

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 201992182 (13) A1

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2020.02.25(22) Дата подачи заявки  
2018.04.18(51) Int. Cl. C07D 519/00 (2006.01)  
A61P 35/00 (2006.01)  
A61K 47/68 (2017.01)  
C07K 5/062 (2006.01)

## (54) ПИРРОЛОБЕНЗОДИАЗЕПИНОВЫЕ КОНЬЮГАТЫ

(31) 1706133.4; 1721337.2

(32) 2017.04.18; 2017.12.19

(33) GB

(86) PCT/EP2018/059846

(87) WO 2018/192944 2018.10.25

(71) Заявитель:  
МЕДИМЬЮН ЛИМИТЕД (GB)

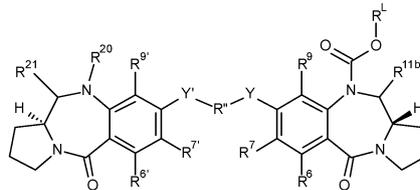
(72) Изобретатель:

Ховард Филип Уилсон, Грегсон  
Стивен Джон (GB)

(74) Представитель:

Нилова М.И. (RU)

(57) Соединение формулы I



и его соли, и сольваты, где  $R^6$  и  $R^9$  независимо выбраны из H, R, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR,  $NRR'$ , нитро,  $Me_3Sn$  и галогена; где R и  $R'$  независимо выбраны из необязательно замещенных  $C_{1-12}$ алкильных,  $C_{3-20}$ гетероциклических и  $C_{5-20}$ арильных групп;  $R^7$  выбран из H, R, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR,  $NRR'$ , нитро,  $Me_3Sn$  и галогена;  $R''$  представляет собой  $C_{3-12}$ алкиленовую группу, цепь которой может прерываться одним или более гетероатомами, например O, S,  $NR^{N2}$  (где  $R^{N2}$  представляет собой H или  $C_{1-4}$  алкил), и/или ароматическими кольцами, например бензолом или пиридином; Y и  $Y'$  выбраны из O, S или NH;  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^9$  выбраны из тех же групп, что и  $R^6$ ,  $R^7$  и  $R^9$  соответственно;  $R^{11b}$  выбран из OH,  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$ алкил; и  $R^L$  представляет собой линкер для соединения с клеточносвязывающим агентом.

A1

201992182

201992182

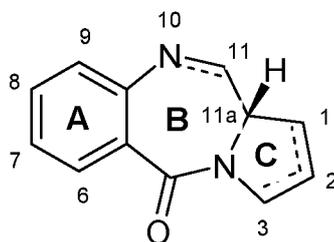
A1

## ПИРРОЛОБЕНЗОДИАЗЕПИНОВЫЕ КОНЬЮГАТЫ

Данное изобретение относится к конъюгатам, содержащим пирролобензодиазепины и родственные димеры (PBD) и линкеры предшественника лекарственного средства, используемые для получения таких конъюгатов.

### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Некоторые пирролобензодиазепины (PBD) обладают способностью распознавать и связываться с определенными последовательностями ДНК; предпочтительной последовательностью является PuGpu. Первый PBD противоопухолевый антибиотик, антрамицин, открыт в 1965 году (Leimgruber, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 5793-5795 (1965); Leimgruber, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, 5791-5793 (1965)). С тех пор описано множество природных PBD и разработано более 10 синтетических способов получения различных аналогов (Thurston, *et al.*, *Chem. Rev.* **1994**, 433-465 (1994)). Члены семейства включают аббеймицин (Hochlowski, *et al.*, *J. Antibiotics*, **40**, 145-148 (1987)), чикамицин (Konishi, *et al.*, *J. Antibiotics*, **37**, 200-206 (1984)), DC-81 (японский патент 58-180 487; Thurston, *et al.*, *Chem. Brit.*, **26**, 767-772 (1990); Bose, *et al.*, *Tetrahedron*, **48**, 751-758 (1992)), мазетрамицин (Kuminoto, *et al.*, *J. Antibiotics*, **33**, 665-667 (1980)), неотрамицины А и В (Takeuchi, *et al.*, *J. Antibiotics*, **29**, 93-96 (1976)), поротрамицин (Tsunakawa, *et al.*, *J. Antibiotics*, **41**, 1366-1373 (1988)), протракарцин (Shimizu, *et al.*, *J. Antibiotics*, **29**, 2492-2503 (1982); Langley and Thurston, *J. Org. Chem.*, **52**, 91-97 (1987)), сибаномицин (DC-102) (Hara, *et al.*, *J. Antibiotics*, **41**, 702-704 (1988); Itoh, *et al.*, *J. Antibiotics*, **41**, 1281-1284 (1988)), сибиромицин (Leber, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 2992-2993 (1988)) и томамицин (Arima, *et al.*, *J. Antibiotics*, **25**, 437-444 (1972)). PBD имеют общую структуру:

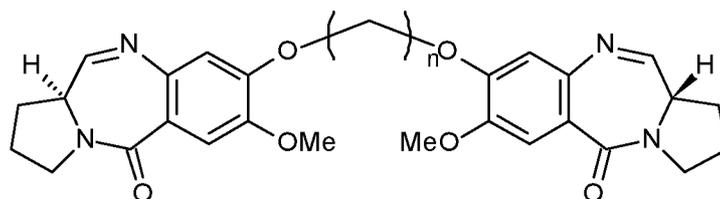


Они отличаются по количеству, типу и положению заместителей в ароматических кольцах А и пиррольных кольцах С, а также по степени насыщенности кольца С. В кольце В находится имин (N=C), карбиноламин (NH-CH(OH)) или метиловый эфир карбиноламина (NH-CH(OMe)) в положениях N10-C11, которые представляют собой электрофильный центр, отвечающий за алкилирование ДНК. Все известные природные продукты имеют (S)-конфигурацию в хиральном положении C11a, что обеспечивает их правостороннее

скручивание, если смотреть с кольца С на кольцо А. Это придает им соответствующую трехмерную форму для изоспиральности с малой бороздкой В-формы ДНК, что приводит к точному совпадению у сайта связывания (Kohn, In *Antibiotics III*. Springer-Verlag, New York, pp. 3-11 (1975); Hurley and Needham-VanDevanter, *Acc. Chem. Soc.*, **19**, 230-237 (1986)). Их способность образовывать аддукт в малой бороздке обеспечивает возможность влиять на процессирование ДНК, вследствие чего их используют в качестве противоопухолевых агентов.

Ранее было описано, что биологическая активность указанных молекул может быть усилена посредством соединения двух фрагментов PBD друг с другом через их C8/C'-гидроксильные функциональные группы посредством гибкого алкиленового линкера (Bose, D.S., et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 4939-4941 (1992); Thurston, D.E., et al., *J. Org. Soc.*, **61**, 8141-8147 (1996)). Димеры PBD предположительно образуют последовательность-селективные повреждения ДНК, такие как палиндромная 5'-Pu-GATC-Py-3' межнитевая поперечная сшивка (Smellie, M., et al., *Biochemistry*, **42**, 8232-8239 (2003); Martin, C., et al., *Biochemistry*, **44**, 4135-4147), которые предположительно несут главную ответственность за их биологическую активность.

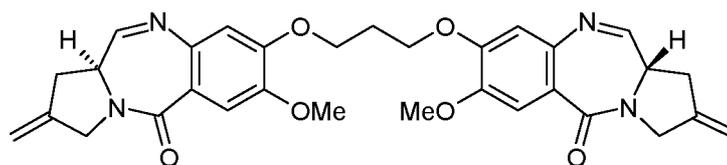
Первые димеры (Bose, D.S., et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, 4939-4941 (1992)) общей формулы:



где  $n$  равно от 3 до 6. Соединения, где  $n$  равно 3 и 5, проиллюстрировали многообещающую цитотоксичность *in vitro*. Однако, при изучении противоопухолевой активности с помощью соединения  $n = 3$  (DSB-120) (Walton, M., et al., *Cancer Chemother Pharmacol* (1996) **38**: 431. doi: 10.1007/s002800050507), она оказалась не такой многообещающей. Считалось, что данный эффект является «следствием низкой селективности опухолей и потребления лекарственного средства в результате высокого связывания белка и/или широкого метаболизма лекарственного средства *in vivo*».

С целью улучшения данных соединений, они были исследованы (Gregson, S.J., et al., *Chem. Commun.*, 1999, 797-798. doi: 10.1039/A809791G) с «включением заместителей

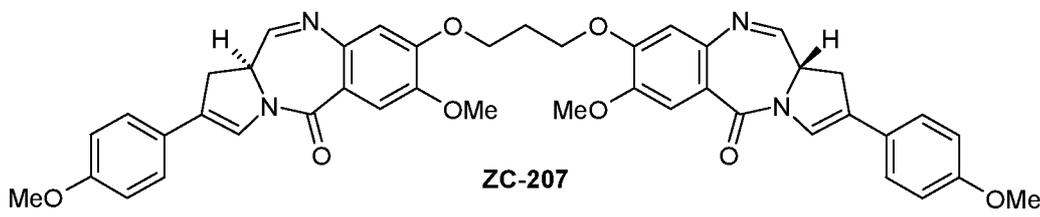
C2/C2', которые должны следовать контуру малой бороздки хозяина ». Для данного соединения SG2000 (SJG-136):



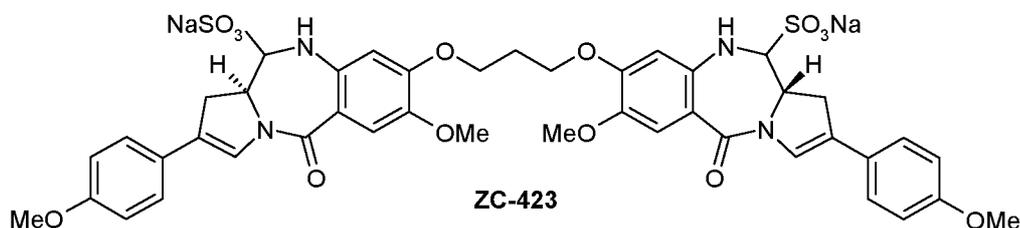
было обнаружено наличие «исключительной цитотоксичности в пиколярной области... примерно в 9000 раз более сильной, чем DSB-120».

Данное соединение (также обсуждаемое в Gregson, S., *et al.*, *J. Med. Chem.*, **44**, 737-748 (2001); Alley, M.C., *et al.*, *Cancer*, *Cancer Research*, **64**, 6700-6706 (2004); и Hartley, J.A., *et al.*, *Cancer Research*, **64**, 6693-6699 (2004)), исследовалось в клинических испытаниях в качестве отдельного агента, например, NCT02034227, изучая его применение при лечении острого миелоидного лейкоза и хронического лимфоцитарного лейкоза (см.: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02034227>).

Димерные PBD соединения, содержащие C2 арильные заместители, такие как SG2202 (ZC-207), описаны в WO 2005/085251:



и в WO2006/111759 описаны бисульфиты таких PBD соединений, например, SG2285 (ZC-423):



Было показано, что данные соединения являются весьма подходящими цитотоксическими агентами (Howard, P.W., *et al.*, *Bioorg. Med. Chem.* (2009), doi: 10.1016/j.bmcl.2009.09.012).

В обзоре PBD, содержащем ADC (Mantaj, J., *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* (2016), **55**, 2-29; DOI: 10.1002/anie.201510610), обсуждается SAR димеров PBD. Краткое изложение SAR

представлено на фигуре 3 - В «C2-экзо и C1-C2/C2-C3 ненасыщенность усиливают активность». Более подробное обсуждение находится в разделе 2.4, где говорится:

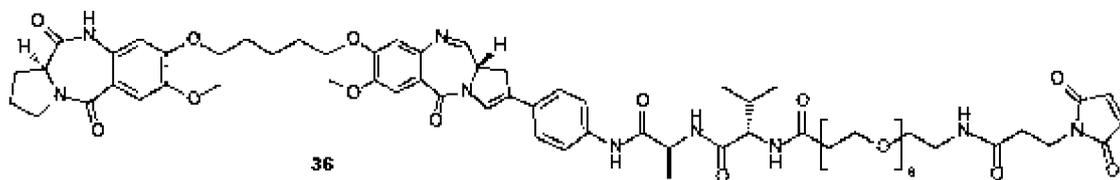
«DSB-120 обладает низкой активностью *in vivo*, что частично объясняется его высокой реакционной способностью с клеточными тиолсодержащими молекулами, такими как глутатион. Однако введение ненасыщенности C2/C2'-exo, как в SJG-136, привело к общему увеличению аффинности связывания с ДНК и цитотоксичности, а также к более низкой реакционной способности по отношению к клеточным нуклеофилам с большим количеством агента, потенциально достигающего его целевой ДНК».

В 2007/085930 описано получение димерных соединений PBD, содержащих линкерные группы для связи с клеточно-связывающим агентом, таким как антитело. Указанный линкер находится в мостиковой связи мономерных фрагментов PBD данного димера.

Димерные соединения PBD, содержащие линкерные группы для связывания с клеточно-связывающим агентом, таким как антитело, описаны в WO 2011/130598. Линкер в таких соединениях присоединен к одному из доступных положений N10, и обычно расщепляется под действием фермента на данную линкерную группу. Димерные соединения PBD имеют эндо- или экзо-ненасыщенность в C-кольце.

В WO 2014/057074 и WO 2015/052322 описаны специфические димерные конъюгаты PBD, связанные через положение N10 в одном мономере, и все данные соединения имеют эндоненасыщенность в C-кольце.

В WO 2014/096365 раскрыто соединение:



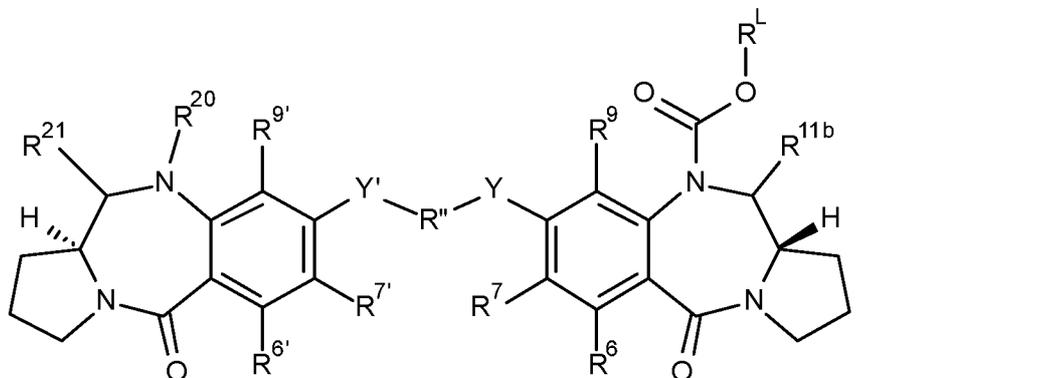
, В

котором отсутствие ненасыщенности в C-кольце связано с тем, что В-кольцо является дилактамом и, следовательно, не обладает способностью ковалентно связывать ДНК.

## СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Данное изобретение предлагает димерные линкеры лекарственного средства и конъюгаты PBD, в которых С-кольцо не имеет эндо- или экзоненасыщенности.

Первый аспект данного изобретения включает соединение формулы I:



и его соли, и сольваты, где:

$R^6$  и  $R^9$  независимо выбраны из H, R, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR,  $NRR'$ , нитро,  $Me_3Sn$  и галогена;

где R и  $R'$  независимо выбраны из необязательно замещенных  $C_{1-12}$  алкильных,  $C_{3-20}$  гетероциклических и  $C_{5-20}$  арильных групп;

$R^7$  выбран из H, R, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR,  $NRR'$ , нитро,  $Me_3Sn$  и галогена;

$R''$  представляет собой  $C_{3-12}$  алкиленовую группу, цепь которой может прерываться одним или более гетероатомами, например, O, S,  $NR^{N2}$  (где  $R^{N2}$  представляет собой H или  $C_{1-4}$  алкил), и/или ароматические кольца, например, бензол или пиридин;

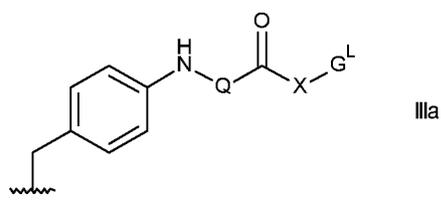
Y и  $Y'$  выбраны из O, S или NH;

$R^{6'}$ ,  $R^{7'}$ ,  $R^{9'}$  выбраны из тех же групп, что и  $R^6$ ,  $R^7$  и  $R^9$  соответственно;

$R^{11b}$  выбран из OH,  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил; и

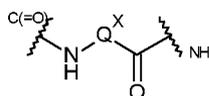
$R^L$  представляет собой линкер для связи с клеточно-связывающим агентом, который выбран из:

(iii):



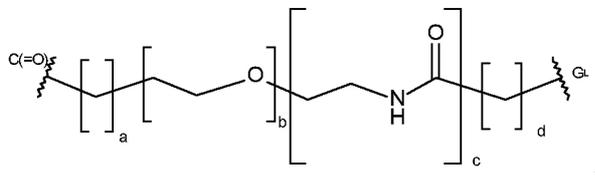
где

Q представляет собой:



, где  $Q^X$  является таким, что Q представляет собой остаток аминокислоты, дипептидный остаток или трипептидный остаток;

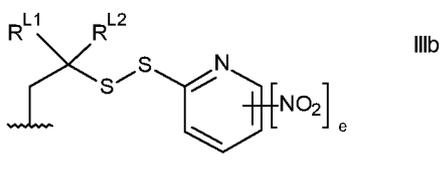
X представляет собой:



где a = от 0 до 5, b = от 0 до 16, c = 0 или 1, d = от 0 до 5;

$G^L$  представляет собой линкер для связи с фрагментом лиганда; и

(iiiб):



где  $R^{L1}$  и  $R^{L2}$  независимо выбраны из H и метила, или вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклопропиленовую или циклобутиленовую группу.

и e равен 0 или 1.

либо:

(а)  $R^{20}$  представляет собой H и  $R^{21}$  представляет собой OH, или  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил; или

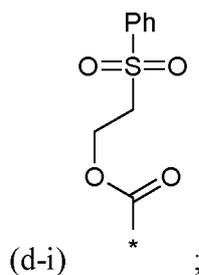
(б)  $R^{20}$  и  $R^{21}$  образуют двойную азот-углеродную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны; или

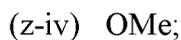
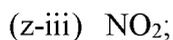
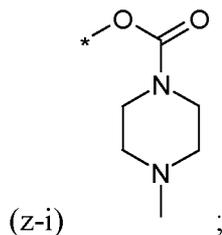
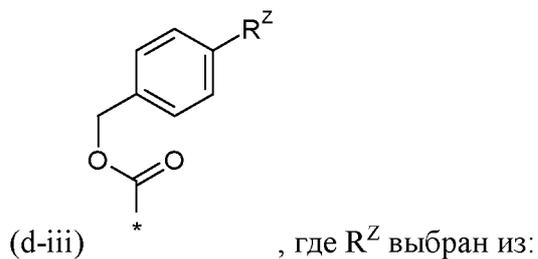
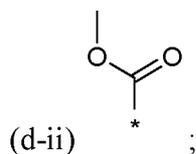
(с)  $R^{20}$  представляет собой H и  $R^{21}$  представляет собой  $SO_zM$ , где z равно 2 или 3, и M представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион; или

(д)  $R^{20}$  представляет собой H и  $R^{21}$  представляет собой H; или

(е)  $R^{21}$  представляет собой OH или  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил и  $R^{20}$

выбран из:





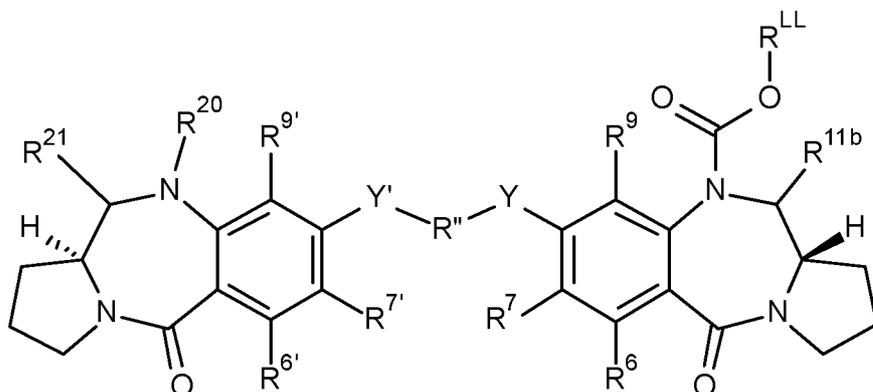
(z-vi) -C(=O)-X<sub>1</sub>-NH-C(=O)-X<sub>2</sub>-NH-R<sup>ZC</sup>, где -C(=O)-X<sub>1</sub>-NH- и -C(=O)-X<sub>2</sub>-NH- представляют природные аминокислотные остатки и R<sup>ZC</sup> выбран из Me, OMe, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe.

Было обнаружено, что такие линкеры лекарственных средств подвергаются быстрой конъюгации с лигандными единицами, такими как антитела.

Во втором аспекте данного изобретения предложены конъюгаты формулы II:



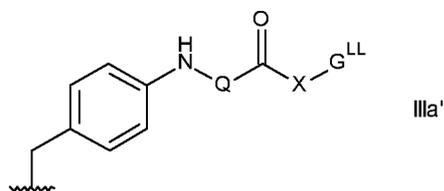
где L представляет собой фрагмент лиганда (т.е. нацеливающий агент), D<sup>L</sup> представляет собой фрагмент линкера лекарственного средства формулы I':



где  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^9$ ,  $R^{11b}$ ,  $Y$ ,  $R''$ ,  $Y'$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{7'}$ ,  $R^{9'}$ ,  $R^{20}$  и  $R^{21}$  являются такими, как определено в первом аспекте данного изобретения;

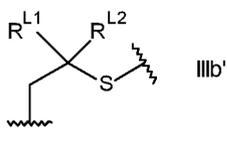
$R^{LL}$  представляет собой линкер для связи с клеточно-связывающим агентом, который выбран из:

(iia):



где  $Q$  и  $X$  являются такими, как определено в первом аспекте, и  $G^{LL}$  представляет собой линкер, связанный с фрагментом лиганда; и

(iib):



где  $R^{L1}$  и  $R^{L2}$  являются такими, как определено в первом аспекте;

где  $p$  представляет собой целое число от 1 до 20.

Фрагмент лиганда, более подробно описанное ниже, представляет собой нацеливающий агент, который связывается с фрагментом-мишенью. Например, фрагмент лиганда может специфически связываться с клеточным компонентом (клеточно-связывающий агент) или с другими молекулами-мишенями, представляющими интерес. Фрагмент лиганда может представлять собой, например, белок, полипептид или пептид, такой как антитело, антиген-связывающий фрагмент антитела или другой связывающий агент, такой как гибридный белок Fc.

Было обнаружено, что данные конъюгаты обладают высокой переносимостью, что приводит к высокому терапевтическому индексу, что делает их многообещающими кандидатами для клинической разработки.

В третьем аспекте данного изобретения предложено применение конъюгата по второму аспекту данного изобретения в производстве лекарственного средства для лечения пролиферативного заболевания. В третьем аспекте также предложен конъюгат по второму аспекту данного изобретения для применения при лечении пролиферативного заболевания. В третьем аспекте также предложен способ лечения пролиферативного

заболевания, включающий введение терапевтически эффективного количества конъюгата по второму аспекту данного изобретения пациенту, нуждающемуся в этом.

Специалисты в данной области техники могут без труда определить, подходит или не подходит потенциальный конъюгат для лечения пролиферативного состояния для любого конкретного типа клеток. Например, анализы, которые можно удобно использовать для оценки активности, обеспечиваемой конкретным соединением, описаны ниже в примерах.

В четвертом аспекте данного изобретения предложен синтез конъюгата по второму аспекту данного изобретения, включающий конъюгирование соединения (линкера лекарственного средства) по первому аспекту данного изобретения с фрагментом лиганда.

### Определения

#### *Заместители*

Выражение «необязательно замещенный» в данном контексте относится к исходной группе, которая может быть незамещенной или которая может быть замещенной.

Если не указано иное, термин «замещенная» в данном контексте относится к исходной группе, которая имеет один или более заместителей. Термин «заместитель» в данном контексте использован в обычном смысле и относится к химическому фрагменту, который ковалентно присоединен или, если это возможно, конденсирован с исходной группой. Хорошо известны многочисленные заместители, и так же хорошо известны способы их получения и внедрения в различные исходные группы.

Примеры заместителей более подробно описаны ниже.

$C_{1-12}$  алкил: Термин « $C_{1-12}$  алкил» в данном контексте относится к одновалентному фрагменту, полученному посредством отщепления атома водорода от атома углерода в углеводородном соединении, содержащем от 1 до 12 атомов углерода, которое может быть алифатическим или алициклическим, и которое может быть насыщенным или ненасыщенным (например, частично ненасыщенным, полностью ненасыщенным). Термин « $C_{1-4}$  алкил» в данном контексте относится к одновалентному фрагменту, полученному посредством отщепления атома водорода от атома углерода в углеводородном соединении, содержащем от 1 до 4 атомов углерода, которое может быть алифатическим или алициклическим, и которое может быть насыщенным или ненасыщенным (например,

частично ненасыщенным, полностью ненасыщенным). Таким образом, термин «алкил» включает подклассы алкенила, алкинила, циклоалкила и т.д., рассмотренные ниже.

Примеры насыщенных алкильных групп включают, но не ограничиваются ими, метил (C<sub>1</sub>), этил (C<sub>2</sub>), пропи́л (C<sub>3</sub>), бути́л (C<sub>4</sub>), пенти́л (C<sub>5</sub>), гекси́л (C<sub>6</sub>) и гепти́л (C<sub>7</sub>).

Примеры насыщенных линейных алкильных групп включают, но не ограничиваются ими, метил (C<sub>1</sub>), этил (C<sub>2</sub>), н-пропи́л (C<sub>3</sub>), н-бути́л (C<sub>4</sub>), н-пенти́л (C<sub>5</sub>), н-гекси́л (C<sub>6</sub>) и н-гепти́л (C<sub>7</sub>).

Примеры насыщенных разветвленных алкильных групп включают изопрони́л (C<sub>3</sub>), изобути́л (C<sub>4</sub>), втор-бути́л (C<sub>4</sub>), трет-бути́л (C<sub>4</sub>), изопенти́л (C<sub>5</sub>) и неопенти́л (C<sub>5</sub>).

C<sub>2-12</sub> алкени́л: Термин «C<sub>2-12</sub> алкени́л» в данном контексте относится к алкильной группе, содержащей одну или более двойных углерод-углеродных связей.

Примеры ненасыщенных алкенильных групп включают, но не ограничиваются этим, этени́л (вини́л, -CH=CH<sub>2</sub>), 1-пропени́л (-CH=CH-CH<sub>3</sub>), 2-пропени́л (алли́л, CH<sub>2</sub>CH=CH<sub>2</sub>), изопропени́л (1-мети́лвини́л, -C(CH<sub>3</sub>)=CH<sub>2</sub>), бутени́л (C<sub>4</sub>), пентени́л (C<sub>5</sub>) и гексени́л (C<sub>6</sub>).

C<sub>2-12</sub> алкини́л: Термин «C<sub>2-12</sub> алкини́л» в данном контексте относится к алкильной группе, содержащей одну или более тройных углерод-углеродных связей.

Примеры ненасыщенных алкинильных групп включают, но не ограничиваются этим, этини́л (-C≡CH) и 2-пропини́л (пропарги́л, -CH<sub>2</sub>-C≡CH).

C<sub>3-12</sub> циклоалки́л: Термин «C<sub>3-12</sub> циклоалки́л» в данном контексте относится к алкильной группе, которая также является циклической группой; то есть к одновалентному фрагменту, полученному посредством отщепления атома водорода от алициклического кольцевого атома циклического углеводородного (карбоциклического) соединения, и указанный фрагмент содержит от 3 до 7 атомов углерода, включая от 3 до 7 кольцевых атомов.

Примеры циклоалкильных групп включают, но не ограничиваются этим, группы, полученные из:

насыщенных моноциклических углеводородных соединений:

циклопропан (C<sub>3</sub>), циклобутан (C<sub>4</sub>), циклопентан (C<sub>5</sub>), циклогексан (C<sub>6</sub>), циклогептан (C<sub>7</sub>), метилциклопропан (C<sub>4</sub>), диметилциклопропан (C<sub>5</sub>), метилциклобутан (C<sub>5</sub>), диметилциклобутан (C<sub>6</sub>), метилциклопентан (C<sub>6</sub>), диметилциклопентан (C<sub>7</sub>) и метилциклогексан (C<sub>7</sub>);

ненасыщенных моноциклических углеводородных соединений:

циклопропен (C<sub>3</sub>), циклобутен (C<sub>4</sub>), циклопентен (C<sub>5</sub>), циклогексен (C<sub>6</sub>), метилциклопропен (C<sub>4</sub>), диметилциклопропен (C<sub>5</sub>), метилциклобутен (C<sub>5</sub>), диметилциклобутен (C<sub>6</sub>), диметилциклопентен (C<sub>7</sub>) и метилциклогексен (C<sub>7</sub>); и

насыщенных полициклических углеводородных соединений:

норкаран (C<sub>7</sub>), норпинан (C<sub>7</sub>), норборнан (C<sub>7</sub>).

C<sub>3-20</sub> гетероцикл: Термин «C<sub>3-20</sub> гетероцикл» в данном контексте относится к одновалентному фрагменту, полученному посредством отщепления атома водорода от кольцевого атома гетероциклического соединения, и указанный фрагмент содержит от 3 до 20 кольцевых атомов, из которых от 1 до 10 являются кольцевыми гетероатомами. Предпочтительно, каждое кольцо содержит от 3 до 7 кольцевых атомов, из которых от 1 до 4 являются кольцевыми гетероатомами.

В данном контексте приставки (например, C<sub>3-20</sub>, C<sub>3-7</sub>, C<sub>5-6</sub> и т.д.) означают количество кольцевых атомов или диапазон количества кольцевых атомов, будь то атомы углерода или гетероатомы. Например, термин «C<sub>5-6</sub> гетероцикл» в данном контексте относится к гетероциклильной группе, содержащей 5 или 6 кольцевых атомов.

Примеры моноциклических гетероциклильных групп включают, но не ограничиваются этим, группы, полученные из:

N<sub>1</sub>: азиридин (C<sub>3</sub>), азетидин (C<sub>4</sub>), пирролидин (тетрагидропиррол) (C<sub>5</sub>), пирролин (например, 3-пирролин, 2,5-дигидропиррол) (C<sub>5</sub>), 2Н-пиррол или 3Н-пиррол (изопиррол, изоазол) (C<sub>5</sub>), пиперидин (C<sub>6</sub>), дигидропиридин (C<sub>6</sub>), тетрагидропиридин (C<sub>6</sub>), азепин (C<sub>7</sub>);

O<sub>1</sub>: оксиран (C<sub>3</sub>), оксетан (C<sub>4</sub>), оксолан (тетрагидрофуран) (C<sub>5</sub>), оксол (дигидрофуран) (C<sub>5</sub>), оксан (тетрагидропиран) (C<sub>6</sub>), дигидропиран (C<sub>6</sub>), пиран (C<sub>6</sub>), оксепин (C<sub>7</sub>);

S<sub>1</sub>: тиран (C<sub>3</sub>), тиетан (C<sub>4</sub>), тиолан (тетрагидротиофен) (C<sub>5</sub>), тиан (тетрагидротиопиран) (C<sub>6</sub>), тиепан (C<sub>7</sub>);

O<sub>2</sub>: диоксолан (C<sub>5</sub>), диоксан (C<sub>6</sub>) и диоксепан (C<sub>7</sub>);

O<sub>3</sub>: триоксан (C<sub>6</sub>)

N<sub>2</sub>: имидазолидин (C<sub>5</sub>), пиразолидин (диазолидин) (C<sub>5</sub>), имидазолин (C<sub>5</sub>), пиразолин (дигидропиразол) (C<sub>5</sub>), пиперазин (C<sub>6</sub>);

N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>: тетрагидрооксазол (C<sub>5</sub>), дигидрооксазол (C<sub>5</sub>), тетрагидроизоксазол (C<sub>5</sub>), дигидроизоксазол (C<sub>5</sub>), морфолин (C<sub>6</sub>), тетрагидрооксазин (C<sub>6</sub>), дигидрооксазин (C<sub>6</sub>), оксазин (C<sub>6</sub>);

N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>: тиазолин (C<sub>5</sub>), тиазолидин (C<sub>5</sub>), тиоморфолин (C<sub>6</sub>);

N<sub>2</sub>O<sub>1</sub>: оксадиазин (C<sub>6</sub>);

O<sub>1</sub>S<sub>1</sub>: оксатиол (C<sub>5</sub>) и оксатиан (тиоксан) (C<sub>6</sub>); и

N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>S<sub>1</sub>: оксатиазин (C<sub>6</sub>).

Примеры замещенных моноциклических гетероциклических групп включают группы, полученные из сахаридов в циклической форме, например, из фураноз (C<sub>5</sub>), таких как арабинофураноза, ликсофураноза, рибофураноза и ксилофураноза, и пираноз (C<sub>6</sub>), таких как аллопираноза, альтропираноза, глюкопираноза, маннопираноза, гулопираноза, идопираноза, галактопираноза и талопираноза.

C<sub>5-20</sub> арил: Термин «C<sub>5-20</sub> арил» в данном контексте относится к одновалентному фрагменту, полученному посредством отщепления атома водорода от ароматического кольцевого атома ароматического соединения, и указанный фрагмент содержит от 3 до 20 кольцевых атомов. Термин «C<sub>5-7</sub> арил» в данном контексте относится к одновалентному фрагменту, полученному посредством отщепления атома водорода от ароматического кольцевого атома ароматического соединения, и указанный фрагмент содержит от 5 до 7 кольцевых атомов, а термин «C<sub>5-10</sub> арил» в данном контексте относится к одновалентному фрагменту, полученному посредством отщепления атома водорода от ароматического кольцевого атома ароматического соединения, и указанный фрагмент содержит от 5 до 10 кольцевых атомов. Предпочтительно, каждое кольцо содержит от 5 до 7 кольцевых атомов.

В данном контексте приставки (например, C<sub>3-20</sub>, C<sub>5-7</sub>, C<sub>5-6</sub>, C<sub>5-10</sub> и т.д.) означают количество кольцевых атомов или диапазон количества кольцевых атомов, будь то атомы углерода или гетероатомы. Например, термин «C<sub>5-6</sub> арил» в данном контексте относится к арильной группе, содержащей 5 или 6 кольцевых атомов.

Все кольцевые атомы могут представлять собой атомы углерода, как в «карбоарильных группах».

Примеры карбоарильных групп включают, но не ограничиваются этим, группы, полученные из бензола (т.е. фенил) (C<sub>6</sub>), нафталина (C<sub>10</sub>), азулена (C<sub>10</sub>), антрацена (C<sub>14</sub>), фенантрена (C<sub>14</sub>), нафтацена (C<sub>18</sub>) и пирена (C<sub>16</sub>).

Примеры арильных групп, которые содержат конденсированные кольца, по меньшей мере одно из которых является ароматическим кольцом, включают, но не ограничиваются этим, группы, полученные из индана (например, 2,3-дигидро-1H-индена) (C<sub>9</sub>), индена (C<sub>9</sub>), изоиндена (C<sub>9</sub>), тетралина (1,2,3,4-тетрагидронафталина) (C<sub>10</sub>), аценафтена (C<sub>12</sub>), флуорена (C<sub>13</sub>), феналена (C<sub>13</sub>), ацетфенантрена (C<sub>15</sub>) и ацеантрена (C<sub>16</sub>).

Альтернативно, кольцевые атомы могут включать один или более гетероатомов, как в «гетероарильных группах». Примеры моноциклических гетероарильных групп включают, но не ограничиваются этим, группы, полученные из:

N<sub>1</sub>: пиррол (азол) (C<sub>5</sub>), пиридин (азин) (C<sub>6</sub>);

O<sub>1</sub>: фуран (оксол) (C<sub>5</sub>);

S<sub>1</sub>: тиофен (тиол) (C<sub>5</sub>);

N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>: оксазол (C<sub>5</sub>), изоксазол (C<sub>5</sub>), изоксазин (C<sub>6</sub>);

N<sub>2</sub>O<sub>1</sub>: оксадиазол (фуразан) (C<sub>5</sub>);

N<sub>3</sub>O<sub>1</sub>: оксатриазол (C<sub>5</sub>).

N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>: тиазол (C<sub>5</sub>), изотиазол (C<sub>5</sub>);

N<sub>2</sub>: имидазол (1,3-диазол) (C<sub>5</sub>), пиразол (1,2-диазол) (C<sub>5</sub>), пиридазин (1,2-диазин) (C<sub>6</sub>), пиримидин (1,3-диазин) (C<sub>6</sub>) (например, цитозин, тимин, урацил), пиразин (1,4-диазин) (C<sub>6</sub>);

N<sub>3</sub>: триазол (C<sub>5</sub>), триазин (C<sub>6</sub>); и

N<sub>4</sub>: тетразол (C<sub>5</sub>).

Примеры гетероарила, содержащего конденсированные кольца, включают, но не ограничиваются этим:

C<sub>9</sub> (с 2 конденсированными кольцами), полученный из бензофурана (O<sub>1</sub>), изобензофурана (O<sub>1</sub>), индола (N<sub>1</sub>), изоиндола (N<sub>1</sub>), индолизина (N<sub>1</sub>), индолина (N<sub>1</sub>), изоиндолина (N<sub>1</sub>), пурина (N<sub>4</sub>) (например, аденин, гуанин), бензимидазол (N<sub>2</sub>), индазол (N<sub>2</sub>), бензоксазол (N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>), бензизоксазол (N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>), бензодиоксол (O<sub>2</sub>), бензофуразан (N<sub>2</sub>O<sub>1</sub>), бензотриазол (N<sub>3</sub>), бензотиофуран (S<sub>1</sub>), бензотиазол (N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), бензотиадиазол (N<sub>2</sub>S);

C<sub>10</sub> (с 2 конденсированными кольцами), полученный из хромена (O<sub>1</sub>), изохромена (O<sub>1</sub>), хромана (O<sub>1</sub>), изохромана (O<sub>1</sub>), бензодиоксана (O<sub>2</sub>), хинолина (N<sub>1</sub>), изохинолина (N<sub>1</sub>),

хинолизина (N<sub>1</sub>), бензоксазина (N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>), бензодиазин (N<sub>2</sub>), пиридопиридина (N<sub>2</sub>), хиноксалина (N<sub>2</sub>), хиназолина (N<sub>2</sub>), циннолина (N<sub>2</sub>), фталазина (N<sub>2</sub>), нафтиридина (N<sub>2</sub>), птеридина (N<sub>4</sub>);

C<sub>11</sub> (с 2 конденсированными кольцами), полученный из бензодиазепина (N<sub>2</sub>);

C<sub>13</sub> (с 3 конденсированными кольцами), полученный из карбазола (N<sub>1</sub>), дибензофурана (O<sub>1</sub>), дибензотиофена (S<sub>1</sub>), карболина (N<sub>2</sub>), перимидина (N<sub>2</sub>), пиридоиндола (N<sub>2</sub>); и

C<sub>14</sub> (с 3 конденсированными кольцами), полученный из акридина (N<sub>1</sub>), ксантена (O<sub>1</sub>), тиоксантена (S<sub>1</sub>), оксантрена (O<sub>2</sub>), феноксатиина (O<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), феназина (N<sub>2</sub>), феноксазина (N<sub>1</sub>O<sub>1</sub>), фенотиазина (N<sub>1</sub>S<sub>1</sub>), тиантрена (S<sub>2</sub>), фенантридина (N<sub>1</sub>), фенантролина (N<sub>2</sub>), феназина (N<sub>2</sub>).

Вышеперечисленные группы, отдельно или как часть другого заместителя, сами могут быть необязательно замещены одной или более группами, выбранными из них самих и дополнительных заместителей, перечисленных ниже.

Галоген: -F, -Cl, -Br и -I.

Гидроксильная группа: -OH.

Простой эфир: -OR, где R представляет собой заместитель простого эфира, например, C<sub>1-7</sub> алкильную группу (также упоминаемый как C<sub>1-7</sub> алкокси-группа, как описано ниже), C<sub>3-20</sub> гетероциклическую группу (также упоминаемый как C<sub>3-20</sub> гетероциклилокси-группа), или C<sub>5-20</sub> арильную группу (также упоминаемый как C<sub>5-20</sub> арилокси-группа), предпочтительно C<sub>1-7</sub> алкильную группу.

Алкокси: -OR, где R представляет собой алкильную группу, например, C<sub>1-7</sub> алкильную группу. Примеры C<sub>1-7</sub> алкокси-групп включают, но не ограничиваются этим, OMe (метокси), OEt (этокси), -O(nPr) (н-пропокси), -O(iPr) (изопропокси), O(nBu) (н-бутокси), O(sBu) (втор-бутокси), O(iBu) (изобутокси) и O(tBu) (трет-бутокси).

Ацеталь: -CH(OR<sup>1</sup>)(OR<sup>2</sup>), где R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> независимо представляют собой заместители ацеталей, например, C<sub>1-7</sub> алкильную группу, C<sub>3-20</sub> гетероциклическую группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу, предпочтительно C<sub>1-7</sub> алкильную группу, или в случае «циклической» ацетальной группы R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> вместе с двумя атомами кислорода, к которым они

присоединены, и атомами углерода, к которым они присоединены, образуют гетероциклическое кольцо, содержащее от 4 до 8 кольцевых атомов. Примеры ацетальных групп включают, но не ограничиваются этим,  $C-CH(OMe)_2$ ,  $-CH(OEt)_2$  и  $-CH(OMe)(OEt)$ .

Полуацеталь:  $-CH(OH)(OR^1)$ , где  $R^1$  представляет собой заместитель полуацетала, например,  $C_{1-7}$  алкильную группу,  $C_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $C_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно  $C_{1-7}$  алкильную группу. Примеры полуацетальных групп включают, но не ограничиваются этим,  $CH(OH)(OMe)$  и  $-CH(OH)(OEt)$ .

Кеталь:  $-CR(OR^1)(OR^2)$ , где  $R^1$  и  $R^2$  являются такими, как определено для ацеталей, и  $R$  представляет собой заместитель кетала, отличный от водорода, например,  $C_{1-7}$  алкильную группу,  $C_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $C_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно,  $C_{1-7}$  алкильную группу. Примеры кетальных групп включают, но не ограничиваются этим,  $-C(Me)(OMe)_2$ ,  $-C(Me)(OEt)_2$ ,  $-C(Me)(OMe)(OEt)$ ,  $-C(Et)(OMe)_2$ ,  $-C(Et)(OEt)_2$  и  $-C(Et)(OMe)(OEt)$ .

Полукеталь:  $-CR(OH)(OR^1)$ , где  $R^1$  является таким, как определено для полуацеталей, и  $R$  представляет собой заместитель полукетала, отличный от водорода, например,  $C_{1-7}$  алкильную группу,  $C_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $C_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно  $C_{1-7}$  алкильную группу. Примеры полуацетальных групп включают, но не ограничиваются этим,  $-C(Me)(OH)(OMe)$ ,  $-C(Et)(OH)(OMe)$ ,  $-C(Me)(OH)(OEt)$  и  $-C(Et)(OH)(OEt)$ .

Оксо (кето, -он):  $=O$ .

Тион (тиокетон):  $=S$ .

Имино (имин):  $=NR$ , где  $R$  представляет собой заместитель иминогруппы, например, водород,  $C_{1-7}$  алкильную группу,  $C_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $C_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно водород или  $C_{1-7}$  алкильную группу. Примеры сложноэфирных групп включают, но не ограничиваются этим,  $=NH$ ,  $=NMe$ ,  $=NEt$  и  $=NPh$ .

Формил (карбальдегид, карбоксальдегид):  $-C(=O)H$ .

Ацил (кето):  $C(=O)R$ , где R представляет собой заместитель ацила, например,  $C_{1-7}$  алкильную группу (также упоминаемый как  $C_{1-7}$  алкилацил или  $C_{1-7}$  алканойл),  $C_{3-20}$  гетероциклическую группу (также упоминаемый как  $C_{3-20}$  гетероциклилацил) или  $C_{5-20}$  арильную группу (также упоминаемый как  $C_{5-20}$  арилацил), предпочтительно  $C_{1-7}$  алкильную группу. Примеры ацильных групп включают, но не ограничиваются этим,  $C(=O)CH_3$  (ацетил),  $C(=O)CH_2CH_3$  (пропионил),  $C(=O)C(CH_3)_3$  (трет-бутирил) и  $C(=O)Ph$  (бензоил, фенол).

Карбокси (карбоновая кислота):  $-C(=O)OH$ .

Тиокарбокси (тиокарбоновая кислота):  $-C(=S)SH$ .

Тиолокарбокси (тиолокарбоновая кислота):  $-C(=O)SH$ .

Тионокрбокси (тионокрбоновая кислота):  $-C(=S)OH$ .

Имидокислота:  $-C(=NH)OH$ .

Гидроксамовая кислота:  $-C(=NOH)OH$ .

Сложный эфир (карбоксилат, сложный эфир карбоновой кислоты, оксикарбонил):  $-C(=O)OR$ , где R представляет собой сложноэфирный заместитель, например,  $C_{1-7}$  алкильную группу,  $C_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $C_{5-20}$  арильную группу предпочтительно  $C_{1-7}$  алкильную группу. Примеры сложноэфирных групп включают, но не ограничиваются этим,  $-C(=O)OCH_3$ ,  $-C(=O)OCH_2CH_3$ ,  $-C(=O)OC(CH_3)_3$  и  $-C(=O)OPh$ .

Ацилокси (обратный сложный эфир):  $-OC(=O)R$ , где R представляет собой ацилоксизаместитель, например,  $C_{1-7}$  алкильную группу,  $C_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $C_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно  $C_{1-7}$  алкильную группу. Примеры ацилоксигрупп включают, но не ограничиваются ими,  $-OC(=O)CH_3$  (ацетокси),  $-OC(=O)CH_2CH_3$ ,  $-OC(=O)C(CH_3)_3$ ,  $-OC(=O)Ph$  и  $-OC(=O)CH_2Ph$ .

Оксикарбильокси:  $-OC(=O)OR$ , где R представляет собой сложноэфирный заместитель, например,  $C_{1-7}$  алкильную группу,  $C_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $C_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно  $C_{1-7}$  алкильную группу. Примеры сложноэфирных групп

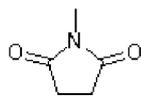
включают, но не ограничиваются этим,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_3$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{CH}_3$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$  и  $-\text{OC}(=\text{O})\text{OPh}$ .

Амино:  $-\text{NR}^1\text{R}^2$ , где  $\text{R}^1$  и  $\text{R}^2$  независимо представляют собой заместители для амина, например, водород,  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу (также упоминаемый как  $\text{C}_{1-7}$  алкиламино или ди- $\text{C}_{1-7}$  алкиламино),  $\text{C}_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $\text{C}_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно H или  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу, или в случае «циклической» аминогруппы  $\text{R}^1$  и  $\text{R}^2$  вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклическое кольцо, содержащее от 4 до 8 кольцевых атомов. Аминогруппы могут быть первичными ( $-\text{NH}_2$ ), вторичными ( $-\text{NHR}^1$ ) или третичными ( $-\text{NHR}^1\text{R}^2$ ), и в катионной форме могут быть четвертичными ( $^{+}\text{NR}^1\text{R}^2\text{R}^3$ ). Примеры аминогрупп включают, но не ограничиваются ими,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{NHCH}_3$ ,  $-\text{NHC}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$  и  $-\text{NPh}$ . Примеры циклических аминогрупп включают, но не ограничиваются этим, азиридино, азетидино, пирролидино, пиперидино, пиперазино, морфолино и тиоморфолино.

Амидо (карбамоил, карбамил, аминокарбонил, карбоксаид):  $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$ , где  $\text{R}^1$  и  $\text{R}^2$  независимо представляют собой заместители для амина, как определено для аминогрупп. Примеры амидогрупп включают, но не ограничиваются этим,  $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{NHCH}_3$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{C}(=\text{O})\text{NHCH}_2\text{CH}_3$  и  $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ , а также амидогруппы, в которых  $\text{R}^1$  и  $\text{R}^2$  вместе с атомом азота, к которому они присоединены, образуют гетероциклическую структуру, как, например, в пиперидинокарбониле, морфолинокарбониле, тиоморфолинокарбониле и пиперазинокарбониле.

Тиоамидо (тиокарбамил):  $-\text{C}(=\text{S})\text{NR}^1\text{R}^2$ , где  $\text{R}^1$  и  $\text{R}^2$  независимо представляют собой заместители для амина, как определено для аминогрупп. Примеры амидогрупп включают, но не ограничиваются этим,  $-\text{C}(=\text{S})\text{NH}_2$ ,  $-\text{C}(=\text{S})\text{NHCH}_3$ ,  $-\text{C}(=\text{S})\text{N}(\text{CH}_3)_2$  и  $-\text{C}(=\text{S})\text{NHCH}_2\text{CH}_3$ .

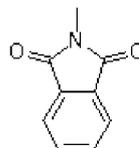
Ациламино (ациламино):  $-\text{NR}^1\text{C}(=\text{O})\text{R}^2$ , где  $\text{R}^1$  представляет собой заместитель амида, например, водород,  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу,  $\text{C}_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $\text{C}_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно водород или  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу, и  $\text{R}^2$  представляет собой заместитель ацила, например,  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу,  $\text{C}_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $\text{C}_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно водород или  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу. Примеры ациламидных групп включают, но не ограничиваются этим,  $\text{N-NHC}(=\text{O})\text{CH}_3$ ,  $-\text{NHC}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$  и  $\text{NHC}(=\text{O})\text{Ph}$ .  $\text{R}^1$  и  $\text{R}^2$  могут вместе образовывать циклическую структуру, как, например, в сукцинимидиле, малеимидиле и фталамидиле:



сукцинимидил



малеимидил



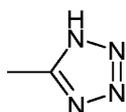
фталимидил

Аминокарбонилокси:  $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$ , где  $\text{R}^1$  и  $\text{R}^2$  независимо представляют собой заместители аминогруппы, как определено для аминогрупп. Примеры аминокарбонилокси-групп включают, но не ограничиваются этим,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{NH}_2$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{NHMe}$ ,  $-\text{OC}(=\text{O})\text{NMe}_2$  и  $-\text{OC}(=\text{O})\text{NEt}_2$ .

Уреидо:  $-\text{N}(\text{R}^1)\text{CONR}^2\text{R}^3$ , где  $\text{R}^2$  и  $\text{R}^3$  независимо представляют собой аминозаместители, как определено для аминогрупп, и  $\text{R}^1$  представляет собой уреидозаместитель, например, водород,  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу,  $\text{C}_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $\text{C}_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно водород или  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу. Примеры уреидо-групп включают, но не ограничиваются этим,  $-\text{NHCONH}_2$ ,  $-\text{NHCONHMe}$ ,  $-\text{NHCONHEt}$ ,  $-\text{NHCONMe}_2$ ,  $-\text{NHCONEt}_2$ ,  $-\text{NMeCONH}_2$ ,  $-\text{NMeCONHMe}$ ,  $-\text{NMeCONHEt}$ ,  $-\text{NMeCONMe}_2$  и  $-\text{NMeCONEt}_2$ .

Гуанидино:  $-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ .

Тетразолил: пятичленное ароматическое кольцо, содержащее четыре атома азота и один атом углерода,



Имино:  $=\text{NR}$ , где  $\text{R}$  представляет собой заместитель иминогруппы, например, водород,  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу,  $\text{C}_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $\text{C}_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно водород или  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу. Примеры иминогрупп включают, но не ограничиваются этим,  $=\text{NH}$ ,  $=\text{NMe}$  и  $=\text{NEt}$ .

Амидин (амидино):  $-\text{C}(=\text{NR})\text{NR}_2$ , где каждый  $\text{R}$  представляет собой заместитель амидина, например, водород,  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу,  $\text{C}_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $\text{C}_{5-20}$

арильную группу, предпочтительно H или C<sub>1-7</sub> алкильную группу. Примеры амидиновых групп включают, но не ограничиваются этим, -C(=NH)NH<sub>2</sub>, -C(=NH)NMe<sub>2</sub> и -C(=NMe)NMe<sub>2</sub>.

Нитро: -NO<sub>2</sub>.

Нитрозо: -NO.

Азидо: -N<sub>3</sub>.

Циано (нитрил, карбонитрил): -CN.

Изоциано: -NC.

Цианато: -OCN.

Изоцианато: -NCO.

Тиоциано (тиоцианато): -SCN.

Изотиоциано (изотиоцианато): -NCS.

Сульфгидрил (тиол, меркапто): -SH.

Простой тиоэфир (сульфид): -SR, где R представляет собой заместитель простого тиоэфира, например, C<sub>1-7</sub> алкильную группу (также упоминаемый как C<sub>1-7</sub> алкилтиогруппа), C<sub>3-20</sub> гетероциклическую группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу, предпочтительно C<sub>1-7</sub> алкильную группу. Примеры C<sub>1-7</sub> алкилтио групп включают, но не ограничиваются этим, -SCH<sub>3</sub> и -SCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>.

Дисульфид: -SS-R, где R представляет собой заместитель дисульфида, например, C<sub>1-7</sub> алкильную группу, C<sub>3-20</sub> гетероциклическую группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу, предпочтительно C<sub>1-7</sub> алкильную группу (также упоминаемую как C<sub>1-7</sub> алкилдисульфид). Примеры C<sub>1-7</sub> алкилдисульфидных групп включают, но не ограничиваются этим, -SSCH<sub>3</sub> и -SSCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>.

Сульфид (сульфинил, сульфоксид:  $-S(=O)R$ , где R представляет собой сульфинильный заместитель, например,  $C_{1-7}$  алкильную группу,  $C_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $C_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно  $C_{1-7}$  алкильную группу. Примеры сульфидных групп включают, но не ограничиваются этим,  $-S(=O)CH_3$  и  $-S(=O)CH_2CH_3$ .

Сульфон (сульфонил:  $-S(=O)_2R$ , где R представляет собой сульфонильный заместитель, например,  $C_{1-7}$  алкильную группу,  $C_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $C_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно  $C_{1-7}$  алкильную группу, включая, например, фторированную или перфторированную  $C_{1-7}$  алкильную группу. Примеры сульфоновых групп включают, но не ограничиваются ими,  $-S(=O)_2CH_3$  (метансульфонил, мезил),  $-S(=O)_2CF_3$  (трифлил),  $-S(=O)_2CH_2CH_3$  (эсил),  $-S(=O)_2C_4F_9$  (нонафлил),  $-S(=O)_2CH_2CF_3$  (трезил),  $-S(=O)_2CH_2CH_2NH_2$  (таурил),  $-S(=O)_2Ph$  (фенилсульфонил, бесил), 4-метилфенилсульфонил (тозил), 4-хлорфенилсульфонил (клозил), 4-бромфенилсульфонил (брозил), 4-нитрофенил (нозил), 2-нафталинсульфонат (напсил) и 5-диметиламинонафталин-1-илсульфонат (дансил).

Сульфидная кислота (сульфино):  $-S(=O)OH$ ,  $-SO_2H$ .

Сульфоновая кислота (сульфо):  $-S(=O)_2OH$ ,  $-SO_3H$ .

Сульфидат (сложный эфир сульфидной кислоты):  $S(=O)OR$ ; где R представляет собой заместитель сульфидата, например,  $C_{1-7}$  алкильную группу,  $C_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $C_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно  $C_{1-7}$  алкильную группу. Примеры сульфидатных групп включают, но не ограничиваются этим,  $-S(=O)OCH_3$  (метоксисульфинил; метилсульфидат) и  $-S(=O)OCH_2CH_3$  (этоксисульфинил; этилсульфидат).

Сульфонат (сложный эфир сульфоновой кислоты):  $-S(=O)_2OR$ , где R представляет собой заместитель сульфоната, например,  $C_{1-7}$  алкильную группу,  $C_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $C_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно  $C_{1-7}$  алкильную группу. Примеры сульфонатных групп включают, но не ограничиваются этим,  $-S(=O)_2OCH_3$  (метоксисульфонил; метилсульфонат) и  $-S(=O)_2OCH_2CH_3$  (этоксисульфонил; этилсульфонат).

Сульфинилокси:  $-\text{OS}(=\text{O})\text{R}$ , где R представляет собой заместитель сульфинилокси-группы, например,  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу,  $\text{C}_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $\text{C}_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу. Примеры сульфинилокси-групп включают, но не ограничиваются этим,  $-\text{OS}(=\text{O})\text{CH}_3$  и  $-\text{OS}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CH}_3$ .

Сульфонилокси:  $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{R}$ , где R представляет собой заместитель сульфонилокси-группы, например,  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу,  $\text{C}_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $\text{C}_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу. Примеры сульфонилокси-групп включают, но не ограничиваются этим,  $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{CH}_3$  (мезилат) и  $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{CH}_2\text{CH}_3$  (эзилат).

Сульфат:  $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{OR}$ ; где R представляет собой заместитель сульфата, например,  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу,  $\text{C}_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $\text{C}_{5-20}$  арильную группу, предпочтительно  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу. Примеры сульфатных групп включают, но не ограничиваются этим,  $-\text{OS}(=\text{O})_2\text{OCH}_3$  и  $-\text{SO}(=\text{O})_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ .

Сульфамил (сульфамоил; амид сульфоновой кислоты; сульфинамид):  $-\text{S}(=\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$ , где  $\text{R}^1$  и  $\text{R}^2$  независимо представляют собой заместители аминогруппы, как определено для аминогрупп. Примеры сульфамильных групп включают, но не ограничиваются этим,  $-\text{S}(=\text{O})\text{NH}_2$ ,  $-\text{S}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_3)$ ,  $-\text{S}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{S}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$ ,  $-\text{S}(=\text{O})\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$  и  $-\text{S}(=\text{O})\text{NHPh}$ .

Сульфонамидо (сульфинамоил; амид сульфоновой кислоты; сульфонамид):  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^1\text{R}^2$ , где  $\text{R}^1$  и  $\text{R}^2$  независимо представляют собой заместители аминогруппы, как определено для аминогрупп. Примеры сульфонамидных групп включают, но не ограничиваются этим,  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}(\text{CH}_3)$ ,  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$ ,  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$  и  $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NHPh}$ .

Сульфамино:  $-\text{NR}^1\text{S}(=\text{O})_2\text{OH}$ , где  $\text{R}^1$  представляет собой заместитель аминогруппы, как определено для аминогрупп. Примеры сульфамино-групп включают, но не ограничиваются этим,  $-\text{NHS}(=\text{O})_2\text{OH}$  и  $-\text{N}(\text{CH}_3)\text{S}(=\text{O})_2\text{OH}$ .

Сульфонамино:  $-\text{NR}^1\text{S}(=\text{O})_2\text{R}$ , где  $\text{R}^1$  представляет собой заместитель аминогруппы, как определено для аминогрупп, и R представляет собой заместитель сульфонамино-группы, например,  $\text{C}_{1-7}$  алкильную группу,  $\text{C}_{3-20}$  гетероциклическую группу или  $\text{C}_{5-20}$  арильную

группу, предпочтительно C<sub>1-7</sub> алкильную группу. Примеры сульфонамино групп включают, но не ограничиваются этим, -NHS(=O)<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> и -N(CH<sub>3</sub>)S(=O)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>.

Сульфинамино: -NR<sup>1</sup>S(=O)R, где R<sup>1</sup> представляет собой заместитель аминогруппы, как определено для аминогрупп, и R представляет собой заместитель сульфинамино-группы, например, C<sub>1-7</sub> алкильную группу, C<sub>3-20</sub> гетероциклическую группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу, предпочтительно C<sub>1-7</sub> алкильную группу. Примеры сульфинамино-групп включают, но не ограничиваются этим, -NHS(=O)CH<sub>3</sub> и -N(CH<sub>3</sub>)S(=O)C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>.

Фосфино (фосфин): -PR<sub>2</sub>, где R представляет собой заместитель фосфино-группы, например, -H, C<sub>1-7</sub> алкильную группу, C<sub>3-20</sub> гетероциклическую группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу, предпочтительно -H, C<sub>1-7</sub> алкильную группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу. Примеры фосфино групп включают, но не ограничиваются этим, -PH<sub>2</sub>, -P(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -P(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -P(t-Bu)<sub>2</sub> и -P(Ph)<sub>2</sub>.

Фосфо: -P(=O)<sub>2</sub>.

Фосфинил (фосфиноксид): -P(=O)R<sub>2</sub>, где R представляет собой заместитель фосфинила, например, C<sub>1-7</sub> алкильную группу, C<sub>3-20</sub> гетероциклическую группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу, предпочтительно C<sub>1-7</sub> алкильную группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу. Примеры фосфинильных групп включают, но не ограничиваются этим, -P(=O)(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -P(=O)(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -P(=O)(t-Bu)<sub>2</sub> и -P(=O)(Ph)<sub>2</sub>.

Фосфоновая кислота (фосфоно): -P(=O)(OH)<sub>2</sub>.

Фосфонат (фосфоновый сложный эфир): -P(=O)(OR)<sub>2</sub>, где R представляет собой заместитель фосфоната, например, -H, C<sub>1-7</sub> алкильную группу, C<sub>3-20</sub> гетероциклическую группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу, предпочтительно H, C<sub>1-7</sub> алкильную группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу. Примеры фосфонатных групп включают, но не ограничиваются этим, -P(=O)(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -P(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -P(=O)(O-t-Bu)<sub>2</sub> и -P(=O)(OPh)<sub>2</sub>.

Фосфорная кислота (фосфонокси): -OP(=O)(OH)<sub>2</sub>.

Фосфат (сложный фосфонокси-эфир): -OP(=O)(OR)<sub>2</sub>, где R представляет собой заместитель фосфата, например, -H, C<sub>1-7</sub> алкильную группу, C<sub>3-20</sub> гетероциклическую

группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу, предпочтительно H, C<sub>1-7</sub> алкильную группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу. Примеры фосфатных групп включают, но не ограничиваются этим, -OP(=O)(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -OP(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -OP(=O)(O-t-Bu)<sub>2</sub> и -OP(=O)(OPh)<sub>2</sub>.

Фосфористая кислота: -OP(OH)<sub>2</sub>.

Фосфит: -OP(OR)<sub>2</sub>, где R представляет собой заместитель фосфита, например, -H, C<sub>1-7</sub> алкильную группу, C<sub>3-20</sub> гетероциклическую группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу, предпочтительно H, C<sub>1-7</sub> алкильную группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу. Примеры фосфитных групп включают, но не ограничиваются этим, -OP(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -OP(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -OP(O-t-Bu)<sub>2</sub> и -OP(OPh)<sub>2</sub>.

Фосфорамидит: -OP(OR<sup>1</sup>)-NR<sup>2</sup><sub>2</sub>, где R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> представляют собой заместители фосфорамидита, например, -H, (необязательно замещенную) C<sub>1-7</sub> алкильную группу, C<sub>3-20</sub> гетероциклическую группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу, предпочтительно -H, C<sub>1-7</sub> алкильную группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу. Примеры фосфорамидитных групп включают, но не ограничиваются этим, -OP(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -OP(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-N(i-Pr)<sub>2</sub> и -OP(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN)-N(i-Pr)<sub>2</sub>.

Фосфорамидат: -OP(=O)(OR<sup>1</sup>)-NR<sup>2</sup><sub>2</sub>, где R<sup>1</sup> и R<sup>2</sup> представляют собой заместители фосфорамидата, например, -H, (необязательно замещенную) C<sub>1-7</sub> алкильную группу, C<sub>3-20</sub> гетероциклическую группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу, предпочтительно -H, C<sub>1-7</sub> алкильную группу или C<sub>5-20</sub> арильную группу. Примеры фосфорамидатных групп включают, но не ограничиваются этим, -OP(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, -OP(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)-N(i-Pr)<sub>2</sub> и -OP(=O)(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN)-N(i-Pr)<sub>2</sub>.

### *Алкилен*

C<sub>3-12</sub> алкилен: Термин «C<sub>3-12</sub> алкилен» в данном контексте относится к бидентатному фрагменту, полученному посредством отщепления двух атомов водорода от одного и того же атома углерода или от двух разных атомов углерода углеводородного соединения, содержащего от 3 до 12 атомов углерода (если не указано иное), которое может быть алифатическим или алициклическим, и которое может быть насыщенным, частично ненасыщенным или полностью ненасыщенным. Таким образом, термин «алкилен» включает подклассы алкенилена, алкинилена, циклоалкилена и т.д., рассмотренные ниже.

Примеры линейных насыщенных  $C_{3-12}$  алкиленовых групп включают, но не ограничиваются ими,  $-(CH_2)_n-$ , где  $n$  представляет собой целое число от 3 до 12, например,  $-CH_2CH_2CH_2-$  (пропилен),  $-CH_2CH_2CH_2CH_2-$  (бутилен),  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$  (пентилен) и  $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2-$  (гептилен).

Примеры разветвленных насыщенных  $C_{3-12}$  алкиленовых групп включают, но не ограничиваются этим,  $-CH(CH_3)CH_2-$ ,  $-CH(CH_3)CH_2CH_2-$ ,  $-CH(CH_3)CH_2CH_2CH_2-$ ,  $-CH_2CH(CH_3)CH_2-$ ,  $-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_2-$ ,  $-CH(CH_2CH_3)-$ ,  $-CH(CH_2CH_3)CH_2-$  и  $-CH_2CH(CH_2CH_3)CH_2-$ .

Примеры линейных частично ненасыщенных  $C_{3-12}$  алкиленовых групп ( $C_{3-12}$  алкениленовых и алкиниленовых групп) включают, но не ограничиваются этим,  $-CH=CH-CH_2-$ ,  $-CH_2-CH=CH_2-$ ,  $-CH=CH-CH_2-CH_2-$ ,  $-CH=CH-CH_2-CH_2-CH_2-$ ,  $-CH=CH-CH=CH-$ ,  $-CH=CH-CH=CH-CH_2-$ ,  $-CH=CH-CH=CH-CH_2-CH_2-$ ,  $-CH=CH-CH_2-CH=CH-$ ,  $-CH=CH-CH_2-CH_2-CH=CH-$  и  $-CH_2-C\equiv C-CH_2-$ .

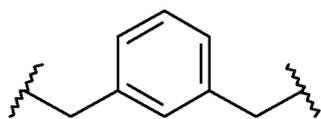
Примеры разветвленных частично ненасыщенных  $C_{3-12}$  алкиленовых групп ( $C_{3-12}$  алкениленовых и алкиниленовых групп) включают, но не ограничиваются этим,  $-C(CH_3)=CH-$ ,  $-C(CH_3)=CH-CH_2-$ ,  $-CH=CH-CH(CH_3)-$  и  $-C\equiv C-CH(CH_3)-$ .

Примеры алициклических насыщенных  $C_{3-12}$  алкиленовых групп ( $C_{3-12}$  циклоалкиленов) включают, но не ограничиваются этим, циклопентилен (например, циклопент-1,3-илен) и циклогексилен (например, циклогекс-1,4-илен).

Примеры алициклических частично ненасыщенных  $C_{3-12}$  алкиленовых групп ( $C_{3-12}$  циклоалкиленов) включают, но не ограничиваются этим, циклопентилен (например, 4-циклопентен-1,3-илен), циклогексилен (например, 2-циклогексен-1,4-илен; 3-циклогексен-1,2-илен; 2,5-циклогексадиен-1,4-илен).

В случае, если  $C_{3-12}$  алкиленовая группа прервана гетероатомом, нижний индекс относится к числу атомов в цепи, включая гетероатомы. Например, цепь  $-C_2H_4-O-C_2H_4-$  будет группой  $C_5$ .

Когда  $C_{3-12}$  алкиленовая группа прервана гетероатомом, нижний индекс относится к числу атомов непосредственно в цепи, включая ароматическое кольцо. Например, цепь



будет группой C<sub>5</sub>.

#### *Фрагмент лиганда*

Фрагмент лиганда может быть любого типа и включает белок, полипептид, пептид и непептидный агент, который специфически связывается с молекулой-мишенью. В некоторых вариантах реализации фрагмент лиганда может быть белком, полипептидом или пептидом. В некоторых вариантах реализации фрагмент лиганда может быть циклическим полипептидом. Указанные фрагменты лиганда могут включать антитела или фрагмент антитела, который содержит по меньшей мере один сайт, связывающий молекулу-мишень, лимфокины, гормоны, факторы роста или любую другую клеточно-связывающую молекулу или вещество, которое может специфически связываться с мишенью.

Термины «специфически связывается» и «специфическое связывание» относятся к связыванию антитела или другого белка, полипептида или пептида с определенной молекулой (например, антигеном). Обычно антитело или другая молекула связывается с аффинностью по меньшей мере около  $1 \times 10^7 \text{ M}^{-1}$ , и связывается с определенной молекулой с аффинностью, которая по меньшей мере в два раза больше, чем ее аффинность связывания с неспецифической молекулой (например, BSA, казеин), отличной от указанной определенной молекулы или близкородственной молекулы.

Примеры фрагментов лиганда включают агенты, описанные для применения в WO 2007/085930, включенном в данный документ.

В некоторых вариантах реализации фрагмент лиганда представляет собой клеточно-связывающий агент, который связывается с внеклеточной мишенью на клетке. Такой клеточно-связывающий агент, может быть белком, полипептидом, пептидом или непептидным агентом. В некоторых вариантах реализации клеточно-связывающий агент, может быть белком, полипептидом или пептидом. В некоторых вариантах реализации клеточно-связывающий агент, может быть циклическим полипептидом. Клеточно-связывающий агент, также может быть антителом или антиген-связывающим фрагментом антитела. Так, в одном варианте реализации данного изобретения предложен конъюгат антитело-лекарственное средство (ADC).

### **Клеточно-связывающий агент**

Клеточно-связывающий агент, может быть любого типа и включает пептиды и непептиды. Они могут включать антитела или фрагмент антитела, который содержит по меньшей мере один связывающий сайт, лимфокины, гормоны, миметики гормонов, витамины, факторы роста, молекулы, транспортирующие питательные вещества, или любую другую клеточно-связывающую молекулу или вещество.

#### *Пептиды*

В одном варианте реализации клеточно-связывающий агент, представляет собой линейный или циклический пептид, содержащий 4-30, предпочтительно 6-20 последовательных аминокислотных остатков. В данном варианте реализации предпочтительно, что один клеточно-связывающий агент, связан с одним мономером или димером пирролобензодиазепинового соединения.

В одном варианте реализации клеточно-связывающий агент, содержит пептид, который связывает интегрин  $\alpha_v\beta_6$ . Указанный пептид может быть селективным в отношении  $\alpha_v\beta_6$  по сравнению с XYS.

В одном варианте реализации клеточно-связывающий агент, содержит полипептид A20FMDV-Cys. A20FMDV-Cys имеет последовательность: NAVPNLRGDLQVLAQKVARTC. Альтернативно, можно использовать вариант последовательности A20FMDV-Cys, в которой один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять аминокислотных остатков замещены другим аминокислотным остатком. Кроме того, указанный полипептид может иметь последовательность NAVXXXXXXXXXXXXXXXXXRTC.

#### *Антитела*

Термин «антитело» в данном контексте использован в самом широком смысле и включает, в частности, моноклональные антитела, поликлональные антитела, димеры, мультимеры, мультиспецифичные антитела (например, биспецифичные антитела) и фрагменты антител, при условии, что они демонстрируют требуемую биологическую активность (Miller et al (2003) Jour. of Immunology 170:4854-4861). Антитела могут быть мышинными, человеческими, гуманизированными, химерными или полученными из других видов. Антитело представляет собой белок, созданный иммунной системой, который способен распознавать и связываться со специфическим антигеном. (Janeway, С.,

Travers, P., Walport, M., Shlomchik (2001) *Immuno Biology*, 5-ое изд., Garland Publishing, Нью-Йорк). Антиген мишени обычно имеет множество связывающих сайтов, также называемых эпитопами, которые распознаются определяющими комплементарность областями (CDR) различных антител. Каждое антитело, которое специфически связывается с другим эпитопом, имеет другую структуру. Так, один антиген может иметь более одного соответствующего антитела. Антитело включает полноразмерную молекулу иммуноглобулина или иммунологически активную часть полноразмерной молекулы иммуноглобулина, т.е. молекулу, которая содержит антиген-связывающий сайт, который иммуноспецифически связывается с антигеном рассматриваемой мишени или его частью, и такие мишени включают, но не ограничиваются ими, раковые клетки или клетки, которые вырабатывают аутоиммунные антитела, связанные с аутоиммунным заболеванием. Иммуноглобулин может быть любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD и IgA), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласса иммуноглобулиновых молекул. Иммуноглобулины могут быть получены из любых видов животных, включая человека, мышей или кроликов.

«Фрагменты антител» содержат часть полноразмерного антитела, обычно его антиген-связывающую или вариабельную область. Примеры фрагментов антител включают фрагменты Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub> и scFv ; димера; линейные антитела; фрагменты, полученные экспрессионной библиотекой Fab, анти-идиотипические (анти-Id) антитела, CDR (определяющую комплементарность область) и эпитоп-связывающие фрагменты любых вышеперечисленных, которые иммуноспецифически связываются с антигенами раковых клеток, вирусными антигенами или микробными антигенами, одноцепочечными молекулами антител; и мультиспецифические антитела, образованные из фрагментов антител.

Термин «моноклональное антитело» в данном контексте относится к антителу, полученному из популяции по существу однородных антител, т.е. отдельные антитела, образующие указанную популяцию, идентичны, за исключением возможных природных мутаций, которые могут присутствовать в незначительных количествах. Моноклональные антитела являются высокоспецифическими, направленными против одного антигенного сайта. Кроме того, в отличие от препаратов поликлональных антител, которые содержат различные антитела, направленные против различных детерминант (эпитопов), каждое моноклональное антитело направлено против одной детерминанты на антигене. Помимо их специфичности, моноклональные антитела имеют то преимущество, что их можно

синтезировать без примеси других антител. Модификатор «моноклональное» указывает на характер антитела как полученный из, по существу, однородной популяции антител, и его не следует толковать как требующий получения указанного антитела каким-либо конкретным способом. Например, моноклональные антитела, подходящие для применения по данному изобретению, можно получать гибридным способом, впервые описанным авторами Kohler et al (1975) *Nature* 256:495, или можно получать способами рекомбинантных ДНК (см. US 4816567). Моноклональные антитела можно также выделять из библиотек фаговых антител с применением технологий, описанных в публикации Clackson et al (1991) *Nature*, 352:624-628; Marks et al (1991) *J. Mol. Biol.*, 222:581-597, или из трансгенных мышей, несущих полностью человеческую иммуноглобулиновую систему (Lonberg (2008) *Curr. Opin.* 20(4):450-459).

Моноклональные антитела в данном контексте включают, в частности, «химерные» антитела, в которых часть тяжелой и/или легкой цепи идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, полученных из определенных видов животных, или принадлежащих к определенному классу или подклассу антител, а остальная часть цепи(-ей) идентична или гомологична соответствующим последовательностям в антителах, полученных из других видов животных, или принадлежащих к другому классу или подклассу антител, а также фрагменты таких антител, при условии, что они демонстрируют требуемую биологическую активность (US 4816567; и Morrison et al (1984) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 81:6851-6855). Химерные антитела включают «приматизированные» антитела, содержащие антиген-связывающие последовательности вариабельного домена, полученные из примата, не являющегося человеком (например, мартышковых или человекообразных обезьян), и последовательности константной области человека.

«Интактное антитело» в данном контексте представляет собой антитело, содержащее домены VL и VH, а также константный домен легкой цепи (CL) и константные домены тяжелой цепи, CH1, CH2 и CH3. Константные домены могут представлять собой константные домены нативной последовательности (например, константные домены человеческой нативной последовательности) или варианты их аминокислотной последовательности. Интактное антитело может иметь одну или более «эффektorных функций», которые относятся к биологической активности, связанной с областью Fc (областью Fc нативной последовательности или областью Fc варианта аминокислотной последовательности) антитела. Примеры эффektorных функций антитела включают

связывание C1q; комплемент-зависимую цитотоксичность; связывание рецептора Fc; антитело-зависимую клеточно-опосредованную цитотоксичность (ADCC); фагоцитоз; и угнетающую регуляцию рецепторов клеточной поверхности, таких как рецептор В-клеток и BCR.

В зависимости от аминокислотной последовательности константного домена их тяжелых цепей, интактные антитела можно разделить на различные «классы». Существует пять основных классов интактных антител: IgA, IgD, IgE, IgG и IgM, и некоторые из них можно дополнительно разделить на «подклассы» (изотипы), например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2. Константные домены тяжелых цепей, которые соответствуют различным классам антител, называют  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\gamma$  и  $\mu$ , соответственно. Структуры субъединиц и трехмерные конфигурации различных классов иммуноглобулинов являются общеизвестными.

### *Гуманизация*

Технологии снижения *in vivo* иммуногенности нечеловеческого антитела или фрагмента антитела включают технологии, называемые «гуманизацией».

Термин «гуманизованное антитело» относится к полипептиду, содержащему по меньшей мере часть модифицированной вариабельной области человеческого антитела, в которой часть указанной вариабельной области, предпочтительно часть, которая значительно меньше интактного человеческого вариабельного домена, замещена соответствующей последовательностью из нечеловеческих видов, и при этом указанная модифицированная вариабельная область связана с по меньшей мере другой частью другого белка, предпочтительно с константной областью человеческого антитела. Выражение «гуманизованные антитела» включает человеческие антитела, в которых один или более аминокислотных остатков определяющей комплементарности области («CDR») и/или один или более аминокислотных остатков каркасной области («FW» или «FR») замещены аминокислотными остатками из аналогичных сайтов антител грызунов или других нечеловеческих антител. Выражение «гуманизованное антитело» также включает вариант аминокислотной последовательности иммуноглобулина или его фрагмент, который содержит FR, содержащую по существу аминокислотную последовательность человеческого иммуноглобулина, и CDR, имеющую по существу аминокислотную последовательность нечеловеческого иммуноглобулина.

«Гуманизированные» формы нечеловеческих (например, мышинных) антител представляют собой химерные антитела, которые содержат минимальную последовательность, полученную из нечеловеческого иммуноглобулина. Или, с другой стороны, гуманизированное антитело представляет собой человеческое антитело, которое также содержит выбранные последовательности из нечеловеческих (например, мышинных) антител вместо человеческих последовательностей. Гуманизированное антитело может содержать консервативные аминокислотные замещения или неприродные остатки из тех же или других видов, которые существенно не отличаются по своей связывающей и/или биологической активности. Такие антитела являются химерными антителами, которые содержат минимальную последовательность, полученную из нечеловеческих иммуноглобулинов.

Существует множество технологий гуманизации, включая «прививку CDR», «направленный выбор», «деиммунизацию», «изменение поверхности» (также известное как «рекомбинация поверхностных остатков»), «композиционные антитела», «оптимизацию состава человеческой цепочки» и перестановку в каркасе.

### Прививка CDR

В данной технологии гуманизированные антитела представляют собой человеческие иммуноглобулины (принимающее антитело), в которых остатки из определяющей комплементарности области (CDR) принимающего антитела заменены на остатки из CDR нечеловеческих видов (донорное антитело), таких как мыши, крысы, верблюды, быки, козы или кролики, имеющие требуемые свойства (по факту, нечеловеческие CDR «прививают» на человеческий каркас). В некоторых случаях остатки каркасной области (FR) человеческого иммуноглобулина заменяют на соответствующие нечеловеческие остатки (это может происходить, например, если определенный остаток FR имеет значительное влияние на связывание антигена).

Кроме того, гуманизированные антитела могут содержать остатки, которые не встречаются ни в принимающем антителе, ни в импортированной CDR или каркасных последовательностях. Указанные модификации осуществляют для дополнительного улучшения и максимизации характеристик антитела. Таким образом, в общем, гуманизированное антитело содержит все из по меньшей мере одного и в одном аспекте двух переменных доменов, в которых все или все гиперпеременные петли соответствуют аналогичным структурам нечеловеческого иммуноглобулина, и все или по

существом все области FR являются областями последовательности человеческого иммуноглобулина. Гуманизированное антитело необязательно также содержит по меньшей мере часть константной области (Fc) иммуноглобулина или человеческого иммуноглобулина.

### Направленный отбор

Указанный способ состоит из комбинирования домена  $V_H$  или  $V_L$  данного нечеловеческого антитела, специфичного в отношении определенного эпитопа, с библиотекой человеческого  $V_H$  или  $V_L$ , и специфические человеческие  $V$  домены отбирают по отношению к рассматриваемому антигену. Такой отобранный  $V_H$  затем комбинируют с библиотекой  $V_L$  с получением полной человеческой комбинации  $V_H \times V_L$ . Указанный способ описан в публикации Nature Biotechnology (N.Y.) 12, (1994) 899-903.

### Композиционные антитела

В указанном способе два или более сегментов аминокислотных последовательностей из человеческого антитела комбинируют с готовой молекулой антитела. Их конструируют посредством комбинирования множества сегментов человеческой последовательности  $V_H$  и  $V_L$  в комбинациях, которые ограничивают или исключают эпитопы Т-клеток человека в  $V$  областях готового композиционного антитела. При необходимости эпитопы Т-клеток ограничивают или устраняют посредством замены сегментов  $V$  области, способствующих или кодирующих эпитоп Т-клетки, на альтернативные сегменты, которые устраняют эпитопы Т-клеток. Указанный способ описан в US 2008/0206239 A1.

### Деиммунизация

Указанный способ включает удаление эпитопов Т-клетки человека (или других вторичных видов) из  $V$  областей терапевтического антитела (или другой молекулы). Последовательность  $V$ -области терапевтических антител анализируют на наличие мотивов, связывающих МНС II класса, например, сравнивая с базами данных МНС-связывающих мотивов (таких как база данных указанных «мотивов», размещенная на сайте [www.wehi.edu.au](http://www.wehi.edu.au)). Альтернативно, мотивы, связывающие МНС II класса, можно идентифицировать с помощью методов вычислительного протягивания, описанных в публикации Altuvia et al. Mol. Biol. (J. Mol. Biol. 249 244-250 (1995)); в указанных способах последовательные перекрывающиеся пептиды из последовательностей  $V$ -области проверяют на энергию их связывания с белками МНС II класса. Затем полученные данные можно объединять с информацией о других особенностях

последовательности, которые относятся к успешно открытым пептидам, таких как амфипатичность, мотивы Ротбарда и сайты расщепления для катепсина В и других процессирующих ферментов.

После идентификации возможных эпитопов Т-клеток вторичных видов (например, человека), их исключают посредством изменения одной или более аминокислот. Модифицированные аминокислоты обычно находятся в самом эпитопе Т-клетки, но также могут быть расположены вблизи эпитопа с точки зрения первичной или вторичной структуры белка (и, следовательно, могут не быть расположены рядом в первичной структуре). Наиболее типично, такое изменение осуществляют посредством замены, но в некоторых случаях может быть более подходящим добавление или удаление аминокислоты.

Все изменения можно осуществлять технологией рекомбинантных ДНК, так что готовую молекулу можно получать экспрессией из рекомбинантного хозяина с применением хорошо известных способов, таких как сайт-направленный мутагенез. Однако возможно также применение белковой химии или любых других способов молекулярного изменения.

### Изменение поверхности

Указанный способ включает:

(а) определение конформационной структуры варибельной области нечеловеческого (например, грызунов) антитела (или его фрагмента) посредством создания трехмерной модели варибельной области нечеловеческого антитела;

(b) создание выравнивания последовательностей с применением распределений относительной доступности на основании рентгеновских кристаллографических структур достаточного количества тяжелых и легких цепей варибельной области нечеловеческого и человеческого антитела с получением набора каркасных положений тяжелой и легкой цепи, в которых положения выравнивания идентичны на 98% относительно достаточного количества тяжелых и легких цепей нечеловеческого антитела;

(c) определение нечеловеческого антитела, подлежащего гуманизации, для чего поверхность набора тяжелой и легкой цепи подвергают действию аминокислотных остатков с использованием набора каркасных положений, полученного на стадии (b);

(d) идентификацию по аминокислотным остаткам человеческого антитела поверхности набора тяжелой и легкой цепи, подверженной действию аминокислотных

остатков, которые наиболее близко идентичны указанной поверхности набора, подверженной действию аминокислотных остатков, определенной на стадии (с), причем тяжелая и легкая цепь из человеческого антитела являются или не являются естественным образом спаренными;

(е) замещение в аминокислотной последовательности нечеловеческого антитела, подлежащего гуманизации, поверхности набора тяжелой и легкой цепи, подверженной действию аминокислотных остатков, определенной на стадии (с), на поверхность набора тяжелой и легкой цепи, подверженную действию аминокислотных остатков, определенную на стадии (d);

(f) построение трехмерной модели варибельной области нечеловеческого антитела, полученной в результате замещения, описанного на стадии (е);

(g) идентификацию, посредством сравнения трехмерных моделей, построенных на стадиях (а) и (f), любых аминокислотных остатков из наборов, идентифицированных на стадиях (с) или (d), которые находятся в пределах 5 ангстрем от любого атома любого остатка областей, определяющих комплементарность, данного нечеловеческого антитела, подлежащего гуманизации; и

(h) замену любых остатков, идентифицированных на стадии (g), из человеческого на исходный нечеловеческий аминокислотный остаток с получением гуманизирующего набора поверхности нечеловеческого антитела, подверженного действию аминокислотных остатков; при условии, что стадию (а) не обязательно следует проводить первой, но ее следует проводить до стадии (g).

### Супергуманизация

В указанном способе сравнивают нечеловеческую последовательность с функциональным репертуаром генов зародышевой линии человека. Выбирают те человеческие гены, которые кодируют канонические структуры, идентичные или близкородственные к нечеловеческим последовательностям. Выбранные человеческие гены с наивысшей гомологией в CDR выбирают в качестве доноров FR. Наконец, нечеловеческие CDR прививают на указанные человеческие FR. Указанный способ описан в патенте WO 2005/079479 A2.

### Оптимизация состава человеческой цепочки

В указанном способе сравнивают нечеловеческую (например, мышиную) последовательность с репертуаром генов зародышевой линии человека и оценивают различия как содержание человеческой цепочки (HSC), которое количественно определяет

последовательность на уровне потенциальных эпитопов МНС/Т-клетки. Затем гуманизируют целевую последовательность, максимизируя ее HSC, вместо использования измерения общей идентичности для создания многочисленных различных гуманизированных вариантов (описано в публикации *Molecular Immunology*, 44, (2007) 1986–1998).

#### Перестановка в каркасе

CDR нечеловеческого антитела гибридизуют внутри рамки с пулами кДНК, включающими все известные каркасы тяжелой и легкой цепи гена зародышевой линии человека. Затем гуманизированные антитела отбирают, например, посредством пэннинга фаг-дисплейной библиотеки антител. Указанный способ описан в публикации *Methods* 36, 43-60 (2005).

Примеры клеточно-связывающих агентов включают агенты, описанные для применения в WO 2007/085930, включенном в данный документ.

Опухولةассоциированные антигены и когнатные антитела для применения в вариантах реализации данного изобретения перечислены ниже.

### ОПУХОЛЕАССОЦИИРОВАННЫЕ АНТИГЕНЫ И КОГНАТНЫЕ АНТИТЕЛА

(1) *VMPR1B* (рецептор костного морфогенетического белка типа IB)

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_001203

Genbank, версия номер NM\_001203.2 GI:169790809

Genbank, дата обновления записи: 23 сентября, 2012, 02:06 пп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_001194

Genbank, версия номер NP\_001194.1 GI:4502431

Genbank, дата обновления записи: 23 сентября, 2012, 02:06 пп

#### Перекрестные ссылки

101-104 (1994), *Oncogene* 14 (11):1377-1382 (1997)); WO2004/063362 (п. 2); WO2003/042661 (п. 12);

US2003/134790-A1 (страница 38-39); WO2002/102235 (п. 13; страница 296);  
WO2003/055443

(страница 91-92); WO2002/99122 (Пример 2; страница 528-530); WO2003/029421 (п. 6);  
WO2003/024392 (п. 2; Фиг. 112); WO2002/98358 (п. 1; страница 183); WO2002/54940  
(страница 100-101); WO2002/59377(страница 349-350); WO2002/30268 (п. 27; страница  
376);

15 WO2001/48204 (Пример; Фиг. 4); NP\_001194, рецептор костного морфогенетического  
белка, тип IB /pid=NP\_001194.1.; MIM:603248; AY065994

(2) *E16 (LAT1, SLC7A5)*

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_003486

Genbank, версия номер NM\_003486.5 GI:71979931

Genbank, дата обновления записи: 27 июня, 2012, 12:06 пп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_003477

Genbank, версия номер NP\_003477.4 GI:71979932

Genbank, дата обновления записи: 27 июня, 2012, 12:06 пп

#### Перекрестные ссылки

*Biochem. Biophys. Res.*

*Commun.* 255 (2), 283-288 (1999), *Nature* 395 (6699):288-291 (1998), Gaugitsch, H.W., *et al*  
(1992) *J. Biol. Chem.* 267 (16):11267-11273); WO2004/048938 (Пример 2);

WO2004/032842 (Пример IV); WO2003/042661 (п. 12); WO2003/016475 (п. 1);

WO2002/78524 (Пример 2); WO2002/99074 (п. 19; страница 127-129); WO2002/86443

(п. 27; страницы 222, 393); WO2003/003906 (п. 10; страница 293); WO2002/64798 (п. 33;  
страница 93-95); WO2000/14228 (п. 5; страница 133-136); US2003/224454 (Фиг. 3);

WO2003/025138 (п. 12; страница 150); NP\_003477 семейство носителей растворенных  
веществ 7 (катионный аминокислотный транспортер, у+система), член 5 /pid=NP\_003477.3  
- Homo sapiens;

MIM:600182;; NM\_015923.

(3) *STEAP1 (шестой трансмембранный эпителиальный антиген предстательной  
железы)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_012449

Genbank, версия номер NM\_012449.2 GI:22027487

Genbank, дата обновления записи: 9 сентября, 2012, 02:57 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_036581

Genbank, версия номер NP\_036581.1 GI:9558759

Genbank, дата обновления записи: 9 сентября, 2012, 02:57 пп

Перекрестные ссылки

*Cancer Res.* 61 (15), 5857-5860 (2001), Hubert, R.S., *et al* (1999) *Proc. Natl.*

*Acad. Sci. Acad. Sci. U.S.A.* 96 (25):14523-14528); WO2004/065577 (п. 6); WO2004/027049

(Фиг.

1L); EP1394274 (Пример 11); WO2004/016225 (п. 2); WO2003/042661 (п. 12);

US2003/157089 (Пример 5); US2003/185830 (Пример 5); US2003/064397 (Фиг. 2);

WO2002/89747 (Пример 5; страница 618-619); WO2003/022995 (Пример 9; Фиг. 13A,

35, Пример 53; страница 173, Пример 2; Фиг. 2A); шестой трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы; МІМ:604415.

(4) 0772P (CA125, MUC16)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа AF361486

Genbank, версия номер AF361486.3 GI:34501466

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 07:56 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа ААК74120

Genbank, версия номер ААК74120.3 GI:34501467

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 07:56 дп

Перекрестные ссылки

*J. Biol. Chem.* 276 (29):27371-27375 (2001)); WO2004/045553 (п. 14); WO2002/92836 (п. 6;

Фиг. 12); WO2002/83866 (п. 15; страница 116-121); US2003/124140 (Пример 16);

GI:34501467;

(5) *MPF (MPF, MSLN, SMR, фактор стимуляции мегакариоцитов, мезотелин)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_005823

Genbank, версия номер NM\_005823.5 GI:293651528

Genbank, дата обновления записи: 2 сентября, 2012, 01:47 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_005814

Genbank, версия номер NP\_005814.2 GI:53988378

Genbank, дата обновления записи: 2 сентября, 2012, 01:47 пп

Перекрестные ссылки

Yamaguchi, N., *et al Biol. Chem.* 269 (2), 805-808 (1994), *Proc. Natl. Acad. Sci.* США 96 (20): 11531-11536 (1999), *Proc. Natl. Acad. Sci.* США 93 (1): 136-140 (1996), *J. Biol. Chem.* 270 (37):21984-21990 (1995)); WO2003/101283 (п. 14); (WO2002/102235 (п. 13; страница 287-288); WO2002/101075 (п. 4; страница 308- 309); WO2002/71928 (страница 320-321); WO94/10312 (страница 52-57); IM:601051.

(6) *Napi3b (NAPI-3B, NPTIb, SLC34A2, семейство носителей растворенных веществ 34 (фосфат натрия),*

*член 2, тип II, натрий-зависимый фосфатный транспортер 3b)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_006424

Genbank, версия номер NM\_006424.2 GI:110611905

Genbank, дата обновления записи: 22 июля, 2012, 03:39 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_006415

Genbank, версия номер NP\_006415.2 GI:110611906

Genbank, дата обновления записи: 22 июля, 2012, 03:39 пп

Перекрестные ссылки

*J. Biol. Chem.* 277 (22): 19665-19672 (2002), *Genomics* 62 (2): 281-284 (1999), Feild, J.A. и др. (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 258 (3):578-582); WO2004/022778 (п. 2);

EP1394274 (Пример 11); WO2002/102235 (п. 13; страница 326); EP0875569 (п. 1; страница 17-19); WO2001/57188 (п. 20; страница 329); WO2004/032842 (Пример IV); WO2001/75177 (п. 24; страница 139-140); МІМ:604217.

*(7) Sema 5b (FLJ10372, KIAA1445, Mm.42015, SEMA5B, SEMAG, Hlog семафорина 5b, домен sema 25, из семи тромбоспондиновых повторов (типа 1 и подобных типу 1), трансмембранный*

*домен (ТМ) и короткий цитоплазматический домен, (семафорин) 5B)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа AB040878

Genbank, версия номер AB040878.1 GI:7959148

Genbank, дата обновления записи: 2 августа, 2006, 05:40 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа BAA95969

Genbank, версия номер BAA95969.1 GI:7959149

Genbank, дата обновления записи: 2 августа, 2006, 05:40 пп

Перекрестные ссылки

Nagase T., *et al* (2000) *DNA Res.* 7 (2):143-150); WO2004/000997 (п. 1);

WO2003/003984 (п. 1); WO2002/06339 (п. 1; страница 50); WO2001/88133 (п. 1;

страница 41-43, 48-58); WO2003/054152 (п. 20); WO2003/101400 (п. 11); образец: Q9P283;

Genew; HGNC:10737

(8) PSCA hlg (2700050C12Rik, C530008O16Rik, κДНК RIKEN 2700050C12, κДНК RIKEN, ген 2700050C12)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа AY358628

Genbank, версия номер AY358628.1 GI:37182377

Genbank, дата обновления записи: 1 декабря, 2009, 04:15 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAQ88991

Genbank, версия номер AAQ88991.1 GI:37182378

Genbank, дата обновления записи: 1 декабря, 2009, 04:15 дп

Перекрестные ссылки

Ross *et al* (2002) *Cancer Res.* 62:2546-2553; US2003/129192 (п. 2); US2004/044180 (п. 12); US2004/044179 (п. 11); US2003/096961 (п. 11); US2003/232056 (Пример 5); WO2003/105758 16 (п. 12); US2003/206918 (Пример 5); EP1347046 (п. 1); WO2003/025148 (п. 20); GI:37182378.

(9) *ETBR* (рецептор эндотелина типа В)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа AY275463

Genbank, версия номер AY275463.1 GI:30526094

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 02:26 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAR32295

Genbank, версия номер AAR32295.1 GI:30526095

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 02:26 дп

Перекрестные ссылки

Nakamuta M., *et al Biochem. Biophys. Res. Commun.* 177, 34-39, 1991; Ogawa Y., *et al Biochem. Biophys. Res. Commun.* 178, 248-255, 1991; Arai H., *et al Jpn. Circ. J.* 56, 1303-1307, 1992; Arai H., *et al J. Biol. Chem.* 268, 3463-3470, 1993; Sakamoto A., Yanagisawa M., *et al Biochem. Biophys. Res. Commun.* 178, 656-663, 1991; Elshourbagy N.A., *et al J. Biol. Chem.* 268, 3873-3879, 1993; Haendler B., *et al J. Cardiovasc. Pharmacol.* 20, s1-S4, 1992; Tsutsumi M., *et al Gene* 228, 43-49, 1999; Strausberg R.L., *et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 16899-16903, 2002; Bourgeois C., *et al J. Clin. Endocrinol. Metab.* 82, 3116-3123, 1997; Okamoto Y., *et al Biol. Chem.* 272, 21589-21596, 1997; Verheij J.B., *et al Am. J. Med. Genet.* 108, 223-225, 2002; Hofstra R.M.W., *et al Eur. J. Hum. Genet.* 5, 180-185, 1997; Puffenberger E.G., *et al Cell* 79, 1257-1266, 1994; Attie T., *et al Hum. Mol. Genet.* 4, 2407-2409, 1995; Auricchio A., *et al Hum. Mol. Genet.* 5:351-354, 1996; Amiel J., *et al Hum. Mol. Genet.* 5, 355-357, 1996; Hofstra R.M.W., *et al Nat. Genet.* 12, 445-447, 1996; Svensson P.J., *et al Hum. Genet.* 103, 145-148, 1998; Fuchs S., *et al Mol. Med.* 7, 115-124, 2001; Pingault V., *et al (2002) Hum. Genet.* 111, 198-206; WO2004/045516 (п. 1); WO2004/048938 (Пример 2); WO2004/040000 (п. 151); WO2003/087768 (п. 1); WO2003/016475 (п. 1); WO2003/016475 (п. 1); WO2002/61087 (фиг. 1);

WO2003/016494 (Фиг. 6); WO2003/025138 (п. 12; страница 144); WO2001/98351 (п. 1; страница 124-125); EP0522868 (п. 8; Фиг. 2); WO2001/77172 (п. 1; страница 297-299); US2003/109676; US6518404 (Фиг. 3); US5773223 (п. 1а; кол. 31-34); WO2004/001004.

(10) MSG783 (RNF124, гипотетический белок FLJ20315)

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_017763

Genbank, версия номер NM\_017763.4 GI:167830482

Genbank, дата обновления записи: 22 июля, 2012, 12:34 дп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_060233

Genbank, версия номер NP\_060233.3 GI:56711322

Genbank, дата обновления записи: 22 июля, 2012, 12:34 дп

#### Перекрестные ссылки

WO2003/104275 (п. 1); WO2004/046342 (Пример 2); WO2003/042661 (п. 12); WO2003/083074 (п. 14; страница 61); WO2003/018621 (п. 1); WO2003/024392 (п. 2; Фиг. 93); WO2001/66689 (Пример 6); LocusID:54894.

(11) *STEAP2 (HGNC\_8639, IPCA-1, PCANAP1, STAMP1, STEAP2, STMP, ассоциированный с раком предстательной железы*

*ген 1, ассоциированный с раком предстательной железы белок 1, шестой трансмембранный эпителиальный*

*антиген предстательной железы 2, шестой трансмембранный белок предстательной железы)*

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа AF455138

Genbank, версия номер AF455138.1 GI:22655487

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 01:54 дп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа AAN04080

Genbank, версия номер AAN04080.1 GI:22655488

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 01:54 дп

Перекрестные ссылки

Lab. Invest. 82 (11):1573-1582 (2002)); WO2003/087306; US2003/064397 (п. 1; Фиг. 1); WO2002/72596 (п. 13; страница 54-55); WO2001/72962 (п. 1; Фиг. 4B); WO2003/104270 (п. 11); WO2003/104270 (п. 16); US2004/005598 (п. 22); WO2003/042661 (п. 12); US2003/060612 (п. 12; Фиг. 10); WO2002/26822 (п. 23; Фиг. 2); WO2002/16429 (п. 12; Фиг. 10); GI:22655488.

(12) *TrpM4* (BR22450, FLJ20041, TRPM4, TRPM4B, катионный канал тразиторного рецепторного потенциала

5, подсемейство M, член 4)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_017636

Genbank, версия номер NM\_017636.3 GI:304766649

Genbank, дата обновления записи: 29 июня, 2012, 11:27 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_060106

Genbank, версия номер NP\_060106.2 GI:21314671

Genbank, дата обновления записи: 29 июня, 2012, 11:27 дп

Перекрестные ссылки

Xu, X.Z., *et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98 (19):10692-10697 (2001), *Cell* 109 (3):397-407 (2002), *J. Biol. Chem.* 278 (33):30813-30820 (2003)); US2003/143557 (п. 4); WO2000/40614 (п. 14; страница 100-103); WO2002/10382 (п. 1; Фиг. 9A); WO2003/042661 (п. 12); WO2002/30268 (п. 27; страница 391); US2003/219806 (п. 4); WO2001/62794 (п. 14; Фиг. 1A-D); MIM:606936.

(13) *CRIPTO* (CR, CR1, CRGF, CRIPTO, TDGF1, фактор роста, полученный из тератокарциномы)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_003212

Genbank, версия номер NM\_003212.3 GI:292494881

Genbank, дата обновления записи: 23 сентября, 2012, 02:27 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_003203

Genbank, версия номер NP\_003203.1 GI:4507425

Genbank, дата обновления записи: 23 сентября, 2012, 02:27 пп

Перекрестные ссылки

Ciccodicola, A., et al EMBO J. 8 (7):1987-1991 (1989), Am. J. Hum. Genet. 49 (3): 555-565 (1991)); US 2003/224411 (пункт 1); WO 2003/083041 (пример 1); WO 2003/034984 (пункт 12); WO2002/88170 (пункт 2; страницы 52-53); WO 2003/024392 (пункт 2; фиг. 58); WO2002/16413 (пункт 1; страницы 94-95, 105); WO2002/22808 (пункт 2; фиг.1); US5854399 (пример 2; Col 17-18); US5792616 (фиг.2); МІМ: 187395.

(14) *CD21 (CR2 (рецептор компонента 2) или C3DR (C3d/рецептор вируса Эпштейна-Барра) или Hs.73792)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа M26004

Genbank, версия номер M26004.1 GI:181939

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:47 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAA35786

Genbank, версия номер AAA35786.1 GI:181940

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:47 дп

Перекрестные ссылки

Fujisaku et al (1989) J. Biol. Chem. 264 (4):2118-2125); Weis J.J., et al J. Exp. Med. 167, 1047-1066, 1988; Moore M., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 84, 9194-9198, 1987; Barel M., et al Mol. Immunol. 35, 1025-1031, 1998; Weis J.J., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 83, 5639-5643, 1986; Sinha S.K., et al (1993) J. Immunol. 150, 5311-5320; WO 2004/045520 (пример 4); US 2004/005538 (пример 1); WO 2003/062401 (пункт 9); WO 2004/045520 (пример 4); WO91/02536 (фиг. 9.1-9.9); WO 2004/020595 (пункт 1); Присоединение: P20023; Q13866; Q14212; EMBL; M26004; AAA35786.1.

(15) *CD79b (CD79B, CD79β, Igb (иммуноглобулин-ассоциированный, бета), B29)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_000626

Genbank, версия номер NM\_000626.2 GI:90193589

Genbank, дата обновления записи: 26 июня, 2012, 01:53 пп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_000617

Genbank, версия номер NP\_000617.1 GI:11038674

Genbank, дата обновления записи: 26 июня, 2012, 01:53 пп

#### Перекрестные ссылки

*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* (2003) 100 (7):4126-

4131, *Blood* (2002) 100 (9):3068-3076, Muller *et al* (1992) *Eur. J. Immunol.* 22 (6):1621-

1625); WO2004/016225 (п. 2, Фиг. 140); WO2003/087768, US2004/101874 (п. 1,

стр. 102); WO2003/062401 (п. 9); WO2002/78524 (пример 2); US2002/150573 (п. 5, стр. 15);

US5644033; WO2003/048202 (п. 1, стр. 306 и 309); WO 99/58658,

US6534482 (п. 13, фиг. 17A/B); WO2000/55351 (п. 11, стр. 1145-1146); МИМ:147245

(16) *FcRH2 (IFGP4, IRTA4, SPAP1A (домен SH2, содержащий якорный белок фосфатазы 1a), SPAP1B, SPAP1C)*

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_030764

Genbank, версия номер NM\_030764.3 GI:227430280

Genbank, дата обновления записи: 30 июня, 2012, 12:30 дп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_110391

Genbank, версия номер NP\_110391.2 GI:19923629

Genbank, дата обновления записи: 30 июня, 2012, 12:30 дп

#### Перекрестные ссылки

AU358130); *Genome Res.* 13 (10):2265-2270 (2003), *Immunogenetics* 54 (2):87-95 (2002),

*Blood* 99 (8):2662-2669 (2002), *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98 (17):9772-9777 (2001), Xu,

M.J., *et al* (2001) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 280 (3): 768-775; WO 2004/016225 (пункт

2); WO2003/077836; WO 2001/38490 (пункт 5; фиг. 18D-1-18D-2); WO 2003/097803 (пункт

12); WO 2003/089624 (пункт 25); МИМ:606509.

**(17) HER2 (ErbB2)**Нуклеотид

Genbank, номер доступа M11730

Genbank, версия номер M11730.1 GI:183986

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:47 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAA75493

Genbank, версия номер AAA75493.1 GI:306840

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:47 дп

Перекрестные ссылки

Coussens L., *et al Science* (1985) 230(4730):1132-1139); Yamamoto T., *et al Nature* 319, 230-234, 1986; Semba K., *et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82, 6497-6501, 1985; Swiercz J.M., *et al J. Cell Biol.* 165, 869-880, 2004; Kuhns J.J., *et al J. Biol. Chem.* 274, 36422-36427, 1999; Cho H.-S., *et al Nature* 421, 756-760, 2003; Ehsani A., *et al* (1993) *Genomics* 15, 426-429; WO2004/048938 (пример 2); WO2004/027049 (фиг. 1I); WO2004/009622; WO2003/081210; WO2003/089904 (п. 9); WO2003/016475 (п. 1); US2003/118592; WO2003/008537 (Пункт 1); WO 2003/055439 (пункт 29; фиг. 1A-B); WO 2003/025228 (пункт 37; фиг. 5C); WO2002/22636 (пример 13; страница 95-107); WO2002/12341 (пункт 68; фиг.7); WO2002/13847 (страница 71-74); WO2002/14503 (страница 114-117); WO2001/53463 (п. 2; Стр. 41-46); WO2001/41787 (стр. 15); WO 2000/44899 (пункт 52; фиг. 7); WO2000/20579 (п. 3; фиг. 2); US5869445 (п. 3; Col 31-38); WO9630514 (п. 2; стр. 56-61); EP1439393 (п. 7); WO2004/043361 (п. 7); WO2004/022709; WO2001/00244 (Пример 3; Фиг.4); Присоединение: P04626; EMBL; M11767; AAA35808.1. EMBL; M11761.

AAA35808.1

**АНТИТЕЛА**

Abbott: US20110177095

Например, антитело, содержащее CDR, которые имеют, в целом, по меньшей мере 80% идентичность последовательностей с CDR, имеющими аминокислотные последовательности SEQ ID NO:3 (CDR-H1), SEQ ID NO:4 (CDR-H2), SEQ ID NO:5 (CDR-H3), SEQ ID NO:104 и/или SEQ ID NO:6 (CDR-L1), SEQ ID NO:7 (CDR-L2) и

SEQ ID NO:8 (CDR-L3), причем указанное анти-HER2 антитело или анти-HER2 связывающий фрагмент имеет сниженную иммуногенность по сравнению с антителом, имеющим VH с последовательностью SEQ ID NO:1 и VL с последовательностью SEQ ID NO:2.

Биоген: US20100119511

Например, номера доступа ATCC: PTA-10355, PTA-10356, PTA-10357, PTA10358

Например, молекула очищенного антитела, которая связывается с HER2, содержащая все шесть CDR из антитела, выбранного из группы, состоящей из ВПВ71F10 (SEQ ID NO:11, 13), ВПВ69A09 (SEQ ID NO:15, 17); ВПВ67F10 (SEQ ID NO:19, 21); ВПВ67F11 (SEQ ID NO:23, 25), ВПВ66A12 (SEQ ID NO:27, 29), ВПВ66C01 (SEQ ID NO:31, 33), ВПВ65C10 (SEQ ID NO:35, 37), ВПВ65H09 (SEQ ID NO:39, 41) и ВПВ65B03 (SEQ ID NO:43, 45), или CDR, которые идентичны или которые имеют не более двух изменений относительно указанных CDR.

Герцептин (Genentech) – US 6054297; номер доступа ATCC CRL-10463 (Genentech)

Пертузумаб (Genentech)

US20110117097

например, см. SEQ ID NO 15 и 16, SEQ ID NO 17 и 18, SEQ ID NO 23 и 24 и номера доступа ATCC HB-12215, HB-12216, CRL 10463, HB-12697.

US20090285837

US20090202546

например, номера доступа ATCC: HB-12215, HB-12216, CRL 10463, HB-12698.

US20060088523

- например, номера доступа ATCC: HB-12215, HB-12216
- например, антитело, содержащее аминокислотные последовательности вариабельной легкой и вариабельной тяжелой цепи в SEQ ID NO 3 и 4, соответственно.
- например, антитело, содержащее аминокислотную последовательность легкой цепи, выбранную из SEQ ID NO 15 и 23, и аминокислотную последовательность тяжелой цепи, выбранную из SEQ ID NO 16 и 24

US20060018899

- например, номера доступа ATCC: (7C2) HB-12215, (7F3) HB-12216, (4D5) CRL-10463, (2C4) HB-12697.
- например, антитело, содержащее аминокислотную последовательность в SEQ ID NO 23, или ее дезамидированный и/или окисленный вариант.

US2011/0159014

- например, антитело, имеющее переменный домен легкой цепи, содержащий гиперпеременные области SEQ ID NO: 1” .
- например, антитело, имеющее переменный домен тяжелой цепи, содержащий гиперпеременные области SEQ ID NO: 2.

US20090187007

Гликотоп: TrasGEX антитела <http://www.glycotope.com/pipeline>

Например, см. International Joint Cancer Institute and Changhai Hospital Cancer Cent: HMTI-Fc Ab - Gao J., et al *BMB Rep.* 2009 Oct 31;42(10):636-41.

Symphogen: US20110217305

Union Stem Cell & Gene Engineering, China - Liu HQ., et al *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi.* 2010 May;26(5):456-8.

**(18) NCA (CEACAM6)**

Нуклеотид

Genbank, номер доступа M18728

Genbank, версия номер M18728.1 GI:189084

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:48 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAA59907

Genbank, версия номер AAA59907.1 GI:189085

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:48 дп

Перекрестные ссылки

Barnett T., *et al Genomics* 3, 59-66, 1988; Tawaragi Y., *et al Biochem. Biophys. Res. Commun.* 150, 89-96, 1988; Strausberg R.L., *et al Proc. Natl. Acad. Sci.* 99. 16899-16903, 2002; WO2004/063709; EP 1439393 (пункт 7); WO 2004/044178 (пример 4); WO2004/031238; WO 2003/042661 (пункт 12); WO2002/78524 (пример 2); WO2002/86443 (пункт 27; страница 427); WO2002/60317 (пункт 2); Присоединение: P40199; Q14920; EMBL; M29541; AAA59915.1.  
EMBL; M18728.

(19) *MDP (DPEP1)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа BC017023

Genbank, версия номер BC017023.1 GI:16877538

Genbank, дата обновления записи: 6 марта, 2012, 01:00 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAN17023

Genbank, версия номер AAN17023.1 GI:16877539

Genbank, дата обновления записи: 6 марта, 2012, 01:00 пп

Перекрестные ссылки

*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99 (26): 16899-16903 (2002)); WO 2003/016475 (пункт 1); WO2002/64798 (пункт 33; страницы 85-87); JP 05003790 (фиг. 6-8); WO 99/46284 (фиг. 9); MIM: 179780.

(20) *IL20R-alpha (IL20Ra, ZCYTOR7)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа AF184971

Genbank, версия номер AF184971.1 GI:6013324

Genbank, дата обновления записи: 10 марта, 2010, 10:00 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAF01320

Genbank, версия номер AAF01320.1 GI:6013325

Genbank, дата обновления записи: 10 марта, 2010, 10:00 пп

Перекрестные ссылки

Clark H.F., *et al Genome Res.* 13, 2265-2270, 2003; Mungall A.J., *et al Nature* 425, 805-811, 2003; Blumberg H., *et al Cell* 104, 9-19, 2001; Dumoutier L., *et al J. Immunol.* 167, 3545-3549, 2001; Parrish-Novak J., *et al J. Biol. Chem.* 277, 47517-47523, 2002; Pletnev S., *et al* (2003) *Biochemistry* 42:12617-12624; Sheikh F., *et al* (2004) *J. Immunol.* 172, 2006-2010; EP 1394274 (пример 11); US 2004/005320 (пример 5); WO 2003/029262 (стр. 74-75); WO 2003/002717 (пункт 2; страница 63); WO2002/22153 (стр. 45-47); US2002/042366 (Страница 20-21); WO2001/46261 (стр. 57-59); WO2001/46232 (стр. 63-65); WO98/37193 (пункт 1; страница 55-59); образец: Q9UHF4; Q6UWA9; Q96SH8; EMBL; AF184971; AAF01320.1.

(21) бревиканец (*BCAN, BEHAV*)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа AF229053

Genbank, версия номер AF229053.1 GI:10798902

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 12:58 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAG23135

Genbank, версия номер AAG23135.1 GI:10798903

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 12:58 дп

Перекрестные ссылки

Gary S.C., *et al Gene* 256, 139-147, 2000; Clark H.F., *et al Genome Res.* 13, 2265-2270, 2003; Strausberg R.L., *et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99, 16899-16903, 2002; US 2003/186372 (пункт 11); US 2003/186373 (пункт 11); US 2003/119131 (пункт 1; фиг. 52); US 2003/119122 (пункт 1; фиг. 52); US 2003/119126 (пункт 1); US 2003/119121 (пункт 1; рисунок 52); US 2003/119129 (пункт 1); US 2003/119130 (пункт 1); US 2003/119128 (пункт 1; фиг. 52); US 2003/119125 (пункт 1); WO 2003/016475 (пункт 1); WO2002/02634 (пункт 1)

(22) *EphB2R (DRT, ERK, Hek5, EPHT3, Tyro5)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_004442

Genbank, версия номер NM\_004442.6 GI:111118979

Genbank, дата обновления записи: 8 сентября, 2012, 04:43 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_004433

Genbank, версия номер NP\_004433.2 GI:21396504

Genbank, дата обновления записи: 8 сентября, 2012, 04:43 пп

Перекрестные ссылки

Chan, J. and Watt, V.M., Oncogene 6 (6), 1057-1061 (1991) Oncogene 10 (5):897-905 (1995), Annu. Rev. Neurosci. 21: 309-345 (1998), Int. Rev. Cytol. 196: 177-244 (2000)); WO2003042661 (пункт 12); WO200053216 (пункт 1; страница 41); WO2004065576 (пункт 1); WO2004020583 (пункт 9); WO2003004529 (стр. 128-132); WO200053216 (пункт 1; страница 42); МИМ: 600997.

(23) *ASLG659 (B7h)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа AX092328

Genbank, версия номер AX092328.1 GI:13444478

Genbank, дата обновления записи: 26 января, 2011, 07:37 дп

Перекрестные ссылки

US 2004/0101899 (пункт 2); WO 2003104399 (пункт 11); WO2004000221 (фиг.3); US 2003/165504 (пункт 1); US 2003/124140 (пример 2); US 2003/065143 (фиг. 60); WO2002/102235 (пункт 13; страница 299); US 2003/091580 (пример 2); WO2002/10187 (пункт 6; фиг.10); WO 2001/94641 (пункт 12; фиг. 7b); WO 2002/02624 (пункт 13; фиг. 1A-1B); US 2002/034749 (пункт 54; страницы 45-46); WO2002/06317 (пример 2; страница 320-321, пункт 34; страница 321-322); WO2002/71928 (стр. 468-469); WO2002/02587 (пример 1; фиг.1); WO 2001/40269 (пример 3; страницы 190-192); WO 2000/36107 (пример 2; страница 205-207); WO 2004/053079 (пункт 12); WO 2003/004989 (пункт 1); WO2002/71928 (стр. 233-234, 452-453); WO 01/16318.

(24) *PSCA (предшественник антигена стволовых клеток предстательной железы)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа AJ297436

Genbank, версия номер AJ297436.1 GI:9367211

Genbank, дата обновления записи: 1 февраля, 2011, 11:25 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа CAB97347

Genbank, версия номер AJ297436.1 GI:9367211

Genbank, дата обновления записи: 1 февраля, 2011, 11:25 дп

Перекрестные ссылки

Reiter R.E., *et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 1735-1740, 1998; Gu Z., *et al Oncogene* 19, 1288-1296, 2000; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2000) 275 (3): 783-788; WO2004/022709; EP 1394274 (пример 11); US 2004/018553 (пункт 17); WO 2003/008537 (пункт 1); WO2002/81646 (пункт 1; страница 164); WO 2003/003906 (пункт 10; страница 288); WO 2001/40309 (пример 1; фиг. 17); US 2001/055751 (пример 1; фиг. 1b); WO 2000/32752 (пункт 18; фиг. 1); WO98/51805 (пункт 17; страница 97); WO98/51824 (пункт 10; страница 94); WO 98/40403 (пункт 2; фиг. 1B); Присоединение: O43653; EMBL; AF043498; AAC39607.1

**(25) GEDA**Нуклеотид

Genbank, номер доступа AY260763

Genbank, версия номер AY260763.1 GI:30102448

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 02:24 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAP14954

Genbank, версия номер AAP14954.1 GI:30102449

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 02:24 дп

Перекрестные ссылки

AAP14954 lipoma HMGIC fusion-partnerlike protein /pid=AAP14954.1 - Homo sapiens (человек); WO2003/054152 (п. 20); WO2003/000842 (п. 1); WO2003/023013 (Пример 3, п. 20); US2003/194704 (п. 45); GI:30102449;

**(26) BAFF-R (рецептор фактора активации В-клеток, рецептор BLyS 3, BR3)**Нуклеотид

Genbank, номер доступа AF116456

Genbank, версия номер AF116456.1 GI:4585274

Genbank, дата обновления записи: 10 марта, 2010, 09:44 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAD25356

Genbank, версия номер AAD25356.1 GI:4585275

Genbank, дата обновления записи: 10 марта, 2010, 09:44 пп

Перекрестные ссылки

BAFF receptor /pid=NP\_443177.1 - Homo sapiens: Thompson, J.S., *et al Science* 293 (5537), 2108-2111 (2001); WO2004/058309; WO2004/011611; WO2003/045422 (пример; стр. 32-33); WO2003/014294 (п. 35; фиг. 6B); WO2003/035846 (п. 70; стр. 615-616); WO2002/94852 (Col 136-137); WO2002/38766 (п. 3; стр. 133); WO2002/24909 (пример 3; фиг. 3); MIM:606269; NP\_443177.1; NM\_052945\_1; AF132600

(27) CD22 (изоформа B CD22 рецептора В-клеток, BL-CAM, Lyb-8, Lyb8, SIGLEC-2, FLJ22814)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа AK026467

Genbank, версия номер AK026467.1 GI:10439337

Genbank, дата обновления записи: 11 сентября, 2006, 11:24 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа BAV15489

Genbank, версия номер BAV15489.1 GI:10439338

Genbank, дата обновления записи: 11 сентября, 2006, 11:24 пп

Перекрестные ссылки

Wilson *et al* (1991) *J. Exp. Med.* 173:137-146; WO2003/072036 (п. 1; фиг. 1); IM:107266; NP\_001762.1; NM\_001771\_1.

(27a) CD22 (молекула CD22)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа X52785

Genbank, версия номер X52785.1 GI:29778

Genbank, дата обновления записи: 2 февраля, 2011, 10:09 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа CAA36988

Genbank, версия номер CAA36988.1 GI:29779

Genbank, дата обновления записи: 2 февраля, 2011, 10:09 дп

Перекрестные ссылки

Stamenkovic I. et al., *Nature* 345 (6270), 74-77 (1990)

Прочая информация

Официальный символ: CD22

Другие названия: SIGLEC-2, SIGLEC2

Другие обозначения: Другие обозначения: рецептор CD22 В-клеток; молекула клеточной адгезии В-лимфоцитов; BL-CAM; антиген CD22; антиген Leu-14 поверхности Т-клеток; Ig-подобный лектин 2 связывания сиаловой кислоты; Ig-подобный лектин 2, связывающий сиаловую кислоту

*АНТИТЕЛА*

G5/44 (инотузумаб): DiJoseph JF., et al *Cancer Immunol Immunother.* 2005 Jan;54(1):11-24.

Epratuzumab- Goldenberg DM., et al *Expert Rev Anticancer Ther.* 6 (10): 1341-53, 2006.

(28) *CD79a (CD79A, CD79альфа), иммуноглобулин-ассоциированный альфа, специфичный к В-клеткам белок, который ковалентно взаимодействует с Ig бета (CD79B) и образует комплекс на поверхности с молекулами Ig M, 4,84, MM: 25028 TM: 2 [P] Хромосома гена: 19q13.2).*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_001783

Genbank, версия номер NM\_001783.3 GI:90193587

Genbank, дата обновления записи: 26 июня, 2012, 01:48 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_001774

Genbank, версия номер NP\_001774.1 GI:4502685

Genbank, дата обновления записи: 26 июня, 2012, 01:48 пп

#### Перекрестные ссылки

WO 2003/088808, US 2003/0228319; WO 2003/062401 (пункт 9); US 2002/150573 (пункт 4, страницы 13-14); WO 99/58658 (пункт 13, фиг. 16); WO92/07574 (фиг.1); US5644033; Ha et al. (1992) *J. Immunol.* 148(5):1526-1531; Müller et al (1992) *Eur. J. Immunol.* 22: 1621-1625; Hashimoto et al (1994) *Immunogenetics* 40(4):287-295; Preud'homme et al (1992) *Clin. Exp. Immunol.* 90(1):141-146; Yu et al (1992) *J. Immunol.* 148(2) 633-637; Sakaguchi et al (1988) *EMBO J.* 7(11):3457-3464

*(29) CXCR5 (рецептор 1 лимфомы Беркитта, рецептор, связанный с белком Г, который активируется*

*хемокином CXCL13, участвует в миграции лимфоцитов и гуморальной защите, играет роль в инфекции ВИЧ-2 и возможно развитии СПИДа, лимфомы, миеломы и лейкоза); 372 aa, pI: 8,54 MM: 41959 TM: 7 [P] Хромосома гена: 11q23.3,*

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_001716

Genbank, версия номер NM\_001716.4 GI:342307092

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:49 пп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_001707

Genbank, версия номер NP\_001707.1 GI:4502415

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:49 пп

#### Перекрестные ссылки

WO2004/040000; WO2004/015426; US 2003/105292 (пример 2); US6555339 (пример 2); WO2002/61087 (фиг.1); WO 2001/57188 (пункт 20, страница 269); WO 2001/72830 (страницы 12-13); WO 2000/22129 (пример 1, страницы 152-153, пример 2, страницы 254-256); WO 99/28468 (пункт формулы изобретения 1, стр. 38); US 54440021 (пример 2, столбец 49-52); WO94/28931 (страницы 56-58); WO92/17497 (пункт формулы изобретения 7, фиг.5); Dobner et al (1992) *Eur. J. Immunol.* 22:2795-2799; Varella et al (1995) *Biochem. J.* 309: 773-779

(30) *HLA-DOB* (бета-субъединица молекулы II класса МНС (антиген Ia), которые связывает пептиды и

предоставляет их в лимфоциты CD4+ T); 273 aa, pI: 6,56, MM: 30820.TM: 1 [P]

Хромосома гена:

6p21.3)

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_002120

Genbank, версия номер NM\_002120.3 GI:118402587

Genbank, дата обновления записи: 8 сентября, 2012, 04:46 пп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_002111

Genbank, версия номер NP\_002111.1 GI:4504403

Genbank, дата обновления записи: 8 сентября, 2012, 04:46 пп

#### Перекрестные ссылки

Tonnelle *et al* (1985) *EMBO J.* 4(11):2839-2847; Jonsson *et al* (1989) *Immunogenetics* 29(6):411-413; Beck *et al* (1992) *J. Mol. Biol.* 228:433-441; Strausberg *et al* (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 99:16899- 16903; Serenius *et al* (1987) *J. Biol. Chem.* 262:8759-8766; Beck *et al* (1996) *J. Mol. Biol.* 255:1-13; Naruse *et al* (2002) *Tissue Antigens* 59:512-519; WO99/58658 (п. 13, фиг. 15); US6153408 (столб. 35-38); US5976551 (столб. 168-170); US6011146 (столб. 145-146); Kasahara *et al* (1989) *Immunogenetics* 30(1):66-68; Larhammar *et al* (1985) *J. Biol. Chem.* 260 (26): 14111-14119

(31) *P2X5* (лиганд-управляемый ионный канал пуриnergического рецептора P2X, ионный канал, управляемый

внеклеточной АТФ, может участвовать в синаптической трансмиссии и нейрогенезе, дефицит

может способствовать патофизиологии идиопатической нестабильности детрузора); 422 aa), pI: 7,63,

MM: 47206 TM: 1 [P] Хромосома гена: 17p13.3).

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_002561

Genbank, версия номер NM\_002561.3 GI:325197202

Genbank, дата обновления записи: 27 июня, 2012, 12:41 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_002552

Genbank, версия номер NP\_002552.2 GI:28416933

Genbank, дата обновления записи: 27 июня, 2012, 12:41 дп

Перекрестные ссылки

Le *et al* (1997) *FEBS Lett.* 418(1-2):195-199; WO2004/047749; WO2003/072035 (п. 10); Touchman *et al* (2000) *Genome Res.* 10:165-173; WO2002/22660 (п. 20); WO2003/093444 (п. 1); WO2003/087768 (п. 1); WO2003/029277 (страница 82)

(32) *CD72 (антиген дифференцировки В-клеток CD72, Lyb-2); 359 aa, pI: 8,66, MM: 40225, TM: 1 [P] Хромосома гена: 9p13.3).*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_001782

Genbank, версия номер NM\_001782.2 GI:194018444

Genbank, дата обновления записи: 26 июня, 2012, 01:43 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_001773

Genbank, версия номер NP\_001773.1 GI:4502683

Genbank, дата обновления записи: 26 июня, 2012, 01:43 пп

Перекрестные ссылки

WO2004042346 (п. 65); WO2003/026493 (страницы 51-52, 57-58); WO2000/75655 (страницы 105-106); Von Hoegen *et al* (1990) *J. Immunol.* 144(12):4870-4877; Strausberg *et al* (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 99:16899-16903.

(33) *LY64 (лимфоцитарный антиген 64 (RP105), мембранный белок I типа семейства с высоким содержанием лейцина (LRR), регулирует активацию и апоптоз В-клеток, потеря функции связана с повышенной активностью заболевания у пациентов с системной красной волчанкой); 661 aa, pI: 6,20, MM: 74147 TM: 1 [P] Хромосома гена: 5q12).*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_005582

Genbank, версия номер NM\_005582.2 GI:167555126

Genbank, дата обновления записи: 2 сентября, 2012, 01:50 пп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_005573

Genbank, версия номер NP\_005573.2 GI:167555127

Genbank, дата обновления записи: 2 сентября, 2012, 01:50 пп

#### Перекрестные ссылки

US2002/193567; WO97/07198 (п. 11, страницы 39-42); Miura et al (1996) Genomics 38(3):299-304; Miura et al (1998) Blood 92:2815-2822; WO2003/083047; WO97/44452 (п. 8, страницы 57-61); WO2000/12130 (страницы 24-26).

*(34) FcRH1 (рецептор-подобный белок 1 Fc, предполагаемый рецептор к домену Fc иммуноглобулина,*

*который содержит Ig-подобный домен типа C2 и домен ITAM, может играть роль в 5,28, MM: 46925 TM: 1 [P] Хромосома гена: 1q21-1q22)*

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_052938

Genbank, версия номер NM\_052938.4 GI:226958543

Genbank, дата обновления записи: 2 сентября, 2012, 01:43 пп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_443170

Genbank, версия номер NP\_443170.1 GI:16418419

Genbank, дата обновления записи: 2 сентября, 2012, 01:43 пп

#### Перекрестные ссылки

WO2003/077836; WO 2001/38490 (пункт 6, фиг. 18E-1-18-E-2); Davis et al. (2001) Proc. Natl. Acad. Sci USA 98 (17): 9772-9777; WO 2003/089624 (пункт 8); EP1347046 (пункт 1); WO 2003/089624 (пункт 7).

*(35) IRTA2 (рецептор иммуноглобулинового суперсемейства, ассоциированный с транслокацией 2, предполагаемый*

*иммунорецептор с возможным участием в развитии В-клеток и лимфомагенезе; разрегуляция гена вследствие транслокации происходит при некоторых В-клеточных злокачественных заболеваниях); 977 aa, pI:*

*6,88, MM: 106468, TM: 1 [P] Хромосома гена: 1q21)*

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа AF343662

Genbank, версия номер AF343662.1 GI:13591709

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 01:16 дп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа AAK31325

Genbank, версия номер AAK31325.1 GI:13591710

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 01:16 дп

#### Перекрестные ссылки

AF343663, AF343664, AF343665, AF369794, AF397453, AK090423, AK090475, AL834187, AY358085; мыши: AK089756, AY158090, AY506558; NP\_112571.1; WO2003/024392 (п. 2, Фиг. 97); Nakayama *et al* (2000) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 277 (1): 124-127; WO2003/077836; WO 2001/38490 (пункт 3, фиг. 18B-1-18B-2).

*(36) TENB2 (TMEFF2, томорегулин, TPEF, HPPI, TR, предполагаемый трансмембранный протеогликан, связанный с семейством EGF/геререгулина факторов роста и фоллистатина); 374 aa)*

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа AF179274

Genbank, версия номер AF179274.2 GI:12280939

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 01:05 дп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа AAD55776

Genbank, версия номер AAD55776.2 GI:12280940

Genbank, дата обновления записи: 11 марта, 2010, 01:05 дп

#### Перекрестные ссылки

Доступ NCBI: AAD55776, AAF91397, AAG49451, эталонная последовательность NCBI: NP\_057276; NCBI

Ген: 23671; OMIM: 605734; SwissProt Q9UIK5; AY358907, CAF85723, CQ782436; WO2004/074320; JP2004113151; WO2003/042661; WO2003/009814; EP1295944 (страницы 69-70); WO2002/30268 (страница 329); WO2001/90304; US2004/249130; US2004/022727; WO2004/063355; US2004/197325; US2003/232350; US2004/005563; US2003/124579; Horie et al (2000) *Genomics* 67:146-152; Uchida et al (1999) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 266:593-602; Liang et al (2000) *Cancer Res.* 60:4907-12; Glynne-Jones et al (2001) *Int J Cancer.* Oct 15; 94(2):178-84.

(37) *PSMA – FOLH1 (Фолатгидролаза (простата-специфический мембранный антиген) 1)*

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа M99487

Genbank, версия номер M99487.1 GI:190663

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:48 дп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа AAA60209

Genbank, версия номер AAA60209.1 GI:190664

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:48 дп

#### Перекрестные ссылки

Israeli R.S., et al *Cancer Res.* 53 (2), 227-230 (1993)

#### Прочая информация

Официальный символ: FOLH1

Другие названия: GIG27, FGCP, FOLH, GCP2, GCPII, NAALAD1, NAALAdase, PSM, PSMA, mGCP

Другие обозначения: N-ацетилированная альфа-связанная кислотная дипептидаза 1; N-ацетилированная-альфа-связанная кислотная дипептидаза I; NAALADase I; белок гена 27, ингибирующего рост клетки; фолиполи-гамма-глутамат-карбоксихептидаза; глутаматкарбоксихлаза II; глутамат-карбоксихептидаза 2; глутамат-карбоксихептидаза II; мембранная глутамат-карбоксихептидаза; вариант F простата-специфического мембранного антигена; птероилполи-гамма-глутамат-карбоксихептидаза

*АНТИТЕЛА*

US 7666425:

Антитела, получаемые с помощью гибридом, имеющих следующие ссылки ATCC: номер доступа ATCC HB-12101, номер доступа ATCC HB-12109, номер доступа ATCC HB-12127 и номер доступа ATCC HB-12126.

Моноклональное антитело, выбранное из группы, состоящей из 8H12, 3E11, 17G1, 29B4, 30C1 и 20F2 (US 7811564; Moffett S., et al Hybridoma (Larchmt). 2007 Dec;26(6):363-72).

Цитоген: моноклональные антитела 7E11-C5 (номер доступа ATCC HB 10494) и 9H10-A4 (номер доступа ATCC HB11430) – US 5763202

GlycoMimetics: NUH2 – номер доступа ATCC HB 9762 (US 7135301)

Human Genome Science: HPRAJ70 – номер доступа ATCC 97131 (US 6824993); аминокислотная последовательность, кодируемая клоном кДНК (HPRAJ70), размещенным в Американской коллекции типовых культур («ATCC») под депозитарным номером 97131

Medarex: анти-PSMA антитела, не имеющие фукозильных остатков - US 7875278

Мышиные анти-PSMA антитела включают 3F5.4G6, 3D7.1.1, 4E10-1.14, 3E11, 4D8, 3E6, 3C9, 2C7, 1G3, 3C4, 3C6, 4D4, 1G9, 5C8B9, 3G6, 4C8B9 и моноклональные антитела. Гибридомы, секретирующие 3F5.4G6, 3D7.1.1, 4E10-1.14, 3E11, 4D8, 3E6, 3C9, 2C7, 1G3, 3C4, 3C6, 4D4, 1G9, 5C8B9, 3G6 или 4C8B9, открыто внесены в депозитарий и описаны в патенте США № 6159508. Соответствующие гибридомы были публично депонированы и описаны в патенте США No. 6107090. Кроме того, гуманизированные антит-PSMA антитела, включая гуманизованную версию J591, более подробно описаны в публикации PCT WO 02/098897.

В данной области техники описаны другие мышиные анти-человеческие антитела, такие как mAb 107-1A4 (Wang, S. et al. (2001) Int. J. Cancer 92:871-876) и mAb 2C9 (Kato, K. et al. (2003) Int. J. Urol. 10: 439-444).

Примеры человеческих анти-PSMA моноклональных антител включают антитела 4A3, 7F12, 8C12, 8A11, 16F9, 2A10, 2C6, 2F5 и 1C3, выделенные и структурно описанные так, как изначально описано в публикациях PCT WO 01/09192 и WO 03/064606 и в предварительной заявке на патент США с серийным номером № 60/654125, озаглавленный «Моноклональные антитела человека к простатическому специфическому мембранному антигену (PSMA)», поданный 18 февраля 2005 года. Аминокислотные последовательности  $V_H$  4A3, 7F12, 8C12, 8A11, 16F9, 2A10, 2C6, 2F5 и 1C3 представлены в SEQ ID NO: 1-9, соответственно. Аминокислотные последовательности  $V_L$  4A3, 7F12, 8C12, 8A11, 16F9, 2A10, 2C6, 2F5 и 1C3 представлены в SEQ ID NO: 10-18, соответственно.

Другие человеческие анти-PSMA антитела включают антитела, описанные в публикации PCT WO 03/034903 и в заявке на патент США № 2004/0033229.

NW Biotherapeutics: Гибридная клеточная линия, выбранная из группы, состоящей из 3F5.4G6, имеющей номер доступа ATCC HB12060, 3D7-1.I, имеющей номер доступа ATCC HB12309, 4E10-1.14, имеющей номер доступа ATCC HB12310, 3E11 (ATCC HB12488), 4D8 (ATCC HB12487), 3E6 (ATCC HB12486), 3C9 (ATCC HB12484), 2C7 (ATCC HB12490), 1G3 (ATCC HB12489), 3C4 (ATCC HB12494), 3C6 (ATCC HB12491), 4D4 (ATCC HB12493), 1G9 (ATCC HB12495), 5C8B9 (ATCC HB12492) и 3G6 (ATCC HB12485) – см. US 6150508

mAb 3.9, вырабатываемое гибридомой, внесенной в депозитарий под номером доступа ATCC PTA-3258, или mAb 10.3, вырабатываемое гибридомой, внесенной в депозитарий под номером доступа ATCC PTA-3347 - US 7850971

PSMA Development Company – композиции PSMA антител (US 20080286284, таблица 1)

Указанная заявка представляет собой выделенную заявку из заявки на патент США с серийным номером 10/395894, поданной 21 марта 2003 года (US 7850971)

University Hospital Freiburg, Germany - mAbs 3/A12, 3/E7, и 3/F11 (Wolf P., et al *Prostate*. 2010 Apr 1;70(5):562-9).

(38) SST (рецептор соматостатина; следует учитывать, что существует 5 подтипов)

(38.1) SSTR2 (рецептор соматостатина 2)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_001050

Genbank, версия номер NM\_001050.2 GI:44890054

Genbank, дата обновления записи: 19 августа, 2012, 01:37 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_001041

Genbank, версия номер NP\_001041.1 GI:4557859

Genbank, дата обновления записи: 19 августа, 2012, 01:37 пп

Перекрестные ссылки

Yamada Y., et al Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89 (1), 251-255 (1992); Susini C., et al Ann Oncol. 2006 Dec;17(12):1733-42

Прочая информация

Официальный символ: SSTR2

Другие обозначения: SRIF-1; SS2R; рецептор соматостатина 2 типа

(38.2) SSTR5 (рецептор соматостатина 5)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа D16827

Genbank, версия номер D16827.1 GI:487683

Genbank, дата обновления записи: 1 августа, 2006, 12:45 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа BAA04107

Genbank, версия номер BAA04107.1 GI:487684

Genbank, дата обновления записи: 1 августа, 2006, 12:45 пп

Перекрестные ссылки

Yamada, Y., et al *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 195 (2), 844-852 (1993)

Прочая информация

Официальный символ: SSTR5

Другие названия: SS-5-R

Другие обозначения: Другие обозначения: рецептор соматостатина 5 подтипа; рецептор соматостатина 5 типа

(38.3) SSTR1

(38.4) SSTR3

(38.5) SSTR4

***AvB6 – Обе субъединицы (39+40)***

*(39) ITGAV (интегрин, альфа V)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа M14648 J02826 M18365

Genbank, версия номер M14648.1 GI:340306

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:56 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAA36808

Genbank, версия номер AAA36808.1 GI:340307

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:56 дп

Перекрестные ссылки

Suzuki S., et al *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83 (22), 8614-8618 (1986)

Прочая информация

Официальный символ: ITGAV

Другие названия: CD51, MSK8, VNRA, VTNR

Другие обозначения: антиген, определяемый моноклональным антителом L230; интегрин альфа-V; интегрин альфаV-бета3; интегрин, альфа V (рецептор витронектина, альфа-полипептид, антиген CD51); альфа-субъединица рецептора витронектина

*(40) ITGB6 (интегрин, бета 6)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_000888

Genbank, версия номер NM\_000888.3 GI:9966771

Genbank, дата обновления записи: 27 июня, 2012, 12:46 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_000879

Genbank, версия номер NP\_000879.2 GI:9625002

Genbank, дата обновления записи: 27 июня, 2012, 12:46 дп

Перекрестные ссылки

Sheppard D.J., et al *Biol. Chem.* 265 (20), 11502-11507 (1990)

Прочая информация

Официальный символ: ITGB6

Другие обозначения: интегрин бета-6

*АНТИТЕЛА*

Биоген: US 7943742 – гибридомные клоны 6.3G9 и 6.8G6 внесены в депозитарий ATCC с номерами доступа ATCC PTA-3649 и -3645, соответственно.

Биоген: US 7465449 – в некоторых вариантах реализации указанное антитело содержит такие же полипептидные последовательности тяжелой и легкой цепи, как антитело, вырабатываемое гибридомой 6.1A8, 6.3G9, 6.8G6, 6.2B1, 6.2B10, 6.2A1, 6.2E5, 7.1G10, 7.7G5 или 7.1C5.

Центокор (J&J): US 7550142; US 7163681

Например, в US 7550142 – антитело, имеющее вариабельные области человеческой тяжелой цепи и человеческой легкой цепи, содержащие аминокислотные последовательности, представленные в SEQ ID NO: 7 и SEQ ID NO: 8.

Seattle Genetics: 15H3 (Ryan MC., et al *Cancer Res* April 15, 2012; 72(8 Supplement): 4630)

(41) *CEACAM5 (молекула клеточной адгезии 5, связанная с карциноэмбриональным антигеном)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа M17303

Genbank, версия номер M17303.1 GI:178676

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:47 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAB59513

Genbank, версия номер AAB59513.1 GI:178677

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:47 дп

Перекрестные ссылки

Beauchemin N., et al *Mol. Cell. Biol.* 7 (9), 3221-3230 (1987)

Прочая информация

Официальный символ: CEACAM5

Другие названия: CD66e, SEA

Другие обозначения: антиген мекония 100

*АНТИТЕЛА*

AstraZeneca-MedImmune: US 20100330103; US20080057063;

US20020142359

- например, антитело, имеющее области, определяющие комплементарность (CDR), со следующими последовательностями: тяжелая цепь; CDR1 - DNYMH, CDR2 - WIDPENGDT E YAPKFRG, CDR3 - LIYAGYLAMD Y; и легкая цепь CDR1 - SASSSVTYMH, CDR2 - STSNLAS, CDR3 - QQRSTYPLT.
- гибридома 806.077, внесенная в депозитарий Европейской коллекции клеточных культур (ECACC) под депозитарным номером 96022936.

Research Corporation Technologies, Inc.: US 5047507

Bayer Corporation: US 6013772

BioAlliance: US 7982017; US 7674605

- US 7674605

- антитело, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 1, и

последовательность вариабельной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:2.

- антитело, содержащее последовательность вариабельной области тяжелой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:5, и последовательность вариабельной области легкой цепи из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:6.

Celltech Therapeutics Limited: US 5877293

The Dow Chemical Company: US 5472693; US 6417337; US 6333405

US 5472693 – например, ATCC № CRL-11215

US 6417337 – например, ATCC CRL-12208

US 6333405 – например, ATCC CRL-12208

Immunomedics, Inc: US 7534431; US 7230084; US 7300644; US 6730300;

US20110189085

- антитело, имеющее CDR вариабельной области легкой цепи, которые содержат: CDR1 содержит KASQDVGTSVA (SEQ ID NO: 20); CDR2 содержит WTSTRHT (SEQ ID NO: 21); и CDR3 содержит QQYSLYRS (SEQ ID NO: 22);  
и CDR вариабельной области тяжелой цепи указанного анти-CEA антитела, которые содержат: CDR1 содержит TYWMS (SEQ ID NO: 23); CDR2 содержит EHPDSSTINYAPSLKD (SEQ ID NO: 24); и CDR3 содержит LYFGFPWFAY (SEQ ID NO: 25).

US20100221175; US20090092598; US; US20110064653; US20090185974;  
US20080069775.

*(42) MET (прото-онкоген tet; рецептор фактора роста гепатоцитов)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа M35073

Genbank, версия номер M35073.1 GI:187553

Genbank, дата обновления записи: 6 марта, 2012, 11:12 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAA59589

Genbank, версия номер AAA59589.1 GI:553531

Genbank, дата обновления записи: 6 марта, 2012, 11:12 дп

#### Перекрестные ссылки

Dean M., et al *Nature* 318 (6044), 385-388 (1985)

#### Прочая информация

Официальный символ: MET

Другие названия: AUTS9, HGFR, RCCP2, c-Met

Другие обозначения: рецептор HGF; рецептор HGF/SF; рецептор SF; рецептор фактора роста гепатоцитов; прото-онкогенная тирозинкиназа met; прото-онкогенная c-Met; рецептор рассеивающего фактора; тирозин-протеинкиназа Met.

#### *АНТИТЕЛА*

Abgenix/Pfizer: US 20100040629

например, антитело, вырабатываемое гибридомой 13.3.2, имеющей номер доступа Американской коллекции типовых культур (ATCC) PTA-5026; антитело, вырабатываемое гибридомой 9.1.2, имеющей номер доступа ATCC PTA-5027; антитело, вырабатываемое гибридомой 8.70.2, имеющей номер доступа ATCC PTA-5028; или антитело, вырабатываемое гибридомой 6.90.3, имеющей номер доступа ATCC PTA-5029.

Amgen/Pfizer: US20050054019

например, антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 2, где X2 представляет собой глутамат, и X4 представляет собой серин, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 4, где X8 представляет собой аланин, без сигнальных последовательностей; антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 6, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 8, без сигнальных последовательностей; антитело, содержащее тяжелую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 10, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 12, без сигнальных последовательностей; или антитело, содержащее тяжелую цепь,

имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 14, и легкую цепь, имеющую аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 16, без сигнальных последовательностей.

Agouron Pharmaceuticals (в настоящее время Pfizer): US 20060035907

Eli Lilly: US20100129369

Genentech: US5686292; US20100028337; US20100016241; US20070129301; US20070098707; US20070092520, US20060270594; US20060134104; US20060035278; US20050233960; US20050037431

US 5686292 – например, ATCC HB-11894 и ATCC HB-11895

US 20100016241 – например, ATCC HB-11894 (гибридома 1A3.3.13) или HB-11895 (гибридома 5D5.11.6)

National Defense Medical Center, Тайвань: Lu RM., et al Biomaterials. 2011 Apr;32(12):3265-74.

Novartis: US 20090175860

- например, антитело, содержащее последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 4687, где последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 тяжелой цепи 4687 представляют собой остатки 26-35, 50-65 и 98-102, соответственно, от SEQ ID NO: 58; и последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 5097, где последовательности CDR1, CDR2 и CDR3 легкой цепи 5097 представляют собой остатки 24-39, 55-61 и 94-100 от SEQ ID NO: 37.

Pharmacia Corporation: US 20040166544

Pierre Fabre: US20110239316, US 20110097262, US20100115639

Samsung: US 20110129481 – например, моноклональное антитело, вырабатываемое гибридной клеткой, имеющей номер доступа KCLRF-BP-00219 или номер доступа KCLRF-BP-00223.

Samsung: US 20110104176 – например, антитело, вырабатываемое гибридной клеткой, имеющей номер доступа: KCLRF-BP-00220.

University of Turin Medical School: DN-30 Pacchiana G., et al *J Biol Chem.* 2010 Nov 12;285(46):36149-57

Van Andel Research Institute: Jiao Y., et al *Mol Biotechnol.* 2005 Sep;31(1):41-54.

(43) *MUC1* (муцин 1, связанный с клеточной поверхностью)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа J05581

Genbank, версия номер J05581.1 GI:188869

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:48 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAA59876

Genbank, версия номер AAA59876.1 GI:188870

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:48 дп

Перекрестные ссылки

Gendler S.J., et al *J. Biol. Chem.* 265 (25), 15286-15293 (1990)

Прочая информация

Официальный символ: MUC1

Другие названия: RP11-263K19.2, CD227, EMA, H23AG, KL-6, MAM6, MUC-1, MUC-1/SEC, MUC-1/X, MUC1/ZD, PEM, PEMT, PUM

Другие обозначения: антиген DF3; антиген H23; антиген DF3, связанный с карциномой молочной железы; муцин, связанный с карциномой; эписиалин; Krebs von den Lungen-6; муцин 1, трансмембранный; муцин-1; арахис-реактивный муцин мочевого пузыря; полиморфный эпителиальный муцин; опухолеассоциированный эпителиальный муцин; опухолеассоциированный эпителиальный мембранный антиген; опухолеассоциированный муцин

*АНТИТЕЛА*

AltaRex - Quest Pharma Tech: US 6716966 – например, антитело Alt-1, вырабатываемое гибридомой с номером ATCC PTA-975.

AltaRex - Quest Pharma Tech: US 7147850

CRT: 5E5 - Sørensen AL., et al *Glycobiology* vol. 16 no. 2 pp. 96–107, 2006; HMFG2 – Burchell J., et al *Cancer Res.*, 47, 5476–5482 (1987); see WO2015/159076

Гликотоп GT-MAВ: GT-MAВ 2.5-GEX (вебсайт: <http://www.glycotope.com/pipeline/pankomab-gex>)

Immunogen: US 7202346

- например, антитело MJ-170: гибридная клеточная линия MJ-170, ATCC номер доступа. PTA-5286
- Моноклональное антитело MJ-171: гибридная клеточная линия MJ-171, номер доступа ATCC. PTA-5287;
- моноклональное антитело MJ-172: гибридная клеточная линия MJ-172 ATCC номер доступа. PTA-5288; или моноклональное антитело MJ-173: гибридная клеточная линия MJ-173, номер доступа ATCC. PTA-5302

Immunomedics: US 6653104

Ramot Tel Aviv Uni: US 7897351

Regents Uni. CA: US 7,183,388; US20040005647; US20030077676.

Roche GlycArt: US 8021856

Российский онкологический научный центр: Imuteran- Ivanov PK., et al *Biotechnol J.* 2007 Jul;2(7):863-70

Technische Univ Braunschweig: (ПВ6, HT186-B7, HT186-D11, HT186-G2, HT200-3A-C1, HT220-M-D1, HT220-M-G8) - Thie H., et al *PLoS One.* 2011 Jan 14;6(1):e15921

(44) CA9 (карбонатгидраза IX)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа X66839

Genbank, версия номер X66839.1 GI:1000701

Genbank, дата обновления записи: 2 февраля, 2011, 10:15 дп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа CAA47315

Genbank, версия номер CAA47315.1 GI:1000702

Genbank, дата обновления записи: 2 февраля, 2011, 10:15 дп

#### Перекрестные ссылки

Pastorek J., et al *Oncogene* 9 (10), 2877-2888 (1994)

#### Прочая информация

Официальный символ: CA9

Другие названия: CAIX, MN

Другие обозначения: CA-IX; P54/58N; RCC-ассоциированный антиген G250; RCC-ассоциированный белок G250; карбонат-дегидратаза IX; карбонангидраза 9; карбоангидраза; мембранный антиген MN; рMW1; антиген G250, ассоциированный с почечноклеточной карциномой

#### *АНТИТЕЛА*

Abgenix/Amgen: US20040018198

Аффитело: молекулы анти-CAIX аффитела

(<http://www.affibody.com/en/Product-Portfolio/Pipeline/>)

Bayer: US 7462696

Bayer/Morphosys: 3ee9 mAb - Petrus HM., et al *Mol Cancer Ther.* 2012 Feb;11(2):340-9

Harvard Medical School: Антитела G10, G36, G37, G39, G45, G57, G106, G119, G6, G27, G40 и G125. Xu C., et al *PLoS One.* 2010 Mar 10;5(3):e9625

Институт вирусологии, Словацкая академия наук (Bayer) – US 5955075

- например, M75, номер доступа ATCC HB 11128, или MN12, номер доступа ATCC HB 11647

Институт вирусологии, Словацкая академия наук: US 7816493

- например, моноклональное антитело M75, которое секретируется из гибридомы VU-M75, внесенной в депозитарий Американской коллекции типовых культур под номером ATCC HB 11128; или моноклональное антитело V/10, секретируемое из гибридомы V/10-VU, внесенной в Бельгийскую координированную коллекцию микроорганизмов Международной депозитарной организации в лаборатории Laboratorium voor Moleculaire Biologie-Plasmidencollectie (LMBP) Гентского университета в г. Гент, Бельгия, под номером доступа LMBP 6009CB.

Институт вирусологии, Словацкая академия наук US20080177046; US20080176310; US20080176258; US20050031623

Novartis: US20090252738

Wilex: US 7691375 – например, антитело, вырабатываемое гибридомной клеточной линией DSM ASC 2526.

Wilex: US20110123537; Rencarex: Kennett RH., et al *Curr Opin Mol Ther.* 2003 Feb;5(1):70-5

Xencor: US 20090162382

(45) *EGFRvIII (рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), транскрипционный вариант 3,*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_201283

Genbank, версия номер NM\_201283.1 GI:41327733

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:47 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_958440

Genbank, версия номер NP\_958440.1 GI:41327734

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:47 пп

Перекрестные ссылки

Batra SK., et al *Cell Growth Differ* 1995;6:1251–1259.

*АНТИТЕЛА:*

US 7628986 и US 7736644 (Amgen)

Например, аминокислотная последовательность вариабельной области тяжелой цепи, выбранная из группы, состоящей из SEQ ID NO: 142 и вариантов, и аминокислотная последовательность вариабельной области легкой цепи, выбранные из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 144 и вариантов.

US20100111979 (Amgen)

Например, антитело, содержащее аминокислотную последовательность тяжелой цепи, содержащую:

CDR1, состоящую из последовательности, выбранной из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей для области CDR1 антител 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16) и 333 (SEQ ID NO: 17); CDR2, состоящую из последовательности, выбранной из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей для области CDR2 антител 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16) и 333 (SEQ ID NO: 17);  
и

CDR3, состоящую из последовательности, выбранной из группы, состоящей из аминокислотных последовательностей для области CDR3 антител 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16) и 333 (SEQ ID NO: 17).

US20090240038 (Amgen)

Например, антитело, имеющее по меньшей мере один из полипептидов тяжелой или легкой цепи, который содержит аминокислотную последовательность, по

меньшей мере на 90% идентичную аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 144, и любой их комбинации.

US20090175887 (Amgen)

Например, антитело, имеющее аминокислотную последовательность тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из аминокислотной последовательности тяжелой цепи антитела 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16) и 333 (SEQ ID NO: 17).

US20090156790 (Amgen)

Например, антитело, имеющее полипептид тяжелой цепи и полипептид легкой цепи, причем по меньшей мере один из полипептидов тяжелой или легкой цепи содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична аминокислотной последовательности, выбранной из группы, состоящей из: SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 142, SEQ ID NO: 144, и любой их комбинации.

США 20090155282, США 20050059087 и США 20050053608 (Амген)

Например, антитело, имеющее аминокислотную последовательность тяжелой цепи, выбранную из группы, состоящей из аминокислотной последовательности тяжелой цепи антитела 13.1.2 (SEQ ID NO: 138), 131 (SEQ ID NO: 2), 170 (SEQ ID NO: 4), 150 (SEQ ID NO: 5), 095 (SEQ ID NO: 7), 250 (SEQ ID NO: 9), 139 (SEQ ID NO: 10), 211 (SEQ ID NO: 12), 124 (SEQ ID NO: 13), 318 (SEQ ID NO: 15), 342 (SEQ ID NO: 16) и 333 (SEQ ID NO: 17).

MR1-1 (US 7129332; Duke)

Например, вариантное антитело, имеющее последовательность SEQ ID NO 18 с замещениями S98P-T99Y в VH CDR3, и F92W в VL CDR3.

L8A4, H10, Y10 (Wikstrand CJ., et al *Cancer Res.* 1995 Jul 15;55(14):3140-8; Duke)

US20090311803 (Гарвардский университет)

Например, SEQ ID NO:9 для варибельной области тяжелой цепи антитела и SEQ ID NO: 3 для аминокислотной последовательности варибельной области легкой цепи

US20070274991 (EMD72000, также известный как матузумаб; Гарвардский университет)

Например, SEQ ID NO: 3 и 9 для легкой цепи и тяжелой цепи, соответственно

US 6129915 (Schering)

Например, SEQ. ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6.

mAb CH12 - Wang H., et al *FASEB J.* 2012 Jan;26(1):73-80 (Shanghai Cancer Institute).

RAbDMvIII - Gupta P., et al *BMC Biotechnol.* 2010 Oct 7;10:72 (Stanford University Medical Center).

mAb Ua30 - Ohman L., et al *Tumour Biol.* 2002 Mar-Apr;23(2):61-9 (Uppsala University).

Han DG., et al *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2010 Jan;30(1):25-9 (Xi'an Jiaotong University).

(46) CD33 (молекула CD33)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа M\_23197

Genbank, версия номер NM\_23197.1 GI:180097

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:47 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAA51948

Genbank, версия номер AAA51948.1 GI:188098

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:47 дп

Перекрестные ссылки

Simmons D., et al *J. Immunol.* 141 (8), 2797-2800 (1988)

Прочая информация

Официальный символ: CD33

Другие названия: SIGLEC-3, SIGLEC3, p67

Другие обозначения: антиген CD33 (gp67); gp67; поверхностный антиген миелоидной клетки CD33; Ig-подобный лектин 3, связывающий сиаловую кислоту; Ig-подобный лектин 3 связывания сиаловой кислоты

#### *АНТИТЕЛА*

H195 (линтузумаб) - Raza A., et al *Leuk Lymphoma*. 2009 Aug;50(8):1336-44; US6,759,045 (Seattle Genetics/Immunomedics)

mAb OKT9: Sutherland, D.R. et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 78(7): 4515-4519 1981, Schneider,C., et al *J Biol Chem* 257, 8516-8522 (1982)

mAb E6: Hoogenboom,H.R., et al *J Immunol* 144, 3211-3217 (1990)

US 6590088 (Human Genome Sciences)

Например, SEQ ID NO: 1 и 2, и номер доступа ATCC 97521

US 7557189 (Immunogen)

Например, антитело или его фрагмент, содержащий вариабельную область тяжелой цепи, которая содержит три CDR, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO:1-3, и вариабельную область легкой цепи, содержащую три CDR, имеющие аминокислотные последовательности SEQ ID NO:4-6.

(47) *CD19 (молекула CD19)*

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_001178098

Genbank, версия номер NM\_001178098.1 GI:296010920

Genbank, дата обновления записи: 10 сентября, 2012, 12:43 дп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_001171569

Genbank, версия номер NP\_001171569.1 GI:296010921

Genbank, дата обновления записи: 10 сентября, 2012, 12:43 дп

Перекрестные ссылки

Tedder TF., et al *J. Immunol.* 143 (2): 712–7 (1989)

Прочая информация

Официальный символ: CD19

Другие названия: B4, CVID3

Другие обозначения: В-лимфоцитарный антиген CD19; антиген B4 поверхности В-лимфоцитов; антиген Leu-12 поверхности Т-клеток; дифференцировочный антиген CD19

АНТИТЕЛА

Immunogen: HuB4 - Al-Katib AM., et al *Clin Cancer Res.* 2009 Jun 15;15(12):4038-45.

4G7: Kügler M., et al *Protein Eng Des Sel.* 2009 Mar;22(3):135-47

Например, последовательности на Фиг. 3 публикации Knappik, A. et al. Knappik, A. et al. *J Mol Biol* 2000 Feb;296(1):57-86

AstraZeneca /MedImmune: MEDI-551 - Herbst R., et al *J Pharmacol Exp Ther.* 2010 Oct;335(1):213-22

Гленмарк Фармацевтика: GBR-401 - Hou S., et al *Mol Cancer Ther* November 2011 (Meeting Abstract Supplement) C164

US 7109304 (Immunomedics)

Например, антитело, содержащее последовательность hA19Vk (SEQ ID NO:7) и последовательность hA19VH (SEQ ID NO:10)

US 7902338 (Immunomedics)

Например, антитело или его антиген-связывающий фрагмент, который содержит последовательности определяющих комплементарность областей CDR легкой цепи CDR1 SEQ ID NO: 16 (KASQSVDYDGDSYLN); CDR2 of SEQ ID NO: 17 (DASNLVS); и CDR3 SEQ ID NO: 18 (QQSTEDPWT) и CDR тяжелой цепи последовательности CDR1 SEQ ID NO: 19 (SYWMN); CDR2 SEQ ID NO: 20 (QIWPGDGDNTNYNGKFKG) и CDR3 SEQ ID NO: 21 (RETTTVGRYYYYAMDY), а также содержит каркасный участок (FR) человеческого антитела и последовательности константной области с одним или более аминокислотными

остатками каркасной области, замещенными из соответствующих последовательностей каркасной области исходного мышинового антитела, и причем указанные замещенные остатки FR содержат замещение серина на фенилаланин по остатку 91 Kabat вариабельной области тяжелой цепи.

Medarex: MDX-1342 – Cardarelli PM., et al *Cancer Immunol Immunother.* 2010 Feb;59(2):257-65.

MorphoSys /Xencor: MOR-208/XmAb-5574 - Zalevsky J., et al *Blood.* 2009 Apr 16;113(16):3735-43

US 7968687 (Seattle Genetics)

Антитело или антиген-связывающий фрагмент, содержащий вариабельный домен тяжелой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO:9, и вариабельный домен легкой цепи, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24.

4G7 chim - Lang P., et al *Blood.* 2004 May 15;103(10):3982-5 (University of Tübingen)

Например, Фиг. 6 и SEQ ID NO: 80 в US20120082664

Zhejiang University School of Medicine: 2E8 - Zhang J., et al *J Drug Target.* 2010 Nov;18(9):675-8

(48) *IL2RA* (рецептор интерлейкина 2, альфа); эталонная последовательность NCBI: NM\_000417.2);

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_000417

Genbank, версия номер NM\_000417.2 GI:269973860

Genbank, дата обновления записи: 09 сентября, 2012, 04:59 пп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_000408

Genbank, версия номер NP\_000408.1 GI:4557667

Genbank, дата обновления записи: 09 сентября, 2012, 04:59 пп

Перекрестные ссылки

Kuziel W.A., et al *J. Invest. Dermatol.* 94 (6 SUPPL), 27S-32S (1990)

Прочая информация

Официальный символ: IL2RA

Другие названия: RP11-536K7.1, CD25, IDDM10, IL2R, TCGFR

Другие обозначения: альфа-субъединица рецептора IL-2; IL-2-RA; альфа-субъединица IL-2R; IL2-RA; антиген TAC; альфа-субъединица рецептора интерлейкина-2; p55

АНТИТЕЛА

US 6383487 (Novartis/UCL: Baxilisimab [Simulect])

US 6521230 (Novartis/UCL: Baxilisimab [Simulect])

Например, антитело, имеющее антиген-связывающий сайт, который содержит по меньшей мере один домен, содержащий CDR1, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: ID. NO. 7, CDR2, имеющую аминокислотную последовательность SEQ. ID. NO. 8, и CDR3, имеющую аминокислотную последовательность SEQ ID. NO: 9; или указанные CDR1, CDR2 и CDR3 в последовательности в целом содержат аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 90% идентична SEQ ID NO: 7, 8 и 9 в последовательности в целом.

Даклизумаб – Rech A.J., et al *Ann NY Acad Sci.* 2009 Sep;1174:99-106 (Roche)

(49) *AXL (рецепторная тирозинкиназа AXL)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа M76125

Genbank, версия номер M76125.1 GI:292869

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:53 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAA61243

Genbank, версия номер AAA61243.1 GI:29870

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:53 дп

Перекрестные ссылки

O'Bryan J.P., et al *Mol. Cell. Biol.* 11 (10), 5016-5031 (1991); Bergsagel P.L., et al *J. Immunol.* 148 (2), 590-596 (1992)

Прочая информация

Официальный символ: AXL

Другие названия: JTK11, UFO

Другие обозначения: онкоген AXL; AXL-трансформирующая последовательность/ген; AXL онкоген; рецептор UFO тирозинпротеинкиназы

АНТИТЕЛА

YW327.6S2 - Ye X., et al *Oncogene*. 2010 Sep 23;29(38):5254-64. (Genentech)

BergenBio: BGB324 (<http://www.bergenbio.com/BGB324>)

(50) CD30 - TNFRSF8 (8 член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли)

Нуклеотид

Genbank, номер доступа M83554

Genbank, версия номер M83554.1 GI:180095

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:53 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAA51947

Genbank, версия номер AAA51947.1 GI:180096

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:53 дп

Перекрестные ссылки

Durkop H., et al *Cell* 68 (3), 421-427 (1992)

Прочая информация

Официальный символ: TNFRSF8

Другие названия: CD30, D1S166E, Ki-1

Другие обозначения: рецептор CD30L; антиген Ki-1; рецептор цитокина CD30; антиген CD30 активации лимфоцитов; 8 член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли

(51) *BCMA (антиген созревания В-клеток) - TNFRSF17 (17 член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа Z29574

Genbank, версия номер Z29574.1 GI:471244

Genbank, дата обновления записи: 02 февраля, 2011, 10:40 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа CAA82690

Genbank, версия номер CAA82690.1 GI:471245

Genbank, дата обновления записи: 02 февраля, 2011, 10:40 дп

Перекрестные ссылки

Laabi Y., et al *Nucleic Acids Res.* 22 (7), 1147-1154 (1994)

Прочая информация

Официальный символ: TNFRSF17

Другие названия: BSM, BCMA, CD269

Другие обозначения: Другие обозначения: антиген созревания В-клетки; фактор созревания В-клеток; белок созревания В-клеток; 17 член суперсемейства рецепторов фактора некроза опухоли

(52) *CTAgs – CTA (антигены рака яичек)*

Перекрестные ссылки

Fratta E., et al. *Mol Oncol.* 2011 Apr;5(2):164-82; Lim SH., et al *Am J Blood Res.* 2012;2(1):29-35.

(53) *CD174 (Льюис Y) - FUT3 (фукозилтрансфераза 3 (галактозид-3(4)-L-фукозилтрансфераза, группа крови Льюиса)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM000149

Genbank, версия номер NM000149.3 GI:148277008

Genbank, дата обновления записи: 26 июня, 2012, 04:49 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_000140

Genbank, версия номер NP\_000140.1 GI:4503809

Genbank, дата обновления записи: 26 июня, 2012, 04:49 пп

Перекрестные ссылки

Kukowska-Latallo, J.F., et al *Genes Dev.* 4 (8), 1288-1303 (1990)

Прочая информация

Официальный символ: FUT3

Другие названия: CD174, FT3B, FucT-III, LE, Les

Другие обозначения: FT Льюиса; альфа-(1,3/1,4)-фукозилтрансфераза; альфа-4-фукозилтрансфераза группы крови Льюиса; фукозилтрансфераза III; галактозид-3(4)-L-фукозилтрансфераза

*(54) CLEC14A (член А семейства 14 лектиновых доменов С-типа; Genbank, номер доступа NM175060)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM175060

Genbank, версия номер NM175060.2 GI:371123930

Genbank, дата обновления записи: 01 апреля, 2012, 03:34 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_778230

Genbank, версия номер NP\_778230.1 GI:28269707

Genbank, дата обновления записи: 01 апреля, 2012, 03:34 пп

Прочая информация

Официальный символ: CLEC14A

Другие названия: UNQ236/PRO269, C14orf27, CEG1, EGFR-5

Другие обозначения: член А семейства 14 лектинового домена С-типа; C1ECT и белок, содержащий EGF-подобный домен; рецептор 5 эпидермального фактора роста

*(55) GRP78 – HSPA5 (белок 5 теплового шока 70 кДа (глюкозорегулируемый белок, 78 кДа)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM005347

Genbank, версия номер NM005347.4 GI:305855105

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:42 пп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_005338

Genbank, версия номер NP\_005338.1 GI:16507237

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:42 пп

#### Перекрестные ссылки

Ting J., et al *DNA* 7 (4), 275-286 (1988)

#### Прочая информация

Официальный символ: HSPA5

Другие названия: VIP, GRP78, MIF2

Другие обозначения: глюкозорегулируемый белок 78 кДа; белок grp78, связывающий полостной Ca(2+) эндоплазматического ретикулума; белок, связывающий тяжелую цепь иммуноглобулина

(56) *CD70 (молекула CD70) L08096*

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа L08096

Genbank, версия номер L08096.1 GI:307127

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2012, 08:54 дп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа AAA36175

Genbank, версия номер AAA36175.1 GI:307128

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2012, 08:54 дп

#### Перекрестные ссылки

Goodwin R.G., et al *Cell* 73 (3), 447-456 (1993)

#### Прочая информация

Официальный символ: CD70

Другие названия: CD27L, CD27LG, TNFSF7

Другие обозначения: лиганд CD27; CD27-L; антиген CD70; антиген Ki-24; поверхностный антиген CD70; 7 член суперсемейства фактора (лиганда) некроза опухоли; 7 член суперсемейства лигандов фактора некроза опухоли

### *АНТИТЕЛА*

MDX-1411 против CD70 (Medarex)

h1F6 (Oflazoglu, E., et al, Clin Cancer Res. 2008 Oct 1;14(19):6171-80; Seattle Genetics)

Например, см. US20060083736, SEQ ID NO: 1, 2, 11 и 12, и Фиг. 1.

*(57) Антигены, специфические для стволовых клеток. Например:*

- 5T4 (см. строку (63) ниже)
- CD25 (см. строку (48) ниже)
- CD32
  - Полипептид
    - Genbank, номер доступа ABK42161
    - Genbank, версия номер ABK42161.1 GI:117616286
    - Genbank, дата обновления записи: 25 июля, 2007, 03:00 пп
- LGR5/GPR49
  - Нуклеотид
    - Genbank, номер доступа NM\_003667
    - Genbank, версия номер NM\_003667.2 GI:24475886
    - Genbank, дата обновления записи: 22 июля, 2012, 03:38 пп
  - Полипептид
    - Genbank, номер доступа NP\_003658
    - Genbank, версия номер NP\_003658.1 GI:4504379
    - Genbank, дата обновления записи: 22 июля, 2012, 03:38 пп
- Проминин/CD133
  - Нуклеотид
    - Genbank, номер доступа NM\_006017
    - Genbank, версия номер NM\_006017.2 GI:224994187
    - Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:47 пп
  - Полипептид
    - Genbank, номер доступа NP\_006008

- Genbank, версия номер NP\_006008.1 GI:5174387
- Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:47 пп

(58) *ASG-5*

Перекрестные ссылки

(Smith L.M., et.al *AACR 2010 Annual Meeting* (abstract #2590); Gudas J.M., et.al. *AACR 2010 Annual Meeting* (abstract #4393)

*АНТИТЕЛА*

Анти-AGS-5 антитело: M6.131 (Smith, L.M., et.al *AACR 2010 Annual Meeting* (abstract #2590)

(59) *ENPP3 (эктонуклеотидная пирофосфатаза/фосфодиэстераза 3)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа AF005632

Genbank, версия номер AF005632.2 GI:4432589

Genbank, дата обновления записи: 10 марта, 2010, 09:41 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAC51813

Genbank, версия номер AAC51813.1 GI:2465540

Genbank, дата обновления записи: 10 марта, 2010, 09:41 пп

Перекрестные ссылки

Jin-Hua P., et al *Genomics* 45 (2), 412-415 (1997)

Прочая информация

Официальный символ: ENPP3

Другие названия: RP5-988G15.3, B10, CD203c, NPP3, PD-IBETA, PDNP3

Другие обозначения: E-NPP 3; dJ1005H11.3 (фосфодиэстераза I/нуклеотид-пирофосфатаза 3); dJ914N13.3 (фосфодиэстераза I/нуклеотид-пирофосфатаза 3); 3 член семейства эктонуклеотидных пирофосфатаз/фосфодиэстераз; gp130RB13-6; бета-фосфодиэстераза I; фосфодиэстераза I/нуклеотид-пирофосфатаза 3; бета-фосфодиэстераза-I

(60) *PRR4 (пролин-богатый 4 (лакримальный))*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_007244

Genbank, версия номер NM\_007244.2 GI:154448885

Genbank, дата обновления записи: 28 июня, 2012, 12:39 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_009175

Genbank, версия номер NP\_009175.2 GI:154448886

Genbank, дата обновления записи: 28 июня, 2012, 12:39 пп

Перекрестные ссылки

Dickinson D.P., et al *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 36 (10), 2020-2031 (1995)

Прочая информация

Официальный символ: PRR4

Другие названия: LPRP, PROL4

Другие обозначения: лакримальный пролин-богатый белок; пролин-богатый белок 4, ассоциированный с карциномой носоглотки; пролин-богатый полипептид 4; пролин-богатый белок 4

(61) GCC – GUCY2C (гуанилатциклаза 2C (рецептор термостабильного энтеротоксина))

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_004963

Genbank, версия номер NM\_004963.3 GI:222080082

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:50 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_004954

Genbank, версия номер NP\_004954.2 GI:222080083

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:50 пп

Перекрестные ссылки

De Sauvage F.J., et al *J. Biol. Chem.* 266 (27), 17912-17918 (1991); Singh S., et al *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 179 (3), 1455-1463 (1991)

Прочая информация

Официальный символ: GUCY2C

Другие названия: DIAR6, GUC2C, MUCIL, STAR

Другие обозначения: GC-C; рецептор STA; гуанилилциклаза C; hSTAR; рецептор термостабильного энтеротоксина; кишечная гуанилатциклаза

(62) *Liv-1 – SLC39A6 (6 член семейства носителей растворенных веществ 39 (транспортер цинка))*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа U41060

Genbank, версия номер U41060.2 GI:12711792

Genbank, дата обновления записи: 30 ноября, 2009, 04:35 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAA96258

Genbank, версия номер AAA96258.2 GI:12711793

Genbank, дата обновления записи: 30 ноября, 2009, 04:35 пп

Перекрестные ссылки

Taylor KM., et al *Biochim Biophys Acta*. 2003 Apr 1;1611(1-2):16-30

Прочая информация

Официальный символ: SLC39A6

Другие названия: LIV-1

Другие обозначения: белок LIV-1, регулируемый эстрогеном; ZIP-6; эстроген-регулируемый белок LIV-1; 6 член семейства носителей растворенных веществ 39 (транспортер ионов металлов); 6 член семейства носителей растворенных веществ 36; транспортер цинка ZIP6; zrt- и Irt-подобный белок 6

(63) *5T4, трофобластный гликопротеин, TPBG – TPBG (трофобластный гликопротеин)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа AJ012159

Genbank, версия номер AJ012159.1 GI:3805946

Genbank, дата обновления записи: 01 февраля, 2011, 10:27 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа CAA09930

Genbank, версия номер CAA09930.1 GI:3805947

Genbank, дата обновления записи: 01 февраля, 2011, 10:27 дп

Перекрестные ссылки

King K.W., et al *Biochim. Biophys. Acta* 1445 (3), 257-270 (1999)

Прочая информация

- Официальный символ: TPBG
- Другие названия: 5T4, 5T4AG, M6P1
- Другие обозначения: онкофетальный антиген 5T4; онкофетальный трофобластный гликопротеин 5T4; онкотрофобластный гликопротеин 5T4
- См. WO2015/155345

(64) *CD56 – NCAM1 (молекула адгезии нервных клеток 1)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_000615

Genbank, версия номер NM\_000615.6 GI:336285433

Genbank, дата обновления записи: 23 сентября, 2012, 02:32 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_000606

Genbank, версия номер NP\_000606.3 GI:94420689

Genbank, дата обновления записи: 23 сентября, 2012, 02:32 пп

Перекрестные ссылки

Dickson,G., et al, *Cell* 50 (7), 1119-1130 (1987)

Прочая информация

Официальный символ: NCAM1

Другие названия: CD56, MSK39, NCAM

антиген, распознаваемый моноклональным антителом 5.1H11; молекула адгезии нервных клеток, NCAM

*АНТИТЕЛА*

Immunogen: HuN901 (Smith SV., et al *Curr Opin Mol Ther.* 2005 Aug;7(4):394-401)

Например, см. гуманизированное из мышинового N901 антитело. См. Фиг. 1b и 1e в публикации Roguska, M.A., et al. *Proc Natl Acad Sci USA* Feb 1994;91:969-973.

(65) *CanAg (опухолеассоциированный антиген CA242)*

Перекрестные ссылки

Haglund C., et al *Br J Cancer* 60:845-851, 1989; Baeckstrom D., et al *J Biol Chem* 266:21537-21547, 1991

*АНТИТЕЛА*

huC242 (Tolcher AW et al., *J Clin Oncol.* 2003 Jan 15;21(2):211-22; Immunogen)

Например, см. US20080138898A1, SEQ ID NO: 1 и 2

(66) *FOLR1 (фолатный рецептор 1)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа J05013

Genbank, версия номер J05013.1 GI:182417

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:47 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAA35823

Genbank, версия номер AAA35823.1 GI:182418

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:47 дп

Перекрестные ссылки

Elwood P.C., et al *J. Biol. Chem.* 264 (25), 14893-14901 (1989)

Прочая информация

Официальный символ: FOLR1

Другие названия: FBP, FOLR

Другие обозначения: FR-альфа; FBP клеток KB; фолат-связывающий белок взрослых; фолат-связывающий белок; фолатный рецептор альфа; фолатный рецептор взрослых; антиген MOv18, ассоциированный с опухолью яичника.

*АНТИТЕЛА*

M9346A - Whiteman KR., et al *Cancer Res* April 15, 2012; 72(8 Supplement): 4628 (Immunogen)

*(67) GPNMB (гликопротеин (трансмембранный) nmb)*Нуклеотид

Genbank, номер доступа X76534

Genbank, версия номер X76534.1 GI:666042

Genbank, дата обновления записи: 02 февраля, 2011, 10:10 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа CAA54044

Genbank, версия номер CAA54044.1 GI:666043

Genbank, дата обновления записи: 02 февраля, 2011, 10:10 дп

Перекрестные ссылки

Weterman M.A., et al *Int. J. Cancer* 60 (1), 73-81 (1995)

Прочая информация

Официальный символ: GPNMB

Другие названия: UNQ1725/PRO9925, HGFIN, NMB

Другие обозначения: гликопротеин NMB; гликопротеин nmb-подобный белок; остеоактивин; трансмембранный гликопротеин HGFIN; трансмембранный гликопротеин NMB

*АНТИТЕЛА*

Celldex Therapeutics: CR011 (Tse KF., et al *Clin Cancer Res.* 2006 Feb 15;12(4):1373-82)

Например, см. EP1827492B1 , SEQ ID NO: 22, 24, 26, 31, 33 и 35

*(68) TIM-1 – HAVCR1 (клеточный рецептор 1 вируса гепатита А)*Нуклеотид

Genbank, номер доступа AF043724

Genbank, версия номер AF043724.1 GI:2827453

Genbank, дата обновления записи: 10 марта, 2010, 06:24 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAC39862

Genbank, версия номер AAC39862.1 GI:2827454

Genbank, дата обновления записи: 10 марта, 2010, 06:24 пп

Перекрестные ссылки

Feigelstock D., et al *J. Virol.* 72 (8), 6621-6628 (1998)

Прочая информация

Официальный символ: HAVCR1

Другие названия: HAVCR, HAVCR-1, KIM-1, KIM1, TIM, TIM-1, TIM1, TIMD-1, TIMD1

Другие обозначения: белок 1 домена Т-клеточного иммуноглобулина и муцинового домена; белок 1 Т-клеточной мембраны; молекула 1 почечного повреждения

**(69)** *RG-1/мишень опухоли предстательной железы Mindin – Mindin/RG-1*

Перекрестные ссылки

Parry R., et al *Cancer Res.* 2005 Sep 15;65(18):8397-405

**(70)** *B7-H4 – VTCN1 (ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий V-образный домен)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа BX648021

Genbank, версия номер BX648021.1 GI:34367180

Genbank, дата обновления записи: 02 февраля, 2011, 08:40 дп

Перекрестные ссылки

Sica GL., et al *Immunity.* 2003 Jun;18(6):849-61

Прочая информация

Официальный символ: VTCN1

Другие названия: RP11-229A19.4, B7-H4, B7H4, B7S1, B7X, B7h.5, PRO1291, VCTN1

Другие обозначения: член H4 семейства B7; член 1 суперсемейства B7; костимулирующая молекула B7x Т-клеток; костимулирующая молекула B7x Т клеток; ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий V-образный домен; иммунный костимулирующий белок B7-H4

**(71) PTK7 (протеинтирозинкиназа 7 PTK7)**Нуклеотид

Genbank, номер доступа AF447176

Genbank, версия номер AF447176.1 GI:17432420

Genbank, дата обновления записи: 28 ноября, 2008, 01:51 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAL39062

Genbank, версия номер AAL39062.1 GI:17432421

Genbank, дата обновления записи: 28 ноября, 2008, 01:51 пп

Перекрестные ссылки

Park S.K., et al *J. Biochem.* 119 (2), 235-239 (1996)

Прочая информация

Официальный символ: PTK7

Другие названия: ССК-4, ССК4

Другие обозначения: киназа 4 карциномы толстой кишки; неактивная тирозин-протеинкиназа 7; псевдорецептор 7 тирозинкиназы; белок 7, подобный тирозин-протеинкиназе

**(72) CD37 (молекула CD37)**Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_001040031

Genbank, версия номер NM\_001040031.1 GI:91807109

Genbank, дата обновления записи: 29 июля, 2012, 02:08 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_001035120

Genbank, версия номер NP\_001035120.1 GI:91807110

Genbank, дата обновления записи: 29 июля, 2012, 02:08 пп

Перекрестные ссылки

Schwartz-Albiez R., et al *J. Immunol.* 140 (3), 905-914 (1988)

Прочая информация

Официальный символ: CD37

Другие названия: GP52-40, TSPAN26

Другие обозначения: антиген CD37; антиген 37 клеточной дифференцировки; антиген лейкоцитов CD37; антиген поверхности лейкоцитов CD37; тетраспанин-26; tspan-26

*АНТИТЕЛА*

Boehringer Ingelheim: mAb 37.1 (Heider KH., et al *Blood.* 2011 Oct 13;118(15):4159-68)

Trubion: CD37-SMIP (G28-1 scFv-Ig) ((Zhao X., et al *Blood.* 2007; 110: 2569-2577)

Например, см. US20110171208A1 SEQ ID NO: 253

Immunogen: K7153A (Deckert J., et al *Cancer Res* April 15, 2012; 72(8 Supplement): 4625)

*(73) CD138 – SDC1 (синдекан 1)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа AJ551176

Genbank, версия номер AJ551176.1 GI:29243141

Genbank, дата обновления записи: 01 февраля, 2011, 12:09 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа CAD80245

Genbank, версия номер CAD80245.1 GI:29243142

Genbank, дата обновления записи: 01 февраля, 2011, 12:09 пп

Перекрестные ссылки

O'Connell FP., et al *Am J Clin Pathol.* 2004 Feb;121(2):254-63

Прочая информация

Официальный символ: SDC1

Другие названия: CD138, SDC, SYND1, синдекан

Другие обозначения: антиген CD138; гепарансульфат-протеогликан, рецептор фактора роста фибробластов; синдекан протеогликан 1; синдекан-1

*АНТИТЕЛА*

Biotest: химеризованное MAб (nBT062) - (Jagannath S., et al Poster *ASH* #3060, 2010; WIPO патентная заявка WO/2010/128087)

Например, см. US20090232810, SEQ ID NO: 1 и 2

Immunogen: B-B4 (Tassone P., et al *Blood* 104\_3688-3696)

Например, см. US20090175863A1, SEQ ID NO: 1 и 2

*(74) CD74 (молекула CD74, главный комплекс гистосовместимости, инвариантная цепь II класса)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_004355

Genbank, версия номер NM\_004355.1 GI:343403784

Genbank, дата обновления записи: 23 сентября, 2012, 02:30 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_004346

Genbank, версия номер NP\_004346.1 GI:10835071

Genbank, дата обновления записи: 23 сентября, 2012, 02:30 пп

Перекрестные ссылки

Kudo,J., et al *Nucleic Acids Res.* 13 (24), 8827-8841 (1985)

Прочая информация

Официальный символ: CD74

Другие названия: DHLA G, HLADG, II, Ia-GAMMA

Другие обозначения: антиген CD74 (инвариантный полипептид главного комплекса гистосовместимости, ассоциированный с антигеном II класса); гамма-цепь антигена гистосовместимости II класса HLA; инвариантная цепь, ассоциированная с антигенами HLA-DR; HLA-DR-гамма; Ia-ассоциированная инвариантная цепь; гамма-цепь HLA-DR MHC; гамма-цепь антигенов II класса; p33

*АНТИТЕЛА*

Immunomedics: hLL1 (Milatuzumab,) - Berkova Z., et al *Expert Opin Investig Drugs*. 2010 Jan;19(1):141-9)

Например, см. US20040115193, SEQ ID NO: 19, 20, 21, 22, 23 и 24

Genmab: HuMax-CD74 (см. вебсайт)

**(75) Клаудины – CL (клаудины)**

Перекрестные ссылки

Offner S., et al *Cancer Immunol Immunother*. 2005 May; 54(5):431-45, Suzuki H., et al *Ann N Y Acad Sci*. 2012 Jul;1258:65-70)

У людей описаны 24 члена указанного семейства – см. литературные ссылки.

**(76) EGFR (рецептор эпидермального фактора роста)**

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_005228

Genbank, версия номер NM\_005228.3 GI:41927737

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:47 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_005219

Genbank, версия номер NP\_005219.2 GI:29725609

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:47 пп

Перекрестные ссылки

Dhomen NS., et al *Crit Rev Oncog*. 2012;17(1):31-50

Прочая информация

Официальный символ: EGFR

Другие названия: ERBB, ERBB1, HER1, PIG61, mENA

Другие обозначения: гомолог вирусного онкогена эритробластного лейкоза птиц (v-erb-b); белок 40, ингибирующий рост клеток; белок 61, вызывающий клеточную пролиферацию; прото-онкоген c-ErbB-1; рецепторная тирозин-протеинкиназа erbB-1

*АНТИТЕЛА*

BMS: Цетуксимаб (эрбитукс)- Broadbridge VT., et al *Expert Rev Anticancer Ther.* 2012 May;12(5):555-65.

Например, см. US6217866 – депозитарный номер АТТС 9764.

Amgen: Панитумумаб (вектибикс)- Argiles G., et al *Future Oncol.* 2012 Apr;8(4):373-89

Например, см. US6235883, SEQ ID NO: 23-38.

Genmab: Залутумумаб - Rivera F., et al *Expert Opin Biol Ther.* 2009 May;9(5):667-74.

YM Biosciences: Нимотузумаб - Ramakrishnan MS., et al *MAbs.* 2009 Jan-Feb;1(1):41-8.

Например, см. US5891996, SEQ ID NO: 27-34.

*(77) Her3 (ErbB3) – ERBB3 (гомолог 3 вирусного онкогена эритробластного лейкоза v-erb-b2 (nttc))*

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа M34309

Genbank, версия номер M34309.1 GI:183990

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:47 пп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа AAA35979

Genbank, версия номер AAA35979.1 GI:306841

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:47 пп

#### Перекрестные ссылки

Plowman,G.D., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 87 (13), 4905-4909 (1990)

#### Прочая информация

Официальный символ: ERBB3

Другие названия: ErbB-3, HER3, LCCS2, MDA-BF-1, c-erbB-3, c-erbB3, erbB3-S, p180-ErbB3, p45-sErbB3, p85-sErbB3

Другие обозначения: протоонкоген-подобный белок c-ErbB-3; рецепторная тирозин-протеинкиназа erbB-3; рецептор HER3 клеточной поверхности тирозинкиназного типа

#### АНТИТЕЛА

Merimack Pharma : MM-121 (Schoeberl B., et al Cancer Res. 2010 Mar 15;70(6):2485-2494)

Например, см. US2011028129, SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8.

**(78) RON - MST1R (макрофаг-стимулирующий рецептор 1 (с-met-родственная тирозинкиназа))**

Нуклеотид

Genbank, номер доступа X70040

Genbank, версия номер X70040.1 GI:36109

Genbank, дата обновления записи: 02 февраля, 2011, 10:17 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа CCA49634

Genbank, версия номер CCA49634.1 GI:36110

Genbank, дата обновления записи: 02 февраля, 2011, 10:17 пп

Перекрестные ссылки

Ronsin C., et al *Oncogene* 8 (5), 1195-1202 (1993)

Прочая информация

Официальный символ: MST1R

Другие названия: CD136, CDw136, PTK8, RON

Другие обозначения: рецептор MSP; MST1R, вариант RON30; MST1R, вариант RON62; протеин-тирозинкиназа 8 PTK8; RON, вариант E2E3; с-met-родственная тирозинкиназа; рецептор макрофаг-стимулирующего белка; p185-Ron; растворимый вариант 1 RON; растворимый вариант 2 RON; растворимый вариант 3 RON; растворимый вариант 4 RON

**(79) EPHA2 (EPH рецептор A2)**

Нуклеотид

Genbank, номер доступа BC037166

Genbank, версия номер BC037166.2 GI:33879863

Genbank, дата обновления записи: 06 марта, 2012, 01:59 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAN37166

Genbank, версия номер AAN37166.1 GI:22713539

Genbank, дата обновления записи: 06 марта, 2012, 01:59 пп

#### Перекрестные ссылки

Strausberg R.L., et al *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 99 (26), 16899-16903 (2002)

#### Прочая информация

Официальный символ: EPHA2

Другие названия: ARCC2, СТРА, СТРР1, ЕСК

Другие обозначения: рецептор 2 эфринового типа А; рецепторная протеин-тирозинкиназа эпителиальных клеток; растворимый вариант 1 EPHA2; рецептор ЕСК тирозин-протеинкиназы

#### *АНТИТЕЛА*

Medimmune: 1C1 (Lee JW., et al *Clin Cancer Res.* 2010 May 1;16(9):2562-2570)

Например, см. US20090304721A1, Фиг. 7 и 8.

**(80) CD20 – MS4A1 (трансмембранные 4-домена, подсемейство А, член 1)**

#### Нуклеотид

Genbank, номер доступа M27394

Genbank, версия номер M27394.1 GI:179307

Genbank, дата обновления записи: 30 ноября, 2009, 11:16 дп

#### Полипептид

Genbank, номер доступа AAA35581

Genbank, версия номер AAA35581.1 GI:179308

Genbank, дата обновления записи: 30 ноября, 2009, 11:16 дп

#### Перекрестные ссылки

Tedder T.F., et al *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 85 (1), 208-212 (1988)

#### Прочая информация

Официальный символ: MS4A1

Другие названия: В1, Вр35, CD20, CVID5, LEU-16, MS4A2, S7

Другие обозначения: антиген CD20 В-лимфоцитов; антиген В1 клеточной поверхности В-лимфоцитов; антиген CD20; рецептор CD20; антиген Leu-16 поверхности лейкоцитов

*АНТИТЕЛА*

Genentech/Roche: Ритуксимаб - Abdulla NE., et al *BioDrugs*. 2012 Apr 1;26(2):71-82.

Например, см. US5736137, депозитарный номер ATCC HB-69119.

GSK/Genmab: офатумумаб - Nightingale G., et al *Ann Pharmacother*. 2011 Oct;45(10):1248-55.

Например, см. US20090169550A1, SEQ ID NO: 2, 4 и 5.

Immunomedics: Велтузумаб - Goldenberg DM., et al *Leuk Lymphoma*. 2010 May;51(5):747-55.

Например, см. US7919273B2, SEQ ID NO: 1, 2, 3, 4, 5 и 6.

**(81)** *Тенасцин С – TNC (тенасцин С)*Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_002160

Genbank, версия номер NM\_002160.3 GI:340745336

Genbank, дата обновления записи: 23 сентября, 2012, 02:33 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_002151

Genbank, версия номер NP\_002151.2 GI:153946395

Genbank, дата обновления записи: 23 сентября, 2012, 02:33 пп

Перекрестные ссылки

Nies D.E., et al *J. Biol. Chem.* 266 (5), 2818-2823 (1991); Siri A., et al *Nucleic Acids Res.* 19 (3), 525-531 (1991)

Прочая информация

Официальный символ: TNC

Другие названия: 150-225, GMEM, GP, HXB, JI, TN, TN-C

Другие обозначения: GP 150-225; цитотактин; глиома-ассоциированный антиген внеклеточного матрикса; гексабрахион (тенасцин); мышечно-сухожильный антиген; нейронектин; тенасцин; тенасцин-С, изоформа 14/AD1/16

*АНТИТЕЛА*

Phylogen : G11 (von Lukowicz T., et al *J Nucl Med.* 2007 Apr;48(4):582-7) и F16 (Pedretti M., et al *Lung Cancer.* 2009 Apr;64(1):28-33)

Например, см. US7968685, SEQ ID NO: 29, 35, 45 и 47.

**(82) FAP (альфа-белок активации фибробластов)**

Нуклеотид

Genbank, номер доступа U09278

Genbank, версия номер U09278.1 GI:1888315

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 09:22 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAB49652

Genbank, версия номер AAB49652.1 GI:1888316

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 09:22 дп

Перекрестные ссылки

Scanlan, M.J., et al *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91 (12), 5657-5661 (1994)

Прочая информация

Официальный символ: FAP

Другие названия: DPPIV, FARA

Другие обозначения: мембраносвязанная желатиназа меланомы 170 кДа; интегральная мембранная серин-протеаза; сепраза

**(83) DKK-1 (Dickkopf 1 гомолог (*Xenopus laevis*))**

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_012242

Genbank, версия номер NM\_012242.2 GI:61676924

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:48 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_036374

Genbank, версия номер NP\_036374.1 GI:7110719

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:48 пп

Перекрестные ссылки

Fedi P. et al *J. Biol. Chem.* 274 (27), 19465-19472 (1999)

Прочая информация

Официальный символ: DKK1

Другие названия: UNQ492/PRO1008, DKK-1, SK

Другие обозначения: dickkopf-родственный белок-1; dickkopf-1-подобный; dickkopf-подобный белок 1; dickkopf-родственный белок 1; hDkk-1

*АНТИТЕЛА*

Novartis: ВНQ880 (Fulciniti M., et al *Blood.* 2009 Jul 9;114(2):371-379)

Например, см. US20120052070A1, SEQ ID NO: 100 и 108.

*(84) CD52 (молекула CD52)*Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_001803

Genbank, версия номер NM\_001803.2 GI:68342029

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:48 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_001794

Genbank, версия номер NP\_001794.2 GI:68342030

Genbank, дата обновления записи: 30 сентября, 2012, 01:48 пп

Перекрестные ссылки

Xia M.Q., et al *Eur. J. Immunol.* 21 (7), 1677-1684 (1991)

Прочая информация

Официальный символ: CD52

Другие названия: CDW52

Другие обозначения: антиген САМРАТН-1; антиген CD52 (антиген САМРАТН-1); антиген CDW52 (антиген САМРАТН-1); антиген 1 Cambridge pathology; эпидидимальный секреторный белок E5; he5; человеческий эпидидимис-специфический белок 5

*АНТИТЕЛА*

Алемтузумаб (кампат)- Skoetz N., et al *Cochrane Database Syst Rev.* 2012 Feb 15;2:CD008078.

Например, см. Drugbank Acc. No. DB00087 (BIOD00109, BTD00109)

**(85) CS1 - SLAMF7 (7 член семейства SLAM)**

Нуклеотид

Genbank, номер доступа NM\_021181

Genbank, версия номер NM\_021181.3 GI:1993571

Genbank, дата обновления записи: 29 июня, 2012, 11:24 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа NP\_067004

Genbank, версия номер NP\_067004.3 GI:19923572

Genbank, дата обновления записи: 29 июня, 2012, 11:24 дп

Перекрестные ссылки

Boles K.S., et al *Immunogenetics* 52 (3-4), 302-307 (2001)

Прочая информация

Официальный символ: SLAMF7

Другие названия: UNQ576/PRO1138, 19A, CD319, CRACC, CS1

Другие обозначения: белок 19A24; CD2, субпопуляция 1; CD2-подобный рецептор, активирующий цитотоксичные клетки; CD2-подобный рецептор активации цитотоксичных клеток; мембранный белок FOAP-12; новый LY9 (антиген 9 лимфоцитов)-подобный белок; белок 19A

*АНТИТЕЛА*

BMS: elotuzumab/HuLuc63 (Benson DM., et al *J Clin Oncol.* 2012 Jun 1;30(16):2013-2015)

Например, см. US20110206701, SEQ ID NO: 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 и 16.

**(86) Эндоглин – ENG (эндоглин)**

Нуклеотид

Genbank, номер доступа AF035753

Genbank, версия номер AF035753.1 GI:3452260

Genbank, дата обновления записи: 10 марта, 2010, 06:36 пп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAC32802

Genbank, версия номер AAC32802.1 GI:3452261

Genbank, дата обновления записи: 10 марта, 2010, 06:36 пп

Перекрестные ссылки

Rius C., et al *Blood* 92 (12), 4677-4690 (1998)

Официальный символ: ENG

Прочая информация

Другие названия: RP11-228B15.2, CD105, END, HHT1, ORW, ORW1

Другие обозначения: Антиген CD105

**(87)** *Аннексин A1 – ANXA1 (аннексин A1)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа X05908

Genbank, версия номер X05908.1 GI:34387

Genbank, дата обновления записи: 02 февраля, 2011, 10:02 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа CCA29338

Genbank, версия номер CCA29338.1 GI:34388

Genbank, дата обновления записи: 02 февраля, 2011, 10:02 дп

Перекрестные ссылки

Wallner В.Р., et al *Nature* 320 (6057), 77-81 (1986)

Прочая информация

Официальный символ: ANXA1

Другие названия: RP11-71A24.1, ANX1, LPC1

Другие обозначения: аннексин I (липокортин I); аннексин-1; калпактин II; калпактин-2; хромобиндин-9; липокортин I; p35; белок, ингибирующий фосфолипазу A2

**(88)** *V-CAM (CD106)- VCAM1 (молекула адгезии сосудистого эндотелия 1)*

Нуклеотид

Genbank, номер доступа M60335

Genbank, версия номер M60335.1 GI:340193

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:56 дп

Полипептид

Genbank, номер доступа AAA61269

Genbank, версия номер AAA61269.1 GI:340194

Genbank, дата обновления записи: 23 июня, 2010, 08:56 дп

Перекрестные ссылки

Hession C., et al *J. Biol. Chem.* 266 (11), 6682-6685 (1991)

Прочая информация

Официальный символ: VCAM1

Другие названия: CD106, INCAM-100

Другие обозначения: антиген CD106; васкулярный белок клеточной адгезии 1

Последовательности антител

*Анти-интегрин  $\alpha\beta 6$*

RHAB6.2

QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWVRQAPGQGLEWMGWIDPENG  
TEYAPKFQGRFVFLDTSVSTAYLQISSLKAEDTAVYYCTRGTPTAVPNLRGDLQVLAQ  
KVAGPYPFDYWGQGLTVTVSS

RHCB6.2

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGYTFIDSYMHWVRQAPGQRLEWMGWIDPENG  
DTEYAPKFQGRVTITTDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGTPTAVPNLRGDLQVLA  
QKVAGPYPFDYWGQGLTVTVSS

RHF

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSKASGFNFIDSYMHWVRQAPGQRLEWMGWIDPENG  
DTEYAPKFQGRVTFTTDTSASTAYMELSSLRSEDVAVYYCNEGTPYFDYWGQGT  
LTVTVSS

RHFB6

QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCASGFNFIDSYMHWVRQAPGQRLEWMGWIDPENG  
 DTEYAPKFQGRVTFTTDTASTAYMELSSLRSEDNAVYYCNEGTPPTAVPNLRGDLQVLA  
 QKVAGPYYFDYWGGTLVTVSS

RHAY100bP

QVQLVQSGSELKKPGASVKISCKASGFAFTDSYMHWRQAPGQGLEWMGWIDPENGD  
 TEYAPKFQGRFVFLDTSVSTAYLQISSLKAEDNAVYYCTRGTPTGPYPFDYWGGTLV  
 TVSS

RKF

ENVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWVFQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRF  
 SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

RKFL36L50

ENVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWLQKPGQAPRLLIYLTSNLASGIPDRF  
 SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

RKC

EIVLTQSPGTLSPGERATLSCSASSSVSYMHWVFQKPGQAPRLLIYSTSNLASGIPDRF  
 SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQRSSYPLTFGGGTKVEIK

*Antu-CD33*CD33 Hum195 VH

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCASGYTFTDYNMHWVRQAPGQGLEWIGYIYPYNGG  
 TGYNQKFKSKATITADESTNTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGRPAMDYWGQGLVTVSS  
 S

CD33 Hum195 VK

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASESDNYGISFMNWFQKPGKAPKLLIYAASNQGS  
 GVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPDDFATYYCQQSKEVPWTFGQGTKVEIK

*Antu-CD19*CD19 B4 с измененной поверхностью VH

QVQLVQPGAIEVVKPGASVKLSCKTSGYTFSTSNWMHWVKQRPGQGLEWIGEIDPSDSYT  
 NYNQNFKGKAKLTVDKSTSTAYMEVSSLRSDDTAVYYCARGSNPYYYAMDYWGQGT  
 SVTVSS

CD19 B4 с измененной поверхностью VK

EIVLTQSPAIMASPGERVMTMCSASSGVNYMHWYQQKPGTSPRRWIYDTSKLASGVPA  
 RFSGSGSGTSSYSLTISSMEPEDAATYYCHQRGSYTFGGGKLEIK

*Анти-Her2*

VH цепь герцептина

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWVRQAPGKGLEWVARIYPTNGYT  
 RYADSVKGRFTISADTSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRWGGDGFYAMDYWGQGT  
 LVTVSS

VL цепь герцептина

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQQKPGKAPKLLIYSASFLYSGVP  
 SRFSGSRSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGGQGTKVEIK

*Анти-CD25*

VK симулекта (также известного как базиликсимаб)

QIVSTQSPAIMASPGEEKVTMTCASSSRSYMQWYQQKPGTSPKRWIYDTSKLASGVPA  
 RFSGSGSGTSSYSLTISSMEAEDAATYYCHQRSSYTFGGGKLEIK

VH симулекта

QLQQSGTVLARPGASVKMSCKASGYSFTRYWMHWIKQRPGQGLEWIGAIYPGNSDTSY  
 NQKFEGKAKLTAVTSASTAYMELSSLTHEDSAVYYCSRDYGYFDFWGGQGTLLTVSS

*Анти-PSMA*

Деиммунизированный VH '1

EVQLVQSGPEVKKPGATVKISCKTSGYTFTEYTIHWVKQAPGKGLEWIGNINPNNGGT  
 YNPKFEDKATLTVDKSTDTAYMELSSLRSEDVAVYYCAAGWNFDYWGQGTLLTVSS

Деиммунизированный VK '1

DIQMTQSPSSLSTSVGDRVTLTCKASQDVGTAVDWYQQKPGPSPKLLIYWASTRHTGIP  
 SRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFADYYCQQYNSYPLTFGPGTKVDIK

Деиммунизированный VH1 '5

EVKLVESGGGLVQPGGSMKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNN  
 FATHYAESVKGRVTISRDDSKSIVYLMNNLRAEDTGVYYCTRRWNNFWGQGTDTV  
 SS

Деиммунизированный VH2 '5

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNN  
 FATHYAESVKGRVTISRDDSKSIVYLMNNLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTDTV  
 SS

Деиммунизированный VH3 '5

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNN  
 FATHYAESVKGRVTISRDDSKSIVYLMNNLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTDTV  
 SS

Деиммунизированный VH4 '5

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCVASGFTFSNYWMNWVRQAPGKGLEWVAEIRSQSNN  
 FATHYAESVKGRFTISRDDSKSIVYLMNNLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTDTV  
 S

Деиммунизированный VK1 '5

NIVMTQFPSSMSASVGDRVTITCKASENVGTYVSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVP  
 DRFTGSGSATDFTLTISSLQTEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEMK

Деиммунизированный VK2 '5

NIVMTQFPSSMSASVGDRVTITCKASENVGTYVSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGVP  
 DRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK

Деиммунизированный VK3 '5

NIQMTQFPSAMSASVGDRVTITCKASENVGTYVSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGV  
 PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDLADYYCGQSYTFPYTFGQGTKLEIK

Деиммунизированный VK4 '5

NIQMTQFPSAMASVGDRTITCKASENVGTYVSWYQQKPDQSPKMLIYGASNRFTGV  
PDRFSGSGSGTDFTLTISSLQAEDEADYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEIK

Деиммунизированный VK DI '5

NIVMTQFPKSMSASAGERMTLTCKASENVGTYVSWYQQKPTQSPKMLIYGASNRFTGV  
PDRFSGSGSGTDFILTISSVQAEDLVDYYCGQSYTFPYTFGGGTKLEMK

Деиммунизированный VH DI '5

EVKLEESGGGLVQPGGSMKISCVASGFTFSNYWMNWVRQSPEKGLEWVAEIRSQSNNF  
ATHYAESVKGRVIISRDDSKSSVYLQMNSLRAEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVSS

Гуманизированный RHA '5

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVGEIRSQSNN  
FATHYAESVKGRFTISRDDSKNTAYLQMNSLKTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTV  
SS

Гуманизированный RHB '5

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNN  
FATHYAESVKGRVIISRDDSKNTVYLMNSLRTEDEAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVS  
S

Гуманизированный RHC '5

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNN  
FATHYAESVKGRVIISRDDSKNTVYLMNSLRTEDEAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVS  
S

Гуманизированный RHD '5

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVGEIRSQSNN  
FATHYAESVKGRVIISRDDSKNTVYLMNSLRTEDEAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVS  
S

Гуманизированный RHE '5

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNN  
FATHYAESVKGRFTISRDDSKNTVYLMNSLRTEDEAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTV  
SS

Гуманизированный RHF '5

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNN  
 FATHYAESVKGRVIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVS  
 S

Гуманизированный RHG '5

EVKLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSNYWMNWVRQASGKGLEWVAEIRSQSNN  
 FATHYAESVKGRVIISRDDSKNTAYLQMNSLRTEDTAVYYCTRRWNNFWGQGTTVTVS  
 S

Гуманизированный RKA '5

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVP  
 SRFSGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

Гуманизированный RKB '5

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVP  
 SRFSGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

Гуманизированный RKC '5

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVP  
 SRFSGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

Гуманизированный RKD '5

DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVP  
 SRFSGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

Гуманизированный RKE '5

NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKLLIYGASNRFTGVP  
 DRFTGSGSATDFILTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

Гуманизированный RKF '5

NIVMTQSPSSVSASVGDRVITITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVP  
 SRFSGSGSATDFILTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

Гуманизированный RKG '5

NIVMTQSPSSVSASVGDRTITCKASENVGTYVSWYQQKPGTAPKMLIYGASNRFTGVP  
DRFTGSGSATDFTLTINNLQPEDFATYYCGQSYTFPYTFGQGTKVEIK

Исходное антитело также может быть слитым белком, содержащим последовательность альбумин-связывающего пептида (Dennis *et al.* (2002) "Albumin Binding As A General Strategy For Improving The Pharmacokinetics Of Proteins" *J Biol Chem.* 277:35035-35043; WO 01/45746). Антитела по данному изобретению включают слитые белки с последовательностями АВР, описанными в публикациях: (i) Dennis *et al.* (2002) *J Biol Chem.* 277:35035-35043 в таблицах III и IV, стр. 35038; (ii) US 2004/0001827 в [0076]; и (iii) WO 01/45746 на стр. 12-13, и все указанные публикации включены в данный документ посредством ссылки.

В одном варианте реализации антитело образовано для направленного специфического воздействия на связанный с опухолью антиген  $\alpha_v\beta_6$ .

Клеточно-связывающий агент может иметь метку, например, для облегчения обнаружения или очистки указанного агента либо до внедрения в конъюгат или в составе конъюгата. Метка может быть биотиновой меткой. В другом варианте реализации клеточно-связывающий агент, может иметь радиоизотопную метку.

*Связывание линкерного фрагмента с фрагментом лиганда*

Фрагмент лиганда связан с фрагментом линкера через дисульфидную связь.

В одном варианте реализации связь между фрагментом лиганда и линкером лекарственного средства образуется между тиольной группой цистеинового остатка в фрагменте лиганда и малеимидной группой в фрагменте линкера лекарственного средства.

Цистеиновые остатки фрагмента линкера могут быть доступны для приведения в контакт с функциональной группой фрагмента линкера с образованием связи. В других вариантах реализации, например, если фрагмент лиганда представляет собой антитело, тиольные группы антитела могут быть частью межцепочечных дисульфидных связей. Указанные межцепочечные связи можно превращать в свободные тиольные группы, например,

посредством обработки антитела агентом ДТТ перед осуществлением реакции с функциональной группой фрагмента линкера.

В некоторых вариантах реализации цистеиновый остаток внедряют в тяжелую или легкую цепь антитела. Положения для вставки цистеина посредством замещения в тяжелых или легких цепях антитела включают положения, описанные в опубликованной заявке США № 2007-0092940 и в публикации международного патента WO2008070593, которые включены в данный документ.

### Способы лечения

Соединения по данному изобретению можно использовать в способе терапии. Также предложен способ лечения, включающий введение субъекту, нуждающемуся в лечении, терапевтически эффективного количества конъюгата формулы II. Термин «терапевтически эффективное количество» означает количество, достаточное для обеспечения благоприятного эффекта для пациента. Такой благоприятный эффект может представлять собой облегчение по меньшей мере одного симптома. Фактически введенное количество, а также частота и схема введения зависят от природы и тяжести патологического состояния, подлежащего лечению. Назначение лечения, например, определение дозы, входит в ответственность врачей общей практики и другого медицинского персонала.

Конъюгат можно вводить отдельно или в комбинации с другими способами лечения, одновременно или последовательно, в зависимости от патологического состояния, подлежащего лечению. Примеры способов лечения и терапий включают, но не ограничиваются ими, химиотерапию (введение активных агентов, включая, например, лекарства); хирургические операции; и лучевую терапию.

Фармацевтические композиции по данному изобретению и для применения в соответствии с данным изобретением могут содержать, помимо активного ингредиента, т.е. конъюгата формулы I, фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество, носитель, буфер, стабилизатор или другие материалы, известные специалистам в данной области техники. Такие материалы должны быть нетоксичными и не должны влиять на эффективность активного ингредиента. Точная природа носителя или другого материала зависит от способа введения, который может быть пероральным, или посредством инъекции, например, кожной, подкожной или внутривенной.

Фармацевтические композиции для перорального введения могут быть в форме таблетки, капсулы, порошка или в жидкой форме. Таблетка может содержать твердый носитель или адьювант. Жидкие фармацевтические композиции обычно содержат жидкий носитель, такой как вода, нефтяной, животный или растительный жир, минеральное масло или синтетическое масло. Может быть включен физиологический солевой раствор, раствор декстрозы или другого сахара или гликоли, такие как этиленгликоль, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль. Капсула может содержать твердый носитель, такой как желатин.

Для внутривенной, кожной или подкожной инъекции, или инъекции в очаг поражения активный ингредиент должен быть в форме парентерально приемлемого водного раствора, который является апиrogenным и имеет подходящий рН, изотоничность и стабильность. Специалисты в данной области техники могут получить подходящие растворы с применением, например, изотоничных сред, таких как раствор хлорида натрия для инъекций, раствор Рингера для инъекций, лактатный раствор Рингера для инъекций. При необходимости можно добавлять консерванты, стабилизаторы, буферы, антиоксиданты и/или другие добавки.

Указанные конъюгаты можно использовать для лечения пролиферативного заболевания и аутоиммунного заболевания. Термин «пролиферативное заболевание» относится к нежелательной или неконтролируемой клеточной пролиферации избыточных или патологических клеток, которая является нежелательной, такой как неопластический или гиперпластический рост *in vitro* или *in vivo*.

Примеры пролиферативных патологических состояний включают, но не ограничиваются ими, доброкачественную, пред-злокачественную и злокачественную клеточную пролиферацию, включая, но не ограничиваясь этим, неоплазмы и опухоли (например, гистiocитому, глиому, астроцитому, остеому), рак (например, рак легких, мелкоклеточный рак легких, желудочно-кишечный рак, рак кишечника, рак толстой кишки, карцинома молочной железы, карцинома яичника, рак предстательной железы, рак яичек, рак печени, рак почек, рак мочевого пузыря, рак поджелудочной железы, рак головного мозга, саркома, остеосаркома, саркома Капоши, меланома), лейкозы, псориаз, болезни костей, фибропролиферативные расстройства (например, соединительных тканей) и атеросклероз. Другие раковые заболевания, представляющие интерес, включают, но не ограничиваются ими, гематологические заболевания; злокачественные заболевания, такие как лейкозы и

лимфомы, такие как неходжкинская лимфома и подтипы, такие как DLBCL, лимфома клеток маргинальной зоны, клеток мантийной зоны и фолликулярная лимфома, лимфома Ходжкина, АML и другие раковые заболевания из В- или Т-клеток.

Примеры аутоиммунного заболевания включают следующие: ревматоидный артрит, аутоиммунные демиелинизирующие заболевания (например, рассеянный склероз, аллергический энцефаломиелит), псориазический артрит, эндокринную офтальмопатию, увеоретинит, системную красную волчанку, миастению гравис, болезнь Грейса, гломерулонефрит, аутоиммунное гепатологическое расстройство, воспалительную болезнь кишечника (например, болезнь Крона), анафилаксию, аллергическую реакцию, синдром Шегрена, сахарный диабет I типа, первичный билиарный цирроз, гранулематоз Вегенера, фибромиалгию, полимиозит, дерматомиозит, множественную эндокринную недостаточность, синдром Шмидта, аутоиммунный увеит, болезнь Аддисона, адреналит, тиреоидит, тиреоидит Хашимото, аутоиммунную болезнь щитовидной железы, пернициозную анемию, желудочную атрофию, хронический гепатит, волчаночный гепатит, атеросклероз, подострую кожную красную волчанку, гипопаратиреоз, синдром Дресслера, аутоиммунную тромбоцитопению, идиопатическую тромбоцитопеническую пурпуру, гемолитическую анемию, обыкновенную пузырчатку, пузырчатку, герпетический дерматит, очаговую алопецию, пемфигоид, склеродермию, прогрессирующий системный склероз, CREST-синдром (кальциноз, феномен Рейно, пищеводная дискинезия, склеродактилия и телеангиэктазия), аутоиммунное бесплодие мужчин и женщин, анкилозирующий спондилит, язвенный колит, смешанную болезнь соединительной ткани, нодозный полиартериит, системный некротизирующий васкулит, atopический дерматит, atopический ринит, синдром Гудпасчера, болезнь Шагаса, саркоидоз, ревматическую лихорадку, астму, привычный выкидыш, антифосфолипидный синдром, аллергический альвеолит фермеров, мультиформную эритему, посткардиотомный синдром, синдром Кушинга, аутоиммунный хронический активный гепатит, легочную аллергию птицеводов, токсический эпидермальный некролиз, синдром Альпорта, альвеолит, аллергический альвеолит, фиброзирующий альвеолит, интерстициальную болезнь легких, нодозную эритему, гангренозную пиодермию, трансфузионную реакцию, артериит Такаясу, ревматическую полимиалгию, височный артериит, шистозомоз, гигантоклеточный артериит, аскаридоз, аспергиллоз, синдром Самптера, экзему, лимфоматоидный гранулематоз, болезнь Бехчета, синдром Каплана, болезнь Кавасаки, денге, энцефаломиелит, эндокардит, эдомиокардиальный фиброз, эндофтальмит, стойко возвышающуюся эритему, псориаз, эритробластоз плода,

эозинофильный фасциит, синдром Шульмана, синдром Фелти, филяриоз, циклит, хронический циклит, гетерохронический циклит, циклит Фукса, нефроматию IgA, пурпуру Геноха-Шонлейна, болезнь «трансплантат против хозяина», отторжение трансплантата, кардиомиопатию, синдром Итона-Ламберта, рецидивирующий полихондрит, криоглобулинемию, макроглобулинемию Вальденстрема, синдром Эванса и аутоиммунную гонадную недостаточность.

В некоторых вариантах реализации аутоиммунное заболевание представляет собой расстройство В-лимфоцитов (например, системная красная волчанка, синдром Гудпасчера, ревматоидный артрит и диабет I типа), Th1-лимфоцитов (например, ревматоидный артрит, рассеянный склероз, псориаз, синдром Шегрена, тиреоидит Хашимото, болезнь Грейвса, первичный билиарный цирроз, гранулематоз вегенера, туберкулез или болезнь «трансплантат против хозяина») или Th2-лимфоцитов (например, атопический дерматит, системная красная волчанка, атопическая астма, риноконъюнктивит, аллергический ринит, синдром Оменна, системный склероз или хроническая болезнь «трансплантат против хозяина»). В целом, расстройства, затрагивающие дендритные клетки, включают расстройства Th1-лимфоцитов или Th2-лимфоцитов. В некоторых вариантах реализации аутоиммунное расстройство представляет собой иммунологическое расстройство, опосредованное Т-клетками.

В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,01 до около 10 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,01 до около 5 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,05 до около 5 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,1 до около 5 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,1 до около 4 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,05 до около 3 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,1 до около 3 мг/кг на одну дозу. В некоторых вариантах реализации количество введенного конъюгата составляет от около 0,1 до около 2 мг/кг на одну дозу.

*Нагрузка лекарственным средством*

Нагрузка лекарственным средством ( $p$ ) представляет собой среднее количество PBD лекарственных средств на один клеточно-связывающий агент, например, антитело. Если соединения по изобретению связаны с цистеинами, то содержание лекарственного средства может составлять от 1 до 8 единиц лекарственного средства ( $D$ ) на один клеточно-связывающий агент, т.е. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8 фрагментов лекарственного средства ковалентно связаны с агентом, связывающимся с клеткой. Композиции конъюгатов включают совокупности агентов, связывающихся с клеткой, например, антител, конъюгированных с лекарственным средством в количестве от 1 до 8. Если соединения по изобретению связаны с лизинами, то нагрузка лекарственного средства может составлять от 1 до 80 единиц лекарственного средства ( $D$ ) на один клеточно-связывающий агент, хотя предпочтительным может быть верхний предел 40, 20, 10 или 8. Композиции конъюгатов включают совокупности агентов, связывающихся с клеткой, например, антител, конъюгированных с лекарственным средством в количестве от 1 до 80, от 1 до 40, от 1 до 20, от 1 до 10 или от 1 до 8.

Среднее количество лекарственных средств на одно антитело в препаратах ADC, полученных в результате реакций конъюгирования, можно определить стандартными способами, такими как УФ, обратно-фазовая ВЭЖХ, ГИХ, масс-спектрометрия, твердофазный иммуноферментный анализ и электрофорез. Также можно определить количественное распределение ADC с точки зрения  $p$ . С помощью твердофазного иммуноферментного анализа можно определить среднее значение  $p$  в конкретном препарате ADC (Hamblett et al (2004) Clin. Cancer Res. 10:7063-7070; Sanderson et al (2005) Clin. Cancer Res. 11: 843-852). Однако распределение значений  $p$  (лекарственного средства) нельзя определить по связыванию антитело-антиген и из-за предела обнаружения твердофазного иммуноферментного анализа. Кроме того, твердофазный иммуноферментный анализ для обнаружения конъюгатов антитело-лекарственное средство не обеспечивает определение положений, в которых фрагменты лекарственного средства присоединены к антителу, таких как фрагменты тяжелой цепи или легкой цепи, конкретных аминокислотных остатков. В некоторых случаях разделение, очистку и определение характеристик гомогенного ADC, в котором  $p$  представляет собой определенное значение, полученное на основании ADC с другим содержанием лекарственного средства, можно осуществлять с помощью, например, обратно-фазовой ВЭЖХ или электрофореза. Такие технологии также применимы к другим типам конъюгатов.

Для некоторых конъюгатов антитело-лекарственное средство,  $p$  может быть ограничено количеством центров присоединения в антителе. Например, антитело может иметь только одну или более тиольных групп цистеина, или может иметь только одну или более достаточно реакционноспособных тиольных групп, к которым может быть присоединен линкер. Более высокое содержание лекарственного средства, например,  $p > 5$ , может приводить к агрегации, нестабильности, токсичности или снижению клеточной проницаемости некоторых конъюгатов антитело-лекарственное средство.

Как правило, в реакции конъюгирования с антителом конъюгируется меньшее количество лекарственных фрагментов, чем теоретически возможное максимальное количество. Антитело может содержать, например, множество лизиновых остатков, которые не взаимодействуют с линкером лекарственного средства (А или В). Только самые реакционноспособные лизиновые группы могут взаимодействовать с аминокислотным линкерным реагентом. Также, только самые реакционноспособные цистеиновые тиольные группы могут взаимодействовать с тиол-реакционным линкерным реагентом. В целом, антитела не содержат много, если вообще содержат, свободных и реакционноспособных цистеиновых тиольных групп, которые можно связывать с фрагментом лекарственного средства. Большинство цистеиновых тиольных остатков в антителах указанных соединений существуют в виде дисульфидных мостиков, и их необходимо восстанавливать восстановительным агентом, таким как дитиотреитол (ДТТ) или ТСЕР, в условиях частичного или полного восстановления. Нагрузку лекарственным средством (отношение лекарственное средство/антитело) в АСД можно регулировать несколькими различными способами, включая: (i) ограничение молярного избытка линкера лекарственного средства (А или В) относительно антитела, (ii) ограничение времени или температуры реакции конъюгирования, и (iii) условия частичного или ограниченного восстановления для модификации цистеинового тиола.

Некоторые антитела содержат способные к восстановлению межцепочечные дисульфиды, т.е. цистеиновые мостики. Антителам можно придавать реакционную способность для конъюгирования с линкерными реагентами посредством их обработки восстановительным агентом, таким как ДТТ (дитиотреитол). Каждый цистеиновый мостик теоретически будет образовывать два реакционноспособных тиольных нуклеофила. Дополнительные нуклеофильные группы можно вводить в антитела посредством реакции лизинов с 2-иминотиолоном (реагент Траута), в результате чего амин превращается в тиол. Реакционноспособные тиольные группы можно вводить в антитело (или его фрагмент)

посредством конструирования одного, двух, трех, четырех или более цистеиновых остатков (например, получения мутантных антител, содержащих один или более неприродных цистеиновых аминокислотных остатков). В US 7521541 описано конструирование антител посредством введения реакционноспособных цистеиновых аминокислот.

Цистеиновые аминокислоты можно конструировать по реакционноспособным сайтам антитела, которые не образуют внутрицепочечные или межмолекулярные дисульфидные связи (Junutula, et al., 2008b Nature Biotech., 26(8):925-932; Dornan et al (2009) Blood 114(13):2721-2729; US 7521541; US 7723485; WO2009/052249). Сконструированные цистеиновые тиолы могут взаимодействовать с линкерными реагентами или с реагентами лекарственное средство-линкер по данному изобретению, которые содержат тиол-реакционные электрофильные группы, такие как малеимид или альфа-галогенамиды, с образованием ADC с цистеин-сконструированными антителами и фрагментами лекарственных средств PBD. Таким образом, положение фрагмента лекарственного средства можно проектировать, контролировать и знать. Можно контролировать нагрузку лекарственным средством, поскольку тиольные группы сконструированного цистеина обычно взаимодействуют с тиол-реакционными линкерными реагентами или реагентами лекарственное средство-линкер с высоким выходом. Конструирование IgG антитела для внедрения цистеиновой аминокислоты посредством замещения в одном сайте тяжелой или легкой цепи обеспечивает два новых цистеина в симметричном антителе. Нагрузка лекарственным средством около 2 может быть обеспечена с почти полной гомогенностью продукта конъюгирования ADC.

Если более одной нуклеофильной или электрофильной группы антитела приводится в контакт с интермедиатом лекарственное средство-линкер, или с линкерным реагентом, а затем с фрагментом лекарственного средства, то полученный продукт представляет собой смесь ADC соединений с распределением фрагментов лекарственного средства, присоединенных к антителу, например, 1, 2, 3 и т.д. Методы жидкостной хроматографии, такие как полимерная обратнo-фазовая (ПОФ) хроматография и хроматография гидрофобного взаимодействия (ГИХ), могут обеспечивать разделение соединений в смеси по значению нагрузки лекарственным средством. Можно выделять препараты ADC с одним значением нагрузки лекарственным средством (p), однако такое единственное значение содержания ADC все еще может означать гетерогенную смесь, поскольку

фрагменты лекарственного средства могут быть присоединены через линкер в разных сайтах антитела.

Таким образом, композиции конъюгатов антитело-лекарственное средство по данному изобретению включают смеси конъюгатов антитело-лекарственное средство, в которых антитело имеет один или более фрагментов лекарственного средства PBD и в которых фрагменты лекарственного средства могут быть присоединены к антителу через различные аминокислотные остатки.

В одном варианте реализации среднее количество димерных пирролобензодиазепиновых групп на один клеточно-связывающий агент, составляет от 1 до 20. В некоторых вариантах реализации указанный диапазон выбран из диапазонов от 1 до 8, от 2 до 8, от 2 до 6, от 2 до 4 и от 4 до 8.

В некоторых вариантах реализации присутствует одна димерная пирролобензодиазепиновая группа на один клеточно-связывающий агент.

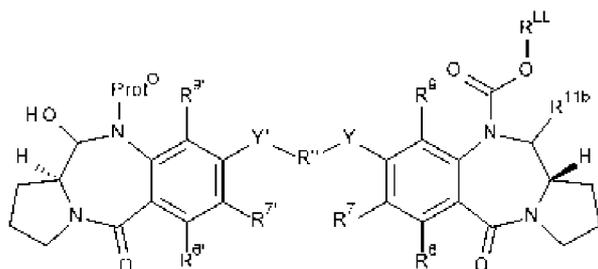
#### Общие способы синтеза

Синтез PBD соединений подробно описан в следующих ссылках, содержание которых включено в данный документ посредством ссылки:

- a) WO 00/12508 (страницы 14 – 30);
- b) WO 2005/023814 (страницы 3 – 10);
- c) WO 2004/043963 (страницы 28 – 29); и
- d) WO 2005/085251 (страницы 30 – 39).

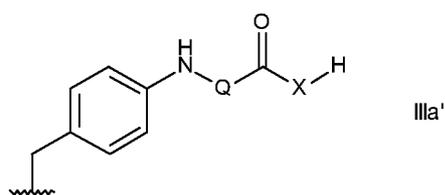
#### *Способ синтеза*

Соединения по данному изобретению формулы I, где  $R^{20}$  и  $R^{21}$  образуют двойную связь азот-углерод между атомами азота и углерода, с которыми они связаны, могут быть получены из соединения Формулы II:



Формула 2

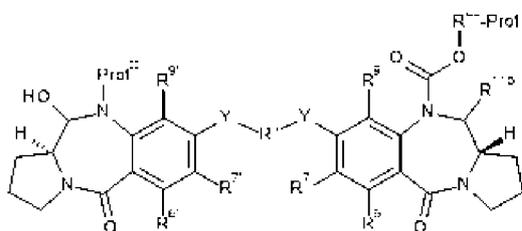
где  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^9$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{7'}$ ,  $R^{9'}$ ,  $R^{11b}$ ,  $Y$ ,  $Y'$  и  $R''$  являются такими, как определено для соединений формулы I, и  $R^{LL}$  представляет собой предшественник  $R^L$  – указанный способ особенно пригоден для соединений формулы I, где  $R^L$  имеет формулу IIIa'. Для таких соединений  $R^{LL}$  обычно представляет собой часть  $R^L$ , такую как группа формулы IIIa':



IIIa'

. В таком случае реакция включает присоединение группы  $G^L$ . Второй необходимый шаг является удалением группы  $Prot^O$ .

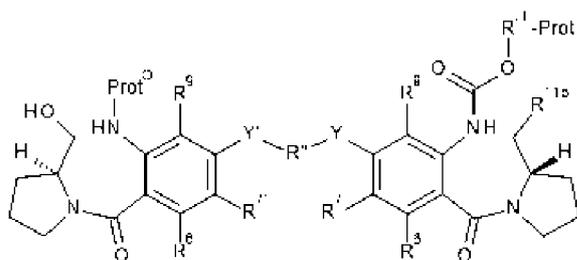
Соединения Формулы 2 можно получить посредством снятия защитной группы с группы  $R^{LL}$  соединений Формулы 3:



Формула 3

где  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^9$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{7'}$ ,  $R^{9'}$ ,  $R^{11b}$ ,  $Y$ ,  $Y'$  и  $R''$  являются такими, как определено для соединений формулы I,  $R^{LL-Prot}$  представляет собой защищенную версию  $R^{LL}$ , и  $Prot^N$  представляет собой защитную группу для атома азота (например, Fmoc, Boc), которая является ортогональной  $R^{LL}$  защитной группе.

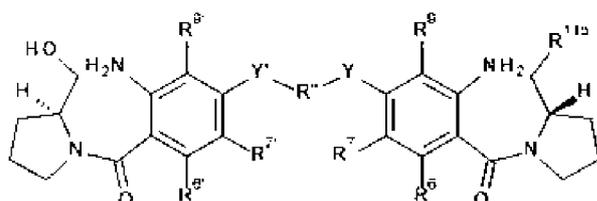
Соединения формулы 3 можно получать посредством замыкания кольца в соединениях Формулы 4:



Формула 4

где указанное замыкание кольца осуществляют посредством окисления, например, по Сверну.

Соединения формулы 4 можно синтезировать из соединений формулы 5:



Формула 5

поэтапным добавлением двух защитных групп. Что можно осуществлять простой защитой аминогруппы, которая приведет к имино связи в конечном соединении (например, Fmoc, Boc), с последующей постановкой желаемой защитной группы на другую аминогруппу.

Соединения формулы I, где  $R^L$  имеет формулу IIIb, можно синтезировать таким же способом, хотя можно установить всю  $R^L$  группу, исходя из соединения Формулы 5, вместо того чтобы использовать защищенный предшественник.

Соединения Формулы 5 можно синтезировать известными способами, такими как описано в WO 2011/130598.

Альтернативно, соединения Формулы 4 можно синтезировать через мономерный путь, как представлено в примере 3.

Соединения по данному изобретению формулы I, где  $R^{20}$  и  $R^{21}$  не образуют двойную связь азот-углерод между атомами азота и углерода, с которыми они связаны, могут быть получены посредством модификаций вышеуказанных синтетических последовательностей.

Конъюгаты можно получать так, как описано ранее. Антитела можно конъюгировать с линкерами лекарственных средств, как описано в публикации Doronina et al., Nature Biotechnology, 2003, 21, 778-784). Вкратце, антитела (4-5 мг/мл) в PBS, содержащем 50 мМ бората натрия при pH 7,4, восстанавливают гидрохлоридом трис(карбоксиил)фосфина (ТСЕР) при 37 °С. Ход реакции, в которой восстанавливают межцепочечные дисульфиды, контролируют по реакции с 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной кислотой) и продолжают реакцию до достижения требуемого значения отношения тиолы/mAb. Затем восстановленное антитело охлаждают до 0 °С и алкилируют, используя 1,5 эквивалента малеимидного линкера лекарственного средства на одну тиольную группу антитела. Через 1 час реакцию останавливают добавлением 5 эквивалентов N-ацетилцистеина. Остановленный линкер лекарственного средства удаляют гель-фильтрацией на колонке PD-10. Затем ADC стерильно фильтруют через шприц-фильтр 0,22 мкм. Концентрацию белка можно определять спектральным анализом при 280 нм и 329 нм, соответственно, с поправкой на вклад поглощения лекарственного средства при 280 нм. Можно использовать эксклюзионную хроматографию для определения степени агрегации антитела, и можно использовать ОФ-ВЭЖХ для определения содержания остаточного НАС-погашенного линкера лекарственного средства.

#### Дополнительные предпочтения

Следующие предпочтения можно применять в отношении всех аспектов данного изобретения, описанных выше, или они могут относиться к одному аспекту. Предпочтения можно комбинировать друг с другом в любом сочетании.

В некоторых вариантах реализации  $R^{6'}$ ,  $R^{7'}$ ,  $R^{9'}$  и  $Y'$  выбраны из таких же групп, как  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^9$  и  $Y$  соответственно. В некоторых из таких вариантов реализации  $R^{6'}$ ,  $R^{7'}$ ,  $R^{9'}$  и  $Y'$  являются такими же, как  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^9$  и  $Y$  соответственно.

#### *N10'-C11'*

В некоторых вариантах реализации  $R^{20}$  представляет собой H, и  $R^{21}$  представляет собой OH,  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил. В некоторых из таких вариантов реализации  $R^{21}$  представляет собой OH. В других из этих вариантов реализации,  $R^{21}$  представляет собой  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил. В некоторых из таких вариантов реализации,  $R^A$  представляет собой метил.

В некоторых вариантах реализации,  $R^{20}$  и  $R^{21}$  образуют двойную азот-углеродную связь между атомами азота и углерода, с которыми они связаны.

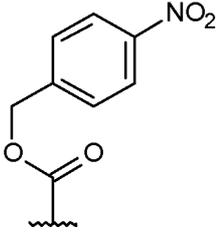
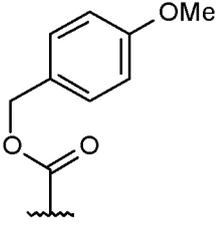
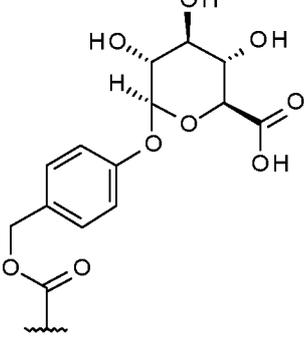
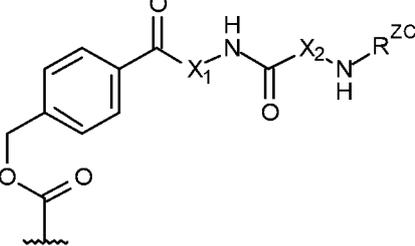
В некоторых вариантах реализации,  $R^{20}$  представляет собой H и  $R^{21}$  представляет собой  $SO_zM$ , где  $z$  равно 2 или 3, и  $M$  представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион. В некоторых из таких вариантов реализации,  $M$  представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион и может представлять собой  $Na^+$ . Кроме того, в некоторых вариантах реализации  $z$  равен 3.

В некоторых вариантах реализации,  $R^{20}$  представляет собой H и  $R^{21}$  представляет собой H.

В некоторых вариантах реализации, где  $R^{20}$  представляет собой (d-iii), в бензольном кольце может быть дополнительная нитрогруппа, например орто к  $R^Z$ .

В некоторых вариантах реализации,  $R^{21}$  представляет собой OH или  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил и  $R^{20}$  выбран из:

$R^{20a}$	
$R^{20b}$	
$R^{20c}$	
$R^{20d}$	

R <sup>20e</sup>	
R <sup>20f</sup>	
R <sup>20g</sup>	
R <sup>20h</sup>	

$-\text{C}(=\text{O})-\text{X}_1-\text{NHC}(=\text{O})\text{X}_2-\text{NH}-$  представляет собой дипептид. Аминокислоты в дипептиде могут представлять собой любую комбинацию природных аминокислот и неприродных аминокислот. Дипептид может представлять собой место действия катепсин-опосредованного расщепления.

В одном варианте реализации, дипептид,  $-\text{C}(=\text{O})-\text{X}_1-\text{NHC}(=\text{O})\text{X}_2-\text{NH}-$ , выбран из:

- Phe-Lys-,
- Val-Ala-,
- Val-Lys-,
- Ala-Lys-,
- Val-Cit-,

-Phe-Cit-,  
 -Leu-Cit-,  
 -Ile-Cit-,  
 -Phe-Arg-,  
 -Trp-Cit-,

где Cit представляет собой цитруллин.

Предпочтительно дипептид,  $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$ , выбран из:

-Phe-Lys-,  
 -Val-Ala-,  
 -Val-Lys-,  
 -Ala-Lys-,  
 -Val-Cit-.

Наиболее предпочтительно дипептид,  $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$ , представляет собой -Phe-Lys- или -Val-Ala-.

Можно использовать другие дипептидные комбинации, включая комбинации, описанные в публикации Dubowchik *et al.*, *Bioconjugate Chemistry*, 2002, 13,855-869, включенной в данный документ посредством ссылки.

В одном варианте реализации боковая цепь аминокислоты является химически защищенной, если это необходимо. Например, аминогруппа или карбоксигруппа боковой цепи аминокислоты могут быть дериватизированы.

В одном варианте реализации аминогруппа  $NH_2$  аминокислоты с боковой цепью, такой как лизин, представляет собой дериватизированную форму, выбранную из группы, состоящей из  $NHR$  и  $NRR'$ .

В одном варианте реализации карбоксигруппа  $COOH$  аминокислоты с боковой цепью, такой как аспарагиновая кислота, представляет собой дериватизированную форму, выбранную из группы, состоящей из  $COOR$ ,  $CONH_2$ ,  $CONHR$  и  $CONRR'$ .

В одном варианте реализации боковая цепь аминокислоты является химически защищенной, если это необходимо. Защитная группа боковой цепи может представлять собой группу, описанную ниже. Настоящие изобретатели установили, что защищенные

аминокислотные последовательности могут расщепляться ферментами. Например, дипептидная последовательность, содержащая остаток Lys с Boc-защищенной боковой цепью, расщепляется катепсином.

Защитные группы для боковых цепей аминокислот хорошо известны в данной области техники и описаны в каталоге Novabiochem. Дополнительные стратегии защитных групп изложены в «Защитных группах» в «Органическом синтезе», Greene и Wuts.

Возможные защитные группы боковой цепи показаны ниже для тех аминокислот, которые имеют реакционноспособную функциональность боковой цепи:

Arg: Z, Mtr, Tos;

Asn: Trt, Xan;

Asp: Bzl, трет-Bu;

Cys: Acn, Bzl, Bzl-OMe, Bzl-Me, Trt;

Glu: Bzl, трет-Bu;

Gln: Trt, Xan;

His: Boc, Dnp, Tos, Trt;

Lys: Boc, Z-Cl, Fmoc, Z, Alloc;

Ser: Bzl, TBDMS, TBDPS;

Thr: Bz;

Trp: Boc;

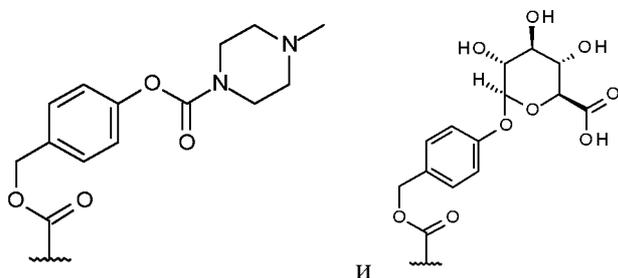
Tyr: Bzl, Z, Z-Br.

В одном варианте реализации защита боковой цепи выбирается так, чтобы она была ортогональной к группе, предоставляемой в качестве или в качестве части закрывающей группы, где она присутствует. Таким образом, удаление защитной группы боковой цепи не приводит к удалению закрывающей группы или какой-либо функциональности защитной группы, которая является частью закрывающей группы.

В других вариантах реализации изобретения выбранные аминокислоты представляют собой аминокислоты, не имеющие реакционноспособной функциональности боковой цепи. Например, аминокислоты могут быть выбраны из: Ala, Gly, Ile, Leu, Met, Phe, Pro и Val.

В настоящем изобретении особенно предпочтительно, чтобы, если  $L^1$  содержит дипептид, тогда  $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$  является тем же дипептидом.

Другие предпочтительные группы  $R^{20}$  включают:

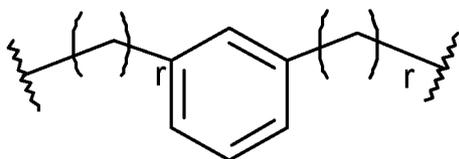


### Димерная связь

В некоторых вариантах реализации оба  $Y$  и  $Y'$  представляют собой  $O$ .

В некоторых вариантах реализации  $R''$  представляет собой  $C_{3-7}$  алкиленовую группу без заместителей. В некоторых из таких вариантов реализации  $R''$  представляет собой  $C_3$ ,  $C_5$  или  $C_7$  алкилен. В частности,  $R''$  может представлять собой  $C_3$  или  $C_5$  алкилен.

В других вариантах реализации  $R''$  представляет собой группу формулы:



где  $r$  равно 1 или 2.

Фениленовая группа может быть заменена пиридиленовой группой.

### От $R^6$ до $R^9$

В некоторых вариантах реализации  $R^9$  представляет собой  $H$ .

В некоторых вариантах реализации  $R^6$  выбран из  $H$ ,  $OH$ ,  $OR$ ,  $SH$ ,  $NH_2$ , нитро и галогена, и может быть выбран из  $H$  или галогена. В некоторых из таких вариантов реализации  $R^6$  представляет собой  $H$ .

В некоторых вариантах реализации  $R^7$  выбран из H, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR,  $NRR'$ , и галогена. В некоторых из таких вариантов реализации  $R^7$  выбран из H, OH и OR, где R выбран из необязательно замещенных  $C_{1-7}$  алкильных,  $C_{3-10}$  гетероциклических и  $C_{5-10}$  арильных групп. Более предпочтительно, R может представлять собой  $C_{1-4}$  алкильную группу, которая может быть или не быть замещенной. Пригодный заместитель представляет собой  $C_{5-6}$  арильную группу (например, фенил). Особенно предпочтительные заместители в 7-положениях представляют собой OMe и  $OCH_2Ph$ . Другие особенно пригодные заместители представляют собой диметиламино (т.е.  $-NMe_2$ );  $-(OC_2H_4)_qOMe$ , где q равен от 0 до 2; азотсодержащие  $C_6$  гетероциклилы, включая морфолино, пиперидинил и N-метилпиперазинил.

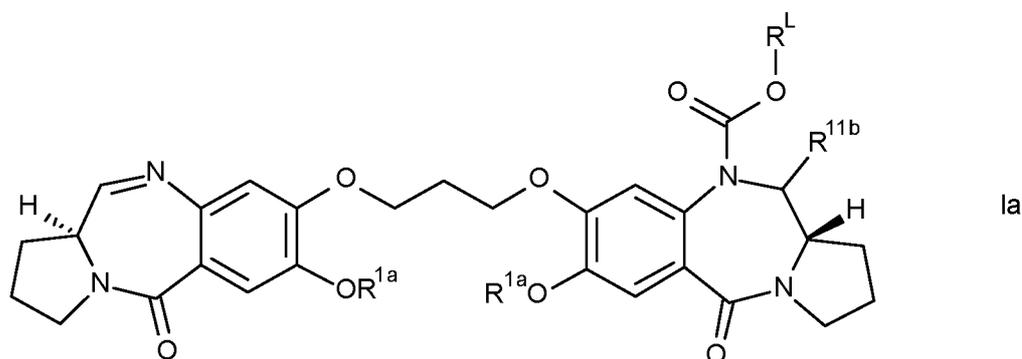
Указанные варианты реализации и предпочтения относятся к  $R^9$ ,  $R^6$  и  $R^7$ , соответственно.

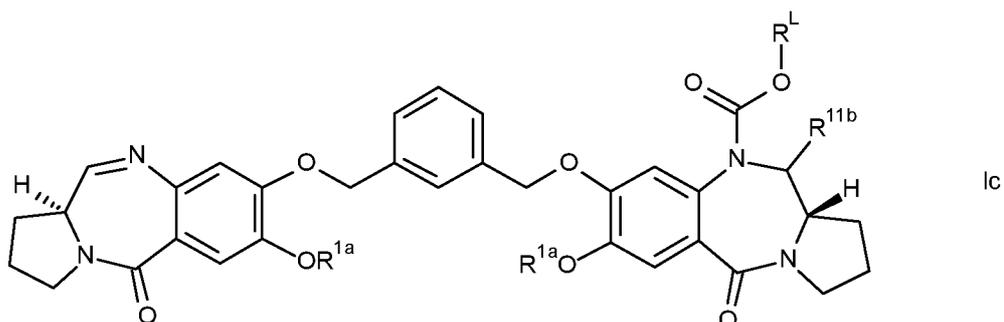
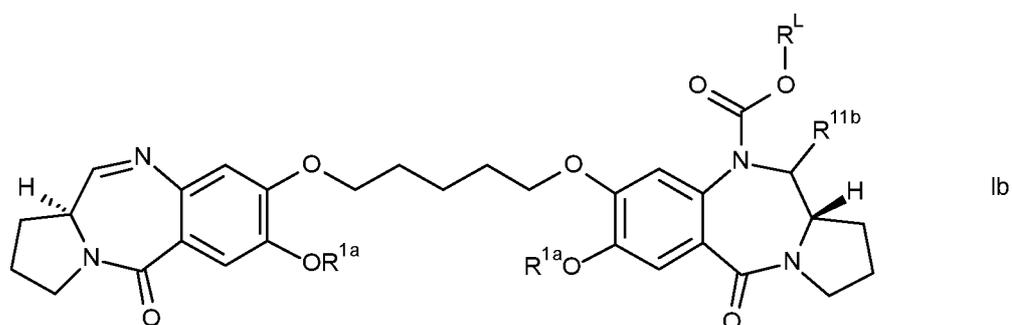
$R^{11b}$

В некоторых вариантах реализации  $R^{11b}$  представляет собой OH.

В некоторых вариантах реализации  $R^{11b}$  представляет собой  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил. В некоторых из таких вариантов реализации  $R^A$  представляет собой метил.

В некоторых вариантах реализации первого аспекта данного изобретения предложены соединения формулы Ia, Ib или Ic:





где  $R^{1a}$  выбран из метила и бензила;

$R^L$  и  $R^{11b}$  являются такими, как определено выше.

Указанные варианты реализации и предпочтения также относятся ко второму аспекту данного изобретения.

### Линкер ( $R^L$ )

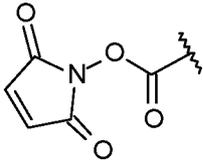
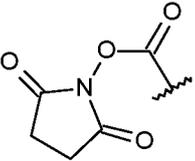
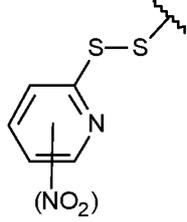
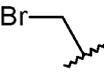
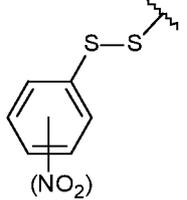
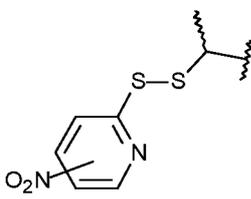
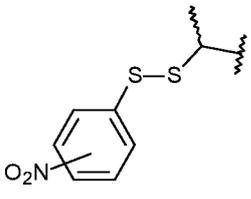
В некоторых вариантах реализации  $R^L$  имеет формулу IIIa.

В некоторых вариантах реализации  $R^{LL}$  имеет формулу IIIa'.

### $G^L$

$G^L$  может быть выбран из:

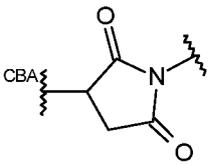
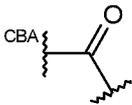
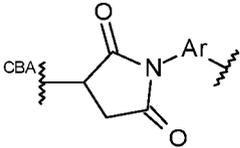
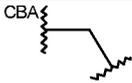
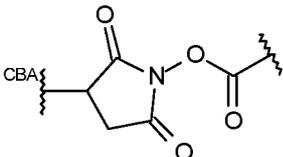
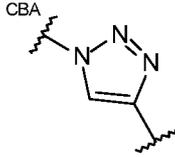
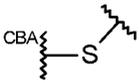
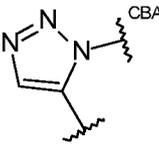
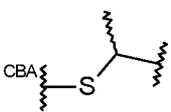
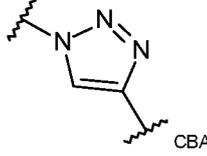
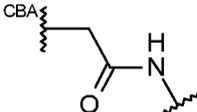
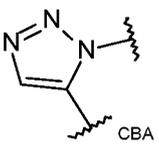
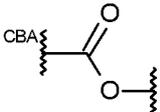
$(G^{L1-1})$		$(G^{L4})$	<p>Где Hal = I, Br, Cl</p>
$(G^{L1-2})$		$(G^{L5})$	

(G <sup>L2</sup> )		(G <sup>L6</sup> )	
(G <sup>L3-1</sup> )	 <p>где группа NO<sub>2</sub> является необязательной</p>	(G <sup>L7</sup> )	
(G <sup>L3-2</sup> )	 <p>где группа NO<sub>2</sub> является необязательной</p>	(G <sup>L8</sup> )	
(G <sup>L3-3</sup> )	 <p>где группа NO<sub>2</sub> является необязательной</p>	(G <sup>L9</sup> )	
(G <sup>L3-4</sup> )	 <p>где группа NO<sub>2</sub> является необязательной</p>		

где Ag представляет собой C<sub>5-6</sub> ариленовую группу, например, фенилен.

В некоторых вариантах реализации G<sup>L</sup> выбран из G<sup>L1-1</sup> и G<sup>L1-2</sup>. В некоторых из таких вариантов реализации G<sup>L</sup> представляет собой G<sup>L1-1</sup>.

$G^{LL}$  $G^{LL}$  может быть выбран из:

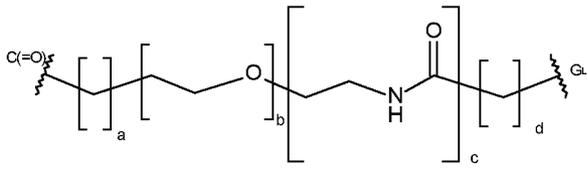
( $G^{LL1-1}$ )		( $G^{LL6}$ )	
( $G^{LL1-2}$ )		( $G^{LL7}$ )	
( $G^{LL2}$ )		( $G^{LL8-1}$ )	
( $G^{LL3-1}$ )		( $G^{LL8-2}$ )	
( $G^{LL3-2}$ )		( $G^{LL9-1}$ )	
( $G^{LL4}$ )		( $G^{LL9-2}$ )	
( $G^{LL5}$ )			

где Ar представляет собой  $C_{5-6}$  ариленовую группу, например, фенилен.

В некоторых вариантах реализации  $G^{LL}$  выбран из  $G^{LL1-1}$  и  $G^{LL1-2}$ . В некоторых из таких вариантов реализации  $G^{LL}$  представляет собой  $G^{LL1-1}$ .

X

X представляет собой:



где  $a =$  от 0 до 5,  $b =$  от 0 до 16,  $c = 0$  или 1,  $d =$  от 0 до 5.

$a$  может быть равно 0, 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах реализации  $a$  равно от 0 до 3. В некоторых из таких вариантов реализации  $a$  равно 0 или 1. В других вариантах реализации  $a$  равно 0.

$b$  может быть равно 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 или 16. В некоторых вариантах реализации  $b$  равно от 0 до 12. В некоторых вариантах реализации  $b$  равно от 0 до 8, и может быть равно 0, 2, 4 или 8.

$c$  может быть равно 0 или 1.

$d$  может быть равно 0, 1, 2, 3, 4 или 5. В некоторых вариантах реализации  $d$  равно от 0 до 3. В некоторых из таких вариантов реализации  $d$  равно 1 или 2. В других вариантах реализации  $d$  равно 2.

В некоторых вариантах реализации группы  $X$ ,  $a$  равно 0,  $c$  равно 1, и  $d$  равно 2, и  $b$  может быть равно от 0 до 8. В некоторых из таких вариантов реализации  $b$  равно 0, 4 или 8.

## Q

В одном варианте реализации  $Q$  представляет собой остаток аминокислоты. Аминокислота может быть природной аминокислотой или неприродной аминокислотой.

В одном варианте реализации  $Q$  выбран из: Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg и Trp, где Cit представляет собой цитруллин.

В одном варианте реализации  $Q$  содержит дипептидный остаток. Аминокислоты в дипептиде могут представлять собой любую комбинацию природных аминокислот и неприродных аминокислот. В некоторых вариантах реализации дипептид содержит природные аминокислоты. Если линкер представляет собой катепсин-лабильный линкер, то дипептид представляет собой место катепсин-опосредованного расщепления. В таком случае дипептид представляет собой сайт распознавания для катепсина.

В одном варианте реализации Q выбран из:

CO-Phe-Lys-NH,  
 CO-Val-Ala-NH,  
 CO-Val-Lys-NH,  
 CO-Ala-Lys-NH,  
 CO-Val-Cit-NH,  
 CO-Phe-Cit-NH,  
 CO-Leu-Cit-NH,  
 CO-Ile-Cit-NH,  
 CO-Phe-Arg-NH, и  
 CO-Trp-Cit-NH.

где Cit представляет собой цитруллин.

Предпочтительно, Q выбран из:

CO-Phe-Lys-NH,  
 CO-Val-Ala-NH,  
 CO-Val-Lys-NH,  
 CO-Ala-Lys-NH,  
 CO-Val-Cit-NH.

Наиболее предпочтительно, Q выбран из CO-Phe-Lys-NH, CO-Val-Cit-NH и CO-Val-Ala-NH.

Другие перспективные дипептидные комбинации включают:

CO-Gly-Gly-NH,  
 CO-Pro-Pro-NH, и  
 CO-Val-Glu-NH.

Можно использовать другие дипептидные комбинации, включая комбинации, описанные в публикации Dubowchik et al., *Bioconjugate Chemistry*, 2002, 13,855-869, включенной в данный документ посредством ссылки.

В некоторых вариантах реализации Q<sup>X</sup> представляет собой трипептидный остаток. Аминокислоты в трипептиде могут представлять собой любую комбинацию природных аминокислот и не природных аминокислот. В некоторых вариантах реализации трипептид

содержит природные аминокислоты. Если линкер представляет собой катепсин-лабильный линкер, то трипептид представляет собой место катепсин-опосредованного расщепления. В таком случае трипептид представляет собой сайт распознавания для катепсина.

В одном варианте реализации боковая цепь аминокислоты является химически защищенной, если это необходимо. Защитная группа боковой цепи может представлять собой группу, описанную ниже. Защищенные аминокислотные последовательности могут расщепляться ферментами. Например, дипептидная последовательность, содержащая остаток Lys с Вос-защищенной боковой цепью, расщепляется катепсином.

Защитные группы для боковых цепей аминокислот хорошо известны в данной области техники и описаны в каталоге Novabiochem, а также описаны выше в данном документе.

В некоторых вариантах реализации  $R^L$  имеет формулу IIIb.

В некоторых вариантах реализации  $R^{LL}$  имеет формулу IIIb'.

$R^{L1}$  и  $R^{L2}$  независимо выбраны из H и метила, или вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклопропиленовую или циклобутиленовую группу.

В некоторых вариантах реализации  $R^{L1}$  и  $R^{L2}$  представляют собой H.

В некоторых вариантах реализации  $R^{L1}$  представляет собой H, и  $R^{L2}$  представляет собой метил.

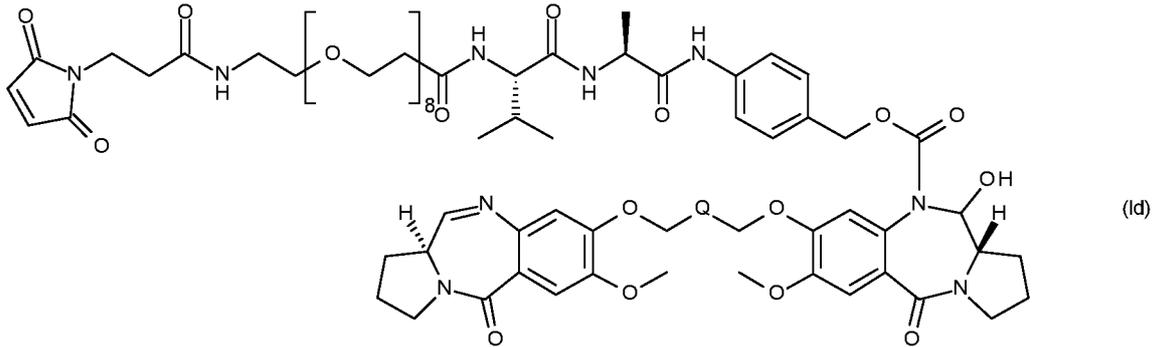
В некоторых вариантах реализации  $R^{L1}$  и  $R^{L2}$  представляют собой метил.

В некоторых вариантах реализации  $R^{L1}$  и  $R^{L2}$  вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклопропиленовую группу.

В некоторых вариантах реализации  $R^{L1}$  и  $R^{L2}$  вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклобутиленовую группу.

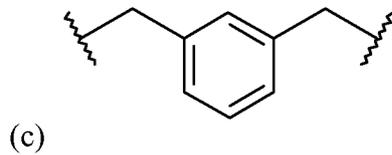
В некоторых вариантах реализации в группе IIIb  $e$  равно 0. В других вариантах реализации  $e$  равно 1, и нитрогруппа может быть в любом доступном положении кольца. В некоторых из таких вариантов реализации она находится в орто-положении. В других из таких вариантов реализации она находится в пара-положении.

В одном конкретном варианте реализации первый аспект данного изобретения включает соединение формулы Id:

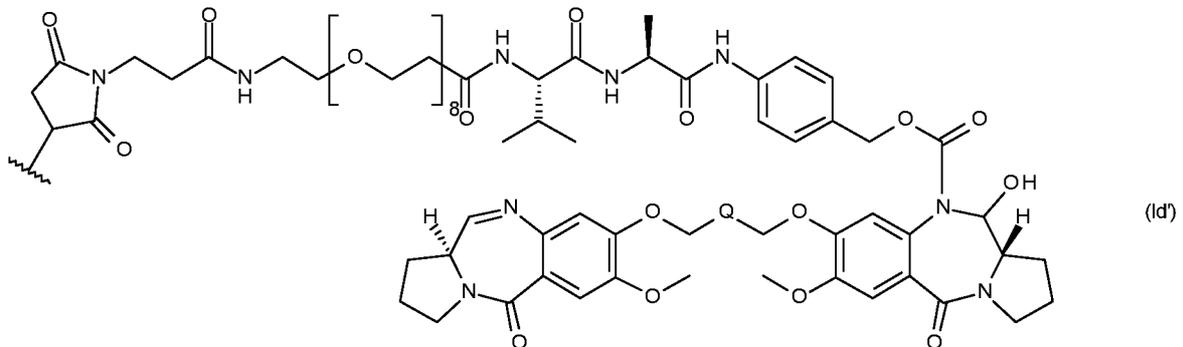


где, Q выбран из:

- (a)  $-\text{CH}_2-$ ;
- (b)  $-\text{C}_3\text{H}_6-$ ; и



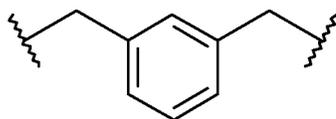
В одном конкретном варианте реализации второго аспекта данного изобретения линкер лекарственного соединения ( $D^L$ ) имеет формулу (Id'):



, где

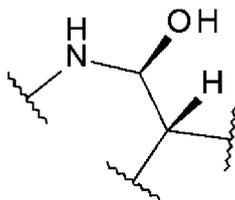
Q выбран из:

- (a)  $-\text{CH}_2-$ ;
- (b)  $-\text{C}_3\text{H}_6-$ ; и

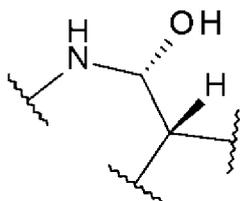


(c)

В некоторых вариантах реализации данного изобретения заместитель С11 может быть в следующем стереохимическом положении относительно соседних групп:



В других вариантах реализации заместитель С11 может быть в следующем стереохимическом положении относительно соседних групп:



## Примеры

### **Общая информация**

Флэш-хроматографию проводили на приборе Biotage Isolera 1<sup>TM</sup>, используя градиентное элюирование, начиная с 88% смеси гексан/EtOAc или 99,9% смеси ДХМ/MeOH, до полного элюирования из колонки всех УФ-активных компонентов (обнаружение при 214 и 254 нм). Когда наблюдали значительное элюирование УФ-активного материала, градиент останавливали вручную. Чистоту фракций проверяли с помощью тонкослойной хроматографии (ТСХ), используя силикагель Merck Kieselgel 60 F254, с флуоресцентным индикатором на алюминиевых пластинах. Визуализацию ТСХ осуществляли с помощью УФ света или паров йода, если не указано иное. Растворители для экстракции и хроматографии приобретали и использовали без дополнительной очистки у компании VWR, Великобритания. Все химические реактивы приобретали у компании Sigma-Aldrich или TCI Europe, если не указано иное. Пэгиллированные реагенты приобретали у компании Quanta Biodesign, США, через компанию Stratech, Великобритания.

$^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектры записывали на спектрометре Bruker Avance® 400. Константы расщепления указывали в герцах (Гц). Химические сдвиги записывали в миллионных долях (м.д.) в сторону слабого поля относительно сигнала тетраметилсилана. Спиновые мультиплетности записывали как с (синглет), уш.с (уширенный синглет), д (дублет), т (триплет) и м (мультиплет).

Использовали следующие условия аналитической ЖХ/МС (для проверки хода реакции и определения чистоты): Электрораспылительную масс-спектрометрию в режиме положительной ионизации проводили на приборе Shimadzu Nexera®/Prominence® LCMS-2020. В качестве подвижной фазы использовали растворитель А ( $\text{H}_2\text{O}$  с 0,1% муравьиной кислоты) и растворитель В ( $\text{CH}_3\text{CN}$  с 0,1% муравьиной кислоты). Градиент для обычной 3-минутной хроматограммы: Первоначальный состав 5% В выдерживали в течение 25 секунд, затем повышали концентрацию от 5% В до 100% В в течение 1 минуты 35 секунд. Такой состав выдерживали в течение 50 секунд при 100% В, затем возвращались к 5% В в течение 5 секунд и выдерживали в течение 5 секунд. Общая продолжительность градиентного цикла составляла 3,0 минуты. Градиент для обычной 15-минутной хроматограммы: Первоначальное содержание 5% В выдерживали в течение 1 мин, затем повышали от 5% В до 100% В за 9 минут. Такой состав выдерживали в течение 2 минут при 100% В, затем возвращались к 5% В в течение 10 секунд и выдерживали при 5% В в течение 2 минут 50 секунд. Общая продолжительность градиентного цикла составляла 15,0 минут. Скорость потока составляла 0,8 мл/мин (для 3-минутной хроматограммы) и 0,6 мл/мин (для 15-минутной хроматограммы). Обнаружение проводили при 254 нм. Колонки: Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18, 1,7 мкм, 2,1 x 50 мм при 50 °С, оснащенная предколонкой Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 VanGuard, 130A, 1,7 мкм, 2,1 мм x 5 мм (стандартный 3-минутный цикл); и ACE Excel 2 C18-AR, 2 мкм, 3,0 x 100 мм, оснащенная предколонкой Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 VanGuard, 130A, 1,7 мкм, 2,1 мм x 5 мм (15-минутный цикл).

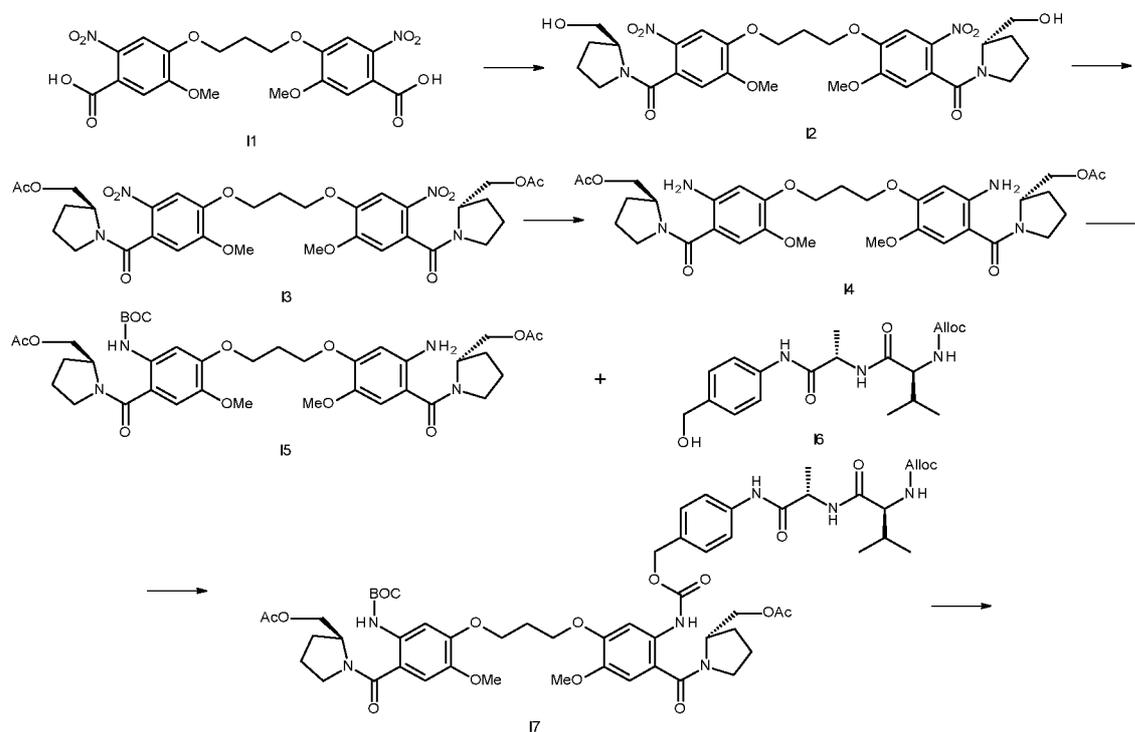
Использовали следующие условия препаративной ВЭЖХ: Обращенно-фазовую сверхскоростную высокоэффективную жидкостную хроматографию (СВЭЖХ) проводили на приборе Shimadzu Prominence®, используя колонку Phenomenex® Gemini NX, 5 мкм, C18 (при 50 °С), 150 x 21,2 мм. В качестве элюентов использовали растворитель А ( $\text{H}_2\text{O}$  с 0,1% муравьиной кислоты) и растворитель В ( $\text{CH}_3\text{CN}$  с 0,1% муравьиной кислоты). Все эксперименты СВЭЖХ проводили, используя следующие условия градиента:

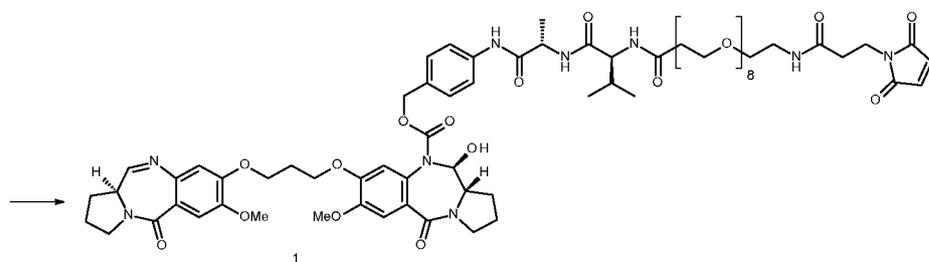
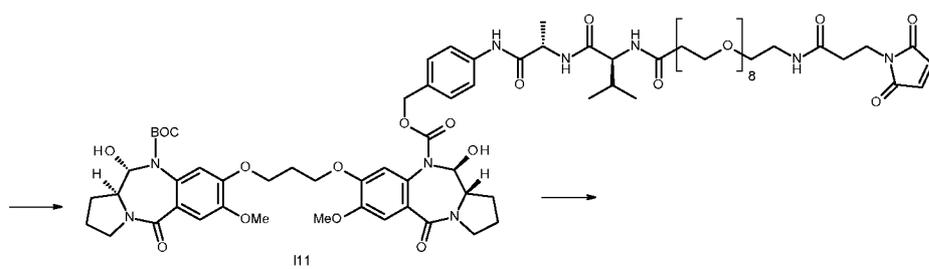
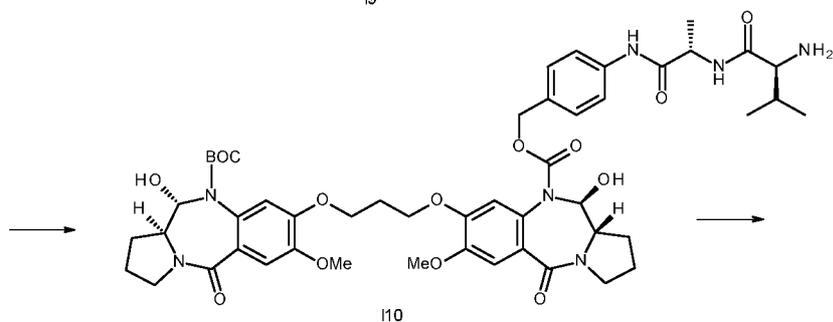
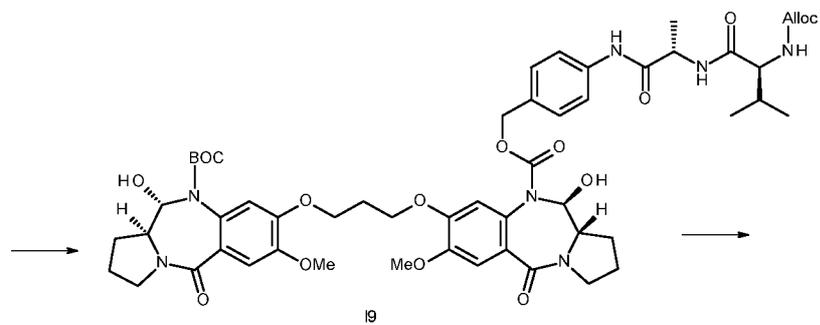
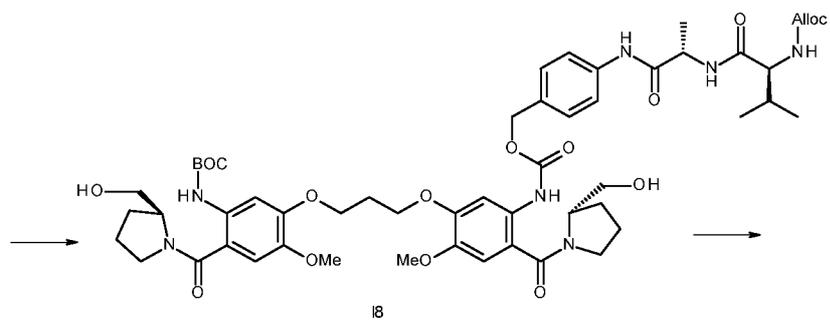
Метод А: Первоначальное содержание 13% В увеличивали до 60% В за 15 минут, затем увеличивали до 100% В за 2 минуты. Выдерживали в течение 1 минуты при 100% В, затем возвращали к 13% В за 0,1 минуты и выдерживали в течение 1,9 минуты. Общая продолжительность градиентного цикла составляла 20,0 минут. Скорость потока составляла 20,0 мл/мин, и обнаружение проводили при 254 и 280 нм.

Метод В: Первоначальное содержание 13% В увеличивали до 70% В за 17 минут, выдерживали при данном содержании В в течение 2 минут, затем возвращали к 13% В за 0,1 минуты и выдерживали в течение 1,9 минуты. Общая продолжительность градиентного цикла составляла 20,0 минут. Скорость потока составляла 20,0 мл/мин, и обнаружение проводили при 223 нм.

Метод С: Первоначальное содержание 13% В увеличивали до 75% В за 15 минут, затем увеличивали до 100% В за 2 минуты. Выдерживали в течение 1 минуты при 100% В, затем возвращали к 13% В за 0,1 минуты и выдерживали в течение 1,9 минуты. Общая продолжительность градиентного цикла составляла 20,0 минут. Скорость потока составляла 20,0 мл/мин, и обнаружение проводили при 254 и 280 нм.

### Пример 1





(a) ((Пропан-1,3-диилбис(окси))бис(5-метокси-2-нитро-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)тирролидин-1-ил)метанон) (12)

К перемешанной суспензии бис-нитробензойной кислоты **II** (10 г, 21,5 ммоль) и оксалилхлорида (5,6 мл, 8,2 г, 64,5 ммоль) в безводном ДХМ (150 мл) добавляли ДМФА (12 капель). После начального вспенивания реакционная суспензия превращалась в раствор, и смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 16 часов. Большую часть растворителя удаляли выпариванием в вакууме, а полученный концентрированный раствор повторно растворяли в минимальном количестве сухого ДХМ и растирали с диэтиловым эфиром. Полученный желтый осадок отфильтровывали в вакууме, промывали холодным диэтиловым эфиром и сушили в течение 1 часа в вакуумной печи при 40 °С. Твердый хлорангидрид по частям добавляли к перемешиваемой суспензии (*S*)-(+)-2-пирролидинметанола (5,0 г, 4,9 мл, 49,5 ммоль) и ТЭА (15,0 мл, 10,9 г, 108 ммоль) в ДХМ (100 мл) при -40 °С (сухой лед/CH<sub>3</sub>CN). После перемешивания в течение 1 часа реакцию завершали, что определяли с помощью ЖХ/МС с исключительно желаемым продуктом при времени удерживания 1,33 минуты, ЭСИ+ *m/z* 655 [M+ Na]<sup>+</sup>, 633 [M+ H]<sup>+</sup>. Смесь разбавляли ДХМ (100 мл) и промывали 1 н. HCl (2 × 50 мл), насыщенным NaHCO<sub>3</sub> (3 × 40 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили (MgSO<sub>4</sub>), фильтровали и растворитель выпаривали в вакууме с получением очищенного продукта **I2** в виде желтого твердого вещества (13,6 г, выход 100%).

(b) *((2S,2'S)-(4,4'-(пропан-1,3-диилбис(окси))бис(5-метокси-2-нитробензоил))бис(пирролидин-1,2-дил))бис(метилен)дисацетат (I3)*

Раствор Ac<sub>2</sub>O (4,47 мл, 4,83 г, 47,3 ммоль) в сухом ДХМ (25 мл) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору бис-спирта **I2** (13,6 г, 21,5 ммоль), DMAP (263 мг, 2,15 ммоль) и пиридина (4,17 мл, 4,08 г, 51,6 ммоль) в сухом ДХМ (125 мл) при 0 °С (лед/ацетон) в атмосфере аргона. Реакционную смесь оставляли нагреться и через 1 час при комнатной температуре анализ с помощью ЖХ/МС выявил завершение реакции и полное превращение в желаемый продукт при времени удерживания 1,55 минуты, ЭСИ+ *m/z* 740 [M+ Na]<sup>+</sup>, 717 [M+ H]<sup>+</sup>. Смесь разбавляли ДХМ (20 мл) и промывали 1 н HCl (2 × 100 мл), H<sub>2</sub>O (25 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили (MgSO<sub>4</sub>), фильтровали и растворитель выпаривали в вакууме с получением неочищенного бисацетата **I3** в виде желтого твердого вещества (14,4 г, 94% выход), который имел удовлетворительную чистоту для переноса на следующую стадию без дополнительной очистки.

(c) *((2S,2'S)-(4,4'-(пропан-1,3-диилбис(окси))бис(2-амино-5-метоксибензоил))бис(пирролидин-1,2-диил))бис(метилен)диацетат (I4)*

Образец 10% Pd-C (132 мг) осторожно обрабатывали EtOAc (10 мл) с получением суспензии, которую добавляли к раствору нитросоединения **I3** (1,32 г, 1,84 ммоль) в EtOAc (20 мл) и EtOH (30 мл) в сосуде для гидрирования. Используя аппарат Parr®, смесь обрабатывали газообразным водородом до 10 фунтов на квадратный дюйм и встряхивали при комнатной температуре, затем дегазировали в вакууме, данный процесс повторяли еще два раза. Сосуд наполняли газообразным водородом до 45 фунтов на квадратный дюйм, встряхивали и поддерживали давление при потреблении водорода. Анализ с помощью ЖХ/МС продемонстрировал неполное завершение реакции через 3 часа и ее оставляли встряхиваться при 45 фунт/кв.дюйм в течение 3 дней (выходные дни), после чего было достигнуто удовлетворительное превращение в продукт, время удерживания = 1,32 минуты, ЭСИ+  $m/z$  657  $[M + H]^+$ . Реакционную смесь дегазировали в вакууме, а затем фильтровали через слой celite®. Фильтрат упаривали в вакууме, полученный остаток повторно растворяли в ДХМ (30 мл), сушили (MgSO<sub>4</sub>), фильтровали и растворитель выпаривали в вакууме, получая неочищенный бис-анилин **I4** в виде желтоватой пены (1,1 г, 91% выход), который содержал 8% примесей, но использовался на следующей стадии без дальнейшей очистки.

(d) *((S)-1-(4-(3-(4-((S)-2-(ацетоксиметил)пирролидин-1-карбонил)-5-((трет-бутоксикарбонил)амино)-2-метоксифенокси)пропокси)-2-амино-5-метоксибензоил)пирролидин-2-ил)метилацетат (I5)*

Woc<sub>2</sub>O (330 мг, 1,51 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору бис-анилина **I4** (1,1 г, 1,68 ммоль) в сухом ТГФ (10 мл). Реакционную смесь нагревали и перемешивали при 75 °С в течение 16 часов. Анализ с помощью ЖХ/МС выявил желаемый моно-Вос-продукт **I5** при времени удерживания 1,58 минуты, I% = 50, ЭСИ+  $m/z$  779  $[M + Na]^+$ , 757  $[M + H]^+$ . Вместе с непрореагировавшим исходным веществом при времени удерживания 1,32 минут, I% = 30, и бис-Вос вещество при времени удерживания 1,81 минуты, I% = 21, ЭСИ+  $m/z$  879  $[M + Na]^+$ , 857  $[M + H]^+$ . Реакционную смесь оставляли остыть до комнатной температуры и ТГФ упаривали в вакууме. Очистка с помощью Isolera™ (ДХМ/MeOH, SNAP Ultra 50 г, 100 мл в минуту) дала моно-Вос-продукт **I5** в виде оранжевой пены (519 мг, выход 46% в расчете на Woc<sub>2</sub>O, элюирование при 97% ДХМ/MeOH) непрореагировавшего бис-анилин **I4** (285 мг, элюирование при 95% ДХМ/MeOH) и бис-Вос (248 мг, элюирование при 98% ДХМ/MeOH).

(e) ((S)-1-(4-(3-(4-((S)-2-(ацетоксиметил)пирролидин-1-карбонил)-5-((((4-((S)-2-((S)-2-((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)окси)карбонил)амино)-2-метоксифенокси)пропокси)-2-((трет-бутоксикарбонил)амино)-5-метоксибензоил)пирролидин-2-ил)метилацетат (**I7**)

К перемешиваемому раствору моно-Вос продукта **I5** (2,69 г, 3,56 ммоль) и ТЕА (1,09 мл, 791 мг, 7,83 ммоль) в сухом ДХМ (30 мл) при комнатной температуре добавляли трифосген (380 мг, 1,28 ммоль). После перемешивания в течение 10 минут в атмосфере аргона анализ с помощью ЖХ/МС показал полное превращение в изоцианат (отбор проб в MeOH с получением метилкарбамата, время удерживания 1,66 минуты, ЭСИ+  $m/z$  837 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>, 815 [ $M+H$ ]<sup>+</sup>). Смесь обрабатывали дополнительным количеством ТЕА (740 мкл, 539 мг, 5,34 ммоль) с последующим добавлением линкера **I6** (1,34 г, 3,56 ммоль). После 2 часов перемешивания в атмосфере аргона ЖХ/МС продемонстрировал удовлетворительную степень превращения в карбамат **I7** (время удерживания 1,74 минуты, (ЭСИ+)  $m/z$  1182 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>, 1160 [ $M+H$ ]<sup>+</sup>). Смесь разбавляли ДХМ (80 мл) и промывали насыщенным раствором NH<sub>4</sub>Cl (2 x 30 мл), H<sub>2</sub>O (30 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили (MgSO<sub>4</sub>), фильтровали упаривали в вакууме с получением неочищенного продукта. Очистка с помощью Isolera™ (гексан/EtOAc, SNAP Ultra 100 г, 100 мл в минуту) давала очищенный карбамат **I7** (элюирование при 65% гексан/EtOAc) в виде желтой пены (2,95 г, выход 71%).

(f) трет-бутил(5-(3-(5-((((4-((S)-2-((S)-2-((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)окси)карбонил)амино)-4-((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбонил)-2-метоксифенокси)пропокси)-2-((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбонил)-4-метоксифенил)карбамат (**I8**)

Твердый K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,75 г, 12,7 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору защищенного ацетатом соединения **I7** (2,93 г, 2,53 ммоль) в MeOH (60 мл) и H<sub>2</sub>O (12 мл). После перемешивания в течение 1 часа при комнатной температуре реакцию считали завершенной, что определяли с помощью ЖХ/МС с желаемым продуктом при времени удерживания 1,57 минуты, ЭСИ+  $m/z$  1098 [ $M+Na$ ]<sup>+</sup>, 1076 [ $M+H$ ]<sup>+</sup>. MeOH удаляли выпариванием в вакууме и полученный остаток распределяли между водой (75 мл) и ДХМ (75 мл). Слои разделяли и водную фазу экстрагировали ДХМ (3 x 25 мл). Объединенные органические слои промывали водой (3 x 50 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (60 мл), сушили (MgSO<sub>4</sub>), фильтровали и упаривали в вакууме, получая неочищенный продукт. Очистка с помощью Isolera™ (ДХМ/MeOH, SNAP Ultra 100 г, 100

мл в минуту) бис-спиртом **18** (элюирование при 97% ДХМ/MeOH) в виде белой пены (2,44 г, выход 90%).

(g) *4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил(11S,11aS)-8-(3-(((11S,11aS)-10-(трет-бутоксикарбонил)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-пирроло[2,1-c][1,4]бензодиазетин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-пирроло[2,1-c][1,4]бензодиазетин-10(5H)-карбоксилат (19)*

Раствор безводного ДМСО (710 мкл, 780 мг, 9,99 ммоль) в сухом ДХМ (20 мл) добавляли по каплям к перемешиваемому раствору оксалилхлорида (2,72 мл 2,0 М раствора в ДХМ, 5,44 ммоль) в сухом ДХМ (20 мл) при -45 °С (сухой лед/CH<sub>3</sub>CN) в атмосфере аргона. После 15-минутного перемешивания при -45 °С реакцию смесь по каплям обрабатывали раствором бис-спирта **18** (2,44 г, 2,27 ммоль) в сухом ДХМ (30 мл). После перемешивания при -45 °С в течение еще 1 часа реакцию смесь по каплям обрабатывали раствором ТЕА (3,16 мл, 2,29 г, 22,7 ммоль) в сухом ДХМ (20 мл). Реакционной смеси давали нагреться до комнатной температуры в течение 1,5 часов и разбавляли ДХМ (100 мл), затем промывали насыщенным NH<sub>4</sub>Cl (2 × 50 мл), насыщенным NaHCO<sub>3</sub> (50 мл), водой (30 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили (MgSO<sub>4</sub>), фильтровали и упаривали в вакууме, получая неочищенный продукт. Очистка с помощью Isolera™ (ДХМ/MeOH, SNAP Ultra 100 г, 100 мл в минуту) давала циклизованное соединение **19** (элюирование при 95,7% ДХМ/MeOH) в виде желтоватой пены (1,61 г, выход 66%): ЖХ/МС **19** при времени удерживания 1,46 минуты, ЭСИ+ *m/z* 1072 [M+ H]<sup>+</sup>, 1094 [M+ Na]<sup>+</sup>.

(h) *4-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил(11S,11aS)-8-(3-(((11S,11aS)-10-(трет-бутоксикарбонил)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-пирроло[2,1-c][1,4]бензодиазетин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-пирроло[2,1-c][1,4]бензодиазетин-10(5H)-карбоксилат (110)*

К перемешиваемому раствору пирролидина (29 мкл, 25 мг, 0,35 ммоль) и соединению Алос **19** (300 мг, 0,28 ммоль) в сухом ДХМ (10 мл) добавляли Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (6,47 мг, 5,6 мкмоль). После перемешивания в течение 4 часов в атмосфере аргона при комнатной температуре анализ с помощью ЖХ/МС показал завершение реакции с желаемым продуктом, наблюдаемым при времени удерживания 1,10 минуты, ЭСИ+, *m/z* 1010 [M+ Na]<sup>+</sup>, 988 [M+ H]<sup>+</sup>. Реакционную смесь разбавляли ДХМ (30 мл), затем промывали

насыщенным  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ( $2 \times 20$  мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл), сушили ( $\text{MgSO}_4$ ), фильтровали и упаривали в вакууме, получая неочищенный продукт. Растирание с диэтиловым эфиром с последующим выпариванием в вакууме давало неочищенный амин **II0** (261 мг, выход 95%), который использовали на следующей стадии без дополнительной очистки или анализа.

(i) *трет-бутил(11S,11aS)-8-(3-(((11S,11aS)-10-(((4-((2S,5S)-37-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-5-изопропил-2-метил-4,7,35-триоксо-10,13,16,19,22,25,28,31-октакса-3,6,34-триазагептапентаконтанамидо)бензил)окси)карбонил)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-пирроло[2,1-c][1,4]бензодиазетин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-пирроло[2,1-c][1,4]бензодиазетин-10(5H)-карбоксилат (III)*

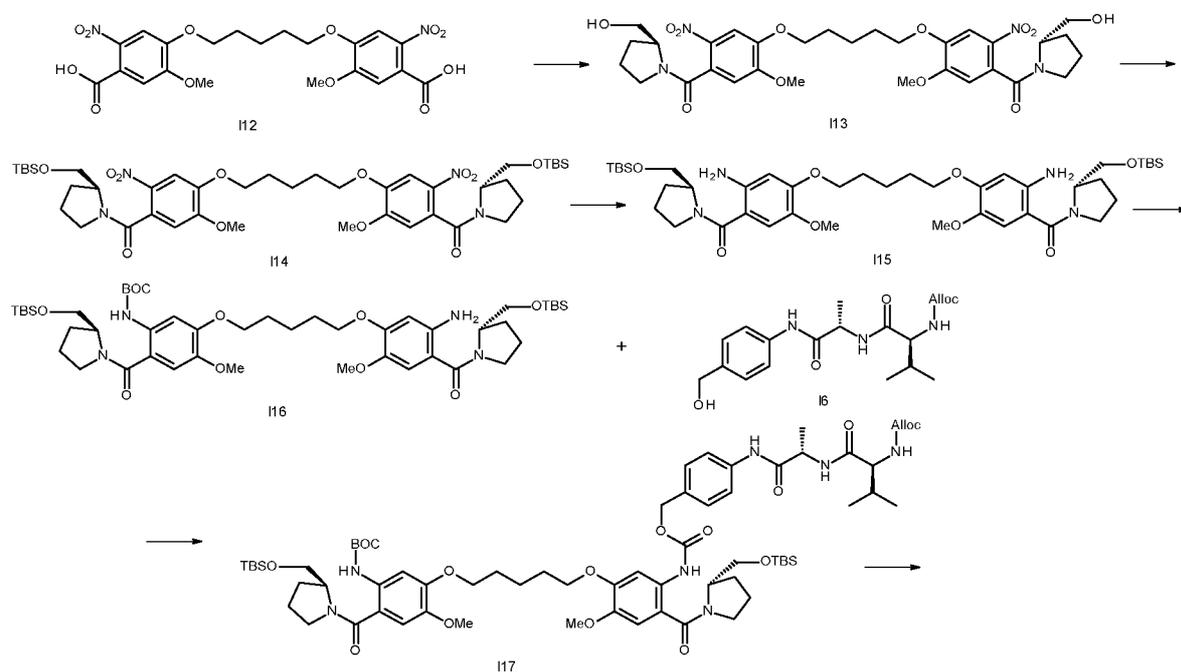
К перемешиваемому раствору MAL-dPEG®<sub>8</sub>-кислоты (172 мг, 0,29 ммоль, Stratech Scientific Limited) и амина **II0** (261 мг, 0,26 ммоль) в сухом ДХМ (10 мл) при комнатной температуре добавляли EDCI (56 мг, 0,29 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона в течение 2,5 часов, после чего анализ ЖХ/МС показал полное превращение в желаемый продукт при времени удерживания 1,38 минуты, ЭСИ+  $m/z$  1585  $[M+ \text{Na}]^+$ , 1563  $[M+ \text{H}]^+$ . Реакционную смесь разбавляли ДХМ (30 мл) и промывали  $\text{H}_2\text{O}$  (20 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия ( $2 \times 20$  мл), сушили ( $\text{MgSO}_4$ ), фильтровали и упаривали в вакууме с получением неочищенного продукта. Очистка Isolera™ (ДХМ/MeOH, SNAP Ultra 25 г, 75 мл в минуту) давала амид **II1** (элюирование при 91% ДХМ/MeOH) в виде белой пены (277 мг, выход 67%).

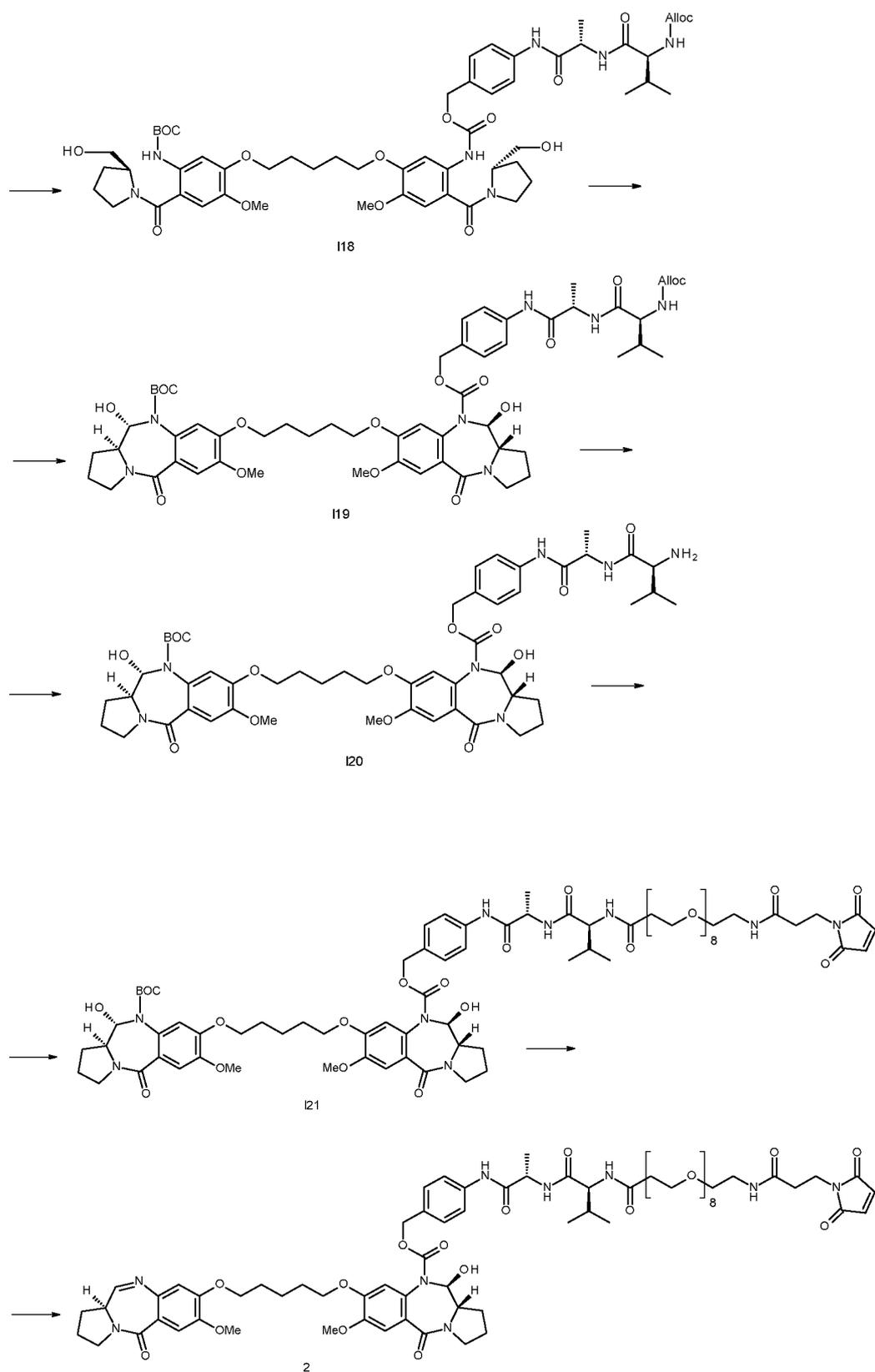
(j) *4-((2S,5S)-37-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-5-изопропил-2-метил-4,7,35-триоксо-10,13,16,19,22,25,28,31-октакса-3,6,34-триазагептапентаконтанамидо)бензил(11S,11aS)-11-гидрокси-7-метокси-8-(3-(((S)-7-метокси-5-оксо-2,3,5,11a-тетрагидро-1H-пирроло[2,1-c][1,4]бензодиазетин-8-ил)окси)пропокси)-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-пирроло[2,1-c][1,4]бензодиазетин-10(5H)-карбоксилат (I)*

Раствор 95:5 об/об ТФК/ $\text{H}_2\text{O}$  (2 мл) добавляли к неочищенному образцу Вос-защищенного соединения **II1** (262 мг, 0,17 ммоль) при 0 °С (лед/ацетон). После перемешивания при 0 °С в течение 3 часов реакцию считали завершённой, что определяли по данным ЖХ/МС, пик желаемого продукта при времени удерживания 1,30 минуты, ЭСИ+  $m/z$  1445  $[M+ \text{H}]^+$ . Реакционную смесь выдерживали в холодном состоянии и по каплям добавляли к охлажденному насыщенному водному раствору  $\text{NaHCO}_3$  (100 мл). Смесь экстрагировали

ДХМ (3 × 30 мл) и объединенные органические слои промывали насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл), сушили (MgSO<sub>4</sub>), фильтровали и упаривали в вакууме с получением неочищенного продукта. Очистка Isolera™ (CHCl<sub>3</sub>/MeOH, SNAP Ultra 25 г, 25 мл в минуту) дала **1** (элюирование при 89,6% CHCl<sub>3</sub>/MeOH) в виде желтой пены (170 мг, выход 70%). Дальнейшая очистка препаративной ВЭЖХ (метод А) давала **1** в виде светло-желтой пены (105 мг, выход 43%): ЖХ/МС (15-минутный прогон), время удерживания 5,25 минут, ЭСИ+ *m/z* 1445 [*M*+ H]<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, *d*6-DMCO) δ 9,92 (с, 1H), 8,16 (д, 1H, *J* = 6,8 Гц), 7,99 (т, 1H, *J* = 5,7 Гц), 7,86 (д, 1H, *J* = 8,6 Гц), 7,80 (д, 1H, *J* = 4,5 Гц), 7,64–7,50 (м, 2H), 7,34 (с, 1H), 7,24–7,13 (м, 2H), 7,06 (с, 1H), 7,00 (с, 2H), 6,88 (с, 1H), 6,75 (с, 1H), 6,53–6,41 (м, 1H), 5,52–5,41 (м, 1H), 5,13 (д, 1H, *J* = 12,2 Гц), 4,93–4,77 (м, 1H), 4,42–4,34 (м, 1H), 4,30–3,90 (м, 6H), 3,80–3,60 (м, 4H), 3,80 (с, 3H), 3,79 (с, 3H), 3,60 (т, 4H, *J* = 7,3 Гц), 3,53–3,46 (м, 28H), 3,41–3,33 (м, 1H), 3,32–3,29 (м, 2H, перекрыт H<sub>2</sub>O), 3,19–3,12 (м, 2H), 2,48–1,60, м, 15H), 1,35–1,20 (м, 3H), 0,87 (д, 3H, *J* = 6,6 Гц), 0,83 (д, 3H, *J* = 6,8 Гц).

## Пример 2





(a) ((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(5-метокси-2-нитро-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)тирролидин-1-ил)метанон) (II3)

ДМФА (5 капель) добавляли к перемешиваемой суспензии бис-нитробензойной кислоты **II2** (4,05 г, 8,192 ммоль, 1,0 экв.) и оксалилхлорида (12,3 мл 2М раствора, 24,57 ммоль, 3,0 экв.) в безводном  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (65 мл). После начального вспенивания реакционная суспензия превращалась в раствор, и смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 16 часов. Реакционную смесь упаривали в вакууме и полученное твердое вещество растирали с  $\text{Et}_2\text{O}$  и сушили в вакуумной печи при 40 °С в течение 3 часов. Твердый хлорангидрид по частям добавляли к перемешиваемой суспензии (*S*)-(+)-2-пирролидинметанола (1,78 мл, 18,02 ммоль, 2,2 экв.) и изо- $\text{Pr}_2\text{NEt}$  (7,13 мл, 40,96 ммоль, 5,0 экв.) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (65 мл) при -40 °С (сухой лед/ $\text{CH}_3\text{CN}$ ). После перемешивания в течение 1 часа температура реакции достигала 0 °С и была завершена, как было определено с помощью ЖХ/МС, с исключительно желаемым продуктом при времени удерживания 1,44 минуты, ЭСИ+  $m/z$  661 [ $M + \text{H}$ ]<sup>+</sup>, 683 [ $M + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>. Смесь разбавляли  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 мл) и последовательно промывали  $\text{H}_2\text{O}$ , 1 н.  $\text{NaOH}$  и 1М  $\text{HCl}$  (50 мл), сушили ( $\text{MgSO}_4$ ), фильтровали и растворитель выпаривали в вакууме, получая чистый продукт **II3** в виде желтой пены (4,44 г, выход 82%), который использовали без дальнейшей очистки.

(b) ((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(5-метокси-2-нитро-4,1-фенилен))бис(((*S*)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-ил)метанон) (**II4**)

Порциями добавляли имидазол (2,74 г, 40,32 ммоль, 6,0 экв.), затем  $\text{TBSCl}$  (3,04 г, 20,16 ммоль, 3,0 экв.) к перемешиваемому раствору бис-спирта **II3** (4,44 г, 6,720 ммоль, 1,0 экв.) в атмосфере аргона. Через 90 минут реакционную смесь фильтровали и фильтрат промывали  $\text{H}_2\text{O}$ , сушили над  $\text{MgSO}_4$  и упаривали в вакууме. Очистка с помощью колоночной флэш-хроматографии (50-80%  $\text{EtOAc}$  в гексане) давала продукт **II4** в виде желтой пены (4,84 г, 5,443 ммоль, выход 81%). Время удерживания при ЖХ/МС = 2,18 мин, ЭСИ+  $m/z$  889 [ $M + \text{H}$ ]<sup>+</sup>, 911 [ $M + \text{Na}$ ]<sup>+</sup>.

(c) ((пентан-1,5-диилбис(окси))бис(2-амино-5-метокси-4,1-фенилен))бис(((*S*)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-ил)метанон) (**II5**)

Порошок  $\text{Zn}$  добавляли к перемешиваемому раствору бис-нитросоединения **II4** (1,32 г, 1,84 ммоль) в  $\text{MeOH}$  (40 мл) при 0 °С. 5%  $\text{HCO}_2\text{H}$  в  $\text{MeOH}$  добавляли по каплям при 0 °С и смесь перемешивали в течение 2 часов. Реакционную смесь разбавляли  $\text{EtOAc}$  и промывали насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$ , органическую фазу сушили над  $\text{MgSO}_4$  и упаривали в вакууме. Очистка с помощью колоночной флэш-хроматографии (0-2%  $\text{MeOH}$  в  $\text{CHCl}_3$ ) давала продукт **II5** в виде бледно-желтой пены (3,098 ммоль, 3,736 ммоль, выход

69%). Время удерживания при ЖХ/МС = 2,09 мин, ЭСИ+  $m/z$  415  $[M + 2H]^+$ , 829  $[M + H]^+$ , 851  $[M + Na]^+$ .

(d) *трет-бутил(5-((5-(5-амино-4-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-карбонил)-2-метоксифеноксипентилокси)-2-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-карбонил)-4-метоксифенил)карбамат*  
(II6)

Вос<sub>2</sub>O (734 мг, 3,362 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору бис-анилина **II5** (3,098 г, 3,736 ммоль) в сухом ТГФ (20 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 16 часов и упаривали в вакууме. Очистка с помощью колоночной флэш-хроматографии (30-50% EtOAc в гексане) давала моно-Вос-продукт **II6** в виде желтой пены (1,474 г, выход 47% на основе Вос<sub>2</sub>O), непрореагировавшего бис-анилина **II5** (1,043 г, 30%-ный выход) и бис-Вос (419 мг, 15% выход, время удерживания ЖХ/МС = 2,37 мин). Время удерживания ЖХ/МС **II6** = 2,25 мин, ЭСИ+  $m/z$  929  $[M + H]^+$ , 951  $[M + Na]^+$ .

(e) *трет-бутил(5-((5-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)окси)карбонил)амино)-4-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-карбонил)-2-гидроксифеноксипентилокси)-2-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-карбонил)-4-метоксифенил)карбамат*  
(II7)

Трифосген (169 мг, 0,5710 ммоль, 0,36 экв.) добавляли к перемешиваемому раствору моно-продукта Вос **II6** (1,474 г, 1,586 ммоль, 1,0 экв.) и Et<sub>3</sub>N (486 мкл, 3,489 ммоль, 2,2 экв.) в сухом CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (9 мл) при -10 °С. После перемешивания в течение 10 минут в атмосфере аргона анализ методом ЖХ/МС показал полное превращение в изоцианат (отбор проб в MeOH с получением метилкарбамата, время удерживания 2,30 минуты, ЭСИ+  $m/z$  1009  $[M + Na]^+$ , 987  $[M + H]^+$ ). Добавляли раствор **I6** (898 мг, 2,379 ммоль, 1,5 экв.) и Et<sub>3</sub>N (332 мкл, 2,379 ммоль, 1,5 экв.) в сухом CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (14 мл). Реакционную смесь постепенно нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 16 часов. 15-минутный анализ ЖХ/МС показал израсходование исходного вещества. Реакционную смесь фильтровали через слой SiO<sub>2</sub> (5% MeOH в элюировании CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) для удаления избытка **I6**. Колоночная флэш-хроматография (20-80% EtOAc в гексане) дает **II7** в виде желтой пены (1,439 г, выход 68%). Время удерживания ЖХ/МС = 2,26 мин (3 мин прогона) и 10,43 мин (15 мин прогона) ЭСИ+  $m/z$  1355  $[M + Na]^+$ , 1333  $[M + H]^+$ .

Наблюдали незначительное количество димера мочевины (время удерживания ЖХ/МС = 12,11 мин, ЭСИ+  $m/z$  1906  $[M + Na]^+$ ), которое удаляли на последующих стадиях очистки.

(f) *трет-бутил(5-((5-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)окси)карбонил)амино)-2-гидрокси-4-((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбонил)фенокси)пентилокси)-2-((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбонил)-4-метоксифенил)карбамат (I18)*

Уксусную кислоту (124 мкл, 2,160 ммоль, 2,0 экв.) добавляли к 1 М раствору ТВАФ (3,2 мл, 3,200 ммоль, 3,0 экв.), а затем добавляли к перемешиваемому раствору I17 в ТГФ (67 мл) при 0 °С. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 16 часов. ЖХ/МС показала завершение реакции. Добавляли ТВАФ (1,00 мл 1М раствора, 1 ммоль, 1,0 экв.) и реакционную смесь перемешивали в течение еще 24 часов. Реакционную смесь упаривали в вакууме и очищали с помощью Isolera™ (0-5% MeOH в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), получая продукт I18 в виде бледно-желтой пены (916 мг, выход 77%). Время удерживания при ЖХ/МС = 1,62 мин, ЭСИ+  $m/z$  1126  $[M + Na]^+$ , 1104  $[M + H]^+$ .

(g) *4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил (11S,11aS)-8-((5-(((11S,11aS)-10-(трет-бутоксикарбонил)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-8-ил)окси)пентилокси)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-10(5H)-карбоксилат (I19)*

IBX (1,14 г, 1,825 ммоль, 2,2 экв.) добавляли к перемешиваемому раствору диола I18 (916 мг, 0,8296 ммоль, 1,0 экв.) в ДМСО. Реакционную смесь нагревали до 35 °С и перемешивали в течение 60 часов. Добавляли H<sub>2</sub>O и водный слой несколько раз экстрагировали CHCl<sub>3</sub>. Органические экстракты объединяли, промывали насыщенным водным раствором NaHCO<sub>3</sub> и сушили над MgSO<sub>4</sub>. Очистка Isolera™ (1-8% MeOH в CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) дала I19 в виде оранжевой пены (908 мг, выход 99%): Время удерживания ЖХ/МС = 1,50 минуты, ЭСИ+  $m/z$  1122  $[M + Na]^+$ , 1100  $[M + H]^+$ .

(h) *4-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил (11S,11aS)-8-((5-(((11S,11aS)-10-(трет-бутоксикарбонил)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-8-ил)окси)пентилокси)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-10(5H)-карбоксилат (I20)*

$\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  (15,8 мг, 13,64 мкмоль, 0,050 экв.) добавляли к перемешиваемому раствору пирролидина (56 мкл, 0,6818 ммоль, 2,5 экв.) и **I19** (300 мг, 0,2727 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 мл) под аргоном. Через 30 минут добавляли насыщенный водный раствор  $\text{NH}_4\text{Cl}$  и смесь энергично перемешивали, и переносили в фазовый разделитель Isolute<sup>®</sup>. Собранную органическую фазу упаривали в вакууме, получая оранжевую пену **I20**, которую использовали без дальнейшей очистки.

(i) *трет-бутил(11S,11aS)-8-((5-(((11S,11aS)-10-(((4-((2S,5S)-37-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-5-изопропил-2-метил-4,7,35-триоксо-10,13,16,19,22,25,28,31-октакса-3,6,34-триазагептатриаконтанамидо)бензил)окси)карбонил)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-8-ил)окси)пентилокси)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетине-10(5H)-карбоксилат (I21)*

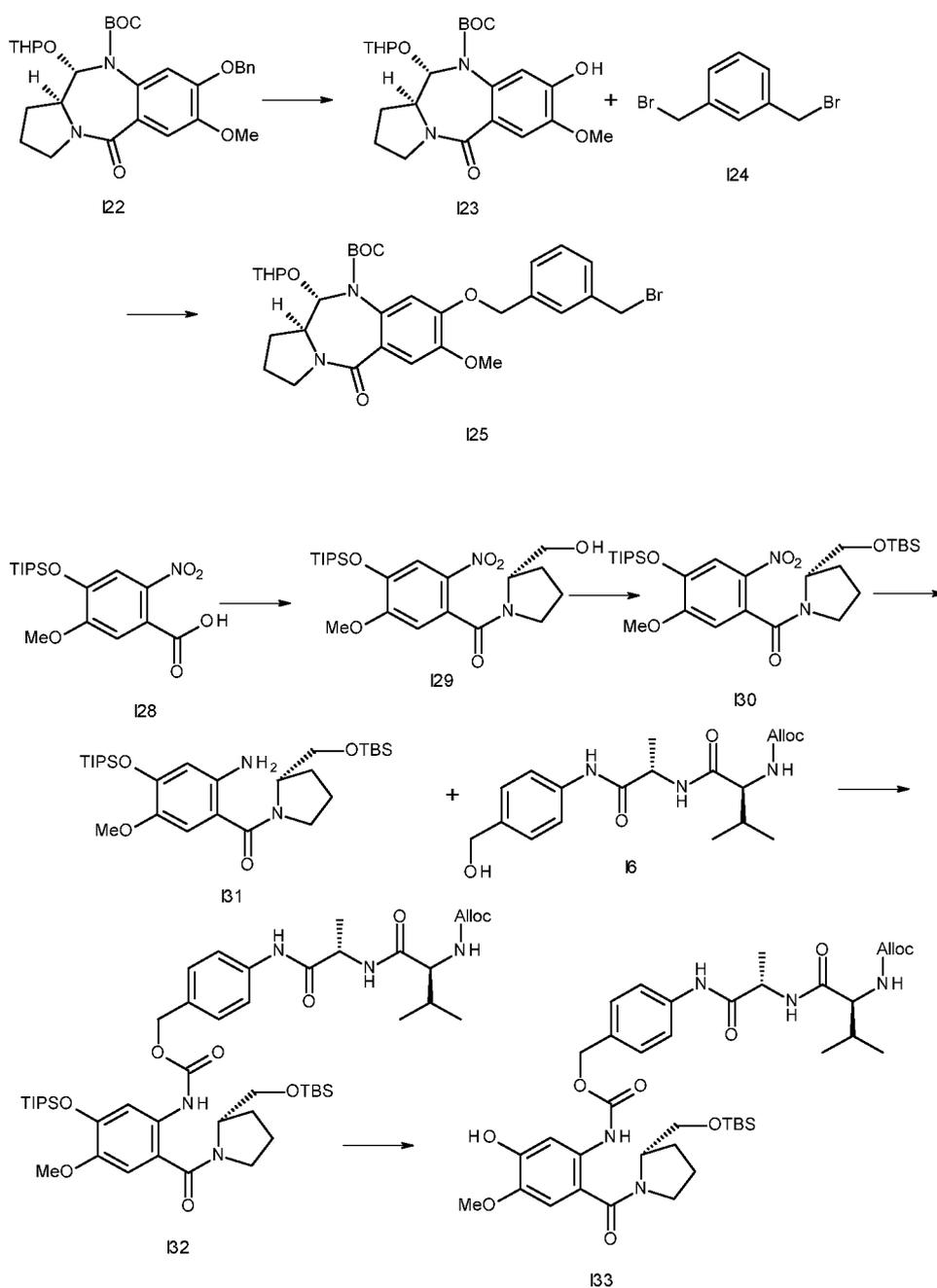
К перемешиваемому раствору MAL-dPEG<sup>®</sup><sub>8</sub>-кислоты (360 мг, 0,6079 ммоль, Stratech Scientific Limited) и амина **I20** (608 мг, 0,5526 ммоль) в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 мл) при комнатной температуре добавляли EDCI.HCl (117 мг, 0,29 ммоль). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона в течение 24 часов, после чего анализ методом ЖХ/МС показал полное израсходование **I20**. Реакционную смесь разбавляли  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  и последовательно промывали насыщенным водным раствором  $\text{NH}_4\text{Cl}$  насыщенным водным раствором  $\text{NaHCO}_3$ , сушили над  $\text{MgSO}_4$  и упаривали в вакууме, получая неочищенный продукт. Очистка Isolera<sup>™</sup> (4-16% MeOH в  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) дала амид **I21** в виде белого твердого вещества (77 мг, чистота 79% (УФ-интеграция при 223 нм), выход 8,8% неочищенного продукта; 107 мг, чистота 88%, 12% выход неочищенного продукта; 224 мг, чистота 86%, выход неочищенного продукта 25%).

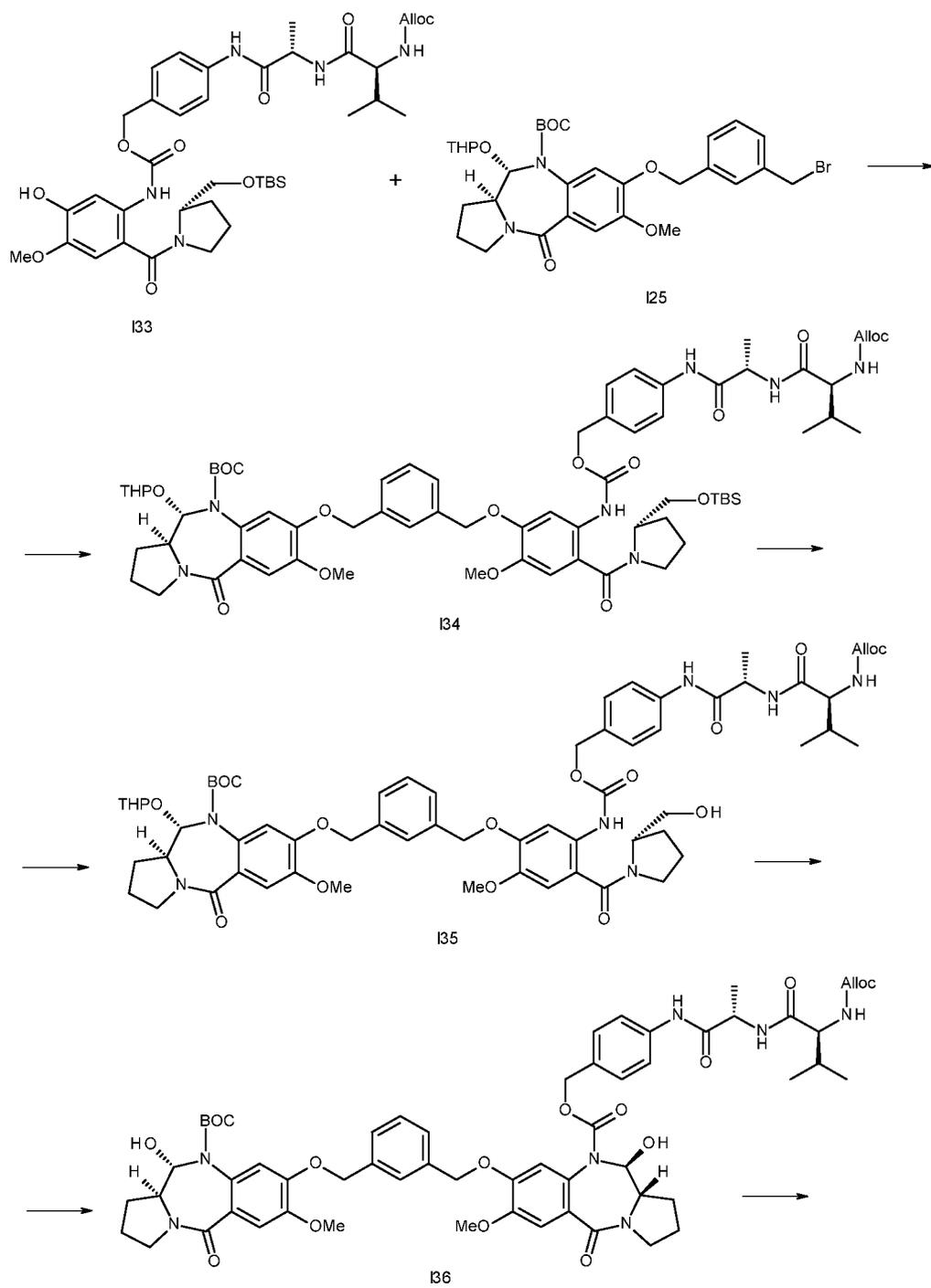
(j) *4-((2S,5S)-37-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-5-изопропил-2-метил-4,7,35-триоксо-10,13,16,19,22,25,28,31-октакса-3,6,34-триазагептатриаконтанамидо)бензил(11S,11aS)-11-гидрокси-7-метокси-8-(3-(((S)-7-метокси-5-оксо-2,3,5,11a-тетрагидро-1H-пирроло[2,1-c][1,4]бензодiazетин-8-ил)окси)пропокси)-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-пирроло[2,1-c][1,4]бензодiazетин-10(5H)-карбоксилат (2)*

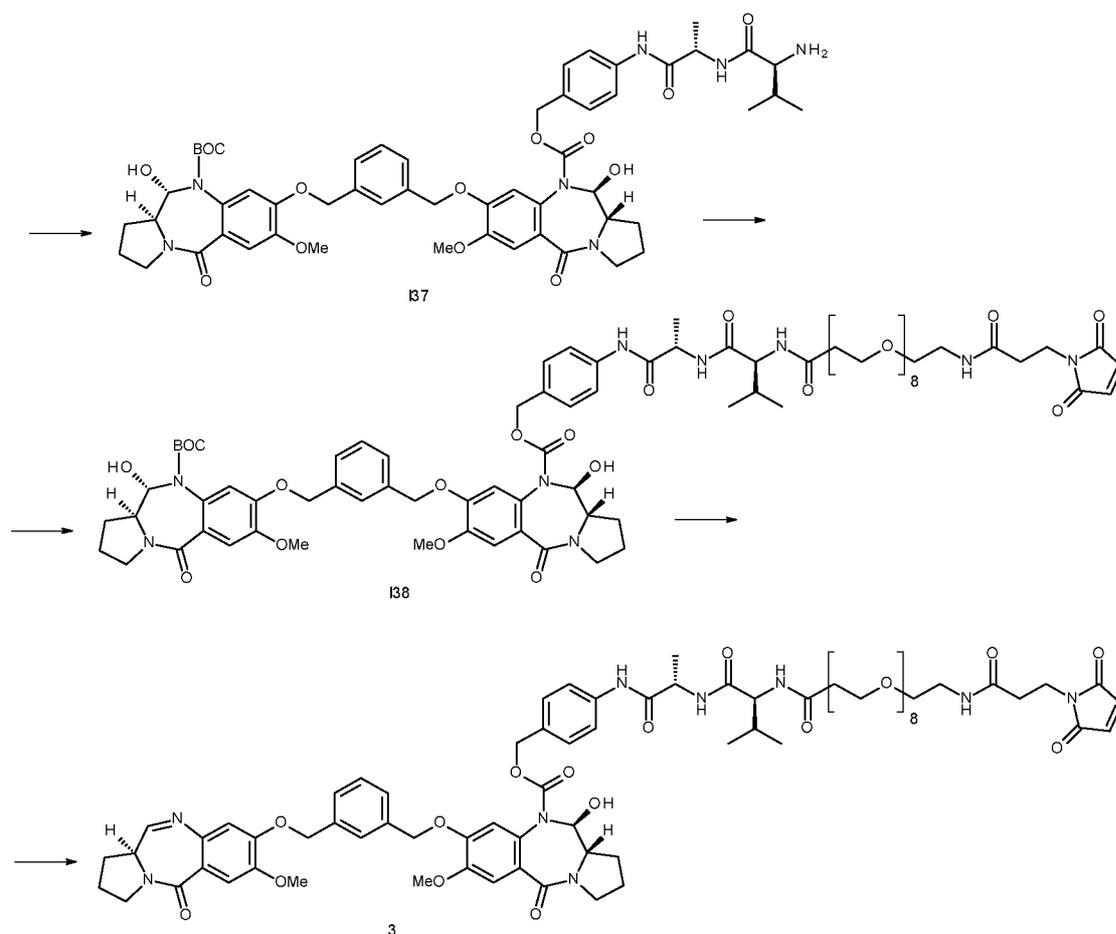
Охлажденный льдом раствор 95:5 об/об ТФК/ $\text{H}_2\text{O}$  (3 мл) добавляли к неочищенному образцу Вос-защищенного соединения **I21** (107 мг, 67,51 мкмоль) при 0 °С (лед/насыщенный водный раствор хлорида натрия). После перемешивания при 0 °С в течение 30 часов реакцию считали завершенной, что определяли по данным ЖХ/МС, пик

желаемого продукта при времени удерживания 1,38 минуты, ЭСИ+  $m/z$  737  $[M+2H]^{2+}$ , 748  $[M+H+Na]^{2+}$ ; 1472  $[M+H]^+$ . Реакционную смесь выдерживали в холодном состоянии и по каплям добавляли к охлажденному насыщенному водному раствору  $NaHCO_3$ . Смесь экстрагировали  $CH_2Cl_2$ , затем 10% MeOH в  $CH_2Cl_2$ , объединенные органические слои сушили над  $MgSO_4$  и упаривали в вакууме с получением неочищенного продукта. Данный процесс повторяли для других партий **I21**, неочищенные продукты объединяли и очищали препаративной ВЭЖХ (метод В), получая соединение **2** в виде белого твердого вещества после лиофилизации (126 мг, выход 33%, чистота 96% по УФ при 223 нм): ЖХ/МС (30 минут прогона), время удерживания = 10,96 минуты, ЭСИ+  $m/z$  1472  $[M+H]^+$ .

### Пример 3







## (a) I23

Данная стадия может быть выполнена согласно указаниям в литературе (см., например, WO2005085259A2; или Wells, *et al.*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 18 (2008) 2147–2151). Способ включает гидрирование в аппарате Парра при комнатной температуре с 10% Pd/C в EtOH. Выход является количественным. Этанол удаляли с помощью повторного выпаривания (EtOAc, а затем ДХМ).

(b) Трет-бутил(11*S*,11*aS*)-8-((3-(бромметил)бензил)окси)-7-метокси-5-оксо-11-((тетрагидро-2*H*-пиран-2-ил)окси)-2,3,11,11*a*-тетрагидро-1*H*-бензо[*e*]пирроло[1,2-*a*][1,4]дiazетин-10(5*H*)-карбоксилат (**I25**)

Смесь фенола **I23** (4 г, 8,91 ммоль, 1 экв.), 1,3-бис(бромметил)бензола **I24** (9,42 г, 35,7 ммоль, 4 экв.), карбоната калия (1,23 г, 8,91 ммоль, 1 экв.) и ацетона (40 мл) нагревали при 60 °C в течение 5 часов. После завершения реакции, что подтвердили с помощью ЖХ/МС, твердые вещества удаляли фильтрованием и фильтрат упаривали досуха в вакууме. Остаток очищали хроматографией (Biotage Isolera, 100 г Ultra, градиент EtOAc/гексан от 30/70 до 80/20 в 12CV). Выход 4,25 г (75%). ЖХ/МС, 3 мин метод, 1,82 мин (ЭСИ+) *m/z*

(относительная интенсивность) 631,15 ( $[M + H]^+$ , 100), раздвоенный пик: ТНР диастереоизомеры.  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  7,67 – 7,27 (м, 4Н), 7,20 – 6,57 (м, 2Н), 5,72 – 5,57 (м, 1Н), 5,24 – 4,84 (м, 3Н), 4,72 (с, 2Н), 3,91 – 3,73 (м, 4Н), 3,61 – 3,33 (м, 4Н), 2,20 – 1,75 (м, 4Н), 1,74 – 1,57 (м, 2Н), 1,55 – 1,01 (м, 13Н).

I28 известен в литературе (см. WO2013053872A1, соединение 2, стр. 60)

(c) *(S)*-2-(2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)(5-метокси-2-нитро-4-((триизопропилсилил)окси)фенил)метанон (I29)

EDCI (12,4 г, 65 ммоль, 1,2 экв.) добавляли к раствору кислоты I28 (20 г, 54,1 ммоль, 1 экв.) и гидрату гидроксibenзотриазола (8,05 г, 59,5 ммоль, 1,1 экв.) в дихлорметане (200 мл) при 0 °С. Холодную баню убирали и реакцию оставляли в течение 30 минут при комнатной температуре, после чего быстро добавляли раствор (S)-пирролидин-2-илметанола (5,87 мл, 59,5 ммоль, 1,1 экв.) и триэтиламина (11,32 мл, 81,1 ммоль, 1,5 экв.) в дихлорметане (100 мл) при -10 °С в атмосфере аргона. Реакционную смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение от 40 минут до 1 часа и контролировали с помощью ЖХ/МС и ТСХ (EtOAc). Твердые вещества удаляли фильтрованием через целит, и органическую фазу промывали холодной водной 0,1 М HCl до тех пор, пока pH не достиг значения при 4 или 5. Органическую фазу затем промывали водой, затем насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия и насыщенным водным раствором хлорида натрия. Органический слой сушили над сульфатом магния, фильтровали, и избыток растворителя удаляли на ротормном испарителе при пониженном давлении. Остаток подвергали колоночной флэш-хроматографии (Isolera Biotage, 340 г Ultra; градиент от 25/75 этилацетат/гексан до 100/0 этилацетат/гексан в 6 CV). Избыток растворителя удаляли на ротормном испарителе при пониженном давлении, что давало чистый продукт I29 в виде бледно-желтой пены (15,7 г, 64%). ЖХ/МС 1,92 мин (ЭСИ+)  $m/z$  (относительная интенсивность) 453,15 ( $[M+H]^+$ , 30%; 328,15, 100%);  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, хлороформ- $d$ )  $\delta$  7,70 (с, 1Н), 6,77 (с, 1Н), 4,57 – 4,24 (м, 2Н), 4,01 – 3,69 (м, 5Н), 3,25 – 3,06 (м, 2Н), 2,18 (дт,  $J = 7,5, 5,6$  Гц, 1Н), 1,96 – 1,62 (м, 3Н), 1,42 – 1,18 (м, 3Н), 1,10 (д,  $J = 7,4$  Гц, 18Н).

(d) *(S)*-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-ил)(5-метокси-2-нитро-4-((триизопропилсилил)окси)фенил)метанон (I30)

трет-Бутилдиметилсилилхлорид (10,39 г, 68,9 ммоль, 2 экв.) добавляли к раствору спирта I29 (15,6 г, 34,5 ммоль, 1 экв.) и имидазола (5,87 г, 86,2 ммоль, 2,5 экв.) в ДХМ (100 мл).

Реакционную смесь перемешивали в течение ночи при комнатной температуре. Реакционную смесь последовательно промывали водой (300 мл), 0,5 М лимонной кислотой (200 мл), насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл) и сушили ( $\text{MgSO}_4$ ). Фильтрование и удаление избытка растворителя давали неочищенный продукт, который подвергали колоночной флэш-хроматографии (Biotage Isolera, KP-Sil 340 г; 10/90 об./об. этилацетат/гексан до 30/70 об./об. этилацетат/гексан) с выделением силилового простого эфира **I30** в виде густого желтого масла. Выход: 18,9 г, 97%. ЖХ/МС 2,32 мин (ЭСИ+)  $m/z$  (относительная интенсивность) 567,55 ( $[M + H]^+$ , 100%)

(e) *(S)*-(2-амино-5-метокси-4-((триизопропилсилил)окси)фенил)(2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-ил)метанон (**I31**)

Раствор нитросоединения **I30** (18,9 г, 33,3 ммоль, 1 экв.) в этилацетате (200 мл) в 10% Pd/C (10% масс./масс. 1,89 г) гидрировали под давлением (45 фунтов на кв. дюйм) на аппарате Парра в течение 6 часов. Реакционную смесь фильтровали через целит для удаления Pd/C, и слой на фильтре промывали этилацетатом. Избыток растворителя удаляли на роторном испарителе при пониженном давлении с последующей сушкой в высоком вакууме с получением амина **I31** в виде густого масла. ЖХ/МС, 3 мин способ, 2,28 мин (ЭСИ+)  $m/z$  (относительная интенсивность) 537,30 ( $[M + H]^+$ , 100);  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц, хлороформ-*d*)  $\delta$  6,73 (с, 1H), 6,24 (с, 1H), 4,54 – 4,13 (м, 3H), 4,07 – 3,80 (м, 1H), 3,79 – 3,61 (м, 4H), 3,50 (дд,  $J = 9,2, 4,2$  Гц, 2H), 2,10 – 1,97 (м, 2H), 1,92 (дт,  $J = 11,7, 6,2$  Гц, 1H), 1,80 – 1,65 (м, 1H), 1,24 (ддт,  $J = 13,7, 9,9, 6,4$  Гц, 3H), 1,09 (д,  $J = 7,3$  Гц, 18H), 0,90 (с, 9H), 0,04 (д,  $J = 2,8$  Гц, 6H).

(f) *Аллил* *((S)*-1-(((S)-1-((4-(((2-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-карбонил)-4-метокси-5-((триизопропилсилил)окси)фенил)карбамоил)окси)метил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамат (**I32**)

Триэтиламин (10,1 мл, 72,4 ммоль, 2,2 экв.) добавляли к перемешиваемому раствору амина **I31** (17,68 г, 32,9 ммоль, 1 экв.) и трифосгена (3,51 г, 11,8 ммоль, 0,36 экв.) в сухом тетрагидрофуране (180 мл) при 5 °С (ледяная баня). Реакцию получения изоцианата контролировали путем периодического изъятия аликвот из реакционной смеси и добавления метанола, и проведения анализа ЖХ/МС. После завершения образования изоцианата, к свежеприготовленному изоцианату быстро добавляли суспензию аллос-Val-Ala-РАВОН **I6** (18,6 г, 49,4 ммоль, 1,5 экв.) и триэтиламина (6,88 мл, 49,4 ммоль, 1,5 экв.) в сухом тетрагидрофуране (70 мл). Реакционную смесь оставляли перемешиваться при 40

°С в течение 4 часов. Твердые вещества отфильтровывали. Избыток растворителя удаляли на роторном испарителе при пониженном давлении. Полученный остаток сушили на силикагеле и подвергали ручной колоночной флэш-хроматографии; 40/60 об./об. этилацетат/гексан до 70/30 об./об. этилацетат/гексан. Чистые фракции собирали и объединяли, а избыток элюента удаляли на роторном испарителе при пониженном давлении с получением продукта **I32** 8,17 г (26,4%). ЖХ/МС, 3 мин способ, 2,29 мин (ЭСИ+)  $m/z$  (относительная интенсивность) 962,45 ( $[M + Na]^+$ , 100; 940,40 ( $[M + H]^+$ , 30);  $^1H$  ЯМР (400 МГц, хлороформ- $d$ )  $\delta$  8,95 (с, 1H), 8,53 (с, 1H), 7,78 (с, 1H), 7,53 (д,  $J = 8,1$  Гц, 2H), 7,32 (д,  $J = 8,3$  Гц, 2H), 6,80 (с, 1H), 6,71 (д,  $J = 7,5$  Гц, 1H), 5,89 (тт,  $J = 10,8, 5,3$  Гц, 1H), 5,44 – 5,15 (м, 3H), 5,10 (с, 2H), 4,66 (п,  $J = 7,2$  Гц, 1H), 4,62 – 4,53 (м, 2H), 4,32 (с, 1H), 4,08 – 3,86 (м, 2H), 3,74 (с, 4H), 3,52 (дд,  $J = 27,4, 7,6$  Гц, 2H), 2,15 (г,  $J = 6,8$  Гц, 1H), 2,09 – 1,85 (м, 3H), 1,71 (с, 1H), 1,46 (д,  $J = 7,0$  Гц, 3H), 1,29 (д.кв.,  $J = 15,0, 7,4$  Гц, 3H), 1,11 (д,  $J = 7,4$  Гц, 18H), 0,95 (дд,  $J = 14,1, 6,8$  Гц, 6H), 0,89 (с, 9H), 0,02 (д,  $J = 13,1$  Гц, 6H).

(g) *Аллил*  $((S)-1-(((S)-1-((4-(((2-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-карбонил)-5-гидрокси-4-метоксифенил)карбамоил)окси)метил)фенил)амино)-1-оксопропан-2-ил)амино)-3-метил-1-оксобутан-2-ил)карбамат (**I33**)$

Ацетат лития (50 мг, 0,49 ммоль) добавляли к раствору соединения **I32** (7 г, 7,44 ммоль, 1 экв.) во влажном диметилформамиде (61,2 мл, 50:1 ДМФА/вода). Через 4 часа реакция была завершена. Избыток ДМФА удаляли в вакууме и остаток разбавляли этилацетатом (300 мл), и промывали 0,5 М водной лимонной кислотой (100 мл), водой (300 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (100 мл). Органический слой сушили над сульфатом магния, фильтровали и избыток этилацетата удаляли на роторном испарителе при пониженном давлении. Полученный остаток подвергали колоночной флэш-хроматографии (Biotage Isolera 100 г Ultra; градиент, от 40/60 до 80/20 об./об. этилацетат/гексан в 8 CV). Чистые фракции собирали и объединяли, а избыток элюента удаляли на роторном испарителе при пониженном давлении с получением продукта **I33** (5,13 г, 88%). ЖХ/МС, 3 мин способ, 1,82 мин (ЭСИ+)  $m/z$  (относительная интенсивность) 784,40 ( $[M+H]^+$ , 100).  $^1H$  ЯМР (400 МГц, хлороформ- $d$ )  $\delta$  9,06 (с, 1H), 8,62 (с, 1H), 7,78 (с, 1H), 7,45 (д,  $J = 8,2$  Гц, 2H), 7,35 – 7,18 (м, 2H), 6,92 (д,  $J = 7,5$  Гц, 1H), 6,80 (с, 1H), 6,50 (с, 1H), 5,89 (ддд,  $J = 16,2, 10,7, 5,4$  Гц, 1H), 5,44 (д,  $J = 8,1$  Гц, 1H), 5,37 – 5,15 (м, 2H), 5,14 – 5,01 (м, 2H), 4,67 (п,  $J = 7,1$  Гц, 1H), 4,63 – 4,50 (м, 2H), 4,33 (с, 1H), 4,13 – 3,89 (м, 2H), 3,81 (с, 3H), 3,74 – 3,33 (м, 3H), 2,24 – 1,84 (м, 4H), 1,69 (д,  $J = 21,2$  Гц, 1H), 1,43 (д,  $J = 7,0$  Гц, 3H), 1,07 – 0,71 (м, 15H), 0,23 – -0,20 (м, 6H).

(h) Трет-бутил(1*S*,11*aS*)-8-((3-((5-(((4-((*S*)-2-((*S*)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)окси)карбонил)амино)-4-((*S*)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)тирролидин-1-карбонил)-2-метоксифенокси)метил)бензил)окси)-7-метокси-5-оксо-11-((тетрагидро-2*H*-тиран-2-ил)окси)-2,3,11,11*a*-тетрагидро-1*H*-бензо[*e*]тирроло[1,2-*a*][1,4]дiazетин-10(5*H*)-карбоксилат (**I34**)

Карбонат калия (582 мг, 4,21 ммоль, 1,1 экв.) добавляли к раствору **I25** (2,66 г, 4,21 ммоль, 1,1 экв.) и фенола **I33** (3 г, 3,82 ммоль, 1 экв.) в ацетоне (18 мл). Реакционную смесь перемешивали в течение 4 часов при 63 °С. Твердые вещества удаляли фильтрованием через вату. Ацетон удаляли на роторном испарителе при пониженном давлении. Полученный остаток подвергали колоночной флэш-хроматографии (Biotage isolera, 100 г Ultra, силикагель; градиент, от 50/50 до 100/0 об./об. этилацетат/гексан в 8 CV, элюирование от 83%). Очищенные фракции собирали и объединяли, а избыток элюента удаляли на роторном испарителе при пониженном давлении с получением продукта **I34** (4,71 г, 92%). ЖХ/МС, 3 мин способ, 2,08 мин (ЭСИ+) *m/z* (относительная интенсивность) 1335,15 ([*M*+*H*]<sup>+</sup>, 50). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-*d*<sub>6</sub>) δ 9,98 (с, 1H), 9,20 (с, 1H), 8,13 (д, *J* = 7,0 Гц, 1H), 7,68 – 7,50 (м, 3H), 7,50 – 7,37 (м, 3H), 7,32 (д, *J* = 8,2 Гц, 2H), 7,28 – 7,01 (м, 2H), 6,86 (с, 2H), 5,90 (ддд, *J* = 16,0, 10,7, 5,2 Гц, 1H), 5,64 (т, *J* = 9,8 Гц, 1H), 5,30 (д, *J* = 17,2 Гц, 1H), 5,23 – 4,84 (м, 8H), 4,57 – 4,36 (м, 3H), 4,11 (с, 1H), 3,95 – 3,59 (м, 9H), 3,56 – 3,34 (м, 4H), 1,94 (д, *J* = 34,0 Гц, 10H), 1,74 – 1,06 (м, 21H), 1,01 – 0,59 (м, 15H), 0,03 (с, 6H).

(i) Трет-бутил(1*S*,11*aS*)-8-((3-((5-(((4-((*S*)-2-((*S*)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)окси)карбонил)амино)-4-((*S*)-2-(гидроксиметил)тирролидин-1-карбонил)-2-метоксифенокси)метил)бензил)окси)-7-метокси-5-оксо-11-((тетрагидро-2*H*-тиран-2-ил)окси)-2,3,11,11*a*-тетрагидро-1*H*-бензо[*e*]тирроло[1,2-*a*][1,4]дiazетин-10(5*H*)-карбоксилат (**I35**)

Фторид тетра-*n*-бутиламмония (1*M*, 6,94 мл, 6,94 ммоль, 2 экв.) добавляли к раствору **I34** (4,63 г, 3,47 ммоль, 1 экв.) в тетрагидрофуране (28 мл). Исходное вещество полностью было израсходовано через 1 час. Реакционную смесь разбавляли этилацетатом (30 мл) и последовательно промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия. Органическую фазу сушили над сульфатом магния, фильтровали, и избыток этилацетата удаляли на роторном испарителе при пониженном давлении. Полученный остаток подвергали колоночной флэш-хроматографии (Biotage isolera, 50 г Ultra; градиент, от 98/2

до 90/10 об./об. этилацетат/метанол в 4 CV, элюирование из 10% метанола). Очищенные фракции собирали и объединяли, а избыток элюента удаляли на роторном испарителе при пониженном давлении с получением продукта **I35** (4,23 г, количественный). ЖХ/МС, 3 мин способ, 1,75 мин (ЭСИ+)  $m/z$  (относительная интенсивность) 1220,30 ( $[M+H]^+$ , 100).  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  9,98 (с, 1H), 9,17 (с, 1H), 8,13 (д,  $J = 7,0$  Гц, 1H), 7,70 – 7,49 (м, 3H), 7,51 – 7,27 (м, 6H), 7,21 (д,  $J = 8,8$  Гц, 1H), 7,15 – 6,58 (м, 3H), 5,90 (дт,  $J = 10,9$ , 5,5 Гц, 1H), 5,66 (д,  $J = 9,3$  Гц, 1H), 5,38 – 4,82 (м, 9H), 4,73 (т,  $J = 5,8$  Гц, 1H), 4,59 – 4,34 (м, 3H), 4,05 (дд,  $J = 15,4$ , 8,3 Гц, 1H), 3,96 – 3,68 (м, 8H), 3,66 – 3,32 (м, 6H), 2,16 – 1,72 (м, 8H), 1,63 (д,  $J = 9,8$  Гц, 3H), 1,54 – 1,02 (м, 18H), 0,86 (дд,  $J = 18,2$ , 6,7 Гц, 6H).

(j) 4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил (11S,11aS)-8-((3-(((11S,11aS)-10-(трет-бутоксикарбонил)-7-метокси-5-оксо-11-((тетрагидро-2H-тиран-2-ил)окси)-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-8-ил)окси)метил)бензил)окси)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-10(5H)-карбоксилат (**I36**)

Стабилизированный ВХ 45% (2,72 г, 4,36 ммоль, 1,2 экв.) добавляли к раствору **I35** (4,44 г, 3,64 ммоль, 1 экв.) в ДМСО (2,6 мл). Реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение ночи. Добавляли еще 0,2 экв. ВХ (450 мг, 0,73 ммоль, 0,2 экв.) и раствор оставляли перемешиваться в течение дополнительных 18 часов до тех пор, пока ЖХ/МС не наблюдали завершение реакции. Раствор осаждали в воде (250 мл) и фильтровали. Продукт растворяли в ДХМ и остаточное белое твердое вещество удаляли с помощью фильтрования. Органическую фазу промывали водным раствором  $NaHCO_3$ , водой, насыщенным водным раствором хлорида натрия и сушили над сульфатом магния. Дихлорметан удаляли на роторном испарителе при пониженном давлении. Полученный остаток подвергали колоночной флэш-хроматографии (Biotage Isolera 100g г Ultra; градиент, от 99/1 до 92/8 об./об. этилацетат/гексан в 10 CV). Очищенные фракции собирали и объединяли, а избыток элюента удаляли на роторном испарителе при пониженном давлении с получением продукта **I36** (3,04 г, 69%). ЖХ/МС, 15 мин, метод Ace Excel 2, 7,89 и 7,97 мин (ТГП диастереоизомеры) (ЭСИ+)  $m/z$  (относительная интенсивность) 1218,30 ( $[M]^+$ , 100).  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  9,93 (с, 1H), 8,11 (д,  $J = 6,9$  Гц, 1H), 7,68 – 7,27 (м, 6H), 7,27 – 7,01 (м, 4H), 7,01 – 6,32 (м, 3H), 6,02 – 5,81 (м, 1H), 5,71 – 5,57 (м, 1H), 5,57 – 5,40 (м, 1H), 5,29 (д,  $J = 17,2$  Гц, 1H), 5,21 – 4,78 (м, 8H), 4,58 – 4,32 (м, 3H), 3,99 – 3,68 (м, 8H), 3,58 – 3,31 (м, 8H), 2,23 – 1,72 (м, 9H), 1,72 – 1,04 (м, 18H), 0,85 (дд,  $J = 18,0$ , 6,7 Гц, 6H).

(k) 4-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил(11S,11aS)-8-((3-(((11S,11aS)-10-(трет-бутоксикарбонил)-7-метокси-5-оксо-11-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-8-ил)окси)метил)бензил)окси)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-10(5H)-карбоксилат (**I37**)

Тетраakis(трифенилфосфин)палладий (0) (11 мг, 0,01 ммоль, 0,02 экв.) добавляли к раствору **I36** (600 мг, 0,49 ммоль, 1 экв.) и пирролидину (51 мкл, 0,62 ммоль, 1,25 экв.) в сухом дихлорметане (10 мл). Реакционную смесь трижды продували аргоном и перемешивали 20 минут при комнатной температуре. Затем реакционную смесь разбавляли дихлорметаном (50 мл) и последовательно промывали насыщенным водным раствором хлорида аммония (50 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (30 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом магния, фильтровали и избыток дихлорметана удаляли с помощью роторного испарителя при пониженном давлении. Полученный остаток **I37** использовали в качестве неочищенной смеси для следующей реакции. ЖХ/МС, 3 мин метод, 1,29 мин (ЭСИ+) *m/z* (относительная интенсивность) 1134,35 ( $[M+H]^+$ ; 80).

(l) трет-бутил (11S, 11aS)-8-((3-(((11S, 11aS)-10-(((4-((2S, 5S)-37-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-5-изопропил-2-метил-4,7,35-триоксо-10,13,16,19,22,25,28,31-октаокса-3,6,34-триазагептаатриаконтанамидо)бензил)окси)карбонил)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-8-ил)окси)метил)бензил)окси)-7-метокси-5-оксо-11-((тетрагидро-2H-пиран-2-ил)окси)-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-10(5H)-карбоксилат (**I38**)

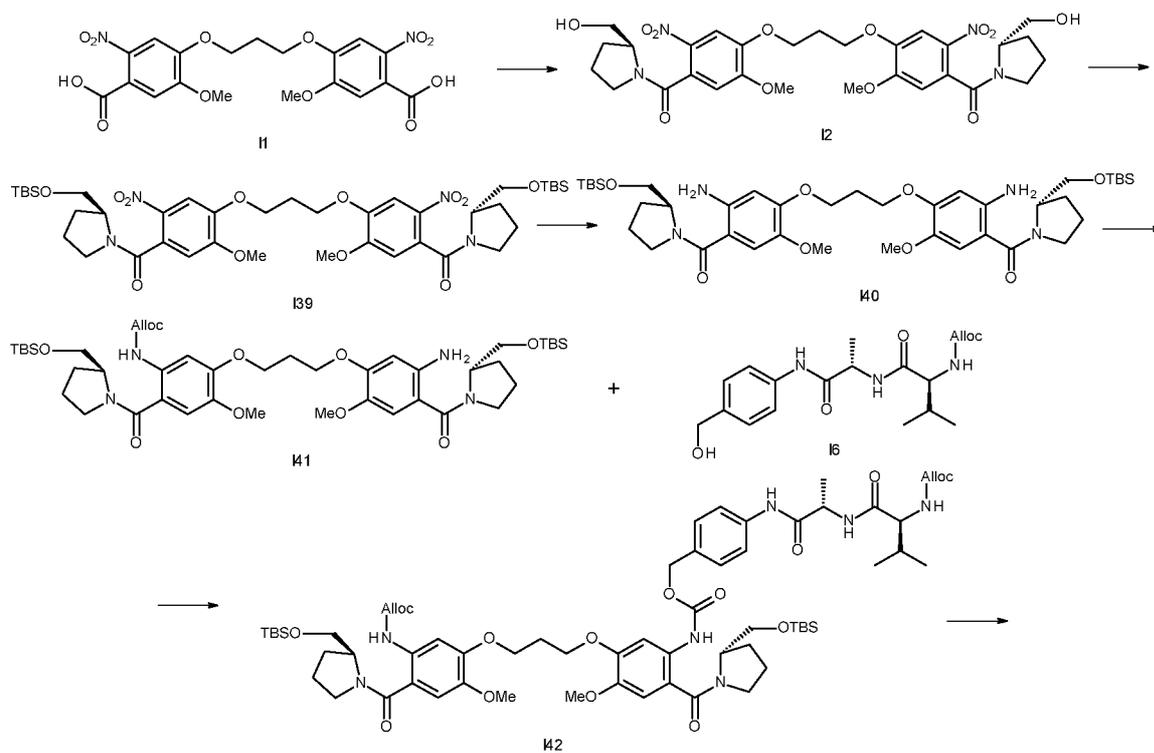
1-Этил-3-(3'-диметиламинопропил)карбодиимид (94 мг, 0,79 ммоль, 1 экв.) добавляли к раствору неочищенного **I37** (558 мг, 0,49 ммоль, 1 экв.) и Mal-(PEG)<sub>8</sub>-кислоты (292 мг, 0,49 ммоль, 1 экв.) в хлороформе (12 мл). Реакционную смесь трижды дегазировали аргоном и перемешивали в течение 2 часов, после чего присутствие исходного материала больше не наблюдалось с помощью ЖХ/МС. Реакционную смесь разбавляли дихлорметаном и последовательно промывали водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия. Органическую фазу сушили над сульфатом магния, фильтровали, и избыток дихлорметана удаляли с помощью роторного испарителя при пониженном давлении. Полученный остаток подвергали колоночной флэш-хроматографии (Biotage Isolera 50g Ultra; от 98/2 до 90/10 об./об. ДХМ/метанол 10 CV). Чистые фракции собирали и объединяли, и избыток элюента удаляли с помощью роторного испарителя при пониженном давлении, что давало продукт **I38** (485 г, 58%). ЖХ/МС, метод 3 мин, 1,58

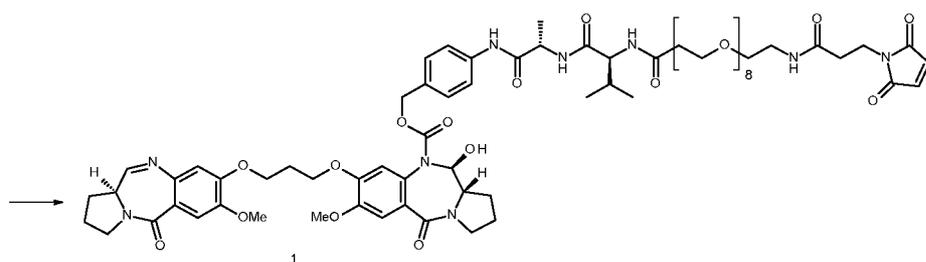
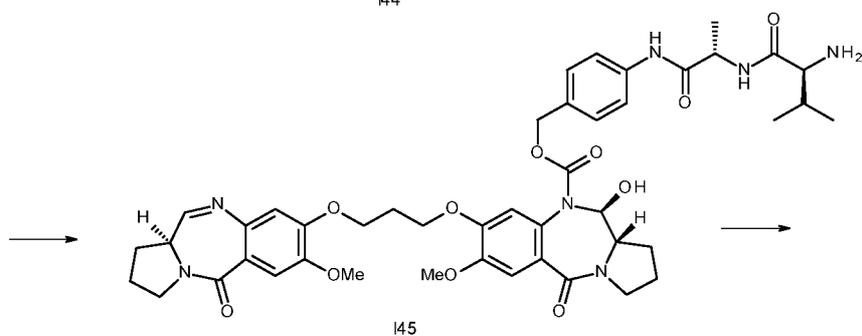
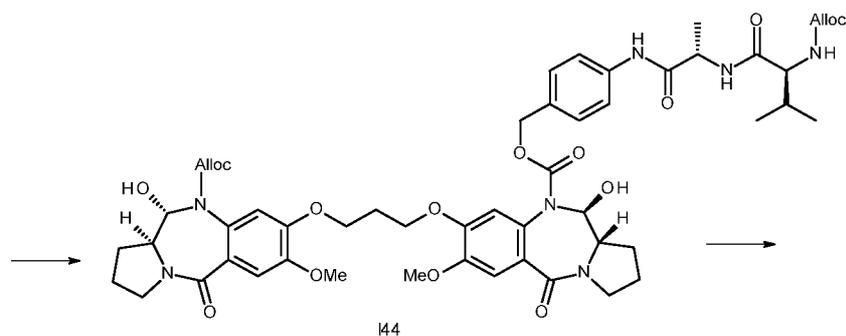
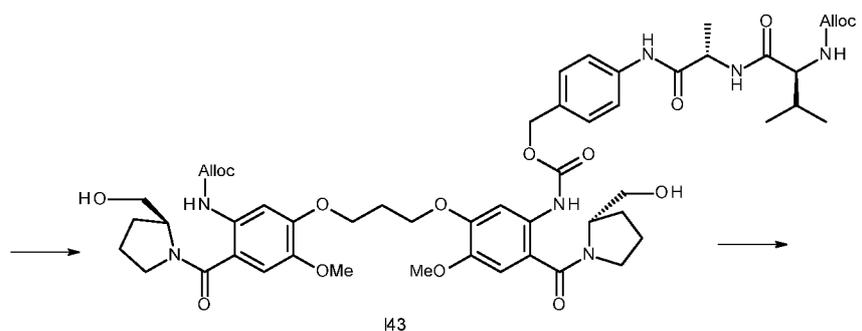
мин (ЭСИ+)  $m/z$  (относительная интенсивность) 1709,30 ( $[M+H]^+$ , 100).  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  9,88 (с, 1H), 8,13 (д,  $J = 7,0$  Гц, 1H), 8,06-7,92 (м, 1H), 7,85 (д,  $J = 8,6$  Гц, 1H), 7,68-7,04 (м, 9H), 6,99 (с, 2H), 6,89 (д,  $J = 15,0$  Гц, 2H), 6,52 (с, 1H), 5,66 (д,  $J = 9,4$  Гц, 1H), 5,47 (д,  $J = 8,0$  Гц, 1H), 5,26-4,75 (м, 6H), 4,49-4,31 (м, 1H), 4,20 (т,  $J = 7,6$  Гц, 1H), 3,80 (д,  $J = 11,9$  Гц, 6H), 3,59 (т,  $J = 7,2$  Гц, 4H), 3,55-3,41 (м, 32H), 3,41-3,30 (м, 11H), 3,21-3,09 (м, 3H), 2,48-2,28 (м, 4H), 2,18-1,08 (м, 24H), 0,84 (дд,  $J = 15,0, 6,7$  Гц, 5H).

(*m*) 4-((2*S*,5*S*)-37-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1*H*-пиррол-1-ил)-5-изопропил-2-метил-4,7,35-триоксо-10,13,16,19,22,25,28,31-окса-3,6,34-триазагептапентаконтанамида)бензил(1*S*,11*aS*)-11-гидрокси-7-метокси-8-((3-(((*S*)-7-метокси-5-оксо-2,3,5,11*a*-тетрагидро-1*H*-бензо[*e*]пирроло[1,2-*a*][1,4]дiazетин-8-ил)окси)метил)бензил)окси)-5-оксо-2,3,11,11*a*-тетрагидро-1*H*-бензо[*e*]пирроло[1,2-*a*][1,4]дiazетин-10(5*H*)-карбоксилат (3)

Холодную смесь ТФК/вода (6 мл) добавляли к **I38** (460 мг, 0,27 ммоль, 1 экв.) и полученный раствор перемешивали при 0 °С в течение 2 часов. Реакционную смесь нейтрализовали насыщенным водным  $NaHCO_3$  (200 мл) и дихлорметаном (50 мл). Слой ДХМ промывали последовательно водой и насыщенным водным раствором хлорида натрия. Органическую фазу сушили над сульфатом магния, фильтровали, и избыток дихлорметана удаляли с помощью роторного испарителя при пониженном давлении. Полученный остаток подвергали колоночной флэш-хроматографии (Biotage Isolera 50 g Ultra; от 98/2 до 88/12 об./об. ДХМ/метанол 10 CV). Чистые фракции собирали, объединяли (154 мг, 38%) и дополнительно очищали препаративной обратнофазовой ВЭЖХ (метод С) (градиент до 75/25 ацетонитрил/вода, 0,02% муравьиной кислоты) с получением чистого соединения **3** (78 мг, 19%). ЖХ/МС, метод 15 мин, Ace-Excel2, 6,18 мин (ЭСИ+),  $m/z$  (относительная интенсивность) 1506,70 ( $[M+H]^+$ , 100).  $^1H$  ЯМР (400 МГц, ДМСО- $d_6$ )  $\delta$  10,07-9,79 (м, 1H), 8,14 (д,  $J = 7,2$  Гц, 1H), 7,98 (т,  $J = 5,6$  Гц, 1H), 7,85 (д,  $J = 8,6$  Гц, 1H), 7,78 (д,  $J = 4,4$  Гц, 1H), 7,67-7,30 (м, 7H), 7,28-7,05 (м, 3H), 6,99 (с, 2H), 6,98-6,85 (м, 2H), 6,58 - 6,47 (м, 1H), 5,59 - 5,34 (м, 1H), 5,32 - 4,77 (м, 6H), 4,48 - 4,30 (м, 1H), 4,28 - 4,08 (м, 1H), 3,88 - 3,75 (м, 5H), 3,75-3,55 (м, 6H), 3,55-3,42 (м, 28H), 3,42-3,32 (м, 6H), 3,14 (кв,  $J = 5,8$  Гц, 2H), 2,48-2,16 (м, 6H), 2,08-1,77 (м, 6H), 1,36-1,17 (м, 4H), 0,84 (дд,  $J = 15,4, 6,7$  Гц, 6H).

#### Пример 4





(a) ((Пропан-1,3-диилбис(окси)бис(5-метокси-2-нитро-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-ил)метанон) (I2)

ДМФА (12 капель) добавляли к перемешиваемой суспензии **II** (10 г, 21,5 ммоль) и оксалилхлорида (5,6 мл, 8,2 г, 64,5 ммоль) в безводном ДХМ (150 мл). После начального образования пузырьков реакционная суспензия превратилась в раствор и реакционную смесь оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 16 ч. Основную часть растворителей удаляли с помощью роторного испарителя при пониженном давлении. Полученный концентрированный раствор повторно растворяли в минимальном

количестве безводного ДХМ и растирали с диэтиловым эфиром. Желтый осадок собирали с помощью вакуумного фильтрования, промывали холодным диэтиловым эфиром и сушили в течение 1 часа в вакуумной печи при 40 °С. Хлорангидрид порциями добавляли к перемешиваемой суспензии (S)-(+)-2-пирролидинметанола (5,0 г, 4,9 ммоль, 49,5 ммоль) и ТЭА (15,0 мл, 10,9 г, 108 ммоль) в безводном ДХМ (100 мл) при -40 °С (сухой лед/CH<sub>3</sub>CN). Полученный раствор перемешивали в течение дополнительных 60 минут, разбавляли ДХМ (100 мл) и промывали 1 н. HCl (2 × 50 мл), насыщенным NaHCO<sub>3</sub> (3 × 40 мл), водным насыщенным раствором хлорида натрия (50 мл), сушили (MgSO<sub>4</sub>) и растворитель удаляли в вакууме, получая чистый продукт **I2** в виде желтого твердого вещества (13,6 г, выход 100%). ЖХ/МС (метод А): время удерживания 1,33 мин (ЭСИ+), *m/z* 655 [M+ Na]<sup>+</sup>, 633 [M+ H]<sup>+</sup> (см. Приложение). <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) 1,68-1,80 (м, 2H), 1,80-2,00 (м, 6H), 2,27 (д, 2H), 3,05-3,25 (м, 4H), 3,37-3,48 (м, 2H), 3,56-3,76 (м, 2H), 3,92 (с, 6H), 4,09 (дд, 2H), 4,25 - 4,31 (м, 4H), 4,82 (т, 2H), 7,08 (с, 2H), 7,73 (с, 2H).

(b) ((пропан-1,3-диилбис(окси))бис(5-метокси-2-нитро-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(((трет-бутилдиметилсиллил)окси)метил)пирролидин-1-ил)метанон) (**I39**)

TBS-Cl (8,12 г, 53,90 ммоль) добавляли к раствору **I2** (15,5 г, 24,50 ммоль) и имидазола (4,17 г, 61,25 ммоль) в ДХМ (300 мл) при комнатной температуре в атмосфере азота. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов. Добавляли воду (200 мл), удаляли органический слой и водную фазу экстрагировали ДХМ (2 × 300 мл). Объединенные органические фазы сушили (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) и упаривали в вакууме, получая темный остаток, который очищали колоночной хроматографией (от 0 до 2% метанола/ДХМ). Чистые фракции упаривали в вакууме, получая **I39** в виде коричневого твердого вещества (17,0 г, выход 81%). ЖХ/МС (метод А): время удерживания 1,83 мин (ЭСИ+), *m/z* 861 [M+ H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>) 0,09 (с, 12H), 0,91 (с, 18H), 1,70-1,81 (м, 2H), 1,87-1,99 (м, 6H), 2,22-2,30 (м, 2H) 3,10 (т, 4H), 3,40-3,51 (м, 2H), 3,59-3,67 (м, 2H), 3,88-3,95 (м, 2H), 3,91 (с, 6H), 4,28 (т, 6H), 6,96 (с, 2H), 7,72 (с, 2H).

(c) ((пропан-1,3-диилбис(окси))бис(2-амино-5-метокси-4,1-фенилен))бис(((S)-2-(((трет-бутилдиметилсиллил)окси)метил)пирролидин-1-ил)метанон) (**I40**)

Цинк (25,8 г, 394,8 ммоль) и насыщенный раствор NH<sub>4</sub>Cl (150 мл) добавляли к раствору **I39** (17 г, 19,74 ммоль) в EtOH (300 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали при 50 °С в течение 3 часов, охлаждали и фильтровали через слой целита, который затем промывали EtOAc (300 мл) и водой (300 мл). Органический слой отделяли, а водную фазу экстрагировали EtOAc (3 × 400 мл). Объединенные органические фазы

сушили ( $\text{MgSO}_4$ ) и упаривали в вакууме, получая желтый остаток, который очищали с помощью колоночной хроматографии (от 0 до 5% метанола/ДХМ). Чистые фракции упаривали досуха с получением **I40** в виде желтого твердого вещества (13,00 г, выход 82%). ЖХ/МС (метод А): время удерживания 2,30 мин (ЭСИ+)  $m/z$  802,2  $[M + H]^+$ .  $^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{DMSO-d}_6$ ) 0,06 (с, 12H), 0,85 (с, 18H), 1,52-1,78 (м, 2H), 1,81-2,00 (м, 6H), 2,14-2,22 (м, 2H), 3,41 (д, 4H), 3,61-3,75 (м, 4H), 3,63 (с, 6H), 4,01-4,16 (м, 6H), 4,98 - 5,22 (м, 4H), 6,40 (с, 2H), 6,66 (с, 2H).

(d) аллил5-(3-(5-амино-4-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси))метил)пирролидин-1-карбонил)-2-метоксифеноксипропокси)-2-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-карбонил)-4-метоксифенил)карбамат (**I41**)

Аллилхлорформиат (784 мкл, 0,9 г, 7,36 ммоль) по каплям добавляли к раствору **I40** (5,9 г, 7,36 ммоль) и пиридина (715 мкл, 0,7 г, 8,84 ммоль) в ДХМ (100 мл) при 0 °С. Реакционную смесь оставляли нагреваться до комнатной температуры и перемешивали еще 2 минут. Реакционную смесь промывали 0,5 М  $\text{HCl}$  (50 мл), насыщенным водным раствором гидрокарбоната натрия (50 мл) и насыщенным водным раствором хлорида натрия (50 мл). Растворитель удаляли при пониженном давлении и полученное масло очищали с помощью колоночной хроматографии; (первоначальное элюирование смесью 50% этилацетат/гептан удаляло бис-аллос защищенный амин, после чего следовало элюирование этилацетатом для удаления желаемого моно-аллос защищенного продукта (**I41**). Наконец, любой непрореагировавший исходный материал удаляли с помощью 5% метанола/ДХМ). Чистые фракции упаривали при пониженном давлении, с получением **I41** в виде желтого твердого вещества (3,5 г, 54% выход). ЖХ/МС (метод В): время удерживания 2,41 мин (ЭСИ+),  $m/z$  886,5  $[M + H]^+$

(e) аллил (5-(3-(5-(((4-((S)-2-((S)-2-(((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)окси)карбонил)амино)-4-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-карбонил)-2-метоксифеноксипропокси)-2-((S)-2-(((трет-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-карбонил)-4-метоксифенил)карбамат (**I42**)

Трифосген (0,41 г, 1,4 ммоль) добавляли к перемешиваемому раствору **I41** (3,5 г, 3,95 ммоль) в безводном ТГФ (70 мл) при комнатной температуре в атмосфере аргона. Добавляли триэтиламин (1,2 мл, 0,87 г, 8,6 ммоль) и полученную смесь перемешивали в течение 10 минут. Анализ с помощью ЖХ/МС показал полное превращение в изоцианат

(отбор проб в MeOH с получением метилкарбамата, время удерживания 2,48 мин, (ЭСИ+)  $m/z$  944,4  $[M+H]^+$ ). Добавляли смесь **I6** (1,64 г, 4,35 ммоль) и триэтиламина (0,83 мл, 0,6 г, 5,9 ммоль) в безводном ТГФ (30 мл). Реакционную смесь перемешивали в атмосфере аргона при 40 °С в течение 2 часов. Растворитель удаляли в вакууме и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (0,5-2,5% метанол/ДХМ) с получением **I42** в виде белого твердого вещества (3,58 г, выход 70%). ЖХ/МС (метод В): время удерживания 2,45 мин, (ЭСИ+)  $m/z$  1290,0  $[M+H]^+$ .

*(f) аллил (5-(3-(5-(((4-((S)-2-((S)-2)-((аллилокси)карбонил)амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)окси)карбонил)амино)-4-((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбонил)-2-метоксифенокси)пропокси)-2-((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбонил)-4-метоксифенил)карбамат (I43)*

Фторид тетра-н-бутиламмония (1M, 6,1 мл, 6,1 ммоль) добавляли к раствору **I42** (3,58 г, 2,78 ммоль) в тетрагидрофуране (35 мл) при комнатной температуре. Полученную смесь перемешивали в течение 60 минут, затем выпаривали досуха при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (от 2 до 5% метанола/ДХМ) с получением **I43** в виде белой пены (2,95 г, выход 98%). ЖХ/МС (метод В): время удерживания 1,70 мин, (ЭСИ+)  $m/z$  1061,3  $[M+H]^+$ .

*(g) аллил (11S, 11aS)-8-(3-(((11S, 11aS)-10-(((4-((S)-2-((S)-2-((аллилокси)карбонил)) амино)-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил)окси)карбонил)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-8-ил)окси)пропокси)-11-гидрокси-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-10 (5H)-карбоксилат (I44)*

Раствор Stahl для аэробного окисления TEMPO 0,2 M в MeCN (5,47 мл, 1,1 ммоль), а затем тетрааксациетонитрил трифлат меди (I) (0,41 г, 1,1 ммоль) добавляли к раствору **I43** (2,9 г, 2,74 ммоль) в ДХМ (30 мл) и ацетонитрила (6 мл) и перемешивали при 35 °С в течение 36 часов в атмосфере воздуха. Реакционную смесь промывали водой (25 мл), сушили (фазовый сепаратор biotage) и упаривали досуха при пониженном давлении. Остаток очищали колоночной хроматографией (от 3 до 6% метанола/ДХМ) с получением окисленного продукта **I44** в виде белого твердого вещества (2,46 г, 85% выход). ЖХ/МС (метод В): время удерживания 1,60 мин, (ЭСИ+)  $m/z$  1057,1  $[M+H]^+$ .

*(h) 4-((S)-2-((S)-2-амино-3-метилбутанамидо)пропанамидо)бензил(11S,11aS)-11-гидрокси-7-метокси-8-(3-(((S)-7-метокси-5-оксо-2,3,5,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-*

*a][1,4]дiazетин-8-ил)окси)пропокси)-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-10(5H)-карбоксилат (I45)*

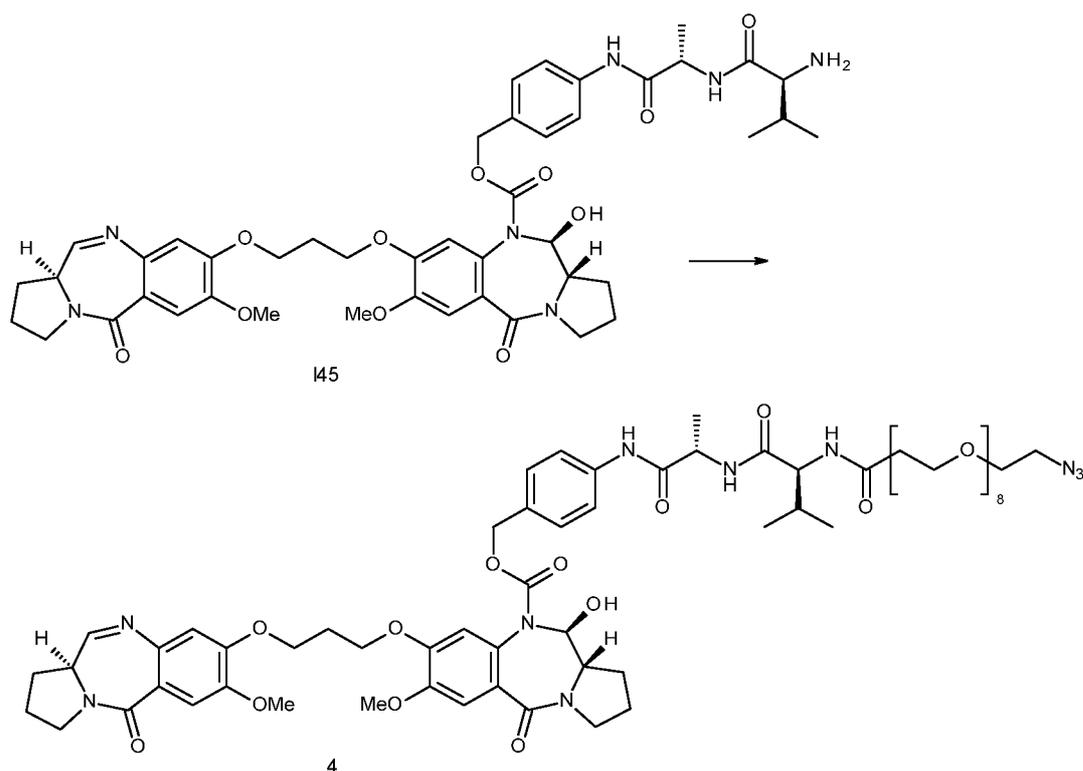
Pd(Ph<sub>3</sub>P)<sub>4</sub> (10 мг, 5 мол.%) добавляли к раствору **I44** (200 мг, 0,19 ммоль) и пирролидину (40мкл, 0,34 г, 0,48 ммоль) в ДХМ (10 мл) при комнатной температуре. Полученный раствор перемешивали в течение 30 минут. Реакционную смесь промывали насыщенным хлоридом аммония (10 мл), сушили (biotage фазовый сепаратор) и упаривали досуха при пониженном давлении. Затем остаток выдерживали в высокой вакууме на 4 часа для удаления следов пирролидина. Полученное почти белое твердое вещество использовали на следующей стадии без дополнительной очистки (160 мг, 97% выход). ЖХ/МС (метод В): время удерживания 1,17 мин, (ЭСИ+) *m/z* 871,1 [*M*+ H]<sup>+</sup>.

(i) *4-((2S,5S)-37-(2,5-диоксо-2,5-дигидро-1H-пиррол-1-ил)-5-изопропил-2-метил-4,7,35-триоксо-10,13,16,19,22,25,28,31-октаокса-3,6,34-триазагептатриаконтанамидо)бензил(11S,11aS)-11-гидрокси-7-метокси-8-(3-(((S)-7-метокси-5-оксо-2,3,5,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-8-ил)окси)пропокси)-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло [1,2-a][1,4]дiazетин-10(5H)-карбоксилат (1)*

EDCI.HCl (46 мг, 0,24 ммоль) добавляли к раствору **I45** и Mal-PEG<sub>8</sub>-кислоты (130 мг, 0,22 ммоль) в CHCl<sub>3</sub> (10 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 2 часов. ЖХ/МС показало, что 78% исходного материала все еще присутствовало. Еще 2 экв. EDCI.HCl добавляли порциями, чтобы довести реакцию до завершения. Реакционную смесь промывали водой (10 мл), сушили (Biotage PS) и упаривали досуха при пониженном давлении, с получением желтого твердого вещества, которое очищали препаративной ВЭЖХ и получали продукт **1** в виде почти белого твердого вещества (90 мг, 34% выход). ЖХ/МС (метод В): время удерживания 1,47 мин, (ЭСИ+) *m/z* 1445,9 [*M*+ H]<sup>+</sup>.

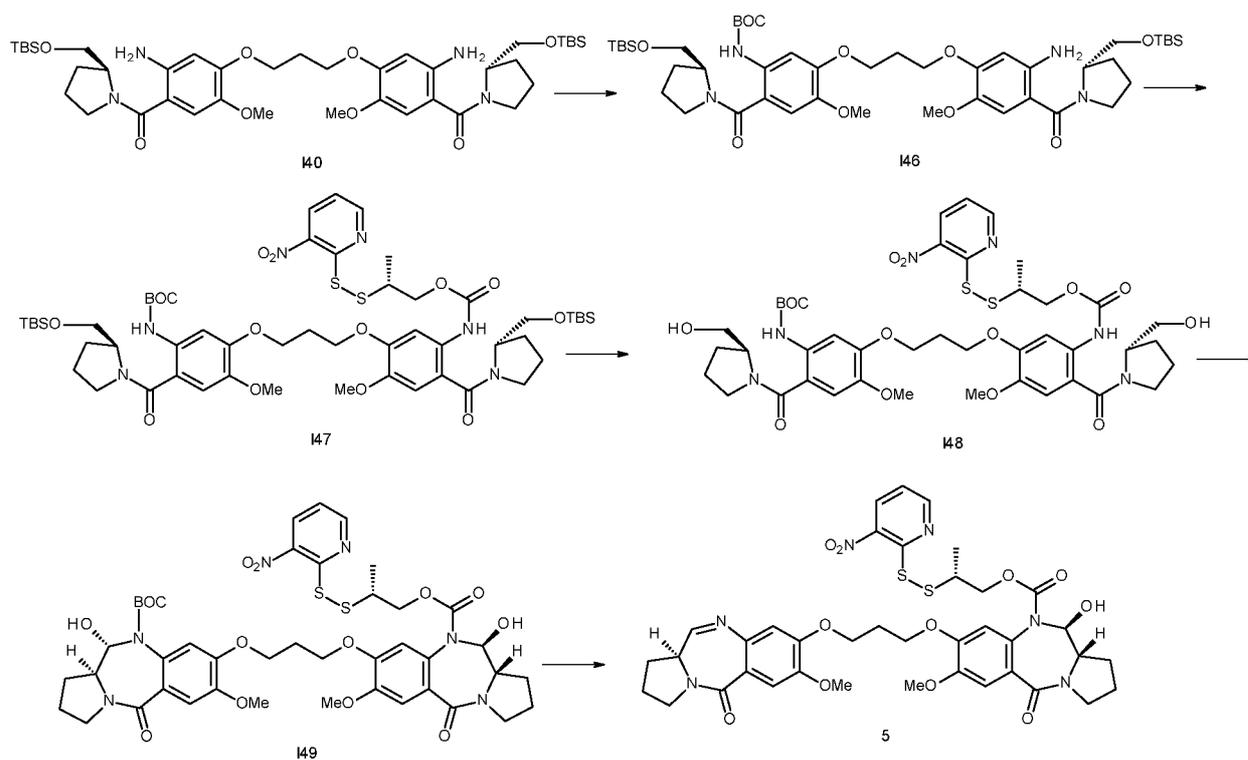
### Пример 5

(i) *4-((29S,32S)-1-азидо-29-изопропил-32-метил-27,30-диоксо-3,6,9,12,15,18,21,24-октаокса-28,31-дiazатриаконтан-33-амидо)бензил(11S,11aS)-11-гидрокси-7-метокси-8-(3-(((S)-7-метокси-5-оксо-2,3,5,11a-)тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-8-ил)окси)пропокси)-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]дiazетин-10(5H)-карбоксилат (4)*



EDCI.HCl (27 мг, 0,14 ммоль) добавляли к раствору **145** и азидо-PEG<sub>8</sub>-кислоты (49 мг, 0,10 ммоль) в CHCl<sub>3</sub> (6 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 1 часа. Растворитель упаривали при пониженном давлении с получением желтого пенообразного вещества. Очистка препаративной ВЭЖХ давала продукт **4** в виде не совсем белого твердого вещества (20 мг, 17% выход). ЖХ/МС (метод В): время удерживания 6,01 мин, (ЭСИ+)  $m/z$  1320 [ $M+H$ ]<sup>+</sup>.

(ii) (*R*)-2-((3-нитропиридин-2-ил)дисульфанил)пропил(1*S*,11*aS*)-11-гидрокси-7-метокси-8-(3-(((*S*)-7-метокси)-5-оксо-2,3,5,11*a*-тетрагидро-1*H*-бензо[*e*]пирроло[1,2-*a*][1,4]дiazепин-8-ил)окси)пропокси)-5-оксо-2,3,11,11*a*-тетрагидро-1*H*-бензо[*e*]пирроло[1,2-*a*][1,4]дiazепин-10(5*H*)-карбоксилат (**5**)



(а) *трет-бутил* (5-(3-(5-амино-4-((*S*)-2-(((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-карбонил)-2-метоксифенокси)пропокси)-2-((*S*)-2-(((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-карбонил)-4-метоксифенил)карбамат (**146**)

Вос-ангидрид (0,5 мл, 2,3 ммоль, 1,0 экв.) добавляли к раствору **140** (1,9 г, 2,3 ммоль, 1,0 экв.) в ТГФ (50 мл) и перемешивали при 55°C в течение 5 часов. Растворитель удаляли упариванием при пониженном давлении, и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (50-100% этилацетат/гексан) с получением продукта в виде желтого твердого вещества, 1,7 г (80%). ЖХ/МС (метод 1): в.у. 2,48 мин,  $m/z$  (902,5) М + Н.

(б) *трет-бутил* (2-((*S*)-2-(((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-карбонил)-5-(3-(4-((*S*)-2-(((*трет*-бутилдиметилсилил)окси)метил)пирролидин-1-карбонил)-2-метокси-5-(((*R*)-2-((3-нитропиридин-2-ил)дисульфанил)пропокси)карбонил)амино)фенокси)пропокси)-4-метоксифенил)карбамат (**147**)

Трифосген (0,135 г, 0,455 ммоль, 0,35 экв.) добавляли к раствору (2*R*)-2-[(3-нитро-2-пиридил)дисульфанил]пропан-1-ола (0,316 г, 1,28 ммоль, 1,05 экв.) и пиридина (111 мг, 1,4 ммоль, 1,15 экв.) в безводном дихлорметане (5 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут. Затем полученный раствор добавляли к раствору **146** (1,10 г, 1,22 ммоль, 1,0 экв.) и пиридина (106 мг, 1,34 ммоль, 1,1 экв.) в безводном

дихлорметане (10 мл) и перемешивали при комнатной температуре в течение 60 мин. Растворитель удаляли выпариванием при пониженном давлении и остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (40-50% этилацетат/гексан) с получением продукта в виде желтой пены, 1,21 г (85%). ЖХ/МС (метод 1): в.у. 2,53 мин,  $m/z$  (1174,5) M + H.

(с) *трет-бутил (2-((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбонил)-5-(3-(4-((S)-2-(гидроксиметил)пирролидин-1-карбонил)-2-метокси-5-(((R)-2-((3-нитропиридин-2-ил)дисульфанил)пропокси)карбонил)амино)фенокси)пропокси)-4-метоксифенил)карбамат (I48)*

**I47** (1,21 г, 1,03 ммоль) растворяли в смеси уксусной кислоты (5 мл), ТГФ (1 мл), метанола (1 мл) и воды (2 мл). Полученную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 90 минут, затем упаривали досуха при пониженном давлении. Остаток растворяли в этилацетате (50 мл), промывали водой (50 мл), затем насыщенным водным раствором NaHCO<sub>3</sub> (50 мл), сушили (MgSO<sub>4</sub>) и упаривали при пониженном давлении. Остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (4% метанол/ДХМ), с получением продукта в виде твердого вещества желтого цвета, 0,97 г (100%). ЖХ/МС (метод 1): в.у. 1,87 мин,  $m/z$  (946,0) M + H.

(d) *трет-бутил (11S, 11aS)-11-гидрокси-8-(3-(((11S, 11aS)-11-гидрокси-7-метокси-10-(((R)-2-((3)-нитропиридин-2-ил)дисульфанил)пропокси)карбонил)-5-оксо-2,3,5,10,11,11a-гексагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазетин-8-ил)окси)пропокси)-7-метокси-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазетин -10(5H)-карбоксилат (I49)*

Раствор Stahl для аэробного окисления TEMPO (2,05 мл, 0,4 ммоль, 0,2 моль/л), а затем тетрааксацетонитрил трифлат меди (I) (0,15 г, 0,40 ммоль) добавляли к раствору **I48** (0,97 г, 1,0 ммоль) в ДХМ (20 мл, 312,0 ммоль). Полученную смесь перемешивали при 35 °С в течение 15 часов. Органическую фазу промывали водой (25 мл), сушили (biotage) и упаривали досуха при пониженном давлении, и очищали с помощью колоночной хроматографии (3-6% метанола/ДХМ) с получением продукта в виде белового твердого вещества, 0,77 г (79%). ЖХ/МС (метод 1): в.у. 1,70 мин,  $m/z$  (941,9) M+H.

(e) *(R)-2-((3-нитропиридин-2-ил)дисульфанил)пропил(11S, 11aS)-11-гидрокси-7-метокси-8-(3-(((S)-7-метокси)-5-оксо-2,3,5,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло [1,2-a] [1,4] диазетин-8-ил)окси)пропокси)-5-оксо-2,3,11,11a-тетрагидро-1H-бензо[e]пирроло[1,2-a][1,4]диазетин-10(5H)-карбоксилат (5)*

Трифторуксусную кислоту (4,5 мл) добавляли к воде (0,5 мл) и охлаждали до 0 °С. Затем этот раствор добавляли к **I49** (0,75 г, 0,80 ммоль) и полученную смесь перемешивали при 0 °С в течение 2 часов. Растворитель удаляли при пониженном давлении, остаток растворяли в ДХМ (10 мл) и реакционную смесь нейтрализовали добавлением насыщенного водного раствора NaHCO<sub>3</sub>. После сушки (biotage) и упаривания при пониженном давлении остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (4-6% метанола/ДХМ), с получением продукта в виде твердого вещества ярко-желтого цвета, 0,6 г (91%). ЖХ/МС (метод 2): в.у. 6,04 мин, *m/z* (824,0) M+H.

#### Аналитические условия ЖХ/МС для Примера 5 (ii)

Электрораспылительную масс-спектрометрию с положительным режимом проводили с использованием Waters Acquity H-класса SQD2. В качестве подвижной фазы использовали растворитель А (вода с 0,1% муравьиной кислоты) и растворитель В (ацетонитрил с 0,1% муравьиной кислоты).

**Способ 1:** Градиент для обычной 3-минутной хроматограммы: Первоначальный состав 5% В выдерживали в течение 25 секунд, затем повышали концентрацию от 5% В до 100% В в течение 1 минуты 35 секунд. Такой состав выдерживали в течение 50 секунд при 100% В, затем возвращались к 5% В в течение 5 секунд и выдерживали в течение 5 секунд. Общая продолжительность градиентного цикла составляла 3,0 минуты. Скорость потока составляла 0,8 мл/мин. Обнаружение проводили при 254 нм. Колонка: Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18, 1,7 мкм, 2,1 x 50 мм при 50 °С, оснащенная предколонкой Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 VanGuard, 130A, 1,7 мкм, 2,1 мм x 5 мм.

**Способ 2:** Градиент для обычной 15-минутной хроматограммы: Первоначальное содержание 5% В выдерживали в течение 1 мин, затем повышали от 5% В до 100% В за 9 минут. Такой состав выдерживали в течение 2 минут при 100% В, затем возвращались к 5% В в течение 10 секунд и выдерживали при 5% В в течение 2 минут 50 секунд. Общая продолжительность градиентного цикла составляла 15,0 минут. Скорость потока составляла 0,8 мл/мин (для 3-минутной хроматограммы) и 0,6 мл/мин (для 15-минутной хроматограммы). Обнаружение проводили при 254 нм. Колонка: ACE Excel 2 C18-AR, 2 мкм, 3,0 x 100 мм, оснащенная предколонкой Waters Acquity UPLC® BEH Shield RP18 VanGuard, 130A, 1,7 мкм, 2,1 мм x 5 мм.

#### **Пример 6 - Конъюгирование**

*Конъюгат-HER-1*

50 мМ раствор дитиотреитола (ДТТ) в фосфатно-солевом буферном растворе с рН 7,4 (PBS) добавляли (80 молярных эквивалентов/антитело, 16 микромоль, 0,32 мл 50 мМ раствора) к 12 мл раствора антитела герцептин (30 мг, 0,2 микромоль) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 2,5 мг/мл. Восстанавливающую смесь нагревали при +25 °С в течение 4 часов (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. После охлаждения до комнатной температуры заменяли буфер для восстановленного антитела, посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, на буфер повторного окисления, содержащий PBS с рН 7,4 и 1 мМ ЭДТК, для удаления избытка восстанавливающего агента. Добавляли 50 мМ раствор дегидроаскорбиновой кислоты (ДНАА, 15 молярных эквивалентов/антитело, 3 микромоль, 0,08 мл 50 мМ раствора) в ДМСО и оставляли смесь для повторного окисления взаимодействовать в течение 16 часов при комнатной температуре при умеренном (60 об/мин) встряхивании с концентрацией антитела ~ 1,5 мг/мл (или до полного повторного окисления цистеиновых тиолов с образованием межцепочечных цистеиновых дисульфидов, по данным СВЭЖХ). Смесь для повторного окисления центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали через стерилизующий фильтр с мембраной 0,22 мкм. Соединение 1 добавляли в виде раствора в ДМСО (10 молярных эквивалентов/антитело, 1,0 микромоль в 1,5 мл ДМСО) к 13,5 мл полученного раствора повторно окисленного антитела (15 мг, 0,1 микромоль) до конечной концентрации в ДМСО 10% (об./об.). Раствор встряхивали в течение 3 часов при +25 °С, и затем останавливали конъюгирование с помощью N-ацетилцистеина (15 микромоль, 0,150 мл при 100 мМ).

Избыток свободного лекарственного средства удаляли посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, в буфер содержащий PBS с рН 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат. После полного удаления свободного лекарственного средства, АДС фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при +4 °С.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aeris 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила на восстановленном образце конъюгата-HER-1 при 214 нм и 330 нм

(специфической в отношении соединения **1**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **1**, что согласуется с отношением лекарственное средство-на-антитело (DAR), составляющим 1,74 молекулы соединения **1** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с pH 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца конъюгата-HER-1 при 280 нм, показал чистоту мономера более 99%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ADC равную 1,39 мг/мл в 7,8 мл, полученная масса ADC составила 10,8 мг (72% выход).

#### *Конъюгат-HER-2*

50 мМ раствор дитиотреитола (DTT) в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,4 (PBS) добавляли (80 молярных эквивалентов/антитело, 55,5 микромоль, 1,11 мл 50 мМ раствора) к 11,8 мл раствора антитела герцептин (104 мг, 0,69 микромоль) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 4,0 мг/мл. Восстанавливающую смесь нагревали при +25 °С в течение 3,5 часов (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. После охлаждения до комнатной температуры заменяли буфер для восстановленного антитела, посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДА, на буфер повторного окисления, содержащий PBS с pH 7,4 и 1 мМ ЭДТК, для удаления избытка восстанавливающего агента. Добавляли 50 мМ раствор дегидроаскорбиновой кислоты (ДНАА, 20 молярных эквивалентов/антитело, 12,4 микромоль, 0,25 мл 50 мМ раствора) в ДМСО и оставляли смесь для повторного окисления взаимодействовать в течение 16 часов при комнатной температуре при умеренном (60 об/мин) встряхивании с концентрацией антитела ~ 2,4 мг/мл (или до полного повторного окисления цистеиновых тиолов с образованием межцепочечных цистеиновых дисульфидов, по данным СВЭЖХ). Смесь для повторного окисления центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали через стерилизующий фильтр с мембраной 0,22 мкм. Соединение **2** добавляли в виде раствора в ДМСО (10 молярных эквивалентов/антитело, 1,03 микромоль в 1,40 мл ДМСО) к 14 мл

полученного раствора повторно окисленного антитела (15,5 мг, 0,103 микромоль) до конечной концентрации в ДМСО 10% (об./об.). Раствор встряхивали в течение 1,5 часов при +25 °С, а затем останавливали конъюгирование с помощью N-ацетилцистеина (5,15 микромоль, 0,051 мл при 100 мМ).

Избыток свободного лекарственного средства удаляли с помощью установки тангенциальной проточной фильтрации (TFF), используя mPES, волоконный фильтр MidiKros® 30 кДа с площадью поверхности 115 см<sup>2</sup>, в буфер, содержащий PBS с pH 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат. После полного удаления свободного лекарственного средства, ADC фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при +4 °С.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aeris 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила на восстановленном образце конъюгата-HER-2 при 214 нм и 330 нм (специфической в отношении соединения **2**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **2**, что согласуется с отношением лекарственное средство-на-антитело (DAR), составляющим 1,85 молекулы соединения **2** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с pH 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца конъюгата-HER-2 при 280 нм, показал чистоту мономера более 98%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ADC равную 0,88 мг/мл в 8,5 мл, полученная масса ADC составила 7,5 мг (48% выход).

### *Конъюгат-HER-3*

50 мМ раствор трис(2-карбоксиэтил)фосфина гидрохлорида (ТСЕР) в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,4 (PBS) добавляли (40 молярных эквивалента/антитело, 40 микромоль, 0,08 мл при 50 мМ) к 1,39 мл раствора антитела герцептин (15 мг, 0,1 микромоль) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ

этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 4,0 мг/мл. Восстанавливающую смесь нагревали при +37 °С в течение 2 часов (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. После охлаждения до комнатной температуры заменяли буфер для восстановленного антитела, посредством диализа с использованием кассеты MWCO 50 кДА, на буфер повторного окисления, содержащий PBS с pH 7,4 и 1 мМ ЭДТК, для удаления избытка восстанавливающего агента в течение 16 часов при комнатной температуре. Добавляли 50 мМ раствор дегидроаскорбиновой кислоты (ДНАА, 25 молярных эквивалентов/антитело, 2,5 микромоль, 0,04 мл 50 мМ раствора) в ДМСО и оставляли смесь для повторного окисления взаимодействовать в течение 2 часов при комнатной температуре при умеренном (60 об/мин) встряхивании с концентрацией антитела ~ 1,5 мг/мл. Из-за неполного окисления добавляли еще 0,04 мл 50 мМ ДНАА и дополнительно встряхивали при комнатной температуре в течение 2 часов. После этого с помощью ВЭЖХ наблюдалось полное повторное окисление тиолов цистеина для повторного формирования межцепочечных дисульфидов цистеина. Смесь для повторного окисления центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали через стерилизующий фильтр с мембраной 0,22 мкм. Соединение **3** добавляли в виде раствора в ДМСО (10 молярных эквивалентов/антитело, 0,8 микромоль в 1,1 мл ДМСО) к 11 мл полученного раствора повторно окисленного антитела (12 мг, 0,08 микромоль) до конечной концентрации в ДМСО 10% (об./об.). Раствор встряхивали в течение 1 часа при +25 °С, и затем останавливали конъюгирование с помощью N-ацетилцистеина (3,2 микромоль, 0,032 мл при 100 мМ).

Избыток свободного лекарственного средства удаляли посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДА, в буфер содержащий PBS с pH 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат. После полного удаления свободного лекарственного средства, ADC фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при +4 °С. СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aeris 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила на восстановленном образце конъюгата-HER-3 при 214 нм и 330 нм (специфической в отношении соединения **3**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **3**, что согласуется с отношением лекарственное

средство-на-антитело (DAR), составляющим 1,78 молекулы соединения **3** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с pH 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца конъюгата-HER-3 при 280 нм, показал чистоту мономера более 94%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ADC равную 1,14 мг/мл в 8,2 мл, полученная масса ADC составила 9,3 мг (62% выход).

#### *Конъюгат-R347-1*

50 мМ раствор дитиотреитола (DTT) в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,4 (PBS) добавляли (80 молярных эквивалентов/антитело, 697 микромоль, 13,87 мл 50 мМ раствора) к 44,36 мл раствора антитела R347 (1300 мг, 8,67 микромоль) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 5,0 мг/мл. Восстанавливающую смесь нагревали при +25 °С в течение 3,5 часов (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. После охлаждения до комнатной температуры заменяли буфер для восстановленного антитела, с помощью установки тангенциальной проточной фильтрации (TFF), используя mPES, волоконный фильтр MidiKros® 30 кДа с площадью поверхности 235 см<sup>2</sup>, на буфер повторного окисления, содержащий PBS с pH 7,4 и 1 мМ ЭДТК, для удаления избытка восстанавливающего агента. Восстановленное антитело центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали с использованием мембранного фильтра 0,22 мкм. Добавляли 50 мМ раствор дегидроаскорбиновой кислоты (DHAА, 15 молярных эквивалентов/антитело, 130 микромоль, 2,6 мл 50 мМ раствора) в ДМСО и оставляли смесь для повторного окисления взаимодействовать в течение 16 часов при комнатной температуре при умеренном (60 об/мин) встряхивании с концентрацией антитела 5,0 мг/мл (или до полного повторного окисления цистеиновых тиолов с образованием межпочечных цистеиновых дисульфидов, по данным СВЭЖХ). Смесь для повторного окисления центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали через стерилизующий фильтр с мембраной 0,22 мкм. Соединение **1** добавляли в виде раствора в ДМСО (10 молярных эквивалентов/антитело, 86,7 микромоль в 23,4 мл ДМСО)

к 330 мл полученного раствора повторно окисленного антитела (1300 мг, 8,67 микромоляр) до конечной концентрации в ДМСО 10% (об./об.). Раствор встряхивали в течение 3 часов при +25 °С, и затем останавливали конъюгирование с помощью N-ацетилцистеина (433 микромоляр, 4,33 мл при 100 мМ).

Избыток свободного лекарственного средства удаляли с помощью установки тангенциальной проточной фильтрации (TFF), используя mPES, волоконный фильтр MidiKros® 30 кДа с площадью поверхности 235 см<sup>2</sup>, в буфер, содержащий PBS с pH 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат. После полного удаления свободного лекарственного средства ADC составляли в состав с 25 мМ гистидина, 200 мМ сахарозы, pH 6,0. ADC фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при -78 °С.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aeris 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила на восстановленном образце конъюгата-R347-1 при 214 нм и 330 нм (специфической в отношении соединения **1**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **1**, что согласуется с отношением лекарственное средство-на-антитело (DAR), составляющим 1,82 молекулы соединения **1** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с pH 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца ADC при 280 нм, показал чистоту мономера более 99%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного конъюгата-R347-1 равную 10,11 мг/мл в 113 мл, полученная масса ADC составила 1141 мг (88% выход).

#### *Конъюгат-R347-2*

50 мМ раствор дитиотреитола (DTT) в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,4 (PBS) добавляли (80 молярных эквивалентов/антитело, 213 микромоляр, 4,3 мл 50 мМ

раствора) к 13,7 мл раствора антитела R347 (400 мг, 2,67 микромоль) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 5,0 мг/мл. Восстанавливающую смесь нагревали при +25 °С в течение 3,5 часов (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. После охлаждения до комнатной температуры заменяли буфер для восстановленного антитела, с помощью установки тангенциальной проточной фильтрации (TFF), используя mPES, волоконный фильтр MidiKros® 30 кДа с площадью поверхности 115 см<sup>2</sup>, на буфер повторного окисления, содержащий PBS с pH 7,4 и 1 мМ ЭДТК, для удаления избытка восстанавливающего агента. Восстановленное антитело центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали с использованием мембранного фильтра 0,22 мкм. Добавляли 50 мМ раствор дегидроаскорбиновой кислоты (ДНАА, 15 молярных эквивалентов/антитело, 40 микромоль, 0,8 мл 50 мМ раствора) в ДМСО и оставляли смесь для повторного окисления взаимодействовать в течение 16 часов при комнатной температуре при умеренном (60 об/мин) встряхивании с концентрацией антитела ~ 3,0 мг/мл (или до полного повторного окисления цистеиновых тиолов с образованием межцепочечных цистеиновых дисульфидов, по данным СВЭЖХ). Смесь для повторного окисления центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали через стерилизующий фильтр с мембраной 0,22 мкм. Соединение **2** добавляли в виде раствора в ДМСО (10 молярных эквивалентов/антитело, 26,7 микромоль в 15,5 мл ДМСО) к 330 мл полученного раствора повторно окисленного антитела (400 мг, 2,67 микромоль) до конечной концентрации в ДМСО 10% (об./об.). Раствор встряхивали в течение 1,5 часов при +25 °С, и затем останавливали конъюгирование с помощью N-ацетилцистеина (125 микромоль, 1,25 мл при 100 мМ).

Избыток свободного лекарственного средства удаляли с помощью установки тангенциальной проточной фильтрации (TFF), используя mPES, волоконный фильтр MidiKros® 30 кДа с площадью поверхности 115 см<sup>2</sup>, в буфер, содержащий PBS с pH 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат. После полного удаления свободного лекарственного средства ADC составляли в состав с 25 мМ гистидина, 200 мМ сахарозы, pH 6,0. ADC фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при -78 °С.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aeris 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила на восстановленном образце конъюгата-R347-2 при 214 нм и 330 нм (специфической в отношении соединения **2**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **2**, что согласуется с отношением лекарственное средство-на-антитело (DAR), составляющим 1,8 молекулы соединения **2** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с pH 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца конъюгата-R347-2 при 280 нм, показал чистоту мономера более 99%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ADC равную 3,06 мг/мл в 93 мл, полученная масса ADC составила 284 мг (71% выход).

#### *Конъюгат-R347-3*

50 мМ раствор дитиотреитола (DTT) в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,4 (PBS) добавляли (80 молярных эквивалентов/антитело, 240 микромоляр, 4,8 мл 50 мМ раствора) к 15,36 мл раствора антитела R347 (450 мг, 3,0 микромоляр) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 5,0 мг/мл. Восстанавливающую смесь нагревали при +25 °C в течение 3,5 часов (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. После охлаждения до комнатной температуры заменяли буфер для восстановленного антитела, с помощью установки тангенциальной проточной фильтрации (TFF), используя mPES, волоконный фильтр MidiKros® 30 кДа с площадью поверхности 235 см<sup>2</sup>, на буфер повторного окисления, содержащий PBS с pH 7,4 и 1 мМ ЭДТК, для удаления избытка восстанавливающего агента. Восстановленное антитело центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали с использованием мембранного фильтра 0,22 мкм. Добавляли 50 мМ раствор дегидроаскорбиновой кислоты (ДНАА, 15 молярных эквивалентов/антитело, 45 микромоляр, 0,9 мл 50 мМ раствора) в ДМСО и оставляли смесь для повторного окисления взаимодействовать в течение 16 часов при комнатной температуре при умеренном (60 об/мин) встряхивании с концентрацией антитела ~ 3,5

мг/мл (или до полного повторного окисления цистеиновых тиолов с образованием межцепочечных цистеиновых дисульфидов, по данным СВЭЖХ). Смесь для повторного окисления центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали через стерилизующий фильтр с мембраной 0,22 мкм. Соединение **3** добавляли в виде раствора в ДМСО (10 молярных эквивалентов/антитело, 30,0 микромоль в 13,0 мл ДМСО) к 330 мл полученного раствора повторно окисленного антитела (450 мг, 3,0 микромоль) до конечной концентрации в ДМСО 10% (об./об.). Раствор встряхивали в течение 3 часов при +25 °С, и затем останавливали конъюгирование с помощью N-ацетилцистеина (150 микромоль, 1,5 мл при 100 мМ).

Избыток свободного лекарственного средства удаляли с помощью установки тангенциальной проточной фильтрации (TFF), используя mPES, волоконный фильтр MidiKros® 30 кДа с площадью поверхности 235 см<sup>2</sup>, в буфер, содержащий PBS с pH 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат. После полного удаления свободного лекарственного средства ADC составляли в состав с 25 мМ гистидина, 200 мМ сахарозы, pH 6,0. ADC фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при -78 °С.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aegis 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила восстановленного образца конъюгата при 214 нм и 330 нм (специфического в отношении соединения **3**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **3**, что согласуется с отношением лекарственного соединения к антителу (DAR), составляющим 1,82 молекулы соединения **3** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb НТР 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с pH 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца конъюгата-R347-3 при 280 нм, показал чистоту мономера более 99%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ADC равную 2,35 мг/мл в 174 мл, полученная масса конъюгата-R347-3 составила 409 мг (91% выход).

*Конъюгат-HLL2-1*

50 мМ раствор дитиотреитола (ДТТ) в фосфатно-солевом буферном растворе с рН 7,4 (PBS) добавляли (80 молярных эквивалентов/антитело, 53,3 микромоль, 1,07 мл 50 мМ раствора) к 11,8 мл раствора антитела HLL2 (100 мг, 0,6 микромоль) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 5,0 мг/мл. Восстанавливающую смесь нагревали при +25 °С в течение 3,5 часов (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. После охлаждения до комнатной температуры заменяли буфер для восстановленного антитела, посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, на буфер повторного окисления, содержащий PBS с рН 7,4 и 1 мМ ЭДТК, для удаления избытка восстанавливающего агента. Добавляли 50 мМ раствор дегидроаскорбиновой кислоты (ДНАА, 15 молярных эквивалентов/антитело, 9 микромоль, 0,18 мл 50 мМ раствора) в ДМСО и оставляли смесь для повторного окисления взаимодействовать в течение 16 часов при комнатной температуре при умеренном (60 об/мин) встряхивании с концентрацией антитела ~ 3,0 мг/мл (или до полного повторного окисления цистеиновых тиолов с образованием межцепочечных цистеиновых дисульфидов, по данным СВЭЖХ). Смесь для повторного окисления центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали через стерилизующий фильтр с мембраной 0,22 мкм. Соединение 1 добавляли в виде раствора в ДМСО (10 молярных эквивалентов/антитело, 1,2 микромоль в 0,58 мл ДМСО) к 7 мл полученного раствора повторно окисленного антитела (18 мг, 0,12 микромоль) до конечной концентрации в ДМСО 10% (об./об.). Раствор встряхивали в течение 3 часов при +25 °С, и затем останавливали конъюгирование с помощью N-ацетилцистеина (6 микромоль, 0,06 мл при 100 мМ).

Избыток свободного лекарственного средства удаляли посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, в буфер содержащий PBS с рН 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат. После полного удаления свободного лекарственного средства, ADC фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при +4 °С.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aeris 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила на восстановленном образце конъюгата-HLL2-1 при 214 нм и 330 нм (специфической в отношении соединения **1**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **1**, что согласуется с отношением лекарственное средство-на-антитело (DAR), составляющим 1,74 молекулы соединения **1** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с pH 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца конъюгата-HLL2-1 при 280 нм, показал чистоту мономера более 98%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ADC равную 1,6 мг/мл в 7,5 мл, полученная масса ADC составила 12 мг (67% выход).

#### *Конъюгат-HLL2-2*

50 мМ раствор дитиотреитола (DTT) в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,4 (PBS) добавляли (80 молярных эквивалентов/антитело, 53,3 микромоляр, 1,07 мл 50 мМ раствора) к 11,8 мл раствора антитела HLL2 (100 мг, 0,6 микромоляр) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 5,0 мг/мл. Восстанавливающую смесь нагревали при +25 °С в течение 3,5 часов (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. После охлаждения до комнатной температуры заменяли буфер для восстановленного антитела, посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, на буфер повторного окисления, содержащий PBS с pH 7,4 и 1 мМ ЭДТК, для удаления избытка восстанавливающего агента. Добавляли 50 мМ раствор дегидроаскорбиновой кислоты (ДНАА, 15 молярных эквивалентов/антитело, 9 микромоляр, 0,18 мл 50 мМ раствора) в ДМСО и оставляли смесь для повторного окисления взаимодействовать в течение 16 часов при комнатной температуре при умеренном (60 об/мин) встряхивании с концентрацией антитела ~ 3,0 мг/мл (или до полного повторного окисления цистеиновых тиолов с образованием межцепочечных цистеиновых дисульфидов, по данным СВЭЖХ). Смесь для повторного окисления

центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали через стерилизующий фильтр с мембраной 0,22 мкм. Соединение **2** добавляли в виде раствора в ДМСО (10 молярных эквивалентов/антитело, 1,2 микромоль в 0,58 мл ДМСО) к 7 мл полученного раствора повторно окисленного антитела (18 мг, 0,12 микромоль) до конечной концентрации в ДМСО 10% (об./об.). Раствор встряхивали в течение 3 часов при +25 °С, и затем останавливали конъюгирование с помощью N-ацетилцистеина (6 микромоль, 0,06 мл при 100 мМ).

Избыток свободного лекарственного средства удаляли посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, в буфер содержащий PBS с pH 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат. После полного удаления свободного лекарственного средства, ADC фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при +4 °С.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aeris 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила, восстановленного образца конъюгата при 214 нм и 330 нм (специфической в отношении соединения **2**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **2**, что согласуется с отношением лекарственное средство-на-антитело (DAR), составляющим 1,78 молекулы соединения **2** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb НТР 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с pH 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца конъюгата-HLL2-2 при 280 нм, показал чистоту мономера более 98%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ADC равную 1,56 мг/мл в 8,0 мл, полученная масса конъюгата-HLL2-2 составила 12,5 мг (69% выход).

### *Конъюгат-HLL2-3*

50 мМ раствор дитиотреитола (DTT) в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,4 (PBS) добавляли (80 молярных эквивалентов/антитело, 53,3 микромоль, 1,07 мл 50 мМ

раствора) к 11,8 мл раствора антитела HLL2 (100 мг, 0,6 микромоляр) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 5,0 мг/мл. Восстанавливающую смесь нагревали при +25 °С в течение 3,5 часов (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. После охлаждения до комнатной температуры заменяли буфер для восстановленного антитела, посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, на буфер повторного окисления, содержащий PBS с pH 7,4 и 1 мМ ЭДТК, для удаления избытка восстанавливающего агента. Добавляли 50 мМ раствор дегидроаскорбиновой кислоты (ДНАА, 15 молярных эквивалентов/антитело, 9 микромоляр, 0,18 мл 50 мМ раствора) в ДМСО и оставляли смесь для повторного окисления взаимодействовать в течение 16 часов при комнатной температуре при умеренном (60 об/мин) встряхивании с концентрацией антитела ~ 3,0 мг/мл (или до полного повторного окисления цистеиновых тиолов с образованием межцепочечных цистеиновых дисульфидов, по данным СВЭЖХ). Смесь для повторного окисления центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали через стерилизующий фильтр с мембраной 0,22 мкм. Соединение **3** добавляли в виде раствора в ДМСО (10 молярных эквивалентов/антитело, 1,2 микромоляр в 0,58 мл ДМСО) к 7 мл полученного раствора повторно окисленного антитела (18 мг, 0,12 микромоляр) до конечной концентрации в ДМСО 10% (об./об.). Раствор встряхивали в течение 3 часов при +25 °С, и затем останавливали конъюгирование с помощью N-ацетилцистеина (6 микромоляр, 0,06 мл при 100 мМ).

Избыток свободного лекарственного средства удаляли посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, в буфер содержащий PBS с pH 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат. После полного удаления свободного лекарственного средства, ADC фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при +4 °С.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aegis 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила, восстановленного образца конъюгата при 214 нм и 330 нм (специфической в отношении соединения **3**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **3**, что согласуется с отношением лекарственное

средство-на-антитело (DAR), составляющим 1,79 молекулы соединения **3** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с pH 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца конъюгата-HLL2-3 при 280 нм, показал чистоту мономера более 98%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ADC равную 1,73 мг/мл в 8,2 мл, полученная масса конъюгата-HLL2-3 составила 14,2 мг (79% выход).

#### *Конъюгат-CD79b-1*

50 мМ раствор дитиотреитола (DTT) в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,4 (PBS) добавляли (80 молярных эквивалентов/антитело, 53,6 микромоль, 1,07 мл 50 мМ раствора) к 13,9 мл раствора антитела CD79b (100 мг, 0,67 микромоль) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 4,0 мг/мл. Восстанавливающую смесь нагревали при +25 °С в течение 4 часов (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. После охлаждения до комнатной температуры заменяли буфер для восстановленного антитела, посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, на буфер повторного окисления, содержащий PBS с pH 7,4 и 1 мМ ЭДТК, для удаления избытка восстанавливающего агента. Добавляли 50 мМ раствор дегидроаскорбиновой кислоты (ДНАА, 15 молярных эквивалентов/антитело, 9 микромоль, 0,18 мл 50 мМ раствора) в ДМСО и оставляли смесь для повторного окисления взаимодействовать в течение 16 часов при комнатной температуре при умеренном (60 об/мин) встряхивании с концентрацией антитела ~ 2,0 мг/мл (или до полного повторного окисления цистеиновых тиолов с образованием межцепочечных цистеиновых дисульфидов, по данным СВЭЖХ). Смесь для повторного окисления центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали через стерилизующий фильтр с мембраной 0,22 мкм. Соединение **1** добавляли в виде раствора в ДМСО (10 молярных эквивалентов/антитело, 1,2 микромоль в 1,0 мл ДМСО) к 9,0 мл полученного раствора повторно окисленного антитела (18 мг, 0,12 микромоль) до конечной концентрации в ДМСО 10% (об./об.). Раствор встряхивали в течение 2 часов при

+25 °С, и затем останавливали конъюгирование с помощью N-ацетилцистеина (4,8 микромоль, 0,048 мл при 100 мМ).

Избыток свободного лекарственного средства удаляли посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, в буфер содержащий PBS с pH 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат. После полного удаления свободного лекарственного средства, ADC фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при +4 °С.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aegis 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила, восстановленного образца конъюгата при 214 нм и 330 нм (специфической в отношении соединения **1**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **1**, что согласуется с отношением лекарственное средство-на-антитело (DAR), составляющим 1,90 молекулы соединения **1** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с pH 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца конъюгата-CD79b-1 при 280 нм, показал чистоту мономера более 98%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ADC равную 2,00 мг/мл в 7,85 мл, полученная масса конъюгата-CD79b-1 составила 15,7 мг (79% выход).

#### *Конъюгат-CD79b-2*

50 мМ раствор дитиотреитола (ДТТ) в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,4 (PBS) добавляли (80 молярных эквивалентов/антитело, 53,6 микромоль, 1,07 мл 50 мМ раствора) к 13,9 мл раствора антитела CD79b (100 мг, 0,67 микромоль) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 4,0 мг/мл. Восстанавливающую смесь нагревали при +25 °С в течение 4 часов (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. После

охлаждения до комнатной температуры заменяли буфер для восстановленного антитела, посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, на буфер повторного окисления, содержащий PBS с pH 7,4 и 1 мМ ЭДТК, для удаления избытка восстанавливающего агента. Добавляли 50 мМ раствор дегидроаскорбиновой кислоты (ДНАА, 15 молярных эквивалентов/антитело, 9 микромоль, 0,18 мл 50 мМ раствора) в ДМСО и оставляли смесь для повторного окисления взаимодействовать в течение 16 часов при комнатной температуре при умеренном (60 об/мин) встряхивании с концентрацией антитела ~ 2,0 мг/мл (или до полного повторного окисления цистеиновых тиолов с образованием межцепочечных цистеиновых дисульфидов, по данным СВЭЖХ). Смесь для повторного окисления центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали через стерилизующий фильтр с мембраной 0,22 мкм. Соединение **2** добавляли в виде раствора в ДМСО (10 молярных эквивалентов/антитело, 1,2 микромоль в 1,0 мл ДМСО) к 9,0 мл полученного раствора повторно окисленного антитела (18 мг, 0,12 микромоль) до конечной концентрации в ДМСО 10% (об./об.). Раствор встряхивали в течение 2 часов при +25 °С, и затем останавливали конъюгирование с помощью N-ацетилцистеина (4,8 микромоль, 0,048 мл при 100 мМ).

Избыток свободного лекарственного средства удаляли посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, в буфер содержащий PBS с pH 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат. После полного удаления свободного лекарственного средства, ADC фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при +4 °С.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aeris 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила, восстановленного образца конъюгата при 214 нм и 330 нм (специфической в отношении соединения **2**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **2**, что согласуется с отношением лекарственное средство-на-антитело (DAR), составляющим 1,87 молекулы соединения **2** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно

отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с рН 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца конъюгата-CD79b-2 при 280 нм, показал чистоту мономера более 98%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ADC равную 2,25 мг/мл в 5,9 мл, полученная масса конъюгата-CD79b-2 составила 13,3 мг (66% выход).

#### *Конъюгат-1С1-1*

50 мМ раствор дитиотреитола (ДТТ) в фосфатно-солевом буферном растворе с рН 7,4 (PBS) добавляли (80 молярных эквивалентов/антитело, 75 микромоль, 1,5 мл 50 мМ раствора) к 26,4 мл раствора антитела 1С1 (140 мг, 0,93 микромоль) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 5,0 мг/мл. Восстанавливающую смесь нагревали при +25 °С в течение 3,5 часов (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. После охлаждения до комнатной температуры заменяли буфер для восстановленного антитела, посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, на буфер повторного окисления, содержащий PBS с рН 7,4 и 1 мМ ЭДТК, для удаления избытка восстанавливающего агента. Добавляли 50 мМ раствор дегидроаскорбиновой кислоты (ДНАА, 15 молярных эквивалентов/антитело, 14 микромоль, 0,28 мл 50 мМ раствора) в ДМСО и оставляли смесь для повторного окисления взаимодействовать в течение 16 часов при комнатной температуре при умеренном (60 об/мин) встряхивании с концентрацией антитела ~ 3,0 мг/мл (или до полного повторного окисления цистеиновых тиолов с образованием межцепочечных цистеиновых дисульфидов, по данным СВЭЖХ). Смесь для повторного окисления центрифугировали в течение 3 минут при 4000 об/мин, и затем фильтровали через стерилизующий фильтр с мембраной 0,22 мкм. Соединение 1 добавляли в виде раствора в ДМСО (10 молярных эквивалентов/антитело, 1,3 микромоль в 0,6 мл ДМСО) к 6 мл полученного раствора повторно окисленного антитела (20 мг, 0,133 микромоль) до конечной концентрации в ДМСО 10% (об./об.). Раствор встряхивали в течение 4 часов при +25 °С, и затем останавливали конъюгирование с помощью N-ацетилцистеина (6,65 микромоль, 0,067 мл при 100 мМ).

Избыток свободного лекарственного средства удаляли посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, в буфер содержащий PBS с рН 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат. После

полного удаления свободного лекарственного средства ADC составляли в состав с 25 мМ гистидина, 200 мМ сахарозы, pH 6,0. ADC фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при -78 °С.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aeris 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила, восстановленного образца конъюгата при 214 нм и 330 нм (специфической в отношении соединения **1**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **1**, что согласуется с отношением лекарственное средство-на-антитело (DAR), составляющим 1,86 молекулы соединения **1** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb HTP 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с pH 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца ADC при 280 нм, показал чистоту мономера более 98%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ADC равную 1,49 мг/мл в 8,0 мл, полученная масса ADC составила 11,9 мг (60% выход).

#### *Конъюгат-HER-1++ (высокое DAR)*

50 мМ раствор дитиотреитола (ДТТ) в фосфатно-солевом буферном растворе с pH 7,4 (PBS) добавляли (100 молярных эквивалентов/антитело, 6,7 микромоль, 0,13 мл 50 мМ раствора) к 5 мл раствора антитела (10 мг, 67 микромоль) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 2,0 мг/мл. Полученную смесь инкубировали при +25 °С в течение ночи (или до полного восстановления, по данным СВЭЖХ) в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. После охлаждения до комнатной температуры заменяли буфер для восстановленного антитела, посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, на буфер конъюгирования, содержащий PBS с pH 7,4 и 1 мМ ЭДТК, для удаления избытка восстанавливающего агента. Соединение **1** добавляли в виде раствора в ДМСО (20 молярных эквивалентов/антитело, 1,34 микромоль в 0,4 мл ДМСО) к 4,0 мл полученного раствора восстановленного антитела (10 мг, 67 наномоль) до конечной концентрации в ДМСО 10% (об./об.). Раствор встряхивали в течение 1 часов при +25 °С, а затем останавливали

конъюгирование с помощью избытка N-ацетилцистеина (6,7 микромоль, 67 мкл при 100 мМ).

Полученный ADC очищали с помощью препаративной эксклюзионной колонки (GE Sephadex 26/60), установленной на приборе АКТА Start с использованием буфера PBS, с pH 7,4. Фракции собирали и анализировали на мономерное содержание с использованием системы Shimadzu Prominence с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb НТР 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин отфильтрованным через стерилизующий фильтр буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с pH 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.) при 280 нм. Фракции с содержанием мономера > 92% объединяли и затем концентрировали, используя 50 кДа MWCO vivaspin, в буфер, содержащий PBS с pH 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат и после полного удаления свободного лекарственного средства, ADC фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при +4 °С.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aeris 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила восстановленного образца конъюгата при 214 нм и 330 нм (специфического в отношении соединения **1**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **1**, что согласуется с отношением лекарственного соединения к антителу (DAR), составляющим 7,41 молекулы соединения **1** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb НТР 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с pH 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца ADC при 280 нм, показал чистоту мономера 95%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ADC равную 1,44 мг/мл в 4,5 мл, полученная масса ADC составила 6,5 мг (65% выход).

*Конъюгат-HER-1+ (среднее DAR)*

10 мМ раствор трис(2-карбоксиитил)фосфина гидрохлорида (ТСЕР) в фосфатно-солевом буферном растворе с рН 7,4 (PBS) добавляли (2 молярных эквивалента/антитело, 0,134 микромоль, 13,3 мкл при 10 мМ) к 4 мл раствора антитела (10 мг, 67 наномоль) в восстанавливающем буфере, содержащем PBS и 1 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК) с конечной концентрацией антитела 2,5 мг/мл. Восстанавливающую смесь нагревали при +37 °С в течение 2 часов в орбитальном шейкере при умеренном (60 об/мин) встряхивании. Соединение **1** добавляли в виде раствора в ДМСО (15 молярных эквивалентов/антитело, 1,0 микромоль, 0,1 мл в 10 мМ в 0,3 мл ДМСО) и полученную смесь встряхивали в течение 1,5 часов при +25 °С, и затем останавливали конъюгирование с помощью N-ацетилцистеина (5 микромоль, 50 мл при 100 мМ).

Избыток свободного лекарственного средства удаляли посредством спинного фильтрования с использованием спинного фильтра Vivaspin с MWCO 50 кДа, в буфер содержащий PBS с рН 7,4. Степень удаления свободного лекарственного средства контролировали с помощью ОФ-СВЭЖХ, используя неразбавленный конъюгат. После полного удаления свободного лекарственного средства, ADC фильтровали через фильтр Mustang 0,22 мкм в стерильной атмосфере, и затем хранили при +4 °С.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Phenomenex Aeris 3,6 мкм XB-C18 150 мм x 2,1 мм, элюируя градиентом воды и ацетонитрила, восстановленного образца конъюгата при 214 нм и 330 нм (специфической в отношении соединения **1**), показал смесь легких и тяжелых цепей, присоединенных к нескольким молекулам соединения **1**, что согласуется с отношением лекарственное средство-на-антитело (DAR), составляющим 4,2 молекулы соединения **1** на одно антитело.

СВЭЖХ анализ на системе Shimadzu Prominence, который проводили с использованием колонки Tosoh Bioscience TSKgel SuperSW mAb НТР 4 мкм 4,6 x 150 мм (с защитной колонкой 4 мкм 3,0 x 20 мм), элюируя со скоростью 0,3 мл/мин стерильно отфильтрованным буфером SEC, содержащим 200 мМ фосфата калия с рН 6,95, 250 мМ хлорида калия и 10% изопропанола (об./об.), образца ADC при 280 нм, показал чистоту мономера более 99%. SEC анализ СВЭЖХ показал концентрацию конечного ADC равную 2,05 мг/мл в 3,6 мл, полученная масса ADC составила 7,36 мг (74% выход).

## **Пример 7 – in vitro анализ**

### ***Способ определения цитотоксичности MTS***

Концентрацию и жизнеспособность клеток из субконфлюентной (конфлюентность 80-90%) клеточной культуры в колбе T75 измеряли посредством окрашивания трипановым синим и подсчитывали с помощью автоматического счетчика клеток LUNA-II™. Клетки разбавляли до  $2 \times 10^5$ /мл, распределяли (50 мкл/лунку) в 96-луночные плоскодонные планшеты.

Исходный раствор (1 мл) конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC) для тестирования (20 мкг/мл) получали разбавлением стерилизованного посредством фильтрации ADC в среде для клеточных культур. Серию 8x10-кратных разбавлений исходного ADC проводили в 24-луночном планшете посредством серийного переноса 100 мкл в 900 мкл среды для клеточных культур. Разбавленный ADC распределяли (50 мкл/лунка) в 4 повторностях в лунки 96-луночного планшета, содержащие 50 мкл клеточной суспензии, высеянной ранее. В контрольные лунки помещали 50 мкл среды для клеточных культур. 96-луночный планшет, содержащий клетки и ADC, инкубировали при 37 °C в инкубаторе с подводом CO<sub>2</sub> в течение времени воздействия.

По окончании периода инкубации измеряли жизнеспособность клеток с помощью анализа MTS. MTS (Promega) помещали (20 мкл на лунку) в каждую лунку и инкубировали в течение 4 часов при 37 °C в инкубаторе с подводом CO<sub>2</sub>. Поглощение в лунках измеряли при 490 нм. Процентное выживание клеток рассчитывали по среднему поглощению в 4 лунках, обработанных ADC, по сравнению со средним поглощением в 4 контрольных, необработанных лунках (100%). IC<sub>50</sub> определяли по данным зависимости ответа от дозы с помощью GraphPad Prism, используя алгоритм нелинейного сглаживания кривой: сигмоидальная кривая зависимости ответа от дозы с переменным углом наклона.

Время инкубации ADC составляло 4 дня с SK-BR-3, MDA-MB-468, WSU-DLCL2 и SU-DHL-4, 5 дней для Granta519, 6 дней для VJAB и 7 дней для NCI-N87. MDA-MB-468, NCI-N87, WSU-DLCL2 и SU-DHL-4 выращивали в среде RPMI 1640 с GlutaMax + 10% (об./об.) эмбриональной бычьей сыворотки HyClone™, Granta519 в DMEM + GlutaMax с 10% (об./об.) эмбриональной бычьей сыворотки HyClone™, SK-BR-3 в McCoys 5A с 10% (об./об.) эмбриональной бычьей сыворотки HyClone™ и VJAB в RPMI 1640 + GlutaMax с 20% (об./об.) эмбриональной бычьей сыворотки HyClone™.

### ***Способ определения цитотоксичности CellTiter-Glo***

Концентрацию и жизнеспособность клеток из субконфлюентной (конфлюентность 80-90%) клеточной культуры в колбе T75 измеряли посредством окрашивания трипановым синим и подсчитывали с помощью автоматического счетчика клеток LUNA-II™. Клетки разбавляли и распределяли по 1500 клеток на лунку (50 мкл суспензии/лунку) в белые 96-луночные плоскодонные планшеты.

Исходный раствор (1 мл) конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC) для тестирования (20 мкг/мл) получали разбавлением стерилизованного посредством фильтрации ADC в среде для клеточных культур. Серию 8x10-кратных разбавлений исходного ADC проводили в 24-луночном планшете посредством серийного переноса 100 мкл в 900 мкл среды для клеточных культур. Разбавленный ADC распределяли (50 мкл/лунка) в 4 повторностях в лунки 96-луночного планшета, содержащие 50 мкл клеточной суспензии, высеянной ранее. В контрольные лунки помещали 50 мкл среды для клеточных культур. 96-луночный планшет, содержащий клетки и ADC, инкубировали при 37 °C в инкубаторе с подводом CO<sub>2</sub> в течение времени воздействия.

По окончании периода инкубации измеряли жизнеспособность клеток с помощью анализа CellTiter-Glo. CellTiter-Glo (Promega) помещали по 100 мкл на лунку и встряхивали в течение 2 минут перед 10-минутной стабилизацией при комнатной температуре. Затем считывали люминисценцию в каждой лунке. Процентное выживание клеток рассчитывали по среднему поглощению в 4 лунках, обработанных ADC, по сравнению со средним поглощением в 4 контрольных, необработанных лунках (100%). IC<sub>50</sub> определяли по данным зависимости ответа от дозы с помощью GraphPad Prism, используя алгоритм нелинейного сглаживания кривой: сигмоидальная кривая зависимости ответа от дозы с переменным углом наклона.

Время инкубации ADC для PC-3 составляло 6 дней. PC-3 выращивали в среде RPMI 1640 с Glutamax + 10% (об./об.) эмбриональной бычьей сыворотки HyClone™.

### ***Результаты***

EC <sub>50</sub> (мкг/мл)	SU-DHL-4	GRANTA-519	BJAB	WSU-DLCL2
Конъюгат-CD79b-1	1,216	49,69	0,2211	> 100
Конъюгат-CD79b-2	0,4781	0,1124	0.005712	0,7559

Конъюгат-R347-2	> 10			
-----------------	------	--	--	--

Все клеточные линии SU-DHL-4, GRANTA519, BJAB и WSU-DL-CL2 экспрессируют CD79b.

EC <sub>50</sub> (мкг/мл)	SK-BR-3	NCI-N87	MDA-MB-468
Конъюгат-Her-1	0,06953	0,9677	3,492
Конъюгат-Her-3	0,0175	0,02502	2,322
Конъюгат-Her-2	0,07427	0,08078	0,9533
Конъюгат-HER-1++		0,1108	12,18
Конъюгат-HER-1+		0,3226	> 10

Клеточные линии SK-BR-3 и NCI-N87 экспрессируют Her2. Клеточная линия MDA-MB-468 не экспрессирует HER2.

EC <sub>50</sub> (мкг/мл)	PC-3
Конъюгат-1C1-1	0,5408
Конъюгат-R347-1	> 100

### Пример 8 – in vitro анализ

#### (i) Daudi

Проанализированные конъюгаты: Конъюгат-HLL2-1; Конъюгат-HLL2-2; Конъюгат-HLL2-3

Самкам мышей CB.17 SCID в возрасте десяти недель инъецировали 0,1 мл  $1 \times 10^7$  клеток Daudi подкожно в правый бок. Когда опухоли достигли среднего размера 100-150 мм<sup>3</sup>, животным начинали вводить тестируемые соединения. Мышей взвешивали два раза в неделю. Размер опухоли измеряли два раза в неделю. Животные контролировались индивидуально. Конечной точкой эксперимента был размер опухоли объемом 1500 мм<sup>3</sup> или 60 дней, в зависимости от того, что наступило раньше.

Группам из 10 ксенотрансплантированных мышей внутривенно вводили 0,2 мл на 20 г массы тела конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC) в фосфатно-солевом буфере (носитель) или 0,2 мл на 20 г массы тела только носителя.

Концентрация ADC была скорректирована, так чтобы вводить следующие дозы:

Конъюгат	Дозы (мг ADC/кг тела)
----------	-----------------------

Конъюгат- HLL2-1	0,6 или 1,8
Конъюгат- HLL2-2	0,3 или 1
Конъюгат- HLL2-3	0,1 или 0,3

Все схемы были приемлемо переносимыми с минимальными потерями в массах тела.

*Конъюгат-HLL2-1:* Медианное время до конечной точки (ТТЕ) для контрольных мышей, которым вводили носитель, составляло 27,8 дня, что соответствует максимально возможной отсрочке в росте опухоли (TGD) 32,2 дня (116%) для 60-дневного исследования. Одна смерть, не связанная с лечением, была зарегистрирована на 28-й день, и это животное было исключено из анализа.

0,6 мг/кг схема привела к TGD 48,1 дня (73%), что является статистически существенным по сравнению с контролями ( $p < 0,001$ ). Кроме того, данная схема имела пять из девяти 59-регрессионных ответов, состоящих из двух частичных и трех полных регрессий. Шесть животных достигли конечной точки 1500 мм<sup>3</sup>, при этом 3 выжило через 60 дней. Трое выживших имели средний объем опухоли 221 мм<sup>3</sup>. Одна смерть, не связанная с лечением, была зарегистрирована, и это животное было исключено из анализа.

1,8 мг/кг схема привела к максимально возможной, значительной TGD (по сравнению с контролями,  $p < 0,001$ ), и имела восемь из десяти выживших на 60-й день и привела к преимуществу выживания, которое было статистически значимо отлочно от контрольных мышей, которым вводили носитель ( $p < 0,001$ ). Восемь животных показали полные регрессионные ответы. Пять из этих животных были свободны от опухоли через 60 дней.

Обе схемы лечения давали статистически значимые преимущества для выживания по сравнению с контролем ( $p < 0,001$  для обоих 0,6 и 1,8 мг/мл).

*Конъюгат-HLL2-2:* Медианное время до конечной точки (ТТЕ) для контрольных мышей, которым вводили носитель, составляло 27,8 дня, что соответствует максимально возможной отсрочке в росте опухоли (TGD) 32,2 дня (116%) для 60-дневного исследования.

Обе схемы 0,3 и 1 мг/кг привели к максимально достижимым TGD (32,2 дня, 116%). Оба этих результата были статистически значимыми по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,001$  для каждой схемы).

Восемьдесят процентов животных, которым вводили 0,3 мг/кг, показали регрессионные ответы, состоящие из двух частичных ответов и шести полных ответов, четыре из которых оставались свободными от опухоли в конце исследования. Четверо животных, которым вводили 0,3 мг/кг, достигли конечной точки объема опухоли, в результате чего в конце исследования шесть выживших животных были свободны от опухоли.

Сто процентов животных, которым вводили 1 мг/кг, показали регрессионные реакции, и все животные были свободны от опухолей на 60 день.

Обе схемы лечения привели к значительным различиям общей выживаемости по сравнению с контролем (контроль по сравнению с любой из 0,3 или 1 мг/кг,  $p < 0,0001$ ).

*Конъюгат-HLL2-3*: Медианное время до конечной точки (TTE) для контрольных мышей, которым вводили носитель, составляло 27,8 дня, что соответствует максимально возможной отсрочке в росте опухоли (TGD) 32,2 дня (116%) для 60-дневного исследования.

Схемы 0,1 и 0,3 мг/кг привели к TGD 12,9 (46%) и 24,6 дней (88%) соответственно. Оба этих результата были статистически значимыми по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,001$  для каждой схемы).

Тридцать процентов регрессионных ответов наблюдали у животных, получавших схему 0,1 мг/мл с тремя частичными ответами. Все животные в данной группе достигли конечной точки объема опухоли к 60 дню.

Семьдесят процентов животных, которым вводили 0,3 мг/кг, показали регрессионные ответы, состоящие из трех частичных ответов и четырех полных ответов, одно животное из которых оставалось свободным от опухоли в конце исследования. Четверо животных, которым вводили 0,3 мг/кг, достигли конечной точки объема опухоли, в результате чего в конце исследования шесть выживших животных были свободны от опухоли. Семь

животных в этой группе достигли конечной точки объема опухоли, оставив трех выживших в течение 60 дней с MTV 750 мм<sup>3</sup> в конце исследования.

Обе схемы лечения привели к значительным различиям общей выживаемости по сравнению с контролем (контроль по сравнению с любой из 0,1 или 0,13 мг/кг,  $p < 0,0001$ ).

### **(ii) JMT-1**

Проанализированные конъюгаты: Конъюгат-Her-3

Самкам мышей CB.17 SCID в возрасте 10 недель инъецировали 0,1 мл  $1 \times 10^7$  клеток JMT-1 в 50% матригеле подкожно в правый бок. Когда опухоли достигли среднего размера 100-150 мм<sup>3</sup>, животным начинали вводить тестируемые соединения. Мышей взвешивали два раза в неделю. Размер опухоли измеряли два раза в неделю. Животные контролировались индивидуально. Конечной точкой эксперимента был размер опухоли объемом 1000 мм<sup>3</sup> или 59 дней, в зависимости от того, что наступило раньше.

Группам из 10 ксенотрансплантированных мышей внутривенно вводили 0,2 мл на 20 г массы тела конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC) в фосфатно-солевом буфере (носитель) или 0,2 мл на 20 г массы тела только носителя. Концентрация ADC была скорректирована, так чтобы вводить 1 или 3 мг ADC/кг массы тела в одной дозе.

Все схемы были приемлемо переносимыми с минимальными потерями в массах тела. Медианное время до конечной точки (TTE) для контрольных мышей, которым ввели носитель, составляло 48,4 дня, что соответствует максимально возможной отсрочке в росте опухоли (TGD) 10,6 дня (22%) для 59-дневного исследования.

Дозозависимый эффект наблюдался там, где у животных, получавших дозу 1 мг/кг, средний объем опухоли оставался неизменным до 34 дня, затем прогрессировал, тогда как у животных, получавших 3 мг/кг, наблюдалось небольшое уменьшение размера опухоли до MTV 81 мм<sup>3</sup>. Обе схемы приводили к максимальной TGD, составляющему 10,6 дней (22%) по сравнению с контрольной группой ( $P < 0,001$  для обеих групп поддающихся лечению).

Режим 1 мг/кг привел к девяти выжившим в исследовании с MTV 650 мм<sup>3</sup> и без объективных регрессионных ответов.

Схема 3 мг/кг привела к девяти выжившим с 20% объективными регрессионными ответами, состоящими из двух частичных ответов. MTV выживших в исследовании составил 108 мм<sup>3</sup>. Схемы лечения не отличались друг от друга значительно ( $p > 0,05$ ).

Обе схемы лечения привели к значительным различиям общей выживаемости по сравнению с контролем (контроль по сравнению с любой из 1 или 3 мг/кг,  $p < 0,0001$ ).

### **(iii) NCI-N87**

Проанализированные конъюгаты: Конъюгат-Her-3

Самкам мышей CB.17 SCID в возрасте десяти недель инъецировали 0,1 мл  $1 \times 10^7$  клеток NCI-N87 в 50% матригеле подкожно в правый бок. Когда опухоли достигли среднего размера 100-150 мм<sup>3</sup>, животным начинали вводить тестируемые соединения. Мышей взвешивали два раза в неделю. Размер опухоли измеряли два раза в неделю. Животные контролировались индивидуально. Конечной точкой эксперимента была опухоль объемом 800 мм<sup>3</sup> или 81 день, в зависимости от того, что наступило раньше.

Группам из 10 ксенотрансплантированных мышей внутривенно вводили 0,2 мл на 20 г массы тела конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC) в фосфатно-солевом буфере (носитель) или 0,2 мл на 20 г массы тела только носителя. Концентрация ADC была скорректирована, так чтобы вводить 0,3 или 1 мг ADC/кг массы тела в одной дозе.

Все схемы были приемлемо переносимыми с минимальными потерями в массах тела. Шесть из десяти контрольных опухолей достигли 800 мм<sup>3</sup> со временем до конечных точек (ТТЕ) в диапазоне от 36,8 до 81,0 дней. Медианное время до конечной точки (ТТЕ) для контрольных мышей, которым вводили носитель, составляло 77 дня, что соответствует максимально возможной отсрочке в росте опухоли (TGD) 4 дня (5%) для 81-дневного исследования. Четверо контрольных животных выжили со средним объемом опухоли (MTV) 696 мм<sup>3</sup>.

Схемы 0,3 и 1 мг/кг привели к TGD 0,5 (1%) и 4,0 дня (5%) соответственно. Оба эти результата не были статистически значимыми по сравнению с контролем, или друг с другом ( $p > 0,05$ ). В обеих группах не было зафиксировано объективных регрессий. Пять

животных, которым вводили 0,3 мг/кг и семь животных, которым вводили 1 мг/кг, выжили с MTV 550 мм<sup>3</sup> в обеих группах.

Ни одна из схем лечения не привела к статистически значимым преимуществам выживания по сравнению с контролем ( $p > 0,05$  для обеих групп лечения), и не было значимого различия между группами лечения ( $p > 0,05$ ).

**(iv) NCI-N87**

Проанализированные конъюгаты: Конъюгат-Her-1, Конъюгат-Her-3

Самкам мышей CB.17 SCID в возрасте восьми недель инъецировали 0,1 мл  $1 \times 10^7$  клеток NCI-N87 в 50% матригеле подкожно в правый бок. Когда опухоли достигли среднего размера 100-150 мм<sup>3</sup>, животным начинали вводить тестируемые соединения. Мышей взвешивали два раза в неделю. Размер опухоли измеряли два раза в неделю. Животные контролировались индивидуально. Конечной точкой эксперимента была опухоль объемом 800 мм<sup>3</sup> или 78 день, в зависимости от того, что наступило раньше.

Группам из 10 ксенотрансплантированных мышей внутривенно вводили 0,2 мл на 20 г массы тела конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC) в фосфатно-солевом буфере (носитель) или 0,2 мл на 20 г массы тела только носителя.

Концентрация ADC была скорректирована, так чтобы вводить следующие дозы:

Конъюгат	Дозы (мг ADC/кг тела)
Конъюгат- Her-1	1, 3 или 6
Конъюгат- Her-3	0,3, 1 и 3

Все схемы были приемлемо переносимыми с минимальными потерями в массах тела.

*Конъюгат-Her-1*: Медианное время до конечной точки (ТТЕ) для контрольных мышей, которым вводили носитель, составляло 42 дня, что соответствует максимально возможной отсрочке в росте опухоли (TGD) 36 дня (86%) для 60-дневного исследования.

Схемы 0,6 и 1 мг/кг привели к TGD 9,9 (24%) и 11,6 дня (28%) соответственно. Ни один из этих результатов не был статистически значимым по сравнению с контролями ( $p > 0,05$ ). Все животные в обеих группах достигли конечной точки 800 мм<sup>3</sup>.

6 мг/кг схема привела к максимально возможной, значительной TGD (по сравнению с контролями,  $p < 0,001$ ), и имела восемь из десяти выживших на 60-й день и привела к преимуществу выживания, которое было статистически значимо от контрольных мышей, которым вводили носитель ( $p < 0,0001$ ). Одно животное достигло конечной точки 800 мм<sup>3</sup> на 78-й день, оставив девять выживших со средними объемами опухоли 550 мм<sup>3</sup>.

Не наблюдалось никаких регрессивных реакций со схемами 1, 3 или 6 мг/кг.

*Конъюгат-Her-3*: Медианное время до конечной точки (TTE) для контрольных мышей, которым вводили носитель, составляло 42,0 дня, что соответствует максимально возможной отсрочке в росте опухоли (TGD) 36,0 дня (86%) для 78-дневного исследования.

TGD для 0,3, 1 и 3 мг/кг составляли 15,1 (36%), 30,6 (73%) и 36,0 (86%) дней соответственно. Существовали значительные различия для 1 и 3 мг/кг по сравнению с контролями ( $p < 0,001$  для обеих групп лечения, но не для 0,3 мг/кг ( $p > 0,05$ )). Не наблюдалось никаких регрессивных реакций у животных, получавших 0,3 и 1 мг/кг ADC. Девяносто процентов регрессионных ответов наблюдали у животных, получавших 3 мг/кг. Что состояло из восьми частичных ответов и одного полного ответа, который оставался свободным от опухоли в конце исследования. Все животные, получавшие 0,3 мг/кг, достигли конечной точки 800 мм<sup>3</sup>. Пять животных, которым вводили 1 мг/кг, достигли конечной точки, оставив пять выживших после 78 дней. MTV у них был 486 мм<sup>3</sup>. Все десять животных, которым вводили 3 мг/кг, выжили в исследовании с MTV 63 мм<sup>3</sup>.

Схемы 1 и 3 мг/кг привели к значительным различиям в выживаемости по сравнению с контролями ( $p < 0,001$  для обеих групп лечения). Группа лечения 0,3 мг/кг не была статистически значимой по сравнению с контролем ( $p > 0,05$ ). Обе группы 1 и 3 мг/кг существенно отличались друг от друга от 0,3 мг/кг группы ( $p < 0,001$  и  $p < 0,0001$  соответственно).

#### (v) *NCI-N87*

Проанализированные конъюгаты: Конъюгат-Her-2

Самкам мышей CB.17 SCID в возрасте восьми недель инъецировали 0,1 мл  $1 \times 10^7$  клеток NCI-N87 в 50% матригеле подкожно в правый бок. Когда опухоли достигли среднего размера 100-150 мм<sup>3</sup>, животным начинали вводить тестируемые соединения. Мышей взвешивали два раза в неделю. Размер опухоли измеряли два раза в неделю. Животные контролировались индивидуально. Конечной точкой эксперимента была опухоль объемом 800 мм<sup>3</sup> или 79 день, в зависимости от того, что наступило раньше.

Группам из 10 ксенотрансплантированных мышей внутривенно вводили 0,2 мл на 20 г массы тела конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC) в фосфатно-солевом буфере (носитель) или 0,2 мл на 20 г массы тела только носителя. Концентрация ADC была скорректирована, так чтобы вводить 1 или 2 мг ADC/кг массы тела в одной дозе.

Все схемы были приемлемо переносимыми с минимальными потерями в массах тела. Медианное время до конечной точки (TTE) для контрольных мышей, которым ввели носитель, составляло 49,6 дня, что соответствует максимально возможной отсрочке в росте опухоли (TGD) 29,4 дня (59%) для 79-дневного исследования.

Схемы 1 и 2 мг/кг привели к TGD 7,6 (15%) и 23,6 дня (48%) соответственно. Оба этих результата были статистически значимыми по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$  и  $p < 0,001$  соответственно).

Восемь животных, которым вводили 1 мг/кг, достигли конечной точки 800 мм<sup>3</sup>, оставив двух выживших в течение 79 дней с MTV 694 мм<sup>3</sup>. Семь животных в группе, в которой вводили 2 мг/мл, достигли конечной точки объема опухоли ко 79 дню, оставив трех выживших в конце исследования с MTV 600 мм<sup>3</sup>.

Обе схемы лечения привели к значительным различиям общей выживаемости по сравнению с контролем (контроль по сравнению с 1 мг/кг,  $p < 0,05$ ; контроль по сравнению с 2 мг/кг,  $p < 0,001$ ).

Регрессионные ответы не были зарегистрированы ни с одной схемой.

#### **(vi) NCI-N87**

Проанализированные конъюгаты: Конъюгат-Her-1, Конъюгат-1 ++

Самкам мышей CB.17 SCID в возрасте восьми недель инъецировали 0,1 мл  $1 \times 10^7$  клеток NCI-N87 в 50% матригеле подкожно в правый бок. Когда опухоли достигли среднего размера 100-150 мм<sup>3</sup>, животным начинали вводить тестируемые соединения. Мышей взвешивали два раза в неделю. Размер опухоли измеряли два раза в неделю. Животные контролировались индивидуально. Конечной точкой эксперимента была опухоль объемом 800 мм<sup>3</sup> или 81 день, в зависимости от того, что наступило раньше.

Группам из 10 ксенотрансплантированных мышей внутривенно вводили 0,2 мл на 20 г массы тела конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC) в фосфатно-солевом буфере (носитель) или 0,2 мл на 20 г массы тела только носителя.

Концентрация ADC была скорректирована, так чтобы вводить следующие дозы:

Конъюгат	Дозы (мг ADC/кг тела)
Конъюгат- Her-1	6, 18, 6 (раз в нед. x 3), 8 (раз в нед. x 3)
Конъюгат- HER-1++	6

Все схемы были приемлемо переносимыми с минимальными потерями в массах тела.

Медианное время до конечной точки (TTE) для контрольных мышей, которым ввели носитель, составляло 40,2 дня, что соответствует максимально возможной отсрочке в росте опухоли (TGD) 40 дня (86%) для 80-дневного исследования.

*Конъюгат-Her-1:* Схемы однократного приема 6 и 18 мг/кг привели к максимально возможным задержкам роста опухоли. В схеме однократного приема 6 мг/кг средний объем опухоли для 5 мышей составлял 600 мм<sup>3</sup>, без видимых регрессионных реакций. В схеме однократного приема 18 мг/кг было десять выживших со средним объемом опухоли 36 мм<sup>3</sup>. Было 4 частичных регрессии и 6 полных регрессий.

Схемы три недельных дозирования 6 и 8 мг/кг привели к максимально возможным задержкам роста опухоли. В схеме три недельных дозирования 6 мг/кг средний объем опухоли для 9 мышей в конце исследования составил 245 мм<sup>3</sup> с двумя частичными регрессиями. В схеме три недельных дозирования 8 мг/кг было десять выживших со средним объемом опухоли 92 мм<sup>3</sup>. Было 7 частичных регрессий, 3 полных регрессии и 2 выживших без опухолей.

*Конъюгат-HER-1++*: Схема однократного приема 6 мг/кг привела к максимально возможным задержкам роста опухоли. Было десять выживших со средним объемом опухоли 161 мм<sup>3</sup>. Было 5 частичных регрессий, 5 полных регрессий и 2 выживших без опухолей.

**(vii) NCI-N87**

Проанализированные конъюгаты: Конъюгат-Her-1, Конъюгат-Her1+, Конъюгат-Her-1++ Самкам мышей СВ.17 SCID в возрасте восьми недель инъецировали 0,1 мл  $1 \times 10^7$  клеток NCI-N87 в 50% матригеле подкожно в правый бок. Когда опухоли достигли среднего размера 100-150 мм<sup>3</sup>, животным начинали вводить тестируемые соединения. Мышей взвешивали два раза в неделю. Размер опухоли измеряли два раза в неделю. Животные контролировались индивидуально. Конечной точкой эксперимента была опухоль объемом 800 мм<sup>3</sup> или 83 день, в зависимости от того, что наступило раньше.

Группам из 10 ксенотрансплантированных мышей внутривенно вводили 0,2 мл на 20 г массы тела конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC) в фосфатно-солевом буфере (носитель) или 0,2 мл на 20 г массы тела только носителя.

Концентрация ADC была скорректирована, так чтобы вводить следующие дозы:

<b>Конъюгат</b>	<b>Дозы (мг ADC/кг тела)</b>
Конъюгат- Her-1	6, 18
Конъюгат- HER-1+	3, 6
Конъюгат- HER-1++	1,5, 3

Все схемы были приемлемо переносимыми с минимальными потерями в массах тела.

Медианное время до конечной точки (TTE) для контрольных мышей, которым ввели носитель, составляло 36,8 дня, что соответствует максимально возможной отсрочке в росте опухоли (TGD) 46,2 дня (126%) для 80-дневного исследования.

*Конъюгат-Her-1*: Схемы 6 и 18 мг/кг привели к задержке роста опухоли на 45,9 дня (125%) и 46,2 дня (126%). В схеме 6 мг/кг средний объем опухоли для 4 мышей составлял

564 мм<sup>3</sup>, без видимых регрессионных реакций. В схеме 18 мг/кг было девять выживших со средним объемом опухоли 108 мм<sup>3</sup>. Было 9 частичных регрессий и 1 полная регрессия.

*Конъюгат-HER-1++*: Схема 1,5 и 3 мг/кг привела к задержке роста опухоли на 45,9 дня (125%) и 46,2 дня (126%). В схеме 1,5 мг/кг было два выживших со средним объемом опухоли 634 мм<sup>3</sup>. В схеме 3 мг/кг было десять выживших со средним объемом опухоли 451 мм<sup>3</sup>.

*Конъюгат-HER-1+*: Схемы 3 и 6 мг/кг привели к задержке роста опухоли на 46,2 дня (126%). В схеме 3 мг/кг было семь выживших со средним объемом опухоли 600 мм<sup>3</sup>. В схеме 6 мг/кг было десять выживших со средним объемом опухоли 256 мм<sup>3</sup>. Были две частичные регрессии.

#### **(viii) JMT1**

Проанализированные конъюгаты: Конъюгат-Her-1, Конъюгат-1 ++

Самкам мышей СВ.17 SCID в возрасте восьми недель инъецировали 0,1 мл  $1 \times 10^7$  клеток JMT1 в 50% матригеле подкожно в правый бок. Когда опухоли достигли среднего размера 100-150 мм<sup>3</sup>, животным начинали вводить тестируемые соединения. Мышей взвешивали два раза в неделю. Размер опухоли измеряли два раза в неделю. Животные контролировались индивидуально. Конечной точкой эксперимента был размер опухоли объемом 1000 мм<sup>3</sup> или 60 дней, в зависимости от того, что наступило раньше.

Группам из 10 ксенотрансплантированных мышей внутривенно вводили 0,2 мл на 20 г массы тела конъюгата антитело-лекарственное средство (ADC) в фосфатно-солевом буфере (носитель) или 0,2 мл на 20 г массы тела только носителя.

Концентрация ADC была скорректирована, так чтобы вводить следующие дозы:

<b>Конъюгат</b>	<b>Дозы (мг ADC/кг тела)</b>
Конъюгат- Her-1	18, 24
Конъюгат- HER-1++	4, 6, 8

Все схемы были приемлемо переносимыми с минимальными потерями в массах тела.

Медианное время до конечной точки (ТТЕ) для контрольных мышей, которым вводили носитель, составляло 37,5 дня, что соответствует максимально возможной отсрочке в росте опухоли (TGD) 22,5 дня (60%) для 60-дневного исследования.

*Конъюгат-Her-1*: Схемы 18 и 24 мг/кг привели к задержке роста опухоли на 5,3 дня (14%) и 3,2 дня (9%). В схеме 18 мг/кг все животные достигли конечной точки 1000 мм<sup>3</sup>. В схеме 24 мг/кг было одно выжившее животное с объемом опухоли 968 мм<sup>3</sup>. Обе схемы привели к значительному общему различию выживаемости по сравнению с контролем (P < 0,01).

*Конъюгат-HER-1++*: Схема 4, 6 и 8 мг/кг привели к задержке роста опухоли на 4,4 дня (12%), 6,9 дня (18%) и 17,7 дня (47%). В схеме 4 мг/кг все животные достигли конечной точки 1000 мм<sup>3</sup>. В схеме 6 мг/кг было одно выжившее животное с объемом опухоли 650 мм<sup>3</sup>. В схеме 8 мг/кг было одно выжившее животное с объемом опухоли 847 мм<sup>3</sup>. Все схемы привели к значительной общей разнице в выживаемости по сравнению с контролем (P < 0,01).

### **Пример 9. Токсикологический анализ.**

Использовали исследование токсичности однократной дозы для определения максимально переносимой дозы (MTD) и профиля безопасности ADC, которыми были: Конъюгат-R347-1; Конъюгат-R347-2; Конъюгат-R347-3.

Самцам крыс Спрага-Дуули (Envigo, Inc) через хвостовую вену вводили однократную медленную внутривенную болюсную инъекцию ADC. Используемым носителем для разбавления был носитель, содержащий 25 мМ гистидин-HCl, 7% сахарозы, 0,02% полисорбата 80, и имеющий pH 6,0. Во время исследования оценивали различные параметры, включая смертность, физические нагрузки, наблюдения поведения в клетке, массу тела, изменение массы тела, клиническую патологию (клинические химические анализы, гематологию и коагуляцию) и показатели макропатологии. Всех животных усыпляли на 29 день исследования (SD).

#### *Конъюгат-R347-1*

Группа	(мг/кг)	N
2	5	5
4	7	5

6	10	5
8	16	5
10	20	5
12	25	5

Переносимость определяли на основании конечных критериев токсичности, включая незначительные снижения в гематологических параметрах, микроскопические оценки и угнетение костного мозга. На основании микроскопических изменений животных получавших более высокие дозы, максимально переносимую дозу (MTD) у крыс после однократной дозы считали равной 25 мг/кг.

*Конъюгат-R347-2*

Группа	Доза (мг/кг)	N
2	2	5
3	5	5
4	8	5

Переносимость определяли на основании конечных критериев токсичности. ADC переносился до 8 мг/кг у крыс после однократного дозирования. Полученные данные включали дозозависимое снижение массы тела и угнетение костного мозга.

*Конъюгат-R347-3*

Группа	(мг/кг)	N
5	1	5
9	2,5	5
11	4	5

Переносимость определяли на основании конечных критериев токсичности. ADC переносился до 4 мг/кг у крыс после однократного приема. Результаты включали дозозависимую потерю массы тела и угнетение костного мозга.

*Терапевтический индекс*

Терапевтический индекс каждого ADC/лекарственное средство линкера рассчитывали с использованием следующего уравнения:

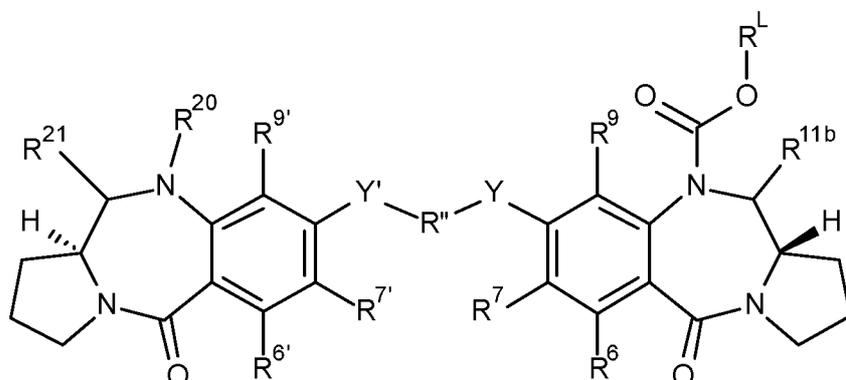
$$TI = MTD \text{ у крыс (мг/кг) / MED в мышинной модели эффективности (мг/кг)}$$

Линкер	MTD (мг/кг)	NCI-N87 MED	TI
--------	-------------	-------------	----

<b>лекарственного средства</b>		<b>(мг/кг)</b>	
1	25	6	4,2
2	8	2	4
3	4	1	4

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы I:



и его соли, и сольваты, где:

$R^6$  и  $R^9$  независимо выбраны из H, R, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR,  $NRR'$ , нитро,  $Me_3Sn$  и галогена;

где R и  $R'$  независимо выбраны из необязательно замещенных  $C_{1-12}$  алкильных,  $C_{3-20}$  гетероциклических и  $C_{5-20}$  арильных групп;

$R^7$  выбран из H, R, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR,  $NRR'$ , нитро,  $Me_3Sn$  и галогена;

$R''$  представляет собой  $C_{3-12}$  алкиленовую группу, цепь которой может прерываться одним или более гетероатомами, например, O, S,  $NR^{N2}$  (где  $R^{N2}$  представляет собой H или  $C_{1-4}$  алкил), и/или ароматическими кольцами, например, бензолом или пиридином;

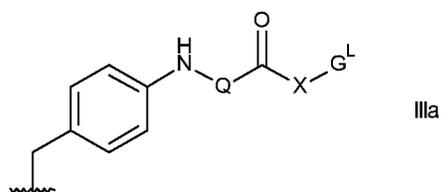
Y и  $Y'$  выбраны из O, S или NH;

$R^{6'}$ ,  $R^{7'}$ ,  $R^{9'}$  выбраны из тех же групп, что и  $R^6$ ,  $R^7$  и  $R^9$  соответственно;

$R^{11b}$  выбран из OH,  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил; и

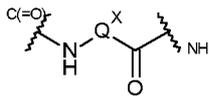
$R^L$  представляет собой линкер для связи с агентом, связывающимся с клеткой, который выбран из:

(iii):



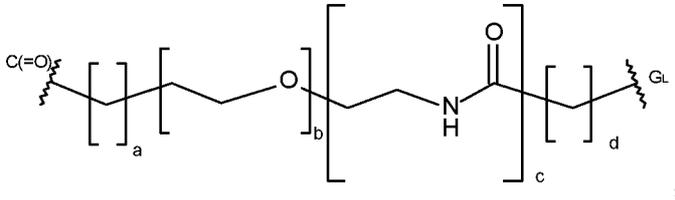
где

Q представляет собой:



, где  $Q^X$  является таким, что  $Q$  представляет собой остаток аминокислоты, дипептидный остаток или трипептидный остаток;

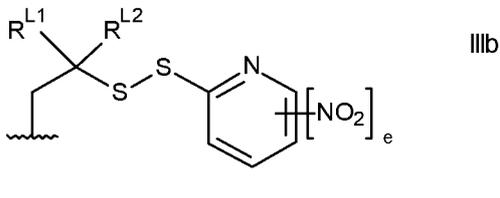
$X$  представляет собой:



где  $a =$  от 0 до 5,  $b =$  от 0 до 16,  $c =$  0 или 1,  $d =$  от 0 до 5;

$G^L$  представляет собой линкер для связи с фрагментом лиганда; и

(iii b):



где  $R^{L1}$  и  $R^{L2}$  независимо выбраны из H и метила, или вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклопропиленовую или циклобутиленовую группу; и  $e$  равно 0 или 1.

или:

(a)  $R^{20}$  представляет собой H и  $R^{21}$  представляет собой OH или  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$ -алкил; или

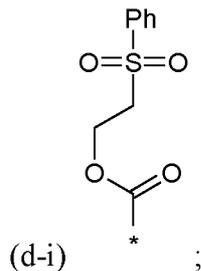
(b)  $R^{20}$  и  $R^{21}$  образуют двойную связь азот-углерод между атомами азота и углерода, с которыми они связаны; или

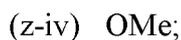
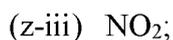
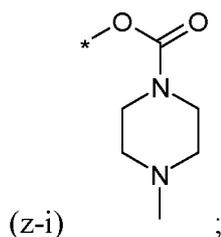
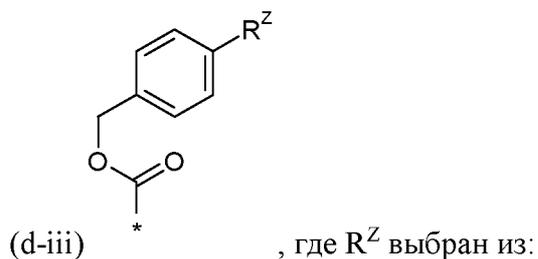
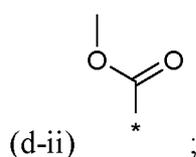
(c)  $R^{20}$  представляет собой H и  $R^{21}$  представляет собой  $SO_zM$ , где  $z$  равно 2 или 3 и  $M$  представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион; или

(d)  $R^{20}$  представляет собой H и  $R^{21}$  представляет собой H; или

(e)  $R^{21}$  представляет собой OH или  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил и  $R^{20}$

выбран из:



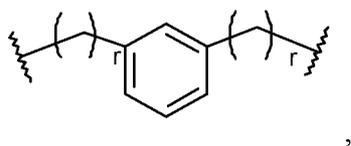


(z-vi) -C(=O)-X<sub>1</sub>-NHC(=O)X<sub>2</sub>-NH-R<sup>ZC</sup>, где -C(=O)-X<sub>1</sub>-NH- и -C(=O)-X<sub>2</sub>-NH- представляют собой природные аминокислотные остатки и R<sup>ZC</sup> выбран из Me, OMe, OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OMe.

2. Соединение по п. 1, отличающееся тем, что оба Y и Y' представляют собой O.

3. Соединение по п. 1 или п. 2, отличающееся тем, что R'' представляет собой C<sub>3-7</sub> алкилен.

4. Соединение по п. 1 или по п. 2, отличающееся тем, что R''' представляет собой группу формулы:

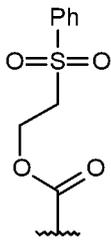
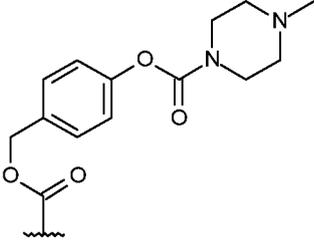
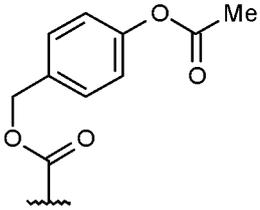


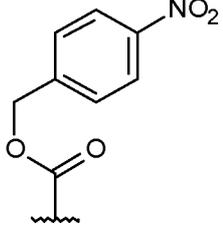
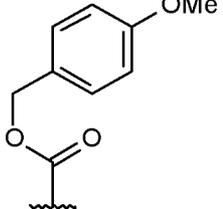
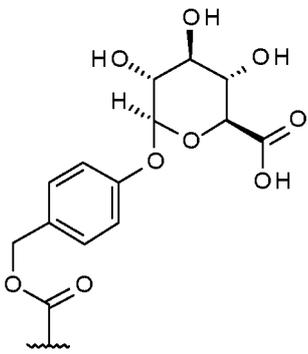
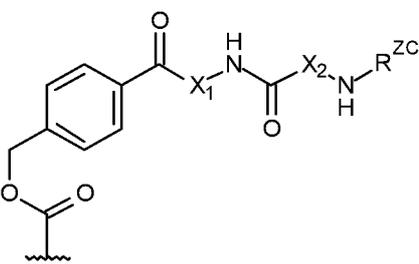
где r равно 1 или 2.

5. Соединение по любому из пп. 1-4, отличающееся тем, что R<sup>9</sup> представляет собой H.

6. Соединение по любому из пп. 1-5, отличающееся тем, что R<sup>6</sup> представляет собой H.

7. Соединение по любому из пп. 1-6, отличающееся тем, что  $R^7$  выбран из H, OH и OR.
8. Соединение по п. 7, отличающееся тем, что  $R^7$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкокси группу.
9. Соединение по любому из пп. 1-8, отличающееся тем, что  $R^{6'}$  представляет собой такую же группу, как и  $R^6$ ,  $R^{7'}$  представляет собой такую же группу, как и  $R^7$ ,  $R^{9'}$  представляет собой такую же группу, как и  $R^9$ , и  $Y'$  представляет собой такую же группу, как и  $Y$ .
10. Конъюгат по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что  $R^{20}$  представляет собой H, и  $R^{21}$  представляет собой OH.
11. Конъюгат по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что  $R^{20}$  и  $R^{21}$  образуют двойную связь азот-углерод между атомами азота и углерода, с которыми они связаны.
12. Конъюгат по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что  $R^{21}$  представляет собой OH или  $OR^A$ , и  $R^{20}$  выбран из:

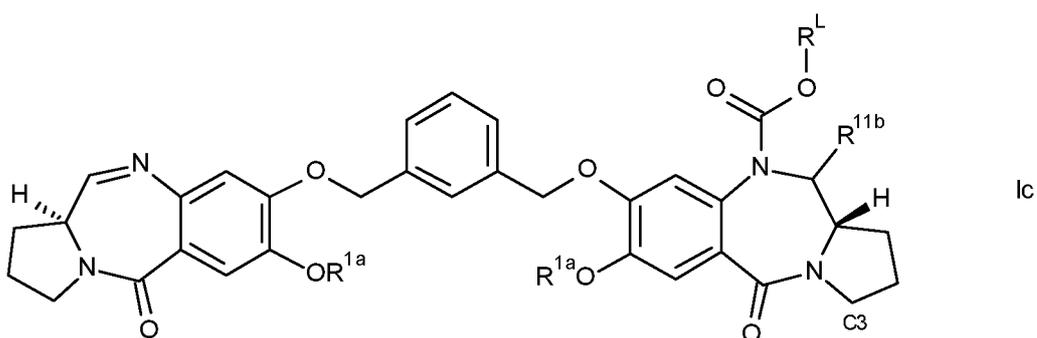
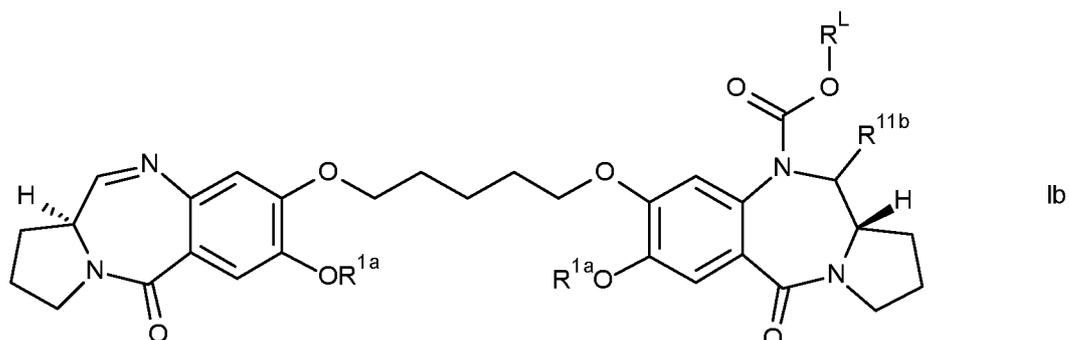
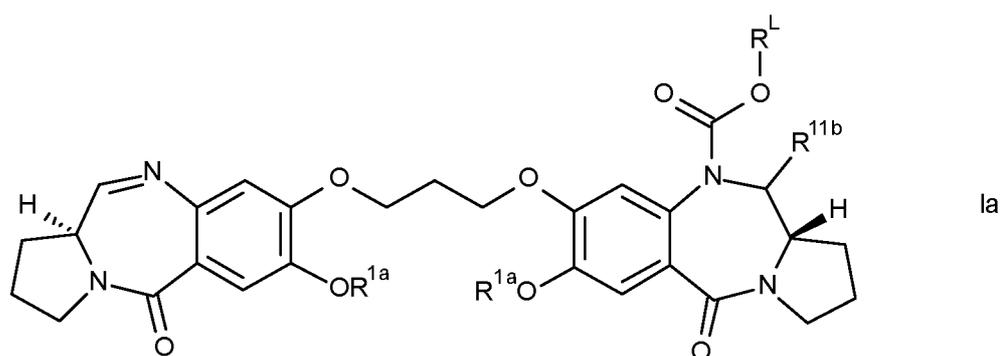
$R^{20a}$	
$R^{20b}$	
$R^{20c}$	
$R^{20d}$	

R <sup>20e</sup>	
R <sup>20f</sup>	
R <sup>20g</sup>	
R <sup>20h</sup>	

13. Конъюгат по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что  $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$  выбран из  $-Phe-Lys-$ ,  $-Val-Ala-$ ,  $-Val-Lys-$ ,  $-Ala-Lys-$  и  $-Val-Cit-$ .

14. Конъюгат по п.13, отличающийся тем, что  $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$  выбран из  $-Phe-Lys-$  и  $-Val-Ala-$ .

15. Соединение по п. 1, имеющее формулу Ia, Ib или Ic:



где  $R^{1a}$  выбран из метила и бензила;

$R^L$  и  $R^{11b}$  являются такими, как определено в п. 1.

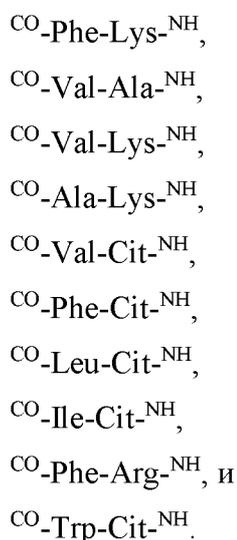
16. Соединение по любому из пп. 1-15, отличающееся тем, что  $R^{11b}$  представляет собой OH.

17. Соединение по любому из пп. 1-15, отличающееся тем, что  $R^{11b}$  представляет собой  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил.

18. Соединение по п. 17, отличающееся тем, что  $R^A$  представляет собой метил.

19. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и Q представляет собой остаток аминокислоты, выбранный из Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg и Trp.

20. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и Q представляет собой дипептидный остаток, выбранный из:



21. Соединение по п. 20, отличающееся тем, что Q выбран из  $\text{CO-Phe-Lys-NH}$ ,  $\text{CO-Val-Cit-NH}$  и  $\text{CO-Val-Ala-NH}$ .

22. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша и Q представляет собой трипептидный остаток.

23. Соединение по любому из пп. 1-22, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и a равно от 0 до 3.

24. Соединение по п. 23, отличающееся тем, что a равно 0.

25. Соединение по любому из пп. 1-24, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и b равно от 0 до 12.

26. Соединение по п. 25, отличающееся тем, что b равно от 0 до 8.

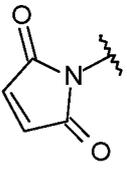
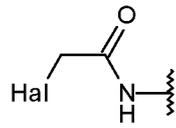
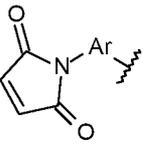
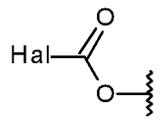
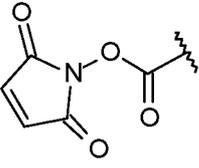
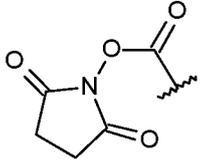
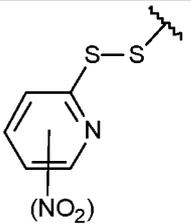
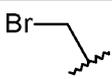
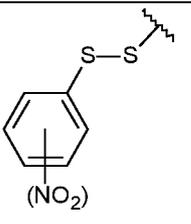
27. Соединение по любому из пп. 1-26, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и d равно от 0 до 3.

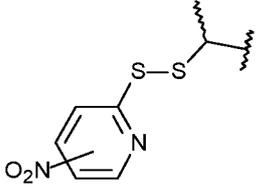
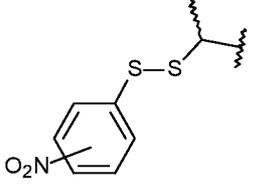
28. Соединение по п. 27, отличающееся тем, что  $d$  равно 2.

29. Соединение по любому из пп. 1-22, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и  $a$  равно 0,  $c$  равно 1, и  $d$  равно 2, и  $b$  равно от 0 до 8.

30. Соединение по п. 29, отличающееся тем, что  $b$  равно 0, 4 или 8.

31. Соединение по любому из пп. 1-30, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и  $G^L$  выбран из:

$(G^{L1-1})$		$(G^{L4})$	 Где Hal = I, Br, Cl
$(G^{L1-2})$		$(G^{L5})$	
$(G^{L2})$		$(G^{L6})$	
$(G^{L3-1})$	 , где группа $NO_2$ является необязательной	$(G^{L7})$	
$(G^{L3-2})$	 ,	$(G^{L8})$	

	где группа NO <sub>2</sub> является необязательной		
(G <sup>L3-3</sup> )	 где группа NO <sub>2</sub> является необязательной	(G <sup>L9</sup> )	
(G <sup>L3-4</sup> )	 где группа NO <sub>2</sub> является необязательной		

где Ag представляет собой C<sub>5-6</sub> ариленовую группу.

32. Соединение по п. 31, отличающееся тем, что Ag представляет собой фениленовую группу.

33. Соединение по пп. 31-32, отличающееся тем, что G<sup>L</sup> выбран из G<sup>L1-1</sup> и G<sup>L1-2</sup>.

34. Соединение по п. 33, отличающееся тем, что G<sup>L</sup> представляет собой G<sup>L1-1</sup>.

35. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что R<sup>L</sup> имеет формулу Шб, и оба R<sup>L1</sup> и R<sup>L2</sup> представляют собой H.

36. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что R<sup>L</sup> имеет формулу Шб, R<sup>L1</sup> представляет собой H и R<sup>L2</sup> представляет собой метил.

37. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что R<sup>L</sup> имеет формулу Шб, и оба R<sup>L1</sup> и R<sup>L2</sup> представляют собой метил.

38. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу IIIb, и  $R^{L1}$ , и  $R^{L2}$  вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют циклопропиленовую группу.

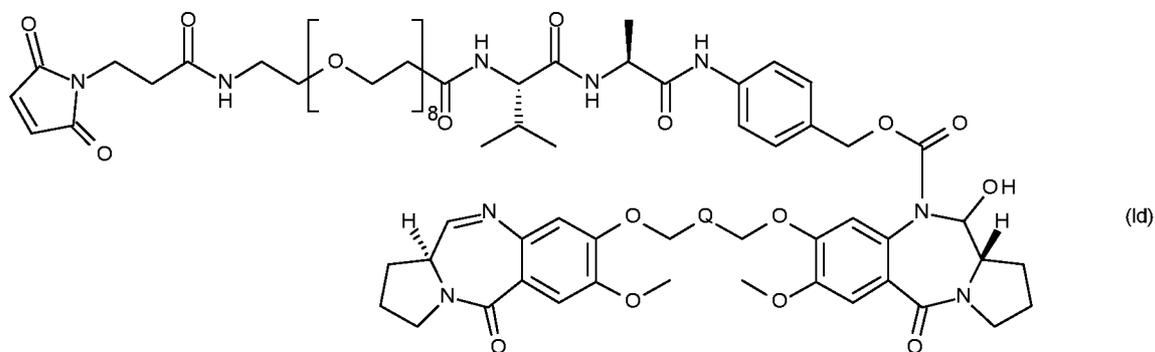
39. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу IIIb, и  $R^{L1}$ , и  $R^{L2}$  вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют циклобутиленовую группу.

40. Соединение по любому из пп. 1-18 и 35-39, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу IIIb и  $e$  равно 0.

41. Соединение по любому из пп. 1-18 и 35-39, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу IIIb и  $e$  равно 1.

42. Соединение по п. 41, отличающееся тем, что нитрогруппа находится в пара-положении.

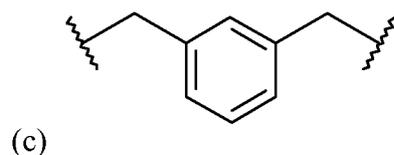
43. Соединение по п. 1, отличающееся тем, что соединение имеет формулу Id:



где Q выбран из:

(a)  $-CH_2-$ ;

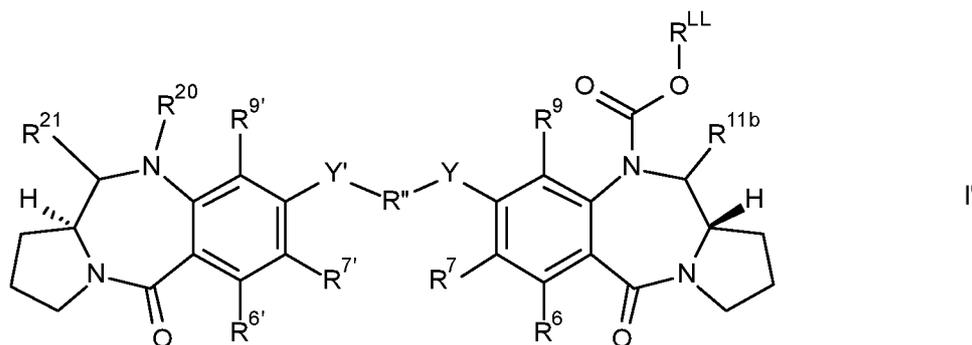
(b)  $-C_3H_6-$ ; и



44. Конъюгат формулы II:



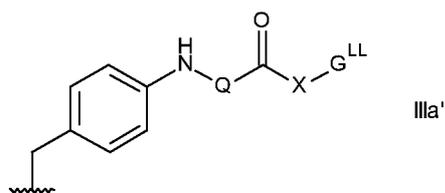
где L представляет собой фрагмент лиганда,  $D^L$  представляет собой фрагмент линкера лекарственного соединения формулы I':



где  $R^6$ ,  $R^7$ ,  $R^9$ ,  $R^{11b}$ , Y,  $R''$ ,  $Y'$ ,  $R^{6'}$ ,  $R^{7'}$ ,  $R^{9'}$ ,  $R^{20}$  и  $R^{21}$ , являются такими, как определено в любом из пп. 1-18;

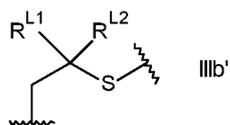
$R^{LL}$  представляет собой линкер для соединения с клеточносвязывающим агентом, который выбран из:

(iii a):



где Q и X являются такими, как определено в любом из пп. 1 и 19-21, и  $G^{LL}$  представляет собой линкер, связанный с фрагментом лиганда; и

(iii b):



где  $R^{L1}$  и  $R^{L2}$  являются такими, как определено в любом из пп. 1 и 35-39;

где p равно целому числу от 1 до 20.

45. Конъюгат по п. 44, отличающийся тем, что  $G^{LL}$  выбран из:

$(G^{LL1-1})$		$(G^{LL6})$	
---------------	--	-------------	--

(G <sup>LL1-2</sup> )		(G <sup>LL7</sup> )	
(G <sup>LL2</sup> )		(G <sup>LL8-1</sup> )	
(G <sup>LL3-1</sup> )		(G <sup>LL8-2</sup> )	
(G <sup>LL3-2</sup> )		(G <sup>LL9-1</sup> )	
(G <sup>LL4</sup> )		(G <sup>LL9-2</sup> )	
(G <sup>LL5</sup> )			

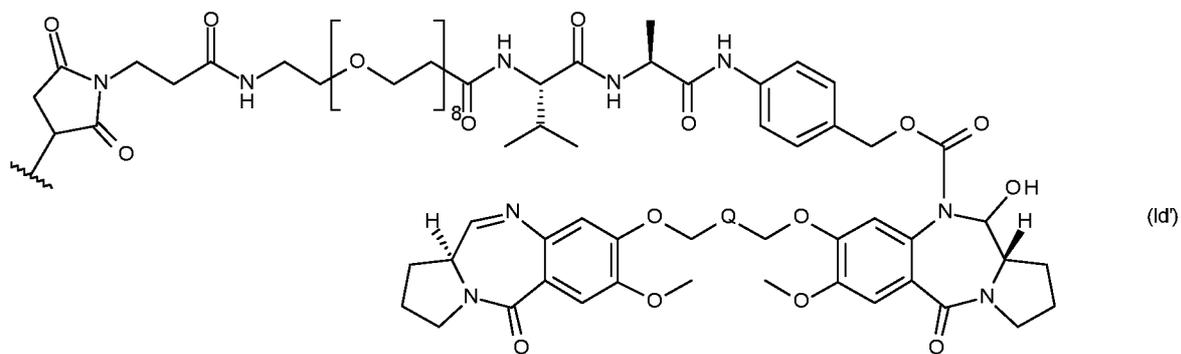
где Ar представляет собой C<sub>5-6</sub> ариленовую группу.

46. Конъюгат по п. 45, отличающийся тем, что Ar представляет собой фениленовую группу.

47. Конъюгат по любому из пп. 45-46, отличающийся тем, что G<sup>LL</sup> выбран из G<sup>LL1-1</sup> и G<sup>LL1-2</sup>.

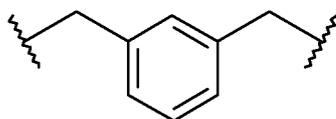
48. Конъюгат по п. 47, отличающийся тем, что G<sup>LL</sup> представляет собой G<sup>LL1-1</sup>.

49. Конъюгат по п. 44, отличающийся тем, что D<sup>L</sup> имеет формулу (Id'):



где, Q выбран из:

- (a)  $-\text{CH}_2-$ ;
- (b)  $-\text{C}_3\text{H}_6-$ ; и



(c)

50. Конъюгат по любому из пп. 44-49, отличающийся тем, что фрагмент лиганда представляет собой антитело или его активный фрагмент.

51. Конъюгат по п. 50, отличающийся тем, что антитело или фрагмент антитела представляет собой антитело, или фрагмент антитела к опухолеассоциированному антигену.

52. Конъюгат по п. 51, отличающийся тем, что антитело или фрагмент антитела представляет собой антитело, которое связывается с одним или более опухолеассоциированными антигенами или рецепторами клеточной поверхности, выбранными из (1)-(88):

- (1) VMPR1B;
- (2) E16;
- (3) STEAP1;
- (4) 0772P;
- (5) MPF;
- (6) Napi3b;
- (7) Sema 5b;
- (8) PSCA hlg;
- (9) ETBR;

- (10) MSG783;
- (11) STEAP2;
- (12) TrpM4;
- (13) CRIPTO;
- (14) CD21;
- (15) CD79b;
- (16) FcRH2;
- (17) HER2;
- (18) NCA;
- (19) MDP;
- (20) IL20R-alpha;
- (21) Бревикан;
- (22) EphB2R;
- (23) ASLG659;
- (24) PSCA;
- (25) GEDA;
- (26) BAFF-R;
- (27) CD22;
- (28) CD79a;
- (29) CXCR5;
- (30) HLA-DOB;
- (31) P2X5;
- (32) CD72;
- (33) LY64;
- (34) FcRH1;
- (35) IRTA2;
- (36) TENB2;
- (37) PSMA – FOLH1;
- (38) SST;
- (38.1) SSTR2;
- (38.2) SSTR5;
- (38.3) SSTR1;
- (38.4) SSTR3;
- (38.5) SSTR4;
- (39) ITGAV;

- (40) ITGB6;
- (41) CEACAM5;
- (42) MET;
- (43) MUC1;
- (44) CA9;
- (45) EGFRvIII;
- (46) CD33;
- (47) CD19;
- (48) IL2RA;
- (49) AXL;
- (50) CD30 - TNFRSF8;
- (51) BCMA - TNFRSF17;
- (52) CT Ags – CTA;
- (53) CD174 (Lewis Y) - FUT3;
- (54) CLEC14A;
- (55) GRP78 – HSPA5;
- (56) CD70;
- (57) Антигены, специфические для стволовых клеток;
- (58) ASG-5;
- (59) ENPP3;
- (60) PRR4;
- (61) GCC – GUCY2C;
- (62) Liv-1 – SLC39A6;
- (63) 5T4;
- (64) CD56 – NCMA1;
- (65) CanAg;
- (66) FOLR1;
- (67) GPNMB;
- (68) TIM-1 – HAVCR1;
- (69) RG-1/мишень опухоли предстательной железы Mindin – Mindin/RG-1;
- (70) B7-H4 – VTCN1;
- (71) PTK7;
- (72) CD37;
- (73) CD138 – SDC1;
- (74) CD74;

- (75) Клаудины – CL;
- (76) EGFR;
- (77) Her3;
- (78) RON - MST1R;
- (79) EPHA2;
- (80) CD20 – MS4A1;
- (81) Тенасцин С – TNC;
- (82) FAP;
- (83) DKK-1;
- (84) CD52;
- (85) CS1 - SLAMF7;
- (86) Эндоглин – ENG;
- (87) Аннексин А1 – ANXA1;
- (88) V-CAM (CD106)- VCAM1.

53. Конъюгат по любому из пп. 50-52, отличающийся тем, что антитело или фрагмент антитела представляет собой антитело со сконструированным цистеином.

54. Конъюгат по любому из пп. 44-53, отличающийся тем, что  $p$  равно целому числу от 1 до 8.

55. Конъюгат по п. 54, отличающийся тем, что  $p$  равно 1, 2, 3 или 4.

56. Композиция, содержащая смесь конъюгатов по любому из пп. 44-55, в которой среднее значение  $p$  в указанной смеси конъюгатных соединений составляет от около 1 до около 8.

57. Конъюгат по любому из пп. 44-55 для применения в терапии.

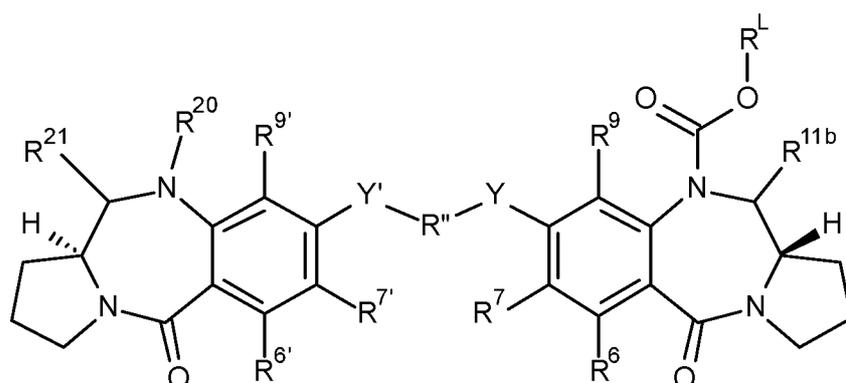
58. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат по любому из пп. 44-55 и фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или вспомогательное вещество.

59. Конъюгат по любому из пп. 44-55 или фармацевтическая композиция по п. 58 для применения при лечении пролиферативного заболевания у субъекта.

60. Конъюгат для применения по п. 61, отличающийся тем, что заболевание, подлежащее лечению, представляет собой рак.
61. Применение конъюгата по любому из пп. 44-55 или фармацевтической композиции по п. 58 в способе медицинского лечения.
62. Способ медицинского лечения, включающий введение пациенту фармацевтической композиции по п. 58.
63. Способ по п. 62, отличающийся тем, что медицинское лечение предназначено для лечения рака.
64. Способ по п. 63, отличающийся тем, что в комбинации с указанным конъюгатом пациенту вводят химиотерапевтический агент.
65. Применение конъюгата по любому из пп. 44-55 в способе производства лекарственного средства для лечения пролиферативного заболевания.
66. Способ лечения млекопитающего, страдающего от пролиферативного заболевания, включающий введение эффективного количества конъюгата по любому из пп. 44-55 или фармацевтической композиции по п. 58.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Соединение формулы I:



и его соли, и сольваты, где:

$R^6$  и  $R^9$  независимо выбраны из H, R, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR,  $NRR'$ , нитро,  $Me_3Sn$  и галогена;

где R и  $R'$  независимо выбраны из необязательно замещенных  $C_{1-12}$  алкильных,  $C_{3-20}$  гетероциклических и  $C_{5-20}$  арильных групп;

$R^7$  выбран из H, R, OH, OR, SH, SR,  $NH_2$ , NHR,  $NRR'$ , нитро,  $Me_3Sn$  и галогена;

$R''$  представляет собой  $C_{3-12}$  алкиленовую группу, цепь которой может прерываться одним или более гетероатомами, например, O, S,  $NR^{N2}$  (где  $R^{N2}$  представляет собой H или  $C_{1-4}$  алкил), и/или ароматическими кольцами, например, бензолом или пиридином;

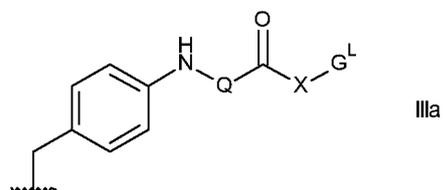
Y и  $Y'$  выбраны из O, S или NH;

$R^{6'}$ ,  $R^{7'}$ ,  $R^{9'}$  выбраны из тех же групп, что и  $R^6$ ,  $R^7$  и  $R^9$  соответственно;

$R^{11b}$  выбран из OH,  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил; и

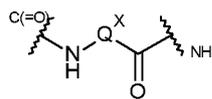
$R^L$  представляет собой линкер для связи с агентом, связывающимся с клеткой, который выбран из:

(iii):



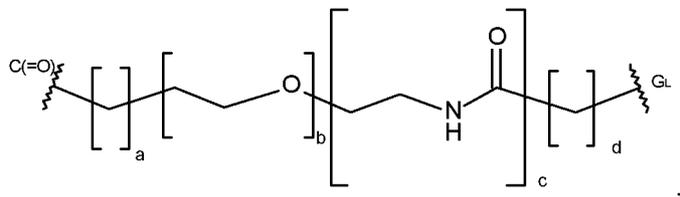
где

Q представляет собой:



, где  $Q^X$  является таким, что Q представляет собой остаток аминокислоты, дипептидный остаток или трипептидный остаток;

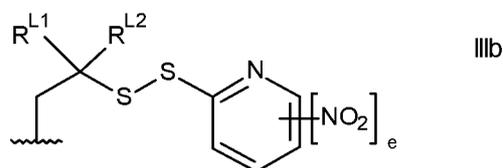
X представляет собой:



где a = от 0 до 5, b = от 0 до 16, c = 0 или 1, d = от 0 до 5;

$G^L$  представляет собой линкер для связи с фрагментом лиганда; и

(iiib):



где  $R^{L1}$  и  $R^{L2}$  независимо выбраны из H и метила, или вместе с атомом углерода, с которым они связаны, образуют циклопропиленовую или циклобутиленовую группу; и e равно 0 или 1.

или:

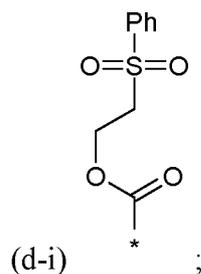
(a)  $R^{20}$  представляет собой H и  $R^{21}$  представляет собой OH или  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$ -алкил; или

(b)  $R^{20}$  и  $R^{21}$  образуют двойную связь азот-углерод между атомами азота и углерода, с которыми они связаны; или

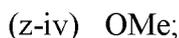
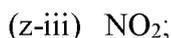
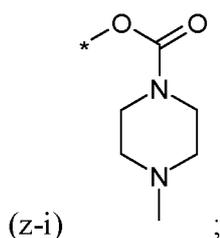
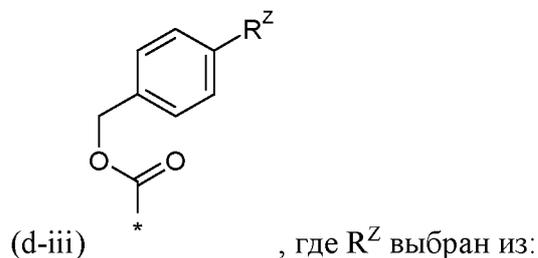
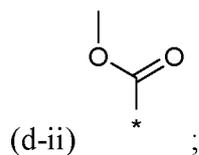
(c)  $R^{20}$  представляет собой H и  $R^{21}$  представляет собой  $SO_zM$ , где z равно 2 или 3 и M представляет собой одновалентный фармацевтически приемлемый катион; или

(d)  $R^{20}$  представляет собой H и  $R^{21}$  представляет собой H; или

(e)  $R^{21}$  представляет собой OH или  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил и  $R^{20}$  выбран из:



(d-i) ;

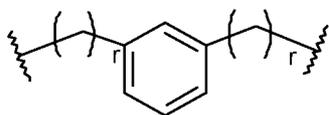


(z-vi)  $-\text{C}(=\text{O})-\text{X}_1-\text{NHC}(=\text{O})\text{X}_2-\text{NH}-\text{R}^{\text{ZC}}$ , где  $-\text{C}(=\text{O})-\text{X}_1-\text{NH}-$  и  $-\text{C}(=\text{O})-\text{X}_2-\text{NH}-$  представляют собой природные аминокислотные остатки и  $\text{R}^{\text{ZC}}$  выбран из  $\text{Me}$ ,  $\text{OMe}$ ,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OMe}$ .

2. Соединение по п. 1, отличающееся тем, что оба Y и Y' представляют собой O.

3. Соединение по пп. 1-2, отличающееся тем, что R'' представляет собой C<sub>3-7</sub> алкилен.

4. Соединение по пп. 1-2, отличающееся тем, что R''' представляет собой группу формулы:



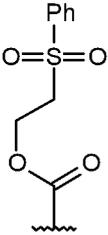
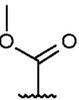
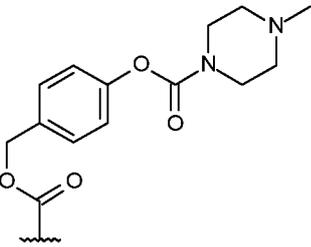
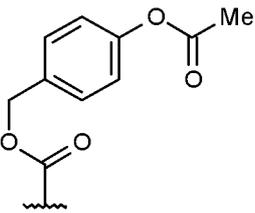
где r равно 1 или 2.

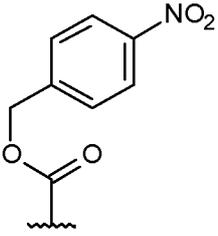
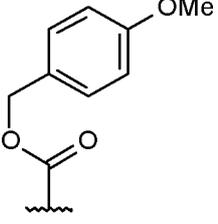
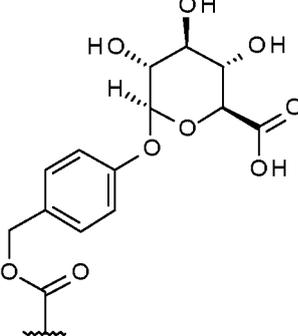
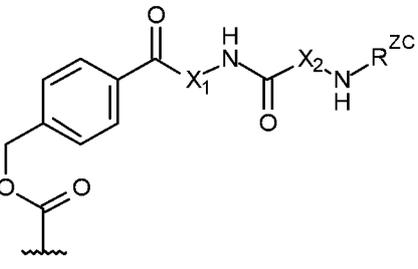
5. Соединение по любому из пп. 1-4, отличающееся тем, что R<sup>9</sup> представляет собой H.

6. Соединение по любому из пп. 1-5, отличающееся тем, что R<sup>6</sup> представляет собой H.

7. Соединение по любому из пп. 1-6, отличающееся тем, что R<sup>7</sup> выбран из H, OH и OR.

8. Соединение по п. 7, отличающееся тем, что  $R^7$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкокси группу.
9. Соединение по пп. 1-8, отличающееся тем, что  $R^{6'}$  представляет собой такую же группу, как и  $R^6$ ,  $R^{7'}$  представляет собой такую же группу, как и  $R^7$ ,  $R^{9'}$  представляет собой такую же группу, как и  $R^9$ , и  $Y'$  представляет собой такую же группу, как и  $Y$ .
10. Соединение по любому из пп. 1-9, отличающееся тем, что  $R^{20}$  представляет собой H, и  $R^{21}$  представляет собой OH.
11. Соединение по любому из пп. 1-9, отличающееся тем, что  $R^{20}$  и  $R^{21}$  образуют двойную связь азот-углерод между атомами азота и углерода, с которыми они связаны.
12. Соединение по любому из пп. 1-9, отличающееся тем, что  $R^{21}$  представляет собой OH или  $OR^A$  и  $R^{20}$  выбран из:

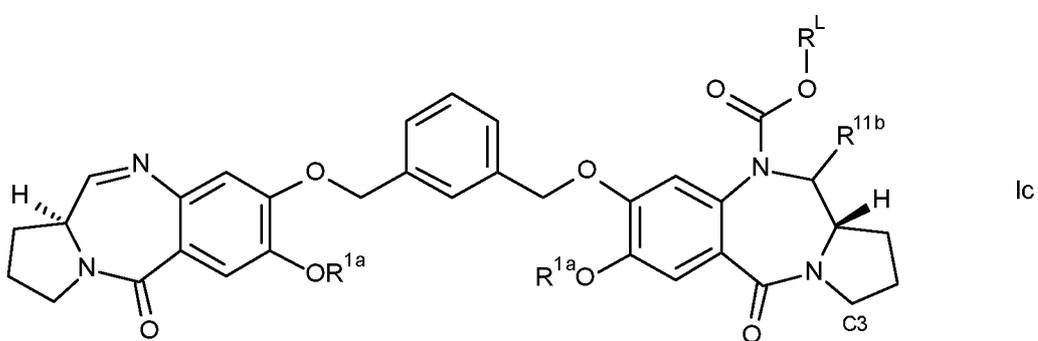
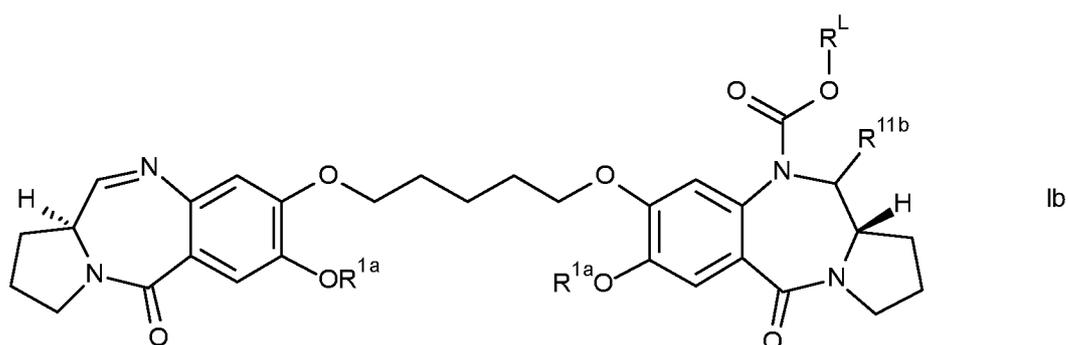
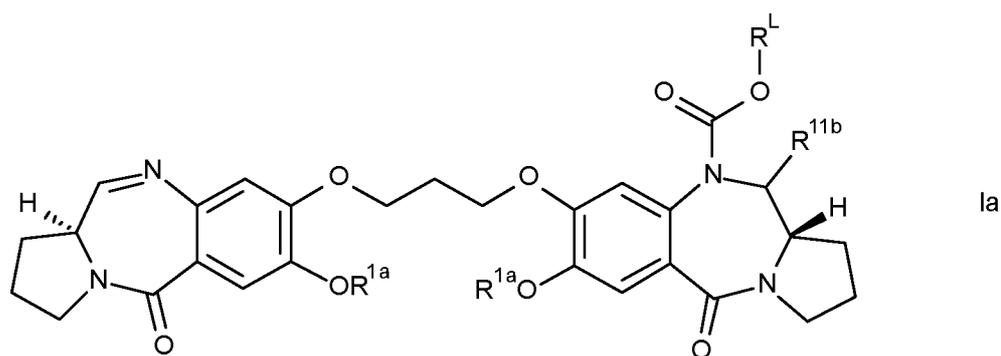
$R^{20a}$	
$R^{20b}$	
$R^{20c}$	
$R^{20d}$	

R <sup>20e</sup>	
R <sup>20f</sup>	
R <sup>20g</sup>	
R <sup>20h</sup>	

13. Соединение по любому из пп. 1-12, отличающееся тем, что  $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$ , выбран из:  $-Phe-Lys-$ ,  $-Val-Ala-$ ,  $-Val-Lys-$ ,  $-Ala-Lys-$  и  $-Val-Cit-$ .

14. Соединение по п.13, отличающееся тем, что  $-C(=O)-X_1-NHC(=O)X_2-NH-$ , выбран из:  $-Phe-Lys-$  и  $-Val-Ala-$ .

15. Соединение по п. 1, имеющее формулу Ia, Ib или Ic:



где  $R^{1a}$  выбран из метила и бензила;

$R^L$  и  $R^{11b}$  являются такими, как определено в п. 1.

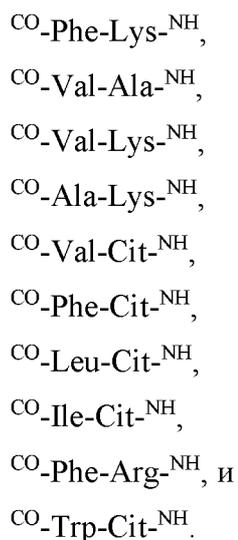
16. Соединение по любому из пп. 1-15, отличающееся тем, что  $R^{11b}$  представляет собой OH.

17. Соединение по любому из пп. 1-15, отличающееся тем, что  $R^{11b}$  представляет собой  $OR^A$ , где  $R^A$  представляет собой  $C_{1-4}$  алкил.

18. Соединение по п. 17, отличающееся тем, что  $R^A$  представляет собой метил.

19. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и Q представляет собой остаток аминокислоты, выбранный из Phe, Lys, Val, Ala, Cit, Leu, Ile, Arg и Trp.

20. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и Q представляет собой дипептидный остаток, выбранный из:



21. Соединение по п. 20, отличающееся тем, что Q выбран из  $\text{CO-Phe-Lys-NH}$ ,  $\text{CO-Val-Cit-NH}$  и  $\text{CO-Val-Ala-NH}$ .

22. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша и Q представляет собой трипептидный остаток.

23. Соединение по любому из пп. 1-22, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и a равно от 0 до 3.

24. Соединение по п. 23, отличающееся тем, что a равно 0.

25. Соединение по любому из пп. 1-24, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и b равно от 0 до 12.

26. Соединение по п. 25, отличающееся тем, что b равно от 0 до 8.

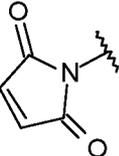
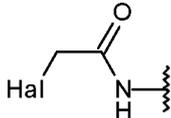
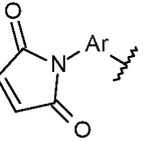
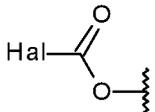
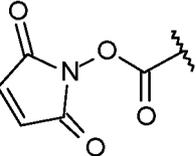
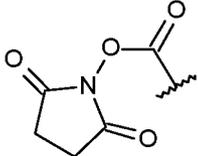
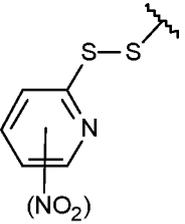
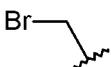
27. Соединение по любому из пп. 1-26, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и  $d$  равно от 0 до 3.

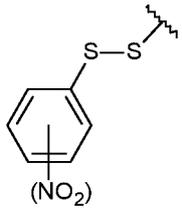
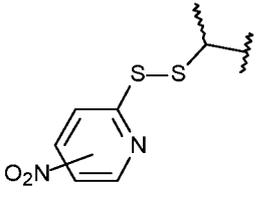
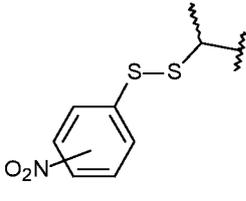
28. Соединение по п. 27, отличающееся тем, что  $d$  равно 2.

29. Соединение по любому из пп. 1-22, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и  $a$  равно 0,  $c$  равно 1, и  $d$  равно 2, и  $b$  равно от 0 до 8.

30. Соединение по п. 29, отличающееся тем, что  $b$  равно 0, 4 или 8.

31. Соединение по любому из пп. 1-30, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Ша, и  $G^L$  выбран из:

$(G^{L1-1})$		$(G^{L4})$	 <p>Где Hal = I, Br, Cl</p>
$(G^{L1-2})$		$(G^{L5})$	
$(G^{L2})$		$(G^{L6})$	
$(G^{L3-1})$	 <p>где группа <math>NO_2</math> является необязательной</p>	$(G^{L7})$	

(G <sup>L3-2</sup> )	 <p>где группа NO<sub>2</sub> является необязательной</p>	(G <sup>L8</sup> )	
(G <sup>L3-3</sup> )	 <p>где группа NO<sub>2</sub> является необязательной</p>	(G <sup>L9</sup> )	
(G <sup>L3-4</sup> )	 <p>где группа NO<sub>2</sub> является необязательной</p>		

где Ar представляет собой C<sub>5-6</sub> ариленовую группу.

32. Соединение по п. 31, отличающееся тем, что Ar представляет собой фениленовую группу.

33. Соединение по пп. 31-32, отличающееся тем, что G<sup>L</sup> выбран из G<sup>L1-1</sup> и G<sup>L1-2</sup>.

34. Соединение по п. 33, отличающееся тем, что G<sup>L</sup> представляет собой G<sup>L1-1</sup>.

35. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что R<sup>L</sup> имеет формулу IIIb, и оба R<sup>L1</sup> и R<sup>L2</sup> представляют собой H.

36. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что R<sup>L</sup> имеет формулу IIIb, R<sup>L1</sup> представляет собой H, и R<sup>L2</sup> представляет собой метил.

37. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Шв, и оба  $R^{L1}$  и  $R^{L2}$  представляют собой метил.

38. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Шв, и  $R^{L1}$  и  $R^{L2}$  вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют циклопропиленовую группу.

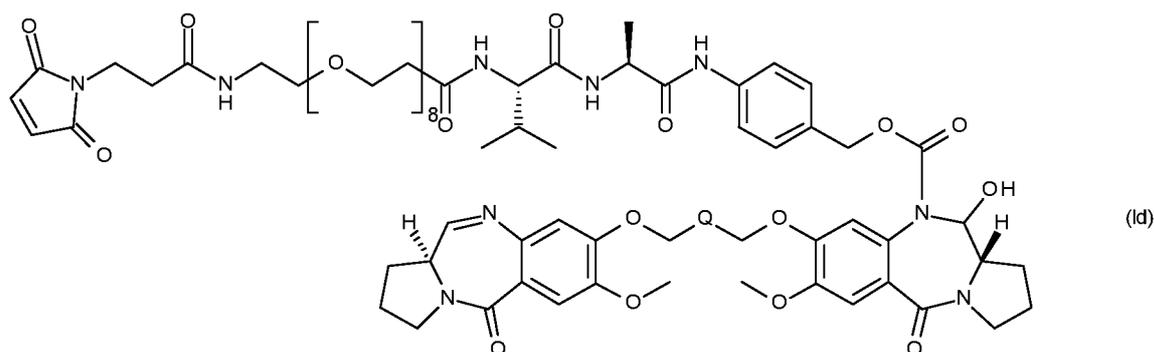
39. Соединение по любому из пп. 1-18, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Шв, и  $R^{L1}$  и  $R^{L2}$  вместе с атомом углерода, к которому они присоединены, образуют циклобутиленовую группу.

40. Соединение по любому из пп. 1-18 и 35-39, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Шв, и  $\epsilon$  равно 0.

41. Соединение по любому из пп. 1-18 и 35-39, отличающееся тем, что  $R^L$  имеет формулу Шв, и  $\epsilon$  равно 1.

42. Соединение по п. 41, отличающееся тем, что нитрогруппа находится в пара-положении.

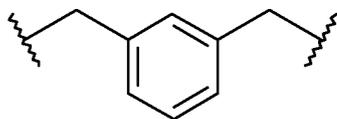
43. Соединение по п. 1, отличающееся тем, что соединение имеет формулу Id:



где Q выбран из:

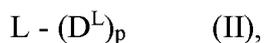
(a)  $-\text{CH}_2-$ ;

(b)  $-\text{C}_3\text{H}_6-$ ; и

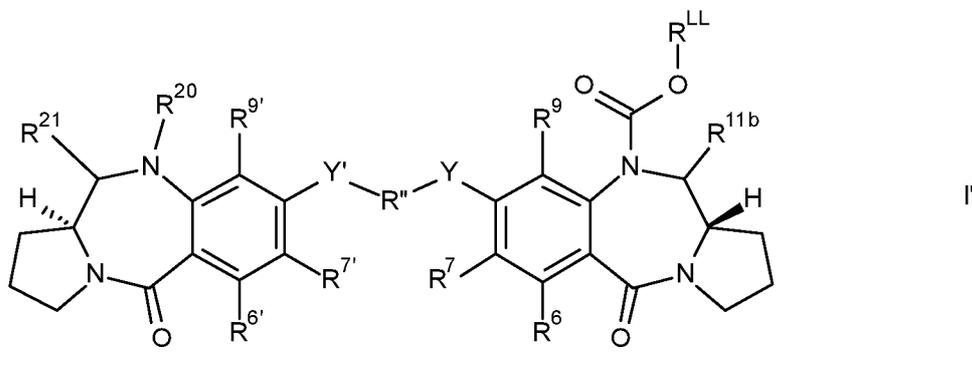


(c)

44. Конъюгат формулы II:



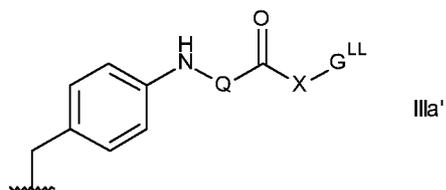
где L представляет собой фрагмент лиганда,  $D^L$  представляет собой фрагмент линкера лекарственного соединения формулы I':



где  $R^6, R^7, R^9, R^{11b}, Y, R'', Y', R^{6'}, R^7, R^9', R^{20}$  и  $R^{21}$ , являются такими, как определено в любом из пп. 1-18;

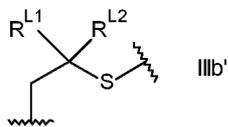
$R^{LL}$  представляет собой линкер для соединения с клеточносвязывающим агентом, который выбран из:

(iia):



где Q и X являются такими, как определено в любом из пп. 1 и 19-21, и  $G^{LL}$  представляет собой линкер, связанный с фрагментом лиганда; и

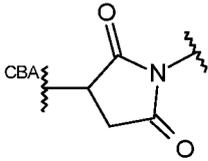
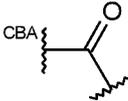
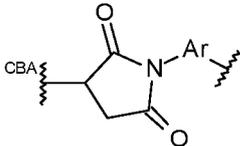
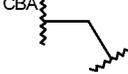
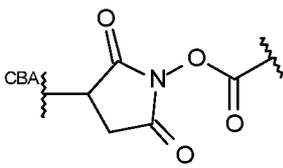
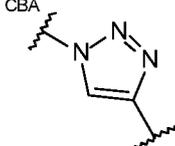
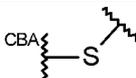
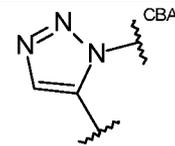
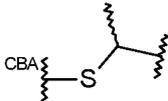
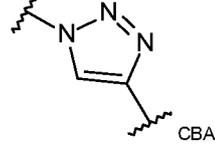
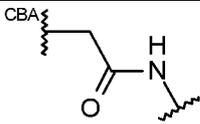
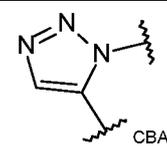
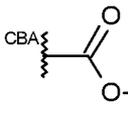
(iiib):



где  $R^{L1}$  и  $R^{L2}$  являются такими, как определено в любому из пп. 1 и 35-39;

где p равно целому числу от 1 до 20.

45. Конъюгат по п. 44, отличающийся тем, что  $G^{LL}$  выбран из:

(G <sup>LL1-1</sup> )		(G <sup>LL6</sup> )	
(G <sup>LL1-2</sup> )		(G <sup>LL7</sup> )	
(G <sup>LL2</sup> )		(G <sup>LL8-1</sup> )	
(G <sup>LL3-1</sup> )		(G <sup>LL8-2</sup> )	
(G <sup>LL3-2</sup> )		(G <sup>LL9-1</sup> )	
(G <sup>LL4</sup> )		(G <sup>LL9-2</sup> )	
(G <sup>LL5</sup> )			

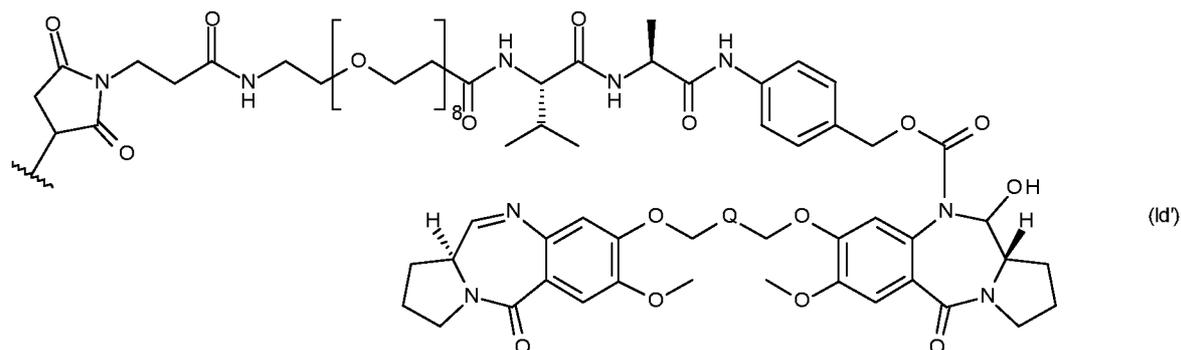
где Ar представляет собой C<sub>5-6</sub> ариленовую группу.

46. Конъюгат по п. 45, отличающийся тем, что Ar представляет собой фениленовую группу.

47. Конъюгат по любому из пп. 45-46, отличающийся тем, что G<sup>LL</sup> выбран из G<sup>LL1-1</sup> и G<sup>LL1-2</sup>.

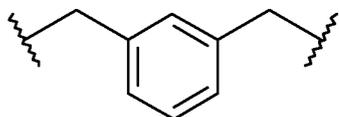
48. Конъюгат по п. 47, отличающийся тем, что G<sup>LL</sup> представляет собой G<sup>LL1-1</sup>.

49. Конъюгат по п. 44, отличающийся тем, что D<sup>L</sup> имеет формулу (Id'):



где Q выбран из:

- (a)  $-\text{CH}_2-$ ;  
 (b)  $-\text{C}_3\text{H}_6-$ ; и



(c)

50. Конъюгат по любому из пп. 44-49, отличающийся тем, что фрагмент лиганда представляет собой антитело или его активный фрагмент.

51. Конъюгат по п. 50, отличающийся тем, что антитело или фрагмент антитела представляет собой антитело или фрагмент антитела к опухолеассоциированному антигену.

52. Конъюгат по п. 51, отличающийся тем, что антитело или фрагмент антитела представляет собой антитело, которое связывается с одним или более опухолеассоциированными антигенами или рецепторами клеточной поверхности, выбранными из (1)-(88):

- (1) VMPR1B;
- (2) E16;
- (3) STEAP1;
- (4) 0772P;
- (5) MPF;
- (6) Napi3b;
- (7) Sema 5b;
- (8) PSCA hlg;
- (9) ETBR;

- (10)** MSG783;
- (11)** STEAP2;
- (12)** TrpM4;
- (13)** CRIPTO;
- (14)** CD21;
- (15)** CD79b;
- (16)** FcRH2;
- (17)** HER2;
- (18)** NCA;
- (19)** MDP;
- (20)** IL20R-alpha;
- (21)** Бревикан;
- (22)** EphB2R;
- (23)** ASLG659;
- (24)** PSCA;
- (25)** GEDA;
- (26)** BAFF-R;
- (27)** CD22;
- (28)** CD79a;
- (29)** CXCR5;
- (30)** HLA-DOB;
- (31)** P2X5;
- (32)** CD72;
- (33)** LY64;
- (34)** FcRH1;
- (35)** IRTA2;
- (36)** TENB2;
- (37)** PSMA – FOLH1;
- (38)** SST;
- (38.1) SSTR2;
- (38.2) SSTR5;
- (38.3) SSTR1;
- (38.4)SSTR3;
- (38.5) SSTR4;

- (39) ITGAV;
- (40) ITGB6;
- (41) CEACAM5;
- (42) MET;
- (43) MUC1;
- (44) CA9;
- (45) EGFRvIII;
- (46) CD33;
- (47) CD19;
- (48) IL2RA;
- (49) AXL;
- (50) CD30 - TNFRSF8;
- (51) BCMA - TNFRSF17;
- (52) CT Ags – CTA;
- (53) CD174 (Lewis Y) - FUT3;
- (54) CLEC14A;
- (55) GRP78 – HSPA5;
- (56) CD70;
- (57) Антигены, специфические для стволовых клеток;
- (58) ASG-5;
- (59) ENPP3;
- (60) PRR4;
- (61) GCC – GUCY2C;
- (62) Liv-1 – SLC39A6;
- (63) 5T4;
- (64) CD56 – NCMA1;
- (65) CanAg;
- (66) FOLR1;
- (67) GPNMB;
- (68) TIM-1 – HAVCR1;
- (69) RG-1/мишень опухоли предстательной железы Mindin – Mindin/RG-1;
- (70) B7-H4 – VTCN1;
- (71) PTK7;
- (72) CD37;

- (73) CD138 – SDC1;
- (74) CD74;
- (75) Клаудины – CL;
- (76) EGFR;
- (77) Her3;
- (78) RON - MST1R;
- (79) EPHA2;
- (80) CD20 – MS4A1;
- (81) Тенасцин С – TNC;
- (82) FAP;
- (83) DKK-1;
- (84) CD52;
- (85) CS1 - SLAMF7;
- (86) Эндоглин – ENG;
- (87) Аннексин А1 – ANXA1;
- (88) V-CAM (CD106)- VCAM1.

53. Конъюгат по любому из пп. 50-52, отличающийся тем, что антитело или фрагмент антитела представляет собой антитело со сконструированным цистеином.

54. Конъюгат по любому из пп. 44-53, отличающийся тем, что  $r$  равно целому числу от 1 до 8.

55. Конъюгат по п. 54, отличающийся тем, что  $r$  равно 1, 2, 3 или 4.

56. Композиция, содержащая смесь конъюгатов по любому из пп. 44-55, в которой среднее значение  $r$  в указанной смеси конъюгатных соединений составляет от около 1 до около 8.

57. Конъюгат по любому из пп. 44-55 для применения в терапии.

58. Фармацевтическая композиция, содержащая конъюгат по любому из пп. 44-55 и фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или вспомогательное вещество.

59. Конъюгат по любому из пп. 44-55 или фармацевтическая композиция по п. 58 для применения при лечении пролиферативного заболевания у субъекта.
60. Конъюгат для применения по п. 59, отличающийся тем, что заболевание, подлежащее лечению, представляет собой рак.
61. Применение конъюгата по любому из пп. 44-55 или фармацевтической композиции по п. 58 в способе медицинского лечения.
62. Способ медицинского лечения, включающий введение пациенту фармацевтической композиции по п. 58.
63. Способ по п. 62, отличающийся тем, что медицинское лечение предназначено для лечения рака.
64. Способ по п. 63, отличающийся тем, что в комбинации с указанным конъюгатом пациенту вводят химиотерапевтический агент.
65. Применение конъюгата по любому из пп. 44-55 в способе производства лекарственного средства для лечения пролиферативного заболевания.
66. Способ лечения млекопитающего, страдающего от пролиферативного заболевания, включающий введение эффективного количества конъюгата по любому из пп. 44-55 или фармацевтической композиции по п. 58.