

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202490665 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.05.15

(22) Дата подачи заявки
2022.09.16

(51) Int. Cl. *A61K 47/68* (2017.01)
C07K 16/28 (2006.01)
C07D 307/20 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) КОНЬЮГАТ АНТИТЕЛА К HER3 И ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА, КОМПОЗИЦИЯ НА ЕГО ОСНОВЕ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 202111085308.7

(32) 2021.09.16

(33) CN

(86) PCT/CN2022/119214

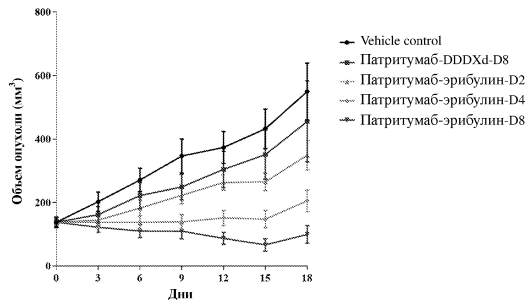
(87) WO 2023/041006 2023.03.23

(71) Заявитель:
ЧИА ТАЙ ТЯНЬЦИН
ФАРМАСЬЮТИКАЛ ГРУП КО.,
ЛТД. (CN)

(72) Изобретатель:
Чэнь Тяньси, Сюй Тунцзе, Тан Сяоци,
Фэн Вэйвэй, Чжан Чжэнпин (CN)

(74) Представитель:
Кузнецова С.А. (RU)

(57) Предусмотрен конъюгат антитела к HER3 и лекарственного средства, в частности, содержащий структурную единицу на основе антитела, промежуточную линкерную структурную единицу и структурную единицу на основе цитотоксического лекарственного средства, которые связаны вместе. Предусмотренный конъюгат антитело-лекарственное средство обеспечивает достижение превосходной противоопухолевой активности и/или лучшей безопасности. Предусмотренный конъюгат антитело-лекарственное средство можно применять для лечения рака.



A1

202490665

202490665

A1

P922135309EB

КОНЬЮГАТ АНТИТЕЛА К HER3 И ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА, КОМПОЗИЦИЯ НА ЕГО ОСНОВЕ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к конъюгату антитело-лекарственное средство, содержащему структурную единицу на основе антитела, промежуточную линкерную структурную единицу и структурную единицу на основе цитотоксического лекарственного средства, которые связаны между собой. Настоящее изобретение также относится к применению конъюгата антитело-лекарственное средство для получения лекарственного препарата для лечения рака.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

HER3 (рецептор 3 эпидермального фактора роста человека), также известный как ErbB-3 (рецепторная тирозин-протеинкиназа erbB-3), является представителем семейства рецепторов эпидермального фактора роста человека (HER/EGFR/ERBB), которое включает EGFR (ErbB-1), HER2/c-neu (ErbB-2), HER3 (ErbB-3) и HER4 (ErbB-4). HER3 имеет внеклеточный лигандсвязывающий домен (ECD), домен димеризации в ECD, трансмембранный домен, протеин-тирозинкиназный домен (TKD) и С-концевой домен фосфорилирования, но не обладает внутриклеточной тирозинкиназной активностью.

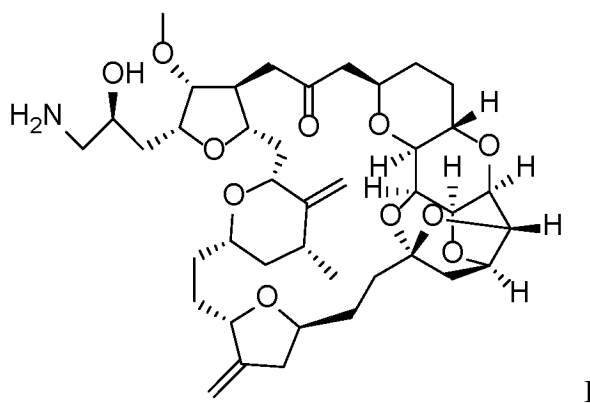
Лиганд HER3, нейрегулин (NRG, также известный как херегулин (HRG)), связывается с внеклеточным доменом HER3 и активирует рецепторопосредованные сигнальные пути, способствуя димеризации с другими представителями семейства HER и трансфосфорилированию своего внутриклеточного домена. Димеры, образуемые HER3 и другими представителями семейства HER, распространяют сигнальный потенциал HER3 и служат не только средством диверсификации сигнала, но и средством усиления сигнала. Например, гетеродимер HER2/HER3 индуцирует один из самых важных

митогенных сигналов у представителей семейства HER. HER3 повсеместно экспрессируется при различных видах рака, включая рак молочной железы, рак яичников, рак толстой кишки, рак желудка, рак легкого, рак кожи и рак поджелудочной железы.

Конъюгаты антитело-лекарственное средство (ADC) представляют собой класс лекарственных средств, который объединяет высокую специфичность терапевтических антител и высокую уничтожающую активность цитотоксических лекарственных средств, где структурная единица на основе терапевтического антитела соединена со структурной единицей на основе цитотоксического лекарственного средства посредством промежуточной линкерной структурной единицы. В настоящее время на мировом рынке представлено по меньшей мере десять лекарственных средств, представляющих собой ADC. Среди этих лекарственных средств структурные единицы на основе антител брентуксимаба ведотина, полатузумаба ведотина и энфортумаба ведотина нацеливаются на CD30, CD79b и нектин 4 соответственно, структурные единицы на основе антител трастузумаба эмтансина и трастузумаба дерукстекана нацеливаются на HER2, структурные единицы на основе антител гемтузумаба озогамидина и инотузумаба озогамидина нацеливаются на CD33 и CD22 соответственно, структурная единица на основе антитела сацитузумаба говитекана нацеливается на TROP2, а недавно одобренные белантамаб мафодотин и лонкастуксимаб теzipин нацеливаются на BCMA и CD19 соответственно. В случае структурных единиц на основе цитотоксического лекарственного средства ауристатина, действующие на микротрубочки, используются для брентуксимаба ведотина, полатузумаба ведотина, энфортумаба ведотина и белантамаба мафодотина, молекулы токсина майтанзиноидного, действующие на микротрубочки, используются для трастузумаба эмтансина, молекулы токсина калихемицина, действующие на ДНК, используются для гемтузумаба озогамидина и инотузумаба озогамидина, молекулы токсина камптотецина используются для трастузумаба дерукстекана и сацитузумаба говитекана, а димеры PBD, действующие на ДНК, используются для лонкастуксимаба теzipина. В случае промежуточной линкерной структурной единицы для трастузумаба

эмтанзина и белантамаба мафодотина используется нерасщепляемый линкер, при этом для остальных восьми молекул используется расщепляемый линкер.

Эрибулин (формула I приведена ниже) является синтетическим аналогом природного морского продукта галихондрина В. Он может ингибировать фазу роста микротрубочек и действует посредством тубулинового антимитотического механизма, что в результате приводит к остановке клеточного цикла G2/M, нарушению митотического веретена и, наконец, апоптозу после длительной блокировки митоза. В настоящее время эрибулин одобрен для лечения метастатического рака молочной железы и саркомы мягких тканей.



Лекарственные средства, представляющие собой ADC, сочетают в себе два преимущества: высокую эффективность цитотоксических малых молекул и высокую селективность антител к специфическим опухолевым клеткам; однако по-прежнему существует необходимость в разработке высокоэффективных и малотоксичных лекарственных средств, представляющих собой ADC, целью которых может быть большее число показаний.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC)

В настоящем изобретении предусмотрен конъюгат антитело-лекарственное средство, где антитело или его антигенсвязывающий фрагмент конъюгированы с цитотоксическим лекарственным средством, представляющим собой эрибулин или его

производное; предпочтительно антитело или его антигенсвязывающий фрагмент специфически связываются с HER3.

В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрен конъюгат антитело-лекарственное средство общей формулы $Ab-(L-U)_n$ или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где Ab представляет собой структурную единицу на основе антитела, L представляет собой линкерную структурную единицу, U представляет собой структурную единицу на основе цитотоксического лекарственного средства, и n представляет собой целое число или десятичную дробь, выбранные из чисел от 1 до 10. В некоторых вариантах осуществления структурная единица на основе антитела Ab связана с линкерной структурной единицей посредством специфической функциональной группой, и структурная единица на основе антитела может специфически связываться с антигеном.

В одном аспекте в настоящем изобретении предусмотрен конъюгат антитело-лекарственное средство общей формулы $Ab-(L-U)_n$ или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где структурная единица на основе цитотоксического лекарственного средства U конъюгирована со структурной единицей на основе антитела Ab посредством линкерной структурной единицы L. В некоторых конкретных вариантах осуществления в конъюгате антитело-лекарственное средство, его фармацевтически приемлемой соли или сольвате, представленных в данном документе, каждая структурная единица на основе цитотоксического лекарственного средства U конъюгирована со структурной единицей на основе антитела Ab посредством одной линкерной структурной единицы L. Раскрытая в данном документе линкерная структурная единица L может быть связана со структурной единицей на основе антитела любым способом, известным в данной области; предпочтительно линкерная структурная единица связана со структурной единицей на основе антитела посредством сульфгидрила и/или амина. В некоторых более предпочтительных вариантах осуществления линкерная структурная единица, раскрытая в настоящем документе, связана со структурной единицей на основе антитела посредством сульфидрила.

В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрен конъюгат антитело-лекарственное средство общей формулы $Ab-(L-U)_n$ или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где структурная единица на основе цитотоксического лекарственного средства U конъюгирована со структурной единицей на основе антитела Ab посредством линкерной структурной единицы L , и при этом линкерная структурная единица может представлять собой расщепляемый линкер или нерасщепляемый линкер. В некоторых вариантах осуществления линкерная структурная единица, раскрытая в данном документе, представляет собой расщепляемый линкер, который может относиться, например, к типу разрушения, зависимо от низкого рН (в том числе гидразонная связь, карбонатная связь и т. п.), протеолитическому типу (в том числе пептидная связь), типу разрушения, зависимо от высокой концентрации глутатиона (в том числе дисульфидная связь), или т. п. Расщепляемый линкер может быть расщеплен внутри клетки-мишени, в результате чего высвобождается цитотоксическое лекарственное средство. В других вариантах осуществления линкерная структурная единица, раскрытая в данном документе, представляет собой нерасщепляемый линкер, который может представлять собой, например, малеимидокапроил или т. п.

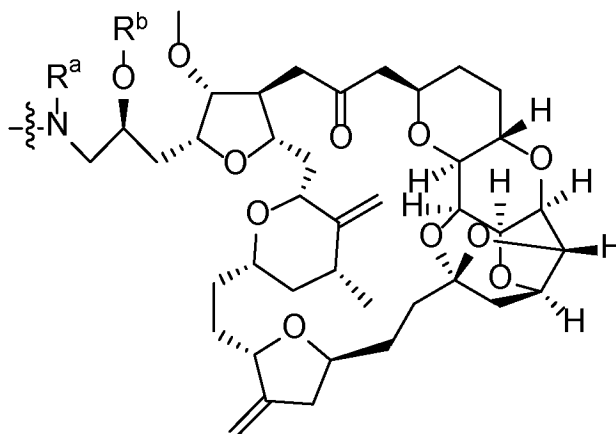
В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрен конъюгат антитело-лекарственное средство общей формулы $Ab-(L-U)_n$ или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где структурная единица на основе антитела Ab конъюгирована с одной или более структурными единицами на основе цитотоксического лекарственного средства U ; при этом цитотоксическое лекарственное средство может быть выбрано, например, из алкалоидов, антиметаболитов, противоопухолевых антибиотиков, алкилирующих средств, лекарственных средств на основе платины и т. п., и предпочтительно цитотоксическое лекарственное средство представляет собой цитотоксическое средство, являющееся ингибитором микротрубочек (в том числе майтанзиноид, ауристатин, эрибулин и т. п.), или цитотоксическое лекарственное средство, действующее в отношении ДНК (в том числе калихемицин, дуокармицин, PBD (пирролобензодиазепин), ингибитор топоизомеразы I и т. п.).

В некоторых конкретных вариантах осуществления структурная единица на основе цитотоксического лекарственного средства U конъюгата антитело-лекарственное средство общей формулы $Ab-(L-U)_n$ или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, предусмотренная в данном документе, представляет собой ингибитор микротрубочек.

В некоторых конкретных вариантах осуществления структурная единица на основе цитотоксического лекарственного средства U конъюгата антитело-лекарственное средство общей формулы $Ab-(L-U)_n$ или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, предусмотренная в данном документе, представляет собой эрибулин или его производное.

В некоторых вариантах осуществления структурная единица на основе цитотоксического лекарственного средства связана с линкерной структурной единицей посредством функциональной группы, за счет чего молекулы цитотоксического лекарственного средства могут высвобождаться в опухолевых клетках с осуществлением противоопухолевого эффекта.

В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрен конъюгат антитело-лекарственное средство общей формулы $Ab-(L-U)_n$ или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где Ab представляет собой структурную единицу на основе антитела, L представляет собой линкерную структурную единицу, U представляет собой структурную единицу на основе цитотоксического лекарственного средства, и n представляет собой целое число или десятичную дробь, выбранные из чисел от 1 до 10, где конъюгат антитело-лекарственное средство предусматривает структуру формулы Ia, приведенной ниже:



Ia,

где

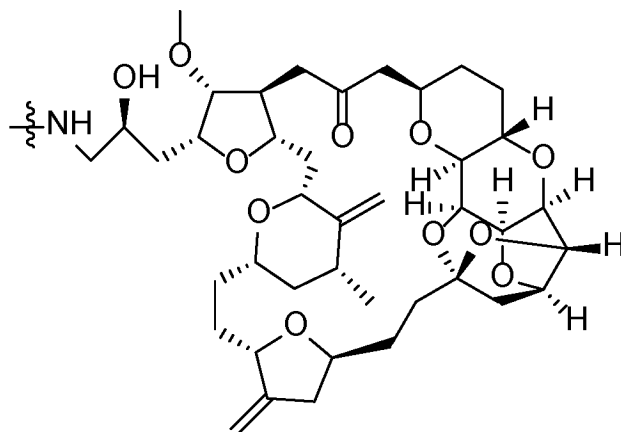
R^a выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила;

R^b выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила;

или

R^a и R^b вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенный 5-8-членный гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^a и R^b независимо выбран из атома водорода, метила, этила, пропила и изопропила. В некоторых вариантах осуществления R^a и R^b представляют собой атомы водорода.

В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство предусматривает структуру формулы Ia-1, описанную ниже:



Pa-1.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предусмотрен конъюгат антитело-лекарственное средство общей формулы $Ab-(L-U)_n$ или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где Ab представляет собой структурную единицу на основе антитела, L представляет собой линкерную структурную единицу, U представляет собой структурную единицу на основе цитотоксического лекарственного средства, и n представляет собой целое число или десятичную дробь, выбранные из чисел от 1 до 10, где -U представляет собой структуру формулы Pa:

где

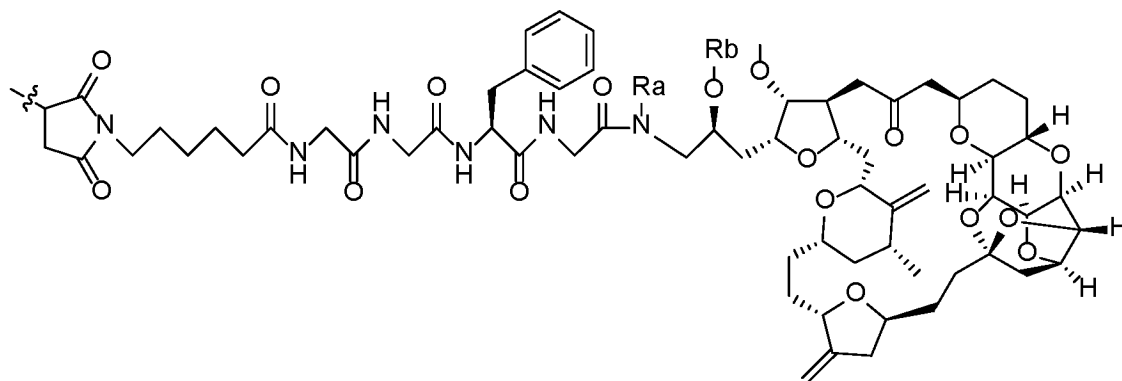
R^a выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила;

R^b выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила;

или

R^a и R^b вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенный 5-8-членный гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^a и R^b независимо выбран из атома водорода, метила, этила, пропила и изопропила. В некоторых вариантах осуществления R^a и R^b представляют собой атомы водорода. В некоторых вариантах осуществления $-U$ представляет собой структуру формулы IIIa-1.

В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство общей формулы $Ab-(L-U)_n$ или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, представленные в данном документе, предусматривают структуру формулы IIIa, приведенную ниже:



IIIa,

где

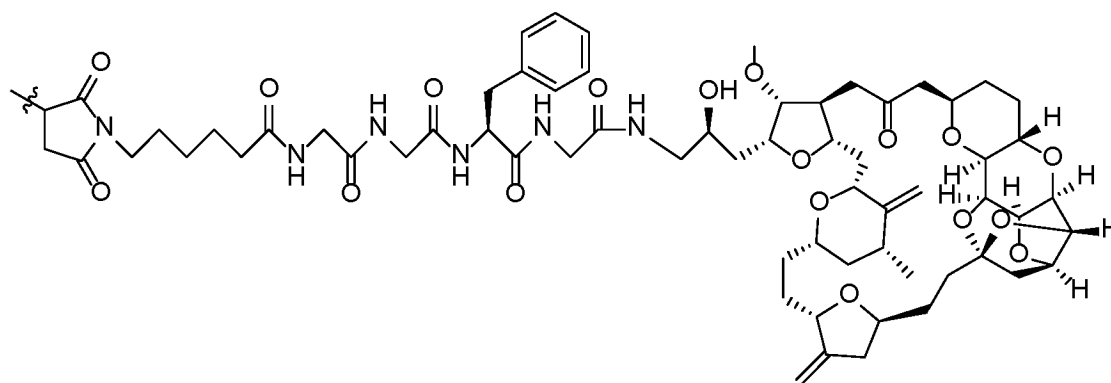
R^a выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила;

R^b выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила;

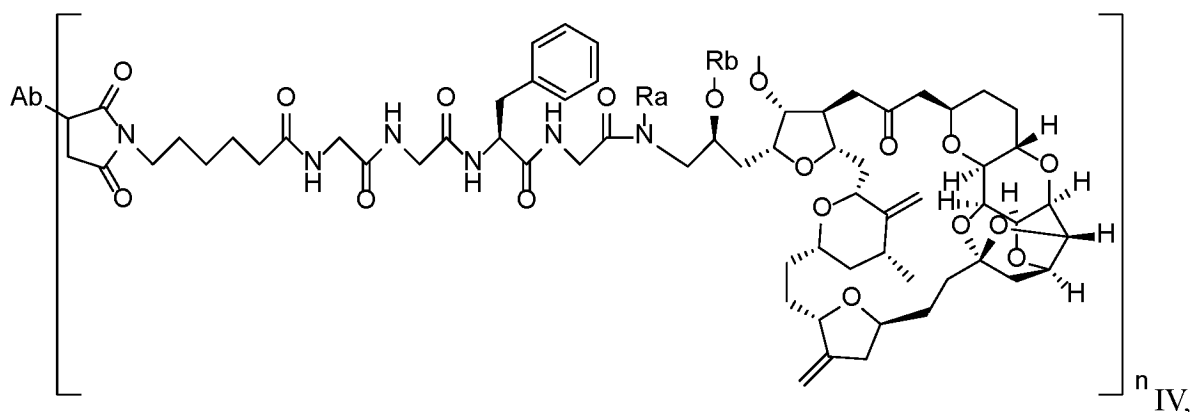
или

R^a и R^b вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенный 5-8-членный гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^a и R^b независимо выбран из атома водорода, метила, этила, пропила и изопропила. В некоторых вариантах осуществления R^a и R^b представляют собой атомы водорода.

В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство предусматривает структуру формулы Ша-1, описанную ниже:



В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство общей формулы $Ab-(L-U)_n$ или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, представленные в данном документе, представляют собой структуру формулы IV, приведенную ниже:



где Ab представляет собой структурную единицу на основе антитела;

n представляет собой целое число или десятичную дробь, выбранные из чисел от 1 до 10;

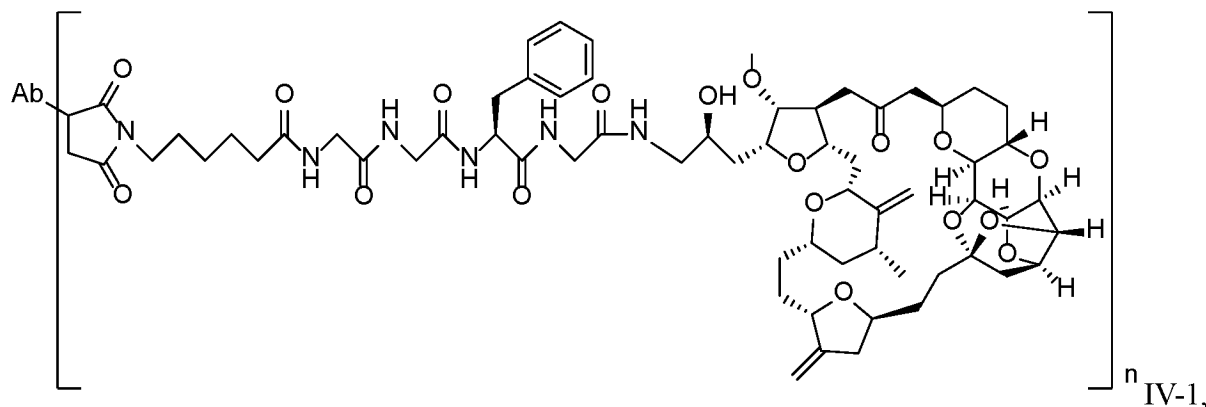
R^a выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C₁₋₆алкила, необязательно замещенного C₃₋₇циклоалкила, необязательно замещенного C₃₋₇гетероциклила, необязательно замещенного C₆₋₁₀арила и необязательно замещенного C₅₋₁₂гетероарила;

R^b выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C₁₋₆алкила, необязательно замещенного C₃₋₇циклоалкила, необязательно замещенного C₃₋₇гетероциклила, необязательно замещенного C₆₋₁₀арила и необязательно замещенного C₅₋₁₂гетероарила;

или

R^a и R^b вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенный 5-8-членный гетероцикл. В некоторых вариантах осуществления каждый из R^a и R^b независимо выбран из атома водорода и C₁₋₅алкила (предпочтительно C₁₋₄алкила, например, C₁₋₃алкила). В некоторых вариантах осуществления каждый из R^a и R^b независимо выбран из атома водорода, метила, этила, пропила и изопропила. В одном варианте осуществления R^a и R^b представляют собой атомы водорода.

В одном конкретном варианте осуществления настоящего изобретения предусмотрены конъюгат антитело-лекарственное средство формулы IV-1, приведенной ниже, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват,



где

Ab представляет собой структурную единицу на основе антитела, и

n представляет собой целое число или десятичную дробь, выбранные из чисел от 1 до 10.

В некоторых вариантах осуществления в конъюгате антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой соли или сольвате, описанных выше, n составляет 2-4,8, 2,6-4,8, 3,5-4,8, 4-4,8, 2-4,5, 2,6-4,5, 3,5-4,5, 4-4,5, 3,5-4,2, 3,5-4, 4-4,2, 7-8, 7-7,9, 7-7,6, 7-7,5, 7,1-8, 7,1-7,9, 7,1-7,6, 7,5-8, 7,6-8 или 7,6-7,9. В некоторых вариантах осуществления n равняется приблизительно 2,6, приблизительно 4, приблизительно 4,2, приблизительно 4,8, приблизительно 7, приблизительно 7,1, приблизительно 7,5, приблизительно 7,6, приблизительно 7,9 или приблизительно 8.

Количество цитотоксических лекарственных средств, конъюгированных со структурной единицей на основе антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство (ADC), раскрытом в данном документе, может варьировать таким образом, что конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, представленные в данном документе, могут быть гетерогенными, т. е. конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, раскрытые в настоящем документе, включают антитела или их антигенсвязывающие фрагменты, с которыми конъюгированы различные количества цитотоксических лекарственных средств; например, 0 (т. е. без цитотоксического лекарственного средства), 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 или более молекул цитотоксического лекарственного средства конъюгированы с 1 молекулой антитела или антигенсвязывающего фрагмента.

Контролируя соотношение антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, с которыми конъюгированы различные количества цитотоксических лекарственных средств, описанных выше, можно получить конъюгаты антитело-лекарственное средство с различными соотношениями лекарственное средство-антитело (DAR) или их

фармацевтически приемлемые соли или сольваты. В данном документе термины «DAR» и «n» используются взаимозаменяемо. Следует понимать, что DAR или n представляет собой среднее молярное соотношение цитотоксического лекарственного средства к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту в ADC, т. е. среднее количество молекул конъюгированных цитотоксических лекарственных средств на молекулу антитела или антигенсвязывающего фрагмента. Например, «DAR приблизительно 4» или «n приблизительно 4» относится к следующим конъюгату антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой соли или сольвату: гетерогенная смесь, содержащая каждую молекулу антитела или его антигенсвязывающего фрагмента, с которыми конъюгированы различные количества молекул цитотоксического лекарственного средства (например, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 молекул цитотоксического лекарственного средства конъюгированы с каждым антителом или его антигенсвязывающим фрагментом), но среднее молярное соотношение цитотоксического лекарственного средства к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту составляет приблизительно 4. Аналогично, «DAR приблизительно 8» или «n приблизительно 8» означает, что среднее молярное соотношение цитотоксического лекарственного средства к антителу или его антигенсвязывающему фрагменту в ADC составляет приблизительно 8.

В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрен конъюгат антитело-лекарственное средство, имеющий общую формулу $Ab-(L-U)_n$, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где Ab (структурная единица на основе антитела) может специфически связываться с опухолевым антигеном, который может быть выбран из любой мишени для лечения опухоли, известной в данной области, и неограничивающие примеры мишени включают HER2, HER3, EGFR, CD20, CD30, CD33, CD47, CD79b, VEGF, VEGFR, MET, RET, PD-1 или PD-L1. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предусмотрен конъюгат антитело-лекарственное средство формулы IV-1 или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где Ab (структурная единица на основе антитела) может специфически связываться с опухолевым антигеном, который может быть выбран из

любой мишени для лечения опухоли, известной в данной области, и неограничивающие примеры мишени включают HER2, HER3, EGFR, CD20, CD30, CD33, CD47, CD79b, VEGF, VEGFR, MET, RET, PD-1 или PD-L1.

В некоторых вариантах осуществления в конъюгате антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой соли или сольвате Ab представляет собой антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент.

В некоторых вариантах осуществления Ab представляет собой антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент, где антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат CDR тяжелой цепи (HCDR)1, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 1, HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 2, HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 3, CDR легкой цепи (LCDR)1, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 4, LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 5, и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 6.

Аминокислотные последовательности CDR антитела к HER3 или его антигенсвязывающего фрагмента представлены в таблице S1 ниже.

В некоторых вариантах осуществления структурная единица на основе антитела конъюгата антитело-лекарственное средство общей формулы $Ab-(L-U)_n$ или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, представленных в настоящем документе, представляет собой патритумаб, последовательность которого показана в таблице S1 ниже.

Таблица S1. Аминокислотные последовательности CDR и вариабельных областей патритумаба

Название	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
HCDR1	GGSFSGY	1
HCDR2	NHSGS	2
HCDR3	DKWTWYFDL	3
LCDR1	QSVLYSSSNRNYLA	4
LCDR2	WASTRES	5
LCDR3	QQYYSTPRT	6
Вариабельная область тяжелой цепи	QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTC AVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKG LEWIGEINHSGSTNYNPSLKS SRVTISVETSKNQFSLKLSSVTAADT AVYYCARDKWTWYFDLWGRG TLVTVSS	7
Вариабельная область легкой цепи	DIEMTQSPDSLAVSLGERATINC RSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQN PGQPPKLLIYWASTRESGVPDRF SGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAV YYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIK	8

В некоторых вариантах осуществления антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 7, и вариабельная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат вариабельную область тяжелой цепи и вариабельную область легкой цепи, где вариабельная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 7, и вариабельная

область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи антитела к HER3 или его антигенсвязывающего фрагмента изложена под SEQ ID NO: 7, и аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи антитела к HER3 или его антигенсвязывающего фрагмента изложена под SEQ ID NO: 8.

В некоторых вариантах осуществления антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент могут дополнительно содержать константную область иммуноглобулина или фрагмент, аналог, вариант или производное константной области. В некоторых вариантах осуществления константная область получена из тяжелой цепи иммуноглобулина человека, например, тяжелой цепи IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4, или других типов иммуноглобулинов, предпочтительно тяжелой цепи IgG1. В некоторых вариантах осуществления константная область может содержать модификации, описанные в контексте, например, вставку, делецию, замену или химическую модификацию аминокислот. В некоторых вариантах осуществления константная область содержит мутацию, которая обеспечивает изменение эффекторной функции. В некоторых вариантах осуществления любой аминокислотный остаток константной области может быть замещен аминокислотным остатком любого аллотипа.

В некоторых вариантах осуществления антитело к HER3 или его антигенсвязывающий структурная единица содержат тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 9, и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь и легкую цепь,

где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 9, и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность тяжелой цепи антитела к HER3 или его антигенсвязывающего фрагмента изложена под SEQ ID NO: 9, и аминокислотная последовательность легкой цепи антитела к HER3 или его антигенсвязывающего фрагмента изложена под SEQ ID NO: 10.

QVQLQQWGAGLLKPSETLSLTCAVYGGSFSGYYWSWIRQPPGKGLEWIGEINHSGST
NYNPSLKSRVTISVETSKNQFSLKLSSVTAADTAVYYCARDKWTWYFDLWGRGTLV
TVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP
AVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHN
AKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS
DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:
9);

DIEMTQSPDSLAVSLGERATINCRSSQSVLYSSSNRNYLAWYQQNPGQPPLLIYWAS
TRESGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDVAVYYCQQYYSTPRTFGQGTKVEIKRTV
AAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQD
SKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:
10).

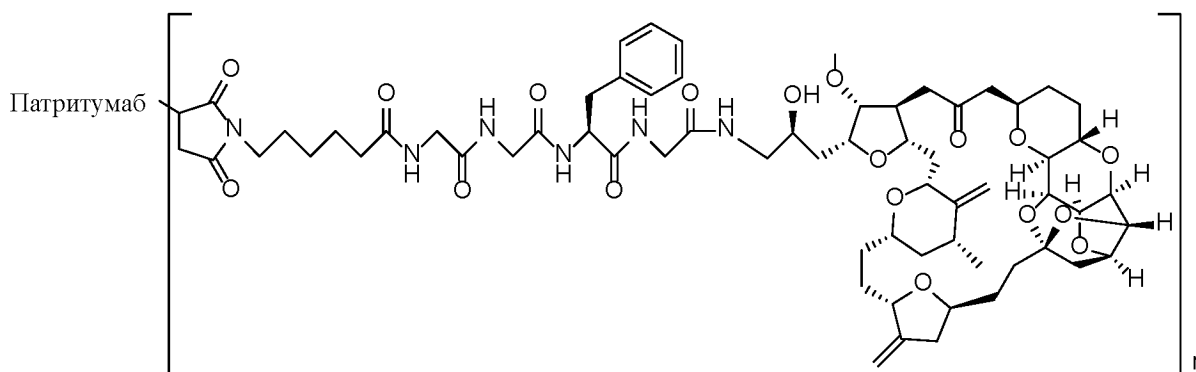
В некоторых вариантах осуществления антитело к HER3 выбрано из группы, состоящей из патритумаба, серибантумаба, элгемтумаба, дулиготузумаба, CDX-3379, лумретузумаба и GSK2849330. В некоторых конкретных вариантах осуществления антитело к HER3 представляет собой патритумаб.

В некоторых вариантах осуществления антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент выбраны из моноклонального антитела, полиспецифического антитела,

Fab-фрагмента, Fab'-фрагмента, F(ab)'2-фрагмента, Fd-фрагмента, Fv-фрагмента, dAb-фрагмента, выделенной области CDR, scFv, нанотела и слитого белка.

В некоторых вариантах осуществления общая формула раскрытого в данном документе конъюгата антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата представляет собой $Ab-(L-U)_n$, где Ab является модифицируемым, например, содержащим одно или более изменений, добавлений или делеций аминокислотной последовательности. В этом случае модифицированное Ab сохраняет активность специфического связывания со своим соответствующим антигеном.

В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, представленные в данном документе, представляют собой структуру, показанную ниже:



В некоторых таких вариантах осуществления n равняется 2-4,8, 2,6-4,8, 3,5-4,8, 4-4,8, 2-4,5, 2,6-4,5, 3,5-4,5, 4-4,5, 3,5-4,2, 3,5-4, 4-4,2, 7-8, 7-7,9, 7-7,6, 7-7,5, 7,1-8, 7,1-7,9, 7,1-7,6, 7,5-8, 7,6-8 или 7,6-7,9. В некоторых конкретных вариантах осуществления n равняется приблизительно 2,6, приблизительно 4, приблизительно 4,2, приблизительно 4,8, приблизительно 7, приблизительно 7,1, приблизительно 7,5, приблизительно 7,6, приблизительно 7,9 или приблизительно 8.

В одном аспекте конъюгат антитело-лекарственное средство, имеющий общую формулу $Ab-(L-U)_n$, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, представленные в данном документе, характеризуются одним из следующих свойств или комбинацией нескольких из них:

- (a) связывание с HER3;
- (b) блокирование связывания HER3 с лигандом;
- (c) проявление эндоцитоза в клетках, экспрессирующих HER3;
- (d) наличие уничтожающей активности HER3-экспрессирующих опухолевых клеток;
- (e) наличие «эффекта свидетеля».

В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват связываются с HER3 человека.

В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, представленные в данном документе, проявляют выраженный эндоцитоз в клетках с различными уровнями экспрессии HER3 и могут непрерывно накапливать эндоцитированное количество ADC с увеличением времени эндоцитоза.

Фармацевтическая композиция

В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, раскрытые в данном документе. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предусмотрена фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемую соль или сольват по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтически приемлемые носители включают, например, вспомогательные вещества, разбавители, инкапсулирующие материалы, наполнители, буферные средства или другие средства.

Применение

В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрено применение конъюгата антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, раскрытых в данном документе, для получения лекарственного препарата для лечения рака. В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрено применение фармацевтической композиции, содержащей конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, раскрытые в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель для получения лекарственного препарата для лечения рака. В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрено применение фармацевтической композиции, раскрытой в данном документе, для получения лекарственного препарата для лечения рака.

В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрен конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, или фармацевтическая композиция, описанные выше, для применения в лечении рака.

В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрен способ лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества конъюгата антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, раскрытых в данном документе, или фармацевтической композиции, содержащей конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, раскрытые в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель. В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрен способ лечения рака, который включает введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции, раскрытой в данном документе. В некоторых вариантах осуществления способ включает приведение в контакт опухолевых клеток с конъюгатом антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой солью или сольватом или фармацевтической композицией с обеспечением таким образом уничтожения опухолевых клеток или подавления роста опухолевых клеток.

В некоторых вариантах осуществления введение пациенту терапевтически эффективного количества конъюгата антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, раскрытых в данном документе, или фармацевтической композиции, раскрытой в данном документе, может обеспечивать уничтожение опухолевых клеток или ингибировать рост опухолевых клеток.

В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрено применение конъюгата антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, раскрытых в данном документе, в лечении рака. В одном аспекте настоящего изобретения предусмотрено применение фармацевтической композиции, содержащей конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, раскрытые в данном документе, и фармацевтически приемлемый носитель, в лечении рака. В одном из аспектов настоящего изобретения также предусмотрено применение фармацевтической композиции, раскрытой в данном документе, в лечении рака.

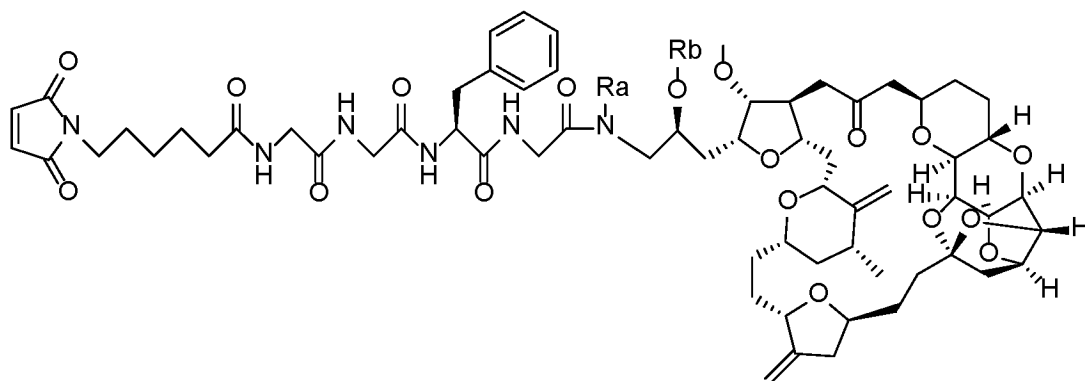
В некоторых вариантах осуществления описанных выше способов или путей применения пациент не подходит для лечения с помощью лекарственных средств, нацеливающихся на HER2. В некоторых вариантах осуществления описанных выше способов или путей применения пациент является устойчивым к лекарственным средствам, нацеливающимся на HER2.

В некоторых вариантах осуществления вышеуказанных способов или путей применения рак представляет собой HER3-положительный рак. В некоторых вариантах осуществления конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемую соль или сольват, раскрытые в данном документе, можно применять для лечения рака, экспрессирующего белок HER3. В некоторых вариантах осуществления введение пациенту терапевтически эффективного количества конъюгата антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата, раскрытых в данном документе, или фармацевтической композиции, раскрытой в данном документе, может обеспечивать уничтожение опухолевых клеток,

экспрессирующих HER3, или ингибировать рост опухолевых клеток, экспрессирующих HER3. Примеры рака включают без ограничения рак желчевыводящих путей, карциносаркому, рак пищевода, рак пищеводно-желудочного перехода, рак молочной железы, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак головы и шеи, колоректальный рак, рак почки, рак шейки матки, рак яичника, рак эндометрия, рак матки, меланому, рак гортани, рак полости рта, рак кожи, рак легкого, мультиформную глиобластому, глиобластому, уротелиальную карциному, рак предстательной железы, рак мочевого пузыря, гастроинтестинальную стромальную опухоль, плоскоклеточную карциному, рак брюшины, рак печени, карциному слюнных желез, рак вульвы, рак щитовидной железы, рак яичек, рак анального канала или рак полового члена.

Промежуточное соединение линкер-лекарственное средство

В некоторых аспектах в настоящем изобретении предусмотрено промежуточное соединение линкер-лекарственное средство, имеющее структуру формулы III, приведенной ниже:



III,

где

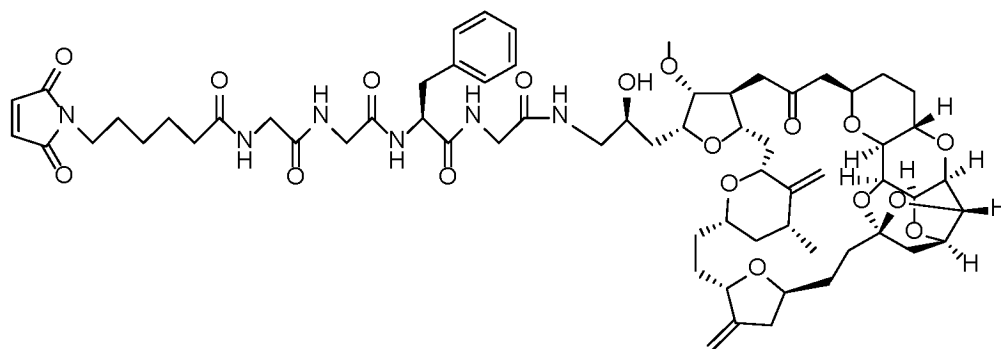
R^a выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила;

R^b выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C₁₋₆алкила, необязательно замещенного C₃₋₇циклоалкила, необязательно замещенного C₃₋₇гетероциклила, необязательно замещенного C₆₋₁₀арила и необязательно замещенного C₅₋₁₂гетероарила; или

R^a и R^b вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенный 5-8-членный гетероциклил.

В некоторых вариантах осуществления в промежуточном соединении линкер-лекарственное средство, имеющем структуру формулы III, каждый из R^a и R^b независимо выбран из атома водорода, метила, этила, пропила и изопропила.

В одном конкретном варианте осуществления настоящего изобретения предусмотрено промежуточное соединение линкер-лекарственное средство, имеющее структуру формулы III-1, приведенной ниже,



Линкерная структура, применяемая в настоящем изобретении, связывает противоопухолевое соединение эрибулин или его производное с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом, и полученный конъюгат антитело-лекарственное средство характеризуется превосходным противоопухолевым эффектом и/или безопасностью. В некоторых вариантах осуществления указанный противоопухолевый эффект и/или безопасность указанного конъюгата антитело-лекарственное средство превосходят таковые у эрибулина. В некоторых вариантах осуществления противоопухолевый эффект и/или безопасность конъюгата антитело-лекарственное средство превосходит таковую у конъюгата антитела к HER3 и лекарственного средства

U3-1402 (патритумаб дерукстекан) Daiichi Sankyo Co., Ltd. В некоторых вариантах осуществления представленный конъюгат антитела к HER3 и лекарственного средства проявляет высокую активность в отношении уничтожения опухолевых клеток в случае различных опухолевых клеток и/или клеток с различными (высокими, и/или средними, и/или низкими) уровнями экспрессии HER3. В некоторых вариантах осуществления представленный конъюгат антитела к HER3 и лекарственного средства проявляет высокую активность в отношении уничтожения опухолевых клеток, устойчивых к трастузумабу. В некоторых вариантах осуществления представленный конъюгат антитела к HER3 и лекарственного средства характеризуется превосходной безопасностью. В некоторых вариантах осуществления представленный конъюгат антитело-лекарственное средство, например, конъюгат антитела к HER3 и лекарственного средства, менее склонен к агрегации. В некоторых экспериментах антиагрегационное свойство конъюгатов антитело-лекарственное средство может быть улучшено за счет использования линкерной структуры, раскрытой в данном документе, для связывания противоопухолевого соединения эрибулина или его производного с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

На фиг. 1A-1G представлены параметры активности связывания конъюгатов патритумаб-эрибулин с различными значениями DAR, патритумаб-DDDXd-D8 и патритумаба с клетками с различными уровнями экспрессии HER3.

На фиг. 2A-2D представлен эндоцитоз конъюгатов патритумаб-эрибулин с различными значениями DAR, патритумаб-DDDXd-D8 и патритумаба в клетках с различным уровнем экспрессии HER3.

На фиг. 3A-3I представлены показатели уничтожения клеток с помощью конъюгатов патритумаб-эрибулин с различными значениями DAR и патритумаб-DDDXd-D8 для клеток с различными уровнями экспрессии HER3.

На фиг. 4 показано влияние конъюгатов патритумаб-эрибулин с различными значениями DAR, патритумаб-DDDXd-D8 и контрольного носителя в отношении изменения объема опухоли у мышей в моделях подкожных ксенотрансплантатных опухолей из клеток рака молочной железы человека JIMT-1 с применением бестимусных мышей.

На фиг. 5 показано влияние конъюгатов патритумаб-эрибулин с различными значениями DAR, патритумаб-DDDXd-D8 и контрольного носителя на вес опухоли у мышей в моделях подкожных ксенотрансплантатных опухолей из клеток рака молочной железы человека JIMT-1 с применением бестимусных мышей; и

На фиг. 6 показано влияние конъюгатов патритумаб-эрибулин с различными значениями DAR, патритумаб-DDDXd-D8 и контрольного носителя на изменение веса мышей в моделях подкожных ксенотрансплантатных опухолей из клеток рака молочной железы человека JIMT-1 с применением бестимусных мышей.

Пояснения и определения

Если не указано иное, следующие термины, используемые в настоящей заявке, будут иметь следующие значения. Определенный термин, если конкретно не определено иное, не следует считать неопределенным или неясным, а следует понимать в соответствии с его общепринятым значением в данной области. Предполагается, что ссылка на торговое наименование относится к соответствующему ему коммерческому продукту или его активному ингредиенту.

Термин «замещенный» означает, что любой один или более атомов водорода при конкретном атоме замещен заместителями при условии, что валентность конкретного атома является нормальной, и при этом полученное в результате соединение является стабильным. Если заместитель представляет собой оксогруппу (т. е. =O), то это означает, что два атома водорода замещены, и оксогруппа не возможна в ароматической группе.

Термин «необязательный» или «необязательно» означает, что описанное далее событие или обстоятельство может происходить или может не происходить. Описание включает

случаи, когда событие или обстоятельство происходит, и случаи, когда не происходит. Выражение «необязательно замещенный» обозначает замещенный или незамещенный. Например, этил «необязательно» замещен галогеном, означает, что этил может быть незамещенным (CH_2CH_3), монозамещенным (например, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$), полизамещенным (например, CHFCH_2F и CH_2CHF_2) или полностью замещенным (CF_2CF_3). Специалистам в данной области будет понятно, что для любых групп, содержащих один или более заместителей, не будут осуществляться какие-либо замещения или схемы замещения, которые являются пространственно нецелесообразными и/или невозможными с точки зрения синтеза.

Используемый в данном документе C_{m-n} означает, что структурная единица содержит целое число или десятичную дробь атомов углерода в указанном диапазоне. Например, « C_{1-6} » означает, что группа может содержать 1 атом углерода, 2 атома углерода, 3 атома углерода, 4 атома углерода, 5 атомов углерода или 6 атомов углерода.

Если любая переменная (например, R) встречается один раз или более в составе или структуре соединения, определение переменной в каждом случае является независимым. Следовательно, например, если группа замещена 2 R, определение каждого R является независимым.

Если число связывающих групп равняется 0, например, $-(\text{CH}_2)_0-$, это означает, что связывающая группа представляет собой ковалентную связь.

Если переменная выбрана из ковалентной связи, это означает, что две группы, которые она связывает, связаны напрямую. Например, если L в A-L-Z представляет собой ковалентную связь, это означает, что структура фактически представляет собой A-Z.

Термин «галогено» или «галоген» относится к фтору, хлору, бром и йоду.

Термин «гидрокси» относится к -ОН группе.

Термин «циано» относится к -CN группе.

Термин «сульфидрил» относится к группе -SH.

Термин «амино» относится к группе $-\text{NH}_2$.

Термин «нитро» относится к группе $-\text{NO}_2$.

Термин «алкил» относится к гидрокарбилу с общей формулой $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$. Алкил может быть линейным или разветвленным. Например, термин « C_{1-6} алкил» относится к алкилу, содержащему 1-6 атомов углерода (например, метилу, этилу, *n*-пропилу, изопропилу, *n*-бутилу, изобутилу, *втор*-бутилу, *трет*-бутилу, *n*-пентилу, 1-метилбутилу, 2-метилбутилу, 3-метилбутилу, неопентилу, гексилу, 2-метилпентилу и т. п.). Алкильные фрагменты (т. е. алкил) в алкокси, алкиламино, диалкиламино, алкилсульфониле и алкилтио определены аналогично тому, как указано выше.

Термин «алкоксил» относится к $-\text{O}$ -алкилу.

Термин «алкиламино» относится к $-\text{NH}$ -алкилу.

Термин «диалкиламино» относится к $-\text{N}(\text{алкилу})_2$.

Термин «алкилсульфонил» относится к $-\text{SO}_2$ -алкилу.

Термин «алкилтио» относится к $-\text{S}$ -алкилу.

Термин «алкенил» относится к линейному или разветвленному ненасыщенному алифатическому гидрокарбилу, состоящему из атомов углерода и атомов водорода и имеющему по меньшей мере одну двойную связь. Неограничивающие примеры алкенила включают без ограничения этенил, 1-пропенил, 2-пропенил, 1-бутенил, изобутенил, 1,3-бутадиенил и т. п.

Термин «алкинил» относится к линейному или разветвленному ненасыщенному алифатическому гидрокарбилу, состоящему из атомов углерода и атомов водорода и имеющему по меньшей мере одну тройную связь. Неограничивающие примеры алкинила включают без ограничения этинил ($-\text{C}\equiv\text{CH}$), 1-пропинил ($-\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$), 2-пропинил ($-\text{CH}_2-\text{C}\equiv\text{CH}$), 1,3-бутадиенил ($-\text{C}\equiv\text{C}-\text{C}\equiv\text{CH}$) и т. п.

Термин «циклоалкил» относится к углеродному кольцу, которое является полностью насыщенным и может существовать в виде моноциклической структуры, соединенной мостиковой связью циклической структуры или спироциклической структуры. Если не указано иное, то углеродное кольцо, как правило, представляет собой 3-10-членное кольцо. Неограничивающие примеры циклоалкила включают без ограничения циклопропил, циклобутил, циклопентил, циклогексил, норборнил(бицикло[2.2.1]гептил), бицикло[2.2.2]октил, адамантил и т. п.

Термин «циклоалкенил» относится к неароматическому углеродному кольцу, которое не является полностью насыщенным и может существовать в виде моноциклической структуры, соединенной мостиковой связью циклической структуры или спироциклической структуры. Если не указано иное, то углеродное кольцо, как правило, представляет собой 5-8-членное кольцо. Неограничивающие примеры циклоалкенилов включают без ограничения циклопентенил, циклопентадиенил, циклогексенил, циклогексадиенил, циклогептенил, циклогептадиенил и т. п.

Термин «гетероциклил» относится к полностью насыщенному или частично ненасыщенному (но не полностью ненасыщенной гетероароматической группе) неароматическому кольцу, которое может присутствовать в виде моноциклической, соединенной мостиковой связью циклической структуры или спироциклической структуры. Если не указано иное, гетероциклил обычно представляет собой 3-7-членное кольцо, содержащее 1-3 гетероатома (предпочтительно от 1 до 2 гетероатомов), независимо выбранных из серы, кислорода и/или азота. Неограничивающие примеры гетероциклила включают без ограничения оксиранил, тетрагидрофуранил, дигидрофуранил, пирролидинил, *N*-метилпирролидинил, дигидропирролил, пиперидинил, пиперазинил, пиразолидинил, 4*H*-пиранил, морфолинил, сульфморфолинил, тетрагидротиенил и т. п.

Термин «гетероциклоалкил» относится к полностью насыщенной циклической группе, которая может существовать в форме моноциклической структуры, соединенной мостиковой связью циклической структуры или спироциклической структуры. Если не

указано иное, гетероцикл лил обычно представляет собой 3-7-членное кольцо, содержащее 1-3 гетероатома (предпочтительно от 1 до 2 гетероатомов), независимо выбранных из серы, кислорода и/или азота. Примеры 3-членного гетероциклоалкила включают без ограничения оксиранил, тирианил и азирианил; неограничивающие примеры 4-членного гетероциклоалкила включают без ограничения азетидинил, оксетанил и тиетанил; примеры 5-членного гетероциклоалкила включают без ограничения тетрагидрофуранил, тетрагидротиенил, пирролидинил, изоксазолидинил, оксазолидинил, изотиазолидинил, тиазолидинил, имидазолидинил и тетрагидропиразолил; примеры 6-членного гетероциклоалкила включают без ограничения пиперидинил, тетрагидропиранил, тетрагидротиопиранил, морфолинил, пиперазинил, 1,4-оксатианил, 1,4-диоксанил, тиоморфолинил, 1,3-дितिанил и 1,4-дितिанил; примеры 7-членного гетероциклоалкила включают без ограничения азациклогептанил, оксациклогептанил и тиоциклогептанил. Предпочтительным является моноциклический гетероциклоалкил, содержащий 5 или 6 атомов кольца.

Термин «арил» относится к полностью углеродной ароматической моноциклической или конденсированной полициклической группе, имеющей сопряженную π -электронную систему. Например, арил может содержать 6-20 атомов углерода, 6-14 атомов углерода или 6-12 атомов углерода. Неограничивающие примеры арила включают без ограничения фенил, нафтил, антрил, 1,2,3,4-тетрагидронафталин и т. п.

Термин «гетероарил» относится к моноциклической или конденсированной полициклической системе, которая содержит по меньшей мере один атом кольца, выбранный из N, O и S, при этом оставшиеся атомы кольца представляют собой C, и которая содержит по меньшей мере одно ароматическое кольцо. Предпочтительно гетероарил содержит одно 4-8-членное кольцо, в частности, 5-8-членное кольцо, или множество конденсированных колец, содержащих 6-14 атомов кольца, в частности, 6-10 атомов кольца. Неограничивающие примеры гетероарила включают без ограничения пирролил, фуранил, тиенил, имидазолил, оксазолил, пиразолил, пиридинил, пиримидинил, пиразинил, хинолил, изохинолил, тетразолил, триазолил, триазинил, бензофуранил, бензотиенил, индолил, изоиндолил и т. п.

«Производное»: соединение, образованное путем замены атомов или групп атомов в молекуле исходного соединения на другие атомы или группы атомов, называется производным исходного соединения.

Соединения и промежуточные соединения, раскрытые в данном документе, могут также существовать в различных таутомерных формах, и все такие формы включены в объем настоящей заявки. Термин «таутомер» или «таутомерная форма» относится к структурным изомерам с различными уровнями энергии, которые могут взаимопревращаться при переходе через низкоэнергетический барьер. Например, для протонного таутомера (также известный как прототропный таутомер) предусматривается взаимопревращение с помощью переноса протона, такое как кето-енольная изомеризация и имин-енаминная изомеризация. Конкретным примером протонного таутомера является имидазольный фрагмент, где протон может переноситься между двумя атомами азота в кольце. Валентный таутомер включает взаимопревращение путем рекомбинации некоторых образующих связи электронов.

Соединение, раскрытое в данном документе, может быть асимметричным, например, иметь один или более стереоизомеров. Если не указано иное, все стереоизомеры, например, энантиомеры и диастереоизомеры, включены в настоящую заявку. Соединение с асимметричными атомами углерода, раскрытые в данном документе, может быть выделено в оптически чистой форме или рацемической форме. Оптически чистая форма может быть выделена из рацемической смеси или может быть синтезирована с использованием хирального исходного материала или хирального реагента.

Любой атом синтезируемого с меткой в данном документе соединения может представлять собой любой стабильный изотоп атома, если он конкретно не определен. Если не указано иное, когда положение в структуре обозначено как H, т. е. водород (H-1), в этом положении содержится только встречающийся в природе изотоп. Аналогично, если не указано иное, когда положение в структуре определено как D, т. е. дейтерий (H-2), в этом положении содержится изотоп в количестве, которое в по

меньшей мере 3340 раз превышает количество встречающегося в природе изотопа (0,015%) (т. е. по меньшей мере 50,1% изотопа дейтерия); если одно или более положений в структуре синтезируемого соединения с меткой определены как D, т.е. дейтерий (H-2), содержание соединения, представленного структурой, может составлять по меньшей мере 52,5%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 67,5%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 82,5%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98,5%, по меньшей мере 99% или по меньшей мере 99,5%. Соотношение дейтерированных соединений, синтезированных с меткой, относится к соотношению содержания меченого синтетического изотопа к содержанию встречающегося в природе изотопа. Соотношение дейтерированных атомов дейтерия на обозначенный атом дейтерия в синтезированном в данном документе соединении с меткой может составлять по меньшей мере 3500 раз (52,5%), по меньшей мере 4000 раз (60%), по меньшей мере 4500 раз (67,5%), по меньшей мере 5000 раз (75%), по меньшей мере 5500 раз (82,5%), по меньшей мере 6000 раз (90%), по меньшей мере 6333,3 раза (95%), по меньшей мере 6466,7 раза (97%), по меньшей мере 6566,7 раза (98,5%), по меньшей мере 6600 раз (99%) или по меньшей мере 6633,3 раза (99,5%). Изотопологи в данном случае относятся к соединениям, которые отличаются только изотопным составом с точки зрения химической структуры. Соединение, синтезированное в данном документе с меткой, имеет ту же химическую структуру, с единственными изотопными изменениями в атомном составе его молекул. Таким образом, синтезированное в данном документе соединение, в котором имеется дейтерий в определенном положении, также содержит очень мало изотопологов водорода в этом положении, а количество изотополога водорода в определенном положении в синтезированном в данном документе соединении зависит от многих факторов, включая изотопную чистоту дейтерированного средства (D_2O , D_2 , $NaBD_4$, $LiAlD_4$ и т. п.) и эффективность способов синтеза для введения изотопа дейтерия. Однако, как уже говорилось ранее, общее количество такого изотополога водорода в определенном положении будет составлять менее 49,9%. Общее количество изотополога водорода в определенном положении в синтезированном в данном документе соединении с меткой будет составлять менее 47,5%, 40%, 32,5%, 25%, 17,5%, 10%, 5%, 3%, 1% или 0,5%.

В настоящем изобретении любой отдельный атом, не обозначенный как дейтерий, присутствует при его природной изотопной распространенности.

При использовании в данном документе термин «эффект свидетеля» относится к эффекту, при котором цитотоксическое лекарственное средство, конъюгированное с антителом или его антигенсвязывающим фрагментом посредством расщепляемого или нерасщепляемого линкера, характеризуется способностью диффундировать и проникать через клеточную мембрану после высвобождения из антитела или его антигенсвязывающего фрагмента и тем самым приводить к уничтожению соседних клеток. Способность к диффузии и проникновению через клеточную мембрану связана с гидрофобностью цитотоксического лекарственного средства или комбинации цитотоксического лекарственного средства и линкера. Такими цитотоксическими лекарственными средствами могут быть, например, эрибулин или ММАЕ. «Эффект свидетеля» может быть желателен, в частности, в опухолях с неоднородной экспрессией мишени и солидных опухолях, где проникновение антител может быть ограничено.

Термин «лечение» означает введение соединения или фармацевтической композиции, описанной в данном документе, для предупреждения, облегчения или устранения заболевания или одного или более симптомов, ассоциированных с этим заболеванием, и включает без ограничения:

- (i) предупреждение возникновения заболевания или болезненного состояния у млекопитающего, в частности, когда такое млекопитающее предрасположено к болезненному состоянию, но его наличие еще не было диагностировано;
- (ii) подавление заболевания или болезненного состояния, т. е. остановка его прогрессирования;
- (iii) уменьшение интенсивности заболевания или болезненного состояния, т. е. вызывание ремиссии; и

(iv) уменьшение любых прямых или косвенных патологических последствий заболевания или болезненного состояния.

Термин «терапевтически эффективное количество» относится к количеству соединения, раскрытого в данном документе, для (i) лечения или предупреждения конкретного заболевания, состояния или нарушения; (ii) уменьшения интенсивности, облегчения или устранения одного или более симптомов конкретного заболевания, состояния или нарушения, или (iii) предупреждения или задержки начала проявления одного или более симптомов конкретного заболевания, состояния или нарушения, описанных в данном документе. Количество соединения или фармацевтической композиции, раскрытых в данном документе, которое составляет «терапевтически эффективное количество», может варьироваться в зависимости от таких факторов, как само соединение или фармацевтическая композиция и их способность вызывать желаемый ответ у индивидуума, болезненное состояние и его тяжесть, путь введения, а также возраст, пол и вес млекопитающего, подлежащего лечению. Эффективное количество может также быть определено согласно повседневной практике специалистами в данной области в соответствии с их знаниями и содержанием настоящего изобретения.

Термин «фармацевтически приемлемый» используется в отношении тех соединений, материалов, композиций и/или лекарственных форм, которые в рамках тщательной медицинской оценки являются подходящими для применения в контакте с тканями людей и животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или других проблем или осложнений и соизмеримы с приемлемым соотношением польза/риск.

Фармацевтически приемлемая соль, например, может представлять собой соль металла, аммонийную соль, соль, образованную органическим основанием, соль, образованную неорганической кислотой, соль, образованную органической кислотой, соль, образованную основной или кислотной аминокислотой и т. п.

Термин «сольват» означает вещество, образующееся при объединении соединения с молекулой растворителя.

Термин «антитело» используется в самом широком смысле и, в частности, охватывает интактные моноклональные антитела, поликлональные антитела, полиспецифические антитела (например, биспецифические антитела), образованные из по меньшей мере двух интактных антител, многофункциональные антитела и фрагменты антитела, если они характеризуются желаемой биологической активностью.

Термин «гуманизованное антитело» относится к антителу, содержащему CDR, полученные из антитела, отличного от человеческого, а остальная часть молекулы антитела получена из одного или более человеческих антител.

Термин «мутант» используется для обозначения пептида, содержащего аминокислотную последовательность, полученную из аминокислотной последовательности пептида следующим образом: замена одной или двух или более аминокислот на аминокислоты, отличающиеся от исходного пептида, делеция одной или двух или более аминокислот дикого типа, вставка одной или двух или более аминокислот, которые не существуют в диком типе, и/или добавление аминокислот, которые не существуют в диком типе, к аминоконцу (N-концу) и/или карбоксиконцу (C-концу) дикого типа (совместно именуемые «мутация»). В настоящем изобретении «вставка» также может быть включена в «добавление».

Термин «CDR» (определяющая комплементарность область), также известный как «гипервариабельная область», относится к каждой области вариабельного домена антитела, которая является высоковариабельной по последовательности и/или образует структурно определенную петлю. Природные четырехцепочечные антитела обычно содержат шесть CDR, три в вариабельной области тяжелой цепи и три в вариабельной области легкой цепи.

Термин «вариабельная область» относится к домену из приблизительно 100-110 или более аминокислот, определяемому N-концевым доменом легкой или тяжелой цепей антитела и отвечающему в основном за распознавание антигена. Термины «вариабельная область легкой цепи» (VL) и «вариабельная область тяжелой цепи» (VH) относятся к этим доменам легкой и тяжелой цепи соответственно.

Термин «Fab» означает, что он содержит константный домен (CL) легкой цепи и первый константный домен (CH1) тяжелой цепи наряду с переменными доменами VL (переменная область легкой цепи) и VH (переменная область тяжелой цепи) в легкой цепи и тяжелой цепи соответственно. Переменный домен содержит определяющие комплементарность области (CDR), которые участвуют в связывании антигена.

Термин «scFv» включает домены VH и VL антитела, где эти домены присутствуют в одной полипептидной цепи. В некоторых вариантах осуществления scFv дополнительно содержит полипептидный линкер между доменами VH и VL, который позволяет scFv образовывать структуру, необходимую для связывания антигена.

Термин «структурная единица на основе антитела» относится к структурной единице на основе антитела в конъюгате антитело-лекарственное средство. В некоторых конкретных вариантах осуществления структурная единица на основе антитела связана с промежуточной линкерной структурной единицей посредством специфической функциональной группы, и структурная единица на основе антитела может специфически связываться с антигеном.

Термин «линкерная структурная единица» относится к части конъюгата антитело-лекарственное средство, которая связывает структурную единицу на основе антитела со структурной единицей на основе цитотоксического лекарственного средства, и может быть расщепляемой или нерасщепляемой; расщепляемая структурная единица может быть расщеплена в клетке-мишени с высвобождением цитотоксического лекарственного средства.

Термин «структурная единица на основе цитотоксического лекарственного средства» относится к структурной единице на основе цитотоксического лекарственного средства в конъюгате антитело-лекарственное средство. В некоторых конкретных вариантах осуществления структурная единица на основе цитотоксического лекарственного средства связана с промежуточной линкерной структурной единицей посредством функциональной группы, за счет чего молекулы цитотоксического лекарственного

средства могут высвобождаться в опухолевых клетках с осуществлением противоопухолевого эффекта.

Термин «трастузумаб» (непатентованное название) относится к рекомбинантному гуманизированному моноклональному антителу, которое избирательно действует на ECD4 рецептора 2 эпидермального фактора роста человека (HER2) и может применяться для лечения HER2-положительного рака, примером которого является коммерчески доступный продукт, представляющий собой терапевтическое моноклональное антитело, под торговым названием HERCEPTIN[®].

Термин «патритумаб» представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело к HER3, которое может применяться для лечения рака, экспрессирующего белок HER3.

Термин «HER2» является вторым представителем семейства EGFR и характеризуется тирозинкиназной активностью, причем уровни экспрессии HER2 могут быть определены с помощью иммуногистохимического анализа; HER2-положительный относится к IHC3+, HER2-отрицательный относится к IHC1+/0, и в случае IHC2+ необходимо провести ISH-анализ для дальнейшего подтверждения.

Термин «HER3» (рецептор 3 эпидермального фактора роста человека, также известный как ErbB3) представляет собой рецепторную протеин-тирозинкиназу и относится к подсемейству рецепторов тирозинкиназ эпидермального фактора роста (EGFR), которое также включает HER1 (также известный как EGFR), HER2 и HER4. HER3 представляет собой трансмембранный рецептор и состоит из внеклеточного лигандсвязывающего домена (ECD), домена димеризации внутри ECD, трансмембранного домена, внутриклеточного тирозинкиназного домена (TKD) и С-концевого домена фосфорилирования. Было обнаружено, что HER3 сверхэкспрессируется при нескольких типах рака (например, при раке молочной железы, раке желудка-кишечного тракта и раке поджелудочной железы). Была показана корреляция между экспрессией HER2/HER3 и прогрессированием от неинвазивных до инвазивных стадий.

Термин «трижды негативный рак молочной железы» означает рак молочной железы, который отрицателен в отношении экспрессии рецепторов эстрогена, рецепторов прогестерона и рецептора 2 эпидермального фактора роста человека.

Термин «EC₅₀» означает эффективную концентрацию, которая обеспечивает 50% от максимального ответа антигенсвязывающей конструкции. EC₅₀ может быть измерен с помощью анализа ELISA или FACS или любым другим способом, известным в данной области.

Термин «идентичность» также известен как соответствие. «Процент идентичности (%)» аминокислотной последовательности относится к проценту аминокислотных остатков в последовательности, подлежащей выравниванию, которые идентичны таковым конкретной аминокислотной последовательности, представленной в данном документе, когда последовательность, подлежащую выравниванию, выравнивают с конкретной аминокислотной последовательностью, представленной в данном документе, при необходимости с внесением гэпов с достижением максимального процента идентичности последовательностей и без рассмотрения любых консервативных замен в качестве части идентичности последовательностей. Выравнивание аминокислотных последовательностей для определения идентичности можно проводить множеством способов, находящихся в пределах специализации в данной области техники, таких как программное обеспечение BLAST, BLAST-2, ALIGN или Megalign (DNASTAR). Специалист в данной области техники может определить подходящие параметры для выравнивания последовательностей, включая любые требуемые алгоритмы, для получения максимального выравнивания для полной длины сравниваемых последовательностей.

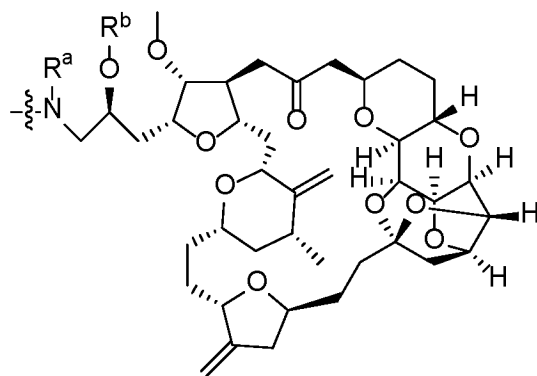
Термины «субъект» и «пациент» в данном документе используются взаимозаменяемо. В некоторых вариантах осуществления термин «субъект» или «пациент» относится к млекопитающему. В некоторых вариантах осуществления субъект или пациент является мышью. В некоторых вариантах осуществления субъектом или пациентом является человек.

При использовании в данном документе «приблизительно» означает нахождение в пределах приемлемого диапазона погрешности, определенного специалистами в данной области для конкретного значения, который отчасти зависит от того, как измеряют или определяют значение, т. е. от ограничений, накладываемых измерительной системой. Например, «приблизительно» может означать нахождение в пределах 1 или более 1 стандартного отклонения, как это принято в данной области техники. Альтернативно, «приблизительно» может означать диапазон до $\pm 5\%$, например, колебания в пределах определенного числового диапазона $\pm 2\%$, $\pm 1\%$ или $\pm 0,5\%$. Если в настоящей заявке или в объеме заявки на изобретения приведено конкретное значение, если не указано иное, следует считать, что «приблизительно» означает нахождение в пределах приемлемого диапазона погрешности для этого конкретного значения. В данном случае, если не указано иное, все значения параметров или условий на стадии по умолчанию изменяются на «приблизительно».

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

В настоящем изобретении дополнительно предусмотрены следующие конкретные варианты осуществления, но объем настоящего изобретения не ограничен ими.

Вариант осуществления 1. Конъюгат антитело-лекарственное средство, характеризующийся общей формулой $Ab-(L-U)_n$, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где Ab представляет собой структурную единицу на основе антитела, L представляет собой линкерную структурную единицу, U представляет собой структурную единицу на основе цитотоксического лекарственного средства, и n представляет собой целое число или десятичную дробь, выбранные из чисел от 1 до 10, где конъюгат антитело-лекарственное средство предусматривает структуру формулы Pa , приведенной ниже:



IIa,

где

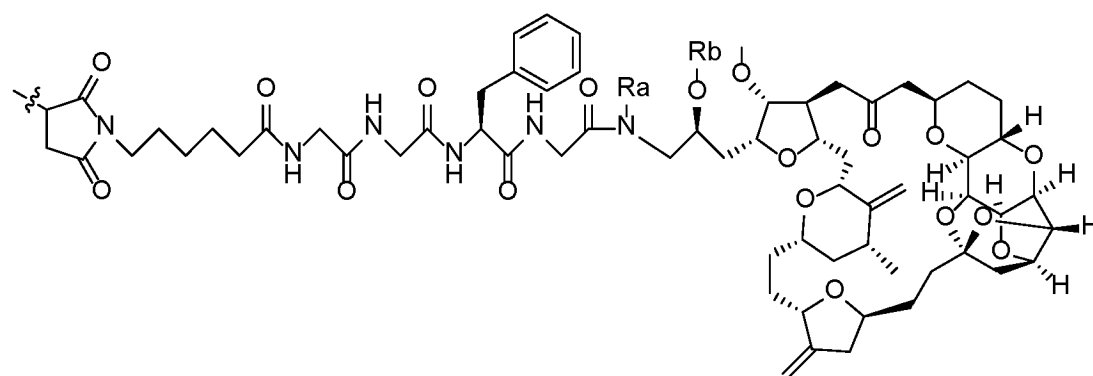
R^a выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила;

R^b выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила;

или

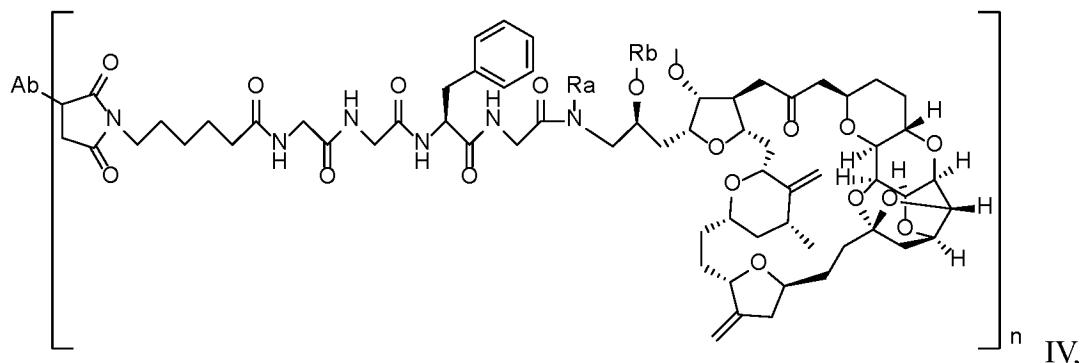
R^a и R^b , вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенный 5-8-членный гетероцикл.

Вариант осуществления 2. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват согласно варианту осуществления 1, где конъюгат антитело-лекарственное средство предусматривает структуру формулы IIIa, приведенной ниже:



IIIa.

Вариант осуществления 3. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват согласно варианту осуществления 1 или варианту осуществления 2, где конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой структуру формулы IV, приведенной ниже:



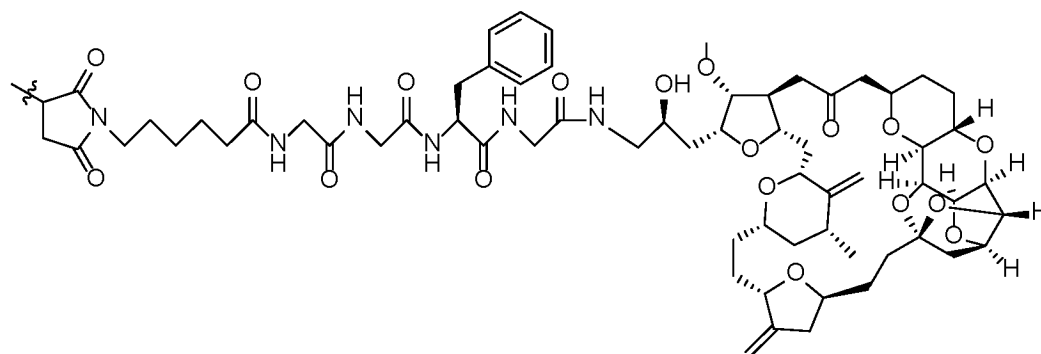
где

Ab представляет собой структурную единицу на основе антитела, и

n представляет собой целое число или десятичную дробь, выбранные из чисел от 1 до 10.

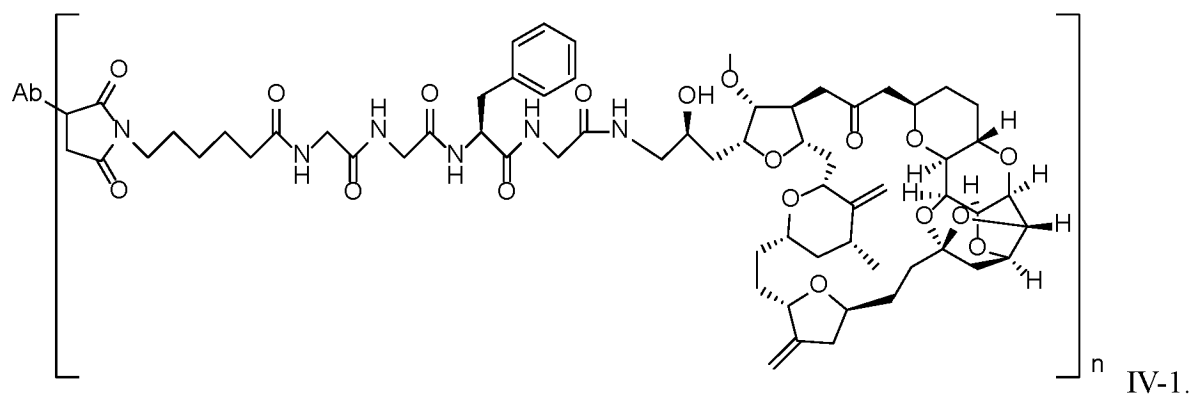
Вариант осуществления 4. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват согласно любому из вариантов осуществления 1-3, где каждый из R^a и R^b независимо выбран из атома водорода, метила, этила, пропила и изопропила.

Вариант осуществления 5. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват согласно варианту осуществления 1 или варианту осуществления 2, где конъюгат антитело-лекарственное средство предусматривает структуру формулы Ша-1, приведенной ниже:



Ша-1.

Вариант осуществления 6. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват согласно варианту осуществления 3, где конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой структуру формулы IV-1, приведенной ниже:



Вариант осуществления 7. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват согласно любому из вариантов осуществления 1-6, где n составляет 2-4,8, 2,6-4,8, 3,5-4,8, 4-4,8, 2-4,5, 2,6-4,5, 3,5-4,5, 4-4,5, 3,5-4,2, 3,5-4, 4-4,2, 7-8, 7-7,9, 7-7,6, 7-7,5, 7,1-8, 7,1-7,9, 7,1-7,6, 7,5-8, 7,6-8 или 7,6-7,9.

Вариант осуществления 8. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват согласно варианту осуществления 7, где n составляет приблизительно 2,6, приблизительно 4, приблизительно 4,2, приблизительно 4,8, приблизительно 7, приблизительно 7,1, приблизительно 7,5, приблизительно 7,6, приблизительно 7,9 или приблизительно 8.

Вариант осуществления 9. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват согласно любому из вариантов осуществления 1-8, где Ab представляет собой антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент.

Вариант осуществления 10. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват согласно варианту осуществления 9, где антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержит: HCDR1,

содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 1, HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 2, HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 3, LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 4, LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 5, и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 6.

Вариант осуществления 11. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват согласно варианту осуществления 10, где антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, где переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 7, и переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 8, или переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 7, и переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 8.

Вариант осуществления 12. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват согласно варианту осуществления 10 или варианту осуществления 11, где антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 9, и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 10.

Вариант осуществления 13. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват согласно варианту осуществления 9, где антитело к HER3 представляет собой патритумаб.

Вариант осуществления 14. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват согласно любому из вариантов осуществления 9-13, где конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват характеризуются одним из следующих свойств или комбинацией нескольких из них:

- (a) связывание с HER3;
- (b) блокирование связывания HER3 с лигандом;
- (c) проявление эндоцитоза в клетках, экспрессирующих HER3;
- (d) наличие уничтожающей активности в отношении опухолевых клеток, экспрессирующих HER3; и
- (e) наличие «эффекта свидетеля».

Вариант осуществления 15. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемую соль или сольват согласно любому из вариантов осуществления 1-14, где необязательно фармацевтическая композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель.

Вариант осуществления 16. Применение конъюгата антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата согласно любому из вариантов осуществления 1-14 или фармацевтической композиции согласно варианту осуществления 15 для получения лекарственного препарата для лечения рака, где предпочтительно рак представляет собой HER3-положительный рак; предпочтительно рак представляет собой рак желчевыводящих путей, карциносаркому, рак пищевода, рак пищеводно-желудочного перехода, рак молочной железы, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак головы и шеи, колоректальный рак, рак почки, рак шейки матки, рак яичника, рак эндометрия, рак матки, меланому, рак гортани, рак полости рта,

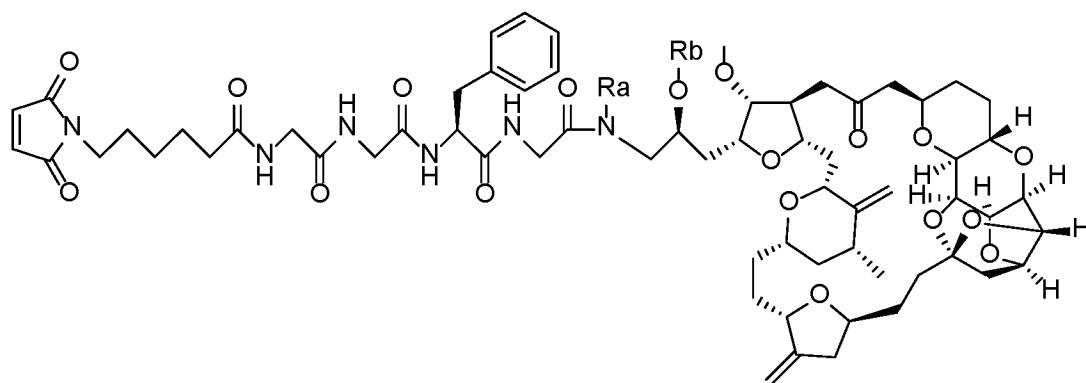
рак кожи, рак легкого, мультиформную глиобластому, глиобластому, уротелиальную карциному, рак предстательной железы, рак мочевого пузыря, гастроинтестинальную стромальную опухоль, плоскоклеточную карциному, рак брюшины, рак печени, карциному слюнных желез, рак вульвы, рак щитовидной железы, рак яичек, рак анального канала или рак полового члена.

Вариант осуществления 17. Способ лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества конъюгата антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата согласно любому из вариантов осуществления 1-14 или фармацевтической композиции согласно варианту осуществления 15, где предпочтительно рак представляет собой HER3-положительный рак.

Вариант осуществления 18. Способ согласно варианту осуществления 17, включающий приведение в контакт опухолевых клеток с конъюгатом антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой солью или сольватом или фармацевтической композицией с обеспечением таким образом уничтожения опухолевых клеток или подавления роста опухолевых клеток.

Вариант осуществления 19. Способ согласно варианту осуществления 17 или варианту осуществления 18, где рак представляет собой рак желчевыводящих путей, карциносаркому, рак пищевода, рак пищеводно-желудочного перехода, рак молочной железы, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак головы и шеи, колоректальный рак, рак почки, рак шейки матки, рак яичника, рак эндометрия, рак матки, меланому, рак гортани, рак полости рта, рак кожи, рак легкого, мультиформную глиобластому, глиобластому, уротелиальную карциному, рак предстательной железы, рак мочевого пузыря, гастроинтестинальную стромальную опухоль, плоскоклеточную карциному, рак брюшины, рак печени, карциному слюнных желез, рак вульвы, рак щитовидной железы, рак яичек, рак анального канала или рак полового члена.

Вариант осуществления 20. Промежуточное соединение линкер-лекарственное средство, характеризующееся структурой формулы III:



III,

где

R^a выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила;

R^b выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила; или

R^a и R^b , вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенный 5-8-членный гетероцикл.

Вариант осуществления 21. Промежуточное соединение линкер-лекарственное средство согласно варианту осуществления 20, где каждый из R^a и R^b независимо выбран из атома водорода, метила, этила, пропила и изопропила.

Для ясности в настоящем изобретении далее описаны следующие примеры, которые, однако, не предназначены для ограничения объема настоящей заявки. Все реагенты, применяемые в данном документе, являются коммерчески доступными и их можно применять без дополнительной очистки.

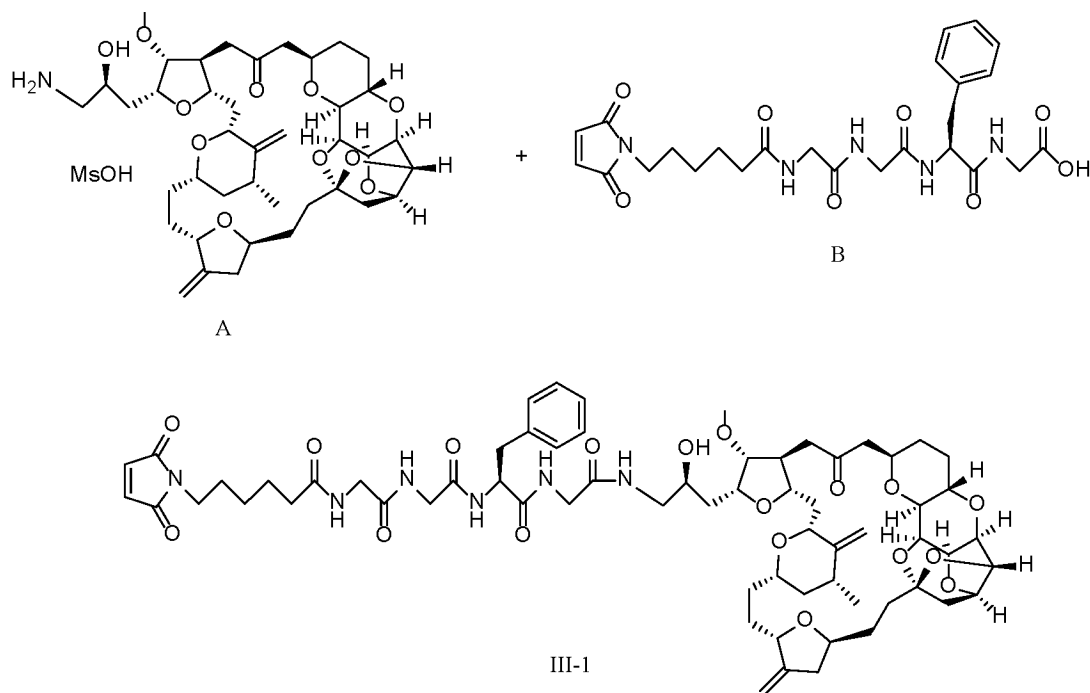
Патритумаб, применяемый в примерах настоящей заявки, был получен в соответствии с обычным способом получения антитела, то есть сконструировали вектор экспрессии (в том числе, например, вектор pCDNA3.1, раскрытый в CN107001463A, вектор pCHO1.0,

раскрытый в CN109422811A, и т. д.) и трансфицировали в клетки-хозяева Expi-CHO для экспрессии с последующей очисткой с помощью аффинной хроматографии с применением белка А; аминокислотные последовательности тяжелых и легких цепей патритумаба изложены под SEQ ID NO: 9 и 10 соответственно. Для синтеза дейтерированного MC-GGFG-DXd (MC-GGFG-DDDXd) применяется способ, описанный в примере 14 из публикации патента WO2022033578A1.

Клетки, задействованные в примерах настоящей заявки, и их источники показаны в таблице ниже.

Клетки	Источник
NCI-N87	Банк клеток Китайской академии наук
BT474	Китайская академия наук
SKBR3	Crown Bioscience
SK-OV3	Банк клеток Китайской академии наук
JIMT-1	ATCC
Capan1	Beina Bio
MCF-7	Банк клеток Китайской академии наук
KYSE410	Shanghai Yaji Biotechnology Co., Ltd.
MDA-MB-468	Beina Bio
HCC1569	Nanjing Cobioer
SW620	Nanjing Cobioer
A549	Центр культуры клеток, Институт фундаментальных медицинских наук, Китайская академия медицинских наук
WiDr	Nanjing Cobioer

Пример 1. Получение соединения III-1



100 мг соединения А (0,12 ммоль) и 75 мг соединения В (0,145 ммоль) взвешивали и добавляли в реакционную пробирку объемом 20 мл (CAS № соединения А: 2413428-36-9; CAS № соединения В: 441045-17-6), и добавляли 2 мл *N,N*-диметилформамида. Смесь охлаждали до 0°C, затем добавляли 70 мг 2-(7-азабензотриазол)-*N,N,N',N'*-тетраметилуруния гексафторфосфата (0,18 ммоль) и 49 мг *N,N*-диизопропилэтиламина (0,36 ммоль). Смесь подвергали реакции в течение 1 ч при 0°C и очищали с помощью препаративной жидкостной хроматографии с получением приблизительно 70 мг соединения III-1 (MC-GGFG-эрибулин). Соединение III-1 характеризуется масса/заряд 1241,72[M+H]⁺, что подтверждается анализом ESI-MS. Водородный спектр соединения III-1 выглядит следующим образом:

¹H ЯМР (500 МГц, DMSO) δ 8,22 (t, J = 5,3 Гц, 1H), 8,12 (d, J = 8,0 Гц, 1H), 8,06 (t, J = 5,4 Гц, 1H), 7,99 (t, J = 5,3 Гц, 1H), 7,65 (d, J = 5,2 Гц, 1H), 7,30-7,21 (m, 4H), 7,18 (d, J = 6,4 Гц, 1H), 6,99 (s, 2H), 5,02 (d, J = 26,0 Гц, 2H), 4,79 (d, J = 38,9 Гц, 2H), 4,65-4,60 (m, 2H), 4,56 (d, J = 3,7 Гц, 1H), 4,50-4,42 (m, 1H), 4,26 (d, J = 10,1 Гц, 1H), 4,21-4,14 (m, 1H), 4,10 (s, 3H), 4,05-3,98 (m, 1H), 3,86-3,64 (m, 8H), 3,60-3,45 (m, 4H), 3,37-3,30 (m, 2H), 3,26 (s, 4H), 3,17-3,09 (m, 1H), 3,08-2,99 (m, 2H), 2,84 (d, J = 10,4 Гц, 1H), 2,86-2,66 (m, 3H), 2,56-2,50 (m, 1H), 2,37-2,18 (m, 5H), 2,15-2,05 (m, 3H), 2,05-1,96 (m, 2H), 1,95-1,84

(m, 4H), 1,75-1,57 (m, 6H), 1,55-1,38 (m, 6H), 1,35-1,25 (m, 3H), 1,23-1,12 (m, 3H), 1,03 (d, J = 6,0 Гц, 3H), 1,00-0,92 (m, 1H).

Пример 2. Получение конъюгатов антитело-лекарственное средство

Реагенты

Раствор А: pH 7,4, PBS-буфер

Раствор В: 10 мМ водный ТСЕР (трис(2-карбоксиитил)фосфингидрохлорид)

Раствор С: DMSO

Раствор D: гистидиновый буфер (содержит 0,89 мг/мл L-гистидина и 4,04 мг/мл моногидрата гидрохлорида L-гистидина)

Раствор E: раствор сахарозы 700 мг/мл (полученный с помощью раствора D)

Раствор F: 20 мг/мл Tween 80 (полученный с помощью раствора D)

Методики проведения эксперимента

1. Замена буфера в отношении антитела:

- a. центрифужную пробирку для ультрафильтрации объемом 30 кД полностью смачивали раствором А;
- b. антитело подвергали замене буфера на раствор А;
- c. добавляли соответствующее количество раствора А для регулирования концентрации антитела.

2. Восстановление антитела:

- a. молярный вес антитела рассчитывали и записывали как N1;

b. в раствор антитела добавляли соответствующее количество раствора В, чтобы молярный вес ТСЕР в реакционной системе составлял N2;

c. центрифужную пробирку для ультрафильтрации оборачивали алюминиевой фольгой, помещали на ротационный прибор для культивирования, встряхивали при низкой скорости (20 об./мин) и подвергали реакции в течение 1 ч при 37°C в темноте.

3. Конъюгация:

a. соответствующее количество линкер-полезная нагрузка растворяли в DMSO с доведением конечной концентрации до 10 мг/мл;

b. в раствор антитела добавляли DMSO с получением концентрации антитела, составляющей 5%, а затем добавляли соответствующее количество раствора линкер-полезная нагрузка, чтобы молярный вес составлял N3;

c. центрифужную пробирку для ультрафильтрации оборачивали алюминиевой фольгой, помещали на ротационный прибор для культивирования, встряхивали при низкой скорости (20 об./мин) и подвергали реакции в течение 1,5 ч при 22°C в темноте.

4. Завершение конъюгации:

a. центрифужную пробирку для ультрафильтрации смачивали раствором D;

b. антитело подвергали замене буфера на раствор D, добавляли соответствующее количество раствора E и раствора F и смесь криоконсервировали при -80°C.

Определение значений DAR (среднее количество молекул лекарственного средства, связанных с одной молекулой антитела) в случае конъюгатов антитело-лекарственное средство

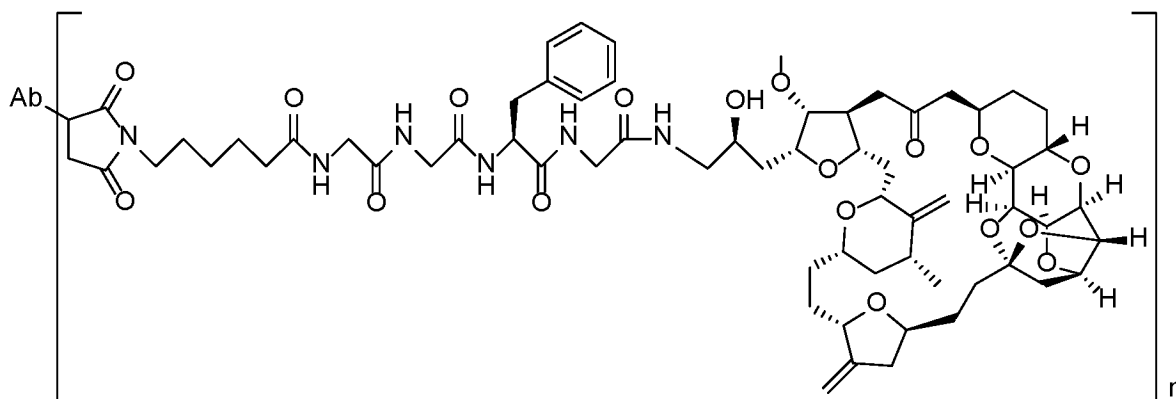
Значения DAR определяли с помощью способа LC-MS. 50 мкг образца ADC добавляли к 1 мкл гликозидазы PNGase F (RHINO BIO, Китай) и смесь инкубировали при 37°C в течение 20 ч. В эксперименте использовали масс-спектрометр высокого разрешения

Xevo G2-XS (Waters, США). Концентрацию образца регулировали до 5 мкМ и собирали данные масс-спектра в режиме положительных ионов с применением способа прямого отбора образцов. Собранные данные неденатурирующих масс-спектров анализировали и обрабатывали с помощью программного обеспечения UNIFI 1.8.2.169 (Waters, США).

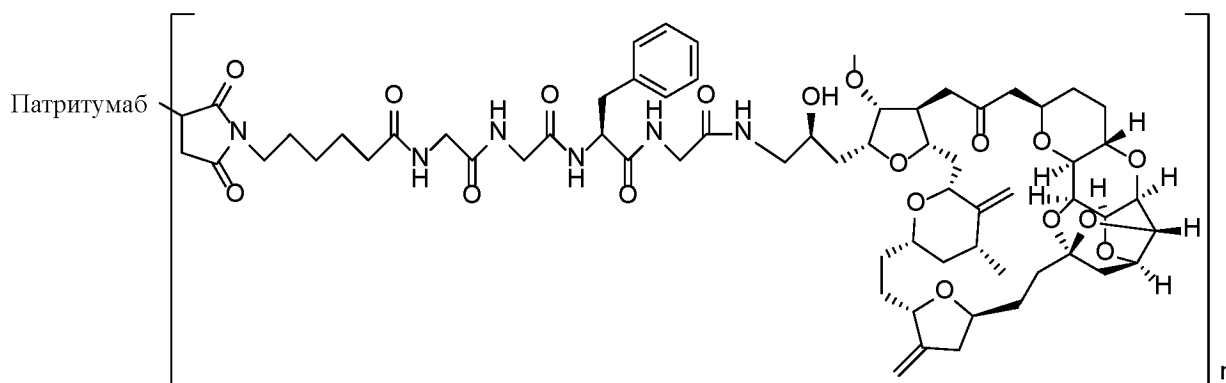
Определение концентрации белка в конъюгатах антитело-лекарственное средство

Концентрацию белка определяли способом Лоури. Значения поглощения образцов при длине волны OD_{650} определяли с применением ридера для микропланшетов, выстраивали стандартную кривую, значения поглощения каждого образца подставляли в стандартную кривую и рассчитывали концентрацию белка.

Конъюгат антитело-лекарственное средство формулы IV-1 (в том числе IV-1 (патритумаб)) и другие конъюгаты антитело-лекарственное средство формулы IV получали в соответствии с вышеописанным способом:



IV-1



IV-1 (патритумаб)

Образец 1 (DAR = 4,8, концентрация белка = 1,71 мг/мл) и образец 2 (DAR = 7,1, концентрация белка = 1,65 мг/мл) получали отдельно.

Пример 3. Жизнеспособность клеток при применении низкомолекулярного цитотоксического соединения и конъюгата антитело-лекарственное средство

Низкомолекулярное цитотоксическое соединение разбавляли средой до 35000 нг/мл - 0,0896 нг/мл и получали 9 точек концентрации. Опухолевые клетки в логарифмической фазе роста собирали, регулировали до плотности 1×10^5 клеток/мл и высевали по 100 мкл на лунку, в качестве контроля использовали пустую лунку без клеток. Вышеуказанные серийно разбавленные образцы добавляли по 50 мкл в каждую лунку. Планшет инкубировали в инкубаторе при 37°C с 5% CO₂ в течение 5 дней. Среду для культивирования отбрасывали и добавляли рабочий раствор ССК-8 (Dojindo, Япония, кат. № СК04) при концентрации 100 мкл на лунку. Планшет инкубировали в течение 4-5 ч для проявления цвета и помещали в ридер для микропланшетов (производитель: Thermo, модель: VarioskanFlash). Значения поглощения при длине волны 450 нм считывали и регистрировали с применением эталонной длины волны 630 нм. Рассчитывали показатели подавления пролиферации опухолевых клеток.

Конъюгат антитело-лекарственное средство разбавляли средой до 5000 нг/мл - 0,0128 нг/мл и получали 9 точек концентраций. Опухолевые клетки в логарифмической фазе роста собирали, регулировали до плотности 2×10^4 клеток/мл и высевали по 100 мкл на лунку, в качестве контроля использовали пустую лунку без клеток. Вышеуказанные

серийно разбавленные образцы добавляли по 50 мкл в каждую лунку. Планшет инкубировали в инкубаторе при 37°C с 5% CO₂. Среду для культивирования отбрасывали, добавляли среду для обнаружения CTG (Promega, кат. № G7572) по 100 мкл на лунку, планшет инкубировали в течение 10 мин для проявления цвета и помещали в ридер для микропланшетов (производитель: Thermo, модель: VarioskanFlash) для считывания значения хемилюминесценции. Рассчитывали показатели подавления пролиферации опухолевых клеток.

Клеточная активность IV-1 (патритумаб):

Линия клеток	EC ₅₀ (нМ)	
	DAR=4,8	DAR=7,1
MCF-7	0,08	0,05
BT474	0,07	0,04
SKBR3	0,17	0,08

Пример 4. Получение конъюгатов антитело-лекарственное средство

Реагенты

Раствор G: буфер на основе гистидина/гидрохлорида гистидина (1,43 мг/мл L-гистидина, 2,27 мг/мл моногидрата гидрохлорида L-гистидина).

Раствор H: 10 мМ водный ТСЕР (трис(2-карбоксиил)фосфингидрохлорид)

Раствор I: DMSO (диметилсульфоксид)

Раствор J: раствор сахарозы 500 мг/мл (полученный с помощью раствора G);

Раствор K: 30 мг/мл Tween 80 (полученный с помощью раствора G)

Раствор L: раствор G, содержащий 10% DMSO

Раствор M: 0,3 М Na₂HPO₄

Антитело: патритумаб

Линкер-полезная нагрузка (промежуточное соединение линкер-лекарственное средство): MC-GGFG-эрибулин, соединение, характеризующееся структурой формулы III-1 в примере 1 (используется для получения конъюгатов патритумаб-эрибулин); MC-GGFG-DDDXd (используется для получения конъюгата патритумаб-DDDXd).

(1) Конъюгаты патритумаб-эрибулин с DAR, составляющим 2,6 или 7,6, получали отдельно согласно следующим экспериментальным процедурам и назвали патритумаб-эрибулин-D2 и патритумаб-эрибулин-D8 соответственно; конъюгат патритумаб-DDDXd с DAR 7,9 получали согласно следующим экспериментальным процедурам и назвали патритумаб-DDDXd-D8.

Методики проведения эксперимента

1. Замена буфера в отношении антитела:

центрифужную пробирку для ультрафильтрации объемом 30 кД полностью смачивали раствором G, антитело подвергали замене буфера на раствор G и добавляли соответствующее количество раствора G с доведением концентрации антитела до 10 мг/мл; затем добавляли соответствующее количество раствора M с доведением pH раствора антитела до приблизительно 7,0.

2. Восстановление антитела:

молярный вес антитела рассчитывали и записывали как N1; в раствор антитела добавляли соответствующее количество раствора H, чтобы молярный вес TCEP в реакционной системе составлял N2; полученную смесь встряхивали при 37°C в течение 1 ч в темноте, в результате чего дисульфидная связь восстанавливалась с получением реакционного раствора 1.

3. Конъюгация антитела с промежуточным соединением линкер-лекарственное средство:

соответствующее количество линкера-полезной нагрузки растворяли в 50% водном растворе ацетона с получением конечной концентрации 10 мг/мл; раствор I добавляли к

реакционному раствору 1 (раствор I:реакционный раствор 1 (об./об.) = 1:10), смесь хорошо перемешивали, а затем добавляли соответствующее количество вышеуказанного раствора линкера-полезной нагрузки, растворенного в водном растворе ацетона с получением молярного веса линкер-полезная нагрузка, составляющей N3; реакцию смесь встряхивали при 22°C в течение 1 ч в темноте с получением реакционного раствора 2.

4. Завершение конъюгации:

центрифужную пробирку для ультрафильтрации смачивали раствором L; реакционный раствор 2 подвергали ультрафильтрации с применением 20-кратного объема раствора L и 20-кратного объема раствора G последовательно, добавляли соответствующее количество раствора J и раствора K и смесь криоконсервировали при -80°C.

Экспериментальные условия и группы представлены в таблице 1-1 ниже.

Таблица 1-1. Экспериментальные условия и группы

ADC	Антитело	линкер-полезная нагрузка	N1:N2	N1:N3
Патритумаб-эрибулин-D2	Патритумаб	MC-GGFG-эрибулин	1:2	1:3
Патритумаб-эрибулин-D8	Патритумаб	MC-GGFG-эрибулин	1:8,5	1:10,5
Патритумаб-DDDXd-D8	Патритумаб	MC-GGFG-DDDXd	1:8,5	1:10,5

(2) Конъюгат патритумаб-эрибулин с DAR 4,0-4,2 получали в соответствии со следующими экспериментальными процедурами и назвали его патритумаб-эрибулин-D4:

Методики проведения эксперимента

1. Замена буфера в отношении антитела:

центрифужную пробирку для ультрафильтрации объемом 30 кД полностью смачивали раствором G, антитело подвергали замене буфера на раствор G и добавляли соответствующее количество раствора G с доведением концентрации антитела до

10 мг/мл; затем добавляли соответствующее количество раствора М с доведением рН раствора антитела до приблизительно 7,0.

2. Восстановление антитела:

молярный вес антитела рассчитывали и записывали как N1; в раствор антитела добавляли соответствующее количество раствора Н, чтобы молярная масса ТСЕР в реакционной системе составляла N2; полученную смесь подвергали реакции при 5-10°C в течение 6 ч в темноте, в результате чего дисульфидная связь восстанавливалась с получением реакционного раствора 3.

3. Конъюгация антитела с промежуточным соединением линкер-лекарственное средство:

соответствующее количество линкер-полезная нагрузка растворяли в 50% водном растворе ацетона с получением конечной концентрации 10 мг/мл; соответствующее количество вышеуказанного раствора линкер-полезная нагрузка, растворенного в водном растворе ацетона, добавляли к реакционному раствору 3 с получением молярной массы линкера-полезной нагрузки, составляющей N3; реакционную смесь подвергали реакции при 5-10°C в течение 40 мин в темноте с получением реакционного раствора 4.

4. Завершение конъюгации:

центрифужную пробирку для ультрафильтрации смачивали раствором L; реакционный раствор 4 подвергали ультрафильтрации с применением 20-кратного объема раствора L и 20-кратного объема раствора G последовательно, добавляли соответствующее количество раствора J и раствора K и смесь криоконсервировали при -80°C.

Экспериментальные условия и группы представлены в таблице 1-2 ниже.

Таблица 1-2. Экспериментальные условия и группы

ADC	Антитело	Линкер-полезная нагрузка	N1:N2	N1:N3
Патритумаб-эрибулин-D4	Патритумаб	MC-GGFG-эрибулин	1:2,58	1:5,1

Пример 5. Определение значений DAR в конъюгатах антитело-лекарственное средство

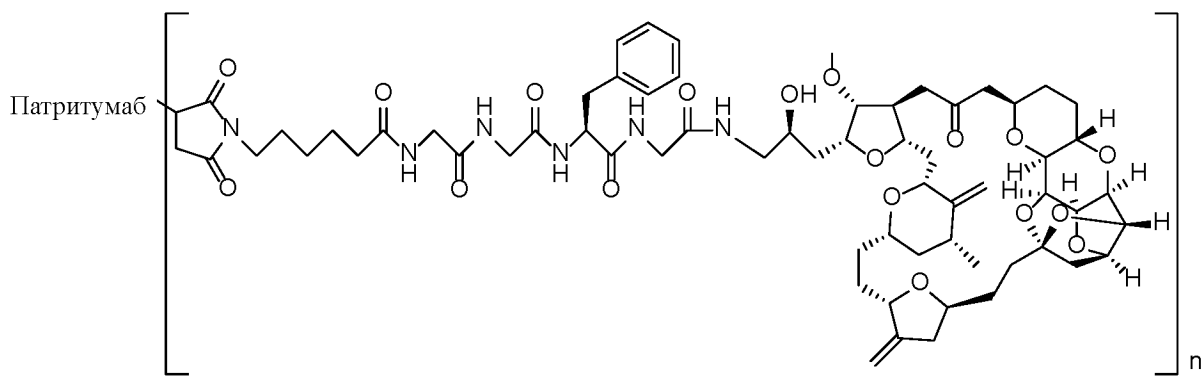
Компоненты конъюгатов патритумаб-эрибулин, полученных в примере 4 выше, выделяли с помощью бутил-связанной непористой упаковки из полистирола/дивинилбензола (PS/DVB). Гидрофобные свойства белковых молекул улучшали с помощью нейтральной подвижной фазы с высоким содержанием соли с обеспечением таким образом связывания их с гидрофобными связями в хроматографической колонке, а затем вещества элюировали путем постепенного снижения концентрации соли и постепенного повышения доли изопропанола, при этом менее гидрофобные компоненты элюировали первыми, и более гидрофобные компоненты элюировали позже.

Спецификация хроматографической колонки была следующей: Sepax HIC-Butyl, 4,6 × 100 мм, 5 мкм, и температура колонки составляла 25°C. Подвижная фаза А представляла собой 10 мМ фосфатный забуференный солевой раствор-1,5 М сульфат аммония при рН 7,0 (1,42 г безводного гидрофосфата динатрия и 198,21 г сульфата аммония взвешивали, добавляли к приблизительно 800 мл сверхчистой воды и полностью растворяли при перемешивании, затем рН корректировали до 7,0±0,1 с помощью фосфорной кислоты, довели объем до 1 л, смесь хорошо перемешивали и фильтровали через фильтрующую мембрану 0,22 мкм). Подвижная фаза В представляла собой 10 мМ фосфатный забуференный солевой раствор с рН 7,0 (1,42 г безводного гидрофосфата динатрия взвешивали, добавляли к приблизительно 800 мл сверхчистой воды и полностью растворяли при перемешивании, затем рН корректировали до 7,0±0,1 с помощью фосфорной кислоты, довели объем до 1 л, смесь хорошо перемешивали и фильтровали через фильтрующую мембрану 0,22 мкм). Подвижная фаза С представляла собой 100% изопропанол. Скорость потока составляла

0,5 мл/мин, градиентное элюирование проводили в течение 30 мин, параметры подвижной фазы были следующими: от 75% подвижной фазы А плюс 25% подвижной фазы В до 75% подвижной фазы В плюс 25% подвижной фазы С за 0-15 мин, 75% подвижной фазы В плюс 25% подвижной фазы С за 15-20 мин, 75% подвижной фазы А плюс 25% подвижной фазы В за 20-30 мин. Конъюгаты патритумаб-эрибулин подвергали 2-кратному разбавлению с помощью исходной подвижной фазы при 0 мин с получением тестовых растворов, объем загрузки регулировали в зависимости от концентрации конъюгатов патритумаб-эрибулин и загружали 50 мкг белка. Определяли значения поглощения при длине волны 280 нм.

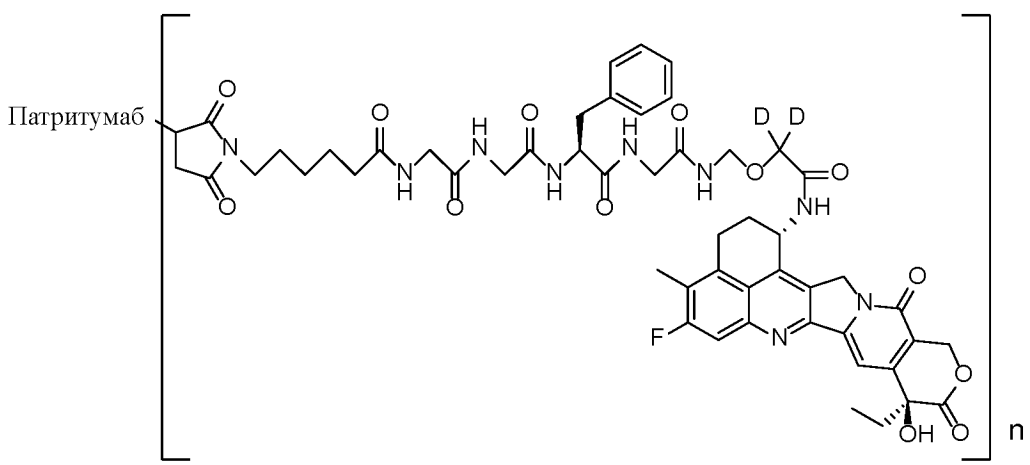
Данные обрабатывали, а результаты количественно анализировали с помощью способа нормализации площади. Значения процентного соотношения площадей пиков ADC, содержащих 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8 молекул цитотоксического лекарственного средства, рассчитывали отдельно и вычисляли значения DAR. Формула для расчета представляет собой следующее. Значение $DAR = (\text{процент площади пика ADC при содержании 0 молекул цитотоксического лекарственного средства} \times 0 + \text{процент площади пика ADC при содержании 1 молекулы цитотоксического лекарственного средства} \times 1 + \text{процент площади пика ADC при содержании 2 молекул цитотоксического лекарственного средства} \times 2 + \text{процент площади пика ADC при содержании 3 молекул цитотоксического лекарственного средства} \times 3 + \text{процент площади пика ADC при содержании 4 молекул цитотоксического лекарственного средства} \times 4 + \text{процент площади пика ADC при содержании 5 молекул цитотоксического лекарственного средства} \times 5 + \text{процент площади пика ADC при содержании 6 молекул цитотоксического лекарственного средства} \times 6 + \text{процент площади пика ADC при содержании 7 молекул цитотоксического лекарственного средства} \times 7 + \text{процент площади пика ADC при содержании 8 молекул цитотоксического лекарственного средства} \times 8) / 100\%$.

Конъюгаты патритумаб-эрибулин получали и анализировали с помощью способов, описанных в примерах 4 и 5 соответственно, и они характеризовались структурой, показанной ниже:



где определенное значение DAR у патритумаба-эрибулина-D2 составило 2,6; определенное значение DAR у патритумаба-эрибулина-D4 составило 4-4,2; определенное значение DAR у патритумаба-эрибулина-D8 составило 7,6.

Патритумаб-DDDXd-D8 получали и анализировали с помощью способов, описанных в примерах 4 и 5 соответственно, и он характеризовался структурой, показанной ниже:



где определенное значение DAR составляло 7,9.

Пример 6. Проверка агрегации конъюгатов антитело-лекарственное средство

Компоненты конъюгатов патритумаб-лекарственное средство, полученные в примере 4 выше, выделяли с помощью гель-хроматографической колонки. Элюирование проводили с применением нейтрального буфера, содержащего 10% изопропанола в качестве подвижной фазы, и компоненты элюировали в порядке убывания значений их молекулярного веса. В качестве гель-хроматографической колонки применяли колонку

ACQUITY UPLC Protein BEH SEC 200Å, 1,7 мкм, 4,6 × 300 мм, и температура колонки составляла 25°C. Подвижная фаза представляла собой 50 мМ фосфатный забуференный солевой раствор-200 мМ хлорид натрия-10% изопропанол при pH 7,0 (12,53 г додекагидрата дигидрогенфосфата натрия, 2,33 г дигидрата дигидрогенфосфата натрия и 11,69 г хлорида натрия взвешивали, добавляли к приблизительно 800 мл сверхчистой воды, полностью растворяли при перемешивании и добавляли сверхчистую воду с доведением объема до 1000 мл для применения; добавляли 100 мл изопропанола к вышеуказанному раствору с доведением объема до 1000 мл и смесь хорошо перемешивали и фильтровали через фильтр 0,22 мкм). Взвешивали 20 мкг конъюгата патритумаб-лекарственное средство и вводили в жидкостный хроматограф, и проводили обнаружение при длине волны 280 нм. Скорость потока составляла 0,3 мл/мин, изократическое элюирование осуществляли в течение 15 мин.

Данные обрабатывали, а результаты количественно анализировали с помощью способа нормализации площади. Вычисляли процентные значения площадей пиков для агрегата, мономера иммуноглобулина и примеси с малым молекулярным весом. Пик агрегата появлялся перед основным пиком, который представляет собой мономер иммуноглобулина, а после основного пика появлялись пики примеси с малым молекулярным весом. Значения процентного содержания мономера, агрегата и примеси с малым молекулярным весом в конъюгатах патритумаб-лекарственное средство представлены в таблице 2.

Таблица 2. Содержание мономера, агрегата и примеси с малым молекулярным весом в конъюгатах патритумаб-лекарственное средство

Название	Патритумаб-эрибулин-D2	Патритумаб-эрибулин-D4	Патритумаб-эрибулин-D8	Патритумаб-D DDXd-D8
Агрегат	0,29%	0,52%	0%	0,95%
мономер	98,36%	97,85%	97,44%	97,55%
Фрагмент с малым молекулярным весом	1,35%	1,62%	2,56%	1,5%

Пример 7. Параметры активности конъюгатов антитело-лекарственное средство в отношении связывания клеток

На основании анализа FACS и с использованием патритумаба-DDDXd-D8 и патритумаба в качестве контролей конъюгаты патритумаб-эрибулин, полученные в примере 4, анализировали в отношении активности связывания с клетками с различными уровнями экспрессии HER3, включая клетки MCF-7, HCC1569 и BT474 с высоким уровнем экспрессии HER3, клетки MDA-MB-468 и JIMT-1 со средним уровнем экспрессии HER3, клетки SW620 с низким уровнем экспрессии HER3 и HER3-отрицательные клетки A549.

В каждую лунку 96-луночного планшета для культивирования клеток добавляли 1×10^5 клеток и разбавляли конъюгаты патритумаб-эрибулин до начальной концентрации, составляющей 135,14 нМ (4-кратное разбавление, 9 градиентов концентрации) с помощью FACS-буфера (Miltenyi Biotec, кат. № 130-091-221). Клетки инкубировали при 4°C в течение 60 мин и центрифугировали при 1000 об./мин в течение 5 мин. Надосадочную жидкость отбрасывали, клетки промывали 3 раза предварительно охлажденным PBS (pH 7,4), добавляли разбавленное 1:200 (об./об.) козье вторичное антитело к IgG-Fcy-PE человека (Jackson immunoresearch, кат. № 109-116-170) при 100 мкл/лунка и затем клетки инкубировали при 4°C в течение 30 мин. Клетки промывали 3 раза предварительно охлажденным PBS (pH 7,4) и ресуспендировали в 100 мкл PBS (pH 7,4), а затем анализировали и регистрировали сигналы флуоресценции с помощью проточного цитометра (Sartorius, iQUE). Параметры активности связывания конъюгатов патритумаб-эрибулин и контролей с каждым из указанных выше типов клеток измеряли по средней интенсивности флуоресценции (MFI) окрашивания. Данные анализировали с применением GraphPad Prism5. Результаты показаны на фиг. 1A-1G, а рассчитанные значения EC₅₀ представлены в таблице 3 ниже. Результаты демонстрируют, что активность связывания конъюгатов патритумаб-эрибулин с различными значениями DAR с клетками с высоким, средним и низким уровнями экспрессии HER3 эквивалентна таковой патритумаба, а конъюгаты патритумаб-эрибулин не связываются с HER3-отрицательными клетками A549.

Таблица 3. Параметры активности связывания конъюгатов патритумаб-эрибулин с клетками с различными уровнями экспрессии HER3

	EC ₅₀ (нМ)					
	MCF-7	BT474	HCC1569	MDA-MB-468	JIMT-1	SW620
Патритумаб-эрибулин-D2	0,8554	3,049	1,416	1,564	1,588	1,888
Патритумаб-эрибулин-D4	0,9318	2,776	1,486	1,671	1,04	1,28
Патритумаб-эрибулин-D8	1,019	2,854	1,487	3,307	1,729	1,744
Патритумаб-DDDXd-D8	0,7703	2,68	1,164	1,7	1,304	1,37
Патритумаб	0,807	3,017	*	1,299	1,515	1,465

*: Не обнаружено.

Пример 8. Анализ эндоцитоза конъюгатов антитело-лекарственное средство

На основании способа FACS и с использованием патритумаба-DDDXd-D8 и патритумаба в качестве контролей конъюгаты патритумаб-эрибулин, полученные в примере 4 выше, анализировали в отношении эндоцитоза в клетках с различными уровнями экспрессии HER3, в том числе в клетках MCF-7 и BT474 с высоким уровнем экспрессии HER3, клетках NCI-N87 со средним уровнем экспрессии HER3 и клетках SW620 с низким уровнем экспрессии HER3.

Плотность клеток доводили до 1×10^6 клеток/мл и добавляли клетки в 96-луночный планшет для культивирования клеток по 50 мкл/лунка. Подготовка образцов: каждый из конъюгатов патритумаб-эрибулин разводили до концентрации 20 мкг/мл и обозначали как S1, а затем подвергали 3-кратному градиентному разведению с получением 9 образцов S1-S9; раствор образца, полученный после градиентного разведения, добавляли в планшет для культивирования клеток при 50 мкл/лунка и инкубировали смесь при 4°C в течение 30 мин. После инкубации 96-луночный планшет вынимали, клетки центрифугировали при 400 g при 4°C и отбрасывали надосадочную жидкость. Разбавленное 1:200 (об./об.) меченое с помощью pHrodo™ Green Maleimide (зеленый малеимид; Invitrogen, кат. №: P35370) козье антитело к IgG человека AffiniPure, специфичное к Fcγ-фрагменту (козье антитело к IgG человека; специфичное к Fc-фрагменту, Jackson Immuno; кат. №: 109-005-190) добавляли при 50 мкл/лунка и инкубировали клетки при 4°C. Через 30 мин клетки промывали и добавляли среду для

культивирования клеток при 50 мкл/лунка. Смесь хорошо перемешивали, подвергали интернализации в течение 2 ч при 37°C, помещали в проточный цитометр (Sartorius, iQUE) и измеряли значение показателя флуоресценции канала BL1. Данные анализировали с применением GraphPad Prism5. Результаты показаны на фиг. 2A-2D, а рассчитанные значения EC₅₀ представлены в таблице 4 ниже. Результаты демонстрируют, что конъюгаты патритумаб-эрибулин с различными значениями DAR характеризуются значительным эндоцитозом в клетках с высоким и средним уровнями экспрессии HER3, а в клетках SW620 с низким уровнем экспрессии эндоцитоз является относительно слабым.

Таблица 4. Эндоцитоз конъюгатов патритумаб-эрибулин в клетках с разными уровнями экспрессии HER3

	EC ₅₀ (нМ)		
	MCF-7	BT474	NCI-N87
Патритумаб-эрибулин-D2	0,5801	1,07	4,495
Патритумаб-эрибулин-D4	0,7968	0,9615	4,721
Патритумаб-эрибулин-D8	1,255	0,9306	9,463
Патритумаб-DDDXd-D8	0,869	0,8587	56,82
Патритумаб	0,5088	0,8208	Приблизительно 4,479E18

Пример 9. Параметры активности конъюгатов антитело-лекарственное средство в отношении уничтожения клеток

Для исследования эффекта подавления пролиферации конъюгатов патритумаб-эрибулин, полученных в примере 4 выше, в отношении опухолевых клеток для анализа активности по уничтожению использовали клетки с различными уровнями экспрессии HER3, в том числе BT474, MCF-7 и HCC1569 с высоким уровнем экспрессии HER3, SKBR3, NCI-N87, JIMT-1 и MDA-MB-468 со средним уровнем экспрессии HER3 и SW620 и WiDr с низким уровнем экспрессии HER3, а в качестве контроля использовали патритумаб-DDDXd-D8.

Клетки в логарифмической фазе роста добавляли в 96-луночный планшет при 100 мкл/лунка, и плотность клеток составляла 1×10^4 /мл или 2×10^4 /мл. Адгезивное культивирование проводили при 37°C и 5% CO₂ в течение ночи. Подготовка образцов:

каждый из конъюгатов патритумаб-эрибулин составляли в тестовых образцах с применением исходной среды, содержащей 10% FBS (начальная концентрация 5 мкг/мл, 5-кратное градиентное разведение, девять градиентов). Клетки, подвергавшиеся адгезивному культивированию в течение ночи, доставали. Для экспериментальных групп добавляли разбавленный тестовый образец при 50 мкл/лунка, а для контрольной группы добавляли исходную среду, содержащую 10% FBS, при 50 мкл/лунка. Затем клетки культивировали в течение 96 ч, 120 ч или 144 ч и затем использовали набор для люминесценции клеток CellTiter-Glo (Promega, кат. №: G7572) для анализа. Доставали 96-луночный планшет, добавляли раствор для обнаружения CTG (Promega, кат. №: G7572) при 75 мкл/лунка, смесь хорошо перемешивали путем встряхивания и инкубировали при комнатной температуре в темноте в течение 10 мин. Затем из каждой лунки пипеткой отбирали 180 мкл раствора и переносили в непрозрачный белый планшет, удаляли пузырьки, считывали значения хемилюминесценции и рассчитывали уровни уничтожения.

Уровень уничтожения (%) = $(1 - \text{значение хемилюминесценции экспериментальной группы} / \text{значение хемилюминесценции контрольной группы}) \times 100\%$.

Данные анализировали с применением GraphPad Prism5. Результаты показаны на фиг. 3A-3I, и рассчитанные значения EC₅₀ представлены в таблицах 5-1 и 5-2 ниже. Результаты демонстрируют, что в случае клеток с высоким, средним и низким уровнями экспрессии HER3 чем больше значение DAR, тем сильнее активность конъюгата патритумаб-эрибулин по уничтожению, и параметры активности конъюгатов патритумаб-эрибулин с различными значениями DAR превосходят таковые патритумаба-DDDXd-D8.

Таблица 5-1. Параметры активности в отношении уничтожения клеток с высоким уровнем экспрессии HER3 конъюгатов патритумаб-эрибулин

	EC ₅₀ (нМ)		
	BT474	MCF-7	HCC1569
Патритумаб-эрибулин-D2	9,345E-02	1,173	3,600
Патритумаб-эрибулин-D4	3,982E-02	9,942E-02	7,780E-01
Патритумаб-эрибулин-D8	1,807E-02	3,613E-02	2,457E-01
Патритумаб-DDDXd-D8	1,045E+01	/	1,829E+01

Таблица 5-2. Параметры активности в отношении уничтожения клеток со средним уровнем экспрессии HER3 конъюгатов патритумаб-эрибулин

	EC ₅₀ (нМ)			
	SKBR3	NCI-N87	JIMT-1	MDA-MB-468
Патритумаб-эрибулин-D2	1,937E-01	/	1,047E+01	1,209E+01
Патритумаб-эрибулин-D4	4,299E-02	1,386E+01	3,266E+00	1,413E+00
Патритумаб-эрибулин-D8	2,319E-02	6,905E-01	9,462E-01	3,206E-01
Патритумаб-DDDXd-D8	5,785E+01	3,709E-01	/	/

Пример 10. Фармакодинамическая оценка конъюгатов антитело-лекарственное средство в моделях подкожных ксенотрансплантатных опухолей из клеток рака молочной железы человека JIMT-1 с применением бестимусных мышей

Эффективность конъюгатов патритумаб-эрибулин, полученных в примере 4, оценивали *in vivo* в моделях подкожных ксенотрансплантатных опухолей из клеток рака молочной железы человека JIMT-1, представляющих собой штамм клеток, устойчивых к трастузумабу, с применением бестимусных мышей.

Самкам бестимусных мышей класса SPF (от Changzhou Cavens Laboratory Animal Ltd.) подкожно в правую подмышку инокулировали 2×10^6 клеток JIMT-1 на мышшь. Когда средний объем опухоли достигал 100-300 мм³, животных делили на 5 групп по 6 особей, и конкретное распределение по группам и схема введения приведены в таблице 6.

Таблица 6. Распределение по группам и схема введения

Группа	Лекарственное средство	Доза (мг/кг)	Путь введения	Частота введения
1	Контроль среды-носителя	N/A	Иньекция в хвостовую вену	Q1W
2	Патритумаб-DDDXd-D8	3	Иньекция в хвостовую вену	Q1W
3	Патритумаб-эрибулин-D2	3	Иньекция в хвостовую вену	Q1W
4	Патритумаб-эрибулин-D4	3	Иньекция в хвостовую вену	Q1W
5	Патритумаб-эрибулин-D8	3	Иньекция в хвостовую вену	Q1W

Q1W: один раз в неделю.

День распределения по группам считался d0, а введение в хвостовую вену осуществлялось в d1 после распределения по группам. Объем опухоли измеряли 2-3 раза в неделю и при этом мышей взвешивали и записывали данные; наблюдали за общим поведением мышей и записывали каждый день. После завершения эксперимента опухоли удаляли, взвешивали и фотографировали.

Индексы обнаружения включают:

объем опухоли $TV \text{ (мм}^3\text{)} = 1/2 \times (a \times b^2)$ (где a представляет собой измерение по длинной оси, и b представляет собой измерение по короткой оси);

относительный объем опухоли $RTV = TV_t/TV_0$, где TV_0 представляет собой объем опухоли в d0, и TV_t представляет собой объем опухоли при каждом измерении;

относительная степень пролиферации опухоли T/C (%) = $(T_{RTV}/C_{RTV}) \times 100\%$, где T_{RTV} представляет собой RTV в группе обработки, и C_{RTV} представляет собой RTV в контрольной группе.

Степень подавления роста опухоли: $1 - T/C$;

Степень подавления опухоли TGI (%) = $(1 - TW/TW_0) \times 100\%$; где TW представляет собой вес опухоли в группе обработки, и TW_0 представляет собой вес опухоли в контрольной группе;

Скорость изменения веса WCR (%) = $(W_t - W_{t_0})/W_{t_0} \times 100\%$, где W_{t_0} представляет собой вес тела животного в d_0 , а W_t представляет собой вес тела животного при каждом измерении.

Эффект каждого лекарственного средства в отношении объема опухоли, веса опухоли и веса тела мыши показан на фиг. 4-6, и результаты индексов обнаружения приведены в таблице 7 ниже. По окончании эксперимента в d21 ни одно животное не погибло, увеличение веса тела мышей в каждой группе обработки было эквивалентно увеличению веса тела в модельной группе, лекарственные средства не оказывали значительного токсического эффекта, и безопасность была хорошей. Конъюгаты патритумаб-эрибулин с различными значениями DAR демонстрируют хорошую активность в отношении подавления пролиферации опухоли *in vivo* и превосходят патритумаб-DDDXd-D8; чем больше значение DAR конъюгата патритумаб-эрибулин, тем сильнее активность в отношении подавления пролиферации опухоли *in vivo*.

Таблица 7. Эффект в отношении подавления опухоли конъюгатов патритумаб-эрибулин в моделях ксенотрансплантатных опухолей из клеток рака молочной железы человека

JIMT-1 с применением бестимусных мышей

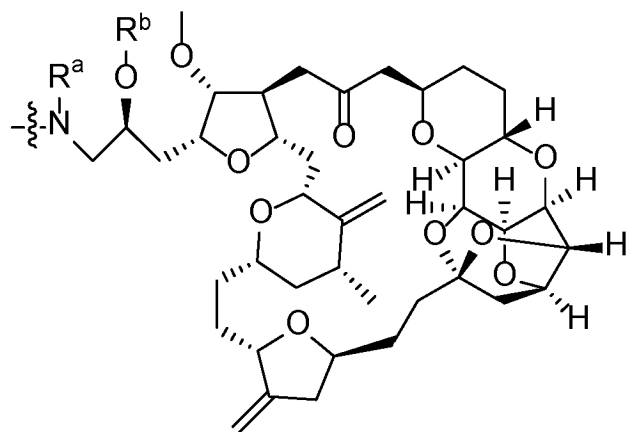
Группа	Степень подавления роста опухоли $1 - T/C$	Степень подавления опухоли TGI
2	24,4%	26,6%
3	36,6%	41,1%
4	65,9%	68,9%
5	82,9%	84,3%

В соответствии с содержанием, раскрытым в настоящем изобретении, способы по настоящему изобретению были описаны с точки зрения предпочтительных вариантов осуществления. Однако специалисты в данной области могут вносить изменения в способы и стадии или последовательность стадий способов, описанных в настоящем документе, не отступая от концепции, духа и объема настоящего изобретения.

Раскрытое содержание всех документов, цитируемых в настоящем документе, настоящим включено в него посредством ссылки в той степени, в которой они содержат примеры, процедуры и дополнительные детали, дополняющие описанные в данном документе.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Конъюгат антитело-лекарственное средство, характеризующийся общей формулой $Ab-(L-U)_n$, или его фармацевтически приемлемая соль или сольват, где Ab представляет собой структурную единицу на основе антитела, L представляет собой линкерную структурную единицу, U представляет собой структурную единицу на основе цитотоксического лекарственного средства, и n представляет собой целое число или десятичную дробь, выбранные из чисел от 1 до 10, где конъюгат антитело-лекарственное средство предусматривает структуру формулы Ia, приведенной ниже:



где

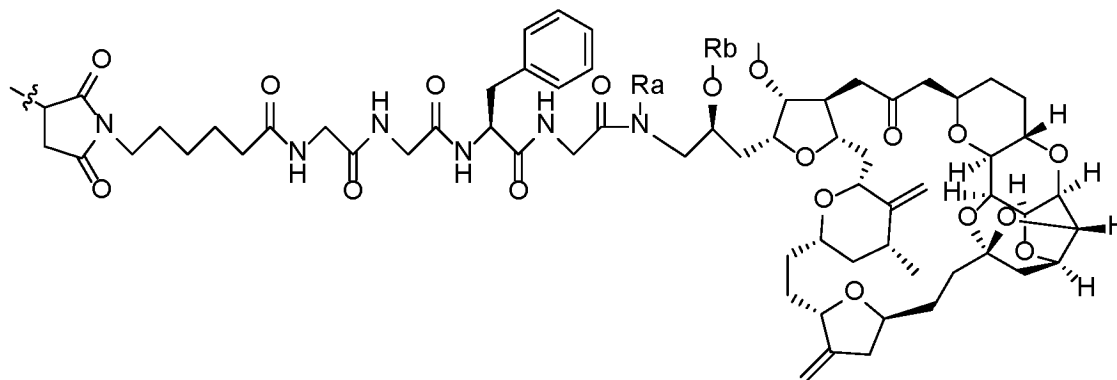
R^a выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила;

R^b выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила;

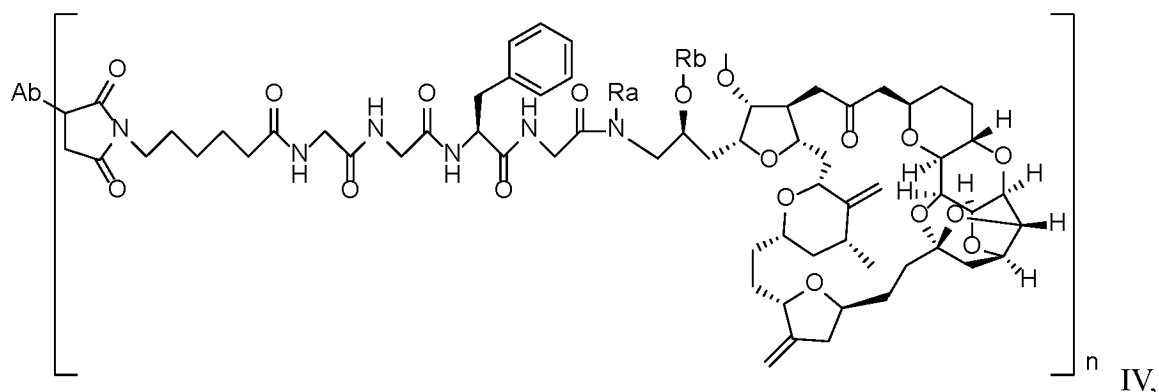
или

R^a и R^b , вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенный 5-8-членный гетероциклил.

2. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват по п. 1, где конъюгат антитело-лекарственное средство предусматривает структуру формулы IIIa, приведенной ниже:



3. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват по п. 1 или п. 2, где конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой структуру формулы IV, приведенной ниже:



где

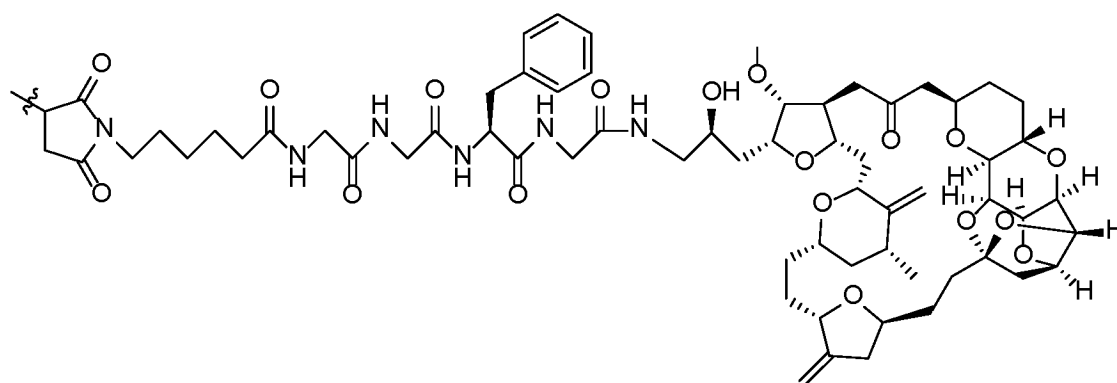
Ab представляет собой структурную единицу на основе антитела, и

n представляет собой целое число или десятичную дробь, выбранные из чисел от 1 до 10.

4. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват по любому из пп. 1-3, где каждый из R^a и R^b независимо выбран из атома водорода, метила, этила, пропила и изопропила.

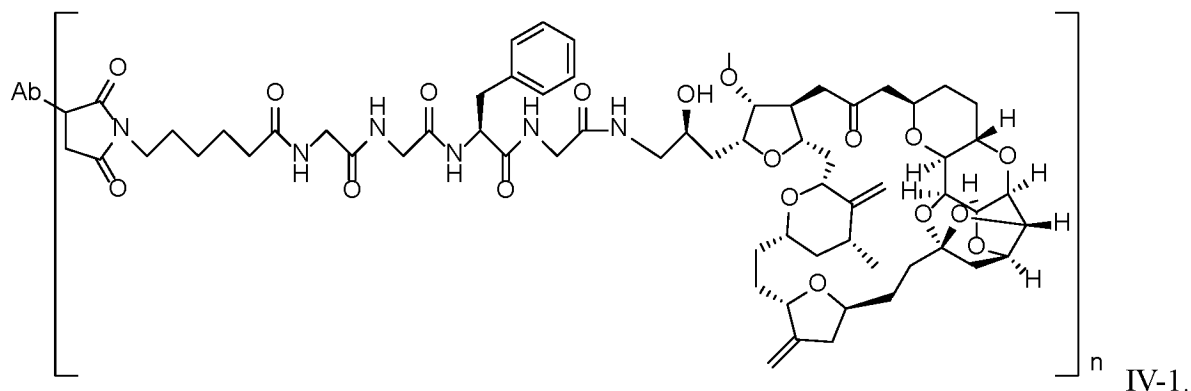
5. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват по п. 1 или п. 2, где конъюгат антитело-лекарственное средство

предусматривает структуру формулы Ша-1, приведенной ниже:



Ша-1.

6. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват по п. 3, где конъюгат антитело-лекарственное средство представляет собой структуру формулы IV-1, приведенной ниже:



7. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват по любому из пп. 1-6, где n составляет 2-4,8, 2,6-4,8, 3,5-4,8, 4-4,8, 2-4,5, 2,6-4,5, 3,5-4,5, 4-4,5, 3,5-4,2, 3,5-4, 4-4,2, 7-8, 7-7,9, 7-7,6, 7-7,5, 7,1-8, 7,1-7,9, 7,1-7,6, 7,5-8, 7,6-8 или 7,6-7,9.

8. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват по п. 7, где n составляет приблизительно 2,6, приблизительно 4, приблизительно 4,2, приблизительно 4,8, приблизительно 7, приблизительно 7,1, приблизительно 7,5, приблизительно 7,6, приблизительно 7,9 или приблизительно 8.

9. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват по любому из пп. 1-8, где Ab представляет собой антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент.

10. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват по п. 9, где антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат: HCDR1, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 1, HCDR2, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 2, HCDR3, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 3, LCDR1, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 4, LCDR2, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 5, и LCDR3, содержащую аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 6.

11. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват по п. 10, где антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат переменную область тяжелой цепи и переменную область легкой цепи, где переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 7, и переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 8, или переменная область тяжелой цепи содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 7, и переменная область легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, изложенную под SEQ ID NO: 8.

12. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват по п. 10 или п. 11, где антитело к HER3 или его антигенсвязывающий фрагмент содержат тяжелую цепь и легкую цепь, где тяжелая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 80%

идентичностью с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 9, и легкая цепь содержит аминокислотную последовательность, характеризующуюся по меньшей мере 80% идентичностью с аминокислотной последовательностью, изложенной под SEQ ID NO: 10.

13. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват по п. 9, где антитело к HER3 представляет собой патритумаб.

14. Конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват по любому из пп. 9-13, где конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемая соль или сольват характеризуются одним из следующих свойств или комбинацией нескольких из них:

- (a) связывание с HER3;
- (b) блокирование связывания HER3 с лигандом;
- (c) проявление эндоцитоза в клетках, экспрессирующих HER3;
- (d) наличие уничтожающей активности в отношении опухолевых клеток, экспрессирующих HER3; и
- (e) наличие «эффекта свидетеля».

15. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемую соль или сольват по любому из пп. 1-14, где необязательно фармацевтическая композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый носитель.

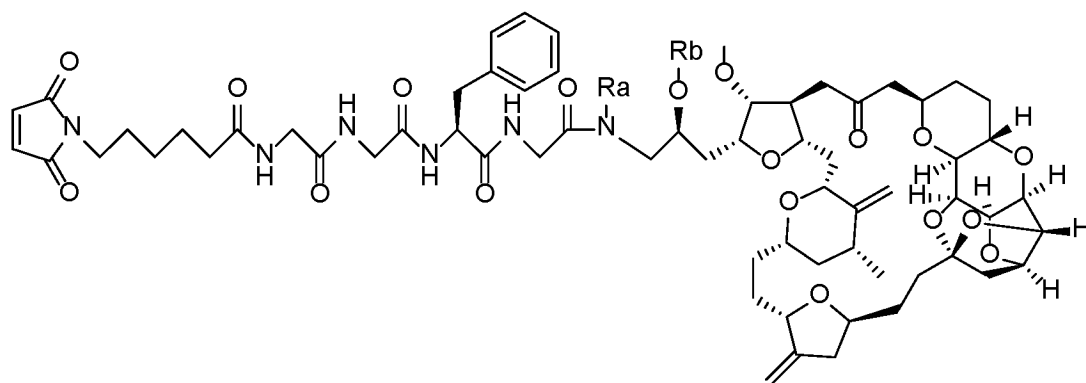
16. Применение конъюгата антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата по любому из пп. 1-14 или фармацевтической композиции по п. 15 для получения лекарственного препарата для лечения рака, где предпочтительно рак представляет собой HER3-положительный рак; предпочтительно рак представляет собой рак желчевыводящих путей, карциносаркому, рак пищевода, рак пищеводно-желудочного перехода, рак молочной железы, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак головы и шеи, колоректальный рак, рак почки, рак шейки матки, рак яичника, рак эндометрия, рак матки, меланому, рак гортани, рак полости рта,

рак кожи, рак легкого, мультиформную глиобластому, глиобластому, уротелиальную карциному, рак предстательной железы, рак мочевого пузыря, гастроинтестинальную стромальную опухоль, плоскоклеточную карциному, рак брюшины, рак печени, карциному слюнных желез, рак вульвы, рак щитовидной железы, рак яичек, рак анального канала или рак полового члена.

17. Способ лечения рака, включающий введение пациенту, нуждающемуся в этом, терапевтически эффективного количества конъюгата антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой соли или сольвата по любому из пп. 1-14 или фармацевтической композиции по п. 15, где предпочтительно рак представляет собой HER3-положительный рак; предпочтительно рак представляет собой рак желчевыводящих путей, карциносаркому, рак пищевода, рак пищеводно-желудочного перехода, рак молочной железы, рак желудка, рак поджелудочной железы, рак головы и шеи, колоректальный рак, рак почки, рак шейки матки, рак яичника, рак эндометрия, рак матки, меланому, рак гортани, рак полости рта, рак кожи, рак легкого, мультиформную глиобластому, глиобластому, уротелиальную карциному, рак предстательной железы, рак мочевого пузыря, гастроинтестинальную стромальную опухоль, плоскоклеточную карциному, рак брюшины, рак печени, карциному слюнных желез, рак вульвы, рак щитовидной железы, рак яичек, рак анального канала или рак полового члена.

18. Способ по п. 17, включающий приведение в контакт опухолевых клеток с конъюгатом антитело-лекарственное средство или его фармацевтически приемлемой солью или сольватом или фармацевтической композицией с обеспечением таким образом уничтожения опухолевых клеток или подавления роста опухолевых клеток.

19. Промежуточное соединение линкер-лекарственное средство, характеризующееся структурой формулы III:



III,

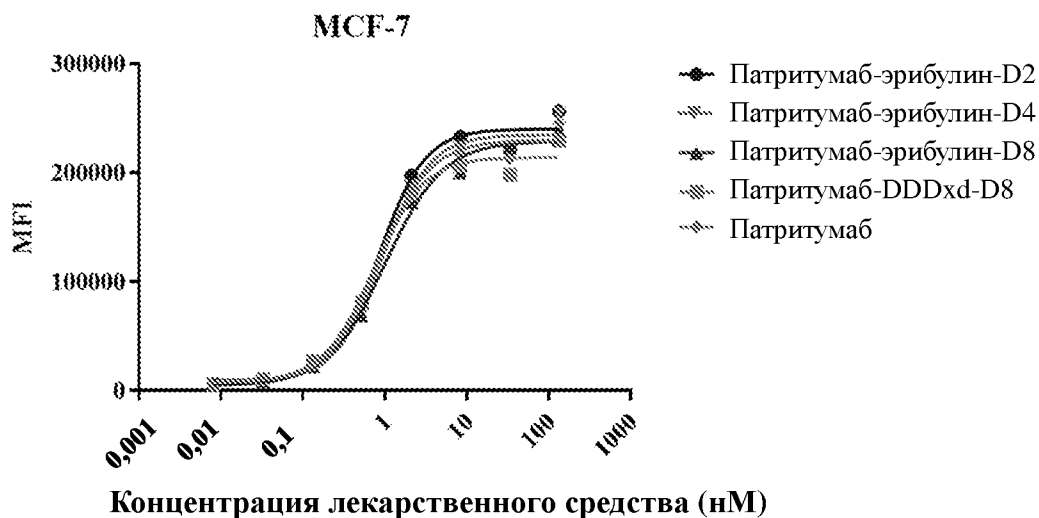
где

R^a выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила;

R^b выбран из атома водорода, атома дейтерия, необязательно замещенного C_{1-6} алкила, необязательно замещенного C_{3-7} циклоалкила, необязательно замещенного C_{3-7} гетероциклила, необязательно замещенного C_{6-10} арила и необязательно замещенного C_{5-12} гетероарила; или

R^a и R^b , вместе с атомом, к которому они присоединены, образуют необязательно замещенный 5-8-членный гетероцикл.

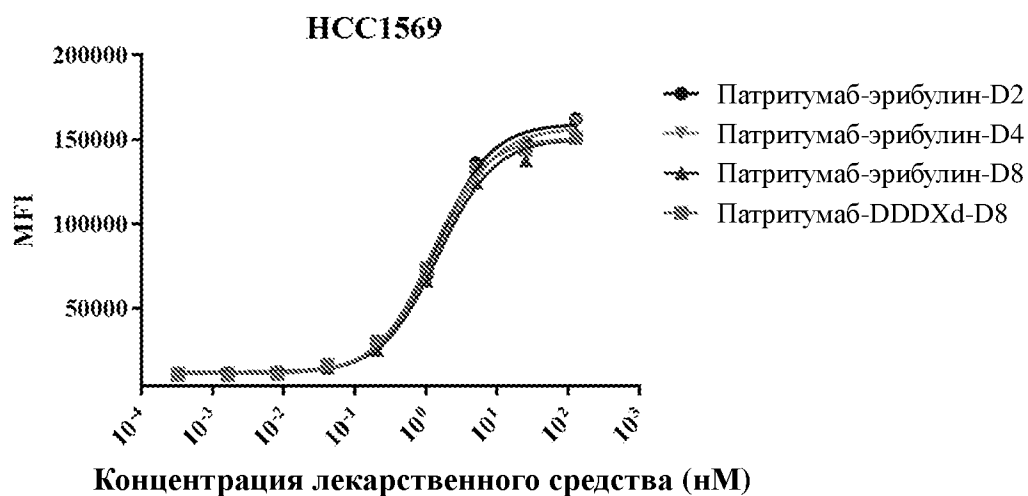
20. Промежуточное соединение линкер-лекарственное средство по п. 19, где каждый из R^a и R^b независимо выбран из атома водорода, метила, этила, пропила и изопропила.



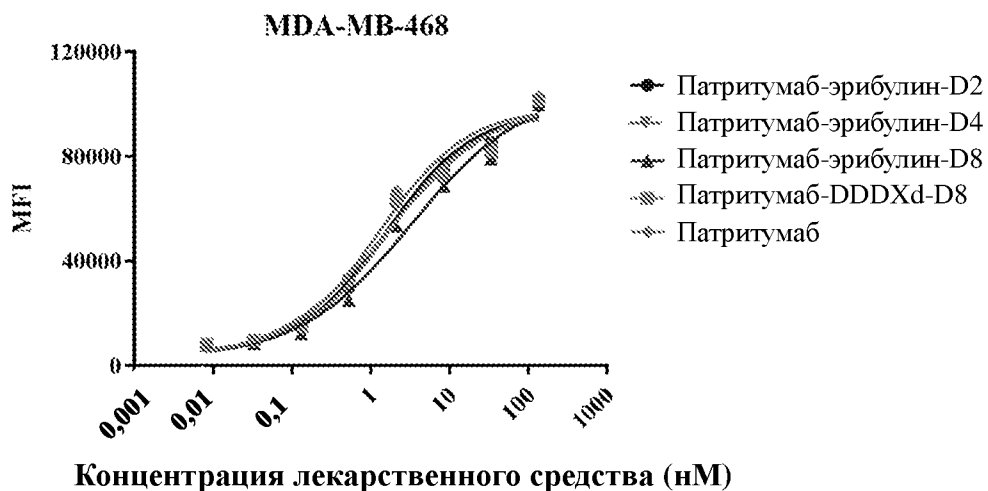
ФИГ. 1А



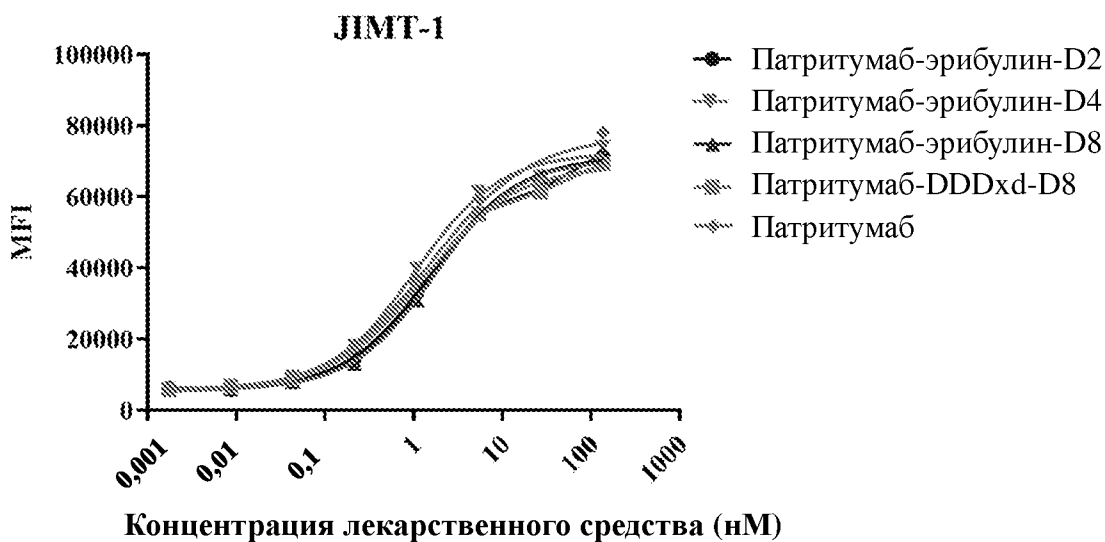
ФИГ. 1В



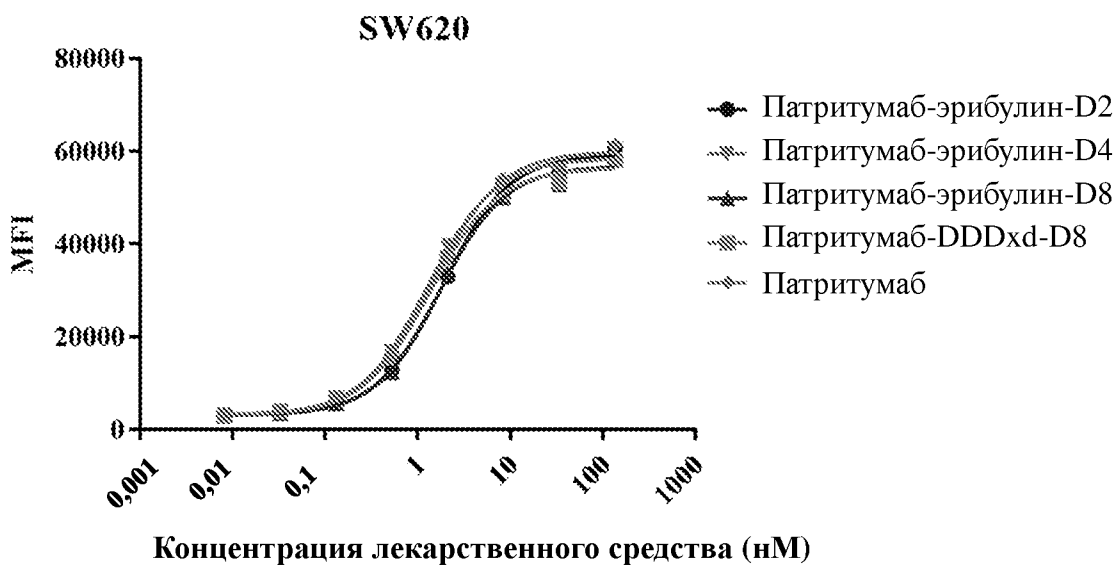
ФИГ. 1С



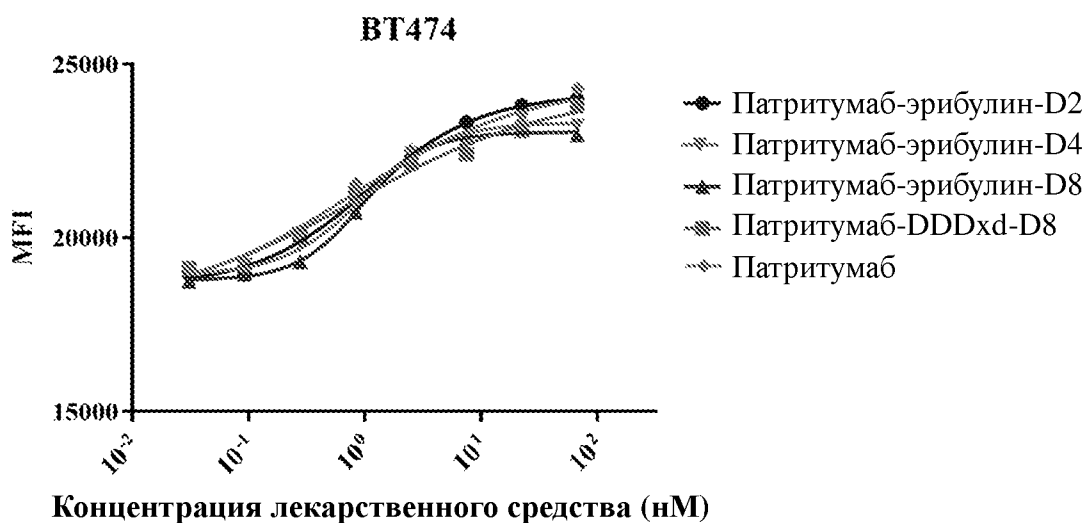
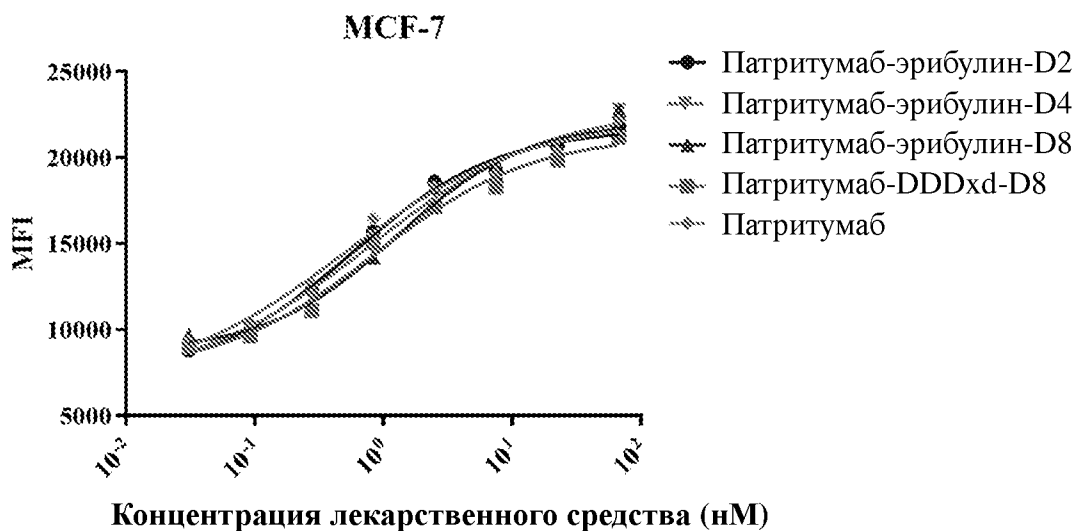
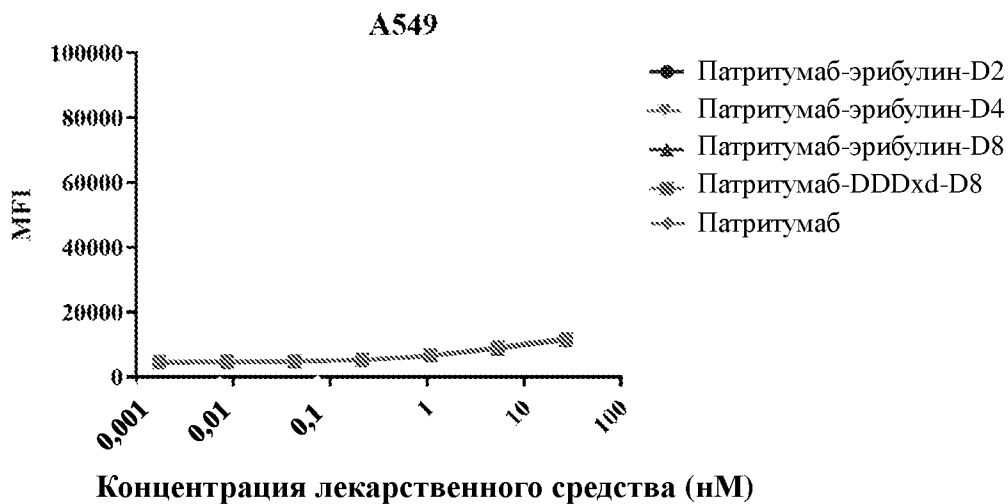
ФИГ. 1D

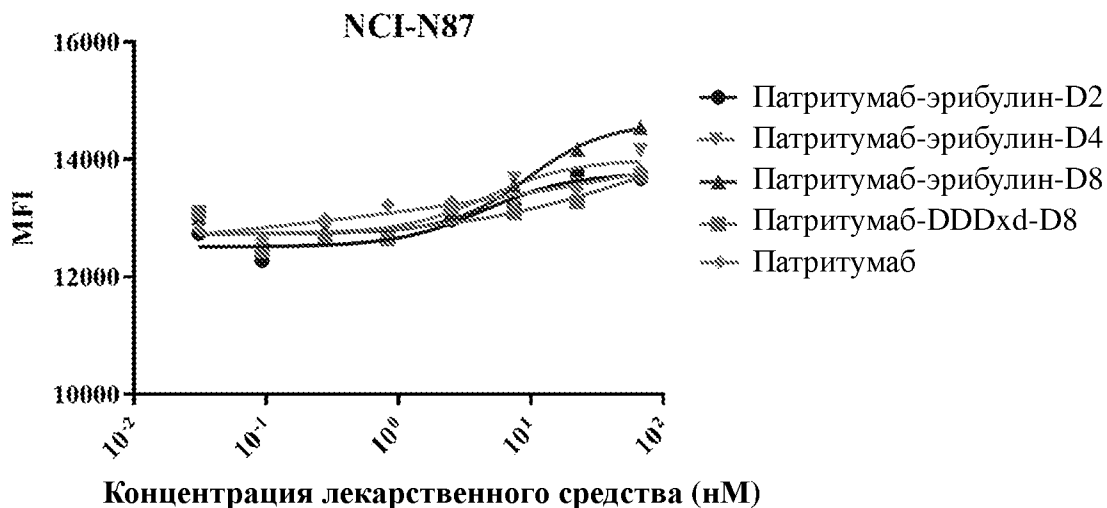


ФИГ. 1E

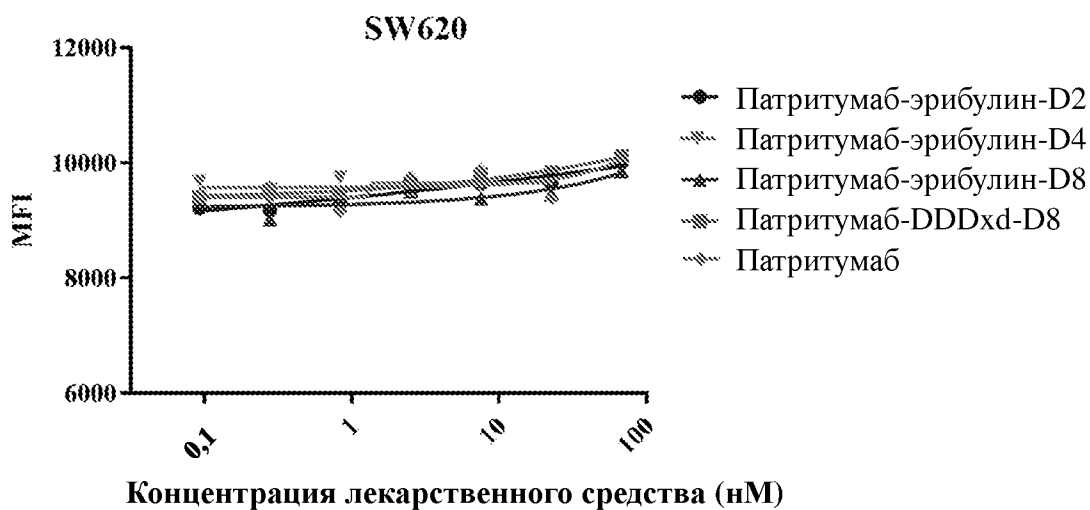


ФИГ. 1F

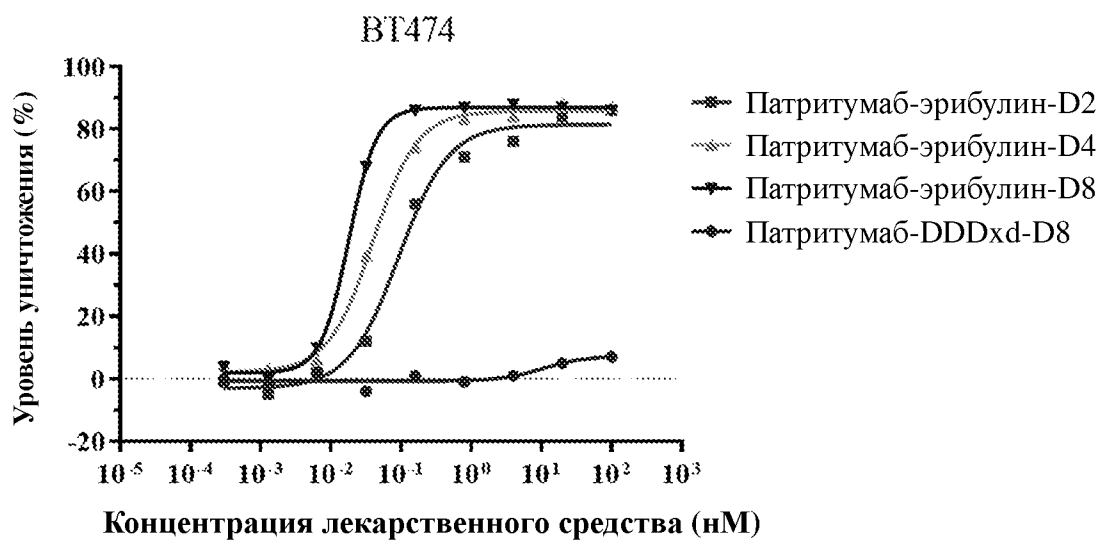




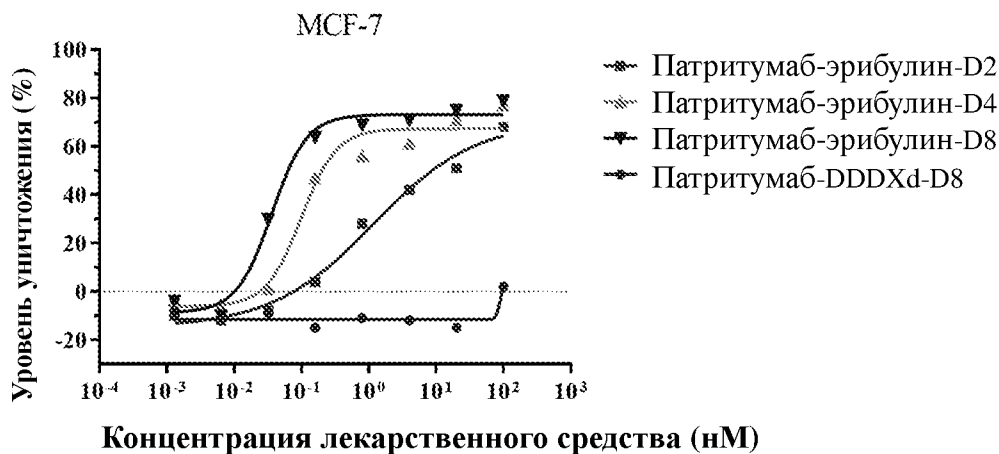
ФИГ. 2С



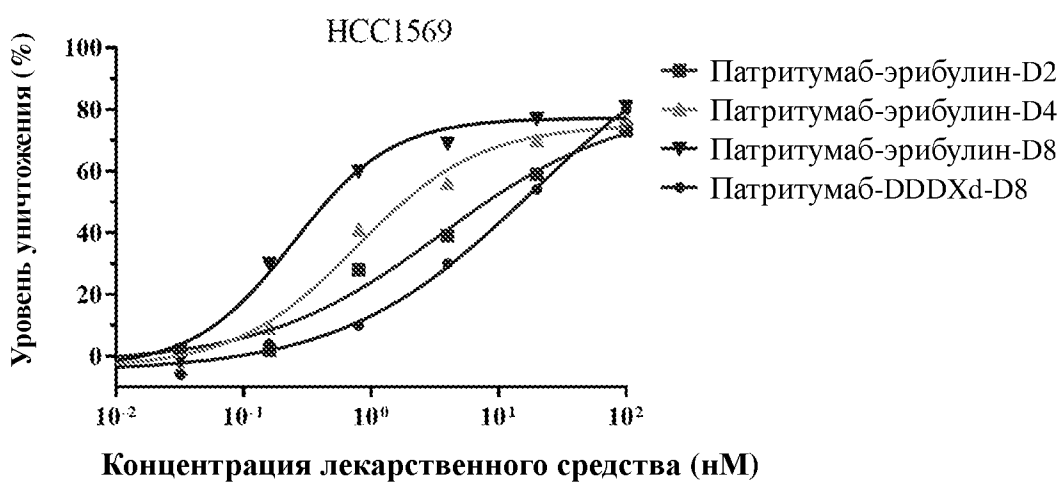
ФИГ. 2D



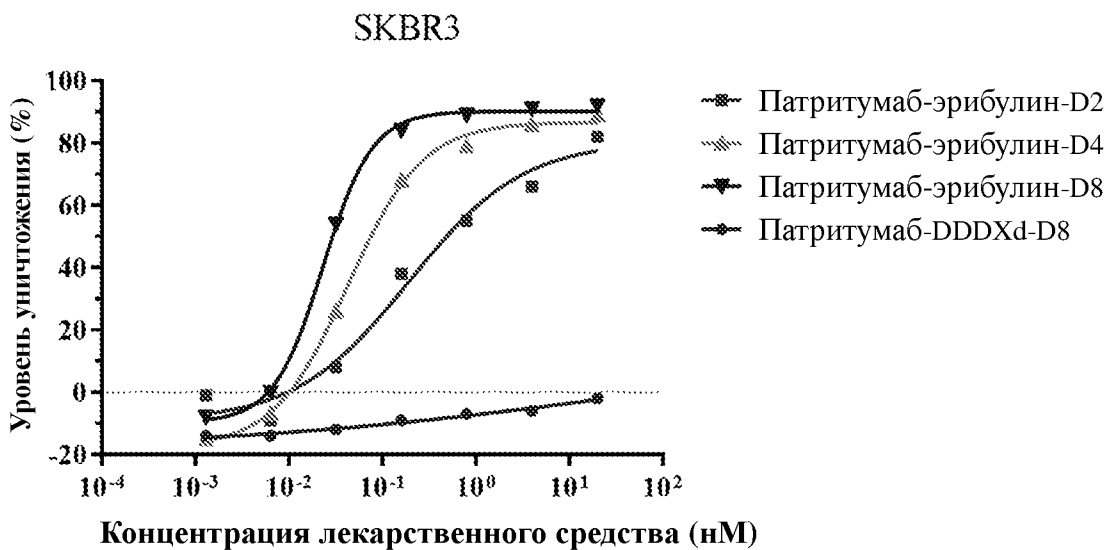
ФИГ. 3А



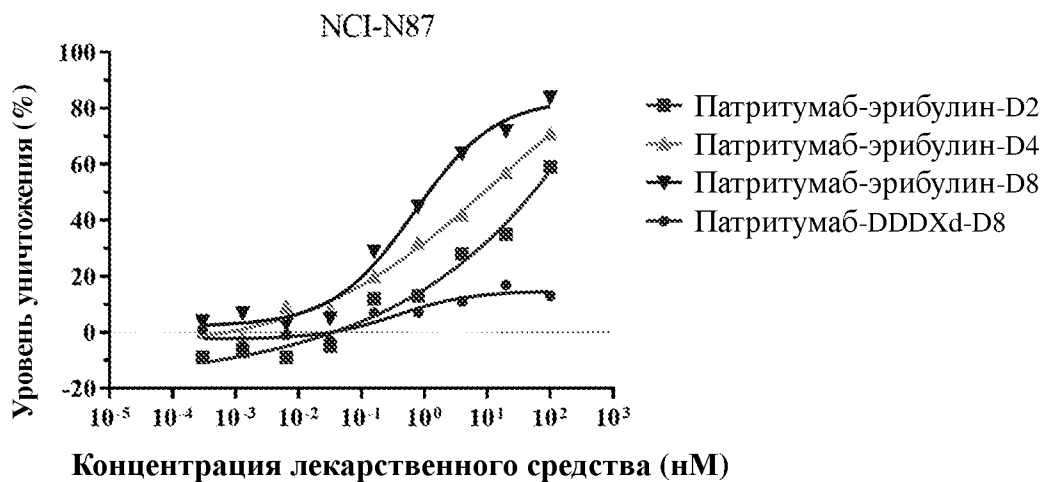
ФИГ. 3В



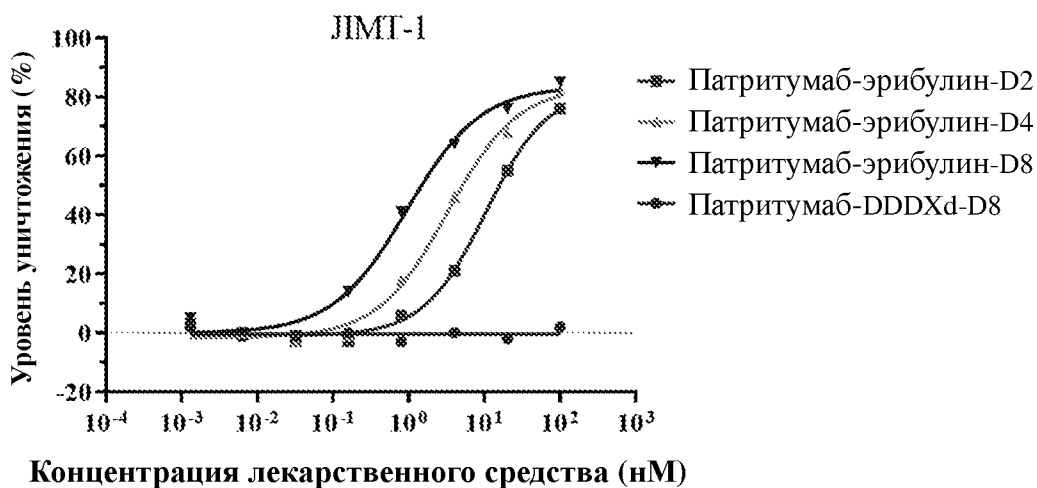
ФИГ. 3С



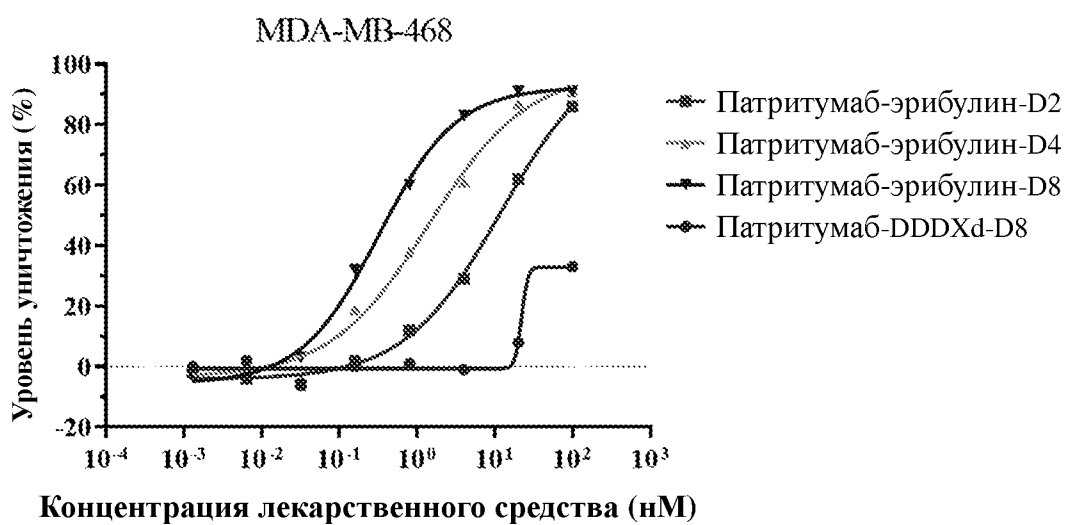
ФИГ. 3D



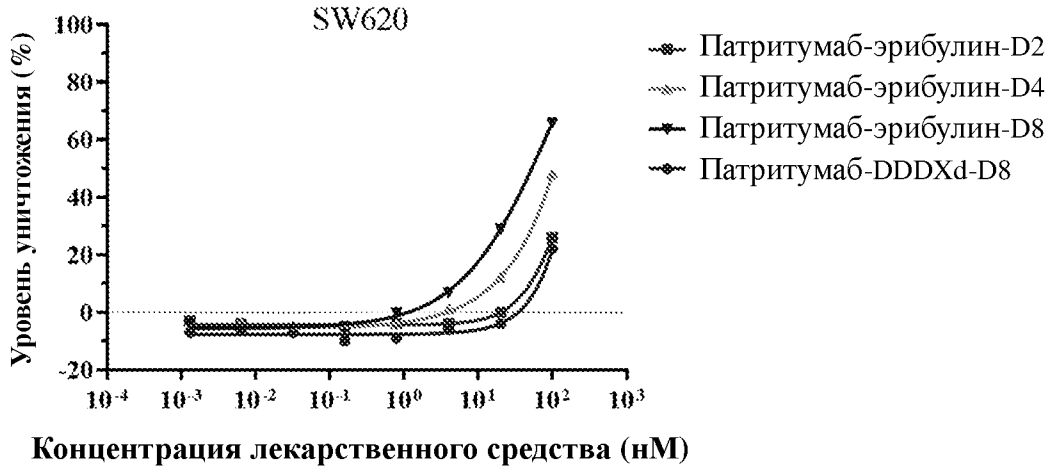
ФИГ. 3Е



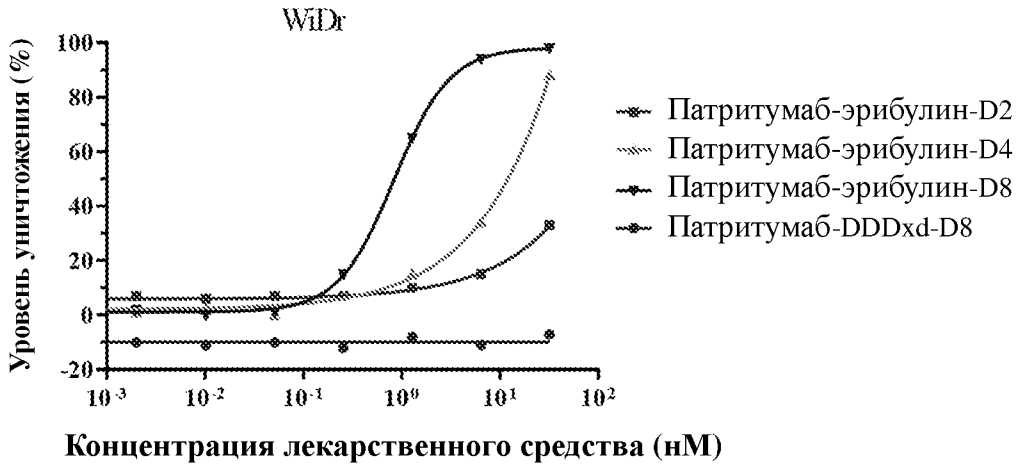
ФИГ. 3F



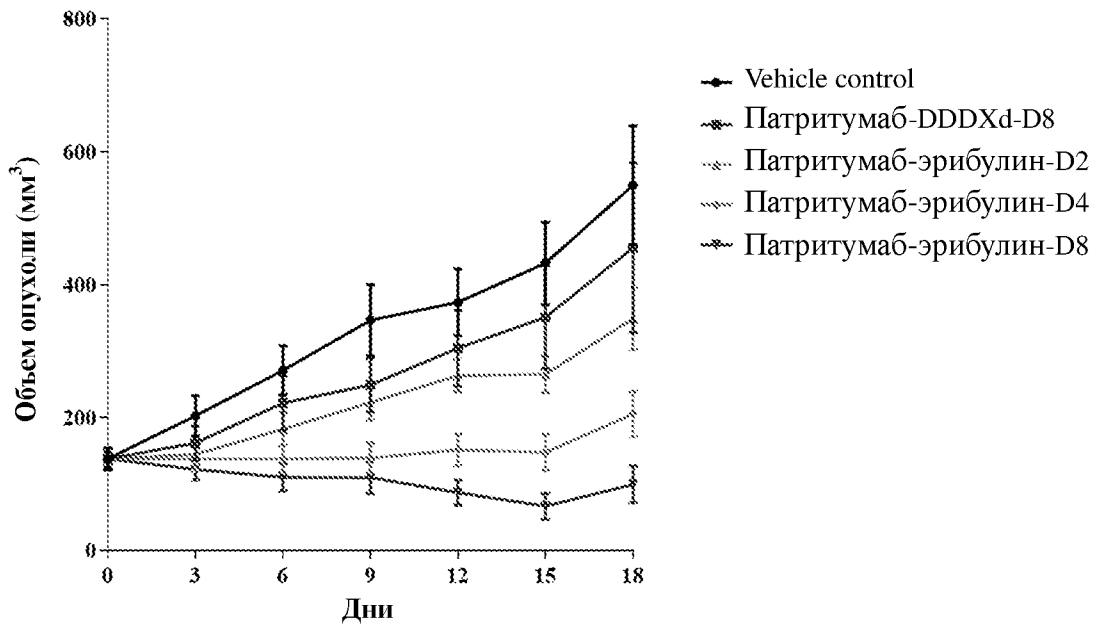
ФИГ. 3G



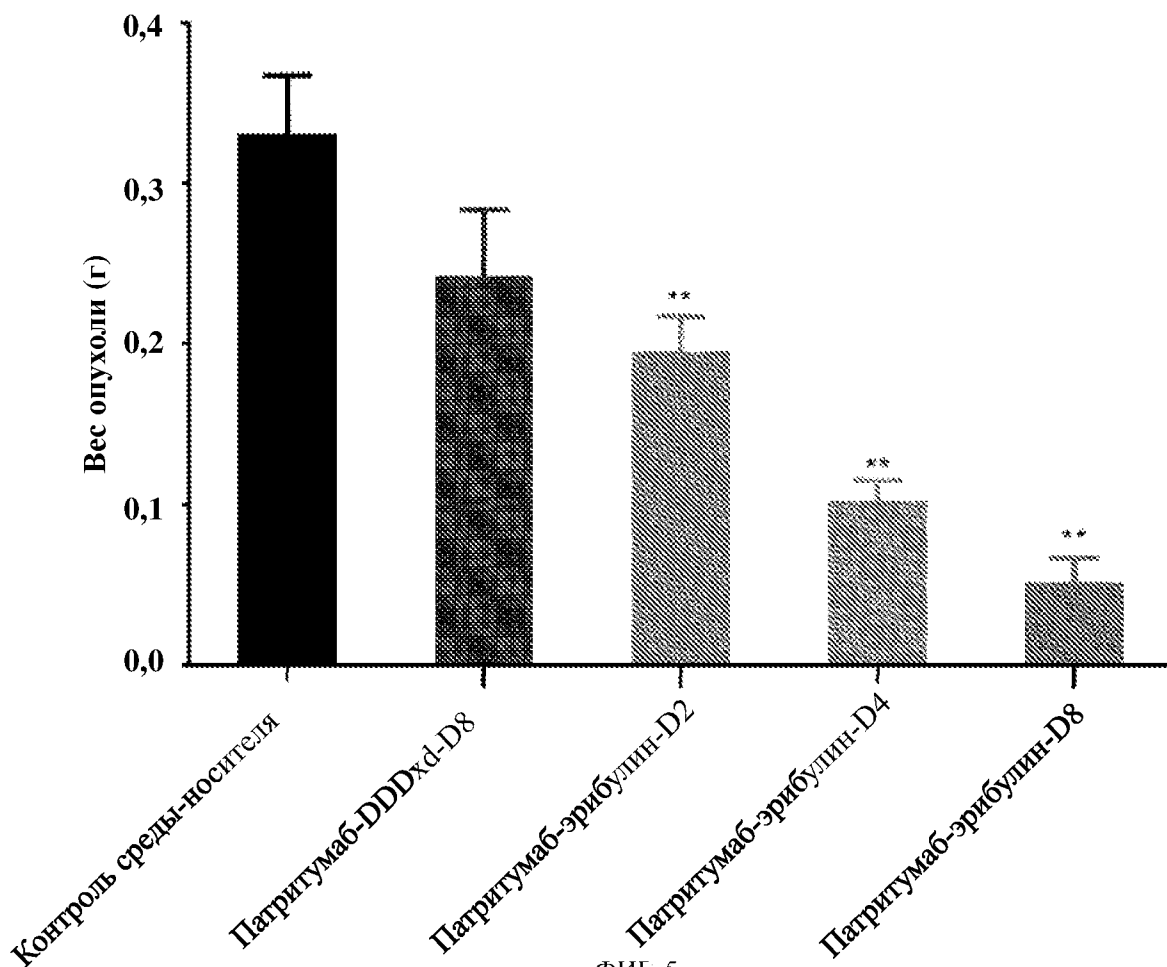
ФИГ. 3Н



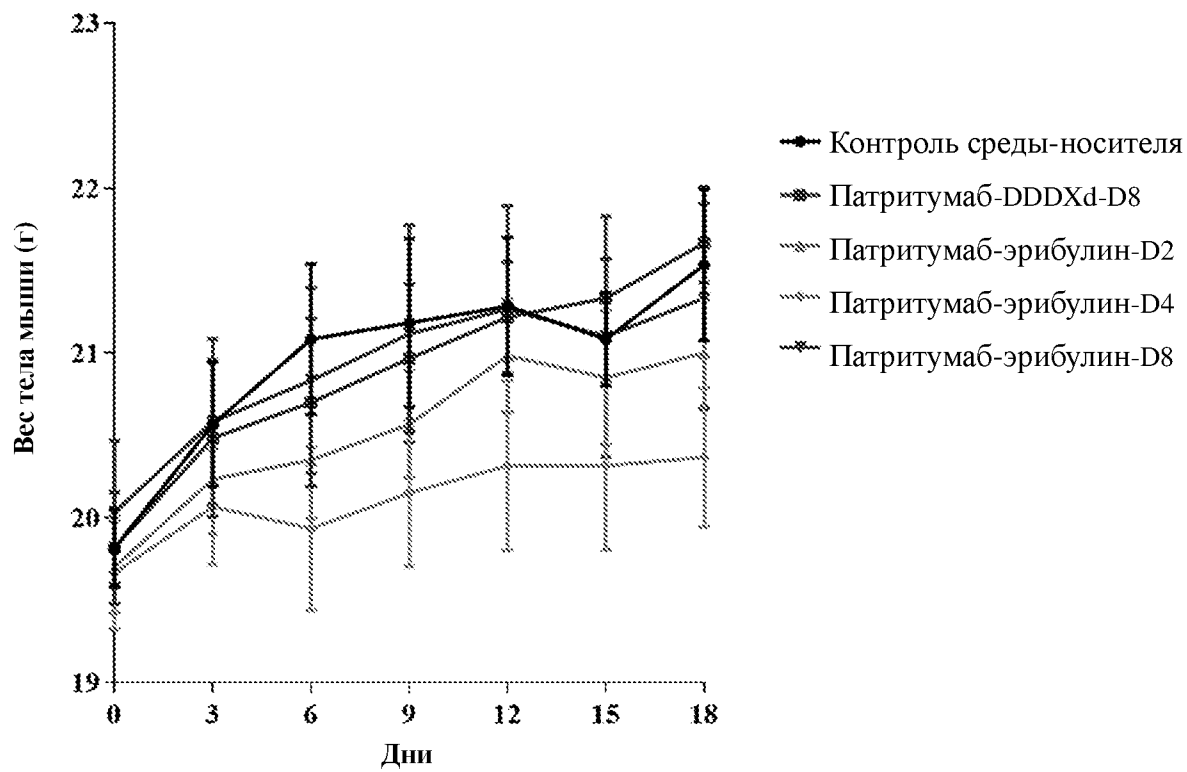
ФИГ. 3I



ФИГ. 4



ФИГ. 5



ФИГ. 6