отличающееся от атомной массы или массового числа, обычно встречающиеся в природе, и пептидные лиганды по изобретению, к которым присоединены группы, хелатирующие металлы (называемые «эффекторными»), которые способны

удерживать соответствующие (радио)изотопы, и пептидные лиганды по изобретению, в которых определенные функциональные группы ковалентно заменены соответствующими (радио)изотопами или изотопно-меченными функциональными группами.

[00315] Примеры изотопов, подходящих для включения в пептидные лиганды по изобретению, включают изотопы водорода, такие как ^2H (D) и ^3H (T), углерод, такой как ^{11}C , ^{13}C и ^{14}C , хлор, такой как ^{36}Cl , фтор, такой как ^{18}F , йод, такой как ^{123}I , ^{125}I и ^{131}I , азот, такой как ^{13}N и ^{15}N , кислород, такой как ^{15}O , ^{17}O и ^{18}O , фосфор, такой как ^{32}P , серу, такую как ^{35}S , медь, такую как ^{64}Cu , галлий, такой как ^{67}Ga или ^{68}Ga , иттрий, такой как ^{90}Y , и лютеций, такой как ^{177}Lu , и висмут, такой как ^{213}Bi .

[00316] Определенные изотопно-меченные пептидные лиганды по изобретению, например, содержащие радиоактивный изотоп, полезны в исследованиях распределения лекарственного средства и/или субстрата в тканях, а также для клинической оценки присутствия и/или отсутствия мишени нектин-4 в больных тканях. Пептидные лиганды по изобретению могут дополнительно обладать ценными диагностическими свойствами, заключающимися в том, что их можно использовать для обнаружения или идентификации образования комплекса между меченым соединением и другими молекулами, пептидами, белками, ферментами или рецепторами. В способах обнаружения или идентификации могут использоваться соединения, меченные метящими агентами, такими как радиоизотопы, ферменты, флуоресцентные вещества, люминесцентные вещества (например, люминол, производные люминола, люциферин, экворин и люцифераза) и т. д. Радиоактивные изотопы тритий, *т.е.* ^3H (T) и углерод-14, *т.е.* ^{14}C , особенно полезны для этой цели ввиду простоты их включения и готовых средств обнаружения.

[00317] Замещение более тяжелыми изотопами, такими как дейтерий, *т.е.* ^2H (D) может обеспечить определенные терапевтические преимущества, обусловленные большей метаболической стабильностью, например, увеличением периода полужизни *in vivo* или снижением требований к дозировке, и, следовательно, может быть предпочтительным в некоторых обстоятельствах.

[00318] Замена изотопами, излучающими позитроны, такими как ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O и ^{13}N , может быть полезна в исследованиях позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ) для изучения занятости мишени.

[00319] Меченные изотопами соединения пептидных лигандов по изобретению, как правило, могут быть получены обычными методами, известными специалистам в данной области техники, или способами, аналогичными тем, которые описаны в прилагаемых примерах, с использованием подходящего меченого изотопами реагента вместо не меченого реагента, используемого ранее.

Молекулярный каркас

[00320] Молекулярные каркасы описаны, например, в WO 2009/098450 и цитированных там ссылках, в частности в WO 2004/077062 и WO 2006/078161.

[00321] Как отмечалось в предшествующих документах, молекулярный каркас может представлять собой малую молекулу, например малую органическую молекулу.

[00322] В одном варианте осуществления молекулярный каркас может представлять собой макромолекулу. В одном варианте осуществления молекулярный каркас представляет собой макромолекулу, состоящую из аминокислот, нуклеотидов или углеводов.

[00323] В одном варианте осуществления молекулярный каркас содержит реакционноспособные группы, которые способны взаимодействовать с функциональной(ыми) группой(ами) полипептида с образованием ковалентных связей.

[00324] Молекулярный каркас может содержать химические группы, образующие связь с пептидом, такие как амины, тиолы, спирты, кетоны, альдегиды, нитрилы, карбоновые кислоты, сложные эфиры, алкены, алкины, азиды, ангидриды, сукцинимиды, малеимиды, алкилгалогениды и ацилгалогениды.

[00325] В одном варианте осуществления молекулярный каркас может содержать или состоять из гексагидро-1,3,5-триазина, особенно, 1,3,5-триакрилоилгексагидро-1,3,5-триазина («ТАТА») или его производного.

[00326] Молекулярный каркас по изобретению содержит химические группы, которые позволяют функциональным группам полипептида кодируемой библиотеки по изобретению образовывать ковалентные связи с молекулярным каркасом. Указанные химические группы выбраны из широкого спектра функциональных групп, включая амины, тиолы, спирты, кетоны, альдегиды, нитрилы, карбоновые кислоты, сложные эфиры, алкены, алкины, ангидриды, сукцинимиды, малеимиды, азиды, алкилгалогениды и ацилгалогениды.

[00327] Реакционноспособные группы каркаса, которые можно использовать на молекулярном каркасе для реакции с тиоловыми группами цистеинов, представляют собой алкилгалогениды (или также называемые галогеналканами или галоалканами).

[00328] Примеры включают бромметилбензол (реакционноспособная группа каркаса, примером которой является ТВМВ) или йодацетамид. Другими реакционноспособными группами каркаса, которые используют для селективного связывания соединений с цистеинами в белках, являются малеимиды, α -ненасыщенные карбонилсодержащие соединения и α -галогенметилкарбонилсодержащие соединения. Примеры малеимидов, которые можно использовать в качестве молекулярных каркасов по изобретению, включают: трис-(2-малеимидоэтил)амин, трис-(2-малеимидоэтил)бензол, трис-(малеимидо)бензол. Примером α -ненасыщенного карбонилсодержащего соединения является 1,1',1''-(1,3,5-триазинан-1,3,5-триил)трипроп-2-ен-1-он (ТАТА) (Angewandte Chemie, International Edition (2014), 53(6), 1602-1606). Примером соединения, содержащего α -галогенметилкарбонил, является N, N',N''-(бензол-1,3,5-триил)трис(2-бромацетамид). Селеноцистеин также является природной аминокислотой, которая имеет аналогичную с цистеином реакционную способность и может использоваться для тех же реакций. Таким образом, везде, где упоминается цистеин, обычно допускается его замена селеноцистеином, если из контекста не следует иное.

Синтез

[00329] Пептиды по настоящему изобретению могут быть получены синтетически стандартными методами с последующей реакцией с молекулярным каркасом *in vitro*. Где это применяется, можно использовать стандартную химию. Это позволяет быструю крупномасштабную подготовку растворимого материала для дальнейших экспериментов или валидации. Такие способы могут быть реализованы с использованием традиционной химии, такой как описана в Timmerman *et al* (*выше*).

[00330] Таким образом, изобретение также относится к производству полипептидов или конъюгатов, выбранных, как изложено в настоящем документе, где производство включает необязательные дополнительные стадии, как описано ниже. В одном варианте осуществления эти стадии проводят с конечным продуктом полипептид/конъюгат, полученным химическим синтезом.

[00331] Необязательно, аминокислотные остатки в представляющем интерес полипептиде могут быть заменены при производстве конъюгата или комплекса.

[00332] Пептиды также могут быть удлинены, например, для включения еще одной петли и, следовательно, для придания множественной специфичности.

[00333] Для удлинения пептида, его можно просто удлинить химически на его N-конце или C-конце или внутри петель, используя ортогонально защищенные лизины (и аналоги), используя стандартную твердофазную химию или химию в растворе. Для введения активированного или активируемого N- или C-конца можно использовать стандартные методы (био)конъюгации. Альтернативно, добавления могут быть осуществлены путем конденсации фрагмента или нативного химического лигирования, например, как описано в (Dawson *et al.* 1994. Synthesis of Proteins by Native Chemical Ligation. Science 266:776-779), или с помощью ферментов, например, с использованием субтилигазы, как описано в (Chang *et al.* Proc Natl Acad Sci U S A. 1994 Dec 20; 91(26):12544-8 или в Hikari *et al.* Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, Volume 18, Issue 22, 15 November 2008, Pages 6000-6003).

[00334] Альтернативно, пептиды могут быть удлинены или модифицированы путем дальнейшей конъюгации через дисульфидные связи. Это имеет дополнительное преимущество, заключающееся в том, что первый и второй пептиды могут диссоциировать друг от друга в восстановительной среде клетки. В этом случае, молекулярный каркас (например, ТАТА) можно добавить во время химического синтеза первого пептида, чтобы он вступал в реакцию с тремя цистеиновыми группами; дополнительный цистеин или тиол затем может быть присоединен к N- или C-концу первого пептида, так что этот цистеин или тиол реагирует только со свободным цистеином или тиолом вторых пептидов, образуя дисульфид-связанный бициклический конъюгат пептид-пептид.

[00335] Подобные методы в равной степени применимы к синтезу/сочетанию двух бициклических и биспецифических макроциклов, потенциально создавая тетраспецифическую молекулу.

[00336] Кроме того, добавление других функциональных групп или эффекторных групп может быть осуществлено таким же образом, используя соответствующую химию,

связывая на N- или C-концах или через боковые цепи. В одном варианте осуществления связь осуществляется таким образом, что она не блокирует деятельность любого объекта.

2. Соединения и определения:

[00337] Используемый в настоящем документе термин «фармацевтически приемлемая соль» относится к тем солям, которые, в пределах здравого медицинского заключения, подходят для использования в контакте с тканями людей и низших животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции и подобными, и соизмеримы с разумным соотношением польза/риск. Фармацевтически приемлемые соли хорошо известны в данной области техники. Например, S. M. Berge et al. подробно описывают фармацевтически приемлемые соли в J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19, включенной в настоящий документ посредством ссылки. Фармацевтически приемлемые соли соединений настоящего изобретения включают соли, полученные из подходящих неорганических и органических кислот и оснований. Примерами фармацевтически приемлемых нетоксичных кислотно-аддитивных солей являются соли аминогруппы, образованной неорганическими кислотами, такими как хлористоводородная кислота, бромистоводородная кислота, фосфорная кислота, серная кислота и хлорная кислота, или с органическими кислотами, такими как уксусная кислота, щавелевая кислота, малеиновая кислота, винная кислота, лимонная кислота, янтарная кислота или малоновая кислота, или с использованием других способов, используемых в данной области техники, таких как ионный обмен. Другие фармацевтически приемлемые соли включают адипат, альгинат, аскорбат, аспартат, бензолсульфонат, бензоат, бисульфат, борат, бутират, камфорат, камфорсульфонат, цитрат, циклопентанпропионат, диглюконат, додецилсульфат, этансульфонат, формиат, фумарат, глюкогептонат, глицерофосфат, глюконат, гемисульфат, гептаноат, гексаноат, гидройодид, 2-гидрокси-этансульфонат, лактобионат, лактат, лаурат, лаурилсульфат, малат, малеат, малонат, метансульфонат, 2-нафталинсульфонат, никотинат, нитрат, олеат, оксалат, пальмитат, памоат, пектинат, персульфат, 3-фенилпропионат, фосфат, пивалат, пропионат, стеарат, сукцинат, сульфат, тартрат, тиоцианат, п-толуолсульфонат, ундеканат, валерат и подобные.

[00338] Соли, полученные из подходящих оснований, включают соли щелочных металлов, щелочноземельных металлов, аммония и $N^+(C_{1-4}\text{алкила})_4$. Типовые соли щелочных или щелочноземельных металлов включают натрий, литий, калий, кальций, магний и подобные. Дополнительные фармацевтически приемлемые соли включают, при необходимости, нетоксичные катионы аммония, четвертичного аммония и амина, образованные с использованием противоионов, таких как галогенид, гидроксид, карбоксилат, сульфат, фосфат, нитрат, низший алкилсульфонат и арилсульфонат.

[00339] Если не указано иное, структуры, изображенные в настоящем документе, также включают все изомерные (например, энантиомерные, диастереомерные и геометрические (или конформационные)) формы структуры; например, конфигурации R и S для каждого асимметричного центра, изомеры двойных связей Z и E, и конформационные изомеры Z и E. Таким образом, отдельные стереохимические изомеры, а также

энантиомерные, диастереомерные и геометрические (или конформационные) смеси настоящих соединений входят в объем изобретения. Если не указано иное, все таутомерные формы соединений изобретения входят в объем изобретения. Кроме того, если не указано иное, структуры, изображенные в настоящем документе, также включают соединения, которые отличаются только наличием одного или нескольких изотопно-обогащенных атомов. Например, соединения, имеющие настоящую структуру, включающую замену водорода дейтерием или тритием или замену углерода ^{13}C или ^{14}C -обогащенным углеродом, входят в объем данного изобретения. Такие соединения полезны, например, в качестве аналитических инструментов, в качестве зондов в биологических анализах или в качестве терапевтических агентов в соответствии с настоящим изобретением.

[00340] Используемый в настоящем документе термин «примерно» относится к значению в пределах 20% от заданного значения. В некоторых вариантах осуществления термин «примерно» относится к значению в пределах 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2% или 1% от заданного значения.

[00341] В настоящем документе, термин «мг/кг» относится к миллиграмму лекарства на килограмм массы тела субъекта, принимающего лекарство.

3. Фармацевтически приемлемые композиции.

[00342] Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение предлагает фармацевтическую композицию, содержащую гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, содержащий один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или носитель. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает фармацевтическую композицию для применения при лечении рака, содержащую гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, содержащий один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемую соль, иммуноонкологический агент и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или носитель.

[00343] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает фармацевтическую композицию, содержащую BT7480, или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или наполнитель. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает фармацевтическую композицию для применения при лечении рака, содержащую BT7480 или его фармацевтически приемлемую соль, иммуноонкологический агент и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или носитель.

[00344] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает фармацевтическую композицию, содержащую BT7455 или его фармацевтически приемлемую соль и фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или носитель. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает фармацевтическую композицию для применения при лечении рака, содержащую BT7455 или его фармацевтически приемлемую соль, иммуноонкологический агент и

фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или носитель.

[00345] В некоторых вариантах осуществления композиция содержит фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или носитель. Термин «фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или носитель» относится к нетоксичному носителю, адъюванту или носителю, который не разрушает фармакологическую активность соединения, с которым он составлен. Фармацевтически приемлемые носители, адъюванты или наполнители, которые можно использовать в композициях по настоящему изобретению, включают, но не ограничены ими, ионообменники, оксид алюминия, стеарат алюминия, лецитин, сывороточные белки, такие как сывороточный альбумин человека, буферные вещества, такие как фосфаты, глицин, сорбиновая кислота, сорбат калия, частичные смеси глицеридов насыщенных растительных жирных кислот, воду, соли или электролиты, такие как сульфат протамина, гидрофосфат динатрия, гидрофосфат калия, хлорид натрия, соли цинка, коллоидный диоксид кремния, трисиликат магния, поливинилпирролидон, вещества на основе целлюлозы, полиэтиленгликоль, карбоксиметилцеллюлозу натрия, полиакрилаты, воски, полиэтилен-полиоксипропиленовые блок-полимеры, полиэтиленгликоль и ланолин.

[00346] Термин «пациент», используемый в настоящем документе, означает животное, предпочтительно, млекопитающее, и наиболее предпочтительно, человека.

[00347] Композиции по настоящему изобретению можно вводить перорально, парентерально, с помощью ингаляционного спрея, местно, ректально, назально, буккально, вагинально или через имплантированный резервуар. Термин «парентеральный», используемый в настоящем документе, включает методы подкожной, внутривенной, внутримышечной, внутрисуставной, внутрисиновиальной, интрастеральной, интратекальной, внутripеченочной, внутриочаговой и внутричерепной инъекции или инфузии. В некоторых вариантах осуществления композиции вводят перорально, внутрибрюшинно или внутривенно. Стерильные инъекционные формы композиций по настоящему изобретению могут представлять собой водную или маслянистую суспензию. Эти суспензии могут быть составлены в соответствии с методами, известными в данной области техники, с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов. Стерильный инъекционный препарат также может представлять собой стерильный инъекционный раствор или суспензию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. Приемлемые носители и растворители, которые могут быть использованы, включают воду, раствор Рингера и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды традиционно используют стерильные нелетучие масла.

[00348] Для этой цели можно использовать любое мягкое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Жирные кислоты, такие как олеиновая кислота и ее глицеридные производные, полезны при приготовлении инъекционных препаратов, как и натуральные фармацевтически приемлемые масла, такие как оливковое масло или

касторовое масло, особенно в их полиоксиэтилированных вариантах. Эти масляные растворы или суспензии могут также содержать длинноцепочечный спиртовой разбавитель или диспергирующий агент, такой как карбоксиметилцеллюлоза или подобные диспергирующие агенты, которые обычно используются при составлении фармацевтически приемлемых дозированных форм, включая эмульсии и суспензии. Другие обычно используемые поверхностно-активные вещества, такие как Tweens, Span и другие эмульгирующие агенты или усилители биодоступности, которые обычно используют при производстве фармацевтически приемлемых твердых, жидких или других дозированных форм, также могут быть использованы для целей составления.

[00349] Фармацевтически приемлемые композиции по настоящему изобретению можно вводить перорально в любой перорально приемлемой дозированной форме, включая, но не ограничиваясь ими, капсулы, таблетки, водные суспензии или растворы. В случае таблеток для перорального применения, обычно используемые носители включают лактозу и кукурузный крахмал. Обычно также добавляют смазывающие агенты, такие как стеарат магния. Для перорального введения в форме капсул, полезные разбавители включают лактозу и сухой кукурузный крахмал. Когда для перорального применения необходимы водные суспензии, активный ингредиент комбинируют с эмульгирующими и суспендирующими агентами. При желании также могут быть добавлены определенные подсластители, ароматизаторы или красители.

[00350] Альтернативно, фармацевтически приемлемые композиции по настоящему изобретению можно вводить в форме суппозиторий для ректального введения. Их можно приготовить путем смешивания агента с подходящим нераздражающим эксципиентом, который является твердым при комнатной температуре, но жидким при ректальной температуре и, следовательно, плавится в прямой кишке, высвобождая лекарственное средство. К таким материалам относятся масло какао, пчелиный воск и полиэтиленгликоли.

[00351] Фармацевтически приемлемые композиции по настоящему изобретению также можно назначать местно, особенно когда цель лечения включает области или органы, легко доступные при местном применении, включая заболевания глаз, кожи или нижних отделов кишечного тракта. Подходящие составы для местного применения легко готовят для каждой из этих областей или органов.

[00352] Местное применение в нижних отделах кишечника может осуществляться в виде ректальных суппозиторий (см. выше) или в виде подходящего состава для клизмы. Также можно использовать местно-трансдермальные пластыри.

[00353] Для местного применения, предлагаемые фармацевтически приемлемые композиции могут быть составлены в виде подходящей мази, содержащей активный компонент, суспендированный или растворенный в одном или нескольких носителях. Носители для местного введения соединений по настоящему изобретению включают, но не ограничены ими, минеральное масло, жидкий вазелин, белый вазелин, пропиленгликоль, полиоксиэтилен, полиоксипропиленовое соединение, эмульгирующий воск и воду. Альтернативно предлагаемые фармацевтически приемлемые композиции могут быть

составлены в виде подходящего лосьона или крема, содержащего активные компоненты, суспендированные или растворенные в одном или нескольких фармацевтически приемлемых носителях. Подходящие носители включают, но не ограничены ими, минеральное масло, моностеарат сорбитана, полисорбат 60, воск цетиловых эфиров, цетеариловый спирт, 2-октилдодеканол, бензиловый спирт и воду.

[00354] Для офтальмологического применения, предлагаемые фармацевтически приемлемые композиции могут быть составлены в виде микронизированных суспензий в изотоническом стерильном солевом растворе со скорректированным pH или, предпочтительно, в виде растворов в изотоническом стерильном солевом растворе со скорректированным pH, с или без консерванта, такого как хлорид бензилакония. Альтернативно, для офтальмологического применения, фармацевтически приемлемые композиции могут быть составлены в виде мази, такой как вазелин.

[00355] Фармацевтически приемлемые композиции по настоящему изобретению также можно вводить посредством назального аэрозоля или ингаляции. Такие композиции готовят в соответствии с методами, хорошо известными в области фармацевтических рецептур, и могут быть приготовлены в виде растворов в солевом растворе с использованием бензилового спирта или других подходящих консервантов, стимуляторов абсорбции для повышения биодоступности, фторуглеродов и/или других обычных солюбилизующих или диспергирующих агентов.

[00356] Фармацевтически приемлемые композиции по настоящему изобретению также могут быть составлены для перорального введения. Такие составы можно вводить с или без пищи. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые композиции по настоящему изобретению вводят без пищи. В других вариантах осуществления фармацевтически приемлемые композиции по настоящему изобретению вводят с пищей.

[00357] Следует также понимать, что конкретная дозировка и схема лечения для любого конкретного пациента будут зависеть от множества факторов, включая активность конкретного применяемого соединения, возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол, диету, время введения, скорость выведения, комбинацию лекарственных средств, решение лечащего врача и тяжесть конкретного заболевания, подлежащего лечению. Количество соединения настоящего изобретения в композиции также будет зависеть от конкретного соединения в композиции.

4. Способы лечения рака

[00358] Согласно некоторым вариантам осуществления настоящее изобретение предлагает способ лечения рака у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемой соли, и иммуноонкологического агента.

[00359] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает применение гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один

или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, или его фармацевтически приемлемую соль, в комбинации с иммуноонкологическим агентом, для лечения рака.

[00360] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает способ лечения рака у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества BT7480 или его фармацевтически приемлемой соли, и иммуноонкологического агента. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает применение BT7480 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с иммуноонкологическим агентом для лечения рака.

[00361] В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает способ лечения рака у пациента, включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества BT7455 или его фармацевтически приемлемой соли и иммуноонкологического агента. В некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает применение BT7455 или его фармацевтически приемлемой соли в комбинации с иммуноонкологическим агентом для лечения рака.

Типовые раки

[00362] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления рак связан с MT1-MMP. В некоторых вариантах осуществления рак характеризуется высокой экспрессией MT1-MMP. Например, Adley *et al.* сообщили, что MT1-MMP имеет высокий уровень экспрессии при светлоклеточном раке яичника (Adley *et al.* "Expression of Membrane Type 1 Matrix Metalloproteinase (MMP-14) in Epithelial Ovarian Cancer: High Level Expression in Clear Cell Carcinoma" *Gynecol Oncol.* 2009 February; 112(2): 319-324).

[00363] В некоторых вариантах осуществления рак связан с нектином-4. В некоторых вариантах осуществления рак характеризуется высокой экспрессией нектина-4.

[00364] В некоторых вариантах осуществления рак связан с EphA2. В некоторых вариантах осуществления рак характеризуется высокой экспрессией EphA2.

[00365] В некоторых вариантах осуществления рак связан с PD-L1. В некоторых вариантах осуществления рак характеризуется высокой экспрессией PD-L1.

[00366] В некоторых вариантах осуществления рак связан с PSMA. В некоторых вариантах осуществления рак характеризуется высокой экспрессией PSMA.

[00367] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В некоторых вариантах осуществления рак мочевого пузыря выбран из группы, состоящей из базального, p53-подобного и люминального рака.

[00368] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак эндометрия. В некоторых вариантах осуществления рак эндометрия выбран из группы, состоящей из MMR-D, POLE EDM, p53 WT, аномального p53, типа I, типа II, карциномы, карциносаркомы, эндометриоидной аденокарциномы, серозной карциномы, светлоклеточной карциномы, муцинозной карциномы, смешанной или недифференцированной карциномы, смешанного серозного и эндометриоидного, смешанного серозного и эндометриоидного рака низкой степени злокачественности и

недифференцированного.

[00369] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак пищевода. В некоторых вариантах осуществления рак пищевода выбран из группы, состоящей из аденокарциномы (EAC), плоскоклеточного рака (ESCC), хромосомной нестабильности (CIN), вируса Эпштейна-Барра (EBV), геномно стабильной (GS) и микросателлитной нестабильности (MSI).

[00370] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой глиобластому. В некоторых вариантах осуществления глиобластома выбрана из группы, состоящей из пронеиральной, нейральной, классической и мезенхимальной.

[00371] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой мезотелиому. В некоторых вариантах осуществления мезотелиома выбрана из группы, состоящей из мезотелиомы плевры, мезотелиомы брюшины, мезотелиомы перикарда, эпителиоидной мезотелиомы, саркоматоидной мезотелиомы, двухфазной мезотелиомы и злокачественной мезотелиомы.

[00372] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой множественную миелому. В некоторых вариантах осуществления множественная миелома выбрана из группы, состоящей из гипердиплоидной, не гипердиплоидной, транслокации циклина D, транслокации MMSET, транслокации MAF и неклассифицированной.

[00373] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак яичников. В некоторых вариантах осуществления рак яичников выбран из группы, состоящей из светлоклеточного, эндометриоидного, муцинозного, серозного рака яичников высокой степени злокачественности и серозного рака яичников низкой степени злокачественности.

[00374] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак поджелудочной железы выбран из группы, состоящей из плоскоклеточного рака, рака-предшественника поджелудочной железы, иммуногенного рака и рака поджелудочной железы ADEX (аберрантно дифференцированного эндокринного экзокринного рака).

[00375] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак предстательной железы выбран из группы, состоящей из рака предстательной железы AZGP1 (подтип I), MUC1 (подтип II) и MUC1 (подтип III).

[00376] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак легких. В некоторых вариантах осуществления рак легких представляет собой метампифицированный плоскоклеточный NSCLC, плоскоклеточный NSCLC с EGFR дикого типа или аденокарциному легких, экспрессирующую EGFR T790M.

[00377] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой трижды отрицательный рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак молочной железы представляет собой базалоидный трижды

отрицательный рак молочной железы.

[00378] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой колоректальную аденокарциному. В некоторых вариантах осуществления колоректальная аденокарцинома представляет собой колоректальную аденокарциному с высокой экспрессией pgr.

[00379] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак желудка. В некоторых вариантах осуществления рак желудка представляет собой FGFR-амплифицированный рак желудка.

[00380] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак головы и шеи. В некоторых вариантах осуществления рак головы и шеи представляет собой плоскоклеточный рак носовой перегородки.

[00381] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой саркому. В некоторых вариантах осуществления саркома представляет собой фибросаркому. В некоторых вариантах осуществления фибросаркома представляет собой саркому мягких тканей с мутантом N-ras/мутантом IDH1 (STS).

[00382] Рак включает, в одном варианте осуществления без ограничения, лейкозы (например, острый лейкоз, острый лимфоцитарный лейкоз, острый миелоцитарный лейкоз, острый миелобластный лейкоз, острый промиелоцитарный лейкоз, острый миеломоноцитарный лейкоз, острый моноцитарный лейкоз, острый эритролейкоз, хронический лейкоз, хронический миелоцитарный лейкоз, хронический лимфоцитарный лейкоз), истинную полицитемию, лимфому (например, болезнь Ходжкина или неходжкинскую болезнь), макроглобулинемию Вальденстрема, множественную миелому, болезнь тяжелых цепей и солидные опухоли, такие как саркомы и карциномы (например, фибросаркома, миксосаркома, липосаркома, хондросаркома, остеогенная саркома, хордома, ангиосаркома, эндотелиосаркома, лимфангиосаркома, лимфангиоэндотелиосаркома, синовиома, мезотелиома, опухоль Юинга, лейомиосаркома, рабдомиосаркома, рак толстой кишки, рак поджелудочной железы, рак молочной железы, рак яичников, рак предстательной железы, плоскоклеточная карцинома, базальноклеточная карцинома, аденокарцинома, карцинома потовой железы, карцинома сальных желез, папиллярная карцинома, папиллярная аденокарцинома, цистаденокарцинома, медуллярная карцинома, бронхогенная карцинома, почечно-клеточная карцинома, гепатома, карцинома желчных протоков, хориокарцинома, семинома, эмбриональная карцинома, опухоль Вильмса, рак шейки матки, рак матки, рак яичек, карцинома легкого, мелкоклеточная карцинома легкого, карцинома мочевого пузыря, эпителиальная карцинома, глиома, астроцитомы, мультиформная глиобластома (GBM, также известная как глиобластома), медуллобластома, краниофарингиома, эпендимомы, пинеломы, гемангиобластома, акустическая неврома, олигодендроглиома, шваннома, нейрофибросаркома, менингиома, меланома, нейробластома и ретинобластома).

[00383] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой глиому, астроцитому, мультиформную глиобластому (GBM, также известную как глиобластома),

медуллобластому, краниофарингиому, эпендимому, пинеалому, гемангиобластому, акустическую неврому, олигодендроглиому, шванному, нейрофибросаркому, менингиому, меланому, нейробластому или ретинобластому.

[00384] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой акустическую неврому, астроцитому (например, степень I - пилоцитарную астроцитому, степень II - астроцитому низкой степени злокачественности, степень III - анапластическую астроцитому или степень IV - глиобластому (GBM)), хордому, лимфому ЦНС, краниофарингиому, глиому ствола мозга, эпендимому, смешанную глиому, глиому зрительного нерва, субэпендимому, медуллобластому, менингиому, метастатическую опухоль головного мозга, олигодендроглиому, опухоли гипофиза, примитивную нейроэктодермальную (PNET) опухоль или шванному. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой тип, который чаще встречается у детей, чем у взрослых, например, глиому ствола головного мозга, краниофарингиому, эпендимому, ювенильную пилоцитарную астроцитому (JPA), медуллобластому, глиому зрительного нерва, опухоль шишковидной железы, примитивные нейроэктодермальные опухоли (PNET) или рабдоидную опухоль. В некоторых вариантах осуществления пациентом является взрослый человек. В некоторых вариантах осуществления пациентом является ребенок или педиатрический пациент.

[00385] В другом варианте осуществления без ограничения, рак включает мезотелиому, гепатоцеллюлярный рак (печеночных и желчных протоков), рак кости, рак поджелудочной железы, рак кожи, рак головы или шеи, меланому кожи или внутриглазного рака, рак яичников, рак толстой кишки, рак прямой кишки, рак анальной области, рак желудка, рак желудочно-кишечного тракта (желудочный, колоректальный и двенадцатиперстной кишки), рак матки, рак маточных труб, рак эндометрия, рак шейки матки, рак влагалища, рак вульвы, болезнь Ходжкина, рак пищевода, рак тонкого кишечника, рак эндокринной системы, рак щитовидной железы, рак околощитовидной железы, рак надпочечника, саркому мягких тканей, рак уретры, рак полового члена, рак предстательной железы, рак яичек, хронический или острый лейкоз, хронический миелоидный лейкоз, лимфоцитарную лимфому, рак мочевого пузыря, рак почки или мочеточника, почечно-клеточный рак, рак почечной лоханки, неходжкинскую лимфому, опухоли оси позвоночника, глиому ствола головного мозга, аденому гипофиза, рак коры надпочечников, рак желчного пузыря, множественную миелому, холангиокарциному, фибросаркому, нейробластому, ретинобластому или комбинацию одного или нескольких из вышеуказанных видов рака.

[00386] В некоторых вариантах осуществления рак выбран из гепатоцеллюлярной карциномы, рака яичников, эпителиального рака яичников или рака фаллопиевых труб; папиллярной серозной цистаденокарциномы или папиллярной серозной карциномы матки (UPSC); рака предстательной железы; рака яичек; рака желчного пузыря; гепатохолангиокарциномы; саркомы мягких тканей и костей; синовиальной саркомы; рабдомиосаркомы; остеосаркомы; хондросаркомы; саркомы Юинга; анапластического рака

щитовидной железы; аденокортикальной аденомы; рака поджелудочной железы; карциномы протоков поджелудочной железы или аденокарциномы поджелудочной железы; рака желудочно-кишечного тракта/желудка (GIST); лимфомы; плоскоклеточного рака головы и шеи (SCCHN); рака слюнной железы; глиомы или рака головного мозга; злокачественных опухолей оболочек периферических нервов, ассоциированных с нейрофиброматозом-1 (MPNST); макроглобулинемии Вальденстрема; или медуллобластомы.

[00387] В некоторых вариантах осуществления рак выбран из гепатоцеллюлярной карциномы (HCC), гепатобластомы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака яичников, эпителиального рака яичников, рака маточной трубы, папиллярной серозной цистаденокарциномы, папиллярной серозной карциномы матки (UPSC), гепатохолангиокарциномы, саркомы мягких тканей и костно-синовиальной саркомы, рабдомиосаркомы, остеосаркомы, анапластического рака щитовидной железы, аденокортикальной аденомы, рака поджелудочной железы, карциномы протоков поджелудочной железы, аденокарциномы поджелудочной железы, глиомы, злокачественных опухолей оболочек периферических нервов, связанных с нейрофиброматозом-1 (MPNST), макроглобулинемии Вальденстрема или медуллобластомы.

[00388] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой солидную опухоль, такую как саркома, карцинома или лимфома. Сольные опухоли обычно содержат аномальную массу ткани, которая обычно не включает кисты или участки жидкости. В некоторых вариантах осуществления рак выбран из почечно-клеточной карциномы или рака почки; гепатоцеллюлярной карциномы (HCC) или гепатобластомы, или рака печени; меланомы; рака молочной железы; колоректальной карциномы или колоректального рака; рака толстой кишки; рака прямой кишки; анального рака; рака легких, такого как немелкоклеточный рак легких (NSCLC) или мелкоклеточного рака легких (SCLC); рака яичника, эпителиального рака яичника, карциномы яичника или рака маточной трубы; папиллярной серозной цистаденокарциномы или папиллярной серозной карциномы матки (UPSC); рака предстательной железы; рака яичек; рака желчного пузыря; гепатохолангиокарциномы; саркомы мягких тканей и костей; синовиальной саркомы; рабдомиосаркомы; остеосаркомы; хондросаркомы; саркомы Юинга; анапластического рака щитовидной железы; аденокортикальной карциномы; рака поджелудочной железы; карциномы протоков поджелудочной железы или аденокарциномы поджелудочной железы; рака желудочно-кишечного тракта/желудка (GIST); лимфомы; плоскоклеточного рака головы и шеи (SCCHN); рака слюнной железы; глиомы или рака головного мозга; злокачественных опухолей оболочек периферических нервов, ассоциированных с нейрофиброматозом-1 (MPNST); макроглобулинемии Вальденстрема; или медуллобластомы.

[00389] В некоторых вариантах осуществления рак выбран из почечно-клеточной карциномы, гепатоцеллюлярной карциномы (HCC), гепатобластомы, колоректальной

карциномы, колоректального рака, рака толстой кишки, рака прямой кишки, анального рака, рака яичников, эпителиального рака яичников, карциномы яичника, рака фаллопиевых труб, папиллярной серозной цистаденокарциномы, папиллярной серозной карциномы матки (UPSC), гепатохолангиокарциномы, синовиальной саркомы мягких тканей и костей, рабдомиосаркомы, остеосаркомы, хондросаркомы, анапластического рака щитовидной железы, адренокортикальной карциномы, раков поджелудочной железы, карциномы протоков поджелудочной железы, аденокарциномы поджелудочной железы, глиомы, рака головного мозга, злокачественных опухолей оболочек периферических нервов (MPNST), ассоциированных с нейрофиброматозом-1, макроглобулинемии Вальденстрема или медуллобластомы.

[00390] В некоторых вариантах осуществления рак выбран из гепатоцеллюлярной карциномы (HCC), гепатобластомы, рака толстой кишки, рака прямой кишки, рака яичников, эпителиального рака яичников, карциномы яичника, рака фаллопиевой трубы, папиллярной серозной цистаденокарциномы, папиллярной серозной карциномы матки (UPSC), гепатомы, холангиокарциномы, синовиальной саркомы мягких тканей и костей, рабдомиосаркомы, остеосаркомы, анапластического рака щитовидной железы, адренокортикальной карциномы, рака поджелудочной железы, протоковой карциномы поджелудочной железы, аденокарциномы поджелудочной железы, глиомы, злокачественных опухолей оболочек периферических нервов (MPNST), ассоциированных с нейрофиброматозом-1, макроглобулинемии Вальденстрема или медуллобластомы.

[00391] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гепатоцеллюлярную карциному (HCC). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гепатобластому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак толстой кишки. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак прямой кишки. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак яичника или карциному яичника. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой эпителиальный рак яичников. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак фаллопиевой трубы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой папиллярную серозную цистаденокарциному. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой папиллярную серозную карциному матки (UPSC). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой гепатохолангиокарциному. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой саркому мягких тканей и костно-синовиальной ткани. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рабдомиосаркому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой остеосаркому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой анапластический рак щитовидной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой адренокортикальную карциному. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак поджелудочной железы или карциному протоков поджелудочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой аденокарциному поджелудочной железы.

В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой глиому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой злокачественную опухоль оболочек периферических нервов (MPNST). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой MPNST, связанный с нейрофиброматозом-1. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой макроглобулинемию Вальденстрема. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой медуллобластому.

[00392] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой вирус-ассоциированный рак, включая солидные опухоли, ассоциированные с вирусом иммунодефицита человека (HIV), неизлечимые солидные опухоли, положительные по вирусу папилломы человека (HPV)-16, и Т-клеточный лейкоз взрослых, который вызывается вирусом Т-клеточного лейкоза человека I типа (HTLV-I) и высоко агрессивную форму CD4+ Т-клеточного лейкоза, характеризующуюся клональной интеграцией HTLV-I в лейкозные клетки (см. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02631746>); а также вирус-ассоциированные опухоли при раке желудка, карциноме носоглотки, раке шейки матки, раке влагалища, раке вульвы, плоскоклеточном раке головы и шеи и раке из клеток Меркеля. (См. <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02488759>; см. также <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT0240886>; <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02426892>)

[00393] В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой меланому. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак молочной железы. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой рак легких. В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой мелкоклеточный рак легкого (SCLC). В некоторых вариантах осуществления рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого (NSCLC).

[00394] В некоторых вариантах осуществления рак лечат путем остановки дальнейшего роста опухоли. В некоторых вариантах осуществления рак лечат путем уменьшения размера (например, объема или массы) опухоли по меньшей мере на 5%, 10%, 25%, 50%, 75%, 90% или 99% относительно размера опухоли до лечения. В некоторых вариантах осуществления рак лечат путем уменьшения количества опухоли у пациента по меньшей мере на 5%, 10%, 25%, 50%, 75%, 90% или 99% относительно количества опухоли до лечения.

[00395] Гетеротандемные бициклические пептидные комплексы и композиции по способу настоящего изобретения можно вводить в любом количестве и любым способом введения, эффективным для лечения или уменьшения тяжести рака. Точное требуемое количество будет варьироваться от субъекта к субъекту в зависимости от вида, возраста и общего состояния субъекта, тяжести заболевания или состояния, конкретного агента, способа его введения и подобных. Гетеротандемные бициклические пептидные комплексы предпочтительно составляют в виде стандартных доз для простоты введения и единообразия дозировки. Выражение «стандартная дозированная форма», используемое в настоящем документе, относится к физически дискретной единице агента, подходящей для

пациента, подлежащего лечению. Однако следует понимать, что общее ежедневное использование гетеротандемных бициклических пептидных комплексов и композиций по настоящему изобретению будет определяться лечащим врачом в рамках здравого медицинского заключения. Конкретный эффективный уровень дозы для любого конкретного пациента или организма будет зависеть от множества факторов, включая заболевание, подлежащее лечению, и тяжесть заболевания; активность конкретного используемого соединения; конкретный используемый состав; возраст, массу тела, общее состояние здоровья, пол и диету пациента; время введения, путь введения и скорость выведения конкретного используемого соединения; продолжительность лечения; лекарственные средства, используемые в комбинации или одновременно с конкретным используемым соединением, и подобные факторы, хорошо известные в области медицины. Термин «пациент», используемый в настоящем документе, означает животное, предпочтительно, млекопитающее, и наиболее предпочтительно, человека.

[00396] Фармацевтически приемлемые композиции по настоящему изобретению можно вводить людям и другим животным перорально, ректально, парентерально, интрацестернально, интравагинально, внутривентриально, местно (например, в виде порошков, мазей или капель), ингаляционно, в виде перорального или назального спрея или подобными путями, в зависимости от тяжести заболевания или нарушения, подлежащего лечению. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемные бициклические пептидные комплексы по настоящему изобретению можно вводить перорально или парентерально в дозах от примерно 0,01 мг/кг до примерно 100 мг/кг или от примерно 1 мг/кг до примерно 25 мг/кг массы тела субъекта в день, один или несколько раз в день, для получения желаемого терапевтического эффекта.

[00397] Жидкие дозированные формы для перорального введения включают, но не ограничены ими, фармацевтически приемлемые эмульсии, микроэмульсии, растворы, суспензии, сиропы и эликсиры. Помимо активных соединений, жидкие дозированные формы могут содержать инертные разбавители, обычно используемые в данной области техники, такие как, например, вода или другие растворители, солюбилизующие агенты и эмульгаторы, такие как этиловый спирт, изопропиловый спирт, этилкарбонат, этилацетат, бензиловый спирт, спирт, бензилбензоат, пропиленгликоль, 1,3-бутиленгликоль, диметилформамид, масла (в частности, хлопковое, арахисовое, кукурузное, зародышевое, оливковое, касторовое и кунжутное масла), глицерин, тетрагидрофуруриловый спирт, полиэтиленгликоли и сложные эфиры сорбитана и жирных кислот, и их смеси. Помимо инертных разбавителей, композиции для перорального применения также могут включать адъюванты, такие как смачивающие агенты, эмульгирующие и суспендирующие агенты, подсластители, ароматизаторы и отдушки.

[00398] Препараты для инъекций, например, стерильные водные или масляные суспензии для инъекций, могут быть составлены в соответствии с известным уровнем техники с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов. Стерильный инъекционный препарат также может представлять

собой стерильный инъекционный раствор, суспензию или эмульсию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. Приемлемые носители и растворители, которые можно использовать, включают воду, раствор Рингера, USP и изотонический раствор хлорида натрия. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды традиционно используют стерильные нелетучие масла. Для этой цели можно использовать любое мягкое нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, при приготовлении инъекционных препаратов используют жирные кислоты, такие как олеиновая кислота.

[00399] Инъекционные составы можно стерилизовать, например, путем фильтрации через фильтр, задерживающий бактерии, или путем включения стерилизующих агентов в форме стерильных твердых композиций, которые перед использованием можно растворить или диспергировать в стерильной воде или другой стерильной среде для инъекций.

[00400] Чтобы продлить эффект соединения настоящего изобретения, часто желательно замедлить абсорбцию соединения при подкожной или внутримышечной инъекции. Этого можно достичь путем использования жидкой суспензии кристаллического или аморфного материала с плохой растворимостью в воде. Тогда скорость абсорбции соединения зависит от скорости его растворения, которая, в свою очередь, может зависеть от размера кристаллов и кристаллической формы. Альтернативно, отсроченную абсорбцию парентерально введенной формы соединения осуществляют путем растворения или суспендирования соединения в масляном носителе. Инъекционные депо-формы изготавливаются путем формирования микрокапсульных матриц соединения в биоразлагаемых полимерах, таких как полилактид-полигликолид. В зависимости от соотношения соединения к полимеру и природы конкретного используемого полимера, скорость высвобождения соединения можно контролировать. Примеры других биоразлагаемых полимеров включают поли(ортоэфир) и поли(ангидриды). Депо-препараты для инъекций также готовят путем улавливания соединения в липосомах или микроэмульсиях, совместимых с тканями организма.

[00401] Композиции для ректального или вагинального введения предпочтительно представляют собой суппозитории, которые можно приготовить путем смешивания гетеротандемных бициклических пептидных комплексов по настоящему изобретению с подходящими нераздражающими наполнителями или носителями, такими как масло какао, полиэтиленгликоль или воск для суппозитория, которые являются твердыми при температуре окружающей среды, но жидкими при температуре тела и, следовательно, тают в прямой кишке или влагалище и высвобождают активное соединение.

[00402] Твердые дозированные формы для перорального введения включают капсулы, таблетки, пилюли, порошки и гранулы. В таких твердых дозированных формах, активное соединение смешивается по меньшей мере с одним инертным фармацевтически приемлемым наполнителем или носителем, таким как цитрат натрия или дикальцийфосфат, и/или а) наполнителями или наполнителями, такими как крахмалы, лактоза, сахароза, глюкоза, маннит и кремниевая кислота, б) связующими агентами, такими как, например,

карбоксиметилцеллюлоза, альгинаты, желатин, поливинилпирролидион, сахароза и акация, с) увлажнителями, такими как глицерин, d) разрыхлителями, такими как агар-агар, карбонат кальция, картофельный или тапиоковый крахмал, альгиновая кислота, некоторые силикаты и карбонат натрия, e) агентами, замедляющими растворение, такими как парафин, f) ускорителями абсорбции, такими как соединения четвертичного аммония, g) смачивающими агентами, такими как, например, цетиловый спирт и моностеарат глицерина, h) абсорбентами, такими как каолин и бентонитовая глина и i) смазочными материалами, такими как тальк, стеарат кальция, стеарат магния, твердые полиэтиленгликоли, лаурилсульфат натрия и их смеси. В случае капсул, таблеток и пилюль, дозированная форма может также содержать буферные агенты.

[00403] Твердые композиции подобного типа также можно использовать в качестве наполнителей мягких и твердых желатиновых капсул с использованием таких наполнителей, как лактоза или молочный сахар, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и подобные. Твердые дозированные формы таблеток, драже, капсул, пилюль и гранул могут быть приготовлены с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия и другие покрытия, хорошо известные в области фармацевтических составов. Они могут необязательно содержать агенты, придающие непрозрачность, а также могут иметь состав, в котором активный(е) ингредиент(ы) высвобождается(ются) только или предпочтительно в определенной части кишечного тракта, необязательно, с задержкой. Примеры заливочных композиций, которые можно использовать, включают полимерные вещества и воски. Твердые композиции аналогичного типа также можно использовать в качестве наполнителей мягких и твердых желатиновых капсул с использованием таких наполнителей, как лактоза или молочный сахар, а также высокомолекулярные полиэтиленгликоли и подобные.

[00404] Активные соединения также могут находиться в микроинкапсулированной форме с одним или несколькими наполнителями, как отмечено выше. Твердые дозированные формы таблеток, драже, капсул, пилюль и гранул можно получить с покрытиями и оболочками, такими как энтеросолюбильные покрытия, покрытия, контролирующее высвобождение, и другие покрытия, хорошо известные в области фармацевтических составов. В таких твердых дозированных формах, активное соединение может быть смешано по меньшей мере с одним инертным разбавителем, таким как сахароза, лактоза или крахмал. Такие дозированные формы могут также содержать, как это обычно бывает, дополнительные вещества, отличные от инертных разбавителей, например, смазки для таблетирования и другие добавки для таблетирования, такие как стеарат магния и микрокристаллическая целлюлоза. В случае капсул, таблеток и пилюль, дозированные формы также могут содержать буферные агенты. Они могут необязательно содержать агенты, придающие непрозрачность, а также могут иметь состав, в котором активный(е) ингредиент(ы) высвобождается(ются) только или предпочтительно в определенной части кишечного тракта, необязательно, с задержкой. Примеры заливочных композиций, которые можно использовать, включают полимерные вещества и воски.

[00405] Дозированные формы для местного или чрескожного введения гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, например, как описано в настоящем документе, включают мази, пасты, кремы, лосьоны, гели, порошки, растворы, спреи, ингаляционные средства или пластыри. Активный компонент смешивают в стерильных условиях с фармацевтически приемлемым носителем и любыми необходимыми консервантами или буферами, которые могут потребоваться. Офтальмологические препараты, ушные капли и глазные капли также рассматриваются как входящие в объем настоящего изобретения. Кроме того, настоящее изобретение предполагает использование трансдермальных пластырей, которые имеют дополнительное преимущество, заключающееся в обеспечении контролируемой доставки соединения в организм. Такие дозированные формы можно приготовить путем растворения или распределения соединения в соответствующей среде. Усилители абсорбции также можно использовать для увеличения потока соединения через кожу. Скорость можно контролировать либо путем использования мембраны, регулирующей скорость, либо путем диспергирования соединения в полимерной матрице или геле.

Совместное введение гетеротандемного бициклического пептидного комплекса и иммуноонкологического агента

[00406] Гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, например, как описано в настоящем документе, и иммуноонкологический агент можно вводить отдельно, как часть схемы многократного дозирования. Альтернативно, гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, например, как описано в настоящем документе, и иммуноонкологический агент можно смешать вместе в одной композиции в виде одной дозированной формы. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс представляет собой VT7480 или VT7455 или их фармацевтически приемлемую соль.

[00407] В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, например, как описано в настоящем документе, вводят отдельно от иммуноонкологического агента. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, например, как описано в настоящем документе, и иммуноонкологический агент вводят одновременно. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, например, как описано в настоящем документе, и иммуноонкологический агент вводят последовательно. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, например, как описано в настоящем документе, и иммуноонкологический агент вводят в течение определенного периода времени друг от друга, например, в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 18, 20, 21, 22, 23 или 24 часов друг от друга. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, например, как описано в настоящем документе, и иммуноонкологический агент вводят с интервалом более 24 часов. В некоторых вариантах осуществления

гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, например, как описано в настоящем документе, и иммуноонкологический агент вводят в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней друг от друга. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, например, как описано в настоящем документе, и иммуноонкологический агент вводят с интервалом более одной недели. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, например, как описано в настоящем документе, и иммуноонкологический агент вводят в течение 1, 2, 3, 4 или 5 недель друг от друга.

[00408] Используемые в настоящем документе термины «комбинация», «комбинированный» и родственные термины относятся к одновременному или последовательному введению терапевтических агентов в соответствии с настоящим изобретением. Например, гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, например, как описано в настоящем документе, можно вводить с иммуноонкологическим агентом одновременно или последовательно, в отдельных стандартных дозированных формах или вместе, в одной стандартной дозированной форме. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает стандартную дозированную форму, содержащую гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, например, как описано в настоящем документе, иммуноонкологический агент и, необязательно, фармацевтически приемлемый носитель, адъювант или носитель.

[00409] Количество гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, например, как описано в настоящем документе, и иммуноонкологического агента, который можно комбинировать с материалами носителя для получения стандартной дозированной формы, будет варьироваться в зависимости от получающего лечение хозяина и конкретного способа введения. Предпочтительно, композиция по изобретению должна быть составлена так, чтобы можно было вводить дозу гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, например, как описано в настоящем документе, в дозе 0,001-100 мг/кг массы тела/день.

[00410] Гетеротандемный бициклический пептидный комплекс, включающий один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, например, как описано в настоящем документе, и иммуноонкологический агент, могут действовать синергически. Следовательно, количество гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, например, как описано в настоящем документе, и иммуноонкологического агента в таких композициях может быть меньше, чем требуется при монотерапии с использованием только этого терапевтического агента.

[00411] Количество иммуноонкологического агента, присутствующего в композициях по настоящему изобретению, может быть не больше, чем количество, которое обычно вводят в композиции, содержащей его в качестве единственного активного агента. Предпочтительно, количество иммуноонкологического агента в описанных в настоящем документе композициях будет находиться в диапазоне примерно от 50% до 100% от количества, обычно присутствующего в композиции, содержащей его в качестве

единственного терапевтически активного агента. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент вводят в дозировке примерно 50%, примерно 55%, примерно 60%, примерно 65%, примерно 70%, примерно 75%, примерно 80%, примерно 85%, примерно 90% или примерно 95% от количества, обычно вводимого в виде монотерапии. Используемая в настоящем документе фраза «обычно вводимое» означает количество одобренного FDA терапевтического агента, разрешенное для дозирования согласно листовке-вкладышу FDA.

[00412] Фармацевтические композиции по настоящему изобретению также могут быть включены в композиции для покрытия имплантируемых медицинских устройств, таких как протезы, искусственные клапаны, сосудистые трансплантаты, стенты и катетеры. Например, сосудистые стенты используют для преодоления рестеноза (повторного сужения стенки сосуда после травмы). Однако пациенты, использующие стенты или другие имплантируемые устройства, рискуют образовывать тромбы или активировать тромбоциты. Эти нежелательные эффекты можно предотвратить или смягчить путем предварительного покрытия устройства фармацевтически приемлемой композицией, содержащей ингибитор киназы. Имплантируемые устройства, покрытые соединением по настоящему изобретению, представляют собой еще один вариант осуществления настоящего изобретения.

5. Типовые иммуноонкологические агенты.

[00413] В настоящем документе, термин «иммуноонкологический агент» относится к агенту, который эффективен для усиления, стимуляции и/или активации иммунных ответов у субъекта. В некоторых вариантах осуществления введение иммуноонкологического средства с гетеротандемным бициклическим пептидным комплексом, содержащим один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, например, как описано в настоящем документе, имеет синергический эффект при лечении рака.

[00414] Иммуноонкологический агент может представлять собой, например, низкомолекулярное лекарственное средство, антитело или биологическую или малую молекулу. Примеры биологических иммуноонкологических агентов включают, но не ограничены ими, противораковые вакцины, антитела и цитокины. В некоторых вариантах осуществления антитело представляет собой моноклональное антитело. В некоторых вариантах осуществления моноклональное антитело является гуманизированным или человеческим.

[00415] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой (i) агонист стимулирующего (включая костимулирующий) рецептора или (ii) антагонист ингибирующего (включая коингибирующий) сигнала на Т-клетках, оба из которых приводят к усилению антигенспецифических ответов Т-клеток.

[00416] Некоторые стимулирующие и ингибирующие молекулы являются членами надсемейства иммуноглобулинов (IgSF). Одним из важных семейств мембраносвязанных лигандов, которые связываются с костимулирующими или коингибирующими

рецепторами, является семейство B7, которое включает B7-1, B7-2, B7-H1 (PD-L1), B7-DC (PD-L2), B7-H2 (ICOS-L), B7-H3, B7-H4, B7-H5 (VISTA) и B7-H6. Другое семейство мембраносвязанных лигандов, которые связываются с костимулирующими или коингибирующими рецепторами, представляет собой семейство молекул TNF, которые связываются с родственными членами семейства рецепторов TNF, которое включает CD40 и CD40L, OX-40, OX-40L, CD70, CD27L, CD30, CD30L, 4-1BBL, CD137 (4-1BB), TRAIL/Apo2-L, TRAILR1/DR4, TRAILR2/DR5, TRAILR3, TRAILR4, OPG, RANK, RANKL, TWEAKR/Fn14, TWEAK, BAFFR, EDAR, XEDAR, TACI, APRIL, BCMA, LT β R, LIGHT, DcR3, HVEM, VEGI/TL1A, TRAMP/DR3, EDAR, EDA1, XEDAR, EDA2, TNFR1, Лимфотоксин α /TNF β , TNFR2, TNF α , LT β R, Лимфотоксин α 1 β 2, FAS, FASL, RELT, DR6, TROY, NGFR.

[00417] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой цитокин, который ингибирует активацию Т-клеток (*например*, IL-6, IL-10, TGF- β , VEGF и другие иммунодепрессивные цитокины) или цитокин, который стимулирует активацию Т-клеток, для стимуляции иммунного ответа.

[00418] В некоторых вариантах осуществления комбинация гетеротандемного бициклического пептидного комплекса, содержащего один или несколько пептидных лигандов, связывающих CD137, например, как описано в настоящем документе, и иммуноонкологического агента может стимулировать Т-клеточные ответы. В некоторых вариантах осуществления гетеротандемный бициклический пептидный комплекс представляет собой BT7480 или BT7455 или их фармацевтически приемлемую соль. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой: (i) антагонист белка, который ингибирует активацию Т-клеток (*например*, ингибиторы иммунных контрольных точек), такой как CTLA-4, PD-1, PD-L1, PD-L2, LAG-3, TIM-3, Галектин 9, CEACAM-1, BTLA, CD69, Галектин-1, TIGIT, CD113, GPR56, VISTA, 2B4, CD48, GARP, PD1H, LAIR1, TIM-1 и TIM-4; или (ii) агонист белка, который стимулирует активацию Т-клеток, такой как B7-1, B7-2, CD28, 4-1BB (CD137), 4-1BBL, ICOS, ICOS-L, OX40, OX40L, GITR, GITRL, CD70, CD27, CD40, DR3 и CD28H.

[00419] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой антагонист ингибирующих рецепторов на НК-клетках или агонист активирующих рецепторов на НК-клетках. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой антагонист KIR, такой как лирелумаб.

[00420] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой агент, который ингибирует или истощает макрофаги или моноциты, включая, но не ограничиваясь ими, антагонисты CSF-1R, такие как антагонистические антитела CSF-1R, включая RG7155 (WO11/70024, WO11/107553, WO11/131407, WO13/87699, WO13/119716, WO13/132044) или FPA-008 (WO11/140249; WO13/169264; WO14/036357).

[00421] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент выбран из агонистических агентов, которые лигируют положительные костимулирующие

рецепторы, блокирующих агентов, которые ослабляют передачу сигналов через ингибирующие рецепторы, антагонистов и одного или нескольких агентов, которые системно увеличивают частоту появления противоопухолевых Т-клеток, агентов, которые преодолевают отдельные пути иммунодепрессии в микроокружении опухоли (*например*, блокируют взаимодействие ингибирующих рецепторов (*например*, взаимодействие PD-L1/PD-1), истощают или ингибируют Treg (*например*, с использованием моноклонального анти-CD25 антитела (*например*, даклизумаба) или истощением анти-CD25 микроносителей *ex vivo*), ингибируют метаболические ферменты, такие как IDO, или обращают/предотвращают энергию или истощение Т-клеток) и агентов, которые вызывают врожденную иммунную активацию и/или воспаление в местах опухоли.

[00422] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой антагонист CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления антагонист CTLA-4 представляет собой антагонистическое CTLA-4 антитело. В некоторых вариантах осуществления антагонистическое CTLA-4 антитело представляет собой ЕРВОЙ (ипилимумаб) или тремелиумаб.

[00423] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой антагонист PD-1. В некоторых вариантах осуществления антагонист PD-1 вводят путем инфузии. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой антитело или его антигенсвязывающую часть, которые специфически связываются с рецептором запрограммированной смерти-1 (PD-1) и ингибируют активность PD-1. В некоторых вариантах осуществления антагонист PD-1 представляет собой антагонистическое PD-1 антитело. В некоторых вариантах осуществления антагонистическое PD-1 антитело представляет собой ОПДИВО (ниволумаб), КЕЙТРУДА (пембролизумаб) или MEDI-0680 (AMP-514; WO2012/145493). В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент может представлять собой пидилизумаб (CT-011). В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой рекомбинантный белок, состоящий из внеклеточного домена PD-L2 (B7-DC), слитого с Fc частью IgG1, называемый AMP-224.

[00424] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой антагонист PD-L1. В некоторых вариантах осуществления антагонист PD-L1 представляет собой антагонистическое PD-L1 антитело. В некоторых вариантах осуществления PD-L1 антитело представляет собой MPDL3280A (RG7446; WO2010/077634), дурвалумаб (MEDI4736), BMS-936559 (WO2007/005874) и MSB0010718C (WO2013/79174).

[00425] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой антагонист LAG-3. В некоторых вариантах осуществления антагонист LAG-3 представляет собой антагонистическое LAG-3 антитело. В некоторых вариантах осуществления LAG3 антитело представляет собой BMS-986016 (WO10/19570, WO14/08218) или IMP-731 или IMP-321 (WO08/132601, WO009/44273).

[00426] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент

представляет собой агонист CD137 (4-1BB). В некоторых вариантах осуществления агонист CD137 (4-1BB) представляет собой агонистическое CD137 антитело. В некоторых вариантах осуществления CD137 антитело представляет собой урелумаб или PF-05082566 (WO12/32433).

[00427] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой агонист GITR. В некоторых вариантах осуществления агонист GITR представляет собой агонистическое GITR антитело. В некоторых вариантах осуществления GITR антитело представляет собой BMS-986153, BMS-986156, TRX-518 (WO006/105021, WO009/009116) или MK-4166 (WO11/028683).

[00428] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой антагонист индоламин (2,3)-диоксигеназы (IDO). В некоторых вариантах осуществления антагонист IDO выбран из эпикадостата (INCB024360, Incyte); индоксимода (NLG-8189, NewLink Genetics Corporation); капманитиба (INC280, Novartis); GDC-0919 (Genentech/Roche); PF-06840003 (Pfizer); BMS:F001287 (Bristol-Myers Squibb); Phy906/KD108 (Phytoceutica); фермент, расщепляющий кинуренин (Kynase, Ikena Oncology, ранее известная как Kyn Therapeutics); и NLG-919 (WO09/73620, WO009/1156652, WO11/56652, WO12/142237).

[00429] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой агонист OX40. В некоторых вариантах осуществления агонист OX40 представляет собой агонистическое OX40 антитело. В некоторых вариантах осуществления OX40 антитело представляет собой MEDI-6383 или MEDI-6469.

[00430] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой антагонист OX40L. В некоторых вариантах осуществления антагонист OX40L представляет собой антагонистическое OX40 антитело. В некоторых вариантах осуществления антагонистом OX40L является RG-7888 (WO06/029879).

[00431] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой агонист CD40. В некоторых вариантах осуществления агонист CD40 представляет собой агонистическое CD40 антитело. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой антагонист CD40. В некоторых вариантах осуществления антагонист CD40 представляет собой антагонистическое CD40 антитело. В некоторых вариантах осуществления CD40 антитело представляет собой лукатумумаб или дацетумумаб.

[00432] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой агонист CD27. В некоторых вариантах осуществления агонист CD27 представляет собой агонистическое CD27 антитело. В некоторых вариантах осуществления CD27 антитело представляет собой варлилумаб.

[00433] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой MGA271 (к В7Н3) (WO11/109400).

[00434] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой абаговомаб, адекватумумаб, афутузумаб, алемтузумаб, анатумомаб

мафенатокс, аполизумаб, атезолимаб, авелумаб, блинатумомаб, BMS-936559, катумаксомаб, дурвалумаб, эпакадостат, эпратузумаб, индоксимод, инотузумаб озогамидин, интелумумаб, ипилимумаб, изатуксимаб, ламбролизумаб, MED14736, MPDL3280A, ниволумаб, обинутузумаб, окаратузумаб, офатумумаб, олататумаб, пембролизумаб, пидилизумаб, ритуксимаб, тицилимумаб, самализумаб или тремелиумаб.

[00435] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой иммуностимулирующий агент. Например, антитела, блокирующие оси ингибирования PD-1 и PD-L1, могут высвободить активированные опухолерепрессивные Т-клетки, и в клинических испытаниях было показано, что они индуцируют стойкие противоопухолевые ответы во все большем количестве гистологий опухолей, включая некоторые типы опухолей, которые традиционно не считались чувствительными к иммунотерапии. См., например, Okazaki, T. *et al.* (2013) Nat. Immunol. 14, 1212-1218; Zou *et al.* (2016) Sci. Transl. Med. 8. Анти-PD-1 антитело ниволумаб (OPDIVO®, Bristol-Myers Squibb, также известное как ONO-4538, MDX1106 и BMS-936558) продемонстрировал потенциал улучшения общей выживаемости у пациентов с RCC, у которых наблюдалось прогрессирование заболевания во время или после предшествующей антиангиогенной терапии.

[00436] В некоторых вариантах осуществления иммуномодулирующий терапевтический агент специфически индуцирует апоптоз опухолевых клеток. Одобренные иммуномодулирующие терапевтические агенты, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают помалидомид (POMALYST®, Celgene); леналидомид (REVLIMID®, Celgene); ингенол мебутат (PICATO®, LEO Pharma).

[00437] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой противораковую вакцину. В некоторых вариантах осуществления противораковая вакцина выбрана из сипулейцела-Т (PROVENGE®, Dendreon/Valeant Pharmaceuticals), который был одобрен для лечения бессимптомного или минимально симптоматического метастатического кастрационно-резистентного (трудно поддающегося лечению гормонами) рака предстательной железы; и талимоген лагерпарепвек (IMLYGIC®, BioVex/Amgen, ранее известная как T-VEC), генетически модифицированный онколитический вирусный препарат, одобренный для лечения неоперабельных кожных, подкожных и узловых поражений при меланоме. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент выбран из онколитической вирусной терапии, такой как пексастимоген девацирепвек (PexaVec/JX-594, SillaJen/ранее Jennerex Biotherapeutics), вирус коровьей оспы с дефицитом тимидинкиназы (TK), сконструированный для экспрессии GM-CSF, для гепатоцеллюлярной карциномы (NCT02562755) и меланомы (NCT00429312); пелареореп (REOLYSIN®, Oncolytics Biotech), вариант респираторного кишечного-орфанного вируса (реовируса), который не реплицируется в клетках, не активированных RAS, при многих видах рака, включая колоректальный рак (NCT01622543); рак предстательной железы (NCT01619813); плоскоклеточный рак головы и шеи (NCT01166542); аденокарциному поджелудочной железы (NCT00998322); и

немелкоклеточный рак легкого (NSCLC) (NCT 00861627); энгаденотуцирев (NG-348, PsiOxus, ранее известная как ColoAd1), аденовирус, сконструированный для экспрессии полноразмерного CD80 и фрагмента антитела, специфичного к белку CD3 Т-клеточного рецептора, при раке яичников (NCT02028117); метастатические или распространенные эпителиальные опухоли, такие как колоректальный рак, рак мочевого пузыря, плоскоклеточный рак головы и шеи и рак слюнной железы (NCT02636036); ONCOS-102 (Targovax/ранее Oncos), аденовирус, сконструированный для экспрессии GM-CSF при меланоме (NCT03003676); и заболевание брюшины, колоректальный рак или рак яичников (NCT02963831); GL-ONC1 (GLV-1h68/GLV-1h153, Genelux GmbH), вирусы коровьей оспы, сконструированные для экспрессии бета-галактозидазы (бета-гал)/бета-глюкоронидазы или бета-гал/симпортера йодида натрия человека (hNIS), соответственно, изучали при карциноматозе брюшины (NCT01443260); рак фаллопиевых труб, рак яичников (NCT 02759588); или CG0070 (Cold Genesys), аденовирус, сконструированный для экспрессии GM-CSF при раке мочевого пузыря (NCT02365818).

[00438] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент выбран из JX-929 (SillaJen/ранее Jennerex Biotherapeutics), вируса коровьей оспы с дефицитом ТК и фактора роста коровьей оспы, сконструированного для экспрессии цитозиндезаминазы, которая способна конвертировать пролекарство 5-фторцитозин в цитотоксическое лекарственное средство 5-фторурацил; TG01 и TG02 (Targovax/ранее Oncos), иммунотерапевтические агенты на основе пептидов, таргетирующие трудноизлечимые мутации RAS; и TILT-123 (TILT Biotherapeutics), сконструированный аденовирус, обозначенный: Ad5/3-E2F-delta24-hTNF α -IRES-hIL20; и VSV-GP (ViraTherapeutics), вирус везикулярного стоматита (VSV), сконструированный для экспрессии гликопротеина (GP) вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), который может быть дополнительно модифицирован для экспрессии антигенов, предназначенных для повышения антигенспецифического ответа CD8⁺ Т-клеток.

[00439] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой Т-клетку, сконструированную для экспрессии химерного антигенного рецептора или CAR. Т-клетки, сконструированные для экспрессии такого химерного антигенного рецептора, называются CAR-Т-клетками.

[00440] Были сконструированы CAR, состоящие из связывающих доменов, которые могут быть получены из существующих в природе лигандов, одноцепочечных переменных фрагментов (scFv), полученных из моноклональных антител, специфичных к антигенам клеточной поверхности, слитых с эндодоменами, которые являются функциональным концом Т-клеточного рецептора. (TCR), такими как сигнальный домен CD3-дзета из TCR, который способен генерировать сигнал активации в Т-лимфоцитах. При связывании антигена, такие CAR связываются с эндогенными сигнальными путями в эффекторной клетке и генерируют активирующие сигналы, аналогичные тем, которые инициируются комплексом TCR.

[00441] Например, в некоторых вариантах осуществления CAR-Т-клетка является

одной из клеток, описанных в патенте США 8,906,682 (June *et al.*; полностью включен в настоящий документ посредством ссылки), в котором описаны CAR-T-клетки, сконструированные так, чтобы они содержали внеклеточный домен, содержащий антигенсвязывающий домен (такой как домен, который связывается с CD19), слитый с внутриклеточным сигнальным доменом дзета-цепи комплекса антиген-рецепторного комплекса Т-клетки (такой как CD3 дзета). При экспрессии в Т-клетке, CAR способен перенаправить распознавание антигена на основе антигенсвязывающей специфичности. В случае CD19, антиген экспрессируется на злокачественных В-клетках. В настоящее время проводится более 200 клинических испытаний с использованием CAR-T по широкому спектру показаний.

[<https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=chimeric+antigen+receptors&pg=1>].

[00442] В некоторых вариантах осуществления иммуностимулирующий агент представляет собой активатор орфанного рецептора, связанного с рецептором ретиноевой кислоты γ (ROR γ t). ROR γ t является фактором транскрипции, играющим ключевую роль в дифференциации и поддержании эффекторных субпопуляций 17 типа CD4+ (Th17) и CD8+ (Tc17) Т-клеток, а также в дифференциации субпопуляций клеток врожденного иммунитета, экспрессирующих IL-17, таких как НК-клетки. В некоторых вариантах осуществления активатором ROR γ t является LYC-55716 (Lycera), который в настоящее время проходит клинические испытания для лечения солидных опухолей (NCT02929862).

[00443] В некоторых вариантах осуществления иммуностимулирующий агент представляет собой агонист или активатор toll-подобного рецептора (TLR). Подходящие активаторы TLR включают агонист или активатор TLR9, такой как SD-101 (Dynavax). SD-101 представляет собой иммуностимулирующий CpG, который изучается при В-клеточных, фолликулярных и других лимфомах (NCT02254772). Агонисты или активаторы TLR8, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают мотолимод (VTX-2337, VentiRx Pharmaceuticals), который изучается при плоскоклеточном раке головы и шеи (NCT02124850) и раке яичников (NCT02431559).

[00444] Другие иммуноонкологические агенты, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают урелумаб (BMS-663513, Bristol-Myers Squibb), анти-CD137 моноклональное антитело; варлиумаб (CDX-1127, Celldex Therapeutics), анти-CD27 моноклональное антитело; BMS-986178 (Bristol-Myers Squibb), анти-OX40 моноклональное антитело; лирилумаб (IPH2102/BMS-986015, Innate Pharma, Bristol-Myers Squibb), анти-KIR моноклональное антитело; монализумаб (IPH2201, Innate Pharma, AstraZeneca) анти-NKG2A моноклональное антитело; андекаликсимаб (GS-5745, Gilead Sciences), анти-MMP9 антитело; МК-4166 (Merck & Co.), анти-GITR моноклональное антитело.

[00445] В некоторых вариантах осуществления иммуностимулирующий агент выбран из элотузумаба, мифамуртида, агониста или активатора toll-подобного рецептора и активатора ROR γ t.

[00446] В некоторых вариантах осуществления иммуностимулирующий терапевтический агент представляет собой рекомбинантный интерлейкин 15 человека

(rhIL-15). rhIL-15 был протестирован в клинике в качестве терапии меланомы и почечно-клеточного рака (NCT01021059 и NCT01369888) и лейкозов (NCT02689453). В некоторых вариантах осуществления иммуностимулирующий агент представляет собой рекомбинантный интерлейкин 12 человека (rhIL-12). В некоторых вариантах осуществления иммунотерапевтический агент на основе IL-15 представляет собой гетеродимерный IL-15 (hetIL-15, Novartis/Admune), слитый комплекс, состоящий из синтетической формы эндогенного IL-15, образующего комплекс с растворимым IL-15-связывающим белком альфа-цепи рецептора IL-15 (IL15:sIL-15RA), который был протестирован в клинических исследованиях фазы 1 при меланоме, почечно-клеточном раке, немелкоклеточном раке легких и плоскоклеточном раке головы и шеи (NCT02452268). В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный интерлейкин 12 человека (rhIL-12) представляет собой NM-IL-12 (Neumedicines, Inc.), NCT02544724 или NCT02542124.

[00447] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент выбран из описанных в Jerry L. Adams *et al.*, “Big opportunities for small molecules in immuno-oncology,” *Cancer Therapy* **2015**, Vol. 14, pages 603-622, содержание которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент выбран из примеров, описанных в Таблице 1 из Jerry L. Adams *et al.* В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой малую молекулу, таргетирующую иммуноонкологическую мишень, выбранную из перечисленных в Таблице 2 из Jerry L. Adams *et al.* В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой низкомолекулярный агент, выбранный из перечисленных в Таблице 2 из Jerry L. Adams *et al.*

[00448] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент выбран из низкомолекулярных иммуноонкологических агентов, описанных в Peter L. Toogood, “Small molecule immuno-oncology therapeutic agents,” *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2018**, Vol. 28, pages 319-329, содержание которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой агент, воздействующий на пути, описанные у Peter L. Toogood.

[00449] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент выбран из агентов, описанных в Sandra L. Ross *et al.*, “Bispecific T cell engager (BITE®) antibody constructs can mediate bystander tumor cell killing”, *PLoS ONE* 12(8): e0183390, содержание которой полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой конструкцию антитела, привлекающего биспецифические Т-клетки активатора (BITE®). В некоторых вариантах осуществления конструкция антитела, привлекающего биспецифические Т-клетки активатора (BITE®), представляет собой конструкцию биспецифического антитела CD19/CD3. В некоторых вариантах осуществления

конструкция антитела, привлекающего биспецифические Т-клетки активатора (BITE®), представляет собой конструкцию биспецифического антитела EGFR/CD3. В некоторых вариантах осуществления конструкция антитела, привлекающего биспецифические Т-клетки активатора (BITE®), активирует Т-клетки. В некоторых вариантах осуществления конструкция антитела, привлекающего биспецифические Т-клетки активатора (BITE®), активирует Т-клетки, которые высвобождают цитокины, индуцирующие активацию молекулы межклеточной адгезии 1 (ICAM-1) и FAS на клетках-свидетелях. В некоторых вариантах осуществления конструкция антитела, привлекающего биспецифические Т-клетки активатора (BITE®), активирует Т-клетки, что приводит к индуцированному лизису клеток-свидетелей. В некоторых вариантах осуществления клетки-свидетели находятся в солидных опухолях. В некоторых вариантах осуществления лизируемые клетки-свидетели находятся вблизи BITE®-активированных Т-клеток. В некоторых вариантах осуществления клетки-свидетели включают раковые клетки, отрицательные по опухолиассоциированному антигену (ТАА). В некоторых вариантах осуществления клетки-свидетели включают EGFR-отрицательные раковые клетки. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой антитело, которое блокирует ось PD-L1/PD1 и/или CTLA4. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой размноженную *ex vivo* Т-клетку, инфильтрирующую опухоль. В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой конструкцию биспецифического антитела или химерные антигенные рецепторы (CAR), которые напрямую связывают Т-клетки с опухолиассоциированными поверхностными антигенами (ТАА).

Примеры ингибиторов контрольных точек

[00450] В некоторых вариантах осуществления иммуноонкологический агент представляет собой ингибитор иммунных контрольных точек, как описано в настоящем документе.

[00451] Термин «ингибитор контрольной точки», используемый в настоящем документе, относится к агентам, полезным для предотвращения ускользания раковых клеток от иммунной системы пациента. Один из основных механизмов подрыва противоопухолевого иммунитета известен как «истощение Т-клеток», которое возникает в результате хронического воздействия антигенов, что приводит к активации ингибирующих рецепторов. Эти ингибирующие рецепторы служат иммунными контрольными точками для предотвращения неконтролируемых иммунных реакций.

[00452] PD-1 и коингибирующие рецепторы, такие как цитотоксический Т-лимфоцитарный антиген 4 (CTLA-4, аттенуатор В и Т-лимфоцитов (BTLA; CD272), домен-3 иммуноглобулина Т-клеток и муцина (Tim-3), ген-3 активации лимфоцитов (Lag-3; CD223) и другие часто называют регуляторами контрольных точек. Они действуют как молекулярные «привратники», который позволяет внеклеточной информации диктовать, должны ли проходить прогрессирование клеточного цикла и другие внутриклеточные сигнальные процессы.

[00453] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой антитело к PD-1. PD-1 связывается с рецептором запрограммированной гибели клеток 1 (PD-1), чтобы предотвратить связывание рецептора с ингибирующим лигандом PDL-1, подавляя тем самым способность опухолей подавлять противоопухолевый иммунный ответ хозяина.

[00454] В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой биологический терапевтический агент или малую молекулу. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой моноклональное антитело, гуманизированное антитело, полностью человеческое антитело, слитый белок или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки ингибирует белок контрольной точки, выбранный из лигандов семейства CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK 1, CHK2, A2aR, B-7 или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки взаимодействует с лигандом белка контрольной точки, выбранного из лигандов семейства CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR, 2B4, CD160, CGEN-15049, CHK1, CHK2, A2aR, B-7 или их комбинации. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой иммуностимулирующий агент, фактор роста Т-клеток, интерлейкин, антитело, вакцину или их комбинацию. В некоторых вариантах осуществления интерлейкин представляет собой IL-7 или IL-15. В некоторых вариантах осуществления интерлейкин представляет собой гликозилированный IL-7. В дополнительном аспекте, вакцина представляет собой вакцину на основе дендритных клеток (DC).

[00455] Ингибиторы контрольных точек включают любые агенты, которые блокируют или ингибируют статистически значимым образом тормозные пути иммунной системы. Такие ингибиторы могут включать низкомолекулярные ингибиторы, или могут включать антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, которые связываются и блокируют или ингибируют рецепторы иммунных контрольных точек, или антитела, которые связываются и блокируют или ингибируют лиганды рецепторов иммунных контрольных точек. Иллюстративные молекулы контрольных точек, которые могут быть таргетированы для блокирования или ингибирования, включают, но не ограничены ими, CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, B7-H3, B7-H4, BTLA, HVEM, GAL9, LAG3, TIM3, VISTA, KIR, 2B4 (принадлежит к семейству молекул CD2 и экспрессируется на всех NK, $\gamma\delta$ и CD8⁺ ($\alpha\beta$) Т-клетках памяти), CD160 (также называемый BY55), CGEN-15049, киназы CHK 1 и CHK2, A2aR и различные лиганды семейства B-7. Лиганды семейства B7 включают, но не ограничены ими, B7-1, B7-2, B7-DC, B7-H1, B7-H2, B7-H3, B7-H4, B7-H5, B7-H6 и B7-H7. Ингибиторы контрольных точек включают антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, другие связывающие белки, биологические терапевтические агенты или малые молекулы, которые связываются и блокируют или ингибируют активность одного или нескольких из CTLA-4, PDL1, PDL2, PD1, BTLA, HVEM, TIM3, GAL9, LAG3, VISTA, KIR,

2B4, CD 160 и CGEN-15049. Иллюстративные ингибиторы иммунных контрольных точек включают, но не ограничены ими, Трелимумаб (антитело, блокирующее CTLA-4), анти-OX40, моноклональное антитело PD-L1 (анти-B7-H1; MEDI4736), MK-3475 (блокатор PD-1), Ниволумаб (анти-PD1 антитело), CT-011 (анти-PD1 антитело), моноклональное антитело BY55, AMP224 (анти-PDL1 антитело), BMS-936559 (анти-PDL1 антитело), MPLDL3280A (анти-PDL1 антитело), MSB0010718C (анти-PDL1 антитело) и ипилимумаб (анти-CTLA-4 ингибитор контрольной точки). Белковые лиганды контрольных точек включают, но не ограничены ими, PD-L1, PD-L2, B7-H3, B7-H4, CD28, CD86 и TIM-3.

[00456] В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки выбран из антагониста PD-1, антагониста PD-L1 и антагониста CTLA-4. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки выбран из группы, состоящей из ниволумаба (OPDIVO®), ипилимумаба (YERVOY®) и пембролизумаба (KEYTRUDA®). В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки выбран из ниволумаба (анти-PD-1 антитела, OPDIVO®, Bristol-Myers Squibb); пембролизумаба (анти-PD-1 антитела, KEYTRUDA®, Merck); ипилимумаба (анти-CTLA-4 антитела, YERVOY®, Bristol-Myers Squibb); дурвалумаба (анти-PD-L1 антитела, IMFINZI®, AstraZeneca); и атезолизумаба (анти-PD-L1 антитела, TECENTRIQ®, Genentech).

[00457] В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки выбран из группы, состоящей из ламбролизумаба (MK-3475), ниволумаба (BMS-936558), пидилизумаба (CT-011), AMP-224, MDX-1105, MEDI4736, MPDL3280A, BMS-936559, ипилимумаба, лирлумаба, IPH2101, пембролизумаба (KEYTRUDA®) и трелимумаба.

[00458] В некоторых вариантах осуществления ингибитором иммунной контрольной точки является REGN2810 (Regeneron), анти-PD-1 антитело, протестированное на пациентах с базально-клеточной карциномой (NCT03132636); NSCLC (NCT03088540); плоскоклеточной карциномой кожи (NCT02760498); лимфомой (NCT02651662); и меланомой (NCT03002376); пидилизумаб (CureTech), также известный как CT-011, антитело, связывающееся с PD-1, в клинических испытаниях при диффузной В-крупноклеточной лимфоме и множественной миеломе; авелумаб (BAVENCIO®, Pfizer/Merck KGaA), также известный как MSB0010718C), полностью анти-PD-L1 антитело IgG1 человека, проходит клинические испытания при немелкоклеточном раке легкого, карциноме из клеток Меркеля, мезотелиоме, солидных опухолях, раке почки, раке яичников, раке мочевого пузыря, раке головы и шеи и раке желудка; или PDR001 (Novartis), ингибирующее антитело, связывающееся с PD-1, в клинических исследованиях немелкоклеточного рака легкого, меланомы, трижды отрицательного рака молочной железы и распространенных или метастатических солидных опухолей. Трелимумаб (CP-675,206; Astrazeneca) представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело против CTLA-4, которое изучалось в клинических испытаниях по ряду показаний, включая: мезотелиому, колоректальный рак, рак почки, рак молочной железы, рак легких и немелкоклеточный рак легких, аденокарциному протоков поджелудочной железы, рак поджелудочной железы, герминогенный рак, плоскоклеточный рак головы и шеи,

гепатоцеллюлярную карциному, рак предстательной железы, рак эндометрия, метастатический рак печени, рак печени, В-крупноклеточную лимфому, рак яичников, рак шейки матки, метастатический анапластический рак щитовидной железы, уротелиальный рак, рак фаллопиевых труб, множественную миелому, рак мочевого пузыря, саркому мягких тканей и меланому. AGEN-1884 (Agenus) представляет собой анти-CTLA4 антитело, которое изучается в первой фазе клинических исследований для запущенных солидных опухолей (NCT02694822).

[00459] В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор белка-3 иммуноглобулина Т-клеток и муцина (TIM-3). Ингибиторы TIM-3, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают TSR-022, LY3321367 и MBG453. TSR-022 (Tesarо) представляет собой анти-TIM-3 антитело, которое изучается на солидных опухолях (NCT02817633). LY3321367 (Eli Lilly) представляет собой анти-TIM-3 антитело, которое изучается на солидных опухолях (NCT03099109). MBG453 (Novartis) представляет собой анти-TIM-3 антитело, которое изучается при поздних стадиях злокачественных новообразований (NCT02608268).

[00460] В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор иммунорецептора Т-клеток с доменами Ig и ITIM или TIGIT, иммунного рецептора на определенных Т-клетках и NK-клетках. Ингибиторы TIGIT, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают BMS-986207 (Bristol-Myers Squibb), анти-TIGIT моноклональное антитело (NCT02913313); OMP-313M32 (Oncomed); и анти-TIGIT моноклональное антитело (NCT03119428).

[00461] В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор гена активации лимфоцитов-3 (LAG-3). Ингибиторы LAG-3, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают BMS-986016, REGN3767 и IMP321. BMS-986016 (Bristol-Myers Squibb), анти-LAG-3 антитело, изучается при глиобластоме и глиосаркоме (NCT02658981). REGN3767 (Regeneron) также является анти-LAG-3 антителом и изучается при злокачественных новообразованиях (NCT03005782). IMP321 (Immutep SA) представляет собой слитый белок LAG-3-Ig, изучаемый при меланоме (NCT02676869); аденокарциноме (NCT02614833); и метастатическом раке молочной железы (NCT00349934).

[00462] Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают агонисты OX40. Агонисты OX40, которые изучаются в клинических испытаниях, включают PF-04518600/PF-8600 (Pfizer), агонистическое анти-OX40 антитело, применяемое при метастатическом раке почки (NCT03092856) и запущенных раках и новообразованиях (NCT02554812; NCT 05082566); GSK3174998 (Merck), агонистическое анти-OX40 антитело, находящееся в фазе 1 онкологических исследований (NCT02528357); MEDI0562 (Medimmune/AstraZeneca), агонистическое анти-OX40 антитело для лечения солидных опухолей на поздних стадиях (NCT02318394 и NCT02705482); MEDI6469, агонистическое анти-OX40 антитело (Medimmune/AstraZeneca) у пациентов с колоректальным раком (NCT02559024), раком молочной железы

(NCT01862900), раком головы и шеи (NCT02274155) и метастатическим раком предстательной железы (NCT01303705); и BMS-986178 (Bristol-Myers Squibb), агонистическое анти-OX40 антитело при поздних стадиях рака (NCT02737475).

[00463] Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают агонисты CD137 (также называемого 4-1BB). Агонисты CD137, которые изучаются в клинических испытаниях, включают утомилумаб (PF-05082566, Pfizer), агонистическое анти-CD137 антитело при диффузной В-крупноклеточной лимфоме (NCT02951156), и при запущенных раках и новообразованиях (NCT02554812 и NCT 05082566); урелумаб (BMS-663513, Bristol-Myers Squibb), агонистическое анти-CD137 антитело при меланоме и раке кожи (NCT02652455) и глиобластоме и глиосаркоме (NCT02658981); и CTX-471 (Compass Therapeutics), агонистическое анти-CD137 антитело при метастатических или местно-распространенных злокачественных новообразованиях (NCT03881488).

[00464] Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают агонисты CD27. Агонисты CD27, которые изучаются в клинических испытаниях, включают варлилумаб (CDX-1127, Celldex Therapeutics), агонистическое анти-CD27 антитело, применяемое при плоскоклеточном раке головы и шеи, карциноме яичников, колоректальном раке, почечно-клеточном раке и глиобластоме (NCT02335918); лимфоме (NCT01460134); и глиоме и астроцитоме (NCT02924038).

[00465] Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают агонисты рецептора фактора некроза опухоли, индуцированного глюкокортикоидами (GITR). Агонисты GITR, которые изучаются в клинических испытаниях, включают TRX518 (Leap Therapeutics), агонистическое анти-GITR антитело, применяемое при злокачественной меланоме и других злокачественных солидных опухолях (NCT01239134 и NCT02628574); GWN323 (Novartis), агонистическое анти-GITR антитело при солидных опухолях и лимфоме (NCT02740270); INCAGN01876 (Incyte/Agenus), агонистическое анти-GITR антитело при запущенных раках (NCT02697591 и NCT03126110); MK-4166 (Merck), агонистическое анти-GITR антитело при солидных опухолях (NCT02132754) и MEDI1873 (Medimmune/AstraZeneca), агонистическая молекула гексамерного GITR-лиганда с Fc доменом IgG1 человека при запущенных солидных опухолях (NCT02583165).

[00466] Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают агонисты индуцируемого костимулятора Т-клеток (ICOS, также известного как CD278). Агонисты ICOS, которые изучаются в клинических испытаниях, включают MEDI-570 (Medimmune), агонистическое анти-ICOS антитело при лимфомах (NCT02520791); GSK3359609 (Merck), агонистическое анти-ICOS антитело, в фазе 1 (NCT02723955); JTX-2011 (Jounce Therapeutics), агонистическое анти-ICOS антитело, в фазе 1 (NCT02904226).

[00467] Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают ингибиторы киллерных IgG-подобных рецепторов (KIR).

Ингибиторы KIR, которые изучаются в клинических испытаниях, включают лирилумаб (IPH2102/BMS-986015, Innate Pharma/Bristol-Myers Squibb), анти-KIR антитело при лейкозах (NCT01687387, NCT02399917, NCT02481297, NCT02599649), множественной миеломе (NCT02252263) и лимфоме (NCT01592370); IPH2101 (1-7F9, Innate Pharma) при миеломе (NCT01222286 и NCT01217203); и IPH4102 (Innate Pharma), анти-KIR антитело, которое связывается с тремя доменами длинного цитоплазматического хвоста (KIR3DL2) при лимфоме (NCT02593045).

[00468] Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают CD47 ингибиторы взаимодействия между CD47 и сигнальным регуляторным белком альфа (SIRPa). Ингибиторы CD47/SIRPa, изучаемые в клинических испытаниях, включают ALX-148 (Alexo Therapeutics), антагонистический вариант (SIRPa), который связывается с CD47 и предотвращает передачу сигналов, опосредованную CD47/SIRPa, в фазе 1 (NCT03013218); TTI-621 (SIRPa-Fc, Trillium Therapeutics), растворимый рекомбинантный слитый белок, созданный путем связывания N-концевого CD47-связывающего домена SIRPa с Fc доменом IgG1 человека, действует путем связывания CD47 человека и предотвращения доставки им сигнала «не есть» макрофагам, проходит клинические испытания в фазе 1 (NCT02890368 и NCT02663518); CC-90002 (Celgene), анти-CD47 антитело, при лейкозах (NCT02641002); и Hu5F9-G4 (Forty Seven, Inc.) при колоректальных новообразованиях и солидных опухолях (NCT02953782), остром миелолейкозе (NCT02678338) и лимфоме (NCT02953509).

[00469] Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают ингибиторы CD73. Ингибиторы CD73, которые изучаются в клинических испытаниях, включают MEDI9447 (Medimmune), анти-CD73 антитело при солидных опухолях (NCT02503774); и BMS-986179 (Bristol-Myers Squibb), анти-CD73 антитело при солидных опухолях (NCT02754141).

[00470] Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают агонисты белка-стимулятора генов интерферона (STING, также известного как трансмембранный белок 173, или TMEM173). Агонисты STING, которые изучаются в клинических испытаниях, включают MK-1454 (Merck), агонистический синтетический циклический динуклеотид при лимфоме (NCT03010176); и ADU-S100 (MIW815, Aduro Biotech/Novartis), агонистический синтетический циклический динуклеотид, в фазе 1 (NCT02675439 и NCT03172936).

[00471] Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают ингибиторы CSF1R. Ингибиторы CSF1R, которые изучаются в клинических испытаниях, включают пексидартиниб (PLX3397, Plexxikon), низкомолекулярный ингибитор CSF1R при колоректальном раке, раке поджелудочной железы, метастатическом и распространенном раке (NCT02777710) и меланоме, немелкоклеточном раке легкого, плоскоклеточном раке головы и шеи, стромальной опухоли желудочно-кишечного тракта (GIST) и рака яичников (NCT02452424); и IMC-CS4 (LY3022855, Lilly), анти-CSF-1R антитело при раке поджелудочной железы

(NCT03153410), меланоме (NCT03101254) и солидных опухолях (NCT02718911); и BLZ945 (метиламид 4-[2-((1R,2R)-2-гидроксициклогексиламино)бензотиазол-6-илоксил]пиридин-2-карбоновой кислоты, Novartis), пероральный ингибитор CSF1R при запущенных солидных опухолях (NCT02829723).

[00472] Ингибиторы контрольных точек, которые можно использовать в настоящем изобретении, включают ингибиторы рецептора NKG2A. Ингибиторы рецептора NKG2A, изучаемые в клинических испытаниях, включают монализумаб (IPH2201, Innate Pharma), анти-NKG2A антитело, применяемое при новообразованиях головы и шеи (NCT02643550) и хроническом лимфоцитарном лейкозе (NCT02557516).

[00473] В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки иммунного ответа выбран из ниволумаба, пембролизумаба, ипилимумаба, авелумаба, дурвалумаба, атезолизумаба или пидилизумаба.

ПРИМЕРЫ

[00474] Следующие примеры иллюстрируют описанное выше изобретение; однако они не предназначены для ограничения объема изобретения каким-либо образом. Полезные эффекты фармацевтических соединений, комбинаций и композиций по настоящему изобретению также могут быть определены с помощью других тестовых моделей, известных как таковые специалисту в соответствующей области техники.

Пример 1: Транскрипционное кинетическое исследование

Кинетическое исследование с BCY12491

[00475] Для транскрипционного и иммуногистохимического (ИHC) анализа, самкам мышей huCD137-C57B/6J (Biocytogen) в возрасте 6-8 недель подкожно имплантируют 1×10^6 клеток MC38. Мышей произвольно распределяют на группы лечения, когда средний объем опухоли достигает примерно 240 мм³, и им вводят внутривенно носитель (25 mM гистидин, 10% сахара, pH 7), 15 мг/кг BCY12491, 15 мг/кг BCY13626 (не связывающий контроль) или внутривенно 2 мг/кг анти-CD137 антитела урелумаба. Лечение проводят Q3D в количестве трех доз, рост опухоли контролируют с помощью штангенциркуля, и опухолевые ткани собирают через 1 час после последней дозы на 6 день. Часть опухолевой ткани используют для выделения РНК для транскрипционного анализа, и часть опухолевой ткани используют для подготовки образцов, фиксированных формалином и залитых в парафин (FFPE) для IGH анализа. РНК выделяют из опухолевых тканей с использованием набора RNeasy (Qiagen), и транскрипционный анализ проводят с использованием панели nCounter Mouse PanCancer IO 360 (Nanostring) из 100 нг РНК/опухоль. Данные анализируют с использованием программного обеспечения nSolver Analysis с расширенным набором зондов анализа ns_mm_io_360_v1.0 (Nanostring). CD8+ клетки, инфильтрирующие опухоль, окрашивают в срезах ткани FFPE с использованием антитела против CD8 мыши (Abcam, № ab217344) и набора Ventana Discovery OmniMap anti Rabbit-HRP (Ventana #760 4310).

[00476] Данные показаны на ФИГ. 1.

[00477] **Результаты:** Транскрипционный анализ выявил значительное увеличение

оценок иммунных клеток, таких как оценка цитотоксических клеток, оценка Т-клеток и оценка макрофагов, в опухолевой ткани при лечении гетеротандемным бициклическим пептидным комплексом EphA2 BCY12491 по сравнению с опухолями мышей, получающих носитель. Лечение анти-CD137 антителом также значительно увеличивает количество цитотоксических клеток и количество Т-клеток в опухолевой ткани, хотя и в меньшей степени, чем BCY12491. Никаких изменений в количестве иммунных клеток в опухолевых тканях животных, получающих не связывающий контроль (BCY13626), не наблюдается. ИHC анализ CD8⁺ клеток в опухолевых тканях демонстрирует интенсивную инфильтрацию CD8⁺ клеток в опухолях мышей, леченных BCY12491, по сравнению с опухолями мышей, леченных носителем или не связывающим BCY13626. Некоторое увеличение инфильтрации CD8⁺ клеток также наблюдается в опухолях мышей, леченных анти-CD137 антителами. Эти изменения в количестве иммунных клеток и CD8⁺ клеток в опухолевой ткани указывают на то, что агонизм CD137 в опухолевой ткани с помощью гетеротандемного бициклического пептидного комплекса EphA2/CD137 BCY12491 приводит к значительной модуляции (увеличению) инфильтрирующих опухоль иммунных клеток и иммунного ответа.

Исследование с BT7480

[00478] Для транскрипционного и иммуногистохимического (ИHC) анализа самкам мышей huCD137-C57B/6J (Biocytogen) в возрасте 6-8 недель подкожно имплантируют 1×10^6 клеток MC38#13 (клетки MC38, сконструированные для экспрессии нектин-4). Мышей произвольно распределяют на группы лечения, когда средний объем опухоли достигает примерно 255 мм³ для получения носителя, BT7480 (BCY00011863), не связывающего контроля BCY BCY00012797 (BCY12797) или антитела αCD137 (аналога урелумаба). BT7480 и его не связывающий контроль вводят внутривенно в дозе 5 мг/кг (в 25 mM гистидина HCl, 10% сахарозе, pH 7; носитель) в 0 и 24 часа, и аналог урелумаба вводят внутрибрюшинно в дозе 2 мг/кг по PBS BIW (0 ч, 72 ч) дозе и схеме. Опухоли у мышей, получающих BT7480, собирают через 24 часа (после 0-часовой дозы), 48 часов (24 часа после последней из 0-часовой и 24-часовой дозы), 96 часов (72 часа после последней из 0-часовой и 24-часовой дозы) и 144 часа (120 часов после последней из 0-часовой и 24-часовой дозы). Опухоли мышей, получающих αCD137, собирают через 144 часа после начала лечения. Опухоли мышей, получающих носитель, собирают через 24 часа после введения 0-часовой дозы и через 144 часа (120 часов после последней из 0-часовой и 24-часовой дозы). РНК выделяют из опухолевых тканей с использованием набора RNeasy (Qiagen) и транскрипционный анализ проводят с использованием панели nCounter Mouse PanCancer IO 360 (Nanostring) из 100 нг РНК/опухоль. Данные анализируют с использованием программного обеспечения nSolver Analysis с расширенным набором зондов анализа ns_mm_io_360_v1.0 (Nanostring).

[00479] Данные показаны на ФИГ. 2-4.

[00480] **Результаты:** Транскрипционный анализ выявил значительное раннее (24-часовой момент времени) увеличение мРНК для нескольких Т-клеточных хемотаксических

хемокинов/цитокинов, таких как Ccl1, Ccl17 и Ccl24, среди прочих, которые, как считается, секретируются миелоидными клетками, что приводит к рекрутированию Т-клеток в место секреции хемокинов. Транскрипционный анализ также выявил значительное увеличение оценок иммунных клеток, таких как оценка цитотоксических клеток и оценка макрофагов, в опухолевой ткани при лечении BT7480 по сравнению с опухолями у мышей, получающих носитель. Оценка макрофагов начинает увеличиваться через 24 часа после введения BT7480, достигая значительного увеличения по сравнению с 24-часовым показателем носителя к 48 часам. С другой стороны, оценка цитотоксических клеток начинает увеличиваться через 48 часов после начала лечения и увеличивается до 144 часов, когда оценка цитотоксических клеток значительно увеличена по сравнению с опухолями, леченными носителем, к 144 часам. Наложение оценок цитотоксических клеток и нормализованных показателей мРНК для Ccl1, Ccl17 и Ccl24 в ответ на BT7480 демонстрирует, как увеличение транскрипции Ccl1, Ccl17 и Ccl24 предшествует увеличению оценок цитотоксических клеток.

[00481] Наложение показателей макрофагов и цитотоксических клеток в ответ на BT7480 демонстрирует, как увеличение оценок макрофагов предшествует увеличению показателей цитотоксических клеток.

[00482] Транскрипционный анализ выявил тенденцию к увеличению или значительному увеличению количества мРНК для нескольких различных иммунных контрольных точек, включая CTLA-4 (Ctla4), PD-1 (Pdc1), PD-L1 (Cd274), LAG3 (Lag3), TIM3 (Havcr2), PD-L2 (Pdc1lg2) и TIGIT (Tigit), поддерживая концепцию комбинаций BT7480 с ингибиторами контрольных точек.

Пример 2: Исследование эффективности комбинации BCY12491 и пембролизумаба

[00483] Для анализа роста опухоли, самкам мышей huCD137/huPD-1-C57B/6J (Biocytogen) в возрасте 6-8 недель подкожно имплантируют 1×10^6 клеток MC38. Мышей произвольно распределяют на группы лечения, когда средний объем опухоли достигает примерно 92 мм³, и им внутривенно вводят носитель (25 мМ гистидина, 10% сахарозы, pH7), 5 мг/кг BCY12491 (0, 24 часа) или внутрибрюшинно 3 мг/кг анти-PD-1 антитела Пембролизумаба или комбинации BCY12491 и Пембролизумаба. Комбинированное лечение проводят по трем различными схемам дозирования: лечение BCY12491 и пембролизумабом начинают одновременно в 0 день, лечение BCY12491 начинают в 1 день и лечение Пембролизумабом начинают в 5 день, или лечение Пембролизумабом начинают в 0 день и лечение BCY12491 начинают в 5 день. Лечение проводят еженедельно четырьмя дозами, и рост опухоли контролируют с помощью штангенциркуля.

[00484] Данные показаны на ФИГ. 5 и 6.

[00485] **Результаты:** Монотерапия BCY12491 и Пембролизумабом и их комбинацией показала значительную противоопухолевую активность по сравнению с контролем носителем (все *** $p < 0,0001$, анализ смешанных эффектов с апостериорным критерием Даннетта на D18, сравнивающий лечение с носителем). Кроме того,

комбинированное лечение является более эффективным, чем любая из монотерапий ($***p < 0,0001$, анализ смешанных эффектов с апостериорным критерием Даннетта на D20, сравнивающий комбинацию с монотерапией), что приводит к полному ответу у всех обработанных животных к 22 дню. Наоборот, эти графики и схемы лечения приводят к 2/10 полных ответов в когорте монотерапии BSY12491 и к 3/10 полных ответов в когорте монотерапии Пембролизумабом. Альтернативное секвенирование комбинации BSY12491 и Пембролизумаба (лечение BSY12491, начинающееся в 0 день, и лечение Пембролизумабом, начинающееся в 5 день, или наоборот) также приводит к значительной противоопухолевой активности (оба $***p < 0,0001$, анализ смешанных эффектов с апостериорным критерием Даннетта на 18 день, сравнивающий лечение с носителем), обе схемы дают 9/10 полных ответов (лечение BSY12491, начинающееся в 0 день, и лечение Пембролизумабом, начинающееся в 5 день) и 8/10 полных ответов (лечение пембролизумабом, начинающееся в 0 день, и лечение BSY12491, начинающееся в 5 день) у леченных мышей к 42 дню.

Пример 3: Исследование эффективности комбинации BSY11864 и анти-PD-1

[00486] Для анализа роста опухоли, самкам мышей Balb/c-huCD137- (Gempharmatech) в возрасте 6-8 недель подкожно имплантируют 3×10^5 клеток СТ26#7 (клетки СТ26, сконструированные для сверхэкспрессии нектин-4). Мышей произвольно распределяют на группы лечения, когда средний объем опухоли достигает примерно 80 мм³, и им внутривенно вводят носитель (25 мМ гистидина, 10% сахарозы, pH7), 10 мг/кг BSY11864 (0, 24 часа) или внутрибрюшинно 10 мг/кг анти-антитела PD-1 (RMP1-14) или комбинации BSY11864 и анти-PD-1 антитела. Лечение проводят еженедельно, и рост опухоли контролируют с помощью штангенциркуля. Животных с опухолями >2000 мм³ умерщвляют по мере достижения ими гуманной конечной точки. Исследование прекращают на 66 день после начала лечения, после чего в исследовании остаются только 2 животных (оба в группе комбинированного лечения) (одно полностью ответившее на лечение и одно с опухолью, размер которой все еще уменьшается).

[00487] Данные показаны на ФИГ. 7.

[00488] **Результаты:** добавление BSY11864 к монотерапии анти-PD-1 значительно ($p=0,004$, лог-ранговый тест Мантеля-Кокса, сравнивающий группы анти-PD-1 и комбинации анти-PD-1+BSY11864) повышает выживаемость (результаты измеряют по времени до достижения гуманной конечной точки, т.е. объемов опухолей >2000 мм³) у мышей, несущих СТ26#7.

Пример 4. Исследование эффективности BT7480 в комбинации с анти-PD-1 и анти-Ctla-4.

[00489] Для анализа роста опухоли, самкам мышей C57BL/6J-huCD137- (Biocytogen) в возрасте 6-8 недель подкожно имплантируют 1×10^6 клеток MC38#13 (клетки MC38, сконструированные для сверхэкспрессии нектин-4). Мышей произвольно распределяют на группы лечения, когда средний объем опухоли достигает примерно 100 мм³, и им внутрибрюшинно вводят носитель (25 мМ гистидин, 10% сахароза, pH 7), 1 мг/кг BT7480,

5 мг/кг анти-PD-1 (RMP 1-14), 5 мг/кг анти-Ctla-4 (9H10) или комбинации BT7480/анти-PD-1 и BT7480/анти-Ctla-4. Лечение проводят два раза в неделю (BIW) в течение 2 недель, и рост опухоли контролируют с помощью штангенциркуля до 33 дня после начала лечения. Животных с опухолями $>2000 \text{ мм}^3$ умерщвляют по мере достижения ими гуманной конечной точки.

[00490] Данные показаны на ФИГ. 8 и 9.

[00491] **Результаты:** добавление BT7480 к монотерапии анти-PD-1 увеличивает частоту полных ответов (CR) от 0/8 (в группах монотерапии BT7480 и анти-PD-1) до 2/8 в группе комбинированного лечения BT7480/анти-PD-1. Добавление BT7480 к монотерапии анти-Ctla-4 увеличивает частоту полных ответов (CR) от 0/8 или 1/8 (в группах монотерапии BT7480 и анти-Ctla-4, соответственно) до 4/8 в группе комбинированного лечения BT7480/анти-Ctla-4 к 33 дню после начала лечения. Кроме того, добавление BT7480 к монотерапии анти-CTLA-4 значительно ($p=0,0499$, лог-ранговый тест Мантеля-Кокса, сравнивающий группы анти-Ctla-4 и комбинации анти-Ctla-4+BT7480) повышает выживаемость (результаты измеряют по времени до достижения гуманной конечной точки, т.е. объемов опухолей $>2000 \text{ мм}^3$) у мышей, несущих MC38#13.

Пример 5. Транскрипционный кинетический анализ с BT7455

[00492] Для транскрипционных кинетических анализов эффектов BT7455 в микроокружении иммунной опухоли, 6-8-недельным самкам мышей huCD137-C57B/6J (Biocytogen) подкожно имплантируют 1×10^6 клеток MC38. Мышей произвольно распределяют на группы лечения, когда средний объем опухоли достигает примерно 350 мм^3 , для введения носителя, BT7455, α CD137 антитела (аналога урелумаба) или α PD-1 антитела. BT7455 вводят внутривенно в дозе 8 мг/кг (в 25 mM гистидина HCl, 10% сахарозе, pH 7; носитель) в 0 и 24 часа, и аналог урелумаба и α PD-1 антитело вводят внутрибрюшинно в дозе 2 мг/кг (аналог урелумаба) или 10 мг/кг (α PD-1 антитело) в PBS в 0 часов. Опухоли мышей, леченных носителем, BT7455, аналогом урелумаба и α PD-1 антителом, собирают через 24 часа, 48 часов и 144 часа после начала лечения. РНК выделяют из опухолевых тканей с использованием набора RNAeasy (Qiagen), и транскрипционный анализ проводят с использованием панели nCounter Mouse PanCancer IO 360 (Nanostring) из 100 нг РНК/опухоль. Данные анализируют с использованием программного обеспечения nSolver Analysis с расширенным набором зондов анализа ns_mm_io_360_v1.0 (Nanostring).

[00493] Данные показаны на ФИГ. 10-13.

[00494] **Результаты:** Транскрипционный анализ выявил значительное увеличение после лечения BT7455 в мРНК для нескольких различных иммунных контрольных точек, включая CTLA-4 (Ctla4), PD-1 (Pdc1), PD-L1 (Cd274), LAG3 (Lag3), TIM3 (Havcr2), PD-L2 (Pdc1lg2) и TIGIT (Tigit), поддерживая концепцию комбинаций BT7455 с ингибиторами контрольных точек. Транскрипционный анализ также выявил значительное раннее (24-48 часов) увеличение мРНК для нескольких Т-клеточных хемотаксических хемокинов/цитокинов, таких как Ccl1, Ccl17 и Ccl24, среди других, которые, как считается, секретируются миелоидными клетками, что приводит к рекрутированию Т-клеток в месте

секреции хемокинов. Транскрипционный анализ также выявил значительное увеличение оценок иммунных клеток, таких как оценка цитотоксических клеток в опухолевой ткани, при лечении BT7455 по сравнению с опухолями мышей, леченных носителем или анти-PD-1 или анти-CD137. Лечение BT7455 вызывает значительную раннюю (48 часов) модуляцию нескольких наборов генов, включая наборы генов, связанные с передачей сигналов цитокинов и хемокинов, цитотоксичности, апоптоза и наборов генов, передающих сигнал NK-kappaB.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ лечения рака у пациента, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества гетеротандемного бициклического пептидного комплекса или его фармацевтически приемлемой соли и иммуноонкологического средства, где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит:

(a) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) одним или несколькими пептидными лигандами, связывающимися CD137;

где каждый из указанных пептидных лигандов содержит полипептид, содержащий по меньшей мере три реакционноспособные группы, разделенные по меньшей мере двумя петлевыми последовательностями, и молекулярный каркас, который образует ковалентные связи с реакционноспособными группами полипептида, так что на молекулярном каркасе образуется по меньшей мере две полипептидных петли.

2. Способ по п.1, где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит:

(a) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) одним или несколькими пептидными лигандами, связывающимися CD137;

где каждый из указанных пептидных лигандов содержит полипептид, содержащий по меньшей мере три цистеиновых остатка, разделенных по меньшей мере двумя петлевыми последовательностями, и молекулярный каркас, который образует ковалентные связи с цистеиновыми остатками полипептида, так что на молекулярном каркасе образуется по меньшей мере две полипептидных петли.

3. Способ по п.1 или 2, где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит:

(a) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) двумя или несколькими пептидными лигандами, связывающимися CD137.

4. Способ по п.1 или 2, где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс содержит:

(a) первый пептидный лиганд, который связывается с компонентом, присутствующим на раковой клетке; конъюгированный через линкер с

(b) двумя или несколькими пептидными лигандами, связывающимися CD137.

5. Способ по любому из пп. 1-4, где пептидный лиганд, связывающий CD137, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из:

C_iIEEGQYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (SEQ ID NO: 5);

C_i[tBuAla]PE[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (SEQ ID NO: 6);

C_iIEEGQYC_{ii}F[D-Ala]DPY[Nle]C_{iii} (SEQ ID NO: 7);

C_i[tBuAla]PK[D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (SEQ ID NO: 8);

C_i[tBuAla]PE[D-Lys]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii} (SEQ ID NO: 9);

$C_i[tBuAla]P[K(PYA)][D-Ala]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 10);
 $C_i[tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 11);
 (SEQ ID NO: 11)-A (далее названный BCY14601);
 $C_iIEE[D-Lys(PYA)]QYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 12);
 $C_i[tBuAla]PE[dK]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 60);
 $C_iIEE[dK(PYA)]QYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 61);
 $C_i[tBuAla]EE[dK]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 62);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 63);
 $C_i[tBuAla]EE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 64);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FANPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 65);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAEPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 66);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FA[Aad]PY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 67);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAQPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 68);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle][Cysam]_{iii}$ (SEQ ID NO: 69);
 $[MerPro]_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 70; далее названный BCY12353);
 $[MerPro]_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle][Cysam]_{iii}$ (SEQ ID NO: 71; далее названный BCY12354);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 72);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 73);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 74; далее названный BCY12372);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAD[NMeAla]Y[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 75);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FAD[NMeDAla]Y[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 76);
 $C_i[tBuAla]P[K(PYA)][dA]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 77);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 78);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(Me, PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 79);
 $C_i[tBuAla]PE[dK(Me, PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 80); и
 $[MerPro]_i[tBuAla]EE[dK]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 81; далее названный BCY13137);

где $[MerPro]_i$, C_i , C_{ii} , C_{iii} и $[Cysam]_{iii}$ представляют собой первую (i), вторую (ii) и третью (iii) реакционноспособные группы, которые выбраны из цистеина, MerPro и Cysam, Nle представляет собой норлейцин, tBuAla представляет собой трет-бутилаланин, PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, Aad представляет собой альфа-L-аминоадипиновую кислоту, MerPro представляет собой 3-меркаптопропионовую кислоту и Cysam представляет собой цистеамин, NMeAla представляет собой N-метилаланин, или его фармацевтически приемлемую соль.

6. Способ по любому из пп. 1-5, где пептидный лиганд, связывающий CD137, содержит аминокислотную последовательность, которая представляет собой:

$C_i[tBuAla]PE[D-Lys(PYA)]PYC_{ii}FADPY[Nle]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 11);

где C_i , C_{ii} и C_{iii} представляют собой первый, второй и третий цистеиновые остатки, соответственно, $tBuAla$ представляет собой трет-бутилаланин, PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, Nle представляет собой норлейцин, или его фармацевтически приемлемую соль.

7. Способ по любому из пп. 1-6, где бициклический пептидный лиганд, связывающий CD137, содержит N- и C-концевые модификации и включает:

- Ac-A-(SEQ ID NO: 5)-Dap (далее названный BCY7732);
- Ac-A-(SEQ ID NO: 5)-Dap(PYA) (далее названный BCY7741);
- Ac-(SEQ ID NO: 6)-Dap (далее названный BCY9172);
- Ac-(SEQ ID NO: 6)-Dap(PYA) (далее названный BCY11014);
- Ac-A-(SEQ ID NO: 7)-Dap (далее названный BCY8045);
- Ac-(SEQ ID NO: 8)-A (далее названный BCY8919);
- Ac-(SEQ ID NO: 9)-A (далее названный BCY8920);
- Ac-(SEQ ID NO: 10)-A (далее названный BCY8927);
- Ac-(SEQ ID NO: 11)-A (далее названный BCY8928);
- Ac-A-(SEQ ID NO: 12)-A (далее названный BCY7744);
- Ac-(SEQ ID NO: 60)-Dap(PYA) (далее названный BCY11144);
- Ac-A-(SEQ ID NO: 61)-K (далее названный BCY11613);
- Ac-(SEQ ID NO: 62)-Dap(PYA) (далее названный BCY12023);
- Ac-(SEQ ID NO: 63) (далее названный BCY12149);
- Ac-(SEQ ID NO: 64) (далее названный BCY12143);
- Ac-(SEQ ID NO: 65) (далее названный BCY12147);
- Ac-(SEQ ID NO: 66) (далее названный BCY12145);
- Ac-(SEQ ID NO: 67) (далее названный BCY12146);
- Ac-(SEQ ID NO: 68) (далее названный BCY12150);
- Ac-(SEQ ID NO: 69) (далее названный BCY12352);
- Ac-(SEQ ID NO: 72)-[1,2-диаминоэтан] (далее названный BCY12358);
- [Пальмитиновая кислота]-[yGlu]-[yGlu]-(SEQ ID NO: 73) (далее названный BCY12360);
- Ac-(SEQ ID NO: 75) (далее названный BCY12381);
- Ac-(SEQ ID NO: 76) (далее названный BCY12382);
- Ac-(SEQ ID NO: 77)-K (далее названный BCY12357);
- Ac-(SEQ ID NO: 78)-[dA] (далее названный BCY13095);
- [Ac]-(SEQ ID NO: 78)-K (далее названный BCY13389);
- Ac-(SEQ ID NO: 79)-[dA] (далее названный BCY13096); и
- Ac-(SEQ ID NO: 80) (далее названный BCY13097);

где Ac представляет собой ацетильную группу, Dap представляет собой диаминопропионовую кислоту и PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, или его фармацевтически приемлемую соль.

8. Способ по любому из пп. 1-7, где бициклический пептидный лиганд,

связывающий CD137, содержит N- и C-концевые модификации и включает:

Ac-(SEQ ID NO: 11)-A (далее названный BCY8928);

где Ac представляет собой ацетильную группу, или его фармацевтически приемлемую соль.

9. Способ по любому из пп.1-8, где компонентом, присутствующим на раковой клетке, является нектин-4, и первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4.

10. Способ по п.9, где нектин-4-связывающий бициклический пептид-лиганд содержит аминокислотную последовательность, выбранную из:

$C_iP[1Nal][dD]C_{ii}M[HAArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (SEQ ID NO: 1; далее названный BCY8116);

$C_iP[1Nal][dK](Sar_{10}-(B-Ala))C_{ii}M[HAArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (SEQ ID NO: 3);

$C_iPFGC_{ii}M[HAArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (SEQ ID NO: 4; далее названный BCY11414);

$C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HAArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (SEQ ID NO: 14);

$[MerPro]_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HAArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (SEQ ID NO: 15; далее названный BCY12363);

$C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HAArg]DWSTP[HyP]W[Cysam]_{iii}$ (SEQ ID NO: 16);

$[MerPro]_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HAArg]DWSTP[HyP]W[Cysam]_{iii}$ (SEQ ID NO: 17; далее названный BCY12365);

$C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HAArg]HWSTP[HyP]WC_{iii}$ (SEQ ID NO: 18);

$C_iP[1Nal][dK]C_{ii}M[HAArg]EWSTP[HyP]WC_{iii}$ (SEQ ID NO: 19);

$C_iP[1Nal][dE]C_{ii}M[HAArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (SEQ ID NO: 20; далее названный BCY12368);

$C_iP[1Nal][dA]C_{ii}M[HAArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (SEQ ID NO: 21; далее названный BCY12369);

$C_iP[1Nal][dE]C_{ii}L[HAArg]DWSTP[HyP]WC_{iii}$ (SEQ ID NO: 22; далее названный BCY12370); и

$C_iP[1Nal][dE]C_{ii}M[HAArg]EWSTP[HyP]WC_{iii}$ (SEQ ID NO: 23; далее названный BCY12384);

где $[MerPro]_i$, C_i , C_{ii} , C_{iii} и $[Cysam]_{iii}$ представляют собой первую (i), вторую (ii) и третью (iii) реакционноспособные группы, которые выбраны из цистеина, MerPro и Cysam, 1Nal представляет собой 1-нафтилаланин, HAArg представляет собой гомоаргинин, HyP представляет собой транс-4-гидрокси-L-пролин, Sar_{10} представляет собой 10 единиц саркозина, B-Ala представляет собой бета-аланин, MerPro представляет собой 3-меркаптопропионовую кислоту и Cysam представляет собой цистеамин, или его фармацевтически приемлемую соль.

11. Способ по п.9 или 10, где бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, необязательно содержит N-концевые модификации и содержит:

SEQ ID NO: 1 (далее названный BCY8116);

$[PYA]-[B-Ala]-[Sar_{10}]$ -(SEQ ID NO: 1) (далее названный BCY8846);

[PYA]-(SEQ ID NO: 1) (далее названный BСY11015);
 [PYA]-[B-Ala]-(SEQ ID NO: 1) (далее названный BСY11016);
 [PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]- (SEQ ID NO: 2) (далее названный BСY11942);
 Ac-(SEQ ID NO: 3) (далее названный BСY8831);
 SEQ ID NO: 4 (далее названный BСY11414);
 [PYA]-[B-Ala]-(SEQ ID NO: 14) (далее названный BСY11143);
 Пальмитиновая кислота-γGlu-γGlu- (SEQ ID NO: 14) (далее названный BСY12371);
 Ac-(SEQ ID NO: 14) (далее названный BСY12024);
 Ac-(SEQ ID NO: 16) (далее названный BСY12364);
 Ac-(SEQ ID NO: 18) (далее названный BСY12366); и
 Ac-(SEQ ID NO: 19) (далее названный BСY12367);

где PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, B-Ala представляет собой бета-аланин, Sar₁₀ представляет собой 10 единиц саркозина, или его фармацевтически приемлемую соль.

12. Способ по любому из пп.9-11, где бициклический пептидный лиганд, связывающий нектин-4, содержит SEQ ID NO: 1 (далее названный BСY8116).

13. Способ по любому из пп.9-12, где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из комплексов, перечисленных в таблицах А и В, таких как BСY11027, BСY11863 и BСY11864, или их фармацевтически приемлемых солей.

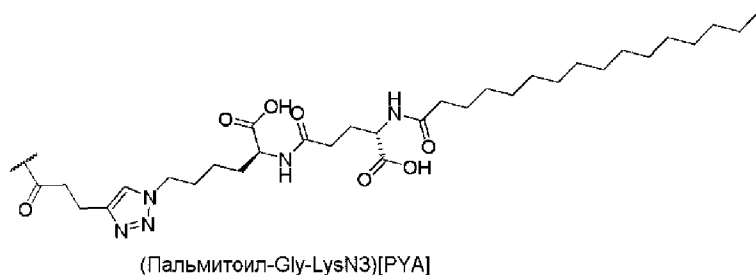
14. Способ по любому из пп.1-8, где компонент, присутствующий на раковой клетке, представляет собой EphA2, и первый пептидный лиганд содержит бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2.

15. Способ по п.14, где бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, содержит аминокислотную последовательность, выбранную из:

C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 24);
 C_iLWDPTPC_{ii}ANLHL[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 25);
 C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[K(PYA)]P[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 26);
 C_i[HyP][K(PYA)]VNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 27);
 C_i[HyP]LVNPLC_{ii}[K(PYA)]HP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 28);
 C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LKP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 29);
 C_i[HyP]KVNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 30);
 C_i[HyP]LVNPLC_{ii}KHP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 31);
 C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dE]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 32);
 C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LEP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 33);
 C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dD]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 34);
 C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LEP[dD]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 35);
 C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LEP[dA]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 36);
 C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[3,3-DPA]P[dD]WTC_{iii} (SEQ ID NO: 37; далее названный BСY12860);
 C_i[HyP][Cba]VNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii} (SEQ ID NO: 38);

$C_i[HyP][Cba]VNPLC_{ii}LEP[dD]WTC_{iii}$ (SEQ ID NO: 39);
 $C_i[HyP][Cba]VNPLC_{ii}L[3,3-DPA]P[dD]WTC_{iii}$ (SEQ ID NO: 40);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[3,3-DPA]P[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 41);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[d1Nal]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 42);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[1Nal]P[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 43);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LEP[d1Nal]WTC_{iii}$ (SEQ ID NO: 44);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[1Nal]P[dD]WTC_{iii}$ (SEQ ID NO: 45; далее названный BCY13119);
 $C_i[HyP][Cba]VNPLC_{ii}LEP[dA]WTC_{iii}$ (SEQ ID NO: 46);
 $C_i[HyP][hGlu]VNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 47);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}[hGlu]HP[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 48);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[hGlu]P[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 49);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dNle]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 50);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[Nle]P[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 51);
 $[MerPro]_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[3,3-DPA]P[dD]WTC_{iii}$ (SEQ ID NO: 154);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg][Cysam]_{iii}$ (SEQ ID NO: 155);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[His3Me]P[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 156);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[His1Me]P[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 157);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[4ThiAz]P[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 158);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LFP[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 159);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[Thi]P[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 160);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[3Thi]P[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 161);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LNP[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 162);
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LQP[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 163); и
 $C_i[HyP]LVNPLC_{ii}L[K(PYA-(Пальмитоил-Glu-LysN_3))]P[dD]W[HArg]C_{iii}$ (SEQ ID NO: 164);

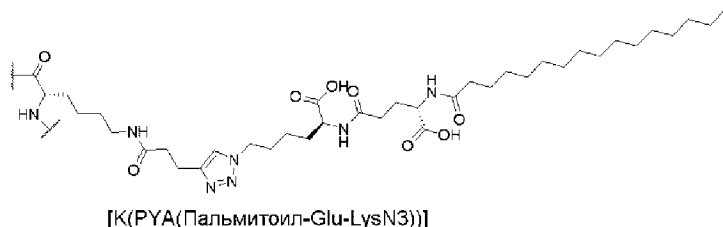
где $[MerPro]_i$, C_i , C_{ii} , C_{iii} и $[Cysam]_{iii}$ представляют собой первую (i), вторую (ii) и третью (iii) реакционноспособные группы, которые выбраны из цистеина, MerPro и Cysam, HyP представляет собой транс-4-гидрокси-L-пролин, HArg представляет собой гомоаргинин, PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, 3,3-DPA представляет собой 3,3-дифенилаланин, Cba представляет собой β-циклобутилаланин, 1Nal представляет собой 1-нафтилаланин, hGlu представляет собой гомоглутаминовую кислоту, Thi представляет собой тиенилаланин, 4ThiAz представляет собой бета-(4-тиазолил)-аланин, His1Me представляет собой N1-метил-L-гистидин, His3Me представляет собой N3-метил-L-гистидин, 3Thi представляет собой, Пальмитоил-Glu-LysN₃[PYA] представляет собой:



[K(PYA-(Пальмитоил-Glu-LysN₃))]

представляет

собой



Nle представляет собой норлейцин, MerPro представляет собой 3-меркаптопропионовую кислоту и Cysam представляет собой цистеамин, или его фармацевтически приемлемую соль.

16. Способ по п. 14 или 15, где бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, содержит аминокислотную последовательность, которая представляет собой:

C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LHP[dD]W[HArg]C_{iii}(SEQ ID NO: 24);

где C_i, C_{ii}, C_{iii} и представляют собой первую (i), вторую (ii) и третью (iii) группы цистеина, HyP представляет собой транс-4-гидрокси-L-пролин, HArg представляет собой гомоаргинин, или его фармацевтически приемлемую соль.

17. Способ по любому из пп. 14-16, где бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, содержит аминокислотную последовательность, которая представляет собой:

C_i[HyP]LVNPLC_{ii}LEP[d1Nal]WTC_{iii}(SEQ ID NO: 44);

где C_i, C_{ii}, C_{iii} и представляют собой первую (i), вторую (ii) и третью (iii) группы цистеина, HyP представляет собой транс-4-гидрокси-L-пролин, 1Nal представляет собой 1-нафтилаланин, или его фармацевтически приемлемую соль.

18. Способ по любому из пп. 14-17, где бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, необязательно содержит N-концевые модификации и включает:

A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 24) (далее названный BCY9594);

[B-Ala]-[Sar₁₀]-A-[HArg]-D- (SEQ ID NO: 24) (далее названный BCY6099);

[PYA]-A-[HArg]-D-(SEQ NO: 24) (далее названный BCY11813);

Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 24)-[K(PYA)] (далее названный BCY11814);

Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 24)-K (далее названный BCY12734);

[NMeAla]-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 24) (далее названный BCY13121);

[Ac]-(SEQ ID NO: 24)-L[dH]G[dK] (далее названный BCY13125);

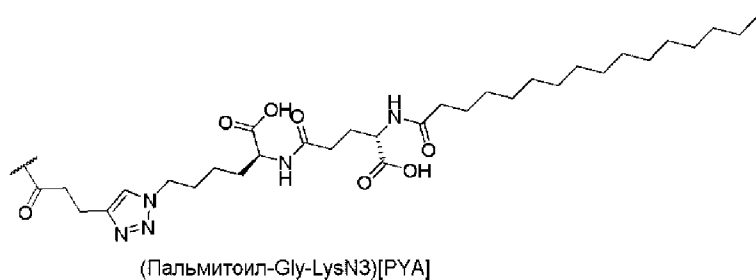
[PYA]-[B-Ala]-[Sar₁₀]-VGP-(SEQ ID NO: 25) (далее названный BCY8941);

Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 26) (далее названный BCY11815);

Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 27) (далее названный BCY11816);
 Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 28) (далее названный BCY11817);
 Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 29) (далее названный BCY12735);
 (Пальмитоил-Glu-LysN₃)[PYA]A[HArg]D-(SEQ ID NO: 29) (далее названный BCY14327);
 Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 30) (далее названный BCY12736);
 Ac-A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 31) (далее названный BCY12737);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 32) (далее названный BCY12738);
 A-[HArg]-E-(SEQ ID NO: 32) (далее названный BCY12739);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 33) (далее названный BCY12854);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 34) (далее названный BCY12855);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 35) (далее названный BCY12856);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 35)-[dA] (далее названный BCY12857);
 (SEQ ID NO: 35)-[dA] (далее названный BCY12861);
 [NMeAla]-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 35) (далее названный BCY13122);
 [dA]-ED-(SEQ ID NO: 35) (далее названный BCY13126);
 [dA]-[dA]-D-(SEQ ID NO: 35) (далее названный BCY13127);
 AD-(SEQ ID NO: 35) (далее названный BCY13128);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 36) (далее названный BCY12858);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 37) (далее названный BCY12859);
 Ac-(SEQ ID NO: 37)-[dK] (далее названный BCY13120);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 38) (далее названный BCY12862);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 39) (далее названный BCY12863);
 [dA]-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 39)-[dA] (далее названный BCY12864);
 (SEQ ID NO: 40)-[dA] (далее названный BCY12865);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 41) (далее названный BCY12866);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 42) (далее названный BCY13116);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 43) (далее названный BCY13117);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 44) (далее названный BCY13118);
 [dA]-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 46)-[dA] (далее названный BCY13123);
 [d1Nal]-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 46)-[dA] (далее названный BCY13124);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 47) (далее названный BCY13130);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 48) (далее названный BCY13131);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 49) (далее названный BCY13132);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 50) (далее названный BCY13134);
 A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 51) (далее названный BCY13135);
 (SEQ ID NO: 154)-[dK] (далее названный BCY13129);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 155) (далее названный BCY13133);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 156) (далее названный BCY13917);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 157) (далее названный BCY13918);

A[HArg]D-(SEQ ID NO: 158) (далее названный BCY13919);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 159) (далее названный BCY13920);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 160) (далее названный BCY13922);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 161) (далее названный BCY13923);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 162) (далее названный BCY14047);
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 163) (далее названный BCY14048); и
 A[HArg]D-(SEQ ID NO: 164) (далее названный BCY14313);

где PYA представляет собой 4-пентиновую кислоту, B-Ala представляет собой бета-аланин, Sar₁₀ представляет собой 10 единиц саркозина, HArg представляет собой гомоаргинин, NMeAla представляет собой N-метилаланин, 1Nal представляет собой 1-нафтилаланин, Пальмитоил-Glu-LysN₃[PYA] представляет собой:



или его фармацевтически приемлемую соль.

19. Способ по любому из пп. 14-18, где бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, необязательно содержит N-концевые модификации и включает:

A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 24) (далее названный BCY9594);

где HArg представляет собой гомоаргинин, или его фармацевтически приемлемую соль.

20. Способ по любому из пп. 14-19, где бициклический пептидный лиганд, связывающий EphA2, необязательно содержит N-концевые модификации и включает:

A-[HArg]-D-(SEQ ID NO: 44) (далее названный BCY13118);

где HArg представляет собой гомоаргинин или его фармацевтически приемлемую соль.

21. Способ по любому из пп. 14-20, где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс выбран из комплексов, перечисленных в Таблице С, таких как BCY12491, BCY12730, BCY13048, BCY13050, BCY13053 и BCY13272, или их фармацевтически приемлемых солей.

22. Способ по любому из пп. 1-21, где молекулярный каркас представляет собой 1,1',1''-(1,3,5-триазиан-1,3,5-триил)трипроп-2-ен-1-он (ТАТА).

23. Способ по любому из пп. 1-22, где иммуноонкологический агент представляет собой ингибитор контрольной точки.

24. Способ по п. 23, где ингибитор контрольной точки представляет собой антагонист PD-1.

25. Способ по любому из пп. 1-24, где гетеротандемный бициклический пептидный

комплекс или его фармацевтически приемлемая соль и иммуноонкологический агент вводят одновременно или последовательно.

26. Способ по любому из пп.1-25, где гетеротандемный бициклический пептидный комплекс или его фармацевтически приемлемую соль и иммуноонкологический агент вводят в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней друг от друга.

27. Способ лечения рака у пациента, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества ВТ7480 или его фармацевтически приемлемой соли и иммуноонкологического агента.

28. Способ по п.27, где иммуноонкологический агент представляет собой ингибитор контрольной точки.

29. Способ по п.28, где ингибитор контрольной точки представляет собой анти-PD-1 антитело.

30. Способ по п.29, где анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб или ниволумаб.

31. Способ по п.28, где ингибитор контрольной точки представляет собой анти-PD-L1 антитело.

32. Способ по п.31, где анти-PD-L1 антитело представляет собой дурвалумаб или атезолизумаб.

33. Способ по п.28, где ингибитор контрольной точки представляет собой анти-CTLA-4 антитело.

34. Способ по п.33, где анти-CTLA-4 антитело представляет собой ипилимумаб.

35. Способ по любому из пп.27-34, где ВТ7480 или его фармацевтически приемлемая соль и иммуноонкологический агент вводят одновременно или последовательно.

36. Способ по любому из пп.27-35, где ВТ7480 или его фармацевтически приемлемая соль и иммуноонкологический агент вводят в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней друг от друга.

37. Способ по любому из пп.27-36, где ВТ7480 или его фармацевтически приемлемую соль вводят посредством внутривенной инфузии.

38. Способ по любому из пп.27-37, где ВТ7480 или его фармацевтически приемлемую соль вводят с частотой один раз в неделю.

39. Способ по любому из пп.27-37, где ВТ7480 или его фармацевтически приемлемую соль вводят с частотой два раза в неделю.

40. Способ по любому из пп.27-39, где ВТ7480 или его фармацевтически приемлемую соль вводят в дозе примерно 0,1-75 мг/кг.

41. Применение ВТ7480 или его фармацевтически приемлемой соли при производстве лекарственного средства для лечения рака, где лекарственное средство применяют в комбинации с ингибитором контрольной точки.

42. Применение по п.41, где лекарственное средство дополнительно содержит гистидин.

43. Применение по п.41 или 42, где лекарственное средство дополнительно содержит сахарозу.

44. Применение по любому из пп. 41-43, где лекарственное средство представляет собой состав, содержащий BT7480 или его фармацевтически приемлемую соль, гистидин, сахарозу и воду при pH примерно 7.

45. Способ по любому из пп. 27-40 или применение по любому из пп. 41-44, где рак характеризуется высокой экспрессией нектин-4.

46. Способ по любому из пп. 27-40 или применение по любому из пп. 41-44, где рак представляет собой солидную опухоль.

47. Способ или применение по п.46, где солидная опухоль представляет собой саркому, карциному или лимфому.

48. Способ лечения рака у пациента, включающий введение указанному пациенту терапевтически эффективного количества BT7455 или его фармацевтически приемлемой соли и иммуноонкологического агента.

49. Способ по п.48, где иммуноонкологический агент представляет собой ингибитор контрольной точки.

50. Способ по п.49, где ингибитор контрольной точки представляет собой анти-PD-1 антитело.

51. Способ по п.50, где анти-PD-1 антитело представляет собой пембролизумаб или ниволумаб.

52. Способ по п.49, где ингибитор контрольной точки представляет собой анти-PD-L1 антитело.

53. Способ по п.52, где анти-PD-L1 антитело представляет собой дурвалумаб или атезолизумаб.

54. Способ по п.49, где ингибитор контрольной точки представляет собой анти-CTLA-4 антитело.

55. Способ по п.54, где анти-CTLA-4 антитело представляет собой ипилимумаб.

56. Способ по любому из пп.48-55, где BT7455 или его фармацевтически приемлемую соль и иммуноонкологический агент вводят одновременно или последовательно.

57. Способ по любому из пп.48-56, где BT7455 или его фармацевтически приемлемую соль и иммуноонкологический агент вводят в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней друг от друга.

58. Способ по любому из пп.48-57, где BT7455 или его фармацевтически приемлемую соль вводят посредством внутривенной инфузии.

59. Способ по любому из пп.48-58, где BT7455 или его фармацевтически приемлемую соль вводят с частотой один раз в неделю.

60. Способ по любому из пп.48-58, где BT7455 или его фармацевтически приемлемую соль вводят с частотой два раза в неделю.

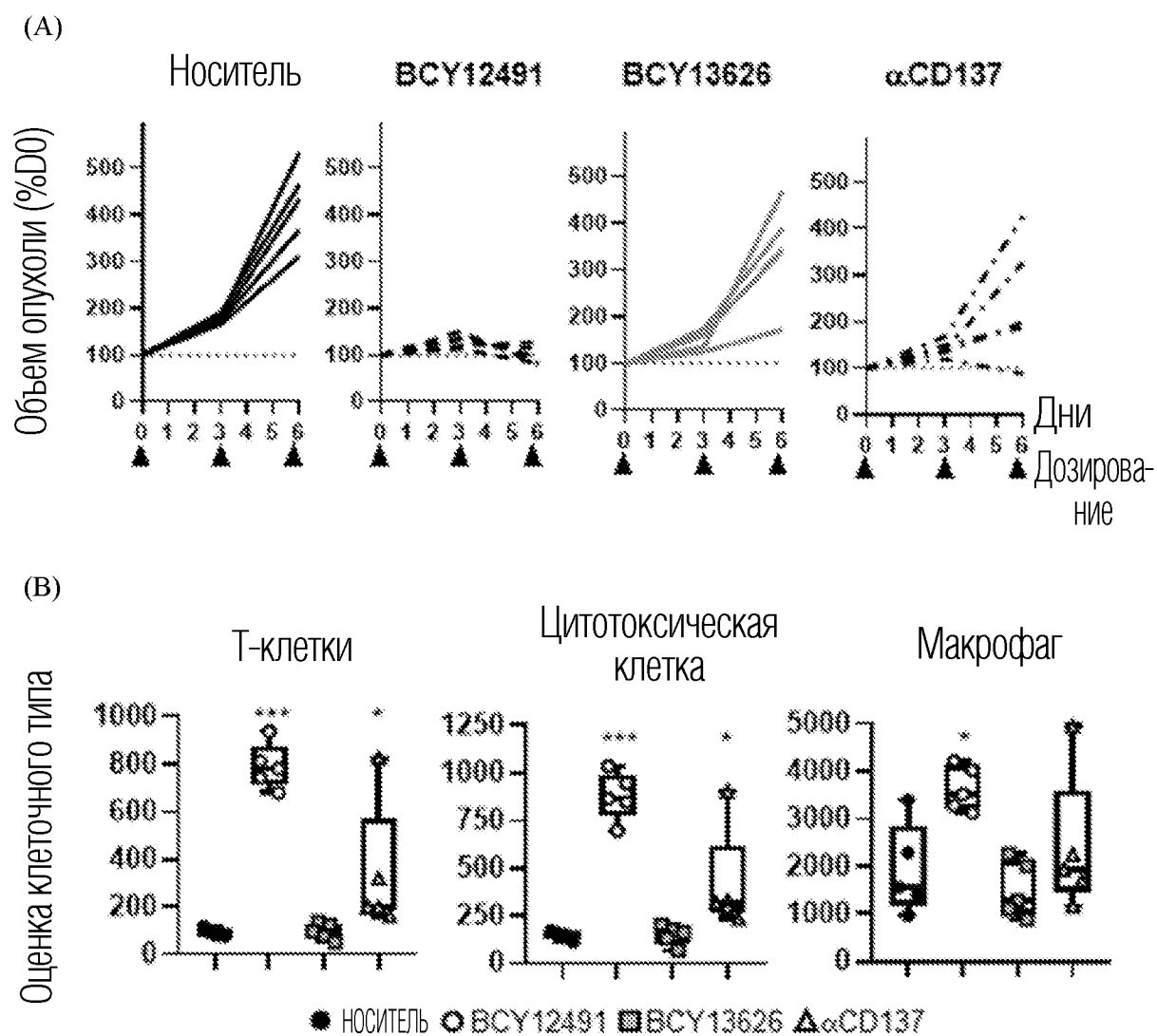
61. Применение BT7455 или его фармацевтически приемлемой соли при производстве лекарственного средства для лечения рака, где лекарственное средство применяют в комбинации с ингибитором контрольной точки.

62. Применение по п.61, где лекарственное средство дополнительно содержит гистидин.

63. Применение по п.61 или 62, где лекарственное средство дополнительно содержит сахарозу.

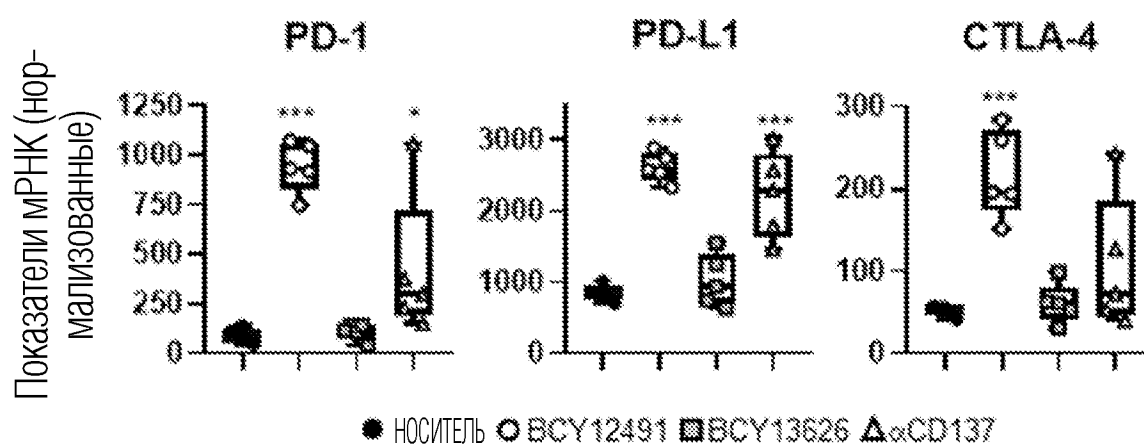
64. Применение по любому из пп. 61-63, где лекарственное средство представляет собой состав, содержащий ВТ7455 или его фармацевтически приемлемую соль, гистидин, сахарозу и воду при рН примерно 7.

65. Способ по любому из пп. 48-60 или применение по любому из пп. 61-64, где рак характеризуется высокой экспрессией EphA2.

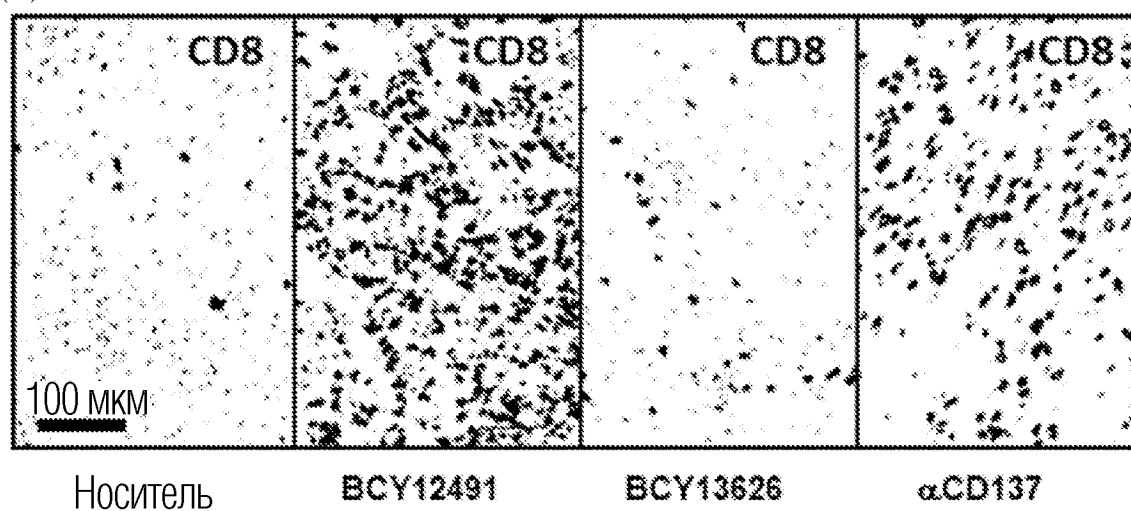


ФИГ. 1

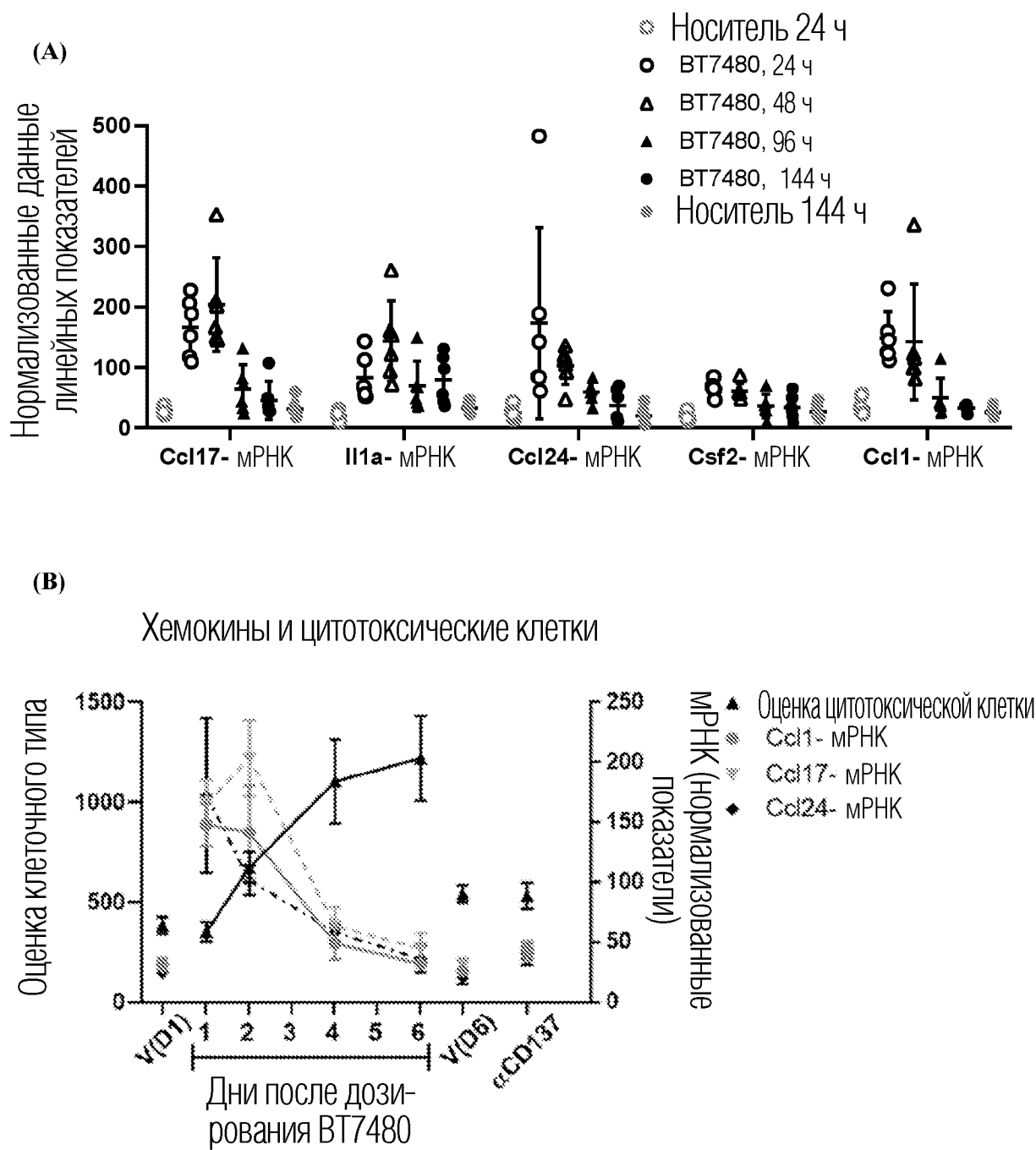
(C)



(D)

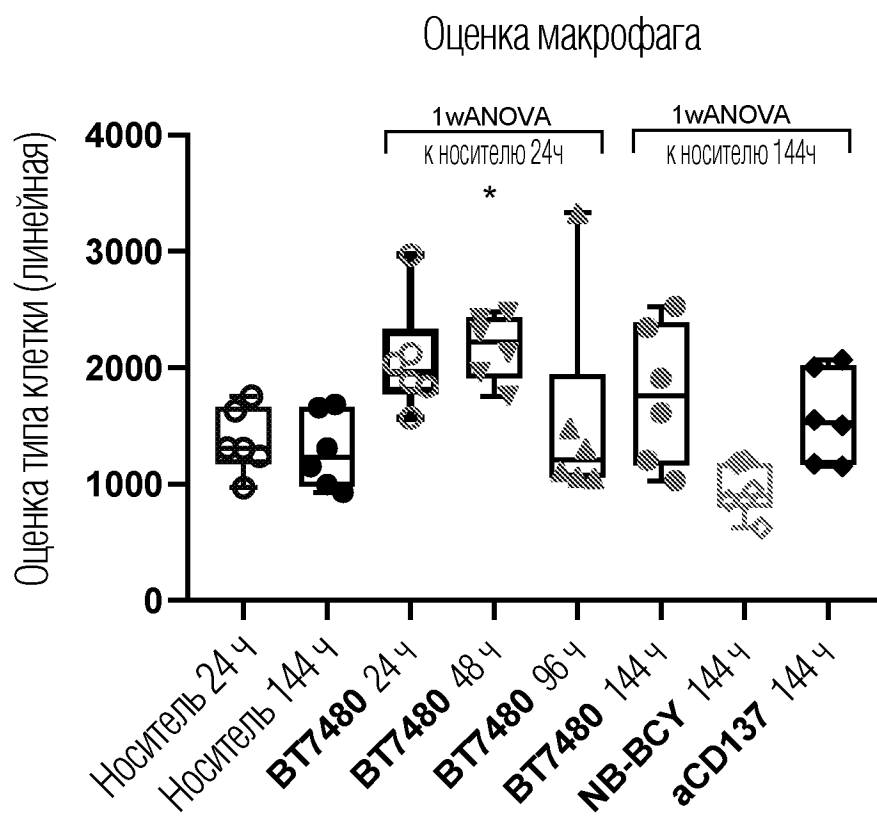


ФИГ. 1 (продолжение)

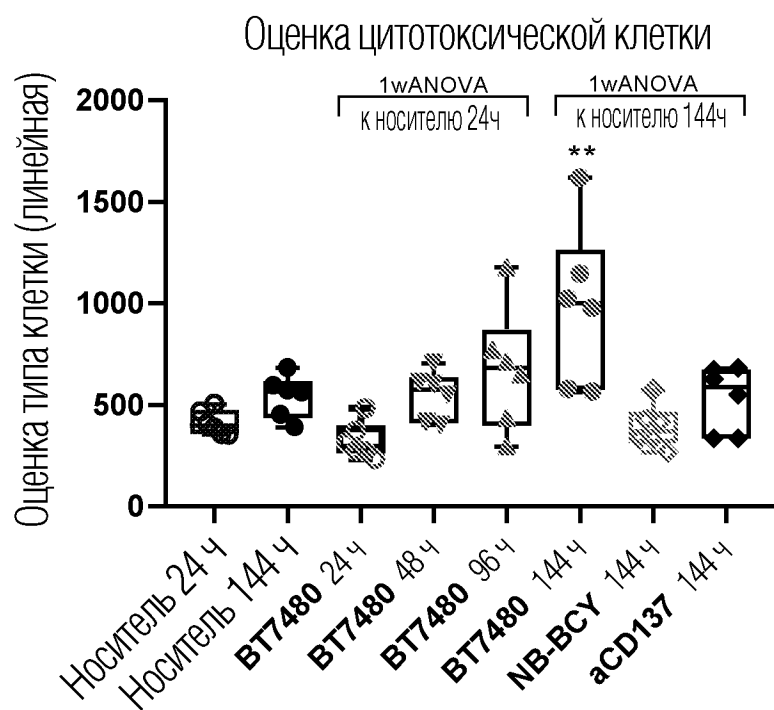


ФИГ. 2

(A)

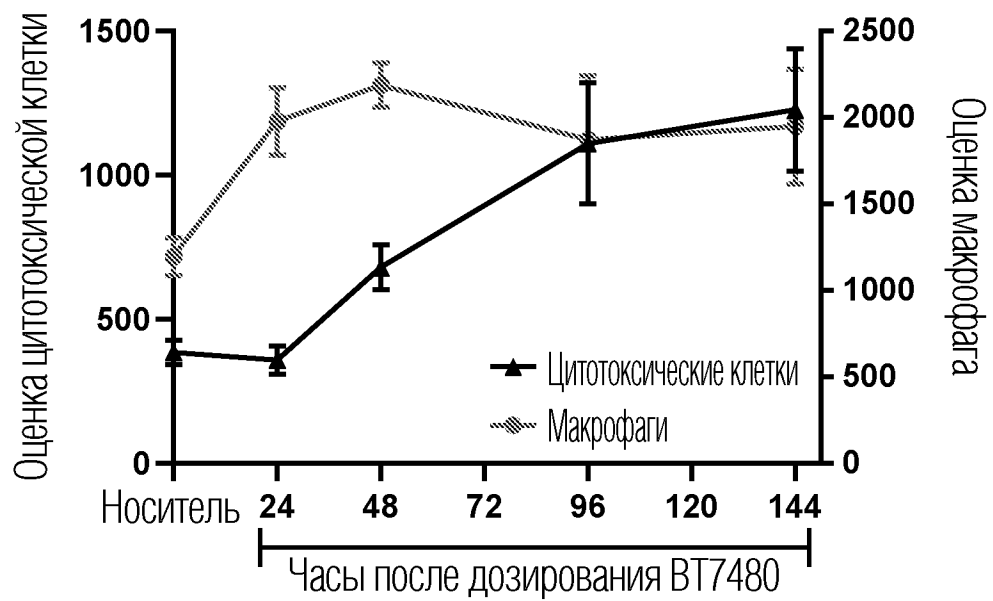


(B)



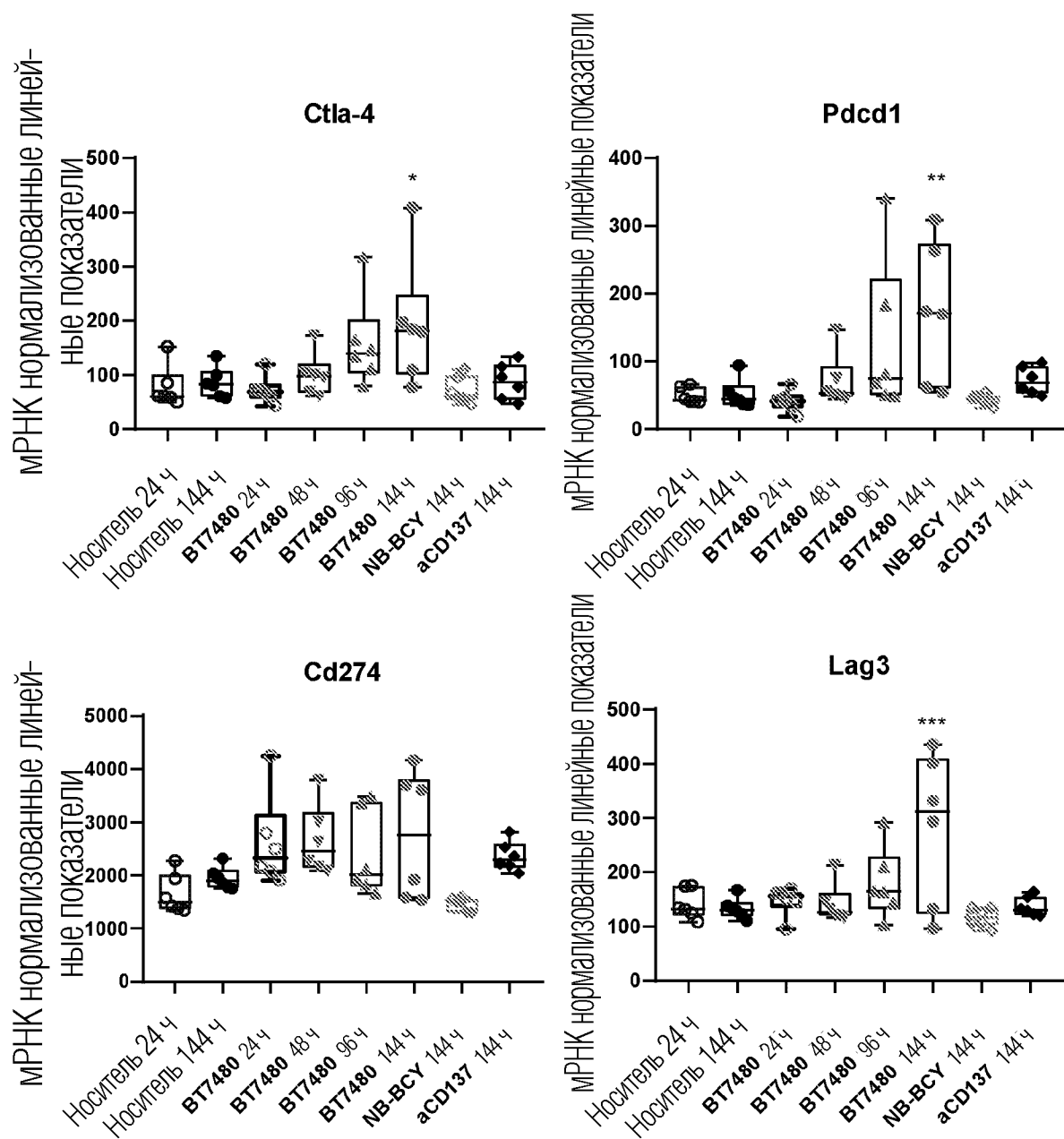
ФИГ. 3

(C)

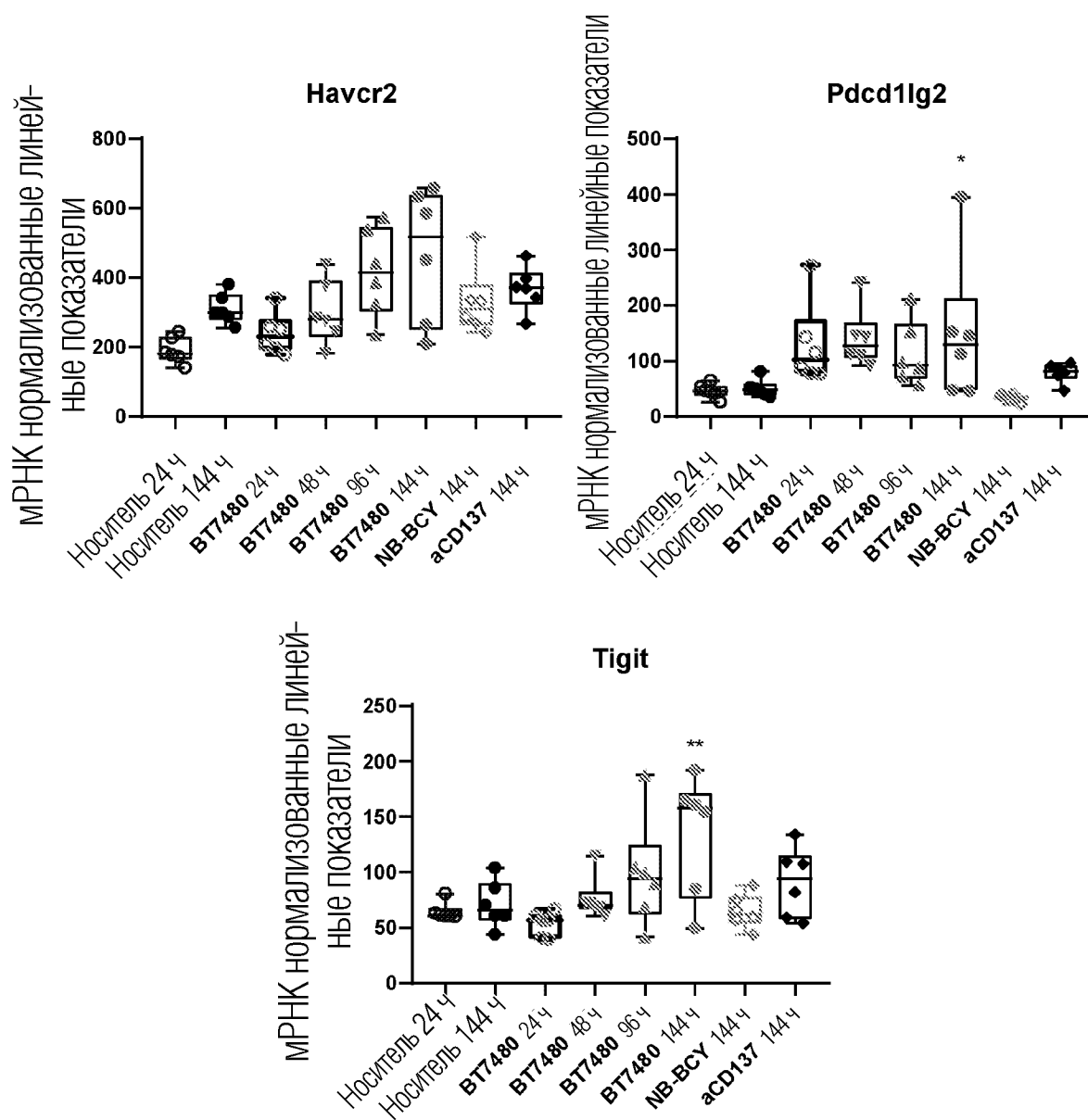


*Необходимо отметить, что оценки для разных типов клеток не сравнимы

ФИГ. 3 (продолжение)

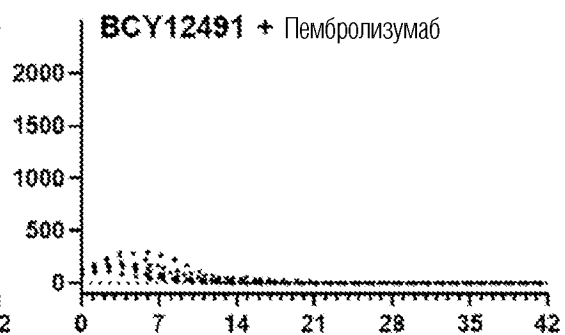
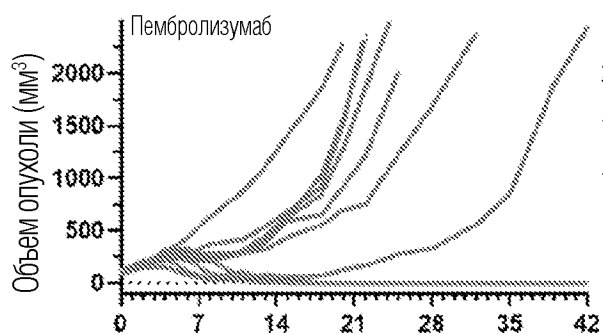
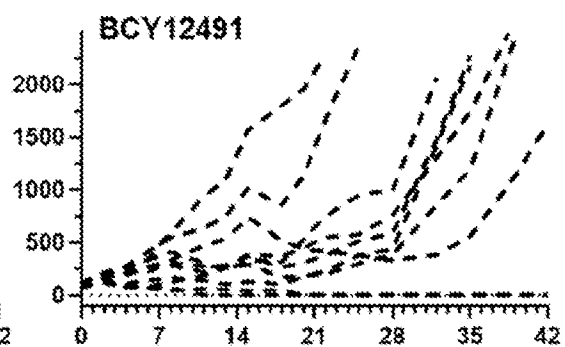
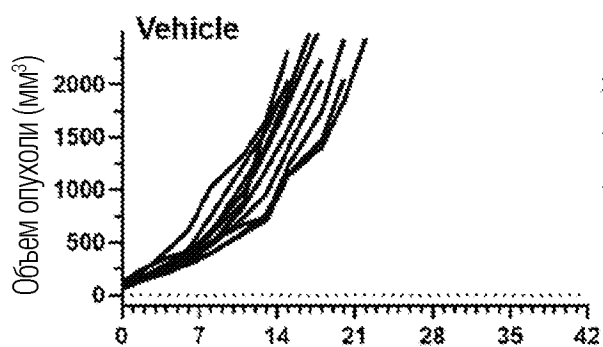
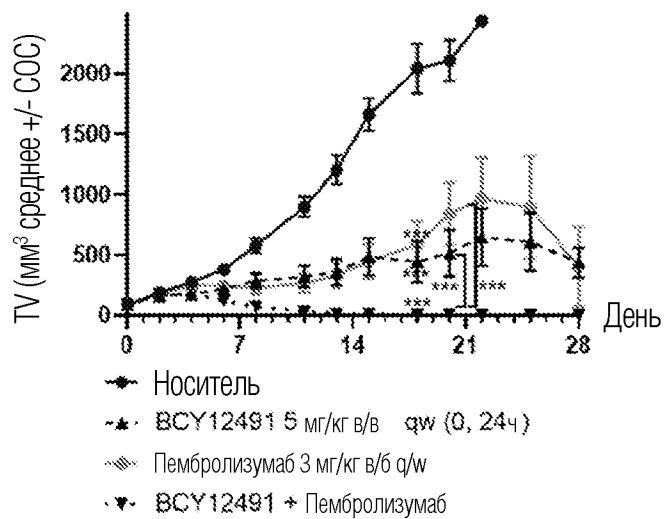


ФИГ. 4



ФИГ. 4 (продолжение)

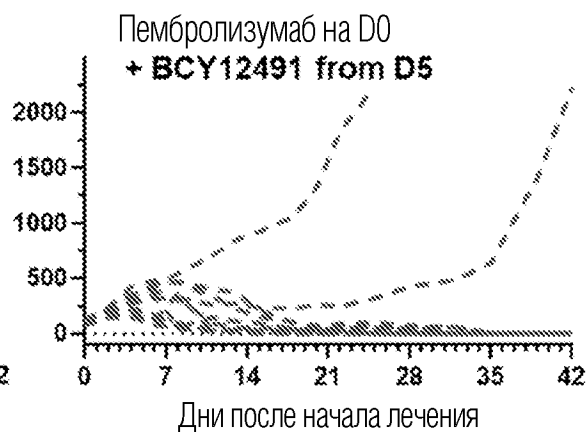
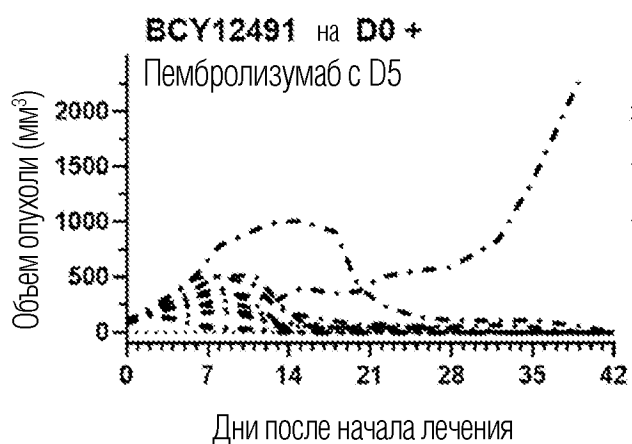
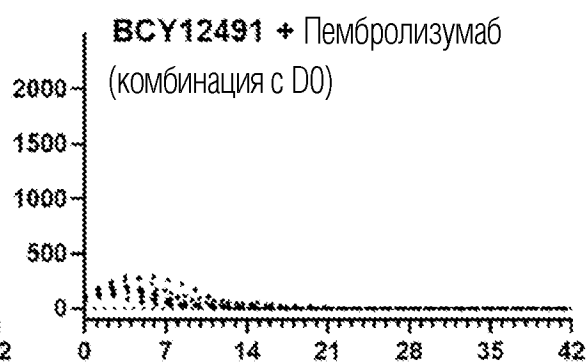
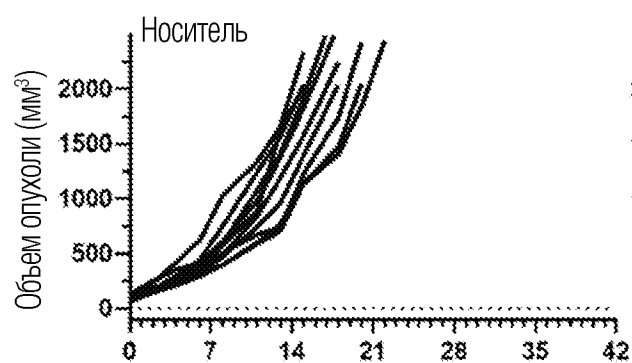
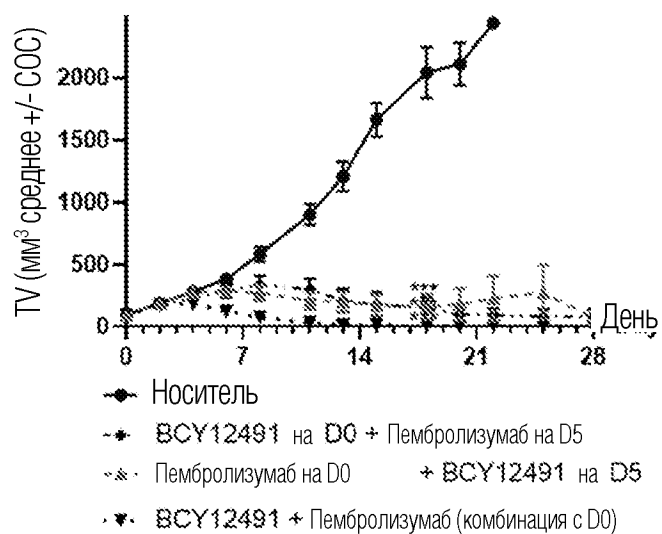
MC38 у huCD137/huPD-1 C57BL/6 мышей



Дни после начала лечения

Дни после начала лечения

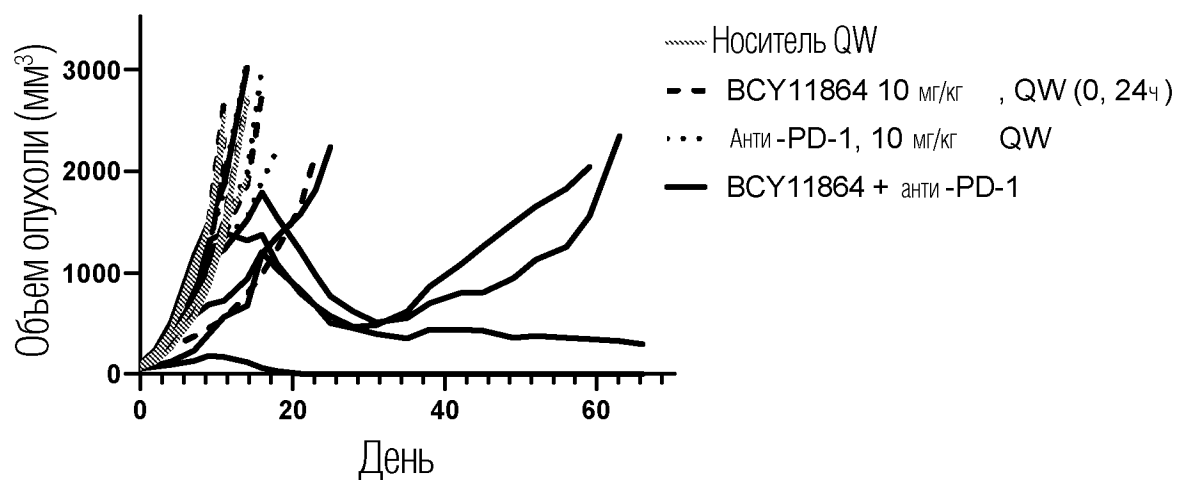
ФИГ. 5

MC38 у *huCD137/huPD-1* C57Bl/6 мышей

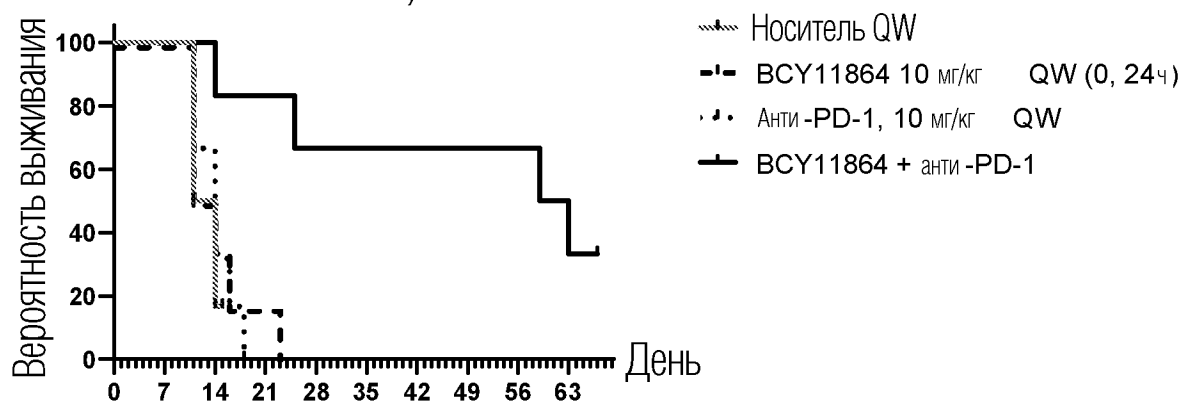
ФИГ. 6

10/17

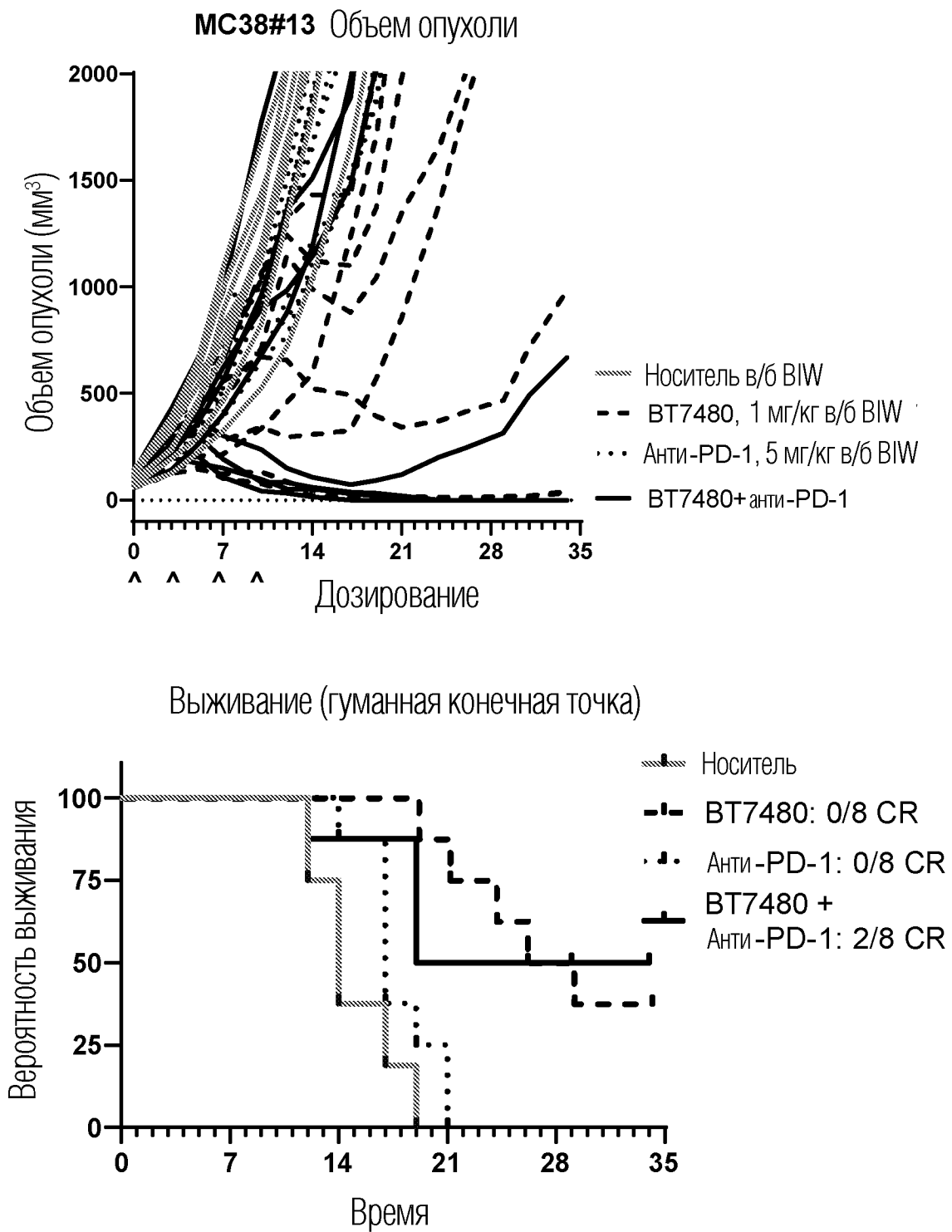
CT26#7 y huCD137 Balb/c



Выживание (гуманная конечная точка)



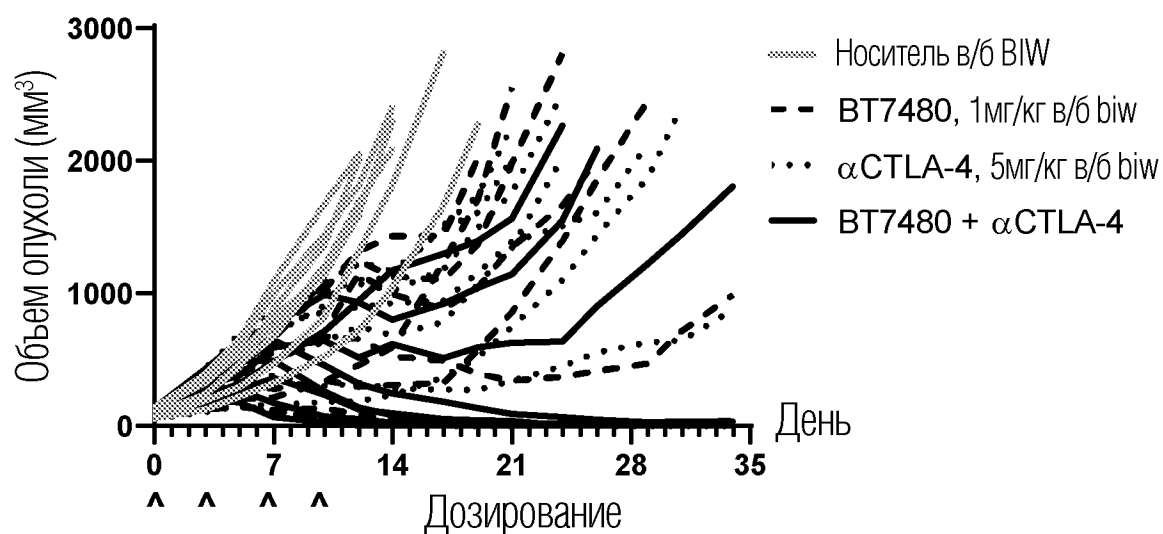
ФИГ. 7



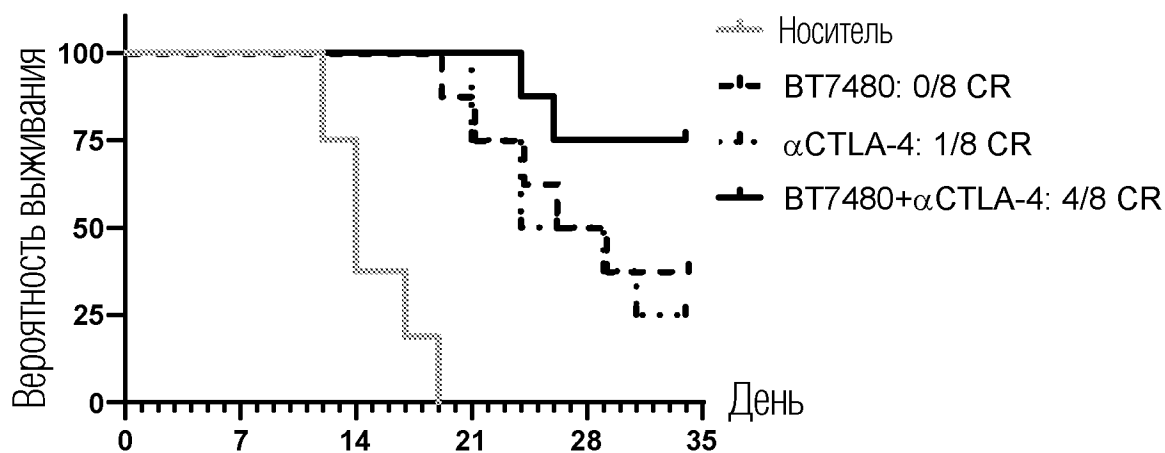
ФИГ. 8

12/17

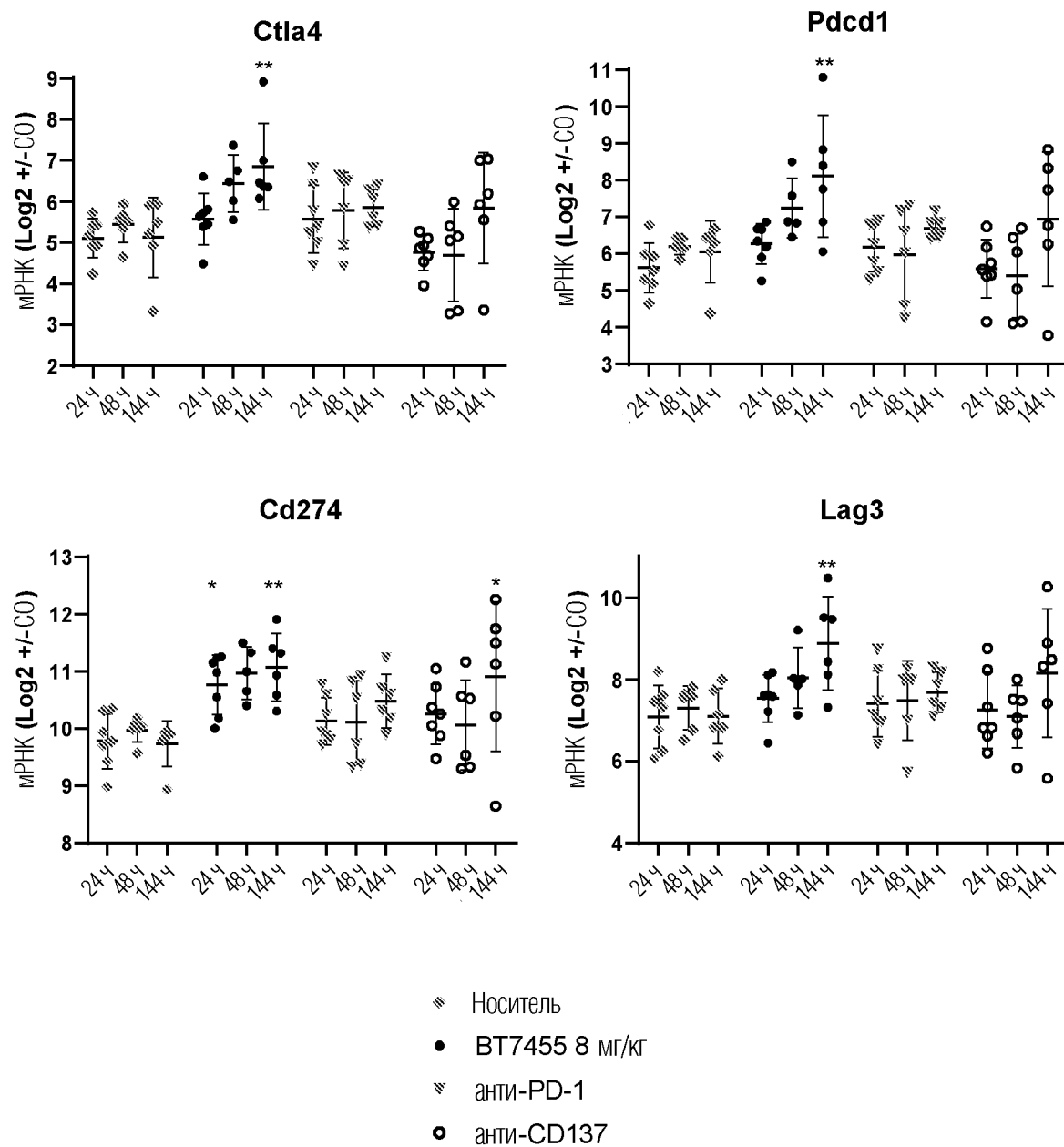
MC38#13 Объем опухоли



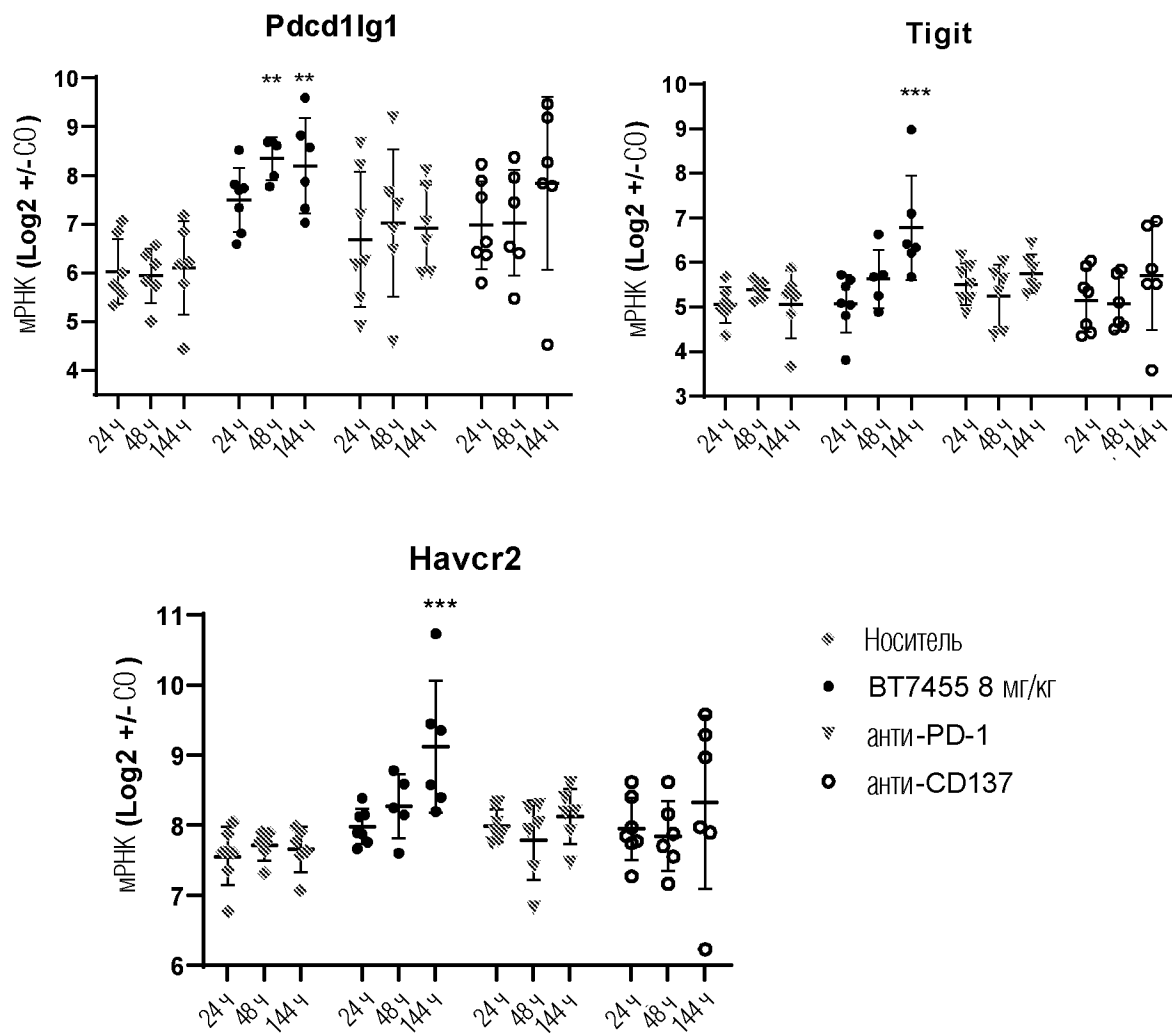
Выживание (гуманная конечная точка)



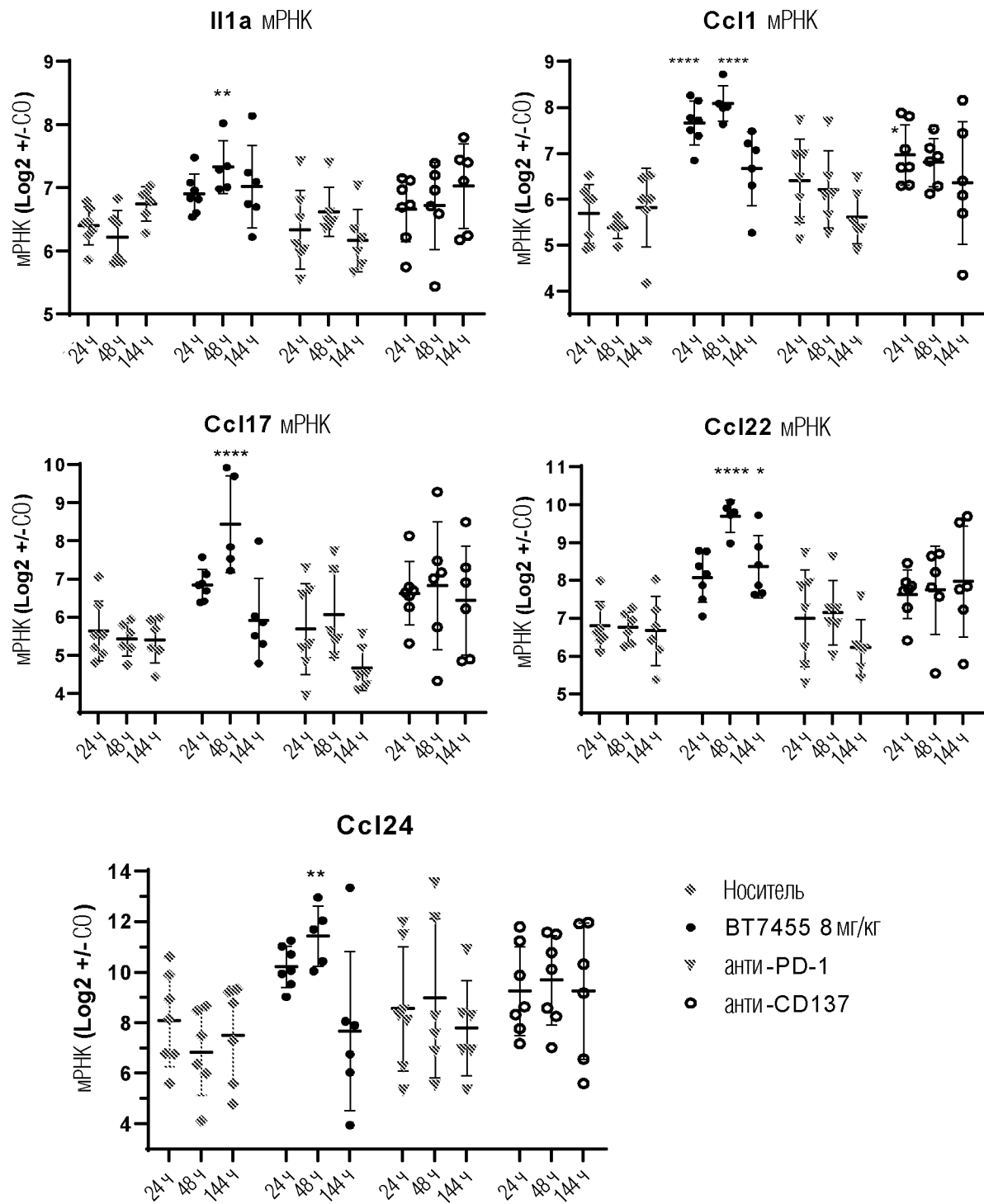
ФИГ. 9



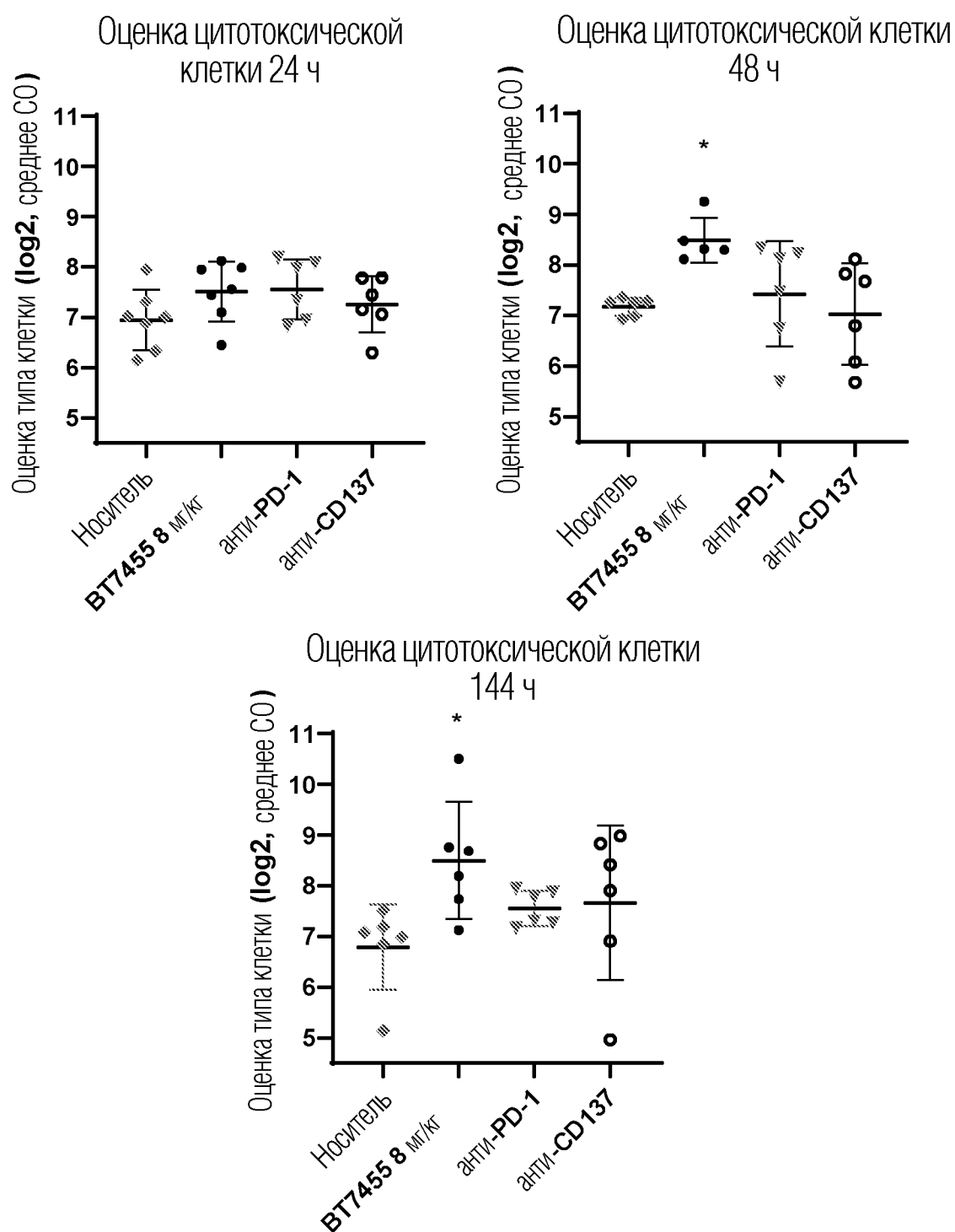
ФИГ. 10



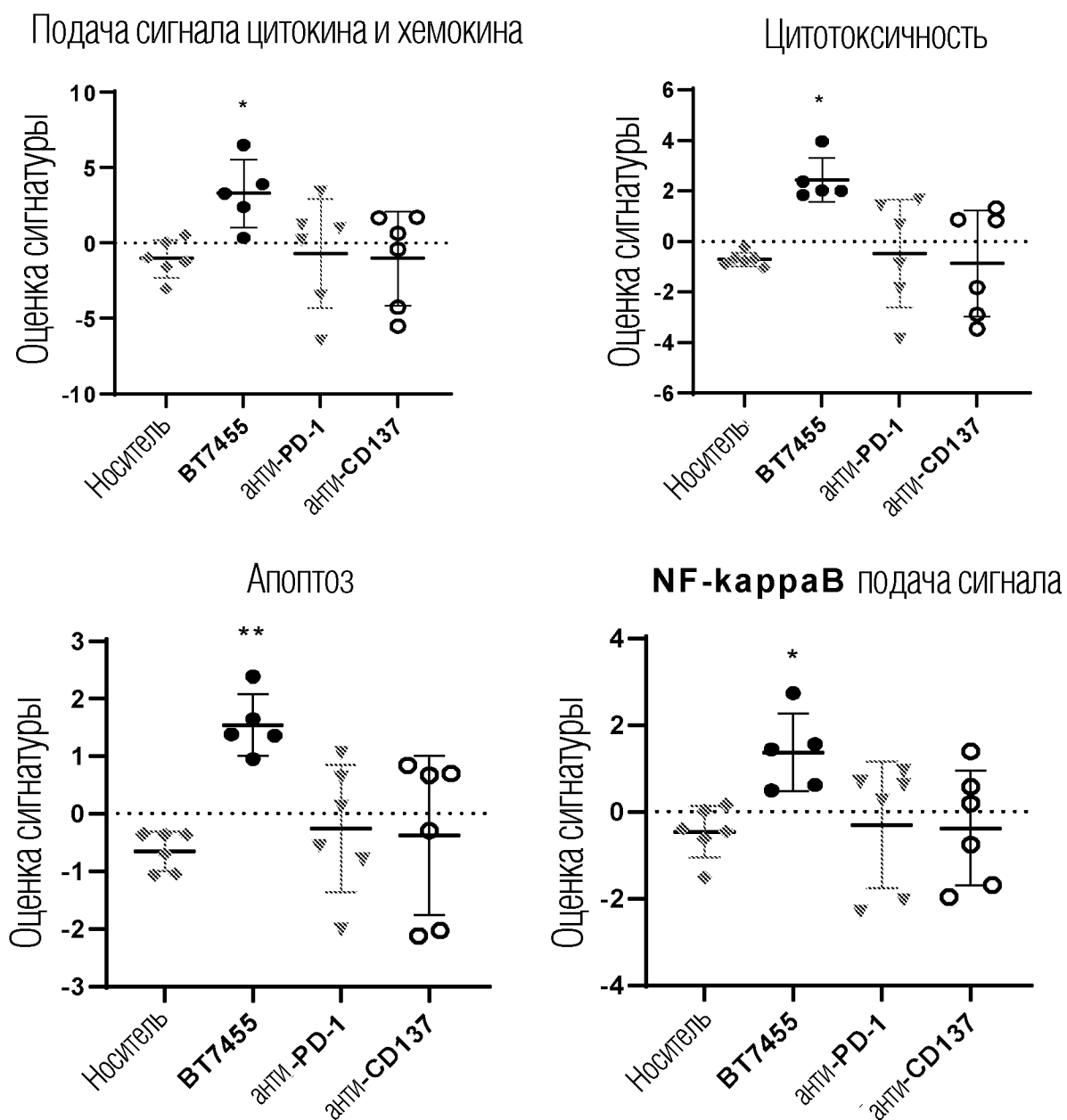
ФИГ. 10 (продолжение)



ФИГ. 11



ФИГ. 12



ФИГ. 13