



Konjugované monoklonální protilátky

Miroslav Miletín

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Monoklonální protilátky (Monoclonal Antibodies, MAbs) patří mezi nejrychleji se rozvíjející typy biologik pro řadu různých indikací, využívající různé mechanismy účinku. Trendem ve vývoji nových MAbs je obměna jejich základní struktury, vedoucí k vylepšení terapeutického profilu nebo alespoň farmakokinetických vlastností. Kromě základních typů protilátek jsou dnes už pro klinické použití dostupné jejich biosyntetické i polosyntetické modifikace. Z biosyntetických zásahů se jedná např. o změny v cukerné části molekuly, nebo záměnu několika aminokyselin v konstantních regionech řetězců. Využívají se i samotné variabilní fragmenty protilátek, buď volné nebo s navázanými polyethylglykolovými jednotkami velikosti 20–40 kDa. Z polosyntetických obměn patří mezi nejvíce využívané příprava konjugovaných protilátek (Antibody-Drug Conjugates, ADC), kdy protilátka, kromě své vlastní biologické aktivity, má především funkci transportního prostředku. Konjugované molekuly nebo částice mají zpravidla cytotoxickou aktivitu, a zvyšují tak účinnost protilátky dalším přidaným mechanismem, a to selektivně jen vůči buňkám nesoucím cílový antigen. Konjugovány mohou být i komplexotvorné molekuly, následně komplexující radionuklid, případně bakteriální či rostlinné toxiny.

Klíčová slova: konjugovaná monoklonální protilátka, linker, cílená terapie.

KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA: doc. PharmDr. Miroslav Miletín, Ph.D., miletin@faf.cuni.cz
Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy
Akademika Heyrovského 1203/8, 500 05 Hradec Králové

Převzato z: Klin Farmakol Farm 2018; 32(4): 32–37
Článek přijat redakcí: 18. 10. 2018
Článek přijat k publikaci: 18. 12. 2018



Antibody-Drug Conjugates

Monoclonal Antibodies (MAbs) belong among the fastest growing types of biologics for a variety of different indications and employing different mechanisms of action. The trend in the development of new MAbs is to modify their basic structure, leading to an improvement in the therapeutic profile or at least pharmacokinetic properties. In addition to the basic types of antibodies, their biosynthetic and semi-synthetic modifications are currently available for clinical use. Biosynthetic interventions include e.g. changes in the sugar moiety of the molecule, or the changes of several amino acids in constant regions of the MAb. Variable antibody fragments alone, either free or with 20–40 kDa polyethylene glycol units, are also used. Of the semi-synthetic variants, the most used one is the preparation of Antibody-Drug Conjugates (ADC) where the antibody, in addition to its own biological activity, has primarily the function of a transporting tools. The conjugated molecules or particles typically have cytotoxic activity and thus increase the efficiency of the antibody by another additional mechanism, selectively only to cells carrying the target antigen. Complexing molecules, subsequently bearing a radionuclide, as well as bacterial or plant toxin can also be conjugated.

Key words: Antibody-Drug-Conjugate, linker, targeted therapy.

Úvod

Monoklonální protilátky (Monoclonal Antibodies, MAbs) představují, i přes zvyšující se význam prostředků genové terapie v posledních letech, nejdynamičtěji se rozvíjející skupinu biologických léčiv. Z deseti přípravků s největším finančním obratem v celosvětovém měřítku bylo v roce 2017 pět MAbs. FDA a EMA vydaly už povolení více než 80 protilátkám (včetně diagnostik) a každý rok několik nových přibývá. Značně se rozšiřují i schválené indikace. Stále sice převládají onkologické terapeutické cíle a protizánětlivě působící protilátky, ale v posledních letech se tento typ biologických léčiv rozšířil i například do oblasti terapie hyperlipoproteinemií (evolocumab, alirocumab) a ovlivnění krevního srážení (abciximab, idarucizumab, emicizumab). V oblasti onkologických indikací jsou na vzestupu nové přístupy a technologie, např. inhibice zpětnovazebného mechanismu

imunitní reakce (immune checkpoints blockade), za objev principů jejího fungování byla ostatně letos udělena Nobelova cena (James P. Allison a Tasuku Honjo), nebo využití variabilních fragmentů monoklonální protilátky v kombinaci s metodami genové terapie (inkorporace genetické informace pro biosyntézu variabilního fragmentu MAb do T lymfocytů pacienta, Chimeric Antigen Receptor, CAR-T cell therapy).

Trendem ve vývoji nových MAb je obměna jejich základní struktury, vedoucí k vylepšení terapeutického profilu, farmakokinetických vlastností, nebo i novému mechanismu účinku.

Strukturně modifikované MAb lze rozdělit na čistě biosyntetickými obměnami připravené protilátky prosté, které účinkují samy o sobě, a protilátky konjugované, nesoucí další účinný princip. Mezi modifikované protilátky prosté patří kromě již výše zmíněné CAR-T cell therapy například změny



v cukerné části molekuly, záměna několika aminokyselin v konstantních regionech řetězců, využívají se i samotné variabilní fragmenty protilátek, buď volné nebo s navázanými polyethylenglykolovými jednotkami velikosti 20–40 kDa.

Specifickou obměnou struktury a funkce monoklonálních protilátek je metoda, jejíž principy jsou zkoumány a rozvíjeny již dlouhá desetiletí, ale v posledních letech nabyl jejich vývoj na intenzitě – tzv. konjugované monoklonální protilátky, resp. konjugáty monoklonálních protilátek s cytotoxickou molekulou (Antibody-Drug Conjugates, ADC).

Konjugované monoklonální protilátky

Myšlenka konstrukce takového typu terapeutika či diagnostika pochází od Paula Ehrlicha, který již v roce 1906 navrhl možnost připojení toxinu k protilátce. V roce 1958 byl zkonstruován konjugát methotrexátu a MAb, cílící na nádorové buňky. První klinický test konjugované MAb byl proveden v roce 1983 s MAb vážící karcinoembryogenní antigen nesoucí cytostatikum vindesin se slibnými výsledky (1). Terapeutické využití konjugovaných protilátek začíná v roce 2000 zavedením přípravku Mylotarg (gemtuzumab ozogamicin). Tento přípravek byl po 10 letech stažen z klinického použití pro vedlejší účinky (myelosuprese, hepatotoxicita včetně závažné venookluzivní nemoci, aj.) a nedostatečně prokázaný terapeutický benefit (resp. poměr risk/benefit) oproti konzervativní terapii, po přezkoumání a změně dávkovacího režimu byl však v roce 2017 FDA a v roce 2018 EMA opět povolen. Již v průběhu tohoto období byly zavedeny do terapie další konjugované protilátky.

Princip mechanismu působení konjugovaných monoklonálních protilátek je odlišný od MAb prostých. MAb zde může plnit jednak svou

vlastní původní funkci ve smyslu blokování cílového proteinu, jejím hlavním posláním ale je vyhledat cíl a dopravit k němu konjugovanou cytotoxickou molekulu nebo částici. Ta zvyšuje účinnost protilátky dalším přidaným mechanismem, a to selektivně jen vůči buňkám nesoucím cílový antigen (2, 3). V současnosti je v klinickém hodnocení kolem 60 konjugovaných monoklonálních protilátek (4, 5, 6).

Konjugát se skládá ze 3 důležitých komponent (Obr. 1):

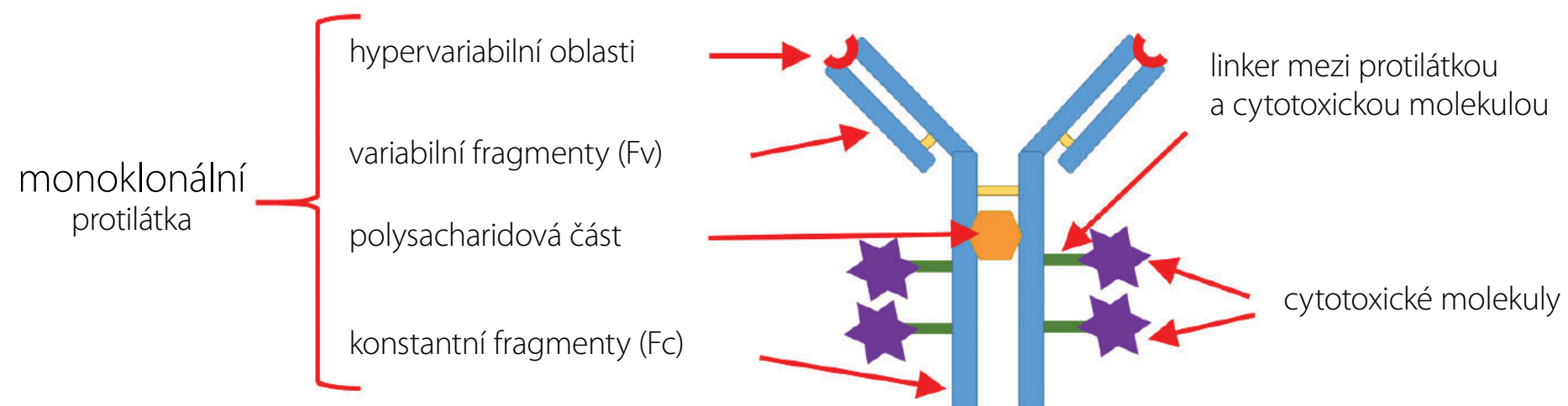
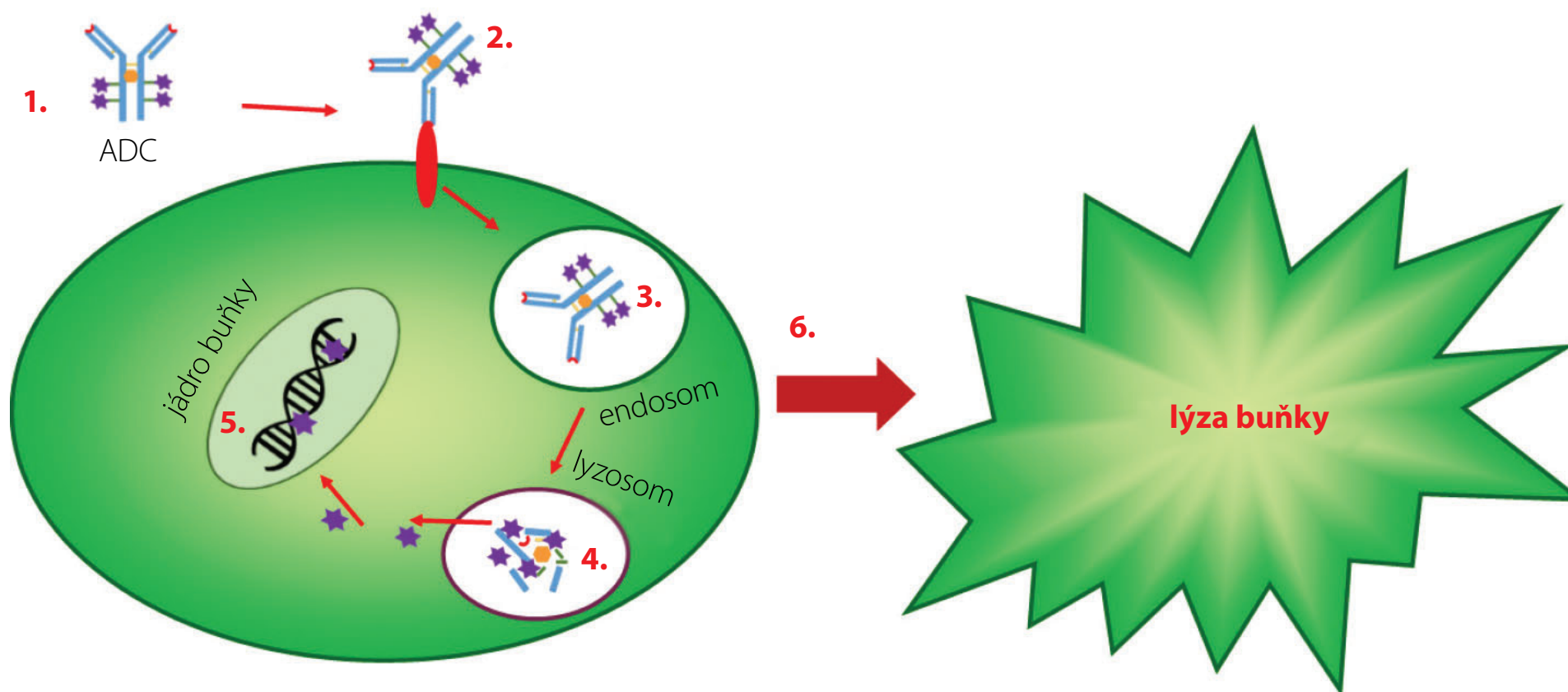
- vlastní MAb
- spojovacího článku (linkeru)
- cytotoxické molekuly nebo částice

Jedna molekula MAb nese obvykle více molekul cytotoxických. V rámci daného přípravku není poměr obvykle stechiometrický, ale statistický, udává se jako průměr, tedy např. 3–4 cytotoxické molekuly v 1 molekule konjugované MAb, reálný rozptyl ale může být 0–8 konjugovaných molekul.

Princip působení konjugované monoklonální protilátky (Obr. 2):

1. Konjugovaná protilátka (Antibody Drug Conjugate, ADC) je aplikována parenterálně, dostává se do krevního oběhu: linker musí být dostatečně stálý, aby působením enzymů v krevní plazmě nedocházelo k odštěpení cytotoxické molekuly, protože by se projevila její systémová, nikoliv cílená toxicita.

2. ADC se váže na specifický antigen na cílové buňce: konjugací nesmí být omezena schopnost MAb vázat se vysoce specificky a dostatečně pevně na cílový antigen; stále nesmí docházet k odštěpení cytotoxické molekuly. Konjugace se proto provádějí především na konstantních regionech molekuly MAb.

Obr. 1. Konjugovaná monoklonální protilátka**Obr. 2.** Princip působení konjugované monoklonální protilátky

3. ACD je internalizován do buňky, dostává se zpravidla nejdříve do endosomů. Zde může docházet k vazbě protilátky na FcRn receptory a jejímu vylučování z buňky, aniž by se projevil účinek cytotoxické složky. Může být proto výhodnější použít jen variabilní (Fv) regiony MAb, které se na FcRn receptory vázat nemohou. Z endosomu se pak konjugát dostává nejčastěji do lyzosomů.

4. V lyzosomech, případně jinde v buňce, v závislosti na svém charakteru, je štěpen linker, metabolizována protilátka, uvolňuje se cytotoxická molekula.

5. Cytotoxická molekula se dostává do cytoplazmy, a případně jádra buňky, a realizuje svůj toxický účinek.

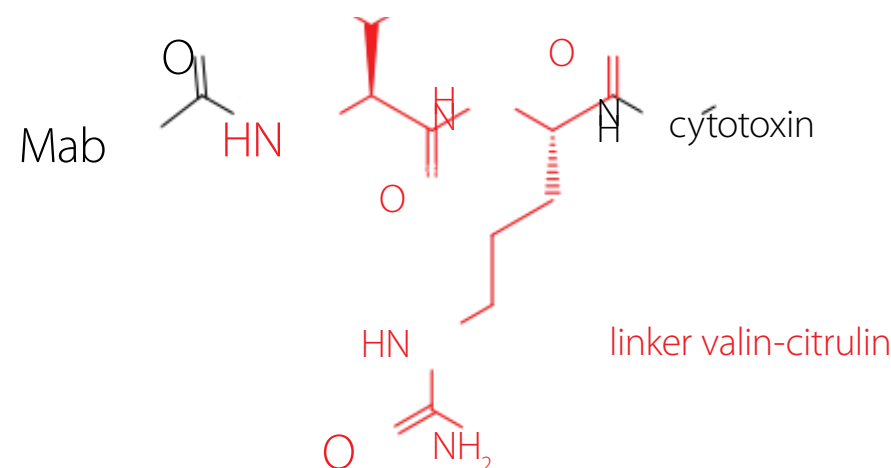
6. Dochází ke zničení cílové buňky (7).

Funkce linkeru a jeho vlastnosti jsou tedy mimořádně důležité (5). Pokud je linker nedostatečně stabilní v krevní plazmě, dochází k uvolnění toxického léčiva mimo buňku a projevům její toxicity i na zdravé buňky. Pokud je příliš stabilní i uvnitř buňky, uvolňování toxické molekuly je pomalé nebo nedostatečné, což má za následek menší účinnost. Je však třeba uvést, že v některých případech není nutné pro dosažení účinku vazbu MAb-konjugovaná molekula štěpit (např. pokud jde o konjugát nesoucí radioaktivní isotope). Používají se tedy jak biologicky štěpitelné, tak i neštěpitelné linkery.

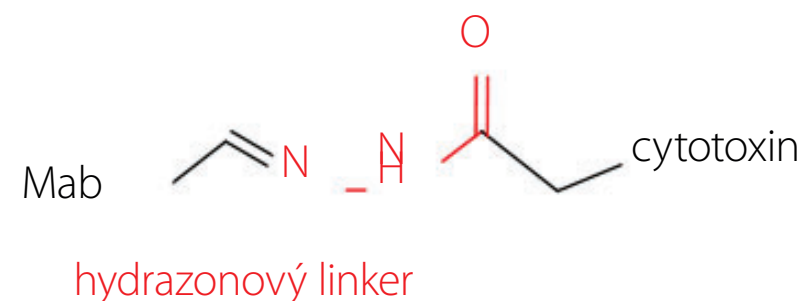
Linkery štěpitelné v biologickém prostředí (vyznačeny červeně) (8):

■ Dipetidový (nejčastěji valin-citrulin, ale i valin-alanin, valin-fenylalanin, fenylalanin-lysin), štěpitelný specifickými proteázami, především kathe-

psinem B, což je lyzosomální proteáza, overexprimovaná u řady typů nádorových buněk a aktivní v mírně kyselém prostředí lyzosomů (viz brentuximab vedotin, Obr. 6).

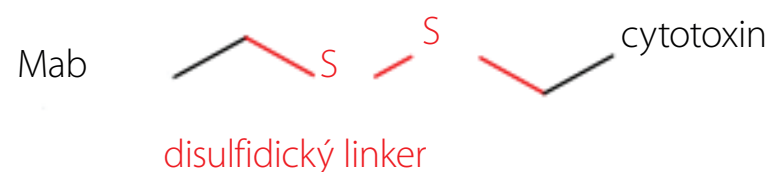


■ Hydrazonový, chemicky štěpitelný mírně kyselým prostředím v lyzosomech. Acidita zde dosahuje hodnot až pod pH 5. Nicméně hydrazonová vazba je, byť značně pomaleji, štěpena i při fyziologickém pH (7,4) a při dlouhodobé cirkulaci mohou být tyto konjugáty toxičtější (viz gemtuzumab ozogamicin, Obr. 7).

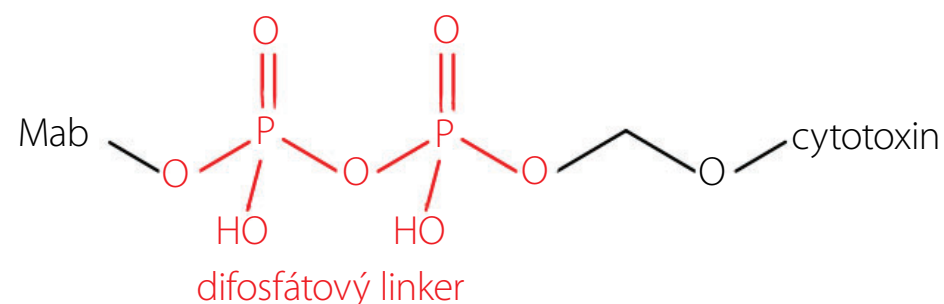


■ Disulfidický, relativně specificky štěpitelný po internalizaci do cílových buněk díky zvýšené koncentraci -SH skupiny obsahujících molekul

(glutathion) v cytoplasmě ve srovnání s extracelulárním prostředím, resp. i díky zvýšené expresi intracelulárního enzymu disulfid isomerázy v nádorech (viz mirvetuximab soravtansin, Obr. 8).



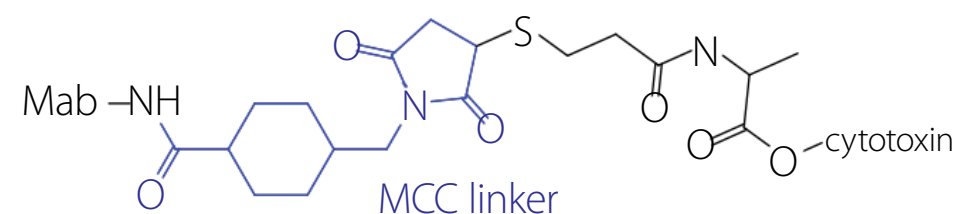
- Difosfátový (pyrofosfátový), velmi stabilní v průběhu cirkulace a štěpený pravděpodobně enzymaticky opět v lysosomech, dosud s ne zcela detailně objasněným mechanismem.



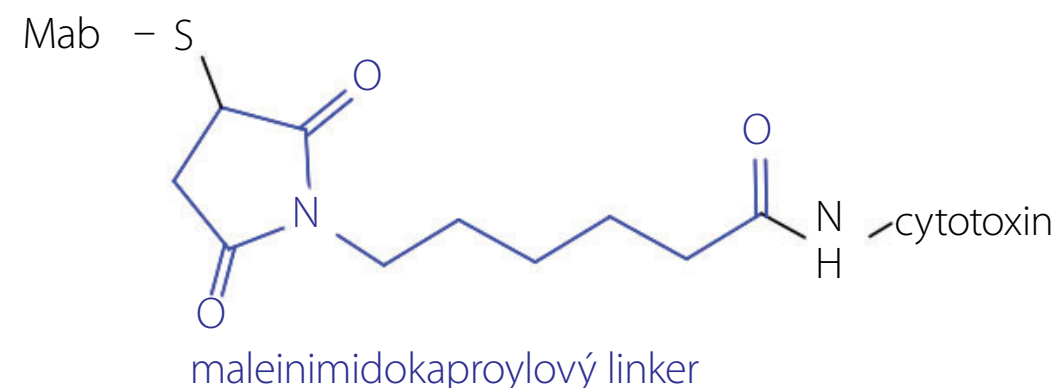
Řada dalších linkerů, štěpitelných po internalizaci do buňky, je v různých fázích vývoje.

Biologicky neštěpitelné linkery (vyznačeny modře):

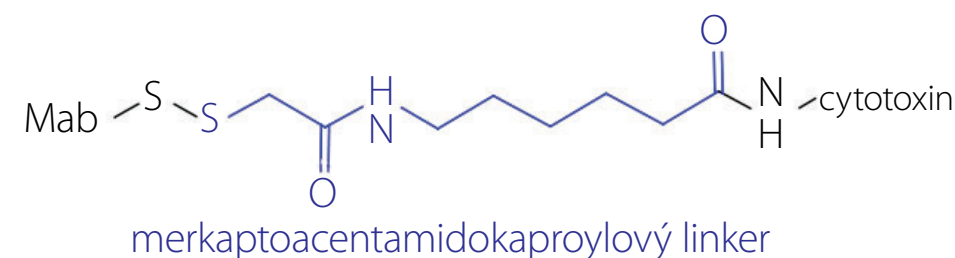
- Maleinimidomethylcyklohexanokarboxylový linker (MCC, někdy také N-sukcinimido-4-(N-maleinidomethyl)-cyklohexan-1-karboxylový linker, SMCC, viz ado-trastuzumab emtansin, Obr. 5), využívá volnou aminoskupinu protilátky.



- Maleinimidokaproylový linker, vzniká vazbou maleinimidového derivátu cytotoxinu na -SH skupinu protilátky.



- Merkaptoacetamidokaproylový linker, vzniká vazbou na -SH skupinu protilátky.



- Thioureidofenylový linker, vzniká vazbou isothiokyanátového derivátu cytotoxinu na volnou aminoskupinu protilátky (viz ibritumomab tiuxetan, Obr. 3).



V praxi se využívají 3 typy cytotoxických molekul:

- Konjugovány mohou být komplexotvorné molekuly typu EDTA, následně komplexující radionuklid, jde tedy v principu o cílenou radioimuniterapii. Radioaktivní atom může být vázán i přímo kovalentní vazbou.
- Nejčastější konjugovanou molekulou jsou silně toxická chemoterapeutika, samostatně většinou nepoužitelná. V praxi nejdůležitější jsou první 3 typy, ostatní se prozatím vyskytují jen u ADC v klinických nebo preklinických testech.

Auristatiny

- Oligopeptidová antibiotika z mořských plžů *Dolabella auricularia*, působí antimitoticky, destabilizující mikrotubuly při buněčném dělení. Jsou až 100–1000× toxičtější než doxorubicin (9). Struktura viz brentuximab vedotin (Obr. 6).

Maytansiny

- Benzoansamycinová antibiotika z kůry stromů rodu *Maytenus*, také působí antimitoticky, váží se na tubulin a způsobují jeho depolymerizaci. Jsou až 1000× toxičtější než doxorubicin (10). Struktura viz ado-trastuzumab emtansin (Obr. 5, DM1), mirvetuximab soravtansin (Obr. 8, DM4).

Kalicheamicin

- Makrocyclické antibiotikum, izolované z *Micromonospora echinospora* ssp. *Calichensis*. Váže se do malého žlábků DNA (minor groove, podle toho Minor Groove Binders, MGB), je následně redukován buněčnými thioley, v důsledku čehož vzniká diradikál, ten se váže na DNA a způsobuje její štěpení. Svou toxicitou 1000–10 000× převyšuje standardně používaná antineoplastika (11). Struktura viz gemtuzumab ozogamicin (Obr. 7).

Kamptothekany

- Alkaloidy z kůry *Camptotheca acuminata*, inhibitory topoisomerasy 1, selektivně stabilizují komplex topoisomerasy 1 s DNA, což vede k blokování replikace a transkripce a následně spuštění apoptózy buněk.

Dimery pyrrolobenzodiazepinu

- Váží se do malého žlábků DNA, následně tvoří kovalentní vazbu mezi pozicemi C11 a C2-NH₂ skupinou guaninových bazí mezi řetězci dvoušroubovice – působí apoptózu v nanomolárních nebo i pikomolárních koncentracích.

Duokarmyciny

- Váží se do malého žlábků DNA a následně alkylují adenin v pozici N3.
- Bakteriální nebo rostlinné toxiny, nejčastěji je zatím využíván pseudomonádový exotoxin, resp. jeho část.

Ad 1. Monoklonální protilátky konjugované s molekulou komplexující nebo vážící radioaktivní isotope

Dvě konjugované MAb jsou v současnosti povolené pro klinické použití a jedna pro diagnostické účely.

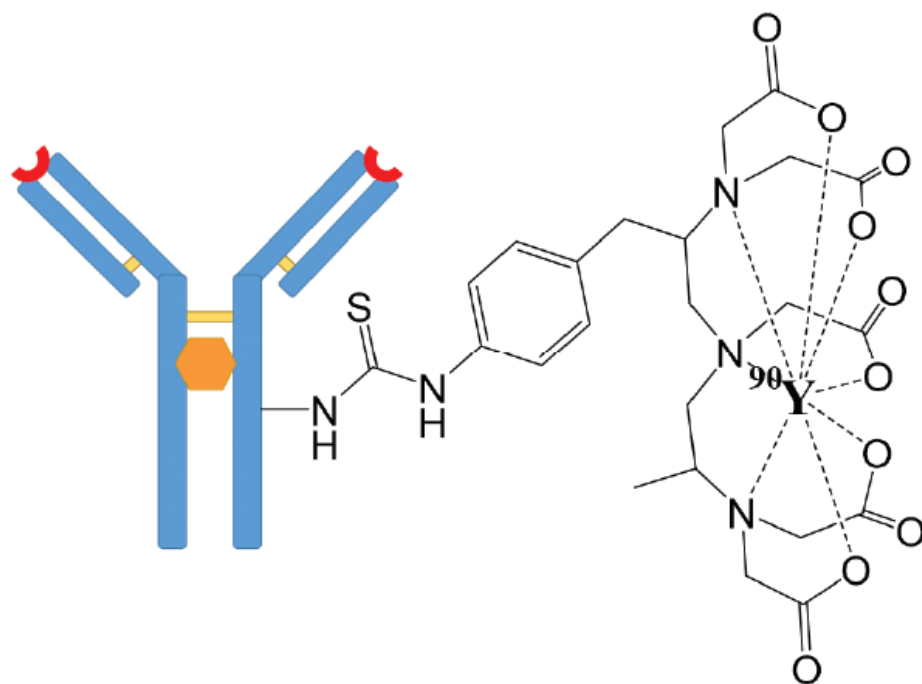
Ibritumomab tiuxetan (Zevalin®)

MAb: myší IgG1 cílený na protein CD20, nacházející se na B lymfocytech, silně exprimovaný u některých lymfomů.

Konjugovaná molekula: tiuxetan (MX-DTPA), chelatující yttrium 90.

Indikace: ke konsolidační léčbě u dříve neléčených pacientů s folikulárním lymfomem v remisi po indukční terapii a k léčbě CD20 pozitivního folikulárního B non-Hodgkinského lymfomu (NHL) v relapsu po terapii rituximabem nebo v refrakterní fázi u dospělých pacientů (dle SPC přípravku).

Obr. 3. Ibritumomab tiuxetan

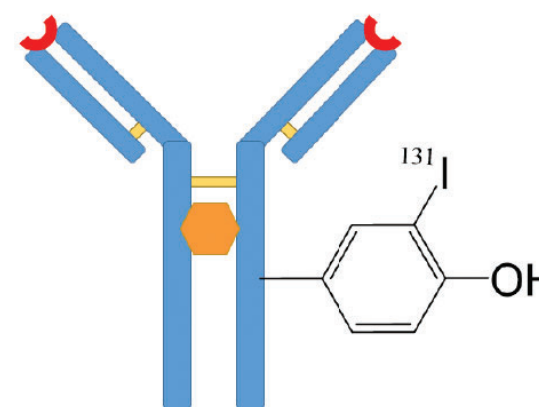


Tositumomab (Bexxar®)

MAb: myší IgG1 cílený na protein CD20.

Není typickou konjugovanou MAb, připravuje se přímou jodací protilátky radioaktivním jodem 131, reakce probíhá v poloze 3 aromatického jádra aminokyseliny tyrosinu.

Obr. 4. Tositumomab



Indikace: non-Hodgkin a folikulární lymfomy, pozastaven výrobcem v r. 2014 vzhledem k omezené preskripci a malému obratu.

Ad 2. Monoklonální protilátky konjugované s molekulou silně toxického chemoterapeutika

Dostupné pro klinické použití jsou aktuálně 4 konjugované protilátky tohoto typu.

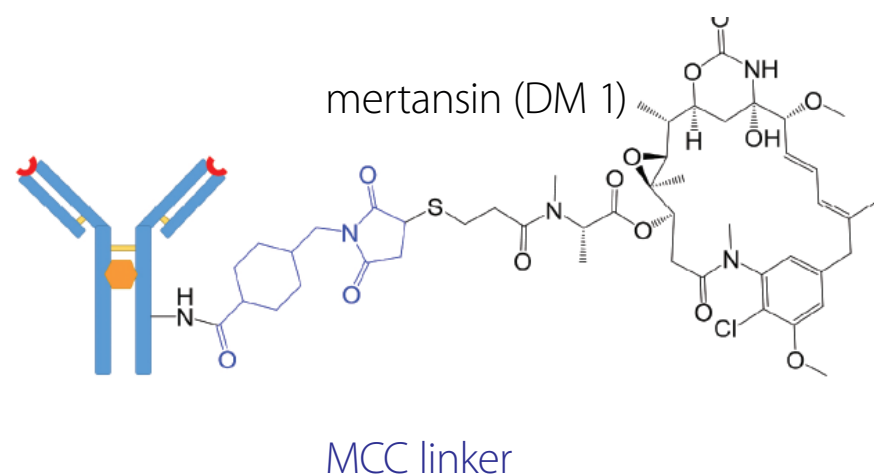
Ado-trastuzumab emtansin (Kadcyla®)

MAb: humanizovaný monoklonální IgG1.

Konjugovaná molekula: maytansinoid mertansin (DM1) přes biologicky neštěpitelný linker MCC (4-[N-maleimido-methyl]cyklohexan-1-karboxylát).

Indikace: k léčbě dospělých pacientů s HER2-positivním neresekovatelným lokálně pokročilým nebo metastazujícím karcinomem prsu, kteří byli dříve léčeni trastuzumabem a taxanem, a to samostatně nebo v kombinaci (dle SPC přípravku).

Obr. 5. Ado-trastuzumab emtansin



Brentuximab vedotin (Adcetris®)

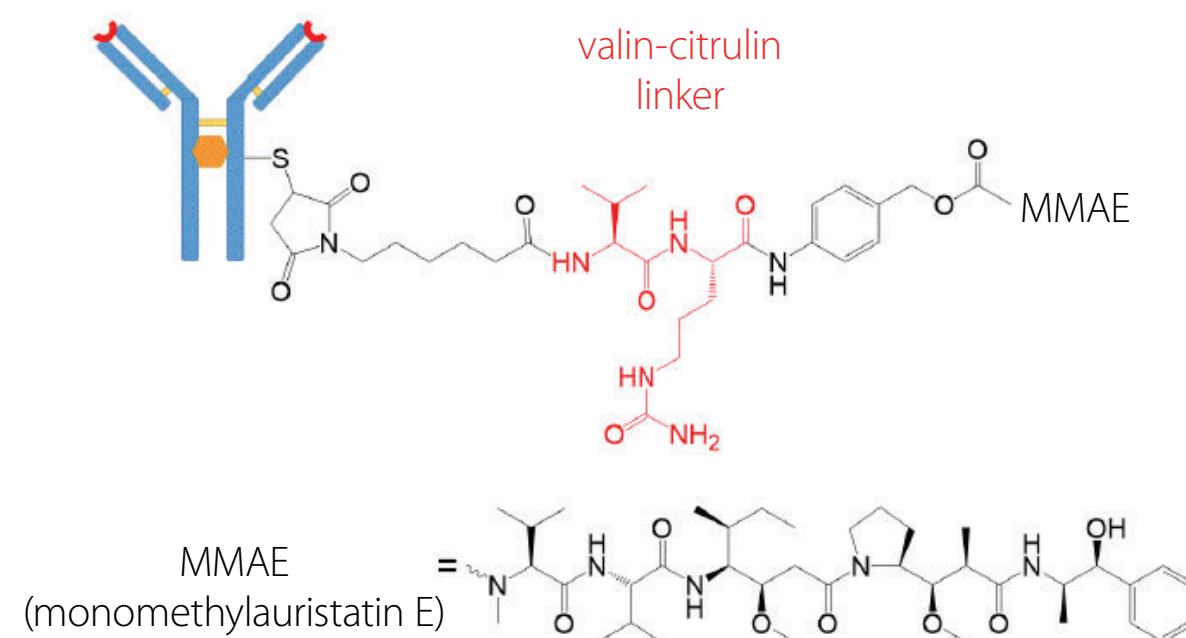
MAb: rekombinantní chimérický IgG1 cílený proti antigenu CD30.

Konjugovaná molekula: monomethylauristatin E (MMAE) přes štěpitelný dipeptidový valin-citrulin linker.

Indikace: k léčbě dospělých pacientů s relabujícím nebo refrakterním CD30+Hodgkinovým lymfomem (HL) po autologní transplantaci kmenových buněk (ASCT) nebo po nejméně dvou předchozích terapiích v případech, kdy ASCT nebo kombinovaná chemoterapie nepředstavuje léčebnou možnost, dále k léčbě dospělých pacientů s CD30+ HL při zvýšeném riziku relapsu nebo progresu po ASCT, k léčbě dospělých

pacientů s relabujícím nebo refrakterním systémovým anaplastickým velkobuněčným lymfomem (sALCL) a k léčbě dospělých pacientů s CD30+ kožním T-buněčným lymfomem (CTCL) po nejméně jedné předchozí systémové terapii (dle SPC přípravku).

Obr. 6. Brentuximab vedotin



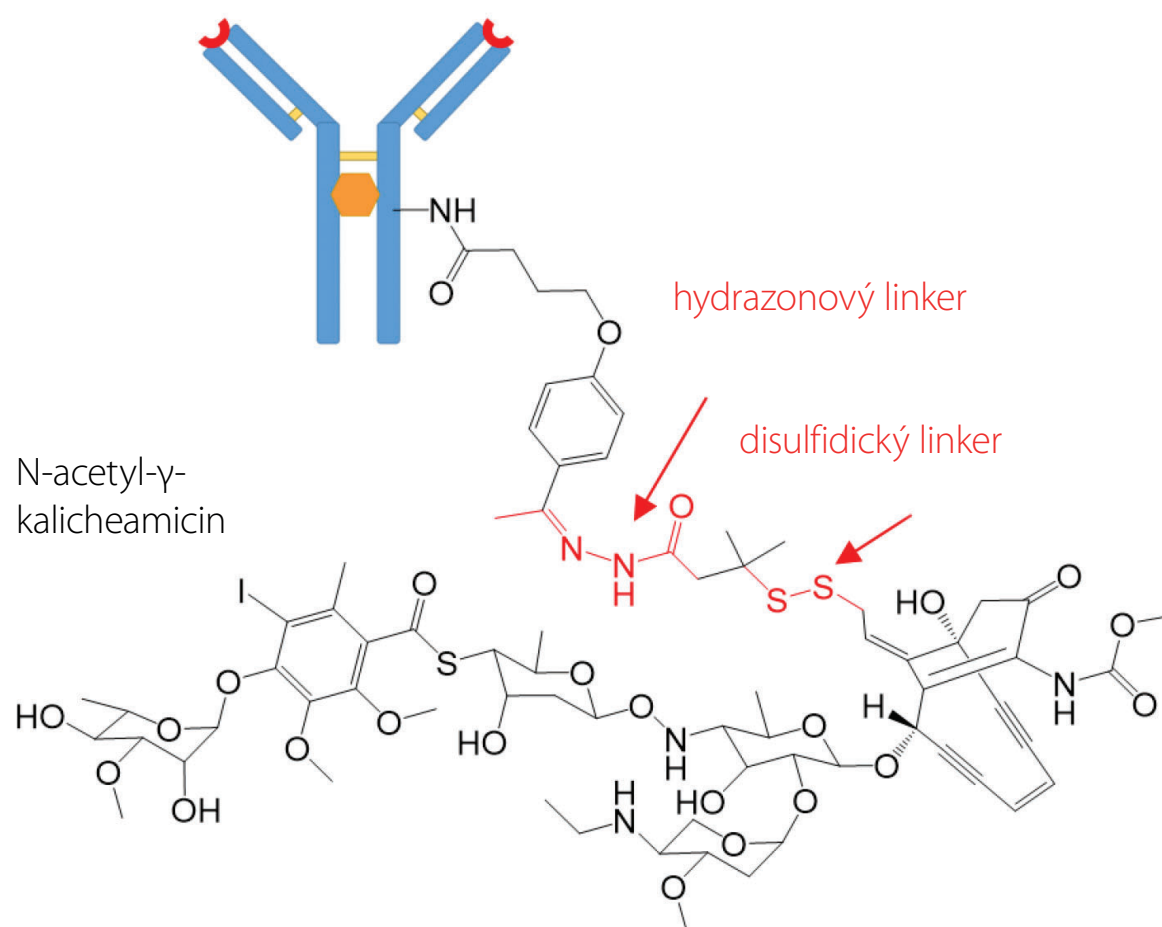
Gemtuzumab ozogamicin (Mylotarg®) (12)

MAb: humanizovaný IgG4, cílený proti antigenu CD33, exprimovaný na leukemických myeloblastech u 80 % pacientů s akutní myeloblastickou leukémií (AML). IgG4 je výhodný jako nosič pro svůj nejdelší biologický poločas ze všech IgG isotypů.

Konjugovaná molekula: N-acetyl-γ-kalicheamicin přes biodegradovatelný hydrazonový a disulfidický linker, 2–3 molekuly kalicheamicinu na 1 molekulu protilátky.

Indikace: ke kombinované terapii s daunorubicinem (DNR) a cytarabinem (AraC) při léčbě pacientů od 15 let s dříve neléčenou CD33-pozitivní akutní myeloidní leukemií (AML) vzniklou de novo, s výjimkou akutní promyelocytární leukemie (dle SPC přípravku).

Obr. 7. Gemtuzumab ozogamicin



Inotuzumab ozogamicin (Besponsa®) (11)

Struktura analogická jako gemtuzumab ozogamicinu, liší se varia-
bilními fragmenty MAb.

MAb: humanizovaný IgG4, cílený proti antigenu C22, který je expri-
movaný na 60–90 % maligních B lymfocytů.

Konjugovaná molekula: N-acetyl-γ-kalicheamicin přes biodegrado-
vatelný hydrazonový a disulfidický linker, 2–3 molekuly kalicheamicinu na 1
molekulu protilátky.

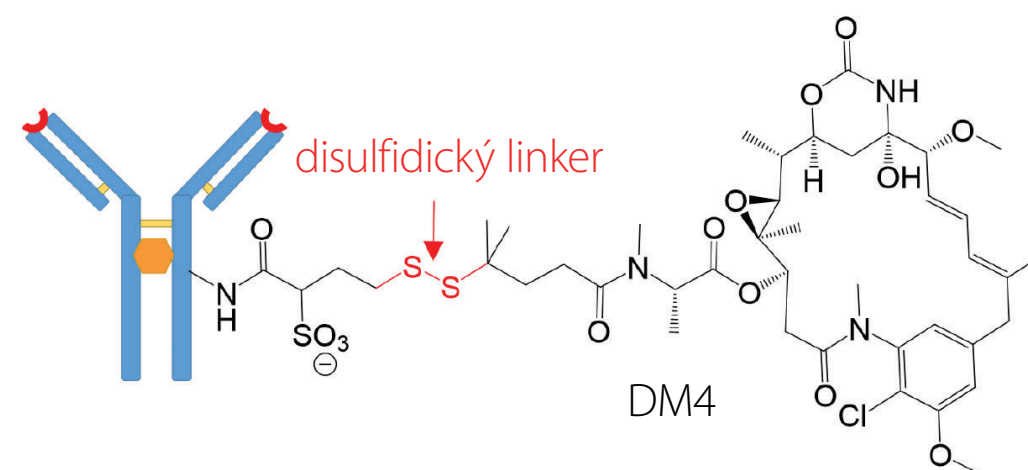
Indikace: jako monoterapie v léčbě dospělých s relabující nebo refrakterní
CD22-pozitivní akutní lymfoblastickou leukemií (ALL) z prekursorů B-buněk,
dále i v terapii uvedených typů leukemie u Ph+ (Philadelphia chromosom)
dospělých, pokud selhala léčba inhibitory tyrosinkinázy (dle EMA SPC, pří-
pravek zatím není v ČR dostupný).

Mirvetuximab soravtansin (13)

MAb: chimérický IgG4, cílený proti folátovému receptoru FRα, který je
overexprimovaný např. u nádorů ovaria, endometria a tripple-negative
nádorů prsu.

Konjugovaná molekula: maytansinoid revtansin (DM4) přes biodegrado-
vatelný disulfidický linker.

Obr. 8. Mirvetuximab soravtansin



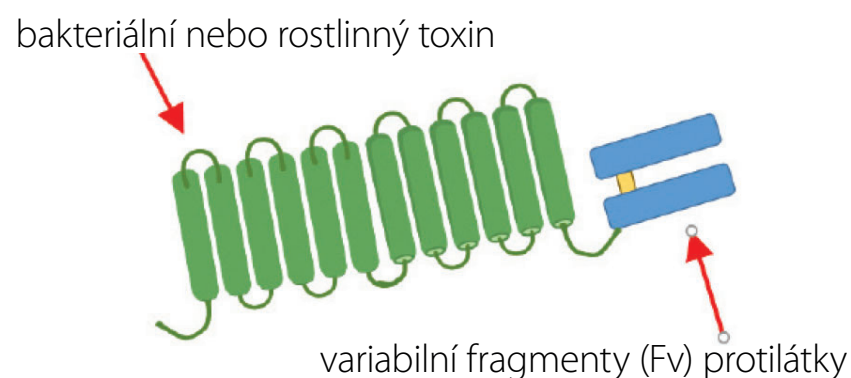
Indikace: pokročilý nádor ovaríí, zatím ve III. fázi klinických testů, obdržel od FDA doporučení k urychlení procesu registrace (Fast Track Designation).

Ad 3. Monoklonální protilátky konjugované s bakteriálním nebo rostlinným toxinem

V této kombinaci se obvykle využívají z monoklonální protilátky jen její variabilní regiony.

Po konjugaci s bakteriálním toxinem je molekula dostatečně velká, aby nedocházelo k jejím ztrátám renální filtrací. Z konjugovaných MAbs tohoto typu dosud získal povolení ke klinickému používání moxetumomab pasudotox (Lumoxiti®), další zde uvedené látky jsou ve III. fázi klinických testů.

Obr. 9. Schéma konjugátu variabilního fragmentu protilátky s peptidickým bakteriálním nebo rostlinným toxinem



Moxetumomab pasudotox (Lumoxiti®) (14)

MAB: variabilní fragment (scFv) myší protilátky proti antigenu CD22 (exprimovaný jen v některých typech leukemických buněk).

Konjugovaná molekula: Pseudomonas exotoxin A (P38).

Povolen FDA 14. 9. 2018 (15) pro terapii leukemie z vlasatých buněk, U EMA má zatím jen status Orphan Drug.

Oportuzumab monatox (Proxinium®/Vicinium®) (16)

MAB: variabilní fragment (scFv) humanizované protilátky proti EpCAM (epithelial cell adhesion molecule), což je transmembránový glykoprotein, účastní se signalizace mezi buňkami, jejich migrace, proliferace a diferenciace, má onkogenní působení, je overexprimovaný u epitelálních nádorů (jeden z markerů nádoru).

Konjugovaná molekula: Pseudomonas exotoxin A.

Aktuálně ve III. fázi klinických zkoušek proti nádoru močového měchýře.

Naptumomab estafenatox (17)

MAB: variabilní fragment (scFv) myší protilátky cílený na antigen 5T4, exprimovaný některými typy nádorových buněk.

Konjugovaná molekula: superantigen stafylokokový enterotoxin A.

Variabilní fragment protilátky se váže na cílový antigen a superantigen stimuluje imunitní reakci aktivací T lymfocytů.

Je ve III. fázi klinických testů pro terapii pokročilého nádoru ledvinných buněk.

Závěr

Vývoj konjugovaných monoklonálních protilátek probíhá již několik desetiletí, ale zatím nedosáhly odpovídajícího uplatnění v terapii. Důvodem je pravděpodobně především to, že se vzhledem ke složitosti problematiky jen obtížně daří najít optimální poměr mezi jejich účinností a toxicitou pro jiné než cílové buňky. To souvisí s charakte-



rem linkeru, s poměrem toxická molekula/protilátka, ale i s případnou reakcí imunitního systému pacienta na nosnou protilátku konjugátu. Ukazuje se, že význam má i okolí linkeru a místo konjugace na molekule protilátky (18). Ve vývoji jsou nové typy biologicky štěpitelných linkerů (např. difosfát), které jsou stabilnější v prostředí krevní plazmy a snadno štěpitelné v lyzosomech. Udržení vysoké specifity původní MAb a standardizace poměru konjugované molekuly k MAb umožňují

nové metody konjugace s přesnějším cílením vazby jen na konstantní regiony protilátky (7, 19). Snížení toxicity konjugátů se dosahuje i použitím méně toxických konjugovaných molekul (např. govitekanu, aktivního metabolitu antineoplastika irinotekanu). Díky tomu lze čekat, že z více než šedesáti konjugovaných MAb se zlepšenými vlastnostmi, které jsou klinicky testovány, budou v nejbližší době některé uvolněny do standardního klinického použití.

LITERATURA

1. Ford CHJ, Newman CE, Rohson JR, et al. Localization and toxicity study of a vindesine-anti-CEA conjugate in patients with advanced cancer. *Br. J. Cancer* 1983; 47: 35–42.
2. Chari RV, Miller ML, Widdison WC. Antibody-drug conjugates: an emerging concept in cancer therapy. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2014; 53(15): 3796–3827.
3. Thomas A, Teicher BA, Hassan R. Antibody-drug conjugates for cancer therapy. *Lancet Oncol.* 2016; 17(6): e254–e262.
4. de Goeij BE, Lambert JM. New developments for antibody-drug conjugate-based therapeutic approaches. *Curr Opin Immunol.* 2016; 40: 14–23.
5. Donaghy H. Effects of antibody, drug and linker on the preclinical and clinical toxicities of antibody-drug conjugates. *MABS.* 2016; 8: 659–671.
6. Lambert JM, Morris CQ. Antibody-drug conjugates (ADCs) for personalized treatment of solid tumors: a review. *Adv. Ther.* 2017; 34(5) 1015–1035.
7. Peters CH, Brown S. *Bioscience Reports* 2015; 35: e00225, doi:10.1042/BSR20150089
8. Dan N, Setua S, Kashyap VK, et al. Antibody-Drug Conjugates for Cancer Therapy: Chemistry to Clinical Implications. *Pharmaceuticals* 2018; 11: 32; doi:10.3390/ph11020032.
9. Pettit GR, Srirangam JK, Barkoczy J, et al. Antineoplastic agents 337. Synthesis of dolastatin 10 structural modifications. *Anticancer Drug Des.* 1995; 10(7): 529–544.
10. Lopus M, Oroudjev E, Wilson L, et al. Maytansine and cellular metabolites of antibody-maytansinoid conjugates strongly suppress microtubule dynamics by binding to microtubules. *Mol Cancer Ther.* 2010; 9(10): 2689–2699.
11. Watanabe CM, Supekova L, Schultz PG. Transcriptional effects of the potent enediyne anti-cancer agent Calicheamicin gamma(I) (1). *Chem Biol.* 2002; 9(2): 245–251.
12. Ricart AD. Antibody-Drug Conjugates of Calicheamicin Derivative: Gemtuzumab Ozogamicin and Inotuzumab Ozogamicin. *Clin Cancer Res.* 2011; 17(20): 6417–6427.
13. Moore KN, Vergote I, Oaknin A, et al. FORWARD I: a Phase III study of mirvetuximab soravtansine versus chemotherapy in platinum-resistant ovarian cancer *Future Oncol.* 2018; 14(17): 1669–1678.
14. Kreitman RJ, Dearden C, Zinzani PL, et al. Moxetumomab pasudotox in relapsed/refractory hairy cell leukemia. *Leukemia* 2018; 32: 1768–1777.
15. FDA approves moxetumomab pasudotox-tdfk for hairy cell leukemia. [18. 12. 2018]. Dostupné z <https://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm620473.htm>
16. Vlachostergios PJ, Jakubowski CD, Niaz MJ, et al. Antibody-Drug Conjugates in Bladder Cancer Bladder. *Cancer* 2018; 4: 247–259.
17. Hawkins RE, Gore M, Shparyk Y, et al. A Randomized Phase II/III Study of Naptumomab Estafenatox plus IFNα versus IFNα in Renal Cell Carcinoma: Final Analysis with Baseline Biomarker Subgroup and Trend Analysis. *Clin Cancer Res.* 2016; 22(13): 3172–3181.
18. Drake P, Rabuka D. ADCs – Look Forward to a Potent Future. 2018. [11. 11. 2018]. Dostupné z: <https://adcreview.com/articles/adcs-look-forward-to-a-potent-future/>
19. Tsuchikama K, An Z. Antibody-drug conjugates: recent advances in conjugation and linker chemistries. *Protein Cell* 2018; 9(1): 3–46.