



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) **ЗАЯВКА НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

(21)(22) Заявка: 2015116883, 04.10.2013

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
04.10.2012 US 61/709,871

(43) Дата публикации заявки: 27.11.2016 Бюл. № 33

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 05.05.2015(86) Заявка РСТ:
US 2013/063503 (04.10.2013)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2014/055893 (10.04.2014)

Адрес для переписки:

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

(71) Заявитель(и):

ИММУНОДЖЕН, ИНК. (US)

(72) Автор(ы):

ЛИ Синьфан (US),
ЧЭНЬ Вэньцзе (US)(54) **ПРИМЕНЕНИЕ ИОНООБМЕННОЙ МЕМБРАНЫ ДЛЯ УДАЛЕНИЯ ПРИМЕСЕЙ ИЗ
КОНЬЮГАТОВ КЛЕТОЧНОСВЯЗЫВАЮЩЕГО АГЕНТА С ЦИТОТОКСИЧЕСКИМ АГЕНТОМ**

(57) Формула изобретения

1. Способ получения очищенного конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом, включающий приведение в контакт смеси, содержащей конъюгат клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом и одну или более примесей, с ионообменной хроматографической мембраной для удаления из смеси по меньшей мере части примесей с получением, таким образом, очищенного конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что способ последовательно повторяют два, три или четыре раза.

3. Способ по п. 1, отличающийся тем, что способ включает стадии:

(а) приведения в контакт клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом с получением первой смеси, содержащей клеточносвязывающий агент и цитотоксический агент, затем приведения в контакт первой смеси с бифункциональным сшивающим реагентом, содержащим линкер, в растворе, имеющем рН от около 4 до около 9, с получением второй смеси, содержащей конъюгат клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом, который содержит клеточносвязывающий агент, химически связанный через линкер с цитотоксическим агентом, и одну или более примесей;

(b) приведение второй смеси в контакт с ионообменной хроматографической мембраной для удаления из смеси по меньшей мере части примесей с получением, таким образом, очищенной второй смеси конъюгата клеточносвязывающего агента с

цитотоксическим агентом; и

(с) обработки очищенной второй смеси после стадии (b), используя методы тангенциальной поточной фильтрации, селективного осаждения, неадсорбционной хроматографии, адсорбционной фильтрации, адсорбционной хроматографии или их комбинации, для дополнительной очистки конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом от примесей и получения, таким образом, очищенной третьей смеси конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом, которая содержит уменьшенное количество примесей, по сравнению с очищенной второй смесью.

4. Способ по п. 3, отличающийся тем, что стадию (b) последовательно повторяют два, три или четыре раза до осуществления стадии (с).

5. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что на стадии (с) используют адсорбционную хроматографию.

6. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что адсорбционная хроматография выбрана из группы, состоящей из гидроксипатитовой хроматографии, гидрофобной хроматографии с индукцией заряда (НСІС), хроматографии гидрофобного взаимодействия (НС), ионообменной хроматографии, ионообменной хроматографии смешанного типа, металл-аффинной хроматографии (ІМАС), хроматографии с лигандами-красителями, аффинной хроматографии, обращенно-фазовой хроматографии и их комбинаций.

7. Способ по п. 6, отличающийся тем, что адсорбционная хроматография представляет собой ионообменную хроматографию.

8. Способ по п. 7, отличающийся тем, что ионообменная хроматография представляет собой хроматографию на керамическом гидроксипатите (СНТ).

9. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что на стадии (с) используют тангенциальную поточную фильтрацию.

10. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что приведение в контакт на стадии (а) осуществляют путем подачи в реакционный сосуд клеточносвязывающего агента, добавления в реакционный сосуд цитотоксического агента с получением первой смеси, содержащей клеточносвязывающий агент и цитотоксический агент, а затем добавления к первой смеси бифункционального сшивающего реагента.

11. Способ по п. 3 или 4, дополнительно включающий выдерживание смеси между стадиями а-б или стадиями б-с для высвобождения нестабильно связанных линкеров из клеточносвязывающего агента.

12. Способ по п. 11, отличающийся тем, что смесь выдерживают в течение около 20 часов при температуре от около 2°С до около 8°С.

13. Способ по п. 3 или 4, дополнительно включающий заглушение второй смеси между стадиями (а)-(b) для полного погашения непрореагировавшего цитотоксического агента и/или непрореагировавшего бифункционального сшивающего реагента.

14. Способ по п. 13, отличающийся тем, что смесь заглушают приведением в контакт второй смеси с гасящим реагентом, который реагирует со свободным цитотоксическим агентом.

15. Способ по п. 14, отличающийся тем, что гасящий реагент выбран из группы, состоящей из 4-малеимидомасляной кислоты, 3-малеимидопропионовой кислоты, N-этилмалеимида, йодацетамида и йодацетамидопропионовой кислоты.

16. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что способ включает стадии:

(а) приведения в контакт клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом с получением первой смеси, содержащей клеточносвязывающий агент и цитотоксический агент, затем приведения в контакт первой смеси с бифункциональным сшивающим реагентом, содержащим линкер, в растворе, имеющем рН от около 4 до около 9, с получением второй смеси, содержащей конъюгат клеточносвязывающего агента с

цитотоксическим агентом, который содержит клеточносвязывающий агент, химически связанный через линкер с цитотоксическим агентом, и одну или более примесей;

(b) приведения в контакт смеси с ионообменной хроматографической мембраной для удаления из смеси по меньшей мере части примесей с получением, таким образом, очищенной второй смеси конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом;

(c) заглушения очищенной второй смеси после осуществления стадии (b) для полного погашения непрореагировавшего цитотоксического агента и/или непрореагировавшего бифункционального сшивающего реагента;

(d) приведения в контакт заглушенной смеси после осуществления стадии (c) с ионообменной хроматографической мембраной для удаления из смеси по меньшей мере части примесей с получением, таким образом, очищенной третьей смеси конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом;

(e) выдерживания очищенной третьей смеси для высвобождения нестабильно связанных линкеров из клеточносвязывающего агента;

(f) приведения в контакт очищенной третьей смеси после осуществления стадии (e) с ионообменной хроматографической мембраной для удаления из смеси по меньшей мере части примесей с получением, таким образом, очищенной четвертой смеси конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом; и

(g) обработки очищенной четвертой смеси после осуществления стадии (f), используя методы тангенциальной поточной фильтрации, селективного осаждения, неадсорбционной хроматографии, адсорбционной фильтрации, адсорбционной хроматографии или их комбинации, для дополнительной очистки конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом от примесей и получения, таким образом, очищенной третьей смеси конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом, которая содержит уменьшенное количество примесей, по сравнению с очищенной второй смесью.

17. Способ по п. 16, отличающийся тем, что на стадии (g) используют тангенциальную поточную фильтрацию.

18. Способ по п. 1, отличающийся тем, что способ включает стадии:

(a) приведения в контакт клеточносвязывающего агента с бифункциональным сшивающим реагентом для ковалентного присоединения линкера к клеточносвязывающему агенту и получения, таким образом, первой смеси, содержащей клеточносвязывающие агенты, имеющие связанные с ними линкеры,

(b) обработки первой смеси, используя методы тангенциальной поточной фильтрации, селективного осаждения, неадсорбционной хроматографии, адсорбционной фильтрации, адсорбционной хроматографии или их комбинации и получения, таким образом, очищенной первой смеси клеточносвязывающих агентов, имеющих связанные с ними линкеры,

(c) конъюгации цитотоксического агента с клеточносвязывающими агентами, имеющими связанные с ними линкеры, в очищенной первой смеси путем приведения в контакт клеточносвязывающих агентов, имеющих связанные с ними линкеры, с цитотоксическим агентом в растворе, имеющем рН от около 4 до около 9, с получением второй смеси, содержащей конъюгат клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом, который содержит клеточносвязывающий агент, химически связанный с цитотоксическим агентом через линкер, и одну или более примесей,

(d) приведения в контакт смеси с ионообменной хроматографической мембраной для удаления по меньшей мере части примесей с получением, таким образом, очищенной второй смеси конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом;

и

(е) обработки очищенной второй смеси после осуществления стадии (d), используя методы тангенциальной поточной фильтрации, селективного осаждения, неадсорбционной хроматографии, адсорбционной фильтрации, адсорбционной хроматографии или их комбинации, для дополнительной очистки конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом от примесей и получения, таким образом, очищенной третьей смеси конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом, которая содержит уменьшенное количество примесей, по сравнению с очищенной второй смесью.

19. Способ по п. 18, отличающийся тем, что стадию (d) последовательно повторяют два, три или четыре раза до осуществления стадии (е).

20. Способ по п. 18 или 19, отличающийся тем, что на стадиях (b) и (d) используют адсорбционную хроматографию.

21. Способ по п. 18 или 19, отличающийся тем, что на стадии (b) используют тангенциальную поточную фильтрацию, а на стадии (d) используют адсорбционную хроматографию.

22. Способ по п. 18 или 19, отличающийся тем, что на стадии (b) используют адсорбционную хроматографию, а на стадии (d) используют тангенциальную поточную фильтрацию.

23. Способ по п. 18 или 19, отличающийся тем, что адсорбционная хроматография выбрана из группы, состоящей из гидроксипатитовой хроматографии, гидрофобной хроматографии с индукцией заряда (НСIC), хроматографии гидрофобного взаимодействия (НС), ионообменной хроматографии, ионообменной хроматографии смешанного типа, металл-аффинной хроматографии (ИМАС), хроматографии с лигандами-красителями, аффинной хроматографии, обращенно-фазовой хроматографии и их комбинаций.

24. Способ по п. 23, отличающийся тем, что адсорбционная хроматография представляет собой ионообменную хроматографию.

25. Способ по п. 24, отличающийся тем, что ионообменная хроматография представляет собой хроматографию на керамическом гидроксипатите (СНТ).

26. Способ по п. 18 или 19, отличающийся тем, что на стадиях (b) и (d) используют тангенциальную поточную фильтрацию.

27. Способ по п. 18 или 19, отличающийся тем, что на стадиях (b) и (d) используют неадсорбционную хроматографию.

28. Способ по п. 18 или 19, отличающийся тем, что раствор на стадии (c) содержит сахарозу.

29. Способ по п. 18 или 19, отличающийся тем, что раствор на стадии (c) содержит буферный агент, выбранный из группы, состоящей из цитратного буфера, ацетатного буфера, сукцинатного буфера и фосфатного буфера.

30. Способ по п. 18 или 19, отличающийся тем, что раствор на стадии (c) содержит буферный агент, выбранный из группы, состоящей из HEPPSO (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(2-гидроксипропансульфоновой кислоты)), POPSO (пиперазин-1,4-бис-(2-гидроксипропансульфоновой кислоты) дегидрата), HEPES (4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-этансульфоновой кислоты), HEPPS (EPPS) (4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-пропансульфоновой кислоты), TES (N-[трис(гидроксиэтил)метил]-2-аминоэтансульфоновой кислоты) и их комбинаций.

31. Способ по п. 18 или 19, дополнительно включающий стадию:

(f) по меньшей мере одного выдерживания смеси между осуществлением стадий a-b, стадий b-c, стадий c-d и стадий d-e для высвобождения нестабильно связанных линкеров из клеточносвязывающего агента.

32. Способ по п. 1, отличающийся тем, что способ включает стадии:

(а) приведения в контакт клеточносвязывающего агента с бифункциональным сшивающим реагентом для ковалентного присоединения линкера к клеточносвязывающему агенту и получения, таким образом, первой смеси, содержащей клеточносвязывающие агенты, имеющие связанные с ними линкеры,

(b) конъюгации цитотоксического агента с клеточносвязывающими агентами, имеющими связанные с ними линкеры, в первой смеси путем приведения в контакт клеточносвязывающих агентов, имеющих связанные с ними линкеры, с цитотоксическим агентом с получением второй смеси, содержащей конъюгат клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом, который содержит клеточносвязывающий агент, химически связанный через линкер с цитотоксическим агентом, и одну или более примесей,

(с) приведения второй смеси в контакт с ионообменной хроматографической мембраной для удаления по меньшей мере части примесей с получением, таким образом, очищенной второй смеси конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом; и

(d) обработки очищенной второй смеси после осуществления стадии (с), используя методы тангенциальной поточной фильтрации, селективного осаждения, неадсорбционной хроматографии, адсорбционной фильтрации, адсорбционной хроматографии или их комбинации, для дополнительной очистки конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом от примесей и получения, таким образом, очищенной третьей смеси конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом, которая содержит уменьшенное количество примесей, по сравнению с очищенной второй смесью.

33. Способ по п. 32, отличающийся тем, что первую смесь не подвергают очистке между осуществлением стадии (а) и (b).

34. Способ по п. 32 или 33, отличающийся тем, что стадию (с) последовательно повторяют два, три или четыре раза до осуществления стадии (d).

35. Способ по п. 32 или 33, отличающийся тем, что на стадии (d) используют адсорбционную хроматографию.

36. Способ по п. 35, отличающийся тем, что адсорбционная хроматография выбрана из группы, состоящей из гидроксиапатитовой хроматографии, гидрофобной хроматографии с индукцией заряда (НСІС), хроматографии гидрофобного взаимодействия (НС), ионообменной хроматографии, ионообменной хроматографии смешанного типа, металл-афинной хроматографии (ІМАС), хроматографии с лигандами-красителями, аффинной хроматографии, обращенно-фазовой хроматографии и их комбинаций.

37. Способ по п. 36, отличающийся тем, что адсорбционная хроматография представляет собой ионообменную хроматографию.

38. Способ по п. 37, отличающийся тем, что ионообменная хроматография представляет собой хроматографию на керамическом гидроксиапатите (СНТ).

39. Способ по п. 32 или 33, отличающийся тем, что на стадии (d) используют тангенциальную поточную фильтрацию.

40. Способ по п. 32 или 33, отличающийся тем, что на стадии (d) используют неадсорбционную хроматографию.

41. Способ по п. 32 или 33, отличающийся тем, что раствор на стадии (b) содержит сахарозу.

42. Способ по п. 32 или 33, отличающийся тем, что раствор на стадии (b) содержит буферный агент, выбранный из группы, состоящей из цитратного буфера, ацетатного буфера, сукцинатного буфера и фосфатного буфера.

43. Способ по п. 32 или 33, отличающийся тем, что раствор на стадии (b) содержит

буферный агент, выбранный из группы, состоящей из HEPPSO (N-(2-гидроксиэтил) пиперазин-N'-(2-гидроксипропансульфоновой кислоты)), POPSO (пиперазин-1,4-бис-(2-гидрокси-пропан-сульфоновой кислоты) дегидрата), HEPES (4-(2-гидроксиэтил) пиперазин-1-этансульфоновой кислоты), HEPPS (EPPS) (4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-пропансульфоновой кислоты), TES (N-[трис(гидроксиметил)метил]-2-аминоэтансульфоновой кислоты) и их комбинаций.

44. Способ по п. 32 или 33, дополнительно включающий стадию:

(е) по меньшей мере одного выдерживания смеси между осуществлением стадий а-в, стадий b-c и стадий c-d для высвобождения нестабильно связанных линкеров из клеточносвязывающего агента.

45. Способ по п. 1, отличающийся тем, что одна или более примесей выбраны из группы димеров цитотоксического агента, агрегатов конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом, свободного цитотоксического агента, неконъюгированного линкера и их смесей.

46. Способ по п. 45, отличающийся тем, что в качестве примеси смесь содержит димеры цитотоксического агента, и из смеси удаляют некоторую часть димеров цитотоксического агента с получением очищенного конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом.

47. Способ по п. 46, отличающийся тем, что димер цитотоксического агента содержит DM1-DM1.

48. Способ по п. 46, отличающийся тем, что димер цитотоксического агента содержит DM1-MCC-DM1.

49. Способ по п. 46, отличающийся тем, что димер цитотоксического агента содержит DM1-DM1 и DM1-MCC-DM1.

50. Способ по п. 45, отличающийся тем, что в качестве примеси смесь содержит агрегаты конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом, и из смеси удаляют некоторую часть агрегатов конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом с получением очищенного конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом.

51. Способ по п. 45, отличающийся тем, что в качестве примеси смесь содержит свободный цитотоксический агент, и из смеси удаляют некоторую часть свободного цитотоксического агента с получением очищенного конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом.

52. Способ по п. 45, отличающийся тем, что в качестве примеси смесь содержит неконъюгированный линкер, и из смеси удаляют некоторую часть неконъюгированного линкера с получением очищенного конъюгата клеточносвязывающего агента с цитотоксическим агентом.

53. Способ по п. 1, отличающийся тем, что рН смеси, которую приводят в контакт с ионообменной хроматографической мембраной, составляет от около 4 до около 9.

54. Способ по п. 53, отличающийся тем, что рН смеси составляет от около 7 до около 8.

55. Способ по п. 54, отличающийся тем, что рН смеси составляет от около 7,3 до около 7,7.

56. Способ по п. 55, отличающийся тем, что рН смеси составляет около 7,5.

57. Способ по п. 53, отличающийся тем, что рН смеси составляет от около 4,5 до около 5,5.

58. Способ по п. 57, отличающийся тем, что рН смеси составляет около 4,8 или около 5.

59. Способ по п. 1, отличающийся тем, что из смеси удаляют по меньшей мере 50% одной или более примесей.

60. Способ по п. 1, отличающийся тем, что из смеси удаляют по меньшей мере 75% одной или более примесей.

61. Способ по п. 1, отличающийся тем, что из смеси удаляют по меньшей мере 90% одной или более примесей.

62. Способ по п. 1, отличающийся тем, что ионообменная хроматографическая мембрана представляет собой анионообменную мембрану.

63. Способ по п. 62, отличающийся тем, что анионообменная мембрана представляет собой мембрану Q.

64. Способ по п. 1, отличающийся тем, что ионообменная хроматографическая мембрана представляет собой катионообменную мембрану.

65. Способ по п. 64, отличающийся тем, что катионообменная мембрана представляет собой мембрану S.

66. Способ по п. 1, отличающийся тем, что ионообменная хроматографическая мембрана представляет собой обменную мембрану для удаления эндотоксина.

67. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что приведение в контакт на стадии (а) происходит в растворе, имеющем рН от около 7 до около 9.

68. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что раствор на стадии (а) содержит буферный агент, выбранный из группы, состоящей из нитратного буфера, ацетатного буфера, сукцинатного буфера и фосфатного буфера.

69. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что раствор на стадии (а) содержит буферный агент, выбранный из группы, состоящей из HEPPSO (N-(2-гидроксиэтил)пиперазин-N'-(2-гидроксипропансульфоновой кислоты)), POPSO (пиперазин-1,4-бис-(2-гидрокси-пропан-сульфоновой кислоты) дегидрата), HEPES (4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-этансульфоновой кислоты), HEPPS (EPPS) (4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-пропансульфоновой кислоты), TES (N-[трис(гидроксиметил)метил]-2-аминоэтансульфоновой кислоты) и их комбинаций.

70. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что приведение в контакт на стадии (а) происходит при температуре от около 16°C до около 24°C.

71. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что приведение в контакт на стадии (а) происходит при температуре от около 0°C до около 15°C.

72. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что бифункциональный сшивающий реагент представляет собой кислотонеустойчивый линкер, дисульфид-содержащий линкер, фотолабильный линкер, пептидаза-лабильный линкер или эстераза-лабильный линкер.

73. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что бифункциональный сшивающий реагент представляет собой дисульфид-содержащий расщепляемый линкер.

74. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что бифункциональный сшивающий реагент представляет собой нерасщепляемый линкер.

75. Способ по п. 3 или 4, отличающийся тем, что бифункциональный сшивающий реагент содержит фрагмент N-сукцинимидилового эфира, фрагмент N-сульфосукцинимидилового эфира, малеимидный фрагмент или галогенацетильный фрагмент.

76. Способ по п. 73, отличающийся тем, что бифункциональный сшивающий реагент выбран из группы, состоящей из N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитио)пропионата (SPDP), N-сукцинимидил-4-(2-пиридилдитио)бутаноата (SPDB), N-сукцинимидил-4-(2-пиридилдитио)пентаноата (SPP) и N-сукцинимидил-4-(2-пиридилдитио)-2-сульфобутаноата (сульфо-SPDB).

77. Способ по п. 74, отличающийся тем, что бифункциональный сшивающий реагент выбран из группы, состоящей из N-сукцинимидил-4-(малеимидометил)циклогексанкарбоксилата (SMCC), N-сукцинимидил-4-(N-малеимидометил)-циклогексан-

1-карбоксо-(6-амидокапроата) (LC-SMCC), N-сукцинимидилового эфира κ -малеимидоундекановой кислоты (KMUA), N-сукцинимидилового эфира γ -малеимидомасляной кислоты (GMBS), β -малеимидопропилокси-сукцинимидилового эфира (BMPS), N-гидроксисукцинимидного эфира ϵ -малеимидокапроновой кислоты (EMCS), м-малеимидобензоил-N-гидроксисукцинимидного эфира (MBS), N-(α -малеимидоацетокси)-сукцинимидного эфира (AMAS), сукцинимидил-6-(β -малеимидопропионамидо)гексаноата (SMPH), N-сукцинимидил-4-(п-малеимидофенил)-бутирата (SMPB) и N-(п-малеимидофенил)изоцианата (PMPI), сульфо-Mal, ПЭГ₄-Mal и CX1-1.

78. Способ по п. 1, отличающийся тем, что клеточносвязывающий агент выбран из группы, состоящей из антител, интерферонов, интерлейкина 2 (IL-2), интерлейкина 3 (IL-3), интерлейкина 4 (IL-4), интерлейкина 6 (IL-6), инсулина, EGF, TGF- α , FGF, G-CSF, VEGF, MCSF, GM-CSF и трансферрина.

79. Способ по п. 78, отличающийся тем, что клеточносвязывающий агент представляет собой антитело.

80. Способ по п. 79, отличающийся тем, что антитело представляет собой моноклональное антитело.

81. Способ по п. 80, отличающийся тем, что антитело представляет собой гуманизированное моноклональное антитело.

82. Способ по п. 78, отличающийся тем, что клеточносвязывающий агент представляет собой антитело, выбранное из группы, состоящей из huB4, huC242, трастузумаба, биватузумаба, сибротузумаба, huDS6, ритуксимаба, анти-CD33 антитела, анти-CD27L антитела, анти-Her2 антитела, анти-EGFR антитела, анти-EGFRvIII антитела, Cripto, анти-CD138 антитела, анти-CD38 антитела, анти-EphA2 антитела, интегрин-направленного антитела, анти-CD37 антитела, антитела антифолатного рецептора, анти-Her3 антитела, антитела B-B4 и анти-IGFIR антитела.

83. Способ по п. 1, отличающийся тем, что цитотоксический агент выбран из группы, состоящей из майтанзиноидов, таксанов и CC1065.

84. Способ по п. 83, отличающийся тем, что цитотоксический агент представляет собой майтанзиноид.

85. Способ по п. 84, отличающийся тем, что майтанзиноид содержит группу тиола.

86. Способ по п. 85, отличающийся тем, что майтанзиноид представляет собой N^{2'}-дезацетил-N^{2'}-(3-меркапто-1-оксопропил)-майтанзин (DM1) или N^{2'}-дезацетил-N^{2'}-(4-метил-4-меркапто-1-оксопентил)-майтанзин (DM4).

87. Способ по п. 1, отличающийся тем, что цитотоксический агент представляет собой DM1, бифункциональный сшивающий агент представляет собой SMCC, а клеточносвязывающий агент представляет собой антитело huCD37-3.

88. Способ по п. 1, отличающийся тем, что цитотоксический агент представляет собой DM1, бифункциональный сшивающий агент представляет собой SMCC, а клеточносвязывающий агент представляет собой антитело EGFR-7R.

89. Способ по п. 1, отличающийся тем, что цитотоксический агент представляет собой DM1, бифункциональный сшивающий агент представляет собой SMCC, а клеточносвязывающий агент представляет собой анти-EGFRvIII антитело.

90. Способ по п. 1, отличающийся тем, что цитотоксический агент представляет собой DM1, бифункциональный сшивающий агент представляет собой SMCC, а клеточносвязывающий агент представляет собой анти-CD27L антитело.

91. Способ по п. 1, отличающийся тем, что цитотоксический агент представляет собой DM1, бифункциональный сшивающий агент представляет собой SMCC, а клеточносвязывающий агент представляет собой трастузумаб.