

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

(21)(22) Заявка: 2011138951/10, 23.02.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
23.02.2009 US 61/154,730

(43) Дата публикации заявки: 27.03.2013 Бюл. № 9

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 23.09.2011(86) Заявка РСТ:  
US 2010/025121 (23.02.2010)(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2010/096838 (26.08.2010)

Адрес для переписки:

129090, Москва, ул. Б. Спасская, 25, стр.3, ООО  
"Юридическая фирма Городиский и Партнеры"

(71) Заявитель(и):

**САЙТОМКС ТЕРАПЬЮТИКС, ИНК. (US)**

(72) Автор(ы):

**СТАГЛИАНО Нэнси Э. (US),  
УЭСТ Джеймс У. (US),  
КАМАТ Катрин (US),  
БЕССЕТТ Пол Х. (US),  
СЭЙДЖЕРТ Джейсон (US)**(54) **ПРОПРОТЕИНЫ И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

## (57) Формула изобретения

1. Активируемый полипептид, содержащий функциональный белок или фрагмент функционального белка, которые не являются антителом или фрагментом антитела, где функциональный белок соединен с пептидной маской, которая: (i) ингибирует связывание функционального белка или фрагмента функционального белка со связывающим партнером и (ii) не имеет аминокислотной последовательности связывающего партнера, и где функциональный белок или фрагмент функционального белка дополнительно соединены с расщепляемым линкером, способным расщепляться таким образом, что: (i) в нерасщепленном состоянии пептидная маска ингибирует связывание функционального белка или фрагмента функционального белка со связывающим партнером, а (ii) в расщепленном состоянии пептидная маска не ингибирует связывание функционального белка или фрагмента функционального белка со связывающим партнером.

2. Активируемый полипептид по п. 1, где функциональный белок или фрагмент функционального белка имеет равновесную константу диссоциации, равную не более, чем 100 нМ, для связывания со связывающим партнером;

пептидная маска (А) имеет равновесную константу диссоциации для связывания с функциональным белком или фрагментом функционального белка большую, чем равновесная константа диссоциации функционального белка или фрагмента

функционального белка со связывающим партнером, (В) содержит полипептидную последовательность, которая не более чем на 50% подобна природному связывающему партнеру функционального белка или фрагмента функционального белка, и (С) не препятствует функциональному белку или фрагменту функционального белка связываться со связывающим партнером в расщепленном состоянии или не контактирует с функциональным белком или фрагментом функционального белка за связывание со связывающим партнером в расщепленном состоянии;

расщепляемый линкер функционирует в качестве субстрата для протеазы, причем подобная протеаза совместно локализована в первой ткани со связывающим партнером, причем подобная протеаза способна расщеплять расщепляемый линкер в активируемом полипептиде, где расщепляемый линкер расположен в активируемом полипептиде таким образом, что в нерасщепленном состоянии связывание активируемого полипептида со связывающим партнером уменьшается так, что происходит с равновесной константой диссоциации, которая, по меньшей мере, в 100 раз больше, чем равновесная константа диссоциации связывания немодифицированного функционального белка или фрагмента функционального белка со связывающим партнером, и тогда как в расщепленном состоянии функциональный белок или фрагмент функционального белка способны связывать связывающий партнер в присутствии связывающего партнера; и

активируемый полипептид имеет следующее структурное расположение от N-конца к С-концу в нерасщепленном состоянии: (пептидная маска)-(расщепляемый линкер)-(функциональный белок или фрагмент функционального белка) или (функциональный белок или фрагмент функционального белка)-(расщепляемый линкер)-(пептидная маска),

где присоединение пептидной маски уменьшает способность функционального белка или фрагмента функционального белка связывать их связывающий партнер таким образом, что константа диссоциации ( $K_d$ ) функционального белка или фрагмента функционального белка при соединении с пептидной маской по отношению к связывающему партнеру, по меньшей мере, в 100 раз больше, чем  $K_d$  функционального белка или фрагмента функционального белка в отсутствии соединения с пептидной маской по отношению к связывающему партнеру.

3. Активируемый полипептид по п. 1, где пептидная маска обладает одной или более из следующих характеристик:

- (i) пептидная маска составляет 8-15 аминокислот в длину;
- (ii) пептидная маска является уникальной для функционального белка;
- (iii) пептидная маска обладает терапевтическим эффектом, когда она отсоединена от функционального белка;
- (iv) пептидная маска имеет в своем составе менее чем 50% генетически некодированных аминокислот, где необязательно генетически некодированными аминокислотами являются необязательно D-аминокислоты необязательно  $\beta$ -аминокислоты или, необязательно  $\gamma$ -аминокислоты;
- (v) пептидная маска содержит последовательность, выбранную из последовательностей, представленных в таблице 3, или последовательность, имеющую, по меньшей мере, 90% их гомологии;
- (vi) пептидная маска содержит консенсусную последовательность TD-VDYYREWXXXXXXXXXX;
- (vii) пептидная маска ингибирует связывание растворимого рецептора со своим лигандом;
- (viii) пептидная маска ингибирует лиганд-связывающий домен рецептора;
- (ix) пептидная маска содержит последовательность, выбранную из

последовательностей, представленных в таблице 14, или последовательность, имеющую по меньшей мере 90% их гомологии;

(х) пептидная маска ингибирует связывание функционального белка со связывающим партнером аллостерически и

(xi) пептидная маска ингибирует связывание функционального белка со связывающим партнером стерически.

4. Активируемый полипептид по п. 1, где функциональным белком является полноразмерный белок, функциональный фрагмент полноразмерного белка, глобулярный белок, фибриллярный белок или мультимерный белок.

5. Активируемый полипептид по п. 1, где функциональным белком является лиганд, растворимый мембранный белок или его функциональный фрагмент, растворимый рецептор или его фрагмент, внеклеточный домен рецепторного белка или его часть, или белок интерферон.

6. Активируемый полипептид по п. 5, где лиганд выбирают из группы, состоящей из DLL1, DLL3, DLL4, Jagged1 и Jagged2, или где белок интерферон выбирают из группы, состоящей из интерферона I типа, интерферона II типа и интерферона III типа, IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\omega$  и IFN- $\gamma$ , IFN- $\alpha$  2a, IFN- $\alpha$  2b и IFN- $\alpha$  con1.

7. Активируемый полипептид по п. 1, где связывающим партнером является рецептор для белка интерферона, необязательно выбранный из группы, состоящей из необязательно IFNAR, необязательно IFNAR1, необязательно IFNAR2, IFNGR и IFNLR1; или где связывающим партнером является рецептор Notch, необязательно выбранный из группы, состоящей из необязательно Notch1, необязательно Notch2, необязательно Notch3 и необязательно Notch4.

8. Активируемый полипептид по п. 1, где расщепляемый линкер обладает одной или более из следующих характеристик:

(i) расщепляемый линкер представляет собой субстрат для фермента, выбранный из субстратов в таблице 2;

(ii) расщепляемый линкер представляет собой субстрат для фермента, выбранного из группы, состоящей из матриптазы, плазмина, MMP-9, uPA, HCV-NS3/4, PSA и легумаина;

(iii) расщепляемый линкер представляет собой субстрат для матриптазы или HCV-NS3/4;

(iv) расщепляемый линкер содержит консенсусную последовательность для субстрата для матриптазы, выбранную из XXQAR(A/V)X или AGPR;

(v) расщепляемый линкер содержит консенсусную последовательность для субстрата для HCV-NS3/4, выбранную из DEXXXC(A/S) или DLXXXT(A/S);

(vi) расщепляемый линкер содержит последовательность для субстрата для MMP-9, содержащую VHMP LGFLGP; и

(vii) расщепляемый линкер содержит последовательность для субстрата для плазмина, содержащую QGPMFKSLWD.

9. Активируемый полипептид по п. 1, дополнительно содержащий область Fc иммуноглобулина.

10. Активируемый полипептид по п. 1, где когда активируемый полипептид не находится в присутствии фермента, способного расщеплять расщепляемый линкер, пептидная маска ингибирует связывание функционального белка со своим связывающим партнером, по меньшей мере, на 90% по сравнению с тем, когда активируемый полипептид находится в присутствии фермента, способного расщеплять расщепляемый линкер, а пептидная маска не ингибирует связывание функционального белка со своим связывающим партнером.

11. Фармацевтическая композиция, где фармацевтическая композиция содержит

терапевтически эффективное количество активируемого полипептида по п. 1 и фармацевтически приемлемый эксципиент.

12. Способ лечения заболевания или расстройства, где способ включает введение пациенту, который нуждается в этом, терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п. 11.

13. Способ по п. 12, где заболеванием или расстройством является рак или болезнь печени.

14. Способ ингибирования ангиогенеза у пациента-млекопитающего, где способ включает введение пациенту, который нуждается в этом, терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по п. 11.

15. Способ изготовления активируемого полипептида по п. 1, где способ включает стадии:

(а) предоставления функционального белка или фрагмента функционального белка, пептидной маски и расщепляемого линкера;

(b) соединения пептида, служащего маской, с расщепляемым линкером и

(с) соединения функционального белка или фрагмента функционального белка с расщепляемым линкером;

где активируемый полипептид имеет следующее структурное расположение от N-конца к С-концу в нерасщепленном состоянии: (пептидная маска)-(расщепляемый линкер)-(функциональный белок или фрагмент функционального белка) или (функциональный белок или фрагмент функционального белка)-(расщепляемый линкер)-(пептидная маска).

16. Изолированная молекула нуклеиновой кислоты, кодирующая активируемый полипептид по п. 1.

17. Вектор, содержащий изолированную молекулу нуклеиновой кислоты по п. 16.

18. Способ получения активируемого полипептида по п. 1 посредством культивирования клетки в условиях, которые приводят к экспрессии активируемого полипептида, где клетка содержит вектор, содержащий изолированную молекулу нуклеиновой кислоты, кодирующую активируемый полипептид.