

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2012157167/10, 11.07.2011

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
12.07.2010 US 61/363,507

(43) Дата публикации заявки: 20.08.2014 Бюл. № 23

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 12.02.2013(86) Заявка РСТ:  
IB 2011/053092 (11.07.2011)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2012/007896 (19.01.2012)Адрес для переписки:  
191036, Санкт-Петербург, а/я 24, "НЕВИНПАТ"

(71) Заявитель(и):

КовЭкс Текнолоджиз Айэлэнд Лимитед (IE)

(72) Автор(ы):

БХАТ Абхиджит Суреш (US),  
БРЭДШОУ Курт Уилльям (US),  
ЛОРАН Оливье Александр (US),  
ПРЕСТОН Ричард Райан (US),  
ТАМЕЛТИ Дэвид (US),  
ВУД Лорен Дайан (US),  
ЙУ Вэй Хон (US),  
ЛИ Элис (US)(54) **ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛЬНЫЕ КОНЬЮГАТЫ**

## (57) Формула изобретения

1. Полифункциональный антительный конъюгат (MAC), содержащий

(1) антитело или его антигенсвязывающий участок, содержащий по меньшей мере фрагмент константной области легкой цепи каппа (CLk), содержащий K<sup>188</sup> и H<sup>189</sup> согласно нумерации по Kabat;(2) линкер, включающий формулу X-Y-Z, где Z представляет собой группу, ковалентно связанную с антителом через боковую цепь K<sup>188</sup>, Y представляет собой линейную или разветвленную биологически совместимую соединительную цепь и X представляет собой группу, ковалентно связанную по меньшей мере с одной эффекторной группировкой,

и его фармацевтически приемлемый соли, стереоизомеры, таутомеры, сольваты и пролекарства.

2. MAC по п.1, дополнительный содержащий D<sup>151</sup>-CLk.

3. MAC по п.1, где область CLk содержит по меньшей мере остатки 62-103 из SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46 или SEQ ID NO:47.

4. MAC по п.1, где область CLk содержит по меньшей мере остатки 1-106 из SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46 или SEQ ID NO:47.

5. MAC по п.1, где эффекторная группировка конъюгирована с MAC только по K<sup>188</sup> CLk.6. MAC по п.1, где эффекторная группировка конъюгирована с MAC по K<sup>188</sup> CLk по

меньшей мере на одной легкой цепи и по одному другому положению на антителе.

7. МАС по п.1, где эффекторная группировка конъюгирована с МАС по К<sup>188</sup> CLk по меньшей мере на одной легкой цепи и по двум другим положениям на антителе.

8. МАС по п.1, где эффекторная группировка конъюгирована с CLk К<sup>188</sup> на обеих легких цепях.

9. МАС по п.1, где эффекторная группировка конъюгирована с CLk К<sup>188</sup> только на одной легкой цепи.

10. МАС по п.1, где эффекторная группировка представляет собой терапевтический агент, белок, пептид, нуклеиновую кислоту, аптамер, небольшую молекулу, белковый агонист, белковый антагонист, метаболический регулятор, гормон, токсин, фактор роста или диагностический агент.

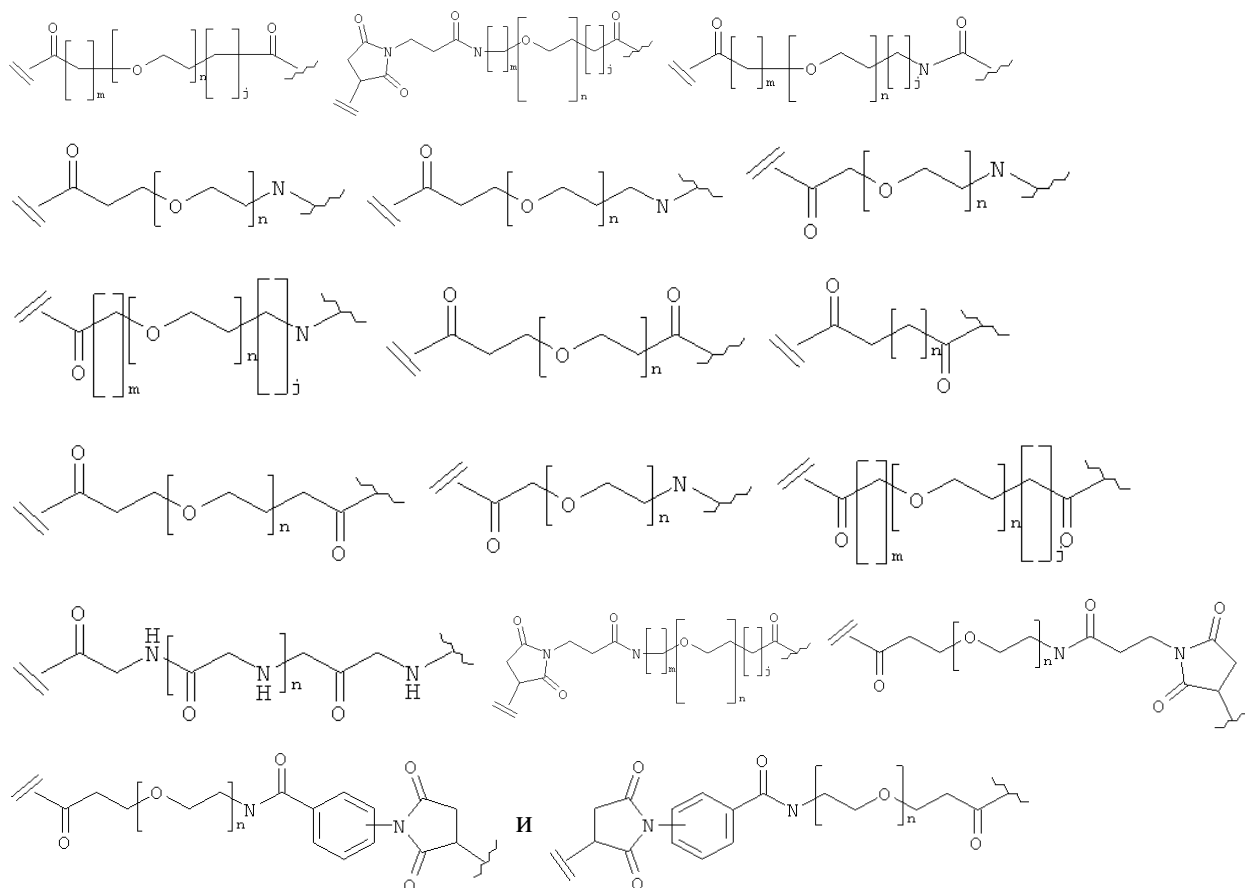
11. МАС по п.1, где по меньшей мере одна эффекторная группировка представляет собой белок или пептид.

12. МАС по п.11, где группа X линкера ковалентно присоединена к аминному концу, карбоксильному концу или боковой цепи пептид-линкерного остатка в белке или пептиде.

13. МАС по п.12, где пептид-линкерный остаток выбран из группы, состоящей из K, R, C, T, Y, S, Dap, Dab, K(SH) и гомологов K и C.

14. МАС по п.13, где линкерный остаток представляет собой K.

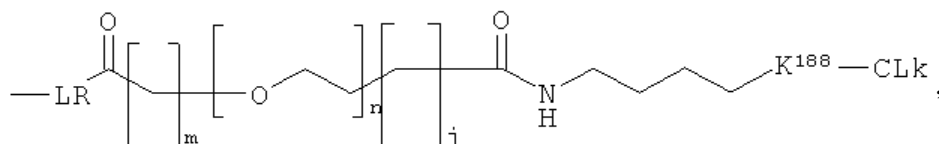
15. МАС по п.1, где Y, X-Y, Y-Z или X-Y-Z выбраны из группы, состоящей из:



где каждый из m, n и j независимо имеет диапазон значений, нижняя граница которого выбрана из группы, состоящей из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20, и верхняя граница которого выбрана из группы, состоящей из 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 и 30, и где общая длина линкера не превышает 200 атомов.

16. МАС по п.1, содержащий формулу

эффекторная  
группировка



где  $\text{K}^{188}\text{—CLk}$  представляет собой ковалентную связь с боковой цепью указанного  $\text{K}^{188}\text{—CLk}$ , эффекторная группировка-LR представляет собой ковалентную связь с эффекторной группировкой, и каждый из  $m$ ,  $n$  и  $j$  независимо имеет диапазон значений, нижняя граница которого выбрана из группы, состоящей из 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 и 20, и верхняя граница которого выбрана из группы, состоящей из 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 и 30, и где общая длина линкера не превышает 200 атомов.

17. MAC по п.1, где общая длина линкера по числу атомов не превышает числа, выбранного из 150, 100 и 60.

18. MAC по любому из пп.1-17, где антитело выбрано из группы, состоящей из ритуксимаба (Rituximab), цетуксимаба (Cetuximab), инфликсимаба (Infliximab), адалимумаба (Adalimumab), натализумаба (Natalizumab), омализумаба (Omalizumab), ранибизумаба (Ranibizumab) и паливизумаба (Palivizumab).

19. MAC по любому из пп.1-17, где антитело представляет собой каталитическое альдолазное антитело.

20. MAC по п.19, где антитело представляет собой полноразмерное антитело, Fab, Fab',  $\text{F(ab')}_2$ ,  $\text{F}_v$ ,  $\text{dsF}_v$ ,  $\text{scF}_v$ ,  $\text{V}_H$ , дитело или минитело, содержащее  $\text{V}_H$  и  $\text{V}_L$  домены из h38c2 и может содержать SEQ ID NO:51 и SEQ ID NO:2, или SEQ ID NO:53 и SEQ ID NO:54.

21. Композиция, содержащая MAC по любому из пп.1-20, где количество эффекторной группировки в композиции или образце, конъюгированной с  $\text{K}^{188}\text{—CLk}$ , выбрано из группы, состоящей из по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 60%, по меньшей мере примерно 70% и по меньшей мере примерно 80%.

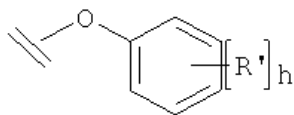
22. Композиция, содержащая MAC по любому из пп.1-20, где количество антитела, содержащего эффекторную группировку, ковалентно присоединенную к  $\text{K}^{188}\text{—CLk}$  выбрано из группы, состоящей из по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 60%, по меньшей мере примерно 70% и по меньшей мере примерно 80%.

23. Композиция, содержащая MAC по любому из пп.1-20, где количество молекул тяжелых цепей, неконъюгированных с эффекторной группировкой, выбрано из группы, состоящей из по меньшей мере примерно 50%, по меньшей мере примерно 70%, по меньшей мере примерно 80% и меньшей мере примерно 90%.

24. Композиция, содержащая MAC по любому из пп.1-20, где количество отдельных фрагментов легкой цепи, которые содержат единичный сайт конъюгации для эффекторной группировки, составляет примерно 25-95%.

25. Композиция, содержащая MAC по любому из пп.1-20, где число конъюгации на антитело выбрано из группы, состоящей из: от примерно 0,5 до примерно 5, от примерно 0,5 до примерно 3, от примерно 0,5 до примерно 1,5, от примерно 1,5 до примерно 5,0, от примерно 1,5 до примерно 3,0, от примерно 1,5 до примерно 2,5, от примерно 1,7 до примерно 2,3.

26. Способ получения полифункционального антительного конъюгата (MAC) по любому из пп.1-20, или композиции по любому из пп.21-25, включающий реакцию конъюгации, включающую ковалентное присоединение эффекторной группировки к линкеру, оканчивающемуся уходящей группой  $\text{Z}^*$  формулы

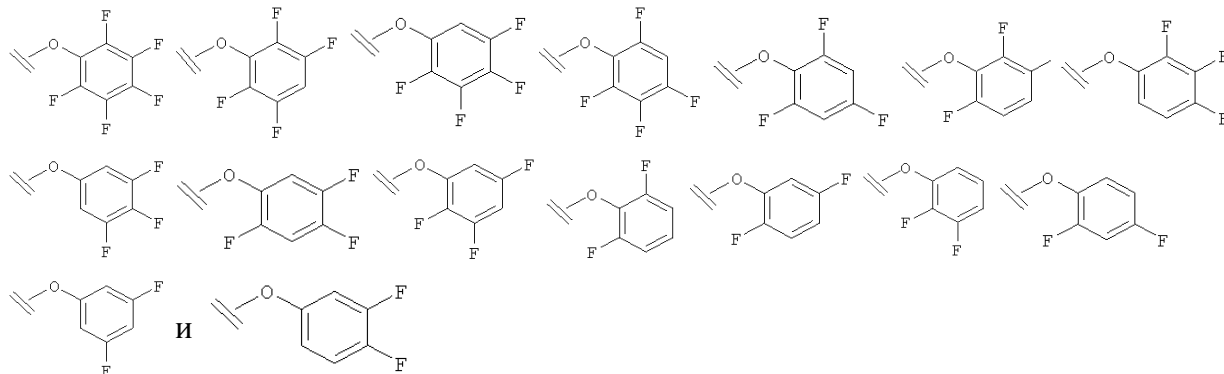


где  $R^1$  представляет собой F или Cl,  $h=2, 3, 4$  или  $5$ , и взаимодействие комплекса эффекторная группировка-линкер- $Z^*$ , образованного таким образом, с антителом.

27. Способ по п.26, где  $R^1$  представляет собой F.

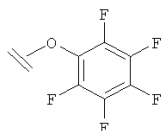
28. Способ по п.26, где  $h=3, 4$  или  $5$ .

29. Способ по п.26, где  $Z^*$  выбран из группы, состоящей из



30. Способ по п.26, где  $h=4$  или  $5$ .

31. Способ по п.26, где  $Z^*$  имеет формулу



32. Способ по п.26, где соотношение эффекторная группировка: антитело выбрано из группы, состоящей из: от примерно 1:1 до примерно 15:1, от примерно 2:1 до примерно 5:1, от примерно 3:1 до примерно 6:1, от примерно 3,5:1 до примерно 5:1, от примерно 5:1 до примерно 15:1, от примерно 5:1 до примерно 7:1.

33. Способ по п.26, где концентрация антитела во время реакции конъюгации выбрана из группы, состоящей из: от примерно 1 до примерно 100  $\text{мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ , по меньшей мере примерно 5  $\text{мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ , по меньшей мере примерно 10  $\text{мг} \cdot \text{мл}^{-1}$  и от примерно 5 до примерно 50  $\text{мг} \cdot \text{мл}^{-1}$ .

34. Способ по п.26, где взаимодействие проводят при температуре между примерно 4 и примерно 40°C, или между примерно 4 и примерно 30°C, или между примерно 15 и примерно 25°C.

35. Способ по п.26, где взаимодействие происходит при pH, выбранном из группы состоящей из между примерно 6 и примерно 9 и между примерно 6,5 и примерно 8.

36. Способ по любому из пп.26-35, где антитело содержит CLA-область, дополнительно включающий первоначальную стадию замещения соответствующего участка CL $\lambda$ -области (согласно нумерации по Kabat) по меньшей мере остатками 62-103, или по меньшей мере остатками 1-106 из SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:45, SEQ ID NO:46 или SEQ ID NO:47.

37. МАС, полученный способом по любому из пп.26-36.

38. Композиция, содержащая МАС по п.37.