



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 122022020762-6 A2

(22) Data do Depósito: 02/04/2021

(43) Data da Publicação Nacional:
14/02/2023

(54) **Título:** CONJUGADOS DE ANTICORPO-FÁRMACO COMPREENDENDO AGONISTAS DE STING, SEU USO E COMPOSIÇÃO

(51) **Int. Cl.:** A61K 47/68; A61P 35/00.

(30) **Prioridade Unionista:** 02/04/2020 US 63/004,108; 10/11/2020 US 63/111,820; 18/06/2020 US 63/040,755.

(71) **Depositante(es):** MERSANA THERAPEUTICS, INC..

(72) **Inventor(es):** JEREMY R. DUVALL; KEITH W. BENTLEY; RAGHIDA A. BUKHALID; NANIYE CETINBAS; MARC I. DAMELIN; EUGENE W. KELLEHER; TIMOTHY B. LOWINGER; JOSHUA D. THOMAS; DORIN TOADER; LING XU; LIPING YANG.

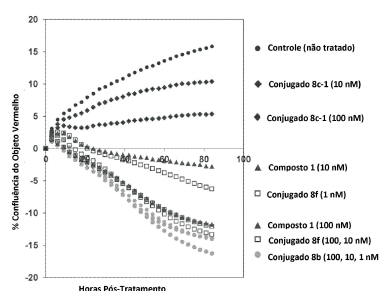
(86) **Pedido PCT:** PCT US2021025556 de 02/04/2021

(87) **Publicação PCT:** WO 2021/202984 de 07/10/2021

(85) **Data da Fase Nacional:** 13/10/2022

(62) **Pedido original do dividido:** BR112022019919-8 - 02/04/2021

(57) **Resumo:** CONJUGADOS DE ANTICORPO-FÁRMACO COMPREENDENDO AGONISTAS DE STING, SEU USO E COMPOSIÇÃO. A presente invenção refere-se a arcabouços e conjugados de anticorpo-fármaco (ADCs) que compreendem um estimulador de genes de interferon (STING). A presente invenção também se refere ao uso dos ADCs em tratamento, por exemplo, tratamento de câncer.



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para **"CONJUGADOS DE ANTICORPO-FÁRMACO COMPREENDENDO AGONISTAS DE STING, SEU USO E COMPOSIÇÃO"**.

Dividido do BR112022019919-8 depositado em 02.04.2021.

PEDIDOS RELACIONADOS

[001] Este pedido reivindica prioridade e benefício do Pedido Provisório U.S. Nº 63/004.108 depositado em 2 de abril de 2020, Pedido Provisório U.S. Nº 63/040.755 depositado em 18 de junho de 2020 e Pedido Provisório U.S. nº 63/111.820 depositado em 10 de novembro de 2020. O conteúdo de cada um desses pedidos está aqui incorporado por referência em sua totalidade.

INCORPORAÇÃO POR REFERÊNCIA DA LISTAGEM DE SEQUÊNCIAS

[002] O conteúdo do arquivo de texto denominado "MRSN-033_001WO_SeqList.txt", que foi criado em 31 de março de 2021 e tem 49 KB de tamanho, está incorporado por referência em sua totalidade.

ANTECEDENTES

[003] O estimulador de genes de interferon (STING) é um receptor no retículo endoplasmático que propaga a detecção imune inata do DNA derivado de patógenos e auto-DNA citossólicos. STING é uma proteína com 378 aminoácidos, que contém principalmente três domínios estruturais: (i) domínio transmembrana N-terminal (aa 1-154); (ii) domínio globular central (aa 155-341); e (iii) cauda C-terminal (aa 342-379). STING pode formar dímeros simétricos combinados com seus ligantes na conformação em forma de V, embora não cubra completamente os ligantes ligados. Um agonista de STING pode se ligar à região do bolso de STING. No entanto, o processo de ativação de STING é facilmente inibido em algumas condições graves de doença, resultando na inativação da via de STING. Portanto, o rastreamento e o

projeto de agonistas potentes de STING são de grande importância para a terapia imunológica do câncer e outros tratamentos de doenças infecciosas, incluindo, mas não limitadas a obesidade, lesão hepática, metabolismo de açúcar-lipídeo e infecção por vírus. O direcionamento específico das vias imunes apresenta oportunidades para a terapia do câncer, oferecendo potencialmente maior especificidade do que as abordagens terapêuticas baseadas na população de células.

[004] Os conjugados de anticorpo-fármaco (ADCs) são constituídos por um fármaco como uma molécula pequena, ligada covalentemente a um anticorpo. O anticorpo representa um mecanismo de direcionamento ajustado para um sítio de ação específico. Ao atingir o sítio, o ADC é projetado para liberar uma molécula pequena, o fármaco, permitindo que ele desempenhe sua função projetada de maneira direcionada, em vez de se difundir sistemicamente por todo o corpo do indivíduo. Essa abordagem direcionada permite o tratamento com fármacos que, de outra forma, exigiriam doses tão altas a ponto de serem tóxicos quando administrados sistemicamente.

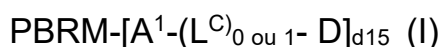
[005] Uma característica fundamental do sistema imunológico inato é o reconhecimento e eliminação de substâncias estranhas. A identificação desses invasores patogênicos ocorre através do reconhecimento do hospedeiro de estruturas microbianas evolutivamente conservadas conhecidas como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs). O reconhecimento pelo hospedeiro pode ocorrer por várias vias, tais como a ativação de receptores de reconhecimento de padrões (PRRs), que em última análise levam a eventos de sinalização a jusante e culminam na montagem de uma resposta imune.

[006] Os conjugados de anticorpo-fármaco desta descrição modulam a atividade de STING e, conseqüentemente, podem fornecer um impacto terapêutico benéfico no tratamento de doenças, distúrbios e/ou condições em que a modulação de STING (Estimulador de Genes

de Interferon) é benéfica, incluindo, mas não limitada a inflamação, doenças alérgicas e autoimunes, doenças infecciosas, câncer, síndromes pré-cancerosas e como adjuvantes de vacinas. Permanece a necessidade de novas imunoterapias para o tratamento de doenças, em particular o câncer.

SUMÁRIO

[007] Em alguns aspectos, a presente descrição fornece um conjugado de Fórmula (I):



ou um sal farmaceuticamente aceitável ou solvato, em que:

PBRM denota uma molécula de reconhecimento baseada em proteína;

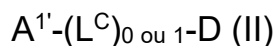
L^{C} , quando presente, é uma unidade de ligação;

A^1 é uma porção de ligante divalente que conecta o PBRM a L^{C} quando L^{C} está presente, ou a D quando L^{C} está ausente;

D é uma porção de fármaco agonista de STING; e

d15 é um número inteiro que varia entre cerca de 1 a cerca de 20.

[008] Em alguns aspectos, a presente descrição fornece um arcabouço útil para conjugar com uma PBRM, em que o arcabouço é da Fórmula (II):



ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, em que:

PBRM denota uma molécula de reconhecimento baseada em proteína;

L^{C} , quando presente, é uma unidade de ligação;

$\text{A}^{1'}$ é uma porção de ligante monovalente que compreende um grupo funcional capaz de formar uma ligação covalente com um grupo funcional de PBRM;

D é uma porção de fármaco agonista de STING; e

d15 é um número inteiro que varia entre cerca de 1 a cerca de 20.

[009] Em alguns aspectos, a presente descrição fornece uma composição farmacêutica que compreende um conjugado aqui descrito e um ou mais veículos ou excipientes farmaceuticamente aceitáveis.

[0010] Em alguns aspectos, a presente descrição fornece um método para ativar ou intensificar uma atividade de um estimulador de genes de interferon (STING) em um indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo um conjugado aqui descrito ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[0011] Em alguns aspectos, a presente descrição fornece um método de prevenção ou tratamento de uma doença ou distúrbio em um indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um conjugado aqui descrito ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[0012] Em alguns aspectos, a presente descrição fornece um conjugado aqui descrito, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, para ativar ou intensificar uma atividade de STING em um indivíduo.

[0013] Em alguns aspectos, a presente descrição fornece um conjugado aqui descrito, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, para prevenir ou tratar uma doença ou distúrbio em um indivíduo.

[0014] Em alguns aspectos, a presente descrição fornece um uso de um conjugado aqui descrito, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, na fabricação de um medicamento para ativar ou intensificar uma atividade de STING em um indivíduo.

[0015] Em alguns aspectos, a presente descrição fornece um uso de um conjugado aqui descrito, ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, na fabricação de um medicamento para prevenir ou tratar uma doença ou distúrbio em um indivíduo.

[0016] A menos que definido de outra forma, todos os termos técnicos e científicos usados aqui têm o mesmo significado comumente entendido por aquele versado na técnica à qual esta descrição pertence. No pedido, as formas no singular também incluem o plural, a menos que o contexto indique claramente o contrário. Embora métodos e materiais semelhantes ou equivalentes aos descritos aqui possam ser usados na prática ou teste da presente descrição, métodos e materiais adequados estão descritos abaixo. Todas as publicações, pedidos de patentes, patentes e outras referências aqui mencionadas estão incorporadas por referência. As referências aqui citadas não são admitidas como técnica anterior à invenção reivindicada. Em caso de conflito, prevalecerá o presente pedido, incluindo as definições. Além disso, os materiais, métodos e exemplos são apenas ilustrativos e não se destinam a ser limitantes. No caso de conflito entre as estruturas químicas e os nomes dos compostos aqui descritos, as estruturas químicas prevalecerão.

[0017] Outras características e vantagens da descrição ficarão evidentes a partir da seguinte descrição detalhada e das reivindicações.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

[0018] A **FIG. 1A** representa em gráfico a confluência do objeto vermelho em função do tempo para o Conjugado **8b-1** e o Conjugado **8f** (cada um em 100, 10, e 1 nM) e Conjugado **8c-1** e Composto **1** (cada um a 100 e 10 nM) (as concentrações de conjugado foram baseadas na carga útil).

[0019] A **FIG. 1B** representa em gráfico a confluência do objeto vermelho em função do tempo para o Conjugado **8l** e Composto **1** (cada um a 100, 10 e 1 nM) e Conjugado **8m** (100 nM) (as concentrações do conjugado foram baseadas na carga útil).

[0020] A **FIG. 2** mostra células CD14-/CD3+ em PBMCs, monócitos

tos enriquecidos e populações de monócitos depletadas em CD16.

[0021] A **FIG. 3A** e **FIG. 3B** representa em gráfico a confluência do objeto vermelho em função do tempo e mostra a morte de células SKBR3 NucRed STING de tipo selvagem (sgNT-2) e knockout (sg#3-2) respectivamente por PBMCs para o Conjugado **8a-3**, Conjugado **8j**, Conjugado **8c-2** e Composto **1**, cada um a 100, 25, 5 e 1 nM (as concentrações de conjugado foram baseadas na carga útil).

[0022] A **FIG. 4A** representa em gráfico a confluência do objeto vermelho como uma função da resposta à dose do Conjugado **8a-3**, Conjugado **8-j**, Trastuzumabe Fc do tipo selvagem e Trastuzumabe AAG Fc mutante quanto a atividade de morte de células de câncer SKBR3 do tipo selvagem knockout para STING em co-culturas de células de câncer SKBR3/PBMC.

[0023] A **FIG. 4B** representa em gráfico a confluência do objeto vermelho em função da resposta à dose do Conjugado **8a-3**, Conjugado **8-j**, Trastuzumabe Fc de tipo selvagem e Trastuzumabe AAG Fc mutante quanto a atividade de morte de células de câncer SKBR3 knockout para STING em co-culturas de células de câncer SKBR3/PBMC.

[0024] A **FIG. 5A** representa em gráfico a mudança da confluência do objeto vermelho de células de câncer OVCAR3-NucRed em função do tempo por PBMCs para o Conjugado **8b-1** e Composto **1**, ambos a 20 e 4 nM (concentração de conjugado com base na concentração de carga útil).

[0025] A **FIG. 5B** representa em gráfico a mudança da confluência do objeto vermelho de células de câncer OVCAR3-NucRed em função do tempo por monócitos enriquecidos quanto ao Conjugado **8b-1** e Composto **1**, ambos a 20 e 4 nM (concentração de conjugado com base na concentração de carga útil).

[0026] A **FIG. 5C** representa em gráfico a mudança da confluência

do objeto vermelho de células de câncer OVCAR3-NucRed em função do tempo por monócitos depletados de CD16 para Conjugado **8b-1** e Composto **1**, ambos a 20 e 4 nM (concentração de conjugado com base na concentração de carga útil).

[0027] A **FIG. 6** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor de Trastuzumabe (3/0 mg/kg), agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg), Conjugado **8c-1** (1/0,04 mg/kg ou 3/0,12 mg/kg), Conjugado **8a-1** (1/0,03 mg/kg ou 3/0,09 mg/kg) (todas as doses são dadas por anticorpo/carga útil) em um modelo de xenoenxerto SKOV3 em camundongo.

[0028] **FIGS. 7A-7H** mostram níveis de citocinas para CXCL-10 de murino (IP-10; **FIG. 7A**), IL-6 (**FIG. 7B**), TNF α (**FIG. 7C**), IFN γ (**FIG. 7D**), CXCL1 (KC) (**FIG. 7E**), MIG (**FIG. 7F**), MIP-1a (**FIG. 7G**) e RANTES (**FIG. 7H**) em função do tempo após a administração do agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg), Conjugado **8c-1** (3/0,12 mg/kg) ou Conjugado **8a-1** (3/0,09 mg/kg) (todas as doses são escritas como anticorpo/carga útil) em um modelo de camundongo SKOV3. As inserções em cada gráfico mostram os níveis de citocinas induzidos pelo Conjugado **8a-1** e Conjugado **8c-1** em relação ao veículo.

[0029] **FIGS. 8A-8C** mostram os níveis de mRNA de CXCL10 (**FIG. 8A**), Interferon- β (**FIG. 8B**) e IL-6 (**FIG. 8C**) em um modelo de xenoenxerto de SKOV3 em camundongo em 12 h e 72 h após a administração de Conjugado **8c-1** (3/0,12 mg/kg), Conjugado **8a-1** (3/0,09 mg/kg), Conjugado **8c-1** (3/0,12 mg/kg) ou Conjugado **8a-1** (3/0,09 mg/kg) (todas as doses são escritas como anticorpo/carga útil).

[0030] A **FIG. 9** é a coloração imuno-histoquímica (IHC) de CD45 com anticorpo monoclonal anti-CD45 de coelho em 12 e 72 horas para o Conjugado **8a-1** (3/0,09 mg/kg), Conjugado **8c-1** (3/0,12 mg/kg) ou veículo.

[0031] A **FIG. 10** é um gráfico que mostra as concentrações plas-

máticas circulantes do anticorpo total e do fármaco conjugado após a administração do Conjugado **8a-1** (3/0,1 mg/kg) (a dose é dada como anticorpo/carga útil) a camundongos CB.17 SCID.

[0032] A **FIG. 11** mostra o efeito de anticorpos neutralizantes de IFN λ 1 (IL29) ou IFN λ 2 (IL28A) (10, 2, 0,4, 0,08 μ g/mL) na atividade de morte do Conjugado **8a-3** (1 nM ou 0,1 nM, com base na carga útil) em células de câncer e co-culturas de PBMC.

[0033] **FIG. 12** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor do agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg), Conjugado **8c-1** (3/0,12 mg/kg), Conjugado **8b-1** (3/0,09 mg/kg) ou Conjugado **8f** (3/0,12 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) em um xenoenxerto de OVCAR3 em camundongo.

[0034] **FIG. 13** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor do Conjugado **8d-2** (3/0,1 mg/kg) ou Conjugado **8e** (3/0,1 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) em um xenoenxerto de OVCAR3 em camundongo.

[0035] **FIG. 14** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor do agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg), Conjugado **8c-1** (1/0,04 mg/kg) ou Conjugado **8h** (1/0,04 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) em um xenoenxerto de cancer de mama triplo negativo em camundongo.

[0036] **FIG. 15A** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor do Conjugado **8d-3** (1/0,04 mg/kg) ou Conjugado **8g** (0,88/0,04 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) em um modelo de câncer de cólon em camundongo singênico.

[0037] **FIG. 15B** mostra as curvas de sobrevida de Kaplan Meier para o Conjugado **8d-3** (1/0,04 mg/kg) ou Conjugado **8g** (0,88/0,04 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) em um modelo de câncer de cólon camundongo singênico.

[0038] **FIG. 16A** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor do

Conjugado **8g** (0,9/0,04 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) para os camundongos individuais em um modelo de câncer de cólon camundongo singênico.

[0039] **FIG. 16B** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor Conjugado **8g** (0,9/0,04 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) quando inoculados novamente com células de câncer de cólon de murino singênico.

[0040] **FIG. 16C** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor do Conjugado **8g** (0,9/0,04 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) quando inoculados novamente com células de câncer de pulmão de murino singênico.

[0041] **FIG. 17** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor do agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg) Conjugado **8d-3** (5,5/0,18 mg/kg) ou Conjugado **8i** (3,2/0,18 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) em um modelo de câncer embrionário de murino singênico.

[0042] **FIG. 18** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor do Conjugado **20a** (3/0,09 mg/kg), Conjugado **34a** (3/0,11 mg/kg), Conjugado **34** (3/0,11 mg/kg), ou Conjugado **20-1** (3/0,10 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) em um xenoenxerto de SKOV3 em camundongo.

[0043] **FIG. 19** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor do Conjugado **28** (0,3/0,01 mg/kg or 1/0,03 mg/kg), Conjugado **29** (0,2/0,01 mg/kg or 0,8/0,02 mg/kg), Conjugado **8-2** (0,3/0,01 mg/kg or 1/0,04 mg/kg), Conjugado **25** (0,3/0,01 mg/kg or 1/0,04 mg/kg) ou Conjugado **45** (0,3/0,01 mg/kg or 1/0,04 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) em um xenoenxerto de SKOV3 em camundongo.

[0044] **FIG. 20** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor do agonista de STING diABZI (1,5 mg/kg q3dx3 ou 0,128 mg/kg qdx1),

Compound **30** (1,5 mg/kg q3dx3 ou 0,128 mg/kg qdx1), Conjugado **32b-2** (3,42/0,128 mg/kg qdx1), XMT-1519 (3,00 mg/kg qdx1), Conjugado **32-5** (0,100/0,004, 0,300/0,013, 1,00/0,042 or 3,00/0,128 mg/kg qdx1), Conjugado **32e** (1,00/0,039 ou 3,00/0,117 mg/kg qdx1)) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) em um xenoenxerto de SKOV3 em camundongo.

[0045] **FIG. 21A** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor em um modelo em camundongo singênico do Conjugado **8d-3** (1/0,04 mg/kg) ou Conjugado **8k** (0,9/0,04 mg/kg).

[0046] **FIG. 21B** mostra a eficácia antitumor em um modelo em camundongo singênico para os camundongos individuais do Conjugado **8d-3** (1/0,04 mg/kg).

[0047] **FIG. 21C** mostra a eficácia antitumor em um modelo em camundongo singênico para os camundongos individuais do Conjugado **8k** (0,9/0,04 mg/kg).

[0048] **FIG. 22** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor do Conjugado **8c-2** (3,17/0,10 mg/kg), Conjugado **8a-2** (2,7/0,10 mg/kg ou 0,81/0,03 mg/kg), Conjugado **8j** (2,71/0,10 mg/kg ou 0,81/0,03 mg/kg), ou agonista de STING diABZI IV (0/5 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) em um xenoenxerto de SKOV3 em camundongo.

[0049] **FIG. 23** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor do Conjugado **32b-1** (3,39/0,10 mg/kg), Conjugado **32a** (0,93/0,03 ou 3,12/0,10 mg/kg), Conjugado **32c** (2,12/0,10 mg/kg), Conjugado **32d** (2,20/0,10 mg/kg) ou agonista de STING diABZI IV (0/5 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil) em um xenoenxerto de OVCAR3 em camundongo.

[0050] **FIG. 24** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor da combinação de Rituximabe AF-HPA ADC (0,75/0,023 mg/kg) e Conjugado **8c-2** (4,0/0,126 mg/kg); XMT-1535 AF-HPA ADC (0,75/0,024

mg/kg); Conjugado **8b-2** (2,0/0,071 or 4,0/0,142 mg/kg); uma combinação de XMT-1535 AF-HPA ADC (0,75/0,024 mg/kg) e Conjugado **8c-2** (4,0/0,126 mg/kg); uma combinação de Rituximabe AF-HPA ADC (0,75/0,023 mg/kg) e Conjugado **8b-2** (4,0/0,142 mg/kg); uma combinação de Rituximabe AF-HPA ADC (0,75/0,023 mg/kg) e Conjugado **8b-2** (2,0/0,071 mg/kg); uma combinação de XMT-1535 AF-HPA ADC (0,75/0,024 mg/kg) e Conjugado **8b-2** (4,0/0,142 mg/kg); uma combinação de XMT-1535 AF-HPA ADC (0,75/0,024 mg/kg) e Conjugado **8b-2** (2,0/0,071 mg/kg); uma combinação de XMT-1535 AF-HPA ADC (0,75/0,024 mg/kg) e XMT-1535 (4,0/0 mg/kg); ou XMT-1535 (4,75/0 mg/kg) em um xenoenxerto de OVCAR3 em camundongo.

[0051] **FIG. 25** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor do Conjugado **32b** (0,85/0,03 mg/kg), Conjugado **32-2** (0,90/0,03 mg/kg), Conjugado **88** (0,87/0,03 mg/kg), Conjugado **85** (2,87/0,10 mg/kg), Conjugado **92** (2,36/0,10 mg/kg), Conjugado **100** (2,23/0,10 mg/kg), Conjugado **89** (0,99/0,030 mg/kg), Conjugado **85a** (2,59/0,10 mg/kg), Conjugado **93** (2,85/0,10 mg/kg), ou Conjugado **101** (2,70/0,10 mg/kg) em um modelo de xenoenxerto de SKOV3 em camundongo.

[0052] **FIG. 26** é um gráfico que mostra a eficácia antitumor com veículo, Conjugado **28** (0,99/0,0325 mg/kg), ou Conjugado **62** (0,92/0,0325 mg/kg) em um modelo de xenoenxerto de SKOV3 em camundongo.

[0053] **FIG. 27** é um gráfico que mostra as concentrações plasmáticas circulantes para o conjugado de fármaco depois da administração do Conjugado **28** (3,0/0,10 mg/kg) ou Conjugado **62** (2,84/0,10 mg/kg) (dose é dada como anticorpo/carga útil) à camundongos CB.17 SCID.

DESCRIÇÃO DETALHADA

[0054] A presente descrição fornece novos conjugados de anticorpo-fármaco, métodos sintéticos para fazer os conjugados ou arcabouços, composições farmacêuticas que os contêm e vários usos dos con-

jugados.

Definições

[0055] Os nomes químicos fornecidos para os compostos intermediários e/ou os compostos desta descrição aqui descritos podem se referir a qualquer uma das representações tautoméricas de tais compostos (em alguns casos, esses nomes alternativos são fornecidos com o experimental). Deve ser entendido que qualquer referência a um composto nomeado (um composto intermediário ou um composto da descrição) ou um composto representado estruturalmente (um composto intermediário ou um composto da descrição) pretende abranger todas as formas tautoméricas, incluindo formas zwitteriônicas de tais compostos e qualquer mistura dos mesmos.

[0056] Deve ser entendido que as expressões "Em algumas modalidades", "Em algumas modalidades da presente descrição" e "Em algumas modalidades de um composto da presente descrição" podem ser usados alternadamente quando apropriado.

[0057] A expressão "cerca de", "aproximadamente" ou "aproximado", quando usado em conexão com um valor numérico, significa que uma coleção ou intervalo de valores está incluído. Em algumas modalidades, "cerca de X" inclui uma faixa de valores que são $\pm 25\%$, $\pm 20\%$, $\pm 15\%$, $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 2\%$, $\pm 1\%$, $\pm 0,5\%$, $\pm 0,2\%$, ou $\pm 0,1\%$ de X, onde X é um valor numérico. Em algumas modalidades, a expressão "cerca de" se refere a uma faixa de valores que são 5% a mais ou a menos do que o valor especificado. Em algumas modalidades, a expressão "cerca de" se refere a uma faixa de valores que são 2% a mais ou a menos do que o valor especificado. Em algumas modalidades, a expressão "cerca de" se refere a uma faixa de valores que são 1% a mais ou a menos do que o valor especificado.

[0058] A citação de faixas de valores se destina apenas a servir como um método abreviado de se referir individualmente a cada valor

separado que está dentro da faixa, salvo indicação em contrário aqui, e cada valor separado está incorporado no pedido como se fosse citado individualmente aqui. Uma faixa usada aqui, a menos que especificado de outra forma, inclui os dois limites da faixa. Em algumas modalidades, as expressões "x sendo um número inteiro entre 1 e 6" e "x sendo um número inteiro de 1 a 6" significam "x sendo 1, 2, 3, 4, 5 ou 6", ou seja, as expressões "entre X e Y" e "intervalo de X a Y, incluem X e Y e os números inteiros entre eles.

[0059] A expressão "anticorpo", conforme usada neste aqui, é usada no sentido mais amplo e abrange várias estruturas de anticorpos, incluindo, mas não se limitando a anticorpos monoclonais, anticorpos policlonais, anticorpos multiespecíficos (por exemplo, anticorpos biespecíficos) e fragmentos de anticorpos, desde que eles exibam a atividade de ligação ao antígeno desejada. A numeração dos aminoácidos do anticorpo está de acordo com o Kabat EU Index (Veja Kabat, EA, *et al.*, Sequences of Protein of immunological interest, Fifth Edition, US Department of Health and Human Services, US Government Printing Office (1991)).

[0060] A expressão "fragmento de anticorpo" se refere a uma molécula diferente de um anticorpo intacto que compreende uma porção de um anticorpo intacto e que se liga ao antígeno ao qual o anticorpo intacto se liga. Exemplos de fragmentos de anticorpo incluem mas não estão limitados a Fv, Fab, Fab', Fab'-SH, F(ab')₂; diacorpos; anticorpos lineares; moléculas de anticorpo de cadeia simples (por exemplo, scFv); e anticorpos multiespecíficos formados a partir de fragmentos de anticorpos.

[0061] A expressão "anticorpo que se liga ao mesmo epítopo" como um anticorpo de referência, conforme usada aqui, se refere a um anticorpo que bloqueia a ligação do anticorpo de referência ao seu antígeno em um ensaio de competição em 50% ou mais e, inversamente,

o anticorpo de referência bloqueia a ligação do anticorpo ao seu antígeno em um ensaio de competição em 50% ou mais. Um ensaio de competição exemplificador é fornecido aqui.

[0062] A expressão "classe" de um anticorpo se refere ao tipo de domínio constante ou região constante possuído por sua cadeia pesada. Existem cinco classes principais de anticorpos: IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, e vários deles podem ser divididos em subclasses (isotipos), por exemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄, IgA₁ e IgA₂. Os domínios constantes da cadeia pesada que correspondem às diferentes classes de imunoglobulinas são chamados α , δ , ϵ , γ e μ , respectivamente.

[0063] A expressão "anticorpo monoclonal", como usada aqui, se refere a um anticorpo obtido a partir de uma população de anticorpos substancialmente homogêneos, ou seja, os anticorpos individuais que compreendem a população são idênticos e/ou se ligam ao mesmo epítipo, exceto para possíveis anticorpos variantes, por exemplo, que contêm mutações que ocorrem naturalmente ou que surgem durante a produção de um anticorpo monoclonal, tais variantes estando geralmente presentes em quantidades menores. Em contraste com as preparações de anticorpos policlonais, que tipicamente incluem diferentes anticorpos direcionados contra diferentes determinantes (epítipos), cada anticorpo monoclonal de uma preparação de anticorpo monoclonal é direcionado contra um único determinante em um antígeno. Assim, o modificador "monoclonal" indica o caráter do anticorpo como sendo obtido a partir de uma população substancialmente homogênea de anticorpos e não deve ser interpretado como exigindo a produção do anticorpo por qualquer método particular. Por exemplo, os anticorpos monoclonais a serem usados de acordo com a presente invenção podem ser produzidos por uma variedade de técnicas, incluindo, mas não limitadas ao método do hibridoma, métodos de DNA recombinante, métodos de apresentação em fagos e métodos que utilizam ani-

mais transgênicos que contêm todos ou parte dos loci de imunoglobulina humana, tais métodos e outros métodos exemplificadores para a produção de anticorpos monoclonais estando aqui descritos.

[0064] A expressão "epítipo" se refere ao sítio específico em uma molécula de antígeno ao qual um anticorpo se liga.

[0065] A expressão "molécula de reconhecimento à base de proteína" ou "PBRM" se refere a uma molécula que reconhece e se liga a um marcador ou receptor de superfície celular, tal como uma proteína transmembrana, proteína imobilizada na superfície ou proteoglicano. Em algumas modalidades, a PBRM compreende uma cisteína manipulada. Exemplos de PBRMs incluem, mas não estão limitados a anticorpos, peptídeos, lipocalinas, proteínas, peptídeos ou miméticos de peptídeos e semelhantes. A molécula de reconhecimento baseada em proteína, além de direcionar o conjugado para uma célula, tecido ou local específicos, também pode ter certo efeito terapêutico, tal como atividade antiproliferativa (citostática e/ou citotóxica) contra uma célula ou via alvo. A molécula de reconhecimento à base de proteína compreende ou pode ser projetada para compreender pelo menos um grupo quimicamente reativo, tal como, -COOH, amina primária, amina secundária -NHR, -SH, ou uma porção de aminoácido quimicamente reativa ou cadeias laterais, tais como, por exemplo, tirosina, histidina, cisteína ou lisina. Em algumas modalidades, uma PBRM pode ser um ligante (LG) ou porção de direcionamento que se liga ou complexa especificamente com uma molécula de superfície celular, tal como um receptor ou antígeno de superfície celular, para uma determinada população de células alvo. Após a ligação específica ou complexação do ligante com o seu receptor, a célula é permissiva para a absorção do ligante ou ligante- fármaco-conjugado, que é então internalizado na célula. Conforme usado aqui, um ligante que "se liga ou complexa especificamente com" ou "atinge" uma molécula da superfície celular se

associa preferivelmente a uma molécula da superfície celular por meio de forças intermoleculares. Em algumas modalidades, o ligante pode se associar preferivelmente com a molécula da superfície celular com um Kd inferior a cerca de 50 nM, menor do que cerca de 5 nM, ou menor do que 500 pM. As técnicas para medir a afinidade de ligação de um ligante a uma molécula da superfície celular são bem conhecidas; por exemplo, uma técnica adequada é denominada ressonância de plasma de superfície (SPR). Em algumas modalidades, o ligante é usado para direcionamento e não tem efeito terapêutico detectável quando separado do fármaco que ele libera. Em algumas modalidades, o ligante funciona tanto como uma porção de direcionamento quanto como um agente terapêutico ou imunomodulador (por exemplo, para aumentar a atividade do fármaco ou pró-fármaco ativo). A expressão "unidade de PEG" ss usada aqui se refere a uma subunidade

de polietileno glicol com a fórmula
$$\begin{array}{c} \text{---}\zeta\text{---CH}_2\text{CH}_2\text{O---}\zeta\text{---} \\ \text{ } \end{array}$$
. Em algumas modalidades, a unidade de PEG compreende múltiplas subunidades de PEG.

[0066] A expressão "alquila", como usada aqui, representa um grupo de hidrocarboneto saturado, linear ou ramificado que possui o número especificado de átomos de carbono. A expressão "C₁-C₆ alquila" ou "C₁₋₆ alquila" se refere a uma porção metila ou uma porção alquila linear ou ramificada que compreende 2 a 6 átomos de carbono. Alquilas exemplificadoras incluem, mas não estão limitados a metila, etila, n-propila, isopropila, n-butila, isobutila, s-butila, t-butila, pentila e hexila.

[0067] A expressão "halo(alquila)", como usada aqui, representa um grupo de hidrocarboneto saturado, linear ou ramificado que possui o número especificado (n) de átomos de carbono e um ou mais (até 2n+1) átomos de halogênio. Exemplos de grupos "halo(C₁₋₄ alquila)" incluem, mas não estão limitados a, -CF₃ (trifluorometil), -CCl₃ (triclo-

rometil), 1, 1-difluoretila, 2,2,2-trifluoretila e hexafluorisopropila.

[0068] A expressão "alquenila", como usada aqui, se refere a um grupo de hidrocarboneto linear ou ramificado com o número especificado de átomos de carbono e pelo menos 1 e até 3 ligações duplas carbono-carbono. Exemplos incluem etenila e propenila.

[0069] A expressão "alquinila", como usada aqui, se refere a um grupo de hidrocarboneto linear ou ramificado com o número especificado de átomos de carbono e pelo menos 1 e até 3 ligações triplas carbono-carbono. Exemplos incluem etinila e propinila.

[0070] A expressão "alcóxi-" ou "(alquila)óxi-", como usada aqui, se refere a um grupo "alquila-óxi-", que compreende uma porção alquila, que possui o número especificado de átomos de carbono, ligados através de um átomo de ligação de oxigênio. Grupos "C₁₋₄ alcóxi-" ou "(C₁₋₄ alquila)óxi-" exemplificadores incluem, mas não estão limitados a metoxila, etoxila, *n*-propoxila, isopropoxila, *n*-butoxila, *s*-butoxila e *t*-butoxila.

[0071] A expressão "halo(alcóxi)-", como usada aqui, representa um grupo de hidrocarboneto saturado, linear ou ramificado com o número especificado (n) de átomos de carbono e um ou mais (até 2n+1) átomos de halogênio, ligados através de um átomo de ligação de oxigênio. Exemplos de grupos "halo(C₁₋₄ alcóxi)-" incluem, mas não estão limitados a, -OCHF₂ (difluormetóxi), -OCF₃ (trifluormetóxi), -OCH₂CF₃ (trifluoretóxi) e -OCH(CF₃)₂ (hexafluorisopropóxi).

[0072] A expressão "amino", como usada aqui, se refere a um substituinte que compreende pelo menos um átomo de nitrogênio. Especificamente, os substituintes -NH₂, -NH(C₁₋₄ alquila), alquilamino ou (C₁₋₄ alquila)amino- ou (C₁₋₄ alquila)(C₁₋₄ alquila)amino- ou dialquilamino, amida-, carbamida-, ureia e sulfamida estão incluídos na expressão "amino".

[0073] A expressão "grupo ou porção carbocíclica", como usada

aqui, se refere a um grupo ou porção cíclica em que os membros do anel são átomos de carbono, que podem ser saturados, parcialmente insaturados (não aromáticos) ou totalmente insaturados (aromáticos).

[0074] A expressão "cicloalquila", como usada aqui, se refere a um grupo de anel de hidrocarboneto não aromático, saturado, que compreende o número especificado de átomos de carbono no anel. Por exemplo, a expressão "C₃₋₆ cicloalquila" se refere a um grupo cíclico com três a seis átomos de carbono no anel. Exemplos de grupos "C₃₋₆ cicloalquila" incluem ciclopropila, ciclobutila, ciclopentila e ciclo-hexila.

[0075] A expressão "arila", como usada aqui, se refere a um grupo com aromaticidade, incluindo sistemas "conjugados" ou multicíclicos com um ou mais anéis aromáticos, que não contém nenhum heteroátomo na estrutura do anel. A expressão arila inclui tanto espécies monovalentes como espécies divalentes. Exemplos de grupos arila incluem, mas não estão limitados a fenila, bifenila, naftila e semelhantes. Em algumas modalidades, uma arila é fenila.

[0076] A expressão "grupo ou porção heterocíclica", como usada aqui, se refere a um grupo ou porção cíclica que possui, como membros do anel, átomos de pelo menos dois elementos diferentes, cujo grupo ou porção cíclica pode ser saturado, parcialmente insaturada (não -aromática) ou totalmente insaturada (aromática).

[0077] A expressão "heteroátomo", como usada aqui, se refere a um átomo de nitrogênio, enxofre ou oxigênio, por exemplo, um átomo de nitrogênio ou um átomo de oxigênio.

[0078] A expressão "heterocicloalquila", como usada aqui, se refere a um grupo não aromático, monocíclico ou bicíclico que compreende 3 a 10 átomos no anel e compreende um ou mais (geralmente um ou dois) membros do anel de heteroátomo selecionados independentemente entre oxigênio, enxofre e nitrogênio. O ponto de ligação de um grupo heterocicloalquila pode ser por qualquer átomo de carbono ou

nitrogênio adequado.

[0079] A expressão "heteroarila", como usada aqui, se refere a um grupo aromático monocíclico ou bicíclico que compreende 5 a 10 átomos no anel, incluindo 1 a 4 heteroátomos selecionados independentemente entre nitrogênio, oxigênio e enxofre, em que pelo menos uma porção do grupo é aromática. Por exemplo, esta expressão abrange grupos arila heterocíclica bicíclicas que compreendem um anel fenila fundido com uma porção heterocíclica ou uma porção de anel heteroarila fundido com uma porção carbocíclica. O ponto de acoplamento de um grupo heteroarila pode ser por qualquer átomo de carbono ou nitrogênio adequado.

[0080] As expressões "halogênio" e "halo", como usadas aqui, se referem a um radical halogênio, por exemplo, um substituinte flúor, cloro, bromo ou iodo.

[0081] A expressão "oxo", como usada aqui, se refere a uma porção de oxigênio de ligação dupla; por exemplo, se ligado diretamente a um átomo de carbono forma uma porção carbonila ($C=O$).

[0082] A expressão "hidróxi" ou "hidroxila", como usada aqui, pretende significar o radical $-OH$.

[0083] A expressão "ciano", como usada aqui, se refere a um grupo nitrila, $-C\equiv N$.

[0084] A expressão "opcionalmente substituído", como usada aqui, indica que um grupo (tal como um grupo alquila, cicloalquila, alcóxi, heterocicloalquila, arila ou heteroarila) ou anel ou porção pode ser não substituído, ou o grupo, anel ou porção pode ser substituído por um ou mais substituintes. No caso em que os grupos podem ser selecionados de vários grupos alternativos, os grupos selecionados podem ser iguais ou diferentes. Substituintes adequados podem incluir, por exemplo, alquila, alquenila, alquinila, halogênio, hidroxila, alquilcarboniloxila, arilcarboniloxila, alcoxicarboniloxila, ariloxicarboniloxila,

carboxilato, alquilacarbonila, arilcarbonila, alcoxicarbonila, aminocarbonila, alquilaminocarbonila, dialquilaminocarbonila, alquiltiocarbonila, alcoxila, fosfato, fosfonato, fosfinato, amino (incluindo alquilamino, dialquilamino, arilamino, diarilamino e alquilarilamino), acilamino (incluindo alquilacarbonilamino, arilcarbonilamino, carbamoil e ureido), amidino, imino, sulfidrila, alquiltio, ariltio, tiocarboxilato, sulfatos, alquilsulfonila, sulfonato, sulfamoila, sulfonamido, nitro, trifluormetila, ciano, azido, heterociclila, alquilarila, ou uma porção aromática ou heteroaromática.

[0085] A expressão "independentemente", como usada aqui, significa que quando mais do que um substituinte é selecionado entre vários substituintes possíveis, esses substituintes podem ser iguais ou diferentes.

[0086] A expressão "farmaceuticamente aceitável", como usada aqui, se refere àqueles compostos, conjugados, materiais, composições e formas de dosagem que são, dentro do escopo do julgamento médico correto, adequados para uso em contato com os tecidos de seres humanos e animais sem toxicidade excessiva, irritação ou outro problema ou complicação, compatível com uma relação benefício/risco razoável.

[0087] Como usada aqui, a expressão "tratando" ou "tratar" descreve o gerenciamento e o cuidado de um paciente com a finalidade de combater uma doença, condição, ou distúrbio e inclui a administração de um composto da presente descrição, ou um sal, polimorfo ou solvato farmaceuticamente aceitáveis do mesmo, para aliviar os sintomas ou complicações de uma doença, condição ou distúrbio, ou para eliminar a doença, condição ou distúrbio. A expressão "tratar" também pode incluir o tratamento de uma célula *in vitro* ou um modelo animal.

[0088] Como usada aqui, a expressão "prevenindo", "prevenir" ou "proteger contra" descreve a redução ou eliminação do aparecimento

dos sintomas ou complicações de tal doença, condição ou distúrbio.

[0089] A expressão "indivíduo" se refere a um animal, preferivelmente um mamífero, mais preferivelmente um humano, que tenha sido objeto de tratamento, observação ou experimento.

[0090] A expressão "quantidade terapeuticamente eficaz" se refere a uma quantidade de um composto ativo ou agente farmacêutico, incluindo um conjugado da descrição, que desencadeia a resposta biológica ou medicinal em um sistema de tecido, animal ou humano que está sendo procurado por um pesquisador, veterinário, médico ou outro clínico, que inclui alívio ou alívio parcial dos sintomas da doença, síndrome, condição ou distúrbio a ser tratado.

[0091] Uma "quantidade eficaz" terapeuticamente pretende significar aquela quantidade de um conjugado que, quando administrado a um paciente com necessidade de tal tratamento, é suficiente para tratar ou prevenir eficazmente, conforme definido aqui. A quantidade de um determinado conjugado que corresponderá a tal quantidade irá variar dependendo de fatores como o conjugado particular (por exemplo, a potência (pIC₅₀), eficácia (EC₅₀) e a meia-vida biológica do conjugado particular), doença, condição e sua gravidade, a identidade (por exemplo, idade, tamanho e peso) do paciente com necessidade de tratamento, mas pode, no entanto, ser determinada rotineiramente por aquele versado na técnica. Da mesma forma, a duração do tratamento e o período de tempo de administração (período de tempo entre as dosagens e o tempo entre as dosagens, por exemplo, antes/com/após as refeições) do conjugado irá variar de acordo com a identidade do mamífero que necessita de tratamento (por exemplo, peso), o conjugado particular e suas propriedades (por exemplo, propriedades farmacocinéticas), doença ou distúrbio e sua gravidade e a composição específica e o método que está sendo usado, mas pode, no entanto, ser determinado por aquele versado na técnica.

[0092] A expressão "composição" se refere a um produto que inclui os ingredientes especificados em quantidades terapeuticamente eficazes, assim como qualquer produto que resulte, diretamente ou indiretamente, de combinações dos ingredientes especificados nas quantidades especificadas.

[0093] Como usada aqui, a expressão "excipiente farmacêuticamente aceitável" significa um excipiente que é útil na preparação de uma composição farmacêutica que é geralmente segura, não tóxica e nem biologicamente nem indesejável de outra maneira, e inclui um excipiente que é aceitável para uso veterinário assim como uso farmacêutico humano. Um "excipiente farmacêuticamente aceitável", como usada no pedido e nas reivindicações, inclui um e mais de um desses excipientes.

[0094] A expressão "agonista de STING", como usada aqui, se refere a um composto ou porção que é capaz de interagir com STING, por exemplo, se ligando a STING e/ou induzindo a transdução de sinal a jusante (por exemplo, caracterizada pela ativação das moléculas associado à função de STING). Isso inclui fosforilação direta de STING, IRF3 e/ou NF-kB e também pode incluir STAT6. Em algumas modalidades, a ativação da via de STING resulta no aumento da produção de interferons tipo 1 (principalmente IFN-a e IFN-b) e/ou expressão de genes estimulados por interferon.

[0095] A expressão "porção de fármaco agonista de STING", como usada aqui, se refere a uma porção derivada de um agonista de STING e capaz de interagir com STING. Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é uma porção derivada de um agonista de STING para permitir que a porção seja ligada ao restante de um conjugado da presente descrição.

[0096] Os conjugados da descrição são úteis em métodos para tratar ou melhorar uma infecção viral, doença, síndrome, condição ou

distúrbio que seja afetado pelo agonismo de STING. Tais métodos compreendem, consistem e/ou consistem essencialmente em administrar a um indivíduo, incluindo um animal, um mamífero e um humano que necessite de tal tratamento, melhora e/ou prevenção, uma quantidade terapeuticamente eficaz de um conjugado da descrição, ou um enantiômero, diastereoisômero, solvato ou sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

[0097] Em algumas modalidades, os conjugados da descrição, ou um enantiômero, diastereoisômero, solvato ou forma de sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, são úteis para tratar ou melhorar doenças, síndromes, condições ou distúrbios como melanoma, câncer de cólon, câncer de mama, câncer de próstata, câncer de pulmão, fibrossarcoma e hepatite B.

[0098] As expressões "conjugado(s) da descrição" ou "conjugado(s) da presente descrição", como usadas aqui, significam um conjugado conforme definido aqui, em qualquer forma, isto é, qualquer forma tautomérica, qualquer forma isomérica, qualquer forma de sal ou não sal (por exemplo, como ácido livre ou na forma de base ou como um sal, particularmente um sal farmaceuticamente aceitável) e qualquer forma física (por exemplo, incluindo formas não sólidas (por exemplo, formas líquidas ou semissólidas) e formas sólidas (por exemplo, formas amorfas ou cristalinas, formas polimórficas específicas, formas de solvato, incluindo formas de hidrato (por exemplo, mono-, di- e hemi-hidratos)) e misturas de várias formas.

[0099] Consequentemente, estão incluídos na presente descrição os conjugados como aqui descritos, em qualquer forma de sal ou não sal e qualquer forma física e misturas de várias formas. Embora estejam incluídos dentro da presente descrição, será entendido que os conjugados da presente descrição, em qualquer forma de sal ou não sal e em qualquer forma física, podem ter vários níveis de atividade,

diferentes biodisponibilidades e diferentes propriedades de manuseio para fins de formulação.

[00100] Como usadas aqui, as expressões "um ou mais de A, B ou C", "um ou mais de A, B ou C", "um ou mais de A, B e C", "um ou mais de A, B e C", "selecionado do grupo que consiste em A, B e C", "selecionado entre A, B e C" e semelhantes são usados de forma intercambiável e todas se referem a uma seleção de um grupo que consiste em A, B e/ou C, ou seja, um ou mais As, um ou mais Bs, um ou mais Cs, ou qualquer combinação dos mesmos, salvo indicação em contrário.

[00101] É entendido que, ao longo da descrição, onde as composições são descritas como possuindo, incluindo ou compreendendo componentes específicos, é contemplado que as composições também consistem essencialmente nos componentes citados ou consistem nos componentes citados. De forma similar, onde métodos ou processos são descritos como possuindo, incluindo ou compreendendo etapas de processo específicas, os processos também consistem essencialmente ou consistem nas etapas de processamento citadas. Além disso, deve ser entendido que a ordem das etapas ou ordem para realizar certas ações é irrelevante, desde que a invenção permaneça operável. Além disso, duas ou mais etapas ou ações podem ser realizadas simultaneamente.

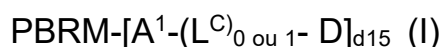
[00102] Todos os percentuais e proporções usadas aqui, salvo indicação em contrário, são em peso. Outras características e vantagens da presente descrição são evidentes a partir dos diferentes exemplos. Os exemplos fornecidos ilustram diferentes componentes e metodologias úteis na prática da presente descrição. Os exemplos não limitam a descrição reivindicada. Com base na presente descrição, aquele versado na técnica pode identificar e empregar outros componentes e metodologia úteis para praticar a presente descrição.

[00103] Todas as publicações e documentos de patentes aqui cita-

dos estão aqui incorporados por referência, como se cada publicação ou documento fosse especificamente e individualmente indicado para ser incorporado aqui por referência. A citação de publicações e documentos de patentes não é pretendida ser uma admissão de que qualquer estado da técnica pertinente, nem constitui qualquer admissão quanto ao conteúdo ou data do mesmo. A invenção tendo sido agora descrita por meio de descrição por escrito, aqueles versados na técnica reconhecerão que a invenção pode ser praticada em uma variedade de modalidades e que a descrição anterior e os exemplos abaixo são para fins de ilustração e não de limitação das reivindicações que se seguem.

Conjugados e Arcabouços da Presente Descrição

[00104] Em alguns aspectos, a presente descrição fornece um conjugado de Fórmula (I):



ou um sal farmaceuticamente aceitável ou solvato, em que:

PBRM denota uma molécula de reconhecimento baseada em proteína;

L^{C} , quando presente, é uma unidade de ligação;

A^1 é uma porção de ligante divalente que conecta o PBRM

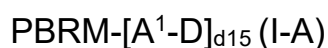
a

L^{C} quando L^{C} está presente, ou a D quando L^{C} está ausente;

D é uma porção de fármaco agonista de STING; e

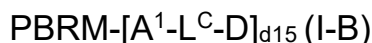
d15 é um número inteiro que varia entre cerca de 1 a cerca de 20.

[00105] Em algumas modalidades, o conjugado tem a Fórmula (I-A):



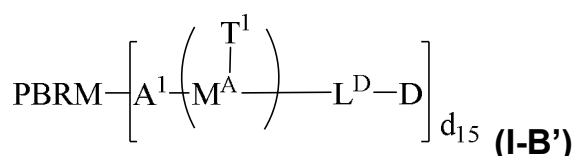
ou sal ou solvato farmaceuticamente aceitáveis.

[00106] Em algumas modalidades, o conjugado tem a Fórmula (I-B):



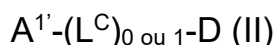
ou sal ou solvato farmaceuticamente aceitáveis.

[00107] Em algumas modalidades, o conjugado tem a Fórmula (I-B'):



ou sal ou solvato farmaceuticamente aceitáveis.

[00108] Em alguns aspectos, a presente descrição fornece um arcabouço útil para conjugar com uma PBRM, em que o arcabouço é de Fórmula (II):



ou sal ou solvato farmaceuticamente aceitáveis, em que:

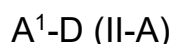
PBRM denota uma molécula de reconhecimento baseada em proteína;

L^{C} , quando presente, é uma unidade de ligação;

A^1 é uma porção de ligação monovalente que compreende um grupo funcional capaz de formar uma ligação covalente com um grupo funcional de PBRM; e

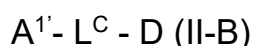
D é uma porção de fármaco agonista de STING.

[00109] Em algumas modalidades, o arcabouço tem a Fórmula (II-A):



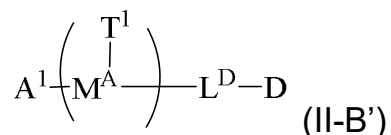
ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitáveis do mesmo.

[00110] Em algumas modalidades, o arcabouço tem a Fórmula (II-B):



ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitáveis do mesmo.

[00111] Em algumas modalidades, o arcabouço tem a Fórmula (II-B'):



ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitáveis do mesmo.

[00112] É entendido que, para um conjugado de qualquer uma das Fórmulas (I), (IA), (IB), (I-B'), (II), (II-A), (II-B) ou (II-B'), ou um sal ou solvato farmaceuticamente aceitável do mesmo, as variáveis PBRM, L^C , A^1 , T^1 , M^A , L^D , D , e d_{15} pode ser, quando aplicável, selecionadas dos grupos descritos aqui e qualquer grupo descrito aqui para qualquer uma das variáveis PBRM, L^C , A^1 , T^1 , M^A , L^D , D , e d_{15} podem ser combinados, quando aplicável, com qualquer grupo aqui descrito para uma ou mais das variáveis restantes PBRM, L^C , A^1 , T^1 , M^A , L^D , D , e d_{15} .

Variável d_{15}

[00113] Em algumas modalidades, d_{15} é um número inteiro que varia entre cerca de 2 a cerca de 14, entre cerca de 2 a cerca de 12, entre cerca de 2 a cerca de 10, entre cerca de 2 a cerca de 8, entre cerca de 2 a cerca de 6, entre cerca de 2 a cerca de 4, entre cerca de 4 a cerca de 10, entre cerca de 4 a cerca de 8, entre cerca de 4 a cerca de 6, entre cerca de 6 a cerca de 14, entre cerca de 6 a cerca de 12, entre cerca de 6 a cerca de 10, entre cerca de 6 a cerca de 8, entre cerca de 8 a cerca de 14, entre cerca de 8 a cerca de 12 ou entre cerca de 8 a cerca de 10.

[00114] Em algumas modalidades, d_{15} é um número inteiro que varia entre cerca de 2 a cerca de 8.

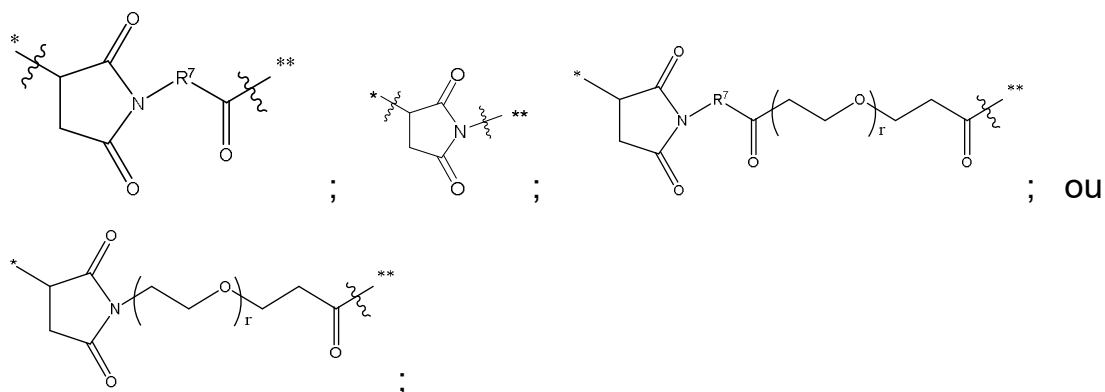
[00115] Em algumas modalidades, d_{15} é 2, 4, 6 ou 8. Em algumas modalidades, d_{15} é 6 ou 8.

[00116] Em algumas modalidades, d_{15} é 8. Em algumas modalidades, d_{15} é 6.

Variáveis A¹ e A^{1'}

[00117] Em algumas modalidades, cada A¹ é independentemente uma porção ligante divalente que conecta a PBRM a L^C quando L^C está presente ou a D quando L^C está ausente.

[00118] Em algumas modalidades, cada A¹ é independentemente:



em que:

R⁷ é -O-, -NR⁸, -(C₁-C₁₀ alquila)-, -(C₁-C₁₀ alquenila)-, -(C₁-C₁₀ alquinila)-, -(C₃-C₈ cicloalquila)-, -arila-, -O-(C₁-C₈ alquila)-, -O-(C₁-C₁₀ alquenila)-, -O-(C₁-C₁₀ alquinila)-, -(C₁-C₁₀ alquila)-(C₃-C₈ cicloalquila)-, -(C₁-C₁₀ alquila)-arila-, -(C₂-C₁₀ alquenila)-(C₃-C₈ cicloalquila)-, -(C₂-C₁₀ alquenila)-arila-, -(C₂-C₁₀ alquinila)-(C₃-C₈ cicloalquila)-, -(C₂-C₁₀ alquinila)-arila-, -(C₃-C₈ cicloalquila)-(C₁-C₁₀ alquila)-, -arila-(C₁-C₁₀ alquila)-, -(C₃-C₈ cicloalquila)-(C₂-C₁₀ alquenila)-, -arila-(C₂-C₁₀ alquinila)-, -(heterocicloalquila com 3 a 8 membros)-, -(heteroarila com 5 a 8 membros)-, -(C₁-C₁₀ alquila)-(heterocicloalquila com 3 a 8 membros)-, -(C₁-C₁₀ alquila)-(heteroarila com 5 a 8 membros)-, -(C₂-C₁₀ alquenila)-(heterocicloalquila com 3 a 8 membros)-, -(C₂-C₁₀ alquenila)-(heteroarila com 5 a 8 membros)-, -(C₂-C₁₀ alquinila)-(heterocicloalquila com 3 a 8 membros)-, -(C₂-C₁₀ alquinila)-(heteroarila com 5 a 8 membros)-, -(heterocicloalquila com 3 a 8 membros)-(C₁-C₁₀ alquila)-, -(heteroarila com 5 a 8 membros)-(C₁-C₁₀ alquila)-, -(heterocicloalquila com 3 a 8 membros)-(C₂-C₁₀ alquenila)-, -(heteroarila com 5 a 8 membros)-(C₂-C₁₀ al-

quinila)-, -(heteroarila com 5 a 8 membros)-(C₂-C₁₀ alquinila)-, -O-C(O)-(CH₂CH₂O)_r-(CH₂)₂-, -(CH₂CH₂O)_r- ou -(CH₂CH₂O)_r-(CH₂)₂-, em que alquila, alquenila, alquinila, cicloalquila, arila, heterocicloalquila, ou heteroarila é opcionalmente substituída;

R⁸ é H, hidroxi, ou C₁₋₄ alquila;

r é um número inteiro que varia entre cerca de 1 a cerca de 12; e

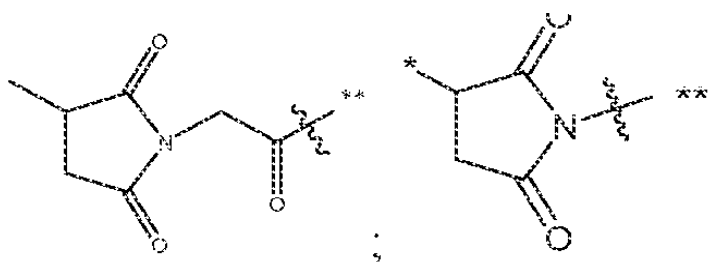
* significa o acoplamento a PBRM e ** significa o acoplamento a L^C quando L^C está presente ou a D quando L^C está ausente.

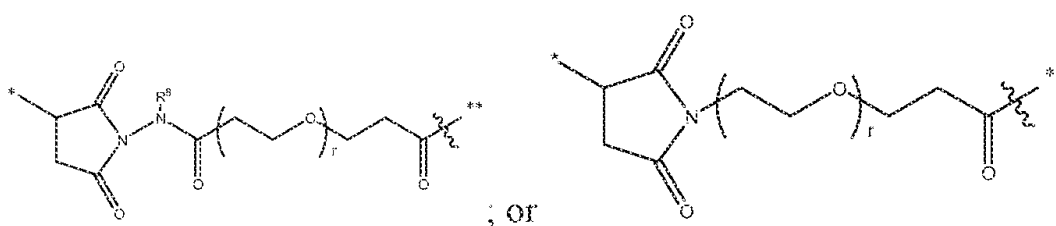
[00119] Em algumas modalidades, R⁷ é -O-, -NR⁸, -(C₁-C₁₀ alquila)-, -(C₃-C₈ cicloalquila)-, -arila-, -O-(C₁-C₈ alquila)-, -(C₁-C₁₀ alquila)-arila-, -arila-(C₁-C₁₀ alquila)-, -(C₁-C₁₀ alquila)-(C₃-C₈ cicloalquila)-, -(C₃-C₈ cicloalquila)-(C₁-C₁₀ alquila)-, -(heterocicloalquila com 3 a 8 membros)-, -(heteroarila com 5 a 8 membros)-, -(C₁-C₁₀alquil)-(heterocicloalquila de 3 a 8 membros)-, -(C₁-C₁₀ alquila)-(heteroarila com 5 a 8 membros)-, -(heterocicloalquila com 3 a 8 membros)-(C₁-C₁₀ alquila)-, -(5- a 8 membros<heteroarila)-(C₁-C₁₀alquila)-, -OC(O)-(CH₂CH₂O)_r-(CH₂)₂-, -(CH₂CH₂O)_r-, ou -(CH₂CH₂O)_r.

[00120] Em algumas modalidades, R⁷ é -(C₁-C₁₀ alquila)-, -O-(C₁-C₈ alquila)-, -(CH₂CH₂O)_r-, -O-C(O)-(CH₂CH₂O)_r-(CH₂)₂- ou -(CH₂CH₂O)_r-(CH₂)₂-.

[00121] Em algumas modalidades, R⁷ é -O-, -NH-, -N(CH₃), -CH₂-, -(CH₂)₂-, -(CH₂)₅-, -O-C(O)-, (CH₂CH₂O)_r-(CH₂)₂ ou (CH₂CH₂O)_r-(CH₂)₂.

[00122] Em algumas modalidades, cada A¹ é independentemente:

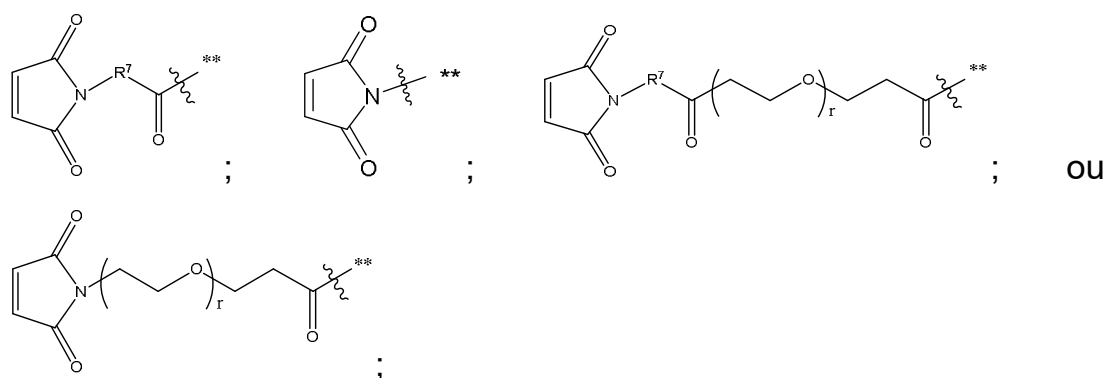




em que R^8 é H, hidroxi ou C_{1-4} alquila; r é um número inteiro que varia entre cerca de 4 a cerca de 6; e $*$ representa o acoplamento a PBRM e $**$ representa o acoplamento a L^C quando L^C está presente ou a D quando L^C está ausente.

[00123] É entendido que cada A^1 , antes de ser conectado a PBRM, corresponde independentemente a uma porção monovalente $A^{1'}$.

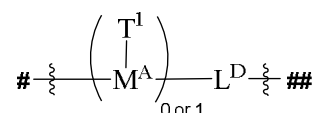
[00124] Em algumas modalidades, cada $A^{1'}$ é independentemente:



em que R^7 , R^8 e r são como descrito aqui; e $**$ representa o acoplamento a L^C quando L^C está presente ou a D quando L^C está ausente.

Variável L^C

[00125] Em algumas modalidades, cada L^C , quando presente, é independentemente:



em que:

$\#$ representa o acoplamento a A^1 e $\#\#$ representa o acoplamento a D;

M^A , quando presente, é uma porção peptídica compreendendo pelo menos dois aminoácidos;

T^1 , quando presente, é um grupo hidrofílico; e

L^D é uma porção de ligação divalente que liga D a M^A quando M^A está presente, ou a A^1 quando M^A está ausente.

[00126] Em algumas modalidades, cada L^D compreende pelo menos uma ligação clivável de modo que quando a ligação é quebrada, D é liberado em uma forma ativa para seu efeito terapêutico pretendido.

[00127] Em algumas modalidades, cada L^C , quando presente, é independentemente: $\#-\xi L^D-\xi##$

[00128] Em algumas modalidades, cada L^C , quando presente, é independentemente: $\#-\xi\left(\begin{array}{c} T^1 \\ | \\ M^A \end{array}\right)-L^D-\xi##$.

Variável L^D

[00129] Em algumas modalidades, cada L^D é independentemente uma porção de ligação divalente que conecta D a M^A quando M^A está presente, ou a A^1 quando M^A está ausente.

[00130] Em algumas modalidades, cada L^D compreende pelo menos uma ligação clivável de modo que quando a ligação é clivada, D é liberado em uma forma ativa para o efeito terapêutico pretendido.

[00131] Em algumas modalidades, L^D compreende uma ligação clivável. Em algumas modalidades, L^D compreende múltiplos sítios de clivagem ou ligações.

[00132] É entendido que cada L^D , antes de ser conectado a D, corresponde independentemente a uma porção monovalente $L^{D'}$.

[00133] Em algumas modalidades, $L^{D'}$ compreende um grupo funcional capaz de formar a ligação clivável. Grupos funcionais capazes de formar a ligação clivável podem incluir, por exemplo, grupos sulfidríla para formar ligações de dissulfeto, grupos aldeído, cetona ou hidrazina para formar ligações de hidrazona, grupos hidroxilamina para formar ligações de oxima, grupos carboxílicos ou amino para formar ligações peptídicas, grupos carboxílicos ou hidroxil para formar ligações éster e

açúcares para formar ligações glicosídicas.

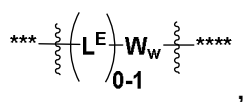
[00134] Em algumas modalidades, cada L^D compreende uma ligação de dissulfeto que é clivável por meio de troca de dissulfeto, uma ligação ácido-lábil que é clivável em pH ácido e/ou ligações que são cliváveis por hidrolases. Em algumas modalidades, L^D compreende uma ligação carbamato (ou seja, $-OC(O)-NR-$, em que R é hidrogênio ou alquila ou semelhante).

[00135] Em algumas modalidades, a estrutura e a sequência da ligação clivável em L^D podem ser tais que a ligação é clivada pela ação de enzimas presentes no sítio alvo. Em algumas modalidades, a ligação clivável pode ser clivável por outros mecanismos.

[00136] Em algumas modalidades, a estrutura e a sequência das ligações cliváveis em L^D podem ser tais que as ligações são clivadas pela ação de enzimas presentes no sítio alvo. Em algumas modalidades, as ligações cliváveis podem ser cliváveis por outros mecanismos.

[00137] Em algumas modalidades, as ligações cliváveis podem ser clivadas enzimaticamente por uma ou mais enzimas, incluindo uma protease associada a tumor, para liberar a unidade de Fármaco ou D, em que o conjugado da presente descrição, ou intermediário, ou arcabouço do mesmo, é protonado *in vivo* após a liberação para fornecer uma unidade de Fármaco ou D.

[00138] Em algumas modalidades, cada L^D é independentemente



em que:

L^E , quando presente, é $-NH-[(CH_2CH_2O)_p-(CH_2)_{0-2}]_q-C(O)-$, $-NH-(C_1-C_6 \text{ alquila})-O-C(O)-$, ou $-NH-[(CH_2CH_2O)_p-(CH_2)_{0-2}]_q-C(O)-NH-(C_1-C_6 \text{ alquila})-O-C(O)-$, em que p é um número inteiro que varia entre cerca de 1 a cerca de 20, e q é um número inteiro que varia entre cerca de 1 a cerca de 10;

cada W é independentemente uma unidade de aminoácidos natural ou não natural

w é um número inteiro que varia entre cerca de 0 a cerca de 12;

*** indica o acoplamento a M^A quando M^A está presente ou a A¹ quando M^A está ausente; e

**** indica o acoplamento a D.

[00139] Em algumas modalidades, cada L^D é independentemente

$$***-\text{L}^E-\text{****}$$
. Em algumas modalidades, cada L^D é independentemente

$$***-\text{W}_w-\text{****}$$
. Em algumas modalidades, cada L^D é independentemente

$$***-\text{L}^E-\text{W}_w-\text{****}$$

[00140] Em algumas modalidades, L^E compreende pelo menos uma unidade de PEG.

[00141] Em algumas modalidades, a unidade de PEG compreende pelo menos 1 subunidade, pelo menos 2 subunidades, pelo menos 3 subunidades, pelo menos 4 subunidades, pelo menos 5 subunidades ou pelo menos 6 subunidades. Em algumas modalidades, a unidade de PEG compreende pelo menos 4 subunidades, pelo menos 3 subunidades, pelo menos 2 subunidades ou pelo menos 1 subunidade. Em algumas modalidades, a unidade de PEG compreende pelo menos 1 subunidade. Em algumas modalidades, a unidade de PEG compreende pelo menos 2 subunidades.

[00142] Em algumas modalidades, p é um número inteiro que varia entre cerca de 1 a cerca de 15, entre cerca de 1 a cerca de 10, entre cerca de 1 a cerca de 9, entre cerca de 1 a cerca de 8, entre cerca de 1 a cerca de 7, entre cerca de 1 a cerca de 6, ou entre cerca de 1 a cerca de 5.

[00143] Em algumas modalidades, p é um número inteiro que varia entre cerca de 1 a cerca de 6. Em algumas modalidades, p é um número inteiro que varia entre cerca de 1 a cerca de 4. Em algumas modalidades, p é um número inteiro que varia entre cerca de 1 a cerca de 2.

[00144] Em algumas modalidades, p é 2.

[00145] Em algumas modalidades, q é um número inteiro variando entre cerca de 1 a cerca de 15, entre cerca de 1 a cerca de 10, entre cerca de 1 a cerca de 9, entre cerca de 1 a cerca de 8, entre cerca de 1 a cerca de 7, entre cerca de 1 a cerca de 6, ou entre cerca de 1 a cerca de 5.

[00146] Em algumas modalidades, q é 1, 2, 3, 4 ou 5. Em algumas modalidades, q é 2.

[00147] Em algumas modalidades, L^E , quando presente, é $-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{1-4}-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})-$. Em algumas modalidades, L^E , quando presente, é $-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_2-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})-$. Em algumas modalidades, L^E , quando presente, é $-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-(\text{CH}_2)_{0-2}-\text{C}(\text{O})-$. Em algumas modalidades, L^E , quando presente, é $-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-(\text{CH}_2)_1-\text{C}(\text{O})-$. Em algumas modalidades, L^E , quando presente, é $-\text{NH}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_3-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})-$. Em algumas modalidades, L^E , quando presente, é $-\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-(\text{CH}_2)_{0-2}-\text{C}(\text{O})-$. Em algumas modalidades, L^E , quando presente, é $-\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{C}(\text{O})-$. Em algumas modalidades, L^E , quando presente, é $-\text{NH}-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ alquila})-\text{O}-\text{C}(\text{O})-$. Em algumas modalidades, L^E , quando presente, é $-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{O}-\text{C}(\text{O})-$. Em algumas modalidades, L^E , quando presente, é $-\text{NH}-[(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_{1-4}-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{C}_1-\text{C}_6 \text{ alquila})-\text{O}-\text{C}(\text{O})-$. Em algumas modalidades, L^E , quando presente, é $-\text{NH}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{C}(\text{O})-$.

[00148] Em algumas modalidades, w é um número inteiro que varia entre cerca de 1 a cerca de 12 (por exemplo, 1 a 6, ou 1 a 4, ou 1 a 3, ou 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12).

[00149] Em algumas modalidades, w é 0, 1, 2, 3, 4 ou 5. Em algumas modalidades, w é 1, 2, 3, 4 ou 5.

[00150] Em algumas modalidades, w é 1. Em algumas modalidades, w é 2. Em algumas modalidades, w é 3.

[00151] Em algumas modalidades, cada W é independentemente um aminoácido natural ou não natural e/ou um isômero D ou L.

[00152] Em algumas modalidades, cada W é independentemente um aminoácido alfa, beta ou gama que é natural ou não natural.

[00153] Em algumas modalidades, pelo menos um W é um aminoácido natural. Em algumas modalidades, pelo menos um W é um aminoácido não natural.

[00154] Em algumas modalidades, W_w não compreende aminoácidos naturais. Em algumas modalidades, W_w não compreende aminoácidos não naturais.

[00155] Em algumas modalidades, W_w compreende um aminoácido natural ligado a um aminoácido não natural. Em algumas modalidades, W_w compreende um aminoácido natural ligado a um isômero D de um aminoácido natural.

[00156] Em algumas modalidades, W_w é um dipeptídeo, por exemplo, -Val-Cit-, -Phe-Lys-, -Val-Ala- ou Glu-Ala.

[00157] Em algumas modalidades, W_w uma unidade de mono-peptídeo, um dipeptídeo, um tripeptídeo, um tetrapeptídeo, um pentapeptídeo, um hexapeptídeo, um heptapeptídeo, um octapeptídeo, um nonapeptídeo, um decapeptídeo, um undecapeptídeo ou um dodecapeptídeo.

[00158] Em algumas modalidades, W_w é um peptídeo (por exemplo, um peptídeo com 1 a 12 aminoácidos), que é conjugado diretamente a D. Em algumas modalidades, o peptídeo é um único aminoácido. Em algumas modalidades, o peptídeo é um dipeptídeo. Em algumas modalidades, o peptídeo é um tripeptídeo.

[00159] Em algumas modalidades, cada aminoácido em W_w é selecionado independentemente entre alanina, β -alanina, arginina, ácido aspártico, asparagina, histidina, glicina, ácido glutâmico, glutamina, fenilalanina, lisina, leucina, serina, tirosina, treonina, isoleucina, prolina, triptofano, valina, cisteína, metionina, selenocisteína, ornitina, penicilamina, ácido aminoalcanóico, ácido aminoalcinóico, ácido aminoalcanodióico, ácido aminobenzóico, ácido amino-heterociclo-alcanóico, ácido heterociclo-carboxílico, citrulina, estatina, ácido diaminoalcanóico e seus derivados.

[00160] Em algumas modalidades, cada aminoácido em W_w é selecionado independentemente de alanina, β -alanina, arginina, ácido aspártico, asparagina, histidina, glicina, ácido glutâmico, glutamina, fenilalanina, lisina, leucina, serina, tirosina, treonina, isoleucina, prolina, triptofano, valina, citrulina e seus derivados.

[00161] Em algumas modalidades, cada aminoácido em W_w é selecionado independentemente entre aminoácidos proteinogênicos e não proteinogênicos.

[00162] Em algumas modalidades, cada aminoácido em W_w é independentemente selecionado entre os isômeros L ou D dos seguintes aminoácidos: alanina, β -alanina, arginina, ácido aspártico, asparagina, cisteína, histidina, glicina, ácido glutâmico, glutamina, fenilalanina, lisina, leucina, metionina, serina, tirosina, treonina, triptofano, prolina, ornitina, penicilamina, ácido aminoalcinóico, ácido aminoalcanodióico, ácido heterociclocarboxílico, citrulina, estatina, ácido diaminoalcanóico, valina, citrulina e seus derivados.

[00163] Em algumas modalidades, cada aminoácido em W_w é independentemente cisteína, homocisteína, penicilamina, ornitina, lisina, serina, treonina, glicina, glutamina, alanina, ácido aspártico, ácido glutâmico, selenocisteína, prolina, glicina, isoleucina, leucina, metionina, valina, citrulina ou alanina.

[00164] Em algumas modalidades, cada aminoácido em W_w é selecionado independentemente a partir de L-isômeros dos seguintes aminoácidos: alanina, β -alanina, arginina, ácido aspártico, asparagina, histidina, glicina, ácido glutâmico, glutamina, fenilalanina, lisina, leucina, serina, tirosina, treonina, isoleucina, triptofano, citrulina e valina.

[00165] Em algumas modalidades, cada aminoácido em W_w é independentemente selecionado a partir de D-isômeros dos seguintes aminoácidos: alanina, β -alanina, arginina, ácido aspártico, asparagina, histidina, glicina, ácido glutâmico, glutamina, fenilalanina, lisina, leucina, serina, tirosina, treonina, isoleucina, triptofano, citrulina e valina.

[00166] Em algumas modalidades, cada aminoácido em W_w alanina, β -alanina, glicina, ácido glutâmico, ácido isoglutâmico, ácido isoaspártico, valina citrulina ou ácido aspártico.

[00167] Em algumas modalidades, W_w compreende β -alanina. Em algumas modalidades, W compreende (β -alanina)-(alanina). Em algumas modalidades, W_w compreende (β -alanina) e opcionalmente ácido glutâmico, ácido isoglutâmico, ácido aspártico, ácido isoaspártico, valina, (valina)-(alanina), (alanina)-(alanina), ou (valina)-(citrulina).

[00168] Em algumas modalidades, W_w compreende (ácido glutâmico)-(alanina).

[00169] Em algumas modalidades, W_w compreende ácido glutâmico e opcionalmente alanina, glicina, ácido isoglutâmico, ácido aspártico, ácido isoaspártico, valina, (valina)-(alanina), (alanina)-(alanina) ou (valina)-(citrulina).

[00170] Em algumas modalidades, W_w compreende ácido 2,3-diaminopropanóico. Em algumas modalidades, W_w compreende ácido (R)-2,3-diaminopropanóico. Em algumas modalidades, W_w compreende ácido glutâmico. Em algumas modalidades, W_w compreende (ácido glutâmico)-(alanina). Em algumas modalidades, W_w compreende (ácido glutâmico)-(glicina)-(alanina).

[00171] Em algumas modalidades, W_w compreende ácido L-glutâmico, ácido D-glutâmico, (ácido L-glutâmico)-(L-alanina), (ácido L-glutâmico)-(D-alanina), (ácido D-glutâmico)-(L-alanina), (ácido D-glutâmico)-(D-alanina), (ácido L-glutâmico)-(glicina)-(L-alanina), ácido D-glutâmico)-(glicina)-(D-alanina), (ácido L-glutâmico)-(glicina)-(D-alanina), ou (ácido D-glutâmico)-(glicina)-(L-alanina).

[00172] Em algumas modalidades, W_w compreende uma ligação carbamato além de um ou mais aminoácidos.

[00173] Em algumas modalidades, L^D (por exemplo, W_w) é seletivo para clivagem enzimática (por exemplo, por uma enzima particular). Em algumas modalidades, a enzima particular é uma protease associada ao tumor.

[00174] Em algumas modalidades, L^D (por exemplo, W_w) compreende uma ligação cuja clivagem é catalisada por catepsina B, catepsina C, catepsina D ou uma plasmina protease.

[00175] Em algumas modalidades, L^D compreende um sítio de clivagem de açúcar.

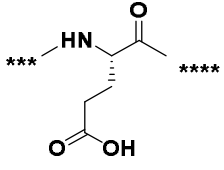
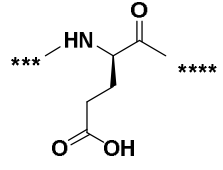
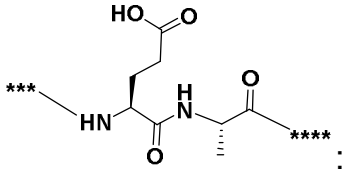
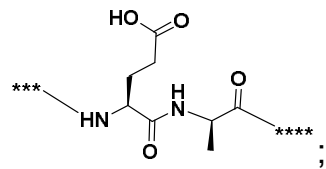
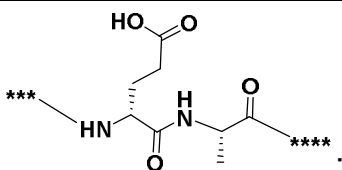
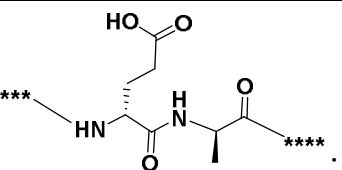
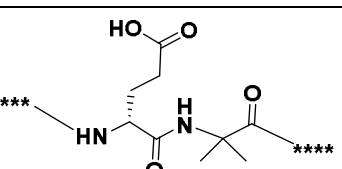
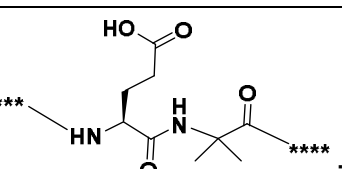
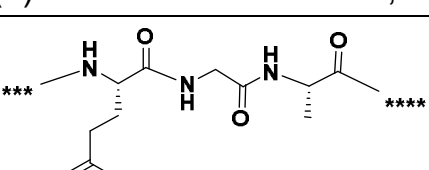
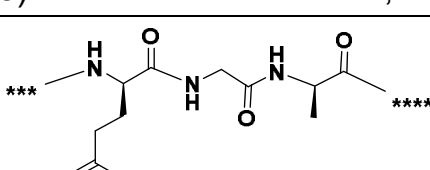
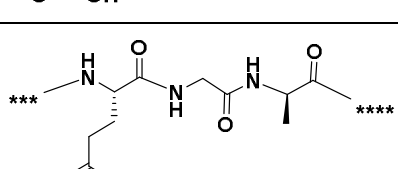
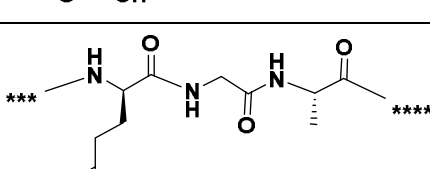
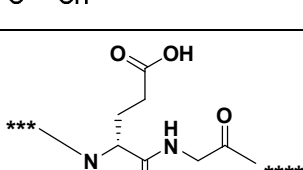
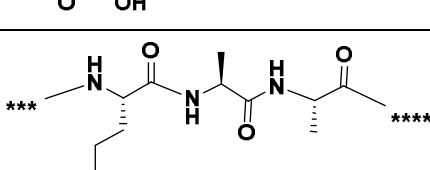
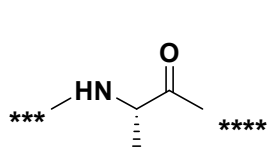
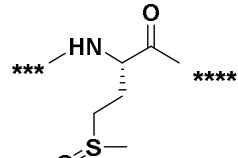
[00176] Em algumas modalidades, L^D compreende uma porção de açúcar (Su) ligada através de uma ligação glicosídica de oxigênio a um grupo auto-imolativo.

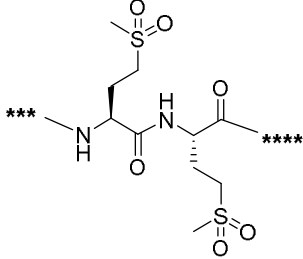
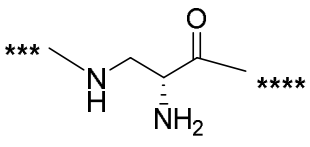
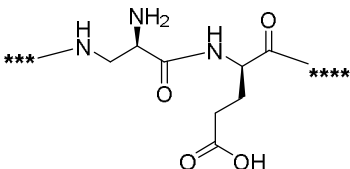
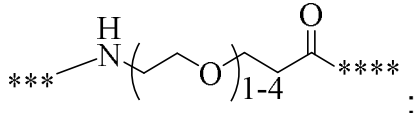
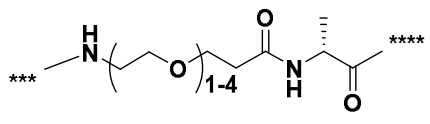
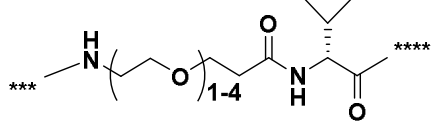
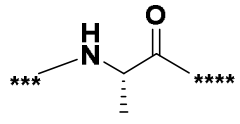
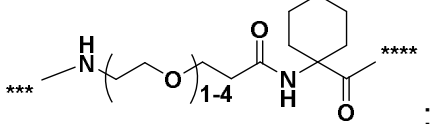
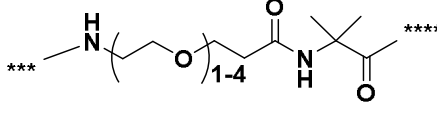
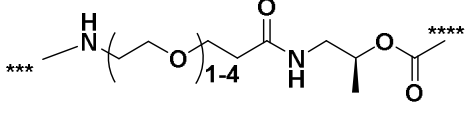
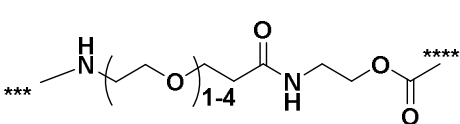
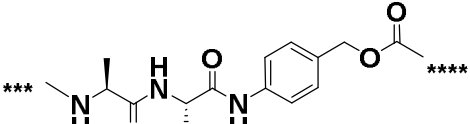
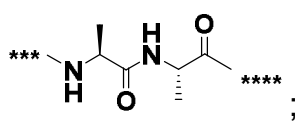
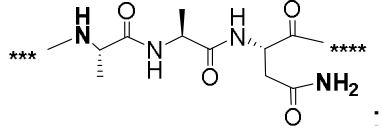
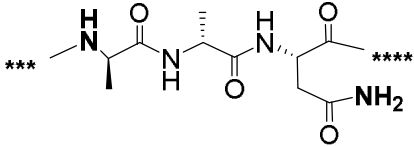
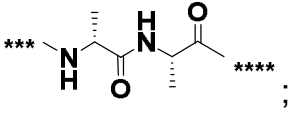
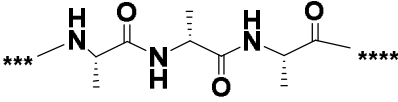
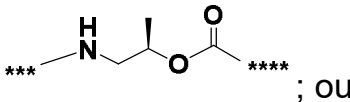
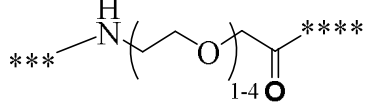
[00177] Em algumas modalidades, um "grupo auto-imolativo" pode ser uma porção química tri-funcional que é capaz de ligar covalentemente três porções químicas espaçadas (isto é, a porção de açúcar (através de uma ligação glicosídica) uma unidade de fármaco (diretamente ou indiretamente) e M^A (diretamente ou indiretamente) quando M^A está presente ou A^1 quando M^A está ausente.

[00178] Em algumas modalidades, a ligação glicosídica pode ser clivada no sítio alvo para iniciar uma sequência de reação autoimolativa que leva à liberação do fármaco.

[00179] Em algumas modalidades, cada L^D , quando presente, é

independentemente:

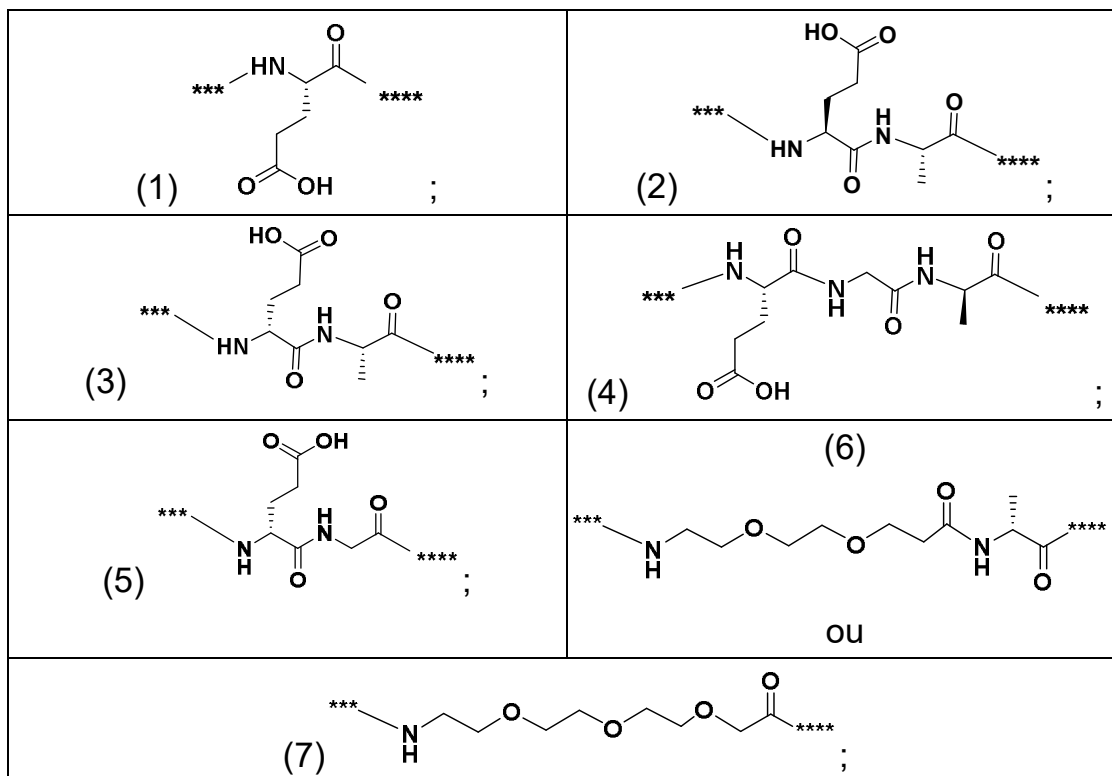
 (1) ;	 (2) ;
 (3) ;	 (4) ;
 (5) ;	 (6) ;
 (7) ;	 (8) ;
 (9) ;	 (10) ;
 (11) ;	 (12) ;
 (13) ;	 (14) ;
 (15) ;	 (16) ;

 (17)	 (18)
 (19)	 (20)
 (21)	 (22)
 (23)	 (24)
 (25)	 (26)
 (27)	 (28)
 (29)	 (30)
 (31)	 (32)
 (33)	 (34)
 (35)	

em que: *** indica acoplamento a M^A, quando M^A está presente ou a A¹ quando M^A está ausente; e

**** indica acoplamento a D.

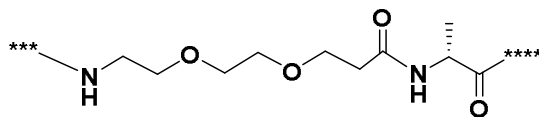
[00180] Em algumas modalidades, cada L^D , quando presente, é independentemente:



em que: *** indica acoplamento a M^A , quando M^A está presente ou a A^1 quando M^A está ausente; e

**** indica acoplamento a D,

[00181] Em algumas modalidades, cada L^D , quando presente, é independentemente:



em que: *** indica acoplamento a M^A e **** indica acoplamento a D.

Variável M^A

[00182] Em algumas modalidades, M^A compreende uma porção peptídica de pelo menos dois aminoácidos.

[00183] Em algumas modalidades, o aminoácido é referido aqui como "AA" e os aminoácidos como "AA's".

[00184] Em algumas modalidades, M^A é uma porção que é capaz

de formar uma ligação covalente com uma unidade -L^D-D e permite o acoplamento de múltiplos fármacos.

[00185] Em algumas modalidades, M^A compreende uma única unidade de AA ou tem duas ou mais unidades de AA (por exemplo, de 2 a 10, de 2 a 6, ou 2, 3, 4, 5 ou 6) em que as unidades de AA são cada uma independentemente um aminoácido natural ou não natural, um aminoálcool, um aminoaldeído, uma diamina, uma poliamina ou suas combinações.

[00186] Em algumas modalidades, a fim de ter o número necessário de acoplamentos, pelo menos uma das unidades de AA terá uma cadeia lateral funcionalizada para fornecer o acoplamento da unidade -L^D-D. Em algumas modalidades, unidades de AA funcionalizadas exemplificadoras (por exemplo, aminoácidos, aminoálcoois ou aminoaldeídos) incluem, por exemplo, unidades de AA funcionalizadas com azido ou alcino (por exemplo, aminoácido, aminoálcool ou aminoaldeído modificado para ter um grupo azida ou grupo alcino).

[00187] Em algumas modalidades, M^A compreende 2 a 12 unidades de AA. Em algumas modalidades, M^A compreende 2 a 10 unidades de AA. Em algumas modalidades, M^A compreende 2 a 6 unidades de AA. Em algumas modalidades, M^A compreende 2, 3, 4, 5 ou 6 unidades de AA.

[00188] Em algumas modalidades, M^A tem 2 unidades de AA. Em algumas modalidades, a porção peptídica tem 3 unidades de AA. Em algumas modalidades, a porção peptídica tem 4 unidades de AA. Em algumas modalidades, a porção peptídica tem 5 unidades de AA. Em algumas modalidades, a porção peptídica tem 6 unidades de AA.

[00189] Em algumas modalidades, o acoplamento dentro de M^A ou com os outros componentes do conjugado, intermediário do mesmo, ou arcabouço, pode ser, por exemplo, através de amino, carboxi ou outras funcionalidades.

[00190] Em algumas modalidades, cada aminoácido em M^A pode ser independentemente um isômero D ou L de um aminoácido que contenha tiol. Em algumas modalidades, cada aminoácido em M^A pode ser independentemente um isômero D de um aminoácido que contenha tiol. Em algumas modalidades, cada aminoácido em M^A pode ser independentemente um isômero L de um aminoácido que contenha. Em algumas modalidades, o aminoácido que contém tiol pode ser, por exemplo, cisteína, homocisteína ou penicilamina.

[00191] Em algumas modalidades, cada aminoácido em M^A pode ser independentemente o isômero L ou D dos seguintes aminoácidos: alanina (incluindo β-alanina), arginina, ácido aspártico, asparagina, cisteína, histidina, glicina, ácido glutâmico, glutamina, fenilalanina, lisina, leucina, metionina, serina, tirosina, treonina, triptofano, prolina, ornitina, penicilamina, ácido aminoalquinóico, ácido aminoalcanodióico, ácido heterociclo-carboxílico, citrulina, estatina, ácido diaminoalcanóico, seus estereoisômeros ou seus derivados.

[00192] Em algumas modalidades, cada aminoácido em M^A é independentemente cisteína, homocisteína, penicilamina, ornitina, lisina, serina, treonina, glicina, glutamina, alanina, ácido aspártico, ácido glutâmico, selenocisteína, prolina, glicina, isoleucina, leucina, metionina, valina, alanina ou seus estereoisômeros.

[00193] Em algumas modalidades, M^A compreende um monopeptídeo, um dipeptídeo, tripeptídeo, tetrapeptídeo ou pentapeptídeo. Em algumas modalidades, M^A compreende um pentapeptídeo.

[00194] Em algumas modalidades, M^A compreende pelo menos cerca de cinco aminoácidos (por exemplo, 5, 6, 7, 8, 9 ou 10 aminoácidos). Em algumas modalidades, M^A compreende no máximo cerca de dez aminoácidos.

[00195] Em algumas modalidades, cada aminoácido em M^A é independentemente glicina, serina, ácido glutâmico, lisina, ácido aspártico

e cisteína.

[00196] Em algumas modalidades, M^A compreende pelo menos quatro glicinas e pelo menos um ácido glutâmico, por exemplo, (glicina)₄ e ácido glutâmico, em que o ácido glutâmico está em qualquer posição ao longo da cadeia peptídica, tal como, por exemplo, (ácido glutâmico)-(glicina)₄; (glicina)-(ácido glutâmico)-(glicina)₃; (glicina)₂-(ácido glutâmico)-(glicina)₂; (glicina)₃-(ácido glutâmico)-(glicina); ou (glicina)₄-(ácido glutâmico).

[00197] Em algumas modalidades, M^A compreende (glicina)₄-(ácido glutâmico). Em algumas modalidades, a porção peptídica compreende (ácido glutâmico)-(glicina)₄.

[00198] Em algumas modalidades, M^A compreende pelo menos quatro glicinas e pelo menos uma serina, por exemplo, (glicina)₄ e serina em que a serina está em qualquer posição ao longo da cadeia peptídica, como, por exemplo, (serina)-(glicina)₄; (glicina)-(serina)-(glicina)₃; (glicina)₂-(serina)-(glicina)₂; (glicina)₃-(serina)-(glicina); ou (glicina)₄-(serina).

[00199] Em algumas modalidades, M^A compreende (glicina)₄-(serina). Em algumas modalidades, a porção peptídica compreende (serina)-(glicina)₄.

[00200] Em algumas modalidades, M^A compreende (β-alanina)-(glicina)₄-(serina) em que a serina está em qualquer posição ao longo da cadeia peptídica, tal como, por exemplo, (β-alanina)-(serina)-(glicina)₄; (β-alanina)-(glicina)-(serina)-(glicina)₃; (β-alanina)-(glicina)₂-(serina)-(glicina)₂; (β-alanina)-(glicina)₃-(serina)-(glicina); ou (β-alanina)-(glicina)₄-(serina).

[00201] Em algumas modalidades, M^A compreende (glicina)₄-(serina)-(ácido glutâmico) em que a serina está em qualquer posição ao longo da cadeia peptídica, como, por exemplo, (serina)-(glicina)₄-(ácido glutâmico); (glicina)-(serina)-(glicina)₃-(ácido glutâmico); (glicina)

na)2-(serina)-(glicina)2-(ácido glutâmico); (glicina)3-(serina)-(glicina)-(ácido glutâmico); ou (glicina)4-(serina)-(ácido glutâmico). Em algumas modalidades, a porção peptídica compreende (β-alanina)-(glicina)4-(serina)-(ácido glutâmico) em que a serina está em qualquer posição ao longo da cadeia peptídica, tal como, por exemplo, (β-alanina) - (serina)-(glicina)4-(ácido glutâmico); (β-alanina)-(glicina)-(serina)-(glicina)3-(ácido glutâmico); (β-alanina)-(glicina)2-(serina)-(glicina)2-(ácido glutâmico); (β-alanina)-(glicina)3-(serina)-(glicina)-(ácido glutâmico); ou (β-alanina)-(glicina)4-(serina)-(ácido glutâmico).

[00202] Em algumas modalidades, M^A compreende (glicina)4-(serina). Em algumas modalidades, a porção peptídica compreende (serina)-(glicina)4.

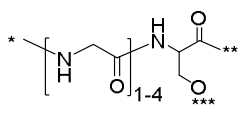
[00203] Em algumas modalidades, M^A compreende (β-alanina)-(glicina)4-(serina) em que a serina está em qualquer posição ao longo da cadeia peptídica.

[00204] Em algumas modalidades, M^A compreende (glicina)4-(serina)-(ácido glutâmico) em que a serina está em qualquer posição ao longo da cadeia peptídica.

[00205] Em algumas modalidades, M^A compreende (β-alanina)-(glicina)4-(serina)-(ácido glutâmico) em que a serina está em qualquer posição ao longo da cadeia peptídica.

[00206] Em algumas modalidades, M^A compreende (ácido glutâmico)-(glicina)₁₋₄, em que: o M^A está acoplado a A¹ através de um ácido glutâmico; M^A está acoplado a T¹ através da glicina; e M^A está acoplado a L^D através do ácido glutâmico.

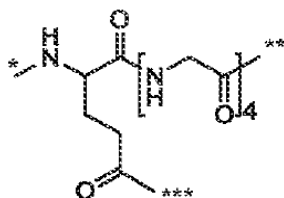
[00207] Em algumas modalidades, M^A compreende



[00208] Em algumas modalidades, M^A compreende (ácido glutâmico)-(glicina)₄, em que: M^A está acoplado a A¹ através de ácido glutâmico

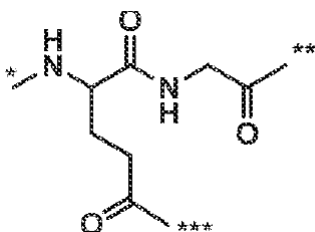
co; M^A está acoplado a T¹ através de uma das glicina; e M^A está acoplado a L^D através do ácido glutâmico.

[00209] Em algumas modalidades, M^A compreende



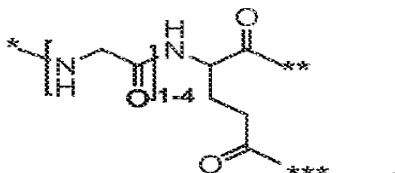
[00210] Em algumas modalidades, M^A compreende (ácido glutâmico)-(glicina), em que: M^A está acoplado a A¹ através de ácido glutâmico; M^A está acoplado a T¹ através da glicina; e M^A está acoplado a L^D através do ácido glutâmico.

[00211] Em algumas modalidades, a porção peptídica compreende



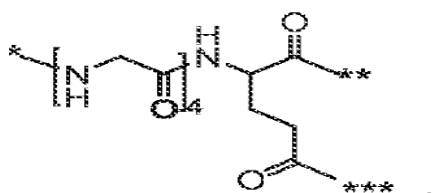
[00212] Em algumas modalidades, M^A compreende (glicina)₁₋₄-(ácido glutâmico), em que: M^A está acoplado a A¹ através de uma das glicinas; M^A está acoplado a T¹ através de ácido glutâmico; e M^A está acoplado a L^D através do ácido glutâmico.

[00213] Em algumas modalidades, M^A compreende



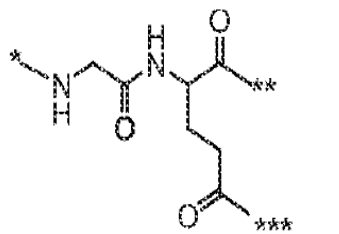
[00214] Em algumas modalidades, M^A compreende (glicina)₄-(ácido glutâmico), em que: M^A está acoplado a A¹ através do de ácido glutâmico; M^A está acoplado a T¹ através da glicina; e M^A está acoplado a L^D através do ácido glutâmico.

[00215] Em algumas modalidades, M^A compreende



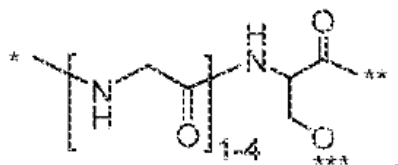
[00216] Em algumas modalidades, M^A compreende (glicina)-(ácido glutâmico), em que: M^A está acoplado a A^1 através da glicina; M^A está acoplado a T^1 através do ácido glutâmico; e M^A está acoplado a L^D através do ácido glutâmico.

[00217] Em algumas modalidades, M^A compreende



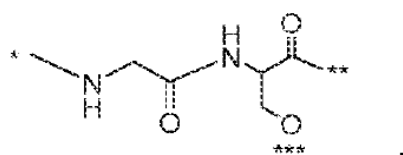
[00218] Em algumas modalidades, M^A compreende (glicina)₁₋₄-(serina), em que: M^A está acoplado a A^1 através de uma das glicinas; M^A está acoplado a T^1 através da serina; e M^A está acoplado a L^D através da serina.

[00219] Em algumas modalidades, M^A compreende



[00220] Em algumas modalidades, M^A compreende (glicina)-(serina), em que: M^A está acoplado a A^1 através da glicina; M^A está acoplado a T^1 através da serina; e M^A está acoplado a L^D através da serina.

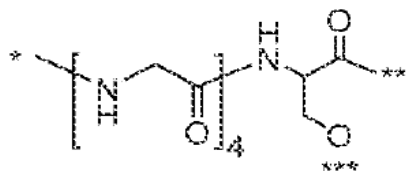
[00221] Em algumas modalidades, M^A compreende



[00222] Em algumas modalidades, M^A compreende (glicina)₄-

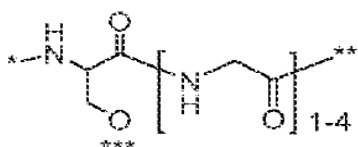
(serina), em que: M^A está acoplado a A^1 através de uma das glicinas; M^A está acoplado a T^1 através da serina; e M^A está acoplado a L^D através da serina.

[00223] Em algumas modalidades, M^A compreende



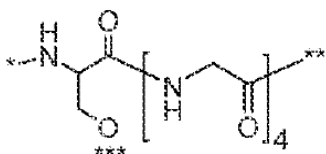
[00224] Em algumas modalidades, M^A compreende (serina)-(glicina)₁₋₄, em que: M^A está acoplado a A^1 através da serina; M^A está acoplado a T^1 através de uma das glicinas; e M^A está acoplado a L^D através da serina.

[00225] Em algumas modalidades, M^A compreende



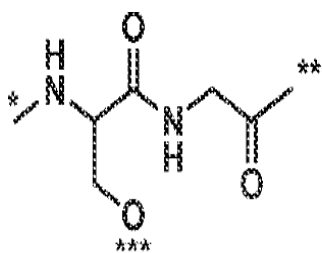
[00226] Em algumas modalidades, M^A compreende (serina)-(glicina)₄, em que: M^A está acoplado a A^1 através da serina; M^A está acoplado a T^1 através de uma das glicinas; e M^A está acoplado a L^D através da serina.

[00227] Em algumas modalidades, M^A compreende



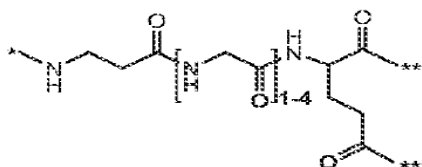
[00228] Em algumas modalidades, M^A compreende (serina)-(glicina), em que: M^A está acoplado a A^1 através da serina; M^A está acoplado a T^1 através de uma das glicinas; e M^A está acoplado a L^D através da serina.

[00229] Em algumas modalidades, M^A compreende



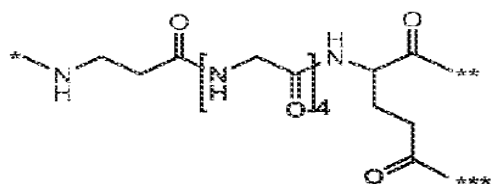
[00230] Em algumas modalidades, M^A compreende (β-alanina)-(glicina)₁₋₄-(serina), em que: M^A está acoplado a A¹ através de β-alanina; M^A está acoplado a T¹ através da serina; e M^A está acoplado a L^D através da serina.

[00231] Em algumas modalidades, M^A compreende



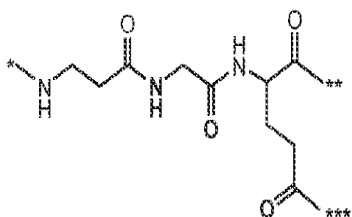
[00232] Em algumas modalidades, M^A compreende (β-alanina)-(glicina)₄-(serina), em que: M^A está acoplado a A¹ através de β-alanina; M^A está acoplado a T¹ através da serina; e M^A está acoplado a L^D através da serina.

[00233] Em algumas modalidades, M^A compreende



[00234] Em algumas modalidades, a porção peptídica compreende (β-alanina)-(glicina)-(ácido glutâmico), em que: a porção peptídica está acoplada a L³ quando presente ou a L^M quando L³ está ausente através de β-alanina; a porção peptídica está acoplada a T¹ quando presente, através de ácido glutâmico e; a porção peptídica está acoplada a L^D quando presente, através de ácido glutâmico.

[00235] Em algumas modalidades, a porção peptídica compreende



[00236] É entendido que para modalidades de M^A, * indica acoplamento a A¹, ** indica acoplamento a T¹ e *** indica acoplamento a L^D.

Grupo Hidrofílico (Variável T¹)

[00237] Em algumas modalidades, o grupo hidrofílico incluído nos conjugados ou arcabouços da descrição é um polímero solúvel em água e substancialmente não antigênico. Exemplos do grupo hidrofílico incluem, mas não estão limitados a, poliálcoois, poliéteres, poliânions, polications, ácidos polifosfóricos, poliaminas, polissacarídeos, compostos poli-hidroxi, polilisinas e seus derivados. Em algumas modalidades, uma extremidade do grupo hidrofílico pode ser funcionalizada de modo que possa ser covalentemente ligada ao ligante M^A (por exemplo, a um aminoácido no ligante M^A) por meio de uma ligação não clivável ou por meio de uma ligação clivável. Em algumas modalidades, a funcionalização pode ser, por exemplo, através de uma amina, tiol, éster NHS, maleimida, alcino, azida, carbonila ou outro grupo funcional. Em algumas modalidades, a outra terminação (ou terminações) do grupo hidrofílico será livre e não amarrada. Em algumas modalidades, por "não amarrada", é entendido que o grupo hidrofílico não será acoplado a outra porção, tal como D ou uma Unidade de Fármaco, ou outros componentes dos conjugados ou arcabouços da descrição. Em algumas modalidades, a extremidade livre e não amarrada do grupo hidrofílico pode incluir uma metoxila, ácido carboxílico, álcool ou outro grupo funcional adequado. Em algumas modalidades, a metoxila, ácido carboxílico, álcool, ou outro grupo funcional adequado atua como uma cobertura para terminação ou terminações do grupo hidrofílico.

[00238] Em algumas modalidades, uma ligação clivável se refere a uma ligação que não é substancialmente sensível à clivagem enquanto circula no plasma, mas é sensível à clivagem em um ambiente intracelular ou intratumoral. Em algumas modalidades, uma ligação não clivável é aquela que não é substancialmente sensível à clivagem em qualquer ambiente biológico. Em algumas modalidades, hidrólise química de uma hidrazona, redução de um dissulfeto e clivagem enzimática de uma ligação peptídica ou ligação glicosídica são exemplos de ligações cliváveis. Em algumas modalidades, as ligações exemplificadoras do grupo hidrofílico são através de ligações amida, ligações éter, ligações éster, ligações hidrazona, ligações oxima, ligações de dissulfeto, ligações peptídicas, ou ligações de triazol. Em algumas modalidades, a ligação do grupo hidrofílico ao ligante M^A (por exemplo, a um aminoácido no ligante M^A) é através de uma ligação amida.

[00239] Em algumas modalidades em que o conjugado ou arcabouço da descrição compreende mais do que um grupo hidrofílico, os múltiplos grupos hidrofílicos podem ser porções químicas iguais ou diferentes (por exemplo, grupos hidrofílicos de pesos moleculares, número de subunidades ou estrutura química diferentes). Em algumas modalidades, os múltiplos grupos hidrofílicos podem ser ligados ao ligante M^A em um único sítio de fixação ou sítios diferentes.

[00240] Em algumas modalidades, a adição do grupo hidrofílico pode ter dois impactos potenciais sobre a farmacocinética do conjugado resultante. Em algumas modalidades, o impacto desejado é a diminuição da depuração (e consequente aumento da exposição) que surge da redução das interações não específicas induzidas pelos elementos hidrofóbicos expostos do fármaco ou ligante de fármaco. Em algumas modalidades, o impacto indesejado é a diminuição do volume e da taxa de distribuição que pode surgir do aumento do peso molecular do conjugado. Em algumas modalidades, aumentar o peso molecular do

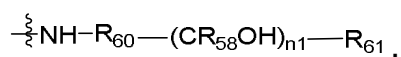
grupo hidrofílico aumenta o raio hidrodinâmico de um conjugado, resultando em difusividade diminuída que pode diminuir a capacidade do conjugado de penetrar em um tumor. Devido a esses dois efeitos farmacocinéticos concorrentes, pode ser desejável usar um grupo hidrofílico que seja suficientemente grande para diminuir a depuração do conjugado, aumentando assim a exposição plasmática, mas não tão grande que diminua grandemente sua difusividade, o que pode reduzir a capacidade do conjugado de atingir a população de células alvo pretendida.

[00241] Em algumas modalidades, o grupo hidrofílico inclui, mas não está limitado a, um álcool de açúcar (também conhecido como poliálcool, álcool poli-hídrico, alditol ou glicitol, tal como inositol, glicerol, eritritol, treitol, arabitól, xilitol, ribitol, galactitol, manitol, sorbitol e semelhantes) ou um derivado dos mesmos (por exemplo, aminopoliálcool), carboidrato (por exemplo, um sacarídeo), um álcool polivinílico, um polímero à base de carboidrato (por exemplo, dextrans), uma hidroxipropilmetacrilamida (HPMA), um óxido de polialquilenos e/ou um copolímero dos mesmos.

[00242] Em algumas modalidades, T^1 compreende uma pluralidade de grupos hidroxila ("OH"), tal como as porções que incorporam os monossacarídeos, oligossacarídeos, polissacarídeos e semelhantes.

[00243] Em algumas modalidades, T^1 compreende uma pluralidade de grupos $-(CR_{58}OH)-$ em que R_{58} é H ou C_{1-8} alquila.

[00244] Em algumas modalidades, T^1 é OH ou



em que:

n_1 é um número inteiro entre 0 a cerca de 6;

cada R_{58} é independentemente H ou C_{1-8} alquila;

R_{60} é uma ligação, um ligante C_{1-6} alquila, ou $-CHR_{59}-$ em que R_{59} é H, C_{1-8} alquila, cicloalquila, ou arilalquila;

R_{61} é CH_2OR_{62} , $COOR_{62}$, $-(CH_2)_{n_2}COOR_{62}$, ou uma heterocicloalquila substituída com uma ou mais hidroxilas;

R_{62} é -H ou C_{1-8} alquila; e

n_2 é um número inteiro entre 01 a cerca de 5.

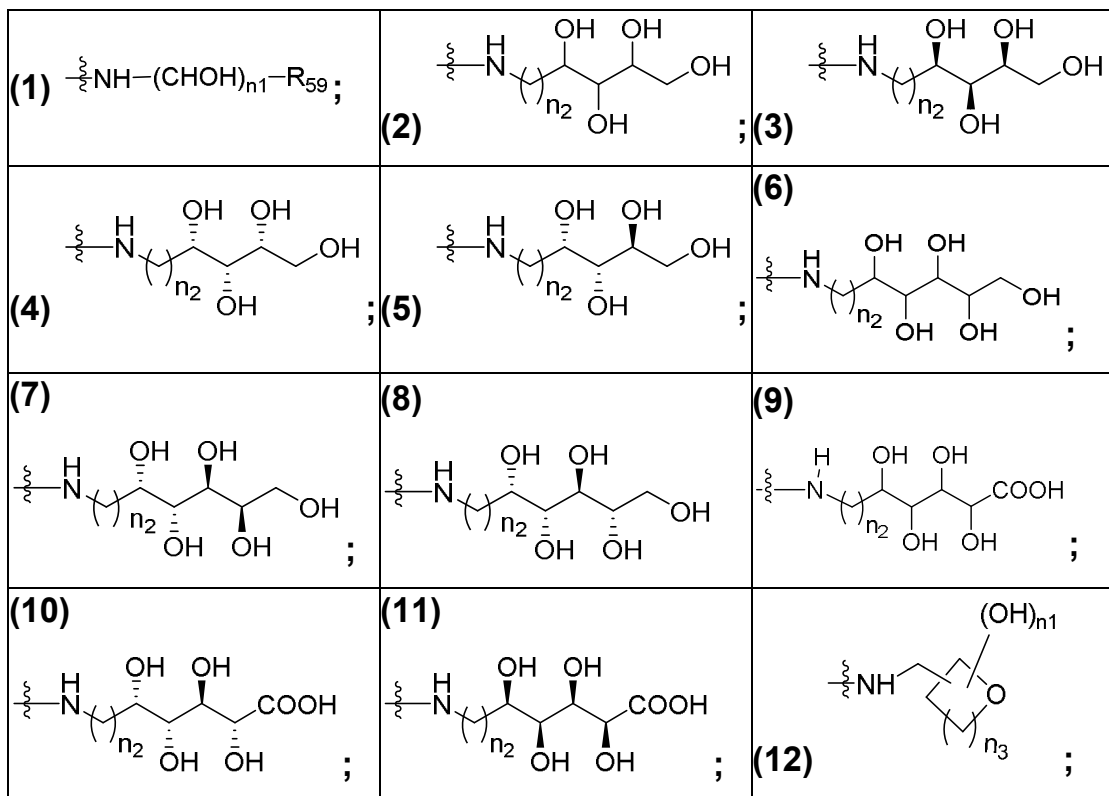
[00245] Em algumas modalidades, T^1 é -OH. Em algumas modalidades, T^1 é $-\frac{1}{2}NH-R_{60}-(CR_{58}OH)_{n_1}-R_{61}$.

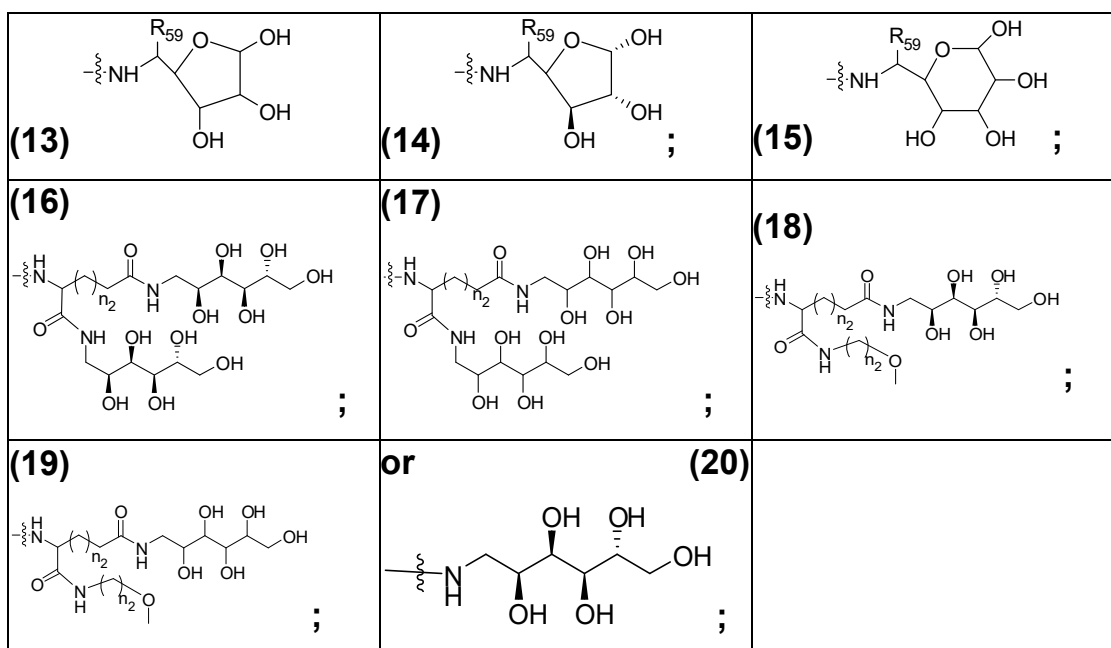
[00246] Em algumas modalidades, R_{58} é -H; R_{60} é uma ligação ou um ligante C_{1-6} alquila; n_1 é um número inteiro entre 1 a cerca de 6; e R_{61} é CH_2OH ou $COOH$.

[00247] Em algumas modalidades, R_{58} é -H; R_{60} é $-CHR_{59}-$; n_1 é 0; e R_{61} é a uma heterocicloalquila substituída com uma ou mais hidroxilas por exemplo, um monossacarídeo.

[00248] Em algumas modalidades, T^1 compreende uma glicosilamina, a di- amina, ou uma tri- amina.

[00249] Em algumas modalidades, T^1 compreende um ou mais dos seguintes fragmentos ou um estereoisômero desses:





em que: R_{59} é -H, C_{1-8} alquila, cicloalquila, ou arilalquila; n_1 é um número inteiro entre cerca de 1 a cerca de 6; n_2 é um número inteiro entre cerca de 1 a cerca de 5; n_3 é um número inteiro entre cerca de 1 a cerca de 3.

[00250] Deve ser entendido que todas as formas estereoquímicas dos grupos hidrofílicos são contempladas aqui. Por exemplo, na fórmula acima, o grupo hidrofílico pode ser derivado de ribose, xilose, glicose, manose, galactose ou outro açúcar e reter os arranjos estereoquímicos dos grupos hidroxila e alquila pendentes presentes nessas moléculas.

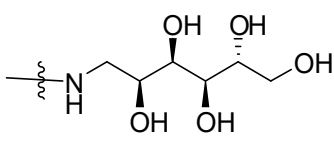
[00251] Deve ser entendido que nas fórmulas anteriores, vários compostos desóxi também são contemplados. Ilustrativamente, uma ou mais das seguintes características são contempladas para os grupos hidrofílicos quando aplicáveis.

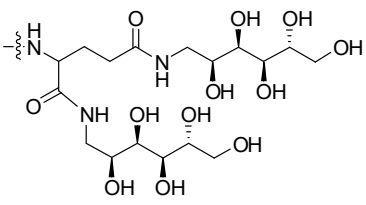
[00252] Em algumas modalidades, n_3 é 2 ou 3.

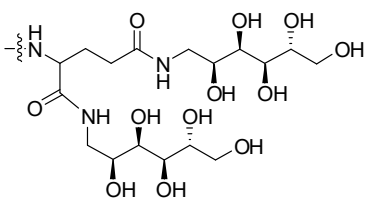
[00253] Em algumas modalidades, n_1 é 1, 2 ou 3.

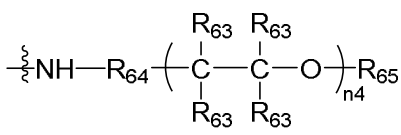
[00254] Em algumas modalidades, n_2 é 1.

[00255] Em algumas modalidades, R_{59} é hidrogênio.

[00256] Em algumas modalidades, T¹ é . Em

algumas modalidades, T¹ é . Em algumas mo-

dalidades, T¹ é .

[00257] Em algumas modalidades, T¹ é ,
em que

n₄ é um número inteiro entre cerca de 1 a cerca de 25;

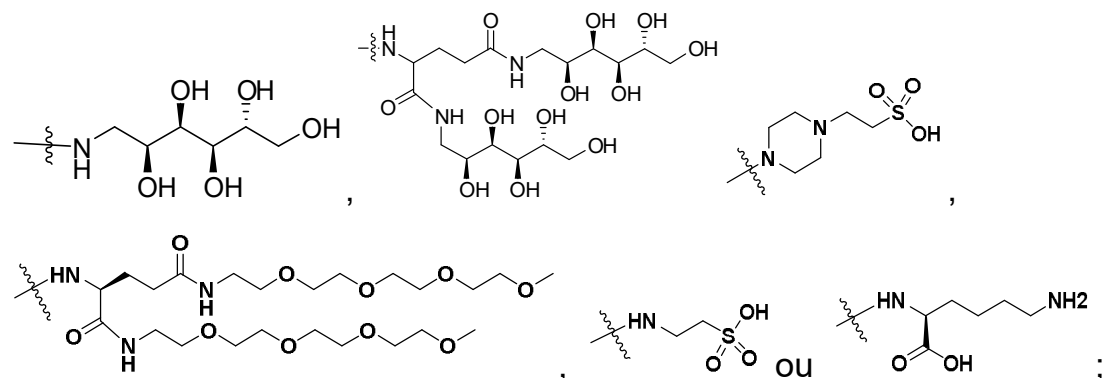
cada R₆₃ é independentemente -H ou C₁₋₈ alquila;

R₆₄ é uma ligação ou um ligante C₁₋₈ alquila;

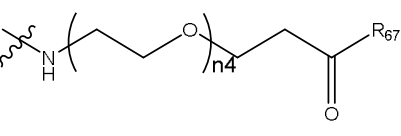
R₆₅ é -H, C₁₋₈ alquila, -(CH₂)_{n2}COOR₆₂, ou -(CH₂)_{n2}COR₆₆;

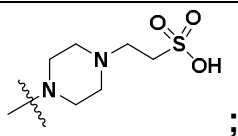
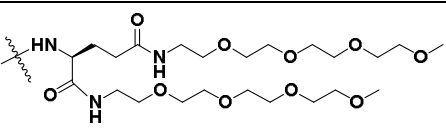
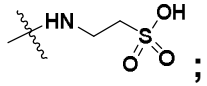
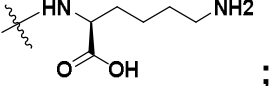
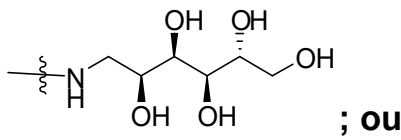
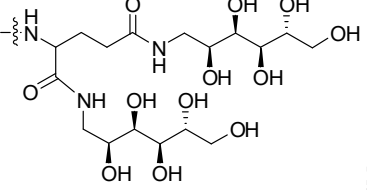
R₆₂ é -H ou C₁₋₈ alquila;

R₆₆ é H,

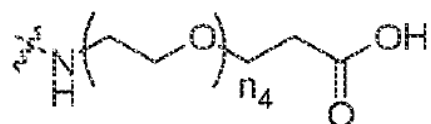


e n₂ é um número inteiro entre 1 a cerca de 5.

[00258] Em algumas modalidades, T¹ é ,
em que R₆₇ é : (1) -OH;

(2)  ;	(3)  ;
(4)  ;	(5)  ;
(6)  ; ou	(7)  ;

em que n_4 é um número inteiro entre cerca de 2 a cerca de 20, entre cerca de 4 a cerca de 16, entre cerca de 6 a cerca de 12, entre cerca de 8 a cerca de 12.



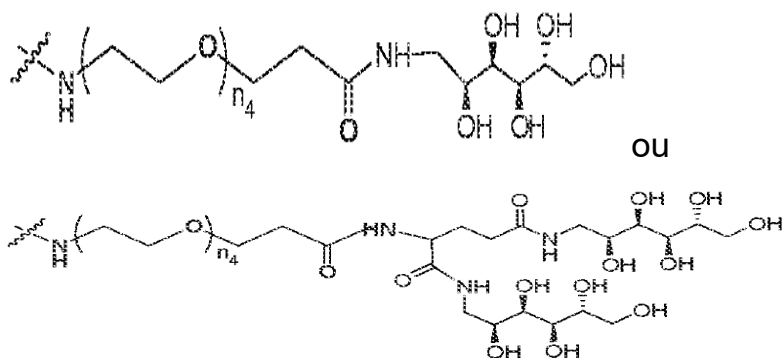
[00259] Em algumas modalidades, T^1 é

[00260] Em algumas modalidades, n_4 é um número inteiro entre cerca de 2 a cerca de 20, entre cerca de 4 a cerca de 16, entre cerca de 6 a cerca de 12, entre cerca de 8 a cerca de 12.

[00261] Em algumas modalidades, n_4 é 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12.

[00262] Em algumas modalidades, n_4 é 8 ou 12.

[00263] Em algumas modalidades, T^1 é



em que n_4 é um

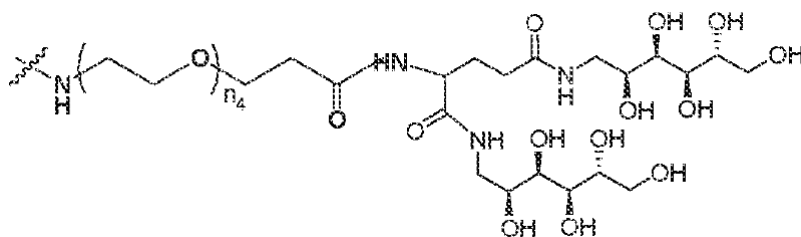
número inteiro entre cerca de 2 a cerca de 24, entre cerca de 4 a cerca de 16, entre cerca de 6 a cerca de 12, entre cerca de 8 a cerca de 12.

[00264] Em algumas modalidades, n_4 é 6, 7, 8, 9, 10, 11 ou 12.

[00265] Em algumas modalidades, n_4 é 8 ou 12. Em algumas mo-

dalidades, n_4 é 8

[00266] Em algumas modalidades, T^1 é



em que n_4 é 8.

[00267] Em algumas modalidades, T^1 compreende um poliéter, por exemplo, um polialquileno glicol (PAO). PAO inclui, mas não está limitado a, polímeros de óxidos de alquileno inferiores, em particular polímeros de óxido de etileno, tais como, por exemplo, óxido de propileno, polipropileno glicóis, polietileno glicol (PEG), polióis polioxietilenados, seus copolímeros e copolímeros em bloco.

[00268] Em algumas modalidades, o polialquileno glicol é um polietileno glicol (PEG) incluindo, mas não limitado a PEG polidisperso, PEG monodisperso e PEG discreto. Os PEGs polidispersos são uma mistura heterogênea de tamanhos e pesos moleculares, enquanto os PEGs monodispersos são tipicamente purificados a partir de misturas heterogêneas e, portanto, fornecem um único comprimento de cadeia e peso molecular. Em algumas modalidades, as unidades PEG são PEGs discretos que fornecem uma única molécula com comprimento de cadeia definido e especificado. Em algumas modalidades, o polietileno glicol é mPEG.

[00269] Em algumas modalidades, T^1 compreende uma unidade de PEG que compreende uma ou múltiplas cadeias de PEG. As cadeias de PEG podem estar ligadas entre si, por exemplo, em uma configuração linear, ramificada ou em forma de estrela. A unidade de PEG, além de compreender subunidades de PEG repetidas, também pode compreender material não PEG (por exemplo, para facilitar o acoplamento de múltiplas cadeias de PEG entre si ou para facilitar o acoplamento ao aminoácido). O material não PEG se refere aos átomos na

cadeia PEG que não fazem parte das subunidades $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$ repetidas. Em algumas modalidades, a cadeia de PEG pode compreender duas cadeias de PEG monoméricas ligadas entre si por meio de elementos não PEG. Em algumas modalidades, a Unidade PEG pode compreender duas cadeias lineares de PEG ligadas a um núcleo central que está acoplado ao aminoácido (isto é, a própria unidade de PEG é ramificada).

[00270] A unidade de PEG pode ser covalentemente ligada ao ligante M^{A} (por exemplo, a um aminoácido no ligante M^{A}) através de um grupo reativo. Grupos reativos são aqueles aos quais uma molécula de PEG ativada pode estar ligada (por exemplo, um grupo amino ou carboxila livre). Em algumas modalidades, aminoácidos N-terminais e lisinas (K) têm um grupo amino livre; e os resíduos de aminoácidos C-terminais têm um grupo carboxila livre. Grupos sulfidril (por exemplo, como encontrados em resíduos de cisteína) também podem ser usados como um grupo reativo para acoplar PEG.

[00271] Em algumas modalidades, a unidade de PEG pode ser acoplada ao ligante M^{A} (por exemplo, a um aminoácido no ligante M^{A}) usando PEG metoxilado ("mPEG") que possui diferentes porções reativas, incluindo, mas não se limitando a succinato de succinimidila (SS), carbonato de succinimidila (SC), mPEG-imidato, para-nitrofenilcarbonato (NPC), propionato de succinimidila (SPA) e cloreto cianúrico. Exemplos de mPEGs incluem, mas não estão limitados a mPEG- succinato de succinimidila (mPEG-SS), mPEG₂-succinato de succinimidila (mPEG₂-SS), mPEG-carbonato de succinimidila (mPEG-SC), mPEG₂-carbonato de succinimidila (mPEG₂-SC), mPEG-imidato, mPEG-para-nitrofenilcarbonato (mPEG-NPC), mPEG-imidato, mPEG₂-para-nitrofenilcarbonato (mPEG₂-NPC), mPEG-propionato de succinimidila (mPEG-SPA), mPEG₂-propionato de succinimidila (mPEG₂-SPA), mPEG-N-hidróxi-succinimida (mPEG-NHS), mPEG₂-N-hidróxi-

succinimida (mPEG₂—NHS), mPEG-cloreto cianúrico, mPEG₂-cloreto cianúrico, mPEG₂-Lisinol-NPC e mPEG₂-Lys-NHS. Uma grande variedade de espécies de PEG pode ser usada, e substancialmente qualquer reagente de PEG reativo adequado pode ser usado. Em algumas modalidades, o reagente de PEG reativo resultará na formação de uma ligação carbamato ou amida após o acoplamento ao Ligante Multifuncional ou Ligante M^A (por exemplo, a um aminoácido no ligante M^A). Os reagentes de PEG reativos incluem, mas não estão limitados a mPEG₂-N-hidróxi-succinimida (mPEG₂-NHS), propionaldeído de PEG bifuncional (mPEG₂-ALD), PEG de múltiplos braços, PEG contendo maleimida (mPEG(MAL)₂, mPEG₂(MAL)), mPEG-NH₂, mPEG-propionato de succinimidila (mPEG-SPA), succinimida de butanoato de mPEG ácido (mPEG-SBA), mPEG-tioésteres, mPEG-éster duplo, mPEG-BTC, mPEG-ButirALD, mPEG-dietil acetal acetaldeído (mPEG-ACET), PEGs heterofuncionais (por exemplo, NH₂-PEG-COOH, Boc-PEG-NHS, Fmoc-PEG-NHS, NHS-PEG-vinilsulfona (NHS-PEG-VS), ou NHS-PEG- MAL), acrilatos de PEG (ACRL-PEG-NHS), PEG-fosfolipídeos (por exemplo, mPEG-DSPE), PEGs de múltiplos braços da série SUNBRITE™ incluindo PEGs baseados em glicerina ativados por uma química escolhida por aqueles versados na Técnica, quaisquer PEGs ativados SUNBRITE (incluindo, mas não limitadas a carboxil-PEGs, p-NP-PEGs, Tresil-PEGs, aldeídos de PEGs, acetal-PEGs, amino- PEGs, tiol-PEGs, maleimido-PEGs, hidroxil-PEG-amina, amino-PEG-COOK, hidroxil-PEG- aldeído, anidrido carboxílico do tipo-PEG, PEG-fosfolipídeo funcionalizado e outros PEGs similares e/ou reativos adequados.

[00272] Em algumas modalidades, a unidade de PEG compreende pelo menos 6 subunidades, pelo menos 7 subunidades, pelo menos 8 subunidades, pelo menos 9 subunidades, pelo menos 10 subunidades, pelo menos 11 subunidades, pelo menos 12 subunidades, pelo menos

13 subunidades, pelo menos 13 subunidades, pelo menos 14 subunidades, pelo menos 15 subunidades, pelo menos 16 subunidades, pelo menos 17 subunidades, pelo menos 18 subunidades, pelo menos 19 subunidades, pelo menos 20 subunidades, pelo menos 21 subunidades, pelo menos 22 subunidades, pelo menos 23 subunidades ou pelo menos 24 subunidades. Em algumas dessas modalidades, a unidade de PEG compreende não mais do que cerca de 72 subunidades.

[00273] Em algumas modalidades, a unidade PEG compreende pelo menos 6 subunidades, pelo menos 7 subunidades, pelo menos 8 subunidades, pelo menos 9 subunidades, pelo menos 10 subunidades, pelo menos 11 subunidades, pelo menos 12 subunidades, pelo menos 13 subunidades, pelo menos 14 subunidades, pelo menos 15 subunidades, pelo menos 16 subunidades, pelo menos 17 subunidades, pelo menos 18 subunidades, pelo menos 19 subunidades ou pelo menos 20 subunidades.

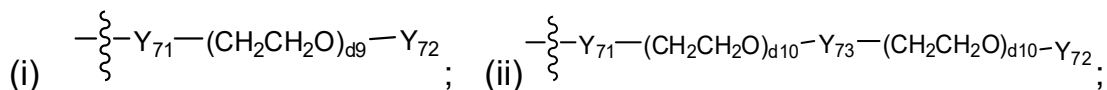
[00274] Em algumas modalidades, a unidade PEG compreende pelo menos 6 subunidades, pelo menos 7 subunidades, pelo menos 8 subunidades, pelo menos 9 subunidades, pelo menos 10 subunidades, pelo menos 11 subunidades, pelo menos 12 subunidades, pelo menos 13 subunidades, pelo menos 14 subunidades, pelo menos 15 subunidades, pelo menos 16 subunidades, pelo menos 17 subunidades ou pelo menos 18 subunidades.

[00275] Em algumas modalidades, a unidade de PEG compreende pelo menos 6 subunidades, pelo menos 7 subunidades, pelo menos 8 subunidades, pelo menos 9 subunidades, pelo menos 10 subunidades, pelo menos 11 subunidades ou pelo menos 12 subunidades.

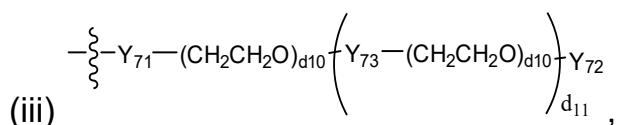
[00276] Em algumas modalidades, a unidade PEG compreende pelo menos 8 subunidades, pelo menos 9 subunidades, pelo menos 10 subunidades, pelo menos 11 subunidades ou pelo menos 12 subunidades.

[00277] Em algumas modalidades, a unidade PEG compreende pelo menos 6 subunidades, pelo menos 7 subunidades ou pelo menos 8 subunidades.

[00278] Em algumas modalidades, uma unidade PEG linear é:



ou



em que:

$\begin{array}{c} \text{---} \end{array}$ indica o sítio de acoplamento ao ligante M^A (por exemplo, a um aminoácido no ligante M^A);

Y₇₁ é uma unidade de acoplamento de PEG;

Y₇₂ é uma unidade de cobertura de PEG;

Y₇₃ é uma unidade de acoplamento de PEG (isto é, para o acoplamento de múltiplas cadeias de subunidade de PEG);

d₉ é um número inteiro entre 2 a 72;

cada d₁₀ é independentemente um número inteiro entre 1 a 72; e

d₁₁ é um número inteiro entre 2 a 5

[00279] Em algumas modalidades, d₉ é um número inteiro entre 2 a 24. Em algumas modalidades, d₉ é um número inteiro entre 4 a 24. Em algumas modalidades, d₉ é um número inteiro entre 6 a 24, entre 8 a 24, entre 10 a 24 ou entre 12 a 24.

[00280] Em algumas modalidades, existem pelo menos 6 subunidades PEG na unidade PEG. Em algumas modalidades, existem pelo menos 8 subunidades PEG na unidade PEG. Em algumas modalidades, existem pelo menos 10 subunidades PEG na unidade PEG. Em algumas modalidades, existem pelo menos 12 subunidades PEG na unidade PEG.

[00281] Em algumas modalidades, d_9 é 8 ou cerca de 8, 12 ou cerca de 12, 24 ou cerca de 24.

[00282] Em algumas modalidades, cada Y_{72} é independentemente - C_{1-10} alquila, - C_{2-10} alquila- CO_2H , - C_{2-10} alquila-OH, - C_{2-10} alquila- NH_2 , - C_{2-10} alquila- $NH(C_{1-3}$ alquila), ou C_{2-10} alquila- $N(C_{1-3}$ alquila) $_2$.

[00283] Em algumas modalidades, Y_{72} é - C_{1-10} alquila, - C_{2-10} alquila- CO_2H , - C_{2-10} alquila-OH, ou - C_{2-10} alquila- NH_2 .

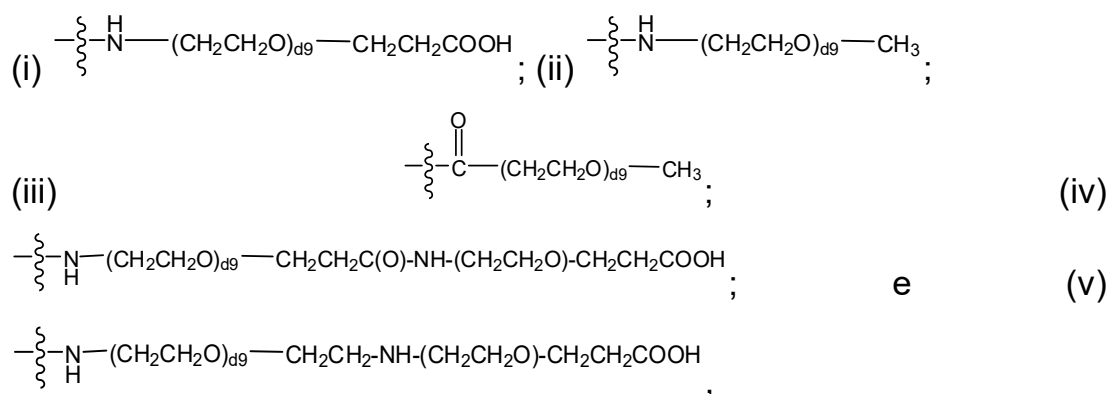
[00284] Em algumas modalidades, a unidade de acoplamento de PEG é parte da unidade de PEG e o material não PEG que atua para conectar duas ou mais cadeias de subunidades de repetição CH_2CH_2O - subunits. Em algumas modalidades, a unidade de acoplamento de PEG Y_{73} é - C_{2-10} alquila- $C(O)-NH$ -, - C_{2-10} alquila- $NH-C(O)$ -, - C_{2-10} alquila- NH -, - C_{2-10} alquila- $C(O)$ -, - C_{2-10} alquila- O -, ou - C_{2-10} alquila- S -.

[00285] Em algumas modalidades, cada Y_{73} é independentemente - C_{1-10} alquila- $C(O)-NH$ -, - C_{1-10} alquila- $NH-C(O)$ -, - C_{2-10} alquila- NH -, - C_{2-10} alquila- O -, - C_{1-10} alquila- S -, ou - C_{1-10} alquila- NH -.

[00286] Em algumas modalidades, a unidade de acoplamento de PEG faz parte da unidade de PEG e atua para ligar a unidade de PEG ao ligante M^A (por exemplo, a um aminoácido no ligante M^A). Em algumas modalidades, o aminoácido tem um grupo funcional que forma uma ligação com a Unidade de PEG. Em algumas modalidades, os grupos funcionais para ligação da unidade PEG ao aminoácido incluem grupos sulfidril para formar ligações de dissulfeto ou ligações tioéter, grupos aldeído, cetona ou hidrazina para formar ligações hidrazona, hidroxilamina para formar ligações oxima, grupos carboxílicos ou amino para formar ligações peptídicas, grupos carboxílicos ou hidroxil para formar ligações éster, ácidos sulfônicos para formar ligações sulfonamida, álcoois para formar ligações carbamato e aminas para formar ligações sulfonamida ou ligações carbamato ou ligações amida.

Em algumas modalidades, a unidade de PEG pode ser ligada ao aminoácido, por exemplo, através de uma ligação de dissulfeto, tioéter, hidrazona, oxima, peptídeo, éster, sulfonamida, carbamato ou amida. Em algumas modalidades, a reação para anexar a unidade PEG pode ser uma reação de cicloadição, adição, adição/eliminação ou substituição, ou uma combinação das mesmas, quando aplicável.

[00287] Exemplos de unidades PEG lineares incluem:



em que S indica o sítio de acoplamento ao Ligante multifuncional ou ligante M^A (por exemplo, a uma aminoácido do ligante M^A) e cada d_9 é independentemente um número inteiro entre 4 a 24, 6 a 24, 8 a 4, 10 a 24, 12 a 24, 14 a 24 ou 16 a 24.

[00288] Em algumas modalidades, d_9 é cerca de 8, cerca de 12 ou cerca de 24. Em algumas modalidades, d_9 é cerca de 8.

[00289] Em algumas modalidades, a unidade de PEG tem de cerca de 300 Da a cerca de 5 kDa; de cerca de 300 Da a cerca de 4 kDa; de cerca de 300 Da a cerca de 3 kDa; de cerca de 300 Da a cerca de 2 kDa; ou de cerca de 300 Da a cerca de 1 kDa. Em algumas modalidades, a unidade de PEG tem pelo menos 6 subunidades ou pelo menos 8, 10 ou 12 subunidades. Em algumas modalidades, a unidade PEG tem pelo menos 6 subunidades ou pelo menos 8, 10 ou 12 subunidades, mas não mais que 24 subunidades.

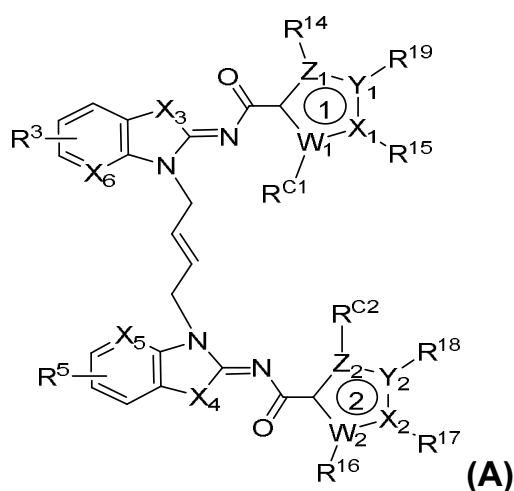
[00290] Em algumas modalidades, polietileno glicóis adequados podem ter um grupo hidroxil livre em cada extremidade da molécula de

polímero, ou podem ter um grupo hidroxí eterificado com um grupo alquila inferior, por exemplo, um grupo metila. Em algumas modalidades, polietileno glicóis adequados são derivados de polietileno glicóis com grupos carbóxi esterificáveis. Em algumas modalidades, os polietilenoglicóis estão comercialmente disponíveis sob o nome comercial PEG, geralmente como misturas de polímeros caracterizados por um peso molecular médio. Em algumas modalidades, polietileno glicóis possuem um peso molecular médio de cerca de 300 a cerca de 5.000. Em algumas modalidades, polietileno glicóis possuem um peso molecular médio de cerca de 600 a cerca de 1.000.

[00291] Em algumas modalidades, exemplos de grupos hidrofílicos que são adequados para os conjugados, arcabouços e métodos divulgados aqui podem ser encontrados em, por exemplo, US 8.367.065 coluna 13; US 8.524.696 coluna 6; WO2015/057699 e WO 2014/062697, cujos conteúdos estão aqui incorporados por referência em sua totalidade.

Porção de Fármaco Agonista de STING (Variável D)

[00292] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING (D) é um composto da Fórmula (A):



ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que:

Y₁, Y₂, Z₁ e Z₂ são cada um independentemente O, S, C ou

N;

X_1 , X_2 , W_1 e W_2 são cada um independentemente C ou N;

X_3 e X_4 são cada um independentemente S ou NR^f ;

X_5 é N ou CR^{A2} ;

X_6 é N ou CR^{A1} ;

R^3 e R^5 são cada um independentemente $-CON(R^d)(R^f)$, $-CH_2N(R^d)(R^f)$, $-N(R^d)(R^f)$, $-N(R^d)CO(R^f)$, $-CH_2N(R^d)CO(R^f)$ ou um de R^3 e R^5 é $-CON(R^d)(R^f)$, $-CH_2N(R^d)(R^f)$, $-N(R^d)(R^f)$, $-N(R^d)CO(R^f)$ ou $-CH_2N(R^d)CO(R^f)$, e o outro de R^3 e R^5 é H, $-COOH$, ou $-CO_2(R^c)$;

R^c é C_{1-4} alquila;

R^{A2} e R^{A1} são cada um independentemente H, halogênio, hidroxila, amino, amino(C_{1-4} alquila)-, (C_{1-6} alquila) opcionalmente substituída, ou (C_{1-6} alquila)óxi- opcionalmente substituída, em que a C_{1-6} alquila da referida (C_{1-6} alquila) opcionalmente substituída ou (C_{1-6} alquila)óxi- opcionalmente substituída é opcionalmente substituída com 1-4 substituintes cada um independentemente selecionado do grupo que compreende hidroxila, C_{1-4} alcóxila, $-N(R^e)(R^f)$, $-CO_2(R^f)$, $-CON(R^e)(R^f)$, e $-COOH$;

cada R^d é independentemente H, hidroxila, ou C_{1-4} alquila;

R^e é selecionado entre H, (C_{1-4} alquila), $-CO(C_{1-4}$ alquila), $-OCO(C_{1-4}$ alquila), e $-CO_2(C_{1-4}$ alquila);

cada R^f é independentemente H, hydroxy, ou (C_{1-4} alquila);

R^{14} e R^{C2} são cada um independentemente ausente ou C_{1-4} alquila, em que C_{1-4} alquila é opcionalmente substituída por um substituinte selecionado entre halogênio, $-OR^c$, $-NR^cR^d$, $-CO_2R^c$, $-CONR^cR^d$, $-SO_2NR^cR^d$, e $-OCONR^cR^d$;

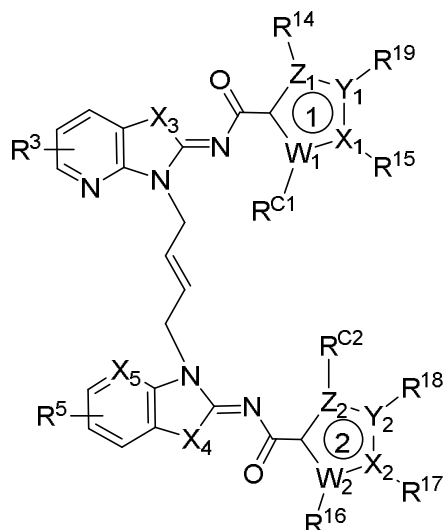
R^{16} e R^{C1} são cada um independentemente ausente, H ou C_{1-4} alquila; e

R^{15} , R^{17} , R^{18} , or R^{19} são cada um independentemente ausente, H, ou C_{1-4} alquila, em que C_{1-4} alquila opcionalmente substituída

por um substituinte selecionado entre halogênio, $-OR^c$, $-NR^cR^d$, $-CO_2R^c$, $-CONR^cR^d$, $-SO_2NR^cR^d$, e $-OCONR^cR^d$;

em que: (i) pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está presente e em que pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está conectado a L^D através de pelo menos um grupo funcional de R^{A2} e/ou R^{A1} ; ou (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente e em que pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D através de pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00293] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (Aa):



(A-a)

ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

Y_1 , Y_2 , Z_1 , Z_2 , X_1 , X_2 , W_1 , W_2 , X_3 , X_4 , R^3 , R^5 , R^c , R^d , R^e , R^f , R^{14} , R^{C2} , R^{16} , R^{C1} , R^{15} , R^{17} , R^{18} , e R^{19} são como definidos na Fórmula (A);

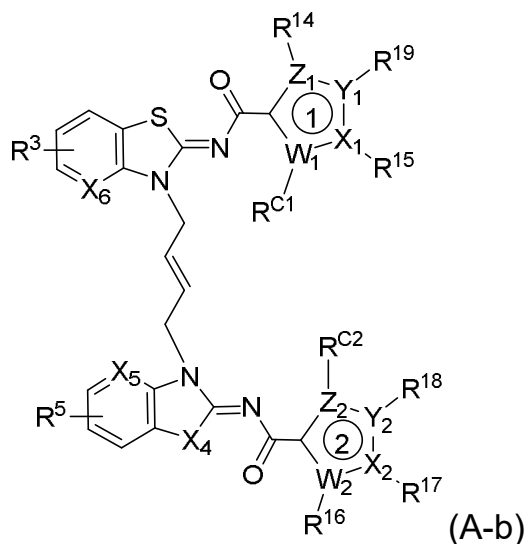
X_5 é CR^{A2} ; e

R^{A2} é halogênio, hidroxila, $(C_{1-6}$ alquila) opcionalmente substituída, $(C_{1-6}$ alquila)óxi- opcionalmente substituído, $(C_{1-6}$ alquila) amino opcionalmente substituído, $(C_{1-6}$ alquila) $(C_{1-4}$ alquila)amino-, em que a C_{1-6} alquila da referida $(C_{1-6}$ alquila) opcionalmente substituída

ou (C₁₋₆ alquila)óxi- opcionalmente substituída é opcionalmente substituída com 1-4 substituintes cada um independentemente selecionado do grupo que compreende hidroxila, C₁₋₄ alcoxila, -N(R^e)(R^f), -CO₂(R^f), -CON(R^e)(R^f), e -COOH;

em que a: (i) R^{A2} está conectado a L^D através de um grupo funcional de R^{A2}; ou (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D através de pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1}.

[00294] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-b):

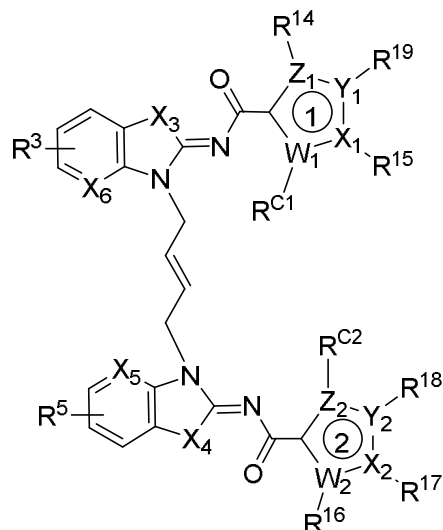


ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

Y₁, Y₂, Z₁, Z₂, X₁, X₂, W₁, W₂, X₄, X₅, X₆, R³, R⁵, R^c, R^{A2}, R^{A1}, R^d, R^e, R^f, R¹⁴, R^{C2}, R¹⁶, R^{C1}, R¹⁵, R¹⁷, R¹⁸, e R¹⁹ são como definidos na Fórmula (A);

em que a: (i) pelo menos um de R^{A2} and R^{A1} está presente, and em que a pelo menos um de R^{A2} and R^{A1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{A2} e/ou R^{A1}; or (ii) pelo menos um de R^{C2} and R^{C1} está presente, and em que a pelo menos um de R^{C2} and R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1}.

[00295] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-c)



(A-c)

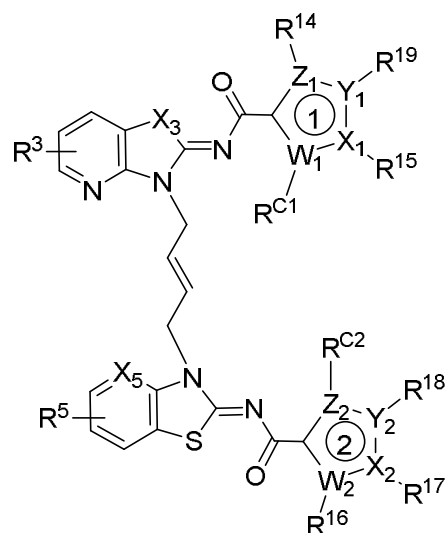
ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

Y_2 , Z_2 , X_2 , W_2 , X_3 , X_4 , X_5 , X_6 , R^3 , R^5 , R^c , R^{A2} , R^{A1} , R^d , R^e , R^f , R^{14} , R^{C2} , R^{16} , R^{C1} , R^{15} , R^{17} , R^{18} , e R^{19} são como definidos na Fórmula (A);

em que um de W_1 , X_1 , Y_1 , e Z_1 é N e o W_1 , X_1 , Y_1 , e Z_1 adicionais são O, S, ou C;

em que a: (i) pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{A2} e/ou R^{A1} ; ou (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00296] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-d):



(A-d)

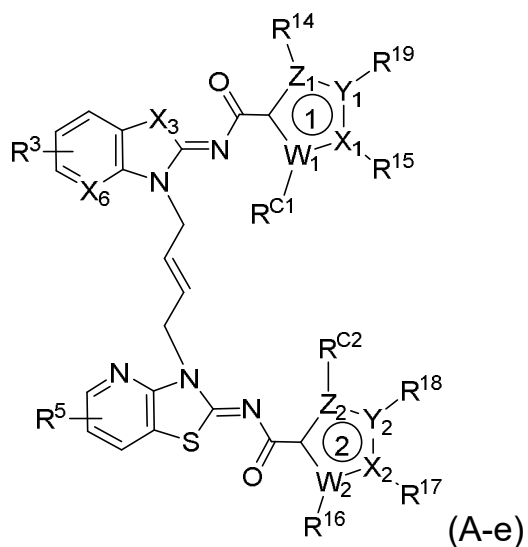
ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

Y_1 , Y_2 , Z_1 , Z_2 , X_1 , X_2 , W_1 , W_2 , X_3 , R^3 , R^5 , R^c , R^d , R^e , R^f , R^{14} , R^{A2} , R^{C2} , R^{16} , R^{C1} , R^{15} , R^{17} , R^{18} , e R^{19} são como definidos na Fórmula (A);

X_5 é CR^{A2} ; e

em que a: (i) R^{A2} está conectado a L^D através de um grupo funcional de R^{A2} ; or (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00297] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-e):



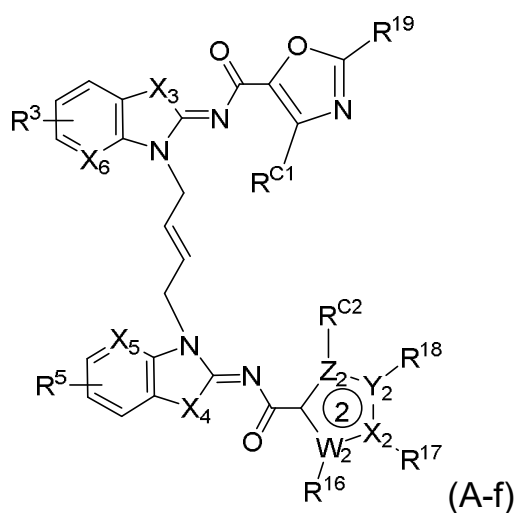
ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

Y_1 , Y_2 , Z_1 , Z_2 , X_1 , X_2 , X_3 , W_1 , W_2 , R^{A1} , R^3 , R^5 , R^c , R^d , R^e , R^f , R^{14} , R^{C2} , R^{16} , R^{C1} , R^{15} , R^{17} , R^{18} , e R^{19} são como definidos na Fórmula (A);

X_6 é CR^{A1} ; e

em que a: (i) R^{A1} está conectado a L^D através de um grupo funcional de R^{A1} ; ou (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00298] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-f):

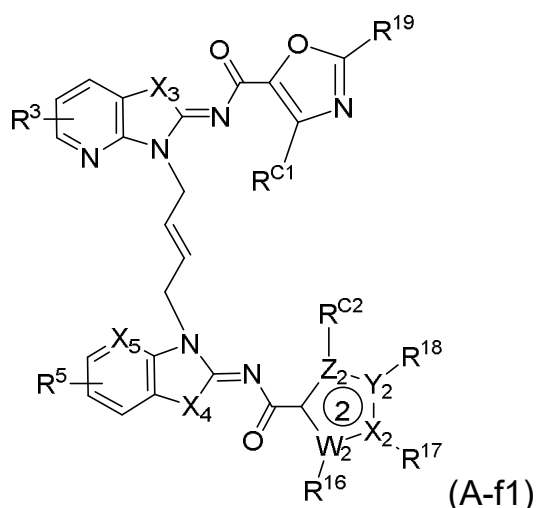


ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

X_2 , X_3 , X_4 , X_5 , W_2 , Y_2 , Z_2 , R^3 , R^5 , R^c , R^{A2} , R^{A1} , R^d , R^e , R^f , R^{16} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , R^{C2} , e R^{C1} , são como definidos na Fórmula (A), e

em que a: (i) pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{A2} e/ou R^{A1} ; ou (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00299] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-f1):



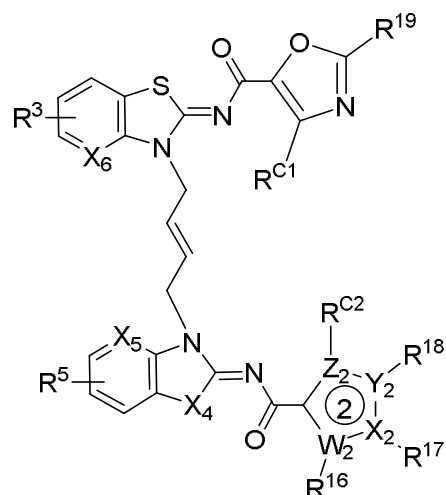
ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

X_2 , X_3 , X_4 , W_2 , Y_2 , Z_2 , R^3 , R^5 , R^c , R^d , R^e , R^f , R^{16} , R^{A2} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , R^{C2} , e R^{C1} , são como definidos na Fórmula (A);

X_5 é CR^{A2} ; e

em que a: (i) R^{A2} está conectado a L^D através de um grupo funcional de R^{A2} ; or (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00300] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-f2):



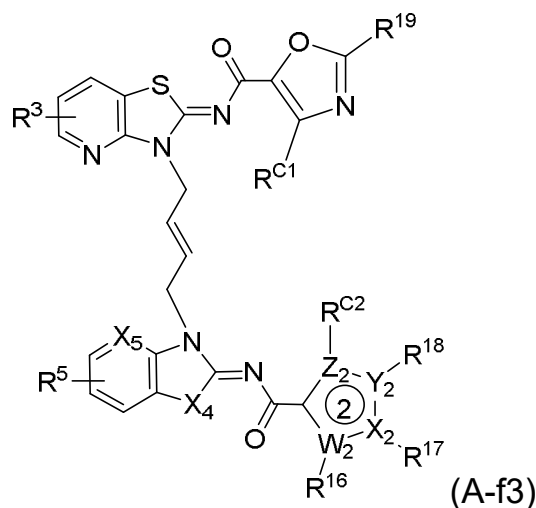
(A-f2)

ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

X_2 , X_4 , X_5 , X_6 , W_2 , Y_2 , Z_2 , R^3 , R^5 , R^c , R^{A2} , R^{A1} , R^d , R^e , R^{C1} , R^{C2} , R^{16} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , e R^f são como definidos na Fórmula (A);

em que a: (i) pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{A2} e/ou R^{A1} ; ou (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00301] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-f3):



(A-f3)

ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou

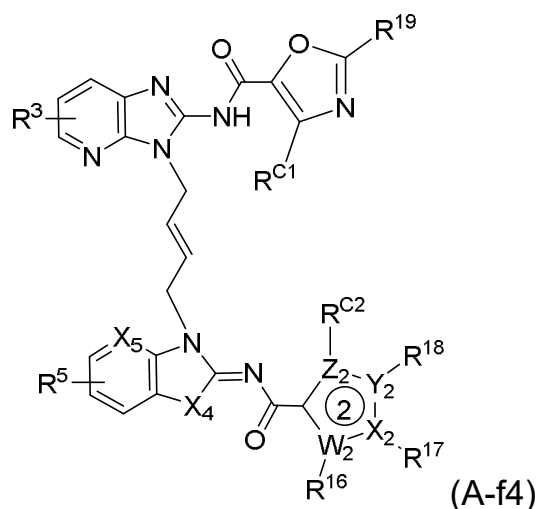
tautômero, em que

X_2 , X_4 , W_2 , Y_2 , Z_2 , R^3 , R^5 , R^c , R^d , R^e , R^f , R^{16} , R^{A2} , R^{C2} , R^{16} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , e R^{C1} são como definidos na Fórmula (A);

X_5 é CR^{A2} ; e

em que a: (i) R^{A2} está conectado a L^D através de um grupo funcional de R^{A2} ; or (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00302] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-f4):



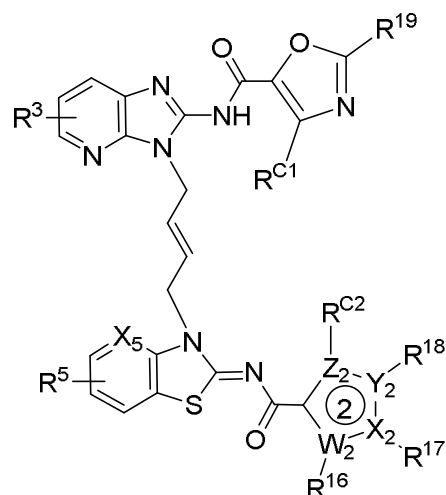
ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

X_2 , X_4 , W_2 , Y_2 , Z_2 , R^3 , R^5 , R^c , R^d , R^e , R^f , R^{16} , R^{A2} , R^{C2} , R^{16} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , e R^{C1} são como definidos na Fórmula (A);

X_5 é CR^{A2} ; e

em que a: (i) R^{A2} está conectado a L^D através de um grupo funcional de R^{A2} ; or (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00303] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-f5):



(A-f5)

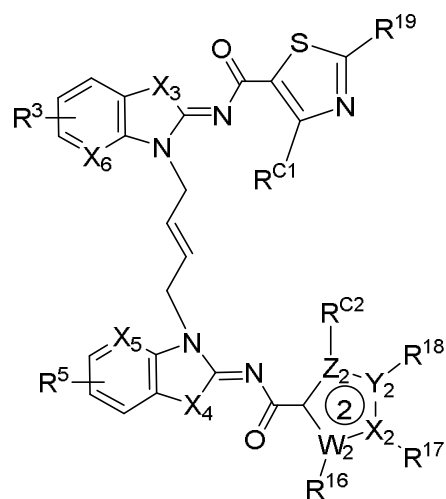
ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

X₂, W₂, Y₂, Z₂, R³, R⁵, R^c, R^d, R^e, R^f, R¹⁶, R^{A2}, R^{C2}, R¹⁶, R¹⁷, R¹⁸, R¹⁹, e R^{C1} são como definidos na Fórmula (A);

X₅ é CR^{A2}; e

em que a: (i) R^{A2} está conectado a L^D através de um grupo funcional de R^{A2}; or (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1}.

[00304] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-g):



(A-g)

ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

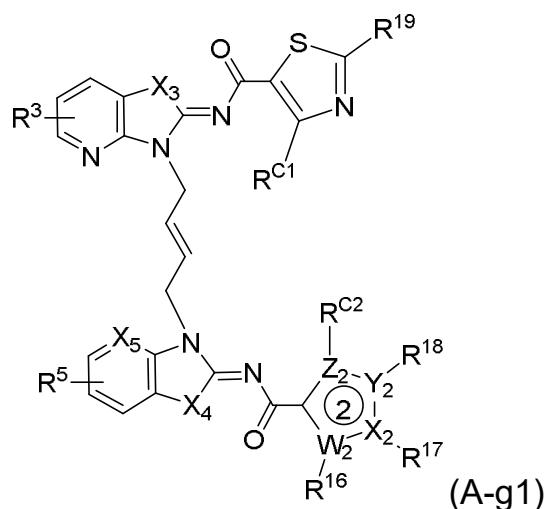
X_3 , X_4 , X_5 , X_6 , R^3 , R^5 , R^c , R^{A2} , R^{A1} , R^{C2} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , R^d , R^e , R^f , R^{16} , e R^{C1} são como definidos na Fórmula (A);

Y_2 e Z_2 são cada um independentemente O, S, C or N;

X_2 e W_2 são cada um independentemente C or N;

em que a: (i) pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{A2} e/ou R^{A1} ; or (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00305] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-g1):



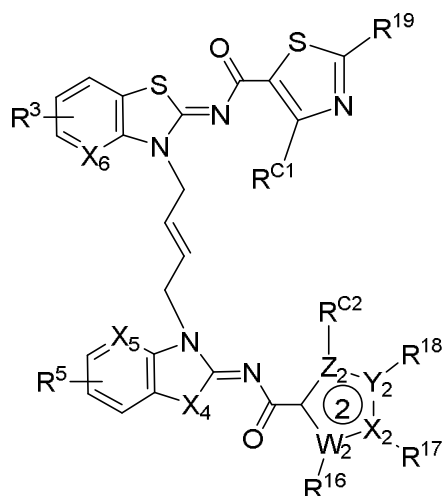
ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

X_2 , W_2 , Y_2 , Z_2 , X_3 , X_4 , X_5 , R^3 , R^5 , R^c , R^d , R^e , R^f , R^{A2} , R^{C2} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , R^{16} , e R^{C1} são como definidos na Fórmula (A);

em que a: (i) R^{A2} está conectado a L^D através de um grupo funcional de R^{A2} ; ou (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00306] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de

STING é um composto da Fórmula (A-g2):



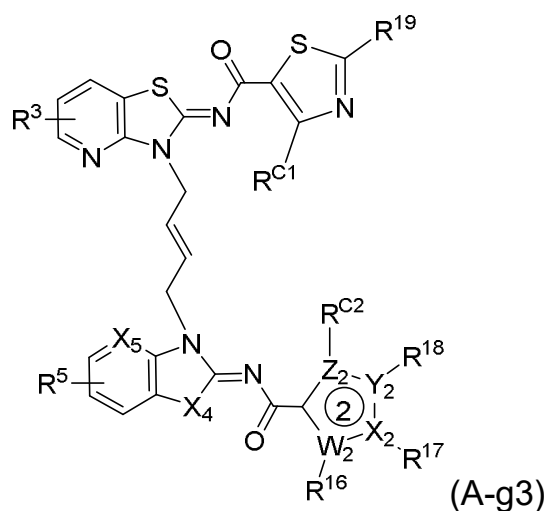
(A-g2)

ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

X_2 , X_4 , X_5 , X_6 , W_2 , Y_2 , Z_2 , R^3 , R^5 , R^c , R^{A2} , R^{A1} , R^{C2} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , R^d , R^e , R^f , R^{16} , e R^{C1} são como definidos na Fórmula (A);

em que a: (i) pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{A2} e/ou R^{A1} ; ou (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00307] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-g3):



(A-g3)

ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

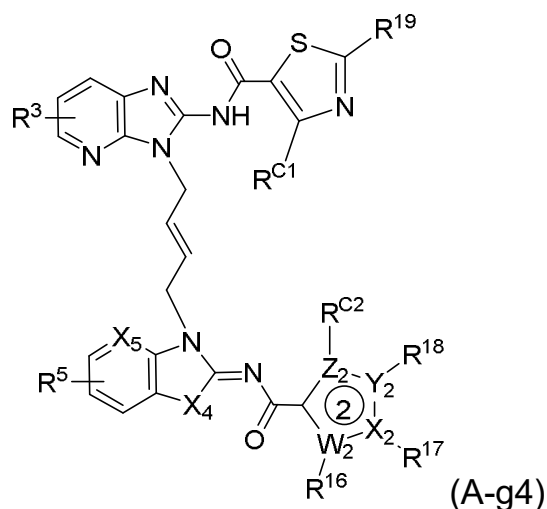
X_2 , X_4 , W_2 , Y_2 , Z_2 , R^3 , R^5 , R^c , R^{A2} , R^{C2} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , R^{16} , e R^{C1} são como definidos na Fórmula (A)

X_5 é CR^{A2} ; e

em que a: (i) R^{A2} está conectado a L^D através de um grupo funcional de R^{A2} ; ou (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} ; e

opcionalmente, em que a R^{A2} está conectado a L^D através de um grupo funcional de R^{A2} .

[00308] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-g4):



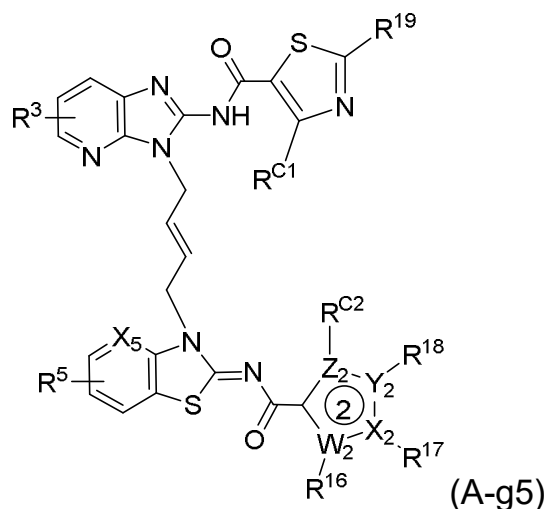
ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

X_2 , X_4 , W_2 , Y_2 , Z_2 , R^3 , R^5 , R^c , R^d , R^e , R^f , R^{A2} , R^{C2} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , R^{16} , e R^{C1} são como definidos na Fórmula (A);

X_5 é CR^{A2} ; e

em que a: (i) R^{A2} está conectado a L^D através de um grupo funcional de R^{A2} ; ou (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00309] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-g5):



ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

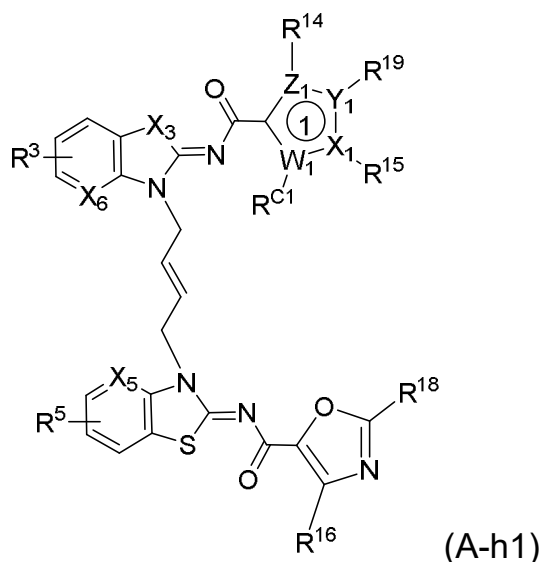
X_2 , W_2 , Y_2 , Z_2 , R^3 , R^5 , R^c , R^d , R^e , R^f , R^{A2} , R^{C2} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , R^{16} , e R^{C1} são como definidos na Fórmula (A);

X_5 é CR^{A2} ; e

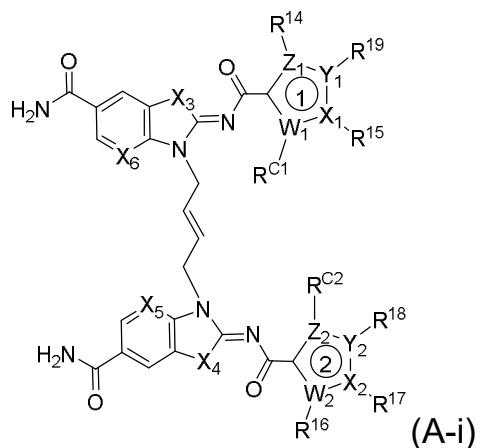
em que a: (i) R^{A2} está conectado a L^D através de um grupo funcional de R^{A2} ; ou (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

[00310] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-h):

[00311] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING é um composto da Fórmula (A-h1):



[00313] Em algumas modalidades, a porção de fármaco agonista de STING (D) é um composto de Fórmula (A), em que o composto tem a Fórmula (A-i):

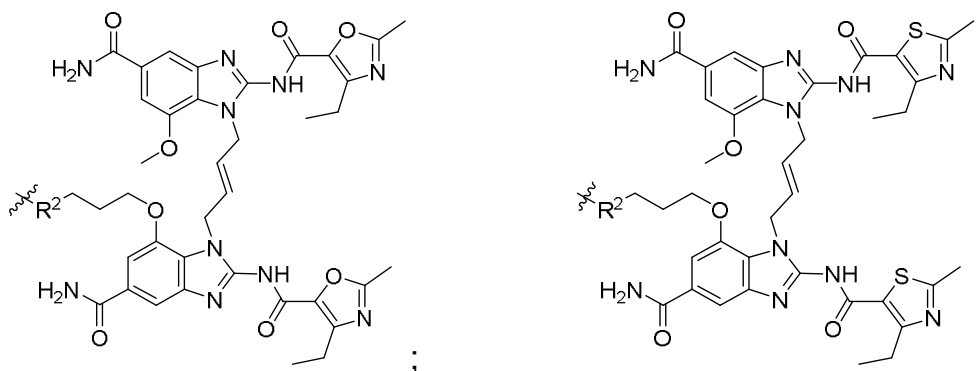


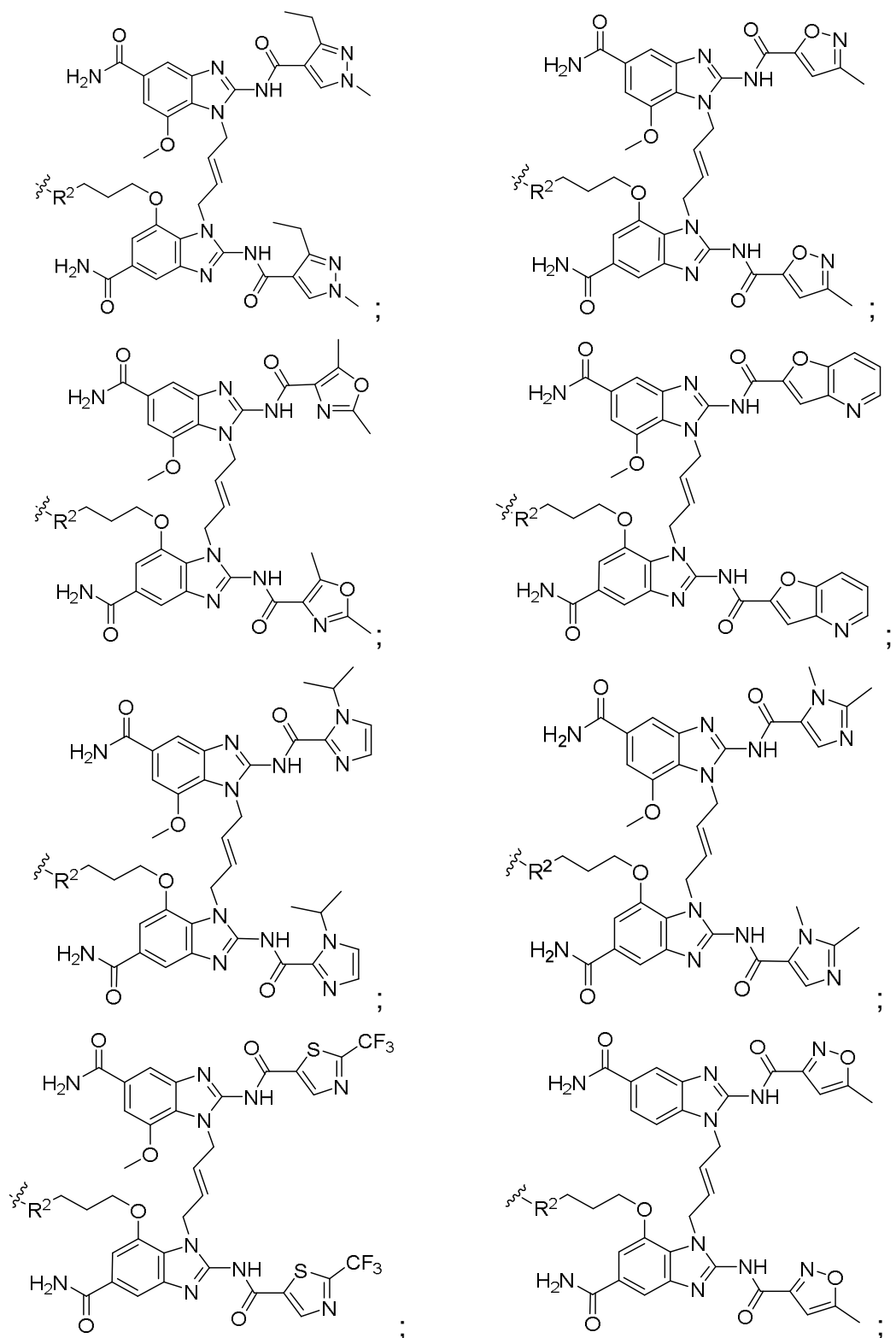
ou seu pró-fármaco, solvato, sal farmaceuticamente aceitável ou tautômero, em que

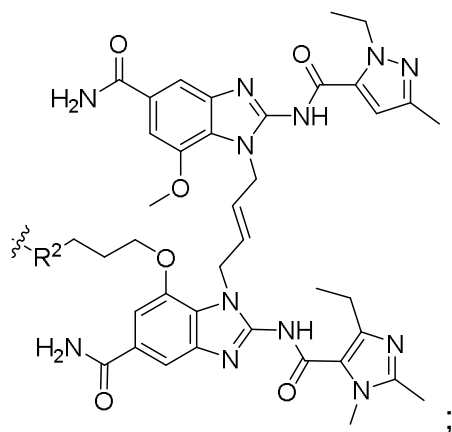
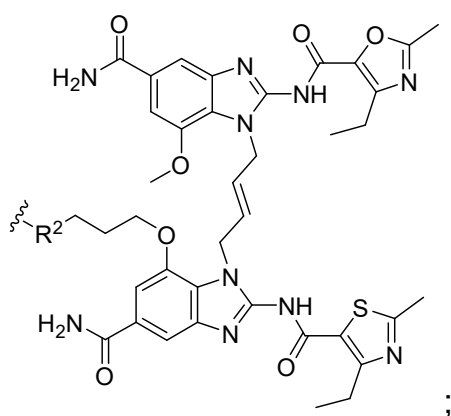
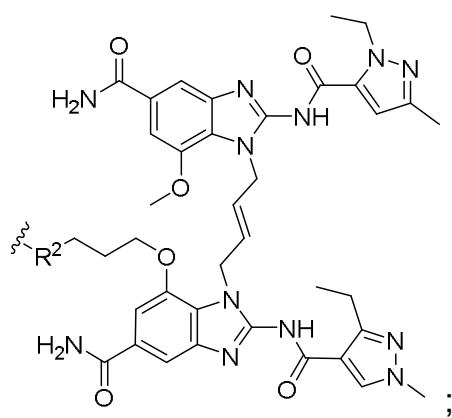
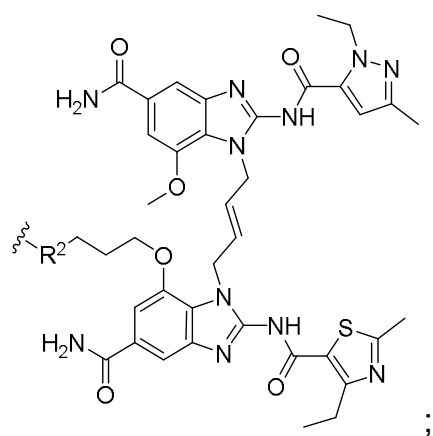
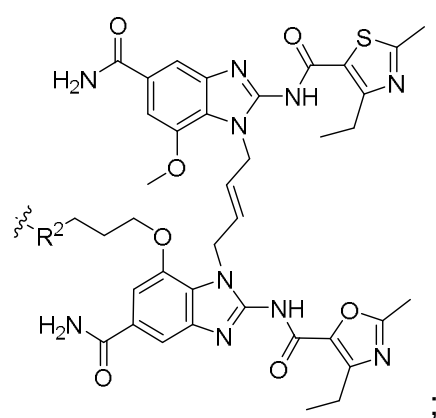
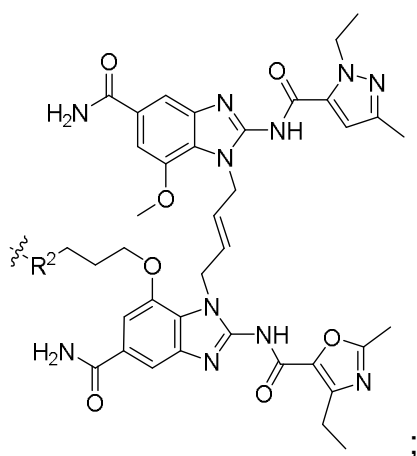
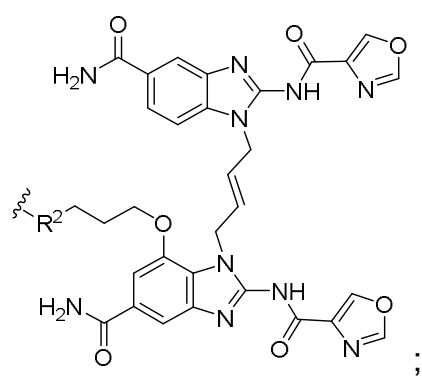
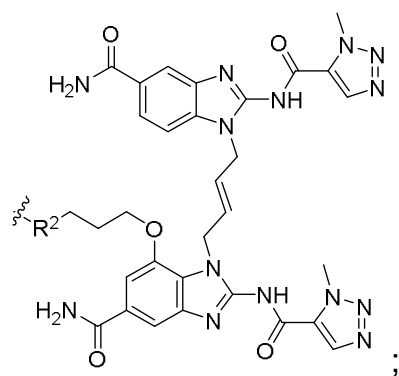
Y_1 , Y_2 , Z_1 , Z_2 , X_1 , X_2 , X_3 , X_6 , W_1 , W_2 , R^{A1} , R^{A2} , R^C , R^d , R^e , R^f , R^{14} , R^{C2} , R^{16} , R^{C1} , R^{15} , R^{17} , R^{18} , e R^{19} são como definidos na Fórmula (A); e

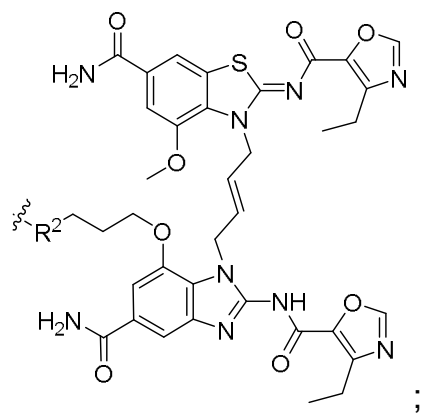
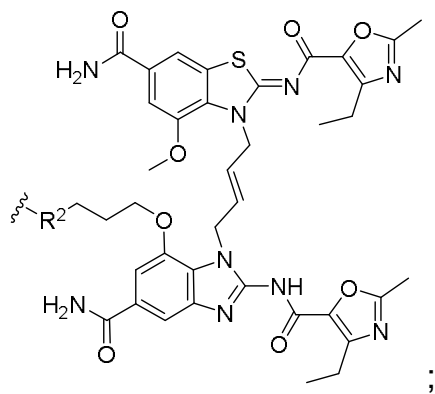
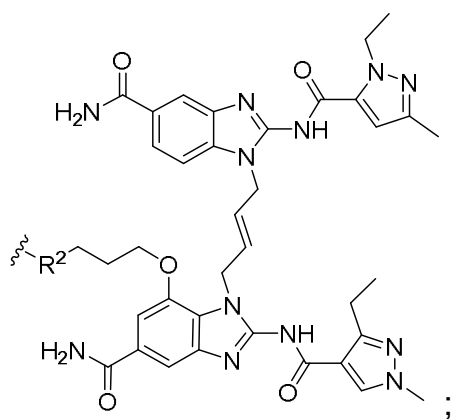
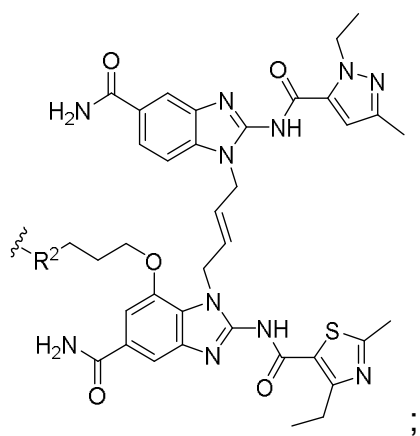
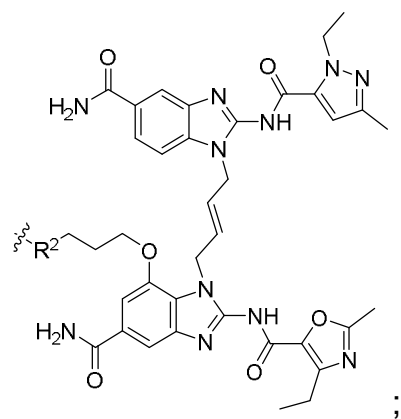
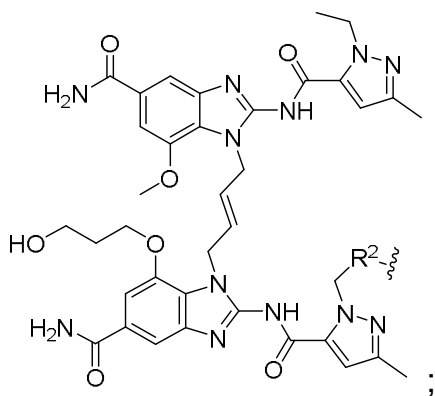
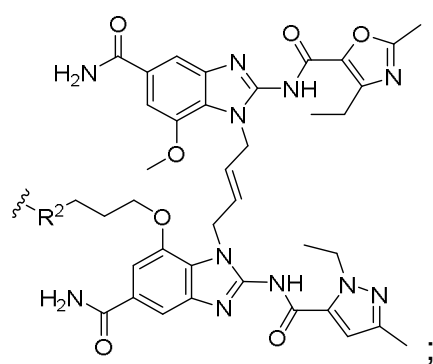
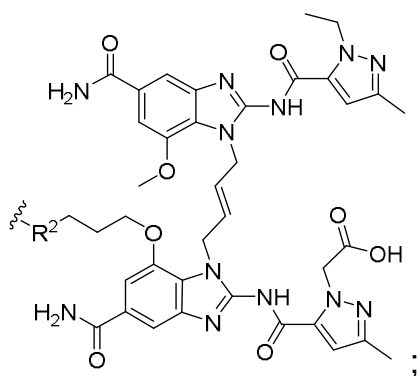
em que a: (i) pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{A2} e R^{A1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{A2} e/ou R^{A1} ; ou (ii) pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está presente, e em que a pelo menos um de R^{C2} e R^{C1} está conectado a L^D via pelo menos um grupo funcional de R^{C2} e/ou R^{C1} .

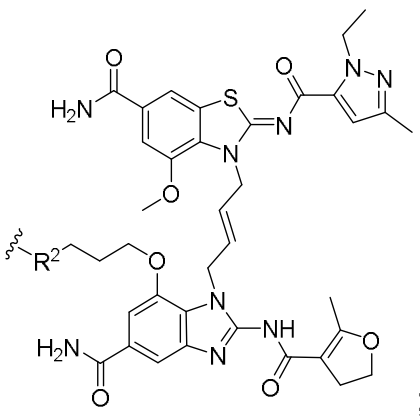
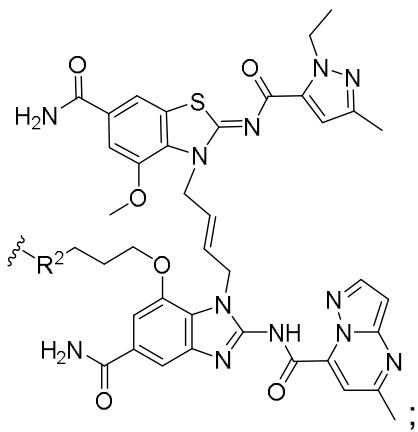
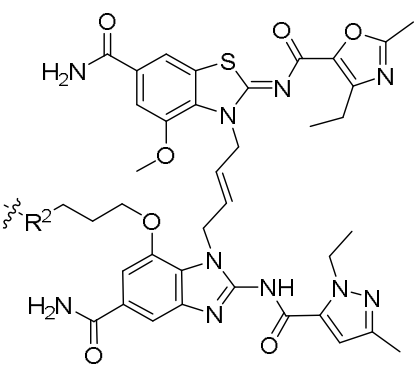
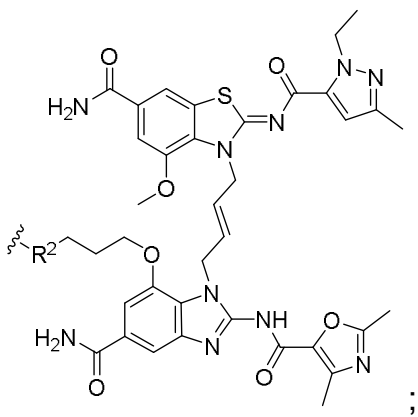
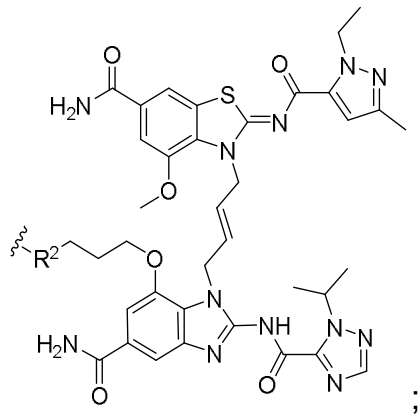
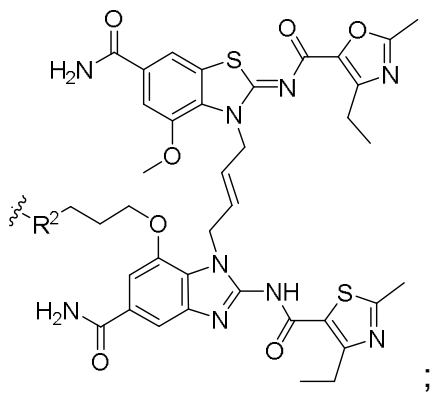
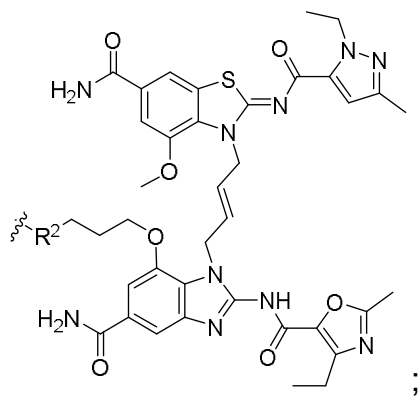
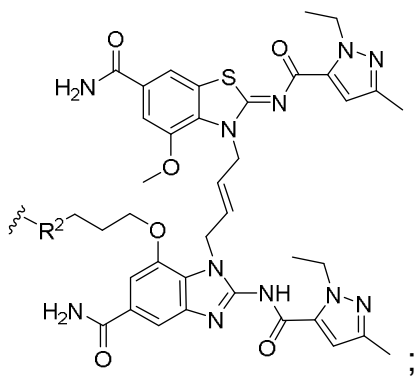
[00314] Em algumas modalidades, cada porção de fármaco agonista de STING (D) é independentemente:

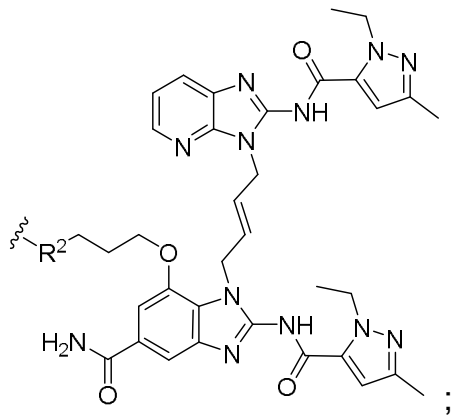
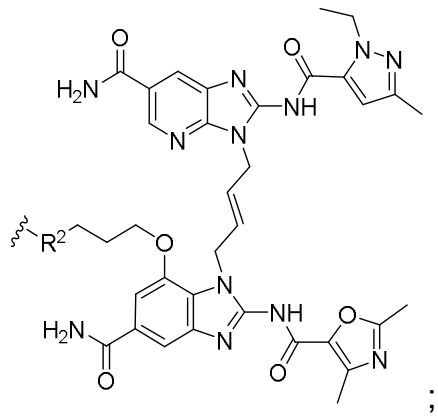
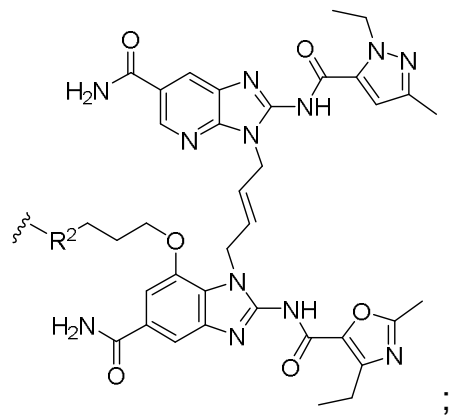
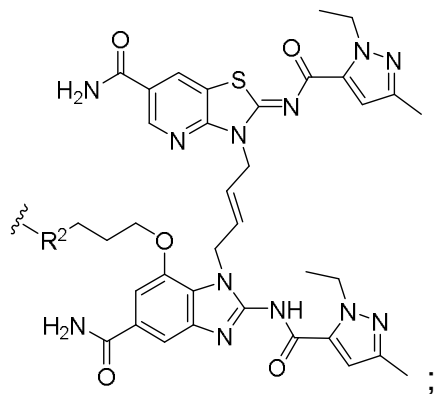
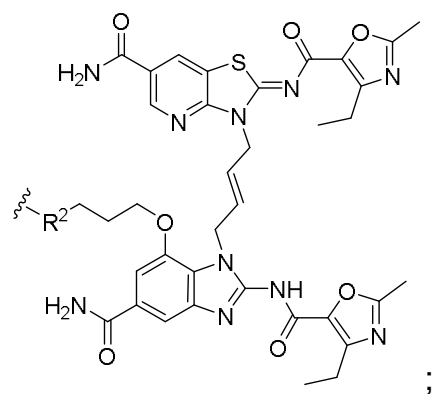
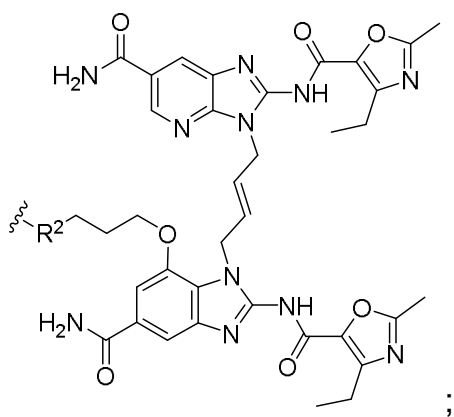
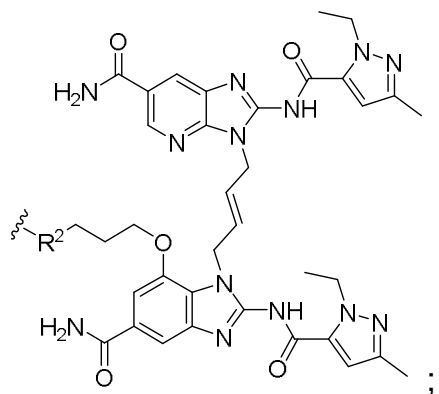
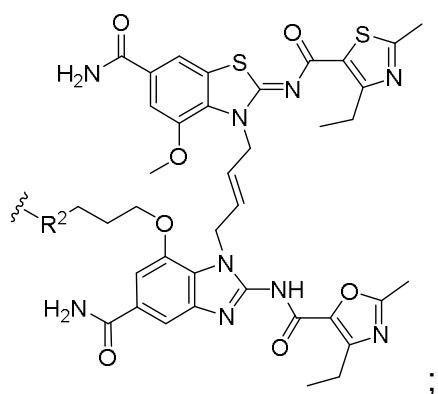


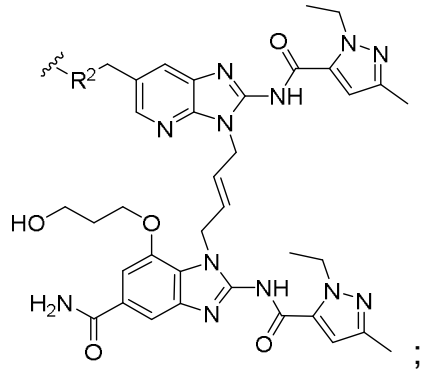
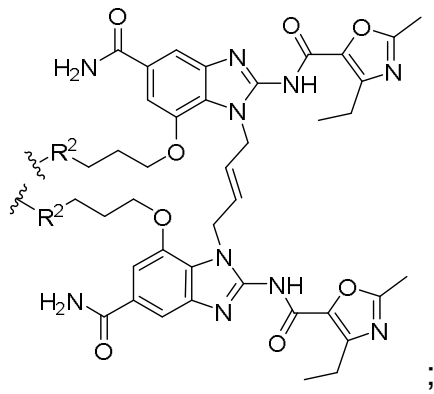
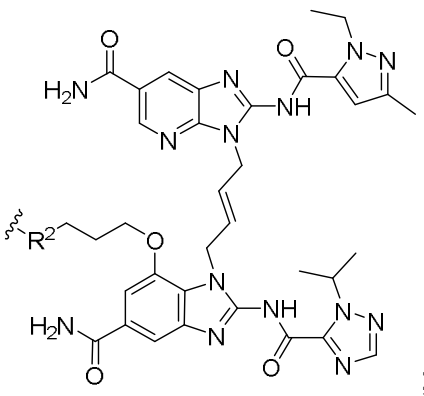
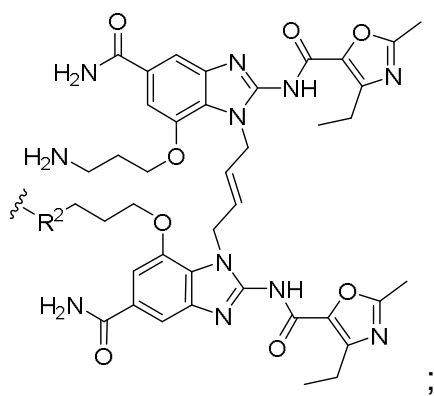
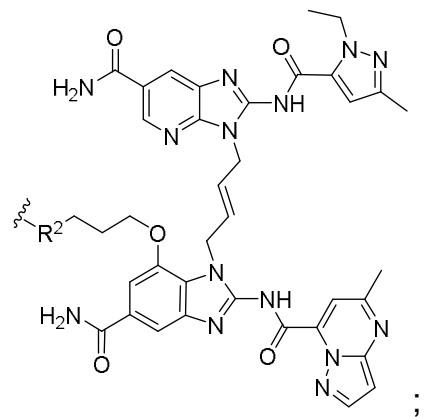
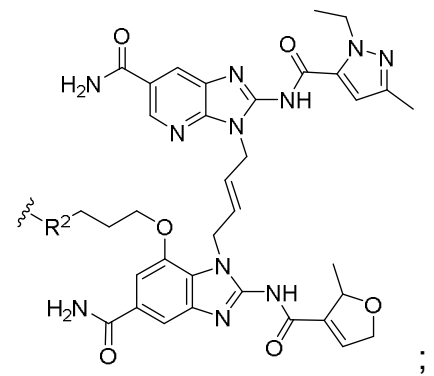
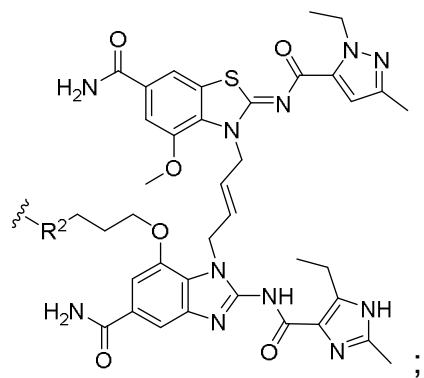
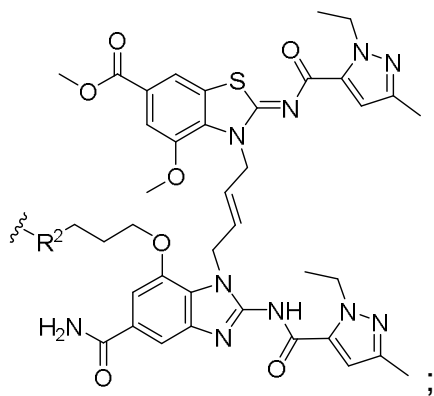


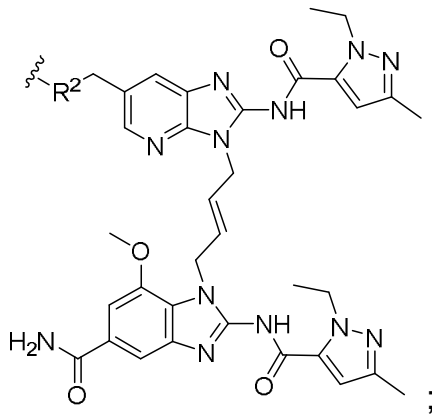
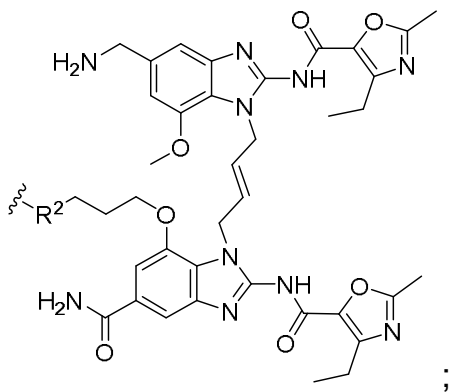
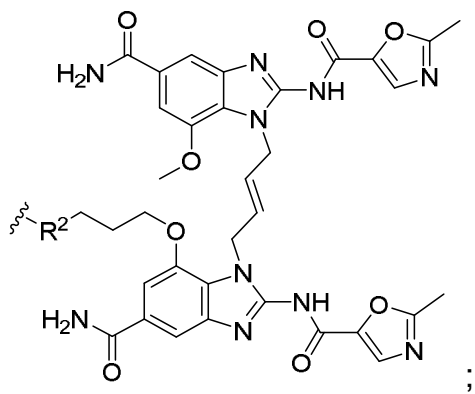
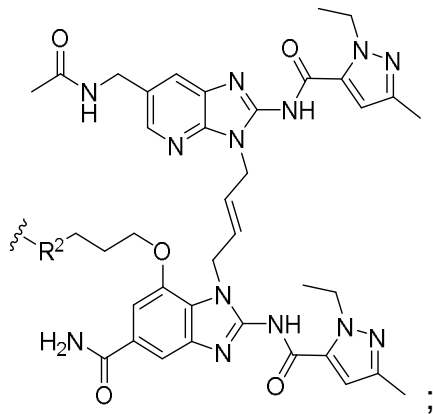
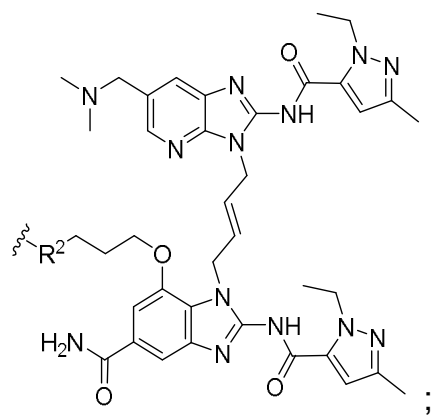
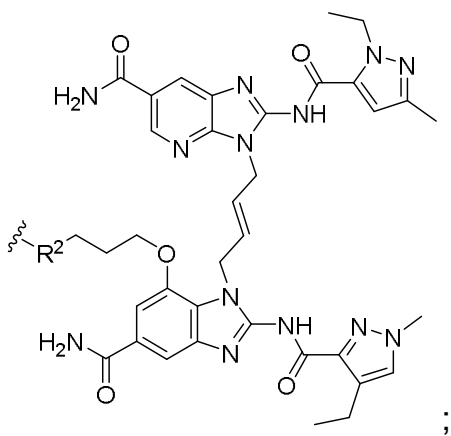
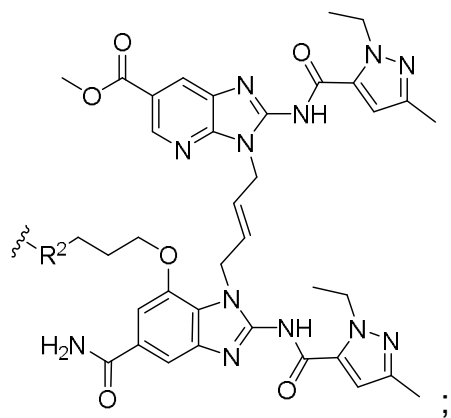
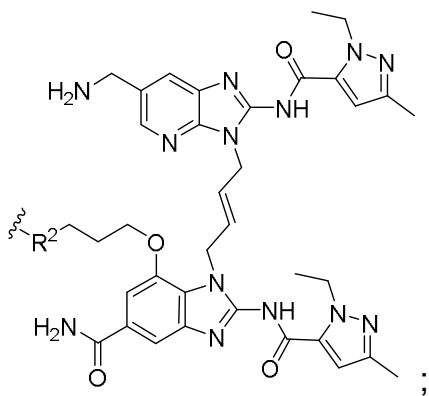


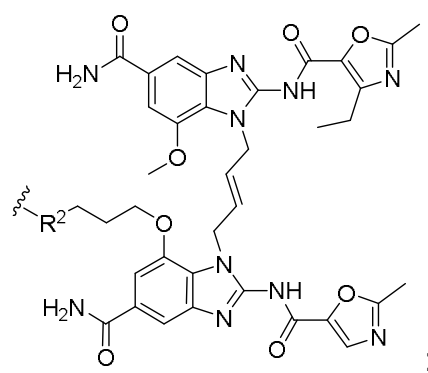
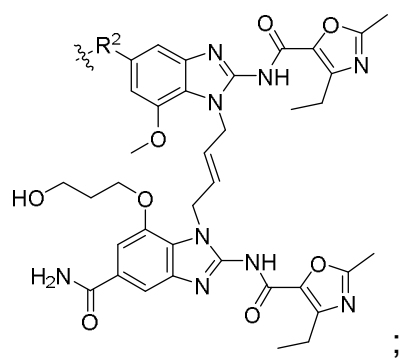
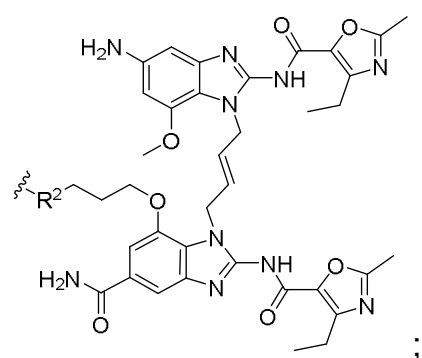
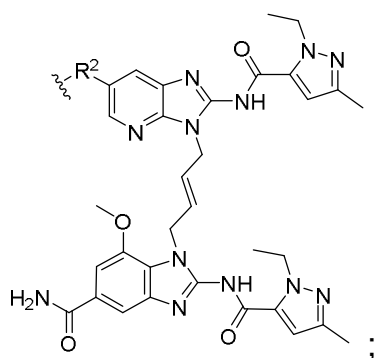
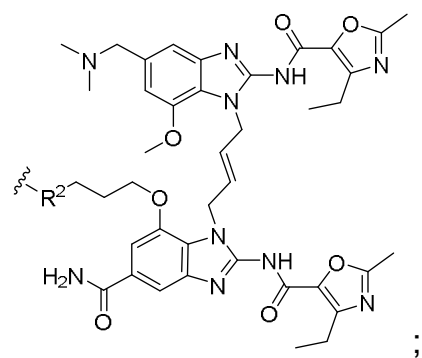
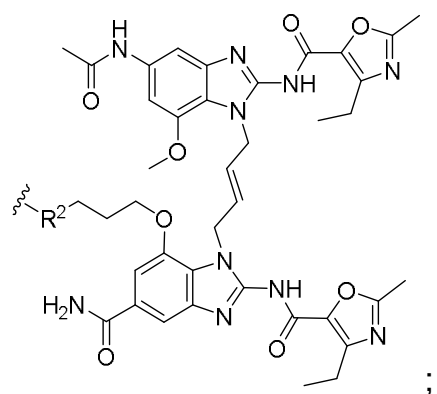
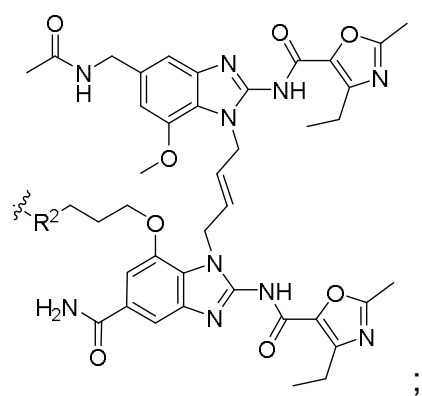
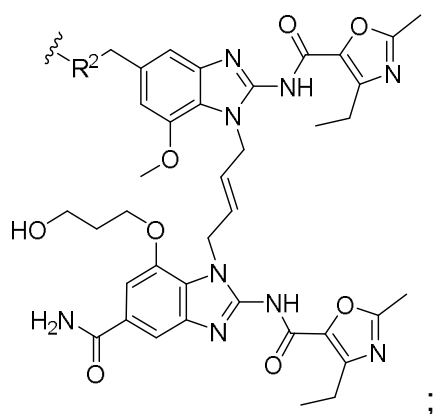


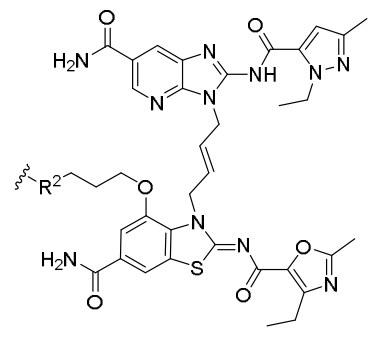
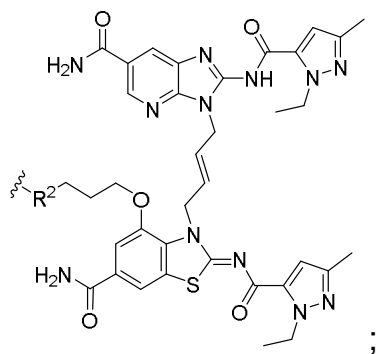
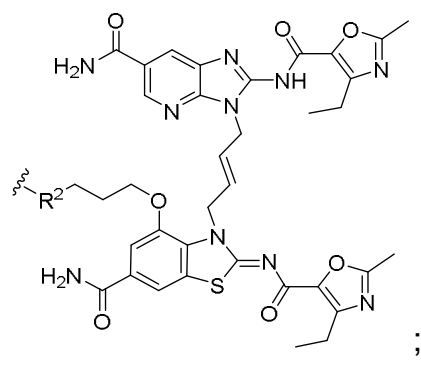
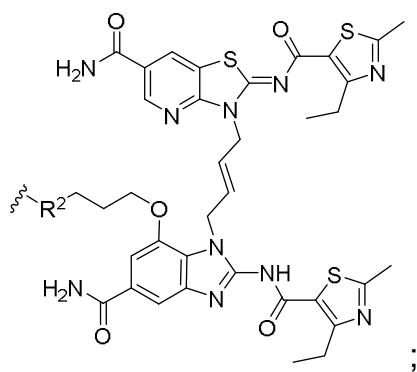
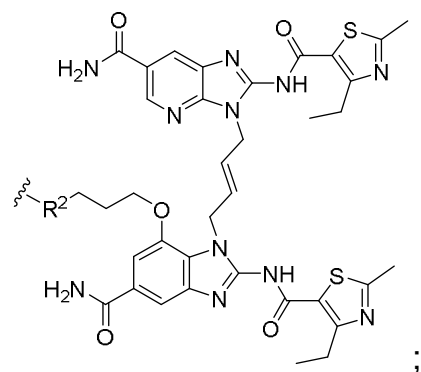
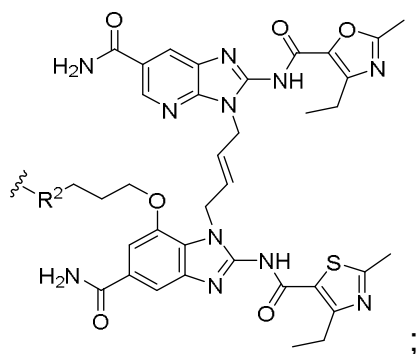
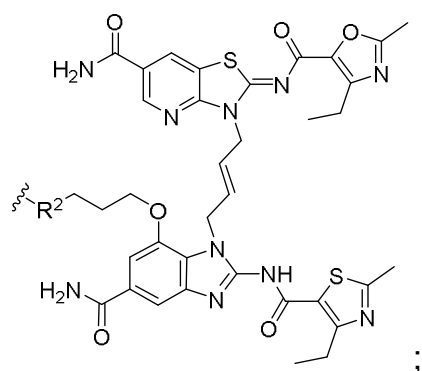
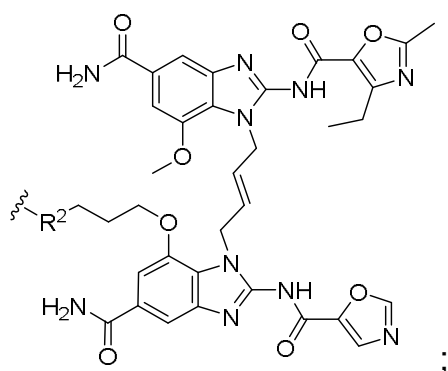


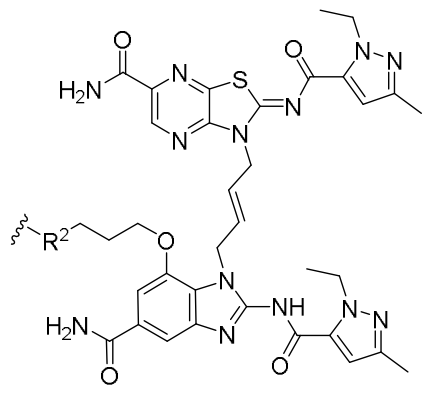
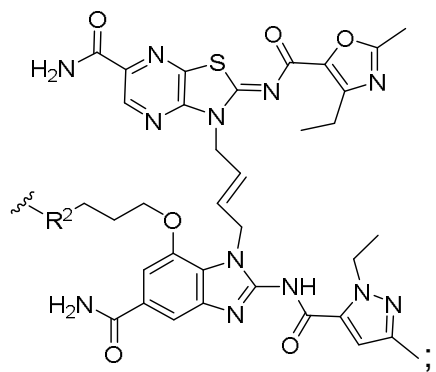
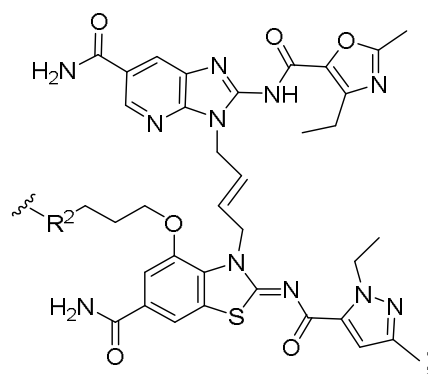
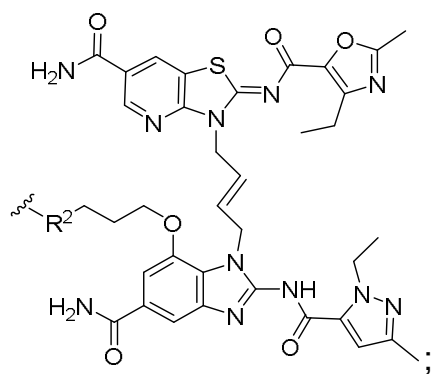
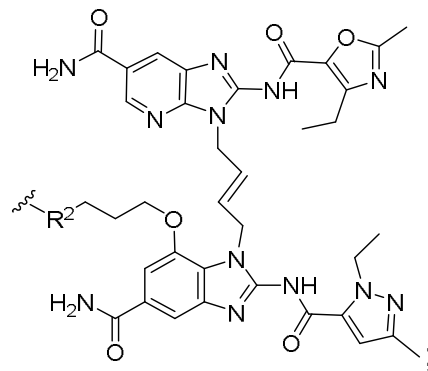
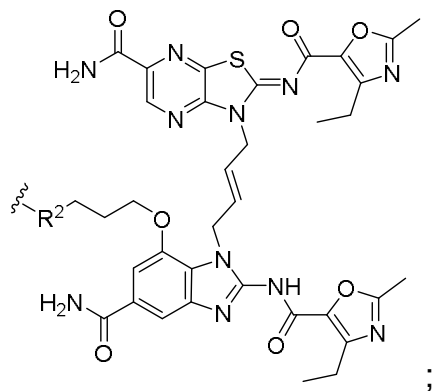
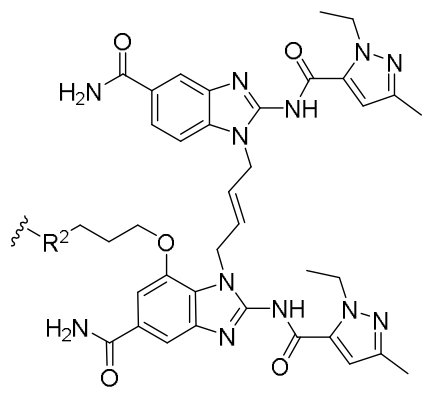
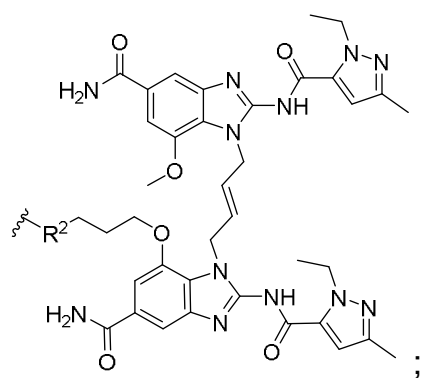


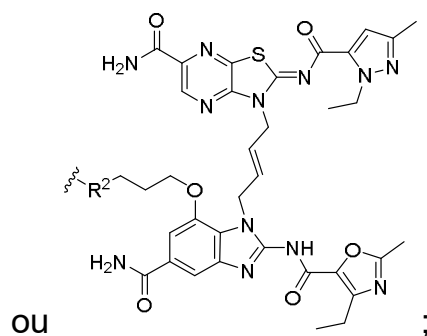
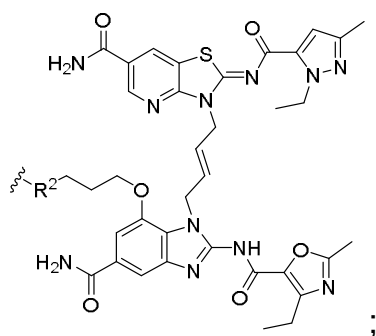










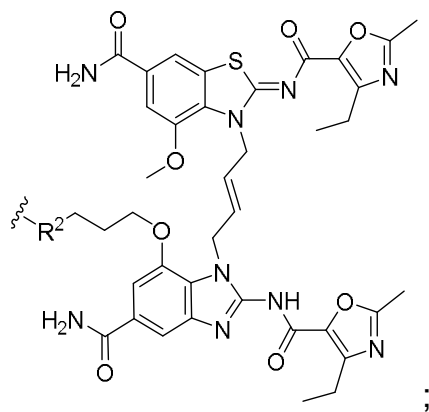
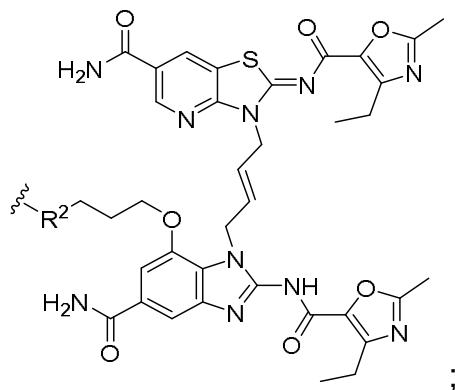
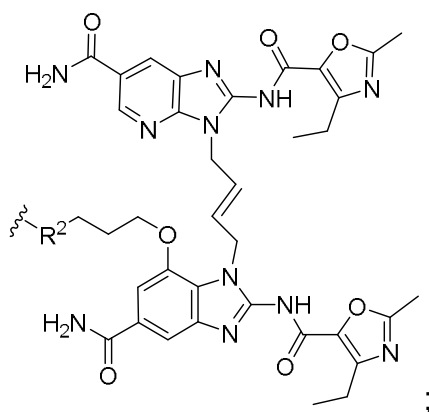
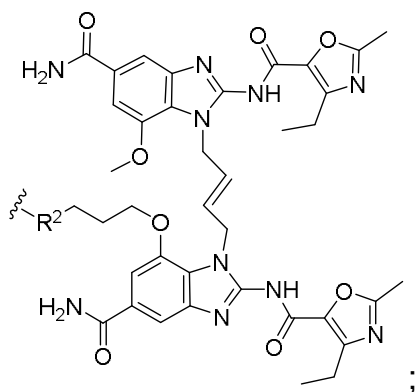


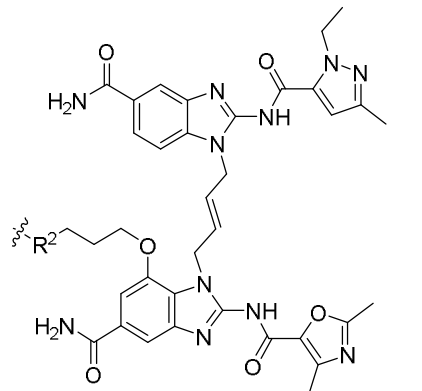
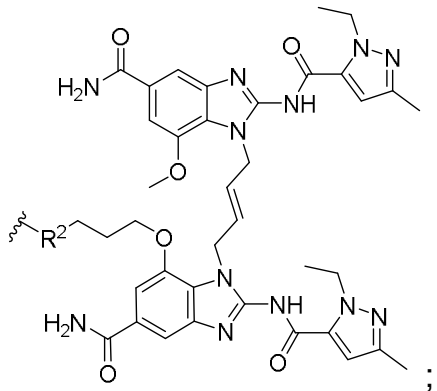
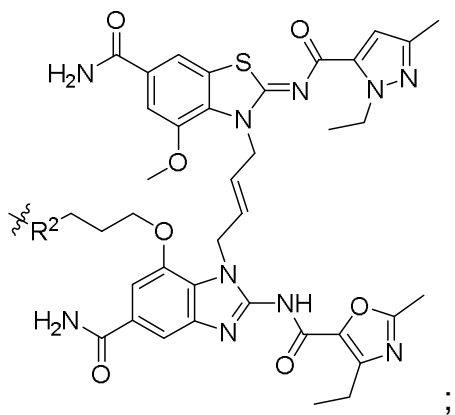
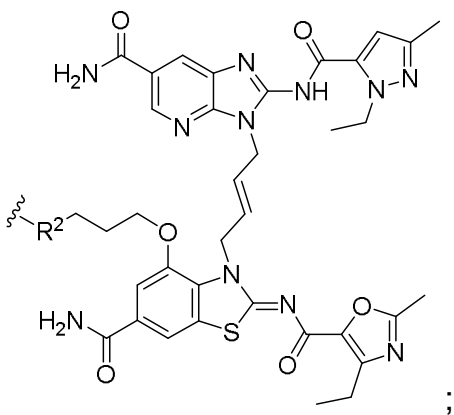
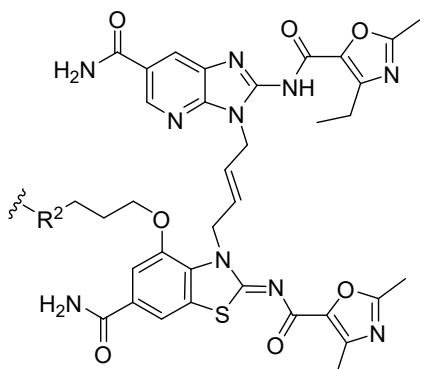
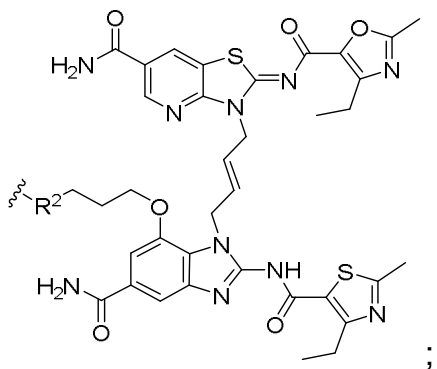
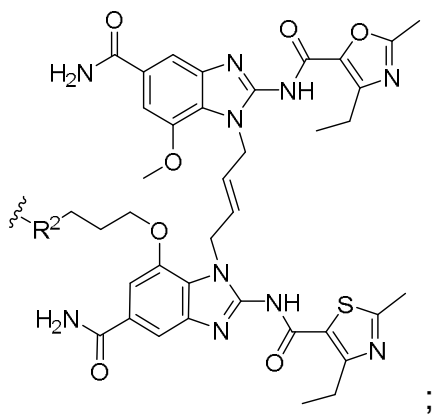
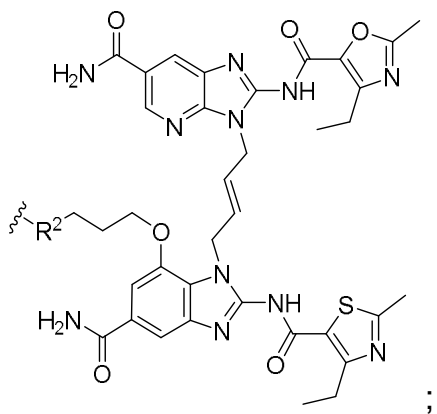
ou

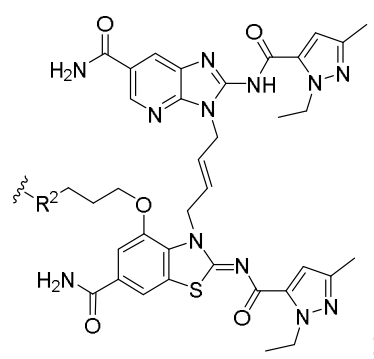
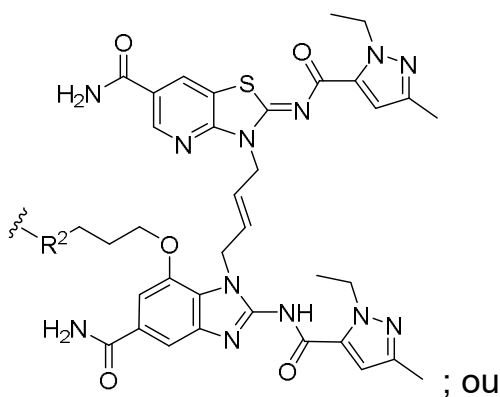
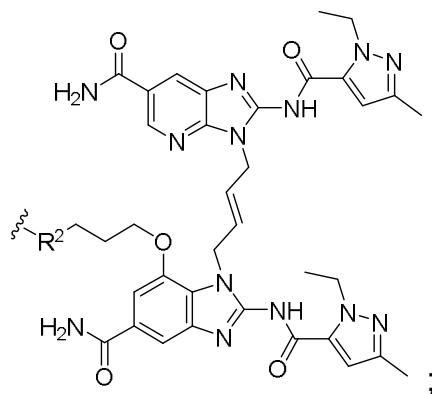
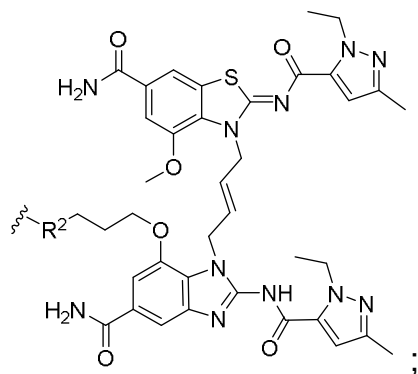
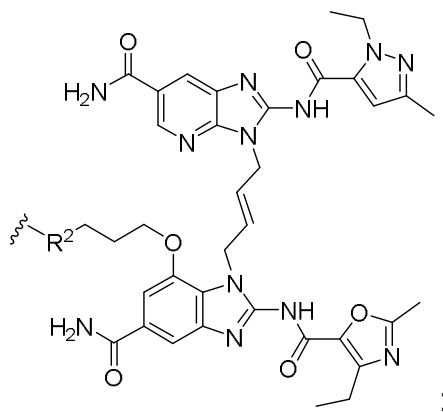
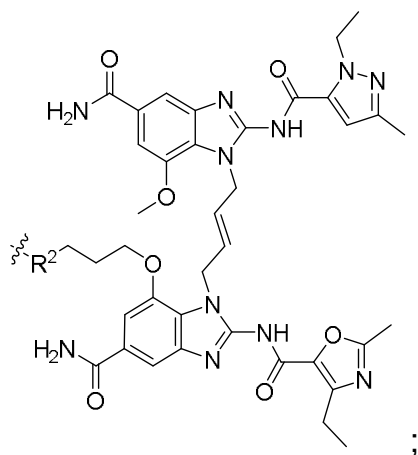
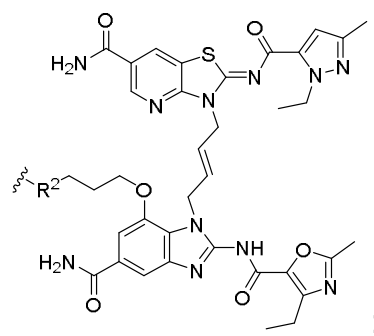
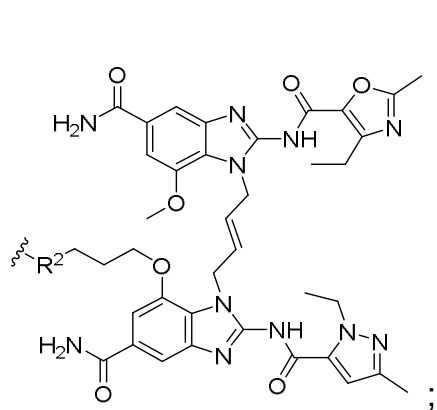
em que:

R^2 está ausente, -O- ou -NR⁴-; R⁴ é H ou C₁₋₃ alquila; e  representa acoplamento a L^D.

[00315] Em algumas modalidades, cada porção de fármaco agonista de STING (D) é independentemente:

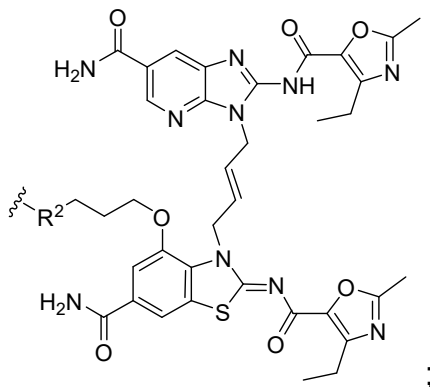
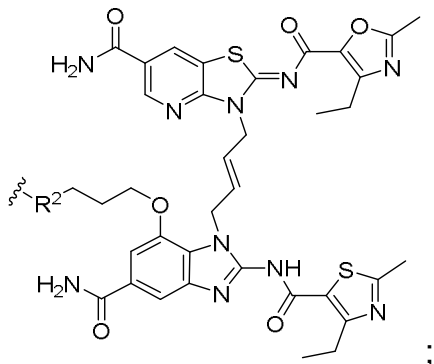
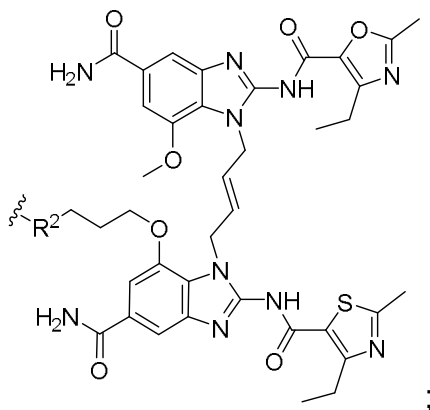
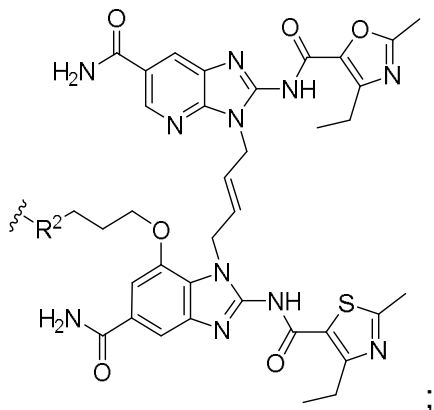
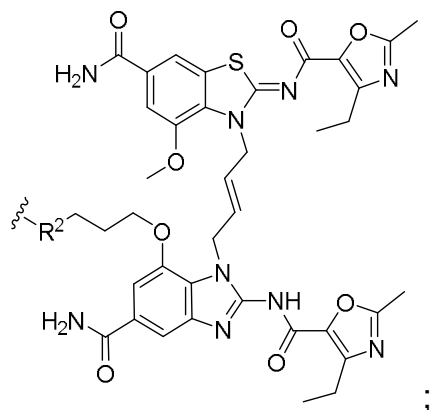
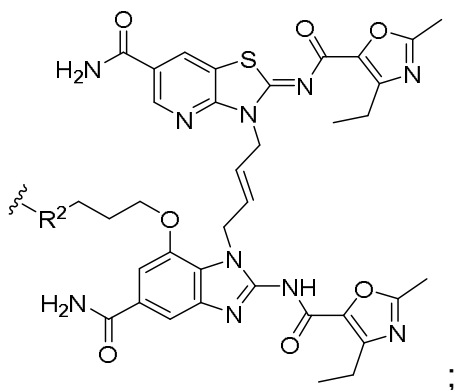
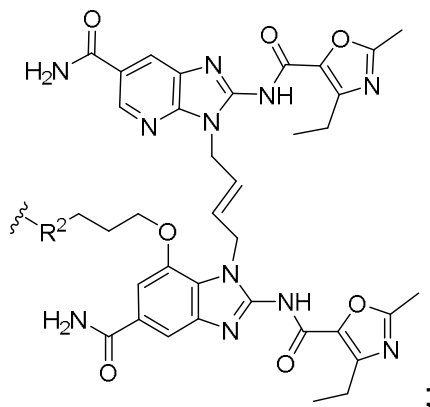
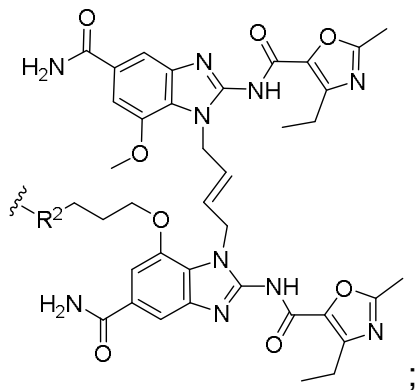


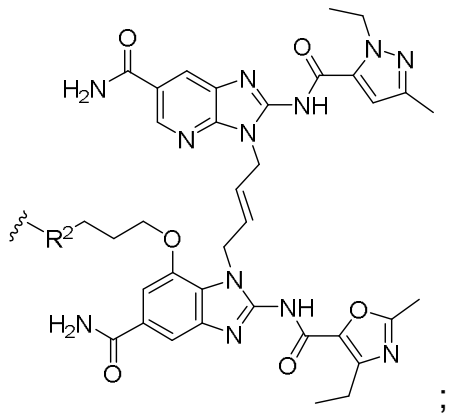
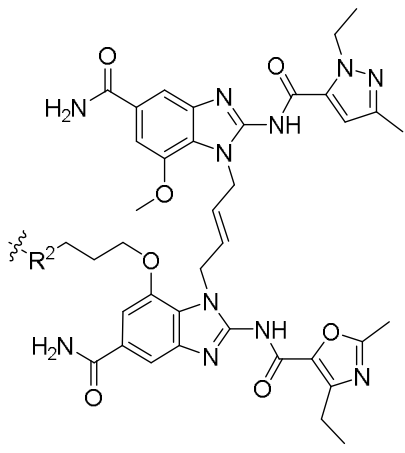
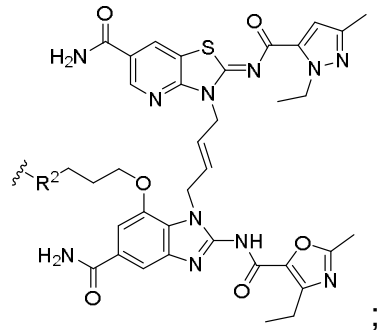
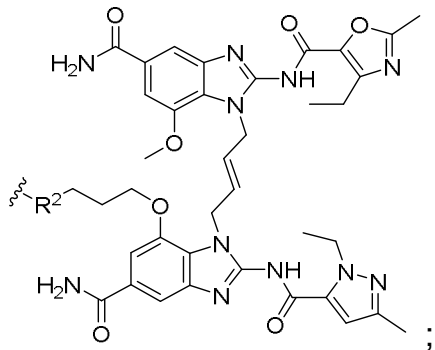
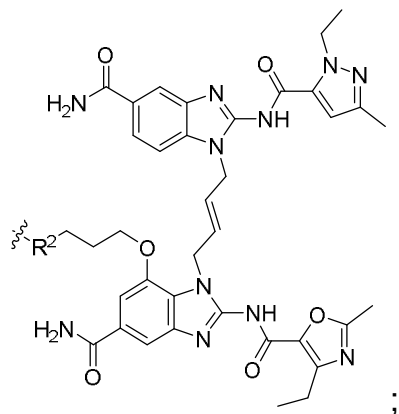
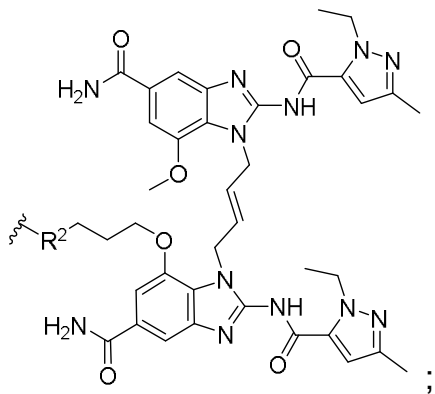
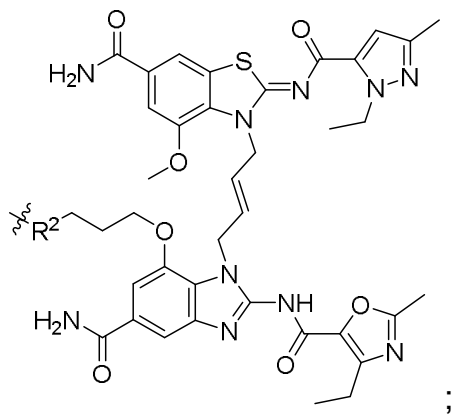
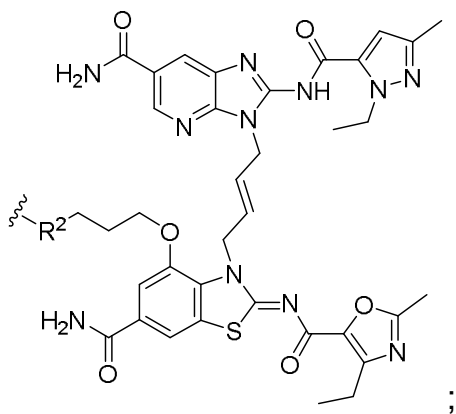


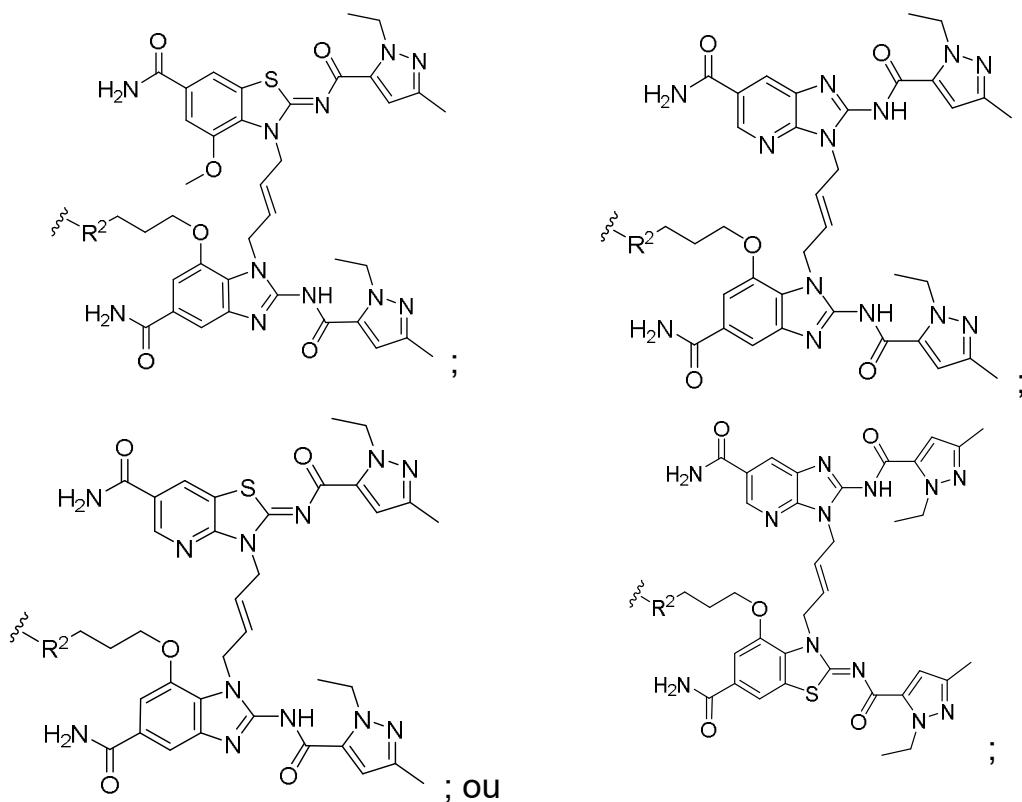


R^2 está ausente, -O- ou -NR⁴-; R⁴ é H ou C₁₋₃ alquila; e  representa acoplamento a L^D.

[00316] Em algumas modalidades, cada porção de fármaco agonista de STING (D) é independentemente:



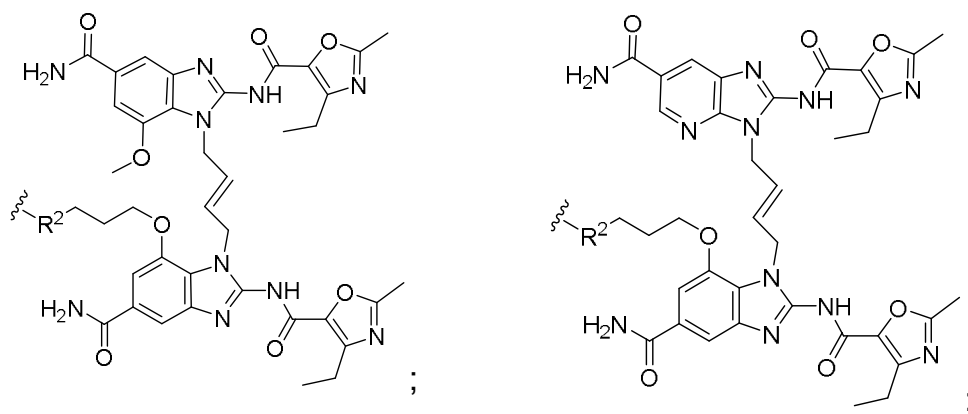


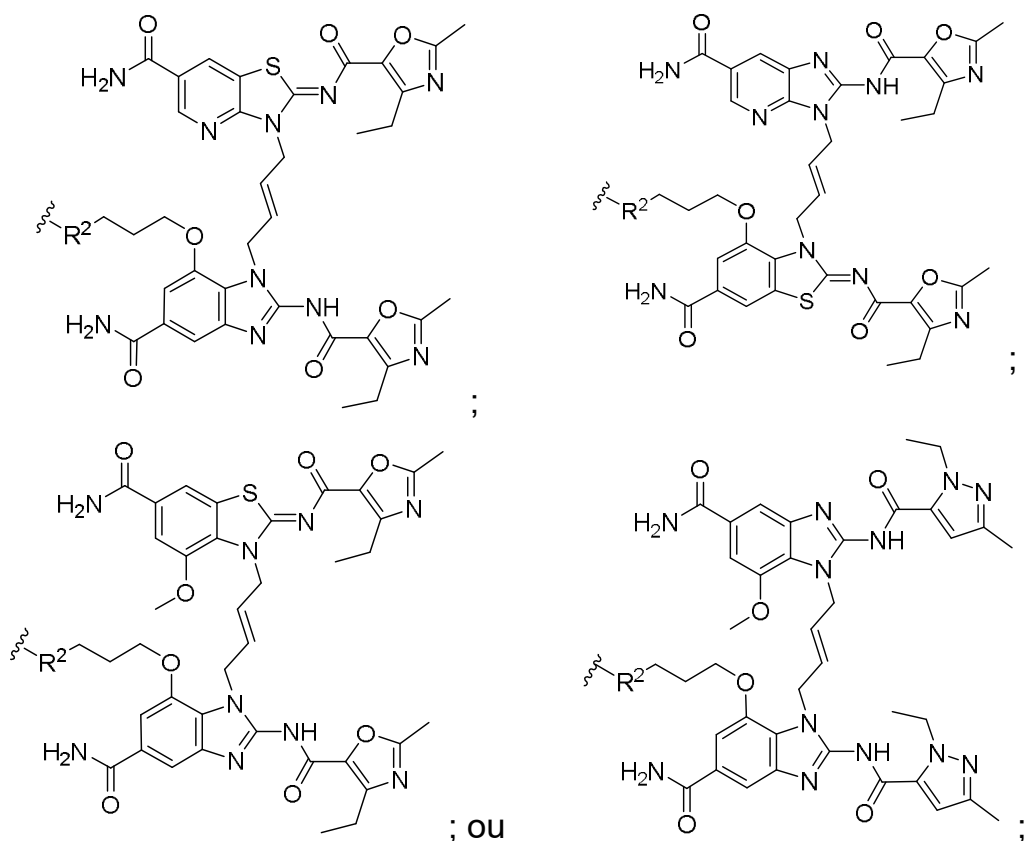


em que:

R^2 está ausente, -O- ou -NR⁴-; R⁴ é H ou C₁₋₃ alquila; e representa acoplamento a L^D.

[00317] Em algumas modalidades, cada porção de fármaco agonista de STING (D) é independentemente:

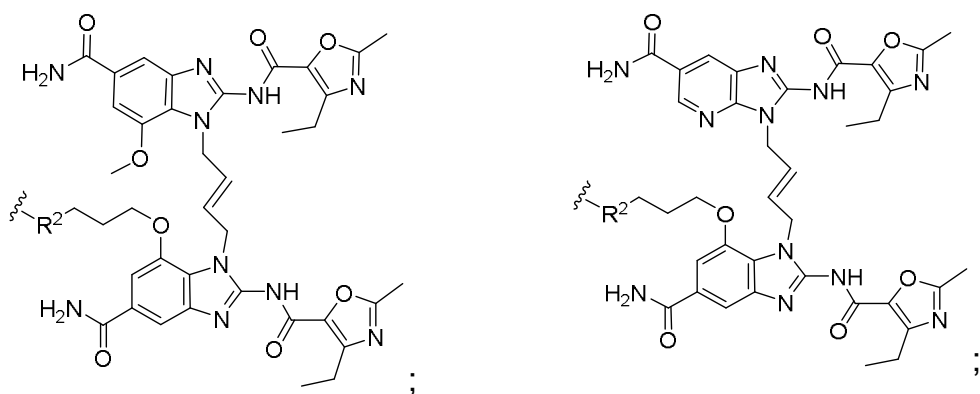


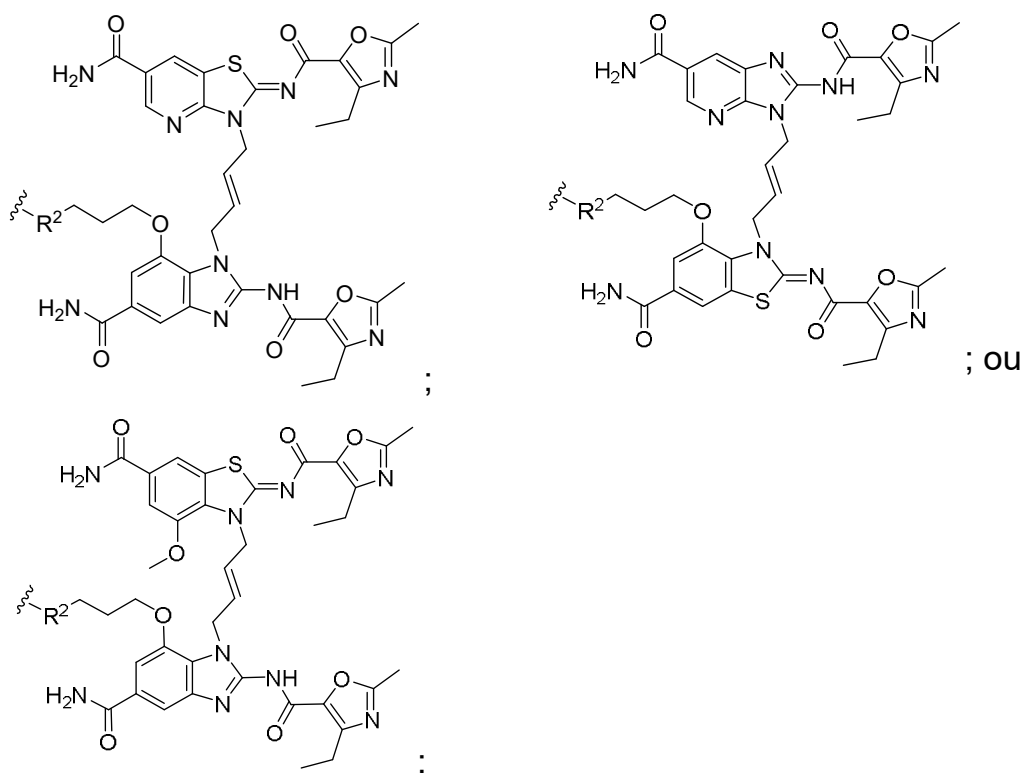


em que:

R^2 está ausente, -O- ou -NR⁴-; R⁴ é H ou C₁₋₃ alquila; e representa acoplamento a L^D.

[00318] Em algumas modalidades, cada porção de fármaco agonista de STING (D) é independentemente:

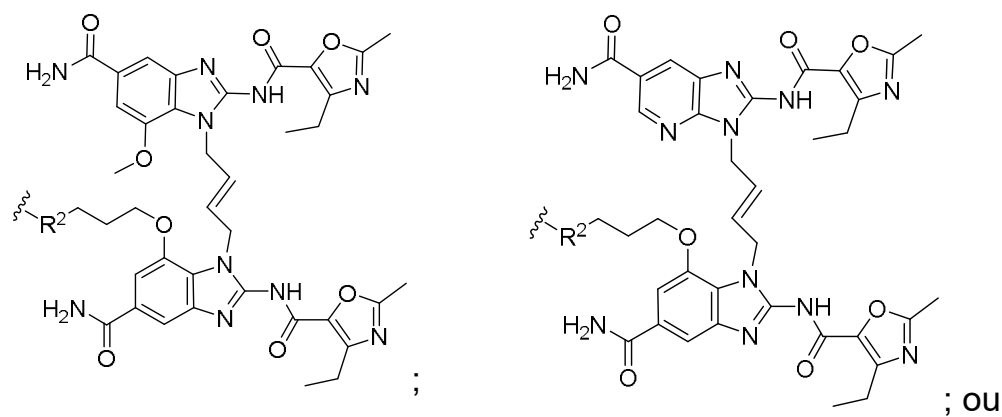


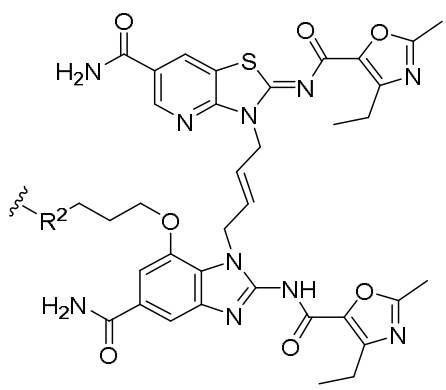


em que:

R^2 está ausente, $-\text{O}-$ ou $-\text{NR}^4-$; R^4 é H ou C_{1-3} alquila; e $\sim$ representa acoplamento a L^D .

[00319] Em algumas modalidades, cada porção de fármaco agonista de STING (D) é independentemente:





em que:

R^2 está ausente, -O- ou -NR⁴-; R⁴ é H ou C₁₋₃ alquila; e  representa acoplamento a L^D.

Molécula de Reconhecimento Baseada em Proteína (PBRM)

[00320] Em algumas modalidades, a molécula de reconhecimento baseada em proteína direciona os conjugados para tecidos, células ou locais específicos em uma célula. Em algumas modalidades, a molécula de reconhecimento baseada em proteína pode direcionar o conjugado em cultura ou em um organismo inteiro, ou ambos. Em cada caso, a molécula de reconhecimento baseada em proteína pode ter um ligante que está presente na superfície celular das células alvo às quais se liga com uma especificidade, afinidade e avidéz eficazes. Em algumas modalidades, a molécula de reconhecimento baseada em proteína direciona o conjugado para outros tecidos além do fígado. Em algumas modalidades, a molécula de reconhecimento baseada em proteína direciona o conjugado para um tecido específico, tal como fígado, rim, pulmão ou pâncreas. A molécula de reconhecimento baseada em proteína pode direcionar o conjugado para uma célula alvo, tal como uma célula cancerosa, como um receptor expresso em uma célula, como uma célula de câncer, um tecido de matriz ou uma proteína associada ao câncer, tal como um antígeno tumoral. Alternativamente, as células que compreendem a vasculatura tumoral podem ser atingidas. As moléculas de reconhecimento baseadas em proteínas podem direcionar o conjugado para tipos específicos de células, tal

como direcionamento específico para hepatócitos no fígado, em oposição às células de Kupffer. Em algumas modalidades, as moléculas de reconhecimento baseadas em proteínas podem direcionar o conjugado para células do sistema endotelial ou linfático reticular, ou para células fagocitárias profissionais, tais como macrófagos ou eosinófilos. Em algumas modalidades, o próprio conjugado também pode ser um sistema de liberação eficaz, sem a necessidade de direcionamento específico.

[00321] Em algumas modalidades, a molécula de reconhecimento baseada em proteína pode direcionar o conjugado para um local dentro da célula, tal como o núcleo, o citoplasma ou o endossomo, por exemplo. Em algumas modalidades, a molécula de reconhecimento à base de proteína pode intensificar a ligação celular aos receptores ou o transporte citoplasmático para o núcleo e a entrada ou liberação nuclear a partir dos endossomos ou outras vesículas intracelulares.

[00322] Em algumas modalidades, a molécula de reconhecimento baseada em proteína é um anticorpo, um fragmento de anticorpo, uma proteína, um peptídeo ou um peptídeomimético.

[00323] Em algumas modalidades, a molécula de reconhecimento baseada em proteína é um anticorpo. Em algumas modalidades, a molécula de reconhecimento baseada em proteína é um fragmento de anticorpo. Em algumas modalidades, a molécula de reconhecimento baseada em proteína é uma proteína. Em algumas modalidades, a molécula de reconhecimento baseada em proteína é um peptídeo. Em algumas modalidades, a molécula de reconhecimento baseada em proteína é um peptídeomimético.

[00324] Em algumas modalidades, o anticorpo ou fragmento de anticorpo é um anticorpo ou fragmento de anticorpo em que um ou mais aminoácidos do anticorpo parental correspondente ou fragmento de anticorpo (por exemplo, o anticorpo ou fragmento de anticorpo do tipo

selvagem correspondente) são substituídos por cisteínas (por exemplo, cisteína manipulada). Em algumas modalidades, o anticorpo parental ou fragmento de anticorpo pode ser do tipo selvagem ou mutado.

[00325] Em algumas modalidades, o anticorpo ou fragmento de anticorpo pode ser um anticorpo ou fragmento de anticorpo mutado. Em algumas modalidades, um anticorpo monoclonal conhecido na técnica é manipulado para formar o anticorpo. Em algumas modalidades, um fragmento de anticorpo (por exemplo, um fragmento Fab de anticorpo) conhecido na técnica é manipulado para formar o fragmento de anticorpo (por exemplo, um fragmento de anticorpo Fab manipulado por cisteína). Em algumas modalidades, uma mutação de sítio único de um Fab fornece um único resíduo em um Fab, enquanto uma mutação de sítio único em um anticorpo produz dois aminoácidos no anticorpo resultante devido à natureza dimérica do anticorpo IgG.

[00326] Em algumas modalidades, o anticorpo ou fragmento de anticorpo retém a capacidade de ligação ao antígeno de seu anticorpo ou fragmento de anticorpo do tipo selvagem correspondente. Em algumas modalidades, o anticorpo ou fragmento de anticorpo é capaz de se ligar a um ou mais antígenos para seu anticorpo ou fragmento de anticorpo do tipo selvagem correspondente.

[00327] Em algumas modalidades, anticorpos exemplificadores ou anticorpos derivados de Fab, Fab2, scFv ou fragmentos da cadeia pesada de anticorpo de camelo específicos para marcadores da superfície celular incluem, mas não estão limitados a 5T4, AOC3, ALK, AXL, B7-H4, C242, C4.4a, CA-125, CCL11, CCR 5, CD2, CD3, CD4, CD5, CD15, CA15-3, CD18, CD19, CA19-9, CDH6, CD20, CD22, CD23, CD25, CD28, CD30, CD31, CD33, CD37, CD38, CD40, CD41, CD44, CD44 v6, CD51, CD52, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD74, CD79-B, CD80, CD125, CD103, CD138, CD141, CD147,

CD152, CD 154, CD326, CEA, CEACAM-5, fator de aglomeração, Clec9A, CSFR1, CTLA-4, CXCR2, DEC205, EGFR (HER1), ErbB1, ErbB2, ErbB3, EpCAM, EPHA2, EPHB2, EPHB4, FAP, FGFR (i.e. FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4), FLT3, fibronectina-EDB, receptor de folato, GD2, GD3, GPNMB, GCC (GUCY2C), HGF, HER2, HER3, HMI.24, ICAM, ICOS-L, receptor de IGF-1, VEGFR1, EphA2, TRPV1, CFTR, gpNMB, CA9, Cripto, c-KIT, c-MET, ACE, APP, receptor-beta2 adrenérgico, Claudine 3, LIV1, LY6E, Mesotelina, MUC1, MUC13, NaPi2b, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, RON, ROR1, PD-L1, PD-L2, PTK7, B7-H3, B7-B4, receptor de IL-2, receptor de IL-4, receptor de IL-13, TROP-2, frizzled-7, integrinas (incluindo α_4 , $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_1\beta_4$, $\alpha_4\beta_1$, $\alpha_4\beta_7$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_4$, $\alpha_{IIb}\beta_3$ integrinas), IFN- α , IFN- γ , IgE, IgE, receptor de IGF-1, IL-1, IL-12, IL-23, IL-13, IL-22, IL-4, IL-5, IL-6, receptor de interferon , ITGB2 (CD18), LFA-1 (CD11a), CD11b, L-selectina (CD62L), mucina, miostatina, NCA-90, NGF, PDGFR α , fosfatidilserina, célula de carcinoma prostático, *Pseudomonas aeruginosa*, raiva, RANKL, vírus sincicial respiratório, fator Rhesus, SLAMF7, esfingosina-1-fosfato, TAG-72, receptor de célula T, tenascina C, TGF-1, TGF- β 2, TGF- β , TNF- α , TRAIL-R1, TRAIL-R2, antígeno tumoral CTAA16.88, VEGF-A, VEGFR2, vimentina, e semelhantes.

[00328] Em algumas modalidades, os anticorpos ou anticorpos derivados de Fab, Fab2, scFv ou fragmentos da cadeia pesada de anticorpo de camelo específicos para marcadores da superfície celular incluem, CA-125, C242, CD3, CD11b, CD19, CD22, CD25, CD30, CD31, CD33, CD37, CD40, CD44, CD51, CD54, CD56, CD62E, CD62P, CD62L, CD70, CD103, CD138, CD141, CD326, CEA, Clec9A, CSFR1, CTLA-4, DEC205, EGFR (HER1), ErbB2, ErbB3, FAP, fibronectina-EDB, receptor de folato, receptor de IGF-1, GD3, GPNMB, HGF, HER2, VEGF-A, VEGFR2, VEGFR1, EphA2, EpCAM, 5T4, PTK7, TAG-72, tenascina C, TRPV1, CFTR, gpNMB, CA9, Cripto,

ACE, APP, PDGFR α , fosfatidilserina, célula de carcinoma prostático, receptor-beta 2 adrenérgico, Claudine 3, mucina, MUC1, NaPi2b, B7H3, B7H4, C4.4a, CEACAM-5, MUC13, TROP-2, frizzled-7, Mesotelina, receptor de IL-2, receptor de IL-4, receptor de IL-13 e integrinas (incluindo $\alpha_v \beta_3$, $\alpha_v \beta_5$, $\alpha_v \beta_6$, $\alpha_1 \beta_4$, $\alpha_4 \beta_1$, $\alpha_5 \beta_1$, $\alpha_6 \beta_4$ integrinas), tenascina C, TRAIL-R2, e vimentina.

[00329] Em algumas modalidades, os anticorpos são direcionados para marcadores de superfície celular para 5T4, CA-125, CEA, CDH6, CD3, CD11b, CD19, CD20, CD22, CD30, CD33, CD40, CD44, CD51, CD-103, CTLA-4, CEACAM5, Clec9A, CSFR1, DEC205, EpCAM, HER2, EGFR (HER1), FAP, fibronectina-EDB, receptor de folato, GCC (GUCY2C), HGF, integrina $\alpha_v \beta_3$, integrina $\alpha_5 \beta_1$, receptor de IGF-1, GD3, GPNMB, mucina, LIV1, LY6E, mesotelina, MUC1, MUC13, NaPi2b, PTK7, fosfatidilserina, célula de carcinoma prostático, PDGFR α , TAG-72, tenascina C, TRAIL-R2, VEGF-A e VEGFR2. Nessa modalidade, os anticorpos incluem, mas não estão limitados a abagovomab, adecatumumab, alacizumab, altumomab, anatumomab, arcitumomab, bavituximab, bevacizumab (AVASTIN®), bivatuzumab, blinatumomab, brentuximab, cantuzumab, catumaxomab, capromab, cetuximab, citatuzumab, clivatuzumab, conatumumab, dacetuzumab, edrecolomab, epratuzumab, ertumaxomab, etaracizumab, farletuzumab, figitumumab, gemtuzumab, glembatumumab, ibritumomab, igovomab, intetumumab, inotuzumab, labetuzumab, lexatumumab, lintuzumab, lucatumumab, matuzumab, mitumomab, naptumomab estafenatox, necitumumab, oportuzumab, oregovomab, panitumumab, pentumomab, pertuzumab, pritumumab, Rituximabe (RITUXAN®), rilotumumab, robatumumab, satumomab, sibrotuzumab, taplitumomab, tenatumomab, tenatumomab, ticilimumab (tremelimumab), tigatuzumab, Trastuzumabe (HERCEPTIN®), tositumomab, tremelimumab, tucotuzumab celmoleukin, volociximab, e zalutumumab.

[00330] Em algumas modalidades, os anticorpos direcionados para marcadores da superfície celular para HER2 são pertuzumab ou Trastuzumabe e para EGFR (HER1) o anticorpo é cetuximab ou panitumumab; e para CD20 o anticorpo é Rituximabe e para VEGF-A é bevacizumab e para CD-22 o anticorpo é epratuzumab ou veltuzumab e para CEA o anticorpo é Labetuzumab.

[00331] Peptídeos exemplificadores ou peptídeomiméticos incluem peptídeos direcionados à integrina (peptídeos RGD), peptídeos direcionados ao receptor de LHRH, peptídeos direcionados ao receptor de ErbB2 (HER2), peptídeos direcionados ao antígeno ligado à membrana específico para a próstata (PSMA), peptídeos direcionados ao receptor de lipoproteína LRP1, peptídeos derivados da proteína ApoE , peptídeos de proteína ApoA, peptídeos direcionados ao receptor de somatostatina, peptídeos derivados de clorotoxina e bombesina.

[00332] Em algumas modalidades, os peptídeos ou peptídeomiméticos são peptídeos direcionados ao receptor de LHRH e peptídeos direcionados ao receptor ErbB2 (HER2).

[00333] Proteínas exemplificadoras compreendem insulina, transferrina, fragmento de fibrinogênio-gama, trombospondina, claudina, apolipoproteína E, moléculas de Affibody tais como, por exemplo, ABY-025, proteínas de repetição de Anquirina, proteínas de repetição semelhantes a anquirina e peptídeos sintéticos.

[00334] Em algumas modalidades, os conjugados de proteína-fármaco compreendem citotoxinas de amplo espectro em combinação com marcadores de superfície celular para HER2, tais como, por exemplo, pertuzumab ou trastuzumab; para EGFR tal como cetuximab e panitumumab; para CEA como labetuzumab; para CD20 tal como rituximab; para VEGF-A tal como bevacizumab; ou para CD-22 como epratuzumab ou veltuzumab.

[00335] Em algumas modalidades, os conjugados de proteína-

fármaco ou conjugados de proteína usados na descrição compreendem combinações de duas ou mais moléculas de reconhecimento baseadas em proteínas, tal como, por exemplo, combinação de anticorpos biespecíficos direcionados ao receptor de EGF (EGFR) em células tumorais e para CD3 e CD28 em células T; combinação de anticorpos ou anticorpos derivados de Fab, Fab2, scFv ou fragmentos de cadeia pesada de anticorpo de camelo e peptídeos ou peptídeomiméticos; combinação de anticorpos ou anticorpos derivados de Fab, Fab2, scFv ou fragmentos de cadeia pesada de anticorpo de camelo e proteínas; combinação de dois anticorpos biespecíficos, tais como anticorpos biespecíficos para CD3-CD19 mais CD28-CD22.

[00336] Em algumas modalidades, os conjugados de proteína-fármaco ou conjugados de proteína usados na descrição compreendem moléculas de reconhecimento baseadas em proteínas que são anticorpos contra antígenos, como, por exemplo, Trastuzumabe, Cetuximab, Rituximab, Bevacizumab, Epratuzumab, Veltuzumab, Labetuzumab, B7-H4, B7-H3, CD11b, CD103, CA125, CDH6, CD33, CXCR2, CEACAM5, Clec9A, CSFR1, DEC205, EGFR, FAP, fibronectina-EDB, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, GCC (GUCY2C), HER2, LIV1, LY6E, NaPi2b, c-Met, mesotelina, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH3, NOTCH4, PD-L1, PTK7, c-Kit, MUC1, MUC13 e 5T4.

[00337] Em algumas modalidades, os conjugados proteína-fármaco ou conjugados proteína da descrição compreendem moléculas de reconhecimento baseadas em proteínas que são CSRF1, CD11b, DEC205, clec9A, CD103, B7H4, mesotelina, PTK7, Ly6E, FAP, fibronectina-EDB, anticorpos para Her-2 ou NaPi2b.

Anticorpos para NaPi2b

[00338] Em algumas modalidades, os anticorpos para NaPi2b adequados para conjugação se ligam à região extracelular de SLC34A2. Em algumas modalidades, a presente descrição fornece anticorpos

monoclonais direcionados para NaPi2b que reconhecem especificamente NaPi2b, também conhecida como proteína de transporte de fosfato dependente de sódio 2B. Em algumas modalidades, os anticorpos NaPi2b utilizados nos conjugados aqui descritos são capazes e úteis na modulação, por exemplo, bloqueio, inibição, redução, antagonização, neutralização ou interferência de outra forma com pelo menos uma atividade biológica de NaPi2b. Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos também incluem anticorpos que se ligam a NaPi2b solúvel. Em algumas modalidades, os anticorpos NaPi2b se ligam especificamente a um epítipo em um domínio extracelular (ECD) dw NaPi2b humanw. Esses anticorpos são coletivamente referidos aqui como anticorpos "NaPi2b".

[00339] Em algumas modalidades, os conjugados de anticorpo-fármaco NaPi2b aqui fornecidos incluem anticorpos que se ligam a um epítipo em NaPi2b com uma constante de dissociação de equilíbrio (K_d ou K_D) de $\leq 1\mu\text{M}$ (por exemplo, $\leq 100\text{ nM}$; $\leq 10\text{ nM}$; e $\leq 1\text{ nM}$). Em algumas modalidades, os anticorpos NaPi2b usados nos conjugados de anticorpo-fármaco aqui descritos exibem uma K_d na faixa de aproximadamente entre $\leq 1\text{ nM}$ a cerca de 1 pM .

[00340] Em algumas modalidades, os conjugados de anticorpo-fármaco NaPi2b fornecidos aqui podem incluir anticorpos que servem para modular, bloquear, inibir, reduzir, antagonizar, neutralizar ou interferir com a atividade funcional de NaPi2b. Em algumas modalidades, as atividades funcionais de NaPi2b incluem, por exemplo, participar da absorção transcelular de fosfato inorgânico (Pi), contribuindo assim para a manutenção da homeostase do fosfato no corpo. Em algumas modalidades, os anticorpos NaPi2b inibem completamente ou parcialmente a atividade funcional NaPi2b modulando, bloqueando, inibindo, reduzindo, antagonizando, neutralizando ou de outra forma interferindo na absorção de fosfato inorgânico transcelular.

[00341] Em algumas modalidades, os anticorpos NaPi2b são considerados para modular, bloquear, inibir, reduzir, antagonizar, neutralizar, ou de outra forma interferir completamente com a atividade funcional NaPi2b quando o nível de atividade funcional de NaPi2b na presença do anticorpo para NaPi2b é diminuído em pelo menos 95%, por exemplo, em 96%, 97%, 98%, 99% ou 100% em comparação com o nível de atividade funcional de NaPi2b na ausência de ligação com um anticorpo para NaPi2b aqui descrito. Em algumas modalidades, é considerado que os anticorpos para NaPi2b modulam parcialmente, bloqueiam, inibem, reduzem, antagonizam, neutralizam ou interferem de outra forma com a atividade funcional de NaPi2b quando o nível de atividade de NaPi2b na presença do anticorpo para NaPi2b é diminuído em menos de 95%, por exemplo, 10%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 75%, 80%, 85% ou 90% em comparação com o nível de atividade de NaPi2b na ausência de ligação com um NaPi2b anticorpo aqui descrito.

[00342] Em algumas modalidades, anticorpos exemplificadores aqui descritos incluem o anticorpo XMT-1535. Esses anticorpos mostram especificidade para NaPi2b humano e demonstraram inibir a atividade de NaPi2b.

[00343] O anticorpo monoclonal humano ou humanizado para NaPi2b, XMT-1535, inclui uma cadeia pesada (HC), região variável de cadeia pesada (VH), cadeia leve (LC) e uma região variável de cadeia leve (VL), conforme mostrado nas sequências de aminoácidos e de ácido nucleico correspondentes apresentadas na Tabela I abaixo. A região variável da cadeia pesada e a região variável da cadeia leve para cada anticorpo estão sombreadas nas sequências de aminoácidos abaixo. As regiões determinantes de complementaridade (CDRs) da cadeia pesada e da cadeia leve estão sublinhadas nas sequências de aminoácidos apresentadas abaixo. Os aminoácidos que abrangem

as regiões determinantes de complementaridade (CDRs) para o anticorpo XMT-1535 estão descritos na Patente US 8.603.474.

Tabela I: Sequências de NaPi2b humano ou anticorpo monoclonal humanizado XMT-1535

SEQ ID NO:	Descrição da Sequência
1	Sequência de Aminoácidos da Cadeia Pesada de XMT-1535
2	Sequência de Aminoácidos da Cadeia Leve de XMT-1535
3	Região variável da cadeia pesada de XMT-1535
4	Região variável da cadeia leve de XMT-1535
5	XMT-1535 CDRH1
6	XMT-1535 CDRH2
7	XMT-1535 CDRH3
8	XMT-1535 CDRL1
9	XMT-1535 CDRL2
10	XMT-1535 CDRL3
11	Região constante da cadeia pesada XMT-1535 IgG1
12	Região constante da cadeia leve de XMT-1535
13	Sequência de ácido nucleico da região variável da cadeia pesada de XMT-1535
14	Sequência de ácido nucleico da região variável da cadeia leve de XMT-1535
15	Sequência de NaPi2b humana de extensão completa

[00344] Os anticorpos aqui descritos se ligam especificamente a um epítopo em um domínio extracelular (ECD) de NaPi2b humano.

[00345] Em algumas modalidades, aqueles versados na técnica reconhecerão que é possível determinar, sem experimentação indevida, se um anticorpo monoclonal tem a mesma especificidade que um anticorpo monoclonal aqui descrito (por exemplo, XMT-1535, 10H1.11.4B) pela verificação de que o primeiro impede que o último se ligue a um parceiro de ligação natural ou outra molécula conhecida por estar associada a NaPi2b. Se o anticorpo monoclonal a ser testado

competir com o anticorpo monoclonal aqui descrito, como mostrado por uma diminuição na ligação pelo anticorpo monoclonal aqui descrito, então os dois anticorpos monoclonais se ligam ao mesmo ou a um epítipo intimamente relacionado.

[00346] Um método alternativo para determinar se um anticorpo monoclonal tem a especificidade do anticorpo monoclonal aqui descrito é pré-incubar o anticorpo monoclonal aqui descrito com NaPi2b solúvel (com o qual é normalmente reativo) e, em seguida, adicionar o anticorpo monoclonal a ser testado para determinar se o anticorpo monoclonal que está sendo testado é inibido em sua capacidade de se ligar a NaPi2b. Se o anticorpo monoclonal que está sendo testado for inibido, então, com toda a probabilidade, ele tem a mesma especificidade de epítipo, ou uma especificidade funcionalmente equivalente, como o anticorpo monoclonal aqui descrito.

[00347] O rastreamento de anticorpos monoclonais aqui descritos também pode ser realizado, por exemplo, medindo a atividade mediada por NaPi2b e determinando se o anticorpo monoclonal de teste é capaz de modular, bloquear, inibir, reduzir, antagonizar, neutralizar ou interferir na atividade de NaPi2b.

[00348] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos compreendem uma região variável de cadeia pesada com uma sequência de aminoácidos pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntica a uma sequência selecionada a partir da SEQ ID NO: 3 e uma região variável de cadeia leve com uma sequência de aminoácidos pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntica a uma sequência selecionada a partir da SEQ ID NO: 4.

[00349] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos compreendem uma sequência de aminoácidos da cadeia pesada pelo

menos 85%, 86%, 87% 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 98%, 99% ou mais idêntica à sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 1 e uma sequência de aminoácidos da cadeia leve pelo menos 85%, 86%, 87% 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% , 96%, 97% 98%, 99% ou mais idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 2.

[00350] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos que compreendem a sequência de aminoácidos da região variável da cadeia pesada da SEQ ID NO: 3 e a sequência de aminoácidos da região variável da cadeia leve da SEQ ID NO: 4.

[00351] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos que compreendem a sequência de aminoácidos da cadeia pesada da SEQ ID NO: 1 e a sequência de aminoácidos da cadeia leve da SEQ ID NO: 2.

[00352] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos que compreendem a sequência de aminoácidos da CDRH1 da SEQ ID NO: 5, a sequência de aminoácidos da CDRH2 da SEQ ID NO: 6; a sequência de aminoácidos da CDRH3 da SEQ ID NO: 7, a sequência de aminoácidos da CDRI1 da SEQ ID NO: 8, a sequência de aminoácidos da CDRL2 da SEQ ID NO: 9 e a a sequência de aminoácidos da CDRL3 da SEQ ID NO: 10.

[00353] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos compreendem a sequência de aminoácidos pelo menos 85%, 86%, 87% 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95% , 96%, 97% 98%, 99% ou mais idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 5; uma CDRH2 que compreende a sequência de aminoácidos pelo menos 85%, 86%, 87% 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 98%, 99% ou mais idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 6; uma CDRH3 que compreende a sequência de aminoácidos pelo menos 85%, 86%, 87% 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%,

94%, 95%, 96%, 97% 98%, 99% ou mais idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 7; uma CDRL1 que compreende a sequência de aminoácidos em 85%, 86%, 87% 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 98%, 99 % ou mais idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 8; uma CDRL2 que compreende a sequência de aminoácidos pelo menos 85%, 86%, 87% 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 98%, 99% ou mais idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 9; e uma CDRL3 que compreende a sequência de aminoácidos pelo menos 85%, 86%, 87% 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 98% , 99% ou mais idêntica à sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 10.

[00354] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos incluem uma ou mais substituições conservativas de aminoácidos c em uma sequência de domínio variável, tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ou substituições conservativas ou mais em uma sequência de domínio variável. Em algumas modalidades, essas substituições conservativas de aminoácidos estão em uma região de CDR, por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, ou substituições conservativas ou mais são feitas cumulativamente em todas as CDRs e em algumas modalidades particulares, até 1, 2, 3 ou 4 substituições conservativas de aminoácidos podem estar presentes em cada sequência de CDR, por exemplo, SEQ ID NOs: 5-10.

[00355] Em algumas modalidades, aqueles versados na técnica reconhecerão que é possível determinar, sem experimentação indevida, se um anticorpo monoclonal tem a mesma especificidade que um anticorpo monoclonal XMT-1535, verificando se o primeiro impede que o último se ligue a um parceiro de ligação natural ou outra molécula conhecida por estar associada a NaPi2b. Se o anticorpo monoclonal a ser testado competir com o anticorpo monoclonal aqui descrito, como mostrado por uma diminuição na ligação pelo anticorpo monoclonal

aqui descrito, então os dois anticorpos monoclonais se ligam ao mesmo ou a um epítopo intimamente relacionado.

[00356] Em algumas modalidades, um método alternativo para determinar se um anticorpo monoclonal tem a especificidade de um anticorpo monoclonal aqui descrito é pré-incubar o anticorpo monoclonal aqui descrito com NaPi2b solúvel (com o qual é normalmente reativo) e, em seguida, adicionar o anticorpo monoclonal a ser testado para determinar se o anticorpo monoclonal a ser testado é inibido em sua capacidade de se ligar a NaPi2b. Em algumas modalidades, se o anticorpo monoclonal a ser testado é inibido, então ele tem a mesma especificidade de epítopo ou uma especificidade funcionalmente equivalente, como o anticorpo monoclonal aqui descrito.

[00357] O rastreamento de anticorpos monoclonais aqui descritos também pode ser realizado, por exemplo, medindo a atividade mediada por NaPi2b e determinando se o anticorpo monoclonal de teste é capaz de modular, bloquear, inibir, reduzir, antagonizar, neutralizar ou interferir com a atividade de NaPi2b.

[00358] Em algumas modalidades, os anticorpos para NaPi2b adequados para conjugação podem ser gerados e purificados por técnicas bem conhecidas, por exemplo, WO 2009/097128, WO 2017/160754 e US 16/136.706, cada um dos quais está incorporado aqui em sua totalidade por referência.

Anticorpos para HER2

[00359] Em algumas modalidades, a conjugação adequada de anticorpos para HER2 se ligam a HER2 humana na forma solúvel ou ligada à membrana (ou seja, quando expressa em uma superfície celular). Em algumas modalidades, a presente descrição fornece anticorpos monoclonais que se ligam a HER2 e são humanizados ou totalmente humanos. Em algumas modalidades, a presente descrição fornece anticorpos monoclonais que se ligam especificamente a HER2. Esses

anticorpos são coletivamente referidos neste documento como anticorpos "HER2".

[00360] Em algumas modalidades, os anticorpos para HER2 adequados para conjugação se ligam a um epítopo sobre HER2 com uma constante de dissociação de equilíbrio (K_d ou KD) de $\leq 1 \mu M$ (por exemplo, $\leq 100 \text{ nM}$; $\leq 10 \text{ nM}$; e $\leq 1 \text{ nM}$). Em algumas modalidades, a presente descrição fornece anticorpos monoclonais que se ligam a HER2 e são humanizados ou totalmente humanos, por exemplo, os anticorpos para HER2 fornecidos aqui exibem uma K_d na faixa de aproximadamente entre $\leq 1 \text{ nM}$ a cerca de 1 pM .

[00361] Em algumas modalidades, os anticorpos para HER2 descritos aqui servem para modular, bloquear, inibir, reduzir, antagonizar, neutralizar ou interferir de outra maneira com a atividade funcional de HER2. Em algumas modalidades, as atividades funcionais de HER2 incluem, por exemplo, a modulação da atividade da via de PI3K-Akt. Em algumas modalidades, os anticorpos para HER2 inibem completamente ou parcialmente a atividade funcional de HER2 modulando, bloqueando, inibindo, reduzindo, antagonizando, neutralizando ou de outra forma interferindo parcialmente ou completamente com a atividade da via PI3K-Akt. A atividade da via PI3K-Akt é avaliada usando qualquer método reconhecido na técnica para detectar a atividade da via PI3K-Akt, incluindo, mas não se limitando a detectar níveis de Akt fosforilada na presença e ausência de um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno aqui descrito.

[00362] Em algumas modalidades, os anticorpos para HER2 são considerados para modular, bloquear, inibir, reduzir, antagonizar, neutralizar ou interferir completamente com a atividade funcional de HER2 quando o nível de atividade funcional de HER2 na presença do anticorpo para HER2 está diminuído em pelo menos 80%, por exemplo, em 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%,

92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, ou 100% em comparação com o nível de atividade funcional de HER2 na ausência de ligação com um anticorpo para HER2 aqui descrito. Em algumas modalidades, é considerado que os anticorpos para HER2 modulam, bloqueiam, inibem, reduzem, antagonizam, neutralizam ou interferem de outra forma parcialmente com a atividade funcional de HER2 quando o nível de atividade de HER2 na presença do anticorpo para HER2 está diminuído em menos de 95% , por exemplo, 10%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 75%, 80%, 85% ou 90% em comparação com o nível de atividade de HER2 na ausência de ligação com um anticorpo HER2 aqui descrito.

[00363] Em algumas modalidades, os anticorpos exemplificadores descritos aqui incluem o anticorpo XMT-1519. Este anticorpo apresenta especificidade para HER2 humana e demonstrou inibir a atividade funcional de HER2 *in vitro*.

[00364] O anticorpo monoclonal para HER-2 XMT-1519 inclui uma cadeia pesada (HC), região variável de cadeia pesada (VH), cadeia leve (LC) e uma região variável de cadeia leve (VL), conforme mostrado nas sequências de aminoácido e ácido nucleico correspondentes apresentadas na Tabela II abaixo. A região variável da cadeia pesada e a região variável da cadeia leve para cada anticorpo estão sombreadas nas sequências de aminoácidos abaixo. As regiões determinantes de complementaridade (CDRs) da cadeia pesada e da cadeia leve estão sublinhadas nas sequências de aminoácidos apresentadas abaixo.

Tabela II: Sequências do anticorpo monoclonal humano ou humanizado XMT-1519 para HER2

SEQ ID NO:	Descrição da Sequência
16	Receptor de HER2 humana de extensão completa
17	Região variável da cadeia pesada de XMT-1519
18	Região constante da cadeia pesada de XMT-1519 IgG1

SEQ ID NO:	Descrição da Sequência
19	Sequência de aminoácidos da cadeia pesada de XMT-1519
20	XMT-1519 CDRH1
21	XMT-1519 CDRH2
22	XMT-1519 CDRH3
23	Sequência de ácido nucleico da região variável da cadeia pesada de XMT-1519
24	Região variável da cadeia leve de XMT-1519
25	Região constante da cadeia leve de XMT-1519
26	Sequência de aminoácidos da cadeia leve de XMT-1519
27	XMT-1519 CDRL1
28	XMT-1519 CDRL2
29	XMT-1519 CDRL3
30	Sequência de ácido nucleico da região variável da cadeia leve de XMT-1519
31	Domínio extracelular (ECD) do receptor de HER2 humano

[00365] Os anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno descritos aqui se ligam especificamente a um epítipo no receptor de HER2 humana de extensão completa compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 16.

[00366] Os anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno descritos aqui se ligam especificamente a um epítipo no domínio extracelular (ECD) do receptor de HER2 humano compreendendo a sequência de aminoácidos de SEQ ID NO: 31.

[00367] Em algumas modalidades, os anticorpos da presente descrição exibem características de ligação a HER2 que diferem dos anticorpos descritos na técnica. Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos se ligam a um epítipo diferente de HER2, na medida em que bloqueiam um ao outro, mas não Trastuzumabe, pertuzumab, Fab37 ou chA21 a partir da ligação a HER2. Além disso, ao contrário dos anticorpos conhecidos, os anticorpos aqui descritos podem inter-

nalizar eficientemente em células que expressam HER2 sem promover a proliferação celular.

[00368] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos são anticorpos monoclonais totalmente humanos que se ligam a novos epítopos e/ou têm outras propriedades favoráveis para uso terapêutico. Em algumas modalidades, as propriedades exemplificadoras incluem, mas não estão limitadas a características de ligação favoráveis para células de câncer que expressam HER2 humano em níveis altos ou baixos, ligação específica a HER2 recombinante humano e de macaco cynomolgus, internalização eficiente mediante ligação a HER2, alta capacidade de matar células de câncer que expressam níveis altos ou baixos de HER2 quando administrados como um conjugado de anticorpo-fármaco (ADC), sem efeito agonista substancial na proliferação de células de câncer que expressam HER2, e/ou proporcionar morte eficaz mediada por citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC) de células que expressam HER2, assim como qualquer combinação das propriedades anteriores.

[00369] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos também incluem um anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a um epítipo do receptor de HER2 humano que inclui os resíduos 452 a 531 do domínio extracelular do receptor de HER2 humano, resíduos 474 a 553 da SEQ ID NO: 16 ou resíduos 452 a 531 da SEQ ID NO: 31.

[00370] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos incluem um anticorpo ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga a pelo menos uma porção da terminação N do domínio IV do receptor HER2 humano, mas não faz competição cruzada com um anticorpo que se liga ao epítipo 4D5 do receptor HER2 humano. Em algumas modalidades, os anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos descritos aqui não competem de forma cruzada

com o Trastuzumabe para a ligação ao receptor de HER2 humano, uma vez que o Trastuzumabe é conhecido por se ligar ao epítopo 4D5 do receptor de HER2 humano. Como usado aqui, a expressão epítopo 4D5 do receptor de HER2 humano se refere aos resíduos de aminoácidos 529 a 627 do domínio extracelular do receptor de HER2 humano, resíduos 551 a 649 da SEQ ID NO: 16 ou resíduos 529 a 627 da SEQ ID NO: 31. Em algumas modalidades, o anticorpo ou fragmento de ligação ao antígeno do mesmo também se liga a pelo menos um epítopo no receptor de HER2 de macaco cynomolgus.

[00371] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos incluem um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga especificamente a um epítopo do receptor de HER2 humano que inclui os resíduos 452 a 500 do domínio extracelular do receptor de HER2 humana, resíduos 474 a 522 da SEQ ID NO: 16 ou resíduos 452 a 500 da SEQ ID NO: 31.

[00372] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos também incluem um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga especificamente a um epítopo do receptor de HER2 humana que inclui pelo menos um resíduo de aminoácido selecionado a partir dos resíduos de aminoácidos E521, L525 e R530 do domínio extracelular do receptor de HER2 humano, por exemplo, resíduos 543, 547 e 552 de SEQ ID NO: 16 e resíduos 521, 525 e 530 da SEQ ID NO: 31. Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos também incluem um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga especificamente a um epítopo do receptor de HER2 humana que inclui pelo menos os resíduos de aminoácidos E521, L525 e R530 do domínio extracelular do receptor HER2 humano. Em algumas modalidades, qualquer um ou todos esses anticorpos ou seus fragmentos de ligação ao antígeno também se ligam a pelo menos um epítopo no receptor de HER2 de macaco cynomolgus.

[00373] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos também incluem um anticorpo ou um fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga a pelo menos uma porção do domínio III e pelo menos uma porção da terminação N do domínio IV do receptor de HER2 humano, mas não compete de forma cruzada com o anticorpo monoclonal Fab37 ou um anticorpo que se liga ao epítopo 4D5 do receptor de HER2 humano. Em algumas modalidades, os anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos descritos aqui não competem de forma cruzada com o anticorpo monoclonal Fab37 e/ou Trastuzumabe pela ligação ao receptor de HER2 humano. Em algumas modalidades, o anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno também se liga a pelo menos um epítopo no receptor de HER2 de macaco cynomolgus.

[00374] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos incluem um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga especificamente a um epítopo do domínio extracelular do receptor de HER2 humano que inclui os resíduos 520 a 531 do domínio extracelular do receptor de HER2 humano, resíduos 542 a 533 da SEQ ID NO: 16 ou resíduos 520 a 531 da SEQ ID NO: 31.

[00375] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos incluem um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga especificamente a um epítopo do receptor de HER2 humano que inclui pelo menos um resíduo de aminoácido selecionado entre os resíduos C453, H456, H473, N476, R495, G496, H497, e W499 do domínio extracelular do receptor de HER2 humano, por exemplo, resíduos 475, 478, 495, 498, 517, 18, 519 e 521 da SEQ ID NO: 16 ou os resíduos 453, 456, 473, 476, 495, 496, 497 e 499 da SEQ ID NO: 31. Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos incluem um anticorpo ou seu fragmento de ligação que se liga especificamente a um epítopo do domínio extracelular do receptor de HER2 humano que

inclui pelo menos dois resíduos de aminoácidos, pelo menos três resíduos de aminoácidos, pelo menos quatro resíduos de aminoácidos, pelo menos cinco resíduos de aminoácidos, ou pelo menos seis resíduos de aminoácidos selecionados a partir dos resíduos de aminoácidos C453, H456, H473, N476, R495, G496, H497 e W499 do domínio extracelular do receptor HER2 humano. Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos incluem um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga especificamente a um epítipo do domínio extracelular do receptor de HER2 humano que inclui pelo menos os resíduos de aminoácidos C453, H456, H473, N476, R495, G496, H497, e W499 do domínio extracelular do receptor de HER2 humano. Em algumas modalidades, qualquer um ou todos esses anticorpos ou fragmentos de ligação ao antígeno dos mesmos também se ligam a pelo menos um epítipo no receptor de HER2 de macaco cynomolgus.

[00376] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos também incluem um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga especificamente a um epítipo do receptor de HER2 humano que inclui pelo menos um resíduo de aminoácido selecionado entre os resíduos C453, H473, N476, R495, H497 e W499 do domínio extracelular do receptor de HER2 humano, por exemplo, resíduos 475, 495, 498, 517, 519 e 521 de SEQ ID NO: 16 ou resíduos 453, 473, 476, 495, 497 e 499 de SEQ ID NO: 31. Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos incluem um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno que se liga especificamente a um epítipo do domínio extracelular do receptor de HER2 humano que inclui pelo menos dois resíduos de aminoácidos, pelo menos três resíduos de aminoácidos, pelo menos quatro resíduos de aminoácidos, pelo menos cinco resíduos de aminoácidos, ou pelo menos seis resíduos de aminoácidos selecionados a partir dos resíduos de aminoácidos C453, H473, N476, R495, H497 e W499 do domínio extracelular do receptor de

HER2 humano. Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos incluem um anticorpo ou seu fragmento de ligação ao antígeno do mesmo que se liga especificamente a um epítopo do domínio extracelular do receptor de HER2 humano que inclui pelo menos os resíduos de aminoácidos C453, H473, N476, R495, H497 e W499 do domínio extracelular do receptor de HER2 humano. Em algumas modalidades, qualquer um ou todos esses anticorpos ou seus fragmentos de ligação ao antígeno também se ligam a pelo menos um epítopo no receptor HER2 de macaco cynomolgus.

[00377] Em algumas modalidades, esses anticorpos mostram especificidade para HER2 humana e demonstraram modular, por exemplo, bloquear, inibir, reduzir, antagonizar, neutralizar ou interferir de outra forma com a via de PI3K-Akt que promove a sobrevivência celular pela redução dos níveis de AKT fosforilado. Em algumas modalidades, esses anticorpos internalizam a partir da superfície celular de células que expressam HER2 em uma taxa que é a mesma ou substancialmente semelhante à taxa na qual o Trastuzumabe ou um biossimilar do mesmo internaliza. Em algumas modalidades, esses anticorpos e seus fragmentos de ligação ao antígeno possuem uma taxa de internalização que é de cerca de 50% da superfície total ligada no tempo 0 sendo internalizada por 4 horas.

[00378] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos compreendem uma região variável de cadeia pesada que possui uma sequência de aminoácidos pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntica a uma sequência selecionada a partir da SEQ ID NO: 17 e uma região variável da cadeia leve que possui uma sequência de aminoácidos pelo menos 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% ou mais idêntica a uma sequência selecionada a partir da SEQ ID NO: 24.

[00379] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos compreendem uma sequência de aminoácidos da cadeia pesada que possui uma sequência de aminoácidos pelo menos 85%, 86%, 87% 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 98%, 99% ou mais idêntica a sequência de aminoácidos da SEQ ID NO: 19 e uma sequência de aminoácidos da cadeia leve que possui uma sequência de aminoácidos pelo menos 85%, 86%, 87% 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97% 98%, 99% ou mais idêntica a uma sequência selecionada a partir da SEQ ID NO: 26.

[00380] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos compreendem a sequência de aminoácidos da região variável da cadeia pesada da SEQ ID NO: 17 e a sequência de aminoácidos da região variável da cadeia leve da SEQ ID NO: 24.

[00381] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos compreendem a sequência de aminoácidos da cadeia pesada da SEQ ID NO: 19 e a sequência de aminoácidos da cadeia leve da SEQ ID NO: 26.

[00382] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos compreendem a sequência de aminoácidos da CDRH1 da SEQ ID NO: 20, a sequência de aminoácidos da CDRH2 da SEQ ID NO: 21, a sequência de aminoácidos da CDRH3 da SEQ ID NO: 22, a sequência de aminoácidos da CDRL1 da SEQ ID NO: 27, a sequência de aminoácidos da CDRL2 da SEQ ID NO: 28 e a sequência de aminoácidos da CDRL3 da SEQ ID NO: 29.

[00383] Em algumas modalidades, os anticorpos aqui descritos incluem uma ou mais substituições conservativas de aminoácidos em uma sequência de domínio variável, tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6 , 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ou mais substituições conservativas em uma sequência de domínio variável. Em algumas modalidades, essas substituições conservativas de aminoácidos estão em uma região de CDR,

por exemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ou mais substituições conservativas são feitas cumulativamente em todas as CDRs. Em algumas modalidades, até 1, 2, 3 ou 4 substituições conservativas de aminoácidos podem estar presentes em cada sequência de CDR, por exemplo, SEQ ID NOs: 20-22 e 27-29.

[00384] Aqueles versados na técnica reconhecerão que é possível determinar, sem experimentação indevida, se um anticorpo monoclonal tem a mesma especificidade que um anticorpo monoclonal XMT-1519, pela verificação de que o primeiro impede que o último se ligue a um parceiro de ligação natural ou outra molécula conhecida por estar associada a HER2. Em algumas modalidades, se o anticorpo monoclonal a ser testado compete com o anticorpo monoclonal aqui descrito, como mostrado por uma diminuição na ligação pelo anticorpo monoclonal aqui descrito, então os dois anticorpos monoclonais se ligam ao mesmo ou a um epítopo intimamente relacionado.

[00385] Em algumas modalidades, um método alternativo para determinar se um anticorpo monoclonal tem a especificidade do anticorpo monoclonal aqui descrito é pré-incubar o anticorpo monoclonal aqui descrito com HER2 solúvel (com o qual é normalmente reativo), e depois adicionar o anticorpo monoclonal a ser testado para determinar se o anticorpo monoclonal a ser testado é inibido na sua capacidade de se ligar a HER2. Se o anticorpo monoclonal que está sendo testado for inibido, então, com toda a probabilidade, ele tem a mesma especificidade ou especificidade funcionalmente equivalente de epítopo, que o anticorpo monoclonal aqui descrito

[00386] Em algumas modalidades, o rastreamento de anticorpos monoclonais aqui descritos também pode ser realizado, por exemplo, medindo a atividade da via de PI3K-Akt mediada por HER2 e determinando se o anticorpo monoclonal de teste é capaz de modular, bloquear, inibir, reduzir, antagonizar, neutralizar ou interferir de outra

forma com a atividade da via de PI3K-Akt. Em algumas modalidades, os anticorpos para HER2 adequados para conjugação podem ser gerados e purificados por técnicas bem conhecidas, por exemplo, WO 2015/195917 e PCT/US2018/019873, cada um dos quais está incorporado aqui em sua totalidade por referência.

Conjugados

[00387] Em algumas modalidades, os conjugados da descrição compreendem uma ou mais ocorrências de D, em que D é um agonista de STING, em que uma ou mais ocorrências de D podem ser iguais ou diferentes.

[00388] Em algumas modalidades, uma ou mais ocorrências de PBRM são acopladas à porção de Ligante-Fármaco, em que uma ou mais ocorrências de PBRM podem ser iguais ou diferentes. Em algumas modalidades, uma ou mais porções de Ligante-Fármaco que compreendem uma ou mais ocorrências de D estão conectadas a uma PBRM (por exemplo, um anticorpo).

[00389] Em algumas modalidades, o conjugado da descrição compreende uma PBRM que tem um peso molecular de cerca de 40 kDa ou mais (por exemplo, cerca de 60 kDa ou mais; cerca de 80 kDa ou mais; cerca de 100 kDa ou mais; cerca de 120 kDa ou mais, cerca de 140 kDa ou mais; cerca de 160 kDa ou mais; cerca de 180 kDa ou mais; ou cerca de 200 kDa ou mais, ou cerca de 40 a 200 kDa, cerca de 40 a 180 kDa, cerca de 40 a 140 kDa, cerca de 60 a 200 kDa, cerca de 60 a 180 kDa, cerca de 60 a 140 kDa, cerca de 80 a 200 kDa, cerca de 80 a 180 kDa, cerca de 80 a 140 kDa, cerca de 100 a 200 kDa, cerca de 100 a 180 kDa ou cerca de 100 a 140 kDa) e tem um grupo sulfidril (isto é, -SH ou tiol).

[00390] Em algumas modalidades, o número total de ligações de sulfeto formadas entre as porções de ligante-fármaco e a PBRM (ou número total de pontos de fixação) é 10 ou menos (por exemplo, 8, 6,

4 ou 2).

[00391] Em algumas modalidades, para conjugação com uma ou mais porções de Ligante-Fármaco, a PBRM tem um peso molecular de cerca de 40 kDa ou mais (por exemplo, cerca de 60 kDa ou mais, cerca de 80 kDa ou mais, cerca de 100 kDa ou mais, cerca de 120 kDa ou mais, cerca de 140 kDa ou mais, cerca de 160 kDa ou mais, ou cerca de 180 kDa ou mais; ou cerca de 40 a 200 kDa, cerca de 40 a 180 kDa, cerca de 40 a 140 kDa, cerca de 60 a 200 kDa, cerca de 60 a 180 kDa, cerca de 60 a 140 kDa, cerca de 80 a 200 kDa, cerca de 80 a 180 kDa, cerca de 80 a 140 kDa, cerca de 100 a 200 kDa, cerca de 100 a 180 kDa ou cerca de 100 a 140 kDa).

[00392] Em algumas modalidades, para conjugação com uma ou mais porções de Ligante-Fármaco, a PBRM tem um peso molecular de cerca de 40 kDa a cerca de 200 kDa. Em algumas modalidades, para conjugação com uma ou mais porções de Ligante-Fármaco, a PBRM tem um peso molecular de cerca de 40 kDa a cerca de 80 kDa.

[00393] Em algumas modalidades, para conjugação com uma ou mais porções de Ligante-Fármaco, a PBRM tem um peso molecular de 40 kDa a 200 kDa. Em algumas modalidades, para conjugação com uma ou mais porções de Ligante-Fármaco, a PBRM tem um peso molecular de 40 kDa a 80 kDa.

[00394] Em algumas modalidades, PBRMs nesta faixa de peso molecular incluem, mas não estão limitadas a, por exemplo, fragmentos de anticorpos, tal como, por exemplo, Fabs.

[00395] Em algumas modalidades, para conjugação com uma ou mais porções de Ligante-Fármaco, a PBRM tem um peso molecular de cerca de 60 kDa a cerca de 120 kDa.

[00396] Em algumas modalidades, para conjugação com uma ou mais porções de Ligante-Fármaco, a PBRM tem um peso molecular de 60 kDa a 120 kDa.

[00397] Em algumas modalidades, as PBRMs nesta faixa de peso molecular incluem, mas não estão limitados a, por exemplo, camélídeos, Fab2, scFvFc e semelhantes.

[00398] Em algumas modalidades, para conjugação com uma ou mais porções de Ligante-Fármaco, a PBRM tem um peso molecular de cerca de 140 kDa a cerca de 180 kDa.

[00399] Em algumas modalidades, para conjugação com uma ou mais porções de Ligante-Fármaco, a PBRM tem um peso molecular de cerca de 140 kDa a cerca de 180 kDa.

[00400] Em algumas modalidades, as PBRMs nesta faixa de peso molecular incluem, mas não estão limitadas a, por exemplo, anticorpos de extensão completa, tal como IgG, IgM.

[00401] Em algumas modalidades, os ligantes de direcionamento, os ligantes e os fragmentos de fármaco ou pró-fármaco aqui descritos podem ser montados no conjugado ou arcabouço da descrição, por exemplo, de acordo com as técnicas e métodos descritos. Os conjugados terapêuticos e de direcionamento da descrição e os métodos para produzi-los estão descritos abaixo a título de exemplo não limitante.

[00402] Em algumas modalidades, o número total de ligações de sulfeto formadas entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM (ou número total de pontos de fixação) é de 8 ou menos.

[00403] Em algumas modalidades, o número total de ligações de sulfeto formadas entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM (ou número total de pontos de fixação) é 8. Em algumas modalidades, o número total de ligações de sulfeto formadas entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM (ou número total de pontos de fixação) é 6. Em algumas modalidades, o número total de ligações de sulfeto formadas entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM (ou número total de pontos de fixação) é 5. Em algumas modalidades, o número total de

ligações de sulfeto formadas entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM (ou número total de pontos de fixação) é 4. Em algumas modalidades, o número total de ligações de sulfeto formadas entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM (ou número total de pontos de fixação) é 3. Em algumas modalidades, o número total de ligações de sulfeto formadas entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM (ou número total de pontos de fixação) é 2.

[00404] Em algumas modalidades, a proporção entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM está entre cerca de 1:1 e cerca de 8:1. Em algumas modalidades, a proporção entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM está entre cerca de 1:1 e cerca de 6:1. Em algumas modalidades, a proporção entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM está entre cerca de 1:1 e cerca de 4:1. Em algumas modalidades, a proporção entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM está entre cerca de 2:1 e cerca de 2:1.

[00405] Em algumas modalidades, a proporção entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM está entre cerca de 6:1 e cerca de 8:1.

[00406] Em algumas modalidades, a proporção entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM é de cerca de 8:1.

[00407] Em algumas modalidades, a proporção entre a porção de Ligante-Fármaco e a PBRM é de cerca de 6:1.

[00408] Em algumas modalidades, a descrição também se refere a uma porção de Ligante-Fármaco que compreende pelo menos duas porções, em que cada porção é capaz de conjugação com um grupo tiol em uma PBRM de modo a formar um conjugado de proteína-ligante-fármaco.

[00409] Em algumas modalidades, um ou mais grupos tiol de uma PBRM são produzidos pela redução de uma proteína. Os um ou mais grupos tiol da PBRM podem então reagir com uma ou mais porções de Ligante-Fármaco que são capazes de conjugação com um grupo tiol

da PBRM com a porção de Ligante-Fármaco. Em algumas modalidades, as pelo menos duas porções conectadas a PBRM são grupos maleimida.

[00410] Em algumas modalidades, os anticorpos podem ser ativados pela conjugação com a porção de Ligante-Fármaco pelo tratamento com um agente redutor, tal como DTT (reagente de Cleland, ditioneitol) ou TCEP (cloridrato de tris(2-carboxietil)fosfina). Em algumas modalidades, anticorpos monoclonais de extensão completa podem ser reduzidos com um excesso de TCEP para reduzir as ligações de dissulfeto (por exemplo, entre a cisteína presente nos anticorpos parentais correspondentes) para produzir uma forma reduzida do anticorpo. A cisteína recém-introduzida e não pareada pode permanecer disponível para reação com a porção de Ligante-Fármaco para formar os conjugados de anticorpo da presente descrição. Em algumas modalidades, um excesso de porção de Ligante-fármaco é adicionado para efetuar a conjugação e formar o conjugado de anticorpo-fármaco, e a mistura de conjugação é purificada para remover o excesso de intermediário Ligante-fármaco e outras impurezas.

[00411] Em algumas modalidades, para conjugação da porção de Ligante-Fármaco, uma PBRM tem um peso molecular de 40 kDa ou mais (por exemplo, 60 kDa ou mais; 80 kDa ou mais; ou 100 kDa ou mais; 120 kDa ou mais; 140 kDa ou mais; 160 kDa ou mais ou 180 kDa ou mais). Em algumas modalidades, a proporção de PBRM por porção de Ligante-Fármaco está entre cerca de 1: 1 e cerca de 1:8; cerca de 1:1 e cerca de 1:6; entre cerca de 1:1 e cerca de 1:5; entre cerca de 1:1 e cerca de 1:4; entre cerca de 1:1 e cerca de 1:3; ou entre cerca de 1:1 e cerca de 1:2.

[00412] PBRMs nesta faixa de peso molecular incluem, mas não estão limitadas a, por exemplo, anticorpos de extensão completa, tal como IgG, IgM.

[00413] Em algumas modalidades, para conjugação com uma ou mais porções de Ligante-Fármaco, uma PBRM tem um peso molecular de 60 kDa a 120 kDa. Em algumas modalidades, a proporção de PBRM por porção de Ligante-Fármaco é de cerca de 1:1 e cerca de 1:8; entre cerca de 1:1 e cerca de 1:6; entre cerca de 1:1 e cerca de 1:5; entre 1:1 e cerca de 1:4; entre cerca de 1:1 e cerca de 1:3, ou entre cerca de 1:1 e cerca de 1:2.

[00414] Em algumas modalidades, as PBRMs nesta faixa de peso molecular incluem, mas não estão limitadas a, por exemplo, fragmentos de anticorpos, tais como, por exemplo, Fab2, scFv e camelídeos.

[00415] Em algumas modalidades, para conjugação com uma ou mais porções de Ligante-Fármaco, uma PBRM tem um peso molecular de 40 kDa a 80 kDa. Em algumas modalidades, a proporção de PBRM por porção de Ligante-Fármaco é de cerca de 1:1 e cerca de 1:8; entre cerca de 1:1 e cerca de 1:6; entre cerca de 1:1 e cerca de 1:5; entre 1:1 e cerca de 1:4; entre cerca de 1:1 e cerca de 1:3, ou entre cerca de 1:1 e cerca de 1:2.

[00416] Em algumas modalidades, as PBRMs nesta faixa de peso molecular incluem, mas não estão limitadas a, por exemplo, fragmentos de anticorpos, tais como, por exemplo, Fabs.

[00417] Em algumas modalidades, a descrição apresenta um arcabouço útil para conjugar com uma ou ambas moléculas de reconhecimento baseada em proteína (PBRM) e uma porção de agonista de STING (D).

[00418] Em algumas modalidades, os arcabouços de transporte de fármacos (ou seja, sem ligação a uma PBRM), aqui descritos, cada um tem tipicamente um índice de polidispersividade (PDI) de 1.

[00419] Os conjugados e arcabouços aqui descritos podem ser purificados (isto é, remoção de quaisquer materiais de partida) por diafiltração extensiva. Se necessário, a purificação adicional por cromato-

grafia de exclusão de tamanho pode ser realizada para remover quaisquer conjugados agregados. Em geral, os conjugados como purificados contêm tipicamente menos do que 5% (por exemplo, <2% p/p) de conjugados agregados conforme determinado por SEC; menos do que 0,5% (por exemplo, <0,1% p/p) de fármaco livre (não conjugado) conforme determinado por RP-HPLC; menos do que 1% de arcabouços contendo peptídeo contendo fármaco conforme determinado por SEC e menos do que 2% (por exemplo, <1% p/p) de PBRM não conjugada conforme determinado por HIC-HPLC.

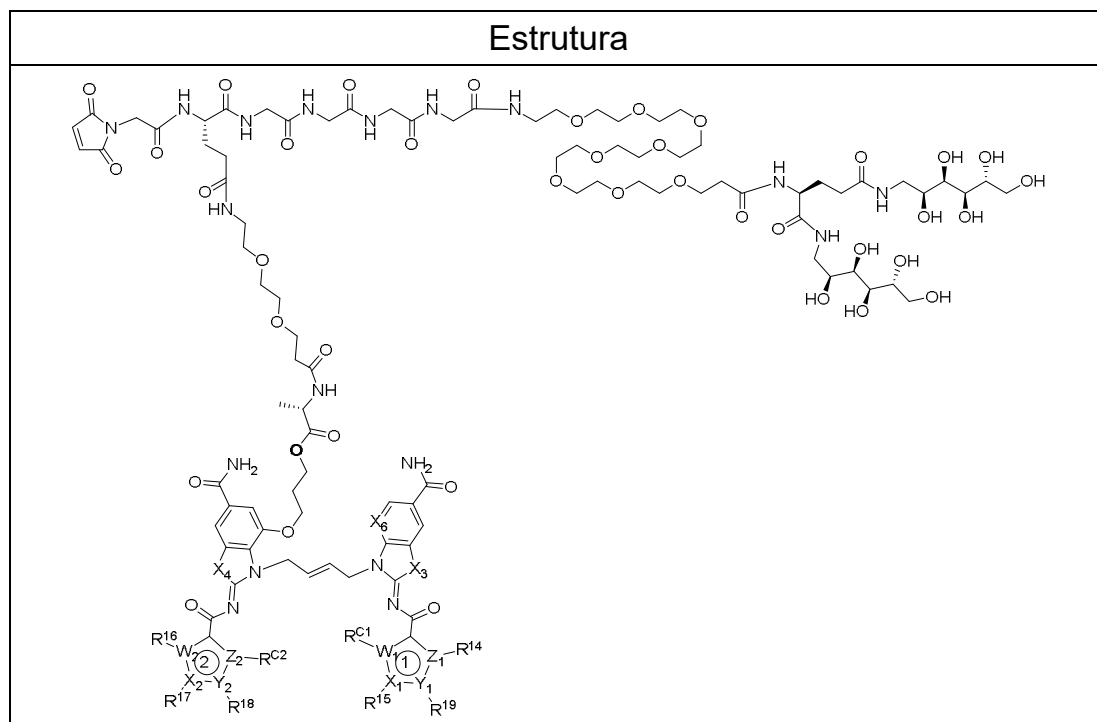
[00420] Em algumas modalidades, o arcabouço é selecionado a partir dos arcabouços descritos na Tabela A1.

[00421] Em algumas modalidades, o arcabouço é selecionado dos arcabouços descritos na Tabela A2.

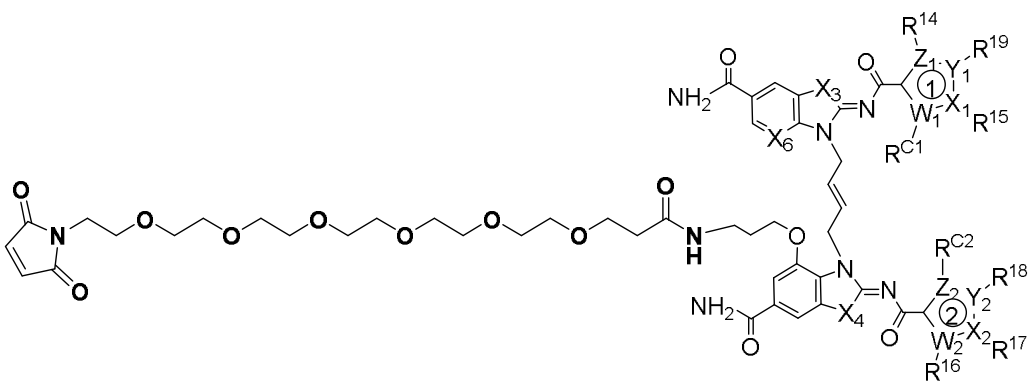
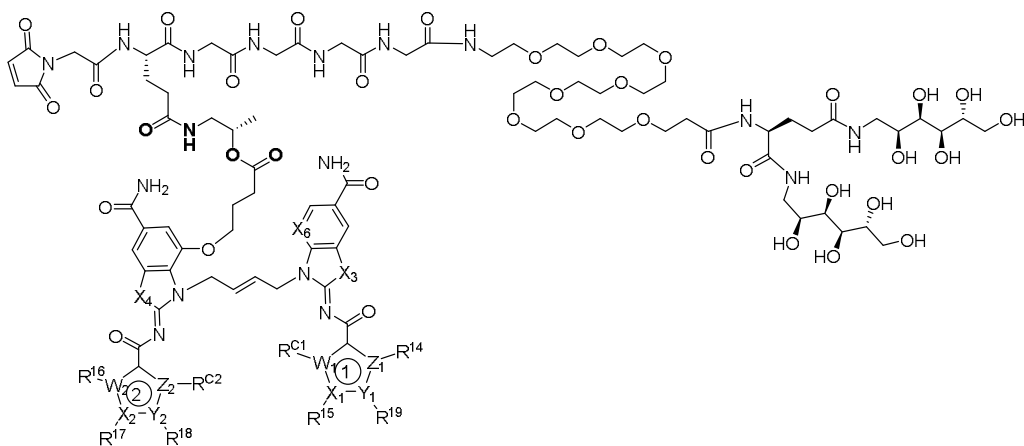
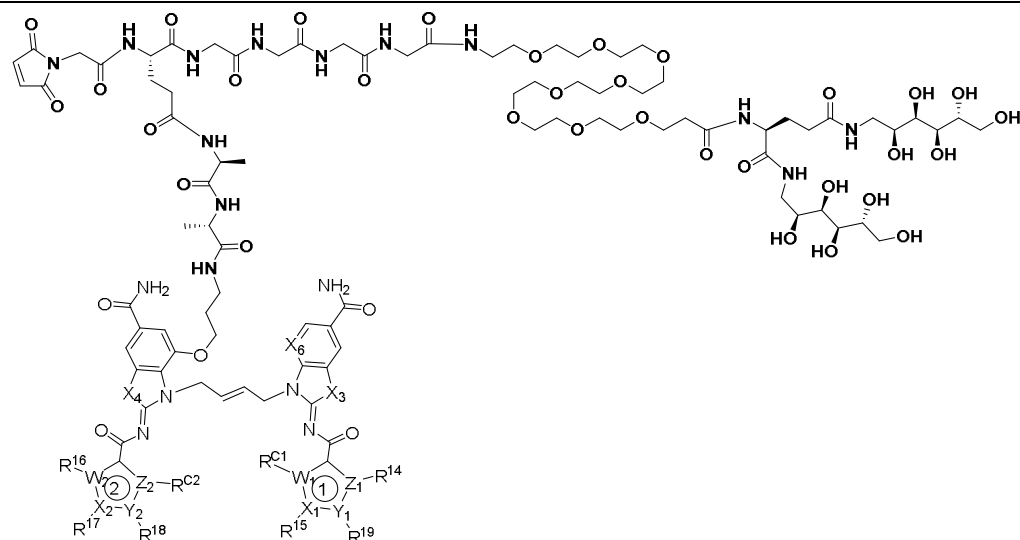
[00422] Em algumas modalidades, o conjugado é selecionado a partir dos conjugados descritos na Tabela B1.

[00423] Em algumas modalidades, o conjugado é selecionado a partir dos conjugados descritos na Tabela B2.

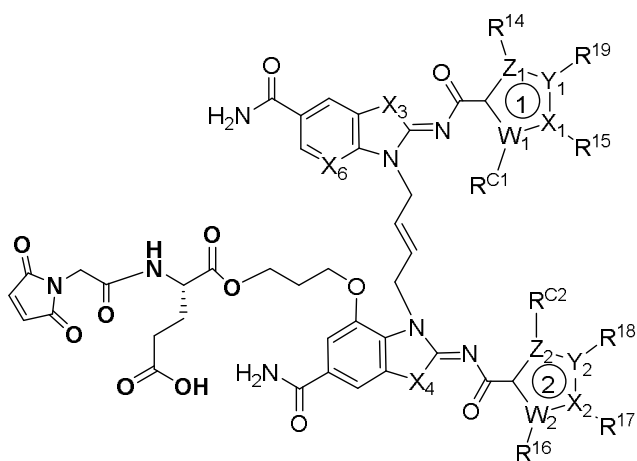
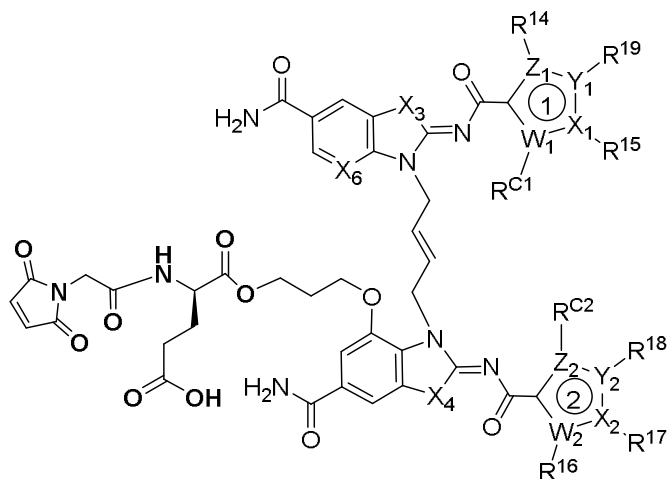
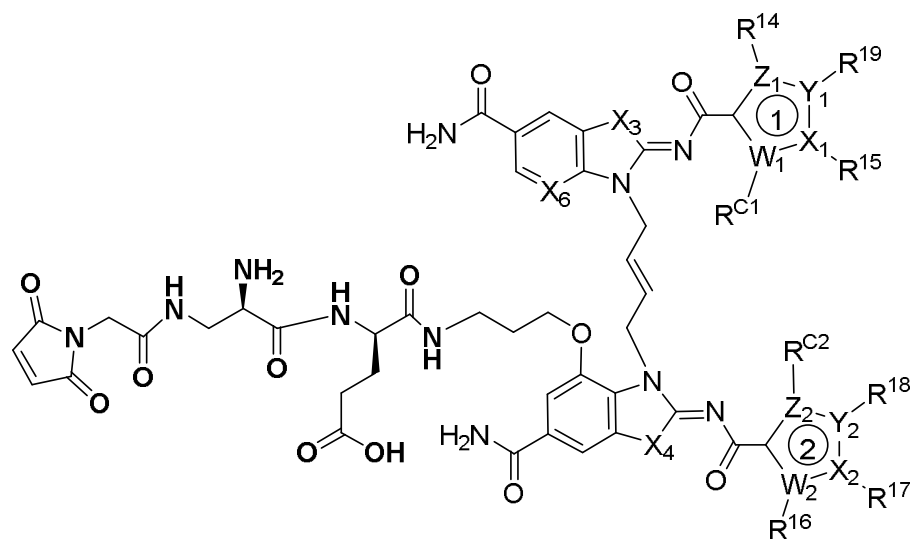
Tabela A1



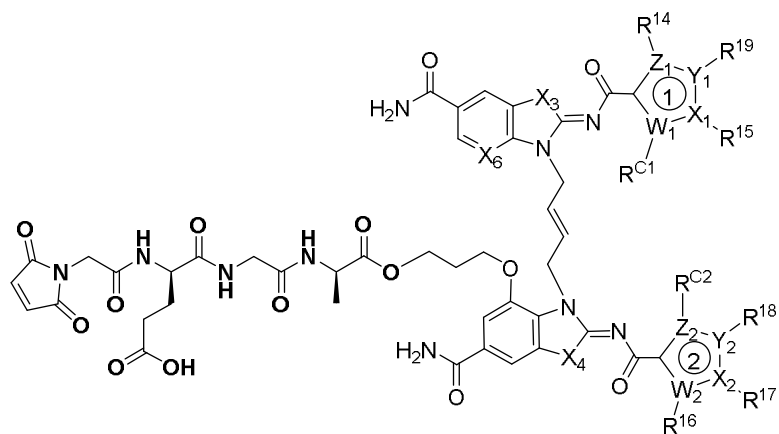
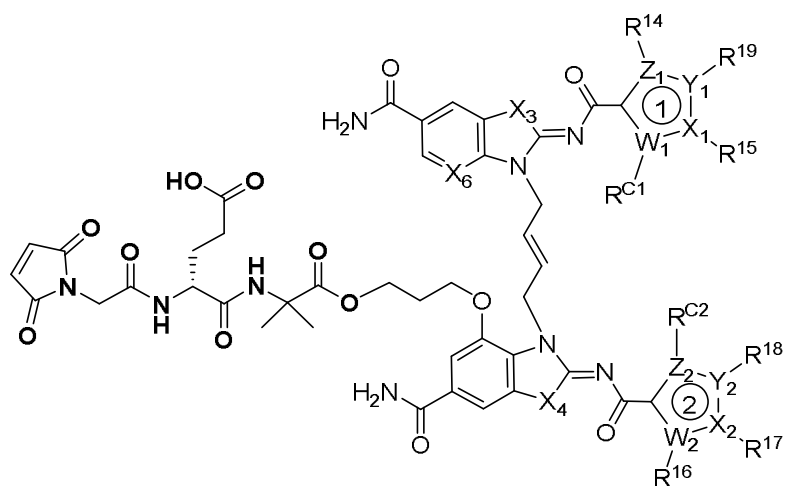
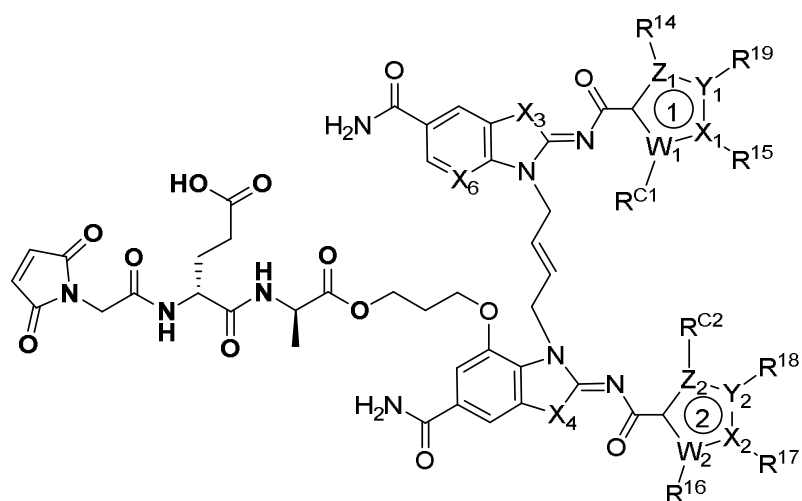
Estrutura



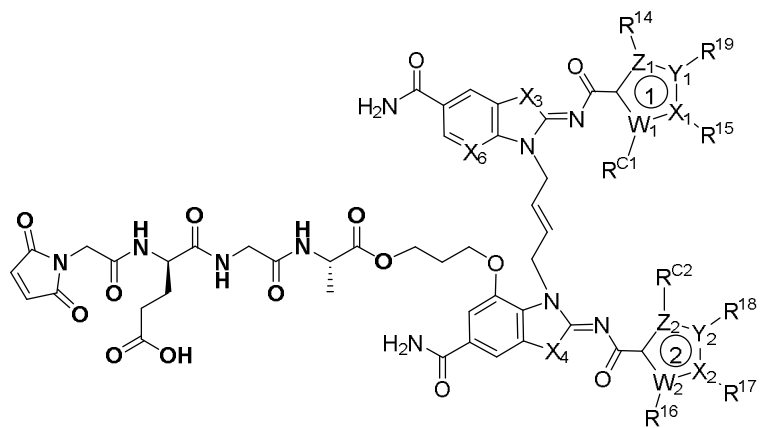
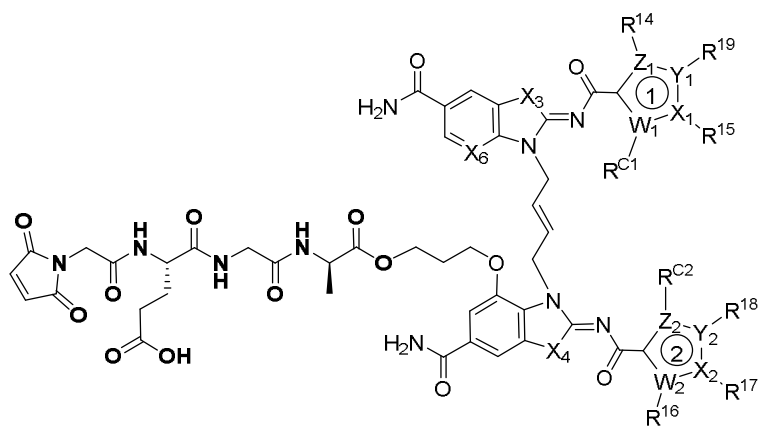
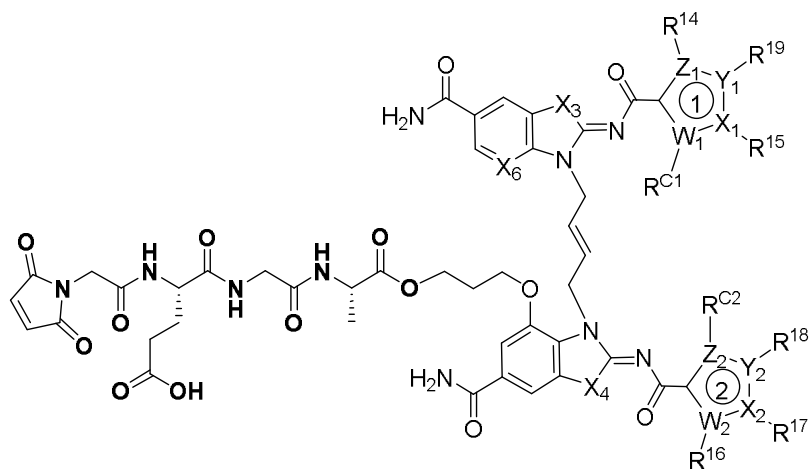
Estrutura

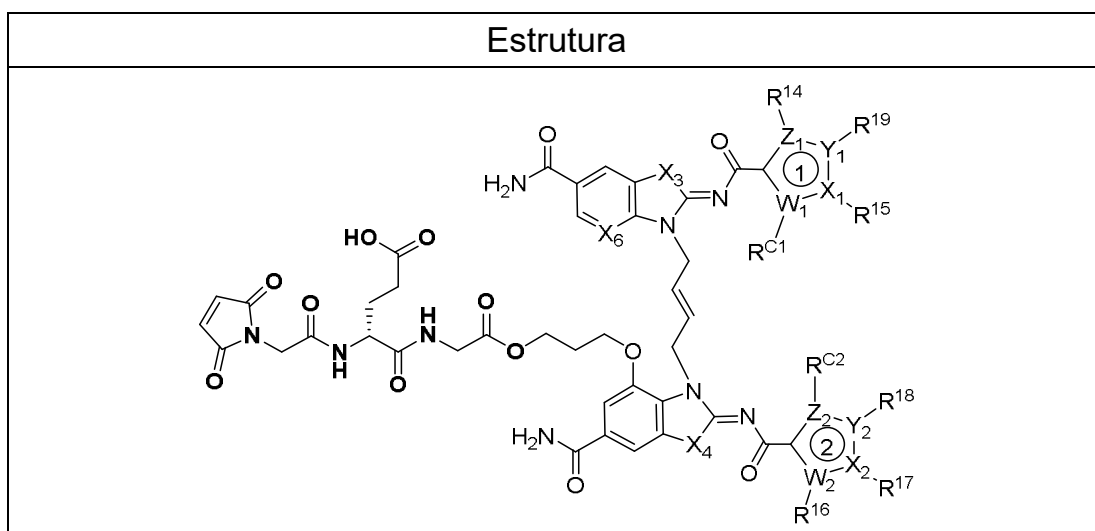


Estrutura



Estrutura

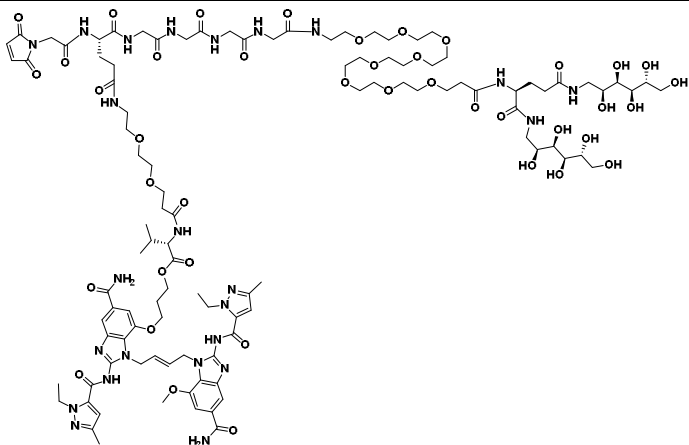
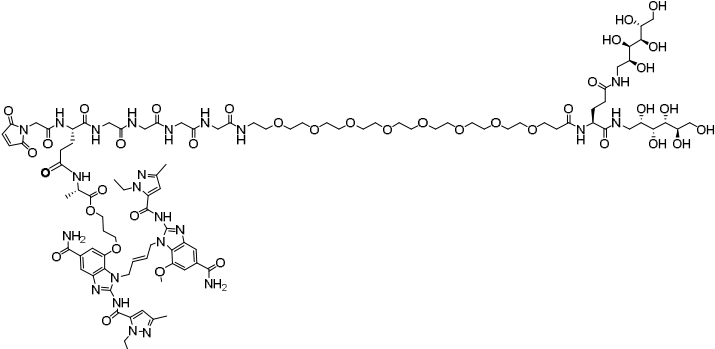
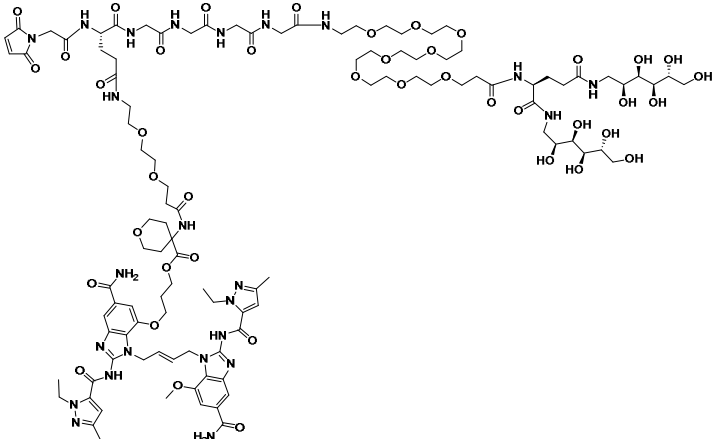


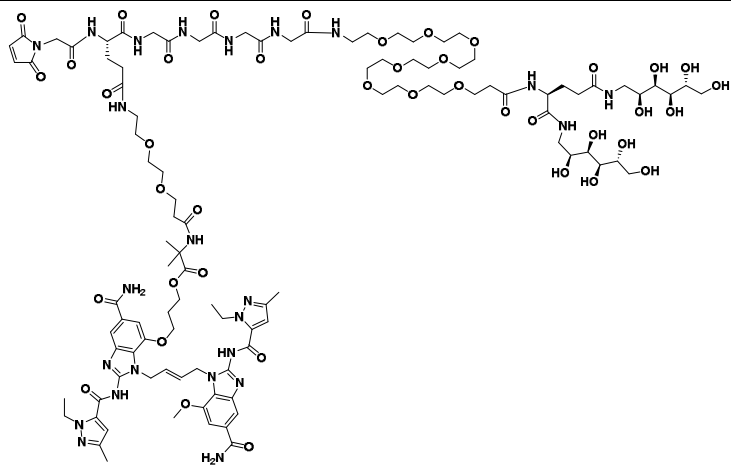
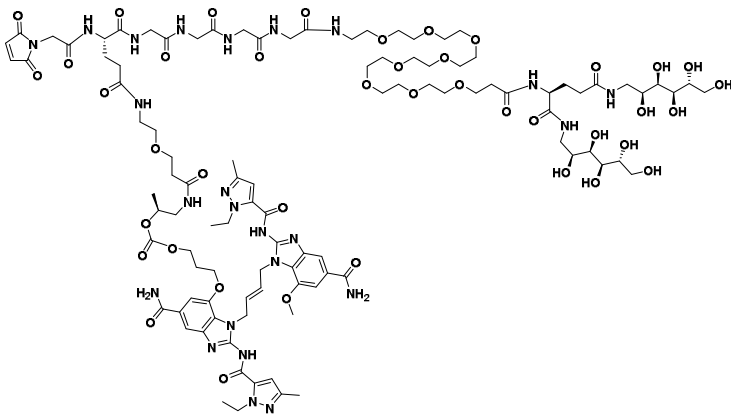
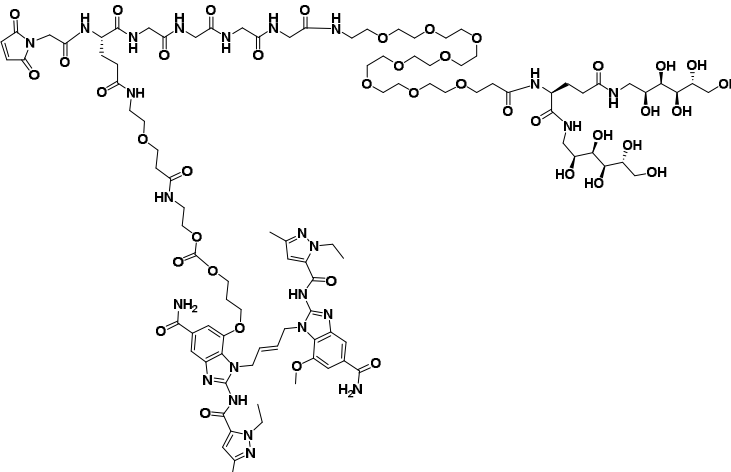


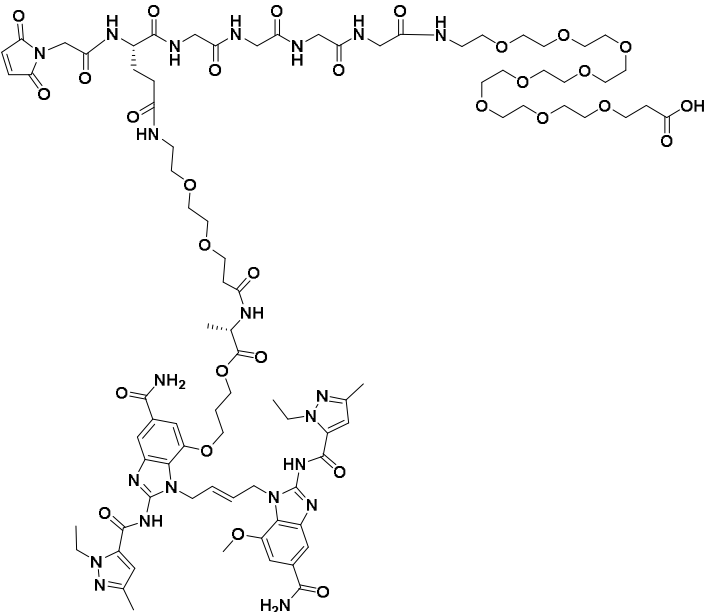
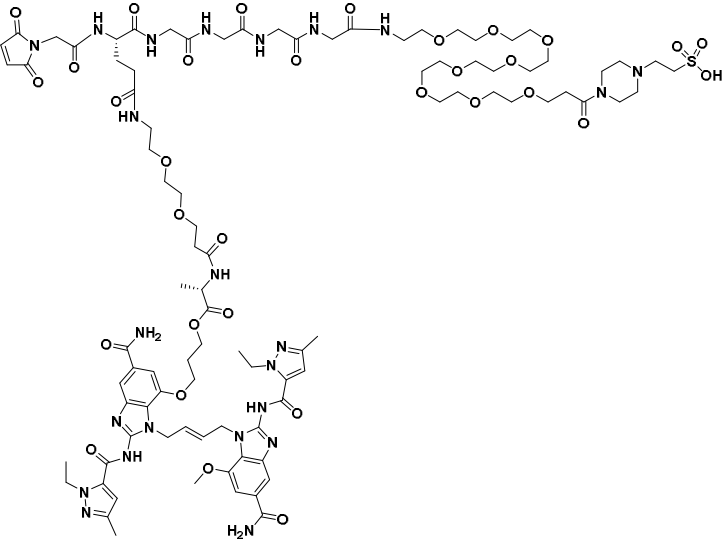
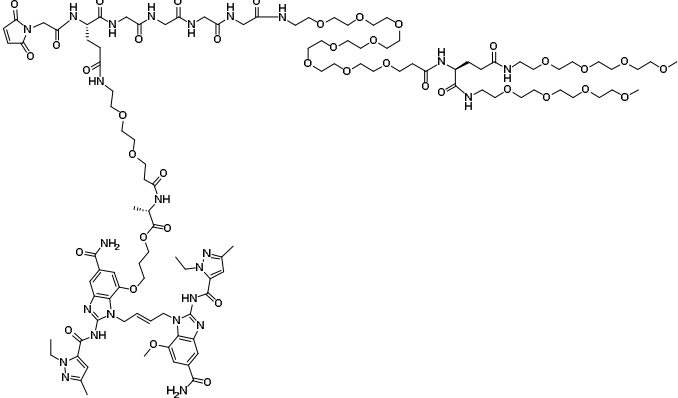
em que R^{14} , R^{15} , R^{16} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , R^{C1} , R^{C2} , X_3 , X_4 , X_6 , X_1 , W_1 , Y_1 , Z_1 , X_2 , W_2 , Y_2 , Z_2 , são como aqui definidos.

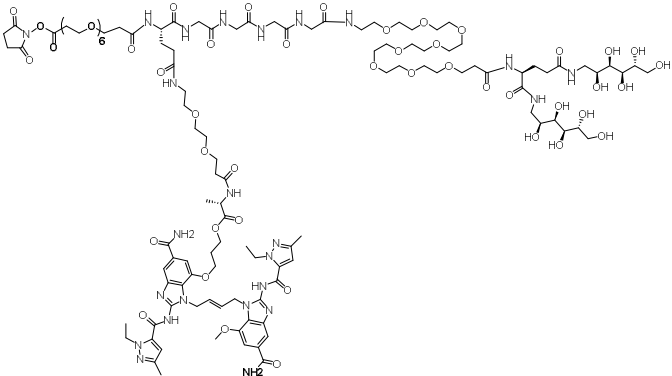
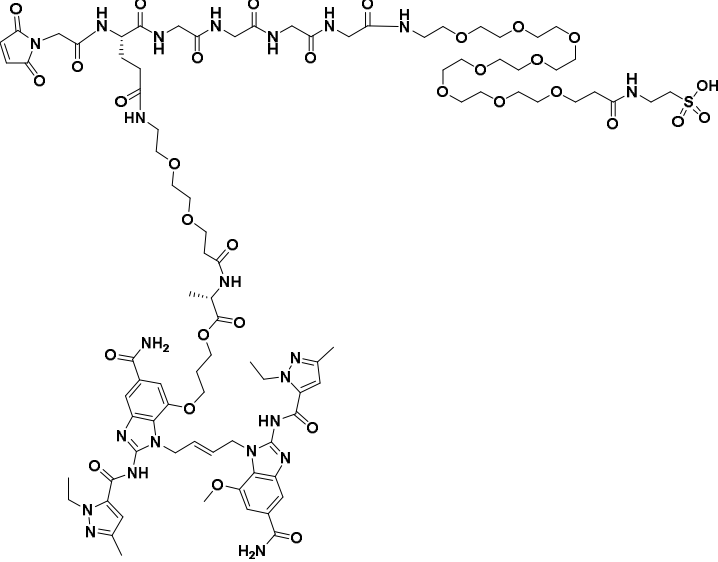
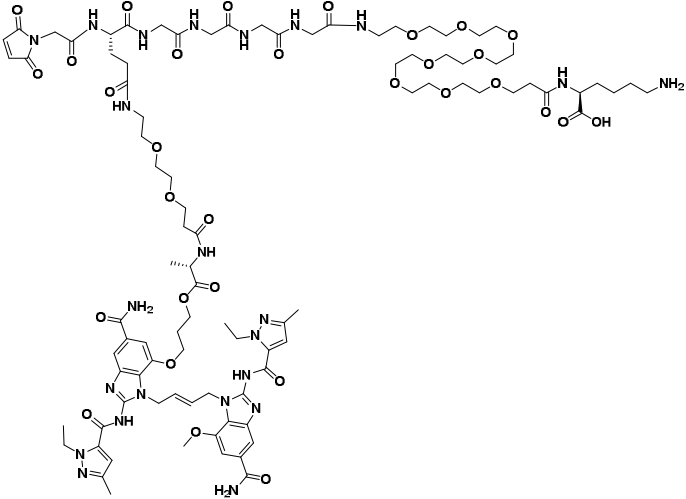
Tabela A2

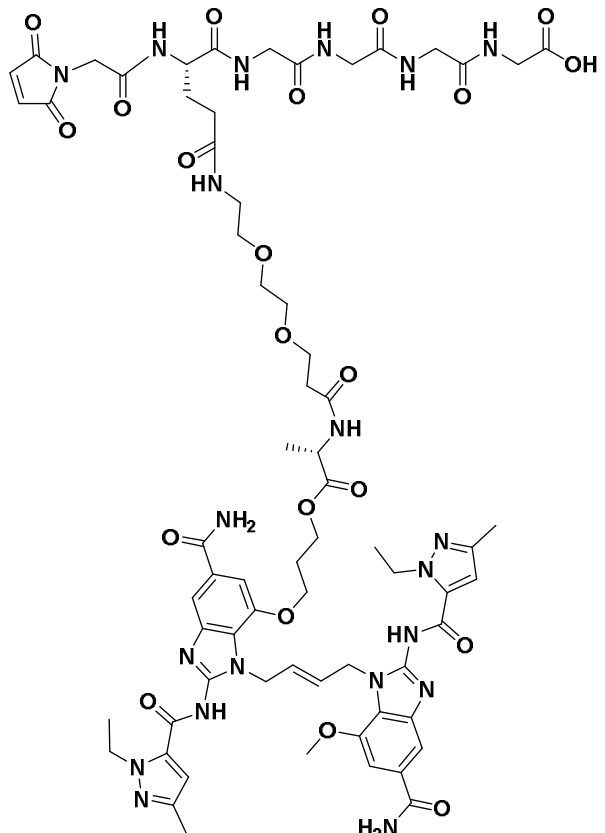
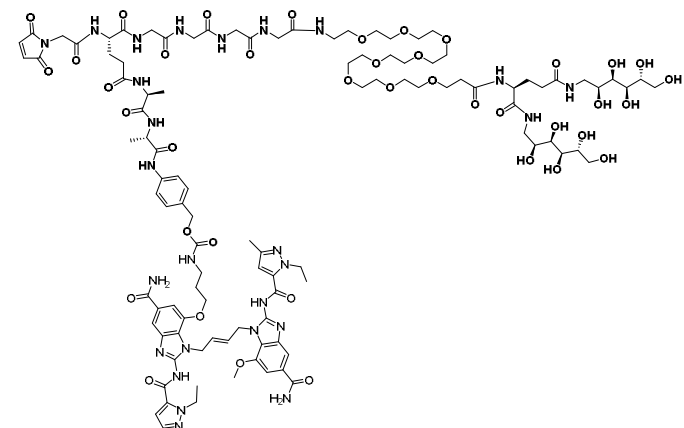
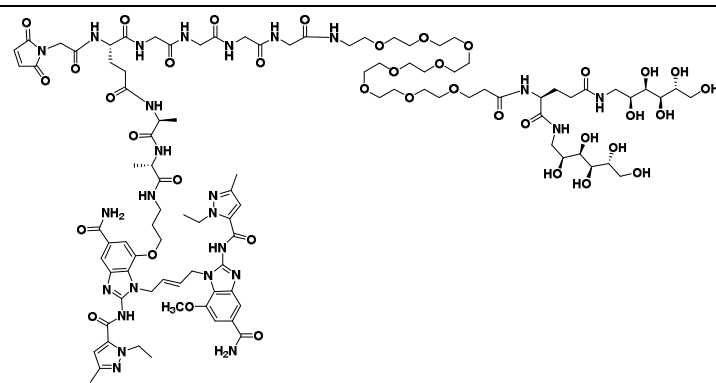
Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			1172,55 (M+H)
1	7		1192,53 (M+2H)

Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			1206,58 (M+2H)
			1113,04 (M+2H)
			1220,58 (M+2H)

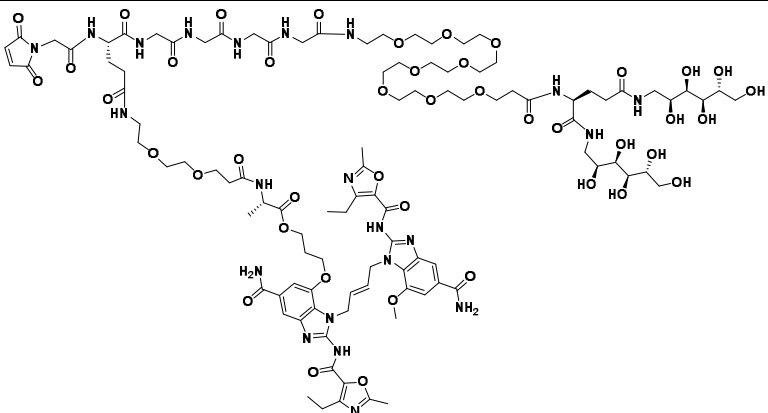
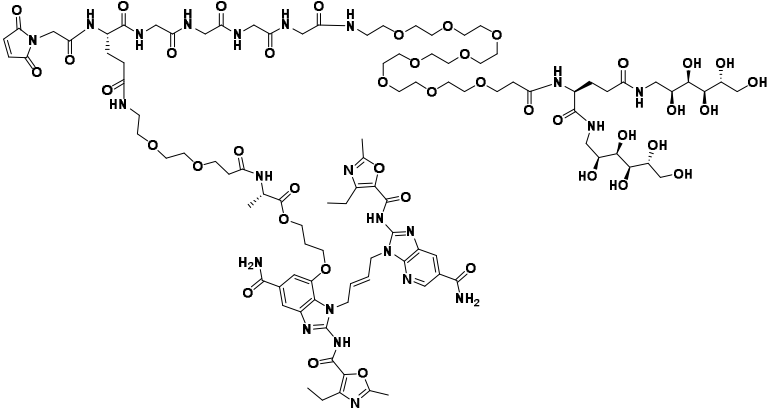
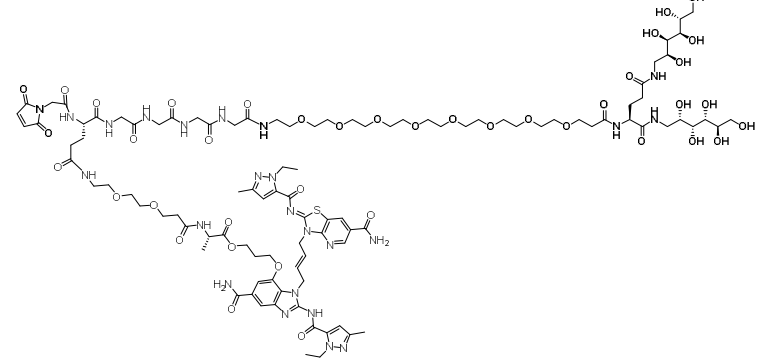
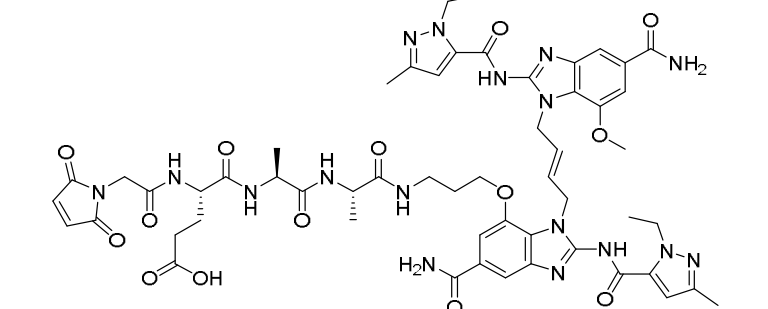
Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			1199,53 (M+2H)
			1185,56 (M+2H)
2	14		1178,54 (M+2H)

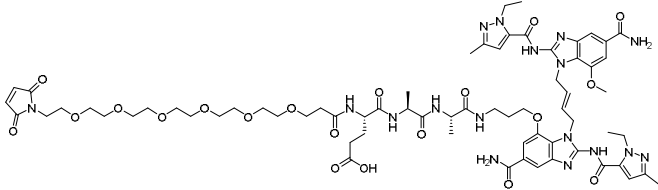
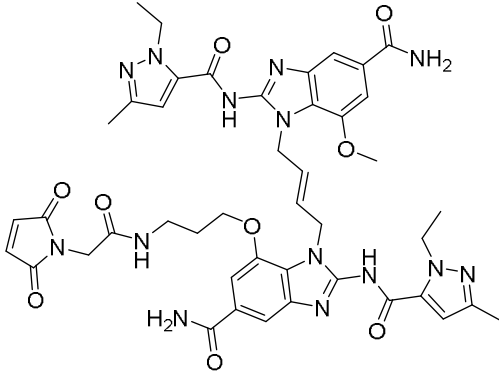
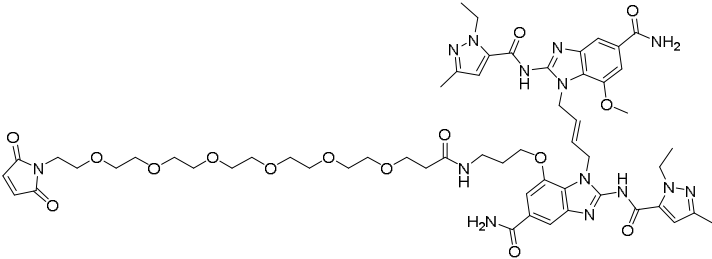
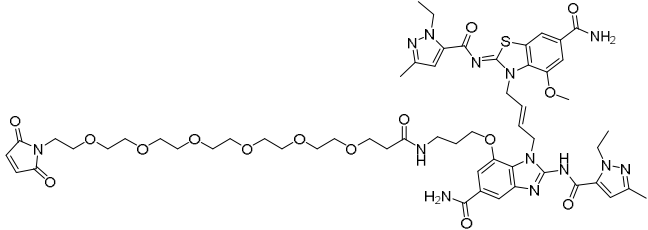
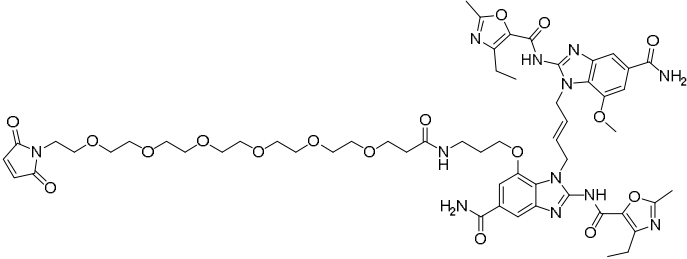
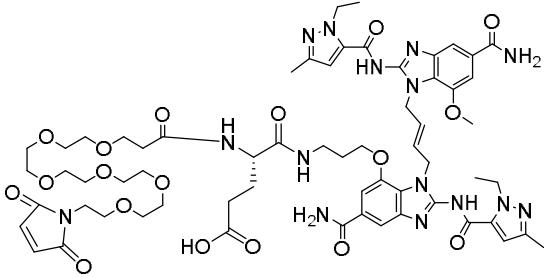
Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			1929,85 (M+H)
			1052,97 (M+2H)
			1218,60 (M+2)

Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			1354,62 (M+2H)
			1018,39 (M+2H)
			1028,97 (M+2H)

Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			1505,56 (M+H)
			1222,92 (M+2H)
3	18		1148,43 (M+2H)

Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			1205,07 (M+2H)
			1148,33 (M+2H)
			1183,63 (M+2H)
4	23		1121,06 (M+2H)

Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
5	37		1193,48 (M+2H)
7	31		1179,21 (M+2H)
			1186,93 (M+2H)
			1188,46 (M+H)

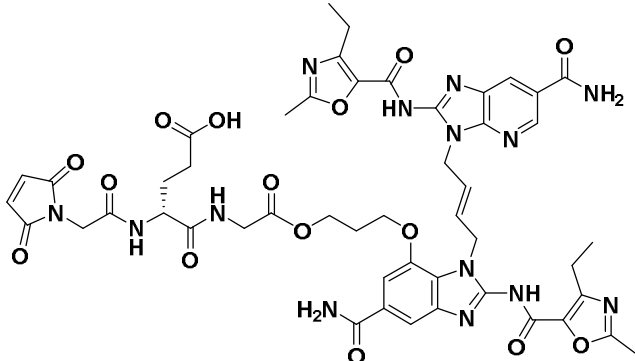
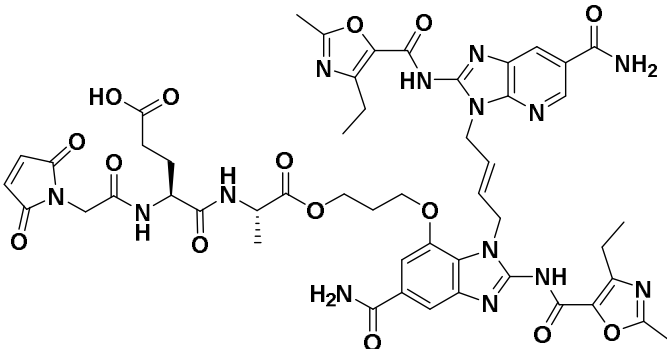
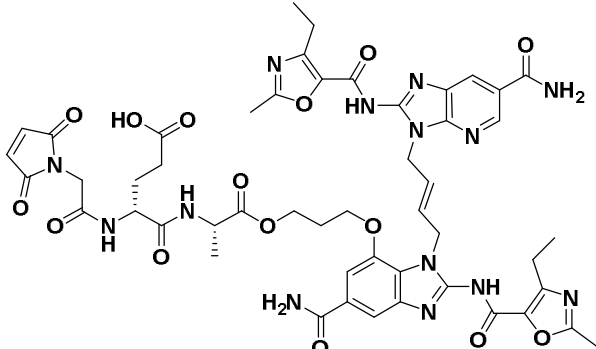
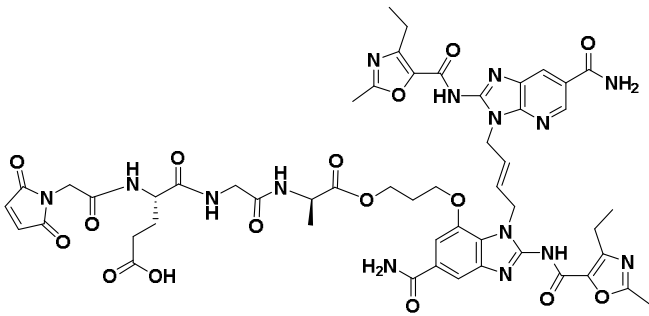
Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			1466,64 (M+H)
			917,41 (M+H)
8	33		1195,47 (M+H)
			1212,60 (M+H)
			1197,50 (M+H)
			1324,40 (M+H)

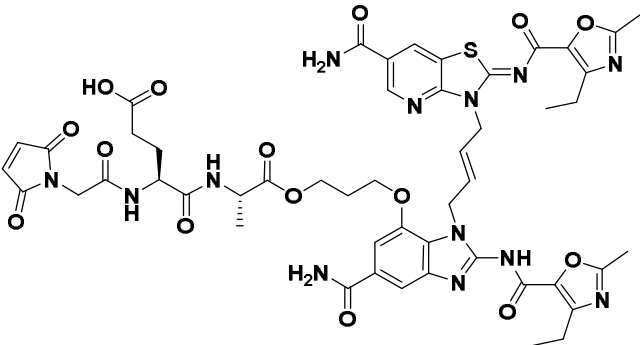
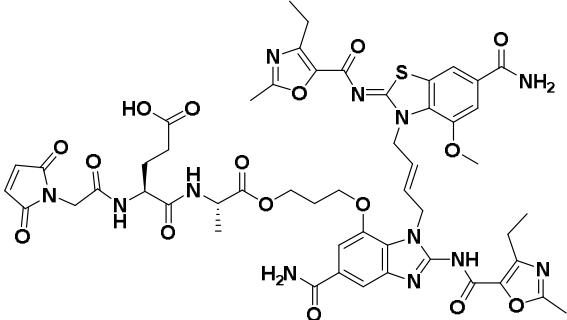
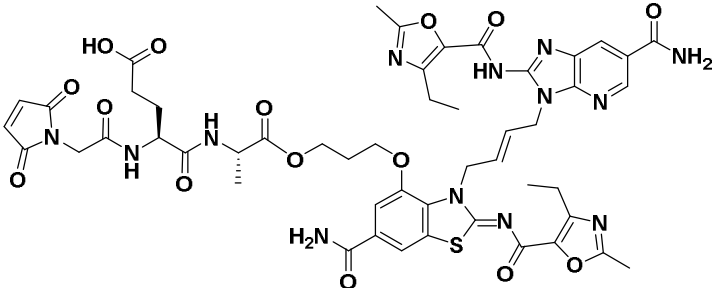
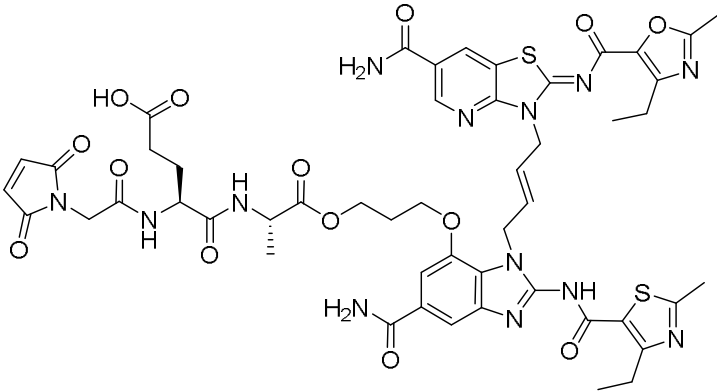
Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			1243,24 (M+H)
			1005,22 (M+H)
9	44		1134,24 (M+H)
			1295,26 (M+H)

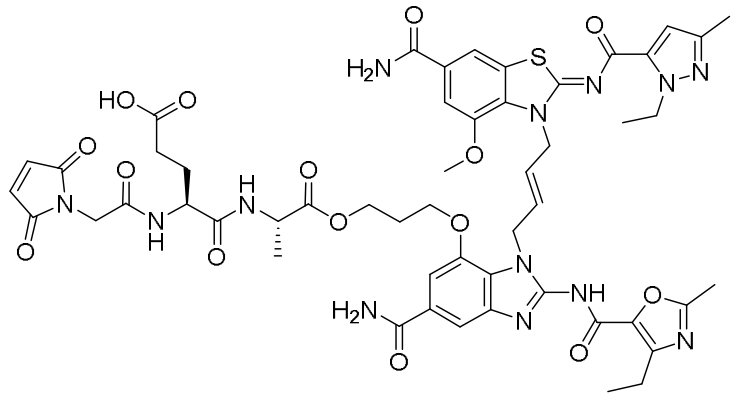
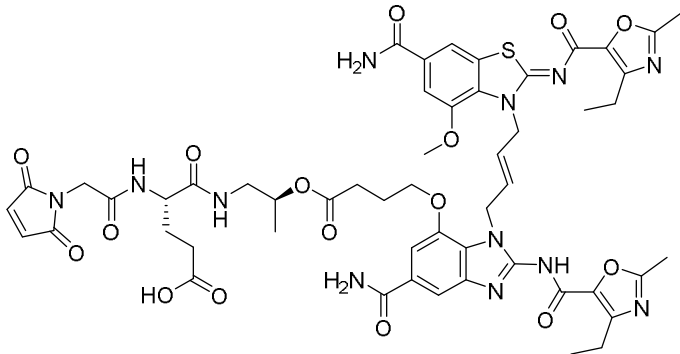
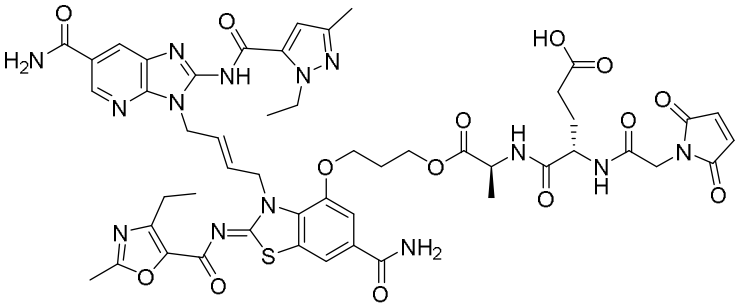
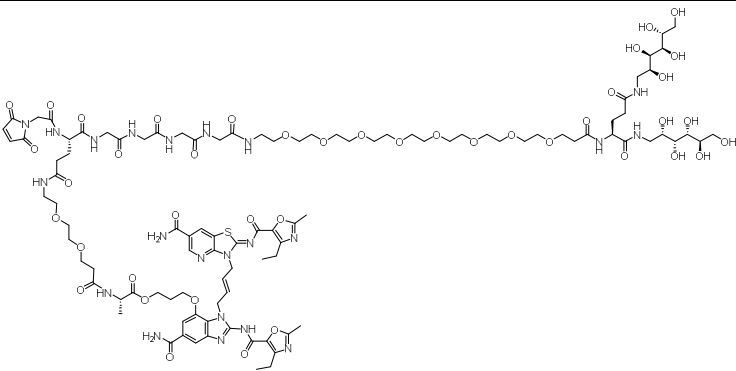
Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
10	49		1049,15 (M+H)
11	51		1049,38 (M+H)
12	57		1120,41 (M+H)
13	59		1120,38 (M+H)

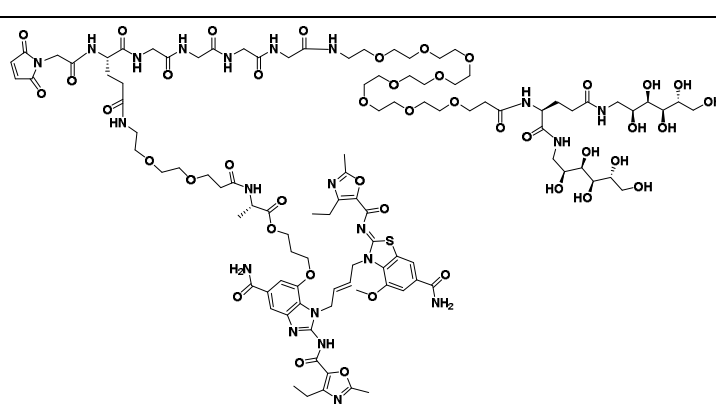
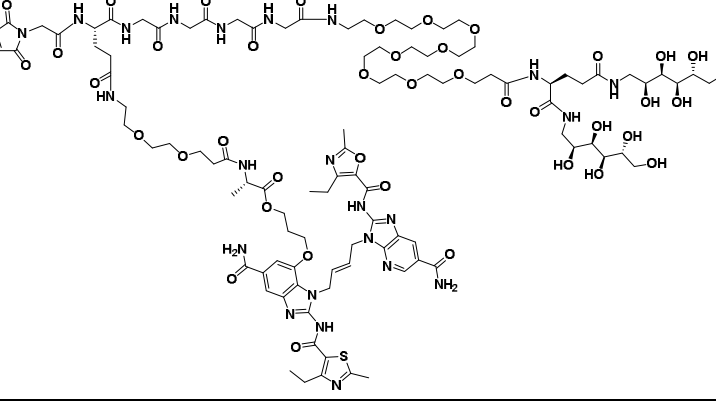
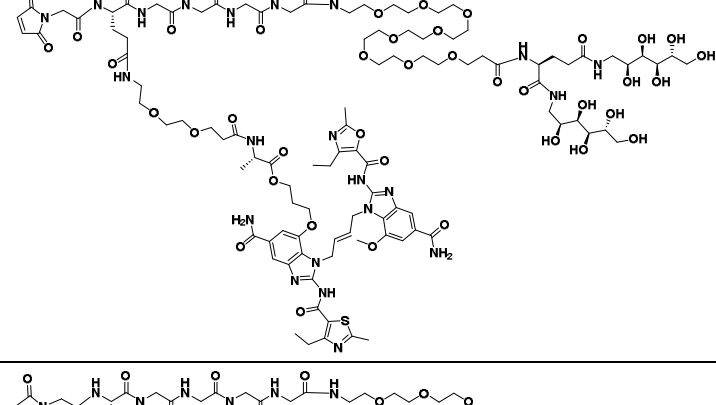
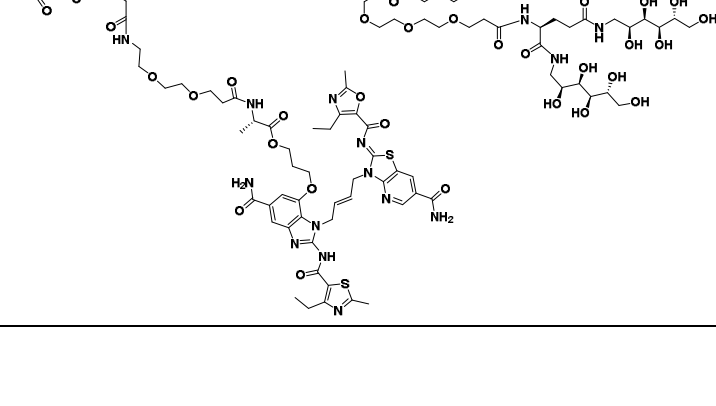
Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
14	61		1120,37 (M+H)
15	63		1120,11 (M+H)
16	65		1134,19 (M+H)
17	73		1177,40 (M+H)

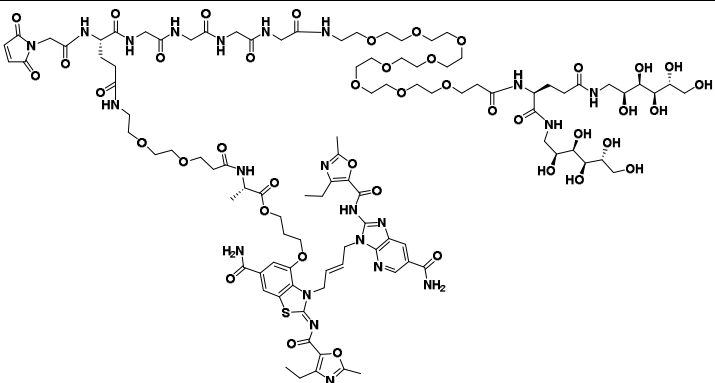
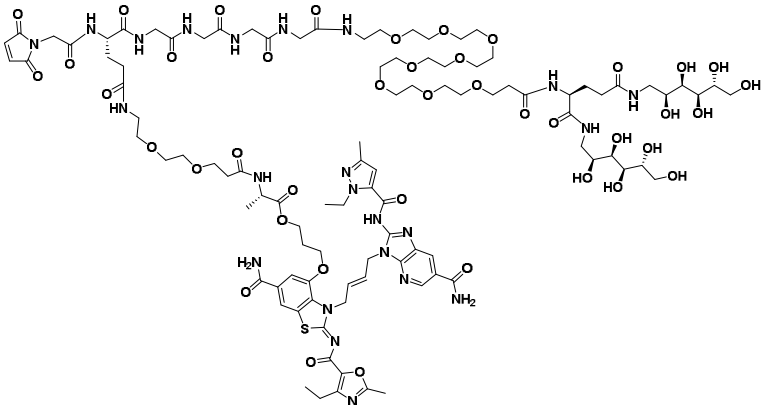
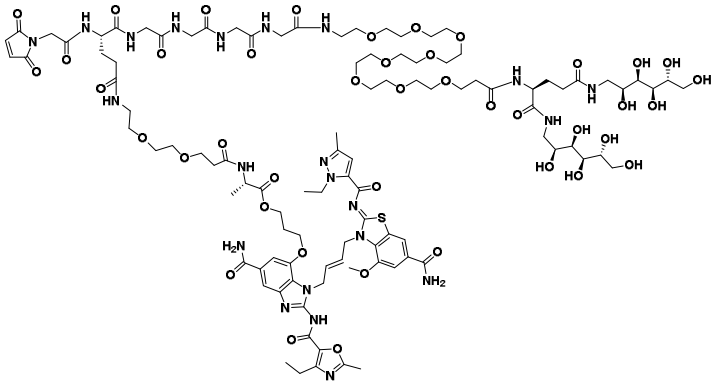
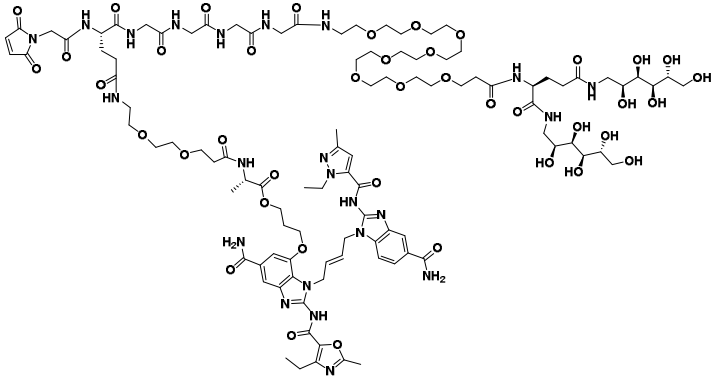
Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
18	75		1177,41 (M+H)
19	77		1177,40 (M+H)
20	79		1177,44 (M+H)
21	81		1106,17 (M+H)

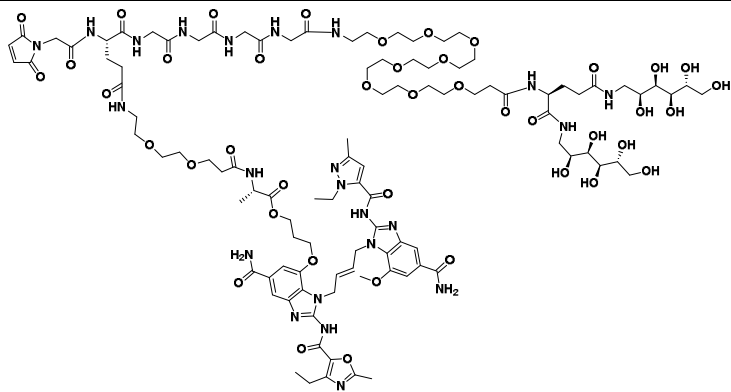
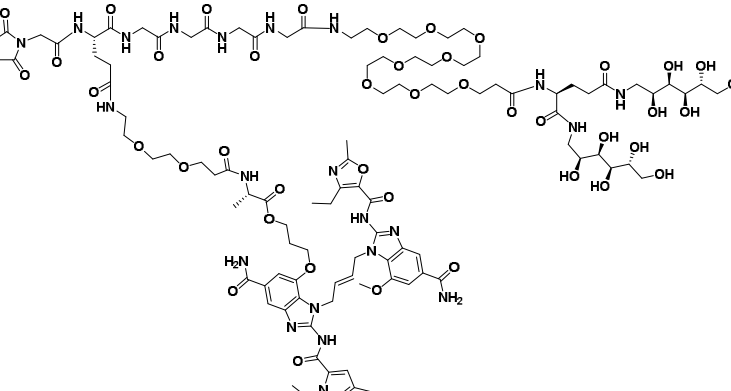
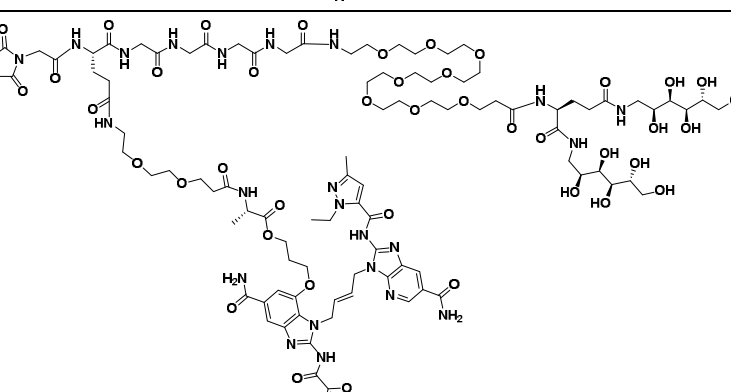
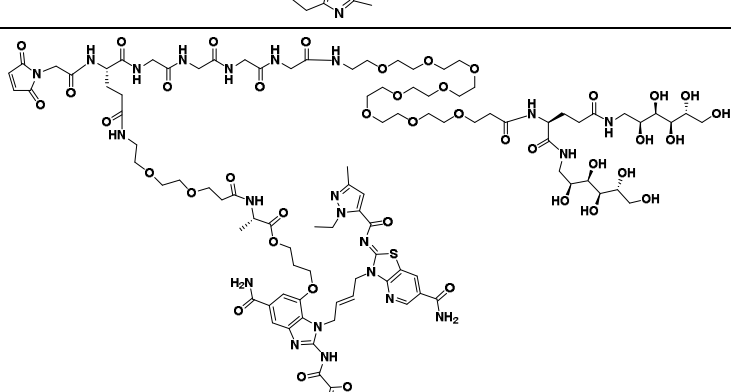
Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			1077,15 (M+H)
			1091,18 (M+H)
			1091,17 (M+H)
			1148,17 (M+H)

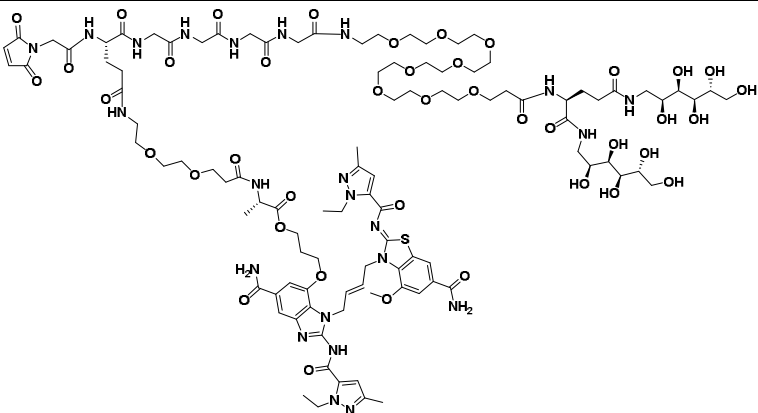
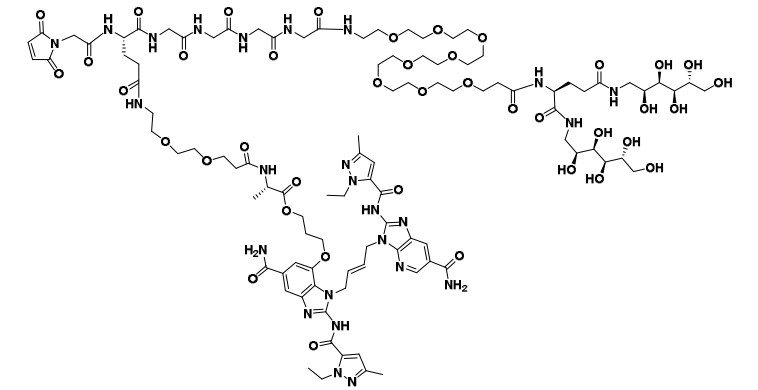
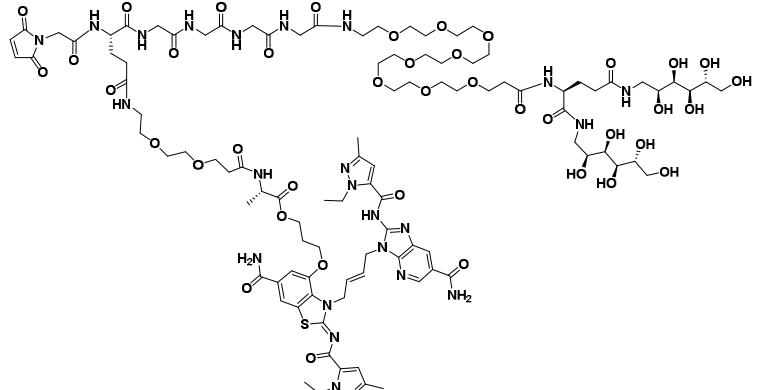
Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			1108,12 (M+H)
			1137,15 (M+H)
			1108,14 (M+H)
			

Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			
			
			
			

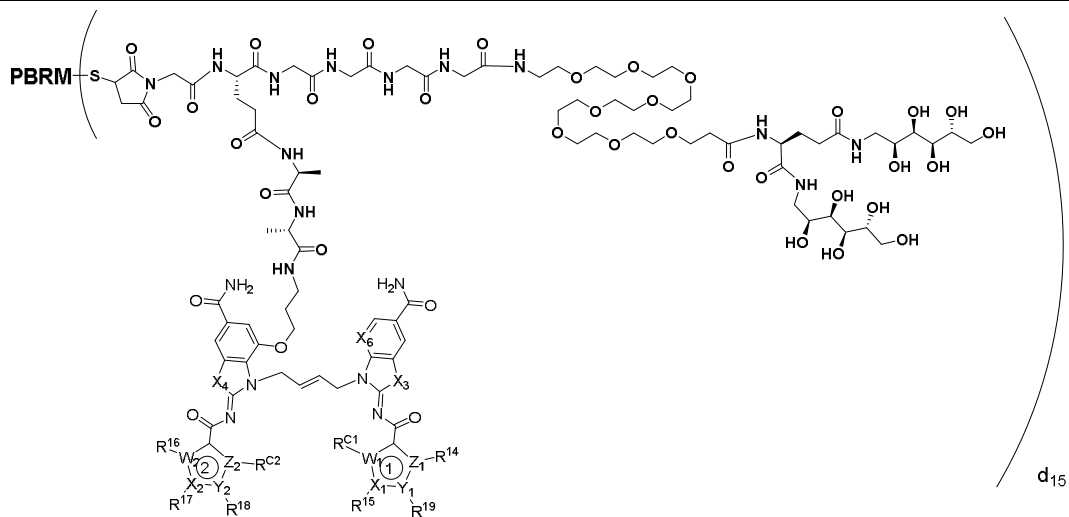
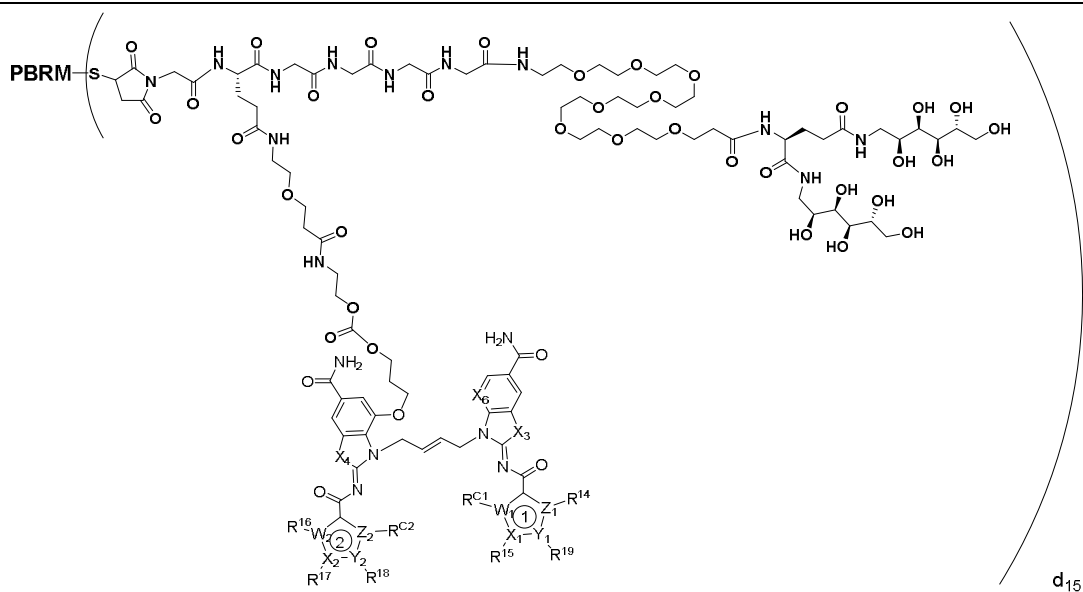
Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			
			
			
			

Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			
			
			
			

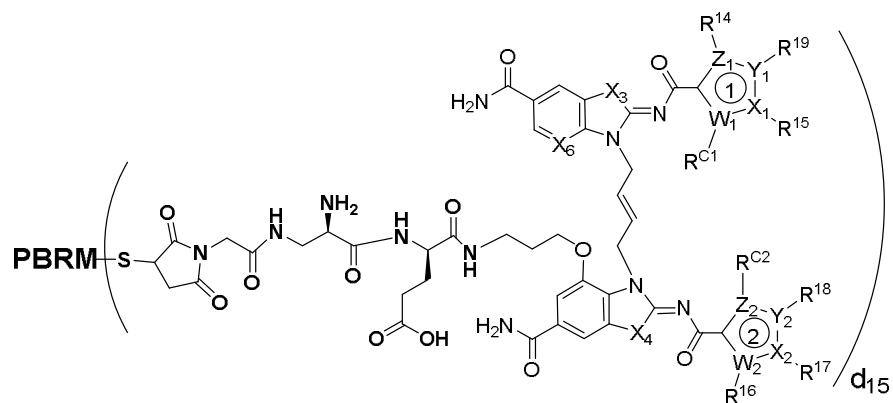
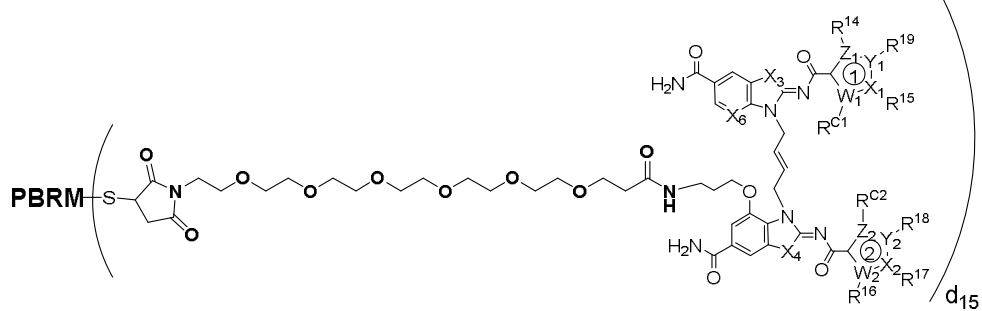
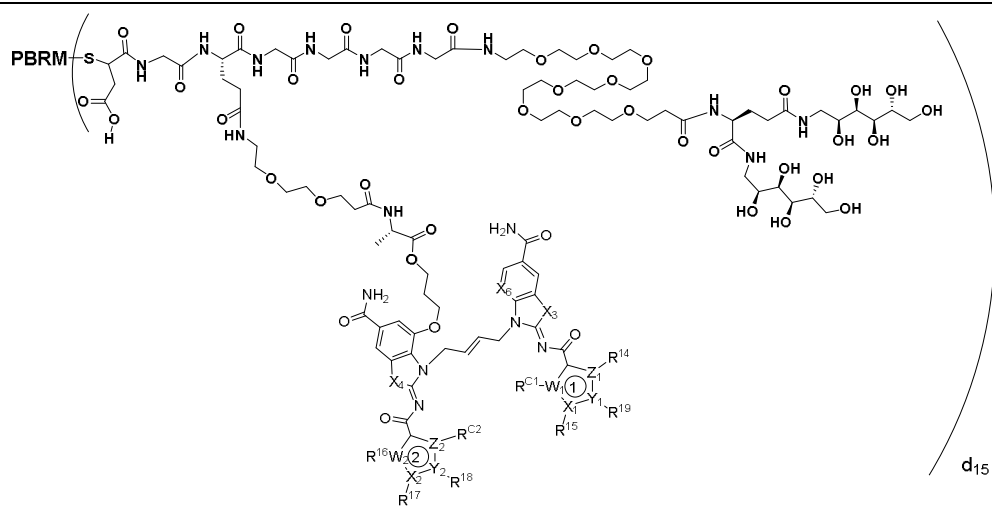
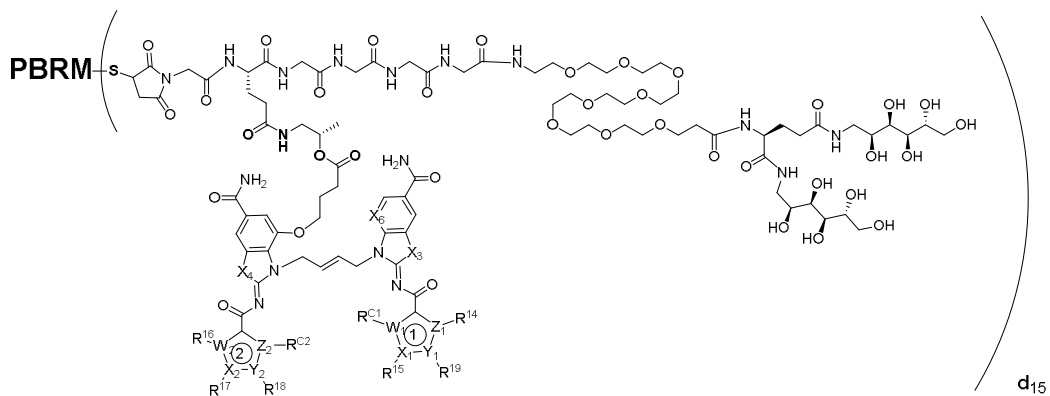
Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			
			
			
			

Ex No.	Comp No.	Estrutura	LCMS
			
			
			

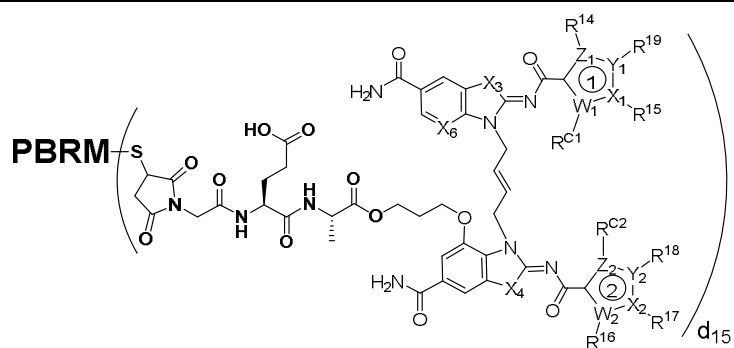
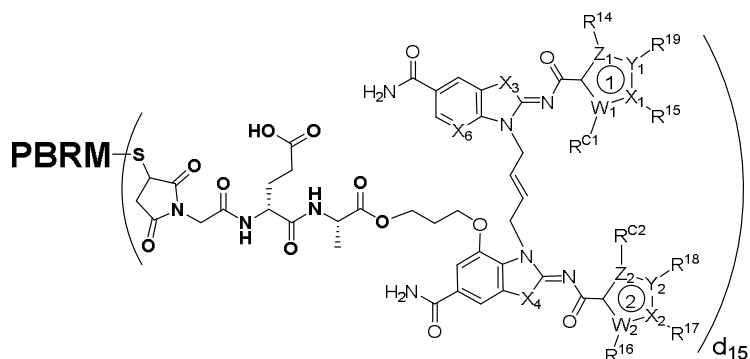
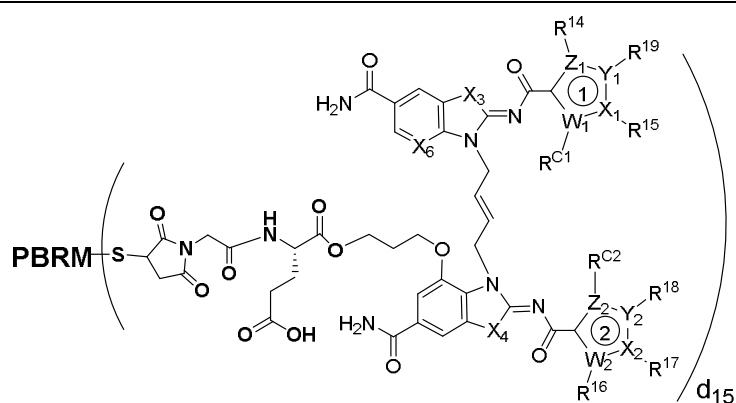
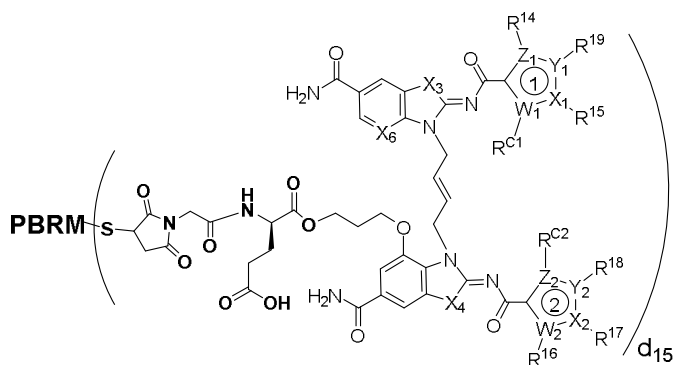
The chemical structure represents a dendritic polymer with a PBRM-terminated arm. The structure is enclosed in large parentheses, with a subscript d_{15} at the bottom right. The main chain consists of a series of amide linkages. A terminal PBRM group is attached to the chain. The structure also features a central core with two arms, each ending in a PBRM group. The core consists of a central carbon atom bonded to two nitrogen atoms, which are further substituted with various functional groups including amides, alcohols, and a terminal PBRM group. The structure is labeled with 'PBRM' and 'd15'.



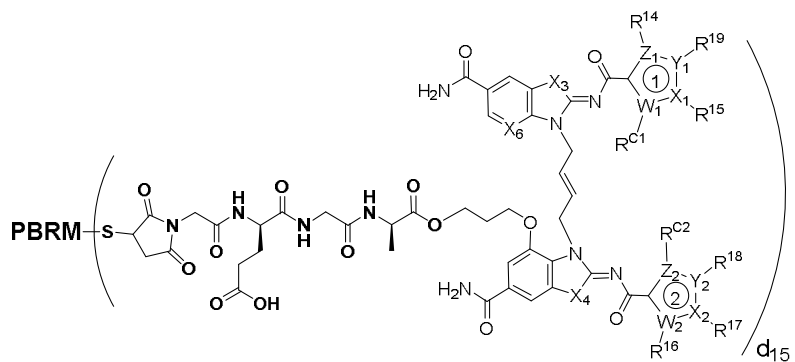
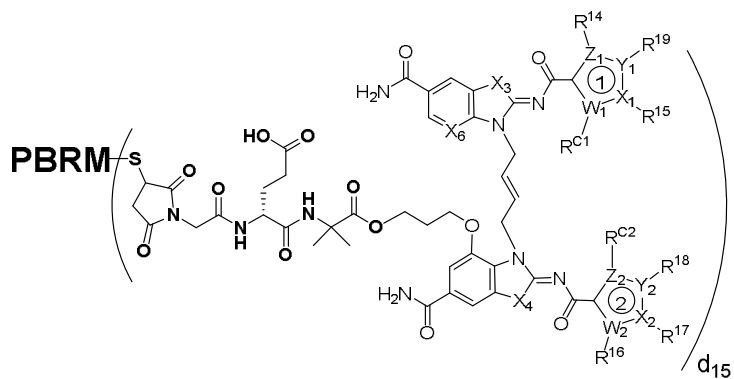
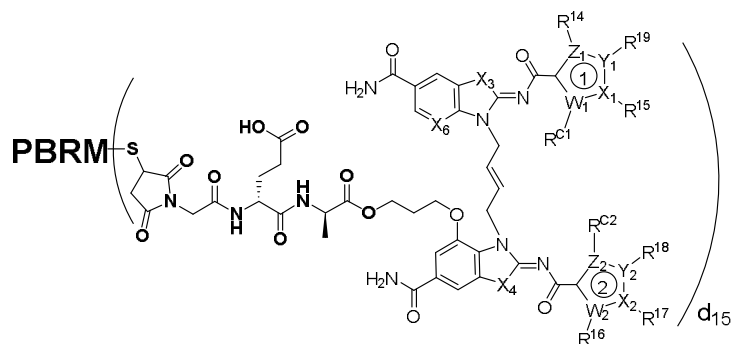
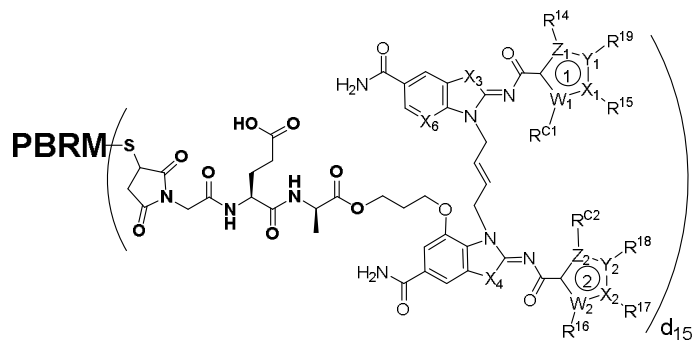
Estrutura



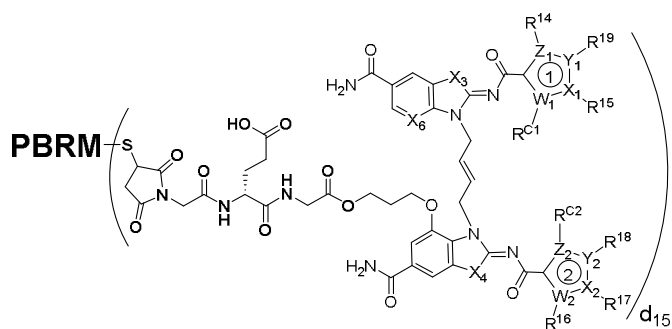
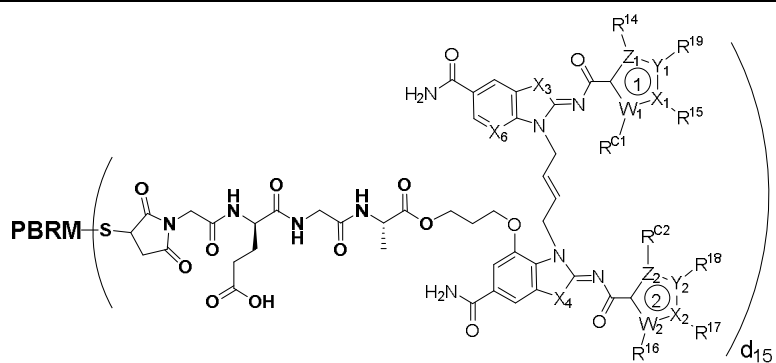
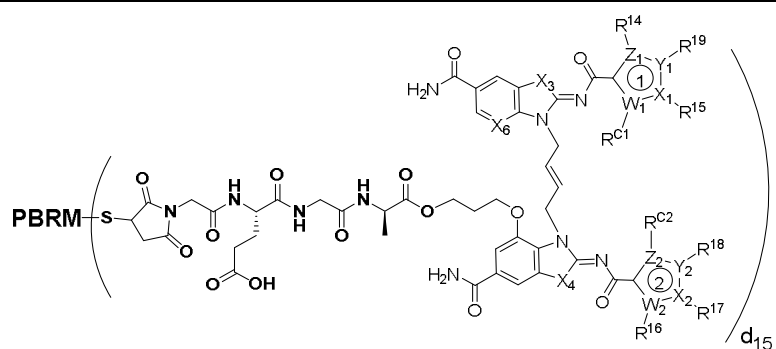
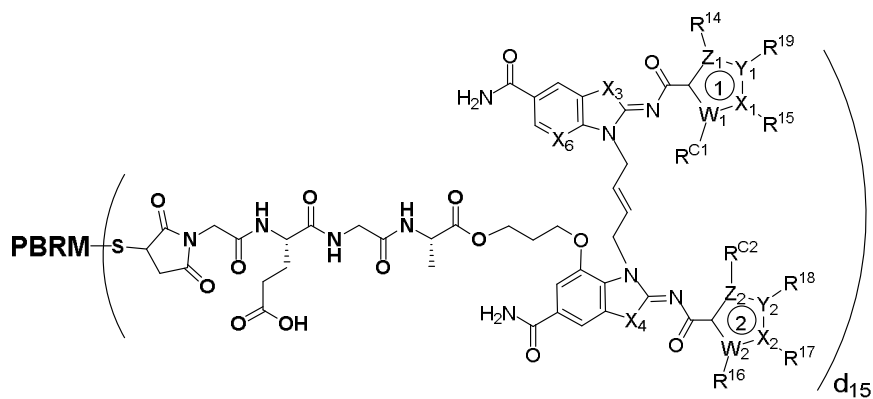
Estrutura



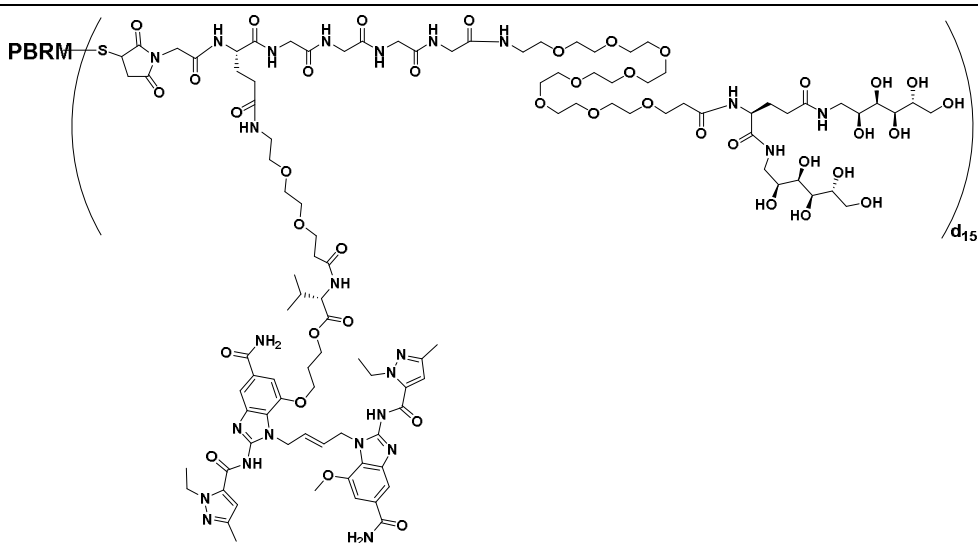
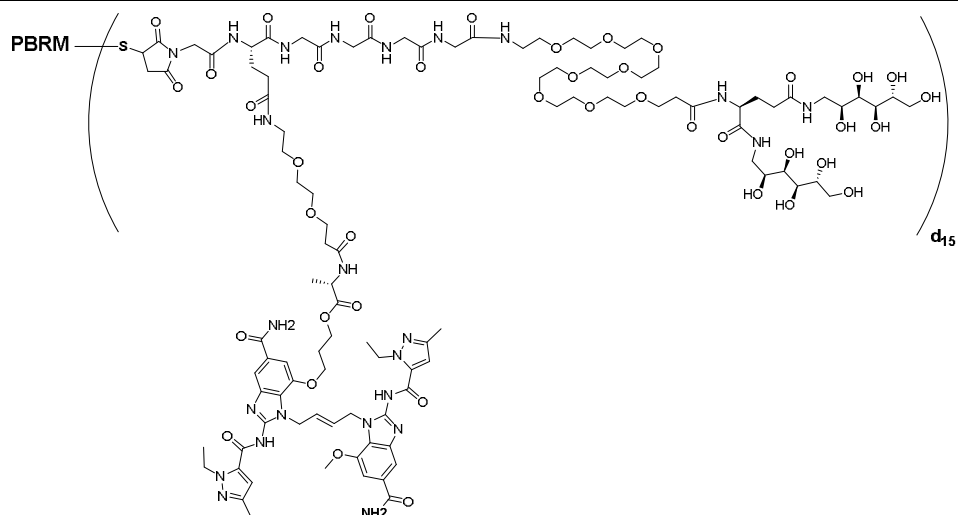
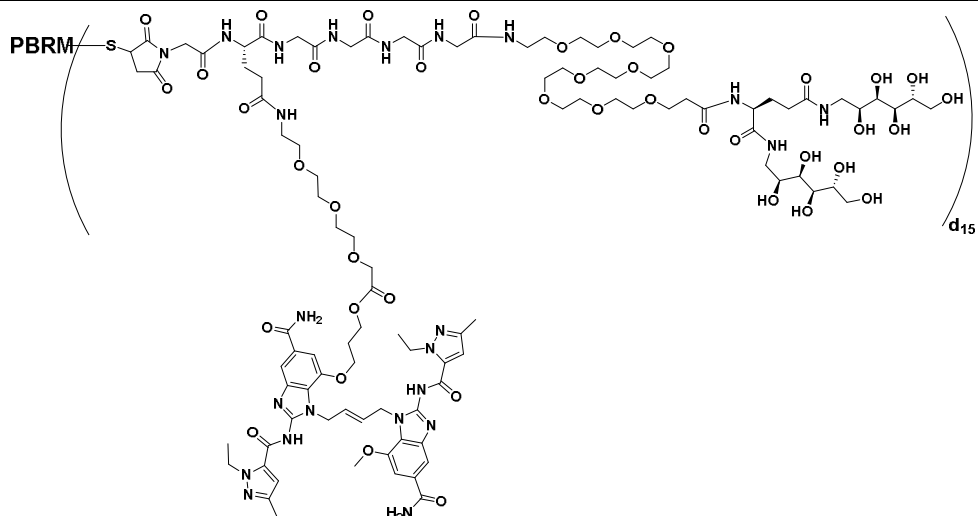
Estrutura



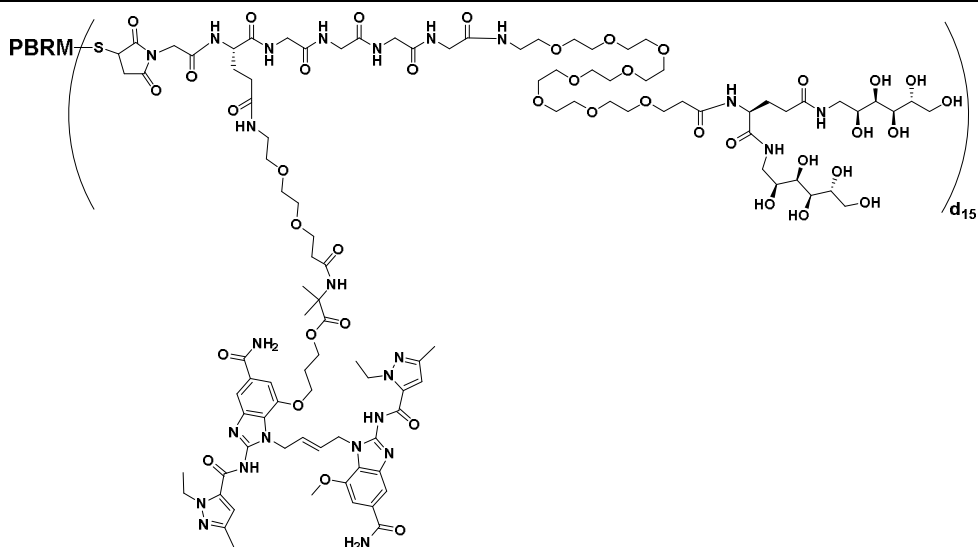
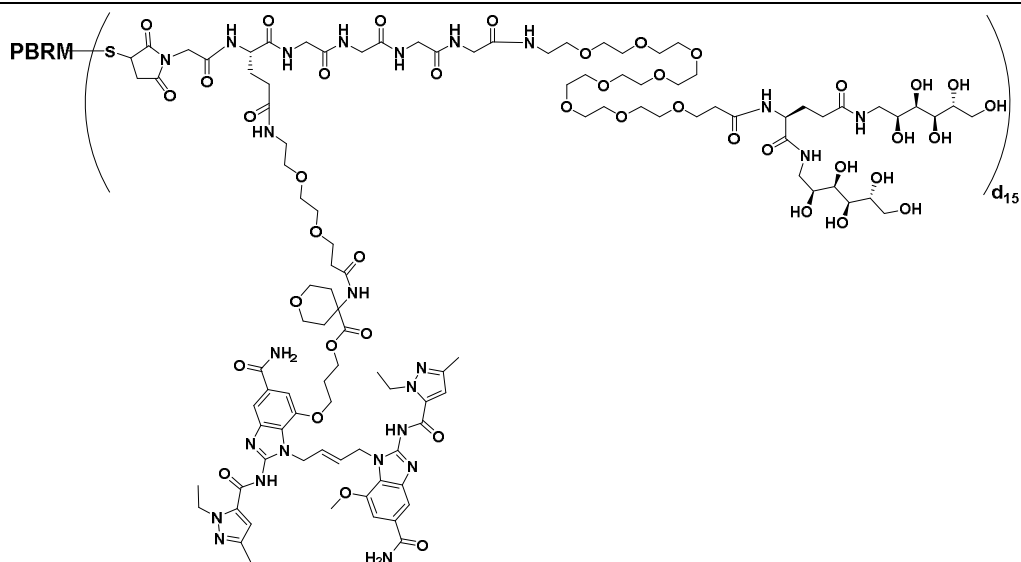
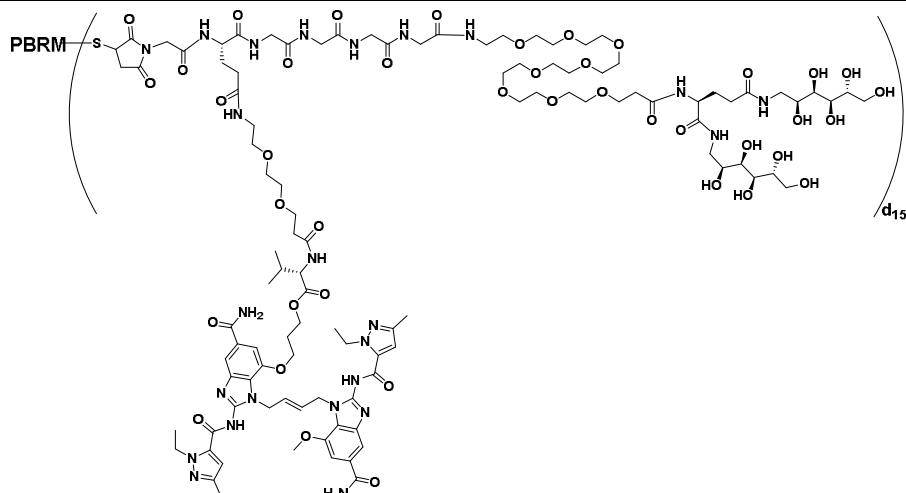
Estrutura



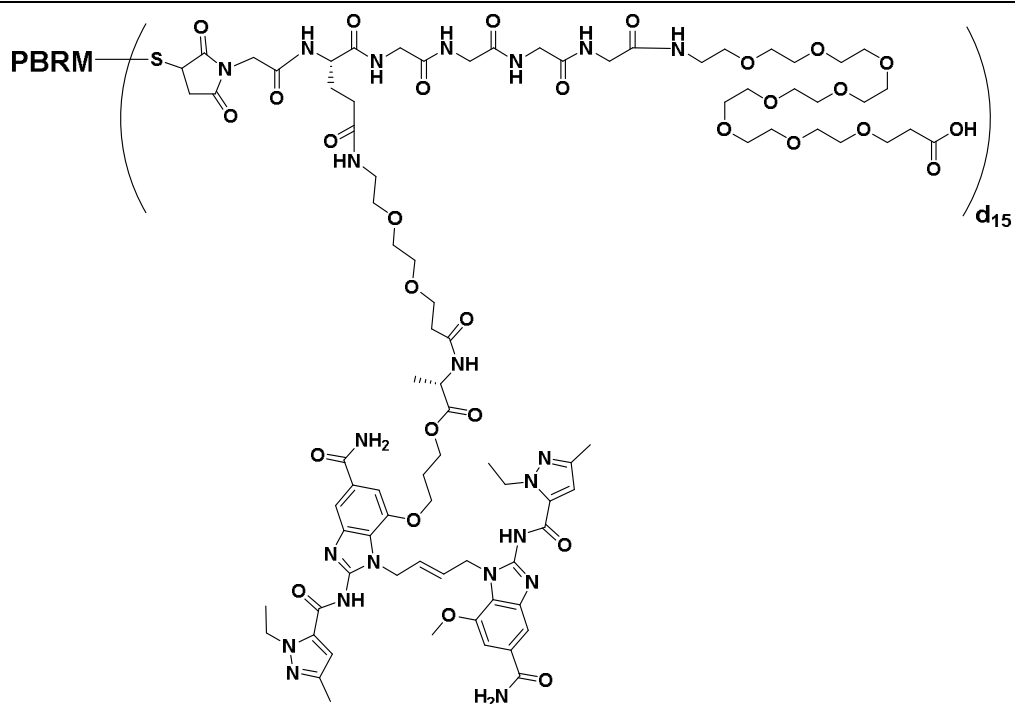
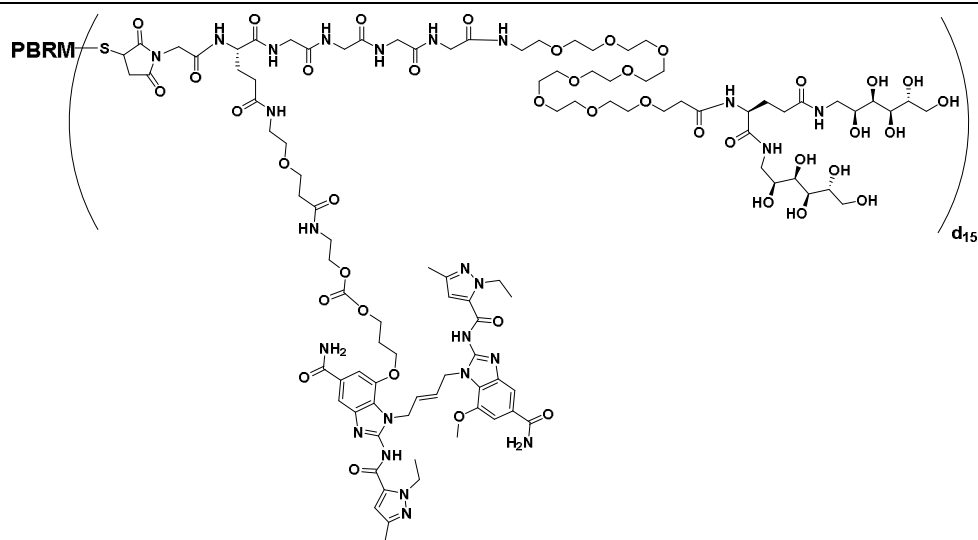
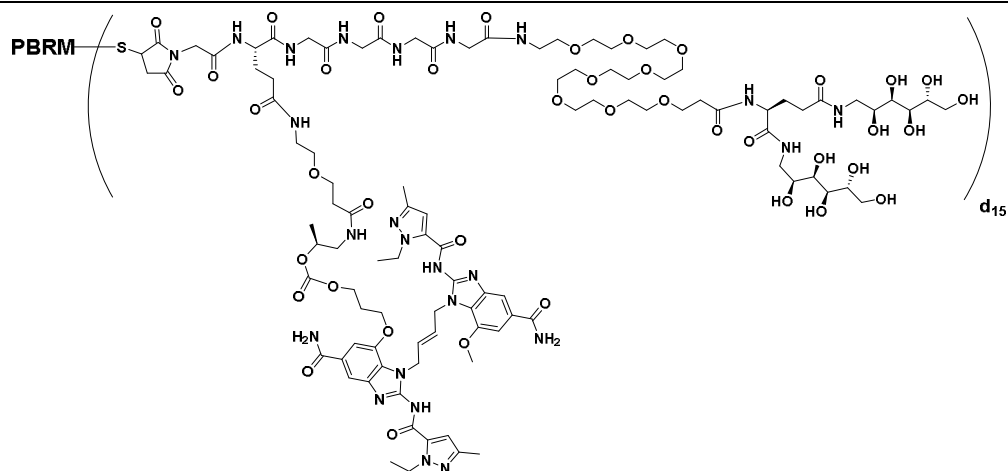
Estrutura



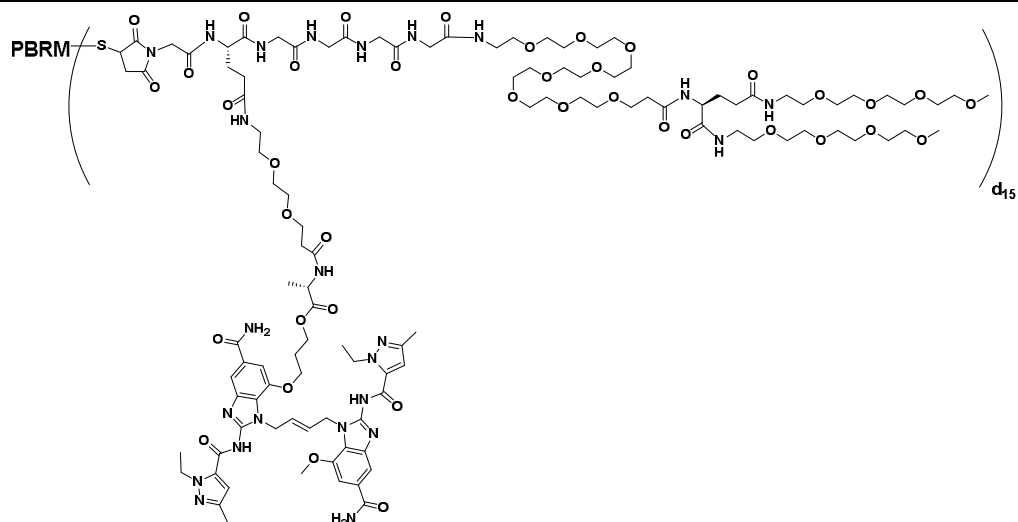
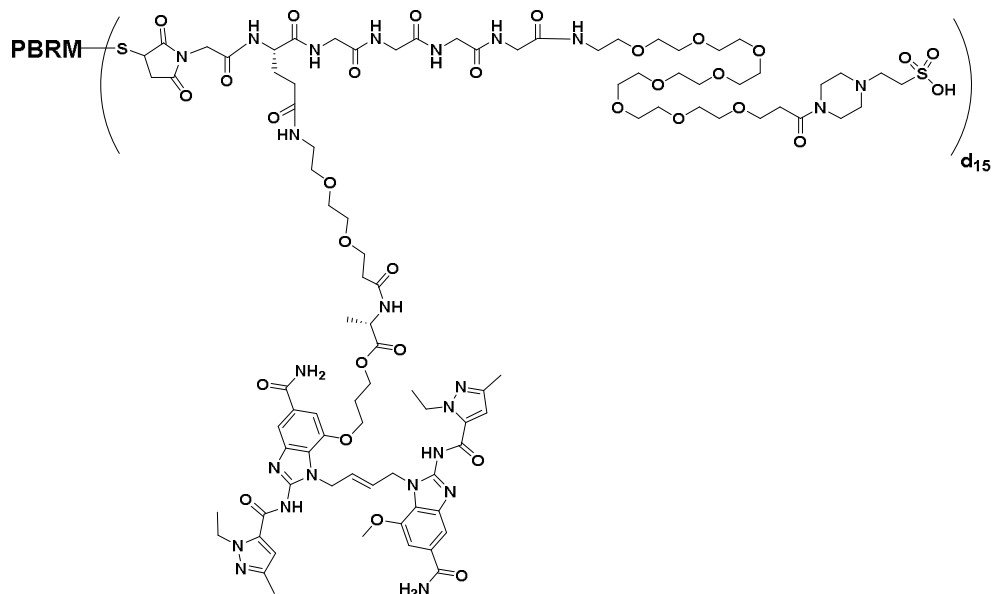
Estrutura

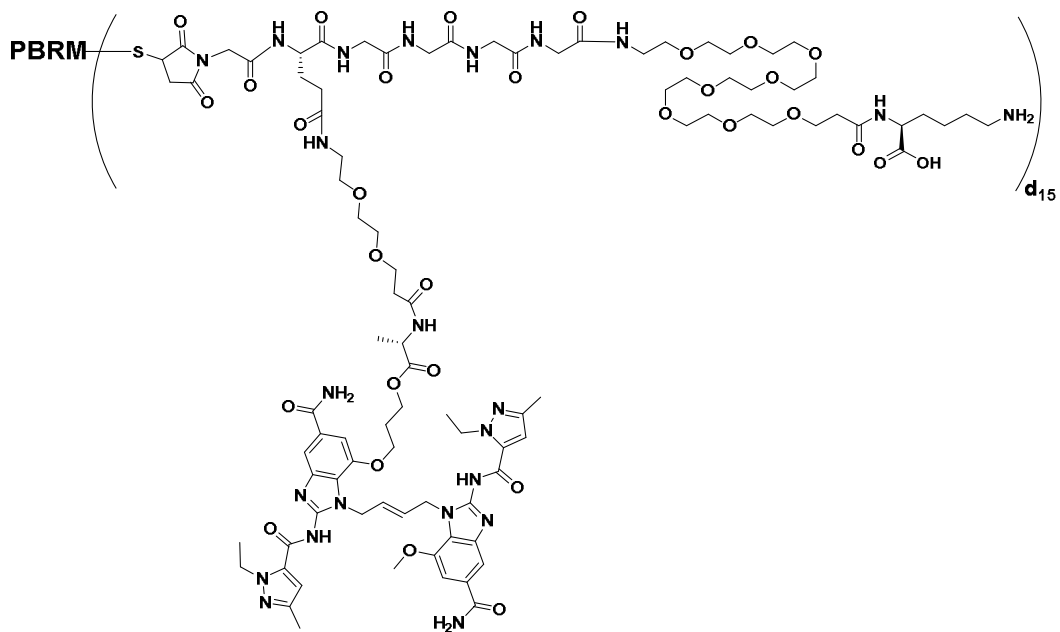


Estrutura

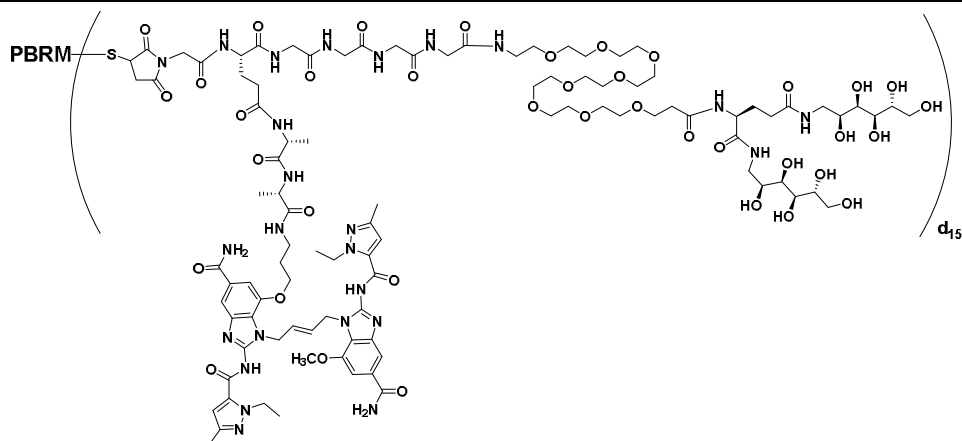
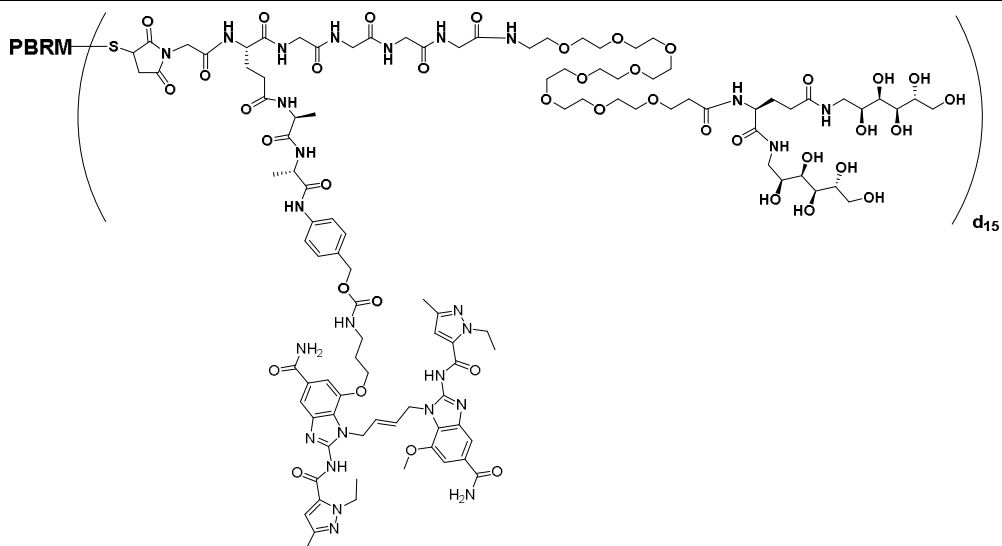
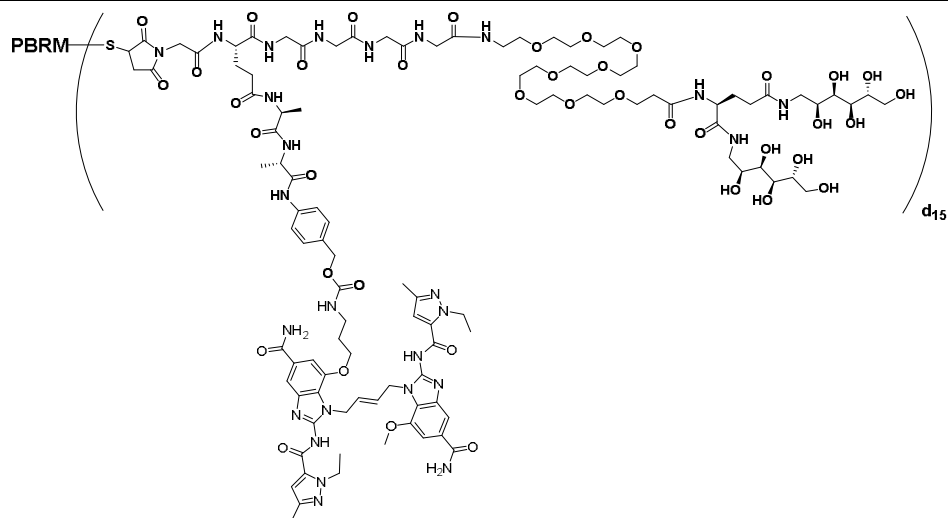


Estrutura

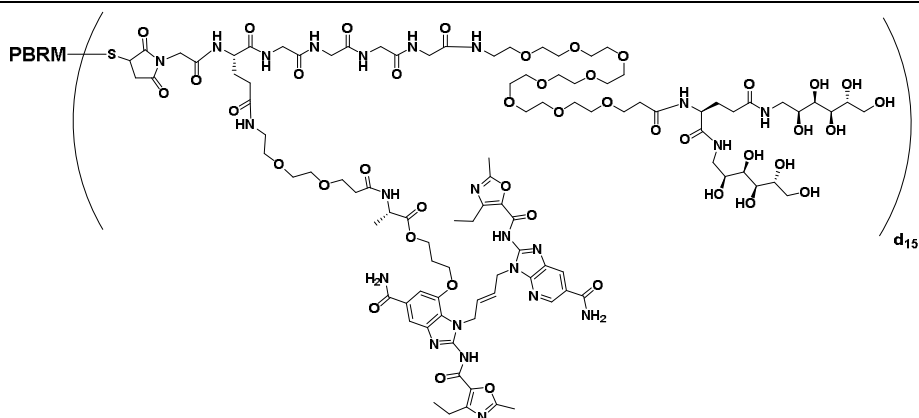
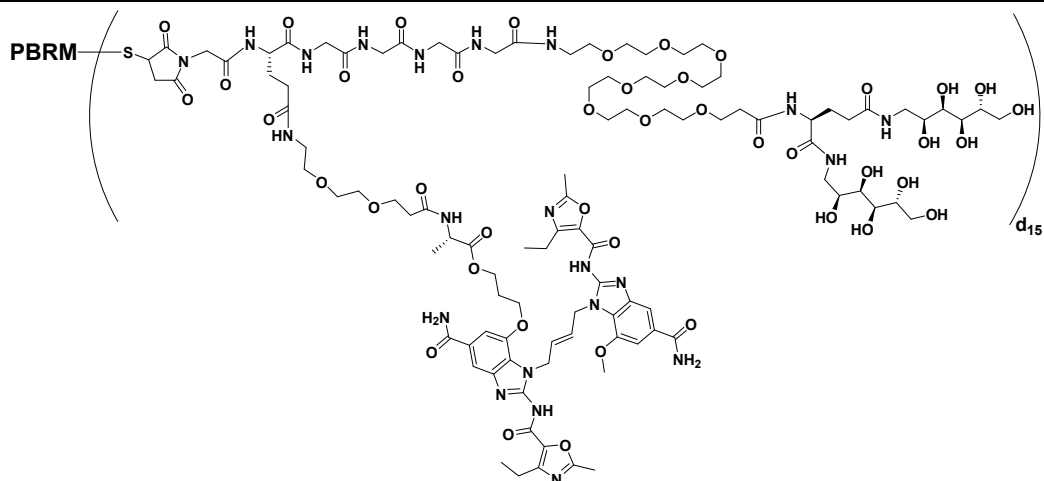
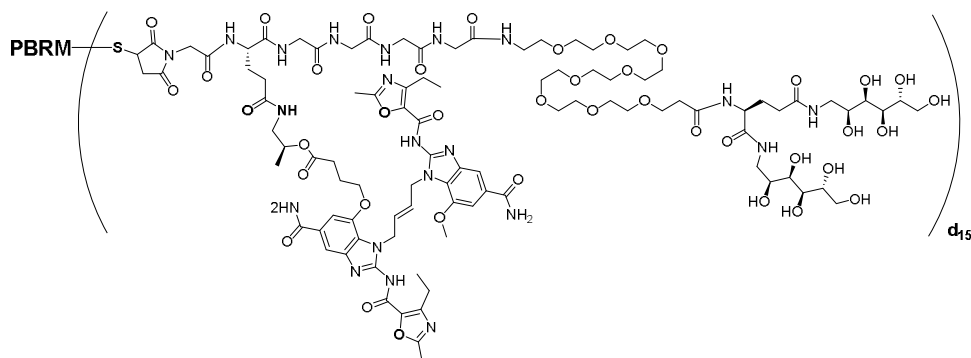
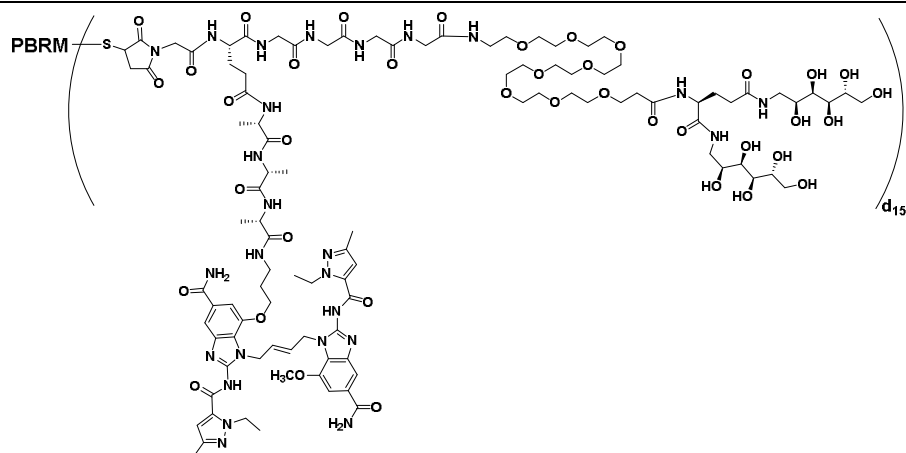


NC(=O)c1ccc(NC(=O)c2cc(N)cc2)cc1OCC(=O)Nc1cc(N)cc(NC(=O)O)c1

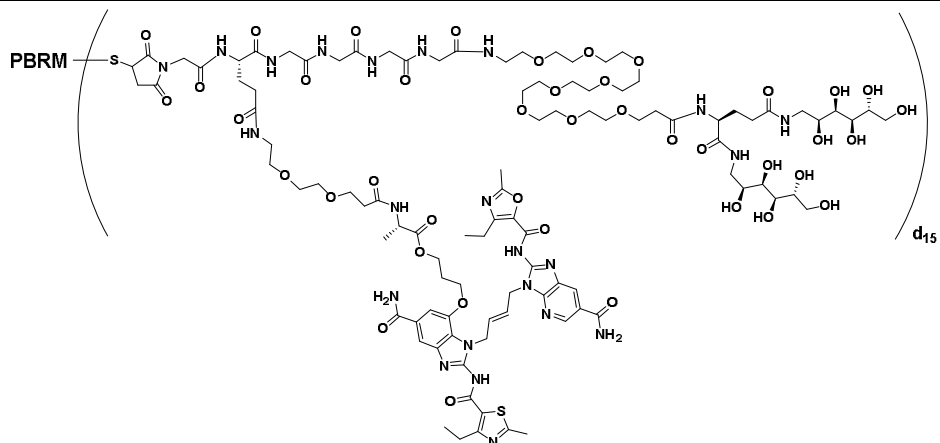
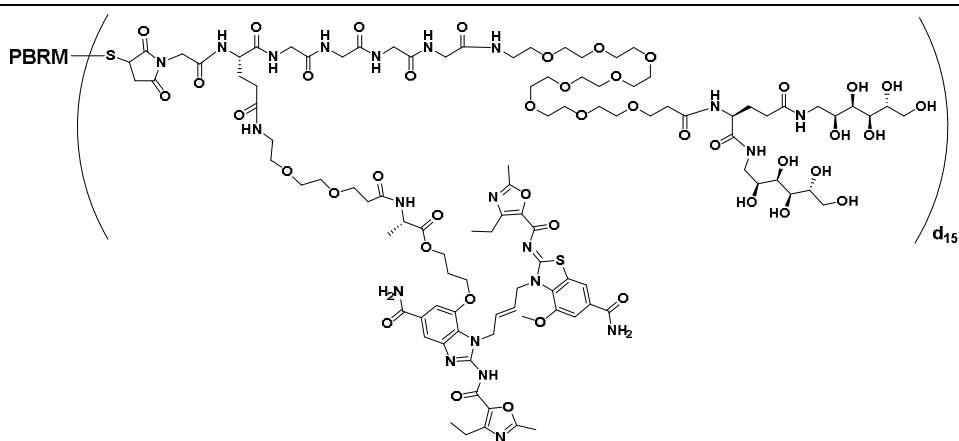
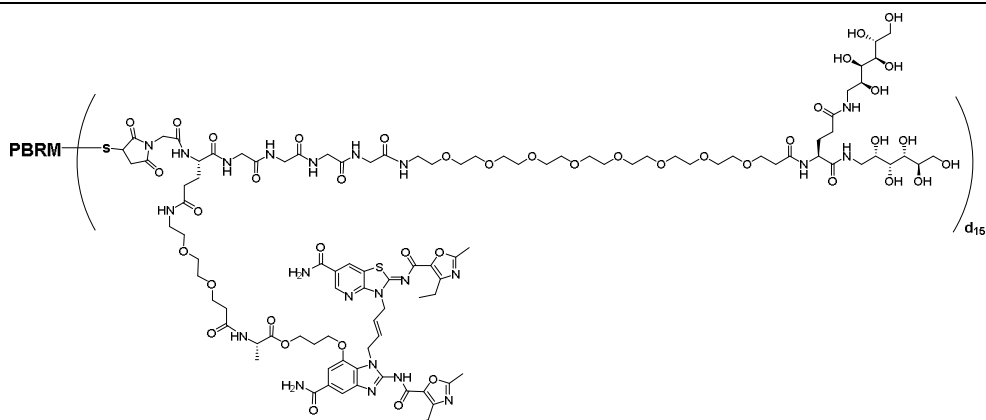
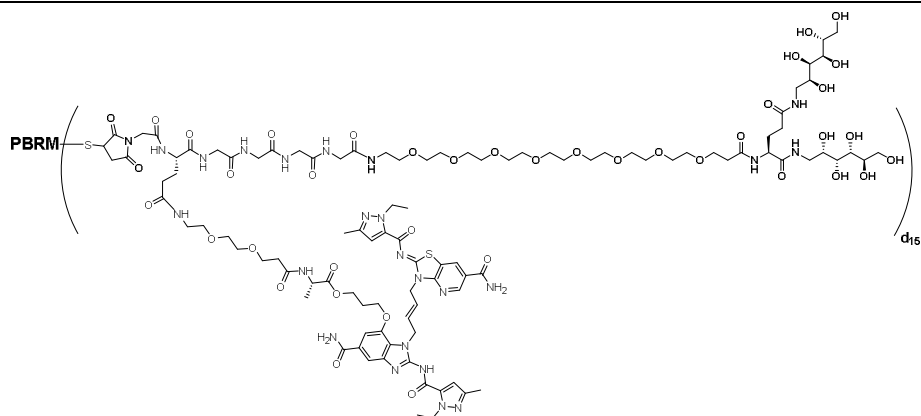
Estrutura



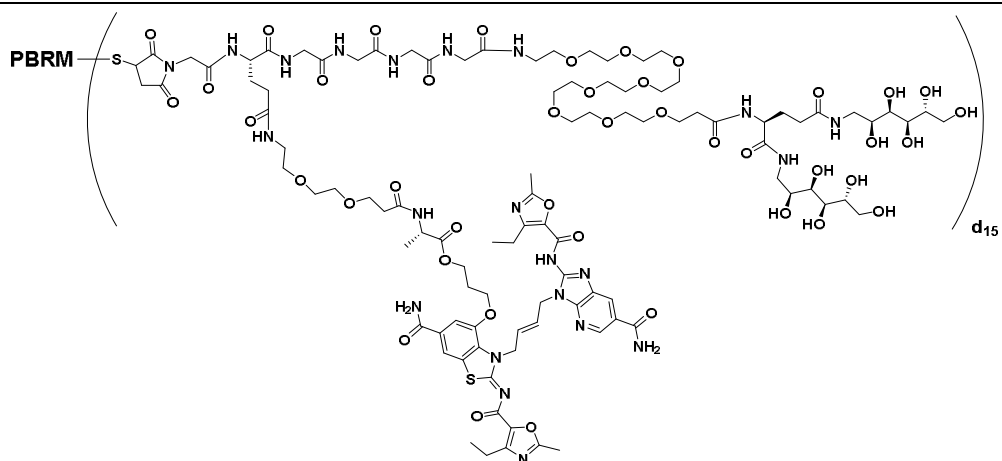
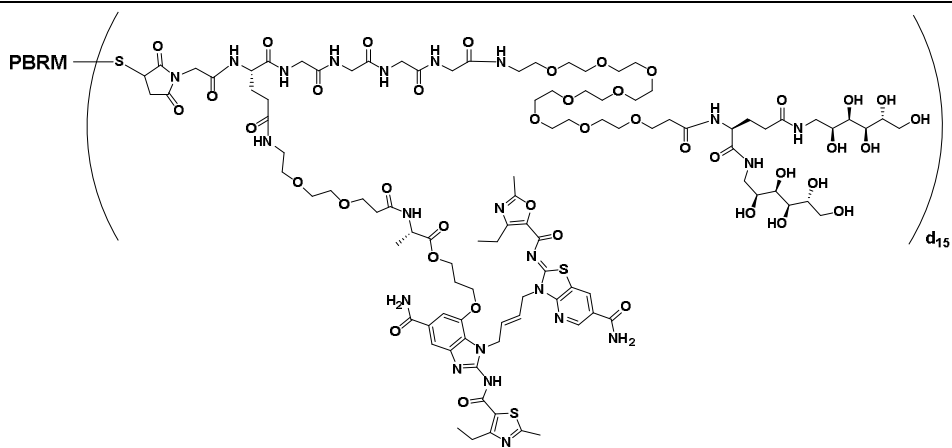
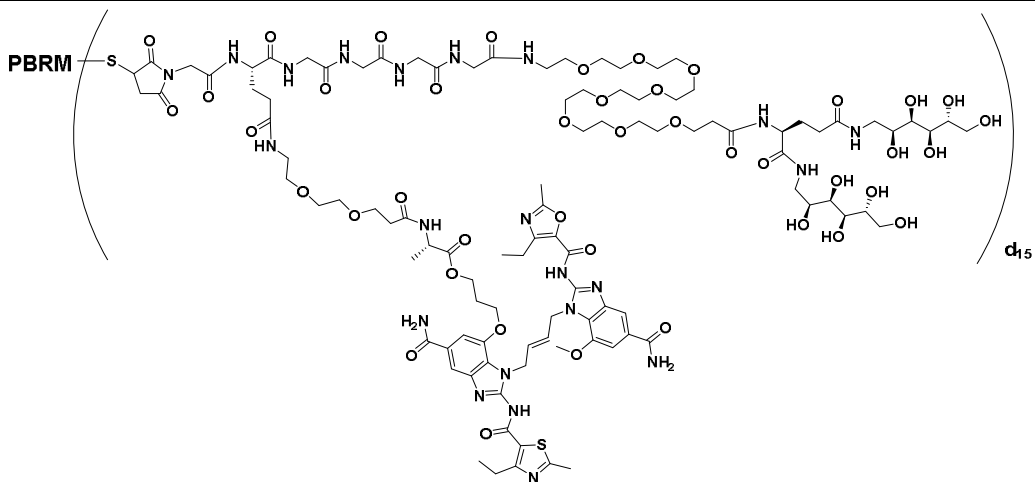
Estrutura



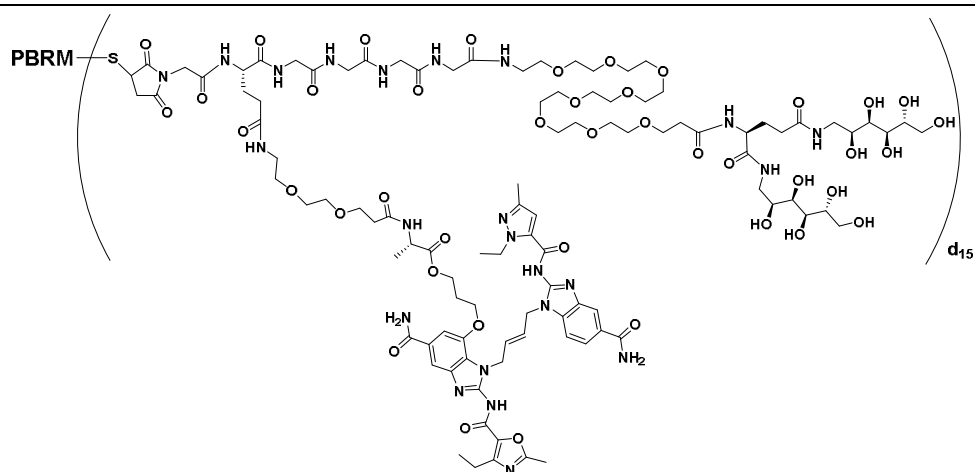
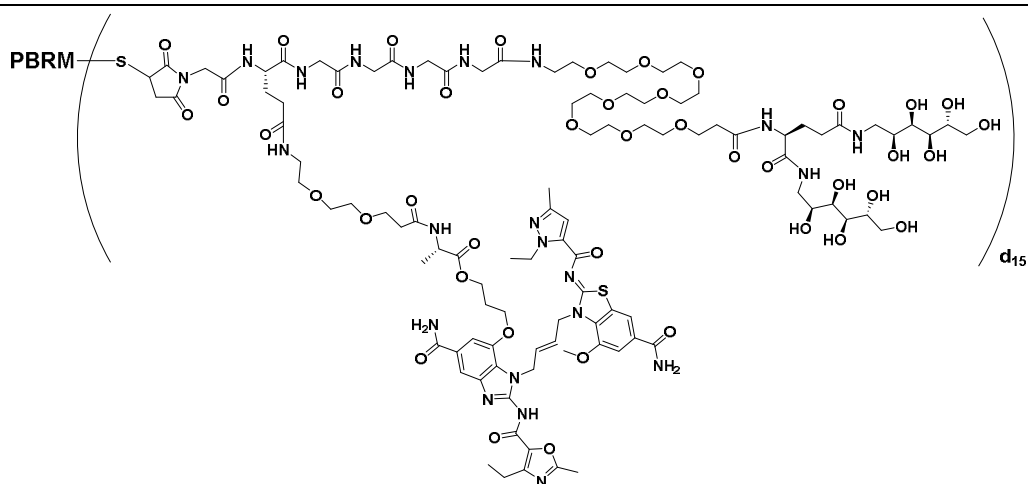
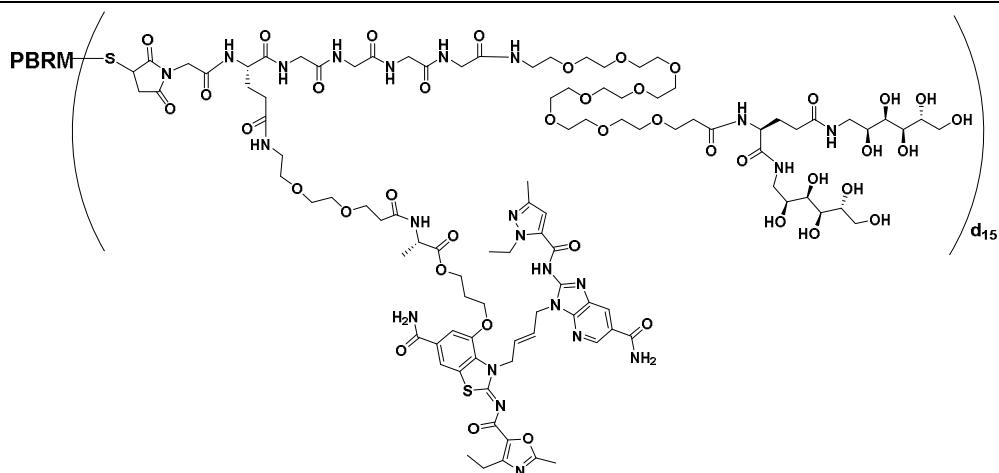
Estrutura



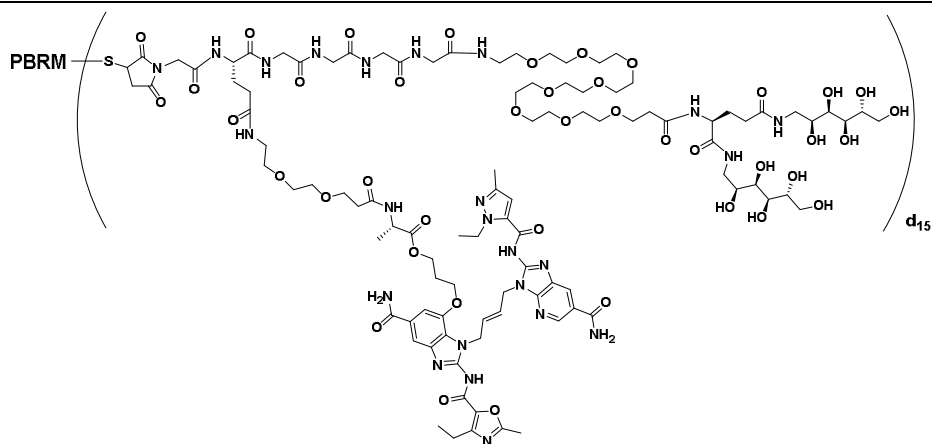
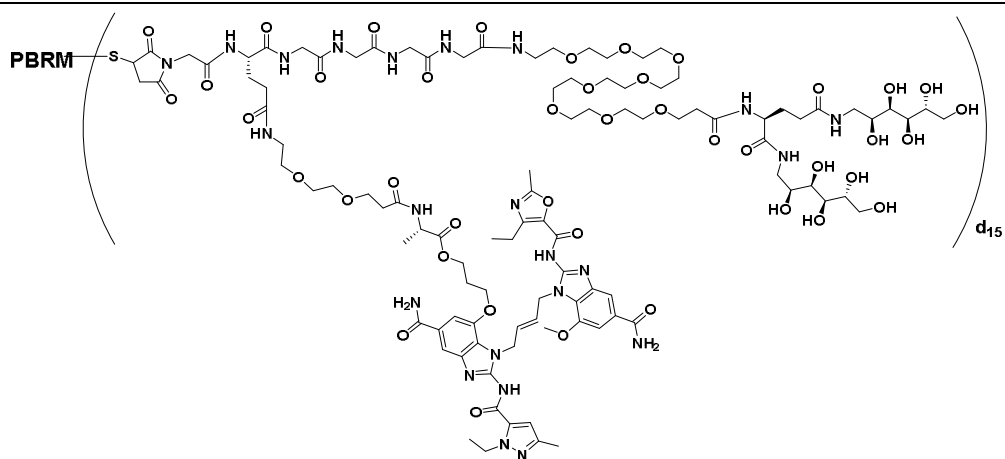
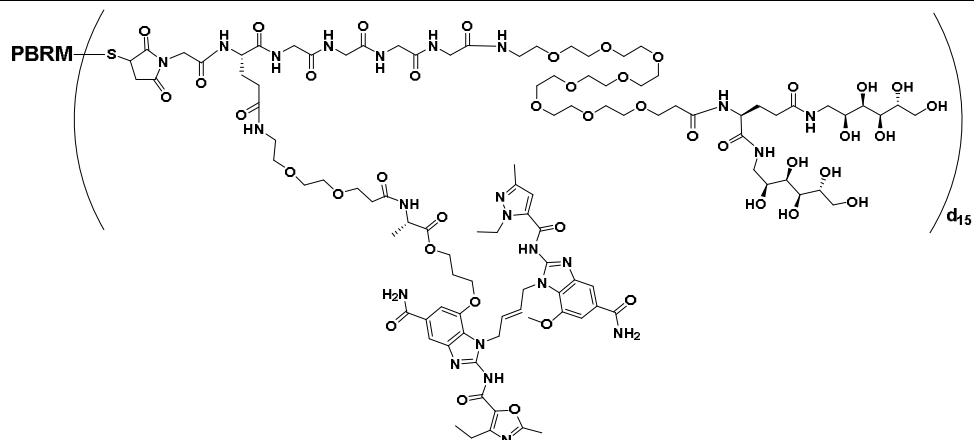
Estrutura



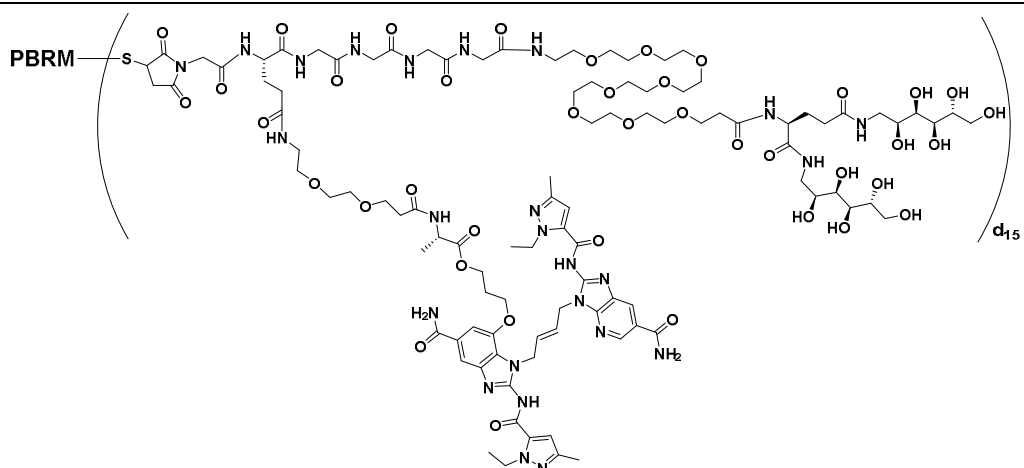
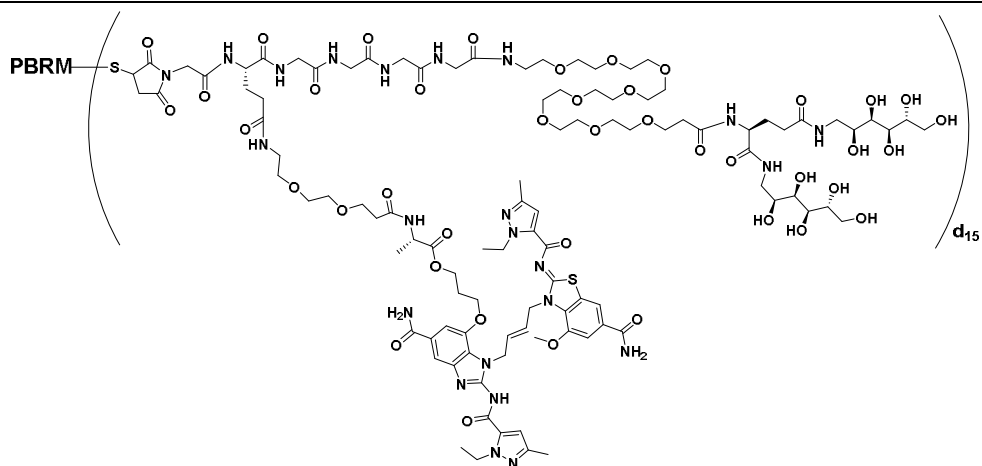
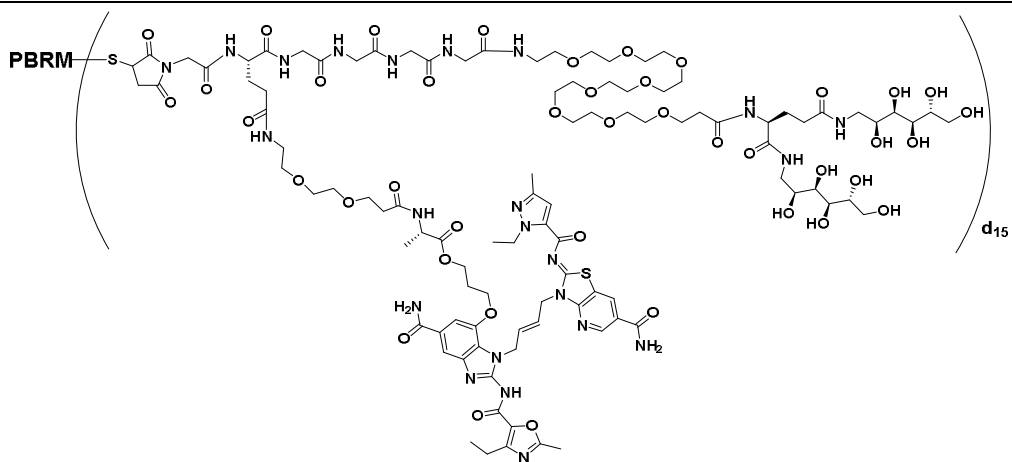
Estrutura



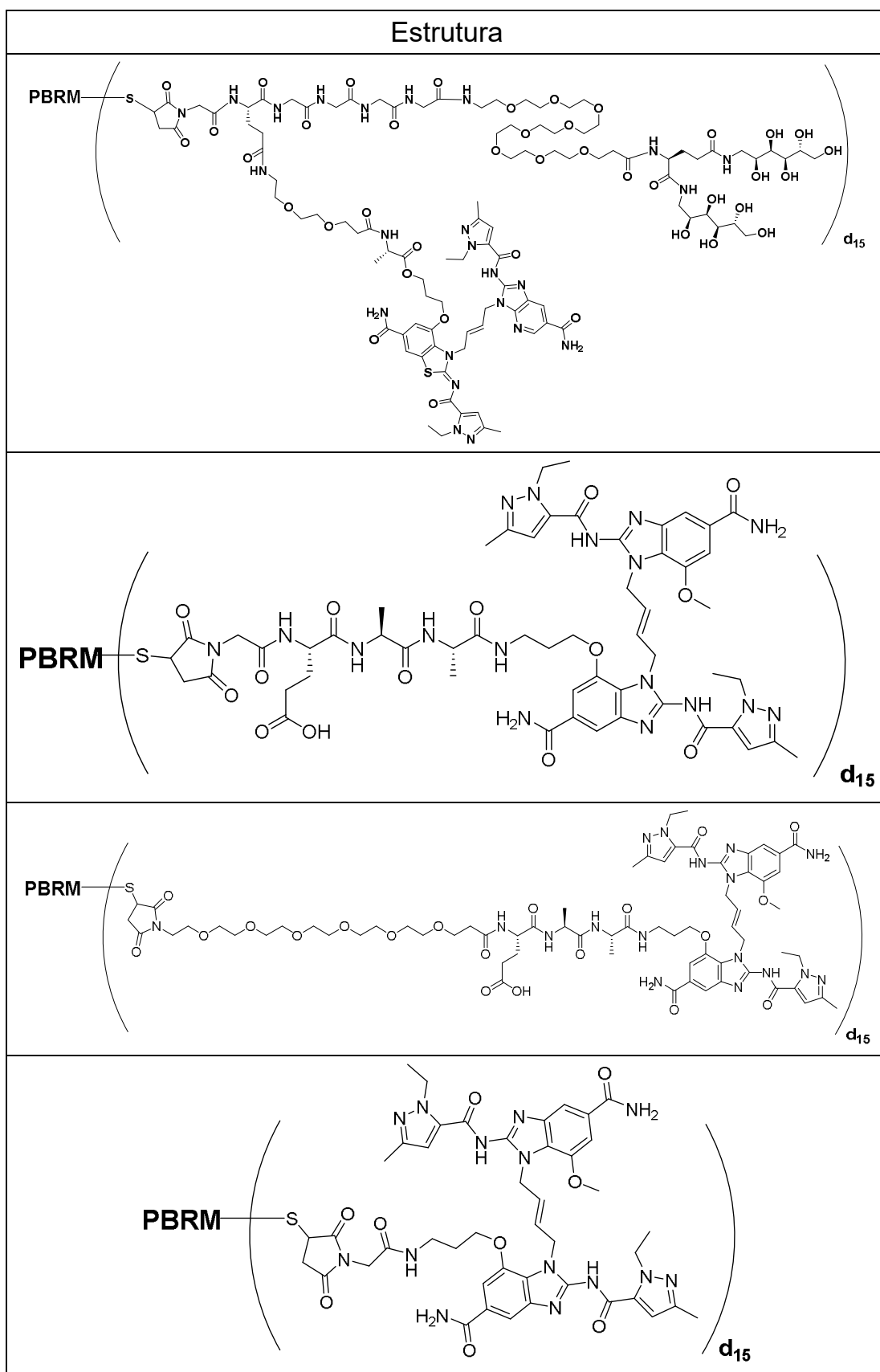
Estrutura

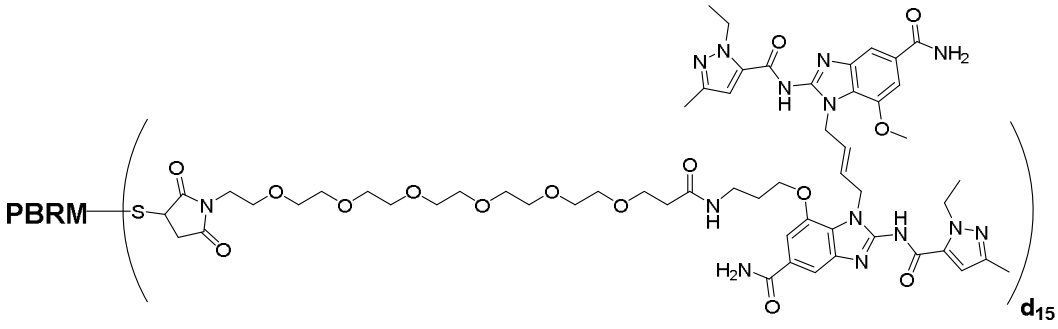
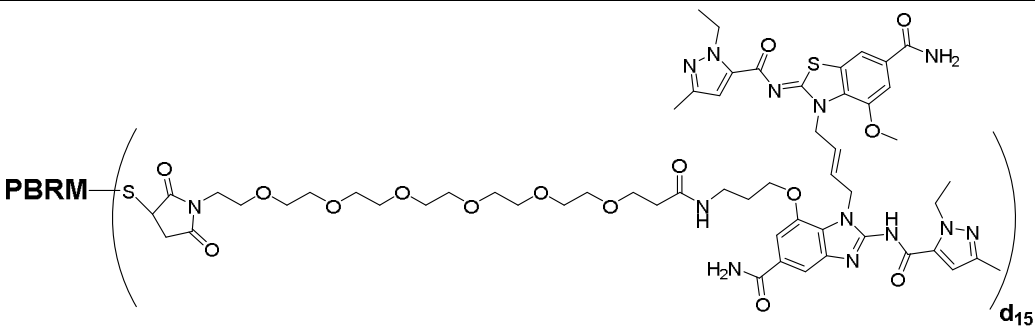
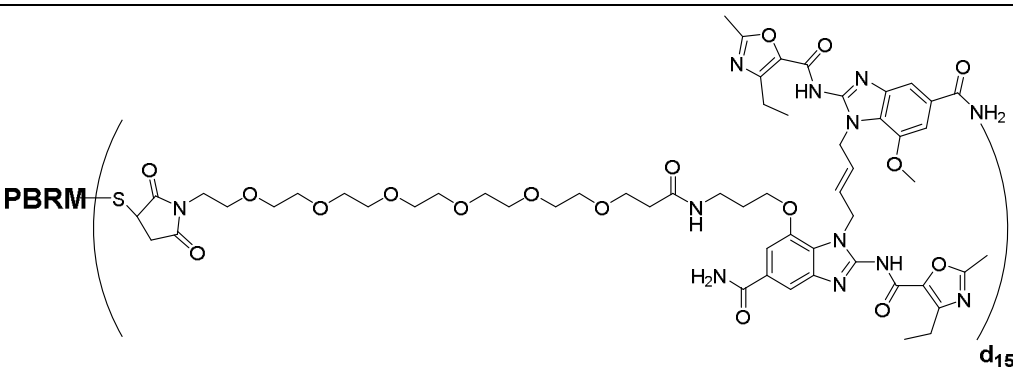
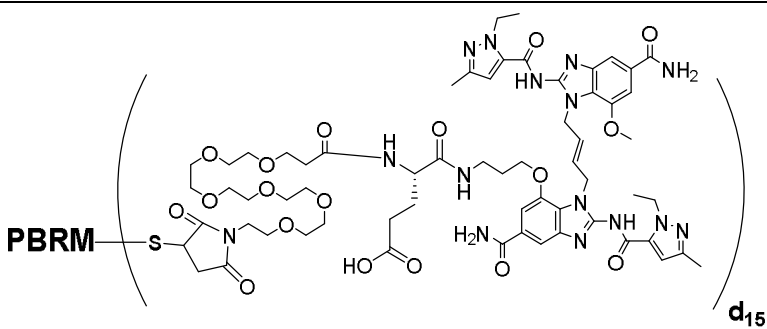
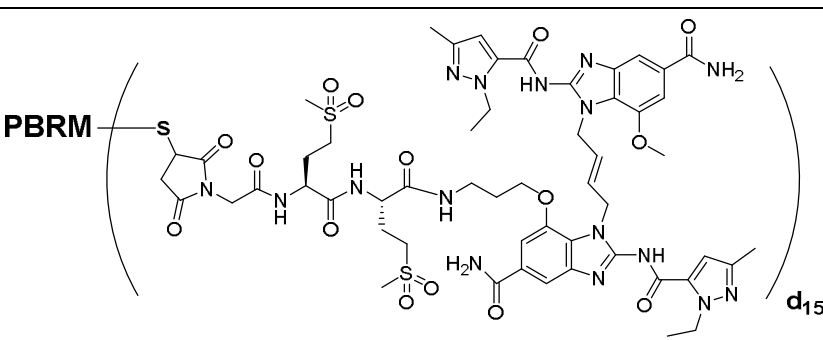


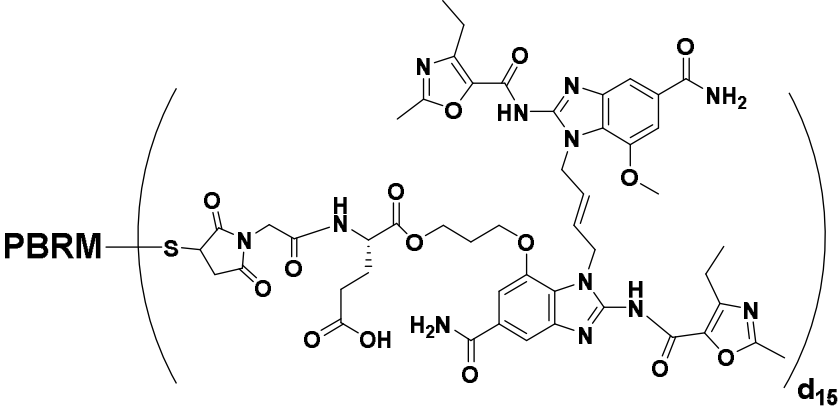
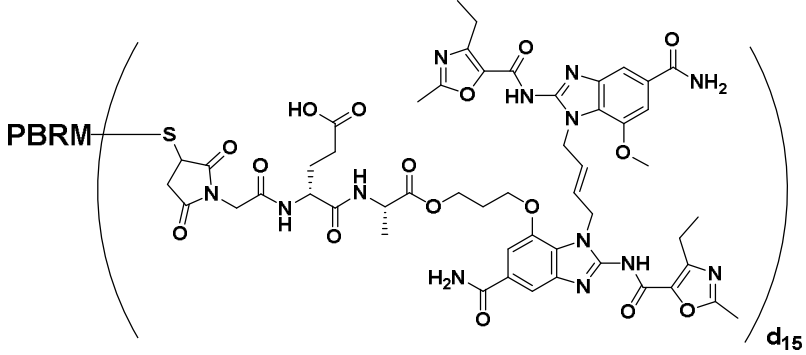
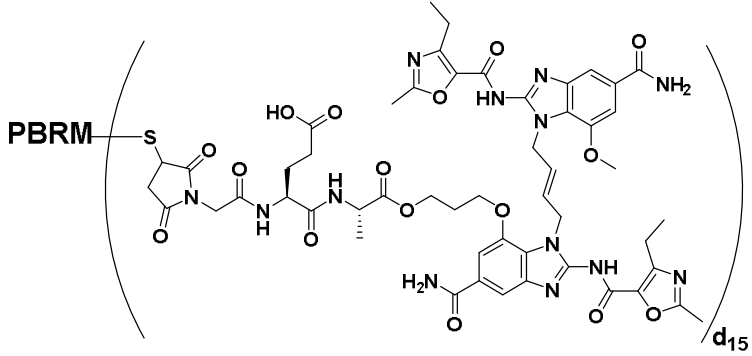
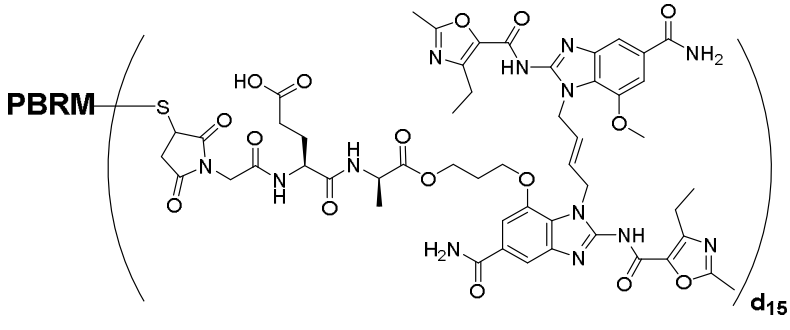
Estrutura

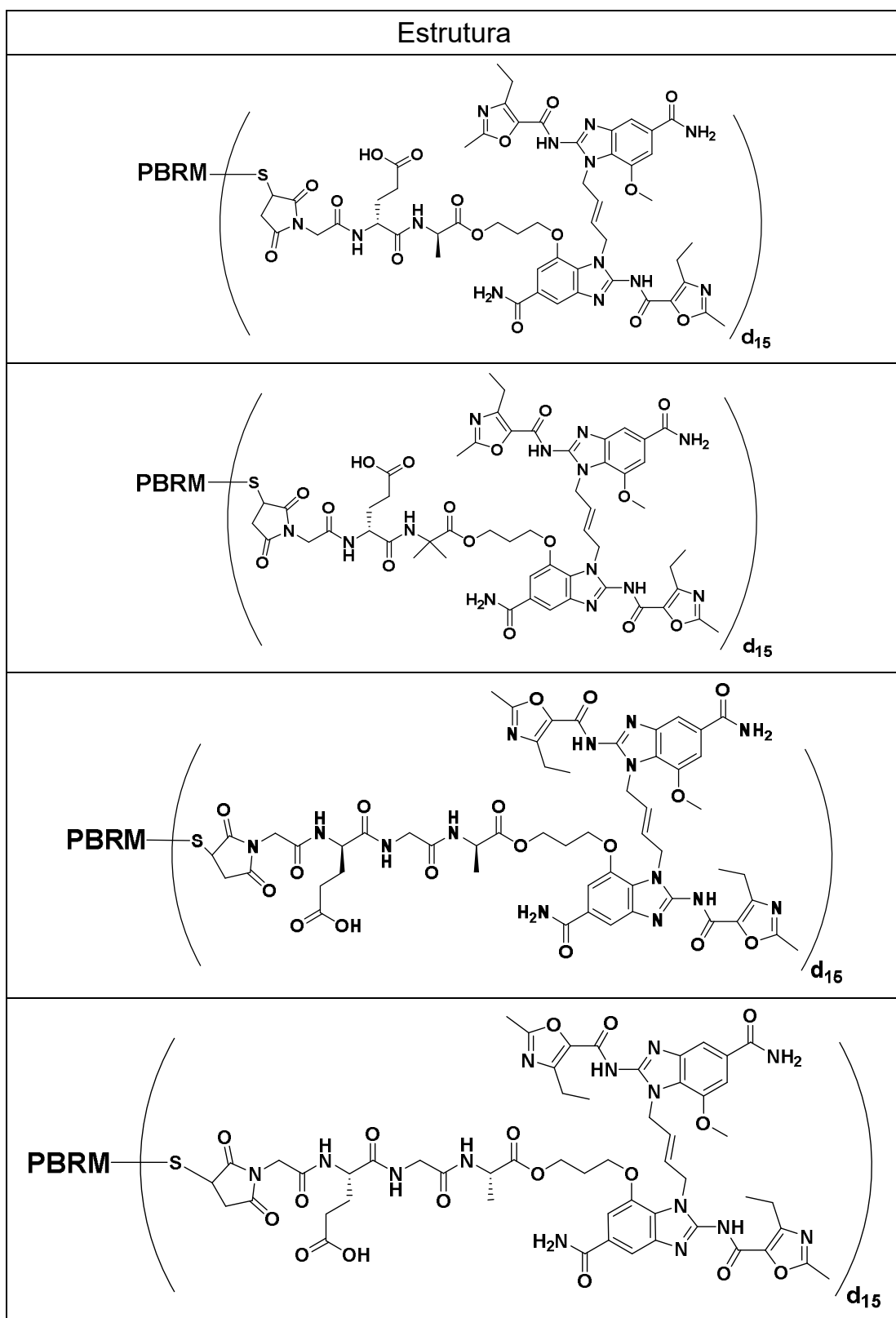


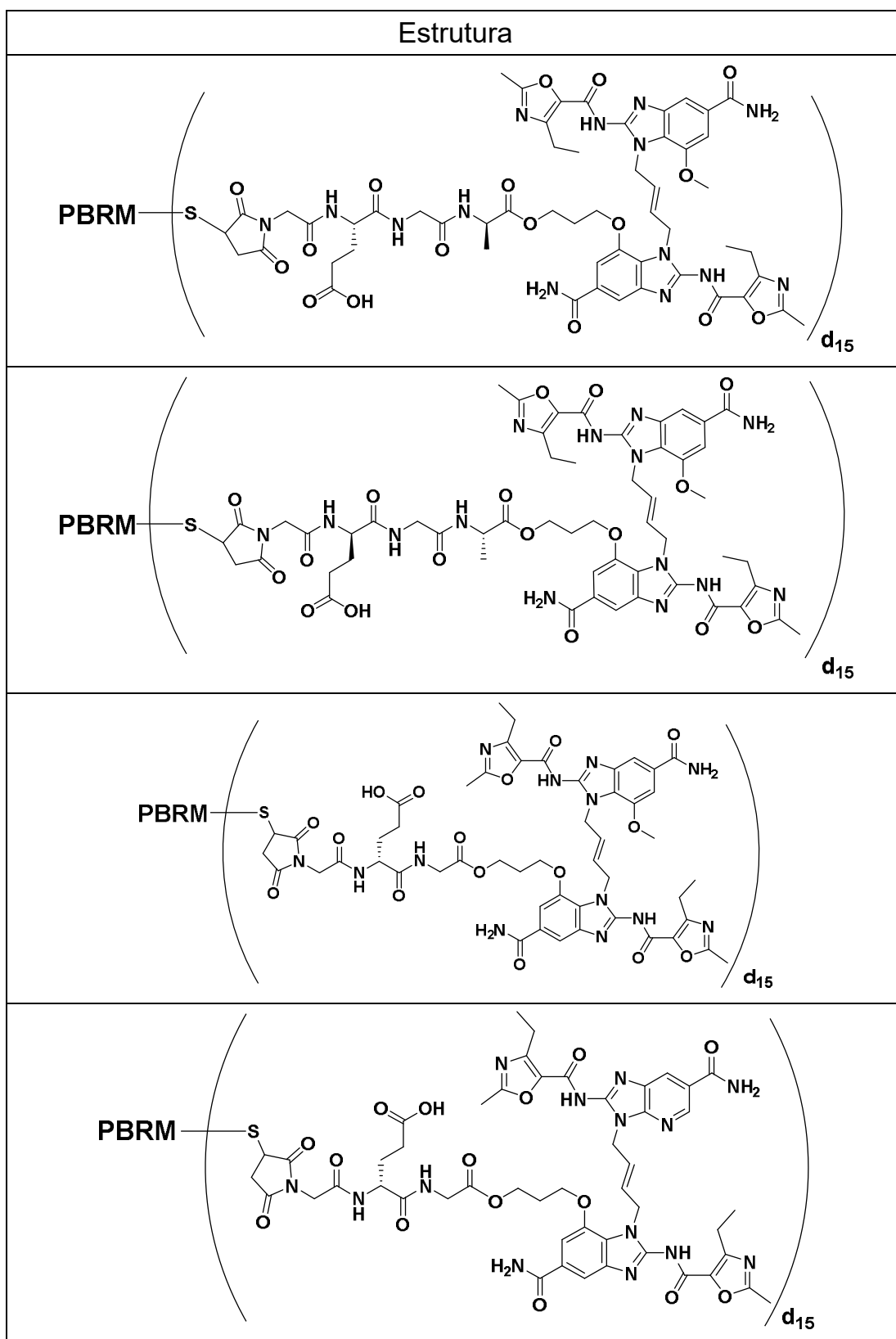
Estrutura

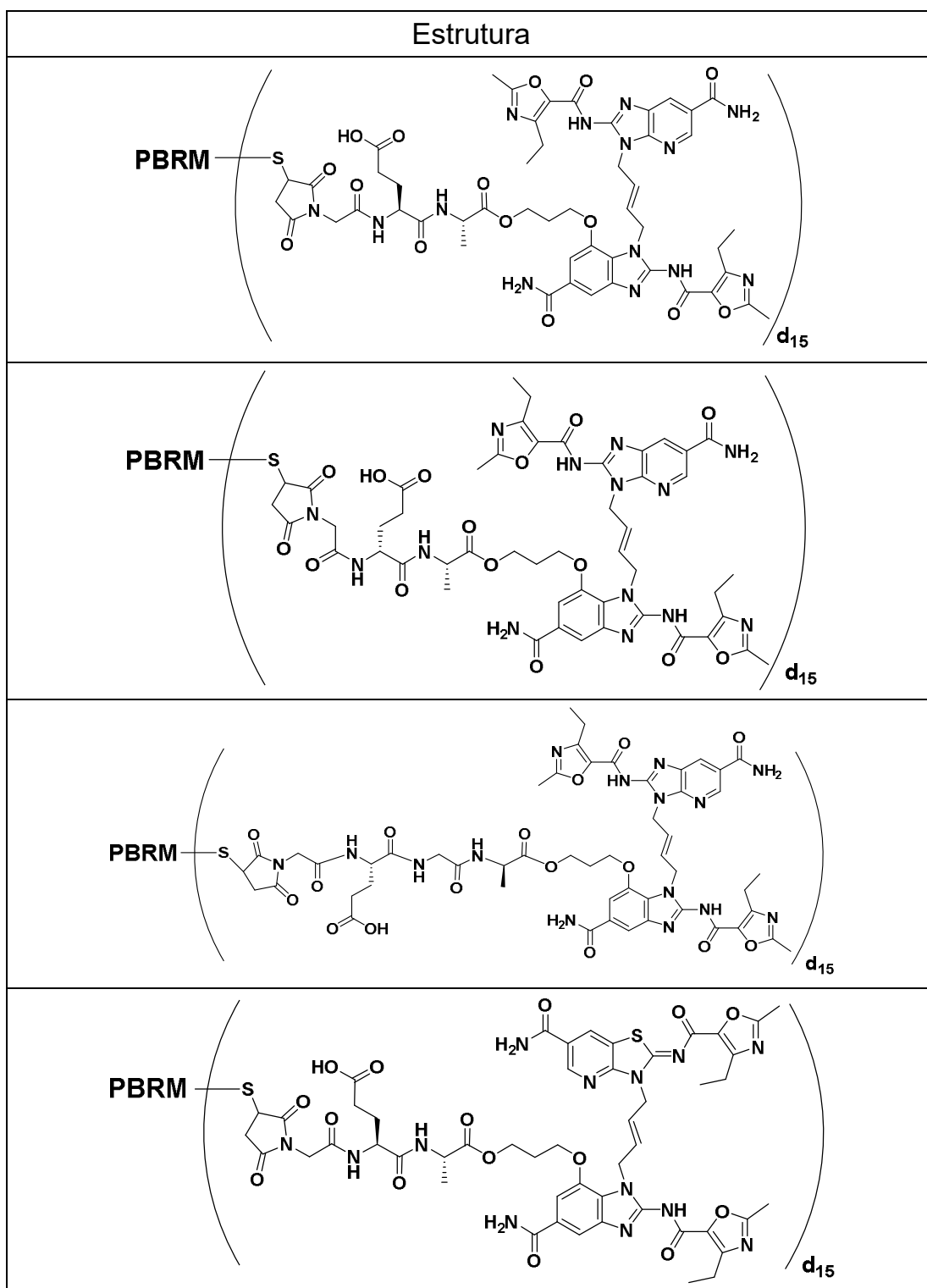


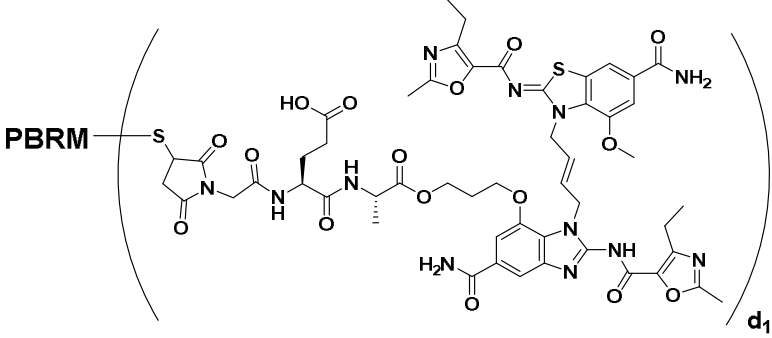
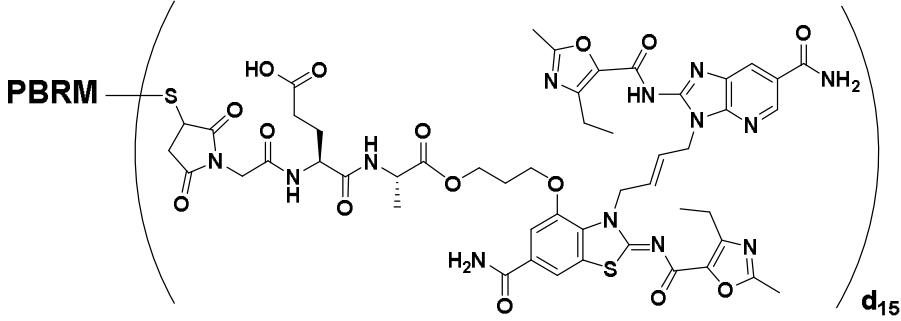
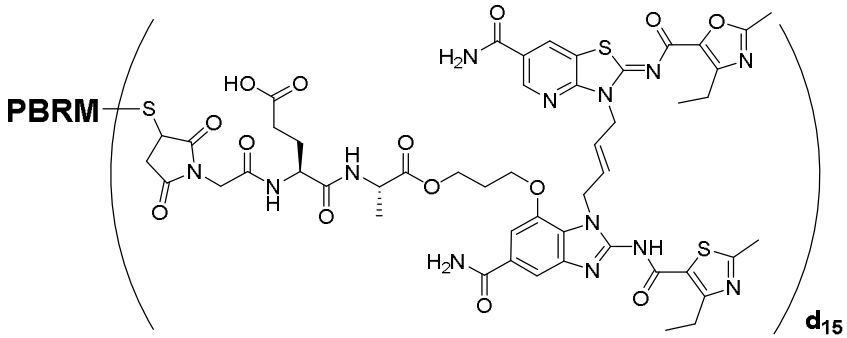
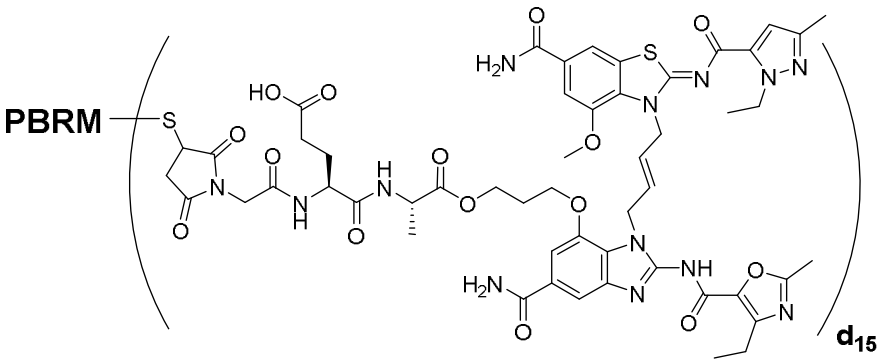
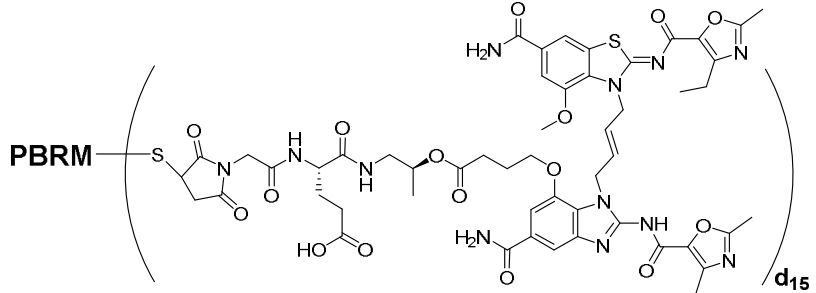
Estrutura






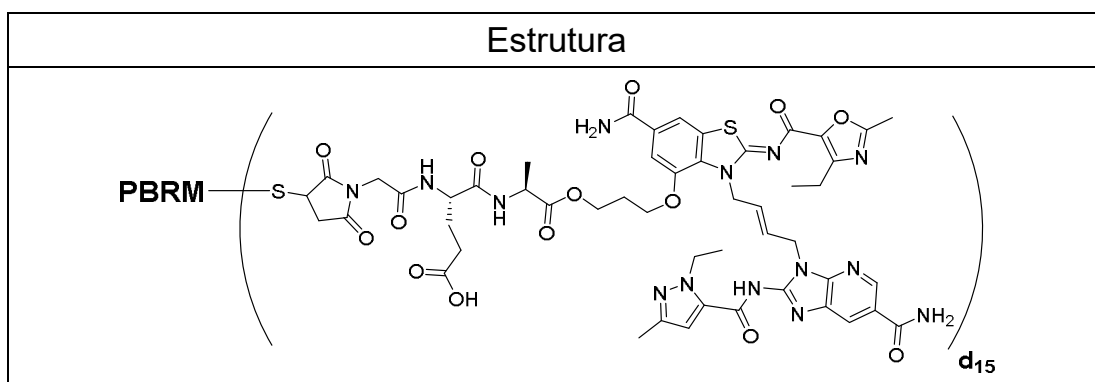
Estrutura
 Chemical structure of a PBRM conjugate. The structure shows a PBRM group (polybenzylidene resin matrix) attached to a side chain. The side chain consists of a succinimide ring, a carboxylic acid group, a peptide backbone, and a complex aromatic system. The aromatic system includes a benzimidazole core, a methoxy group, and a carboxamide group. The structure is labeled d_{15}.
 Chemical structure of a PBRM conjugate. The structure shows a PBRM group (polybenzylidene resin matrix) attached to a side chain. The side chain consists of a succinimide ring, a carboxylic acid group, a peptide backbone, and a complex aromatic system. The aromatic system includes a benzimidazole core, a methoxy group, and a carboxamide group. The structure is labeled d_{15}.
 Chemical structure of a PBRM conjugate. The structure shows a PBRM group (polybenzylidene resin matrix) attached to a side chain. The side chain consists of a succinimide ring, a carboxylic acid group, a peptide backbone, and a complex aromatic system. The aromatic system includes a benzimidazole core, a methoxy group, and a carboxamide group. The structure is labeled d_{15}.
 Chemical structure of a PBRM conjugate. The structure shows a PBRM group (polybenzylidene resin matrix) attached to a side chain. The side chain consists of a succinimide ring, a carboxylic acid group, a peptide backbone, and a complex aromatic system. The aromatic system includes a benzimidazole core, a methoxy group, and a carboxamide group. The structure is labeled d_{15}.







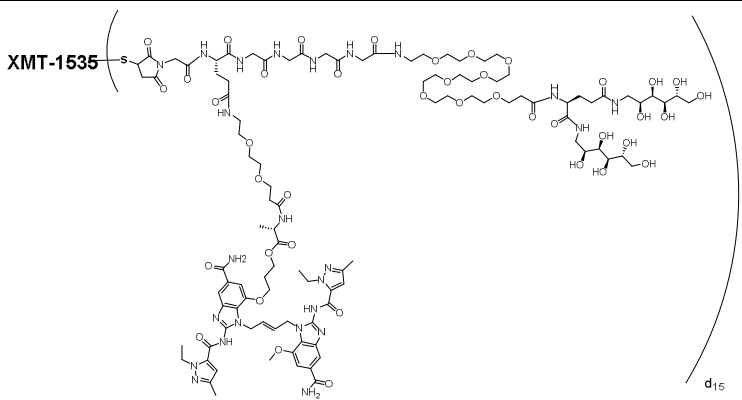
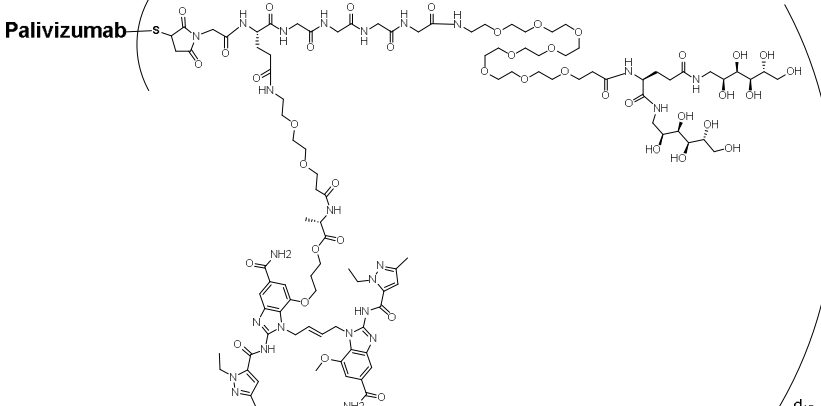
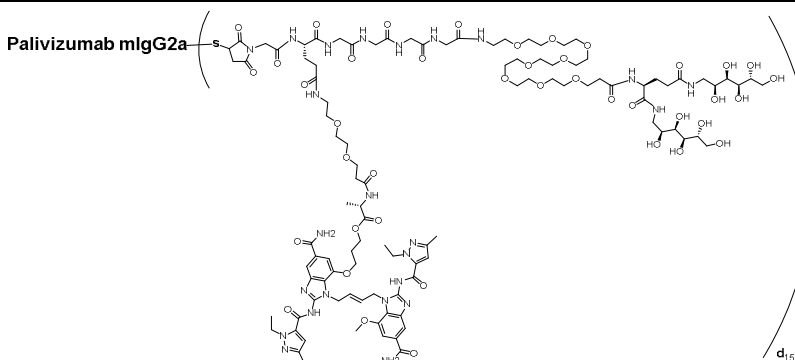
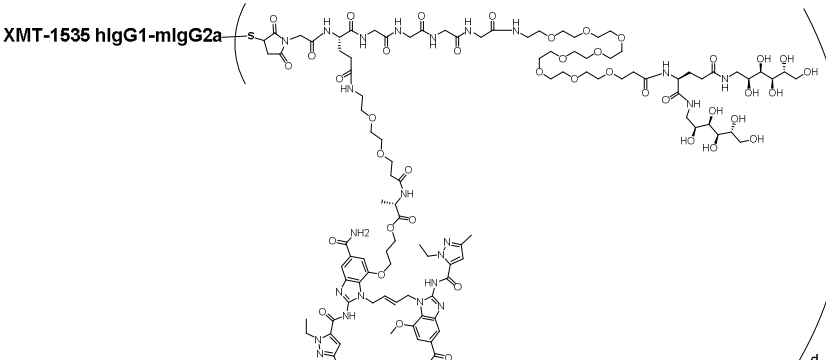
Estrutura
 Chemical structure of a PBRM derivative (labeled d_{15}) showing a complex molecule with multiple fused and linked rings, including a thiazole, a pyridine, and a thiophene, connected via amide and ether linkages to a central chain containing a carboxylic acid group and a thiazole ring.
 Chemical structure of a PBRM derivative (labeled d_{15}) showing a complex molecule with multiple fused and linked rings, including a thiazole, a pyridine, and a thiophene, connected via amide and ether linkages to a central chain containing a carboxylic acid group and a thiazole ring.
 Chemical structure of a PBRM derivative (labeled d_{15}) showing a complex molecule with multiple fused and linked rings, including a thiazole, a pyridine, and a thiophene, connected via amide and ether linkages to a central chain containing a carboxylic acid group and a thiazole ring.
 Chemical structure of a PBRM derivative (labeled d_{15}) showing a complex molecule with multiple fused and linked rings, including a thiazole, a pyridine, and a thiophene, connected via amide and ether linkages to a central chain containing a carboxylic acid group and a thiazole ring.
 Chemical structure of a PBRM derivative (labeled d_{15}) showing a complex molecule with multiple fused and linked rings, including a thiazole, a pyridine, and a thiophene, connected via amide and ether linkages to a central chain containing a carboxylic acid group and a thiazole ring.

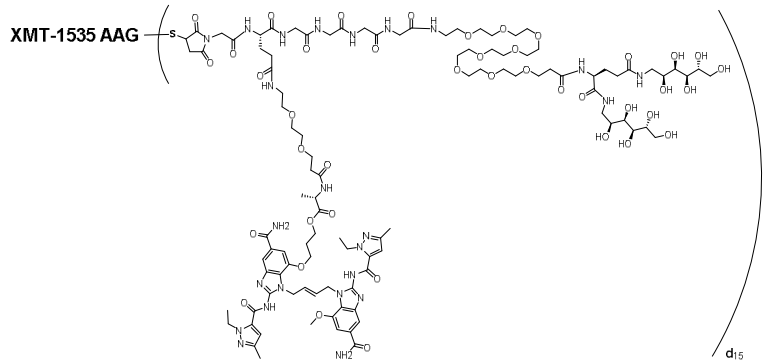
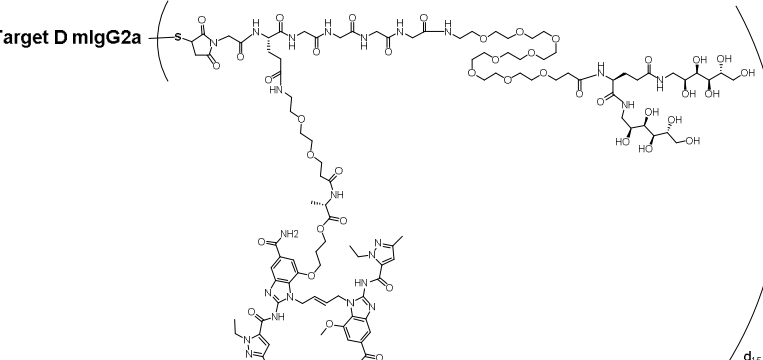
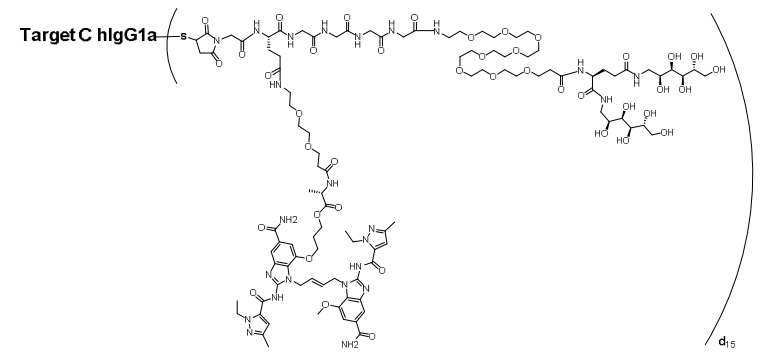
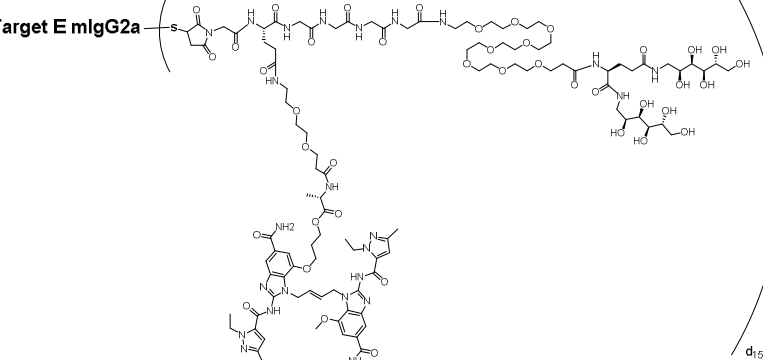


em que d_{15} , R^{14} , R^{15} , R^{16} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , R^{C1} , R^{C2} , X_3 , X_4 , X_6 , X_1 , W_1 , Y_1 , Z_1 , X_2 , W_2 , Y_2 , Z_2 , são como definidos aqui.

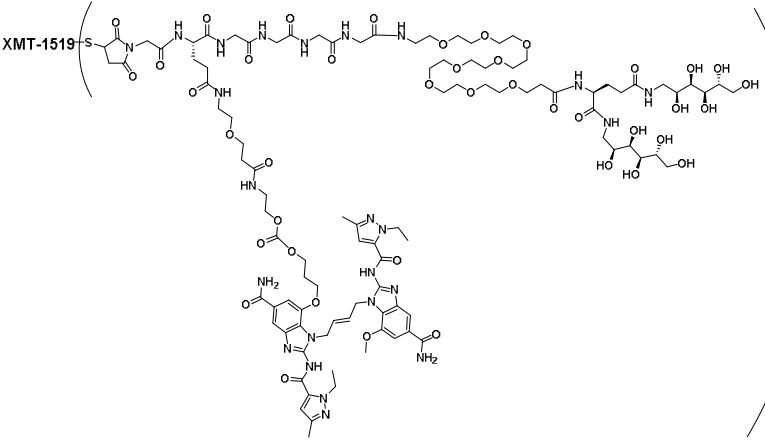
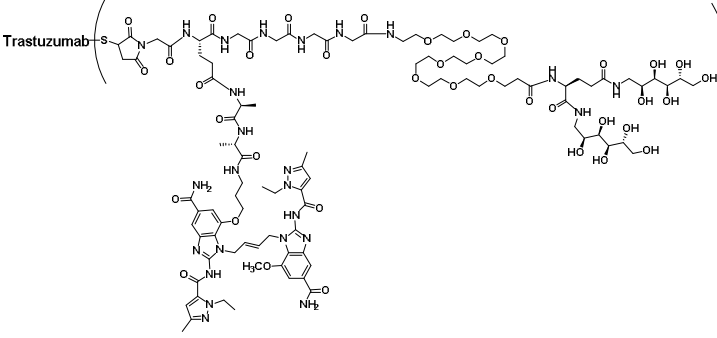
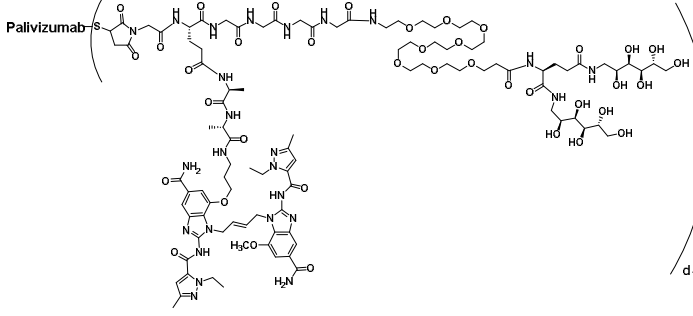
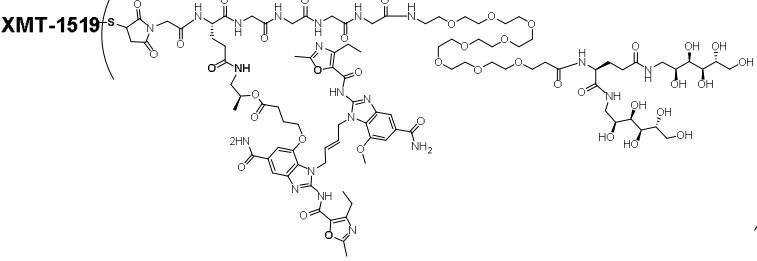
Tabela B2

Ex No.	Comp No.	Estrutura
1	8-1 DAR 6.1 8-2 DAR 6.8	
1a	8a-1 DAR 6.0 8a-2 DAR 7.0 8a-3 DAR 8.4	

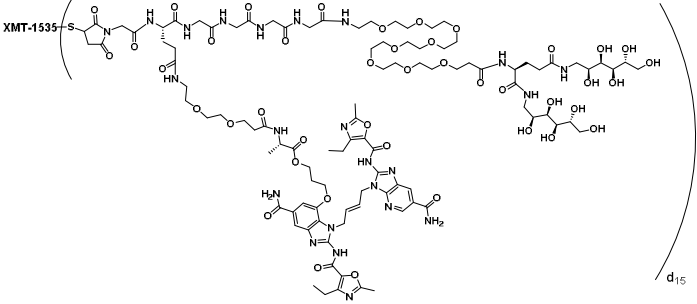
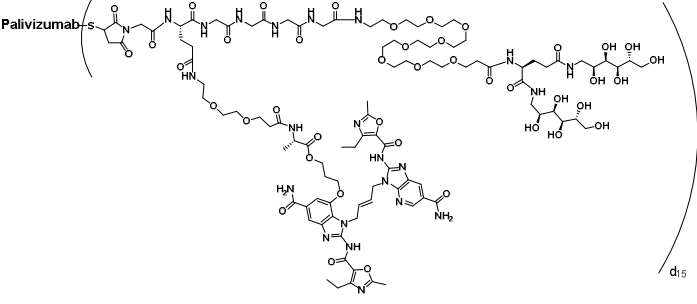
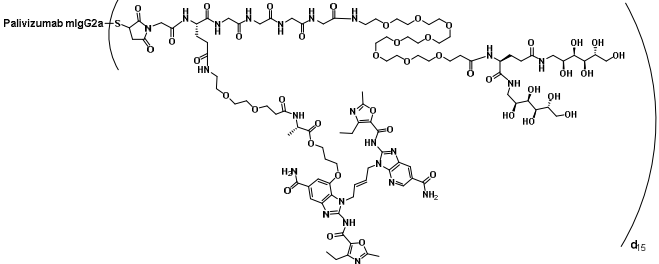
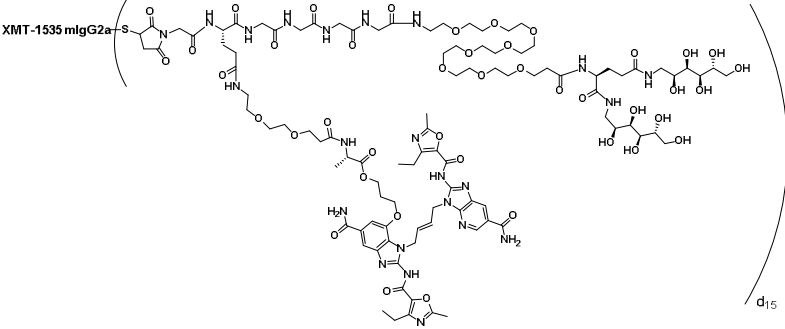
Ex No.	Comp No.	Estrutura
1b	8b-1 DAR 5.7	
	8b-2 DAR 6.6	
	8b-3 DAR 6.4	
1c	8c-1 DAR 7.5	
	8c-2 DAR 5.8	
1d	8d-1 DAR 6.8	
	8d-2 DAR 6.5	
	8d-3 DAR 6.0	
1e	8e DAR 7.0	

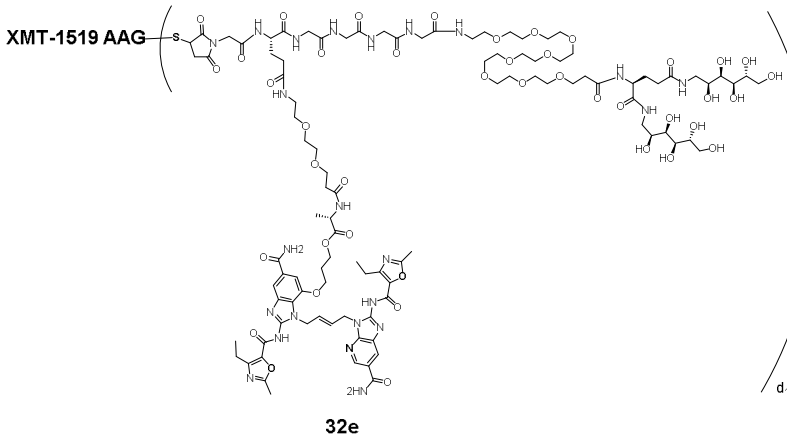
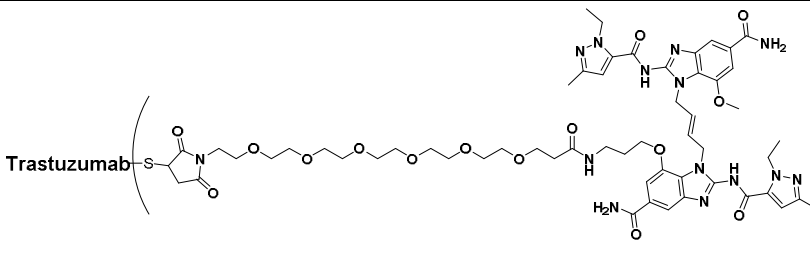
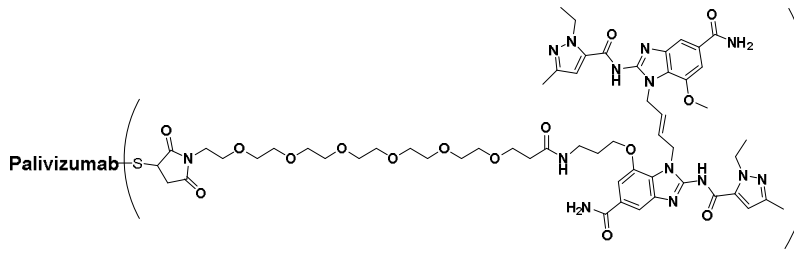
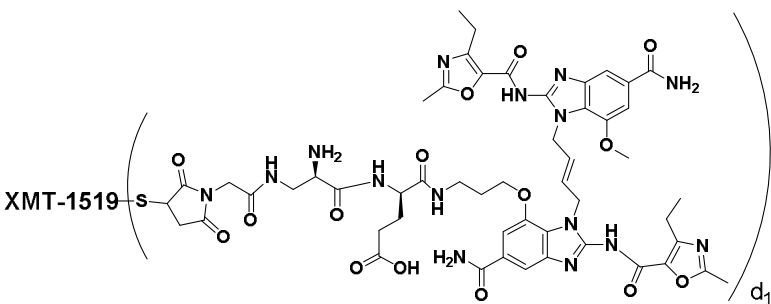
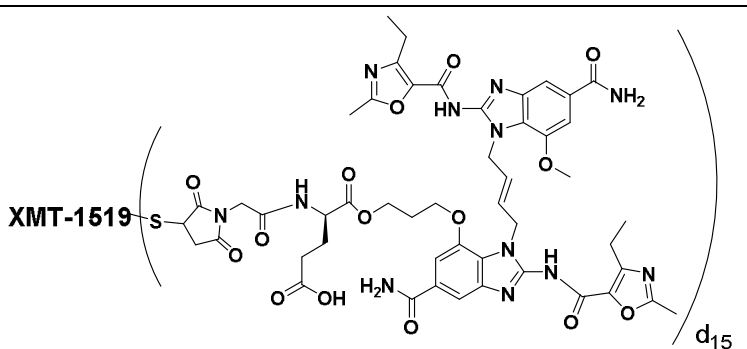
Ex No.	Comp No.	Estrutura
1f	8f DAR 7.4	XMT-1535 AAG  d₁₅
1g	8g DAR 7.4	Target D mlgG2a  d₁₅
1h	8h DAR 6.9	Target C hlgG1a  d₁₅
1i	8i DAR 10.0	Target E mlgG2a  d₁₅

Ex No.	Comp No.	Estrutura
1j	8j DAR 7.0 8j-1 DAR 4.2	
1k	8k DAR 8.1	
1l	8l DAR 4.7	
1m	8m DAR 4.5	

Ex No.	Comp No.	Estrutura
2	16 DAR 5.3	
3	20-1 DAR 6.0 20-2 DAR 6.1	
3a	20a DAR 5.5	
4	25 DAR 6.6	

Ex No.	Comp No.	Estrutura
5	28 DAR 6.0	
6	29 DAR 5.5	
7	32-1 DAR 6.5 32-2 DAR 6.4 32-3 DAR 6.7 32-4 DAR 8.6	

Ex No.	Comp No.	Estrutura
7a	32a DAR 6.2	
	32a-1 DAR 7.4	
	32a-2 DAR 8.0	
	32a-3 DAR 7.5	
	32a-4 DAR 8.0	
7b	32b DAR 6.8	
	32b-1 DAR 5.7	
	32b-2 DAR 7.2	
7c	32c DAR 9.1	
7d	32d DAR 8.8	

Ex No.	Comp No.	Estrutura
7e	32e DAR 8.8	 XMT-1519 AAG 32e d₁₅
8	34 DAR 6.9	 Trastuzumab d₁₅
8a	34a DAR 7.0	 Palivizumab d₁₅
9	45 DAR 6.5	 XMT-1519 d₁₅
10	50 DAR 8.2	 XMT-1519 d₁₅

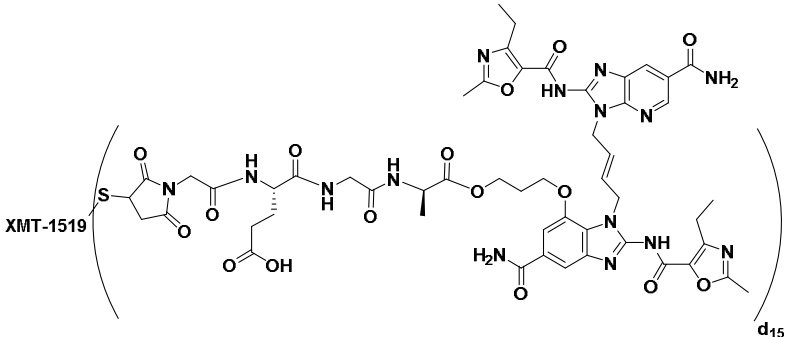
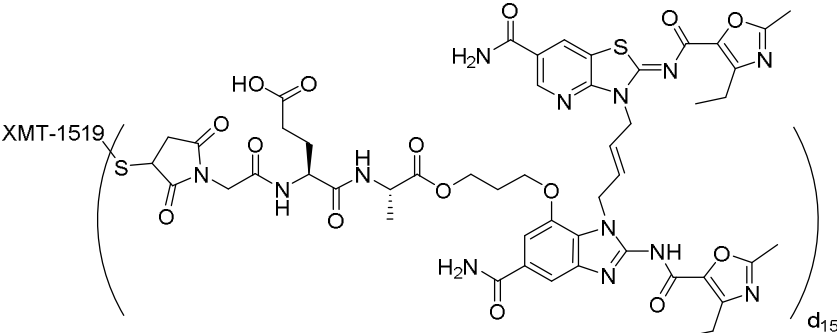
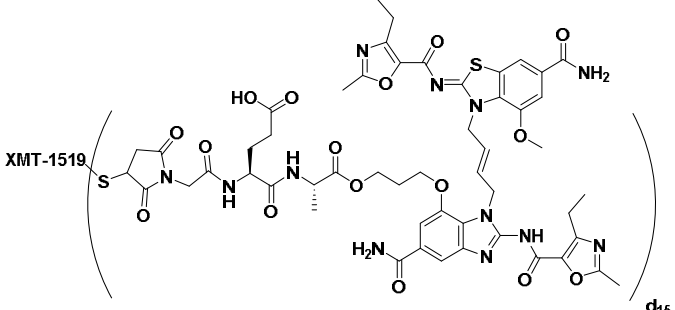
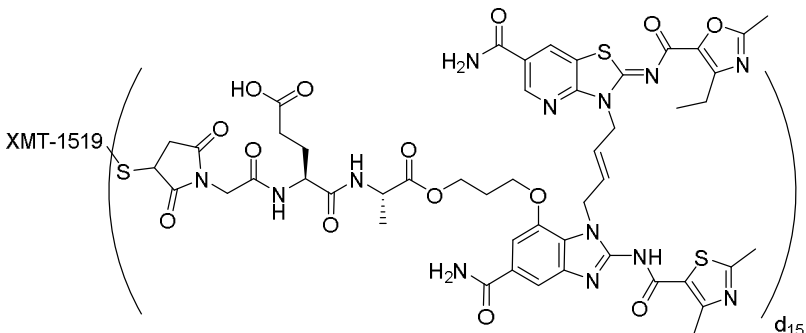
Ex No.	Comp No.	Estrutura
11	52 DAR 7.7	
12	58 DAR 6.5	
13	60-1 (DAR 7.7 60-2 DAR 5.5	
14	62 DAR 6.5	
15	64 DAR 6.4	

Ex No.	Comp No.	Estrutura
16	66-1 DAR 7.5 66-2 DAR 5.3	
17	74 DAR 6.9	
18	76 DAR 7.5	
19	78 DAR 7.4	
20	80 DAR 7.5	

Ex No.	Comp No.	Estrutura
21	82 DAR 5.7	
22	85 DAR 6.5	
22a	85a DAR 7.4	

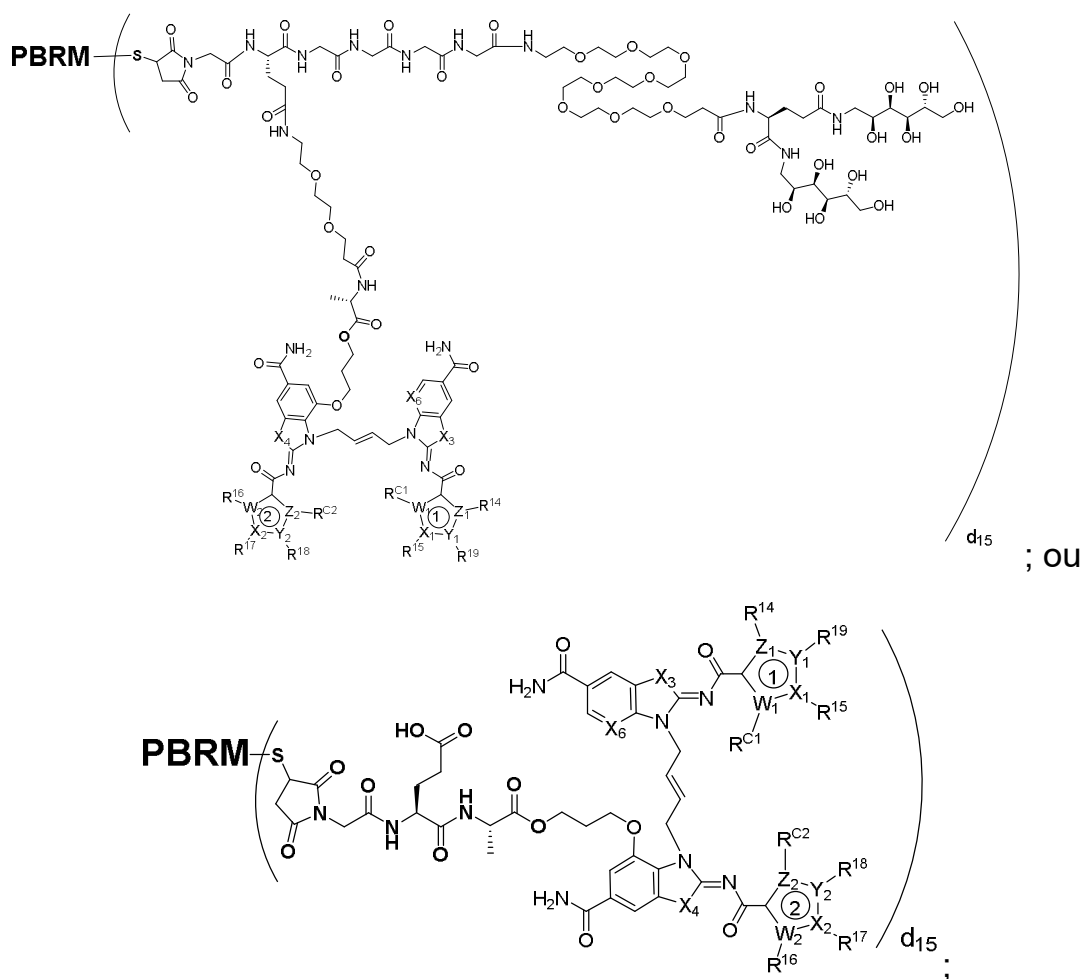
Ex No.	Comp No.	Estrutura
23	88 DAR 6.6	XMT-1519 d_{15}
23a	89 DAR 5.9	Palivizumab d_{15}
23b	89a DAR 8.8	CTL-48132_mlgG2a d_{15}
23c	89b DAR 9.0	MFP5-mlgG2a d_{15}
24	92 DAR 7.6	XMT-1519 d_{15}

Ex No.	Comp No.	Estrutura
24a	93 DAR 6.7	
25	100 DAR 7.8	
25a	101 DAR 6.5	

Ex No.	Comp No.	Estrutura
		
		
		
		

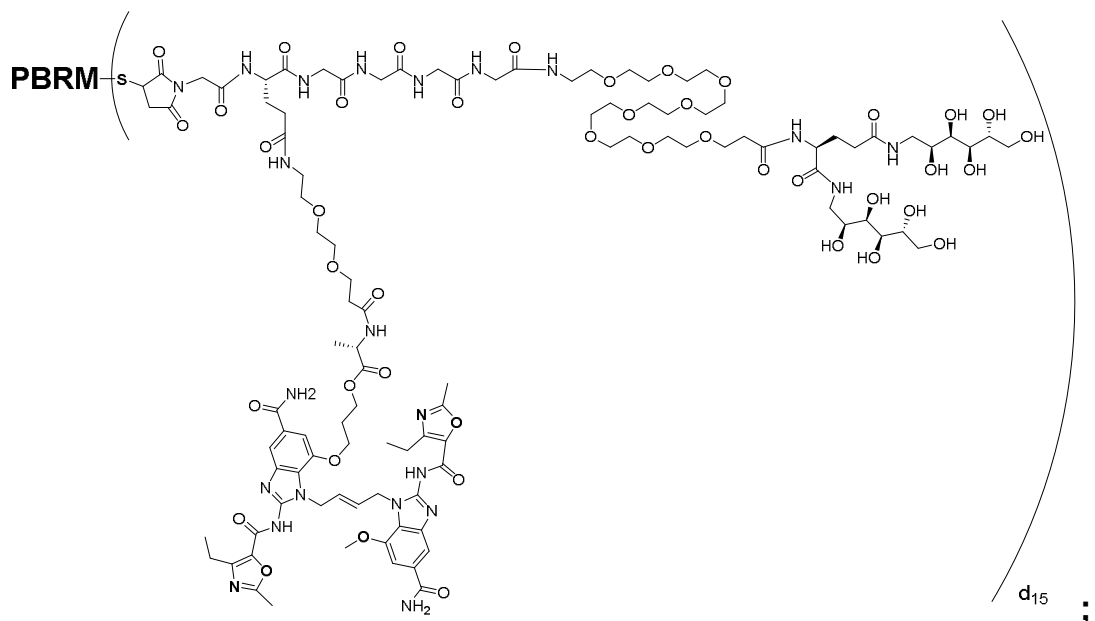
Ex No.	Comp No.	Estrutura

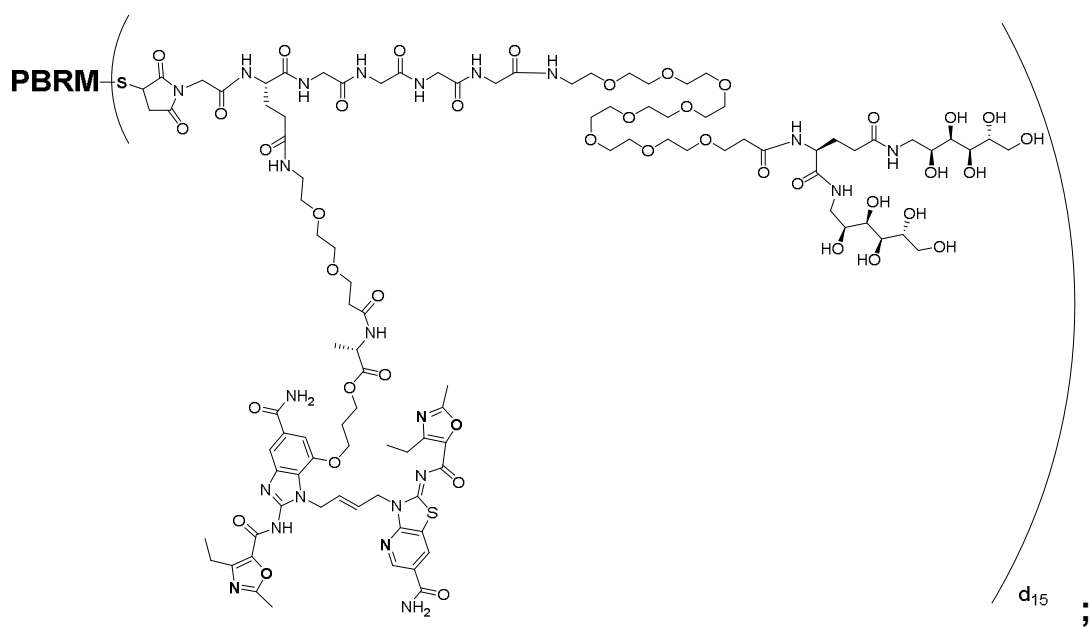
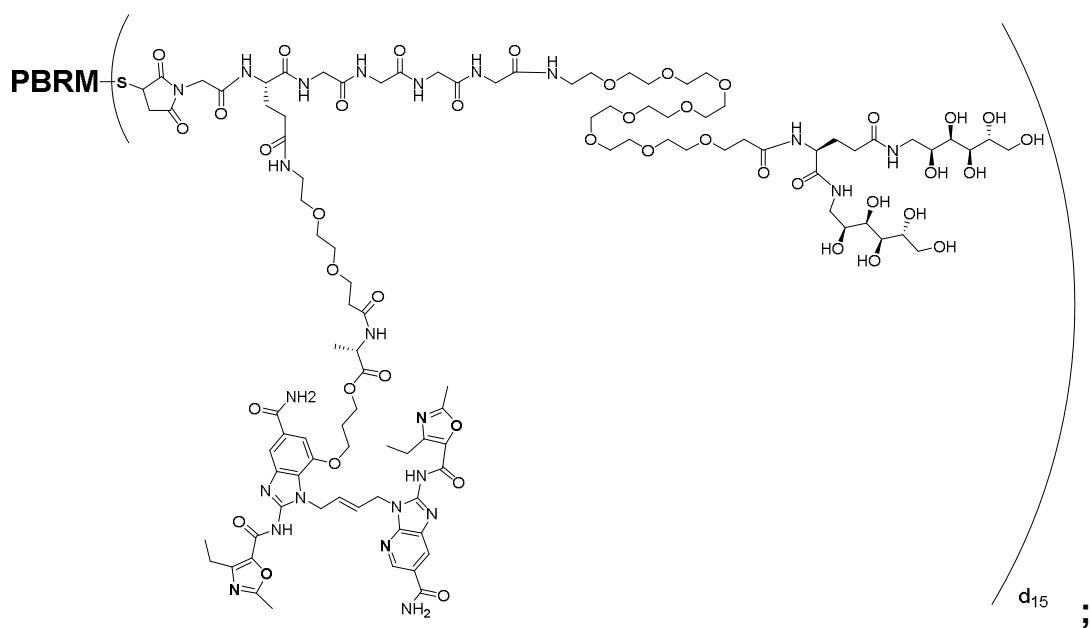
[00424] Em algumas modalidades, o conjugado é:

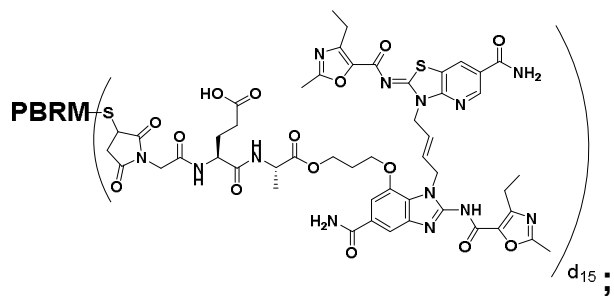
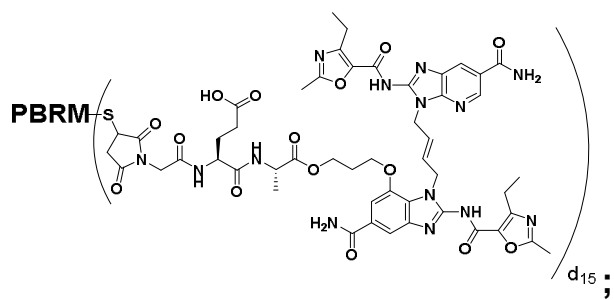
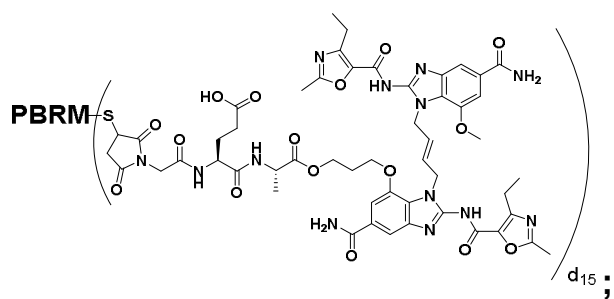
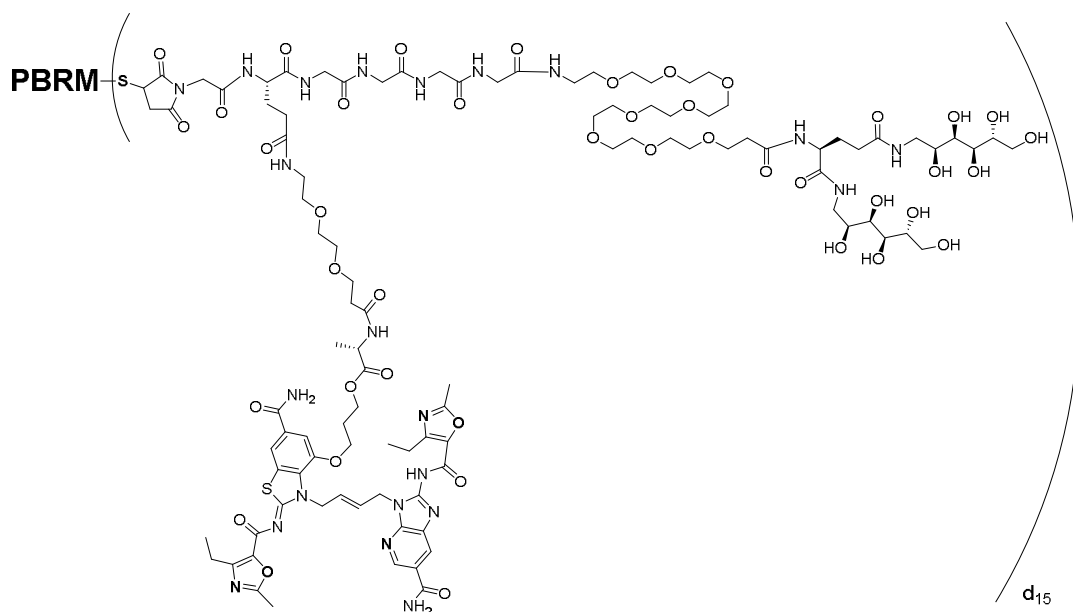


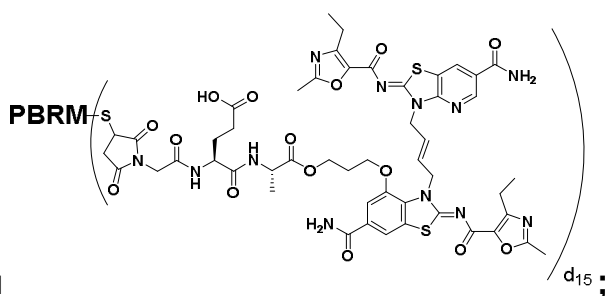
em que d_{15} , R^{14} , R^{15} , R^{16} , R^{17} , R^{18} , R^{19} , R^{C1} , R^{C2} , X_3 , X_4 , X_6 , X_1 , W_1 , Y_1 , Z_1 , X_2 , W_2 , Y_2 , Z_2 , são como definidos aqui.

[00425] Em algumas modalidades, o conjugado é:









ou

em que d_{15} é como aqui definido.

Composições Farmacêuticas

[00426] Em alguns aspectos, a presente descrição fornece composições farmacêuticas que compreendem um conjugado aqui descrito e um ou mais veículos ou excipientes farmaceuticamente aceitáveis.

[00427] As composições farmacêuticas contendo conjugados da presente descrição podem ser fabricadas de uma maneira que é geralmente conhecida, por exemplo, por meio de processos convencionais de mistura, dissolução, granulação, fabricação de drágeas, levigação, emulsificação, encapsulamento, aprisionamento ou liofilização. As composições farmacêuticas podem ser formuladas de maneira convencional usando um ou mais veículos farmaceuticamente aceitáveis que compreendem excipientes e/ou auxiliares que facilitam o processamento dos conjugados em preparações que podem ser usadas farmaceuticamente. É claro, a formulação apropriada depende da via de administração escolhida.

[00428] As composições farmacêuticas adequadas para uso injetável incluem soluções aquosas estéreis (quando solúveis em água) ou dispersões e pós estéreis para a preparação extemporânea de soluções ou dispersões injetáveis estéreis. Para administração intravenosa, veículos adequados incluem salina fisiológico, água bacteriostática, Cremophor EL™ (BASF, Parsippany, NJ) ou solução salina tamponada com fosfato (PBS). Em todos os casos, a composição deve ser estéril e deve ser fluida na medida em que exista uma fácil seringabilidade. Deve ser estável nas condições de fabricação e armazenamento e

deve ser preservada contra a ação contaminante de microrganismos tais como bactérias e fungos. O veículo pode ser um solvente ou meio de dispersão contendo, por exemplo, água, etanol, poliol (por exemplo, glicerol, propileno glicol e polietileno glicol líquido e semelhantes) e suas misturas adequadas. A fluidez adequada pode ser mantida, por exemplo, pelo uso de um revestimento tal como a lecitina, pela manutenção do tamanho de partícula necessário no caso de dispersão e pelo uso de tensoativos. A prevenção da ação de microrganismos pode ser alcançada por vários agentes antibacterianos e antifúngicos, por exemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timersal e semelhantes. Em muitos casos, será preferível incluir na composição agentes isotônicos, por exemplo, açúcares, poliálcoois tais como manitol e sorbitol e cloreto de sódio. A absorção prolongada das composições injetáveis pode ser conseguida incluindo na composição um agente que retarda a absorção, por exemplo, monoestearato de alumínio e gelatina.

[00429] As soluções injetáveis estéreis podem ser preparadas pela incorporação dos conjugados na quantidade necessária em um solvente apropriado com um ou uma combinação dos ingredientes enumerados acima, conforme necessário, seguido de esterilização por filtração. Geralmente, as dispersões são preparadas incorporando os conjugados em um veículo estéril que contém um meio de dispersão básico e os outros ingredientes necessários daqueles enumerados acima. No caso de pós estéreis para a preparação de soluções injetáveis estéreis, os métodos de preparação são secagem a vácuo e liofilização que produz um pó do ingrediente ativo mais qualquer ingrediente adicional desejado a partir de uma solução previamente esterilizada por filtração do mesmo.

[00430] As composições orais geralmente incluem um diluente inerte ou um veículo comestível farmacologicamente aceitável. Elas podem

ser colocados em cápsulas de gelatina ou prensadas em comprimidos. Para fins de administração terapêutica oral, os conjugados podem ser incorporados com excipientes e usados na forma de comprimidos, drágeas ou cápsulas. As composições orais também podem ser preparadas usando um veículo fluido para uso como enxaguante bucal, em que os conjugados no veículo fluido são aplicados oralmente e aspirados e expectorados ou deglutidos. Agentes de ligação farmacêutica-mente compatíveis e/ou materiais adjuvantes podem ser incluídos como parte da composição. Os comprimidos, pílulas, cápsulas, pastilhas e semelhantes podem conter qualquer um dos seguintes ingredientes, ou compostos de natureza semelhante: um aglutinante tal como celulose microcristalina, goma de tragacanto ou gelatina; um excipiente tal como amido ou lactose, um agente desintegrante tal como ácido algínico, Primogel ou amido de milho; um lubrificante tal como estearato de magnésio ou Sterotes; um deslizante tal como dióxido de silício coloidal; um agente edulcorante tal como sacarose ou sacarina; ou um agente aromatizante tal como hortelã-pimenta, salicilato de metila ou aromatizante de laranja.

[00431] Para administração por inalação, os conjugados são distribuídos na forma de um spray aerossol de um recipiente ou dispensador pressurizado, que contém um propulsor adequado, por exemplo, um gás tal como dióxido de carbono ou um nebulizador.

[00432] A administração sistêmica também pode ser por via transmucosa ou transdérmica. Para administração transmucosa ou transdérmica, penetrantes apropriados para a barreira a ser permeada são usados na formulação. Tais penetrantes são geralmente conhecidos na técnica e incluem, por exemplo, para administração transmucosa, detergentes, sais biliares e derivados de ácido fusídico. A administração transmucosa pode ser realizada através do uso de sprays nasais ou supositórios. Para administração transdérmica, os conjugados são

formulados em unguentos, pomadas, géis ou cremes como geralmente conhecido na técnica.

[00433] Os conjugados podem ser preparados com veículos farmacêuticamente aceitáveis que protegerão os conjugados contra a eliminação rápida do corpo, como uma formulação de liberação controlada, incluindo implantes e sistemas de liberação microencapsulados. Polímeros biodegradáveis e biocompatíveis podem ser usados, tal como acetato de vinil etileno, polianidridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres e ácido polilático. Os métodos para a preparação de tais formulações serão evidentes para aqueles versados na técnica.

[00434] Pode ser especialmente vantajoso formular composições orais ou parenterais em forma de unidade de dosagem para facilidade de administração e uniformidade de dosagem. A forma de unidade de dosagem como aqui utilizada se refere a unidades fisicamente discretas adequadas como dosagens unitárias para o indivíduo a ser tratado; cada unidade contendo uma quantidade predeterminada de conjugados pode ser calculada para produzir o efeito terapêutico desejado em associação com o veículo farmacêutico necessário. A especificação para as formas unitárias de dosagem da descrição é ditada e diretamente dependente das características únicas dos conjugados e do efeito terapêutico particular a ser alcançado.

[00435] Em aplicações terapêuticas, as dosagens das composições farmacêuticas utilizadas de acordo com a descrição variam dependendo do agente, idade, peso, e condição clínica do paciente receptor, e a experiência e julgamento do clínico ou profissional que administra a terapia, entre outros fatores que afetam a dosagem selecionada. Geralmente, a dose deve ser suficiente para resultar no abrandamento, e preferivelmente na regressão dos sintomas da doença e também preferivelmente causando a regressão completa da doença.

[00436] É entendido que as composições farmacêuticas podem ser

incluídas em um recipiente, embalagem ou dispensador juntamente com instruções para administração.

Métodos de Uso

[00437] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um método de tratamento ou prevenção de uma doença ou distúrbio em um indivíduo necessitado, compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um conjugado aqui descrito.

[00438] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um método de tratamento de uma doença ou distúrbio em um indivíduo necessitado, compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz de um conjugado aqui descrito

[00439] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um método para ativar ou potencializar uma atividade de um STING em um indivíduo, compreendendo administrar ao indivíduo um conjugado aqui descrito.

[00440] Em algumas modalidades, a presente descrição se refere a um método de tratamento de um câncer em um indivíduo necessitado, compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficaz de um conjugado aqui descrito.

[00441] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um conjugado aqui descrito para uso no tratamento ou prevenção de uma doença ou distúrbio em um indivíduo necessitado.

[00442] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um conjugado aqui descrito para uso no tratamento de uma doença ou distúrbio em um indivíduo necessitado.

[00443] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um conjugado aqui descrito para o tratamento de uma doença ou distúrbio mediado por STING em um indivíduo.

[00444] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece o

uso de um conjugado aqui descrito para o tratamento de um câncer em um indivíduo necessitado.

[00445] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece o uso de um conjugado aqui descrito na fabricação de um medicamento para o tratamento de uma doença ou distúrbio em um indivíduo necessitado.

[00446] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece o uso de um conjugado aqui descrito na fabricação de um medicamento para tratar ou prevenir uma doença ou distúrbio em um indivíduo necessitado.

[00447] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece o uso de um conjugado aqui descrito na fabricação de um medicamento para o tratamento de uma doença ou distúrbio mediado por STING em um indivíduo.

[00448] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece o uso de um conjugado aqui descrito na fabricação de um medicamento para o tratamento de um câncer em um indivíduo necessitado.

[00449] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece o uso de um conjugado aqui descrito para o tratamento ou prevenção de uma doença ou distúrbio em um indivíduo em necessidade do mesmo.

[00450] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece o uso de um conjugado aqui descrito para o tratamento de uma doença ou distúrbio em um indivíduo necessitado.

[00451] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece o uso de um conjugado aqui descrito para o tratamento de uma doença ou distúrbio mediado por STING em um indivíduo.

[00452] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece o uso de um conjugado aqui descrito para tratamento de um câncer em um indivíduo necessitado.

[00453] Em algumas modalidades, o conjugado aqui descrito é ad-

ministrado ao indivíduo.

[00454] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um método de tratamento ou prevenção de uma doença ou distúrbio em um indivíduo necessitado, compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficiente de pelo menos um conjugado da descrição; em que o referido conjugado libera um ou mais agentes terapêuticos depois da biodegradação.

[00455] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um método de tratamento de uma doença ou distúrbio em um indivíduo necessitado, compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade eficiente de pelo menos um conjugado da descrição; em que o referido conjugado libera um ou mais agentes terapêuticos depois da biodegradação.

[00456] Em algumas modalidades, na presente descrição, o conjugado é um conjugado anticorpo-agonista STING. Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é câncer.

[00457] Em algumas modalidades, a descrição fornece métodos de tratamento ou prevenção de doenças e distúrbios mediados por STING. Doenças/distúrbios exemplificadores incluem, mas não estão limitados a câncer, doença infecciosa (por exemplo, HIV, HBV, HCV, HPV e influenza) e adjuvante de vacina.

[00458] Em algumas modalidades, a via de STING pode induzir imunidade antitumoral regulando positivamente os genes estimulados por IFN β e interferon (IFN) (ISGs) em muitos tipos de células dentro de tumores em resposta a ácidos nucleicos citosólicos agonísticos.

[00459] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece um conjugado aqui descrito para uso como adjuvante de vacina. Portanto, também é fornecida uma composição imunogênica ou adjuvante de vacina que compreende um conjugado aqui descrito.

[00460] Em algumas modalidades, é fornecida uma composição

que compreende um conjugado aqui descrito e um ou mais agentes imunoestimuladores.

[00461] Em algumas modalidades, a presente descrição fornece o uso de um conjugado aqui descrito, na fabricação de uma vacina. Em algumas modalidades, a presente descrição fornece o uso de um conjugado aqui descrito, para a fabricação de uma composição imunogênica ou uma composição de vacina que compreende um antígeno ou composição antigênica, para o tratamento ou prevenção de doenças.

[00462] Em algumas modalidades, a descrição é direcionada a um método de tratamento ou prevenção de doenças compreendendo a administração a um indivíduo humano que sofre de ou é suscetível a doença, uma composição imunogênica ou uma composição de vacina que compreende um antígeno ou composição antigênica e um conjugado aqui descrito.

[00463] Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é uma inflamação, uma doença autoimune, uma doença alérgica, uma doença infecciosa, uma infecção por HIV, uma infecção por AIDS, uma infecção por HCV, influenza ou uma infecção por papilomavírus humano (HPV). O escopo das doenças será prontamente reconhecido por um especialista na área. Em algumas modalidades, essas doenças estão descritas no Pedido PCT No. PCT/US2020/044538, cujo conteúdo está aqui incorporado por referência em sua totalidade.

[00464] Conforme usadas aqui, as expressões "câncer", "neoplasia" e "tumor" são usadas alternativamente e tanto no singular quanto no plural, se referem às células que tenham sofrido uma transformação maligna que as torna patológicas para o organismo hospedeiro. Células de cancer primário podem ser prontamente distinguidas de células não cancerosas por técnicas bem estabelecidas, particularmente exame histológico. A definição de uma célula de câncer, como usada aqui, inclui não apenas uma célula de cancer primário, mas qualquer célula

derivada de uma célula de câncer ancestral. Quando é feita referência a um tipo de câncer que normalmente se manifesta como um tumor sólido, um tumor "cl clinicamente detectável" é aquele que é detectável com base na massa do tumor; por exemplo, pelos procedimentos tais como tomografia computadorizada (CT), ressonância magnética (MRI), raios-X, ultrassom ou palpação no exame físico e/ou que é detectável devido à expressão de um ou mais antígenos específicos do câncer em uma amostra obtida de um paciente. Os tumores podem ser um câncer hematopoiético (ou hematológico ou relacionado ao sangue), por exemplo, cânceres derivados de células sanguíneas ou células imunes, que podem ser referidos como "tumores líquidos". Exemplos específicos de condições clínicas baseadas em tumores hematológicos incluem leucemias, tais como leucemia mielocítica crônica, leucemia mielocítica aguda, leucemia linfocítica crônica e leucemia linfocítica aguda; malignidades de células plasmáticas tais como mieloma múltiplo, MGUS e macroglobulinemia de Waldenstrom; linfomas tais como linfoma não-Hodgkin, linfoma de Hodgkin; e semelhantes.

[00465] Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é uma síndrome pré-cancerosa.

[00466] O conjugado da presente descrição pode ser usado para tratar a inflamação de qualquer tecido e órgão do corpo, incluindo inflamação musculoesquelética, inflamação vascular, inflamação neural, inflamação do sistema digestivo, inflamação ocular, inflamação do sistema reprodutivo e outras inflamações. O escopo das doenças será prontamente reconhecido por um especialista na área. Em algumas modalidades, essas doenças são descritas no Pedido PCT No. PCT/US2020/044538, cujo conteúdo está aqui incorporado por referência em sua totalidade.

[00467] Exemplos de doenças e condições de câncer em que o conjugado da presente descrição pode ter efeitos antitumorais poten-

cialmente benéficos incluem, mas não estão limitados a, câncer de pulmão, osso, pâncreas, pele, cabeça, pescoço, útero, ovários, estômago, cólon, mama, esôfago, biliar, intestino delgado, intestino, sistema endócrino, glândula tireoide, glândula paratireóide, glândula adrenal, uretra, próstata, pênis, testículos, ureter ou urotelial, bexiga, rim ou fígado; câncer retal; câncer da região anal; carcinomas das trompas de Falópio, endométrio, colo do útero, vagina, vulva, pelve renal, células renais; sarcoma de tecidos moles; mixoma; rhabdomioma; fibroma; lipoma; teratoma; colangiocarcinoma; hepatoblastoma; angiossarcoma; hemangioma; hepatoma; fibrossarcoma; condrossarcoma; mieloma; leucemia crônica ou aguda; linfomas linfocíticos; linfoma primário do SNC; neoplasias do SNC; tumores do eixo espinhal; carcinomas de células escamosas; sarcoma sinovial; mesoteliomas pleurais malignos; glioma do tronco cerebral; adenoma pituitário; adenoma brônquico; hamartoma condromatoso; mesotelioma; Doença de Hodgkin ou uma combinação de um ou mais dos cânceres anteriores.

[00468] Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é um tumor sólido. Em um aspecto, o tumor é selecionado entre câncer de cabeça e pescoço, câncer gástrico, melanoma, carcinoma de células renais (RCC), câncer de esôfago, câncer biliar, carcinoma de pulmão de células não pequenas (NSCLC), câncer de próstata, câncer colorretal (CRC), câncer do cólon, câncer do ovário, câncer do endométrio, câncer urotelial, câncer do colo do útero, câncer da bexiga, cancro da tireoide papilar, cancro das células renais papilares, colangiocarcinoma, câncer do ducto salivar, câncer do rim, câncer do colo do útero e câncer de pâncreas. Em algumas modalidades, o humano tem um tumor líquido, tal como linfoma difuso de células B grandes (DLBCL), mieloma múltiplo, leucemia linfoblástica crônica (CLL), linfoma folicular, leucemia mielóide aguda, e leucemia mielóide crônica. Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é um câncer de pele (por exemplo,

câncer de pele não melanoma, carcinoma de células escamosas, carcinoma de células basais) ou ceratose actínica. Além de um efeito de campo para limpar cânceres de pele superficiais, o conjugado da presente descrição pode prevenir o desenvolvimento de cânceres de pele subsequentes e queratose actínica pré-maligna em indivíduos tratados.

[00469] Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é câncer de bexiga, câncer de mama, câncer colorretal, câncer de cólon, câncer de endométrio, câncer gástrico, câncer de esôfago, câncer biliar, câncer urotelial, carcinoma escamoso de cabeça e pescoço, melanoma, câncer não pequeno câncer de pulmão celular, câncer de ovário ou câncer de pâncreas. Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é câncer de mama, câncer gástrico, câncer colorretal, câncer de cólon, câncer de esôfago, câncer biliar, câncer endometrial, câncer urotelial ou câncer de pulmão de células não pequenas.

[00470] Em algumas modalidades, o câncer de mama é câncer de mama com amplificado/superexpresso ou câncer de mama com HER2 baixo.

[00471] Em algumas modalidades, o câncer endometrial é câncer endometrial seroso.

[00472] O conjugado da presente descrição também pode ser útil no tratamento de uma ou mais doenças que afligem mamíferos que são caracterizadas por proliferação celular na área de distúrbios associados à neovascularização e/ou permeabilidade vascular, distúrbios fibróticos e distúrbios metabólicos distúrbios. O escopo das doenças será prontamente reconhecido por aquele especialista na área. Em algumas modalidades, essas doenças são descritas no Pedido PCT N° PCT/US2020/044538, cujo conteúdo está aqui incorporado por referência em sua totalidade.

[00473] Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é uma do-

ença neurodegenerativa. Exemplos de doenças neurodegenerativas incluem, mas não estão limitados a esclerose múltipla, doença de Huntington, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, esclerose lateral amiotrófica (ELA). O escopo das doenças será prontamente reconhecido por um especialista na área. Em algumas modalidades, essas doenças são como descritas nos Pedidos Provisórios US Nos. 62/882.081, 62/944.643 e 62/982.935, cujos conteúdos estão aqui incorporados por referência em sua totalidade.

[00474] Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é uma doença infecciosa, que é qualquer doença instigada por ou coincidente com uma infecção por um patógeno, derivada de bactérias, derivada das famílias de vírus DNA ou famílias de vírus RNA. O escopo das doenças será prontamente reconhecido por um especialista na área. Em algumas modalidades, essas doenças são descritas no Pedido PCT No. PCT/US2020/044538, cujo conteúdo está aqui incorporado por referência em sua totalidade.

[00475] Os conjugados da presente descrição podem ser empregados sozinhos ou em combinação com outros agentes terapêuticos. Como moduladores da resposta imune, os conjugados da presente descrição também podem ser usados em monoterapia ou em combinação com outro agente terapêutico no tratamento de doenças e condições em que a modulação de STING é benéfica. As terapias de combinação de acordo com a presente descrição compreendem assim a administração de um conjugado da presente descrição ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo e pelo menos um outro agente terapeuticamente ativo. Em algumas modalidades, terapias de combinação de acordo com a presente descrição compreendem a administração de pelo menos um conjugado da presente descrição ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo e pelo menos um outro agente terapêutico. Os conjugados da presente descrição e seus sais farma-

ceuticamente aceitáveis, e os outros agentes terapêuticos podem ser administrados juntos em uma única composição farmacêutica ou separadamente e, quando administrados separadamente, isso pode ocorrer simultaneamente ou sequencialmente em qualquer ordem. As quantidades do(s) conjugado(s) da presente descrição e seus sais farmacêuticamente aceitáveis, e os outros agentes terapêuticos e os tempos relativos de administração serão selecionados para alcançar o efeito terapêutico combinado desejado. Assim, em um aspecto adicional, é fornecida uma combinação que compreende um conjugado da presente descrição ou um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo, juntamente com um ou mais outros agentes terapêuticos.

[00476] O conjugado da presente descrição e seus sais farmacêuticamente aceitáveis podem ser usados em combinação com um ou mais outros agentes terapêuticos que podem ser úteis na prevenção ou tratamento de doenças alérgicas, doenças inflamatórias ou doenças autoimunes, por exemplo; imunoterapia antigênica, anti-histamínicos, esteróides, NSAIDs, broncodilatadores, metotrexate, moduladores de leucotrienos, terapia com anticorpos monoclonais, terapias com receptores ou imunoterapias não específicas com antígeno.

[00477] O conjugado da presente descrição e seus sais farmacêuticamente aceitáveis podem ser usados em combinação com radioterapia e/ou cirurgia e/ou pelo menos um outro agente terapêutico que pode ser útil no tratamento de câncer e síndromes pré-cancerosas. Qualquer agente antineoplásico, antimicrotúbulo, agente antimitótico, hormônio, inibidor da via de transdução de sinal de análogos hormonais, proteína tirosina quinase ou agente terapêutico antiangiogênico, pode ser utilizado na combinação. O escopo dos outros agentes terapêuticos será prontamente reconhecido por um especialista na área. Em algumas modalidades, o outro agente terapêutico é conforme des-

crito no Pedido PCT N° PCT/US2020/044538, cujo conteúdo é aqui incorporado por referência em sua totalidade.

[00478] Agentes usados em regimes imunoterapêuticos, agentes terapêuticos usados em regimes pró-apoptóticos ou inibidores de sinalização do ciclo celular também podem ser úteis em combinação com o conjugado da presente descrição.

[00479] Em algumas modalidades, a combinação da presente descrição compreende um conjugado da presente descrição ou um sal, particularmente um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, e pelo menos um agente antineoplásico, antimicrotúbulo, agente antimitótico, hormônio, análogos hormonais inibidores da via de transdução de sinal, proteína tirosina quinase ou agente terapêutico antiangiogênico, ou uma combinação destes.

[00480] Exemplos adicionais de outros agentes terapêuticos (por exemplo, agente antineoplásico) para uso em combinação ou coadministrado com um conjugado da presente descrição ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo são imunomoduladores.

[00481] Em algumas modalidades, a combinação da presente descrição compreende um conjugado da presente descrição ou um sal, particularmente um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, e pelo menos um imunomodulador ou pelo menos um agente imunoestimulador.

[00482] Tal como aqui utilizado, "imunomoduladores" se referem a qualquer substância incluindo anticorpos monoclonais que afetem o sistema imunológico. Os imunomoduladores podem ser usados como agentes antineoplásicos para o tratamento do câncer. Por exemplo, os imunomoduladores incluem, mas não estão limitados a, anticorpos anti-CTLA-4 e anticorpos anti-PD-1. Outros imunomoduladores incluem, mas não estão limitados a, anticorpos para ICOS, anticorpos para OX-40, anticorpos para PD-L1, anticorpos para LAG3, anticorpos para

TIM-3, anticorpos para 41BB e anticorpos para GITR.

[00483] Exemplos adicionais de outros agentes terapêuticos (agente antineoplásico) para uso em combinação ou coadministrados com um conjugado da presente descrição são agentes anti-PD-L1 (ou seja, anticorpos anti-PD-L1) ou antagonistas de PD-1.

[00484] Assim, em algumas modalidades, são fornecidos métodos de tratamento de um humano necessitado compreendendo a administração de um conjugado da presente descrição ou um sal do mesmo e pelo menos um imunomodulador. Em algumas modalidades, o imunomodulador é selecionado entre um anticorpo agonista de ICOS, um anticorpo para OX-40 e um anticorpo para PD-1. Em algumas modalidades, o humano tem câncer. Também é fornecido aqui o uso de um conjugado da presente descrição ou um sal do mesmo em combinação com pelo menos um imunomodulador para o tratamento de um humano necessitado.

[00485] Como usado aqui, "agente imunoestimulador" se refere a qualquer agente que possa estimular o sistema imunológico. Como usado aqui, os agentes imunoestimuladores incluem, mas não estão limitados a adjuvantes de vacina, tais como agonistas de receptores do tipo Toll, bloqueadores de checkpoint de células T, tais como mAbs para PD-1 e CTL4 e agonista de checkpoint de células T, tais como mAbs agonistas para OX-40 e ICOS. Como usado aqui, "agente imunoestimulador" se refere a qualquer agente que possa estimular o sistema imunológico. Como usado aqui, os agentes imunoestimuladores incluem, mas não estão limitados a, adjuvantes de vacina.

[00486] A expressão "receptor do tipo Toll" (ou "TLR"), como usada aqui, se refere a um membro da família de proteínas receptoras do tipo Toll ou seu fragmento que detecta um produto microbiano e/ou inicia uma resposta imune adaptativa. Em algumas modalidades, um TLR ativa uma célula dendrítica (DC). Os receptores do tipo Toll (TLRs) são

uma família de receptores de reconhecimento de padrões que foram inicialmente identificados como sensores do sistema imunológico inato que reconhecem patógenos microbianos. Os TLRs reconhecem estruturas distintas em micróbios, muitas vezes referidas como "PAMPs" (padrões moleculares associados a patógenos). A ligação do ligante a TLRs invoca uma cascata de vias de sinalização intracelular que induzem a produção de fatores envolvidos na inflamação e imunidade.

[00487] Em algumas modalidades, o agente imunoestimulador para uso em combinação com o conjugado da presente descrição é um agonista de TLR4.

[00488] Assim, em algumas modalidades, são fornecidos métodos de tratamento de um humano necessitado compreendendo administrar um conjugado da presente descrição ou um sal do mesmo e pelo menos um agente imunoestimulador. Em algumas modalidades, o agente imunoestimulador é um agonista de TLR4. Em algumas modalidades, o agente imunoestimulador é um AGP. Em algumas modalidades, o humano tem câncer. Também é fornecido aqui a utilização de um conjugado da presente descrição ou seu sal em combinação com pelo menos um agente imunoestimulador para o tratamento de um humano necessitado.

[00489] Além dos agentes imunoestimuladores descritos acima, as composições da presente descrição podem ainda compreender outros agentes terapêuticos que, devido à sua natureza adjuvante, pode atuar para estimular o sistema imunológico a responder aos antígenos de câncer presentes nas células de tumor inativadas. Tais adjuvantes incluem, mas não estão limitados a lipídios, lipossomas, bactérias inativadas que induzem a imunidade inata (por exemplo, *Listeria monocytogenes* inativada ou atenuada), composições que medeiam a ativação da via imune inata, receptores do tipo (NOD) (NLRs), receptores do tipo (RIG)-I (RLRs) baseados em gene induzível por ácido retiboico

e/ou receptores de lectina tipo C (CLRs).

[00490] Devido às suas qualidades adjuvantes, os agonistas de TLR podem ser usados em combinações com outras vacinas, adjuvantes e/ou moduladores imunológicos e podem ser combinados em várias combinações. Em algumas modalidades, o conjugado da presente descrição se liga a STING e induz a ativação de TBK1 dependente de STING e uma célula tumoral inativada que expressa e secreta uma ou mais citocinas que estimulam a indução, recrutamento e/ou maturação de DC, como aqui descrito, pode ser administrado em conjunto com um ou mais agonistas de TLR para fins terapêuticos.

[00491] Outros ingredientes ativos (agentes antineoplásicos) para uso em combinação ou coadministrados com o conjugado da presente descrição são inibidores de IDO.

[00492] Em algumas modalidades, o conjugado da descrição pode ser empregado em combinação com pelo menos um outro agente terapêutico útil na prevenção ou tratamento de doenças infecciosas, infecções bacterianas, infecções virais, infecções por herpesvírus associado ao sarcoma de Kaposi, infecções por TB, clamídia, infecção por Plasmodium, infecções por estafilococos, esclerose lateral amiotrófica (ELA), esclerose múltipla, lúpus eritematoso sistêmico e distúrbios relacionados ao lúpus, psoríase ou síndrome de Sjogren.

[00493] Os conjugados da descrição podem ser administrados por qualquer via de administração adequada, incluindo administração sistêmica e administração tópica. A administração sistêmica inclui administração oral, administração parenteral, administração transdérmica, administração retal e administração por inalação. A administração parentérica se refere a vias de administração diferentes da enteral, transdérmica ou por inalação, e é tipicamente por injeção ou infusão. A administração parenteral inclui injeção ou infusão intravenosa, intramuscular e subcutânea. A inalação se refere à administração nos pul-

mões do paciente inalados pela boca ou pelas fossas nasais. A administração tópica inclui a aplicação na pele.

[00494] Além das vias de administração descritas acima adequadas para tratamento em oncologia, as composições farmacêuticas podem ser adaptadas para administração por injeção intratumoral ou peritumoral. É esperado que a injeção intratumoral ou peritumoral de um conjugado da presente descrição diretamente em ou adjacente a um único tumor sólido desencadeie uma resposta imune que pode atacar e destruir células de câncer em todo o corpo, reduzindo substancialmente e em alguns casos eliminando permanentemente o tumor de o indivíduo doente. A ativação do sistema imunológico dessa maneira para matar tumores em um sítio remoto é comumente conhecida como efeito abscopal e foi demonstrada em animais com múltiplas modalidades terapêuticas. Uma vantagem adicional da administração local ou intratumoral ou peritumoral é a capacidade de obter eficácia equivalente em doses muito mais baixas, minimizando ou eliminando eventos adversos que podem ser observados em doses sistêmicas muito mais altas.

[00495] Os conjugados da descrição podem ser administrados uma vez ou de acordo com um regime de dosagem em que várias doses são administradas em vários intervalos de tempo por um determinado período de tempo. Por exemplo, as doses podem ser administradas uma, duas, três ou quatro vezes por dia. As doses podem ser administradas até que o efeito terapêutico desejado seja alcançado ou indefinidamente para manter o efeito terapêutico desejado. Regimes de dosagem adequados para um conjugado da descrição dependem das propriedades farmacocinéticas desse conjugado, tais como absorção, distribuição e meia-vida, que podem ser determinadas por aquele versado na técnica. Além disso, regimes de dosagem adequados, incluindo a duração em que tais regimes são administrados, para um conju-

gado da descrição dependem da doença ou distúrbio a ser tratado, da gravidade da doença ou distúrbio a ser tratado, da idade e condição física do paciente a ser tratado, do histórico médico do paciente a ser tratado, da natureza da terapia concomitante, do efeito terapêutico desejado e de fatores semelhantes dentro do conhecimento e experiência daquele versado na técnica. Será ainda entendido por aqueles versados na técnica que os regimes de dosagem adequados podem exigir um ajuste dada a resposta individual do paciente ao regime de dosagem ou ao longo do tempo conforme as necessidades individuais do paciente mudam. As dosagens diárias totais variam de 1 mg a 2000 mg, preferivelmente, as dosagens diárias totais variam de 1 mg a 250 mg.

[00496] Para uso em terapia, os conjugados da descrição serão normalmente, mas não necessariamente, formulados em uma composição farmacêutica antes da administração a um paciente. Por conseguinte, a descrição também é direcionada a composições farmacêuticas que compreendem um conjugado da descrição e pelo menos um excipiente farmacêuticamente aceitável.

[00497] As composições farmacêuticas da descrição podem ser preparadas e embaladas na forma a granel ou na forma de dosagem unitária. Para aplicação oral, por exemplo, um ou mais comprimidos ou cápsulas podem ser administrados. Uma dose da composição farmacêutica contém pelo menos uma quantidade terapeuticamente eficaz de um conjugado da presente descrição (ou seja, um conjugado da presente descrição ou um sal, particularmente um sal farmacêuticamente aceitável do mesmo). Quando preparadas na forma de dosagem unitária, as composições farmacêuticas podem conter de 1 mg a 1000 mg de um conjugado da presente descrição.

[00498] Conforme fornecido aqui, as formas de dosagem unitária (composições farmacêuticas) que compreendem de 1 mg a 1000 mg

de um conjugado da descrição podem ser administradas uma, duas, três ou quatro vezes por dia, preferivelmente uma, duas ou três vezes por dia, e mais preferivelmente, uma ou duas vezes por dia, para efetuar o tratamento de uma doença ou distúrbio mediado por STING.

[00499] As composições farmacêuticas da descrição contêm tipicamente um conjugado da descrição. No entanto, em certas modalidades, as composições farmacêuticas da descrição contêm mais do que um conjugado da descrição. Além disso, as composições farmacêuticas da descrição podem opcionalmente compreender ainda um ou mais agentes terapêuticos adicionais (por exemplo, conjugados farmacêuticamente ativos).

[00500] Como usado aqui, "excipiente farmacêuticamente aceitável" se refere a um material, composição ou veículo farmacêuticamente aceitável envolvido em dar forma ou consistência à composição farmacêutica. Cada excipiente deve ser compatível com os outros ingredientes da composição farmacêutica quando misturados, de modo que sejam evitadas interações que reduziriam substancialmente a eficácia do conjugado da descrição quando administrado a um paciente e interações que resultariam em composições farmacêuticas que não são farmacêuticamente aceitáveis. Além disso, cada excipiente deve, obviamente, ser de pureza suficientemente alta para torná-lo farmacêuticamente aceitável.

[00501] Os conjugados da descrição e o excipiente ou excipientes farmacêuticamente aceitáveis serão tipicamente formulados em uma forma de dosagem adaptada para administração ao paciente pela via de administração desejada. As formas de dosagem convencionais incluem aquelas adaptadas para (1) administração oral, tal como comprimidos, cápsulas, drágeas, pílulas, pastilhas, pós, xaropes, elixires, suspensões, soluções, emulsões e sachês; (2) administração parenteral, tal como soluções estéreis, suspensões e pós para reconstituição;

(3) administração transdérmica tal como emplastos transdérmicos; (4) administração retal tal como supositórios; (5) inalação tal como aerossóis e soluções; e (6) administração tópica tal como cremes, pomadas, loções, soluções, pastas, sprays, espumas e géis.

[00502] Excipientes farmacêuticamente aceitáveis adequados irão variar dependendo da forma de dosagem particular escolhida. Além disso, excipientes farmacêuticamente aceitáveis adequados podem ser escolhidos para uma função particular já que eles podem servir na composição. Por exemplo, certos excipientes farmacêuticamente aceitáveis podem ser escolhidos por sua capacidade de facilitar a produção de formas de dosagem uniformes. Certos excipientes farmacêuticamente aceitáveis podem ser escolhidos por sua capacidade de facilitar a produção de formas de dosagem estáveis. Certos excipientes farmacêuticamente aceitáveis podem ser escolhidos por sua capacidade de facilitar o transporte do conjugado ou conjugados da descrição uma vez administrados ao paciente, de um órgão ou parte do corpo para outro órgão ou parte do corpo. Certos excipientes farmacêuticamente aceitáveis podem ser escolhidos por sua capacidade de aumentar a adesão do paciente.

[00503] Excipientes farmacêuticamente aceitáveis adequados incluem os seguintes tipos de excipientes: diluentes, cargas, aglutinantes, desintegrantes, lubrificantes, deslizantes, agentes de granulação, agentes de revestimento, agentes umectantes, solventes, co-solventes, agentes de suspensão, emulsificantes, adoçantes, agentes aromatizantes, agentes de mascaramento de sabor, agentes corantes, agentes anti-aglomerantes, umectantes, agentes quelantes, plastificantes, agentes de aumento de viscosidade, antioxidantes, conservantes, estabilizadores, tensoativos e agentes de tamponamento. Aquele versado na técnica apreciará que certos excipientes farmacêuticamente aceitáveis podem servir a mais de uma função e podem servir a

funções alternativas dependendo de quanto do excipiente está presente na formulação e quais outros ingredientes estão presentes na formulação.

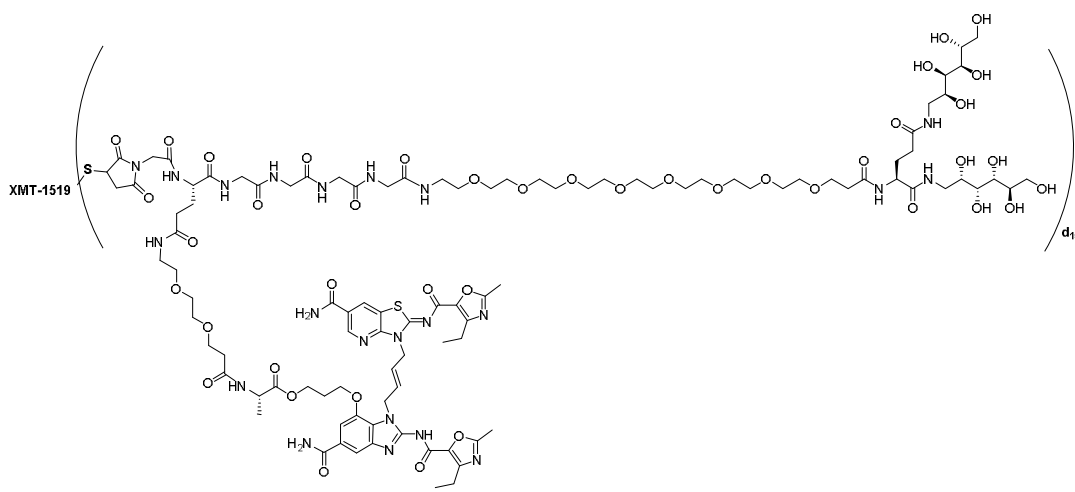
[00504] Aqueles versados na técnica possuem o conhecimento e a habilidade na técnica para capacitá-los a selecionar excipientes farmacologicamente aceitáveis adequados em quantidades apropriadas para uso na descrição. Além disso, há uma série de recursos que estão disponíveis para aquele versado na técnica que descrevem excipientes farmacologicamente aceitáveis e podem ser úteis na seleção de excipientes farmacologicamente aceitáveis adequados. Exemplos incluem Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company), The Handbook of Pharmaceutical Additives (Gower Publishing Limited) e The Handbook of Pharmaceutical Excipients (American Pharmaceutical Association e Pharmaceutical Press).

[00505] Em um aspecto, a descrição é direcionada a uma forma de dosagem oral sólida, tal como um comprimido ou cápsula que compreendem uma quantidade eficaz de um conjugado da descrição e um diluente ou carga. A forma de dosagem sólida oral pode ainda compreender um desintegrante ou um lubrificante.

[00506] Será entendido que os conjugados da presente descrição também podem ser formulados com vacinas como adjuvantes para modular sua atividade. Tais composições podem conter anticorpo (anticorpos) ou fragmento(s) de anticorpo ou um componente antigênico, opcionalmente em conjunto com um ou mais outros componentes com atividade adjuvante.

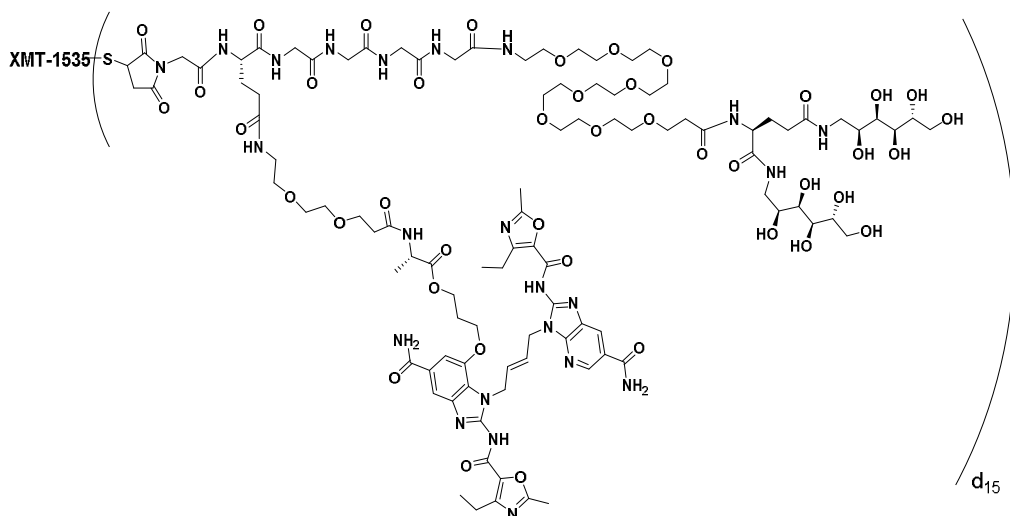
[00507] Certos compostos e/ou conjugados da descrição podem ser imunomoduladores potentes e, conseqüentemente, deve-se ter cuidado em seu manuseio. Depois dessa descrição ter sido feita, os exemplos a seguir são oferecidos a título de ilustração e não de limitação.

[00508] Em algumas modalidades, o conjugado tem a Fórmula BB

**(BB)**

em que o conjugado compreende o anticorpo XMT-1519 que compreende uma região determinante de complementaridade de cadeia pesada variável 1 (CDRH1) que compreende a sequência de aminoácidos FTFSSYSMN (SEQ ID NO: 20); uma região determinante de complementaridade de cadeia pesada variável 2 (CDRH2) que compreende a sequência de aminoácidos YISSSSSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO: 21); uma região variável determinante de complementaridade de cadeia pesada 3 (CDRH3) que compreende a sequência de aminoácidos GGHGYFDL (SEQ ID NO: 22); e uma região variável determinante de complementaridade da cadeia leve 1 (CDRL1) que compreende a sequência de aminoácidos RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 27); uma região variável determinante de complementaridade de cadeia leve 2 (CDRL2) que compreendendo a sequência de aminoácidos GASSRAT (SEQ ID NO: 28); e uma região variável determinante de complementaridade de cadeia leve 3 (CDRL3) que compreende a sequência de aminoácidos QQYHHSPLT (SEQ ID NO: 29) e d₁₅ é cerca de 8.

[00509] Em algumas modalidades, o conjugado tem a Fórmula CC

**(CC)**

em que o conjugado compreende o anticorpo XMT-1535 compreendendo: uma CDRH1 que compreende a sequência de aminoácidos GYTFTGYNIH (SEQ ID NO: 5); uma CDRH2 que compreende a sequência de aminoácidos AIYPGNGDTSYKQKFRG (SEQ ID NO: 6); uma CDRH3 que compreende a sequência de aminoácidos GETA-RATFAY (SEQ ID NO: 7); uma CDRL1 que compreende a sequência de aminoácidos SASQDIGNFLN (SEQ ID NO: 8); uma CDRL2 que compreende a sequência de aminoácidos YTSSLYS (SEQ ID NO: 9); uma CDRL3 que compreende a sequência de aminoácidos QQYSKL-PLT (SEQ ID NO: 10) e d_{15} é de cerca de 8.

[00510] Em algumas modalidades, um conjugado de Fórmula BB ou Fórmula CC é útil para tratar uma doença ou distúrbio em um indivíduo necessitado, compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade terapeuticamente eficaz do conjugado de Fórmula BB ou Fórmula CC. Em algumas modalidades, a doença ou distúrbio é câncer.

[00511] Em algumas modalidades, para o conjugado de Fórmula BB, o câncer é câncer de mama, câncer gástrico, câncer colorretal, câncer de esôfago, câncer biliar, câncer endometrial, câncer urotelial ou câncer de pulmão de células não pequenas. Em algumas modalidades, o câncer de mama é câncer de mama com HER2 amplifica-

do/superexpresso ou câncer de mama com HER2 baixo. Em algumas modalidades, o câncer endometrial é câncer endometrial seroso.

[00512] Em algumas modalidades, o conjugado de Fórmula CC, é útil para o tratamento de um tumor que expressa NaPi2b em um indivíduo necessitado. Em algumas modalidades, o tumor que expressa NaPi2b é câncer de ovário, câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC), câncer papilar de tireoide, câncer de endométrio, colangiocarcinoma, câncer de células renais papilares, câncer renal de células claras, câncer de mama, câncer de rim, câncer de colo do útero ou câncer de ducto salivar.

[00513] Em algumas modalidades, o indivíduo tem câncer epitelial de ovário, câncer de trompa de Falópio, câncer peritoneal primário, câncer de ovário resistente à platina, câncer NSCLC não escamoso, progressivo, refratário a iodo radioativo, doença loco-regional recorrente ou metastática, câncer papilar de tireoide ou câncer epitelial de endométrio.

[00514] Em algumas modalidades, o conjugado de Fórmula BB é útil para tratar uma doença ou distúrbio em um indivíduo necessitado, compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade terapêuticamente eficaz do conjugado de Fórmula BB em combinação com um ou mais agentes terapêuticos. Em algumas modalidades, o agente terapêutico é um agente imunomodulador ou um agente imunoestimulador. Em algumas modalidades, o agente imunomodulador é um anticorpo anti-CTLA-4, um anticorpo anti-PD-1, um anticorpo ICOS, um anticorpo OX-40, um anticorpo PD-L1, um anticorpo LAG3, um anticorpo TIM-3, um anticorpo 41BB ou um anticorpo GITR.

[00515] Em algumas modalidades, o conjugado de Fórmula BB é útil para tratar uma doença ou distúrbio em um indivíduo necessitado, compreendendo administrar ao indivíduo uma quantidade terapêuticamente eficaz do conjugado de Fórmula BB em combinação com um

ou mais anticorpos para HER2 que se ligam a um epítopo de HER2 diferente do anticorpo para HER2 XMT-1519. Em algumas modalidades, o anticorpo para HER2 que se liga a um HER2 diferente do anticorpo HER2 XMT-1519 é Trastuzumabe, pertuzumab, Fab37 ou chA21.

EXEMPLOS

[00516] Os exemplos a seguir ilustram a descrição. Estes exemplos não se destinam a limitar o escopo da presente descrição, mas sim a fornecer orientação para aquele versado na técnica para preparar e usar os Compostos, composições e métodos da presente descrição. Embora modalidades particulares da presente descrição sejam descritas, aquele versado na técnica apreciará que várias mudanças e modificações podem ser feitas sem se afastar do espírito e escopo da descrição.

[00517] Será entendido que certos Compostos da descrição podem ser imunomoduladores potentes e, conseqüentemente, deve-se ter cuidado em seu manuseio.

[00518] As reações aqui descritas são aplicáveis para a produção de Compostos da descrição que possuem uma variedade de diferentes grupos substituintes (por exemplo, R^1 , R^2 , etc.), como definido aqui. Aquele versado na técnica apreciará que, se um substituinte específico não for compatível com os métodos sintéticos descritos aqui, o substituinte pode ser protegido com um grupo protetor adequado que seja estável nas condições de reação. Grupos de proteção adequados e os métodos para proteger e desproteger diferentes substituintes usando tais grupos de proteção adequados são bem conhecidos por aqueles versados na técnica; exemplos dos quais podem ser encontrados em TW Greene 'Protective Groups in Organic Synthesis' (4ª edição, J. Wiley and Sons, 2006). Salvo indicação em contrário, todos os materiais de partida foram obtidos de fornecedores comerciais e

usados sem purificação adicional.

Abreviações

[00519] As seguintes abreviações são usadas nos esquemas de reação e exemplos sintéticos que se seguem. Esta lista não pretende ser uma lista completa de abreviações usadas no pedido como abreviações padronizadas adicionais, que são facilmente compreendidas por aqueles versados na técnica da síntese orgânica, também podem ser usados nos esquemas e exemplos sintéticos.

ACN	Acetonitrila
CDI	1,1'-Carbonildiimidazol
DCC	N,N'-diciclohexilcarbodiimida
DCM	Diclorometano
DIPEA	N,N,-diisopropiletilamina
DMA	Dimetilacetamida
DMF	Dimetilformamida
DMPA	Ácido dimetilolpropiónico
ESI	Ionização por eletropulverização
HATU	Hexafluorofosfato de 2-(1H-7-Azabenzotriazol-1-il)- 1,1,3,3-tetrametiluronio
HIC	Cromatografia de interação hidrofóbica
HOBt	Hidroxibenzotriazol
MeOH	Metanol
SEC	Cromatografia por exclusão de tamanho
TFA	Ácido trifluoracético
THF	Tetraidrofurano
PyBOP	Hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-ilóxi)tripirrolidinofosfônio

Informações Gerais

[00520] Todos os reagentes foram adquiridos de fornecedores relevantes, salvo indicação em contrário.

[00521] O agonista de STING diABZI foi preparado como descrito em Ramanjulu et al (Nature, 564(7736):439-443 (2018)).

[00522] XMT-1535 (anticorpo anti-NaPi2b) está descrito no pedido co-pendente US 15/457.574, depositado em 13 de março de 2017, cujo conteúdo integral está aqui incorporado por referência. XMT-1519 (anticorpo anti-Her2) está descrito em US 9.555.112, publicado em 31 de janeiro de 2017 e US 9.738.720, publicado em 22 de agosto de 2017, cujos conteúdos integrais estão aqui incorporados por referência.

[00523] XMT-1535 AF-HPA ADC, DAR 5.9 e Rituximabe AF-HPA ADC, DAR 5.5, foram preparados conforme descrito no pedido co-pendente US 62/958.916, depositado em 9 de janeiro de 2020 e US 63/040.735, depositado 18 de junho de 2020, cujos conteúdos integrais estão aqui incorporados por referência.

[00524] A purificação por HPLC foi realizada em uma coluna Phenomenex Gemini 5 µm C18110 Å, 250 x 10 mm, semi-preparativa.

[00525] Quando aplicável, o conteúdo de fármaco dos conjugados foi determinado por espectrofotometria, caso contrário RP-HPLC ou LC/MS como realizados para determinação quantitativa do conteúdo de fármaco.

[00526] O conteúdo de proteína dos conjugados anticorpo-fármaco foi determinado por espectrofotometria ou por ELISA.

[00527] Os conjugados de anticorpo-fármaco, arcabouços que contêm o fármaco ou arcabouços de anticorpo foram purificados (ou seja, remoção de fármaco não reagido residual, anticorpo não conjugado, enzimas ou materiais de partida) por diafiltração extensiva, cromatografia CHT ou HIC, conforme necessário. Se necessário, a purificação adicional por SEC ou HIC foi conduzida para remover conjugados de anticorpo-fármaco agregados. Em geral, os conjugados anticorpo-fármaco, conforme purificados, continham <5% (p/p) (por exemplo,

<2% (p/p)) de conjugados anticorpo-fármaco agregados conforme determinado por SEC; <0.5% (p/p) (por exemplo, <0,1% (p/p)) de fármaco livre (não conjugado) conforme determinado por RP-HPLC e/ou LC-MS/MS; <1% (p/p) de conjugado de fármaco livre conforme determinado por SEC e/ou RP-HPLC; e <10% (p/p) (por exemplo, <1% (p/p)) de anticorpo não conjugado ou fragmentos de anticorpo conforme determinado por HIC-HPLC e/ou RP-HPLC. Os anticorpos reduzidos ou parcialmente reduzidos foram preparados usando procedimentos descritos na literatura, veja, por exemplo, Francisco et al., Blood 102 (4): 1458-1465 (2003). A concentração total de fármaco (conjugado e não conjugado) foi determinada por espectrofotometria UV-Vis ou RP-HPLC.

[00528] Para determinar a concentração do fármaco livre em uma amostra biológica, uma amostra acidificada foi tratada com acetonitrila. O fármaco livre foi extraído e o sobrenadante de acetonitrila foi analisado. Para determinar a concentração de agonista de STING conjugado em uma amostra não clínica, a amostra foi submetida a imunocaptura usando esferas magnéticas de anticorpo anti-Fc humano seguida de hidrólise básica exaustiva. O sobrenadante de acetonitrila contendo o fármaco liberado foi analisado por LC-MS/MS. O anticorpo total em amostras não clínicas foi medido usando um imunoensaio MSD ECL.

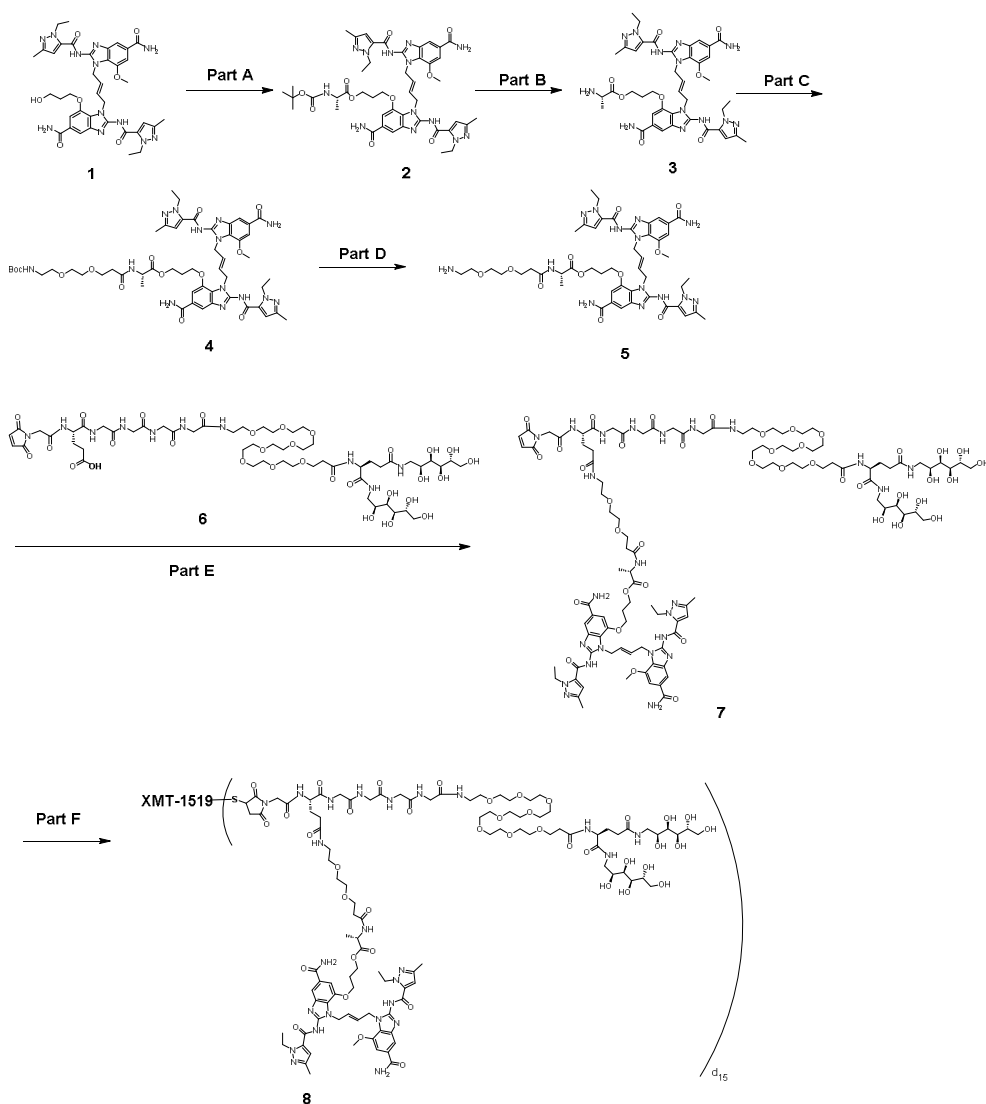
[00529] A análise do fármaco livre foi conduzida por RP-HPLC usando uma coluna C-4 e um gradiente de acetonitrila. As áreas de pico de MRM na espectrometria de massa em tandem foram integradas e comparadas com os padrões de auristatina F (AF) e hidroxipropil amida de auristatina F (AF-HPA). O método é quantitativo para AF-HPA e AF em homogenatos de plasma e tecidos e linear nas faixas de concentração de 0,1 a 150 ng/mL. O fármaco total liberado após hidrólise com NaOH foi medido na mesma condição com a faixa dinâmica entre 1 ng/mL a 5.000 ng/mL. Os padrões de anticorpo total variam

entre 0,009 µg/mL a 20 µg/mL

[00530] A proporção de fármaco para anticorpo (DAR) foi determinada medindo a absorção dos conjugados. O valor de DAR foi calculado usando os coeficientes de extinção molar apropriados do anticorpo e a carga útil do agonista de STING.

[00531] Os tumores foram medidos duas vezes por semana usando paquímetros digitais e os volumes tumorais foram calculados usando a fórmula: volume tumoral (mm³) = (largura² x comprimento)/2. Os pesos corporais foram registrados diariamente na primeira semana e duas vezes por semana posteriormente. Os animais permaneceram em estudo até o volume individual do tumor atingir ≥ 1000 mm³, ≥ 1500 mm³ ou conforme indicado. A alteração percentual no peso corporal foi calculada usando a fórmula: alteração do peso corporal (%) = ((peso ^{<dia do estudo X>} – peso ^{dia do estudo 1})/peso ^{dia do estudo 1}) *100. Os volumes tumorais são relatados como média ± erro padrão da média (SEM). A inibição do crescimento tumoral (%TGI, *tumor growth inhibition*) foi definida como a diferença percentual nos volumes médios do tumor (MTVs) entre os grupos tratado e de controle. O tamanho do tumor foi medido ao longo de cada estudo de eficácia para determinar a inibição do crescimento tumoral (TGI). O percentual de regressão do tumor foi calculada usando a fórmula: % de regressão = (1-(volume médio do tumor^{final})/ (volume médio do tumor ^{dia 1})) *100. Uma resposta parcial (PR) é definida como um volume tumoral de 50% ou menos para o volume do dia 1 para três medições consecutivas e igual ou superior a 13,5 mm³ para pelo menos uma dessas três medições. Uma resposta completa (CR) é definida como um volume tumoral inferior a 13,5 mm³ para três medições consecutivas. Uma sobrevida livre de tumor (TFS) é classificada como tendo uma resposta completa (CR) no final do estudo.

Exemplo 1: Síntese do Conjugado 8 de XMT-1519



[00532] **Parte A:** A uma mistura do Composto **1** (preparado como descrito em WO2017175147A1, 0,5 g, 0,64 mmol), Boc-L-Alanina (0,242 g, 1,28 mmol), DMAP (7,8 mg, 0,064 mmol) e DCC (0,264 g, 1,28 mmol) foi adicionado DMF (2 mL). A suspensão foi agitada por uma noite em temperatura ambiente, depois a solução foi concentrada, e o resíduo foi purificado em gel de sílica (0-40% MeOH em DCM) para dar o Composto **2** como um sólido amarelo claro (0,52 g, 85% de rendimento). ESI-MS m/z Calculado para $C_{46}H_{58}N_{13}O_{10}$ $[M+H]^+$: 952,4; encontrado 952,4.

[00533] **Parte B:** A uma suspensão de Composto **2** (0,52 g, 0,55 mmol) em dioxano (10 mL) foi adicionado 4 N HCl (2 mL, 8,19 mmol). A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 2 h, de-

pois a suspensão foi concentrada e usada sem purificação adicional na próxima etapa. Composto **3** foi obtido como um sólido branco. ESI-MS m/z Calculado para $C_{41}H_{50}N_{13}O_8$ $[M+H]^+$: 852,4; encontrado 852,3.

[00534] **Parte C:** A uma solução de Composto **3** (0,586 g, 0,661 mmol) em DMF (5 mL) foi adicionado ácido 2,2-dimetil-4-oxo-3,8,11-trioxa-5-azatetradecan-14-oico (0,202 g, 0,727 mmol), seguido por DIPEA (0,230 mL, 1,322 mmol). A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 5 min, depois HATU (0,376 g, 0,992 mmol) e HOBt (0,153 g, 0,992 mmol) foram adicionados. A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 2 h. Uma alíquota adicional de DIPEA (0,460 mL, 2,6 mmol) foi adicionada. Depois de mais 1 hora, a mistura de reação foi concentrada como um óleo. O resíduo foi purificado sobre gel de sílica (0-40% MeOH em DCM) para fornecer o Composto **4** (0,9 g, >95% de rendimento) como um sólido branco. ESI-MS m/z Calculado para $C_{53}H_{71}N_{14}O_{13}$ $[M+H]^+$: 1111,5; encontrado 1111,5.

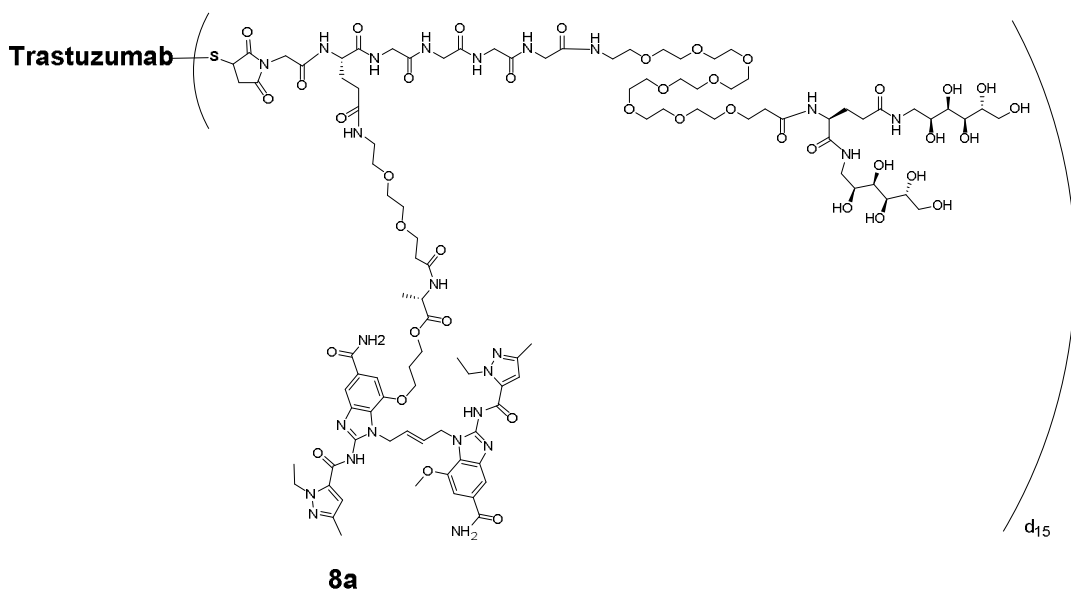
[00535] **Parte D:** A uma suspensão de Composto **4** (0,9 g, 0,810 mmol) em dioxano (10 mL) foi adicionado 4 N HCl (3,04 mL, 12,15 mmol). A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 1,5 h. A suspensão foi concentrada para fornecer o Composto **5** como um sólido incolor (0,56 g, 66,0% de rendimento). ESI-MS Calculado para $C_{48}H_{63}N_{14}O_{11}$ $[M+H]^+$: 1011,5; encontrado 1011,4.

[00536] **Parte E:** A uma solução de Arcabouço **6** (100 mg, 0,072 mmol, preparado como descrito em PCT/US2018/06719) e Composto **5** (72,7 mg, 0,072 mmol) em DMF (2 mL) foram adicionados PyBOP (37,5 mg, 0,072 mmol) e DIPEA (0,075 mL, 0,431 mmol). A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente 2 h, depois a solução foi concentrada, e o resíduo foi purificado por HPLC preparativa (0-80% ACN em água) para fornecer o Composto **7** (109 mg, 64% de rendimento). ESI-MS m/z Calculado para $C_{103}H_{156}N_{24}O_{41}$ $[M+2H]^{2+}$:

1192,5; encontrado 1192,5. **Parte F:** A uma solução de XMT-1519 (10 mg, 0,069 μmol) em 50 mM HEPES, 1 mM EDTA, pH 7 foi adicionado TCEP (0,059 mg, 0,207 μmol) e a mistura foi agitada a 37°C por 90 minutos. Ao anticorpo reduzido foi adicionado o Composto **7** (0,987 mg, 0,414 μmol em 200 μL DMA). A mistura resultante foi agitada a 37°C por 60 minutos. A reação foi paralisada com cisteína (15 equivalentes, 0,125 mg, 1,035 μmol em 125 μL de 50 mM HEPES, 1mM EDTA, pH 7) e centrifugada em temperatura ambiente por 1 h. O Conjugado **8** resultante foi purificado por ultrafiltração ou cromatografia CHT. Os detalhes dos conjugados de anticorpo-fármaco 8-1 e 8-2 são dados abaixo. Conjugados 8-1 e 8-2 foram preparados como descrito exceto que uma proporção maior de TCEP:mAb foi usada na síntese de 8-2 em comparação com 8-1 (4:1 vs 3:1) assim como uma proporção maior de Composto **7** para mAb (8:1 vs 6:1).

Conjugado	DAR
8-1	6,1
8-2	6,8

Exemplo 1a: Síntese do Conjugado de Trastuzumabe **8a**

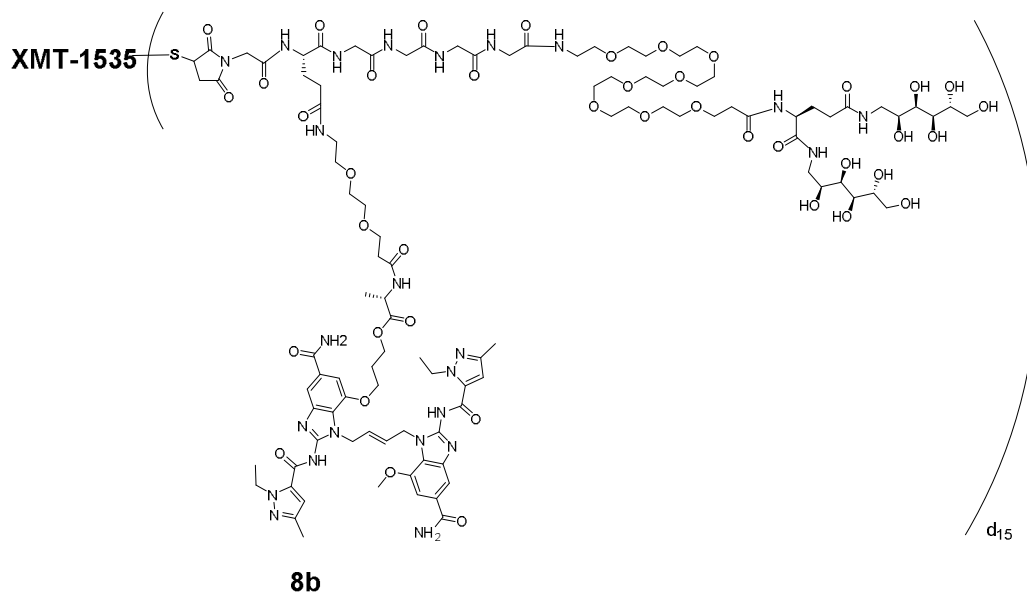


[00537] O conjugado **8a** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que Trastuzumabe foi usado ao invés de

XMT-1519. Os detalhes dos conjugados de anticorpo-fármaco **8a-1**, **8a-2**, e **8a-3** são dados abaixo.

Conjugado	DAR
8a-1	6,0
8a-2	7,0
8a-3	8,4

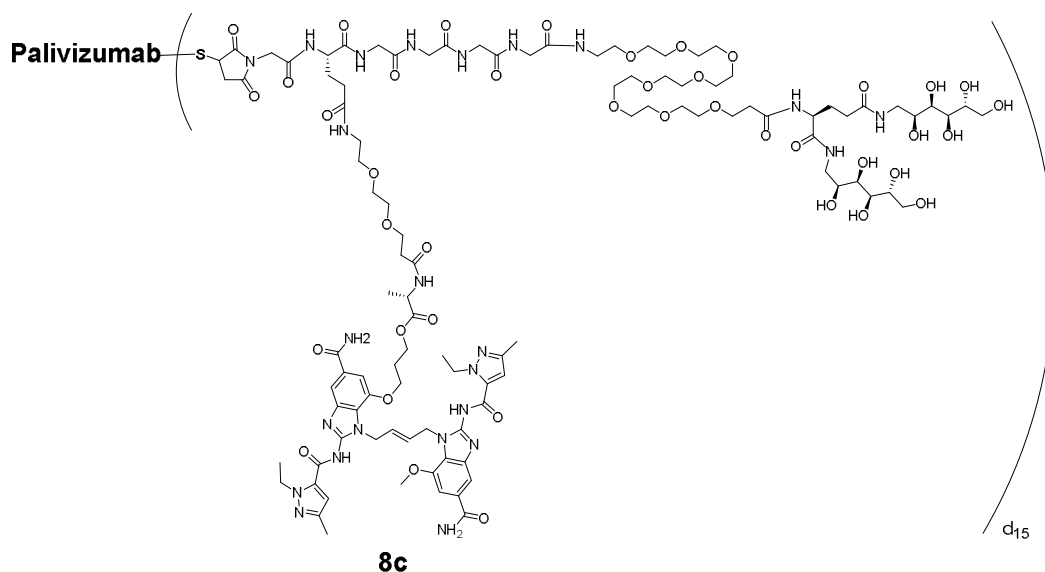
Exemplo 1b: Síntese do Conjugado 8b de XMT-1535, DAR 5,7



[00538] O conjugado **8b** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que XMT-1535 foi usado ao invés de XMT-1519. Os detalhes dos conjugados de anticorpo-fármaco **8b-1**, **8b-2** e **8b-3** são dados abaixo.

Conjugado	DAR
8b-1	5,7
8b-2	6,6
8b-3	6,4

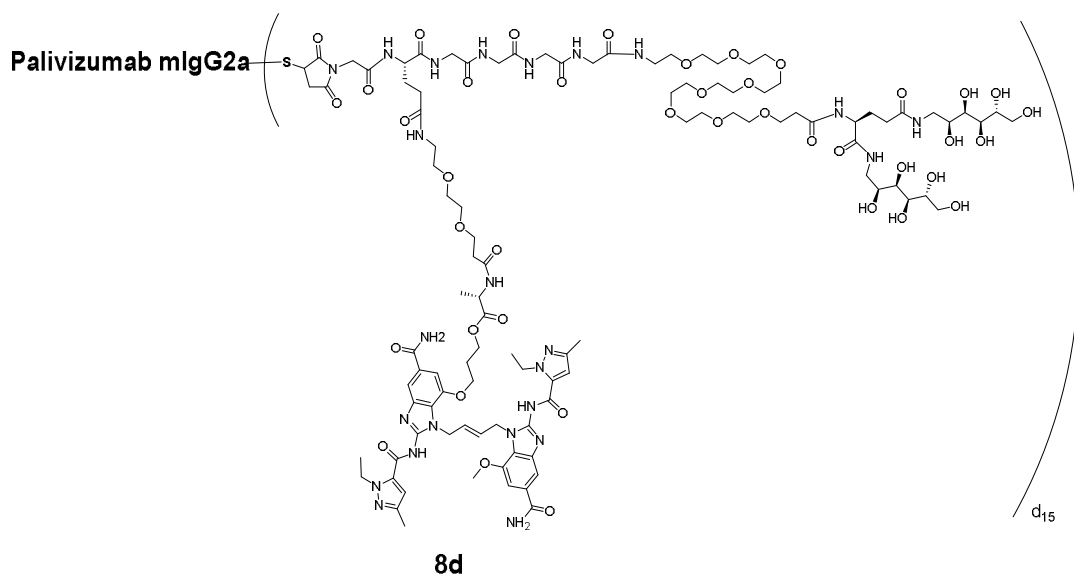
Exemplo 1c: Síntese do Conjugado 8c de Palivizumab



[00539] O conjugado **8c** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que Palivizumabe foi usado ao invés de XMT-1519. Os detalhes dos conjugados de anticorpo-fármaco 8c-1 e 8c-2 são dados abaixo.

Conjugado	DAR
8c-1	7,5
8c-2	5,8

Exemplo 1d: Síntese de Conjugado 8d de Palivizumabe mlgG2a

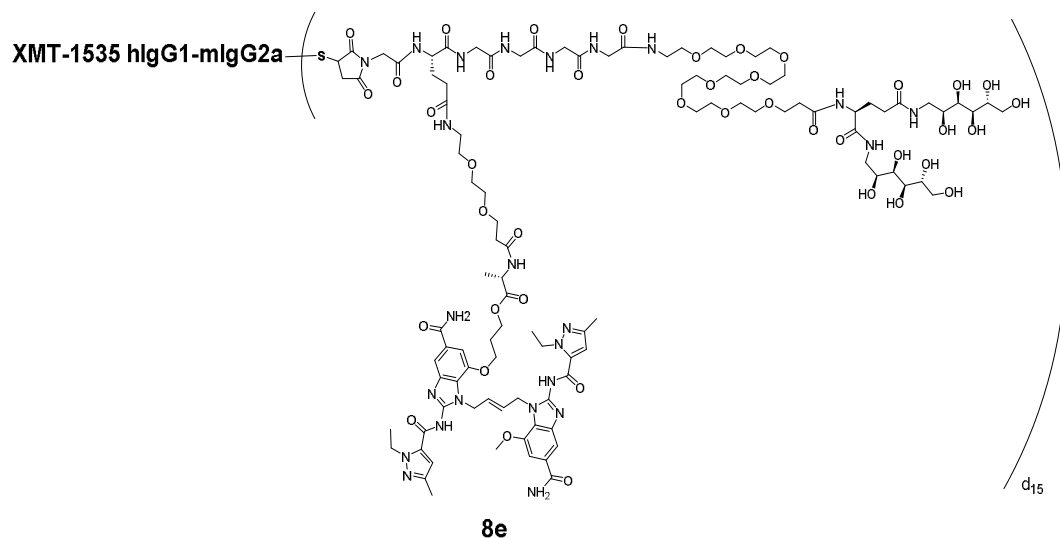


[00540] O conjugado **8d** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que Palivizumabe mlgG2a foi usado ao invés de XMT-1519. Os detalhes dos conjugados de anticorpo-fármaco

8d-1, 8d-2 e 8d-3 são dados abaixo.

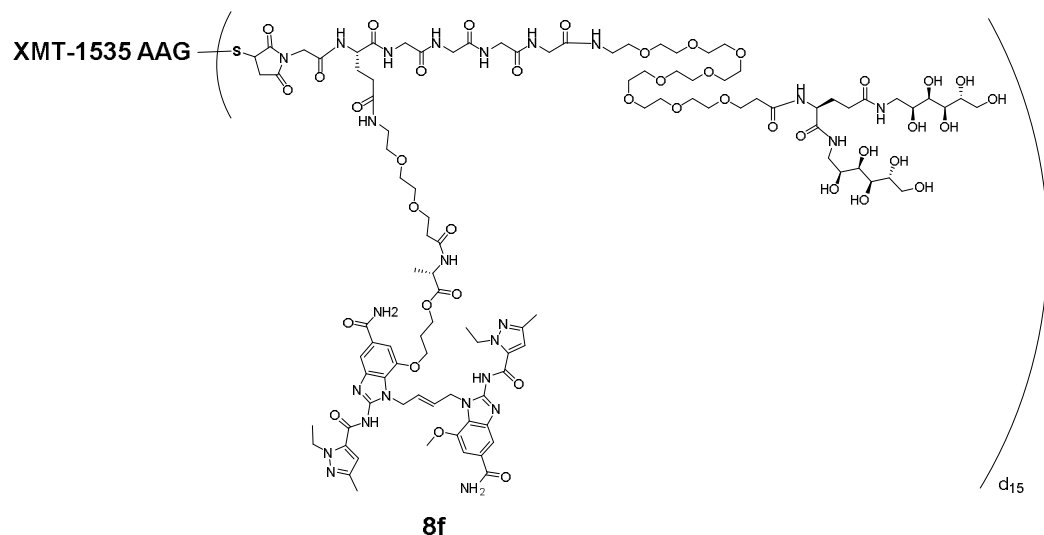
Conjugado	DAR
8d-1	6,8
8d-2	6,5
8d-3	6,0

Exemplo 1e: Síntese de Conjugado 8c XMT-1535 hlgG1-mlgG2a, DAR 7,0



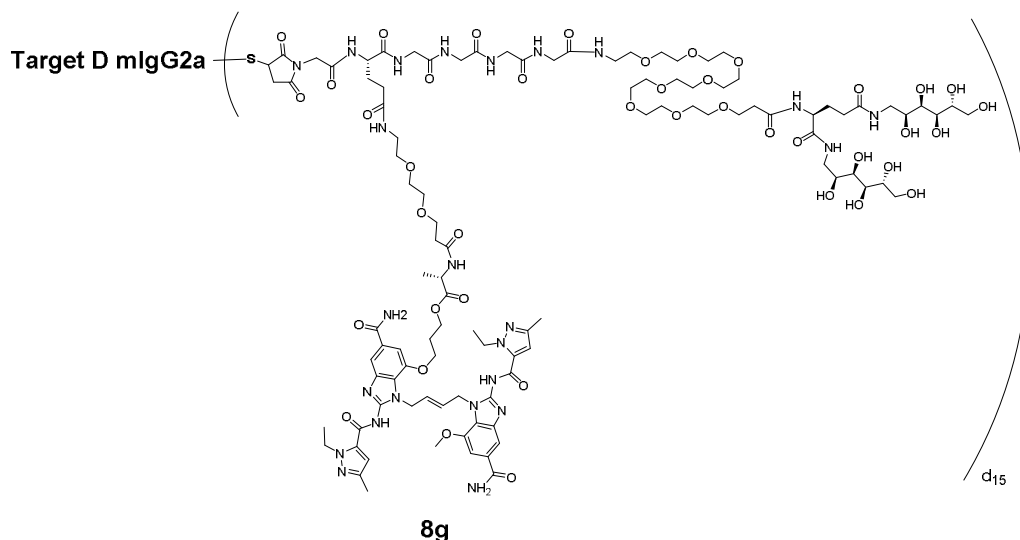
[00541] O conjugado **8e** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que XMT-1535 mlgG2a foi usado ao invés de XMT-1519. O Conjugado **8e** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1535 hlgG1-mlgG2a de 7,0.

Exemplo 1f: Síntese do Conjugado 8f de XMT-1535 AAG, DAR 7,4



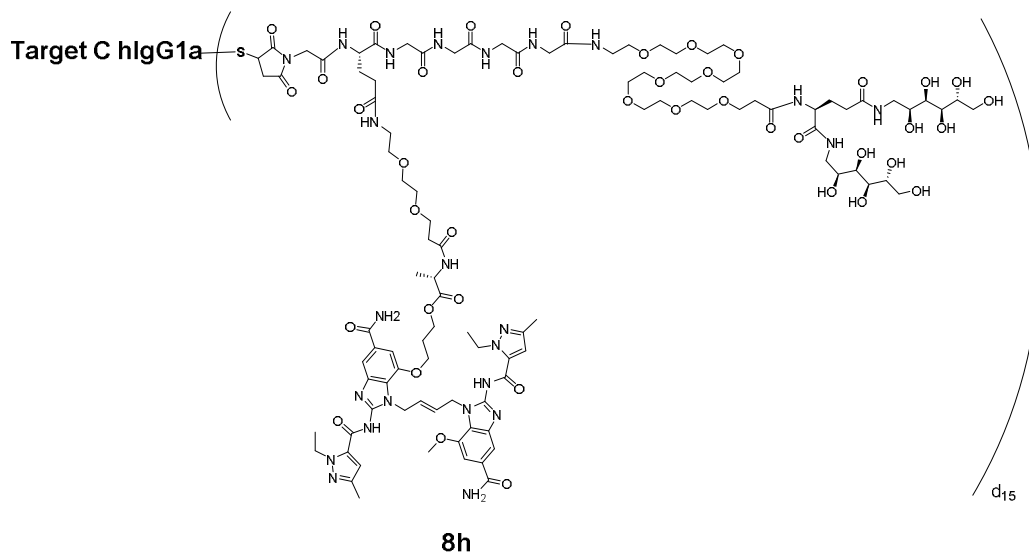
[00542] O conjugado **8f** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que XMT-1535 AAG foi usado ao invés de XMT-1519. O Conjugado purificado **8f** tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1535 AAG de 7,4.

Exemplo 1g: Síntese de Conjugado 8g Target D mlgG2a, DAR 7,4



[00543] O conjugado **8g** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que Target D mlgG2a foi usado ao invés de XMT-1519. O Conjugado **8g** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para Target D_mlgG2a de 7,4.

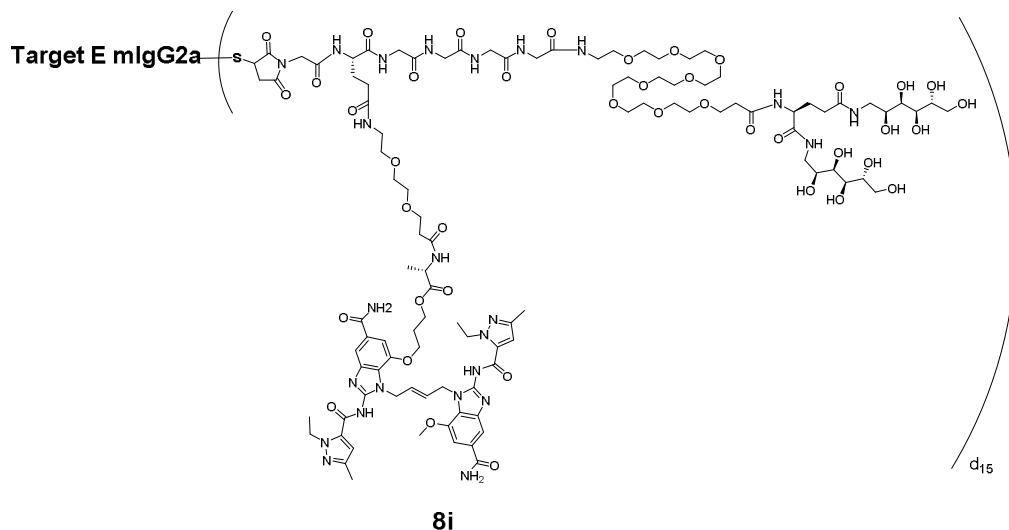
Exemplo 1h: Síntese de Conjugado 8h Target C hlgG1a, DAR 6,9



[00544] Conjugado **8h** foi preparado e caracterizado como descrito

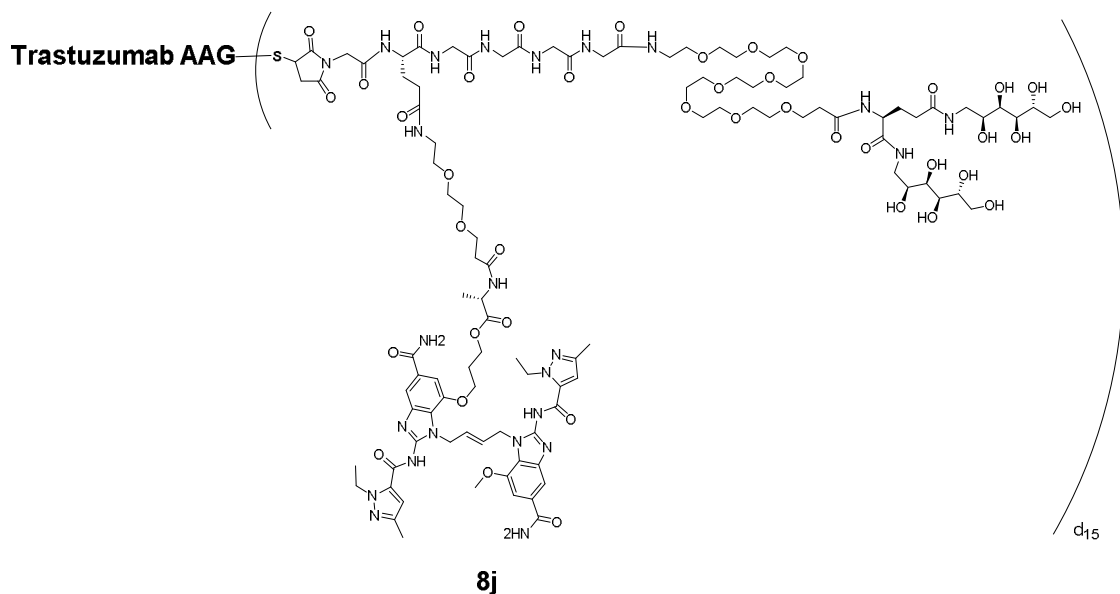
no Exemplo 1 exceto que Target C hlgG1a foi usado ao invés de XMT-1519. O Conjugado **8g** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para Target C hlgG1a de 6,9.

Exemplo 1i: Síntese de Conjugado 8i Target E mlgG2a, DAR 10,0



[00545] Conjugado **8i** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que Target E mlgG2a foi usado ao invés de XMT-1519. O Conjugado **8g** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para Target E mlgG2a de 10,0.

Exemplo 1j: Síntese de Conjugado 8j Trastuzumabe AAG, DAR 7,0

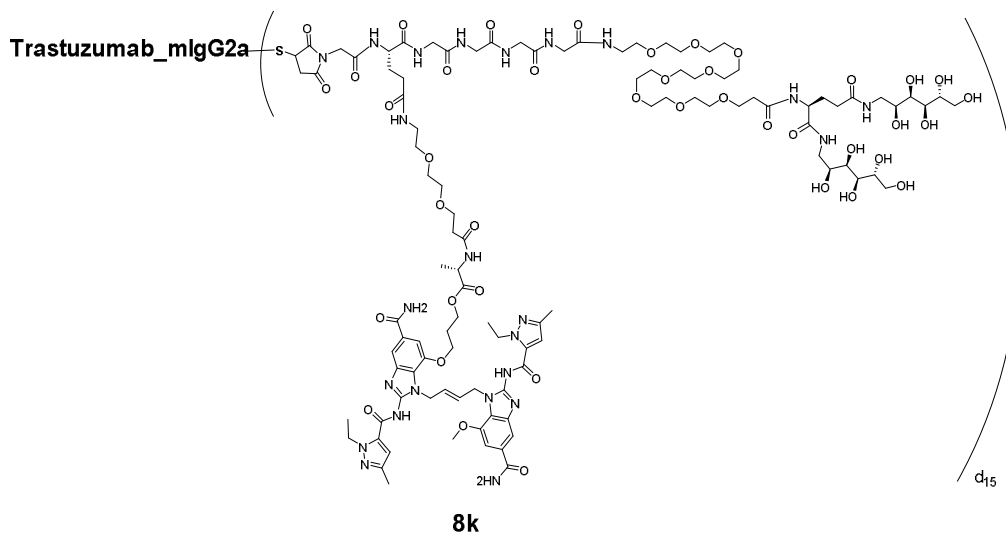


Conjugado **8j** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que Trastuzumabe AAG foi usado ao invés de XMT-1519.

[00546] Os detalhes dos Conjugados **8j** e **8j-1** são dados abaixo.

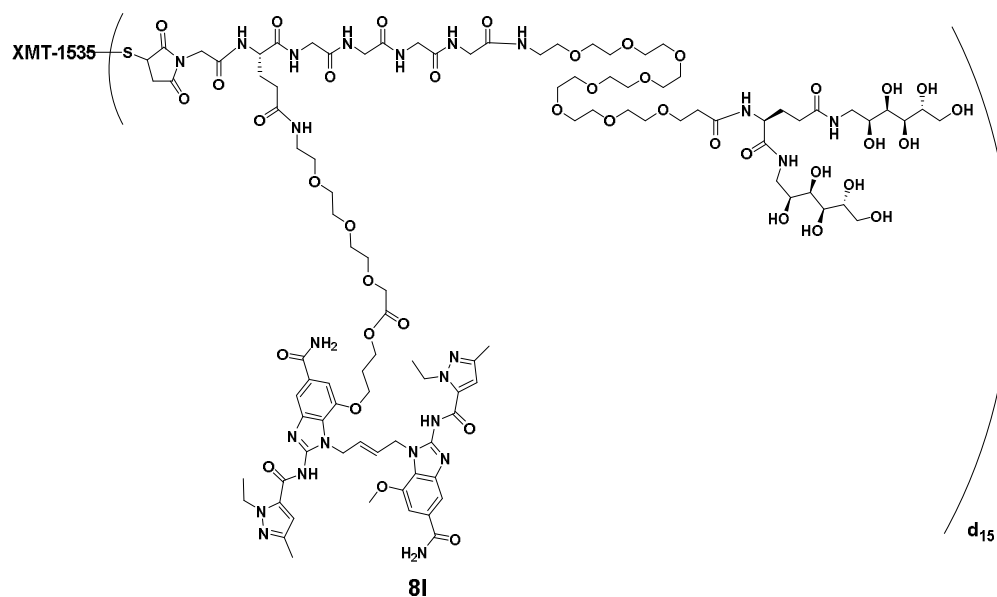
Conjugado	DAR
8j	7,0
8j-1	4,2

Exemplo 1k: Síntese de Conjugado 8k de Trastuzumabe mlgG2a, DAR 8,1



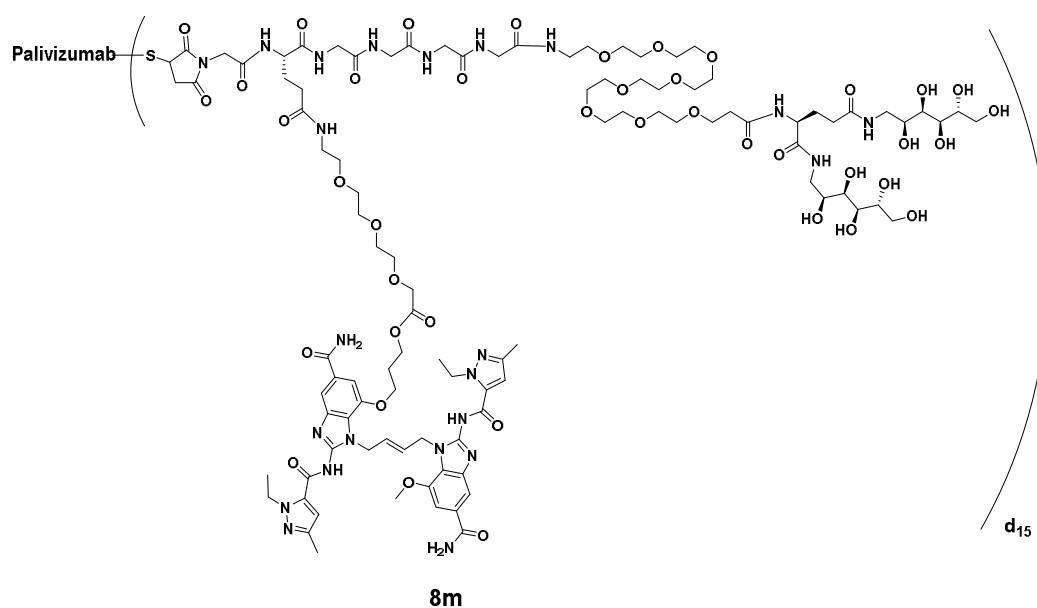
[00547] Conjugado **8k** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que Trastuzumabe mlgG2a foi usado ao invés de XMT-1519. O Conjugado **8k** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para Trastuzumabe mlgG2a de 8,1.

Exemplo 1l: Síntese do Conjugado 8l de XMT-1535, DAR 4,7



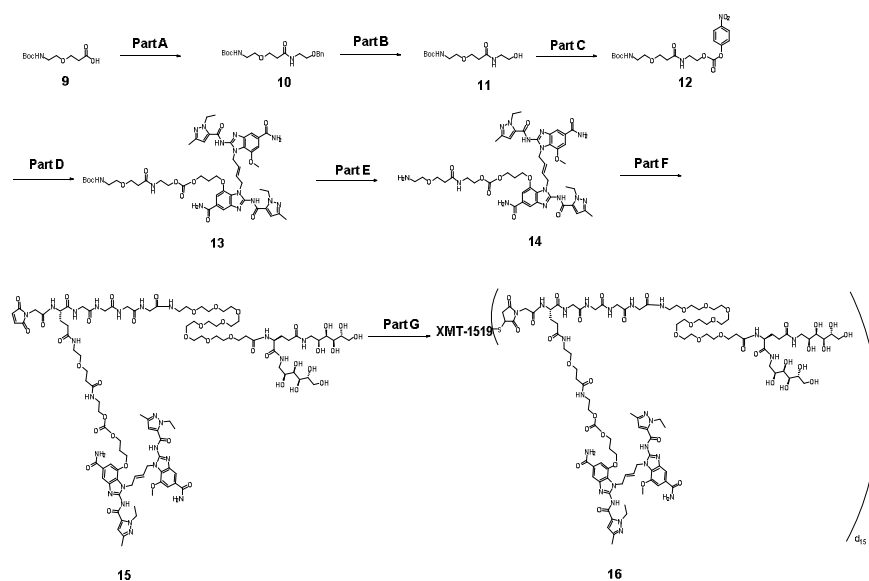
[00548] Conjugado **8I** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que XMT-1535 foi usado ao invés de XMT-1519 e ácido 2-(2-(2-(2-aminoetóxi)etóxi)etóxi)acético foi incorporado na estrutura do Composto ao invés de (3-(2-(2-aminoetóxi)etóxi)propanoil)-L-alanina. O Conjugado **8I** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1535 de 4,7.

Exemplo 1m: Síntese do Conjugado 8 m de Palivizumabe, DAR 4,5



[00549] Conjugado **8m** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que Palivizumabe foi usado ao invés de XMT-1519 e o ácido 2-(2-(2-(2-aminoetóxi)etóxi)etóxi)acético foi incorporado na estrutura do Composto ao invés de (3-(2-(2-aminoetóxi)etóxi)propanoil)-L-alanina. O Conjugado **8m** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para Palivizumabe de 4,5.

Exemplo 2: Síntese de Conjugado 16 de XMT-1519, DAR 5,3



[00550] **Parte A:** A uma solução de Composto **9** (0,100 g, 0,429 mmol) em THF (5 mL) foram adicionados HATU (0,196 g, 0,514 mmol), e HOBt (0,079 g, 0,514 mmol), a mistura de reação agitada a 0°C por 10 min, depois 2-(benzilóxi)etan-1-amina (0,0648 mg, 0,429 mmol) e DIPEA (0.112 mL, 0.643 mmol) foram adicionados. A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por uma noite, a solução foi concentrada e o resíduo foi purificado em gel de sílica (0-10% MeOH em DCM) para fornecer o Composto **10** (0,2 g, 100% de rendimento). ESI-MS m/z Calculado para: $C_{19}H_{30}N_2O_5Na$ $[(M+Na)^+]$: calc. 389,2; encontrado 389,2.

[00551] **Parte B:** Uma solução de Composto **10** (150 mg, 0,409 mmol) em EtOH (10 mL) foi desgaseificada com N_2 antes que Pd-C (43,6 mg, 0,409 mmol) tenha sido adicionado. A mistura foi então desgaseificada com H_2 . A mistura de reação agitada em temperatura ambiente sob H_2 (1 atm) por uma noite. O sólido foi filtrado através de uma almofada de Celite e o filtrado foi concentrado para fornecer o Composto **11**. O Composto **11** bruto foi usado na próxima etapa. ESI-MS m/z Calculado para : $C_{12}H_{24}N_2O_5Na$ $[(M+Na)^+]$: calc. 299,2; encontrado 299,2.

[00552] **Parte C:** Um frasco de 100 mL contendo o resíduo do Composto **11** (128 mg, 0,463 mmol) e N,N-dimetilpiridin-4-amina

(11,32 mg, 0,093 mmol) foi lavado com argônio, depois trietilamina (129 µl, 0,926 mmol), acetonitrila (1,544 mL) e DMF (0,772 mL) foram adicionados. A mistura de reação foi resfriada para 0°C e agitada por 5 min seguida pela adição de cloridrato de 4-nitrofenil carbono (140 mg, 0,695 mmol), e a mistura resultante foi agitada a 20°C por 2 h, depois concentrada como um óleo. O resíduo foi purificado sobre gel de sílica (0-100% acetato de etila em hexano) para fornecer o Composto **12** (50 mg, 24% de rendimento) como um sólido branco. ESI-MS *m/z* Calculado para: C₁₄H₁₉N₃O₇ [(M-Boc+H)⁺]: calc. 342,2; encontrado 342,1.

[00553] **Parte D:** A uma solução de Composto **12** (50 mg, 0,113 mmol) e Composto **1** (36,9 mg, 0,047 mmol) foi adicionado DMAP (1,153 mg, 9,44 µmol) em DMF (500 µL). A mistura de reação foi aquecida a 80°C por 3 h, depois o Composto **12** (50 mg, 0,113 mmol) foi adicionado. A mistura de reação foi agitada por mais 3 h e depois resfriada até a temperatura ambiente. A mistura foi concentrada e o resíduo foi purificado sobre gel de sílica (0-30% MeOH em DCM) para fornecer o Composto **13** (20 mg, 39% de rendimento) como um sólido branco. ESI-MS *m/z* Calculado para: C₅₁H₆₇N₁₄O₁₃ [(M+H)⁺]: calc. 1083,4; encontrado 1083,5.

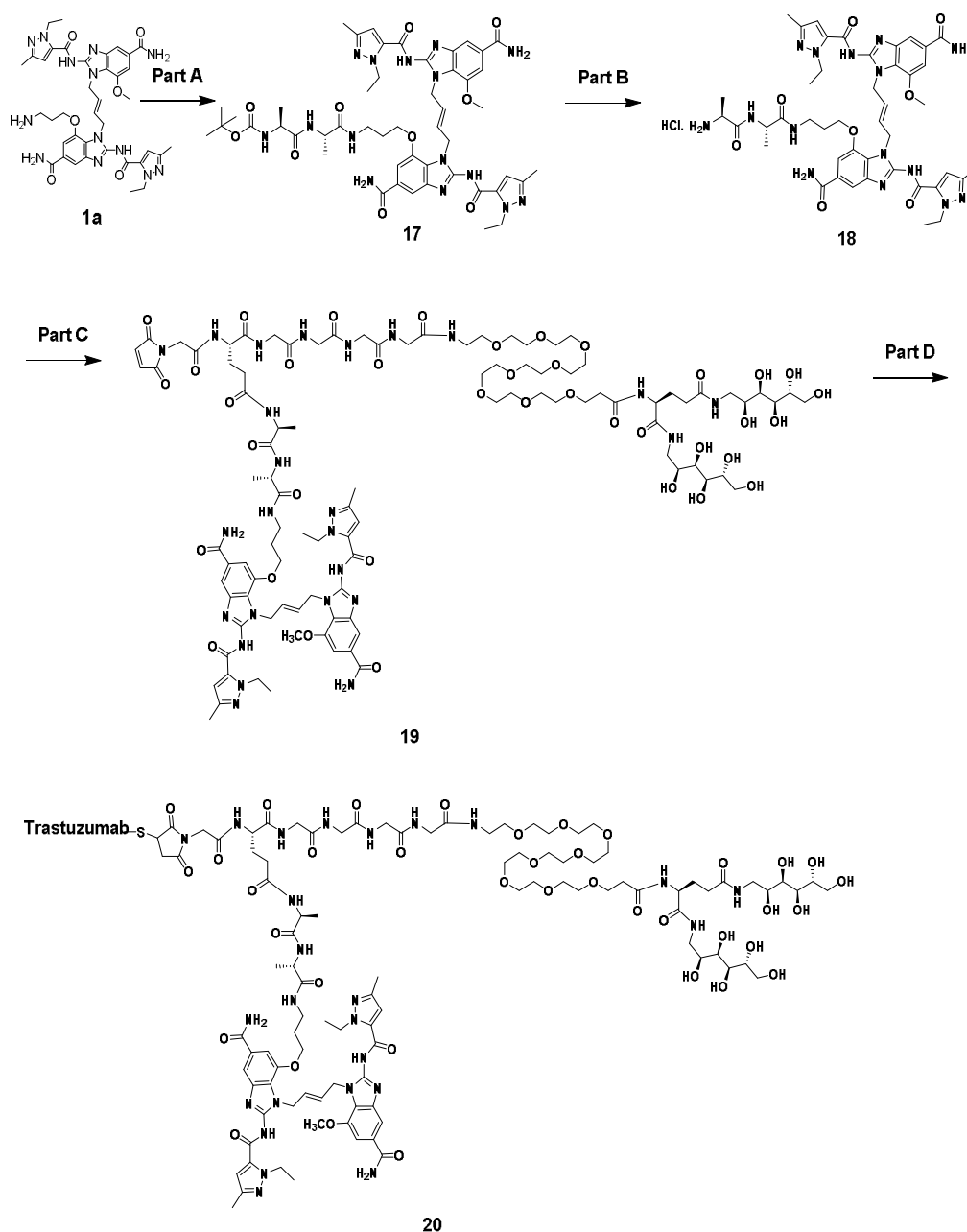
[00554] **Parte E:** A uma solução de Composto **13** (20 mg, 0,047 mmol) em DCM (0,5 mL) foi adicionado TFA (0,1 mL). A mistura de reação agitada em temperatura ambiente por 4 h depois concentrada para fornecer o Composto **14** (10 mg, 55% de rendimento) como um sólido. ESI-MS *m/z* Calculado para C₄₆H₅₉N₁₄O₁₁ [M+H]⁺: calc. 983,4; encontrado 983,5.

[00555] **Parte F:** A uma solução de Arcabouço **6** (14,15 mg, 10,17 µmol) e Composto **14** (10 mg, 10,17 µmol) em DMF (1 mL) foi adicionado HATU (4,64 mg, 0,012 mmol), HOAt (1,881 mg, 0,012 mmol) e DIPEA (0,018 mL, 0,102 mmol). A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 2 h depois concentrada e o resíduo foi puri-

ficado em RP HPLC preparativa (0-80% ACN em água) para fornecer o Arcabouço **15** (20 mg, 83% de rendimento). ESI-MS m/z Calculado para: $C_{101}H_{152}N_{24}O_{41}$ $[(M+2H)^{2+}]$: calc. 1178,7; encontrado 1178,59).

[00556] **Parte G:** Uma solução de XMT-1519 (10 mg, 0,069 μ mol) foi conjugada com Arcabouço **15** ((0,823 mg, 0,347 μ mol em 200 μ L DMA) como descrito no Exemplo 1. O Conjugado **16** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 5,3.

Exemplo 3: Síntese do Conjugado 20 de Trastuzumabe



[00557] **Parte A:** Uma solução de Boc-ala-ala-OH (67 mg, 256

μmol), CDI (70 mg, 435 μmol) e DMF (2 mL) foi agitada em temperatura ambiente por 23 h. Depois o Composto **1a** (preparado como descrito em WO2017175147A1, 100 mg, 128 μmol) e DIPEA (67 μL, 384 μmol) foram adicionados e a reação agitada em temperatura ambiente por 23 h. A mistura de reação foi concentrada, e o resíduo foi cromatografado em gel de sílica (eluente 0-20% MeOH-DCM). O produto, Composto **17** foi isolado como uma espuma amarela, (109 mg, 83% de rendimento). ESI-MS *m/z* Calculado para C₄₉H₆₄N₁₅O₁₀ [M+H]⁺: 1022,5; encontrado 1022,4.

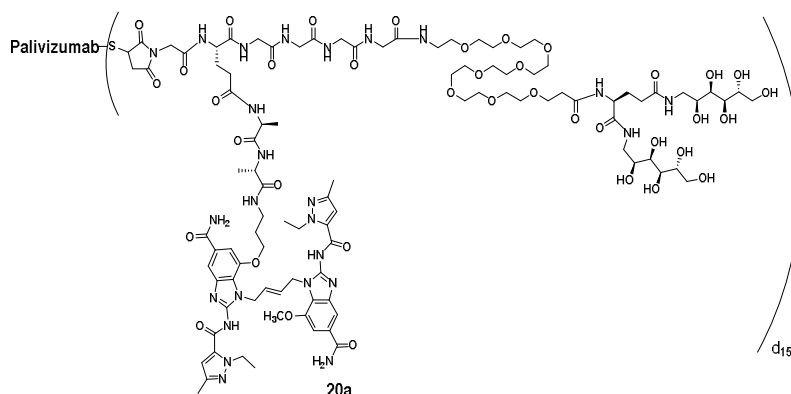
[00558] **Parte B:** Uma mistura de Composto **17** (108 mg, 106 μmol) e 2M HCl-dioxano (6 mL) foi agitada em temperatura ambiente por 2 h. A mistura de reação foi concentrada, e o resíduo foi seco sob vácuo elevado para fornecer o Composto **18** como uma espuma quase branca (103 mg, quant.). ESI-MS *m/z* Calculado para C₄₄H₅₆N₁₅O₈ [M+H]⁺: 922,4; encontrado 922,4.

[00559] **Parte C:** Uma mistura de Composto **18** (80 mg, 84 μmol), Arcabouço **6** (117 mg, 84 μmol), HOAt (12mg, 84 μmol), DIPEA (59 μL, 336 μmol) e DMF (3 mL) foi agitada em temperatura ambiente por 5 min, depois HATU (42 mg, 109 μmol) foi adicionado e a mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 20 h. A mistura de reação foi então concentrada e cromatografada por fase reversa (10-100% ACN-água p/ 0.1% HCOOH eluente). O Arcabouço **19** foi isolado como um sólido branco, felpudo, (35 mg, 18% de rendimento). ESI-MS *m/z* Calculado para C₉₉H₁₄₉N₂₅O₃₈ [M+2H]²⁺: calc. 1148,0; encontrado 1148,4.

[00560] **Parte D:** Trastuzumabe (10 mg, 0,067 μmol) foi conjugado com Arcabouço **19** (1,237 mg, 0,539 μmol em 200 μL DMA) como descrito no Exemplo 1 seguido pela purificação usando cromatografia CHT tipo II para dar o Conjugado **20**. Os detalhes dos conjugados de anticorpo-fármaco 20-1 e 20-2 são dados abaixo.

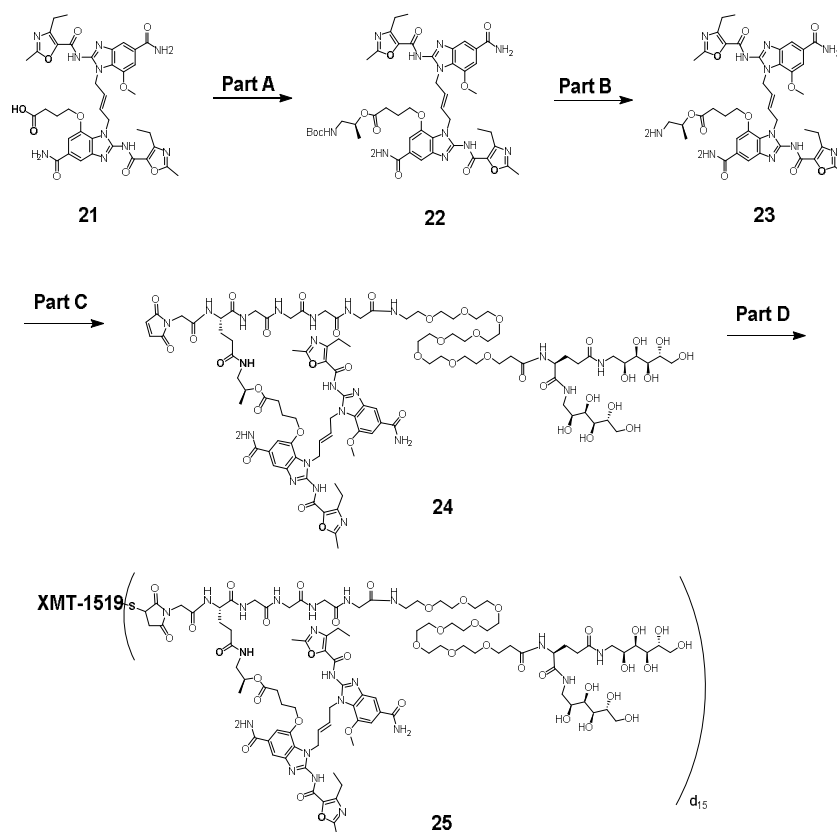
Conjugado	DAR
20-1	6,0
20-2	6,1

Exemplo 3a: Síntese do Conjugado 20 a de Palivizumabe, DAR 5,5



[00561] O conjugado **20a** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que Palivizumabe foi usado ao invés de XMT-1519. O Conjugado **20a** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para Palivizumabe de 5,5.

Exemplo 4: Síntese do Conjugado 25 de Palivizumabe, DAR 6,6



[00562] **Parte A:** A uma mistura do Composto **21** (preparado como descrito em US 62/982.935.38 mg, 0,047 mmol) e (S)-(2-hidroxipropil)carbamato de terc-butila (9,85 mg, 0,056 mmol) em DMF (2 mL) foram adicionados cloridrato de 3-((etilimino)metileno)amino)-N,N-dimetilpropan-1-amina (13,48 mg, 0,070 mmol), HOBt (10,77 mg, 0,070 mmol) DIPEA (0,016 mL, 0,094 mmol) e DMAP (5,73 mg, 0,047 mmol). A suspensão foi então agitada por 2 dias em temperatura ambiente. A mistura foi concentrada para fornecer um resíduo que foi então purificado em gel de sílica (0-30% MeOH em DCM) para dar o Composto **22** como um sólido amarelo claro (20 mg, 44% de rendimento). ESI-MS *m/z* Calculado para $C_{47}H_{58}N_{11}O_{12}$ $[M+H]^+$: calc. 968,4; encontrado 968,3.

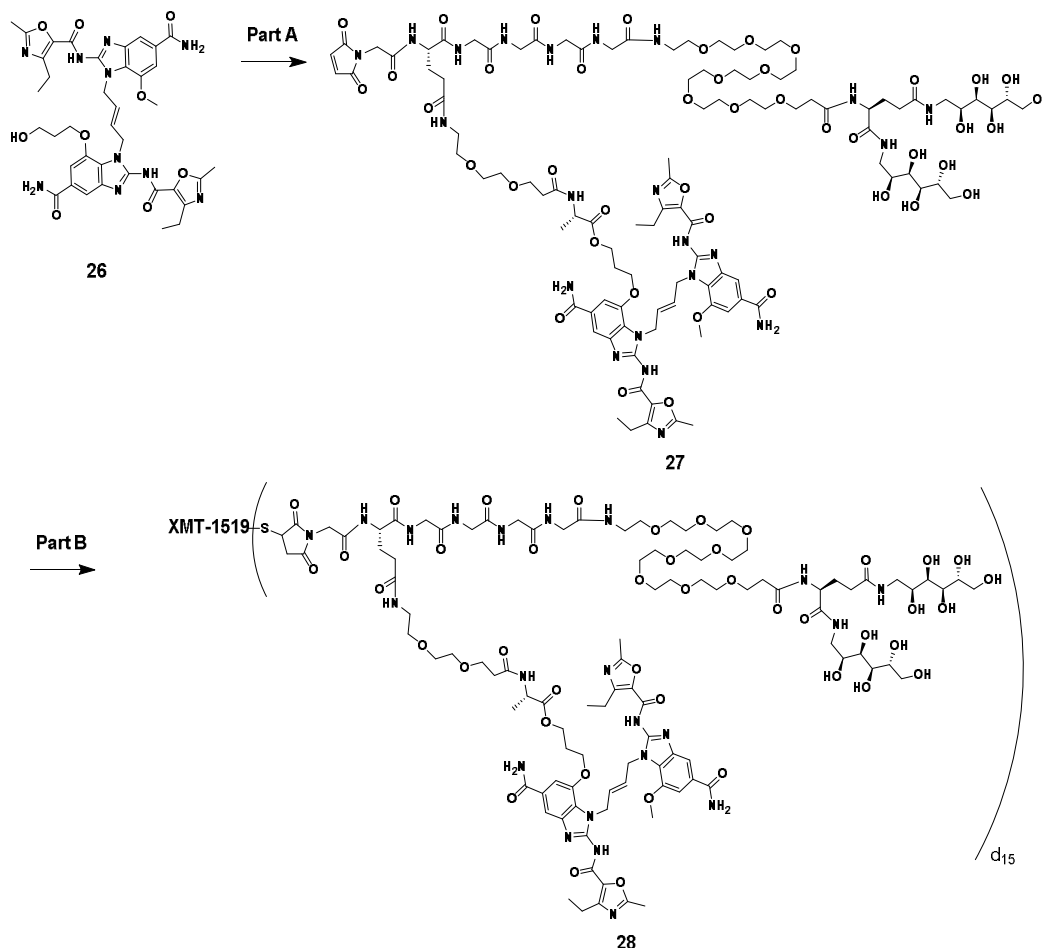
[00563] **Parte B:** A uma suspensão de Composto **22** (20 mg, 0,021 mmol) em dioxano (4 mL) foi adicionado 4N HCl (0,52 mL, 8,19 mmol). A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 5 h, concentrada e usada sem purificação na próxima etapa. O produto Composto **23** (17 mg, 95% de rendimento) foi obtido como um sólido branco. ESI-MS *m/z* Calculado para $C_{42}H_{50}N_{11}O_{10}$ $[M+H]^+$: 868,3; encontrado 868,4.

[00564] **Parte C:** A uma solução de Composto **23** (17 mg, 0,020 mmol) e Arcabouço **6** (32,1 mg, 0,023 mmol) em DMF (2 mL) foram adicionados PyBOP (15,3 mg, 0,03 mmol), e DIPEA (0,034 mL, 0,196 mmol). A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 2 h, concentrada para fornecer um resíduo que foi então purificado em RP HPLC preparativa (0-80% ACN em água) para fornecer o Arcabouço **24** (26 mg, 59% de rendimento). ESI-MS *m/z* Calculado para $C_{97}H_{143}N_{21}O_{40}$ $[M+2H]^{2+}$: 1120,98; encontrado 1121,06.

[00565] **Parte D:** O anticorpo XMT-1519 (5 mg, 0,0347 μ mol) foi conjugado com o Arcabouço **24** (0,622 mg, 0,278 μ mol) como descrito no Exemplo 1. A mistura de reação bruta foi purificada por cromatogra-

fia de coluna CHT para dar o Conjugado **25** (3,19 mg, 64% de rendimento). O Conjugado **25** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 6,6.

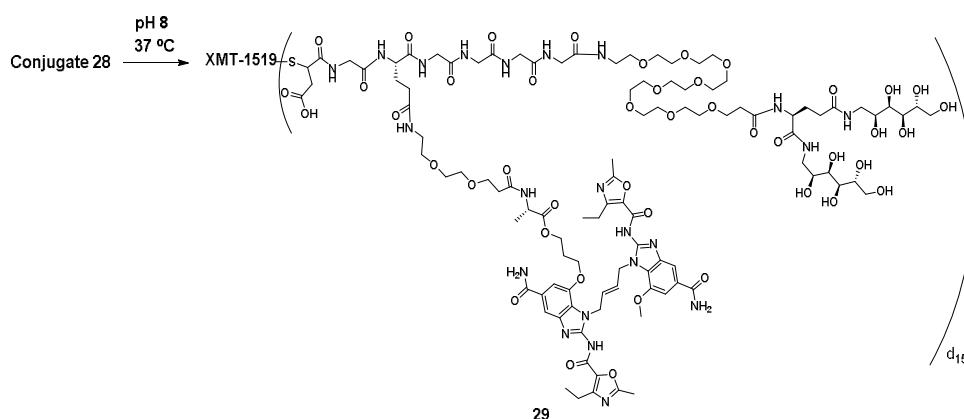
Exemplo 5: Síntese do Conjugado **28** com XMT-1519, DAR 6,0



[00566] **Parte A:** O composto **26** foi preparado como descrito no Exemplo 1 exceto que **26** (preparado como descrito em US 62/982.935) foi usado ao invés do Composto **1**. O Composto **27** foi obtido como um sólido incolor (71,0 mg, 40% de rendimento). ESI-MS m/z Calculado para $C_{103}H_{154}N_{22}O_{43}$ $[M+2H]^{2+}$: 1193,52; encontrado 1193,48.

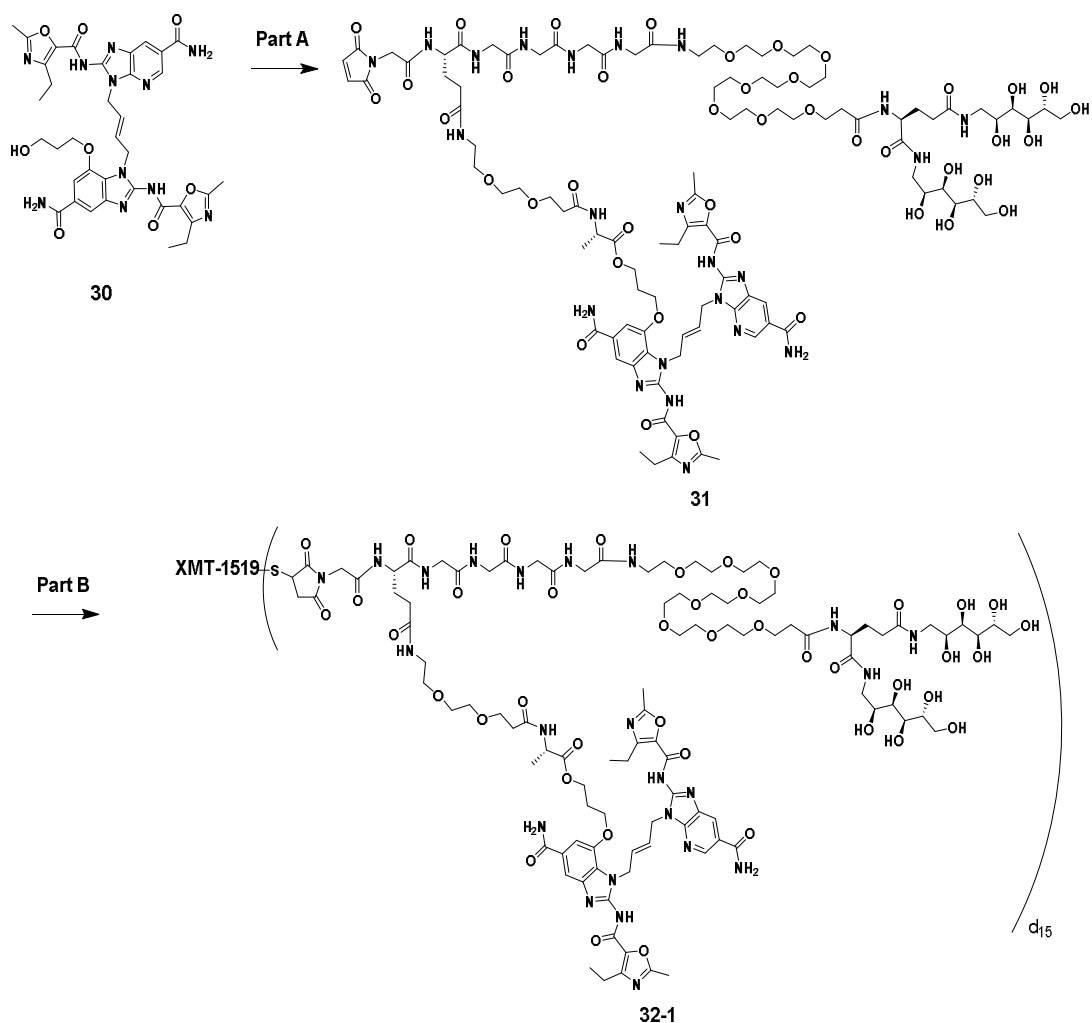
[00567] **Parte B:** O conjugado **28** foi preparado como descrito no Exemplo 1 para fornecer o Conjugado **28**. O Conjugado **28** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 6,0.

Exemplo 6: Síntese do Conjugado **29** com XMT-1519, DAR 6,0



[00568] O conjugado **28** (6,5 mg) foi formulado em PBS, pH 8 com 3 ciclos de concentração e diluição usando uma unidade de ultrafiltração MWCO 30 kDa. O Conjugado reformulado foi então incubado a 37°C por 24 h e depois reformulado em tampão de trealose pH 5,5. A abertura do anel foi confirmada pela análise LCMS da cadeia pesada e leve depois da redução do anticorpo. Foi observada boa resolução entre várias espécies de cadeia leve: não conjugada, conjugada com succinimida intacta e conjugada com succinimida com anel aberto. A abertura do anel também pode ser observada nas espécies de cadeia pesada correspondentes, mas a resolução entre as várias espécies era pobre. O grau de abertura do anel foi estimado portanto pela focalização sobre as espécies de cadeia leve. Usando esta abordagem, o percentual de produtos com anel aberto no Conjugado **29** em relação a succinimida intacta foi avaliado como 94%. Conjugado **29** tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 5,5.

Exemplo 7: Síntese do Conjugado 32-1 com XMT-1519, DAR 6,5

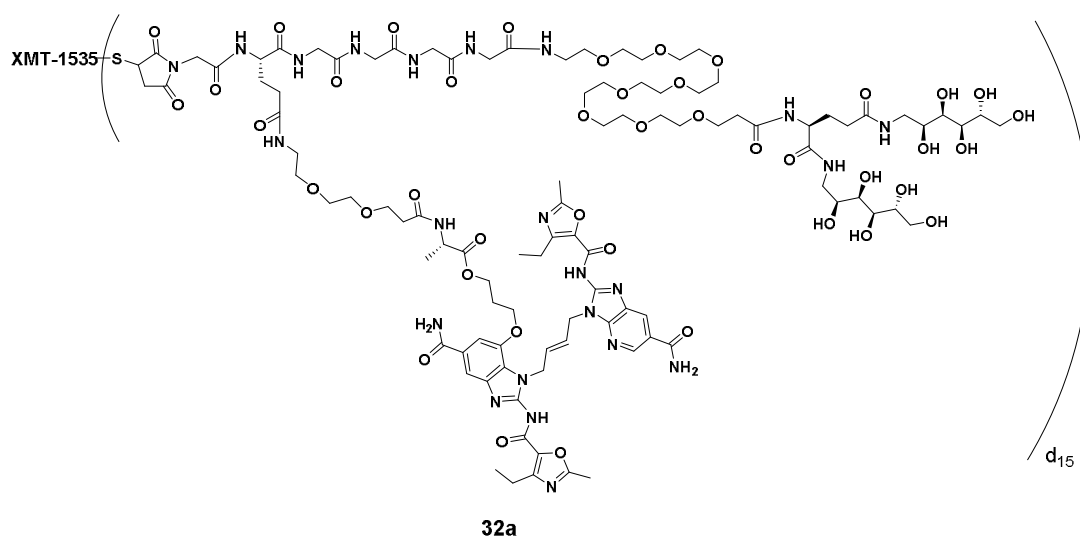


[00569] **Parte A:** O arcabouço **31** foi preparado como descrito no Exemplo 1 exceto que o Composto **30** (preparado como descrito em US 62/982.935) foi usado ao invés do Composto **1**. Arcabouço **31** foi obtido como um sólido incolor (9 mg, 8% de rendimento). ESI-MS m/z Calculado para $C_{101}H_{151}N_{23}O_{42}$ $[M+2H]^{2+}$: 1179,02; encontrado 1179,21.

[00570] **Parte B:** Os conjugados **32-1**, **32-2**, **32-3**, e **32-4** foram preparados como descrito no Exemplo 1 para fornecer o Conjugado do título. Os Conjugados **32-1**, **32-2**, **32-3**, **32-4**, e **32-5** purificados tinham uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 como descrito na Tabela abaixo. Conjugado **32-5** tinha uma concentração de mAb >10 mg/mL, contendo <1% de mAb não conjugado e <1% de espécies de alto peso molecular.

Conjugado	DAR
32-1	6,5
32-2	6,4
32-3	6,7
32-4	8,6
32-5	8,1

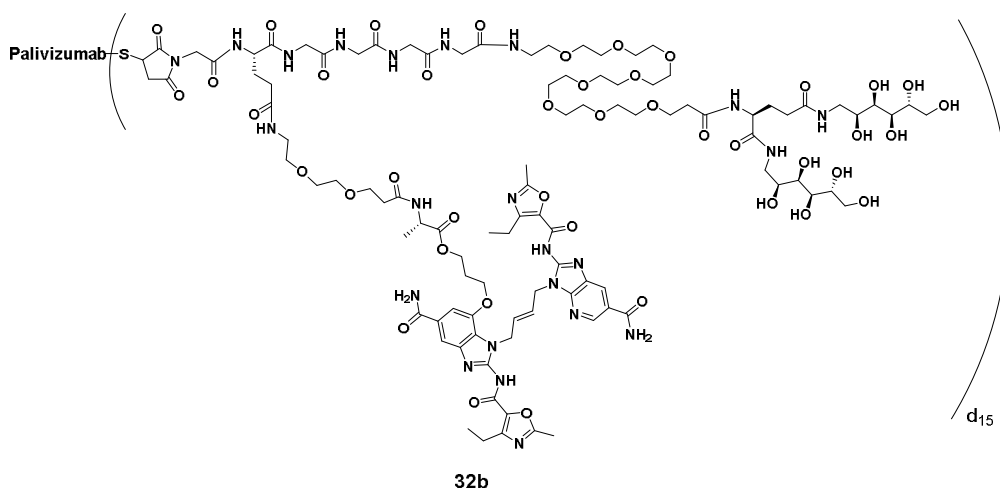
Exemplo 7a: Síntese do Conjugado 32^a de XMT-1535, DAR 6,2



[00571] Os conjugados **32a**, **32a-1**, **32a-2**, **32a-3**, e **32a-4** foram preparados e caracterizados como descrito no Exemplo 1 exceto que XMT-1535 foi usado ao invés de XMT-1519. Os Conjugados **32a**, **32a-1**, **32a-2**, **32a-3**, e **32a-4** purificados tinham uma proporção de agonista de STING para XMT-1535 como descrito na tabela abaixo.

Conjugado	DAR
32a	6,2
32a-1	7,4
32a-2	8,0
32a-3	7,5
32a-4	8,0

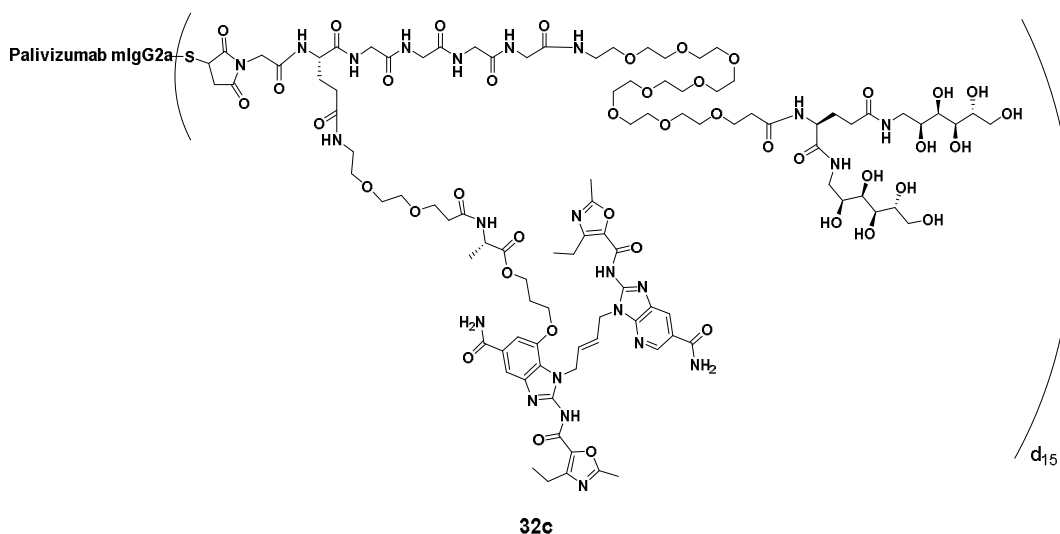
Exemplo 7b: Síntese do Conjugado 32b com Palivizumabe, DAR 6,8



[00572] Os conjugados **32b**, **32b-1**, e **32b-2** foram preparados e caracterizados como descrito no Exemplo 1 exceto que Palivizumabe foi usado ao invés de XMT-1519. Os Conjugados **32b**, **32b-1**, e **32b-2** purificados tinham uma proporção de agonista de STING para Palivizumabe como descrito na tabela abaixo.

Conjugado	DAR
32b	6,8
32b-1	5,7
32b-2	7,2

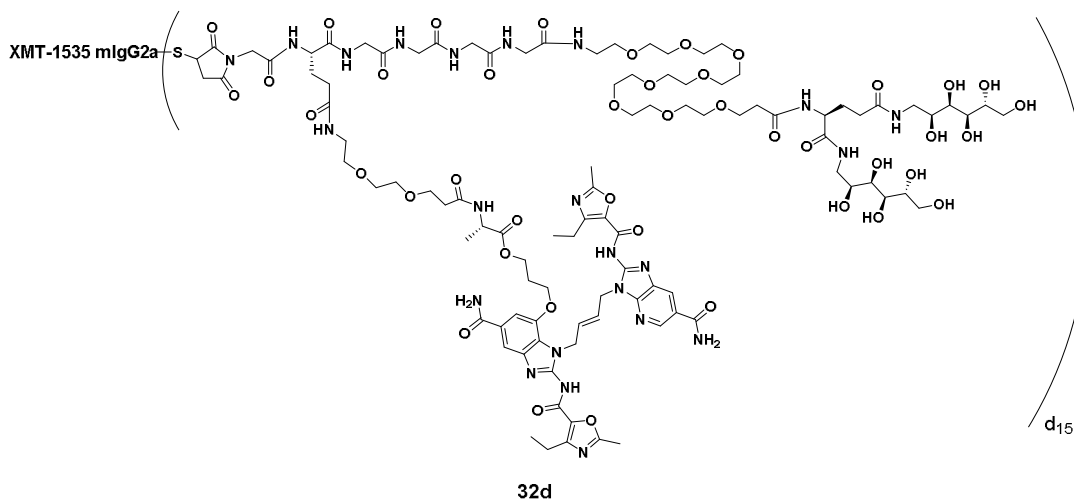
Exemplo 7c: Síntese do Conjugado 32c com Palivizumabe mlgG2a, DAR 9,1



[00573] O conjugado **32c** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 acima exceto que Palivizumabe mlgG2a foi usado

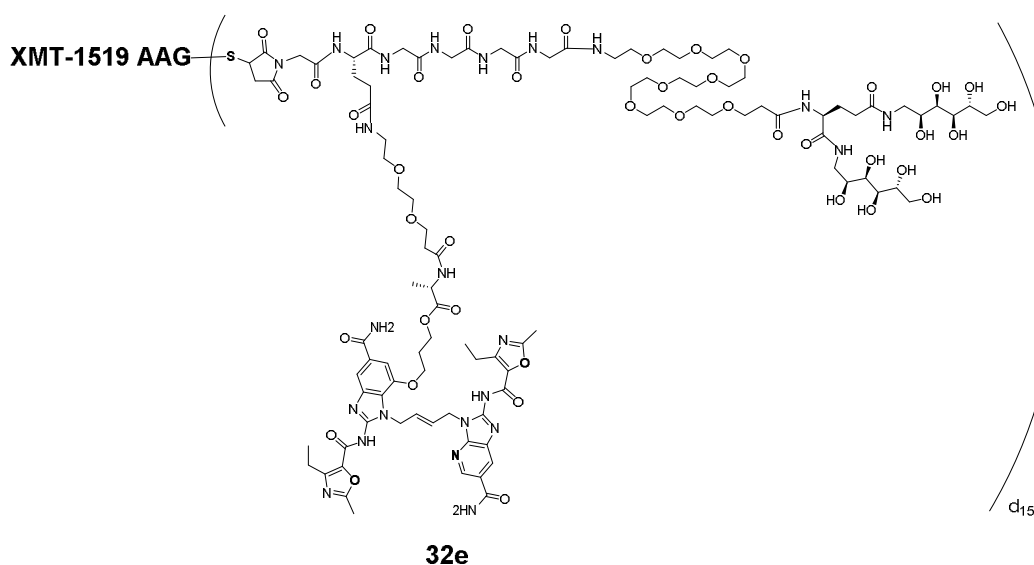
ao invés de XMT-1519. O Conjugado **32c** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para Palivizumabe de 9,1.

Exemplo 7d: Síntese do Conjugado 32d com XMT-1535 mlgG2a, DAR 8,8



[00574] O conjugado **32d** foi preparado e caracterizado como descrito acima no Exemplo 1 exceto que XMT-1535 mlgG2a foi usado ao invés de XMT-1519. O Conjugado **32d** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1535 mlgG2a de 8,8.

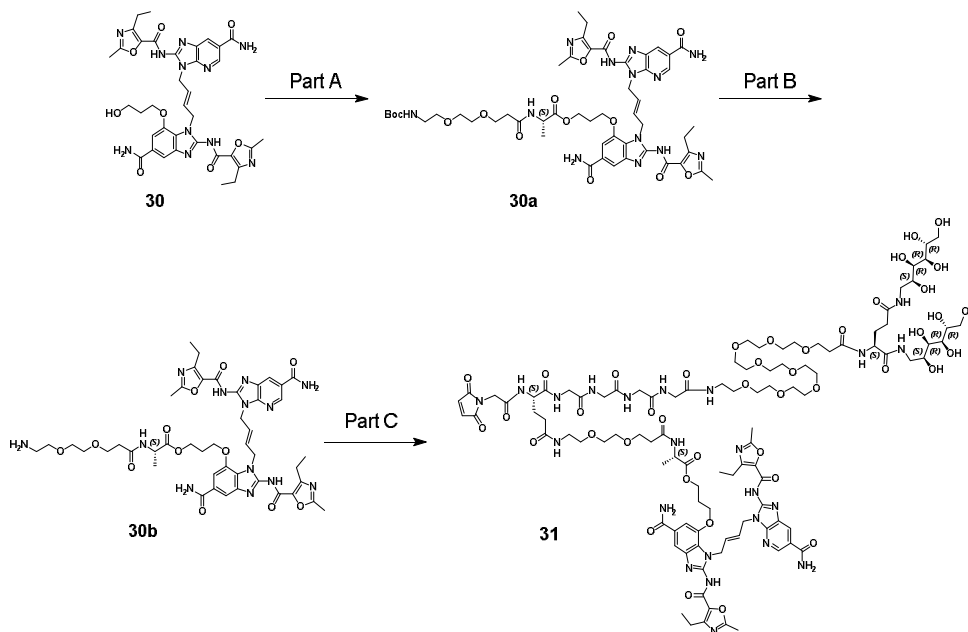
Exemplo 7e: Síntese do Conjugado 32e com XMT-1519 AAG, DAR 7,4



[00575] Conjugado **32e** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 1 exceto que XMT-1519 AAG foi usado ao invés de XMT-

1519. O Conjugado **32e** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 AAG de 7.4.

Exemplo 7-1: Síntese alternativa do Composto 31

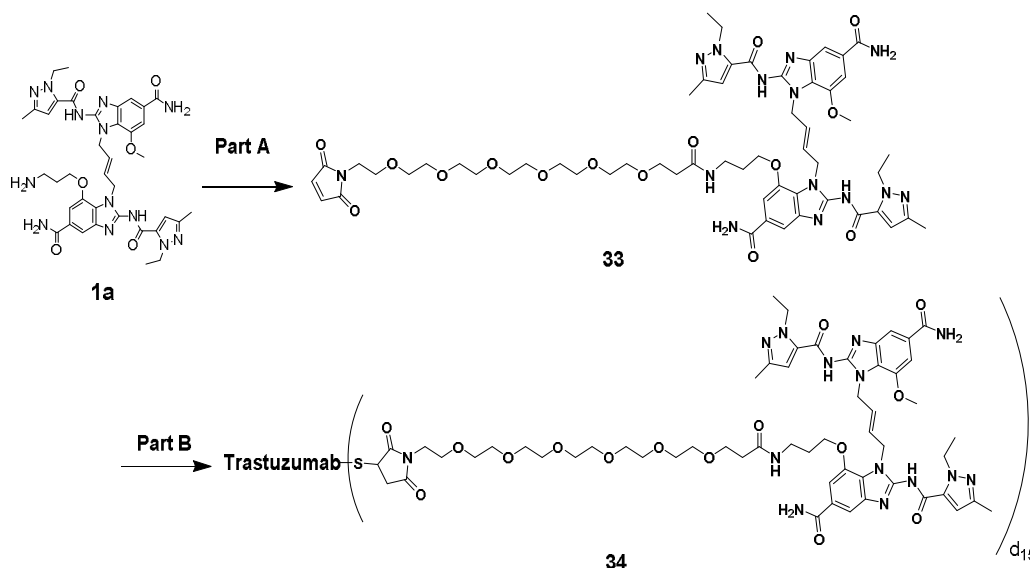


[00576] **Parte A:** O composto **30** (preparado como descrito em US 62/982.935) (500 mg, 0.663 mmol, 1eq), Boc-PEG2-Ala-OH (0.693 g, 1.99 mmol, 3 eq), EDC-HCl (381 mg, 1.99 mmol, 3 eq), e DMAP (243 mg, 1,99 mmol) foram misturados em um frasco sob ar em DMF (26,5 mL). A reação foi completada em 3 horas. A mistura foi extinta com AcOH (0,76 mL, 10 eq), concentrada, e purificada sobre gel de sílica (DCM:MeOH) para fornecer o Composto **30a** como um sólido branco. ESI-MS m/z Calculado para $C_{51}H_{66}N_{13}O_{14}$ $[M+H]^+$: 1084,5; encontrado 1084,4.

[00577] **Parte B:** Composto **30a** (0,663 mmol) foi suspensa em dioxano (10 mL) em um frasco sob ar. HCl (4M em dioxano, 6 mL) foi adicionado, e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 1 hora. A mistura foi concentrada para dar um sólido branco. O sólido foi dissolvido em água pura e purificado cromatografia em fase reversa (0-25% ACN em água) para fornecer o Composto **30b** (444 mg, 77%) como um sólido branco. ESI-MS m/z Calculado para $C_{46}H_{58}N_{13}O_{12}$ $[M+H]^+$: 984,4; encontrado 984,2.

[00578] **Parte C:** A uma solução de Arcabouço **6** (450 mg, 0,32 mmol, preparado como descrito em PCT/US2018/06719) e Composto **30b** (350 mg, 0,072 mmol) em DMF (6,5 mL) foram adicionados PyBOP (185 mg, 0,36 mmol) e trietilamina (0,23 mL, 1,62 mmol). A mistura foi agitada em RT por 15 minutos e depois extinta com com AcOH (0,23 mL, 3,99 mmol) e purificada por purificação em fase reversa (0-40% ACN em água w/ 0,1% ácido acético) para dar o Composto **31** (408 mg, 55% de rendimento). ESI-MS m/z Calculado para $C_{101}H_{151}N_{23}O_{42}$ $[M+2H]^{2+}$: 1179,52; encontrado 1179,27.

Exemplo 8: Síntese do Conjugado 34 com Trastuzumabe, DAR 6,9

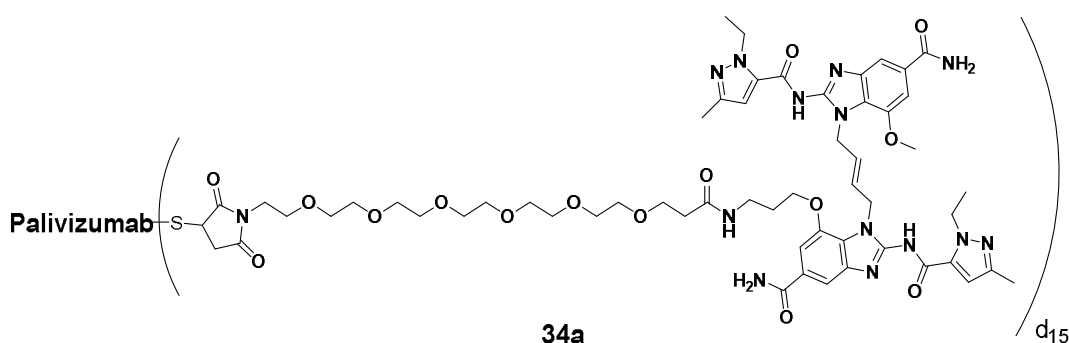


[00579] **Parte A:** A uma solução de Composto **1a** (preparado como descrito em WO2017175147A1, 0,030 g, 0,038 mmol) em DMF (1,5 mL), foi adicionado *N*-etil-*N*-isopropilpropan-2-amina (0,067 mL, 0,385 mmol). A solução foi agitada por 5 minutos em temperatura ambiente antes da adição de 2,5-dioxopirrolidin-1-il 1-(2,5-dioxo-2,5-diidro-1H-pirrol-1-il)-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-oato (0,027 g, 0,050 mmol) em DMF (0,5 mL) e a mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 15 minutos. Depois ácido acético (0,1 mL) foi adicionado seguido pela purificação em uma coluna de HPLC preparativa (C18, 21,2 mm x 100 mm), 10-100% MeCN (0,1% HOAc) em H₂O (0m1% HOAc, gradiente de 20 min. para dar o Arcabouço **33** (0,006 g,

13,05% de rendimento). ESI-MS m/z Calculado para $C_{57}H_{75}N_{14}O_{15}$ $[M+H]^+$: calc. 1195,55; encontrado 1195,47.

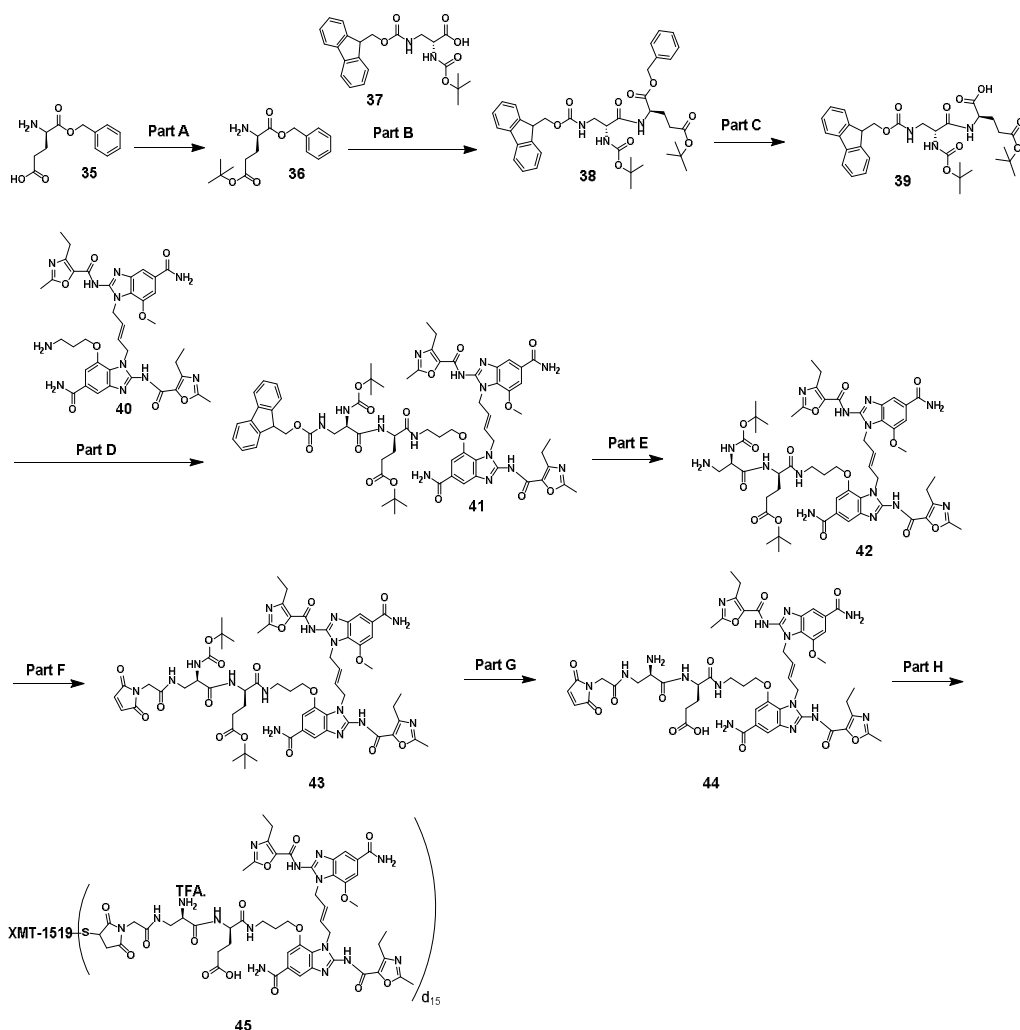
[00580] **Parte B:** Trastuzumabe (10 mg, 0,069 μ mol) foi conjugado ao Arcabouço **33** (0,658 mg, 0,550 μ mol em DMA) como descrito no Exemplo 1. O Conjugado **34** bruto foi purificado por cromatografia CHT tipo II. O Conjugado **34** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para Trastuzumabe de 6,9.

Exemplo 8a: Síntese do Conjugado 34a de Palivizumabe, DAR 7,0



[00581] Conjugado **34a** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 8 exceto que Palivizumabe foi usado ao invés de Trastuzumabe. O Conjugado **34a** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para Palivizumabe de 7,0.

Exemplo 9: Síntese do Conjugado 45 com XMT 1519, DAR 6,5



[00582] **Parte A:** A uma mistura do Composto **35** (400mg, 1688 μmol) e acetato de *t*-butila (8 mL) foi adicionado HClO_4 70% (302 mg, 2,11 mmol). A solução resultante foi então agitada em temperatura ambiente por 21 h depois neutralizada com solução saturado de NaHCO_3 . A fase aquosa foi lavada com EtOAc (2x) e os orgânicos combinados foram então lavados com salmoura, secos (Na_2SO_4), filtrados e concentrados para dar o Composto **36** como um óleo opaco (530 mg, quant.). ESI-MS m/z Calculado para $\text{C}_{16}\text{H}_{24}\text{N}_1\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$: 294,2; encontrado 294,2.

[00583] **Parte B:** Uma mistura de Composto **36** (279mg, 782 μmol), Composto **37** (370mg, 938 μmol), HOAt (128 mg, 938 μmol), DIPEA (409 μL , 2,35 mmol) e DMF (4 mL) foi agitada em temperatura ambiente por 5 mins, depois HATU (416 mg, 1095 μmol) foi adicionado e a

reação agitada em temperatura ambiente por 2,5 h. A mistura de reação foi então concentrada, e o residuo cromatografado em gel de sílica (20-100% EtOAc/eluente de hexanos). Composto **38** foi isolado como um sólido branco felpudo (254 mg, 362 μ mol, 46% de rendimento). ESI-MS *m/z* Calculado para $C_{39}H_{48}N_2O_9$ $[M+H]^+$: 702,3; encontrado 702,4.

[00584] **Parte C:** Uma mistura de Composto **38** (254 mg, 362 μ mol), MeOH (6 mL) e catalisador a 10% Pd-C (50 mg) foi agitada sob H_2 (1 atm) por 2 h em temperatura ambiente. A mistura de reação foi então filtrada e o filtrado concentrado para dar o Composto **39** como um óleo claro, (214 mg, 97% de rendimento). ESI-MS *m/z* Calculado para $C_{32}H_{42}N_3O_9$ $[M+H]^+$: 612,3; encontrado 612,3.

[00585] **Parte D:** Uma mistura de Composto **39** (58 mg, 64 μ mol), O composto **40** (preparado como descrito em US 62/982.935, 47 mg, 77 μ mol), HOAt (10 mg, 77 μ mol), DiPEA (56 μ L, 320 μ L) e DMF (2 mL) foi agitada em temperatura ambiente por 5 mins. Depois HATU (36mg, 96 μ mol) foi adicionado e a mistura de reação agitada em temperatura ambiente por 16 h, depois concentrada para dar o Composto **41** como um óleo amarelo, (90 mg, quant.). ESI-MS *m/z* Calculado para $C_{70}H_{83}N_{14}O_{16}$ $[M+H]^+$: 1375,6; encontrado 1375,4.

[00586] **Parte E:** Uma solução de Composto **41** (90 mg, 64 μ mol) em piperidina 20% em DMF (2 mL) foi agitada em temperatura ambiente por 1 h. A mistura de reação foi então concentrada e cromatografada em gel de sílica (eluente 0-40% MeOH-DCM) para dar o Composto **42** como um óleo amarelo (30 mg, 41% de rendimento). ESI-MS *m/z* Calculado para $C_{55}H_{73}N_{14}O_{14}$ $[M+H]^+$: 1153,5; encontrado 1153,4.

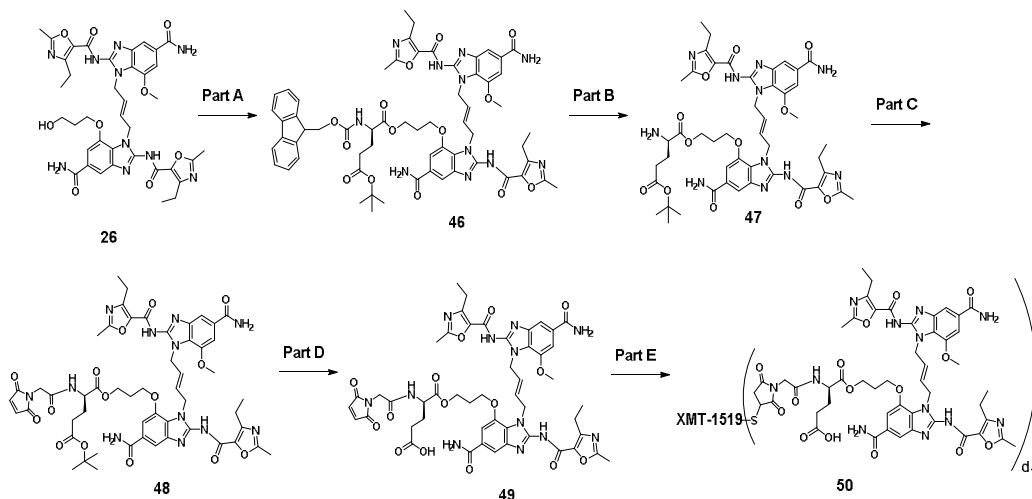
[00587] **Parte F:** Uma solução de Composto **42** (30mg, 37 μ mol), 2,5-dioxopirrolidin-1-il 2-(2,5-dioxo-2,5-diidro-1H-pirrol-1-il)acetato (8mg, 44 μ mol), TEA (7 μ L, 74 μ mol) e DMF (1 mL) foi agitada em temperatura ambiente por 17 h. A mistura de reação foi então concen-

trada para dar o Arcabouço **43** como um óleo amarelo (40 mg, quant.). ESI-MS m/z Calculado para $C_{61}H_{76}N_{15}O_{17}$ $[M+H]^+$: 1290,6; encontrado 1290,3.

[00588] **Parte G:** Uma solução de Arcabouço **43** (30 mg, 26 μ mol) em 10% TFA-DCM (2 mL) foi agitada em temperatura ambiente por 1 h. A mistura de reação foi então concentrada, e o resíduo cromatografado por HPLC (10-100% ACN-água p/ eluente 0,1% HCOOH). Arcabouço **44** foi isolado como um sólido quase branco felpudo (6 mg, 20% de rendimento). ESI-MS m/z Calculado para $C_{52}H_{60}N_{15}O_{15}$ $[M+H]^+$: 1134,4; encontrado 1134,2.

[00589] **Parte H:** Conjugado **45** foi preparado como descrito no Exemplo 1 exceto que 4 equiv de TCEP foram usados. O Conjugado **45** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 6,5.

Exemplo 10: Síntese do Conjugado 50 com XMT-1519, DAR 8,2



[00590] **Parte A:** Uma mistura de Composto **26** (preparado como descrito em US 62/982.935, 50 mg, 64 μ mol), Fmoc-D-glutâmico-O-tBu (54 mg, 128 μ mol), DCC (26 mg, 128 μ mol), DMAP (1 mg, 6 μ mol) e DMF (2 mL) foi agitada em temperatura ambiente por 17 h. A mistura de reação foi concentrada e usada na próxima etapa sem purificação. Composto **46** foi obtido como um óleo amarelo (135 mg). ESI-MS m/z Calculado para $C_{62}H_{68}N_{11}O_{14}$ $[M+H]^+$: 1190,5; encontrado 1190,3.

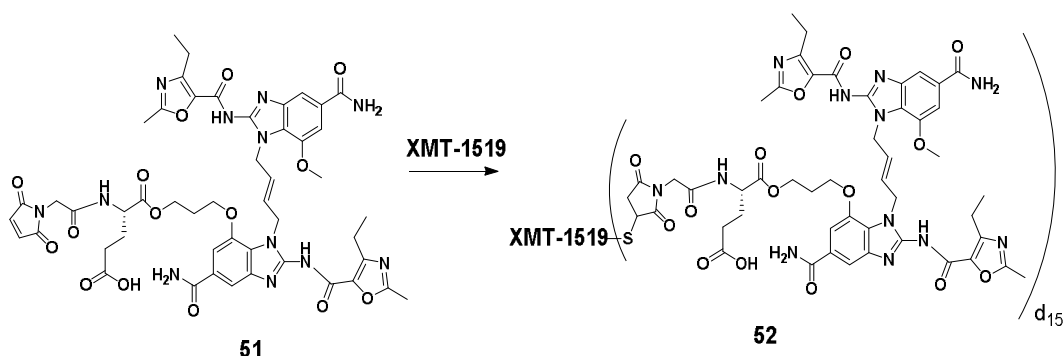
[00591] **Parte B:** Uma mistura de Composto **46** (135 mg, 64 μ mol) e 33% TEA em DMF (2,4 mL) foi agitada em temperatura ambiente por 4,5 h. A mistura de reação foi concentrada, e o resíduo purificado por cromatografia HPLC em fase reversa (10-100% ACN-água p/ eluente 0,1% HCOOH). Composto **47** foi isolado como um pó amarelo (27 mg, 44% de rendimento). ESI-MS m/z Calculado para $C_{47}H_{58}N_{11}O_{12}$ $[M+H]^+$: 968,4; encontrado 968,2.

[00592] **Parte C:** Uma solução de Composto **47** (25mg, 26 μ mol), 2,5-dioxopirrolidin-1-il 2-(2,5-dioxo-2,5-diidro-1H-pirrol-1-il)acetato (8 mg, 31 μ mol), TEA (11 μ L, 78 μ mol) e DMF (1 mL) foi agitada em temperatura ambiente por 1 h. A mistura de reação foi concentrada e usada na próxima etapa sem purificação. O arcabouço **48** é um óleo amarelo (40 mg, quant.). ESI-MS m/z Calculado para $C_{53}H_{61}N_{12}O_{15}$ $[M+H]^+$: 1105,4; encontrado 1105,2.

[00593] **Parte D:** Uma solução de Arcabouço **48** (40mg, 24 μ mol) e 15% TFA em DCM (1 mL) foi agitada em temperatura ambiente por 2 h. A mistura de reação foi então concentrada e cromatografada por HPLC (10-100% ACN-água com eluente 0,1% HCOOH). Arcabouço **49** foi isolado como um sólido branco felpudo (5 mg, 20% de rendimento). ESI-MS m/z Calculado para $C_{49}H_{53}N_{12}O_{15}$ $[M+H]^+$: 1049,4; encontrado 1049,2.

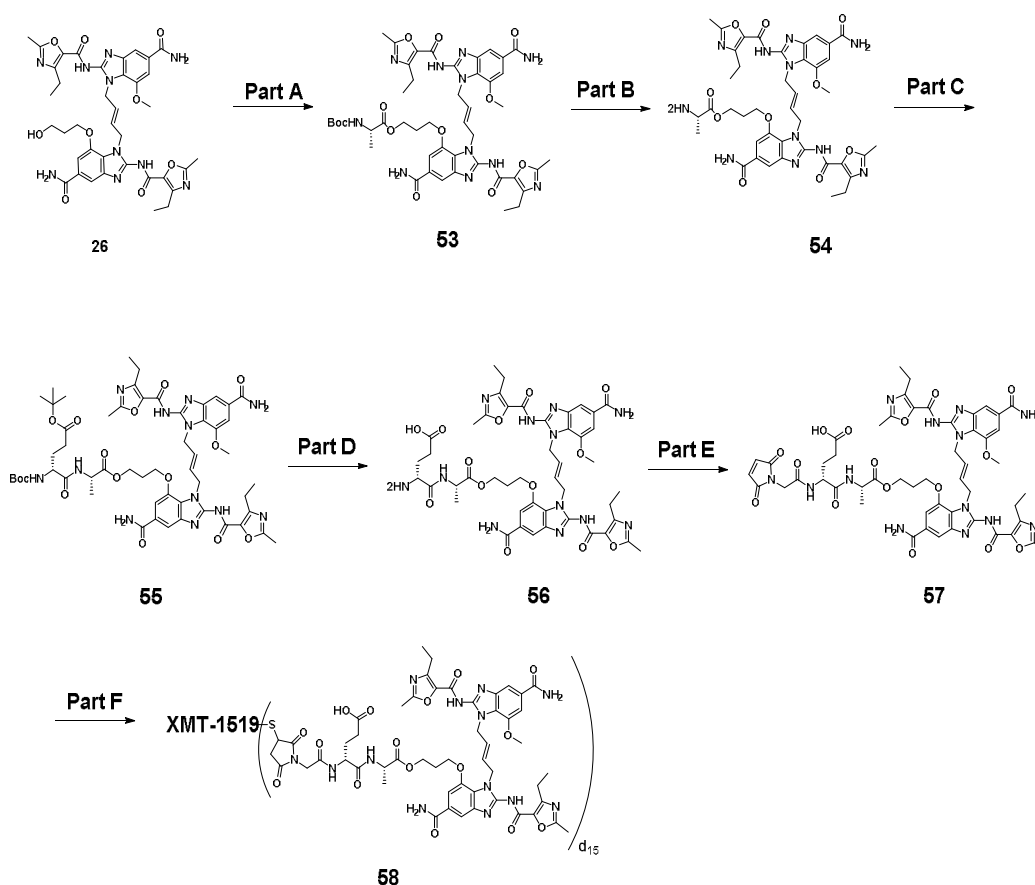
[00594] **Parte E:** XMT-1519 (10 mg, 0,069 μ mol) foi conjugado com Arcabouço **49** como descrito no Exemplo 1. Conjugado **50** foi purificado por cromatografia CHT tipo II. O Conjugado **50** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 8,2.

Exemplo 11: Síntese do Conjugado 52 com XMT-1519, DAR 7,7



[00595] Conjugado **52** foi preparado a partir do Arcabouço **51** como descrito no Exemplo 10 exceto que Fmoc-L-Glu(O-tBu) foi usado ao invés de Fmoc-D-Glu(O-tBu). O Conjugado **52** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 7,7.

Exemplo 12: Síntese do Conjugado **58** com XMT-1519, DAR 6,5



[00596] **Parte A:** A uma mistura do Composto **26** (preparado como descrito em US 62/982.935, 0,105 g, 0,134 mmol), Boc-L-Alanina (50,8 mg, 0,268 mmol), DMAP (50,8 mg, 0,067 mmol) e DCC (0,111 g, 0,537 mmol) foi adicionado DMF (2 mL). A suspensão foi então agitada por 2

dias em temperatura ambiente. A mistura foi concentrada e purificado em gel de sílica (0-40% MeOH em DCM) para fornecer o Composto **53** como um sólido amarelo claro (0,102 g, 80% de rendimento). ESI-MS m/z Calculado para $C_{46}H_{56}N_{11}O_{12}$ $[M+H]^+$: 954,4; encontrado 954,4.

[00597] **Parte B:** A uma suspensão de Composto **53** (0,102 g, 0,107 mmol) em dioxano (10 mL) foi adicionado 4 N HCl (0,508 mL, 2,031 mmol). A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 3 h. A suspensão foi então concentrada e usada na próxima etapa sem purificação. Composto **54** foi obtido como um sólido amarelo claro. ESI-MS m/z Calculado para $C_{41}H_{48}N_{11}O_{10}$ $[M+H]^+$: 854,3; encontrado 854,3.

[00598] **Parte C:** A uma solução de Composto **54** (0,015 g, 0,017 mmol) em DMF (1 mL) foi adicionado Boc-D-Glu (Otu)-OH (7,67 mg, 0,025 mmol), seguido por DIPEA (0,026 mL, 0,152 mmol). A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 5 min. Depois PyBOP (13,15 mg, 0,025 mmol) foi adicionado, e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 1 h, concentrada e o resíduo foi purificado sobre gel de sílica (0-30% MeOH em DCM) para fornecer o Composto **55** (11 mg, 57,3% de rendimento) como um sólido branco. ESI-MS m/z Calculado para $C_{55}H_{71}N_{12}O_{15}$ $[M+H]^+$: 1139,5; encontrado 1139,5.

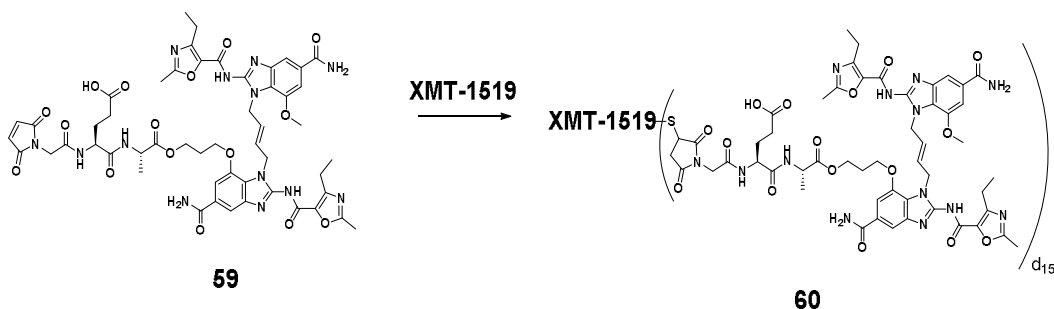
[00599] **Parte D:** A uma suspensão de Composto **55** (11 mg, 0,00966 mmol) em dioxano (3 mL) foi adicionado 4 N HCl (0,241 mL, 0,966 mmol). A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 2 h. A suspensão foi concentrada e usada na próxima etapa sem purificação. Composto **56** é um sólido branco. ESI-MS m/z Calculado para $C_{46}H_{55}N_{12}O_{13}$ $[M+H]^+$: 983,4; encontrado 983,4.

[00600] **Parte E:** A uma solução de Composto **56** (9,5 mg, 0,00966 mmol) em DMF (3 mL) foram adicionados DIEA (8,44 μ L, 0,048 mmol) e 2,5-dioxopirrolidin-1-il 2-(2,5-dioxo-2,5-diidro-1H-pirrol-1-il)acetato

(3,17 mg, 0,013 mmol). A mistura de reação foi agitada em temperatura ambiente por 1 h, neutralizada para pH 6-7 com HOAc, depois purificada sobre RP HPLC preparativa (0-75% ACN em água) para fornecer o Arcabouço **57** (3,3 mg, 31% de rendimento) como um sólido branco. ESI-MS m/z Calculado para $C_{52}H_{58}N_{13}O_{16}$ $[M+H]^+$: 1120,4; encontrado 1120,4.

[00601] **Parte F:** XMT-1519 (10 mg, 0,069 μ mol) foi conjugado com Arcabouço **57** (0,700 mg, 0,625 μ mol em 200 μ L de DMA) como descrito no Exemplo 1. Conjugado **58** foi purificado por cromatografia CHT tipo II. O Conjugado **58** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 6,5.

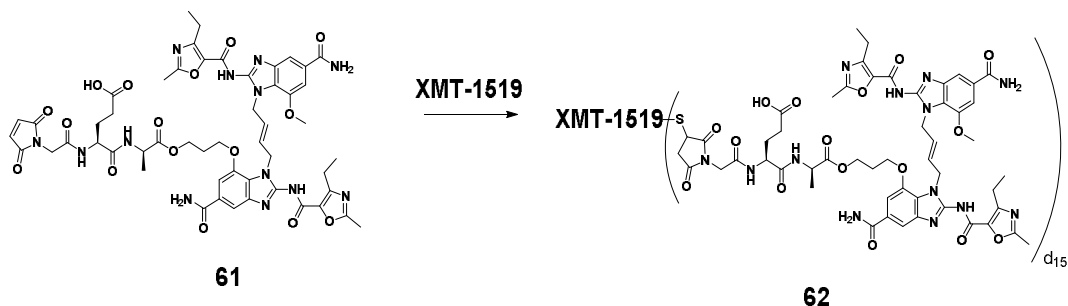
Exemplo 13: Síntese do Conjugado 60 com XMT-1519



[00602] O Conjugado **60** foi preparado a partir de **59** como descrito no Exemplo 12 exceto que Boc-L-Glu (Otu)-OH foi usado ao invés de Boc-D-Glu-O-tBu. Os detalhes dos conjugados de anticorpo-fármaco 60-1 e 60-2 são dados abaixo.

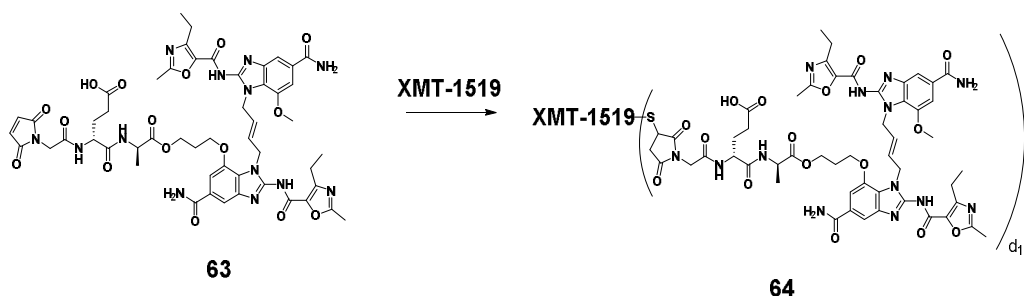
Conjugado	DAR
60-1	7,7
60-2	5,5

Exemplo 14: Síntese do Conjugado 62 com XMT-1519, DAR 6,5



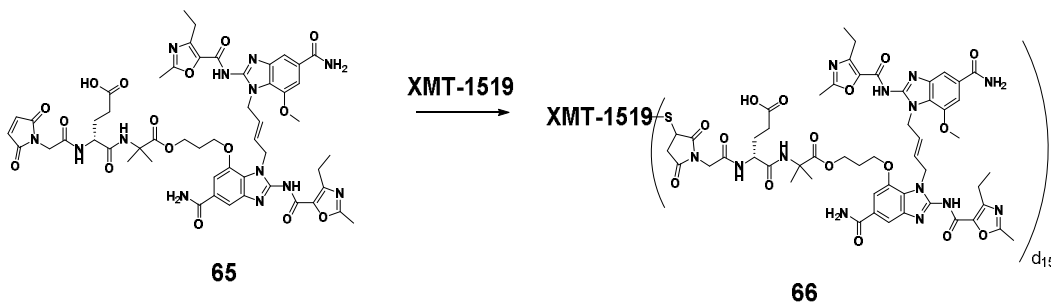
[00603] O conjugado **62** foi preparado a partir do Arcabouço **61** como descrito no Exemplo 12 exceto que Boc-L-Glu (Otu)-OH foi usado ao invés de Boc-D-Glu-O-tBu e Boc-D-Ala foi usado ao invés de Boc-L-Ala. O Conjugado **62** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 6,5.

Exemplo 15: Síntese de Conjugado 64 com XMT-1519, DAR 6,4



[00604] O conjugado **64** foi preparado a partir do Arcabouço **63** como descrito no Exemplo 12 exceto que Boc-D-Ala foi usado ao invés de Boc-L-Ala. O Conjugado **64** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 6,4.

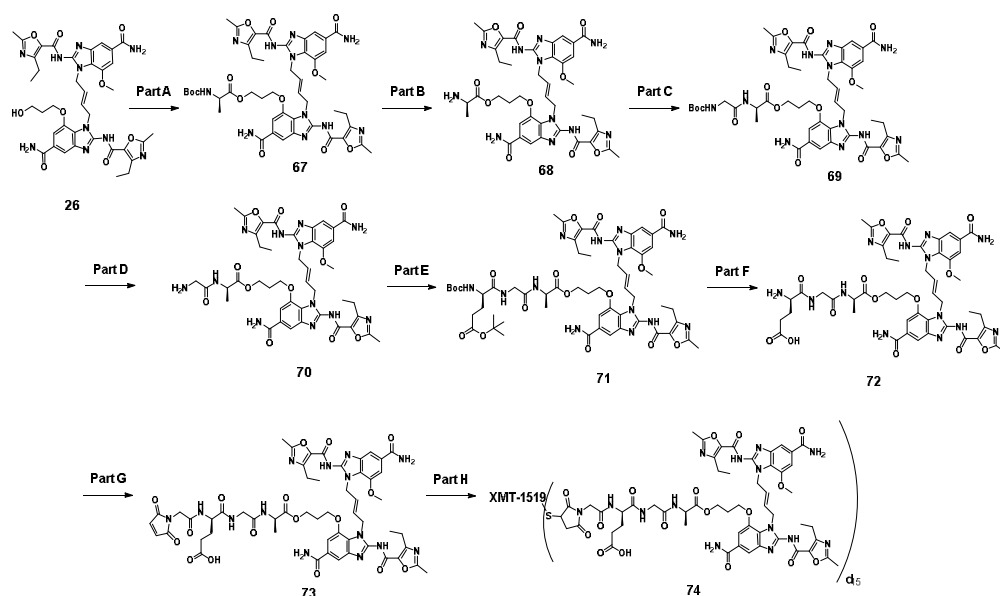
Exemplo 16: Síntese do Conjugado 66 com XMT-1519



[00605] O conjugado **66** foi preparado a partir do Arcabouço **65** como descrito no Exemplo 12 exceto que o ácido Boc-2-amino-2-metilpropanoico foi usado ao invés de Boc-L-Ala. Os detalhes dos conjugados de anticorpo-fármaco 66-1 e 66-2 são dados abaixo.

Conjugado	DAR
66-1	7,5
66-2	5,3

Exemplo 17: Síntese do Conjugado 74 com XMT-1519, DAR 6,9



[00606] **Parte A:** Uma mistura de Composto **26** (preparado como descrito em US 62/982.935, 75 mg, 0,096 mmol), *N*-Boc-(D)-Ala-OH (91 mg, 0,48 mmol), DCC (99 mg, 0,48 mmol), e DMAP (1,2 mg, 9,58 μ mol) em DMF (3 mL) foi agitada em temperatura ambiente por 1 h, e depois concentrada *a vácuo*. A purificação sobre gel de sílica (DCM:MeOH 60:40 v/v) forneceu o Composto **67** (82 mg, 90% de rendimento) como um sólido amarelo claro. ESI-MS *m/z* Calculado para $C_{46}H_{56}N_{11}O_{12}$ $[M+H]^+$: 954,40, encontrado: 954,43

[00607] **Parte B:** A uma suspensão de Composto **67** (80 mg, 0,084 mmol) em dioxano (5 mL) foi adicionado HCl (4M em dioxano, 0,42 mL, 1,68 mmol), e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 4 h. A mistura foi concentrada sob vácuo para fornecer o Composto **68** (72 mg, 100% de rendimento) como um sólido amarelo claro. ESI-MS *m/z* Calculado para $C_{41}H_{48}N_{11}O_{10}$ $[M+H]^+$: 854,35, encontrado: 854,38

[00608] **Parte C:** A uma solução agitada do Composto **68** (48 mg, 0,056 mmol), *N*-Boc-glicina (15 mg, 0,084 mmol) e PyBOP (44 mg, 0,084 mmol) em DMF (3 mL) foi adicionado DIPEA (0,088 mL, 0,51 mmol), e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2 h. A mistura foi concentrada, e o resíduo foi purificado sobre gel de sílica (DCM:MeOH 60:40 v/v) para fornecer o Composto **69** (53 mg, 93% de

rendimento) como um sólido branco. ESI-MS m/z Calculado para $C_{48}H_{59}N_{12}O_{13}$ $[M+H]^+$: 1011,42, encontrado: 1011,45

[00609] **Parte D:** A uma suspensão de Composto **69** (50 mg, 0,049 mmol) em dioxano (5 mL) foi adicionado HCl (4M em dioxano, 1 mL, 20% v/v), e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2 h depois concentrada para fornecer o Composto **70** (45 mg, 100% de rendimento) como um sólido branco. ESI-MS m/z Calculado para $C_{43}H_{51}N_{12}O_{11}$ $[M+H]^+$: 911,37, encontrado: 911,39

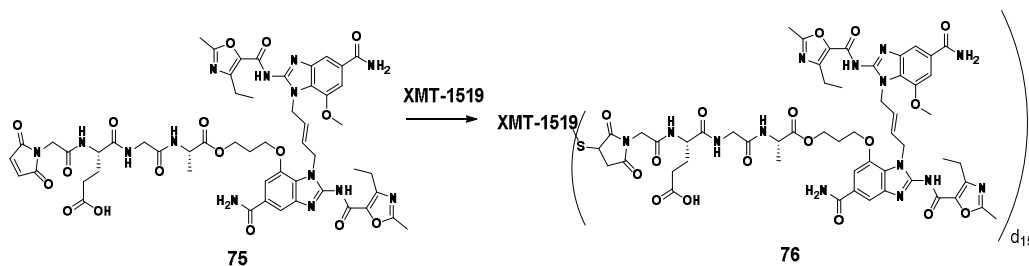
[00610] **Parte E:** A uma solução agitada do Composto **70** (20 mg, 0,022 mmol), *N*-Boc-(D)-Glu(OtBu)-OH (10 mg, 0,033 mmol) e PyBOP (17 mg, 0,033 mmol) em DMF (2 mL) foi adicionado DIPEA (0,03 mL, 0,22 mmol), e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 2 h. A mistura foi concentrada, e o resíduo foi purificado sobre gel de sílica (DCM:MeOH 60:40 v/v) para fornecer o Composto **71** (24 mg, 90% de rendimento) como um sólido branco. ESI-MS m/z Calculado para $C_{57}H_{74}N_{13}O_{16}$ $[M+H]^+$: 1196,53; encontrado: 1196,55

[00611] **Parte F:** A uma suspensão de Composto **71** (24 mg, 0,02 mmol) em DCM (5 mL) foi adicionado TFA (1 mL, 20% v/v), e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 12 h. A mistura foi concentrada para fornecer o Composto **72** (21 mg, 100% de rendimento) como um sólido amarelo claro. ESI-MS m/z Calculado para $C_{48}H_{58}N_{13}O_{14}$ $[M+H]^+$: 1040,41; encontrado: 1040,23

[00612] **Parte G:** A uma solução agitada do Composto **72** (21 mg, 0,02 mmol), 2,5-dioxopirrolidin-1-il 2-(2,5-dioxo-2,5-diidro-1H-pirrol-1-il)acetato (7,6 mg, 0,03 mmol) em DMF (2 mL) foi adicionado DIPEA (0,035 mL, 0,20 mmol), e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 1 h. A mistura foi concentrada, e o resíduo foi purificado por RP HPLC para fornecer o Arcabouço **73** (4,5 mg, 19% de rendimento) como um sólido branco. ESI-MS m/z Calculado para $C_{54}H_{61}N_{14}O_{17}$ $[M+H]^+$: 1177,43; encontrado: 1177,40

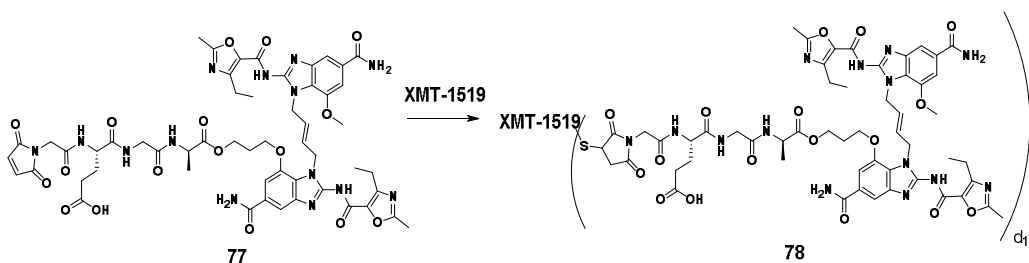
[00613] **Parte H:** Conjugado **74** foi preparado a partir do Arcabouço **73** como descrito no Exemplo 12. O Conjugado purificado **74** tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 6,9.

Exemplo 18: Síntese do Conjugado 76 com XMT-1519, DAR 7,5



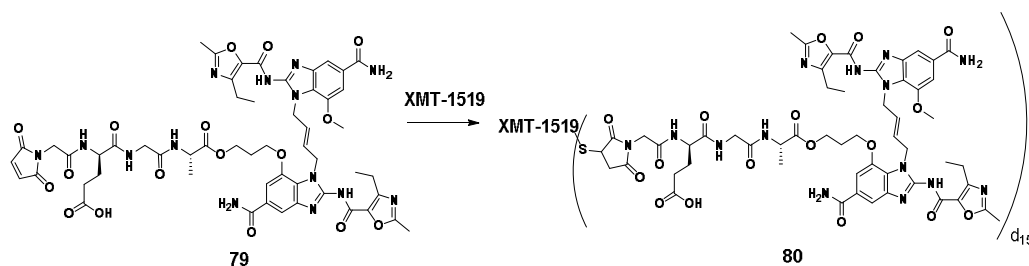
[00614] O conjugado **76** foi preparado a partir do Arcabouço **75** como descrito no Exemplo 17 exceto que *N*-Boc-(L)-Ala-OH foi usado ao invés de *N*-Boc-(D)-Ala-OH e *N*-Boc-(L)-Glu(OtBu)-OH foi usado ao invés de *N*-Boc-(D)-Glu(OtBu)-OH. O Conjugado purificado **76** tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 7,5.

Exemplo 19: Síntese do Conjugado 78 com XMT-1519, DAR 7,4



[00615] Conjugado **78** foi preparado a partir do Arcabouço **70** como descrito no Exemplo 17 exceto que *N*-Boc-(L)-Glu(OtBu)-OH foi usado ao invés de *N*-Boc-(D)-Glu(OtBu)-OH. O Conjugado **78** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 7,4.

Exemplo 20: Síntese do Conjugado 80 com XMT-1519, DAR 7,5

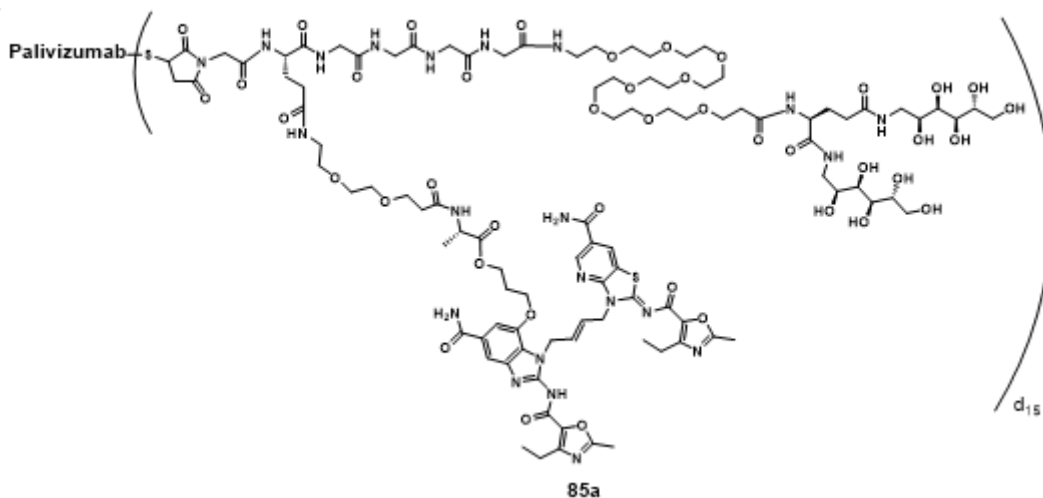


[00616] O conjugado **80** foi preparado a partir do Arcabouço **79** co-

[00618] **Parte A:** O arcabouço **84** foi preparado como descrito no Exemplo 1 exceto que Composto **83** (preparado como descrito em US 62/982.935) foi usado ao invés do Composto **1**. O arcabouço **84** foi obtido como um sólido branco felpudo (3,3 mg, 0,5% de rendimento durante 5 etapas). ESI-MS m/z Calculado para $C_{101}H_{148}N_{22}O_{42}S$ $[M+2H]^{2+}$: 1187,49; encontrado 1187,78.

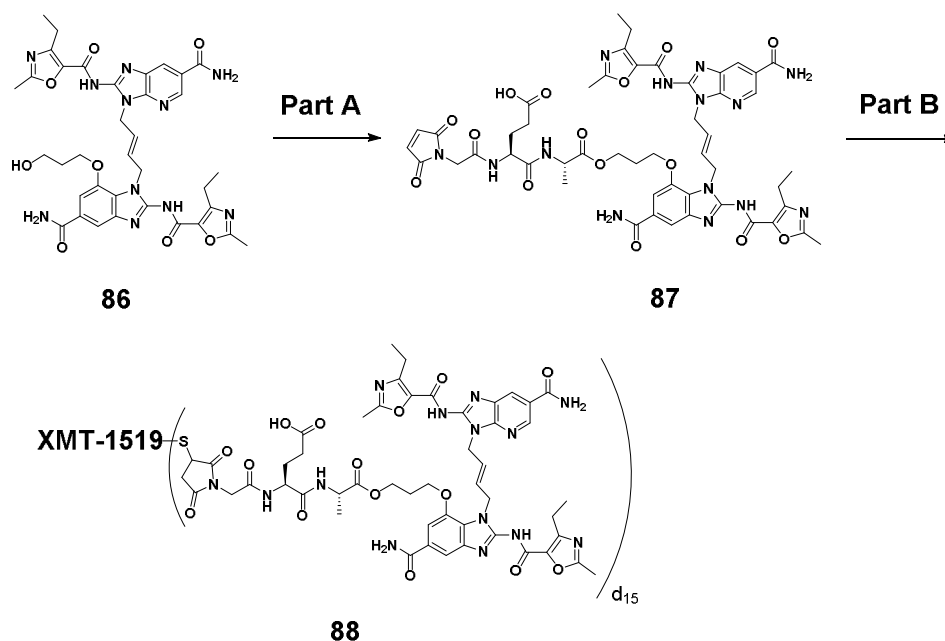
[00619] **Parte B:** O conjugado **85** foi preparado como descrito no Exemplo 1 para fornecer o Conjugado do título. O Conjugado **85** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 6,5.

Exemplo 22a: Síntese do Conjugado 85a com Palivizumabe, DAR 7,4



[00620] O conjugado **85a** foi preparado como descrito no Exemplo 1 exceto que Palivizumabe foi usado ao invés de XMT-1519.. O Conjugado **85a** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 7,4.

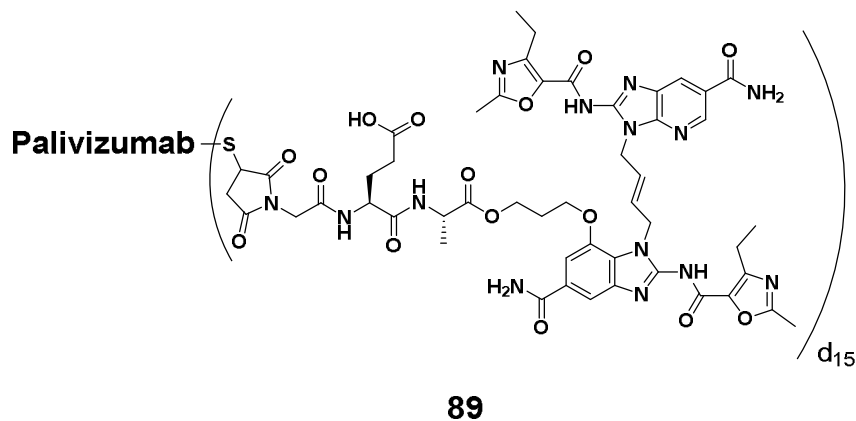
Exemplo 23: Síntese do Conjugado 88 com XMT-1519, DAR 6,6



[00621] **Parte A:** O arcabouço **87** foi preparado como descrito em Exemplo 12 exceto que o Composto **86** (preparado como descrito em US 62/982.935) foi usado ao invés de Composto **26**. ESI-MS m/z Calculado para $C_{50}H_{55}N_{14}O_{15}$ $[M+H]^+$: 1091,4; encontrado 1091,2.

[00622] **Parte B:** O conjugado **88** foi preparado como descrito em Exemplo 12 exceto que Arcabouço **87** foi usado ao invés de Arcabouço **57**. O Conjugado **88** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 6,6.

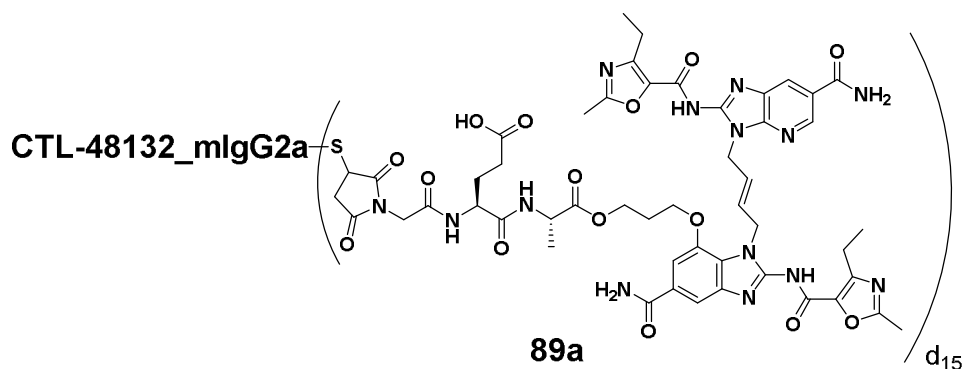
Exemplo 23a: Síntese do Conjugado 89 com Palivizumabe, DAR 5,9.



[00623] O conjugado **89** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 12 exceto que Palivizumabe foi usado ao invés de

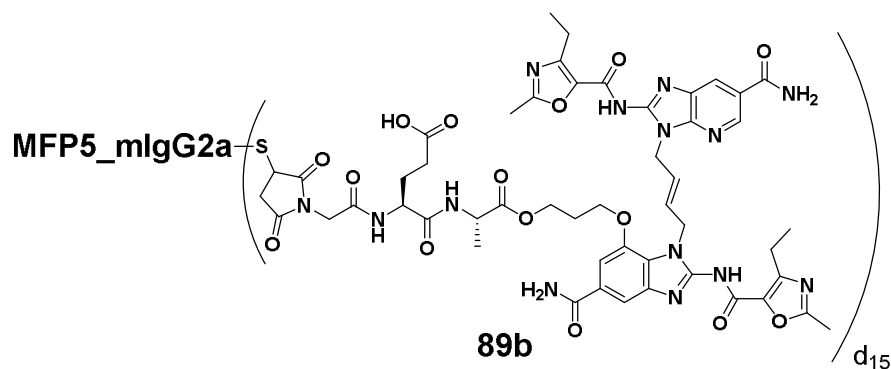
XMT-1519. O Conjugado **89** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para Palivizumabe de 5,9.

Exemplo 23b: Síntese do Conjugado 89a com CTL-48132_mIgG2a, DAR 8,8



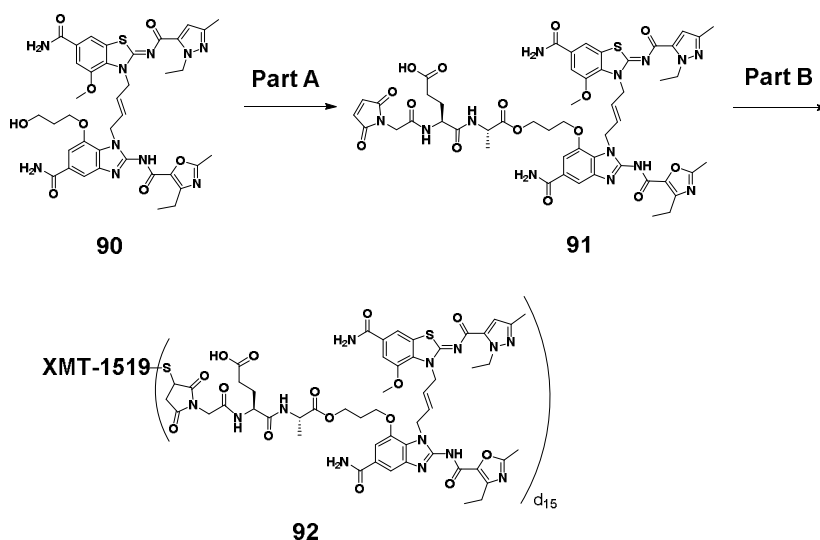
[00624] O conjugado **89a** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 12 exceto que CTL-48132_mlgG2a foi usado ao invés de XMT-1519. O Conjugado **89a** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para MFP5_mlgG2a de 8,8.

Exemplo 23c: Síntese do Conjugado 89b com MFP5_mIgG2a, DAR 9,0



[00625] O Conjugado **89b** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 12 exceto que CTL-48132_mlgG2a foi usado ao invés de XMT-1519. O Conjugado **89a** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para MFP5_mlgG2a de 9,0.

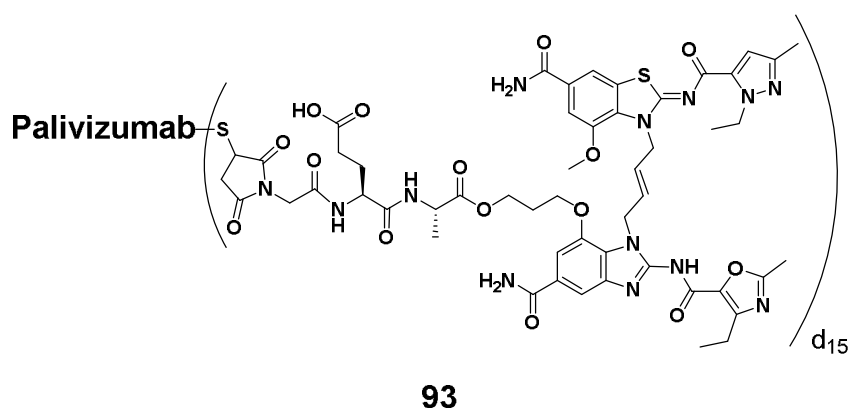
Exemplo 24: Síntese do Conjugado 92 com XMT-1519, DAR 7,6



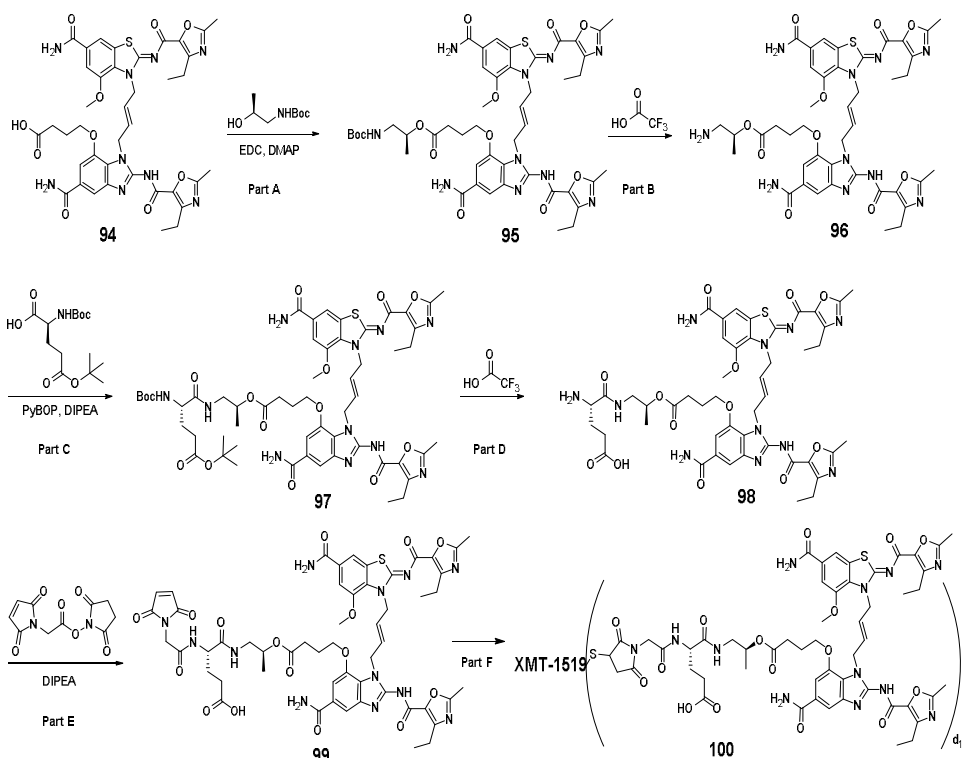
[00626] **Parte A:** O arcabouço **91** foi preparado como descrito em Exemplo 12 exceto que o Composto **90** (preparado como descrito em US 62/982.935) foi usado ao invés de Composto **26**. ESI-MS m/z Calculado para $C_{52}H_{58}N_{13}O_{15}S$ $[M+H]^+$: 1136,4; encontrado 1136,2.

[00627] **Parte B:** O conjugado **88** foi preparado como descrito em Exemplo 12 exceto que Arcabouço **87** foi usado ao invés de Arcabouço **57**. O conjugado purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 7,6.

Exemplo 24a: Síntese do Conjugado 93 com Palivizumabe, DAR 6,7



[00628] Conjugado **93** foi preparado e caracterizado como descrito no Exemplo 12 exceto que Palivizumabe foi usado ao invés de XMT-1519. O Conjugado **93** purificado tinha uma proporção de agonista de STING para Palivizumabe de 6,7.

Exemplo 25: Síntese do Conjugado 100 com XMT-1519, DAR 7,8

[00629] **Parte A:** A uma solução agitada do Composto **94** (preparado como descrito em US 62/982.935, 45 mg, 0,054 mmol) em DMF (3 mL) foi adicionado (S)-1-(Boc-amino)propan-2-ol (19 mg, 0,11 mmol), EDC (17 mg, 0,109 mmol) e DMAP (3,3 mg, 0,027 mmol), e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 12 horas. A reação foi concentrada *a vacuo*, e o resíduo foi purificado sobre gel de sílica (DCM:MeOH 60:40 v/v) para fornecer o Composto **95** (49 mg, 92% de rendimento) como um sólido branco. ESI-MS: C₄₇H₅₇N₁₀O₁₂S (M+H): calc. 985,38, encontrado: 985,21.

[00630] **Parte B:** A uma suspensão agitada do Composto **95** (49 mg, 0,05 mmol) em DCM (5 mL) foi adicionado TFA (1 mL, 20% v/v DCM), e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 12 horas. A mistura resultante foi concentrada para fornecer o Composto **96** (44 mg, 100% de rendimento) como um sólido amarelo claro. ESI-MS: C₄₂H₄₉N₁₀O₁₀S (M+H): calc. 885,33, encontrado: 885,18.

[00631] **Parte C:** A uma solução agitada do Composto **96** (50 mg,

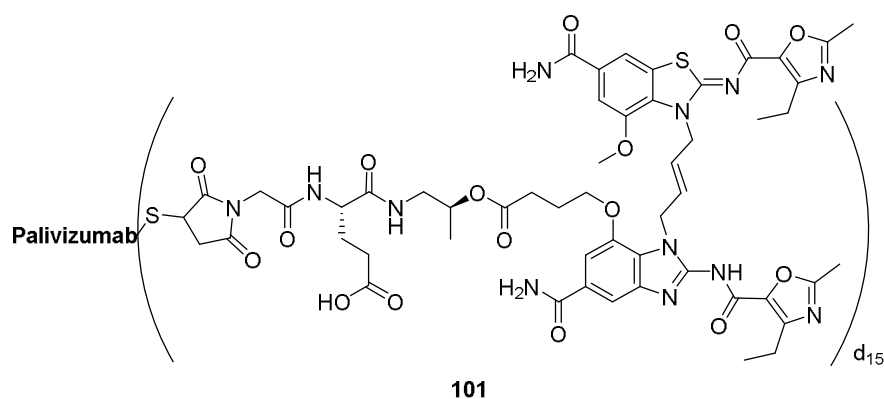
0,05 mmol) em DMF (2 mL) foi adicionado Boc-Glu-OtBu (86 mg, 0,28 mmol), PyBOP (118 mg, 0,23 mmol), e DIPEA (0,12 mL, 0,68 mmol), e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 30 minutos. A mistura foi concentrada *a vacuo*, e o resíduo foi purificado sobre gel de sílica (DCM:MeOH 60:40 v/v) para fornecer o Composto **97** (45 mg, 77% de rendimento) como um sólido branco. ESI-MS: $C_{56}H_{72}N_{11}O_{15}S$ (M+H): calc. 1170,49, encontrado: 1170,29.

[00632] **Parte D:** A uma suspensão agitada do Composto **97** (45 mg, 0,038 mmol em) DCM (5 mL) foi adicionado TFA (1 mL, 20% v/v DCM), e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 12 horas. A mistura foi concentrada *a vacuo* para fornecer o Composto **98** (38 mg, 100% de rendimento) como um sólido amarelo claro. ESI-MS: $C_{47}H_{56}N_{11}O_{13}S$ (M+H): calc. 1014,37, encontrado: 1014,20.

[00633] **Parte E:** A uma solução agitada do Composto **98** (20 mg, 0,02 mmol) em DMF (2 mL) foi adicionado 2,5-dioxopirrolidin-1-il 2-(2,5-dioxo-2,5-diidro-1H-pirrol-1-il)acetato (5 mg, 0,02 mmol) e DIPEA (0,034 mL, 0,20 mmol), e a mistura foi agitada em temperatura ambiente por 15 minutos. A reação foi paralisada com ácido acético (0,034 mL, 1:1 v/v DIPEA) e purificado diretamente através de HPLC usando C18 em fase estacionária (água:ACN) para fornecer o Arcabouço **99** (4,7 mg, 20% de rendimento) como um sólido branco. ESI-MS: $C_{53}H_{59}N_{12}O_{16}S$ (M+H): calc. 1151,38, encontrado: 1151,18.

[00634] **Parte F:** Conjugado **100** foi preparado como descrito em Exemplo 12 exceto que Arcabouço **99** foi usado ao invés do Arcabouço **57**. O Conjugado purificado tinha uma proporção de agonista de STING para XMT-1519 de 7,8.

Exemplo 25a: Síntese do Conjugado 101 com Palivizumabe, DAR 6,5



[00635] Conjugado **101** foi preparado como descrito em Exemplo 25 exceto que Palivizumabe foi usado ao invés de XMT-1519. O Conjugado purificado tinha uma proporção de agonista de STING para Palivizumabe de 6,5.

Exemplo 26A: Atividade de STING-ADC com mutante de Fc ou do tipo selvagem direcionado a células de câncer em coculturas de célula cancerígena/célula com repórter de Luciferase THP1

[00636] **Geração de anticorpos silenciosos NaPi2b Fc:** mAb NaPi2b com sua região Fc manipulada para abolir a função efetora de Fc (anti-NaPi2b-(AAG)) foi projetado com três mutações na região constante da cadeia pesada L234A, L235A e P329G (AAG; numeração Eu de Kabat) e gerado através do procedimento padronizado de biologia molecular. O anticorpo foi expresso e purificado. Resumidamente, o DNA que codifica a região variável cadeia pesada do anticorpo NaPi2b com região constante de IgG1 humana que carrega as mutações L234A, L235A e P329G e a região variável da cadeia leve do anticorpo anti-NaPi2b com cadeia leve kappa humana foram clonadas em vetores de expressão de mamíferos. A cadeia pesada e a cadeia leve de NaPi2b-(AAG) foram co-expressas em células HEK293 e o anticorpo foi purificado a partir de sobrenadantes de células por cromatografia de afinidade de Proteína A padronizada.

[00637] **Indução da via STING em células imunes:** A indução da via STING em células imunes por STING ADC direcionado a NaPi2b

foi avaliada por um ensaio de co-cultura de células de câncer/células com repórter THP1-IRF3-Luciferase. Células de carcinoma de ovário humano OVCAR3 foram semeadas em placas de cultura de tecidos de superfície CellBind de 96 poços (15.000/poço) e deixadas acoplar por 6 horas em meio RPMI-1640 com 10% de SFB (soro fetal bovino) e 1% de penicilina/estreptomicina. Uma faixa de diluições (0,4 nM a 100 nM com base na carga útil; diluições em série de 3 vezes no meio de crescimento) dos artigos de teste Conjugado **8b-1**, Conjugado **8f**, Conjugado **8d-1** e Composto **1** foram adicionados a cada poço e a placa foi incubada por 20 min a 37°C. Células repórter duplas THP1 (30.000) foram então adicionadas a cada poço e a incubação continuou por 20 horas a 37°C em uma atmosfera umidificada de CO₂ 5%. Sobrenadantes de cultura celular (20 µl) de cada amostra incubada foram adicionados a QUANTI-Luc ressuspenso (50 µl) e o sinal luminescente foi medido imediatamente usando um leitor de placas SpectraMax M5 (Molecular Devices). O valor de EC₅₀ foi determinado a partir da curva de resposta à dose. A Tabela 1A fornece os valores de EC₅₀ em células THP1-Dual co-cultivadas com células de câncer OVCAR3.

Tabela 1A

Artigo de Teste	Conjugado 8b-1	Conjugado 8f	Conjugado 8d-1	Composto 1
EC₅₀ (nM)	<0,05	43,3	41,8	6,8

[00638] Conforme mostrado na Tabela 1A, o conjugado **8b-1** com função efetora de Fc do tipo selvagem exibe atividade mais de 100 vezes maior em comparação com o agonista livre, Composto **1** e atividade aumentada em ~1000 vezes em comparação com o conjugado **8f** e conjugado **8d-1**, confirmando o papel do receptor Fc para a atividade. Os resultados apresentados são valores de EC₅₀ de um experimento representativo.

Exemplo 26B: Atividade de STING-ADC de tipo selvagem ou mutante de Fc direcionada a células de câncer em co-culturas de cé-

lulas de câncer/repórter de Luciferase THP1

[00639] Geração de anticorpos silenciosos para Fc de HER-2: O mAb Trastuzumabe com sua região Fc projetada para abolir a função efetora de Fc (anti-Her2-(AAG)) foi projetado com três mutações na região constante de cadeia pesada L234A, L235A e P329G (AAG; numeração Eu de Kabat) foi gerado como descrito no Exemplo 26A.

[00640] **Indução da via STING em células imunes:** A indução da via STING em células imunes por STING ADC direcionado a Her2 foi avaliada por um ensaio de co-cultura de células de câncer/células com repórter de THP1-IRF3-Luciferase usando células de carcinoma de mama humano SKBR3, como descrito no Exemplo 26A, com artigos de teste Conjugado **8a-2**, Conjugado **8j**, Conjugado **8c-2**, e Composto **1**). A Tabela 1A fornece os valores de EC₅₀ em células THP1-Dual co-cultivadas com células de câncer SKBR3.

Tabela 1B

Artigo de teste	Conjugado 8a-2	Conjugado 8j	Conjugado 8c-2	Composto 1
EC₅₀ (nM)	0,35	>200	>200	7,4

[00641] Conforme mostrado na Tabela 1B, o Conjugado **8a-2** com função efetora de Fc de tipo selvagem exibe atividade ~50 vezes maior em comparação com o agonista livre, Composto **1**, e atividade aumentada ~1000 vezes em comparação com o Conjugado **8j** e o Conjugado **8c-2**, confirmando o papel do receptor Fc para a atividade. Os resultados mostrados são valores de EC₅₀ de um experimento representativo.

Exemplo 27A: Atividade de STING ADC de tipo selvagem ou com Fc mutante direcionado a células de câncer em células com repórter de THP1 Luciferase cultivadas em placas revestidas com antígeno de células tumorais

[00642] O peptídeo derivado de NaPi2b humano (QINVTVPSTAN-CTSPSLCWTDGIQNWTKN) foi aplicado como revestimento sobre a superfície de cada poço de uma placa de 96 poços por incubação com

o peptídeo (1 µg/mL em PBS), durante a noite a 4°C. Os poços foram então lavados 1x com PBS-T e bloqueados por incubação com BSA (3% em PBS-T) por 1 hora à temperatura ambiente. Após lavagem com PBS-T (2x), PBS (1x) e meio de crescimento (RPMI 1640, 10% SFB (soro fetal bovino), 1% penicilina/estreptomicina, 1x), uma faixa de diluições (0,4 nM a 100 nM com base na carga útil; 3 diluições seriadas 3 vezes em meio de crescimento) dos artigos de teste, (Conjugado **8b-1**, Conjugado 8f, Conjugado **8c-1**, e Composto **1**) foram adicionados a cada poço e a placa foi incubada por 20 min a 37 °C. Células repórter THP1-Dual (50.000) foram adicionadas a cada poço e incubadas por 20 horas a 37 °C em uma atmosfera umidificada de 5% de CO₂. Os sobrenadantes de cultura celular (20 µl) de cada amostra incubada foram adicionados ao QUANTI-Luc ressuspenso (50 µl) e o sinal luminescente foi medido imediatamente usando um leitor de placas SpectraMax M5 (Molecular Devices). O valor de EC₅₀ foi determinado a partir da curva de resposta à dose. A Tabela 2A fornece os valores de EC₅₀ em células THP1-Dual cultivadas em placas revestidas com peptídeo recombinante NaPi2b.

Tabela 2A

Artigo de teste	Conjugado 8b-1	Conjugado 8f	Conjugado 8c-1	Composto 1
EC ₅₀ (nM)	<0,022	>100	18,99	5,18

[00643] Conforme mostrado na Tabela 2, o Conjugado **8b-1** com Fc de tipo selvagem exibe atividade ~100 vezes maior em comparação ao Composto **1**. O Conjugado 8f não tem atividade e Conjugado **8c-1** tem atividade ~1000 vezes menor em comparação com o Conjugado **8b-1**, confirmando o papel do receptor Fc para a atividade. Os resultados mostrados são valores de EC₅₀ de um experimento representativo.

Exemplo 27B: Atividade de STING ADC de tipo selvagem ou com Fc mutante direcionado a células de câncer em células com repórter de THP1 Luciferase cultivadas em placas revestidas com

antígeno de células tumorais

[00644] O peptídeo derivado da proteína HER2/ErbB2 humana (marcado com His, ECD, domínio IV, 17,1 kDa) foi aplicado como revestimento sobre a superfície de cada poço de uma placa de 96 poços por incubação com o peptídeo (1 µg/mL em PBS), durante a noite a 4 °C e o ensaio foi realizado conforme descrito no Exemplo 27A, exceto que diluições em série 3 vezes (0,09 nM a 200 nM com base na carga útil) dos artigos de teste Conjugado **8a-3**, Conjugado **8j**, Conjugado **8c-2**, e Composto **1** foram usadas. A Tabela 2B fornece os valores de EC₅₀ em células THP1-Dual cultivadas em placas revestidas com proteína recombinante Her2.

Tabela 2B

Artigo de teste	Conjugado 8a-3	Conjugado 8j	Conjugado 8c-2	Composto 1
EC ₅₀ (nM)	0,36	>200	>200	8,8

[00645] Conforme mostrado na Tabela 2B, o Conjugado **8a-3** com Fc de tipo selvagem exibe atividade ~100 vezes maior em comparação ao Composto **1**. Os Conjugados **8j** e o Conjugado **8c-2** não têm atividade, confirmando o papel do receptor Fc para a atividade. Os resultados mostrados são valores de EC₅₀ de um experimento representativo.

Exemplo 28A: Atividade de NaPi2b ADC direcionado para células tumorais em co-culturas de células de câncer/PBMC

[00646] Células de carcinoma de ovário humano OVCAR3 expressando de forma estável a proteína vermelha fluorescente mKate restrita ao núcleo foram geradas por transdução com o reagente IncuCyte® NucLight Red Lentivirus. Células estavelmente transduzidas (designadas como células OVCAR3-NucRed) selecionadas em meio contendo puromicina (2 µg/mL) por dois dias foram semeadas em placas de cultura de tecidos de 96 poços (8.000/poço) e deixadas para se ligarem durante a noite em meio RPMI-1640 com 10% de SFB e 1% de penici-

lina/estreptomicina. O meio de cultura foi trocado por meio fresco (50 µL). Os artigos de teste (3x concentrado, Conjugado **8b-1** (100, 10 e 1 nM), Conjugado **8f** (100, 10 e 1 nM), Conjugado **8c-1** (100 e 10 nM), e Composto 1 (100 e 10 nM); as concentrações de conjugado foram baseadas na carga útil) foram então adicionados a cada poço no meio (50 µL) e a placa foi incubada por 20 min a 37 °C. Células mononucleares de sangue periférico humanas (PBMCs) congeladas foram descongeladas de acordo com as instruções do fornecedor e foram adicionadas a cada poço (40.000 PBMCs em 50 µL de meio) e a placa foi colocada em um instrumento de imageamento de células vivas IncuCyte® em uma incubadora (37 °C, 5% de O₂) e digitalizadas a cada 4 horas durante 2 dias. O número de objetos vermelhos (células de câncer) foi quantificado usando o programa IncuCyte® Zoom. A confluência dos objetos vermelhos em cada poço foi normalizada para sua própria confluência de objetos vermelhos no ponto de tempo T = 0.

[00647] A figura 1A plota a confluência dos objetos vermelhos em função do tempo e mostra a indução robusta da morte de células de câncer por PBMCs em resposta ao Conjugado **8b-1** em uma concentração de carga útil 100x menor em comparação com o Composto 1. O conjugado 8f também exibiu atividade embora em níveis reduzidos em comparação ao Conjugado 8b. O Conjugado **8c-1** teve uma atividade significativamente menor em comparação ao Conjugado **8b-1**.

Exemplo 28B: Atividade de NaPi2b ADC direcionado para células tumorais em co-culturas de células de câncer/PBMC

[00648] Células OVCAR3-NucRed foram semeadas em placas de cultura de tecidos de 96 poços (20.000/poço) e deixadas para se ligarem por 6 horas em meio RPMI-1640 com 10% de SFB e 1% de penicilina/estreptomicina. O meio de cultura foi trocado por meio fresco (50 µL). Os artigos de teste (3x concentrado, Conjugado **8l** e **Composto 1** (cada um em 100, 10 e 1 nM) e Conjugado 8m (100 nM); as concen-

trações de conjugado foram baseadas na carga útil) foram então adicionados a cada poço em meio (50 μ L). O ensaio foi realizado como descrito no Exemplo 28A, exceto que 30.000 PBMCs foram usadas. O número de objetos vermelhos (células de câncer) foi quantificado usando o programa IncuCyte® Zoom. Os números de objetos vermelhos em cada poço foram normalizados para seus próprios números de objetos vermelhos no ponto de tempo T = 0.

[00649] A figura 1B plota os números dos objetos vermelhos em função do tempo e mostra a indução robusta da morte de células de câncer por PBMCs em resposta ao Conjugado **8I** em uma concentração de carga útil 100x menor em comparação com o Composto 1. O Conjugado **8m** não teve atividade significativa e o aumento no número de objetos vermelhos (crescimento celular) ao longo do tempo foi semelhante ao controle não tratado. A inserção mostra que nenhum dos artigos de teste (100 nM) inibiu o crescimento de células OVCAR3-NucRed em monoculturas.

Exemplo 29: Análise de citometria de fluxo de CD14, receptores Fc γ e expressão de CD3 em PBMCs e subpopulações de monócitos isoladas

[00650] As PBMCs humanas congeladas (1×10^8) foram descongeladas e aliquoteadas em três tubos: uma alíquota foi submetida ao enriquecimento de monócitos humanos [StemCell Technologies] ("monócitos com depleção de CD16"), uma alíquota foi submetida a enriquecimento de monócitos humanos sem depleção de CD16 [StemCell Technologies] ("monócitos enriquecidos"), e uma alíquota não foi submetida a enriquecimento ("PBMCs"). Para a citometria de fluxo, as células (50.000) de cada grupo foram transferidas para uma placa de 96 poços com fundo em U em 4 réplicas, lavadas com PBS e coradas com corante de coloração de células mortas fixável Live/Dead Aqua (Molecular Probes) seguido por coloração com anticorpos de controle

isotípico (anti-CD14 humano Pacific Blue, anti-CD3 humano FITC, APC/Cy7 CD16, anti-CD32 humano PE, anti-CD64 humano PE/Cy7) e específicas para o alvo (triplicatas). As células foram fixadas e a expressão de superfície das proteínas de interesse foi determinada por análise de citometria de fluxo em um citômetro de fluxo MACSQuant. A análise dos dados foi realizada pelo programa FlowJo. A Tabela 3 fornece a frequência (% de células únicas/vivas)) de CD14-/CD16+, CD14+/CD16+, CD14-/CD32+, CD14+/CD32+, CD14-/CD64+, CD14+/CD64+, e CD14-/CD3+ em PBMCs, monócitos enriquecidos e populações de monócitos com depleção de CD16

Tabela 3

População (%) [*]	CD14+ CD16+	CD14- CD16+	CD14+ CD32+	CD14- CD32+	CD14+ CD64+	CD14- CD64+	CD14- CD3+
PBMCs	1,8± 0,1	20,0± 0,8	15,5± 0,8	32,5± 0,5	15,5± 0,9	1,0± 0,3	47,5± 0,7
Monócitos Enriquecidos	4,0± 0,4	23,6± 1,2	5,1± 1,2	20,7± 0,1	41,8± 0,1	2,7± 0,3	3,4± 0,5
Monócitos com depleção de CD16	2,0± 0,2	3,0± 0,9	5,8± 0,5	24,2± 1,1	46,8± 0,6	2,7± 0,1	2,5± 1,2

^{*}Selecionado em células únicas/vivas

[00651] A Tabela 3 mostra a depleção eficiente de células CD3+ e enriquecimento de monócitos, e os níveis diminuídos de células positivas para CD16 nos monócitos com depleção de CD16 após o isolamento. Os resultados da coloração de CD64 indicam que todas as células positivas para CD14 expressam CD64 (FcγRI) em PBMCs, bem como nas subpopulações de monócitos enriquecidas.

[00652] **A figura 2** demonstra a depleção eficiente de células CD3+ e enriquecimento de monócitos, e os níveis diminuídos de células positivas para CD14 nos monócitos com depleção de CD16 após o isolamento.

Exemplo 30: Atividade de morte de células de câncer do Her2 ADC direcionado à célula tumoral com Fc mutante em co-culturas in vitro de PBMCs e de células SKBR3 com STING de tipo selvagem ou inativado (knock out)

[00653] **Geração de clones de células isoladas com inativação de STING que expressam a proteína fluorescente mKate restrita ao núcleo:** As células SKBR3 foram semeadas em placas de 24 poços (50.000/poço) e transfectadas com um sgRNA não direcionado e três sgRNAs diferentes direcionados ao gene STING humano usando o gRNA sintético TrueGuide™, a proteína Cas9 v2 TrueCut™ e o reagente de transfecção Lipofectamina™ CRISPRMAX™ da Thermo Fisher de acordo com o protocolo do fabricante. As sequências de sgRNA foram: sgNT (sem direcionamento): AAAUGUGAGAUCAAGAGUAAU; sg#3: TACTCCCTCCCAAATGCGGT; sg#4: CTCGCAGGCACTGAACATCC; e sg#5: GTTAAACGGGGTCTGCAGCC. Sete dias após a transfecção, as células individuais foram classificadas em placas de 96 poços contendo 100 µL de DMEM com 20% de SFB e 1% penicilina/estreptomicina e os clones foram formados em 2 a 3 semanas (o meio foi trocado uma a duas vezes por semana). Vários clones foram tripsinizados e expandidos para analisar a expressão de STING por Western blots usando anticorpos monoclonais de coelho anti-STING (Cell Signaling Technologies) e anti-β-Actina (Licor). Os clones sem expressão da proteína STING (conforme determinado por Western blots) foram selecionados para expressar de forma estável a proteína fluorescente mKate restrita ao núcleo, conforme descrito no Exemplo 28.

[00654] **Ensaio de morte:** Células SKBR3 com STING tipo selvagem (sgNT-2: sgRNA não direcionado, clone 2) e inativado (sg#3-2: sgRNA#3 clone 2) expressando NucRed foram semeadas em placas de 96 poços (15.000/poço) em RPMI com 10% SFB e 1% penicili-

na/estreptomicina e o ensaio de morte de PBMC foi realizado conforme descrito no Exemplo 29 usando o Conjugado **8a-3**, Conjugado **8j**, Conjugado **8c-2**, e Composto **1** cada um em 100, 25, 5 e 1 nM (as concentrações de conjugado foram baseadas na carga útil).

[00655] As figuras 3A e 3B plotam a confluência do objeto vermelho em função do tempo e mostram a morte de co-culturas de células SKBR3 com STING tipo selvagem (sgNT-2)/PBMC e co-culturas de células SKBR3 nocaute (sg#3-2) /PBMC, respectivamente. O Conjugado **8a-3** induziu morte robusta de ambas as coculturas de células SKBR3 com STING de tipo selvagem e inativado/PBMC em todas as doses testadas. O conjugado **8j** teve alta atividade em 100, 25 e 5 nM em co-culturas de células SKBR3 com STING de tipo selvagem (sgNT-2)/PBMC e baixa atividade em co-culturas de células SKBR3 com STING inativado (sg#3-2)/PBMC. O composto **1** mostrou atividade em co-culturas de células SKBR3 com STING de tipo selvagem (sgNT-2)/PBMC a 100 nM apenas e nenhuma atividade em co-culturas de células SKBR3 com STING inativado (sg#3-2)/PBMC em todas as doses. O conjugado **8c-2** não teve atividade em co-culturas de células SKBR3 com STING de tipo selvagem (sgNT-2)/PBMC nem em co-culturas de células SKBR3 com STING inativado (sg#3-2)/PBMC.

Exemplo 30A: Atividade do anticorpo Her2 e de Her 2 ADC direcionados para células tumorais em co-culturas de células SKBR3 com STING inativado ou STING de tipo selvagem/PBMC.

[00656] Células SKBR3 com STING tipo selvagem (sgNT-2: sgRNA não direcionado, clone 2) e inativado (sg#3-2: sgRNA#3 clone 2) expressando NucRed foram co-cultivadas com PBMCs e o ensaio de morte foi realizado conforme descrito no Exemplo 30 usando uma faixa de dose de Conjugado **8a-3**, Conjugado **8-j** (200 nM com base na carga útil, diluição 4x). Trastuzumabe com Fc de tipo selvagem não conjugado e Trastuzumabe com mutante AAG de Fc foram dosados com

base na concentração de anticorpo correspondente à concentração de anticorpos do Conjugado **8a-3**. Conforme mostrado na Figura 4A e FIG. 4B, o Conjugado **8a-3** exibiu morte robusta de ambas as células de câncer SKBR3 com STING do tipo selvagem e inativado, enquanto o mutante ADC direcionado a Her2 com mutante de Fc, o Conjugado **8-j**, mostrou atividade de morte apenas nas co-culturas de SKBR3 com STING tipo selvagem, que foi quase diminuída nas co-culturas de SKBR3 com STING inativado. Ambos os anticorpos Trastuzumabe não conjugados de Fc tipo selvagem e mutante AAG mostraram baixa atividade nas co-culturas de células de câncer com STING de tipo selvagem e inativado. Esses dados demonstram que a atividade de morte de células de câncer da atividade de STING-ADC direcionada a células de câncer com Fc mutante em co-culturas de células imunes é contribuída pela ativação de STING intrínseca à célula tumoral.

Exemplo 31: Atividade de NaPi2b ADC direcionado à célula tumoral em co-culturas de células de câncer/monócitos humanos na ausência de células T

[00657] Células OVCAR3-NucRed (geradas conforme descrito no Exemplo 28) foram semeadas (15.000/poço) em placas de cultura de tecidos de superfície CellBind de 96 poços (Corning) e deixadas para se ligarem por 6 horas em meio RPMI-1640 com 10% de SFB e 1% penicilina/estreptomicina. O meio de cultura foi trocado por meio fresco (50 µL). Os artigos de teste (Conjugado **8b-1** e Composto **1**, cada um a 20 e 4 nM, concentração de conjugado com base na concentração de carga útil) foram então adicionados a cada poço em meio (50 µL), e a placa foi incubada por 20 min a 37 °C. As PBMCs, os monócitos enriquecidos e os monócitos com depleção de CD16 foram preparados conforme descrito no Exemplo 29. As PBMCs vivas (30.000/poço), os monócitos enriquecidos (20.000/poço) e monócitos com depleção de CD16 (20.000/poço) foram então adicionados aos poços em meio de

cultura (50 μ L) e a placa foi colocada em um instrumento de imageamento de células vivas IncuCyte® em uma incubadora (37 °C, 5% O₂) e digitalizada a cada 4 horas durante 2 dias. O número de objetos vermelhos (células de câncer) foi quantificado usando o software IncuCyte® Zoom. A confluência dos objetos vermelhos em cada poço foi normalizada para sua própria confluência de objetos vermelhos no ponto de tempo T = 0. A confluência dos objetos vermelhos é plotada nas FIGs. 5A a 5C em função do tempo e mostra que as populações de monócitos com depleção de células T CD3+ têm atividade de morte de células de câncer comparável em resposta à atividade de ADC direcionada às células tumorais. O Conjugado **8b-1**, nas concentrações de carga útil de 4 nM e 20 nM induziram morte robusta das células de câncer OVCAR3-NucRed por PBMCs (**FIG. 5A**), monócitos enriquecidos (**FIG. 5B**) e monócitos com depleção de CD16 (**FIG. 5C**). O Composto **1** a 20 nM induziu a morte de células de câncer apenas em co-culturas de monócitos enriquecidos e de monócitos com depleção de CD16.

Exemplo 32: Medições in vitro de CXCL10 humano e ligação celular de conjugados fármaco-anticorpo direcionados a HER2 à linhagem celular de câncer de mama humano HCC1954

[00658] **As células de câncer de mama HCC1954 foram cultivadas até ~80-95% de confluência em RPMI 1640 suplementado com SFB (10%) e penicilina/estreptomicina (1%). As células foram colhidas e adicionadas a poços de uma placa de fundo plano de 96 poços (40.000/poço) e incubadas durante a noite a 37 °C, 5% de CO₂. As células foram então tratadas com conjugados anticorpo HER2 -fármaco de teste (20 μ L) conforme indicado na Tabela 4, em concentrações que variam entre 1 pM e 10 μ M e incubadas por 24 horas a 37 °C, 5% de CO₂. As placas foram centrifugadas (300 g, 5 minutos), os sobrenadantes foram coletados (100 mL) e submetidos a análise por ELISA**

para CXCL10 humano (CXCL10/IP-10 humano). As placas reveladas foram lidas em OD₄₅₀ em um leitor de placas SpectraMax M5. Os valores para cada tratamento foram plotados, e os valores de EC₅₀ calculados com o software GraphPad Prism usando um ajuste de curva de quatro parâmetros.

[00659] Para a determinação da ligação celular dos conjugados de anticorpo HER2-fármaco a HCC1954, as células foram cultivadas até ~80-95% de confluência em meio RPMI 1640 suplementado com SFB (10%) e penicilina/estreptomicina (1%). As células foram colhidas e adicionadas a poços de uma placa de fundo V de 96 poços (50.000/poço). As células foram peletizadas (300 x g, 5 minutos) e res-suspensas em soluções de conjugados de anticorpo HER2-fármaco de teste, conforme indicado na Tabela 4, em concentrações variando entre 0,01 nM e 100 nM e incubadas em gelo por 3 horas. As células foram então lavadas em PBS gelado (3x), peletizadas (300 g, 5 minutos) e incubadas com anticorpo de detecção (anti-IgG humana de cabra - Alexa-647 (cadeia H + L) por 1 hora a 4 °C. As suspensões de células foram peletizadas (300 g, 5 minutos), lavadas 3 vezes em PBS gelado e fixadas por ressuspensão em solução de paraformaldeído (2%). As células ressuspensas foram então submetidas a análise de citometria de fluxo em uma citometria de fluxo MACS Quant. Eventos únicos (10.000) foram coletados para análise. A seleção populacional e a análise da Intensidade Média de Fluorescência (MFI) foram realizados com o software FlowJo.

[00660] A Tabela 4 resume os valores médios de EC₅₀ para ligação celular e indução de CXCL10 em HCC1954.

Tabela 4

Artigos de teste	DAR	EC₅₀ ELISA CXCL10 (nM)	EC₅₀ de ligação celular (nM)
Conjugado 25	6,6	0,13	ND

Artigos de teste	DAR	EC ₅₀ ELISA CXCL10 (nM)	EC ₅₀ de ligação celular (nM)
Conjugado 45	6,5	0,17	ND
Conjugado 8-2	6,8	0,51	ND
Conjugado 28	6	0,16	1,0
Conjugado 29	5,5	0,18	ND
Conjugado 62	6,5	0,20	ND
Conjugado 64	6,4	0,22	ND
Conjugado 58	6,5	2,3	ND
Conjugado 74	6,9	3,4	ND
Conjugado 78	7,4	2,7	ND
Conjugado 28	6	0,16	1,0
Conjugado 82	5,7	0,17	ND
Conjugado 52	7,7	0,12	2,3
Conjugado 50-1	7,7	0,13	ND
Conjugado 66-2	5,3	1,38	ND
Conjugado 32-1	6,5	1,23	2,4

ND = não determinado

[00661] Conforme mostrado na Tabela 4, o tratamento de células HCC1954 com conjugados de anticorpo-fármaco direcionados a Her2 resultou em valores de EC₅₀ subnanomolares para indução de CXCL10. Quando determinado, os valores de EC₅₀ para a ligação de ADCs direcionados a Her2 a células HCC1954 também estavam na faixa nanomolar baixa.

Exemplo 33: Atividade dos conjugados de anticorpo para HER2-fármaco direcionados para células tumorais em co-culturas de células de câncer/PBMC

[00662] Atividade de morte de células de câncer: As células de câncer de mama humano SKBR3 que expressam de forma estável a proteína fluorescente mKate restrita ao núcleo foram geradas como

descrito no Exemplo 28A e designadas como células NucRed SKBR3. 20.000 células (por poço) de células NucRed SKBR3 foram semeadas em placas de cultura de tecidos de 96 poços e deixadas para se ligarem por 6 horas em 50 µL de meio RPMI-1640 com 10% de SFB e 1% de penicilina/estreptomicina. Uma gama de diluições (0,0,1 nM a 200 nM com base na carga útil; diluições em série de 4 vezes no meio de crescimento) dos 50 µL de artigos de teste (Conjugado **8a-2**, Conjugado **8-j**, Conjugado **8c-2** e Composto **1**) foram adicionadas a cada poço e a placa foi incubada por 20 min a 37 °C. As PBMCs ou os monócitos humanos primários (isolados de PBMCs conforme descrito no Exemplo 29) (50.000) foram então adicionados a cada poço e o ensaio foi realizado conforme descrito no Exemplo 28. A Tabela 5 mostra os valores de IC₅₀ (atividade de morte) dos artigos de teste em co-culturas de células de câncer / PBMC e monócitos humanos primários isolados (atividade de morte de células de câncer).

Tabela 5

Artigo de teste	Conjugado 8a-2	Conjugado 8-j	Conjugado 8c-2	Composto 1
IC ₅₀ (nM) - PBMC	0,03	0,91	NA	9,51
IC ₅₀ (nM) - Monócito	0,05	1,6	NA	8,32

[00663] Conforme mostrado na Tabela 5, o Conjugado **8a-2** exibiu potência ~300x e ~150x maior em comparação com o Composto **1** em co-culturas de PBMC e monócitos, respectivamente. A potência do Conjugado **8-j** foi ~30x e 80x menor em relação ao Conjugado **8a-2** em co-culturas de PBMC e monócitos, respectivamente. O Conjugado **8c-2** teve atividade mínima em ambas as co-culturas de PBMC e monócitos.

[00664] Indução de CXCL10: A Tabela 6 mostra os valores de EC₅₀ dos artigos de teste em co-culturas de células de câncer / PBMC e de

monócitos humanos primários isolados para indução de CXCL10.

Tabela 6

Artigo de teste	Conjugado 8a-2	Conjugado 8-j	Conjugado 8c-2	Composto 1
EC₅₀ (nM) - PBMC	0,06	2,35	NA	26,13
EC₅₀ (nM) - Monócito	0,04	2,05	NA	31,10

[00665] Conforme mostrado na Tabela 6, o Conjugado **8a-2** apresentou potência ~400x e ~700x maior para indução de CXCL10 em comparação com o Composto **1** em co-culturas de PBMC e monócitos, respectivamente. A potência do Conjugado **8-j** foi ~ 50x menor em relação ao Conjugado **8a-2** em co-culturas de PBMC e monócitos. O Conjugado **8c-2** teve atividade mínima em ambas as co-culturas de PBMC e monócitos.

[00666] Indução de IFN tipo III: As co-culturas de células SKBR3 e PBMCs foram estabelecidas como descrito acima para analisar a indução de Interferons Tipo III em sobrenadantes 24 horas após o tratamento usando um kit de ELISA para IL29/IL28b humano. A Tabela 7 mostra os valores de EC₅₀ dos artigos de teste em co-culturas de células de câncer/PBMC para indução de IL29/IL28b (IFNλ1/λ3).

Tabela 7

Artigo de teste	Conjugado 8a-2	Conjugado 8-j	Conjugado 8c-2	Composto 1
EC₅₀ (nM) - PBMC	0,08	0,54	NA	28,30

[00667] Conforme mostrado na Tabela 7, o Conjugado **8a-2** apresentou potência ~400x maior para indução de IL29/IL28b em comparação com o Composto **1** em co-culturas de PBMC. A potência do Conjugado **8-j** foi ~6x menor em relação ao Conjugado **8a-2** em co-culturas de PBMC. O conjugado **8c-2** teve atividade mínima em co-culturas de PBMC

[00668] Os dados nas Tabelas 7 a 9 demonstram que a mutação na região Fc do ADC que anula as interações de FcγR reduz, mas não elimina, a atividade de morte de células de câncer do ADC direcionado, sugerindo assim uma contribuição independente da Fc do ADC.

Exemplo 34: Indução da via STING em células imunes

[00669] A indução da via STING em células imunes por STING ADC direcionado a Her2 foi avaliada por um ensaio de co-cultura de células de câncer/células com repórter de THP1-IRF3-Luciferase. Células de adenocarcinoma de ovário humano SKOV3 foram semeadas em placas de cultura de tecidos de superfície CellBind de 96 poços (20.000/poço) e deixadas para se ligarem por 6 horas em meio McCoy 5a com 10% de SFB e 1% de penicilina/estreptomicina. Uma gama de diluições (0,01 nM a 300 nM com base na carga útil; diluições em série de 4 vezes no meio de crescimento) dos artigos de teste Conjugado **32-5**, Conjugado **32e** e Composto **30** foram adicionadas a cada poço e a placa foi incubada por 20 min a 37 °C. 50.000 células repórter THP1-Dual (50.000) foram então adicionadas a cada poço e a incubação continuou por 20 horas a 37 °C em uma atmosfera umidificada de 5% de CO₂. Os sobrenadantes de cultura celular (20 µl) de cada amostra incubada foram adicionados ao QUANTI-Luc ressuspensão (50 µl) e o sinal luminescente para IRF3 foi medido imediatamente usando um leitor de placas SpectraMax M5 (Molecular Devices). O valor de EC₅₀ foi determinado a partir da curva de resposta à dose. A Tabela 8 fornece os valores de EC₅₀ em células THP1-Dual co-cultivadas com células de câncer SKOV3.

Tabela 8

Artigo de teste	Conjugado 32-5	Conjugado 32e	Composto 30
EC ₅₀ (nM)	0,78	NA	38,51

[00670] Conforme mostrado na Tabela 8, o tratamento de co-culturas de SKOV3 e THP-1 com ADCs direcionados para Her2 resultou em valores de EC₅₀ subnanomolares a nanomolares baixos para a

indução da via STING nas células imunes THP-1.

Exemplo 35: Atividade dos conjugados de anticorpo para HER2-fármaco direcionados para células tumorais em co-culturas de células de câncer/PBMC

[00671] Indução de CXCL10: Células de adenocarcinoma de pulmão humanas Calu3 foram semeadas em placas de cultura de tecidos de 96 poços e deixadas para se ligarem durante a noite a 37 °C, 5% de CO₂ em 100 µL de meio EMEM com 10% de SFB e 1% de penicilina/estreptomicina. O meio de cultura foi trocado por meio fresco (100 µL). Uma gama de diluições (0,0,1 nM a 200 nM com base na carga útil; diluições em série de 4 vezes no meio de crescimento) dos 50 µL de artigos de teste (Conjugado **32-4**, composto 30, Conjugado **30b-1**) foram adicionadas a cada poço e o ensaio foi realizado conforme descrito no exemplo 33-Indução de CXCL10. A Tabela 9 mostra os valores de EC₅₀ dos artigos de teste em co-culturas de células de câncer / PBMC e monoculturas de células de câncer para indução de CXCL10.

Tabela 9

Artigo de teste	Conjugado 32-4	Composto 30	Conjugado 32b-1
EC ₅₀ (nM) - PBMC	0,06	160,20	NA

[00672] Conforme mostrado na Tabela 9, o Conjugado **32-4** exibiu potência subnanomolar em comparação com o Composto **30** em co-culturas e monoculturas de células de câncer/PBMC, respectivamente. O conjugado **32b-1** teve atividade mínima em ambas as co-culturas e monoculturas de células de câncer/PBMC.

Exemplo 36: Ativação da via STING em monoculturas de células de câncer na presença de meios condicionados de culturas de células imunes não tratadas

[00673] O meio condicionado foi preparado cultivando-se 1,5 x 10⁶/mL de PBMCs (dois doadores diferentes), 1 x 10⁶/mL de monócitos primários (isolados de PBMCs de dois doadores diferentes, con-

forme descrito no Exemplo 29), ou 1×10^6 /mL de células THP1 em meio RPMI-1640 com 10% de SFB e 1% de penicilina/estreptomicina por 24 horas a 37 °C, 5% O₂, em uma incubadora. Os sobrenadantes foram recolhidos e centrifugados a 2000 rpm durante 10 min para remover quaisquer células. As células SKOV3 foram semeadas em placas de 96 poços (30.000/poço) e deixadas fixar durante a noite em meio RPMI-1640 com 10% de SFB e 1% de penicilina/estreptomicina. O meio de cultura foi substituído por 100 µL/poço de meio fresco (controle) ou meio condicionado de células imunes não tratadas seguido pela adição de Composto 1 (50 µL/poço, concentração final de 100 nM) ou meio de controle (sem tratamento) a cada poço. Após incubação por 24 horas em 37 °C, 5% de O₂, os sobrenadantes das placas de 96 poços foram analisados quanto à produção de CXCL10 usando um kit ELISA para CXCL10 humano. A Tabela 10 mostra os valores de O.D. 450 para CXCL10 produzidos pelas monoculturas de células de câncer SKOV3.

Tabela 10

Meios condicionados	O.D. 450 Controle (Sem tratamento com agonista de STING)	O.D. 450 + 100 nM Composto 1
Nenhum	0,02 +/- 0,028	0,16 +/- 0,038
PBMC (Doador 1)	0,47 +/- 0,058	2,22 +/- 0,084
PBMC (Doador 2)	0,13 +/- 0,019	0,83 +/- 0,086
Monócito (Doador 1)	0,04 +/- 0,010	1,62 +/- 0,050
Monócito (Doador 2)	0,21 +/- 0,018	0,97 +/- 0,142
THP1	0,00 +/- 0,007	0,18 +/- 0,043

[00674] Conforme mostrado na Tabela 10, as células SKOV3 responderam ao tratamento com agonista de STING em monoculturas apenas na presença de meio condicionado de PBMCs e monócitos humanos primários, mas não de células THP1, sugerindo assim que as PBMCs ou os monócitos humanos primários secretam fatores que

podem sensibilizar as células de câncer ao tratamento com agonista de STING.

Exemplo 37: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugado de anticorpo anti-HER2-fármaco em SKOV3

[00675] Camundongos SCID CB.17 fêmeas foram inoculados subcutaneamente com células de câncer de ovário humano SKOV3 (10×10^6 células por camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes tumorais estavam entre 63 e 75 mm^3 (média = $65,4 \text{ mm}^3/\text{grupo}$) ($n=10/\text{grupo}$). Veículo, Trastuzumabe (3/0 mg/kg), Agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg), Conjugado 8c-1 (1/0,04 mg/kg ou 3/0,12 mg/kg), ou Conjugado 8a-1 (1/0,03 mg/kg ou 3/0,09 mg/kg) foram administrados por via intravenosa como uma dose única no dia 1 (todas as doses são administradas por anticorpo/carga útil). A perda de peso corporal transitória, dentro de limites aceitáveis, foi observada 2 a 3 dias após o tratamento, sem observações clínicas adicionais, para o agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg) e Conjugado 8c-1 (3/0,12 mg/kg). A perda de peso corporal em momentos posteriores se correlacionou com a progressão do tumor, indicando caquexia induzida pelo modelo de tumor.

[00676] **A figura 6** fornece os resultados para os volumes tumorais de camundongos portadores de tumor SKOV3 tratados com Trastuzumabe, agonista de STING diABZI, Conjugado 8c-1, Conjugado 8a-1 ou veículo. O tratamento com Trastuzumabe (3/0 mg/kg), agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg) ou Conjugado 8c-1 (1/0,04 mg/kg ou 3/0,12 mg/kg) resultou em 47,5, 36,9, 13,5 ou 25,5% de TGI, respectivamente. O tratamento com Conjugado 8a-1 (1/0,03 mg/kg ou 3/0,09 mg/kg) resultou em 86,5 e 100% de regressão do tumor, respectivamente.

Exemplo 38: Citocinas séricas após administração de conjugado de anticorpo HER2-fármaco em SKOV3

[00677] Camundongos SCID CB.17 fêmeas foram inoculados subcutaneamente com células de câncer de ovário humano SKOV3 (10×10^6 células por camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes tumorais estavam entre 108 e 172 mm^3 (média = 128 a 131,6 mm). Veículo, agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg), Conjugado **8c-1** (3/0,12 mg/kg) ou Conjugado **8a-1** (3/0,09 mg/kg) foram administrados por via intravenosa no dia 1 (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=10 para cada grupo). O soro foi coletado em 6, 12, 24 e 72 horas após a dose (n = 5 por grupo) e congelado em gelo seco para análise de citocinas séricas. Os tumores foram coletados em 12 e 72 horas após a dose (n = 5 para cada ponto de tempo) e processados em blocos embebidos em parafina e fixados em formalina (FFPE).

[00678] As citocinas séricas (Eotaxina, G-CSF, GM-CSF, IFN γ , IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12 (p40), IL-12 (p70), IL-13, IL-15, IL-17, CXCL10 (IP-10), CXCL1 (KC), LIF, LIX, MCP-1, M-CSF, MIG, MIP-1 α , MIP-1 β , MIP-2, RANTES, TNF α e VEGF) foram analisadas usando o painel de microesferas magnéticas de citocina/quimiocina de camundongo em um instrumento FlexMap3D Luminex. O software de ajuste de curva de imunoensaio Belysa foi usado para a análise dos dados.

[00679] As Figuras 7A-7H fornecem citocinas medidas em função do tempo. Apenas citocinas com um aumento mensurável em relação ao controle de veículo são mostradas (CXCL-10 (IP-10), IL-6, TNF α , IFN γ , CXCL1 (KC), MIG, MIP-1 α e RANTES). As inserções em cada gráfico mostram os níveis de citocinas induzidos pelo Conjugado **8a-1** e Conjugado **8c-1** em relação ao veículo. O agonista de STING diABZI administrado intravenosamente induziu níveis significativamente mais altos de citocinas séricas do que o Conjugado **8a-1** ou o Conjugado **8c-1**, com diferenças tão altas quanto 100 vezes para IL6 e tão baixas

quanto 6 vezes para CXCL10. Para a maioria das citocinas, não houve diferença significativa entre os ADCs de controle e direcionados, e poucas citocinas mostraram diferença entre o controle de veículo e os ADCs. As escalas do eixo Y no gráfico principal e na inserção enfatizam a diferença entre o agonista de STING diABZI e o resto dos tratamentos neste estudo.

Exemplo 39A: Respostas farmacodinâmicas (PD) após a administração de conjugado de anticorpo HER2-fármaco em SKOV3

[00680] SCID CB.17 fêmeas de seis semanas de idade foram inoculadas subcutaneamente com células de câncer de ovário humano SKOV3 (10×10^6 células por camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes do tumor estavam entre 75 e 126 mm³ (média = 94,5 a 96,7 mm³/grupo). Veículo, Conjugado 8c-1 (3/0,12 mg/kg) ou Conjugado 8a-1 (3/0,09 mg/kg), Conjugado 8c-1 (3/0,12 mg/kg) ou Conjugado 8a-1 (3/0,09 mg/kg) foram administrados por via intravenosa no dia 1 (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=12 para cada grupo). O soro foi coletado em 6, 12, 24 e 72 horas após a administração (n = 6 para cada grupo) e congelado em gelo seco para análise de citocinas séricas (dados não mostrados). Os tumores foram coletados em 12 e 72 horas (n=6 para cada grupo) e fixados em blocos de FFPE para processamento posterior.

[00681] Para análise de qPCR em tempo real, o RNA foi extraído dos blocos de FFPE usando o kit Qiagen Rneasy FFPE. As amostras foram equalizadas com base na leitura de Nanodrop e o cDNA produzido usando a mistura mestre Thermofisher SuperScript IV VILO Master Mix com ensaios de expressão gênica da enzima exDNase para CXCL10 de camundongo, interferon-beta e IL-6 foram configurados com a mistura mestre TaqMan Fast Advanced Master Mix. Ensaios ABI para Interferon- β de camundongo (IFNb), IL-6 e CXCL10 foram

usados com GAPDH e RPL30 como genes de manutenção ("house-keepers"). Os níveis de mRNA em relação ao GAPDH foram calculados usando o método $2^{-\Delta\Delta CT}$.

[00682] As Figuras 8A-8C fornecem níveis de mRNA de CXCL10, Interferon- β e IL-6 de camundongo em tumores SKOV3 medidos em 12 e 72 horas. O tratamento com Conjugado **8a-1** resultou nos níveis mais altos de mRNA de CXCL10, Interferon- β e IL-6 em 12 horas em relação ao Veículo ou Conjugado **8c-1**. Para o Conjugado **8a-1**, os níveis de mRNA de CXCL10, Interferon- β e IL-6 diminuíram em 72 horas.

[00683] A figura 9 fornece a coloração imuno-histoquímica (IHC) de CD45 de seções de tecido tumoral de FFPE com anticorpo monoclonal anti-CD45 de coelho em 12 e 72 horas para o Conjugado **8a-1**, Conjugado **8c-1** ou veículo. Como mostrado, houve aumento da infiltração de células imunes de camundongos positivas para CD45 nos tumores SKOV3 em camundongos SCID 72 horas após o tratamento com o Conjugado **8a-1**.

Exemplo 39B: Expressão de genes da via STING em xenoenxertos de tumor humano SKOV3 em camundongos SCID em resposta ao Conjugado Anticorpo HER2-Fármaco.

[00684] Camundongos CB.17 SCID fêmeas foram inoculados subcutaneamente com células de câncer de ovário humano SKOV3 e tratados com Conjugado **8a-1** (3/0,09 mg/kg) conforme descrito no Exemplo 38. Os tumores foram colhidos e processados em FFPE conforme descrito no Exemplo 31. O RNA foi extraído usando o kit Qiagen Rneasy FFPE de acordo com as instruções do kit. 150 ng de RNA por amostra foram analisados no sistema NanoString nCounter Max usando os painéis de perfilação imunológica pan-câncer humano ou de camundongo nCounter e o kit nCounter Standard Master Kit. As Tabelas 11 mostram as alterações em log2 vezes de genes da via STING

selecionados em 12 horas.

Tabela 11

Nome do gene	Humano		Camundongo	
	Alteração em Log2 vezes	Erro padrão	Alteração em Log2 vezes	Erro padrão
CXCL10	11,7	1,11	8,02	0,482
IFN β 1	9,26	1,02	4,82	1,13
IFIT2	7,88	0,229	7,12	0,435
IFIT1	6,96	0,31	5,81	0,396
ISG15	6,67	0,36	5,79	0,382
IL6	5,94	0,749	6,36	0,647
IRF1	5,48	0,14	4,83	0,125
MX1	5,4	0,324	6,68	0,542
IFIH1	5,07	0,223	4,45	0,36
IRF7	4,1	0,322	4,72	0,403
IFN λ 1	6,52	0,695	não aplicável	
IFN λ 2	4,6	0,603	Não detectado	

[00685] Conforme mostrado na Tabela 11, uma única administração de Conjugado **8a-1** resultou em indução acentuada de genes da via STING de camundongo e de humano, sugerindo que os ADCs agonistas de STING direcionados ao tumor podem induzir a ativação da via STING intrínseca ao tumor em tumores *in vivo*.

Exemplo 40: Análise farmacocinética de ADC direcionado a Her-2 em camundongos CB.17 SCID

[00686] Camundongos CB.17 SCID fêmeas de dez semanas de idade foram administrados por via intravenosa como uma dose única no dia 1 com veículo ou Conjugado **8a-1** (3/0,1 mg/kg) (as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=3 para cada grupo). O sangue foi coletado em série de todos os animais em 1, 24, 48, 72, 96, 168, 240 e 336 horas após o tratamento (n = 3 para cada grupo). O sangue total foi imediatamente diluído a 1:10 com tampão ácido (0,6% BSA (p/v), EDTA a 5 mM em 100 mL de PBS + 15,34 mL de ácido cítrico a 10

mg/mL), para um volume total de 0,1 mL. O sangue total diluído foi congelado rapidamente em gelo seco e armazenado a -80 °C até a análise de anticorpo total e fármaco conjugado.

[00687] **A figura 10** fornece os resultados para as concentrações plasmáticas circulantes do anticorpo total e do fármaco conjugado. As concentrações plasmáticas de ~25,1 µg/mL e ~0,46 µg/mL foram alcançadas para o anticorpo total e o fármaco conjugado, respectivamente, e uma taxa de depuração correspondente de ~6,71 mL/dia/kg para anticorpo total e ~20,2 mL/dia/kg para o fármaco conjugado.

[00688] Da mesma forma, o Conjugado **32-3** (1,14/0,04 mg/kg) foi administrado e o anticorpo total e o fármaco conjugado foram avaliados em 0,25, 24, 72, 168, 240 e 336 horas. Os dados são relatados na Tabela 12.

Tabela 12

	Cmax (ng/mL)	Meia-vida (dia)	AUC_∞ (Dia*ng/mL)	Cl_obs (mL/Dia/Kg)
Fármaco Conjugado	562 ± 16	6,43 ± 1,15	2880 ± 468	14,2 ± 2,51
Anticorpo Total	12200 ± 1160	8,69 ± 1,20	96300 ± 7190	11,9 ± 0,88

Exemplo 41: Expressão de genes da via STING em co-culturas de células de câncer SKBR3/PBMC em resposta ao tratamento com ADC agonista STING direcionado a Her2.

[00689] **Análise de Nanostring:** As células de câncer foram semeadas (250.000 células/poço) em duplicatas em placas de 12 poços em 0,75 mL de meio de cultura (meio RPMI-1640 com 10% de SFB e 1% de penicilina/estreptomicina) e deixadas aderir a 37 °C em uma incubadora com 5% de CO₂ durante a noite. O meio de cultura foi removido e o Conjugado **8a-3** ou veículo foi adicionado aos poços em 0,5 mL

de meio de cultura a uma concentração final de 50 nM (com base na carga útil). 500.000 PBMCs por poço foram adicionadas a cada poço em 0,5 mL de meio. Após 5 horas de incubação a 37 °C, as células suspensas foram coletadas em um tubo Eppendorf e centrifugadas brevemente. O sobrenadante foi removido e o tubo foi colocado em gelo. As células aderidas foram lisadas com o tampão de lise de RNA e transferidas para o pélete de células em suspensão. O RNA foi extraído usando Qiagen Rneasy mini kit de acordo com as instruções do kit. 150 ng de RNA por amostra foram analisados no sistema NanoString nCounter Max usando o painel de perfilação imunológica pan-câncer humano nCounter e o kit nCounter Standard Master Kit.

[00690] A Tabela 13 mostra as alterações em log2 vezes dos genes da via STING selecionados por Conjugado **8a-3** vs tratamento com veículo (5 horas) em co-culturas de células de câncer SKBR3 e PBMC in vitro. O tratamento com 50 nM de Conjugado **8a-3** levou à indução acentuada de genes da via STING e de interferons tipo III (IFN λ 1 e IFN λ 2), confirmando que o tratamento com ADCs agonistas de STING direcionados ao tumor induz genes da via STING, bem como interferons tipo III também em co-culturas de células de câncer / células imunes.

Tabela 13

Nome do gene	Alteração em Log2 vezes	Erro padrão	Valor de p
IFN λ 1	10,7	0,207	5,17E-08
IFN λ 2	12,5	0,318	2,04E-07
CXCL10	7,86	0,0538	2,85E-10
IFN β 1	9,76	0,0493	6,25E-11
IFIT2	9,15	0,393	2,72E-06
IFIT1	8,08	0,0854	2,49E-09
ISG15	6,73	0,182	2,73E-07
IL6	8,55	0,382	3,32E-06

Nome do gene	Alteração em Log2 vezes	Erro padrão	Valor de p
IRF1	6,99	0,171	1,65E-07
MX1	4,48	0,0876	5,41E-08
IFIH1	4,2	0,0853	6,49E-08
IRF7	3,45	0,15	2,92E-06

[00691] **Análise por qPCR de genes de interferon tipo III:** As co-culturas de SKBR3/PBMC foram feitas conforme descrito acima e tratadas com 50 nM e 1 nM (com base na carga útil) de Conjugado **8a-3** ou Conjugado **8c-2** por 5 horas. As células foram colhidas e o RNA foi extraído como descrito acima. A análise de qPCR foi realizada conforme descrito no Exemplo 39A. Ensaios ABI para IFN λ 1 (IL29), IFN λ 2 (IL28a), e IFN λ 3 (IL28b) humanos foram usados com GAPDH e ACTB como genes de manutenção ("housekeeper"). Os níveis de mRNA em relação ao GAPDH foram calculados usando o Método $2^{-\Delta\Delta CT}$ conforme mostrado na Tabela 14.

Tabela 14

Tratamento	Expressão relativa de mRNA		
	IFN λ 1 (IL29)	IFN λ 2 (IL28a)	IFN λ 3 (IL28b)
Conjugado 8a-3 - 50nM	190,5 $\pm$ 18,9	327 $\pm$ 2,5	27,7 $\pm$ 1,2
Conjugado 8a-3 - 1nM	89 $\pm$ 1,2	201,6 $\pm$ 32,7	29,7 $\pm$ 2,0
Conjugado 8c-2 - 50nM	1,8 $\pm$ 2,5	0	0
Conjugado 8c-2 -1 nM	0	0	0

[00692] A Tabela 14 mostra a expressão de mRNA de interferons do tipo III em relação aos genes de manutenção ("housekeeper") em resposta ao ADC direcionado e aos tratamentos com ADC de controle das co-culturas de células de câncer/PBMC. O tratamento com o Conjugado **8a-3** com dose de carga útil de 50 nM e 1 nM induziu uma re-

gulação positiva acentuada de genes de interferon tipo III. O tratamento com o Conjugado **8c-2** não induziu interferons do tipo III de forma significativa nas doses utilizadas neste experimento.

Exemplo 42: Indução de Interferons Tipo III em co-culturas de células de câncer SKBR3 de tipo selvagem ou com inativação de STING e PBMC

[00693] Co-culturas de células de câncer de tipo selvagem ou com inativação de STING (conforme descrito no Exemplo 30) e PBMC foram tratadas com Conjugado **8a-3**, Conjugado **8j-1**, Conjugado **8c-2** e Composto **1** (0,01 nM a 200 nM com base na carga útil; diluições em série de 4 vezes) e as citocinas Interferons Tipo III IFN λ 1/IFN λ 3 (IL29/IL28b) foram medidas conforme descrito no Exemplo 33 - Indução de Interferon Tipo III.

[00694] A Tabela 15 mostra a produção de citocinas Interferons Tipo III IFN λ 1/IFN λ 3 (IL29/IL28b) em co-culturas de células SKBR3 com STING tipo selvagem ou inativado e PBMC em resposta ao Conjugado **8a-3**, Conjugado **8j-1**, Conjugado **8c-2** e Composto **1**.

Tabela 15

Linhagem celular de câncer	Conjugado 8a-3		Conjugado 8j-1		Conjugado 8c-2		Composto 1	
	EC ₅₀ (nM)	Bmax (OD ₄₅₀)	EC ₅₀ (nM)	Bmax (OD ₄₅₀)	EC ₅₀ (nM)	Bmax (OD ₄₅₀)	EC ₅₀ (nM)	Bmax (OD ₄₅₀)
STING selvagem	0,13	2,6	0,89	2,6	NA	1,8	49,3	0,5
STING inativado (sgRNA#3)	0,19	0,7	NA	0,3	NA	0,2	NA	0
STING inativado (sgRNA#4)	0,27	0,7	NA	0,1	NA	0,1	NA	0

[00695] Tanto o conjugado **8a-3** quanto o Conjugado **8j-1** induziram produção robusta das citocinas Interferons Tipo III IFN λ 1/IFN λ 3 (IL29/IL28b) em co-culturas de células SKBR3 com STING tipo selvagem. O Composto **1** também induziu produção de Interferons Tipo III IFN λ 1/IFN λ 3 (IL29/IL28b) neste ambiente de co-cultura, mas com uma concentração EC₅₀ ~ 400x menor, enquanto o Conjugado **8c-2** não

teve atividade significativa. A quantidade de produção de IFN λ 1/IFN λ 3 (IL29/28b) nas co-culturas de células SKBR3 com STING inativado foi acentuadamente reduzida em resposta a todos os tratamentos, como é evidente a partir dos níveis muito baixos de Bmax (OD450).

Exemplo 43A: Efeito dos anticorpos neutralizantes IFN λ 1 (IL29) ou IFN λ 2 (IL28A) sobre a atividade de morte do ADC STING direcionado a Her2 em co-culturas de células de câncer e PBMC

[00696] Atividade de morte de células de câncer: As co-culturas de SKBR3 e PBMC foram conduzidas conforme descrito no Exemplo 33 - Indução de Interferon Tipo III para avaliar a atividade de morte do Conjugado 8a-3 (1 nM ou 0,1 nM com base na carga útil) na presença de anticorpos neutralizantes para IFN λ 1 (IL29) ou IFN λ 2 (IL28b) (10, 2, 0,4, 0,08 μ g/mL). Conforme mostrado na Figura 11 o anticorpo neutralizante de IFN λ 1 em 10, 2 e 0,4 μ g/mL inibiu a atividade de morte de células de câncer com Conjugado 8a-3 a 0,1 nM (com base na carga útil) em co-culturas de PBMC. Não foi observada inibição com os anticorpos de IFN λ 1 quando o Conjugado 8a-3 foi usado a 1 nM (com base na carga útil). Os anticorpos neutralizantes de IFN λ 2 não inibiram a atividade de morte de células de câncer, mesmo quando o Conjugado 8a-3 foi administrado a 0,1 nM

Exemplo 43B: **Indução de citocina IFN λ 1/IFN λ 3 (L29/28b)**

[00697] Placas irmãs do ensaio descrito no Exemplo 43A foram usadas para analisar IFN λ 1/ IFN λ 3 (IL29/28b) nos sobrenadantes 24 horas após o tratamento usando um kit ELISA para IL29/28b humano conforme descrito no Exemplo 33 - Indução de Interferon Tipo III. A Tabela 16 mostra os valores de OD450 obtidos de cada condição.

Tabela 16

Conjugado 8a-2 (nM)	IFN λ 1 mAb (μ g/mL)	IFN λ 1/ IFN λ 3 (IL29/28b) (OD450)
1 nM	0	2,996 $\pm$ 0,028
	10	1,470 $\pm$ 0,071

Conjugado 8a-2 (nM)	IFN λ 1 mAb (μ g/mL)	IFN λ 1/ IFN λ 3 (IL29/28b) (OD450)
	2	1,584 $\pm$ 0,099
	0,4	1,491 $\pm$ 0,071
	0,08	1,464 $\pm$ 0,077
0,1 nM	0	2,166 $\pm$ 0,023
	10	0,034 $\pm$ 0,014
	2	0,021 $\pm$ 0,008
	0,4	0,048 $\pm$ 0,011
	0,08	0,190 $\pm$ 0,014

Exemplo 43C: Indução de citocinas CXCL10, IFN β , IL6 e TNF α

[00698] Os sobrenadantes do Exemplo 43B foram usados para analisar a produção de citocinas CXCL10, IFN β , IL6 e TNF α usando um painel de microesferas magnéticas de citocina/quimocina humana em um instrumento FlexMap3D Luminex. O software de ajuste de curva de imunoenensaio Belysafoi usado para a análise dos dados. A Tabela 17 mostra as citocinas CXCL10, IFN β , IL6 e TNF α detectadas nos sobrenadantes.

Tabela 17

Conjugado 8a-2 (nM)	IFN λ 1 mAb (μ g/mL)	CXCL10 (pg/mL)	IFN β (pg/mL)	IL6 (pg/mL)	TNF α (pg/mL)
1 nM	0	1187 $\pm$ 23,1	99 $\pm$ 9,5	4228 $\pm$ 292,0	469 $\pm$ 86,3
	10	827 $\pm$ 122,5	61 $\pm$ 5,9	2191 $\pm$ 194,3	43 $\pm$ 5,5
	2	1106 $\pm$ 167,9	71 $\pm$ 9,1	2831 $\pm$ 260,9	54 $\pm$ 2,9
	0,4	1128 $\pm$ 44,9	76 $\pm$ 7,7	3735 $\pm$ 456,2	71 $\pm$ 9,6
	0,08	1155 $\pm$ 34,4	104 $\pm$ 20,6	4475 $\pm$ 725,5	170 $\pm$ 27,2
0,1 nM	0	1189 $\pm$ 7,5	32 $\pm$ 0,9	806 $\pm$ 117,9	52 $\pm$ 7,4
	10	306 $\pm$ 136,0	3 $\pm$ 1,5	77 $\pm$ 56,6	16 $\pm$ 3,8
	2	325 $\pm$ 98,2	2 $\pm$ 0,9	27 $\pm$ 15,4	12 $\pm$ 0,5
	0,4	435 $\pm$ 186,6	5 $\pm$ 2,2	42 $\pm$ 21,4	16 $\pm$ 0,5
	0,08	695 $\pm$ 173,0	15 $\pm$ 1,6	171 $\pm$ 14,1	22 $\pm$ 1,0

[00699] Juntos, esses dados demonstram que a produção de Interferon Tipo III é importante para a atividade de STING-ADC direcionada

a células tumorais, especialmente em baixas concentrações.

Exemplo 44: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugado de anticorpo NaPi2b-fármaco em OVCAR-3

[00700] Camundongos SCID CB.17 fêmeas de cinco semanas de idade foram inoculados subcutaneamente com células OVCAR-3 (5×10^6 células por camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes tumorais estavam entre 52 e 180 mm³ (média: 93 a 94 milímetros³/grupo). Veículo, agonista de STING diABZI 0/5 mg/kg), Conjugado 8c-1 (3/0,12 mg/kg), Conjugado 8b-1 (3/0,09 mg/kg), ou Conjugado 8f (3/0,12 mg/kg) foram administrados por via intravenosa como uma dose única no dia 1 (todas as doses são administradas por anticorpo/carga útil, n=8 para cada grupo). Perda de peso corporal transitória foi observada 3 a 13 dias após o tratamento sem observações clínicas adicionais para o agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg), Conjugado 8c-1, Conjugado 8b-1 e Conjugado 8f.

[00701] **A figura 12** fornece os resultados para camundongos portadores de tumor OVCAR-3 tratados com veículo, agonista de STING diABZI, Conjugado 8c-1, Conjugado 8b-1 ou Conjugado 8f. Quando comparado com o controle de veículo, o tratamento com o Conjugado 8c-1 (3/0,12 mg/kg) resultou em um aumento médio no crescimento tumoral de 70,6%. O tratamento com agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg) resultou em 42,7% de TGI. O tratamento com o Conjugado 8b-1 (3/0,09 mg/kg) resultou em 98,4% de TGI. Tratamento com o Conjugado 8f resultou em 83,1% de TGI.

Exemplo 45: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugado de anticorpo quimérico NaPi2b (hlgG1-mIgG2a)-fármaco em OVCAR-3

[00702] Camundongos SCID CB.17 fêmeas foram inoculados subcutaneamente com células de câncer de ovário humano OVCAR-3 ($5 \times$

10⁶ células por camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes tumorais estavam entre 53 e 223 mm³ (média = 112 a 122mm³/grupo). Veículo, Conjugado **8d-2** (3/0,1 mg/kg), ou Conjugado **8e** (3/0,1 mg/kg) foram administrados por via intravenosa no dia 1 (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=8 para cada grupo). Perda de peso corporal transitória dentro dos limites aceitáveis foi observada 3 a 15 dias após o tratamento sem observações clínicas adicionais para o Conjugado **8d-2** (3/0,1 mg/kg) e o Conjugado **8e** (3/0,1 mg/kg).

[00703] **A figura 13** fornece os resultados para os volumes tumorais de camundongos portadores de tumor OVCAR-3 tratados com veículo, Conjugado **8d-2** ou Conjugado **8e**. O tratamento com o Conjugado **8d-2** (3/0,1 mg/kg) resultou em 37,3% de TGI. O tratamento com Conjugado **8e** (3/0,1 mg/kg) resultou em 95,8% de TGI.

Exemplo 46: Resposta de crescimento tumoral à administração do conjugado de anticorpo para Alvo C-fármaco em um modelo de xenoenxerto de câncer de mama triplo negativo

[00704] Camundongos NCr nu/nu fêmeas de oito semanas de idade (Charles River Laboratories) foram implantados com fragmentos de tumor de câncer de mama humano triplo negativo (TNBC) (1 mm³) expressando Alvo C. Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes tumorais estavam entre 63 e 108mm³ (média = 80,7 a 82 mm³/grupo). Veículo, agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg), Conjugado **8c-1** (1/0,04 mg/kg), ou Conjugado **8h** (1/0,04 mg/kg) foram administrados por via intravenosa como uma dose única no dia 1 (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=9 para cada grupo). Perda de peso corporal transitória dentro dos limites aceitáveis foi observada 2 dias após o tratamento sem observações clínicas adicionais para o agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg).

[00705] **A figura 14** fornece os resultados para os volumes tumorais

rais de camundongos portadores de tumor TNBC humanos tratados com veículo, agonista de STING diABZI, Conjugado **8c-1**, ou Conjugado **8h**. O tratamento com agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg) resultou em 52,4% de TGI. Tratamento com Conjugado **8c-1** resultou em 35,1% de TGI. O tratamento com Conjugado **8h** (1,1/00,4 mg/kg) resultou em 51,8% de TGI.

Exemplo 47: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugado de anticorpo para Alvo D-fármaco em câncer de cólon

[00706] Camundongos C57Bl/6 fêmeas de sete a oito semanas de idade foram inoculados subcutaneamente no flanco direito com células de câncer de cólon murino (5×10^5 células por camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento 10 dias após a inoculação, quando os volumes tumorais estavam entre 63 e 108mm³ (média = 78 mm³/grupo). Veículo, Conjugado **8d-3** (1/0,04 mg/kg), ou Conjugado **8g** (0,09/0,04 mg/kg) foram administrados por via intravenosa como uma dose única no dia 1 (todas as doses representadas como anticorpo/carga útil, n=10 para cada grupo). Perda de peso corporal transitória dentro dos limites aceitáveis foi observada 2 dias após o tratamento sem observações clínicas adicionais para o Conjugado **8g** (0,9/0,04 mg/kg).

[00707] **A figura 15A** fornece os resultados para os volumes tumorais de camundongos portadores de tumor de câncer de cólon murino tratados com veículo, Conjugado **8d-3** ou Conjugado **8g**. O tratamento com Conjugado **8d-3** resultou em 42% de TGI, enquanto o tratamento com conjugado **8g** resultou em 92,5% de TGI.

[00708] **A figura 15B** mostra as curvas de sobrevida de Kaplan Meier para camundongos portadores de tumor de câncer de cólon murino tratados com veículo, Conjugado **8d-3**, ou Conjugado **8g**. Tratamento com Conjugado **8d-3**. Os camundongos tratados com Conjugado **8g** tiveram a sobrevida mais longa.

Exemplo 48: Estudo de exposição repetida para resposta de crescimento tumoral à administração de conjugado de anticorpo para Alvo D-fármaco.

[00709] Camundongos sem tumor (6 de 9) previamente tratados com Conjugado **8g** (0,9/0,04 mg/kg) do Exemplo 36 mostrado na **FIG. 16A** e animais não tratados da mesma idade do Exemplo 38 foram inoculados subcutaneamente no flanco esquerdo com células de câncer de cólon murino (5×10^5 células por camundongo) e no flanco direito com células de câncer de pulmão murino (1×10^6 células por camundongo) (n = 6 e 12, respectivamente). O crescimento tumoral de camundongos previamente tratados com Conjugado **8g** (0,9/0,04 mg/kg) quando expostos repetidamente com células de câncer de cólon murino ou células de câncer de pulmão murino é mostrado na **FIG. 16B** e na **FIG. 16C**, respectivamente. O tratamento prévio com Conjugado **8g** resultou em 25,5% de TGI do modelo murino de câncer de pulmão e 99,8% de TGI do modelo murino de câncer de cólon quando comparado com os respectivos controles não tratados.

Exemplo 49: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugado de anticorpo para Alvo E-fármaco em câncer embrionário

[00710] Camundongos Balb/C fêmeas foram inoculados subcutaneamente com células de câncer embrionário murinas (5×10^5 células por camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes do tumor estavam entre 56 e 108 mm³ (média = 75,3 a 76,5 mm³/grupo). Veículo, agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg) Conjugado **8d-3** (5,5/0,18 mg/kg), ou Conjugado **8i** (3,2/0,18 mg/kg) foram administrados por via intravenosa como uma dose única no dia 1 (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=10 para cada grupo). A perda de peso corporal transitória dentro de limites aceitáveis, foi observada 2 a 3 dias após o tratamento, sem obser-

vações clínicas adicionais, para o agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg) e Conjugado **8i** (3,2/0,18 mg/kg).

[00711] **A figura 17** fornece os resultados para os volumes tumorais de camundongos portadores de tumor de câncer embrionário murino tratados com veículo, agonista de STING diABZI, Conjugado **8d-3**, ou Conjugado **8i**. O tratamento com Conjugado **8d-3** (5,5/0,18 mg/kg) resultou em 27,5 e 66,5% de TGI, respectivamente. O tratamento com agonista de STING diABZI (0/5 mg/kg) resultou em 93,8% de TGI. O tratamento com Conjugado **8i** (3,2/0,18 mg/kg) resultou em 20,5 e 100% de TGI, respectivamente.

Exemplo 50: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugado de anticorpo anti-HER2-fármaco em câncer de ovário SKOV3

[00712] Camundongos SCID CB.17 fêmeas foram inoculados subcutaneamente com células de câncer de ovário humano SKOV3 (10×10^6 células por camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes tumorais estavam entre 63 e 75 mm³ (média = 65,4 mm³/grupo). Veículo, Conjugado **34a** (3/0,11 mg/kg), Conjugado **34** (3/0,11 mg/kg), Conjugado **20a** (3/0,09 mg/kg), ou Conjugado **20-1** (3/0,10 mg/kg) foram administrados por via intravenosa como uma dose única no dia 1 (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=10 para cada grupo). Perda de peso corporal transitória dentro dos limites aceitáveis foi observada 2 dias após o tratamento sem observações clínicas adicionais para o Conjugado **34a**, Conjugado **20a**, Conjugado **34**, e Conjugado **20-1**. A perda de peso corporal em momentos posteriores se correlacionou com a progressão do tumor, indicando caquexia induzida pelo modelo de tumor.

[00713] **A figura 18** fornece os resultados para os volumes tumorais de camundongos portadores de tumor SKOV3 tratados com veículo, Conjugado **34a**, Conjugado **34**, Conjugado **20a**, ou Conjugado **20-1**

(3/0,09 mg/kg). Tratamento com Conjugado **20a** (3/0,09 mg/kg) ou Conjugado **34a** (3/0,11 mg/kg) resultou em 21 e 65,9% de TGI, respectivamente. O tratamento com Conjugado **34** (3/0,11 mg/kg) ou com Conjugado **20-1** (3/0,10 mg/kg) resultou em 100% de regressão média do tumor.

Exemplo 51: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugado de anticorpo anti-HER2-fármaco em câncer de ovário SKOV3

[00714] Camundongos SCID CB.17 fêmeas foram inoculados subcutaneamente com células de câncer de ovário humano SKOV3 (10×10^6 células por camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes do tumor estavam entre 88 e 126 mm³ (média = 112,8 a 113,2 mm³/grupo). Veículo, Conjugado **28** (0,3/0,01 mg/kg ou 1/0,03 mg/kg), Conjugado **29** (0,2/0,01 mg/kg ou 0,8/0,02 mg/kg), Conjugado **8-2** (0,3/0,01 mg/kg ou 1/0,04 mg/kg), Conjugado **25** (0,3/0,01 mg/kg ou 1/0,04 mg/kg), ou Conjugado **45** (0,3/0,01 mg/kg ou 1/0,04 mg/kg) foram administrados por via intravenosa como uma dose única no dia 1 (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=10 para cada grupo). Perda de peso corporal transitória dentro dos limites aceitáveis foi observada 3 dias após o tratamento sem observações clínicas adicionais para o Conjugado **25** (1/0,04 mg/kg). A perda de peso corporal em momentos posteriores se correlacionou com a progressão do tumor, indicando caquexia induzida pelo modelo de tumor.

[00715] **A figura 19** fornece volumes tumorais de camundongos portadores de tumor SKOV3 tratados com veículo, Conjugado **28**, Conjugado **29**, Conjugado **8-2**, Conjugado **25** ou Conjugado **45**. Tratamento com Conjugado **28** (0,3/0,01 mg/kg ou 1/0,03 mg/kg), Conjugado **29** (0,2/0,01 mg/kg ou 0,8/0,02 mg/kg), Conjugado **8-2** (0,3/0,01 mg/kg ou 1/0,04 mg/kg), Conjugado **25** (0,3/0,01 mg/kg), ou Conjugado

do **45** (0,3/0,01 mg/kg ou 1/0,04 mg/kg) resultou em 17,6, 97,6, 12,1, 86,9, 10,9, 70,3, 81,9, 15,8 e 27,2% de TGI, respectivamente. Tratamento com Conjugado **25** (1/0,04 mg/kg) resultou em 74,5% de regressão média do tumor.

Exemplo 52: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugado de anticorpo anti-HER2-fármaco em câncer de ovário SKOV3

[00716] Camundongos fêmeas SCID CB.17 foram inoculados subcutaneamente com células de câncer de ovário humanas SKOV3 (10 x 10⁶ células/camundongo + 50% Matrigel). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes tumorais estavam entre 63 e 75 mm³ (média = 67,8 mm³/grupo). Veículo (solução salina, q3dx3 ou q5dx5), agonista de STING diABZI (1,5 mg/kg q3dx3 ou 0,128 mg/kg qdx1), Composto **30** (1,5 mg/kg q3dx3 ou 0,128 mg/kg qdx1), Conjugado **32b-2** (3,42/0,128 mg/kg qdx1), XMT-1519 (3,00 mg/kg qdx1), Conjugado **32-5** (0,100/0,004, 0,300/0,013, 1,00/0,042 ou 3,00/0,128 mg/kg qdx1), Conjugado **32e** (1,00/0,039 ou 3,00/0,117 mg/kg qdx1) foram todos administrados por via intravenosa a partir do dia 1 (todas as doses são dadas como carga útil de anticorpo, n=10 para cada grupo).

[00717] A **figura 20** fornece os volumes tumorais de camundongos portadores de tumor SKOV3 tratados com veículo, agonista de STING diABZI, Composto **30**, Conjugado **32b-2**, XMT-1519, Conjugado **32-5**, ou Conjugado **32e**. Tratamento com Conjugado **32-5** a 1,00/0,042 ou 3,00/0,117 mg/kg resultou em 10/10 respostas completas.

Exemplo 53: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugado de anticorpo anti-HER2-fármaco em 4T1 manipulada para expressar HER2 humano

[00718] Camundongos Balb/C fêmeas foram inoculados subcutaneamente com células de câncer de mama murino 4T1 manipuladas para

expressar HER2 humano (4T1-hHER2) (2×10^6 células por camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes do tumor estavam entre 75 e 88 mm³ (média = 71,5 a 80,3 mm³/grupo). Veículo, Conjugado **8d-3** (1/0,04 mg/kg), ou Conjugado **8k** (0,9/0,04 mg/kg) foram administrados por via intravenosa como uma dose única no dia 1 (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=10 para cada grupo). Perda de peso corporal transitória dentro de limites aceitáveis foi observada 2 dias após o tratamento sem observações clínicas adicionais para o Conjugado **8k** (0,9/0,04 mg/kg)

[00719] **A figura 21A** fornece os volumes tumorais de camundongos portadores de tumor 4T1-hHER2 tratados com veículo, Conjugado **8d-3** (1/0,04 mg/kg), ou Conjugado **8k** (0,9/0,04 mg/kg). O tratamento com Conjugado **8d-3** (1/0,04 mg/kg) resultou em 85,4% de TGI (**FIG. 21B**). O tratamento com Conjugado **8k** (0,9/0,04 mg/kg) resultou em 93,2% de regressão média do tumor, com 8 de 10 animais livres de tumor no final do estudo (**FIG. 21C**).

Exemplo 54: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugados de anticorpo anti-HER2 com Fc mutante-fármaco em câncer de ovário SKOV3

[00720] Camundongos fêmeas SCID CB.17 foram inoculados subcutaneamente com células de câncer de ovário humanas SKOV3 (10×10^6 células/camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes tumorais estavam entre 63 e 75 mm³ (média = 72,6 mm³/grupo). Veículo, Conjugado **8c-2** (3,17/0,10 mg/kg), Conjugado **8a-2** (2,7/0,10 mg/kg ou 0,81/0,03 mg/kg), Conjugado **8j** (2,71/0,10 mg/kg ou 0,81/0,03 mg/kg), ou agonista de STING diABZI IV (0/5 mg/kg) foram administrados por via intravenosa no dia 1 (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=10 para cada grupo).

[00721] **A figura 22** fornece os volumes tumorais de camundongos portadores de tumor SKOV3 tratados com Conjugado **8c-2**, Conjugado **8a-2**, Conjugado **8j**, ou agonista de STING diABZI IV. O tratamento com Conjugado **8a-2** (2,70/0,10 mg/kg) resultou em 10 CR e 10 TFS. O tratamento com Conjugado **8a-2** (0,81/0,030 mg/kg resultou em 2 PR, 8 CR e 3 TFS. O tratamento com Conjugado **8j** (2,71/0,10 mg/kg) resultou em 2 PR e 6 CR. O tratamento com Conjugado **8j** (0,81/0,03 mg/kg) resultou em 3 PR e 1 CR. O tratamento com agonista de STING diABZI IV (0/5 mg/kg) resultou em 7 PR.

Exemplo 55: Ligação in vitro de conjugados de anticorpo NaPi2b-fármaco a células de câncer de ovário humanas

[00722] As células OVCAR3 foram cultivadas até ~80-95% de confluência em meio RPMI 1640 suplementado com SFB (20%) e penicilina/estreptomicina (1%). As células foram colhidas e adicionadas a poços de uma placa de fundo U de 96 poços (50.000/poço). As células foram peletizadas (300 x g, 5 minutos) e ressuspensas em soluções dos artigos de teste, conforme indicado na Tabela 18, em concentrações variando entre 0,01 nM e 300 nM e incubadas em gelo por 1 hora. As células foram então lavadas em PBS gelado (3x), peletizadas (300 g, 5 minutos) e incubadas com anticorpo de detecção (anti-IgG humana de cabra -Alexa-647 (cadeia H + L) por 1 hora a 4 °C. As suspensões de células foram peletizadas (300 g, 5 minutos), lavadas 3 vezes em PBS gelado e fixadas por ressuspensão em solução de paraformaldeído (1%). As células ressuspensas foram então submetidas a análise de citometria de fluxo em uma citometria de fluxo MACS Quant. Eventos únicos (10.000) foram coletados para análise. A seleção populacional e a análise da Intensidade Mediana de Fluorescência (MFI) foram realizados com o software MACS Quant. A Tabela 18 resume os valores médios de EC₅₀ para a ligação celular.

Tabela 18

Artigos de teste	DAR	EC ₅₀ de ligação celular (nM)
Conjugado 60-1	6,2	3,33
Conjugado 32d	8,8	2,99
Conjugado 32b-1	5,7	ND
Conjugado 8b-3	6,4	8,13
XMT-1535	NA	4,29
XMT-1535	NA	3,74
XMT-1535 mlgG2a	NA	4,13
Controle de IgG humano	NA	ND

ND = Não Determinado; NA = Não Aplicável

[00723] Conforme mostrado na Tabela 18, os valores de EC₅₀ para a ligação de ADCs NaPi2b a células OVCAR3 estavam na faixa nanomolar baixa, enquanto os controles isotípicos não se ligaram a células OVCAR3.

Exemplo 56: Atividade funcional de bioconjugados de NaPi2b em um ensaio de co-cultura de células de câncer de ovário humanas OVCAR3 e células com repórter de THP1

[00724] A indução da via STING em células imunes por STING ADC direcionado a NaPi2b foi avaliada em um ensaio de co-cultura de células de câncer/células com repórter de THP1-IRF3-Luciferase. Células de carcinoma de ovário humano OVCAR3 foram semeadas em placas de cultura de tecidos de superfície CellBind de 96 poços (20.000/poço) e deixadas para se ligarem por 6 horas em meio RPMI com 20% de SFB e 1% de penicilina/estreptomicina. Uma gama de diluições (0,01 nM a 300 nM com base na carga útil; diluições em série de 3 vezes no meio de crescimento) dos artigos de teste foram adicionadas a cada poço e a placa foi incubada por 20 min a 37 °C. 50.000 células com repórter THP1-Dual foram então adicionadas a cada poço e a incubação continuou por 20 horas a 37 °C, 5% de CO₂. Os sobrenadantes de cultura celular (20 µl) de cada amostra incubada foram

adicionados ao QUANTI-Luc ressuspenso (50 µl) e o sinal luminescente foi medido imediatamente usando um leitor de placas SpectraMax M5 (Molecular Devices). O valor de EC₅₀ foi determinado a partir da curva de resposta à dose. A Tabela 19 fornece os valores de EC₅₀ em células THP1-Dual co-cultivadas com células de câncer OVCAR3.

Tabela 19

Artigo de teste	Conjugado 32a	Conjugado 32d	Conjugado 32c	Conjugado 32b-1	Conjugado 8b-3
EC ₅₀ (nM)	0,29	0,47	NA	NA	0,21

[00725] Conforme mostrado na Tabela 19, o tratamento de co-culturas de OVCAR3 e THP-1 com NaPi2b-ADCs resultou em valores de EC₅₀ subnanomolares para a indução da via STING nas células imunes THP-1, enquanto os controles isotípicos não tiveram atividade.

Exemplo 57: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugados de anticorpo NaPi2b-fármaco em OVCAR-3

[00726] Camundongos fêmeas SCID CB.17 foram inoculados subcutaneamente com células de câncer de ovário humanas OVCAR-3 (5 x 10⁶ células/camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes tumorais estavam entre 56 e 122 mm³ (média = 83,9 – 84,7 mm³/grupo). O Veículo, Conjugado **32b-1** (3,39/0,10 mg/kg), Conjugado **32a** (0,93/0,03 ou 3,12/0,10 mg/kg), Conjugado **32c** (2,12/0,10 mg/kg), Conjugado **32d** (2,20/0,10 mg/kg), ou agonista diABZI IV STING (0/5 mg/kg) foram administrados por via intravenosa no dia 1 (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=10 para cada grupo).

[00727] **A figura 23** fornece os resultados para os volumes tumorais de camundongos portadores de tumor OVCAR-3 tratados com Conjugado **32b-1**, Conjugado **32a**, Conjugado **32c**, Conjugado **32d**, ou agonista de STING diABZI IV.

Exemplo 58: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugado de anticorpo para STING NaPi2b-fármaco em combina-

ção com um conjugado de anticorpo-AF-HPA-fármaco em OVCAR-3

[00728] Camundongos fêmeas SCID CB.17 foram inoculados subcutaneamente com células de câncer de ovário humanas OVCAR-3 (5×10^6 células/camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes do tumor estavam entre 68 e 247 mm³ (média = 148 a 148,2 mm³/grupo) veículo; uma combinação de ADC de Rituximabe AF-HPA (0,75/0,023 mg/kg) e Conjugado **8c-2** (4,0/0,126 mg/kg); ADC de XMT-1535 AF-HPA (0,75/0,024 mg/kg); Conjugado **8b-2** (2,0/0,071 ou 4,0/0,142 mg/kg); uma combinação de ADC de XMT-1535 AF-HPA (0,75/0,024 mg/kg) e Conjugado **8c-2** (4,0/0,126 mg/kg); uma combinação de ADC de Rituximabe AF-HPA (0,75/0,023 mg/kg) e Conjugado **8b-2** (4,0/0,142 mg/kg); uma combinação de ADC de Rituximabe AF-HPA (0,75/0,023 mg/kg) e Conjugado **8b-2** (2,0/0,071 mg/kg); uma combinação de ADC de XMT-1535 AF-HPA (0,75/0,024 mg/kg) e Conjugado **8b-2** (4,0/0,142 mg/kg); uma combinação de ADC de XMT-1535 AF-HPA (0,75/0,024 mg/kg) e Conjugado **8b-2** (2,0/0,071 mg/kg); uma combinação de ADC XMT-1535 AF-HPA (0,75/0,024 mg/kg) e XMT-1535 (4,0/0 mg/kg); ou XMT-1535 (4,75/0 mg/kg) foram administrados por via intravenosa no dia 1 (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=10 para cada grupo).

[00729] **A figura 24** fornece os resultados para os volumes tumorais de camundongos portadores de tumor OVCAR-3 tratados com veículo; uma combinação de ADC de Rituximabe AF-HPA e Conjugado **8c-2**; ADC de XMT-1535 AF-HPA; Conjugado **8b-2**; uma combinação de ADC de XMT-1535 AF-HPA e Conjugado **8c-2**; uma combinação de ADC de Rituximabe AF-HPA e Conjugado **8b-2**; uma combinação de ADC de Rituximabe AF-HPA e Conjugado **8b-2**; uma combinação de ADC de XMT-1535 AF-HPA e Conjugado **8b-2**; uma combinação de ADC de XMT-1535 AF-HPA e Conjugado **8b-2**; uma combinação de

ADC de XMT-1535 AF-HPA e XMT-1535; ou XMT-1535. Todos os cálculos foram baseados nos valores no dia 22. O tratamento com uma combinação de ADC de Rituximabe AF-HPA (0,75/0,023 mg/kg) e Conjugado **8c-2** (4,0/0,126 mg/kg) resultou em TGI de 25,1% (n=10). O tratamento com ADC de XMT-1535 AF-HPA (0,75/0,024 mg/kg) resultou em um TGI de 71,6% (n=9) e um encolhimento médio do tumor de 71,2% (n=1). O tratamento com Conjugado **8b-2** (4,0/0,142 mg/kg) resultou em TGI de 72,9% (n=9) e um encolhimento médio do tumor de 48% (n=1). O tratamento com Conjugado **8b-2** (2,0/0,071 mg/kg) resultou em TGI de 59,8% (n=10). O tratamento com uma combinação de ADC de XMT-1535 AF-HPA (0,75/0,024 mg/kg) e Conjugado **8c-2** (4,0/0,126 mg/kg) resultou em uma TGI de 85,1% (n=9) e um encolhimento médio do tumor de 24,6% (n=1). O tratamento com uma combinação de ADC de Rituximabe AF-HPA (0,75/0,023 mg/kg) e Conjugado **8b-2** (4,0/0,142 mg/kg) resultou em a TGI de 61,7% (n=10). O tratamento com uma combinação de ADC de Rituximabe AF-HPA (0,74/0,023 mg/kg) e Conjugado **8b-2** (2,0/0,071 mg/kg) resultou em a TGI de 55,7% (n=10). O tratamento com uma combinação de ADC de XMT-1535 AF-HPA (0,75/0,024 mg/kg) e Conjugado **8b-2** (4,0/0,142 mg/kg) resultou em uma TGI de 95,2% (n=4) e um encolhimento médio do tumor de 60,5% (n=6). O tratamento com uma combinação de ADC de XMT-1535 AF-HPA (0,75/0,024 mg/kg) e Conjugado **8b-2** (2,0/0,071 mg/kg) resultou em uma TGI de 98,2% (n=8) e um encolhimento médio do tumor de 17,8% (n=2). O tratamento com uma combinação de ADC de XMT-1535 AF-HPA (0,75/0,024 mg/kg) e XMT-1535 (4,00/0 mg/kg) resultou em uma TGI de 68,2% (n=9) e um encolhimento médio do tumor de 23,7% (n=1). O tratamento com XMT-1535 (4,75/0 mg/kg) resultou em TGI de 0,6% (n=10).

Exemplo 59: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugados de anticorpo anti-HER2-fármaco em câncer de ovário

SKOV3

[00730] Camundongos fêmeas SCID CB.17 foram inoculados subcutaneamente com células de câncer de ovário humanas SKOV3 (10×10^6 células/camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes do tumor estavam entre 75 e 100 mm³ (média = 84 a 85 mm³/grupo). Veículo, Conjugado **32b** (0,85/0,03 mg/kg), Conjugado **32-2** (0,90/0,03 mg/kg), Conjugado **88** (0,87/0,03 mg/kg), Conjugado **85** (2,87/0,10 mg/kg), Conjugado **92** (2,36/0,10 mg/kg), Conjugado **100** (2,23/0,10 mg/kg), Conjugado **89** (0,99/0,030 mg/kg), Conjugado **85a** (2,59/0,10 mg/kg), Conjugado **93** (2,85/0,10 mg/kg), ou Conjugado **101** (2,70/0,10 mg/kg) foram administrados por via intravenosa no dia 1 (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=10 para cada grupo).

[00731] **A figura 25** fornece os resultados para os volumes tumorais de camundongos portadores de tumor SKOV3 tratados com Conjugado **32b**, Conjugado **32-2**, Conjugado **88**, Conjugado **85**, Conjugado **92**, Conjugado **100**, Conjugado **89**, Conjugado **85a**, Conjugado **93**, ou Conjugado **101**. O tratamento com Conjugado **32-2** (0,90/0,03 mg/kg) resultou em 1 PR e 9 CR e 5 TFS. O tratamento com Conjugado **88** (0,87/0,03 mg/kg) resultou em 6 CR e 4 TFS. O tratamento com Conjugado **85** (2,87/0,10 mg/kg) resultou em 9 CR e 8 TFS. O tratamento com Conjugado **100** (2,23/0,10 mg/kg) resultou 1 PR.

Exemplo 60: Resposta de crescimento tumoral à administração de conjugados de anticorpo HER2-fármaco em SKOV3

[00732] Camundongos fêmeas SCID CB.17 foram inoculados subcutaneamente com células de câncer de ovário humanas SKOV3 (10×10^6 células/camundongo). Os animais foram randomizados em grupos de tratamento quando os volumes tumorais estavam entre 75 e 144mm³ (média = 112 a 114 mm³/grupo) (n=10/grupo). Veículo, Conjugado **28** (0,99/0,0325 mg/kg), ou Conjugado **62** (0,9/0,0325 mg/kg)

foram administrados por via intravenosa no dia 1 (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=10 para cada grupo).

[00733] **A figura 26** fornece os resultados para os volumes tumorais de camundongos portadores de tumor SKOV3 tratados com veículo, Conjugado **28** ou Conjugado **62** (direcionados a HER2). O tratamento com Conjugado **28** (0,99/0,0325 mg/kg) resultou em 1 PR, 8 CR e 5 TFS. O tratamento com Conjugado **62** (0,92/0,0325 mg/kg) resultou em 2 PR, 7 CR e 4 TFS.

Exemplo 61: Farmacocinética de conjugados anticorpo para HER2-fármaco em SKOV3

[00734] Camundongos CB.17 SCID fêmeas foram tratados com uma única injeção intravenosa de veículo, Conjugado **28** (3,0/0,10 mg/kg), ou Conjugado **62** (2,84/0,10 mg/kg) (todas as doses são dadas como anticorpo/carga útil, n=4 para cada grupo). O plasma foi coletado em 15 minutos, 1, 6, 24, 48, 72, 96, 168 e 336 horas após o tratamento. O plasma foi diluído a 1:10 em 1,33 mg/mL de ácido cítrico para um volume total de 0,1 mL. O plasma diluído foi congelado rapidamente em gelo seco e armazenado a -80 °C até a análise de farmacocinética.

[00735] **A figura 27** fornece os resultados para as concentrações plasmáticas circulantes do fármaco conjugado. Concentrações plasmáticas de ~2,5 µg/mL e ~1,8 µg/mL foram alcançadas para o Conjugado **28** e Conjugado **62**, respectivamente, e uma taxa de depuração correspondente de ~9,05 mL/dia/kg e ~14,6 mL/dia/kg, respectivamente.

EQUIVALENTES

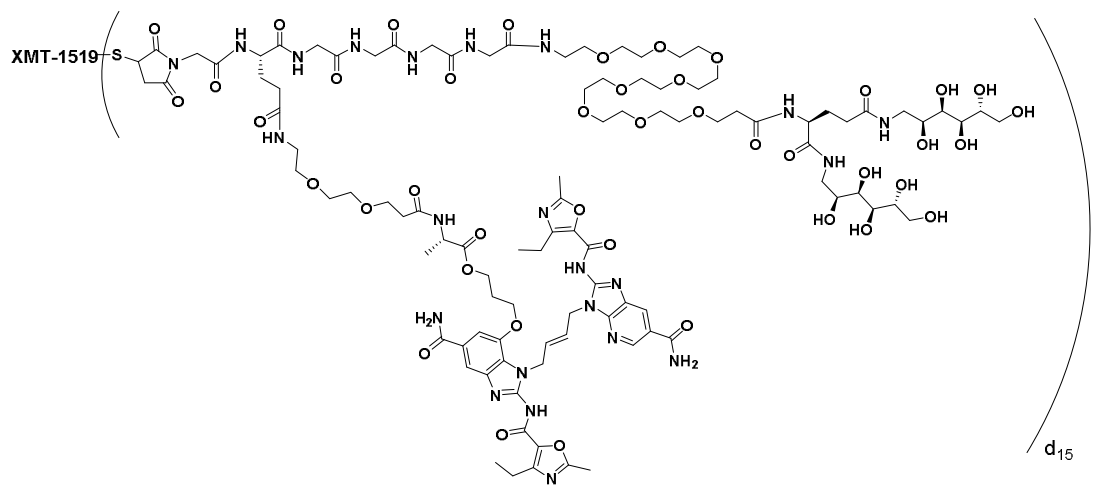
[00736] Os detalhes de uma ou mais modalidades da invenção são apresentados na descrição apresentada acima. Embora quaisquer métodos e materiais semelhantes ou equivalentes aos descritos neste documento possam ser usados na prática ou teste da presente divulgação, os métodos e materiais são agora descritos. Outros recursos,

objetivos e vantagens da revelação serão evidentes a partir da descrição e das reivindicações. No relatório descritivo e nas reivindicações em anexo, as formas no singular incluem referências no plural a não ser que o contexto dite claramente de outro modo. Exceto onde definido em contrário, todos os termos técnicos e científicos aqui usados têm o mesmo significado comumente entendido pelo versado na técnica à qual esta revelação pertence. Todas as patentes e publicações citadas neste relatório descritivo são incorporadas por referência.

[00737] A descrição anterior foi apresentada apenas para fins de ilustração e não pretende limitar a invenção à forma precisa divulgada, mas pelas reivindicações em anexo.

REIVINDICAÇÕES

1. Conjugado anticorpo-fármaco (ADC), caracterizado pelo fato de que é



ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo,

em que o conjugado compreende o anticorpo XMT-1519 compreendendo uma região 1 determinante de complementaridade de cadeia pesada variável (CDRH1) compreendendo a sequência de aminoácidos FTFSSYSMN (SEQ ID NO: 20); uma região determinante de complementaridade de cadeia pesada variável 2 (CDRH2) compreendendo a sequência de aminoácidos YISSSSSSTIYYADSVKG (SEQ ID NO: 21); uma região variável determinante de complementaridade de cadeia pesada 3 (CDRH3) compreendendo a sequência de aminoácidos GGHGYFDL (SEQ ID NO: 22); e uma região variável determinante de complementaridade da cadeia leve 1 (CDRL1) compreendendo a sequência de aminoácidos RASQSVSSSYLA (SEQ ID NO: 27); uma região determinante de complementaridade de cadeia leve variável 2 (CDRL2) compreendendo a sequência de aminoácidos GASSRAT (SEQ ID NO: 28); e uma região determinante de complementaridade de cadeia leve variável 3 (CDRL3) compreendendo a sequência de aminoácidos QQYHHSPLT (SEQ ID NO: 29), e d_{15} representa um inteiro variando de cerca de 1 a cerca de 20.

2. Conjugado, de acordo com a reivindicação 1, caracteri-

zado pelo fato de que o anticorpo XMT-1519 compreende uma região variável de cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos apresentada em SEQ ID NO: 17 e uma região variável de cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos apresentada em SEQ ID NO : 24.

3. Conjugado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que o anticorpo XMT-1519 compreende uma cadeia pesada compreendendo a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 19 e uma cadeia leve compreendendo a sequência de aminoácidos apresentada na SEQ ID NO: 26.

4. Conjugado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que d_{15} representa um número inteiro que varia de cerca de 2 a cerca de 14.

5. Conjugado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que d_{15} representa um número inteiro que varia de cerca de 2 a cerca de 8.

6. Conjugado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que d_{15} é cerca de 2, cerca de 4, cerca de 6 ou cerca de 8.

7. Conjugado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que d_{15} é um número inteiro que varia de cerca de 6 a cerca de 10.

8. Conjugado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que d_{15} é cerca de 6.

9. Conjugado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que d_{15} é cerca de 7.

10. Conjugado, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que d_{15} é cerca de 8.

11. Composição farmacêutica caracterizada pelo fato de que compreende o conjugado de qualquer uma das reivindicações an-

teriores e um ou mais carreadores ou excipientes farmacologicamente aceitáveis .

12. Composição farmacêutica, caracterizada pelo fato de que compreende o conjugado como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 11, compreendendo ainda pelo menos um imunomodulador ou pelo menos um agente imunoestimulador.

13. Método para ativar ou potencializar uma atividade de um estimulador de genes de interferon (STING) em um sujeito, caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao sujeito o conjugado de qualquer uma das reivindicações anteriores ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

14. Método de prevenção ou tratamento de uma doença ou distúrbio em um sujeito, caracterizado pelo fato de que compreende administrar ao sujeito uma quantidade terapêuticamente eficaz do conjugado de qualquer uma das reivindicações anteriores ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo.

15. Conjugado de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 11, ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, caracterizado pelo fato de ser para ativar ou aumentar uma atividade de um estimulador de genes de interferon (STING) em um sujeito.

16. Conjugado, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 15, ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, para prevenir ou tratar uma doença ou distúrbio em um sujeito.

17. Uso do conjugado como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 11, ou um sal farmacologicamente aceitável do mesmo, caracterizado pelo fato de ser na fabricação de uma composição, produto ou medicamento para ativar ou aumentar uma atividade de um estimulador de genes de interferon (STING) em um sujeito.

18. Uso do conjugado como definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 11, ou um sal farmacologicamente aceitável do

mesmo, na fabricação de um medicamento para prevenir ou tratar uma doença ou distúrbio em um sujeito.

19. Método, conjugado para uso ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 18, caracterizado pelo fato de que a doença ou distúrbio está associado ao agonismo de STING.

20. Método, conjugado para uso ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 19, caracterizado pelo fato de que a doença ou distúrbio é câncer.

21. Método, conjugado para uso ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 20, caracterizado pelo fato de que a doença ou distúrbio é câncer de bexiga, câncer de mama, câncer colorretal, câncer de cólon, câncer de endométrio, câncer gástrico, carcinoma escamoso de cabeça e pescoço, melanoma , câncer de pulmão, câncer de ovário, câncer de esôfago, câncer biliar , câncer urotelial, câncer cervical, câncer papilar da tireoide, câncer de células renais papilares, colangiocarcinoma, câncer do ducto salivar, câncer renal ou câncer pancreático.

22. Método, conjugado para uso ou uso, de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 21, caracterizado pelo fato de que a doença ou distúrbio é câncer de mama, câncer colorretal, câncer gástrico ou câncer de pulmão.

23. Composição farmacêutica, caracterizado pelo fato de que compreende um conjugado aqui descrito e um ou mais veículos ou excipientes farmacêuticamente aceitáveis.

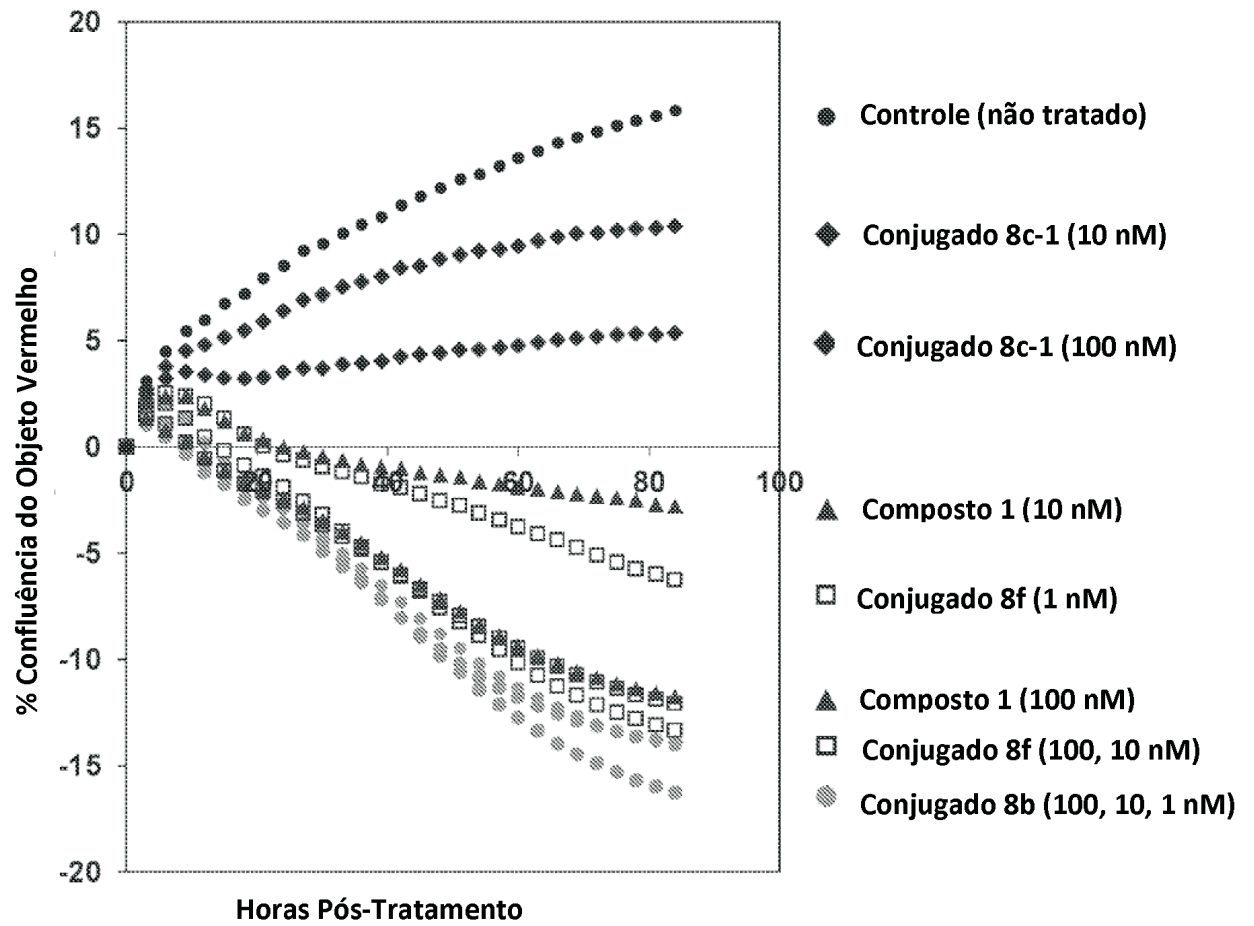


FIG 1A

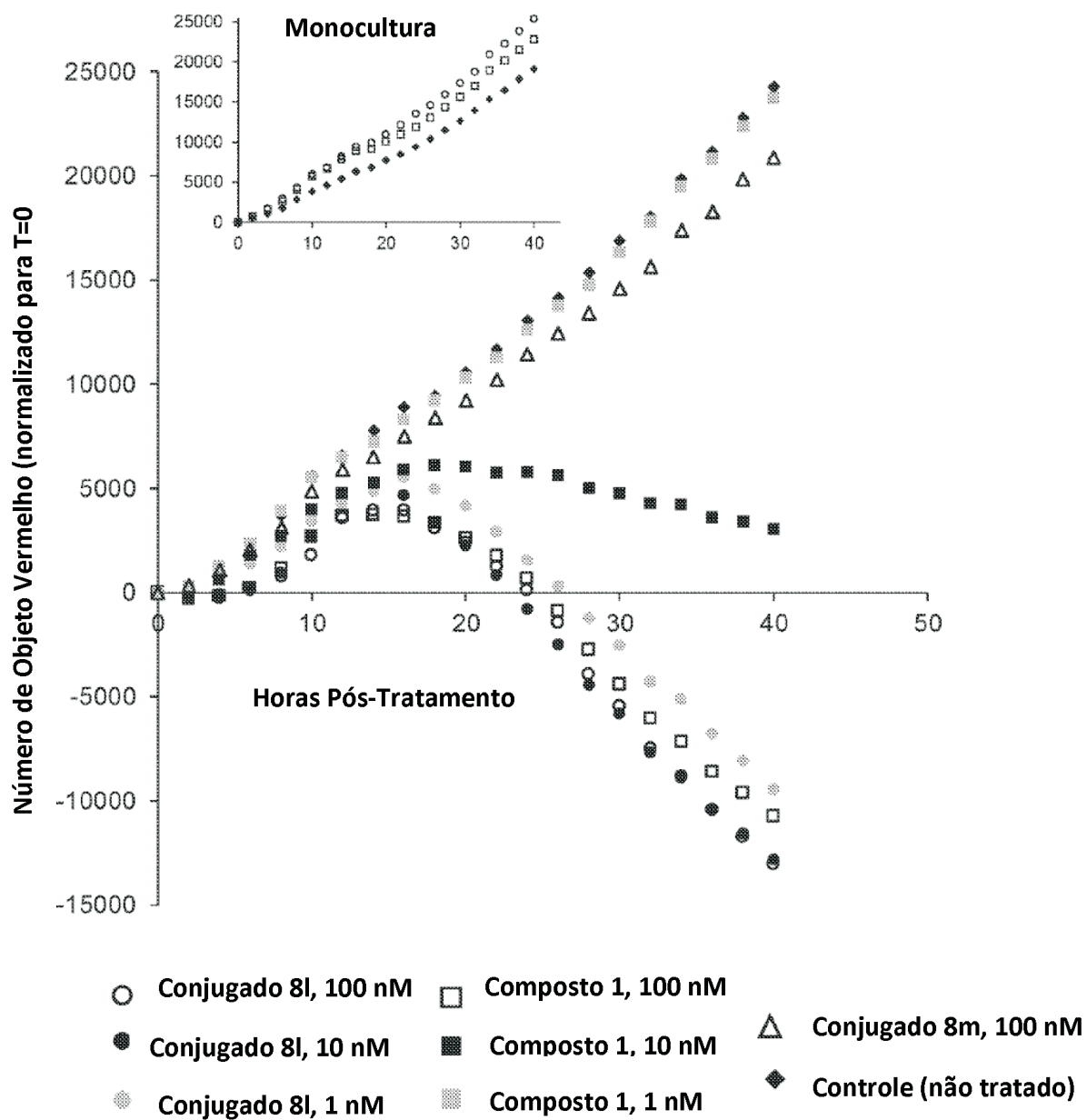


FIG 1B

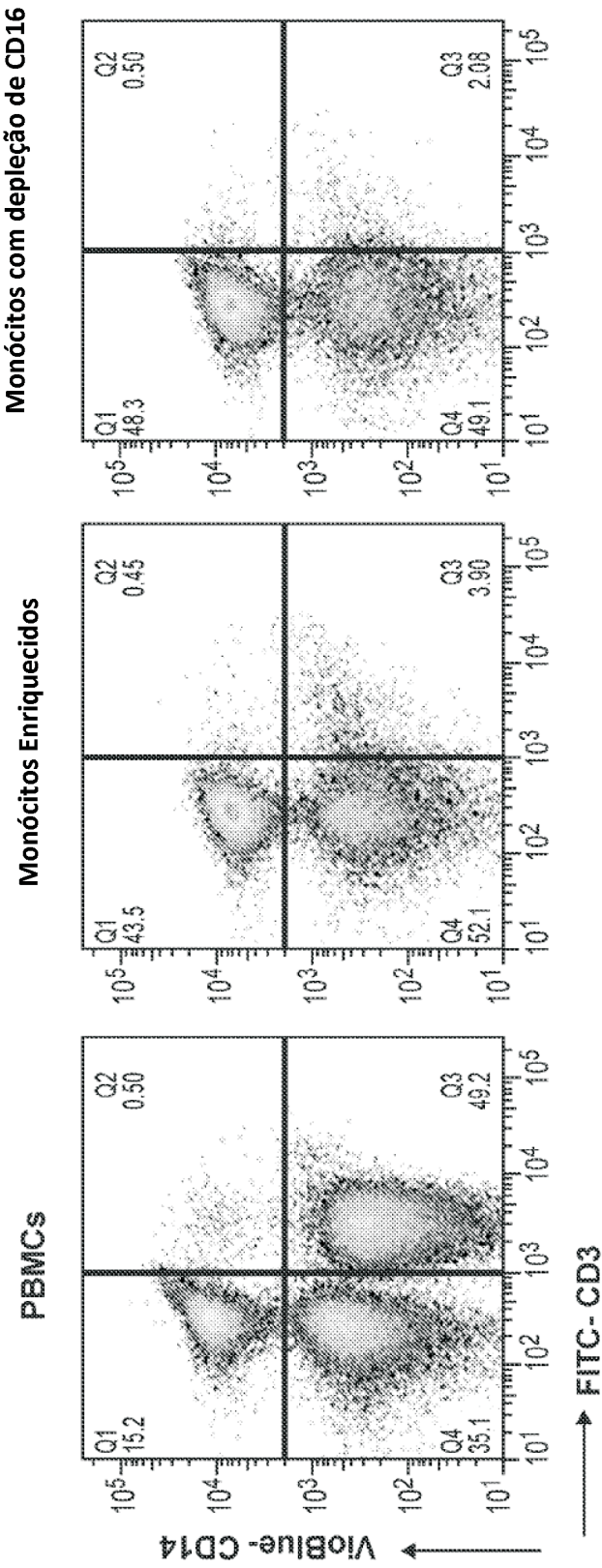


FIG 2

Co-culturas de SKBR3 tipo selvagem/PBMC

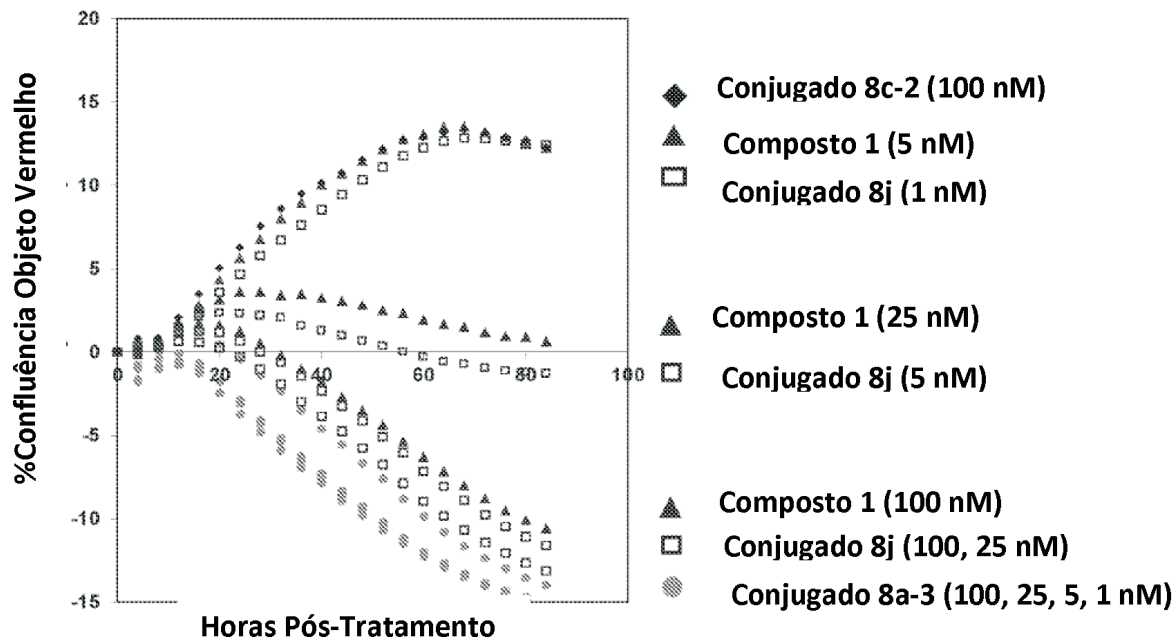


FIG 3A

Co-culturas de SKBR3 knockout/PBMC

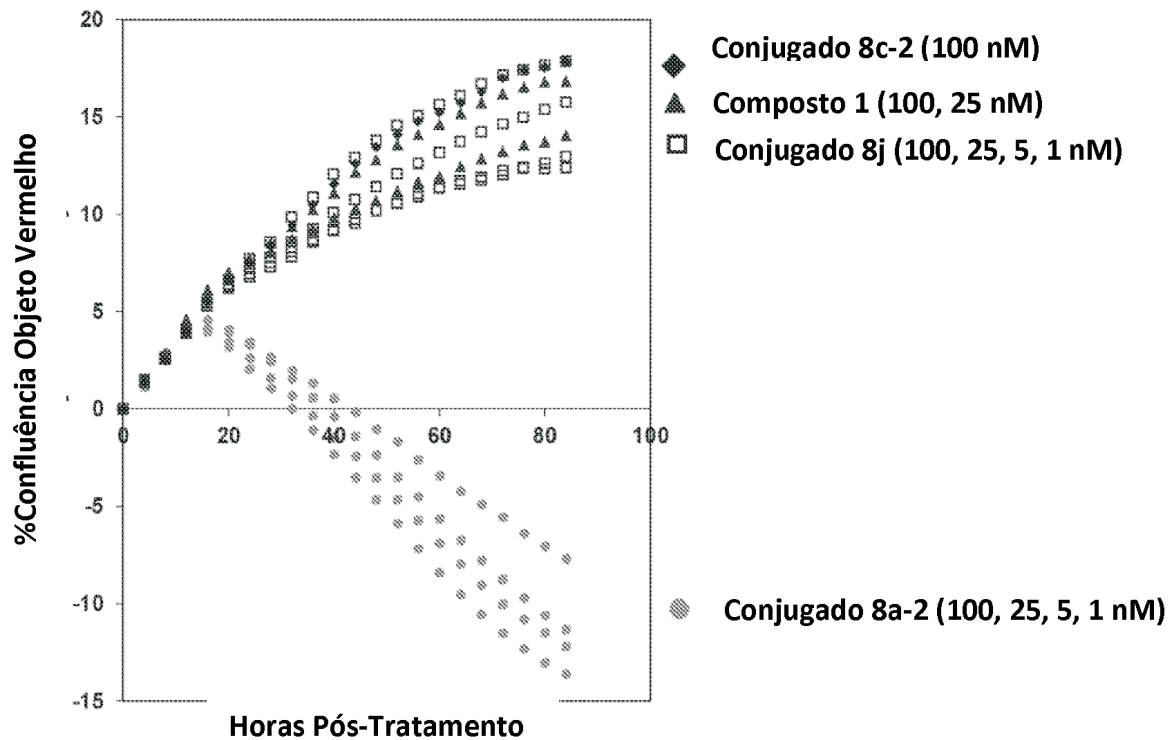


FIG 3B

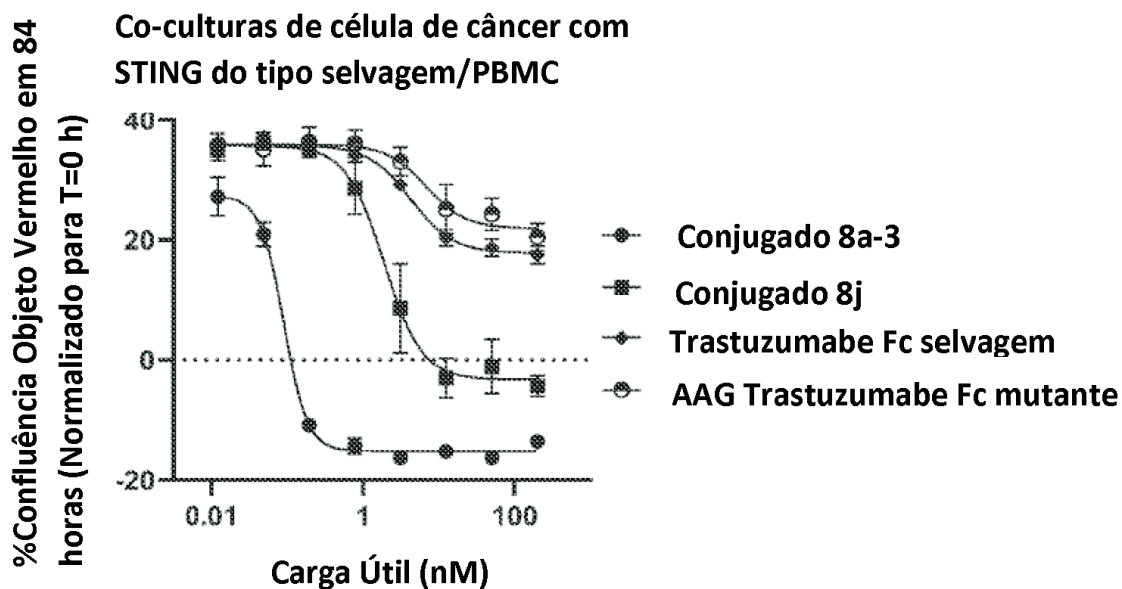


FIG 4A

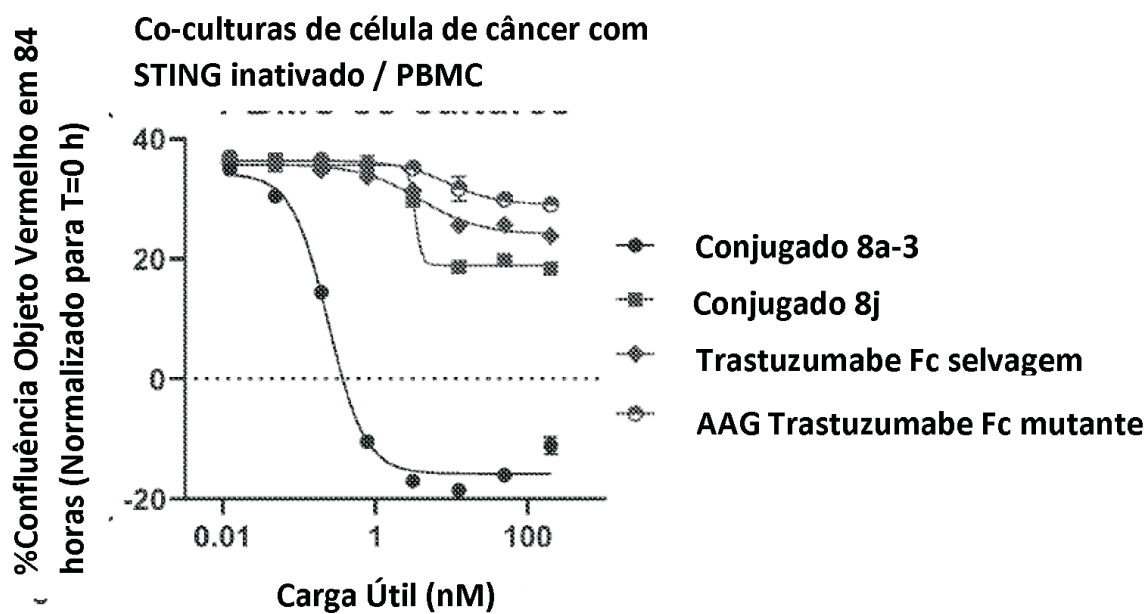


FIG 4B

Co-culturas de PBMC/Células de câncer

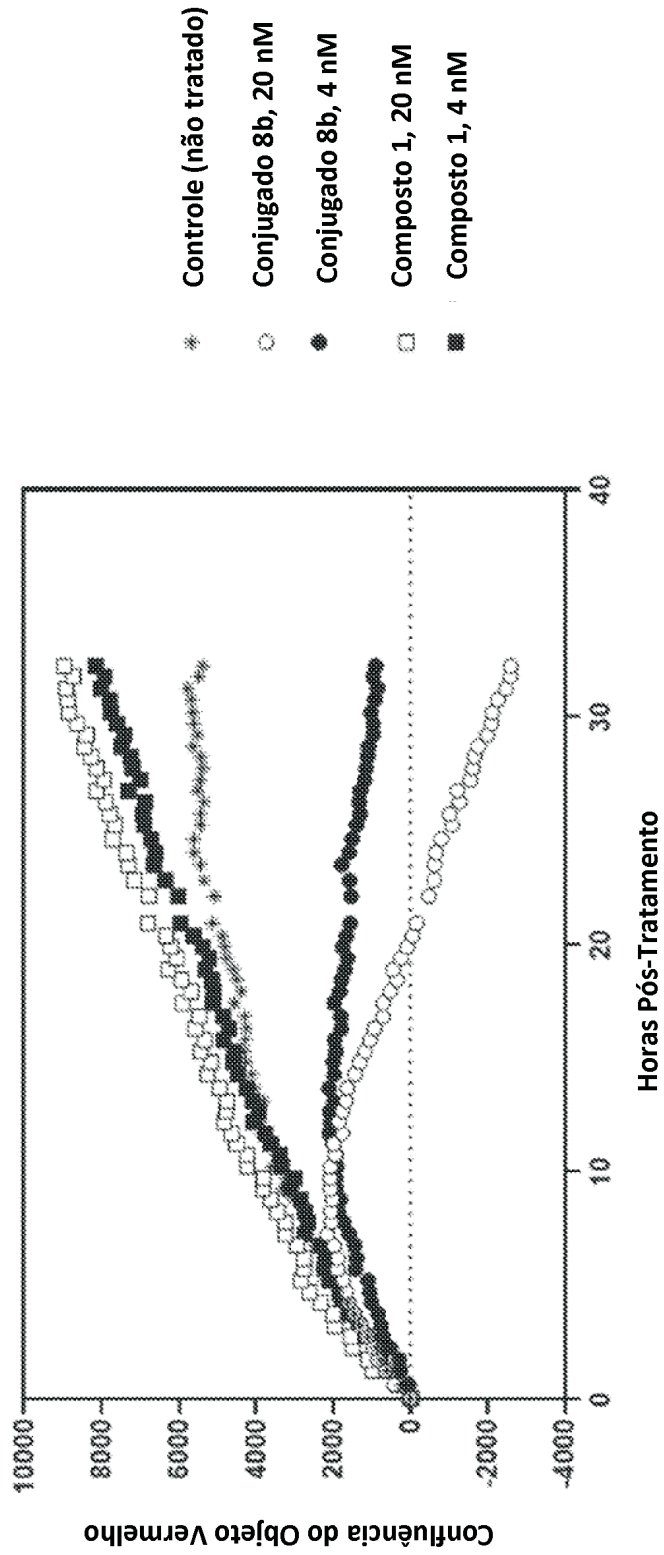


FIG 5A

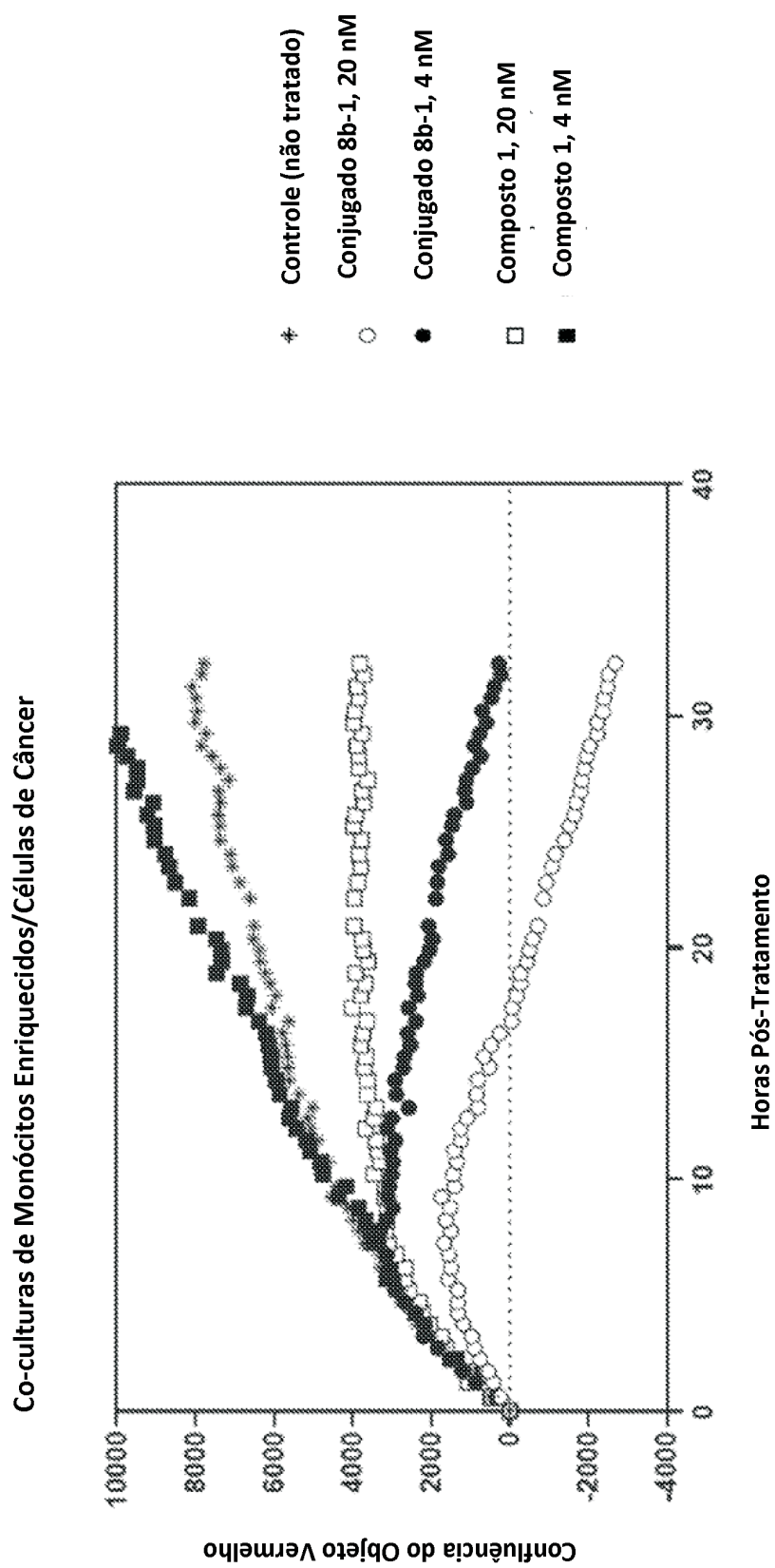


FIG 5B

Co-culturas de Monócitos com depleção de CD16/Células de Câncer

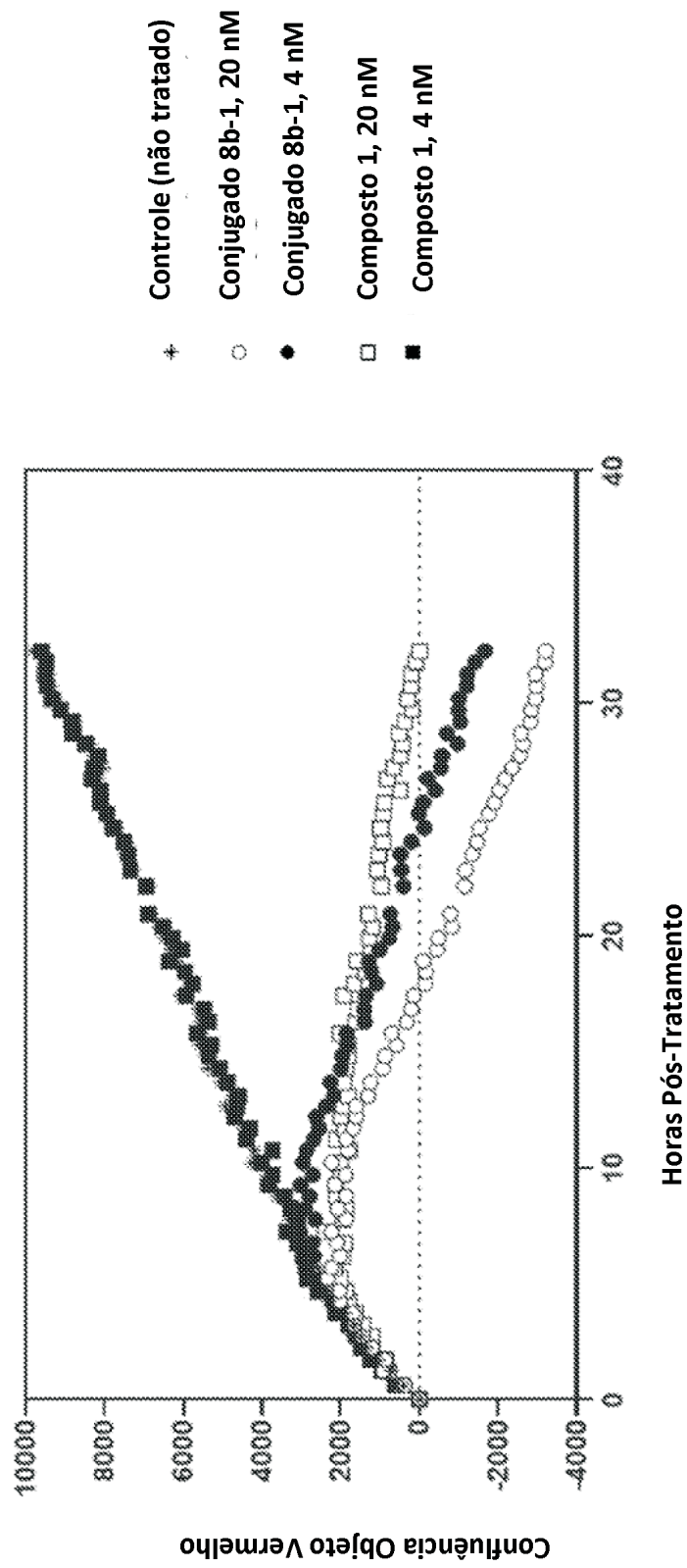


FIG 5C

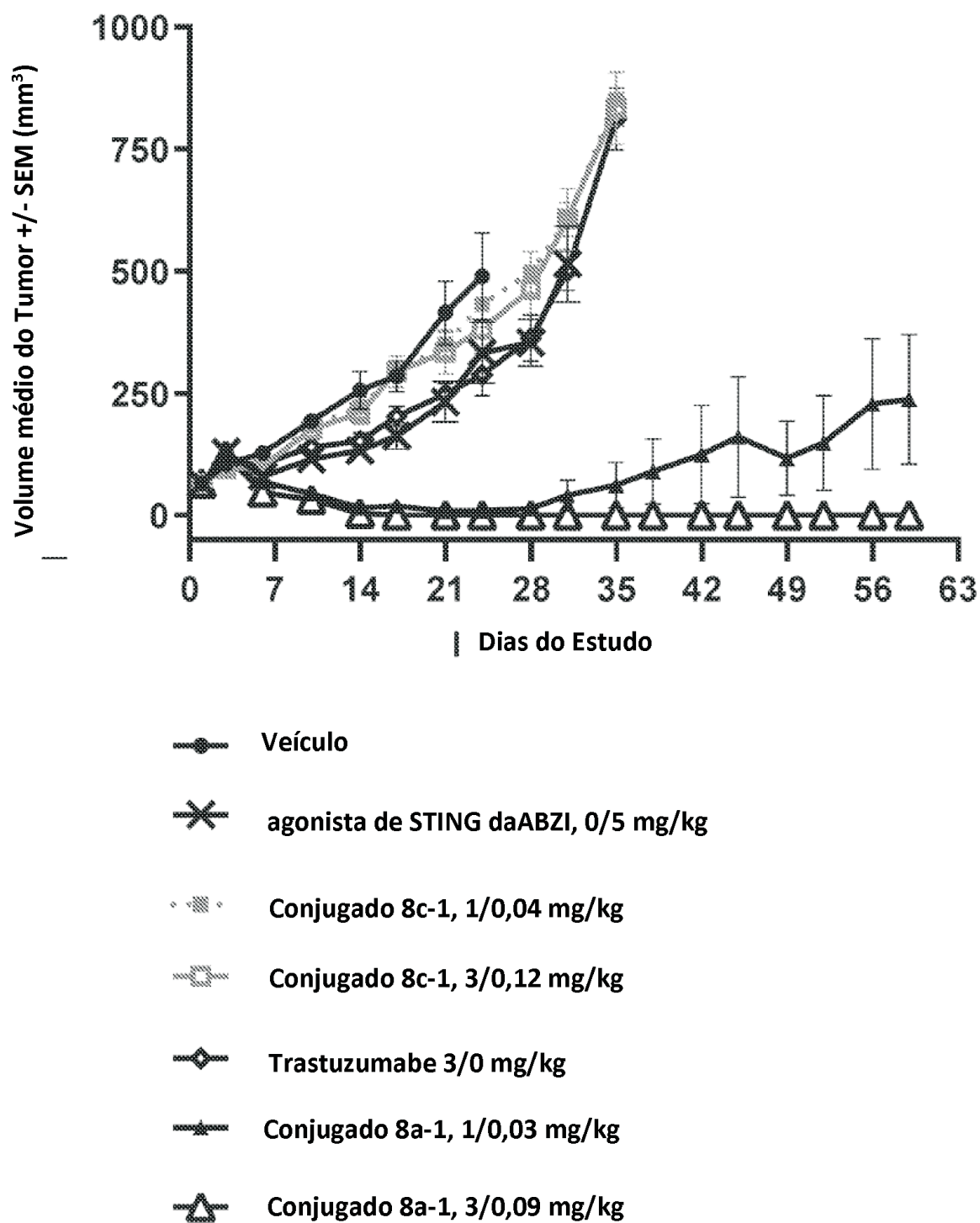


FIG 6

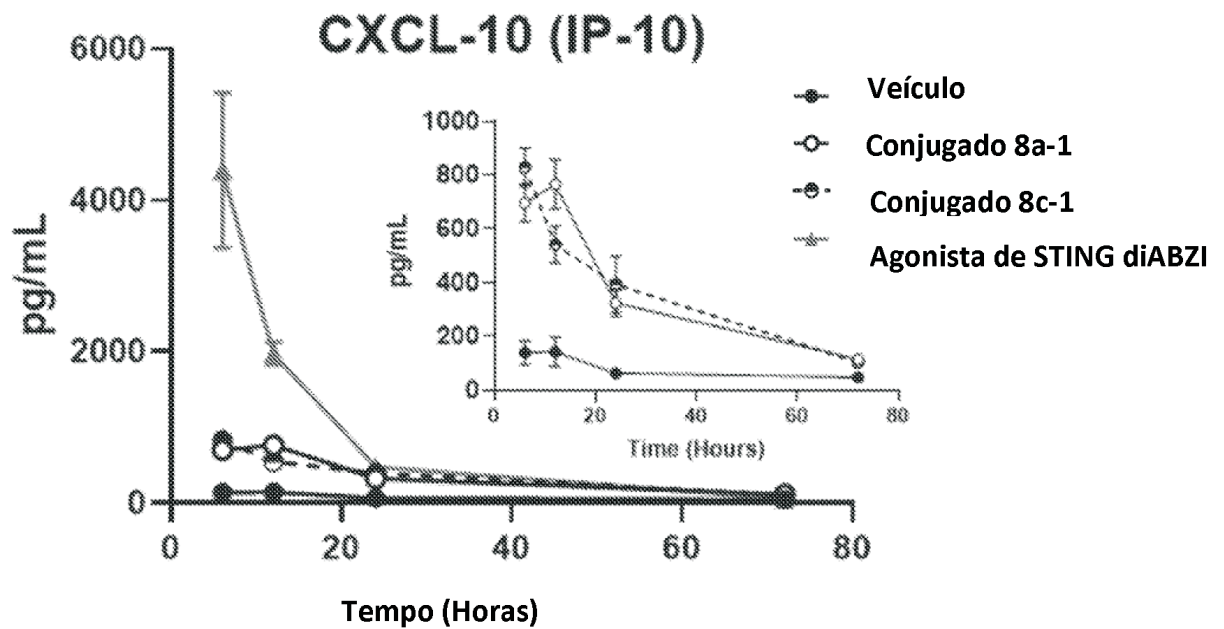


FIG 7A

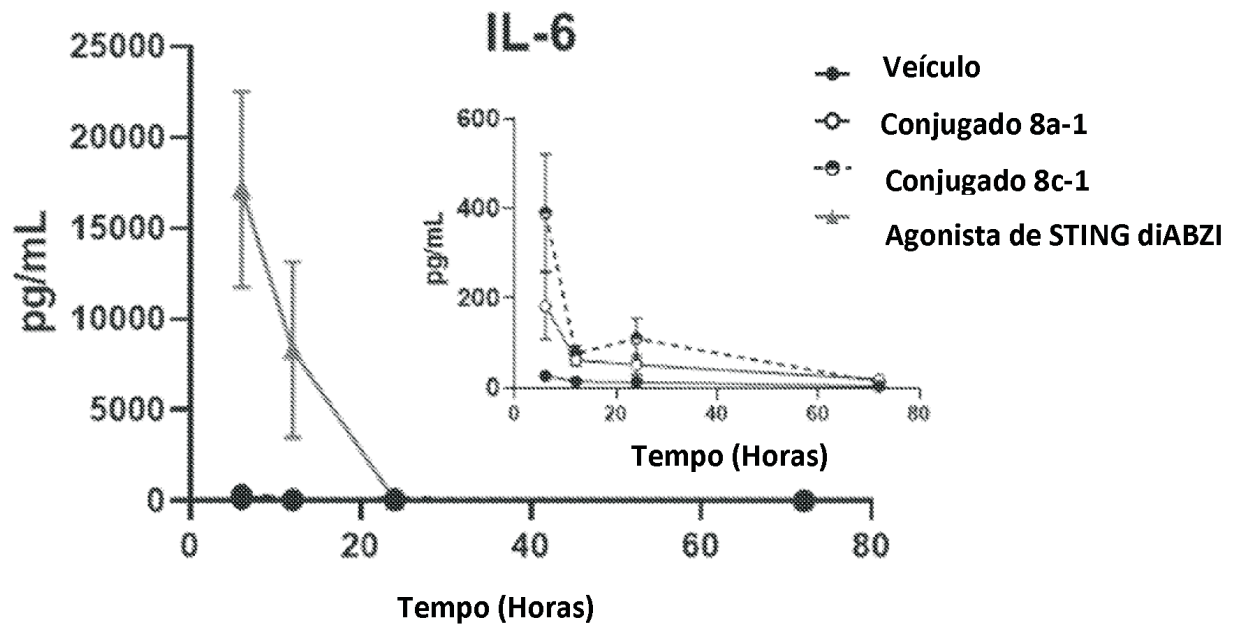


FIG 7B

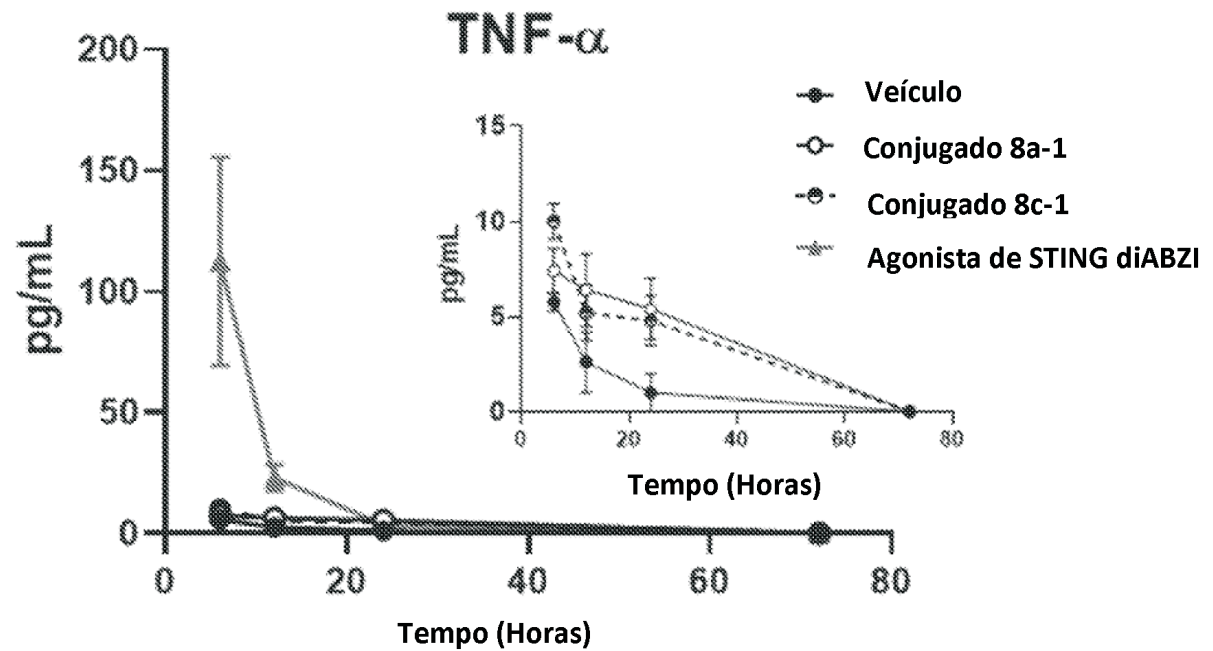


FIG 7C

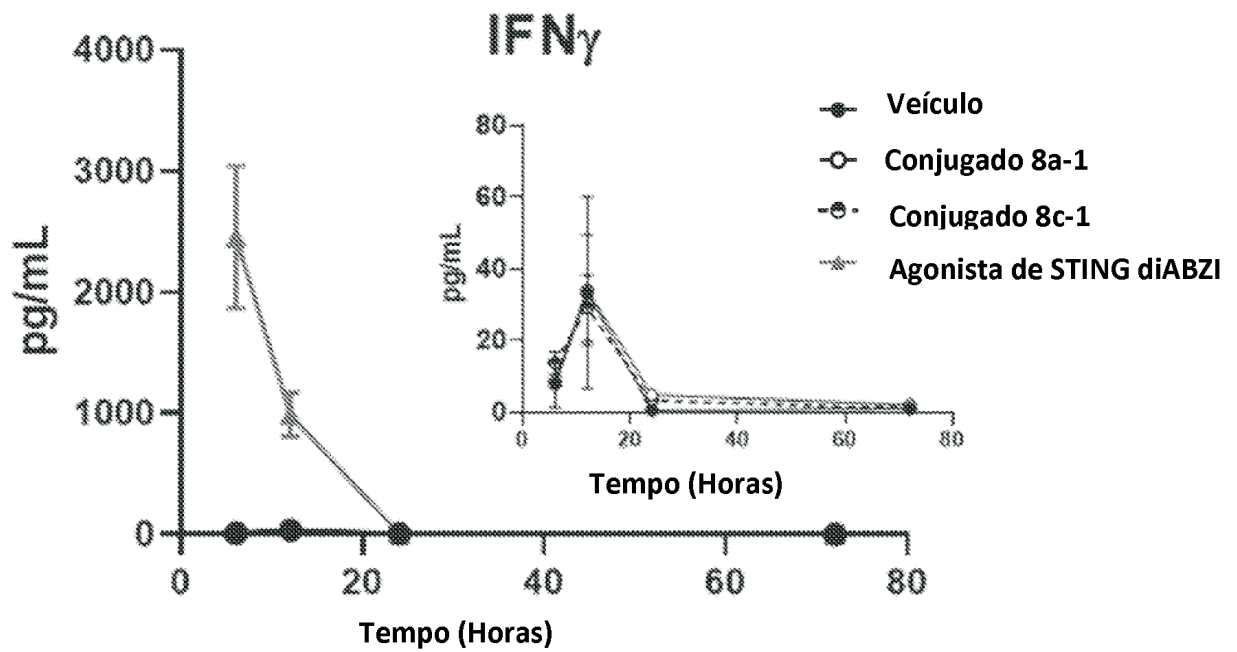


FIG 7D

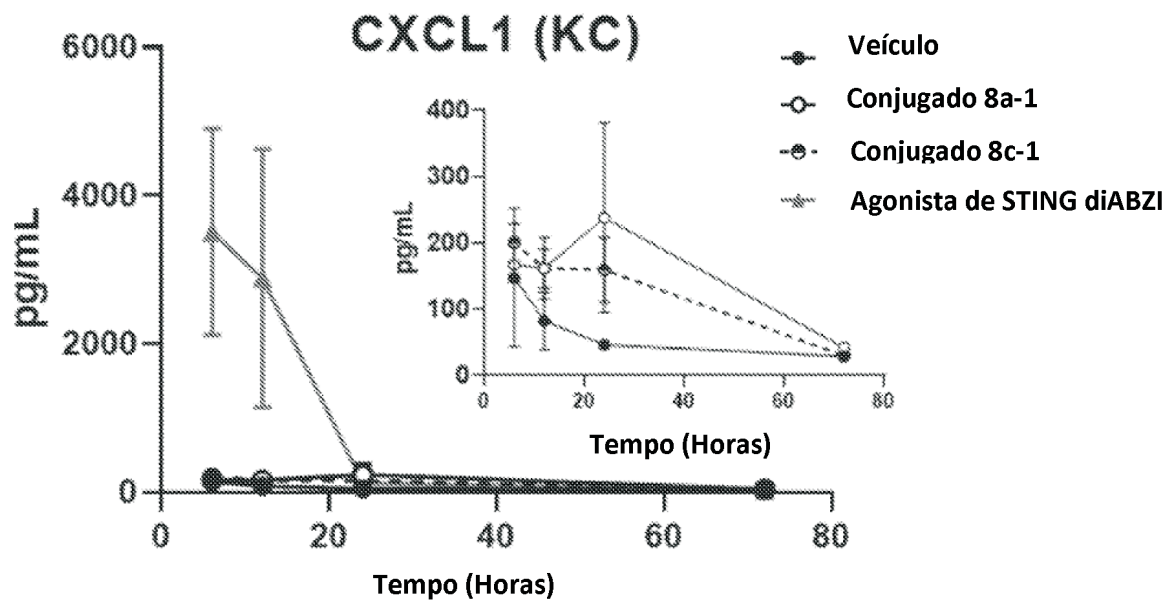


FIG 7E

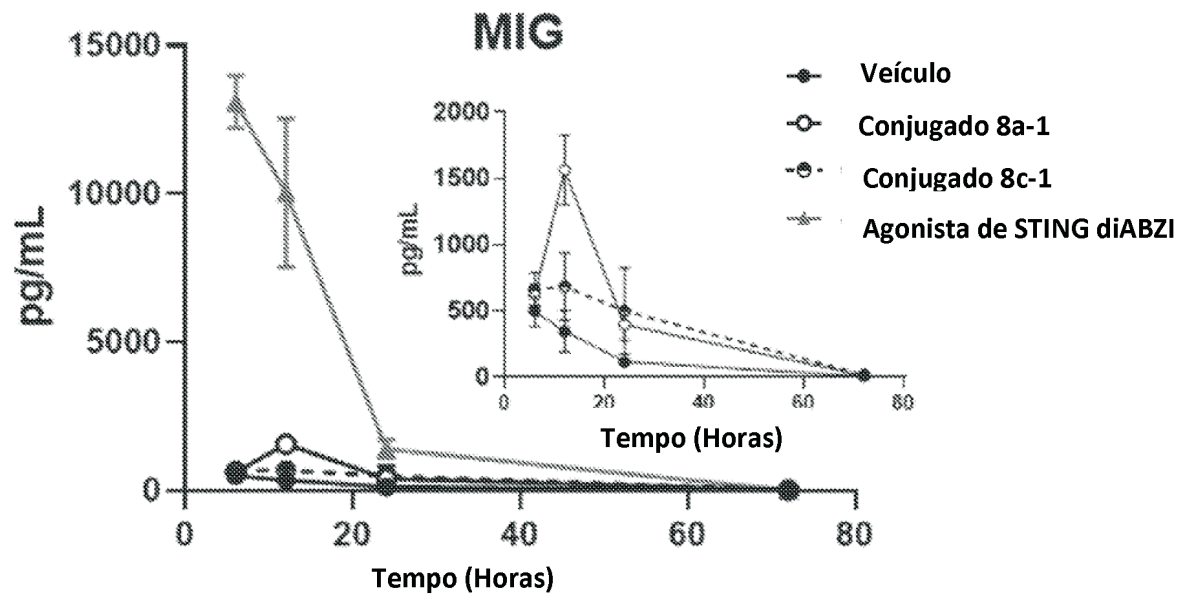


FIG 7F

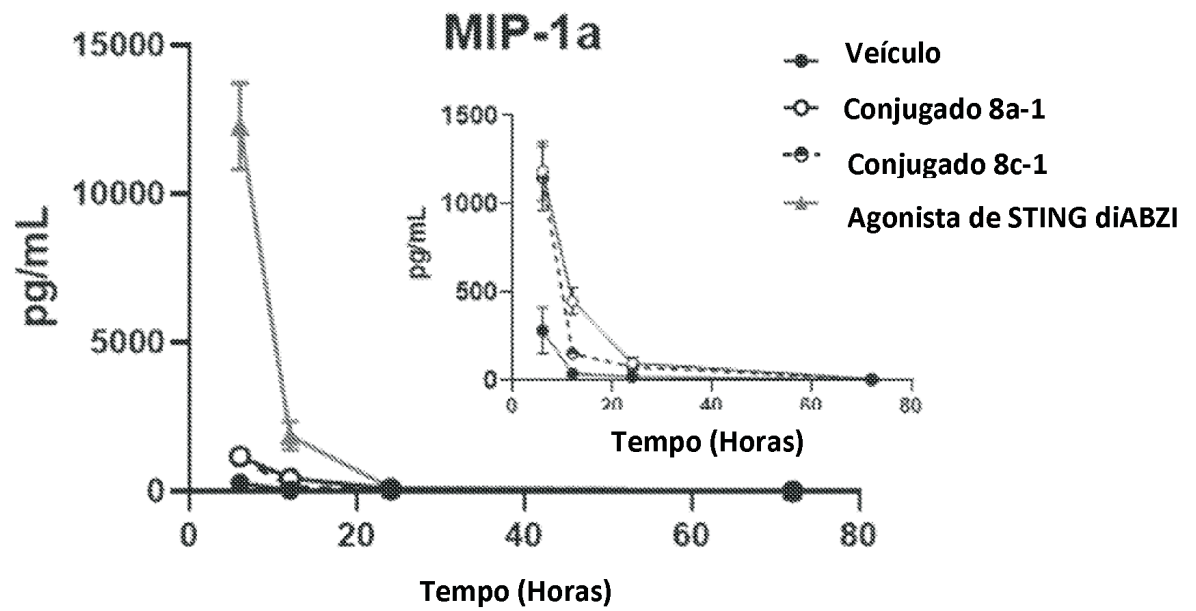


FIG 7G

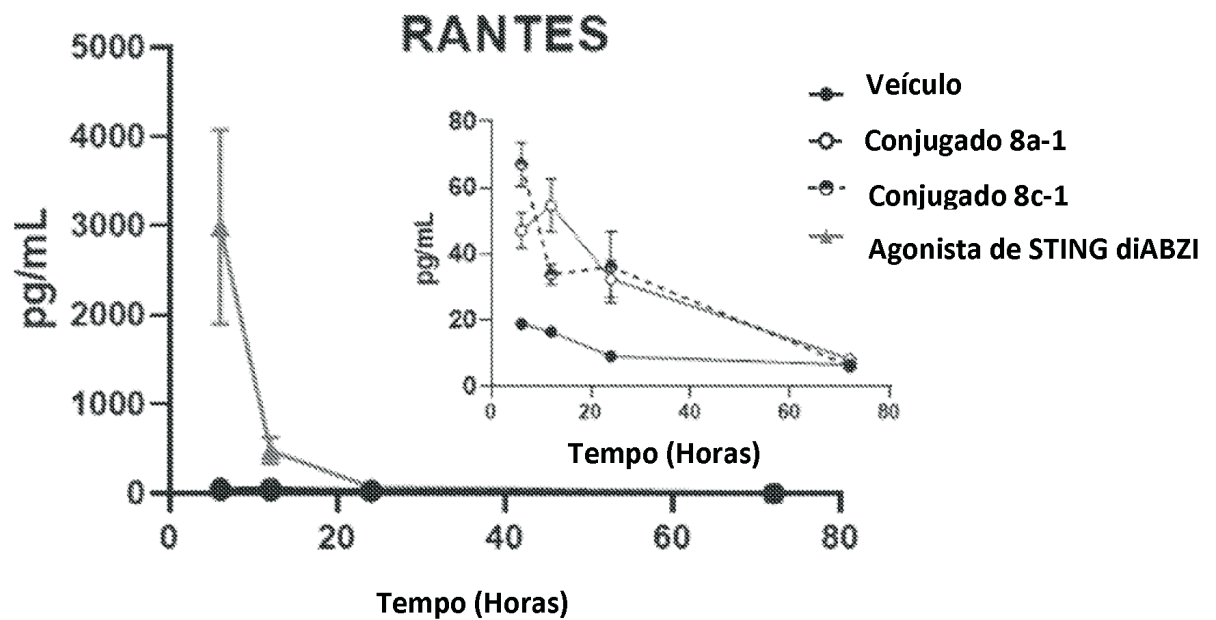
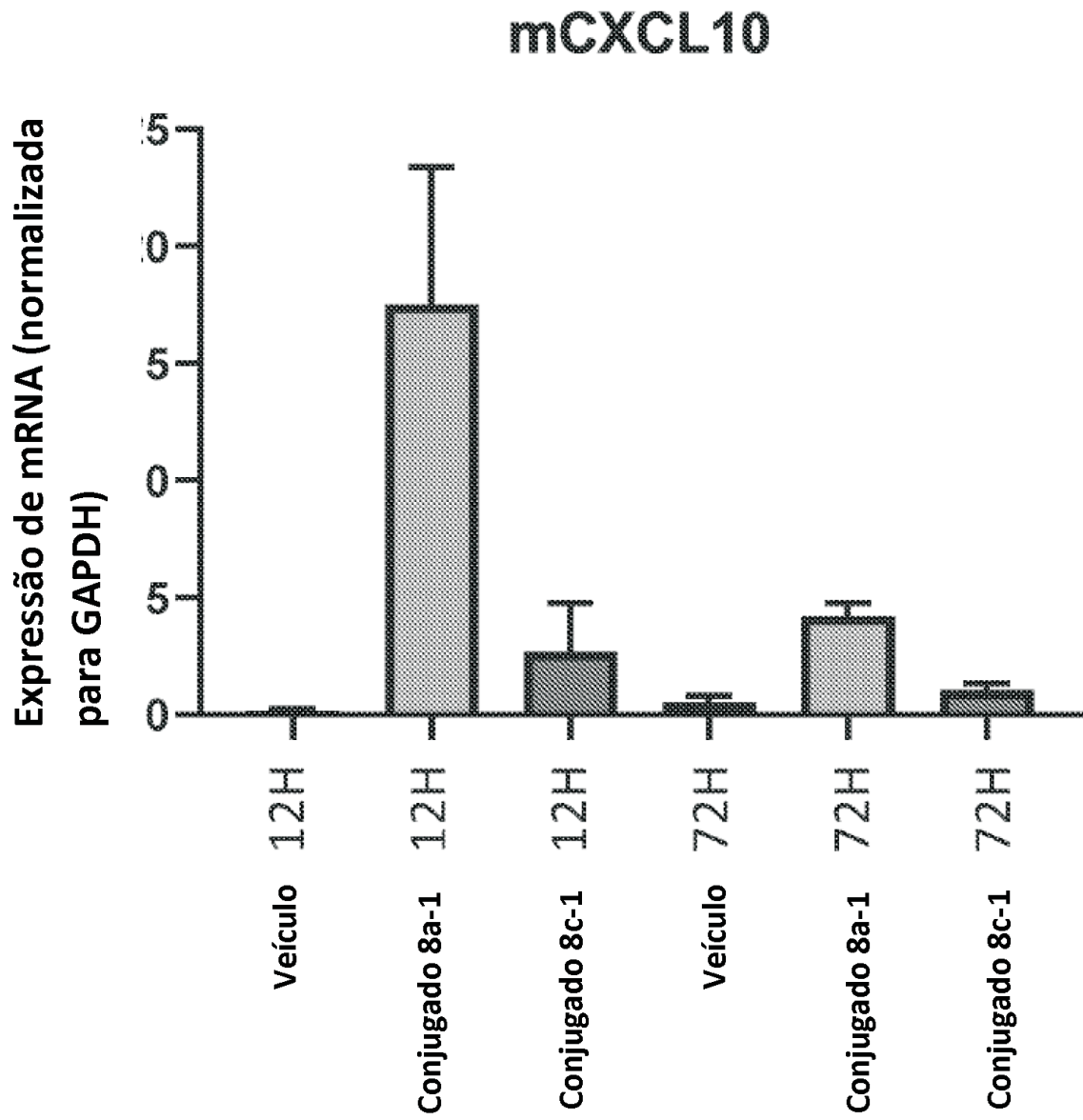
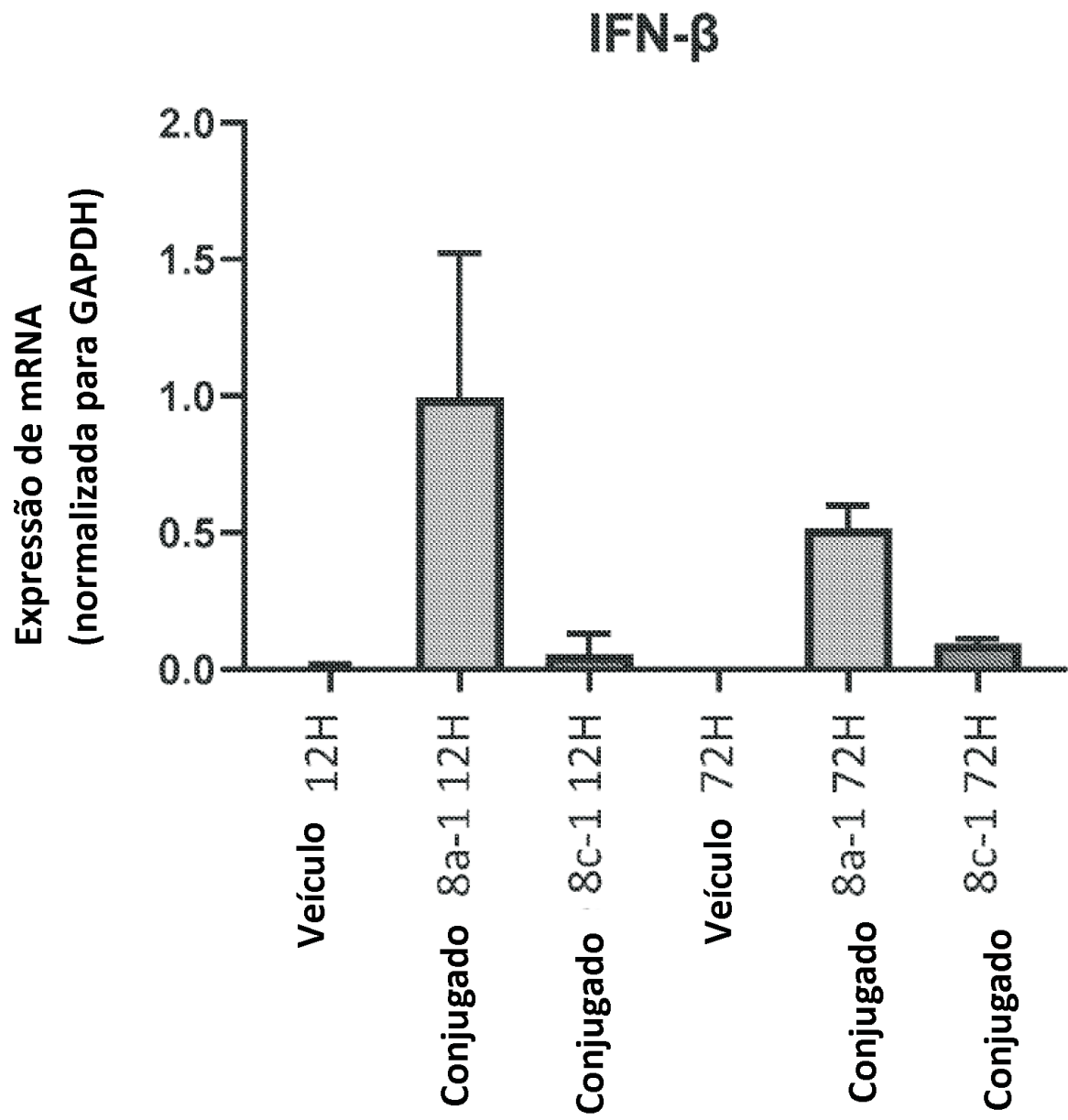
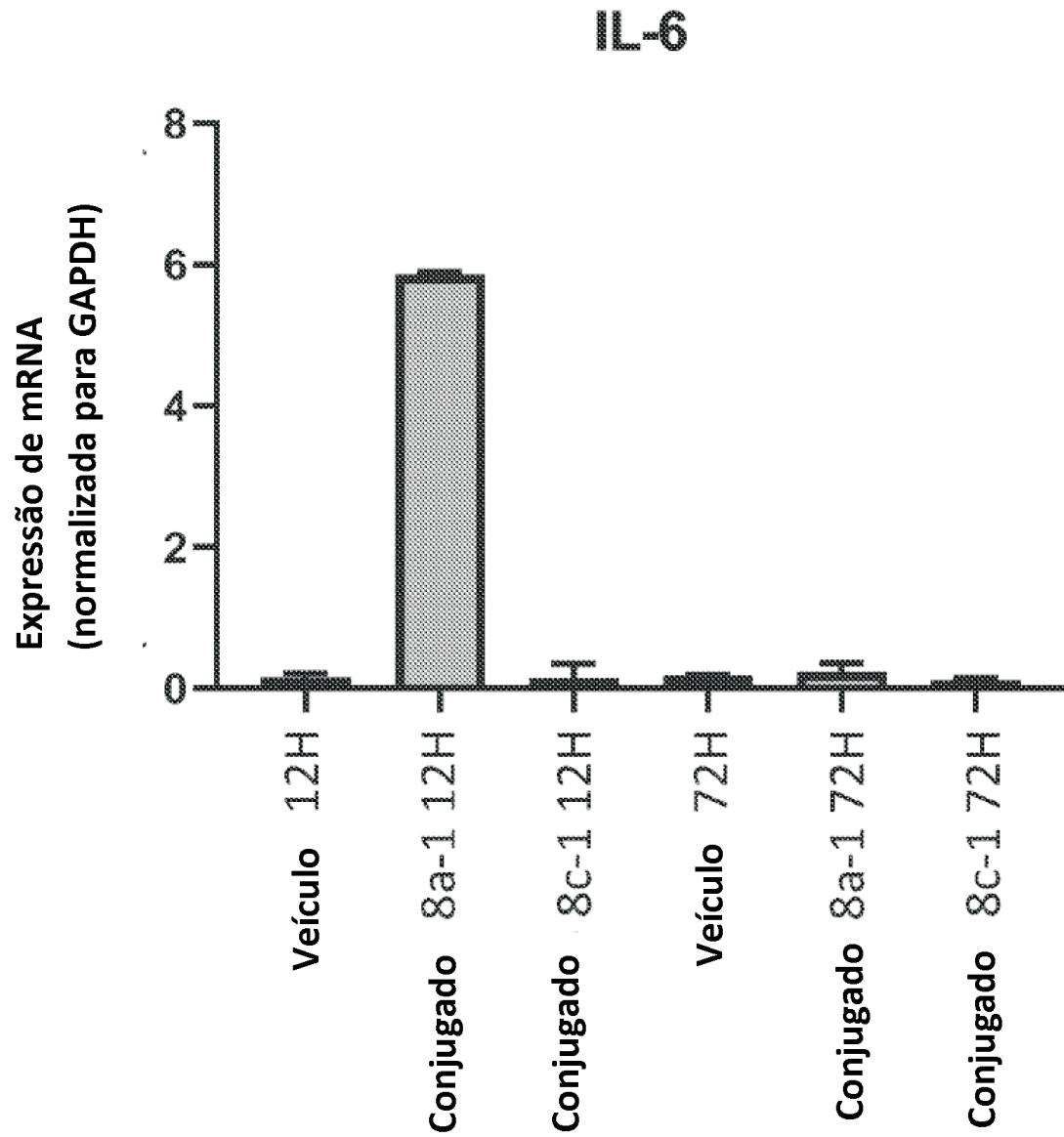


FIG 7H

**FIG 8A**

**FIG 8B**

**FIG 8C**

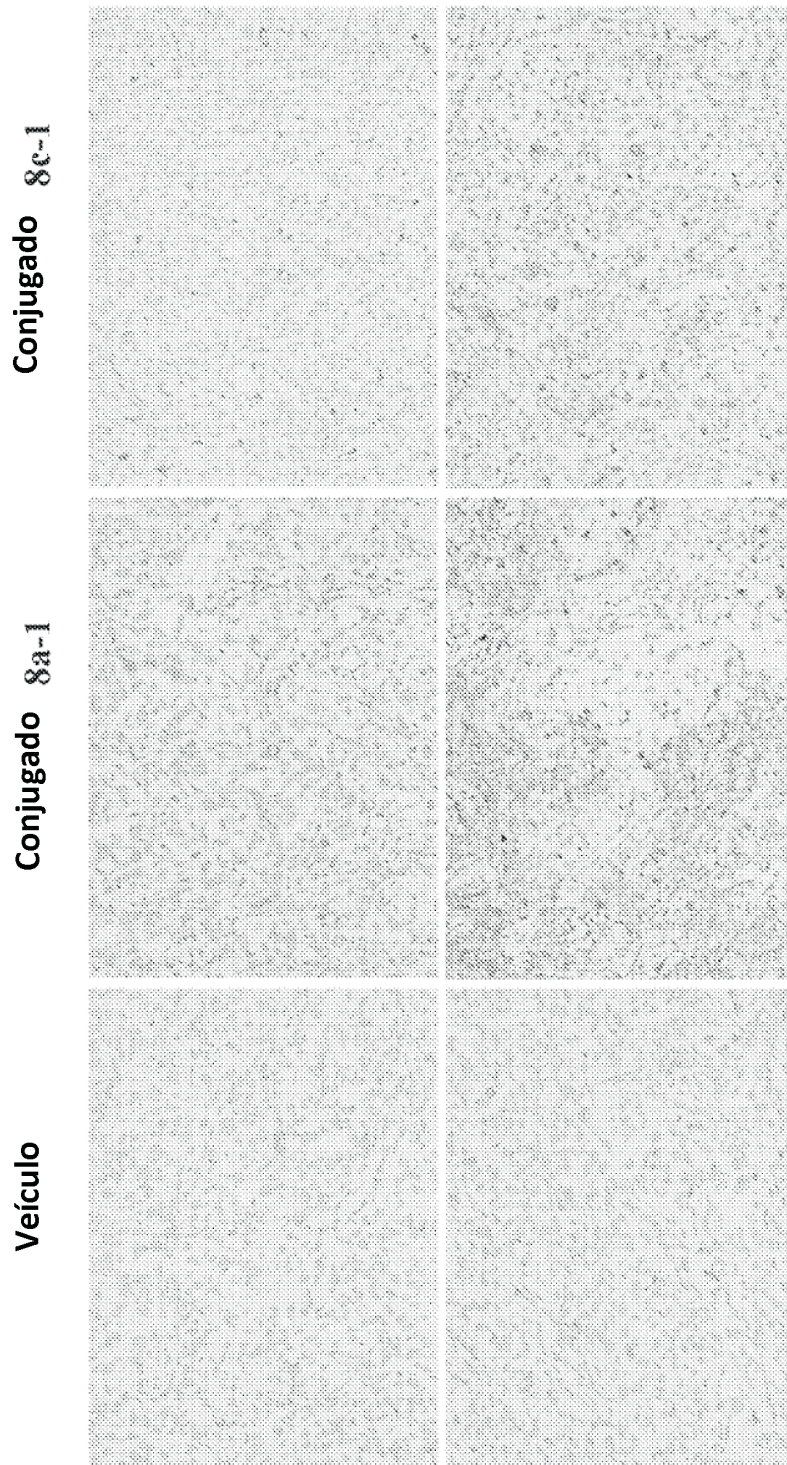


FIG 9

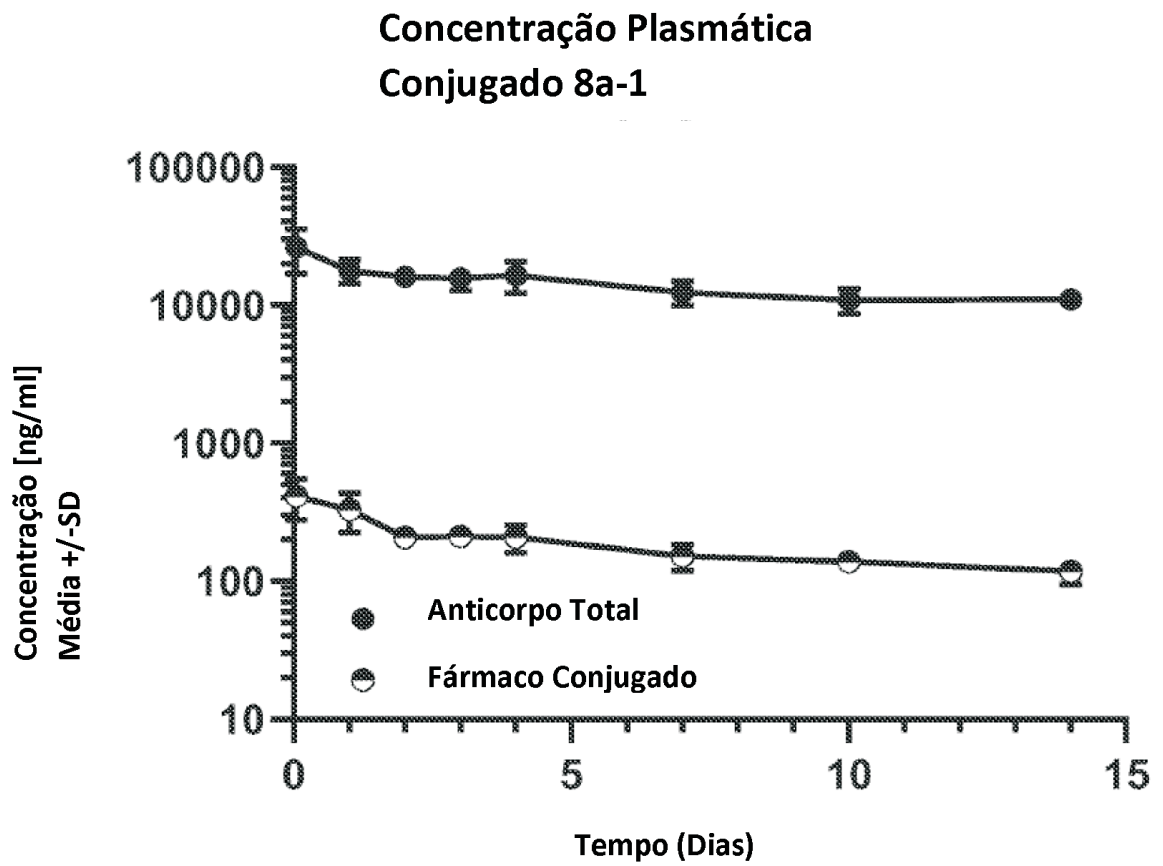


FIG 10

Efeito de anticorpos neutralizantes para IFN λ 1 (IL29) ou IFN λ 2 (IL28) em co-culturas de célula de câncer e PBMC

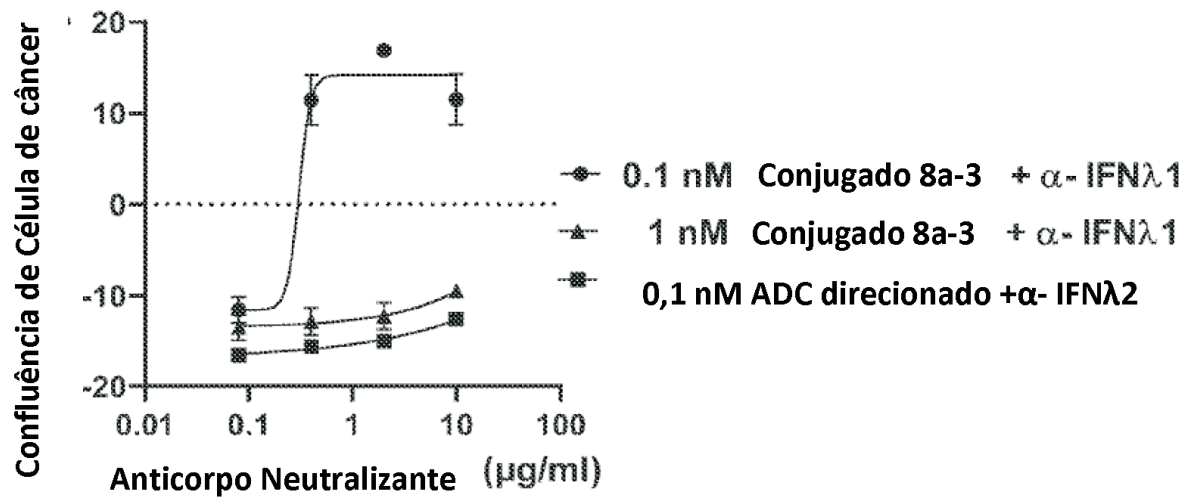


FIG 11

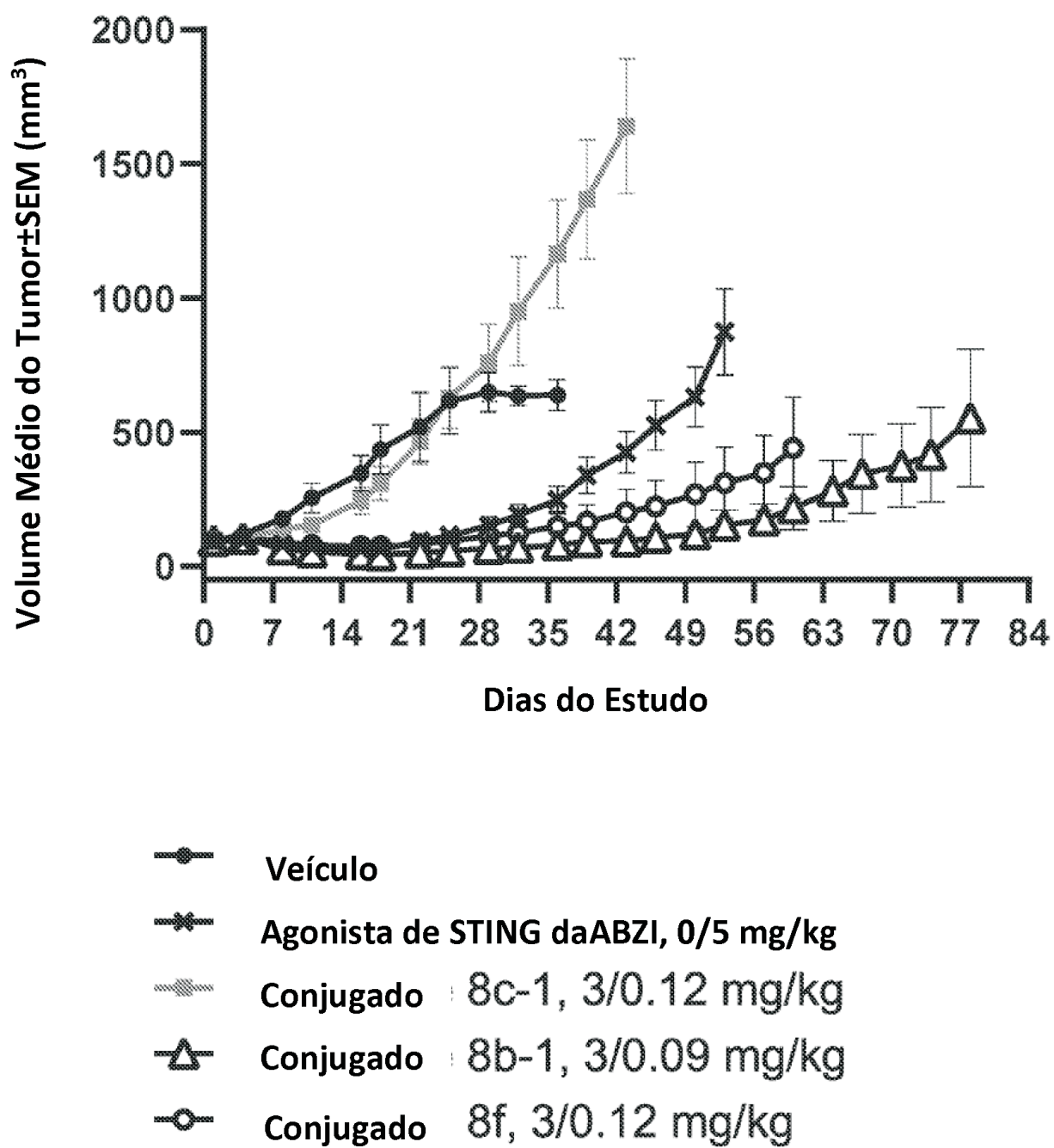


FIG. 12

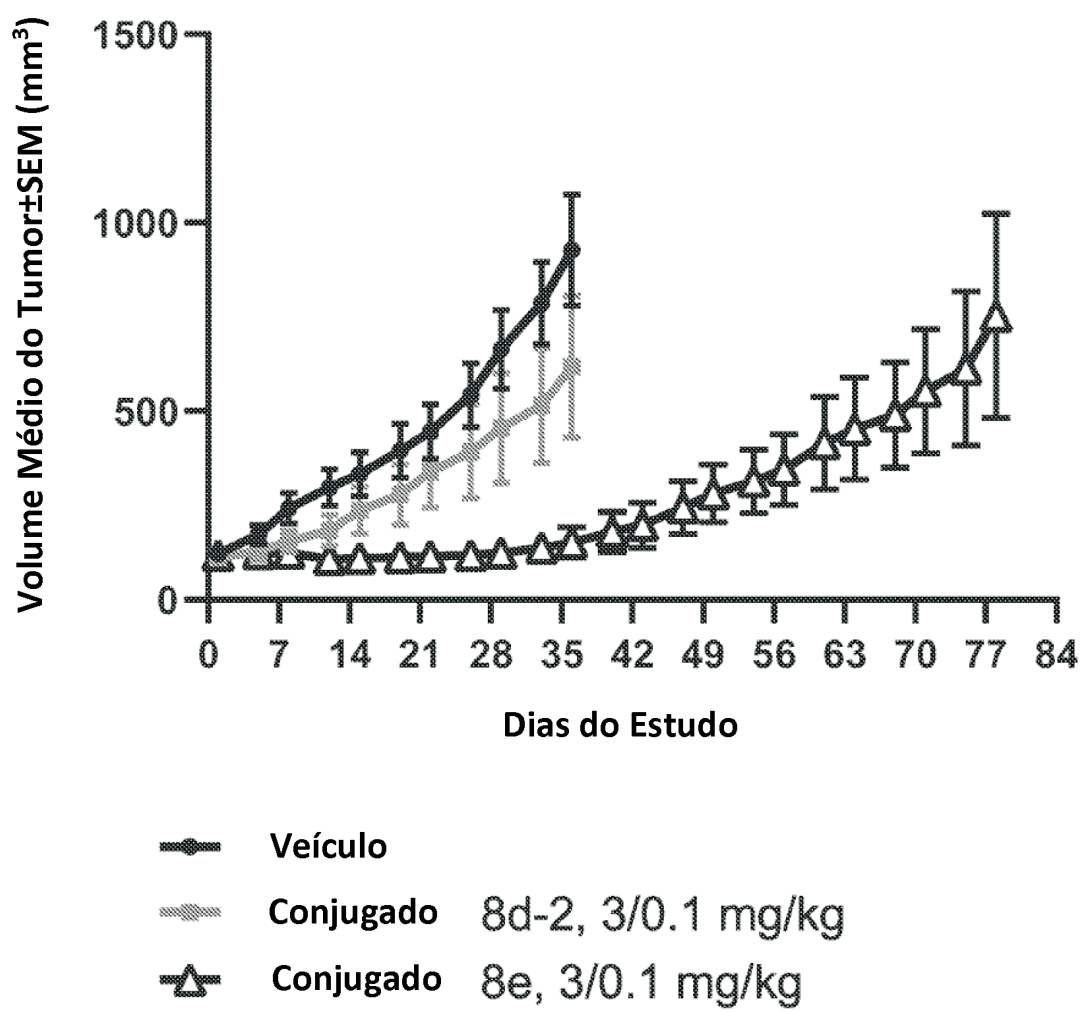


FIG. 13

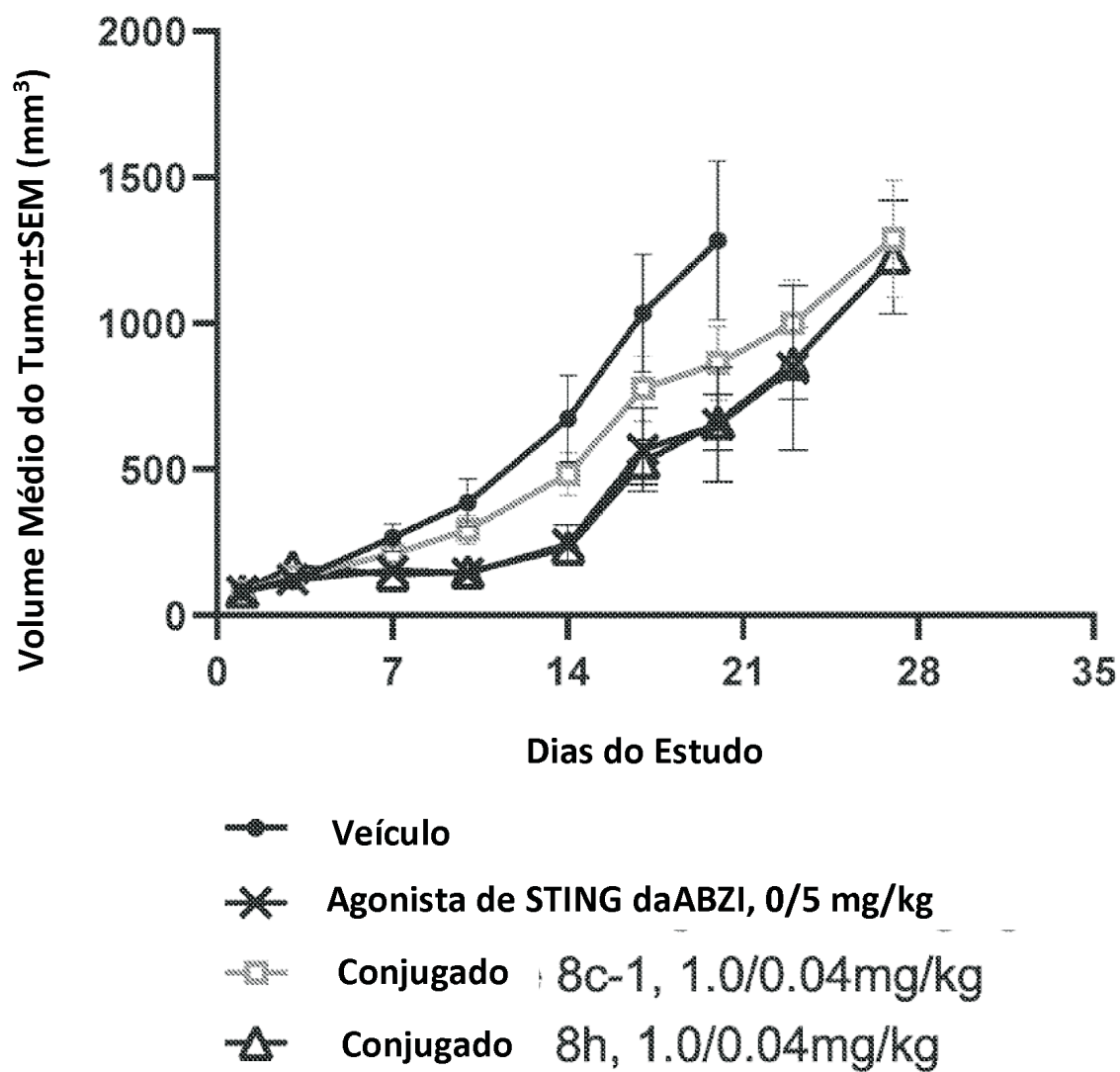


FIG 14

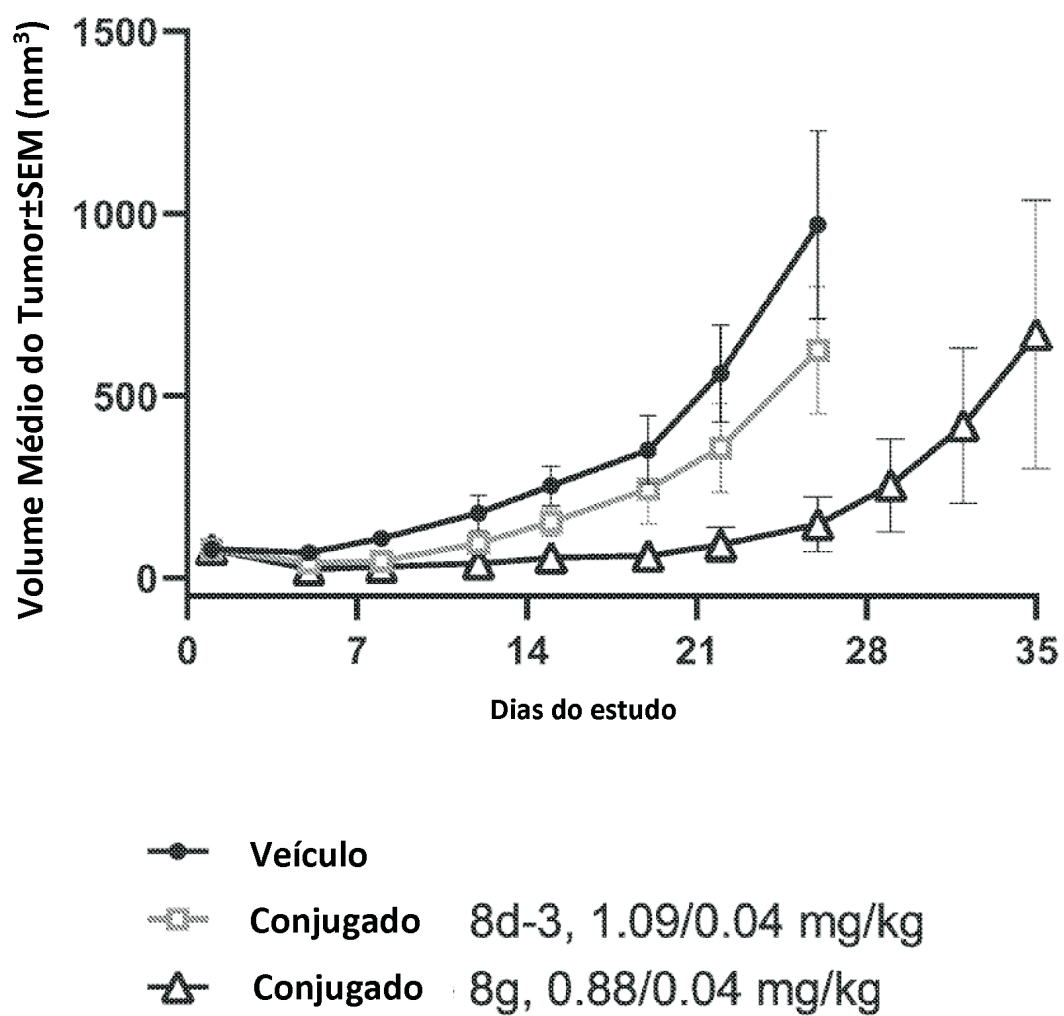


FIG 15A

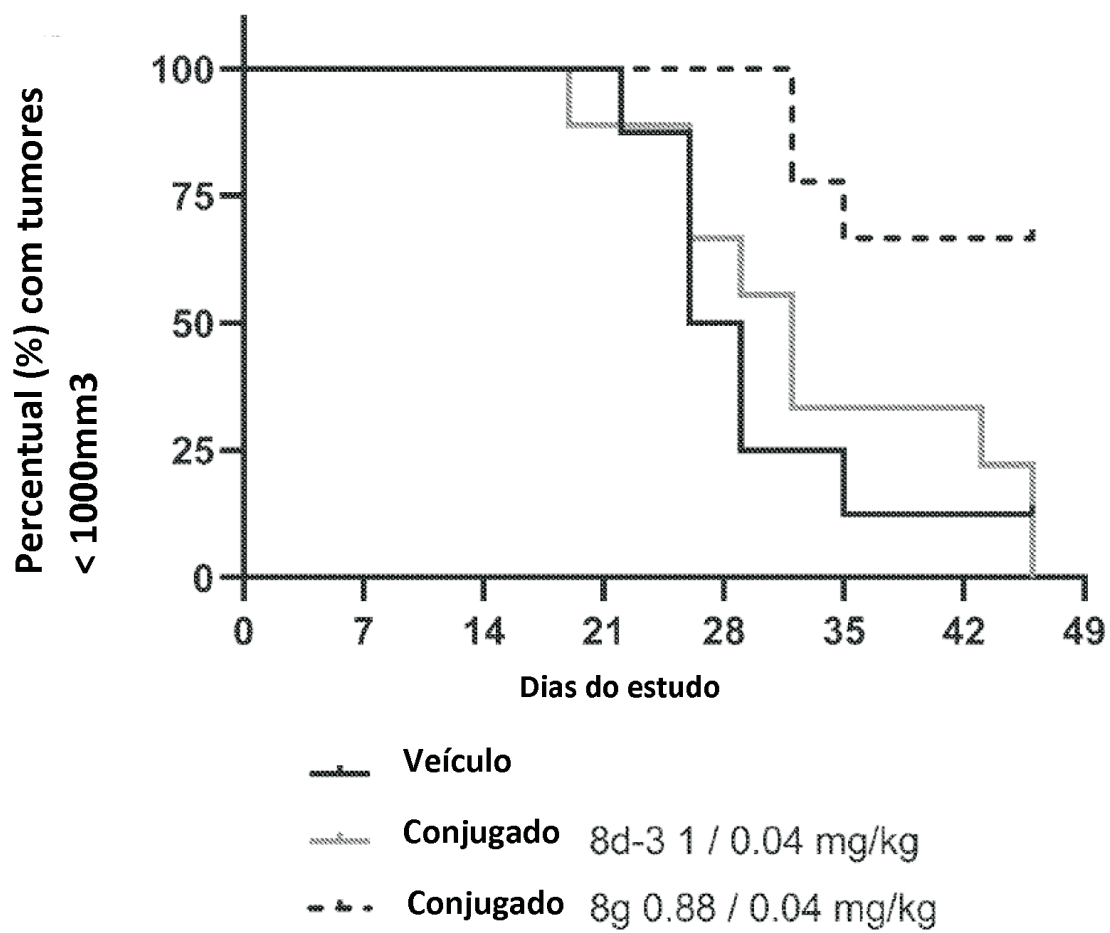


FIG 15B

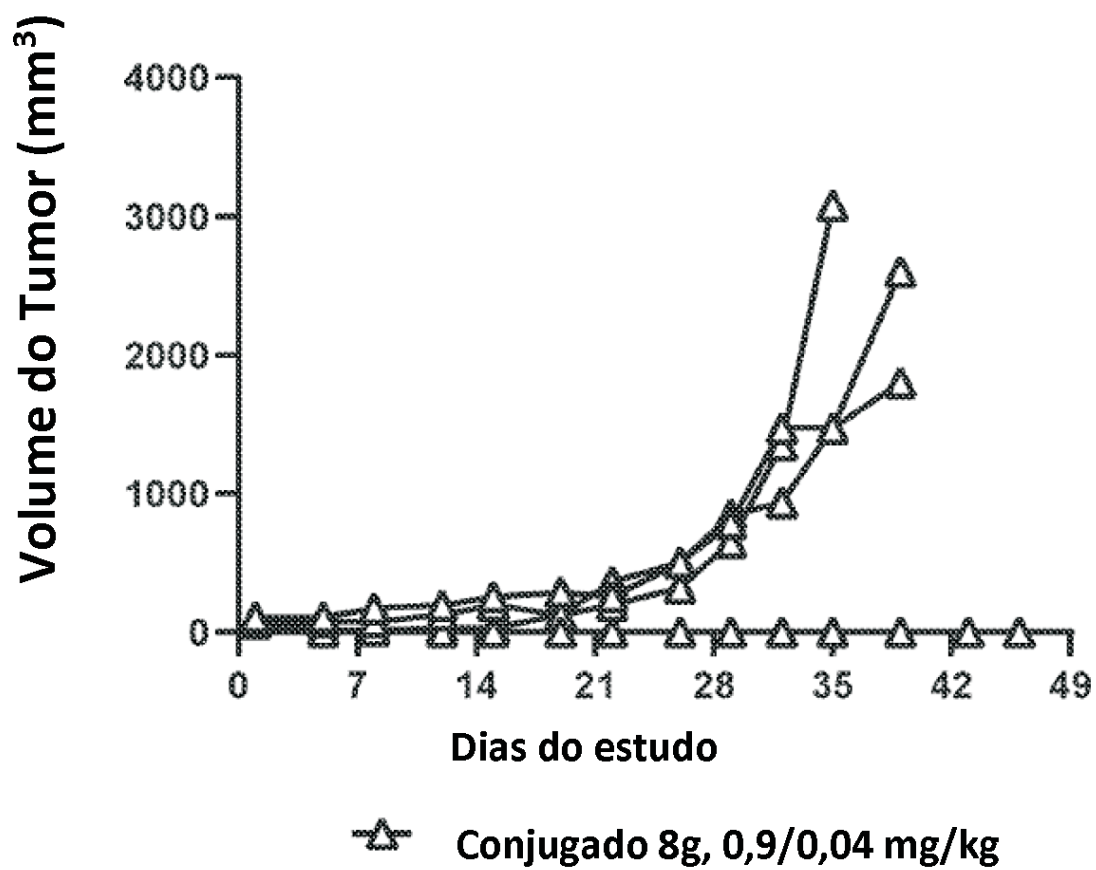


FIG 16A

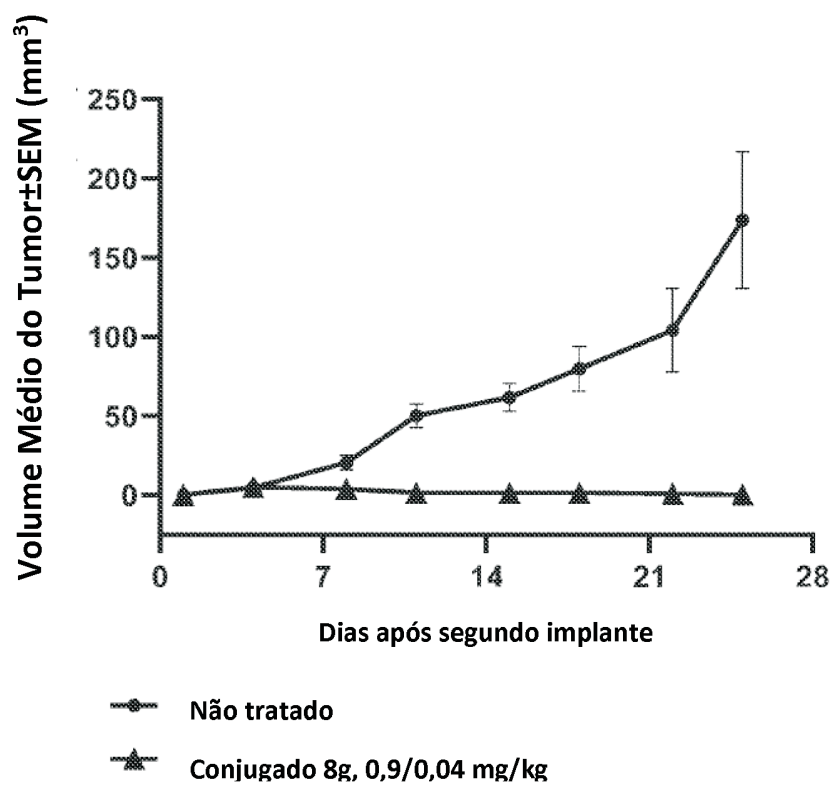


FIG 16B

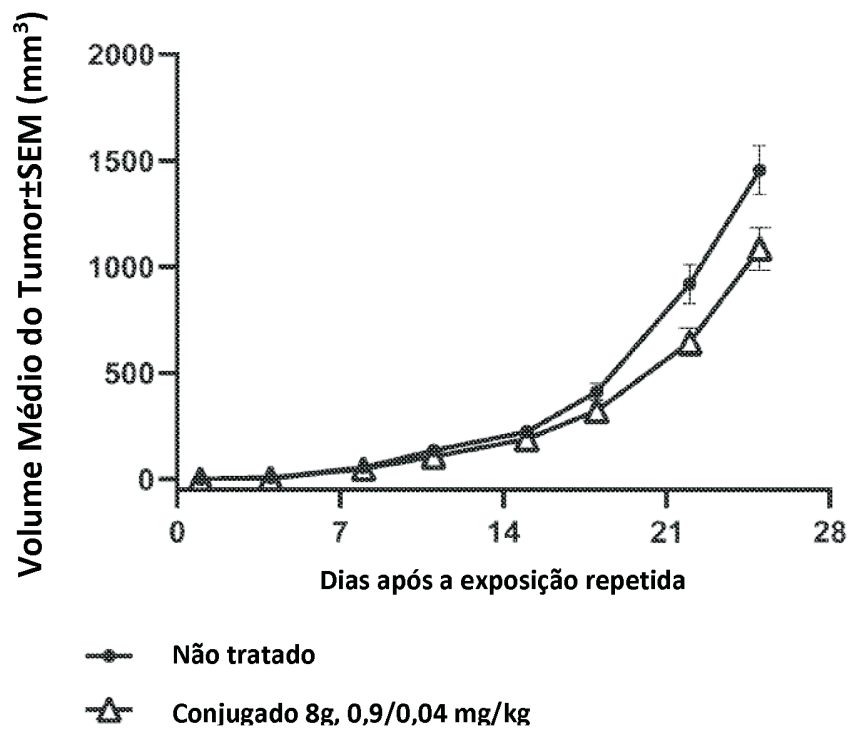


FIG 16C

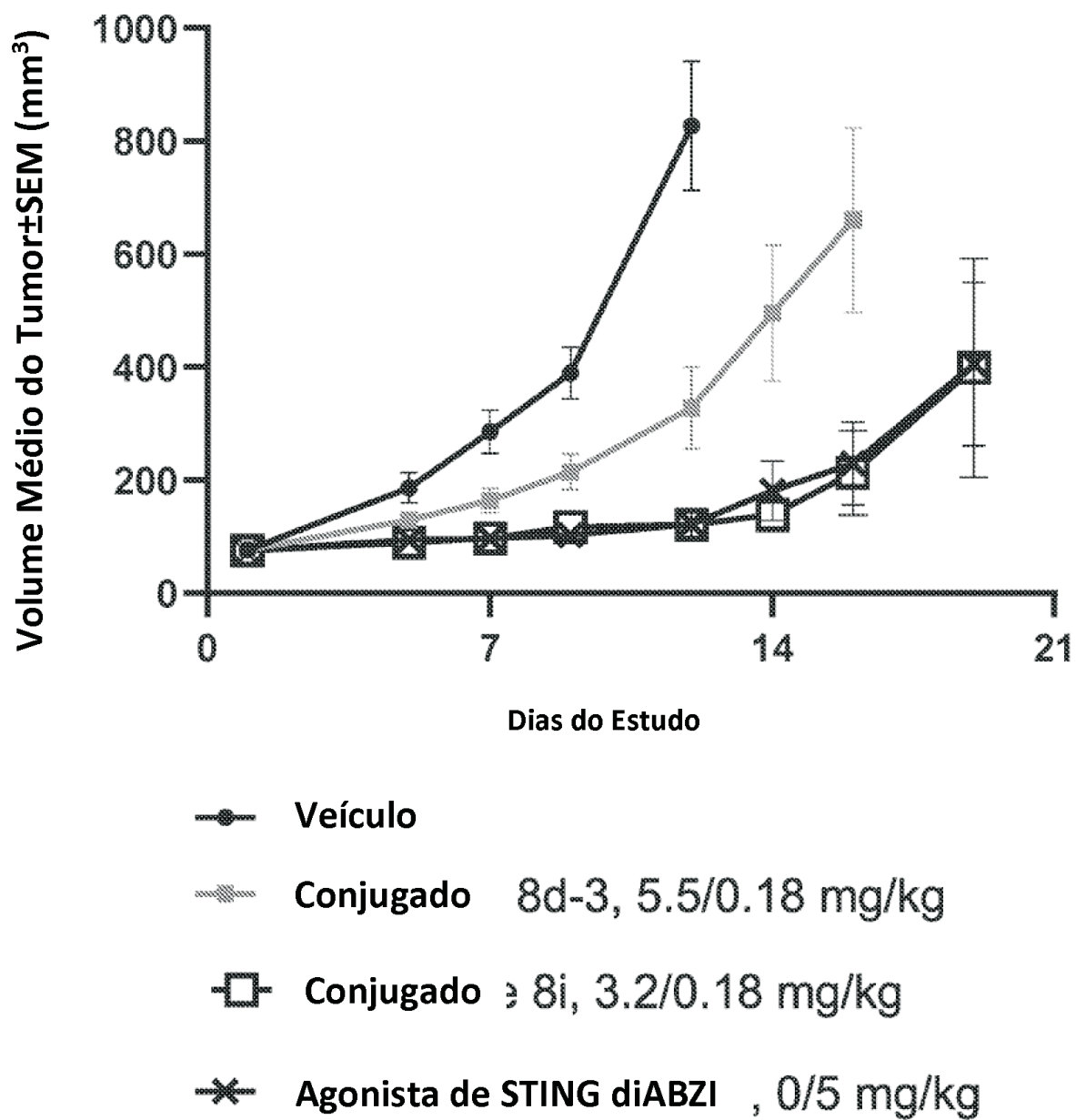


FIG 17

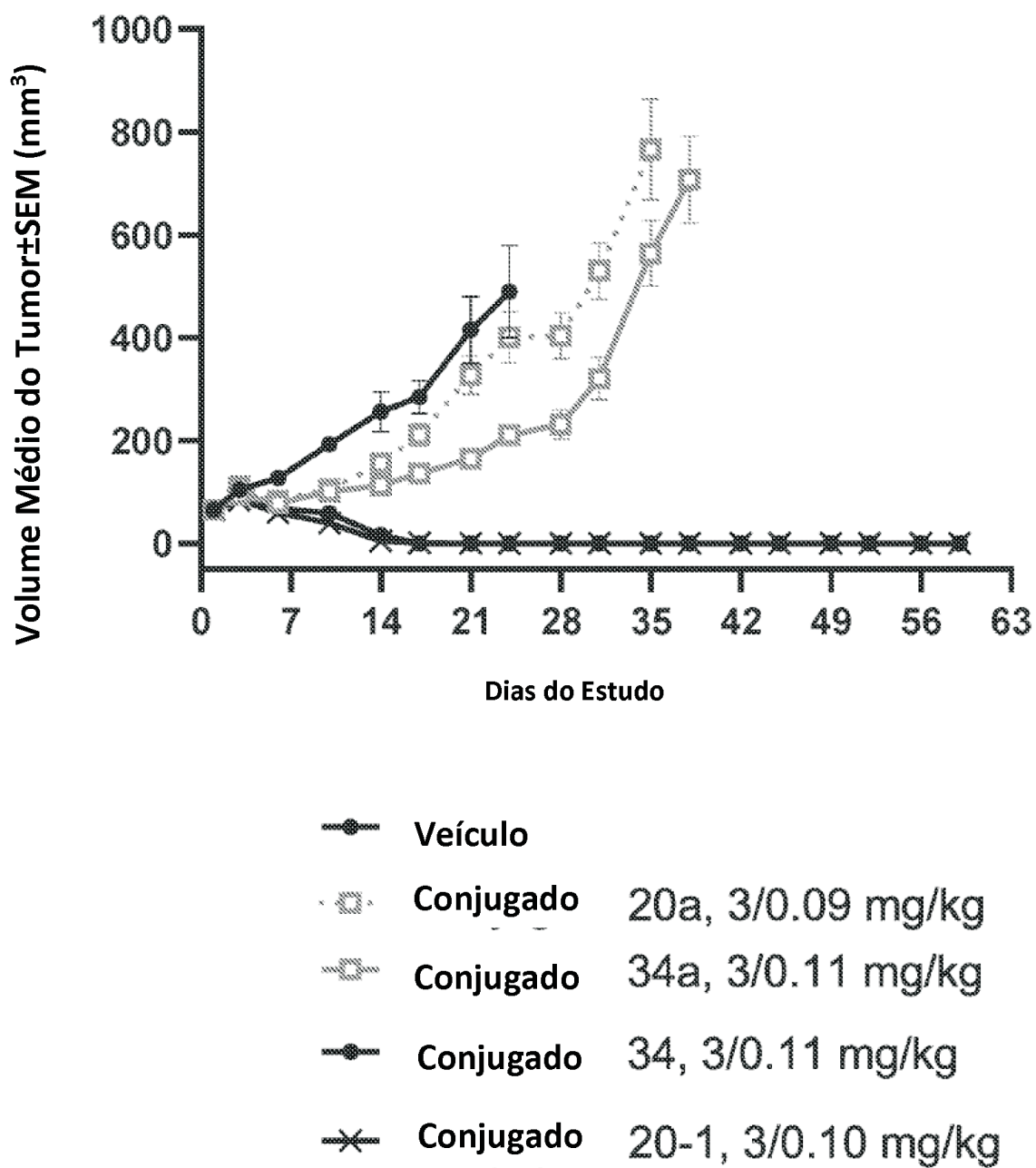
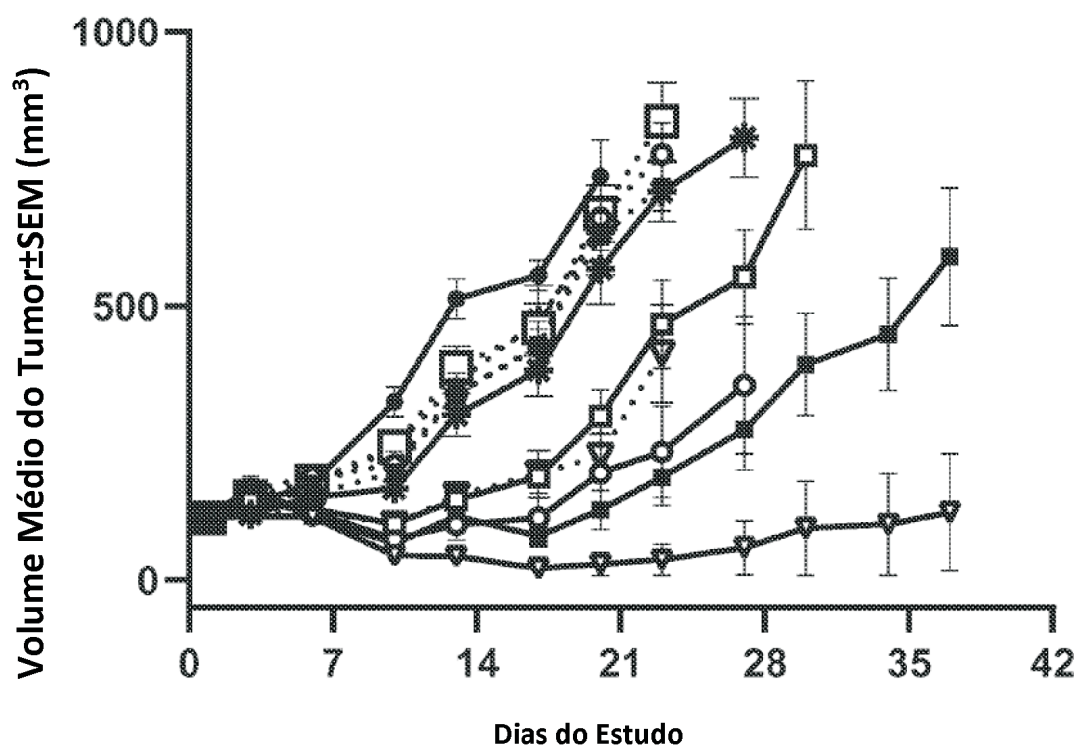
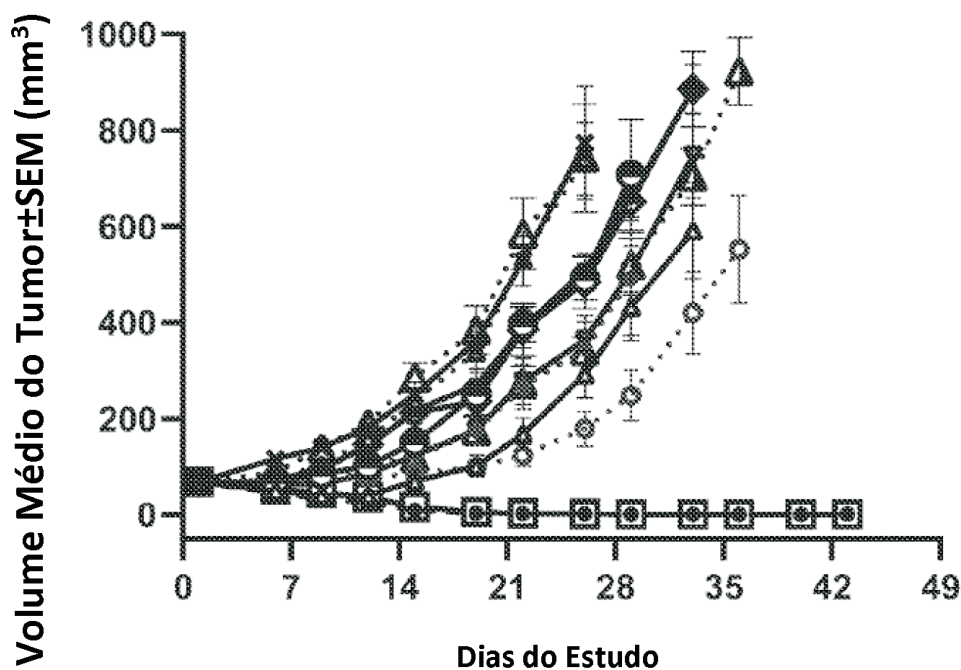


FIG 18



- Veículo
- Conjugado 28, 0.3/0.01mg/kg
- Conjugado 29, 0.2/0.01mg/kg
- Conjugado 8-2, 0.3/0.01 mg/kg
- ▽— Conjugado 25, 0.3/0.01 mg/kg
- ✱— Conjugado 45, 0.3/0.01 mg/kg
- ✱— Conjugado 45,1 /0.04 mg/kg
- ▽— Conjugado 25,1/0.04 mg/kg
- Conjugado 8-2, 1/0.04 mg/kg
- Conjugado 29, 0.8/0.02 mg/kg
- Conjugado 28, 1.0/0.03 mg/kg

FIG 19



- *— Veículo
- ▲— Agonista de STING diABZI 1.5 mg/kg, q3dx3
- Composto 30, 1.5 mg/kg, q3dx3
- ▲— Agonista de STING diABZI 0.128 mg/kg
- ▲— Compound 30, 0.128 mg/kg
- Conjugado 32b-2, 3.42/0.128 mg/kg
- ◇— XMT-1519, 3.00 mg/kg
- Conjugate 32-5, 0.100/0.004 mg/kg
- ◇— Conjugate 32-5, 0.300/0.013 mg/kg
- Conjugate 32-5, 1.00/0.042 mg/kg
- ◇— Conjugate 32-5, 3.00/0.128 mg/kg
- ▲— Conjugate 32e, 1.00/0.039 mg/kg
- ◇— Conjugate 32e, 3.00/0.117 mg/kg

FIG. 12
FIG 20

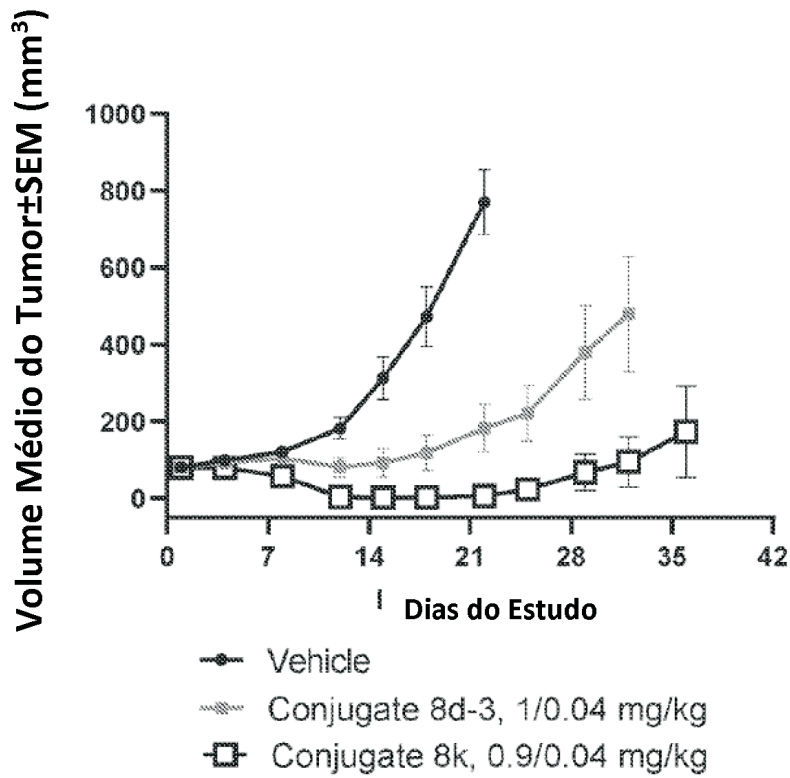


FIG. 21A

Gráficos Individuais

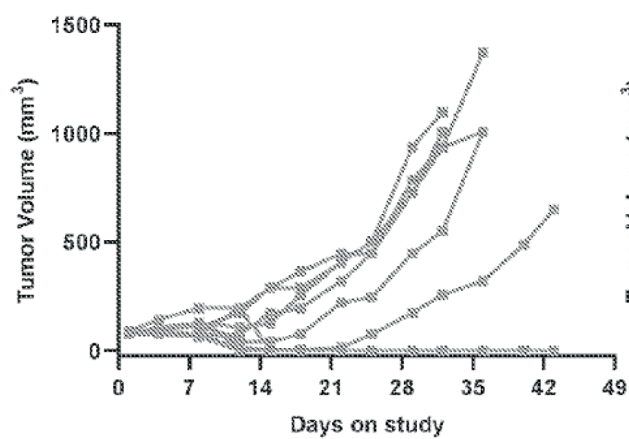


FIG. 21B

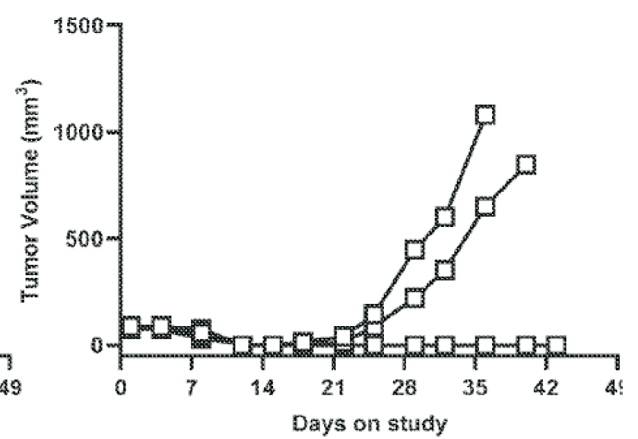


FIG. 21C

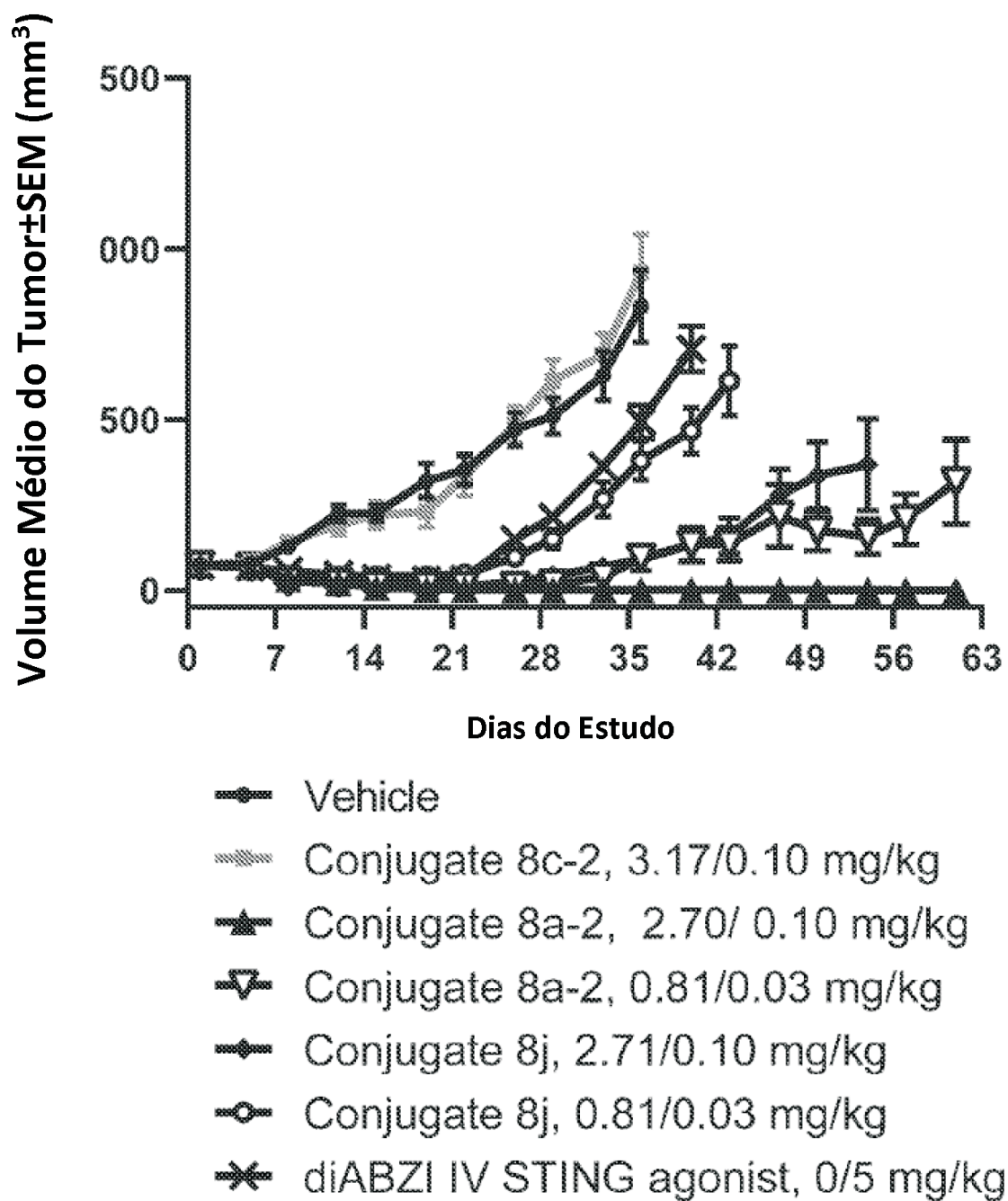
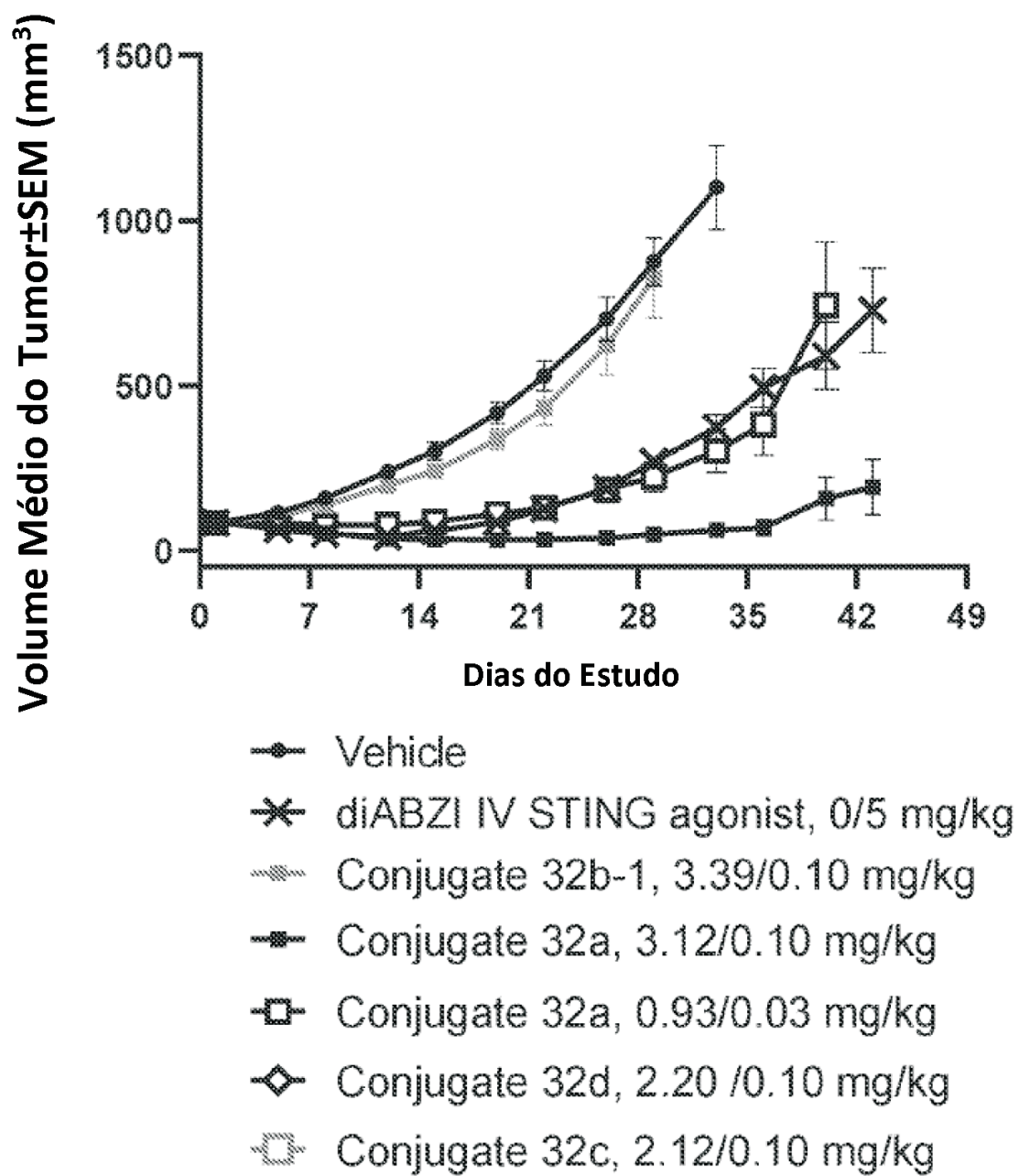


FIG 22

**FIG 23**

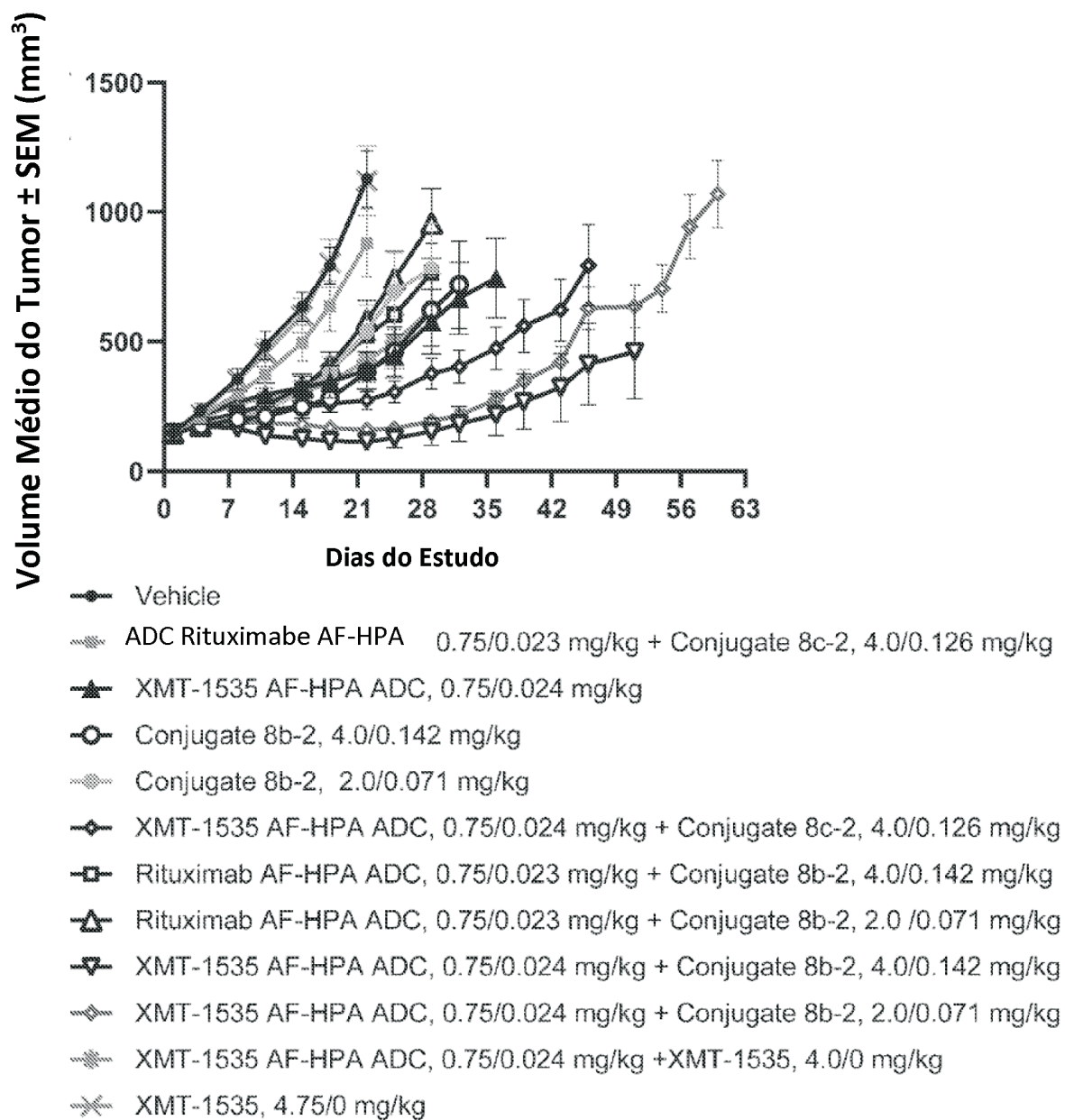
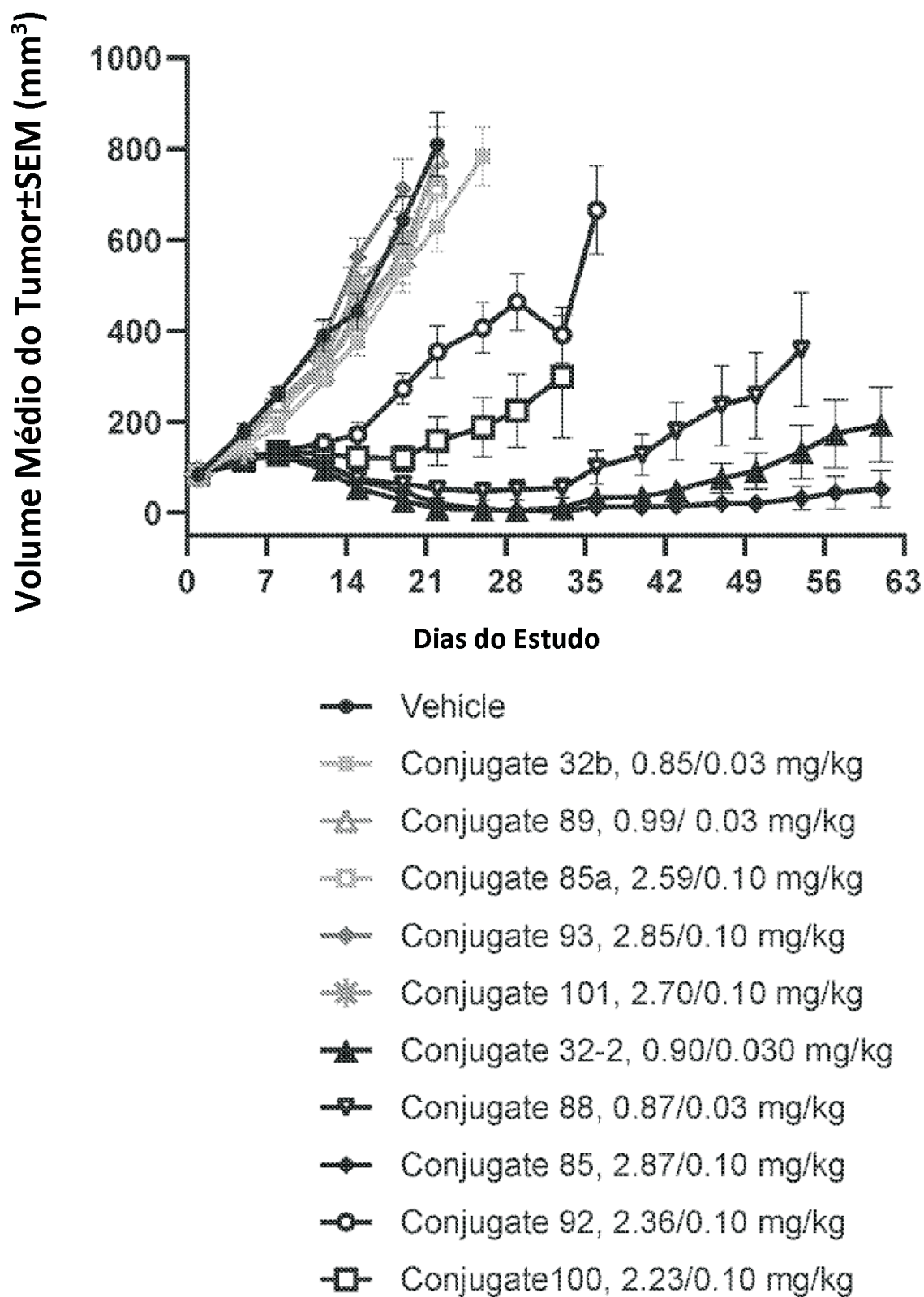


FIG 24

**FIG 25**

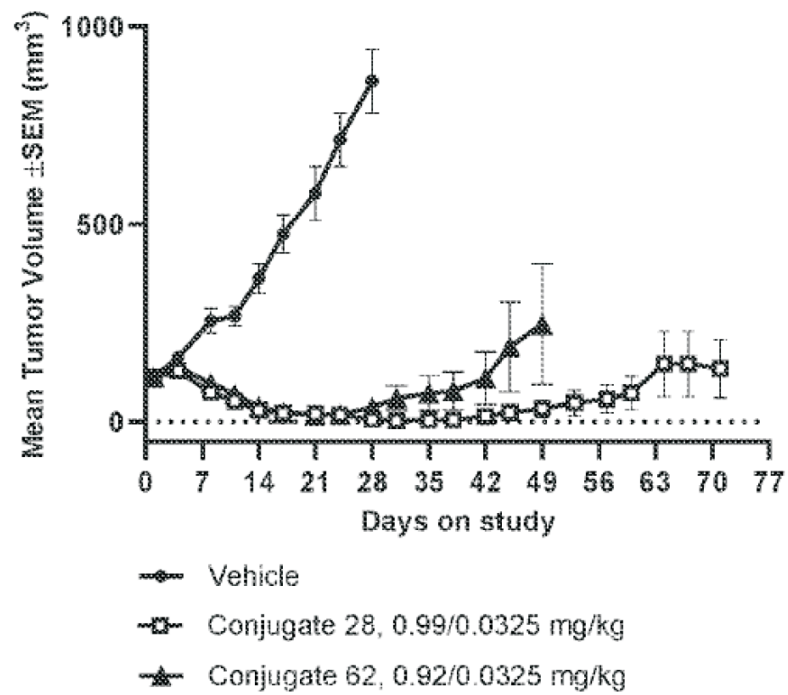


FIG 26

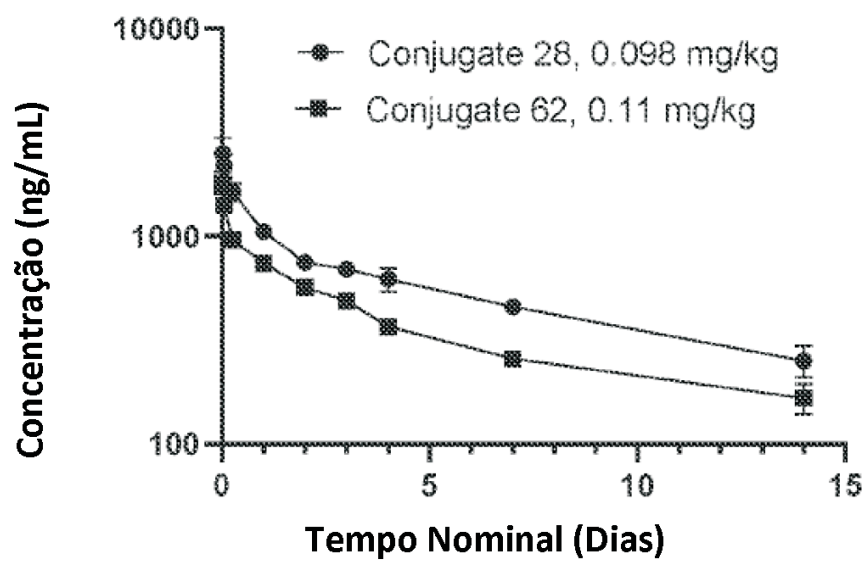


FIG 27

RESUMO

Patente de Invenção: **"CONJUGADOS DE ANTICORPO-FÁRMACO COMPREENDENDO AGONISTAS DE STING, SEU USO E COMPOSIÇÃO"**.

A presente invenção refere-se a arcabouços e conjugados de anticorpo-fármaco (ADCs) que compreendem um estimulador de genes de interferon (STING). A presente invenção também se refere ao uso dos ADCs em tratamento, por exemplo, tratamento de câncer.

Este anexo apresenta o código de controle da listagem de sequências biológicas.

Código de Controle

Campo 1



Campo 2



Outras Informações:

- Nome do Arquivo: P261969 ListSeq.txt
- Data de Geração do Código: 13/10/2022
- Hora de Geração do Código: 15:19:24
- Código de Controle:
 - Campo 1: D2B8CD9F60B0A388
 - Campo 2: 31C893748EE0FD43