



## **СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ РАКА КОНЮГАТАМИ АНТИТЕЛО-ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО (ADC), СВЯЗЫВАЮЩИМИСЯ С БЕЛКАМИ 191P4D12**

### **ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

**[0001]** Данная заявка испрашивает приоритет заявки США № 63/090272, поданной 11 октября 2020 года, заявки США № 63/148038, поданной 10 февраля 2021 года, и заявки США № 63/193493, поданной 26 мая 2021 года, описание каждой из которых включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

### **ССЫЛКА НА ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ, ПРЕДСТАВЛЕННЫЙ В ЭЛЕКТРОННОМ ВИДЕ**

**[0002]** Данная заявка содержит список последовательностей, который подан в электронном виде через EFS-Web в виде перечня последовательностей в формате ASCII с именем файла «14369-270-228\_SEQ\_LISTING.txt», датой создания 23 сентября 2021 г. и размером 39 755 байт. Перечень последовательностей, представленный через EFS-Web, является частью описания и полностью включен в данный документ посредством ссылки.

#### **1. Область техники**

**[0003]** В данном документе предложены способы лечения рака с помощью конъюгатов антитело-лекарственное средство (ADC), которые связываются с белком 191P4D12 (нектин-4).

#### **2. Уровень техники**

**[0004]** Рак является основной причиной смерти в США для людей в возрасте от 35 до 65 лет и второй по значимости причиной смерти во всем мире. По оценкам, в 2019 г. в США будет примерно 1,7 миллиона новых случаев рака и примерно 610000 смертей от рака (Национальный институт рака. 2019. Факты о статистике рака: рак любой локализации [seer.cancer.gov/statfacts/html/all.html](http://seer.cancer.gov/statfacts/html/all.html). Доступ 5 июня 2019). По оценкам, в 2018 году во всем мире было зарегистрировано 18,1 миллиона новых случаев рака и примерно 9,6 миллиона смертей от рака в 2018 году (Всемирная организация здравоохранения. Пресс-релиз. Сентябрь 2018. [who.int/cancer/PRGlobocanFinal.pdf](http://who.int/cancer/PRGlobocanFinal.pdf). Доступ 5 июня 2019). Большинство смертей в настоящее время происходит у пациентов с метастатическим раком. Фактически, за последние 20 лет достижения в лечении, включая хирургию, лучевую терапию и адъювантную химиотерапию, позволили вылечить большинство пациентов с локализованным раком. Пациенты, у которых рак проявлялся или рецидивировал как

метастатическое заболевание, получали лишь небольшую пользу от традиционных методов лечения с точки зрения общей выживаемости (OS - overall survival) и редко излечивались.

**[0005]** Новые терапевтические стратегии для запущенных и/или метастатических видов рака включают воздействие на молекулярные пути, важные для выживания раковых клеток, и новые цитотоксические соединения. Преимущество этих новых препаратов выражается в увеличении продолжительности жизни; тем не менее, исход для большинства пациентов с отдаленными метастазами все еще плохой, и необходимы новые методы лечения.

**[0006]** 191P4D12 (который также известен как нектин-4) представляет собой трансмембранный белок типа I с молекулярной массой 66 кДа, который принадлежит к семейству молекул адгезии нектина. Он состоит из внеклеточного домена (ECD), содержащего 3 иммуноглобулиноподобных (Ig) субдомена, трансмембранной спирали и внутриклеточной области (Takai *et al.*, *Annu Rev Cell Dev Biol* (2008); 24: 309-42). Считается, что нектин-4 опосредует  $Ca^{2+}$ -независимую межклеточную адгезию посредством как гомофильных, так и гетерофильных транс-взаимодействий в соединениях адгезивов, где они могут рекрутировать кадгерин-1 и модулировать перестройки цитоскелета (Rikitake *et al.*, *Cell Mol Life Sci* (2008); 65(2): 253-63.). Идентичность последовательности нектин-4 другим членам семейства нектин-4 низкая и колеблется от 25 % до 30 % в ECD (Reymond *et al.*, *Biol Chem* (2001); 276(46): 43205-15).

**[0007]** 3 Ig-подобных субдомена в ECD нектин-4 обозначены как V, C1 и C2. Домен C1 отвечает за цис-взаимодействие (гомодимеризацию), в то время как домены V большинства молекул нектин-4 способствуют транс-взаимодействию и межклеточной адгезии (Mandai *et al.*, *Curr Top Dev Biol* (2015); 112: 197-231; Takai *et al.*, *Nat Rev Mol Cell Biol* (2008); 9(8): 603-15.).

**[0008]** Нектин-4 был первоначально идентифицирован с помощью биоинформатики и клонирован из трахеи человека (Reymond *et al.*, *J Biol Chem* (2001) 276(46): 43205-15.). Нектин-4 был идентифицирован как заметно повышенный при уротелиальном раке с использованием субтрактивной гибридной библиотеки на пуле образцов уротелиального рака. Характеристика экспрессии в нескольких образцах опухолей как на уровне рибонуклеиновой кислоты (РНК), так и с помощью иммуногистохимии (ИГХ) также продемонстрировала высокие уровни нектин-4 при раке молочной железы, поджелудочной железы, легких и других видах рака (Challita-Eid *et al.*, *Cancer Res* (2016); 76(10): 3003-13.).

**[0009]** Было обнаружено, что нектин-4 экспрессируется при многих видах рака, особенно при раке мочевого пузыря, молочной железы, легких, поджелудочной железы и

яичников. Более высокие уровни экспрессии связаны с прогрессированием заболевания и/или неблагоприятным прогнозом (Fabre-Lafay *et al.*, *BMC Cancer* (2007); 7:73).

**[0010] Уротелиальный рак**

**[0011]** По данным Международного агентства по изучению рака (IARC), уротелиальный рак ежегодно убивает более 165 000 пациентов и является девятым по распространенности раком в мире. Ежегодно в Европе диагностируется приблизительно 151 000 новых случаев уротелиального рака, при этом ежегодно умирает 52 000 человек. Ежегодно в Японии диагностируется более 22 000 новых случаев заболевания, при этом 7 600 случаев смерти ежегодно (Cancer Fact Sheets: All cancers excluding Non-Melanoma Skin. International Agency for Research on Cancer 2017. Доступно по адресу [gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers?cancer=29&type=0&sex=0](http://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers?cancer=29&type=0&sex=0). Доступ 19 декабря 2017). По оценкам Национального института рака, в 2016 году было диагностировано приблизительно 77 000 новых случаев уротелиального рака, и более 16 000 человек умерли от этого заболевания только в Соединенных Штатах (США) (National Cancer Institute (2016). SEER Cancer Statistics Factsheets: Bladder cancer. <https://seer.cancer.gov/statfacts/html/urinb.html> Accessed: November 30, 2016). Метастатический уротелиальный рак имеет 5-летнюю смертность, превышающую 85 %.

**[0012]** Уротелиальный рак является наиболее распространенным типом рака мочевого пузыря (90 процентов случаев), и его также можно обнаружить в уротелиальных клетках, выстилающих почечную лоханку (где моча скапливается внутри почки), мочеточнике (трубке, соединяющей почки с мочевым пузырем) и уретры.

**[0013]** Терапия первой линии метастатического уротелиального рака у пациентов с достаточной функцией почек состоит из комбинаций на основе цисплатина, таких как метотрексат, винбластин, доксорубин и цисплатин (MVAC) или гемцитабин плюс цисплатин, которые демонстрируют общую частоту ответа до 50%, включая приблизительно 10-15 % полного ответа (CR - complete response) (Bellmunt J, *et al.*, *Ann Oncol* (2011)22(Suppl. 6): vi45-9.). Несмотря на первоначальную химиочувствительность, пациенты не излечиваются, а исход метастатического уротелиального рака после этих режимов неблагоприятный: медиана времени до прогрессирования составляет всего 7 месяцев, а медиана общей выживаемости (OS) составляет 14 месяцев. Приблизительно 15 % пациентов выживают не менее 5 лет, и прогноз является особенно неблагоприятным среди пациентов с висцеральными метастазами, у которых 5-летняя выживаемость составляет 7 %. (von der Maase H, *et al.*, *J Clin Oncol*. 2005;23:4602-8).

**[0014]** Почти половина больных уротелиальным раком не подходит для химиотерапии,

содержащей цисплатин, из-за нарушения функции почек, плохого функционального состояния или сопутствующей патологии (Dash *et al.* Cancer (2006);107(3): 506-13). В этих условиях долгосрочная выживаемость еще ниже (De Santis *et al.* J Clin Oncol (2009); 27(33): 5634-9). В апреле 2017 года Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (FDA) одобрило ингибитор иммунных контрольных точек (CPI) против лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1) атезолизумаба (TECENTRIQ®) в качестве терапии первой линии для пациентов, которые не подходят для лечения цисплатином. Ускоренное одобрение было основано на открытом исследовании с одной группой, которое показало длительную продолжительность ответа, что указывает на активность в этой трудно поддающейся лечению популяции с объективной частотой ответа (ORR - objective response rate) 23 %, которая была одинаковой для разных уровней целевого уровня экспрессии. Медиана OS для этих пациентов составила 15,9 месяцев, хотя это исследование с одной группой, и любое преимущество в OS должно быть подтверждено в рандомизированном эксперименте (Balag *et al.*, Lancet (2017); 389(10064): 67-76).

**[0015]** Пембролизумаб (Keytruda®) получил ускоренное одобрение FDA в мае 2017 г. в качестве препарата первой линии для пациентов, которые не подходят для лечения цисплатином. Утверждение было основано на открытом исследовании одной группы с участием 370 пациентов, показавшем ORR 29 % (Keytruda Prescribed Information, Merck, май 2017 г.).

**[0016]** Другие варианты для пациентов, не подходящих для лечения цисплатином первой линии, обычно включают схемы на основе карбоплатина или монотерапии таксаном или гемцитабином (Cathomas *et al.*, Hematol Oncol Clin North Am (2015); 29(2): 329-40.).

**[0017]** Существует несколько вариантов лечения второй линии метастатического заболевания. В Европейском союзе низкомолекулярный ингибитор тубулина винфлунин (Javlor®) был разрешен в 2009 г. на основании умеренной активности (общая частота ответа 9 %), умеренного улучшения выживаемости в течение 2 месяцев (6,9 месяцев для винфлунина + наилучшая поддерживающая терапия (BSC) по сравнению с 4,6 месяцами для одного BSC, коэффициент опасности 0,88) и благоприятный профиль безопасности (Bellmunt *et al.* Clin Oncol (2009); 27(27): 4454-61). В мае 2016 года FDA в ускоренном порядке одобрило атезолизумаб в качестве первой терапии спасения после препаратов платины для лечения местнораспространенной или метастатической уротелиальной карциномы в США, после чего в сентябре 2017 года он был одобрен в ЕС. В феврале 2017 г. ниволумаб (Opdivo®) стал вторым препаратом иммунотерапии, получившим ускоренное одобрение FDA, за которым последовало одобрение ЕС в июне 2017 г. В марте и мае 2017

г. FDA предоставило ускоренное одобрение авелумабу (Bavencio®) и дурвалумабу (Imfinzi™) соответственно, оба антитела, блокирующие PD-L1, показаны для лечения пациентов с местнораспространенной или метастатической уротелиальной карциномой, у которых заболевание прогрессирует во время или после химиотерапии, содержащей платину, или прогрессирование заболевания в течение 12 месяцев неоадъювантного или адъювантного лечения химиотерапией, содержащей платину. Пембролизумаб получил очередное одобрение FDA в мае 2017 г. в качестве препарата второй линии (Keytruda Prescribing Information, Merck, May 2017). Утверждение было основано на первом рандомизированном опыте применения CPI при местнораспространенном или метастатическом постплатиновом уротелиальном раке, исследовании фазы 3 у 542 пациентов, показавших общую выживаемость 10,3 месяца по сравнению с 7,4 месяца при химиотерапии таксанами или винфлунином. Кроме того, ORR составила 21 % для пембролизумаба и 11 % для химиотерапии. Статистически значимой разницы в выживаемости без прогрессирования заболевания (PFS) между двумя группами не наблюдалось (Bellmunt *et al.*, N Engl J Med (2017);376(11): 1015-26). Разрешение ЕС для того же показания было получено в сентябре 2017 года, а одобрение Японии — в январе 2018 года. Другие ингибиторы белка запрограммированной гибели клеток 1 (PD-1) и PD-L1 в настоящее время проходят клинические испытания при уротелиальном раке в качестве терапии первой и второй линии (Mullane *et al.*, Curr Opin Urol (2016);26(6): 556-63).

**[0018]** В то время как CPI предлагают новый подход к лечению метастатического уротелиального рака, ответ опухоли наблюдается у меньшинства пациентов, а улучшение долгосрочной выживаемости составляет всего несколько месяцев. Например, в мае 2017 г. компания Roche объявила, что подтверждающее исследование фазы 3 атезолизумаба второй линии не достигло первичной конечной точки OS (Roche, пресс-релиз «Roche предоставляет обновленную информацию об исследовании фазы III препарата Tecentriq (атезолизумаб) у людей с ранее леченным распространенным раком мочевого пузыря», 10 мая 2017 г.). Большинство пациентов с местнораспространенным или метастатическим уротелиальным раком не реагируют на CPI, и у многих из них в конечном итоге развивается прогрессирование заболевания (Rosenberg *et al.*, Lancet (2016); 387(10031): 1909-20). Новые методы лечения все еще необходимы, особенно для пациентов, которые не ответили на CPI или которые имели прогрессирование после CPI терапии.

**[0019]** В настоящее время никакие методы лечения не одобрены для пациентов, ранее получавших CPI. Хотя таксаны не одобрены в этих условиях, они являются обычным выбором для лечения третьей линии (и были стандартным лечением второй линии до того,

как был одобрен атезолизумаб). Частота ответа на таксаны в качестве терапии второй линии составляет приблизительно 10 %, с выживаемостью без прогрессирования (PFS - progression-free survival) и общей выживаемостью всего 3,3 месяца и 7,4 месяца соответственно (Bellmunt *et al.*, N Engl J Med (2017);376(11): 1015-26). В настоящее время нет данных о клинической активности таксанов в условиях третьей линии после терапии СРІ.

**[0020]** Отсутствие одобренных способов лечения пациентов с метастатическим уротелиальным раком после лечения с помощью СРІ и ограниченная активность, наблюдаемая при химиотерапии второй линии, адекватно демонстрируют, что у этой популяции имеются значительные неудовлетворенные медицинские потребности.

### **[0021] Рак мочевого пузыря**

**[0022]** Из всех новых случаев рака в Соединенных Штатах рак мочевого пузыря составляет примерно 5 процентов у мужчин (пятое по распространенности новообразование) и 3 процента у женщин (восьмое по распространенности новообразование). Заболеваемость растет медленно, одновременно с увеличением пожилого населения. По оценкам Американского онкологического общества (cancer.org), ежегодно регистрируется 81400 новых случаев, в том числе 62100 у мужчин и 19300 у женщин, что составляет 4,5 % всех случаев рака. Заболеваемость с поправкой на возраст в Соединенных Штатах составляет 20 на 100000 для мужчин и женщин. По оценкам, ежегодно от рака мочевого пузыря умирает 17980 человек (13050 мужчин и 4930 женщин), что составляет 3 % смертей, связанных с раком. Заболеваемость и смертность от рака мочевого пузыря сильно увеличиваются с возрастом и будут становиться все более серьезной проблемой по мере старения населения. В 2020 году во всем мире приблизительно у 580 000 человек будет диагностирован рак мочевого пузыря, и приблизительно 210 000 случаев смерти во всем мире будут связаны с раком мочевого пузыря.

**[0023]** Большинство случаев рака мочевого пузыря рецидивируют в мочевом пузыре. Рак мочевого пузыря лечат с помощью комбинации трансуретральной резекции (TUR - transurethral resection) мочевого пузыря и внутривезикулярной химиотерапии или иммунотерапии. Многоочаговый и рецидивирующий характер рака мочевого пузыря указывает на ограничения TUR. Большинство мышечно-инвазивных видов рака не излечиваются только с помощью TUR. Радикальная цистэктомия и отведение мочи являются наиболее эффективными средствами для устранения рака, но оказывают неоспоримое влияние на мочевыделительную и половую функции. По-прежнему

существует значительная потребность в методах лечения, пригодных для пациентов с раком мочевого пузыря.

**[0024]** Существует значительная потребность в дополнительных терапевтических способах лечения для уротелиального рака и рака мочевого пузыря. К ним относятся использование антител и конъюгатов антител с лекарственными средствами в качестве способов лечения.

### **3. Сущность изобретения**

**[0025]** В данном документе предложены способы лечения различных видов рака у субъектов-людей, включая субъектов с ранее леченным местнораспространенным или метастатическим уротелиальным раком, с использованием конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC), который связывает 191P4D12.

**[0026]** В определенных вариантах осуществления предыдущее лечение включает ингибитор иммунной контрольной точки (CPI). В других вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходит для лечения цисплатином. В других вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходит для лечения цисплатином и ранее получал лечение CPI (например, ингибитором PD1 или PDL1).

**[0027]** Вариант осуществления 1. Способ профилактики или лечения рака у субъекта-человека, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитело-лекарственное средство,

причем конъюгат антитело-лекарственное средство содержит антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, конъюгированное с одной или более единицами монометилауристатина E (MMAE);

при этом у субъекта имеется уротелиальный рак или рак мочевого пузыря;

при этом субъект получил терапию ингибитором иммунной контрольной точки (CPI);

при этом субъект не подходит для получения лечения цисплатином (не подходящий для лечения цисплатином).

**[0028]** Вариант осуществления 2. Способ по варианту осуществления 1, отличающийся тем, что субъект, не подходящий для лечения цисплатином, представляет собой субъекта, ранее не получавшего препарат платину.

**[0029]** Вариант осуществления 3. Способ по варианту осуществления 1 или 2, отличающийся тем, что субъект, ранее не получавший платину, представляет собой

субъекта, который получал платину в адъювантной или неоадъювантной терапии и у которого не наблюдалось прогресса в течение 12 месяцев после завершения лечения препаратом платины.

**[0030]** Вариант осуществления 4. Способ по варианту осуществления 1 или 2, отличающийся тем, что субъект, ранее не получавший препарат платины, представляет собой субъекта, который ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании.

**[0031]** Вариант осуществления 5. Способ по любому из вариантов осуществления 1–4, отличающийся тем, что у субъекта, не подходящего для лечения цисплатином, имеется одно или более состояний, выбранных из группы, состоящей из: оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2 балла, нарушения функции почек и потери слуха не ниже 2 степени.

**[0032]** Вариант осуществления 6. Способ по варианту осуществления 5, отличающийся тем, что нарушение функции почек определяют по клиренсу креатинина (CrCl) менее 60 мл/мин.

**[0033]** Вариант осуществления 7. Способ по варианту осуществления 5, отличающийся тем, что нарушение функции почек определяют по CrCl менее 60, но не менее 30 мл/мин.

**[0034]** Вариант осуществления 8. Способ по варианту осуществления 5, отличающийся тем, что нарушение функции почек определяют по CrCl менее 30, но не менее 15 мл/мин.

**[0035]** Вариант осуществления 9. Способ по любому из вариантов осуществления 1-8, отличающийся тем, что у субъекта, не подходящего для лечения цисплатином, наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии.

**[0036]** Вариант осуществления 10. Способ по любому из вариантов осуществления 1-8, отличающийся тем, что у субъекта, не подходящего для лечения цисплатином, наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии СРІ.

**[0037]** Вариант осуществления 11. Способ по любому из вариантов осуществления 1-10, отличающийся тем, что у субъекта имеется первичная локализация опухоли в нижних мочевых путях.

**[0038]** Вариант осуществления 12. Способ по любому из вариантов осуществления 1-10, отличающийся тем, что у субъекта имеется первичная локализация опухоли в верхних мочевых путях.

**[0039]** Вариант осуществления 13. Способ по любому из вариантов осуществления 1-12, отличающийся тем, что у субъекта имеются висцеральные метастазы.

**[0040]** Вариант осуществления 14. Способ по любому из вариантов осуществления 1-13, отличающийся тем, что у субъекта имеются метастазы в печени.

**[0041]** Вариант осуществления 15. Способ по любому из вариантов осуществления 1-14, отличающийся тем, что у субъекта имеется по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта.

**[0042]** Вариант осуществления 16. Способ по любому из вариантов осуществления 1-15, отличающийся тем, что у субъекта имеется одно или более состояний, выбранных из группы, состоящей из:

(i) абсолютного числа нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ ,

(ii) количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ ;

(iii) уровня гемоглобина не менее 9 г/дл;

(iv) уровня сывороточного билирубина не более чем в 1,5 раза выше верхней границы нормы (ULN) или в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера;

(v) уровня CrCl не менее 30 мл/мин и

(vi) уровней аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы не более чем в 3 раза выше ULN.

**[0043]** Вариант осуществления 17. Способ по варианту осуществления 16, отличающийся тем, что у субъекта имеются все состояния (i)-(vi) варианта осуществления 16.

**[0044]** Вариант осуществления 18. Способ по любому из вариантов осуществления 6-8, 16 и 17, отличающийся тем, что CrCl измеряют путем сбора мочи за 24 часа или оценивают по критериям Кокрофта-Голта.

**[0045]** Вариант осуществления 19. Способ по любому из вариантов осуществления 1-18, отличающийся тем, что у субъекта сенсорная или моторная невропатия не выше 2 степени.

**[0046]** Вариант осуществления 20. Способ по любому из вариантов осуществления 1-19 отличающийся тем, что у субъекта нет активных метастазов в центральной нервной системе.

**[0047]** Вариант осуществления 21. Способ по любому из вариантов осуществления 1-20, отличающийся тем, что у субъекта нет неконтролируемого диабета.

**[0048]** Вариант осуществления 22. Способ по варианту осуществления 21

отличающийся тем, что неконтролируемый диабет определяется гемоглобином A1c (HbA1c) не менее 8 % или HbA1c от 7 до 8 % с сопутствующими симптомами диабета, которые иначе не объясняются.

**[0049]** Вариант осуществления 23. Способ по варианту осуществления 22, отличающийся тем, что ассоциированные симптомы диабета включают или состоят из полиурии, полидипсии или как полиурии, так и полидипсии.

**[0050]** Вариант осуществления 24. Способ по любому из вариантов осуществления 1-23, отличающийся тем, что у субъекта имеется местнораспространенный или метастатический уротелиальный рак.

**[0051]** Вариант осуществления 25. Способ по любому из вариантов осуществления 1-23, отличающийся тем, что у субъекта имеется местнораспространенный или метастатический рак мочевого пузыря.

**[0052]** Вариант осуществления 26. Способ по любому из вариантов осуществления 1-25, отличающийся тем, что CPI-терапия представляет собой терапию ингибитором рецептора запрограммированной смерти-1 (PD-1).

**[0053]** Вариант осуществления 27. Способ по любому из вариантов осуществления 1-25, отличающийся тем, что терапия CPI представляет собой терапию ингибитором лиганда запрограммированной смерти 1 (PD-L1).

**[0054]** Вариант осуществления 28. Способ по любому из вариантов осуществления 26, отличающийся тем, что ингибитор PD-1 представляет собой ниволумаб или пембролизумаб.

**[0055]** Вариант осуществления 29. Способ по варианту осуществления 27, отличающийся тем, что ингибитор PD-L1 выбран из группы, состоящей из атезолизумаба, авелумаба и дурвалумаба.

**[0056]** Вариант осуществления 30. Способ по любому из вариантов осуществления 1-29, отличающийся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую определяющие комплементарность области (CDR), содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 22 и переменную область легкой цепи, содержащей CDR, содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 23.

**[0057]** Вариант осуществления 31. Способ по любому из вариантов осуществления 1-30, отличающийся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9, CDR-H2,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10, CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:11; CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14, или при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18; CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21.

**[0058]** Вариант осуществления 32. Способ по любому из вариантов осуществления 1–30, отличающийся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR-H1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, CDR-H2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10, CDR-H3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:11; CDR-L1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12, CDR-L2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13, и CDR-L3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:14, или при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR-H1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:16, CDR-H2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17, CDR-H3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:18; CDR-L1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19, CDR-L2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:20, и CDR-L3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:21.

**[0059]** Вариант осуществления 33. Способ по любому из вариантов осуществления 1-32, отличающийся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23.

**[0060]** Вариант осуществления 34. Способ по любому из вариантов осуществления 1-33, отличающийся тем, что антитело содержит тяжелую цепь, содержащую

аминокислотную последовательность в диапазоне от 20-й аминокислоты (глутаминовая кислота) до 466-й аминокислоты (лизин) SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность в диапазоне от 23-й аминокислоты (аспарагиновая кислота) до 236-й аминокислоты (цистеин) SEQ ID NO: 8.

**[0061]** Вариант осуществления 35. Способ по любому из вариантов осуществления 1-33, отличающийся тем, что антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fv или scFv.

**[0062]** Вариант осуществления 36. Способ по любому из вариантов осуществления 1-34, отличающийся тем, что антитело представляет собой полностью человеческое антитело.

**[0063]** Вариант осуществления 37. Способ по любому из вариантов осуществления 1-34 и 36, отличающийся тем, что антитело представляет собой IgG1, а легкая цепь представляет собой легкую каппа-цепь.

**[0064]** Вариант осуществления 38. Способ по любому из вариантов осуществления 1-37, отличающийся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент получают рекомбинантным путем.

**[0065]** Вариант осуществления 39. Способ по любому из вариантов осуществления 1-38, отличающийся тем, что антитело или антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с каждой единицей MMAE посредством линкера.

**[0066]** Вариант осуществления 40. Способ по варианту осуществления 39, отличающийся тем, что линкер представляет собой расщепляемый ферментом линкер, и при этом линкер образует связь с атомом серы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

**[0067]** Вариант осуществления 41. Способ по варианту осуществления 39 или 40, отличающийся тем, что линкер имеет формулу:  $-Aa-Ww-Yu-$ ; где  $-A-$  представляет собой растягиваемую единицу,  $a$  имеет значение 0 или 1;  $-W-$  представляет собой аминокислотную единицу,  $w$  представляет собой целое число от 0 до 12;  $a$   $-Y-$  является спейсерной единицей,  $u$  имеет значение 0, 1 или 2.

**[0068]** Вариант осуществления 42. Способ по варианту осуществления 41, отличающийся тем, что растягиваемая единица имеет структуру Формулы (1) ниже; аминокислотная единица представляет собой валин-цитруллин; и спейсерная единица представляет собой группу PAB, имеющую структуру Формулы (2) ниже:



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

**[0075]** Вариант осуществления 49. Способ по варианту осуществления 48, отличающийся тем, что r имеет значение от 2 до 8.

**[0076]** Вариант осуществления 50. Способ по варианту осуществления 48 или 49, отличающийся тем, что r имеет значение от 3 до 5.

**[0077]** Вариант осуществления 51. Способ по любому из вариантов осуществления 48-50, отличающийся тем, что r имеет значение от 3 до 4.

**[0078]** Вариант осуществления 52. Способ по любому из вариантов осуществления 48-51, отличающийся тем, что r имеет значение около 4.

**[0079]** Вариант осуществления 53. Способ по любому из вариантов осуществления 48-51, отличающийся тем, что среднее значение r эффективного количества конъюгатов антитело-лекарственное средство составляет около 3,8.

**[0080]** Вариант осуществления 54. Способ по любому из вариантов осуществления 1-53, отличающийся тем, что ADC вводят в дозе от около 1 до около 10 мг/кг массы тела субъекта, от около 1 до около 5 мг/кг массы тела субъекта, от около 1 до около 2,5 мг/кг массы тела субъекта или от около 1 до около 1,25 мг/кг массы тела субъекта.

**[0081]** Вариант осуществления 55. Способ по любому из вариантов осуществления 1-54, отличающийся тем, что ADC вводят в дозе около 0,25 мг/кг, около 0,5 мг/кг, около 0,75 мг/кг, около 1,0 мг/кг, около 1,25 мг/кг, около 1,5 мг/кг, около 1,75 мг/кг, около 2,0 мг/кг, около 2,25 мг/кг или около 2,5 мг/кг массы тела субъекта.

**[0082]** Вариант осуществления 56. Способ по любому из вариантов осуществления 1-55, отличающийся тем, что ADC вводят в дозе около 1 мг/кг массы тела субъекта.

**[0083]** Вариант осуществления 57. Способ по любому из вариантов осуществления 1-55, отличающийся тем, что ADC вводят в дозе около 1,25 мг/кг массы тела субъекта.

**[0084]** Вариант осуществления 58. Способ по любому из вариантов осуществления 1-57 отличающийся тем, что ADC вводят посредством внутривенной (в/в) инъекции или инфузии.

**[0085]** Вариант осуществления 59. Способ по любому из вариантов осуществления 1-58, отличающийся тем, что ADC вводят путем внутривенной инъекции или инфузии три раза в каждом четырехнедельном цикле.

**[0086]** Вариант осуществления 60. Способ по любому из вариантов осуществления 1-59, отличающийся тем, что ADC вводят путем внутривенной инъекции или инфузии в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла.

**[0087]** Вариант осуществления 61. Способ по любому из вариантов осуществления 1-60, отличающийся тем, что ADC вводят посредством внутривенной инъекцией или инфузии в течение около 30 минут три раза в каждом четырехнедельном цикле.

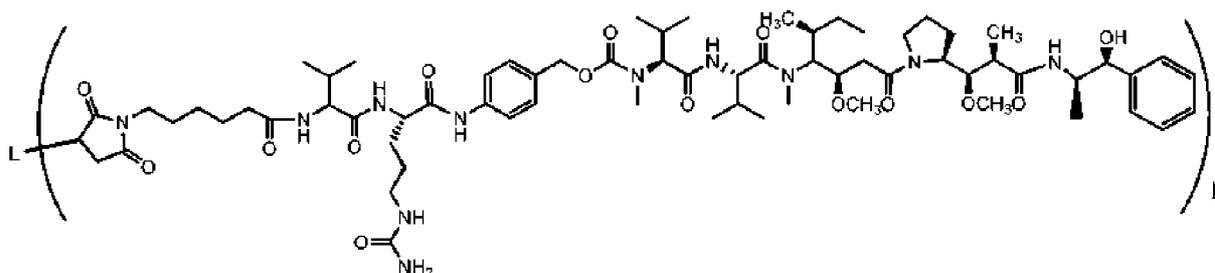
**[0088]** Вариант осуществления 62. Способ по любому из вариантов осуществления 1-61 отличающийся тем, что ADC вводят путем внутривенной инъекции или инфузии в течение около 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла.

**[0089]** Вариант осуществления 63. Способ по любому из вариантов осуществления 1-62, отличающийся тем, что ADC представлен в виде фармацевтической композиции, содержащей L-гистидин, полисорбат-20 (TWEEN-20) и дегидрат трегалозы.

**[0090]** Вариант осуществления 64. Способ по любому из вариантов осуществления 1-63, отличающийся тем, что ADC представлен в виде фармацевтической композиции, содержащей около 20 мМ L-гистидина, около 0,02 % (масс./об.) TWEEN-20, около 5,5 % (масс./об.) дигидрата трегалозы и гидрохлорида, и при этом pH фармацевтической композиции составляет около 6,0 при 25 °С.

**[0091]** Вариант осуществления 65. Способ по любому из вариантов осуществления 1-63, отличающийся тем, что ADC представлен в виде фармацевтической композиции, содержащей около 9 мМ гистидина, около 11 мМ моногидрата гидрохлорида гистидина, около 0,02 % (масс./об.) TWEEN-20 и около 5,5 % (масс./об.) дигидрата трегалозы, и при этом pH фармацевтической композиции составляет около 6,0 при 25 °С.

**[0092]** Вариант осуществления 66. Способ по любому из вариантов осуществления 1-65, отличающийся тем, что ADC имеет следующую структуру:



где L- представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, и р равно от около 3 до около 4, антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность в диапазоне от 20-й аминокислоты (глутаминовая кислота) до 466-й аминокислоты (лизин) SEQ ID NO:7 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность в диапазоне от 23-й аминокислоты (аспарагиновая кислота) до 236-й аминокислоты (цистеин) SEQ ID NO:8, причем ADC вводят в дозе около 1,25 мг/кг массы тела субъекта, при этом дозу вводят путем внутривенной инъекцией или

инфузии в течение около 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла.

**[0093]** Вариант осуществления 67. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается полный ответ после лечения.

**[0094]** Вариант осуществления 68. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается частичный ответ после лечения.

**[0095]** Вариант осуществления 69. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается полный ответ или частичный ответ после лечения.

**[0096]** Вариант осуществления 70. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается стабильное заболевание после лечения.

**[0097]** Вариант осуществления 71. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что продолжительность ответа у субъекта составляет по меньшей мере или около 10 месяцев после лечения.

**[0098]** Вариант осуществления 72. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что продолжительность ответа у субъекта составляет от 5 до 22 месяцев после лечения.

**[0099]** Вариант осуществления 73. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что субъект имеет выживаемость без прогрессирования заболевания в течение по меньшей мере или около 5 месяцев после лечения.

**[00100]** Вариант осуществления 74. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что субъект имеет выживаемость без прогрессирования заболевания в диапазоне от 5 до 9 месяцев после лечения.

**[00101]** Вариант осуществления 75. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что общая выживаемость субъекта после лечения составляет по меньшей мере или около 14 месяцев.

**[00102]** Вариант осуществления 76. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что общая выживаемость субъекта после лечения составляет от 10 до 19 месяцев.

**[00103]** Вариант осуществления 77. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом процент субъектов, имеющих полный ответ, в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 20 %.

**[00104]** Вариант осуществления 78. Способ по любому из вариантов осуществления

1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 31 %.

**[00105]** Вариант осуществления 79. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 51 %.

**[00106]** Вариант осуществления 80. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 40 % до 63 %.

**[00107]** Вариант осуществления 81. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 30 %.

**[00108]** Вариант осуществления 82. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66 отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом медианная продолжительность ответа в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 10 месяцев.

**[00109]** Вариант осуществления 83. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66 отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом продолжительность ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 5 до 22 месяцев.

**[00110]** Вариант осуществления 84. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом медиана выживаемости без прогрессирования в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 5 месяцев.

**[00111]** Вариант осуществления 85. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом выживаемость без прогрессирования заболевания в популяции, получавшей лечение, составляет от 5 до 9 месяцев.

**[00112]** Вариант осуществления 86. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом медиана общей выживаемости в популяции, получавшей лечение, составляет по

меньшей мере или около 14 месяцев.

**[00113]** Вариант осуществления 87. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66 отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом общая выживаемость в популяции, получавшей лечение, составляет от 10 до 19 месяцев.

**[00114]** Вариант осуществления 88. Способ по любому из вариантов осуществления 1-67 и 69, отличающийся тем, что частота полного ответа составляет по меньшей мере или около 20 % для популяции субъектов, получавших лечение способом.

**[00115]** Вариант осуществления 89. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, 68 и 69, отличающийся тем, что частота частичного ответа составляет по меньшей мере или около 31 % для популяции субъектов, получавших лечение способом.

**[00116]** Вариант осуществления 90. Способ по любому из вариантов осуществления 1-69, отличающийся тем, что частота объективного ответа составляет по меньшей мере или около 51 % для популяции субъектов, получавших лечение способом.

**[00117]** Вариант осуществления 91. Способ по любому из вариантов осуществления 1-69, отличающийся тем, что частота объективного ответа составляет от 40 % до 63 % для популяции субъектов, получавших лечение способом.

**[00118]** Вариант осуществления 92. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66 и 70, отличающийся тем, что частота стабильного заболевания составляет по меньшей мере или около 30 % для популяции субъектов, получавших лечение способом.

**[00119]** Вариант осуществления 93. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, 71 и 72, отличающийся тем, что медианная продолжительность ответа составляет по меньшей мере или около 10 месяцев для популяции субъектов, получавших лечение способом.

**[00120]** Вариант осуществления 94. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, 71 и 72, отличающийся тем, что продолжительность ответа составляет от 5 до 22 месяцев для популяции субъектов, получавших лечение способом.

**[00121]** Вариант осуществления 95. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, 73 и 74, отличающийся тем, что медиана выживаемости без прогрессирования составляет по меньшей мере или около 5 месяцев для популяции субъектов, получавших лечение способом.

**[00122]** Вариант осуществления 96. Способ по варианту осуществления 1-66, 73 и 74, отличающийся тем, что выживаемость без прогрессирования составляет от 5 до 9 месяцев для популяции субъектов, получавших лечение способом.

[00123] Вариант осуществления 97. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, 75 и 76, отличающийся тем, что медиана общей выживаемости составляет по меньшей мере или около 14 месяцев для популяции субъектов, получавших лечение способом.

[00124] Вариант осуществления 98. Способ по любому из вариантов осуществления 1-66, 75 и 76, отличающийся тем, что общая выживаемость составляет от 10 до 19 месяцев для популяции субъектов, получавших лечение способом.

#### 4. Краткое описание графических материалов

[00125] На Фиг. 1A-1E изображены нуклеотидные и аминокислотные последовательности белка нектин-4 (Фиг. 1A), нуклеотидные и аминокислотные последовательности тяжелой цепи (Фиг. 1B) и легкой цепи (Фиг. 1C) Ha22-2(2.4)6.1, и аминокислотные последовательности тяжелой цепи (Фиг. 1D) и легкой цепи Ha22-2(2.4)6.1 (Фиг. 1E).

[00126] На Фиг. 2 изображен общий дизайн клинического исследования, описанного в разделе 6.1.

[00127] На Фиг. 3 изображена схема клинического исследования, которое представляет собой одностороннее открытое двухкогортное исследование метастатического уротелиального рака, как описано в разделе 6.1.

[00128] На Фиг. 4 изображена частота объективного ответа (ORR) в клиническом исследовании, описанном в разделе 6.1.

[00129] На Фиг. 5 изображен анализ подгруппы ORR в клиническом исследовании, описанном в разделе 6.1.

[00130] На Фиг. 6 изображена продолжительность ответа согласно слепому независимому центральному обзору в клиническом исследовании, описанном в разделе 6.1.

[00131] На Фиг. 7 изображено время до ответа и продолжительность ответа центрального обзора в клиническом исследовании, описанном в разделе 6.1.

[00132] На Фиг. 8 изображена выживаемость без прогрессирования согласно слепому независимому центральному обзору в клиническом исследовании, описанном в разделе 6.1.

[00133] На Фиг. 9 изображена общая выживаемость в клиническом исследовании, описанном в разделе 6.1.

[00134] На Фиг. 10 изображено распределение нектин-4 между ответившими и не ответившими по данным слепого независимого центрального обзора в клиническом исследовании, описанном в разделе 6.1.

[00135] На Фиг. 11 изображена продолжительность ответа (DOR) согласно слепому независимому центральному обзору в клиническом исследовании, описанном в разделе 6.1.

[00136] На **Фиг. 12** изображен анализ подгруппы ORR согласно слепому независимому центральному обзору в клиническом исследовании, описанном в разделе 6.1.

[00137] На **Фиг. 13** изображена выживаемость без прогрессирования согласно слепому независимому центральному обзору в клиническом исследовании, описанном в разделе 6.1.

[00138] На **Фиг. 14** изображена общая выживаемость в клиническом исследовании, описанном в разделе 6.1.

## **5. Подробное описание**

[00139] Перед дальнейшим описанием данного изобретения следует понимать, что изобретение не ограничено конкретными вариантами осуществления, изложенными в данном документе, и также следует понимать, что используемая в данном документе терминология предназначена только для описания конкретных вариантов осуществления и не предназначена для ограничения.

### **5.1 Определения**

[00140] Методы и процедуры, описанные или упомянутые в данном документе, включают те, которые в целом хорошо понятны и/или обычно используются специалистами в данной области с использованием традиционной методологии, например, широко используемые методологии, описанные в Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (3d ed. 2001); *Current Protocols in Molecular Biology* (Ausubel et al. eds., 2003); *Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic* (An ed. 2009); *Monoclonal Antibodies: Methods and Protocols* (Albitar ed. 2010); и *Antibody Engineering Vols 1 and 2* (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010).

[00141] Если в данном документе не указано иное, технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют значения, которые обычно понятны специалистам в данной области техники. Для целей интерпретации этого описания будет применяться следующее описание терминов, и, когда это уместно, термины, используемые в единственном числе, также будут включать множественное число, и наоборот. В случае, когда какое-либо из приведенных описаний терминов противоречит любому документу, включенному в данный посредством ссылки, приоритет имеет описание термина, приведенное ниже.

[00142] Термины «антитело», «иммуноглобулин» или «Ig» взаимозаменяемо употребляются в данном документе и используются в самом широком смысле и, в частности, включают, например, моноклональные антитела (включая агонистические, антагонистические, нейтрализующие антитела, полноразмерные или интактные

моноклональные антитела), композиции антител с полиэпитопной или моноэпитопной специфичностью, поликлональные или моновалентные антитела, поливалентные антитела, мультиспецифические антитела (*например*, биспецифические антитела при условии, что они проявляют необходимую биологическую активность), образованные по меньшей мере из двух интактных антител, одноцепочечные антитела и фрагменты антител, описанные ниже. Антитело может быть человеческим, гуманизированным, химерным и/или с созревшей аффинностью, а также антителом других видов, например мышинным и кроличьим, и *т.д.* Подразумевается, что термин «антитело» включает полипептидный продукт В-клеток в рамках иммуноглобулинового класса полипептидов, который способен связываться с конкретным молекулярным антигеном и состоит из двух идентичных пар полипептидных цепей, где каждая пара содержит одну тяжелую цепь (около 50–70 кДа) и одну легкую цепь (около 25 кДа), каждая аминоконцевая часть каждой цепи содержит переменную область от около 100 до около 130 или более аминокислот, а каждая карбокси-концевая часть содержит константную область. *См., например*, *Antibody Engineering* (Vorrebaeck ed., 2d ed. 1995); и *Kuby, Immunology* (3d ed. 1997). В конкретных вариантах осуществления конкретный молекулярный антиген может быть связан антителом, представленным в данном документе, включая полипептид или эпитоп. Антитела также включают, но не ограничиваются этим, синтетические антитела, рекомбинантно полученные антитела, верблюдообразованные антитела, интратела, антиидиотипические (анти-Id) антитела и функциональные фрагменты (*например*, антигенсвязывающие фрагменты) любых из вышеперечисленных антител, что относится к части полипептида тяжелой или легкой цепи антитела, которая сохраняет некоторую часть или всю активность связывания антитела, из которого был получен фрагмент. Неограничивающие примеры функциональных фрагментов (*например*, антигенсвязывающих фрагментов) включают одноцепочечные Fv (scFv) (*например*, включая моноспецифические, биспецифические и *т.д.*), фрагменты Fab, фрагменты F(ab'), фрагменты F(ab)<sub>2</sub>, фрагменты F(ab')<sub>2</sub>, дисульфид-связанные Fv (dsFv), фрагменты Fd, фрагменты Fv, диатело, триатело, тетратело и минитело. В частности, предложенные в данном документе антитела включают молекулы иммуноглобулина и иммунологически активные части молекул иммуноглобулина, например, антигенсвязывающие домены или молекулы, которые содержат антигенсвязывающий сайт, который связывается с антигеном (*например*, одна или более CDR антитела). Такие фрагменты антитела можно найти, например, в Harlow and Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (1989); *Mol. Biology and Biotechnology: A Comprehensive Desk Reference* (Myers ed., 1995); Huston *et al.*, 1993, *Cell*

Biophysics 22:189-224; Plückthun and Skerra, 1989, Meth. Enzymol. 178:497-515; и Day, Advanced Immunochemistry (2d ed. 1990). Предложенные в данном документе антитела могут принадлежать любому классу (*например*, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA) или любому подклассу (*например*, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) молекул иммуноглобулина. Антитела могут быть агонистическими антителами или антагонистическими антителами.

**[00143]** Термин «моноклональное антитело» относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, т.е. отдельные антитела, составляющие популяцию, являются идентичными, за исключением возможных встречающихся в природе мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высоко специфичными, при этом они направлены против одного антигенного сайта. В отличие от препаратов поликлональных антител, которые могут включать разные антитела, направленные против разных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одной детерминанты на антигене.

**[00144]** «Антиген» представляет собой структуру, с которой может избирательно связываться антитело. Целевой антиген может представлять собой полипептид, углевод, нуклеиновую кислоту, липид, гаптен или другое природное или синтетическое соединение. В некоторых вариантах осуществления целевой антиген представляет собой полипептид. В определенных вариантах осуществления антиген связан с клеткой, например, присутствует на клетке или в клетке, например, раковой клетке.

**[00145]** «Интактное» антитело представляет собой антитело, содержащее антигенсвязывающий сайт, а также CL и по меньшей мере константные области тяжелой цепи CH1, CH2 и CH3. Константные области могут включать человеческие константные области или варианты их аминокислотной последовательности. В определенных вариантах осуществления интактное антитело имеет одну или более эффекторных функций.

**[00146]** Термины «антигенсвязывающий фрагмент», «антигенсвязывающий домен», «антигенсвязывающая область» и подобные термины относятся к той части антитела, которая содержит аминокислотные остатки, которые взаимодействуют с антигеном и обеспечивают связывающему агенту его специфичность и аффинность к антигену (*например*, CDR). «Антигенсвязывающий фрагмент» в данном контексте включает «фрагмент антитела», который включает часть интактного антитела, такую как антигенсвязывающая или переменная область интактного антитела. Примеры фрагментов антител включают, без ограничения, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> и Fv; диатела и ди-диатела (*см.*, *например*, Holliger *et al.*, 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. 90:6444-48; Lu *et al.*, 2005, J. Biol. Chem. 280:19665-72; Hudson *et al.*, 2003, Nat. Med. 9:129-34; WO 93/11161; и патенты США №

5837242 и 6492123); одноцепочечные молекулы антитела (см., например, патенты США № 4946778; 5260203; 5482858 и 5476786); антитела с двойным переменным доменом (см., например, патент США № 7612181); антитела с одним переменным доменом (sdAb) (см., например, Woolven *et al.*, 1999, *Immunogenetics* 50: 98-101; и Streltsov *et al.*, 2004, *Proc Natl Acad Sci USA*. 101:12444-49); и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

**[00147]** Термины «связывается» или «связывание» относятся к взаимодействию между молекулами, включая, например, образование комплекса. Взаимодействия могут быть, например, нековалентными взаимодействиями, включая водородные связи, ионные связи, гидрофобные взаимодействия и/или ван-дер-ваальсовы взаимодействия. Комплекс также может включать связывание двух или более молекул, удерживаемых вместе ковалентными или нековалентными связями, взаимодействиями или силами. Сила общих нековалентных взаимодействий между одним антигенсвязывающим сайтом на антителе и одним эпитопом целевой молекулы, такой как антиген, представляет аффинность антитела или функционального фрагмента к этому эпитопу. Отношение скорости диссоциации ( $k_{off}$ ) к коэффициенту ассоциации ( $k_{on}$ ) связывающей молекулы (например, антитела) к моновалентному антигену ( $k_{off}/k_{on}$ ) представляет собой константу диссоциации  $K_D$ , что обратно пропорционально аффинности. Чем меньше  $K_D$ , тем больше аффинность антитела. Значение  $K_D$  варьируется для разных комплексов антитела и антигена и зависит как от  $k_{on}$ , так и от  $k_{off}$ . Константа диссоциации  $K_D$  для антитела, представленного в настоящем документе, может быть определена с использованием любого метода, предоставленного в настоящем документе, или любого другого метода, хорошо известного специалистам в данной области техники. Аффинность в одном сайте связывания не всегда отражает истинную силу взаимодействия между антителом и антигеном. Когда комплексные антигены, содержащие множество повторяющихся антигенных детерминант, такие как поливалентный антиген, вступают в контакт с антителами, содержащими множество сайтов связывания, взаимодействие антитела с антигеном в одном сайте будет повышать вероятность реакции во втором сайте. Сила таких множественных взаимодействий между поливалентным антителом и антигеном называется авидностью.

**[00148]** В отношении антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, описанных в данном документе, такие термины, как «связываться с», «специфически связывающиеся с» и аналогичные термины, также используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к связывающим молекулам антигенсвязывающих доменов, которые специфически связываются с антигеном, таким как полипептид. Антитело или

антигенсвязывающий фрагмент, который связывается или специфически связывается с антигеном, может быть перекрестно-реактивным с родственными антигенами. В определенных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с антигеном или специфически связывается с ним, не вступает в перекрестную реакцию с другими антигенами. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается или специфически связывается с антигеном, можно идентифицировать, например, с помощью иммуноанализа, Octet<sup>®</sup>, Biacore<sup>®</sup> или других методов, известных специалистам в данной области. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент связывается с антигеном или специфически связывается с антигеном, когда оно связывается с антигеном с более высокой аффинностью, чем с любым перекрестно-реактивным антигеном, как определено с использованием экспериментальных методов, таких как радиоиммуноанализ (РИА) и иммуноферментный анализ (ELISA). Как правило, специфическая или избирательная реакция будет по меньшей мере вдвое превышать фоновый сигнал или шум, и может более чем в 10 раз превышать фон. См., например, Fundamental Immunology 332-36 (Paul ed., 2d ed. 1989) в отношении обсуждения, касающегося специфичности связывания. В определенных вариантах осуществления степень связывания антитела или антигенсвязывающего фрагмента с «нецелевым» белком составляет менее чем около 10 % от связывания связывающей молекулы или антигенсвязывающего домена с ее конкретным антигеном-мишенью, например, как определяется с помощью анализа сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) или РИА. Что касается таких терминов как «специфическое связывание», «специфически связывается с» или «специфично для» означает связывание, которое заметно отличается от неспецифического взаимодействия. Специфическое связывание может быть измерено, например, путем определения связывания молекулы по сравнению со связыванием контрольной молекулы, которая в общем случае представляет собой молекулу сходной структуры, которая не обладает активностью связывания. Например, специфическое связывание может определяться конкуренцией с контрольной молекулой, которая сходна с мишенью, к примеру, при избытке немеченой мишени. В этом случае связывание считается специфическим, если связывание меченой мишени с зондом конкурентно ингибируется избытком немеченой мишени. Антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с антигеном, включает такое антитело, которое способно связывать антиген с достаточной аффинностью, так что связывающая молекула может использоваться, например, в качестве диагностического агента для нацеливания на антиген. В определенных вариантах

осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с антигеном, имеет константу диссоциации ( $K_D$ ), меньшую или равную 1000 нМ, 800 нМ, 500 нМ, 250 нМ, 100 нМ, 50 нМ, 10 нМ, 5 нМ, 4 нМ, 3 нМ, 2 нМ, 1 нМ, 0,9 нМ, 0,8 нМ, 0,7 нМ, 0,6 нМ, 0,5 нМ, 0,4 нМ, 0,3 нМ, 0,2 нМ или 0,1 нМ. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент связывается с эпитопом антигена, который является консервативным среди антигенов разных видов (*например*, между людьми и яванскими макаками).

**[00149]** «Аффинность связывания» в общем случае относится к силе суммарных нековалентных взаимодействий между одним сайтом связывания молекулы (*например*, связывающего белка, такого как антитело) и ее партнером по связыванию (*например*, антигеном). Если не указано иное, в контексте данного документа «аффинность связывания» относится к действительной аффинности связывания, которая отражает взаимодействие в соотношении 1:1 между членами связывающей пары (*например*, антителом и антигеном). Аффинность связывающей молекулы X к ее партнеру по связыванию Y в общем случае может быть представлена константой диссоциации ( $K_D$ ). Аффинность можно измерять обычными методами, известными в данной области техники, включая описанные в данном документе. Низкоаффинные антитела обычно связывают антиген медленно и имеют тенденцию легко диссоциировать, тогда как высокоаффинные антитела обычно связывают антиген быстрее и имеют тенденцию оставаться связанными дольше. В данной области техники известен ряд способов измерения аффинности связывания, любые из которых можно использовать в целях настоящего изобретения. Конкретные иллюстративные варианты осуществления включают следующее. В одном варианте осуществления « $K_D$ » или «значение  $K_D$ » может быть измерено с помощью анализа, известного в данной области техники, например, анализа связывания.  $K_D$  может быть измерена в анализе РИА, например, проводимом с Fab-версией представляющего интерес антитела и его антигеном (Chen et al., 1999, J. Mol Biol 293:865- 81).  $K_D$  или значение  $K_D$  также могут быть измерены с помощью биослойной интерферометрии (BLI) или анализа поверхностного плазмонного резонанса (SPR) с помощью Octet®, используя, например, систему Octet®QK384, или Biacore®, используя, например, Biacore®TM-2000 или Biacore®TM-3000. «Скорость ассоциации» или «kon» также можно определить с помощью тех же методов биослойной интерферометрии (BLI) или поверхностного плазмонного резонанса (SPR), описанных выше, с использованием, например, Octet ®QK384, Biacore®TM-2000 или Biacore®TM-3000.

**[00150]** В некоторых вариантах осуществления антитела или антигенсвязывающие

фрагменты могут содержать «химерные» последовательности, в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от определенного вида или принадлежащих к конкретному классу или подклассу антител, а остальная часть цепи (цепей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, происходящих от другого вида или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагментам таких антител при условии, что они проявляют желаемую биологическую активность (см. Патент США № 4816567; и Morrison *et al.*, 1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-55).

**[00151]** В некоторых вариантах осуществления антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут содержать части «гуманизированных» форм нечеловеческих (*например*, мышинных) антител представляют собой химерные антитела, которые включают иммуноглобулины человека (*например*, реципиентное антитело), в которых нативные остатки CDR замещены остатками из соответствующих CDR отличного от человека вида (*например*, донорное антитело), такого как мышь, кролик или отличный от человека примат, имеющие необходимые специфичность, аффинность и способность. В некоторых случаях один или более остатков FR-области иммуноглобулина человека заменены соответствующими остатками, не принадлежащими человеку. Кроме того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, которые отсутствуют в реципиентном антителе или в донорном антителе. Эти модификации осуществляют для дополнительного улучшения характеристик антитела. Тяжелая или легкая цепь гуманизированного антитела может содержать практически все из по меньшей одной или более вариабельных областей, в которых все или практически все CDR соответствуют таковым из не принадлежащего человеку иммуноглобулина, а все или практически все FR получены из последовательности иммуноглобулина человека. В определенных вариантах осуществления гуманизированное антитело содержит по меньшей мере часть константной области иммуноглобулина (Fc), как правило, иммуноглобулина человека. Дополнительные подробности см. в Jones *et al.*, 1986, Nature 321:522-25; Riechmann *et al.*, 1988, Nature 332:323-29; Presta, 1992, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-96; Carter *et al.*, 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:4285-89; патентах США № 6800738; 6719971; 6639055; 6407213; и 6054297.

**[00152]** В определенных вариантах осуществления антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут содержать части «полностью человеческого антитела» или «человеческого антитела», причем данные термины используются в данном документе взаимозаменяемо и относятся к антителу, которое содержит вариабельную область человека и, например, константную область человека. В конкретных вариантах

осуществления термины относятся к антителу, которое содержит переменную область и константную область человеческого происхождения. «Полностью человеческие» антитела в некоторых вариантах осуществления могут также включать антитела, которые связывают полипептиды и кодируются последовательностями нуклеиновых кислот, которые представляют собой встречающиеся в природе соматические варианты последовательности нуклеиновой кислоты иммуноглобулина зародышевой линии человека. Термин «полностью человеческое антитело» включает антитела, содержащие переменные и константные области, соответствующие последовательностям иммуноглобулина зародышевой линии человека, как описано в Kabat *et al.* (см. Kabat *et al.* (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). «Человеческое антитело» представляет собой антитело, которое имеет аминокислотную последовательность, которая соответствует таковой из антитела, вырабатываемого человеком, и/или была создана с помощью любых технологий получения человеческих антител. Из этого определения антитела человека, в частности, исключено гуманизированное антитело, содержащее антигенсвязывающие остатки нечеловеческого происхождения. Человеческие антитела можно получать, используя различные технологии, известные в данной области техники, включая библиотеки фагового дисплея (Hoogenboom and Winter, 1991, J. Mol. Biol. 227:381; Marks *et al.*, 1991, J. Mol. Biol. 222:581) и библиотеки дрожжевого дисплея (Chao *et al.*, 2006, Nature Protocols 1: 755-68). Также для получения человеческих моноклональных антител доступны способы, описанные в Cole *et al.*, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy 77 (1985); Boerner *et al.*, 1991, J. Immunol. 147(1):86-95; and van Dijk and van de Winkel, 2001, Curr. Opin. Pharmacol. 5: 368-74. Человеческие антитела можно получать путем введения антигена трансгенному животному, которое было модифицировано так, чтобы вырабатывать такие антитела в ответ на стимуляцию антигеном, но чьи эндогенные локусы были инактивированы, например, мыши (см., например, Jakobovits, 1995, Curr. Opin. Biotechnol. 6(5):561-66; Brüggemann and Taussing, 1997, Curr. Opin. Biotechnol. 8(4):455-58; и патенты США № 6075181 и 6150584 относительно технологии XENOMOUSE™). См., также, например, Li *et al.*, 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:3557-62 относительно человеческих антител, полученных с помощью технологии гибридомы В-клеток человека.

**[00153]** В определенных вариантах осуществления антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут содержать части «рекомбинантного человеческого антитела», при этом данный термин включает человеческие антитела, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными средствами, такими как антитела,

экспрессированные с использованием рекомбинантного вектора экспрессии, трансфицированного в клетку-хозяин, антитела, выделенные из библиотеки рекомбинантных комбинаторных антител человека, антитела, выделенные из животного (*например*, мыши или коровы), которое является трансгенным и/или трансхромосомным по генам иммуноглобулина человека (*см.*, *например*, Taylor, L. D. *et al.* (1992) *Nucl. Acids Res.* 20:6287-6295) или антитела, полученные, экспрессированные, созданные или выделенные любым другим способом, который включает сплайсинг последовательностей генов иммуноглобулина человека с другими последовательностями ДНК. Такие рекомбинантные антитела человека могут иметь переменные и константные области, полученные из последовательностей иммуноглобулина зародышевой линии человека (*см.* Kabat, E. A. *et al.* (1991) *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242). При этом в определенных вариантах осуществления такие рекомбинантные человеческие антитела можно подвергать *in vitro* мутагенезу (или, в случае использования животного, трансгенного в отношении последовательностей человеческого Ig, *in vivo* соматическому мутагенезу) и, таким образом, аминокислотные последовательности VH- и VL-областей рекомбинантных антител представляют собой последовательности, которые, хотя и получены из последовательностей VH и VL человеческой зародышевой линии и родственны им, в природе могут не существовать в рамках репертуара антител человеческой зародышевой линии *in vivo*.

**[00154]** В определенных вариантах осуществления антитела или антигенсвязывающие фрагменты могут содержать часть «моноклонального антитела», при этом используемый термин относится к антителу, полученному из популяции по существу гомогенных антител, *например*, отдельные антитела, составляющие популяцию, идентичны за исключением возможных естественных мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах, и каждое моноклональное антитело обычно распознает один эпитоп на антигене. В конкретных вариантах осуществления «моноклональное антитело», используемое в данном документе, представляет собой антитело, продуцируемое одной гибридомой или другой клеткой. Термин «моноклональное» не ограничен каким-либо конкретным способом получения антитела. Например, моноклональные антитела, применимые в данном изобретении, могут быть получены с помощью гибридомной методологии, впервые описанной Kohler *et al.*, 1975, *Nature* 256:495, или могут быть получены с помощью методов рекомбинантных ДНК в бактериальных клетках или эукариотических клетках животных или растений (*см.*, *например*, патент США № 4816567).

«Моноклональные антитела» также могут быть выделены из фаговых библиотек антител с помощью способов, описанных, например, в Clackson *et al.*, 1991, *Nature* 352:624-28 и Marks *et al.*, 1991, *J. Mol. Biol.* 222:581-97. Другие способы получения клональных клеточных линий и экспрессируемых ими моноклональных антител хорошо известны в данной области техники. См., например, *Short Protocols in Molecular Biology* (Ausubel *et al.* eds., 5th ed. 2002).

**[00155]** Как правило, 4-цепочечная единица антитела представляет собой гетеротетрамерный гликопротеин, состоящий из двух идентичных легких (L) цепей и двух идентичных тяжелых (H) цепей. В случае IgG 4-цепочечная единица в целом имеет массу около 150000 дальтон. Каждая L-цепь связана с H-цепью одной ковалентной дисульфидной связью, тогда как две H-цепи связаны друг с другом одной или более дисульфидными связями в зависимости от изотипа H-цепи. Каждая H- и L-цепь также содержит расположенные на равном расстоянии друг от друга внутрицепочечные дисульфидные мостики. Каждая H-цепь содержит на N-конце вариабельный домен (VH), за которым следуют три константных домена (CH) в случае каждой из  $\alpha$  и  $\gamma$  цепей и четыре CH-домена в случае изотипов  $\mu$  и  $\epsilon$ . Каждая L-цепь содержит на N-конце вариабельный домен (VL), за которым следует константный домен (CL) на другом конце. VL выровнена с VH, а CL выровнена с первым константным доменом тяжелой цепи (CH1). Считается, что конкретные аминокислотные остатки образуют область контакта между вариабельными доменами легкой цепи и тяжелой цепи. Спаривание вместе VH и VL образует один антигенсвязывающий сайт. Информацию по структуре и свойствам разных классов антител см., например, *Basic and Clinical Immunology* 71 (Stites *et al.* eds., 8th ed. 1994); and *Immunobiology* (Janeway *et al.* eds., 5<sup>th</sup> ed. 2001).

**[00156]** Термин «Fab» или «область Fab» относится к области антитела, которая связывается с антигенами. Обычный IgG, как правило, содержит две области Fab, каждая из которых расположена на одном из двух плеч Y-образной структуры IgG. Каждая область Fab обычно состоит из одной вариабельной области и одной константной области каждой из тяжелой и легкой цепи. Более конкретно, вариабельная область и константная область тяжелой цепи в области Fab представляют собой области VH и CH1, а вариабельная область и константная область легкой цепи в области Fab представляют собой области VL и CL. VH, CH1, VL и CL в области Fab могут быть расположены различными способами для придания антигенсвязывающей способности в соответствии с данным изобретением. Например, области VH и CH1 могут быть на одном полипептиде, а области VL и CL могут быть на отдельном полипептиде, аналогично области Fab обычного IgG. Альтернативно,

все области VH, CH1, VL и CL могут быть на одном и том же полипептиде и ориентированы в разном порядке, как более подробно описано в разделах ниже.

**[00157]** Термины «вариабельная область», «вариабельный домен», «V-область» или «V-домен» относятся к части легкой или тяжелой цепей антитела, которая в общем случае расположена в амино-конце легкой или тяжелой цепи и имеет длину от около 120 до 130 аминокислот в тяжелой цепи и от около 100 до 110 аминокислот в легкой цепи, и обуславливает связывание и специфичность каждого конкретного антитела к его конкретному антигену. Вариабельная область тяжелой цепи может называться «VH». Вариабельная область легкой цепи может называться «VL». Термин «вариабельный» относится к тому факту, что определенные сегменты вариабельных областей сильно отличаются по последовательности среди разных антител. V-область опосредует связывание антигена и определяет специфичность конкретного антитела к его конкретному антигену. При этом вариабельность неравномерно распределена по 110-аминокислотному участку вариабельных областей. На самом деле V-области состоят из менее вариабельных (*например*, относительно инвариантных) участков, называемых каркасными областями (FR) из около 15–30 аминокислот, разделенных более короткими областями большей вариабельности (*например*, сильной вариабельности), называемыми «гипервариабельными областями», каждая из которых имеет длину около 9–12 аминокислот. Каждая из вариабельных областей тяжелой и легкой цепей содержит по четыре FR, преимущественно принимающих  $\beta$ -складчатую конфигурацию, соединенных тремя гипервариабельными областями, которые образуют петли, соединяющие  $\beta$ -складчатую структуру, а в некоторых случаях, образующие ее часть. Гипервариабельные области каждой цепи удерживаются вместе в непосредственной близости FR и, вместе с гипервариабельными областями другой цепи, участвуют в образовании антигенсвязывающего сайта антител (*см., например, Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest (5th ed. 1991)*). Константные области не принимают непосредственного участия в связывании антитела с антигеном, однако проявляют различные эффекторные функции, такие как участие антитела в антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ) и комплементзависимой цитотоксичности (КЗЦ). Вариабельные области сильно отличаются по последовательности среди разных антител. В конкретных вариантах осуществления вариабельная область представляет собой вариабельную область человека.

**[00158]** Термины «нумерация остатков вариабельной области по Kabat» или «нумерация аминокислотных позиций по Kabat» и их вариации относятся к системе нумерации, используемой для вариабельных областей тяжелой цепи или вариабельных областей легкой

цепи при составлении антител в Kabat *et al.*, *выше*. При использовании этой системы нумерации фактическая линейная аминокислотная последовательность может содержать меньшее количество или дополнительное количество аминокислот, что соответствует укорочению FR или CDR переменного домена или вставке в них. Например, переменный домен тяжелой цепи может содержать вставку одной аминокислоты (остаток 52a в соответствии с Kabat) после остатка 52 и три вставленных остатка (*например*, остатки 82a, 82b и 82c и *т. д.* в соответствии с Kabat) после остатка 82. Нумерация остатков по Kabat может быть определена для данного антитела путем выравнивания областей гомологии в последовательности антитела со «стандартной» пронумерованной по Kabat последовательностью. Система нумерации по Kabat в общем случае используется для обозначения остатка в переменном домене (приблизительно, остатки 1–107 легкой цепи и остатки 1–113 тяжелой цепи) (*например*, Kabat *et al.*, *выше*). «Система нумерации EU» или «индекс EU» в общем случае используется для обозначения остатка в константной области тяжелой цепи иммуноглобулина (*например*, индекс EU, описанный в Kabat *et al.*, *выше*). «Индекс EU по Kabat» относится к нумерации остатков человеческого антитела IgG 1 EU. Были описаны другие системы нумерации, например, AbM, Chothia, Contact, IMGT и ANon.

**[00159]** Термин «тяжелая цепь», употребляемый в отношении антитела, относится к полипептидной цепи массой около 50–70 кДа, в которой амино-концевая часть содержит переменную область от около 120 до 130 или более аминокислот, а карбокси-концевая часть содержит константную область. Константная область может принадлежать одному из пяти разных типов (*например*, изотипов), называемых альфа ( $\alpha$ ), дельта ( $\delta$ ), эпсилон ( $\epsilon$ ), гамма ( $\gamma$ ) и мю ( $\mu$ ) на основании аминокислотной последовательности константной области тяжелой цепи. Разные тяжелые цепи отличаются по размеру:  $\alpha$ ,  $\delta$  и  $\gamma$  содержат приблизительно 450 аминокислот, тогда как  $\mu$  и  $\epsilon$  содержат приблизительно 550 аминокислот. В комбинации с легкой цепью эти разные типы тяжелых цепей обуславливают наличие пяти хорошо известных классов (*например*, изотипов) антител, IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, соответственно, включая подклассы IgG, а именно IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4.

**[00160]** Термин «легкая цепь», употребляемый в отношении антитела, относится к полипептидной цепи массой около 25 кДа, в которой амино-концевая часть содержит переменную область от около 100 до 110 или более аминокислот, а карбокси-концевая часть содержит константную область. Приблизительная длина легкой цепи составляет от 211 до 217 аминокислот. Существуют два разных типа, называемых каппа ( $\kappa$ ) или лямбда

(λ) на основании аминокислотной последовательности их константных доменов.

**[00161]** Используемые в данном документе термины «гипервариабельная область», «HVR», «область, определяющая комплементарность» и «CDR» используются взаимозаменяемо. «CDR» относится к одной из трех гипервариабельных областей (H1, H2 или H3) в пределах некаркасной области β-складчатого каркаса VH иммуноглобулина (Ig или антитела) или одной из трех гипервариабельных областей (L1, L2 или L3) в пределах некаркасной области β-складчатого каркаса VL антитела. Соответственно, CDR представляют собой последовательности вариабельной области, перемежающиеся последовательностями каркасной области.

**[00162]** Области CDR хорошо известны специалистам в данной области и определены с помощью хорошо известных систем нумерации. Например, определяющие комплементарность области по Kabat (CDR) основаны на вариабельности последовательности и являются наиболее применимыми (*см., например, Kabat et al., выше*). Chothia, напротив, относится к расположению структурных петель (*см., например, Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17*). Конец петли CDR-H1 по Chothia при нумерации согласно системе нумерации по Kabat варьируется между H32 и H34 в зависимости от длины петли (это связано с тем, что в схеме нумерации по Kabat в H35A и H35B размещаются вставки; если ни 35A ни 35B не присутствуют, петля заканчивается в 32; если присутствует только 35A, петля заканчивается в 33; если присутствуют оба 35A и 35B, петля заканчивается в 34). Гипервариабельные области AbM представляет компромиссный вариант между CDR по Kabat и структурными петлями по Chothia и используются в программном обеспечении для моделирования антител Oxford Molecular's AbM (*см., например, Antibody Engineering Vol. 2 (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010)*). «Контактные» гипервариабельные области основаны на анализе доступных комплексных кристаллических структур. Была также разработана и стала широко применяться универсальная система нумерации ImMunoGeneTics (IMGT) Information System<sup>®</sup> (*Lafranc et al., 2003, Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77*). IMGT представляет собой интегрированную информационную систему, специализирующуюся на иммуноглобулинах (IG), Т-клеточных рецепторах (ТКР) и главном комплексе гистосовместимости (ГКГС) человека и других позвоночных. В данном документе CDR указаны в терминах как аминокислотной последовательности, так и расположения в легкой или тяжелой цепи. Так как «расположение» CDR в структуре вариабельного домена иммуноглобулина является консервативным среди разных видов и представлено в структурах, называемых петлями, с помощью систем нумерации, которые выравнивают последовательности вариабельного

домена в соответствии со структурными характеристиками, остатки CDR и каркасной области легко определимы. Эту информацию можно использовать при прививании и замещении остатков CDR из иммуноглобулинов одного вида в акцепторную каркасную область из, как правило, человеческого антитела. Дополнительная система нумерации (АНон) была разработана Honegger and Plückthun, 2001, J. Mol. Biol. 309: 657-70. Соответствие между системами нумерации, включая, например, нумерацию Kabat и уникальную систему нумерации IMGT, хорошо известно специалисту в данной области техники (см., например, Kabat, *выше*; Chothia and Lesk, *выше*; Martin, *выше*; Lefranc *et al.*, *выше*). Остатки из каждой из этих гипервариабельных областей или CDR приведены ниже в Таблице 1.

**Таблица 1.**

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

**[00163]** Границы заданных CDR могут варьироваться в зависимости от схемы, используемой для идентификации. Таким образом, если не указано иное, термины «CDR» и «определяющая комплементарность область» данного антитела или его области, такие как вариабельная область, а также отдельные CDR (*например*, «CDR-H1, CDR-H2») следует понимать, что антитело или его область охватывают область, определяющую комплементарность, как определено любой из известных схем, описанных в данном документе *выше*. В некоторых случаях указана схема идентификации конкретной CDR или

CDR, например, CDR, как определено методом Kabat, Chothia или Contact. В других случаях приводится конкретная аминокислотная последовательность CDR.

**[00164]** Гипервариабельные области могут включать «расширенные гипервариабельные области», а именно: 24-36 или 24-34 (L1), 46-56 или 50-56 (L2) и 89-97 или 89-96 (L3) в VL, и 26-35 или 26-35A (H1), 50-65 или 49-65 (H2) и 93-102, 94-102, или 95-102 (H3) в VH.

**[00165]** Термины «константная область» или «константный домен» относятся к карбокси-концевой части легкой и тяжелой цепи, которая непосредственно не принимает участие в связывании антитела с антигеном, но проявляет различные эффекторные функции, такие как взаимодействие с Fc-рецептором. Этот термин относится к части молекулы иммуноглобулина, включающей более консервативную аминокислотную последовательность по сравнению с другой частью иммуноглобулина, вариабельной областью, которая содержит антигенсвязывающий сайт. Константная область может содержать области CH1, CH2 и CH3 тяжелой цепи и область CL легкой цепи.

**[00166]** Термин «каркасная область» или «FR» относится к остаткам вариабельной области, которые фланкируют CDR. Остатки FR присутствуют, например, в химерных, гуманизированных, человеческих, доменных антителах, диателах, линейных антителах и биспецифических антителах. Остатки FR представляют собой остатки вариабельного домена, отличные от остатков гипервариабельной области или остатков CDR.

**[00167]** В данном документе термин «Fc-область» употребляется для определения C-концевой области тяжелой цепи иммуноглобулина, включая, например, Fc-области нативной последовательности, рекомбинантные Fc-области и варианты Fc-области. Хотя границы Fc-области тяжелой цепи иммуноглобулина могут варьировать, Fc-область тяжелой цепи человеческого IgG часто определяют как участок от аминокислотного остатка в позиции Cys226 или от Pro230 до его карбокси-конца. C-концевой лизин (остаток 447 в соответствии с системой нумерации EU) области Fc может быть удален, например, во время получения или очистки антитела, или путем рекомбинантного конструирования нуклеиновой кислоты, кодирующей тяжелую цепь антитела. Соответственно, композиция интактных антител может содержать популяции антител, в которых удалены все остатки K447, популяции антител, в которых не удалены остатки K447, и популяции антител, содержащие смесь из антител с остатком K447 и без него. «Функциональная Fc-область» обладает «эффекторной функцией» Fc-области с нативной последовательностью. Типовые «эффекторные функции» включают связывание C1q; K3Ц; связывание Fc-рецептора; A3КЦ; фагоцитоз; подавление рецепторов клеточной поверхности (*например*, B-клеточного рецептора); *т.д.* Такие эффекторные функции обычно требуют объединения Fc-

области со связывающей областью или связывающим доменом (*например*, вариабельной областью или доменом антитела) и могут быть оценены с использованием различных анализов, известных специалистам в данной области. «Вариантная Fc-область» содержит аминокислотную последовательность, которая отличается от нативной последовательности Fc-области за счет по меньшей мере одной аминокислотной модификации (*например*, замены, добавления или делеции). В определенных вариантах осуществления вариантная Fc-область содержит по меньшей мере одну аминокислотную замену по сравнению с нативной последовательностью Fc-области или с Fc-областью родительского полипептида, например, от около одной до около десяти аминокислотных замен или от около одной до около пяти аминокислотных замен в нативной последовательности Fc-области или в Fc-области родительского полипептида. В данном документе вариантная Fc-область может иметь по меньшей мере около 80% гомологии с нативной последовательностью Fc-области и/или с Fc-областью родительского полипептида, или по меньшей мере около 90% гомологии с ними, например, по меньшей мере около 95% гомологии с ними.

**[00168]** Используемый в данном документе термин «эпитоп» относится к локализованному участку антигена, с которым связывающая молекула, (*например*, антитело) может специфически связываться. Эпитоп может быть линейным эпитопом или конформационным, нелинейным или прерывистым эпитопом. В случае полипептидного антигена, например, эпитоп может представлять собой смежные аминокислоты полипептида («линейный» эпитоп) или эпитоп может включать аминокислоты из двух или более несмежных областей полипептида («конформационный», «нелинейный» или «прерывистый» эпитоп). Специалисту в данной области будет понятно, что, как правило, линейный эпитоп может зависеть или не зависеть от вторичной, третичной или четвертичной структуры. Например, в некоторых вариантах осуществления связывающая молекула связывается с группой аминокислот независимо от того, уложены ли они в естественную трехмерную белковую структуру. В других вариантах осуществления связывающая молекула требует, чтобы аминокислотные остатки, составляющие эпитоп, проявляли определенную конформацию (*например*, изгиб, скручивание, поворот или складывание) для распознавания и связывания эпитопа.

**[00169]** Термины «полипептид», «пептид» и «белок» взаимозаменяемо используются в данном документе и относятся к полимерам аминокислот любой длины. Полимер может быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты, и он может быть разделен не аминокислотами. Кроме того, указанные термины включают аминокислотный полимер, который был модифицирован природным

путем или путем вмешательства; например, образованием дисульфидных связей, гликозилированием, липидацией, ацелированием, фосфорилированием или любыми другими манипуляциями или модификациями. Также в определение включены, например, полипептиды, содержащие один или более аналогов аминокислоты, включая, помимо прочего, неприродные аминокислоты, а также другие модификации, известные в данной области. Понятно, что, поскольку полипептиды по данному описанию могут быть основаны на антителах или других членах надсемейства иммуноглобулинов, в некоторых вариантах осуществления «полипептид» может встречаться в виде одной цепи или в виде двух или более связанных цепей.

**[00170]** В контексте данного документа термин «фармацевтически приемлемый» означает то, что он одобрен регуляторным органом Федерального правительства или правительства штата, или приведен в Фармакопее США, Европейской фармакопее или другой общепризнанной фармакопее для применения для животных и, в частности, для человека.

**[00171]** «Экспциент» означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, растворитель или инкапсулирующий материал. Экспциенты включают, например, инкапсулирующие материалы или добавки, такие как ускорители абсорбции, антиоксиданты, связывающие вещества, буферы, носители, покрывающие агенты, красители, разбавители, дезинтегрирующие агенты, эмульгаторы, наполнители, филлеры, ароматизаторы, увлажнители, смазывающие вещества, отдушки, консерванты, пропелленты, разделительные агенты, стерилизующие агенты, подсластители, солюбилизаторы, смачивающие агенты и их смеси. Термин «экспциент» может также относиться к разбавителю, адьюванту (*например*, адьюванту Фрейндса (полному или неполному) или носителю.

**[00172]** В одном варианте осуществления каждый компонент является «фармацевтически приемлемым» в том смысле, что он совместим с другими ингредиентами фармацевтического состава и подходит для применения в контакте с тканями или органами человека и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции, иммуногенности или других проблемы или осложнений, соответствующие разумному соотношению польза/риск. *См., например*, Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, 2005; Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6th ed.; Rowe et al., Eds.; The Pharmaceutical Press and the American Pharmaceutical Association: 2009; Handbook of Pharmaceutical Additives, 3rd ed.; Ash and Ash Eds.; Gower Publishing Company: 2007; Pharmaceutical

Preformulation and Formulation, 2nd ed.; Gibson Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, FL, 2009. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемые эксципиенты нетоксичны для клетки или млекопитающего, подвергающихся их воздействию, в используемых дозировках и концентрациях. В некоторых вариантах осуществления фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой водный раствор с рН-буфером.

**[00173]** Аббревиатура «ММАЕ» относится к монометилауристатину Е.

**[00174]** Если в контексте не указано иное, дефис (-) обозначает точку присоединения к боковой молекуле.

**[00175]** Термин «химиотерапевтический агент» относится ко всем химическим соединениям, которые эффективно ингибируют рост опухоли. Неограничивающие примеры химиотерапевтических агентов включают алкилирующие агенты; например, азотистые иприты, соединения этиленимина и алкилсульфонаты; антиметаболиты, например, антагонисты фолиевой кислоты, пурина или пиримидина; митотические ингибиторы, например антитубулиновые агенты, такие как алкалоиды барвинка, ауристатины и производные подофиллотоксина; цитотоксические антибиотики; соединения, которые повреждают или препятствуют экспрессии или репликации ДНК, например, вещества, связывающие малую бороздку ДНК; и антагонисты рецепторов фактора роста. Кроме того, химиотерапевтические агенты включают цитотоксические агенты (как определено в данном документе), антитела, биологические молекулы и малые молекулы.

**[00176]** Используемый в данном документе термин «консервативная замена» относится к заменам аминокислот, известным специалистам в данной области, и которые могут быть осуществлены, как правило, без изменения биологической активности полученной молекулы. Специалистам в данной области известно, что, как правило, замены отдельных аминокислот в несущественных участках полипептида существенно не изменяют биологическую активность (*см., например, Watson, et al., MOLECULAR BIOLOGY OF THE GENE, The Benjamin/Cummings Pub. Co., p. 224 (4th Edition 1987)*). Такие иллюстративные замены предпочтительно выполняются в соответствии с теми, которые изложены в Таблице 2 и Таблице 3. Например, такие изменения включают замену изолейцина (I), валина (V) и лейцина (L) на любую другую из этих гидрофобных аминокислот; аспарагиновую кислоту (D) на глутаминовую кислоту (E) и наоборот; глутамин (Q) на аспарагин (N) и наоборот; и серин (S) на треонин (T) и наоборот. Другие замены также можно считать консервативными, в зависимости от окружения конкретной аминокислоты и ее роли в

трехмерной структуре белка. Например, глицин (G) и аланин (A) часто могут быть взаимозаменяемыми, как и аланин (A) и валин (V). Метионин (M), относительно гидрофобный, часто можно заменить лейцином и изолейцином, а иногда и валином. Лизин (K) и аргинин (R) часто являются взаимозаменяемыми в местах, в которых существенным признаком аминокислотного остатка является его заряд, а различные рК этих двух аминокислотных остатков не имеют значения. Другие изменения можно считать «консервативными» в определенных средах (см., например Таблицу 3 в данном документе; стр. 13-15 “Biochemistry” 2nd ED. Lubert Stryer ed (Stanford University); Henikoff *et al.*, PNAS 1992 Vol 89 10915-10919; Lei *et al.*, J Biol Chem 1995 May 19; 270(20):11882-11886). Другие замены также допустимы и могут быть определены эмпирически или в соответствии с известными консервативными заменами.

**Таблица 2 Сокращения аминокислот**

Однобуквенные	Трехбуквенные	Полное название
F	Phe	фенилаланин
L	Leu	лейцин
S	Ser	серин
Y	Tyr	тирозин
C	Cys	цистеин
W	Trp	триптофан
P	Pro	пролин
H	His	гистидин
Q	Gln	глутамин
R	Arg	аргинин
I	Ile	изолейцин
M	Met	метионин
T	Thr	треонин
N	Asn	аспарагин
K	Lys	лизин
V	Val	валин
A	Ala	аланин
D	Asp	аспарагиновая кислота

Однобуквенные	Трехбуквенные	Полное название
E	Glu	глутаминовая кислота
G	Gly	глицин

**Таблица 3** Аминокислотная замена или матрица подобия

Адаптировано из матрицы аминокислотных замен GCG Software 9.0 BLOSUM62 (матрица блочных замен). Чем выше значение, тем больше вероятность обнаружения замены в родственных природных белках.

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

**[00177]** Термин «гомология» или «гомологичный» предназначен для обозначения сходства последовательностей между двумя полинуклеотидами или между двумя полипептидами. Сходство можно определить путем сравнения позиции в каждой последовательности, которую можно выровнять для целей сравнения. Если данное

положение двух полипептидных последовательностей не идентично, сходство или консервативность этого положения можно определить путем оценки сходства аминокислоты в положении, например, согласно Таблице 3. Степень сходства между последовательностями является функцией количества совпадающих или гомологичных положений, общих для последовательностей. Выравнивание двух последовательностей для определения их процентного сходства последовательностей может быть выполнено с использованием программ, известных в данной области, таких как, например, программы, описанные в Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley and Sons, Baltimore, MD (1999). Предпочтительно для выравнивания используются параметры по умолчанию, примеры которых приведены ниже. Одной из хорошо известных в данной области техники программ выравнивания, которую можно использовать, является BLAST, установленная на параметры по умолчанию. Например, программы BLASTN и BLASTP могут использоваться с использованием следующих параметров по умолчанию: Genetic code = standard; filter = none; strand = both; cutoff = 60; expect = 10; Matrix = BLOSUM62; Descriptions = 50 sequences; sort by = HIGH SCORE; Databases = non-redundant, GenBank + EMBL + DDBJ + PDB + GenBank CDS translations + SwissProtein + SPupdate + PIR. Подробности этих программ можно найти в Национальном центре биотехнологической информации.

**[00178]** Термин «гомологи» данной аминокислотной последовательности или последовательности нуклеиновой кислоты предназначен для обозначения того, что соответствующие последовательности «гомологов» обладают существенной идентичностью или гомологией с данной аминокислотной последовательностью или последовательностью нуклеиновой кислоты.

**[00179]** Определение процента идентичности между двумя последовательностями (*например*, аминокислотными последовательностями или последовательностями нуклеиновых кислот) может быть выполнено с использованием математического алгоритма. Предпочтительным неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения двух последовательностей, является алгоритм Karlin and Altschul, 1990, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87:2264 2268, модифицированный как в Karlin and Altschul, 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90:5873 5877. Такой алгоритм заложен в программах NBLAST и XBLAST Altschul *et al.*, 1990, *J. Mol. Biol.* 215:403. Поиск нуклеотидов BLAST можно выполнять с установленными параметрами программы нуклеотидов NBLAST, *например*, для score=100, wordlength=12, чтобы получить нуклеотидные последовательности, гомологичные молекулам нуклеиновой кислоты,

описанным в данном документе. Поиск белка BLAST может быть выполнен с установленными параметрами программы XBLAST, *например*, для score=50, wordlength=3, чтобы получить аминокислотные последовательности, гомологичные белковой молекуле, описанной в данном документе. Для получения выравнивания с внесенными в целях сравнения гэпами можно использовать BLAST с гэпами, как описано в Altschul *et al.*, 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402. В качестве альтернативы PSI BLAST можно использовать для выполнения повторного поиска, который обнаруживает отдаленные отношения между молекулами (*Id.*). При использовании программ BLAST, Gapped BLAST и PSI Blast можно использовать параметры по умолчанию соответствующих программ (*например*, XBLAST и NBLAST) (*см.*, *например*, Национальный центр биотехнологической информации (NCBI) во всемирной сети, [ncbi.nlm.nih.gov](http://ncbi.nlm.nih.gov)). Другим неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения последовательностей, является алгоритм Myers and Miller, 1988, CABIOS 4:11-17. Такой алгоритм включен в программу ALIGN (версия 2.0), которая является частью программного пакета выравнивания последовательностей GCG. При использовании программы ALIGN для сравнения аминокислотных последовательностей можно использовать таблицу весовых остатков PAM120, штраф за длину гэпа 12 и штраф за гэп 4.

**[00180]** Процентная идентичность между двумя последовательностями может быть определена с использованием методов, аналогичных описанным выше, с пропусками или без них. При вычислении процентной идентичности обычно учитываются только точные совпадения.

**[00181]** Термин «цитотоксический агент» относится к веществу, которое ингибирует или предотвращает экспрессионную активность клеток, функцию клеток и/или вызывает разрушение клеток. Этот термин включает радиоактивные изотопы, химиотерапевтические агенты и токсины, такие как низкомолекулярные токсины или ферментативно активные токсины бактериального, грибного, растительного или животного происхождения, включая их фрагменты и/или их варианты. Примеры цитотоксических агентов включают, но не ограничиваются ими, ауристатины (*например*, ауристатин Е, ауристатин F, MMAE и MMAF), аурамицины, майтанзиноиды, рицин, А-цепь рицина, комбрестатин, дуокармицины, доластатины, доксорубин, даунорубин, таксолы, цисплатин, сс1065, бромид этидия, митомицин, этопозид, тенопозид, винкристин, винбластин, колхицин, дигидроксиантрацидин, актиномицин, дифтерийный токсин, экзотоксин *Pseudomonas* (PE) А, PE40, абрин, А-цепь абрина, А-цепь модекцина, альфа-сарцин, гелонин, митогеллин, ретстриктоцин, феномицин, эномицин, курицин, кротин, калихеамицин,

ингибитор *Saponaia officinalis*, глюкокортикоид и другие химиотерапевтические агенты, а также радиоизотопы, такие как  $At^{211}$ ,  $I^{131}$ ,  $I^{125}$ ,  $Y^{90}$ ,  $Re^{186}$ ,  $Re^{188}$ ,  $Sm^{153}$ ,  $Bi^{212}$  или  $^{213}$ ,  $P^{32}$  и радиоактивные изотопы Lu, включая  $Lu^{177}$ . Антитела также могут быть конъюгированы с ферментом, активирующим противораковое пролекарство, способным превращать пролекарство в его активную форму.

**[00182]** Термин «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество», используемый в данном документе, относится к количеству связывающей молекулы (*например*, антитела) или фармацевтической композиции, представленной в данном документе, которое является достаточным для получения желаемого результата.

**[00183]** Термины «субъект» и «пациент» могут употребляться взаимозаменяемо. В контексте данного документа в определенных вариантах осуществления субъект представляет собой млекопитающее, например, отличное от приматов (*например*, корову, свинью, лошадь, кошку, собаку, крысу и т. д.) или примата (*например*, обезьяну и человека). В конкретных вариантах осуществления субъект представляет собой человека. В одном варианте осуществления субъект представляет собой млекопитающее, *например*, человека, у которого диагностировано состояние или расстройство. В другом варианте осуществления субъект представляет собой млекопитающее, *например* человека, с риском развития состояния или расстройства.

**[00184]** Термины «вводить» или «введение» относятся к действию, состоящему в инъекции или ином варианте физической доставки вещества в том виде, в котором оно существует за пределами организма, в организм пациента, например, путем мукозальной, интрадермальной, внутривенной, внутримышечной доставки, и/или любому другому способу физической доставки, описанному в данном документе или известному в данной области техники.

**[00185]** Используемые в данном документе термины «лечить», «лечение» и «процесс лечения» относятся к уменьшению или облегчению прогрессирования, тяжести и/или продолжительности заболевания или состояния в результате применения одного или более видов терапии. Лечение можно определить, оценив, произошло ли уменьшение, облегчение и/или ослабление одного или более симптомов, связанных с основным заболеванием, так что у пациента наблюдается улучшение, несмотря на то, что пациент все еще может страдать от основного заболевания. Термин «лечение» включает как сдерживание, так и облегчение заболевания. Термины «управлять» и «управление» относятся к благоприятным эффектам, которые субъект получает от терапии, которая не обязательно приводит к излечению заболевания.

**[00186]** Термины «предотвращать», «предотвращение» и «профилактика» относятся к снижению вероятности возникновения (или рецидива) заболевания, расстройства, состояния или ассоциированного симптома(ов) (*например*, рака).

**[00187]** Термин «рак» или «раковая клетка» используется в данном документе для обозначения ткани или клетки, обнаруживаемой в новообразовании, которая обладает характеристиками, отличающими ее от нормальной ткани или клеток ткани. К таким характеристикам относятся, помимо прочего: степень аномалии, неправильная форма, нечеткость клеточного контура, размер ядра, изменения структуры ядра или цитоплазмы, другие фенотипические изменения, наличие клеточных белков, указывающих на рак или предраковое состояние, повышенное количество митозов и способность к метастазированию. Слова, относящиеся к «раку», включают карциному, саркому, опухоль, эпителиому, лейкемию, лимфому, полип и фиброз, трансформацию, новообразование и т.п.

**[00188]** Используемый в данном документе термин «местно-распространенный» рак относится к раку, который распространился из места своего возникновения в близлежащие ткани или лимфатические узлы.

**[00189]** Используемый в данном документе термин «метастатический» рак относится к раку, который распространился из того места, где он начался, в другую часть тела.

**[00190]** Термины «около» и «приблизительно» означают в пределах 20%, в пределах 15%, в пределах 10%, в пределах 9%, в пределах 8%, в пределах 7%, в пределах 6%, в пределах 5%, в пределах 4%, в пределах 3%, в пределах 2%, в пределах 1% или менее заданного значения или диапазона.

**[00191]** Как используется в настоящем описании и формуле изобретения, формы единственного числа включают формы множественного числа, если из контекста явно не следует иное.

**[00192]** Следует понимать, что в тех случаях, когда варианты осуществления описаны в данном документе с термином «содержащий», также предусмотрены аналогичные варианты осуществления, описанные в терминах «состоящий из» и/или «состоящий по существу из». Следует понимать, что во всех случаях, когда варианты осуществления описаны в данном документе с формулировкой «состоящий преимущественно из», также предложены иные аналогичные варианты осуществления, описанные в терминах «состоящий из».

**[00193]** Подразумевается, что термин «и/или», используемый в данном документе в таком выражении, как «А и/или В», включает как А, так и В; А или В; А (отдельно) и В (отдельно). Аналогично, термин «и/или», используемый в такой фразе, как «А, В и/или С»,

предназначен для охвата каждого из следующих вариантов осуществления: А, В, и С; А, В, или С; А или С; А или В; В или С; А и С; А и В; В и С; А (только); В (только); и С (только).

**[00194]** Термин «вариант» относится к молекуле, которая демонстрирует отклонение от описанного типа или нормы, такой как белок, который имеет один или более различных аминокислотных остатков в соответствующем положении (положениях) конкретно описанного белка (например, белок 191P4D12 показано на **Фиг. 1А**.) Аналог является примером вариантного белка. Изоформы сплайсинга и полиморфизмы одиночных нуклеотидов (SNP) являются дополнительными примерами вариантов.

**[00195]** «Белки 191P4D12» и/или «родственные 191P4D12 белки» по изобретению включают те, которые конкретно идентифицированы в настоящем документе (см. **Фиг. 1А**), а также аллельные варианты, варианты с консервативными заменами, аналоги и гомологи, которые могут быть выделены/получены и охарактеризованы без ненадлежащего экспериментирования с использованием методов, изложенных в настоящем документе, или легкодоступных в данной области техники. Также включены слитые белки, которые объединяют части различных белков 191P4D12 или их фрагменты, а также слитые белки белка 191P4D12 и гетерологичного полипептида. Такие белки 191P4D12 в совокупности называются родственными 191P4D12 белками, белками по изобретению или 191P4D12. Термин «родственный 191P4D12 белок» относится к полипептидному фрагменту или последовательности белка 191P4D12 из 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, или более 25 аминокислот; или по меньшей мере 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 225, 250, 275, 300, 325, 330, 335, 339 или более аминокислот. Термин «191P4D12» используется взаимозаменяемо с нектином-4.

## 5.2 Способы лечения рака

**[00196]** Уротелиальный рак и рак мочевого пузыря (включая местнораспространенный уротелиальный рак, метастатический уротелиальный рак, местнораспространенный рак мочевого пузыря и метастатический рак мочевого пузыря) у пациентов, получавших иммунотерапию и не подходящих для лечения цисплатином, являются особенно трудными для лечения заболеваниями. Как правило, эти пациенты слабы, страдают от множественных сопутствующих заболеваний, помимо уротелиального рака/рака мочевого пузыря, и не могут переносить дополнительное лечение, кроме иммунотерапии, что приводит к тому, что многие вообще прекращают терапию. Таким образом, эти пациенты имеют плохой прогноз и мало вариантов лечения. Это раскрытие частично основано на результатах первого клинического испытания, демонстрирующего объективные ответы у таких

пациентов. Таким образом, в описании представлены продемонстрированные эффективные способы лечения пациентов с уротелиальным раком и/или раком мочевого пузыря (включая местнораспространенный уротелиальный рак, метастатический уротелиальный рак, местнораспространенный рак мочевого пузыря и метастатический рак мочевого пузыря), которые ранее получали иммунотерапию, но не подходят для лечения цисплатином в этих условиях из-за неадекватной функции почек или других состояний, как указано в данном документе. До получения результатов, описанных в данном документе, существовала значительная неопределенность в отношении того, будут ли предложенные в данном документе способы эффективными, учитывая, что эта популяция пациентов исторически оказалась настолько сложной для лечения. Как дополнительно описано ниже, достигнутый уровень эффективности был особенно заметным и неожиданным.

### **5.2.1 Способы лечения рака в целом и для отдельных пациентов**

**[00197]** В данном документе предложены способы лечения различных видов рака у субъектов, включая субъектов с ранее леченным местнораспространенным или метастатическим уротелиальным раком, с использованием конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC), который связывает 191P4D12.

**[00198]** В одном аспекте в данном документе предусмотрены способы лечения рака у субъекта с использованием ADC, связывающего 191P4D12. В некоторых вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, ранее получал лечение рака, отличное от ADC, связывающего 191P4D12. В определенных вариантах осуществления предыдущее лечение включает ингибитор иммунной контрольной точки (CPI) или состоит из него. В некоторых вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходит для лечения цисплатином. В других вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходящий для лечения цисплатином и ранее получал лечение, включающее или состоящее из CPI. В определенных вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходящий для лечения цисплатином, ранее получал лечение, включающее или состоящее из CPI, и является субъектом-человеком, ранее не получавшим препараты платины. В некоторых дополнительных вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходящий для лечения цисплатином, ранее получал лечение, включающее или состоящее из CPI, и является субъектом-человеком, который получал платину в адъювантной или неадъювантной

терапии и не прогрессировал в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В других вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходящий для лечения цисплатином, ранее получал лечение, включающее или состоящее из СРІ, и является субъектом-человеком, который ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию в местнораспространенных или метастатических условиях. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой уротелиальный рак. В определенных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак мочевого пузыря. В одном варианте осуществления рак представляет собой местнораспространенный рак. В другом варианте осуществления рак представляет собой метастатический рак. В другом варианте осуществления рак представляет собой местнораспространенный уротелиальный рак. В еще одном варианте осуществления рак представляет собой метастатический уротелиальный рак. В одном варианте осуществления рак представляет собой местнораспространенный рак мочевого пузыря. В другом варианте осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии СРІ.

**[00199]** В другом аспекте в данном документе предложены способы лечения уротелиального рака у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12. В одном варианте осуществления способов лечения уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СРІ. В другом варианте осуществления способов лечения уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СРІ и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения уротелиального рака,

представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии CPI.

**[00200]** В дополнительном аспекте в данном документе предложены способы лечения местнораспространенного уротелиального рака у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12. В одном варианте осуществления способов лечения местнораспространенного уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI. В другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного

уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СР1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СР1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СР1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения местнораспространенного уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СР1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адьювантной или неоадьювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии СР1.

**[00201]** В еще одном другом аспекте в данном документе предложены способы лечения метастатического уротелиального рака у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его

антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12. В одном варианте осуществления способов лечения метастатического уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СР1. В другом варианте осуществления способов лечения метастатического уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СР1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения метастатического уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СР1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения метастатического уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СР1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения метастатического уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СР1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неоадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном

документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии CPI.

**[00202]** В еще одном другом аспекте в данном документе предложены способы лечения рака мочевого пузыря у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12. В одном варианте осуществления способов лечения рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI. В другом варианте осуществления способов лечения рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адьювантной или неадьювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В

дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии СР1.

**[00203]** В одном аспекте в данном документе предложены способы лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12. В одном варианте осуществления способов лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СР1. В другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СР1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СР1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию СР1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря,

представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии CPI.

**[00204]** В другом аспекте в данном документе предложены способы лечения метастатического рака мочевого пузыря у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12. В одном варианте осуществления способов лечения метастатического рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI. В другом варианте осуществления способов лечения метастатического рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения метастатического рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения метастатического рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его

антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения метастатического рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адьювантной или неоадьювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии CPI.

**[00205]** В дополнительном аспекте в данном документе предложены способы лечения рака у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12. В одном варианте осуществления способов лечения рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI. В другом варианте осуществления способов лечения рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим

препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию CPI, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии CPI. В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, в том числе в этом абзаце, рак представляет собой местнораспространенный рак. В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, в том числе в этом абзаце, рак представляет собой метастатический рак.

**[00206]** В одном аспекте в данном документе представлены способы лечения рака у субъекта с использованием ADC, который связывает 191P4D12, при этом субъект-человек, получавший лечение способами, представленными в настоящем документе, ранее получал терапию ингибитором PD-1. В некоторых вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходит для лечения цисплатином. В других вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходящий для лечения цисплатином и ранее получал лечение, включающее или состоящее из ингибитора PD-1. В определенных вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходящий для лечения

цисплатином, ранее получал лечение, включающее или состоящее из ингибитора PD-1, и является субъектом-человеком, ранее не получавшим препараты платины. В некоторых дополнительных вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходящий для лечения цисплатином, ранее получал лечение, включающее или состоящее из ингибитора PD-1, и является субъектом-человеком, который получал платину в адъювантной или неоадъювантной терапии и не прогрессировал в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В других вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходящий для лечения цисплатином, ранее получал лечение, включающее или состоящее из ингибитора PD-1, и является субъектом-человеком, который ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию в местнораспространенных или метастатических условиях. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой уротелиальный рак. В определенных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак мочевого пузыря. В одном варианте осуществления рак представляет собой местнораспространенный рак. В другом варианте осуществления рак представляет собой метастатический рак. В другом варианте осуществления рак представляет собой местнораспространенный уротелиальный рак. В еще одном варианте осуществления рак представляет собой метастатический уротелиальный рак. В одном варианте осуществления рак представляет собой местнораспространенный рак мочевого пузыря. В другом варианте осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-1.

**[00207]** В другом аспекте в данном документе предложены способы лечения уротелиального рака у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1. В другом варианте осуществления способов лечения уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку

эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения рака уротелия, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-1.

**[00208]** В дополнительном аспекте в данном документе предложены способы лечения местнораспространенного уротелиального рака у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибиторами PD-1. В другом варианте осуществления способов

лечения местнораспространенного уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения местнораспространенного уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-1.

**[00209]** В другом аспекте в данном документе предложены способы лечения метастатического уротелиального рака у субъекта-человека, включающие введение

субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1. В другом варианте осуществления способов лечения метастатического уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения метастатического уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения метастатического уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения метастатического уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неоадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-1.

**[00210]** В другом аспекте в данном документе предложены способы лечения рака мочевого пузыря у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1. В другом варианте осуществления способов лечения рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у

субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-1.

**[00211]** В одном аспекте в данном документе предложены способы лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибиторами PD-1. В другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе,

включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирующее или рецидивное заболевание раком во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирующее или рецидивное заболевание раком во время или после терапии ингибитором PD-1.

**[00212]** В другом аспекте в данном документе предложены способы лечения метастатического рака мочевого пузыря у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1. В другом варианте осуществления способов лечения метастатического рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения метастатического рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения метастатического рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения метастатического рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у

него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-1.

**[00213]** В дополнительном аспекте в данном документе предложены способы лечения рака у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1. В другом варианте осуществления способов лечения рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адьювантной или

неoadъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-1. В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, в том числе в этом абзаце, рак представляет собой местнораспространенный рак. В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, в том числе в этом абзаце, рак представляет собой метастатический рак.

**[00214]** В одном аспекте в данном документе представлены способы лечения рака у субъекта с использованием ADC, который связывает 191P4D12, при этом субъект-человек, получавший лечение способами, представленными в настоящем документе, ранее получал терапию ингибитором PD-L1. В некоторых вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходит для лечения цисплатином. В других вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходящий для лечения цисплатином и ранее получал лечение, включающее или состоящее из ингибитора PD-L1. В определенных вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходящий для лечения цисплатином, ранее получал лечение, включающее или состоящее из ингибитора PD-L1, и является субъектом-человеком, ранее не получавшим препараты платины. В некоторых дополнительных вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходящий для лечения цисплатином, ранее получал лечение, включающее или состоящее из ингибитора PD-L1, и является субъектом-человеком, который получал платину в адъювантной или неoadъювантной терапии и не прогрессировал в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В других вариантах осуществления субъект-человек, получающий лечение способами, представленными в данном документе, не подходящий для лечения цисплатином, ранее получал лечение, включающее или состоящее из ингибитора PD-L1, и является субъектом-человеком, который ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию в местнораспространенных или метастатических условиях. В некоторых вариантах осуществления злокачественное новообразование

представляет собой уротелиальный рак. В определенных вариантах осуществления злокачественное новообразование представляет собой рак мочевого пузыря. В одном варианте осуществления рак представляет собой местнораспространенный рак. В другом варианте осуществления рак представляет собой метастатический рак. В другом варианте осуществления рак представляет собой местнораспространенный уротелиальный рак. В еще одном варианте осуществления рак представляет собой метастатический уротелиальный рак. В одном варианте осуществления рак представляет собой местнораспространенный рак мочевого пузыря. В другом варианте осуществления рак представляет собой рак мочевого пузыря. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-L1.

**[00215]** В другом аспекте в данном документе предложены способы лечения уротелиального рака у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1. В другом варианте осуществления способов лечения уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения рака уротелия, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при этом

человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-L1.

**[00216]** В дополнительном аспекте в данном документе предложены способы лечения местнораспространенного уротелиального рака у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибиторами PD-L1. В другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение

субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения местнораспространенного уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-L1.

**[00217]** В другом аспекте в данном документе предложены способы лечения метастатического уротелиального рака у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1. В другом варианте осуществления способов лечения метастатического уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения метастатического уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом,

ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения метастатического уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения метастатического уротелиального рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-L1.

**[00218]** В другом аспекте в данном документе предложены способы лечения рака мочевого пузыря у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1. В другом варианте осуществления способов лечения рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-

человек получил терапию ингибитором PD-L1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-L1.

**[00219]** В одном аспекте в данном документе предложены способы лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибиторами PD-L1. В другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря,

представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения местнораспространенного рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-L1.

**[00220]** В другом аспекте в данном документе предложены способы лечения метастатического рака мочевого пузыря у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1. В другом варианте осуществления способов лечения метастатического рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при

этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения метастатического рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения метастатического рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения метастатического рака мочевого пузыря, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-L1.

**[00221]** В дополнительном аспекте в данном документе предложены способы лечения рака у субъекта-человека, включающие введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1. В другом варианте осуществления способов лечения рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC,

содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1 и субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином. В другом варианте осуществления способов лечения рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек является субъектом, ранее не получавшим препараты платины. В еще одном другом варианте осуществления способов лечения рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при этом человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании. В еще одном варианте осуществления способов лечения рака, представленных в данном документе, способ включает введение субъекту-человеку эффективного количества ADC, содержащего антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, при этом субъект-человек получил терапию ингибитором PD-L1, при которой субъект-человек является не подходящим для лечения цисплатином, и при этом субъект-человек получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии, и у него не наблюдалось прогрессирования в течение 12 месяцев после завершения лечения платиной. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в этом абзаце, у субъекта наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии ингибитором PD-L1. В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, в том числе в этом абзаце, рак представляет собой местнораспространенный рак. В определенных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, в том числе в этом абзаце, рак представляет собой метастатический рак.

#### **5.2.1.1** *Пациенты, не подходящие для лечения цисплатином*

**[00222]** Различные условия могут быть использованы для определения неприемлемости

цисплатина для субъектов-людей для способов, представленных в данном документе, включая, помимо прочего, способы, описанные в предыдущих абзацах. В одном варианте осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из нарушения функции почек. В определенных вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из потери слуха не ниже 2 степени. В одном варианте осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2, нарушения функции почек. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2, и потери слуха не ниже 2-й степени. В дополнительных вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из нарушения функции почек и потери слуха не ниже 2 степени. В других вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2 балла, нарушения функции почек и потери слуха не ниже 2 степени. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2, нарушения функции почек и потери слуха не ниже 2 степени. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из любых двух из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2, нарушения функции почек и потери слуха не ниже 2 степени в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из всех трех из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2 балла, нарушения функции почек и потери слуха не ниже 2 степени.

**[00223]** Нарушение функции почек можно определить различными способами, известными и доступными в данной области. В данном документе представлены различные варианты осуществления для определения нарушения функции почек у субъектов-людей для способов, представленных в данном документе, включая, помимо прочего, способы, описанные в предыдущем абзаце. В одном варианте осуществления нарушение функции почек определяется по клиренсу креатинина (CrCl) менее 60 мл/мин. В некоторых вариантах осуществления нарушение функции почек определяется по CrCl менее 60, но не

менее 30 мл/мин. В определенных вариантах осуществления нарушение функции почек определяется по CrCl менее 30, но не менее 15 мл/мин. В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном абзаце, CrCl измеряют путем сбора мочи за 24 часа. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном абзаце, CrCl оценивают по критериям Кокрофта-Голта.

**[00224]** Таким образом, некоторые конкретные условия, основанные на клиренсе креатинина, могут быть использованы для определения неприемлемости цисплатина для субъектов-людей для способов, представленных в данном документе, включая, помимо прочего, способы, описанные в предыдущих абзацах. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из CrCl менее 60 мл/мин. В одном варианте осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из оценки статус производительности по шкале ECOG, равной 2, и CrCl менее 60 мл/мин. В дополнительных вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из CrCl менее 60 мл/мин и потери слуха не менее 2 степени. В еще одних других вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2, CrCl менее 60 мл/мин и потери слуха не ниже 2 степени. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из любой из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2, CrCl менее 60 мл/мин и потери слуха не ниже 2-й степени. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из любых двух из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равных 2, CrCl менее 60 мл/мин и потери слуха не ниже 2-й степени в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из всех трех из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2, CrCl менее 60 мл/мин и потери слуха не ниже 2 степени. В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном абзаце, CrCl измеряют путем сбора мочи за 24 часа. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном абзаце, CrCl оценивают по критериям Кокрофта-Голта.

**[00225]** В качестве альтернативы, другие конкретные условия, основанные на клиренсе креатинина, могут быть использованы для определения неприемлемости цисплатина для субъектов-людей для способов, представленных в данном документе, включая, помимо прочего, способы, описанные в предыдущих абзацах. В некоторых вариантах

осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из CrCl менее 60, но не менее 30 мл/мин. В одном варианте осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из оценки статус производительности по шкале ECOG, равной 2, и CrCl менее 60 мл/мин, но не менее 30 мл/мин. В дополнительных вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из CrCl менее 60 мл/мин, но не менее 30 мл/мин и потери слуха не менее 2 степени. В еще одних других вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2, CrCl менее 60 мл/мин, но не менее 30 мл/мин и потери слуха не ниже 2 степени. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из любой из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2, CrCl менее 60 мл/мин, но не менее 30 мл/мин и потери слуха не ниже 2-й степени. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из любых двух из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равных 2, CrCl менее 60 мл/мин, но не менее 30 мл/мин и потери слуха не ниже 2-й степени в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из всех трех из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2, CrCl менее 60 мл/мин, но не менее 30 мл/мин и потери слуха не ниже 2 степени. В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном абзаце, CrCl измеряют путем сбора мочи за 24 часа. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном абзаце, CrCl оценивают по критериям Кокрофта-Голта.

**[00226]** Аналогично, дополнительные конкретные условия, основанные на клиренсе креатинина, могут быть использованы для определения неприемлемости цисплатина для субъектов-людей для способов, представленных в данном документе, включая, помимо прочего, способы, описанные в предыдущих абзацах. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из CrCl менее 30, но не менее 15 мл/мин. В одном варианте осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из оценки статус производительности по шкале ECOG, равной 2, и CrCl менее 30 мл/мин, но не менее 15 мл/мин. В дополнительных вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из CrCl менее 30 мл/мин, но не менее 15 мл/мин и потери слуха не менее 2 степени. В еще одних других вариантах осуществления

условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2, CrCl менее 30 мл/мин, но не менее 15 мл/мин и потери слуха не ниже 2 степени. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из любой из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2, CrCl менее 30 мл/мин, но не менее 15 мл/мин и потери слуха не ниже 2-й степени. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из любых двух из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равных 2, CrCl менее 30 мл/мин, но не менее 15 мл/мин и потери слуха не ниже 2-й степени в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления условия для определения неприемлемости цисплатина включают или состоят из всех трех из оценки статуса производительности по шкале ECOG, равной 2, CrCl менее 30 мл/мин, но не менее 15 мл/мин и потери слуха не ниже 2 степени. В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном абзаце, CrCl измеряют путем сбора мочи за 24 часа. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном абзаце, CrCl оценивают по критериям Кокрофта-Голта.

#### **5.2.1.2** *Дополнительные демографические данные пациентов*

[00227] Кроме того, субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, являются субъектами-людьми, имеющими различные другие состояния. В одном варианте осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь висцеральные метастазы. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь метастазы в печень. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта. В еще одних вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь 0 баллов состояния работоспособности по шкале ECOG. В одном варианте осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях и метастазы в печень. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях и по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта. В других вариантах

осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В дополнительных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь висцеральные метастазы и метастазы в печень. В одном варианте осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь висцеральные метастазы и по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, могут иметь висцеральные метастазы и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, могут иметь метастазы в печень и по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта. В еще других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь метастазы в печень и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В одном варианте осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, могут иметь по меньшей мере 1 фактор риска Беллмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях, висцеральные метастазы и метастазы в печень. В еще одних вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях, висцеральные метастазы и по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта. В дополнительных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях, висцеральные метастазы и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях, метастазы в печень и по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях, метастазы в печень и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В еще одних других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта, и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В

некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь висцеральные метастазы, метастазы в печень и по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь висцеральные метастазы, метастазы в печень и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В еще одних других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь висцеральные метастазы, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В еще одних других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых способы, представленные в данном документе, могут иметь метастазы в печени, по меньшей мере, 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень и по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта. В дополнительных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях, висцеральные метастазы, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В некоторых вариантах реализации субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях, метастазы в печени, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и показатель функционального статуса ECOG, равный 0. В дополнительных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь висцеральные метастазы, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в нижних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале

ECOG, равную 0. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь любую из следующих первичных локализаций опухоли в нижних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В некоторых вариантах реализации изобретения субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь любые два из следующих: первичная локализация опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0, в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь любые три из следующих: первичная локализация опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0, в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь любые четыре из первичного очага опухоли в нижних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0, в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь все пять из первичного очага опухоли в нижних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0.

**[00228]** В дополнительных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях. В одном варианте осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях и висцеральные метастазы. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях и метастазы в печень. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях и по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в

данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы и метастазы в печень. В еще одних вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы и по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта. В дополнительных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях, метастазы в печень и по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях, метастазы в печень и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В еще одних других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта, и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень и по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта. В дополнительных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта, и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска

Бельмунта, и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь первичную локализацию опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь любое из следующего: первичная локализация опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь любые два из следующего: первичная локализация опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0, в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь любые три из следующих: первичный очаг опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0, в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь любые четыре из первичного очага опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0, в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, представленные в данном документе, могут иметь все пять из первичного очага опухоли в верхних мочевых путях, висцеральные метастазы, метастазы в печень, по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта и оценку состояния работоспособности по шкале ECOG, равную 0.

**[00229]** В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, описанные в предыдущих абзацах, субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, являются субъектами-людьми, имеющими различные другие состояния. В одном варианте осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы,

представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ . В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ . В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели гемоглобина не менее 9 г/дл. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели билирубина в сыворотке не более чем в 1,5 раза выше верхней границы нормы (ULN) или в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера. В еще одних других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели CrCl не менее 30 мл/мин. В другом варианте осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели аланинаминотрансферазы (ALT) и аспартатаминотрансферазы (AST) не более чем в 3 раза выше ULN. В одном варианте осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  и количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ . В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  и гемоглобина не менее 9 г/дл. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного числа нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  и билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  и CrCl не менее 30 мл/мин. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$  и ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В дополнительных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$  и гемоглобина не менее 9 г/дл. В одном

варианте осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$  и билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с Болезнь Жильбера. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$  и CrCl не менее 30 мл/мин. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$  и ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели гемоглобина не менее 9 г/дл и билирубина в сыворотке не более чем в 1,5 раза выше ULN или в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера. В еще одних других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели гемоглобина не менее 9 г/дл и CrCl не менее 30 мл/мин. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели гемоглобина не менее 9 г/дл и ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В одном варианте осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели билирубина в сыворотке не более чем в 1,5 раза выше ULN или в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера и CrCl не менее 30 мл/мин. В другом варианте осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели билирубина в сыворотке не более чем в 1,5 раза выше ULN или в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера, а ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В другом варианте осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели CrCl не менее 30 мл/мин и ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$  и гемоглобина не менее 9 г/дл. В еще одних других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не

менее  $100 \times 10^9/\text{л}$  и билирубина в сыворотке не более чем либо в 1,5 раза выше ULN, либо в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера. В дополнительных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$  и CrCl не менее 30 мл/мин. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$  и ALT, и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл и сывороточный билирубин не более чем в 1,5 раз выше ULN или в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобин не менее 9 г/дл и CrCl не менее 30 мл/мин. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобин не менее 9 г/дл и ALT и AST не более 3-х кратного ULN. В еще одних других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , билирубина сыворотки не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для больных с болезнью Жильбера и CrCl не менее 30 мл/мин. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , CrCl не менее 30 мл/мин и ALT и AST не более 3-х кратного ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе,

также имеют показатели количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл и сывороточный билирубин не более чем в 1,5 раз выше ULN или в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобин не менее 9 г/дл и CrCl не менее 30 мл/мин. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобин не менее 9 г/дл и ALT и AST не более 3-х кратного ULN. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , билирубина сыворотки не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для больных с болезнью Жильбера и CrCl не менее 30 мл/мин. В еще одних других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , CrCl не менее 30 мл/мин и ALT и AST не более 3-х кратного ULN. В еще одних других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина сыворотки не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для больных с болезнью Жильбера и CrCl не менее 30 мл/мин. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели гемоглобина не менее 9 г/дл, CrCl не менее 30 мл/мин и ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели содержания билирубина в сыворотке не более чем в 1,5 раза выше ULN

или в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее 30 мл/мин, ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл и билирубина в сыворотке не более чем либо в 1,5 раза выше ULN, либо в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера. В дополнительных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл и CrCl не менее 30 мл/мин. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл и ALT, и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , билирубина в сыворотке не более чем либо в 1,5 раза выше ULN, либо в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера, и CrCl не менее чем 30 мл/мин. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , CrCl не менее 30 мл/мин, а ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более чем либо в 1,5 раза выше ULN, либо в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера, и CrCl не менее чем 30 мл/мин. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы,

представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, CrCl не менее 30 мл/мин, а ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В еще одних других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее чем 30 мл/мин и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В дополнительных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более чем либо в 1,5 раза выше ULN, либо в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера, и CrCl не менее чем 30 мл/мин. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В дополнительных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, CrCl не менее 30 мл/мин, а ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее чем 30 мл/мин и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели гемоглобина не менее 9 г/дл, содержания билирубина в сыворотке не более чем в 1,5 раза выше ULN или в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее 30 мл/мин, ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В определенных вариантах

осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более чем либо в 1,5 раза выше ULN, либо в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера, и CrCl не менее чем 30 мл/мин. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, CrCl не менее чем 30 мл/мин и ALT, и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее чем 30 мл/мин и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее чем 30 мл/мин и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее чем 30 мл/мин и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее чем 30 мл/мин и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN

для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее чем 30 мл/мин и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели любого одного из абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее чем 30 мл/мин и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели любых двух из абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее чем 30 мл/мин и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели любых трех из абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее чем 30 мл/мин и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели любых четырех из абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее чем 30 мл/мин и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели любых пяти из абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее чем 30 мл/мин и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, также имеют показатели всех

шести из абсолютного количества нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ , количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ , гемоглобина не менее 9 г/дл, билирубина в сыворотке не более 1,5-кратного ULN или 3-кратного ULN для пациентов с болезнью Жильбера, CrCl не менее чем 30 мл/мин и уровни ALT и AST не более чем в 3 раза выше ULN.

**[00230]** В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, описанные в предыдущих абзацах, субъекты-люди, для которых могут быть использованы способы, представленные в данном документе, являются людьми, не страдающими определенными заболеваниями. В одном варианте осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь сенсорную или моторную невропатию не выше 2 степени. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут не иметь активных метастазов в центральной нервной системе. В определенных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предусмотрены способы, могут не иметь неконтролируемого диабета. В одном варианте осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь сенсорную или моторную невропатию не выше 2 степени и не иметь активных метастазов в центральной нервной системе. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь сенсорную или моторную невропатию не выше 2 степени и не иметь неконтролируемого диабета. В дополнительных вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, не могут иметь активных метастазов в центральной нервной системе и неконтролируемого диабета. В еще одних других вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, могут иметь сенсорную или моторную невропатию не выше 2 степени, отсутствие активных метастазов в центральной нервной системе и неконтролируемый диабет. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, представленные в данном документе, могут иметь любую из сенсорной или моторной нейропатии не более 2 степени, отсутствие активных метастазов в центральной нервной системе и неконтролируемый диабет. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, представленные в данном документе, могут иметь любые два из не более чем 2-й степени сенсорной или моторной нейропатии, отсутствия активных метастазов в центральную нервную систему и отсутствия неконтролируемого диабета в любой комбинации или перестановке. В некоторых вариантах осуществления субъекты-люди, для которых предложены способы, представленные в данном документе, могут иметь все три из сенсорной или моторной нейропатии не более 2 степени, отсутствия активных метастазов в центральной нервной системе и отсутствия неконтролируемого

диабета. В одном из вариантов осуществления способов, предусмотренных в данном абзаце, неконтролируемый диабет определяется гемоглобином A1c (HbA1c) не менее 8 %. В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в этом абзаце, неконтролируемый диабет определяют по уровню HbA1c от 7 до 8 % с сопутствующими симптомами диабета, которые иначе не объясняются. В дополнительных вариантах осуществления способов, представленных в этом абзаце, сопутствующие симптомы диабета включают полиурию состоят из нее. В некоторых других вариантах осуществления способов, представленных в этом абзаце, сопутствующие симптомы диабета включают полидипсию или состоят из нее. В еще одних других вариантах осуществления способов, представленных в этом абзаце, ассоциированные симптомы диабета включают или состоят как из полиурии, так и из полидипсии.

**[00231]** В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, CrCl измеряют путем сбора мочи за 24 часа. В других вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, CrCl оценивают по критериям Кокрофта-Голта.

**[00232]** В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в настоящем документе, субъект получает лечение одним или более другим видом лечения рака. В определенных вариантах осуществления способов, представленных в настоящем документе, уротелиальный рак, включая местнораспространенный или метастатический уротелиальный рак, лечили одним или более другими видами лечения рака.

**[00233]** В некоторых вариантах осуществления CPI, предложенный для способов, может включать или состоять из любого CPI, как описано в этом разделе (Раздел 5.2.1).

**[00234]** Во всех предложенных в данном документе способах и, в частности, описанных в предыдущих шести абзацах: ADC, которые можно использовать, описаны в разделах 3, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5 и 6, отбор пациентов для лечения описан в данном документе и приведен в качестве примера в этом разделе (раздел 5.2) и разделы 3 и 6, режимы дозирования и фармацевтическая композиция для введения терапевтического средства описаны в данном разделе (раздел 5.2), разделы 5.4, 5.6, 5.7 и 6 ниже, биомаркеры, которые можно использовать для идентификации терапевтических агентов, отбора пациентов, определения результатов этих методов и/или использования в качестве критериев для этих методов, описаны в данном документе и приведены в качестве примеров в этом разделе (раздел 5.2, включая 5.2.1 и 5.2.2) и раздел 6, биомаркеры можно определить, как описано в разделе 5.8 или как известно в данной области, терапевтические результаты для методов, представленные в данном документе, описаны в этом разделе (раздел 5.2, включая раздел

5.2.1.4) и разделы 3 и 6, дополнительными терапевтическими результатами для способов, представленных в данном документе, может быть улучшение биомаркеров, описанных в данном документе, например, описанные и проиллюстрированные в этом разделе (раздел 5.2, включая 5.2.2) и разделы 3 и 6, а комбинированная терапия, включающая ADC и другие терапевтические агенты, описана в этом разделе (раздел 5.2) и в разделе 5.5. Таким образом, специалисту в данной области должно быть понятно, что представленные в данном документе способы включают все перестановки и комбинации пациентов, терапевтических агентов, режимов дозирования, биомаркеров и терапевтических результатов, как описано выше и ниже.

**[00235]** В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в данном документе, используются для лечения субъектов, страдающих уротелиальным раком, которые экспрессируют РНК 191P4D12, экспрессируют белок 191P4D12 или экспрессируют как РНК 191P4D12, так и белок 191P4D12. В одном варианте осуществления способы, представленные в данном документе, применяются для лечения субъектов, у которых имеется уротелиальный рак, который экспрессирует РНК 191P4D12, экспрессирует белок 191P4D12 или экспрессирует как РНК 191P4D12, так и белок 191P4D12, и которые ранее подвергались лечению с помощью СРІ.

**[00236]** В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в данном документе, используются для лечения субъектов, страдающих местно-распространенным уротелиальным раком, которые экспрессируют РНК 191P4D12, экспрессируют белок 191P4D12 или экспрессируют как РНК 191P4D12, так и белок 191P4D12. В одном варианте осуществления способы, представленные в данном документе, применяются для лечения субъектов, у которых имеется местно-распространенный уротелиальный рак, который экспрессирует РНК 191P4D12, экспрессирует белок 191P4D12 или экспрессирует как РНК 191P4D12, так и белок 191P4D12, и которые ранее подвергались лечению с помощью СРІ.

**[00237]** В некоторых вариантах осуществления способы, представленные в данном документе, используются для лечения субъектов, страдающих метастатическим раком, которые экспрессируют РНК 191P4D12, экспрессируют белок 191P4D12 или экспрессируют как РНК 191P4D12, так и белок 191P4D12. В одном варианте осуществления способы, представленные в данном документе, применяются для лечения субъектов, у которых имеется метастатический уротелиальный рак, который экспрессирует РНК 191P4D12, экспрессирует белок 191P4D12 или экспрессирует как РНК 191P4D12, так и белок 191P4D12, и которые ранее подвергались лечению с помощью СРІ.

**[00238]** В некоторых вариантах осуществления экспрессию РНК 191P4D12 в раковых

опухолях определяют с помощью гибридизации полинуклеотидов, секвенирования (оценки относительного содержания последовательностей) и/или ПЦР (включая ОТ-ПЦР). В некоторых вариантах осуществления экспрессию белка 191P4D12 в раковых опухолях определяют с помощью ИГХ, анализа с помощью сортировки клеток с активированной флуоресценцией (FACS) и/или вестерн-блоттинга. В некоторых вариантах осуществления экспрессию белка 191P4D12 в раке определяют более чем одним способом. В некоторых вариантах осуществления экспрессию белка 191P4D12 в раке определяют двумя методами ИГХ.

**[00239]** В некоторых вариантах осуществления местнораспространенный или метастатический уротелиальный рак подтверждают гистологически, цитологически или как гистологически, так и цитологически. В некоторых вариантах осуществления местнораспространенный или метастатический рак мочевого пузыря подтверждается гистологически, цитологически или как гистологически, так и цитологически.

### **5.2.1.3** *Предварительное лечение, включая предварительное лечение CPI*

**[00240]** В некоторых вариантах осуществления субъекты, которых можно лечить способами, представленными в данном документе, включают субъектов, которые получали один или более других видов лечения рака. В некоторых вариантах осуществления субъекты, которых можно лечить способами, представленными в данном документе, включают субъектов, которые получали один или более других видов лечения рака и у которых рак прогрессировал или рецидивировал после одного или более видов лечения. Такой один или более видов лечения включают, например, одну или более линий терапии ингибиторами иммунных контрольных точек, химиотерапию и как терапию ингибиторами иммунных контрольных точек, так и химиотерапию. В некоторых вариантах осуществления субъекты, которых можно лечить способами, представленными в данном документе, включают субъектов, у которых рак прогрессировал или рецидивировал после терапии с помощью CPI.

**[00241]** В некоторых конкретных вариантах осуществления субъекты, которых можно лечить способами, представленными в данном документе, включают субъектов, у которых рак прогрессировал или рецидивировал после терапии с помощью CPI. В некоторых конкретных вариантах осуществления субъекты, которых можно лечить способами, представленными в данном документе, включают субъектов, у которых рак прогрессировал или рецидивировал после терапии CPI в неоадьювантных условиях. В некоторых конкретных вариантах осуществления субъекты, которых можно лечить способами,





некоторых конкретных вариантах осуществления субъекты, которых можно лечить способами, представленными в данном документе, включают субъектов, у которых рак прогрессирует или рецидивировал после терапии с помощью ингибитора PD-L1 в неoadьювантных, местнораспространенных условиях. В некоторых конкретных вариантах осуществления субъекты, которых можно лечить способами, представленными в данном документе, включают субъектов, у которых рак прогрессирует или рецидивировал после терапии с помощью ингибитора PD-L1 в неoadьювантных, метастатических условиях. В некоторых конкретных вариантах осуществления субъекты, которых можно лечить способами, представленными в данном документе, включают субъектов, у которых рак прогрессирует или рецидивировал после терапии ингибитором PD-L1 в адьювантных, местнораспространенных условиях. В некоторых конкретных вариантах осуществления субъекты, которых можно лечить способами, представленными в данном документе, включают субъектов, у которых рак прогрессирует или рецидивировал после терапии ингибитором PD-L1 в адьювантных, метастатических условиях.

**[00244]** В некоторых вариантах осуществления субъекты, которых можно лечить способами, представленными в данном документе, включают тех, у которых рак прогрессирует или рецидивировал с помощью других методов лечения рака в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24 месяца после другого лечения, включая, например, но не ограничиваясь этим, любое описанное в предыдущих пунктах лечение или любую комбинацию лечений. В некоторых конкретных вариантах осуществления рак у субъектов прогрессирует или рецидивировал в течение 6 месяцев после других способов лечения рака, включая лечение CPI, такое как лечение ингибитором PD-1 или ингибитором PD-L1. В дополнительных вариантах осуществления рак у субъектов прогрессирует или рецидивировал в течение 12 месяцев после других способов лечения рака, включая лечение CPI, такое как лечение ингибитором PD-1 или ингибитором PD-L1.

**[00245]** В некоторых вариантах осуществления субъекты, которых можно лечить способами, предложенными в данном документе, имеют определенные фенотипические или генотипические характеристики. В некоторых вариантах осуществления субъекты имеют любую перестановку и комбинацию фенотипических или генотипических характеристик, описанных в данном документе.

**[00246]** В некоторых вариантах осуществления фенотипические или генотипические характеристики определяются гистологически, цитологически или как гистологически, так и цитологически. В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в

данном документе, гистологическое и/или цитологическое определение фенотипических и/или генотипических характеристик проводят, как описано в руководствах Американского общества клинической онкологии/Колледжа американских патологов (ASCO/CAP), основанных на самых последних образцах анализируемой ткани, которые полностью включены в данное описание посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления фенотипические или генотипические характеристики определяют путем секвенирования, включая секвенирование нового поколения (например, NGS от Illumina, Inc), гибридизацию ДНК и/или гибридизацию РНК.

**[00247]** В различных аспектах или вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, включая способы, предложенные в этом разделе (раздел 5.2), такие как способы, представленные в этом и предыдущих параграфах, способы включают предварительное лечение ингибитором иммунной контрольной точки, как предусмотрено в способе. Используемый в данном документе термин «ингибитор иммунной контрольной точки» или «ингибитор контрольной точки» относится к молекулам, которые полностью или частично восстанавливают, ингибируют, мешают или модулируют один или более белков контрольных точек. Известны многочисленные белки контрольных точек, такие как CTLA-4 и его лиганды CD80 и CD86; и PD-1 с его лигандами PD-L1 и PD-L2 (Pardoll, *Nature Reviews Cancer*, **2012**, *12*, 252-264). Другие иллюстративные белки контрольной точки включают LAG-3, B7, TIM3 (HAVCR2), OX40 (CD134), GITR, CD137, CD40, VTCN1, IDO1, CD276, PVRIG, TIGIT, CD25 (IL2RA), IFNAR2, IFNAR1, CSF1R, VSIR (VISTA) или HLA. Эти белки, по-видимому, ответственны за костимулирующие или ингибирующие взаимодействия Т-клеточных ответов. Белки иммунных контрольных точек, по-видимому, регулируют и поддерживают самопереносимость, а также продолжительность и амплитуду физиологических иммунных ответов. Ингибиторы иммунных контрольных точек включают антитела или являются производными антител.

**[00248]** В определенных вариантах осуществления ингибитор контрольной точки для способов, представленных в данном документе, может представлять собой ингибиторы или активаторы против белка контрольной точки, который активируется при раке. В некоторых конкретных вариантах осуществления ингибитор контрольной точки для способов, представленных в данном документе, может представлять собой ингибиторы или активаторы белка контрольной точки, включая LAG-3, B7, TIM3 (HAVCR2), OX40 (CD134), GITR, CD137, CD40, VTCN1, IDO1, CD276, PVRIG, TIGIT, CD25 (IL2RA), IFNAR2, IFNAR1, CSF1R, VSIR (VISTA) или HLA. В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки для способов, представленных в данном документе, может

представлять собой ингибиторы или активаторы, выбранные из группы, состоящей из ингибитора PD-1, ингибитора PD-L1, ингибитора PD-L2, ингибитора CTLA-4, ингибитора LAG-3, ингибитора B7, ингибитора TIM3 (HAVCR2), ингибитора OX40 (CD134), агониста GITR, агониста CD137, агониста CD40, ингибитора VTCN1, ингибитора IDO1, ингибитора CD276, ингибитора PVRIG, ингибитора TIGIT, ингибитора CD25 (IL2RA), ингибитора IFNAR2, ингибитора IFNAR1, ингибитора CSF1R, ингибитора VSIR (VISTA) или терапевтического агента, нацеленного на HLA. Такие ингибиторы, активаторы или терапевтические агенты дополнительно представлены ниже.

**[00249]** В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор CTLA-4. В одном варианте осуществления ингибитор CTLA-4 представляет собой антитело к CTLA-4. Примеры антител к CTLA-4 включают, но не ограничиваются ими, антитела, описанные в патентах США №: 5,811,097; 5,811,097; 5,855,887; 6,051,227; 6,207,157; 6,682,736; 6,984,720 и 7,605,238, все из которых полностью включены в данный документ. В одном варианте осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой тремелимумаб (также известный как тицилимумаб или CP-675,206). В другом варианте осуществления антитело к CTLA-4 представляет собой ипилимумаб (также известный как MDX-010 или MDX-101). Ипилимумаб представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело IgG, которое связывается с CTLA-4. Ипилимумаб продается под торговым названием Yervoy™.

**[00250]** В определенных вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор PD-1/PD-L1. Примеры ингибиторов PD-1/PD-L1 включают, но не ограничиваются ими, ингибиторы, описанные в патентах США № 7,488,802; 7,943,743; 8,008,449; 8,168,757; 8,217,149, и публикациях заявок на патенты PCT № WO2003042402, WO2008156712, WO2010089411, WO2010036959, WO2011066342, WO2011159877, WO2011082400 и WO2011161699, все из которых включены в данный документ во всей их полноте.

**[00251]** В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор PD-1. В одном варианте осуществления ингибитор PD-1 представляет собой антитело к PD-1. В другом варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой BGB-A317, ниволумаб (также известный как ONO-4538, BMS-936558 или MDX1106) или пембролизумаб (также известный как MK-3475, SCH 900475 или ламбролизумаб). В одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой ниволумаб. Ниволумаб представляет собой человеческое моноклональное антитело IgG4 к PD-1 и продается под торговым названием Opdivo™. В другом варианте осуществления

антитело к PD-1 представляет собой пембролизумаб. Пембролизумаб представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4 и продается под торговым названием Keytruda™. В еще одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой CT-011, гуманизированное антитело. CT-011, введенное отдельно, не показало ответа при лечении острого миелоидного лейкоза (ОМЛ) при рецидиве. В еще одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой AMP-224, слитый белок. В другом варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой BGB-A317. BGB-A317 представляет собой моноклональное антитело, в котором специально сконструирована способность связывать Fc-гамма-рецептор I и которое обладает уникальной сигнатурой связывания с PD-1 с высокой аффинностью и превосходной специфичностью к мишени. В одном варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой цемиплимаб. В другом варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой камрелизумаб. В другом варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой синтилимаб. В некоторых вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой тислелизумаб. В определенных вариантах осуществления антитело к PD-1 представляет собой TSR-042. В еще одном другом варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой PDR001. В еще одном другом варианте осуществления антитело к PD-1 представляет собой торипалимаб.

**[00252]** В определенных вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор PD-L1. В одном варианте осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой антитело к PD-L1. В одном варианте осуществления антитело к PD-L1 представляет собой MEDI4736 (дурвалумаб). В другом варианте осуществления антитело к PD-L1 представляет собой BMS-936559 (также известное как MDX-1105-01). В еще одном варианте осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой атезолизумаб (также известный как MPDL3280A и Tecentriq®). В другом варианте осуществления ингибитор PD-L1 представляет собой авелумаб.

**[00253]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор PD-L2. В одном варианте осуществления ингибитор PD-L2 представляет собой антитело к PD-L2. В одном варианте осуществления антитело к PD-L2 представляет собой rHIgM12B7A.

**[00254]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор гена-3 активации лимфоцитов (LAG-3). В одном варианте осуществления ингибитор LAG-3 представляет собой IMP321, растворимый слитый белок Ig (Brignone *et al.*, *J. Immunol.*, **2007**, *179*, 4202-4211). В другом варианте осуществления ингибитор LAG-3

представляет собой BMS-986016.

**[00255]** В одном варианте осуществления ингибиторы контрольной точки представляют собой ингибитор B7. В одном варианте осуществления ингибитор B7 представляет собой ингибитор B7-H3 или ингибитор B7-H4. В одном варианте осуществления ингибитор B7-H3 представляет собой MGA271, антитело к B7-H3 (Loo *et al.*, *Clin. Cancer Res.*, **2012**, 3834).

**[00256]** В одном варианте осуществления ингибиторы контрольной точки представляют собой ингибитор TIM3 (домен T-клеточного иммуноглобулина и домен 3 муцина) (Fourcade *et al.*, *J. Exp. Med.*, **2010**, 207, 2175-86; Sakuishi *et al.*, *J. Exp. Med.*, **2010**, 207, 2187-94).

**[00257]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой агонист OX40 (CD134). В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой антитело к OX40. В одном варианте осуществления антитело к OX40 представляет собой антитело к OX40. В другом варианте осуществления антитело к OX40 представляет собой MEDI6469.

**[00258]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой агонист GITR. В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой антитело к GITR. В одном варианте осуществления антитело к GITR представляет собой TRX518.

**[00259]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой агонист CD137. В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой антитело к CD137. В одном варианте осуществления антитело к CD137 представляет собой урелумаб. В другом варианте осуществления антитело к CD137 представляет собой PF-05082566.

**[00260]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой агонист CD40. В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой антитело к CD40. В одном варианте осуществления антитело к CD40 представляет собой CF-870,893.

**[00261]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой рекомбинантный интерлейкин-15 человека (rhIL-15).

**[00262]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор VTCN. В одном варианте осуществления ингибитор VTCN представляет собой FPA150.

**[00263]** В одном варианте осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор IDO. В одном варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой INCB024360. В другом варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой

индоксимод. В одном варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой эпикадостат. В другом варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой BMS986205. В еще одном другом варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой навоксимод. В одном варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой PF-06840003. В другом варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой КНК2455. В еще одном другом варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой RG70099. В одном варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой IOM-E. В другом варианте осуществления ингибитор IDO представляет собой IOM-D.

**[00264]** В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор TIGIT. В определенных вариантах осуществления ингибитор TIGIT представляет собой антитело к TIGIT. В одном варианте осуществления ингибитор TIGIT представляет собой MTIG7192A. В другом варианте осуществления ингибитор TIGIT представляет собой BMS-986207. В еще одном другом варианте осуществления ингибитор TIGIT представляет собой OMP-313M32. В одном варианте осуществления ингибитор TIGIT представляет собой МК-7684. В другом варианте осуществления ингибитор TIGIT представляет собой AB154. В еще одном другом варианте осуществления ингибитор TIGIT представляет собой CGEN-15137. В одном варианте осуществления ингибитор TIGIT представляет собой SEA-TIGIT. В другом варианте осуществления ингибитор TIGIT представляет собой ASP8374. В еще одном другом варианте осуществления ингибитор TIGIT представляет собой AJUD008.

**[00265]** В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор VSIR. В определенных вариантах осуществления ингибитор VSIR представляет собой антитело к VSIR. В одном варианте осуществления ингибитор VSIR представляет собой MTIG7192A. В другом варианте осуществления ингибитор VSIR представляет собой CA-170. В еще одном другом варианте осуществления ингибитор VSIR представляет собой JNJ 61610588. В одном варианте осуществления ингибитор VSIR представляет собой HMBD-002.

**[00266]** В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор TIM3. В определенных вариантах осуществления ингибитор TIM3 представляет собой антитело к TIM3. В одном варианте осуществления ингибитор TIM3 представляет собой AJUD009.

**[00267]** В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор CD25(IL2RA). В определенных вариантах осуществления ингибитор CD25 (IL2RA) представляет собой антитело к CD25 (IL2RA). В одном варианте

осуществления ингибитор CD25 (IL2RA) представляет собой даклизумаб. В другом варианте осуществления ингибитор CD25 (IL2RA) представляет собой базиликсимаб.

**[00268]** В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор IFNAR1. В определенных вариантах осуществления ингибитор IFNAR1 представляет собой антитело к IFNAR1. В одном варианте осуществления ингибитор IFNAR1 представляет собой анифролумаб. В другом варианте осуществления ингибитор IFNAR1 представляет собой сифалимумаб.

**[00269]** В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ингибитор CSF1R. В определенных вариантах осуществления ингибитор CSF1R представляет собой антитело к CSF1R. В одном варианте осуществления ингибитор CSF1R представляет собой пексидартиниб. В другом варианте осуществления ингибитор CSF1R представляет собой эмактузумаб. В еще одном другом варианте осуществления ингибитор CSF1R представляет собой кабирализумаб. В одном варианте осуществления ингибитор CSF1R представляет собой ARRY-382. В другом варианте осуществления ингибитор CSF1R представляет собой BLZ945. В еще одном другом варианте осуществления ингибитор CSF1R представляет собой AJUD010. В одном варианте осуществления ингибитор CSF1R представляет собой AMG820. В другом варианте осуществления ингибитор CSF1R представляет собой IMC-CS4. В еще одном другом варианте осуществления ингибитор CSF1R представляет собой JNJ-40346527. В одном варианте осуществления ингибитор CSF1R представляет собой PLX5622. В другом варианте осуществления ингибитор CSF1R представляет собой FPA008.

**[00270]** В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой терапевтический агент, нацеленный на HLA. В определенных вариантах осуществления терапевтический агент, нацеленный на HLA, представляет собой антитело к HLA. В одном варианте осуществления терапевтический агент, нацеленный на HLA, представляет собой GSK01. В другом варианте осуществления терапевтический агент, нацеленный на HLA, представляет собой IMC-C103C. В еще одном варианте осуществления терапевтический агент, нацеленный на HLA, представляет собой IMC-F106C. В одном варианте осуществления терапевтический агент, нацеленный на HLA, представляет собой IMC-G107C. В другом варианте осуществления терапевтический агент, нацеленный на HLA, представляет собой ABBV-184.

**[00271]** В некоторых вариантах осуществления ингибиторы иммунных контрольных точек, предложенные в данном документе, включают два или более ингибиторов контрольных точек, описанных в данном документе (включая ингибиторы контрольных

точек того же или другого класса). Кроме того, способы, описанные в данном документе, можно использовать в сочетании с одним или более вторыми активными агентами, описанными в данном документе, если они подходят для лечения заболеваний, описанных в данном документе и известных специалистам в данной области.

**[00272]** В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки вводят после введения ADC, предложенных в данном документе. В других вариантах осуществления ингибитор контрольной точки вводят одновременно (*например*, в тот же период дозирования) с ADC, предложенными в данном документе. В других вариантах осуществления ингибитор контрольной точки вводят после введения ADC, предложенных в данном документе.

**[00273]** В некоторых вариантах осуществления количество ингибитора контрольной точки для различных представленных в данном документе способов можно определить стандартными клиническими методами. В определенных вариантах осуществления количество ингибитора контрольной точки для различных способов указано в разделе 5.6.

**[00274]** В некоторых вариантах осуществления субъекты, которых можно лечить способами, представленными в данном документе, представляют собой млекопитающих. В некоторых вариантах осуществления субъектом, которого можно лечить способами, представленными в данном документе, является человек.

#### **5.2.1.4** *Терапевтический результат способов, представленных в данном документе*

**[00275]** Несмотря на неблагоприятный прогноз для не подходящих для лечения цисплатином субъектов-людей, которые, как описано выше, слабы, страдают множественными сопутствующими заболеваниями, помимо уротелиального рака/рака мочевого пузыря, и не могут переносить дополнительное лечение, кроме иммунотерапии, способы, представленные в данном документе, в том числе способы, описанные в этом разделе (Раздел 5.2) и Разделы 3 и 6, могут обеспечить благоприятные терапевтические результаты для этих людей, не поддающихся лечению цисплатином. В одном варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается полный ответ после лечения способом, предложенным в данном документе. В другом варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, предложенным в данном документе.

**[00276]** В некоторых вариантах осуществления ответ (полный или частичный ответ) определяют путем оценки опухоли или ракового участка (поражений). Критерии для определения полного ответа (CR), частичного ответа (PR), прогрессирования заболевания

(PD) и стабильного заболевания (SD) описаны в Таблице 28.

**[00277]** Таким образом, терапевтический результат предложенных в данном документе способов можно оценить на основе любого одного или более критериев ответа, описанных выше. В одном варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 30 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В другом варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 35 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В другом варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 40 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В еще одном варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 45 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В одном варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 50 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В другом варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 55 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В другом варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 60 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В еще одном варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 65 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В одном варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается

частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 70 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В другом варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 75 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В другом варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 80 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В еще одном варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 85 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В одном варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 90 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В другом варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается частичный ответ после лечения способом, представленным в данном документе, при этом частичный ответ определяется уменьшением суммы диаметров целевых поражений на по меньшей мере или около 95 %, принимая за исходный уровень сумму диаметров. В некоторых вариантах осуществления диаметр определяется в соответствии с самым большим диаметром поражения. В определенных вариантах осуществления диаметр определяется по наибольшему диаметру поражения в плоскости измерения. В некоторых вариантах осуществления диаметр определяется по наибольшему диаметру поражения в плоскости измерения с минимальным размером 10 мм по данным компьютерной томографии. В определенных вариантах осуществления диаметр определяется в соответствии с наибольшим диаметром поражения в плоскости измерения с минимальным размером 10 мм по данным КТ и толщиной среза КТ не более 5 мм.

**[00278]** Терапевтические результаты способов, представленных в данном документе, также можно оценить на основании того, является ли заболевание стабильным после лечения. В одном варианте осуществления у субъекта-человека наблюдается стабильное заболевание после лечения способом, предложенным в данном документе. В другом

варианте осуществления у субъекта-человека нет прогрессирующего заболевания после лечения способом, предложенным в данном документе.

**[00279]** В качестве альтернативы, терапевтические результаты, основанные на полном ответе, частичном ответе или стабильном заболевании, могут быть оценены в отношении популяции субъектов-людей, пролеченных способом, представленным в данном документе, путем оценки процента субъектов, имеющих полный ответ, частичный ответ или стабильное заболевание в пролеченной популяции. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления терапевтический результат или мера эффективности применяются к результатам, достигаемым при фактическом лечении популяции субъектов. В других вариантах осуществления терапевтический результат или мера эффективности относится к результату или эффективности, которые могут быть достигнуты, если популяцию субъектов-людей лечили способом, описанным в данном документе. Хотя в следующих разделах обсуждается лечение реальной популяции субъектов-людей, следует понимать, что в данном описании также охватываются соответствующие способы, в которых результат или мера эффективности могут быть достигнуты в популяции пациентов. Вкратце, оба сценария, описанные выше, применимы к следующим разделам; только один сценарий описан ниже в интересах простоты и во избежание избыточности.

**[00280]** В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, в том числе в разделах 3, 5.3 и 6 и в этом разделе (раздел 5.2), ADC представляет собой энфортумаб ведотин. В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, в том числе в разделах 3, 5.3 и 6, а также в этом разделе (раздел 5.2), ADC представляет собой биоаналог энфортумаба ведотина.

**[00281]** В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих полный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 10 %. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих полный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 15 %. В дополнительном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих полный ответ, в популяции, подвергаемой лечению, составляет по меньшей мере или около 20 %. В еще одном другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих полный ответ, в популяции, подвергаемой лечению, составляет по меньшей мере или около 20,2 %. В одном варианте

осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих полный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 22 %. В еще одном другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих полный ответ, в популяции, подвергаемой лечению, составляет по меньшей мере или около 22,5 %. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих полный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 23 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих полный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 25 %. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих полный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 30 %. В дополнительном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих полный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 35 %. В еще одном другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих полный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 40 %.

**[00282]** Аналогичным образом, используя процент частичного ответа в качестве критерия, в одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, предложенным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 10 %. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 15 %. В дополнительном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 20 %. В еще одном другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 25 %. В

одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 28 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 28,1 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 29 %. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 30 %. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 31 %. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 31,5 %. В дополнительном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 35 %. В еще одном другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 40 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 45 %. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получающей лечение, составляет по меньшей мере или около 50 %.

**[00283]** Аналогичным образом, частота объективного ответа, которая представляет собой сумму процентов субъектов, имеющих полный ответ, и субъектов, имеющих частичный ответ, может быть использована в качестве критерия оценки терапевтического результата у субъектов-людей, получавших лечение способом, предложенным в данном







популяцию субъектов-людей лечат способом, предложенным в данном документе, при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 45 % до 65 %. В дополнительном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 50 % до 65 %. В еще одном другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 55 % до 65 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 60 % до 65%. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, предложенным в данном документе, при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 35 % до 65 %. В дополнительном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 35 % до 60 %. В еще одном другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 35 % до 55 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 35 % до 50%. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, предложенным в данном документе, при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 35 % до 45 %. В дополнительном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 35 % до 40 %.

**[00285]** Более того, процент субъектов со стабильным заболеванием можно использовать в качестве критерия оценки терапевтического результата у субъектов-людей, получавших лечение способом, предложенным в данном документе. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 10 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по

меньшей мере или около 15 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 20 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 25 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 30 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 30,3 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 35 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 40 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 45 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 50 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 55 %. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 60 %.

**[00286]** Кроме того, терапевтический результат способов, представленных в данном документе, можно оценить на основе продолжительности ответа, как указано в разделе 6.1.8.2(ii). В одном варианте осуществления продолжительность ответа у субъекта-







до 22 месяца после лечения. В дополнительном варианте осуществления у субъекта-человека продолжительность ответа составляет от 6 до 21 месяцев после лечения. В еще одном другом варианте осуществления у субъекта-человека продолжительность ответа составляет от 7 до 20 месяцев после лечения. В дополнительном варианте осуществления у субъекта-человека продолжительность ответа составляет от 8 до 19 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления у субъекта-человека продолжительность ответа составляет от 9 до 18 месяца после лечения. В другом варианте осуществления у субъекта-человека продолжительность ответа составляет от 10 до 17 месяца после лечения. В дополнительном варианте осуществления у субъекта-человека продолжительность ответа составляет от 11 до 16 месяцев после лечения. В еще одном другом варианте осуществления у субъекта-человека продолжительность ответа составляет от 12 до 15 месяцев после лечения. В дополнительном варианте осуществления у субъекта-человека продолжительность ответа составляет от 13 до 14 месяцев после лечения.

**[00288]** В некоторых вариантах осуществления продолжительность ответа оценивают для популяции субъектов-людей, получавших лечение способом, представленным в данном документе, путем оценки медианы или средней продолжительности ответа в популяции, получавшей лечение. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом медиана или средняя продолжительность ответа в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 5 месяцев. В некоторых вариантах осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, где медианная или средняя продолжительность ответа в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 5,78 месяцев. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, где медиана или средняя продолжительность ответа в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 6 месяцев. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, причем медиана или средняя продолжительность ответа в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 7 месяцев. В еще одном другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом медиана или средняя продолжительность ответа в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 8 месяцев. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом медиана или средняя продолжительность ответа в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере











популяции, получавшей лечение, составляет от 9 до 18 месяца. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом продолжительность ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 10 до 17 месяцев. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом продолжительность ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 11 до 16 месяцев. В дополнительном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом продолжительность ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 12 до 15 месяцев. В еще одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом продолжительность ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 13 до 24 месяца.

**[00290]** В качестве альтернативы терапевтический результат способов, представленных в данном документе, можно оценить на основе выживаемости без прогрессирования, как указано в разделе 6.1.8.2(iv). В одном варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования по меньшей мере или около 2 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования по меньшей мере или около 3 месяцев после лечения. В дополнительном варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования по меньшей мере или около 4 месяцев после лечения. В еще одном другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования по меньшей мере или около 5 месяцев после лечения. В еще одном другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования по меньшей мере или около 5,03 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования по меньшей мере или около 5,8 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования по меньшей мере или около 6 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования по меньшей мере или около 6,7 месяцев после лечения. В дополнительном варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования по меньшей мере или около 7 месяцев после лечения. В еще одном другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования по меньшей мере или около 8 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования по меньшей мере или около 9 месяцев после лечения. В другом варианте



выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 7 до 10 месяцев после лечения. В еще одном другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 8 до 10 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 9 до 10 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 4 до 11 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 4 до 10 месяцев после лечения. В еще одном другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 4 до 9 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 4 до 8 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 4 до 7 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 5 до 11 месяцев после лечения. В еще одном другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 6 до 11 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 7 до 11 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 8 до 11 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 9 до 11 месяцев после лечения. В еще одном другом варианте осуществления субъект-человек имеет выживаемость без прогрессирования в диапазоне от 10 до 11 месяцев после лечения.

**[00292]** Кроме того, в некоторых вариантах осуществления выживаемость без прогрессирования оценивают для популяции субъектов-людей, получавших лечение способом, представленным в данном документе, путем оценки медианы или среднего значения выживаемости без прогрессирования в популяции, получавшей лечение. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом медиана или среднее значение выживаемости без прогрессирования в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 2 месяцев. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом медиана или среднее значение выживаемости без прогрессирования в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 3 месяцев. В другом варианте осуществления популяцию









данном документе, при этом выживаемость без прогрессирования в популяции, получавшей лечение, составляет от 8 до 11 месяцев. В дополнительном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом выживаемость без прогрессирования в популяции, получавшей лечение, составляет от 9 до 11 месяцев. В еще одном другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом выживаемость без прогрессирования в популяции, получавшей лечение, составляет от 10 до 11 месяцев.

**[00294]** В качестве альтернативы терапевтический результат способов, представленных в данном документе, можно оценить на основе общей выживаемости, как указано в разделе 6.1.8.2(v). В одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 5 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 6 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 7 месяцев после лечения. В еще одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 8 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 9 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 10 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 10,51 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 11 месяцев после лечения. В еще одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 12 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 13 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 14 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 14,7 месяцев после лечения. В еще одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 15 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 16 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей мере или около 16,1 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость по меньшей





выживаемость в диапазоне от 12 до 20 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 13 до 20 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 14 до 20 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 15 до 20 месяцев после лечения. В еще одном другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 16 до 20 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 17 до 20 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 18 до 20 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 19 до 20 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 9 до 20 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 9 до 19 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 9 до 18 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 9 до 17 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 9 до 16 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 9 до 15 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 9 до 14 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 9 до 13 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 9 до 12 месяцев после лечения. В одном варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 9 до 11 месяцев после лечения. В другом варианте осуществления субъект-человек имеет общую выживаемость в диапазоне от 9 до 10 месяцев после лечения.

**[00296]** Кроме того, в некоторых вариантах осуществления общую выживаемость оценивают для популяции субъектов-людей, получавших лечение способом, представленным в данном документе, путем оценки медианы или среднего значения общей выживаемости в популяции, получавшей лечение. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом медиана или среднее значение общей выживаемости в популяции, получавшей













документе, при этом общая выживаемость в популяции, получавшей лечение, составляет от 9 до 13 месяцев. В одном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом общая выживаемость в популяции, получавшей лечение, составляет от 9 до 12 месяцев. В другом варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом общая выживаемость в популяции, получавшей лечение, составляет от 9 до 11 месяцев. В дополнительном варианте осуществления популяцию субъектов-людей лечат способом, представленным в данном документе, при этом общая выживаемость в популяции, получавшей лечение, составляет от 9 до 10 месяцев.

**[00298]** В некоторых вариантах осуществления люди и пациенты используются взаимозаменяемо. Следовательно, специалисту в данной области должно быть понятно, что люди могут быть взаимозаменяемы с пациентами в любом из способов, представленных в данном документе.

### **5.2.2 Способы лечения рака в популяции пациентов на основе дополнительных критериев отбора**

**[00299]** В данном документе предусмотрены способы лечения различных видов рака у субъектов, при этом рак имеет любые подходящие маркеры и/или характеристики, указанные в разделе 6. Также в данном документе предусмотрены способы лечения различных видов рака у субъектов, при этом субъекты обладают любой из подходящих характеристик, как указано в разделе 6.

**[00300]** В одном аспекте в данном документе предложен способ профилактики или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитело-лекарственное средство, при этом конъюгат антитело-лекарственное средство содержит антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, конъюгированное с одной или более единицами монометилауристатина E (ММАЕ), причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую определяющие комплементарность области (CDR), содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, содержащую CDR, содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 23; и при этом субъект имеет любую из подходящих характеристик, указанных в разделе 6.

**[00301]** В некоторых аспектах в данном документе предложен способ профилактики или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества

конъюгата антитело-лекарственное средство, при этом конъюгат антитело-лекарственное средство содержит антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, конъюгированное с одной или более единицами монометилауристатина Е (ММАЕ), причем антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую определяющие комплементарность области (CDR), содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, содержащую CDR, содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 23; и при этом субъект имеет любую из подходящих характеристик, указанных в разделе 6.

**[00302]** В другом аспекте в данном документе предложен способ профилактики или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитело-лекарственное средство, причем конъюгат антитело-лекарственное средство содержит антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, конъюгированное с одной или более единицам монометилауристатина Е (ММАЕ), и при этом субъект обладает любой из подходящих характеристик, указанных в разделе 6. В другом аспекте в данном документе предложен способ профилактики или лечения рака у субъекта, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитело-лекарственное средство, причем конъюгат антитело-лекарственное средство содержит антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, конъюгированное с одной или более единицам монометилауристатина Е (ММАЕ), и при этом рак имеет любые подходящие маркеры и/или характеристики, указанные в разделе 6.

**[00303]** В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, в том числе в разделе 5.2, включая разделы 5.2.1 и 5.2.2 и разделы 3 и 6, субъектом является человек.

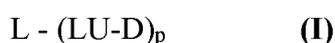
**[00304]** Во всех способах, представленных в данном документе, и особенно в тех, которые описаны в Разделах 5.2.1 и 5.2.2: терапевтические агенты, которые можно использовать, описаны в разделе 3, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5 и 6, отбор пациентов для лечения описан в данном документе и приведен в качестве примера в разделе 5.2, включая разделы 5.2.1 и 5.2.2 и разделы 3 и 6, режимы дозирования и фармацевтическая композиция для введения терапевтического средства описаны в разделах 5.4, 5.6, 5.7 и раздел 6 ниже, биомаркеры, которые могут быть использованы для идентификации терапевтических средств, отбора пациентов, определения исхода эти способы и/или служащие в качестве критериев для этих

способов описаны в данном документе и приведены в качестве примеров в разделе 5.2, включая разделы 5.2.1 и 5.2.2 и разделы 3 и 6, биомаркеры могут быть определены, как описано в разделе 5.8 или как известно в данной области, терапевтические результаты для методов, представленные в данном документе, описаны в этом разделе (раздел 5.2, включая раздел 5.2.1.4) и разделы 3 и 6, дополнительными терапевтическими результатами для способов, представленных в данном документе, может быть улучшение биомаркеров, описанных в данном документе, например, тех, которые описаны и проиллюстрированы в разделе 5.2, включая разделы 5.2.1 и 5.2.2 и разделы 3 и 6, а комбинированная терапия, включающая ADC и другие терапевтические агенты, описана в этом разделе (раздел 5.2) и в разделе 5.5. Таким образом, специалисту в данной области должно быть понятно, что представленные в данном документе способы включают все перестановки и комбинации пациентов, терапевтических агентов, режимов дозирования, биомаркеров и терапевтических результатов, как описано выше и ниже.

### 5.3 Конъюгаты антитело-лекарственное средство для способов

**[00305]** В различных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в разделе 5.2, ADC, используемый в способах, содержит или представляет собой ADC к 191P4D12, описанный в данном документе и/или в патенте США № 8637642, который включен в данный документ в полном объеме посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело к 191P4D12-лекарственное средство, предложенный для способов в данном документе, содержит антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с 191P4D12 как описано в данном документе, в том числе в разделах 3, 5.3.1, и 6, конъюгированный с одной или более единицами цитотоксических агентов (единиц лекарственного средства или D), как предложено в данном документе, включая разделы 3 и 6, и в этом разделе (раздел 5.3) с дополнительными сведениями в разделах 5.3.2 и 5.3.4. В определенных вариантах осуществления цитотоксические агенты (лекарственные единицы или D) могут быть ковалентно связаны напрямую или через линкерную единицу (LU), как предусмотрено в данном документе, в том числе в разделах 3 и 6 и в этом разделе (раздел 5.3) с дополнительными описаниями в разделе 5.3.3.

**[00306]** В некоторых вариантах осуществления соединение-конъюгат антитело-лекарственное средство имеет следующую формулу:



или его фармацевтически приемлемая соль или сольват; где:

L представляет собой единицу антитела, например, антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, как указано в разделах 3, 5.3.1, и 6, и (LU-D) представляет собой фрагмент линкерная единица-единица лекарственного средства, где:

LU- представляет собой линкерную единицу, например, как указано в Разделах 3 и 6 и в этом Разделе (Раздел 5.3) с дальнейшим раскрытием в Разделе 5.3.3, и

D представляет собой единицу лекарственного средства, обладающую цитостатической или цитотоксической активностью в отношении клетки-мишени, например, как указано в Разделах 3 и 6 и в этом Разделе (Раздел 5.3) с дополнительными описаниями в Разделах 5.3.2 и 5.3.4; и

r представляет собой целое число от 1 до 20 с дополнительными примерами, приведенными в Разделах 3 и 6 и в этом Разделе (Раздел 5.3).

**[00307]** В некоторых вариантах осуществления r находится в диапазоне 1-20, 1-19, 1-18, 1-17, 1-16, 1-15, 1-14, 1-13, 1-12, 1-11, 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3 или 1-2. В некоторых вариантах осуществления r находится в диапазоне 2-20, 2-19, 2-18, 2-17, 2-16, 2-15, 2-14, 2-13, 2-12, 2-11, 2-10, 2-9, 2-8, 2-7, 2-6, 2-5, 2-4 или 2-3. В некоторых вариантах осуществления r находится в диапазоне 3-20, 3-19, 3-18, 3-17, 3-16, 3-15, 3-14, 3-13, 3-12, 3-11, 3-10, 3-9, 3-8, 3-7, 3-6, 3-5 или 3-4. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 1. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 2. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 3. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 4. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 3,8. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 5. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 6. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 7. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 8. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 9. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 10. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 11. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 12. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 13. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 14. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 15. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 16. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 17. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 18. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 19. В некоторых вариантах осуществления r составляет около 20.

**[00308]** В некоторых вариантах осуществления соединение-конъюгат антитело-

лекарственное средство имеет следующую формулу:



или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где:

L представляет собой единицу антитела, например, антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент, например, как указано в разделах 3, 5.3.1, и 6; и -A<sub>a</sub>-W<sub>w</sub>-Y<sub>y</sub>- представляет собой линкерную единицу (LU), где:

-A- представляет собой растягиваемую единицу,

а равняется 0 или 1,

каждый -W- независимо представляет собой аминокислотную единицу,

w представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 12,

-Y- представляет собой самоуничтожающийся спейсер,

у равняется 0, 1 или 2;

каждый, например, как указано в Разделах 3 и 6 и в этом Разделе (Раздел 5.3) с дальнейшим раскрытием в Разделе 5.3.3;

D представляет собой единицу лекарственного средства, обладающую цитостатической или цитотоксической активностью в отношении клетки-мишени, например, как указано в Разделах 3 и 6 и в этом Разделе (Раздел 5.3) с дополнительными описаниями в Разделах 5.3.2 и 5.3.4; и

p представляет собой целое число от 1 до 20 с дополнительными примерами, приведенными в Разделах 3 и 6 и в этом Разделе (Раздел 5.3).

**[00309]** В некоторых вариантах осуществления a равно 0 или 1, w равно 0 или 1 и u равно 0, 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления a равно 0 или 1, w равно 0 или 1 и u равно 0 или 1. В некоторых вариантах осуществления p находится в диапазоне 1-20, 1-19, 1-18, 1-17, 1-16, 1-15, 1-14, 1-13, 1-12, 1-11, 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3 или 1-2. В некоторых вариантах осуществления p находится в диапазоне 2-20, 2-19, 2-18, 2-17, 2-16, 2-15, 2-14, 2-13, 2-12, 2-11, 2-10, 2-9, 2-8, 2-7, 2-6, 2-5, 2-4 или 2-3. В некоторых вариантах осуществления p находится в диапазоне 3-20, 3-19, 3-18, 3-17, 3-16, 3-15, 3-14, 3-13, 3-12, 3-11, 3-10, 3-9, 3-8, 3-7, 3-6, 3-5 или 3-4. В некоторых вариантах осуществления p составляет около 1. В некоторых вариантах осуществления p составляет около 2. В некоторых вариантах осуществления p составляет около 3. В некоторых вариантах осуществления p составляет около 4. В некоторых вариантах осуществления p составляет около 3,8. В некоторых вариантах осуществления p составляет около 5. В некоторых вариантах осуществления p составляет около 6. В некоторых вариантах осуществления p составляет около 7. В некоторых вариантах осуществления p составляет около 8. В некоторых вариантах

осуществления  $p$  составляет около 9. В некоторых вариантах осуществления  $p$  составляет около 10. В некоторых вариантах осуществления  $p$  составляет около 11. В некоторых вариантах осуществления  $p$  составляет около 12. В некоторых вариантах осуществления  $p$  составляет около 13. В некоторых вариантах осуществления  $p$  составляет около 14. В некоторых вариантах осуществления  $p$  составляет около 15. В некоторых вариантах осуществления  $p$  составляет около 16. В некоторых вариантах осуществления  $p$  составляет около 17. В некоторых вариантах осуществления  $p$  составляет около 18. В некоторых вариантах осуществления  $p$  составляет около 19. В некоторых вариантах осуществления  $p$  составляет около 20. В некоторых вариантах осуществления, когда  $w$  не равняется нулю,  $u$  равняется 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления, когда  $w$  равняется 1-12,  $u$  равняется 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления  $w$  равняется от 2 до 12, а  $u$  равняется 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления  $a$  равняется 1, а  $w$  и  $u$  равняется 0.

**[00310]** В некоторых конкретных вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, включая способы, предложенные в разделе 5.2, цитотоксический агент как часть любого из ADC, представленных в данном документе для способов, содержит, состоит из или представляет собой MMAE.

**[00311]** Для композиций, содержащих множество антител или их антигенсвязывающих фрагментов, загрузка лекарственным средством представлена как  $p$  - среднее количество молекул лекарственного средства на единицу антитела. Лекарственная нагрузка может варьировать от 1 до 20 лекарственных средств ( $D$ ) на антитело. Среднее количество лекарственных средств на одно антитело при подготовке реакций конъюгации можно охарактеризовать с помощью обычных средств, таких как масс-спектроскопия, анализ ELISA и ВЭЖХ. Также можно определить количественное распределение конъюгатов антитело-лекарственное средство в единицах  $p$ . В некоторых случаях разделение, очистка и характеристика гомогенных конъюгатов антитело-лекарственное средство, где  $p$  представляет собой определенное значение, от конъюгатов антитело-лекарственное средство с другой нагрузкой лекарственного средства могут быть достигнуты с помощью таких средств, как ВЭЖХ с обращенной фазой или электрофорез. В определенных иллюстративных вариантах осуществления  $p$  равняется от 2 до 8.

**[00312]** Дополнительные варианты осуществления ADC для способов, представленных в данном документе, описаны в патенте США № 8637642 и международной заявке № PCT/US2019/056214 (публикация № WO2020/117373), которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

**[00313]** В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, в том числе в разделах 3, 5.2 и 6 и в этом разделе (раздел 5.3), ADC представляет собой энфортумаб ведотин. В некоторых вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, в том числе в разделах 3, 5.2 и 6, а также в этом разделе (раздел 5.3), ADC представляет собой биоаналог энфортумаба ведотина.

### **5.3.1 Антитела к 191P4D12 или антигенсвязывающие фрагменты**

**[00314]** В одном варианте осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который связывается с белками, родственными нектину-4, представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, который специфически связывается с белком нектином-4, содержащим аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2 (см. **Фиг. 1А**). Соответствующая кДНК, кодирующая белок 191P4D12, имеет последовательность SEQ ID NO:1 (см. **Фиг. 1А**).

**[00315]** Антитело, которое специфически связывается с белком нектин-4, содержащим аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2, включает антитела, которые могут связываться с другими родственными нектину-4 белками. Например, антитела, которые связывают белок нектин-4, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:2, могут связывать родственные нектину-4 белки, такие как варианты нектина-4 и их гомологи или аналоги.

**[00316]** В некоторых вариантах осуществления антитело к нектину-4, предложенное в данном документе, представляет собой моноклональное антитело.

**[00317]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:4 (последовательность кДНК SEQ ID NO:3), и/или легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:6 (последовательность кДНК SEQ ID NO:5), как показано на **Фиг. 1В** и **1С**.

**[00318]** В некоторых вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую определяющие комплементарности области (CDR), содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области тяжелой цепи, указанные в SEQ ID NO: 22 (которая представляет собой аминокислотную последовательность в диапазоне от 20-й аминокислоты (глутаминовая кислота) до 136-й аминокислоты (серин) SEQ ID NO: 7), и переменную область легкой цепи, содержащую CDR, содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области легкой цепи, указанные в SEQ ID NO:23 (которая представляет собой аминокислотную последовательность в

диапазоне от 23-й аминокислоты (аспарагиновая кислота) до 130-й аминокислоты (аргинин) SEQ ID NO:8). В определенных вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую определяющую комплементарность область 1 (CDR-H1), CDR-H2 и CDR-H3, содержащие аминокислотные последовательности соответствующих CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 в последовательности переменной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO:22 (которая представляет собой аминокислотную последовательность в диапазоне от 20-й аминокислоты (глутаминовая кислота) до 136-й аминокислоты (серин) SEQ ID NO:7) и переменную область легкой цепи, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, содержащие аминокислотные последовательности соответствующих CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 в последовательности переменной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO:23 (которая представляет собой аминокислотную последовательность в диапазоне от 23-й аминокислоты (аспарагиновая кислота) до 130-й аминокислоты (аргинин) SEQ ID NO:8). В некоторых вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую определяющие комплементарность области (CDR), состоящие из аминокислотных последовательностей CDR переменной области тяжелой цепи, указанных в SEQ ID NO: 22 (которая представляет собой аминокислотную последовательность в диапазоне от 20-й аминокислоты (глутаминовая кислота) до 136-й аминокислоты (серин) SEQ ID NO: 7), и переменную область легкой цепи, содержащую CDR, состоящие из аминокислотных последовательностей CDR переменной области легкой цепи, указанных в SEQ ID NO:23 (которая представляет собой аминокислотную последовательность в диапазоне от 23-й аминокислоты (аспарагиновая кислота) до 130-й аминокислоты (аргинин) SEQ ID NO:8). В определенных вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую определяющую комплементарность область 1 (CDR-H1), CDR-H2 и CDR-H3, состоящие из аминокислотных последовательностей соответствующих CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3 в последовательности переменной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO:22 (которая представляет собой аминокислотную последовательность в диапазоне от 20-й аминокислоты (глутаминовая кислота) до 136-й аминокислоты (серин) SEQ ID NO:7) и переменную область легкой цепи, содержащую CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3, состоящую из аминокислотных последовательностей соответствующих CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3 в последовательности переменной области легкой цепи, представленную в SEQ ID NO:23 (которая представляет

собой аминокислотную последовательность в диапазоне от 23-й аминокислоты (аспарагиновая кислота) до 130-й аминокислоты (аргинин) SEQ ID NO:8). SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8 представлены на фиг. 1D и 1E и перечислены ниже:

SEQ ID NO:22

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYNMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIY  
YADSVKGRFTISRDNANKNSLSLQMNSLRDEDTAVYYCARAYYYGMDVWGQGTITVTVS  
S

SEQ ID NO:23

DIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISGWLAWYQQKPGKAPKFLIYAASLQSGVPS  
RFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPPTFGGGTKVEIKR

SEQ ID NO:7

MELGLCWVFLVAILEGVQCEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYNMNWVRQ  
APGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNANKNSLSLQMNSLRDEDTAVYYCAR  
AYYYGMDVWGQGTITVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTV  
SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV  
EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKF  
NWFYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPI  
EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY  
KTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:8

MDMRVPAQLLGLLLLWFGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRVTITCRASQGISGWLAWY  
QQKPGKAPKFLIYAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANSFPPT  
FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS  
GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

**[00319]** Последовательности CDR могут быть определены в соответствии с хорошо известными системами нумерации. Как описано выше, области CDR хорошо известны специалистам в данной области и определены с помощью хорошо известных систем нумерации. Например, определяющие комплементарность области по Kabat (CDR) основаны на вариабельности последовательности и являются наиболее применимыми (см., например, Kabat *et al.*, выше). Chothia, напротив, относится к расположению структурных

петель (см., например, Chothia and Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-17). Конец петли CDR-H1 по Chothia при нумерации согласно системе нумерации по Kabat варьируется между H32 и H34 в зависимости от длины петли (это связано с тем, что в схеме нумерации по Kabat в H35A и H35B размещаются вставки; если ни 35A ни 35B не присутствуют, петля заканчивается в 32; если присутствует только 35A, петля заканчивается в 33; если присутствуют оба 35A и 35B, петля заканчивается в 34). Гипервариабельные области AbM представляет компромиссный вариант между CDR по Kabat и структурными петлями по Chothia и используются в программном обеспечении для моделирования антител Oxford Molecular's AbM (см., например, *Antibody Engineering* Vol. 2 (Kontermann and Dübel eds., 2d ed. 2010)). «Контактные» гипервариабельные области основаны на анализе доступных комплексных кристаллических структур. Была также разработана и стала широко применяться универсальная система нумерации ImMunoGeneTics (IMGT) Information System<sup>®</sup> (Lafranc *et al.*, 2003, Dev. Comp. Immunol. 27(1):55-77). IMGT представляет собой интегрированную информационную систему, специализирующуюся на иммуноглобулинах (IG), Т-клеточных рецепторах (ТКР) и главном комплексе гистосовместимости (ГКГС) человека и других позвоночных. В данном документе CDR указаны в терминах как аминокислотной последовательности, так и расположения в легкой или тяжелой цепи. Так как «расположение» CDR в структуре переменного домена иммуноглобулина является консервативным среди разных видов и представлено в структурах, называемых петлями, с помощью систем нумерации, которые выравнивают последовательности переменного домена в соответствии со структурными характеристиками, остатки CDR и каркасной области легко определимы. Эту информацию можно использовать при прививании и замещении остатков CDR из иммуноглобулинов одного вида в акцепторную каркасную область из, как правило, человеческого антитела. Дополнительная система нумерации (АНон) была разработана Honegger and Plückthun, 2001, J. Mol. Biol. 309: 657-70. Соответствие между системами нумерации, включая, например, нумерацию Kabat и уникальную систему нумерации IMGT, хорошо известно специалисту в данной области техники (см., например, Kabat, *выше*; Chothia and Lesk, *выше*; Martin, *выше*; Lefranc *et al.*, *выше*). Остатки из каждой из этих гипервариабельных областей или CDR приведены в Таблице 1 выше.

**[00320]** В некоторых вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области тяжелой цепи,

представленной в SEQ ID NO:22, в соответствии с нумерацией Kabat, и переменную область легкой цепи, содержащую CDR, содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO:23 в соответствии с нумерацией Kabat.

**[00321]** В некоторых вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO:22, в соответствии с нумерацией AbM, и переменную область легкой цепи, содержащую CDR, содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO:23 в соответствии с нумерацией AbM.

**[00322]** В других вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO:22, в соответствии с нумерацией Chothia, и переменную область легкой цепи, содержащую CDR, содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO:23 в соответствии с нумерацией Chothia.

**[00323]** В других вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO:22, в соответствии с нумерацией Contact, и переменную область легкой цепи, содержащую CDR, содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO:23 в соответствии с нумерацией Contact.

**[00324]** В других вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO:22, в соответствии с нумерацией IMGT, и переменную область легкой цепи, содержащую CDR, содержащие аминокислотные последовательности

CDR вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO:23 в соответствии с нумерацией IMGT.

**[00325]** В некоторых вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) состоящие из аминокислотных последовательностей CDR вариабельной области тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO:22, в соответствии с нумерацией Kabat, и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR, состоящие из аминокислотных последовательностей CDR вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO:23 в соответствии с нумерацией Kabat.

**[00326]** В некоторых вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) состоящие из аминокислотных последовательностей CDR вариабельной области тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO:22, в соответствии с нумерацией AbM, и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR, состоящие из аминокислотных последовательностей CDR вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO:23 в соответствии с нумерацией AbM.

**[00327]** В других вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) состоящие из аминокислотных последовательностей CDR вариабельной области тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO:22, в соответствии с нумерацией Chothia, и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR, состоящие из аминокислотных последовательностей CDR вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO:23 в соответствии с нумерацией Chothia.

**[00328]** В других вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую CDR (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) состоящие из аминокислотных последовательностей CDR вариабельной области тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO:22, в соответствии с нумерацией Contact, и вариабельную область легкой цепи, содержащую CDR, состоящие из аминокислотных последовательностей CDR вариабельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO:23 в соответствии с нумерацией Contact.

**[00329]** В других вариантах осуществления антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую CDR (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) состоящие из аминокислотных последовательностей CDR переменной области тяжелой цепи, представленных в SEQ ID NO:22, в соответствии с нумерацией IMGT, и переменную область легкой цепи, содержащую CDR, состоящие из аминокислотных последовательностей CDR переменной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO:23 в соответствии с нумерацией IMGT.

**[00330]** Как описано выше, последовательности CDR в соответствии с различными системами нумерации могут быть легко определены, *например*, с использованием онлайн-инструментов, таких как инструмент, предоставленный системой нумерации и классификации рецепторов антигенов (ANARCI). Например, последовательности CDR тяжелой цепи в SEQ ID NO:22 и последовательности CDR легкой цепи в SEQ ID NO:23 в соответствии с нумерацией Kabat, определенной ANARCI, приведены в Таблице 4 ниже.

**Таблица 4.**

	<b>VH с SEQ ID NO:22</b>	<b>VL с SEQ ID NO:23</b>
CDR1	SYNMN (SEQ ID NO:9)	RASQGISGWLA (SEQ ID NO:12)
CDR2	YISSSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO:10)	AASTLQS (SEQ ID NO:13)
CDR3	AYYYGMDV (SEQ ID NO:11)	QQANSFPPT (SEQ ID NO:14)

**[00331]** В другом примере, последовательности CDR тяжелой цепи в SEQ ID NO:22 и последовательности CDR легкой цепи в SEQ ID NO:23 в соответствии с нумерацией IMGT определенной ANARCI, приведены в Таблице 5 ниже.

**Таблица 5.**

	<b>VH с SEQ ID NO:22</b>	<b>VL с SEQ ID NO:23</b>
CDR1	GFTFSSYN (SEQ ID NO:16)	QGISGW (SEQ ID NO:19)
CDR2	ISSSSSTI (SEQ ID NO:17)	AAS (SEQ ID NO:20)
CDR3	ARAYYYGMDV (SEQ ID NO:18)	QQANSFPPT (SEQ ID NO:21)

**[00332]** В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10, CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:11, CDR-L1,

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:NO:12, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:NO:13, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:NO:14.

**[00333]** В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18, CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:NO:19, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:NO:20, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:NO:21.

**[00334]** В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR-H1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, CDR-H2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10, CDR-H3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:11, CDR-L1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:NO:12, CDR-L2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:NO:13, и CDR-L3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:NO:14.

**[00335]** В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR-H1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:16, CDR-H2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17, CDR-H3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:18, CDR-L1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:NO:19, CDR-L2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:NO:20, и CDR-L3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:NO:21.

**[00336]** В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, и переменную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23.

**[00337]** В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:23.

**[00338]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность в диапазоне от 20-й аминокислоты

(глутаминовая кислота) до 466-й аминокислоты (лизин) SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность в диапазоне от 23-й аминокислоты (аспарагиновая кислота) до 236-й аминокислоты (цистеин) SEQ ID NO: 8.

**[00339]** В некоторых вариантах осуществления антитело содержит тяжелую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности в диапазоне от 20-й аминокислоты (глутаминовая кислота) до 466-й аминокислоты (лизин) SEQ ID NO:7, и легкую цепь, состоящую из аминокислотной последовательности в диапазоне от 23-й аминокислоты (аспарагиновой кислоты) до 236-й аминокислоты (цистеина) SEQ ID NO:8.

**[00340]** В некоторых вариантах осуществления рассматриваются модификации аминокислотной последовательности антител, описанных в данном документе. Например, может быть желательным оптимизировать аффинность связывания и/или другие биологические свойства антитела, включая, помимо прочего, специфичность, термостабильность, уровень экспрессии, эффекторные функции, гликозилирование, сниженную иммуногенность или растворимость. Таким образом, в дополнение к описанным в данном документе антителам предполагается, что могут быть получены варианты антител. Например, варианты антител могут быть получены путем внесения соответствующих нуклеотидных изменений в кодирующую ДНК и/или путем синтеза желаемого антитела или полипептида. Специалисты в данной области понимают, что аминокислотные замены могут изменять посттрансляционные процессы антитела, такие как изменение числа или положения сайтов гликозилирования или изменение характеристик закрепления на мембране.

**[00341]** В некоторых вариантах осуществления антитела, предложенные в данном документе, химически модифицированы, например, путем ковалентного присоединения любого типа молекулы к антителу. Производные антител могут включать антитела, которые были химически модифицированы, например, путем гликозилирования, ацетилирования, пэгилирования, фосфорилирования, амидирования, дериватизации известными защитными/блокирующими группами, протеолитического расщепления, связывания с клеточным лигандом или другим белком и *т.д.* Любая из многочисленных химических модификаций может быть осуществлена известными способами, включая, но не ограничиваясь ими, специфическое химическое расщепление, ацетилирование, создание составов, метаболический синтез туникамицина и *т.д.* Кроме того, антитело может содержать одну или более неклассических аминокислот.

**[00342]** Вариации могут представлять собой замену, делецию или вставку одного или более кодонов, кодирующих однодоменное антитело или полипептид, что приводит к

изменению аминокислотной последовательности по сравнению с исходным антителом или полипептидом. Аминокислотные замены могут быть результатом замены одной аминокислоты другой аминокислотой, имеющей сходные структурные и/или химические свойства, например, замена лейцина серином, *например*, консервативные аминокислотные замены. Стандартные методы, известные специалистам в данной области, могут быть использованы для введения мутаций в нуклеотидную последовательность, кодирующую молекулу, представленную в данном документе, включая, например, сайт-направленный мутагенез и мутагенез, опосредованный ПЦР, который приводит к аминокислотным заменам. Инсерции или делеции необязательно могут находиться в диапазоне примерно от 1 до 5 аминокислот. В определенных вариантах осуществления замена, делеция или вставка включают менее 25 аминокислотных замен, менее 20 аминокислотных замен, менее 15 аминокислотных замен, менее 10 аминокислотных замен, менее 5 аминокислотных замен, менее 4 аминокислотных замен, менее 3 аминокислотных замен или менее 2 аминокислотных замен относительно исходной молекулы. В конкретном варианте осуществления замена представляет собой консервативную аминокислотную замену, произведенную в одном или более предсказанных заменимых аминокислотных остатках. Допустимые вариации можно определить путем систематического внесения аминокислотных вставок, делеций или замен в последовательности и тестирования полученных вариантов на активность, проявляемую исходными антителами.

**[00343]** Вставки аминокислотной последовательности включают аминокислоты и/или карбоксиконцевые слияния длиной от одного остатка до полипептидов, содержащих несколько остатков, а также вставки внутри последовательности одного или более аминокислотных остатков. Примеры концевых вставок включают антитело с N-концевым метионильным остатком.

**[00344]** В данном изобретении включены антитела, образованные консервативными аминокислотными заменами. При консервативной аминокислотной замене аминокислотный остаток заменяется аминокислотным остатком, содержащим боковую цепь с аналогичным зарядом. Как описано выше, в данной области определены семейства аминокислотных остатков, содержащих боковые цепи с аналогичными зарядами. Эти семейства включают аминокислоты с основными боковыми цепями (*например*, лизин, аргинин, гистидин), кислыми боковыми цепями (*например*, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота), незаряженными полярными боковыми цепями (*например*, глицин, аспарагин, глутамин, серин, треонин, тирозин, цистеин), неполярными боковыми цепями (*например*, аланин, валин, лейцин, изолейцин, пролин, фенилаланин, метионин,

триптофан), бета-разветвленные боковые цепи (*например*, треонин, валин, изолейцин) и ароматические боковые цепи (*например*, тирозин, фенилаланин, триптофан, гистидин). Альтернативно, мутации могут быть введены случайным образом вдоль всей или части кодирующей последовательности, например, путем мутагенеза с насыщением, и полученные мутанты могут быть подвергнуты скринингу на биологическую активность для выявления мутантов, сохраняющих активность. После мутагенеза кодируемый белок может быть экспрессирован, а активность белка может быть определена консервативно (*например*, внутри аминокислотной группы с аналогичными свойствами и/или боковыми цепями) могут быть сделаны замены, чтобы сохранить или существенно не изменить характеристики.

**[00345]** Аминокислоты можно сгруппировать по сходству свойств их боковых цепей (см., например, Lehninger, Biochemistry 73-75 (2d ed. 1975)): (1) неполярные: Ala (A), Val (V), Leu (L), Ile (I), Pro (P), Phe (F), Trp (W), Met (M); (2) незаряженные полярные: Gly (G), Ser (S), Thr (T), Cys (C), Tyr (Y), Asn (N), Gln (Q); (3) кислые: Asp (D), Glu (E) и (4) основные: Lys (K), Arg (R), His (H). Альтернативно встречающиеся в природе остатки можно разделить на группы на основе общих свойств боковой цепи: (1) гидрофобные: норлейцин, Met, Ala, Val, Leu, Ile; (2) нейтральные гидрофильные: Cys, Ser, Thr, Asn, Gln; (3) кислые: Asp, Glu; (4) основные: His, Lys, Arg; (5) остатки, влияющие на ориентацию цепи: Gly, Pro; и (6) ароматические: Trp, Tyr, Phe.

**[00346]** Например, любой остаток цистеина, не участвующий в поддержании правильной конформации антитела, также может быть заменен, например, другой аминокислотой, такой как аланин или серин, для улучшения окислительной стабильности молекулы и предотвращения аберрантного сшивания.

**[00347]** Вариации могут быть получены с использованием способов, известных в данной области, таких как опосредованный олигонуклеотидами (сайт-направленный) мутагенез, аланиновое сканирование и ПЦР-мутагенез. Сайт-направленный мутагенез (см., например, Carter, 1986, Biochem J. 237:1-7 и Zoller *et al.*, 1982, Nucl. Acids Res. 10:6487-500), кассетный мутагенез (см., например, Wells *et al.*, 1985, Gene 34:315-23), или другие известные способы могут быть применены к клонированной ДНК для получения варианта ДНК антитела к MSLN.

**[00348]** Ковалентные модификации антител входят в объем данного изобретения. Ковалентные модификации включают реакцию целевых аминокислотных остатков антитела с органическим дериватирующим агентом, который способен реагировать с выбранными боковыми цепями или N- или C-концевыми остатками антитела. Другие

модификации включают дезамидирование глутаминильных и аспарагинильных остатков до соответствующих глутамиловых и аспартильных остатков соответственно, гидроксирование пролина и лизина, фосфорилирование гидроксильных групп серильных или треонильных остатков, метилирование  $\alpha$ -аминогрупп лизина, модификации боковых цепей аргинина и гистидина (см., например, Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties* 79-86 (1983)), ацетилирование N-концевого амина и амидирование любой C-концевой карбоксильной группы.

**[00349]** Другие типы ковалентной модификации антитела, включенные в объем данного изобретения, включают изменение природного паттерна гликозилирования антитела или полипептида (см., например, Beck *et al.*, 2008, *Curr. Pharm. Biotechnol.* 9:482-501 и Walsh, 2010, *Drug Discov. Today* 15:773-80), и связывание антитела с одним из множества небелковых полимеров, *например*, полиэтиленгликолем (ПЭГ), полипропиленгликолем или полиоксиалкиленами, как указано, например, в патенте США № 4,640,835; 4,496,689; 4,301,144; 4,670,417; 4,791,192 или 4,179,337.

**[00350]** В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенное в данном документе, содержит тяжелую цепь, имеющую определенную гомологию или идентичность с тяжелой цепью, указанной в SEQ ID NO:7, и легкую цепь, имеющую определенную гомологию или идентичность с легкой цепью, указанной в SEQ ID NO:8. Такие варианты осуществления тяжелых/легких цепей с гомологией или идентичностью дополнительно представлены следующим образом. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержат тяжелую цепь, имеющую более чем 70% гомологии или идентичности с тяжелой цепью, указанной в SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержат тяжелую цепь, имеющую более чем 75% гомологии или идентичности с тяжелой цепью, указанной в SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержат тяжелую цепь, имеющую более чем 80% гомологии или идентичности с тяжелой цепью, указанной в SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержат тяжелую цепь, имеющую более чем 85% гомологии или идентичности с тяжелой цепью, указанной в SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержат тяжелую цепь, имеющую более чем 90% гомологии или идентичности с тяжелой цепью, указанной

в SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержит тяжелую цепь, имеющую более чем 95% гомологии или идентичности с тяжелой цепью, указанной в SEQ ID NO:7. В определенных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержит тяжелую цепь, имеющую любую из представленных гомологий или идентичностей с тяжелой цепью, указанной в SEQ ID NO:7, при этом CDR (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3) идентичны CDR в тяжелой цепи, указанной в SEQ ID NO:7. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержит легкую цепь, имеющую более чем 70% гомологии или идентичности с легкой цепью, указанной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержит легкую цепь, имеющую более чем 75% гомологии или идентичности с легкой цепью, указанной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержит легкую цепь, имеющую более чем 80% гомологии или идентичности с легкой цепью, указанной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержит легкую цепь, имеющую более чем 85% гомологии или идентичности с легкой цепью, указанной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержит легкую цепь, имеющую более чем 90% гомологии или идентичности с легкой цепью, указанной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержит легкую цепь, имеющую более чем 95% гомологии или идентичности с легкой цепью, указанной в SEQ ID NO:8. В определенных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержит легкую цепь, имеющую любую из представленных гомологий или идентичностей с легкой цепью, указанной в SEQ ID NO:8, при этом CDR (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) идентичны CDR в легкой цепи, указанной в SEQ ID NO:8. В некоторых вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, предложенное в данном документе, содержит любую гомологичную легкую цепь и любую гомологичную тяжелую цепь, как предложено в этом абзаце, в любой комбинации или перестановке.

**[00351]** В определенных вариантах осуществления антитело или его

антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, содержат переменную область тяжелой цепи, имеющую определенную гомологию или идентичность с переменной областью тяжелой цепи, указанной в SEQ ID NO:22, и переменную область легкой цепи, имеющую определенную гомологию или идентичность с переменной областью легкой цепи, указанной SEQ ID NO:23. Такие варианты осуществления переменных областей тяжелой цепи и переменных областей легкой цепи с гомологией или идентичностью дополнительно представлены следующим образом. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую более чем 70 % гомологии или идентичности с переменной областью тяжелой цепи, указанной в SEQ ID NO:22. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую более чем 75 % гомологии или идентичности с переменной областью тяжелой цепи, указанной в SEQ ID NO:22. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую более чем 80 % гомологии или идентичности с переменной областью тяжелой цепи, указанной в SEQ ID NO:22. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую более чем 85 % гомологии или идентичности с переменной областью тяжелой цепи, указанной в SEQ ID NO:22. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую более чем 90 % гомологии или идентичности с переменной областью тяжелой цепи, указанной в SEQ ID NO:22. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую любую из представленных гомологий или идентичностей с переменной областью тяжелой цепи, указанной в SEQ ID NO:22, причем CDR (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3) идентичны CDR в переменной области тяжелой цепи, указанной в SEQ ID NO:22. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий

фрагмент, представленное в данном документе, содержит вариабельную область легкой цепи, имеющую более чем 70 % гомологии или идентичности с вариабельной областью легкой цепи, указанной в SEQ ID NO:23. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержит вариабельную область легкой цепи, имеющую более чем 75 % гомологии или идентичности с вариабельной областью легкой цепи, указанной в SEQ ID NO:23. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержит вариабельную область легкой цепи, имеющую более чем 80 % гомологии или идентичности с вариабельной областью легкой цепи, указанной в SEQ ID NO:23. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержит вариабельную область легкой цепи, имеющую более чем 85 % гомологии или идентичности с вариабельной областью легкой цепи, указанной в SEQ ID NO:23. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержит вариабельную область легкой цепи, имеющую более чем 90 % гомологии или идентичности с вариабельной областью легкой цепи, указанной в SEQ ID NO:23. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержит вариабельную область легкой цепи, имеющую более чем 95 % гомологии или идентичности с вариабельной областью легкой цепи, указанной в SEQ ID NO:23. В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенное в данном документе, содержит вариабельную область легкой цепи, имеющую любую из представленных гомологий или идентичностей с вариабельной областью легкой цепи, указанной в SEQ ID NO:23, причем CDR (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) идентичны CDR в вариабельной области легкой цепи, указанной в SEQ ID NO:23. В определенных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержат любую гомологичную вариабельную область легкой цепи и любую гомологичную вариабельную область тяжелой цепи, как предусмотрено в этом абзаце, в любой комбинации или перестановке.

**[00352]** В некоторых вариантах осуществления антитело к нектину-4, представленное в данном документе, содержит области CDR тяжелой и легкой цепей антитела, обозначенного как Ha22-2(2,4)6.1, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC), номер доступа: PTA-11267 или области CDR тяжелой и легкой цепи, содержащие аминокислотные последовательности, которые гомологичны аминокислотным последовательностям областей CDR тяжелой и

легкой цепи Ha22-2(2,4)6.1, и при этом антитела сохраняют желаемые функциональные свойства антитела к нектину-4, обозначенного Ha22-2(2,4)6.1, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC) № доступа: PTA-11267.

**[00353]** В некоторых вариантах осуществления антитело к нектину-4 по данному документу содержит области CDR тяжелой и легкой цепи (CDR-H1, CDR-H2, CDR-H3, CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3) антитела, обозначенного Ha22-2(2,4)6.1, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC), номер доступа: PTA-11267, или области CDR тяжелой и легкой цепи, состоящие из аминокислотных последовательностей, которые гомологичны аминокислотным последовательностям областей CDR тяжелой и легкой цепи Ha22-2(2,4)6.1, и при этом антитела сохраняют желаемые функциональные свойства антитела к нектину-4, обозначенного как Ha22-2(2,4)6.1, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC), номер доступа: PTA-11267.

**[00354]** В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в данном документе, содержат гуманизованную переменную область тяжелой цепи и гуманизованную переменную область легкой цепи, при этом:

(a) переменная область тяжелой цепи содержит CDR (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области тяжелой цепи, представленные в антителе, продуцируемом гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC), номер доступа: PTA-11267;

(b) переменная область легкой цепи содержит CDR (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), содержащие аминокислотные последовательности CDR переменной области легкой цепи, представленные в антителе, продуцируемом гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC), номер доступа: PTA-11267.

**[00355]** В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в данном документе, содержат гуманизованную переменную область тяжелой цепи и гуманизованную переменную область легкой цепи, при этом:

(a) переменная область тяжелой цепи состоит из CDR (CDR-H1, CDR-H2 и CDR-H3), содержащих аминокислотные последовательности CDR переменной области тяжелой цепи, представленные в антителе, продуцируемом гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC), номер доступа: PTA-11267;

(b) переменная область легкой цепи состоит из CDR (CDR-L1, CDR-L2 и CDR-L3), содержащих аминокислотные последовательности CDR переменной области легкой цепи, представленные в антителе, продуцируемом гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC), номер доступа: РТА-11267.

**[00356]** В некоторых вариантах осуществления антитело к нектину-4, представленное в данном документе, содержит переменные области тяжелой и легкой цепей антитела, обозначенного как Ha22-2(2,4)6.1, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC), номер доступа: РТА-11267 или переменные области тяжелой и легкой цепи, содержащие аминокислотные последовательности, которые гомологичны аминокислотным последовательностям переменных областей тяжелой и легкой цепи Ha22-2(2,4)6.1, и при этом антитела сохраняют желаемые функциональные свойства антитела к нектину-4, предложенного в данном документе. В некоторых вариантах осуществления антитело к нектину-4, представленное в данном документе, содержит переменные области тяжелой и легкой цепей антитела, обозначенного как Ha22-2(2,4)6.1, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC), номер доступа: РТА-11267, или переменные области тяжелой и легкой цепей, состоящие из аминокислотных последовательностей, гомологичных аминокислотным последовательностям переменных областей тяжелой и легкой цепей Ha22-2(2,4)6.1, и при этом антитела сохраняют желаемые функциональные свойства антитела к нектину-4 по данному изобретению. В качестве константной области антитела по изобретению может быть выбран любой подкласс константной области. В одном варианте осуществления можно использовать константную область IgG1 человека в качестве константной области тяжелой цепи и константную область каппа-цепи Ig человека в качестве константной области легкой цепи.

**[00357]** В некоторых вариантах осуществления антитело к нектину-4, представленное в данном документе, содержит тяжелые и легкие цепи антитела, обозначенного как Ha22-2(2,4)6.1, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (ATCC) под номером доступа: РТА-11267, или тяжелые и легкие цепи, содержащие аминокислотные последовательности, которые гомологичны аминокислотным последовательностям тяжелой и легкой цепей Ha22-2(2,4)6.1, и при этом антитела сохраняют желаемые функциональные свойства антитела к нектину-4 по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления антитело к нектину-4, представленное в данном документе, содержит тяжелые и легкие цепи антитела,

обозначенного как Na22-2(2,4)6.1, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа: РТА-11267, или тяжелые и легкие цепи, состоящие из аминокислотных последовательностей, которые гомологичны аминокислотным последовательностям тяжелой и легкой цепей Na22-2(2,4)6.1, и при этом антитела сохраняют желаемые функциональные свойства антитела к нектину-4 по данному изобретению.

**[00358]** В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в данном документе, содержат переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, при этом:

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

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

**[00359]** В определенных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержит переменную область тяжелой цепи, имеющую определенную гомологию или идентичность с аминокислотной последовательностью переменной области тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа: РТА-11267, и переменную область легкой цепи, имеющую определенную гомологию или идентичность с аминокислотной последовательностью переменной области легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур под номером доступа (АТСС): РТА-11267. Такие варианты осуществления переменных областей тяжелой цепи и переменных областей легкой цепи с гомологией или идентичностью дополнительно представлены следующим образом. В некоторых вариантах осуществления, переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85 % гомологична или идентична аминокислотной последовательности переменной области тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой,

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

номером доступа: РТА-11267. В определенных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержат любую гомологичную вариабельную область легкой цепи и любую гомологичную вариабельную область тяжелой цепи, как предусмотрено в этом абзаце, в любой комбинации или перестановке.

**[00360]** В других вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в данном документе, содержат тяжелую цепь и легкую цепь, при этом:

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

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

**[00361]** В определенных вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в данном документе, содержат тяжелую цепь, имеющую определенную гомологию или идентичность с аминокислотной последовательностью тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа: РТА-11267 и легкую цепь, обладающую определенной гомологией или идентичностью с аминокислотной последовательностью легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типов культур (АТСС) под номером доступа: РТА-11267. Такие варианты тяжелых цепей и легких цепей с гомологией или идентичностью дополнительно представлены следующим образом. В некоторых вариантах осуществления тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85 % гомологична или идентична аминокислотной последовательности тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа: РТА-11267. В других вариантах осуществления тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90 % гомологична или идентична аминокислотной последовательности тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под

номером доступа: РТА-11267. В еще одних других вариантах осуществления тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95 % гомологична или идентична аминокислотной последовательности тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа: РТА-11267. В других вариантах осуществления тяжелая цепь может быть на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% гомологична или идентична аминокислотной последовательности тяжелой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа: РТА-11267. В некоторых вариантах осуществления легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 85 % гомологична или идентична аминокислотной последовательности легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа: РТА-11267. В других вариантах осуществления легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90 % гомологична или идентична аминокислотной последовательности легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа: РТА-11267. В еще одних других вариантах осуществления легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 95 % гомологична или идентична аминокислотной последовательности легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа: РТА-11267. В других вариантах осуществления легкая цепь может быть на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% гомологична или идентична аминокислотной последовательности легкой цепи антитела, продуцируемого гибридомой, депонированной в Американской коллекции типовых культур (АТСС) под номером доступа: РТА-11267. В определенных вариантах осуществления антитело или антигенсвязывающий фрагмент, представленное в данном документе, содержат любую гомологичную легкую цепь и любую гомологичную тяжелую цепь, как предусмотрено в этом абзаце, в любой комбинации или перестановке.

**[00362]** В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, представленные в данном документе, связываются со специфическим эпитопом в 191P4D12. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, связываются с доменом VC1 191P4D12. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент,



некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, связываются с аминокислотными остатками со 121-го по 130-й в 191P4D12. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, связываются с аминокислотными остатками со 131-го по 140-й в 191P4D12. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, связываются с аминокислотными остатками со 141-го по 147-й в 191P4D12. Связывающие эпитопы определенных вариантов осуществления антител или их антигенсвязывающих фрагментов, предложенные в данном документе, были определены и описаны в WO 2012/047724, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

**[00363]** В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, связываются с эпитопами в 191P4D12, которые являются общими для вариантов 191P4D12, наблюдаемых у человека. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, связываются с эпитопами в 191P4D12, которые являются общими для полиморфизма 191P4D12, наблюдаемого у человека. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, связываются с эпитопами в 191P4D12, которые являются общими для полиморфизма 191P4D12, наблюдаемого у человека при раке. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, связываются с эпитопами в 191P4D12, которые могут связывать, интернализировать, нарушать или модулировать биологическую функцию вариантов 191P4D12 или 191P4D12. В некоторых вариантах осуществления антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, предложенные в данном документе, связываются с эпитопами в 191P4D12, что может нарушить взаимодействие между 191P4D12 с лигандами, субстратами и партнерами по связыванию.

**[00364]** Сконструированные антитела, представленные в данном документе, включают те, в которых были произведены модификации каркасных остатков в пределах VH и/или VL (*например*, для улучшения свойств антитела). Обычно такие модификации каркаса делают для снижения иммуногенности антитела. Например, один из подходов заключается в «обратной мутации» одного или более остатков каркаса в соответствующую последовательность зародышевой линии. Более конкретно, антитело, подвергшееся соматической мутации, может содержать остатки каркаса, которые отличаются от

последовательности зародышевой линии, из которой получено антитело. Такие остатки могут быть идентифицированы путем сравнения последовательностей каркаса антитела с последовательностями зародышевой линии, из которых получено антитело. Чтобы вернуть последовательности каркасной области к их конфигурации зародышевой линии, соматические мутации могут быть «обратно мутированы» в последовательность зародышевой линии, например, с помощью сайт-направленного мутагенеза или мутагенеза, опосредованного ПЦР (*например*, «обратной мутации» от лейцина к метионину). Такие «обратномутированные» антитела также должны быть охвачены изобретением.

**[00365]** Другой тип модификации каркаса включает мутацию одного или более остатков в каркасном участке или даже в одном или более участках CDR для удаления Т-клеточных эпитопов, чтобы тем самым снизить потенциальную иммуногенность антитела. Этот подход также называется «деиммунизацией» и более подробно описан в публикации патента США № 2003/0153043 от Carr et al.

**[00366]** В дополнение или в качестве альтернативы модификациям, сделанным в пределах каркаса или областей CDR, антитела по изобретению могут быть сконструированы так, чтобы включать модификации в области Fc, как правило, для изменения одного или более функциональных свойств антитела, таких как время полужизни в сыворотке, фиксация комплемента, связывание с рецептором Fc и/или антигензависимая клеточная цитотоксичность. Кроме того, антитело к 191P4D12, предложенное в данном документе, может быть химически модифицировано (*например*, к антителу может быть присоединена одна или более химических частей) или может быть модифицировано для изменения его гликозилирования, опять же для изменения одного или более функциональных свойств антитела. Каждый из этих вариантов осуществления более подробно описан ниже.

**[00367]** В одном варианте осуществления шарнирная область CH1 модифицирована таким образом, что количество цистеиновых остатков в шарнирной области изменено, *например*, увеличено или уменьшено. Этот подход дополнительно описан в патенте США № 5677425 от Bodmer et al. Количество остатков цистеина в шарнирной области CH1 изменяется, например, для облегчения сборки легкой и тяжелой цепей или для увеличения или уменьшения стабильности антитела к 191P4D12.

**[00368]** В другом варианте осуществления шарнирная область Fc антитела мутирована для уменьшения биологического периода полужизни антитела к 191P4D12. Более конкретно, одна или более аминокислотных мутаций вводятся в область интерфейса домена CH2-CH3 фрагмента Fc-шарнира, так что антитело нарушает связывание стафилококкового

белка А (SpA) по сравнению со связыванием SpA нативного Fc-шарнирного домена. Этот подход более подробно описан в патенте США № 6165745 от Ward et al.

**[00369]** В другом варианте осуществления антитело к 191P4D12 модифицируют для увеличения его биологического периода полужизни. Возможны различные подходы. Например, мутации можно вводить, как описано в патенте США № 6277375 от Ward. В качестве альтернативы, для увеличения биологического периода полужизни антитело может быть изменено в области CH1 или CL, чтобы содержать эпитоп, связывающий рецептор спасения, взятый из двух петель домена CH2 Fc-области IgG, как описано в патентах США № 5 869 046 и 6 121 022 от Presta et al.

**[00370]** В еще одних других вариантах осуществления Fc-область изменяется путем замены по меньшей мере одного аминокислотного остатка другим аминокислотным остатком для изменения эффекторной функции (функций) антитела. Например, одна или более аминокислот, выбранных из аминокислотных остатков, могут быть заменены другим аминокислотным остатком, так что антитело имеет измененную аффинность к эффекторному лиганду, но сохраняет антигенсвязывающую способность родительского антитела. Эффекторный лиганд, аффинность к которому изменена, может представлять собой, например, Fc-рецептор или C1-компонент комплемента. Этот подход более подробно описан в патенте США № 5,624,821 и 5,648,260, оба от Winter et al.

**[00371]** Реактивность анти-191P4D12-антител с родственными белку 191P4D12 можно установить с помощью ряда хорошо известных способов, включая вестерн-блоттинг, иммунопреципитацию, ELISA и FACS-анализы с использованием, при необходимости, родственных 191P4D12 белков, 191P4D12-экспрессирующих клеток или их экстрактов. Антитело 191P4D12 или его фрагмент можно пометить детектируемым маркером или конъюгировать со второй молекулой. Подходящие детектируемые маркеры включают, но не ограничиваются ими, радиоизотоп, флуоресцентное соединение, биолюминесцентное соединение, хемилюминесцентное соединение, хелатор металла или фермент. Кроме того, биспецифические антитела, специфичные к двум или более эпитопам 191P4D12, получают с использованием способов, обычно известных в данной области. Гомодимерные антитела также могут быть получены методами перекрестного связывания, известными в данной области (*например*, Wolff et al., Cancer Res. 53: 2560-2565).

**[00372]** В еще одном конкретном варианте осуществления антитело к 191P4D12, предложенное в данном документе, представляет собой антитело, содержащее тяжелую и легкую цепи антитела, обозначенного как Ha22-2(2,4)6.1. Тяжелая цепь Ha22-2(2,4)6.1 состоит из аминокислотной последовательности в диапазоне от 20<sup>-го</sup> остатка E до 466<sup>-го</sup>

остатка К SEQ ID NO:7, а легкая цепь Ha22-2(2,4)6.1 состоит из аминокислотной последовательности в диапазоне от 23-<sup>го</sup> остатка D до 236-<sup>го</sup> остатка C последовательности SEQ ID NO:8.

**[00373]** Гибридома, продуцирующая антитело, обозначенное Ha22-2(2,4)6.1, была отправлена (через Federal Express) в Американскую коллекцию типовых культур (ATCC), P.O. Box 1549, Manassas, VA 20108, 18 августа 2010 г., и ей присвоен номер доступа PTA-11267.

**[00374]** Дополнительные варианты осуществления антитела к нектину-4 описаны в патенте США № 8637642 и международной заявке № PCT/US2019/056214 (публикация № WO2020/117373), которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

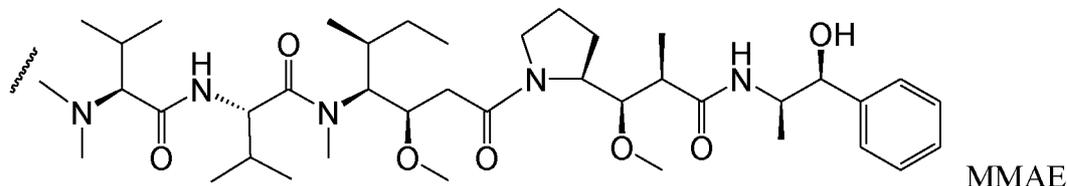
### **5.3.2 Цитотоксические агенты (единицы лекарственного средства)**

**[00375]** Поскольку ADC, используемый в способах, предложенных в данном документе, содержит антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, конъюгированное с цитотоксическим агентом, в описании дополнительно предлагаются различные варианты осуществления цитотоксического агента как части ADC для применения в способах. В различных вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, включая способы, предложенные в разделе 5.2, цитотоксический агент как часть любого из ADC, представленных в данном документе для способов, содержит, состоит из или представляет собой агент, разрушающий тубулин. В одном варианте осуществления цитотоксический агент представляет собой агент, разрушающий тубулин. В некоторых вариантах осуществления агент, разрушающий тубулин, выбран из группы, состоящей из доластатина, ауристатина, гемиастерлина, алкалоида барвинка, майтансиноида, эрибулина, колхицина, флокабулина, фомопсина, эпотилона, криптофицина и таксана. В одном конкретном варианте осуществления агент, разрушающий тубулин, представляет собой ауристин. В другом конкретном варианте осуществления ауристин представляет собой метиллауристин Е (ММАЕ), метиллауристин F (ММАF), AFP или ауристин Т. В еще одном конкретном варианте осуществления ауристин представляет собой метиллауристин Е (ММАЕ).

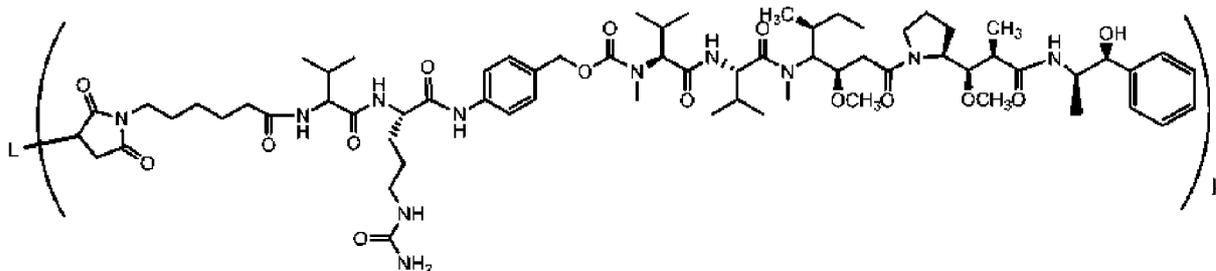
**[00376]** В различных вариантах осуществления способов, представленных в данном документе, включая способы, представленные в разделе 5.2, цитотоксический агент как часть любого из ADC, представленных в данном документе для способов, включает, состоит из или представляет собой любой агент, выбранный из цитотоксических агентов, описанных в патенте США № 8,637,642 и международной заявке № PCT/US2019/056214 (публикация № WO2020/117373), обе из которых полностью включены в данный документ

посредством ссылки.

**[00377]** В некоторых вариантах осуществления ауристатин представляет собой MMAE (где волнистая линия указывает на ковалентное присоединение к линкеру конъюгата антитело-лекарственное средство).



**[00378]** В некоторых вариантах осуществления типичный вариант осуществления, включающий MMAE и линкерный компонент (описанный далее в данном документе), имеет следующую структуру (где L представляет собой антитело (*например*, антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент), а p находится в диапазоне от 1 до 12):



**[00379]** В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, p находится в диапазоне 1-20, 1-19, 1-18, 1-17, 1-16, 1-15, 1-14, 1-13, 1-12, 1-11, 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3 или 1-2. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, p находится в диапазоне 2-20, 2-19, 2-18, 2-17, 2-16, 2-15, 2-14, 2-13, 2-12, 2-11, 2-10, 2-9, 2-8, 2-7, 2-6, 2-5, 2-4 или 2-3. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, p находится в диапазоне 3-20, 3-19, 3-18, 3-17, 3-16, 3-15, 3-14, 3-13, 3-12, 3-11, 3-10, 3-9, 3-8, 3-7, 3-6, 3-5 или 3-4. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, p составляет около 1. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, p составляет около 2. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, p составляет около 3. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, p составляет около 4. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, p составляет около 3,8. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, p составляет около 5. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, p составляет около 6. В некоторых вариантах

осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 7. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 8. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 9. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 10. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 11. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 12. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 13. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 14. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 15. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 16. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 17. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 18. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 19. В некоторых вариантах осуществления формулы, описанной в предыдущем абзаце, р составляет около 20.

**[00380]** Как правило, единицы лекарственных средств на основе пептидов могут быть получены путем образования пептидной связи между двумя или более аминокислотами и/или пептидными фрагментами. Такие пептидные связи могут быть получены, например, методом жидкофазного синтеза (см. E. Schröder and K. Lübke, “The Peptides”, volume 1, pp 76-136, 1965, Academic Press) хорошо известным в области химии пептидов. Единицы лекарственного средства на основе ауристатиона/доластатиона могут быть получены в соответствии со способами: US 5635483; US 5780588; Pettit et al (1989) J. Am. Chem. Soc. 111:5463-5465; Pettit et al (1998) Anti-Cancer Drug Design 13:243-277; Pettit, G.R., et al. Synthesis, 1996, 719-725; Pettit et al (1996) J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 5:859-863 и Doronina (2003) Nat Biotechnol 21(7):778-784.

**[00381]** Дополнительные варианты осуществления цитотоксического агента описаны в патенте США № 8637642 и международной заявке № PCT/US2019/056214 (публикация № WO2020/117373), которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

### **5.3.3 Линкеры**

**[00382]** Как правило, конъюгаты антитело-лекарственное средство содержат линкерную единицу между единицей лекарственного средства (*например*, MMAE) и единицей антитела

(например, антителом к 191P4D12 или его антигенсвязывающим фрагментом). В некоторых вариантах осуществления линкер расщепляется во внутриклеточных условиях, так что расщепление линкера высвобождает единицу лекарственного средства из антитела во внутриклеточной среде. В еще одних других вариантах осуществления линкерная единица не расщепляется, и лекарственное средство высвобождается, например, при деградации антитела. В некоторых вариантах осуществления линкер расщепляется расщепляющим агентом, присутствующим во внутриклеточной среде (например, в лизосоме, эндосоме или кавеоле). Линкер может быть, например, пептидильным линкером, который расщепляется внутриклеточной пептидазой или ферментом протеазы, включая, но не ограничиваясь этим, лизосомальную или эндосомальную протеазу. Например, можно использовать пептидильный линкер, расщепляемый тиол-зависимой протеазой катепсином-В, которая в высокой степени экспрессируется в раковой ткани (например, линкер Phe-Leu или Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO:15)). В некоторых вариантах осуществления длина пептидильного линкера составляет по меньшей мере две аминокислоты или по меньшей мере три аминокислоты. В других вариантах осуществления расщепляемый линкер является рН-чувствительным, т.е. чувствительным к гидролизу при определенных значениях рН. Как правило, рН-чувствительный линкер гидролизуется в кислых условиях. Например, можно использовать кислотолабильный линкер, который гидролизуется в лизосоме (например, гидразон, семикарбазон, тиосемикарбазон, цис-аконитамида, ортоэфир, ацеталь, кеталь и т.п.). В еще одних других вариантах осуществления линкер расщепляется в восстанавливающих условиях (например, дисульфидный линкер). В данной области известны различные дисульфидные линкеры, в том числе, например, те, которые могут быть образованы с использованием SATA (N-сукцинимидил-S-ацетилтиоацетат), SPDP (N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионат), SPDB (N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)бутират) и SMPT (N-сукцинимидил-оксикарбонил-альфа-метил-альфа-(2-пиридилдитио)толуол), SPDB и SMPT.

**[00383]** «Линкерная единица» (LU) представляет собой бифункциональное соединение, которое можно использовать для связывания единицы лекарственного средства и единицы антитела с образованием конъюгата антитело-лекарственное средство. В некоторых вариантах осуществления линкерная единица имеет формулу:



где: -A- представляет собой растягиваемую единицу,

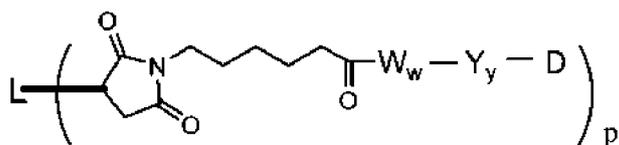
а равняется 0 или 1,

каждый -W- независимо представляет собой аминокислотную единицу,

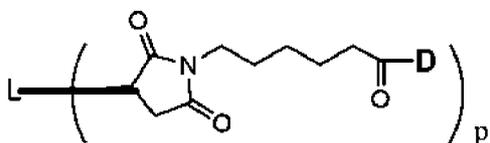
w представляет собой целое число в диапазоне от 0 до 12,  
 -Y- представляет собой самоуничтожающийся спейсер, и  
 у равняется 0, 1 или 2.

**[00384]** В некоторых вариантах осуществления а равно 0 или 1, w равно 0 или 1 и у равно 0, 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления а равно 0 или 1, w равно 0 или 1 и у равно 0 или 1. В некоторых вариантах осуществления, когда w равно 1-12, у равно 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления w равно 2-12, а у равно 1 или 2. В некоторых вариантах осуществления а равно 1, а w и у равно 0. Линкер и каждый из удлиняющий элемент, аминокислотный элемент и спейсерный элемент были описаны в патенте США № 8637642 и международной заявке № PCT/US2019/056214 (публикация № WO2020/117373), обе из которых включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

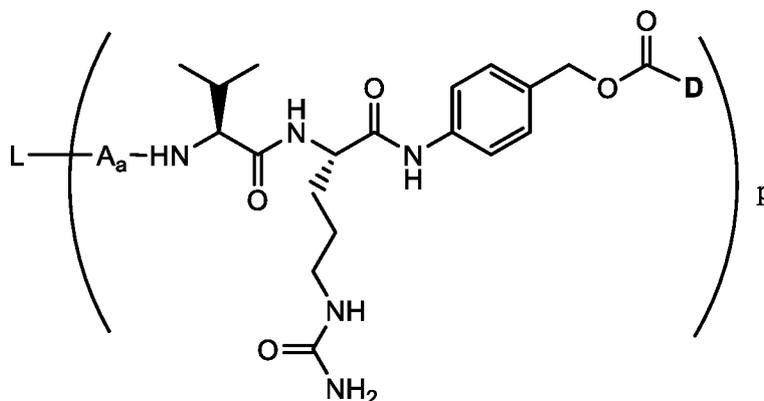
**[00385]** Варианты осуществления конъюгатов антитело-лекарственное средство могут включать:

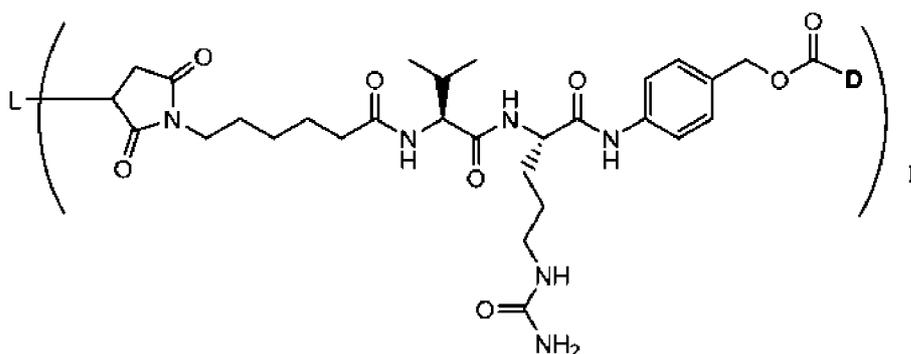
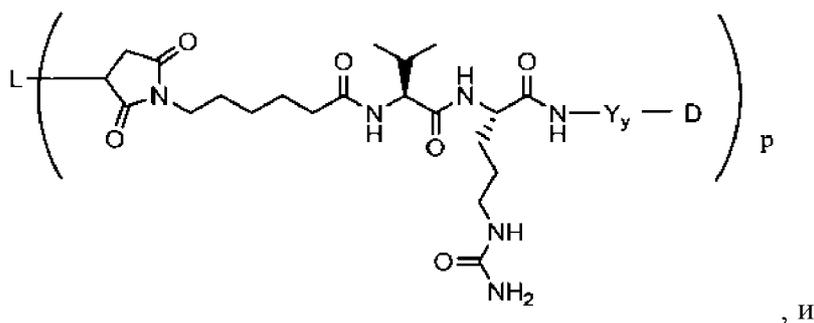


где w и у равняются 0, 1 или 2, и,



где w и у равняются 0,





### 5.3.4 Нагрузка лекарственным средством

**[00386]** Нагрузка лекарственным средством представлена буквой *p* и представляет собой среднее количество единиц лекарственного средства на антитело в молекуле. Лекарственная нагрузка может варьировать от 1 до 20 единиц лекарственного средства (*D*) на антитело. Представленные в данном документе ADC включают наборы антител или антигенсвязывающих фрагментов, конъюгированных с рядом единиц лекарственного средства, *например*, 1-20. Среднее количество единиц лекарственного средства на антитело в препаратах ADC из реакций конъюгации можно охарактеризовать с помощью обычных средств, таких как масс-спектропия и анализ ELISA. Также можно определить количественное распределение ADC с точки зрения *p*. В некоторых случаях разделение, очистка и характеристика гомогенных ADC, где *p* представляет собой определенное значение от ADC с другими лекарственными нагрузками, могут быть достигнуты с помощью таких средств, как электрофорез.

**[00387]** В определенных вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, находится в диапазоне 1-20. В определенных вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, находится в диапазоне 1-18. В определенных вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе,





предложенного в данном документе, составляет около 3,8. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 5. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 6. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 7. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 8. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 9. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 10. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 11. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 12. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 13. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 14. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 15. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 16. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 17. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 18. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 19. В некоторых вариантах осуществления нагрузка лекарственным средством для ADC, предложенного в данном документе, составляет около 20.

**[00391]** В определенных вариантах осуществления во время реакции конъюгации с антителом конъюгируется меньше теоретического максимума единиц лекарственного средства. Антитело может содержать, например, остатки лизина, которые не реагируют с промежуточным соединением лекарственное средство-линкер или линкерным реагентом. Как правило, антитела не содержат много свободных и реакционноспособных тиоловых групп цистеина, которые могут быть связаны с единицей лекарственного средства;

действительно, большинство тиоловых остатков цистеина в антителах существуют в виде дисульфидных мостиков. В определенных вариантах осуществления антитело можно восстанавливать восстанавливающим агентом, таким как дитиотреитол (ДТТ) или трикарбонилэтилфосфин (ТСЕР), в условиях частичного или полного восстановления с образованием реакционноспособных тиоловых групп цистеина. В определенных вариантах осуществления антитело подвергают денатурации для выявления реакционноспособных нуклеофильных групп, таких как лизин или цистеин. В некоторых вариантах осуществления линкерная единица или единица лекарственного средства конъюгированы через остаток лизина на единице антитела. В некоторых вариантах осуществления линкерная единица или единица лекарственного средства конъюгированы через остаток цистеина на единице антитела.

**[00392]** В некоторых вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в тяжелой цепи антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в легкой цепи антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в шарнирной области антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В некоторых вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в Fc-области антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В других вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в константной области (*например*, CN1, CN2 или CN3 тяжелой цепи или CN1 легкой цепи) антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В еще одних других вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в каркасных областях VH антитела или его антигенсвязывающего фрагмента. В еще одних других вариантах осуществления аминокислота, которая присоединяется к линкерной единице или единице лекарственного средства, находится в каркасных областях VL антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.

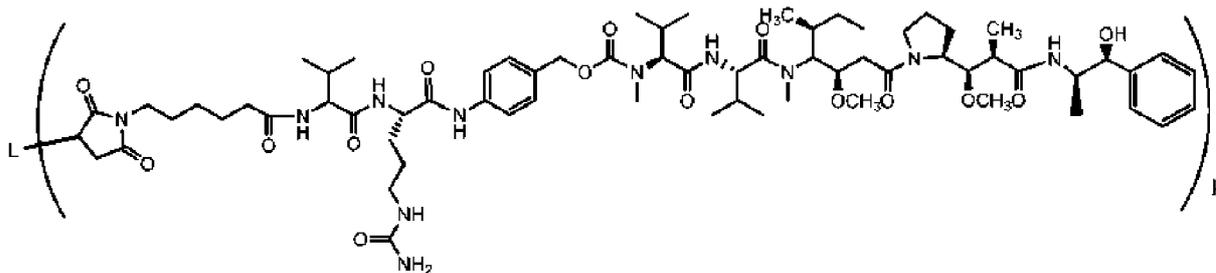
**[00393]** Нагрузку (соотношение лекарственное средство/антитело) ADC можно контролировать различными способами, *например*, путем: (i) ограничения молярного избытка промежуточного соединения лекарственное средство-линкер или линкерного реагента по отношению к антителу, (ii) ограничения времени или температуры реакции

конъюгации, (iii) частичные или ограничивающие восстановительные условия для модификации тиола цистеина, (iv) конструирование с помощью рекомбинантных методов аминокислотной последовательности антитела таким образом, чтобы количество и положение остатков цистеина изменялось для контроля количества и/или положения соединения линкер-лекарственное средство (такие как thioMab или thioFab, полученные, как описано в данном документе и в WO2006/034488 (полностью включенной в настоящий документ посредством ссылки)).

**[00394]** Следует понимать, что если более чем одна нуклеофильная группа реагирует с промежуточным соединением лекарственное средство-линкер или линкерным реагентом, за которым следует реагент единицы лекарственного средства, то полученный продукт представляет собой смесь соединений ADC с распределением одной или более единиц лекарственного средства, присоединенных к единице антитела. Среднее количество лекарственных средств на одно антитело можно рассчитать из смеси с помощью двойного анализа антител ELISA, который специфичен для антитела и специфичен для лекарственного средства. Отдельные молекулы ADC можно идентифицировать в смеси с помощью масс-спектропии и разделить с помощью ВЭЖХ, *например*, хроматографии гидрофобного взаимодействия (*см., например*, Hamblett, K.J., et al. "Effect of drug loading on the pharmacology, pharmacokinetics, and toxicity of an anti-CD30 antibody-drug conjugate," Abstract No. 624, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004; Alley, S.C., et al. "Controlling the location of drug attachment in antibody-drug conjugates," Abstract No. 627, American Association for Cancer Research, 2004 Annual Meeting, March 27-31, 2004, Proceedings of the AACR, Volume 45, March 2004). В определенных вариантах осуществления гомогенный ADC с одним значением загрузки может быть выделен из смеси конъюгации с помощью электрофореза или хроматографии.

**[00395]** Способы получения, скрининга и характеристики конъюгатов антитело-лекарственное средство известны специалистам в данной области техники, например, как описано в патенте США № 8637642, который полностью включен в данное описание в качестве ссылки.

**[00396]** В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство для способов, предложенных в данном документе, представляет собой AGS-22M6E, который получают в соответствии со способами, описанными в патенте США № 8637642, и имеет следующую формулу:



где L представляет собой Na22-2(2,4)6.1, а р имеет значение 1-20.

**[00397]** В некоторых вариантах осуществления р находится в диапазоне 1-20, 1-10, 1-9, 1-8, 1-7, 1-6, 1-5, 1-4, 1-3 или 1-2. В некоторых вариантах осуществления р находится в диапазоне 2-10, 2-9, 2-8, 2-7, 2-6, 2-5, 2-4 или 2-3. В других вариантах осуществления р составляет около 1. В других вариантах осуществления р составляет около 2. В других вариантах осуществления р составляет около 3. В других вариантах осуществления р составляет около 4. В других вариантах осуществления р составляет около 5. В других вариантах осуществления р составляет около 6. В других вариантах осуществления р составляет около 7. В других вариантах осуществления р составляет около 8. В других вариантах осуществления р составляет около 9. В других вариантах осуществления р составляет около 10. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 3,1. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 3,2. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 3,3. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 3,4. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 3,5. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 3,6. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 3,7. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 3,8. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 3,9. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 4,0. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 4,1. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 4,2. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 4,3. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 4,4. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 4,5. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 4,6. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 4,7. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 4,8. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 4,9. В некоторых вариантах осуществления р составляет около 5,0.

**[00398]** В некоторых вариантах осуществления ADC, используемый в способах, предложенных в данном документе, представляет собой энфортумаб ведотин. Энфортумаб

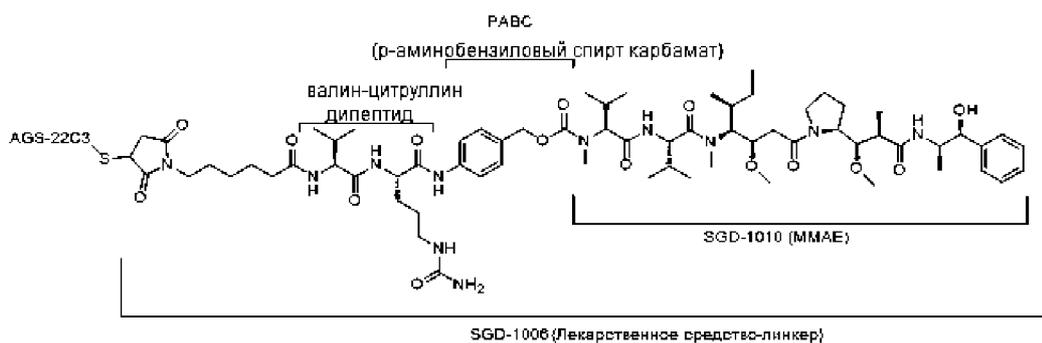
ведотин представляет собой ADC, состоящий из полностью человеческого антитела к иммуноглобулину G1 каппа (IgG1<sub>κ</sub>), конъюгированного с агентом, разрушающим микротрубочки (ММАЕ), через расщепляемый протеазой линкер (Challita-Eid PM et al, Cancer Res. 2016;76(10):3003-13]. Энфортумаб ведотин индуцирует противоопухолевую активность путем связывания с белком 191P4D12 на клеточной поверхности, что приводит к интернализации комплекса ADC-191P4D12, который затем перемещается в лизосомальный компартмент, где высвобождается ММАЕ посредством протеолитического расщепления линкера. Внутриклеточное высвобождение ММАЕ впоследствии нарушает полимеризацию тубулина, что приводит к остановке клеточного цикла в фазе G2/M и апоптотической гибели клеток (Francisco JA et al, Blood. 2003 Aug 15;102(4):1458-65).

**[00399]** Как описано выше и в патенте США № 8637642, AGS-22M6E представляет собой ADC, полученный из клеточной линии мышинной гибридомы. Энфортумаб ведотин представляет собой полученный из клеточной линии яичника китайского хомяка (CHO) эквивалент ADC AGS-22M6E и является образцовым продуктом, используемым для лечения человека. Энфортумаб ведотин имеет ту же аминокислотную последовательность, линкер и цитотоксический препарат, что и AGS-22M6E. Сопоставимость между энфортумабом ведотином и AGS-22M6E была подтверждена обширными аналитическими и биологическими исследованиями, такими как аффинность связывания с 191P4D12, цитотоксичность *in vitro* и противоопухолевая активность *in vivo*.

**[00400]** В одном варианте осуществления ADC, предложенный в данном документе, представляет собой энфортумаб ведотин, также известный как EV, PADCEV, AGS-22M6E, AGS-22C3E, ASG-22C3E. Энфортумаб ведотин содержит антитело к 191P4D12, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотный остаток с 20 по 466 аминокислотный остаток SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, содержащую аминокислотный остаток с 23 по 236 аминокислотный остаток SEQ ID NO:8.

**[00401]** Энфортумаб ведотин представляет собой конъюгат нектин-4 антитело-лекарственное средство (ADC), состоящий из полностью человеческого моноклонального антитела IgG1 каппа к нектину-4 (AGS-22C3), конъюгированного с низкомолекулярным агентом, разрушающим микротрубочки, монометилауристатином E (ММАЕ) через расщепляемый протеазой малеимидокапроилвалин-цитруллиновый (vc) линкер (SGD-1006). Конъюгация происходит на остатках цистеина, которые составляют межцепочечные дисульфидные связи антитела, с получением продукта с соотношением лекарственного средства и антитела, равного приблизительно 3,8:1. Молекулярная масса составляет около 152 кДа.

**[00402]** Энфортумаб ведотин имеет следующую структурную формулу:



**[00403]** Приблизительно 4 молекулы MMAE присоединены к каждой молекуле антитела. Энфортумаб ведотин производится путем химической конъюгации антитела и низкомолекулярных компонентов. Антитело продуцируется клетками млекопитающих (яичники китайского хомяка), а низкомолекулярные компоненты производятся путем химического синтеза.

**[00404]** Энфортумаб ведотин для инъекций выпускается в виде стерильного, не содержащего консервантов лиофилизованного порошка от белого до почти белого цвета в однодозовых флаконах для внутривенного введения. Энфортумаб ведотин поставляется в виде 20 мг во флаконе и 30 мг во флаконе и требует восстановления стерильной водой для инъекций, USP, (2,3 мл и 3,3 мл соответственно), в результате чего получается раствор от прозрачного до слегка опалесцирующего, от бесцветного до слегка желтого цвета с конечной концентрацией 10 мг/мл. После восстановления каждый флакон позволяет вывести 2 мл (20 мг) и 3 мл (30 мг). Каждый мл восстановленного раствора содержит 10 мг энфортумаб ведотина, гистидин (1,4 мг), моногидрат гидрохлорида гистидина (2,31 мг), полисорбат 20 (0,2 мг) и дигидрат трегалозы (55 мг) с pH 6,0.

#### 5.4 Фармацевтические композиции

**[00405]** В определенных вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, ADC, используемый в способах, содержится в «фармацевтических композициях». Такие фармацевтические композиции включают представленный в данном документе конъюгат антитело-лекарственное средство и один или более фармацевтически приемлемых или физиологически приемлемых эксципиентов. В определенных вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство предоставляется в комбинации с одним или более дополнительными агентами или отдельно от них. Также предложена композиция, содержащая один или более таких дополнительных агентов и один или более фармацевтически приемлемых или физиологически приемлемых эксципиентов. В конкретных вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство и

дополнительный(е) агент(ы) присутствуют в терапевтически приемлемом количестве. Фармацевтические композиции можно использовать в соответствии со способами и применениями, предложенными в данном документе. Таким образом, например, фармацевтические композиции можно вводить субъекту *ex vivo* или *in vivo* для применения способов лечения и применения, предложенных в данном документе. Предлагаемые в данном документе фармацевтические композиции могут быть составлены так, чтобы они были совместимы с предполагаемым способом или путем введения; иллюстративные пути введения изложены в данном документе.

**[00406]** В некоторых вариантах осуществления предложены фармацевтические композиции конъюгатов антитело-лекарственное средство, которые модулируют рак или опухоль.

**[00407]** В определенных вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, фармацевтические композиции, содержащие ADC, могут дополнительно содержать другие терапевтически активные агенты или соединения, раскрытые в данном документе или известные специалисту в данной области, которые можно использовать для лечения или профилактики различных заболеваний и нарушений, как указано в данном документе (*например*, рак). Как указано выше, дополнительные терапевтически активные агенты или соединения могут присутствовать в отдельной(ых) фармацевтической(ых) композиции(ях).

**[00408]** Фармацевтические композиции обычно содержат терапевтически эффективное количество по меньшей мере одного из конъюгатов антитело-лекарственное средство, предложенных в данном документе, и один или более фармацевтически приемлемых составных агентов. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или более дополнительных агентов, описанных в данном документе.

**[00409]** В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция содержит конъюгат антитело-лекарственное средство по данному изобретению. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит терапевтически эффективное количество конъюгата антитело-лекарственное средство по данному изобретению. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит фармацевтически приемлемый эксципиент.

**[00410]** В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство в представленной в данном документе фармацевтической композиции выбирают из конъюгатов антитело-лекарственное средство, описанных в разделе 5.3 выше.





осуществления концентрация L-гистидина в предлагаемых в данном документе фармацевтических композициях составляет около 25 мМ.

**[00416]** В некоторых вариантах осуществления концентрация TWEEN-20, используемая в предлагаемых в данном документе фармацевтических композициях, находится в диапазоне 0,001-0,1% (об./об.). В другом варианте осуществления концентрация TWEEN-20 находится в диапазоне 0,0025-0,075% (об./об.). В одном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 находится в диапазоне 0,005-0,05% (об./об.). В другом варианте осуществления концентрация TWEEN-20 находится в диапазоне 0,0075-0,025% (об./об.). В другом варианте осуществления концентрация TWEEN-20 находится в диапазоне 0,0075-0,05% (об./об.). В другом варианте осуществления концентрация TWEEN-20 находится в диапазоне 0,01-0,03% (об./об.). В одном конкретном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 составляет около 0,01% (об./об.). В одном конкретном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 составляет около 0,015% (об./об.). В одном конкретном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 составляет около 0,016% (об./об.). В одном конкретном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 составляет около 0,017% (об./об.). В одном конкретном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 составляет около 0,018% (об./об.). В одном конкретном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 составляет около 0,019% (об./об.). В одном конкретном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 составляет около 0,02% (об./об.). В одном конкретном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 составляет около 0,021% (об./об.). В одном конкретном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 составляет около 0,022% (об./об.). В одном конкретном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 составляет около 0,023% (об./об.). В одном конкретном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 составляет около 0,024% (об./об.). В одном конкретном варианте осуществления концентрация TWEEN-20 составляет около 0,025% (об./об.).

**[00417]** В одном варианте осуществления концентрация дигидрата трегалозы, используемого в предлагаемых в данном документе фармацевтических композициях, находится в диапазоне от 1% до 20% (мас./об.). В другом варианте осуществления концентрация дигидрата трегалозы находится в диапазоне от 2% до 15% (мас./об.). В одном варианте осуществления концентрация дигидрата трегалозы находится в диапазоне от 3% до 10% (мас./об.). В другом варианте осуществления концентрация дигидрата трегалозы находится в диапазоне от 4% до 9% (мас./об.). В другом варианте осуществления концентрация дигидрата трегалозы находится в диапазоне от 4% до 8% (мас./об.). В другом







мМ. В определенных вариантах осуществления молярность сахарозы составляет около 145 мМ. В определенных вариантах осуществления молярность сахарозы составляет около 146 мМ. В определенных вариантах осуществления молярность сахарозы составляет около 150 мМ. В определенных вариантах осуществления молярность сахарозы составляет около 151 мМ. В определенных вариантах осуществления молярность сахарозы составляет около 151 мМ. В определенных вариантах осуществления молярность сахарозы составляет около 152 мМ. В определенных вариантах осуществления молярность сахарозы составляет около 153 мМ. В определенных вариантах осуществления молярность сахарозы составляет около 154 мМ. В определенных вариантах осуществления молярность сахарозы составляет около 155 мМ.

**[00421]** В некоторых вариантах осуществления предложенная в данном документе фармацевтическая композиция содержит HCl. В других вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция содержит янтарную кислоту.

**[00422]** В некоторых вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция имеет рН в диапазоне от 5,5 до 6,5. В других вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция имеет рН в диапазоне от 5,7 до 6,3. В некоторых вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция имеет рН около 5,7. В некоторых вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция имеет рН около 5,8. В некоторых вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция имеет рН около 5,9. В некоторых вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция имеет рН около 6,0. В некоторых вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция имеет рН около 6,1. В некоторых вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция имеет рН около 6,2. В некоторых вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция имеет рН около 6,3.

**[00423]** В некоторых вариантах осуществления рН измеряют при комнатной температуре. В других вариантах осуществления рН измеряют при от 15°C до 27°C. В еще одних других вариантах осуществления рН измеряют при 4°C. В еще одних других вариантах осуществления рН измеряют при 25°C.

**[00424]** В некоторых вариантах осуществления рН регулируют при помощи HCl. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит HCl, и





некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН около 5,8 при температуре от 15°C до 27°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН около 5,9 при температуре от 15°C до 27°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН около 6,0 при температуре от 15°C до 27°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН около 6,1 при температуре от 15°C до 27°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН около 6,2 при температуре от 15°C до 27°C. В некоторых более конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит янтарную кислоту, и фармацевтическая композиция имеет рН около 6,3 при температуре от 15°C до 27°C.

**[00428]** В некоторых конкретных вариантах осуществления фармацевтическая композиция, предлагаемая в данном документе, содержит около 20 мМ L-гистидина, около 0,02% (масс./об.) TWEEN-20 и по меньшей мере один из около 5,5% (масс./об.) дигидрата трегалозы или около 5% (масс./об.) сахарозы. В некоторых вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция дополнительно содержит HCl или янтарную кислоту. В некоторых вариантах осуществления рН составляет около 6,0 при комнатной температуре. В некоторых вариантах осуществления рН составляет около 6,0 при 25°C.

**[00429]** В некоторых конкретных вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция содержит около 20 мМ L-гистидина, около 0,02% (масс./об.) TWEEN-20, около 5,5% (масс./об.) дигидрата трегалозы и HCl. В некоторых вариантах осуществления рН составляет около 6,0 при комнатной температуре. В некоторых вариантах осуществления рН составляет около 6,0 при 25°C.

**[00430]** В некоторых конкретных вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция содержит около 20 мМ L-гистидина, около 0,02% (масс./об.) TWEEN-20, около 5% (масс./об.) сахарозы и HCl. В некоторых вариантах осуществления рН составляет около 6,0 при комнатной температуре. В некоторых вариантах осуществления рН составляет около 6,0 при 25°C.

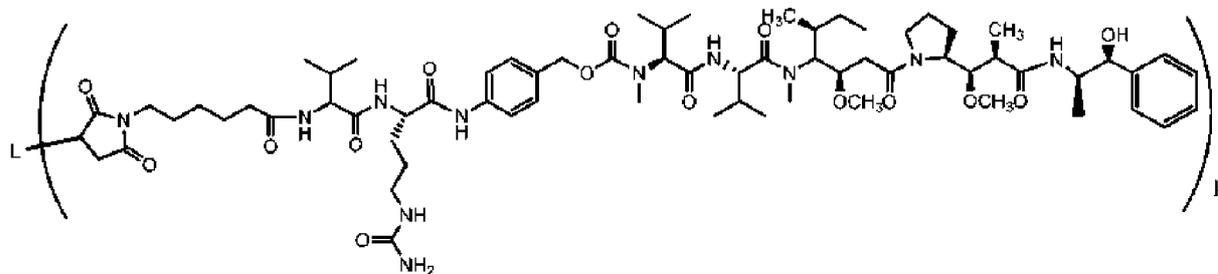
**[00431]** В других конкретных вариантах осуществления предлагаемая в данном

документе фармацевтическая композиция содержит около 20 мМ L-гистидина, около 0,02% (масс./об.) TWEEN-20, около 5,5% (масс./об.) дигидрата трегалозы и янтарную кислоту. В некоторых вариантах осуществления pH составляет около 6,0 при комнатной температуре. В некоторых вариантах осуществления pH составляет около 6,0 при 25°C.

**[00432]** В некоторых конкретных вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция содержит около 20 мМ L-гистидина, около 0,02% (масс./об.) TWEEN-20, около 5% (масс./об.) сахарозы и янтарную кислоту. В некоторых вариантах осуществления pH составляет около 6,0 при комнатной температуре. В некоторых вариантах осуществления pH составляет около 6,0 при 25°C.

**[00433]** В конкретном варианте осуществления предложенная в данном документе композиция содержит

(a) конъюгат антитело-лекарственное средство, имеющий следующую структуру:

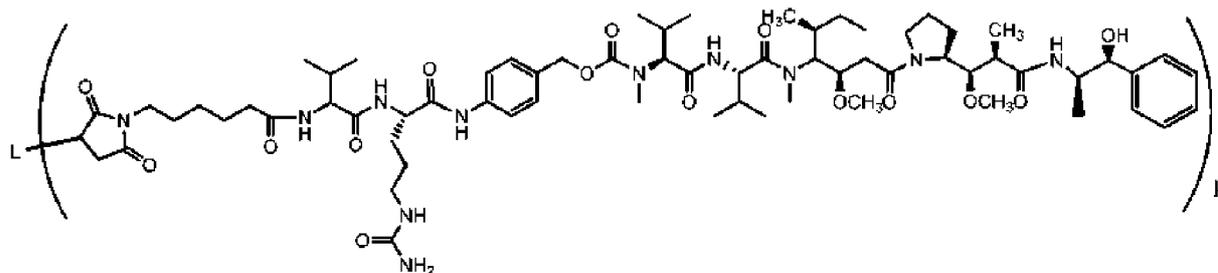


где L- представляет собой антитело или антигенсвязывающий фрагмент (*например*, антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент), а p равняется 1-10; и

(b) фармацевтически приемлемый эксципиент, содержащий около 20 мМ L-гистидина, около 0,02 % (масс./об.) TWEEN-20, около 5,5 % (масс./об.) дигидрата трегалозы и HCl, при этом концентрация конъюгата антитело-лекарственное средство составляет около 10 мг/мл, и при этом pH составляет около 6,0 при 25°C.

**[00434]** В другом конкретном варианте осуществления предложенная в данном документе композиция содержит:

(a) конъюгат антитело-лекарственное средство, имеющий следующую структуру:



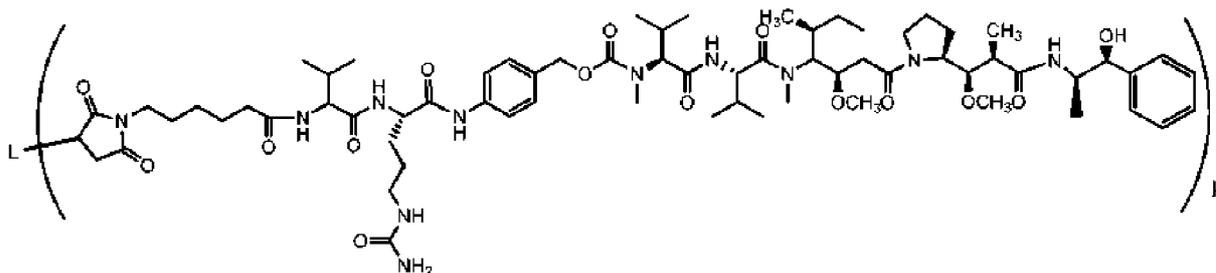
где L- представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (*например*, антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент), а p равняется 1-10; и

(b) фармацевтически приемлемый эксципиент, содержащий около 20 мМ L-гистидина, около 0,02% (масс./об.) TWEEN-20, около 5,5% (масс./об.) дигидрата трегалозы и янтарную кислоту,

при этом концентрация конъюгата антитело-лекарственное средство составляет около 10 мг/мл, а pH составляет около 6,0 при 25°C.

**[00435]** В еще одном другом конкретном варианте осуществления предложенная в данном документе композиция содержит:

(a) конъюгат антитело-лекарственное средство, имеющий следующую структуру:



где L- представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент (*например*, антитело к нектину-4 или его антигенсвязывающий фрагмент), а p равняется 1-10; и

(b) фармацевтически приемлемый эксципиент, содержащий около 20 мМ L-гистидина, около 0,02% (масс./об.) TWEEN-20, около 5,0% (масс./об.) сахарозы и HCl,

при этом концентрация конъюгата антитело-лекарственное средство составляет около 10 мг/мл, а pH составляет около 6,0 при 25°C.

**[00436]** Хотя предоставлены определенные числа (и их числовые диапазоны), следует понимать, что в некоторых вариантах осуществления также предполагаются значения в пределах, *например*, 2%, 5%, 10%, 15% или 20% от указанных чисел (или числовых диапазонов).

**[00437]** Первичный растворитель в носителе может быть водным или неводным по своей природе. Кроме того, носитель может содержать другие фармацевтически приемлемые эксципиенты для модификации или поддержания pH, осмолярности, вязкости, стерильности или стабильности фармацевтической композиции. В определенных вариантах осуществления фармацевтически приемлемый носитель представляет собой водный буфер. В других вариантах осуществления носитель включает, например, хлорид натрия и/или цитрат натрия.

**[00438]** Фармацевтические композиции, предлагаемые в данном документе, могут содержать другие фармацевтически приемлемые лекарственные средства для модификации или поддержания скорости высвобождения конъюгата антитело-лекарственное средство

и/или дополнительный агент, как описано в данном документе. Такие составные агенты включают вещества, известные специалистам в области приготовления составов с замедленным высвобождением. Для дополнительной ссылки, относящейся к фармацевтически и физиологически приемлемым составным агентам, см., например, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. (1990, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18042) pages 1435-1712, The Merck Index, 12th Ed. (1996, Merck Publishing Group, Whitehouse, NJ); and Pharmaceutical Principles of Solid Dosage Forms (1993, Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, Pa.). Дополнительные фармацевтические композиции, подходящие для введения, известны в данной области и применимы в способах и композициях, представленных в данном документе.

**[00439]** В некоторых вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция находится в жидкой форме. В других вариантах осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция является лиофилизированной.

**[00440]** Фармацевтическая композиция может быть составлена так, чтобы быть совместимой с ее предполагаемым путем введения. Таким образом, фармацевтические композиции содержат эксципиенты, подходящие для введения путями, включая парентеральный (*например*, подкожный (пк), внутривенный, внутримышечный или внутрибрюшинный), внутрикожный, пероральный (*например*, проглатывание), ингаляционный, внутривещной, внутривещной и чрескожный (местный). Другие иллюстративные способы введения изложены в данном документе.

**[00441]** Фармацевтические композиции могут быть в форме стерильной водной или масляной суспензии для инъекций. Эта суспензия может быть приготовлена с использованием подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов, раскрытых в данном документе или известных специалистам в данной области техники. Стерильный инъекционный препарат может также представлять собой стерильный инъекционный раствор или суспензию в нетоксичном парентерально приемлемом разбавителе или растворителе, например, в виде раствора в 1,3-бутандиоле. Приемлемые разбавители, растворители и дисперсионные среды, которые можно использовать, включают воду, раствор Рингера, изотонический раствор хлорида натрия, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, NJ) или фосфатно-солевой буфер (PBS), этанол, полиол (*например*, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль), и их подходящие смеси. Кроме того, в качестве растворителя или суспендирующей среды обычно используют стерильные нелетучие масла. Для этой цели можно использовать любое мягкое

нелетучее масло, включая синтетические моно- или диглицериды. Кроме того, жирные кислоты, такие как олеиновая кислота, находят применение при приготовлении инъекционных препаратов. Пролонгированное всасывание некоторых инъекционных препаратов может быть достигнуто путем включения агента, замедляющего всасывание (*например*, моностеарата алюминия или желатина).

**[00442]** В одном варианте осуществления предлагаемые в данном документе фармацевтические композиции можно вводить парентерально путем инъекции, инфузии или имплантации для местного или системного введения. Парентеральное введение, используемое в данном документе, включает внутривенное, внутриартериальное, внутрибрюшинное, подоболочечное, внутрижелудочковое, внутриуретральное, интрастернальное, внутричерепное, внутримышечное, интрасиновиальное и подкожное введение.

**[00443]** В одном варианте осуществления предлагаемые в данном документе фармацевтические композиции могут быть приготовлены в виде любых лекарственных форм, подходящих для парентерального введения, включая растворы, суспензии, эмульсии, мицеллы, липосомы, микросферы, наносистемы и твердые формы, подходящие для растворов или суспензий в жидкости перед инъекцией. Такие лекарственные формы могут быть приготовлены в соответствии с обычными способами, известными специалистам в области фармацевтики (*см., например*, Remington, *The Science and Practice of Pharmacy*, *выше*).

**[00444]** В одном варианте осуществления фармацевтические композиции, предназначенные для парентерального введения, могут содержать один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов, включая, помимо прочего, водные носители, смешиваемые с водой носители, неводные носители, antimicrobial агенты или консерванты, препятствующие росту микроорганизмов, стабилизаторы, усилители растворимости, изотонические агенты, буферные агенты, антиоксиданты, местные анестетики, суспендирующие и диспергирующие агенты, смачивающие или эмульгирующие агенты, комплексообразователи, связывающие или хелатирующие агенты, криопротекторы, лиопротекторы, загустители, агенты, регулирующие pH, и инертные газы.

**[00445]** В одном варианте осуществления подходящие водные носители включают, но не ограничиваются ими, воду, солевой раствор, физиологический раствор или забуференный фосфатом солевой раствор (PBS), хлорид натрия для инъекций, раствор Рингера, изотонический раствор декстрозы, стерильную воду для инъекций, раствор декстрозы и лактат Рингера. Неводные носители включают, но не ограничиваются ими, нелетучие масла

растительного происхождения, касторовое масло, кукурузное масло, хлопковое масло, оливковое масло, арахисовое масло, масло перечной мяты, сафлоровое масло, кунжутное масло, соевое масло, гидрогенизированные растительные масла, гидрогенизированные соевое масло и среднецепочечные триглицериды кокосового масла и пальмового масла. Смешиваемые с водой носители включают, но не ограничиваются ими, этанол, 1,3-бутандиол, жидкий полиэтиленгликоль (*например*, полиэтиленгликоль 300 и полиэтиленгликоль 400), пропиленгликоль, глицерин, *N*-метил-2-пирролидон, *N,N*-диметилацетамид и диметилсульфоксид.

**[00446]** В одном варианте осуществления подходящие антимикробные агенты или консерванты включают, но не ограничиваются ими, фенолы, крезолы, ртутные соединения, бензиловый спирт, хлорбутанол, метил- и пропил-*p*-гидроксibenзоаты, тимеросал, хлорид бензалкония (*например*, хлорид бензетония), метил- и пропил-парабены и сорбиновую кислоту. Подходящие изотонические агенты включают, но не ограничиваются ими, хлорид натрия, глицерин и декстрозу. Подходящие буферные агенты включают, но не ограничиваются ими, фосфат и цитрат. Подходящими антиоксидантами являются те, которые описаны в данном документе, включая бисульфит и метабисульфит натрия. Подходящие местные анестетики включают, но не ограничиваются ими, прокаина гидрохлорид. Подходящими суспендирующими и диспергирующими агентами являются описанные в данном документе, включая карбоксиметилцеллюлозу натрия, гидроксипропилметилцеллюлозу и поливинилпирролидон. Подходящие эмульгаторы включают описанные в данном документе агенты, в том числе монолаурат полиоксиэтиленсорбитана, моноолеат полиоксиэтиленсорбитана 80 и олеат триэтаноламина. Подходящие секвестрирующие или хелатирующие агенты включают ЭДТА, но не ограничиваются им. Подходящие агенты для регулирования pH включают, но не ограничиваются ими, гидроксид натрия, соляную кислоту, лимонную кислоту и молочную кислоту. Подходящие комплексообразователи включают, но не ограничиваются ими, циклодекстрины, включая  $\alpha$ -циклодекстрин,  $\beta$ -циклодекстрин, гидроксипропил- $\beta$ -циклодекстрин, сульфобутиловый эфир- $\beta$ -циклодекстрин и сульфобутиловый эфир 7- $\beta$ -циклодекстрин (CAPTISOL<sup>®</sup>, CyDex, Lenexa, KS).

**[00447]** В одном варианте осуществления предлагаемые в данном документе фармацевтические композиции могут быть предназначены для однократного или многократного введения. Однократные составы упакованы в ампулу, флакон или шприц. Многократные парентеральные составы могут содержать антимикробный агент в бактериостатической или фунгистатической концентрации. Все парентеральные составы

должны быть стерильными, как это известно и практикуется в данной области.

**[00448]** В одном варианте осуществления фармацевтические композиции представлены в виде готовых к употреблению стерильных растворов. В другом варианте осуществления фармацевтические композиции представлены в виде стерильных сухих растворимых продуктов, в том числе лиофилизированных порошков и таблеток для подкожных инъекций, которые перед применением необходимо восстанавливать носителем. В еще одном варианте осуществления фармацевтические композиции представлены в виде готовых к употреблению стерильных суспензий. В еще одном варианте осуществления фармацевтические композиции представлены в виде стерильных сухих нерастворимых продуктов, подлежащих восстановлению носителем перед применением. В еще одном варианте осуществления фармацевтические композиции представлены в виде готовых к применению стерильных эмульсий.

**[00449]** В одном варианте осуществления предлагаемые в данном документе фармацевтические композиции могут быть приготовлены в виде лекарственных форм с немедленным или модифицированным высвобождением, включая формы с отсроченным, пролонгированным, импульсным, контролируемым, направленным и программируемым высвобождением.

**[00450]** Диспергируемые порошки и гранулы, подходящие для приготовления водной суспензии путем добавления воды, содержат активный ингредиент в смеси с диспергирующим или смачивающим агентом, суспендирующим агентом и одним или более консервантами. В данном документе приведены примеры подходящих диспергирующих или смачивающих агентов и суспендирующих агентов.

**[00451]** Фармацевтические композиции могут также содержать эксципиенты для защиты композиции от быстрой деградации или выведения из организма, такие как лекарственная форма с контролируемым высвобождением, включая имплантаты, липосомы, гидрогели, пролекарства и микрокапсулированные системы доставки. Например, может быть использован материал с временной задержкой, такой как глицерилмоностеарат или глицерилстеарат отдельно или в комбинации с воском. Пролонгированное всасывание инъекционных фармацевтических композиций может быть достигнуто путем включения агента, замедляющего всасывание, например, моностеарата алюминия или желатина. Предотвращение действия микроорганизмов может быть достигнуто различными антибактериальными и противогрибковыми средствами, например, парабенами, хлорбутанолом, фенолом, аскорбиновой кислотой, тимеросалом и т.п.

**[00452]** Предложенная в данном документе фармацевтическая композиция может

храниться при  $-80^{\circ}\text{C}$ ,  $4^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\text{C}$  или  $37^{\circ}\text{C}$ .

**[00453]** Лиофилизированную композицию можно приготовить путем сушки вымораживанием жидкой фармацевтической композиции, предложенной в данном документе. В конкретном варианте осуществления предлагаемая в данном документе фармацевтическая композиция представляет собой лиофилизированную фармацевтическую композицию. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические составы представляют собой лиофилизированные порошки, которые могут быть восстановлены для введения в виде растворов, эмульсий и других смесей. Они также могут быть восстановлены и приготовлены в виде твердых веществ или гелей.

**[00454]** В некоторых вариантах осуществления приготовление лиофилизированного состава, представленного в данном документе, включает дозирование приготовленного нерасфасованного раствора для лиофилизации, асептическую фильтрацию, заполнение флаконов, замораживание флаконов в камере сублимационной сушки с последующей лиофилизацией, укупориванием и запаковыванием.

**[00455]** При приготовлении лиофилизированного состава можно использовать лиофилизатор. Например, можно использовать пилотную установку VirTis Genesis Model EL. Установка включает камеру с тремя рабочими полками (общая полезная площадь полок около 0,4 квадратных метра), внешний конденсатор и систему механической вакуумной откачки. Каскадное механическое охлаждение позволяет охлаждать полки до  $-70^{\circ}\text{C}$  или ниже, а внешний конденсатор до  $-90^{\circ}\text{C}$  или ниже. Температура полки и давление в камере автоматически контролировались до  $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$  и  $\pm 2$  микрона (миллиторр) соответственно. Установка была оборудована емкостным манометром-вакуумметром, вакуумметром Пирани, датчиком давления (для измерения от 0 до 1 атмосферы) и датчиком относительной влажности.

**[00456]** Лиофилизированный порошок можно приготовить путем растворения конъюгата антитело-лекарственное средство, представленного в данном документе, или его фармацевтически приемлемого производного в подходящем растворителе. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированный порошок является стерильным. Последующая стерильная фильтрация раствора с последующей лиофилизацией в стандартных условиях, известных специалистам в данной области, позволяет получить желаемый состав. В одном варианте осуществления полученный раствор распределяют по флаконам для лиофилизации. Каждый флакон будет содержать одну или более доз конъюгата антитело-лекарственное средство. Лиофилизированный порошок можно хранить в соответствующих условиях, например, при температуре от около  $4^{\circ}\text{C}$  до

комнатной температуры.

**[00457]** Восстановление этого лиофилизированного порошка водой для инъекций обеспечивает состав для парентерального введения. Для восстановления лиофилизированный порошок добавляют к стерильной воде или другому подходящему вспомогательному веществу. Такое количество может быть определено опытным путем и скорректировано в соответствии с конкретными потребностями.

**[00458]** Типичная процедура восстановления проиллюстрирована следующим образом: (1) надеть шприц на 5 мл или 3 мл с иглой калибра 18 или 20 и заполнить шприц водой категории «вода для инъекций» (WFI); (2) отмерить соответствующее количество воды для инъекций, используя шкалу шприца, убедившись, что в шприце нет пузырьков воздуха; (3) вставить иглу через резиновую пробку; (4) выдавить все содержимое шприца в контейнер по стенке флакона, вынуть шприц и иглу и положить в контейнер для острых предметов; (4) постоянно взбалтывать флакон, чтобы тщательно растворить все содержимое флакона до полного восстановления (*например*, около 20-40 секунд) и свести к минимуму чрезмерное перемешивание белкового раствора, которое может привести к пенообразованию.

**[00459]** В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция, представленная в данном документе, поставляется в виде сухого стерилизованного лиофилизированного порошка или безводного концентрата в герметично закрытом контейнере и может быть восстановлена, *например*, водой или физиологическим раствором до соответствующей концентрации для введения субъекту. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство поставляется в виде сухого стерильного лиофилизированного порошка в герметично закрытом контейнере в стандартной дозе, равной по меньшей мере 0,1 мг, по меньшей мере 0,5 мг, по меньшей мере 1 мг, по меньшей мере 2 мг, по меньшей мере 3 мг, по меньшей мере 5 мг, по меньшей мере 10 мг, по меньшей мере 15 мг, по меньшей мере 25 мг, по меньшей мере 30 мг, по меньшей мере 35 мг, по меньшей мере 45 мг, по меньшей мере 50 мг, по меньшей мере 60 мг, по меньшей мере 75 мг, по меньшей мере 80 мг, по меньшей мере 85 мг, по меньшей мере 90 мг, по меньшей мере 95 мг или по меньшей мере 100 мг. Лيوфилизированный конъюгат антитело-лекарственное средство можно хранить при температуре от 2 до 8°C в исходном контейнере, и конъюгат антитело-лекарственное средство можно вводить в течение 12 часов, например, в течение 6 часов, в течение 5 часов, в течение 3 часов или в течение 1 часа после восстановления. В альтернативном варианте осуществления фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело-лекарственное средство по данному изобретению, поставляется в жидкой форме в герметично закрытом контейнере с

указанием количества и концентрации конъюгата антитело-лекарственное средство. В определенных вариантах осуществления жидкая форма конъюгата антитело-лекарственное средство поставляется в герметично закрытом контейнере в концентрации, равной по меньшей мере 0,1 мг/мл, по меньшей мере 0,5 мг/мл, по меньшей мере 1 мг/мл, по меньшей мере 5 мг/мл, по меньшей мере 10 мг/мл, по меньшей мере 15 мг/мл, по меньшей мере 25 мг/мл, по меньшей мере 30 мг/мл, по меньшей мере 40 мг/мл, по меньшей мере 50 мг/мл, по меньшей мере 60 мг/мл, по меньшей мере 70 мг/мл, по меньшей мере 80 мг/мл, по меньшей мере 90 мг/мл или по меньшей мере 100 мг/мл.

**[00460]** Дополнительные варианты осуществления таких фармацевтических композиций описаны в патенте США № 8637642 и международной заявке № PCT/US2019/056214 (публикация № WO2020/117373), которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

### **5.5 Способы комбинированной терапии**

**[00461]** Способ ингибирования роста опухолевых клеток с использованием фармацевтической композиции, представленной в данном документе, в сочетании с химиотерапией или облучением или с тем и другим включает введение фармацевтической композиции по данному изобретению до, во время или после начала химиотерапии или лучевой терапии, а также любой их комбинации (*т.е.* до и во время, до и после, во время и после или до, во время и после начала химиотерапии и/или лучевой терапии). В зависимости от протокола лечения и конкретных потребностей пациента метод выполняется таким образом, чтобы обеспечить наиболее эффективное лечение и, в конечном итоге, продлить жизнь пациента. Дополнительные варианты осуществления такой комбинированной терапии описаны в патенте США № 8637642 и международной заявке № PCT/US2019/056214 (публикация № WO2020/117373), которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

### **5.6 Дозы для ингибиторов иммунных контрольных точек**

**[00462]** В некоторых вариантах осуществления количество ингибитора контрольной точки для различных представленных в данном документе способов определяется стандартными клиническими методами.

**[00463]** Доза ингибитора контрольной точки приводит к титру в сыворотке, равному от около 0,1 мкг/мл до около 450 мкг/мл, а в некоторых вариантах осуществления можно вводить по меньшей мере 0,1 мкг/мл, по меньшей мере 0,2 мкг/мл, по меньшей мере 0,4 мкг/мл, по меньшей мере 0,5 мкг/мл, по меньшей мере 0,6 мкг/мл, по меньшей мере 0,8

мкг/мл, по меньшей мере 1 мкг/мл, по меньшей мере 1,5 мкг/мл, такой как, по меньшей мере 2 мкг/мл, по меньшей мере 5 мкг/мл, по меньшей мере 10 мкг/мл, по меньшей мере 15 мкг/мл, по меньшей мере 20 мкг/мл, по меньшей мере 25 мкг/мл, по меньшей мере 30 мкг/мл, по меньшей мере 35 мкг/мл, по меньшей мере 40 мкг/мл, по меньшей мере 50 мкг/мл, по меньшей мере 75 мкг/мл, по меньшей мере 100 мкг/мл, по меньшей мере 125 мкг/мл, по меньшей мере 150 мкг/мл, по меньшей мере 200 мкг/мл, по меньшей мере 250 мкг/мл, по меньшей мере 300 мкг/мл, по меньшей мере 350 мкг/мл, по меньшей мере 400 мкг/мл или по меньшей мере 450 мкг/мл человеку для профилактики и/или лечения рака. Следует понимать, что точная доза используемого ингибитора контрольной точки также будет зависеть от пути введения и серьезности рака у субъекта и должна определяться в соответствии с мнением практикующего врача и обстоятельствами каждого пациента.

**[00464]** В некоторых вариантах осуществления доза ингибитора контрольной точки (*например*, ингибитора PD-1 или ингибитора PD-L1), вводимого пациенту, обычно составляет от 0,1 мг/кг до 100 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от около 1 мг/кг до около 75 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от 1 мг/кг до 20 мг/кг массы тела субъекта, например, от 1 мг/кг до 5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 1 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 1,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 2 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 2,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 3 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 3,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 4 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 4,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 5,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 6 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 6,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 7 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза,

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

### 5.7 Дозировка ADC для способов

**[00465]** В некоторых вариантах осуществления количество профилактического или терапевтического средства (*например*, конъюгата антитело-лекарственное средство по данному изобретению) или фармацевтической композиции по данному изобретению, которое будет эффективным для профилактики и/или лечения рака, можно определить стандартными клиническими методами.

**[00466]** В некоторых вариантах осуществления ADC способов, для которых в этом разделе описаны различные дозы (раздел 5.7), представляет собой энфортумаб ведотин (EV).

**[00467]** Соответственно, доза конъюгата антитело-лекарственное средство в фармацевтической композиции, которая приводит к титру в сыворотке, равному от около 0,1 мкг/мл до около 450 мкг/мл, а в некоторых вариантах осуществления можно вводить по меньшей мере 0,1 мкг/мл, по меньшей мере 0,2 мкг/мл, по меньшей мере 0,4 мкг/мл, по меньшей мере 0,5 мкг/мл, по меньшей мере 0,6 мкг/мл, по меньшей мере 0,8 мкг/мл, по меньшей мере 1 мкг/мл, по меньшей мере 1,5 мкг/мл, такой как, по меньшей мере 2 мкг/мл, по меньшей мере 5 мкг/мл, по меньшей мере 10 мкг/мл, по меньшей мере 15 мкг/мл, по меньшей мере 20 мкг/мл, по меньшей мере 25 мкг/мл, по меньшей мере 30 мкг/мл, по меньшей мере 35 мкг/мл, по меньшей мере 40 мкг/мл, по меньшей мере 50 мкг/мл, по меньшей мере 75 мкг/мл, по меньшей мере 100 мкг/мл, по меньшей мере 125 мкг/мл, по меньшей мере 150 мкг/мл, по меньшей мере 200 мкг/мл, по меньшей мере 250 мкг/мл, по меньшей мере 300 мкг/мл, по меньшей мере 350 мкг/мл, по меньшей мере 400 мкг/мл или по меньшей мере 450 мкг/мл человеку для профилактики и/или лечения рака. Следует понимать, что точная доза, используемая в препарате, также будет зависеть от пути введения и серьезности рака у субъекта и должна определяться в соответствии с мнением практикующего врача и обстоятельствами каждого пациента.

**[00468]** Эффективные дозы можно экстраполировать из кривых доза-реакция, полученных в тест-системах *in vitro* или на животных моделях.

**[00469]** Для фармацевтической композиции, содержащей конъюгат антитело-лекарственное средство, представленное в данном документе, доза конъюгата антитело-лекарственное средство, вводимая пациенту, обычно составляет от 0,1 мг/кг до 100 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от около 1 мг/кг до около 75 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет от 1 мг/кг до 20 мг/кг массы тела субъекта, например, от 1 мг/кг до 5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 0,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 0,75 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 1 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 1,25 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 1,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 2 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 2,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 3 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 3,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 4 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 4,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 5,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 6 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 6,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 7 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 7,5 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 8 мг/кг массы тела субъекта. В некоторых вариантах осуществления доза, вводимая пациенту, составляет около 8,5 мг/кг массы тела субъекта.

**[00470]** В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное

средство, включенный в состав фармацевтической композиции, представленной в данном документе, вводят исходя из фактической массы тела пациента на исходном уровне, и дозы не изменяются, если только масса пациента не изменится на  $\geq 10\%$  по сравнению с исходным уровнем предыдущего цикла, или критерии корректировки дозы соблюдены. В некоторых вариантах осуществления будет использоваться фактическая масса, за исключением пациентов с массой более 100 кг, в таких случаях доза будет рассчитываться на основе массы 100 кг. В некоторых вариантах осуществления максимальные дозы составляют 100 мг для пациентов, получающих уровень дозы 1,00 мг/кг, и 125 мг для пациентов, получающих уровень дозы 1,25 мг/кг.

**[00471]** В одном варианте осуществления приблизительно 100 мг/кг или менее, приблизительно 75 мг/кг или менее, приблизительно 50 мг/кг или менее, приблизительно 25 мг/кг или менее, приблизительно 10 мг/кг или менее, приблизительно 5 мг/кг или менее, приблизительно 1,5 мг/кг или менее, приблизительно 1,25 мг/кг или менее, приблизительно 1 мг/кг или менее, приблизительно 0,75 мг/кг или менее, приблизительно 0,5 мг/кг или менее или приблизительно 0,1 мг/кг или менее конъюгата антитело-лекарственное средство, представленного в данной фармацевтической композиции, вводят 5 раз, 4 раза, 3 раза, 2 раза или 1 раз для лечения рака. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическую композицию, содержащую конъюгат антитело-лекарственное средство, представленный в данном документе, вводят примерно 1-12 раз, при этом дозы можно вводить по мере необходимости, *например*, еженедельно, раз в две недели, ежемесячно, раз в два месяца, раз в три месяца и *т. д.*, как определено врачом. В некоторых вариантах осуществления более низкую дозу (*например*, 0,1-15 мг/кг) можно вводить чаще (*например*, 3-6 раз). В других вариантах осуществления более высокую дозу (*например*, 25-100 мг/кг) можно вводить реже (*например*, 1-3 раза).

**[00472]** В некоторых вариантах осуществления одну дозу конъюгата антитело-лекарственное средство, представленного в фармацевтической композиции, предложенной в данном документе, вводят пациенту для профилактики и/или лечения рака 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или 26 раз за каждые две недели цикла (*например*, около 14 дней) в течение периода времени (*например*, год), при этом дозу выбирают из группы, состоящей из около 0,1 мг/кг, около 0,5 мг/кг, около 0,75 мг/кг, около 1 мг/кг, около 1,25 мг/кг, около 1,5 мг/кг, около 2 мг/кг, около 2,5 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 10 мг/кг, около 15 мг/кг, около 20 мг/кг, около 25 мг/кг, около 30 мг/кг, около 35 мг/кг, около 40 мг/кг, около 45 мг/кг, около 50 мг/кг, около 55 мг/кг, около 60 мг/кг, около 65 мг/кг, около 70 мг/кг, около 75 мг/кг, около 80

мг/кг, около 85 мг/кг, около 90 мг/кг, около 95 мг/кг, около 100 мг/кг или их комбинации (*т.е.* каждая месячная доза может быть идентичной или не идентичной).

**[00473]** В некоторых вариантах осуществления одну дозу конъюгата антитело-лекарственное средство, представленного в фармацевтической композиции, предложенной в данном документе, вводят пациенту для профилактики и/или лечения рака 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или 26 раз за каждые три недели цикла (*например*, около 21 дня) в течение периода времени (*например*, год), при этом дозу выбирают из группы, состоящей из около 0,1 мг/кг, около 0,5 мг/кг, около 0,75 мг/кг, около 1 мг/кг, около 1,25 мг/кг, около 1,5 мг/кг, около 2 мг/кг, около 2,5 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 10 мг/кг, около 15 мг/кг, около 20 мг/кг, около 25 мг/кг, около 30 мг/кг, около 35 мг/кг, около 40 мг/кг, около 45 мг/кг, около 50 мг/кг, около 55 мг/кг, около 60 мг/кг, около 65 мг/кг, около 70 мг/кг, около 75 мг/кг, около 80 мг/кг, около 85 мг/кг, около 90 мг/кг, около 95 мг/кг, около 100 мг/кг или их комбинации (*т.е.* каждая месячная доза может быть идентичной или не идентичной).

**[00474]** В некоторых вариантах осуществления одну дозу конъюгата антитело-лекарственное средство, представленного в фармацевтической композиции, предложенной в данном документе, вводят пациенту для профилактики и/или лечения рака 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или 26 раз за каждые четыре недели цикла (*например*, около 28 дней) в течение периода времени (*например*, год), при этом дозу выбирают из группы, состоящей из около 0,1 мг/кг, около 0,5 мг/кг, около 0,75 мг/кг, около 1 мг/кг, около 1,25 мг/кг, около 1,5 мг/кг, около 2 мг/кг, около 2,5 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 10 мг/кг, около 15 мг/кг, около 20 мг/кг, около 25 мг/кг, около 30 мг/кг, около 35 мг/кг, около 40 мг/кг, около 45 мг/кг, около 50 мг/кг, около 55 мг/кг, около 60 мг/кг, около 65 мг/кг, около 70 мг/кг, около 75 мг/кг, около 80 мг/кг, около 85 мг/кг, около 90 мг/кг, около 95 мг/кг, около 100 мг/кг или их комбинации (*т.е.* каждая месячная доза может быть идентичной или не идентичной).

**[00475]** В другом варианте осуществления одну дозу конъюгата антитело-лекарственное средство, представленного в фармацевтической композиции, предложенной в данном документе, вводят пациенту для профилактики и/или лечения рака 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 раз с интервалом около одного месяца (*например*, около 30 дней) в течение периода времени (*например*, год), при этом дозу выбирают из группы, состоящей из около 0,1 мг/кг, около 0,5 мг/кг, около 0,75 мг/кг, около 1 мг/кг, около 1,25 мг/кг, около 1,5 мг/кг, около 2 мг/кг, около 2,5 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 10 мг/кг, около 15 мг/кг, около 20 мг/кг, около 25 мг/кг, около 30 мг/кг, около 35 мг/кг, около 40

мг/кг, около 45 мг/кг, около 50 мг/кг, около 55 мг/кг, около 60 мг/кг, около 65 мг/кг, около 70 мг/кг, около 75 мг/кг, около 80 мг/кг, около 85 мг/кг, около 90 мг/кг, около 95 мг/кг, около 100 мг/кг или их комбинации (*т.е.* каждая месячная доза может быть идентичной или не идентичной).

**[00476]** В другом варианте осуществления одну дозу конъюгата антитело-лекарственное средство, представленного в фармацевтической композиции, предложенной в данном документе, вводят пациенту для профилактики и/или лечения рака 1, 2, 3, 4, 5 или 6 раз с интервалом около двух месяцев (*например*, около 60 дней) в течение периода времени (*например*, год), при этом дозу выбирают из группы, состоящей из около 0,1 мг/кг, около 0,5 мг/кг, около 0,75 мг/кг, около 1 мг/кг, около 1,25 мг/кг, около 1,5 мг/кг, около 2 мг/кг, около 2,5 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 10 мг/кг, около 15 мг/кг, около 20 мг/кг, около 25 мг/кг, около 30 мг/кг, около 35 мг/кг, около 40 мг/кг, около 45 мг/кг, около 50 мг/кг, около 55 мг/кг, около 60 мг/кг, около 65 мг/кг, около 70 мг/кг, около 75 мг/кг, около 80 мг/кг, около 85 мг/кг, около 90 мг/кг, около 95 мг/кг, около 100 мг/кг или их комбинации (*т.е.* каждая месячная доза может быть идентичной или не идентичной).

**[00477]** В еще одном другом варианте осуществления одну дозу конъюгата антитело-лекарственное средство, представленного в фармацевтической композиции, предложенной в данном документе, вводят пациенту для профилактики и/или лечения рака 1, 2, 3 или 4 раз с интервалом около трех месяцев (*например*, около 120 дней) в течение периода времени (*например*, год), при этом дозу выбирают из группы, состоящей из около 0,1 мг/кг, около 0,5 мг/кг, около 0,75 мг/кг, около 1 мг/кг, около 1,25 мг/кг, около 1,5 мг/кг, около 2 мг/кг, около 2,5 мг/кг, около 3 мг/кг, около 4 мг/кг, около 5 мг/кг, около 10 мг/кг, около 15 мг/кг, около 20 мг/кг, около 25 мг/кг, около 30 мг/кг, около 35 мг/кг, около 40 мг/кг, около 45 мг/кг, около 50 мг/кг, около 55 мг/кг, около 60 мг/кг, около 65 мг/кг, около 70 мг/кг, около 75 мг/кг, около 80 мг/кг, около 85 мг/кг, около 90 мг/кг, около 95 мг/кг, около 100 мг/кг или их комбинации (*т.е.* каждая месячная доза может быть идентичной или не идентичной).

**[00478]** В определенных вариантах осуществления способ введения дозы конъюгата антитело-лекарственное средство, представленный в фармацевтической композиции, предложенной в данном документе, пациенту является интраназальным, внутримышечным, внутривенным или их комбинацией, но другие способы, описанные в данном документе, также являются приемлемыми. Каждую дозу можно или нельзя вводить идентичным путем введения. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство, включенный в состав фармацевтической композиции, предложенной в данном документе, можно вводить несколькими путями введения одновременно или

последовательно с другими дозами одного или более дополнительных терапевтических агентов.

**[00479]** В некоторых более конкретных вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство, представленный в фармацевтической композиции, предложенной в данном документе, вводят в дозе около 0,5 мг/кг, около 0,75 мг/кг, около 1 мг/кг, около 1,25 мг/кг или около 1,5 мг/кг массы тела субъекта путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии.

**[00480]** В некоторых более конкретных вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство, представленный в фармацевтической композиции, предложенной в данном документе, вводят в дозе около 0,5 мг/кг, около 0,75 мг/кг, около 1 мг/кг, около 1,25 мг/кг или около 1,5 мг/кг массы тела субъекта путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии в течение около 30 минут дважды в течение трехнедельного цикла. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство, представленный в фармацевтической композиции, вводят посредством внутривенной (в/в) инъекции или инфузии в течение около 30 минут в дни 1 и 8 каждого трехнедельного цикла. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение ингибитора иммунной контрольной точки путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии один или более раз в каждом трехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение ингибитора иммунной контрольной точки путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии в 1-й день каждого трехнедельного цикла. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой пембролизумаб, при этом пембролизумаб вводят в количестве около 200 мг в течение около 30 минут. В других вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой атезолизумаб, при этом атезолизумаб вводят в количестве около 1200 мг в течение около 60 минут или 30 минут. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство вводят пациентам с уротелиальным раком или раком мочевого пузыря, у которых наблюдается прогрессирование или рецидив заболевания во время или после лечения другим противораковым средством. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство вводят пациентам с метастатическим уротелиальным раком или раком мочевого пузыря, у которых наблюдается прогрессирование или рецидив заболевания во время или после лечения другим противораковым средством. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство вводят пациентам с местнораспространенным уротелиальным раком или раком мочевого пузыря, у которых

наблюдается прогрессирование или рецидив заболевания во время или после лечения другим противораковым средством. В некоторых вариантах осуществления ADC способов, для которых в этом абзаце описаны различные дозировки, представляет собой энфортумаб ведотин (EV).

**[00481]** В других более конкретных вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство, представленный в фармацевтической композиции, предложенной в данном документе, вводят в дозе около 0,5 мг/кг, около 0,75 мг/кг, около 1 мг/кг, около 1,25 мг/кг или около 1,5 мг/кг массы тела субъекта путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии в течение около 30 минут три раза в каждом четырехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство, представленный в фармацевтической композиции, вводят в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного (четырёхнедельного) цикла. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство, представленный в фармацевтической композиции, вводят посредством внутривенной (в/в) инъекции или инфузии в течение около 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного (четырёхнедельного) цикла. В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение ингибитора иммунной контрольной точки путем внутривенной (в/в) инъекции или инфузии один или более раз в каждом четырехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой пембролизумаб. В других вариантах осуществления ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой атезолизумаб. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство вводят пациентам с уротелиальным раком или раком мочевого пузыря, у которых наблюдается прогрессирование или рецидив заболевания во время или после лечения другим противораковым средством. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство вводят пациентам с метастатическим уротелиальным раком или раком мочевого пузыря, у которых наблюдается прогрессирование или рецидив заболевания во время или после лечения другим противораковым средством. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство вводят пациентам с местнораспространенным уротелиальным раком или раком мочевого пузыря, у которых наблюдается прогрессирование или рецидив заболевания во время или после лечения другим противораковым средством. В некоторых вариантах осуществления ADC способов, для которых в этом абзаце описаны различные дозировки, представляет собой энфортумаб ведотин (EV).

**[00482]** В некоторых вариантах осуществления различных способов, предложенных в





















**[00491]** В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, ADC вводят посредством внутривенной (в/в) инъекции или инфузии. В одном варианте осуществления первую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции. В другом варианте осуществления первую дозу ADC вводят посредством в/в инфузии. В еще одном варианте осуществления вторую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции. В еще одном варианте осуществления вторую дозу ADC вводят посредством в/в инфузии. В одном варианте осуществления первую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции, а вторую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции. В другом варианте осуществления первую дозу ADC вводят посредством в/в инфузии, а вторую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции. В еще одном другом варианте осуществления вторую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции, а вторую дозу ADC вводят посредством в/в инфузии. В еще одном другом варианте осуществления вторую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции, а вторую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции. В некоторых вариантах осуществления ADC способов, для которых в этом абзаце описаны различные дозировки, представляет собой энфортумаб ведотин (EV).

**[00492]** В определенных вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, ADC вводят путем внутривенной инъекции или инфузии три раза в каждом четырехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, первую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии три раза в каждом четырехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, вторую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии три раза в каждом четырехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, первую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии три раза в каждом четырехнедельном цикле, а вторую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии три раза в каждом четырехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления ADC способов, для которых в этом абзаце описаны различные дозировки, представляет собой энфортумаб ведотин (EV).

**[00493]** В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла. В некоторых вариантах осуществления первую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла. В некоторых вариантах осуществления вторую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла. В некоторых вариантах

осуществления первую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла, а вторую дозу ADC вводят путем внутривенной инъекции или инфузии в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла. В некоторых вариантах осуществления ADC способов, для которых в этом абзаце описаны различные дозировки, представляет собой энфортумаб ведотин (EV).

**[00494]** В определенных вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в течение около 30 минут три раза в каждом четырехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления первую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в течение около 30 минут три раза в каждом четырехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления вторую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в течение около 30 минут три раза в каждом четырехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления первую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в течение около 30 минут три раза в течение каждого четырехнедельного цикла, а вторую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в течение около 30 минут три раза в каждом четырехнедельном цикле. В некоторых вариантах осуществления ADC способов, для которых в этом абзаце описаны различные дозировки, представляет собой энфортумаб ведотин (EV).

**[00495]** В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в течение около 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла. В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, первую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в течение около 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла. В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, вторую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в течение около 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла. В некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, первую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в течение около 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла, а вторую дозу ADC вводят посредством в/в инъекции или инфузии в течение около 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла. В некоторых вариантах осуществления ADC способов, для которых в этом абзаце описаны различные дозировки, представляет собой энфортумаб ведотин (EV).

**[00496]** В других более конкретных вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство, представленный в фармацевтической композиции, предложенный в данном документе, вводят в дозе около 1 мг/кг, 1,25 мг/кг или около 1,5 мг/кг массы тела



определяться количеством или относительным количеством белковых продуктов, кодируемых маркерными генами. В другом варианте осуществления экспрессию маркерных генов можно определить по уровню биологической или химической реакции, индуцированной белковыми продуктами, кодируемыми маркерными генами. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления экспрессию маркерных генов можно определять по экспрессии одного или более генов, которая коррелирует с экспрессией маркерных генов.

**[00499]** Как описано выше, уровни или количества генных транскриптов (*например*, мРНК) маркерных генов можно использовать в качестве показателя уровней экспрессии маркерных генов. В данной области техники известно множество различных протоколов ПЦР или количественной ПЦР, в том числе протоколы, приведенные в качестве примеров в данном документе. В некоторых вариантах осуществления различные способы ПЦР или количественной ПЦР применяются или адаптируются для определения уровня мРНК различных маркерных генов. Количественная ПЦР (кПЦР) (также называемая ПЦР в реальном времени) применяется и адаптируется в некоторых вариантах осуществления, поскольку она обеспечивает не только количественное измерение, но также сокращает время и загрязнение. Используемый в данном документе термин «количественная ПЦР» (или «кПЦР») относится к прямому наблюдению за ходом ПЦР-амплификации, поскольку она происходит без необходимости повторного отбора проб продуктов реакции. В количественной ПЦР продукты реакции можно отслеживать с помощью сигнального механизма (*например*, флуоресценции), поскольку они генерируются и отслеживаются после того, как сигнал поднимается выше фонового уровня, но до того, как реакция достигает плато. Количество циклов, необходимых для достижения обнаруживаемого или «порогового» уровня флуоресценции, напрямую зависит от концентрации амплифицируемых мишеней в начале процесса ПЦР, что позволяет измерять интенсивность сигнала для измерения количества нуклеиновой кислоты-мишени в образец в режиме реального времени. Когда кПЦР применяется для определения уровня экспрессии мРНК, перед анализом кПЦР выполняется дополнительный этап обратной транскрипции мРНК в ДНК. Примеры методов ПЦР можно найти в литературе (Wong et al., *BioTechniques* 39:75-85 (2005); D'haene et al., *Methods* 50:262–270 (2010)), которые полностью включены в данное описание посредством ссылки. Примеры ПЦР-анализов также можно найти в патенте США № 6927024, который полностью включен в данный документ посредством ссылки. Примеры методов ОТ-ПЦР можно найти в патенте США № 7122799, который полностью включен в данный документ посредством ссылки. Метод флуоресцентной ПЦР *in situ* описан в патенте США № 7186507, который полностью включен в данный документ

посредством ссылки.

**[00500]** В одном конкретном варианте осуществления кПЦР можно проводить для определения или измерения уровней мРНК маркерных генов следующим образом. Вкратце, определяют средние значения  $C_t$  (порог цикла) (или обозначаемые в данном документе взаимозаменяемо как  $C_q$  (количественный цикл)) повторных реакций количественной ПЦР для маркерных генов и одного или более генов домашнего хозяйства. Затем средние значения  $C_t$  для маркерных генов могут быть нормализованы к значениям  $C_t$  генов домашнего хозяйства с использованием следующей примерной формулы:  $\text{маркер-ген-}\Delta C_t = (\text{среднее значение } C_t \text{ маркерного гена} - \text{среднее значение } C_t \text{ гена домашнего хозяйства})$ . Относительный  $\text{маркер-ген-}\Delta C_t$  затем можно использовать для определения относительного уровня мРНК маркерного гена, например, с помощью формулы экспрессии мРНК  $= 2^{-\Delta C_t}$ . Сводную информацию о значениях  $C_t$  и  $C_q$  см. в руководстве MIQE (Bustin et al., The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments, *Clinical Chemistry* 55:4 (2009)).

**[00501]** Другие широко используемые методы, известные в данной области, также могут быть использованы для количественного определения РНК-транскриптов маркерных генов в образце в качестве прокси для экспрессии маркерных генов, включая нозерн-блоттинг и гибридизацию *in situ* (Parker & Barnes, *Methods in Molecular Biology* 106:247-283 (1999)); анализы защиты от РНКазы (Hod, *Biotechniques* 13:852-854 (1992)); микрочипы (Hoheisel et al., *Nature Reviews Genetics* 7:200-210 (2006); Jaluria et al., *Microbial Cell Factories* 6:4 (2007)) и полимеразную цепную реакцию (ПЦР) (Weis et al., *Trends in Genetics* 8:263-264 (1992)). Гибридизация РНК *in situ* (ISH, англ. *in situ hybridization*) — это метод молекулярной биологии, широко используемый для измерения и локализации специфических последовательностей РНК, например матричных РНК (мРНК), длинных некодирующих РНК (днРНК) и микро РНК (микроРНК) внутри клеток, таких как циркулирующие опухолевые клетки (ЦОК) или срезы тканей с сохранением клеточного и тканевого контекста. ISH представляет собой тип гибридизации, при котором используется прямо или косвенно помеченная комплементарная цепь ДНК или РНК, такая как зонд, для связывания и локализации конкретной нуклеиновой кислоты, такой как ДНК или РНК, в образце, в частности, в его части или срезе тканей или клеток (*in situ*). Типы зондов могут представлять собой двухцепочечную ДНК (дцДНК), одноцепочечную ДНК (оцДНК), одноцепочечную комплементарную РНК (оцРНК), информационную РНК (мРНК), микро РНК (микроРНК), рибосомную РНК, митохондриальную РНК и/или синтетические олигонуклеотиды. Термин «флуоресцентная гибридизация *in situ*» или «FISH» (англ.

fluorescent in situ hybridization) относится к типу ISH, использующему флуоресцентную метку. Термин «хромогенная гибридизация *in situ*» или «CISH» (англ. chromogenic in situ hybridization) относится к типу ISH с хромогенной меткой. Методы ISH, FISH и CISH хорошо известны специалистам в данной области (см., например, Stoler, *Clinics in Laboratory Medicine* 10(1):215-236 (1990); *In situ hybridization. A practical approach*, Wilkinson, ed., IRL Press, Oxford (1992); Schwarzacher and Heslop-Harrison, *Practical in situ hybridization*, BIOS Scientific Publishers Ltd, Oxford (2000)). Таким образом, ISH РНК обеспечивает пространственно-временную визуализацию, а также количественную оценку экспрессии генов в клетках и тканях. Она имеет широкое применение в исследованиях и диагностике (Hu et al., *Biomark. Res.* 2(1):1-13, doi: 10.1186/2050-7771-2-3 (2014); Ratan et al., *Cureus* 9(6):e1325. doi: 10.7759/cureus.1325 (2017); Weier et al., *Expert Rev. Mol. Diagn.* 2(2):109-119 (2002)). Флуоресцентная ISH РНК использует флуоресцентные красители и флуоресцентные микроскопы для мечения и обнаружения РНК соответственно. Флуоресцентная ISH РНК может обеспечивать мультиплексирование четырех-пяти последовательностей-мишеней.

**[00502]** Альтернативно, РНК-транскрипты маркерных генов в образце в качестве прокси для экспрессии маркерных генов могут быть определены методами секвенирования. Репрезентативные методы анализа экспрессии генов на основе секвенирования включают серийный анализ экспрессии генов (SAGE, англ. Serial Analysis of Gene Expression) и анализ экспрессии генов с помощью массивно-параллельного сигнатурного секвенирования (MPSS, англ. massively parallel signature sequencing).

**[00503]** В некоторых вариантах осуществления экспрессия маркерных генов может быть определена по относительному количеству транскриптов РНК (включая, например, мРНК) маркерных генов в пуле общей транскрибированной РНК. Такое относительное количество РНК-транскриптов маркерных генов можно определить с помощью секвенирования нового поколения, которое известно как РНК-секвенирование. В одном примере процедуры РНК-сек из разных источников (кровь, ткань, клетки) очищают, необязательно обогащают (*например*, с помощью олиго(dT) праймеров), превращают в кДНК и фрагментируют. Миллионы или даже миллиарды прочтений коротких последовательностей генерируются из случайно фрагментированной библиотеки кДНК. См. Zhao et al. *BMC genomics* 16: 97 (2015); Zhao et al. *Scientific Reports* 8: 4781 (2018); Shanrong Zhao et al., *RNA*, published in advance April 13, 2020, doi: 10.1261/rna.074922.120, все они включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки. Уровень экспрессии каждого транскрипта мРНК маркерных генов определяется общим количеством

картированных фрагментов при нормализации, которое прямо пропорционально уровню его распространенности. Известно несколько схем нормализации, которые используются для облегчения использования количества транскриптов РНК в качестве параметра для определения экспрессии генов, включая RPKM (количество прочтений на миллион килобаз), FPKM (фрагментов на миллион килобаз) и/или TPM (транскрипты на миллион килобаз). Вкратце, RPKM можно рассчитать следующим образом: подсчитайте общее количество прочтений в выборке и разделите это число на 1 000 000 — коэффициент масштабирования «на миллион»; разделите количество прочтений на коэффициент масштабирования «на миллион», который нормализует глубину секвенирования, давая количество прочтений на миллион (об/мин); и разделите значения RPM на длину гена в килобазах, что дает RPKM. FPKM тесно связан с RPKM, за исключением чтения с заменой фрагмента. RPKM был сделан для секвенирования одноконцевой РНК, где каждое прочтение соответствовало одному секвенированному фрагменту. FPKM был сделан для секвенирования РНК с парными концами, в котором два прочтения могут соответствовать одному фрагменту, или, если одно прочтение в паре не картировалось, одно прочтение может соответствовать одному фрагменту. TPM очень похож на RPKM и FPKM и рассчитывается следующим образом: разделите количество прочтений на длину каждого гена в килобазах, что дает количество прочтений на килобазы (RPK); подсчитайте все значения RPK в выборке и разделите это число на 1 000 000, что дает коэффициент масштабирования «на миллион»; разделите значения RPK на коэффициент масштабирования «на миллион», который дает TPM. См. Zhao *et al.* *BMC genomics* 16: 97 (2015); Zhao *et al.* *Scientific Reports* 8: 4781 (2018); Shanrong Zhao *et al.*, *RNA*, опубликовано заранее 13 апреля 2020 г., doi: 10.1261/rna.074922.120, все они включены в данный документ в полном объеме посредством ссылки.

**[00504]** В одном варианте осуществления экспрессию маркерных генов определяют с помощью секвенирования РНК, например, с помощью TPM, RPKM и/или FPKM. В некоторых вариантах осуществления экспрессию маркерных генов определяют с помощью TPM. В некоторых вариантах осуществления экспрессию маркерных генов определяют с помощью RPKM. В некоторых вариантах осуществления экспрессию маркерных генов определяют с помощью FPKM.

**[00505]** Как описано ранее, экспрессию маркерных генов можно определить в образце, взятом у субъекта. В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец крови, образец сыворотки, образец плазмы, жидкость организма (*например*, тканевую жидкость, включая тканевую жидкость рака) или ткань (*например*, раковую ткань

или ткань, окружающую рак). В некоторых вариантах осуществления образец представляет собой образец ткани. В некоторых вариантах осуществления образец ткани представляет собой фракции ткани, выделенные или извлеченные из млекопитающего, в частности человека. В некоторых вариантах осуществления образец ткани представляет собой популяцию клеток, выделенных или извлеченных из млекопитающего, в частности человека. В некоторых вариантах осуществления образец ткани представляет собой образец, полученный в результате биопсии. В определенных вариантах осуществления образцы могут быть получены из различных органов субъекта, включая человека. В некоторых вариантах осуществления образцы получают из органов субъекта, страдающего раком. В некоторых вариантах осуществления образцы получают из органов, пораженных раком, у субъекта, страдающего раком. В других вариантах осуществления образцы, например эталонные образцы, получают из нормальных органов пациента или второго субъекта-человека.

**[00506]** В определенных вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, ткань включает ткань мочевого пузыря, мочеточника, молочной железы, легкого, толстой кишки, прямой кишки, яичника, маточной трубы, пищевода, шейки матки, эндометрия матки, кожи, гортани, костного мозга, слюнной железы, почки, простаты, головного мозга, спинного мозга, плаценты, надпочечника, поджелудочной железы, паращитовидной железы, гипофиза, яичка, щитовидной железы, селезенки, гланды, вилочковой железы, сердца, желудка, тонкого кишечника, печени, скелетной мускулатуры, периферического нерва, мезотелия или глаза.

**[00507]** В дополнительных вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, экспрессия различных маркерных генов может быть обнаружена с помощью различных иммуноанализов, известных в данной области, включая иммуногистохимический анализ (ИГХ), анализ иммуноблоттинга, анализ FACS и ELISA.

**[00508]** Экспрессию различных маркерных генов можно обнаружить с помощью антител к белковым продуктам, кодируемых маркерными генами, в различных анализах ИГХ. Было показано, что окрашивание срезов тканей ИГХ является надежным методом оценки или обнаружения присутствия белков в образце. Методы ИНС используют антитела для зондирования и визуализации клеточных антигенов *in situ*, как правило, с помощью хромогенных или флуоресцентных методов. Первичные антитела или антисыворотки, такие как поликлональные антисыворотки и моноклональные антитела, которые специфически нацелены на белковые продукты, кодируемые маркерными генами, можно использовать для обнаружения экспрессии маркерных генов в анализе ИГХ. В некоторых

вариантах осуществления образец ткани контактирует с первичным антителом к конкретной мишени в течение периода времени, достаточного для того, чтобы произошло связывание антитела с мишенью. Как подробно обсуждалось ранее, антитела могут быть обнаружены прямыми метками на самих антителах, например, радиоактивными метками, флуоресцентными метками, гаптеновыми метками, такими как биотин, или ферментом, таким как пероксидаза хрена или щелочная фосфатаза. Альтернативно, немеченое первичное антитело используют в сочетании с меченым вторичным антителом, содержащим антисыворотку, поликлональную антисыворотку или моноклональное антитело, специфичное к первичному антителу. Протоколы и наборы ИНС хорошо известны в данной области и имеются в продаже. Автоматизированные системы для подготовки предметных стекол и обработки ИНС доступны на рынке. Примером такой автоматизированной системы являются Leica BOND Autostainer и Leica Bond Refine Detection.

**[00509]** В некоторых вариантах осуществления анализ ИГХ проводят с немеченым первичным антителом в сочетании с меченым вторичным антителом в непрямом анализе. Непрямой анализ использует два антитела для обнаружения белковых продуктов, кодируемых маркерными генами в образце ткани. Сначала на ткань (первый слой) наносили неконъюгированное первичное антитело, которое реагирует с целевым антигеном в образце ткани. Затем наносят вторичное антитело, меченное ферментом, которое специфически распознает изотип первичного антитела (второй слой). Вторичное антитело реагирует с первичным антителом с последующим нанесением субстрата-хромогена. Антитело второго слоя может быть помечено ферментом, таким как пероксидаза, который реагирует с хромогеном 3,3'-диаминобензидином (DAB) с образованием коричневого осадка в месте реакции. Этот метод чувствителен и универсален из-за возможного усиления сигнала через систему усиления сигнала.

**[00510]** В определенных вариантах осуществления для повышения чувствительности обнаружения может использоваться система усиления сигнала. «Система усиления сигнала», используемая в данном документе, означает систему реагентов и способов, которые можно использовать для усиления сигнала при обнаружении связанного первичного или вторичного антитела. Система усиления сигнала повышает чувствительность обнаружения целевого белка, увеличивает обнаруживаемый сигнал и снижает нижнюю границу пределов обнаружения. Существует несколько типов систем усиления сигнала, включая систему мечения ферментов и систему макромечения. Эти системы/подходы не являются взаимоисключающими и могут использоваться в

комбинации для достижения аддитивного эффекта.

**[00511]** Макрометки или система макромаркировки представляют собой наборы меток, насчитывающие от десятков (*например*, фикобилипротеины) до миллионов (*например*, флуоресцентные микросферы), прикрепленных к общему каркасу или включенных в него. Каркас может быть связан с аффинным реагентом, специфичным к мишени, таким как антитело, и таким образом включенные метки совместно связываются с мишенью при связывании. Метки в макрометках могут быть любыми метками, описанными в данном документе, такими как флуорофоры, гаптены, ферменты и/или радиоизотопы. В одном варианте осуществления системы амплификации сигнала использовали вторичное антитело, конъюгированное с полимером с меченой цепью. В полимерной технологии использовалась меченая ферментом HRP инертная «шиповая» молекула декстрана, к которой присоединялись 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 50 или более молекул могут присоединяться вторичные антитела, что делает систему еще более чувствительной.

**[00512]** Система усиления сигнала, основанная на системе мечения ферментов, использует каталитическую активность ферментов, таких как пероксидаза хрена (HRP) или щелочная фосфатаза, для создания высокоплотной маркировки целевого белка или последовательности нуклеиновой кислоты *in situ*. В одном варианте осуществления тирамид можно использовать для усиления сигнала HRP. В такой системе HRP ферментативно превращает меченое производное тирамида в высокореакционноспособные короткоживущие радикалы тирамида. Затем меченые активные тирамидные радикалы ковалентно связываются с остатками (в основном с фенольной частью белковых остатков тирозина) вблизи сайта взаимодействия HRP-антитело-мишень, что приводит к увеличению количества меток в сайте с минимальной диффузионной потерей локализация сигнала. Следовательно, сигнал может быть усилен в 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 30, 50, 75 или 100 раз. Как известно специалисту в данной области техники, метки на тирамиде могут быть любыми метками, описанными в данном документе, включая флуорофоры, ферменты, гаптены, радиоизотопы и/или фотофоры. Другие реакции на основе ферментов также могут быть использованы для усиления сигнала. Например, для щелочной фосфатазы доступно усиление сигнала флуоресценции, меченой ферментом (ELF), при этом щелочная фосфатаза ферментативно расщепляет субстрат со слабой синей флуоресценцией (фосфат ELF 97) и превращает его в ярко-желто-зелено-флуоресцентный осадок, который проявляет необычно большой стоксов сдвиг и отличная фотостабильность. Как система усиления сигнала на основе тирамида, так и усиление сигнала ELF доступны на рынке, например, от ThermoFisher Scientific (Waltham, MA USA 02451).

**[00513]** Таким образом, в некоторых вариантах осуществления способов, предложенных в данном документе, уровень экспрессии маркерных генов определяют с помощью ИГХ с использованием системы амплификации сигнала. В некоторых вариантах осуществления образец затем контрастно окрашивают для идентификации клеточных и субклеточных элементов.

**[00514]** В некоторых вариантах осуществления уровень экспрессии белковых продуктов, кодируемых маркерными генами, также можно определить с помощью антител к белковым продуктам, кодируемых маркерными генами, с использованием анализа иммуноблоттинга. В некоторых вариантах осуществления анализа иммуноблоттинга, белки часто (но не обязательно) разделяют с помощью электрофореза и переносят на мембраны (обычно нитроцеллюлозные или ПВДФ-мембраны). Подобно анализам ИГХ, первичные антитела или антисыворотки, такие как поликлональные антисыворотки и моноклональные антитела, которые специфически нацелены на белковые продукты, кодируемые маркерными генами, могут быть использованы для обнаружения экспрессии маркерных генов. В некоторых вариантах осуществления мембрана контактирует с первичным антителом для конкретной мишени в течение периода времени, достаточного для того, чтобы произошло связывание антитело-антиген, и связанные антитела могут быть обнаружены с помощью прямой метки на самих первичных антителах, *например*, с радиоактивными метками, флуоресцентными метками, гаптеновыми метками, такими как биотин, или ферментами, такими как пероксидаза хрена или щелочная фосфатаза. В других вариантах осуществления немеченое первичное антитело используют в непрямом анализе, как описано выше, в сочетании с меченым вторичным антителом, специфичным в отношении первичного антитела. Как описано в данном документе, вторичные антитела могут быть помечены, например, ферментами или другими обнаруживаемыми метками, такими как флуоресцентные метки, люминесцентные метки, колориметрические метки или радиоизотопы. Протоколы и наборы для иммуноблоттинга хорошо известны в данной области и имеются в продаже. Автоматизированные системы для иммуноблоттинга, *т.е.* системы iBind Western для вестерн-блоттинга (ThermoFisher, Waltham, MA USA 02451), которые имеются в продаже. Иммуноблоттинг включает, но не ограничивается этим, вестерн-блоттинг, внутриклеточный вестерн-блоттинг и дот-блоттинг. Дот-блот — это упрощенная процедура, при которой образцы белка не разделяются электрофорезом, а наносятся непосредственно на мембрану. Вестерн-блоттинг клеток включает посев клеток в планшеты для микротитрования, фиксацию/пермеабиллизацию клеток и последующую детекцию с помощью меченого первичного антитела или немеченого первичного антитела,

за которым следует меченое вторичное антитело, как описано в данном документе.

**[00515]** В других вариантах осуществления уровни экспрессии белковых продуктов, кодируемых маркерными генами, также можно определить с помощью антител, описанных в данном документе, в анализе проточной цитометрии, включая анализ сортировки клеток, активируемых флуоресценцией (FACS). Подобно ИГХ или иммуноблоттингам, первичные антитела или антисыворотки, такие как поликлональные антисыворотки и моноклональные антитела, которые специфически нацелены на белковые продукты, кодируемые маркерными генами, могут использоваться для обнаружения экспрессии белка в анализе FACS. В некоторых вариантах осуществления клетки окрашивают первичными антителами против конкретного белка-мишени в течение периода времени, достаточного для того, чтобы произошло связывание антитело-антиген, и связанные антитела могут быть обнаружены прямыми метками на первичных антителах, например, флуоресцентными метками или гаптенными метками, такими как биотин, на первичных антителах. В других вариантах осуществления немеченое первичное антитело используют в непрямом анализе, как описано выше, в сочетании с флуоресцентно меченым вторичным антителом, специфичным к первичному антителу. FACS обеспечивает метод сортировки или анализа смеси биологических клеток с флуоресцентной меткой, по одной клетке за раз, на основе специфического светорассеяния и флуоресцентных характеристик каждой клетки. Таким образом, проточный цитометр обнаруживает и сообщает об интенсивности меченого флуорохромом антитела, что указывает на уровень экспрессии целевого белка. Следовательно, уровень экспрессии белковых продуктов, кодируемых маркерными генами, можно определить с помощью антител против таких белковых продуктов. Нефлуоресцентные цитоплазматические белки также можно наблюдать при окрашивании проницаемых клеток. Методы проведения FACS-окрашивания и анализов хорошо известны специалистам в данной области и описаны в Teresa S. Hawley and Robert G. Hawley in *Flow Cytometry Protocols*, Humana Press, 2011 (ISBN 1617379506, 9781617379505).

**[00516]** В других вариантах осуществления уровни экспрессии белковых продуктов, кодируемых маркерными генами, также можно определить с помощью иммунологических анализов, таких как иммуноферментный анализ (ИФА) или ELISA. Как ИФА, так и ELISA-анализы известны в данной области, *т.е.* для анализа широкого спектра тканей и образцов, включая кровь, плазму, сыворотку или костный мозг. Доступен широкий спектр форматов анализа ELISA, см., *например*, патенты США № 4016043, 4424279 и 4018653, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. К ним относятся как односайтовые, так и двухсайтовые или «сэндвич»-анализы неконкурентных типов, а также

традиционные анализы конкурентного связывания. Эти анализы также включают прямое связывание меченого антитела с белком-мишенью. Сэндвич-анализы - это обычно используемый формат анализа. Существует ряд вариантов метода сэндвич-анализа. Например, в типичном прямом анализе немеченое антитело иммобилизуют на твердой подложке, а тестируемый образец приводят в контакт со связанной молекулой. После подходящего периода инкубации в течение периода времени, достаточного для образования комплекса антитело-антиген, затем добавляют второе антитело, специфичное к антигену, меченное репортерной молекулой, способной давать детектируемый сигнал, и инкубируют в течение времени достаточно для образования другого комплекса антитело-антиген-меченое антитело. Любой непрореагировавший материал смывается, а присутствие антигена определяется по наблюдению за сигналом, производимым репортерной молекулой. Результаты могут быть либо качественными, путем простого наблюдения за видимым сигналом, либо могут быть оценены количественно путем сравнения с контрольным образцом, содержащим известные количества целевого белка.

**[00517]** В некоторых вариантах осуществления анализов EIA или ELISA фермент конъюгирован со вторым антителом. В других вариантах осуществления вместо меченого ферментом вторичного антитела можно использовать флуоресцентно меченные вторичные антитела для получения обнаруживаемого сигнала в формате анализа ELISA. При активации путем освещения излучением определенной длины волны антитело, меченное флуорохромом, поглощает световую энергию, вызывая состояние возбудимости в молекуле с последующим испусканием света характерного цвета, визуально обнаруживаемого с помощью светового микроскопа. Как и в ИФА и ELISA, флуоресцентно меченое антитело связывается с первым комплексом антитело-белок-мишень. После смывания несвязанного реагента оставшийся третичный комплекс подвергают воздействию света соответствующей длины волны; наблюдаемая флуоресценция указывает на присутствие интересующего белка-мишени. Методы иммунофлуоресценции и EIA очень хорошо известны в данной области техники и раскрыты в данном документе.

**[00518]** Для иммунологических анализов, описанных в данном документе, можно использовать любой из ряда ферментов или неферментных меток при условии, что ферментативная активность или неферментная метка, соответственно, могут быть обнаружены. Таким образом, фермент производит обнаруживаемый сигнал, который можно использовать для обнаружения целевого белка. Особенно полезными детектируемыми сигналами являются хромогенные или флуорогенные сигналы. Соответственно, особенно полезные ферменты для использования в качестве метки

включают ферменты, для которых доступен хромогенный или флуорогенный субстрат. Такие хромогенные или флуорогенные субстраты могут быть преобразованы ферментативной реакцией в легко обнаруживаемый хромогенный или флуоресцентный продукт, который можно легко обнаружить и/или количественно определить с помощью микроскопии или спектроскопии. Такие ферменты хорошо известны специалистам в данной области, включая пероксидазу хрена, щелочную фосфатазу,  $\beta$ -галактозидазу, глюкозооксидазу и т.п., но не ограничиваясь ими (см. Hermanson, *Bioconjugate Techniques*, Academic Press, San Diego (1996)). Другие ферменты, которые имеют хорошо известные хромогенные или флуорогенные субстраты, включают различные пептидазы, в которых хромогенные или флуорогенные пептидные субстраты могут использоваться для обнаружения реакций протеолитического расщепления. Использование хромогенных и флуорогенных субстратов также хорошо известно в бактериальной диагностике, включая, помимо прочего, использование  $\alpha$ - и  $\beta$ -галактозидазы,  $\beta$ -глюкуронидазы, 6-фосфо- $\beta$ -D-галактозиды 6-фосфогалактогидролазы,  $\beta$ -глюкозидазы,  $\alpha$ -глюкозидазы, амилазы, нейраминидазы, эстеразы, липазы и им подобных (Manafi et al., *Microbiol. Rev.* 55:335-348 (1991)), и такие ферменты с известными хромогенными или флуорогенными субстратами можно легко адаптировать для использования в способах по данному изобретению.

**[00519]** Различные хромогенные или флуорогенные субстраты для получения детектируемых сигналов хорошо известны специалистам в данной области и коммерчески доступны. Примеры субстратов, которые можно использовать для получения детектируемого сигнала, включают, помимо прочего, 3,3'-диаминобензидин (DAB), 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (ТМВ), хлоронафтол (4-CN) (4-хлор-1-нафтол), 2,2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфоная кислота) (ABTS), дигидрохлорид о-фенилендиамина (OPD) и 3-амино-9-этилкарбазол (АЕС) для пероксидазы хрена; 5-бром-4-хлор-3-индолил-1-фосфат (BCIP), нитросиний тетразолий (NBT), Fast Red (Fast Red TR/AS-MX) и п-нитрофенилфосфат (PNPP) для щелочной фосфатазы; 1-метил-3-индолил- $\beta$ -D-галактопиранозид и 2-метокси-4-(2-нитровинил)фенил  $\beta$ -D-галактопиранозид для  $\beta$ -галактозидазы; 2-метокси-4-(2-нитровинил)фенил  $\beta$ -D-глюкопиранозид для  $\beta$ -глюкозидазы и им подобные. Примеры флуорогенных субстратов включают, но не ограничиваются ими, 4-(трифторметил)умбеллиферилфосфат для щелочной фосфатазы; 4-метилумбеллиферилфосфат бис (2-амино-2-метил-1,3-пропандиол), 4-метилумбеллиферилфосфат бис (циклогексиламмоний) и 4-метилумбеллиферилфосфат для фосфатаз; QuantaBlu™ и QuantaRed™ для пероксидазы хрена; 4-метилумбеллиферил- $\beta$ -D-галактопиранозид, флуоресцеин ди( $\beta$ -D-галактопиранозид) и нафтофлуоресцеин ди-( $\beta$ -D-

галактопиранозид) для  $\beta$ -галактозидазы; 3-ацетилумбеллиферил- $\beta$ -D-глюкопиранозид и 4-метилумбеллиферил- $\beta$ -D-глюкопиранозид для  $\beta$ -глюкозидазы; и 4-метилумбеллиферил- $\alpha$ -D-галактопиранозид для  $\alpha$ -галактозидазы. Примеры ферментов и субстратов для получения детектируемого сигнала также описаны, например, в публикации США 2012/0100540. Различные поддающиеся обнаружению ферментные субстраты, включая хромогенные или флуорогенные субстраты, хорошо известны и коммерчески доступны (Pierce, Rockford IL; Santa Cruz Biotechnology, Dallas TX; Invitrogen, Carlsbad CA; 42 Life Science; Biocare). Как правило, субстраты превращаются в продукты, образующие осадки, которые откладываются в месте расположения нуклеиновой кислоты-мишени. Другие типичные субстраты включают, но не ограничиваются ими, HRP-Green (42 Life Science), Betazoid DAB, Cardassian DAB, Romulin AEC, Bajoran Purple, Vina Green, Deep Space Black™, Warp Red™, Vulcan Fast Red и Ferangi Blue от Biocare (Concord CA; [biocare.net/products/detection/chromogens](http://biocare.net/products/detection/chromogens)).

**[00520]** В некоторых вариантах осуществления иммунологических анализов обнаруживаемая метка может быть непосредственно связана либо с первичным антителом, либо со вторичным антителом, которое обнаруживает немеченое первичное антитело. Примеры обнаруживаемых меток хорошо известны специалистам в данной области, включая, но не ограничиваясь ими, хромогенные или флуоресцентные метки (см. Hermanson, *Bioconjugate Techniques*, Academic Press, San Diego (1996)). Примеры флуорофоров, полезных в качестве меток, включают, но не ограничиваются ими, производные родамина, например, тетраметилродамин, родамин В, родамин 6G, сульфородамин В, тexasский красный (сульфородамин 101), родамин 110 и их производные, такие как тетраметилродамин-5-(или 6), лиссамин, родамин В и т.п.; 7-нитробенз-2-окса-1,3-диазол (НБД); флуоресцеин и его производные; нафталины, такие как дансил (5-диметиламинонафталин-1-сульфонил); производные кумарина, такие как 7-амино-4-метилкумарин-3-уксусная кислота (AMCA), 7-диэтиламино-3-[(4'-йодоацетил)амино]фенил]-4-метилкумарин (DCIA), красители Alexa fluor (молекулярные зонды) и т.п.; 4,4-дифтор-4-бора-3а, 4а-диаза-s-индацен (BODIPY™) и его производные (Molecular Probes; Eugene Oreg.); пирены и сульфированные пирены, такие как Cascade Blue™ и его производные, включая 8-метоксипирен-1,3,6-трисульфоновую кислоту и т.п.; производные пиридилоксазола и производные дапоксила (Molecular Probes); Люцифер желтый (3,6-дисульфонат-4-аминонафталимид) и его производные; флуоресцентные красители CyDye™ (Amersham/GE Healthcare Life Sciences; Piscataway NJ) и им подобные. Примеры хромофоров включают, но не ограничиваются ими, фенолфталеин, малахитовый

зеленый, нитроароматические соединения, такие как нитрофенил, диазокрасители, дабсил (4-диметиламиноазобензол-4'-сульфонил) и т.п.

**[00521]** Способы, хорошо известные специалистам в данной области, такие как микроскопия или спектроскопия, могут быть использованы для визуализации хромогенных или флуоресцентных обнаруживаемых сигналов, связанных со связанными первичными или вторичными антителами.

**[00522]** Методы, представленные в этом разделе (Раздел 5,8), можно использовать с различными моделями рака, известными в данной области. В одном варианте осуществления используют мышинные модели ксенотрансплантата рака. Вкратце, клетки T-24 и UM-UC-3 приобретают в ATCC и культивируют в рекомендуемых условиях среды. Клетки hNectin-4 T-24 (нектин-4 человека) и клетки UM-UC-3 Nectin-4 получают путем трансдукции родительских клеток лентивирусом, содержащим человеческий нектин-4, с использованием конструкции pRCDCMEP-CMV-hNectin-4 EF1-Puro и отбирали с использованием пурамицина. Клетки T-24 Nectin-4 (клон 1A9) имплантируют голым мышам и пассируют через троакар, что позволяет достичь объема опухоли примерно 200 мм<sup>3</sup>, а затем обрабатывали однократной внутрибрюшинной дозой (в/б) энфортумаб ведотина (3 мг/кг) или не связывающего ADC (3 мг/кг) с 7 животными на группу лечения. Последующие исследования ICD с использованием этой модели включали сбор опухолей через 5 дней после лечения для дальнейшего анализа с помощью секвенирования РНК, проточной цитометрии, иммуногистохимии (ИНС) и Luminex. Опухоли фиксируют в формалине и готовили в виде блоков ткани FFPE. Вырезают блоки размером 4 мкм и проводили иммуногистохимию с использованием F4/80, CD11c. Срезы иммуногистохимически окрашенных предметных стекол сканируют с помощью цифрового сканера целых предметных стекол Leica AT2, а изображения анализировали с помощью программного обеспечения Visiopharm с использованием специально разработанных алгоритмов для окрашивания нектина 4 - CD11c и F4/80. Алгоритмы были оптимизированы на основе интенсивности окрашивания и фонового окрашивания. Процент положительного окрашивания рассчитывают для нектина 4, а число положительных клеток на мм<sup>2</sup> рассчитывали для F480 и CD11c.

**[00523]** Срезы опухоли лизируют в буфере для лизиса клеток 2 (R&D Systems®, № по каталогу 895347). Цитокины и хемокины из образцов опухоли измеряют с использованием панели магнитных шариков мышинных цитокинов/хемокинов MILLIPLEX MAP (Millipore) и считывали в системе LUMINEX MAGPIX.

**[00524]** Для анализа секвенирования РНК РНК из быстрозамороженных опухолей

выделяют с использованием набора для очистки РНК TRIZOL Plus (Life Technologies) в соответствии с протоколом производителя с получением РНК высокого качества (среднее число целостности РНК  $> 8$ ). Метод отбора РНК заключается в использовании отбора Poly(A) и набора для подготовки библиотеки мРНК от Illumina и считывания на Hi-Seq 2 x 150 п.н., одиночный индекс (Illumina). Прочтения последовательности были сопоставляют с транскриптомом человека и мыши, и определяют общее количество прочтений на миллион.

**[00525]** Изобретения обычно представлено с использованием утверждений для описания многочисленных вариантов осуществления. Изобретение также явным образом включает варианты осуществления, в которых исключен конкретный объект, полностью или частично, такой как вещества или материалы, этапы и условия способа, протоколы, процедуры, методы оценки или анализа. Таким образом, даже несмотря на то, что изобретение, как правило, не выражено в настоящем описании в тех терминах, которые изобретение не включает, аспекты, которые явно не включены в изобретение, тем не менее раскрыты в данном документе.

**[00526]** В данном документе описаны конкретные варианты осуществления этого изобретения, включая наилучший способ осуществления изобретения, известный изобретателям. После прочтения вышеприведенного описания для специалистов, работающих в данной области техники, могут стать очевидными вариации раскрытых вариантов осуществления, и ожидается, что специалисты в данной области смогут использовать такие вариации по мере необходимости. Соответственно, предполагается, что изобретение может быть осуществлено иначе, чем конкретно описано в данном документе, и что изобретение включает все модификации и эквиваленты объекта, указанного в прилагаемой формуле изобретения, как это разрешено применимым законодательством. Более того, любое сочетание вышеописанных элементов во всех их возможных вариациях охватывается изобретением, если иное не указано в данном документе или иным образом явно не противоречит контексту.

**[00527]** Все публикации, патентные заявки, инвентарные номера и другие ссылки, цитируемые в этом описании, полностью включены в данное описание посредством ссылки, как если бы каждая отдельная публикация или патентная заявка были конкретно и индивидуально указаны для включения посредством ссылки.

**[00528]** Был описан ряд вариантов осуществления изобретения. Тем не менее понятно, что можно осуществлять различные модификации, не выходя за рамки сути и объема изобретения.

## 6. Примеры

[00529] Нижеследующее представляет собой описание различных методов и материалов, использованных в исследованиях, и представлено для того, чтобы предоставить специалистам в данной области полное раскрытие и описание того, как осуществить и использовать данное изобретение, и не предназначено для того, чтобы ограничить объем того, что изобретатели считают своим изобретением, а также они не предназначены для представления того, что эксперименты, описанные ниже, были проведены и являются всеми экспериментами, которые могут быть выполнены. Следует понимать, что примерные описания, написанные в настоящем времени, не обязательно выполнялись, а скорее описания могут выполняться для генерирования данных и т.п., связанных с принципами настоящего изобретения. Были приняты меры для сохранения точности в отношении используемых чисел (например, количеств, значений температуры и *т. д.*), однако следует учитывать некоторые экспериментальные ошибки и отклонения.

**6.1 Пример 1 – Одногрупповое открытое многоцентровое исследование энфортумаба ведотина (ASG-22CE) для лечения пациентов с местнораспространенным или метастатическим уротелиальным раком, которые ранее получали терапию ингибиторами иммунных контрольных точек (CPI).**

### 6.1.1 Препарат, используемый в клиническом исследовании

[00530] Энфортумаб ведотин представляет собой нацеленное на нектин-4 моноклональное антитело (AGS-22C3), ковалентно связанное с агентом, разрушающим микротрубочки, метилметансульфонатом E (MMAE). Энфортумаб ведотин состоит из трех функциональных субъединиц:

- полностью человеческое антитело IgG1K (AGS-22C3);
- агент, разрушающий микротрубочки MMAE;
- расщепляемый протеазой линкер малеимидокапроил-валин-цитруллин (vc), который ковалентно связывает MMAE с AGS-22C3.

[00531] Энфортумаб ведотин связывается с V-доменом нектин-4 (Challita-Eid *et al.*, Cancer Res (2016); 76(10): 3003-13.). В предполагаемом механизме действия препарат связывается с белком нектин-4 на поверхности клетки и интернализуется, вызывая протеолитическое расщепление линкера vc и внутриклеточное высвобождение MMAE. Свободный MMAE впоследствии нарушает полимеризацию тубулина и приводит к

остановке митоза.

### **6.1.2 Сущность исследования**

#### **6.1.2.1 *Краткое изложения***

##### **(i) Название исследуемого лекарственного средства**

[00532] Энфортумаб ведотин (ASG-22CE)

##### **(ii) Фаза разработки**

[00533] Фаза 2

##### **(iii) Название исследования**

[00534] Однорупповое открытое многоцентровое исследование энфортумаба ведотина (ASG-22CE) для лечения пациентов с местнораспространенным или метастатическим уротелиальным раком, ранее получавших терапию ингибиторами иммунных контрольных точек (CPI).

##### **(iv) Цель(и) исследования**

[00535] Первичные

- Определить противоопухолевую активность монотерапии энфортумабом ведотином, измеряемую по подтвержденной частоте объективных ответов (ORR) у пациентов с местнораспространенным или метастатическим уротелиальным раком, которые ранее получали системную терапию CPI и либо ранее получавшие платиносодержащую химиотерапию, либо не получавшие препараты платины и не подходящие для лечения цисплатином.

[00536] Вторичные

- оценить продолжительность ответа (DOR)
- оценить коэффициент контроля заболеваний (DCR)
- оценить выживаемость без прогрессирования (PFS)
- оценить общую выживаемость (OS)
- оценить безопасность и переносимость энфортумаба ведотина
- оценить фармакокинетику (PK) энфортумаба ведотина
- Оценить частоту встречаемости антитерапевтических антител (ATA)

[00537] Дополнительные

- изучить потенциальные корреляции между биомаркерами и клиническими

исходами

- оценить влияние лечения энфортумабом ведотином на качество жизни (QoL)

(v) **Популяция для исследования**

**[00538]** Исследуемая популяция включает пациентов с местнораспространенным или метастатическим уротелиальным раком, которые ранее получали терапию с помощью СР1, с измеримым заболеванием в соответствии с Критериями оценки ответа при солидных опухолях (RECIST), версия 1.1. Пациенты, получавшие СР1-терапию в неоадьювантном/адьювантном режиме и имеющие рецидив или прогрессирующее заболевание (PD) либо во время терапии, либо в течение 3 месяцев после завершения терапии, имеют право на участие.

**[00539]** Пациенты также должны быть: 1) получавшими лечение платиной (когорты 1): пациенты, которые ранее получали платиносодержащую химиотерапию, определяемые как пациенты, получавшие платину в рамках адьювантной/неоадьювантной терапии и у которых было рецидивирующее или прогрессирующее заболевание в течение 12 месяцев после завершения, ИЛИ получавшие лечение платиной в местнораспространенных (определяемой как нерезектабельная с лечебной целью) или метастатических условиях; ИЛИ 2) пациенты, ранее не получавшие препараты платины, и не подходящие для лечения цисплатином (когорты 2): Пациенты, которые ранее не получали платиносодержащую или другую химиотерапию при местнораспространенных или метастатических условиях и не подходящие для лечения цисплатином на момент включения. Пациенты, получавшие препараты платины в рамках адьювантной/неоадьювантной терапии и не наступившие в течение 12 месяцев после завершения лечения, будут считаться ранее не получавшими платину.

**[00540]** У пациентов должно быть PD во время или после последней терапии. Подходящие пациенты должны быть старше 18 лет и должны быть совершеннолетними в соответствии с местным законодательством. Пациенты должны иметь статус производительности Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG)  $\leq 1$  для когорты 1 или ECOG  $\leq 2$  для когорты 2. Пациенты должны иметь ожидаемую продолжительность жизни  $\geq 3$  месяцев по оценке исследователя. Пациенты должны иметь адекватные исходные гематологические, печеночные и почечные функции.

**[00541]** Пациенты не должны иметь текущую сенсорную или моторную невропатию (степень 2 или выше) или активные метастазы в центральной нервной системе. Пациенты не должны быть ранее включены в исследование энфортумаба ведотина или ранее получали

другие конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC) на основе монометилауристатина Е (ММАЕ). Нет ограничений для предыдущих линий терапии, включая таксаны. Пациенты не должны иметь в анамнезе другого злокачественного новообразования в течение 3 лет или каких-либо признаков остаточного заболевания от ранее диагностированного злокачественного новообразования.

**[00542]** Пациенты также исключаются из исследования, если они в настоящее время получают системную противомикробную терапию по поводу активной инфекции или высокие дозы стероидов. Исключаются пациенты с неконтролируемым диабетом. Неконтролируемый диабет определяется как гемоглобин А1С (HbA1c)  $\geq 8\%$  или HbA1c 7– $<8\%$  с сопутствующими симптомами диабета (полиурия или полидипсия), которые иначе не объясняются. У пациентов не должно быть неконтролируемой боли в костях, связанной с опухолью, или угрозы компрессии спинного мозга. Пациенты, нуждающиеся в обезболивающих препаратах, на момент включения должны находиться на стабильном режиме (минимум 2 недели).

(vi) **Количество запланированных пациентов**

**[00543]** Приблизительно 200 пациентов будут включены в это исследование, в том числе приблизительно 100 или более пациентов, получавших платину (когорта 1), и приблизительно до 100 пациентов, ранее не получавших препараты платины и не подходящие для лечения цисплатином (когорта 2).

(vii) **Дизайн исследования**

**[00544]** Это одностороннее, открытое, многоцентровое исследование, предназначенное для оценки эффективности и безопасности энфортумаба ведотина в качестве монотерапии у пациентов с местнораспространенным или метастатическим уротелиальным раком, которые ранее получали системную терапию с СР1. Для целей данного исследования СР1 определяется как ингибитор белка программируемой клеточной смерти 1 (PD-1) или ингибитор лиганда программируемой смерти 1 (PD-L1) (включая, но не ограничиваясь: атезолизумаб, пембролизумаб, дурвалумаб, авелумаб и ниволумаб). Пациенты должны либо ранее получать платиносодержащую химиотерапию (когорта 1), либо не получать ранее химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию и не подходить для лечения цисплатином на момент включения (когорта 2).

**[00545]** Энфортумаб ведотин в дозе 1,25 мг/кг будет вводиться в виде внутривенной инфузии (в/в) в течение приблизительно 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного цикла. Пациенты будут продолжать получать исследуемое лечение до прогрессирования

заболевания, неприемлемой токсичности, решения исследователя, отзыва согласия, начала последующей противоопухолевой терапии, наступления беременности или прекращения исследования спонсором. После прекращения исследуемого лечения пациенты будут наблюдаться каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя) для оценки ответа, состояния производительности по шкале ECOG и физического осмотра. После 1 года исследования частота повторных осмотров, включая оценку ответа, будет снижена до каждые 12 недель ( $\pm 1$  неделя). С пациентами, которые прогрессировали или начали последующую противораковую терапию, будут связываться каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя) до 1 года исследования и каждые 12 недель ( $\pm 1$  неделя) после этого для получения информации о последующей противоопухолевой терапии и статусе выживания до смерти, закрытии исследования или отзыве согласия, в зависимости от того, что произойдет раньше. Исследование будет закрыто через 5 лет после регистрации последнего пациента или когда ни один пациент не останется под длительным наблюдением, в зависимости от того, что произойдет раньше. Кроме того, спонсор может прекратить исследование в любое время.

**[00546]** Периодически независимый комитет по мониторингу данных (IDMC) будет контролировать безопасность пациентов, участвующих в этом исследовании. IDMC будет нести ответственность за оценку результатов анализа безопасности и будет давать рекомендации спонсору. Постоянный обзор безопасности пациентов и серьезных нежелательных явлений (SAE) в режиме реального времени также будет проводиться отделом безопасности лекарственных средств спонсора.

(viii) **Исследуемый препарат, доза и способ применения**

**[00547]** Энфортумаб ведотин 1,25 мг/кг будет вводиться в виде внутривенной инфузии в течение приблизительно 30 минут в 1, 8 и 15 день каждого 28-дневного цикла.

(ix) **Продолжительность лечения**

**[00548]** Пациенты будут продолжать исследуемое лечение до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности, решения исследователя, отзыва согласия, начала последующей противоопухолевой терапии, наступления беременности или прекращения исследования спонсором.

(x) **Оценка эффективности**

**[00549]** Показатели противоопухолевой активности будут оцениваться с помощью компьютерной томографии (КТ) с контрастом приблизительно каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя). После 1 года обучения оценка ответа будет сокращена до каждые 12 недель ( $\pm 1$

неделя). График оценки ответа не следует корректировать из-за задержек/перерывов в приеме дозы или других причин изменения времени проведения исследования пациентом; моменты времени для оценки ответа должны быть рассчитаны от цикла 1 день 1 во время лечения. Для пациентов, которые не могут получить КТ с контрастом, могут использоваться другие методы визуализации, указанные в протоколе. Пациенты должны оцениваться с использованием одного и того же метода визуализации на протяжении всего исследования для оценки эффективности. КТ с контрастом как минимум будет включать грудную клетку, брюшную полость и таз. Другие области следует сканировать, если пациент знает или подозревает заболевание в этой области. Ответы (полный ответ (CR) или частичный ответ (PR)) будут подтверждены повторными сканированиями через 4 недели (окно +1 неделя) после первого документирования ответа. Определение противоопухолевой активности будет основано на подтвержденных объективных оценках ответа, как определено RECIST версии 1.1.

**[00550]** Ответ и прогрессирование будут оцениваться независимым исследовательским центром (IRF). Исследователь будет принимать решения о лечении на основе оценки результатов сканирования с помощью RECIST.

**[00551]** Пациенты, прекратившие прием исследуемого лекарственного средства по причинам, отличным от объективного прогрессирования заболевания по версии RECIST, будут продолжать проходить сканирование через 8 недель ( $\pm 1$  неделя) после предыдущего сканирования для оценки ответа и каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя) после предыдущего сканирования после этого. Через 1 год исследования частота оценки ответа будет снижена до каждые 12 недель ( $\pm 1$  неделя). Оценка опухоли будет продолжаться до тех пор, пока у пациента не будет рентгенологически подтверждено прогрессирование заболевания в соответствии с как это определено исследователем, он не начнет новую противораковую терапию, не умрет или не откажется от согласия, или исследование не закроется, в зависимости от того, что наступит раньше.

(xi) **Фармакокинетические и АТА оценки**

**[00552]** Образцы крови для РК и АТА будут собираться на протяжении всего исследования. Квалифицированные или утвержденные анализы будут использоваться для измерения концентраций энфортумаба ведотина ADC, общего количества антител (TA<sub>b</sub>) и ММАЕ в сыворотке или плазме и оценки АТА.

(xii) **Оценка биомаркеров**

**[00553]** Образцы для поисковых биомаркеров будут собираться в моменты времени,

указанные в протоколе. Оценки биомаркеров не будут использоваться для отбора пациентов. Оценки биомаркеров в опухолевой ткани могут включать, но не ограничиваться этим, опухолевую экспрессию белка нектин-4, экспрессию матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК), маркеры подтипа заболевания и маркеры иммунного микроокружения в опухоли. Оценка в образцах крови может включать, но не ограничиваться ими, иммунной функции, включая обилие и фенотип субпопуляций иммунных клеток, циркулирующую опухолевую ДНК (цоДНК) и обилие цитокинов. Методы анализа могут включать иммуногистохимию (ИНС), секвенирование следующего поколения, полимеразную цепную реакцию (ПЦР), профилирование мутаций и экспрессии генов, секвенирование бета-цепи Т-клеточного рецептора, проточную цитометрию и иммуноанализ.

(xiii) **Оценки безопасности**

**[00554]** Оценка безопасности будет основываться на информации, собранной в процессе надзора за безопасностью, и будет включать данные о зарегистрированных нежелательных явлениях (АЕ), включая SAE, записи о сопутствующих лекарственных средствах, результаты медицинского осмотра, кардиомониторинг и лабораторные анализы.

(xiv) **Оценка качества жизни**

**[00555]** Оценки результатов, сообщаемых пациентами (PRO), будут использоваться для получения информации о качестве жизни в моменты времени, указанные в протоколе. Будут использоваться следующие утвержденные инструменты: опросник качества жизни Европейской организации по исследованию и лечению рака (EORTC) (QLQ-C30) и 5-мерный EuroQol (EQ-5D).

(xv) **Статистические методы**

(a) **Анализ первичной конечной точки**

**[00556]** Первичной конечной точкой этого исследования является подтвержденный ORR на IRF. ORR определяется как доля пациентов с подтвержденным CR или PR в соответствии с версией 1.1 RECIST. ORR на IRF и его точный двусторонний 95 % доверительный интервал (CI) с использованием метода Клоппера-Пирсона (Clopper *et al.*, *Biometrika* (1934); 26(4): 404-413) будет рассчитан.

**[00557]** В исследовании участвуют 2 когорты пациентов, получавших CPI: Когорта 1) пациенты, получавшие платину, как определено в популяции исследования выше, и когорта 2) пациенты, ранее не получавшие платину, и пациенты, не подходящие для лечения цисплатином, также определенные в популяции исследования выше. Первичная конечная

точка будет анализироваться отдельно для каждой когорты и может быть проанализирована для всех пациентов, объединяя обе когорты 1 и 2.

**[00558]** Первичный анализ в когорте 1 (пациенты, получающие платину) будет проводиться после завершения регистрации в когорте 1, и все пациенты в когорте наблюдались в течение не менее 6 месяцев, или прекратили участие в исследовании, или прошли 30-дневное наблюдение за безопасностью после PD, в зависимости от того, что наступит раньше. Анализ для когорты 2 будет происходить в 4 момента времени: 1) на момент анализа когорты 1, 2) когда приблизительно 50 пациентов в когорте 2 имели возможность наблюдаться в течение приблизительно 8 месяцев после первой дозы энфортумаба ведотина, 3) когда приблизительно 70 пациентов в когорте 2 получали возможность наблюдения в течение приблизительно 8 месяцев с момента приема первой дозы энфортумаба ведотина и 4) когда все пациенты в когорте 2 имели возможность наблюдения в течение приблизительно 8 месяцев после приема первой дозы энфортумаба ведотина. Все пациенты также могут быть проанализированы во время анализа когорты 1 и/или когорты 2.

**[00559]** Первичный анализ конечных точек эффективности будет основываться на полном наборе данных для анализа, включая всех пациентов, включенных в исследование и получивших любое количество энфортумаба ведотина. Во время промежуточных анализов для когорты 2 будет проведен дополнительный анализ конечных точек эффективности на основе оцениваемой выборки эффективности, включая всех пациентов в полной выборке для анализа, которые начали лечение энфортумабом ведотином по крайней мере за 8 месяцев до окончания анализа данных.

(b) Объем выборки

**[00560]** Исследование предназначено для оценки подтвержденной ORR у пациентов, получающих энфортумаб ведотин, и выявления улучшения ORR по сравнению с частотой ответа в прошлом, равной 10 %. Приблизительно 200 пациентов будут включены в это исследование для обеспечения сбора достаточных данных об эффективности и безопасности, в том числе приблизительно 100 или более пациентов, получавших платину (когорта 1), и приблизительно до 100 пациентов, ранее не получавших препараты платины и не получавших цисплатин (когорта 2). Используя оценку приблизительно 100 пациентов в когорте 1, исследование будет иметь мощность 98 % для выявления увеличения ORR на 15 % с 10 до 25 % и мощность 81 % для выявления увеличения ORR на 10 % с 10 до 20 %, при одностороннем значимом уровне 0,025, на основе точных методов с использованием EAST®, версия 6.0, Cytel Inc.

**[00561]** Подтвержденная ORR и 95 % точный CI в когорте 2 будут суммированы в 4 временных точках: 1) на момент анализа когорты 1, 2) когда приблизительно 50 пациентов в когорте 2 имели возможность наблюдаться в течение приблизительно 8 месяцев после первой дозы энфортумаба ведотина, 3) когда приблизительно 70 пациентов в когорте 2 получали возможность наблюдения в течение приблизительно 8 месяцев с момента приема первой дозы энфортумаба ведотина и 4) когда все леченные пациенты в когорте 2 имели возможность наблюдения в течение приблизительно 8 месяцев после приема первой дозы энфортумаба ведотина.

**[00562]** В целях иллюстрации в Таблице 6 ниже приводится описание ожидаемых 95 % CI для когорты 2 в различные моменты времени анализа, при условии наблюдаемой ORR 30 %:

**Таблица 6.**

Число пациентов	Ожидаемый 95 % доверительный интервал
N=20	12%–54%
N=50	18%–45%
N=70	20%–42%
N=100	21%–40%

### 6.1.3 Цели

**[00563] Первичная цель**

**[00564]** Определить противоопухолевую активность монотерапии энфортумабом ведотином, измеряемую по подтвержденной ORR пациентов с местнораспространенным или метастатическим уротелиальным раком, которые ранее получали системную терапию CPI и либо ранее получавшие платиносодержащую химиотерапию, либо не получавшие препараты платины и не подходящие для лечения цисплатином.

**[00565] Вторичные цели включают:**

- Оценить DOR,
- Оценить коэффициент контроля заболеваний (DCR),
- Оценить PFS,
- Оценить OS,
- Оценить безопасность и переносимость энфортумаба ведотина,

- Оценить фармакокинетику (PK) энфортумаба ведотина, и
- Оценить частоту встречаемости антитерапевтических антител (АТА).

**[00566] Дополнительные цели включают:**

- изучить потенциальные корреляции между биомаркерами и клиническими исходами, и
- оценить влияние лечения энфортумабом ведотином на качество жизни (QoL)

**[00567] Конечные точки**

**[00568] Первичный критерий оценки**

**[00569]** Первичной конечной точкой эффективности в этом исследовании является ORR (подтвержденный CR или PR в соответствии с критериями оценки ответа при солидных опухолях (RECIST), версия 1.1), как определено в ходе слепого независимого центрального обзора (BICR), проведенного независимым исследовательским центром (IRF).

**[00570] Вторичные конечные точки**

- DOR (подтвержденный CR или PR) на IRF
- DCR<sub>16</sub> (показатель контроля заболевания (CR, PR или SD) через 16 недель) на IRF
- PFS на IRF
- ORR по оценке исследователя
- DOR по оценке исследователя
- DCR<sub>16</sub> по оценке исследователя
- PFS по оценке исследователя
- OS
- Тип, частота, тяжесть, серьезность и взаимосвязь АЕ
- Лабораторные отклонения
- Выбранные фармакокинетические параметры энфортумаба ведотина в плазме или сыворотке, ММАЕ и общего антитела (TAb)
- Частота АТА при применении энфортумаба ведотина

**[00571] Дополнительные конечные точки**

- Биомаркеры биологической и клинической активности, включая экспрессию нектин-4
- Исходы, сообщаемые пациентами (PRO) в соответствии с опросником качества жизни Европейской организации по исследованию и лечению рака (EORTC) (QLQ-C30)
- PRO в соответствии с EuroQol 5 измерений (EQ-5D), включая значения полезности

для здоровья и визуальную аналоговую шкалу

#### **6.1.4 План исследования**

##### **6.1.4.1 *Краткое изложение плана исследования***

**[00572]** Это однокрупное, открытое, многоцентровое исследование, предназначенное для оценки эффективности и безопасности энфортумаба ведотина в качестве монотерапии у пациентов с местнораспространенным или метастатическим уротелиальным раком, которые ранее получали системную терапию с СРІ. Пациенты также должны либо ранее получать платиносодержащую химиотерапию (когорты 1), либо не получать ранее химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию и не подходить для лечения цисплатином на момент включения. (Когорты 2). У пациентов должно быть прогрессирование заболевания (PD) во время или после последней терапии. Нет ограничений для предыдущих линий терапии, включая таксаны.

**[00573]** Энфортумаб ведотин в дозе 1,25 мг/кг будет вводиться в виде внутривенной инфузии (в/в) в течение приблизительно 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного цикла. Показатели противоопухолевой активности будут оценивать с помощью компьютерной томографии (КТ с контрастом, если нет противопоказаний) каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя), начиная с цикла 1 и заканчивая днем 1 во время лечения. Через 1 год исследования частота оценки ответа будет снижена до каждые 12 недель ( $\pm 1$  неделя). Пациенты будут продолжать получать исследуемое лечение до прогрессирования заболевания, неприемлемой токсичности, решения исследователя, отзыва согласия, начала последующей противоопухолевой терапии, наступления беременности или прекращения исследования спонсором. После прекращения исследуемого лечения пациенты будут наблюдаться каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя) для оценки ответа, состояния производительности по шкале Восточной кооперативной онкологической группы (ECOG) и физического осмотра. После 1 года исследования частота повторных визитов, включая оценку ответа, будет снижена до каждые 12 недель ( $\pm 1$  неделя). Пациенты, у которых рентгенологически подтверждено прогрессирование заболевания (в соответствии с RECIST 1.1, как определено исследователем) или которые начали последующую противораковую терапию, будут контактировать каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя) до 1 года исследования и каждые 12 недель ( $\pm 1$  неделя) после этого для получения информации о последующей противоопухолевой терапии и статусе выживания до смерти, закрытия исследования, отзыва согласия или потери пациента для последующего наблюдения, в зависимости от того, что произойдет раньше (см. **ФИГ. 2**). Исследование будет закрыто через 5 лет после

регистрации последнего пациента или когда ни один пациент не останется под длительным наблюдением, в зависимости от того, что произойдет раньше. Кроме того, спонсор может прекратить исследование в любое время.

**[00574]** Периодически IDMC контролировать безопасность пациентов, участвующих в этом исследовании. IDMC будет нести ответственность за оценку результатов анализа безопасности и будет давать рекомендации спонсору. IDMC может также запросить данные об эффективности, если это необходимо, чтобы оценить риск/пользу, прежде чем давать рекомендации. IDMC будет давать рекомендации по продолжению исследования без изменений, изменению исследования или прекращению исследования. Если АЕ роговицы наблюдаются у <15 % из первых 60 включенных пациентов (из когорт 1 и/или 2) и если явления, как правило, слабовыраженные или бессимптомные, IDMC может дать рекомендацию о прекращении осмотров с помощью щелевой лампы цикла 2, день 22, и/или цикла 6, день 22, для остальных пациентов, если это оправдано на основании обзора совокупных данных о безопасности глаз. IDMC сообщит рекомендации спонсору. Окончательное решение действовать в соответствии с рекомендациями IDMC будет приниматься спонсором. IDMC рекомендовал прекратить осмотры на 22-й день цикла 2 и 22-й день цикла 6 в июле 2018 г. и августе 2019 г., соответственно.

**[00575]** Постоянный обзор безопасности пациентов и SAE режиме реального времени также будет проводиться отделом безопасности лекарственных средств спонсора.

#### **6.1.4.2** *Обсуждение и обоснование дизайна исследования*

**[00576]** В это исследование будут включены пациенты, ранее получавшие СРІ-терапию. Основываясь на предыдущих схемах лечения, ожидается, что таксаны или винфлунин станут следующей линией терапии для лечения рецидива заболевания после СРІ, но ожидается, что частота ответа составит всего 9 %–13 % (Bellmunt *et al.*, *N Engl J Med* (2017); 376(11): 1015-26; Bellmunt *et al.*, *J Clin Oncol* (2009); 27(27): 4454-61; Choueiri *et al.*, *Clin Onco* (2012); 1 30(5): 507-12.; McCaffrey *et al.*, *Curr Opin Urol* (1997); 26(6): 556-63.). Данные, представленные в недавнем исследовании пациентов, получавших доцетаксел после терапии платиной и СРІ, показали ORR 10,5%. (n=2/19) (Drakaki *et al.*, *J Clin Oncol* (2018); 36(6\_suppl): Abstract 434). Недавно 10 % использовалось в качестве исторической частоты ответа, ожидаемой как для пациентов второго ряда, предварительно получавших препараты платины, так и для пациентов первого ряда, не подходящих для лечения цисплатином (Balar *et al.*, *Lancet* (2017); 389(10064): 67-76; Rosenberg *et al.*, *Lancet* (2016); 387(10031): 1909-20.). Учитывая, что пациенты, включенные в текущее исследование, имеют плохой прогноз и представляют собой область неудовлетворенных медицинских потребностей, нижняя

граница точного 95 % доверительного интервала (CI) для ORR, который исключает историческую частоту ответов 10 %, считается значительное улучшение по сравнению с доступными в настоящее время методами лечения с предлагаемым набором примерно 100 пациентов.

**[00577]** Первичная конечная точка этого исследования, подтвержденная ORR, является прямым показателем противоопухолевой активности и является приемлемой суррогатной конечной точкой (Руководство FDA для промышленности «Конечные точки клинических испытаний для утверждения противораковых препаратов и биологических препаратов»). Для дальнейшей оценки значимости ORR в этом исследовании продолжительность ответа будет оцениваться как вторичная конечная точка. Кроме того, стандартизированный критерий RECIST (Версия 1.1, см. Таблицу 28) (Eisenhauer *et al.*, Eur J Cancer (2009); 45(2): 228-47) будет использоваться следователями и IRF для оценки ответов. Ответы будут подтверждены в соответствии с IRF с повторным сканированием через 4 недели (+1 неделя) после первоначального документирования ответа.

**[00578]** ORR можно оценивать в исследовании с одной группой, когда оно определяется как сумма PR плюс CR (Руководство FDA для отрасли «Конечные точки клинических испытаний для утверждения противораковых препаратов и биологических препаратов»). Кроме того, чтобы обеспечить последовательное и непредвзятое применение критериев RECIST в этом открытом исследовании, все оценки изображений, выполненные для подтверждения статуса заболевания при включении в исследование и для оценки ответов во время исследования, будут представлены в независимую стороннюю основную лабораторию визуализации.

(i) Методика распределения пациентов по группам лечения

**[00579]** Это однокрупное исследование, в котором все пациенты будут получать 1,25 мг/кг энфортумаба ведотина в виде внутривенной инфузии в течение приблизительно 30 минут в 1, 8 и 15 день каждого 28-дневного цикла лечения.

(ii) Открытость исследования

**[00580]** Это открытое исследование с одной группой.

#### **6.1.5 Популяция для исследования**

**[00581]** Все соответствующие медицинские и немедицинские условия должны быть приняты во внимание при принятии решения о том, подходит ли этот протокол для конкретного пациента. Пациенты должны соответствовать всем критериям включения,

чтобы иметь право на участие в этом исследовании. Критерии приемлемости не могут быть отклонены исследователем и подлежат пересмотру в случае аудита надлежащей клинической практики и/или инспекции регулирующего органа здравоохранения.

**[00582]** Основываясь на распространенности высокой экспрессии нектин-4 в этой популяции пациентов с метастатическим уротелиальным раком, как было установлено ранее, это исследование фазы 2 не включает явных требований приемлемости для минимального уровня экспрессии нектин-4. Однако экспрессию нектин-4 оценивают с опухолевой тканью, собранной при скрининге.

#### **6.1.5.1** *Критерии включения*

**[00583]** Пациенты должны иметь гистологически подтвержденную уротелиальную (ранее известную как переходно-клеточная) карциному (то есть рак мочевого пузыря, почечной лоханки, мочеточника или уретры). Подходят пациенты с плоскоклеточной дифференцировкой или смешанными типами клеток. Пациенты с резектабельным местнораспространенным заболеванием не подходят.

**[00584]** Пациент должен пройти предварительное лечение с помощью СР1 в условиях местнораспространенного или метастатического уротелиального рака. Пациенты, получавшие СР1-терапию в неоадьювантном/адьювантном режиме и имеющие рецидив или прогрессирующее заболевание либо во время терапии, либо в течение 3 месяцев после завершения терапии, имеют право на участие. СР1 определяется как ингибитор PD-1 или ингибитор PD-L1 (включая, без ограничения: атезолизумаб, пембролизумаб, дурвалумаб, авелумаб и ниволумаб).

**[00585]** Пациенты должны быть одним из следующих:

- получавшими лечение платиной (когорта 1): пациенты, которые ранее получали платиносодержащую химиотерапию, определяемые как пациенты, получавшие платину в рамках адьювантной/неоадьювантной терапии и у которых было рецидивирующее или прогрессирующее заболевание в течение 12 месяцев после завершения, ИЛИ получавшие лечение платиной в местнораспространенных (определяемой как нерезектабельная с лечебной целью) или метастатических условиях; или
- пациенты, ранее не получавшие препараты платины, и не подходящие для лечения цисплатином (когорта 2): пациенты, которые ранее не получали платиносодержащую или другую химиотерапию при местнораспространенной или метастатической форме и не подходят для лечения цисплатином на момент

включения в исследование из-за одного из следующего: оценка статус производительности ECOG, равная 2; нарушение функции почек (определяемое как клиренс креатинина (CrCl)  $\geq 30$  и  $< 60$  мл/мин) или потеря слуха  $\geq 2$  степени. Пациенты, получавшие препараты платины в рамках адъювантной/неоадъювантной терапии и не наступившие в течение 12 месяцев после завершения лечения, будут считаться ранее не получавшими платину.

**[00586]** У пациентов должно быть прогрессирующее или рецидивное уротелиальное раковое заболевание во время или после получения самой последней терапии.

**[00587]** Образцы опухолевой ткани должны быть доступны для отправки спонсору до начала лечения в рамках исследования.

**[00588]** Юридически совершеннолетний в соответствии с местным законодательством на момент подписания информированного согласия, и минимальный возраст 18 лет.

**[00589]** Пациенты должны иметь измеримое заболевание в соответствии с RECIST (версия 1.1) (Eisenhauer *et al.*, Eur J Cancer(2009); 45(2): 228-47.). Поражения в предшествующем поле облучения должны прогрессировать после лучевой терапии, чтобы считаться измеримыми.

**[00590]** Оценка статуса производительности по шкале ECOG  $\leq 1$  для когорты 1 или  $\leq 2$  для когорты 2.

**[00591]** Следующие исходные лабораторные данные, оцененные на месте (за 2 недели до скрининга не разрешается переливание крови):

- абсолютное количество нейтрофилов  $\geq 1,0 \times 10^9/\text{л}$
- количество тромбоцитов  $\geq 100 \times 10^9/\text{л}$
- гемоглобин  $\geq 9$  г/дл
- билирубин в сыворотке  $\leq 1,5 \times$  верхняя граница нормы (ULN) или  $\leq 3 \times$  ULN для пациентов с болезнью Жильбера
- CrCl  $\geq 30$  мл/мин, измеренный при 24-часовом сборе мочи или оцененный по критериям Кокрофта-Голта
- аланинаминотрансфераза (ALT) и аспартатаминотрансфераза (AST)  $\leq 3 \times$  ULN

#### 6.1.5.2 Критерии исключения

**[00592]** Текущая сенсорная или моторная невропатия  $\geq 2$  степени.

**[00593]** Активные метастазы в центральной нервной системе (ЦНС). Пациенты с пролеченными метастазами в ЦНС допускаются к исследованию, если выполняются все следующие условия:

- Метастазы в ЦНС были клинически стабильными в течение по меньшей мере 6 недель до скрининга, а исходное сканирование не показывает признаков новых или увеличенных метастазов.
- Если требуется лечение стероидами при метастазах в ЦНС, пациентов находится на стабильной дозе.
- $\leq 20$  мг/день преднизолона или эквивалента в течение по меньшей мере 2 недель
- Пациент не имеет лептоменингеального заболевания

**[00594]** Продолжающаяся клинически значимая токсичность (степень 2 или выше), связанная с предшествующим лечением (включая системную терапию, лучевую терапию или хирургическое вмешательство). Могут быть включены пациенты с гипотиреозом  $\leq 2$  степени или пангипопитуитаризмом, связанными с лечением ингибиторами PD-1 и PD-L1. Пациенты, получающие заместительную гормональную терапию, могут быть зачислены, если они получают стабильную дозу. Пациенты с гипотиреозом или пангипопитуитаризмом  $\geq 3$  степени, связанным с иммунотерапией, исключаются. Пациенты с миокардитом, колитом, увеитом или пневмонитом, связанными с иммунотерапией, исключаются. Пациенты с другими нежелательными явлениями, связанными с иммунотерапией, требующие высоких доз стероидов ( $> 20$  мг/день преднизолона или эквивалента), исключаются.

**[00595]** Предварительное участие в исследовании энфортумаба ведотина или предшествующее лечение другими ADC на основе MMAE.

**[00596]** Наличие в анамнезе другого злокачественного новообразования в течение 3 лет до первой дозы исследуемого препарата или любые признаки остаточного заболевания от ранее диагностированного злокачественного новообразования. Пациенты с немеланомным раком кожи, локализованным раком предстательной железы, получавшим лечение с целью излечения без признаков прогрессирования, локализованный рак предстательной железы с низким или очень низким риском (в соответствии со стандартными рекомендациями) под активным наблюдением/выжидательным наблюдением без намерения лечить или карцинома *in situ* любого типа (если была выполнена полная резекция).

**[00597]** В настоящее время получает системную противомикробную терапию в отношении активной инфекции (вирусной, бактериальной или грибковой) во время введения первой дозы энфортумаба ведотина. Разрешена рутинная антимикробная профилактика.

**[00598]** Пациенты с положительным поверхностным антигеном гепатита В и/или ядерным антителом против гепатита В. Пациентам с отрицательным результатом анализа

полимеразной цепной реакции (ПЦР) разрешена соответствующая противовирусная профилактика.

**[00599]** Активная инфекция гепатита С или известная инфекция вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Пациенты, получавшие лечение от инфекции гепатита С, допускаются, если у них подтвержден устойчивый вирусологический ответ в течение  $\geq 12$  недель.

**[00600]** Наличие в анамнезе задокументированного нарушения мозгового кровообращения (инсульт или транзиторная ишемическая атака), нестабильной стенокардии, инфаркта миокарда или сердечных симптомов (включая застойную сердечную недостаточность), соответствующие классу III-IV (см 0) Нью-Йоркской кардиологической ассоциации, в течение 6 месяцев до первой дозы исследуемого лекарственного средства.

**[00601]** Лучевая терапия или серьезное хирургическое вмешательство в течение 2 недель до первой дозы исследуемого лекарственного средства.

**[00602]** Химиотерапия, биопрепараты, исследуемые агенты и/или противоопухолевое лечение иммунотерапией, и получение не было завершено за 2 недели до первой дозы исследуемого лекарственного средства.

**[00603]** Известная гиперчувствительность к энфортумабу ведотину или любому вспомогательному веществу, содержащемуся в лекарственной форме энфортумаба ведотина (включая гистидин, дигидрат трегалозы и полисорбат 20).

**[00604]** Пациенты с активным кератитом или изъязвлением роговицы. Пациенты с поверхностным точечным кератитом допускается, если, по мнению исследователя, заболевание адекватно лечится.

**[00605]** Другое основное заболевание, которое, по мнению исследователя, ухудшит способность пациента получать или переносить запланированное лечение и последующее наблюдение.

**[00606]** Пациенты с неконтролируемым диабетом. Неконтролируемый диабет определяется как гемоглобин A1c (HbA1c)  $\geq 8\%$  или HbA1c  $7- < 8\%$  с сопутствующими симптомами диабета (полиурия или полидипсия), которые иначе не объясняются.

**[00607]** Неконтролируемая боль в костях, связанная с опухолью, или угроза компрессии спинного мозга. Пациенты, нуждающиеся в обезболивающих препаратах, на момент включения должны находиться на стабильном режиме (минимум 2 недели).

### **6.1.6 Обработка**

#### **6.1.6.1 *Проведенное лечение***

**[00608]** Пациенты в этом исследовании будут получать энфортумаб ведотин в дозе 1,25 мг/кг в виде внутривенной инфузии в течение приблизительно 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного цикла.

#### **6.1.6.2** *Исследовательское лекарственное средство*

##### **(i) Описание**

**[00609]** Энфортумаб ведотин получают путем конъюгации химического промежуточного соединения, содержащего как MMAE, так и линкерных субъединиц, с цистеиновыми остатками антитела. Полученный ADC содержит в среднем 3,8 молекулы лекарственного средства на антитело. Лекарственный препарат энфортумаб ведотин представляет собой стерильный, не содержащий консервантов, лиофилизированный порошок от белого до почти белого цвета, который можно разводить для внутривенного введения. Энфортумаб ведотин поставляется в однодозовых флаконах по 30 мг.

##### **(ii) Доза и введение**

**[00610]** Энфортумаб ведотин в дозе 1,25 мг/кг будет вводиться в виде в/в инфузии в течение приблизительно 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного цикла. При отсутствии инфузионных реакций (IRR) скорость инфузии для всех пациентов должна быть рассчитана таким образом, чтобы период инфузии составлял приблизительно 30 минут. Энфортумаб ведотин нельзя вводить в виде в/в толчков или болюсов. Энфортумаб ведотин не следует смешивать с другими лекарственными средствами. Между дозами энфортумаба ведотина должно пройти не менее 1 недели.

**[00611]** Дозирование на основе массы тела рассчитывается с использованием фактической массы тела пациента. Исключение для дозирования по массе сделано для пациентов с массой тела более 100 кг; дозы будут основаны на 100 кг для этих лиц. Максимальная доза, разрешенная в этом исследовании, составляет 125 мг.

**[00612]** Дозы должны быть скорректированы для пациентов, у которых наблюдается изменение массы тела на  $\geq 10\%$  по сравнению с исходным уровнем или предыдущим циклом. Масса пациента должна измеряться во время всех соответствующих периодов оценки, как описано в Таблице 26. Другие корректировки дозы для изменений массы тела  $< 10\%$  разрешены в соответствии с институциональным стандартом.

**[00613]** Место инъекции следует тщательно контролировать на предмет покраснения, отека, боли и инфекции во время и в любое время после введения. Пациентам следует рекомендовать немедленно сообщать о покраснении или дискомфорте во время введения

или после инфузии. Для введения химиотерапевтических агентов и мер предосторожности, принятых для предотвращения экстравазации, будут соблюдаться институциональные руководства в соответствии с институциональными стандартами и как описано в “Chemotherapy and Biotherapy Guidelines and Recommendations for Practice” (Polovich *et al.*, Oncology Nursing Society (2014): 155-70) и “Management of Chemotherapy Extravasation: ESMO-EONS Clinical Practice Guidelines” (Perez Fidalgo *et al.*, Eur J Oncol Nurs (2012); 16(5): 528-34.).

**[00614]** Пациента следует наблюдать во время введения энфортумаба ведотина и в течение не менее 60 минут после инфузии в течение первых 3 циклов. Все поддерживающие меры, соответствующие оптимальному уходу за субъектом, должны применяться на протяжении всего исследования в соответствии с институциональными стандартами.

(iii) **Модификация дозы**

**[00615]** В зависимости от типа и степени тяжести токсичности допускается снижение внутривенной дозы до 1 мг/кг (уровень дозы -1) и до 0,75 мг/кг (уровень дозы -2). Пациентам, которым требуется снижение дозы, можно повторно увеличить дозу на 1 уровень (т. е. пациенты, у которых снижена доза до 0,75 мг/кг, можно повторно повысить только до 1 мг/кг) при условии, что токсичность не требует отмены исследуемого препарата и вернулась к исходному уровню или  $\leq$  степени 1. Если токсичность повторяется, повторная эскалация не допускается. Пациенты с АЕ роговицы  $\geq 2$  степени не разрешается повторно увеличивать дозу.

**[00616]** Энфортумаб ведотин не следует назначать пациентам с известным CrCl  $< 30$  мл/мин. Рекомендации по изменению дозы при токсичности, связанной с энфортумабом ведотином, представлены в Таблице 7 и Таблице 8.

**[00617]** Если токсичность возникает в 1-й день любого цикла и требует удержания дозы энфортумаба ведотина, то начало цикла может быть отложено. Если токсичность возникает на 8-й или 15-й день любого цикла и требует удержания дозы  $> 2$  дней, то дозу(ы) следует отменить, а не отложить. Если пациент получает энфортумаб ведотин только в 1-й день и ему необходимо пропустить 8-й и 15-й дни, пациент может возобновить следующий цикл уже на 22-й день (новый 1-й день), если токсичность к этому времени исчезнет.

**[00618]** Снижение дозы или отсрочка внутривенного лечения других видов токсичности, связанной с энфортумабом ведотином, допускается по усмотрению исследователя. Задержка введения дозы может длиться до 8 недель (2 цикла). Задержка введения дозы для пациентов, которые реагируют на лечение, может быть продлена более чем на 8 недель, если токсичность пациента не требует постоянного прекращения лечения.

Пациенты не могут получать другие исследуемые лекарственные средства, лучевую терапию (кроме паллиативной лучевой терапии, как описано в разделе 6.1.6.3(ii)) или системную противоопухолевую терапию во время задержки дозы. При задержке введения дозы график оценки ответа не будет корректироваться и будет по-прежнему отсчитываться от цикла 1 до дня 1 во время лечения.

**Таблица 7 Рекомендуемые изменения дозы при гематологической токсичности, связанной с энфортумабом ведотином**

Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4
Продолжайте на том же уровне дозы.	Продолжайте на том же уровне дозы.  Для степени 2  тромбоцитопения, приостановить прием препарата до тех пор, пока токсичность не станет $\leq$ степени 1 или не вернется к исходному уровню, затем возобновить лечение в той же дозе.	Приостановить прием препарата до тех пор, пока токсичность не станет $\leq$ степени 1 или не вернется к исходному уровню, затем возобновить лечение в той же дозе или рассмотреть возможность снижения дозы на 1 уровень дозы. Переливание или факторы роста могут быть использованы в соответствии с рекомендациями учреждения.	Приостановить дозу до тех пор, пока токсичность не станет $\leq$ степени 1 или не вернется к исходному уровню, затем уменьшите дозу на 1 уровень дозы и возобновите лечение или прекратите его по усмотрению исследователя. Переливание или факторы роста могут быть использованы в соответствии с рекомендациями учреждения. При анемии следует серьезно рассмотреть вопрос о прекращении лечения.

**Таблица 8 Рекомендуемые изменения дозы при негематологической токсичности, связанной с энфортумабом ведотином**

Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4
<p>Продолжайте на том же уровне дозы.</p> <p>При выявлении глазных симптомов и/или изменений зрения пациент должен быть осмотрен квалифицированным оптометристом или офтальмологом.</p>	<p>Продолжать в той же дозе, за исключением случаев невропатии 2 степени или АЕ роговицы.</p> <p>При невропатии 2 степени или нежелательных явлениях роговицы приостановите прием препарата до тех пор, пока токсичность не станет <math>\leq 1</math> степени или не вернется к исходному уровню, а затем возобновите лечение в той же дозе.</p> <p>При невропатии 2 степени или нежелательных явлениях роговицы приостановить прием препарата до тех пор, пока</p>	<p>Приостановить прием препарата до тех пор, пока токсичность не станет <math>\leq</math> степени 1 или не вернется к исходному уровню, затем возобновить лечение в той же дозе или рассмотреть возможность снижения дозы на 1 уровень дозы<sup>a</sup></p> <p>При невропатии степени 3 или АЕ роговицы прекратить лечение.</p> <p>При гипергликемии степени 3/повышенном уровне глюкозы в крови приостановить лечение энфортумабом ведотином. Возобновить лечение после того, как гипергликемия/повышенный уровень глюкозы в крови улучшится до <math>\leq</math> степени 2 и пациент станет клинически и метаболически стабильным.</p>	<p>При АЕ 4 степени прекратить лечение.<sup>a</sup> Рвота и/или диарея 4 степени, которые улучшаются до степени <math>\leq 2</math> в течение 72 часов при поддерживающем лечении, не требуют прекращения лечения.</p>

Степень 1	Степень 2	Степень 3	Степень 4
	<p>токсичность не станет <math>\leq</math> степени 1, а затем уменьшить дозу на 1 уровень дозы и возобновить лечение.</p> <p>При выявлении глазных симптомов и/или изменений зрения пациент должен быть осмотрен квалифицированным оптометристом или офтальмологом.</p>	<p>При выявлении глазных симптомов и/или изменений зрения пациент должен быть осмотрен квалифицированным оптометристом или офтальмологом.</p>	

а. Электролитный дисбаланс/лабораторные нарушения 3/4 степени, кроме гипергликемии, которые не связаны с клиническими последствиями и корректируются с помощью добавок/соответствующего лечения в течение 72 часов после их появления, не требуют прекращения лечения (например, гипонатриемия 4 степени). Сыпь степени 3, которая не ограничивает самообслуживание в повседневной жизни или связана с инфекцией, требующей системных антибиотиков, не требует прерывания лечения, при условии, что симптомы не являются тяжелыми и их можно контролировать с помощью поддерживающей терапии.

**[00619]** См. Раздел 6.1.6.4(i) для рекомендуемого лечения инфузионных реакций. См. Раздел 6.1.6.4(ii) для рекомендуемого лечения гипергликемии. См. Раздел 6.1.6.4(iii) для рекомендуемого лечения сыпи.

- (а) Рекомендации по прекращению лечения, связанные с безопасностью печени

**[00620]** При отсутствии объяснения повышенных показателей функциональных тестов

печени (LFT), таких как вирусный гепатит, ранее существовавшее или острое заболевание печени или воздействие других агентов, связанных с повреждением печени, пациент может быть исключен из исследуемого лечения. Исследователь может определить, что дальнейшее лечение в исследовании не отвечает интересам пациента.

**[00621]** Прекращение лечения следует рассмотреть, если:

- ALT или AST  $> 8 \times$  ULN
- ALT или AST  $> 5 \times$  ULN более 2 недель
- ALT или AST  $> 3 \times$  ULN и общий билирубин  $> 2 \times$  ULN или международное нормализованное отношение (INR)  $> 1,5$  (если тестирование INR применимо/оценивается)
- ALT или AST  $> 3 \times$  ULN с появлением симптомов, указывающих на повреждение печени (например, боль или болезненность в правом подреберье) и/или эозинофилии ( $> 5\%$ )

**[00622]** Эти рекомендации по прекращению лечения основаны на Руководстве FDA для промышленности (Drug-Induced Liver Injury: Premarketing Clinical Evaluation, July 2009). Рекомендации представляют собой базовое руководство для исследователя, основанное на накопленном клиническом опыте разработки лекарственных средств, и не относятся к клиническому опыту применения энфортумаба ведотина.

**[00623]** См. 0 рекомендуемые критерии мониторинга и оценки безопасности печени у пациентов с повышением уровня ALT, AST или билирубина 2 степени или выше.

#### **6.1.6.3** *Сопутствующая терапия*

**[00624]** Все сопутствующие лекарственные средства и продукты крови будут регистрироваться с 1-го дня (до введения дозы) в течение отчетного периода безопасности (30 дней после последнего исследуемого лечения). Любое сопутствующее лекарственное средство, назначенное для нежелательного явления, связанного с протоколом исследования, должно быть зарегистрировано с момента получения информированного согласия.

- (i) Требуемая сопутствующая терапия

**[00625]** Нет необходимости в сопутствующей терапии.

- (ii) Разрешенная сопутствующая терапия

**[00626]** Сопутствующий хронический преднизолон (или эквивалент) может использоваться в дозе  $\leq 20$  мг/день. Более высокие дозы преднизолона (или его эквивалента)

разрешены в течение ограниченного периода времени для лечения острых состояний, возникающих во время исследования, по медицинским показаниям. Допускается использование противорвотных средств. Премедикация для IRR по разделу 6.1.6.4(i) разрешена.

**[00627]** Терапия для лечения токсичности, связанной с энфортумабом ведотином, разрешена в соответствии с рекомендациями в разделе 6.1.6.2(iii), включая факторы роста и трансфузии.

**[00628]** Пациенты, получающие сильные ингибиторы СYP3A4 или ингибиторы Р-гликопротеина (P-gp) одновременно с энфортумабом ведотином, должны находиться под тщательным наблюдением на предмет побочных реакций.

**[00629]** Разрешена рутинная профилактика с помощью вакцин; рекомендуется, чтобы используемые вакцины не содержали живых микроорганизмов.

**[00630]** Паллиативную лучевую терапию при непрогрессирующем нецелевом поражении кости допускается после 3 циклов лечения; необходимо вводить после первоначальной оценки ответа и повторных сканирований, описанных в разделе 6.1.7.2. Это не будет считаться последующей противоопухолевой терапией, но не должно мешать оценке целевых поражений опухоли. Лечение энфортумабом ведотином следует прервать во время проведения паллиативной лучевой терапии.

**[00631]** Пациенты с положительным поверхностным антигеном гепатита В и/или ядерным антителом против гепатита В и отрицательным результатом анализа ПЦР на исходном уровне должны получать соответствующую противовирусную профилактику или регулярный эпиднадзор в соответствии с местными или институциональными рекомендациями.

(iii) *Запрещенная сопутствующая терапия*

**[00632]** Пациенты не могут получать другие исследуемые препараты, лучевую терапию (за исключением паллиативной лучевой терапии, как описано в разделе 5.3.2) или системную противоопухолевую терапию в течение периода лечения. Пациенты, получающие запрещенную сопутствующую терапию, должны быть исключены из исследования.

**6.1.6.4** *Борьба с нежелательными реакциями*

(i) *Борьба с инфузионными реакциями*

**[00633]** IRR может возникнуть во время инфузии исследуемого лекарственного средства.

Инфузию следует проводить в месте, надлежащим образом оборудованном и укомплектованном персоналом для лечения анафилаксии в случае ее возникновения. Все поддерживающие меры, соответствующие оптимальному уходу за пациентом, должны применяться на протяжении всего исследования в соответствии с институциональными стандартами. Поддерживающие меры могут включать введение лекарственных средств для IRR.

**[00634]** Пациенты, которые испытали IRR, могут пройти премедикацию для последующих инфузий. Премедикация может включать обезболивающие (например, ацетаминофен или эквивалент), антигистаминные препараты (например, дифенгидрамина гидрохлорид) и кортикостероиды, вводимые за 30–60 минут до каждой инфузии или в соответствии со стандартами учреждения. Если у пациента возникают IRR в условиях премедикации, продолжение лечения энфортумабом ведотином необходимо обсудить с медицинским наблюдателем до следующей запланированной дозы.

**[00635]** В случае возникновения анафилаксии прием исследуемого препарата следует немедленно и навсегда прекратить.

(ii) Лечение гипергликемии

**[00636]** Исследователи должны контролировать уровень глюкозы в крови, и им рекомендуется проводить дополнительные оценки, если наблюдаются какие-либо симптомы гипергликемии, включая тщательную оценку инфекции. Кроме того, если стероиды используются для лечения любого другого состояния, уровень глюкозы в крови может потребовать дополнительного контроля. Если наблюдаются повышенные уровни глюкозы в крови, пациентов следует лечить в соответствии с местными стандартами медицинской помощи, и можно рассмотреть вопрос о направлении к эндокринологу.

**[00637]** Пациентам, особенно имеющим в анамнезе или текущим сахарным диабетом или гипергликемией, следует рекомендовать немедленно сообщить своему врачу, если их уровень глюкозы становится трудно контролировать или если они испытывают симптомы, указывающие на гипергликемию, такие как частое мочеиспускание, повышенная жажда, затуманенное зрение, усталость и головная боль.

**[00638]** Пациенты, вступившие в исследование с повышенным уровнем HbA1c ( $\geq 6,5\%$ ) на исходном уровне, должны быть направлены к соответствующему поставщику медицинских услуг в течение цикла 1 для контроля уровня глюкозы. Глюкозу крови следует проверять перед каждым введением дозы, и дозу следует приостановить, если уровень глюкозы в крови  $> 250$  мг/дл (уровень 3 или выше), независимо от связи с энфортумабом ведотином. Дозирование может быть продолжено после того, как уровень глюкозы в крови

пациента улучшится до  $\leq 250$  мг/дл ( $\leq$  степень 2) и пациент станет клинически и метаболически стабильным. Пациенты с уровнем глюкозы в крови  $>500$  мг/дл (уровень 4), не связанным с приемом энфортумаба ведотина, могут продолжать прием препарата после того, как уровень глюкозы в крови пациента улучшится до  $\leq 250$  мг/дл ( $\leq$  степень 2) и пациент станет клинически и метаболически стабильным. Уровень глюкозы в крови  $>500$  мг/дл (уровень 4), связанный с приемом энфортумаба ведотина, требует прекращения лечения. Если у пациента впервые развился сахарный диабет, оцените пациентов с помощью метаболической панели, кетонов мочи, гликозилированного гемоглобина и C-пептида для оценки нового начала диабета 1 типа в условиях предшествующего СРІ.

(iii) Лечение сыпи

**[00639]** В исследовании фазы 1 (исследование ASG-22CE-13-2) сыпь и подобные дерматологические АЕ были обычным явлением среди пациентов, получавших энфортумаб ведотин, и чаще наблюдались при применении самой высокой дозы. Хотя точная этиология дерматологической токсичности, связанной с энфортумабом ведотином, в настоящее время неясна, из-за экспрессии нектин-4 в коже сыпь может быть целевой токсичностью. Наиболее распространенными дерматологическими АЕ, о которых сообщалось в ASG-22CE-13-2, были лекарственная сыпь, сыпь, шелушение кожи, нарушение пигментации кожи и макуло-папулезная сыпь. Большинство из них произошло во время цикла 1, а некоторые были связаны с зудом. Почти все они были легкими, за исключением двух случаев сыпи, зарегистрированных как степень 3 в группе с дозой 1 мг/кг. Ни в одном случае не потребовалось прекращение приема исследуемого препарата, а в одном случае папулезной сыпи степени 1 при дозе 1,25 мг/кг потребовалось снижение дозы. Легкую сыпь, связанную с энфортумабом ведотином, следует лечить с помощью местной поддерживающей терапии по мере необходимости. Местные кортикостероиды использовались вместе с антигистаминными лекарственными средствами для лечения зуда по мере необходимости. Сыпь степени 3, которая не ограничивает самообслуживание в повседневной жизни или связана с инфекцией, требующей системных антибиотиков, не требует прерывания лечения, при условии, что симптомы не являются тяжелыми и их можно контролировать с помощью поддерживающей терапии.

**6.1.6.5** *Соблюдение режима лечения*

**[00640]** Введение исследуемого препарата будет осуществляться персоналом исследовательского центра и задокументировано в первичных документах и CRF.

**6.1.7** Оценки исследования

### 6.1.7.1 *Скрининг/исходные оценки*

**[00641]** В это исследование будут включены только пациенты, отвечающие всем критериям включения и исключения, указанным в разделе 6.1.5. Статус и дата регистрации будут записаны в CRF.

**[00642]** История болезни пациента включает в себя тщательный обзор значимой истории болезни в прошлом, текущих состояний, истории употребления табака, любого лечения предшествующих злокачественных новообразований и ответа на предшествующее лечение, а также любых сопутствующих лекарственных средств.

**[00643]** Полное обследование глаз, сканирование головного мозга, сканирование костей, КТ с контрастированием для оценки эффективности исходного ответа, INR/PT/PTT, серология на гепатиты В и С, анализ мочи с рефлкторным микроскопическим анализом, HbA1c и тест на беременность (моча или сыворотка, для женщин детородного возраста) требуются для всех пациентов при скрининге.

### 6.1.7.2 *Оценка ответа/эффективности*

**[00644]** Показатели противоопухолевой активности будут оцениваться с помощью компьютерной томографии с контрастом приблизительно каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя). После 1 года обучения оценка ответа будет сокращена до каждые 12 недель ( $\pm 1$  неделя). График оценки ответа не следует корректировать из-за задержек/перерывов в приеме дозы или других причин изменения времени проведения исследования пациентом; моменты времени для оценки ответа должны быть рассчитаны от цикла 1 день 1 во время лечения. Для пациентов, которые не могут получить КТ с контрастом, другие приемлемые методы визуализации подробно описаны в 6.1.13. Для сканирования головного мозга предпочтительным методом оценки является МРТ с гадолинием; тем не менее, другие методы визуализации подробно описаны в разделе 6.1.13, если контраст противопоказан. Пациенты должны оцениваться с использованием одного и того же метода визуализации на протяжении всего исследования для оценки эффективности. КТ с контрастом как минимум будет включать грудную клетку, брюшную полость и таз. Другие области следует сканировать, если пациент знает или подозревает заболевание в этой области. Сканирование головного мозга и/или костей также следует повторять в моменты времени для оценки ответа, если метастазы в кости были идентифицированы на исходном уровне или если метастазы известны или подозреваются. Ответы (CR или PR) будут подтверждены повторными сканированиями через 4 недели (окно +1 неделя) после первого документирования ответа. График оценки ответа не следует корректировать после

подтверждающего сканирования (*например*, CR на 8-й неделе, подтверждающее сканирование на 12-й неделе, следующая оценка должна быть проведена на 16-й неделе). Визуализация опухоли также должна выполняться при подозрении на прогрессирование заболевания.

**[00645]** Пациенты, прекратившие прием исследуемого лекарственного средства по причинам, отличным от объективного прогрессирования заболевания по версии RECIST 1.1 (см. ), будут продолжать получать КТ с контрастом через несколько недель ( $\pm 1$  неделя) после предыдущего сканирования для оценки ответа и каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя) после предыдущего сканирования после этого. Через 1 год исследования частота оценки ответа будет снижена до каждые 12 недель ( $\pm 1$  неделя). Оценка опухоли будет продолжаться до тех пор, пока у пациента не будет рентгенологически подтверждено прогрессирование заболевания в соответствии с RECIST, как это определено исследователем, он не начнет новую противораковую терапию, не умрет или не откажется от согласия, или исследование не закроется, в зависимости от того, что наступит раньше. Определение противоопухолевой активности будет основано на подтвержденных объективных оценках ответа, как определено RECIST версии 1.1 (см. Таблицу 28) (Eisenhauer *et al.*, Eur J Cancer (2009);45(2): 228-47.). Пациенты, не прошедшие по меньшей мере 2 (начальный ответ и подтверждающее сканирование) оценки ответа после исходного уровня, будут считаться не ответившими на лечение. Исследователь будет принимать решения о лечении на основе оценки результатов сканирования с помощью RECIST. Клинический ответ CR, PR, SD или PD будет определяться при каждой оценке. Реакция и прогрессирование также будут оцениваться IRF.

**[00646]** Статус выживания будет обновляться каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя) после ЕОТ (или через 8 недель после предыдущего посещения протокола, в зависимости от того, что наступит позже) до смерти, закрытия исследования или отзыва согласия, в зависимости от того, что произойдет раньше. Через 1 год исследования частота обновлений статуса выживания будет снижена до каждые 12 недель ( $\pm 1$  неделя).

**[00647]** Клинические данные пациентов должны быть доступны для проверки источника CRF. Изображения опухоли будут отправлены в центральную лабораторию визуализации.

### 6.1.7.3 Фармакокинетические и АТА оценки

**[00648]** Образцы крови для РК и АТА будут собираться на протяжении всего исследования в соответствии с графиком сбора образцов, представленным в Таблице 9. Валидированные или квалифицированные анализы будут использоваться для измерения концентраций энфортумаба ведотина ADC, ТАв и ММАЕ в сыворотке или плазме. Образцы

РК будут собраны и заархивированы для возможного анализа других видов, связанных с энфортумабом ведотином, таких как циркулирующие метаболиты ММАЕ. Квалифицированный анализ будет использоваться для определения уровней АТА в сыворотке.

**[00649]** Информацию о сборе, обработке, хранении и транспортировке проб см. в Руководстве для центральной лаборатории.

#### **6.1.7.4** *Исследования биомаркеров*

**[00650]** Образцы для поисковых биомаркеров будут собираться в моменты времени, указанные в протоколе (см. Таблицу 9 и Таблицу 26). Оценки биомаркеров не будут использоваться для отбора пациентов.

**[00651]** Методы анализа могут включать ИНС, секвенирование следующего поколения, ПЦР, профилирование мутаций и экспрессии генов; секвенирование бета-цепи Т-клеточного рецептора, проточную цитометрию и иммуноанализ.

##### **(i) Биомаркеры в крови**

**[00652]** Первичное воздействие энфортумаба ведотина на опухолевые клетки уротелиальной карциномы может привести к изменению состояния активации местных, опухолеассоциированных и периферических иммунных клеток. Оценка биомаркеров в образцах крови может включать, но не ограничиваться ими: маркеры иммунной функции, включая обилие и фенотип субпопуляций иммунных клеток, циркулирующую опухолевую ДНК (цоДНК) и обилие цитокинов. Это может дать представление о связанных с лечением изменениях в состоянии активации периферической иммунной системы, связанных с гибелью опухолевых клеток, вызванной энфортумабом ведотином.

**Таблица 9** Временные точки сбора образцов крови на фармакокинетику, АТА и биомаркеры

	День исследования	Время	Окно	Относительное время	Кровь						
					PK	АТА	Биомаркеры			МКПК	
							Плазма крови		Иммуно- фенотипирование	Исследование	
							Цитонины	Исследование 1			Исследование 2
Циклы 1 и 2	День 1	До введения дозы	в течение 24 часов	НАЧАЛО инфузии	X	X	X	X	X	X	X
		Конец инфузии	в течение 15 минут	КОНЕЦ инфузии	X						
	День 3	48 ч	±24 ч	КОНЕЦ 1-го дня инфузии	X		Ха		Ха	Ха	Ха
	День 8	До введения дозы	в течение 24 часов	НАЧАЛО инфузии	X		Ха	Ха	Ха	Ха	Ха
		Конец инфузии	в течение 15 минут	КОНЕЦ инфузии	X						
	День 15	До введения дозы	в течение 24 часов	НАЧАЛО инфузии	X		Ха		Ха	Ха	Ха
		Конец инфузии	в течение 15 минут	КОНЕЦ инфузии	X						
	День 17	48 ч	-24 ч/+48 ч	КОНЕЦ 15-го дня инфузии	X						
	День 22	168 ч	±48 ч	КОНЕЦ 15-го дня инфузии	X						
	Последующие циклы дозирования	День 1	До введения дозы	в течение 24 часов	НАЧАЛО инфузии	Х <sup>b</sup>	Х <sup>b</sup>	Х <sup>c</sup>	Х <sup>c</sup>	Х <sup>c</sup>	Х <sup>c</sup>

	День исследования	Время	Окно	Относительное время	Кровь						
					РК	АТА	Биомаркеры				
							Плазма крови			МКПК	
							Цитогены	Исследование 1	Исследование 2	Иммуно- фенотипирование	Исследование
Окончание лечения (в течение 30–37 дней после последней дозы)					X	X	X	X	X	X	X

а Только цикл 1

б Циклы 3 и 4 и каждый последующий цикл с четным номером

с Только циклы 3 и 4

(ii) **Биомаркеры в опухолевой ткани до лечения**

**[00653]** Чтобы лучше понять взаимосвязь между биологическими характеристиками уротелиальной карциномы до лечения и исходом пациента, рекомендуется представить блок опухоли или свежесрезанные неокрашенные заполненные предметные стекла (не менее 10 предметных стекол обязательно, если не получено предварительное одобрение спонсора) предварительно обработанной опухолевой ткани. Приемлема либо архивная ткань, либо свежая опухолевая ткань до лечения (полученная из свежей биопсии). Подробности см. в лабораторном руководстве.

**[00654]** Оценка биомаркеров в опухолевой ткани может включать, без ограничения:

- Опухолевая экспрессия белка нектин-4
- Экспрессия рибонуклеиновой кислоты (мРНК)
- Маркеры подтипа заболевания (например, подтипы Атласа генома рака (TCGA))
- Мутационная нагрузка опухоли
- Маркеры иммунного микроокружения опухоли

**6.1.7.5** *Хранилище биообразцов*

**[00655]** Только в США для пациентов, давших дополнительное согласие, оставшаяся деидентифицированная неиспользованная кровь и/или ткань будут сохранены спонсорами и использованы для будущих исследований, включая, помимо прочего, оценку мишеней для новых терапевтических агентов, биологических механизмов чувствительности и резистентности ADC, а также идентификацию биомаркеров для ADC. Образцы крови и тканей, пожертвованные для будущих исследований, будут храниться до 25 лет. Если дополнительное согласие не предоставлено, все оставшиеся биологические образцы будут уничтожены после завершения исследования и когда отпадет необходимость в хранении образцов для потенциального представления в регулирующие органы.

**6.1.7.6** *Качество жизни*

**[00656]** Будут использоваться два проверенных инструмента: QLQ-C30 и EQ-5D.

**[00657]** Если возможно, оценки PRO должны быть завершены до любых других процедур во время ознакомительных визитов, указанных в расписании мероприятий (Таблица 26).

(i) **Основной опросник EORTC по качеству жизни, QLQ-C30**

**[00658]** QLQ-C30 был разработан для измерения аспектов качества жизни, относящихся к пациентам с широким спектром онкологических заболеваний, которые участвуют в

клинических испытаниях (Aaronson *et al.*, J Natl Cancer Inst (1993); 85(5): 365-76; Sneeuw *et al.*, J Clin Epidemiol (1998); 51(7): 617-31.). Текущая версия основного инструмента (QLQ-C30, версия 3) представляет собой анкету из 30 пунктов, состоящую из следующего:

- 5 функциональных областей (физическая, ролевая, когнитивная, эмоциональная, социальная);
- 3 шкалы симптомов (усталость, боль, тошнота и рвота);
- Отдельные пункты по симптомам (одышка, потеря аппетита, нарушение сна, запор, диарея) и финансовым последствиям заболевания; и
- 2 глобальных элемента (здоровье, общее качество жизни).

#### (ii) Измерения EuroQoL-5

**[00659]** EQ-5D — это стандартизированный инструмент, разработанный EuroQoL Group для использования в качестве общей оценки состояния здоровья на основе предпочтений. Он применим к широкому спектру состояний здоровья и методов лечения и обеспечивает простой описательный профиль и единое значение индекса для состояния здоровья. EQ-5D представляет собой самооценку функционирования и благополучия, состоящую из 5 пунктов, которая оценивает 5 аспектов здоровья, включая подвижность, самообслуживание, обычную деятельность, боль/дискомфорт и тревогу/депрессию. Каждое измерение включает 3 уровня (нет проблем, некоторые/умеренные проблемы, экстремальные проблемы). Уникальное состояние здоровья EQ-5D определяется путем объединения 1 уровня каждого из 5 измерений. В этом вопроснике также фиксируется самооценка состояния здоровья респондента по вертикальной градуированной (от 0 до 100) визуально-аналоговой шкале. Ответы на 5 пунктов также будут преобразованы во взвешенный индекс состояния здоровья (показатель полезности), основанный на значениях, полученных из выборок генеральной совокупности. EQ-5D рекомендуется для использования в анализе экономической эффективности, который обычно используется при оценке медицинских технологий Вашингтонской группой экспертов по экономической эффективности в области здравоохранения и медицины (Gold *et al.*, Med Care 34(1996); (12 Suppl): DS197-9.).

#### 6.1.7.7 *Оценки безопасности*

**[00660]** Оценка безопасности в ходе этого исследования будет состоять из наблюдения и регистрации нежелательных явлений, включая SAE, регистрации сопутствующего лечения и измерения указанных в протоколе результатов медицинского осмотра, кардиомониторинга и лабораторных анализов.

**[00661]** В ходе исследования безопасность будет контролироваться IDMC, как описано в разделе 6.1.8.3(x).

(i) **Нежелательные явления**

(a) О нежелательном явлении

**[00662] Неблагоприятное событие**

**[00663]** Согласно Руководству E2A Международного совета по гармонизации (ICH) «Определения и стандарты для ускоренной отчетности» и 21 Своду федеральных правил (CFR) 312.32 «Отчетность о безопасности новых лекарственных средств (IND)», АЕ (adverse event) представляет собой любое неблагоприятное медицинское явление у пациента или субъекта клинического исследования, которому вводили лекарственное средство и который не обязательно имеет причинно-следственную связь с этим лечением.

**[00664]** При принятии решения о том, следует ли записывать результат теста, состояние здоровья или другой инцидент в CRF о нежелательных явлениях и ранее существовавших состояниях, следует учитывать следующую информацию:

- С момента информированного согласия до дня, предшествующего 1-му дню исследования, следует регистрировать только АЕ, связанные с протоколом исследования. АЕ, связанное с протоколом, определяется как неблагоприятное медицинское явление, происходящее в результате процедуры, предусмотренной протоколом.
- Все медицинские состояния, присутствующие или продолжающиеся до введения дозы в 1-й день исследования, должны быть зарегистрированы.
- Все нежелательные явления (независимо от связи с исследуемым лекарственным средством) должны регистрироваться с 1-го дня исследования (до введения дозы) до конца отчетного периода безопасности (см. Раздел 6.1.7.7(i)(c)). Осложнения, которые возникают в связи с любой процедурой (например, биопсией), должны быть зарегистрированы как нежелательные явления, независимо от того, была ли процедура предписана протоколом.
- Изменения в медицинских состояниях и нежелательных явлениях, включая изменения в тяжести, частоте или характере, в течение отчетного периода безопасности должны быть зарегистрированы.
- Как правило, отклонение лабораторных показателей от нормы не должно регистрироваться как АЕ, если только оно не связано с клиническими признаками или симптомами, не требует вмешательства, не приводит к SAE или не приводит к

прекращению исследования или прерыванию/прекращению исследуемого лечения. При регистрации АЕ, вызванного лабораторным отклонением, следует регистрировать возникшее медицинское состояние, а не само отклонение (например, записывать «анемию», а не «низкий гемоглобин»).

**[00665] Серьезные нежелательные явления**

**[00666]** АЕ следует классифицировать как SAE, если оно соответствует одному из следующих критериев:

- Фатальный: АЕ приводит к смерти
- Опасный для жизни: АЕ подвергали пациента непосредственному риску смерти. Эта классификация не применяется к АЕ, которое гипотетически могло бы привести к смерти, если бы оно было более тяжелым.
- Госпитализация: АЕ привело к госпитализации или продлению существующей стационарной госпитализации. Госпитализация для плановых медицинских или хирургических процедур или лечения, запланированного до подписания информированного согласия в исследовании или плановых осмотров, не является SAE по этому критерию. Поступление в паллиативное отделение или хоспис госпитализацией не считается. Заранее запланированные госпитализации для терапевтических, диагностических или хирургических вмешательств по поводу основного рака или целевого заболевания, которое не ухудшилось во время клинического исследования, не должны фиксироваться как SAE.
- Недееспособность/непригодность: АЕ, которое привело к стойкой или значительной нетрудоспособности или существенному нарушению способности пациента вести нормальную жизнедеятельность.
- Врожденная аномалия или врожденный дефект: Неблагоприятный исход у ребенка или плода пациента, подвергшегося воздействию молекулы или изучаемого режима лечения до зачатия или во время беременности.
- Медицински значимые: АЕ не соответствовало ни одному из вышеперечисленных критериев, но могло представлять опасность для пациента и могло потребовать медицинского или хирургического вмешательства для предотвращения одного из перечисленных выше исходов или включать подозрение на передачу через лекарственный препарат инфекционного агента.

**[00667] Серьезность нежелательного явления**

**[00668]** Тяжесть АЕ следует оценивать с использованием Общих критериев терминологии нежелательных явлений Национального института рака (NCI CTCAE),

версия 4.03. Эти критерии приведены в учебном пособии.

**[00669]** Тяжесть и серьезность АЕ оцениваются независимо. «Тяжесть» характеризует интенсивность АЕ. «Серьезный» — это нормативное определение, которое служит руководством для спонсора при определении обязательств по отчетности (см. определение SAE выше).

**[00670] Связь нежелательного явления с исследуемым лечением**

**[00671]** Связь каждого АЕ с энфортумабом ведотином должна оцениваться исследователем с использованием следующих критериев:

- Связанное: Имеются данные, свидетельствующие о причинно-следственной связи между лекарственным средством и АЕ, например:
  - Единичное возникновение явления, которое является необычным и, как известно, тесно связано с воздействием лекарственного средства (например, ангионевротический отек, повреждение печени, синдром Стивенса-Джонсона)
  - Один или несколько случаев явления, которое обычно не связано с воздействием лекарственного средства, но в других отношениях является необычным для популяции, подвергшейся воздействию лекарственного средства (например, разрыв сухожилия)
- Несвязанное: Другая причина АЕ более вероятна (например, из-за основного заболевания или часто встречается в исследуемой популяции), или невозможно установить временную последовательность между началом АЕ и введением исследуемого лечения, или рассматривается причинно-следственная связь биологически неправдоподобной

(b) Процедуры выявления и регистрации нежелательных явлений

**[00672]** Исследователь и исследовательский персонал должны сообщать обо всех АЕ и SAE, выявленных во время опроса пациента, обнаруженных во время физического осмотра, лабораторных анализов и/или другими способами, путем записи их в CRF и/или форме SAE, в зависимости от обстоятельств.

**[00673] Выявление нежелательных явлений**

**[00674]** При каждом учебном посещении следует использовать открытый или ненаправленный метод опроса, чтобы получить сообщения о АЕ.

**[00675] Регистрация нежелательных явлений**

**[00676]** Следующая информация должна быть записана в CRF о нежелательных явлениях

и ранее существовавших состояниях:

- Описание, включая даты начала и разрешения
- Соответствует ли он критериям SAE
- Тяжесть
- Связь с исследуемым лечением или другая причинно-следственная связь
- Исход

**[00677] Диагноз против признаков или симптомов**

**[00678]** Как правило, использование единого диагноза предпочтительнее, чем перечисление отдельных симптомов. Группирование симптомов в диагноз должно производиться только в том случае, если каждый составляющий признак и/или симптом является подтвержденным с медицинской точки зрения компонентом диагноза, подтвержденным стандартными медицинскими учебниками. Если какой-либо аспект признака или симптома не вписывается в классическую схему диагностики, сообщайте об отдельном симптоме как о отдельном нежелательном явлении.

**[00679]** Важными исключениями для этого исследования являются нежелательные реакции, связанные с инфузией исследуемого лекарственного средства. Для IRR следует записать термин NCI CTCAE «реакция, связанная с инфузией» с общим уровнем тяжести (согласно NCI CTCAE). Кроме того, следует записать каждый признак или симптом реакции как отдельное АЕ. Если при данном явлении, связанном с инфузией, возникает несколько признаков или симптомов, каждый признак или симптом следует записывать отдельно с указанием степени тяжести.

**[00680] Регистрация серьезных нежелательных явлений**

**[00681]** Для SAE следует записать явление(я) как в CRF, так и в форме SAE.

**[00682]** При регистрации SAE следует учитывать следующее:

- Смерть – это результат явления. Явление, приведшее к смерти, должно быть зарегистрировано и отражено как в форме SAE, так и в CRF.
- Для госпитализаций, хирургических или диагностических процедур заболевание, приведшее к хирургической или диагностической процедуре, должно регистрироваться как SAE, а не сама процедура. Процедура должна быть описана в описательной части как часть действий, предпринятых в ответ на болезнь.

**[00683] Прогрессирование основного рака**

**[00684]** Не следует сообщать о рентгенологических признаках прогрессирования заболевания (например, «прогрессирование опухоли» или «метастазы») как о АЕ (эти данные фиксируются при оценке эффективности). Следует указать симптомы и признаки

прогрессирования заболевания (например, «усталость», «одышка») как АЕ; не следует сообщать о прогрессировании заболевания в качестве термина АЕ.

**[00685]** При прогрессировании заболевания со смертельным исходом в качестве термина явления указывают непосредственную причину смерти. Если непосредственная причина смерти не может быть определена и, по мнению исследователя, она связана с прогрессированием заболевания, следует сообщить о АЕ, используя термин «прогрессирование заболевания» с летальным исходом.

**[00686] Беременность**

**[00687]** Уведомление о безопасности лекарственного средства: Следует заполнить форму отчета о беременности для всех беременностей, которые наступили с момента приема первой дозы исследуемого лекарственного средства до 6 месяцев после приема последней дозы исследуемого лекарственного средства (средств), включая любые беременности, наступившие у партнера исследуемого пациента мужского пола. Следует сообщать о беременностях, которые происходят у партнера пациента-мужчины, только если предполагаемая дата зачатия наступает после первой дозы исследуемого лекарственного средства пациентом-мужчиной. Электронная почта или факс в отдел безопасности лекарственных средств спонсора в течение 48 часов после того, как стало известно о беременности. Все беременности будут находиться под наблюдением в течение всего срока; следует сообщать обо всех перинатальных и неонатальных исходах. Младенцы должны наблюдаться в течение по меньшей мере 8 недель.

**[00688]** Сбор данных по CRF: Все беременности (как описано выше), наступившие в течение 30 дней после приема последней дозы исследуемого лекарственного средства (средств), также будут зарегистрированы в CRF «нежелательные явления и ранее существовавшие состояния».

**[00689]** Аборт, будь то случайный, терапевтический или спонтанный, следует регистрировать как SAE. Врожденные аномалии или врожденные дефекты, определенные вышеприведенным критерием «серьезности» (см. Раздел 6.1.7.7(i)(a) «определения»), следует регистрировать как SAE.

**[00690] Нежелательные явления роговицы**

**[00691]** АЕ, связанные с язвой роговицы или кератитом  $\geq$  степени 2 должны быть классифицированы в соответствующих категориях. АЕ, связанные с язвой роговицы или кератитом 1-й степени должны быть классифицированы в соответствии с критериями «Глазные заболевания – Другое, указать». Другие АЕ роговицы должны быть зарегистрированы и классифицированы в соответствии с критериями «Нарушения зрения –

Другое, указать».

**[00692] Нежелательные явления возможного печеночного происхождения**

**[00693]** Если АЕ сопровождается повышением значений LFT (например, АСТ, АЛТ, билирубина и т. д.) или подозревается, что оно связано с дисфункцией печени, см. 0 для подробной информации о рекомендуемом мониторинге и оценке нарушений функции печени. Рекомендации по прекращению лечения, связанные с безопасностью для печени, см. в разделе 6.1.6.2(iii)(a).

**[00694]** Пациенты с АЕ печеночного происхождения, сопровождающиеся нарушениями LFT, должны находиться под тщательным наблюдением.

(с) Отчетные периоды для нежелательных явлений и серьезных нежелательных явлений

**[00695]** Период отчетности по безопасности для всех АЕ и SAE начинается с 1-го дня исследования (до введения дозы) и заканчивается через 30 дней после последнего исследуемого лечения. Тем не менее, все АЕ, связанные с протоколом исследования, должны быть зарегистрированы с момента получения информированного согласия. Обо всех SAE, которые возникают после отчетного периода безопасности и считаются связанными с исследуемым лечением, по мнению исследователя, также следует сообщать спонсору.

**[00696]** SAE будут наблюдать до тех пор, пока значительные изменения не вернутся к исходному уровню, событие не стабилизируется (выздоровление/разрешение) или больше не будет считаться исследователем клинически значимым, или пока пациент не умрет или не отзовет свое согласие. Все несерьезные нежелательные явления будут отслеживаться в течение отчетного периода по безопасности. За определенными несерьезными нежелательными явлениями, представляющими клинический интерес, можно наблюдать (включая сбор соответствующих сопутствующих препаратов) до разрешения, возвращения к исходному уровню, закрытия исследования или до тех пор, пока явления не станут хроническими в той мере, в какой они адекватно охарактеризованы.

(d) Серьезные нежелательные явления требуют немедленного сообщения

**[00697]** В течение 24 часов после наблюдения или получения информации о SAE исследователи должны сообщить о явлении спонсору, независимо от связи явления с исследуемой схемой лечения.

**[00698]** Для первоначальных отчетов о SAE имеющиеся сведения о случаях должны быть записаны в форме SAE. Как минимум, должно быть включено следующее:

- Номер пациента
- Дата начала явления
- Описание явления
- Исследуемое лечение, если известно

**[00699]** Заполненную форму SAE и титульный лист SAE Fax следует отправить по электронной почте или факсу в отдел безопасности лекарственных средств спонсора исследования или уполномоченному лицу в течение 24 часов (см. номер(а) электронной почты или факса, указанные в форме отчета SAE).

**[00700]** Соответствующая информация о последующем наблюдении должна быть представлена спонсору исследования, как только она станет доступной.

(ii) **Клинические лабораторные тесты**

**[00701]** Образцы будут отобраны для центральных и местных лабораторий.

**[00702]** Местные лабораторные испытания будут включать стандартные тесты учреждения для определения права на участие в исследовании, оценки безопасности и принятия клинических решений. Местные лабораторные исследования следует проводить во все дни дозирования. Все местные лабораторные результаты должны быть рассмотрены до введения исследуемого лекарственного средства, чтобы определить, следует ли продолжить дозирование или требуется изменение дозы.

**[00703]** Центральная лаборатория будет проводить следующие лабораторные исследования для оценки безопасности в запланированные моменты времени (см. Таблицу 26) в ходе исследования:

- Панель биохимии сыворотки должна включать следующие тесты: альбумин, щелочная фосфатаза, ALT, AST, бикарбонат, азот мочевины крови, кальций, креатинин, хлорид, глюкоза, лактатдегидрогеназа (LDH), фосфор, калий, натрий, общий билирубин, амилазу, липазу и мочевую кислоту.
- CBC с дифференциалом должен включать следующие тесты: количество лейкоцитов с дифференциацией из пяти частей (нейтрофилы, лимфоциты, моноциты, эозинофилы и базофилы), количество тромбоцитов, гемоглобин и гематокрит.

**[00704]** Следующие лабораторные оценки будут проводиться местными лабораториями в запланированные моменты времени (см. Таблицу 26) в ходе исследования:

- CrCl на исходном уровне с использованием критериев Кокрофта-Голта или 24-часового сбора мочи
- Стандартный анализ мочи (с рефлекторной микроскопией)

- INR/PT/PTT
- Тест на беременность на бета-хорионический гонадотропин человека ( $\beta$ -ХГЧ) в сыворотке или моче для женщин детородного возраста
- HbA1c
- Серология поверхностного антигена гепатита В и корового антитела против гепатита В
- Серология антител к гепатиту С. Если положительный, следует провести ПЦР-тестирование.

(iii) **Физикальное обследование, включая массу**

[00705] Физикальное обследование должно включать оценку следующих частей/систем тела: брюшной полости, конечностей, головы, сердца, легких, шеи и неврологии. Рост будет измерен во время визита для оценки исходного уровня. Масса тела будет измеряться в определенные моменты времени (см. Таблицу 26), но нет необходимости собирать ее во время посещений после ЕОТ.

(iv) **Основные показатели жизнедеятельности**

[00706] Будут выполняться измерения основных показателей жизнедеятельности, включая частоту сердечных сокращений (уд/мин), диастолическое и систолическое артериальное давление (мм рт.ст.) и температуру. Значения основных показателей жизнедеятельности будут регистрироваться, и любой диагноз, связанный с клинически значимыми отклонениями от нормы основных показателей жизнедеятельности, будет регистрироваться как нежелательное явление или ранее существовавшее состояние.

(v) **Статус производительности ECOG**

[00707] Статус производительности ECOG (Таблица 27) будет оцениваться в моменты времени, указанные в протоколе.

(vi) **Кардиомониторинг**

[00708] ЭКГ будут проводиться на исходном уровне и во время визита ЕОТ. Дополнительные ЭКГ следует проводить по клиническим показаниям. Стандартная ЭКГ в 12 отведениях будет выполняться после того, как пациент находится в положении лежа на спине не менее 5 минут. Оценка ЭКГ должна быть выполнена до получения образцов фармакокинетики и биомаркеров, если это возможно.

(vii) **Осмотр глаз**

**[00709]** Пациенты будут проходить полное обследование глаз на исходном уровне, проводимое квалифицированным офтальмологом или оптометристом, включая, помимо прочего: нескорректированную, скорректированную и максимально скорректированную остроту зрения, щелевую лампу, тонометрическое исследование и расширенное исследование глазного дна. Обследование с помощью щелевой лампы ЕОТ требуется для всех пациентов, которые испытывают побочные эффекты роговицы во время исследования. Исследования ЕОТ с помощью щелевой лампы необходимо проводить через  $\geq 4$  недель после последней дозы. Дополнительные обследования глаз проводятся по клиническим показаниям.

#### **6.1.7.8** *Оценки после лечения*

##### **(i) Последующие оценки**

**[00710]** Пациенты, прекратившие прием исследуемого лекарственного средства, будут продолжать проходить медицинский осмотр (сбор данных о массе не требуется), оценку ECOG и оценку ответа каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя) после предыдущего сканирования для оценки ответа и каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя) после предыдущего визита до рентгенологически подтвержденного прогрессирования заболевания (согласно RECIST по определению исследователя), начала новой противоопухолевой терапии, смерти пациента, закрытия исследования или отзыва согласия, в зависимости от того, что наступит раньше. После 1 года исследования частота повторных посещений будет снижена до каждые 12 недель ( $\pm 1$  неделя).

##### **(ii) Долгосрочные последующие оценки**

**[00711]** После радиологически подтвержденного прогрессирования (согласно RECIST, как определено исследователем) или начала новой противоопухолевой терапии с пациентами будут связываться каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя) после ЕОТ (или через 8 недель после предыдущего визита по протоколу, в зависимости от того, что наступит позже) для получения информации о последующей противоопухолевой терапии и статусе выживания. Долгосрочное наблюдение будет продолжаться до смерти пациента, закрытия исследования, отзыва согласия или потери пациента для последующего наблюдения, в зависимости от того, что произойдет раньше. После 1 года исследования частота долгосрочных контрольных посещений будет снижена до каждые 12 недель ( $\pm 1$  неделя).

#### **6.1.7.9** *Приемлемость измерений*

**[00712]** Меры безопасности, которые будут использоваться в этом испытании, считаются

стандартными процедурами для оценки потенциальных нежелательных явлений исследуемых лекарственных средств.

**[00713]** Определение противоопухолевой активности будет основано на подтвержденных объективных оценках ответа, как определено RECIST версии 1.1 (см. Таблицу 28) (Eisenhauer *et al.*, Eur J Cancer (2009);45(2): 228-47.) и решения о лечении, принимаемые исследователем, будут основываться на этих оценках. Эти критерии считаются стандартными в онкологической практике для этого типа новообразования, а интервалы оценки в этом протоколе соответствуют лечению заболевания.

**[00714]** Иммуногенность обычно оценивают для биологических препаратов; поэтому будут проводиться стандартные тесты для выявления возможного наличия специфических антител к энфортумабу ведотину.

**[00715]** Фармакокинетические оценки также часто используются в клинических исследованиях, чтобы помочь охарактеризовать взаимосвязь доза-воздействие-реакция.

**[00716]** Исследовательские измерения биомаркеров в образцах периферической крови позволяют коррелировать с фармакокинетической оценкой и широко используются в клинических исследованиях. Оценки, проводимые на опухолевой ткани до лечения, также распространены. Образцы периферической крови и опухолевых биомаркеров будут оцениваться с использованием обычно используемых стандартных тестов.

### **6.1.8 Методы анализа данных**

#### **6.1.8.1 *Определение размера выборки***

**[00717]** Исследование предназначено для оценки подтвержденной ORR у пациентов, получающих энфортумаб ведотин, и выявления улучшения ORR по сравнению с частотой ответа в прошлом, равной 10 %. Обоснование исторической частоты ответов представлено в разделе 6.1.4.2.

**[00718]** Приблизительно 200 пациентов будут включены в это исследование, чтобы обеспечить сбор достаточных данных об эффективности и безопасности, в том числе приблизительно 100 или более пациентов, получавших лечение платиной, как определено в критериях отбора в разделе 6.1.5.1 (Когорта 1), и до приблизительно 100 пациентов, ранее не получавших платину, и пациенты, не подходящие для цисплатина, также определены в критериях приемлемости в разделе 6.1.5.1 (Когорта 2). Используя оценку приблизительно 100 пациентов в когорте 1, исследование будет иметь мощность 98 % для выявления увеличения ORR на 15 % с 10 до 25 % и мощность 81 % для выявления увеличения ORR на 10 % с 10 до 20 %, при одностороннем значимом уровне 0,025, на основе точных методов с

использованием EAST®, версия 6.0, Cytel Inc.

**[00719]** Подтвержденная ORR и 95 % точный CI в когорте 2 будут суммированы в 4 временных точках: 1) на момент анализа когорты 1, 2) когда приблизительно 50 пациентов в когорте 2 имели возможность наблюдаться в течение приблизительно 8 месяцев после первой дозы энфортумаба ведотина, 3) когда приблизительно 70 пациентов в когорте 2 получали возможность наблюдения в течение приблизительно 8 месяцев с момента приема первой дозы энфортумаба ведотина и 4) когда все пациенты в когорте 2 имели возможность наблюдения в течение приблизительно 8 месяцев после приема первой дозы энфортумаба ведотина.

**[00720]** В целях иллюстрации в Таблице 10 ниже приводится описание ожидаемых 95 % CI для когорты 2 в различные моменты времени анализа, при условии наблюдаемой ORR 30 %:

**Таблица 10.**

Число пациентов	Ожидаемый 95 % доверительный интервал
N=20	12%–54%
N=50	18%–45%
N=70	20%–42%
N=100	21%–40%

**[00721]** Обследования с помощью щелевой лампы будут проводиться по меньшей мере у первых 60 зарегистрированных пациентов (из когорт 1 и/или 2) в день 22 цикла 2 ( $\pm 1$  неделя) и в день 22 цикла 6 ( $\pm 1$  неделя). Если АЕ роговицы наблюдаются у <15 % из первых 60 включенных пациентов и если явления, как правило, слабовыраженные или бессимптомные, IDMC может дать рекомендацию о прекращении осмотров с помощью щелевой лампы цикла 2, день 22, и/или цикла 6, день 22, для остальных пациентов, если это оправдано на основании обзора совокупных данных о безопасности глаз. На основании результатов исследования фазы 1 (исследование ASG-22CE-13-2) по состоянию на дату окончания сбора данных 14 ноября 2016 г. 3 пациента сообщили о возникновении нежелательных явлений со стороны роговицы из 33 пациентов, принимавших 1,25 кг/мг энфортумаба ведотина. Предполагая частоту явлений 9 % (3/33) при размере выборки 60, вероятность наблюдения >3 явлений (5 %) составляет 80,0 %, а вероятность наблюдения <9

явлений (15 %) составляет 91,2 %. Если частота явлений выше, вероятность наблюдения <9 событий уменьшается. Например, если частота явлений составляет 20 %, вероятность наблюдения <9 явлений снижается до 12,7 %. Основываясь на анализе, описанном выше, и на обзоре совокупных данных о безопасности глаз, IDMC рекомендовал прекратить обследование с помощью щелевой лампы на день 22 цикла 2, и день 22 цикла 6 в июле 2018 г. и августе 2019 г. соответственно.

**[00722]** Расчеты размера выборки были выполнены с использованием EAST®, версия 6.0, Cytel Inc.

#### **6.1.8.2** *Определения конечной точки исследования*

##### **(i) Частота объективных ответов**

**[00723]** Первичной конечной точкой этого исследования является подтвержденный ORR на IRF. ORR определяется как доля пациентов с подтвержденным CR или PR в соответствии с версией 1.1 RECIST (см. Таблицу 28) (Eisenhauer *et al.*, Eur J Cancer (2009); 45(2): 228-47.). Пациенты, не прошедшие по меньшей мере 2 (начальный ответ и подтверждающее сканирование) оценки ответа после исходного уровня, как описано в разделе 6.1.7.2 протокола, будут считаться не ответившими на лечение.

**[00724]** Кроме того, ORR на исследователя будет анализироваться как вторичная конечная точка.

##### **(ii) Продолжительность ответа**

**[00725]** DOR определяется как время от первой документации объективного ответа (CR или PR, который впоследствии подтверждается) до первой документации PD (в соответствии с версией 1.1 RECIST) или до смерти по любой причине, в зависимости от того, что наступит раньше.

**[00726]** Данные DOR будут подвергаться цензуре, как описано ниже:

- Пациенты, у которых нет PD и которые все еще находятся в исследовании на момент анализа, будут подвергнуты цензуре на дату последней оценки заболевания, подтверждающей отсутствие PD;
- Пациенты, которые начали противоопухолевое лечение, отличное от исследуемого (за исключением паллиативной лучевой терапии, как описано в разделе 6.1.6.3(ii)) до документального подтверждения болезни Паркинсона, будут подвергаться цензуре на дату последней оценки заболевания перед началом новой терапии;
- Пациенты, исключенные из исследования до документального подтверждения PD,

будут подвергнуты цензуре на дату последней оценки заболевания, подтверждающей отсутствие PD.

[00727] DOR будет рассчитываться только для пациентов, достигших подтвержденного CR или PR.

(iii) **Уровень контроля заболевания на 16-й неделе**

[00728] DCR16 на IRF определяется как доля пациентов с CR, PR или SD на 16-й неделе визита на основе оценки IRF. Ответы не должны быть подтверждены, чтобы быть оцененными как ответившие с целью определения DCR16. Пациенты, чей ответ на заболевание не может быть оценен как CR, PR или SD на 16-й неделе или позже, будут оцениваться как не ответившие на лечение при расчете DCR. Исключением являются пациенты, у которых есть CR, PR или SD после 16-й недели, но которые пропустили 16-ю неделю; эти пациенты будут считаться имеющими контроль над заболеванием на 16-й неделе.

[00729] Кроме того, будут суммированы DCR16 на исследователя.

(iv) **Выживаемость без прогрессирования**

[00730] PFS определяется как время от начала исследуемого лечения до первой регистрации объективного прогрессирования опухоли (PD согласно версии 1.1 RECIST) или до смерти по любой причине, в зависимости от того, что наступит раньше.

[00731] Те же самые правила цензуры, изложенные в разделе 6.1.8.2 для DOR, будут применяться к PFS. У пациентов, у которых отсутствует оценка ответа опухоли после их первой дозы, время события будет цензурировано в День 1.

(v) **Общая выживаемость**

[00732] OS определяется как время от начала исследуемого лечения до даты смерти по любой причине. При отсутствии летального исхода OS будет подвергаться цензуре на последнюю дату, когда известно, что пациент жив.

**6.1.8.3** *Статистические и аналитические планы*

[00733] Статистические и аналитические планы, представленные ниже, обобщают более полные планы, которые будут детализированы в плане статистического анализа (SAP). Изменение методов анализа данных, описанных в протоколе, потребует внесения поправок в протокол только в том случае, если оно изменяет основную особенность протокола. SAP будет завершен до блокировки базы данных. Любые изменения в методах, описанных в окончательном SAP, будут описаны и обоснованы в отчете о клиническом исследовании.

(i) **Общие соображения**

[00734] Как правило, будет представлена описательная статистика, которая включает количество наблюдений, среднее значение, медиану, стандартное отклонение, минимум и максимум для непрерывных переменных, а также количество и проценты (не пропущенных) по категориям для категориальных переменных.

[00735] Если не указано иное, CI рассчитываться на двустороннем уровне 95 %.

[00736] Двусторонний 95 % точный доверительный интервал с использованием метода Клоппера-Пирсона (Clopper et al., *Biometrika* (1934); 26(4): 404-413) будет рассчитана частота ответов, где это применимо (например, ORR).

[00737] Для конечных точек времени до события медианное время выживания будет оцениваться с использованием метода Каплана-Мейера; соответствующий 95% CI будет рассчитываться на основе дополнительного логарифмического преобразования (Collett *et al.*, Chapman & Hall (1994): 237-251).

[00738] Если не указано иное, сводки и анализы будут предоставляться по когортам (т. е. получавшим платину, не получавшим платину и не принимавшим цисплатин). Сводные данные и анализы также могут быть предоставлены в целом.

[00739] **Преобразования данных и деривации**

[00740] Переменные времени, основанные на двух датах, например, Дата начала и Дата окончания, будут рассчитываться как (Дата окончания – Дата начала + 1) (в днях), если иное не указано в разделе запланированного анализа.

[00741] Если не указано иное, исходные значения, используемые во всех анализах, будут самыми последними неотсутствующими измерениями до первой дозы исследуемого лекарственного средства.

[00742] **Наборы для анализа**

[00743] Полный набор для анализа будет включать всех пациентов, включенных в исследование и получающих любое количество энфортумаба ведотина в рамках исследования. Пациент считается включенным в исследование, если он/она соответствует всем критериям участия в исследовании и имеет одобрение спонсора, как указано в eCRF. Полный набор данных для анализа будет использоваться в качестве основного набора данных для анализа эффективности. Демографические данные пациентов и исходные характеристики заболевания будут обобщены на основе полного набора анализов.

[00744] Набор для анализа безопасности будет включать всех пациентов, получающих любое количество энфортумаба ведотина. Набор для анализа безопасности будет использоваться для всех анализов безопасности.

[00745] Набор для оценки эффективности будет включать всех пациентов из полного набора для анализа, которые начали лечение энфортумабом ведотином по меньшей мере за 8 месяцев до окончания сбора данных для анализа. Набор для оценки эффективности будет использоваться для дополнительного анализа конечных точек эффективности во время промежуточного анализа когорты 2, чтобы обеспечить адекватное последующее наблюдение для стабильной оценки ORR и DOR.

[00746] Набор для фармакокинетического анализа будет включать всех пациентов, получавших энфортумаб ведотин и у которых был взят по меньшей мере один образец крови и проанализирован на концентрацию энфортумаба ведотина, MMAE или TAb. Соответствующие записи времени дозирования и сбора образцов также должны быть доступны для всех данных о концентрации энфортумаба ведотина, MMAE и TAb. Набор для анализа РК будет использоваться для анализа фармакокинетики.

[00747] Дополнительные наборы для анализа пациентов могут быть определены в SAP.

**[00748] Исследование подгрупп**

[00749] В качестве поискового анализа для выбранных конечных точек может быть проведен анализ подгрупп. Подгруппы могут включать, но не ограничиваться следующим:

- Количество факторов риска Бельмунта (статус ECOG > 0; уровень гемоглобина <10 г/дл; наличие метастазов в печени) (Bellmunt *et al.*, Clin Oncol (2010); 28(11): 1850-5)
- Количество предшествующих системных терапий
- Лучший ответ на предшествующую терапию CPI
- Метастазы в печени на исходном уровне

**[00750] Сроки проведения анализов**

[00751] Первичный анализ в когорте 1 (пациенты, получающие платину) будет проводиться после завершения регистрации в когорте 1, и все пациенты в когорте наблюдались в течение не менее 6 месяцев, или прекратили участие в исследовании, или прошли 30-дневное наблюдение за безопасностью после PD, в зависимости от того, что наступит раньше. Анализ для когорты 2 будет происходить в 4 момента времени: 1) на момент анализа когорты 1, 2) когда приблизительно 50 пациентов в когорте 2 имели возможность наблюдаться в течение приблизительно 8 месяцев после первой дозы энфортумаба ведотина, 3) когда приблизительно 70 пациентов в когорте 2 получали возможность наблюдения в течение приблизительно 8 месяцев с момента приема первой дозы энфортумаба ведотина и 4) когда все пациенты в когорте 2 имели возможность наблюдения в течение приблизительно 8 месяцев после приема первой дозы энфортумаба

ведотина. Все пациенты также могут быть проанализированы во время анализа когорты 1 и/или когорты 2.

**[00752]** Могут быть определены дополнительные предельные даты и соответствующие блокировки базы данных, чтобы обеспечить более точную оценку конечных точек времени до явления.

(ii) **Расположение пациента**

**[00753]** Учет исследуемых пациентов по расположению будет занесен в таблицу, а количество пациентов в каждой группе анализа будет суммировано. Пациенты, прекратившие прием исследуемого лекарственного средства, и пациенты, прекратившие участие в исследовании, будут суммированы с указанием причины прекращения или выхода из исследования с использованием полного набора анализов.

(iii) **Характеристики пациентов**

**[00754]** Демографические и другие базовые характеристики будут обобщены с использованием полного набора для анализа. Подробная информация будет предоставлена в SAP.

(iv) **Введение препарата**

**[00755]** Введение лечения будет обобщено для набора анализа безопасности. Будут представлены сводные статистические данные о продолжительности терапии (недели) и количестве циклов на одного пациента, а также количество и процент пациентов, пролеченных в каждом цикле и завершивших каждый цикл. Подробная информация будет предоставлена в SAP.

(v) **Анализ эффективности**

**[00756]** Первичный анализ конечных точек эффективности будет основан на полном наборе анализов. Во время промежуточного анализа для когорты 2 оцениваемый набор эффективности будет использоваться для дополнительного анализа конечных точек эффективности, чтобы обеспечить адекватное последующее наблюдение для стабильной оценки ORR и DOR.

(a) **Первичный анализ эффективности**

**[00757]** Первичной конечной точкой этого исследования является подтвержденный ORR на IRF. ORR определяется как доля пациентов с подтвержденным CR или PR в соответствии с версией 1.1 RECIST (см. Таблицу 28) (Eisenhauer *et al.*, Eur J Cancer (2009); 45(2): 228-47.).

Пациенты, не прошедшие по меньшей мере 2 (начальный ответ и подтверждающее сканирование) оценки ответа после исходного уровня, как описано в разделе 6.1.7.2 протокола, будут считаться не ответившими на лечение.

**[00758]** ORR на IRF и его точный двусторонний 95 % CI с использованием метода Клоппера-Пирсона (Clopper *et al.*, *Biometrika* (1934); 26(4): 404-413) будет рассчитан.

**[00759]** В исследовании участвуют 2 когорты пациентов, получавших CPI: Когорта 1) пациенты, получавшие платину, и когорта 2) пациенты, ранее не получавшие платину и не подходящие для лечения цисплатином. Первичная конечная точка будет анализироваться отдельно для каждой когорты и может быть проанализирована для всех пациентов, объединяя обе когорты 1 и 2.

(b) Вторичный анализ эффективности

**[00760]** Анализы вторичных конечных точек, подтвержденного ORR на исследователя, DCR<sub>16</sub> на IRF и DCR<sub>16</sub> на оценку исследователя будут суммированы, а также их точные двусторонние 95 % CI с использованием метода Клоппера-Пирсона (Clopper *et al.*, *Biometrika* (1934); 26(4): 404-413) будет рассчитан.

**[00761]** Вторичные конечные точки, такие как DOR на IRF, DOR на исследователя, PFS на IRF, PFS на исследователя и OS, являются конечными точками времени до события, и они будут проанализированы с использованием методологии Каплана-Мейера, и будут предоставлены графики Каплана-Мейера. Подробная информация об алгоритме цензуры будет представлена в SAP.

(vi) Фармакокинетические и АТА анализы

**[00762]** Концентрации ADC, TAb и MMAE в плазме энфортумаба ведотина будут суммированы с описательной статистикой в каждый момент времени отбора проб РК с использованием набора для анализа фармакокинетики. Эти данные могут быть объединены с данными предыдущих исследований популяционного фармакокинетического и фармакокинетического/фармакодинамического анализа. Можно изучить взаимосвязь между энфортумабом ведотином РК и фармакодинамическими конечными точками, безопасностью или эффективностью.

**[00763]** Частота АТА будет суммироваться по посещениям и в целом с использованием набора для анализа безопасности.

(vii) Анализы качества жизни

**[00764]** PRO на основе EQ-5D и QLQ-C30 будет суммироваться с течением времени с

описательной статистикой по посещениям с использованием полного набора анализов.

(viii) **Анализы на биомаркеры**

**[00765]** Будет изучена взаимосвязь параметров биомаркеров (например, значений до лечения, абсолютных и относительных изменений по сравнению с до лечения) с эффективностью, безопасностью и фармакокинетическими параметрами. Взаимосвязи и связанные данные, которые считаются представляющими интерес, будут обобщены. Детали этих анализов будут описаны отдельно.

(ix) **Анализы безопасности**

**[00766]** Набор анализа безопасности будет использоваться для обобщения всех конечных точек безопасности.

(a) **Степень воздействия**

**[00767]** Продолжительность лечения, количество циклов, общая доза и интенсивность дозы будут обобщены. Модификации дозы также будут обобщены. Подробная информация будет предоставлена в SAP.

(b) **Нежелательные явления**

**[00768]** Обзор АЕ предоставит таблицу частоты всех АЕ, АЕ, возникающих во время лечения, АЕ, связанных с лечением, АЕ 3-й степени и выше, SAE, связанных с лечением SAE, летальных исходов и АЕ, приведших к прекращению исследуемого лечения. Нежелательные явления будут определяться как возникающие при лечении, если они возникли впервые или ухудшились после исследуемого лечения.

**[00769]** АЕ будут классифицировать по классу системы органов и предпочтительной теме с использованием Медицинского словаря регуляторной деятельности (MedDRA) и оценивать с помощью NCI CTCAE, версия 4.03.

**[00770]** Частота АЕ будет обобщена по классу систем органов, предпочтительному термину, тяжести и связи с исследуемым препаратом. В случае нескольких случаев одного и того же АЕ у одного пациента, АЕ будет учитываться один раз как возникновение для максимальной степени. Нежелательные явления, приводящие к преждевременному прекращению приема исследуемого лекарственного средства, будут обобщены и перечислены таким же образом.

**[00771]** Будут перечислены все АЕ.

(c) **Смерти и серьезные нежелательные явления**

**[00772]** SAE будут перечислены и обобщены таким же образом, как и все АЕ. Будут перечислены явления с летальным исходом.

(d) **Клинические лабораторные результаты**

**[00773]** Сводная статистика лабораторных значений и изменений по сравнению с исходным уровнем будет сведена в таблицу по мере необходимости по запланированному посещению. Лабораторные значения будут перечислены с оценкой в соответствии с NCI CTCAE v4.03 и помечены, если значения выходят за пределы нормального референтного диапазона.

(e) **Другие анализы безопасности**

**[00774]** **Состояние ECOG**

**[00775]** Статус ECOG будет обобщены для каждого визита. Сдвиги от исходного уровня к лучшему и худшему результату после исходного уровня могут быть занесены в таблицу.

**[00776]** **ЭКГ**

**[00777]** Состояние ЭКГ (нормальное, клинически значимое отклонение от нормы или клинически значимое отклонение от нормы) может быть обобщено для каждой запланированной и незапланированной ЭКГ, а отклонения от исходного уровня могут быть занесены в таблицу.

(x) **Промежуточный анализ**

**[00778]** IDMC будет периодически контролировать испытание в целях безопасности. IDMC будет проверять ускоренные SAE по мере их получения. Более подробная информация будет представлена в Уставе IDMC.

**[00779]** Кроме того, служба фармаконадзора спонсора будет проводить постоянный обзор SAE в режиме реального времени.

**[00780]** Кроме того, имеющиеся данные для когорты 2 будут обобщены во время первичного анализа когорты 1 (например, расчетная ORR и ее двусторонний 95 % точный CI Клоппера-Пирсона), после того как приблизительно 50 пациентов в когорте 2 прошли возможность наблюдения в течение приблизительно 8 месяцев с момента приема первой дозы энфортумаба ведотина и после того, как приблизительно 70 пациентов в когорте 2 получили возможность наблюдения в течение примерно 8 месяцев с момента приема первой дозы энфортумаба ведотина. Все пациенты также могут быть проанализированы во время анализа когорты 1 и/или когорты 2.

**6.1.9 Результаты исследования**

**[00781]** Когорта 2 завершила набор в феврале 2020 г., в нее был включен 91 субъект и 89 пролеченных. Результаты для пациентов 2-й когорты, которым применялись методы лечения, предусмотренные в этом разделе (раздел 6), описаны ниже. Результаты для когорты 1 пациентов (зачисление в которую было завершено в июле 2018 г. из 128 включенных и 125 пролеченных) включены в качестве сравнения для различных анализов ниже, как указано.

**[00782]** Что касается предрасположенности, как показано в Таблице 11, наиболее частой причиной прекращения лечения было прогрессирование, при этом 16 пациентов продолжали лечение.

**Таблица 11.**

	<b>Когорта 2 (N=91) n (%)</b>
Количество субъектов, получивших любое количество энфортумаба ведотина	89 (97,8)
Количество субъектов на лечении	16/89 (18,0)
Количество субъектов, вышедших из лечения	73/89 (82,0)
Причина прекращения лечения	
Прогрессирующее заболевание	45/89 (50,6)
Неблагоприятное событие	21/89 (23,6)
Решение врача	1/89 (1,1)
Решение субъекта	6/89 (6,7)
Количество субъектов, вышедших из исследования	
	49 (53,8)
Причина прекращения исследования	
Прекращение участия субъекта	3 (3,3)
Утрата связи с пациентом с невозможностью дальнейшего наблюдения	0
Смерть	44 (48,4)
Другое	2 (2,2)

**[00783]** Что касается демографии, как показано в Таблице 12, большинство участников

были мужчинами с медианным возрастом 75 лет. Около трети участников были из Европы или Азии, и большинство из них имели статус ECOG от 1 до 2. 70 % участников имели умеренную или тяжелую почечную недостаточность. Стоит отметить, что почечная недостаточность была наиболее частой причиной неприемлемости цисплатина, см. 6.1.14.

**Таблица 12.**

	<b>Когорта (N=89)</b>	<b>2</b>
<b>Возраст (лет)</b>		
Медиана	75,0	
Минимум, максимум	49, 90	
<b>Пол, n (%)</b>		
Мужской	66 (74,2)	
Женский	23 (25,8)	
<b>Раса, n (%)</b>		
Азиат	20 (22,5)	
Белый	62 (69,7)	
Не подлежащий регистрации	7 (7,9)	
<b>Географический регион, n (%)</b>		
Северная Америка	57 (64,0)	
Европа	14 (15,7)	
Азия	18 (20,2)	
<b>Статус производительности ECOG, n (%)</b>		
0	37 (41,6)	
1	41 (46,1)	
2	11 (12,4)	
<b>Индекс массы тела(кг/м<sup>2</sup>)</b>		
Медиана	25,3	
Минимум, максимум	18, 39	
>= 30 кг/м <sup>2</sup>	13 (14,6)	
<b>Функция почек по клиренсу креатинина, n (%)</b>		
Нормальная:>=90 мл/мин	5 (5,6)	

	<b>Когорта 2 (N=89)</b>
Легкое снижение: $\geq 60$ и $< 90$ мл/мин	22 (24,7)
Умеренное снижение: $\geq 30$ и $< 60$ мл/мин	60 (67,4)
Серьезное снижение: $\geq 15$ и $< 30$ мл/мин	2 (2,2)

**[00784]** Что касается исходных характеристик заболевания, как показано в Таблице 13, по сравнению с когортой 1, у когорты 2 было меньше времени с момента постановки диагноза метастатического заболевания. Кроме того, первичная опухоль в верхних отделах тракта и поражение только лимфатических узлов встречались чаще; 79 % из когорты 2 имели висцеральные метастазы, в том числе 24 % имели метастазы в печени.

**Таблица 13.**

<b>Показатели заболевания</b>	<b>Когорта 2 (N=89)</b>
<b>Текущая степень заболевания, n (%)</b>	
Местнораспространенный	1 (1,1)
Метастатический	88 (98,9)
<b>Время от постановки диагноза метастатического заболевания до включения в исследование (мес.), медиана</b>	
Диапазон	1, 44
<b>Расположение первичной опухоли, n (%)</b>	
Верхний тракт	38 (42,7)
Мочевой пузырь/другое	51 (57,3)
<b>Места метастазирования на исходном уровне<sup>a</sup>, n (%)</b>	
Только лимфатические узлы	18 (20,2)
<b>Висцеральное заболевание</b>	
Кость	22 (24,7)
<b>Печень</b>	21 (23,6)
Легкое	41 (46,1)
<b>Количество факторов риска Бельмунта, n (%)</b>	
0	26 (29,2)

Показатели заболевания	Когорта 2 (N=89)
1	40 (44,9)
2	18 (20,2)
3	5 (5,6)

**[00785]** Что касается предшествующей терапии, как показано в Таблице 14, почти все участники получали ингибитор PD-1 или PD-L1 (сокращенно «PD-(L)1» или «PD-1/PD-L1») в терапии первой линии, и большинство из них прекратили прием PD-(L)1 менее чем за 3 месяца до регистрации. Доля ответивших на предыдущую PD-(L)1 соответствовала опубликованным данным. 40 % ранее перенесли нефрэктомия.

**Таблица 14.**

	Когорта 2 (N=89)
<b>Количество предшествующих системных терапий при метастазах<sup>a</sup></b> медиана (диапазон)	1 (1,4)
<b>Полученная терапия первой линии, n (%)</b>	
на основе платины	1 (1,1)
монотерапия PD(L)1	63 (70,8)
PD(L)1 + платина	0
PD(L)1 + другой агент	24 (27,0)
Другое	1 (1,1)
<b>Время от завершения/прекращения терапии, содержащей последний PD(L)1, до 1-й исследуемой дозы (месяцы)</b>	
≤3 месяцев	71 (79,8)
>3 месяцев	18 (20,2)
<b>Лучший ответ на терапию, содержащую PD(L)1, n (%)</b>	
Полный ответ	2 (2,2)
Частичный ответ	20 (22,5)
Стабильное заболевание	30 (33,7)
Прогрессирующее заболевание	37 (41,6)

<b>Хирургическая операция</b>	
Предыдущая нефрэктомия, n (%)	35 (39,3)

а. Включает предшествующую системную терапию при местнораспространенной или метастатической терапии, или терапию, содержащую PD(L)1, при неoadъювантной/адъювантной терапии и у субъекта прогрессирование в течение 3 месяцев после завершения терапии, или терапию на основе платины при неoadъювантной/адъювантной терапии и субъект прогрессировал в течение 12 месяцев после завершения терапии.

[00786] Согласно слепому независимому центральному обзору, ORR составил 51,7 %, а CR составил 20,2 %, как показано в Таблице 15.

**Таблица 15.**

	<b>Когорта</b> <b>(N=89)</b>	<b>2</b>
Лучший общий ответ <sup>a</sup> , n (%)		
<b>Полный ответ (CR)</b>	18 (20,2)	
Частичный ответ (PR)	28 (31,5)	
Стабильное заболевание (SD)	27 (30,3)	
Прогрессирующее заболевание (PD)	8 (9,0)	
Не подлежит оценке (NE) <sup>c</sup>	8 (9,0)	
<b>ORR (CR или PR), n (%)</b>	46 (51,7)	
95 % CI <sup>b</sup> для ORR	(40,8, 62,4)	

а. Лучший общий ответ согласно RECIST v1.1. CR или PR были подтверждены повторными сканированиями более чем через 28 дней после первоначального ответа.

б. Рассчитано по методу Клоппера-Пирсона (Clopper *et al.*, *Biometrika* (1934); 26(4): 404-413)

с. Включает 5 субъектов, у которых не была проведена оценка ответа после исходного уровня, 2 субъекта, чья оценка после исходного уровня не соответствовала требованиям минимального интервала для стабильного заболевания, и 1 субъект, чей ответ невозможно оценить из-за неполной анатомии.

[00787] Наблюдалось значительное уменьшение опухоли, при этом у 88 % участников было отмечено уменьшение размеров опухоли по слепому независимому центральному обзору (см. **Фиг. 4**).

[00788] В анализе подгруппы ORR, показанном на **Фиг. 5**, частота ответов во всех подгруппах была аналогична таковой в общей популяции. Кроме того, балл ORR оценивает более 40 % для всех подгрупп.

[00789] Согласно слепому независимому центральному обзору, медиана DOR составила 10,9 месяца (95 % CI 5,78, -) (см. **Фиг. 6**).

[00790] Согласно слепому независимому центральному обзору, большинство ответов наблюдались рано, и 18 из 46 (39 %) с продолжающимся ответом (см. **Фиг. 7**).

[00791] Согласно слепому независимому центральному обзору, медиана PFS составила 5,8 месяца (95 % CI 5,03, 8,28) (см. **Фиг. 8**).

[00792] Согласно слепому независимому центральному обзору на этом этапе исследования медиана общей выживаемости составила 14,7 месяца (95 % CI 10,51, 18,20) с медианой последующего наблюдения 13,4 месяца и диапазоном от 0,3 до 29,3 (см. **Фиг. 9**).

[00793] Нектин-4 широко экспрессируется при раке мочевого пузыря. Согласно слепому независимому центральному обзору, распределение нектина-4 было сходным между ответившими и не ответившими (см. и **Фиг. 10**, и Таблицу 16)

**Таблица 16.**

	N	Среднее	Станд. откл.	Мин	Макс	Медиана	Q1	Q3
Ответившие	41	250,2	64,5	0	300	270	230	295
Неответившие	39	251,4	67	20	300	280	233	300

[00794] Используя продолжительность лечения в качестве параметра для суммарного воздействия, как показано в Таблице 17, медианная продолжительность лечения составила 6 месяцев. 14 % участников находились на лечении более или равно 1 году, но не более 2 лет. Относительная интенсивность дозы составила 79 %.

**Таблица 17.**

	<b>Когорта (N=89)</b>	<b>2</b>
Продолжительность лечения <sup>a</sup> (месяцы)		

	<b>Когорта 2</b> <b>(N=89)</b>
Медиана	5,98
Минимум, максимум	0,3, 24,6
Количество циклов <sup>b</sup> на субъекта	
Медиана	6,0
Минимум, максимум	1, 24
1	13 (14,6)
2-3	14 (15,7)
4-5	14 (15,7)
6-11	36 (40,4)
≥12	12 (13,5)
Относительная интенсивность дозы, %	79,0

а. Продолжительность лечения представляет собой время от первой дозы исследуемого лекарственного средства до самого раннего из следующего: 28-й день последнего цикла лечения, дата смерти, начало последующей противораковой терапии или дата окончания анализа данных, если субъект все еще находится на лечении во время анализа.

б. Цикл с любым количеством ( $> 0$ ) полученного энфортумаба ведотина.

**[00795]** Что касается общей сводки нежелательных явлений, возникших при лечении, профиль безопасности был последовательным и управляемым, как показано в Таблице 18.

**Таблица 18.**

	<b>Когорта 1</b> <b>(N=125)</b> <b>n (%)</b>	<b>Когорта 2</b> <b>(N=89)</b> <b>n (%)</b>	<b>Всего</b> <b>(N=214)</b> <b>n (%)</b>
Любые ТЕАЕ	125 (100,0)	89 (100,0)	214 (100,0)
ТЕАЕ, связанное с лечением	117 (93,6)	86 (96,6)	203 (94,9)
Любые ТЕАЕ 3-5 степени	92 (73,6)	62 (69,7)	155 (72,4)
ТЕАЕ 3-5 степени, связанные с лечением	70 (56,9)	49 (55,1)	119 (55,6)
Любые серьезные ТЕАЕ	58 (46,4)	35 (39,3)	94 (43,9)

	<b>Когорта 1</b> (N=125) n (%)	<b>Когорта 2</b> (N=89) n (%)	<b>Всего</b> (N=214) n (%)
Серьезные ТЕАЕ, связанные с лечением	24 (19,2)	15 (16,9)	39 (18,2)
Любые ТЕАЕ, приводящие к прекращению лечения	21 (16,8)	18 (20,2)	38 (18,2)
Связанные с лечением ТЕАЕ, приводящие к прекращению лечения	15 (12,0)	14 (15,7)	29 (13,6)
Любые ТЕАЕ, приводящие к смерти	7 (5,6)	8 (9,0)	15 (7,0)
<b>Связанные с лечением ТЕАЕ, приводящие к смерти*</b>	<b>0</b>	<b>3 (3,4)</b>	<b>3 (1,4)</b>

\*1 дополнительная смерть, связанная с лечением, в группе 2 из-за пневмонита и одна дополнительная смерть, связанная с лечением, в группе 1 из-за интерстициального заболевания легких

[00796] Наиболее распространенные ТЕАЕ, связанные с лечением (все степени) в когорте 2 были аналогичны когорте 1, включая алопецию, утомляемость и периферическую сенсорную невропатию. По сравнению с группой 1, группа 2 показала меньшую утомляемость, меньшее снижение аппетита, меньшее количество тошноты и меньше диареи, в то время как численно больше периферической сенсорной невропатии и макуло-папулезной сыпи, как показано в Таблице 19.

**Таблица 19.**

<b>Предпочтительный срок</b>	<b>Когорта 1</b> (N=125) n (%)	<b>Когорта 2</b> (N=89) n (%)	<b>Всего</b> (N=214) n (%)
Общее	117 (93,6)	86 (96,6)	203 (94,9)
Алопеция	62 (49,6)	45 (50,6)	107 (50,0)
Усталость	62 (49,6)	30 (33,7)	92 (43,0)

<b>Предпочтительный срок</b>	<b>Когорта 1 (N=125) n (%)</b>	<b>Когорта 2 (N=89) n (%)</b>	<b>Всего (N=214) n (%)</b>
Периферическая сенсорная невропатия	50 (40,0)	42 (47,2)	92 (43,0)
Снижение аппетита	55 (44,0)	29 (32,6)	84 (39,3)
Дисгевзия	47 (37,6)	24 (27,0)	71 (33,2)
Тошнота	50 (40,0)	20 (22,5)	70 (32,7)
Диарея	41 (32,8)	20 (22,5)	61 (28,5)
Зуд	32 (25,6)	27 (30,3)	59 (27,6)
Сыпь макуло-папулезная	28 (22,4)	27 (30,3)	55 (25,7)
Масса уменьшилась	29 (23,2)	23 (25,8)	52 (24,3)
Анемия	27 (21,6)	22 (24,7)	49 (22,9)
Сухость кожи	30 (24,0)	16 (18,0)	46 (21,5)
Сухой глаз	25 (20,0)	11 (12,4)	36 (16,8)
Слезотечение усилилось	21 (16,8)	9 (10,1)	30 (14,0)
Рвота	19 (15,2)	7 (7,9)	26 (12,1)
Периферический отек	15 (12,0)	10 (11,2)	25 (11,7)
Повышение аспартатаминотрансферазы	17 (13,6)	7 (7,9)	24 (11,2)
Нейтропения	13 (10,4)	11 (12,4)	24 (11,2)

[00797] Что касается связанных с лечением ТЕАЕ со степенью выше или равной 3, возникающих у 5 или более субъектов, нейтропения, анемия, утомляемость были наиболее распространенными связанными с лечением ТЕАЕ со степенью выше или равной 3 в обеих когортах и встречались с одинаковой частотой. По сравнению с когортой 1, в когорте 2 было численно меньше фебрильной нейтропении и численно больше острого повреждения почек, больше макуло-папулезной сыпи и больше снижения аппетита, как показано в Таблице 20.

**Таблица 20.**

<b>Предпочтительный срок</b>	<b>Когорта 1 (N=125) n (%)</b>	<b>Когорта 2 (N=89) n (%)</b>	<b>Всего (N=214) n (%)</b>
Общее	70 (56,0)	49 (55,1)	119 (55,6)
Нейтропения	10 (8,0)	8 (9,0)	18 (8,4)
Анемия	9 (7,2)	5 (5,6)	14 (6,5)
Усталость	8 (6,4)	6 (6,7)	14 (6,5)
Сыпь макуло-папулезная	5 (4,0)	7 (7,9)	12 (5,6)
Гипергликемия	5 (4,0)	5 (5,6)	10 (4,7)
Липаза повышена	5 (4,0)	5 (5,6)	10 (4,7)
Диарея	3 (2,4)	5 (5,6)	8 (3,7)
Амилаза повышена	3 (2,4)	3 (3,4)	6 (2,8)
Повышение аспаратаминотрансферазы	4 (3,2)	2 (2,2)	6 (2,8)
Снижение аппетита	1 (0,8)	5 (5,6)	6 (2,8)
Фебрильная нейтропения	5 (4,0)	1 (1,1)	6 (2,8)
Гипонатриемия	3 (2,4)	3 (3,4)	6 (2,8)
Количество нейтрофилов уменьшилось	3 (2,4)	3 (3,4)	6 (2,8)
Сыпь эритематозная	4 (3,2)	2 (2,2)	6 (2,8)
Острое повреждение почек	1 (0,8)	4 (4,5)	5 (2,3)
Периферическая сенсорная невропатия	2 (1,6)	3 (3,4)	5 (2,3)
Зуд	2 (1,6)	3 (3,4)	5 (2,3)

**[00798]** Среди SAE (несвязанных и связанных), возникших у 5 и более субъектов, острая почечная недостаточность была наиболее частым SAE в когорте 2 (10,1%), тогда как инфекция мочевыводящих путей и целлюлит были наиболее частыми SAE в когорте 1 (по 4,8%). Среди связанных SAE, возникших у 5 или более субъектов, острая почечная недостаточность была наиболее распространенной связанной SAE в когорте 2 (3,4%), тогда как фебрильная нейтропения была распространена в когорте 1 (4%), как показано на Таблице 21.

**Таблица 21.**

Предпочтительный срок	Когорта 1 (N=125) n (%)		Когорта 2 (N=89) n (%)		Всего (N=214) n (%)	
	Все	Связанное	Все	Связанное	Все	Связанное
Общее	59 (47,2)	24 (19,2)	35 (39,3)	15 (16,9)	94 (43,9)	39 (18,2)
Острое повреждение почек	4 (3,2)	1 (0,8)	9 (10,1)	3 (3,4)	13 (6,1)	4 (1,9)
Инфекция мочевыводящих путей	6 (4,8)	-	3 (3,4)	-	9 (4,2)	-
Сепсис	4 (3,2)	-	4 (4,5)	-	8 (3,7)	-
Целлюлит	6 (4,8)	2 (1,6)	-	-	6 (2,8)	2 (0,9)
Диарея	3 (2,4)	1 (0,8)	3 (3,4)	2 (2,2)	6 (2,8)	3 (1,4)
Фебрильная нейтропения	5 (4,0)	5 (4,0)	1 (1,1)	1 (1,1)	6 (2,8)	6 (2,8)
Пневмония	3 (2,4)	-	3 (3,4)	1 (1,1)	6 (2,8)	1 (0,5)
Тошнота	3 (2,4)	3 (2,4)	2 (2,2)	1 (1,1)	5 (2,3)	4 (1,9)

[00799] Было показано, что периферическая сенсорная невропатия была наиболее частым АЕ, связанным с лечением, что приводило к прекращению приема лекарственного средства в обеих когортах, как показано в Таблице 22.

**Таблица 22.**

Предпочтительный срок	Когорта 1 (N=125) n (%)	Когорта 2 (N=89) n (%)	Всего (N=214) n (%)
	Общее	15 (12,0)	14 (15,7)
Периферическая сенсорная	8 (6,4)	4 (4,5)	12 (5,6)

<b>Предпочтительный срок</b>	<b>Когорта 1 (N=125) n (%)</b>	<b>Когорта 2 (N=89) n (%)</b>	<b>Всего (N=214) n (%)</b>
невропатия			
Острое повреждение почек	-	2 (2,2)	2 (0,9)
Липаза повышена	-	2 (2,2)	2 (0,9)
Астения	1 (0,8)	-	1 (0,5)
Буллезный дерматит	-	1 (1,1)	1 (0,5)
Токсидермия	1 (0,8)	-	1 (0,5)
Энтероколит	1 (0,8)	-	1 (0,5)
Усталость	1 (0,8)	-	1 (0,5)
Гипергликемия	1 (0,8)	-	1 (0,5)
Интерстициальное заболевание легких	1 (0,8)	-	1 (0,5)
Метаболический ацидоз	-	1 (1,1)	1 (0,5)
Синдром полиорганной дисфункции	-	1 (1,1)	1 (0,5)
Мышечная слабость	-	1 (1,1)	1 (0,5)
Периферическая моторная невропатия	-	1 (1,1)	1 (0,5)
Пневмонит	-	1 (1,1)	1 (0,5)
Синдром Стивенса- Джонсона	1 (0,8)	-	1 (0,5)

**[00800]** Нежелательные явления, связанные со специальными интересующими частотами, в целом соответствовали когорте 1. Только число случаев сыпи было выше, а глазных событий в целом было меньше, включая явления с роговицей (IDMC прекратил осмотр глаз) (см. Таблицу 23).

**Таблица 23.**

	<b>Когорта 1</b> <b>N=125 (%)</b>		<b>Когорта 2</b> <b>N=89 (%)</b>		<b>Всего</b> <b>N=214(%)</b>	
	Все степени N (%)	≥ ст. 3 N (%)	Все степени N (%)	≥ ст. 3 N (%)	Все степени N (%)	≥ ст. 3 N (%)
Явление						
Периферическая невропатия	70 (56)	5 (4)	51 (58,4)	7 (7,9)	122 (57,0)	12 (5,6)
<b>Сыпь</b>	<b>67 (53,6)</b>	<b>15 (12,0)</b>	<b>59 (66,3)</b>	<b>15 (16,9)</b>	<b>126 (58,9)</b>	<b>30 (14,0)</b>
Гипергликемия	20 (16)	10 (8)	16 (18)	8 (9)	36 (16,8)	18 (8,4)
Глазные явления						
Заболевания сухого глаза	51 (40,8)	-	27 (30,3)	-	78 (36,4)	-
Заболевания роговицы	18 (14,4)	-	5 (5,6)	-	23 (10,7)	-
Затуманенное зрение	21 (16,8)	-	9 (10,1)	-	30 (14,0)	-
IRR	8 (6,4)	1 (0,8)	6 (6,7)	1 (1,1)	14 (6,5)	2 (0,9)

[00801] Таблица 24 показаны ТЕАЕ, приводящие к смерти (исключая прогрессирование заболевания).

**Таблица 24.**

<b>Предпочтительный срок</b>	<b>Когорта 1</b> <b>(N=125)</b>	<b>Когорта 2</b> <b>(N=89)</b>	<b>Всего</b> <b>(N=214)</b>
<b>Общее</b>	<b>4 (3,2)</b>	<b>5 (5,6)</b>	<b>9 (4,2)</b>
Острое повреждение почек	-	2 (2,2)	2 (0,9)
Сепсис	1 (0,8)	1 (1,1)	2 (0,9)

Предпочтительный срок	Когорта 1 (N=125)	Когорта 2 (N=89)	Всего (N=214)
<b>Общее</b>	<b>4 (3,2)</b>	<b>5 (5,6)</b>	<b>9 (4,2)</b>
Острая дыхательная недостаточность	1 (0,8)	-	1 (0,5)
Нарушение со стороны сердца	1 (0,8)	-	1 (0,5)
Метаболический ацидоз	-	1 (1,1)	1 (0,5)
Синдром полиорганной дисфункции	-	1 (1,1)	1 (0,5)
Аспирация пневмонии	1 (0,8)	-	1 (0,5)

1 интерстициальное заболевание легких (группа 1); 1 пневмонит (группа 2), оба связаны с лечением и возникают >30 дней после последней дозы.

**[00802]** Конкретная информация о связанных с лечением смертях в когорте 2 показана в Таблице 25.

**Таблица 25.**

Субъект	Дата первой дозы	Дата последней дозы (День исследования)	Дата смерти (День исследования)	Основная причина смерти	Смерть <=30 Дней Последняя доза	Связанные с заболеванием
10007-0180	15JUL19	22JUL19 (8)	29JUL19 (15)	Метаболический ацидоз	Y	N
10013-0190	19AUG19	26AUG19 (8)	15SEP19 (28)	Острое повреждение почек	Y	Y
10030-0197	09SEP19	16SEP19 (8)	03OCT19 (25)	Синдром полиорганной дисфункции	Y	N

Субъект	Дата первой дозы	Дата последней дозы (День исследования)	Дата смерти (День исследования)	Основная причина смерти	Смерть <=30 Дней Последняя доза	Связанные с заболеванием
82004-0178	11JUL19	11NOV19 (124)	29JAN20 (203)	Пневмонит	N	N

**[00803]** Таким образом, профиль безопасности был управляемым у пациентов, которые ранее получали терапию PD-1/PD-L1 и которые являются неподходящими для цисплатина. Профиль безопасности был управляемым и переносимым, а более длительная продолжительность лечения подтверждала переносимость этого режима в этой популяции, не подходящей для цисплатина, по сравнению с когортой 1. Профиль соответствовал когорте 1 без выявленных новых сигналов безопасности. Четыре смерти, которые исследователи оценили как связанные с лечением, произошли у пациентов в возрасте 75 лет и старше, у которых были серьезные сопутствующие заболевания и неблагоприятные прогностические факторы, что выше, чем одна смерть, зарегистрированная в когорте 1 (n = 1). Тем не менее, когорта 2 представляла собой слабую популяцию старшего возраста с повышенной умеренной или тяжелой почечной недостаточностью и более высокими показателями ECOG.

**[00804] Обобщенные данные клинических результатов**

**[00805]** В совокупности показатели эффективности в когорте 2 превзошли исторические контрольные показатели, что поддерживает энфортумаб ведотин в качестве варианта лечения, не содержащего платину, у пациентов с местнораспространенным или метастатическим уротелиальным раком (la/mUC), которые получали терапию PD1 или PD-L1 и являются не подходящими для лечения цисплатином.

**[00806]** ORR превышала таковую для доступных методов лечения для этой группы населения, о чем свидетельствуют данные о том, что более половины субъектов ответили, при этом пятая часть достигла полного ответа. В частности, ORR составил 51,7 % (95 % CI: 40,8, 62,4), и доля полных ответов составила 20,2 % на слепой независимый центральный обзор. Медиана продолжительности ответа (DOR) составила 10,9 месяцев (95 % CI 5,78, -). Аналогичная эффективность наблюдалась во всех подгруппах, оценки выживаемости без прогрессирования и общей выживаемости были обнадеживающими. Субъекты получали

лечение с медианной продолжительности 6 месяцев с максимальной продолжительностью 24 месяца. На дату окончания сбора данных 8 сентября 2020 г. медиана наблюдения составила 13,4 месяца.

**[00807]** Профиль безопасности является управляемым в популяции пациентов, представленной в когорте 2. Наиболее распространенные ТЕАЕ, связанные с лечением, в когорте 2 были аналогичны когорте 1 и включали алопецию, периферическую сенсорную невропатию и утомляемость. У 55,1 % субъектов наблюдались связанные с лечением ТЕАЕ выше или равные 3 степени, причем наиболее распространенными из них были нейтропения (9 %), пятнисто-популярная сыпь (7,9 %), утомляемость (6,7 %). Частота прекращения лечения из-за АЕ, связанных с лечением, составила 15,7 %, среди которых наиболее частой причиной была периферическая невропатия (4,5 %). Четыре случая смерти были оценены исследователями как связанные с лечением и произошли у пациентов старше 75 лет или старше с серьезными сопутствующими заболеваниями и плохими прогностическими факторами. В когорте 1 наиболее распространенными нежелательными явлениями, связанными с лечением, были утомляемость, алопеция, снижение аппетита, сыпь и периферическая невропатия, которые обычно были легкими или умеренными. У 54 % субъектов наблюдались ТЕАЕ 3 или 4 степени, связанные с лечением, причем наиболее распространенными из них были нейтропения (8 %), анемия (7 %) и утомляемость (6 %). Частота прекращения лечения из-за АЕ, связанных с лечением, составила 12 %, а наиболее частой причиной была периферическая невропатия (6 %). Сообщается об одном случае синдрома Стивенса-Джонсона. Одна связанная с лечением смерть от интерстициального заболевания легких была смешана с инфекцией. События в обеих когортах происходили с одинаковой частотой. Интересующие нежелательные явления также соответствовали тем, о которых сообщалось ранее для энфортумаба ведотина, и включали сыпь, периферическую невропатию и гипергликемию. Острая почечная недостаточность была наиболее частым SAE, встречаясь чаще, чем в когорте 1. Считается, что не подходящая для лечения цисплатином популяция подвергалась более высокому риску острого повреждения почек из-за сопутствующей почечной дисфункции. Таким образом, результаты коллективной безопасности отражают управляемый профиль безопасности у пациентов, которые ранее получали терапию PD-1/PD-L1 и которые не подходят для лечения цисплатином. Примечательно, что субъекты в когорте 2 были представителями типичной популяции, не подходящей для лечения цисплатином, у которых наблюдалось прогрессирование во время/после приема ингибиторов PD-(L)1 в 1L.

**[00808]** Взятые вместе, вышеприведенные результаты демонстрируют положительный

профиль пользы и риска у пациентов, не подходящих для лечения цисплатином, которые ранее получали терапию PD-1/PD-L1. Во-первых, энфортумаб ведотин был высокоэффективен, оценки ORR и DOR превышали таковые для когорты 1 и клинического исследования EV301, описанного ранее (см., например, [businesswire.com/news/home/20200918005101/en/](https://www.businesswire.com/news/home/20200918005101/en/), пресс-релиз от 18 сентября 2020 г.). Во-вторых, безопасность была управляемой и приемлемой для преимущественно пожилых и ослабленных пациентов.

**[00809]** В заключение, основываясь на надежной эффективности и управляемом профиле безопасности у пациентов с распространенным уротелиальным раком, не подходящих для лечения цисплатином, которые ранее получали PD-1/PD-L1, профиль пользы и риска энфортумаба ведотина является положительным.

#### **6.1.10 Список сокращений и описание терминов**

<b>[00810]</b>	ADC	конъюгат антитело-лекарственное средство
<b>[00811]</b>	AE	нежелательное явление
<b>[00812]</b>	ALT	аланинаминотрансфераза
<b>[00813]</b>	AST	аспартатаминотрансфераза
<b>[00814]</b>	ATA	антитерапевтические антитела
<b>[00815]</b>	BSC	наилучшая поддерживающая терапия
<b>[00816]</b>	CBC	общий анализ крови
<b>[00817]</b>	CFR	Свод федеральных правил
<b>[00818]</b>	CI	доверительный интервал
<b>[00819]</b>	ЦНС	центральная нервная система
<b>[00820]</b>	CPI	ингибитор контрольной точки
<b>[00821]</b>	CR	полный ответ
<b>[00822]</b>	CrCl	клиренс креатинина
<b>[00823]</b>	CRF	форма истории болезни
<b>[00824]</b>	CT	компьютерная томография
<b>[00825]</b>	цоДНК	циркулирующая опухолевая ДНК
<b>[00826]</b>	DCR	процент борьбы с заболеванием
<b>[00827]</b>	DCR16	процент борьбы с заболеванием на 16 неделе
<b>[00828]</b>	DLT	дозолимитирующая токсичность
<b>[00829]</b>	DOR	продолжительность ответа
<b>[00830]</b>	ECD	внеклеточный домен
<b>[00831]</b>	ЭКГ	электрокардиограмма

[00832]	ECOG	Восточная кооперативная онкологическая группа
[00833]	eCRF	электронная форма отчета о болезни
[00834]	EORTC	Европейская организация по исследованию и лечению рака
[00835]	EOT	конец лечения
[00836]	EQ-5D	5-значный EuroQoL
[00837]	FDA	Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов
[00838]	HbA1c	гемоглобин A1c
[00839]	ICH	международный совет по гармонизации
[00840]	IDMC	независимый комитет по мониторингу данных
[00841]	IEC	независимый комитет по этике
[00842]	Ig	иммуноглобулин
[00843]	IHC	иммуногистохимия
[00844]	IND	исследовательский новый препарат
[00845]	INR	международное нормализованное отношение
[00846]	IRB	институциональный наблюдательный совет
[00847]	IRF	независимый исследовательский центр
[00848]	IRR	инфузионная реакция
[00849]	в/в	внутривенно
[00850]	LFT	тест функции печени
[00851]	MMAE	мометилауристатин E
[00852]	MRI	магнитно-резонансная томография
[00853]	mРНК	матричная рибонуклеиновая кислота
[00854]	NCI CTCAE	общие терминологические критерии нежелательных явлений Национального института рака
[00855]	ORR	частота объективного ответа
[00856]	OS	общая выживаемость
[00857]	PBMC	моноклеарные клетки периферической крови
[00858]	ПЦР	полимеразная цепная реакция
[00859]	PD	прогрессирующее заболевание
[00860]	PD-1	белок запрограммированной гибели клеток 1
[00861]	PD-L1	лиганд запрограммированной смерти 1
[00862]	PFS	выживаемость без прогрессирования
[00863]	PK	фармакокинетика

<b>[00864]</b>	PP	на протокол
<b>[00865]</b>	PR	частичный ответ
<b>[00866]</b>	PRO	отчет пациента о результате
<b>[00867]</b>	PT	протромбиновое время
<b>[00868]</b>	PTT	частичное тромбопластиновое время
<b>[00869]</b>	QLQ-C30	опросник качества жизни EORTC
<b>[00870]</b>	QoL	качество жизни
<b>[00871]</b>	RECIST	критерии оценки ответа при солидных опухолях
<b>[00872]</b>	SAE	серьезное нежелательное явление
<b>[00873]</b>	SAP	план статистического анализа
<b>[00874]</b>	SD	стабильное заболевание
<b>[00875]</b>	TAb	общее антитело
<b>[00876]</b>	TEAE	нежелательное явление, возникающее при лечении
<b>[00877]</b>	ULN	верхняя граница нормы
<b>[00878]</b>	vc	валин-цитруллин

Таблица 26 График процедур

	День	Скрининговый/Исходный		Регистрация	Каждый 28-дневный цикл						EOT	Последующее наблюдение	LTFU		
		от Д -28 до 1	от Д -7 до 1		В пределах 7Д от 1-й дозы	D1	D3 <sup>a</sup>	D8	D15	D17 <sup>a</sup>				D22	
	Окно визитов				±2 д	±24 ч	+2 д	+2 д	-24 ч /+48 ч			В течение 30–37 дней после последней дозы <sup>d</sup>	Каждые 8 недель	Каждые 8 недель	
Скрининг/исходные оценки	Включен/исключен, история болезни	X		Предоставьте подтверждение приемлемости до начала лечения											
	Информированное согласие	X													
	Получить и отправить образец опухоли <sup>c</sup>	X													
	Полное обследование глаз <sup>b</sup>	X													
	Осмотр глаз с помощью щелевой лампы <sup>b</sup>											X <sup>O</sup>			
	Сканирование мозга	X									X <sup>E</sup>	X <sup>E</sup>	X <sup>E</sup>		
	Сканирование костей	X									X <sup>E</sup>	X <sup>E</sup>	X <sup>E</sup>		
	INR/PT/PTT	X													
	Скрининг гепатита В и С	X													
	Общий анализ мочи с микроскопическим анализом	X													
	HbA1c <sup>N</sup>	X													
Тест на беременность (женщины детородного возраста) <sup>f</sup>		X			X					X					
Физический осмотр (включая массу) <sup>f</sup>		X			X <sup>G</sup>					X		X <sup>H</sup>			

Оценки безопасности	Рост		X															
	Основные показатели жизнедеятельности		X		XG		X	X				X						
	CBC с дифференциалом <sup>h</sup>		X		XG		X	X				X						
	Панель химии <sup>i</sup>		X		XG		X	X				X						
	CrCl		X															
	статус производительности ECG <sup>g</sup>		X		XG							X		XH				
	ЭКГ		X									X						
	Сопутствующие лекарственные препараты	Связанные с процедурами	Собирать с 1-го дня перед приемом до 30 дней после															
Сбор данных о нежелательных явлениях	последования с момента	последнего исследуемого лечения.																
	получения информированного																	
	согласия																	
PRO/QoL	QLQ-C30 и EQ-5D				X							X						
Лечение	Введение исследуемого препарата <sup>l</sup>				X		X	X										
PK/ATA/биомаркер	Сбор образцов крови	См. таблицу PK, ATA и биомаркеров (Таблица 9) для подробностей о сборе образцов																
Оценка ответа	КТ с контрастированием грудной клетки, брюшной полости, таза и любой другой области известного или подозреваемого заболевания <sup>o</sup>											XJK	XJL		XHJ			
	Статус выживания																	XM

A. Циклы 1 и 2. См. таблицу PK, ATA и биомаркеров (Таблица 9) для подробностей о сборе образцов.

B. Оценки EOT должны быть получены до начала последующей противоопухолевой терапии, за исключением исследований с помощью целевой лампы. Если оценки EOT завершены до 30 дней после последнего исследуемого лечения, проведите скрининг по телефону через 30–37 дней после последнего исследуемого лечения пациента, чтобы убедиться, что не произошло никаких изменений в профиле AE.

C. Предварительно обработанная опухолевая ткань (из первичного или метастатического очага) для исследований биомаркеров должна быть доступна для предоставления спонсору до начала исследуемого лечения. Требуется минимум 10 свежесрезанных неокрашенных

заряженных предметных стекол. Приемлема либо архивная ткань, либо свежая опухолевая ткань до лечения (полученная из свежей биопсии).

D. Повторяется по клиническим показаниям на протяжении всего исследования.

E. Повторяют в моменты времени оценки заболевания, если заболевание присутствует на исходном уровне, или по клиническим показаниям на протяжении всего исследования.

F. Тест на беременность на основе сыворотки или мочи. Не требуется для цикла 1, если базовая оценка проводится в течение 7 дней. Повторяйте каждый месяц ( $\pm 1$  неделя) в течение 6 месяцев после ЕОТ. G не требуется для цикла 1, если базовая оценка проводится в течение 1 дня.

G. Пациенты, прекратившие исследуемое лечение по причинам, отличным от объективного прогрессирования заболевания согласно RECIST версии 1.1, будут продолжать проходить физикальное обследование (не требуется сбор данных о массе), ECOG и оценку ответа через 8 недель ( $\pm 1$  неделя) после предыдущего сканирования для оценки ответа и каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя) после предыдущего визита. После 1 года исследования частота повторных визитов и оценку ответа, будет снижена до каждые 12 недель ( $\pm 1$  неделя). Оценки опухоли будут продолжаться до тех пор, пока у пациента не будет рентгенологически подтверждено прогрессирование заболевания в соответствии с RECIST, как это определено исследователем, не будет начата новая противораковая терапия, смерть пациента, закрытие исследования или отзыв согласия, в зависимости от того, что наступит раньше.

H. Между дозами эфортумаба ведотина должно пройти не менее 1 недели.

I. Ответы будут подтверждены повторным сканированием через 4 недели после первого документирования ответа ( $+1$  неделя). После подтверждающих сканирований оценка ответов должна продолжаться по предыдущему расписанию сканирования (т. е. расписание не должно корректироваться). Визуализация опухоли также должна выполняться при подозрении на прогрессирование заболевания.

J. Оценка ответа будет проводиться каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя). После 1 года обучения оценка ответа будет сокращена до каждые 12 недель ( $\pm 1$  неделя). График оценки ответа не следует корректировать из-за задержек/перерывов в приеме дозы или других причин изменения времени проведения исследования пациентом; моменты времени для оценки ответа должны быть рассчитаны от цикла 1 день 1 во время лечения.

- К. Не требуется, если проводится менее чем за 4 недели до БОТ.
- Л. Свяжитесь с пациентом для выживаемости и сбора информации о последующем противоопухолевом лечении каждые 8 недель ( $\pm 1$  неделя) после БОТ (или 8 недель после предыдущего визита по протоколу, в зависимости от того, что наступит позже) до смерти, закрытия исследования или отзыва согласия или потери пациента для последующего наблюдения, в зависимости от того, что произойдет раньше. После 1 года исследования частота последующих контактов будет снижена до каждые 12 недель.
- М. ( $\pm 1$  неделя).
- Н. Если уровень HbA1c повышен ( $\geq 6,5$  %), направьте пациента к соответствующему врачу во время цикла 1 для контроля уровня глюкозы.
- О. Обследование с помощью щелевой лампы БОТ требуется для всех пациентов, у которых во время исследования возникают нежелательные явления со стороны роговицы, и должно быть выполнено через  $\geq 4$  недель после последней дозы.
- Р. Может быть собран или проведен за 1 день до дозирования. Местные лабораторные результаты должны быть рассмотрены до введения исследуемого лекарственного средства, чтобы определить, следует ли продолжать дозирование или требуется изменение дозы.
- Q. Если контраст противопоказан, см. 6.1.13.

Таблица 27 Преобразование шкал статуса производительности

Карновски		Лански		ЕСОГ	
Процент	Описание	Процент	Описание	Балл	Описание
100	В норме, жалоб нет, признаков заболевания нет.	100	Полностью активен, нормальный.	0	Нормальная активность. Полностью активен, способен выполнять
90	Способен вести обычную деятельность; незначительные признаки или симптомы заболевания.	90	Незначительные ограничения в физически напряженной деятельности.		все функции до заболевания без ограничений.
80	Нормальная деятельность с усилием; некоторые признаки или симптомы заболевания.	80	Активен, но быстрее утомляется.	1	Симптомы, но амбулаторные. Ограничен в физически напряженной деятельности, но амбулаторно и
70	Заботится о себе, не может вести нормальную деятельность или заниматься активной работой.	70	Как большее ограничение игровой деятельности, так и меньше времени, проводимого в ней.		способен выполнять работу легкого или сидячего характера (например, легкая работа по дому, офисная работа).
60	Время от времени нуждается в помощи, но способен	60	Вверх и вниз, но минимальная активная игра; занимается более	2	В постели <50% времени. Амбулаторный и

Карновски		Лански		ЕСОГ	
Процент	Описание	Процент	Описание	Балл	Описание
50	Требуются значительная помощь и частая медицинская помощь.	50	Одевается, но большую часть дня лежит без дела; нет активной игры; способен участвовать во всех тихих активных играх и мероприятиях.		способный к самообслуживанию, но неспособный выполнять какие-либо рабочие действия. Бодрствование и более 50% времени бодрствования.
40	Инвалид, требует особого ухода и помощи.	40	В основном в постели, участвует в спокойных занятиях.	3	В постели >50% времени. Способен только к ограниченному уходу за собой, прикован к постели или стулу более 50% времени бодрствования.
30	Тяжелая инвалидность, показана госпитализация. Смерть не близка.	30	В постели нуждается в помощи даже для спокойной игры.		уходу за собой, прикован к постели или стулу более 50% времени бодрствования.
20	Очень болен, показана госпитализация. Смерть не близка.	20	Часто спит, игра полностью ограничивается очень пассивной деятельностью.	4	Прикован к постели на 100%. Полностью нетрудоспособный. Не может заниматься самообслуживанием.
10	Умирающие, фатальные	10	Не играет, не встает с постели.		заниматься самообслуживанием.

Карновски		Лански		ECOG	
Процент	Описание	Процент	Описание	Балл	Описание
	процессы быстро прогрессируют.				Полностью прикован к постели или креслу.
0	Смерть.	0	Смерть.	5	Смерть.

#### **6.1.11 Нью-Йоркская кардиологическая классификация**

**[00879]** Функционально-терапевтическая классификация назначения физической активности кардиологическим больным

**[00880]** Класс I: пациенты без ограничения активности; они не страдают от симптомов обычной деятельности.

**[00881]** Класс II: пациенты с легким, умеренным ограничением активности; им комфортно в покое или при легкой физической нагрузке.

**[00882]** Класс III: пациенты с выраженным ограничением активности; им комфортно только в покое.

**[00883]** Класс IV: пациенты, которые должны находиться в полном покое, прикованы к постели или стулу; любая физическая активность вызывает дискомфорт, симптомы проявляются в состоянии покоя.

**[00884]** Он-лайн источник:  
[heart.org/HEARTORG/Conditions/HeartFailure/AboutHeartFailure/Classes-of-Failure\\_UCM\\_306328\\_Article.jsp](http://heart.org/HEARTORG/Conditions/HeartFailure/AboutHeartFailure/Classes-of-Failure_UCM_306328_Article.jsp) Heart-

**Таблица 28 обобщение критериев Recist (версия 1.1)**

<b>Критерии оценки ответа при солидных опухолях</b>	
<b>Термин</b>	<b>Определение</b>
Полный ответ (CR)	Исчезновение всех целевых поражений. Любые патологические лимфатические узлы должно иметь редукцию по короткой оси до <10 мм.
Частичный ответ (PR)	≥30 % уменьшение суммы диаметров поражений-мишеней, принимая за основу исходные суммарные диаметры.
Прогрессирующее заболевание (PD)	По меньшей мере 20 % увеличение суммы диаметров поражений-мишеней, принимая за эталон наименьшую сумму в исследовании (сюда входит исходная сумма, если она

<b>Критерии оценки ответа при солидных опухолях</b>	
<b>Термин</b>	<b>Определение</b>
	является наименьшей в исследовании). Помимо относительного увеличения на 20 %, сумма также должна демонстрировать абсолютное увеличение не менее чем на 0,5 см. Появление одного или более новых поражений также считается прогрессированием.
Стабильное заболевание (SD)	Ни достаточного уменьшения, чтобы квалифицировать PR, ни достаточного увеличения, чтобы квалифицировать PD, принимая во внимание наименьшие суммарные диаметры во время исследования.
Измеримое поражение	<p>Должен быть точно измерен по меньшей мере в одном измерении (записывается самый длинный диаметр в плоскости измерения) с минимальным размером 10 мм с помощью КТ (толщина КТ-среза не более 5 мм).</p> <p>Лимфатический узел должен быть <math>\geq 15</math> мм по короткой оси при оценке с помощью КТ, чтобы считаться поддающимся измерению.</p>

По RECIST версии 1.1 (Eisenhauer *et al.*, Eur J Cancer (2009); 45(2): 228-47)

Ответ (CR или PR) будет считаться подтвержденным, если последующая оценка заболевания (по меньшей мере через 4 недели после первоначального ответа) все еще показывает ответ (CR или PR). В тех случаях, когда за первоначальным ответом следует SD, он будет считаться подтвержденным, если за SD позже последует PR или CR. Например, если у пациента был PR на 8-й неделе, SD на 12-й неделе и PR на 16-й неделе, этот PR будет считаться подтвержденным.

#### **6.1.12 Мониторинг и оценка безопасности печени**

**[00885]** Следующие рекомендации взяты из Руководства для промышленности Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA) под названием «Drug-Induced Liver Injury: Premarketing Clinical Evaluation» выпущено в июле 2009 г.

**[00886]** Любой пациент с повышением уровня аминотрансфераз в сыворотке крови более

чем в 3 раза по сравнению с верхней границей нормы (ULN) или билирубина >2 раз по сравнению с ULN должен пройти детальное исследование ферментов печени (включая по меньшей мере аланинаминотрансферазу (ALT), аспартатаминотрансферазу (AST), щелочную фосфатазу (ALP) и общий билирубин (TBL)). Чтобы подтвердить отклонение от нормы, тестирование следует повторить в течение 72 часов с момента уведомления о результатах теста.

**[00887] Описание аномалий печени:**

**[00888]** Подтвержденные нарушения функции печени будут характеризоваться как умеренные и тяжелые:

**[00889] Умеренное:**

- ALT или AST >3 × ULN **ИЛИ** общий билирубин >2 × ULN

**[00890] Тяжелое:**

- ALT или AST >3 × ULN **И** общий билирубин >2 × ULN (\* См. описание закона Хи ниже)
- ALT или AST > 8 × ULN
- ALT или AST > 5 × ULN более 2 недель
- ALT или AST > 3 × ULN и Международное нормализованное отношение (МНО) > 1,5 (если тестирование МНО применимо/оценивается)
- ALT или AST >3 × ULN с появлением симптомов, указывающих на повреждение печени (например, боль или болезненность в правом подреберье) и/или эозинофилии (> 5 %)

**[00891]** Исследователь может определить, что результаты нарушения функции печени, отличные от описанных выше, могут квалифицироваться как умеренные или тяжелые нарушения и требуют дополнительного мониторинга и последующего наблюдения.

**[00892]** \*Закон Хи: Лекарственная желтуха, вызванная гепатоцеллюлярным повреждением, без значимого обструктивного компонента, имеет высокий процент неблагоприятных исходов, от 10 до 50 % смертности (или трансплантации). Два «требования» для закона Хи: 1) Доказательства того, что лекарственное средство может вызвать поражение печени, обычно проявляющееся повышением уровня трансаминаз выше 3 × ULN («повышение уровня 2 × ULN слишком часто встречается у леченных и нелеченных пациентов, чтобы их можно было различить»). 2) Случаи повышения уровня билирубина (по меньшей мере, в 2 раза выше ULN) с одновременным повышением уровня трансаминаз не менее чем в 3 раза выше ULN и без признаков обструкции внутри- или внепеченочного билирубина (повышение ALP) или синдрома Жильбера (Temple *et al.*, Pharmacoepidemiol

Drug Saf (2006);15(4): 241-3.).

**[00893] Последующие процедуры**

**[00894]** Подтвержденные умеренные и тяжелые нарушения функции печени должны быть тщательно охарактеризованы путем получения соответствующих консультаций специалистов, сбора подробного соответствующего анамнеза, физического осмотра и лабораторных анализов. Пациенты с подтвержденными аномальными результатами тестирования функции печени должны находиться под наблюдением, как описано ниже.

**[00895]** Подтвержденные умеренно аномальные тесты функции печени (LFT) следует повторять 2–3 раза в неделю, а затем еженедельно или реже, если аномалии стабилизируются или прием исследуемого лекарственного средства был прекращен, а у субъекта отсутствуют симптомы.

**[00896]** Тяжелые нарушения функции печени, как определено выше, при отсутствии другой этиологии могут рассматриваться как важное медицинское явление и могут быть зарегистрированы как SAE. Следует связаться со спонсором и проинформировать его обо всех пациентах, у которых наблюдаются тяжелые нарушения функции печени, возможно связанные с приемом исследуемого лекарственного средства.

**[00897]** Для дальнейшей оценки патологических результатов лабораторных исследований печени исследователю рекомендуется:

- Получите более подробную историю симптомов и предшествующих или сопутствующих заболеваний. Следует отметить такие заболевания и состояния, как гипотензивные явления и декомпенсированные заболевания сердца, которые могут привести к вторичным нарушениям функции печени. Неалкогольный стеатогепатит наблюдается у пациентов с ожирением, гиперлиппротеинемией и/или диабетом и может быть связан с колебаниями уровня аминотрансферазы.
- Получите информацию о сопутствующем употреблении лекарственных средств (включая лекарственные средства, отпускаемые без рецепта, дополнительные и альтернативные лекарственные средства), употреблении алкоголя, рекреационных лекарственных средств и специальных диетах.
- Получить историю воздействия химических агентов окружающей среды.
- В зависимости от анамнеза пациента могут быть уместны другие тесты, в том числе:
  - Острый вирусный гепатит (А, В, С, D, E или другие инфекционные агенты),
  - УЗИ или другая визуализация для оценки заболевания желчевыводящих путей,
  - Другие лабораторные исследования, включая МНО, прямой билирубин.

- Подумайте о консультациях гастроэнтеролога или гепатолога.

[00898] Проведите дополнительное тестирование по решению исследователя для дальнейшей оценки возможной этиологии. Рекомендации по прекращению лечения, связанные с безопасностью для печени, см. в разделе 6.1.6.2(iii)(a).

### **6.1.13 Руководство по сканированию и контрастированию**

[00899] **В порядке убывания предпочтения:**

[00900] **Сканирование мозга:**

1. МРТ головного мозга с гадолинием

[00901] **Если гадолиний противопоказан по медицинским показаниям:**

2. МРТ головного мозга без гадолиния
3. КТ головного мозга с внутривенным контрастированием
4. КТ головного мозга без внутривенного контрастирования

[00902] **Сканирование грудной клетки, брюшной полости и таза:**

1. КТ грудной клетки-абдомена-таза с внутривенным контрастированием

[00903] **Если йодсодержащие среды противопоказаны по медицинским показаниям:**

2. КТ грудной клетки без внутривенного контрастирования и МРТ брюшной полости и таза с гадолинием
3. КТ грудной клетки-абдомена-таза без внутривенного контрастирования (рекомендуется пероральный контраст)
4. МРТ грудной клетки-живота-таза с гадолинием

[00904] **КТ с пероральным контрастом**

1. Рентгеноконтрастные агенты (например, агенты на основе йода и бария)
2. Радиопрозрачные вещества (цельное молоко, VoLumen®, вода)

### **6.1.14 Почечная недостаточность была наиболее распространенной причиной неприемлемости цисплатина.**

**Таблица 29.**

	<b>n (%)</b>
клиренс креатинина <60 мл/мин	59 (66,3)
PS ECOG, равное 2	6 (6,7)
Потеря слуха ≥2 степени	13 (14,6)
Клиренс креатинина <60 мл/мин и PS ECOG, равное 2	3 (3,4)

Клиренс креатинина <60 мл/мин и потеря слуха $\geq 2$ степени	7 (7,9)
PS ECOG, равное 2 и потеря слуха $\geq 2$ степени	1 (1,1)

**6.2 Пример 2 – Трехмесячное последующее наблюдение за результатами открытого многоцентрового исследования энфортумаба ведотина (ASG-22CE) в одной группе для лечения пациентов с местнораспространенным или метастатическим уротелиальным раком, ранее получавших терапию ингибиторами иммунных контрольных точек (CPI).**

### **6.2.1 Методы исследования**

**[00905]** В качестве трехмесячного последующего исследования, описанного в разделе 6.1 (Пример 1), методы исследования для этого раздела 6.2 (Пример 2) были такими же, как описано в разделе 6.1 (Пример 1). Вкратце, как показано и описано в разделе 6.1 (Пример 1), не подходящие для лечения цисплатином, ранее не получавшие платину пациенты с местнораспространенной или метастатической уротелиальной карциномой («la/mUC»), у которых имелось прогрессирование на момент/после ингибиторов PD-1/L1, плохой прогноз и мало вариантов лечения. Как описано в данном документе, в том числе в разделе 6.1 (Пример 1), энфортумаб ведотин (EV) представляет собой конъюгат антитело-лекарственное средство, направленный против нектин-4, иммуноглобулиноподобной молекулы клеточной адгезии, в высокой степени экспрессируемой при UC. В разделе 6.1 (Пример 1) описывается базовое одногрупповое 2-групповое исследование EV при la/mUC, в котором когорта 1 фокусируется на определении эффективности EV у взрослых пациентов с la/mUC, ранее получавших ингибиторы PD-1/L1 и платиносодержащую химиотерапию в неoadъювантной/адъювантной схеме, la/mUC. Как описано в разделе 6.1 (Пример 1), когорта 2 исследования сосредоточена на пациентах не подходящих для лечения цисплатином, ранее получавших ингибиторы PD-1/L1 и ранее не получавших препараты платины для la/mUC. Результаты первичного анализа для когорты 2 описаны в разделе 6.1 (Пример 1). В этом разделе 6.2 (Пример 2) описываются анализы с дополнительным 3-месячным последующим наблюдением исследования, описанного в разделе 6.1 (Пример 1), для определения эффективности EV во время наблюдения, включая определение продолжительности ответа (DOR). Соответственно, данные, представленные в этом Разделе 6.2 (Пример 2), представляют собой обновленные данные, которые

отражают дополнительные 3 месяца наблюдения по сравнению с данными, представленными в Разделе 6.1 (Пример 1). Как описано в разделе 6.1 (Пример 1), пациенты в этом открытом, многоцентровом, многонациональном исследовании получали 1,25 мг/кг EV в дни 1, 8 и 15 каждого 28-дневного цикла. Первичной конечной точкой была подтвержденная объективная частота ответов (ORR) в соответствии с RECIST 1.1 слепым независимым центральным обзором (BICR). Вторичными конечными точками были DOR, выживаемость без прогрессирования (PFS), общая выживаемость (OS) и безопасность. На момент проведения этого последующего исследования за всеми ответившими наблюдали в течение по меньшей мере 6 месяцев с момента появления ответа.

### 6.2.2 Результаты исследования

**[00906]** Результаты трехмесячного наблюдения за пациентами когорты 2, которым применялись методы лечения, описанные в разделе 6.1, описаны ниже. Вкратце, 91 пациент был зарегистрирован и 89 лечились в когорте 2. Пациенты были пожилого возраста (медианный возраст: 75 лет [диапазон: 49-90]) с сопутствующими заболеваниями, включая умеренную/тяжелую почечную недостаточность. Пациенты были не подходящими для лечения цисплатином при включении в исследование из-за  $\text{CrCl} < 60$  мл/мин (66 %), потери слуха  $\geq 2$  степени (15 %) или ECOG PS 2 (7 %); еще 12 % соответствовали  $\geq 1$  критерию. Первичная локализация опухоли была в верхних отделах мочевыводящих путей у 43 %, а 79 % имели висцеральные метастазы, в том числе 24 % имели метастазы в печени. Медианная продолжительность лечения составила 6,0 мес (диапазон: 0,3-24,6).

**[00907]** Согласно слепому независимому центральному обзору, подтвержденная ORR составила 51 % (95 % CI 39,8–61,3), включая 22 % CR среди пролеченных пациентов, как показано в Таблице 30.

**Таблица 30.**

	<b>Когорта (N=89)</b>	<b>2</b>
Лучший общий ответ <sup>a</sup> , n (%)		
<b>Полный ответ (CR)</b>	20 (22,5)	
Частичный ответ (PR)	25 (28,1)	
Стабильное заболевание (SD)	27 (30,3)	
Прогрессирующее заболевание (PD)	9 (10,1)	
Не подлежит оценке (NE) <sup>c</sup>	8 (9,0)	

	<b>Когорта</b> <b>2</b> <b>(N=89)</b>
<b>ORR (CR или PR), n (%)</b>	45 (50,6)
<b>95 % CI<sup>b</sup> для ORR</b>	(39,8, 61,3)

а. Лучший общий ответ согласно RECIST v1.1. CR или PR были подтверждены повторными сканированиями более чем через 28 дней после первоначального ответа.

б. Рассчитано по методу Клоппера-Пирсона (Clopper *et al.*, *Biometrika* (1934); 26(4): 404-413).

с. Включает 5 субъектов, у которых не была проведена оценка ответа после исходного уровня, 2 субъекта, чья оценка после исходного уровня не соответствовала требованиям минимального интервала для стабильного заболевания, и 1 субъект, чей ответ невозможно оценить из-за неполной анатомии.

**[00908]** Медиана DOR на данном этапе исследования составила 13,8 мес (95 % CI 6,41, -); как показано в Таблице 31 и на Фиг. 11.

**Таблица 31.**

	<b>Когорта</b> <b>2</b> <b>(N=89)</b>
Количество ответивших (подтвержденный CR или PR)	45
Количество ответивших, которые прогрессировали или умерли	19/45 (42,2)
Продолжительность ответа <sup>a</sup> (месяцев)	
Медиана (95 % CI <sup>b</sup> )	13,8 (6,41, -)
25- <sup>й</sup> , 75- <sup>й</sup> перцентиль	5,8, -
Наблюдаемое мин, макс	0,99+, 24,71+
% Ответившие без PD или смерти через	
6 месяцев (95 % CI <sup>b</sup> )	67,9 (51,11, 79,95)
12 месяцев (95 % CI <sup>b</sup> )	53,7 (35,51, 68,85)

	<b>Когорта</b> <b>(N=89)</b>	<b>2</b>
18 месяцев (95 % CI <sup>b</sup> )	35,8 (14,49, 57,91)	

a. По оценке по методу Каплана-Мейера.

b. Рассчитано с использованием дополнительного метода логарифмического преобразования (Collett *et al.*, Chapman & Hall (1994): 237-251).

**[00909]** В анализе подгруппы ORR, показанном на **Фиг. 12**, ответы наблюдались во всех подгруппах, включая точечные оценки ORR более 40 % для всех подгрупп. Ответы наблюдались у пациентов с первичными опухолями в верхних отделах тракта (ORR=58 %), у пациентов с метастазами в печень (ORR=43 %) и у пациентов, которые не реагировали на предшествующую терапию ингибиторами PD-1/PD-L1 (ORR= 46 %).

**[00910]** Медиана PFS составила 6,7 месяца (95 % CI 5,0, 8,3) (см. **Фиг. 13**), а медиана OS составила 16,1 месяца. (95 % CI 11,3, 24,1) (см. **Фиг. 14**). Медиана наблюдения за общей выживаемостью составляет 16,0 месяцев (95 % CI 14,78, 18,20).

**[00911]** Наиболее распространенными TEAE, связанными с лечением (все степени), были алоpecia (51 %), периферическая сенсорная невропатия (49 %) и утомляемость (34 %), как показано в Таблице 32.

**Таблица 32.**

ТРАЕ у $\geq 20$ % пациентов (любой степени) или $\geq 5$ % ( $\geq$ степень 3)	Пациенты (N=89), n (%)	
	Любая степень	$\geq$ степень 3
Общие ТРАЕs <sup>a</sup>	86 (97)	49 (55)
Алоpecia	45 (51)	–
Периферическая сенсорная невропатия	44 (49)	3 (3)
Усталость	30 (34)	6 (7)
Снижение аппетита	29 (33)	5 (6)
Зуд	27 (30)	3 (3)
Сыпь макуло-папулезная	27 (30)	7 (8)
Дисгевзия	25 (28)	–
Масса уменьшилась	23 (26)	1 (1)
Анемия	22 (25)	5 (6)

ТРАЕ у $\geq 20$ % пациентов (любой степени) или $\geq 5$ % ( $\geq$ степень 3)	Пациенты (N=89), n (%)	
	Любая степень	$\geq$ степень 3
Диарея	20 (22)	5 (6)
Тошнота	20 (22)	1 (1)
Нейтропения	11 (12)	8 (9)
Гипергликемия	8 (9)	5 (6)
Липаза повышена	7 (8)	5 (6)

а. Нежелательные явления, связанные с лечением, на основании предпочтительных условий

[00912] Интересующие ТЕАЕ, связанные с лечением, включали сыпь (61 % всех степеней, 17 %  $\geq$ G3), периферическую невропатию (56 % всех степеней, 8 %  $\geq$ G3) и гипергликемию (10 % всех степеней, 6 %  $\geq$ G3), как показано в Таблице 33. Нежелательные явления, как правило, поддаются лечению при правильном изменении дозы и мерах поддерживающей терапии (события классифицируются на основе запросов по соответствующим терминам MedDRA (Medical Dictionary for Regulatory Activity) v. 23.0).

**Таблица 33.**

	Кожные реакции	Периферическая невропатия	Гипергликемия
Любая степень, %	61	56	10
$\geq$ степень 3, %	17	8	6
Медиана начала, месяцы	0,5 <sup>a</sup>	2,6	0,5 <sup>a</sup>
Разрешение/улучшение <sup>b</sup> , %	80	54	89

а. Большинство произошло в цикле 1.

б. Разрешение/улучшение на момент последнего наблюдения.

[00913] У пациентов с кожными реакциями не было явлений 5-й степени и 1 явлений 4-й степени. Было 13 пациентов с тяжелыми кожными нежелательными явлениями (*т. е.* с диапазоном предпочтительных терминов кожных реакций, независимо от степени), большинство из которых были  $\leq$  степени 2, при этом не наблюдалось явлений 4 или 5 степени. Из этих 13 пациентов с тяжелыми кожными нежелательными явлениями, у 4 пациентов были явления 3 степени: стоматит, шелушение кожи, буллезный дерматит и

генерализованный эксфолиативный дерматит. Кроме того, один пациент прекратил лечение из-за буллезного дерматита 3 степени.

**[00914]** Сходные показатели периферической невропатии наблюдались у пациентов с предшествующей периферической невропатией и без нее (60 % против 55 % соответственно).

**[00915]** Более высокая частота гипергликемии наблюдалась у пациентов с ранее существовавшей гипергликемией по сравнению с пациентами без ранее существовавшей гипергликемии (20 % против 7 % соответственно).

**[00916]** Ранее сообщалось о четырех случаях смерти, связанных с лечением, и они были описаны в разделе 6.1 (Пример 1) (острая почечная недостаточность, метаболический ацидоз, синдром полиорганной недостаточности и пневмонит). В обновленном анализе трехмесячного последующего наблюдения не было зарегистрировано дополнительных смертей, связанных с лечением.

**[00917]** В совокупности приведенные выше результаты трехмесячного наблюдения подтвердили результаты первичного анализа в разделе 6.1. Во-первых, у большинства ранее не получавших препараты платины, не подходящих для лечения цисплатином пациентов Ia/mUC, у которых наблюдалось прогрессирование во время/после приема ингибиторов PD-1/L1, был достигнут стойкий ответ на энфортумаб ведотин, при этом 22 % достигли полного ответа. Во-вторых, DOR, PFS и OS продолжают обнадеживать, без каких-либо новых сигналов безопасности.

**[00918]** В заключение, основываясь на надежной эффективности и управляемом профиле безопасности у пациентов с распространенным уротелиальным раком, не подходящих для лечения цисплатином, которые ранее получали PD-1/PD-L1, профиль пользы и риска энфортумаба ведотина является положительным.

## Формула изобретения

1. Способ профилактики или лечения рака у субъекта-человека, включающий введение субъекту эффективного количества конъюгата антитело-лекарственное средство, причем конъюгат антитело-лекарственное средство содержит антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, которое связывается с 191P4D12, конъюгированное с одной или более единицами монометилауристатина E (MMAE); при этом у субъекта имеется уротелиальный рак или рак мочевого пузыря; при этом субъект получил терапию ингибитором иммунной контрольной точки (CPI);  
при этом субъект не подходит для получения лечения цисплатином (не подходящий для лечения цисплатином).
2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что субъект, не подходящий для лечения цисплатином, представляет собой субъекта, ранее не получавшего препараты платины.
3. Способ по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что субъект, ранее не получавший платину, представляет собой субъекта, который получал платину в адъювантной или неадъювантной терапии и у которого не наблюдалось прогресса в течение 12 месяцев после завершения лечения препаратами платины.
4. Способ по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что субъект, ранее не получавший препараты платины, представляет собой субъекта, который ранее не получал химиотерапию, содержащую платину, или другую химиотерапию при местнораспространенном или метастатическом заболевании.
5. Способ по любому из пп. 1–4, отличающийся тем, что у субъекта, не подходящего для лечения цисплатином, имеется одно или более состояний, выбранных из группы, состоящей из: статус производительности ECOG, равный 2 балла, нарушение функции почек и потеря слуха не ниже 2 степени.
6. Способ по п. 5, отличающийся тем, что нарушение функции почек определяют по клиренсу креатинина (CrCl) менее 60 мл/мин.
7. Способ по п. 5, отличающийся тем, что нарушение функции почек определяют по CrCl менее 60, но не менее 30 мл/мин.
8. Способ по п. 5, отличающийся тем, что нарушение функции почек определяют по

CrCl менее 30, но не менее 15 мл/мин.

9. Способ по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что у субъекта, не подходящего для лечения цисплатином, наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после самой последней терапии.

10. Способ по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что у субъекта, не подходящего для лечения цисплатином, наблюдалось прогрессирование или рецидив рака во время или после терапии СР1.

11. Способ по любому из пп. 1-10, отличающийся тем, что у субъекта имеется первичная локализация опухоли в нижних мочевых путях.

12. Способ по любому из пп. 1-10, отличающийся тем, что у субъекта имеется первичная локализация опухоли в верхних мочевых путях.

13. Способ по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что у субъекта имеются висцеральные метастазы.

14. Способ по любому из пп. 1-13, отличающийся тем, что у субъекта имеются метастазы в печени.

15. Способ по любому из пп. 1-14, отличающийся тем, что у субъекта имеется по меньшей мере 1 фактор риска Бельмунта.

16. Способ по любому из пп. 1-15, отличающийся тем, что у субъекта имеется одно или более состояний, выбранных из группы, состоящей из:

(i) абсолютного числа нейтрофилов не менее  $1,0 \times 10^9/\text{л}$ ,

(ii) количества тромбоцитов не менее  $100 \times 10^9/\text{л}$ ;

(iii) уровня гемоглобина не менее 9 г/дл;

(iv) уровня сывороточного билирубина не более чем в 1,5 раза выше верхней границы нормы (ULN) или в 3 раза выше ULN для пациентов с болезнью Жильбера;

(v) уровня CrCl не менее 30 мл/мин и

(vi) уровней аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы не более чем в 3 раза выше ULN.

17. Способ по п. 16, отличающийся тем, что у субъекта имеются все состояния (i)-(vi) из п. 16.

18. Способ по любому из пп. 6-8, 16 и 17, отличающийся тем, что  $\text{CrCl}$  измеряют путем сбора суточной мочи или оценивают по критериям Кокрофта-Голта.
19. Способ по любому из пп. 1-18 отличающийся тем, что у субъекта сенсорная или моторная невропатия не выше 2-й степени.
20. Способ по любому из пп. 1-19 отличающийся тем, что у субъекта нет активных метастазов в центральной нервной системе.
21. Способ по любому из пп. 1-20 отличающийся тем, что у субъекта нет неконтролируемого диабета.
22. Способ по п. 21, отличающийся тем, что неконтролируемый диабет определяется уровнем гемоглобина  $\text{A1c}$  ( $\text{HbA1c}$ ) не менее 8 % или  $\text{HbA1c}$  от 7 до 8 % с сопутствующими симптомами диабета, которые не поддаются иному объяснению.
23. Способ по п. 22, отличающийся тем, что ассоциированные симптомы диабета включают или состоят из полиурии, полидипсии или как полиурии, так и полидипсии.
24. Способ по любому из пп. 1-23, отличающийся тем, что у субъекта имеется местнораспространенный или метастатический уротелиальный рак.
25. Способ по любому из пп. 1-23, отличающийся тем, что у субъекта имеется местнораспространенный или метастатический рак мочевого пузыря.
26. Способ по любому из пп. 1-25 отличающийся тем, что  $\text{CPI}$ -терапия представляет собой терапию ингибитором рецептора запрограммированной гибели клеток 1 ( $\text{PD-1}$ ).
27. Способ по любому из пп. 1-25 отличающийся тем, что терапия  $\text{CPI}$  представляет собой терапию ингибитором лиганда запрограммированной гибели клеток 1 ( $\text{PD-L1}$ ).
28. Способ по п. 26, отличающийся тем, что ингибитор  $\text{PD-1}$  представляет собой ниволумаб или пембролизумаб.
29. Способ по п. 27, отличающийся тем, что ингибитор  $\text{PD-L1}$  выбран из группы, состоящей из атезолизумаба, авелумаба и дурвалумаба.
30. Способ по любому из пп. 1-29, отличающийся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит переменную область тяжелой цепи, содержащую определяющие комплементарность области ( $\text{CDR}$ ), содержащие

аминокислотные последовательности CDR варибельной области тяжелой цепи, представленной в SEQ ID NO: 22 и варибельную область легкой цепи, содержащей CDR, содержащие аминокислотные последовательности CDR варибельной области легкой цепи, представленной в SEQ ID NO: 23.

31. Способ по любому из пп. 1-30, отличающийся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:10, CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:11; CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:12, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:13, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:14, или при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR-H1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:16, CDR-H2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:17, CDR-H3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:18; CDR-L1, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:19, CDR-L2, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:20, и CDR-L3, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:21.

32. Способ по любому из пп. 1-30, отличающийся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR-H1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:9, CDR-H2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:10, CDR-H3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:11; CDR-L1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:12, CDR-L2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:13, и CDR-L3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:14, или при этом антитело или его антигенсвязывающий фрагмент содержит CDR-H1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:16, CDR-H2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:17, CDR-H3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:18; CDR-L1, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:19, CDR-L2, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:20, и CDR-L3, состоящую из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:21.

33. Способ по любому из пп. 1-32, отличающийся тем, что антигенсвязывающий фрагмент содержит вариабельную область тяжелой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22, и вариабельную область легкой цепи, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23.
34. Способ по любому из пп. 1-33 отличающийся тем, что антитело содержит тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность в диапазоне от 20-й аминокислоты (глутаминовая кислота) до 466-й аминокислоты (лизин) SEQ ID NO: 7, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность в диапазоне от 23-й аминокислоты (аспарагиновая кислота) до 236-й аминокислоты (цистеин) SEQ ID NO: 8.
35. Способ по любому из пп. 1-33 отличающийся тем, что антигенсвязывающий фрагмент представляет собой Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fv или scFv.
36. Способ по любому из пп. 1-34, отличающийся тем, что антитело представляет собой полностью человеческое антитело.
37. Способ по любому из пп. 1-34 и 36, отличающийся тем, что антитело представляет собой IgG1, а легкая цепь представляет собой легкую каппа-цепь
38. Способ по любому из пп. 1-37, отличающийся тем, что антитело или его антигенсвязывающий фрагмент получают рекомбинантным путем.
39. Способ по любому из пп. 1-38, отличающийся тем, что антитело или антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с каждой единицей MMAE посредством линкера.
40. Способ по п. 39, отличающийся тем, что линкер представляет собой расщепляемый ферментом линкер, и при этом линкер образует связь с атомом серы антитела или его антигенсвязывающего фрагмента.
41. Способ по п. 39 или п. 40, отличающийся тем, что линкер имеет формулу:  $-Aa-Ww-Yu-$ ; где  $-A-$  представляет собой растягиваемую единицу, а имеет значение 0 или 1;  $-W-$  представляет собой аминокислотную единицу,  $w$  представляет собой целое число от 0 до 12; а  $-Y-$  является спейсерной единицей,  $y$  имеет значение 0, 1 или 2.
42. Способ по п. 41, отличающийся тем, что растягиваемая единица имеет структуру по Формуле (1) ниже; аминокислотная единица представляет собой валин-цитруллин; и



где L- представляет собой антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, а  $r$  равно от 1 до 10.

49. Способ по п. 48, отличающийся тем, что  $r$  равно от 2 до 8.
50. Способ по п. 48 или 49, отличающийся тем, что  $r$  равно от 3 до 5.
51. Способ по любому из пп. 48-50, отличающийся тем, что  $r$  равно от 3 до 4.
52. Способ по любому из пп. 48-51, отличающийся тем, что  $r$  равно около 4.
53. Способ по любому из пп. 48-51, отличающийся тем, что среднее значение  $r$  эффективного количества конъюгатов антитело-лекарственное средство составляет около 3,8.
54. Способ по любому из пп. 1-53, отличающийся тем, что ADC вводят в дозе от около 1 до около 10 мг/кг массы тела субъекта, от около 1 до около 5 мг/кг массы тела субъекта, от около 1 до около 2,5 мг/кг массы тела субъекта или от около 1 до около 1,25 мг/кг массы тела субъекта.
55. Способ по любому из пп. 1-54, отличающийся тем, что ADC вводят в дозе около 0,25 мг/кг, около 0,5 мг/кг, около 0,75 мг/кг, около 1,0 мг/кг, около 1,25 мг/кг, около 1,5 мг/кг, около 1,75 мг/кг, около 2,0 мг/кг, около 2,25 мг/кг или около 2,5 мг/кг массы тела субъекта.
56. Способ по любому из пп. 1-55, отличающийся тем, что ADC вводят в дозе около 1 мг/кг массы тела субъекта.
57. Способ по любому из пп. 1-55, отличающийся тем, что ADC вводят в дозе около 1,25 мг/кг массы тела субъекта.
58. Способ по любому из пп. 1-57, отличающийся тем, что ADC вводят посредством внутривенной (в/в) инъекции или инфузии.
59. Способ по любому из пп. 1-58, отличающийся тем, что ADC вводят путем внутривенной инъекции или инфузии три раза в каждом четырехнедельном цикле.
60. Способ по любому из пп. 1-59, отличающийся тем, что ADC вводят путем внутривенной инъекции или инфузии в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла.
61. Способ по любому из пп. 1-60, отличающийся тем, что ADC вводят посредством



инфузии в течение около 30 минут в дни 1, 8 и 15 каждого четырехнедельного цикла.

67. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается полный ответ после лечения.

68. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается частичный ответ после лечения.

69. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается полный ответ или частичный ответ после лечения.

70. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что у субъекта наблюдается стабильное заболевание после лечения.

71. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что продолжительность ответа у субъекта составляет по меньшей мере или около 10 месяцев после лечения.

72. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что продолжительность ответа у субъекта составляет от 5 до 22 месяцев после лечения.

73. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что субъект имеет выживаемость без прогрессирования заболевания в течение по меньшей мере или около 5 месяцев после лечения.

74. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что субъект имеет выживаемость без прогрессирования заболевания в диапазоне от 5 до 9 месяцев после лечения.

75. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что общая выживаемость субъекта после лечения составляет по меньшей мере или около 14 месяцев.

76. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что общая выживаемость субъекта после лечения составляет от 10 до 19 месяцев.

77. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом процент субъектов, имеющих полный ответ, в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 20 %.

78. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом процент субъектов, имеющих частичный ответ, в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 31 %.

79. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 51 %.
80. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом частота объективного ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 40 % до 63 %.
81. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом процент субъектов со стабильным заболеванием в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 30 %.
82. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом медиана продолжительности ответа в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 10 месяцев.
83. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом продолжительность ответа в популяции, получавшей лечение, составляет от 5 до 22 месяцев.
84. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом медиана выживаемости без прогрессирования в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 5 месяцев.
85. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом выживаемость без прогрессирования заболевания в популяции, получавшей лечение, составляет от 5 до 9 месяцев.
86. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом медиана общей выживаемости в популяции, получавшей лечение, составляет по меньшей мере или около 14 месяцев.
87. Способ по любому из пп. 1-66, отличающийся тем, что популяцию субъектов лечат указанными способами, и при этом общая выживаемость в популяции, получавшей лечение, составляет от 10 до 19 месяцев.
88. Способ по любому из пп. 1-67 и 69, отличающийся тем, что частота полного ответа составляет по меньшей мере или около 20 % для популяции субъектов, получавших лечение указанным способом.

89. Способ по любому из пп. 1-66, 68 и 69, отличающийся тем, что частота частичного ответа составляет по меньшей мере или около 31 % для популяции субъектов, получавших лечение указанным способом.
90. Способ по любому из пп. 1-69, отличающийся тем, что частота объективного ответа составляет по меньшей мере или около 51 % для популяции субъектов, получавших лечение способом.
91. Способ по любому из пп. 1-69, отличающийся тем, что частота объективного ответа составляет от 40 % до 63 % для популяции субъектов, получавших лечение способом.
92. Способ по любому из пп. 1-66 и 70, отличающийся тем, что частота стабильного заболевания составляет по меньшей мере или около 30 % для популяции субъектов, получавших лечение способом.
93. Способ по любому из пп. 1-66, 71 и 72, отличающийся тем, что медиана продолжительности ответа составляет по меньшей мере или около 10 месяцев для популяции субъектов, получавших лечение указанным способом.
94. Способ по любому из пп. 1-66, 71 и 72, отличающийся тем, что продолжительность ответа составляет от 5 до 22 месяцев для популяции субъектов, получавших лечение указанным способом.
95. Способ по любому из пп. 1-66, 73 и 74, отличающийся тем, что медиана выживаемости без прогрессирования составляет по меньшей мере или около 5 месяцев для популяции субъектов, получавших лечение способом.
96. Способ по любому из пп. 1-66, 73 и 74, отличающийся тем, что выживаемость без прогрессирования составляет от 5 до 9 месяцев для популяции субъектов, получавших лечение указанным способом.
97. Способ по любому из пп. 1-66, 75 и 76, отличающийся тем, что медиана общей выживаемости составляет по меньшей мере или около 14 месяцев для популяции субъектов, получавших лечение способом.
98. Способ по любому из пп. 1-66, 75 и 76, отличающийся тем, что общая выживаемость составляет от 10 до 19 месяцев для популяции субъектов, получавших лечение указанным способом.

**Фиг. 1А: Последовательность κДНК (SEQ ID NO:1) и аминокислотная последовательность (SEQ ID NO:2) 191P4D12.**

**Исходный метионин подчеркнут. Открытая рамка считывания простирается от нуклеиновой кислоты 264-1796, включая стоп-кодон.**

```

1  ggccgctcgttgttggccacagcgtgggaagcagctctgggggagctcgggagctcccgatc
61  acggcttcttgggggtagctacggctgggtgtgtagaacggggccggggctggggctggg
121  tcccctagtgagacccaagtgcgagaggcaagaactctgcagcttccctgccttctgggt
181  cagttccttattcaagtctgcagccggctcccagggagatctcggtggaacttcagaaac
1      M P L S L G A E M W G P E
241  gctgggacagtctgcctttcaaccATGCCCCCTGTCCTGGGAGCCGAGATGTGGGGCCTG
14   A W L L L L L L L A S F T G R C P A G E
301  AGGCCTGGCTGCTGCTGCTGCTACTGCTGGCATCATTTACAGGCCGGTGCCCCGGGGTG
34   L E T S D V V T V V L G Q D A K L P C F
361  AGCTGGAGACCTCAGACGTGGTAACTGTGGTGTGGGCCAGGACGCAAACTGCCCTGCT
54   Y R G D S G E Q V G Q V A W A R V D A G
421  TCTACCGAGGGGACTCCGGCGAGCAAGTGGGGCAAGTGGCATGGGCTCGGGTGGACGCGG
74   E G A Q E L A L L H S K Y G L H V S P A
481  GCGAAGGCGCCCAGGAACTAGCGCTACTGCACTCCAAATACGGGCTTCATGTGAGCCCGG
94   Y E G R V E Q P P P P R N P L D G S V L
541  CTTACGAGGGCCGCGTGGAGCAGCCGCCGCCCCACGCAACCCCTGGACGGCTCAGTGC
114  L R N A V Q A D E G E Y E C R V S T F P
601  TCCTGCGCAACGCAGTGCAGGCGGATGAGGGCGAGTACGAGTGCCGGGTCAGCACCTTCC
134  A G S F Q A R L R L R V L V P P L P S L
661  CCGCCGGCAGCTTCCAGGCGCGGCTCGCGCTCCGAGTGTGGTGCCTCCCCTGCCCTCAC
154  N P G P A L E E G Q G L T L A A S C T A
721  TGAATCCTGGTCCAGCACTAGAAGAGGGCCAGGGCCTGACCCTGGCAGCCTCCTGCACAG
174  E G S P A P S V T W D T E V K G T T S S
781  CTGAGGGCAGCCCAGCCCCAGCGTGACCTGGGACACGGAGGTCAAAGGCACAACGTCCA
194  R S F K H S R S A A V T S E F H L V P S
841  GCCGTTCCCTTCAAGCACTCCCCTCTGCTGCCGTCACCTCAGAGTTCACCTTGGTGCCTA
214  R S M N G Q P L T C V V S H P G L L Q D
901  GCGCAGCATGAATGGGCAGCCACTGACTTGTGTGGTGTCCCATCCTGGCCTGCTCCAGG
234  Q R I T H I L H V S F L A E A S V R G L
961  ACCAAAGGATCACCCACATCCTCCACGTGTCTTCTTCTGCTGAGGCCTCTGTGAGGGGCC
254  E D Q N L W H I G R E G A M L K C L S E
1021 TTGAAGACCAAAATCTGTGGCACATTGGCAGAGAAGGAGCTATGCTCAAGTGCCTGAGTG
274  G Q P P P S Y N W T R L D G P L P S G V
1081 AAGGGCAGCCCCCTCCCTCATACAACCTGGACACGGCTGGATGGGCCTCTGCCAGTGGGG
294  R V D G D T L G F P P L T T E H S G I Y
1141 TACGAGTGGATGGGGACACTTTGGGCTTTCCCCACTGACCCTGAGCACAGCGGCATCT
314  V C H V S N E F S S R D S Q V T V D V L
1201 ACGTCTGCCATGTCAGCAATGAGTTCTCCTCAAGGGATTCTCAGGTCACCTGTGGATGTTC
334  D P Q E D S G K Q V D L V S A S V V V V

```





Фиг. 1D: Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO:7) тяжелой цепи Ha22-2(2,4)6.1. Двойное подчеркивание - лидерная последовательность, подчеркнута - переменная область тяжелой цепи (SEQ ID NO:22, представляющая собой последовательность в диапазоне от 20-й до 136-й аминокислоты SEQ ID NO:7), а подчеркнутая пунктирной линией - константная область человеческого IgG1.

```

1  MELGLCWVFLVAILEGVOCEVOLVESGGGLVOPGGSLRLSCAASGFTFSS
51  YNMNWVRQAPGKGLEWVSYISSSSSTIYYADSVKGRFTISRDNAKNSLSL
101 QMNSLRDEDTAVYYCARAYYYGMDVWGQTTVTVSSASTKGPSVFPLAPS
151 SKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS
201 LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPA
251 PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
301 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAP
351 IEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEW
401 ESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVMSVHEA
451 LHNHYTQKSLSLSPGK

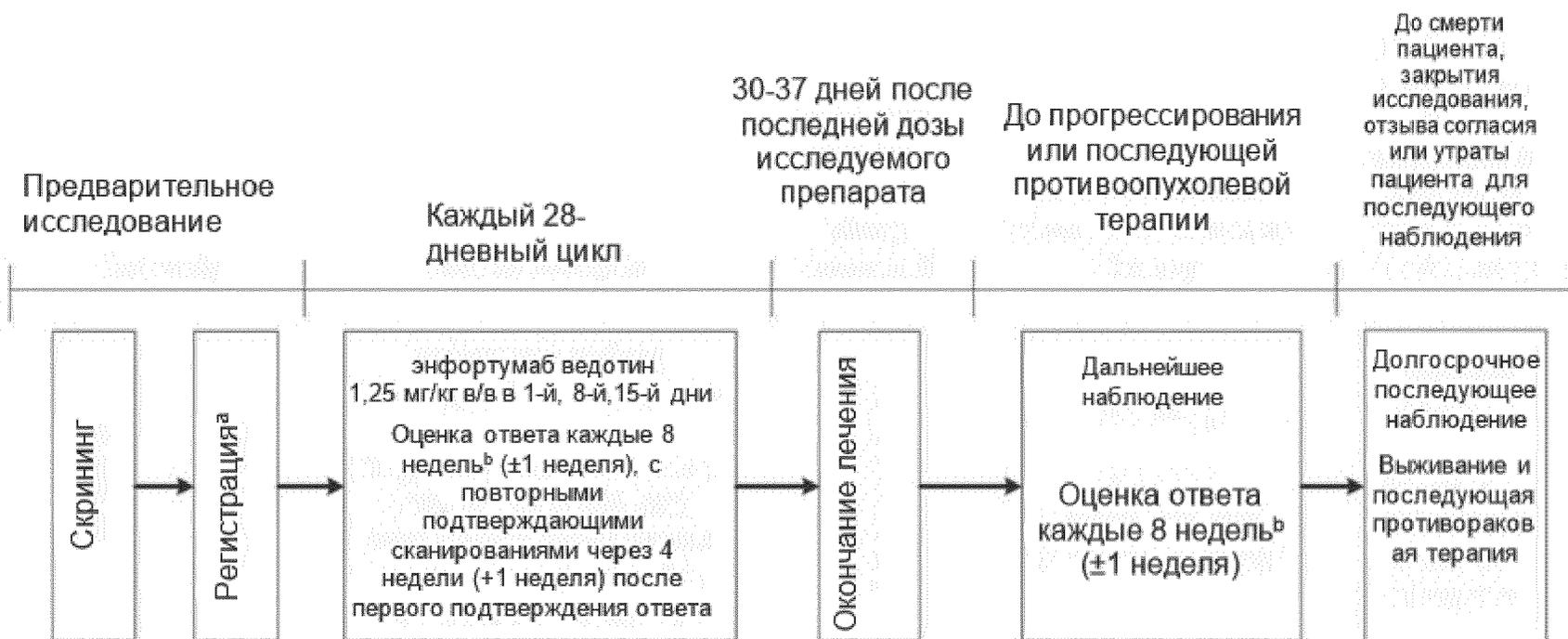
```

Фиг. 1E: Аминокислотная последовательность (SEQ ID NO:8) легкой цепи Ha22-2(2,4)6.1. Двойное подчеркивание - лидерная последовательность, подчеркнута - переменная область легкой цепи (SEQ ID NO:23, представляющая собой последовательность в диапазоне от 23-й до 130-й аминокислоты SEQ ID NO:8), а подчеркнутая пунктирной линией - константная область каппа человека.

```

1  MDMRVPAQLLGLLLLWFPGSRCDIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQG
51  ISGWLAWYQQKPKAPKFLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTDFLTITSSL
101 QPEDFATYYCQQANSFPPTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSG
151 TASVVCLLNMFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSST
201 LTLSKADYEKHKVYACEVTHOGLSSPVTKSFNRGEC

```



а В исследовании участвуют 2 когорты пациентов, получавших СР1: Когорта 1) пациенты, получавшие платину, и когорта 2) пациенты, не получавшие платину или не подходящие для лечения цисплатином.

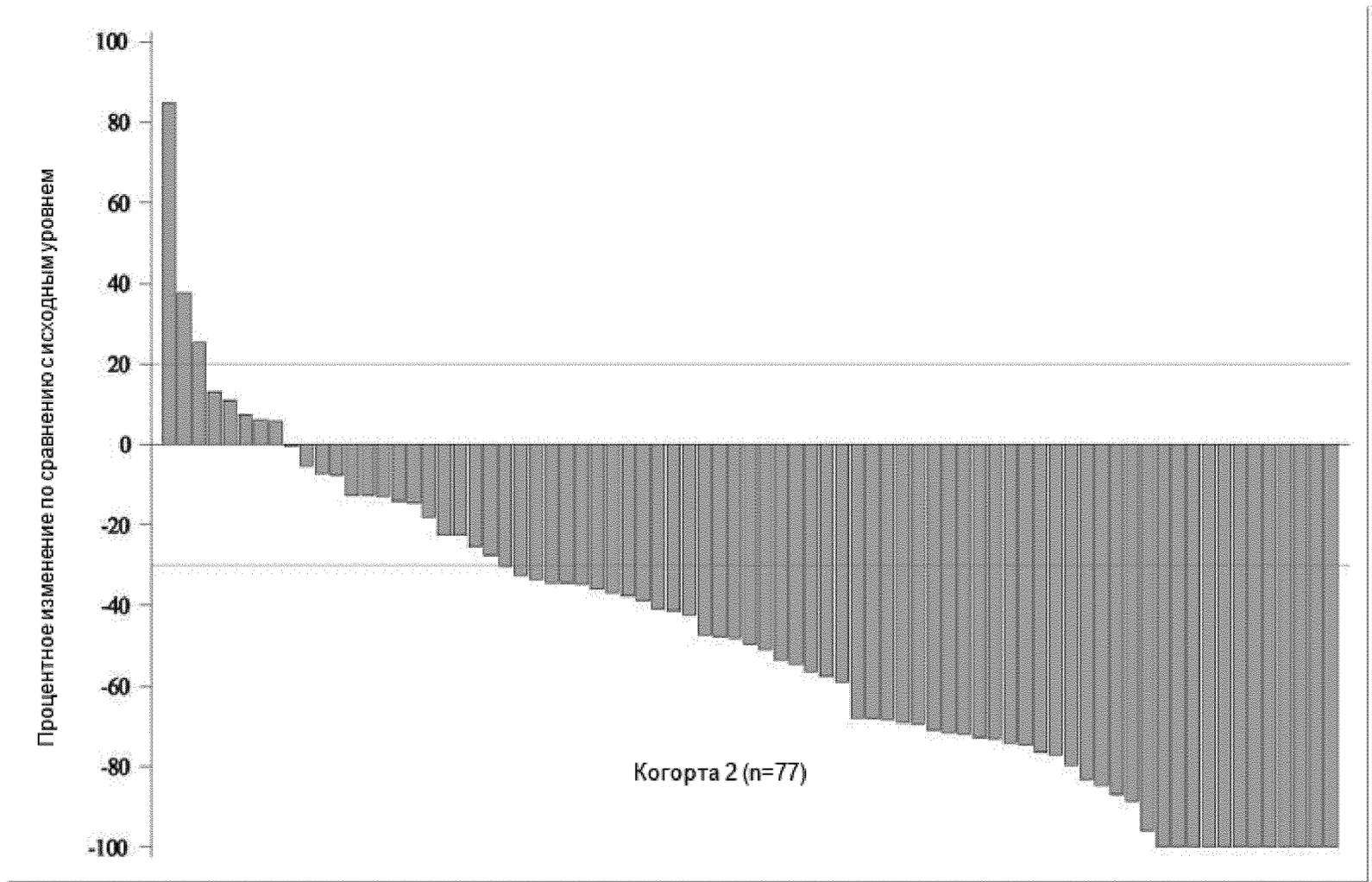
б Через 1 год исследования частота оценки ответа будет снижена до каждые 12 недель (±1 неделя).

**Фиг. 2**

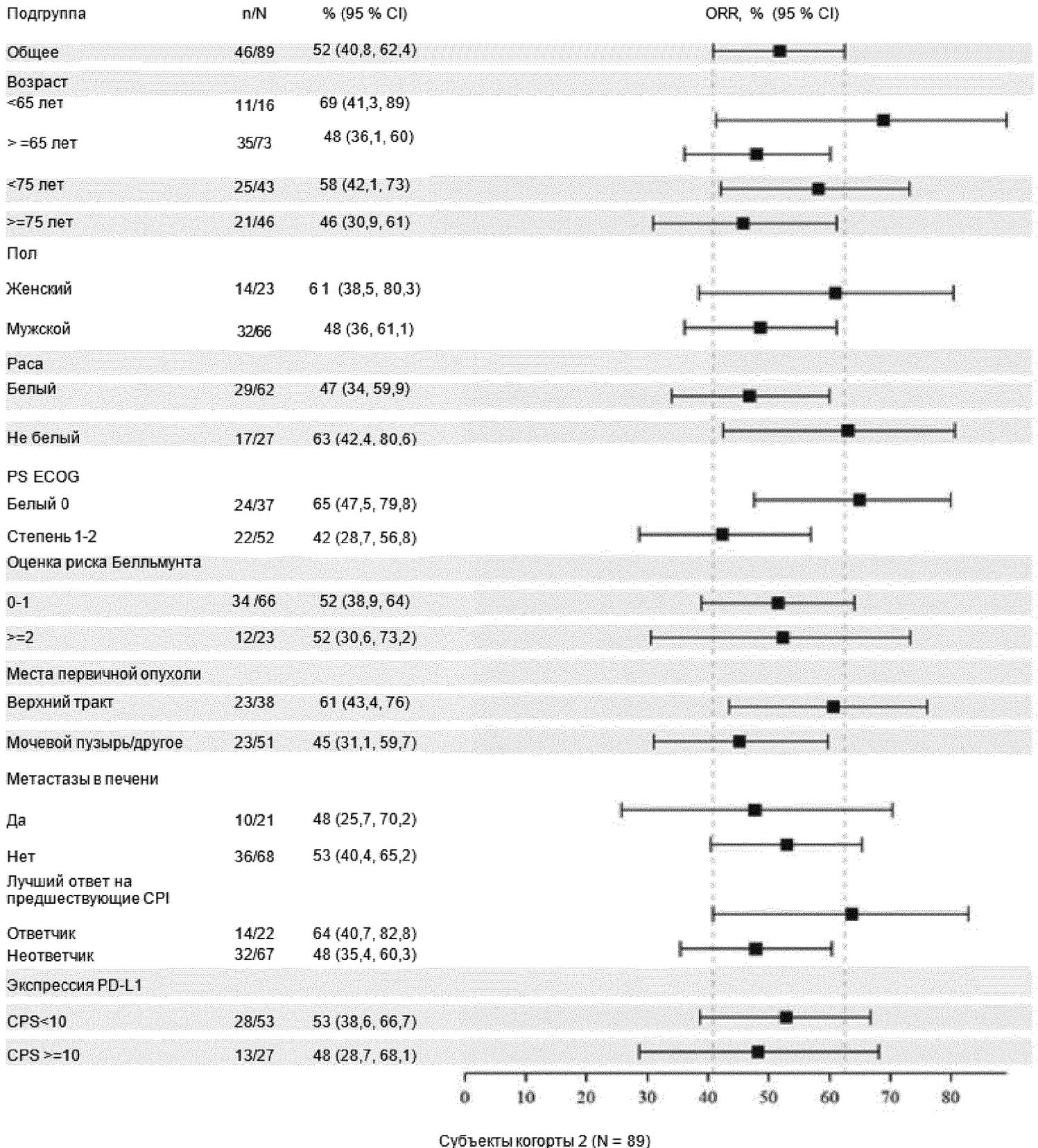


\* Получали предшествующий ингибитор PD-1/PD-L1 и не получали предшествующее лечение препаратами платины или другой химиотерапией при местнораспространенном или метастатическом заболевании и не подходят для лечения цисплатином на момент включения 100 % ранее получали PD-1/PD-L1; субъекты получали медиану 1 линии до tx для Ia/mUC (диапазон 1-4)

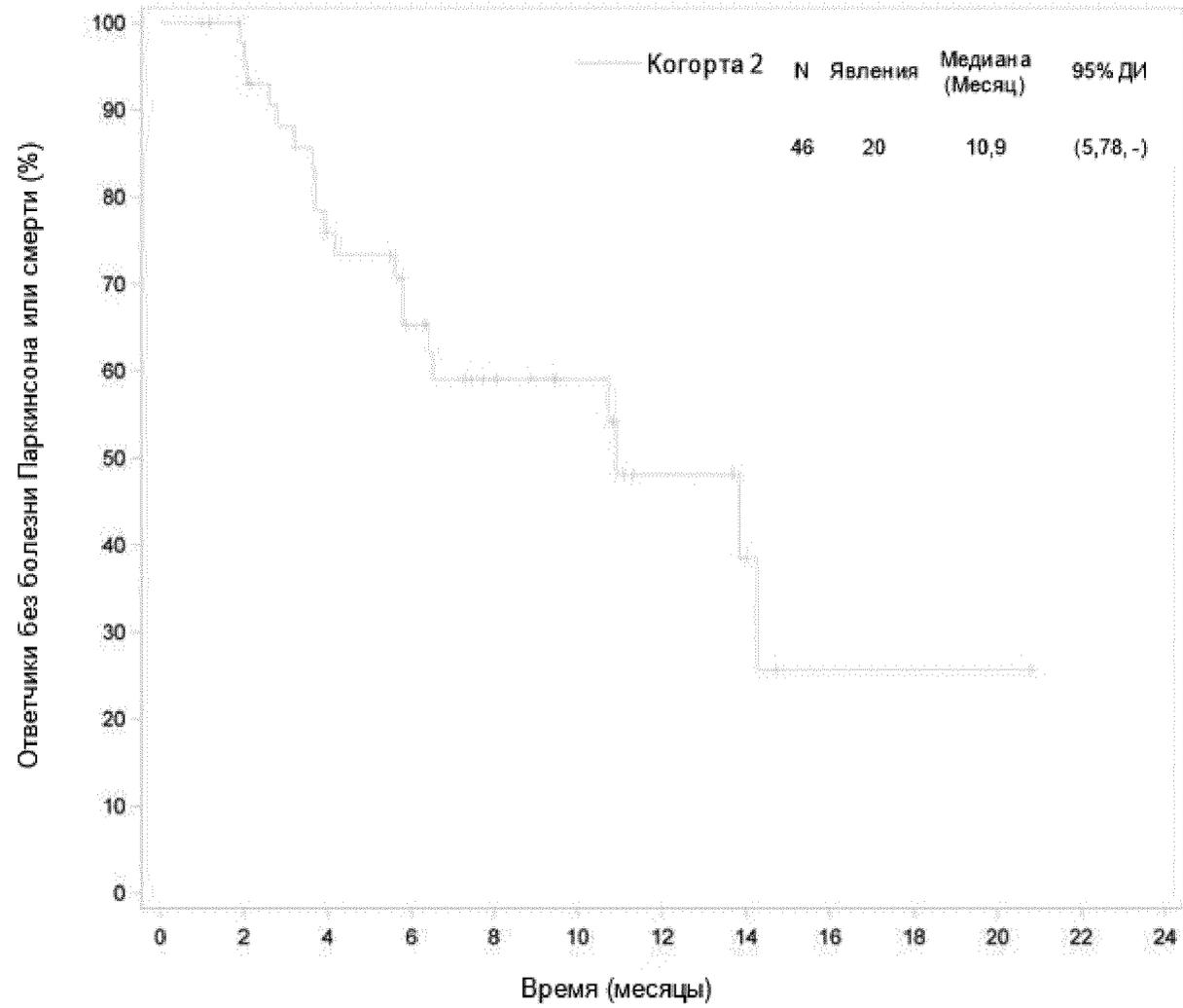
**Фиг. 3**



Фиг. 4



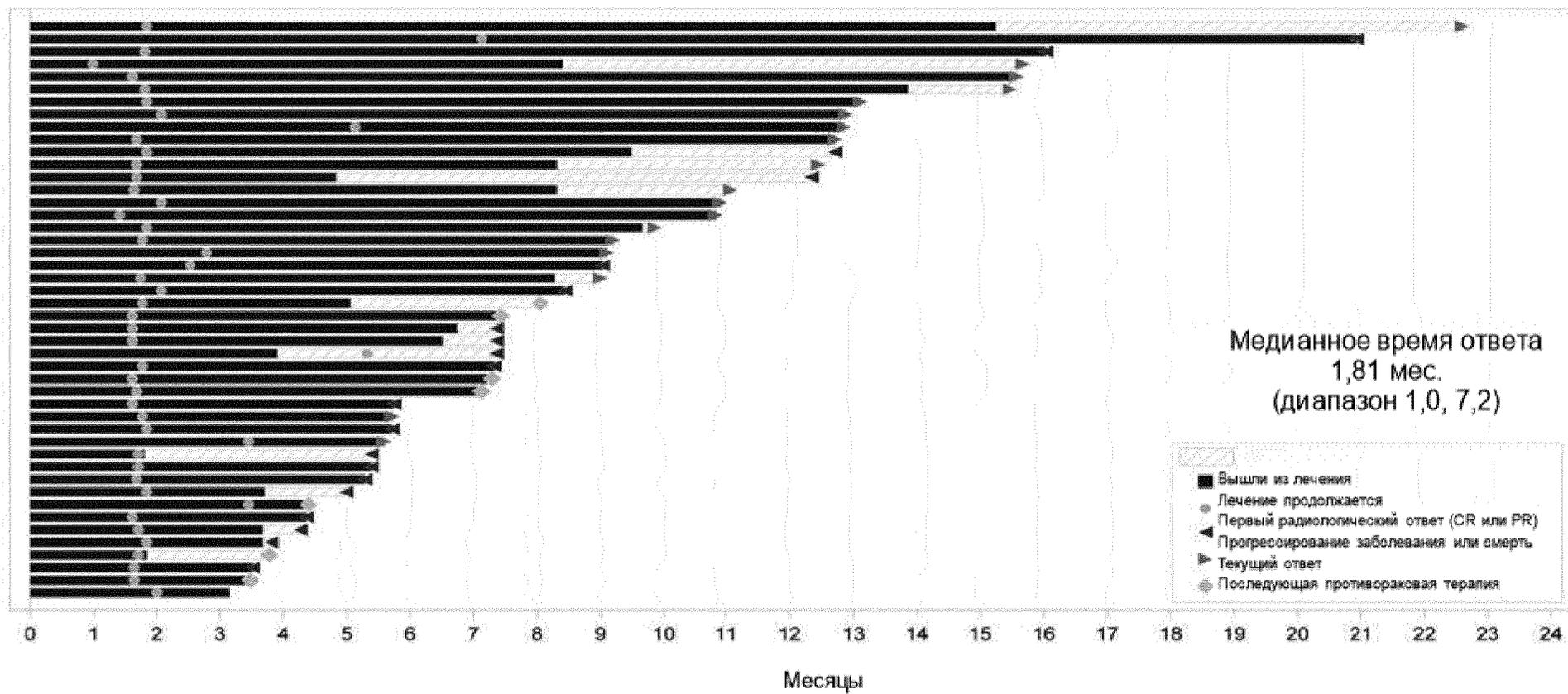
Фиг. 5



Кол-во с риском

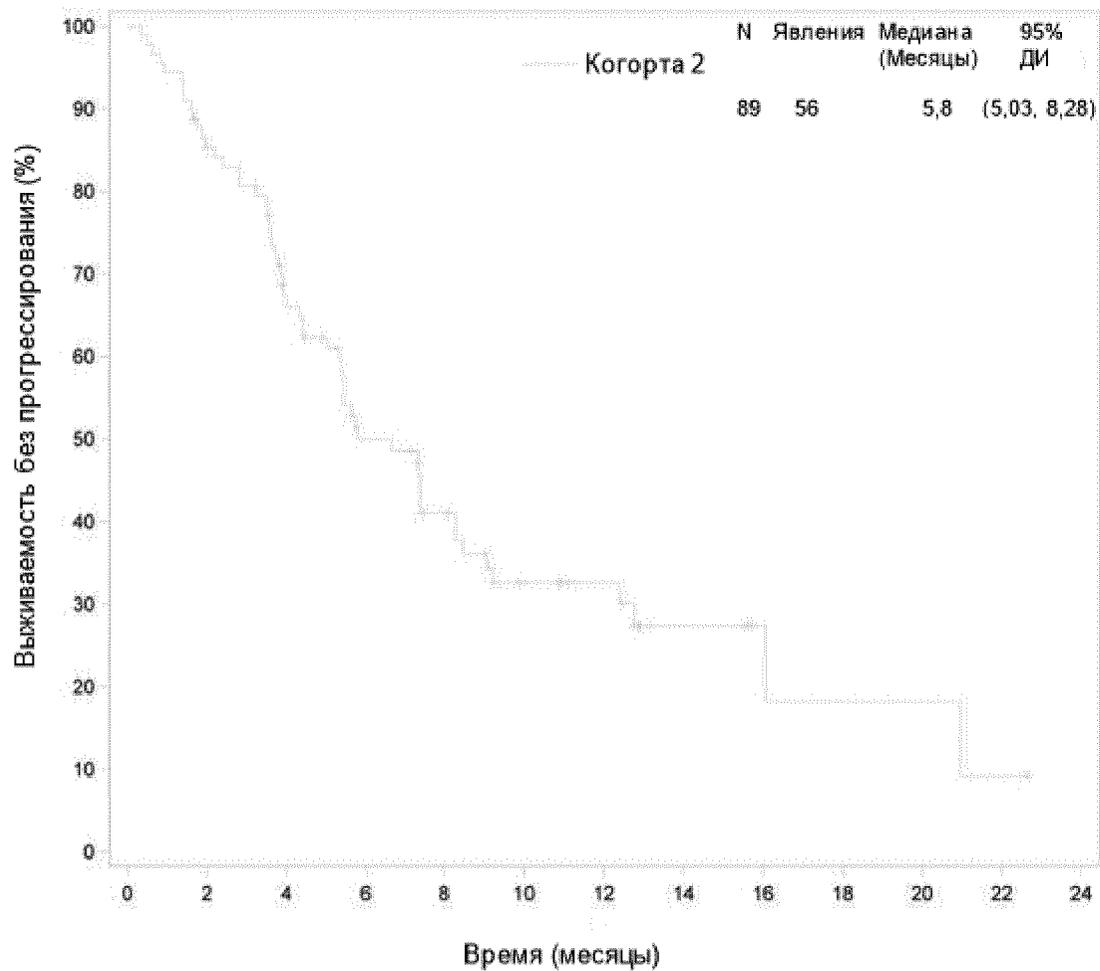
Когорта 2 46 41 30 23 16 12 6 3 1 1 1

Фиг. 6



Когорта 2 (n=46)

**Фиг. 7**

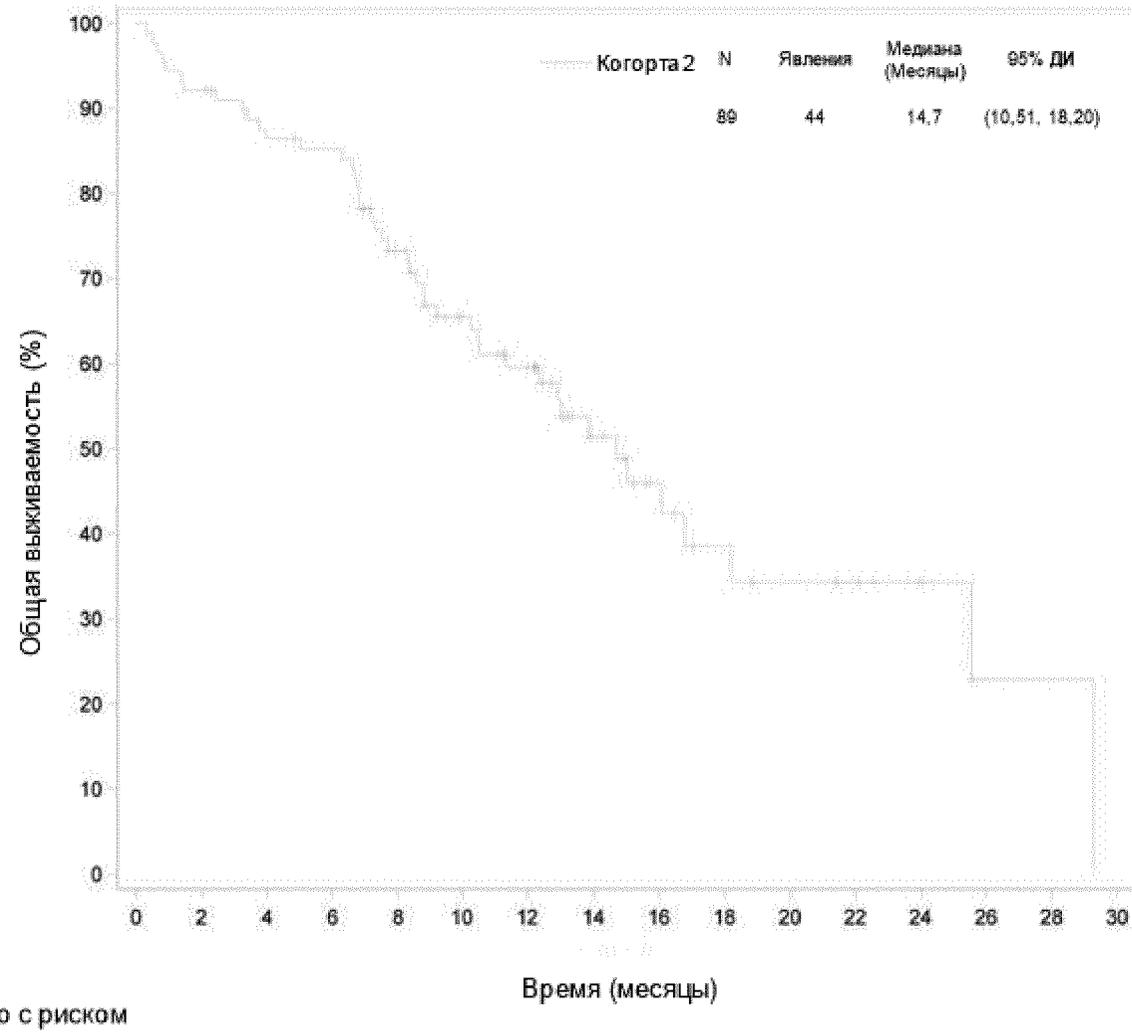


Когорта 2	N	Явления	Медиана (Месяцы)	95% ДИ
	89	56	5,8	(5,03, 8,28)

Кол-во с риском

Когорта 2	89	73	52	35	26	16	13	6	3	2	2	1
-----------	----	----	----	----	----	----	----	---	---	---	---	---

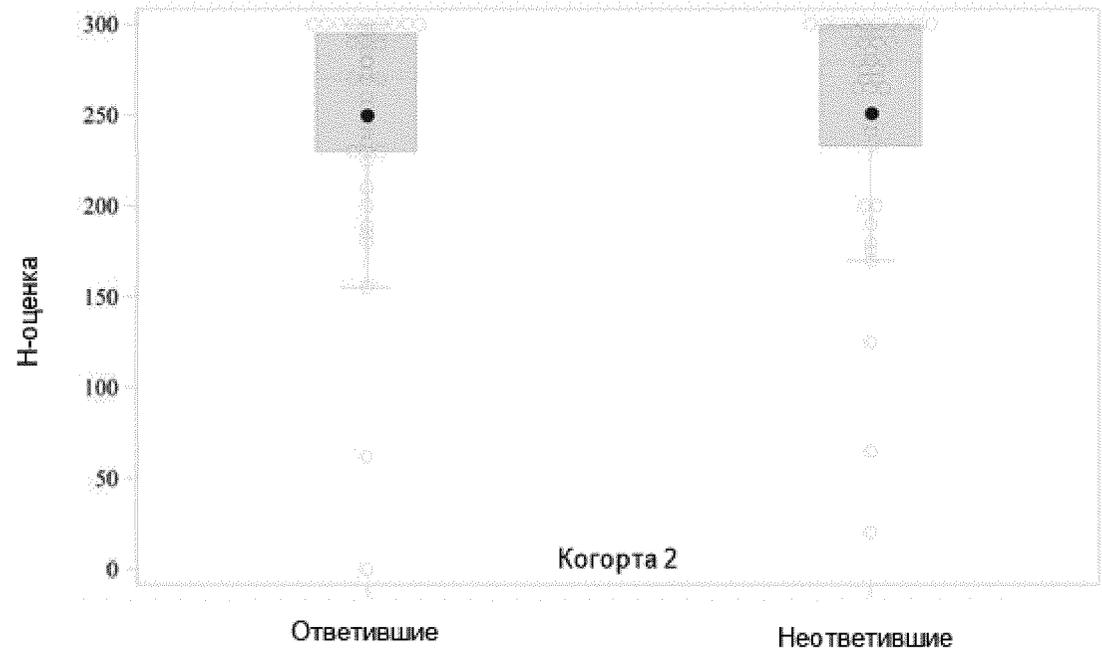
Фиг. 8



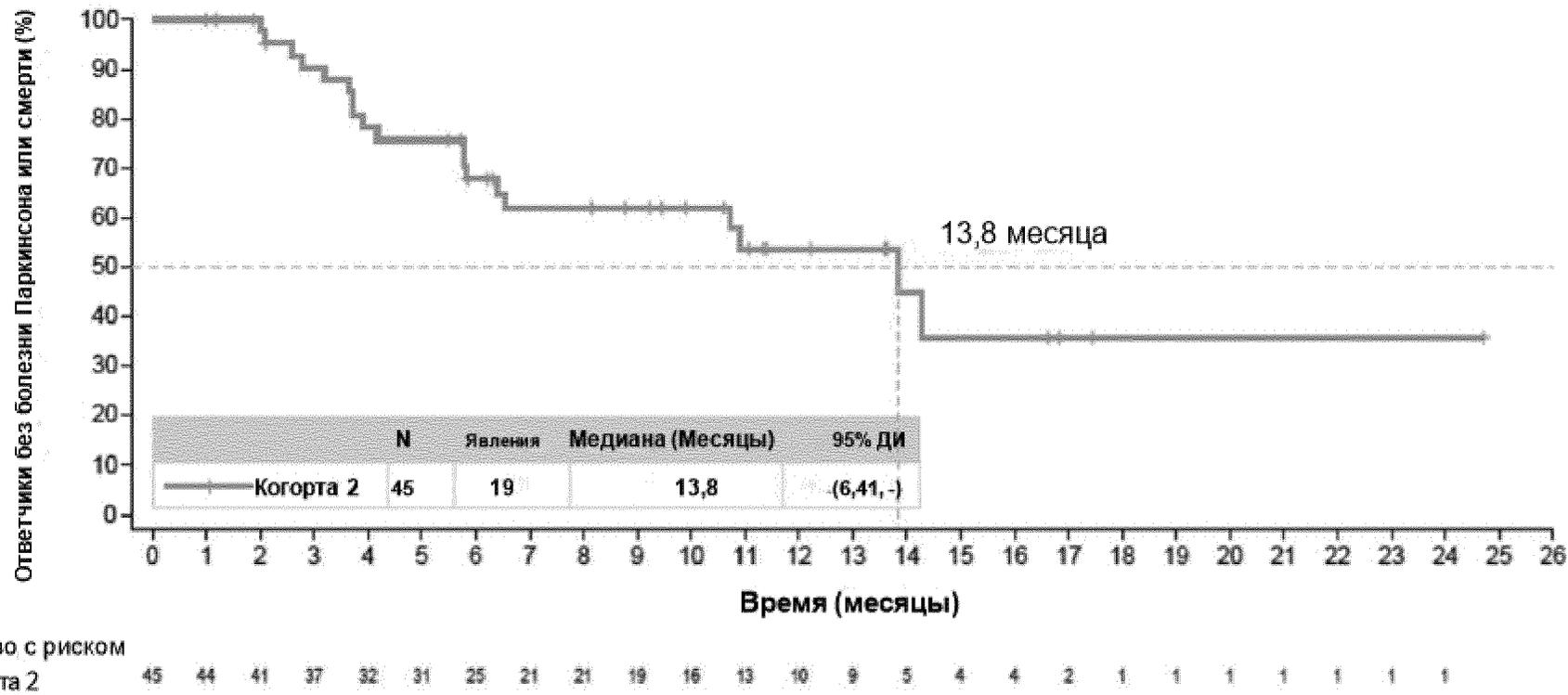
Кол-во с риском

Когорта 2 89 82 75 73 58 45 37 21 13 9 7 6 3 1 1

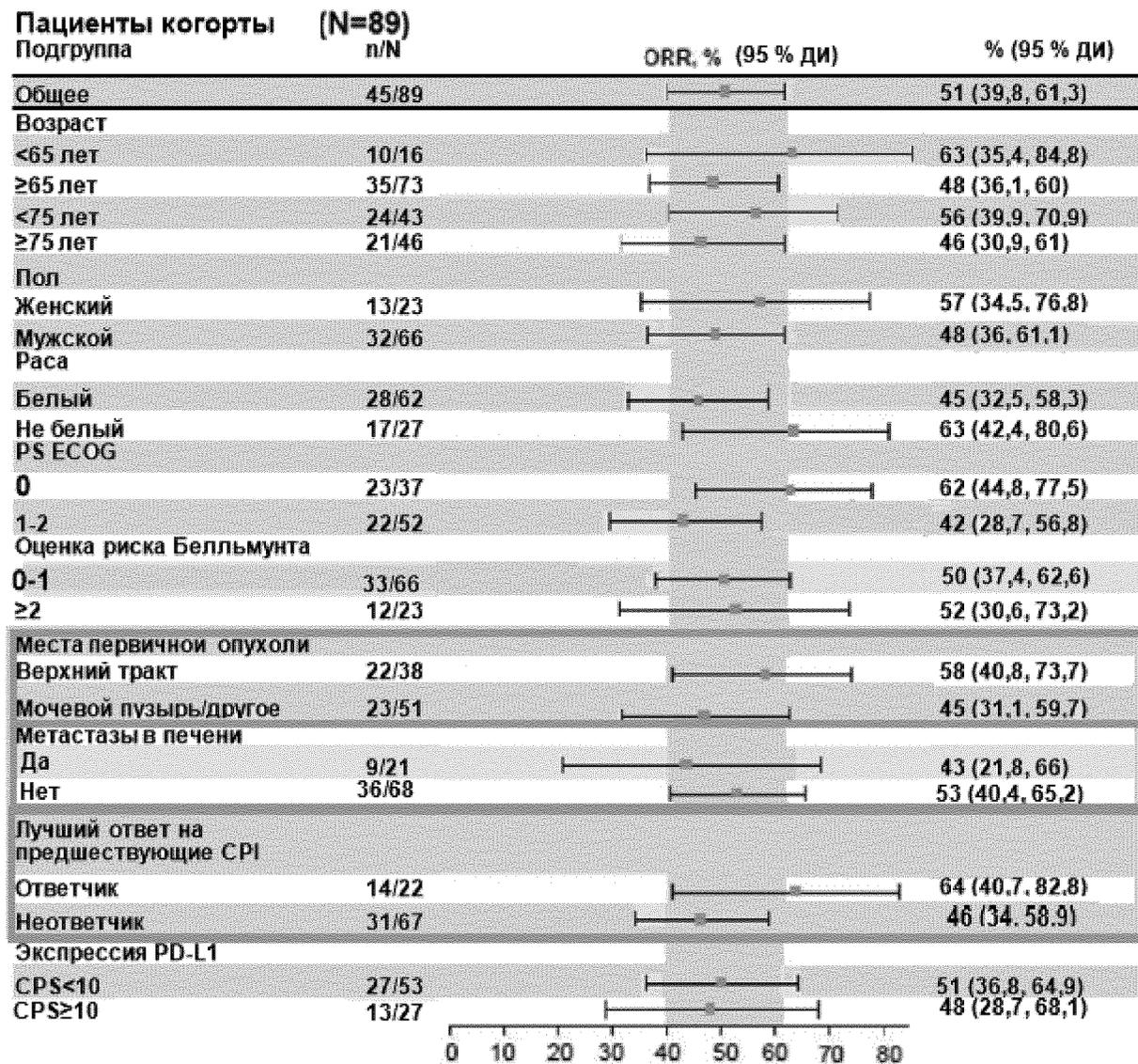
**Фиг. 9**



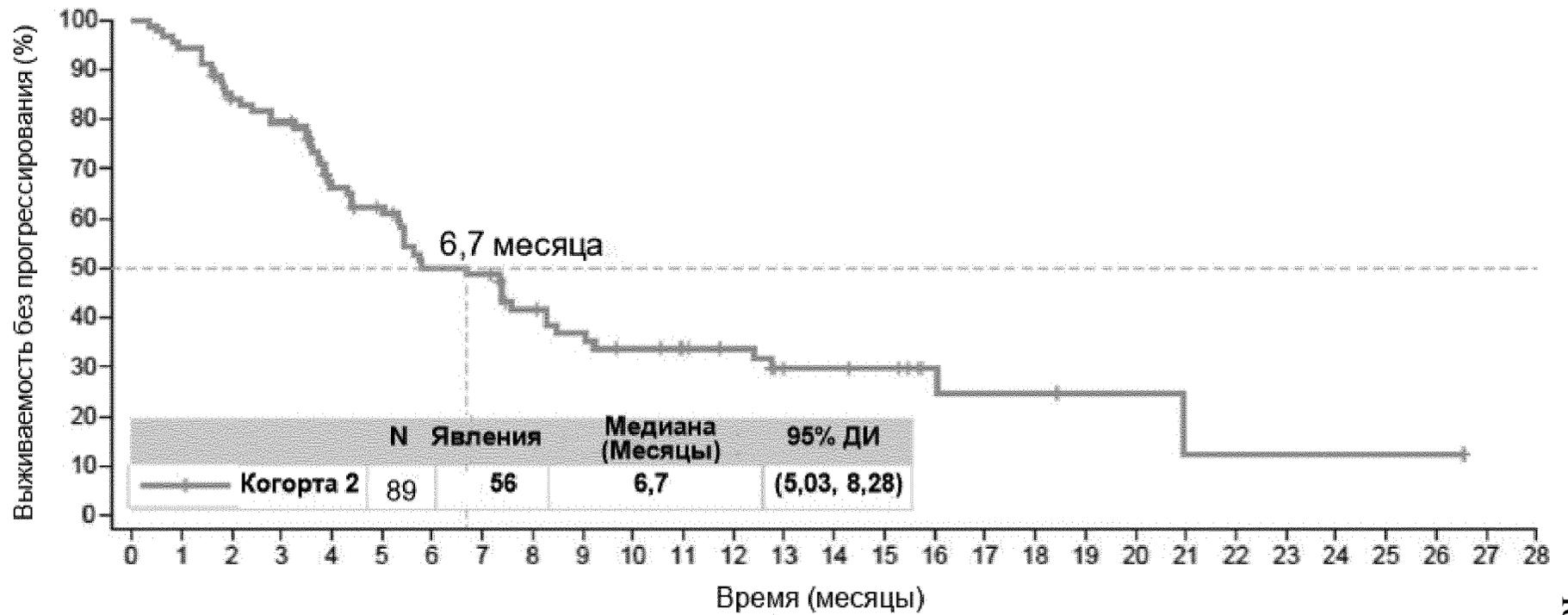
Фиг. 10



Фиг. 11



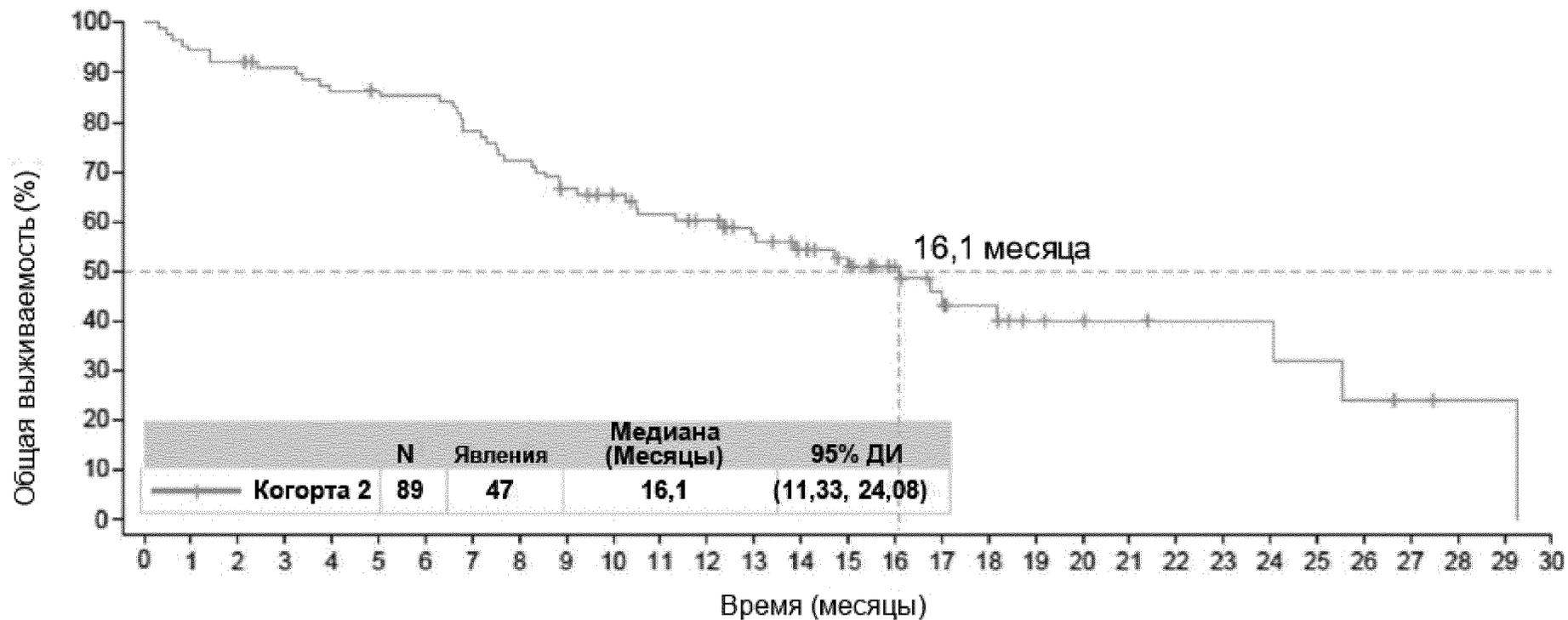
Фиг. 12



Кол-во с риском  
Когорта 2

89 94 72 68 52 47 37 36 28 24 21 18 16 11 11 10 6 5 5 2 2 1 1 1 1 1 1

Фиг. 13



Кол-во с риском

Когорта 2 89 84 82 79 75 74 73 67 62 56 52 48 45 39 34 30 22 17 14 10 9 8 7 7 5 4 3 2 1 1

- Медиана наблюдения: 16 месяца

Фиг. 14